

外源碳酸钙和温度对黄壤活性有机碳组分及微生物群落组成的影响

赵娜¹, 李瑞东¹, 王小利¹, 段建军², 郑钦文¹, 李明瑞¹

(1. 贵州大学农学院, 贵阳 550025; 2. 贵州大学烟草学院, 贵州省烟草品质研究重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 为探究不同温度条件下添加碳酸钙对活性有机碳组分及微生物群落组成的影响, 以贵州典型黄壤土为研究对象, 采用同位素标记法, 设置 6 个处理 (培养温度分别为 15, 25, 35 °C 下添加碳酸钙和不添加碳酸钙), 通过分析不同温度下碳酸钙添加对土壤活性有机碳、微生物群落组成的影响, 揭示外源碳在土壤活性碳库中的分配规律, 以为贵州典型黄壤有机碳固存和改良提供理论依据。结果表明: 各温度下添加碳酸钙显著增加土壤 DOC 和 MBC 含量 ($p < 0.01$), 添加碳酸钙各处理土壤 DOC 含量在培养第 5 天均达到最大值, 相较于不添加碳酸钙处理, 添加碳酸钙处理土壤 DOC 含量在 15, 25, 35 °C 下分别显著提高 83.41%, 80.37%, 90.41%; 添加碳酸钙处理温度对土壤 DOC、MBC 具有显著影响 ($p < 0.05$), 在培养的第 15, 60 天, 土壤 DOC 和 MBC 含量均在不同温度下达到显著性差异, 土壤 DOC 含量大小依次为 35, 15, 25 °C, 土壤 MBC 含量多少依次为 15, 25, 35 °C。同位素标记发现, 在培养第 1 和第 5 天, ^{13}C -DOC, ^{13}C -MBC 含量在 15, 25, 35 °C 下达到峰值, 且 ^{13}C -DOC 对土壤总 DOC 贡献率分别为 16.85%, 21.20% 和 15.22%, ^{13}C -MBC 对土壤总 MBC 的贡献率分别 11.95%, 10.49% 和 17.18%。添加碳酸钙各处理均显著提高土壤 pH。高通量测序发现, 在培养第 60 天, 外源碳酸钙输入对细菌群落组成相对丰度及群落结构具有显著影响, 但对真菌群落组成影响较小。添加碳酸钙处理提高变形菌门相对丰度, 降低绿弯菌门相对丰度。相关分析表明, 土壤 pH 与优势菌门变形菌门 (Proteobacteria)、担子菌门 (Basidiomycota) 呈显著正相关, 与绿弯菌门 (Chloroflexi)、子囊菌门 (Ascomycota) 呈显著负相关; 绿弯菌门与土壤 DOC 呈显著负相关, 放线菌门与土壤 MBC、 ^{13}C -DOC 及担子菌门与 DOC、 ^{13}C -MBC、 ^{13}C -DOC 呈显著正相关。综上表明, 外源碳酸钙对土壤活性有机碳的影响大于温度, 外源碳酸钙增加土壤 pH、DOC 和 MBC 含量, 改变土壤微生物群落组成丰度。因此, 碳酸钙添加是黄壤有机碳固存和改良的有效措施。

关键词: 外源碳酸钙; 温度; 活性有机碳组分; 微生物群落组成

中图分类号: S153.6; S154.3

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2023)06-0238-08

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2023.06.030

Effects of Exogenous Calcium Carbonate and Temperature on Active Organic Carbon Components and Microbial Community Composition in Yellow Soil

ZHAO Na¹, LI Ruidong¹, WANG Xiaoli¹, DUAN Jianjun², ZHENG Qinwen¹, LI Mingrui¹

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025; 2. College of Tobacco, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract: In order to explore the effects of adding calcium carbonate on active organic carbon components and microbial community composition under different temperature conditions, the typical yellow soil in Guizhou province was taken as the research object, and six treatments were set up (the treatments with and without adding calcium carbonate at culture temperatures of 15, 25, 35 °C) by isotope labeling method. By analyzing the effects of calcium carbonate addition on soil active organic carbon and microbial community composition at different temperatures, the distribution rule of foreign carbon in soil active carbon pool was revealed, with a view to providing a theoretical basis for organic carbon sequestration and improvement of typical yellow soil in Guizhou. The results showed that: The addition of calcium carbonate significantly increased the contents of DOC and MBC in soil at different temperatures ($p < 0.01$), and the contents of DOC in soil treated with

收稿日期: 2023-05-23

资助项目: 国家自然科学基金项目 (31860160)

第一作者: 赵娜 (1998—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事土壤有机碳稳定性研究。E-mail: 3082054232@qq.com

通信作者: 王小利 (1979—), 女, 博士, 教授, 主要从事土壤有机碳稳定性研究。E-mail: xlwang@gzu.edu.cn

calcium carbonate reached the maximum value on the 5th day of culture. Compared with the treatment without calcium carbonate, the soil DOC content in the treatment with calcium carbonate were significantly increased by 83.41%, 80.37% and 90.41% at 15, 25 and 35 °C, respectively. The temperature of calcium carbonate addition had significant effects on soil DOC and MBC ($p < 0.05$). On the 15th and 60th day of culture, the contents of DOC and MBC in soil showed significant differences at different temperatures, and the overall content of DOC in soil was 35 °C > 15 °C > 25 °C, and the overall content of MBC was 15 °C > 25 °C > 35 °C. Isotopic labeling showed that the contents of ^{13}C -DOC and ^{13}C -MBC peaked at 15, 25 and 35 °C on the 1st and 5th day of culture, and the contribution rate of ^{13}C -DOC to the total soil DOC was 16.85%, 21.20% and 15.22%, respectively. The contribution rate of ^{13}C -MBC to total soil MBC was 11.95%, 10.49% and 17.18%, respectively. The addition of calcium carbonate significantly increased soil pH. High-throughput sequencing showed that the input of exogenous calcium carbonate had significant effects on the relative abundance and community structure of bacterial community composition, but had little effect on fungal community composition at day 60 of culture. The addition of calcium carbonate increased the relative abundance of Proteobacteria and decreased the relative abundance of Chlorocurvula. Correlation analysis showed that soil pH was positively correlated with the dominant bacteria Proteobacteria and Basidiomycota, and negatively correlated with Chloroflexi and Ascomycota. The chloromycetes was significantly negatively correlated with soil DOC, while the actinomycetes was significantly positively correlated with soil MBC, ^{13}C -DOC and basidiomycetes was significantly positively correlated with DOC, ^{13}C -MBC and ^{13}C -DOC. In conclusion, the effect of exogenous calcium carbonate on soil active organic carbon was greater than that of temperature. Exogenous calcium carbonate increased soil pH, soil DOC and MBC contents, and changed the composition and abundance of soil microbial community. Therefore, calcium carbonate addition is an effective measure for sequestration and improvement of organic carbon in yellow soil.

