

DOI: 10.5846/stxb201601260184

闫钟清, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 贺云龙, 王丽芹, 李兆林. 降水和氮沉降增加对草地土壤酶活性的影响. 生态学报, 2017, 37(9): - .
Yan Z Q, Qi Y C, Peng Q, Dong Y S, Guo S F, He Y L, Wang L Q, Li Z L. Effects of increased precipitation and nitrogen deposition on soil enzyme activities. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(9): - .

降水和氮沉降增加对草地土壤酶活性的影响

闫钟清^{1,2}, 齐玉春¹, 彭 琴¹, 董云社^{1,*}, 郭树芳^{1,2}, 贺云龙^{1,2}, 王丽芹^{1,2}, 李兆林^{1,2}

1 中国科学院地理科学与资源研究所陆地表层格局与模拟重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学, 北京 100049

摘要:为探究降水和氮沉降增加对草地生态系统土壤酶活性的影响,于 2014 年生长季在内蒙古温带典型羊草草原开展了野外原位控制实验.试验共设置降水(对照, W0, 自然降水; W15, 增加 15% 的年均降水量)、施氮(对照, CK, 0 kg N ha⁻¹ a⁻¹; 低氮, LN, 25 kg N ha⁻¹ a⁻¹; 中氮, MN, 50 kg N ha⁻¹ a⁻¹; 高氮, HN, 100 kg N ha⁻¹ a⁻¹) 及其交互作用等 8 个不同的处理水平来模拟降水和氮沉降增加的全球变化情景, 分别定量探讨了不同水、氮添加条件下草地表层土壤中与氮循环相关的蛋白酶, 脲酶, 硝酸还原酶, 亚硝酸还原酶活性的月动态变化及其与土壤理化性质之间的相关性. 研究结果表明: 在自然降水条件下, 不同施氮水平蛋白酶、脲酶和硝酸还原酶活性无显著差异, 亚硝酸还原酶活性相比于对照显著降低; 在增加降水条件下, 不同施氮水平对蛋白酶和硝酸还原酶活性未产生显著性影响, 高氮水平显著降低脲酶和亚硝酸还原酶活性. 不同施氮水平是否添加降水对亚硝酸还原酶活性无影响, 而增添降水使低氮处理的蛋白酶活性和中、高氮处理水平的硝酸还原酶活性增加、高氮处理的脲酶活性降低. 降水在影响蛋白酶和硝酸还原酶活性方面具有主效应, 氮沉降在影响亚硝酸还原酶活性方面具有主效应, 而降水和施氮处理未表现出明显地交互作用. 土壤亚硝酸还原酶活性与土壤碳氮比和 NH₄⁺-N 含量极显著正相关, 与 NO₃⁻-N 含量显著正相关.

关键词:降水; 氮沉降; 草地生态系统; 酶活性

Effects of increased precipitation and nitrogen deposition on soil enzyme activities

YAN Zhongqing^{1,2}, QI Yuchun¹, PENG Qin¹, DONG Yunshe^{1,*}, GUO Shufang^{1,2}, He Yunlong^{1,2}, Wang Liqin^{1,2}, Li Zhaolin^{1,2}

1 Key Laboratory of Land Surface Pattern and Simulation, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, CAS, Beijing 100101, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: An in-situ field experiment was established to examine the effects of increased precipitation and nitrogen deposition on the activities of soil enzymes in the semi-arid *Leymus chinensis* grassland of inner Mongolia during the 2014 growing season. Water was added at two levels (W0, no additional water; and W15, a 15% surplus on average rainfall) and N was added at four levels (CK, 0 kg N ha⁻¹ a⁻¹; LN, 25 kg N ha⁻¹ a⁻¹; MN, 50 kg N ha⁻¹ a⁻¹; and HN, 100 kg N ha⁻¹ a⁻¹) to simulate increasing precipitation and N deposition in a future global change scenario. Effects of different water and nitrogen additions on the monthly dynamics of N cycle-related protease, urease, nitrate reductase, and nitrite reductase activities in grass topsoil were quantified. We also analyzed the correlations between all variables and soil physical and chemical properties. Results showed that, under natural rainfall conditions, there were no significant differences in protease, urease, and nitrate reductase activity between elevated nitrogen deposition levels, although nitrite reductase activity decreased significantly compared to the control. Under increased precipitation conditions, different nitrogen levels did not significantly affect protease or nitrate reductase activity, although high levels of nitrogen loading (HN) significantly

基金项目: 国家自然科学基金(41330528, 41573131, 41373084, 41203054); 公益性行业(农业)科研专项(201203012-6)

收稿日期: 2016-01-26; 网络出版日期: 2016-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dongys@igsrr.ac.cn

reduced nitrite reductase activity. Additional precipitation increased protease activity in the low nitrogen (LN) treatment and nitrate reductase activity in the medium and high nitrogen (MN, HN) treatments; it also reduced urease activity in the high nitrogen treatment (HN). Individually, precipitation had major effects on protease and nitrate reductase activity, while nitrogen deposition had a major effect on nitrite reductase activity, however, precipitation and nitrogen treatments did not show any significant interactive effects on all the enzyme activity. Finally, soil nitrate reductase activity was significantly, positively correlated with soil C/N ratio and NH_4^+ -N content, and positively correlated with NO_3^- -N content.

