



氮添加量和施氮频率对温带半干旱草原土壤呼吸及组分的影响

杨 泽^{1,2} 嘎玛达尔基^{1,2} 谭星儒^{1,2} 游翠海^{1,2} 王彦兵^{1,2} 杨俊杰¹ 韩兴国^{1,2}
陈世苹^{1,2*}

¹中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093; ²中国科学院大学, 北京 100049

摘 要 日益加剧的氮沉降已经对陆地生态系统生产力和碳循环过程产生了显著影响。草原生态系统近90%的碳储存在土壤中, 明确土壤呼吸及其组分对氮添加的响应对评估大气氮沉降背景下草原生态系统碳平衡和土壤碳库稳定性是非常重要的。以往关于草原土壤呼吸对氮沉降响应的理解多是基于短期(<5年)和低频(每年1–2次)氮添加实验研究, 而关于长期氮添加和不同施氮频率对土壤呼吸及其组分的影响尚缺乏实验证据。该研究基于2008年建立在内蒙古半干旱草原的长期氮添加实验平台, 包括6个氮添加水平和2个施氮频率处理, 通过连续两年(2018–2019年)土壤呼吸及其组分的测定, 发现: 1)氮添加显著降低了土壤总呼吸速率(R_s), 且 R_s 下降程度随着氮添加量的增加而增强。土壤异养呼吸速率(R_h)的显著下降是 R_s 下降的主要原因。2)不同氮添加频率并未显著影响土壤呼吸及其组分对氮添加处理的响应。3)长期氮添加造成的土壤酸化降低了土壤微生物活性并改变了微生物群落结构(真菌/细菌比), 进而导致土壤呼吸及其异养组分呈现显著的负响应。以上结果表明, 长期(>10年)氮添加对土壤地下碳循环过程的抑制作用非常明显, 特别是异养呼吸组分的下降会降低土壤有机碳分解速率, 有助于土壤碳库稳定性的维持。同时, 随着氮添加处理时间的延长, 不同施氮频率影响效应的差异减弱, 表明目前长期的低频氮添加实验监测数据可以为评估自然生态系统对大气氮沉降的响应提供较为可靠的参考。

关键词 长期氮添加; 施氮频率; 土壤呼吸; 自养呼吸; 异养呼吸

杨泽, 嘎玛达尔基, 谭星儒, 游翠海, 王彦兵, 杨俊杰, 韩兴国, 陈世苹 (2020). 氮添加量和施氮频率对温带半干旱草原土壤呼吸及其组分的影响. 植物生态学报, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

Effects of nitrogen addition amount and frequency on soil respiration and its components in a temperate semiarid grassland

YANG Ze^{1,2}, GAMADAERJI^{1,2}, TAN Xing-Ru^{1,2}, YOU Cui-Hai^{1,2}, WANG Yan-Bing^{1,2}, YANG Jun-Jie¹, HAN Xing-Guo^{1,2}, and CHEN Shi-Ping^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; and ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract

Aims Increasing global nitrogen (N) deposition has exerted significant influences on productivity and carbon cycle of terrestrial ecosystems. More than 90% of the carbon in grasslands is stored in the soil, therefore any changes in soil total respiration (R_s) might have a vital impact on the carbon balance and the stability of soil carbon pool of grassland ecosystems. Most of our understanding about the responses of R_s to N deposition was based on N deposition manipulative experiments with short-term (<5 years) and low frequency (1–2 times per year) N addition treatments. It is still unclear how the long term N addition and different N addition frequency will affect R_s and its components in semiarid grasslands.

Methods Our study is based on a long term N addition manipulative experiment platform conducted in a typical temperate semiarid steppe, Nei Mongol. The experimental treatment consisted of six N addition amounts and two N addition frequencies. N addition treatments began at 2008. Soil respiration and its components were measured every two weeks during the growing season in 2018 and 2019.

Important findings 1) R_s significantly decreased with increasing N addition amount. The negative impact of N

收稿日期Received: 2020-05-26 接受日期Accepted: 2020-07-28

基金项目: 国家自然科学基金(41773084)和国家重点研发计划(2017YFA0604801)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (41773084), and the National Key R&D Program of China (2017YFA0604801).

* 通信作者Corresponding author (spchen@ibcas.ac.cn)

addition on R_s was mainly resulted from the inhibition of heterotrophic respiration (R_h). 2) No significant differences were observed in responses of R_s and its components to low and high frequency N addition treatments. 3) Soil acidification caused by long term N addition inhibited soil microbial activity and changed soil microbial community composition, consequently decreased R_s and R_h . Our results suggested that the negative effect of N addition on soil carbon release still lasted after a decade of N addition treatment. In particular, the decrease of R_h would enhance the stability of soil carbon pool. No significant differences in the two N addition frequency treatments indicated that the potential impacts caused by simulated N addition with different frequencies would be diminished with prolonged treatment period. Therefore, the results of long-term (>10 years) simulated N addition experiments can provide reliable references for evaluating the responses of natural ecosystems to atmospheric N deposition.

Key words long-term nitrogen addition; nitrogen addition frequency; soil respiration; autotrophic respiration; heterotrophic respiration

Yang Z, Gamadaerji, Tan XR, You CH, Wang YB, Yang JJ, Han XG, Chen SP (2020). Effects of nitrogen addition amount and frequency on soil respiration and its components in a temperate semiarid grassland. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

全球陆地生态系统近3/4的碳(C)储存在土壤中(Masciandaro *et al.*, 2018), 储量高达1 395–2 011 Pg C, 约为大气碳储量的2–4倍(Scharlemann *et al.*, 2014; Bond-Lamberty *et al.*, 2018)。作为陆地生态系统第二大碳通量, 土壤呼吸每年释放的CO₂为68–98 Pg C, 约为每年化石燃料燃烧释放CO₂的10倍(Raich & Schlesinger, 1992; Bond-Lamberty & Thomson, 2010)。全球碳模型的预测表明, 由于全球变化引发的土壤呼吸的微小变动都会显著影响大气CO₂浓度, 进而影响全球碳平衡(Cox *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2019c)。土壤呼吸根据CO₂产生的来源不同主要分为两个组分, 一是自养呼吸, 主要是来自于植物根呼吸以及菌根真菌呼吸产生的CO₂; 另一部分是异养呼吸, 主要是来自于凋落物分解和微生物降解土壤有机质产生的CO₂(Hanson *et al.*, 2000; Bond-Lamberty *et al.*, 2004)。由于底物来源和对环境因子响应的差异, 土壤呼吸的自养和异养组分对氮沉降等全球变化的响应存在显著差别(Zhou *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2016)。因此, 为了准确预测全球变化对土壤呼吸及生态系统碳循环的影响, 就需要区分土壤呼吸的不同组分, 并研究各组分对全球变化因子的响应规律(Wang *et al.*, 2019c), 这对评估整个生态系统的碳收支平衡是非常重要的(Lovett *et al.*, 2006; ArchMiller & Samuelson, 2016)。

工业革命以来, 人类活动特别是化石燃料的燃烧和氮肥的大量使用, 导致了全球CO₂浓度和大气氮沉降速率急剧上升(Galloway *et al.*, 2008; Mo *et al.*, 2008)。从1980到2010年, 我国大气氮沉降量持

续增加了近60%, 达到近0.8 g·m⁻² (Liu *et al.*, 2013)。预计到21世纪末, 全球大气氮沉降量将是目前的2.5倍(Galloway *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2016)。大气氮沉降已经对生态系统的结构和功能产生了显著影响(Song *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020)。已有的氮添加实验表明氮添加可以显著促进植被生产力(杨倩等, 2018; Song *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019a), 但降低了土壤微生物生物量及其活性(Xiao *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020)。植物和微生物对氮沉降的不同响应将直接导致土壤呼吸及其自养和异养组分对氮沉降响应的差异(Janssens *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2017, 2020)。虽然通过氮添加实验, 研究者们已经对生态系统碳交换过程对氮沉降的响应方面进行了大量研究(Luca *et al.*, 2006; Niu *et al.*, 2010; Jia *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2020), 但关于氮沉降对土壤呼吸及其组分的影响仍存在争议。不同研究表明, 氮添加可以提高(Craine *et al.*, 2001; Hasselquist *et al.*, 2012; Jia *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2019b)或抑制(Mo *et al.*, 2008; Janssens *et al.*, 2010; 李寅龙等, 2015; Chen *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2020)土壤呼吸或对其没有影响(Lee & Jose, 2003; Allison *et al.*, 2008; 珊丹等, 2009)。Zhou等(2014)整合分析了54个草地氮添加实验的结果, 发现氮添加对土壤总呼吸表现为促进作用, 平均提高7.8%, 这主要是由于氮添加对自养呼吸组分的提高, 而氮添加对异养呼吸组分均表现出抑制作用。此外, 随着氮添加时间的延长, 土壤呼吸对氮添加响应的强度显著下降, 这一趋势在森林生态系统中表现得最为明显(Zhou *et al.*, 2014)。这是因为在实验处理初期,

氮添加显著促进植物生长并增加土壤碳输入, 促进土壤自养呼吸, 并使得土壤总呼吸表现出增加趋势(Fang *et al.*, 2018); 而在长期氮添加情况下, 由于土壤pH等条件的改变, 导致土壤微生物群落结构发生变化, 进而对土壤异养呼吸的抑制作用增加(Treseder, 2008)。但目前由于在自然生态系统中持续10年以上的长期氮添加平台数据仍然十分有限, 使得我们还难以对草原生态系统土壤呼吸及其组分对长期氮添加的响应进行评估。

大气氮沉降对生态系统的影响是缓慢而持续的(Galloway *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2009)。目前绝大多数的研究是采用每年1–2次施氮的方式模拟氮沉降(Clark & Tilman, 2008; Fornara & Tilman, 2012; Bai *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018)。虽然少数研究已经增加了氮添加的次数如每年4–6次施氮(Fang *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019c), 但是这种脉冲式的氮添加方式并不能真实模拟大气氮沉降过程, 并使得研究结果可能出现偏差。Zhang等(2014)的研究表明, 相比于每年12次施氮, 每年2次氮添加会导致植物丰富度下降得更加显著, 从而高估了大气氮沉降对植物群落的影响。同时Wang等(2019a)发现虽然不同施氮频率并未显著影响植被地上生产力, 但低频氮添加显著降低了地下生产力。周纪东等(2016)发现不同的氮添加频率对温带半干旱草原土壤有机碳含量没有显著影响。而关于土壤微生物群落的研究表明, 相比于12次施氮, 每年2次氮添加会导致细菌多样性显著下降(Cao *et al.*, 2020)。考虑到施氮频率对土壤微生物的影响, 那么高频氮添加是否会减弱氮对土壤呼吸及其组分的影响呢? 目前关于不同氮添加频率对土壤呼吸影响的差异鲜有报道。因此, 有必要通过对比不同氮添加频率处理对生态系统影响的差异, 来评估以往的低频氮添加实验在研究生态系统结构和功能对氮沉降响应效应时所造成的潜在误差。

