

DOI: 10.5846/stxb201709031588

樊博, 史亮涛, 潘志贤, 何光熊, 孙毅, 闫帮国. 干热河谷土壤酶活性对碳氮添加的响应. 生态学报, 2018, 38(23): - .

Fan B, Shi L T, Pan Z X, He G X, Sun Y, Yan B G. Response of soil enzyme activities to carbon and nitrogen addition in an arid, hot valley. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(23): - .

## 干热河谷土壤酶活性对碳氮添加的响应

樊 博<sup>1,2</sup>, 史亮涛<sup>1,2</sup>, 潘志贤<sup>1,2</sup>, 何光熊<sup>1,2</sup>, 孙 毅<sup>1,2</sup>, 闫帮国<sup>1,2,\*</sup>

1 云南省农业科学院热区生态农业研究所, 元谋 651300

2 元谋干热河谷植物园, 元谋 651300

**摘要:** 碳氮是生态系统物质循环中的关键元素, 然而碳氮对土壤生态系统功能是否具有交互作用还缺乏深入研究。通过干热河谷土壤的葡萄糖和硝酸铵的交互添加实验, 研究了氮、碳添加及其交互作用对干热河谷土壤酶活性及其化学计量学特征的影响。结果表明: 碳氮交互作用显著影响了葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶和亮氨酸胺酶活性。在对照样方的土壤中, 碳添加使葡萄糖苷酶活性降低了 31.4%; 在施氮样方的土壤中, 碳添加使葡萄糖苷酶活性增加了 54.4%。对照样方中的土壤中, 碳添加对酸性磷酸酶和亮氨酸胺酶活性促进作用较小(分别增加了 102.4% 和 28.8%); 相比之下, 在施氮样方的土壤中, 碳添加使酸性磷酸酶和亮氨酸胺酶活性分别增加了 302.2% 和 68.8%。碳添加对葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性的促进作用与土壤初始有效氮含量显著正相关。几丁质酶活性在碳添加下增加了 53.7%, 对氮添加没有响应。碳氮交互作用也显著影响了 C:N 和 C:P 的水解酶化学计量关系。在对照样方中碳添加使 C:N 水解酶化学计量比降低了 16.9%, C:P 水解酶化学计量比降低了 19.9%; 而在施氮样方土壤中, 碳添加的影响较小 C:N 和 C:P 水解酶化学计量比分别降低了 1.9% 和 5.8%。碳氮交互作用对干热河谷土壤酶活性的影响表明碳氮在土壤生态系统功能具有重要作用。

**关键词:** 干热河谷; 土壤酶; 生态化学计量学; 碳

## Response of soil enzyme activities to carbon and nitrogen addition in an arid, hot valley

FAN Bo<sup>1,2</sup>, SHI Liangtao<sup>1,2</sup>, PAN Zhixian<sup>1,2</sup>, HE Guangxiang<sup>1,2</sup>, SUN Yi<sup>1,2</sup>, YAN Bangguo<sup>1,2,\*</sup>

1 Institute of Tropical Eco-agricultural Sciences, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yuanmou 651300, China

2 Dry-hot Valley Botanic Garden, Yuanmou 651300, China

**Abstract:** Atmospheric nitrogen (N) deposition has profound effects on the biogeochemical cycling of carbon (C) and N. The interactions between C and N can affect biogeochemical cycling by modifying soil enzyme activities; however, these interactions still need to be explored. Using a factorial glucose and ammonium nitrate addition experiment, we investigated how C, N, and their interactions affect soil enzyme activities and enzymatic stoichiometry in an arid, hot valley. The enzymes in this survey were involved in the acquisition of C ( $\beta$ -1,4-glucosidase), N (leucine aminopeptidase and chitinase), and phosphorus (P) (acid phosphatase). C:N:P enzymatic stoichiometry was calculated as  $\ln(\beta$ -1,4-glucosidase) :  $\ln(\text{leucine aminopeptidase} + \text{chitinase})$  :  $\ln(\text{acid phosphatase})$ . The results showed that interactions between C and N significantly affected activities of  $\beta$ -1,4-glucosidase, acid phosphatase, and leucine aminopeptidase. C addition decreased  $\beta$ -1,4-glucosidase activities by 31.4% in soils collected from control plots, but increased  $\beta$ -1,4-glucosidase activities by 54.4% in soils collected from N addition plots. The effects of C addition on activities of acid phosphatase and leucine aminopeptidase in soils collected from control plots were relatively small (increased by 102.4% and 28.8%

