DOI: 10.5846/stxb201608081625
洪慧滨, 林成芳, 彭建勤, 陈岳民, 魏翠翠, 杨玉盛.磷添加对中亚热带米槠和杉木细根分解及其酶活性的影响.生态学报,2017,37(1): - .
Hong H B, Lin C F, Peng J Q, Chen Y M, Wei C C, Yang Y S. Effects of phosphorus addition on fine root decomposition and enzyme activity of *Castanopsis carlesii* and *Cunninghamia lanceolata* in subtropical forest. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(1): - .

磷添加对中亚热带米槠和杉木细根分解及其酶活性的影响

洪慧滨[1,2], 林成芳[1,2,*], 彭建勤[1,2], 陈岳民[1,2], 魏翠翠[1,2], 杨玉盛[1,2]

1 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007

2 湿润亚热带山地生态国家重点实验室培育基地, 福州 350007

摘要:为深入探讨磷(P)有效性对中亚热带地区林木细根分解及其胞外酶活性的影响,本研究选取福建省三明格氏栲自然保护区内米槠天然林为分解的实验样地,采用网袋法以该区域较为典型且底物 P 含量有显著差异的米槠和杉木细根为研究对象,进行 P 添加试验。各施 P 水平分别为高磷(HP,360 kg P hm^{-2} a^{-1})、中磷(MP,240 kg P hm^{-2} a^{-1})、低磷(LP,120 kg P hm^{-2} a^{-1})和对照(CT,0 kg P hm^{-2} a^{-1})。结果显示:在 2 a 分解期内,米槠细根分解快于杉木细根,呈先快后慢的变化趋势;P 添加提高了细根的分解速率,对分解起促进作用,且对 P 含量较低的杉木细根促进作用更强,但未随施 P 水平的提高分解呈加速的现象。总体上,米槠细根分解各种酶活性及总的累积酶活性均显著高于杉木细根;主要降解纤维素的水解酶活性呈先升后降,主要降解木质素的氧化酶活性呈增长趋势;P 添加降低了酸性磷酸酶(AP)活性,而提高了 β-葡萄糖苷酶(βG)、纤维素水解酶(CBH)、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、酚氧化酶(PhOx)和过氧化物酶(PerOx)活性;回归分析显示细根的分解速率与水解酶呈显著的二次函数关系,与氧化酶呈显著的指数关系。研究表明,P 是影响中亚带林木细根分解的主要因素之一,分解过程中酶活性的变化可用于解释细根的分解速率。对土壤 P 有效性低的中亚热带地区林木细根分解的机理探讨,有助于进一步了解森林生态系统的养分循环并为森林经营提供决策参考。

关键词:磷;细根;分解;酶活性;中亚热带

Effects of phosphorus addition on fine root decomposition and enzyme activity of *Castanopsis carlesii* and *Cunninghamia lanceolata* in subtropical forest

HONG Huibin[1,2], LIN Chengfang[1,2,*], PENG Jianqin[1,2], CHEN Yuemin[1,2], WEI Cuicui[1,2], YANG Yusheng[1,2]

1 *College of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou* 350007, *China*

2 *Cultivation Base of State Key Laboratory of Humid Subtropical Mountain Ecology, Fuzhou* 350007, *China*

Abstract: It is well known that phosphorus (P) is one of the most important elements frequently limiting primary productivity in tropical and subtropical ecosystems. However, the effect of P availability on the decomposition rate of fine roots has yet to be confirmed by experimental manipulation. In order to examine fine root decomposition in response to P addition, we conducted litterbag experiments using the fine roots of *Castanopsis carlesii* and *Cunninghamia lanceolata*, which are two tree species typical of subtropical forests. The experimental site is located in Sanming Castanopsis Kawakamii nature reserve of Fujian. We examined the effects of four levels of P addition: high P (HP, 360 kg P hm^{-2} a^{-1}), medium P (MP, 240 kg P hm^{-2} a^{-1}), low P (LP, 120 kg P hm^{-2} a^{-1}), and control (CT, 0 kg P hm^{-2} a^{-1}). During the 2-year experimental period, it was found that *C. carlesii* fine roots decomposed faster than those of *C. lanceolata*, and that the

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31270584);国家自然科学基金重点项目(31130013)

收稿日期:2016-08-08; **修订日期**:2016-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tonylcf99@163.com

decomposition rates were relatively rapid during the initial phase and slow during the later phase. P addition increased the fine root decomposition rates in both species, although it had a greater stimulatory effect on *C. lanceolata* fine roots. However, the decomposition rates did not accelerate with increasing P addition level. During the decomposition process, the enzyme and accumulated enzyme activities in *C. carlesii* fine roots were significantly higher than those in *C. lanceolata*. The pattern of cellulose-degrading enzyme activity showed an initial increase, but subsequently decreased after reaching a peak. In contrast, degradation of recalcitrant lignin gradually increased during the decomposition process. There was a significant correlation between hydrolase activity and the fine root decomposition rate ($P < 0.05$), and an exponential relationship between oxidase activity and the fine root decomposition rate. P addition decreased acid phosphatase activity, but significantly increased the activities of β-1,4-glucosidase, cellobiohydrolase, β-1,4-*N*-acetylglucosaminidase, phenol oxidase, and peroxidase during fine root decomposition. The results show that P is one of the main factors affecting subtropical tree fine root decomposition, and that changes in enzyme activities during the decomposition process can explain the observed decomposition rates. The present study reveals the mechanism of fine root decomposition in a subtropical forest with low soil phosphorus availability, which is conducive to both understanding nutrient cycling and decision making in forest management.

Key Words: phosphorus; fine root; decomposition; enzyme activity; subtropical region

热带亚热地区土壤风化严重,矿石来源的 P 等必要养分处于不断耗竭状态,且土壤中铁铝氧化物含量高,易与 P 形成络合物,导致土壤 P 有效性很低[1-3]。这种低 P 有效性对生态系统各个过程的影响,已经引起了生态学研究的关注[4-6]。已有研究表明低 P 有效性限制了热带、亚热带生态系统的 NPP(净初级生产力)[7-8],全球气候变化下的 N/S 沉降加剧了系统潜在的 P 限制[8-9],我们前期研究也发现细根分解速率常与 P 及其相联系的凋落物质量指标显著正相关[10]。然而,仍然没有控制实验明确表明热带亚热带生态系统的分解过程受 P 限制。

底物的分解过程是在酶系统的综合作用下完成,其活性的高低与分解速率显著相关[11-12],直接影响着物质的转化速率。同时底物质量、分解环境(如温度、水分、土壤理化性质等)及 N、P 养分有效性都会影响酶的合成[13-14],继而对分解产生影响。因而通过测定分解过程中酶活性的变化可更好地跟踪分解对细根性质和环境变量的功能响应,为生态系统养分循环提供一定的指示作用。