Key Words: precipitation; nitrogen deposition; grassland ecosystem; enzyme activity

土壤酶主要来源于土壤微生物和植物分泌物,是土壤中所有生物化学过程的主要催化剂,是陆地生态系统中最为活跃的组分之一,其活性大小不仅反映土壤质量状态,而且体现了土壤中生物化学反应的方向和强度^[1],同时,由于土壤酶反应灵敏、测定便捷,且具有专一性和综合性的特点,一些研究者将其视为极具潜力的土壤质量变化指示剂^[2].氮作为最易耗竭和限制植物生长的营养元素,在其转化的每一阶段,均有专性的酶类参与,这些专性的土壤酶直接参与土壤中氮元素的有效化过程^[3].

草地生态系统是陆地生态系统的重要组成部分,面积约占地球陆地面积的 40%^[4].降水格局改变和氮沉降增加是未来全球变化的重要趋势^[5].IPCC 共 13 个气候系统模式对我国未来 100 年气候变化的预测结果表明:21 世纪中国气候预估显著变暖、变湿,其中 70%以上模式的预估年降水量增加范围在 14 mm—155 mm 之间^[6].同时,由于化石燃料的燃烧以及化肥的大量使用也带来大气氮沉降量的日趋增加,并且这种趋势在未来的数十年内还将持续下去,势必会带来陆地生态系统氮素供应状态的显著改变^[7].土壤微生物以及土壤酶活性不仅反映了土壤氮循环的进程、强度和方向,而且对气候等外界因素引起的环境变化十分敏感^[8],是公认的土壤系统变化的预警及敏感性指标^[9].本研究基于 IPCC 预测的降水和氮沉降增加的全局变化情景,利用野外原位控制试验探讨了不同水、氮变化背景下我国温带半干旱典型羊草草地土壤蛋白酶、脲酶、硝酸还原酶和亚硝酸还原酶等氮循环相关酶活性的变化趋势,以期为深入了解草地氮循环过程对降水、氮沉降增加的响应及其机制奠定数据基础,为全球变化背景下草地生态系统的科学管理提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 试验地概况

内蒙中纬度温带半干旱草原是国际地圈-生物圈计划 (IGBP) 陆地样带-中国东北陆地生态系统样带 (NECT) 的重要组成部分,不仅在中国温带草原区具有较强的典型性,而且在整个欧亚大陆草原区也有明显的代表性^[10].本研究在 NECT 样带内选择内蒙古锡林河流域分布最广、面积最大的草原群落类型-羊草草原中的自由放牧地作为实验样地,建立控制试验小区 (43°33'51.3" N, 116°40'44.1" E, 海拔约 1225 m).所选草地建群种为根茎禾草羊草 (*Leymus chinensis*),优势种为大针茅 (*Stipa grandis*) 和冰草 (*Agropyron cristatum*) 等密丛禾草.土壤为暗栗钙土,土层深度可达 0—150 cm,土壤有机层厚达 0—30 cm,年降水量 350—450 mm,年均气温 -0.3—1℃, $\geq 10^\circ\text{C}$ 积温 1800—2000℃.

1.2 试验设计

试验于 2014 年 5 月到 9 月进行,采用完全随机区组设计,共设降水增加和氮沉降增加两个因素,其中降水设置 2 个水平 (W0, 自然降水; W15, 增加 15% 的多年平均降水量),氮沉降设置 4 个水平 (对照, CK, 0 g kg N $\text{ha}^{-1}\text{a}^{-1}$; 低氮, LN, 25 g kg N $\text{ha}^{-1}\text{a}^{-1}$; 中氮, MN, 50 g kg N $\text{ha}^{-1}\text{a}^{-1}$; 高氮, HN, 100 g kg N $\text{ha}^{-1}\text{a}^{-1}$), 共 8 个处理,每个处理设 3 个重复,样地共划分 24 个面积均为 8 m \times 8 m 的固定样方,样方之间设有 1 m 宽的缓冲隔离带.降水增加幅度主要基于 IPCC 第四次评价报告对我国北方降水变化幅度的预测结果 (增加 12%—18%) 以及研究区域降水的年变率而定,根据内蒙古草原生态系统定位研究站 30 年降水资料,多年平均年降水量为 344.5 mm, 计算得出降水年均增加 15% 所增加降水量为 51.68 mm, 由于降水主要集中在夏秋季节牧草生长旺盛的 6—

9月,因此,假设增加的降水全部增加到这4个月份,且降水时间分配规律并未改变.根据多年气象统计数据计算出研究区6—9月降水量分别占4个月降水总量的权重,然后将需增加的总水量按权重比例在这4个月份分别添加到设计小区中,每个月在月中与月底避开自然降雨日分两次添加该月需加水量的1/2,增加的降水采用具有流量控制的喷灌装置进行.氮输入水平设置主要考虑当前我国大气氮沉降量及其未来50年变化趋势,兼顾参考国际上同类研究以及国内温带草地已有施肥试验,氮肥类型选择兼有铵态氮与硝态氮的中性氮肥硝酸铵钙.氮素添加主要分两次人工均匀撒施,分别选择在每年的6月底与7月底进行(研究表明雨季施肥具有较好的增产效果,且6—7月处于牧草旺盛生长期,养分需求量大^[11]),每次施肥量均为全年添加量的1/2.

