

DOI: 10.5846/stxb201911122396

高思齐, 宋艳宇, 宋长春, 马秀艳, 蒋磊. 增温和外源碳输入对泥炭地土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的影响. 生态学报, 2020, 40(13): 4617-4627.

Gao S Q, Song Y Y, Song C C, Ma X Y, Jiang L. Effects of warming and exogenous carbon input on the abundance of key microbial functional genes of carbon-nitrogen cycle in peatland soil. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(13): 4617-4627.

增温和外源碳输入对泥炭地土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的影响

高思齐^{1,2}, 宋艳宇^{1,*}, 宋长春¹, 马秀艳¹, 蒋磊^{1,2}

1 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 湿地生态与环境重点实验室, 长春 130102

2 中国科学院大学, 北京 100049

摘要:为探讨温度升高和外源碳输入对泥炭地土壤碳氮循环关键微生物的影响,于2017年7月采集多年冻土区泥炭地表层(0—10 cm和10—20 cm)土壤样品,在10、15℃两个温度下开展为期42d的增温模拟试验,同时设置葡萄糖添加处理,利用荧光定量PCR技术分析泥炭地土壤碳氮循环关键微生物丰度变化,同时分析增温和外源碳输入对泥炭地土壤活性碳组分和无机氮含量的影响。结果表明:温度升高可导致北方泥炭地表层土壤微生物丰度以及群落结构变化,0—10 cm土壤微生物比10—20 cm土壤微生物更加敏感。增温条件下微生物首先快速分解活性有机碳,同时温度升高加快土壤氮周转速率,增加有效氮含量。外源碳输入整体提高了深层土壤微生物丰度,使得10—20 cm土壤细菌、产甲烷菌、甲烷氧化菌、氨氧化细菌以及反硝化细菌丰度显著增加,说明外源碳输入可能会促进10—20 cm土壤甲烷氧化过程、氨氧化过程和反硝化过程。温度和葡萄糖的交互作用对泥炭地表层土壤碳氮循环关键微生物丰度均有显著影响。在增温和外源碳输入条件下,北方泥炭地表层土壤微生物丰度受土壤碳氮活性基质的影响。

关键词:增温;泥炭地;土壤微生物;可利用有机碳;外源碳输入

Effects of warming and exogenous carbon input on the abundance of key microbial functional genes of carbon-nitrogen cycle in peatland soil

GAO Siqi^{1,2}, SONG Yanyu^{1,*}, SONG Changchun¹, MA Xiuyan¹, JIANG Lei^{1,2}

1 Key Laboratory of Wetland Ecology and Environment, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China

2 University of Chinese Academy Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: In order to investigate the effects of temperature rise and exogenous carbon input on key microorganisms of carbon and nitrogen cycling in peatland soil, surface soil samples (0—10 cm and 10—20 cm) of peatland in permafrost region were collected in July 2017. The simulation experiment of temperature increasing was conducted for 42 days under 10 °C and 15 °C, and glucose addition treatment was set up. Fluorescence quantitative PCR technology was used to analyze the changes of key microbial abundances in soil carbon and nitrogen cycles in peatlands. Simultaneously analyze the effects of warming and exogenous carbon input on soil activated carbon components and inorganic nitrogen content in peatlands. The results showed that the increasing of temperature could change the abundance and community structure of soil microorganisms in northern peatlands soil. Soil microorganisms in 0—10 cm soils were more sensitive than those in 10—20 cm. Under the condition of increasing temperature, microorganisms rapidly decomposed active organic carbon. Meanwhile, the increasing of temperature accelerated the turnover rate of soil nitrogen and increased the available nitrogen content.

基金项目:国家自然科学基金(41871090, 41671105, 41571089);中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDJ-SSW-DQC013)资助

收稿日期:2019-11-12; 修订日期:2020-05-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: songyanyu@iga.ac.cn,

<http://www.ecologica.cn>

Exogenous carbon input overall improved the microbial abundance of deep soil, which significantly increased the abundance of bacteria, methanogens, methanotrophs, ammonifiers and denitrifiers in 10—20 cm soil, and hence possibly promoted the process of methane oxidation, ammonia oxidation and denitrification in 10—20 cm soil. There was a significant interactive effect of temperature increasing and glucose addition on the abundance of key microorganisms in soil carbon and nitrogen cycle in peatland surface soil. Under the conditions of increasing temperature and exogenous carbon input, the abundance of microorganism in northern peatlands surface soil was influenced by the availability of active carbon and nitrogen substrates.

Key Words: warming; peat; soil microorganisms; available organic carbon; exogenous carbon input

土壤微生物是植物-土壤物质循环过程中的重要组分^[1],对其周围的环境变化具有较强的敏感性,能通过调节其数量、功能和种群结构来适应环境变化,对湿地生态系统的健康状况具有指示作用^[2]。温度和外源碳均是影响微生物代谢的重要因素。Song^[3]等研究表明,温度和活性基质能通过调节土壤微生物丰度和酶活性对增温的响应,从而影响碳氮耦合关系。在气候变暖背景下,温度升高会通过改变北方泥炭地土壤微生物群落结构和代谢途径,进而改变土壤有机碳分解速率^[4]。而外源碳输入能够通过提高土壤细菌活性,进而促进土壤碳的周转和释放^[5]。有研究表明,外源碳输入有利于土壤微生物量和呼吸速率的增加,但碳源组成及浓度的不同会影响温室气体排放^[6-7]。葡萄糖是植物根系分泌的最常见的代谢物,也是微生物重要的可溶性有机碳源,进入土壤可以被微生物分解利用^[8]。可溶性碳的添加有利于土壤微生物呼吸速率的提高以及土壤养分的有效化过程^[9]。同时,地上植物与地下微生物的竞争可能导致不同土壤深度的微生物丰度不同。已有研究表明 0—20 cm 土壤微生物生物量、活性和多样性较深层土壤更高^[10]。

温度升高和外源碳输入可能会改变参与土壤碳氮循环相关微生物基因丰度^[11],进而影响土壤呼吸,从而导致土壤碳氮循环和温室气体排放的变化^[12]。土壤细菌、产甲烷菌、甲烷氧化菌、氨氧化细菌以及反硝化细菌是参与土壤碳氮循环的主要功能微生物。土壤细菌、产甲烷菌和甲烷氧化菌群落在温室气体排放过程中起重要作用^[13-14],其中编码甲基辅酶 M 还原酶(*mcrA*)和微粒甲烷单氧合酶(*pmoA*)的基因是参与产甲烷过程和甲烷氧化过程的重要基因。氨氧化细菌和反硝化细菌是土壤氮循环的重要组成部分,编码氨单加氧酶活性位点多肽(*amoA*),参与硝化过程^[15],亚硝酸还原酶基因 *nirK* 和 *nirS* 作为反硝化微生物最重要的功能基因参与反硝化过程^[16]。已有研究表明,微生物丰度的变化对土壤有机碳的分解有重要影响^[3]。而微生物丰度的变化影响土壤活性有机碳和有效氮含量,土壤活性有机碳和有效氮的变化影响土壤有机质的微生物降解能力,从而影响土壤碳氮循环过程。因此,在全球变暖背景下,研究土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的变化对进一步探讨温度升高影响下土壤碳氮循环的微生物机制具有重要意义。

