

DOI: 10.5846/stxb201405120970

郑棉海, 黄娟, 陈浩, 王晖, 莫江明. 氮、磷添加对不同林型土壤磷酸酶活性的影响. 生态学报, 2015, 35(20): - .

Zheng M H, Huang J, Chen H, Wang H, Mo J M. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil phosphatase activity in different forest types. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(20): - .

氮、磷添加对不同林型土壤磷酸酶活性的影响

郑棉海^{1,3}, 黄娟¹, 陈浩^{1,3}, 王晖², 莫江明^{1,*}

1 中国科学院华南植物园, 中国科学院退化生态系统植被恢复与管理重点实验室, 广州 510650

2 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091

3 中国科学院大学, 北京 100039

摘要: 本文研究了鼎湖山三种森林类型(南亚热带季风常绿阔叶林、马尾松人工林和针叶阔叶混交林)的土壤酸性磷酸单酯酶活性(APA)对施肥的响应情况。在三种林型中分别设置对照、加氮(150 kg N hm⁻² a⁻¹)、加磷(150 kg P hm⁻² a⁻¹)以及 N 和 P 同时添加(150 kg N hm⁻² a⁻¹+150 kg P hm⁻² a⁻¹)4 种不同处理。结果表明, 季风林土壤 APA(15.83 ± 2.46 μmol g⁻¹ h⁻¹)显著高于混交林(10.71 ± 0.78 μmol g⁻¹ h⁻¹)和马尾松林(9.12 ± 0.38 μmol g⁻¹ h⁻¹), 且三种林型土壤 APA 与土壤有效磷含量均呈显著负相关。施加 N 肥显著提高了季风林土壤 APA, 而对混交林和马尾松林的作用不显著。施加 P 肥显著降低了混交林和马尾松林土壤 APA, 但对季风林的影响不明显。N 和 P 同时添加仅显著降低了马尾松林土壤 APA, 但在季风林中存在交互作用。因此, 本研究认为 N 沉降会加剧亚热带成熟林土壤 P 的限制, 我们可以考虑施加 P 肥作为森林管理的一种方式缓解这种限制作用。

关键词: 酸性磷酸酶活性; 氮沉降; 氮添加; 磷添加; 磷限制; 鼎湖山

Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil phosphatase activity in different forest types

ZHENG Mianhai^{1,3}, HUANG Juan¹, CHEN Hao^{1,3}, WANG Hui², MO Jiangming^{1,*}

1 Key Laboratory of Vegetation Restoration and Management of Degraded Ecosystems, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 501650, China

2 Key Laboratory of Forest Ecology and Environment, China's State Forestry Administration, Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract: Phosphorus (P) as a basic mineral nutrient is considered to constrain primary productivity in many tropical and subtropical forests. Soil phosphatase plays a very important role in P cycling in forest ecosystems because it catalyzes the hydrolysis of soil organic P compounds (e.g., nucleic acids and phospholipids) into forms that are available to plants and soil microbes. Soil phosphatase activity is widely considered an effective indicator of the P demand of plants and microbes due to its ability to mediate plant and microbial nutrient acquisition from organic P compounds. In recent decades, increasing nitrogen (N) deposition due to human activity has been demonstrated to cause soil P deficiency and increase soil acid phosphomonoesterase activity (APA) in several tropical or subtropical forests. However, little is known about the effects of N deposition on soil APA in other forest types (e.g., broadleaf forest and coniferous forest) or whether P addition may relieve soil P limitation in these forests. The present study investigated the responses of soil APA to N and P additions

基金项目: 国家自然科学基金(41203089, 41273143); 广东省自然科学基金博士启动项目(S2012040007989)

收稿日期: 2014-05-12; **网络出版日期:** 2014-12-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mojm@scib.ac.cn

in a monsoon evergreen broadleaf forest (MEBF), a *Pinus massoniana* forest (PF), and a mixed broadleaf and pine forest (MF) in Dinghushan Mountain, Guangdong Province of southern China via a six-year fertilization experiment. The experiment used full factorial design, including four treatments: control (no fertilization), N addition ($150 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), P addition ($150 \text{ kg P hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$), and combined N and P addition ($150 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ plus $150 \text{ kg P hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$). Each $5 \text{ m} \times 5 \text{ m}$ plot was established with a surrounding buffer strip (5 m wide). For each N and P application, NH_4NO_3 and NaH_2PO_4 solutions were applied below the canopy with a backpack sprayer, every other month from January 2007 to July 2013. In July 2013, soil samples were collected for analysis. Results showed that soil APA was significantly higher in MEBF ($15.83 \pm 2.46 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) than that in MF ($10.71 \pm 0.78 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) or PF ($9.12 \pm 0.38 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) soils, and a significant negative correlation existed between soil APA and soil available P contents in all forest types. N addition significantly increased soil APA in MEBF, while no statistical difference was found in MF or PF. P addition significantly decreased soil APA in MF and PF, but had no significant effect in MEBF. Combined N and P addition notably depressed soil APA in PF, but had no significant influence in MEBF and MF. Importantly, interactions between N and P additions were observed in MEBF. Based on our results, N deposition is expected to aggravate soil P deficiency in mature subtropical forest, while the N-induced P-limited state of these forests might be effectively relieved by P addition. In conclusion, the addition of P fertilizer may serve as an effective method for the sustainable future development of tropical and subtropical forests.

