

## 不同灭菌方式下草地土壤有机碳矿化对尿液添加的响应

姜淑贞<sup>1,2</sup>, 连逸晨<sup>1</sup>, 华润昕<sup>1</sup>, 张雨涵<sup>1</sup>, 蒋文婷<sup>1,2</sup>, 肖向前<sup>1,2</sup>, 范博<sup>1,2</sup>, 蔡延江<sup>1,2</sup>

(1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 环境与资源学院/碳中和学院, 浙江 杭州 311300)

**摘要:** 【目的】探究牲畜排泄物对放牧草地土壤有机碳生物和非生物矿化过程的影响, 为深入认知人为活动影响下土壤碳库对全球气候变化的响应和反馈提供理论支撑。【方法】以高寒草甸土壤为研究对象, 通过设置 0、250、500、750、1 000 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup> 的牛尿返还量, 结合不同的灭菌处理(不灭菌、高压蒸汽灭菌、氯仿熏蒸灭菌), 在室内培养条件下测定土壤有机碳矿化速率[以二氧化碳(CO<sub>2</sub>)排放速率计]、pH 以及可溶性有机碳、溶解性总氮、土壤有机碳、全氮、铵态氮、硝态氮质量分数, 探究生物和非生物土壤有机碳矿化过程对尿液添加的响应。【结果】①尿液添加对土壤 CO<sub>2</sub> 排放具有促进作用, 在不同灭菌处理下土壤 CO<sub>2</sub> 排放量均随着尿液添加量的增加总体呈上升趋势, 土壤 CO<sub>2</sub> 排放量与土壤 pH、铵态氮呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。②灭菌处理对土壤 CO<sub>2</sub> 排放存在抑制作用, 高压蒸汽灭菌处理对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的抑制作用显著高于氯仿熏蒸灭菌处理 ( $P < 0.05$ )。③生物和非生物过程排放的 CO<sub>2</sub> 均随尿液添加量的增加而上升, 其中生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献高于非生物过程。【结论】尿液返还对生物和非生物土壤有机碳矿化过程均有促进作用, 且生物土壤有机碳矿化过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献更大, 不过非生物土壤有机碳矿化过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献也不容忽视。图 5 表 1 参 42

**关键词:** 土壤灭菌; 尿液添加; 土壤 CO<sub>2</sub> 排放; 有机碳矿化; 生物和非生物过程

中图分类号: S714 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)06-1241-09

## Response of grassland soil CO<sub>2</sub> emissions to urine addition under different sterilization methods

JIANG Shuzhen<sup>1,2</sup>, LIAN Yichen<sup>1</sup>, HUA Runxin<sup>1</sup>, ZHANG Yuhan<sup>1</sup>, JIANG Wenting<sup>1,2</sup>,  
XIAO Xiangqian<sup>1,2</sup>, FAN Bo<sup>1,2</sup>, CAI Yanjiang<sup>1,2</sup>

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China;  
2. College of Environment and Resources/College of Carbon Neutrality, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** [Objective] This study, with an investigation of the variations of biotic and abiotic processes driving soil organic carbon (SOC) mineralization affected by livestock excreta deposition in grazing grassland ecosystems, is aimed to provide new insights into better understanding of the response and feedback of soil carbon pool changes induced by anthropogenic activities to global climate change. [Method] In this study, SOC mineralization rates (as indicated by CO<sub>2</sub> emission rates) were measured of the soil of an alpine meadow added with different rates of urine (0, 250, 500, 750, 1 000 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>) under different sterilization circumstances (no sterilization, autoclaving sterilization, chloroform fumigation sterilization), while the soil pH,

收稿日期: 2023-02-16; 修回日期: 2023-05-16

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划 (202010341013); 国家自然科学基金资助项目 (41877085, 41573070); 浙江农林大学科研发展基金项目 (2018FR005, 2018FR006)

作者简介: 姜淑贞 (ORCID: 0009-0004-4889-053X), 从事土壤碳氮转化过程研究。E-mail: jshuzhen@stu.zafu.edu.cn。通信作者: 蔡延江 (ORCID: 0000-0002-5376-7884), 教授, 博士, 博士生导师, 从事土壤碳氮循环及其环境效应研究。E-mail: yjcai@zafu.edu.cn

dissolved organic carbon (DOC), total dissolved nitrogen (TDN), soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), ammonium nitrogen ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) concentration were simultaneously determined, so as to explore the differences in the response of biotic and abiotic SOC mineralization processes to urine addition. [Result] (1) The addition of urine promoted  $\text{CO}_2$  emissions, which increased with the increase in the amount of urine added under different sterilization methods, demonstrating a positive correlation between soil  $\text{CO}_2$  emissions and soil pH and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  concentrations ( $P < 0.05$ ). (2) Soil  $\text{CO}_2$  emission was inhibited by sterilization, and the inhibition effect of autoclaving sterilization on soil  $\text{CO}_2$  emission was significantly higher than that of chloroform fumigation sterilization ( $P < 0.05$ ). (3) The  $\text{CO}_2$  emission from biotic and abiotic processes both increased with the increase of urine addition rate, with the contribution of biotic process to soil  $\text{CO}_2$  emission being greater than that of abiotic process. [Conclusion] Urine deposition can promote soil  $\text{CO}_2$  emission from biotic and abiotic processes, with more contribution from the biotic process, however, the contribution of abiotic SOC mineralization to soil  $\text{CO}_2$  emission should not be neglected. [Ch, 5 fig. 1 tab. 42 ref.]

