

DOI: 10.5846/stxb201705100859

叶成龙, 张浩, 周小龙, 周显辉, 郭辉, 胡水金. 氮添加对高寒草甸土壤微生物呼吸及其温度敏感性的影响. 生态学报, 2018, 38(7): - .

Ye C L, Zhang H, Zhou X L, Zhou X H, Guo H, Hu S J. Effects of nitrogen additions on soil microbial respiration and its temperature sensitivity in a Tibetan alpine meadow. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(7): - .

# 氮添加对高寒草甸土壤微生物呼吸及其温度敏感性的影响

叶成龙<sup>1</sup>, 张浩<sup>1</sup>, 周小龙<sup>2</sup>, 周显辉<sup>2</sup>, 郭辉<sup>1,\*</sup>, 胡水金<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

<sup>2</sup> 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000

**摘要:** 土壤氮素的可利用性是控制土壤微生物呼吸的重要因素之一, 大量研究已经表明增加土壤活性氮的含量可以降低微生物呼吸, 但是土壤氮输入对土壤微生物呼吸温度敏感性的影响还不清楚。以青藏高原高寒草甸为研究对象, 通过野外施氮试验和室内控制试验相结合的方式, 在 5℃、15℃ 和 25℃ 条件下对 3 种施氮水平的土壤 (对照, 0 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>; 低氮, 5 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>; 高氮, 15 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) 进行培养, 探讨土壤微生物呼吸及其温度敏感性对不同氮添加水平的响应情况。结果表明: (1) 3 个温度培养下的土壤微生物呼吸速率和累积碳释放量均随施氮量的增加而显著降低 ( $P < 0.05$ ); (2) 氮添加对 5℃ 和 15℃ 培养条件下的微生物呼吸温度敏感性没有显著影响, 但显著地增加了 15℃ 和 25℃ 培养条件下的微生物呼吸温度敏感性 ( $P < 0.05$ ); (3) 线性相关分析表明, 土壤累积碳释放量与土壤有机碳的难降解性显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 而 15℃ 和 25℃ 培养条件下的微生物呼吸温度敏感性与土壤有机碳的难降解性显著正相关 ( $P < 0.05$ )。上述结果表明, 在全球气候变暖的背景下, 土壤氮输入将增加预测青藏高原高寒草甸地区土壤碳排放的不确定性。

**关键词:** 高寒草甸; 氮添加; 土壤微生物呼吸; 温度敏感性

## Effects of nitrogen additions on soil microbial respiration and its temperature sensitivity in a Tibetan alpine meadow

YE Chenglong<sup>1</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, ZHOU Xiaolong<sup>2</sup>, ZHOU Xianhui<sup>2</sup>, GUO Hui<sup>1,\*</sup>, HU Shuijin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

<sup>2</sup> School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

**Abstract:** The soil C stock of the Tibetan Plateau is of global significance because of its large pool size and the potential positive feedback to climate warming. Soil microbial respiration is an important carbon (C) flux of the global C cycle, and is greatly affected by soil nitrogen (N) availability. Reactive N inputs often reduce soil microbial respiration, but how they affect the temperature sensitivity of soil microbial respiration is still poorly understood. Here, we examined the effect of N additions on soil microbial respiration and its temperature sensitivity (expressed as  $Q_{10}$ ), and assessed the relative importance of substrate availability and the chemical composition of soil organic C in explaining the variation in soil microbial respiration and  $Q_{10}$ . A 4-year field experiment with four simulated N deposition levels, 0, 5, 10, and 15 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup> was conducted. Soil samples were collected from three levels of nitrogen addition rate (0, 5, and 15 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) and incubated at 5℃, 15℃ and 25℃ in the laboratory. The results showed that N additions significantly increased soil dissolved organic C and available N ( $P < 0.05$ ), but did not significantly affect soil pH, soil organic C, total N, available P, and

基金项目: 南京农业大学中央高校基本业务费 (0306J0887 & KYTZ201404)

收稿日期: 2017-05-10; 网络出版日期: 2017-00-00

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hui.guo@njau.edu.cn

total P. Moreover, N additions did not affect microbial biomass C, but significantly decreased microbial biomass N ( $P < 0.05$ ). The solid-state  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance showed that N additions decreased the relative content of O-alkyl C, but increased the relative contents of alkyl C, aromatic C, and carboxylic C, which resulted in higher aromaticity and aliphaticity of soil organic carbon under N addition treatments than that of the control treatment. We also found that N additions significantly decreased soil microbial respiration rate and cumulative C efflux under three temperatures ( $P < 0.05$ ), but significantly increased  $Q_{10}$  under the incubation temperature of  $15^{\circ}\text{C}$  and  $25^{\circ}\text{C}$  ( $P < 0.05$ ). Linear correlation analysis showed that microbial respiration was negatively correlated with the complexity of soil organic C, whereas  $Q_{10}$  under the incubation temperature of  $15^{\circ}\text{C}$  and  $25^{\circ}\text{C}$  was positively correlated with the complexity of soil organic C. These findings support the prediction based on kinetic theory that soil organic C, with recalcitrant molecular structure, has a high temperature sensitivity of respiration. Together, our results suggest that changes in chemical structure of soil organic C induced by N inputs may play an important role in regulating the response of soil microbial respiration to elevated temperature, and further increase the uncertainty in predicting net soil C losses in the scenario of warming on the Tibetan Plateau.