Key Words: acid phosphatase activity; nitrogen deposition; nitrogen addition; phosphorus addition; phosphorus limitation; Dinghushan Mountain

磷(P)是自然界中的基本矿质元素,它不仅参与生物细胞膜的合成、酶的活化以及信号的转导^[1],同时也是构成绝大多数生物能源物质(ATP)的重要成分^[2]。然而,P的缺乏导致许多森林植物和土壤生物的生长受到限制。尤其在热带森林中,长期的风化淋溶和生物吸收使土壤P的含量逐渐减少,所以热带成熟林生产力普遍受到P的限制^[3-4]。土壤磷酸酶在土壤P的循环中起重要的作用,即它可以将土壤中的复杂有机P水解成可被生物直接吸收的无机P,从而缓解了土壤P的限制^[5]。因此,土壤磷酸酶活性的高低直接反映了土壤P的基本状况。

有研究认为,人类活动引起大气氮(N)沉降的增加将会加剧土壤P的限制,进而改变土壤磷酸酶的活性^[6-8]。据统计,目前全球多数地区的N沉降速率已经超过 $10 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[9],而我国N沉降以每年 $0.41 \text{ kg N hm}^{-2}$ 的速率增加,仅在2000年的记录就达到了 $21.1 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[10]。长期N沉降对森林植物和土壤生物的生长造成危害^[11],尤其是N沉降引起的土壤P限制将会进一步抑制森林生物的生长。多数研究表明,长期N沉降或施加N肥提高了温带森林土壤的磷酸酶活性^[12-14],但目前关于N沉降影响热带或亚热带森林土壤磷酸酶活性的报道很少。前期,我们在亚热带森林(鼎湖山)的研究已经发现,长期N沉降可能引起土壤P的限制并提高了土壤的磷酸酶活性^[15],然而这种限制作用是否可以通过施加P肥得到缓解需要进一步的研究。

鼎湖山处于亚热带地区,并且长期受到大气N沉降的影响。据估计,2004—2005年该地区大气中的无机氮和有机氮输入分别达到 $32\text{—}34 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 和 $18 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[16]。此外,鼎湖山土壤呈酸性,因此通过测定土壤酸性磷酸单酯酶活性(Acid Phosphomonoesterase Activity,简称APA)可以直接了解土壤P的状况。本研究的目的是通过原位的N、P添加试验,研究N沉降对亚热带森林土壤APA的影响,同时探索P素输入是否可以缓解N沉降对森林土壤P的限制,进而为N沉降不断增加背景下的亚热带森林管理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 样地基本概况

鼎湖山自然保护区位于广东省中部($112^{\circ}30'\text{—}112^{\circ}33'\text{E}$, $23^{\circ}09'\text{—}23^{\circ}11'\text{N}$),占地面积约 1200 hm^2 。该地

属亚热带季风湿润型气候,年降水量为 1927 mm,其中 75% 分布在 3 月至 8 月,而 12 月至 2 月仅占 6%;年平均气温为 21 ℃,最冷月(1 月)和最热月(7 月)气温分别为 12.6 ℃和 28.0 ℃^[17]。

该保护区主要包括 3 种典型的森林类型,即马尾松人工林(*Pinus massoniana* Forest,简称马尾松林(PF))、针叶阔叶混交林(Mixed Pine and Broadleaf Forest,简称混交林(MF))和季风常绿阔叶林(Monsoon Evergreen Broadleaf Forest,简称季风林(MEBF))。马尾松林由人工种植于 1930 年,覆盖面积占保护区面积约 20%,其主要植被为马尾松(*Pinus massoniana*)^[18]。混交林是由人工种植的马尾松林被一些阔叶树种入侵而形成的针叶、阔叶混交树林,其占地面积约 50%,主要植被为马尾松、荷木(*Schima superba*)和中华锥(*Castanopsis chinensis*)等^[18]。季风林占保护区面积 20%,其主要树种为中华锥、荷木、黄果厚壳桂(*Cryptocarya concinna*)和中华楠(*Machilus chinensis*)等^[19]。马尾松林和混交林分别在 1930—1998 年和 1930—1956 年受到人类活动的干扰(如收割地表植被和凋落物等),而季风林则受到长期的保护^[18, 20]。三种森林类型的土壤基本概况见表 1。

