

DOI: 10.5846/stxb201809262087

张雪, 梅莉, 宋利豪, 刘力诚, 赵泽尧. 模拟氮沉降对马尾松土壤微生物群落结构及温室气体释放的影响. 生态学报, 2019, 39(6): - .

Zhang X, Mei L, Song L H, Liu L C, Zhao Z Y. Effects of simulated nitrogen deposition on microbial community and greenhouse gases emission of *Pinus massoniana* soil. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(6): - .

模拟氮沉降对马尾松土壤微生物群落结构及温室气体释放的影响

张 雪, 梅 莉*, 宋利豪, 刘力诚, 赵泽尧

华中农业大学园艺林学学院, 湖北省林业信息工程技术研究中心, 武汉 430070

摘要:以 2 年生马尾松 (*Pinus massoniana*) 盆栽苗土壤为对象, 通过施氮肥模拟氮沉降对土壤理化性质、微生物群落结构及温室气体释放的影响, 探究氮沉降对森林土壤温室气体释放的驱动机制。结果表明, 模拟氮沉降处理显著提高了土壤速效氮含量和苗木根系氮含量; 土壤微生物碳 (SMBC) 含量比对照显著下降 78%, 而土壤微生物氮 (SMBN) 则提高 2.6 倍。模拟氮沉降处理显著降低土壤中微生物群落总含量。施氮肥对马尾松土壤 N_2O 和 CO_2 的排放速率均有显著影响, 增施氮肥不仅显著提高了土壤 N_2O 的排放速率, 而且 CO_2 排放速率短期内也显著提高, 但伴随微生物群落的下降, 施肥后期 CO_2 排放速率表现下降趋势。相关分析表明, 土壤 CO_2 和 N_2O 释放与土壤 pH 值、土壤温度、土壤湿度、土壤速效氮含量及 SMBC、SMBN 相关; 逐步回归分析表明, 土壤硝态氮含量的变化是驱动土壤释放的主导因子。3 株种植单位土壤体积内根系生物量较高, 增加了土壤水分的消耗速率和氮的吸收固定, 因而减少 N_2O 的释放速率。以上研究阐明了氮沉降或过量施肥对土壤氮含量、土壤 pH 值、根系生物量及氮含量、土壤微生物群落结构等因子的影响, 这些因子直接或间接影响土壤温室气体释放速率。氮沉降及施用氮肥是加快土壤温室气体 (CO_2 和 N_2O) 排放进程的重要因素。

关键词: 氮沉降; 微生物群落结构; 温室气体

Effects of simulated nitrogen deposition on microbial community and greenhouse gases emission of *Pinus massoniana* soil

ZHANG Xue, MEI Li, SONG Lihao, LIU Licheng, ZHAO Zeyao

College of Horticulture and Forestry Sciences/Hubei Engineering Technology Research Center for Forestry Information, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: To understand the driving mechanism of nitrogen deposition on greenhouse gases-emission from forest soil, we studied soil physical and chemical properties, microbial community structure and greenhouse gas-emission of potted soil of two-years old *Pinus massoniana*, fertilized with nitrogen. The results showed that simulated nitrogen deposition treatment significantly increased soil available nitrogen and seedling root nitrogen level. Soil microbial carbon (SMBC) decreased by 78% compared with that of the control. In contrast, soil microbial nitrogen (SMBN) increased by 2.6 times from that of control. Simulated nitrogen deposition treatment significantly reduced the level of soil total microbials. Nitrogen application had a significant effect on the soil emission rates of N_2O and CO_2 : the N_2O emission rate increased with higher level of nitrogen application, the CO_2 emission rate also increased in the short term but decreased at the later stage due to the significant decrease of soil microbials. Correlation analysis showed that soil pH, temperature, moisture, available nitrogen, SMBN and SMBC were all related to CO_2 and N_2O emission rates. Step-wise regression analysis showed that the amount of

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC0505503); 国家自然科学基金面上项目 (31370627)

收稿日期: 2018-09-26; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: meili@mail.hzau.edu.cn

nitrate N was the dominant factor affecting soil CO_2 and N_2O flux. Larger amount of root in the soil from the three-plant pots was beneficial to absorb and reduce the excessive nitrogen in soil and decrease N_2O emission. In conclusion, our study illustrated the effects of nitrogen deposition or excessive N fertilization on soil nitrogen content, soil pH, root biomass and soil microbial community structure and other variables, which directly or indirectly affect the emission rate of soil greenhouse gas. Soil nitrate accumulation caused by N deposition or N fertilization or N fertilization is conducive to accelerating soil greenhouse gases (CO_2 and N_2O) emission.

Key Words: *Pinus massoniana*; nitrogen; soil respiration; microbial community structure; greenhouse gases

土壤呼吸 (Soil respiration) 是全球温室气体释放的重要来源^[1-2]。即使土壤呼吸有较小比例的波动都会对大气组成及气候变化产生较大的影响^[3-5]。土壤呼吸对土壤环境变化非常敏感,如全球变暖、氮沉降、林分经营及植被破坏等都将影响土壤呼吸及温室气体的释放^[6-7]。森林是陆地生态系统的主体,因此研究影响森林土壤呼吸的因素及其驱动机制对预测全球变化背景下的森林碳循环以及森林的碳汇功能具有重要意义。