泥炭地作为一个重要的碳汇,对陆地生态系统有重要作用,能调控全球气候变化,但随着全球温度的持续升高,北方冻土泥炭地冻融过程发生变化,从而导致泥炭地释放出大量 CO₂,可能使泥炭地改变其碳汇功能,显著影响该地区碳氮生物地球化学循环过程^[17-18]。因此,本研究通过模拟增温和外源碳输入模拟实验,分析大兴安岭冻土区泥炭地表层土壤在增温和外源碳输入条件下土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度变化及其与土壤碳氮组分的关系,探讨温度升高影响下泥炭地土壤碳、氮转化的微生物驱动机制,以期为准预测北方高纬度泥炭地碳氮平衡对气候变暖的响应提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于大兴安岭图强林业局奋斗林场(52.94°N, 122.86°E),该区为多年冻土区,属于寒温带季风性气候,海拔约 467 m,年平均温度(1991—2010 年)为-3.9℃,年平均降雨量为 450 mm(7—8 月占全年降水量的 45%)。该区主要植被类型为常绿灌木、落叶灌木,草本植物^[19],以及地被植物,主要植物类型为细叶杜香(*Ledum palustre*)、笃斯越橘(*Vaccinium uliginosum*)、羊胡子草(*Eriophorum vaginatum*)、泥炭藓(*Sphagnum*

palustre),属于寒温带针叶林区,土壤类型为泥炭土。0—10 cm 和 10—20 cm 土壤初始总碳含量分别为 366.33、384.45 mg/g,总氮含量分别为 15.65、18.68 mg/g,总磷含量分别为 2.74、3.43 mg/g,溶解性有机碳(DOC)含量分别为 620.25、338.42 $\mu\text{g/g}$ 。

1.2 样品采集与培养

2017 年 7 月,选取大兴安岭冻土区典型泥炭地,随机设置 4 块采样地,采样地之间的距离至少为 10 m。在每块采样地随机选取 5 个采样点,利用土钻在每个采样点采集 0—10 cm 和 10—20 cm 的土壤样品,将样品混合均匀后立即送往实验室。人工挑出植物根系、新鲜凋落物和石块等杂物,过 4 mm 筛。取一部分土样,于阴凉处风干,研磨后,过 0.25 mm 筛,测定土样的初始总碳、全氮和全磷,剩余土壤于 4℃ 下冷藏保存测定溶解性有机碳含量和用于培养实验。

将新鲜土样(相当于 10 g 干重)置于 500 mL 广口瓶中,预培养 3 天,尽量减少温度突变对微生物活性的影响。用保鲜膜密封广口瓶,并扎 4 个孔,以保持里面的有氧环境,同时减缓水的蒸发损失^[20]。在 10、15℃ 两个温度下开展为期 42d 的增温模拟试验。同时设置葡萄糖添加处理(添加浓度为 1000 $\mu\text{g Glu/g}$ 干土)和对照两组处理,每一种处理都由来自两层的土壤样品组成,每个处理重复四次。实验过程中,每周使用蒸馏水补充挥发水分。42d 培养结束后,分析测定土壤微生物功能基因丰度和土壤溶解性有机碳、微生物量碳、铵态氮、硝态氮含量。

1.3 样品测定方法

按照土壤 DNA 快速提取试剂盒(Fast DNA SPIN(MPbio,USA))说明提取 0.3 g 土壤 DNA 样品^[21]。提取后用 0.5% 低熔点琼脂糖凝胶纯化 DNA 提取物,然后用苯酚-氯仿-丁醇萃取。为了获得更具代表性的 DNA 样本,对每个样本重复 3 次处理^[22]。通过使用荧光定量 PCR 仪(7500,ABI,美国)定量测定总细菌 16S rRNA, *mcrA*, *pmoA*, *amoA*, *nirK* 和 *nirS* 基因丰度^[3]。扩增所用引物见表 1,实时荧光定量 PCR 的反应体系为 25 μL ,包括:12.5 μL 1 \times SYBR 缓冲液(TaKaRa, Japan),0.4 μL 引物(10 μM),0.5 μL ROXII(TaKaRa),0.875 μL 3% BSA,0.625 μL 二甲亚砜(DMSO),10 ng DNA 模板。

表 1 土壤微生物功能基因引物及扩增程序

Table 1 Primers and amplification procedures of soil microbial functional gene

目标基因 Target gene	引物 Primer	序列 Sequence (5'-3')	扩增程序 Amplification procedure	参考文献 References
细菌 Bacteria	Bacteria-338F	CCTACGGGAGGCAGCAG	95℃ 2min, 35 cycles, 95℃ 30s, 60℃ 30s, 72℃ 30s, 80℃ 15s	[22]
	Bacteria-518R	ATTACCGCGGCTGCTGG		
产甲烷菌 <i>mcrA</i>	mlas	GGTGGTGTMGDDTTCACMCARTA	95℃ 3min 30s, 36 cycles, 95℃ 15s, 55℃ 30s, 72℃ 30s, 83℃ 30s	[23]
	<i>mcrA</i> -rev	CGTTCATBCCGTTVGGRTAGT		
甲烷氧化菌 <i>pmoA</i>	A189f	GGNGACTGGGACTTCTGG	95℃ 10min, 40cycles, 95℃ 30s, 60℃ 30s, 72℃ 30s, 85℃ 15s	[24]
	mb661r_nd	CCGGMGCAACGTCYTTACC		
氨氧化细菌 <i>amoA</i>	amoA1F	GGGGTTTCTACTGGTGGT	95℃ 5min, 95℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 30s, 83℃ 15s, 40 cycles	[25]
	amoA2R	CCTCKGSAAGCCTTCTTC		
反硝化细菌 <i>nirK</i>	F1aCu	ATCATGGTCTGCCGCG	95℃ 10min, 6 touch down cycles; 95℃ 15s, 63℃ 30s (-1℃), 72℃ 30s; 95℃ 15s, 58℃ 30s, 72℃ 30s, 80℃ 30s, 35cycles	[26]
	R3Cu	GCCTCGATCAGRTTGTGGTT		
反硝化细菌 <i>nirS</i>	cd3aF	GTSAACGTAAGGARACSGG	95℃ 10min, 94℃ 1min, 57℃ 1min, 72℃ 1min, 83℃ 30s, 40 cycles	[27]
	R3cd	GASTTCGGRTGSGTCTTGA		