**Key words:** soil sterilization; bovine urine addition; soil  $\text{CO}_2$  emission; organic carbon mineralization; biotic and abiotic processes

在全球范围内,土壤含碳大约是大气的3.0倍,是生物碳库的4.5倍<sup>[1]</sup>,其中约1 500 Gt的碳以有机碳的形式存在于土壤中,使得土壤碳库成为陆地生态系统最大的碳库,因此土壤碳库微小的变化必将会对全球碳平衡和气候变化产生重大影响<sup>[2-3]</sup>。土壤有机碳(SOC)矿化是指土壤有机碳分解并向大气释放二氧化碳( $\text{CO}_2$ )的过程,该过程是土壤有机碳损失的重要途径,有助于促进土壤营养元素的循环<sup>[4-5]</sup>。土壤有机碳矿化及其影响因素的研究已成为全球气候变化的热点之一<sup>[6]</sup>。草地生态系统是陆地生态系统的重要碳库之一。据统计,全球草地生态系统碳储量为761 Gt,占整个陆地生态系统碳储量的34%,而中国草地面积约4亿 $\text{hm}^2$ ,草地生态系统碳储量为44 Gt,约占世界草地生态系统碳储量的8%<sup>[7]</sup>。青藏高原生态系统碳库容量巨大,具有重要的生态安全屏障作用,在全球碳循环调控中发挥着重要作用<sup>[8-9]</sup>,因此,研究高寒草地土壤有机碳矿化对于预测温室气体排放及管理土壤碳平衡具有重要意义。

土壤有机碳矿化是由生物和非生物过程共同决定的<sup>[10]</sup>。土壤有机碳分解通常被认为是由生物过程驱动的,然而,热降解、光降解、活性氧化、细胞外氧化代谢和无机化学反应等非生物过程也可以产生 $\text{CO}_2$ ,但非生物过程的贡献往往被忽略<sup>[11-13]</sup>。研究发现:尽管灭菌后的土壤中缺乏活细胞,但土壤 $\text{CO}_2$ 产生的活跃生化途径仍在继续<sup>[14]</sup>。非生物土壤有机碳矿化是无处不在的,平均贡献了土壤 $\text{CO}_2$ 排放量的24%,其对土壤 $\text{CO}_2$ 排放的贡献度随着可溶性有机碳(DOC)的增加而增大<sup>[15]</sup>。此外,非生物过程的贡献程度还与土壤含水量关系密切,当土壤含水量为10%时,非生物过程对土壤有机碳矿化过程的贡献为18.6%~49.2%,且土壤含水量越低,非生物过程的影响越大<sup>[16]</sup>。然而,在人们普遍认为是生物活动占主导的陆地生态系统中,非生物过程对土壤 $\text{CO}_2$ 排放有何贡献仍缺乏足够的支撑<sup>[13]</sup>。

牛尿排泄物是草地生态系统中的一个重要养分来源,但牛尿返还对土壤 $\text{CO}_2$ 排放的影响却不尽一致<sup>[17]</sup>。一般认为,放牧牲畜的尿液向土壤中输入了碳源和氮源,可促进土壤有机碳矿化<sup>[18]</sup>,往往会增加土壤 $\text{CO}_2$ 的排放<sup>[19]</sup>。研究表明:尿液添加可提高草甸土壤的累积矿化率<sup>[20]</sup>,由于尿液诱导的激发效应,尿液添加后增强了土壤有机碳的分解<sup>[21-22]</sup>;再者,尿液还能刺激土壤微生物水解尿素,释放 $\text{CO}_2$ <sup>[23-24]</sup>。但也有研究发现:添加氮源虽可促进土壤活性有机碳的分解,但更能促进难分解性有机碳的积累,减少总有机碳的损失,进而有利于土壤有机碳稳定性的维持或增加<sup>[25-26]</sup>。土壤 $\text{CO}_2$ 排放量可随尿液添加量的增加而增大<sup>[27]</sup>,但高氮输入会导致饱和响应,土壤 $\text{CO}_2$ 排放不会随氮素输入量的增加而无限增加,因为氮供应充足情况下资源限制可能会从氮素转向其他因素,比如水分、磷素和光照等<sup>[28-29]</sup>。由此可知,不同尿液返还量对 $\text{CO}_2$ 排放的促进效应不一定会随着尿液返还量的增加呈持续增大趋势。

在以往研究中,土壤灭菌通常被认为可使得微生物活性得到最大程度的降低,最终抑制土壤有机碳

的矿化。也有研究认为：土壤有机碳矿化与微生物活性或土壤微生物生物量的大小无关<sup>[30]</sup>。虽然目前对非生物过程有初步研究，但关于土壤有机碳非生物矿化过程的量化研究还鲜有报道<sup>[13]</sup>。此外，土壤有机碳矿化对尿液添加如何响应？生物和非生物过程对尿液添加下的土壤有机碳矿化贡献多大？仍需进一步明确。鉴于此，本研究通过对高寒草甸土壤进行灭菌与不灭菌处理，设置 0、250、500、750、1 000 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup> 的尿液返还量，研究不同灭菌方式下草地土壤 CO<sub>2</sub> 排放对尿液添加的响应，以期为应对放牧草地生态系统中温室气体排放增加提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试土壤

土壤采自于四川省阿坝藏族羌族自治州红原县境内的中国科学院若尔盖湿地生态系统定位站 (32°58'08"N, 102°37'08"E, 海拔为 3 450 m)<sup>[31]</sup>。研究区年均气温为 1.9 °C，夏季月均最高气温为 20.0 °C，年均降水量为 747.0 mm，其中 77.0% 集中在生长期 (5—9 月)<sup>[32]</sup>。草地类型为高寒草甸，植被优势种是小嵩草 *Kobresia pygmaea*、垂穗披碱草 *Elymus nutans* 和矮嵩草 *Kobresia humilis*，土壤为高山草甸土。

研究区于 2014 年 5 月起开始实施禁牧，2020 年 7 月通过五点取样法用土钻取 0~20 cm 土层的土壤，充分混匀剔除根系、石块等杂物。将新鲜土样经过风干研磨后，过孔径为 2 mm 的不锈钢筛，密封备用。取部分风干土用于采样地基础理化性质测定，测得土壤 pH 5.71，土壤有机碳为 63.84 g·kg<sup>-1</sup>，全氮为 6.20 g·kg<sup>-1</sup>。取部分鲜土测得可溶性有机碳为 67.78 mg·kg<sup>-1</sup>，溶解性总氮为 64.67 mg·kg<sup>-1</sup>，铵态氮 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) 为 36.33 mg·kg<sup>-1</sup>，硝态氮 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) 为 10.68 mg·kg<sup>-1</sup>。