Keywords: exogenous calcium carbonate; temperature; active organic carbon component; microbial community composition

黄壤具有质地黏、酸度大、养分含量低等特点,是贵州分布面积较广的地带性土壤^[1]。外源碳酸钙输入能改善土壤结构,提高土壤 pH 及土壤团聚体的稳定性^[2],从而影响土壤微生物群落组成,最终改变土壤活性有机碳含量。土壤活性有机碳是指活性较强、周转较快、易被微生物分解利用的有机碳,重要组成部分为土壤中可溶性有机碳(DOC)和微生物生物量碳(MBC)^[3]。活性有机碳虽然占总碳比例很小,但对土壤环境中碳库的微小变化十分灵敏,常用来反映土壤有机碳的早期变化^[4]。另外,活性有机碳是土壤微生物的主要能量来源,不仅改善土壤结构,且能参与有机碳的周转与循环^[5]。因此,了解有机碳活性组分的变化对于揭示碳循环过程和机制以及促进农业可持续发展具有重要意义。

近年来,关于外源碳输入对土壤活性有机碳的影响已有大量报道。Guo 等^[6]研究发现, CaCO_3 施用因其含量不同对土壤 DOC 影响不同,适量将提高土壤 DOC 的含量,而过量 CaCO_3 则降低土壤 DOC; 李梦丽等^[7]研究发现, 碳酸钙添加显著提高土壤 DOC 含量,且随培养时间延长土壤 DOC 含量不断下降,土

壤 MBC 含量随碳酸钙含量上升而不断下降; Feng 等^[8]发现, 土壤 MBC 含量受培养时间、外源碳输入及其相互作用的显著影响。综上所述,前人研究大部分集中于碳酸钙添加量不同对土壤可溶性有机碳和微生物生物量碳产生不同的影响。温度是影响土壤 MBC 和 DOC 含量重要的外部环境因子。王莲阁等^[9]研究发现, 温度通过制约土壤 DOC 生成, 从而影响土壤有机碳矿化; 也有大量研究^[10-11]发现, 在自然条件下的季节性升温后森林土壤 MBC 含量显著升高, 而 DOC 则明显降低。土壤微生物是土壤生态系统的关键组成部分, 在土壤有机碳转化和养分循环过程中发挥着至关重要的作用^[12]; 外源碳添加通过影响土壤环境变化进而造成土壤微生物群落结构和组成的迅速变化。Guo 等^[6]研究表明, 添加适量 CaCO_3 可提高土壤 pH, 进而改变土壤微生物群落; 张义杰等^[13]研究发现, 施用适量生石灰(500~1 000 kg/hm²)可显著提高土壤 pH, 提高子囊菌门、变形菌门、芽单胞菌门和厚壁菌门的相对丰度, 降低担子菌门的相对丰度。此外, 活性有机碳是土壤微生物的重要养分来源, 其含量变化对土壤微生物的活性及群落组成具有显著影响^[14]。

综上所述,关于外源碳输入和温度对土壤活性有机碳和微生物群落组成的影响机制仍不清楚。

以贵州典型黄壤为研究对象,结合室内培养试验,探究外源碳酸钙和温度对黄壤活性有机碳组分及微生物群落组成的影响,明确 15, 25, 35 °C 培养温度下外源碳酸钙对土壤活性有机碳含量及微生物群落组成的影响;揭示外源碳在土壤活性碳库中的分配规律;明确黄壤活性有机碳含量变化与微生物群落组成丰度之间的关系。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

于 2019 年 10 月在贵州普定县董家坝(105.748°—105.748°E, 26.262°—26.263°N)采集土壤样品。该区域属于中亚热带季风湿润气候,年均气温为 14.2 °C,年均降水量 1 336 mm,海拔为 1 288~1 302 m。土壤类型为黄壤,试验前耕层土壤 pH 为 4.62,有机碳、全氮、全磷、全钾、碳酸盐含量分别为 12.55, 1.67, 0.95, 14.99, 0.54 g/kg。

1.2 试验设计

采用同位素标记法,以碳酸钙为外源碳,共设置 6 个处理,分别在 15, 25, 35 °C 的 3 个培养温度下添加碳酸钙(C, 添加量为 30g/kg,以干土计)和不添加碳酸钙处理,分别以 15 °C—C, 25 °C—C, 35 °C—C 和 15 °C—CK, 25 °C—CK, 35 °C—CK 表示,每个处理 3 次重复,另外设置 3 个空白对照。 $\text{Ca}^{13}\text{CO}_3$ 从上海化工研究院有限公司购买得到, CaCO_3 为实验室所用的普通碳酸钙,其纯度均 $\geq 98.0\%$ 。将 $\text{Ca}^{13}\text{CO}_3$ 与 CaCO_3 按 1:14 的比例混合均匀,过 0.125 mm 筛,得到 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 6.61 的碳酸钙粉末,即为所添加的碳酸钙。

1.3 样品采集与测定

用多点采样法采集耕层(0—20 cm)土壤样品,剔除土壤中的杂质。土样过 2 mm 和 0.149 mm 筛后分成三部分:一部分风干,用于基本性质的测定;一部分鲜样置于 4 °C 冰箱保存,用于微生物生物量碳、可溶性碳的测定;另一部分置于 -80 °C 超低温冰箱用于土壤微生物群落高通量测序。土壤 pH、有机碳(SOC)、全氮、全磷、全钾采用鲍士旦《土壤农化分析》^[15] 常规方法测定。

