

# 样品保存条件对土壤与植物全碳全氮含量的影响

陈雅涵 谢宗强\*

中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093

**摘要** 土壤与植物的保存样品对生态学研究有重要意义, 但目前未得到广泛应用。该研究的目的是比较样品保存前后全碳、全氮含量的变化, 探讨保存样品应用于长时间序列的生态学研究的可行性。研究选取2011年生长季采集的土壤与植物样品, 保存4年之后测试碳、氮质量分数, 与保存前的测试数据通过成对 $t$ 检验与线性回归进行比较。氮质量分数在不同保存条件下, 保存前后的测试数据之间均为1:1的线性关系, 除低温保存、粒径<2 mm的土壤样品相关系数为0.91外, 其余保存条件下相关系数均大于0.98。碳质量分数保存后的变化与保存条件有关, 粒径<0.15 mm的土壤与植物样品, 两次测试数据之间为1:1的线性关系, 相关系数均大于0.98; 粒径<2 mm的土壤与植物样品两次测试数据的线性关系斜率分别为1.26与1.04, 即2016年测试数据显著高于2012年。结果表明不同保存温度与样品粒径下, 样品保存后的氮含量没有变化; 而碳含量的稳定与样品粒径有关, 常温保存与<20 °C低温下保存则无明显区别。建议用于碳氮元素分析的样品应充分干燥、研磨成<0.15 mm粒径后在常温环境下密封保存。

**关键词** 碳质量分数; 氮质量分数; 样品粒径; 保存时间; 长时间序列

**引用格式:** 陈雅涵, 谢宗强 (2017). 样品保存条件对土壤与植物全碳全氮含量的影响. 植物生态学报, 41, 632–638. doi: 10.17521/cjpe.2016.0286

## Effects of storage conditions on total carbon and nitrogen contents of soil and plant samples

CHEN Ya-Han and XIE Zong-Qiang\*

State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

### Abstract

**Aims** The storage of soil and plant samples has important significance for ecological studies, but has not been widely used. This study aims to compare total carbon/nitrogen content of soil and plant samples before and after long term storage, and further to investigate the feasibility of archiving samples for time series ecological studies at large temporal scales.

**Methods** Soil and plant samples were collected in the growing season in 2011. Carbon/nitrogen mass fraction were analyzed after four years of storage, and were compared with the data obtained before storage using pairwise  $t$ -test and linear regression.

**Important findings** Nitrogen mass fractions of stored samples were linearly correlated to the data before storage along the 1:1 line under different storage conditions, and the correlation coefficient  $r$  was greater than 0.98 (except for soil samples stored at temperature lower than 20 °C and with particle size <2 mm,  $r = 0.91$ ). The carbon mass fraction after storage was changed by the storage conditions. Carbon mass fractions of stored samples with particle size <0.15 mm were linearly correlated to the data before storage along the 1:1 line ( $r > 0.98$ ). Carbon mass fractions of samples with particle size <2 mm increased after storage, and the slope of the linear relationship was 1.26 and 1.04 for soil and plant samples respectively. These results indicated that, nitrogen content of stored samples was stable under different storage conditions, while the stability of carbon content was affected by sample particle size but by storage temperature. Archived samples used for carbon/nitrogen analysis were suggested to be ground to particle size <0.15 mm under fully dry and completely sealed conditions.

**Key words** carbon mass fraction; nitrogen mass fraction; sample particle size; storage time; long time series

**Citation:** Chen YH, Xie ZQ (2017). Effects of storage conditions on total carbon and nitrogen contents of soil and plant samples. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 41, 632–638. doi: 10.17521/cjpe.2016.0286

收稿日期Received: 2016-09-13 接受日期Accepted: 2017-02-28

\* 通信作者Author for correspondence (E-mail: xie@ibcas.ac.cn)

