

DOI: 10.11766/trxb202501050008

CSTR: 32215.14.trxb202501050008

张旭升, 汪霞, 赵云飞, 苑梦晗, 王飞, 夏捷一, 李柳君. 缺氧微场对土壤呼吸的影响及其在土壤团聚体中的分布特征[J]. 土壤学报, 2025,

ZHANG Xusheng, WANG Xia, ZHAO Yunfei, YUAN Menghan, WANG Fei, XIA Jieyi, LI Liuju. Distribution Characteristics of Anoxic Microsites within Soil Aggregates and Their Influences on Soil Organic Carbon Content[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025,

缺氧微场对土壤呼吸的影响及其在土壤团聚体中的分布特征 *

张旭升¹, 汪霞^{1†}, 赵云飞^{1,2}, 苑梦晗¹, 王飞¹, 夏捷一¹, 李柳君¹

(1. 兰州大学资源环境学院, 甘肃省环境污染预测与控制重点实验室, 兰州 730000; 2. 兰州大学资源环境学院, 西部环境教育部重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 缺氧微场显著抑制土壤有机碳 (Soil organic carbon, SOC) 的损失, 土壤团聚体作为缺氧微场潜在的适宜发育场所, 与 SOC 的积累密切相关, 却少有研究涉及缺氧微场对土壤团聚体中 SOC 的影响。采集四种生态修复类型土壤, 采用土壤培养和气相色谱法计算缺氧保护强度; 通过干剥离法得到大团聚体内外层土壤样品, 比较缺氧微场丰度和有机质组分。结果显示, 天然灌木林和草地的缺氧保护强度较高, 为 33.5% 和 36%, 其次是人工林地 (15.9%), 农田最低 (-8.9%)。大团聚体内层的 Fe²⁺ 含量更高, 缺氧微场更丰富, 芳烃、脂质和木质素等有机质相对含量更高。土壤呼吸速率与缺氧保护强度呈显著负相关。研究结果表明稳定的土壤物理环境是缺氧保护发挥作用的关键。缺氧微场选择性保护了大团聚体内层的还原性有机物质, 并且在一定程度上抑制了 SOC 的损失, 为土壤碳循环和碳汇功能提供了新的认识。

关键词: 缺氧微场; 缺氧保护; 团聚体; 土壤呼吸; 土壤有机碳

中图分类号: S153.6; S152

文献标志码: A

Distribution Characteristics of Anoxic Microsites within Soil Aggregates and Their Influences on Soil Organic Carbon Content

ZHANG Xusheng¹, WANG Xia^{1†}, ZHAO Yunfei^{1,2}, YUAN Menghan¹, WANG Fei¹, XIA Jieyi¹, LI Liuju¹

(1. Gansu Key Laboratory for Environmental Pollution Prediction and Control, College of Earth and Environmental Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Western China's Environmental Systems (Ministry of Education), College of Earth

* 国家自然科学基金面上项目 (42271079)、甘肃省中央引导地方科技发展资金项目 (25ZYJA021) 和甘肃省联合科研基金重大项目共同 (25JRRL007) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42271079), the Special Fund for Guiding Local Science and Technology Development by the Central Government of Gansu Province (No. 25ZYJA021), and the Major Project of Gansu Province Joint Scientific Research Fund (No. 25JRRL007)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangxia@lzu.edu.cn

作者简介: 张旭升 (2000—), 男, 山东滕州人, 硕士研究生, 主要从事土壤固碳方面研究。E-mail: zhangxusheng23@163.com
收稿日期: 2025-01-05; 收到修改稿日期: 2025-07-11; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2025-

Abstract: 【Objective】 Anoxic microsites significantly inhibit the loss of soil organic carbon (SOC). Soil aggregates, as potential sites for the development of anoxic microsites, are closely related to the accumulation of SOC, yet few studies have investigated the impact of anoxic microsites on SOC within soil aggregates. 【Method】 This study collected soil samples from four types of ecological restoration and employed soil incubation and gas chromatography to calculate the extent of anoxic protection. The dry sieving method was used to obtain inner and outer soil samples from macroaggregates, and the abundance of anoxic microsites and organic matter components was compared. 【Result】 The results showed that natural shrubland and grassland had higher extents of anoxic protection, at 33.5% and 36%, respectively, followed by planted forests at 15.9%, and croplands had the lowest at -8.9%. The inner layers of macroaggregates had higher Fe^{2+} content, a greater abundance of anoxic microsites, and higher relative contents of aromatic hydrocarbons, lipids, and lignin. Soil respiration rate was significantly negatively correlated with the extent of anoxic protection. 【Conclusion】 The results indicate that a stable soil physical environment is crucial for the effectiveness of anoxic protection. Anoxic microsites selectively protect reduced organic matter in the inner layers of macroaggregates and, to some extent, inhibit the loss of SOC, providing new insights into soil carbon cycling and carbon sink functions.

Key words: Anoxic microsites; Anoxic protection; Aggregate; Soil respiration; Soil organic carbon

土壤是陆地生态系统中最大的有机碳库,其变化显著影响全球温室气体排放。土壤缺氧环境能够显著遏制土壤呼吸,通常发生在水饱和土壤中^[1]。最近的研究证明,即使在氧气充足的旱地土壤,局部氧气供需不平衡会导致氧气限制,其中体积呼吸速率约为好氧呼吸的 10%^[2-3]。在 0.8 cm 的好氧培养土壤柱中,缺氧和厌氧环境最多可占土壤孔隙体积的 85%,该现象被称为缺氧微场^[4-5]。

局部土壤的氧气需求超过氧气供应时,就会形成缺氧微场^[6]。氧气需求主要源自土壤微生物的呼吸作用^[5]。氧气供应源自大气,其在土壤中的扩散受多种因素影响。土壤复杂的孔隙结构和土壤团聚体会阻碍氧气扩散^[4-5];水分不饱和土壤中的氧气扩散同时存在于水气两相中^[7],而氧气在水中的扩散速率仅为空气中的万分之一;温度、气压则直接影响氧气的扩散速率。SOC 如木质素和芳烃的初步分解过程需要氧气或过氧化氢的参与^[8-9]。而碳水化合物和蛋白质的水解分解则不依赖氧气^[10]。热力学研究发现,土壤中厌氧呼吸主要以铁作为电子受体,因此碳的标称氧化态小于-1.7 的脂质几乎无法被氧化,还原态化合物被氧气限制优先保护^[6, 11]。这种旱地土壤中缺氧微环境对有机碳的保护作用统称为“缺氧保护”。

土壤团聚体是一种广泛分布的土壤结构。当前的研究肯定了铁氧化物在微团聚体形成过程中起重要作用^[12],土壤团聚体的发育通常是层层包裹的,微生物、细胞分泌物、根系分泌物、原生与次生黏土矿物、有机物、腐殖质等物质混合着众多微小团聚体发育至大团聚体^[13-15]。因此可以推断,团聚体外层适合好氧微生物的生长繁殖,氧气需求增加。同时,团聚体的物理结构限制了氧气向内扩散^[4-5]。在内层形成缺氧微场后,微团聚体中的铁氧化物可作为厌氧呼吸的电子受体^[3, 16]。此外,产甲烷菌产生甲烷并向外扩散,促进了团聚体外层甲烷氧化菌的繁殖和氧气需求增加^[17]。在氧气供给不变的情况下,缺氧微场能稳定发育。因此本研究假设团聚体内层是缺氧微场发育的理想场所。

