DOI: 10.11766/trxb202205060034

姚易寒,张少博,周家树,刘娟,蔡延江,李永夫. 氮磷添加对毛竹林土壤有机碳矿化及其激发效应的影响[J]. 土壤学报,2023,60(4): 1088-1100.

YAO Yihan, ZHANG Shaobo, ZHOU Jiashu, LIU Juan, CAI Yanjiang, LI Yongfu. Effects of Nitrogen and Phosphorus Addition on Organic Carbon Mineralization and Priming Effect in a Moso Bamboo Plantation Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60 (4): 1088–1100.

氮磷添加对毛竹林土壤有机碳矿化及其激发效应的影响^{*}

姚易寒¹, 张少博¹, 周家树¹, 刘 娟^{1,2}, 蔡延江^{1,2}, 李永夫^{1,2†} (1. 浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300; 2. 浙江农林大学, 浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 杭州 311300)

摘 要:养分输入会显著影响土壤有机碳矿化,但毛竹林土壤有机碳激发效应对不同类型养分输入的响应及其机制尚不明确。 选用尿素和磷酸二氢钠作为外源养分,通过 80 d 的培养试验,研究氮素、磷素及两者联合添加对毛竹林土壤有机碳矿化及 其激发效应、微生物功能以及土壤理化性质的影响。结果表明,氮素、磷素及两者联合添加均显著提高了土壤原有有机碳矿 化 CO₂ 累积排放量(增幅分别为 91.3%、19.2%和 94.9%),产生显著的正激发效应,其中氮素及其与磷素联合添加诱导的正 激发效应强度显著大于磷素添加处理。上述三种养分添加处理均显著提高了土壤 pH、活性有机碳库(微生物量碳、可溶性 有机碳和烷氧碳组分)、碳降解酶(β-葡萄糖苷酶和蔗糖酶)活性以及 *cbh*I 和 *GH48* 功能基因丰度,但抑制了多酚氧化酶和 RubisCO 酶活性;此外,土壤无机氮(NH⁴₄-N 和 NO³₃-N)含量在氮和氮磷添加下增加,在磷添加下降低。相关性分析表明, 累积激发效应与土壤 pH、活性有机碳库、无机氮含量、碳降解酶活性以及 *cbh*I 和 *GH48* 功能基因丰度呈显著正相关,而与 多酚氧化酶和 RubisCO 酶活性显著负相关。综上所述,氮磷养分添加可能是通过影响土壤 pH、活性碳氮含量,并提升微生 物的活性和功能,从而显著提高土壤原有有机碳的矿化速率。

关键词:毛竹林土壤;激发效应;养分添加;有机碳矿化;碳降解功能基因 中图分类号:S714 文献标志码:A

Effects of Nitrogen and Phosphorus Addition on Organic Carbon Mineralization and Priming Effect in a Moso Bamboo Plantation Soil

YAO Yihan¹, ZHANG Shaobo¹, ZHOU Jiashu¹, LIU Juan^{1, 2}, CAI Yanjiang^{1, 2}, LI Yongfu^{1, 2†}

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

Abstract: [Objective] Nutrients addition to soil have a significant effect on soil organic carbon mineralization. However, the response of soil organic carbon priming effect (PE) to the addition of different nutrients and its mechanism is still not clear.

^{*} 国家自然科学基金项目(31870599)和省部共建亚热带森林培育国家重点实验室自主研究课题(ZY20180304)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31870599) and the Foundation of State Key Laboratory of Subtropical Silviculture (No. ZY20180304)

 ^{*} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yongfuli@zafu.edu.cn
 作者简介:姚易寒(1996—),女,浙江金华人,硕士研究生,主要从事森林土壤碳循环研究。E-mail: yihanyaozafu@163.com
 收稿日期: 2022-05-06;收到修改稿日期: 2022-07-06;网络首发日期(www.cnki.net): 2022-09-23

[Method] Urea and sodium dihydrogen phosphate were selected as exogenous nutrients and the effects of nitrogen addition, phosphorus addition and nitrogen combined phosphorus addition on SOC mineralization, PE, microbial function and soil physicochemical properties in a Moso bamboo plantation soil were investigated through an 80-day incubation experiment. [Result] Nitrogen, phosphorus and their interaction significantly increased the cumulative CO₂ emissions of native SOC mineralization (by 91.33%, 19.18% and 94.88%, respectively), resulting in a cumulative positive PE. The magnitude of positive PE induced by nitrogen and nitrogen combined with phosphorus was greater than that induced by phosphorus alone. The above three nutrient addition treatments all significantly increased soil pH, labile organic carbon pool (microbial biomass carbon, dissolved organic carbon and O-alkyl C), carbon-degrading enzyme (β -glucosidase and invertase) activities and *cbh*I and *GH48* functional gene abundance, but inhibited the activity of polyphenol oxidase and RubisCO enzymes. Also, soil inorganic nitrogen content (NH_4^+ -N and NO_2^- -N) was enhanced under nitrogen and nitrogen combined phosphorus treatments but reduced under phosphorus treatment. Results of Spearman correlation analysis showed significant positive relationships between cumulative PE and soil pH, labile organic carbon, inorganic nitrogen content, carbon-degrading enzyme activities, cbhI and GH48 functional gene abundances, whereas the activities of polyphenol oxidase and RubisCO enzyme were negatively related to cumulative PE. [Conclusion] The addition of nitrogen and phosphorus nutrients may have enhanced the rate of native SOC mineralization by affecting soil pH, the content of labile carbon and nitrogen, and stimulating the activity and function of microorganisms. Key words: Moso bamboo plantation soil; Priming effect; Nutrient addition; SOC mineralization; C-degradation gene

养分添加作为提高土壤养分,增加人工林产量 和林农的经济收入的主要措施,被广泛应用于人工 林的管理。然而,养分的类型、用量以及施肥方式 会显著影响土壤养分有效性,同时也会通过影响土 壤 pH, 改变微生物群落结构以及碳循环功能基因丰 度,从而对土壤有机碳 (Soil organic carbon, SOC) 储量和稳定性以及碳汇功能产生显著影响[1-2]。基于 全球 71 项研究的 Meta 分析结果发现,养分添加对 土壤有机碳周转的影响主要取决于土壤微生物呼吸 的氮限制^[3]。此外,养分输入剂量的增加对土壤有 机碳固定的影响存在促进^[4-5]或抑制^[6]两种不同的 效应,且不同剂量养分输入对土壤碳库的影响也与 土壤初始养分有效性紧密相关^[7]。因此,研究不同 类型养分添加对人工林土壤碳循环的影响,对探明 人工林土壤有机碳库的调控机制具有非常重要的 意义。