土壤碳转化培养试验:称取预培养结束后的 1 440 g 新鲜土与配置好的 43.2 g 碳酸钙粉末混匀,平均分装入 12 个 250 mL 塑料杯中,调节含水量为 45% WHC,将其置于 1 L 塑料桶中,将盛有 200 mL 1 mol/L 的 NaOH 溶液和 300 mL 蒸馏水的烧杯置于桶中,分别置于 15, 25, 35 °C 黑暗条件下恒温培养;另取 1 440 g 土壤,平均分装入 12 个 250 mL 塑料杯中作为对照

组,其余操作步骤同上,同时做 6 个空白对照。培养过程中,每隔 5 天换气 1 次,每 10 天更换 NaOH 吸收液 1 次,用称重法保持土壤含水量。在培养的第 1, 5, 15, 60 天进行破坏性取土样,测定 DOC、MBC、 ^{13}C —DOC 和 ^{13}C —MBC。在培养的第 1 和 60 天取 10 g 新鲜土壤于 -80 °C 的冰箱中保存,用于测定土壤微生物群落结构和丰度。土壤 DOC、MBC、 ^{13}C —DOC 和 ^{13}C —MBC 的测定^[16],称取相当于烘干重 10 g 的新鲜土样,在真空干燥器中用氯仿熏蒸于 25 °C 下避光培养 24 h,之后用抽气泵反复抽真空方法除去干燥器中残留氯仿,再用 40 mL 0.5 mol/L 的 K_2SO_4 溶液振荡提取 45 min 后过滤,分别吸取 15 mL 滤液于 50 mL 的离心管中,再加 15 mL 的 5% 六偏磷酸钠摇匀,采用碳—自动分析仪(Phoenix8 000, USA)测定滤液中的 DOC、MBC 浓度,以熏蒸土壤减去未熏蒸土壤提取的有机碳的差值除以转换系数(K_c) (取值 0.45)计算土壤 MBC。 ^{13}C —DOC 和 ^{13}C —MBC 的测定用 40 mL 0.5 mol/L 的 K_2SO_4 溶液振荡提取 45 min 过滤后直接吸取滤液 6 mL 加入 10 mL 离心管中,置于 -4 °C 冰箱保存,24 h 内利用稳定性同位素质谱仪(Thermo Scientific MAT 253, 美国)测定液样中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 Origin 2021 软件进行数据处理和分析作图;用 SPSS 19.0 软件进行显著性分析。高通量测序所得微生物数据采用 I-Sanger 生信云平台(<http://www.i-sanger.com/>)进行处理和分析绘图。

2 结果与分析

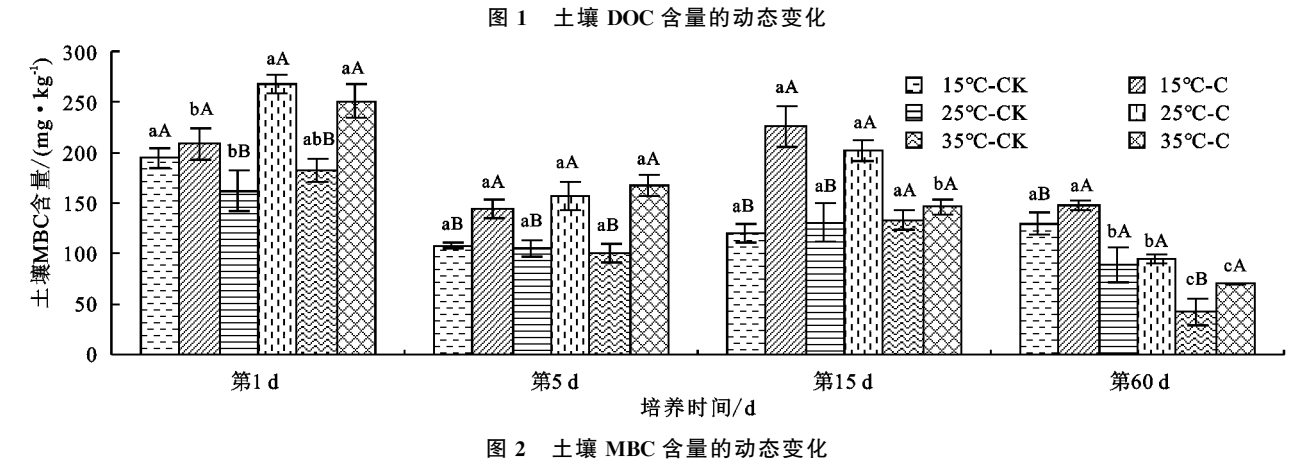
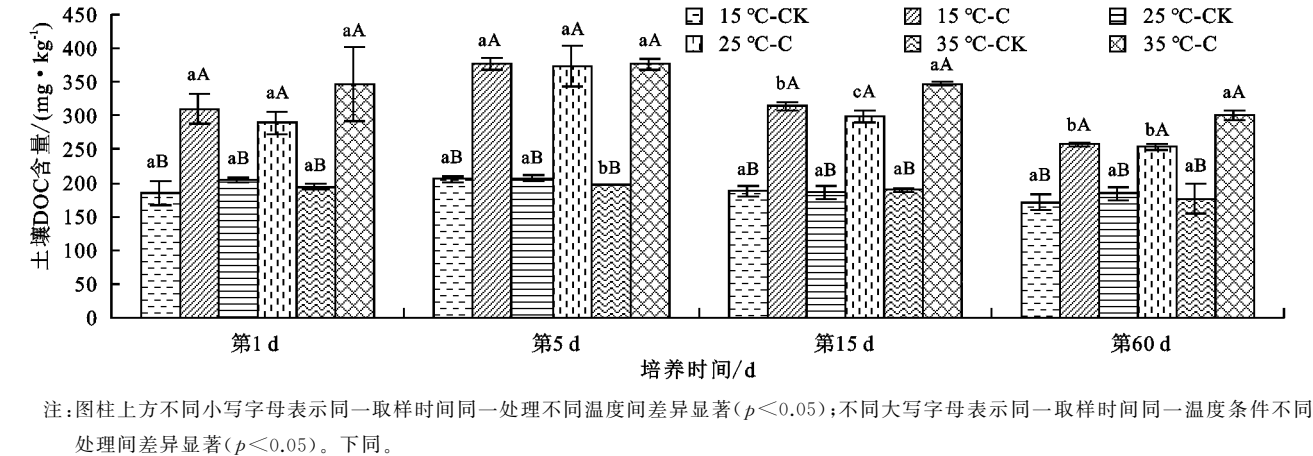
2.1 土壤活性有机碳组分含量变化

