

DOI: 10.5846/stxb201812272822

宋明华, 陈锦, 蒋婧, 王枫, 于飞海. $^{13}\text{CO}_2$ 示踪不同化学形态氮素添加对高寒草甸植物光合碳分配的影响. 生态学报, 2020, 40(11): 3688-3697.

Song M H, Chen J, Jiang J, Wang F, Yu F H. Effect of nitrogen addition with different chemical forms on dynamics of photosynthate using $^{13}\text{CO}_2$ tracing in an alpine grassland. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(11): 3688-3697.

$^{13}\text{CO}_2$ 示踪不同化学形态氮素添加对高寒草甸植物光合碳分配的影响

宋明华^{1,*}, 陈 锦^{1,2}, 蒋 婧³, 王 枫⁴, 于飞海⁵

1 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

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 江苏丘陵地区南京农业科学研究所, 南京 210046

4 内蒙古赤峰市产品质量计量检测所, 赤峰 024005

5 台州学院浙江省植物进化生态学与保护重点实验室, 台州 318000

摘要: 外源氮素(N)输入陆地生态系统后会引引起植物和土壤各碳库的变化,但是对不同的化学形态氮素的长期输入如何影响光合碳在植物组织、土壤、土壤呼吸中的分配及转运知之甚少,尤其是对于氮输入引起光合碳分配变化进而作用于植物和土壤碳库的机制的认识还非常匮乏。基于在青藏高原矮嵩草草甸开展的不同化学形态氮素添加的长期实验,利用 ^{13}C 示踪方法揭示了光合碳在植物地上、地下组织的分配,及其随时间在土壤中的滞留和随土壤呼吸的释放。研究表明,外源氮素添加 10 年后,与对照未添加氮素处理相比,氨态氮处理下的地上生物量增加了 49.5%,氨态氮处理下的地下生物量增加了 111.3%。土壤中滞留的 ^{13}C 整体呈下降趋势,氨态氮处理下的土壤碳库显著高于硝态氮处理下的值。不同处理下的土壤呼吸中 ^{13}C 的滞留量随时间呈指数衰减的变化趋势,其中,硝态氮处理下的 ^{13}C 衰减最快。 ^{13}C 同位素标记后第 1 天测定植物茎和叶内的 ^{13}C 约占刚刚标定完茎和叶内 ^{13}C 的 80%,不同处理之间没有显著性差异。直至标记后的第 30 天,茎和叶内 ^{13}C 的滞留量约占初始量的 30%。硝态氮处理下的值在第 21 天和第 30 天显著低于对照和氨态氮处理下的值,表明硝态氮处理下,植物光合固定的碳在短期内迅速输入地下组织和土壤中。这些结果从机理上阐明了植物光合碳分配对不同的化学形态氮素长期输入的响应,进而影响到土壤呼吸 CO_2 的释放,以及对土壤碳库动态的贡献。加深了对高寒草甸土壤有机碳库稳定性维持机制的认识,能够为高寒草地的科学管理以及资源的可持续利用提供理论指导。

关键词: 氨态氮;硝态氮;光合碳分配; ^{13}C 同位素标记;土壤呼吸

Effect of nitrogen addition with different chemical forms on dynamics of photosynthate using $^{13}\text{CO}_2$ tracing in an alpine grassland

SONG Minghua^{1,*}, CHEN Jin^{1,2}, JIANG Jing³, WANG Feng⁴, YU Feihai⁵

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

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Nanjing Agricultural Institute of Jiangsu Hilly Region, Nanjing 210046, China

4 Chifeng Product Quality And Measurement Inspect Institute, Chifeng 024005, China

5 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Plant Evolutionary Ecology and Conservation, Taizhou University, Taizhou 318000, China

Abstract: Long-term exogenous nitrogen (N) input into terrestrial ecosystems causes changes in carbon storage in plant

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0502001, 2016YFC0501803);国家自然科学基金青年科学基金(31600431)

收稿日期: 2018-12-27; **修订日期:** 2020-05-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: songmh@igsnrr.ac.cn

and soil pools. However, little is known how input of N with different chemical forms could influence patterns of photosynthetic carbon (C) allocated into different pools, such as above- and below-ground plant tissues, soil, and soil respiration. In particular, the mechanisms underlying changes in plant and soil carbon storage in responses to N input are not clear. A long-term fertilization experiment of N with different chemical forms was carried out in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. We tested the patterns of photosynthetic carbon allocated into plant tissues, soil, and soil respiration using ¹³C tracing experiment in the field. Our results showed that N input with different chemical forms caused changes in the patterns of photosynthetic C allocated into above- and below-ground plant tissues. Moreover, allocation of photosynthetic C into soil differed in response to different chemical forms of N, and the C-CO₂ fluxes were significantly different regarding to the N chemical forms. Specifically, significant differences in patterns of photosynthetic C allocated into different pools were found between ammonium-N and nitrate-N treatments. Comparison with ammonium-N, relatively faster transition of photosynthetic C was found in nitrate-N treatment, and photosynthetic C was fastly respired via soil respiration. The results from ¹³C labeling are corresponding to the significantly high carbon stored in plant root and soil in ammonium-N than in nitrate-N treatments. Our results showed that aboveground biomass in ammonia-N treatment were 49.5% higher than that in the control treatment as N addition treatments have been performed for 10 years. Meanwhile, belowground biomass in ammonia-N treatment were 111.3% higher than that in the control treatment. The ¹³C retained in the soil showed a downward trend during the 30 days, and the soil carbon pool in ammonia-N treatment was significantly higher than that in nitrate-N treatment. The ¹³C efflux from soil respiration with time followed an exponential decay function in each one of the treatments. Among them, decay rate of ¹³C in nitrate-N treatment was the fastest one. On the first day after ¹³C isotope labeling, ¹³C in plant shoots was amounted to about 80% of the ¹³C in the shoots after the immediate labeling. There was no significant difference in ¹³C in plant shoots on the first day after labeling between different treatments. On the 30th day, the retention of ¹³C in shoots was reduced to about 30% of the initial amount. The values in nitrate-N treatment were significantly lower than those in the control and ammonia-N treatments from day 21 to 30. The results showed that the photosynthetic C fixed by plants was rapidly transported into underground tissues and soil in a short period of time in the treatment of nitrate-N addition. Our results illustrate the responses of allocation in photosynthetic C to N input with different chemical forms. We also quantified the rate of C-CO₂ efflux via soil respiration, which is critical to understand clearly about the contribution of photosynthetic C to soil carbon storage. The results can be used to develop more reasonable policy in grassland management, which are beneficial for sustainable development of the alpine grasslands.