**Key Words:** alpine meadow; nitrogen addition; soil microbial respiration; temperature sensitivity

土壤是陆地生态系统最大的碳库,土壤微生物呼吸是土壤碳库向大气输出碳的主要途径,也是大气中  $\text{CO}_2$  重要的源<sup>[1-3]</sup>。因此,土壤微生物呼吸微小的波动都会显著影响大气中  $\text{CO}_2$  的浓度,进而对全球气候产生影响。氮素是植物和微生物合成蛋白质、核酸和酶的重要元素,同时植物光合作用吸收同化碳的过程和微生物呼吸作用释放碳的过程均需要氮素的参与。因此,生态系统中碳氮循环紧密相连,存在相互耦合的关系<sup>[4]</sup>。然而,由于化石燃料的燃烧和人工氮肥的大量使用,在过去的一个世纪全球大气氮沉降量已经增加了 3—5 倍,过量的氮输入极大的影响了陆地生态系统的碳循环过程<sup>[5]</sup>。当前,氮输入对土壤微生物呼吸的影响已经成为生态研究的热点问题。

在陆地生态系统中,氮输入主要通过改变地上部和地下部的碳分配和土壤理化性质来直接或间接地影响土壤微生物的呼吸作用。大量研究已经表明氮输入会抑制土壤微生物呼吸<sup>[6-9]</sup>,这主要是因为土壤氮的富集会 导致土壤酸化和铝的毒害增加,从而抑制酶的活性和微生物的繁殖<sup>[10]</sup>。Treseder<sup>[11]</sup> 和 Janssens 等<sup>[12]</sup> 通过整合分析手段也证实了氮输入可以显著降低土壤微生物生物量和微生物呼吸。然而,也有部分研究表明氮添加通过促进植物的生长和增加土壤碳的输入,刺激土壤微生物呼吸<sup>[13-15]</sup>。因此,氮输入对土壤微生物呼吸的影响还存在不确定性,这可能与氮输入的数量、生态系统的类型和气候条件不同有关。

土壤呼吸温度敏感性作为碳循环预测模型中重要的参数之一,在一定程度上决定着全球气候变化与碳循环之间的反馈关系<sup>[16]</sup>。通常情况下,土壤呼吸的温度敏感性用  $Q_{10}$  来表示,即温度每增加  $10^{\circ}\text{C}$  土壤呼吸速率所增加的倍数, $Q_{10}$  越大,表示土壤呼吸对温度的响应越敏感<sup>[17]</sup>。大量研究已经表明, $Q_{10}$  受到土壤微生物群落、底物质量和底物可利用性的直接影响及温度和水分的影响<sup>[18-20]</sup>。在当前大气氮沉降量增加的背景下,研究氮富集对  $Q_{10}$  的影响,有助于更精确的评估在全球氮沉降量增加及气候变暖条件下陆地生态系统的土壤微生物呼吸碳释放量。然而,到目前为止有关  $Q_{10}$  对氮添加响应的研究仍很少见。

青藏高原是地球上海拔最高和面积最大的高原,其中高寒草原和高寒草甸约占青藏高原 60% 的面积,且青藏高原高寒草地生态系统的土壤碳含量十分丰富,约占我国土壤碳储量的  $1/10$ <sup>[21]</sup>。据估算,青藏高原东缘的氮沉降量每年可达  $8.7\text{--}13.8\text{ kg N hm}^{-2}$ ,并呈现逐年增加的趋势<sup>[22]</sup>。作为一个对气候变化响应敏感的生态系统,大气氮沉降的增加将会通过改变青藏高原高寒草甸的土壤养分的可利用性及理化性质来影响土壤碳的排放量,进而对气候变化产生一定的影响。本文通过定位模拟氮沉降的试验并结合室内控制培养的方法,研究不同氮添加水平对高寒草甸生态系统土壤微生物呼吸及  $Q_{10}$  的影响,并分析土壤微生物呼吸和  $Q_{10}$  与土壤微生物学性质、理化性质及有机碳化学结构之间的相关关系,以期研究全球气候变化条件下高寒草甸生

态系统的土壤碳动态提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于甘肃省玛曲县境内的兰州大学高寒草甸与湿地生态系统定位研究站阿孜分站(33°40'N, 101°52'E)。该站点位于青藏高原东缘,海拔 3500m,该区域冬季持续时间较长,夏季短而寒冷,月均温从 1 月的 -10℃ 到 7 月的 11.7℃ (年平均气温为 1.2℃),年平均降水量约为 620mm,属于湿润寒冷的高原气候。土壤类型为亚高山草甸土。植被属于高寒草甸类,试验样地的植被以禾本科、莎草科、毛茛科及其他一些杂类草为主。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 试验设计

于 2010 年开始围栏保护试验样地,仅在冬季放牧。试验设置 4 个氮素添加水平,分别为 0, 5, 10 和 15g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>,每个水平设置 5 个重复,采用完全随机区组设计,每个小区面积大小为 10m×10m,小区之间间隔为 1m,各小区的四角用木桩标记。从 2011 年开始,每年的 5 月下旬开始施肥,所施肥料为硝酸铵,肥料均匀的撒在每个小区内。

#### 1.2.2 样品采集

于 2014 年 8 月进行土壤样品的采集,选取试验地中的 3 个施氮水平,分别是 0, 5 和 15g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>,编号分别为 N 0, N 5 和 N 15,每个施肥处理采集 4 个重复。在每个试验小区内,用直径为 2.5cm 的土钻随机采取 5 钻 0—20cm 深的土样,然后把样品混合装入聚乙烯袋中,组成一个样品,袋子贴上标签密封后立即带回实验室。土壤样品首先过 2mm 的筛子处理,去除肉眼可见的植物残体及砂石等杂物,然后将一部分土样置于 4℃ 冰箱冷藏用于微生物指标的测定和室内培养试验,另一部分土壤样品置于室外自然风干并过 100 目筛,用于土壤理化性质及有机碳化学组成的测定。

#### 1.2.3 土壤基本理化性质的测定

土壤 pH 采用酸度计测定(水土比 2.5:1);土壤有机碳(Soil organic C)和全氮(Total N)采用元素分析仪(Elementar vario MACRO cube, Germany)测定;土壤速效磷(Available P)的测定采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法;土壤全磷(Total P)的测定采用高氯酸-浓硫酸消煮-钼锑抗比色法。土壤铵态氮和硝态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)采用氯化钾溶液浸提-自动注射流动分析仪(SEAL-AA3, Germany)测定。