米槠(*Castanopsis carlesii*)是我国东部湿润亚热带典型的地带性阔叶树种,而杉木(*Cunninghania lanceolata*)为我国特有的速生针叶用材树种,我们前期研究发现这两种树种细根的 P 含量具有显著差异[10,15]。本研究选取以上这两种细根,通过野外原位的不同水平的 P 添加控制试验,观测细根分解速率及分解过程中酶活性的变化,探讨 P 有效性低的中亚热带地区林木细根分解的机理,有助于进一步了解亚热带森林生态系统的物质循环与反馈。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于福建师范大学三明森林生态系统与全球变化研究站的格氏栲自然保护区米槠天然林(26°11′N,117°28′E)内,与武夷山脉相连,海拔约 315 m,坡度约 25°—35°,现有面积 190 hm^2,约 200 a 无人为干扰。属中亚热带季风气候,年均气温 19.1℃,年均降水量 1749 mm(集中于 3—8 月份),相对湿度达 81%。土壤以花岗岩发育的酸性红壤为主,富含铁铝氧化物,具强 P 吸附能力,P 有效性低。植被属中亚热带常绿阔叶林带,以米槠(*Castanopsis carlesii*)为建群树种,区域内典型针叶树种为杉木(*Cunninghamia lanceolata*),其它树种有木荷(*Schima superba*)、桂北木姜子(*Litsea subcoriace*)、赤楠(*Radix syzygii*)、冬青(*Ilex pubescens*)等,林分平均胸径 20 cm,平均树高 11.9 m,林下地被层较厚,并散布有枯立木、倒木和死树枝杆等,枯枝落叶厚度 5—8

cm,细根生物量达 1.2 kg/m^3。

表 1　试验地的基本特征和土壤表层(0—20 cm)理化性质

Table 1　Basic characteristics and topsoil(0—20 cm) properties of study site

试验地 Study site	林分密度 Stand density/(stem/hm^2)	土壤容重 Soil Bulk density/(g/cm^3)	pH (H_2O)	有机碳 Organic carbon/%	全氮 Total N/(g/kg)	全磷 Total P/(g/kg)	有效 P Available P/(mg/kg)
米槠天然林 Natural *C. canesii* forest	1995	1.12	4.04	4.10	1.34	0.39	2.10

1.2　分解样品的收集

2013 年 3 月在三明格氏栲自然保护区以米槠为主要树种的天然林和临近的杉木人工林内,采用挖掘法收集新鲜米槠、杉木细根(≤2 mm),带回室内风干,并将其混合均匀后,分别以每袋 2±0.005 g 装入大小 20 cm×20 cm、底部网孔为 0.2 mm、上部网孔为 0.3 mm 的尼龙网袋中备用。选取细根化学性质见表 2。

表 2　米槠和杉木细根初始化学性质(n=3)

Table 2　Initial chemistry of *C. carlesii* and *C. lanceolata*(n=3)

树种 Species	C/(g/kg)	N/(g/kg)	P/(g/kg)	C/N	C/P	N/P	Cellulose/%	Lignin/%	Lignin/N	Lignin/P
米槠 *C. carlesii*	443.90a	6.72a	1.15a	60.41b	391.67b	5.93b	22.45a	26.44b	3.94b	23.34b
杉木 *C. lanceolata*	421.26b	4.22b	0.33b	101.05a	1264.39a	12.66a	14.90b	37.09a	8.79a	111.29a

同一列数字后不同表示差异显著(P<0.05)

1.3　分解样地设计与处理

2013 年 4 月,在天然米槠天然林里随机各选取 3 个重复小区(具相同的土壤类型、类似的海拔和坡度),每个小区内按米槠和杉木细根分别进行对照(CT)、低磷(LP)、中磷(MP)、高磷(HP)4 个处理,每种处理间设置 5 米的缓冲带。埋袋时每个尼龙网袋间隔 20 cm,以 45°斜埋置于地表土壤里,并用尼龙绳绑在一起,贴上标签,用铁钉固定于地表。在 2 年的分解期内,施用 $Ca(H_2PO_4)_2H_2O$ 溶液,施 P 处理分别为 0 、120 、240 、360 kg Phm^{-2} a^{-1},每年 3 次。分别于埋袋 3、6、9、12、18、24 个月后取样,每次每个小区每种细根各处理各取 4 袋带回实验室,挑去长入的细根、泥土和小动物等杂物后,其中 3 袋用于计算细根残留率(60℃烘箱中烘干至恒重,用 4 位数电子天平称量);另 1 袋装入保鲜袋于 4℃冰箱中保存,并尽快进行酶活性测定。

1.4　酶活性测定

参照 Saiya-Cork[16] 的研究方法测定细根中 6 种参与分解纤维素和木质素的胞外酶活性,并做改进[17],各种酶的缩写、编号、功能及所用底物见表 3。分析样品前处理:取 0.50 g 细根(剪碎,≈0.5 cm)加入 125 ml 醋酸钠缓冲液(50 mM、pH 5.0),用磁力搅拌器搅拌约 10 min 至均质化。待溶液澄清后倒入玻璃皿中,用 8 孔移液枪取 200 μl 移入 96 孔微孔板。分析样品都有 16 个重复(200 μl 样液+50 μl 200 μM 底物溶液),8 个阴性控制(200 μl 缓冲液+50 μl 底物溶液)及空白(200 μl 样液+50 μl 缓冲液)作以对照,而过氧化物酶(PerOx)在酚氧化酶(PhOx)基础上,每个孔再添加 10 μl 的 0.3% H_2O_2;水解酶加以 8 个淬火标准液(200 ul 样液+50 μl 标准液)及淬火标准对照液(200 μl 缓冲液+50 μl 标准液)进行校正。

水解酶(βG、CBH、NAG、AP)微孔板在 20 ℃培养箱黑暗中孵育 4 h 后,向每个微孔中加入 10 μl NaOH(1.0 M)使其反应停止,5min 左右后用 Synergy H_4 多功能酶标仪(美国 Bio-Tek 产)配备的 365 nm 激发光谱和 450 nm 荧光扫描滤片的微孔板荧光光度计测定其荧光度,用阴性对照和淬火标准液校正后,酶活性以每小时每克干物质产生底物的摩尔数(nmol g^{-1} h^{-1})计算;而氧化酶(PhOx、PerOx)微孔板则置于相同条件下孵育 18 h 后,用微孔板分光光度计测定其在 450 nm 处的吸光度,以 μmol g^{-1} h^{-1} 为单位表示。

表 3 细根中测定的几类重要的胞外酶、功能及其相应的底物和缩写

Table 3 The several important extracellular enzymes in fine root, its abbreviation, function and corresponding substrate

