浙 江 农 林 大 学 学 报, 2024, **41**(X): 1-10 Journal of Zhejiang A&F University doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.20230369

蚯蚓活动对毛竹土壤二氧化碳排放及活性有机碳的影响

田肖清凡^{1,2},肖向前^{1,2},邱裕丰^{1,2},卜爱爱^{1,2},雷 刚³, 陈有超¹,蔡春菊³,唐荣贵¹,蔡延江¹

(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,浙江杭州311300; 3. 国际竹藤中心三亚研究基地,海南三亚572000)

摘要:【目的】土壤动物对土壤碳循环至关重要。探究蚯蚓活动对毛竹 Phyllostachys edulis 林下土壤二氧化碳 (CO₂) 排 放及活性有机碳变化的影响。【方法】通过为期 3 个月的温室盆栽试验,以单独种植毛竹为对照 (ck),分别添加凋落物 (MBL) 和凋落物及蚯蚓 (MBLE) 为处理,采用静态箱-气相色谱法分段采集并分析土壤释放的 CO₂,测定土壤有机碳、颗 粒态有机碳、可溶性有机碳、矿物结合态有机碳以及微生物生物量碳质量分数。【结果】蚯蚓活动极显著增加了 20.3% 的毛竹生物量 (P<0.01),其对土壤 CO₂ 排放的影响随时间变化敏感。试验前期 (<51 d), MBLE 处理与 MBL 处 理的 CO2 累积排放量无显著性差异,而试验后期 (>51 d), MBLE 处理的 CO₂ 累积排放量显著高于 MBL 处理 (P<0.05),但试验结束时 (第 85 天), MBLE 处理的土壤 CO₂ 累积排放量较 MBL 处理仅增加 4.5%。此时,MBL 处理 集 CO₂ 排放通量较 MBLE 处理高 25.2%。土壤碳质量分数对蚯蚓活动的响应同样随时间变化敏感。MBLE 处理下的土壤 有机碳、可溶性有机碳、颗粒态有机碳及矿物结合态有机碳质量分数在前 68 d均低于 MBL 处理,但试验结束时 (第 85 天),MBLE 处理的可溶性有机碳质量分数显著提高了 15.2% (P<0.05);土壤有机碳、矿物结合态有机碳和颗粒态有 机碳质量分数分别提高了 8.5%、8.5% 和 10.6%;但土壤微生物生物量碳质量分数极显著降低了 26.3% (P<0.01)。 【结论】蚯蚓活动可促进毛竹生长,增加毛竹林土壤碳质量分数,并在试验结束时降低土壤 CO₂ 排放通量及累计排放 量。图 3 表 2 参 47

关键词:蚯蚓活动;活性有机碳;毛竹;土壤二氧化碳排放 中图分类号: S718.5 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2024)00-0001-10

Responses of CO₂ emissions and labile organic carbon to earthworm activities in *Phyllostachys edulis* soil

TIAN Xiaoqingfan^{1,2}, XIAO Xiangqian^{1,2}, QIU Yufeng^{1,2}, BU Aiai^{1,2}, LEI Gang³, CHEN Youchao¹, CAI Chunju³, TANG Ronggui¹, CAI Yanjiang¹

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China;

2. College of Environment and Resources, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. Sanya Research Base, International Bamboo and Rattan Center, Sanya 572000, Hainan, China)

Abstract: [Objective] The objective is to understand the effects of earthworm activity on soil CO_2 emission and labile organic carbon change in *Phyllostachys edulis* forest, which is crucial to comprehending the role that soil fauna plays in the carbon cycle of *P. edulis* forest. [Method] Three treatments including ck (control,

- 基金项目:浙江省自然科学基金探索项目 (LQ20D010003);国际竹藤中心三亚研究基地基本科研业务费专项资金 项目 (1630032022001)
- 作者简介:田肖清凡 (ORCID: 0009-0003-4636-5144),从事土壤动物对土壤有机碳的影响研究。E-mail: xqftian@ 163.com。通信作者:蔡春菊 (ORCID: 0000-0002-5573-4197),研究员,博士,从事竹林生态学研究。 E-mail: caicj@icbr.ac.cn;唐荣贵 (ORCID: 0000-0002-8460-8042),副教授,博士,从事土壤动物介导的 生态系统碳氮循环研究。E-mail: rgtang@zafu.edu.cn

收稿日期: 2023-06-20; 修回日期: 2023-12-12

P.edulis), MBL (P.edulis with litter) and MBLE (P.edulis with litter and earthworms) were employed to conduct a three-month greenhouse pot experiment. Static chamber-gas chromatograph was used to collect and analyze CO₂ release from soil in different times. The contents of soil organic carbon (SOC), particulate organic carbon (POC), dissolved organic carbon (DOC), mineral-associated organic carbon (MAOC) and microbial biomass carbon (MBC) were measured. [Result] The activity of earthworms significantly increased the biomass of P. edulis by 20.3% ($P \le 0.01$), and the response of soil CO₂ emission to earthworm activity was sensitive to changes over time. There was no significant difference in CO₂ emissions between MBLE treatment and MBL treatment in the early stage of the experiment (\leq 51 d). However, in the later stage of the experiment (>51 d), the cumulative CO₂ emission under MBLE treatment was significantly higher than that under MBL treatment ($P \le 0.05$). On the 85th day, the cumulative CO₂ emission under MBLE treatment increased only by 4.5% compared with MBL treatment. The soil CO_2 emission flux under MBL treatment increased by 25.2% compared with MBLE treatment. The impact of earthworm activity on soil carbon mass fraction was also varies over time. The contents of SOC, DOC, POC and MAOC under MBLE treatment were lower than those under MBL treatment in the first 68 days, while the MBLE treatment significantly increased DOC content by 15.2% on the 85th day ($P \le 0.05$). SOC content, MAOC content, and POC content increased by 8.5%, 8.5%, and 10.6%, respectively. MBC content significantly reduced 26.3% at the end of the experiment ($P \le 0.01$). [Conclusion] Earthworm activity can promote the growth of *P.edulis*, increase soil carbon content, and reduce soil CO₂ emission flux and cumulative emissions at the end of the experiment.[Ch, 3 fig. 2 tab. 47 ref.] Key words: earthworm activity; labile organic carbon; Phyllostachys edulis; soil CO2 emission