生态系统结构与功能对环境变化的响应是一个长期的、在较大的空间尺度发生的动态过程, 相关研究常在大的时空尺度上进行(Tilman *et al.*, 2001; Worm *et al.*, 2005; Keenan *et al.*, 2013)。其中建立在长时间序列上的研究, 需要面对历史数据不完整, 早期实验数据使用实验仪器和方法与现在不一致, 样品灭失无法核查数据等困难。使用土壤与植物的保存样品进行研究, 其优势是保证测试方法的一致, 且测试指标完善; 但样品保存之后理化指标是否会发生改变, 是需要关注的问题(Blake *et al.*, 2000)。例如保存的风干土壤样品pH值会下降, 且碱性土壤pH值下降显著(Prodromou & Pavlatou-Ve, 1998), 可交换性阳离子有微量增加(Blake *et al.*, 2000); 植物样品的砷价态比例(As(III)/As(V))在一年之内无显著变化, 而不同的前处理方式和保存温度之间有显著差异(Amaral *et al.*, 2014)。尽管土壤与植物样品在保存之后理化指标可能会有不同程度的变化, 但也有多项研究表明使用保存样品的研究结果与新鲜样品一致。例如室温条件下保存的风干土样, 尽管微生物群落结构会发生改变, 但并不影响分析环境变量对微生物群落的效应(Tzeneva *et al.*, 2009); 室温保存3年以上的植物干燥粉末样品与-18 °C冷冻干燥并4 °C保存两个月以内测试的样品比较, 植物样品总酚与丹宁酸含量受保存时间的影响远小于物种类群之间的差异, 对覆盖物种类群广泛的系统进化研究, 保存时间的影响可忽略(Eichenberg *et al.*, 2014)。

土壤与植物的保存样品对生态学的研究有重要意义, 但目前未得到广泛的应用。已有的研究也多关注各类化学组分、土壤微生物群落、酶活性等在样品保存之后的变化(Cernohlavkova *et al.*, 2009; Dadenko *et al.*, 2009; Eichenberg *et al.*, 2014; Pence, 2014), 鲜有分析土壤与植物样品经过一定时间储存后, 元素含量的变化。土壤与植物样品的碳、氮元素是生物地球化学循环中的重要组成部分, 常用于长时间序列的生态学研究(Niu *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2011; Ali *et al.*, 2015), 分析保存样品碳、氮元素含量的变化有助于探讨保存样品应用于相关研究的可行性与应用范围。本研究的目的是对比不同保存温度和样品粒径下, 土壤与植物样品的碳、氮元素含量在保存之后的变化, 探讨保存样品的应用范围以及合理的样品保存方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究材料

土壤与植物样品来自中国科学院战略性先导科技专项“应对气候变化的碳收支认证及相关问题”的“生态系统固碳现状、速率、机制和潜力”项目。样品均于2011年植物生长季采集, 土壤样品经风干、过筛, 植物样品经烘干、粉碎等前处理后, 保存于中国科学院植物研究所自然生态系统样品库。于2012年2–6月对样品进行了全碳全氮含量分析, 2016年4–6月, 从样品库中选取340个土壤样品与100个植物样品, 再次进行全碳全氮含量分析, 与2012年的测试结果进行比较。

选取的土壤样品采自内蒙古、青海、河北、江西、上海、四川、云南, 选取的植物样品采自青海、福建、安徽、河北、山西。样品采集地点是结合植被群落、土壤类型、地形地势和人为扰动等因素设置的具有典型代表性的野外调查地点(生态系统固碳项目技术规范编写组, 2015)。

### 1.2 样品保存方法

土壤样品保存于棕色玻璃瓶中, 瓶口用Parafilm封口膜密封, 室温控制在20 °C以下, 其中内蒙古、江西、青海、四川的土壤保存样品已研磨, 粒径<0.15 mm, 可直接上机测试; 河北、上海、云南的土壤保存样品已过2 mm筛, 再次测试前需挑除毛细根, 研磨处理。此外内蒙古、江西的土壤样品另有一份已研磨样品(粒径<0.15 mm)用塑料自封袋密封保存于常温环境中。

植物样品于65 °C烘干并经过粉碎机粉碎后, 用牛皮纸信封保存, 室温控制在20 °C以下, 再次测试前需进行研磨处理; 每个样品另有一份备份, 研磨后用塑料自封袋密封保存于常温环境中, 可直接上机测试。

### 1.3 实验仪器与分析方法

土壤与植物样品的全碳、全氮含量均使用vario MACRO cube元素分析仪(Elementar, Hanau, Germany)测定。vario MACRO cube元素分析仪实验原理为样品在氦气气氛内通氧燃烧, 生成氧化产物选择性分离、纯化后通过热导检测器检测, 从而得到样品中碳、氮元素的质量分数。样品保存前后的测试条件一致, 包括实验室、实验人员、实验仪器均相同, 实验耗材均来自同一家试剂供应商。

