



草地土壤有机质不同组分氮库对长期氮添加的响应

武运涛^{1,2} 杨森^{1,2} 王欣¹ 黄俊胜¹ 王斌^{1,2} 刘卫星¹ 刘玲莉^{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 土壤氮库对生态系统的养分循环至关重要。目前多数研究主要关注氮沉降对土壤总氮的影响, 而对土壤不同有机质组分的氮库对氮沉降响应的研究较为缺乏。该研究基于内蒙古典型草地的长期多水平施氮(0、8、32、64 g·m⁻²·a⁻¹)实验平台, 利用土壤密度分级方法, 探究氮添加处理13年后典型草地中两种土壤有机质组分(颗粒态有机质(POM), 矿质结合态有机质(MAOM))氮含量的变化及调控机制。结果显示: 土壤总碳含量、POM和MAOM的碳含量在施氮处理间均没有显著差异。土壤总氮含量则随着施氮水平增加呈显著增加的趋势, 同时施氮处理下POM的氮含量显著上升, 而MAOM的氮含量没有变化。进一步分析发现, 施氮促进植物地上生物量积累, 增加了凋落物量及其氮含量, 从而导致POM的氮含量增加。由于MAOM主要通过黏土矿物等吸附土壤中小分子有机质形成, 其氮含量受土壤中黏粒与粉粒含量影响, 而与氮添加水平无显著相关关系。该研究结果表明长期氮添加促进土壤氮库积累, 但增加的氮主要分布在稳定性较低的POM中, 受干扰后容易从生态系统中流失。为了更准确地评估和预测氮沉降对陆地生态系统的氮循环过程的影响, 应考虑土壤中不同有机质组分的差异响应。

关键词 氮添加; 氮含量; 颗粒态有机质; 矿质结合态有机质

武运涛, 杨森, 王欣, 黄俊胜, 王斌, 刘卫星, 刘玲莉 (2021). 草地土壤有机质不同组分氮库对长期氮添加的响应. 植物生态学报, 45, 790-798. DOI: 10.17521/cjpe.2021.0044

Responses of soil nitrogen in different soil organic matter fractions to long-term nitrogen addition in a semi-arid grassland

WU Yun-Tao^{1,2}, YANG Sen^{1,2}, WANG Xin¹, HUANG Jun-Sheng¹, WANG Bin^{1,2}, LIU Wei-Xing¹, and LIU Ling-Li^{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 Soil nitrogen (N) plays a vital role in regulating the structure and function of ecosystems and is affected by N deposition. Most previous studies focus on the responses of the N content in bulk soil to N deposition, but the responses of the N content in different soil organic matter (SOM) fractions remain unclear. We aimed to investigate how long-term N addition influenced soil N of different SOM fractions in a semi-arid grassland.

Methods A manipulated N addition experiment with 4 levels of N addition (0, 8, 32 and 64 g·m⁻²·a⁻¹) has been conducted for 13 years in Duolun country, Nei Mongol. SOM was separated to particulate organic matter (POM) and mineral associated organic matter (MAOM) by density fractionation. The plant and soil properties were also measured.

Important findings The results showed that N addition had no significant effect on the carbon (C) content in bulk soil, POM, or MAOM. With increasing levels of N addition, the N content in bulk soil and in POM increased significantly. Furthermore, we found that the increased N content of POM was mainly associated with greater aboveground biomass following N addition. The N content of MAOM is mainly correlated with soil texture, but was not affected by N addition. These results suggest that continuous N addition can increase the soil N in bulk soil, but the increased N is mostly distributed in labile POM pools, which can be vulnerable to land use and climate change.

Key words nitrogen addition; nitrogen content; particulate organic matter; mineral associated organic matter

Wu YT, Yang S, Wang X, Huang JS, Wang B, Liu WX, Liu LL (2021). Responses of soil nitrogen in different soil organic matter fractions to long-term nitrogen addition in a semi-arid grassland. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 45, 790-798. DOI: 10.17521/cjpe.2021.0044

收稿日期Received: 2021-02-03 接受日期Accepted: 2021-03-30

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2019YFA0607302)、中国科学院战略性先导科技专项(A类)(XDA23080301)和国家自然科学基金(31901138)。Supported by the Chinese National Key Development Program for Basic Research (2019YFA0607302), the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA23080301), and the National Natural Science Foundation of China (31901138).

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

氮肥使用、化石燃料燃烧和豆科作物种植等人类活动导致全球大气氮沉降量不断增加(Galloway *et al.*, 2008)。环境保护政策和经济结构调整使得中国氮沉降速率在2000年后趋于稳定, 但中国依然是全球大气氮沉降量最高的一个区域(Yu *et al.*, 2019)。当大气氮沉降进入到生态系统后, 约25%的氮被储存在土壤有机质中(Niu *et al.*, 2016)。土壤氮含量的增加一方面缓解了生态系统氮限制, 促进植物生长, 另一方面也导致了土壤酸化, 抑制微生物分解活动(Wei *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2019)。土壤有机质是由化学组成、形成机制与稳定性皆存在差异的多个组分构成(Christensen, 2001; Schmidt *et al.*, 2011)。土壤有机质不同组分的氮含量及氮矿化速率存在较大差异, 对外源氮的固持能力亦不同(Six *et al.*, 2002)。目前多数研究主要关注氮沉降对土壤总氮的影响(Lu *et al.*, 2011), 而对土壤有机质不同组分的氮含量对氮沉降响应的研究仍非常缺乏。定量评估大气沉降的氮在不同土壤有机质组分中的分配, 对准确判断陆地生态系统对大气氮沉降的固持能力有重要意义。

