

DOI: 10.5846/stxb201911192503

李明, 赵建宁, 秦洁, 祁小旭, 红雨, 杨殿林, 洪杰. 氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体微生物群落的影响. 生态学报, 2021, 41(3): 1127-1137.
Li M, Zhao J N, Qin J, Qi X X, Hong Y, Yang D L, Hong J. Effects of nitrogen addition on microbial community in soil aggregates of *Stipa Baicalensis* Steppe in Inner Mongolia, China. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(3): 1127-1137.

氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体微生物群落的影响

李明^{1,2}, 赵建宁¹, 秦洁¹, 祁小旭¹, 红雨², 杨殿林^{1,*}, 洪杰³

1 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191

2 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022

3 内蒙古鄂温克族自治旗草原工作站, 呼伦贝尔 021100

摘要: 大气氮沉降增加作为全球气候变化的重要因素, 其对土壤生态系统影响的研究受到了生态学家的广泛关注。土壤微生物是有机物分解和养分循环的主要参与者, 在维持土壤的功能多样性和可持续发展方面发挥着重要的作用。氮沉降的激增会引起土壤微生物群落结构和功能的改变。土壤中营养物质在不同团聚体组分中分布的不均匀, 为微生物提供了空间异质微生境。为揭示草原土壤不同粒径团聚体中微生物群落分布及其对氮素添加响应特征。自 2010 年起, 在内蒙古贝加尔针茅草原典型地段设置 N_0 ($0 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、 N_{15} ($15 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、 N_{30} ($30 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、 N_{50} ($50 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、 N_{100} ($100 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、 N_{150} ($150 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$) 6 个氮素添加处理模拟氮沉降野外控制试验。采用磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 法测定 $>2 \text{ mm}$ 、 $0.25-2 \text{ mm}$ 和 $<0.25 \text{ mm}$ 3 个粒径土壤团聚体中微生物 PLFA 含量, 探讨氮素添加对土壤团聚体微生物群落结构的影响。结果表明: 氮素添加提高了土壤碳、氮含量, 降低了土壤 pH。氮素添加显著提高了 $0.25-2 \text{ mm}$ 土壤团聚体微生物群落磷脂脂肪酸总量、真菌磷脂脂肪酸含量和真菌/细菌 (Fungi/bacteria, F/B)、革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌 (Gram-positive bacteria/gram-negative bacteria, G^+/G^-) 的比值 ($P < 0.05$), 降低了土壤团聚体微生物 Margalef 丰富度指数 ($P < 0.05$)。相关性分析表明, 土壤团聚体微生物总 PLFAs、真菌 PLFAs 含量、 G^+/G^- 、F/B 与土壤有机碳、全氮含量呈显著正相关关系, 与 C/N 值负相关。综合研究表明, 连续 8 年氮素添加显著提高了土壤有机碳和全氮含量、降低了土壤 pH; 提高了 $0.25-2 \text{ mm}$ 土壤团聚体真菌群落, 土壤有机碳、全氮的固持与真菌群落的增加有关。

关键词: 土壤团聚体; 磷脂脂肪酸; 土壤微生物群落结构; 氮素添加; 贝加尔针茅草原

Effects of nitrogen addition on microbial community in soil aggregates of *Stipa Baicalensis* Steppe in Inner Mongolia, China

LI Ming^{1,2}, ZHAO Jianing¹, QIN Jie¹, QI Xiaoxu¹, HONG Yu², YANG Dianlin^{1,*}, HONG Jie³

1 Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China

2 College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China

3 Inner Mongolia Ewenki Flag Grassland Workstation, Hulunbeir 021100, China

Abstract: The increased atmospheric nitrogen deposition is an important part of global climate change. The study of the effects of nitrogen deposition on soil ecosystem is also attracted public attention to ecologists. Soil microorganisms, the main player in organic decomposition and nutrient cycling, play an important role in maintaining the functional diversity and sustainable development of soil. The notable increase of nitrogen deposition changes the structure and function of the soil

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41877343)

收稿日期: 2019-11-19; 网络出版日期: 2020-12-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yangdianlin@caas.cn

microbial community. The different aggregate, with uneven distribution of nutrients components, provides the spatially heterogeneous microhabitat for microorganisms. In order to reveal the response of microbial community distribution on nitrogen addition in different particle size aggregates of grassland soil. Since 2010, We have set up six nitrogen addition treatments (N_0 ($0 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), N_{15} ($15 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), N_{30} ($30 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), N_{50} ($50 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), N_{100} ($100 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$) and N_{150} ($150 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)) to simulate the field experiment of nitrogen deposition in *Stipa baicalensis* grassland in Inner Mongolia. Phospholipid fatty acid (PLFA) method was used to determine the content of microbial PLFA in three particle sizes soil aggregates ($>2 \text{ mm}$, $0.25\text{--}2 \text{ mm}$ and $<0.25 \text{ mm}$ diameter), to explore the effect of nitrogen addition on the microbial community structure. The results showed that the nitrogen addition increased the soil carbon and nitrogen content and decreased the soil pH. Nitrogen addition significantly increased the total PLFA content and fungal PLFA content in the microbial community of $0.25\text{--}2 \text{ mm}$ soil aggregates. The addition of nitrogen also increased the ratio of fungal/bacterial and gram-positive bacteria/gram-negative bacteria ($P < 0.05$) of $0.25\text{--}2 \text{ mm}$ soil aggregates, but decreased the microbial Margalef index of soil aggregates ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that total PLFAs, fungi PLFAs content, the ratio of gram-positive bacteria/gram-negative bacteria and fungi/bacteria were positively correlated with soil organic carbon and total nitrogen content, but negatively correlated with C/N ratio. This study revealed that the nitrogen addition for 8 consecutive years significantly increased the soil organic carbon and total nitrogen content, decreased soil pH, and increased the fungal community of $0.25\text{--}2 \text{ mm}$ soil aggregates, and the variation of soil organic carbon and total nitrogen was associated with the increased fungal community.

Key Words: soil aggregates; PLFA; soil microbial community structure; nitrogen addition; *Stipa baicalensis* grassland

大气氮沉降是全球性环境变化的重要现象之一,其导致的一系列生态问题已受到世界各国的普遍关注^[1]。我国已成为继美国和北欧之后的世界第三大氮沉降地区,不断加剧的全球氮沉降对森林和草原生态系统的碳循环和其他生态过程产生了深刻的影响^[2]。我国拥有各类天然草原近 $4 \times 10^8 \text{ km}^2$, 约占国土总面积的 40%, 是最大的陆地生态系统之一。其中北方温带天然草原面积 $3.13 \times 10^8 \text{ km}^2$, 占我国草地总面积的 78%, 是我国草地生态系统的主体, 对区域生态系统维持、农牧业发展有着举足轻重的地位, 不仅是畜牧业生产的重要基地, 也是防止土地风蚀沙化、涵养水源的重要生态屏障^[3-4]。近年来, 氮沉降的不断增长影响了草原生态系统的土壤养分和植被群落, 在工业发达的欧洲和北美, 高氮沉降已经严重威胁到草原生态系统的生物多样性和生态系统功能^[5]。因此研究氮沉降对草原生态系统的影响具有重要的意义。

