

基于盆栽培养实验与实验室检测探究水分添加对根际土壤微生物残体碳的影响

孙经好¹, 代学民^{1,2}, 刘兵¹, 杨金晨¹, 仝玉策¹, 杨洋^{1,2*}

(1. 河北建筑工程学院, 张家口 075000; 2. 河北省水质工程与水资源综合利用重点实验室, 张家口 075000)

摘要: **目的** 探究水分添加对植物根际土壤微生物残体碳(MRC)的影响。**方法** 选择抗旱性不同的羊草(*Leymus chinensis*)和燕麦(*Avena sativa*)进行室内盆栽培养试验,使用重铬酸钾氧化-外加热法测定土壤有机碳(SOC)含量,使用高效液相色谱法测定MRC含量,使用荧光标记底物法测定土壤中碳降解酶活性。**结果** 水分添加使羊草根际SOC、细菌残体碳(BRC)、真菌残体碳(FRC)和MRC含量分别增加了5.9%、13.74%、9.48%和16.29%,而使燕麦根际土壤中四者分别降低了7.4%、19.98%、10.95%和13.41%。水分添加使羊草根际土壤中 β -1,4-葡萄糖苷酶(β G)活性提高了37.4%,使燕麦根际土壤中 β G活性和 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)活性分别提高了64.0%和36.5%。**结论** 水分添加对抗旱性不同的植物根际土壤MRC含量的影响显著不同,研究土壤水分对MRC在土壤碳固存中的作用时需要考虑物种差异。

关键词: 微生物残体碳; 土壤有机碳; 水分添加

0 引言

21世纪以来,全球变暖导致降水格局发生显著改变,降水量的变化会通过改变土壤水分影响有机碳矿化,进而对土壤碳循环及碳储存过程造成影响^[1]。土壤有机碳(SOC)是土壤碳库的重要组成部分,是评价土壤质量和生产力的重要指标,微生物残体碳(MRC)在SOC中占比可达80%,对调节土壤碳库的形成和稳定性至关重要^[2]。气候变化导致的土壤湿度等外部因素的改变会通过影响微生物生理特征,来影响MRC的形成和稳定性,然后间接影响土壤碳循环过程^[3]。水分增加会促进植物生长,增强凋落物向土壤中的输入,从而促进微生物生长及MRC的形成,这一过程促进了MRC的积累^[4]。但过高的土壤水分会导致氧气减少,降低微生物对营养物质的利用效率,从而减少MRC的积累^[5]。不同植物由于根系分泌物的差异,会通过改变根际土壤微生物种群和群落结构影响MRC的积累^[6]。水分添加如何影响根际土壤MRC的积累还需要进一步研究。重铬酸钾氧化-外加热法测定有机碳含量是利用油浴加热煮沸的方法加速有机碳的氧化,从而计算有机碳含量^[7]。氨基糖具有异源性,可作为微生物残

留物标识物用于评估土壤中不同微生物死亡残体有机碳的含量^[8]。

本研究选取抗旱性不同的两种植物——羊草(*Leymus chinensis*)和燕麦(*Avena sativa*)进行室内盆栽培养试验,分析水分添加对植物根际土壤中MRC的影响。本研究假设:土壤水分的增加可能通过促进植物生长和微生物生长及微生物残体的形成,从而增加MRC的含量。该研究旨在分析不同水分条件下MRC的变化,对探究降水格局变化下土壤碳固存及碳循环具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

供试土壤取自河北省张家口市康保县,年平均气温和年平均降水量分别约为2.0℃和350mm^[9]。2022年6月末,在农田采集深度为0~20cm的土壤,土壤样品经风干后过孔径2mm筛备用。供试土壤基本理化性质:pH 8.27,总碳含量6.41g/kg,总氮含量0.61g/kg,总磷含量40mg/kg。