土壤有机质根据其密度或粒径大小被分为颗粒态有机质(POM)和矿质结合态有机质(MAOM)(von Lützow *et al.*, 2007)。大多数研究认为POM是密度小于 $1.6\text{--}1.85\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 和(或)粒径大于 $50\text{--}63\text{ }\mu\text{m}$ 的有机质组分, MAOM是密度大于 $1.6\text{--}1.85\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 和(或)粒径小于 $50\text{--}63\text{ }\mu\text{m}$ 的有机质组分(Lavalley *et al.*, 2020)。POM主要来源于半分解的植物残体, 因其在土壤中通常以游离态形式存在, 使POM的氮容易被微生物代谢利用(Meyer *et al.*, 2012; Francesca Cotrufo *et al.*, 2015)。而MAOM主要来源于微生物残体与代谢产物等(Mikutta & Kaiser, 2011)。虽然MAOM的碳氮比低于POM, 但是由于土壤矿物的物理和化学保护, MAOM中的氮不容易被植物和异养微生物利用(刘满强等, 2007; Dungait *et al.*, 2012; Lavalley *et al.*, 2020)。

大气氮沉降可通过改变凋落物输入量及其氮含量、微生物代谢等过程, 影响土壤中POM和MAOM的氮含量(Riggs *et al.*, 2015)。氮沉降模拟实验表明, 氮添加通过提高草地生态系统生产力和改变群落的物种组成, 增加了凋落物的输入量及其氮含量(Liu & Greaver, 2010; Yang *et al.*, 2019)。凋落物输入量的上升增加了分解过程中的底物数量, 促进土壤中

POM形成(Lavalley *et al.*, 2020), 所以长期氮添加可能会增加POM的氮含量。氮添加导致的土壤酸化会抑制土壤微生物代谢作用(Liu *et al.*, 2018), 减缓凋落物等向MAOM转化。从而, 氮添加可能降低MAOM的含量。但是氮添加显著降低了土壤中真菌与细菌的比例(Liu *et al.*, 2018), 由于真菌的碳氮比高于细菌, 所以氮添加促进了土壤中低碳氮比的微生物残体等数量的积累, 可能增加土壤中MAOM的氮含量。此外, 土壤中MAOM的含量与土壤黏土矿物含量(主要是黏粒和粉粒含量)呈显著正相关关系(Hassink, 1997)。一般认为在未受严重干扰的自然生态系统中, 土壤质地变化不显著, 因此通过矿物等吸附形成的有机质(MAOM)含量是相对稳定的(Castellano *et al.*, 2015)。所以, 长期氮添加导致的微生物过程改变是否会影响土壤中MAOM的氮含量尚不清楚。

为探讨氮沉降增加对土壤中POM和MAOM氮含量的影响, 本研究基于内蒙古多伦县典型草地生态系统的长期多水平氮添加实验平台, 通过土壤密度分级的方法, 研究长期氮添加对典型草地中不同土壤有机质组分氮含量的影响。同时结合对植物、土壤和微生物过程的监测, 解析POM和MAOM氮含量响应氮沉降的机制。本研究的主要假设为: (1) 氮添加促进了地上生物量的积累, 可能通过增加凋落物的输入量, 提高土壤中POM的氮含量; (2) 氮添加导致了土壤酸化, 可能通过抑制微生物的代谢作用, 减少土壤中MAOM的氮含量。

1 材料和方法

1.1 研究区域与实验设计

本研究位于内蒙古多伦县典型草地生态系统(42.03°N , 116.28°E ; 海拔 $1\,324\text{ m}$)。该区域年平均气温为 2.1°C , 年降水量为 382.2 mm , 降水集中在植被生长季(5–9月)。自然条件下大气氮沉降速率约为 $1.6\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ (Zhang *et al.*, 2008)。根据联合国粮农组织(FAO)分类标准, 该区域的土壤类型为栗钙土, 土壤的平均密度为 $1.3\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, 平均pH为6.8。该区域的植被以多年生物种为主, 优势种包括西北针茅(*Stipa Sareptana* var. *krylovii*)、冰草(*Agropyron cristatum*)、冷蒿(*Artemisia frigida*)、糙隐子草(*Cleistogenes squarrosa*)等。

2003年开始氮添加实验。实验样地包含64个样方(面积为 $10\text{ m}\times 15\text{ m}$, 缓冲区距离为 5 m), 按照拉

丁方实验设计计划分为8行8列。每年的7月对实验样方进行8个水平的施氮处理(0、1、2、4、8、16、32、64 g·m⁻²·a⁻¹)。从2005年开始, 每年的8月末对奇数行样方通过刈割来模拟放牧。本研究只考虑氮添加的效应, 因此生物量测定及土壤取样分析等在偶数行(非刈割处理)样方进行。综合考虑分析成本、工作量和氮添加处理梯度范围, 本研究选取了其中4个氮添加处理(0、8、32、64 g·m⁻²·a⁻¹)进行实验和分析。

1.2 取样方法

植物地上生物量(AGB)在2016年8月中旬测定。在每个样方中随机放置一个1 m × 1 m的样方框, 按物种刈割样方框内的所有地上植被, 并在烘箱内65 °C条件下烘至恒质量。将样方框内的所有植物样品称质量并加和来表征该实验样方区的AGB。

土壤样品在2016年8月中旬收集。在每个样方内用直径5 cm的土钻随机取3钻表层土壤(0–15 cm), 混匀为一个土壤样品。利用2 mm的网筛去除土壤样品中较大的根和石头, 冷藏保存并带回实验室。一部分样品被冷冻保存, 用于测定微生物生物量碳氮含量和土壤溶解性无机氮(DIN)含量; 一部分样品自然风干后用于测定土壤的理化性质, 如碳氮含量、机械组成、土壤pH、有机质组分等。微生物生物量碳、氮含量采用氯仿熏蒸法测定(Beck *et al.*, 1997), 即在25 °C下将经过氯仿熏蒸24 h的土壤和对照处理的土壤, 用50 mL 0.5 mol·L⁻¹ K₂SO₄浸提, 利用总有机碳分析仪(TOC-3000, Analytik JenaAG, Jena, Germany)测定两份浸提液中溶解性碳、氮的浓度, 熏蒸和未熏蒸样品的浓度差除以转化系数($K_C = 0.38$, $K_N = 0.45$)后, 得到土壤中微生物生物量碳、氮含量(Brookes *et al.*, 1985; Vance *et al.*, 1987)。土壤DIN (铵态氮和硝态氮)含量利用50 mL 2 mol·L⁻¹ KCl溶液浸提, 通过全自动流动分析仪(SAN-System, Breda, Skalar, the Netherlands)测定土壤浸提液和空白标准液中铵态氮和硝态氮浓度, 通过标准曲线计算土壤中DIN含量。一部分土壤风干样品, 利用激光粒度分析仪(Malvern Mastersizer 2000, Malvern, Worcestershire, UK)测定土壤质地(土壤质地按照国际制(ISSS Working Group RB)土壤质地分类依据可以分为黏粒(<0.002 mm), 粉粒(0.002–0.02 mm)以及砂粒(0.02–2 mm)); 利用pH电位计按照土壤和水的重量体积比(W/V) = 1:2.5的比例测定土壤pH。另一部分风干样品经过粉碎后, 称取20 mg粉碎后样品,