养分添加在短期内会引发土壤有机质周转的强 烈变化,即土壤有机碳矿化的激发效应(Priming effect, PE)。研究表明,土壤养分循环与碳循环之 间存在由微生物介导的紧密关系,氮、磷输入可通 过改变土壤 pH 以及土壤养分有效性来影响土壤微 生物群落结构与功能,从而对土壤原有有机碳的矿 化产生显著影响。但养分添加所引发的激发效应强 度和方向在不同研究间存在较大的差异^[8-10]。有 Meta 分析研究表明,氮素及其与磷素养分联合添加 使土壤有机碳激发效应分别下降了 70%和 68%^[3]。Liu 等^[11]指出,施肥处理会通过影响土壤微生物周转来 减少稻田土壤有机碳降解。但也有研究发现尿素添 加显著促进了土壤有机碳的分解^[12]。此外,Feng 等^[13]的研究表明,养分添加对激发效应的影响与土 壤初始养分有效性显著相关,其中氮肥影响激发效 应强度随土壤氮素有效性的增加而显著降低,磷肥 和氮磷肥联合施用影响激发效应的强度随土壤磷素 有效性的增加而降低。此外,养分添加对土壤有机 碳激发效应的影响效应也会因土壤活性碳氮含量的 不同而产生显著差异^[14-15]。综上,研究养分添加对 土壤活性碳氮含量、碳降解功能微生物的影响,有 助于进一步揭示养分添加对土壤有机碳激发效应的 调控机制。

毛竹(Phyllostachys edulis)作为亚热带重要的 人工林资源,在我国总面积达 467.78 万公顷^[16]。近 年来,人们注意到毛竹林生态系统在固碳方面具有 巨大潜力^[17]。但长期集约经营(以化肥施用和林下 植被去除为主)却导致毛竹林土壤有机碳库的储量 和化学结构稳定性均显著下降^[18-19]。土壤有机碳矿 化是土壤生态系统碳循环的关键过程之一。理论上, 不同养分输入会引起土壤理化及微生物学性质的变 化,从而对土壤有机碳激发作用的方向与强度产生 显著影响,但亚热带人工林土壤有机碳激发效应对 不同类型养分输入的响应及其机制尚鲜见报道。鉴 于此,本研究以亚热带典型毛竹人工林土壤为研究 对象,通过室内培养试验,研究氮素、磷素及两者 联合添加对毛竹林土壤有机碳矿化及其激发效应、 微生物群落功能以及土壤理化性质的影响,并探讨 在不同养分添加条件下土壤有机碳激发效应与不同 土壤环境因子的关系,从而为亚热带人工林土壤有 机碳矿化及其激发效应的调控提供理论基础与科学 依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土壤样品采自浙江省杭州市临安区三口镇 (30°14′N,119°42′E)亚热带典型毛竹人工林 0~ 20 cm 土层。该地区属亚热带季风气候,年平均气 温 15.9℃,年平均降水量 1 450 mm。土壤类型为红 壤,土壤 pH 4.72,有机碳 17.6 g·kg⁻¹,全氮 1.85 g·kg⁻¹,全磷 1.02 g·kg⁻¹,有效磷 8.16 mg·kg⁻¹, 速效钾 85.2 mg·kg⁻¹,砂粒、粉粒、黏粒含量分别为 354、372、274 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

共设 4 个处理: (1) 无养分添加 (CT); (2) 氮 素添加 (N); (3) 磷素添加 (P); (4) 氮素和磷素 联合添加 (NP),每个处理 3 个重复。氮磷养分分 别以 CO(NH₂)₂和 NaH₂PO₄的形式添加到土壤,添 加比例为 N 0.2 g·kg⁻¹干土和 P 0.05 g·kg⁻¹干土。将 养分与过 2 mm 筛的新鲜土壤(相当于 200 g烘干土) 均匀混合,调整含水量约为土壤田间持水量 60%。 不同处理土壤分别装入 500 mL 梅森瓶中。

土壤产生的 CO_2 用碱液吸收法采集,并通过酸 碱滴定法测定 CO_2 排放量。简而言之,将鲜土(相 当于 200 g烘干土)和一个装有 20 mL 0.5 mol·L⁻¹ NaOH 溶液(用于吸收 CO_2)的小瓶放入 500 mL 梅 森瓶中,并将梅森瓶密封,在黑暗中培养 80 d(25°C), 试验期间保持土壤含水量为土壤田间持水量的 60% 左右。考虑到梅森瓶中的空气 CO_2 ,设置三个空白 对照(无土壤)。在培养的第 2、7、14、28、42、 56、80 天进行 CO_2 测量(使用 0.1 mol·L⁻¹ HCl 溶液 滴定),并更换 NaOH 溶液。

激发效应的计算基于养分添加下土壤原有有机 碳矿化的变化,公式如下^[20]:

$$PE = CO_{2, \hat{\beta} \hat{\beta} \hat{m} m} - CO_{2, \hat{\gamma} \hat{m}} \qquad (1)$$

式中, $CO_{2, \beta / \beta m}$ 表示养分添加下单位重量土壤排 放的 CO_2 量, $mg \cdot kg^{-1}$; $CO_{2, \gamma M}$ 表示对照处理下单 位重量土壤排放的 CO_2 量, $mg \cdot kg^{-1}$ 。

相对激发效应是 PE 与对照土壤中的有机碳矿 化量比值,计算方法如下^[21]:

式中, PE 表示养分添加下的激发效应, mg·kg⁻¹; CO_{2,对照}表示对照处理下单位重量土壤排放的 CO₂ 量, mg·kg⁻¹。

1.3 土壤理化性质与酶活性测定

每个试验单元设置同样条件的梅森瓶(内置相 当于 200 g 烘干土的新鲜土壤)用于破坏性取样。 不同土壤类型、不同外源碳类型等因素均会对土壤 激发效应的动态变化规律产生显著影响^[22-23]。通常 在培养前 2 周,土壤激发效应的动态变化较活跃; 而 2~10 周,土壤激发效应的动态变化相对较稳定。 因此,选择培养的第 14 天(土壤激发效应变化活跃 阶段)和第 56 天(土壤激发效应变化稳定阶段)进 行破坏性取样,并测定土壤理化性质、酶活性和碳 降解功能微生物基因(cbhI和 GH48)丰度。

土壤基本理化性质: 土壤 pH 以超纯水浸提, 土水比 1:2.5 (w/v); 土壤 SOC 和全氮含量使用元 素分析仪 (CHN-O-RAPID,德国)测定;有效磷 (Available phosphorus, AP)含量使用 HCl-NH₄F 法 测定;速效钾含量使用火焰光度法测定;铵态氮 (NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)用 2 mol·L⁻¹ KCl 溶 液浸提并测定^[24]。土壤可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)用 0.5 mol·L⁻¹ K₂SO₄提取, TOC-TN 分析仪(TOC-V_{CPH},日本)测定^[25]。土壤 微生物生物量碳(Microbial biomass carbon, MBC) 使用氯仿熏蒸法测定^[26]。