1.3 样品采集与测定

1.3.1 样品采集与预处理

2014年牧草返青期开始,于生长季5—9月(其中5月份未做处理,仅为土壤酶活性背景值,6月份增加降水处理样地取样.)每个月的25日左右在各个样地内,采用土钻法,按“S”形取土壤样品,每个采样点3个重复,取样深度为0—10cm,把土样密封后带回实验室,过5mm筛以剔除植物根系和石块并混合均匀后,将所取土样分为2部分,一部分鲜土用于土壤水分和矿质氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量测定,另一部分风干后进行相关土壤酶活性、有机碳、全氮等指标的测定.

1.3.2 样品分析方法

土壤水分采用烘干法,测定时把土样放在105—110℃的烘箱中烘至恒重^[12].土壤总有机碳利用TOC仪(Elementar vario TOC cube,德国)测定.土壤样品全氮含量的测定采用半微量凯氏定氮法.土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量利用连续式流动分析仪(AA3 Bran+Luebbe, Germany)来测定,其中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的测定采用水杨酸比色法, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的测定采用重氮化偶合比色法.土壤蛋白酶和脲酶活性测定采用酪素比色法和靛酚蓝比色法^[13],硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性采用酚二磺酸比色法和格里试剂比色法^[14],为消除误差和土壤中其他因素的影响,测定过程中均设定3次重复.酶的活性以单位干土质量在单位时间内所生成的特定产物的质量表示,蛋白酶活性以土壤中氨基氮的毫克数表示($\text{ug g}^{-1} \text{h}^{-1}$),脲酶活性以土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$),土壤硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性以土壤中还原 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 量的毫克数表示($\text{ug g}^{-1} \text{h}^{-1}$),不同土壤酶活性所用基质、培养条件以及测定产物参见表1.

表1 土壤酶活性测定所用基质、培养条件和测定产物

Table 1 The substrates and incubated conditions and the products measured

名称 Name	基质 Matrix	培养温度/℃ Incubation temperature	培养时间 Incubation time	测定产物 Determination products
蛋白酶 Protease	酪素	37	24	氨基氮
脲酶 Urease	尿素	37	24	$\text{NH}_3\text{-N}$
硝酸还原酶 Nitrate reductase	葡萄糖	37	24	$\text{NO}_2^-\text{-N}$
亚硝酸还原酶 Nitrite reductase	葡萄糖	37	24	$\text{NO}_2^-\text{-N}$

1.4 数据统计

采用Microsoft Excel 2010软件和originPro2016进行数据整理与作图,利用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析.其中,不同处理间的差异显著性检验采用方差分析、独立样本t检验、LSD和Tamhane多重比较法,不同酶活性间的相关性分析采用pearson双侧检验.

2 结果与分析

2.1 降水与氮沉降增加条件下土壤基本理化特征的差异

从表2中可以看出,降水和氮沉降增加对羊草草原表层土壤的基本理化性质产生了一定影响.根据方差

分析结果可知,自然降水条件下,不同施氮处理使土壤碳氮比和 NH_4^+ -N 含量产生了显著性差异 ($P < 0.05$), 相比于对照,土壤碳氮比分别降低了 7.71%、5.42% 和 10.09%, NH_4^+ -N 含量分别降低了 43.10%、29.11% 和 29.49%, NO_3^- -N 含量未受到不同施氮水平的显著影响;增加降水条件下,低氮处理土壤碳氮比含量增加了 1.58%,高氮处理则降低了 4.84%,不同施氮水平使土壤中 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量分别降低了 37.33%、40.28%、41.37% 和 59.46%、70.85%、61.58%。 NO_3^- -N 含量的变化分析可能是因为增加降水条件下, NO_3^- -N 比较容易淋失。

表 2 水、氮添加对土壤理化性质的影响

Table 2 Physicochemical properties of soil under water, nitrogen addition

降水处理 Precipitation	施氮处理 N application	土壤含水量/% Soil moisture	碳氮比 C:N	铵态氮/(mg/kg) Ammonium nitrogen	硝态氮/(mg/kg) Nitrate nitrogen
自然降水 Natural precipitation	对照 CK	9.94±3.82Aa	10.51±0.40Aa	5.29±3.47Aa	2.10±1.38Aa
	低氮 LN	10.46±5.67Aa	9.70±0.58Ab	3.01±0.72Ab	1.19±0.67Aa
	中氮 MN	9.82±5.17Aa	9.94±0.56Ab	3.75±0.75Ab	1.96±0.57Aa
降水增加 15% precipitation increased by 15%	对照 CK	11.02±4.45Aa	10.12±0.72Ba	6.43±2.44Aa	5.18±1.99Ba
	低氮 LN	10.75±5.22Aa	10.28±0.53Bb	4.03±0.53Ab	2.10±0.87Ab
	中氮 MN	10.55±5.23Aa	9.81±0.44Aa	3.84±0.29Ab	1.51±0.86Ab
	高氮 HN	10.47±4.73Aa	9.63±0.22Ac	3.77±1.26Ab	1.99±0.71Ab