利用元素分析仪(CNS Element Analysensysteme, GmbH, Hanau, German)测定样品的碳氮含量。

为了探究不同有机质组分的质量及其氮含量的变化, 本研究通过土壤密度分级的方法将土壤有机质分为颗粒态有机质(POM)和矿质结合态有机质(MAOM)。即: 称取30 g自然风干的土壤样品于250 mL的离心瓶中, 加入150 mL密度为1.8 g·cm⁻³的NaI溶液, 利用220 r·min⁻¹的摇床振荡3 h, 水平静置24 h后将上层悬浮的自由态POM转移至0.22 μm孔径的滤纸上。剩余沉淀液用150 J·mL⁻¹的能量超声处理, 释放被土壤团聚体包裹的POM, 沉淀液经过高速离心(4 250 r·min⁻¹) 10 min后, 将上层悬浮的包裹态POM转移至0.22 μm孔径的滤纸上。两部分的POM用蒸馏水冲洗至溶液的电导率<2 μs, 重复上述所有操作3次。将剩余的沉淀液高速离心(4 250 r·min⁻¹) 30 min后, 转移至0.22 μm孔径的滤纸上, 用蒸馏水冲洗至溶液的电导率<50 μs, 得到的组分即为MAOM。将POM和MAOM置于50 °C烘箱中烘至恒质量, 粉碎后利用元素分析仪测定每个组分的碳氮含量。相关方法参见Wiesmeier等(2015)。

1.3 统计分析

研究利用单因素方差分析和最小显著性差异(LSD)法检验氮添加对土壤碳氮含量、不同有机质组分的碳氮含量、土壤质地、土壤pH、植物AGB和微生物生物量的影响。在统计分析中, 我们参考经典的统计方法, 仅在方差分析显著的情况下对不同处理水平间进行了多重比较, 以减小统计结果中一类错误(即原假设H₀符合实际情况, 检验结果却将其否定)发生的概率(Forthofer & Lee, 1996)。同时利用简单线性回归来估计两种组分的碳、氮含量对两个变量(氮添加水平、黏粒和粉粒的含量)的变化响应。采用基于step-AIC的模型筛选、广义线性混合模型(GLMM)和结构方程模型(SEM)的方法来探讨氮添加处理和土壤质地对两种有机质组分氮含量影响的可能机制。其中在模型筛选中, 响应变量为POM和MAOM的氮含量, 预测变量为AGB、植物碳氮比、微生物生物量碳含量、微生物异养呼吸速率、土壤质地相关参数。GLMM中固定效应为氮添加水平和土壤质地, 随机效应为样品的重复数。所有的数据利用Shapiro-Wilk test和Levene's test进行了正态性和方差齐性的检验。数据分析在R 3.5.4软件中进行。统计结果仅在 $p < 0.05$ 时认为存在统计

显著性。

2 结果和分析

2.1 长期氮添加对植物、土壤和微生物的影响

植物、土壤和微生物对长期氮添加的响应不同(图1)。随施氮水平的增加, 植物AGB显著增加。施氮处理显著增加了土壤中的DIN含量, 但显著降低了土壤pH及微生物生物量碳(MBC)含量。此外, 长期氮添加背景下, 土壤质地在不同施氮水平样地之间没有显著的差异(图2)。

2.2 长期氮添加对土壤有机质组分的影响

与对照相比, 氮添加不改变土壤总碳含量, 但显著提高土壤总氮含量; 同时土壤碳氮比沿施氮梯度无显著变化(图3)。土壤有机质中POM的含量约为6.2%, MAOM含量为93.8%, 施氮处理并未显著改变土壤中POM和MAOM的相对含量(图4A)。此外, 随着氮添加量的增加, 土壤中POM和MAOM的碳含量均无显著变化(图4B)。POM的氮含量沿施氮梯度显著增加, 但MAOM的氮含量在施氮处理间无显著变化(图4C)。