2012年与2016年的测试数据应用成对 $t$ 检验与线性回归进行比较。成对 $t$ 检验根据同一样品前后两次测试的数据进行配对,判断前后两次测试数据的平均值是否有显著差异。线性回归分析中2012年测试数据作为自变量,2016年测试数据作为因变量,通过计算线性回归的斜率及截距的置信区间,比较斜率及截距与特定数值(1和0)之间是否存在显著差异,分析2012年与2016年两次测试数据之间的差异。数据分析使用R软件完成(R3.1.0, R Development Core Team, 2014),其中斜率及截距的置信区间的计算应用smatr包完成(Warton, 2007)。

2 结果

2.1 土壤样品碳氮含量的均值差异

2012年测试土壤样品碳质量分数的平均值与标准偏差为 $1.29\% \pm 1.63\%$ ; 2016年测试结果平均值与标准偏差为 $1.30\% \pm 1.56\%$ 。成对 $t$ 检验的结果显示2012年与2016年两次测试的碳质量分数无显著差异( $p > 0.05$ )。

2012年测试土壤样品氮质量分数的平均值与标准偏差为 $0.109\% \pm 0.115\%$ ; 2016年测试结果平均值与标准偏差为 $0.111\% \pm 0.118\%$ 。单尾成对 $t$ 检验的结果显示2016年测试的氮质量分数显著高于2012年的测试结果( $p < 0.01$ ),质量分数平均增加了0.003%。

比较不同的保存方式下土壤样品碳氮含量的变化,其中低温保存、粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品氮质量分数前后两次测试数据无显著差异,碳质量分数2016年测试数据显著低于2012年;常温保存、粒径 $<0.15\text{ mm}$ 与低温保存、粒径 $<2\text{ mm}$ 的土壤样品,其碳、氮质量分数2016年测试数据均显著高于2012

年(表1)。

2.2 土壤样品两次测试数据的线性回归

不同保存条件下的土壤样品两次测试数据的线性回归结果如图1所示,低温( $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ )保存、粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品,碳质量分数两次测试数据的相关系数为0.998,线性回归的斜率为0.934,显著小于1,线性回归的截距为0.066,显著大于0;若限制回归线通过原点(截距为0),则线性回归的斜率为0.948,显著小于1(图1A)。若将样品按碳含量高低分为两组,其中碳含量低于2.5%的样品(与常温保存、粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品碳含量范围一致),两次测试数据之间为1:1的线性关系;而碳含量高于2.5%的样品,两次测试数据线性回归的斜率为0.940(限制截距为0),显著小于1。

常温保存,粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品,碳质量分数两次测试数据的相关系数为0.999,线性回归的斜率为0.997,与1没有显著差异,线性回归的截距为0.022,显著大于0;若限制回归线通过原点(截距为0),则线性回归的斜率为1.014,显著大于1(图1C)。

低温( $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ )保存,粒径 $<2\text{ mm}$ 的土壤样品,碳质量分数两次测试数据的相关系数为0.940,线性回归的斜率为1.28,显著大于1,线性回归的截距为 $-0.287$ ,显著小于0;若限制回归线通过原点(截距为0),则线性回归的斜率为1.26,显著大于1(图1E)。

三种保存条件下的土壤样品,氮质量分数的两次测试数据的线性回归的斜率均与1没有显著差异,截距与0没有显著差异,即两次测试数据的拟合线与1:1线没有显著差异。而低温( $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ )保存、粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品线性回归的相关系数最高,为0.996;常温保存,粒径 $<0.15\text{ mm}$ 的土壤样品其次,

表1 2012和2016年测定的土壤样品碳氮质量分数(平均值 $\pm$ 标准偏差)  
Table 1 Carbon and nitrogen mass fractions of soil samples analyzed in 2012 and 2016 (mean  $\pm$  SD)

	粒径 $<0.15\text{ mm}$ Particle size $<0.15\text{ mm}$		粒径 $<2\text{ mm}$ Particle size $<2\text{ mm}$
	低温 Low temperature	常温 Room temperature	低温 Low temperature
<b>碳质量分数 Carbon mass fraction (%)</b>			
2012	$1.56 \pm 2.23$	$0.806 \pm 0.634$	$1.54 \pm 0.65$
2016	$1.53 \pm 2.09$	$0.826 \pm 0.633$	$1.69 \pm 0.88$
两次测试差异 Difference between the two times	$-0.04^*$	$0.02^*$	$0.15^*$
<b>氮质量分数 Nitrogen mass fraction (%)</b>			
2012	$0.129 \pm 0.154$	$0.072 \pm 0.036$	$0.128 \pm 0.076$
2016	$0.129 \pm 0.157$	$0.075 \pm 0.037$	$0.138 \pm 0.087$
两次测试差异 Difference between the two times	$ns$	$0.003^*$	$0.01^*$