Key Words: Ammonia-N; Nitrate-N; allocation of photosynthetic carbon; ¹³C isotope labeling; soil respiration

青藏高原的高寒草地大部分由嵩草类植物占据优势,这类植物地上呈密集的丛生型,盖度很高,而地下发育着密集的根系,往往形成致密的草毡层^[1]。嵩草草地范围从海拔 3000 m 至 5900 m 均有分布^[1],覆盖面积约为 421591 km²^[2],占整个高原面积约三分之一,储藏着大量的土壤有机碳。如此大的碳储量源于植物将大量的光合作用固定的碳输入到土壤^[3],同时较长的旱季和冷季也使固持的有机碳较长时间滞留于土壤中,周转缓慢^[4]。当土壤碳截存的状态受到环境变化的干扰时,土壤中的碳就会被快速和大量地释放到大气中。土壤碳库的微小变化将会引起大气中二氧化碳的剧烈变化^[5]。

由于低温和土壤养分(尤其是低有效氮(N))的限制,高寒草甸生态系统的初级生产力很低^[4]。施肥(N肥等)成为改善青藏高原的饲草质量、提高地上生产力的经营方式之一^[6-7]。此外,根据 IPCC(2010)的报告,全球大气氮沉降增加的同时,青藏高原的氮沉降量也逐渐增加。肥料(N肥)的使用和大气氮沉降的增加等引起土壤有效氮的增加,而土壤有效氮素的提高会引起植物群落物种组成的改变,如禾草类植物增加,逐渐取代嵩草类植物的优势地位,而禾本科植物对植物群落生物量有较大的贡献^[8];禾草与杂草类植物在群落中的比例也发生了变化,物种丰富度会随着生产力的增加而降低。另外,增加氮输入会引起植物光合碳(C)的增

加,也会改变植物向地下输入的 C 量,进而通过根系分泌物、根际碎屑等活性碳激发土壤原有有机质的分解。氮输入会引起植物群落结构上的改变,植物群落的这些变化最终会影响植物光合碳在地上和地下碳库中的分配,进而影响土壤碳库动态与截存。此外,氮的长期输入还会引起土壤微生物组成及类群的变化,这些变化会直接影响微生物的活性进而影响有机质的分解。

除了氮素输入剂量对光合碳分配及土壤碳动态的影响外,氮素输入的化学形态也会通过对植物群落和土壤微生物组成的影响进而作用于碳动态的变化。已有研究表明输入低剂量 N 能够增加植物凋落物的输入,进而提高 N 匮乏的生态系统的碳固持量^[9-11]。同时,高剂量 N 输入引起莎草草甸^[12]、泥沼^[13]和一年生草地^[14]的碳排放量的增加。目前,关于不同形态氮素的长期添加对草地植物的光合 C 在植物-土壤系统各碳库中的分配以及动态变化的影响的研究较少。一般而言,群落中的优势物种会优先利用土壤中含量较高的化学形态的氮素^[15]。尽管不同植物物种对不同形态氮素利用存在偏好,但是植物对不同化学形态的氮素吸收利用具有一定的可塑性^[16]。因此,不同化学形态的氮素输入可能会引起群落内不同养分利用方式的植物的响应方式不同,进而引起群落结构的变化。因此探寻草地生态系统地上、地下生态过程对不同形态氮素添加的敏感性,阐明不同形态氮素的长期添加对草地光合 C 动态的影响和作用机制,能够为制定草地科学合理的经营管理方式,实现资源可持续利用提供理论依据。

基于青藏高原海北高寒草甸生态系统研究站已经开展 10 年的不同化学形态氮素长期输入的实验,利用 $^{13}\text{CO}_2$ 示踪技术,量化氮素添加处理下光合碳在植物地上组织、地下根及土壤中的分配,以及土壤呼吸中释放的 CO_2 。回答以下科学问题:(1)不同形态不同剂量 N 输入引起高寒草甸土壤 C 储量的变化如何?(2)长期 N 输入引起光合碳在植物组织、土壤中分配量的变化如何?(3)植物光合碳分配模式与土壤呼吸释放 CO_2 -C 的关系如何?

1 研究地概况

研究地位于中国科学院海北高寒草甸生态系统定位研究站(简称海北站, $37^\circ 37' \text{ N}$, $101^\circ 19' \text{ E}$, 海拔 3200 m)。该站位于青藏高原东北隅,祁连山北支冷龙岭东段南麓的大通河谷。气候是高原大陆性季风气候,仅有冷、暖两季之分,年平均气温 -1.7°C , 夏季温暖多雨,冬季寒冷干燥,7 月平均气温 9.8°C , 1 月平均气温 -14.8°C 。年均降水量约 580 mm,植物生长季(5—9 月)集中了全年降水的 80%^[17]。

研究区域的优势物种为矮嵩草(*Kobresia humilis* Serg)和异针茅(*Stipa aliena* Keng)、垂穗披碱草(*Elymus nutans* Griseb)。植被覆盖率超过 95%^[18]。该地区土壤为高山草甸土、高山灌丛草甸土和沼泽土^[19]。该地区土壤有机质和全量养分丰富,但速效养分很低(表 1)。高寒草甸土壤总氮含量较高,但有效氮含量匮乏^[20]。因其降水量 80% 分布于植物生长季的 5—9 月,所以在 6—8 月间,土壤水分含量较高,能保证植物的生长需求。