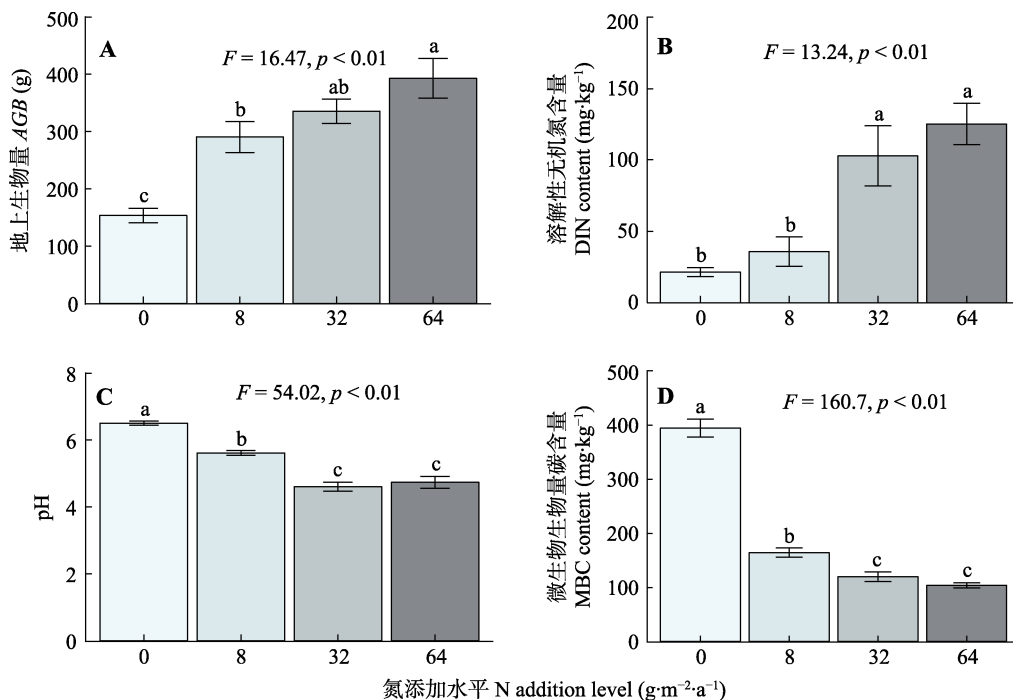


图1 氮添加对地上生物量(A), 溶解性无机氮含量(B), 土壤pH (C)和微生物生物量碳含量(D)的影响(平均值±标准误)。F和p为方差分析的结果, 不同小写字母表示不同氮添加水平间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 1 Effects of nitrogen (N) addition on aboveground biomass (AGB)(A), dissolved inorganic nitrogen (DIN) content (B), soil pH (C) and microbial biomass carbon (MBC) content (D)(mean ± SE). F and p are the results of one-way ANOVA. Different lowercase letters indicate significant difference among N addition levels ($p < 0.05$).

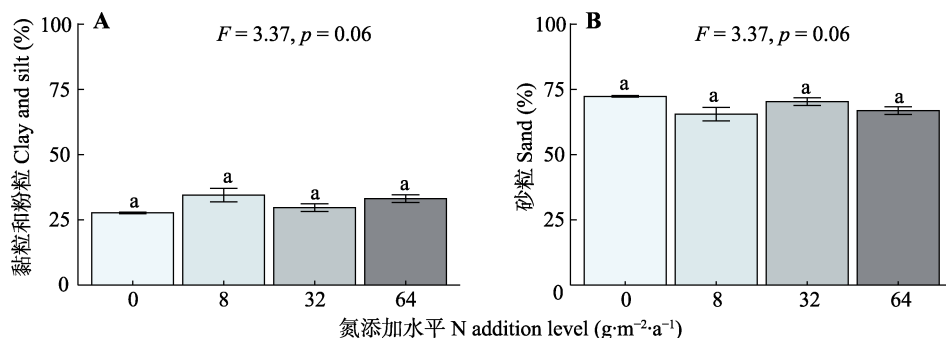


图2 氮添加对土壤黏粒与粉粒含量(A)和砂粒含量(B)的影响(平均值±标准误)。F和p为方差分析的结果, 不同小写字母表示不同氮添加水平间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 2 Effects of nitrogen (N) addition on soil clay and silt (A) and sand (B) content (mean ± SE). F and p are the results of one-way ANOVA. Different lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$) among different N addition levels.

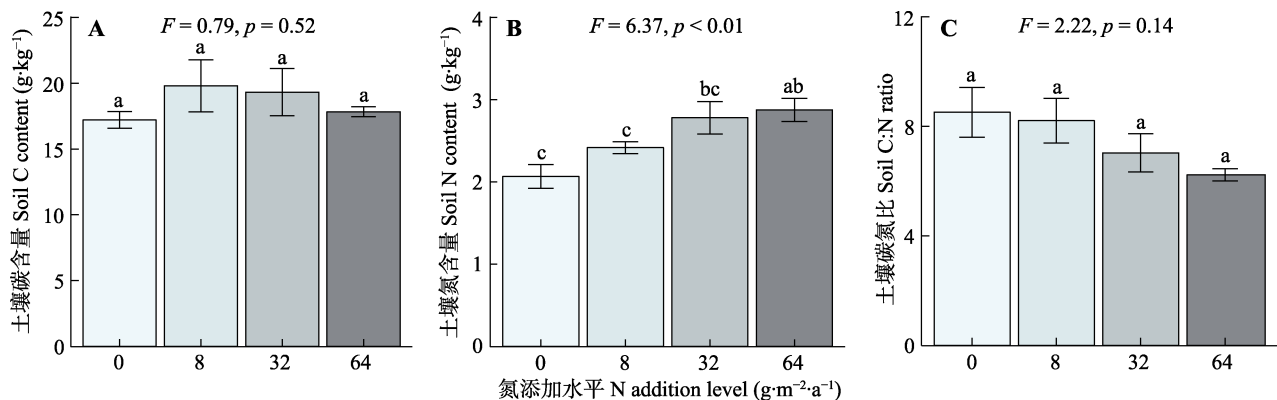


图3 氮添加对土壤碳含量(A)、氮含量(B)和碳氮比(C)的影响(平均值±标准误)。F和p为方差分析的结果,不同小写字母表示不同氮添加水平间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 3 Effects of nitrogen (N) addition on soil carbon (C) content (A), soil N content (B) and soil C:N (C)(mean ± SE). F and p are the results of one-way ANOVA. Different lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$) among different N addition levels.