<sup>\*</sup>,  $p < 0.05$ ;  $ns$ ,  $p > 0.05$ 。

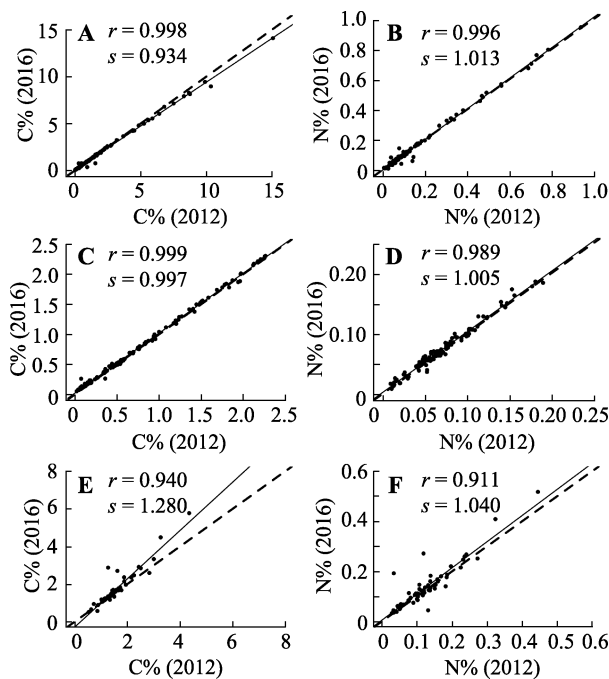


图1 2012和2016年测定的土壤样品碳氮质量分数的线性回归。A, B, 低温保存(<20 °C), 粒径<0.15 mm。C, D, 常温保存, 粒径<0.15 mm。E, F, 低温保存(<20 °C), 粒径<2 mm。C%, 碳质量分数; N%, 氮质量分数; r, 相关系数; s, 线性回归的斜率; 实线, 回归线; 虚线, 1:1线。

Fig. 1 Linear regression relationship between carbon/nitrogen mass fractions of soil samples analyzed in 2012 and 2016 under different storage conditions. A, B, low temperature (<20 °C), particle size <0.15 mm. C, D, room temperature, particle size <0.15 mm. E, F, low temperature (<20 °C), particle size <2 mm. C%, carbon mass fraction; N%, nitrogen mass fraction; r, correlation coefficient; s, slope of linear regression; solid line, regression line; dashed line, 1:1 line.

为0.989; 低温(<20 °C)保存, 粒径<2 mm的土壤样品相关系数最低, 为0.911(图1B、1D、1F)。

2.3 植物样品碳氮含量的均值差异

2012年测试植物样品碳质量分数的平均值与标准偏差为44.30% ± 4.40%; 氮质量分数的平均值与标准偏差为0.789% ± 0.620%。成对t检验的结果显示, 碳质量分数无论保存方式如何, 2016年测试结果均较2012年显著增加( $p < 0.001$ ); 而氮质量分数在低温保存样品中, 2016年测试结果与2012年无显著差异, 在常温保存样品中, 2016年测试数据较2012年平均降低了0.01% ( $p < 0.05$ )。

2.4 植物样品两次测试数据的线性回归

两种保存条件下的植物样品两次测试数据的线性回归结果如图2所示, 低温(<20 °C)保存、粒径<2 mm的植物样品, 碳质量分数两次测试数据的相关系数为0.914, 线性回归的斜率为0.876, 显著小于1, 线性回归的截距为7.28, 显著大于0; 若限制回

表2 2012和2016年测定的植物样品碳氮质量分数(平均值±标准偏差)  
Table 2 Carbon and nitrogen mass fractions of plant samples analyzed in 2012 and 2016 (mean ± SD)