基金项目: 国家自然科学基金(31460127); 云南省应用基础研究计划青年基金项目(2017FD024)

收稿日期: 2017-09-03; 网络出版日期: 2018-00-00

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ecyanbangguo@yahoo.com

respectively). In comparison, C addition increased acid phosphatase and leucine aminopeptidase activities by 302.2% and 68.8%, respectively, in soils collected from N addition plots. The promoting effects of C addition on  $\beta$ -1,4-glucosidase and acid phosphatase activities were positively correlated with soil initial N availabilities. Chitinase activities increased by 53.7% under C addition, but did not respond to N addition. C and N also interacted, affecting the stoichiometry of C:N and C:P acquisition activities. C addition decreased C:N acquisition activities by 16.9% and C:P acquisition activities by 19.9% in soils collected from control plots. However, the effects of C addition were small in soils collected from N addition plots with decreases of C:N acquisition activities by 1.9% and C:P acquisition activities by 5.8%. The results revealed that interactions between C and N play a critical role in regulating soil enzyme activities in this arid, hot land and may be a key factor determining soil ecosystem functioning.

**Key Words:** dry and hot valley; soil enzymes; ecological stoichiometry; carbon

碳氮是生态系统运转的关键元素<sup>[1-2]</sup>。碳氮交互作用深刻地影响生态系统的功能以及生态系统对全球变化的响应<sup>[3]</sup>。二氧化碳浓度升高可以促进植物生长,从而可以固定更多的碳,但是这种促进作用与氮元素的丰缺有关<sup>[4]</sup>。当氮逐渐限制时,二氧化碳浓度对植物生长不再具有促进作用<sup>[5]</sup>。

大气二氧化碳浓度升高和温度增高对植物生长的促进作用增加了土壤的碳输入<sup>[6]</sup>。另一方面,日益增加的大气氮沉降增加了土壤氮的含量,导致碳可能会成为土壤生物化学过程的限制养分。因此,碳氮交互作用同样可能存在于土壤生态系统中。碳是许多生态系统中限制土壤微生物生长的因素,特别是氮添加下的生态系统中,碳的限制可能更为严重<sup>[7]</sup>。

土壤酶是影响土壤养分循环和有机物分解的重要催化物质,主要由土壤微生物分泌而来<sup>[8]</sup>。土壤酶活性反映了土壤的肥力<sup>[9]</sup>,其化学计量学特征反映了土壤养分的平衡状况<sup>[10]</sup>。碳氮平衡的改变必然对土壤酶活性及其化学计量学特征产生重要影响。

土壤酶是促进土壤稳定有机碳形成的重要因素<sup>[11]</sup>。碳源物质的水解酶产物被微生物利用后更容易与土壤矿物质结合,进而形成稳定的土壤有机碳<sup>[12]</sup>。然而,外源碳输入并不一定伴随土壤碳库的增加。外源碳可能会激发土壤中有有机质的分解,产生激发效应(Priming effect)<sup>[13]</sup>。事实上,随着植物生产力的提高和碳输入的增加,土壤碳库的分解速率也在增加,从而抵消了碳的输入<sup>[14]</sup>。相反,氮增加可能会促进土壤稳定有机碳的形成<sup>[15]</sup>。这些截然不同的结果可能与碳氮对土壤酶活性的影响有关。因此,认识碳氮对土壤酶活性的交互作用是了解全球变化下土壤生态系统功能和生物地球化学循环变化趋势的关键。

已有研究表明碳、氮交互作用对生态系统生产力具有重要的影响<sup>[5]</sup>,那么碳、氮对土壤酶活性的影响是否存在交互作用?本研究依托干热河谷的实验草地,进行土壤碳氮添加控制实验,揭示碳氮交互作用对土壤酶活性的影响。研究结果将有助于进一步认识碳氮在土壤生态系统中的作用及其耦合机制,理解生态系统富氮化后碳氮平衡对土壤酶活性的影响机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验地概况