土壤有机碳组分:样品经氢氟酸溶液预处理后, 使用 ¹³C 核磁共振(¹³C-nuclear magnetic resonance, ¹³C-NMR)测定土壤有机碳组分^[27]。光谱分为 4 个 区域: δ =0~46(烷基碳)、 δ =46~114(烷氧基碳)、 δ =114~164(芳香碳)和 δ =164~220(羰基碳), 以此得到土壤不同有机碳组分的含量。 土壤酶活性:土壤 β-葡萄糖苷酶活性的测定方 法参考 Alef 和 Nannipieri^[28](以对硝基酚-β-D-吡喃 葡糖苷为底物);土壤蔗糖酶活性的测定方法参考 Frankenberger 和 Johanson^[29](以蔗糖为底物);核 酮糖-1,5-二磷酸羧化酶加氧酶(RubisCO)活性测 定的方法参考 Guo 等^[30];土壤多酚氧化酶活性的测 定方法参考 German 等^[31]。

1.4 土壤 DNA 提取和实时荧光定量 PCR 分析

称取 1.0 g 新鲜土壤,使用 Fast DNA Spin Kit (MP Biomedals,美国)提取 DNA 总量并溶于 TE 缓冲液,提取的土壤 DNA 样品保存于-70℃。

采用引物组 GH481F(5'-RRCATBTACGGBA TGCACTGGCT-3')和 GH481R(5'-VCCGCCCCCC ABGMGTARTACC-3')扩增细菌 GH48 功能基因, 用引物组 fungcbhIF(5'-ACCAAYTGCTAYACIRG YAA-3')和 fungcbhIR(5'-GCYTCCCAIATRTCC

ATC-3') 扩增真菌 *cbh*I 基因。PCR 采用 AP221-02 试剂盒(TransStart Fastpfu DNA 聚合酶, 20 µL 反 应体系)(南京诺唯赞生物科技有限公司,中国)在 ABI GeneAmp®9700型 PCR 仪(Applied Biosystems, 美国)中进行。细菌 *GH48* 的 PCR 扩增条件为 95℃ 下变性 3 min,然后进行 46 次热循环(95℃进行 30 s, 50℃退火 30 s, 72℃进行 45 s),最终在 72℃停留 10 min。真菌 *cbh*I 的 PCR 扩增在 95℃下变性 5 min, 随后进行 40 次热循环(94 ℃进行 30 s, 48℃退火 30 s, 72℃进行 90 s),最后再进行 84℃延伸 10 s。 扩增结束后对产物进行纯化。

PCR 扩增后,通过熔解曲线分析和琼脂糖凝胶 电泳观察产物,证实了扩增的特异性。随后用 QuantiFluorTM-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公 司,美国)测定细菌 *GH48* 和真菌 *cbh*I 的基因拷贝 数。土壤样品中目的基因的拷贝数以纯化的模板质 粒 DNA 产生的标准曲线为基础,实时荧光聚合酶链 反应效率为 82.00%~89.13%,两种功能基因的 R² 值均大于 0.998,用土壤干重计算基因拷贝数结果。

1.5 数据处理

利用双因素方差分析(Two-way ANOVA)检验 氮素和磷素添加两个因子及其交互作用对土壤 CO₂ 累积排放量、累积激发效应、土壤理化性质、酶活 性以及 *cbh*I 和 *GH48* 功能基因丰度的影响。利用重 复测量方差分析(Repeated measures ANOVA)检验 养分添加处理(对照、氮添加、磷添加和氮磷联合添加)、培养时间及其交互作用对土壤 CO₂ 排放速率、激发效应速率、土壤理化性质、酶活性以及 *cbh*I和 *GH48* 功能基因丰度的影响。采用皮尔逊相关分析研究了累积有机碳矿化与土壤理化性质、有机碳组分、酶活性以及碳降解功能基因丰度)之间的相关性。本试验数据的统计分析均采用 SPSS 25 软件, 绘图在 Origin 9.0 软件中进行。

2 结 果

2.1 氮磷添加对毛竹林土壤有机碳矿化与激发效 应的影响

N、P 养分添加及其交互作用均影响了毛竹林土 壤有机碳矿化及其激发效应(表1)。由图 1a 可知, 对照、氮素添加、磷素添加和氮磷联合添加处理下, 毛竹林土壤有机碳矿化 CO₂ 累积排放量分别为 2 517、4 816、3 000 和 4 906 mg·kg⁻¹。与对照相比, N、P 和 NP 处理使土壤有机碳矿化 CO₂ 累积排放量 分别提高了 91.3%、19.2%和 94.9%。由图 1b 可知, N、P 和 NP 处理下的累积激发效应分别为 2 299、 483 和 2 388 mg·kg⁻¹, N 和 NP 处理引发的毛竹林土 壤有机碳矿化激发效应累积量高于 P 处理(图1)。

表 1 氮、磷养分添加及两者交互作用对毛竹林土壤 CO₂ 累积排放量和累积激发效应的影响

影响因素 Source of variation	CO ₂ 累积排放量 Cumulative CO ₂ emission	累积激发效应 Priming effect
氮添加(N)	***	***
磷添加(P)	*	**
$\mathbf{N} \times \mathbf{P}$	ns	**

注:*、**和***分别表示不同养分添加在 P < 0.05, P < 0.01和 P < 0.001 显著水平下对因变量的影响, ns 则表示养分添加对 因变量影响不显著(P > 0.05)。下同。Note:*,** and *** represent the effects of different nutrient addition on the dependent variable at the significant level of P < 0.05, P < 0.01 and P < 0.001, respectively. NS represent no significant effect (P > 0.05). The same below.



注: CT 表示对照处理,N 表示氦添加处理,P 表示磷添加处理,NP 表示氮磷联合添加处理;*、**和***分别表示不同因素在 P < 0.05、P < 0.01和P < 0.001显著水平下对因变量的影响,ns则表示因素对因变量影响不显著(P > 0.05)。下同。Note: CT = control treatment, N = N nutrient addition treatment, P = P nutrient addition treatment, NP = N and P combined addition treatment; *, ** and *** represent the effects by different factors on dependent variable at the significant level of P < 0.05, P < 0.01 and P < 0.001, respectively. ns represent no significant effect (P > 0.05). The same below.