目前的研究认为土壤团聚体的发育与 SOC 的积累密切相关^[18],但往往聚焦于同一时期不同发育阶段的团聚体^[19-21]。关于团聚体内外层的研究较少^[22],且缺氧微场在其中的作用尚不明晰。本研究以四种生态修复类型为研究对象,通过土壤培养实验、团聚体内外层剥离等研究方法,分析缺氧微场对土壤呼吸的影响及其在团聚体内外的差异,探究其保护 SOC 的原理,旨在揭示缺氧微场对 SOC 积累的意义以及与团聚体的相互作用,以为生态修复和土壤固碳决策提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域

研究区位于甘肃省陇南市武都区两水镇(33°26'N, 104°48'E), 地处西秦岭白龙江流域。该地气候为北亚热带半干旱气候, 属于半干旱地区^[23]。研究区在 2008 年汶川地震中遭遇滑坡、泥石流等灾害, 当地政府用 1 m 深的土壤覆盖受灾地区, 再进行自然植被再生和人工种植修复, 截至采样时已经历了 14 年修复, 一定程度上消除了原始土壤的差异^[24]。

1.2 样品采集与分析

选取农田(FL)、人工林(PF)、天然灌丛(NS)和天然草地(NG) 4 种生态修复类型的土壤作为采样对象。人工林为半人工管理的橄榄林, 每次施肥、灌溉或翻耕的间隔时间在一年以上; 农田为水源地附近的示范田, 每年翻耕施肥 2~3 次, 灌溉始终保持土壤水分充足; 天然灌丛和草地在生态恢复初始阶段播种植被, 其后由植被自然生长。

各生态修复类型随机设置 5 个位点, 在每个位点(1 m²)挖掘标准剖面, 收集表层 0~15 cm 土壤原状土样本、土壤团聚体样品、混合土壤样品。在土壤基因提取方面, 使用灭菌筛网剔除石块并将土壤均质化, 收集于 5 mL 微生物采样管中, 液氮-80 °C 冷冻保, 送生物技术检测公司检测厌氧微生物基因。

原状土样品用于测定土壤容重、质量含水率、孔隙度。表层混合土壤样品用于测定土壤物理化学性质, 包括 pH(土水比为 1:2.5)、电导率(土水比为 1:5)、土壤粒度分布(Master Sizer 2000, Malvern Instruments, 英国)、土壤有机碳 SOC(Elementar vario MACRO cube, 德国)、铵态氮、硝态氮、全磷 TP、全氮 TN(Smart Chem 200, Sai Hira, 法国)。表层混合土壤样品在兰州大学天然产物化学国家重点实验室进行傅里叶红外光谱分析(FTIR, Nicolet, Glendale, WI, 美国)扫描样品。

1.3 土壤培养实验

从每个位点收集 2 根完整的土壤柱, 共 40 根, 用于土壤培养实验, 使用削尖的 PVC 管(17.5 cm 长)插入至土壤 15 cm 深。另设 4 根无土壤对照 PVC 管。借鉴 Lacroix 等^[5]最近提出的一种测量缺氧保护强度的方法: 通过人为曝气破坏土柱内的缺氧微场, 将由此导致的所有土壤呼吸增加均视为与缺氧保护相关。通过比较土壤柱存在和失去缺氧保护时的土壤呼吸强度(以 CO₂ 释放速率代表), 计算得出缺氧微场对 SOC 的保护强度。

每个位点将一根土壤柱放置在 2.2 L 好氧密封罐中, 预留采气口。在 17 d 的初始阶段, 分别在第 5、7、10、12、15 天采集样品 24 h 土壤呼吸累积样品。在第 18 天, 将土壤柱通过 2 mm 孔径的筛网, 铺撒在密封罐中, 给土壤曝气, 破坏缺氧保护。然后进入 14 d 的曝气阶段, 分别在第 18、21、23、26、28、31 天采集样品的 24 h 土壤呼吸累积样品。使用气相色谱法检测温室气体(CO₂、CH₄、N₂O)。CH₄、N₂O 常常低于仪器检测下限, 一方面因为土壤厌氧环境小, 气体产量小, 另一方面是土壤普遍存在甲烷氧化菌, 能在好氧条件下以甲烷为碳源氧化为 CO₂, 因此这里以 CO₂ 代替土壤呼吸。另在无氧环境中重复上述操作, 用于和好氧组进行比较, 选择 CO₂ 释放速率稳定时期进行后续计算。实验过程中维持土壤水分与初始情况一致。上述实验结束后, 将土壤继续分别放置于好氧环境和无氧环境中(维持之前的氧气条件)进行为期 9 个月的培养实验, 以探究有机碳损失情况。

1.4 土壤团聚体内外层剥离和 Fe²⁺测定

将团聚体样品置于无氧环境中风干。采用干筛法, 筛选出直径大于 2 mm 的土壤团聚体。之后挑选出 30 g 直径约为 3 mm 的土壤大团聚体, 采用 Fan 等^[22]及 Ghadiri 和 Rose^[25]改进的干燥剥离

方法将其分为外层和内层。土壤团聚体内外层样品在无氧环境中研磨成粉。采用 Ferrozine 法测定 Fe^{2+} 含量^[26]。

1.5 厌氧微生物的基因丰度

选用荧光定量 PCR 实验的绝对定量法, 使用 OMEGA's E.Z.N.A.® Soil DNA 试剂盒 (Omega Bio-Tek, Norcross, GA, 美国) 和制造商的 250~1 000 mg 样品方案从土壤中提取基因。检测各采样点土壤的 *mcrA* 产甲烷菌 DNA 和 *met86f-met471r* 原核生物 16S rRNA 功能基因的基因拷贝丰度。二者均是专性厌氧菌 (产甲烷菌) 的独特基因, 可以证明土壤厌氧环境的存在^[2]。DNA 结构稳定, 在土壤中存留时间较长, 可表示过去一段时间土壤微生物的存在和代谢潜力, 而 RNA 结构易被破坏, 存留时间短, 可用于表示采样时微生物的实际代谢能力^[27-28]。最后, 基于 DNA 到 RNA 的转录关系, 将 *met86f-met471r* 原核生物 16S rRNA 基因拷贝丰度归一化为 *mcrA* 产甲烷菌 DNA 基因拷贝丰度, 以表示不同地点采样时厌氧微生物的活跃程度^[5]。

1.6 数据处理

借鉴 Li 等^[7]使用的一种同时考虑两相中的氧气扩散的系数, 以表示氧气在土壤中的扩散速率。

$$D_{so} = \frac{1}{N^2} \times (D_{ao} \times Q_a^p + KH \times D_{wo} \times Q_w^p)$$

$$D_{ao} = \frac{1.145 \times 10^{-4}}{P} \times T^{1.724}$$

$$D_{wo} = 4.84 \times 10^{-6} \times \exp\left(\frac{-2275}{T}\right)$$

式中, D_{so} 为氧在土壤中的有效扩散系数 (Effective diffusion coefficient of oxygen in the soil), N 为土壤孔隙度, T 是开尔文温度, P 是绝对大气压 (Pa), D_{ao} 为氧在空气中的自由扩散系数^[29], D_{wo} 为氧在水中的自由扩散系数^[30]。 Q_a 和 Q_w 分别为土壤孔隙空间中充满空气和水的比例。KH 为亨利定律空气中氧气与水的体积溶解系数。 p 被视为等于 3.4 的常数。