2.1.1 土壤可溶性有机碳的变化特征 由图 1 可知,添加碳酸钙处理土壤 DOC 含量均显著高于不添加碳酸钙处理($p < 0.05$)。添加碳酸钙处理土壤 DOC 含量在培养期内呈先增加再缓慢下降趋势,添加碳酸钙各处理土壤 DOC 含量在培养第 5 天均达到最大值,相较于不添加碳酸钙处理,添加碳酸钙处理土壤 DOC 含量在 15, 25, 35 °C 下分别显著提高 83.41%, 80.37%, 90.41%。在培养第 60 天,添加碳酸钙处理土壤 DOC 均达到最低,相较于第 5 天而言,第 60 天土壤 DOC 含量在 15, 25, 35 °C 分别降低 31.86%, 31.93% 和 20.10%。在培养期间,添加碳酸钙处理温度对土壤 DOC 有显著影响($p < 0.05$),土壤 DOC 含量大小依次为 35, 15, 25 °C。

2.1.2 土壤微生物生物量碳的变化特征 由图 2 可知,在培养期间,相较于不添加碳酸钙处理,添加碳酸钙处理提高土壤 MBC 含量($p < 0.05$), 25, 35 °C

培养温度下添加碳酸钙处理土壤 MBC 含量在第 1 天达到峰值,较不添加碳酸钙处理分别提高 65.42%,37.56%,在 25,35℃培养温度下添加碳酸钙处理土壤 MBC 含量在第 60 天出现最小值,相

于第 1,60 天土壤 MBC 含量在 25,35℃分别降低 64.67%,72.09%。在培养第 15,60 天,添加碳酸钙处理温度对土壤 MBC 显著影响($p<0.05$),整体表现为 15℃>25℃>35℃。

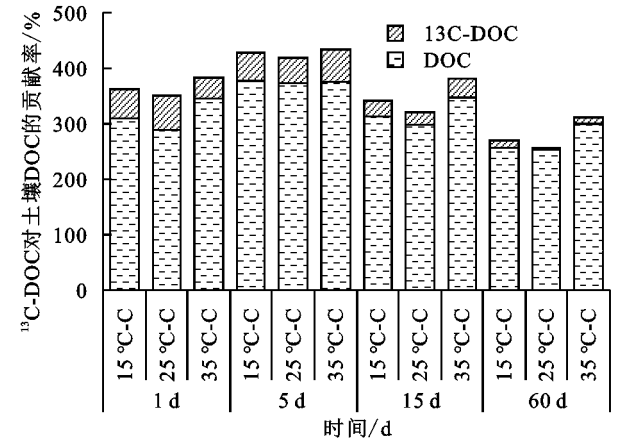


2.1.3 来自碳酸钙的¹³C-DOC和¹³C-MBC对土壤DOC和MBC的贡献率 由图3、图4可知,来自碳酸钙的¹³C-DOC和¹³C-MBC在培养期内含量变化分别为2.76~61.33,3.33~28.73 mg/kg。¹³C-DOC、¹³C-MBC含量在培养温度为15,25,35℃下分别第1和5天达到最大值,且¹³C-DOC对土壤总DOC的贡献率分别为16.85%,21.20%和15.22%,¹³C-MBC对土壤总MBC的贡献率分别为11.95%,10.49%,17.18%。在15,25,35℃培养温度下¹³C-DOC在培养的第60天含量最低,对土壤总DOC的贡献率分别为5.07%,1.09%,3.56%。

综上可知,在培养初期,来自碳酸钙的¹³C-DOC和¹³C-MBC含量较高,随着培养时间延长,¹³C-DOC和¹³C-MBC含量降低。可能是在培养初期,微生物活性较高,分解大量外源碳酸钙,随着培养时间延长,微生物可利用的外源碳减少,使¹³C-DOC和¹³C-MBC的含量降低。

2.1.4 各因素对土壤DOC、MBC、¹³C-DOC和¹³C-MBC的方差分析 方差分析结果(表1)显示,

碳酸钙、温度、培养时间对土壤DOC、MBC、¹³C-DOC和¹³C-MBC含量均具有显著影响($p<0.05$)。除碳酸钙与温度的交互作用对MBC含量无显著性影响,温度和培养时间及三者之间的交互作用对DOC含量无显著影响外,其余处理之间的交互作用均对土壤DOC、MBC影响显著,碳酸钙、温度、培养时间之间的交互作用对¹³C-DOC和¹³C-MBC影响显著($p<0.01$)。



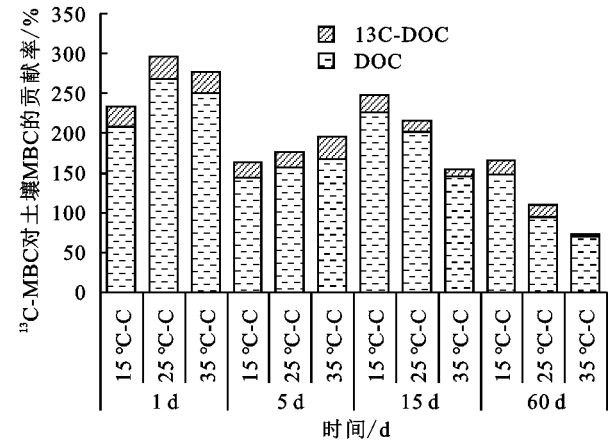


图 4 外源碳酸钙的¹³C-MBC 对土壤 MBC 的贡献率

表 1 各因素对土壤 DOC、MBC、¹³C-DOC 和¹³C-MBC 的交互影响 (*F* 值)