图 1 氮磷添加对毛竹林土壤 CO₂ 累积排放量(a)和累积激发效应(b)动态变化的影响 Fig. 1 Effects of nitrogen and phosphorus addition on the temporal dynamics of cumulative CO₂ emission(a) and cumulative priming effect(b) in a Moso bamboo plantation soil

重复测量方差分析结果表明(图1),培养时间 对土壤有机碳矿化与激发效应产生极显著影响(P< 0.001)。同时,如图2a所示,所有养分添加处理下 的土壤有机碳激发效应速率均呈现随时间推移逐渐 下降的规律(图2a)。培养28d后,P处理下的激 发效应逐渐由正激发转向负激发,NP处理产生的正 激发效应速率开始低于N处理。与激发效应速率的 时间动态类似,所有养分处理下的相对激发效应随 时间推移呈下降趋势(图1和图2b),不同处理下 相对激发效应的最高值均出现在第2天,最低值均 出现在第42天。培养28d后,P处理下的相对激发 效应逐渐由正转负,NP处理产生的相对激发效应开 始低于N处理。

2.2 氮磷添加对毛竹林土壤理化性质和有机碳组 分的影响

重复测量方差分析表明,试验处理对所有土壤 环境因子均产生极显著影响(P < 0.01),培养时间 对除 pH 和 β-葡萄糖苷酶以外的其他土壤环境因子 均产生显著影响(P < 0.05)(表 2)。与对照相比, 在养分添加处理下,毛竹林土壤 pH 以及 MBC、



图 2 氮磷添加对毛竹林土壤激发效应速率(a)和相对激发效应动态(b)变化的影响

Fig. 2 Effects of nitrogen and phosphorus addition on the temporal dynamics of rate of priming effect (a) and relative priming effect (b) in a Moso bamboo plantation soil

4期

DOC、NH⁴₄-N、NO³₃-N和AP含量均发生不同程度的变化(表3)。在培养的第14天和56天,N、P和NP处理均显著提高土壤pH(表3),P处理使土壤AP含量分别提高了125%和293%(表3)。 此外,与对照相比,在培养的第14天,与对照相比,N添加(N和NP处理)使土壤NH⁴₄-N含量 分别提高43.7%和40.6%,而P处理则使NH⁴₄-N 含量降低了 21.2%, 培养第 56 天的样品也呈现类 似的处理效应(表 3)。在培养的第 14 天, 与对照 处理相比, N 处理使土壤 NO₃⁻-N 含量提高 28.6%, P 输入则使土壤 NO₃⁻-N 含量降低 10.7%; 在培养 的第 56 天, 与对照处理相比, N 处理使 NO₃⁻-N 含量提高 86.3%, 而 P 输入则使土壤 NO₃⁻-N 含量 降低 10.2% (表 3)。

表 2 处理、培养时间及其交互作用对毛竹林土壤环境因子的影响(基于重复测量方差分析结果)

 Table 2
 Effects of treatments, incubation time and their interactions on soil environmental factors in a Moso bamboo plantation soil (based on repeated measures ANOVA)

	nН	微生物生物量碳	可溶性有机碳	铵态氮	硝态氮	有效磷 AP	烷基碳	烷氧碳
	рН	MBC	DOC	NH_4^+ -N	NO_3^- -N		Alkyl C	O-alkyl C
处理	***	***	***	***	***	***	***	***
Treatment (Tr)							-111-	
时间		***	***	***	***	***	*	**
Time (T)	ns							
处理×时间				4.4.4	de de de	de de de		
$Tr \times T$	ns	***	***	***	* * *	***	ns	**
	芳香碳	羰基碳	β-葡萄糖苷酶	蔗糖酶	多酚氧化酶	RubisCO 酶	cbhI 功能基因	GH48 功能基因
	芳香碳 Aromatic C	羰基碳 Carbonyl C	β-葡萄糖苷酶 BG	蔗糖酶 Invertase	多酚氧化酶 PPO	RubisCO 酶 RubisCO	<i>cbh</i> I 功能基因 <i>cbh</i> I gene	GH48 功能基因 GH48 gene
处理	芳香碳 Aromatic C	羰基碳 Carbonyl C	β-葡萄糖苷酶 BG	蔗糖酶 Invertase	多酚氧化酶 PPO	RubisCO 酶 RubisCO	<i>cbh</i> I 功能基因 <i>cbh</i> I gene	GH48 功能基因 GH48 gene
处理 Treatment (Tr)	芳香碳 Aromatic C ***	羰基碳 Carbonyl C ***	β-葡萄糖苷酶 BG **	蔗糖酶 Invertase ***	多酚氧化酶 PPO ***	RubisCO 酶 RubisCO ***	<i>cbh</i> I 功能基因 <i>cbh</i> I gene ***	GH48 功能基因 GH48 gene ***
处理 Treatment (Tr) 时间	芳香碳 Aromatic C ***	羰基碳 Carbonyl C ***	β-葡萄糖苷酶 BG **	蔗糖酶 Invertase ***	多酚氧化酶 PPO ***	RubisCO 酶 RubisCO ***	cbhI 功能基因 cbhI gene ***	GH48 功能基因 GH48 gene ***
处理 Treatment (Tr) 时间 Time (T)	芳香碳 Aromatic C *** **	羰基碳 Carbonyl C *** ***	β-葡萄糖苷酶 BG ** ns	蔗糖酶 Invertase *** ***	多酚氧化酶 PPO *** ***	RubisCO 酶 RubisCO *** ***	cbhI 功能基因 cbhI gene *** ***	GH48 功能基因 GH48 gene **** ***
处理 Treatment(Tr) 时间 Time(T) 处理×时间	芳香碳 Aromatic C *** **	羰基碳 Carbonyl C *** ***	β-葡萄糖苷酶 BG ** ns	蔗糖酶 Invertase *** ***	多酚氧化酶 PPO *** ***	RubisCO 酶 RubisCO *** ***	cbhI 功能基因 cbhI gene *** ***	GH48 功能基因 GH48 gene *** ***

注: BG 表示 β-葡萄糖苷酶 (β-glucosidase), PPO 表示多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase), 下同。Note: BG = β-glucosidase; PPO = Polyphenol oxidase. The same below.

在培养的第 14 天,与对照处理相比,N、P 和 NP处理使 MBC 含量分别提高 74.4%、22.0%和 79.2%, 培养第 56 天后养分添加对 MBC 含量的影响与此类 似。相比较而言,土壤 DOC 含量仅受 N 添加影响显 著 (*P* < 0.05,表3),培养 14 d 后,N和 NP 处理中 DOC 含量分别提高 152.7%和 146.6% (与对照处理相 比),同样的规律也存在于第 56 天的样品中(表3)。

由图 3 可见,养分添加处理显著影响了毛竹林 土壤有机碳组分含量。在培养的第 14 天和 56 天, N、P 和 NP 处理下的烷氧碳组分较对照处理均有不 同程度的上升,而芳香碳组分则有不同程度下降, 此外,P 处理下的烷氧碳组分低于 N 和 NP 处理。