2 研究方法

2.1 样地布设和实验设计

自 2005 年,在青海海北站选取 $60 \text{ m} \times 80 \text{ m}$ 大小的一片均匀一致的草地作为实验样地,此样地自设置起用围栏围封,不存在大型家畜,如牦牛、羊等的采食。该实验采用完全随机化区组设计,设置 3 个裂区,每个裂区 10 个样方,样方大小为 $2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$,共 30 个。任何相邻两个样方间隔 1 m。样方内植被与样方外植被的分割采用高为 30cm 的铁皮沿样方四周打入地下 25cm,地上部分保留 5cm。添加的氮素化学形态是:铵态氮(Am)、硝态氮(Ni)、 NH_4NO_3 (AN),氮素添加剂量是低(L, $0.375 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、中(M, $1.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、高(H, $7.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$) 3 个氮浓度的正交实验,共 9 个处理,记作 AmL, AmM, AmH, NiL, NiM, NiH, ANL, ANM, ANH,另设置一个对照 CK。每种处理 3 个重复。每年 7 月初和 8 月初各施肥一次,每次施肥量是总剂量的 1/2。将相应剂量氮化合物溶于 5 L 水中,用喷壶均匀洒于对应的样方内,对照只洒 5 L 水。3 种形态氮素所对

应的化合物试剂分别为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3 和 NH_4NO_3 。

该实验基于上述长期氮素添加实验。实验开展后第 6 年的研究表明,低、中剂量的氮素添加没有引起群落物种组成和地上生物量的显著变化^[18],而高剂量氮添加处理下植物群落地上生物量和土壤微生物量氮及土壤理化性质发生了显著变化(表 1)。考虑到试验费用和操作时间上的可行,该实验仅选取其中 3 种氮形态的高浓度和对照 4 种处理开展 ^{13}C - CO_2 的标记实验,即 AmH, NiH, ANH, CK。总共 12 个样方。实验于 2014 年 8 月 1 日开始,于 8 月 31 日结束。

表 1 不同化学形态氮素长期输入对土壤理化性质的影响

Table 1 Effects of long-term N addition in different chemical forms on soil characteristicsa

土壤理化性质 Soil physicochemical properties	不同化学形态氮素 Different chemical forms			
	CK	Am	Ni	AN
土壤含水量/% Soil water content	0.261a (± 0.003)	0.264a (± 0.003)	0.254a (± 0.003)	0.273a (± 0.002)
土壤 pH pH	7.397a (± 0.007)	7.180c (± 0.006)	7.233b (± 0.024)	7.277b (± 0.009)
土壤有机氮含量 Soil organic nitrogen concentration	0.601a (± 0.011)	0.592a (± 0.001)	0.558b (± 0.006)	0.624a (± 0.007)
土壤有机质碳氮比 Soil C: N ratio	12.089a (± 0.224)	12.518a (± 0.013)	12.257a (± 0.150)	12.190a (± 0.146)
NH_4^+ 浓度 Soil NH_4^+ concentration	25.798d (± 0.157)	107.227a (± 0.807)	30.187c (± 0.658)	36.869b (± 0.046)
NO_3^- 浓度 Soil NO_3^- concentration	10.157d (± 1.193)	56.616c (± 0.993)	82.291b (± 0.305)	89.404a (± 0.332)
微生物量碳/($\mu\text{g C kg}^{-1}$ soil) Soil microbial carbon concentration	467.190a (± 43.969)	439.833a (± 20.054)	442.533a (± 9.123)	485.897a (± 10.168)
微生物量氮/($\mu\text{g C kg}^{-1}$ soil) Soil microbial nitrogen concentration	125.190ab (± 6.419)	108.673b (± 4.905)	124.047ab (± 5.433)	147.203a (± 4.358)

CK, 代表不加 N 处理; Am, 代表 $7.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 剂量添加的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的处理; Ni, 代表 $7.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 剂量添加的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的处理; AN, 代表 $7.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 剂量添加的 $\text{NH}_4\text{NO}_3\text{-N}$ 的处理。表中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$),具有相同小写字母标注的值表明处理之间的差异不显著(Tukey test $P=0.05$)

2.2 ^{13}C 脉冲示踪实验

实验于 8 月 1 日至 8 月 31 日期间进行,在高氮处理及对照每个 $2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$ 的样方内选取两个 $40 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$ 的小样方,其中一个用于 ^{13}C 示踪实验,另一个为对照样地。用于对照处理的小样方其 4 个角用木棍做好标记;用于示踪的小样方沿着小样方的四个边外侧挖开至 2 cm 深左右,将立体金属架安置在槽内,金属架大小为 $40 \text{ cm} \times 40 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ (长、宽、高);在实验开始的前一天下午,将塑料薄膜包裹在立体架外面,并将底部沿 4 个边埋入槽内,用湿土把薄膜盖好,避免漏气。箱壁插入地面 5 cm 深,并用孔径为 $45 \mu\text{m}$ 的尼龙网裹住,尼龙网延伸至地面下 10 cm 深,以便隔断来自标记箱外的植物根系,而养分和水分可以相互交换。箱的内表面抹上防雾剂来降低标记过程中水蒸汽浓度,从而增加光强和降低 $^{13}\text{CO}_2$ 溶解在箱内表面水滴中的量。标记选在晴朗的天气中午 10:00, CO_2 (99 at% ^{13}C) 被储藏在高压瓶内,通过降压阀和直径 4 mm 的进气管输入箱内,流速为 0.125 L/min ,并用流量计测量流量。密闭箱上部侧面安装了两个风扇,用于降低内部温度。为了消除 CO_2 浓度对植物光合过程的影响,需将实验中的 CO_2 浓度控制在大气 CO_2 浓度或者略高于大气中的 CO_2 浓度范围内。 $^{13}\text{CO}_2$ 输入 1 h 后停止,箱保持密闭状态再持续 5 h^[21]。气体输入流量和标记时间根据以往观测的光合速率和地下生产力来确定,确保植物地上茎、叶和地下根系样品有足够高的 ^{13}C 丰度^[22]。

2.3 植物组织取样

在标记后第 1, 6, 14, 21, 30 天,气体取样同时收获植物样品,将植物地上部分贴地面剪下,仅绿色茎和叶用于 ^{13}C 分析。植物取样时将植物地上茎和叶混匀后随机取样,代表整个群落水平的物种组成。植物根系在采集土壤样品同时采集,根系放在孔径为 0.5 mm 的筛子内仔细清洗,去除吸附的土壤和暗棕色/黑色碎屑物