影响因子	DOC	MBC	¹³ C-DOC	¹³ C-MBC
碳酸钙(<i>C</i>)	1136.57**	285.72**	6418.23**	1018.65**
温度(<i>T</i>)	7.50**	22.29**	3.95*	4.02*
培养时间(<i>I</i>)	48.53**	286.20**	554.65**	31.57**
<i>C</i> * <i>T</i>	11.44**	2.95	3.95*	4.02*
<i>C</i> * <i>I</i>	18.32**	14.23**	554.65**	31.57**
<i>T</i> * <i>I</i>	1.46	20.63**	35.49**	9.53**
<i>C</i> * <i>T</i> * <i>I</i>	0.90	14.59**	35.49**	9.53**

注: * 表示 $p < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$ 。

2.2 外源碳酸钙和温度对土壤微生物群落组成的影响

2.2.1 外源碳酸钙和温度对土壤 pH 的影响 由图 5 可知,在培养期间添加碳酸钙处理显著提高土壤 pH($p < 0.05$)。培养 60 天后,相较于未添加碳酸钙处理,添加碳酸钙处理显著增加土壤 pH,在 15,25,35 °C 培养温度下分别增加 59.74%,54.31%和 58.73%。

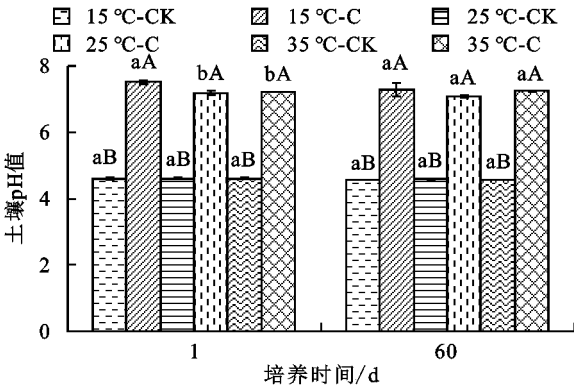
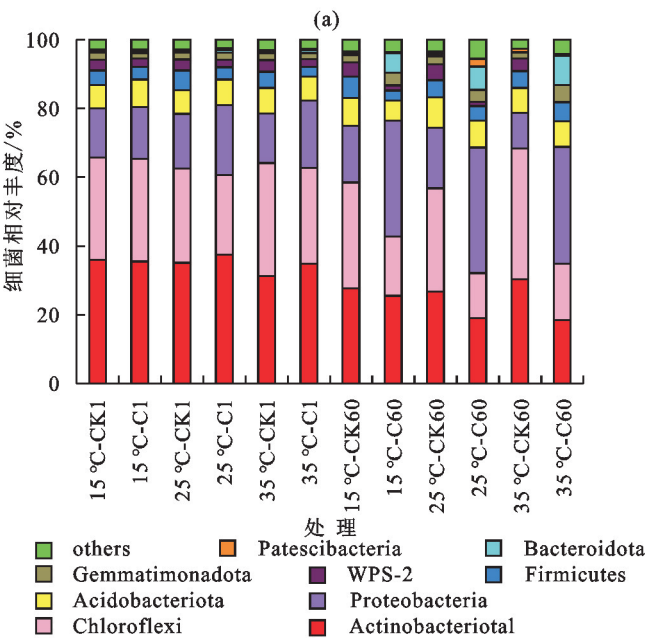


图 5 土壤 pH 动态变化

2.2.2 土壤细菌和真菌群落组成的变化 由图 6a 可知,在培养初期(第 1 天),不同处理的细菌优势菌门均为放线菌门(Actinobacteria)。在培养后期(第 60 天),添加碳酸钙处理的细菌优势菌门为变形菌门(Proteobacteria),不添加碳酸钙处理的细菌优势菌门为绿弯菌门(Chloroflexi),15,25,35 °C 下,添加碳酸钙处理的变形菌门(Proteobacteria)相对丰度较不添加碳酸钙处理分别增加 104.34%,108.01%,225.39%。同理,添加碳酸钙处理的绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度较不添加碳酸钙处理分别降低 44.13%,56.47%,56.92%。因此,碳酸钙对细菌群落中优势物种绿弯菌门和变形菌门群落的相对丰度具有显著影响。由图 6b 可知,真菌优势菌门为子囊菌门(Ascomycota),担子菌门(Basidiomycota),鞭毛菌门(Mortierellomycota),其相对丰度分别为 77.00%~91.06%,3.88%~10.21%,0.23%~8.51%。在培养期间,与不加碳酸钙相比,添加碳酸钙处理均降低子囊菌门的相对丰度,增加担子菌门的相对丰度。