#### 1.2.4 土壤可溶性有机碳和土壤微生物生物量碳、氮的测定

称取同一处理的新鲜土壤样品各 12.5g,其中一份土样置于离心管中,加入 2mol/L 氯化钾溶液,振荡 30min 后浸提,然后用 0.45μm 滤膜过滤,采用 Elementar 公司的 TOC 分析仪测定滤液中土壤可溶性有机碳(Dissolved organic C, DOC)的浓度。另一份土壤样品放置于含有氯仿的干燥器中,于 25℃ 黑暗密闭条件下熏蒸 48h,然后抽尽残留的氯仿,向土样中同样加入 2mol/L 氯化钾溶液浸提并测定熏蒸土样的 DOC 浓度,最后通过熏蒸的 DOC 浓度减去未熏蒸的 DOC 浓度,除以校正系数 0.33,得到土壤微生物生物量碳(Microbial biomass C, MBC)的含量<sup>[23]</sup>。在 120℃ 条件下,采用碱性的过硫酸钾氧化熏蒸和未熏蒸的浸提液,然后测定溶液中的氮含量,通过差减法得到的氮含量除以校正系数 0.45,得到土壤微生物生物量氮(Microbial biomass N, MBN)的含量<sup>[24]</sup>。

#### 1.2.5 土壤有机碳化学组成的测定

为了去除土壤中的顺磁物质并提高固体核磁共振测定的信号强度,称取过 100 目筛的风干土壤样品 5g 于 100mL 塑料离心管中,加入 50mL 氢氟酸溶液(体积分数 10%),在摇床上振荡 1h,以 3000 r/min 的转速离心 10min,然后弃去上清液,残余土样继续用氢氟酸溶液处理,重复以上过程 5 次。处理过后的残余土样用去离子水洗至 pH 值大于 5,在 40℃ 的烘箱中烘干,过 100 目筛待测<sup>[25]</sup>。处理过的样品采用交叉极化-魔角旋转

技术测定有机碳的化学组成,光谱共振频率为 100.63MHz,魔角自旋频率为 5kHz,接触时间为 2ms,循环延迟时间为 0.5s,采样时间为 10ms,固体核磁共振仪为布鲁克公司的 AVANCE III 400 MHz。根据文献报道,土壤有机碳共划分为 4 个碳功能团,分别为烷基碳、含氧烷基碳、芳香碳和羧基碳<sup>[26]</sup>,样品中各类型碳功能团的相对含量采用 MestReNova 软件进行面积积分。本研究采用三个指数来指示有机碳的难降解性<sup>[19]</sup>,分别为芳香度:芳香碳/含氧烷基碳;脂化度:烷基碳/含氧烷基碳;总指数:芳香碳+烷基碳/含氧烷基碳。

### 1.2.6 土壤培养试验

称取各处理的新鲜土壤样品 15g 于 500mL 密封良好的培养瓶中,每个处理设置 4 个重复,土壤含水量统一调为田间最大持水量的 60%,分别置于 5℃、15℃ 和 25℃ 下的黑暗恒温培养箱中进行培养,为了保证土壤含水量的恒定,每隔两天调节含水量一次,同时每天进行土壤通气,保持培养瓶中氧气充足。在培养的第 1、3、7、13、19、26d 进行土壤微生物呼吸速率的测定。本研究中,微生物呼吸速率的测定采用改进的碱液吸收法<sup>[27]</sup>,即在培养瓶中放入含有 5mL 0.1mol/L 的氢氧化钠溶液的小烧杯,密封培养 24h 后,取出小烧杯并加入 2mL 1mol/L 的氯化钡溶液和酚酞指示剂,然后用 0.05mol/L 的 HCl 溶液滴定以确定 CO<sub>2</sub> 的释放量。

采用下面的公式来计算土壤微生物呼吸速率对温度变化的敏感程度<sup>[18]</sup>:

$$Q_{10} = \left( \frac{R_{T_2}}{R_{T_1}} \right)^{\frac{10}{(T_2 - T_1)}}$$

式中,  $T_2$  和  $T_1$  分别表示培养温度为 15℃ 和 5℃ 或 25℃ 和 15℃,  $R_{T_2}$  和  $R_{T_1}$  分别表示 15℃ 和 5℃ 或 25℃ 和 15℃ 下的土壤呼吸速率。

### 1.2.7 数据处理

不同氮添加水平下的土壤理化和微生物学指标、土壤微生物呼吸累积碳释放量及呼吸温度敏感性的差异采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),并用 LSD 法进行差异显著性检验 ( $P < 0.05$ )。不同培养时间和氮添加水平之间的土壤呼吸速率差异采用双因素方差分析 (two-way ANOVA)。微生物呼吸累积碳释放量和呼吸温度敏感性与土壤微生物学指标及土壤有机碳化学组成之间的关系采用 Pearson 相关分析。所有统计分析均在 R 3.1.2 版本软件中进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤基本理化性质

由表 1 可知,氮添加仅显著地增加了土壤硝态氮的含量 ( $P < 0.05$ ),而对土壤 pH、有机碳、全氮、铵态氮、速效磷和全磷均没有显著影响 ( $P > 0.05$ )。

