

DOI: 10.20103/j.stxb.202501090075

贾蕴欢, 李佳钰, 徐馨妤, 邓健, 朱运, 张晓曦, 李江文. 黄土高原草地不同粒级土壤团聚体氮矿化对氮添加的响应. 生态学报, 2025, 45(16): - .
作者. Responses of nitrogen mineralization of soil aggregates of different sizes to nitrogen addition in grassland on the Loess Plateau. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(16): - .

黄土高原草地不同粒级土壤团聚体氮矿化对氮添加的响应

贾蕴欢¹, 李佳钰¹, 徐馨妤¹, 邓健^{1,2,*}, 朱运¹, 张晓曦¹, 李江文¹

1 延安大学生命科学学院, 黄土高原应用生态陕西省高等学校重点实验室, 延安 716000

2 陕西省黄土高原资源植物研究与利用重点实验室(延安大学), 延安 716000

摘要: 大气氮沉降向土壤输入外源氮, 并对土壤氮矿化过程产生强烈影响, 但关于团聚体水平土壤氮矿化速率对氮沉降的响应特征和调控因子仍不清楚。研究从黄土高原典型草地模拟氮沉降控制实验平台采集不同水平氮添加样地土壤并筛分为大(>2 mm)、中(0.25—2 mm)和小(<0.25 mm)团聚体, 分别测定土壤氮矿化速率、土壤理化和生物学指标。结果表明: 随着氮添加浓度的升高, 三种粒级团聚体的硝化速率和净氮矿化速率均呈增大趋势, 矿化速率在大和小团聚体中先减小后增大, 在中团聚体则先增大后减小。氮添加显著降低了土壤团聚体的 pH, 改变了土壤养分含量、微生物生物量和酶活性及其计量, 但影响特征在不同粒级团聚体之间存在差异, 如 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性在小和中团聚体中先减小后增大, 在大团聚体中持续增大。氮添加后土壤氮矿化速率在大团聚体中主要受土壤生物因子影响, 在小团聚体中主要受土壤理化因子影响, 而在中团聚体中则主要受两类因子共同影响。未来有必要关注不同粒级团聚体中土壤氮矿化过程对氮沉降的差异化响应。

关键词: 氮矿化; 团聚体; 氮添加; 草地; 黄土高原

Responses of nitrogen mineralization of soil aggregates of different sizes to nitrogen addition in grassland on the Loess Plateau

JIA Yunhuan¹, LI Jiayu¹, XU Xinyu¹, DENG Jian^{1,2,*}, ZHU Yun¹, ZHANG Xiaoxi¹, LI Jiangwen¹

1 Key Laboratory for Applied Ecology of Plateau (Shaanxi Province), College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716000, China

2 Shaanxi Key Laboratory of Research and Utilization of Resource Plants on the Loess Plateau, Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract: Under the dual impact of global climate change and intensifying human activities, atmospheric nitrogen deposition has become a key link in the global nitrogen cycle. The significant effects of nitrogen deposition on ecosystem nitrogen cycling have been confirmed. In particular, the effect of increasing nitrogen deposition on soil nitrogen transformation process has been widely studied. However, the response characteristics and regulatory factors of soil nitrogen mineralization rate to nitrogen deposition at the aggregate level are still unclear presently. Especially, there is a lack of direct evidence in semi-arid grasslands that are sensitive to climate change. In order to make up for this shortcoming, this study aimed to explore the response mechanism and regulatory factors of nitrogen mineralization of soil aggregates with different grain sizes to nitrogen addition. In this study, soil samples from different levels of nitrogen addition were collected from the simulated nitrogen deposition control experimental platform of typical grassland on the Loess Plateau, and three grain size aggregates were screened, including large (>2 mm), medium (0.25—2 mm) and small (<0.25 mm) particle-size aggregates. The physicochemical properties (pH, nutrient content), microbial biomass and extracellular enzyme

基金项目: 国家自然科学基金项目(32460296); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2024JC-YBMS-224); 延安市科技计划项目(2023-CYL-120); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202410719005)资助

收稿日期: 2025-01-09; **网络出版日期:** 2025-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: deng050702@126.com

activity of soil in aggregates of different particle sizes were analyzed, and the nitrogen mineralization rate of aggregates was determined by laboratory culture experiments, and the factors affecting the nitrogen mineralization rate were analyzed. The results showed that with the increase of nitrogen addition concentration, the nitrification rate and net nitrogen mineralization rate of the three particle size aggregates increased, and the ammonification rate first decreased and then increased in the large and small aggregates, and increased first and then decreased in the medium aggregates. Nitrogen addition significantly decreased the pH of soil aggregates, and changed soil nutrient content, microbial biomass, enzyme activity and their stoichiometric ratios, but the influencing characteristics were different among the aggregates of different grain sizes, such as the enzyme activity of β -1,4-N-acetylglucosaminidase decreased first and then increased in small and medium aggregates, and continued to increase in large aggregates. The results of random forest analysis showed that the rate of soil nitrogen mineralization after nitrogen addition was mainly affected by soil biological factors in large aggregates, soil physicochemical factors in small aggregates, and in the middle aggregates, it was mainly influenced by both factors. This study emphasized the aggregate particle size effect of nitrogen addition on the regulation of nitrogen mineralization rate in semi-arid grassland, which provides a reference for sustainable management of grassland on the Loess Plateau under the background of global change.

Key Words: nitrogen mineralization; aggregates; nitrogen addition; grassland; the Loess Plateau

氮(N)是陆地生态系统初级生产力的主要限制性元素,土壤氮库为植物提供主要氮素来源^[1]。土壤中的氮素 90%以上为有机氮,须经矿化作用转化为无机氮方可被植物利用^[2],因而土壤氮矿化是决定植物群落生长和影响生态系统稳定性的重要环节^[3]。土壤氮矿化过程对土壤理化性质、氮素含量及其有效性等高度敏感^[4]。氮沉降导致外源氮输入不仅直接改变土壤有效氮含量和养分平衡特征^[5],还可能通过酸化土壤、植物生产力增加、酶活性改变等对土壤氮矿化产生强烈干扰^[6]。尤其在氮素匮乏的半干旱草地生态系统,温度和水分等限制使其土壤氮矿化速率对氮沉降的响应可能更加敏感^[7],因此探索氮沉降背景下草地土壤氮矿化动态对理解半干旱生态系统氮循环及草地可持续管理有重要意义。

团聚体是土壤的基本结构和功能单元,土壤中的有机碳、氮等养分主要存储在团聚体中,并在微生物驱动下进行矿化^[8]。不同粒级团聚体的内部结构、理化特性和微生物活性存在较大差别^[9],所以其中土壤氮矿化速率并不一致^[10]。例如 Cai 等的研究发现小团聚体比表面积大,容易吸附更多的可矿化有机物,且其中紧密的空间结构有利于矿化底物与微生物、胞外酶的接触,因而其氮矿化速率高于大粒级团聚体^[11]。然而也有研究表明外部输入的有机质会首先进入大团聚体,加之其中良好的养分和水分环境有利于微生物活动和胞外酶活性发挥,导致大团聚体中的氮矿化速率高于小团聚体^[12]。由此来看,不同粒级团聚体中氮矿化速率的差异取决于其微环境特征^[13]。然而,当下关于土壤氮矿化速率对氮沉降的响应特征在团聚体尺度上的表现仍然不明确。