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分, 是土壤有机质和土壤养分转化和循环的主要动力, 与土壤有机质的分解、腐殖质的形成密切相关, 是草地土壤质量变化的重要指标^[6]。Chen 等^[7] 分别对高寒草甸、温带草甸和温带草原三个典型草地生态系统进行养分添加试验, 结果表明, 在高寒草甸和温带草甸中氮素添加使得土壤酸化对真菌和丛枝菌根真菌的丰度产生了负效应, 但对温带草原的影响并不显著。王丽娜等^[8] 对退化高寒草甸的研究发现不同退化草甸对氮素输入的反应存在差异, 随着土地退化的加剧, 土壤微生物量碳、氮对氮素添加响应的敏感性降低。王志瑞等^[9] 对内蒙古草甸草原研究表明氮素添加并未显著影响土壤微生物生物量, 且对土壤呼吸和酶活性也无显著影响。Shi 等^[10] 在温带草原微生物群落对氮素添加的响应研究中发现氮素添加显著提高了土壤微生物总 PLFAs 和细菌 PLFAs, 但对真菌 PLFAs 无显著影响。在不同的生态系统中, 土壤微生物对氮素添加的响应不同, 多数研究表明, 氮素添加会降低生物多样性^[11-12], 也有部分研究认为施氮会提高生物多样性^[13]。有研究表明, 氮素添加会改变土壤微生物群落结构, 适量的氮素添加对微生物是有利的, 但过高浓度的氮素添加并不利于微生物的生长, 土壤 pH 值是驱动微生物群落改变的重要因子^[14]。

土壤团聚体是土壤结构的基本单元, 是形成良好土壤结构的物质基础, 土壤团聚体根据粒径不同可分为大团聚体 ($>0.25 \text{ mm}$) 和微团聚体 ($<0.25 \text{ mm}$)。现阶段广泛认为 $>0.25 \text{ mm}$ 的大团聚体可在一定程度上反应

土壤结构的优劣^[15]。土壤团聚体是微生物活动的主要场所,它对土壤微生物的动态平衡有着直接的影响。由于土壤中团聚体的形状、大小、组成以及空间分布的差异,导致土壤团聚体中水分和空气的分布不均,不同大小的团聚体组分为微生物提供了空间上不均匀的栖息地,对土壤团聚体内微生物与环境间的物质交换与能量流动有着直接的影响,也进一步影响了微生物群落在团聚体中的分布^[16-17]。土壤团聚体作为微生物在微观尺度上的载体,土壤团聚体粒径分布在氮素添加条件下发生改变,从而导致微生物群落在不同粒径团聚体的重新分配。朱孟涛等^[18]在研究生物质炭对水稻土壤团聚体微生物的影响中发现不同粒径土壤团聚体中微生物的群落结构存在显著差异,且施用生物质炭显著改变土壤微生物的群落结构和多样性。Briar 等^[19]研究表明大团聚体 $>1\text{ mm}$ 土壤大团聚体比 $<0.25\text{ mm}$ 微团聚体含有更多的微生物量、真菌和革兰氏阳性菌。土壤团聚体中的微生物在微环境物质和元素循环中起着重要作用,然而团聚体尺度上微生物群落结构对氮素添加的响应,以及不同团聚体微生物对氮素添加的响应是否一致,这类研究目前还相对匮乏。

为揭示氮沉降增加对我国北方温带草原生态系统土壤微生物群落的影响,以贝加尔针茅草原为研究对象,采用模拟氮沉降的方法进行氮素添加处理,研究不同氮素添加处理下贝加尔针茅草原土壤团聚体中微生物群落结构的变化,以期在氮沉降增加背景下如何保持贝加尔针茅(*Stipa baicalensis*)草原土壤质量以及微生物多样性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况及试验设计

试验样地位于内蒙古呼伦贝尔市鄂温克旗境内的贝加尔针茅草甸草原($48^{\circ}27'—48^{\circ}35'N$ 、 $119^{\circ}35'—119^{\circ}41'E$),地势平坦,海拔高度约 760 m,属半干旱大陆性季风气候。年降雨量 330 mm,年平均气温为 $-2.4—2.2^{\circ}C$,年平均无霜期 100—120 d,年均氮沉降量 14.7 kg/hm^2 ^[20]。植被类型为贝加尔针茅草甸草原,贝加尔针茅为建群种,在群落中占据绝对优势,羊草(*Leymus chinensis*)为优势种,变蒿(*Artemisia commutata*)、寸草苔(*Carex duriuscula*)、日荫苔(*Carex pediformis*)、扁蓿豆(*Pocockia ruthenica*)、祁洲漏芦(*Rhaponticu uniflorum*)、草地麻花头(*Serratula yamatsutanna*)、肾叶唐松草(*Thaicticum petaloideum*)、多茎野豌豆(*Viciamul ticaulis*)等为常见伴生种,共有植物 66 种,分属 21 科 49 属。土壤类型为暗栗钙土。

试验氮素添加处理强度和频度参考国际上同类研究的处理方法^[21-23],以研究不同氮素添加处理对草原生态系统的影响。于 2010 年 6 月开始模拟氮沉降试验,采用裂区设计,共 4 个重复试验,每个重复试验设 6 个施氮水平,施氮量依次为: 0、15、30、50、100、150 $\text{kg hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$, (不包括大气沉降的氮量),分别用 N_0 、 N_{15} 、 N_{30} 、 N_{50} 、 N_{100} 、 N_{150} 表示。试验样地四周用围栏保护,重复间设 5 m 的隔离带,小区面积 $8\text{ m}\times 8\text{ m}$,各小区之间间隔 2 m。氮肥选 NH_4NO_3 ,分两次施肥,每年的 6 月和 7 月中旬各施入处理的 50%,氮肥溶解在 8 L 水中后均匀喷洒于各小区内,对照小区同时喷洒相同量的水^[24]。

1.2 样品采集

于 2018 年 8 月上旬采集土壤样品,每个小区依“S”形采集 10 个点的原状土样轻微混合,采样深度为 0—15 cm。土壤取出后剥除土块外围挤压变形的土壤,并去除植物根系及其他土壤入侵物,较大的土块沿着自然断裂面掰成直径约为 1 cm 的小块。采集的土壤样品装入硬质塑料盒内,确保在运输过程中不受挤压,带回实验室后储存在 $4^{\circ}C$ 冰箱中,待用。同时取土测定基本理化性质,结果如表 1 所示。

1.3 测定方法

分离土壤团聚体有湿筛法和干筛法两种常用方法,但湿筛法在用水浸泡过程中,容易对土壤微生物群落造成破坏,而干筛法相对减少了对微生物群落的影响,且据有关研究,在旱地土壤中,干筛法分离出的团聚体更接近田间实际^[25]。故本研究采用干筛法分离土壤团聚体,将剔除石砾、植物残根等杂物的新鲜土壤样品在 $4^{\circ}C$ 下风干至含水量为 8% 左右,混合均匀后过 8mm 的标准筛备用。团聚体分级以 0.25 mm 为界, $>0.25\text{ mm}$ 的土壤团聚体称为大团聚体, $<0.25\text{ mm}$ 的团聚体称为微团聚体,为了更深入的研究氮素添加对不同粒径土壤