大气氮 (N) 沉降、施用氮肥的经营措施常常导致林地土壤的氮含量增加^[8-9],在此背景下,森林土壤环境、土壤温室气体释放对增氮的响应机制成为生态学关注的热点。以为研究表明,土壤氮增加对土壤温室气体释放的影响受多种因素调控,受立地条件、植被类型等影响而表现出不一致的结果。如对亚热带常绿阔叶林增施氮肥提高了土壤 CO_2 的释放量^[10],也有增施氮肥抑制了土壤呼吸^[11]以及对土壤呼吸速率影响并不显著的报道^[12],氮沉降及增施氮肥对温室气体释放的影响及其驱动机理有待进一步的研究。

根系呼吸不仅是土壤呼吸的重要组成,林木细根还可以通过改变土壤微环境而影响森林土壤的生物化学过程,进而成为驱动土壤温室气体 (CO_2 、 N_2O) 释放的重要因素^[13]。研究表明,土壤呼吸与细根生物量呈显著正相关^[14],在森林土壤氮增加的情况下,根系生物量和根长密度等也将发生变化^[15],这种变化又直接或间接改变根际土壤矿质养分及微生物群落结构等,进而影响土壤温室气体的释放。土壤呼吸速率随根系生物量的增加而增加^[16-17],去除根系使土壤呼吸速率大幅降低^[18]。根系养分含量的差异也会改变土壤的呼吸速率,如 Volder 等^[19]研究发现,根系氮含量降低会通过减少根系对土壤养分以及水分的吸收作用来降低土壤与根系的呼吸速率,而根系氮含量增加有利于根系的呼吸^[20]。然而,在全球氮沉降及林地施肥背景下,根系生物量及氮含量的差异及土壤养分、微生物等理化环境对施肥的响应,以及这种响应如何影响土壤呼吸及温室气体释放尚有待进一步研究。

马尾松 (*Pinus massoniana*) 具有生长快、适应性强等特征,是我国南方最重要的造林树种之一,在区域生态环境建设和林产品供给方面发挥重要作用。本研究以马尾松土壤为对象,通过施氮肥和不同种植密度处理,研究在不同根系生物量条件,增加土壤氮对马尾松土壤理化性质、微生物群落结构及温室气体释放的影响。旨在阐明氮沉降及施氮肥对温室气体释放的驱动机理,并为马尾松人工林的科学经营提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

2016 年 10 月,将 2 年生马尾松播种容器苗分别 1 株和 3 株移栽入 5 L 花盆,栽培基质是用河沙:蛭石:泥炭土:黄泥土 1:1:1:1 比例均匀混合,基质 pH 值 6.85 ± 0.11 ,全氮 2.39 ± 0.09 g/kg、全磷 0.56 ± 0.01 g/kg、全钾 6.43 ± 0.26 g/kg、有机质 64.32 ± 4.33 g/kg。为了研究不同根系生物量对土壤理化性质和土壤呼吸的影响,本实验分单株和 3 株混合栽植,并分别进行不施肥和施肥,共 4 个处理。施肥处理:于 2017 年 4—6 月分 3 次施入氮肥 (尿素) 溶液,共施入 180 mg N/盆 (等同于林地 10 g N/m^2);不施肥处理浇同样体积的水,以 6 月 22 日最后一次施肥为处理开始时间。每个处理 30 盆,共计 120 盆。

1.2 植物和土壤取样与分析

2017 年 6 月 18 日开始取土壤和植物样品,每周进行一次植物取样,每个处理每次取 4 盆重复;实验 7 天

和 30 天后分别取土壤和植物样品,每次每处理取 3 个重复。先将地上部分茎叶剪下,再将花盆倒扣取出根系植株分根、茎、叶进行保存。植株取出时,将根系附近的土壤轻轻抖落混匀,过 2 mm 土壤筛,后装于密封袋并放置于 4℃ 冰箱保存,于 1 个月内测定土壤 pH 值、速效氮、全氮等理化指标。将取回的植株洗净后按根、茎、叶分别装于信封中,并放在 65℃ 烘箱中烘干至恒重,称量获得干重。烘干后的植物粉碎过 0.5 mm(40 目)筛后进行保存,用于测定根、茎、叶的非结构性碳水化合物(TNC)和全氮含量。

土壤 pH 值测定采用水浸提-电位法测定;土壤铵态氮与硝态氮含量利用流动分析仪进行测定;植物全氮采用凯式定氮法测定;土壤微生物量碳(Soil microbial biomass carbon, SMBC)、土壤微生物量氮(Soil microbial biomass nitrogen, SMBN)含量采用氯仿熏蒸-氯化钾浸提,用 TOC 仪进行测定^[21];土壤微生物群落结构采用磷脂脂肪酸法(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)进行分析。

1.3 土壤呼吸速率及温湿度测定

土壤 CO₂ 和 N₂O 释放速率的测定采用静态箱-气象色谱法进行测定。每个处理随机安装 5 个重复的土壤静态箱。静态箱由聚氯乙烯(PVC)管制成(规格:口径 275 mm,高 200 mm,底径 180 mm),与实验开始前 1 周按压入土壤 5 cm,周围土壤紧密压实防止漏气。于 2017 年 6 月 18 日—2017 年 7 月 11 日期间每 2 天取 1 次,于 2017 年 7 月 11 日—2017 年 7 月 18 日期间每 3 天取 1 次,于 2017 年 7 月 18 日—2017 年 8 月 18 日期间每 15 天取 1 次。

每次取气于 8:00—9:00 am 密封 PVC 管,分别于密封前、密封培养两小时后取气,每次每处理随机取 3 个重复,将取出的气体装入真空瓶带回实验室,立即用气相色谱仪(Agilent 7890A)测定 CO₂、N₂O 的浓度,并计算土壤单位面积单位时间内的 CO₂、N₂O 的释放速率。