黄土高原属于典型的干旱半干旱地区,也是我国重要的生态屏障区和生态脆弱区^[14-15]。草地占该地区植被面积的 40%以上,对维持区域生态稳定至关重要^[16]。由于受到温度、降水和土壤氮、磷限制,黄土高原草地生态系统过程对外部环境变化十分敏感^[17]。已经有大量研究观测到大气氮沉降会改变草地群落结构、土壤理化性质和微生物胞外酶活性,并由此调控土壤氮矿化过程^[18-19]。然而,现有研究大多以未分团聚体粒级的全土为研究对象,这限制了对氮沉降调控草地土壤氮矿化速率的深入理解和准确评估^[20]。基于此,本研究依托黄土高原典型草地模拟氮沉降长期定位研究平台,通过野外采样和室内培养结合,明确不同粒级土壤团聚体氮矿化特征对氮添加的响应规律,并剖析其关键驱动要素。研究能够深化对半干旱区域氮沉降驱动土壤氮循环机制的认识,为黄土高原草地土壤养分管理与可持续经营提供参考。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

本研究区域位于陕西省延安市安塞区五里湾流域(36°52'N, 109°21'E)。该区域海拔介于 1061 至 1371 m

之间,气候类型属于暖温带半干旱大陆性季风气候,年均温 8.8℃,年平均降水量 505 mm,年内降水分配不均衡,约 70%的降水集中在 6—9 月^[21]。从 20 世纪 70 年代起,该区域通过实施人工还草还林、禁牧封育等生态修复工程,改变了因历史垦殖而造成的天然植被退化问题,现阶段该区域以次生演替草地和人工林为主,草地面积约占植被面积的 45%^[9,16]。

1.2 研究试验设计

本研究依托长期定位氮添加实验平台模拟草地氮沉降增加情景,在 2017 年把选择区域内植被群落结构稳定的一个草地群落进行处理实验,该草地封育后自然恢复年限约为 30 年^[9],样地内主要优势种为铁杆蒿 (*Artemisia gmelinii* Weber ex Stechm)、胡枝子 (*Lespedeza bicolor* Turcz) 和长芒草 (*Stipa bungeana* Trin)。采用单因素随机区组试验设计^[21]。根据研究区域约 20 kg N hm⁻² a⁻¹ 的自然氮沉降水平,设置 0、10、20、40 kg N hm⁻² a⁻¹ 和 80 kg N hm⁻² a⁻¹ (用 N0—N4 表示) 五个施氮水平处理^[21]。每个处理水平设 3 个重复样方,样方面积 9 m² (3 m×3 m),样方间有 1 m 缓冲带^[21];以尿素 (CH₄N₂O) 为氮添加剂,分别于每年 3、6、9 和 12 月采用溶解喷施的方法进行氮添加^[21]。

1.3 土壤样品采集和团聚体筛分

氮添加 4 年后于生长季节 (8 月份) 进行土壤样品采集,沿样方对角线布设 3 个采样点,清除表层凋落物,用铝盒扣入土层以获取原状土壤样本^[21]。在实验室内将原状土沿自然裂隙分形破碎为 1 cm³ 大小,去除石子、细根等杂物^[21]。土壤团聚体分级采用最佳湿度筛分法进行^[22],分级时先在 4℃ 条件下将原状土干燥至含水率为 10%;然后置于由 2 mm 和 0.25 mm 孔径标准筛组成的套筛中,以 200 转每分钟的转速持续震荡 3 min。最终将土壤分为小粒级团聚体 (<0.25 mm)、中粒级团聚体 (0.25—2 mm) 和大粒级团聚体 (>2 mm) 3 个等级样品^[9,21]。各粒级团聚体一部分在 4℃ 冷藏保存;一部分风干保存用于后续测定^[21]。

1.4 土壤氮矿化培养和理化指标测定

使用纯水将 4℃ 保存的不同粒级土壤团聚体样品含水量调节至草地土壤最大田间持水量的 40%,在 25℃ 下预培养 7 d^[23]。预培养结束后,取相当于 10 g 干土的团聚体土壤,置于 200 mL 棕色玻璃培养瓶中 25℃ 下培养 28 d,期间每隔 2 d 采用称重法调节水分至初始含水率^[23]。培养过程瓶口以无菌封口膜覆盖,以减少水分蒸发并保持气体交换^[23—24]。分别测定培养前后土壤中的硝态氮和铵态氮含量^[23]。利用培养后和培养前的硝态氮、铵态氮和矿质氮 (二者之和) 含量变化值除以培养天数得到净硝化速率、净氨化速率和净氮矿化速率^[23—24]。

土壤有机碳 (Soil organic carbon, SOC)、和全氮 (Total nitrogen, TN) 分别采用重铬酸钾-浓硫酸外加热法和消煮后的全自动凯氏定氮法测定^[21];土壤全磷 (Total phosphorus, TP) 和土壤速效磷 (Available phosphorus, AP) 分别经消煮和碳酸氢钠浸提后用钼锑抗比色法测定;硝态氮 (Nitrate nitrogen, NO₃⁻-N) 和铵态氮 (Ammonium nitrogen, NH₄⁺-N) 分别采用 KCl 浸提后的紫外分光光度法和靛酚蓝比色法测定;土壤溶解性有机氮 (Dissolved organic nitrogen, DON) 采用过硫酸钾湿氧化法测定^[21];土壤 pH 采用 pH 计测定 (水土比 5:1), 土壤水分含量采用烘干法测定^[25]。

采用 96 微孔板荧光光度法测定土壤碳、氮、磷转化相关的 β-1,4-葡萄糖苷酶 (β-1,4-glucosidase, BG)、β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (β-1,4-acetyl-glucosaminidase, NAG)、亮氨酸氨基肽酶 (L-leucine aminopeptidase, LAP) 和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)^[21,26]。土壤微生物生物量碳 (microbial biomass carbon, MBC)、微生物生物量氮 (microbial biomass nitrogen, MBN) 和微生物生物量磷 (microbial biomass phosphorus, MBP) 采用氯仿熏蒸提取法测定^[27]。土壤养分计量比采用质量比计算^[28]。

1.5 数据分析

数据分析前先进性正态性检验和方差同质性检验,检验通过后运用双因素方差分析 (Two-way ANOVA) 解析不同氮添加浓度和团聚体大小对土壤理化性质、酶活性等指标的影响及其交互作用,并通过 DUNCAN 法进行组间差异显著性检验 (95% 置信区间);基于 Mantel test 和随机森林分析不同粒级团聚体中氮矿化速率的

主要影响因素。统计分析均通过 R 4.3.1 (R Core Team, Vienna, Austria) 软件进行。利用 Origin 2021 进行绘图。呈现数据及柱状图时,采用“平均值 $\pm$ 标准误”的形式。