2.3 氮磷添加对毛竹林土壤酶活性的影响

毛竹林土壤酶活性受 N、P 以及 NP 交互作用的 影响(图 4)。由图 4a 和 4b 可知,在培养的第 14 天,养分添加对 β-葡萄糖苷酶活性无显著影响,第 56 天,N 和 NP 处理下的 β-葡萄糖苷酶活性均显著 高于对照处理。由图 4c 和图 4d 可知,在第 14 和 56 天,N 处理、P 处理以及 NP 处理均显著提高了 蔗糖酶活性 (P < 0.05)。与此相反,在第 14 和 56 天,N 处理、P 处理以及 NP 处理均显著降低了多酚 氧化酶活性 (P < 0.05,图 4e 和图 4f)。此外,第 14 和 56 天,与对照处理相比,N 处理使 RubisCO 酶活性分别下降了 21.0%和 40.6% (图 4g 和 4h)。

表 3 氮、磷养分添加及两者交互作用对毛竹林土壤理化性质的影响

Table 3 Effects of nitrogen addition, phosphorus addition and their interaction on soil physicochemical properties in a Moso bamboo plantation soil

处理		微生物生物量碳 可溶性有机碳		铵态氮	硝态氮	有效磷	
Treatment	рн	MBC/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	DOC/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	$\rm NH_4^+$ -N/ ($\rm mg{\cdot}kg^{-1}$)	$\mathrm{NO}_3^-\operatorname{-N/}$ ($\mathrm{mg}{\cdot}\mathrm{kg}^{-1}$)	AP/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	
			第 14 天 Day 14				
СТ	4.60 ± 0.15	249.91 ± 8.75	54.52 ± 3.68	80.16 ± 4.37	19.87 ± 1.40	5.80 ± 0.54	
Ν	6.69 ± 0.20	435.80 ± 25.60	137.78 ± 7.33	115.18 ± 3.70	25.55 ± 2.21	5.85 ± 0.56	
Р	5.32 ± 0.12	304.98 ± 16.92	58.31 ± 3.13	63.21 ± 2.90	17.73 ± 1.32	13.06 ± 0.82	
NP	6.81 ± 0.15	447.74 ± 20.40	134.43 ± 3.47	112.71 ± 2.51	22.51 ± 0.95	16.55 ± 1.51	
<i>P</i> 值							
Ν	***	***	***	***	***	*	
Р	**	*	ns	**	*	***	
$\mathbf{N} imes \mathbf{P}$	*	ns	ns	**	ns	*	
			第 56 天 Day 56				
CT^{\ddagger}	4.43 ± 0.12	136.01 ± 5.00	23.94 ± 1.63	35.48 ± 2.10	42.29 ± 1.70	4.74 ± 0.12	
Ν	6.65 ± 0.27	234.50 ± 6.41	55.45 ± 3.97	50.30 ± 3.39	78.80 ± 2.47	4.72 ± 0.18	
Р	4.95 ± 0.16	212.30 ± 6.08	24.11 ± 1.52	26.15 ± 0.93	37.98 ± 1.93	18.64 ± 0.52	
NP	6.76 ± 0.16	241.51 ± 5.85	57.61 ± 3.31	50.32 ± 1.80	66.99 ± 5.82	17.74 ± 0.85	
<i>P</i> 值							
Ν	***	***	***	***	***	ns	
Р	*	***	ns	**	**	***	
$\mathbf{N} imes \mathbf{P}$	ns	***	ns	**	ns	ns	

2.4 氮磷添加对毛竹林土壤 cbhI 和 GH48 功能基因丰度的影响

N、P及其交互作用对毛竹林土壤碳降解微生物 功能基因丰度的影响如图 5 所示。在培养的第 14 天, N、P 以及 NP 联合添加下碳降解功能基因(*cbh*I 和 *GH48*) 丰度均上升,其中 *cbh*I 功能基因丰度的增 幅分别是 205%、13.6%和 233%,*GH48* 功能基因丰 度的增幅分别为 100%、21.7%和 69.8%。P 处理下 碳降解功能基因丰度(*cbh*I 和 *GH48*)均明显低于 N 和 NP 处理。在培养的第 56 天,与对照处理相比, N 和 NP 处理使 *cbh*I 功能基因丰度分别提高 80.8% 和 169%,使 *GH48* 功能基因丰度分别提高 51.2%和 34.9%。然而,P 处理则显著降低了 *cbh*I 功能基因 丰度(*P*<0.05),其降幅为 33.5%(图 5)。

2.5 土壤激发效应与环境因子的相关性

由表4可知,在培养的第14天,毛竹林土壤有 机碳矿化的激发效应与pH、MBC、DOC、烷氧碳、 芳香碳、NH⁴₄-N、NO³₃-N、*cbh*I 丰度和 *GH48* 丰度 之间均存在显著正相关(P < 0.05),而与羰基碳和 多酚氧化酶活性之间存在显著负相关(P < 0.05)。 与之相比较,在培养的第 56 天,激发效应与 pH、 MBC、DOC、烷氧碳、NH⁴₄-N、NO³₃-N、β-葡萄 糖苷酶活性、蔗糖酶活性、*cbh*I 丰度和 *GH48* 丰度 之间均呈显著正相关(P < 0.05),但与羰基碳和 RubisCO 酶活性之间呈显著负相关(P < 0.05,表 4)。

3 讨 论

3.1 氮磷添加对毛竹林土壤激发效应的影响

施肥是提高土壤肥力、增加作物产量的常用措施,氮磷养分添加会对土壤原有有机碳矿化产生显著影响,从而影响激发效应的方向和强度^[32-33]。本研究中,养分输入,尤其是氮素的添加,产生了累积正激发效应(表1,图1b),N和NP处理导致土



图 3 氮、磷养分添加及两者交互作用对毛竹林土壤有机碳组分的影响

Fig. 3 Effects of nitrogen addition, phosphorus addition and their interaction on the SOC chemical composition in a Moso bamboo plantation soil

壤原有有机碳矿化分别增加了 91%和 94%(图 1a), 上述结果与以往在森林^[34]和稻田^[11]生态系统中的 研究结果类似。这可能是由于在本试验中,氮素添 加显著提高了土壤氮素养分的有效性,提升了土壤 微生物的活性,促进了土壤原有有机碳的分解,从 而产生正激发效应^[13,35]。同时,本研究也发现,在 培养试验的 42 d 后,无论是否添加氮素,磷素的输 人均对激发效应速率和相对激发效应产生负面效应 (图 2a 和 2b)。杉木林土壤中的研究结果也显示^[36], 磷添加抑制了土壤有机碳的分解(7.5%)。综上,本 研究结果表明,养分输入整体上促进了毛竹人工林 土壤原有有机质的矿化,增加土壤碳库损失,对土 壤的碳汇功能产生负面影响。

3.2 氮磷添加影响毛竹林土壤有机碳激发效应的 机制

养分添加诱导的激发效应强度和方向与土壤 pH^[37-38]和有机碳库^[39-41]有关。本试验中,所有养分 添加处理下的土壤 pH 均高于对照土壤,其中氮添





Fig. 4 Effects of nitrogen addition, phosphorus addition and their interaction on enzyme activities in a Moso bamboo plantation soil