土壤动物对土壤碳循环和土壤质量具有重要影响^[1]。蚯蚓作为重要的土壤动物,其呼吸产生的二氧 化碳 (CO₂) 是土壤呼吸的重要组成部分^[2-3],其取食、掘穴、排泄等活动改变土壤理化性质、微生物组成 和活性及其他土壤动物的组成,影响地上植物生长,调节土壤有机碳的固定及矿化等生态过程,间接影 响土壤温室气体的排放^[4-6]。

土壤有机碳 (SOC) 在全球碳循环中扮演重要角色,保持或增加其稳定性是应对全球气候变化的关键 措施之一^[7]。引起土壤有机碳最初变化的主要为易分解、易矿化的活性有机碳,其对外界干扰导致的环 境变化较为敏感^[8],是预测土壤有机碳早期变化的重要指标^[9]。蚯蚓主要从 4 个维度影响土壤有机碳动 态和养分循环:蚯蚓活动、蚯蚓肠道、蚯蚓的排泄物和土壤的长期发育。蚯蚓的取食加强了植物残体分 解中的生物过程,其生理活动又将有机质与矿质土混合,形成的土壤微粒富含有机质,为有机质提供物 理保护的同时减缓有机质的周转,提高土壤潜在的碳固存能力^[10],富含易碱解氮的蚓粪加快了周围凋落 物的矿化过程^[11]。有关蚯蚓活动对土壤 CO₂ 排放影响的 Meta 分析表明:接种蚯蚓后并未影响土壤有机 碳储量,但土壤 CO₂ 排放量增加了 33%^[12]。也有研究表明:蚯蚓能够同时促进土壤有机碳的固定和 CO₂ 的排放,但培养时间超过 750 d 后会造成土壤全碳质量分数的降低^[13]。LUBBERS 等^[14] 同样发现: 蚯蚓活动对土壤 CO₂ 排放的影响主要集中在试验初期,其作用效果会随着时间逐渐减弱^[3],甚至相 反^[15]。JENNINGS 等^[16] 研究表明:尽管蚯蚓对林地土壤碳库影响深远,但土壤总呼吸量不会因此显著升 高,可能是由于蚯蚓所促进的异养呼吸与细根生物量降低的自养呼吸几乎相互抵消。因此,蚯蚓在特定 的生态系统中,在有植物生长的状态下,通过取食凋落物等一系列活动对土壤活性有机碳及 CO₂ 排放的 影响有哪些,值得进一步研究。

毛竹 Phyllostachys edulis 是中国亚热带地区最主要的竹种,约占总竹林面积的 72.9%^[17]。成熟竹林 的地下鞭根系统可以将光合作用固定的碳持续输入土壤中^[18],固碳趋势明显,固碳增汇潜力大,对平衡 大气 CO₂ 具有重要作用^[19]。当前对竹林进行经营 (林地除草、垦复、施肥、覆盖和灌溉等) 是中国竹产 区竹林培育的普遍作业方式^[20]。施肥在显著提高毛竹林生产力的同时,会消耗土壤更多的有机质^[17-18],造成土壤碳的流失。

毛竹林生态系统为蚯蚓提供适宜的生境,毛竹林下凋落物可供蚯蚓取食;蚯蚓活动可以改善土壤性质,其粪便还能增加土壤肥力。然而蚯蚓活动如何影响毛竹林土壤 CO₂ 排放和活性有机碳仍不明晰。本研究以毛竹林土壤为研究对象,通过温室盆栽设置竹林生态微系统培养试验,研究蚯蚓活动对毛竹土壤中 CO₂ 排放及活性有机碳的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤及凋落物均于 2020 年 10 月采自浙江省湖州市安吉县灵峰寺毛竹林基地。灵峰林场地处 30°29'N, 119°38'E, 海拔为 150~200 m, 竹林面积为 108 hm², 其中毛竹面积为 86 hm², 毛竹立竹量为 1.7 亿株^[21], 过去 10 余年收获的生物产量平均为 33.33 t·hm⁻²·a^{-1 [22]}。土壤为种植多年的毛竹林土壤。采 集 0~20 cm 层次土样, 剔除石块、大中型土壤动物及根茎等残体后过 2 mm 筛。选取毛竹林内 3 种典型 植物,分别为毛竹、金星蕨 Parathelypteris glanduliger 和紫金牛 Ardisia japonica,按照毛竹林内面积占 比 (4.5:2.0:1.0)采摘。清洗后杀青并烘干,用多功能粉碎机 (JP-400C) 磨碎,过 2 mm 筛,混入 0~20 cm 土壤中,作为试验用凋落物。根据毛竹林土壤实际勘测,凋落物添加量为土壤质量的 1%。供试土壤 pH 为 5.43,含水量为 20%,土壤有机碳质量分数为 1.35 g·kg⁻¹,可溶性有机碳为 13.91 mg·kg⁻¹,微生 物生物量碳为 42.31 mg·kg⁻¹,全氮为 1.03 g·kg⁻¹。

毛竹苗购于某生态竹种农场,生物量为 10~15 g·株⁻¹。蚯蚓选用具有生殖环带的成熟威廉环毛蚓 *Pheretima tschiliensis*,体质量为 1.5~2.0 g·条⁻¹。为减少试验误差,需在接种前 1 周将蚯蚓置于试验土壤 中预培养,以排除肠道内容物。

1.2 试验设计

在盆栽装置中置入 30 kg 供试土壤,试验周期为 85 d,共设 3 个处理:①盆栽内仅种植毛竹作为空白对照 (ck);②毛竹盆栽内添加凋落物 (MBL);③毛竹盆栽内同时添加凋落物及蚯蚓 (MBLE)。每个处理 4 个重复,并做完全随机区组设计。为避免盆栽土壤采样后因容积改变对气体排量产生影响,同时设置采土 (图 1A) 和采气 (图 1B) 2 组。