2 结果与分析

2.1 氮添加对不同粒级团聚体土壤氮矿化速率和土壤理化性质的影响

氮添加处理显著改变了各粒级团聚体的硝化、氨化及净氮矿化速率,但氮添加与团聚体的交互效应仅对氨化速率具有显著调控作用(图 1, $P<0.05$)。随着氮添加浓度的升高,不同粒级土壤团聚体的硝化速率以及净氮矿化速率均表现出先下降后上升的趋势,最高氮处理(N4)下大、中和小粒级团聚体净氮矿化速率分别为对照(N0)的 1.96、2.51 和 2.58 倍,各粒级的氮矿化速率的增加幅度存在差异($P<0.05$)。随氮添加浓度增加,大、小团聚体土壤氨化速率先降后升,而中粒级团聚体中总体呈现降低的趋势(图 1, $P<0.05$)。各氮添加处理下大、中和小粒级团聚体净氮矿化速率平均值分别为 (1.10 ± 0.16) — (2.94 ± 0.18) $\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ 、 (1.30 ± 0.23) — (3.42 ± 0.39) $\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ 和 (1.20 ± 0.10) — (3.69 ± 0.12) $\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, 总体表现为随着团聚体粒级的增加而减小。

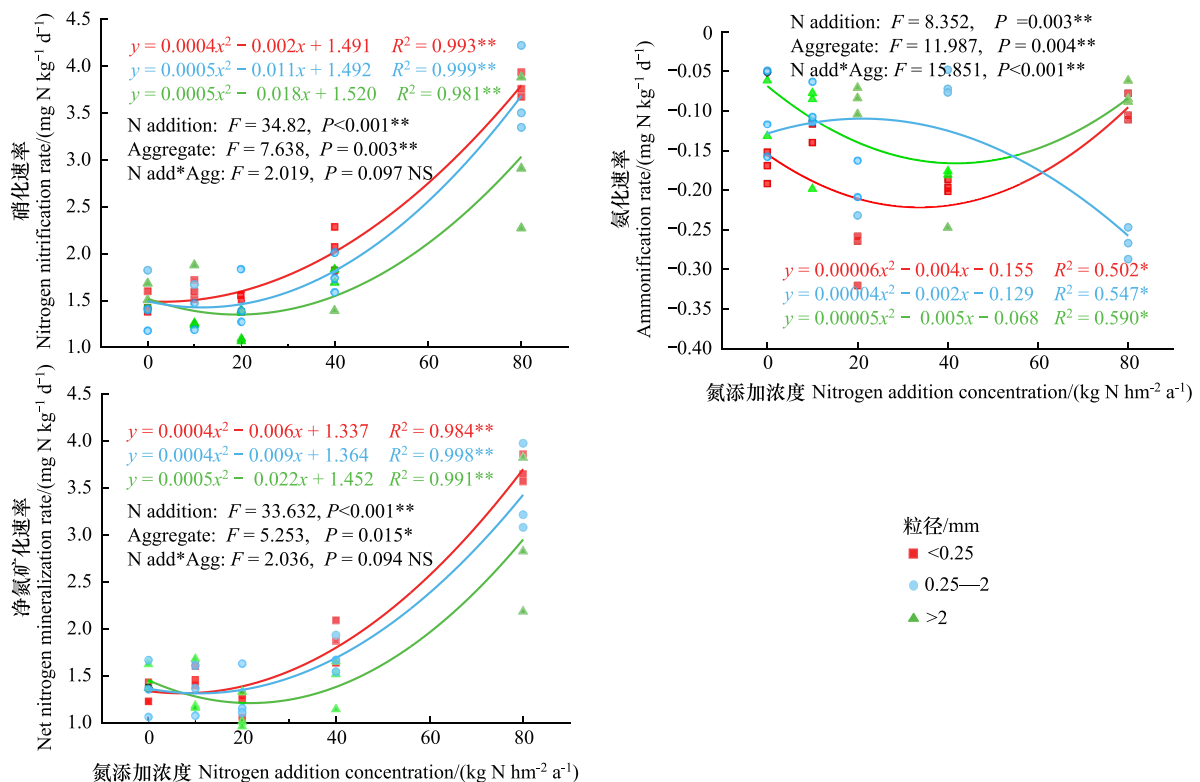


图 1 不同氮添加处理下的团聚体氮矿化速率

Fig.1 Nitrogen mineralization rate of aggregates under different nitrogen addition treatments

N addition 表示氮添加处理; Aggregate 表示团聚体粒级; N add * Agg 表示氮添加和团聚体的交互作用; 显著性水平由星号数量标识, 其中 * 对应 $P<0.05$ (差异显著), ** 对应 $P<0.01$ (差异极显著), 未标注星号 (NS) 表示无统计学意义

土壤团聚体粒级和氮添加处理均会调控土壤理化性质(表 1, $P<0.05$)。随着氮添加浓度的逐渐增加, 不同粒级团聚体中土壤 pH 均呈下降趋势($P<0.05$); 土壤 SOC、TN 和土壤 C:N 等在小粒级团聚体中呈现先降后升的变化趋势($P<0.05$); 中粒级团聚体中 SOC、TN 整体呈增大趋势($P<0.05$), 养分计量比总体上先增大后减小; 大粒级团聚体中 SOC、养分 C:N 先减小后增大($P<0.05$); 而 TP 均无明显变化。