酶 Enzyme	缩写 Abbreviation	编号 EC	功能 Function	底物 Substrate
酸性磷酸酶 (Acid phosphatase)	AP	3.1.3.2	P cycling	4-MUB-phosphate
β-葡萄糖苷酶 (β-1,4-glucosidase)	βG	3.2.1.21	Labile-C cycling	4-MUB-β-D-glucoside
纤维素水解酶 (Cellobiohydrolase)	CBH	3.2.1.91	Labile-C cycling	4-MUB-β-D-cellobioside
β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (β-1,4-N-acetylglucosaminidase)	NAG	3.1.6.1	N cycling	4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide
酚氧化酶 (Phenol Oxidase)	PhOx	1.10.3.2	Recalcitrant-C cycling	L-DOPA
过氧化物酶 (Peroxidase)	PerOx	1.11.1.7	Recalcitrant-C cycling	L-DOPA

4-MUB = 4-methylumbelliferyl; DOPA = L-3,4-dihydroxyphenylalanine

1.5 统计分析

所有数据均基于 SPSS 19.0 和 Microsoft Excel 2003 及 Origin 8.5 软件进行统计分析和作图。采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)、相关性分析(Pearson 法)和最小显著性差异法(LSD)比较不同数据组间的差异,显著性水平设为 $P<0.05$。网袋法细根干重残留率 $=X_t/X_0\times100\%$,式中 X_0 为细根的初始质量(g),X_t 为时间 t 时细根残留干重(g)。细根分解速率用 Olson 指数衰减模型计算:$X_t/X_0=\exp^{-kt}$,式中 k 为分解常数。由分解模型可得到细根分解的半衰期(50 %分解)计算式,$t_{0.05}=\ln 0.5/(-k)$;完全分解时间(95 %分解)计算式为:$t_{0.95}=\ln 0.05/(-k)$。累积酶活性值是根据梯形积分法,计算随分解时间所绘制的酶活性曲线图的面积而得[18];总累积酶活性即为同个处理所有分解累积酶活性值之和($\mu mol\ g^{-1}\ h^{-1}$)。

2 结果与分析

2.1 P 添加对中亚带树种细根干重残留率的影响

选取的细根初始化学性质有明显的差异(表 2)。米槠细根 N、P 养分显著高于杉木细根,与杉木相比,米槠细根有更低的木质素浓度、C/N、C/P、N/P、木质素/N 与木质素/P($P<0.001$),而纤维素浓度(22.45 %)显著高于杉木细根(14.90 %)($P<0.01$)(表 2)。

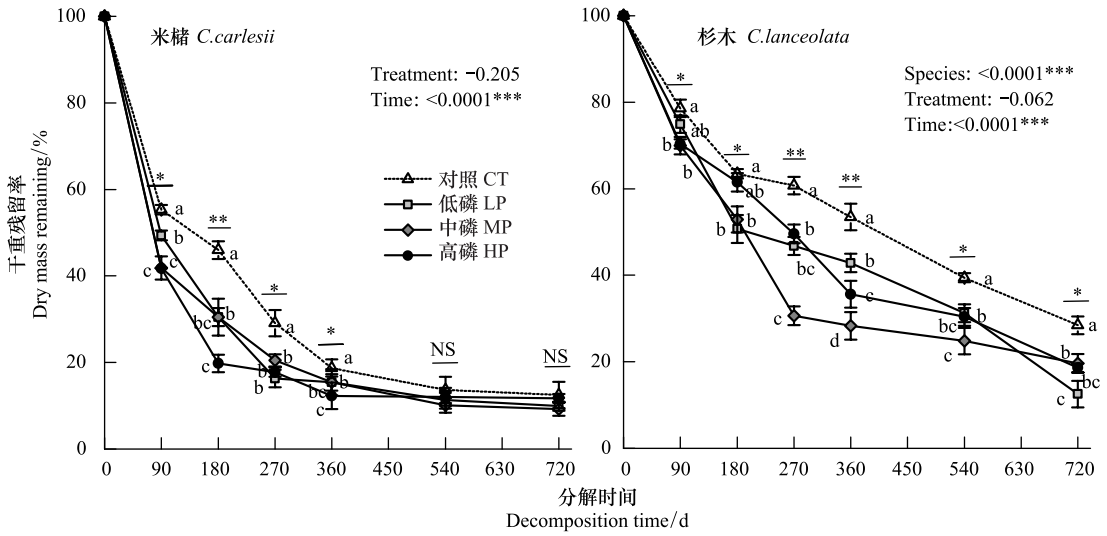

图 1 细根分解干重损失动态(平均值±标准差)($n=9$)

Fig.1 Percentage of dry- mass remaining over time in decomposing fine roots (Mean±SD) ($n=9$)

2 a 分解期内,各处理米槠细根干重残留率均显著低于杉木($P<0.05$),细根分解呈前期(0—180 d)分解快,后期(360—720 d)分解慢的变化特点,P 添加提高了细根的损失,但处理间没有显著差异($P>0.05$),分解

后期米槠细根差异不明显(图 1)。不同细根分解干重损失率均呈现出指数衰减过程(表 4),利用 Olson 模型求得的米槠和杉木细根分解系数 k 大小分别为 MP(0.3811)>LP(0.3771)>HP(0.3655)>CT(0.3549)、MP(0.3048)>LP(0.2565)>HP(0.2436)>CT(0.2212),说明在 2 a 的分解期内,米槠细根分解快于杉木细根,P 添加提高了细根的分解速率,对其分解起促进作用,不同 P 处理因分解时间而异,与米槠相比,P 添加对 P 含量较低的杉木细根促进作用更强。

表 4　不同 P 水平细根分解干重损失率及其分解常数(k)

Table 4　Mass loss rate and decay constant (k) of fine roots in different levels of phosphorus

树种 Species	处理 Treatment	Olson 负指数方程 Olson negative exponential equation	R^2	分解常数 Decay constant/k	年预期干重损失率 Annual predicted mass rate/%	年实际干重损失率 Annual observed mass rate/%	半分解时间 Half decay rate/a	95%分解时间 95% decay rate/a
米槠 *C. carlesii*	CT	$Y=1.2542e^{-0.3549x}$	0.9649	0.3549	87.95	81.27	1.673	10.001
	LP	$Y=1.0726e^{-0.3771x}$	0.8775	0.3771	73.56	84.57	1.534	9.727
	MP	$Y=1.0711e^{-0.3811x}$	0.8675	0.3811	73.16	84.59	1.519	9.709
	HP	$Y=0.9443e^{-0.3655x}$	0.7219	0.3655	70.37	87.82	1.644	9.817
杉木 *C. lanceolata*	CT	$Y=0.9702e^{-0.1745x}$	0.8505	0.2212	81.48	56.85	1.783	10.161
	LP	$Y=1.0140e^{-0.2565x}$	0.8621	0.2565	78.18	69.29	1.714	9.817
	MP	$Y=1.1005e^{-0.3048x}$	0.9221	0.3048	81.13	79.46	1.639	9.009
	HP	$Y=0.9969e^{-0.2436x}$	0.8861	0.2436	78.14	70.32	1.721	9.913