1.2 实验设计与土壤样品采集

2023年4月1日,选取羊草和燕麦两种植物进行室内

第一作者:孙经好,硕士,研究方向为土壤生态学。

*通信作者:杨洋,博士,讲师,研究方向为土壤生态学。E-mail: yangyang_20220112@163.com

盆栽培养实验。每种植物设置 2 种处理: 对照组 (30% 田间持水量) 和水分添加 (60% 田间持水量)。每个处理设置 5 个重复。种植前, 将种子用超纯水浸透的滤纸包裹。在 20 °C 培养箱中育苗 72 h 后, 将发芽的种子种在花盆中。培养过程中, 每天使用静置 1 d 后的自来水进行浇水, 通过称重的方式维持土壤含水量。将所有花盆置于培养室内并在自然光下照射。培养三个月后, 利用“抖土法”采集根际土壤, 将土壤过孔径 2 mm 筛后备用。

1.3 实验室检测方法

1.3.1 土壤有机碳的实验室检测方法

SOC 含量使用重铬酸钾氧化法测定。具体而言, 称取 0.10~0.50 g 土壤样品于大试管中, 用移液管加入 5.0 mL 0.8000 mol/L 的 1/6 $K_2Cr_2O_7$ 标准溶液, 然后加入 5 mL 浓硫酸, 旋转摇匀。将装有土壤样品的大试管放入大试管架中, 进行油浴锅加热, 控制油浴温度在 170~180 °C, 使溶液保持沸腾 5 min, 此时溶液呈为橙黄色或黄绿色。然后取出试管架, 冷却后擦净试管外部的油液。将试管内的混合物洗入 250 mL 锥形瓶中, 将锥形瓶内溶液的体积保持在 60~80 mL。加入 3~4 滴邻啡罗啉指示剂后, 用 0.2 mol/L 硫酸亚铁溶液滴定, 溶液颜色由橙黄经蓝绿到棕红色为止。同时, 使用石英砂代替土壤样品进行空白实验, 其它步骤与测定土壤样品时相同。SOC 含量的计算方法参考双龙等的做法^[7]。

1.3.2 微生物残体碳的实验室检测方法

用氨基糖 [胞壁酸 (MurN) 和氨基葡萄糖 (GluN)] 作为细菌残体碳 (BRC) 和真菌残体碳 (RFC) 的标志物。土壤氨基糖的提取方法参考 Appuhn 等^[10]。称取 1 g 鲜土于水解管中, 加入 10 mL 6 mol/L 盐酸, 在烘箱中 105 °C 水解 6 h。待水解液冷却至室温后, 摇匀溶液静置过夜。取 1 mL 上清液于粗玻璃管中, 在氮吹仪 (N-Evap-112, Organomation, USA) 中氮气水浴 30 °C 吹干, 加入 1 mL 超纯水, 氮气水浴再次吹干。加入 2 mL 超纯水, 混匀后过 0.45 μ m 滤膜, 土壤氨基糖提取液于 4 °C 保存。氨基糖含量用高效液相色谱仪 (Ultimate 3000, Thermo fisher, USA) 测定, 计算方法参考 Appuhn 等^[11]。

1.3.3 碳降解酶的实验室检测方法

土壤中 β -1,4-葡萄糖苷酶 (β G) 和 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖糖苷酶 (NAG) 活性的测定方法参考 Saiya-Cork 等的做法^[12]。将 1 g 新鲜土壤加入 125 mL 50 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液 (pH=8) 中制备土壤悬浮液。在 96 微孔板中, 加入 200 μ L 土壤悬浮液和 50 μ L 底物溶液 (200 μ mol/L)。用 4-甲基伞形酮做标准曲线。每个样品 8 个重复。将微孔板置于 20 °C 黑暗条件下培养 4 h。随后每个孔中加入 10 μ L 1 mol/L NaOH 溶液。静置 1 min 后, 用多功能酶标仪 (SynergyH4, BioTek) 在 365 nm 下激发、450 nm 下检测荧光值。