实验地位于金沙江干热河谷地区的元谋沟蚀崩塌观测站上,年均温在 21℃ 左右,年降水量低于 700 mm,且 90% 以上分布在雨季(6—10 月)。当地的优势植物为黄茅 *Heteropogon contortus*、孔颖草 *Bothriochloa pertusa*、拟金茅 *Eulaliopsis binata* 和橘草 *Cymbopogon goeringii* 等。区域内土壤侵蚀较为严重,导致部分地表的植被破坏和土层混合。为了模拟土壤侵蚀状况下植被恢复对土壤生态系统的影响,选定一个土壤类型为燥红土的实验区,去除植被和表层土壤(0—100 cm),通过推土机混合后回填部分土壤。土壤全碳含量为 2.55 mg/g,全氮含量为 0.20 mg/g,全磷含量为 0.10 mg/g,pH 为 6.26 左右。整个实验区被划分为 12 个区块,区块面积 8 m×16 m。每个区块划分为 8 个样方,各样方中配置了不同的植物物种<sup>[16]</sup>。每个样方面积为 1.8 m×1.8 m。

中间间隔 0.4 m, 区块之间间隔 1 m。

为了探明氮添加对土壤生态系统的影响, 6 个区块每年添加固体分析纯  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 分两次分别在 6 月和 8 月中旬添加, 添加量为每年  $5 \text{ g N m}^{-2}$  (大约为区域大气沉降背景值<sup>[17]</sup>的 2—3 倍左右)。氮添加通常选择在连阴雨期间进行, 氮添加时与少量当地沙土混匀后播撒。另外 6 个区块为对照, 只播撒相应量的沙土。氮添加区块与对照区块随机排列, 以消除位置上土壤异质性的影响。处理区块间隔 0.8 m, 设置土埂。该样地 2012 年建成, 2013 年开始进行氮添加处理。

2015 年 10 月采集了 4 种单一种植样方下 (分别为黄茅、孔颖草、拟金茅和橘草) 的表层土壤 (0—15 cm)。每个物种的处理包含 10 个样方, 其中 5 个为对照; 5 个为氮添加。实验共含有 4 个植物处理 $\times$ 2 个氮处理 $\times$ 5 个重复=40 个样方。

每个样方采集 3 个点, 混匀后带回实验室处理。所有土样过 2 mm 筛后于阴凉处风干保存。 $\text{NH}_4^+$  含量测定参照<sup>[18]</sup>,  $\text{NO}_3^-$  测定参照<sup>[19]</sup>, 有效氮含量为  $\text{NH}_4^+$  与  $\text{NO}_3^-$  含量之和。

## 1.2 样品处理与测定

每个样方的土壤称量 2 份 (100 g 风干土壤样品), 放入 350 mL Mason 瓶中, 其中一份为对照, 第二份添加碳, 为  $500 \text{ mg C kg}^{-1}$  土壤 (0.1251 g 葡萄糖/100 g 土壤)。所有土壤样品水分含量均调节至田间饱和含水量的 60%, 用封口膜盖住以降低水分流失, 每隔 3 d 校正一次水分。28℃ 下暗培养, 九天后 (预实验表明碳添加 9 d 后土壤酶活性趋于稳定, 与 Allison 和 Vitousek<sup>[20]</sup>的研究结果相似) 将土壤取出, 置于 4℃ 冰箱中保存, 用于测定土壤酶活性。

