

DOI: 10.5846/stxb201306081430

施瑶, 王忠强, 张心昱, 孙晓敏, 刘希玉, 何念鹏, 庾强. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响. 生态学报, 2014, 34(17): 4943-4949.

Shi Y, Wang Z Q, Zhang X Y, Sun X M, Liu X Y, He N P, Yu Q. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(17): 4943-4949.

## 氮磷添加对内蒙古温带典型草原 土壤微生物群落结构的影响

施 瑶<sup>1,2</sup>, 王忠强<sup>1</sup>, 张心昱<sup>2,\*</sup>, 孙晓敏<sup>2</sup>, 刘希玉<sup>1,2</sup>, 何念鹏<sup>2</sup>, 庾 强<sup>3</sup>

(1. 东北师范大学地理科学学院, 长春 130024;

2. 中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101;

3. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016)

**摘要:** 选取内蒙古温带典型草原, 进行连续 6a 氮磷添加试验, 采用土壤特征微生物 PLFA 生物标记技术, 研究 6 个氮添加水平 N0(0 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N1(56 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N2(112 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N3(224 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N4(392 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N5(560 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 和 6 个磷添加水平 P0(0 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P1(15.5 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P2(31 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P3(62 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P4(93 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P5(124 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 对土壤特征微生物 PLFA 生物标记数量和土壤微生物群落结构的影响。结果表明: (1) 随氮添加量增加, 土壤微生物总磷脂脂肪酸(PLFA) 含量和土壤细菌 PLFA 生物标记数量、放线菌 PLFA 生物标记数量呈上升趋势, 土壤 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> 呈增加趋势; 各氮添加水平对土壤真菌 PLFA 生物标记数量无显著差异, 随氮添加量增加, 土壤真菌/细菌比降低。(2) 随磷添加量增加, 土壤总磷脂脂肪酸(PLFA) 含量、土壤细菌 PLFA 生物标记数量、放线菌 PLFA 生物标记数量、真菌 PLFA 生物标记数量及真菌/细菌比值呈先上升后下降趋势, 均以 P3 水平(62 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 处理最高, 说明适宜的磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物繁殖和菌落结构有显著影响。

**关键词:** 温带典型草原; 氮磷添加; 磷脂脂肪酸(PLFA); 细菌; 真菌; 放线菌; 微生物群落结构

## Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia

SHI Yao<sup>1,2</sup>, WANG Zhongqiang<sup>1</sup>, ZHANG Xinyu<sup>2,\*</sup>, SUN Xiaomin<sup>2</sup>, LIU Xiyu<sup>1,2</sup>, HE Nianpeng<sup>2</sup>, YU Qiang<sup>3</sup>

1 School of Geographical Science, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

2 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

**Abstract:** Nitrogen and phosphorus addition is a main measure to improve plant growth and soil properties. However, little is known about the relationship between nitrogen and phosphorus addition and soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia. In this paper, two single factor experiments were conducted respectively to investigate the influence of different nitrogen rates (0, 56, 112, 224, 392, 560 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) and different phosphorus rates (0, 15.5, 31, 62, 93, 124 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) addition on soil microbial community composition of temperate typical grassland in Xilinguole, Inner Mongolia, China. During the 6-year experimental period, increasing nitrogen rate increased the total numerical values of PLFA biomarker, actinomycete PLFA biomarker, bacteria PLFA biomarker, and the ratios of

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(41171153); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-EW-310)

**收稿日期:** 2013-06-08; **网络出版日期:** 2014-06-27

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangxy@igsnr.ac.cn

G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup>, but did not have significant effect on the numerical values of fungal PLFA biomarker. Increasing nitrogen rate decreased the ratios of fungi/bacteria. Total numerical values of PLFA biomarker, bacteria PLFA biomarker, actinomycete PLFA biomarker, fungi PLFA biomarker and fungi PLFA biomarker/bacterial PLFA biomarker ratio had the highest values at the P3 (62 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) phosphorus addition treatment. The results indicated that nitrogen and phosphorus addition could greatly affect soil microbial community composition in temperate typical grassland.