表 1 2013 年鼎湖山三种森林类型的土壤基本概况

Table 1 Soil characteristics of three forest types at Dinghushan Mountain in 2013

土壤基本指标 Soil characteristics	森林类型 Forest types		
	季风林 MEBF	混交林 MF	马尾松林 PF
土壤类型 Soil type	赤红壤 Latosolic red soil	赤红壤 Latosolic red soil	赤红壤 Latosolic red soil
土壤有机碳 SOC (%)	3.96 (0.74) ^a	2.00 (0.53) ^b	2.39 (0.41) ^b
铵态氮 NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	19.43 (2.07) ^a	17.63 (1.74) ^{ab}	13.88 (1.00) ^b
硝态氮 NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	13.28 (0.60) ^a	3.15 (0.43) ^c	7.05 (1.24) ^b
全氮 TN (g kg ⁻¹)	2.48 (0.22) ^a	1.01 (0.06) ^b	1.24 (0.10) ^b
全磷 TP (g kg ⁻¹)	0.20 (0.01)	0.21 (0.01)	0.17 (0.02)
有效磷 AP (mg kg ⁻¹)	3.77 (0.33) ^a	1.63 (0.52) ^b	1.98 (0.25) ^b
全磷/全氮 TP/TN	0.10 (0.01) ^a	0.15 (0.10) ^b	0.14 (0.11) ^b
pH(H ₂ O)	3.92 (0.05) ^a	4.21 (0.02) ^c	4.05 (0.03) ^b
酸性磷酸酶活性 APA	15.83 (2.46) ^a	10.71 (0.78) ^b	9.12 (0.38) ^b

APA:酸性磷酸酶活性 acid phosphatase activity; MEBF:季风林 monsoon evergreen broadleaf forest; MF:混交林 mixed pine and broadleaf forest; PF:马尾松林 *Pinus massoniana* forest; SOC:土壤有机碳 soil organic carbon; TN:全氮 total nitrogen; TP:全磷 total phosphorus; AP:有效磷 available phosphorus; 结果表示为平均值(标准误);不同字母表示林型之间的差异显著($P < 0.05$)

1.2 样地设计

2007 年,在鼎湖山季风林、混交林和马尾松林分别建立了 20 个 5 m×5 m 的 N、P 添加样方。每个样方之间留有 5m 宽的缓冲带,以防样方之间的相互干扰。按照析因设计的原则,在 3 个林子中分别设置对照、加 N (150 kg N hm⁻²a⁻¹)、加 P (150 kg · P hm⁻²a⁻¹)、N 和 P 同时添加(150 kg N hm⁻²yr⁻¹+150 kg · P hm⁻²a⁻¹)4 个处理,每个处理各 5 个重复,且所有的样方均随机分布。本研究所用的样方大小及施肥量均参考国际上同类研究的处理方法^[21]。2007 年 1 月至 2013 年 7 月(6 年),每两个月对 3 个林子的林下层进行一次施肥处理。方法是每个样方所施加的 N(NH₄NO₃)、P(NaH₂PO₄)或者 N+P(NH₄NO₃+NaH₂PO₄)溶解于 5 L 水中,用背式喷雾器人工来回进行喷洒。对对照样方喷洒等量的水,以减少因外加的水对森林生物地球化学循环造成影响。

1.3 采样和处理

2013 年 7 月,在季风林、混交林和马尾松林土壤分别进行随机布点采样。在每个样方中用内径为 2.5 cm 的土钻随机钻取 3 钻土,取土深度为 0—10 cm(前期研究认为鼎湖山森林 10—20 cm 土层 APA 对施肥的响应规律与 0—10 cm 基本一致^[22])。将每个样方所钻的土混合均匀并挑出细根和石粒等杂物,通过 2mm 的土筛后分成两部分:一部分保存在 4 ℃的冰箱,并于 14 天内完成对土壤 APA 的分析^[23];另一部分风干后用于测定土壤的理化性质。

1.4 测定方法

土壤 APA 的测定参照 Schneider 等的方法^[24], 并进行适当的改进。具体操作即称取 1 g 鲜土样品置于 50 ml 锥形瓶中, 加入 4 ml 缓冲液 (MUB) 和 1 ml 质量浓度为 100 mM 的对硝基酚底物 (*p*-NPP)。盖上瓶盖后充分摇匀, 并在 37 °C 下培养 1 h。待培养结束后, 立即加入 1 mL CaCl₂ (0.5 mol L⁻¹) 和 4 mL NaOH (0.5 mol L⁻¹) 以终止反应。反应结束后, 所有样品均用 90 mL 蒸馏水进行稀释, 并用滤膜 (Whatman-42 filter) 过滤去除杂质。滤液在 400 nm 波长下进行比色以测定吸光值。磷酸酶活性的单位用 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ 表示。