表中数值为 2014.5—2014.9 各次测定的平均值;同列不同小写字母表示降水相同、不同氮素处理间差异显著 ($P < 0.05$, LSD 和 Tamhane 法); 同列不同大写字母表示降水变化、相同氮素处理间差异显著 ($P < 0.05$, 独立样本 t 检验)

2.2 降水与氮沉降增加对土壤酶活性变化的影响

实验期内土壤酶活性在植物生长季 5 次测定值的平均值如表 3 所示.在自然降水条件下,不同施氮处理蛋白酶、脲酶和硝酸还原酶活性无显著差异,亚硝酸还原酶活性相比于对照分别显著降低了 55.57%、57.76% 和 65.45%;在增加降水条件下,不同施氮水平对蛋白酶和硝酸还原酶活性依然未产生显著性影响,高氮水平则使脲酶和亚硝酸还原酶活性分别显著降低了 16.87% 和 67.23%。

由表 3 中可以看出,不同施氮水平是否添加降水对亚硝酸还原酶活性无影响,增添降水使低氮处理的蛋白酶活性和中、高氮处理水平的硝酸还原酶活性显著增加,使高氮处理的脲酶活性降低。

表 3 水、氮添加条件下土壤酶活性比较

Table 3 Comparison of soil enzyme activities under water, nitrogen addition

降水处理 Precipitation	施氮处理 N application	蛋白酶 Protease/ ($\text{ug g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	脲酶 Urease/ ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	硝酸还原酶 Nitrate reductase/ ($\text{ug g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	亚硝酸还原酶 Nitrite reductase/ ($\text{ug g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
自然降水 Natural precipitation	对照 CK	41.71±13.13Aa	71.26±16.38Aa	104.47±51.22Aa	15.08±8.76Aa
	低氮 LN	28.86±9.00Aa	73.84±14.00Aa	96.70±18.68Aa	6.70±3.67Ab
	中氮 MN	44.39±12.46Aa	66.97±6.44Aa	93.57±21.54Aa	6.37±2.01Ab
降水增加 15% precipitation increased by 15%	对照 CK	48.82±12.38Aa	74.28±9.52Aa	116.45±23.00Aa	11.93±8.31Aa
	低氮 LN	45.62±18.21Ba	74.71±9.61Aa	102.37±49.83Aa	6.86±3.63Aab
	中氮 MN	51.49±11.37Aa	70.65±7.15Aa	139.11±16.48Ba	9.17±6.75Aab
	高氮 HN	50.49±12.27Aa	61.75±6.45Bb	119.40±11.58Ba	3.91±2.92Ab

表中数值为 2014.5—2014.9 各次测定的平均值;同列不同小写字母表示降水相同、不同氮素处理间差异显著 ($P < 0.05$, LSD 和 Tamhane 法); 同列不同大写字母表示降水变化、相同氮素处理间差异显著 ($P < 0.05$, 独立样本 t 检验)。

对降水和氮沉降处理下土壤理化性质和酶活性变化进行双因素方差分析(表 4).降水在影响蛋白酶和硝酸还原酶活性方面具有主效应,氮沉降在影响土壤碳氮比、铵态氮、硝态氮和亚硝酸还原酶活性方面具有主效

应,而降水和施氮处理仅对于土壤硝态氮含量变化表现出明显地交互作用。

表 4 土壤理化性质与酶活性受水、氮变化影响的双因素方差分析(F 值)

Table 4 Two-way ANOVA of soil properties and enzyme activity under water and nitrogen addition(F value)

变异来源 Sources of variation	降水处理 Precipitation	施氮处理 N application	降水处理 * 施氮处理 Precipitation * N application
土壤含水量 Soil moisture	0.264	0.025	0.038
碳氮比 C:N	0.283	9.145 ***	3.741
铵态氮 Ammonium nitrogen	1.77	7.84 ***	0.494
硝态氮 Nitrate nitrogen	11.241 ***	15.859 ***	11.222 ***
蛋白酶 Protease	8.799 **	1.954	0.488
脲酶 Urease	0.193	1.398	1.975
硝酸还原酶 Nitrate reductase	11.773 **	1.116	1.694
亚硝酸还原酶 Nitrite reductase	0.075	9.374 ***	0.935

** 代表显著水平为 0.01, *** 代表显著水平为 0.001

羊草草原植物生长季土壤酶活性的动态变化如图 1 所示,由于降水和氮添加实验分别是 6 月上旬和七月初开始进行,所以 5 月份只有自然样地酶活性测定值,6 月底取样除对照外测定了降水增加样地土壤酶活性。总体来看,不同梯度的水、氮处理间酶活性表现出了不同程度的差异性,但变化规律不明显。