**Key Words:** temperate typical grassland; nitrogen and phosphorus addition; PLFA biomarker; bacteria; fungi; actinomycete; soil microbial community

受主要来自化石燃料燃烧、施肥措施等人类活动的影响,大气氮沉降逐渐增加<sup>[1]</sup>。我国现已成为继欧洲、北美之后的第三大氮沉降区<sup>[2]</sup>,且高氮沉降区由东南向西北逐步蔓延。内蒙古温带典型草原地处我国东北部,即将面临持续增加的大气氮沉降<sup>[3]</sup>。草地土壤微生物多样性作为反映草地生态系统稳定性、评价草地生态系统土壤质量的敏感指标,在维护草地生态平衡中具有重要作用。因此,研究持续增加的大气氮沉降对内蒙古典型草原土壤生物多样性影响具有重要意义。

持续增加的氮沉降将加速草地土壤磷循环,使草地土壤由氮限制向磷限制转变<sup>[4]</sup>。目前,以研究氮限制条件下土壤微生物活性、植被生物量、土壤微生物群落结构的变化居多,而缺乏对磷限制条件下土壤微生物群落结构和数量变化的深入探讨。土壤微生物群落结构和数量的变化能够反映土壤有机质积累和凋落物分解情况<sup>[5]</sup>,研究氮、磷添加对土壤微生物群落结构和数量的影响,对大气氮沉降持续增加的背景下如何保护温带典型草原土壤生物质量具有重要意义。

本文通过连续 6a 野外模拟氮沉降试验,研究不同氮磷添加处理对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构和数量的影响,分析和阐述氮磷添加对温带典型草原的土壤微生物群落结构及数量的影响机制,以期在大气氮沉降逐渐增加的背景下,为如何保持内蒙古温带典型草原土壤质量及土壤微生物多样性提供基础研究数据和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验样地概况

试验样地设在中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站(43°38'N, 116°42'E),土壤类型为栗钙土,植被群落以大针茅(*Stipa grandis*)和羊草

(*Leymus chinensis*)为主。该地区平均海拔高度 1100 m,属大陆性温带半干旱草原气候,年均降水量 358.4 mm,其中 60%—80%的降水来自 5—8 月的生长季,约 10%的降水来自降雪。年均温 -0.4 °C,月均温 1 月份最低为 -21.6 °C,7 月份最高为 19.0 °C。

### 1.2 试验处理

本研究为 2 个单因素试验,分别为氮添加试验和磷添加试验,所有样地均封育。各处理小区面积为 6 m × 6 m,各小区间隔 1 m 缓冲带。该试验样地从 2006 年开始施肥,每年 5 月末或 6 月初下雨前 1—2d 对各小区进行施肥处理,连续施肥 6a,于 2012 年 7 月采样。

氮添加试验设对照(N0)和 N1(56 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N2(112 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N3(224 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N4(392 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、N5(560 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 6 个施氮水平处理,每个处理 4 次重复,氮肥为尿素,各处理添加 15.5 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>磷酸二氢钾。

磷添加试验设对照(P0)和 P1(15.5 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P2(31 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P3(62 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P4(93 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>)、P5(124 kg P hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 6 个施磷水平处理,每个处理 4 次重复,磷肥为磷酸二氢钾。各处理添加 56 kg N hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>尿素,各处理添加相应的氯化钾以保证各处理钾浓度一致。

### 1.3 采样及测定

土壤样品在每小区内按“S”形 5 点采样法用土钻取 0—20 cm 土壤混合,剔除根系,过 2 mm 筛,装入封口袋并用冷藏箱带回实验室,放 4 °C 冰箱贮存待测。

土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)使用元素分析仪测定(Vario MAX CN, Elementar, Germany),土壤全磷(TP)采用 HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>消煮-钼锑抗比色法测定<sup>[6]</sup>。