质。茎、叶和根样品在 70℃ 下 48h 烘干,用于测量植物生物量、植物样品中¹³C、C 含量指标。

2.4 土壤呼吸取样

预计在示踪后第 1,6,12,24 小时和第 4,7,15 和 30 天收集土壤呼吸释放 CO₂。在¹³C 示踪后的实际取样过程中,第 1,6,12,24 小时进行了呼吸取样,而¹³C 示踪后的第 4 天下雨,为了减少降雨的干扰,我们将取样时间推迟到第 6 天,随后的取样时间大体按照 14、21、30d 进行,推后的时间也控制在 1d 之内。由于根系取样是在第 1,6,14,21,30 天,所以土壤呼吸样品¹³C 的测定也抽取相应时间点上的样品进行了分析。样品收集采用 2 种不同型号的透明 PVC 箱,大箱高 15 cm 直径 20 cm,用于收集植物-土壤系统呼吸释放的 CO₂。这些箱内植被地上部分保留,用于测定生态系统呼吸。小箱的高为 25 cm 直径 5 cm,这些箱放置的位置植被地上部分被收获,用于测定植物根与微生物呼吸。每个箱的顶部有一个用橡皮塞密封的孔用于针头取样。每个箱内抽取 70 mL 气体立即注射进铝-塑料组合的气袋内(TPV-005, Dalian Delin Gas Packing Co., Ltd., Dalian, China)用于分析呼吸释放 CO₂-¹³C。每一次取样同时在距地面 2 m 高用注射器取大气样品作为¹³C 的对照测定。

2.5 土壤样品取样

在标记后的第 1,6,14,21,30 天,用直径 5 cm、深度 20 cm 的土钻在每个样方内的 2 个小样方取 6 份土,将同一样地收集的土壤样本混合成一个复合样本,并通过一个 2mm 的筛子将根系和粗石清除后,筛选出的土壤放入在 4℃ 保存,并将其转移到实验室用于后续的测量,风干后分析总 C 和¹³C。此外,用环刀在每个样方内取得土壤样品,测得土壤容重指标。

2.6 植物和土壤样品的有机碳、氮含量及其 δ¹³C 的测定值

其分析的基本原理和测定过程是:样品经高温燃烧后(氧化/还原炉温度为 950℃),通过 TCD (Thermal Conductivity Detector) 检测器测定有机碳、氮含量,剩余气体进入 ConFlo IV 导入稳定同位素质谱仪,在质谱仪上测定 δ¹³C 值(Delta Plus, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)。在计算时,将刚刚标记完的茎和叶内¹³C 的量视为标记过程中植物固定的全部¹³C,样品中¹³C 的回收率为其他时间点的样品中¹³C 的值除以刚标记完的植物茎和叶内¹³C 的量。植株(根系和地上部)和土壤中¹³C 含量的计算如下:

$$^{13}\text{C}_{\text{样品}} = [(\text{At}^{13}\text{C}\%) \text{ L} - (\text{At}^{13}\text{C}\%) \text{ uL}] \times \text{TC} \times 100$$

式中,¹³C_{样品}表示样品中¹³C 含量,At¹³C% 表示样品中含¹³C 的丰度;L 和 uL 分别表示标记和非标记;TC 样品表示样品中总有机碳的含量。

2.7 植物、土壤 C 浓度,土壤容重

用于 C 浓度分析的土壤子样品风干后,过 2mm 筛,然后在球磨机中研磨。采用改良的 Walkley-Black 法,在 175℃ 下煮沸土壤-硫酸混合物 5min^[23-24]。采用 1.1 逆变换因子对 Walkley-Black 方法获得的 SOC 测量结果进行校正^[23],修正了含水率和干重对有机物含量的影响。对植物样品烘干称重后,利用连续流动同位素质谱仪(EA 1110; CE Instruments, Milan, Italy) (EA-IRMS) 和连接到 IRMS 的 ConFlo II 设备(FinniganMAT 253, Bremen, Germany)进行分析。土壤水分的重量测量。用已知体积的土壤环刀测定土壤容重。

2.8 C 储量的测定值

植物 C 储量公式如下:

$$C_{\text{pool}} = B_{\text{样品}} \times C_{\text{样品}} \%$$

式中, C_{pool} (kg/m²) 为植物样品的 C 库, $B_{\text{样品}}$ (kg/m²) 为植物样品干重质量, $C_{\text{样品}} \%$ (%) 为样品 C 含量。

土壤碳储量^[25-26] 公式如下:

$$\text{SOC} = C_s \times D \times E \times (1 - G) / 10$$

式中,SOC (kg/m²) 为土壤有机碳密度, C_s 、 D 、 E 、 G 分别为土壤有机 C 含量(%),土壤容重(g/cm³),土壤层厚度(cm)和大于 2 mm 的石砾所占的体积百分比(%)。

2.9 数据分析与统计

采用 Oneway-ANOVA (单因素方差) 分析方法,多重比较采用 Tukey 法,分析了氮素添加处理下植物地上

生物量、地下生物量、土壤碳库和土壤呼吸速率的差异,检验了氮素添加处理对光合碳在茎和叶、根、土壤以及土壤呼吸中分配的比例及随时间变化动态。利用回归分析拟合了光合碳在土壤呼吸释放 CO₂ 中随时间衰减的关系。数据统计分析采用 SPSS 16。

3 结果

3.1 不同化学形态氮素长期添加对植物地上、地下生物量,土壤碳库及根碳比例的影响

外源氮素添加 10 年后,氨态氮处理下的地上生物量高于对照处理下的地上生物量的值的 49.5%,其他处理之间地上生物量的值没有显著差异(图 1)。与对照相比,氨态氮处理下的地下生物量的值增加了 111.3%,并且氨态氮处理下的地下生物量也显著高于硝态氮和硝酸氨处理下的值,而对照、硝态氮和硝酸氨 3 个处理之间没有显著差异。同时,氨态氮处理下的土壤碳储量显著高于硝态氮处理下的值($P=0.007$),而其他处理之间无显著性差异。氨态氮处理下根碳比例显著高于对照和硝态氮及硝酸铵处理下的值($P=0.002$)。