蛋白酶活性在自然降水条件下,对照与低氮处理在 7、8、9 月表现为先降低后增高,而中、高氮处理水平则表现为相反的变化趋势,即先增高后降低;降水增加时不同的施氮处理表现为相同的变化趋势与幅度,均是先增高后降低,在 8 月底活性最大。

脲酶活性在自然降水条件下,不同氮处理间从 7 月开始均表现为上升趋势;而增加降水使脲酶在不同的施氮水平下未表现出明显的规律。

硝酸还原酶活性在自然降水条件下,低氮和高氮处理表现出一致的变化规律,7、8、9 月份依次降低,对照和中氮水平变化规律一致,先降低后增高;在增加降水条件下,不同施氮处理,对照和中氮水平变化规律依然一致,先增高然后降低,而低氮和高氮处理则分别表现出持续增高或持续降低的变化趋势。

亚硝酸还原酶活性在自然降水条件下,7 月份不同氮处理之间活性表现为对照>低氮>中氮>高氮,8、9 月份不同处理之间几乎无差异;增加降水进行不同施氮处理的亚硝酸还原酶活性在 7 月份表现出和自然降水条件下相同的大小关系,8、9 月不同施氮的活性值之间几乎无差异且有共同的降低趋势。

2.3 土壤酶活性之间及其与土壤理化因子的相关性分析

土壤酶在促进及参与土壤物质转化和能量交换中,不仅有其专有特性,同时还存在着共性关系。对土壤酶活性进行相关性分析的结果表明,在自然降水条件下进行施氮处理(表 5),蛋白酶和脲酶极显著正相关,相关系数为 0.478,硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的活性也呈现极显著正相关,相关系数为 0.431。蛋白酶和脲酶同属于水解酶类,硝酸还原酶和亚硝酸还原酶同属于氧化还原酶类,说明同类土壤酶对氮沉降增加的响应存在共性关系;增加降水处理条件(表 6)下的不同施氮处理,蛋白酶和硝酸还原酶、亚硝酸还原酶呈极显著正相关和显著负相关,相关系数分别为 0.629 和 -0.325,说明增加降水改变了不同种类酶活性之间的相关程度。

表 5 自然降水样地中土壤酶活性的相关性分析结果

Table 5 Results of correlation analysis between soil enzyme activities in the natural rainfall plots

土壤酶 Soil enzymes	蛋白酶 Protease	脲酶 Urease	硝酸还原酶 Nitrate reductase	亚硝酸还原酶 Nitrite reductase
蛋白酶 Protease	1			
脲酶 Urease	0.478 **	1		
硝酸还原酶 Nitrate reductase	-0.269	0.044	1	
亚硝酸还原酶 Nitrite reductase	-0.068	0.054	0.431 **	1