利用 Multi N/C 2100 TOC 仪 (Analytik Jena, 德国) 采用高温燃烧法测定土壤全碳含量; 土壤样品经硫酸湿法消解后, 采用 AA3 连续流动分析仪 (Seal Analytical, 德国) 测定总氮、总磷含量^[28]。采用氯仿熏蒸浸提法测定土壤微生物量碳含量^[29], 将土壤样品用 CHCl_3 熏蒸 24 h, 用 K_2SO_4 溶液 (0.5 mol/L) 振荡 30 min, 分别对熏蒸和非熏蒸土壤样品进行抽提, 过滤后采用 Multi N/C 2100 TOC 仪 (Analytik Jena, 德国) 测定提取液中碳浓度。土壤微生物量碳含量的计算公式: $[\text{MBC}] = \text{Ec}/0.45$ 。其中 Ec 为熏蒸土壤提取的有机碳与未熏蒸土壤提取的有机碳之差^[30]。按照 Ghani 等^[31] 的方法测定土壤溶解性有机碳含量, 将土壤样品用去离子水在常温下振荡提取 30 min, 然后以 8000 r/min 的速度高速离心 20 min, 上清液通过 0.45 μm 滤膜过滤后, 用 Multi N/C 2100 TOC 仪 (Analytik Jena, 德国) 测定溶液中总碳和无机碳浓度, 土壤溶解性有机碳含量即为土壤浸提液中总碳与无机碳浓度的差值。用 2 mol/L KCl 溶液从土壤样品中提取无机氮, 过滤后用 AA3 连续流动分析仪 (Seal Analytical, 德国), 测定滤液中铵态氮和硝态氮含量。

1.4 数据处理与分析

运用 SPSS 19.0 软件, 采用双因素方差分析 (two-way ANOVA) 和显著性差异 (LSD) 以及 Pearson 系数等方法分别对不同温度和不同葡萄糖添加情况以及不同土壤深度下泥炭地土壤碳氮循环关键微生物基因丰度、活性碳组分含量以及无机氮含量进行差异显著分析, 检验温度和外源碳输入对土壤碳氮循环相关微生物数量和土壤碳氮含量的影响, 并运用 Excel 2007 及 minitab 进行绘图。

2 结果

2.1 泥炭地土壤碳氮循环关键微生物丰度变化

由荧光定量 PCR 测得的土壤细菌丰度表明: 10—20 cm 土壤细菌丰度小于 0—10 cm 土壤细菌丰度 (图 1)。温度和外源碳输入对 10—20 cm 土壤细菌丰度均有显著影响 (表 2), 在无外源碳输入的情况下, 温度升高使得 10—20 cm 土壤细菌丰度增加了 32.77% (图 1)。在 10°C 和 15°C 条件下, 外源碳输入使得 10—20 cm 土壤细菌丰度分别增加了 15.97% 和 49.79%。温度和葡萄糖的交互作用对两种土壤深度的细菌丰度均有显著影响 (表 2), 在增温和外源碳输入条件下, 0—10 cm 和 10—20 cm 土壤细菌丰度分别显著增加了 36.28% 和 71.50% (图 1)。

图 1 结果表明: 10—20 cm 土壤产甲烷菌 (*mcrA*) 丰度大于 0—10 cm 土壤产甲烷菌 (*mcrA*) 丰度。温度对两种土壤深度的甲烷氧化菌丰度均有显著影响 (表 2), 温度升高使得 0—10 cm 土壤甲烷氧化菌丰度降低了 45.22%, 10—20 cm 土壤甲烷氧化菌丰度增加了 58.39%。葡萄糖添加对 10—20 cm 土壤甲烷氧化菌和产甲烷菌均有显著影响 (表 2), 在 10°C 和 15°C 条件下, 葡萄糖添加使得 10—20 cm 土壤产甲烷菌丰度分别增加了 45.02% 和 22.89%, 10—20 cm 土壤甲烷氧化菌丰度分别增加了 39.05% 和 24.47%, 温度和葡萄糖的交互作用对 0—10 cm 土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌丰度均有显著影响 (表 2), 在葡萄糖添加条件下, 温度增加 5°C 导致 0—10 cm 土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌丰度分别增加了 47.66% 和 41.79%。

对于硝化和反硝化细菌, 在无增温和外源碳输入条件下, 10—20 cm 土壤硝化和反硝化细菌丰度均小于 0—10 cm 土壤硝化和反硝化细菌丰度。温度升高使得 0—10 cm 土壤氨氧化细菌 (*amoA*) 丰度显著降低了 96.11%, 10—20 cm 土壤氨氧化细菌丰度显著增加。葡萄糖添加以及温度和葡萄糖的交互作用对 10—20 cm 土壤氨氧化细菌丰度均有显著影响 (表 2)。在有外源碳的条件下, 10°C 时 10—20 cm 土壤氨氧化细菌丰度降低了 39.22%, 15°C 时 10—20 cm 土壤氨氧化细菌丰度增加了 150.16%。温度升高导致 0—10 cm 和 10—20 cm 土壤反硝化细菌丰度增加, 其中 0—10 cm 土壤 *nirK* 和 *nirS* 基因丰度分别增加了 33.97% 和 28.75%。温度对 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度有显著影响 (表 2), 温度升高使得 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度增加了 16.43%。温度和葡萄糖的交互作用对 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度有显著影响 (表 2), 在 10°C 和 15°C 条件下, 葡萄糖添加使得 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度分别增加了 22.07% 和 74.40%。在添加葡萄糖的条件下, 温度升高使得 0—10 cm 土壤 *nirS* 基因丰度降低 3.31%, 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度增加 66.35%, 葡萄糖添