土壤 CO₂、N₂O 释放速率计算方法:

$$F = \rho \times V / M \times \Delta c / \Delta t \times 273 / T \times \alpha$$

式中: F 为 CO₂、N₂O 的释放速率,正值为释放,负值为吸收, ρ 为标准状况下气体的密度,CO₂、N₂O 的密度分别为 1.978 kg/m³、1.98 kg/m³, V 是采样箱体积(m³), m 为采样箱底部土壤干重(g), $\Delta c / \Delta t$ 为在特定时间内的气体浓度变化速率,密闭时间 2 h; T 为采样点的绝对温度:开氏温度; α 分别为 N₂O 换算到 N(28/44)、CO₂ 换算到 C(12/44)的转换因子;N₂O 需要乘以 1000,得到单位是 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{h}^{-1}$,CO₂ 直接得到单位是 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ 。

1.4 数据处理与分析

应用 SPSS19.0 软件进行单因素方差分析,当方差分析结果表现为显著性差异时,通过 Turkey 检验进行不同处理间的多重比较,用 Pearson 法对土壤呼吸 CO₂、N₂O 与各影响因子进行相关性分析,利用逐步回归分析确定影响土壤温室气体释放的主要控制因子,使用 Origin 9.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 植株生物量和氮含量

处理 30 天后,单株种植的马尾松苗地上、地下部分生物量均小于 3 株种植的总生物量。不施肥处理下,单株的叶片和根系氮含量均显著大于 3 株种植。施氮处理对单株种植幼苗各部分生物量无显著影响,但显著降低了 3 株种植地上部分生物量(表 1)。无论是单株还是 3 株种植,增施氮肥均显著增加了根、茎、叶的氮含量(表 1)。

2.2 土壤 pH 值及速效氮

无论是对照还是施肥,单株种植的土壤速效氮含量在施氮肥处理 7 天后,单株种植土壤 pH 值显著降低($p < 0.05$),3 株种植平均土壤 pH 值也有所降低,但差异不显著($p > 0.05$);施氮肥处理后,随着时间的延长至 30 天,各处理土壤 pH 值差异不显著。单株种植的土壤速效氮含量高于 3 株,施氮肥显著增加了单株和 3 株种植的土壤硝态氮含量,而对土壤铵态氮含量影响不显著(表 2);随着处理时间延长至 30 天后,土壤硝态氮含量随处理时间显著下降,但施肥处理仍显著大于未施肥处理。处理 7 天后,3 株种植的土壤速效氮含量显

著低于单株种植速效氮含量;处理 30 天后,单株和 3 株对照之间、单株和 3 株种植施肥之间速效氮差异不显著(表 2)。

表 1 不同处理马尾松幼苗生物量和氮含量的影响(均值±标准误)(n=3)

处理 Treatments	生物量 Biomass/(g/pot)			氮含量 N content/%		
	叶 Leaf	茎 Stem	根 Root	叶 Leaf	茎 Stem	根 Root
SCK	17.68±0.38 c	11.38±0.76 c	5.05±0.17 b	11.33±1.03 a	4.41±0.32 c	7.92±0.75 b
SF	20.15±0.39 c	13.21± 0.26 bc	5.60±0.64 b	12.48±0.37 a	5.78±0.09 b	9.78±0.39 a
TCK	29.27±0.98 a	17.84± 0.44 a	7.11±0.61 a	8.64±0.51 b	4.55±0.05 c	6.42±0.09 c
TF	25.28±1.14 b	14.50±0.08 b	7.37±0.32 a	11.64±0.18 a	6.89±0.05 a	10.61±0.20 a

注: 字母相同表示在 P=0.05(Turkey 检验)水平无显著性差异;SCK,单株对照;SF,单株施肥;TCK,3 株对照;TF,3 株施肥

表 2 马尾松幼苗土壤 pH 值及速效氮含量(均值±标准误)(n=3)

土壤参数 Soil properties	处理 7 d 7 days after treatment				处理 30 d 30 days after treatment			
	SCK	SF	TCK	TF	SCK	SF	TCK	TF
pH 值 pH values	6.68±0.08a	6.29±0.06b	6.36±0.10b	6.16±0.05b	6.69±0.19a	6.68±0.04a	6.79±0.03a	6.53±0.08a
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg/kg)	6.60±0.51c	126.42±2.17a	3.38±0.28d	100.15±1.99b	3.19±0.41d	41.90±5.39b	2.71±0.33d	39.10±0.53b
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)	3.64±0.32a	2.26±0.16b	1.94±0.17b	2.68±0.29b	3.07±0.13 a	2.65±0.25 ab	2.17±0.35 b	2.25±0.01 b
总速效氮 Available N/(mg/kg)	10.23±0.83d	128.68±2.24a	5.32±0.19e	102.82±2.09b	6.26±0.46 e	44.55±5.58 c	4.88±0.65 e	41.36±0.47c