### 1.2 培养实验

称取 40 g 风干土壤 (基于干土质量) 于 100 mL 的培养瓶中，用去离子水将土壤含水量调整为 30% 土壤持水量 (WHC)，在黑暗中 20 °C 下预培养 7 d。预培养期间每隔 1 d 补充培养瓶内水分以保证含水量稳定。实验设置 5 个牛尿返还量 (施氮 0、250、500、750、1 000 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>，相当于土壤中增加的氮质量分数为 0、96、192、288、384 mg·kg<sup>-1</sup>) 和 3 种灭菌方法 (不灭菌、高压蒸汽灭菌、氯仿熏蒸灭菌)，共 15 种处理，每个处理 4 个重复。对于尿液添加处理，考虑到牛尿收集不易且易发生变质，依据牛尿配方：尿素 17.7 g·L<sup>-1</sup>、马尿酸 7.4 g·L<sup>-1</sup>、肌酐酸 0.2 g·L<sup>-1</sup>、尿囊素 0.4 g·L<sup>-1</sup>、尿酸 0.1 g·L<sup>-1</sup>、氯化铵 0.9 g·L<sup>-1</sup>、碳酸氢钾 14.2 g·L<sup>-1</sup>、氯化钾 10.5 g·L<sup>-1</sup> 的方法配置合成牛尿 (9.0 g·L<sup>-1</sup>)<sup>[33]</sup>。预培养结束后，将需要灭菌处理的土壤样品分别进行高温高压蒸汽灭菌和氯仿熏蒸灭菌。高温高压蒸汽灭菌时将样品在 121 °C 和 0.3 MPa 条件下灭菌 30 min。氯仿熏蒸灭菌需将土壤样品放入干燥器，在 2 个单独的烧杯中分别加入 30 mL 氯仿 (加入防沸材料)、30 mL 稀氢氧化钠，打开阀门抽真空后关闭阀门，土壤样品在室温下暴露于氯仿中 24 h<sup>[34]</sup>。将灭菌组样品和非灭菌组的土壤添加相应返还量的人工尿液，并同时添加无菌水 (去离子水高温高压蒸汽灭菌法灭菌) 将土壤含水量调整至 60% 土壤持水量，然后立即盖上已消毒的瓶盖，使用抽真空装置置换瓶内的气体为无菌空气 (0.22 μm 滤膜过滤后装入气袋)，瓶内起始 CO<sub>2</sub> 的体积分数即为无菌空气中 CO<sub>2</sub> 的体积分数，将培养瓶置于 20 °C (基于夏季月平均最高气温来设置) 培养箱内避光进行培养，培养 6 h (施加尿液后土壤排放的 CO<sub>2</sub> 主要集中在在此期间，且土壤灭菌后的效果在此期间能得到较好地维持) 后测定瓶内的 CO<sub>2</sub> 体积分数。

### 1.3 指标测定

土壤 CO<sub>2</sub> 体积分数测定：抽取 20 mL 通入培养瓶内的无菌空气作为起始气体，培养 6 h 后，立即用注射器在每个待测样瓶中抽取 20 mL 气体样品，用气相色谱仪 (Agilent 7890B) 测定气体样品中的 CO<sub>2</sub> 体积分数。根据培养前后所抽取气体样品中的 CO<sub>2</sub> 体积分数差值计算土壤 CO<sub>2</sub> 排放速率，其计算公式为：

$$E_R = \frac{12}{22.4} \times \frac{P}{P_0} \times \frac{T_0}{T} \times \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{M} \times \frac{1}{1000}。$$

其中： $E_R$  为土壤 CO<sub>2</sub> 排放速率 (mg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>)；22.4 为标准状态下 (273.2 K, 1013.0 kPa) 气体的摩尔体积 (L·mol<sup>-1</sup>)； $P$  为取气样时培养瓶内的气压 (kPa)； $P_0$  和  $T_0$  分别为标准状态下空气的绝对气压 (kPa) 和绝对温度 (K)； $T$  为取气样时培养瓶内的绝对温度 (K)； $\Delta C$  为 CO<sub>2</sub> 体积分数 (μL·L<sup>-1</sup>) 在密闭时间内的增加值； $\Delta t$  为密闭时间 (h)； $V$  为培养瓶内的空气体积 (mL)； $M$  为培养土样的干质量 (g)。土壤 CO<sub>2</sub> 累积

排放量为土壤 CO<sub>2</sub> 排放速率与培养瓶密闭时间的乘积。贡献比为生物过程或非生物过程对有机碳矿化的贡献百分比。

于培养结束后进行破坏性采样, 取 5 g 培养结束后的土壤样品 (包括灭菌组和不灭菌组) 加入 2 mol·L<sup>-1</sup> 氯化钾溶液, 按  $m(\text{液}):m(\text{土})=5:1$  浸提 1 h, 浸提后在 170 r·min<sup>-1</sup>、25 °C 下充分震荡 30 min 后过滤, 滤液采用靛酚蓝比色法测定铵态氮质量分数, 双波长差法分析硝态氮质量分数。另取 5 g 培养后的鲜土土样用去离子水浸提,  $m(\text{水}):m(\text{土})=5:1$ , 170 r·min<sup>-1</sup> 振荡 30 min 后, 在 20 °C 下以 3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min, 离心后取浸提液过 0.45 μm 微孔滤膜, 使用 TOC 分析仪 (Multi C/N 3 100, 德国) 测定土壤可溶性有机碳和溶解性总氮。土壤 pH 用煮沸的去离子水浸提,  $m(\text{水}):m(\text{土})=2.5:1.0$ , 置于 170 r·min<sup>-1</sup> 摇床上振荡 10 min 后静置 30 min, 上清液用 pH 计测定。风干土壤过 100 目筛后, 用凯氏定氮法测定土壤全氮质量分数, SOC 质量分数采用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测定。

#### 1.4 数据分析

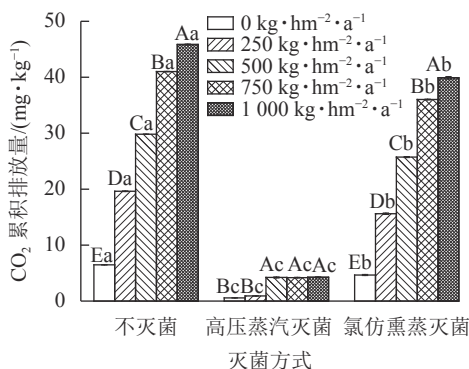
利用 Excel 2019 进行数据预处理, 在检验了数据的正态性和方差齐性后, 采用 SPSS 26 的单变量方差分析及 Duncan 法检验不同尿液添加量和不同灭菌方法下 CO<sub>2</sub> 排放量之间的差异显著性 (显著性水平为 0.05)。对于不符合正态分布和方差齐性的数据, 采用非参数检验的独立样本检验分析不同处理的结果之间是否存在显著性差异 (显著性水平为 0.05)。利用线性回归分析方法评估不同处理间 CO<sub>2</sub> 排放量与土壤可溶性有机碳之间的关系, 采用 Pearson 系数对 CO<sub>2</sub> 排放量与土壤理化性质进行相关分析, 用 Origin 2022 绘图。文中 CO<sub>2</sub> 数据皆为 4 个重复的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤 CO<sub>2</sub> 排放特征