表 1 氮添加对土壤理化性质的影响

Table 1 Effects of nitrogen additions on physicochemical properties of soils

| 处理<br>Treatment | pH           | 有机碳<br>Organic C/<br>(g/kg) | 全氮<br>Total N/<br>(g/kg) | 铵态氮<br>NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/<br>(mg/kg) | 硝态氮<br>NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/<br>(mg/kg) | 速效磷<br>Available P/<br>(mg/kg) | 全磷<br>Total P/<br>(g/kg) |
|-----------------|--------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| N 0             | 7.23 ± 0.43a | 39.73 ± 0.31a               | 3.54 ± 0.02a             | 1.83 ± 0.26a                                       | 14.06 ± 1.89b                                      | 12.23 ± 1.36a                  | 0.76 ± 0.02a             |
| N 5             | 7.21 ± 0.38a | 38.94 ± 2.44a               | 3.57 ± 0.18a             | 1.70 ± 0.28a                                       | 19.66 ± 2.87b                                      | 16.49 ± 2.96a                  | 0.79 ± 0.01a             |
| N 15            | 6.97 ± 0.22a | 40.47 ± 0.41a               | 3.56 ± 0.02a             | 1.70 ± 0.23a                                       | 61.16 ± 7.42a                                      | 11.51 ± 1.07a                  | 0.74 ± 0.02a             |

N 0 代表每年施氮 0 g/m<sup>2</sup>; N 5 代表每年施氮 5 g/m<sup>2</sup>; N 15 代表每年施氮 15 g/m<sup>2</sup>; 同列不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.2 土壤 DOC、DIN、MBC 和 MBN 含量

由图 1 可知,低氮水平下的土壤 DOC 和 DIN 含量与对照相比,均没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。而在高氮水平下,土壤 DOC 和 DIN 的含量显著高于对照和低氮处理 ( $P < 0.05$ )。氮添加对 MBC 没有显著影响 ( $P > 0.05$ ),但显著降低了 MBN ( $P < 0.05$ )。



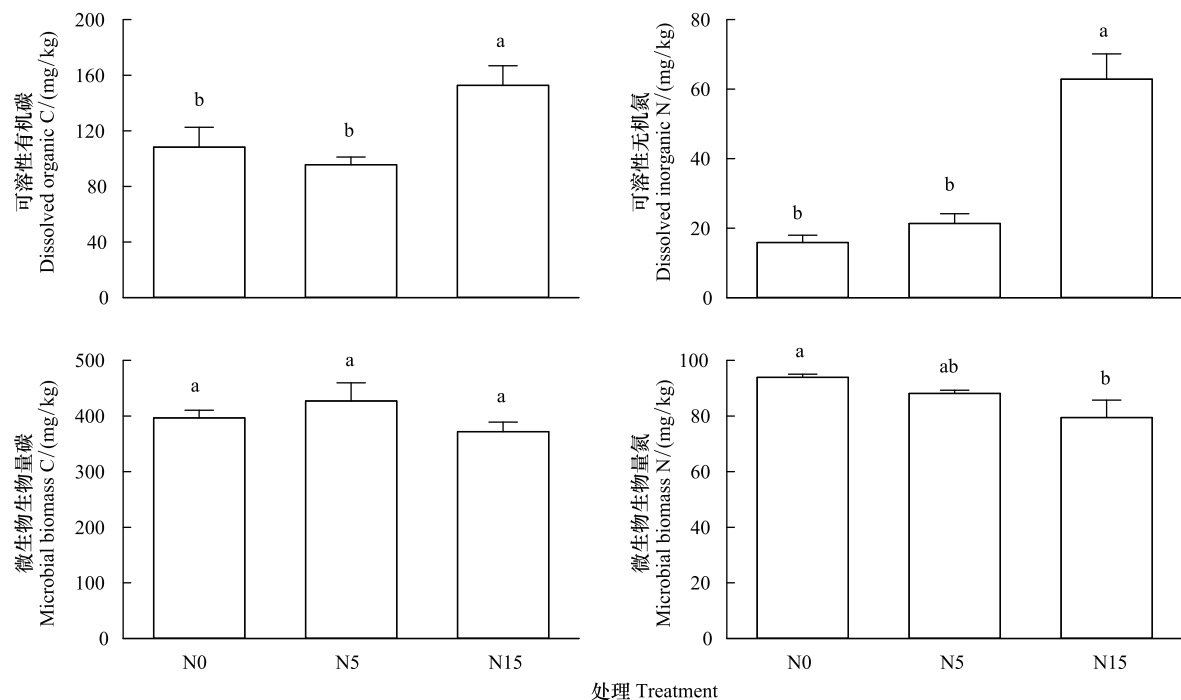


图1 氮添加对土壤可溶性有机碳、可溶性无机氮、微生物生物量碳和微生物生物量氮的影响

Fig.1 Effects of nitrogen additions on dissolved organic C, dissolved inorganic N, microbial biomass C and N

N 0 代表每年施氮 0 g/m<sup>2</sup>; N 5 代表每年施氮 5 g/m<sup>2</sup>; N 15 代表每年施氮 15 g/m<sup>2</sup>; 不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.3 土壤有机碳化学组成

由表 2 可知,高寒草甸土壤的有机碳以含氧烷基碳为主,其次为烷基碳,羧基碳和芳香碳的比例最低。氮添加显著降低了含氧烷基碳的相对含量 ( $P < 0.05$ )。同时,氮添加增加了烷基碳、芳香碳和羧基碳的相对含量,但差异不显著 ( $P > 0.05$ )。随着施氮量的提高,土壤有机碳的芳香度、脂化度和总指数均呈现增加的趋势。

表 2 氮添加对土壤有机碳官能团相对含量的影响

Table 2 Effects of nitrogen additions on the relative contents of organic carbon components

| 处理<br>Treatment | 烷基碳<br>Alkyl-C/% | 含氧烷基碳<br>O-alkyl-C/% | 芳香碳<br>Aromatic-C/% | 羧基碳<br>Carboxylic-C/% | 芳香度<br>Aromaticity | 脂化度<br>Aliphaticity | 总指数<br>Combined index |
|-----------------|------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|
| N 0             | 24.67±0.31a      | 45.67±1.67a          | 15.33±0.67a         | 14.33±0.67a           | 0.34±0.03a         | 0.54±0.03a          | 0.88±0.05a            |
| N 5             | 25.67±1.20a      | 41.67±1.48b          | 16.00±1.15a         | 16.67±1.33a           | 0.39±0.06a         | 0.63±0.08a          | 1.02±0.14a            |
| N 15            | 25.71±1.88a      | 41.60±1.97b          | 15.85±2.08a         | 16.85±1.87a           | 0.39±0.07a         | 0.62±0.02a          | 1.00±0.05a            |