	低温 Low temperature 粒径<2 mm Particle size <2 mm	常温 Room temperature 粒径<0.15 mm Particle size <0.15 mm
碳质量分数 Carbon mass fraction (%)		
2012	44.30 ± 4.40	44.30 ± 4.40
2016	46.09 ± 4.21	44.89 ± 4.42
两次测试差异 Difference between the two times	1.79*	0.58*
氮质量分数 Nitrogen mass fraction (%)		
2012	0.789 ± 0.620	0.789 ± 0.620
2016	0.796 ± 0.622	0.774 ± 0.619
两次测试差异 Difference between the two times	ns	-0.01*

\*,  $p < 0.05$ ; ns,  $p > 0.05$ 。

归线通过原点(截距为0), 则线性回归的斜率为1.039, 显著大于1(图2A)。

常温保存, 粒径<0.15 mm的植物样品, 碳质量分数两次测试数据的相关系数为0.984, 线性回归的斜率和截距分别为0.989和1.082, 拟合线与1:1线没有显著差异(图2C)。

两种保存条件下的植物样品, 氮质量分数的两次测试数据的线性拟合线均与1:1线没有显著差异。常温保存, 粒径<0.15 mm与低温保存、粒径<2 mm的植物样品线性回归的相关系数分别为0.996和0.987(图2B、2D)。

3 讨论和结论

3.1 样品粒径和保存温度对保存样品的影响

土壤样品的不同保存方式中, 大粒径(粒径<2 mm)样品的碳含量在保存后增加, 而小粒径(粒径<0.15 mm)样品的碳氮含量均无变化。大粒径样品保存后碳含量的增加, 可能有两方面原因: (1)大粒径样品在风干、过2 mm筛后即入库保存, 其中有残留的植物根系, 提供了更多的碳源供微生物分解(Fang *et al.*, 2015; Lange *et al.*, 2015), 再次测试时尽管挑除了残留根系, 但已分解的植物残体仍提高了保存样品的碳含量; 小粒径样品则在挑除植物根系后研磨保存, 减少了微生物的碳源供应。(2)大粒径样品在土壤颗粒之间有更多空气, 促进了需氧微生物活动(Alef & Nannipieri, 1995)。

土壤的小粒径样品在常温与<20 °C低温下保

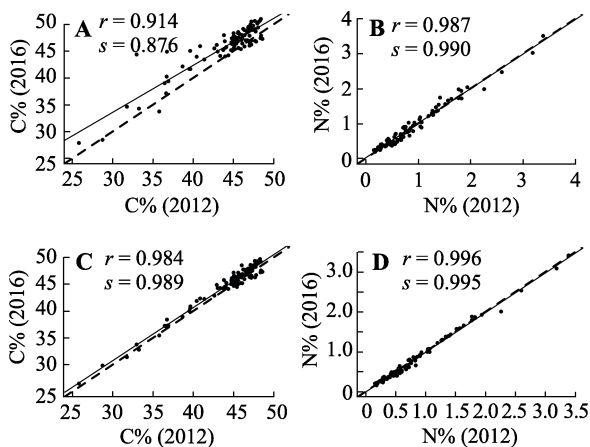


图2 2012和2016年测定的植物样品碳氮质量分数的线性回归。A, B, 低温保存( $<20^{\circ}\text{C}$ ), 粒径 $<2\text{ mm}$ 。C, D, 常温保存, 粒径 $<0.15\text{ mm}$ 。C%, 碳质量分数; N%, 氮质量分数;  $r$ , 相关系数;  $s$ , 线性回归的斜率; 实线, 回归线; 虚线, 1:1线。

**Fig. 2** Linear regression relationship between carbon/nitrogen mass fraction of plant samples analyzed in 2012 and 2016 under different storage conditions. A, B, low temperature ( $<20^{\circ}\text{C}$ ), particle size  $<2\text{ mm}$ . C, D, room temperature, particle size  $<0.15\text{ mm}$ . C%, carbon mass fraction; N%, nitrogen mass fraction;  $r$ , correlation coefficient;  $s$ , slope of linear regression; solid line, regression line; dashed line, 1:1 line.