草原生态系统是我国重要的生态系统类型, 占我国国土面积的近40%, 其中78%的草原位于北方干旱半干旱地区(陈佐忠和汪诗平, 2000), 对全球变化非常敏感(Niu *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2018)。本研究基于建立在内蒙古半干旱草原的长期氮添加平台。自2008年平台建立以来, 已经进行了长达10年的氮添加处理。通过连续两年(2018–2019年)土壤呼吸及其组分的测量, 本研究对比了不同氮添加量和

氮添加频率对草原土壤碳释放的影响, 阐明调控土壤呼吸及其组分响应的主要环境和生物因子。在长期氮添加背景下, 明确土壤呼吸及其组分对氮添加量和添加频率的响应规律, 对进一步理解氮沉降对草原生态系统土壤碳平衡与固碳潜力的影响有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 研究区域概况

本研究样地位于内蒙古锡林郭勒盟的内蒙古草原生态系统国家定位研究站(116.70° E, 43.38° N, 海拔1 200 m)。该地区属于温带半干旱大陆性气候, 长期(1983–2012年)的气象数据表明, 该区域的年平均气温为0.9 °C, 月平均气温变化从最冷月(1月)–21.7 °C到最暖月(7月) 19.7 °C。年降水量为355.3 mm, 其中60%–80%的降水量集中在生长季(5–8月)(Zhang *et al.*, 2014)。该区域主要土壤类型为栗钙土。地带性植被为温带半干旱典型草原, 优势物种为大针茅(*Stipa grandis*)、羊草(*Leymus chinensis*)等。该区域大气氮沉降的背景值为 $1.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$, 其中干、湿氮沉降分别为 1.2 和 $0.6 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (Giese *et al.*, 2013)。

1.2 实验平台与处理设置

本研究是在位于内蒙古草地生态系统国家定位研究站的长期氮添加实验平台进行的。平台建于2008年, 采用随机区组实验设计。实验设置了10个区组, 每个区组随机设置了9个氮添加量(0、1、2、3、5、10、15、20、50 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)和2个氮添加频率(低频和高频)处理, 共计190个小区, 每个小区大小为 $4 \text{ m} \times 8 \text{ m}$ 。参考该区域其他长期氮沉降实验设置(Bai *et al.*, 2010), 本实验中的氮添加量梯度范围相当于该区大气氮沉降背景值的0.5–25倍。氮添加处理从2008年9月1日开始, 氮添加的形式为 NH_4NO_3 (纯度>99%)。高频氮添加(HF)处理在每月的第一天进行施氮处理, 每年分12次平均施入相应处理中; 低频氮添加(LF)处理在每年6月(生长季)和11月(非生长季)的第一天进行施氮处理, 每年2次平均施入相应处理中。氮添加处理的具体描述参见Zhang等(2014)和Wang等(2019a)。

1.3 土壤呼吸及其组分的测定

土壤呼吸的测量在2018–2019年生长季进行, 这是长期氮添加实验平台氮添加处理的第11和12

年。由于测定仪器限制,本研究仅选取了6个区组(重复)下的6个氮添加水平(0、2、5、10、20、50 g·m⁻²·a⁻¹)和2个施氮频率进行测量。采用深浅环法对土壤呼吸组分进行区分(Zhou *et al.*, 2007),此方法近年来已被广泛应用于草原土壤呼吸组分区分(Yan *et al.*, 2010; Zeng *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019c; Zhang *et al.*, 2019)。已有研究表明,该区域草原近85%以上的根系分布在0–30 cm土层,30 cm的深环可以阻止大部分植物根系长入(Zhang *et al.*, 2019)。为了减少深环中残留细根分解对测量的影响,在测量开始前一年(2017年7月),在每个处理样方内分别嵌入一个30 cm的深环和一个10 cm的浅环,用于土壤呼吸及其组分的测量,呼吸环高出地面约3 cm。土壤呼吸环质地为PVC,直径为20 cm。土壤呼吸环的安装尽量选择植物间隙,土壤环中的少量植物会在安装土壤环的时候就进行去除,测量期间每1–2周检查并将土壤环中的植物地上部分剪除。其中浅环用于测量土壤总呼吸速率(R_s),深环用于测量土壤异养呼吸速率(R_h),二者的差值用于估算土壤自养呼吸速率(R_a)(Zhang *et al.*, 2019)。土壤呼吸速率的测量采用LI-8100土壤呼吸自动测量仪(LI-COR, Lincoln, USA)。2018–2019年生长季5–9月进行测量,每两周测量一次,每次测量的时间控制在8:30–14:00之间。土壤呼吸测量的同时对深环和浅环0–10 cm土层土壤温度(ST)和土壤含水量(SWC)的进行测量。 ST 和 SWC 分别采用LI-8100附带的土壤热电偶探头(LI-8100-201, LI-COR, Lincoln, USA)和TDR-300 (Spectrum Technologies, Plainfield, USA)进行测量。根据以往的研究,浅环对土壤温度和水分并没有显著影响,可以采用环外土壤的测量数据,但深环由于降低了土壤水分的侧向交换,会显著影响环内的土壤温度和水分条件(Zhang *et al.*, 2019)。为了减少土壤温度和水分测量时探针插入对环内土壤的扰动,在3个区组的处理样方中又嵌入一个30 cm的深环,专门用于深环内土壤温度和湿度的测量。

由于深环中的土壤温度和水分条件发生了明显的变化,会对深环内土壤呼吸速率产生影响,因此需要通过建立深环内土壤呼吸与土壤温度和水分之间的关系,并利用这一关系,将深环内测量得到的土壤呼吸校正至与浅环土壤温度和水分相同条件下的呼吸速率,具体方法可参考Yan等(2010)和Zhang

等(2019)。主要校正步骤如下:首先建立深环土壤呼吸与深环内土壤温度和水分之间的拟合方程:

$$R_{h\text{-measured}} = ae^{bST}(cSWC^2 + dSWC) \quad (1)$$

式中, $R_{h\text{-measured}}$ 是深环测量得到的土壤异养呼吸速率, ST 和 SWC 是深环的土壤温度和土壤水分含量; a 、 b 、 c 和 d 是拟合参数。

然后,利用环外土壤温度和水分数据,将深环内测量的 R_h 进行校正,计算出 $R_{h\text{-corrected}}$,而 R_a 通过 R_s 和校正后的 R_h 之间的差值进行计算:

$$R_a = R_s - R_{h\text{-corrected}} \quad (2)$$

1.4 土壤呼吸温度和水分敏感性的计算

采用指数回归方程拟合土壤呼吸速率及其组分(SR , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)与 ST 之间的关系:

$$SR = ae^{\beta ST} \quad (3)$$

式中, ST 为10 cm土层土壤温度(°C), a 为0 °C时的土壤呼吸速率, β 为土壤呼吸的温度响应系数。

土壤呼吸温度敏感性(Q_{10})由 β 值计算获得:

$$Q_{10} = e^{10\beta} \quad (4)$$

采用线性回归方程拟合 SR 与10 cm土层 SWC 之间的关系:

$$SR = pSWC + q \quad (5)$$

式中, p 和 q 是线性回归拟合参数,斜率 p 用于指示土壤呼吸的水分敏感性。

1.5 地上净初级生产力(ANPP)的测量

每年8月份,采用1 m × 1 m样方框在每个样方内进行分种剪草,将框内的地上植物齐地面剪掉。为了避免边缘效应,样方框距离样方边缘至少0.5 m。剪下的全部植物在65 °C烘箱中烘干24 h,然后称质量,并用来表征群落ANPP。

1.6 土壤样品的取样与相关指标测量

每年8月中旬,在每个样方的土壤取样区中随机取5钻(直径7 cm) 0–10 cm土层土壤后混合均匀,然后过2 mm的筛子。将筛好的土样分成两部分,一部分风干用于土壤理化指标的测定,另一部分放在4 °C下保鲜,用于土壤微生物指标的测定。

称取10 g风干土,按照风干土:蒸馏水(质量比)1:2.5加入蒸馏水后搅拌均匀,用于测量土壤pH。

土壤微生物生物量(MB)和土壤微生物功能群组组成采用磷脂脂肪酸(PLFA)方法测定(Frostegård *et al.*, 2011)。根据细菌的特异性脂肪酸(i15:0、i16:0、i17:0、18:1 ω 7、cy17:0和cy19:0)和真菌的特异性脂

肪酸(18:2 ω 6, 9)的含量代表土壤中细菌和真菌的生物量(Wang *et al.*, 2019c), 并计算真菌/细菌比(F/B)。

1.7 数据统计分析

采用重复测量方差分析检验氮添加量(N)和施氮频率(NF)对土壤温度、土壤水分含量、土壤呼吸速率及其组分的影响的显著性, 并采用Duncan法进行多重检验。重复测量方差分析采用SPSS 22.0统计软件分析完成。

利用混合线性模型(LME)分析在LF或HF处理下, 氮添加量对土壤呼吸及其组分的温度和水分敏感性影响的差异显著性, 其中氮添加量和施氮频率作为主效应, 区组作为随机因子。

采用线性和非线性回归分析研究在LF或HF处理下, 土壤呼吸及其组分与土壤温度、土壤水分含量、土壤pH、ANPP、土壤微生物生物量和F/B之间的关系。

以上数据分析在R 3.6.1中完成, 数据处理中用到的安装包有'lme4'。文中所有图在Sigmaplot 14.0中绘制。

2 结果和分析

2.1 氮添加量和施氮频率对土壤温度和土壤水分含量的影响

氮添加量显著影响了 ST ($p < 0.001$)和 SWC ($p < 0.05$), 而施氮频率对 ST 和 SWC 没有影响 ($p > 0.05$)(表1)。在2018和2019年, 无论LF还是HF条件下, ST 均表现出随着氮添加量的增加而下降的趋势, 并在50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加量处理下出现显著降低($p <$