土壤理化性质的分析均采用中国生态系统研究网络观测与分析标准方法进行^[25]。其中, 土壤含水率 (Moisture) 的测定采用烘干法; 土壤 pH 的测定采用土水比 1:2.5 的电位法; 土壤有机碳 (SOC) 的测定采用重铬酸钾氧化—外加加热法; 土壤全氮 (TN) 采用半微量开氏法; 土壤铵态氮 (NH₄⁺)、硝态氮 (NO₃⁻) 的测定分别采用氯化钾浸提—靛酚蓝比色法和镀铜镉还原—重氮化偶合比色法; 土壤有效氮 (AN) 以 NH₄⁺ 和 NO₃⁻ 的总和表示; 土壤全磷 (TP) 的测定采用硫酸—高氯酸消煮—钼锑抗比色法; 土壤有效磷 (AP) 的测定采用盐酸—氯化铵浸提—钼锑抗比色法。

1.5 统计分析

所有数据均用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著极差法 (LSR) 比较不同森林类型土壤理化指标和 APA 的差异显著性。用两因素方差分析 (two-way ANOVA) 比较 N、P 及 NP 处理对土壤 APA 的影响。用 Pearson 相关系数评价土壤 APA 与土壤理化性质之间的相关性。如无特别说明, 显著性水平均设为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 三种林型土壤 APA 与土壤理化性质的关系

三种森林类型 (季风林、混交林和马尾松林) 土壤 APA 分别为 15.83 ± 2.46 、 10.71 ± 0.78 和 $9.12 \pm 0.38 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ 。不同森林类型土壤 APA 之间的差异达到显著水平 ($P=0.021$), 季风林土壤 APA 显著高于混交林和马尾松林, 但混交林与马尾松林土壤 APA 之间没有显著差异 (表 1)。

从表 2 得知, 季风林土壤 APA 与 AP 和 pH 之间均存在显著相关性, 相关系数 R 分别为 -0.451 和 -0.459。混交林土壤 APA 与 AP、TP、AP/TP、TP/TN、AP/AN 均有极显著相关性 ($P < 0.005$), 相关系数分别达到 -0.756、-0.614、-0.767、-0.701 和 -0.745。马尾松林土壤 APA 与土壤理化性质之间的相关性与混交林相似, 即与 AP、TP、AP/TP、TP/TN、AP/AN 均存在显著相关性, 相关系数分别为: -0.524、-0.485、-0.537、-0.523 和 -0.523。

表 2 不同森林类型土壤 APA 与土壤理化性质的相关性 ($n=20$)

Table 2 Correlations between soil APA and soil physiochemical properties in different forest types

森林类型 Forest types		含水率 Moisture	有效磷 AP	全磷 TP	有机碳 SOC	有效磷/ 全磷 AP/TP	全磷/ 全氮 TP/TN	有效磷/ 有效氮 AP/AN	pH
不同林型土壤酸性磷酸酶活性	季风林 MEBF	0.170	-0.451 *	-0.432	0.110	-0.294	-0.309	-0.428	-0.459 *
Soil APA in different forest types	混交林 MF	0.140	-0.756 **	-0.614 **	0.260	-0.767 **	-0.701 **	-0.745 **	0.167
	马尾松林 PF	0.198	-0.524 *	-0.485 *	0.127	-0.537 *	-0.523 *	-0.523 *	0.015

APA: 酸性磷酸酶活性 acid phosphatase activity; MEBF: 季风林 monsoon evergreen broadleaf forest; MF: 混交林 mixed pine and broadleaf forest; PF: 马尾松林 *Pinus massoniana* forest; SOC: 土壤有机碳 soil organic carbon; TN: 全氮 total nitrogen; TP: 全磷 total phosphorus; AN: 有效氮 available nitrogen; AP: 有效磷 available phosphorus; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

2.2 N、P 添加对三种林型土壤 APA 的影响

从图 1 可以看出, (1) N 添加处理使季风林土壤 APA 显著提高了 131.96%; 在混交林和马尾松林中, 施加 N 肥分别使土壤 APA 降低了 10.55% 和 17.76%, 但差异均不显著; (2) P 添加处理分别使季风林、混交林和