团聚体的影响,以 2 mm 和 0.25 mm 标准筛将土壤分为 3 个粒径的土壤团聚体^[26]。每次称取 100g 在 4℃ 风干的土样放置在套筛的最上层,垂直振动 10 min,每分钟振动 60 次,分离出 >2 mm、0.25—2 mm 和 <0.25 mm 的 3 个粒径的土壤团聚体,将各级团聚体分为两部分,一部分风干用于测量土壤理化性质;另一部分土样置于 -70℃ 超低温保存,用于微生物磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 测定。

表 1 氮素添加条件下土壤基本理化性质 (平均值±标准误)

Table 1 Basic physical and chemical properties of tased soils for different nitrogen additions (Means±SE)

处理 Treatments/ (kg hm ⁻² a ⁻¹)	有机碳 Soil organic carbon/ (g/kg)	土壤全氮 Soil total nitrogen/ (g/kg)	土壤全磷 Soil total phosphorus/ (g/kg)	铵态氮 Ammonium N/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate N/(mg/kg)	pH
N ₀	26.62±0.22b	2.71±0.05b	0.44±0.01a	22.60±1.12d	4.45±0.25c	7.19±0.06a
N ₁₅	27.02±0.16ab	2.66±0.02b	0.45±0.01a	21.21±1.25d	3.92±0.14c	6.74±0.02b
N ₃₀	27.28±0.31ab	2.98±0.14ab	0.45±0.01a	28.80±1.55c	4.28±0.12c	6.56±0.05c
N ₅₀	26.74±0.68ab	2.83±0.19ab	0.43±0.01a	46.70±1.31b	6.16±0.45c	6.64±0.01bc
N ₁₀₀	27.77±0.24a	3.09±0.10a	0.45±0.00a	45.63±1.31b	10.81±1.61b	6.33±0.03d
N ₁₅₀	26.88±0.29ab	3.11±0.11a	0.43±0.01a	71.23±3.78a	15.05±1.07a	5.82±0.07e

N₀: 0 kg hm⁻² a⁻¹ 氮素添加处理; N₁₅: 15 kg hm⁻² a⁻¹ 氮素添加处理; N₃₀: 30 kg hm⁻² a⁻¹ 氮素添加处理; N₅₀: 50 kg hm⁻² a⁻¹ 氮素添加处理; N₁₀₀: 100 kg hm⁻² a⁻¹ 氮素添加处理; N₁₅₀: 150 kg hm⁻² a⁻¹; 同列不同小写字母表示处理之间差异显著 ($P < 0.05$)

土壤有机碳采用水合热重铬酸钾氧化-比色法;全氮采用凯氏法,即硒粉-硫酸铜-硫酸钾-硫酸消煮法,之后采用流动分析仪 (AA3, Bran+Luebbe Crop, 德国) 测定;全磷采用高氯酸-硫酸消煮-钼锑抗比色-紫外分光光度法;土壤硝态氮、铵态氮采用氯化钙浸提法,之后采用流动分析仪测定;土壤 pH 采用玻璃电极法 (MP511 pH 计) 按土水比 1:2.5 测定^[27]。

土壤 PLFA 测定:采用 Bligh-Dyer^[28] 法进行土壤团聚体微生物脂类的提取和磷脂脂肪酸分析,将 -70℃ 保存的新鲜土壤进行冻干处理,称取 3g 冻干土样,加入氯仿-甲醇-柠檬酸单相提取剂震荡离心提取总脂,用氮气吹干后,加氯仿经活化柱分离得到磷脂脂肪酸,磷脂通过甲醇甲苯混合液甲酯化为磷脂脂肪酸甲酯,用氮气吹干后加入内标。采用 HP6890 气相色谱-HP5973 质谱联用仪 (GC-MS) 进行分析,脂肪酸的命名采用 Frostgard^[29] 方法命名,定量方法采用峰面积和内标曲线法,以十九烷酸甲酯作为内标,根据不同脂肪酸的分子结构划分为不同的微生物类群。PLFA 含量用 nmol/g 表示,PLFA 的生物表征如表 2 所示^[27]。根据不同微生物类群磷脂脂肪酸的分子结构和基因位置,将其分为真菌 (Fungi, F)、细菌 (Bacteria, B)、革兰氏阳性细菌 (gram-positive bacterial, G⁺) 和革兰氏阴性细菌 (gram-negative bacterial, G⁻)。土壤微生物 PLFA 总量以检测到的特征脂肪酸加和表示。

土壤团聚体微生物群落特征用所测得 PLFA 数据计算多样性指数:辛普森多样性指数 (Simpson diversity index, D_s)、香农-维纳多样性指数 (Shannon-wiener diversity index, H)、丰富度指数 (Margalef index, D) 来表示^[27],如下所示:

$$\text{Simpson 多样性指数: } D_s = 1 - \sum P_i^2$$

$$\text{Shannon-wiener 多样性指数: } H = - \sum P_i \ln P_i$$

$$\text{Margalef 丰富度指数: } D = (S - 1) / \ln N$$

式中, P_i 为第 i 种 PLFA 占微生物总 PLFAs 的比例, S 为一个样品中检测出的 PLFA 种数, N 为样品中总 PLFA 的含量。

1.4 数据统计与分析

利用 Excel 2013 和 SPSS 20.0 软件对试验数据进行统计分析,采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 对不同氮添加处理间均值的方差分析和差异性进行比较 ($P = 0.05$)。图表制作采用 Origin 2018 软件处理。

表 2 表征微生物的磷脂脂肪酸)标志物

Table 2 Soil microbial phospholipid fatty acids (PLFAs) biological characterization

微生物类型 Microbial group	磷脂脂肪酸种类 Phospholipids fatty acid signatures
真菌 Fungi (F)	16:1 ω 5、18:1 ω 5、18:1 ω 9、18:1 ω 9c、18:2 ω 6,9
细菌 Bacteria (B)	11:0、11:1 ω 1、11me19:0、11me20:0、12:0、14me18:0、15:0、16:0、17:0、17:1 ω 7c、i17:1 ω 5c、18:0、18:1 ω 7、18:1 ω 8、18:1 ω 11、18:1 ω 10t、18:2 ω 7、10、19:0、19:1 ω 9、20:5 ω 3、6,9、24:3、11、14、17
革兰氏阳性菌 G ⁺ bacteria	i14:0、a15:0、i15:0、a16:0、i16:0、a17:0、i17:0、a18:0、i18:0、18:1 ω 10、i19:0
革兰氏阴性菌 G ⁻ bacteria	15:1 ω 6c、16:1 ω 5c、16:1 ω 7c、16:1 ω 9c、18:1 ω 5c、18:1 ω 5t、18:1 ω 7c、18:1 ω 9t、19:1 ω 9c、20:1 ω 7c、20:1 ω 9c、cy17:0、cy19:0