根据理想气体定律和有机碳数据, 将采样时的 CO_2 释放速率换算为单位时间内每克有机碳的 CO_2 的释放速率 Q , 单位为 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。分别选择初始阶段和曝气阶段, 土壤 CO_2 释放速率变化不大 ($P > 0.05$) 的时期来计算缺氧保护强度。采样时的 CO_2 累积量 N_i 和采样间隔期间的 CO_2 累积量 J_i 计算公式如下:

$$N_i = Q_i \times 24$$

$$J_i = \frac{Q_i + Q_{i+1}}{2} \times t$$

式中, Q_i 为第 i 次采样的释放速率; t 是采样间隔时间。最后将采样当天、采样间隔之间的土壤呼吸累积量相加取每天平均, 换算为每天的土壤呼吸强度 R 。缺氧保护强度 (Extent of anoxic protection, EAP) 按如下公式计算。

$$\text{EAP} = \frac{R_b - R_a}{R_b} \times 100\%$$

式中, R_a 为存在缺氧保护, 即初始阶段的土壤呼吸强度, R_b 为不存在缺氧保护, 即曝气阶段的土壤呼吸强度。

使用 SPSS 26.0 进行数据的正态性分析, 使用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差异法 (LSD) 对研究数据进行显著性检验。使用 Origin2022 进行数据绘图和相关性分析。使用 R 进行方差分解分析 (VPA), 以区分并解释缺氧保护和其他潜在影响因素对土壤呼吸速率的影响。

2 结果

2.1 不同生态修复类型土壤理化性质

采样区不同生态修复类型土壤的基础理化性质及氧扩散系数计算见表 1。FL 和 PF 土壤的土壤养分、土壤水分含量显著高于 NS 和 NG 土壤。农田土壤的粉粒黏粒占比之和在 4 种生态修复类型土壤中最大,这与农田土壤容重最高相一致,归因于长期耕作、翻耕对土壤的物理破碎、有机质分解等多种因素。

表 1 不同生态修复类型土壤的物理和化学性质

Table 1 The physical and chemical properties of soils of different ecological restoration types

土壤 Soil	pH	全氮 TN/ (mg·g ⁻¹)	全磷 TP/ (mg·g ⁻¹)	SOC/ (mg·g ⁻¹)	土壤含水率 SWC /%	电导率 EC/(mS·m ⁻¹)	容重 Bulk density/(g·cm ⁻³)
FL	8.18±0.05a	1.27±0.17a	1.38±0.19a	14.9±0.7a	20.64±3.24a	224.3±31.9a	1.57±0.14a
PF	8.42±0.05a	1.13±0.06a	1.18±0.17a	14.2±0.5a	10.48±2.08b	146.5±14.4b	1.37±0.07b
NS	8.43±0.06a	0.76±0.06b	0.55±0.03b	11.9±1.3b	6.53±0.78c	138.9±4.8b	1.30±0.05b
NG	8.36±0.15a	0.77±0.16b	0.54±0.03b	11.5±2.0b	5.59±1.26c	229.2±195.0a	1.35±0.13b
土壤 Soil	土壤孔隙度 Soil porosity/%	黏粒 Clay/%	粉粒 Silt/%	砂粒 Sand/%	ATOC/ (mg·g ⁻¹)	OTOC/ (mg·g ⁻¹)	
FL	48.53±4.65a	8.39±0.54a	53.20±2.27a	38.41±2.64b	13.48±0.18a	7.84±1.64a	
PF	47.98±1.98a	8.13±0.54a	39.42±4.02b	52.45±4.40a	11.02±0.73b	9.09±0.98a	
NS	52.38±1.77a	8.46±0.78a	41.55±5.65b	49.99±5.70a	10.41±1.18b	8.82±0.49a	
NG	51.61±4.99a	7.88±0.92b	41.70±4.75b	50.42±5.29a	9.85±1.8b	8.11±0.73a	
土壤 Soil	CO ₂ 释放速率 CO ₂ release rate/ (μmol·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	缺氧保护强度 EAP/%	D _{so} /(×10 ⁻⁶)	R/D	IFe ²⁺ / (μmol·L ⁻¹)	EFe ²⁺ / (μmol·L ⁻¹)	
FL	2.14±0.18a	-9.42±12.08c	3.50±5.73c	84.9±29.9d	1.40±0.12b	1.18±0.19a	
PF	1.23±0.15b	16.77±8.25b	30.8±9.49b	910.6±357.3c	2.17±0.33a	1.27±0.03a	
NS	0.94±0.16c	34.64±16.18a	45.6±4.67a	2202.4±467.8b	1.38±0.09b	1.00±0.02b	
NG	1.05±0.26bc	36.92±9.61a	51.0±7.31a	3970.2±1037.9a	1.42±0.03b	1.01±0.06b	

注: 1) FL: 农田; PF: 人工林; NS: 天然灌丛; NG: 天然草地。D_{so}, 氧在土壤中的扩散系数; R/D: 16SrRNA(met86f—met471r) 丰度/DNA(mcrA)丰度; IFe²⁺: 团聚体内层 Fe²⁺含量; EFe²⁺: 团聚体外层 Fe²⁺含量; OTOC: 土壤好氧培养后的有机碳; ATOC: 土壤厌氧培养后的有机碳。下同。2)表中数值为平均值±标准误。同一列中不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。Note: 1) FL: Farmland; PF: Planted forest; NS: Natural shrub; NG: Natural grassland; D_{so}: the diffusion coefficient of oxygen in the soil; R/D: 16S rRNA(met86f - met471r) abundance /DNA(mcrA)abundance; IFe²⁺: the content of Fe²⁺ in the inner layer of aggregates; EFe²⁺: the content of Fe²⁺ in the outer layer of aggregates; OTOC: Total organic carbon in soil after aerobic culture; ATOC: Total organic carbon of soil after anaerobic culture. 2) Means± standard errors. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments (P<0.05).

2.2 不同土壤 CO₂ 释放和 SOC 变化情况

如图 1a 所示, 除农田 FL 外, 三种生态修复类型土壤 CO₂ 释放速率在曝气阶段均极显著增加 (P<0.01)。土壤在失去缺氧保护后, 的 CO₂ 释放速率均明显提高。缺氧保护强度最高的是 NG, 为 36%,

其次是 NS, 为 33.5%, 之后是 PF, 为 15.9%。FL 的缺氧保护强度为负数, 说明培养试验过程 FL 土壤中基本不存在缺氧保护。

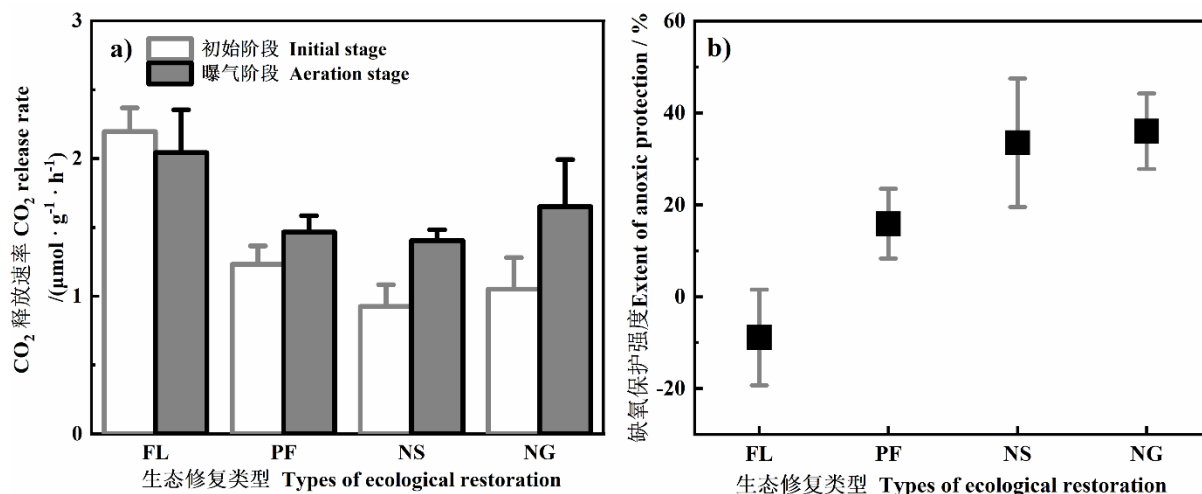


图 1 各类型土壤初始阶段和曝气阶段的 CO₂ 释放速率 (a) 及缺氧保护强度 (b)