图 5 氮、磷养分添加及两者交互作用对毛竹林土壤 cbhI 和 GH48 基因丰度的影响

Fig. 5 Effects of nitrogen addition, phosphorus addition, and their interaction on the abundances of soil *cbh*I and *GH48* gene in a Moso bamboo plantation soil

Table 4	Relationships between soil cumulative priming effect and environmental factors in a Moso bamboo plantation soil							
累积激发效应	nН	微生物生物量	可溶性有机碳	铵态氮	硝态氮	有效磷 AP	烷基碳	烷氧碳
Cumulative PE	pm	碳 MBC	DOC	NH_4^+ -N	NO_3^- -N		Alkyl C	O-alkyl C
第 14 天 Day 14	0.974**	0.953**	0.972**	0.971**	0.767*	-0.048	-0.006	0.685*
第 56 天 Day 56	0.989**	0.898**	0.990**	0.984**	0.924**	-0.510	0.260	0.990**
累积激发效应	芳香碳	羰基碳	β-葡萄糖苷酶	蔗糖酶	多酚氧化酶	RubisCO 酶	cbhI 功能基因	GH48 功能基因
Cumulative PE	Aromatic C	Carbonyl C	BG	Invertase	РРО	RubisCO	cbhI gene	GH48 gene
第 14 天 Day 14	0.881**	-0.710*	-0.016	0.631	-0.878**	-0.528	0.977**	0.812**
第 56 天 Day 56	-0.079	-0.989**	0.906**	0.911**	-0.275	-0.904**	0.974**	0.855**

表 4 毛竹林土壤激发效应与环境因子的相关性

m(N 和 NP)下的 pH 均显著高于磷单独添加(表 3)。 而在以往文献中, 化肥施用普遍导致土壤酸化, 这 主要是选用的氮肥品种不同所致^[42-44]。以往研究大 多选用生理酸性的铵态氮肥(如硫酸铵、氯化铵), 由于作物和微生物吸收利用阳离子(NH₄)数量远 大于阴离子数量,残留在土体中的酸根离子使土壤 溶液的酸度提高,导致土壤 pH 显著下降^[42];而本 研究选用生理中性的酰胺态氮肥(尿素),其在酸性 土壤中的水解会消耗土壤溶液中的 H+[43]。以往的研 究结果表明,尿素施用会显著增加土壤 pH(2.2~ 3.1 单位), 且上述提升效应会延续至 90 d 以上, 这 可能是因为高 NH4-N 会导致偏高的盐基饱和度,从 而降低土壤溶液的H⁺浓度^[43-44]。本研究相关性分析 结果表明, pH 与累积激发效应之间存在极显著正相 关(表4)。本试验的 NMR 结果证明,养分(尤其 是氮素养分)添加有利于有机碳化学组成向可利用 性较高的烷氧碳偏移(图3)。Xing等^[45]的研究也表 明,高水平氮素养分添加显著提高了烷氧碳的含量, 从而提高土壤有机碳的可利用性,并提出氮素养分 添加显著提高土壤碳可利用性的可能机制:土壤氮 素添加导致的土壤中 NH₄-N 浓度的增加可能会抑 制部分优先利用易分解有机碳的微生物类群的增殖 及其活性,从而导致了土壤烷氧碳含量的增加^[46-47]。 烷氧碳组分含量的上升提高了底物有效性,刺激微 生物的生长,引发"共代谢"^[48],进而导致了土壤 有机碳矿化的正激发效应(表4)。培养期间土壤活 性有机碳库的变化同样支持了这一点。在不同培养 时间,养分添加处理均显著提高了土壤 MBC 含量 (表3), 与无氮添加处理(CT和P)相比, 氮添加 (N和NP)显著提高了DOC含量,而磷添加则对

DOC 含量无显著影响(表3)。同时,相关性分析结 果显示,DOC 含量和 MBC 含量均与累积激发效应 间存在显著的正相关关系(表4),这与以往的研究 结果一致^[49-51]。因此,养分添加产生累积正激发效 应的机制之一是其增加了土壤 pH 和活性有机碳库。

土壤养分有效性的增加可促进土壤微生物生物 量的增长,引起土壤有机碳矿化的正激发效应^[33]。 本研究的两次取样中(第14和56天),与对照相比, N 和 NP 处理使土壤 NH⁺₄-N 含量分别提高 43%和 41%, 而磷添加则使 NH⁺₄-N 含量下降了 24%(表 3), 这可能是由于有效磷含量的提高抑制了土壤有机氮 向 NH⁺₄-N 的转化,基于砂壤土的研究结果支持了这 一点^[52]。同样,N处理在两次取样中(第14和56 天)均显著提高了土壤 NO₃-N 含量, NP 处理在培 养后期(第56天)对土壤NO3-N含量有显著的促 进作用,然而P处理与对照处理之间无显著差异(表3)。 不同形态的有效氮(NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N)含量均与 激发效应呈显著正相关(表4)。因此,在氮素养分 初始有效性偏低的毛竹林土壤中,尿素添加缓解了 土壤氮限制,刺激微生物群落生长,提高其呼吸速 率,并增强了对土壤可利用碳源的矿化,导致正激 发效应[53]。与此相反,磷添加降低了土壤有效氮磷 比,加剧了土壤氮素养分限制^[3]。因此,磷添加处 理在试验初始阶段促使微生物以"氮挖掘"为目的 提高对土壤有机质的分解利用[54],导致试验初期的 正激发效应;而随着培养进行,可利用有机碳逐渐 被消耗,土壤微生物在养分限制和底物有效性下降 双重逆境胁迫下,其增殖过程和代谢活动被抑制, 导致培养后期土壤有机碳矿化的负激发效应。因此, 磷添加的长期效应可能存在抑制土壤有机质分解从 而降低土壤碳库损失的作用。