速效氮=硝态氮+铵态氮

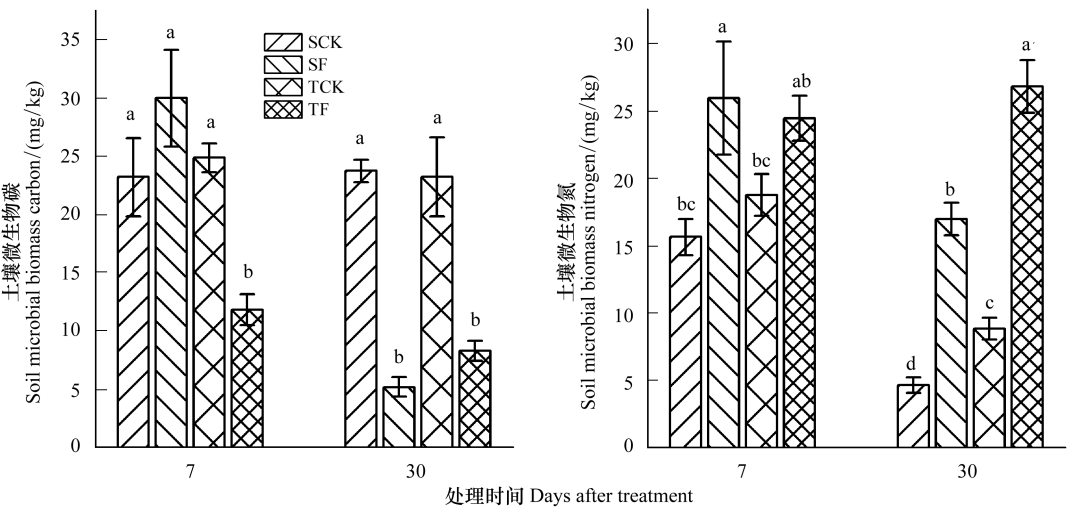


图 1 施肥对马尾松幼苗土壤微生物量碳、微生物量氮的影响

Fig.1 Effects of N fertilization on soil microbial biomass carbon (SMBC) and soil microbial biomass nitrogen (SMBN) contents of *Pinus massoniana* seedlings

SCK,单株对照; SF,单株施肥;TCK,3 株对照; TF,3 株施肥。字母相同表示在 P=0.05(Turkey 检验)水平无显著性差异,n=3

2.3 土壤微生物量碳、微生物量氮含量及微生物群落结构

除单株种植处理 7 天时 SMBC 与对照没有显著差异外,施氮肥均显著降低了 SMBC 含量(图 1A)。在施氮肥处理 7 天和 30 天时,无论是单株还是 3 株种植,施肥后 SMBN 含量均显著增加。处理时间越长,施肥与对照处理的 SMBC 和 SMBN 含量差异越大(图 1B)。

表 3 施氮肥对马尾松幼苗土壤微生物群落结构的影响(平均值±标准误)($n=3$)Table 3 Effects of N fertilization on soil microbial community structure of *Pinus massoniana* seedlings (mean±SE) ($n=3$)

处理 Treatments	革兰氏阳性菌 Gram Positive/ (nmol/g)	革兰氏阴性菌 Gram Negative/ (nmol/g)	厌氧菌 Anaerobe (nmol/g)	放线菌 Actinomycetes/ (nmol/g)	丛枝菌根菌 AM Fungi/ (nmol/g)	真菌 Fungi/ (nmol/g)	真核菌 Eukaryote/ (nmol/g)
处理 7 d 7 days after treatment							
SCK	5.384±0.152 ab	6.524±0.162 b	0.260±0.024 a	2.439±0.110b	0.595±0.027a	1.162±0.074b	0.869±0.028ab
SF	4.492±0.203 b	5.685±0.201 b	0.225±0.018 a	2.204±0.159 b	0.494±0.013a	1.075±0.289b	0.766±0.064b
TCK	6.288±0.332 a	8.053±0.539 a	0.241±0.016 a	3.107±0.206a	0.660±0.082a	2.100±0.488a	0.927±0.067a
TF	4.945±0.577 b	5.425±0.578 b	0.153±0.020 b	2.298±0.243b	0.547±0.075a	0.902±0.095b	0.797±0.010ab
处理 30 d 30 days after treatment							
SCK	2.937±0.491 b	4.346±0.322 b	0.106±0.019bc	1.699±0.202b	0.379±0.053b	1.152±0.326a	0.883±0.096a
SF	1.955±0.505 b	3.447±0.895 bc	0.117±0.015b	1.273±0.332bc	0.275±0.079b	0.592±0.138c	0.994±0.242a
TCK	4.985±0.198 a	6.035±0.312 a	0.192±0.023a	2.401±0.081a	0.612±0.048a	0.916±0.011b	1.244±0.201a
TF	2.364±0.315 b	2.681±0.223 c	0.108±0.005c	1.100±0.094c	0.206±0.020b	0.339±0.017c	0.806±0.051a

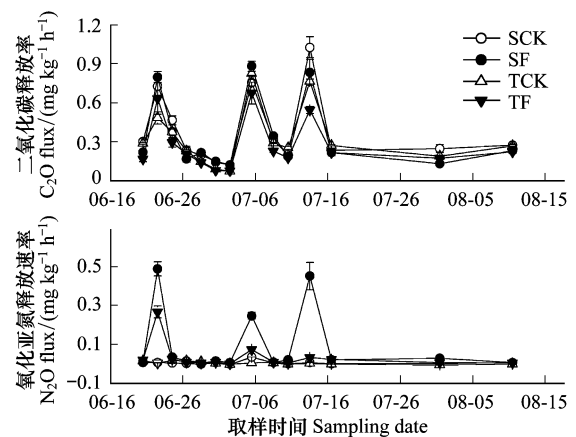
施氮肥处理 7 天后,单株和 3 株种植土壤微生物群落都有下降趋势,其中 3 株种植革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、厌氧菌、放线菌、真菌含量显著降低,而单株种植及 3 株种植的丛枝菌根真菌差异不显著。在施肥处理 30 天后,单株与 3 株种植土壤微生物群落总含量仍然比未施肥低,其中施肥后 3 株种植的土壤革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、厌氧菌、放线菌、丛枝菌根真菌、真菌、真核菌含量均显著降低(表 3)。3 株种植的土壤各种微生物均低于单株种植土壤,在施肥处理 30 天后,革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、厌氧菌、放线菌、丛枝菌根真菌显著降低。