同列不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 2.4 土壤呼吸速率、累积碳释放量和 $Q_{10}$

在 3 种不同温度培养的条件下,氮添加均显著降低了土壤微生物呼吸速率 ( $P < 0.05$ , 图 2)。因此,土壤累积碳释放量也随着施氮量的增加而显著降低 ( $P < 0.05$ , 图 2)。在 5℃ 和 15℃ 培养的条件下,  $Q_{10}$  随着施氮量的增加有增加的趋势,但各处理间的差异不显著 ( $P > 0.05$ , 图 3)。在 15℃ 和 25℃ 培养的条件下,低氮水平下的  $Q_{10}$  与对照相比,有增加的趋势,但差异不显著 ( $P > 0.05$ ),而在高氮水平下,  $Q_{10}$  显著高于对照和低氮处理 ( $P < 0.05$ , 图 3)。

### 2.5 土壤累积碳释放量和 $Q_{10}$ 与土壤理化性质及微生物学性质的相关性分析

由表 3 可知,三个温度培养条件下的土壤累积碳释放量均与土壤有机碳的芳香度、脂化度和总指数显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 25℃ 培养条件下的土壤累积碳释放量还与 DIN 显著负相关 ( $P < 0.05$ )。在 5℃ 和 15℃ 培养条件下,  $Q_{10}$  与土壤理化性质及微生物学性质均没有显著相关性。然而,在 15℃ 和 25℃ 培养条件下,  $Q_{10}$  与土壤

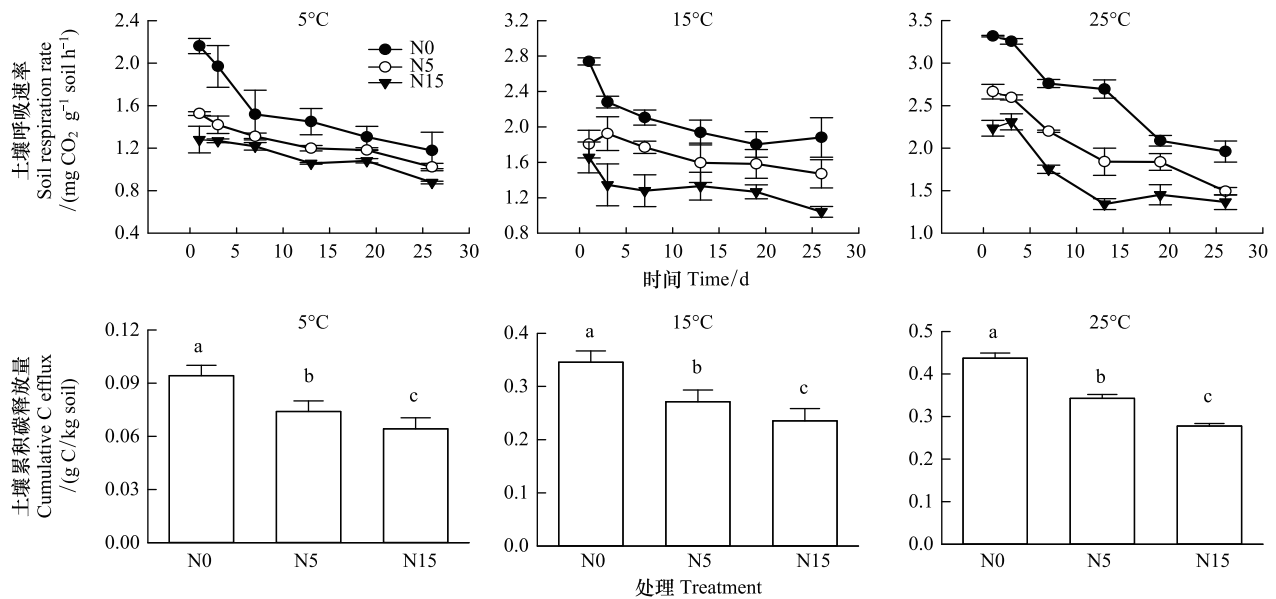


图2 氮添加对土壤呼吸速率和累积碳释放量的影响

Fig.2 Effects of nitrogen additions on soil respiration rate and cumulative C efflux

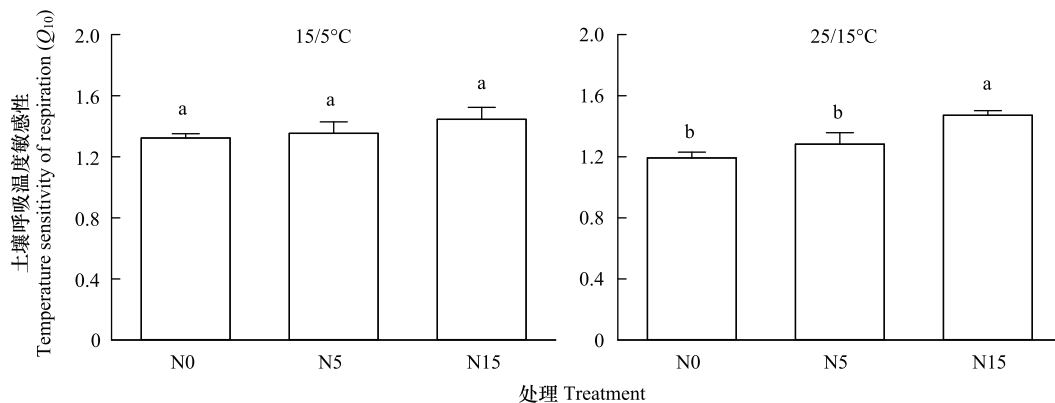
不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