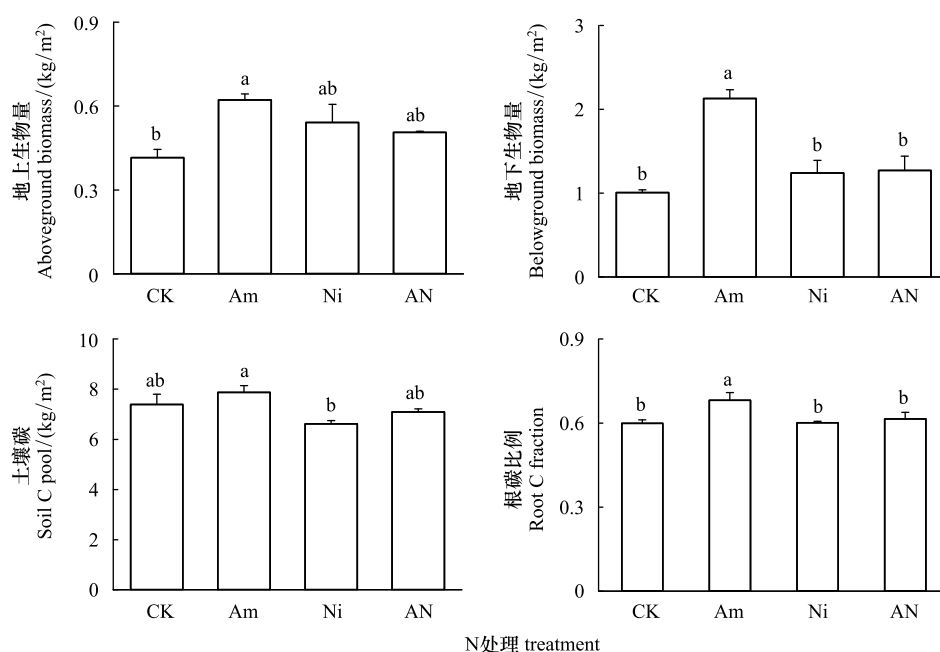


图 1 不同化学形态氮素长期输入对土壤-植物系统的不同碳库的影响

Fig.1 Effects of long-term N addition in different chemical forms on on different carbon pools in soil-plant systems

CK, 代表不加 N 处理; Am, 代表 7.5 g N m⁻² a⁻¹ 剂量添加的 NH₄-N 的处理; Ni, 代表 7.5 g N m⁻² a⁻¹ 剂量添加的 NO₃-N 的处理; AN, 代表 7.5 g N m⁻² a⁻¹ 剂量添加的 NH₄NO₃-N 的处理; 相同小写字母表示处理间差异不显著

3.2 不同化学形态氮素长期添加对光合碳在植物地上茎和叶和地下根中分配比例的影响

¹³C 同位素标记后 1 天测定植物茎和叶内的¹³C 占刚刚标定完茎和叶内¹³C 的 80%左右,不同处理之间没有显著性差异。随着植物不断固定光合碳输入的稀释以及¹³C 向地下组织的分配,茎和叶内¹³C 随时间呈现下降的趋势,到标定后的第 30 天,茎和叶内¹³C 的滞留量约占初始量的 30%左右(图 2)。而且,硝态氮处理下的值到第 21 和 30 天显著低于对照和氨态氮处理下的值,表明硝态氮处理下,植物光合固定的碳在短期内迅速输入地下组织和土壤中($P<0.05$; 图 2)。相反,根系中¹³C 的量随时间呈现缓慢增加的趋势,从标记后第 1 天的 10%增加到 30 天的 22%左右。而且,标记完的 14 天至第 30 天期间氨态氮处理下的根系组织中滞留¹³C 的量显著高于硝态氮处理下的量($P<0.05$; 图 2)。

3.3 不同化学形态氮素长期添加对土壤呼吸释放 CO₂速率的影响,以及对光合碳在土壤呼吸释放 CO₂中动态的影响

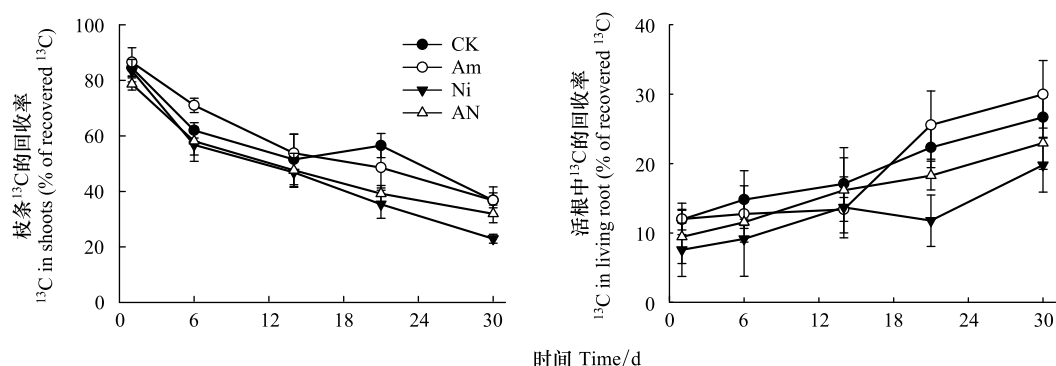


图2 ^{13}C 示踪的不同化学形态氮素长期输入对植物光合碳在茎和叶、地下根中分配比例的影响

Fig.2 ^{13}C tracing photosynthetic carbon dynamics in shoot and root of plant species during the chase period in the 10th year of the N fertilization experiment

土壤中滞留的 ^{13}C 整体呈下降趋势,相对其他处理,硝态氮处理下的土壤中 ^{13}C 下降速率较快,而且至标记后 30 天,硝态氮处理下的土壤中 ^{13}C 滞留量最低(图 3)。实验观测的 30 天期间,土壤呼吸速率随时间呈增加趋势。硝态氮处理下的土壤自第 14 天起呼吸速率增长幅度最快,显著高于其他三种处理($P<0.05$; 图 3)。而氨态氮处理下的土壤自第 21 天起呼吸速率显著低于其他三种处理下的值($P<0.01$; 图 3)。从土壤呼吸中 ^{13}C 的动态上看,不同处理下的土壤呼吸中 ^{13}C 的滞留量随时间呈指数衰减的变化趋势(图 4)。其中硝态氮处理下的 ^{13}C 随土壤呼吸释放出 CO_2 量衰减最快(图 4)。