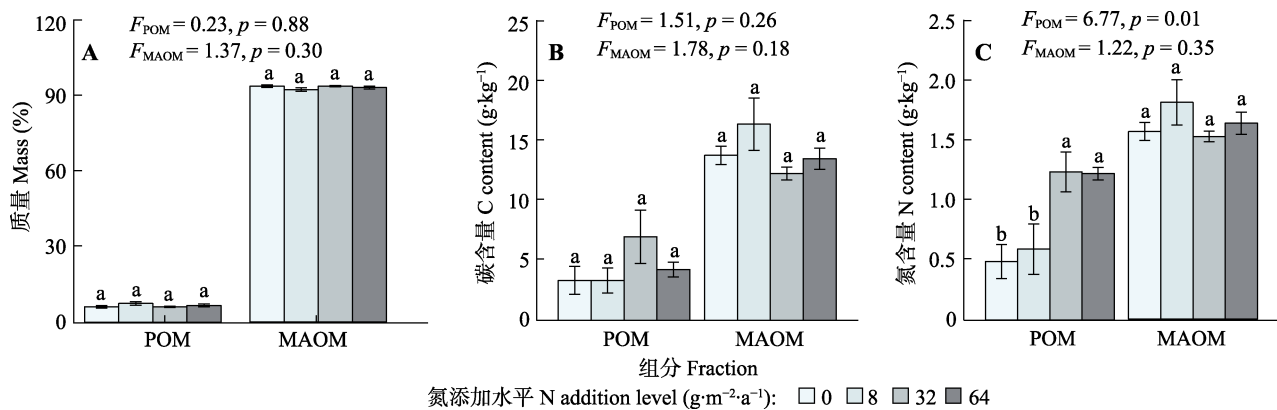


图4 氮添加对土壤中颗粒态有机质(POM)和矿质结合态有机质(MAOM)的相对含量(A)、碳含量(B)和氮含量(C)的影响(平均值±标准误)。F和p为方差分析的结果,不同字母表示不同氮添加水平间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 4 Effect of nitrogen (N) addition on the relative mass (A), carbon (C) content (B) and N content (C) of particulate organic matter (POM) and mineral associated organic matter (MAOM)(mean ± SE). F and p are the results of one-way ANOVA. Different lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$) among different N addition levels.

2.3 土壤有机质组分变化的影响因素

POM和MAOM的碳含量与氮添加量无显著线性相关关系(图5A)。然而, POM的氮含量与氮添加量之间呈显著正相关关系($R^2 = 0.49, p < 0.01$, 图5C), 而MAOM的氮含量与氮添加量无显著线性相关关系($p = 0.75$, 图5C)。此外, POM的碳、氮含量与土壤黏粒和粉粒含量均无明显相关关系(碳: $p = 0.69$, 图5B; 氮: $p = 0.75$, 图5D)。同时, MAOM的碳含量与土壤黏粒和粉粒含量也无显著相关关系($p = 0.06$, 图5B); 但是, MAOM的氮含量与土壤黏粒和粉粒含量呈显著线性正相关关系($R^2 = 0.23, p = 0.03$, 图5D)。GLMM的结果表明: 氮添加和土壤质地(黏粒和粉粒)对POM的碳含量均无显著作用(表1), 而MAOM的碳含量的变化与氮添加和土壤质地显著

相关(氮添加: $p < 0.05$; 土壤质地: $p = 0.01$)。POM的氮含量主要受到氮添加处理的影响($p < 0.01$, 表1), 土壤质地的影响不显著; 而MAOM的氮含量主要受土壤质地的影响($p < 0.01$), 氮添加的作用不显著。

模型筛选的结果表明, POM的氮含量变化主要受到地上生物量的影响, 而凋落物质量, 微生物等没有显著的影响; MAOM的氮含量变化主要受到土壤质地的显著影响, 而微生物等的作用不显著(表2)。SEM的结果也表明, 氮添加主要通过增加AGB ($p < 0.01$), 增加了POM的氮含量($p < 0.01$, 图6A)。氮添加降低了MBC含量, 但MBC对MAOM的氮含量的影响不显著。土壤质地显著影响了土壤中MAOM的氮含量($p < 0.01$, 图6B), 土壤中黏粒和粉粒含量越高, MAOM中的氮含量越高。

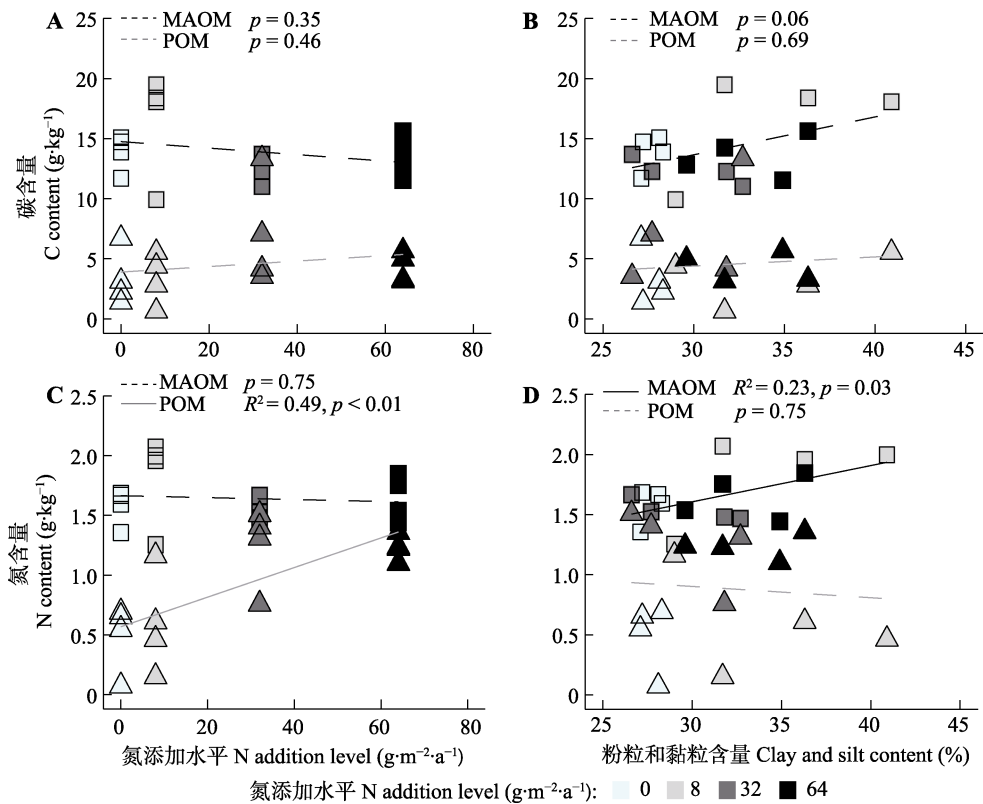


图5 土壤中不同有机质组分的碳氮含量与氮添加水平(A, C)和土壤黏粒与粉粒含量(B, D)的关系。实线表示相关性显著($p < 0.05$), 虚线表示相关性不显著($p > 0.05$)。□, 矿质结合态有机质(MAOM); △, 颗粒态有机质(POM)。
Fig. 5 Relationships between the soil carbon (C) in different SOM fractions and nitrogen (N) addition rates (A), and soil clay and silt content (B); and relationships between the soil N in different SOM fractions and N addition rates (C), and soil clay and silt content (D). Solid and dashed lines represent significant ($p < 0.05$) and insignificant ($p > 0.05$) relationships, respectively. □, mineral associated organic matter (MAOM); △, particulate organic matter (POM).