表 1 不同氮添加水平下不同粒级土壤团聚体理化性质的响应特征

Table 1 Response characteristics of physicochemical properties of soil aggregates at different grain sizes under different nitrogen addition levels										
处理 Treatment	pH	有机碳 SOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (g/kg)	速效磷 AP/ (g/kg)	可溶性有机氮 DON/ (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N / (mg/kg)	土壤碳氮比 Soil C _N	
N0	<0.25 mm	8.52±0.00aA	4.48±0.09aB	0.40±0.02aC	0.62±0.00bBC	5.33±0.95aC	15.19±1.37aAB	5.54±0.29aA	4.98±0.22aA	11.34±0.66aA
	0.25—2 mm	8.58±0.01aA	3.10±0.26aB	0.40±0.02aC	0.65±0.00aBC	5.03±0.64aC	17.03±0.99aAB	3.85±0.73abA	4.49±0.14aA	7.92±1.20aA
	>2 mm	8.56±0.00aA	3.76±0.25aB	0.37±0.00aC	0.64±0.00bBC	4.06±0.37aC	19.63±1.19aAB	3.07±0.61bA	4.27±0.22aA	10.30±0.77A
N1	<0.25 mm	8.56±0.00aB	3.20±0.12aB	0.48±0.05aBC	0.63±0.00bC	5.11±0.16aBC	10.98±0.60aB	4.12±0.19aA	2.94±0.37aB	6.99±0.90aAB
	0.25—2 mm	8.46±0.01aB	4.08±0.62aB	0.42±0.03aBC	0.64±0.00aC	5.20±0.50aBC	12.56±0.71aB	3.29±0.35abA	3.94±0.19aB	10.10±2.02aAB
	>2 mm	8.43±0.00aB	3.74±0.09aB	0.46±0.04aBC	0.63±0.00bC	5.75±0.64aBC	14.03±0.39aB	3.99±0.90bA	3.78±0.19aB	8.37±0.91aAB
N2	<0.25 mm	8.47±0.01aC	3.03±0.08aC	0.39±0.04aC	0.62±0.00bC	5.82±1.05aB	8.73±0.38aB	8.51±0.47aA	3.36±0.40aC	7.94±0.60aBC
	0.25—2 mm	8.29±0.01aC	2.56±0.30aC	0.39±0.05aC	0.64±0.00aC	6.68±1.02aB	14.39±1.33aB	6.25±0.46abA	2.54±0.21aC	6.68±0.42aBC
	>2 mm	8.46±0.00aC	2.49±0.28aC	0.44±0.04aC	0.62±0.00bC	6.83±1.62aB	16.66±0.84aB	3.10±0.23bA	2.80±0.21aC	5.93±1.06aBC
N3	<0.25 mm	8.42±0.00aC	2.74±0.16aC	0.53±0.04aB	0.63±0.00bB	6.27±0.11aB	12.27±0.86aAB	6.22±0.08aA	3.56±0.22aB	5.25±0.46aC
	0.25—2 mm	8.39±0.00aC	3.51±0.20aC	0.51±0.02aB	0.67±0.00aB	6.06±0.40aB	17.39±0.32aAB	2.65±0.20abA	4.28±0.18aB	6.87±0.39aC
	>2 mm	8.47±0.01aC	2.91±0.21aC	0.44±0.04aB	0.63±0.01bB	6.43±0.39aB	28.80±2.88aAB	6.47±0.08bA	3.30±0.39aB	6.64±0.86aC
N4	<0.25 mm	8.29±0.01aD	4.77±0.09aA	0.63±0.02aA	0.64±0.00bA	8.00±0.34aA	40.87±1.43aA	3.65±0.20aA	3.85±0.32aA	7.56±0.26aBC
	0.25—2 mm	8.33±0.01aD	4.05±0.27aA	0.63±0.04aA	0.67±0.00aA	8.58±0.52aA	11.13±1.16aA	8.36±0.28abA	4.57±0.21aA	6.58±0.81aBC
	>2 mm	8.36±0.00aD	4.45±0.16aA	0.55±0.04aA	0.65±0.00bA	6.94±0.11aA	19.77±0.86aA	3.36±0.08bA	4.40±0.22aA	8.26±0.46aBC
N 添加	<i>F</i>	69.882	0.554	34.207	11.492	20.969	6.240	2.608	0.256	9.925
	Pr(> <i>F</i>)	***	NS	***	**	***	*	NS	NS	***
团聚体	<i>F</i>	0.009	0.319	1.446	1.260	0.041	0.596	5.300	0.008	0.012
	Pr(> <i>F</i>)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
N 添加 * 团聚体	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	2.899	0.036	0.745	0.081	0.000	3.583	0.919	0.404	0.410
	Pr(> <i>F</i>)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

pH: 酸碱度; SOC: 土壤有机碳; TN: 土壤全氮; TP: 土壤全磷; Total phosphorus; AP: 速效磷; Available phosphorus; DON: 可溶性有机氮; Dissolved organic nitrogen; NH₄⁺-N: 铵态氮; Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮; Nitrate nitrogen; Soil C:N: 碳氮比; Soil organic carbon: 土壤有机碳; Total nitrogen, N0, N1, N2, N3, N4 分别表示 5 个不同施氮水平: 0, 10, 20, 40, 80 kg N hm⁻² a⁻¹, 不同的大写字母表示不同氮添加水平间差异显著 (*P*<0.05), 不同小写字母表示不同粒级团聚体之间差异显著 (*P*<0.05), 相同字母表示差异不显著 (*P*>0.05), *, ** 和 *** 分别表示相关性在 0.05, 0.01 和 0.001 水平上显著, NS 表示不显著

2.2 氮添加对土壤团聚体微生物生物量和酶活性的影响

氮添加对土壤团聚体微生物生物量和酶活性有显著影响,且氮添加和团聚体粒级处理对土壤酶活性存在显著的交互作用(图 2, $P < 0.05$)。各粒级土壤团聚体中 MBC、MBN 和 MBC : MBN 均随着氮添加浓度的增加呈先降低后增加的趋势,在 N2 处理时最低($P < 0.05$),但不同粒级团聚体之间差异不显著。MBP 在大团聚体中显著低于其他粒级团聚体($P < 0.05$),但其对氮添加的响应不显著。BG、LAP 酶活性和 $\text{EEA}_{\text{C:N}}$ 在各粒级团聚体中均先减小后增大,NAG 酶活性在小粒级和中粒级团聚体先减小后增大,而在大粒级团聚体中呈持续增大趋势,ALP 酶活性在小粒级和大粒级团聚体先减小后增大,中粒级团聚体趋势相反($P < 0.05$)。