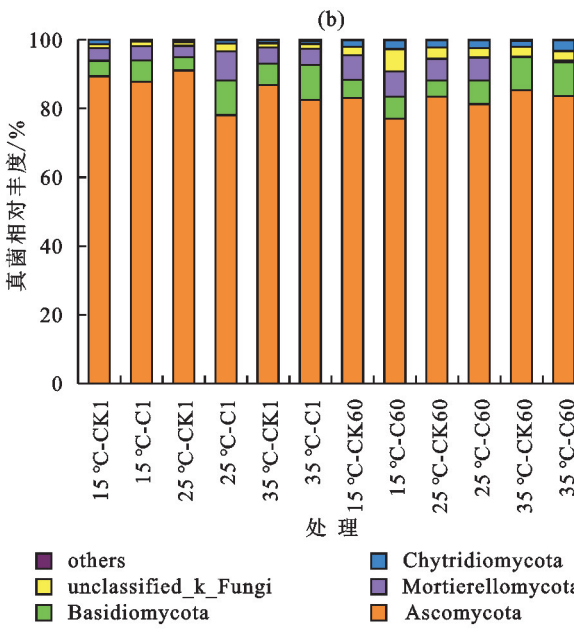


图 6 土壤微生物在门水平下的组成及相对丰度

2.3 不同处理土壤微生物群落组成的主成分分析

在培养第 60 天,PCA 结果表明,第 1 主成分轴

(PC1)的解释度为 36.79%,第 2 主成分轴(PC2)解释度为 16.20%,累计方差解释度达 52.99%。由图 7a

可知,添加碳酸钙处理土壤细菌群落组成在 PC 轴上显示出差异,在 PC1 轴上各处理分布比较分散,其中 T₁Y₆₀、T₂Y₆₀、T₃Y₆₀ 主要分布在负方向,而 T₁YC₆₀、T₂YC₆₀、T₃YC₆₀ 主要分布在正方向,说明 T₁Y₆₀、T₂Y₆₀ 和 T₃Y₆₀ 与 T₁YC₆₀、T₂YC₆₀ 和 T₃YC₆₀

土壤细菌群落结构差异较大。由图 7b 可知,T₁Y₆₀、T₂Y₆₀、T₁YC₆₀ 和 T₂YC₆₀ 主要分布在 PC1 负方向,T₃Y₆₀ 和 T₃YC₆₀ 主要分布在 PC1 正方向,但添加碳酸钙和不添加碳酸钙处理之间分布较集中,土壤真菌群落组成差异不显著。