加对 10—20 cm 土壤 *nirS* 基因丰度有显著影响(表 2)。

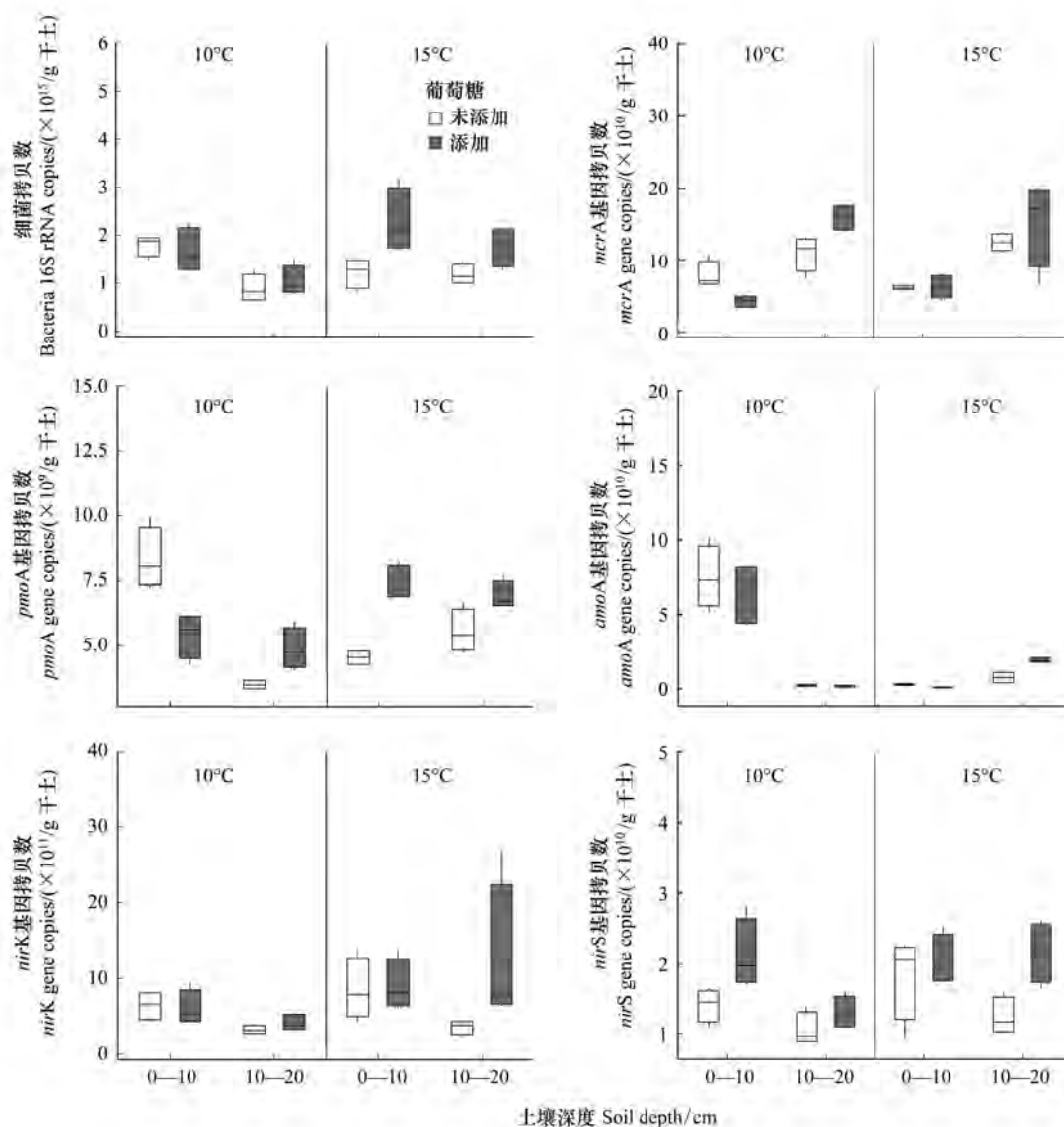


图 1 温度升高和葡萄糖添加对土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的影响

Fig.1 Effects of temperature rise and glucose addition on gene abundance of key microbes in soil carbon and nitrogen cycling

2.2 土壤活性有机碳和有效氮含量变化及其与碳氮循环关键微生物丰度的关系

在增温和外源碳输入条件下,0—10 cm 和 10—20 cm 土壤溶解性有机碳含量分别为 756.6—847.5 $\mu\text{g/g}$ 和 702.5—862.5 $\mu\text{g/g}$,0—10 cm 和 10—20 cm 土壤微生物量碳含量分别为 4298—4779 $\mu\text{g/g}$ 和 3064—4770 $\mu\text{g/g}$ (表 3)。在无外源碳输入的情况下,10—20 cm 土壤溶解性有机碳与微生物量碳含量均小于 0—10 cm 土壤溶解性有机碳与微生物量碳含量。温度对 10—20 cm 土壤溶解性有机碳和微生物量碳含量有显著影响(表 2),温度升高使得 10—20 cm 土壤微生物量碳含量降低了 25.16%。葡萄糖添加对 10—20 cm 土壤溶解性有机碳和微生物量碳含量有显著影响,在 10°C 和 15°C 两种温度条件下,葡萄糖添加使得 10—20 cm 土壤溶解性有机碳含量分别呈现下降和上升的趋势,10—20 cm 土壤微生物量碳含量分别提高了 16.49% 和 46.47%。温度和葡萄糖的交互作用对 10—20 cm 土壤溶解性有机碳含量有显著影响,在有外源碳输入的条件下,温度升高 5°C 使得 10—20 cm 土壤溶解性有机碳含量增加了 22.31%。由 person 相关性分析表明,土壤细菌(Bacteria

16S rRNA)、甲烷氧化菌(*pmoA*)以及反硝化细菌(*nirK*、*nirS*)丰度均与溶解性有机碳含量呈正相关($P < 0.01$, $P < 0.05$,表4)。

表2 温度升高和葡萄糖添加对土壤微生物功能基因丰度及碳氮含量影响的方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis of the effects of temperature rise and glucose addition on soil microbial functional gene abundance and carbon and nitrogen content

土壤深度 Soil depth/cm	处理 Treatment	细菌 Bacteria	产甲烷菌 <i>mcrA</i>	甲烷氧化菌 <i>pmoA</i>	氨氧化细菌 <i>amoA</i>	反硝化细菌 <i>nirK</i>	反硝化细菌 <i>nirS</i>	溶解性有机碳 Dissolved organic carbon	微生物量碳 Microbial biomass carbon	铵态氮 Ammonium nitrogen	硝态氮 Nitrate nitrogen
0—10	温度	0.002	0.072	4.928 *	81.531 **	2.763	0.573	3.835	0.811	179.169 **	28.708 **
	葡萄糖	4.198	6.897 *	0.005	0.777	0.003	4.282	2.771	0.996	82.961 **	13.566 **
	温度×葡萄糖	6.956 *	8.043 *	48.691 **	0.375	0.08	1.147	0.283	2.287	4.005	2.78
10—20	温度	10.875 **	0.055	39.719 **	132.469 **	2.893	11.818 **	6.673 *	10.168 **	52.793 **	45.084 **
	葡萄糖	5.473 *	5.137 *	17.718 **	28.291 **	3.684	14.71 **	7.148 *	26.053 **	6.158 *	2.846
	温度×葡萄糖	2.043 *	0.373	0	40.064 **	2.515	5.189 *	7.34 *	3.316	20.289 **	7.864 *

表3 温度升高和葡萄糖添加对土壤碳氮含量影响

Table 3 Effects of temperature rise and glucose addition on soil carbon and nitrogen content