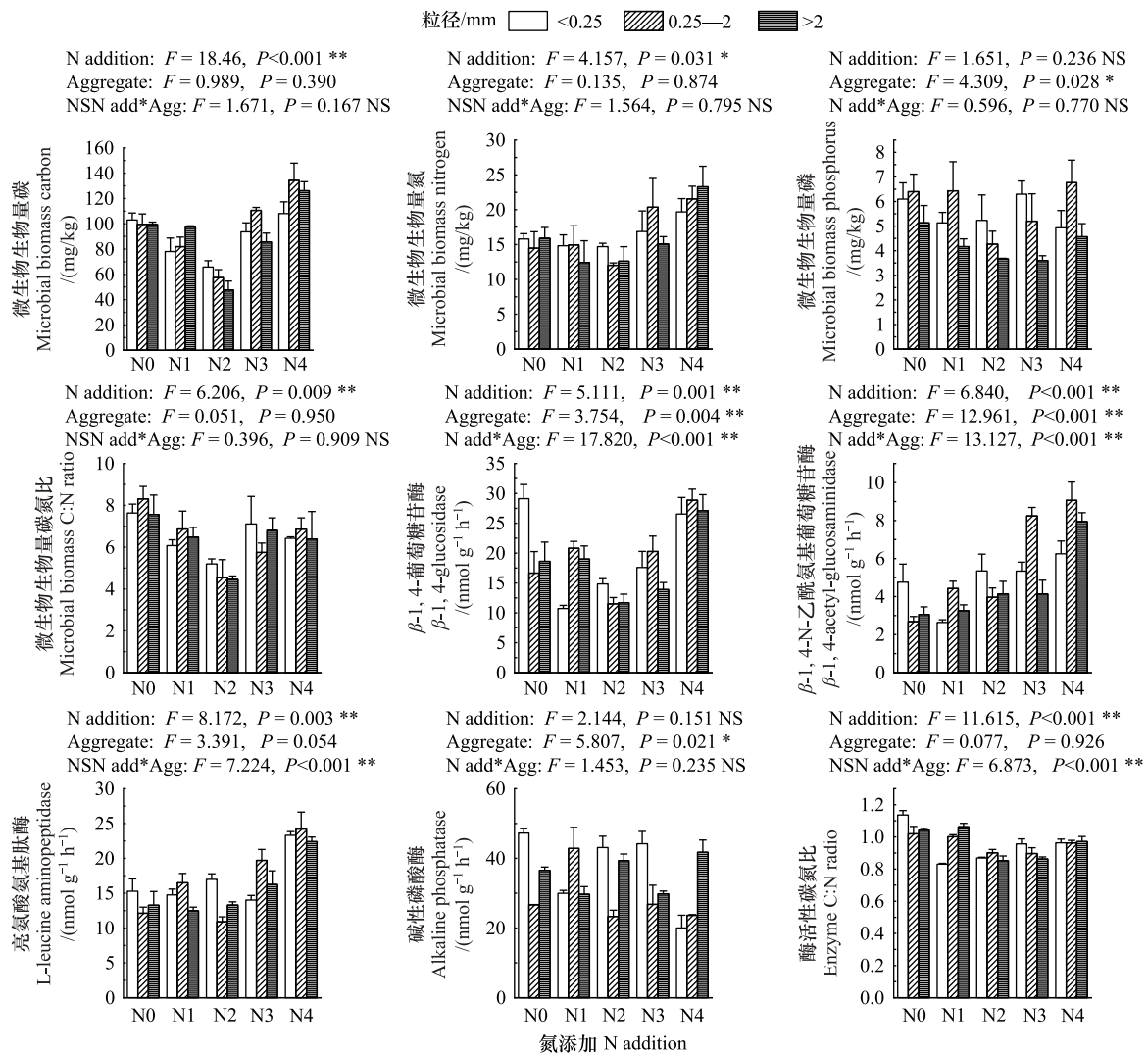


图 2 氮添加处理下土壤团聚体生物指标变化

Fig.2 Changes in biological indexes of soil aggregates under nitrogen addition treatment

N0, N1, N2, N3, N4 分别表示 5 个不同施氮水平, N0: 0 kg N hm⁻² a⁻¹, N1: 10 kg N hm⁻² a⁻¹, N2: 20 kg N hm⁻² a⁻¹, N3: 40 kg N hm⁻² a⁻¹, N4: 80 kg N hm⁻² a⁻¹

2.3 氮添加后土壤理化性质对氮矿化速率的影响

Mantel test 结果表明氮添加下土壤团聚体硝化、氨化和净氮矿化速率受土壤性质影响,不同粒级团聚体中的影响特征有区别(图 3)。小团聚体中,土壤氮矿化指标主要与 pH 呈显著负相关,与土壤氮磷养分(如 TP、DON)和 LAP 等呈显著正相关($P < 0.05$);在中团聚体中,土壤氮矿化指标与 TN、TP 等理化因子和碳氮转

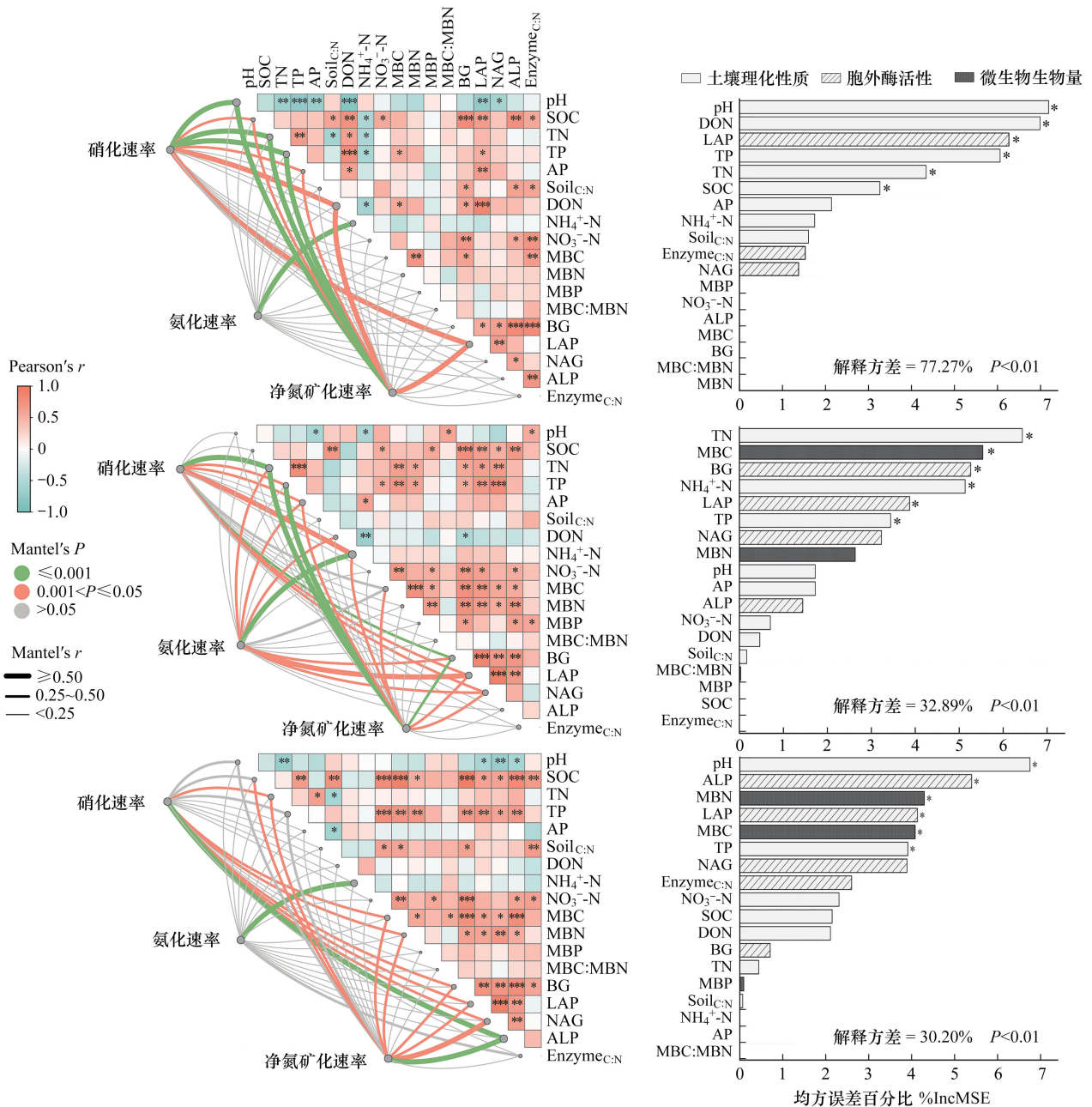


图3 基于 Mantel test 分析和随机森林分析的不同粒级团聚体中土壤氮矿化的影响因素

Fig.3 Influencing factors of soil nitrogen mineralization in aggregates with different particle sizes based on Mantel test analysis and random forest analysis