; i, a 和 me 分别表示同型、异型和甲基分支脂肪酸, ω , c 分别表示甲基末端和顺式空间构造

2 结果与分析

2.1 氮素添加对土壤理化性质的影响

氮素添加显著影响了土壤的理化性质(表 1),随着氮素添加量的增加有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮呈升高趋势,土壤有机碳在 N₁₀₀处理时显著升高($P < 0.05$),土壤全氮在 N₁₀₀和 N₁₅₀处理均显著高于对照($P < 0.05$),N₁₅₀处理铵态氮和硝态氮极显著高于 N₀处理($P < 0.01$);土壤全磷在各氮素添加处理中差异不显著($P > 0.05$)。土壤 pH 随氮素添加量的增加极显著降低($P < 0.01$)。

2.2 氮素添加对土壤团聚体中微生物群落结构的影响。

氮素添加显著影响了土壤团聚体中微生物 PLFAs 的含量(图 1)。随着氮素添加量的增加,各粒径土壤团聚体中总 PLFAs、真菌 PLFAs、细菌 PLFAs 和真菌/细菌比值均呈升高趋势。各氮素添加处理中 N₅₀和 N₁₀₀对土壤团聚体微生物 PLFAs 的影响与对照相比最为显著,N₁₀₀处理显著提高了>2 mm 土壤团聚体总 PLFAs、真菌 PLFAs 和细菌 PLFAs 的含量($P < 0.05$),提高了 0.25—2 mm 土壤团聚体总 PLFAs 和真菌 PLFAs 含量($P < 0.05$);<0.25 mm 土壤团聚体总 PLFAs、真菌 PLFAs 和细菌 PLFAs 含量在 N₅₀处理时最高,且显著高于对照处理($P < 0.05$)。N₁₅₀处理与 N₁₀₀处理相比,显著降低了>2 mm 和 0.25—2 mm 的土壤团聚体总 PLFAs、真菌 PLFAs 含量($P < 0.05$),但与对照处理相比并未减少。0.25—2 mm 土壤团聚体 G⁺/G⁻比在 N₁₀₀处理下显著高于对照,真菌/细菌在 N₅₀处理显著高于对照($P < 0.05$),>2 mm 和<0.25 mm 土壤团聚体 G⁺/G⁻和真菌/细菌与对照无显著差异($P > 0.05$)。N₁₅₀处理 0.25—2 mm 土壤团聚体真菌/细菌较 N₅₀处理显著降低($P < 0.05$),但与对照无显著差异。

同一氮素添加处理下不同粒径土壤团聚体中微生物 PLFAs 的含量也存在显著差异,微生物总 PLFAs 和真菌 PLFAs 含量在同一处理下均表现为 0.25—2 mm 土壤团聚体最高,<0.25 mm 土壤团聚体最低,细菌 PLFAs 含量在各粒径中差异不显著。N₅₀₋₁₀₀处理<0.25 mm 土壤团聚体总 PLFAs 含量显著低于 0.25—2 mm 土壤团聚体($P < 0.05$);N₁₀₀处理<0.25 mm 土壤团聚体真菌 PLFAs 和细菌 PLFAs 含量显著低于 0.25—2 mm 土壤团聚体($P < 0.05$)。同一氮素添加处理下,0.25—2 mm 土壤团聚体 G⁺/G⁻在 N₃₀₋₁₀₀处理显著高于>2 mm 和<0.25 mm 土壤团聚体,真菌/细菌比在不同粒径团聚体间无显著差异。

氮素添加显著降低了 3 个粒径土壤团聚体微生物的 Margalef 丰富度指数($P < 0.05$),而对 Simpson 多样性指数、Shannon-wiener 多样性指数无显著差异(表 3)。同一氮素添加处理,除 N₁₅处理对不同粒径土壤团聚体的 Simpson 多样性指数、Shannon-wiener 多样性指数有显著影响外,其他处理影响均不显著。N₁₅₋₁₀₀处理<0.25 mm 土壤团聚体 Margalef 丰富度指数显著高于同处理下 0.25—2 mm 土壤团聚体。

2.3 土壤团聚体微生物群落与土壤化学因子的相关性分析。

对土壤团聚体微生物群落与化学因子之间进行相关性分析可知(表 4),土壤团聚体化学因子与微生物群落结构有显著的相关性。土壤团聚体有机碳、全氮和全磷与 F、G⁺/G⁻和 F/B 均呈极显著的正相关关系($P < 0.01$),总 PLFAs 与有机碳和全氮显著相关($P < 0.05$),而与全磷无相关关系。有机碳与丰富度指数呈显著负

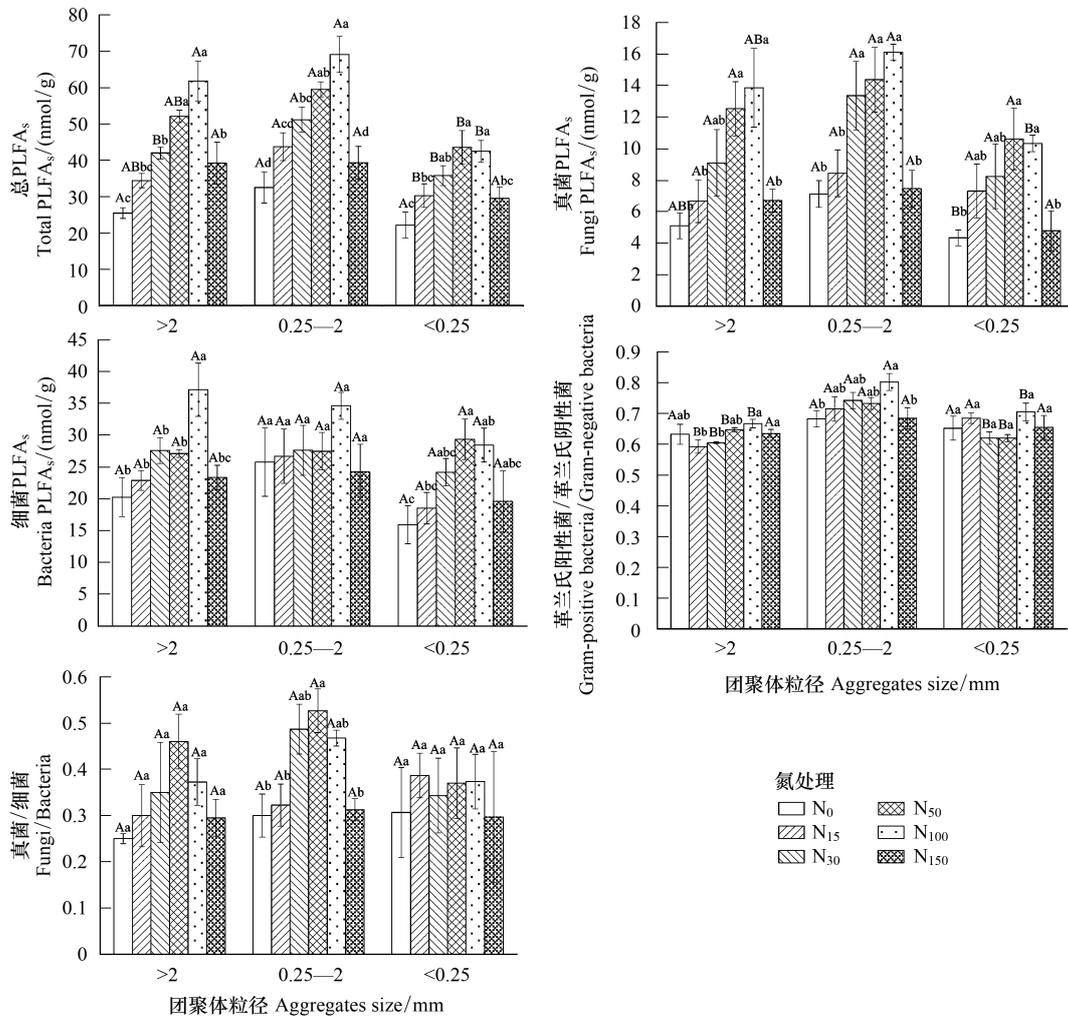


图1 氮素添加对土壤团聚体 PLFAs 的影响 (平均值±标准误)