0.05, 图1A、1C)。 SWC 随着氮添加量增加表现出先下降后增加的趋势, 在10和20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理出现最低值($p < 0.05$, 图1B、1D)。

2.2 氮添加量和施氮频率对土壤呼吸速率及其组分的影响

在2018年生长季, 土壤呼吸速率及其组分的季节变化呈现出单峰模式; 而在2019年生长季, 土壤呼吸速率及其组分的季节变化表现出双峰模式(图2)。氮添加量显著影响了 R_s , 随着氮添加量的增加, R_s 呈现逐渐下降的趋势(表1; 图3A、3D)。多重比较的结果表明, 与对照(0 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)相比, 长期少量(2–5 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)的氮添加处理并未对 R_s 产生显著影响 ($p > 0.05$), 而10 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 的氮添加量显著降低了 R_s , 随着氮添加量的进一步增加, 其对 R_s 的抑制作用愈加明显($p < 0.001$, 图3A、3D)。 R_h 和 R_a 对氮添加量的响应存在明显差异。 R_h 对氮添加的响应与 R_s 趋势一致, 但其对氮添加量的响应更加敏感, 在2 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 的氮添加处理下, R_h 即表现出显著降低 ($p < 0.001$, 图3B、3E)。与 R_h 相比, R_a 对不同氮添加量并无响应(图3C、3F)。不同施氮频率对 R_s 及其异养和自养呼吸组分均没有显著影响($p > 0.05$)(表1; 图3)。无论是氮添加量还是施氮频率, 均未改变土壤呼吸异养组分在总呼吸中所占比例(R_h/R_s)(表1), 其均值为0.62。

2.3 土壤呼吸速率及其组分与土壤环境因子之间的关系

无论在LF还是HF处理下, R_s 及其组分与 ST 和 SWC 之间均表现出显著的正相关关系(图4)。除了在

表1 测量年份(Y)、氮添加量(N)和施氮频率(NF)及其交互作用对土壤温度、土壤水分含量、土壤总呼吸速率及组分(异养和自养呼吸)和异养呼吸比值的影响

Table 1 Results of the effects of year (Y), nitrogen addition amount (N), nitrogen addition frequency (NF) and their interactions on soil temperature (ST), soil water content (SWC), soil total respiration rate (R_s) and its components (R_h and R_a) and R_h/R_s ratio

处理 Treatment	df	土壤温度 ST ($^{\circ}\text{C}$)		土壤水分含量 SWC (%)		土壤总呼吸速率 R_s ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		异养呼吸速率 R_h ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		自养呼吸速率 R_a ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		异养呼吸比值 R_h/R_s	
		F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Y	1	49.08	<0.001	6.11	<0.05	21.81	<0.001	67.29	<0.001	0.53	0.46	71.57	<0.001
N	5	16.65	<0.001	5.56	<0.001	16.15	<0.001	113.73	<0.001	1.68	0.16	1.60	0.19
NF	1	0.87	0.36	1.08	0.30	2.52	0.12	0.02	0.90	3.03	0.09	1.84	0.18
N \times NF	4	1.75	0.15	1.33	0.27	2.53	0.05	9.23	<0.001	2.30	0.07	2.14	0.09
Y \times N	5	0.31	0.91	0.09	0.99	0.62	0.69	1.23	0.29	0.58	0.71	1.20	0.32
Y \times NF	1	0.00	0.96	0.11	0.74	0.04	0.84	0.19	0.67	0.01	0.91	0.30	0.59
Y \times N \times NF	4	0.06	0.99	0.01	1.00	0.33	0.86	0.03	1.00	1.12	0.34	2.13	0.09

R_a , autotrophic respiration rate; R_h , heterotrophic respiration rate.

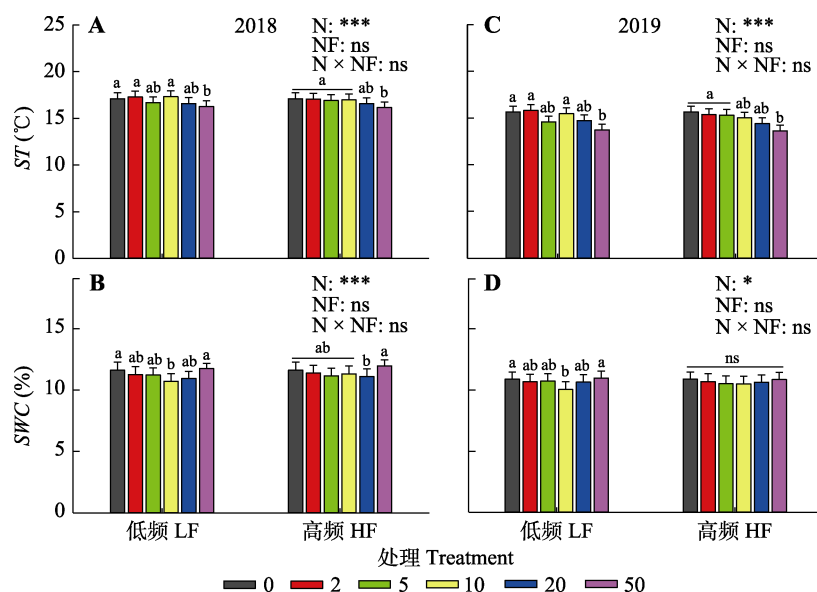


图1 2018和2019年氮添加量和施氮频率对表层(0–10 cm)土壤温度(ST)(A、C)和土壤水分含量(SWC)(B、D)的影响。图中数据为平均值±标准误差。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20、50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。图中给出了氮添加量(N)、施氮频率(NF)及其交互作用($N \times NF$)对土壤温度和含水量的差异显著性检验结果(***, $p < 0.001$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$)。图中的小写字母代表不同氮添加量处理间的差异显著性, 相同字母表示无显著差异($p > 0.05$), 不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 1 Changes in soil temperature (ST)(A, C) and soil water content (SWC)(B, D) in 0–10 cm surface soil layer under different N addition amount and frequency treatments in 2018 and 2019. Data are mean \pm SE. The different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The ANOVA results were shown in the figure to address the significance of effects of N addition amount (N), frequency (NF) and their interactions ($N \times NF$) on the parameters (***, $p < 0.001$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$). The lowercase letters in the figure represent the significance among different nitrogen addition treatments. The same letter means no significance ($p > 0.05$), while different letters mean significant differences ($p < 0.05$). HF, N addition with high frequency; LF, N addition with low frequency.

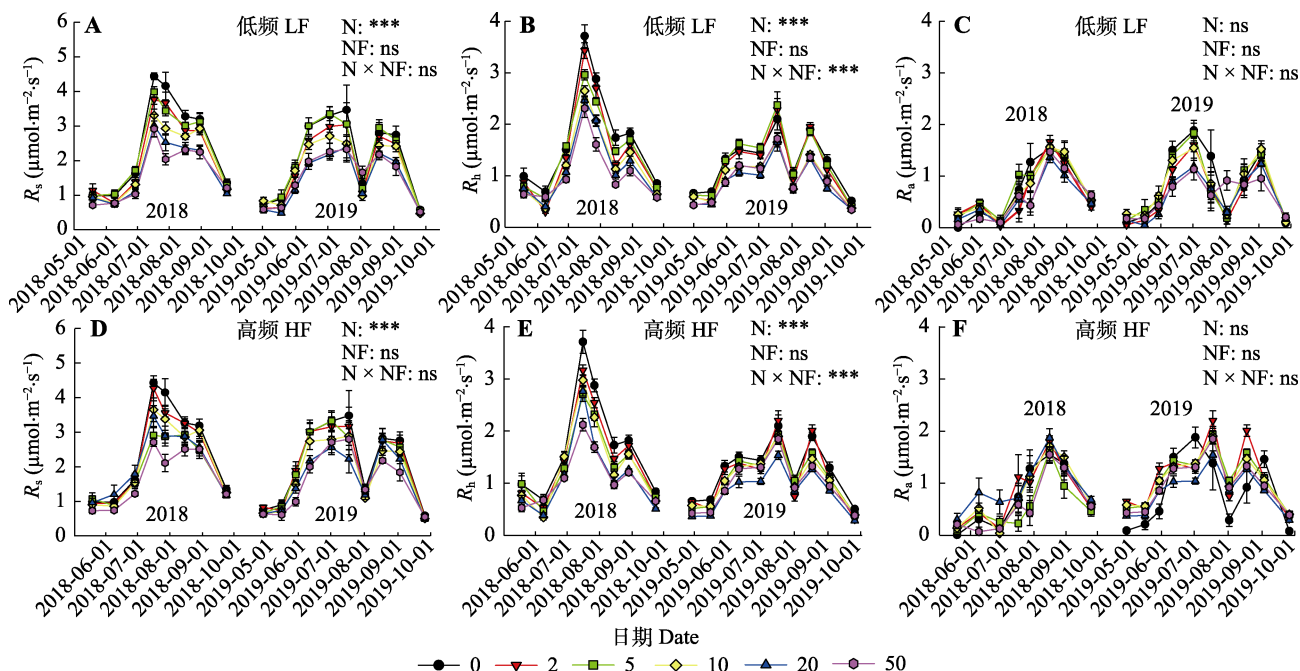


图2 2018和2019年不同氮添加量和施氮频率处理下土壤呼吸速率(R_s)及其异养(R_h)和自养(R_a)组分的季节和年际动态(平均值±标准误差)。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20、50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。图中给出了氮添加量(N)、施氮频率(NF)及其交互作用($N \times NF$)对土壤呼吸及其组分的差异显著性检验结果(***, $p < 0.001$; ns, $p > 0.05$)。

Fig. 2 Inter- and intra-annual variations in soil respiration rate (R_s) and its heterotrophic (R_h) and autotrophic (R_a) components under different N addition amount and frequency treatments in 2018 and 2019 (mean \pm SE). The different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The ANOVA results were shown in the figure to address the significance of effects of N addition amount (N), frequency (NF) and their interactions ($N \times NF$) on the parameters (***, $p < 0.001$; ns, $p > 0.05$). HF, N addition with high frequency; LF, N addition with low frequency.