### 1.4 土壤微生物磷脂脂肪酸的测定及分析

土壤微生物脂肪酸提取参考 Bossio 和 Kong 的

方法<sup>[7-8]</sup>。分离和提取步骤如下:将相当于 8g 干重的土壤分别加入 3 mL 磷酸缓冲液、6 mL 氯仿、12 mL 甲醇,避光震荡 2 h,在 3000 r/min 下离心 10 min,转移上清液到装有 12 mL 三氯甲烷,12 mL 磷酸缓冲液的分液漏斗中,再向土壤中加入相同体积的磷酸缓冲液、氯仿和甲醇溶液,手工摇动并震荡 30 min,离心,再次将上清液转移到分液漏斗中,最后将分液漏斗摇动 2 min,静置过夜,避光保存。第 2 天,将分液漏斗中下层溶液收集入大试管(50 mL)中,收集的液体在 30—32℃ 水浴中,用氮吹仪吹干,试管内浓缩后样品用 2 份 500 mL 三氯甲烷转移浓缩磷脂到萃取小柱(硅胶柱),依次采用 5 mL 三氯甲烷,10 mL 丙酮,5 mL 甲醇洗脱液淋洗,并收集甲醇相,吹干。在吹干后的样品中加入 1 mL 1:1 甲醇甲苯及 1 mL 0.2 mol/L 氢氧化钾,摇匀,37℃ 水浴加热 15 min,最后用正己烷萃取,收集正己烷相并吹干,用于气相色谱质谱仪的测定。

本研究中,土壤总微生物数量以 i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、16:1 $\omega$ 7c、cy17:0、cy19:0、10Me18:0、10Me16:0、18:2 $\omega$ 6、18:1 $\omega$ 9c 加和表示,细菌数量以 i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、16:1 $\omega$ 7c、cy17:0、cy19:0

加和表示,革兰氏阳性菌( $G^+$ )数量以 i15:0、a15:0、i16:0、i17:0 加和表示,革兰氏阴性菌( $G^-$ )数量以 16:1 $\omega$ 7c、cy17:0、cy19:0 加和表示,放线菌生物量以 10Me18:0、10Me16:0 加和表示,真菌数量以 18:2 $\omega$ 6 和 18:1 $\omega$ 9c 加和表示<sup>[9-11]</sup>。

## 1.5 数据处理

数据使用 SPSS 17.0 (SPSS Inc. Chicago, USA) 进行单因素方差 (One-Way ANOVA) 分析,采用 LSD 进行多重比较检验,显著水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 氮添加对土壤基本理化性质的影响

表 1 表明,随着氮添加量增加,土壤 pH 值总体呈下降趋势,而氮添加显著提高了土壤有机碳含量;但对土壤全氮 (TN) 和全磷 (TP) 无显著影响 ( $P < 0.05$ )。随着氮添加量增加,土壤碳氮比 (C:N) 呈增加趋势,N4 和 N5 处理的土壤碳氮比显著高于对照 (N0)。土壤碳磷比 (C:P) 和氮磷比 (N:P) 随施氮量增加呈递增趋势,碳磷比变化范围为 58—70,氮磷比变化范围为 5—6。

表 1 氮添加对温带典型草原土壤碳氮磷含量及其比值的影响

Table 1 Content and ratios of organic carbon (C), total nitrogen (N) and total phosphorus (P) in different N additions

处理 Treatment	pH	有机碳 Organic carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	碳氮比 C:N	碳磷比 C:P	氮磷比 N:P
N0	7.3 $\pm$ 0.12a	21.6 $\pm$ 0.41c	2.1 $\pm$ 0.03a	0.4 $\pm$ 0.01a	10 $\pm$ 0.3c	58 $\pm$ 2.4b	6 $\pm$ 0.1ab
N1	6.7 $\pm$ 0.07ab	21.9 $\pm$ 0.07bc	2.1 $\pm$ 0.07a	0.4 $\pm$ 0.01a	10 $\pm$ 0.3bc	63 $\pm$ 1.3ab	6 $\pm$ 0.2a
N2	6.9 $\pm$ 0.07bc	22.6 $\pm$ 0.43b	2.1 $\pm$ 0.03a	0.4 $\pm$ 0.01a	11 $\pm$ 0.1abc	61 $\pm$ 3.0b	6 $\pm$ 0.3ab
N3	6.4 $\pm$ 0.17c	24.0 $\pm$ 0.22a	2.1 $\pm$ 0.07a	0.3 $\pm$ 0.01a	11 $\pm$ 0.4ab	70 $\pm$ 3.2a	6 $\pm$ 0.5a
N4	6.4 $\pm$ 0.07cd	23.6 $\pm$ 0.34a	2.0 $\pm$ 0.08a	0.4 $\pm$ 0.01a	12 $\pm$ 0.5a	64 $\pm$ 3.2ab	5 $\pm$ 0.3b
N5	6.1 $\pm$ 0.15d	23.7 $\pm$ 0.28a	2.1 $\pm$ 0.08a	0.4 $\pm$ 0.01a	12 $\pm$ 0.5a	62 $\pm$ 2.5ab	6 $\pm$ 0.3ab