深度 Depth/cm	温度 Temperature/°C	葡萄糖 Glucose	溶解性有机碳 Dissolved organic carbon/($\mu\text{g/g}$)	微生物量碳 Microbial biomass carbon/($\mu\text{g/g}$)	铵态氮 Ammonium nitrogen/($\mu\text{g/g}$)	硝态氮 Nitrate nitrogen/($\mu\text{g/g}$)
0—10	10	未加	756.56±12.28a	4779.17±35.12c	397.61±24.35b	2.39±0.33a
		添加	785.00±9.03ab	4298.47±161.60bc	231.61±24.08a	1.03±0.38a
	15	未加	792.38±43.56ab	4317.08±329.67bc	756.99±12.31d	7.13±1.07a
		添加	847.50±19.75b	4415.56±103.22bc	497.51±29.29c	3.52±0.65a
10—20	10	未加	706.25±30.14a	4094.44±274.42b	873.51±63.09e	6.42±1.21a
		添加	705.19±27.73a	4769.58±145.43c	582.36±43.33c	2.98±0.52a
	15	未加	702.50±40.56a	3064.31±166.73a	988.60±29.63f	18.46±4.20b
		添加	862.50±14.54b	4488.33±211.85bc	1072.91±14.57f	32.29±4.31c

同列不同字母表示植被土壤间差异显著($P < 0.05$)

如表3所示,在增温和添加外源碳的条件下,0—10 cm和10—20 cm土壤铵态氮含量分别为231.61—756.99 $\mu\text{g/g}$ 和582.36—1072.91 $\mu\text{g/g}$,0—10 cm和10—20 cm土壤硝态氮含量分别为1.03—7.13 $\mu\text{g/g}$ 和2.98—32.29 $\mu\text{g/g}$ 。10—20 cm土壤铵态氮和硝态氮含量明显高于0—10 cm土壤铵态氮和硝态氮含量。温度对两种土壤深度的铵态氮、硝态氮含量有显著影响(表2),温度升高使得两种土壤深度的铵态氮含量分别增加了90.39%和13.18%。葡萄糖对两种土壤深度的铵态氮以及0—10 cm土壤硝态氮均有显著影响(表2),在10°C和15°C两种温度条件下,葡萄糖添加使得0—10 cm土壤铵态氮含量分别降低了41.75%和34.28%,同时使得0—10 cm土壤硝态氮含量分别降低了56.90%和50.63%。温度和葡萄糖添加的交互作用对10—20 cm土壤铵态氮、硝态氮含量有显著影响(表2),在外源碳输入的条件下,温度升高使得10—20 cm土壤铵态氮、硝态氮含量显著增加,10—20 cm土壤铵态氮含量增加了84.23%。同时,我们发现,产甲烷菌(*mcrA*)丰度与铵态氮和硝态氮含量均呈正相关($P < 0.01$, $P < 0.05$,表4)。氨氧化细菌(*amoA*)丰度与铵态氮含量呈负相关($P < 0.01$,表4),铵态氮含量与微生物量碳含量呈负相关($P < 0.05$,表4)。

表 4 Person 相关性分析
Table 4 Person correlation analysis

	细菌 Bacteria	产甲烷菌 <i>mcrA</i>	甲烷氧化菌 <i>pmoA</i>	氨氧化细菌 <i>amoA</i>	反硝化细菌 <i>nirK</i>	反硝化细菌 <i>nirS</i>	铵态氮 Ammonium nitrogen	硝态氮 Nitrate nitrogen	溶解性有机碳 Dissolved organic carbon	微生物量碳 Microbial biomass carbon
细菌 Bacteria	1	-0.321	0.622 **	0.298	0.423 *	0.701 **	-0.277	-0.005	0.534 **	0.21
产甲烷菌 <i>mcrA</i>		1	-0.084	-0.348	0.091	-0.358 *	0.556 **	0.523 **	-0.18	-0.087
甲烷氧化菌 <i>pmoA</i>			1	0.405 *	0.426 *	0.348	-0.256	0.114	0.454 **	0.211
氨氧化细菌 <i>amoA</i>				1	-0.002	0.089	-0.575 **	-0.212	0.076	0.207
反硝化细菌 <i>nirK</i>					1	0.490 **	0.053	0.23	0.520 **	0.164
反硝化细菌 <i>nirS</i>						1	-0.161	0.137	0.692 **	0.128
铵态氮 Ammonium nitrogen							1	0.788 **	-0.001	-0.396 *
硝态氮 Nitrate nitrogen								1	0.286	-0.316
溶解性有机碳 Dissolved organic carbon									1	0.058
微生物量碳 Microbial biomass carbon										1

** , 在 0.01 水平 (双侧) 上显著相关。 * , 在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关

3 讨论

3.1 土壤微生物对温度升高与外源碳输入的响应

本研究发现,在无增温和外源碳添加的情况下,0—10 cm 土壤细菌、甲烷氧化菌以及反硝化细菌丰度高于 10—20 cm 土壤细菌、甲烷氧化菌以及反硝化细菌丰度,并且在增温和外源碳输入的情况下,土壤细菌、甲烷氧化菌以及反硝化细菌丰度与溶解性有机碳含量呈显著正相关(图 1,表 4)。已有研究表明,10—20 cm 土壤碳比 0—10 cm 土壤碳更加稳定^[32-33]。鲁博权等^[34]研究表明,土壤溶解性有机碳和微生物量碳含量随土壤深度的增加而降低,这与本文结果一致,进一步证实了深层土壤难溶解性有机碳抑制了土壤相关微生物丰度的增长。葡萄糖添加使得 10—20 cm 土壤微生物量碳和 15℃ 条件下土壤溶解性有机碳含量均显著增加。对于这一现象,Fontaine 等^[35]提出了新鲜碳源的缺乏使得深层土壤有机碳稳定。倪玉雪等^[36]研究表明,加入碳源能够使微生物量显著增加。外源碳输入增加了 10—20 cm 土壤活性有机碳含量,进一步促进深层土壤微生物丰度的增长。

土壤细菌丰度是反映土壤微生物活性的重要指标之一^[37]。本研究发现温度对土壤细菌有显著影响,温度升高使得 0—10 cm 土壤细菌丰度降低(图 1),温度升高会改变土壤细菌的生理和活性^[38],也有研究表明温度升高使得碳氮等活性基质有效性降低,从而导致土壤细菌丰度下降^[39]。Wang 等^[22]和 Hayden 等^[40]的研究结果与本文一致,细菌丰度会随温度升高而降低。但也有其他研究表明,细菌丰度在变暖条件下变化不大或没有变化^[41-42],这主要与土壤微生物所处的生态系统类型、地理位置、土壤类型和植物的影响有关^[43-44]。本研究中葡萄糖添加使得 10—20 cm 土壤细菌丰度显著增加,这主要是由于葡萄糖作为可溶性有机碳为土壤微生物提供了充足的可利用的碳源^[45]。Bastida 等^[46]也发现可溶性有机碳含量可以影响土壤细菌活性,与本文观点一致,这可能与土壤微生物受碳基质限制有关。