表1 氮添加和土壤粉粒与黏粒含量对土壤颗粒态有机质(POM)和矿质结合态有机质(MAOM)碳、氮含量影响的广义线性混合模型(GLMM)分析结果
Table 1 Summary of the generalized linear mixed model (GLMM) for the effects of nitrogen (N) addition and silt and clay content on the carbon (C) and N content in particulate organic matter (POM) and mineral associated organic matter (MAOM)

响应变量 Response variable	变量 Variable	相关系数 Correlation coefficient	标准误 Standard error	t	p
POM碳含量 C content in POM	氮添加水平 N addition ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)	0.022	0.028	0.793	0.446
	黏粒与粉粒含量 Silt and sand clay content (%)	0.013	0.187	-0.068	0.947
MAOM碳含量 C content in MAOM	氮添加水平 N addition ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)	-0.043	0.019	-2.287	0.045
	黏粒与粉粒含量 Silt and sand clay content (%)	0.396	0.126	3.145	0.010
POM氮含量 N content in POM	氮添加水平 N addition ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)	0.014	0.003	4.045	0.002
	黏粒与粉粒含量 Silt and sand clay content (%)	-0.030	0.021	-2.086	0.182
MAOM氮含量 N content in MAOM	氮添加水平 N addition ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)	-0.002	0.001	-1.408	0.162
	黏粒与粉粒含量 Silt and sand clay content (%)	0.035	0.010	3.586	0.005

粗体数字表示 $p < 0.05$ 。
Bold numbers indicates $p < 0.05$.

3 讨论

土壤氮库是植物和微生物代谢养分的重要来源 (Kuziyakov & Xu, 2013)。大气氮沉降对土壤中不同稳定性有机质组分的氮含量的影响, 可能会影响土壤氮库的储量及其稳定性。本研究结果显示, 随着

氮添加水平的增加, 土壤总碳含量没有变化, 但土壤总氮含量明显增加(图3)。氮添加导致的土壤氮增加主要发生在POM组分中, 而MAOM氮含量在氮添加后没有明显变化(图4)。
大气氮沉降可通过影响植物向土壤的碳输入, 影响土壤中POM的含量(Francesca Cotrufo *et al.*,

表2 颗粒态有机质(POM)和矿质结合态有机质(MAOM)的氮(N)含量影响因子的基于赤池信息推测的最优模型筛选
Table 2 Summary of the best corrected Akaike Information Criterion (AICc)-selected models for the nitrogen (N) content in particulate organic matter (POM) and mineral associated organic matter (MAOM)

响应变量 Response variable	因子 Factor	模型Model			
		1	2	3	4
POM氮含量 N content in POM	常数项 Constant term	1.770	1.697	0.090	—
	地上生物量 Aboveground biomass	0.003	0.002	0.003	—
	微生物生物量碳含量 Microbial biomass carbon content	0.002	—	—	—
	C:N	-1.111	-0.067	—	—
	赤池信息准则 Akaike information criterion	24.90	21.95	17.66	—
MAOM氮含量 N content in MAOM	常数项 Constant term	1.202	1.451	0.762	0.702
	黏粒与粉粒含量 Silt and clay content	0.031	0.029	0.036	0.030
	微生物生物量碳含量 Microbial biomass carbon content	-0.002	-0.001	—	—
	异养呼吸速率 Heterotrophic respiration rate	0.375	—	—	—
	地上生物量 Aboveground biomass	-0.002	-0.002	-0.001	—
	赤池信息准则 Akaike information criterion	5.92	5.17	3.01	2.30

数值代表模型系数。粗体数值表示 $p < 0.05$ 。
Values are model coefficients. Bold values indicates $p < 0.05$.

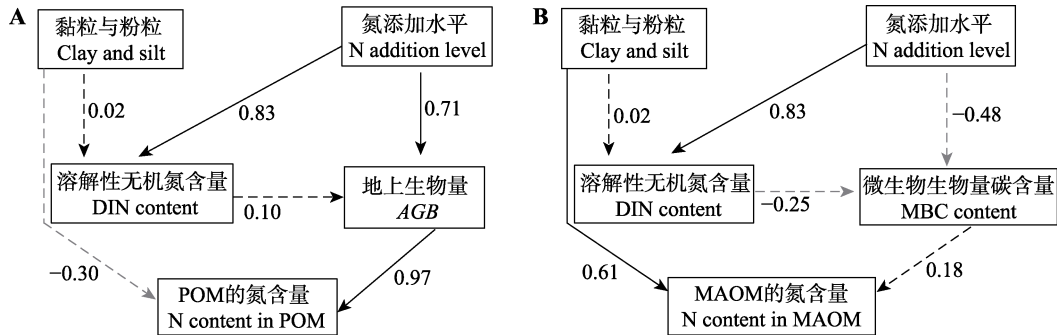


图6 氮添加对颗粒态有机质(POM)(A)和矿质结合态有机质(MAOM)(B)的氮含量影响途径的结构方程模型(SEM)分析结果。模型拟合的结果: POM_N , $\chi^2 = 0.480$, $p = 0.787$, 相对拟合指数(CFI) = 1.000, 近似误差平方根($RMSEA$) < 0.001; $MAOM_N$, $\chi^2 = 2.856$, $p = 0.414$, $CFI = 1.000$, $RMSEA < 0.001$ 。实线箭头代表显著的效应($p < 0.05$), 虚线箭头代表没有显著的效应($p > 0.05$), 箭头附近的数字代表标准化的路径系数。

Fig. 6 A schematic representation of the structural equation modeling (SEM) analysis used to identify the controls of soil nitrogen (N) content in particulate organic matter (POM)(A) and mineral associated organic matter (MAOM)(B) under N addition. Results of the model fitting were: POM_N , $\chi^2 = 0.480$, $p = 0.787$, comparative fit index (CFI) = 1.000, root-mean-square ($RMSEA$) < 0.001; $MAOM_N$, $\chi^2 = 2.856$, $p = 0.414$, $CFI = 1.000$, $RMSEA < 0.001$. Solid and dashed arrows represent significant effect ($p < 0.05$) and insignificant effect ($p > 0.05$), respectively. Number adjacent to the arrows refer to the standardized path coefficients. AGB , aboveground biomass; DIN , dissolved inorganic nitrogen; MBC , microbial biomass carbon.