马尾松林土壤 APA 降低了 32.41%、56.12% 和 41.67%,但只在混交林和马尾松林中的作用达到显著水平;(3) N 和 P 同时添加使季风林土壤 APA 轻微增加了 1.64%,使混交林和马尾松林土壤 APA 分别降低 28.94% 和 30.15%,其中对马尾松林的作用达到显著水平。两因素方差分析表明,N 和 P 同时添加在季风林中存在交互作用($P=0.008$),而在混交林和马尾松林中的作用均不显著。

3 讨论

3.1 三种林型土壤 APA 的差异

鼎湖山森林土壤 APA 为 $9.23\text{--}15.83\ \mu\text{mol g}^{-1}\text{ h}^{-1}$,在热带森林的研究范围 $3.89\text{--}23.26\ \mu\text{mol g}^{-1}\text{ h}^{-1}$ 内^[26-28]。三种不同林型的土壤 APA 与土壤 AP 之间均存在显著负相关(表 2),这与 Allison 等^[29]的研究结果一致。原因可能是在土壤处于缺 P 的情况下,土壤微生物或植物根系可能通过生物固持和吸收等多种方式继续消耗土壤 AP^[30],而土壤 AP 的缺乏也将促进微生物或者植物释放出更多的磷酸酶来获取 P^[31-32]。这表明鼎湖山森林土壤 AP 的缺乏间接提高了土壤 APA。

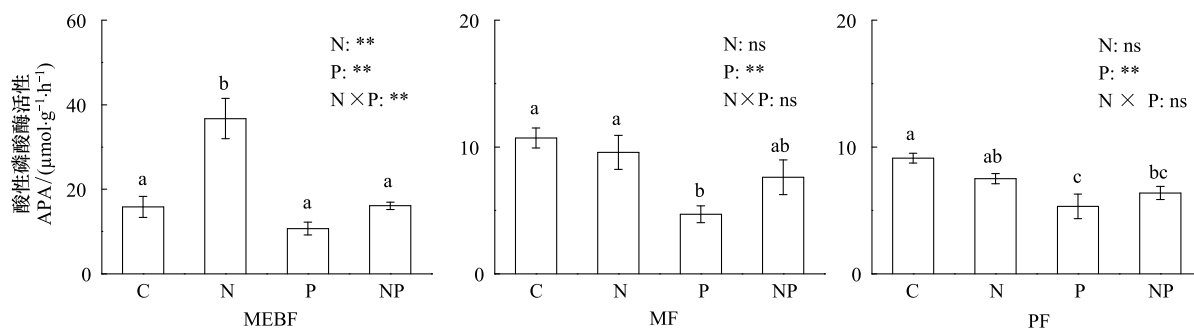


图 1 氮、磷添加对不同森林类型土壤酸性磷酸酶活性的影响

Fig.1 Effect of N,P addition on soil APA in different forest types

MEBF:季风林 monsoon evergreen broadleaf forest; MF:混交林 mixed pine and broadleaf forest; PF:马尾松林 *Pinus massoniana* forest; APA:酸性磷酸酶活性 acid phosphatase activity; C:对照 control; N:施加 N 肥 N addition; P:施加 P 肥 P addition; NP:同时施加 N 肥和 P 肥 combined N and P addition; 同一林型中不同字母表示差异达到显著水平($P < 0.05$). Different letters indicated significant differences ($P < 0.05$) among treatments in the same forest type; * * 表示交互作用达到极显著水平($P < 0.01$). Symbol of “* *” showed significant level of interactive effect ($P < 0.01$); ns 表示不存在交互作用($P > 0.05$). Symbol of “ns” showed no significant level of interactive effect ($P > 0.05$).

本研究发现季风林土壤 APA 和 AP 均显著高于混交林和马尾松林(表 1),该结果并不支持多数研究得出的结论,即土壤 AP 的缺乏可能会激发植物或者微生物分泌磷酸酶来获取 P^[30-33]。先前的研究认为季风林较高的生物多样性是导致土壤有较高 APA 的主要原因^[15]。此外,我们还认为养分失衡和较高的年凋落物量也是导致季风林土壤有较高 APA 的可能原因。鼎湖山森林位于高 N 沉降的亚热带地区,长期 N 素输入已使季风林土壤达到 N 饱和^[16],进而增加了植物对 P 元素的需求^[34]。本研究发现,季风林土壤 TP/TN 显著低于混交林和马尾松林(表 1),这暗示了季风林土壤 P 已处于相对缺乏的状态。另外,相比混交林和马尾松林,季风林具有较高的年凋落物量^[35]。大量的凋落物输入提供给土壤丰富的有机质和分解底物,进而增加了微生物对土壤胞外酶的分泌^[36]。