图3 氮添加对土壤呼吸温度敏感性的影响

Fig.3 Effects of nitrogen additions on the temperature sensitivity of soil respiration

不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

有机碳的芳香度、脂化度和总指数均显著正相关 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 氮添加对土壤微生物呼吸的影响

在本研究中,氮添加显著降低了青藏高原高寒草甸土壤微生物的呼吸,与在热带、亚热带和温带森林生态系统及温带草原生态系统研究得到的结果一致<sup>[7,28-30]</sup>。然而,也有研究表明氮添加可以促进亚热带森林生态系统的土壤微生物呼吸<sup>[15,31]</sup>。因此,探究氮添加对土壤微生物呼吸的影响机理必须考虑试验样地实际的土壤环境状况。通常情况下,土壤底物资源的可利用性以及土壤的物理化学性质是影响土壤微生物呼吸的主要因素<sup>[32-33]</sup>。高寒草甸作为一个独特的生态系统,氮添加导致的土壤微生物呼吸的降低可能由于以下几个方面的原因。首先,氮输入通过增加土壤氮素的可利用性影响土壤的微生物呼吸<sup>[34]</sup>。由表1可知,对照处理中土壤可利用氮的含量很低,这说明高寒草甸生态系统属于一个氮限制的生态系统。理论上,氮添加会通过增

表 3 土壤累积碳释放量及呼吸温度敏感性与土壤理化和微生物学性质之间的相关性

Table 3 Pearson correlation between cumulative carbon efflux and temperature sensitivity of respiration with soil physicochemical and microbial properties

| 项目<br>Items                    | 累积碳释<br>放量 (5℃)<br>Cumulative C<br>efflux | 累积碳释<br>放量 (15℃)<br>Cumulative C<br>efflux | 累积碳释<br>放量 (25℃)<br>Cumulative C<br>efflux | 呼吸温度<br>敏感性 (15/5℃)<br>Temperature<br>sensitivity<br>of respiration | 呼吸温度<br>敏感性 (25/15℃)<br>Temperature<br>sensitivity<br>of respiration |
|--------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 可溶性有机碳 Dissolved organic C     | -0.32                                     | -0.32                                      | -0.54                                      | 0.31                                                                | 0.50                                                                 |
| 可溶性无机氮 Dissolved inorganic N   | -0.53                                     | -0.53                                      | -0.81 *                                    | 0.55                                                                | 0.48                                                                 |
| 微生物生物量碳<br>Microbial biomass C | 0.01                                      | 0.01                                       | 0.12                                       | -0.11                                                               | -0.38                                                                |
| 微生物生物量氮<br>Microbial biomass N | 0.47                                      | 0.47                                       | 0.52                                       | -0.54                                                               | -0.55                                                                |
| 芳香度 Aromaticity                | -0.82 *                                   | -0.83 *                                    | -0.98 *                                    | 0.44                                                                | 0.78 *                                                               |
| 脂化度 Aliphaticity               | -0.78 *                                   | -0.76 *                                    | -0.89 *                                    | 0.34                                                                | 0.63 *                                                               |
| 总指数 Combined index             | -0.81 *                                   | -0.83 *                                    | -0.95 *                                    | 0.40                                                                | 0.71 *                                                               |

\*  $P < 0.05$ 

加微生物的氮获取能力直接促进微生物呼吸或通过促进植物根生物量的增加为微生物的呼吸提供更多的底物<sup>[35]</sup>。相反,本研究发现氮添加抑制了土壤微生物的呼吸。同时,线性相关分析发现土壤微生物的呼吸与土壤的底物可利用性没有相关性(表 3)。此外,还有的研究表明氮添加导致微生物呼吸的降低可能是因为微生物的碳利用效率提高,使更多的碳分配到微生物的生物量,从而降低呼吸释放的碳<sup>[36]</sup>,但是我们发现氮添加并没有显著地增加微生物的生物量(图 1)。因此,本研究中土壤养分资源的可利用性不是影响微生物呼吸的关键因素。其次,氮添加会导致土壤酸化,促进有害金属的溶解,从而抑制土壤的微生物的活性<sup>[10-11]</sup>。Chen 等<sup>[9]</sup>在内蒙古草原生态系统已经证实氮添加导致的土壤酸化是抑制土壤微生物呼吸的最主要的因素。在高寒草甸生态系统,我们同样发现氮添加降低了土壤 pH 值,虽然处理间的差异不显著,但是本研究的土壤 pH 值下降很可能是引起微生物呼吸下降的一个不可忽视的因素。第三,由于土壤微生物呼吸释放的碳来源于土壤有机碳,土壤有机碳化学组成很可能是影响微生物呼吸速率的因素之一。通过固体核磁共振分析方法,本研究发现氮添加降低了易分解碳的相对含量而增加了难分解碳的相对含量,表明氮添加使容易被微生物利用的碳含量降低<sup>[37-39]</sup>。同时,线性相关分析表明土壤微生物呼吸与土壤有机碳的芳香度、脂化度和总指数均显著负相关,证明氮添加导致的土壤难分解碳的含量增加是引起微生物呼吸下降的重要因素。