2.2　P 添加对细根分解过程中分解酶活性的影响

细根分解酶活性与细根种类和分解时间极显著相关(P <0.001)。2 a 分解期内,四类主要分解纤维素的水解酶:酸性磷酸酶(AP,主要在酸性条件下将复杂的有机 P 水解转化为可利用的无机 P,参与生态系统磷循环[19,下同])、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG,主要分解含氮的高分子有机物如几丁质以获得 N,参与系统氮循环)及与碳循环有关的 β-葡萄糖苷酶(βG)和纤维素水解酶(CBH),在分解初期(90—270 d)酶活性值有上升趋势,在 270—360 d 分解期间(夏秋季)达到最高值而后下降,后期(540—720 d)分解过程中活性值变化幅度变小;而两类主要分解木质素的氧化酶(主要获得 C,参与系统的碳循环):酚氧化酶(PhOx)和过氧化物酶(PerOx)活性各处理均随分解时间呈上升趋势(图 2—3)。总体上,各处理米槠的分解酶活性显著高于杉木,P 添加显著降低了细根 AP 的活性(P <0.01),提高了 βG、CBH、NAG、PhOx 和 PerOx 活性(P <0.01),并随分解时间进行其变化幅度不一致,而磷处理对杉木细根 PerOx 活性没有统计学上的意义(P >0.05),说明分解是由多种酶综合作用的结果(图 2—3)。

分解 2 a 后,两细根 βG、PhOx 和 PerOx 活性大小顺序均为 HP > MP > LP > CT,CBH 为 HP > LP > MP > CT,而米槠和杉木细根 NAG 活性大小顺序依次为 LP > MP > HP > CT、HP > LP > MP > CT,表现出对共同处理的敏感性差异。相对于 CT,P 添加抑制了细根分解 AP 活性的积累,与磷水平梯度呈极显著的负相关关系(图 4 左);但促进了 βG、CBH、NAG、PhOx 和 PerOx 活性的积累。与 CT 相比,各处理 βG 和 CBH 活性累积比率最大,HP 处理酶活性累积量远高于其它组处理,βG、PhOx 和 PerOx 活性累积量与磷水平梯度显著正相关(P <0.01),而杉木细根的 CBH 和 NAG 活性与米槠细根 NAG 活性的累积量与 P 处理呈正相关,但关系不显著(P >0.05)(图 4 左)。

其次,总累积酶活性可综合表征微生物的生命活动强度[20]。米槠细根分解过程中总累积酶活性量显著多于杉木细根,P 添加水平与总累积酶活性量呈正相关,说明 P 添加增强了微生物的整体活动强度。各处理的米槠分解总累积酶活性有显著差异(P <0.05),而 LP 和 MP 处理间的杉木分解总累积酶活性量无明显区别(图 4 右),但 P 添加后,相比 CT,各处理下杉木总累积酶活性的累积量均多于米槠细根。

2.3　细根分解与其酶活性的相互关系

米槠和杉木细根分解速率与 PhOx 和 PerOx 活性呈极显著正相关(P <0.01),与 AP 活性呈极显著负相关

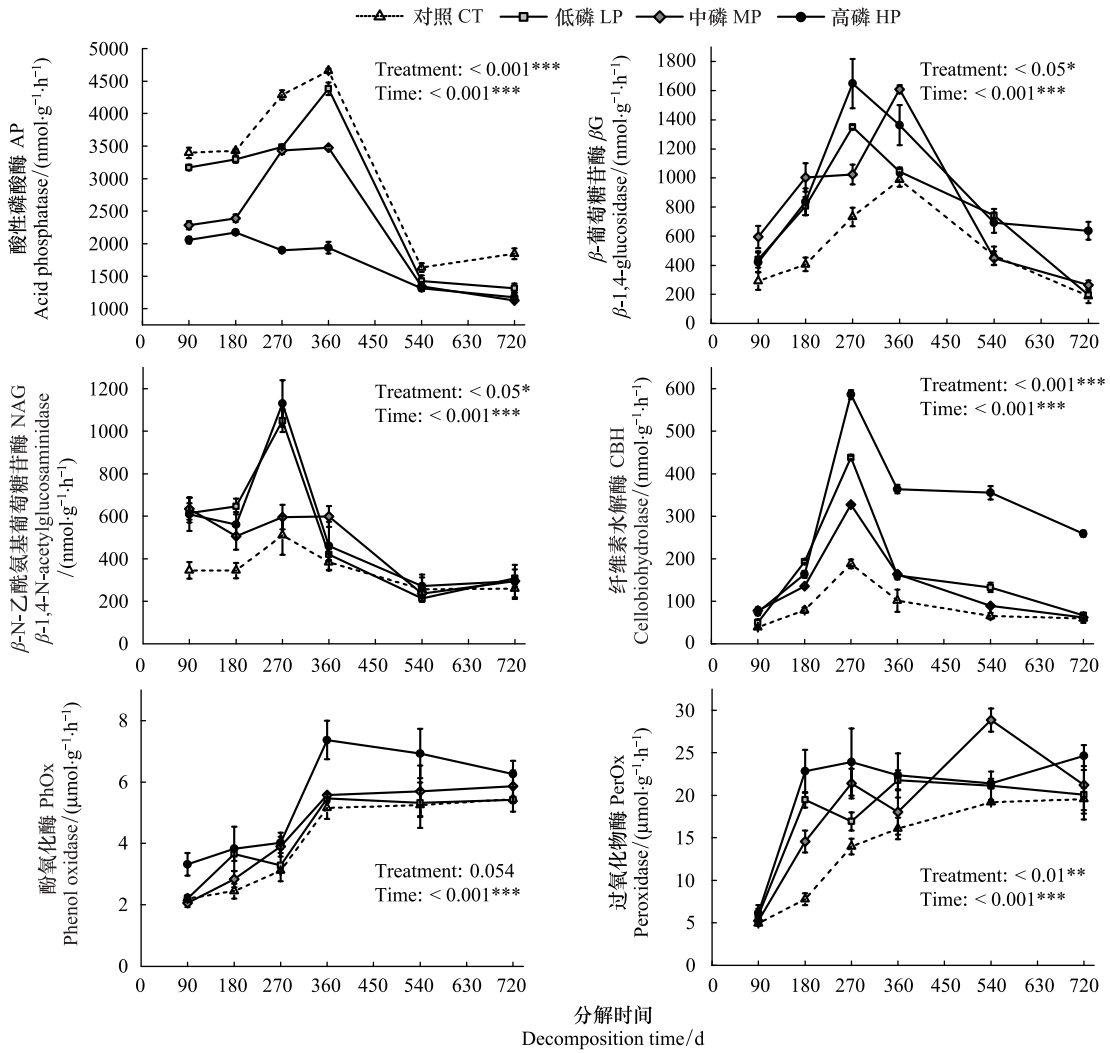

图 2 不同 P 水平米槠细根酶活性的动态(平均值±标准差)(n=3)