2.4 土壤 CO₂、N₂O 释放速率

无论是单株还是 3 株种植,施肥 1 天后(6 月 23 日)土壤 CO₂ 释放速率出现峰值,施氮肥处理的土壤 CO₂ 释放速率显著高于未施肥处理。但随处理时间的推移,施肥处理的土壤 CO₂ 释放速率与对照差异不显著。处理 7 天至 11 天(6 月 29—7 月 3 日),单株对照和施肥处理 CO₂ 释放速率均显著高于 3 株。而处理 3 周后(7 月 14 日),施肥处理的土壤 CO₂ 释放量低于对照(图 2A)。施氮肥处理后,显著增加了 1 株与 3 株栽植的土壤 N₂O 释放速率,施氮肥处理的 N₂O 气体释放峰值时显著高于对照,随土壤含水量降低,N₂O 释放量也迅速下降(图 2B)。无论是单株还是 3 株种植,施肥处理土壤 CO₂ 和 N₂O 释放的峰值出现的时间一致,均出现在浇水后一天。无论是施肥与不施肥处理,其 CO₂ 释放速率波动趋势一致,在峰值后有逐渐下降的趋势,在浇水后又急剧回升。但单株和 3 株施肥处理的 N₂O 释放量在浇水后 1 天出现峰值,而后迅速降低;未施肥处理 N₂O 释放量对浇水的响应不明显,在监测期内没有显著的波动(图 2B)。

2.5 土壤 CO₂、N₂O 释放释放的主要影响因素

相关分析表明,土壤 CO₂ 释放速率与 N₂O 释放速率相关,土壤 CO₂ 释放速率受 SMBC、土壤温度、pH 值和硝态氮含量等因子的显著影响;土壤 N₂O 释放速率主要影响因子有 SMBC、SMBN、土壤湿度、硝态氮及铵态氮含量。土壤 CO₂ 释放速率与土壤温度及硝态氮含量呈显著负相关($p<0.01$),与土壤 SMBC 和 pH 值呈极显著正相关($p<0.01$),土壤 N₂O 释放速率与 SMBN、土壤温度及硝态氮显著正相关,与土壤 SMBC、铵态氮及

图 2 施氮肥对土壤 CO₂ 和 N₂O 释放速率的影响($n=3$)Fig.2 Effects of nitrogen fertilization on soil CO₂ and N₂O flux($n=3$)

pH 值显著负相关(表 4)。SMBC 与土壤温度显著负相关;而 SMBN 与土壤 pH 值显著负相关,与 SMBN、土壤温度、土壤硝态氮含量显著正相关。根系生物量多少不仅显著影响 SMBN 及土壤湿度,而且对土壤铵态氮含量也有显著影响(表 4)。逐步回归分析表明,土壤硝态氮含量是影响 CO_2 ($R^2=0.334$) 和 N_2O ($R^2=0.924$) 释放的关键因子。

表 4 土壤 CO_2 和 N_2O 释放速率与土壤环境因子的相互关系
Table 4 Correlation of soil CO_2 , N_2O fluxes and soil environmental factors

因子 Factors	CO_2 释 放速率 CO_2 flux	微生 物量碳 SMBC	微生 物量氮 SMBN	温度 Temperature	湿度 Moisture	pH 值 pH value	硝态氮 NO_3^- -N	铵态氮 NH_4^+ -N	根生物量 Root biomass	N_2O 释 放速率 N_2O flux
CO_2 释放速率 CO_2 flux	1.000									
微生物量碳 SMBC	0.565 *	1.000								
微生物量氮 SMBN	-0.428	-0.838 **	1.000							
土壤温度 Temperature	-0.547 *	-0.533 *	0.708 **	1.000						
土壤湿度 Moisture	0.011	0.595 *	-0.696 **	0.011	1.000					
pH 值 pH values	0.550 *	0.639 *	-0.819 **	-0.985 **	0.160	1.000				
硝态氮 NO_3^- -N	-0.578 *	-0.997 **	0.871 **	0.597 *	-0.581 *	-0.699 **	1.000			
铵态氮 NH_4^+ -N	-0.235	0.211	-0.532 *	0.084	0.884 **	0.059	-0.216	1.000		
根生物量 Root biomass	0.206	-0.138	0.576 *	0.116	-0.758 **	-0.232	0.166	-0.957 **	1.000	
N_2O 释放速率 N_2O flux	-0.429	-0.950 **	0.913 **	0.668 **	-0.582 *	-0.767 **	0.965 **	-0.278	0.268	1.000

* 在 0.05 水平(双侧)上显著相关, ** 在 0.01 水平(双侧)上显著相关, $n=24$

3 讨论

3.1 施氮肥对 SMBC、SMBN 及微生物群落结构的影响

SMBC 是土壤碳氮循环途径的关键因子,其含量的变化是预测土壤肥力、土壤微生物活性以及土壤碳氮周转速度的重要指标^[22]。本研究模拟氮沉降显著降低了 SMBC 含量,土壤氮含量显著增加改变了土壤微环境,导致土壤 C/N 比降低,而较低的 C/N 有利于土壤有机碳的分解释放,进而导致土壤有机碳的逐渐减少^[23];土壤微生物的活性会随着有机碳降低而减弱,也可能是导致 SMBC 含量降低的原因之一^[24]。SMBN 的变化是衡量土壤氮素循环周转的关键性因子^[25],本研究中施氮肥增加了土壤氮含量和 SMBN 含量。土壤氮含量的增加提高了土壤微生物氮循环所需的底物,导致微生物活性变强,因此可能是提高 SMBN 含量的主要原因。