养分有效性的改变会影响土壤微生物群落并改 变其分泌的胞外酶活性,最终影响土壤有机碳的周 转速率[55-57]。本培养试验的初期(第14天),三种 养分添加处理均提高了土壤蔗糖酶活性以及碳降解 功能基因(cbhI和 GH48)丰度,并抑制了多酚氧 化酶活性和 RubisCO 活性 (图 4 和图 5); 多酚氧化 酶活性和碳降解功能基因丰度影响了试验初期的激 发效应(表4)。相比较而言,在培养试验的后期(第 56天),氮添加(N和NP)处理提高了β-葡萄糖苷 酶活性(图4),而单独添加磷显著降低了 cbhI 功能 基因丰度;培养试验后期的激发效应由β-葡萄糖苷 酶、蔗糖酶和 RubisCO 活性以及碳降解功能基因丰 度共同调控(表4)。因此,氮磷养分添加处理对土 壤正激发效应的影响机制在培养前期和后期存在明 显的差异,这可能是由于培养时间对土壤环境因子 具有显著影响效应所致(表2)。推测在培养初始阶 段,养分添加处理刺激了土壤微生物碳降解功能 (cbhI和 GH48 功能基因),并抑制了易分解有机碳 向难分解有机碳转化的过程(多酚氧化酶),从而提 高了底物有效性,导致正激发效应。而在培养后期, 氮添加(N和NP)处理促进碳降解胞外酶的分泌(β-葡萄糖苷酶和蔗糖酶活性),同时降低 CO2 固定过程 的暗反应速率(RubisCO活性),从而延续了正激发 效应。此外,磷添加处理在培养后期抑制土壤微生 物碳降解功能,降低了 cbhI 功能基因丰度,因此产 生负激发效应。根据"化学计量分解假说",土壤有 效养分化学计量与微生物需求相匹配时, 微生物的 活性最高,对有机质分解速率最大^[8]。因此,在氮 素养分初始有效性偏低的毛竹林土壤中,氮添加提 高有效氮磷比,同时提高底物质量^[58],从而缓解微 生物生长、繁殖等生命活动的养分限制,促进功能 微生物的丰度和活性,最终在短时间内提高土壤 CO₂排放。

4 结 论

氮素、磷素单独添加或者两者协同添加,均显 著增加了毛竹林土壤有机碳矿化的累积激发效应。 其中,P处理下的累积激发效应显著低于 N 和 NP 处理,其激发效应速率在第42天前后由正激发转向 负激发。氮磷养分添加可能是通过影响土壤 pH、活 性碳氮含量,并提升微生物的活性和功能,从而显 著提高土壤原有有机碳的矿化速率。养分添加引起 的毛竹林土壤正激发效应会对其碳汇功能产生负面 影响。今后在制订毛竹林土壤的施肥方案时,应综 合考虑氮磷添加对土壤养分有效性以及碳汇功能的 双重效应。

参考文献(References)

- Jandl R, Lindner M, Vesterdal L, et al. How strongly can forest management influence soil carbon sequestration?
 [J]. Geoderma, 2007, 137 (3/4): 253-268.
- [2] Liu S R, Yang Y J, Wang H. Development strategy and management countermeasures of planted forests in China: Transforming from timber-centered single objective management towards multi-purpose management for enhancing quality and benefits of ecosystem services[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38 (1): 1—10. [刘世荣,杨予静,王晖. 中国人工林经营 发展战略与对策:从追求木材产量的单一目标经营转 向提升生态系统服务质量和效益的多目标经营[J]. 生 态学报, 2018, 38 (1): 1—10.]
- [3] Feng J G, Zhu B. Global patterns and associated drivers of priming effect in response to nutrient addition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 153: 108118.
- Poeplau C, Zopf D, Greiner B, et al. Why does mineral fertilization increase soil carbon stocks in temperate grasslands? [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2018, 265: 144-155.
- [5] Álvaro-Fuentes J, Morell F J, Plaza-Bonilla D, et al. Modelling tillage and nitrogen fertilization effects on soil organic carbon dynamics[J]. Soil & Tillage Research, 2012, 120: 32—39.
- [6] Tonitto C, Goodale C L, Weiss M S, et al. The effect of nitrogen addition on soil organic matter dynamics: A model analysis of the Harvard Forest Chronic Nitrogen Amendment Study and soil carbon response to anthropogenic N deposition[J]. Biogeochemistry, 2014, 117 (2/3): 431-454.
- [7] Liang F, Li J W, Zhang S Q, et al. Two-decade long fertilization induced changes in subsurface soil organic carbon stock vary with indigenous site characteristics[J]. Geoderma, 2019, 337: 853-862.
- [8] Hessen D O, Ågren G I, Anderson T R, et al. Carbon sequestration in ecosystems: The role of stoichiometry[J].
 Ecology, 2004, 85 (5): 1179–1192.
- [9] Wu L, Xu H, Xiao Q, et al. Soil carbon balance by priming differs with single versus repeated addition of glucose and soil fertility level[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2020, 148: 107913.

- [10] Wang Q K, Chen L C, Yang Q P, et al. Different effects of single versus repeated additions of glucose on the soil organic carbon turnover in a temperate forest receiving long-term N addition[J]. Geoderma, 2019, 341: 59-67.
- [11] Liu Y H, Zang H D, Ge T D, et al. Intensive fertilization
 (N, P, K, Ca, and S) decreases organic matter decomposition in paddy soil[J]. Applied Soil Ecology, 2018, 127: 51-57.
- [12] Qiu Q Y, Wu L F, Ouyang Z, et al. Priming effect of maize residue and urea N on soil organic matter changes with time[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 100: 65-74.
- Feng J G, Tang M, Zhu B. Soil priming effect and its responses to nutrient addition along a tropical forest elevation gradient[J]. Global Change Biology, 2021, 27 (12): 2793-2806.
- [14] Song M H, Guo Y, Yu F H, et al. Shifts in priming partly explain impacts of long-term nitrogen input in different chemical forms on soil organic carbon storage[J]. Global Change Biology, 2018, 24 (9): 4160-4172.
- [15] Li J Y, Han G X, Wang G M, et al. Imbalanced nitrogen-phosphorus input alters soil organic carbon storage and mineralisation in a salt marsh[J]. Catena, 2022, 208: 105720.
- [16] Li Y M, Feng P F. Bamboo resources in China based on the ninth national forest inventory data[J]. World Bamboo and Rattan, 2019, 17 (6): 45—48. [李玉敏, 冯鹏飞. 基于第九次全国森林资源清查的中国竹资源分析[J]. 世界竹藤通讯, 2019, 17 (6): 45—48.]
- [17] Song X Z, Zhou G M, Jiang H, et al. Carbon sequestration by Chinese bamboo forests and their ecological benefits: Assessment of potential, problems, and future challenges[J]. Environmental Reviews, 2011, 19 (NA); 418-428.
- Li Y F, Zhang J J, Chang S X, et al. Long-term intensive management effects on soil organic carbon pools and chemical composition in Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) forests in subtropical China[J]. Forest Ecology and Management, 2013, 303: 121–130.
- [19] Zhang J J, Li Y F, Chang S X, et al. Understory management and fertilization affected soil greenhouse gas emissions and labile organic carbon pools in a Chinese chestnut plantation[J]. Forest Ecology and Management, 2015, 337: 126–134.
- [20] Balesdent J, Balabane M. Maize root-derived soil organic carbon estimated by natural ¹⁵C abundance[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1992, 24 (2): 97–101.
- [21] Wang H, Boutton T W, Xu W H, et al. Quality of fresh organic matter affects priming of soil organic matter and substrate utilization patterns of microbes[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 10102.
- [22] Yu Z, Chen L, Pan S, et al. Feedstock determines biochar-induced soil priming effects by stimulating the

activity of specific microorganisms[J]. European Journal of Soil Science, 2018, 69 (3): 521-534.