选取竹径、竹高均相近的毛竹苗,每个盆内栽种1株。待长势稳定后,试验正式开始前1d将9.6kg 试验用凋落物均匀混入 MBL 和 MBLE 盆栽土壤中 (0~20 cm),选取大小均匀,体型相近的蚯蚓放入 MBLE 盆栽中,每盆5条。为防止蚯蚓逃逸,避免造成实验误差,每个盆内均装置尼龙网,并保证光照 条件,满足植物正常所需。试验开始后第1、3、5、7、9、16、23、30、51、65、78、85 天采集气体, 共12次;第17、34、51、68、85 天采集土样,共5次。

采土组中 ck 和 MBL 处理为随机取样,每个处理 4 盆,共设 8 盆;为避免采土过程中误伤蚯蚓,同时防止蚯蚓活动混匀原土壤和采土后补充的土壤,采取破坏性取样,MBLE 处理共设 20 个盆栽装置 (4 个重复×5 次破坏性取样),养殖 100 条蚯蚓。每个土样采集点都尽可能分布在毛竹周围,利用土钻取 出盆内 0~20 cm 的土壤,每次土壤采集 500 g。为避免采土后的缺口影响竹子后续正常生长,需要用毛 竹土填满采样洞,并用聚氯乙烯小棒立于采样点表面做标记,避免同一位置重复采样。采集后的新鲜土 样过 2 mm 筛后混合均匀并风干保存,用于测定其他基本理化指标。

为避免采土后原土壤减少和新加入的土壤造成气体排放不一致,故单独设计采气组。利用静态箱法 收集 CO₂,静态箱材质为聚氯乙烯,规格为直径 50 cm,高 50 cm。外层贴铝箔纸,保温防晒;其内部 设有风扇,用于混匀气体。盆栽装置的边缘设计凹槽,采气时,将静态箱嵌入凹槽内,而后向该槽中加 入适量水,以确保形成1个密闭的空间。3 组处理各设4个盆栽,共计12个盆栽和12个静态箱。每次 采气时间为 7:00—11:00,每个盆栽采集4个气样。采气具体操作为:用带有三通阀的医用注射器抽取 20 mL 气体打入真空瓶中,分别于封箱后 0、10、20、30 min 采集气体。采集后的气体瓶带回实验室用 气相色谱仪 (7890B) 进行分析。每次采集气体时,用土壤温湿度仪测定土壤 10 cm 处的土壤体积含水量 和土壤温度^[23]。

1.3 测定项目与方法

土壤理化性质的测定参考《土壤农业化学分析方法》^[24]。土壤 pH采用 pH 计测定 (水土质量比为

2.5:1.0); 土壤有机质采用高温外加热重铬酸钾氧化-容量法测定,并用相关系数换算成土壤有机碳 (SOC)质量分数; 可溶性有机碳 (DOC)使用总有机碳分析仪 (Multi N/C 3100)测定 (水土质量比为 5:1)。

土壤颗粒态有机碳 (POC) 参照 CAMBARDELLA 等^[25] 的测定方法:取风干土样 20 g (过 2 mm 筛)和 5 g·L⁻¹ 的六偏磷酸钠 (NaPO₃)₆ 溶液 100 mL 放入 250 mL 三角瓶中,90 r·min⁻¹ 震荡 18 h,完成后将 混合液过 53 µm 筛冲洗至滤液澄清后,将筛上的土 壤置于烧杯中,放至 60 ℃ 烘箱 中烘干 12 h, 得到颗粒土并进行称量。而后将颗粒土研磨过 250 µm 筛,利用重铬酸钾-浓硫酸外加热法 (油浴) 测定颗粒 土中的有机碳质量分数。土壤颗粒态有机碳质量分



图1 盆栽装置设计图

Figure 1 A diagram of the chambers used in pot experiment

数=颗粒土中有机碳质量分数×颗粒土比例,土壤矿物结合态有机碳 (MAOC)=土壤有机碳质量分数--颗粒态有机碳质量分数。

土壤微生物生物量碳 (MBC) 使用氯仿-熏蒸浸提法^[26-28] 测定:土样做熏蒸和未熏蒸 2 种处理,用 0.5 mol·L⁻¹ 硫酸钾分别浸提后,使用总有机碳分析仪测定滤液中的碳质量分数,用熏蒸和未熏蒸样品间差 值除以相应系数,即获得微生物生物量碳质量分数。

温室气体采集利用静态箱法^[29],单位面积内 CO₂ 排放通量随时间的变化用线性关系来计算^[30]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2016 处理实验数据, SPSS 18.0 对数据结果进行统计分析。使用 ANONA 单因素方差分析 (Duncan 检验法比较多个处理均值间差异, *P*<0.05),采用 Spearman 相关系数法分析数据的相关性 (*P*<0.05)。利用 Origin 8.0 进行绘图。标准误没有特殊说明,则代表 4 个重复 (*n*=4) 的测量标准误。

2 结果分析

2.1 蚯蚓和毛竹的存活率及生物量变化

试验结束时 (第 85 天),采土组中剩余毛竹苗 27 株 (共 28 株),存活率约为 96.4%;剩余蚯蚓 75 条 (共 100 条),存活率约为 75.0%。MBL 处理的毛竹生物量高于 ck 处理 18.1%;MBLE 处理的毛竹生物量 显著高于 MBL 处理 20.3% (*P*<0.05),显著高于 ck 处理 34.8% (*P*<0.05)。

MBLE处理毛竹生物量整体呈上升趋势(表 1)。第 17~34 天毛竹生物量极显著增加 34.3% (P< 0.01),第 51~68 天毛竹生物量显著增加 21.8% (P<0.05),第 85 天毛竹生物量比第 17 天增长了 51.9%。