2019)。长期氮添加通过缓解植物的养分限制, 提高了植物地上生物量及凋落物量(图1A)(Näsholm *et al.*, 2009; 刁励玮等, 2018)。所以, 在凋落物分解过程中, 通过物理迁移过程形成的POM的氮含量沿施氮梯度显著增加(图4C)。同时POM的氮含量变化主要与POM的形成过程相关, 会受到凋落物输入量、凋落物质量、微生物等因素的共同影响。本研究通过模型筛选分析发现, 只有地上生物量显著影响POM的氮含量, 而凋落物质量、微生物等其他因素的作用不显著(表2)。此外, 结构方程模型的结果表明, 在进一步将POM对无机氮可能存在的物理吸附

作用考虑在内的情况下, 氮添加导致的地上生物量增加是土壤中POM的氮含量增加的最主要途径, 这与我们的假设(1)一致(图6)。此外, 前期的研究表明, 长期氮添加使得此样地中低碳氮比的物种逐渐成为优势种, 增加了凋落物的氮含量(Yang *et al.*, 2019), 从而可能进一步增加POM的氮含量。与POM氮含量的变化不同, POM的碳含量沿施氮梯度没有显著变化(图4B)。可能是因为土壤的碳库较大(Pribyl, 2010), 所以施氮增加的地上生物量, 没有显著增加POM的碳含量。

大气氮沉降对MAOM含量的影响, 不仅与微生物

物过程相关, 同时受土壤中矿物含量的影响(Kleber *et al.*, 2015; Mikutta *et al.*, 2019)。长期氮添加导致土壤酸化(图1C), 抑制了微生物的活性(图1D), 可能通过减少形成MAOM的底物来源, 降低MAOM的含量(Frey *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2018)。但是, 本研究的结果显示, MAOM的碳、氮含量沿施氮梯度均没有发生显著变化(图4), 这与我们的假设(2)不符。我们之前在本研究站点的工作发现, 施氮后群落水平凋落物可降解性的下降和植物多样性的丧失共同导致了微生物呼吸速率的下降, 同时减缓了凋落物层的周转, 表明微生物整体的分解能力在施氮之后减弱(Yang *et al.*, 2019)。同时, 多年的氮添加显著降低了微生物生物量和真菌细菌比, 增加微生物对活性碳源的利用效率, 而降低了对惰性碳源的利用效率(Liu *et al.*, 2018)。因此基于之前的研究结果, 我们认为长期施氮处理后, 微生物将植物来源的碳整合进入土壤碳库的能力较弱, 这也是本研究中长期施氮处理显著提高了植物来源的碳输入量, 但未观察到土壤碳库储量变化的可能原因。此外, MAOM的含量不仅受微生物过程影响, 还与土壤矿物含量有关(Sollins *et al.*, 2009)。我们的结果也显示, MAOM氮含量随黏粒和粉粒含量增加而增加(图5D)。而MAOM的碳、氮含量在氮添加后未发生改变, 可能是由于土壤质地在不同的施氮水平样地之间没有显著差异(图2)。模型筛选的结果表明, 长期氮添加处理下, MAOM的氮含量主要受土壤黏粒与粉粒含量的影响, 而凋落物输入量、微生物活性的作用较弱(表2)。结构方程模型的结果也进一步确认, 在氮添加下, 土壤质地是影响MAOM含量的最主要因素(图6B)。

综上所述, 本研究结果表明, 在典型草地生态系统中, 长期氮添加显著促进了土壤氮库积累, 但土壤中增加的氮主要分布在周转速率较快的POM中, 而较为稳定的MAOM中氮含量没有显著变化。储存在POM中的氮更容易受到土地利用变化或气候变化的影响而被分解, 可能通过土壤的淋溶过程造成氮流失; 或通过硝化细菌的反硝化过程, 释放氮氧化物等温室气体, 加剧全球变暖。因此, 为了准确预测全球气候变化下陆地生态系统的氮储量变化以及碳氮循环过程, 未来研究需要考虑大气氮沉降对不同稳定性有机质组分氮库的影响。

参考文献

- Beck T, Joergensen RG, Kandeler E, Makeschin F, Nuss E, Oberholzer HR, Scheu S (1997). An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, 29, 1023-1032.
- Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS (1985). Chloroform fumigation and the release of soil-nitrogen—A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 17, 837-842.
- Castellano MJ, Mueller KE, Olk DC, Sawyer JE, Six J (2015). Integrating plant litter quality, soil organic matter stabilization, and the carbon saturation concept. *Global Change Biology*, 21, 3200-3209.
- Christensen BT (2001). Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science*, 52, 345-353.
- Diao LW, Li P, Liu WX, Xu S, Qiao CL, Zeng H, Liu LL (2018). Response of plant biomass to nitrogen addition and precipitation increasing under different climate conditions and time scales in grassland. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 818-830. [刁励玮, 李平, 刘卫星, 徐姗, 乔春连, 曾辉, 刘玲玲 (2018). 草地生态系统生物量在不同气候及多时间尺度上对氮添加和增雨处理的响应. *植物生态学报*, 42, 818-830.]
- Dungait JAJ, Hopkins DW, Gregory AS, Whitmore AP (2012). Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, 18, 1781-1796.
- Forthofer RN, Lee ES (1996). Introduction to biostatistics: a guide to design, analysis, and discovery. *Biometrics*, 52, 378. DOI: 10.2307/2533181.
- Francesca Cotrufo M, Ranalli MG, Haddix ML, Six J, Lugato E (2019). Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nature Geoscience*, 12, 989-994.
- Francesca Cotrufo M, Soong JL, Horton AJ, Campbell EE, Haddix ML, Wall DH, Parton WJ (2015). Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience*, 8, 776-779.
- Frey SD, Ollinger S, Nadelhoffer K, Bowden R, Brzostek E, Burton A, Caldwell BA, Crow S, Goodale CL, Grandy AS, Finzi A, Kramer MG, Lajtha K, LeMoine J, Martin M, McDowell WH, Minocha R, Sadowsky JJ, Templer PH, Wickings K (2014). Chronic nitrogen additions suppress decomposition and sequester soil carbon in temperate forests. *Biogeochemistry*, 121, 305-316.
- Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320, 889-892.