- [23] Fang Y Y, Singh B, Singh B P. Effect of temperature on biochar priming effects and its stability in soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2015, 80: 136—145.
- [24] Page A L, Miller R H, Keeney D R. Methods of soil analysis[M]. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1982.
- [25] Gregorich E G, Beare M H, Stoklas U, et al. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils[J]. Geoderma, 2003, 113 (3/4): 237-252.
- [26] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19 (6): 703-707.
- [27] Li Y C, Li Y F, Chang S X, et al. Bamboo invasion of broadleaf forests altered soil fungal community closely linked to changes in soil organic C chemical composition and mineral N production[J]. Plant and Soil, 2017, 418 (1/2): 507-521.
- [28] Alef K, Nannipieri P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry[M]. Amsterdam : Elsevier, 1995.
- [29] Frankenberger W T, Johanson J B. Factors affecting invertase activity in soils[J]. Plant and Soil, 1983, 74(3): 313-323.
- [30] Guo G X, Kong W D, Liu J B, et al. Diversity and distribution of autotrophic microbial community along environmental gradients in grassland soils on the Tibetan Plateau[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99 (20): 8765-8776.
- [31] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, et al. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43 (7): 1387-1397.
- [32] Chen L J, Jiang Y J, Liang C, et al. Competitive interaction with keystone taxa induced negative priming under biochar amendments[J]. Microbiome, 2019, 7(1): 77.
- [33] Li J Y, Han G X, Wang G M, et al. Imbalanced nitrogen-phosphorus input alters soil organic carbon storage and mineralisation in a salt marsh[J]. Catena, 2022, 208: 105720.
- [34] Nottingham A T, Turner B L, Chamberlain P M, et al. Priming and microbial nutrient limitation in lowland tropical forest soils of contrasting fertility[J]. Biogeochemistry, 2012, 111 (1/2/3): 219–237.
- [35] Fan Y X, Zhong X J, Lin T C, et al. Effects of nitrogen addition on DOM-induced soil priming effects in a subtropical plantation forest and a natural forest[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56 (2): 205-216.
- [36] Fang X M, Zhang X L, Chen F S, et al. Phosphorus

addition alters the response of soil organic carbon decomposition to nitrogen deposition in a subtropical forest[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2019, 133: 119–128.

- [37] Xiao Q, Huang Y P, Wu L, et al. Long-term manuring increases microbial carbon use efficiency and mitigates priming effect via alleviated soil acidification and resource limitation[J]. Biology and Fertility of Soils, 2021, 57 (7): 925-934.
- [38] Aye N S, Butterly C R, Sale P W G, et al. Interactive effects of initial pH and nitrogen status on soil organic carbon priming by glucose and lignocellulose[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 123: 33-44.
- [39] Azeem M, Hayat R, Hussain Q, et al. Effects of biochar and NPK on soil microbial biomass and enzyme activity during 2 years of application in the arid region[J]. Arabian Journal of Geosciences, 2019, 12 (10): 1-13.
- [40] Li L J, Ye R Z, Zhu-Barker X, et al. Soil microbial biomass size and nitrogen availability regulate the incorporation of residue carbon into dissolved organic pool and microbial biomass[J]. Soil Science Society of America Journal, 2019, 83 (4): 1083-1092.
- [41] Zhang Y L, Yao S H, Mao J D, et al. Chemical composition of organic matter in a deep soil changed with a positive priming effect due to glucose addition as investigated by ¹³C NMR spectroscopy[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2015, 85: 137-144.
- [42] Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327 (5968): 1008—1010.
- [43] Jiang Z H, Zeng Q R, Pi H J, et al. Change of pH and volatilization of ammonia by fertilizing different types of urea in soil[J]. Environmental Chemistry, 2009, 28(2): 177—180. [蒋朝晖,曾清如,皮荷杰,等. 不同品种尿 素施人土壤后 pH 值的变化和氨气释放差异[J]. 环境化 学, 2009, 28(2): 177—180.]
- [44] Hamidi N H, Ahmed O H, Omar L, et al. Combined use of charcoal, sago bark ash, and urea mitigate soil acidity and aluminium toxicity[J]. Agronomy, 2021, 11 (9): 1799.
- [45] Xing W, Lu X M, Ying J Y, et al. Disentangling the effects of nitrogen availability and soil acidification on microbial taxa and soil carbon dynamics in natural grasslands[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2022, 164: 108495.
- [46] Müller T, Walter B, Wirtz A, et al. Ammonium toxicity in bacteria[J]. Current Microbiology, 2006, 52 (5): 400-406.
- [47] Wang C, Liu D W, Bai E. Decreasing soil microbial

diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 120: 126–133.

- [48] Chen G H, Fang Y Y, van Zwieten L, et al. Priming, stabilization and temperature sensitivity of native SOC is controlled by microbial responses and physicochemical properties of biochar[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 154: 108139.
- [49] Rousk J, Hill P W, Jones D L. Priming of the decomposition of ageing soil organic matter : Concentration dependence and microbial control[J]. Functional Ecology, 2015, 29 (2): 285-296.
- [50] Liu X J A, Sun J R, Mau R L, et al. Labile carbon input determines the direction and magnitude of the priming effect[J]. Applied Soil Ecology, 2017, 109: 7–13.
- [51] Feng S Z, Huang Y, Ge Y H, et al. Variations in the patterns of soil organic carbon mineralization and microbial communities in response to exogenous application of rice straw and calcium carbonate[J]. Science of the Total Environment, 2016, 571: 615–623.
- [52] Cheng Y, Wang J, Sun N, et al. Phosphorus addition enhances gross microbial N cycling in phosphorus-poor soils: A ¹⁵N study from two long-term fertilization experiments[J]. Biology and Fertility of Soils, 2018, 54 (6): 783–789.
- [53] Sullivan B W, Hart S C. Evaluation of mechanisms controlling the priming of soil carbon along a substrate age gradient[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2013, 58: 293-301.
- [54] Chen R R, Senbayram M, Blagodatsky S, et al. Soil C and N availability determine the priming effect: Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories[J]. Global Change Biology, 2014, 20 (7): 2356–2367.
- [55] Fan F L, Yu B, Wang B R, et al. Microbial mechanisms of the contrast residue decomposition and priming effect in soils with different organic and chemical fertilization histories[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2019, 135: 213-221.
- [56] Zhou Z F, Wei W L, Shi X J, et al. Twenty-six years of chemical fertilization decreased soil RubisCO activity and changed the ecological characteristics of soil *cbbL*-carrying bacteria in an entisol[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 141: 1-9.
- [57] Zhang Q F, Cheng L, Feng J G, et al. Nitrogen addition stimulates priming effect in a subtropical forest soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 160: 108339.
- [58] Angst G, Mueller K E, Nierop K G J, et al. Plant- or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 156: 108189.