蚯蚓生物量同样整体呈上升趋势,第 17~34 天蚯蚓生物量极显著增加 39.3% (P<0.01);第 34~68 天 无显著差异,可能是期间有蚯蚓死亡,造成生物量增长幅度的降低;第 68~85 天蚯蚓生物量极显著增加 23.8% (P<0.01),其生物量比试验开始时增长了 62.8%。

2.2 土壤 CO₂ 排放

不同处理的土壤 CO₂ 排放通量均有 2 次峰值 (表 2), ck 分别在第 16 天和第 51 天, MBL 处理分别在 第 7 天和第 16 天, MBLE 处理分别在第 5 天和第 51 天。第 85 天, MBL 处理的 CO₂ 排放量最高,为 34.75 mg·kg⁻¹·h⁻¹, 比 MBLE 处理高 25.2%,比 ck 高 31.6%; MBLE 处理的 CO₂ 排放量仅比 ck 高 8.6%。

3 组处理的土壤 CO₂分段累积排放量走势基本一致。第 1~9天,3 组处理间无显著性差异;第 16~23天,MBLE 处理的 CO₂累积排放量显著低于 MBL 处理 (*P*<0.05);第 51~78天,MBLE 处理的 CO₂累积排放量高于 MBL 处理;第 85天,凋落物的添加极显著提高了 36.2%的土壤 CO₂排放量 (*P*<0.01),凋落物及蚯蚓的添加极显著提升 39.1%的土壤 CO₂排放量 (*P*<0.01),其中蚯蚓的作用只增 加了 4.5%的土壤 CO₂排放量。

2.3 土壤活性有机碳变化

MBL 处理的土壤有机碳质量分数在试验期间均显著高于 ck 处理 (P<0.05, 图 2A),并从第 51 天起

Table 1 Biomass of Phyllostachys eduli and earthworm in different treatments													
物种	处理	不同取样时间毛竹和蚯蚓生物量/g											
		0	17	34	51	68	85 d						
	ck	11.17±1.05 Ab	-	-	_	-	24.58±1.16 Ba						
毛竹	MBL	13.36±0.77 Ab	-	-	-	-	30.02±1.61 Ba						
	MBLE	14.71±1.13 Ac	18.14±1.74 c	27.60±1.38 b	30.99±1.06 b	39.61±0.89 a	37.68±0.33 Aa						
蚯蚓	MBLE	1.75±0.05 c	2.15±0.06 c	3.54±0.05 b	3.40±0.13 b	3.58±0.07 b	4.70±0.15 a						

表 1 不同处理的毛竹和蚯蚓及毛竹生物量

说明: ck. 盆栽内仅种植毛竹; MBL. 毛竹盆栽内添加凋落物; MBLE. 毛竹盆栽内同时添加凋落物和蚯蚓。--代表无数据。不同大 写字母为同一时间内不同处理的差异显著 (P<0.05),不同小写字母为同一处理不同时间的差异显著 (P<0.05)。

表 2 不同处理 CO₂ 的排放通量和分段累积排放量

Table 2 Soil CO₂ fluxes and phased cumulative CO₂ emissions from different treatments

采样日期 (年-月-日)	试验时间/d	CO ₂ 排放通量/(mg·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)			CO ₂ 分段累积排放量/(mg·kg ⁻¹)		
		ck	MBL	MBLE	ck	MBL	MBLE
2021-01-05	1	18.68±1.97 Abcde	19.49±1.42 Afg	19.85±0.70 Ac	4.48±0.47 Ag	4.68±0.34 Aj	4.76±0.17 Ai
2021-01-07	3	12.73±1.91 Adef	23.89±4.36 Adefg	23.76±1.97 Abc	11.31±0.70 Bg	15.62±1.36 Aij	15.70±0.58 Ahi
2021-01-09	5	14.85±0.72 Bdef	17.22±2.08 Bg	54.13±4.58 Aa	18.18±0.83 Bg	24.68±1.31 Bij	38.04±2.40 Ahi
2021-01-11	7	10.09±1.47 Cf	69.60±2.10 Aa	30.64±3.01 Bbc	23.60±0.56 Bg	51.80±0.69 Ahi	55.56±2.66 Aghi
2021-01-13	9	15.50±1.09 Bdef	33.18±3.67 Abcdef	23.53±1.61 Bbc	30.39±0.37 Bf	72.10±0.68 Ah	67.71±2.79 Afg
2021-01-20	16	24.39±2.52 Bab	44.47±1.96 Ab	30.26±2.36 Bbc	64.97±2.38 Cf	138.68±4.36 Ag	113.70±3.80 Befg
2021-01-21	17	10.24±1.07 Bf	31.58±2.69 Abcdef	29.37±2.78 Abc	71.58±2.31 Cf	155.39±4.33 Afg	127.91±3.06 Bef
2021-01-27	23	11.70±1.41 Bef	20.94±2.23 ABefg	25.61±3.92 Abc	84.92±2.00 Cef	185.62±5.95 Aef	160.44±1.52 Bde
2021-02-03	30	16.54±2.02 Bbcdef	23.22±1.14 ABdefg	29.82±2.56 Abc	109.22±4.08 Be	222.99±7.23 Ae	207.51±4.35 Ad
2021-02-24	51	30.97±2.13 Ba	34.53±1.91 Bbcde	50.15±2.21 Aa	230.68±8.02 Cd	369.87±12.13 Bd	411.47±14.10 Ac
2021-03-10	65	19.70±0.56 Bbcd	25.63±2.35 ABcdefg	30.92±2.30 Abc	314.46±9.13 Cbc	469.87±17.16 Bc	545.36±19.28 Ab
2021-03-13	68	24.07±1.24 Bab	36.61±3.67 Abcd	34.93±1.97 Ab	335.99±8.80 Cb	501.06±16.22 Bc	577.45±20.33 Ab
2021-03-23	78	15.94±1.18 Bcdef	38.48±4.00 Abc	22.82±2.55 Bbc	383.02±8.38 Ca	591.40±11.34 Bb	645.29±22.10 Aa
2021-03-30	85	23.76±1.38 Babc	34.75±2.47 Abcd	25.99±0.85 Bbc	422.07±9.52 Ba	661.25±9.51 Aa	692.53±22.64 Aa