此外,混交林和马尾松林土壤 APA 还与土壤 TP、AP/TP、TP/TN、AP/AN 均呈显著负相关(表 2)。这表明混交林和马尾松林土壤 APA 对土壤 P 含量变化的响应可能比季风林敏感。

3.2 N、P 添加对三种林型土壤 APA 的影响

3.2.1 N 添加对三种林型土壤 APA 的影响

在温带森林,Keeler 等^[14]通过长期的 N 肥添加试验,发现施加 N 肥($100\text{ kg N hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$)提高了松林、枫叶林和杨树林等林地的土壤 APA,平均增量为 13%;Saiya-Cork 等^[13]也发现,长期 N 肥添加($30\text{ kg N hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$)

使温带阔叶林土壤 APA 增加了约 17%。本研究同样发现, N 添加显著提高了亚热带季风林土壤 APA, 且增量高达 131.96%。其原因可能是磷酸酶蛋白由 C、N 等基本元素构成, 施加 N 肥在一定程度上促进了磷酸酶的合成^[7]; 或者是因为长期施加 N 肥提高了土壤微生物对其他养分的需求(尤其是 P 元素), 所以微生物通过分泌更多的磷酸酶来获取有效 P^[33]。但本研究季风林样地的土壤 APA 对施加 N 肥的响应($\Delta = 131.96\%$)远比其他多数研究样地($\Delta = 17\text{—}26\%$)^[6, 13-14, 33]强烈, 这可能与本样地施加了较高的 N 肥量($150 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)有关。该结果表明, 长期高 N 沉降可能会加剧季风林土壤 P 的限制^[34]。

然而, 施加 N 肥没有显著提高混交林和马尾松林的土壤 APA, 这与 Cusack 等^[37]和 Weand 等^[38]的研究结果相似。有研究认为当土壤达到 N 饱和时, 植物和微生物才开始分泌磷酸酶获取 P 素, 所以土壤 N 的饱和度也会影响土壤 APA^[38]。Huang 等^[22]通过对鼎湖山森林进行长期的 N 沉降试验研究, 认为由于混交林和马尾松林土壤长期处于 N 限制的状态, 所以长期施加 N 肥(7 年)没有使土壤从 N 限制向 P 限制转变。因此, 本研究施加 N 肥没有引起混交林和马尾松林土壤 APA 的变化, 很可能是因为这两个林分土壤仍处于 N 限制状态^[39], 以至于无法刺激植物和土壤微生物分泌更多的磷酸酶。

3.2.2 P 添加对三种林型土壤 APA 的影响

Wang 等^[40]通过短期(< 1 年)单次 P 肥添加试验, 发现施加 P 肥抑制了桉林土壤 APA, 其中高 P 处理(150 kg N hm^{-2})比低 P 处理(75 kg N hm^{-2})更加明显。Olander 和 Vitousek^[27]通过对夏威夷群岛不同时间序列的土壤进行长期施肥研究(4—11 年), 结果表明施加 P 肥($100 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)均显著降低了各年龄段的土壤 APA。本研究也发现 P 肥添加显著降低了混交林和马尾松林土壤 APA。这可能是因为施加 P 肥直接抑制了土壤微生物或植物根系对磷酸酶的分泌^[41], 或者通过降低土壤微生物对 P 的需求, 从而使微生物减少了用于合成磷酸酶的能量投入^[27]。此外, 长期施加 P 肥还可能导致土壤可利用性 C 和 N 的供应量不足, 进而减少了用于合成磷酸酶蛋白的原材料^[42]。

但是, 本研究发现施加 P 肥没有显著降低季风林土壤 APA, 这与许多研究的结论^[7, 27, 42]不一致。已有多数研究认为长期外源 P 素的输入会降低微生物对 P 的需求, 进而减少了微生物对磷酸酶的分泌并抑制土壤 APA^[27, 38]。然而在鼎湖山季风林样地中, 长期施加 P 肥同时也显著提高了季风林土壤的微生物总量^[35]。土壤微生物量的增加在一定程度上提高了微生物对 P 的总需求^[43]。因此, 施加 P 肥没有显著抑制季风林土壤 APA, 可能与季风林土壤微生物对 P 的总需求增加有关。

3.2.3 N 和 P 同时添加对三种林型土壤 APA 的影响

N 和 P 同时添加均降低了混交林和马尾松林土壤 APA, 其中在马尾松林中的抑制作用达到显著水平(图 1), 这与 Olander 和 Vitousek^[27]的研究结果一致。产生该现象的原因可能是本试验的 NP 处理无法满足这两种林型的植物和土壤微生物对 N 素的需求。本研究所采用的 N、P 施肥比例为 1:1, 远低于植物(28:1)^[44]和土壤微生物(7:1)^[43]的平均需求水平。因此, 长期的 NP 处理可能导致植物或微生物的生长受到 N 的限制, 从而降低了它们对土壤 P 的需求并抑制了磷酸酶的分泌。