* 为 $P < 0.05$ 显著相关, ** 为 $P < 0.01$ 极显著相关。

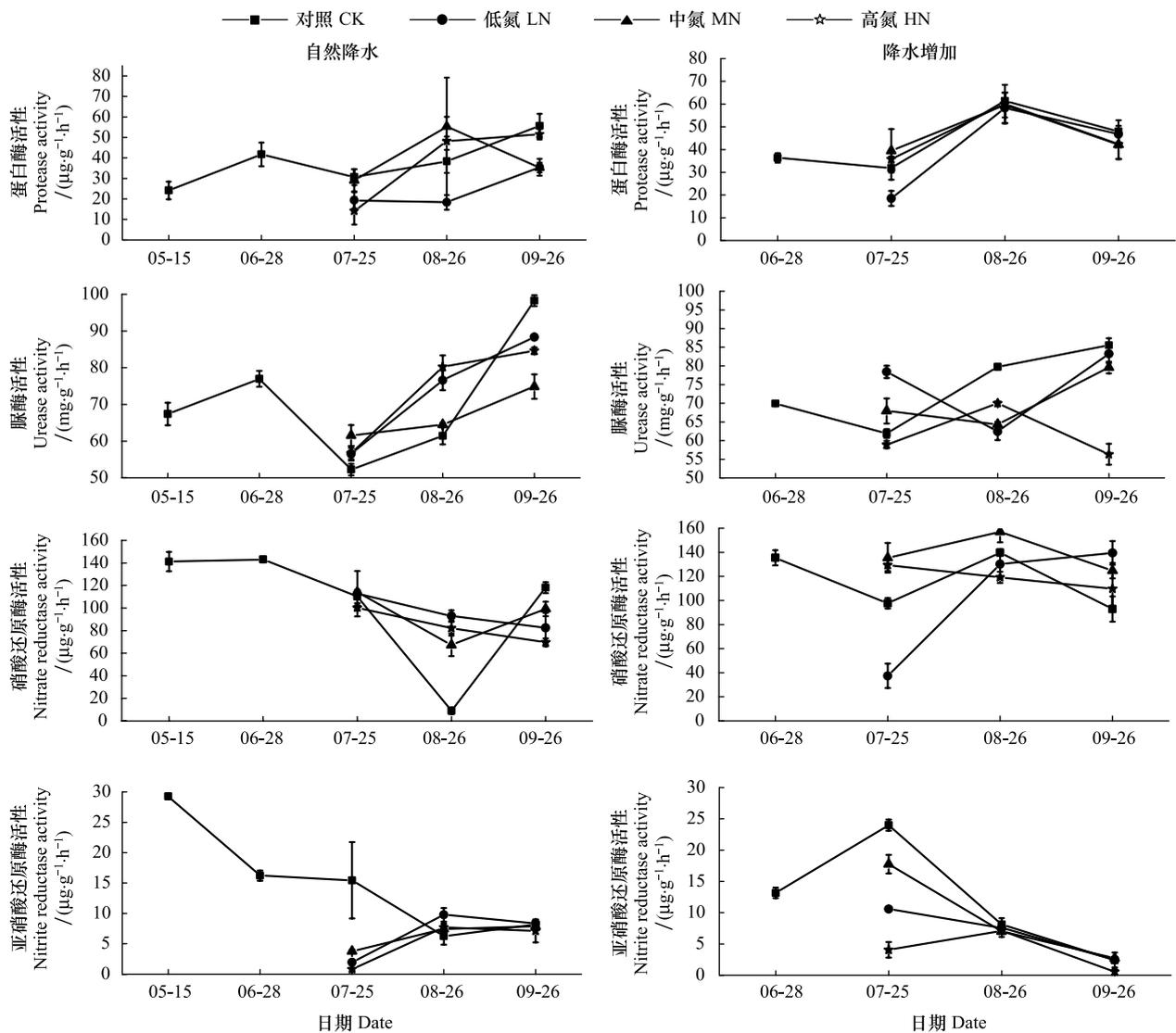


图1 水、氮添加对土壤酶活性季节动态的影响

Fig.1 Effects of Precipitation increase and nitrogen addition on seasonal dynamics of soil enzyme activities

表6 增加降水样地中土壤酶活性的相关性分析结果

Table 6 Results of correlation analysis between soil enzyme activities in the plots with precipitation increase

土壤酶 Soil enzymes	蛋白酶 Protease	脲酶 Urease	硝酸还原酶 Nitrate reductase	亚硝酸还原酶 Nitrite reductase
蛋白酶 Protease	1			
脲酶 Urease	0.030	1		
硝酸还原酶 Nitrate reductase	0.629 **	-0.194	1	
亚硝酸还原酶 Nitrite reductase	-0.325 *	-0.238	-0.120	1

* 为 $P < 0.05$ 显著相关, ** 为 $P < 0.01$ 极显著相关。

本试验分析结果(表7)表明,土壤亚硝酸还原酶活性与土壤碳氮比和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量极显著正相关,相关系数为 0.356 和 0.634,与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著正相关,相关系数为 0.278;但其余三种酶活性与土壤水分、碳氮比、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量相关性均较低。

表 7 土壤酶活性及土壤理化性质的相关性分析

Table 7 The correlation analysis between soil enzyme activities and soil properties

	土壤水分 Soil moisture	碳氮比 C:N	铵态氮 Ammonium nitrogen	硝态氮 Nitrate nitrogen
蛋白酶 Protease	-0.08	0.05	-0.09	0.12
脲酶 Urease	0.04	-0.12	0.06	0.10
硝酸还原酶 Nitrate reductase	-0.02	0.12	0.21	0.16
亚硝酸还原酶 Nitrite reductase	-0.01	0.356 **	0.503 **	0.278 *

* 为 $P < 0.05$ 显著相关, ** 为 $P < 0.01$ 极显著相关

3 讨论

3.1 降水与氮沉降增加对土壤基本理化特征的影响

土壤的物理和化学性质一直被用来作为表征土壤生产力和土壤肥力质量的指标.一般认为适当的氮素添加能显著提高土壤矿化能力^[15],在典型羊草草原,氮添加对矿质氮的影响呈现剂量效应,低氮添加($17.5 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$)刺激氮矿化,高氮添加($280 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$)抑制氮矿化^[16],本研究自然降水条件下,不同施氮处理显著降低了土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量,可能由于氮素添加,土壤氮素各种形式的周转速率加快^[17],且可矿化的氮源仅有 20% 来自于添加的氮素,添加的氮素会通过各种形式丢失^[18].在增加降水条件下,施氮则使土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量均显著降低,这与孙瑞娟等^[19]的研究指出的通过水分的淋洗作用,土壤表层硝态氮向土壤深层迁移,造成表层硝态氮含量降低,深层硝态氮累积有关.

3.2 降水与氮沉降增加对土壤酶活性变化的影响

土壤蛋白酶和脲酶的活性高低直接关系到植物所利用的有效氮源的多少^[20],在一定程度上反应了土壤供氮水平状况^[21].硝酸还原酶是反硝化过程中的一种重要的酶,可以催化硝酸盐还原为亚硝酸盐^[22].亚硝酸还原酶催化土壤中 NO_2^- 转化为 NH_2OH 或 N_2O ^[23].土壤酶活性受不同地理位置的气候条件(气温、降水)、植被类型、土壤养分状况和土壤质地等因素差异的影响,因此不同地区的土壤酶活性对水、氮添加的响应可能存在差异^[24].