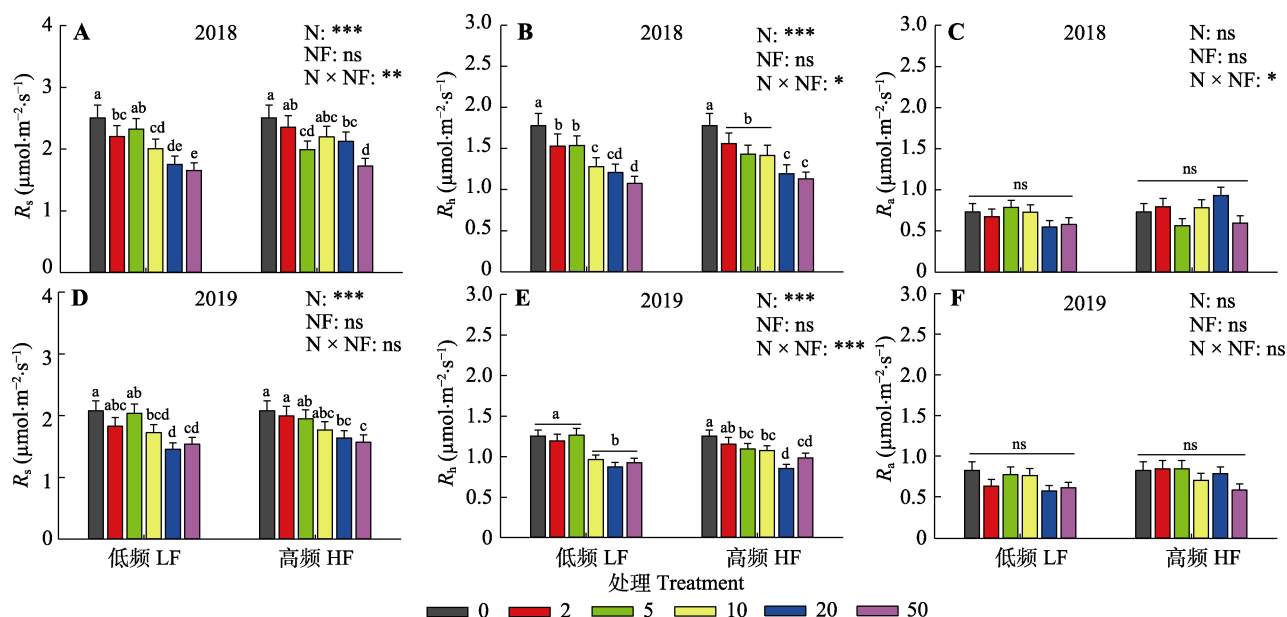


图3 2018和2019年氮添加量和施氮频率对土壤呼吸速率(R_s)及其异养(R_h)和自养(R_a)组分季节平均值的影响。图中数据为平均值 \pm 标准误差。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20、50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。图中给出了氮添加量(N)、施氮频率(NF)及其交互作用($N \times NF$)对土壤呼吸及其组分的差异显著性检验结果(***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$)。图中的小写字母代表不同氮添加量处理间的差异显著性, 相同字母表示无显著差异($p > 0.05$), 不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 3 Seasonal mean values of soil respiration rate (R_s) and its heterotrophic (R_h) and autotrophic (R_a) components under different N addition amount and frequency treatments in 2018 and 2019. Data are mean \pm SE. The different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The ANOVA results were shown in the figure to address the significance of effects of N addition amount (N), frequency (NF) and their interactions ($N \times NF$) on the parameters (***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$). The lowercase letters in the figure represent the significance among different nitrogen addition treatments. The same letter means no significance ($p > 0.05$), while different letters mean significant differences ($p < 0.05$). HF, N addition with high frequency; LF, N addition with low frequency.

HF条件下 R_a 与土壤pH之间没有显著相关关系外, R_s 及其组分与土壤pH之间表现出显著的正相关关系(图4G–4I)。

氮添加量和施氮频率对 R_s 和 R_h 的温度敏感性均无显著影响(图5A、5B)。随着氮添加量的增加, R_s 和 R_h 的水分敏感性下降(图5C、5D)。并在5–10 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加量处理下出现显著降低($p < 0.01$, 图5C、5D)。但是, 施氮频率对 R_s 和 R_h 的水分敏感性没有显著影响($p > 0.05$, 图5C、5D)。

2.4 土壤呼吸速率及其组分与植被地上净初级生产力和土壤微生物之间的关系

无论是在LF还是HF条件下, R_s 及其组分与ANPP之间均呈现显著的负相关关系(图6A–6C)。 R_s 及其组分与土壤微生物生物量之间的相关分析表明, R_s 和 R_h 仅在LF处理下与土壤微生物生物量间表现出显著的线性正相关关系, 而在HF处理下并无显著的相关关系(图6D、6E)。无论是在LF还是HF处理下, R_a 与土壤微生物生物量之间关系均不显著

(图6F)。与土壤微生物生物量相比, R_s 及其组分与F/B之间表现出更紧密的关系。无论是在LF还是在HF处理下, R_s 和 R_h 均与F/B呈现出显著的线性正相关关系(图6G、6H); 而 R_a 与F/B无显著相关关系(图6I)。

3 讨论

3.1 长期氮添加对土壤呼吸速率及其组分的影响

氮是内蒙古半干旱草原生产力和碳交换过程的主要限制因子(Bai *et al.*, 2010)。本研究发现随着氮添加量的增加, R_s 显著下降(图3), 相同的结果在高寒草甸(Wang *et al.*, 2019c)和黄土高原半干旱草原(Wei *et al.*, 2018)中同样被报道。但是氮添加对 R_s 无显著影响(Fu *et al.*, 2015)或有促进作用(Zhou *et al.*, 2014, 2016)的结果也多次被报道。通过比较发现, 氮添加对 R_s 的正作用通常多出现在森林生态系统或短期的氮添加实验中(Zhou *et al.*, 2014; Fu *et al.*, 2015; Luo *et al.*, 2016)。而随着氮处理时间的延长,

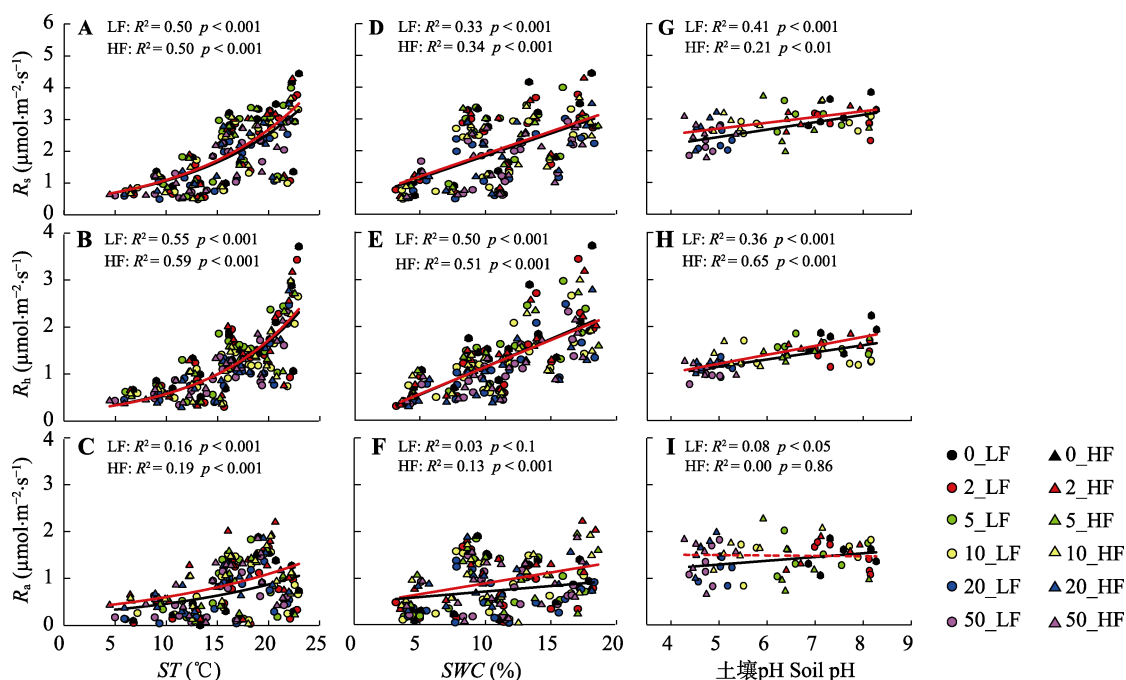


图4 土壤呼吸速率(R_s)及其异养(R_h)和自养(R_a)组分与土壤温度(ST)、土壤水分含量(SWC)和土壤pH之间的相关关系。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20和50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。圆形图标和黑色拟合线代表低频氮添加(LF)处理, 三角形图标和红色拟合线代表高频氮添加(HF)处理。实线代表相关关系显著($p < 0.1$), 虚线代表相关关系不显著($p > 0.1$)。

Fig. 4 Relationships between soil respiration rate (R_s) and its heterotrophic (R_h) and autotrophic (R_a) component with soil temperature (ST), soil water content (SWC) and soil pH value. Different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The circle sign and black line represent the low frequency N addition (LF) treatment, and the triangle sign and red line indicate the high frequency N addition (HF) treatment. The solid line represents marginally significant relation ($p < 0.1$) and the dash line represents insignificant relation ($p > 0.1$).