Fig. 1 CO₂ flux (a) and the extent of anoxic protection (b) during the initial and aeration phases of various types of soil

培养初始阶段的 CO₂ 释放速率与缺氧保护强度呈显著负相关 ($R^2=0.741$, $P<0.05$)。土壤 9 个月稳定培养实验 (图 2) 结果显示, 好氧培养后 FL 土壤的有机碳减少 47.51%, PF 土壤减少 35.78%, NS 和 NG 土壤有机碳减少比例相似, 分别为 25.98% 和 25.60%。相比之下, 无氧培养后各类型土壤的总有机碳减少比例为 FL 土壤 9.80%、PF 土壤 22.17%、NS 土壤 12.65%、NG 土壤 9.65%。无氧环境下土壤的总有机碳的损失明显较好氧环境更少。

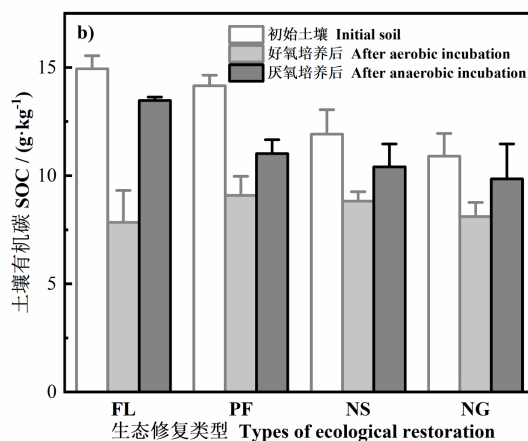


图 2 土壤好氧和无氧 9 个月稳定培养实验后土壤中的 SOC 含量

Fig. 2 SOC after 9 months incubation under varying oxygen conditions

2.3 土壤团聚体内外层性质

图 3 中, FL 土壤团聚体内外层的 Fe²⁺绝对含量无显著差异 ($P>0.05$), 其余三类土壤有显著差异 ($P<0.01$)。各类型土壤大团聚体内层的 Fe²⁺含量高于外层。其中, PF 的大团聚体内层 Fe²⁺相对含量最大, 达到 62%, 其次是 NS 和 NG, 为 58%, FL 最低, 仅 54%。依据厌氧微生物将 Fe³⁺作为呼吸作用电子受体还原为 Fe²⁺这一理论和 Fe²⁺自身的不稳定性, 上述内容表明了团聚体内层存在更为丰富的缺氧环境和更多厌氧微生物。

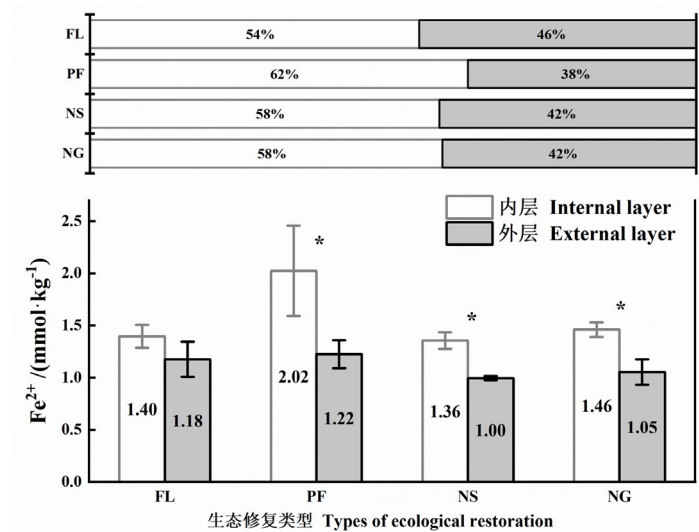
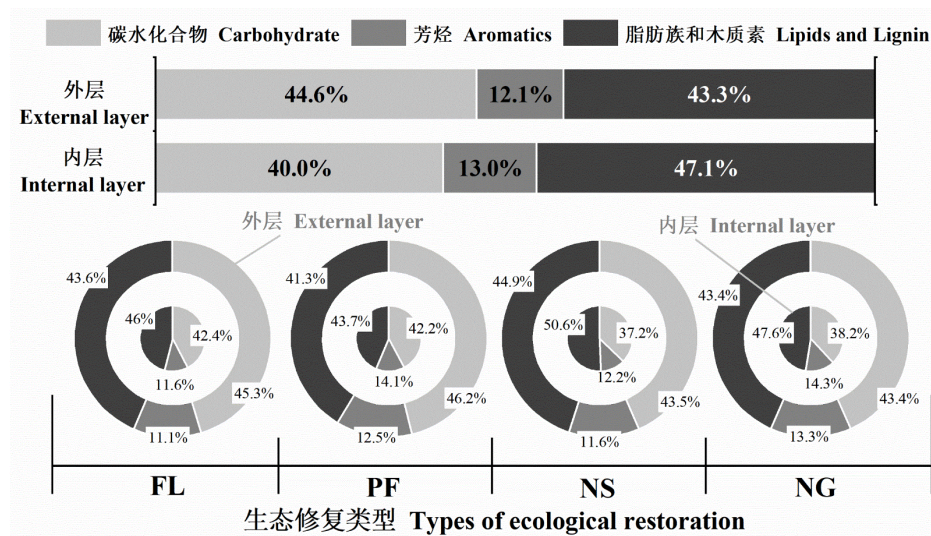


图3 团聚体内外层的 Fe²⁺相对含量和绝对含量

Fig. 3 Relative and absolute contents of Fe²⁺ in the internal and external layers of soil aggregates

对 FTIR 结果进行峰面积积分以评估土壤碳官能团的分配^[31-32]。3 500~3 200 cm⁻¹ 区域代表碳水化合物；1 680~1 580 cm⁻¹ 区域代表芳烃^[33]；1 465~1 360 cm⁻¹ 区域代表脂肪族和木质素^[34]。大团聚体内层和外层的有机质组分（图 4，图 S1），不论是从总体、从不同生态修复类型，还是从单个样点的角度看，均呈现出内层芳烃、脂肪族和木质素的相对比例高于外层，内层碳水化合物的相对比例低于外层。绝对峰面积差异与相对比例差异近似，但不显著，这是因为单一样点的绝对峰面积容易受有机质不稳定的输入的影响（图 S2）。



注：上方条形图为总体相对含量，下方同心圆为各生态修复类型相对含量。Note: The bar chart above shows the overall relative content, while the concentric circles below represent the relative content of each ecological restoration type.