不同小写字母表示每列不同氮添加水平差异显著 ( $P < 0.05$ ,  $n = 4$ ), 数据表示平均值  $\pm$  标准误差

### 2.2 氮添加对土壤微生物总磷脂脂肪酸含量及菌群 PLFA 的影响

图 1 表明,随着氮添加量增加,土壤总 PLFA 量呈上升趋势,N5 处理的土壤总 PLFA 量显著高于 N0、N1 处理土壤总 PLFA 量,而 N2、N3、N4 处理总 PLFA 量 (4.54—5.76 nmol/g) 高于对照 (N0) 及 N1 处理,但差异不显著。土壤总 PLFA 量以 N5 处理最高,对照 (N0) 最低,分别为 6.7 nmol/g 和 3.4 nmol/g。

图 2 表明,与对照 (N0) 相比,氮添加显著提高了土壤革兰氏阳性菌 ( $G^+$ )、阴性菌 ( $G^-$ ) PLFA 量 ( $P < 0.05$ )。各处理革兰氏阳性、阴性菌的 PLFA 量变化规律相似,随氮添加量增加,革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的 PLFA 含量均呈上升趋势,均以 N5 处理的土壤革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌 PLFA 含量最高 (分别为 2.67 nmol/g 和 1.90 nmol/g, 且显著高于 N0 (1.20 nmol/g 和 0.97 nmol/g) ( $P < 0.05$ ))。革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的 PLFA 比值 ( $G^+/G^-$ ) 则

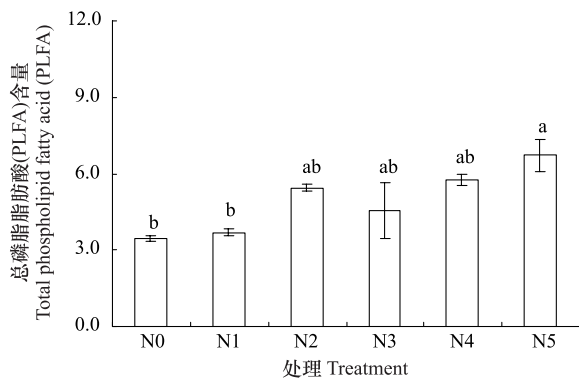


图1 不同氮添加水平土壤总磷脂脂肪酸(PLFA)含量  
Fig.1 Total phospholipid fatty acid (PLFA) contents in different N addition treatments

以 N3 处理的 PLFA 含量最高,为 1.63, N0 最低,为 1.23。

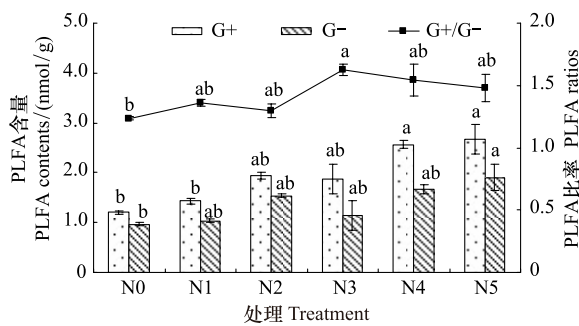


图2 不同氮添加水平土壤革兰氏阳性菌、阴性菌磷脂脂肪酸(PLFA)含量及比率  
Fig.2 Contents and ratios of G<sup>+</sup> and G<sup>-</sup> in different N addition treatments

图3表明,氮添加能够显著促进土壤细菌和放线菌生长,而对真菌的PLFA含量影响不显著。以

细菌为例,N5处理的PLFA含量显著高于N0和N1处理,放线菌的PLFA含量则在N4处理达到最大,显著高于N0、N1、N2、N3处理( $P < 0.05$ ),但与N5处理差异不显著。氮添加使土壤真菌/细菌比呈降低趋势,真菌与细菌的PLFA比值(真菌/细菌)在N4处理达到最低,且显著低于对照(N0) ( $P < 0.05$ )。