甲烷是重要的温室气体,产甲烷菌(*mcrA*)和甲烷氧化菌(*pmoA*)参与甲烷循环过程^[47],对北方高纬度泥炭地生态系统有重要作用。Conrad 等^[48]研究表明,产甲烷菌的丰度和群落结构功能与温度有关。本研究中,温度升高导致 10—20 cm 土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌丰度增加(图 1)。Høj 等^[49]研究表明,温度升高使得产甲烷菌多样性和数量增加,加快产甲烷速率。产甲烷菌增加所产生的甲烷可能会导致甲烷氧化菌丰度的增

加^[42],进而加速土壤甲烷氧化过程,抑制土壤甲烷的排放^[50]。葡萄糖添加对产甲烷菌有显著影响。Vizza等^[51]研究表明,甲烷产生与底物有关,底物充足能促进产甲烷菌丰度增加。有外源碳输入的情况下,温度升高有利于土壤产甲烷菌以及甲烷氧化菌丰度的增加,说明温度和葡萄糖的交互作用可能会促进土壤甲烷循环过程。

土壤氮循环在土壤物质循环过程中占有重要地位,其中硝化和反硝化过程是土壤氮循环的两个重要过程^[52]。*amoA*、*nirK*和*nirS*是研究硝化和反硝化过程的重要功能基因^[53-55]。Fierer等^[56]研究表明,温度是影响氨氧化细菌的一个重要因素,温度升高会导致北方泥炭地土壤的氮氧通量增加^[57]。本研究中,温度升高显著降低了0—10 cm土壤氨氧化细菌丰度,显著提高了10—20 cm土壤氨氧化细菌丰度,说明温度升高有利于10—20 cm土壤氨氧化过程,可能会促进 N_2O 的排放。而参与反硝化的0—10 cm和10—20 cm土壤*nirK*和*nirS*功能基因丰度随温度的升高而增加,说明温度升高有利于土壤反硝化过程。同时,葡萄糖添加使得0—10 cm土壤氨氧化细菌丰度降低,10—20 cm土壤氨氧化细菌丰度随温度的升高而增加(图1)。可能是此时微生物固定 NH_4^+ ,或者在可溶性碳浓度较高的情况下,抑制了硝化作用^[58]。无增温和外源碳输入的情况下,0—10 cm土壤氨氧化细菌丰度远远高于10—20 cm土壤氨氧化细菌丰度,0—10 cm土壤铵态氮含量小于10—20 cm土壤铵态氮含量。我们的结果表明在增温和外源碳输入的条件下,土壤氨氧化细菌丰度与土壤铵态氮含量呈负相关,说明土壤微生物受有效基质的影响。同时本研究也发现葡萄糖添加会导致10—20 cm参与反硝化的*nirS*和*nirK*功能基因丰度增加。朱霞等^[9]研究也发现,添加可溶性碳可间接增强土壤反硝化作用。葡萄糖添加能够促进微生物的生长和活性,使得产生的 NO_3^- 参与到反硝化过程中^[59]。

3.2 土壤活性有机碳和有效氮对温度升高和葡萄糖添加的响应

土壤溶解性有机碳(DOC)和土壤微生物量碳(MBC)是土壤活性有机碳的重要组分^[60-61]。温度升高导致10—20 cm土壤微生物量碳含量显著降低了25.16%,说明增温条件下,微生物首先利用活性碳组分,尤其是在室内培养环境下,微生物快速分解活性有机碳,由于培养试验缺少外来新鲜碳源的供给,温度升高能通过提高微生物活性和分解速率,从而增加微生物对活性碳组分的消耗利用,引起土壤微生物碳限制。微生物的代谢活动也会因增温幅度过大而受到抑制,进而导致微生物生物量碳降低^[16]。可利用有机碳输入显著提高了10—20 cm土壤微生物量碳和15℃条件下溶解性有机碳含量,说明外源碳输入有利于土壤活性有机碳的增加。

土壤有效氮主要有铵态氮和硝态氮等,是土壤中最易被吸收利用的氮^[62],对土壤氮循环有重要意义。土壤有效氮的变化能够通过改变碳的生物化学过程而对碳蓄积能力产生显著影响^[63]。已有研究发现,温度升高加速了氮周转率,从而导致冻土、草地和森林土壤中无机氮含量升高^[64-66]。我们的研究结果也发现温度升高显著提高了冻土区泥炭地土壤氨氮和硝氮含量,促进土壤氮周转速率,从而导致有效氮含量增加。施瑶等^[67]研究发现,氮的有效性越强,土壤微生物活性越高。我们也发现产甲烷菌丰度与铵态氮和硝态氮含量均呈正相关,氨氧化细菌丰度与铵态氮含量呈负相关,因此温度升高使得土壤有效氮含量增加,进而间接使得相关微生物丰度发生变化,从而影响泥炭地碳氮平衡。而外源碳输入降低了10℃条件下0—10 cm和10—20 cm以及15℃条件下0—10 cm土壤氨氮和硝氮含量,这主要是由于碳源的输入增加了微生物对有效氮的吸收和利用,进而导致微生物受氮限制。

4 结论

通过研究温度升高和外源碳输入条件下,北方泥炭地土壤微生物碳氮循环关键微生物基因丰度、活性碳组分含量以及无机氮含量的变化特征,我们发现:在温度升高和外源碳输入的条件下,0—10 cm土壤微生物比10—20 cm土壤微生物更加敏感。温度升高能够通过改变微生物的生理活性,也可以通过改变碳氮等活性基质间接影响土壤微生物丰度。外源碳输入为土壤微生物提供了更多可利用的碳源,整体提高深层土壤微生物丰度,使得10—20 cm土壤细菌、产甲烷菌、甲烷氧化菌、氨氧化细菌以及反硝化细菌丰度显著增加。有外

源碳输入的情况下,温度升高有利于土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌丰度以及 10—20 cm 土壤氨氧化细菌丰度增加。同时,相关性分析结果表明,在增温和外源碳输入条件下,土壤微生物受碳氮等可利用性活性基质的限制。然而,我们的研究结果只是基于短期的室内培养实验,对于北方泥炭地土壤微生物对温度升高的长期响应模式仍需要开展长期的野外监测及模拟研究。

参考文献(References):