根据 Sinsabaugh 等研究结果<sup>[21]</sup>, 土壤或沉积物中 C、N、P 水解酶可由  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶 (BG), 酸性磷酸酶 (AP), 几丁质酶 (NAG) 和亮氨酸氨基肽 (LAP) 表征, 具体测定方法参照<sup>[22]</sup>。 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶和几丁质酶测定方法相似, 底物分别为对硝基苯- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷、对硝基苯磷酸二钠和对硝基苯  $\beta$ -N-乙酰葡萄糖胺糖苷, 用 pH 5.0 的 50 mmol/L 醋酸缓冲液配制浓度为 2.5 mM 的底物溶液 (由于对硝基苯  $\beta$ -N-乙酰葡萄糖胺糖苷极难溶解, 底物溶液的浓度为 1 mmol/L)。在测定土壤酶活性前将土壤充分混匀。预实验表明土壤太多, 反应底物不足会限制反应速率; 土壤太少, 反应产物显色太弱。因此本研究进行了预实验来测定不同土壤重量下酶活性的倍性关系和重复性, 以确定合适的土壤量 (AP 为 0.15 g 左右; LAP 0.35 g 左右; NAG 0.2 g 左右; BG 0.2 g 左右)。测定的具体步骤是: 称量土壤并记录重量, 放入 10 mL 离心管中, 再加入 4 mL 底物溶液; 用 4 mL 缓冲液加土壤作为土壤对照; 同时设置底物对照 (不加土壤)。20℃ 培养结束 3—4 h 后离心 3 分钟。提取上清液 2.5 mL, 加入 0.25 mL 1 mol/L NaOH 终止反应和显色, 在 410 nm 处测定吸光度, 用不同浓度对硝基酚作为标准曲线。亮氨酸氨基肽酶测定中采用 L-亮氨酸-4-硝基苯胺作为底物, 以 pH 为 8.0 的 50 mM Tris 缓冲液配制 1 mM 的底物溶液。在 10 mL 离心管中加入 0.1 g 左右的新鲜土壤, 加入 4 mL 1 mmol/L 的底物溶液; 同时设置底物对照和土壤对照, 所有样品培养 4 h。由于该底物对氢氧化钠很敏感, 极易分解, 另外 pH 8.0 缓冲液已经可以使对硝基酚显色, 因此本指标是培养结束后直接在分光光度计 410 nm 处测定吸光度。定量方法也是用不同浓度对硝基酚作为标准曲线。酶活性为样品测定值减去土壤对照和底物对照, 用 nmol 对硝基酚  $\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  表示。

## 1.3 数据分析

初步分析后发现植物物种与碳或氮之间均不存在显著的交互作用。因此本文将不同物种处理合并, 只关注碳氮的作用及其交互作用。土壤酶 C:N 化学计量学特征用  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{LAP} + \text{NAG})$  表征; C:P 用  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{AP})$ ; N:P 用  $\ln(\text{LAP} + \text{NAG}) : \ln(\text{AP})$  表征<sup>[21]</sup>。用最小显著差异法 (LSD) 比较碳氮处理间的差异; 采用方差分析法分析碳氮处理及其交互作用对土壤酶活性的影响。为了揭示碳氮添加对土壤酶活性变化的关联性影响, 计算了土壤酶活性在碳添加后的变化值 (碳添加后土壤酶活性减去没有碳添加的对应值), 并采用线性回归分析法分析碳添加后酶活性变化值与土壤初始有效氮含量之间的关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 碳氮处理对土壤酶活性的影响

氮添加显著增加了土壤中有效氮含量,使有效氮含量平均值由 4.47 mg/kg 增加至 11.67 mg/kg。施氮处理显著影响了土壤 AP 和 LAP 活性(表 1)。氮添加下 AP 活性由 542.63 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 1143.77 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>;LAP 活性则由 29.60 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>降至 24.14 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,降低了 18.4%;碳添加显著影响了 AP、LAP 和 NAG 活性,三者分别由 407.20、21.92、20.56 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 1279.19、31.82 和 31.59 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,分别增加了 214.1%、45.2%和 53.7% (图 1)。