Mantel's *P*: 氮矿化速率与土壤指标之间关系的显著性水平; Mantel's *r*: 氮矿化速率与土壤指标之间的相关性系数; Pearson's *r*: 土壤指标之间的相关性系数。相关性矩阵中橙色表示正相关, 绿色表示负相关, 颜色越深表示相关性越强; pH: 酸碱度; SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AP: 速效磷 Available phosphorus; Soil_{C:N}: 土壤碳氮比 Soil organic carbon: Total nitrogen; DON: 可溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; MBP: 微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus; MBC: MBN: 微生物生物量碳: 微生物生物量氮 Microbial biomass carbon: Microbial biomass nitrogen; BG: β-1,4-葡萄糖苷酶 β-1,4-glucosidase; NAG: β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-1,4-acetyl-glucosaminidase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 L-leucine aminopeptidase; ALP: 碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase; Enzyme_{C:N}: 酶活性碳氮比 Enzyme activity carbon: nitrogen

化酶活性(如 BG、LAP)呈显著正相关($P<0.05$);而在大团聚体中,土壤氮矿化指标主要与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等呈显著负相关,与碳氮磷转化酶活性(如 NAG、ALP)等呈显著正相关($P<0.05$)。

通过随机森林分析确定了土壤理化 and 微生物指标对氮矿化速率的影响贡献(图 3),结果表明土壤氮矿化速率在小团聚体中主要受到土壤理化指标(如 pH、DON)的显著影响($P<0.05$);在中粒级团聚体中受到土壤理化指标(如 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$)和土壤微生物指标(如 MBC)的综合影响($P<0.05$);而在大团聚体中则主要受到土壤微生物指标(如 MBN)、pH 和 TP 的显著影响($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 土壤团聚体氮矿化特征及其氮添加的响应

土壤团聚体是氮矿化的主要反应场所,但由于不同粒级土壤团聚体结构的差异导致土壤氮矿化速率并不相同^[29]。此前多项研究认为小粒级团聚体比大团聚体具有更高的氮矿化速率^[11,30]。本研究证实了上述观点,结果表明随着土壤团聚体颗粒大小的增加,其氮矿化速率逐渐降低,尤其是在高浓度氮添加下这种差异更加明显(图 1)。这与此前的施肥实验研究结果也保持一致^[11,23]。其主要原因可能是小粒级团聚体比大团聚体具有更大的比表面积和更致密的空间结构,有利于矿底物和微生物、胞外酶之间的接触^[11]。

氮添加对土壤团聚体氮矿化速率有显著影响,本研究中各粒级土壤团聚体的硝化速率和净氮矿化速率在低浓度氮添加($\leq 20 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)时随着氮添加浓度的增加轻微降低,而在高氮浓度添加下显著增加($P<0.05$,图 1)。此前研究表明少量氮添加可能会抑制土壤中革兰氏阴性细菌和真菌等微生物的活性和生物量,进而降低氮矿化速率^[31]。本研究也观察到从 N_0 到 N_2 处理,微生物生物量碳、氮和磷均有所下降,从侧面证实了上述观点。随着氮添加浓度的增加,外源输入的氮素向土壤提供了更多的代谢底物和氮源,能够刺激微生物群落活性的提高,并增加微生物生物量(图 2),进而促进土壤氮矿化过程,最终表现为高浓度氮添加下土壤氮矿化速率的增加^[32]。这与此前的多项研究结果一致^[33-34]。此外,土壤硝化等矿化过程受到土壤 pH 的强烈调控^[35-36],硝化作用反应发生的最佳 pH 通常为 7—8^[37],本研究对照样地土壤 pH 为 8.55,高于这一范围。随着氮添加浓度的增加,各粒级团聚体中的土壤 pH 均显著降低(表 1),这为参与氮矿化反应提供了更加适宜的环境条件,使得矿化速率显著增加^[38]。然而,此前也有研究表明氮添加对土壤净氮矿化速率并无影响^[39],甚至会起到抑制作用^[40]。其可能是因为在氮丰富的环境中增加的外源氮对氮矿化过程产生抑制作用,从而减小了土壤的氮矿化能力^[40],但本研究地区土壤氮含量和有效性均比较低,微生物和植被生长本身受到一定的氮限制^[7,41],因此外源输入的氮素并不足以产生抑制作用,因而表现出氮添加促进氮矿化的特征。由此说明氮添加对土壤团聚体氮矿化速率的影响方向和程度取决于土壤本身的氮素含量特征^[19]。

3.2 氮添加对不同粒级团聚体中氮矿化速率的调控因素

土壤氮矿化速率受到土壤理化性质和微生物活性等因子的调控^[42]。本研究中氮添加显著调控不同粒级团聚体的酸碱度(pH)、养分有效性及微生物活性指标,且上述参数与氮矿化速率间存在显著关联(图 2)。与此前基于未分团聚体粒级的全土研究结果相似^[43]。然而,本研究结果进一步表明氮添加对不同粒级团聚体中土壤氮矿化速率的调控过程存在差异。在小团聚体中,土壤氮矿化更容易受到养分因子的限制,例如氮矿化速率与 DON、TN 等指标呈显著正相关,这可能是因为小团聚体内的养分含量相对较低,养分有效性低^[44],且小团聚体比表面积高,黏粒和有机质表面的吸附位点多,易通过静电作用或化学键固定 NH_4^+ ^[45],降低其生物有效性,加剧养分限制。此外,小团聚体自身结构紧密,内部孔隙细小且连通性不佳,即使外部添加氮肥,养分也难以渗透至团聚体核心,导致局部养分欠缺^[46],这阻碍了小团聚体内养分扩散^[47]。而在大团聚体中则主要受微生物指标的影响,如氮矿化速率与 ALP、MBN 等指标呈显著正相关。大团聚体具有较为疏松的结构和较大的孔隙,新鲜养分的输入更为迅速,能够为微生物提供更充足的底物养分^[48],所以养分因子对大团聚体中微生物活动及相关过程的影响相对较小,并非限制因素。另一方面大团聚体良好的氧气供应和相对丰富的养分为微生物提供了适宜的生存条件,其结构有利于微生物定殖,因而其中微生物活性更高^[49],代

谢能力更强^[50]。外源氮输入也能迅速进入大团聚体中供微生物吸收,因而土壤养分对大团聚体氮矿化速率的影响较小^[51]。余红等的研究表明大团聚体相较于小和微团聚体具有更高的氨氧化基因丰度,这意味着氮矿化微生物在大团聚体中更活跃^[52]。因此微生物是调控大团聚体氮矿化的关键因子。

值得注意的是,本研究中 pH 在大和小粒级团聚体中均对氮矿化有显著的调控作用,这在此前多项研究中已经被证实^[21,53]。一方面,pH 是土壤氮转化微生物的主要调控因子,Li 等表明,全球范围内土壤硝化速率与土壤 pH 显著相关,硝化细菌对 pH 较为敏感,它们在中性或微碱性条件下生长和繁殖最为旺盛^[53]。另一方面,土壤 pH 可能会通过影响有机质的分解过程和养分有效性等,间接影响净氮矿化速率^[54]。然而,本研究尚未涵盖对不同团聚体中氮矿化微生物群落特征的探究,未来有必要借助功能基因测序等先进技术手段对这一领域展开深入研究。