- [1] 王小平, 杨雪, 杨楠, 辛晓静, 曲耀冰, 赵念席, 高玉葆. 凋落物多样性及组成对凋落物分解和土壤微生物群落的影响. 生态学报, 2019, 39(17): 6264-6272.
- [2] 李森森, 马大龙, 臧淑英, 王璐璐, 孙弘哲. 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落结构和功能特征. 生态学报, 2018, 38(22): 7979-7989.
- [3] Song Y Y, Song C C, Ren J S, Ma X Y, Tan W W, Wang X W, Gao J L, Hou A X. Short-term response of the soil microbial abundances and enzyme activities to experimental warming in a boreal peatland in Northeast China. Sustainability, 2019, 11(3): 590.
- [4] Tveit A T, Urlich T, Frenzel P, Svenning M M. Metabolic and trophic interactions modulate methane production by Arctic peat microbiota in response to warming. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(19): E2507-E2516.
- [5] Waldrop G L, Holden H M, Maurice M S. The enzymes of biotin dependent CO₂ metabolism: What structures reveal about their reaction mechanisms. Protein Science, 2012, 21(11): 1597-1619.
- [6] 强学彩, 袁红莉, 高旺盛. 秸秆还田量对土壤 CO₂ 释放和土壤微生物量的影响. 应用生态学报, 2004, 15(3): 469-472.
- [7] Kemmitt S J, Lanyon C V, Waite L S, Wen Q, Addiscott T M, Bird N R A, O'Donnell A G, Brookes P C. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by the size, activity or composition of the soil microbial biomass—a new perspective. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(1): 61-73.
- [8] 徐鹏, 邬磊, 胡金丽, 蒋梦蝶, 赵劲松, 胡荣桂. 添加葡萄糖、乙酸、草酸对红壤旱地土壤氮素矿化及反硝化的影响. 环境科学学报, 2017, 37(12): 4740-4746.
- [9] 朱霞, 韩晓增, 乔云发, 王守宇. 外加可溶性碳氮对不同热量带土壤 N₂O 排放的影响. 农业环境科学学报, 2009, 28(12): 2637-2644.
- [10] Fierer N, Schimel J P, Holden P A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(1): 167-176.
- [11] Xue K, Yuan M M, Shi Z J, Qin Y J, Deng Y, Cheng L, Wu L Y, He Z L, Van Nostrand J D, Bracho R, Natali S, Schuur E A G, Luo C W, Konstantinidis K T, Wang Q, Cole J R, Tiedje J M, Luo Y Q, Zhou J Z. Tundra soil carbon is vulnerable to rapid microbial decomposition under climate warming. Nature Climate Change, 2016, 6(6): 595-600.
- [12] Jung J, Yeom J, Han J, Kim J, Park W. Seasonal changes in nitrogen-cycle gene abundances and in bacterial communities in acidic forest soils. The Journal of Microbiology, 2012, 50(3): 365-373.
- [13] Kim S Y, Freeman C, Fenner N, Kang H. Functional and structural responses of bacterial and methanogen communities to 3-year warming incubation in different depths of peat mire. Applied Soil Ecology, 2012, 57: 23-30.
- [14] Peltoniemi K, Laiho R, Juottonen H, Bodrossy L, Kell D K, Minkinen K, Makiranta P, Mehtatalo L, Penttilä T, Siljanen H M P, Tuittila E S, Tuomivirta T, Fritze H. Responses of methanogenic and methanotrophic communities to warming in varying moisture regimes of two boreal fens. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 97: 144-156.
- [15] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. Annual Review of Microbiology, 2001, 55: 485-529.
- [16] 李娜, 王根绪, 高永恒, 王俊峰, 柳林安. 模拟增温对长江源区高寒草甸土壤养分状况和生物学特性的影响研究. 土壤学报, 2010, 47(6): 1214-1224.
- [17] 宋长春, 宋艳宇, 王宪伟, 郭跃东, 孙丽, 张新厚. 气候变化下湿地生态系统碳、氮循环研究进展. 湿地科学, 2018, 16(3): 424-431.
- [18] 周文昌, 索郎夺尔基, 崔丽娟, 王义飞, 李伟. 排水对若尔盖高原泥炭地土壤有机碳储量的影响. 生态学报, 2016, 36(8): 2123-2132.
- [19] 王娇月, 韩耀鹏, 宋长春, 郝凤明. 冻融作用对大兴安岭多年冻土区泥炭地土壤有机碳矿化的影响研究. 气候变化研究进展, 2018, 14(1): 59-66.
- [20] 蒋磊, 宋艳宇, 宋长春, 任久生, 王明全. 大兴安岭冻土区泥炭地土壤碳、氮含量和酶活性室内模拟研究. 湿地科学, 2018, 16(3): 294-302.
- [21] 王亚男, 曾希柏, 王玉忠, 白玲玉, 李莲芳, 吴翠霞, 俄胜哲, 马世铭. 施肥模式对设施菜地根际土壤微生物群落结构和丰度的影响. 生态学杂志, 2015, 34(3): 826-834.
- [22] Wang H, Yang J P, Yang S H, Yang Z C, Lv Y M. Effect of a 10 °C-elevated temperature under different water contents on the microbial