Fig.1 The effects of nitrogen addition on soil aggregates PLFAs (Means±SE)

不同大写字母表示团聚体粒径之间差异显著 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示相同粒径团聚体处理之间差异显著 ($P < 0.05$); N_0 : $0 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; N_{15} : $15 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; N_{30} : $30 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; N_{50} : $50 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; N_{100} : $100 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; N_{150} : $150 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 氮素添加处理; PLFAs: phospholipid fatty acids

相关关系; 全磷与 Simpson 多样性指数、Shannon-wiener 多样性指数极显著正相关 ($P < 0.01$)。土壤团聚体 C/N 与总 PLFAs 和 G^+/G^- 呈显著负相关关系, 与丰富度指数呈显著正相关关系 ($P < 0.05$); 土壤 pH 与丰富度指数呈显著正相关关系 ($P < 0.05$)。土壤团聚体有机碳、全氮、C/N、C/P 和 N/P 与 Simpson 多样性指数、Shannon-wiener 多样性指数均无显著相关关系。

3 讨论

土壤微生物是土壤中营养周转的主要参与者, 而碳、氮是影响土壤微生物群落结构和功能的 2 种重要因素, 氮素的添加能够影响微生物群落的变化, 进而影响微生物群落功能和土壤营养过程^[30]。土壤团聚体是微生物的重要栖息场所, 也是土壤的重要结构单元, 其形成和稳定性都与微生物有着密切的联系^[25]。研究土壤团聚体微生物群落结构与理化因子的相关性是揭示氮素添加对土壤生态系统影响机制的重要途径。本文通过研究氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体的影响, 结果表明, 氮素添加显著影响了土壤团聚体有机碳和

全氮的含量以及微生物群落结构。

表 3 氮素添加处理对土壤团聚体微生物群落多样性的影响 (平均值±标准误)

Table 3 The effects of nitrogen addition on microbial communities variables of soil aggregates (Means±SE)

微生物群落多样性 Microbial community diversity indices	团聚体 Aggregate/ mm	N ₀	N ₁₅	N ₃₀	N ₅₀	N ₁₀₀	N ₁₅₀
辛普森多样性指数	>2	0.489±0.018Aa	0.494±0.025Ba	0.493±0.032Aa	0.526±0.032Aa	0.493±0.022Aa	0.472±0.047Aa
Simpson diversity index (<i>D</i> _s)	0.25—2	0.558±0.033Aa	0.498±0.028Ba	0.558±0.013Aa	0.523±0.035Aa	0.516±0.027Aa	0.506±0.018Aa
香农-维纳多样性指数	<0.25	0.506±0.046Aa	0.589±0.023Aa	0.539±0.046Aa	0.555±0.026Aa	0.545±0.023Aa	0.523±0.044Aa
Shannon-wiener diversity index (<i>H</i>)	>2	0.847±0.023Aa	0.852±0.032Ba	0.850±0.039Aa	0.896±0.043Aa	0.847±0.028Aa	0.822±0.065Aa
丰富度指数	0.25—2	0.946±0.045Aa	0.860±0.038Ba	0.946±0.015Aa	0.890±0.048Aa	0.881±0.036Aa	0.873±0.025Aa
Margalef index (<i>D</i>)	<0.25	0.955±0.064Aa	0.988±0.032Aa	0.915±0.066Aa	0.935±0.034Aa	0.923±0.031Aa	0.895±0.061Aa
	>2	0.620±0.012Aa	0.567±0.010ABb	0.536±0.005ABbc	0.507±0.004ABcd	0.488±0.012Bd	0.552±0.021Ab
	0.25—2	0.584±0.029Aa	0.532±0.013Bbc	0.510±0.009Bbcd	0.490±0.004Bcd	0.473±0.008Bd	0.549±0.016Aab
	<0.25	0.662±0.040Aa	0.591±0.017Ab	0.561±0.012Ab	0.534±0.015Ab	0.535±0.010Ab	0.595±0.017Ab

同行不同小写字母表示团聚体处理之间差异显著 ($P<0.05$), 同列不同大写字母表示团聚体粒径之间差异显著 ($P<0.05$)

表 4 土壤团聚体微生物群落与环境因子的相关性分析

Table 4 The correlation analysis between microbial community and environmental factors of soil aggregates

环境因子 Factors	总量 Total FLFAs	真菌 Fungi	革兰氏阳性/ 阴性 G ⁺ /G ⁻	真菌/细菌 F/B	<i>D</i> _s	<i>H</i>	<i>D</i>
SOC	0.290 *	0.368 **	0.477 **	0.366 **	0.218	0.211	-0.287 *
N	0.270 *	0.326 **	0.448 **	0.315 **	0.228	0.223	-0.196
P	0.214	0.375 **	0.429 **	0.356 **	0.327 **	0.321 **	-0.183
SOC/N	-0.277 *	-0.153	-0.360 **	-0.036	0.020	0.015	0.235 *
SOC/P	0.169	0.195	0.104	0.260 *	0.003	-0.010	-0.188
N/P	0.189	0.236 *	0.294 *	0.272 *	0.171	0.163	-0.126
pH	-0.191	-0.065	-0.065	-0.059	0.127	0.132	0.238 *

** 表示极显著相关 ($P<0.01$), * 表示显著相关 ($P<0.05$); SOC: 有机碳 Soil organic carbon

3.1 氮素添加对土壤理化性质的影响

本研究中,氮素添加显著提高了土壤有机碳和全氮含量,这与刘碧荣等^[31]对内蒙古弃耕草地的氮素添加试验结果一致。有机碳含量提高的原因可能有两个方面,一是基于前期的研究结果表明氮素添加提高了地上植物的生产力,提高了凋落物和根系分泌物的量,进而提高了土壤有机碳含量^[32]。二是有研究表明氮素的添加可以促进土壤腐殖质的形成,氮元素可与凋落物残体结合成更难分解的杂环类物质和酚类,促进分解的产物转变为更稳定的碳,增加稳定性碳的累积^[33-34]。全氮、铵态氮和硝态氮随氮素添加量的升高而升高,这与江鑫豪等^[35]的研究结果一致,土壤微生物通过氨化作用可将动植物遗体、残落物中的有机态氮分解为 NH_4^+ , 土壤中的氨或者铵离子会通过硝化细菌最终氧化为 NO_3^- , 硝态氮和铵态氮的含量的升高说明外源氮素输入促进了土壤的硝化和氨化作用,提高了氮素的生物有效性^[36]。氮素添加导致土壤 pH 极显著降低,这与前人的研究结果一致^[14,24,37]。土壤中氮素的输入会增加土壤中 NH_4^+ 、 NO_3^- 含量, NH_4^+ 被植物吸收后会释放 H^+ 到土壤中,从而引起土壤 pH 降低;而 NO_3^- 在淋失的过程中由于电荷平衡会导致土壤中的钙、镁、钾和钠等盐基离子流失,使 H^+ 增多,同样会导致土壤的酸化^[38]。