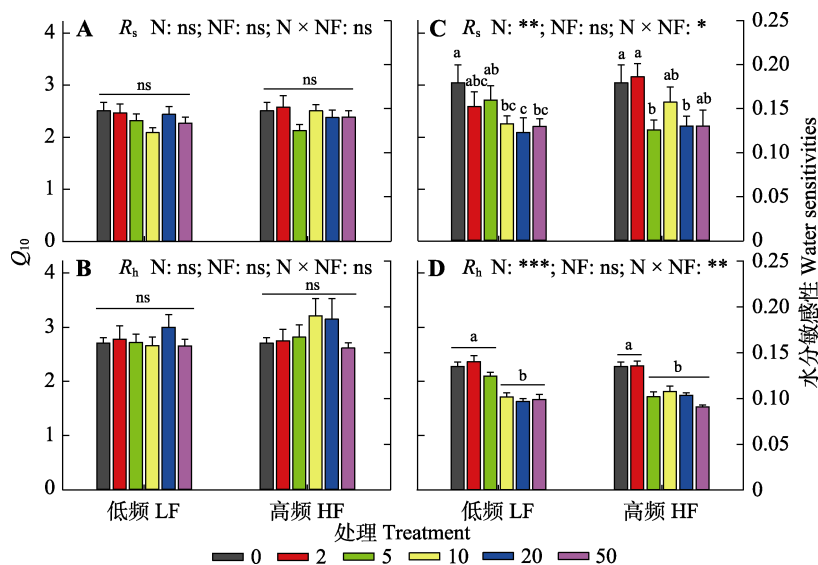


图5 不同氮添加量和施氮频率对土壤呼吸速率(R_s)及其异养呼吸组分(R_h)温度敏感性(Q_{10})(A、B)和水分敏感性(C、D)的影响。图中数据为平均值 \pm 标准误差。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20和50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。图中给出了氮添加量(N)、施氮频率(NF)及其交互作用($N \times NF$)对温度和水分敏感性影响的显著性检验结果(***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$)。图中的小写字母代表不同氮添加量处理间的差异显著性, 相同字母表示无显著差异($p > 0.05$), 不同字母表示显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 5 Changes in temperature (Q_{10} , A, B) and water (C, D) sensitivities of soil respiration (R_s) and its heterotrophic component (R_h) under different nitrogen addition amount and frequency treatments. Data are mean \pm SE. The different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The ANOVA results were shown in the figure to address the significance of effects of N addition amount (N), frequency (NF) and their interactions ($N \times NF$) on the parameters (***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$). The lowercase letters in the figure represent the significance among different nitrogen addition treatments. The same letter means no significance ($p > 0.05$), while different letters mean significant differences ($p < 0.05$). HF, N addition with high frequency; LF, N addition with low frequency.

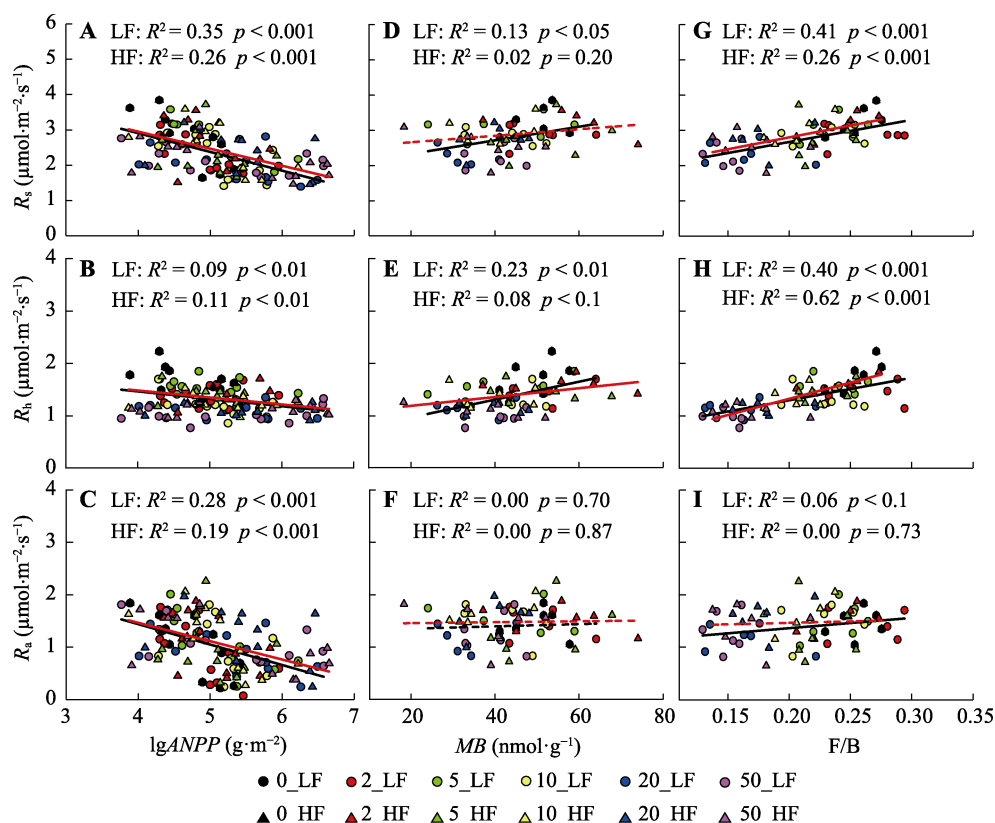


图6 土壤呼吸速率(R_s)及其异养(R_h)和自养(R_a)组分与地上净初级生产力(ANPP), 土壤微生物生物量(MB)和真菌/细菌比(F/B)之间的相关关系。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20、50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加处理。圆形图标和黑色拟合线代表低频氮添加(LF)处理, 三角形图标和红色拟合线代表高频氮添加(HF)处理。实线代表相关关系显著($p < 0.1$), 虚线代表相关关系不显著($p > 0.1$)。

Fig. 6 Relationships between soil total respiration and its components with aboveground net primary productivity (ANPP), soil microbial biomass (MB) and fungal biomass/bacterial biomass ratio (F/B). The different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$, respectively. The circle sign and black line represent the low frequency N addition (LF) treatment, and the triangle sign and red line indicate the high frequency N addition (HF) treatment. The solid line represents marginally significant relation ($p < 0.1$) and the dash line represents insignificant relation ($p > 0.1$).

R_s 对氮添加的正响应会逐渐减弱, 并转变成负响应(Zhou *et al.*, 2014, 2016)。这主要是因为是在实验处理初期, 氮添加主要表现出对植物生长的促进作用, 但随着处理时间的延长, 氮添加所导致的土壤pH下降对植物和土壤微生物的负面作用逐渐增强(Janssens *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2019)。本研究 R_s 的测定是在氮添加处理的第11和12年进行的, 历经了10年氮添加处理后, 土壤pH显著降低, 氮添加对 R_s 的抑制作用十分明显, 特别是当氮添加量大于10 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 时, R_s 显著降低了近22.9%。Bai等(2010)在本区域的长期氮添加实验研究表明, 10.5 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮添加量是影响内蒙古半干旱草原土壤氮有效性显著增加的关键阈值。

R_s 对氮添加响应的强度和方向取决于 R_h 和 R_a 两个组分的响应, 本研究中氮添加显著降低了 R_h , 对 R_a 并无显著影响。氮添加并没有影响 R_h 对 R_s 的贡献

比例, R_h 平均占 R_s 的62%, 这与本区域其他研究结果(Zhang *et al.*, 2016a, 2019)一致。大部分陆地生态系统的生产力是受氮限制的, 通常氮添加会通过提高土壤氮可利用性而促进植物生长, 增加植物自养呼吸(Chen *et al.*, 2015b)。但土壤氮限制缓解的同时也会改变植物的地上地下碳分配策略, 减少植物对地下根系的碳分配比例, 该实验平台的研究表明在氮添加处理的第6和第7年, 氮添加使得ANPP增加了45%–53%, 但导致地下净初级生产力(BNPP)平均下降了40%–47% (Wang *et al.*, 2019a)。这可能是本研究中 R_a 对氮添加处理缺乏响应的原因。一项全球氮添加实验的meta分析表明, 氮添加会显著降低根系生物量和周转速率, 但对根系现存量没有影响(Peng *et al.*, 2017), 由于 R_a 主要来自于现存根系呼吸, 这可以进一步解释为什么本研究中 R_a 对氮添加处理没有显著响应。

本研究中 R_s 对氮添加的响应主要取决于其 R_h 的变化,随着氮添加量的增加, R_h 显著降低(图3)。在寒旱草甸(Wang *et al.*, 2019c)和黄土高原半干旱草地(Wei *et al.*, 2018)也有同样发现。本研究发现 R_h 对氮添加量非常敏感,在低浓度的氮添加量($2 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)处理下就出现显著的下降,而这一氮添加量接近当地大气氮沉降量 $1.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (Giese *et al.*, 2013)。 R_h 对氮添加的负响应主要有以下几个原因。首先,地下碳分配比例的下降减少了根际分泌物,降低了土壤有机质的降解(Janssens *et al.*, 2010)。根际是植物-微生物碳交换的重要界面,而根际分泌物是微生物分解底物的重要来源。地下碳输入量的下降会显著降低土壤微生物有机碳降解速率。本研究中土壤呼吸测定年份并没有进行BNPP的测量,但氮添加处理早期的数据已表明植物将更多的碳分配至地上,BNPP显著降低(Wang *et al.*, 2019a)。因此本研究中土壤呼吸及其组分与ANPP之间显著的负相关关系可能是由于氮沉降促进植物地上生长,而减少向地下的碳分配,抑制植物根系生长,进而导致土壤呼吸速率降低(图5)。第二,氮添加显著降低了土壤微生物生物量和活性,改变土壤微生物群落结构和功能。多个氮添加实验集成分析研究均表明,土壤氮有效性的提高显著降低了土壤微生物生物量(Janssens *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2017)。这一方面是因为氮供给增加使得土壤氮同化所需能量降低(Bowden *et al.*, 2004),另一方面是因为氮添加导致土壤pH值降低,有害金属离子富集(Tian & Niu, 2015),限制了微生物生长和活性(Treseder, 2008; Chen *et al.*, 2019)。氮添加不仅降低土壤微生物生物量,还会改变微生物群落结构(Chen *et al.*, 2015a; Bowden *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2020)。本研究中,长期氮添加导致土壤pH显著下降,由对照处理下的7.55下降至高氮添加处理下的4.72,降低了近37.5%。氮添加不但显著降低了土壤细菌和真菌的生物量,同时还降低了微生物的F/B(附录I)。而土壤总呼吸及其异养组分均与土壤pH、土壤微生物生物量和F/B表现出显著的线性正相关关系(图4, 图5)。第三,氮添加通过改变植被生产力和群落结构,影响土壤微环境。本研究表明氮添加显著增加了植被高度和生物量,并通过降低地表辐射强度和减少植物蒸腾作用,降低了表层土壤温度和含水量(图1)。但在高氮添加处理下,土壤含水量出现了显著回升,