同一灭菌条件下, 土壤 CO<sub>2</sub> 排放量随着尿液添加量的增加总体呈上升趋势 (图 1)。不灭菌与氯仿熏蒸灭菌处理下土壤 CO<sub>2</sub> 排放量随着尿液添加量的增加而增大, 而高压蒸汽灭菌处理的土壤 CO<sub>2</sub> 排放量在尿液添加量达 500 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup> 后则不再变化。同一尿液添加量下, 不灭菌方式下土壤 CO<sub>2</sub> 排放量显著高于灭菌处理 ( $P<0.05$ ), 其中不灭菌方式的土壤 CO<sub>2</sub> 排放量比高压蒸汽灭菌处理高 6~20 倍, 比氯仿熏蒸灭菌处理高 14%~39%。再者, 氯仿熏蒸灭菌处理下土壤 CO<sub>2</sub> 排放量也显著高于高压蒸汽灭菌处理, 前者高出后者 5~16 倍 ( $P<0.05$ )。

综上所述, 灭菌处理可减少土壤 CO<sub>2</sub> 排放, 但氯仿熏蒸灭菌的抑制效果较差, 所以本研究基于不灭菌和高压蒸汽灭菌处理来计算生物和非生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献。生物和非生物过程对 CO<sub>2</sub> 排



不同大写字母表示同一灭菌处理下不同尿液添加量之间差异显著 ( $P<0.05$ ); 不同小写字母表示同一尿液添加量处理下不同灭菌方式之间差异显著 ( $P<0.05$ )。

图 1 不同灭菌方式和不同尿液添加量处理下土壤 CO<sub>2</sub> 累积排放量

Figure 1 Cumulative CO<sub>2</sub> emissions from the soils affected by sterilization and urine addition

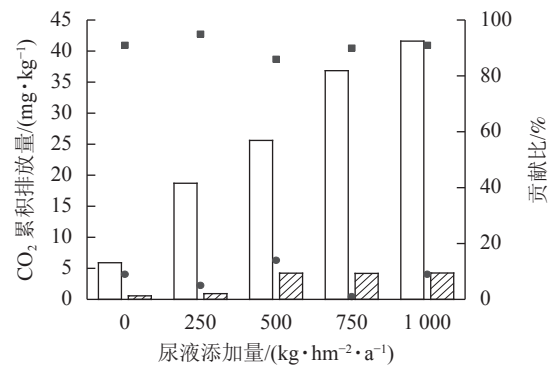


图 2 生物和非生物过程在不同尿液处理下对土壤 CO<sub>2</sub> 累积排放量的贡献

Figure 2 Contribution of biotic and abiotic processes to cumulative soil CO<sub>2</sub> emissions under different amount of urine addition

放的贡献为 86%~95% 和 5%~14% (图 2)。在尿液添加量为  $500 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  时, 非生物过程对  $\text{CO}_2$  排放的贡献最大, 达 14%; 在尿液添加量为  $250 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  时, 生物过程对  $\text{CO}_2$  排放的贡献最大, 达 95%。

## 2.2 土壤理化指标

不灭菌方式下, 土壤有机碳、全氮质量分数随尿液添加量的增加总体呈递减趋势, 土壤 pH、可溶性有机碳、溶解性总氮、铵态氮、硝态氮则呈现递增趋势, 其中 pH、可溶性有机碳、硝态氮在不同尿液添加量之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。高压蒸汽灭菌条件下, 土壤溶解性总氮、铵态氮、硝态氮随尿液添加量的增加呈递增的趋势, 不同尿液添加量之间土壤有机碳、全氮、pH、可溶性有机碳差异不显著。氯仿熏蒸灭菌方式下, 土壤 pH、溶解性总氮、铵态氮、硝态氮呈现递增的趋势且各处理之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。对于相同的尿液添加量, 高压蒸汽灭菌处理的土壤可溶性有机碳和溶解性总氮高于不灭菌和氯仿熏蒸灭菌处理; 而不灭菌处理的土壤 pH 和铵态氮总体上高于灭菌处理 (表 1)。

表 1 不同灭菌方式和不同尿液添加量处理下土壤的化学性质

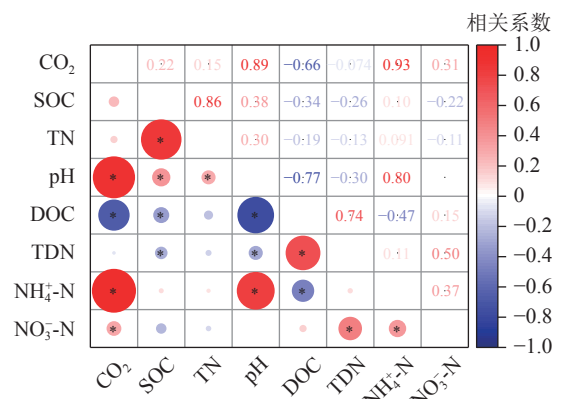
灭菌方式	尿液添加量/ ( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ )	有机碳/ ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	全氮/ ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	pH	可溶性有机碳/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	溶解性总氮/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	铵态氮/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	硝态氮/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
不灭菌	0	63.95 a	6.20 a	6.08 e	265.32 c	45.76 b	92.95 b	20.77 d
	250	59.58 b	5.57 bc	6.24 d	277.86 c	66.63 ab	165.81 ab	21.48 cd
	500	56.97 b	5.55 c	6.36 c	320.48 b	96.41 ab	254.75 ab	25.07 c
	750	59.30 b	5.80 b	6.48 b	337.21 b	132.36 a	348.65 a	48.74 b
	1 000	57.90 b	5.73 bc	6.61 a	396.17 a	150.13 a	330.67 a	53.27 a
高压蒸汽灭菌	0	55.35 a	5.40 a	5.50 a	1 439.26 a	101.44 b	117.43 b	34.35 b
	250	55.15 a	5.43 a	5.50 a	1 480.46 a	132.23 b	129.29 a	35.55 b
	500	55.40 a	5.53 a	5.50 a	1 536.71 a	159.28 ab	124.44 ab	49.98 a
	750	55.13 a	5.45 a	5.48 a	1 579.73 a	171.40 ab	118.96 ab	43.34 ab
	1 000	55.43 a	5.35 a	5.48 a	1 548.92 a	189.43 a	120.87 ab	41.60 ab
氯仿灭菌	0	53.60 b	5.15 b	5.64 d	250.07 a	59.05 d	106.59 b	35.19 b
	250	56.90 ab	5.53 ab	5.85 c	242.11 ab	66.95 c	140.95 ab	36.39 b
	500	57.40 ab	5.60 ab	6.03 b	222.34 b	76.45 b	195.46 ab	50.82 a
	750	60.43 a	5.80 a	6.15 a	243.17 ab	92.43 a	245.57 ab	44.18 ab
	1 000	55.30 ab	5.10 b	6.23 a	237.76 ab	97.45 a	292.04 a	41.98 ab