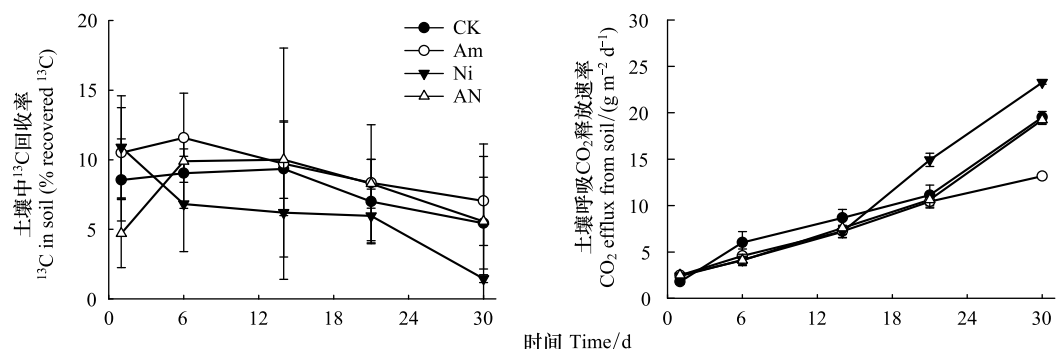


图3 ^{13}C 示踪的不同化学形态氮素长期输入对光合碳分配到土壤中的比例以及对土壤呼吸释放 CO_2 速率的影响

Fig.3 ^{13}C tracing photosynthetic carbon dynamics in soil during the chase period and the effect of addition of N

4 讨论

4.1 植物光合碳在茎和地下组织中的分配对不同化学形态氮素输入响应

我们的结果发现与对照处理相比,氨态氮添加处理下的地上生物量增加了 49.5%,氨态氮处理下的地下生物量的值增加了 111.3%。这是因为在高寒草地生态系统,植物的生长受 N 素限制。添加 N 肥之后,N 素受限解除,植物生长加快,植物的生物量增加。张林海等^[27]认为植物光合固定的大部分 C 保留在地上部分。此外,在我们之前的研究中发现,长期添加不同形态 N 肥,氨态氮处理下的禾本科植物物种丰富度和生物量都会增加,而在植物群落中,禾本科植物对群落水平的生物量有较大的贡献,地上生物量也会相应增加^[28]。同时,植物也会将较多的光合产物分配到地下,从而增加地下生物量。另外,许多研究表明不同植物物种对不同形态氮素的利用存在一定的偏好差异^[29-30]。在养分(如 N)受限的土壤中,为了促进植物群落中不同物种共存,植物物种之间会存在生态位互补^[16,31,32]。一般情况下,莎草科和豆科植物更加偏好利益氨态氮,杂草

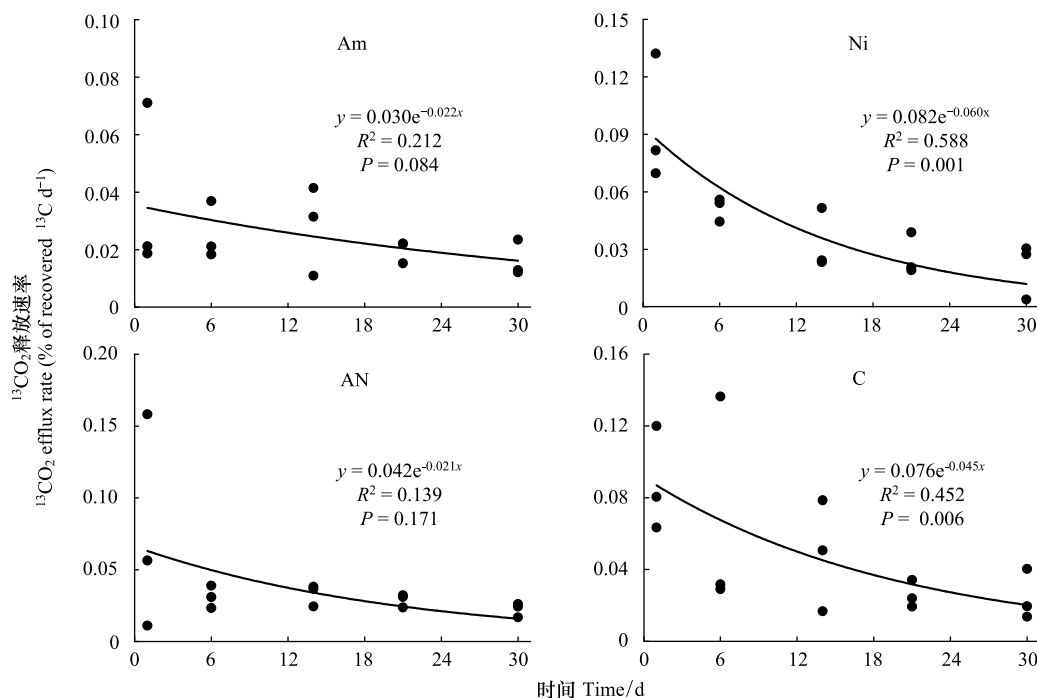


图4 ^{13}C 示踪的不同化学形态氮素长期输入对光合碳分配在土壤呼吸释放出的 CO_2 中的动态变化

Fig.4 ^{13}C tracing photosynthetic carbon dynamics in soil $^{13}\text{CO}_2$ -C efflux rate during the chase period in the 10th year N fertilization experiment

植物更喜欢偏好利用硝态氮^[32]。与氨态氮相比,有些植物更偏好吸收硝态氮的部分原因是硝态氮在土壤溶液中移动的速度更快,植物能更加快速的吸收利用^[30,33]。因此,即使在长期添加 N 肥之后,植物物种丰富度和地上生物量都发生了改变^[28],在群落水平上,植物地上生物量对不同 N 形态的响应不大。