存则无明显区别, 碳氮含量均无变化。在土壤保存条件对其他测试指标的影响的研究中, 也有类似结果: 例如, 保存4个月后的土壤微生物对碳源的利用能力大大降低, 但 $4^{\circ}\text{C}$ 风干保存和 $-20^{\circ}\text{C}$ 低温冻存对微生物的碳源利用的影响没有显著差异(周杨等, 2015); 在不同温度下保存3个月后的土壤酶活性也没有显著差异(Dadenko *et al.*, 2009)。此外, 保存温度通常对土壤速效成分、元素价态转换有较大影响, 对元素总量则无显著影响(陕红等, 2013; 阎秀兰等, 2005)。

植物样品的两种保存方式相比较, 小粒径样品的保存效果优于大粒径样品, 这一结果与土壤样品一致。植物样品保存条件对砷价态的影响的研究, 也表明冷冻干燥研磨后的小粒径样品保存效果优于未研磨的样品, 这可能与大粒径样品的异质性较高有关(Amaral *et al.*, 2014)。

土壤和植物的大粒径样品在保存后碳含量均增加, 但植物样品的碳含量变化程度远低于土壤样品, 这可能与植物样品保存前于 $60\text{--}80^{\circ}\text{C}$ 杀青灭活有关, 而土壤样品经过常温风干, 保留了其中的微生物及土壤酶的活性(de Nobili *et al.*, 2006; Dadenko *et al.*, 2009), 土壤中微生物的活动及酶的催化导致土壤样品保存后的碳含量变化远大于植物样品。

### 3.2 碳氮在样品保存前后的变化

Blake等(2000)的研究表明, 保存长达32年的土壤样品全碳全氮含量均无显著变化, 但Blake等(2000)使用的是研磨后粒径 $<0.1\text{ mm}$ 的样品, 我们的研究表明, 未研磨的大粒径土壤样品保存后碳含量显著增加。除样品粒径对土壤碳含量的影响外, 土壤碳含量的高低也与保存后碳含量的变化有关, 高碳含量的土壤在保存后碳含量降低, 可能有两方面原因: (1)高碳含量的土壤呼吸作用更强烈,  $\text{CO}_2$ 排放相对较高(Zhou *et al.*, 2013), 导致样品保存后碳含量下降; (2)高碳含量的土壤经过保存后脱氢酶活性的变化更小(赵炳梓等, 2011), 故有更强烈的氧化反应, 导致样品保存后碳含量下降。

与碳含量在不同保存条件下的变化不同, 氮含量在不同保存条件下都没有显著变化。全氮含量的稳定并非意味着含氮的化学组分在保存过程中没有改变, 而是可能含氮的化学组分分解后仍以氨基酸、核苷酸、硝酸盐、铵盐等形式存在, 未以气态形式逸失(Vlassak, 1970), 而含碳的化学组分则易通过呼吸作用转化为 $\text{CO}_2$ 逸失。

### 3.3 样品保存方式的建议

保存样品除应用于碳氮元素分析之外, 也可用于其他的测试指标, 例如土壤样品保存有微生物群落的信息(Dolfing *et al.*, 2004; Moon-van der Staay *et al.*, 2006), 植物样品可用于提取遗传物质(Staats *et al.*, 2011; Weiss *et al.*, 2016)。不同的测试指标通常要求不同的前处理与保存方式, 实际应用中应综合考虑计划测试的各项测试指标, 选取合适的保存方法。例如, 用于土壤微生物、酶活性、无机砷价态分析的土壤样品, 要求用新鲜土壤或低温冷冻保存不超过一定时间段的土壤(Wallenius *et al.*, 2010; Rubin *et al.*, 2013; Amaral *et al.*, 2014; Cui *et al.*, 2014); 用于测试三价铁还原的土壤, 风干过筛后 $22^{\circ}\text{C}$ 保存的效果则优于 $4^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存(Ginn *et al.*, 2014)。

本文结果表明保存4年的样品应用于碳氮元素分析是可行的, 但需要采用合适的保存条件, 其中样品粒径对样品保存后的碳含量有显著影响, 而常温保存与 $<20^{\circ}\text{C}$ 低温下保存无明显区别。用于碳氮元素分析的样品, 建议充分干燥、研磨成 $<0.15\text{ mm}$ 粒径后在常温环境下密封保存, 其中土壤样品应挑除残留的植物根系再研磨。

若计划长期保存样品备用于未知的测试, 应采用严格的保存方式以保存尽可能多的样品理化指标, 同时考虑到保存样品的长期管理与成本投入, 建议长期保存的样品应满足以下保存条件: (1)避光、完全密封; (2)常温环境; (3)土壤样品应风干、过筛、挑除其中的植物根系; (4)植物样品应充分干燥、粉碎后保存。