说明: 不同小写字母表示同一灭菌方式处理下不同尿液添加量之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

## 2.3 土壤 $\text{CO}_2$ 排放速率与土壤指标的关系

相关分析 (图 3) 发现: 土壤  $\text{CO}_2$  排放量与土壤 pH、铵态氮、硝态氮呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与有机碳、全氮、溶解性总氮不存在相关性。

由于  $\text{CO}_2$  的排放量与土壤可溶性有机碳质量分数 (培养结束后测定值) 总体呈现明显负相关, 与以往结论相反, 故对不同处理分别展开相关性分析。不灭菌方式处理下的土壤  $\text{CO}_2$  排放量与土壤可溶性有机碳质量分数呈现正相关, 经过高压蒸汽灭菌和氯仿熏蒸处理后的  $\text{CO}_2$  排放量与土壤可溶性有机碳质量分数不存在线性相关 (图 4)。基于灭菌处理引起的土壤可溶性有机碳质量分数改变, 导致了土壤可溶性有机碳与  $\text{CO}_2$  排放量相关性的丧失, 使得整体呈现负相关。



SOC. 土壤有机碳; TN. 全氮; DOC. 可溶性有机碳; TDN. 溶解性总氮;  $\text{NH}_4\text{-N}$ . 铵态氮;  $\text{NO}_3\text{-N}$ . 硝态氮。\* 表示相关显著 ( $P < 0.05$ )。

图 3 土壤各化学性质的相关分析

Figure 3 Correlation between the soil chemical properties

生物和非生物过程排放的  $\text{CO}_2$  均与土壤可溶性有机碳质量分数呈正相关, 但生物与非生物过程对土壤可溶性有机碳的敏感度不同, 前者的敏感度更高 (图 5A)。生物和非生物有机碳矿化是正相关的 (图 5B), 非生物过程对土壤  $\text{CO}_2$  排放的贡献与土壤可溶性有机碳不存在相关性 (图 5C)。

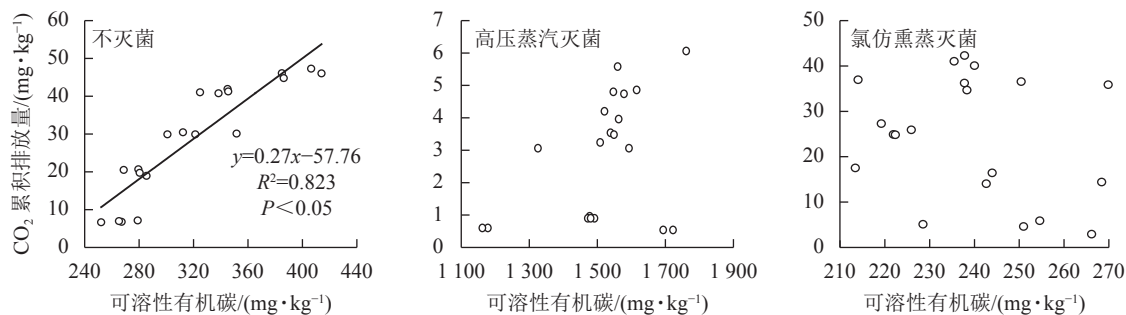


图 4 不同灭菌方式处理下土壤可溶性有机碳与  $\text{CO}_2$  累积排放量的关系

Figure 4 Relationship between soil dissolved organic carbon content and cumulative  $\text{CO}_2$  emission from the soils affected by sterilization

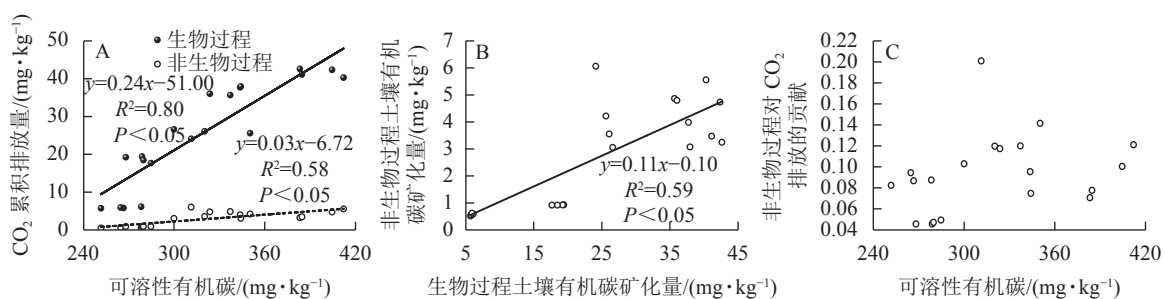


图 5 生物和非生物过程土壤有机碳矿化量与土壤可溶性有机碳的关系

Figure 5 Relationship between soil  $\text{CO}_2$  emissions from biotic and abiotic processes and soil DOC concentration