然而, NP 处理却轻微提高了季风林土壤 APA, 但不显著。这可能是因为季风林土壤长期处于 N 饱和状态^[16], 本研究进行为期 6 年的 NP 处理还不足以使该样地植物或土壤微生物出现 N 限制的情况。随着施肥时间的延长, NP 处理是否将会抑制季风林土壤 APA 还有待于进一步研究。

此外, 本研究还发现 N 和 P 同时添加对季风林土壤 APA 的影响存在交互作用($P = 0.008$)。这表明长期 N 沉降引起亚热带成熟林土壤 P 的限制可以通过施加 P 肥得到缓解。该结论为我们管理森林生态系统并维持其可持续发展提供了重要的理论支持。

4 主要结论

(1) 三种林型土壤 APA 与土壤 AP 之间均存在显著负相关, 表明鼎湖山森林土壤 AP 的缺乏间接提高了土壤 APA。

(2)施加 N 肥显著提高了季风林土壤 APA,但对混交林和马尾松林的作用不显著,说明长期 N 沉降更容易加剧季风林土壤 P 的限制。

(3)施加 P 肥显著抑制了混交林和马尾松林土壤 APA,但对季风林的影响不明显,说明施加 P 肥更容易降低这两个林型土壤生物对 P 的需求。

(4)N 和 P 同时添加对季风林土壤 APA 的影响存在交互作用,这表明 N 沉降引起亚热带成熟林土壤 P 的限制可以通过施加 P 肥得到缓解。

参考文献 (References):

- [1] Vance C P, Graham P H, Allan D L. Biological nitrogen fixation; Phosphorus-A critical future need? // Pedrosa F O, Hungria M, Yates G, Newton W E. Nitrogen Fixation: From Molecules to Crop Productivity. Netherlands: Springer, 2002: 509-514.
- [2] Alberty R A. Thermodynamics of the mechanism of the nitrogenase reaction. Biophysical Chemistry, 2005, 114(2/3): 115-120.
- [3] Vitousek P M, Porder S, Houlton B Z, Chadwick O A. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions. Ecological Applications, 2010, 20(1): 5-15.
- [4] Turner B L, Engelbrecht B M J. Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. Biogeochemistry, 2011, 103(1/3): 297-315.
- [5] Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, Renella G. Role of phosphatase enzymes in soil // Phosphorus in Action. Berlin Heidelberg: Springer, 2011, 26: 215-243.
- [6] Stursova M, Crenshaw C L, Sinsabaugh R L. Microbial responses to long-term N deposition in a semiarid grassland. Microbial Ecology, 2006, 51(1): 90-98.
- [7] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. New Phytologist, 2012, 193(3): 696-704.
- [8] Braun S, Thomas V F D, Quiring R, Flückiger W. Does nitrogen deposition increase forest production? The role of phosphorus. Environmental Pollution, 2010, 158(6): 2043-2052.
- [9] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. Science, 2008, 320(5878): 889-892.
- [10] Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A H, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erisman J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. Nature, 2013, 494(7438): 459-463.
- [11] Liu X J, Duan L, Mo J M, Du E Z, Shen J L, Lu X K, Zhang Y, Zhou X B, He C N, Zhang F S. Nitrogen deposition and its ecological impact in China: an overview. Environmental Pollution, 2011, 159(10): 2251-2264.
- [12] Enowashu E, Poll C, Lamersdorf N, Kandeler E. Microbial biomass and enzyme activities under reduced nitrogen deposition in a spruce forest soil. Applied Soil Ecology, 2009, 43(1): 11-21.
- [13] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [14] Keeler B L, Hobbie S E, Kellogg L E. Effects of long-term nitrogen addition on microbial enzyme activity in eight forested and grassland sites: implications for litter and soil organic matter decomposition. Ecosystems, 2009, 12(1): 1-15.
- [15] 李银, 曾曙才, 黄文娟. 模拟氮沉降对鼎湖山森林土壤酸性磷酸单酯酶活性和有效磷含量的影响. 应用生态学报, 2011, 22(3): 631-636.
- [16] Fang Y T, Gundersen P, Mo J, Zhu W X. Input and output of dissolved organic and inorganic nitrogen in subtropical forests of South China under high air pollution. Biogeosciences, 2008, 5: 339-352.
- [17] 莫江明, 薛花, 方运霆. 鼎湖山主要森林植物凋落物分解及其对 N 沉降的响应. 生态学报, 2004, 24(7): 1413-1420.
- [18] Mo J M, Brown S, Peng S L, Kong G H. Nitrogen availability in disturbed, rehabilitated and mature forests of tropical China. Forest Ecology and Management, 2003, 175(1/3): 573-583.
- [19] Lu X K, Mo J M, Gilliam F S, Zhou G Y, Fang Y T. Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest. Global Change Biology, 2010, 16(10): 2688-2700.
- [20] 方运霆, 莫江明, Brown S, 周国逸, 张倩媚, 李德军. 鼎湖山自然保护区土壤有机碳贮量和分配特征. 生态学报, 2004, 24(1): 135-142.
- [21] Cleveland C C, Townsend A R. Nutrient additions to a tropical rain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(27): 10316-10321.
- [22] Huang W J, Zhang D Q, Li Y L, Lu X K, Zhang W, Huang J, Otieno D, Xu Z H, Liu J X, Liu S Z, Chu G W. Responses of soil acid phosphomonoesterase activity to simulated nitrogen deposition in three forests of subtropical China. Pedosphere, 2012, 22(5): 698-706.