图4 大团聚体内层和外层的有机质组分相对含量

Fig. 4 Relative content of organic matter components in the internal and external layers of macroaggregates

2.4 土壤中的厌氧微生物基因丰度

如图 5a 所示，各点位均检测出相当含量的 mcrA 产甲烷菌 DNA 基因和 met86f—met471r 原核生物 16S rRNA 基因，证明了缺氧微场的普遍存在。其中 FL 的 mcrA 基因丰度最高，说明 FL 土壤

在过去一段时间里缺氧环境最丰富。这与其高含水量、低氧气有效扩散系数相一致。但是 FL 的 *met86f-met471r* 基因丰度最低,表明采样时厌氧菌代谢能力较差,之前丰富的缺氧环境已经遭到破坏,这归因于农耕导致的土壤曝气,归一化后的数值也显示 FL 土壤中的厌氧微生物活性最低(图 5b)。NG 土壤 *mcrA* 基因丰度最低,但厌氧微生物活性最高,表明 NG 土壤虽然大多数区域为好氧区,但也存在稳定的缺氧环境。

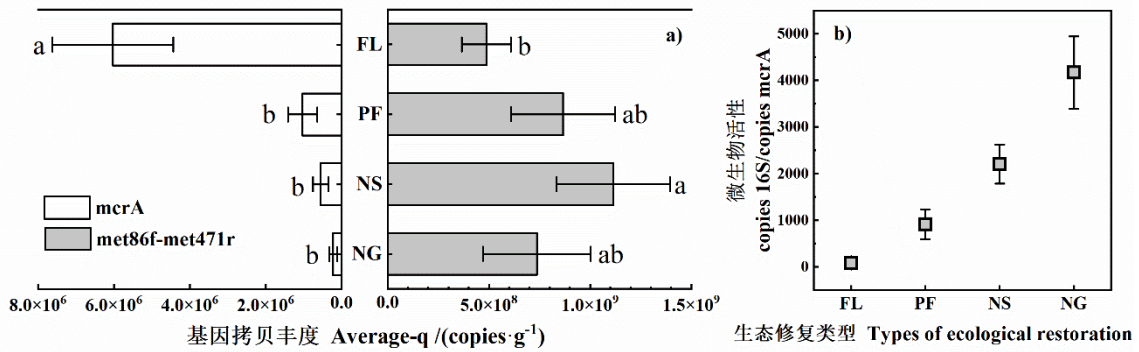
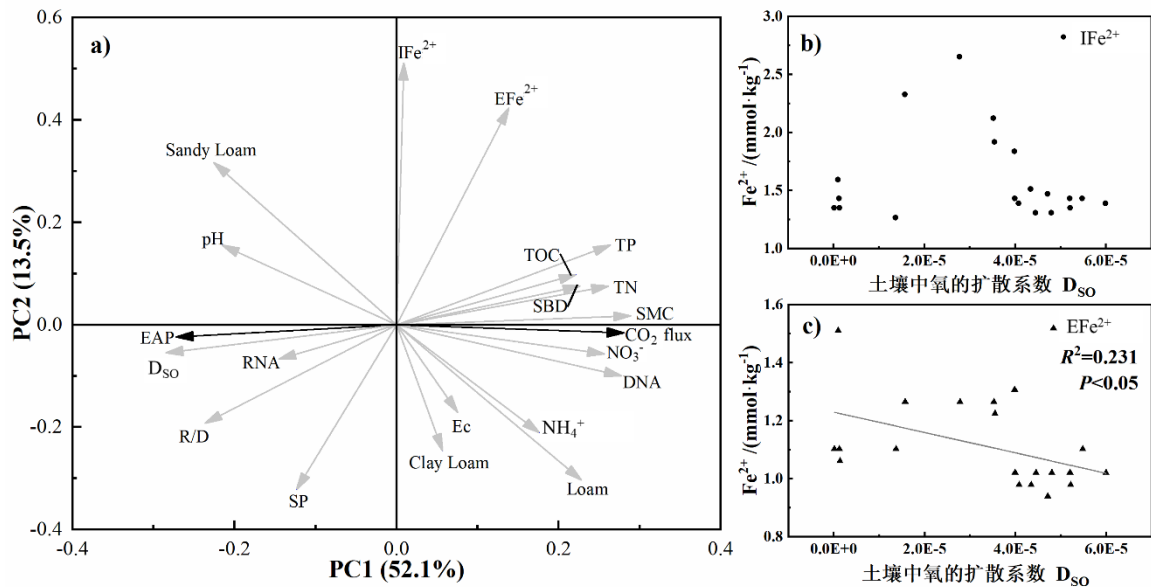


图 5 不同生态修复类型中厌氧微生物基因丰度 (a) 和厌氧微生物活性 (b)

Fig. 5 The gene abundance of anaerobic microorganisms (a) and the activity of anaerobic microorganisms (b) in different types of ecological restoration

2.5 土壤属性与缺氧保护的相关性

土壤属性和实验数据相关性分析和主成分分析结果(图 S3、图 6a)显示,初始阶段 CO₂ 释放速率与缺氧保护强度呈显著负相关。缺氧保护强度与厌氧微生物活性呈显著正相关。*mcrA* 产甲烷菌 DNA 丰度与氧在土壤中的有效扩散系数呈显著负相关。氧在土壤中的有效扩散系数与大团聚体外层 Fe²⁺ 含量呈显著负相关(图 6c),与大团聚体内层 Fe²⁺ 含量没有显著相关性(图 6b)。



注: CO₂ flux: 初始 CO₂ 释放速率; D_{SO}: 土壤中氧的扩散系数; SMC: 土壤质量含水量; SBD: 土壤容重; SP: 土壤孔隙度。

Note: CO₂ flux: initial CO₂ release rate; D_{SO}: the diffusion coefficient of oxygen in the soil; SMC: Soil mass moisture content; SBD: Soil bulk density; SP: Soil porosity.

图 6 土壤属性主成分分析 (a) 及团聚体内层 (b) 外层 (c) Fe²⁺ 和氧在土壤中的有效扩散系数的线性相关拟合图

Fig. 6 Principal component analysis plot of soil properties(a) and the linear regression plots of the correlation between Fe^{2+} content (internal and external layers of aggregates) and the effective diffusion coefficient of oxygen in the soil (b, c)

方差分解分析的结果(图 7)表明, 缺氧保护和其他潜在影响因素对土壤呼吸速率的影响^[35]。土壤养分(有机碳、全氮、全磷)能单独解释 11%的土壤呼吸速率变化, 土壤物理性质(质量含水率、土壤容重、土壤孔隙度、氧气在土壤中的有效扩散系数)能单独解释 15%, 缺氧保护能单独解释 22%。此外, 土壤养分和土壤物理性质共同解释了 46%的土壤呼吸速率变化, 土壤养分和缺氧保护共同解释了 3%的土壤呼吸速率变化。

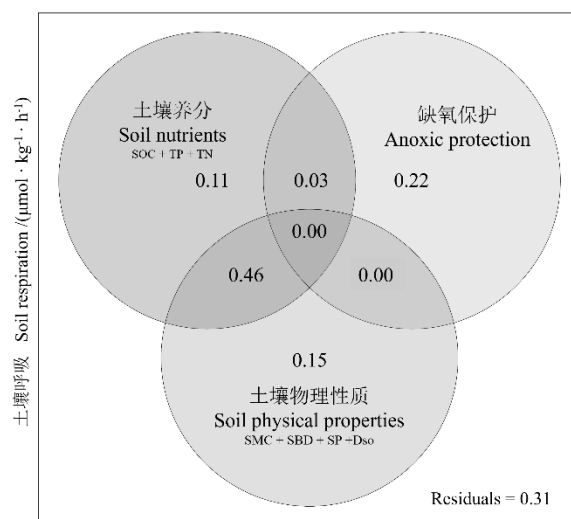


图 7 土壤呼吸速率的方差分解分析

Fig. 7 Variance partitioning analysis of soil respiration rates

3 讨论

3.1 缺氧微场在团聚体内层的固碳作用

外层 Fe^{2+} 含量受氧气影响较大, 因此与氧气在土壤中的有效扩散系数呈负相关(图 6c)。内层 Fe^{2+} 含量的累积以稳定的缺氧环境为前提, 同时涉及厌氧微生物丰度和活性, 而非单纯受氧气扩散影响。团聚体独特的发育过程及缺氧微场的形成原理与 Fe^{2+} 的累积条件高度一致, 因此 Fe^{2+} 可以用于表征大团聚体内外层缺氧微场丰富程度。大团聚体内层的 Fe^{2+} 含量显著高于外层(图 3), 证实了内层存在更为丰富的缺氧微场。