说明:不同大写字母为同一时间内不同处理的差异显著(P<0.05),不同小写字母为同一处理不同时间的差异显著(P<0.05)。

持续降低,于第 85 天降至最低 (13.36 g·kg⁻¹),极显著高于 ck 处理 35.1% (*P*<0.01)。MBLE 处理则在第 17 天开始显著降低 (*P*<0.05),至第 34 天后无显著变化。第 85 天,MBLE 处理的有机碳质量分数仅高 于 MBL 处理 8.5%,无显著差异,但极显著高于 ck 处理 40.6% (*P*<0.01)。

3 组处理的土壤可溶性有机碳质量分数均在第 17 天达到峰值 (图 2B), MBL 和 MBLE 处理均在第 34 天极显著降低 (*P*<0.01)。MBL 处理在第 85 天降到最低 (10.60 mg·kg⁻¹),高于 ck 处理 21.5%。在试验 结束时,MBLE 处理的可溶性有机碳质量分数显著高于 MBL 处理 15.2% (*P*<0.05),极显著高于 ck 处理 33.9% (*P*<0.01)。

3 组处理的土壤颗粒态有机碳质量分数变化趋势基本一致,均呈先升高后降低的趋势 (图 2C)。其中 ck 于第 51 天达到峰值 (15.44 mg·kg⁻¹); MBL 和 MBLE 处理均于第 68 天达到峰值,而后 MBL 处理在第 85 天极显著降至最低,为 24.23 mg·kg⁻¹ (*P*<0.01)。试验结束时,MBLE 处理的颗粒态有机碳质量分数 仅高于 MBL 处理 10.6%,无显著差异,MBLE 处理极显著高于 ck 处理 65.5% (*P*<0.01); MBL 处理极显 著高于 ck 处理 61.4% (*P*<0.01)。

3 组处理的土壤微生物生物量碳质量分数均于第 17 天达到最高 (图 2D)。ck 和 MBL 处理变化趋势相同,均呈先降低后升高趋势,于第 68 天降至最低; MBLE 处理的微生物生物量碳质量分数一直呈下降趋势,于第 85 天降至最低,显著低于 ck 处理 24.4% (P<0.05),显著低于 MBL 处理 26.3% (P<0.05)。



图 2 土壤有机碳、可溶性有机碳、颗粒态有机碳、微生物生物量碳和矿物结合态有机碳动态变化 Figure 2 Dynamics changes of SOC, DOC, POC, MBC and MAOC in different treatments

3 组处理的土壤矿物结合态有机碳质量分数走势与土壤有机碳一致 (图 2E),其原因为土壤颗粒态有 机碳质量分数相对土壤中有机碳极低,故土壤矿物结合态有机碳质量分数与土壤有机碳基本无差异。试 验结束时,MBLE处理的土壤矿物结合态有机碳质量分数较 MBL 处理高 8.5%,无显著差异。

2.4 土壤 CO₂ 排放与土壤活性有机碳相关性分析

由土壤 CO₂ 排放量与土壤活性有机碳的相关性分析可知 (图 3), CO₂ 排放量与土壤有机碳、颗粒态 有机碳和矿物结合态有机碳呈显著相关 (*P*<0.05)。





3 讨论

3.1 蚯蚓活动对毛竹林土壤 CO₂ 排放规律的影响

本研究发现:蚯蚓加入土壤第5天即可显著提高土壤CO₂排放量,可能原因是蚯蚓呼吸产生CO₂的同时,其携带的大量微生物进入土壤进行矿化作用,且土壤包含大量微生物和充足凋落物,蚯蚓可以通过刺激土壤微生物活性,加速土壤矿化^[31-33],从而显著提高土壤CO₂排放量和累积排放量。凋落物的单独添加同样加速土壤碳矿化(第7天),其原因可能为凋落物中的有机碳引起土壤微生物的正向激发效应,从而提升了土壤中碳的周转速率,加快土壤有机碳的矿化以及气体的释放^[34]。MBL与MBLE处理的CO₂排放通量几乎同时达到第1次峰值,且两者的土壤CO₂累积排放量在第7~9天时基本一致。可能原因是本试验采用过2mm筛的凋落物粉末,且与土壤混合均匀,有效提高了微生物与凋

落物的接触表面积;而在自然界中,蚯蚓的破碎作用需要消耗大量时间才能减小凋落物尺寸,达到同样 效果。

MBL 处理的 CO₂ 排放通量于第 16 天达到第 2 次峰值, ck 达到第 1 个峰值, 此时 MBL 处理的 CO₂ 累积排放量开始显著高于 MBLE 处理, 极显著高于 ck。主要原因可能是蚯蚓在更新土壤微生物群 落的同时还会取食微生物^[35],造成了土壤中原微生物生物量的减少;且蚯蚓偏好取食土壤中更易利用的 有机物颗粒^[36],即蚯蚓的添加造成了土壤颗粒态有机碳质量分数的降低。与此同时,土壤 CO₂ 的排放与 颗粒态有机碳质量分数呈显著正相关,这也是第 85 天 MBLE 处理的 CO₂ 总累积排放量显著低于 MBL 处理的原因之一。