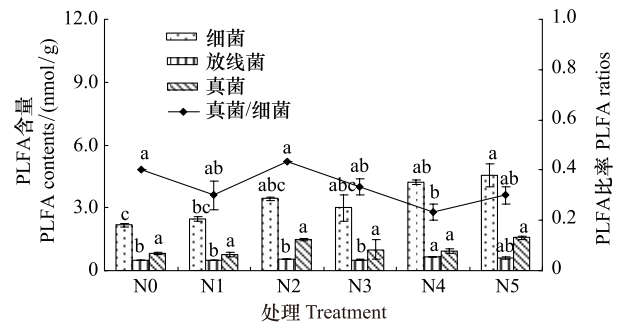


图3 不同氮添加水平土壤各菌群磷脂脂肪酸(PLFA)含量及比率  
Fig.3 Contents of phospholipid fatty acid(PLFA) and ratios of fungi/bacteria in different N addition treatments

### 2.3 磷添加对土壤基本理化性质的影响

从表2可以看出,随磷添加量增加,土壤pH值呈降低趋势,但差异不显著,而土壤有机碳含量呈上升趋势,且P5处理的土壤有机碳含量较P0有显著提高( $P < 0.05$ )。磷添加对土壤全氮、全磷含量基本无显著影响。磷添加使土壤C:N和N:P比值呈上升趋势,但差异不显著;磷添加提高了土壤C:P比,且P5处理的土壤C:P比显著高于对照(P0) ( $P < 0.05$ )。其中土壤碳氮比、碳磷比和氮磷比的变化范围分别为:10—12,50—67和5—6。

表2 磷添加对草地土壤碳氮磷含量及其比值的影响

Table 2 Content and ratios of organic carbon (C), total nitrogen (N) and phosphorus (P) in different P additions

处理 Treatment	pH	有机碳 Organic carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	碳氮比 C:N	碳磷比 C:P	氮磷比 N:P
P0	6.8±0.21a	21.6±0.21b	2.1±0.07a	0.4±0.01a	10±0.4a	50±1.7b	5±0.3a
P1	6.7±0.12a	22.3±0.74ab	2.1±0.14a	0.4±0.02ab	11±0.7a	57±2.9ab	5±0.4a
P2	6.4±0.03a	23.6±0.37a	2.1±0.06a	0.4±0.02ab	11±0.4a	64±3.3a	6±0.2a
P3	6.6±0.14a	23.4±0.51a	2.1±0.05a	0.4±0.01ab	11±0.2a	63±1.5a	6±0.3a
P4	6.5±0.12a	23.2±0.27a	2.0±0.04a	0.4±0.02b	12±0.2a	67±4.0a	6±0.3a
P5	6.6±0.10a	23.6±0.46a	2.0±0.08a	0.4±0.04ab	12±0.5a	67±6.4a	6±0.5a

不同小写字母表示每列不同氮添加水平差异显著( $P < 0.05$ ,  $n = 4$ ),数据表示平均值 ± 标准误差



## 2.4 磷添加对土壤微生物总磷脂脂肪酸含量及菌群 PLFA 的影响

图 4 表明,磷添加能够显著提高土壤总 PLFA 含量,以 P3 处理的土壤总 PLFA 含量最高,且显著高于对照(P0)、P1、P2 和 P4 处理( $P < 0.05$ ),而 P5 处理的土壤总 PLFA 含量与对照(P0)相比,差异不显著。

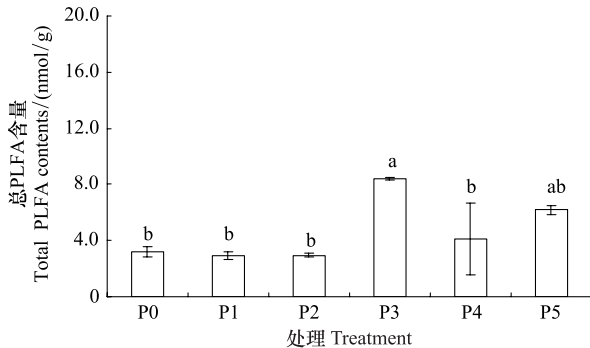


图 4 不同磷添加水平土壤总磷脂脂肪酸(PLFA)含量

Fig. 4 Total phospholipid fatty acid (PLFA) contents in different P addition treatments