这主要是大量的氮输入提高了植物盖度,降低了土壤温度,使得土壤水分蒸发作用下降。与以往研究(Zhou *et al.*, 2014)相似,在本研究中土壤温度和水分是调控土壤呼吸及其组分变化的重要环境因子,随着土壤温度和含水量的增加, R_s 和 R_h 均显著提高。此外,氮添加显著降低了 R_s 和 R_h 的水分敏感性,这主要与氮添加导致的土壤微生物生物量的下降有关。降低的微生物生物量及其活性限制了 R_s 和 R_h 对土壤水分变化的响应(Zhang *et al.*, 2019)。

3.2 施氮频率对土壤呼吸速率及其组分的影响

大气氮沉降是持续而缓慢的氮添加过程,而大多数模拟氮沉降实验研究是通过生长季少次脉冲式的氮添加处理进行的(Bai *et al.*, 2015; Fang *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019c),不同的氮添加模式和频次会影响生态系统结构和功能对氮添加的响应(Tu *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014)。本平台已有的研究表明,在氮添加处理早期,不同施氮频率对植物地上生产力并没有显著影响,而对物种多样性、地下生产力和土壤微生物群落的影响是显著的(Zhang *et al.*, 2016b; Wang *et al.*, 2019a; Cao *et al.*, 2020)。Zhang等(2016b)对氮添加处理前5年的研究发现随着氮添加量的增加,植物物种多样性显著降低,而与HF(每年12次)相比,LF(每年2次)处理导致物种多样性丧失的速率更快,这主要是因为LF处理下较高的氨态氮浓度限制了新物种的定植。Wang等(2019b)在氮添加处理的第5–7年的研究表明,虽然不同施氮频率并未显著影响植被ANPP,但LF显著降低了BNPP,特别是在低氮添加量处理下。Cao等(2020)对施氮后第6和7年的研究表明,HF会显著减弱氮添加处理对植物和土壤细菌多样性的负作用。本研究在氮添加处理第11和12年进行测定,我们并未发现不同施氮频率对土壤呼吸及其组分影响有显著差别,而同期两种施氮频率下植物生产力、土壤微生物生物量、土壤细菌和真菌生物量以及F/B均没有显著的差异(附录I, 附录II)。这表明随着氮添加处理时间的延长,不同施氮频率对植物和微生物群落生产力和结构的影响逐渐减弱。因为随着土壤中可利用氮的不断积累,造成土壤酸化和有毒离子的积累,生态系统逐渐呈现出氮饱和的状态(Tian *et al.*, 2016),进而逐步削弱了不同施氮频率对生态系统影响的差别。本研究的HF处理虽然尽可能地提高了氮添加频次,但与缓慢持续的大气氮沉降

过程仍存在较大差别,使得我们在研究生态系统结构和功能对大气氮沉降的响应过程中仍存在很大不确定性。随着氮添加手段的改进,如采用具亲水性包衣的缓释尿素等,可以更精确地模拟大气氮沉降特别是湿沉降的过程,为准确模拟大气氮沉降对生态系统碳氮循环过程的影响提供了可能。

综上所述,历经了10年的氮添加处理后,随着氮添加量的增加,内蒙古半干旱草原土壤呼吸速率显著降低。土壤呼吸对氮添加的负响应主要是由其异养组分的下降决定的,而自养呼吸组分并无明显变化。不同氮添加频率并未显著影响土壤呼吸及其组分对氮添加处理的响应。以上结果表明,随着氮添加处理时间的延长,氮添加对土壤地下碳循环过程的抑制作用仍然非常明显,特别是异养呼吸组分的下降导致土壤有机碳分解速率降低,有助于土壤有机碳库稳定性的维持。但同时植物光合产物向地下分配的比例也显著降低,减少了根系分泌物和凋落物碳的输入,因此评估氮沉降对草原土壤碳库稳定性的影响,还需要长期的、更全面的地上-地下碳交换过程的研究。长期处理后施氮频率影响效应的减弱表明,对于目前已有的处理时间较长(大于10年)的低频氮添加实验来说,长期的监测数据可以为评估自然生态系统结构和功能对大气氮沉降的响应提供较为可靠的参考。

参考文献

- Allison SD, Czimczik CI, Treseder KK (2008). Microbial activity and soil respiration under nitrogen addition in Alaskan boreal forest. *Global Change Biology*, 14, 1156–1168.
- ArchMiller A, Samuelson L (2016). Partitioning longleaf pine soil respiration into its heterotrophic and autotrophic components through root exclusion. *Forests*, 7, 1–13.
- Bai TS, Wang P, Hall SJ, Wang FW, Ye CL, Li Z, Li SJ, Zhou LY, Qiu YP, Guo JX, Guo H, Wang Y, Hu SJ (2020). Interactive global change factors mitigate soil aggregation and carbon change in a semi-arid grassland. *Global Change Biology*, 26, 5320–5332.
- Bai WM, Guo DL, Tian QY, Liu NN, Cheng WX, Li LH, Zhang WH (2015). Differential responses of grasses and forbs led to marked reduction in below-ground productivity in temperate steppe following chronic N deposition. *Journal of Ecology*, 103, 1570–1579.
- Bai YF, Wu JG, Clark CM, Naeem S, Pan QM, Huang JH, Zhang LX, Han XG (2010). Tradeoffs and thresholds in the effects of nitrogen addition on biodiversity and ecosystem functioning: evidence from Inner Mongolia grasslands. *Global Change Biology*, 16, 358–372.
- Bond-Lamberty B, Bailey VL, Chen M, Gough CM, Vargas R (2018). Globally rising soil heterotrophic respiration over recent decades. *Nature*, 560, 80–83.
- Bond-Lamberty B, Thomson A (2010). A global database of soil respiration data. *Biogeosciences*, 7, 1915–1926.
- Bond-Lamberty B, Wang C, Gower ST (2004). A global relationship between the heterotrophic and autotrophic components of soil respiration? *Global Change Biology*, 10, 1756–1766.
- Bowden RD, Davidson E, Savage K, Arabia C, Steudler P (2004). Chronic nitrogen additions reduce total soil respiration and microbial respiration in temperate forest soils at the Harvard Forest. *Forest Ecology and Management*, 196, 43–56.
- Bowden RD, Wurzbacher SJ, Washko SE, Wind L, Rice AM, Coble AE, Baldauf N, Johnson B, Wang JJ, Simpson M, Lajtha K (2019). Long-term nitrogen addition decreases organic matter decomposition and increases forest soil carbon. *Soil Science Society of America Journal*, 83, 82–95.
- Cao JR, Pang S, Wang QB, Williams MA, Jia X, Dun SS, Yang JJ, Zhang YH, Wang J, Lü XT, Hu YC, Li LH, Li YC, Han XG (2020). Plant-bacteria-soil response to frequency of simulated nitrogen deposition has implications for global ecosystem change. *Functional Ecology*, 34, 723–734.
- Chen DM, Lan ZC, Hu SJ, Bai YF (2015a). Effects of nitrogen enrichment on belowground communities in grassland: relative role of soil nitrogen availability vs. soil acidification. *Soil Biology & Biochemistry*, 89, 99–108.
- Chen DM, Li JJ, Lan ZC, Hu SJ, Bai YF (2016). Soil acidification exerts a greater control on soil respiration than soil nitrogen availability in grasslands subjected to long-term nitrogen enrichment. *Functional Ecology*, 30, 658–669.
- Chen DM, Xing W, Lan ZC, Saleem M, Wu YQQG, Hu SJ, Bai YF (2019). Direct and indirect effects of nitrogen enrichment on soil organisms and carbon and nitrogen mineralization in a semi-arid grassland. *Functional Ecology*, 33, 175–187.
- Chen H, Li DJ, Gurmesa GA, Yu GR, Li LH, Zhang W, Fang HJ, Mo JM (2015b). Effects of nitrogen deposition on carbon cycle in terrestrial ecosystems of China: a meta-analysis. *Environmental Pollution*, 206, 352–360.
- Chen J, Groenigen KJ, Hungate BA, Terrer C, Groenigen JW, Maestre FT, Ying S, Luo YQ, Jorgensen U, Sinsabaugh RL, Olesen JE, Elsgaard L (2020). Long-term nitrogen loading alleviates phosphorus limitation in terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 9, 5077–5086.
- Chen ZM, Xu YH, He YJ, Zhou XH, Fan JL, Yu HY, Ding