**基金项目** 国家科技基础性工作专项项目(2015FY210200)和中国科学院战略性先导科技专项课题(XDA01050300)。

**致谢** 感谢中国科学院植物研究所实验人员薛丽萍、闫月芹在实验工作中给予的帮助。

## 参考文献

- Alef K, Nannipieri P (1995). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London.
- Ali AA, Xu CG, Rogers A, McDowell NG, Medlyn BE, Fisher RA, Wullschlegel SD, Reich PB, Vrugt JA, Bauerle WL, Santiago LS, Wilson CJ (2015). Global-scale environmental control of plant photosynthetic capacity. *Ecological Applications*, 25, 2349–2365.
- Amaral CDB, Nobrega JA, Nogueira ARA (2014). Investigation of arsenic species stability by HPLC-ICP-MS in plants stored under different conditions for 12 months. *Microchemical Journal*, 117, 122–126.
- Blake L, Goulding KWT, Mott CJB, Poulton PR (2000). Temporal changes in chemical properties of air-dried stored soils and their interpretation for long-term experiments. *European Journal of Soil Science*, 51, 345–353.
- Cernohlavkova J, Jarkovsky J, Negporova M, Hofman J (2009). Variability of soil microbial properties: Effects of sampling, handling and storage. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 2102–2108.
- Cui H, Wang CH, Gu ZH, Zhu HH, Fu SL, Yao Q (2014). Evaluation of soil storage methods for soil microbial community using genetic and metabolic fingerprintings. *European Journal of Soil Biology*, 63, 55–63.
- Dadenko EV, Kazeev KS, Kolesnikov SI, Val'kov VF (2009). Changes in the enzymatic activity of soil samples upon their storage. *Eurasian Soil Science*, 42, 1380–1385.
- de Nobili M, Contin M, Brookes PC (2006). Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2871–2881.
- Dolfing J, Vos A, Bloem J, Ehlert PAI, Naumova NB, Kuikman PJ (2004). Microbial diversity in archived soils. *Science*, 306, 813–813.
- Eichenberg D, Ristok C, Krober W, Bruelheide H (2014). Plant polyphenols—Implications of different sampling, storage and sample processing in biodiversity-ecosystem functioning experiments. *Chemistry and Ecology*, 30, 676–692.
- Fang F, Hu YK, Gong YM, Tang HP (2015). Soil organic carbon of different decomposition rate and its relation to microbial activity in saline-alkali desert ecosystem. *Polish Journal of Ecology*, 63, 102–109.
- Ginn BR, Habteselassie MY, Meile C, Thompson A (2014). Effects of sample storage on microbial Fe-reduction in tropical rainforest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 68, 44–51.
- Keenan TF, Hollinger DY, Bohrer G, Dragoni D, Munger JW, Schmid HP, Richardson AD (2013). Increase in forest water-use efficiency as atmospheric carbon dioxide concentrations rise. *Nature*, 499, 324–327.
- Lange M, Eisenhauer N, Sierra CA, Bessler H, Engels C, Griffiths RI, Mellado-Vazquez PG, Malik AA, Roy J, Scheu S, Steinbeiss S, Thomson BC, Trumbore SE, Gleixner G (2015). Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. *Nature Communications*, 6, 6707.
- Moon-van der Staay SY, Tzeneva VA, van der Staay GWM, de Vos WM, Smidt H, Hackstein JHP (2006). Eukaryotic diversity in historical soil samples. *Fems Microbiology Ecology*, 57, 420–428.
- Niu SL, Sherry RA, Zhou XH, Wan SQ, Luo YQ (2010). Nitrogen regulation of the climate-carbon feedback: Evidence from a long-term global change experiment. *Ecology*, 91, 3261–3273.
- Pence VC (2014). Tissue cryopreservation for plant conservation: Potential and challenges. *International Journal of Plant Sciences*, 175, 40–45.
- Prodromou KP, Pavlatou-Ve AS (1998). Changes in soil pH due to the storage of soils. *Soil Use and Management*, 14, 182–183.
- Rubin BER, Gibbons SM, Kennedy S, Hampton-Marcell J, Owens S, Gilbert JA (2013). Investigating the impact of storage conditions on microbial community composition in soil samples. *PLOS ONE*, 8, e70460. doi:10.1371/journal.pone.0070460.
- Shan H, Zhang QZ, Zhang XJ, Han RY, Feng ZH (2013). Effects of preservation, analysis method on determination of nitrate in soils. *Journal of Instrumental Analysis*, 12, 1466–1471. (in Chinese with English abstract) [陕红, 张庆忠, 张晓娟, 韩瑞芸, 封朝晖 (2013). 保存、分析方法等因素对土壤中硝态氮测定的影响. 分析测试学报, 12, 1466–1471.]
- Staats M, Cuenca A, Richardson JE, Vrieling-van Ginkel R, Petersen G, Seberg O, Bakker FT (2011). DNA damage in plant herbarium tissue. *PLOS ONE*, 6, e28448. doi:10.1371/journal.pone.0028448.