施氮肥处理降低了土壤微生物群落结构总含量,特别是土壤中细菌的含量显著下降,刘桂要^[26]对油松(*Pinus tabulaeformis*) 林的研究结果也表明,添加氮处理对土壤细菌群落结构组成的影响程度大于真菌。施氮导致单株种植总微生物量下降 13.3%,3 株种植比单株种植下降更为显著,下降了 29.5%。这与 Ramirez 等^[27]对北美洲 28 个生态系统中的土壤氮沉降使土壤微生物量下降 35%的研究结果基本一致。适量的施氮肥可改善土壤理化性质及微生物活性等,但氮施用过量则会造成土壤微生物多样性降低^[28-29]。施氮肥后的土壤速效氮含量在 41.36—126.68 mg/kg,超过植物正常需求(10—20 mg/kg),进一步表明过量施用氮肥会导致土壤微生物量下降。洪丕征等^[30]模拟氮沉降对红椎(*Castanopsis hystrix* Miq.) 人工幼林土壤影响的研究发现,氮沉

降导致土壤微生物下降的主要机制是土壤 pH 值的降低,因为土壤 pH 值过低会抑制细菌生长^[31],这与本研究中土壤 pH 值与土壤 SMBC 显著相关的结果也是一致的(表 4)。增氮还会通过改变微生物对碳源的利用效率而对土壤微生物量产生影响,一般在高氮处理下,土壤微生物对碳源的利用能力降低^[32-33]。氮对土壤微生物群落结构的影响机制是复杂的,需要综合考虑土壤氮的增加量以及氮增加对土壤 pH 值、土壤 C/N、土壤微生物碳源利用效率等的影响等。

3.2 施氮肥对土壤温室气体释放的影响

模拟氮沉降短时间内提高了土壤 CO₂ 的释放速率,而后土壤 CO₂ 释放与对照相比有降低趋势或无显著差异。这可能是因为施肥后土壤 C/N 降低,加快了土壤 CO₂ 的释放速率^[34]。施肥提高了土壤中有效氮的含量,提高了土壤酶活性,为微生物生命活动提供充足的底物,从而在短时间内达到促进土壤呼吸的作用,但这种促进作用会随着时间的推移而渐减弱甚至消失^[35-36]。也有相关研究证明,长期的施氮肥减少了微生物的呼吸,从而降低 CO₂ 的释放速率^[35]。Liang 等^[37]对农田生态系统的研究表明,施肥能够提高土壤中根系的自养呼吸,且自养呼吸的响应快于异养呼吸。施肥后,根系呼吸快速反应而对提高 CO₂ 的释放速率有一定贡献,但随时间推移,由于过量施肥处理的土壤微生物群落数量的显著下降,导致土壤异养呼吸显著下降,从而掩盖了根系呼吸的贡献量。

增施氮肥显著提高了土壤 N₂O 释放速率,这与 Jassal 等^[38]对森林土壤施氮肥后的研究结果一致。本研究中施氮肥后土壤硝态氮含量显著增加,而且施肥降低了土壤 SMBC 含量,增加了土壤 SMBN 含量,土壤微生物群落总量显著下降,这些因素的响应均与 N₂O 释放速率呈显著相关。相关研究表明,增施氮肥也会通过降低土壤 pH 值,改变土壤的微生物活性,进而改变土壤的呼吸速率^[39]。氮肥施入土壤后,经矿化过程以硝酸盐的形式存在于土壤中,增加了土壤硝化的底物^[40];施肥后土壤 C/N 较低时,也可以降低反硝化微生物对氮素的竞争力,从而减缓土壤的反硝化过程^[41-42],施肥后硝化底物的增加及反硝化过程的减缓是 N₂O 释放速率增加的重要原因。

相关性分析表明,与土壤 CO₂ 释放速率相关的因子主要有 SMBC、土壤温度、土壤 pH 值及硝态氮含量,逐步回归分析表明土壤硝态氮含量是土壤 CO₂ 释放速率的决定性因子。土壤 N₂O 释放速率与 SMBC、SMBN、土壤温度、土壤湿度、pH 值及土壤硝态氮含量均呈显著相关,逐步回归分析发现土壤 N₂O 释放速率主要取决于硝态氮含量。在以往研究中,土壤温度与土壤湿度是土壤 CO₂ 释放速率的主要影响因素^[43-44],刘顺^[45]对川西亚不同森林类型的研究表明,土壤呼吸和总硝化速率与土壤温度显著相关,而与土壤水分相关性不显著。土壤水分是通过影响根和微生物活动、底物的扩散和土壤氧气浓度等而直接和间接的影响土壤碳氮的转化速率^[46-47],当土壤水分不是环境限制因子时,土壤温度通常是影响土壤呼吸的重要影响因子^[45]。而本研究中,虽然土壤温度与 CO₂ 和 N₂O 的释放呈显著正相关,土壤湿度与 N₂O 的释放显著负相关,但逐步回归分析表明影响 CO₂ 和 N₂O 的释放速率的决定性因子是土壤硝态氮含量。这些研究结果说明,在不同地区、不同森林类型及气候条件下,林地土壤环境的复杂性及限制因子的不同,可能是温室气体释放关键因素差异的原因。