1.4 数据处理及统计分析

数据处理及统计分析采用 Excel 和 IBM SPSS Statistics 25 软件进行。采用单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验来检验数据的正态分布。采用独立样本 *t*-检验比较不同处理或不同植物间 MRC 含量及碳降解酶活性的差异, 采用线性回归曲线分析 BRC 和 FRC 与碳降解酶活性的相关性, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。利用软件 Origin 2018 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 水分添加对土壤微生物残体碳含量及碳降解酶活性的影响

与对照处理相比, 水分添加处理使羊草根际土壤中的 SOC、BRC、FRC、MRC 含量分别提高了 5.9%、13.74%、9.48% 和 16.29% ($P < 0.05$); 使燕麦根际土壤中的 SOC、BRC、FRC、MRC 分别降低了 7.4%、19.98%、10.95% 和 13.41% ($P < 0.05$)。水分添加处理使羊草根际土壤中的 β G 活性提高了 37.4% ($P < 0.05$), 但并不影响 NAG 活性 ($P > 0.05$); 使燕麦根际土壤中的 β G 和 NAG 活性分别提高了 64.0% 和 36.5% ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 微生物残体碳与土壤有机碳及碳降解酶活性的关系

BRC 含量与 NAG 活性呈正相关关系 ($P < 0.05$), 与 β G 活性呈负相关关系 ($P < 0.05$)。FRC 含量与 NAG 活性呈负相关关系 ($P < 0.05$), 如图 1。

表 1 土壤微生物残体碳含量和碳降解酶活性

植物	处理	SOC/(g/kg)	MRC/(g/kg)	BRC/(g/kg)	FRC/(g/kg)	β G/[nmol/(g·h)]	NAG [nmol/(g·h)]
羊草	CK	6.22±0.04 Bb	1.73±0.05 Bb	0.49±0.01 Bb	1.33±0.02 Bb	13.09±0.70 Ab	3.74±0.13 Ba
	WD	7.21±0.06 Aa	2.01±0.03 Aa	0.56±0.01 Aa	1.45±0.01 Aa	17.99±0.10 Aa	3.43±0.06 Ba
燕麦	CK	7.20±0.02 Aa	7.20±0.02 Aa	0.69±0.00 Aa	1.43±0.01 Aa	9.94±0.30 Ab	8.41±0.05 Ab
	WD	6.67±0.02 Bb	6.67±0.02 Bb	0.55±0.01 Ab	1.27±0.01 Bb	16.31±0.52 Aa	11.49±0.43 Aa

注: 不同大写字母表示同种处理下不同植物间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示同种植物下不同处理间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。SOC: 土壤有机碳; MRC: 微生物残体碳; BRC: 细菌残体碳; FRC: 真菌残体碳; β G: β -1,4-葡萄糖苷酶; NAG: β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖糖苷酶。