4 结论

(1) 氮添加显著改变草地土壤理化指标、微生物生物量及酶活性,然而这种调控效应存在团聚体粒级依赖性。随着氮添加浓度增加,土壤 pH 下降,土壤有机碳、全氮和微生物生物量碳氮含量先降低后增加,但土壤 NAG、ALP 等酶活性在不同粒级团聚体中的变化趋势差异较大。

(2) 各粒级土壤团聚体中氮矿化特征对氮添加的响应规律有差异。各粒级团聚体硝化速率和净氮矿化速率随着氮添加浓度增加先降低而后增加,氨化速率在大和小团聚体中随着氮添加浓度的增加先降低后增加,而在中粒级团聚体中总体逐渐降低。

(3) 氮添加后不同粒级土壤团聚中氮矿化速率受不同组合的土壤理化和生物因素影响。氮矿化速率在小粒级团聚体主要受 pH、DON 等土壤理化指标的影响,大粒级团聚体中主要受 ALP、MBN 等微生物指标的影响,中粒级团聚体则主要受土壤理化性质(如 TN、NH₄⁺-N)和 MBC 等生物指标的共同影响。

上述结果强调了氮添加对草地土壤氮循环的影响具有团聚体粒级依赖性,不同粒级团聚体中氮矿化过程调控因子也有所不同,研究为深入理解氮沉降背景下土壤氮循环机制提供了重要依据。

参考文献(References):

- [1] Elser J J, Bracken M E S, Cleland E E, Gruner D S, Stanley Harpole W, Hillebrand H, Ngai J T, Seabloom E W, Shurin J B, Smith J E. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 2007, 10 (12): 1135-1142.
- [2] Dentener F, Drevet J, Lamarque J F, Bey I, Eickhout B, Fiore A M, Hauglustaine D, Horowitz L W, Krol M, Kulshrestha U C, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Noije T V. Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: A multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles*, 2006, 20(4): GB4003.
- [3] 肖瑞晗, 满秀玲, 丁令智. 大兴安岭北部天然针叶林土壤氮矿化特征. *生态学报*, 2019, 39(8): 2762-2771.
- [4] Xu J R, Wang Y, Zhang Y D, Li Q W, Du B M, Asitaiken J L H T, Liu Y B, Niu D C, Fu H, Yuan X B. Effect of nitrogen addition on soil net nitrogen mineralization in topsoil and subsoil regulated by soil microbial properties and mineral protection: Evidence from a long-term grassland experiment. *Science of the Total Environment*, 2024, 947: 174686.
- [5] Liu L, Yang J J, Wang J, Yu Q, Wei C Z, Jiang L C, Huang J H, Zhang Y H, Jiang Y, Zhang H Y, Han X G. Increase in mineral-associated organic carbon does not offset the decrease in particulate organic carbon under long-term nitrogen enrichment in a steppe ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 2025, 202: 109695.
- [6] Zhang X, Su J X, Ji Y H, Zhao J, Gao J. Nitrogen deposition affects the productivity of planted and natural forests by modulating forest climate and community functional traits. *Forest Ecology and Management*, 2024, 563: 121970.
- [7] 王玉红, 马天娥, 魏艳春, 魏孝荣, 邵明安, 程积民, 张兴昌. 黄土高原半干旱草地封育后土壤碳氮矿化特征. *生态学报*, 2017, 37(2): 378-386.
- [8] Han S, Delgado-Baquerizo M, Luo X S, Liu Y R, Van Nostrand J D, Chen W L, Zhou J Z, Huang Q Y. Soil aggregate size-dependent relationships between microbial functional diversity and multifunctionality. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 154: 108143.
- [9] 张丹, 邓健, 朱运, 王亚楠, 陈子玥, 赵雪, 胡雯颖. 氮添加对黄土丘陵区草地土壤团聚体有机碳库的影响. *草地学报*. 2023, (7): 2031-

2040 .

- [10] 刘亚龙, 王萍, 汪景宽. 土壤团聚体的形成和稳定机制: 研究进展与展望. 土壤学报, 2023, 60(3): 627-643.
- [11] Cai A D, Xu H, Shao X F, Zhu P, Zhang W J, Xu M G, Murphy D V. Carbon and nitrogen mineralization in relation to soil particle-size fractions after 32 years of chemical and manure application in a continuous maize cropping system. PLoS One, 2016, 11(3): e0152521.
- [12] Wang P, Wang J D, Zhang H, Dong Y, Zhang Y C. The role of iron oxides in the preservation of soil organic matter under long-term fertilization. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19(2): 588-598.
- [13] Zhang Q, Liu H Y, Liang Y Q, Liang Y Y, Zhao Y T, Wang Z C, Li Y Z, Liu W C, Wang X, Yang G H, Ren C J, Zhang W, Han X H. The multifunctionality of soil aggregates is related to the complexity of aggregate microbial community during afforestation. Catena, 2024, 236: 107737.
- [14] 张良侠, 樊江文, 张海燕, 周德成. 黄土高原地区生态脆弱性时空变化及其驱动因子分析. 环境科学, 2022, 43(9): 4902-4910.
- [15] 贾蕴欢, 胡雯颖, 邓健, 赵雪, 陈子玥, 王亚楠, 李江文, 张晓曦. 氮添加对黄土丘陵区草地土壤微生物养分限制特征的影响. 草业学报, 2025, 34(2): 221-232.
- [16] 袁梓裕, 张路, 廖李容, 王杰, 雷石龙, 刘国彬, 方怒放, 张超. 黄土高原草地植物多样性与群落稳定性的关系及其驱动因素. 生态学报, 2023, 43(1): 60-69.
- [17] Xue Z J, Liu C H, Zhou Z C, Wanek W. Extracellular enzyme stoichiometry reflects the metabolic C-and P-limitations along a grassland succession on the Loess Plateau in China. Applied Soil Ecology, 2022, 179: 104594.
- [18] Cheng Y, Wang J, Wang J Y, Wang S Q, Chang S X, Cai Z C, Zhang J B, Niu S L, Hu S J. Nitrogen deposition differentially affects soil gross nitrogen transformations in organic and mineral horizons. Earth-Science Reviews, 2020, 201: 103033.
- [19] 陆姣云, 张鹤山, 田宏, 熊军波, 刘洋. 氮沉降影响草地生态系统土壤氮循环过程的研究进展. 草业学报, 2022, 31(6): 221-234.
- [20] 徐翎清, 李佳佳, 常晓, 张云龙, 刘大丽. 土壤氮矿化相关机理的研究进展. 中国农学通报, 2022, 38(34): 97-101.
- [21] 邓健, 赵雪, 卢笑玥, 张丹, 徐莉萍, 朱运, 吴林豪, 李江文. 半干旱草地土壤团聚体氮磷转化相关酶活性对氮添加的响应. 生态学报, 2023, 43(16): 6539-6549.
- [22] Bach E M, Hofmockel K S. Soil aggregate isolation method affects measures of intra-aggregate extracellular enzyme activity. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 69: 54-62.
- [23] 陈天, 程瑞梅, 王丽君, 肖文发, 沈雅飞, 孙鹏飞, 张萌, 曾立雄. 氮添加对马尾松人工林土壤团聚体氮矿化及土壤酶活性的影响. 生态学报, 2023, 43(16): 6528-6538.
- [24] 刘冲, 朱运, 邓健, 徐莉萍, 张丹, 王晨枫, 欧阳洪梁, 李江文. 黄土高原次生林演替过程土壤氮矿化特征及其影响因素. 生态学报, 2024, 44(14): 6346-6356.
- [25] 郑慧, 薛江博, 郝杰, 刁华杰, 陈晓鹏, 王常慧, 董宽虎. 短期不同水平氮添加对华北盐渍化草地土壤磷组分的影响. 草地学报, 2022, 30(3): 712-720.
- [26] Ye D H, Li T X, Zhang X Z, Zheng Z C, Dai W Y. Rhizosphere P composition, phosphatase and phytase activities of *Polygonum hydropiper* grown in excess P soils. Biology and Fertility of Soils, 2017, 53(8): 823-836.
- [27] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(6): 837-842.
- [28] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [29] Liao R K, Han Y G, Guo Z F. Assessing the impact of soil aggregate size on mineralization of nitrogen in different soils, China. Catena, 2021, 203: 105358.
- [30] Bimüller C, Kreyling O, Kölbl A, von Lützow M, Kügel-Knabner I. Carbon and nitrogen mineralization in hierarchically structured aggregates of different size. Soil and Tillage Research, 2016, 160: 23-33.
- [31] 刘静, 孙涛, 程云云, 王清奎. 氮沉降和土壤线虫对落叶松人工林土壤有机碳矿化的影响. 生态学杂志, 2017, 36(8): 2085-2093.
- [32] Roohi M, Saleem Arif M, Guillaume T, Yasmeen T, Riaz M, Shakoor A, Hassan Farooq T, Muhammad Shahzad S, Bragazza L. Role of fertilization regime on soil carbon sequestration and crop yield in a maize-cowpea intercropping system on low fertility soils. Geoderma, 2022, 428: 116152.
- [33] 徐小惠, 刁华杰, 覃楚仪, 郝杰, 申颜, 董宽虎, 王常慧. 华北盐渍化草地土壤净氮矿化速率对不同水平氮添加的响应. 植物生态学报, 2021, 45(1): 85-95.
- [34] Wang J, Cheng Y, Zhang J B, Müller C, Cai Z C. Soil gross nitrogen transformations along a secondary succession transect in the north subtropical forest ecosystem of southwest China. Geoderma, 2016, 280: 88-95.
- [35] Yao H Y, Campbell C D, Qiao X R. Soil pH controls nitrification and carbon substrate utilization more than urea or charcoal in some highly acidic soils. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(5): 515-522.
- [36] Cheng Y, Wang J, Mary B, Zhang J B, Cai Z C, Chang S X. Soil pH has contrasting effects on gross and net nitrogen mineralizations in adjacent