### 3.2 氮添加对土壤微生物呼吸 $Q_{10}$ 的影响

目前,土壤微生物呼吸  $Q_{10}$  对氮添加的响应在不同的生态系统研究得到的结果存在不确定性。姜继韶等<sup>[40]</sup>和 Wang 等<sup>[41]</sup>在农业生态系统发现氮添加降低了微生物呼吸的  $Q_{10}$  值,林力涛等<sup>[42]</sup>在草地生态系统发现施氮增强了微生物呼吸的  $Q_{10}$  值,而周政达等<sup>[43]</sup>在森林生态系统发现中氮水平增加了微生物呼吸  $Q_{10}$ ,但是高氮水平降低了  $Q_{10}$ 。在高寒草甸生态系统,我们发现氮添加促进了微生物呼吸  $Q_{10}$  的升高(图 3)。土壤微生物呼吸释放的  $\text{CO}_2$  主要来自于底物的分解,因此底物的数量和质量会显著影响土壤微生物呼吸的  $Q_{10}$ <sup>[17]</sup>。尽管本研究发现氮添加增加了土壤中 DOC 和 DIN 的含量,但是相关分析结果表明微生物呼吸  $Q_{10}$  与底物的数量并没有显著的相关性。依据热力学原理,底物的质量越低(难分解的有机物含量越高),具有的活化能越高,对温度的敏感性也越大<sup>[16,19]</sup>。我们进一步通过固态核磁共振分析发现氮添加增加了土壤难分解有机碳的含量,且相关分析表明微生物呼吸  $Q_{10}$ (15 和 25 °C)与有机碳的难分解性显著正相关(表 3)。因此,本研究可以证实有机碳的化学组成是影响高寒草甸生态系统微生物呼吸  $Q_{10}$  的关键因素。此外,我们还发现在较低的培养温度(5 和 15 °C)下,氮添加对微生物呼吸  $Q_{10}$  的影响不显著,这很可能是因为低温条件下的微生物呼吸作用主要受到温度的控制,而底物的质量成为次要因素<sup>[44]</sup>。

## 4 结论

综上可知,虽然氮添加抑制了土壤微生物的呼吸速率和累积碳的释放量,但是增加了土壤微生物呼吸的温度敏感性,这预示着在未来全球温度持续升高的情况下,土壤氮输入将会增加预测青藏高原高寒草甸地区土壤碳排放的不确定性。

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Schimel D S. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. *Global Change Biology*, 1995, 1(1): 77-91.
- [ 2 ] Shao P, Zeng X B, Moore D J P, Zeng X D. Soil microbial respiration from observations and Earth System Models. *Environmental Research Letters*, 2013, 8(3): 034034.
- [ 3 ] Schlesinger W H, Andrews J A. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry*, 2000, 48(1): 7-20.
- [ 4 ] 项文化, 黄志宏, 闫文德, 田大伦, 雷丕锋. 森林生态系统碳氮循环功能耦合研究综述. *生态学报*, 2006, 26(7): 2365-2372.
- [ 5 ] Zhou L Y, Zhou X H, Zhang B C, Lu M, Luo Y Q, Liu L L, Li B. Different responses of soil respiration and its components to nitrogen addition among biomes: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2014, 20(7): 2332-2343.
- [ 6 ] Bowden R D, Davidson E, Savage K, Arabia C, Steudler P. Chronic nitrogen additions reduce total soil respiration and microbial respiration in temperate forest soils at the Harvard Forest. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 43-56.
- [ 7 ] Wei C Z, Yu Q, Bai E, Lü X T, Li Q, Xia J Y, Kardol P, Liang W J, Wang Z W, Han X G. Nitrogen deposition weakens plant-microbe interactions in grassland ecosystems. *Global Change Biology*, 2013, 19(12): 3688-3697.
- [ 8 ] Ramirez K S, Craine J M, Fierer N. Nitrogen fertilization inhibits soil microbial respiration regardless of the form of nitrogen applied. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(12): 2336-2338.
- [ 9 ] Chen D M, Li J J, Lan Z C, Hu S J, Bai Y F. Soil acidification exerts a greater control on soil respiration than soil nitrogen availability in grasslands subjected to long-term nitrogen enrichment. *Functional Ecology*, 2016, 30(4): 658-669.
- [ 10 ] Liu L L, Greaver T L. A global perspective on belowground carbon dynamics under nitrogen enrichment. *Ecology Letters*, 2010, 13(7): 819-828.
- [ 11 ] Treseder K K. Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, 2008, 11(10): 1111-1120.
- [ 12 ] Janssens I A, Dieleman W, Luyssaert S, Subke J A, Reichstein M, Ceulemans R, Ciais P, Dolman A J, Grace J, Matteucci G, Papale D, Piao S L, Schulze E D, Tang J, Law B E. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature Geoscience*, 2010, 3(5): 315-322.
- [ 13 ] 涂利华, 胡庭兴, 黄立华, 李仁洪, 戴洪忠, 雒守华, 向元彬. 华西雨屏区苦竹林土壤呼吸对模拟氮沉降的响应. *植物生态学报*, 2009, 33(4): 728-738.
- [ 14 ] Samuelson L, Mathew R, Stokes T, Feng Y C, Aubrey D, Coleman M. Soil and microbial respiration in a loblolly pine plantation in response to seven years of irrigation and fertilization. *Forest Ecology and Management*, 2009, 258(11): 2431-2438.
- [ 15 ] Tu L H, Hu T X, Zhang J, Li X W, Hu H L, Liu L, Xiao Y L. Nitrogen addition stimulates different components of soil respiration in a subtropical bamboo ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 255-264.
- [ 16 ] Davidson E A, Janssens I A. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 2006, 440(7081): 165-173.
- [ 17 ] 杨庆朋, 徐明, 刘洪升, 王劲松, 刘丽香, 迟永刚, 郑云普. 土壤呼吸温度敏感性的影响因素和不确定性. *生态学报*, 2011, 31(8): 2301-2311.
- [ 18 ] Karhu K, Auffret M D, Dungait J A, Hopkins D W, Prosser J I, Singh B K, Subke J A, Wookey P A, Ågren G I, Sebastia M T, Gouriveau F, Bergkvist G, Meir P, Nottingham A T, Salinas N, Hartley I P. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. *Nature*, 2014, 513(7516): 81-84.
- [ 19 ] Wagai R, Kishimoto-Mo A W, Yonemura S, Shirato Y, Hiradate S, Yagasaki Y. Linking temperature sensitivity of soil organic matter decomposition to its molecular structure, accessibility, and microbial physiology. *Global Change Biology*, 2013, 19(4): 1114-1125.
- [ 20 ] Reichstein M, Subke J A, Angeli A C, Tenhunen J D. Does the temperature sensitivity of decomposition of soil organic matter depend upon water content, soil horizon, or incubation time? *Global Change Biology*, 2005, 11(10): 1754-1767.
- [ 21 ] Yang Y H, Fang J Y, Tang Y H, Ji C J, Zheng C Y, He J S, Zhu B. Storage, patterns and controls of soil organic carbon in the Tibetan grasslands. *Global Change Biology*, 2008, 14(7): 1592-1599.
- [ 22 ] Lü C Q, Tian H Q. Spatial and temporal patterns of nitrogen deposition in China: Synthesis of observational data. *Journal of Geophysical Research*:



- Atmospheres, 2007, 112(D22): D22S05.
- [23] Tu C, Louws F J, Creamer N G, Mueller J P, Brownie C, Fager K, Bell M, Hu S J. Responses of soil microbial biomass and N availability to transition strategies from conventional to organic farming systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2006, 113(1/4): 206-215.
- [24] Cabrera M L, Beare M H. Alkaline persulfate oxidation for determining total nitrogen in microbial biomass extracts. *Soil Science Society of America Journal*, 1993, 57(4): 1007-1012.
- [25] Schmidt M W I, Knicker H, Hatcher P G, Kogel-Knabner I. Improvement of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  CPMAS NMR spectra of bulk soils, particle size fractions and organic material by treatment with 10% hydrofluoric acid. *European Journal of Soil Science*, 1997, 48(2): 319-328.
- [26] Wang Q J, Zhang L, Zhang J C, Shen Q R, Ran W, Huang Q W. Effects of compost on the chemical composition of SOM in density and aggregate fractions from rice-wheat cropping systems as shown by solid-state  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2012, 175(6): 920-930.
- [27] Hu S, Van Bruggen A H C. Microbial dynamics associated with multiphasic decomposition of  $^{14}\text{C}$ -labeled cellulose in soil. *Microbial Ecology*, 1997, 33(2): 134-143.
- [28] Frey S D, Ollinger S, Nadelhoffer K, Bowden R, Brzostek E, Burton A, Caldwell B A, Crow S, Goodale C L, Grandy A S, Finzi A, Kramer M G, Lajtha K, LeMoine J, Martin M, McDowell W H, Minocha R, Sadowsky J J, Templer P H, Wickings K. Chronic nitrogen additions suppress decomposition and sequester soil carbon in temperate forests. *Biogeochemistry*, 2014, 121(2): 305-316.
- [29] Mo J M, Zhang W, Zhu W X, Gundersen P, Fang Y T, Li D J, Wang H. Nitrogen addition reduces soil respiration in a mature tropical forest in southern China. *Global Change Biology*, 2008, 14(2): 403-412.
- [30] 吴迪, 张蕊, 高升华, 付晓, 邓红兵, 邵国凡, 张旭东. 模拟氮沉降对长江中下游滩地杨树林土壤呼吸各组分的影响. *生态学报*, 2015, 35(3): 717-724.
- [31] 涂利华, 胡庭兴, 张健, 何远洋, 田祥宇, 肖银龙. 模拟氮沉降对华西雨屏区苦竹林细根特性和土壤呼吸的影响. *应用生态学报*, 2010, 21(10): 2472-2478.
- [32] 刘绍辉, 方精云. 土壤呼吸的影响因素及全球尺度下温度的影响. *生态学报*, 1997, 17(5): 469-476.
- [33] Allison S D, Chacon S S, German D P. Substrate concentration constraints on microbial decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 79(6): 43-49.
- [34] Vitousek P M, Howarth R W. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? *Biogeochemistry*, 1991, 13(2): 87-115.
- [35] Lu M, Zhou X H, Luo Y Q, Yang Y H, Fang C M, Chen J K, Li B. Minor stimulation of soil carbon storage by nitrogen addition: A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2011, 140(1/2): 234-244.
- [36] Schimel J P, Weintraub M N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(4): 549-563.
- [37] Fog K. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. *Biological Reviews*, 1988, 63(3): 433-462.
- [38] Neff J C, Townsend A R, Gleixner G, Lehman S J, Turnbull J, Bowman W D. Variable effects of nitrogen additions on the stability and turnover of soil carbon. *Nature*, 2002, 419(6910): 915-917.
- [39] 杨慧, 张连凯, 曹建华, 于爽. 桂林毛村岩溶区不同土地利用方式土壤有机碳矿化及土壤碳结构比较. *中国岩溶*, 2011, 30(4): 410-416.
- [40] 姜继韶, 郭胜利, 王蕊, 刘庆芳, 王志齐, 张彦军, 李娜娜, 李如剑, 吴得峰, 孙棋棋. 施氮对黄土旱塬区春玉米土壤呼吸和温度敏感性的影响. *环境科学*, 2015, 36(5): 1802-1809.
- [41] Wang R, Sun Q Q, Wang Y, Liu Q F, Du L L, Zhao M, Gao X, Hu Y X, Guo S L. Temperature sensitivity of soil respiration: Synthetic effects of nitrogen and phosphorus fertilization on Chinese Loess Plateau. *Science of the Total Environment*, 2017, 574: 1665-1673.
- [42] 林力涛, 孙学凯, 胡亚林, 于占源, 曾德慧. 氮添加对沙质草地土壤呼吸及其温度敏感性的影响. *生态学杂志*, 2015, 34(6): 1614-1621.
- [43] 周政达, 张蕊, 高升华, 张旭东, 付晓, 唐明方, 吴钢. 模拟氮沉降对长江滩地杨树林土壤呼吸温度敏感性的影响. *生态学报*, 2015, 35(21): 6947-6956.
- [44] Kirschbaum M U F. The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic C storage. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(6): 753-760.