Fig.2 Dynamic of different levels of phosphorus in root enzyme activity (Mean±SD) (n=3)

酸性磷酸酶(AP, Acid phosphatase); β-葡萄糖苷酶(βG, β-1,4-glucosidase); 纤维素水解酶(CBH, Cellobiohydrolase); β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG, β-1,4-N-acetylglucosaminidase); 酚氧化酶(PhOx, Phenol Oxidase); 过氧化物酶(PerOx, Peroxidase)

(P <0.01);并与 βG 和 CBH 活性呈正相关,与 NAG 活性呈负相关,但米槠的 βG 和 NAG 与杉木的 βG 和 CBH 活性与其分解速率均无显著差异(P >0.05)(表 5);细根分解速率与水解酶活性呈极显著的二次函数关系,与氧化酶活性呈极显著的指数关系(P <0.01)(表 6),表明后期分解主要受氧化酶影响。

表 5 细根分解速率与其酶活性的相关关系

Table 5 Correlation between fine root mass loss rate and enzyme activities

树种 Species	AP	βG	CBH	NAG	PhOx	PerOx
米槠 *C. carlesii*	−0.444**	0.217	0.279*	−0.097	0.763**	0.756**
杉木 *C. lanceolata*	−0.405**	0.010	0.068	−0.403**	0.735**	0.569**

* P<0.05; * * P<0.01. 酸性磷酸酶(AP, Acid phosphatase); β-葡萄糖苷酶(βG, β-1,4-glucosidase); 纤维素水解酶(CBH, Cellobiohydrolase); β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG, β-1,4-N-acetylglucosaminidase); 酚氧化酶(PhOx, Phenol Oxidase); 过氧化物酶(PerOx, Peroxidase)

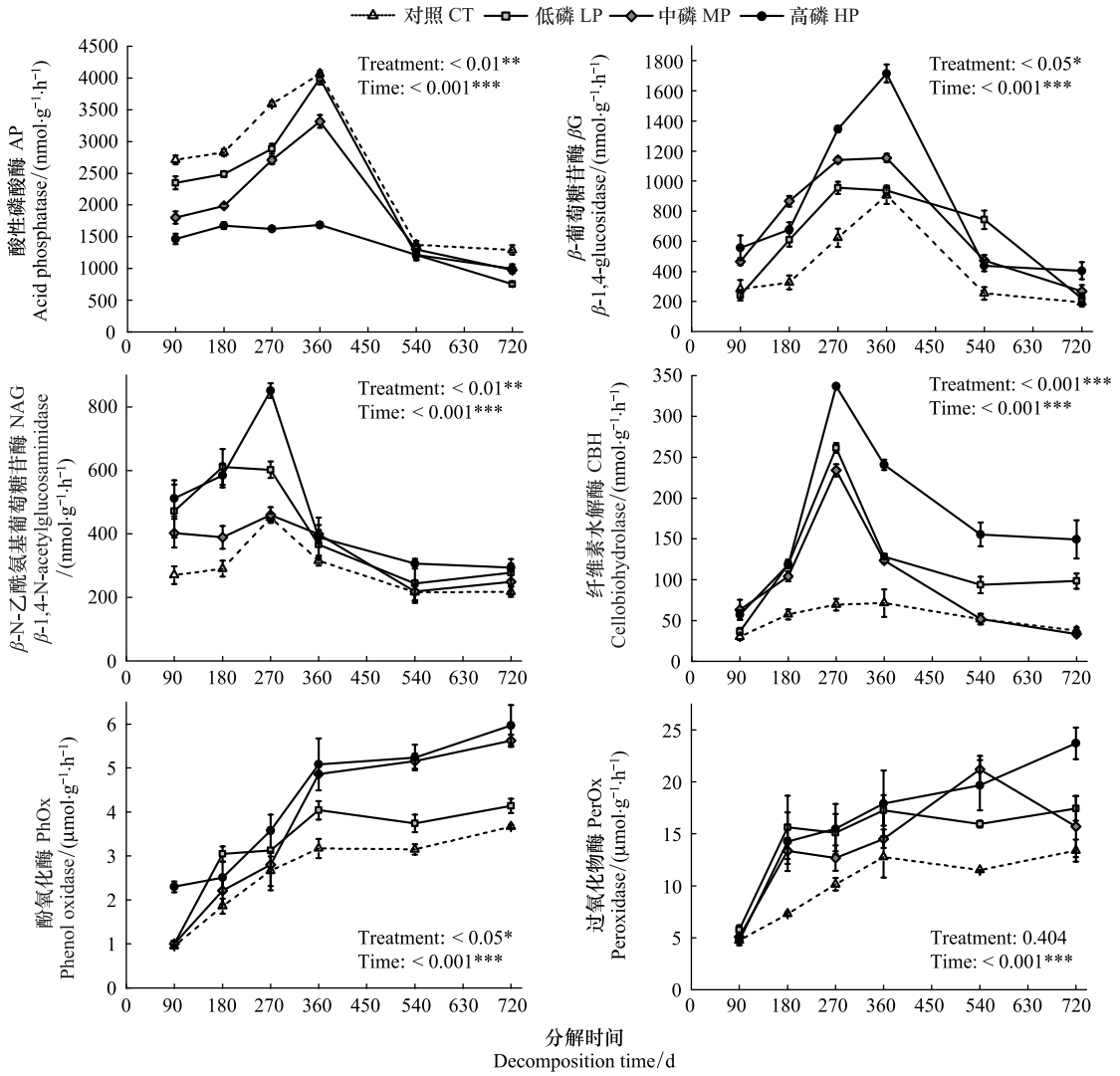

图 3　不同 P 水平杉木细根酶活性的动态(平均值±标准差)($n=3$)

Fig.3　Dynamic of different levels of phosphorus in root enzyme activity (Mean±SD) ($n=3$)