MBLE 处理与 ck 的 CO₂ 排放通量同时在第 51 天达到第 2 次峰值,此时 MBLE 处理 CO₂ 累积排放 量反超 MBL 处理,并呈显著差异。在第 17~68 天,MBLE 处理的土壤有机碳、可溶性有机碳、颗粒态 有机碳、微生物生物量碳及矿物结合态有机碳质量分数均低于 MBL 处理,与此同时,MBLE 处理的 CO₂ 排放通量均高于 MBL 处理,即蚯蚓活动在试验中期减少了土壤碳固定,增加了土壤碳矿化,但此 期间 MBL 的 CO₂ 累积排放量高于 MBLE 处理。添加蚯蚓导致 CO₂ 排放通量增加与 BORKEN 等^[3] 研究 结果相同,蚯蚓 *Lumbricina terrestris* 在为期 120 d 的野外试验初期显著促进了土壤 CO₂ 排放。WESSELLS 等^[37] 在农业生态系统的研究中同样发现:蚯蚓对土壤呼吸的影响并非始终统一,但添加蚯蚓的样地的土 壤呼吸比未添加或蚯蚓数量少的样地的土壤呼吸要高。通常认为:蚯蚓促进土壤 CO₂ 排放增加的主要原 因是增强了微生物活性,但本研究中蚯蚓造成土壤微生物生物量碳质量分数降低,故蚯蚓造成土壤 CO₂ 排放通量增加的可能原因有:①蚯蚓呼吸直接产生 CO₂;②蚯蚓对微生物造成捕食压力,促进微生 物对碳的利用效率^[38-39];③蚯蚓活动消耗有机质促使碳矿化。第 16~30 天 MBLE 处理的 CO₂ 累积排放 量比 MBL 处理低,可能原因是毛竹大幅生长利用碳,以及蚯蚓同化自身含碳物质,即蚯蚓的添加显著 提高毛竹生物量。

试验末期(第68天后),MBL处理的土壤CO₂排放通量逐渐趋于稳定,而MBLE处理的土壤CO₂排放通量显著降低。第85天时,MBL处理的土壤CO₂排放通量显著高于MBLE处理,两者CO₂的累积排放量无显著差异。可能原因除了上述提到的蚯蚓取食造成颗粒态有机碳降低从而使土壤CO₂排放减少外,还可能因为蚯蚓不停地取食凋落物及微生物,并通过其生理活动改变微生物生境,导致土壤微生物生物量碳的持续降低,使试验中期尚可通过增加对碳的利用效率的微生物无法保持土壤CO₂的高排放量。随着时间推移,蚯蚓排泄出的粪便也逐渐积累,经过微生物的作用转化为有机质,并随其运动完成空间再分配,混合有机物及矿物土,促进了土壤的碳存储,故试验后期MBLE处理的土壤CO₂排放量降低。

3.2 蚯蚓活动对毛竹林土壤活性有机碳的影响

本研究证实了添加凋落物及同时添加凋落物和蚯蚓均可以显著提高土壤活性有机碳质量分数。凋落物作为外源有机碳引入土壤,促进了凋落物有机碳向土壤有机碳的转化与更新,从而有效提高土壤有机碳活性^[40]。本研究同时证实了蚯蚓活动对土壤碳的影响随时间变化而变化。

本研究表明:添加蚯蚓后的第1个月土壤有机碳、可溶性有机碳和矿物结合态有机碳减少,第3个 月则开始增加。前期结果与 HALE 等^[31]的研究结果类似,该研究表明:蚯蚓活动显著降低了森林地表 物厚度和枯枝落叶层土壤中碳质量分数,加快了森林地表物的周转;EDWARDS 等^[32]的研究也表明: 蚯蚓 *Allolobophora caliginosa* 和 *Octolasion cyaneum* 每年能消耗 0~15 cm 土层中 4%~10%的土壤和 10% 的有机质。可能原因是蚯蚓吞食土壤颗粒的同时也会取食凋落物用于同化自身的含碳物质,其生命活动 需要消耗大量有机质,导致环境中的土壤有机碳质量分数降低^[13]。随着时间推移,蚓粪在微生物的作用 下转化为土壤有机质,并通过蚯蚓运动完成蚓粪的空间再分配^[33],使有机质与矿质土混合,逐渐形成富 含有机质的表层土壤,为有机质提供物理保护。与此同时,蚯蚓运动轨迹可以促进土壤孔隙度、通气性 和入渗率的提高^[41],分泌的黏液及其他代谢产物又是活性高、易被微生物降解的有机质^[42],进而减缓有 机质的周转,提高土壤潜在固碳能力,改变土壤理化结构(如透气性、pH等)。因此,土壤有机碳、可溶 性有机碳和矿物结合态有机碳质量分数在试验第2个月时下降趋势渐缓,直至第3个月开始上升。 MBLE 处理的前 2 个月内土壤颗粒态有机碳均显著低于未添加蚯蚓的 MBL 处理,可能原因是蚯蚓更易 取食富含有机颗粒的土壤,这与 KOUTIKA 等^[36]的研究结论相符,即蚯蚓的取食更容易利用土壤中的有 机物颗粒。

目前,关于蚯蚓活动对微生物生物量碳的变化及微生物活性的影响没有相对统一的结论。本研究表明: MBLE 处理的土壤微生物生物量碳质量分数在 3 个月的试验期内一直持续降低,且从试验中期起显著低于未添加蚯蚓的 MBL 处理。这一结果与 BOHLEN 等^[43]、FROUZ 等^[44]和张宝贵等^[45]的研究结果类 (d,即蚯蚓的生理活动降低了土壤微生物生物量碳。在北美的森林中,欧洲蚯蚓的入侵会致使土壤总的 微生物生物量锐减约 42%^[46]; MCLEAN 等^[47]的研究也同样显示:蚯蚓的存在使得微生物生物量碳减 少。造成本研究中 MBLE 处理土壤微生物生物量碳质量分数锐减的可能原因为:一是微生物作为蚯蚓的 第二食物来源,蚯蚓肠道消化导致土壤微生物总量的降低;二是蚯蚓与微生物竞争资源导致其数量降低;三是蚯蚓的一系列生理活动对土壤理化性质产生影响,从而改变微生物所处的微环境,直接或间接 地影响土壤微生物生存。