从图 5 可以看出,适量的磷添加能够提高土壤革兰氏阳性菌( $G^+$ )和革兰氏阴性菌( $G^-$ ) PLFA 含量:以革兰氏阳性菌为例,P3 处理的土壤革兰氏阳性菌 PLFA 含量显著高于 P0 ( $p < 0.05$ ),但与 P5 处理相比,差异不显著。另外,高磷处理(P5)的革兰氏阳性菌 PLFA 含量显著高于 P1 处理( $P < 0.05$ ),但与对照 P0 相比差异不显著;随磷添加量增加,以 P3 处理的土壤革兰氏阴性菌 PLFA 含量最高,显著高于对照(P0) ( $P < 0.05$ ),而高磷处理(P5)与各处理间差异均未达到显著。随磷添加量增加,土壤革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌( $G^+/G^-$ )变化不大,以 P3 处理最低(1.17),P4 处理最高(1.34)。

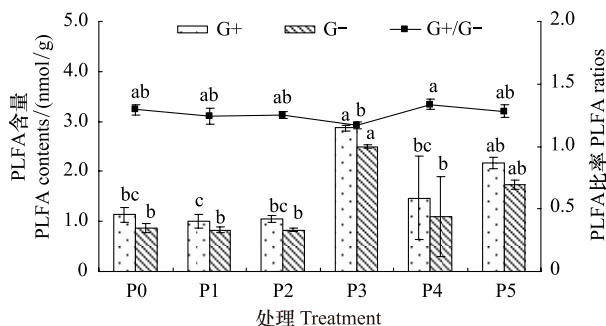


图 5 不同磷添加水平土壤革兰氏阳性、阴性菌磷脂脂肪酸(PLFA)含量及比率

Fig. 5 Contents and ratios of  $G^+$  and  $G^-$  in different P addition treatments

图 6 表明,适量的磷添加可显著提高土壤细菌、放线菌和真菌 PLFA 含量( $P < 0.05$ )。随磷添加量增加,土壤细菌、放线菌、真菌的 PLFA 含量变化趋势相似:细菌、放线菌、真菌的 PLFA 含量均以 P3 处理最高,且显著高于 P0、P1、P2、P4 处理( $P < 0.05$ ),而 P5 处理的土壤细菌、放线菌、真菌 PLFA 含量较对照(P0)相比均无显著差异。另外, P3 和 P5 处理的土壤真菌/细菌比均显著高于 P1 和 P2 处理( $P < 0.05$ ),但与对照(P0)相比差异不显著。

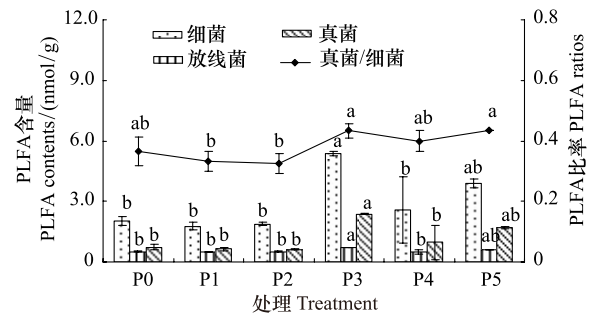


图 6 不同磷添加水平土壤各菌群磷脂脂肪酸(PLFA)含量及比率

Fig. 6 Contents of phospholipid fatty acid(PLFA) and ratios of fungi/bacteria in different P addition treatments

## 3 讨论

### 3.1 氮添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落的影响

氮限制条件下,适量的氮添加对温带典型草原土壤微生物数量及群落结构具有积极影响,氮添加是影响温带典型草原土壤细菌、真菌和放线菌组成的重要因素。本试验结果表明,氮添加量为  $560 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$  时的温带典型草原土壤微生物总 PLFA 含量和细菌 PLFA 含量最高。研究表明,不同土壤类型和养分含量对氮添加的响应不同,对于北美碳氮含量较低的土壤,氮添加主要增加了土壤放线菌的数量<sup>[12]</sup>,而对于美国北部阔叶林土壤,氮添加降低了土壤微生物生物量和菌根真菌生物量<sup>[13]</sup>。同时也有研究表明氮添加对真菌数量的影响不显著<sup>[14-16]</sup>,这与本试验结果一致,可能是由于真菌菌丝有助于其游动并依附于土壤表面动植物残体,易于吸收养分,因此与细菌相比,真菌对土壤养分贫瘠土壤和碳限制环境的适应性较强<sup>[17-18]</sup>。本试验结果显示,与对照(N0)相比,N5 处理( $560 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ )

的土壤有机碳含量、土壤碳氮比以及土壤细菌、真菌的 PLFA 含量显著提高,土壤放线菌 PLFA 含量则以  $392 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$  时最高。研究表明,酸性的土壤环境会降低土壤微生物多样性,抑制土壤微生物酶活性<sup>[19]</sup>,而本试验结果表明,随氮添加量增加,土壤 pH 值显著下降(由 7.3 降至 6.1),但土壤微生物总 PLFA 含量呈上升趋势,这可能是由于氮添加对土壤微生物促进作用大于对土壤微生物的抑制作用的缘故。因此在氮限制条件下,适量氮添加有助于减缓温带典型草原土壤有机质分解矿化,促进温带典型草原土壤有机碳积累,提高温带典型草原土壤固碳能力、土壤微生物生物量和土壤细菌和  $G^+$  菌比例。

### 3.2 磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落的影响

磷限制条件下,适量的磷添加能够显著提高温带典型草原土壤微生物生物量,改善其土壤微生物群落结构,过多的磷添加则会抑制土壤微生物生长。Liu<sup>[20]</sup>在鼎湖山森林土壤 3a 的磷添加试验表明,适量磷添加可显著提高亚热带老龄森林土壤微生物总 PLFA 含量、细菌、真菌 PLFA 含量以及真菌/细菌比,这与本试验结果一致:与对照(P0)相比,土壤微生物总 PLFA 含量、细菌和真菌 PLFA 含量及真菌/细菌比均以 P3 处理( $62 \text{ kg P hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ )最为显著,过高或过低的磷添加量对温带典型草原土壤微生物生物量和群落结构具有负效应。Vries<sup>[21]</sup>指出,高真菌/细菌比的草地生态系统更稳定,因此适量磷添加对温带典型草原土壤微生物繁殖及保持草地生态系统稳定性具有积极作用。Rooney<sup>[22]</sup>认为,磷添加使高山草地土壤基本理化性质发生变化,并通过高山草地植物群落影响草地土壤细菌和真菌群落结构。本试验中,随磷添加量增加,温带典型草原土壤有机碳含量显著提高,Sinabaugh<sup>[19]</sup>指出,土壤微生物酶(如  $\beta$ -1-4-葡糖苷酶, $\beta$ -1-4-乙酰葡糖胺酶和磷酸酶)活性与土壤有机质浓度呈正相关,说明适量的磷添加能够提高土壤微生物活性进而促进土壤微生物繁殖。另外,研究表明,磷添加对温带典型草原土壤理化性质和植被组成的影响以正效应为主,高磷土壤不利于生物多样性的保持<sup>[23]</sup>。因此,磷限制条件下,过多的磷添加会抑制温带典型草原土壤微生物生长,由此,应对氮沉降引起的土壤磷素限制,磷添加量应以  $62 \text{ kg P hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ (P3 处理)为宜。

## 4 结论

(1) 随氮添加量增加,温带典型草原土壤微生物总磷脂脂肪酸(PLFA)含量和土壤细菌、放线菌 PLFA 含量呈上升趋势,但对各氮添加水平的土壤真菌 PLFA 含量无显著差异;随氮添加量增加,土壤  $G^+/G^-$  比增加,土壤真菌/细菌比降低。

(2) 随磷添加量增加,温带典型草原土壤总 PLFA 含量、土壤细菌、放线菌、真菌 PLFA 含量及真菌/细菌比值呈先上升后下降趋势,均以 P3 水平( $62 \text{ kg P hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ )处理最高。

## References:

- [1] Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, Boyer E W, Howarth R W, Seitzinger S P, Asner G P, Cleveland C C, Green P A, Holland E A, Karl D M, Michaels A F, Porter J H, Townsend A R, Vöosmarty C J. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 2004, 70(2): 153-226.
- [2] Dentener F, Drevet J, Lamarque J F, Bey I, Eickhout B, Fiore A M, Hauglustaine D, Horowitz L W, Krol M, Kulshrestha U C, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Müller J F, Pitari G, Rodriguez J, Sanderson M, Solomon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O. Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: A multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles*, 2006, 20(4): GB4003, doi: 10.1029/2005GB002672.
- [3] Liu X J, Duan L, Mo J M, Du E Z, Shen J L, Lu X K, Zhang Y, Zhou X B, He C N, Zhang F S. Nitrogen deposition and its ecological impact in China: An overview. *Environmental Pollution*, 2011, 159(10): 2251-2264.
- [4] Wang J Y, Zhang X Y, Wen X F, Wang S Q, Wang H M. The effect of nitrogen deposition on forest soil organic matter and litter decomposition and the microbial mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(5): 1337-1346.
- [5] Liu Z F, Fu B J, Zheng X X, Liu G H. Plant biomass, soil water content and soil N : P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: A regional scale study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 445-450.
- [6] Bao S D. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 74-76.
- [7] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology*, 1998, 35(3/4): 265-278.