- WX (2018). Nitrogen fertilization stimulated soil heterotrophic but not autotrophic respiration in cropland soils: a greater role of organic over inorganic fertilizer. *Soil Biology & Biochemistry*, 116, 253–264.
- Chen ZZ, Wang SP (2000). *Typical Steppe Ecosystems of China*. Science Press, Beijing. [陈佐忠, 汪诗平 (2000). 中国典型草原生态系统. 科学出版社, 北京.]
- Clark CM, Tilman D (2008). Loss of plant species after chronic low-level nitrogen deposition to prairie grasslands. *Nature*, 451, 712–715.
- Cox PM, Betts RA, Jones CD, Spall SA, Totterdell IJ (2000). Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature*, 408, 184–187.
- Craine JM, Wedin DA, Reich PB (2001). The response of soil CO₂ flux to changes in atmospheric CO₂, nitrogen supply and plant diversity. *Global Change Biology*, 7, 945–953.
- Fang C, Li FM, Pei JY, Rena J, Gong YH, Yuan ZG, Ke WB, Zheng Y, Bai XK, Ye JS (2018). Impacts of warming and nitrogen addition on soil autotrophic and heterotrophic respiration in a semi-arid environment. *Agricultural and Forest Meteorology*, 248, 449–457.
- Fang C, Ye JS, Gong YH, Pei JY, Yuan ZQ, Xie C, Zhu YS, Yu YY (2017). Seasonal responses of soil respiration to warming and nitrogen addition in a semi-arid alfalfa-pasture of the Loess Plateau, China. *Science of the Total Environment*, 590, 729–738.
- Fornara DA, Tilman D (2012). Soil carbon sequestration in prairie grasslands increased by chronic nitrogen addition. *Ecology*, 93, 2030–2036.
- Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E (2011). Use the misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 1621–1625.
- Fu Z, Niu SL, Dukes JS (2015). What have we learned from global change manipulative experiments in China? A meta-analysis. *Scientific reports*, 5, 12344. DOI: 10.1038/srep12344.
- Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG, Boyer EW, Howarth RW, Seitzinger SP, Asner GP, Cleveland CC, Green PA, Holland EA, Karl DM, Michaels AF, Porter JH, Townsend AR, Vörösmarty CJ (2004). Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 70, 153–226.
- Galloway JN, Townsend AR, Jan Willem E, Masteete B, Zucong C, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320, 889–892.
- Giese M, Brueck H, Gao Y, Lin S, Steffens M, Kögelknabner I, Glindemann T, Susenbeth A, Taube F, Butterbachbahl K (2013). Data from: N balance and cycling of Inner Mongolia typical steppe—A comprehensive case study of grazing effects. *Ecological Monographs*, 83, 195–219.
- Hanson PJ, Edwards NT, Garten CT, Andrews JA (2000). Separating root and soil microbial contributions to soil respiration—A review of methods and observations. *Biogeochemistry*, 48, 115–146.
- Hasselquist NJ, Metcalfe DB, Höglberg P (2012). Contrasting effects of low and high nitrogen additions on soil CO₂ flux components and ectomycorrhizal fungal sporocarp production in a boreal forest. *Global Change Biology*, 18, 3596–3605.
- Janssens IA, Dieleman W, Luyssaert S, Subke JA, Reichstein M, Ceulemans R, Ciais P, Dolman AJ, Grace J, Matteucci G (2010). Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature Geoscience*, 3, 315–322.
- Jia XX, Shao MA, Wei XR (2012). Responses of soil respiration to N addition, burning and clipping in temperate semiarid grassland in northern China. *Agricultural and Forest Meteorology*, 166, 32–40.
- Lee KH, Jose S (2003). Soil respiration, fine root production, and microbial biomass in cottonwood and loblolly pine plantations along a nitrogen fertilization gradient. *Forest Ecology and Management*, 185, 263–273.
- Li YL, Hong M, Bai WM, Han GD, Wang HM, Zhou M (2015). The responses of soil respiration to water and nitrogen in *Stipa breviflora* steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 35, 1727–1733. [李寅龙, 红梅, 白文明, 韩国栋, 王海明, 周萌 (2015). 水、氮控制对短花针茅草原土壤呼吸的影响. 生态学报, 35, 1727–1733.]
- Liang LZ, Chen F, Han HR, Zhang YR, Zhu J, Niu SK (2019). Pathways regulating decreased soil respiration with nitrogen addition in a subtropical forest in China. *Water Air and Soil Pollution*, 230, 91–100.
- Liu W, Lu XT, Xu WF, Shi HQ, Hou LY, Li LH, Yuan WP (2018). Effects of water and nitrogen addition on ecosystem respiration across three types of steppe: the role of plant and microbial biomass. *Science of the Total Environment*, 619, 103–111.
- Liu XJ, Zhang Y, Han WX, Tang AH, Shen JL, Cui ZL, Vitousek P, Erisman JW, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang FS (2013). Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, 494, 459–462.
- Lovett GM, Cole JJ, Pace ML (2006). Is net ecosystem production equal to ecosystem carbon accumulation? *Ecosystems*, 9, 152–155.
- Luca B, Chris F, Timothy J, HaKan R, Juul L, Nathalie F, Tim E, Renato G, Michal H, Tomás H (2006). Atmospheric nitrogen deposition promotes carbon loss from peat bogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 19386–19389.
- Luo QP, Gong JR, Zhai ZW, Pan Y, Liu M, Xu S, Wang YH, Yang LL, Baoyin TT (2016). The responses of soil respiration to nitrogen addition in a temperate grassland in northern China. *Science of the Total Environment*, 569,

- 1466–1477.
- Ma SY, Verheyen K, Props R, Wasof S, Vanhellefont M, Boeckx P, Boon N, de Frenne P (2018). Plant and soil microbe responses to light, warming and nitrogen addition in a temperate forest. *Functional Ecology*, 32, 1293–1303.
- Masciandaro G, Macci C, Peruzzi E, Doni S (2018). Soil carbon in the world: ecosystem services linked to soil carbon in forest and agricultural soils//Garcia C, Nannipieri P, Hernandez T. *Future of Soil Carbon Its Conservation and Formation*. Academic Press, London. 1–38.
- Mo JM, Zhang W, Zhu WX, Gundersen P, Fang Y, Li D, Wang H (2008). Nitrogen addition reduces soil respiration in a mature tropical forest in southern China. *Global Change Biology*, 14, 403–412.
- Niu SL, Wu MY, Han Y, Xia JY, Li LH, Wan SQ (2008). Water-mediated responses of ecosystem carbon fluxes to climatic change in a temperate steppe. *New Phytologist*, 177, 209–219.
- Niu SL, Wu MY, Han Y, Xia JY, Zhang Z, Yang HJ, Wan SQ (2010). Nitrogen effects on net ecosystem carbon exchange in a temperate steppe. *Global Change Biology*, 16, 144–155.
- Peng YF, Guo DL, Yang YH (2017). Global patterns of root dynamics under nitrogen enrichment. *Global Ecology and Biogeography*, 26, 102–114.
- Raich JW, Schlesinger WH (1992). The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 44, 81–99.
- Scharlemann JPW, Tanner EVJ, Hiederer R, Kapos V (2014). Global soil carbon: understanding and managing the largest terrestrial carbon pool. *Carbon Management*, 5, 81–91.
- Shan D, Han GD, Zhao ML, Wang Z, Han X, Gao FG (2009). The effects of experimental warming and nitrogen addition on soil respiration in desert steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 23, 106–112. [珊丹, 韩国栋, 赵萌莉, 王珍, 韩雄, 高福光 (2009). 控制性增温和施氮对荒漠草原土壤呼吸的影响. 干旱区资源与环境, 23, 106–112.]
- Shi BK, Xu WL, Zhu Y, Wang CL, Loik ME, Sun W (2019). Heterogeneity of grassland soil respiration: antagonistic effects of grazing and nitrogen addition. *Agricultural and Forest Meteorology*, 268, 215–223.
- Smith MD, Knapp AK, Collins SL (2009). A framework for assessing ecosystem dynamics in response to chronic resource alterations induced by global change. *Ecology*, 90, 3279–3289.
- Song J, Wan SQ, Piao SL, Knapp AK, Classen AT, Vicca S, Ciais P, Hovenden MJ, Leuzinger S, Beier C, Kardol P, Xia JY, Liu Q, Ru JY, Zhou ZX, et al. (2019). A meta-analysis of 1,119 manipulative experiments on terrestrial carbon-cycling responses to global change. *Nature Ecology & Evolution*, 3, 1309–1320.
- Tian DS, Niu SL (2015). A global analysis of soil acidification caused by nitrogen addition. *Environmental Research Letters*, 10, 1–10.
- Tian DS, Wang H, Sun J, Niu SL (2016). Global evidence on nitrogen saturation of terrestrial ecosystem net primary productivity. *Environmental Research Letters*, 11, 024012. DOI: 10.1088/1748-9326/11/2/024012.
- Treseder KK (2008). Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, 11, 1111–1120.
- Tu LH, Hu TX, Zhang J, Li XW, Hu HL, Liu L, Xiao YL (2013). Nitrogen addition stimulates different components of soil respiration in a subtropical bamboo ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*, 58, 255–264.
- Wang J, Gao YZ, Zhang YH, Yang JJ, Smith MD, Knapp AK, Eissenstat DM, Han XG (2019a). Asymmetry in above- and belowground productivity responses to N addition in a semi-arid temperate steppe. *Global Change Biology*, 25, 2958–2969.
- Wang JB, Fu XL, Zhang Z, Li MH, Cao HJ, Zhou XL, Ni HW (2019b). Responses of soil respiration to nitrogen addition in the Sanjiang Plain wetland, northeastern China. *PLOS ONE*, 14, e0211456. DOI: 10.1371/journal.pone.0211456.
- Wang JS, Song B, Ma FF, Tian DS, Li Y, Yan T, Quan Q, Zhang FY, Li ZL, Wang BX, Gao Q, Chen WN, Niu SL (2019c). Nitrogen addition reduces soil respiration but increases the relative contribution of heterotrophic component in an alpine meadow. *Functional Ecology*, 33, 2239–2253.
- Wei L, Liu J, Su JH, Jing GH, Zhao J, Cheng JM, Jin JW (2016). Effect of clipping on soil respiration components in temperate grassland of Loess Plateau. *European Journal of Soil Biology*, 75, 157–167.
- Wei L, Su JS, Jing GH, Zhao J, Liu J, Cheng JM, Jin JW (2018). Nitrogen addition decreased soil respiration and its components in a longterm fenced grassland on the Loess Plateau. *Journal of Arid Environments*, 152, 37–44.
- Xiao H, Wang B, Lu SB, Chen DM, Wu Y, Zhu YH, Hu SJ, Bai YF (2020). Soil acidification reduces the effects of short-term nutrient enrichment on plant and soil biota and their interactions in grasslands. *Global Change Biology*, 26, 4626–4637.
- Yan LM, Chen SP, Huang JH, Lin GH (2010). Differential responses of auto- and heterotrophic soil respiration to water and nitrogen addition in a semiarid temperate steppe. *Global Change Biology*, 16, 2345–2357.
- Yan WD, Chen XY, Peng YY, Zhu F, Zhen W, Zhang XY (2020). Response of soil respiration to nitrogen addition in two subtropical forest types. *Pedosphere*, 30, 478–486.

DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

- Yang Q, Wang W, Zeng H (2018). Effects of nitrogen addition on the plant diversity and biomass of degraded grasslands of Nei Mongol, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 430–441. [杨倩, 王妮, 曾辉 (2018). 氮添加对内蒙古退化草地植物群落多样性和生物量的影响. 植物生态学报, 42, 430–441.]
- Zeng WJ, Chen JB, Liu HY, Wang W (2018). Soil respiration and its autotrophic and heterotrophic components in response to nitrogen addition among different degraded temperate grasslands. *Soil Biology & Biochemistry*, 124, 255–265.
- Zhang BW, Li S, Chen SP, Ren TT, Yang ZQ, Zhao HL, Liang Y, Han XG (2016a). Arbuscular mycorrhizal fungi regulate soil respiration and its response to precipitation change in a semiarid steppe. *Scientific Reports*, 6, 19990. DOI: 10.1038/srep19990.
- Zhang BY, Li WJ, Chen SP, Tan XR, Wang SS, Chen ML, Ren TT, Xia JY, Huang JH, Han XG (2019). Changing precipitation exerts greater influence on soil heterotrophic than autotrophic respiration in a semiarid steppe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 271, 413–421.
- Zhang YH, Lü XT, Isbell F, Stevens C, Han X, He NP, Zhang GM, Yu Q, Huang JH, Han XG (2014). Rapid plant species loss at high rates and at low frequency of N addition in temperate steppe. *Global Change Biology*, 20, 3520–3529.
- Zhang YH, Stevens CJ, Lu XT, He NP, Huang JH, Han XG (2016b). Fewer new species colonize at low frequency N addition in a temperate grassland. *Functional Ecology*, 30, 1247–1256.
- Zhou JD, Shi RJ, Zhao F, Han SQ, Zhang Y (2016). Effects of the frequency and intensity of nitrogen addition on soil pH, the contents of carbon, nitrogen and phosphorus in temperate steppe in Inner Mongolia, China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 27, 2467–2476. [周纪东, 史荣久, 赵峰, 韩斯琴, 张颖 (2016). 施氮频率和强度对内蒙古温带草原土壤pH及碳、氮、磷含量的影响. 应用生态学报, 27, 2467–2476.]
- Zhou LY, Zhou XH, Shao JJ, Nie YY, He YH, Jiang LL, Wu ZT, Bai SH (2016). Interactive effects of global change factors on soil respiration and its components: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22, 3157–3169.
- Zhou LY, Zhou XH, Zhang BC, Lu M, Luo YQ, Liu LL, Bo L (2014). Different responses of soil respiration and its components to nitrogen addition among biomes: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 20, 2332–2343.
- Zhou XH, Wan SQ, Luo YQ (2007). Source components and interannual variability of soil CO₂ efflux under experimental warming and clipping in a grassland ecosystem. *Global Change Biology*, 13, 761–775.
- Zhou ZH, Wang CK, Luo YQ (2020). Meta-analysis of the impacts of global change factors on soil microbial diversity and functionality. *Nature Communications*, 11, 3072–3081.
- Zhou ZH, Wang CK, Zheng MH, Jiang LF, Luo YQ (2017). Patterns and mechanisms of responses by soil microbial communities to nitrogen addition. *Soil Biology & Biochemistry*, 115, 433–441.
- Zhu C, Ma YP, Wu HH, Sun T, La Pierre KJ, Sun ZW, Yu Q (2016). Divergent effects of nitrogen addition on soil respiration in a semiarid grassland. *Scientific Reports*, 6, 33541. DOI: 10.1038/srep33541.

责任编辑: 石培礼 编辑: 赵航

附录I 氮添加量和施氮频率对地上净初级生产力、土壤pH、土壤微生物生物量、细菌生物量、真菌生物量、真菌/细菌比的影响

Supplement I Effects of different nitrogen addition amount and frequency treatments on aboveground net primary productivity, soil pH, microbial biomass, bacterial biomass, fungal biomass and fungal biomass/bacterial biomass ratio
<https://www.plant-ecology.com/fileup/PDF/cjpe.2020-0171-S1.pdf>

附录II 氮添加量和施氮频率及其交互作用对地上净初级生产力、土壤pH、土壤微生物生物量、细菌生物量、真菌生物量和真菌/细菌比的影响

Supplement II Effects of nitrogen addition amount, nitrogen addition frequency and their interactions on aboveground net primary productivity, soil pH, microbial biomass, bacterial biomass, fungal biomass and fungal biomass/bacterial biomass ratio
<https://www.plant-ecology.com/fileup/PDF/cjpe.2020-0171-S2.pdf>

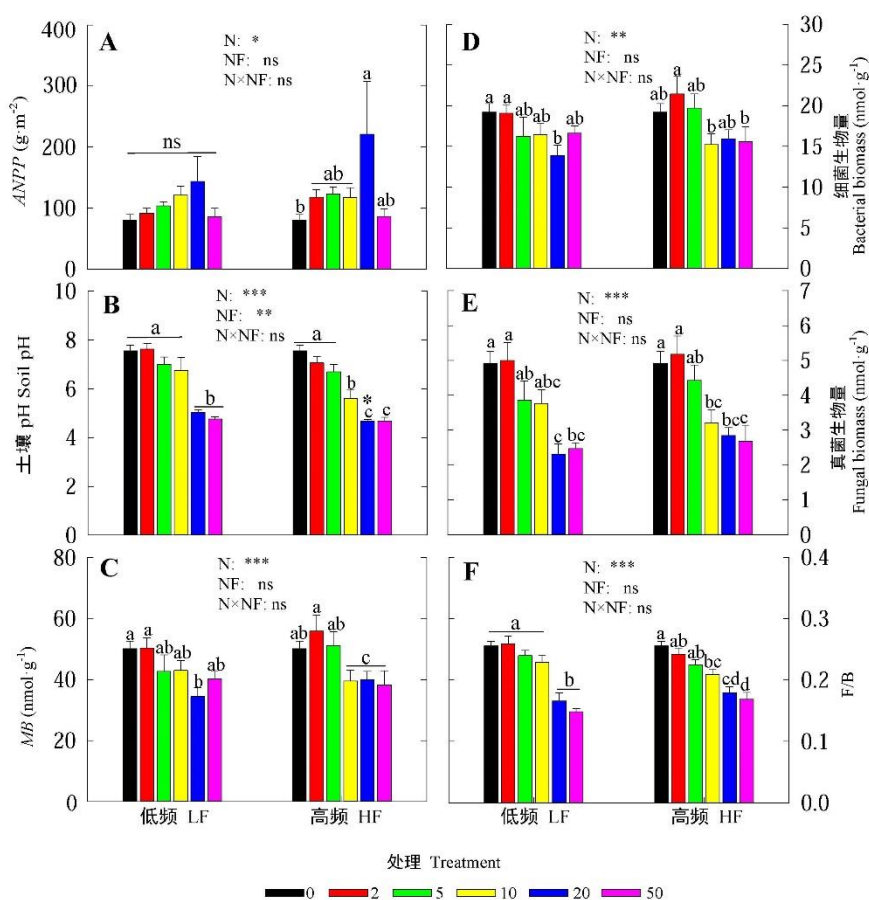
杨泽, 嘎玛达尔基, 谭星儒, 游翠海, 王彦兵, 杨俊杰, 韩兴国, 陈世苹 (2020). 氮添加量和施氮频率对温带半干旱草原土壤呼吸及组分的影响. 植物生态学报, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

Yang Z, GAMADAERJI, Tan XR, You CH, Wang YB, Yang JJ, Han XG, Chen SP (2020). Effects of nitrogen addition amount and frequency on soil respiration and its components in a temperate semiarid grassland. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

<http://www.plant-ecology.com/CN/10.17521/cjpe.2020.0171>

附录 I 氮添加量和施氮频率对地上净初级生产力(ANPP)(A)、土壤 pH (B)、土壤微生物生物量(MB)(C)、细菌生物量(D)、真菌生物量(E)、真菌/细菌比(F/B)(F)的影响。

Supplement I Effects of different nitrogen addition amount and frequency treatments on aboveground net primary productivity (ANPP)(A), soil pH (B), microbial biomass (MB)(C), bacterial biomass (D), fungal biomass (E) and fungal biomass/bacterial biomass ratio (F/B)(F).



图中数据为平均值±标准误差。图中不同颜色的图标分别代表0、2、5、10、20、50 g m⁻² a⁻¹氮添加处理。图中给出了氮添加量(N)、施氮频率(NF)及其交互作用(N × NF)的对地上净初级生产力、土壤 pH 和土壤微生物影响的显著性检验结果(***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$)。图柱上的小写字母代表不同氮添加量处理间的差异显著性, 相同字母表示无显著差异($p > 0.05$), 不同字母表示有显著差异($p < 0.05$)。图柱上的星号表示不同施氮频率处理影响的差异显著性(*, $p < 0.05$)。

Data are mean ± SE. Different color icons in the figure represent N addition treatments with 0, 2, 5, 10, 20, 50 g m⁻² a⁻¹, respectively. The ANOVA results were shown in the figure to address the significance of effects of N addition amount (N), frequency (F) and their interactions (N × F) on the parameters (***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$). The lowercase letters on the column represent the significance among different nitrogen addition treatments. The same letter means no significance ($p > 0.05$), while different letters mean significant differences ($p < 0.05$). The significant difference between low and high N addition frequency treatments were marked with an asterisk sign on the column (*, $p < 0.05$).

杨泽, 嘎玛达尔基, 谭星儒, 游翠海, 王彦兵, 杨俊杰, 韩兴国, 陈世苹 (2020). 氮添加量和施氮频率对温带半干旱草原土壤呼吸及组分的影响. 植物生态学报, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

Yang Z, GAMADAERJI, Tan XR, You CH, Wang YB, Yang JJ, Han XG, Chen SP (2020). Effects of nitrogen addition amount and frequency on soil respiration and its components in a temperate semiarid grassland. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 1059–1072. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0171

<http://www.plant-ecology.com/CN/10.17521/cjpe.2020.0171>

附录 II 氮添加量(N)和施氮频率(NF)及其交互作用(N × NF)对地上净初级生产力、土壤 pH、土壤微生物生物量、细菌生物量、真菌生物量和真菌/细菌比的影响

Supplement II Effects of nitrogen addition amount (N), nitrogen addition frequency (NF) and their interactions (N × NF) on aboveground net primary productivity (ANPP), soil pH, microbial biomass (MB), bacterial biomass, fungal biomass and fungal biomass/bacterial biomass ratio (F/B)

处理 Treatment	地上净初级 生产力 ANPP (g·m ⁻²)			土壤 pH Soil pH		土壤微生物 生物量 MB (nmol·g ⁻¹)		细菌生物量 Bacterial biomass (nmol·g ⁻¹)		真菌生物量 Fungal biomass (nmol·g ⁻¹)		真菌/细菌比 F/B	
	df	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
N	5	2.71	<0.05	37.74	<0.001	6.15	<0.001	4.25	<0.01	13.89	<0.001	30.14	<0.001
NF	1	1.51	0.22	8.26	<0.01	1.70	0.20	1.76	0.19	0.56	0.46	0.36	0.55
N × NF	4	0.55	0.70	1.11	0.36	1.18	0.33	1.26	0.30	0.69	0.60	1.83	0.14