四种生态修复类型土壤中的大团聚体, 均呈现出内层芳烃、脂肪族和木质素的相对比例高于外层, 而内层碳水化合物的相对比例低于外层(图 4)。根据现场调查, 各类土壤的地表植被种类在过去 10 年以上保持不变, 在团聚体形成过程中, 有机质组分的输入比例是相对恒定的。同时, 对于团聚体内外层样品, 其发育过程中的温度、水分、土壤肥力也并无差别, 因此上述现象主要归因于缺氧保护。因为芳烃和木质素的初始解聚由微生物的关键酶或活性氧介导的, 必需有氧气或过氧化氢的参与^[8-9,36]。同时土壤微生物厌氧呼吸过程主要以铁作为末端电子受体, 碳的标称氧化态小于 -1.7 的脂质等脂肪族化合物几乎无法被氧化, 还原态化合物得到了氧气限制的优先保护^[6,11,37], 而碳水化合物的水解受氧气影响较小^[10]。因此更丰富缺氧微场可以使土壤积累下更多芳烃、脂肪族和木质素等有机物。其他的保护机制如吸附、络合和物理阻隔等, 对有机碳的保护选择性较弱, 与结果不符^[2]

^{0]}。Fan 等^[22]发现, 有机碳在大团聚体内层中的芳构化程度和稳定性高于大团聚体外层, 半衰期也 longer, 该结果与本研究相一致。因此, 可以推断大团聚体内层通过形成丰富的缺氧微场, 选择性保护了其中的芳烃、脂质和木质素。

3.2 缺氧微场对 SOC 变化的影响

初始阶段的土壤呼吸速率 (以 CO_2 释放速率衡量) 与缺氧保护强度呈显著负相关, 但这种相关性并不直接指示因果关系, 需要佐证。土壤好氧和无氧 9 个月稳定培养实验结果显示, 无氧环境下土壤的总有机碳的损失明显比好氧环境更少。Jiang 等^[38]的研究结果证明, 土壤 CO_2 释放速率因氧气含量降低而降低。Huang 等^[39]将土壤分别在好氧与厌氧环境培养, 缺氧抑制了 SOC 损失的 41%。这些研究结果共同佐证了缺氧环境对 SOC 损失具有抑制作用。此外, 土壤呼吸受多种因素影响, 证明缺氧保护能抑制 SOC 的损失必须将缺氧保护的作用从其他因素中分离出来。Lacroix 等^[35]以方差分解分析方法证明了厌氧菌丰度能解释 44% 的土壤 C 浓度变化。本研究的方差分解分析结果表明 (图 7), 土壤养分和土壤物理性质是土壤呼吸的主要影响因素, 二者共解释了 72% 的土壤呼吸速率变化。但缺氧保护也实际影响了土壤呼吸速率, 能解释 25% 的土壤呼吸速率变化。综上所述, 缺氧保护在一定程度上对土壤呼吸作用起到了抑制作用, 从而减少了 SOC 的损失。

3.3 缺氧微场对生态修复和土壤固碳的启示

本研究结果表明, 丰富的缺氧微场可有效降低以土壤呼吸为主要途径的 SOC 损失。尽管存在观点认为, 缺氧微场可能会促进铁氧化物的还原性溶解, 释放矿物结合态的有机碳, 促进其分解; 且缺氧微场稳定性较差, 受到扰动易转变为好氧条件, 将无法维持厌氧环境下稳定的有机碳^[40-43]。但这些观点基于土壤氧气条件的改变, 缺氧微场本身的保护机制仍旧被认可。

本研究中, *mcrA* 产甲烷菌 DNA 丰度与氧在土壤中的有效扩散系数呈显著负相关, 缺氧保护强度与厌氧微生物活性呈显著正相关。FL 土壤的氧扩散条件 (表 1) 最有利于缺氧微场发育。但土壤氧气条件因为耕作呈动态变化, 具体表现为深层缺氧土壤与表层好氧土壤的空间置换, 以及大团聚体结构破坏引发的内部充氧。这种变化破坏了原有的缺氧微场, 原本受缺氧保护的有机碳在通过好氧条件下的物理化学机制实现稳定之前, 将处于易降解状态。此外, 好氧土壤转移到底层形成缺氧环境, Fe 氧化物还原溶解, 释放矿物结合态有机碳, 促进了碳矿化^[40-43]。因此农田土壤缺氧保护强度最低而单位质量 SOC 的土壤呼吸速率最高 (图 1), 其高 *mcrA* 产甲烷菌 DNA 丰度和低厌氧微生物活性 (图 5) 也印证了这一点。相反, 对于 NS 和 NG 土壤, 虽然氧气输入更丰富, *mcrA* 产甲烷菌 DNA 丰度也较低, 但土壤物理环境稳定, 缺氧微场发育良好, 厌氧微生物活性较高 (图 5b), 缺氧保护仍实际保护了 SOC, 相比完全好氧环境抑制了约 33% 的土壤呼吸。

对于生态修复, 可以通过减少土壤扰动和提高土壤缺氧保护强度来抑制 SOC 损失。例如, 压实土壤可以减少大孔隙, 限制氧气扩散, 增强厌氧条件, 提高土壤稳定性, 有研究表明, 当土壤容重值超过 $1.6 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 时, 碳矿化过程明显减弱^[44]; 需要注意的是, 短期降雨或人工灌溉并不能提高缺氧保护效果^[45]。因为自然水体中往往富含溶解氧, 短时间的水分输入会给土壤充氧, 只有长时间维持土壤高含水量才能促进缺氧微场发育。综上所述, 缺氧保护可以显著减少 SOC 损失, 而稳定的土壤物理环境是其发挥作用的关键。

4 结 论

大团聚体内层存在更丰富的缺氧微场, 是缺氧微场发育的适宜场所。大团聚体内层的缺氧微场选择性地保护了还原性有机物质, 如芳烃、脂质和木质素, 从而在大团聚体内层积累。缺氧保护对

土壤呼吸速率变化的影响约占总体贡献度的 25%。土壤呼吸作用在缺氧环境中损失的 SOC 较好氧环境中少,且缺氧保护强度与土壤呼吸速率呈显著负相关,表明缺氧保护在抑制 SOC 损失方面发挥着重要作用,而稳定的土壤物理环境则是缺氧微场发育的关键。本研究揭示了土壤团聚体内层缺氧微场的形成机制、稳定性和对有机质保护的作用,为生态修复工程、SOC 循环和碳汇功能提供了新的认识。

参考文献 (References)