3.2 氮素添加对土壤团聚体微生物群落结构特征的影响

土壤微生物是陆地生态系统的重要组成部分,在土壤有机质的分解、腐殖质的形成及土壤养分的转化和循环等生物化学过程中发挥着重要作用,是土壤乃至整个生态系统物质循环的重要维持者、贡献者和土壤环境灵敏的指示者^[39]。氮素添加对土壤微生物具有双重影响效果,一方面氮素的添加增加了土壤无机态氮含

量,有利于微生物的生长^[14];另一方面,氮素的添加会导致土壤酸化和养分不均衡等土壤环境引起的微生物数量及活性的降低^[40]。结果表明,通过连续 8 年的氮素添加试验,土壤团聚体微生物总 PLFAs 和真菌 PLFAs 含量随着氮素添加量的增加呈升高趋势,这与赵学超等^[41]对内蒙古多伦草原的氮素添加试验研究结果一致。说明氮素添加对土壤团聚体微生物总 PLFAs 和真菌 PLFAs 有显著的促进效应,且以中度水平的氮素添加量对土壤团聚体微生物量的促进效果最为明显。基于前期的研究结果表明,可能是由于草原生态系统氮素养分匮乏,氮素的添加促进了草地植物的生长和凋落物的积累从而增加了有机碳的含量^[42]。而土壤有机碳是影响土壤真菌群落的重要因子,有机碳是腐生性真菌的能量物质,有机碳的增加促进了真菌的生长^[24,43]。前期的研究中发现 0.25—2 mm 土壤团聚体有机碳含量显著高于其他两个粒径^[44],这同样也解释了 0.25—2 mm 土壤团聚体总 PLFAs 和真菌 PLFAs 含量高于其他粒径的原因。 N_{150} 相比 N_{100} 处理土壤团聚体微生物总 PLFAs、真菌 PLFAs 和细菌 PLFAs 含量显著下降的原因可能是高浓度的氮素添加导致土壤 pH 下降,不利于微生物的生长^[14]。

土壤革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的比值可用于指示土壤的营养状况,该比值越高表示营养胁迫越强^[45]。当环境中某一营养元素的浓度大于或小于临界水平时即会形成营养胁迫。 >2 mm 和 0.25—2 mm 土壤团聚体 G^+/G^- 随着氮素添加量的增加逐渐升高,表示随着氮素添加量的增加,大团聚体中营养胁迫程度越来越高;而在同一氮素添加处理下,0.25—2 mm 土壤团聚体 G^+/G^- 高于其他粒径,说明 0.25—2 mm 土壤团聚体相比于其他粒径土壤团聚体营养胁迫程度更高。Penuelas 等^[46]认为随着氮素的持续输出,土壤中磷的限制性会逐渐增强。外源氮素增加是导致陆地生态系统磷素限制的一个重要的贡献因子^[47]。而在资源受限的土壤中华兰氏阳性菌生长会更占优势^[48],故 G^+/G^- 的升高可能是由于土壤中磷限制增强的原因。

土壤中有机质的分解途径可分为真菌途径和细菌途径,在不同的土壤生态系统中,由于有机物的来源不同,导致这两条途径所发挥的作用也不同。以真菌分解途径为主的土壤氮和能量的转化较缓慢,有利于氮和有机质的积累;而细菌分解途径为主的土壤,有机质和氮的矿化速率快,有利于养分的供应。因此土壤中真菌/细菌比可以反映整个土壤生态系统结构和功能对不同土壤条件的响应^[49]。研究发现, N_{50} 处理促进了 0.25—2 mm 土壤团聚体真菌/细菌; N_{150} 处理相较于 N_{50} 处理 0.25—2 mm 土壤团聚体真菌/细菌降低,但与对照无显著影响。这与张爱林等^[24]的研究结果相一致。原因可能是氮素的添加对真菌群落的影响更大,由于偏酸性土壤更适合真菌的生长,一定程度的氮素添加导致土壤 pH 下降,为真菌的生长提供了适宜的环境,而过高的氮添加同样也不利于真菌的生长^[24]。

微生物群落多样性是表征土壤质量变化的敏感指标,与土壤中的物质和能量转换、土壤肥力有着密切的联系,对土壤管理具有重要的指示意义^[50]。氮素添加降低了 3 个粒径土壤团聚体微生物群落的 Margalef 丰富度指数,且 0.25—2 mm 土壤团聚体微生物群落的 Margalef 丰富度指数显著低于 <0.25 mm 土壤团聚体。这可能是由于氮素添加导致土壤 pH 的改变引起的,土壤 pH 是反应土壤盐碱化程度的主要指标,可以通过影响微生物代谢的酶活性以及细胞膜的稳定性,从而改变微生物对土壤环境中营养物质的吸收,是影响微生物生命活动的重要因素^[51]。已有研究表明,土壤微生物群落丰富度指数和多样性指数与土壤 pH 呈显著正相关关系,随着 pH 的降低而降低,土壤微生物对土壤 pH 有一定的耐受范围,过低的土壤 pH 会抑制微生物的生长和活动,因而本研究中 pH 可能是导致土壤微生物群落多样性降低的原因之一^[52]。

3.3 土壤团聚体微生物群落与化学因子的相关性分析

土壤理化性质与土壤微生物群落结构有着重要的联系,土壤理化性质的改变会影响土壤微生物群落的结构组成^[27]。本研究结果表明,土壤团聚体微生物总 PLFAs、 F/G^+ 和 F/B 与有机碳、全氮和全磷呈正相关关系,而与 C/N 值负相关,这与谷晓楠等^[53]对长白山高山草甸带土壤微生物的研究结果一致。土壤微生物作为草原生态系统的分解者,对土壤养分的循环具有极其重要的作用。土壤微生物参与土壤碳、氮等元素的循环过程和土壤矿物的矿化过程,与土壤有机碳有着密切的关系,同时对土壤团聚体的形成及其稳定性起着重要的作用^[54]。相关研究表明,土壤有机碳与真菌/细菌比有关,可能是影响土壤有机碳稳定性的主要原因,