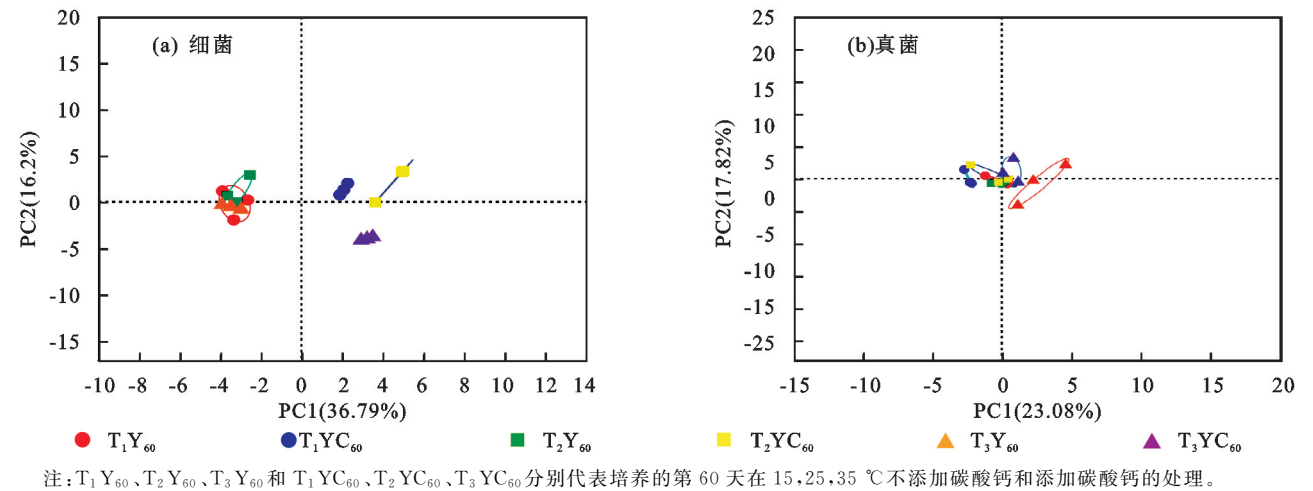


图 7 土壤微生物在门水平下的主成分分析

2.4 土壤环境因子与细菌、真菌群落组成的相关关系

由图 8 可知,土壤 pH 与优势菌门变形菌门、担子菌门呈显著正相关,与绿弯菌门、厚壁菌门、子囊菌门呈显著负相关;绿弯菌门、厚壁菌门与土壤 DOC 呈

显著负相关,变形菌门与 DOC 呈正相关,放线菌门与土壤 MBC、¹³C-DOC 及担子菌门与 DOC、¹³C-MBC、¹³C-DOC 呈显著正相关。

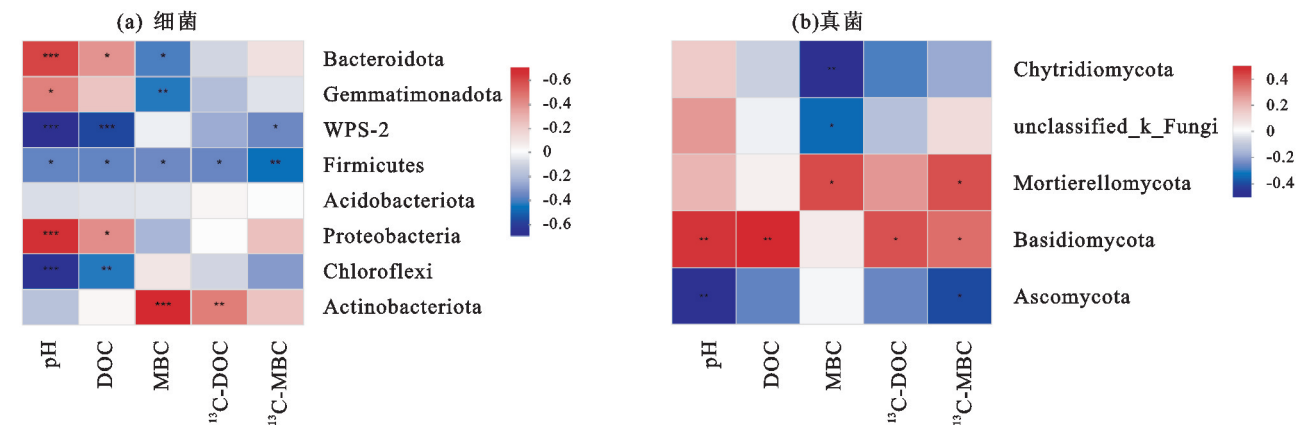


图 8 土壤环境因子与土壤微生物群落组成间关系

3 讨论

3.1 外源碳酸钙和温度对土壤活性有机碳组分的影响

土壤活性有机碳是易被分解、矿化的有机碳,是土壤有机碳较活跃的关键组分,土壤活性有机碳虽然只占有机碳很小一部分,但能灵敏地反映早期土壤质量的变化,且能够直接影响土壤微生物的活性。活性有机碳通常用土壤微生物生物量碳(MBC)和溶解有机碳(DOC)等来表征^[3,17]。本研究表明,添加碳酸钙处理土壤 DOC 含量均显著高于不添加碳酸钙的处理,与李梦丽等^[7]和葛云辉等^[18]研究结果相似,可能是土壤可溶性有机碳很大一部分是土壤有机酸,极易与钙离子结合成结构稳定的土壤微团聚体^[19],微团聚体在短期内很难被微生物消耗,从而增加土壤

DOC 含量。添加碳酸钙显著增加土壤 MBC 含量,并且随着培养时间延长土壤 MBC 含量整体呈下降趋势,与徐学池等^[20]研究结果相似,原因可能是碳酸钙加入后提高土壤 pH,致使部分微生物死亡,从而使耐受型微生物获得更多的营养和碳源,促进其生长繁殖^[21]。但在培养后期(第 60 天),微生物可利用的碳源减少使其活性降低,使土壤 MBC 含量减少。

温度是影响土壤 MBC 和 DOC 的重要环境因子。大量研究^[10-11]发现,在自然条件下的季节性升温后森林土壤 MBC 含量显著升高,而 DOC 则明显降低,但也有部分研究^[22]得出相反结果。本研究发现,未添加碳酸钙处理温度对土壤 DOC、MBC 无显著影响,添加碳酸钙处理温度对土壤 DOC、MBC 有显著影响($p<0.05$),

在培养期内 DOC 含量大小整体表现为 $35\text{ }^{\circ}\text{C} > 15\text{ }^{\circ}\text{C} > 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 可能是因为外源碳酸钙溶解产生的钙离子与胡敏酸结合成新的腐殖质的过程受到温度的影响^[20], 当温度为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 此过程更容易发生。在培养第 15, 60 天土壤 MBC 含量大小整体表现为 $15\text{ }^{\circ}\text{C} > 25\text{ }^{\circ}\text{C} > 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 与张勇等^[23]在不同温度条件下, 土壤 MBC 含量大小顺序为 $30\text{ }^{\circ}\text{C} > 20\text{ }^{\circ}\text{C} > 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 土壤 DOC 含量则表现为 $10\text{ }^{\circ}\text{C} > 20\text{ }^{\circ}\text{C} > 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的结论不同, 可能是土壤类型、土壤环境等不同所致。

3.2 土壤环境因子与细菌、真菌群落组成的相关关系

土壤微生物是土壤环境系统分解者, 主要参与土壤养分循环和转化过程, 与土壤理化性质关系密切。有研究^[24]表明, 土壤微生物组成和功能受土壤性质的显著影响, pH 是影响重建新细菌群落的主导因子。本研究表明, 土壤 pH 与变形菌门、担子菌门呈显著正相关, 与绿弯菌门、子囊菌门呈显著负相关, 与王智慧等^[25]研究结果类似。说明变形菌门、担子菌门更适宜在高 pH 土壤中生长, 而绿弯菌门、子囊菌门更适宜在酸性条件下生长。

活性有机碳组分作为易氧化或降解的碳源, 对土壤微生物有显著影响。Yan 等^[26]研究发现, MBC 和 DOC 含量是影响土壤微生物群落组成的主要因素, DOC 作为微生物可用性碳源, 能为微生物提供足够的养分来源, 从而促进微生物的生长和繁殖, 影响微生物的群落组成^[27]。Zheng 等^[28]研究发现, 细菌和真菌群落与 DOC 含量极显著相关。已有研究^[29]表明, 土壤 DOC 和 MBC 含量与碳输入和微生物生长呈正相关。本研究表明, 绿弯菌门与土壤 DOC 呈显著负相关, 变形菌门与 DOC 呈显著正相关, 与 Fierer 等^[30]报道变形菌门类群通常更倾向于使用容易获取的 DOC 碳源结果类似。子囊菌门与土壤 MBC 呈显著负相关, 放线菌门与土壤 MBC 呈显著正相关。由图 6a 可知, 在培养第 1 天, 放线菌门是优势菌门, 且添加碳酸钙提高放线菌门的相对丰度, 到培养第 60 天, 添加碳酸钙处理放线菌门相对丰度降低, 可能是培养初期, 土壤 pH 较低, 适合放线菌的生长繁殖, 到培养后期, 土壤 pH 较高, 放线菌门不适合在碱性环境中生长而大量死亡, 所以其相对丰度降低。

4 结论

(1) 添加碳酸钙处理较不添加碳酸钙处理显著增加土壤 pH、DOC 和 MBC 含量, 添加碳酸钙处理温度对土壤 DOC、MBC 具有显著影响, 在培养的第 15, 60 天土壤 DOC 和 MBC 含量均在不同温度下达到显著性差异, 土壤 DOC 含量大小整体表现为 $35\text{ }^{\circ}\text{C} > 15\text{ }^{\circ}\text{C} > 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 土

壤 MBC 含量整体表现为 $15\text{ }^{\circ}\text{C} > 25\text{ }^{\circ}\text{C} > 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

(2) 培养初期, 来自碳酸钙的 ^{13}C -DOC 和 ^{13}C -MBC 对土壤活性有机碳贡献较大, 随着培养时间延长, ^{13}C -DOC 和 ^{13}C -MBC 贡献率降低。

(3) 高通量测序发现, 在培养第 60 天, 外源碳酸钙输入对细菌群落组成相对丰度具有显著影响, 但对真菌群落组成影响较小。添加碳酸钙处理提高变形菌门相对丰度, 降低绿弯菌门相对丰度。