4.2 不同化学形态氮素输入对植物光合碳在土壤和土壤呼吸中的分配的影响

在研究中,我们发现氨态氮处理下的土壤碳库显著高于硝态氮处理下的值。不同处理下的土壤呼吸中 ^{13}C 的滞留量随时间呈指数衰减的方式变化,其中,硝态氮处理下的 ^{13}C 衰减最快(图 4)。土壤碳库主要的来源是植物凋落物残体和根系的死亡。在氨态氮处理下,地上、地下生物量都显著高于对照处理,而其他处理之间没有显著的差异,这与土壤碳库(图 1)的结果一致。植物固定的光合碳以根渗出物和分泌物等方式输入到土壤中,根渗出物和分泌物主要是活性 C 物质,如非结构碳水化合物,淀粉,糖类和小分子酚醛等^[34]。这些物质的输入会改善微生物活性受土壤中活性 C 限制的强度,从而提高微生物活性。而微生物的活动直接调节着植物根际激发效应的强弱和方向。在 N 受限的生态系统中,微生物通过增加胞外酶的分泌来分解土壤中的有机质,从而释放营养元素(如:N),产生正的激发效应。而在 N 充足的生态系统中,微生物会偏好利用易于分解的小分子有机物(如:根系分泌物),从而产生负的激发效应^[35]。微生物中采取 r 策略的类群(如:细菌),更倾向利用易于分解的有机物(如:根系分泌物);而采取 K 策略的微生物类群(如:真菌),则是缓慢利用难以分解的土壤有机质^[36]。氮素的长期输入会显著降低真菌和菌根真菌的数量,从而,可能会降低对惰性 C 组分有机质的分解。有研究发现,氮肥可诱导有机碳的负激发过程^[37]。另外氨态氮的长期添加会显著改变土壤理化性质(如:土壤 pH 的降低、土壤团聚体结构等的变化表 1),土壤性质的改变也会引起土壤微生物组成和活性的变化^[25]。这些变化最终导致氨态氮处理下土壤呈现负的激发效应,而硝态氮处理下土壤呈现正的激发效应^[29]。这些结果与本研究中观测到的氨态氮和硝态氮下土壤呼吸以及光合碳在呼吸中的分配结果相一致。

4.3 植物光合碳模式对不同化学形态氮素输入引起的植物与土壤碳库变化的作用机制

植物通过光合作用固定大气中的 CO_2 ,而在不同环境下,植物对光合产物分配的模式也不一样。不同化

学形态氮素的长期输入引起的植物变化的作用机制是,在植物群落水平上,不同功能群的植物对不同形态 N 素有不同的偏好,功能群之间的相互补偿性也使得不同化学形态 N 素输入下,地上生物量具有一定的稳定性。研究结果表明,氨态氮处理下的土壤碳储量显著高于硝态氮处理下的值,而其他处理之间无显著性差异(图 1)。不同化学形态氮素的长期输入引起的土壤碳库变化的可能的作用机制是,不同化学形态氮素的长期输入引起了植物种类发生改变,进而引起土壤微生物组成的变化,而不同类型的微生物对土壤有机质的影响是不同的。同时,植物根系分泌物进入到土壤中,提高微生物的活性,微生物分泌胞外酶加快土壤有机质的分解^[35]。氮肥可能提高了植物光合碳在土壤中的周转率,但没有改变水稻系统有机碳的绝对含量^[38]。由于植物根系的分泌物多少的改变以及长期 N 素的输入下土壤理化性质和土壤微生物类群的改变(表 1),最终引起土壤有机碳贮存的变化。

5 结论

基于在青藏高原矮嵩草草甸开展的不同化学形态氮素添加的长期实验,利用¹³C 示踪方法揭示了光合碳在植物地上、地下组织的分配,及其随时间在土壤中的滞留和随土壤呼吸的释放。实验结论回答了我们提出的科学问题,研究结果表明不同化学形态氮素的长期输入引起光合碳在植物地上、地下组织分配的差异,并且不同化学形态氮素处理下的土壤中光合碳的滞留以及光合碳随土壤呼吸释放的速率也存在显著差异。总体上,硝态氮与氨态氮处理下光合碳分配存在显著的差异,相比于氨态氮处理,硝态氮处理下光合碳在各个库之间的转移速率较快,最终通过土壤呼吸释放的速率也最快。在全球变化(N 沉降增加)的情况下,高寒草地的地上生物量会增加。在养分(如 N)受限的土壤中,植物地上生物量在群落水平上对不同 N 形态的响应不大。而在氨态氮处理下的土壤碳库显著高于硝态氮处理下的值,因此,在对青藏高原高寒草地施肥时,选择氨态氮比选择硝态氮更利于土壤中碳的固持。

参考文献(References):

- [1] Miede G, Miede S, Kaiser K, Liu J Q, Zhao X Q. Status and dynamics of the *Kobresia pygmaea* ecosystem on the Tibetan plateau. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 2008, 37(4): 272-279.
- [2] 吴良,王敏,欧阳华,成升魁,宋明华. 青藏高原高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)空间分布模拟(英文). *资源与生态学报*, 2017, 8(1): 20-29.
- [3] Kuzyakov Y, Domanski G. Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163(4): 421-431.
- [4] 周兴民,王启基,赵新全. 中国嵩草草甸. 北京: 科学出版社, 2001: 188-216.
- [5] Haferkamp M R, Macneil M D. Grazing effects on carbon dynamics in the northern mixed-grass prairie. *Environmental Management*, 2004, 33(S1): S462-S474.
- [6] 沈振西,周兴民,陈佐忠,周华坤. 高寒矮嵩草草甸植物类群对模拟降水和施氮的响应. *植物生态学报*, 2002, 26(3): 288-294.
- [7] 沈振西,陈佐忠,周兴民,周华坤. 高施氮量对高寒矮嵩草甸主要类群和多样性及质量的影响. *草地学报*, 2002, 10(1): 7-17.
- [8] Bai Y F, Wu J G, Clark C M, Naeem S, Pan Q M, Huang J H, Zhang L X, Han X G. Tradeoffs and thresholds in the effects of nitrogen addition on biodiversity and ecosystem functioning: evidence from inner Mongolia Grasslands. *Global Change Biology*, 2010, 16(1): 358-372.
- [9] Magnani F, Mencuccini M, Borghetti M, Berbigier P, Berninger F, Delzon S, Grelle A, Hari P, Jarvis P G, Kolari P, Kowalski A S, Lankreijer H, Law B E, Lindroth A, Loustau D, Manca G, Moncrieff J B, Rayment M, Tedeschi V, Valentini R, Grace J. The human footprint in the carbon cycle of temperate and boreal forests. *Nature*, 2007, 447(7146): 848-850.
- [10] LeBauer D S, Treseder K K. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, 2008, 89(2): 371-379.
- [11] Xia J Y, Wan S Q. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. *The New Phytologist*, 2008, 179(2): 428-439.
- [12] Shaver G R, Johnson L C, Cades D H, Murray G, Laundre J A, Rastetter E B, Nadelhoffer K J, Giblin A E. Biomass and CO₂ flux in wet sedge tundras: responses to nutrients, temperature, and light. *Ecological Monographs*, 1998, 68(1): 75-97.
- [13] Bragazza L. Consequences of increasing levels of atmospheric nitrogen deposition on ombrotrophic peatlands: a plant-based perspective. *Developments in Earth Surface Processes*, 2006, 9: 271-285.
- [14] Harpole W S, Tilman D. Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. *Nature*, 2007, 446(7137): 791-793.