- Technical Manual Writing Group of Ecosystem Carbon Sequestration Project (2015). *Observation and Investigation for Carbon Sequestration in Terrestrial Ecosystems*. Science Press, Beijing. 11–16. (in Chinese) [生态系统固碳项目技术规范编写组 (2015). 生态系统固碳观测与调查技术规范. 科学出版社, 北京. 11–16.]
- Tilman D, Reich PB, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C (2001). Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, 294, 843–845.
- Tzeneva VA, Salles JF, Naumova N, de Vos WA, Kuikman PJ, Dolfing J, Smidt H (2009). Effect of soil sample preservation, compared to the effect of other environmental variables, on bacterial and eukaryotic diversity. *Research in Microbiology*, 160, 89–98.
- Vlassak K (1970). Total soil nitrogen and nitrogen mineralization. *Plant and Soil*, 32, 27–32.
- Wallenius K, Rita H, Simpanen S, Mikkonen A, Niemi RM (2010). Sample storage for soil enzyme activity and bacterial community profiles. *Journal of Microbiological Methods*, 81, 48–55.
- Warton D (2007). Smatr: (Standardised) Major Axis Estimation and Testing Routines (Version 2.1). <http://cran.r-project.org/web/packages/smatr/index.html>. Cited: 2016-09-10
- Weiss CL, Schuenemann VJ, Devos J, Shirsekar G, Reiter E, Gould BA, Stinchcombe JR, Krause J, Burbano HA (2016). Temporal patterns of damage and decay kinetics of DNA retrieved from plant herbarium specimens. *Royal Society Open Science*, 3, 160239. doi: 10.1098/rsos.160239.
- Worm B, Sandow M, Oschlies A, Lotze HK, Myers RA (2005). Global patterns of predator diversity in the open oceans. *Science*, 309, 1365–1369.
- Yan XL, Chen TB, Liao XY, Xie H, Zhai LM (2005). Transformation of arsenic species in soil samples stored under different conditions: Recommended technique of soil sample storage for arsenic species analysis. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 25, 976–981. (in Chinese with English abstract) [阎秀兰, 陈同斌, 廖晓勇, 谢华, 翟丽梅 (2005). 土壤样品保存过程中无机砷的形态变化及其样品保存方法. 环境科学学报, 25, 976–981.]
- Yu QA, Elser JJ, He NP, Wu HH, Chen QS, Zhang GM, Han XG (2011). Stoichiometric homeostasis of vascular plants in the Inner Mongolia grassland. *Oecologia*, 166, 1–10.
- Zhao BZ, Chen J, Zhang JB, Qin SW (2011). Effect of storage time of air-drying soil and incubation period following rewetting on soil enzyme activities in North China Plain. *Soils*, 43, 418–425. (in Chinese with English abstract) [赵炳梓, 陈吉, 张佳宝, 钦绳武 (2011). 风干土保存时间和湿土培育时间对黄淮海平原潮土酶活性的影响. 土壤, 43, 418–425.]
- Zhou Y, Cui H, Zhu HH, Fu SL, Yao Q (2015). Effects of long-term soil storage on the metabolic activity and functional groups of soil microbial community. *Microbiology China*, 42, 1017–1024. (in Chinese with English abstract) [周杨, 崔航, 朱红惠, 傅声雷, 姚青 (2015). 土壤样品长期保存对微生物群落代谢活性和功能类群的影响. 微生物学通报, 42, 1017–1024.]
- Zhou ZY, Zhang ZQ, Zha TG, Luo ZK, Zheng JM, Sun OJ (2013). Predicting soil respiration using carbon stock in roots, litter and soil organic matter in forests of Loess Plateau in China. *Soil Biology & Biochemistry*, 57, 135–143.

责任编辑: 白 娥 责任编辑: 李 敏



扫码向作者提问