但在机制非常复杂^[55]。土壤微生物对有机碳的利用和转化主要有真菌和细菌分别主导的两条途径,而真菌对有机碳的储存能力比细菌更强,所以土壤有机碳含量与真菌和细菌的相对组成密切相关^[56]。Degens 等^[57]发现,菌丝对土壤团聚体有显著影响,有利于团聚体的形成,大团聚体的形成有赖于菌根菌丝体和其他根际微生物产生的有机质。土壤微生物自身的代谢产物难以被分解,从而增加了土壤碳的稳定程度,微生物产生的粘多糖和菌丝促进土壤团聚体的形成,从而物理性的阻碍了有机碳的分解;而且微生物分泌的胞外多聚糖可以促进矿物结合态有机碳的形成,使土壤固定的活性有机碳更多的向稳定性碳转变,增强碳的稳定性^[58]。土壤 C/N 通常被认为是土壤氮素矿化能力的标志,C/N 降低时,充足的氮素使得微生物可矿化基质增多,反而促进了微生物量的增加,这可能是土壤团聚体 C/N 与微生物群落总 PLFAs 和真菌 PLFAs 含量呈负相关的原因^[59-60]。

4 结论

贝加尔针茅草原连续 8 年氮素添加模拟氮沉降增加控制试验,研究了氮素添加对草原土壤团聚体微生物群落结构的影响。研究表明,氮素添加提高了土壤有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量,同时导致 pH 降低。氮素添加显著提高了土壤团聚体微生物总 PLFAs 和真菌 PLFAs,其中以 0.25—2 mm 土壤团聚体最为显著;且在同一处理下 0.25—2 mm 土壤团聚体微生物总 PLFAs、真菌 PLFAs、 G^+/G^- 和 F/B 显著高于其他粒径。氮素添加对土壤团聚体微生物的促进效果呈非线性增长趋势,高浓度的氮添加对微生物 PLFAs 含量的促进效果反而会减弱。氮素添加显著降低了土壤团聚体微生物的 Margalef 丰富度指数,对土壤微生物群落 Simpson 多样性指数和 Shannon-wiener 多样性指数无显著影响。土壤团聚体微生物总 PLFAs、真菌 PLFAs 含量、 G^+/G^- 、F/B 与土壤有机碳、全氮和全磷含量呈显著正相关关系,与 C/N 负相关。综上所述,适宜的氮素添加可以促进微生物的生长,但过高浓度氮素输入的促进作用反而会减弱;不同粒径土壤团聚体微生物群落存在差异,0.25—2 mm 土壤团聚体可能更适合微生物的生存。

参考文献 (References):

- [1] 方华,莫江明. 氮沉降对森林凋落物分解的影响. 生态学报, 2006, 26(9): 3127-3136.
- [2] Wamelink G W W, van Dobben H F, Mol-Dijkstra J P, Schouwenberg E P A G, Kros J, De Vries W, Berendse F. Effect of nitrogen deposition reduction on biodiversity and carbon sequestration. *Forest Ecology and Management*, 2009, 258(8): 1774-1779.
- [3] 荀斌,刘慧明,董孝斌. 全球变化下的我国北方草地研究进展与系统生态学思考. 生态经济, 2010, (9): 155-158, 171-171.
- [4] 唐海滨,李树基. 保护和建设甘肃草原绿色生态屏障. 甘肃社会科学, 2011, (2): 209-212.
- [5] 刘红梅,李洁,陈新微,杨殿林,皇甫超河. 贝加尔针茅草原羊草光合特征对氮沉降的响应. 生态环境学报, 2016, 25(6): 973-980.
- [6] 杨海君,肖启明,刘安元. 土壤微生物多样性及其作用研究进展. 南华大学学报:自然科学版, 2005, 19(4): 21-26, 31-31.
- [7] Chen X, Hao B H, Jing X, He J S, Ma W H, Zhu B. Minor responses of soil microbial biomass, community structure and enzyme activities to nitrogen and phosphorus addition in three grassland ecosystems. *Plant and Soil*, 2019, 444(1): 21-37.
- [8] 王丽娜,罗久富,杨梅香,张利,刘学敏,邓东周,周金星. 氮添加对退化高寒草地土壤微生物量碳氮的影响. 草业学报, 2019, 28(7): 38-48.
- [9] 王志瑞,杨山,马锐骛,王汝振,冯雪,李慧,姜勇. 内蒙古草甸草原土壤理化性质和微生物学特性对刈割与氮添加的响应. 应用生态学报, 2019, 30(9): 3010-3018.
- [10] Shi Y, Sheng L X, Wang Z Q, Zhang X Y, He N P, Yu Q. Responses of soil enzyme activity and microbial community compositions to nitrogen addition in bulk and microaggregate soil in the temperate steppe of Inner Mongolia. *Eurasian Soil Science*, 2016, 49(10): 1149-1160.
- [11] Sarathchandra S U, Ghani A, Yeates G W, Burch G, Cox N R. Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(7/8): 953-964.
- [12] Rajaniemi T K. Why does fertilization reduce plant species diversity? Testing three competition-based hypotheses. *Journal of Ecology*, 2002, 90(2): 316-324.
- [13] 夏雪,谷洁,车升国,高华,秦清军. 施氮水平对壤土微生物群落和酶活性的影响. 中国农业科学, 2011, 44(8): 1618-1627.
- [14] 刘红梅,张爱林,皇甫超河,李洁,王慧,杨殿林. 氮沉降增加对贝加尔针茅草原土壤微生物群落结构的影响. 生态环境学报, 2017, 26(7): 1100-1106.