- [1] Zhu Y J, He Y, Xu J M. Research on anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons under different reducing conditions: Analysis based on bibliometrics[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(6): 1574-1582. [朱燕婕, 何艳, 徐建明. 不同还原条件下多环芳烃厌氧微生物降解研究: 基于文献计量的剖析[J]. *土壤学报*, 2022, 59(6): 1574-1582.]
- [2] Lacroix E M, Aeppli M, Boye K, et al. Consider the anoxic microsite: Acknowledging and appreciating spatiotemporal redox heterogeneity in soils and sediments[J]. *ACSEarth and Space Chemistry*, 2023, 7(9): 1592-1609.
- [3] Keiluweit M, Wanzek T, Kleber M, et al. Anaerobic microsites have an unaccounted role in soil carbon stabilization[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 1771.
- [4] Keiluweit M, Gee K, Denney A, et al. Anoxic microsites in upland soils dominantly controlled by clay content[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 42-50.
- [5] Lacroix E M, Mendillo J, Gomes A, et al. Contributions of anoxic microsites to soil carbon protection across soil textures[J]. *Geoderma*, 2022, 425: 116050.
- [6] Keiluweit M, Nico P S, Kleber M, et al. Are oxygen limitations under recognized regulators of organic carbon turnover in upland soils?[J]. *Biogeochemistry*, 2016, 127(2): 157-171.
- [7] Li Y, Chen Z M, Chen J, et al. Oxygen availability regulates the quality of soil dissolved organic matter by mediating microbial metabolism and iron oxidation[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(24): 7410-7427.
- [8] Fenner N, Freeman C. Drought-induced carbon loss in peatlands[J]. *Nature Geoscience*, 2011, 4(12): 895-900.
- [9] Freeman C, Ostle N, Kang H. An enzymic 'latch' on a global carbon store[J]. *Nature*, 2001, 409(6817): 149.
- [10] Hall S J, Treffkom J, Silver W L. Breaking the enzymatic latch: Impacts of reducing conditions on hydrolytic enzyme activity in tropical forest soils[J]. *Ecology*, 2014, 95(10): 2964-2973.
- [11] LaRowe D E, van Cappellen P. Degradation of natural organic matter: A thermodynamic analysis[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2011, 75(8): 2030-2042.
- [12] Liu Y L, Wang P, Wang J K. Formation and stability mechanism of soil aggregates: Progress and prospect[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(3): 627-643. [刘亚龙, 王萍, 汪景宽. 土壤团聚体的形成和稳定机制: 研究进展与展望[J]. *土壤学报*, 2023, 60(3): 627-643.]
- [13] Ma Z, Li Z L, Yang Y R, et al. Research progress on the mechanism and related application of soil bio-driven aggregates formation and stability[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2026, 63(1): 1-18. [马征, 李振轮, 杨裕然, 等. 土壤生物驱动团聚体形成及稳定的机制与相关应用研究进展[J]. *土壤学报*, 2026, 63(1): 1-18.]
- [14] Wang P, Dong J X, Xia L L, et al. Effects of straw carbon types on fungal community characteristics of soil aggregates[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(6): 1714-1728. [王萍, 董建新, 夏龙龙, 等. 秸秆碳类型对土壤团聚体真菌群落特征的影响[J]. *土壤学报*, 2024, 61(6): 1714-1728.]
- [15] Fan X X, Pan H Y, Ping Y, et al. The underlying mechanism of soil aggregate stability by fungi and related multiple factor: A review[J]. *Eurasian Soil Science*, 2022, 55(2): 242-250.
- [16] Kleber M, Sollins P, Sutton R. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: Self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces[J]. *Biogeochemistry*, 2007, 85(1): 9-24.
- [17] Premnath N, Mohanrasu K, Guru Raj Rao R, et al. A crucial review on polycyclic aromatic hydrocarbons - environmental occurrence and

strategies for microbial degradation[J]. Chemosphere, 2021, 280: 130608.

[18] Wang Y N, Yao Y Z, Han B B, et al. Augmenting the stability of soil aggregate carbon with nutrient management in worldwide croplands[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2024, 370: 109052.

[19] Feng M, Xiang J, Ji X F, et al. Larger soil water-stable aggregate may exert a negative effect on nutrient availability: Results from red soil (ultisol), in South China[J]. Forests, 2023, 14(5): 975.

[20] Yang J Q, Zhang X N, Bourg I C, et al. 4D imaging reveals mechanisms of clay-carbon protection and release[J]. Nature Communications, 2021, 12: 622.

[21] Tang K Z, Zhang J Y, Wu C, et al. Mineralization characteristics of mineral-associated organic carbon in citrus orchards soil aggregates at different slope positions[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(6): 1639-1652. [唐开钊, 张君耀, 吴聪, 等. 不同坡位柑橘园土壤团聚体矿物结合态有机碳矿化特征[J]. 土壤学报, 2024, 61(6): 1639-1652.]

[22] Fan R Q, Yang X M, Drury C F, et al. Distribution and stability of organic carbon in soil aggregate external and internal layers under three different land-use systems[J]. Soil Science Society of America Journal, 2013, 77(5): 1625-1635.

[23] Zhou Y Y, Yue D X, Guo J J, et al. Assessing the impact of land conversion and management measures on the net primary productivity in the Bailong River Basin, in China[J]. Catena, 2021, 207: 105672.

[24] Xiao J J, Zhao Y F, Wang X, et al. Effects of recovery models on organic carbon pathways: A method using ^{13}C natural abundance[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2022, 328: 107851.

[25] Ghadiri H, Rose C W. Sorbed chemical transport in overland flow: I. A nutrient and pesticide enrichment mechanism[J]. Journal of Environmental Quality, 1991, 20(3): 628-633.

[26] Liu Q Y, Luo Y E. Determination of Fe^{2+} , Fe^{3+} and total iron ion with improved ferrozine UV-spectrophotometry[J]. Science Technology and Engineering, 2016, 16(10): 85-88. [刘球英, 骆艳娥. 改进 Ferrozine 法测定溶液中的二价铁、三价铁及总铁[J]. 科学技术与工程, 2016, 16(10): 85-88.]

[27] Hammerl V, Kastl E M, Schlöter M, et al. Influence of rewetting on microbial communities involved in nitrification and denitrification in a grassland soil after a prolonged drought period[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 2280.

[28] Carini P, Marsden P J, Leff J W, et al. Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity[J]. Nature Microbiology, 2017, 2: 16242.

[29] Renault P, Sierra J. Modeling oxygen diffusion in aggregated soils: II. Anaerobiosis in topsoil layers[J]. Soil Science Society of America Journal, 1994, 58(4): 1023-1030.

[30] Renault P, Stengel P. Modeling oxygen diffusion in aggregated soils: I. Anaerobiosis inside the aggregates[J]. Soil Science Society of America Journal, 1994, 58(4): 1017-1023.

[31] Hall S J, Ye C L, Weintraub S R, et al. Molecular trade-offs in soil organic carbon composition at continental scale[J]. Nature Geoscience, 2020, 13(10): 687-692.

[32] Hou Y H, Chen Y, Chen X, et al. Changes in soil organic matter stability with depth in two alpine ecosystems on the Tibetan Plateau[J]. Geoderma, 2019, 351: 153-162.

[33] Demyan M S, Rasche F, Schulz E, et al. Use of specific peaks obtained by diffuse reflectance Fourier transform mid-infrared spectroscopy to study the composition of organic matter in a Haplic Chernozem[J]. European Journal of Soil Science, 2012, 63(2): 189-199.

[34] Egli M, Mavris C, Mirabella A, et al. Soil organic matter formation along a chronosequence in the Morteratsch proglacial area (Upper Engadine, Switzerland)[J]. Catena, 2010, 82(2): 61-69.

[35] Lacroix E M, Gomes A, Heitmann G B, et al. Microbial proxies for anoxic microsites vary with management and partially explain soil carbon concentration[J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(26): 11459-11469.