4 结论

蚯蚓活动显著提高了毛竹生物量,其活动对土壤 CO₂ 排放及活性有机碳的影响均具有一定的时效 性。试验前期 (<51 d),蚯蚓活动加快土壤碳矿化,显著提高土壤 CO₂ 的排放通量,降低土壤活性有机 碳质量分数;试验后期 (>51 d),蚯蚓活动逐渐减少碳矿化,土壤 CO₂ 的排放通量显著降低,提高土壤 活性有机碳质量分数。在为期 85 d 的试验中,蚯蚓活动未显著改变土壤 CO₂ 累计排放量,但显著降低 了土壤微生物生物量。本研究加强了蚯蚓活动影响毛竹林土壤温室气体排放和土壤活性碳的认知,为蚯 蚓活动应对全球气候变化及影响毛竹林土壤活性有机碳变化过程中的潜在贡献提供基础数据。但由于温 室盆栽试验空间受限,添加的凋落物量仅够蚯蚓取食 3 个月,故整体试验周期偏短,得出的结论只是栽 植盆内蚯蚓对土壤 CO₂ 排放及活性有机碳的阶段效应,对于真实毛竹林环境中可能产生的更长期效应的 推断存在一定的局限性。未来可开展野外长期试验,以揭示盆栽和野外试验结果的异同和内在机制。

5 参考文献

- SINGH J S, GUPTA S R. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems [J]. *The Botanical Review*, 1977, 43(4): 449 528.
- BORKEN W, BRUMME R. Liming practice in temperate forest ecosystems and the effects on CO₂, N₂O and CH₄ fluxes
 [J]. Soil Use and Management, 1997, 13(4): 251 257.
- [3] BORKEN W, GRÜNDEL S, BEESE F. Potential contribution of *Lumbricus terrestris* L. to carbon dioxide, methane and nitrous oxide fluxes from a forest soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32(2): 142 – 148.
- [4] RANSOM T S. Earthworms, as ecosystem engineers, influence multiple aspects of a salamander's ecology [J]. *Oecologia*, 2011, 165(3): 745 754.
- [5] WU Yupeng, SHAABAN M, ZHAO Jingsong, *et al.* Effect of the earthworm gut-stimulated denitrifiers on soil nitrous oxide emissions [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2015, **70**: 104 – 110.
- [6] 张卫信,陈迪马,赵灿灿. 蚯蚓在生态系统中的作用[J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 142-153.
 ZHANG Weixin, CHEN Dima, ZHAO Cancan. Functions of earthworm in ecosystem [J]. *Biodiversity Science*, 2007, 15(2): 142-153.
- [7] LÜTZOW M V, KÖGELKGNABNER I, EKSCHMITT K, et al. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions: a review [J]. European Journal of Soil Science, 2006, 57(4): 426 – 445.
- [8] 张国, 曹志平, 胡婵娟. 土壤有机碳分组方法及其在农田生态系统研究中的应用[J]. 应用生态学报, 2011, 22(7): 1921-1930.

ZHANG Guo, CAO Zhiping, HU Chanjuan. Soil organic carbon fractionation methods and their applications in farmland ecosystem research: a review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, **22**(7): 1921 – 1930.

[9] 王晶, 张旭东, 解宏图, 等. 现代土壤有机质研究中新的量化指标概述[J]. 应用生态学报, 2003, 14(10): 1809 – 1812.

WANG Jing, ZHANG Xudong, XIE Hongtu, *et al.* New quantificational indexes in modern study of soil organic matter [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, **14**(10): 1809 – 1812.

- [10] JONGMANS A G, PULLEMAN M M, BALABANE M, et al. Soil structure and characteristics of organic matter in two orchards differing in earthworm activity [J]. Applied Soil Ecology, 2003, 24(3): 219 – 232.
- [11] BEZKOROVAINAYA I N, KLIMENTENOK L V, EFVGRAFOVA S J. Dynamics of the biological activity of litter as it is transformed by earthworms [J]. *Biology Bulletin*, 2001, 28(2): 188 – 190.
- [12] FRANCIS G S, FRASER P M. The effects of three earthworm species on soil macroporosity and hydraulic conductivity [J]. *Applied Soil Ecology*, 1998, 10(1/2): 11 – 19.
- [13] LUBBERS I M, PULLEMAN M M, van GROENIGEN J W. Can earthworms simultaneously enhance decomposition and stabilization of plant residue carbon? [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 105: 12 – 24.
- [14] LUBBERS I M, GONZÁLEZ E L, HUMMELINK E W J, et al. Earthworms can increase nitrous oxide emissions from managed grassland: a field study [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2013, 174: 40 – 48.
- [15] FRAGOSO C, BROWN G G, PATRÓN J C, et al. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms [J]. Applied Soil Ecology, 1997, 6(1): 17 – 35.
- [16] JENNINGS B W, WATMOUGH S A. The impact of invasive earthworms on soil respiration and soil carbon within temperate hardwood forests [J]. *Ecosystems*, 2016, 19(5): 942 – 954.
- [17] 李玉敏, 冯鹏飞. 基于第9次全国森林资源清查的中国竹资源分析[J]. 世界竹藤通讯, 2019, 17(6): 45 48.
 LI Yumin, FENG Pengfei. Bamboo resources in China based on the ninth national forest inventory data [J]. World Bamboo and Rattan, 2019, 17(6): 45 48.
- [18] 周芳纯. 竹林培育学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993: 95.

ZHOU Fangchun. Silviculture of Bamboo Forest [M]. Beijing: China Forestry Publishing, 1993: 95.

- [19] ZHOU Guomo, MENG Cifu, JIANG Peikun, et al. Review of carbon fixation in bamboo forests in China [J]. Botanical Review, 2011, 77: 262 – 270.
- [20] 李正才,杨校生,蔡晓郡,等.竹林培育对生态系统碳储量的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2010,34(1): 24-28.

LI Zhengcai, YANG Xiaosheng, CAI Xiaojun, *et al.* Effects of bamboo cultivation on the carbon storage [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2010, **34**(1): 24 – 28.