酸性磷酸酶(AP, Acid phosphatase); β-葡萄糖苷酶(βG, β-1,4-glucosidase); 纤维素水解酶(CBH, Cellobiohydrolase); β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG, β-1,4-N-acetylglucosaminidase); 酚氧化酶(PhOx, Phenol Oxidase); 过氧化物酶(PerOx, Peroxidase)

表 6　细根分解速率与其酶活性的回归拟合

Table 6　Regression fit between fine decomposition rate and enzyme activities

酶类 Enzyme	树种 Species	回归方程	R^2	P
酸性磷酸酶 AP	米槠 *C. carlesii*	$y=-6.57x^2+873.35x-23908$	0.52	<0.001
	杉木 *C. lanceolata*	$y=-1.31x^2+109.05x+1122.40$	0.79	<0.001
β-葡萄糖苷酶 βG	米槠 *C. carlesii*	$y=-0.95x^2+136.15x-4053$	0.42	<0.01
	杉木 *C. lanceolata*	$y=-0.45x^2+45.90x-528.27$	0.49	<0.001
纤维素水解酶 CBH	杉木 *C. lanceolata*	$y=-0.25x^2+35.17x-1061$	0.44	<0.001
	米槠 *C. carlesii*	$y=-0.02x^2+2.3x+7.276$	0.43	<0.001
β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 NAG	米槠 *C. carlesii*	$y=-0.52x^2+70.46x-1866.1$	0.42	<0.01
	杉木 *C. lanceolata*	$y=-0.04x^2+1.70x+346.93$	0.55	<0.001
酚氧化酶 PhOx	米槠 *C. carlesii*	$y=0.798e^{0.021x}$	0.73	<0.001
	杉木 *C. lanceolata*	$y=1.492e^{0.011x}$	0.37	<0.01
过氧化物酶 PerOx	米槠 *C. carlesii*	$y=2.237e^{0.022x}$	0.72	<0.001
	杉木 *C. lanceolata*	$y=6.992e^{0.010x}$	0.19	<0.01

* $P<0.05$; * * $P<0.01$. 酸性磷酸酶(AP, Acid phosphatase); β-葡萄糖苷酶(βG, β-1,4-glucosidase); 纤维素水解酶(CBH, Cellobiohydrolase); β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG, β-1,4-N-acetylglucosaminidase); 酚氧化酶(PhOx, Phenol Oxidase); 过氧化物酶(PerOx, Peroxidase)

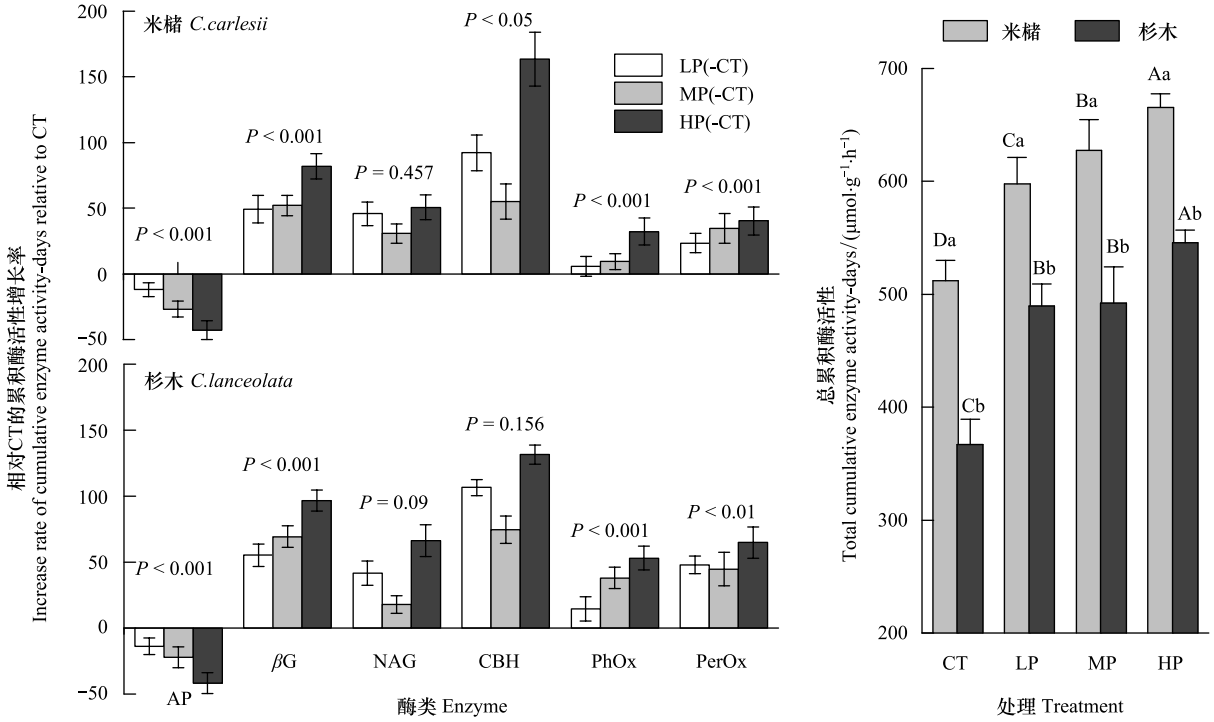

图 4 细根分解累积酶活性增长率(相对 CT)与总累积酶活性的变化(平均值±标准差)(n=3)

Fig.4 Dynamic of fine root net rate of CT and total cumulative enzyme activity-days(Mean±SD) (n=3)

不同大写字母表示不同处理同种树种细根间总累积酶活性值差异显著,小写字母表示不同树种细根间差异显著(P<0.05);酸性磷酸酶(AP, Acid phosphatase);β-葡萄糖苷酶(βG, β-1,4-glucosidase);纤维素水解酶(CBH, Cellobiohydrolase);β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG, β-1,4-N-acetylglucosaminidase);酚氧化酶(PhOx, Phenol Oxidase);过氧化物酶(PerOx, Peroxidase)

3 讨论

3.1 不同细根基质质量对细根分解及其酶活性的影响

本研究中细根分解具有阶段性,呈先快后慢的变化趋势,且分解速率与与水解酶活性呈极显著的二次函数关系,与氧化酶活性呈极显著的指数关系,与已有关于分解的研究结果基本一致[10,15,21-24]。主要原因是分解酶为细根分解过程的重要驱动力,但不同分解阶段分解酶各有分工。即分解初期的淋溶阶段,与可溶性糖类有关的纤维素分解酶活性发挥优势作用,随分解进行易达到峰值,纤维素等多糖类物质被优先分解,细根中可萃取物浓度迅速下降并逐渐淋失,随后其活性也显著下降;而后期酸不溶性物质等难分解的化合物浓度不断累积,与该类化合物有关的木质素分解酶活性在分解过程中逐渐提高,成为分解快慢的主导因素。且已有研究表明只有少数微生物能产生分解后期物质所需的酶,并只会在得不到其它更易分解底物时才产生[25],微生物生物量及养分会随细根底物的逐渐减少而下降[26],不适宜细菌、真菌和放线菌等微生物定居[27],从而抑制后期分解的速率。此外,季节性降雨也会极显著影响亚热带常绿阔叶林树种凋落物的纤维素和木质素的降解率[28],适宜的水热等条件下土壤动物与微生物活性增强,更有利于细根的分解。而本试验中水解酶活性值在夏秋季达到最高,氧化酶活性基本不受季节性影响,与分解时间呈正相关关系,表明分解是多种分解酶共同作用的结果。