- community in a tea orchard soil. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 62: 113-120.
- [23] Steinberg L M, Regan J M. *mcrA-targeted* real-time quantitative PCR method to examine methanogen communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(13): 4435-4442.
- [24] Holmes A J, Roslev P, McDonald I R, Iversen N, Henriksen K, Murrell J C. Characterization of methanotrophic bacterial populations in soils showing atmospheric methane uptake. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(8): 3312-3318.
- [25] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker; molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [26] Hallin S, Lindgren P E. PCR detection of genes encoding nitrite reductase in denitrifying bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(4): 1652-1657.
- [27] Dorthe G P, Steven J B, Mary F, Donald J H, Merritt T, Mark W. Abundance of microbial genes associated with nitrogen cycling as indices of biogeochemical process rates across a vegetation gradient in Alaska. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(4): 993-1008.
- [28] Song Y Y, Song C C, Hou A X, Ren J S, Wang X W, Cui Q, Wang M Q. Effects of temperature and root additions on soil carbon and nitrogen mineralization in a predominantly permafrost peatland. *CATENA*, 2018, 165: 381-389.
- [29] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, Chaussod R, Brookes P C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22(8): 1167-1169.
- [30] Song Y Y, Song C C, Meng H N, Swarzenski C M, Wang X W, Tan W W. Nitrogen additions affect litter quality and soil biochemical properties in a peatland of Northeast China. *Ecological Engineering*, 2017, 100: 175-185.
- [31] Ghani A, Dexter M, Perrott K W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(9): 1231-1243.
- [32] Lü M K, Xie J S, Wang C, Guo J F, Wang M H, Liu X F, Chen Y, Chen G S, Yang Y S. Forest conversion stimulated deep soil C losses and decreased C recalcitrance through priming effect in subtropical China. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(7): 857-867.
- [33] Ewing S A, Sanderman J, Baisden W T, Wang Y, Amundson R. Role of large-scale soil structure in organic carbon turnover; evidence from California grassland soils. *Journal of Geophysical Research*, 2006, 111(G3): G03012.
- [34] 鲁博权, 臧淑英, 孙丽. 冻融作用对大兴安岭典型森林土壤活性有机碳和氮矿化的影响. *环境科学学报*, 2019, 39(5): 1664-1672.
- [35] Fontaine S, Barot S, Barré P, Bdioui N, Mary B, Rumpel C. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, 2007, 450(7167): 277-280.
- [36] 倪玉雪, 孙卓玲, 尹兴, 马银丽, 巨晓棠, 张丽娟. 外加可溶性碳源对华北典型农田土壤 N_2O 、 CO_2 排放的影响. *水土保持学报*, 2013, 27(4): 222-227.
- [37] 周艳飞, 聂江文, 王幼娟, 刘章勇, 朱波. 施氮水平对稻-稻-紫云英稻田土壤细菌数量及群落结构的影响. *农业资源与环境学报*, 2018, 35(6): 508-517.
- [38] Rui J P, Li J B, Wang S P, An J X, Liu W T, Lin Q Y, Yang Y F, He Z L, Li X Z. Responses of bacterial communities to simulated climate changes in alpine meadow soil of the Qinghai-Tibet plateau. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(17): 6070-6077.
- [39] Frey S D, Drijber R, Smith H, Melillo J. Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(11): 2904-2907.
- [40] Hayden H L, Mele P M, Bougoure D S, Allan C Y, Norng S, Piceno Y M, Brodie E L, DeSantis T Z, Andersen G L, Williams A L, Hovenden M J. Changes in the microbial community structure of bacteria, archaea and fungi in response to elevated CO_2 and warming in an Australian native grassland soil. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(12): 3081-3096.
- [41] Rinnan R, Rousk J, Yergeau E, Kowalchuk G A, Baath E. Temperature adaptation of soil bacterial communities along an Antarctic climate gradient; predicting responses to climate warming. *Global Change Biology*, 2009, 15(11): 2615-2625.
- [42] Liu Y, Li M, Zheng J W, Li L Q, Zhang X H, Zheng J F, Pan G X, Yu X Y, Wang J F. Short-term responses of microbial community and functioning to experimental CO_2 enrichment and warming in a Chinese paddy field. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 58-68.
- [43] Peng S S, Piao S L, Wang T, Sun J Y, Shen Z H. Temperature sensitivity of soil respiration in different ecosystems in China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(5): 1008-1014.
- [44] Supramaniam Y, Chong C W, Silvaraj S, Tan I K P. Effect of short term variation in temperature and water content on the bacterial community in a tropical soil. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 279-289.
- [45] 周文杰, 张鹏, 秦嗣军, 吕德国. 添加葡萄糖和淀粉对盆栽甜樱桃根区土壤碳代谢及根功能的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(11): 3300-3308.
- [46] Bastida F, Torres I F, Moreno J L, Baldrian P, Ondoño S, Ruiz-Navarro A, Hernández T, Richnow H H, Starke R, García C, Jehmlich N. The active microbial diversity drives ecosystem multifunctionality and is physiologically related to carbon availability in Mediterranean semi-arid soils.

- Molecular Ecology, 2016, 25(18): 4660-4673.
- [47] Fuchs A, Lyautey E, Montuelle B, Casper P. Effects of increasing temperatures on methane concentrations and methanogenesis during experimental incubation of sediments from oligotrophic and mesotrophic lakes. *Journal of Geophysical Research*, 2016, 121(5): 1394-1406.
- [48] Conrad R, Klose M, Noll M. Functional and structural response of the methanogenic microbial community in rice field soil to temperature change. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(7): 1844-1853.
- [49] Høj L, Olsen R A, Torsvik V L. Effects of temperature on the diversity and community structure of known methanogenic groups and other archaea in high Arctic peat. *The ISME Journal*, 2008, 2(1): 37-48.
- [50] 任久生. 增温对大兴安岭多年冻土区泥炭地土壤微生物的影响研究[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所), 2018.
- [51] Vizza C, West W E, Jones S E, Hart J A, Lamberti G A. Regulators of coastal wetland methane production and responses to simulated global change. *Biogeosciences*, 2017, 14(2): 431-446.
- [52] 尹释玉. 农田 N₂O 排放研究进展. *绿色科技*, 2016, (12): 152-154.
- [53] Wang H, Yang S H, Yang J P, Lv Y M, Zhao X, Pang J L. Temporal changes in soil bacterial and archaeal communities with different fertilizers in tea orchards. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2014, 15(11): 953-965.
- [54] Szukics U, Abell G C J, Hödl V, Mitter B, Sessitsch A, Hackl E, Zechmeister-Boltenstern S. Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3): 395-406.
- [55] Di H J, Cameron K C, Podolyan A, Robinson A. Effect of soil moisture status and a nitrification inhibitor, dicyandiamide, on ammonia oxidizer and denitrifier growth and nitrous oxide emissions in a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 73: 59-68.
- [56] Fierer N, Carney K M, Horner-Devine M C, Megonigal J P. The biogeography of ammonia-oxidizing bacterial communities in soil. *Microbial Ecology*, 2009, 58(2): 435-445.
- [57] Cui Q, Song C C, Wang X W, Shi F X, Yu X Y, Tan W W. Effects of warming on N₂O fluxes in a boreal peatland of Permafrost region, Northeast China. *Science of the Total Environment*, 2018, 616-617: 427-434.
- [58] 崔敏, 冉炜, 沈其荣. 水溶性有机质对土壤硝化作用过程的影响. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(3): 45-50.
- [59] 王琳, 周晓丽, 马银丽, 巨晓棠, 吉艳芝, 张丽娟. 铵态氮源和碳源对土壤 N₂O、CO₂ 释放的影响. *农业资源与环境学报*, 2016, 33(1): 23-28.
- [60] Powlson D S, Prookes P C, Christensen B T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(2): 159-164.
- [61] 徐侠, 程晓莉, 周焱, 骆亦其, 阮宏华, 汪家社. 武夷山沿海拔梯度土壤活性有机碳库的变化(英文). *资源与生态学报*, 2010, 1(4): 368-374.
- [62] 耿玉清, 孙向阳, 亢新钢, 谭笑, 周运起, 李东兰, 陈宝升. 长白山林区不同森林类型下土壤肥力状况的研究. *北京林业大学学报*, 1999, 21(6): 97-101.
- [63] DeForest J L, Zak D R, Pregitzer K S, Burton A J. Atmospheric nitrate deposition and the microbial degradation of cellobiose and vanillin in a northern hardwood forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(6): 965-971.
- [64] Allison S D, Treseder K K. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. *Global Change Biology*, 2008, 14(12): 2898-2909.
- [65] Rustad L, Campbell J, Marion G, Norby R, Mitchell M, Hartley A, Cornelissen J, Gurevitch J, GCTE-NEWS. A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia*, 2001, 126(4): 543-562.
- [66] Xu Z F, Hu R, Xiong P, Wan C, Cao G, Liu Q. Initial soil responses to experimental warming in two contrasting forest ecosystems, eastern Tibetan Plateau, China: Nutrient availabilities, microbial properties and enzyme activities. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(2): 291-299.
- [67] 施瑶, 王忠强, 张心昱, 孙晓敏, 刘希玉, 何念鹏, 庾强. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响. *生态学报*, 2014, 34(17): 4943-4949.