- [21] 闫红果. 竹林碳汇项目的实施背景及有效举措——以浙江省湖州市为例[J]. 林业勘查设计, 2015(3): 53 55.
 YAN Hongguo. Implementation background and effective measures of bamboo forest carbon sequestration project: Huzhou City in Zhejiang Province as an example [J]. *Forest Investigation Design*, 2015(3): 53 55.
- [22] 周国模,姜培坤. 毛竹林的碳密度和碳贮量及其空间分布[J]. 林业科学, 2004, 40(6): 20 24.
 ZHOU Guomo, JIANG Peikun. Density, storage and spatial distribution of carbon in *Phyllostachy pubescens* forest [J].
 Scientia Silvae Sinicae, 2004, 40(6): 20 24.
- [23] 周蓉. 稻壳及其生物质炭添加对雷竹林土壤氮素淋失及N₂O排放的影响[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2021.
 ZHOU Rong. *Effects of Rice Husk and Its Biochar on Lei Bamboo Soil Nitrogen Leaching and N₂O Emissions* [D].
 Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2021.
- [24] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 12 292.
 LU Rukun. *The Analysis Method of Soil Agricultural Chemistry* [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 12 - 292.
- [25] CAMBARDELLA C A, ELLIOTT E T. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence [J]. Soil Science Society of America Journal, 1992, 56(3): 777 – 783.
- [26] INUBUSHI K, BROOKES P C, JENKINSON D S. Soil microbial biomass C, N and ninhydrin-N in aerobic and anaerobic soils measured by the fumigation-extraction method [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1991, 23(8): 737 741.
- [27] VANCE E, BROOKES P C, JENKINSON D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19(6): 703 – 707.
- [28] WU J, HE Z L, WEI W X, et al. Quantifying microbial biomass phosphorus in acid soils [J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 32(6): 500 – 507.

- [29] 张振超, 王金牛, 孙建, 等. 土壤温室气体测定方法研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 25(5): 1228 1243.
 ZHANG Zhenchao, WANG Jinniu, SUN Jian, *et al.* A review of methods for measuring soil greenhouse gases [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2019, 25(5): 1228 1243.
- [30] DAVIDSON E A, SAVAGE K, VERCHOT L V, et al. Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration [J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2002, 113(1/4): 21 – 37.
- [31] HALE C M, FRELICH L E, REICH P B. Exotic european earthworm invasion dynamics in northern hardwood forests of minnesota, USA [J]. *Ecological Applications*, 2005, 15(3): 848 – 860.
- [32] EDWARDS C A, BOHLEN P J. Biology and Ecology of Earthworms [M]. London: Springer Science and Business Media, 1996: 275.
- [33] BOHLEN P J, STEFAN S, CINDY M H, et al. Non-native invasive earthworms as agents of change in northern temperate forests [J]. Frontiers in Ecology and the Environment, 2004, 2(8): 427 – 435.
- [34] 彭琳, 王晓君, 黄从德, 等. 凋落物输入改变对慈竹林土壤有机碳的影响[J]. 水土保持通报, 2014, 34(1): 129-132.
 PENG Lin, WANG Xiaojun, HUANG Congde, *et al.* Effects of litter input change on soil organic carbon in *dendrocalamus affinnis* forest [J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2014, 34(1): 129-132.
- [35] LEE K. Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use [M]. New York: Academic Press, 1985: 94.
- [36] KOUTIKA L S, DIDDEN W A M, MARINISSEN J C Y. Soil organic matter distribution as influenced by enchytraeid and earthworm activity [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 33(4): 294 – 300.
- [37] WESSELLS M L S, BOHLEN P J, MCCARTNEY D A, et al. Earthworm effects on soil respiration in corn agroecosystems receiving different nutrient inputs [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(3): 409 – 412.
- [38] 张瑞清, 孙振钧, 王冲, 等. 西双版纳热带雨林凋落叶分解过程Ⅱ.微生物与线虫的群落动态[J]. 生态学报, 2007, 27(2): 640-649.

ZHANG Ruiqing, SUN Zhenjun, WANG Chong, *et al.* Eco-process of leaf litter decomposition in Xishuangbanna tropical rainforest, southwest China II. Population dynamics of soil microbiota and nematodes [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, **27**(2): 640 – 649.

- [39] CHAPIN F S, SALA O E, HUBER-SANNWALD E. *Global Biodiversity in a Changing Environment* [M]. London: Springer Science and Business Media, 2001: 173 176.
- [40] LAJTHA K, TOWNSEND K L, KRAMER M G, et al. Changes to particulate versus mineral-associated soil carbon after 50 years of litter manipulation in forest and prairie experimental ecosystems [J]. Biogeochemistry, 2014, 119(1/3): 341 360.
- [41] EMMERLING C, SCHLOTER M, HARTMANN A, et al. Functional diversity of soil organisms: a review of recent research activities in Germany [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2002, 165(4): 408 – 420.
- [42] LAVELLE P. Earthworm activities and the soil system [J]. Biology and Fertility of Soils, 1988, 6(3): 237 251.
- [43] BOHLEN P J, EDWARDS C A. Earthworm effects on N dynamics and soil respiration in microcosms receiving organic and inorganic nutrients [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(3): 341 – 348.
- [44] FROUZ J, NOVÁKOVÁ A. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development [J]. Geoderma, 2005, 129(1/2): 54 – 64.
- [45] 张宝贵, 李贵桐, 申天寿. 威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响[J]. 生态学报, 2000, 20(1): 169-173. ZHANG Baogui, LI Guitong, SHEN Tianshou. Influence of the earthworm *Pheretima guillelmi* on soil microbial biomass and activity [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(1): 169-173.
- [46] EISENHAUER N, SCHLAGHAMERSKÝ J, REICH P B, et al. The wave towards a new steady state: effects of earthworm invasion on soil microbial functions [J]. *Biological Invasions*, 2011, 13(10): 2191 – 2196.
- [47] MCLEAN M A, PARKINSON D. Changes in structure, organic matter and microbial activity in pine forest soil following the introduction of *Dendrobaena octaedra* (Oligochaeta, Lumbricidae) [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(3/4): 537 – 540.