### 3 讨论

不论是否进行灭菌处理, 土壤  $\text{CO}_2$  排放量均会随着尿液添加量的增加而增大, 不过在高压蒸汽灭菌处理下土壤  $\text{CO}_2$  排放量仅在部分尿液添加量处理间呈现显著差异。本研究结果与蒋梦蝶等<sup>[35]</sup>的研究一致。尿液添加量的增加为微生物提供了氮源, 从而增强了微生物活性, 促进有机碳矿化以及尿素分解后产生  $\text{CO}_2$ , 两者共同作用, 导致  $\text{CO}_2$  排放量增加。也有研究认为: 添加尿液可造成土壤碳的分解以及土壤碳的溶解和浸出<sup>[36]</sup>, 从而促进土壤  $\text{CO}_2$  排放, 这可能是影响灭菌处理组  $\text{CO}_2$  排放的主要机制。但在高温高压灭菌处理中, 由于有机碳矿化以非生物过程为主, 因此尿液添加量的增加对土壤  $\text{CO}_2$  排放的促进效果并不十分明显, 所以仅在部分尿液添加量处理间呈现显著差异。

相同尿液添加量下, 灭菌处理显著降低了土壤  $\text{CO}_2$  排放量, 且氯仿熏蒸处理的土壤  $\text{CO}_2$  排放量显著高于高压蒸汽灭菌处理。氯仿熏蒸可有效破坏土壤微生物的细胞膜结构, 导致细胞裂解并将细胞内容物碳、氮等释放到土壤中<sup>[14]</sup>。然而, 有研究发现: 熏蒸处理后的土壤微生物整体表现活性并未有效降低<sup>[37]</sup>; 即使 90% 以上的土壤微生物被氯仿熏蒸破坏, 在去除熏蒸剂和熏蒸剂杀死的微生物量碳的矿化后, 有机碳矿化速率与未熏蒸土壤基本相同<sup>[30, 38]</sup>。由此可见, 氯仿熏蒸灭菌效果并不完全。本研究发现: 高压蒸汽灭菌法对于土壤  $\text{CO}_2$  排放有明显抑制作用但不完全阻碍土壤  $\text{CO}_2$  的排放, 这可能与高压灭菌破坏细胞内外生化过程, 但却同时保持非生物过程完整有关<sup>[14]</sup>。土壤经高压蒸汽灭菌处理后, 微生物大量死亡, 导致土壤  $\text{CO}_2$  排放作用减弱, 此时有机碳矿化以非生物过程为主。本研究发现: 土壤  $\text{CO}_2$  排放量与土壤可溶性有机碳总体呈负相关, 这与以往的结论相悖。通过将数据按照不同灭菌处理拆分析发现: 高压蒸汽灭菌和氯仿熏蒸灭菌处理下的  $\text{CO}_2$  排放量与土壤可溶性有机碳均无显著相关性。据此推断, 土壤  $\text{CO}_2$  排放量与土壤生化指标的正相关性很大程度上与生物过程的参与有关。廖添怀等<sup>[39]</sup>研究指出: 有生物过程参与的土壤  $\text{CO}_2$  排放与土壤可溶性有机碳呈正相关。然而, 经过高压蒸汽灭菌处理后, 土壤  $\text{CO}_2$  排放量远低于不灭菌和氯仿熏蒸灭菌处理, 但同时其土壤可溶性有机碳质量分数

却远高于其他处理组，这是由于高温高压处理中蒸汽杀死土壤中大量微生物<sup>[40]</sup>，死亡的生物细胞快速释放出有机质进入土壤，使得土壤中的可溶性有机碳质量分数显著增加<sup>[41]</sup>。由此推测，高压蒸汽灭菌处理使得土壤环境发生剧烈改变，从而出现土壤可溶性有机碳质量分数骤增而 CO<sub>2</sub> 排放量大幅度下降，将高压蒸汽灭菌处理的数据并入分析是导致负相关趋势的关键原因。不过，高压高温环境导致的土壤可溶性有机碳质量分数骤增如何影响非生物 CO<sub>2</sub> 产生过程还有待进一步研究和探讨。

生物和非生物过程产生的 CO<sub>2</sub> 均与土壤可溶性有机碳显著正相关，其中生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献比非生物过程更大，这一结论与 BENOIT 等<sup>[15]</sup>的研究结果相近。再者，BENOIT 等<sup>[15]</sup>还发现：非生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放量的贡献随着可溶性有机碳质量分数的增加而增大，而本研究中非生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献与土壤可溶性有机碳不存在相关性。这可能是灭菌方法不同而导致的。本研究中高压蒸汽灭菌法使得土壤可溶性有机碳质量分数明显提升，因此两者之间不存在相关性。在以往研究中发现：当生物过程较强时，非生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的影响可以忽略不计；然而，如果生物过程较弱，非生物过程可能主导土壤 CO<sub>2</sub> 排放<sup>[10]</sup>。虽然高压灭菌法并不是区分非生物和生物过程 CO<sub>2</sub> 排放的准确方法，但其是各种土壤灭菌方法中的最佳方法，所得结果可视为接近真实情况的参考值<sup>[42]</sup>。

## 4 结论

不论是否进行灭菌处理，尿液返还对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的促进效应会随着尿液返还量的增加而呈增大趋势，但在尿液添加量超过一定梯度时，土壤 CO<sub>2</sub> 排放量不再受尿液添加量的影响。在本研究中，生物和非生物有机碳矿化过程对不同尿液返还量的响应趋于相同，但生物过程对土壤可溶性有机碳的敏感度更高，且生物过程对土壤 CO<sub>2</sub> 排放的贡献是非生物过程的 6~19 倍。非生物过程在某些条件下对土壤 CO<sub>2</sub> 排放具有重要贡献，因此，非生物过程 CO<sub>2</sub> 排放对不同人类活动或全球气候变化的响应机制还需深入研究。