[36] Farrell R. Enzymatic “combustion”: The microbial degradation of lignin[J]. Annual Review of Microbiology, 1987, 41: 465-505.

[37] Jin Q S, Bethke C M. A new rate law describing microbial respiration[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(4): 2340-

2348.

- [38] Jiang Z H, Wang X, Liu T, et al. Comparing the temperature sensitivity of organic matter decomposition in oxic and oxygen-deprived soils[J]. Soil Ecology Letters, 2024, 6(1): 230189.
- [39] Huang W J, Ye C L, Hockaday W C, et al. Trade-offs in soil carbon protection mechanisms under aerobic and anaerobic conditions[J]. Global Change Biology, 2020, 26(6): 3726-3737.
- [40] Huang W J, Hall S J. Elevated moisture stimulates carbon loss from mineral soils by releasing protected organic matter[J]. Nature Communications, 2017, 8: 1774.
- [41] Chen C M, Hall S J, Coward E, et al. Iron-mediated organic matter decomposition in humid soils can counteract protection[J]. Nature Communications, 2020, 11: 2255.
- [42] Patzner M S, Mueller C W, Malusova M, et al. Iron mineral dissolution releases iron and associated organic carbon during permafrost thaw[J]. Nature Communications, 2020, 11: 6329.
- [43] Fritzsche A, Bosch J, Sander M, et al. Organic matter from redoximorphic soils accelerates and sustains microbial Fe(III) reduction[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(15): 10821-10831.
- [44] Chen X W, Yang J M, Liang A Z, et al. Effects of soil compaction and tillage practices on carbon dioxide efflux in Northeast China: Evidence from an incubation study[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2016, 25(4): 1769-1776.
- [45] Huang W J, Wang K F, Ye C L, et al. High carbon losses from oxygen-limited soils challenge biogeochemical theory and model assumptions[J]. Global Change Biology, 2021, 27(23): 6166-6180.

(责任编辑: 卢 萍)

附加信息:

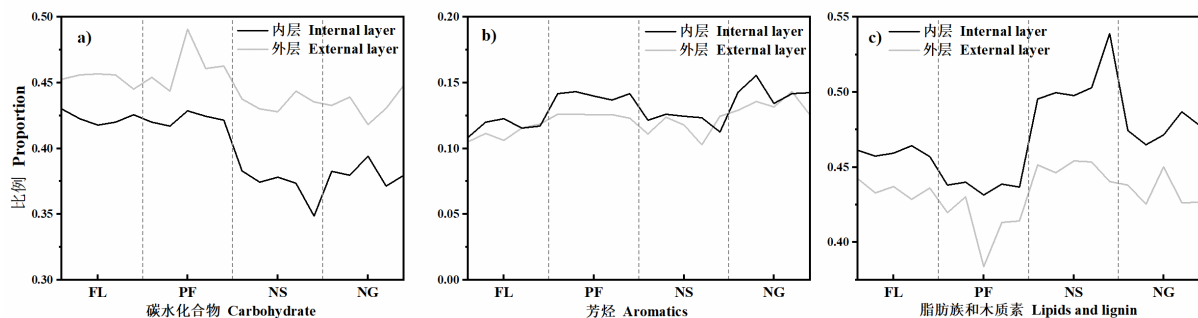
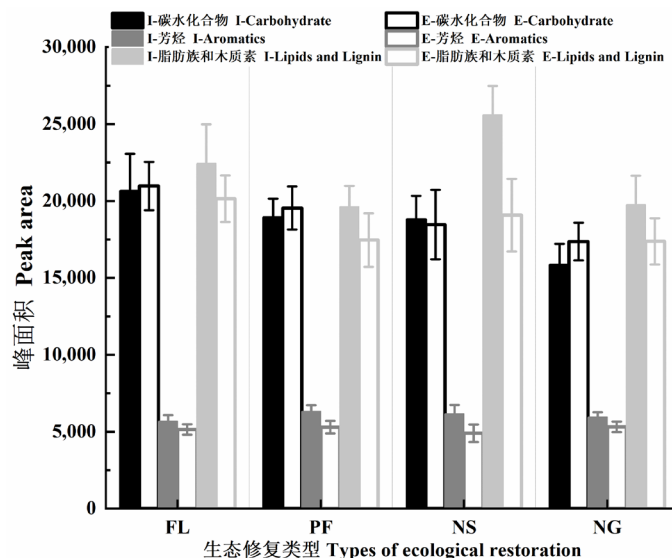


图 S1 各点位土壤团聚体内层和外层有机质组分的相对含量

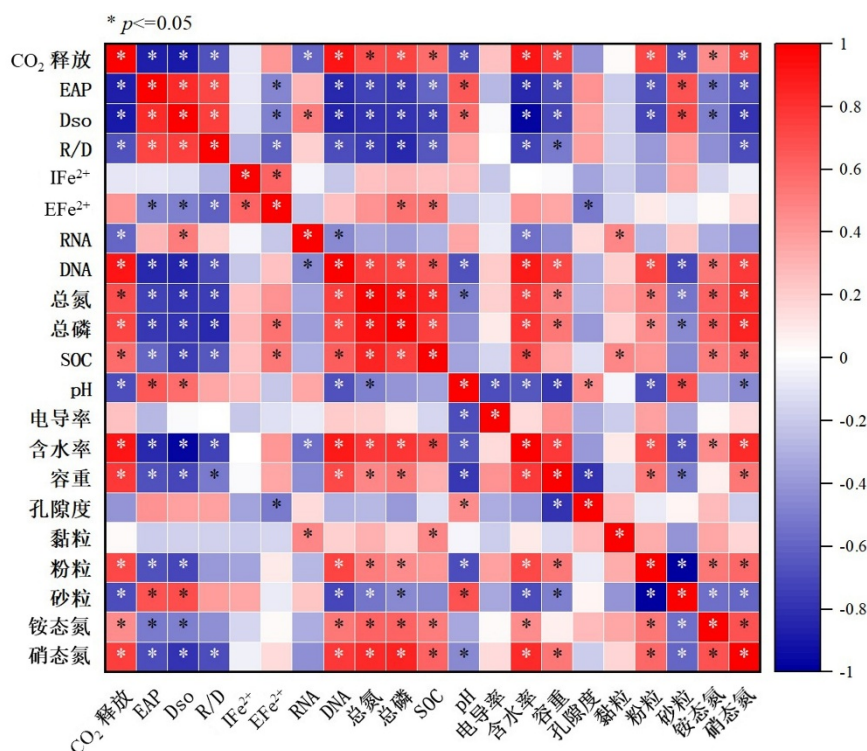
Fig. S1 Relative contents of organic matter components in aggregate internal and external layers at various points



注：字母“I”表示团聚体内层。字母“E”表示团聚体外层。符号“*”表示两组数据有显著差异。Note: The letter "I" represents the internal layer of the aggregate. The letter "E" represents the external layer of the aggregate. The symbol "*" indicates that there are significant differences between the two sets of data.

图 S2 土壤团聚体内层和外层有机成分 FTIR 分析的绝对峰面积

Fig. S2 Absolute peak area of FTIR analysis of organic components in soil aggregate internal and external layers



注：DNA=mcrA 产甲烷菌 DNA 基因。RNA=met86f-met471r 原核生物 16SrRNA 基因。Note: DNA=mcrA methanogenic bacteria DNA gene. RNA=met86f- met471r Prokaryotic 16SrRNA gene.

图 S3 土壤理化性质相关性热点图

Fig. S3 Correlation hotspot map of soil physical and chemical properties