3.3 根系生物量与土壤温室气体释放的关系

无论是对照还是施肥处理,3 株(根系生物量增加)栽植土壤中的速效氮含量均显著降低(表 2),可能是因根系对养分的吸收利用增加而减少了土壤中的氮含量,土壤 N₂O 释放速率因根系增加而显著下降。另外,3 株种植根系生物量高,对土壤水分的消耗也较单株高,因而显著降低了土壤水分含量,土壤湿度的降低通过影响土壤温度及土 SMBN,直接或间接地影响土壤温室气体的释放速率。土壤温室气体释放速率随着随根系生物量的增加而增加^[16-17],在未施肥处理条件下,根系生物量较高的 3 株处理其土壤微生物群落生物量也较高,也会对土壤温室气体产生一定的影响。

根系呼吸与根系氮浓度具有极大的相关性^[48],施肥处理导致根系氮含量显著增加,这在一定程度上可能会增加根系的呼吸速率^[20]。但由于过量施肥显著降低了土壤微生物群落结构,土壤微生物呼吸显著下降^[35],这在一定程度上掩盖了根系生物量及根系氮浓度对土壤呼吸的贡献量。

参考文献 (References):

- [1] Raich J W, Schlesinger W H. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *vegetation and climate. Tellus*, 1992, 44: 81-99.
- [2] Bond-Lamberty B, Thomson A. A global database of soil respiration data. *Biogeosciences*, 2010, 7: 1915-1926.
- [3] Dixon R K, Solomon A M, Brown S, Houghton R A, Trexler M C. Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science*, 1994, 263: 185-190.
- [4] Pan Y D, Birdsey R A, Fang JY, Houghton R, Kauppi PE, Kurz W A, Phillips O L, Shvidenko A, Lewis S L, Canadell J G, Ciais P, Jackson RB, Pacala SW, McGuire AD, Piao SL, Rautiainen A, Sitch S, Hayes D A. Large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science*, 2011, 333: 988-993.
- [5] Williams C A, Vanderhoof M K, Khomik M, Ghimire B. Post-clearcut dynamics of carbon, water and energy exchanges in a midlatitude temperate, deciduous broadleaf forest environment. *Global Change Biology*, 2014, 20: 992-1007.
- [6] 陈书涛, 黄耀, 邹建文, 史艳姝, 卢燕宇, 张稳, 胡正华. 中国陆地生态系统土壤呼吸的年际间变异及其对气候变化的响应. *中国科学: 地球科学*, 2012, 42: 1273-1281.
- [7] Wu J, Roulet N T. Climate change reduces the capacity of northern peatlands to absorb the atmospheric carbon dioxide: The different responses of bogs and fens. *Global Biogeochemical Cycles*, 2015, 28: 1005-1024.
- [8] Andersson P, Dan B, Johnsson L. 30 Years of N fertilization in a forest ecosystem-the fate of added N and effects on N fluxes. *Water Air & Soil Pollution*, 2001, 130: 637-642.
- [9] Treseder K K. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, 2008, 11(10): 1111 - 1120.
- [10] Gao Q, Hasselquist NJ, Palmroth S, Zheng Z, You W. Short-term response of soil respiration to nitrogen fertilization in a subtropical evergreen forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 76: 297-300.
- [11] Haynes B E, Gower S T. Belowground carbon allocation in unfertilized and fertilized red pine plantations in northern Wisconsin. *Tree Physiology*, 1995, 15(5): 317-325.
- [12] Kane E S, Pregitzer K S, Burton AJ. Soil respiration along environmental gradients in Olympic National Park. *Ecosystems*, 2003, 6(4): 326-335.
- [13] Zhou L Y. Different responses of soil respiration and its components to nitrogen addition among biomes: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2014, 20: 2332-2343.
- [14] Tu L H, Hu T X, Zhang J, Li R H, Dai H Z, Luo Sh. Short term simulated nitrogen deposition increases carbon sequestration in a *Pleuroblastus amarus* plantation. *Plant and Soil*, 2011, 340(1/2): 383-396.
- [15] Leppälampi-Kujansuu J, Salemaa M, Kleja DB, Linder S, Helmisaari HS. Fine root turnover and litter production of Norway spruce in a long-term temperature and nutrient manipulation experiment. *Plant and Soil*, 2014, 374(1-2): 73-88.
- [16] 刘涛, 张永贤, 许振柱, 周广胜, 侯彦会, 林琳. 短期增温和增加降水对内蒙古荒漠草原土壤呼吸的影响. *植物生态学报*, 2012, 36(10): 1043-1053.
- [17] 张蕾, 李家湘, 谢宗强. 氮添加对亚热带山地杜鹃灌丛土壤呼吸的影响. *植物生态学报*, 2017, 41(1): 95-104.
- [18] Nadine K, Nina B. Soil respiration fluxes in a temperate mixed forest: seasonality and temperature sensitivities differ among microbial and root - rhizosphere respiration. *Tree Physiology*, 2010, 30(2): 165.
- [19] Volder A, Smart D R, Bloom A J, Eissenstat D M. Rapid decline in nitrate uptake and respiration with age in fine lateral roots of grape: implications for root efficiency and competitive effectiveness. *New Phytologist*, 2005, 165(2): 493-501.
- [20] Burton, Pregitzer K, Ruess R, Hendrick R, Allen M. Root respiration in North American forests: effects of nitrogen concentration and temperature across biomes. *Oecologia*, 2002, 131, 559-568.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000, 25-108.
- [22] 胡诚, 曹志平, 胡婵娟, 王金凯. 不同施肥管理措施对土壤碳含量及基础呼吸的影响. *中国生态农业学报*, 2007, 15(5): 63-66.
- [23] 徐阳春, 沈其荣, 雷宝坤, 储国良, 王全洪. 水旱轮作下长期免耕和施用有机肥对土壤某些肥力性状的影响. *应用生态学报*, 2000(04): 549-552.
- [24] Cao Z P, Hu C, Ye ZN, Wu W L. Impact of soil fertility maintaining practice on microbial biomass carbon in high production agro-ecosystem in northern China. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1486-1493.
- [25] Mary B, Recous S, Robin D. A model for calculating nitrogen fluxes in soil using ^{15}N tracing. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(14): 1963-1979.
- [26] 刘桂要, 陈莉莉, 袁志友. 氮添加对黄土丘陵区油松人工林根际土壤微生物群落结构的影响. *应用生态学报*, 2018, <http://kns.cnki.net/>