## 5 参考文献

- [1] LAL R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security [J]. *Science*, 2004, **304**(5677): 1623 – 1627.
- [2] 苏永中, 赵哈林. 土壤有机碳储量、影响因素及其环境效应的研究进展 [J]. *中国沙漠*, 2002, **22**(3): 19 – 27.  
SU Yongzhong, ZHAO Halin. Advances in researches on soil organic carbon storages affecting factors and its environmental effects [J]. *Journal of Desert Research*, 2002, **22**(3): 19 – 27.
- [3] LI Wen, WANG Jinlan, ZHANG Xiaojiao, *et al.* Effect of degradation and rebuilding of artificial grasslands on soil respiration and carbon and nitrogen pools on an alpine meadow of the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Ecological Engineering*, 2018, **111**: 134 – 142.
- [4] 张振华, 刘振杰, 陈白洁, 等. 枯落物添加对三江源区退化高寒草甸土壤碳矿化的影响 [J]. *草地学报*, 2021, **29**(增刊1): 156 – 164.  
ZHANG Zhenhua, LIU Zhenjie, CHEN Baijie, *et al.* Effects of litter addition on soil organic carbon mineralization in the degraded alpine meadow in the Three-River Headwaters region [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, **29**(suppl 1): 156 – 164.
- [5] 马晗, 王小国. 氯仿熏蒸对紫色土农田土壤有机碳矿化的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2022, **30**(11): 1819 – 1826.  
MA Han, WANG Xiaoguo. Effects of chloroform fumigation on soil organic carbon mineralization in purple soil farmland [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, **30**(11): 1819 – 1826.
- [6] GUO Zhen, HAN Jichang, LI Juan, *et al.* Correction: effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure [J/OL]. *PLoS One*, 2019, **14**(1): e0216006[2023-02-01]. doi: 10.1371/journal.pone.0216006.
- [7] 季波, 何建龙, 王占军, 等. 宁夏天然草地植被碳储量特征及构成 [J]. *应用生态学报*, 2021, **32**(4): 1259 – 1268.  
JI Bo, HE Jianlong, WANG Zhanjun, *et al.* Characteristics and composition of vegetation carbon storage in natural grassland in Ningxia, China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, **32**(4): 1259 – 1268.
- [8] 张亚亚, 郭颖, 刘海红, 等. 青藏高原表土有机碳、全氮含量分布及其影响因素 [J]. *生态环境学报*, 2018, **27**(5): 866 – 872.

- ZHANG Yaya, GUO Ying, LIU Haihong, *et al.* Content and impact factors of soil organic carbon and total nitrogen on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. *Ecology & Environmental Sciences*, 2018, **27**(5): 866 – 872.
- [9] LI Qinlu, LIU Yang, KOU Dan, *et al.* Substantial non-growing season carbon dioxide loss across Tibetan alpine permafrost region [J]. *Global Change Biology*, 2022, **28**(17): 5200 – 5210.
- [10] MA Jie, LIU Ran, LI Yan. Abiotic contribution to total soil CO<sub>2</sub> flux across a broad range of land-cover types in a desert region [J]. *Journal of Arid Land*, 2017, **9**(1): 13 – 26.
- [11] WANG Bin, LERDAU M, HE Yongli. Widespread production of nonmicrobial greenhouse gases in soils [J]. *Global Change Biology*, 2017, **23**(11): 4472 – 4482.
- [12] LIU Jiangong, HARTMANN S C, KEPPLER F, *et al.* Simultaneous abiotic production of greenhouse gases (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and N<sub>2</sub>O) in subtropical soils [J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2019, **124**(7): 1977 – 1987.
- [13] 刘慕瑛. 生物和非生物过程对南亚热带森林土壤有机碳分解的贡献及其温湿度敏感性[D]. 广东: 广州大学, 2021.  
LIU Muying. *Contribution of Biotic and Abiotic Decomposition Soil Organic Carbon and Its Sensitivity to Temperature and Moisture in Subtropical Forests* [D]. Guangdong: Guangzhou University, 2021.
- [14] BLANKINSHIP J C, BECERRA C A, SCHAEFFER S M, *et al.* Separating cellular metabolism from exoenzyme activity in soil organic matter decomposition [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, **71**: 68 – 75.
- [15] BENOIT K, SÉBASTIEN F, AUDREY L, *et al.* Cellular and non-cellular mineralization of organic carbon in soils with contrasted physicochemical properties [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, **125**: 286 – 289.
- [16] 马杰, 王忠媛, 唐立松, 等. 非生物过程对盐碱土土壤CO<sub>2</sub>通量的影响[J]. 干旱区地理, 2014, **37**(3): 555 – 560.  
MA Jie, WANG Zhongyuan, TANG Lisong, *et al.* Effect of soil abiotic processes on soil CO<sub>2</sub> flux in saline/alkaline soils [J]. *Arid Land Geography*, 2014, **37**(3): 555 – 560.
- [17] 伍旖旎, 许依, 傅童成, 等. 施氮对贫瘠红壤定植芒草根际土有机碳矿化过程的影响[J]. 草地学报, 2022, **30**(4): 801 – 809.  
WU Yini, XU Yi, FU Tongcheng, *et al.* Effects of nitrogen application on organic carbon mineralization in rhizosphere soil of miscanthusspp. in the barren red soil [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, **30**(4): 801 – 809.
- [18] 马天娥, 魏艳春, 杨宪龙, 等. 长期施肥措施下土壤有机碳矿化特征研究[J]. 中国生态农业学报, 2016, **24**(1): 8 – 16.  
MA Tiane, WEI Yanchun, YANG Xianlong, *et al.* Mineralization characteristics of soil organic carbon under long-term fertilization management [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2016, **24**(1): 8 – 16.
- [19] MAJUMDAR D, PATEL M, DRABAR R, *et al.* Short-term emissions of ammonia and carbon dioxide from cattle urine contaminated tropical grassland microcosm [J]. *Environmental Monitoring & Assessment*, 2006, **122**: 9 – 25.
- [20] LIU Shuangyuan, ZHENG Rongbo, GUO Xuelian, *et al.* Effects of yak excreta on soil organic carbon mineralization and microbial communities in alpine wetlands of southwest of China [J]. *Journal of Soils Sediments*, 2019, **19**(1): 1490 – 1498.
- [21] CLOUGH T J, KELLIHER F M. Dairy farm effluent effects on urine patch nitrous oxide and carbon dioxide emissions [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2005, **34**(3): 979 – 986.
- [22] UCHIDA Y, CLOUGH T J, KELLIHER F M, *et al.* Effects of bovine urine, plants and temperature on N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> emissions from a sub-tropical soil [J]. *Plant and Soil*, 2011, **345**(1/2): 171 – 186.
- [23] PETERSEN S O, ROSLEV P, BOL R. Dynamics of a pasture soil microbial community after deposition of cattle urine amended with [<sup>13</sup>C] urea [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2004, **70**(11): 6363 – 6369.
- [24] COMADRAN-CASAS C, SCHASCHKE C J, AKUNNA J C, *et al.* Cow urine as a source of nutrients for Microbial-Induced Calcite Precipitation in sandy soil [J/O]. *Journal of Environmental Management*, 2022, **304**(3): 114307 [2023-02-01]. doi:10.1016/j.jenvman.2021.114307.
- [25] DU Yuhan, GUO Peng, LIU Jianqiu, *et al.* Different types of nitrogen deposition show variable effects on the soil carbon cycle process of temperate forests [J]. *Global Change Biology*, 2014, **20**(10): 3222 – 3228.
- [26] 韩米雪, 郁红艳, 刘潘洋, 等. 大气二氧化碳摩尔分数升高对土壤有机碳稳定性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2021, **38**(5): 963 – 972.  
HAN Mixue, YU Hongyan, LIU Panyang, *et al.* Effects of the mole fraction of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on soil organic carbon stability [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2021, **38**(5): 963 – 972.
- [27] CAI Yanjiang, DU Ziyin, YAN Yan, *et al.* Greater stimulation of greenhouse gas emissions by stored yak urine than urea in