细根基质质量是调控分解的内在因素,细根中的 N、P、C/N、木质素含量、木质素/N 和木质素/N 也常作为分解速率的衡量指标[16,29]。本研究结果显示,米槠细根分解快于杉木细根。这是因为阔叶树种(米槠)细根品质高,比针叶树种(杉木)具有更高的养分浓度,更低的酸不溶性物质浓度、C/N 和酸不溶性物质/N,因此分解速率更快[21,30]。且本研究结果显示细根分解速率与氧化酶活性呈极显著的正相关,米槠细根各分解酶

活性及其累积量与总的酶活性累积量均显著多于杉木细根,这可能也是米槠细根分解快于杉木的重要原因。然而 Brandt 等[31]认为凋落物分解过程中微生物新陈代谢能形成木质素类似物,其代谢产物与分解酶活性次生产物会间接影响分解。如杉木细根中具有的较高多酚类物质在分解后期产生的次生代谢产物,可能不利于土壤生物群落生长和繁衍,限制微生物降解木质素酶的分泌[32];且杉木细根中较低的初始 N、P 养分可能不足以提供微生物更多的能量,菌根真菌通过与根交换 N、P 得到 C 的能力受阻,进而也会限制其分解的速率[6,33]。此外,Sinsabaugh 等[34]研究发现,过氧化物酶和酚氧化酶的活性随凋落物木质素浓度和次生化合物含量的增加而升高;与米槠相比,杉木中富含的木质素和酸难溶性化合物等遮蔽酶对底物的作用可能更强,降低酶催化效率,进而降低分解的速率。同时,不同酶之间的相互作用也会影响分解。凋落物分解中存在"主场优势"(Home-field advantage)特征[35],本研究中米槠细根在米槠天然林里分解,具有主场优势,这也可能是导致其比杉木分解快的原因之一。

3.2　外源 P 添加对细根分解及其酶活性的影响

本研究中 2 a 的 P 添加提高了细根的分解速率,对细根分解起促进作用。P 添加提高了 βG、CBH、NAG、PhOx 和 PerOx 活性,降低了 AP 活性。细根分解速率与 PhOx 和 PerOx 活性呈极显著正相关,与 AP 活性呈极显著负相关,与多数研究结果一致[7,36-37]。因而 P 是影响中亚热带林木细根分解的重要因素。尽管本研究试验地土壤中富含的铁铝氧化物,具强 P 吸附能力,然而本研究结果发现 P 添加促进了细根分解。有研究表明微生物可迅速利用外源添加的 P,在生物吸收和土壤吸附有效 P 的竞争中起支配作用[26,38],并促进微生物量和参与分解的胞外酶活性提高,有利于细根中纤维素和木质素的降解[39],从而促进细根的分解。根据生态经济学的"最优配置"模型原理[40](即建立在酶的生产对养分资源有效性敏感的假设基础上,微生物将更多的目标放在最需求的资源),外源 P 添加后,P 的有效性提高,微生物将投资更少的能量获得 P,重新分配资源,转向提高获得 C、N 的胞外酶活性[7,11,41]。另一方面,P 输入能够直接影响到植物、土壤动物和微生物的新陈代谢活动,影响土壤酶分泌的数量,影响凋落物分解酶的活性,酶活性的提高也有助于凋落物中有机质的分解、转换及养分元素的释放[42]。

各 P 添加水平下杉木细根分解干重残留率的变化幅度均比米槠的明显,说明 P 含量较低的杉木细根分解对 P 的添加敏感性更高,促进作用更强。另外,P 添加也大大促进了分解过程中的总累积酶活性量,呈现 HP>MP>LP>CT,HP 处理酶活性累积量远高于其它组处理。利用 Olson 模型求得细根分解系数 k 为 MP>LP>HP>CT,且 HP 处理半分解时间显著多于 LP 和 MP 处理,说明高酶活性的积累量有利于分解。酶活性积累量随施 P 水平提高而增加,但未呈现随 P 添加量提高细根分解加速的现象,可能是由于 P 添加增强了微生物总体活性,但微生物作用于分解的能量以及应对 P 添加水平的策略不同[19]。而过量的 P 添加可能引起分解中所需碳氮磷比例失调而导致土壤酸化,分解反而受 C 或 N 等其他因子的调控[6]。这为森林的可持续经营与管理提供了有益的参考。

4　结论

本研究发现米槠细根分解快于杉木细根,随分解进行呈先快后慢的变化趋势。P 添加提高了细根的分解速率,对分解起促进作用,对 P 含量较低的杉木细根促进作用更强,但未呈现随 P 水平提高分解加快的规律。结果表明 P 是影响中亚带林木细根分解的主要因素之一,而分解过程中酶活性的变化可用于解释分解速率的变化。为深入了解 P 有效性对细根分解影响,未来研究应结合室内控制实验,并运用 PCR、PLFA 技术观测分解过程中微生物结构变化,同位素示踪法追踪分解产物的去向。

参考文献(References):

[1] Bloomfield J, Vogt K A, Vogt D J. Decay rate and substrate quality of fine roots and foliage of two tropical tree species in the Luquillo Experimental Forest, Puerto Rico. Plant and Soil, 1993, 150(2): 233-245.

[2] Berg B, McClaugherty C. Plant Litter: Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration. 3rd ed. Berlin Heidelberg: Springer, 2014.

[3] Dale S E, Turner B L, Bardgett R D. Isolating the effects of precipitation, soil conditions, and litter quality on leaf litter decomposition in lowland tropical forests. Plant and Soil, 2015, 394(1-2): 225-238.

[4] 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.

[5] Fatemi F R, Fernandez I J, Simon K S, Dail D B. Nitrogen and phosphorus regulation of soil enzyme activities in acid forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 98: 171-179.

[6] Fanin N, Hättenschwiler S, Soria P F C, Fromin N. (A)synchronous availabilities of N and P regulate the activity and structure of the microbial decomposer community. Frontiers in Microbiology, 2016, 6: 1507.