kcms/detail/21.1253.Q.20181109.1626.003.html

- [27] Ramirez K S, Craine J M, Noah F. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology*, 2012, 18(6): 1918-1927.
- [28] 曾清苹, 何丙辉. 应用 PLFA 法分析氮沉降对缙云山马尾松林土壤微生物群落结构的影响. *环境科学*, 2016, 37(9): 3590-3597.
- [29] Sushko S, Ananyeva N, Ivashchenko K. Soil CO₂ emission, microbial biomass, and microbial respiration of woody and grassy areas in Moscow (Russia). *Journal of Soils and Sediments*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2151-8>.
- [30] 洪丕征, 刘世荣, 于浩龙, 郝建. 模拟氮沉降对红椎人工幼龄林土壤微生物生物量和微生物群落结构的影响. *山东大学学报(理学版)*, 2016, 51(5): 18-28.
- [31] Högberg M N, Bååth E, Nordgren A, Arnebrant K, Högberg P. Contrasting effects of nitrogen availability on plant carbon supply to mycorrhizal fungi and saprotrophs: A hypothesis based on field observations in boreal forest. *New Phytologist*, 2003, 160(1): 225-238.
- [32] 王杰, 李刚, 修伟明, 赵建宁, 王慧, 杨殿林. 贝加尔针茅草原土壤微生物功能多样性对氮素和水分添加的响应. *草业学报*, 2014, 23(4): 343-350.
- [33] 马慧君, 张雅坤, 许文欢, 葛之葳, 阮宏华. 模拟氮沉降对杨树人工林土壤微生物群落碳源利用类型影响研究. *南京林业大学学报(自然科学版)*. 2017, 41(05): 1-6.
- [34] Sitaula B K, Bakken L R, Abrahamsen G. N-fertilization and soil acidification effects on N₂O and CO₂ emission from temperate pine forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27(11): 1401-1408.
- [35] 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.
- [36] 陈平, 赵博, 闫子超, 杨璐, 赵秀海, 张春雨. 太岳山油松人工林土壤呼吸对模拟氮沉降的短期响应. *生态学报*, 2018, 38(22): 1-10.
- [37] Liang G P, Cai A D, Wu H J, Wu X P, Houssou A A, Ren C J, Wang Z T, Gao L L, Wang B S, Li S P, Song X J, Cai D X. Soil biochemical parameters in the rhizosphere contribute more to changes in soil respiration and its components than those in the bulk soil under nitrogen application in croplands. *Plant Soil*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3886-0>.
- [38] Jassal R S, Black T A, Roy R, Ethier G. Effect of nitrogen fertilization on soil CH₄ and N₂O fluxes, and soil and bole respiration. *Geoderma*, 2011, 162: 182-186.
- [39] Ling N, Chen D, Guo H, Wei J, Bai Y, Shen Q, Hu S. Differential responses of soil bacterial communities to long-term N and P inputs in a semi-arid steppe. *Geoderma*, 2017, 292: 25-33.
- [40] Zhang X, Wang W. The decomposition of fine and coarse roots: their global patterns and controlling factors. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9940.
- [41] Frimpong K A, Yawson D O, Baggs E M, et al. Does incorporation of cowpea-maize residue mixes influence nitrous oxide emission and mineral nitrogen release in a tropical luvisol. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2011, 91(3): 281-292.
- [42] Wang C H, Wang N N, Zhu J X, Liu Y, Xu X F, Niu S L, Yu G R, Han X G, He N P. Soil gross N ammonification and nitrification from tropical to temperate forests in eastern China. *Functional Ecology*, 2018, 32(1): 83-94.
- [43] 王新源, 李玉霖, 赵学勇, 毛伟, 崔夺, 曲浩, 连杰, 罗永清. 干旱半干旱区不同环境因素对土壤呼吸影响研究进展. *生态学报*, 2012, 32(15): 4890-4901.
- [44] 王家骏, 王传宽, 韩轶. 帽儿山不同年龄森林土壤呼吸速率的影响因子. *生态学报*, 2018, 38(4): 1194-1202.
- [45] 刘顺, 杨洪国, 罗达, 史作民, 刘千里, 张利. 川西亚高山不同森林类型土壤呼吸和总硝化速率的季节动态. *生态学报*, 2019, 39(2): 550-560.
- [46] Cheng Y, Cai Z C, Zhang J B, Lang M, Mary B, Chang SX. Soil moisture effects on gross nitrification differ between adjacent grassland and forested soils in central Alberta, Canada. *Plant and Soil*, 2012, 352(1/2): 289-301.
- [47] Qi Y, Xu M. Separating the effects of moisture and temperature on soil CO₂ efflux in a coniferous forest in the Sierra Nevada mountains. *Plant and Soil*, 2001, 237(1): 15-23.
- [48] Chen D, Zhou L, Rao X, Lin Y, Fu S. Effects of root diameter and root nitrogen concentration on in situ root respiration among different seasons and tree species. *Ecological Research*, 2010, 25(5): 983-993.