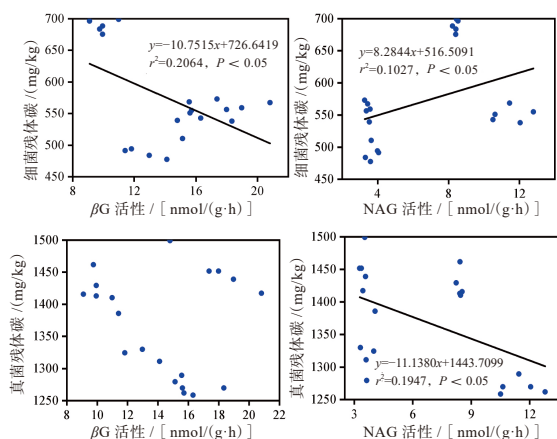


图1 微生物残体碳与碳降解酶活性的线性回归分析

3 讨论与结论

检测结果表明, 水分添加增加了羊草根际土壤中SOC、BRC、FRC和MRC含量(见表1), 与研究假设一致, 以往研究也发现植物源碳的输入会促进微生物生长和MRC的积累^[5]。水分添加增加了植物可利用的水分, 同时使植物向土壤输入更多的有机碳, 促进了微生物的生长和MRC的积累, 这可能是羊草根际土壤中SOC、BRC、FRC和MRC含量升高的主要原因。水分添加相反降低了燕麦根际土壤中的SOC、BRC、FRC和MRC含量, 可能是因为水分增加提高了碳降解酶活性和扩散速率, 加快了MRC的分解。碳降解酶活性与MRC之间的负相关关系证实了这一点(图1)。MRC在SOC中的占比仅为27%~30%, 这表明了植物源碳是植物生长前期根际土壤SOC的主要来源。FRC随着土壤水分的增加在羊草根际土壤中呈现出“增加慢”, 而在燕麦根际土壤中出现“降低快”的现象。这可能是因为羊草和燕麦根际土壤中真菌群落结构的差异。这一现象揭示了植物种类通过调控根际环境和真菌功能群特性, 显著影响FRC的动态。

本研究通过水分添加室内盆栽培养试验来探究水分添加对根际土壤MRC的影响。研究表明: 水分添加对MRC含量的影响因植物种类而异。水分添加使羊草根际BRC和FRC含量增加, 可能是因为水分促进了细菌和真菌的生长。而对于燕麦根际中结果相反, 可能是因为水分提高了碳降解酶活性, 促进微生物残体的分解。水分添加使燕麦根际土壤中MRC的含量降低, 可能是因为植物向根际中输入更多的活性碳组分, 提高了碳降解酶活性, 加快了对MRC的分解。该研究揭示了水分添加对羊草和燕麦根际土壤中MRC含量的不同影响, 结果表现出明显的物种间差异。在气候变化的大背景下, 探究土壤水分对MRC在土壤碳固存中的作用时, 需要考虑物种的影响。

参考文献

- [1] LIU L, WANG X, LAJEUNESSE M J, *et al.* A cross-biome synthesis of soil respiration and its determinants under simulated precipitation changes [J]. *Global Change Biology*, 2016, 22(4): 1394-1405.
- [2] DADHWAL V. Quantifying the underestimation of soil organic carbon by the Walkley and Black technique – examples from Himalayan and Central Indian soils [J]. *Current Science*, 2009, 96(8): 1133-1136.
- [3] SONG X D, YANG F, WU H Y, *et al.* Significant loss of soil inorganic carbon at the continental scale [J]. *National Science Review*, 2022, 9, nwab120.
- [4] LUO R Y, KUZYAKOV Y, LIU D Y, *et al.* Nutrient addition reduces carbon sequestration in a Tibetan grassland soil: Disentangling microbial and physical controls [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 144: 107764.
- [5] CHEN X Y, HU Y, XI A, *et al.* Contrasting pathways of carbon sequestration in paddy and upland soils [J]. *Global Change Biology*, 2021, 27: 2478-2490.
- [6] ZHANG C F, VAN DER HEIJDEN M G A, DODDS B K, *et al.* A tripartite bacterial-fungal-plant symbiosis in the mycorrhiza-shaped microbiome drives plant growth and mycorrhization [J]. *Microbiome*, 2024, 12: 13.
- [7] 双龙, 妮萨娜, 杜江, 等. 重铬酸钾氧化-外加加热法测定化探土壤样品中有机碳含量 [J]. *安徽化工*, 2016, 42(4): 3.
- [8] 杨洋, 张心昱, 张应华, 等. 高效液相色谱分析土壤氨基糖的质量控制方法 [J]. *土壤*, 2023, 55(5): 1152-1159.
- [9] 刘星燕, 张俊霞, 孙跃飞, 等. 近59年康保县气候变化特征及其对农业生产的影响分析 [J]. *农业灾害研究*, 2022, 12: 66-68.
- [10] APPUHN A, JOERGENSEN R G, RAUBUCH M, *et al.* The automated determination of glucosamine, galactosamine, muramic acid, and mannosamine in soil and root hydrolysates by HPLC [J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2006, 167: 17-21.
- [11] APPUHN A, SCHELLERAND E, JOERGENSEN R. Relationships between microbial indices in roots and silt loam soils forming a gradient in soil organic matter [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 2557-2564.
- [12] SAIYA-CORK K R, SINSABAUGH R L, ZAK D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 1309-1315.