- [15] Six J, Elliott E T, Paustian K. Soil structure and soil organic matter II. A normalized stability index and the effect of mineralogy. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64(3): 1042-1049.
- [16] 罗红燕, 蒋先军, 谢德体, 李楠, 曹良元. 真菌和细菌生物量在土壤团聚体中的分布和耕作响应. *生态学报*, 2009, 29(8): 4588-4594.
- [17] 蒋先军, 李航, 谢德体, 魏朝富, 熊海灵. 分形理论在土壤肥力研究中的应用与前景. *土壤*, 2007, 39(5): 677-683.
- [18] 朱孟涛, 刘秀霞, 王佳盟, 刘志伟, 郑聚锋, 卞荣军, 王良梅, 张旭辉, 李恋卿, 潘根兴. 生物质炭对水稻土团聚体微生物多样性的影响. *生态学报*, 2020, 40(5): 1505-1516.
- [19] Briar S S, Fonte S J, Park I, Six J, Scow K, Ferris H. The distribution of nematodes and soil microbial communities across soil aggregate fractions and farm management systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(5): 905-914.
- [20] Zhang Y B, Xu W, Wen Z, Wang D D, Hao T X, Tang A H, Liu X J. Atmospheric deposition of inorganic nitrogen in a semi-arid grassland of Inner Mongolia, China. *Journal of Arid Land*, 2017, 9(6): 810-822.
- [21] Clark C M, Tilman D. Loss of plant species after chronic low-level nitrogen deposition to prairie grasslands. *Nature*, 2008, 451(7179): 712-715.
- [22] Stevens C J, Dise N B, Mountford J O, Gowing D J. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*, 2004, 303(5665): 1876-1879.
- [23] Li X L, He H, Yuan W P, Li L H, Xu W F, Liu W, Shi H Q, Hou L Y, Chen J Q, Wang Z P. Response of soil methane uptake to simulated nitrogen deposition and grazing management across three types of steppe in Inner Mongolia, China. *Science of the Total Environment*, 2018, 612: 799-808.
- [24] 张爱林, 赵建宁, 洪杰, 杨殿林. 贝加尔针茅草原土壤线虫与微生物群落特征及其相互作用. *草地学报*, 2018, 26(1): 77-84.
- [25] 刘晶, 张跃伟, 张巧明, 徐少君. 土地利用方式对豫西黄土丘陵区土壤团聚体微生物生物量及群落组成的影响. *草业科学*, 2018, 35(4): 771-780.
- [26] 杨飞霞, 曹广超, 于东升, 史学正, 董林林. 引黄灌溉耕作对土壤团聚体有机碳的影响. *水土保持学报*, 2018, 32(4): 190-196.
- [27] 祁小旭, 张思宇, 林峰, 张玲玲, 杨殿林, 皇甫超河, 王慧. 黄顶菊对不同入侵地植物群落及土壤微生物群落的影响. *生态学报*, 2019, 39(22): 8472-8482.
- [28] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [29] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 1991, 14(3): 151-163.
- [30] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, Burton S D, Firestone M K. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology*, 2011, 92(3): 621-632.
- [31] 刘碧荣, 王常慧, 张丽华, 董宽虎. 氮素添加和刈割对内蒙古弃耕草地土壤氮矿化的影响. *生态学报*, 2015, 35(19): 6335-6343.
- [32] 刘红梅, 李洁, 王丽丽, 赵建宁, 王慧, 杨殿林. 氮添加对贝加尔针茅草原植物和土壤化学计量特征的影响. *草业学报*, 2018, 27(7): 25-35.
- [33] 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.
- [34] Whittinghill K A, Currie W S, Zak D R, Burton A J, Pregitzer K S. Anthropogenic N deposition increases soil C storage by decreasing the extent of litter decay: analysis of field observations with an ecosystem model. *Ecosystems*, 2012, 15(3): 450-461.
- [35] 江鑫豪, 孙盛楠, 王玉强, 王婧怡, 林森, 赵国琦. 外源氮素形态对苜蓿硝酸盐转运蛋白基因 NRT1.3 表达的影响. *黑龙江畜牧兽医*, 2018, (21): 135-139, 144-144.
- [36] Huang J Y, Yu H L, Zhang F J, Li M, Lin H. Water- and N-induced changes in soil C:N:P stoichiometry and its implications for N limitation of a desert steppe species, *Glycyrrhiza uralensis*. *Polish Journal of Ecology*, 2016, 64(2): 241-254.
- [37] 刘红梅, 张海芳, 皇甫超河, 李洁, 周广帆, 杨殿林. 长期氮添加对贝加尔针茅草原土壤微生物群落多样性的影响. *农业环境科学学报*, 2017, 36(4): 709-717.
- [38] 李焕茹, 朱莹, 田纪辉, 魏锴, 陈振华, 陈利军. 碳氮添加对草地土壤有机碳氮磷含量及相关酶活性的影响. *应用生态学报*, 2018, 29(8): 2470-2476.
- [39] Anderson H T. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2003, 98(1/3): 285-293.
- [40] 王慧颖, 徐明岗, 马想, 段英华. 长期施肥下我国农田土壤微生物及氨氧化菌研究进展. *中国土壤与肥料*, 2018, (2): 1-12.
- [41] 赵学超, 徐柱文, 刘圣恩, 王清奎. 氮添加对多伦草原土壤微生物呼吸及其温度敏感性的影响. *生态学报*, 2020, 40(5): 1551-1561.
- [42] 李文娇, 刘红梅, 赵建宁, 修伟明, 张贵龙, 皇甫超河, 杨殿林. 氮素和水分添加对贝加尔针茅草原植物多样性及生物量的影响. *生态学报*, 2015, 35(19): 6460-6469.

- [43] 张树萌, 黄懿梅, 倪银霞, 钟祺琪. 宁南山区人工林草对土壤真菌群落的影响. 中国环境科学, 2018, 38(4): 1449-1458.
- [44] 李明, 秦洁, 红雨, 杨殿林, 周广帆, 王宇, 王丽娟. 氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体碳、氮和磷生态化学计量学特征的影响. 草业学报, 2019, 28(12): 29-40.
- [45] Hammesfahr U, Heuer H, Manzke B, Smalla K, Thiele-Bruhn S. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7): 1583-1591.
- [46] Peñuelas J, Sardans J, Rivas-Ubach A, Janssens I A. The human - induced imbalance between C, N and P in Earth's life system. *Global Change Biology*, 2012, 18(1): 3-6.
- [47] 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.
- [48] 斯贵才, 袁艳丽, 王建, 夏燕青, 雷天柱, 张更新. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化. 微生物学通报, 2014, 41(10): 2001-2011.
- [49] 曹志平, 李德鹏, 韩雪梅. 土壤食物网中的真菌/细菌比率及测定方法. 生态学报, 2011, 31(16): 4741-4748.
- [50] O'Donnell A G, Seasman M, Macrae A, Waite I, Davies J T. Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils. *Plant and Soil*, 2001, 232(1): 135-145.
- [51] 何亚婷, 董云社, 齐玉春, 肖胜生, 刘欣超. 草地生态系统土壤微生物量及其影响因子研究进展. 地理科学进展, 2010, 29(11): 1350-1359.
- [52] 杨文航, 任庆水, 秦红, 宋虹, 袁中勋, 李昌晓. 三峡库区消落带不同海拔狗牙根草地土壤微生物生物量碳氮磷含量特征. 草业学报, 2018, 27(2): 57-68.
- [53] 谷晓楠, 贺红土, 陶岩, 靳英华, 张心昱, 徐志伟, 王钰婷, 宋祥霞. 长白山土壤微生物群落结构及酶活性随海拔的分布特征与影响因素. 生态学报, 2017, 37(24): 8374-8384.
- [54] Cavagnaro T R, Cunningham S C, Fitzpatrick S. Pastures to woodlands: changes in soil microbial communities and carbon following reforestation. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 24-32.
- [55] 丁雪丽, 韩晓增, 乔云发, 李禄军, 李娜, 宋显军. 农田土壤有机碳固存的主要影响因子及其稳定机制. 土壤通报, 2012, 43(3): 737-744.
- [56] 曾熾冰, 周运超, 汪建文. 马尾松人工林生态系统碳库的研究进展. 贵州科学, 2018, 36(5): 74-82.
- [57] Degens B, Sparling G. Changes in aggregation do not correspond with changes in labile organic C fractions in soil amended with ¹⁴C-Glucose. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(4/5): 453-462.
- [58] 崔亚潇. 川南马尾松人工林不同改造措施土壤微生物特性及其与有机碳的关系[D]. 成都: 四川农业大学, 2016.
- [59] Recous S, Aita C, Mary B. In situ changes in gross N transformations in bare soil after addition of straw. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(1): 119-133.
- [60] 蒋跃利, 赵彤, 闫浩, 黄懿梅. 宁南山区不同草地土壤原位矿化过程中氮素的变化特征. 环境科学, 2014, 35(6): 2365-2373.