- [15] McKane R B, Johnson L C, Shaver G R, Nadelhoffer K J, Rastetter E B, Fry B, Giblin A E, Kielland K, Kwiatkowski B L, Laundre J A, Murray G. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. *Nature*, 2002, 415(6867): 68-71.
- [16] Ashton I W, Miller A E, Bowman W D, Suding K N. Niche complementarity due to plasticity in resource use: plant partitioning of chemical N forms. *Ecology*, 2010, 91(11): 3252-3260.
- [17] 张法伟, 李红琴, 刘安花, 李英年. 青藏高原矮嵩草草甸地面热源强度与生物量的初步研究. *中国草地学报*, 2007, 29(1): 6-12.
- [18] Song M H, Yu F H, Ouyang H, Cao G M, Xu X L, Cornelissen J H C. Different inter-annual responses to availability and form of nitrogen explain species coexistence in an alpine meadow community after release from grazing. *Global Change Biology*, 2012, 18(10): 3100-3111.
- [19] 中国土壤分类学研究组. 中国土壤分类. 北京: 科学出版社, 1995: 58-147.
- [20] 张金霞, 曹广民. 高寒草甸生态系统氮素循环. *生态学报*, 1999, 19(4): 509-513.
- [21] Klumpp K, Soussana J F. Using functional traits to predict grassland ecosystem change: a mathematical test of the response-and-effect trait approach. *Global Change Biology*, 2009, 15(12): 2921-2934.
- [22] Rangel-Castro J I, Prosser J I, Scrimgeour C M, Smith P, Ostle N, Ineson P, Meharg A, Killham K. Carbon flow in an upland grassland: effect of liming on the flux of recently photosynthesized carbon to rhizosphere soil. *Global Change Biology*, 2004, 10(12): 2100-2108.
- [23] Walkley A, Black I A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 1934, 37(1): 29-38.
- [24] Lettens S, van Orshoven J, van Wesemael B, Muys B, Perrin D. Soil organic carbon changes in landscape units of Belgium between 1960 and 2000 with reference to 1990. *Global Change Biology*, 2005, 11(12): 2128-2140.
- [25] Yang Y H, Mohammad A, Feng J M, Zhou R, Fang J Y. Storage, patterns and environmental controls of soil organic carbon in china. *Biogeochemistry*, 2007, 84(2): 131-141.
- [26] 解宪丽, 孙波, 周慧珍, 李忠佩, 李安波. 中国土壤有机碳密度和储量的估算与空间分布分析. *土壤学报*, 2004, 41(1): 35-43.
- [27] 张林海, 曾从盛, 胡伟芳. 氮输入对植物光合固碳的影响研究进展. *生态学报*, 2017, 37(1): 147-155.
- [28] Song M H, Guo Y, Yu F H, Zhang X Z, Cao G M, Cornelissen J H C. Shifts in priming partly explain impacts of long-term nitrogen input in different chemical forms on soil organic carbon storage. *Global Change Biology*, 2018, 24(9): 4160-4172.
- [29] Xu Z F, Hu R, Xiong P, Wan C, Cao G, Liu Q. Initial soil responses to experimental warming in two contrasting forest ecosystems, Eastern Tibetan Plateau, China: nutrient availabilities, microbial properties and enzyme activities. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(2): 291-299.
- [30] Zuppinger-Dingley D, Schmid B, Petermann J S, Yadav Y, De Deyn G B, Flynn D F B. Selection for niche differentiation in plant communities increases biodiversity effects. *Nature*, 2014, 515(7525): 108-111.
- [31] Song M H, Zheng L L, Suding K N, Yin T F, Yu F H. Plasticity in nitrogen form uptake and preference in response to long-term nitrogen fertilization. *Plant and Soil*, 2015, 394(1/2): 215-224.
- [32] Lambers H, Chapin F S, Pons T L. *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer, 1998.
- [33] Von Felten S, Hector A, Buchmann N, Niklaus P A, Schmid B, Scherer-Lorenzen M. Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. *Ecology*, 2009, 90(5): 1389-1399.
- [34] Rovira A D. Plant root exudates. *The Botanical Review*, 1969, 35(1): 35-57.
- [35] 孙悦, 徐兴良, Kuzyakov Y. 根际激发效应的发生机制及其生态重要性. *植物生态学报*, 2014, 38(1): 62-75.
- [36] Kuzyakov Y. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1363-1371.
- [37] Zhu B, Gutknecht J L M, Herman D J, Keck D C, Firestone M K, Cheng W X. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 76: 183-192.
- [38] Xiao M L, Zang H D, Liu S L, Ye R Z, Zhu Z K, Su Y R, Wu J S, Ge T. Nitrogen fertilization alters the distribution and fates of photosynthesized carbon in rice-soil systems: a ^{13}C - CO_2 pulse labeling study. *Plant and Soil*, 2019, 445(1/2): 101-112.