有研究指出土壤蛋白酶随着土壤水分的下降其活性下降^[25-26],本研究也发现土壤水分在影响蛋白酶活性方面具有主效应,降水显著增加了低氮水平处理下蛋白酶活性.肥料增加使土壤中蛋白酶活性降低^[27],本文中两个降水梯度处理下施氮对蛋白酶活性未表现出明显影响.

sardans 等^[28]指出减少 10—20% 的土壤含水量很大程度上降低了脲酶的活性.本研究发现除高氮处理增加降水后脲酶活性有所降低.施肥可提高土壤中脲酶活性^[29-31],Ajwa 等^[32]的研究却得出氮肥的添加会降低土壤脲酶的活性,本研究在自然降水条件下不同施氮水平未表现出对脲酶活性的显著影响,而增加降水时高氮处理抑制脲酶活性,分析原因可能是施氮量过高产生的剂量效应^[33].

已有研究表明反硝化酶活性主要受土壤温度、水分、氧气、底物浓度和有机碳含量等因素影响^[34],反硝化酶与温室气体 N_2O 的排放有显著正相关关系^[23].对稻田土壤施肥显著增加了土壤反硝化细菌的多样性和丰度,相应提高了反硝化作用^[35],而对于本研究所在的干旱半干旱草地,在增加水、氮条件下可能会加速植物与微生物之间的养分竞争,使微生物活性降低,从而导致在自然降水条件下,不同施氮处理亚硝酸还原酶活性显著降低;在增加降水条件下,高氮水平则使亚硝酸还原酶活性显著降低.在中、高氮处理水平增加降水可能起到了缓解作用而使硝酸还原酶活性显著增加.

3.3 降水和氮沉降增加下土壤酶与土壤理化因子的关系

土壤酶的活性与土壤有机质、全氮、速效氮、速效钾、全磷、速效磷、pH 有显著的相关性,这说明土壤酶活性与土壤肥力关系密切,土壤酶活性可作为土壤肥力水平的重要指标^[36-37],本研究发现土壤亚硝酸还原酶活性与土壤碳氮比和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量极显著正相关,与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著正相关;但其余三种酶活性与土壤水分、碳

氮比、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量相关性均较低,推测其可能与水、氮添加对有些酶活性影响的滞后效应有关,还需要进行更为长期的观测来评价不同种类酶活性的可能变化。

在自然降水条件下进行施氮处理,蛋白酶和脲酶极显著正相关,硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的活性也呈现极显著正相关.增加降水处理条件下的不同施氮处理,蛋白酶和硝酸还原酶、亚硝酸还原酶呈极显著正相关和显著负相关,说明增加降水改变了不同种类酶活性之间的相关程度。

4 结论

综上所述,模拟降水和氮沉降增加及其交互作用对温带典型羊草草原土壤氮素循环相关酶活性产生了显著影响,主要表现在自然降水条件下,不同施氮水平均显著降低了亚硝酸还原酶活性;在增加降水条件下,高氮水平使脲酶和亚硝酸还原酶活性显著降低.另外,增加降水使低氮处理的蛋白酶活性和中、高氮处理水平的硝酸还原酶活性显著增加,使高氮处理的脲酶活性降低.土壤亚硝酸还原酶活性与土壤碳氮比和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量极显著正相关,与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著正相关;在水、氮变化条件下,蛋白酶、脲酶和硝酸还原酶对土壤水分、碳氮比、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的变化不敏感。

研究期间,水、氮变化及其交互作用对酶活性的促进或抑制作用表现出一定的复杂性和不稳定性,这可能与野外试验条件的空间异质性较高、取样频率、N 处理时间长短以及不同季节环境因子的变化等有关,有待进一步开展深入的研究,这对尝试建立草地土壤酶学评价指标体系具有重要的指导意义。

参考文献 (References):