- [23] Verchot L V, Borelli T. Application of para-nitrophenol (*p*NP) enzyme assays in degraded tropical soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37 (4):625-633.
- [24] Schneider K, Turrión M B, Gallardo J F. Modified method for measuring acid phosphatase activities in forest soils with high organic matter content. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2000, 31 (19-20):3077-3088.
- [25] 刘光崧. 中国生态系统研究网络观测与分析标准方法:土壤理化分析与剖面描述. 北京:中国标准出版社, 1996:24-41.
- [26] Cleveland C C, Townsend A R, Schmidt S K, Constance B C. Soil microbial dynamics and biogeochemistry in tropical forests and pastures, southwestern Costa Rica. *Ecological Applications*, 2003, 13(2):314-326.
- [27] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 2000, 49(2):175-191.
- [28] Turner B L. Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (19):6485-6493.
- [29] Allison V J, Condron L M, Peltzer D A, Richardson S J, Turner B L. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(7):1770-1781.
- [30] Schneider K, Turrión M B, Grierson P F, Gallardo J F. Phosphatase activity, microbial phosphorus, and fine root growth in forest soils in the Sierra de Gata, western central Spain. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34(3):151-155.
- [31] Chen H J. Phosphatase activity and P fractions in soils of an 18-year-old Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Forest Ecology and Management*, 2003, 178(3):301-310.
- [32] Allison S D, Gartner T B, Holland K, Weintraub M, Sinsabaugh R L. Soil Enzymes: Linking Proteomics And Ecological Process. *Manual of Environmental Microbiology*, 2007:704-711.
- [33] Chung H, Zak D R, Reich P B, Ellsworth D S. Plant species richness, elevated CO₂, and atmospheric nitrogen deposition alter soil microbial community composition and function. *Global Change Biology*, 2007, 13(5):980-989.
- [34] Huang W J, Liu J X, Wang Y P, Zhou G P, Han T F, Li Y. Increasing phosphorus limitation along three successional forests in southern China. *Plant and Soil*, 2013, 364(1/2):181-191.
- [35] Liu L, Gundersen P, Zhang T, Mo J M. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in three forest types in tropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1):31-38.
- [36] Kang H, Kang S, Lee D. Variations of soil enzyme activities in a temperate forest soil. *Ecological Research*, 2009, 24(5):1137-1143.
- [37] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, Burton S D, Firestone M K. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology*, 2011, 92(3):621-632.
- [38] Weand M P, Arthur M A, Lovett G M, Sikora F, Weathers K C. The phosphorus status of northern hardwoods differs by species but is unaffected by nitrogen fertilization. *Biogeochemistry*, 2010, 97(2/3):159-181.
- [39] Mo J M, Brown S, Xue J H, Fang Y T, Li Z A. Response of litter decomposition to simulated N deposition in disturbed, rehabilitated and mature forests in subtropical China. *Plant and Soil*, 2006, 282(1/2):135-151.
- [40] Wang Q K, Wang S L, Liu Y X. Responses to N and P fertilization in a young *Eucalyptus dunnii* plantation: Microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter. *Applied Soil Ecology*, 2008, 40(3):484-490.
- [41] Speir T W, Cowling J C. Phosphatase activities of pasture plants and soils: relationship with plant productivity and soil P fertility indices. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 12(3):189-194.
- [42] Allison S D, Vitousek P M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37 (5):937-944.
- [43] Cleveland C C, Liptzin D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 2007, 85(3):235-252.
- [44] McGroddy M E, Daufresne T, Hedin L O. Scaling of C:N:P stoichiometry in forests worldwide: implications of terrestrial Redfield-type ratios. *Ecology*, 2004, 85(9):2390-2401.