- forest and grassland soils in central Alberta, Canada. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 848-857.
- [37] 金雪霞, 范晓晖, 蔡贵信, 贺发云. 菜地土壤氮素矿化和硝化作用的特征. *土壤*, 2004, 36(4): 382-386.
- [38] 刘少文, 殷敏, 褚光, 徐春梅, 王丹英, 章秀福, 陈松. 土壤氮激发效应及其微生物机理研究进展. *中国水稻科学*, 2019, 33(4): 303-312.
- [39] 邹亚丽, 牛得草, 杨益, 文海燕, 傅华. 氮素添加对黄土高原典型草原土壤氮矿化的影响. *草地学报*, 2014, 22(3): 461-468.
- [40] Widdig M, Heintz-Buschart A, Schleuss P M, Guhr A, Borer E T, Seabloom E W, Spohn M. Effects of nitrogen and phosphorus addition on microbial community composition and element cycling in a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 151: 108041.
- [41] 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.
- [42] Hu R, Zhang H X, Sun J Y, Zhang Y F, He M Z, Zhang Z S. Biocrusts enhance soil nitrogen mineralization and nitrification under experimental warming in a dryland ecosystem. *Applied Soil Ecology*, 2024, 201: 105502.
- [43] Nie Y X, Han X G, Chen J, Wang M C, Shen W J. The simulated N deposition accelerates net N mineralization and nitrification in a tropical forest soil. *Biogeosciences*, 2019, 16(21): 4277-4291.
- [44] 曹彦卓, 王汝振, 张玉革, 李慧, 吕晓涛, 姜勇. 氮沉降对草地土壤及团聚体元素有效性的影响. *生态学杂志*, 2019, 38(8): 2531-2539.
- [45] 谭文峰, 许运, 史志华, 蔡鹏, 黄巧云. 胶结物质驱动的土壤团聚体形成过程与稳定机制. *土壤学报*, 2023, 60(5): 1297-1308.
- [46] 李林芝, 张德罡, 马源, 罗珠珠, 林栋, 海龙, 白兰鸽. 不同退化程度高寒草甸土壤团聚体养分及生态化学计量特征研究. *草业学报*, 2023, 32(08): 48-60.
- [47] 荣慧, 房焕, 张中彬, 蒋瑀霁, 赵旭, 单军, 彭新华, 孙波, 周虎. 团聚体大小分布对孔隙结构和土壤有机碳矿化的影响. *土壤学报*, 2022, 59(2): 476-485.
- [48] Zhang Y, Ge N N, Liao X L, Wang Z, Wei X R, Jia X X. Long-term afforestation accelerated soil organic carbon accumulation but decreased its mineralization loss and temperature sensitivity in the bulk soils and aggregates. *Catena*, 2021, 204: 105405.
- [49] Yu H Y, Ding W X, Luo J F, Geng R L, Ghani A, Cai Z C. Effects of long-term compost and fertilizer application on stability of aggregate-associated organic carbon in an intensively cultivated sandy loam soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48(3): 325-336.
- [50] Li J Y, Chen P, Li Z G, Li L Y, Zhang R Q, Hu W, Liu Y. Soil aggregate-associated organic carbon mineralization and its driving factors in rhizosphere soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 186: 109182.
- [51] 程淑兰, 方华军, 徐梦, 耿静, 何舜, 于光夏, 曹子铖. 氮沉降增加情景下植物-土壤-微生物交互对自然生态系统土壤有机碳的调控研究进展. *生态学报*, 2018, 38(23): 8285-8295.
- [52] 余红, 史聆聆. 微塑料对土壤不同团聚体组分中微生物群落和功能基因的影响. *环境工程*, 2024, 42(2): 167-174.
- [53] Li P P, Han Y L, He J Z, Zhang S Q, Zhang L M. Soil aggregate size and long-term fertilization effects on the function and community of ammonia oxidizers. *Geoderma*, 2019, 338: 107-117.
- [54] 刘君政, 王鹏, 肖汉玉, 赵君, 舒旺. 中国陆地生态系统土壤氮矿化速率和硝化速率及影响因素——基于文献数据的统计分析. *生态学报*, 2020, 40(12): 4207-4218.