- [ 8 ] Kong A Y Y, Scow K M, Córdova-Kreylos A L, Holmes W E, Six J. Microbial community composition and carbon cycling within soil microenvironments of conventional, low-input, and organic cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(1): 20-30.
- [ 9 ] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(1/2): 59-65.
- [ 10 ] Zelles L. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 1997, 35(1/2): 275-294.
- [ 11 ] Kulmatiski A, Beard K H. Long-term plant growth legacies overwhelm short-term plant growth effects on soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 823-830.
- [ 12 ] Ramirez K S, Craine J M, Fierer N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology*, 2012, 18(6): 1918-1927.
- [ 13 ] van Diepen L, Lilleskov E, Pregitzer K, Miller R. Simulated nitrogen deposition causes a decline of intra-and extraradical abundance of arbuscular mycorrhizal fungi and changes in microbial community structure in Northern Hardwood Forests. *Ecosystems*, 2010, 13(5): 683-695.
- [ 14 ] Lovell R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(7): 969-975.
- [ 15 ] Williams B L, Grayston S J, Reid E J. Influence of synthetic sheep urine on the microbial biomass, activity and community structure in two pastures in the Scottish uplands. *Plant and Soil*, 2000, 225(1/2): 175-185.
- [ 16 ] Clegg C D. Impact of cattle grazing and inorganic fertiliser additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. *Applied Soil Ecology*, 2006, 31(1/2): 73-82.
- [ 17 ] Bai Z, Zhang M, Song D Y, Zhang X D. Effect of different fertilization on microbial community in an arable mollisol. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(7): 3244-3253.
- [ 18 ] He Y T, Qi Y C, Dong Y S, Peng Q, Xiao S S, Liu X C. Advances in the influence of external nitrogen input on soil microbiological characteristics of grassland ecosystem. *Advances in Earth Science*, 2010, 25(8): 877-885.
- [ 19 ] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, Ahmed B, Allison S D, Crenshaw C, Contosta A R, Cusack D, Frey S, Gallo M E, Gartner T B, Hobbie S E, Holland K, Keeler B L, Powers J S, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M P, Wallenstein M D, Zak D R, Zeglin L H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 2008, 11(11): 1252-1264.
- [ 20 ] Liu L, Gundersen P, Zhang T, Mo J M. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in three forest types in tropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1): 31-38.
- [ 21 ] de Vries F T, Hoffland E, Eekeren N V, Brussaard L, Bloem J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(8): 2092-2103.
- [ 22 ] Rooney D C, Clipson N J W. Phosphate addition and plant species alters microbial community structure in acidic upland grassland soil. *Microbial Ecology*, 2009, 57(1): 4-13.
- [ 23 ] Aerts R, Caluwe H D, Beltman B. Plant community mediated vs. nutritional controls on litter decomposition rates in grasslands. *Ecology*, 2003, 84(12): 3198-3208.

#### 参考文献:

- [ 4 ] 王晶苑, 张心昱, 温学发, 王绍强, 王辉民. 氮沉降对森林土壤有机质和凋落物分解的影响及其微生物学机制. *生态学报*, 2013, 33(5): 1337-1346.
- [ 6 ] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000: 74-76.
- [ 17 ] 白震, 张明, 宋斗妍, 张旭东. 不同施肥对农田黑土微生物群落的影响. *生态学报*, 2008, 28(7): 3244-3253.
- [ 18 ] 何亚婷, 齐玉春, 董云社, 彭琴, 肖胜生, 刘欣超. 外源氮输入对草地土壤微生物特性影响的研究进展. *地球科学进展*, 2010, 25(8): 878-885.