- [1] 王苑, 郑莹莹, 宋新山. 干湿交替对土壤氮循环及相关酶活性的影响//中国环境科学学会. 2013 中国环境科学学会学术年会论文集(第八卷). 昆明: 中国环境科学学会, 2013: 7-7.
- [2] 任天志, Grego S. 持续农业中的土壤生物指标研究. 中国农业科学, 2000, 33(1): 68-75.
- [3] 陶宝先, 张金池, 愈元春, 从日亮. 苏南丘陵地区森林土壤酶活性季节变化. 生态环境学报, 2010, 19(10): 2349-2354.
- [4] Conant R T, Paustian K. Potential soil carbon sequestration in overgrazed grassland ecosystems. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16(4): 90-1-90-9.
- [5] 李伟, 白娥, 李善龙, 孙建飞, 彭勃, 姜萍. 施氮和降水格局改变对土壤 CH_4 和 CO_2 通量的影响. 生态学杂志, 2013, 32(8): 1947-1958.
- [6] 江志红, 张霞, 王冀. IPCC-AR4 模式对中国 21 世纪气候变化的情景预估. 地理研究, 2008, 27(4): 787-799.
- [7] Dentener F, Drevet J, Lamarque J F, Bey I, Eickhout B, Fiore A M, Hauglustaine D, Horowitz L W, Krol M, Kulshrestha U C, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Müller J F, Pitari G, Rodriguez J, Sanderson M, Solomon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O. Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: a multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles*, 2006, 20(4): GB4003.
- [8] 万忠梅, 宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展. 土壤通报, 2009, 40(4): 951-956.
- [9] 张焕军, 郁红艳, 丁维新. 长期施用有机无机肥对潮土微生物群落的影响. 生态学报, 2011, 31(12): 3308-3314.
- [10] 吕达仁, 陈佐忠, 王庚辰, 陈家宜, 季劲钧, 李永宏, 陈洪滨, 乔劲松. 内蒙古半干旱草原土壤-植被-大气相互作用-科学问题与实验计划概述. 气候与环境研究, 1997, 2(3): 199-209.
- [11] 陈佐忠, 盛修武, 杨宗贵, 黄德华. 不同类型草原雨季施肥的生态效应//草原生态系统研究第一集. 北京: 科学出版社, 1985: 225-232
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2005: 34-103.
- [13] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [14] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法. 北京: 科学出版社, 2008.
- [15] Loiseau P, Soussana J F. Effects of elevated CO_2 , temperature and N fertilization on nitrogen fluxes in a temperate grassland ecosystem. *Global Change Biology*, 2000, 6(8): 953-965.
- [16] 张璐, 黄建辉, 白永飞, 韩兴国. 氮素添加对内蒙古羊草草原净氮矿化的影响. 植物生态学报, 2009, 33(3): 563-569.
- [17] Aggangan R T, O'Connell A M, McGrath J F, Dell B. Fertilizer and previous land use effects on C and N mineralization in soils from *Eucalyptus globulus* plantations. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(13): 1791-1798.
- [18] Pastor J, Stillwell M A, Tilman D. Nitrogen mineralization and nitrification in four Minnesota old fields. *Oecologia*, 1987, 71(4): 481-485.

- [19] 孙瑞娟, 王德建, 林静慧, 刘勤, 杨林章. 长期施用有机-无机肥对太湖流域土壤肥力的影响. 土壤, 2009, 41(3): 384-388.
- [20] 周礼恺. 土壤酶学. 北京: 科学出版社, 1987.
- [21] 孔维栋, 朱永官, 傅伯杰, 陈保冬, 童依平. 农业土壤微生物基因与群落多样性研究进展. 生态学报, 2004, 24(12): 2894-2900.
- [22] Knowles R. Denitrification. Microbiology Reviews, 1982, 46(1): 43-70.
- [23] 陈利军, 武志杰, 姜勇, 周礼恺. 与氮转化有关的土壤酶活性对抑制剂施用的响应. 应用生态学报, 2002, 13(9): 1099-1103.
- [24] 徐国伟, 段骅, 王志琴, 刘立军, 杨建昌. 麦秸还田对土壤理化性质及酶活性的影响. 中国农业科学, 2009, 42(3): 934-942.
- [25] Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. Applied Soil Ecology, 2008, 39(2): 223-235.
- [26] 郭永盛, 李鲁华, 危常州, 褚贵新, 董鹏, 李俊华. 施氮肥对新疆荒漠草原生物量和土壤酶活性的影响. 农业工程学报, 2011, 27(S1): 249-256.
- [27] 韦泽秀, 梁银丽, 井上光弘, 周茂娟, 黄茂林, 古建锋, 吴燕. 水肥处理对黄瓜土壤养分、酶及微生物多样性的影响. 应用生态学报, 2009, 20(7): 1678-1684.
- [28] Sardans J, Peñuelas J. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(3): 455-461.
- [29] 王灿, 王德建, 孙瑞娟, 林静慧. 长期不同施肥方式下土壤酶活性与肥力因素的相关性. 生态环境, 2008, 17(2): 688-692.
- [30] 高瑞, 吕家珑. 长期定位施肥土壤酶活性及其肥力变化研究. 中国生态农业学报, 2005, 13(1): 143-145.
- [31] 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.
- [32] Ajwa H A, Dell C J, Rice C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(5): 769-777.
- [33] 徐福利, 梁银丽, 张成娥, 杜社妮, 陈志杰. 施肥对日光温室黄瓜生长和土壤生物学特性的影响. 应用生态学报, 2004, 15(7): 1227-1230.
- [34] Barton L, Schipper L A, Smith C T, McLay C D A. Denitrification enzyme activity is limited by soil aeration in a wastewater-irrigated forest soil. Biology and Fertility of Soils, 2000, 32(5): 385-389.
- [35] 陈哲, 袁红朝, 吴金水, 魏文学. 长期施肥制度对稻田土壤反硝化细菌群落活性和结构的影响. 生态学报, 2009, 29(11): 5923-5929.
- [36] 王冬梅, 王春枝, 韩晓日, 张旭东, 邹德乙, 刘小虎. 长期施肥对棕壤主要酶活性的影响. 土壤通报, 2006, 37(2): 264-267.
- [37] 徐惠凤, 刘兴土. 长白山区沟谷沼泽乌拉苔草(*Carex meyeriana*)湿地土壤酶活性与氮素、土壤微生物相关性研究. 农业环境科学学报, 2009, 28(5): 946-950.