[7] Turner B L, Wright S J. The response of microbial biomass and hydrolytic enzymes to a decade of nitrogen, phosphorus, and potassium addition in a lowland tropical rain forest. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 115-130.

[8] 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): 6703-6710.

[9] Lambers H, Raven J A, Shaver G R, Smith S E. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. Trends in Ecology & Evolution, 2008, 23(2): 95-103.

[10] Lin C F, Yang Y S, Guo J F, Chen G S, Xie J X. Fine root decomposition of evergreen broadleaved and coniferous tree species in mid-subtropical China: dynamics of dry mass, nutrient and organic fractions. Plant and soil, 2011, 338(1-2): 311-327.

[11] Sinsabaugh R L, Carreiro M M, Repert D A. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. Biogeochemistry, 2002, 60(1): 1-24.

[12] Sun T, Dong L L, Wang Z W, Lü X T, Mao Z J. Effects of long-term nitrogen deposition on fine root decomposition and its extracellular enzyme activities in temperate forests. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 93: 50-59.

[13] Carreiro M M, Sinsabaugh R L, Repert D A, Parkhurst D F. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. Ecology, 2000, 81(9): 2359-2365.

[14] Jiang X Y, Cao L X, Zhang R D, Yan L J, Mao L, Yang Y W. Effects of nitrogen addition and litter properties on litter decomposition and enzyme activities of individual fungi. Applied Soil Ecology, 2014, 80: 108-115.

[15] 林成芳, 杨王盛, 郭剑芬, 谢锦升, 赵月彩. 杉木和米槠细根混合分解及其养分释放. 生态学报, 2010, 30(3): 626-634.

[16] 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.

[17] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(7): 1387-1397.

[18] Wang B, Strömberg S, Nges I A, Nistor M, Liu J. Impacts of inoculum pre-treatments on enzyme activity and biochemical methane potential. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2016, 121(5): 557-560.

[19] Burpee B, Saros J E, Northington R M, Simon K S. Microbial nutrient limitation in Arctic lakes in a permafrost landscape of southwest Greenland. Biogeosciences, 2016, 13(2): 365-374.

[20] 靳振江, 邰继承, 潘根兴, 李恋卿, 宋祥云, 谢添, 刘晓雨, 王丹. 荆江地区湿地与稻田有机碳、微生物多样性及土壤酶活性的比较. 中国农业科学, 2012, 45(18): 3773-3781.

[21] Yang Y S, Chen G S, Lin P, Xie J S, Guo J F. Fine root distribution, seasonal pattern and production in four plantations compared with a natural forest in subtropical China. Annals of Forest Science, 2004, 61(7): 617-627.

[22] 林成芳, 郭剑芬, 陈光水, 杨玉盛. 森林细根分解研究进展. 生态学杂志, 2008, 27(6): 1029-1036.

[23] 季晓燕, 江洪, 洪江华, 马元丹. 亚热带3种树种凋落叶厚度对其分解速率及酶活性的影响. 生态学报, 2013, 33(6): 1731-1739.

[24] 葛晓改, 肖文发, 曾立雄, 黄志霖, 周本智. 三峡库区马尾松林土壤——凋落物层酶活性对凋落物分解的影响. 生态学报, 2014, 34(9): 2228-2237.

[25] López E S, Pardo I, Felpeto N. Seasonal differences in green leaf breakdown and nutrient content of deciduous and evergreen tree species and grass in a granitic headwater stream. Hydrobiologia, 2001, 464(1-3): 51-61.

[26] 王光军, 田大伦, 闫文德, 朱凡, 李树站. 去除和添加凋落物对枫香和樟树林土壤呼吸的影响. 生态学报, 2009, 29(2): 643-652.

[27] Esberg C, Du Toit B, Olsson R, Ilstedt U, Giesler R. Microbial responses to P addition in six South African forest soils. Plant and Soil, 2010, 329(1-2): 209-225.

[28] 马志良, 高顺, 杨万勤, 吴福忠, 谭摇波, 张玺涛. 亚热带常绿阔叶林6个常见树种凋落叶在不同降雨期的分解特征. 生态学报, 2015, 35(22): 7553-7561.

[29] Berg B. Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils-a mini review. Scandinavian Journal of Forest Research, 1986, 1(1-4): 359-369.

[30] Zhang C H, Li S G, Zhang L M, Xin C P, Liu C R. Effects of species and low dose nitrogen addition on litter decomposition of three dominant grasses in Hulun Buir Meadow Steppe. Journal of Resources and Ecology, 2013, 4(1): 20-26.

[31] Brandt L A, King J Y, Hobbie S E, Milchunas D G, Sinsabaugh R L. The role of photodegradation in surface litter decomposition across a grassland ecosystem precipitation gradient. Ecosystems, 2010, 13(5): 765-781.

[32] 杨万勤, 邓仁菊, 张健. 森林凋落物分解及其对全球气候变化的响应. 应用生态学报, 2007, 18(12): 2889-2895.

[33] Kiers E T, Duhamel M, Beesetty Y, Mensah J A, Franken O, Verbruggen E, Fellbaum C R, Kowalchuk G A, Hart M M, Bago A, Palmer T M, West S A, Vandenkoornhuyse P, Jansa J, Bücking H. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. Science, 2011, 333(6044): 880-882.

[34] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(3): 391-404.

[35] Yu Z P, Huang Z Q, Wang M H, Liu R Q, Zheng L J, Wan X H, Hu Z H, Davis M R, Lin T C. Nitrogen addition enhances home-field advantage during litter decomposition in subtropical forest plantations. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 90: 188-196.

[36] Allison S D, Treseder K K. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. Global Change Biology, 2008, 14(12): 2898-2909.

[37] Jing X, Yang X X, Ren F, Zhou H K, Zhu B, He J S. Neutral effect of nitrogen addition and negative effect of phosphorus addition on topsoil extracellular enzymatic activities in an alpine grassland ecosystem. Applied Soil Ecology, 2016, 107: 205-213.

[38] Richardson A E, Simpson R J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. Plant Physiology, 2011, 156(3): 989-996.

[39] 王相娥, 薛立, 谢腾芳. 凋落物分解研究综述. 土壤通报, 2009, 40(6): 1473-1478.

[40] 王冰冰, 曲来叶, 马克明, 张心昱, 宋成军. 岷江上游干旱河谷优势灌丛群落土壤生态酶化学计量特征. 生态学报, 2015, 35(18): 6078-6088.

[41] Rejmánková E, Sirová D. Wetland macrophyte decomposition under different nutrient conditions: relationships between decomposition rate, enzyme activities and microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(2): 526-538.

[42] 杨万勤, 王开运. 森林土壤酶的研究进展. 林业科学, 2004, 40(2): 152-159.