(4) 土壤 pH 与变形菌门、担子菌门呈显著正相关, 与绿弯菌门、子囊菌门呈显著负相关; 绿弯菌门与土壤 DOC 呈显著负相关, 放线菌门与土壤 MBC、 ^{13}C -DOC 及担子菌门与 DOC、 ^{13}C -MBC、 ^{13}C -DOC 呈显著正相关。综上所述, 外源碳酸钙提高土壤 pH, 改变土壤微生物群落组成丰度, 增加土壤活性有机碳含量。因此, 碳酸钙添加是黄壤有机碳固存和改良的有效措施。

参考文献:

- [1] 苗其硕. 贵州黄壤的利用改良和综合治理[J]. 贵州农业科学, 1982, 10(5): 11-15, 5.
- [2] Chan K Y, Conyers M K, Scott B J. Improved structural stability of an acidic hardsetting soil attributable to lime application[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2007, 38(15/16): 2163-2175.
- [3] 林仕芳, 王小利, 段建军, 等. 有机肥替代化肥对旱地黄壤有机碳矿化及活性有机碳的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(4): 2219-2225.
- [4] Benbi D K, Brar K, Toor A S, et al. Sensitivity of labile soil organic carbon pools to long-term fertilizer, straw and manure management in rice-wheat system[J]. Pedosphere, 2015, 25(4): 534-545.
- [5] Dikgwatlhe S B, Chen Z D, Lal R, et al. Changes in soil organic carbon and nitrogen as affected by tillage and residue management under wheat-maize cropping system in the North China Plain[J]. Soil and Tillage Research, 2014, 144: 110-118.
- [6] Guo A N, Ding L J, Tang Z, et al. Microbial response to CaCO_3 application in an acid soil in Southern China[J]. Journal of Environmental Sciences, 2019, 79: 321-329.
- [7] 李梦丽, 徐墨馨, 陈永山, 等. 石灰性土壤添加不同量碳酸钙对秸秆有机碳矿化的影响[J]. 生态环境学报, 2022, 31(10): 2002-2009.
- [8] Feng S Z, Huang Y, Ge Y H, et al. Variations in the patterns of soil organic carbon mineralization and microbial communities in response to exogenous application of rice straw and calcium carbonate[J]. Science of the Total Environment, 2016, 571: 615-623.
- [9] 王莲阁, 高岩红, 丁长欢, 等. 变温环境对典型石灰土有机碳

- 矿化的影响[J].环境科学,2014,35(11):4291-4297.
- [10] 漆良华,范少辉,杜满义,等.湘中丘陵区毛竹纯林、毛竹-杉木混交林土壤有机碳垂直分布与季节动态[J].林业科学,2013,49(3):17-24.
- [11] 曹建华,潘根兴,袁道先,等.岩溶地区土壤溶解有机碳的季节动态及环境效应[J].生态环境,2005,14(2):224-229.
- [12] Huang Q, Wang J L, Wang C, et al. The 19-years inorganic fertilization increased bacterial diversity and altered bacterial community composition and potential functions in a paddy soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2019,144:60-67.
- [13] 张义杰,徐杰,陆仁窗,等.生石灰对林下酸化土壤的调控作用及三七生长的影响[J].应用生态学报,2022,33(4):972-980.
- [14] 李新华,郭洪海,朱振林,等.不同秸秆还田模式对土壤有机碳及其活性组分的影响[J].农业工程学报,2016,32(9):130-135.
- [15] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000.
- [16] 周兴,廖育林,鲁艳红,等.肥料减施条件下水稻土壤有机碳组分对紫云英-稻草协同利用的响应[J].水土保持学报,2017,31(3):283-290.
- [17] 郭万里,武均,蔡立群,等.不同氮素水平下生物质炭、秸秆添加对陇中黄土高原旱作农田土壤活性有机碳的影响[J].水土保持学报,2020,34(1):283-291.
- [18] 葛云辉,邹冬生,苏以荣,等.外源碳酸钙和稻草对喀斯特地区土壤活性有机碳的影响[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2012,38(3):314-318.
- [19] 董远鹏,刘喜娟,董梦阳,等.腐殖质和硝酸钙对赤泥团聚体形成的促进作用[J].环境污染与防治,2020,42(10):1205-1210.
- [20] 徐学池,黄媛,何寻阳,等.土壤水分和温度对西南喀斯特棕色石灰土无机碳释放的影响[J].环境科学,2019,40(4):1965-1972.
- [21] Fernández-Calviño D, Báath E. Growth response of the bacterial community to pH in soils differing in pH[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010,73(1):149-156.
- [22] 刘帅,陈玥希,孙辉,等.西南亚高山-高山海拔梯度上森林土壤水溶性有机碳时间动态[J].西北林学院学报,2015,30(1):33-38.
- [23] 张勇,胡海波,王增,等.凤阳山4种森林土壤在不同温度培养下活性有机碳的变化[J].浙江农林大学学报,2018,35(2):243-251.
- [24] Xun W B, Huang T, Zhao J, et al. Environmental conditions rather than microbial inoculum composition determine the bacterial composition, microbial biomass and enzymatic activity of reconstructed soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90:10-18.
- [25] 王智慧,蒋先军.紫色土中微生物群落结构及功能特征对土壤 pH 的差异响应[J].环境科学,2022,43(7):3876-3883.
- [26] Yan S S, Song J M, Fan J S, et al. Changes in soil organic carbon fractions and microbial community under rice straw return in Northeast China[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2020,22:e00962.
- [27] 李慧敏,田胜营,李丹丹,等.有机物料施用对潮土活性有机碳及微生物群落组成的影响[J].土壤学报,2021,58(3):777-787.
- [28] Zheng Q, Hu Y T, Zhang S S, et al. Soil multifunctionality is affected by the soil environment and by microbial community composition and diversity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019,136:e107521.
- [29] Tian K, Zhao Y C, Xu X H, et al. Effects of long-term fertilization and residue management on soil organic carbon changes in paddy soils of China: A meta-analysis[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2015,204:40-50.
- [30] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. *Ecology*, 2007, 88(6):1354-1364.