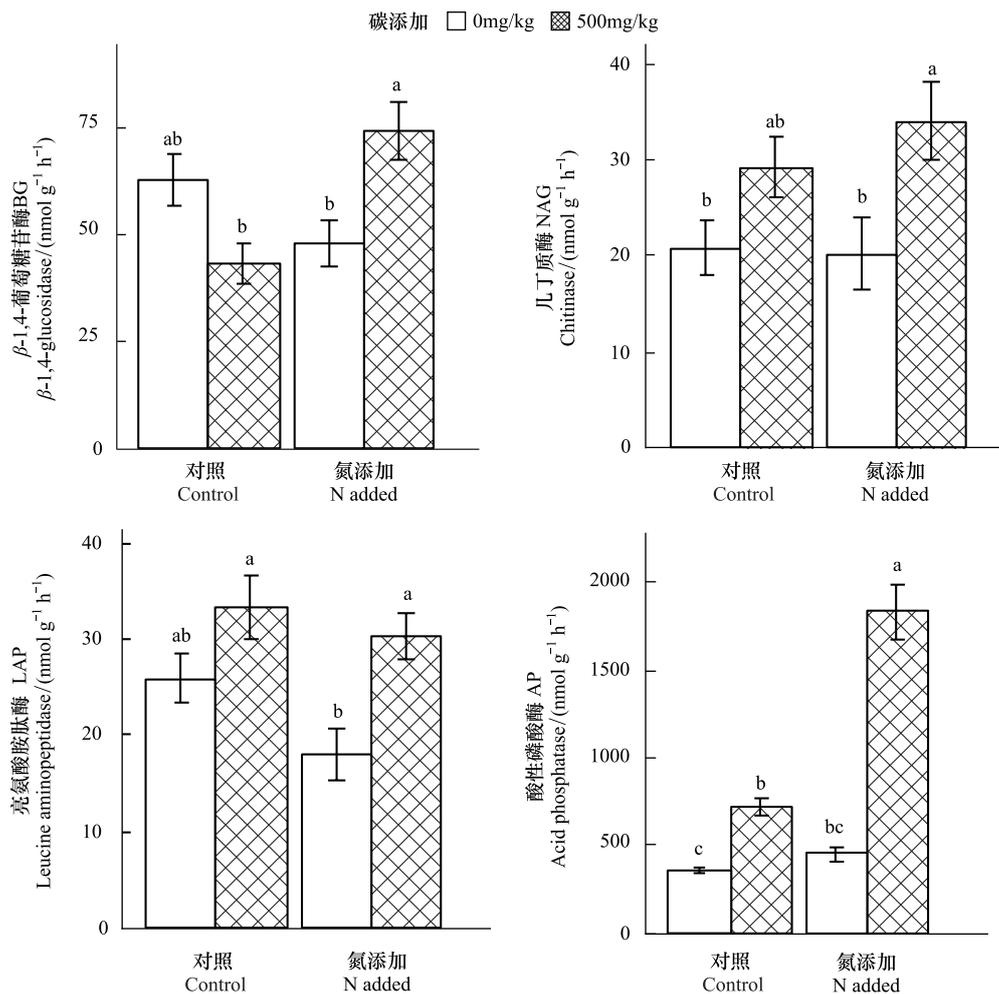


图 1 碳氮添加下土壤酶活性(平均值±标准误)

Fig.1 Soil enzyme activities (Mean±SE) under carbon and nitrogen additions

BG, β-1,4-葡萄糖苷酶(β-1,4-glucosidase); NAG, 几丁质酶(chitinase);LAP 亮氨酸胺酶(leucine aminopeptidase); AP, 酸性磷酸酶(acid phosphatase). 不同字母表示组间存在显著差异

碳氮交互作用显著影响了 BG、AP 和 LAP 活性(表 1)。在对照样方的土壤中,碳添加使 BG 活性由 63.01 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>降至 43.24 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,降低了 31.4%;在施氮样方的土壤中,碳添加使 BG 活性由 48.09 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 74.27 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,增加了 54.4%。对照样方中,碳添加 AP 和 LAP 活性影响较小,碳添加使 AP 活性为由 358.88 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 726.38 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,使 LAP 活性由 25.88 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 33.32 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,二者分别增加了 102.4%和 28.8%;而施氮样方的土壤中,碳添加下 AP 活性由 455.53 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加至 1832.01 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,LAP 活性由 17.96 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>增加为 30.32 nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,分别增加了 302.2%和 68.8%