- an alpine steppe soil from the Qinghai-Tibetan Plateau: a laboratory study [J]. *Grassland Science*, 2017, **63**(3): 196 – 207.
- [28] ARENS S J T, SULLIVAN P F, WELKER J M. Nonlinear responses to nitrogen and strong interactions with nitrogen and phosphorus additions drastically alter the structure and function of a high arctic ecosystem [J/OL]. *Journal of Geophysical Research*, 2008, **113**: G03S09 [2023-02-01]. doi: 10.1029/2007JG000508.
- [29] 哈斯木其尔, 张学耀, 牛国祥, 等. 氮素添加对内蒙古草甸草原生态系统CO<sub>2</sub>交换的影响[J]. *植物学报*, 2018, **53**(1): 27 – 41.  
Hasi Muqier, ZHANG Xueyao, NIU Guoxiang, *et al.* Effects of nitrogen addition on ecosystem CO<sub>2</sub> exchange in a meadow steppe, Inner Mongolia [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2018, **53**(1): 27 – 41.
- [30] BROOKES P C, CHEN Yanfeng, CHEN Lin, *et al.* Is the rate of mineralization of soil organic carbon under microbiological control? [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, **112**: 127 – 139.
- [31] 姜林, 胡骥, 杨振安, 等. 植物功能群去除对高寒草甸群落结构、多样性及生产力的影响[J]. *生态学报*, 2021, **41**(4): 1402 – 1411.  
JIANG Lin, HU Ji, YANG Zhen'an, *et al.* Effects of plant functional group removal on community structure, diversity and production in alpine meadow [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, **41**(4): 1402 – 1411.
- [32] 袁梦, 杨庭潇, 冯晓, 等. 若尔盖生态区旅游气候资源及空气清新度分析[J]. *高原山地气象研究*, 2021, **41**(4): 131 – 135.  
YUAN Meng, YANG Tingxiao, FENG Xiao, *et al.* Analysis of tourism climate resources and air freshness in Ruergai Ecological Zone [J]. *Plateau & Mountain Meteorology Research*, 2021, **41**(4): 131 – 135.
- [33] de KLEIN C A M, van LOGTESTIJN R S P. Denitrification and N<sub>2</sub>O emission from urine-affected grassland soil [J]. *Plant & Soil*, 1994, **163**(2): 235 – 241.
- [34] HEIL J, LIU Shurong, VEREECKEN H, *et al.* Abiotic nitrous oxide production from hydroxylamine in soils and their dependence on soil properties [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, **84**: 107 – 115.
- [35] 蒋梦蝶, 何志龙, 孙赞, 等. 尿素和生物质炭对茶园土壤pH值及CO<sub>2</sub>和CH<sub>4</sub>排放的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, **37**(1): 196 – 204.  
JIANG Mengdie, HE Zhilong, SUN Yun, *et al.* The effect of wheat-straw derived biochar on the soil pH and emissions of CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> from tea garden soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, **37**(1): 196 – 204.
- [36] LAMBIE S M, SCHIPPER L A, BALKS M R, *et al.* Priming of soil decomposition leads to losses of carbon in soil treated with cow urine [J]. *Soil Research*, 2013, **51**(6): 513 – 520.
- [37] 郑嘉慧, 陈鸿洋, 李金全, 等. 不同土壤灭菌方法对土壤微生物活性的影响[J]. *复旦学报(自然科学版)*, 2017, **56**(6): 681 – 691.  
ZHENG Jiahui, CHEN Hongyang, LI Jinqian, *et al.* The effects of different soil sterilization treatments on soil microbial activity [J]. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 2017, **56**(6): 681 – 691.
- [38] ZHOU Xiaoyu, CHEN Lin, LI Yong, *et al.* Abiotic processes dominate soil organic matter mineralization: Investigating the regulatory gate hypothesis by inoculating a previously fumigated soil with increasing fresh soil inocula [J/OL]. *Geoderma*, 2020, **373**: 114400 [2023-02-01]. doi: 10.1016/j.geoderma.2020.114400.
- [39] 廖添怀, 李欢, 王艳玲. 稻秆及稻秆生物炭添加对稻田土壤有机碳组分及CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>累积排放量的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2022, **41**(7): 1598 – 1609.  
LIAO Tianhuai, LI Huan, WANG Yanling. Effects of addition of rice straw and rice straw biochar on soil organic carbon fractions and cumulative emissions of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> in reddish paddy soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, **41**(7): 1598 – 1609.
- [40] MARTIN J P, FARMER W J, ERVIN J O. Influence of steam treatment and fumigation of soil on growth and elemental composition of avocado seedlings [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1973, **37**(1): 25 – 28.
- [41] 张辉, 张佳宝, 赵炳梓, 等. 高温高压间歇灭菌对中国典型土壤性质的影响[J]. *土壤学报*, 2011, **48**(3): 540 – 548.  
ZHANG Hui, ZHANG Jiabao, ZHAO Bingzi, *et al.* Influence of autoclaving sterilization on properties of typical soils in China [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, **48**(3): 540 – 548.
- [42] WANG Zhongyuan, XIE Jiangbo, WANG Yugang, *et al.* Biotic and abiotic contribution to diurnal soil CO<sub>2</sub> fluxes from saline/alkaline soils [J/OL]. *Scientific Report*, 2020, **10**(1): 5396 [2023-02-01]. doi: 10.1038/s41598-020-62209-2.