DOI: 10.17521/cjpe.2021.0044

- Hassink J (1997). The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant and Soil*, 191, 77-87.
- Kleber M, Eusterhues K, Keiluweit M, Mikutta C, Mikutta R, Nico PS (2015). Mineral-organic associations: formation, properties, and relevance in soil environments. *Advances in Agronomy*, 130, 1-140.
- Kuzyakov Y, Xu XL (2013). Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist*, 198, 656-669.
- Lavallee JM, Soong JL, Cotrufo MF (2020). Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Global Change Biology*, 26, 261-273.
- Liu LL, Greaver TL (2010). A global perspective on below-ground carbon dynamics under nitrogen enrichment. *Ecology Letters*, 13, 819-828.
- Liu MQ, Hu F, Chen XY (2007). A review on mechanisms of soil organic carbon stabilization. *Acta Ecologica Sinica*, 27, 2642-2650. [刘满强, 胡锋, 陈小云 (2007). 土壤有机碳稳定机制研究进展. *生态学报*, 27, 2642-2650.]
- Liu WX, Qiao CL, Yang S, Bai WM, Liu LL (2018). Microbial carbon use efficiency and priming effect regulate soil carbon storage under nitrogen deposition by slowing soil organic matter decomposition. *Geoderma*, 332, 37-44.
- Lu M, Yang YH, Luo YQ, Fang CM, Zhou XH, Chen JK, Yang X, Li B (2011). Responses of ecosystem nitrogen cycle to nitrogen addition: a meta-analysis. *New Phytologist*, 189, 1040-1050.
- Meyer S, Leifeld J, Bahn M, Fuhrer J (2012). Free and protected soil organic carbon dynamics respond differently to abandonment of mountain grassland. *Biogeosciences*, 9, 853-865.
- Mikutta R, Kaiser K (2011). Organic matter bound to mineral surfaces: resistance to chemical and biological oxidation. *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 1738-1741.
- Mikutta R, Turner S, Schippers A, Gentsch N, Meyer-Stüve S, Condon LM, Peltzer DA, Richardson SJ, Eger A, Hempel G, Kaiser K, Klotzbücher T, Guggenberger G (2019). Microbial and abiotic controls on mineral-associated organic matter in soil profiles along an ecosystem gradient. *Scientific Reports*, 9, 10294. DOI: 10.1038/s41598-019-46501-4.
- Näsholm T, Kielland K, Ganeteg U (2009). Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist*, 182, 31-48.
- Niu SL, Classen AT, Dukes JS, Kardol P, Liu LL, Luo YQ, Rustad L, Sun J, Tang JW, Templer PH, Thomas RQ, Tian DS, Vicca S, Wang YP, Xia JY, Zaehle S (2016). Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. *Ecology Letters*, 19, 697-709.
- Pribyl DW (2010). A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor. *Geoderma*, 156, 75-83.
- Riggs CE, Hobbie SE, Bach EM, Hofmockel KS, Kazanski CE (2015). Nitrogen addition changes grassland soil organic matter decomposition. *Biogeochemistry*, 125, 203-219.
- Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning DAC, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, 49-56.
- Six J, Callewaert P, Lenders S, de Gryze S, Morris SJ, Gregorich EG, Paul EA, Paustian K (2002). Measuring and understanding carbon storage in afforested soils by physical fractionation. *Soil Science Society of America Journal*, 66, 1981-1987.
- Sollins P, Kramer MG, Swanston C, Lajtha K, Filley T, Aufdenkampe AK, Wagai R, Bowden RD (2009). Sequential density fractionation across soils of contrasting mineralogy: evidence for both microbial- and mineral-controlled soil organic matter stabilization. *Biogeochemistry*, 96, 209-231.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, 19, 703-707.
- von Lütow M, Kögel-Knabner I, Ekschmitt K, Flessa H, Guggenberger G, Matzner E, Marschner B (2007). SOM fractionation methods: relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 2183-2207.
- Wei C, Yu Q, Bai E, Lü X, Li Q, Xia J, Kardol P, Liang W, Wang Z, Han X (2013). Nitrogen deposition weakens plant-microbe interactions in grassland ecosystems. *Global Change Biology*, 19, 3688-3697.
- Wiesmeier M, Munro S, Barthold F, Steffens M, Schad P, Kögel-Knabner I (2015). Carbon storage capacity of semi-arid grassland soils and sequestration potentials in Northern China. *Global Change Biology*, 21, 3836-3845.
- Yang S, Liu WX, Qiao CL, Wang J, Deng MF, Zhang BB, Liu LL (2019). The decline in plant biodiversity slows down soil carbon turnover under increasing nitrogen deposition in a temperate steppe. *Functional Ecology*, 33, 1362-1372.
- Yu GR, Jia YL, He NP, Zhu JX, Chen Z, Wang QF, Piao SL, Liu XJ, He HL, Guo XB, Wen Z, Li P, Ding GA, Goulding K (2019). Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. *Nature Geoscience*, 12, 424-429.
- Zhang TA, Chen HYH, Ruan HH (2018). Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes. *The ISME Journal*, 12, 1817-1825.
- Zhang Y, Zheng LX, Liu XJ, Jickells T, Neil Cape J, Goulding K, Fangmeier A, Zhang FS (2008). Evidence for organic N deposition and its anthropogenic sources in China. *Atmospheric Environment*, 42, 1035-1041.

责任编辑: 白 娥 编辑: 赵 航