(图 1)。回归分析表明,碳添加下 AP 和 BG 酶活性增加值与土壤初始有效氮含量显著正相关(图 2),其他酶活性增加值与土壤初始有效氮含量不相关。

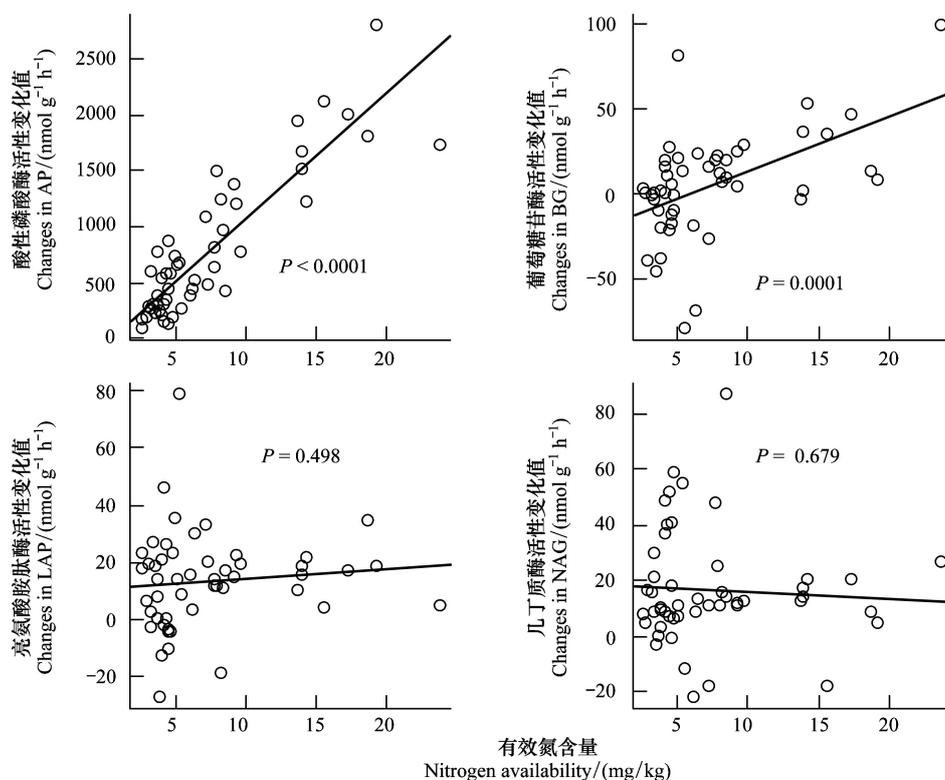


图 2 碳添加下土壤酶活性变化与土壤初始有效氮含量之间的关系

Fig.2 Relationships between changes in soil enzyme activities and soil initial nitrogen availabilities under carbon additions

BG,  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶( $\beta$ -1,4-glucosidase); NAG, 几丁质酶(chitinase); LAP 亮氨酸胺肽酶(leucine aminopeptidase); AP, 酸性磷酸酶(acid phosphatase)

## 2.2 碳氮处理对 C:N:P 土壤酶化学计量学特征的影响

施氮处理显著降影响了土壤 C:P 和 N:P 水解酶化学计量关系(表 1)。氮添加下  $\ln(\text{BG}):\ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{LAP}+\text{NAG}):\ln(\text{AP})$  显著下降,分别由 0.62 和 0.63 降低为 0.59 和 0.56。碳添加显著影响了 C:N 和 C:P 的水解酶化学计量关系(表 1)。碳添加显著降低了  $\ln(\text{BG}):\ln(\text{LAP}+\text{NAG})$  和  $\ln(\text{BG}):\ln(\text{AP})$ ,使其分别由 1.07 和 0.65 降低为 0.97 和 0.56(图 3)。

表 1 碳(C)、氮(N)及其交互作用对土壤酶活性的影响

Table 1 The effects of carbon (C), nitrogen (N) and their interaction on soil enzyme activities

处理 Treatment	DF	BG		NAG		AP		LAP	
		F	P	F	P	F	P	F	P
N	1	0.744	0.391	0.031	0.86	49.75	<0.0001	5.518	0.021
C	1	0.3	0.586	16.146	0.0001	178.91	<0.0001	14.219	<0.0001
C×N	1	14.373	0.0001	1.146	0.288	21.04	<0.0001	4.399	0.039
残差 Residuals	76								
处理 Treatment	DF	$\ln(\text{BG}):\ln(\text{LAP}+\text{NAG})$		$\ln(\text{BG}):\ln(\text{AP})$		$\ln(\text{LAP}+\text{NAG}):\ln(\text{AP})$			
		F	P	F	P	F	P		
N	1	2.713	0.104	4.366	0.04	25.809	<0.0001		
C	1	8.401	0.005	23.41	<0.0001	2.179	0.144		
C×N	1	5.421	0.023	8.302	0.005	0.009	0.925		
残差 Residuals	76								

BG,  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶( $\beta$ -1,4-glucosidase); NAG, 几丁质酶(chitinase); LAP 亮氨酸胺肽酶(leucine aminopeptidase); AP, 酸性磷酸酶(acid phosphatase)

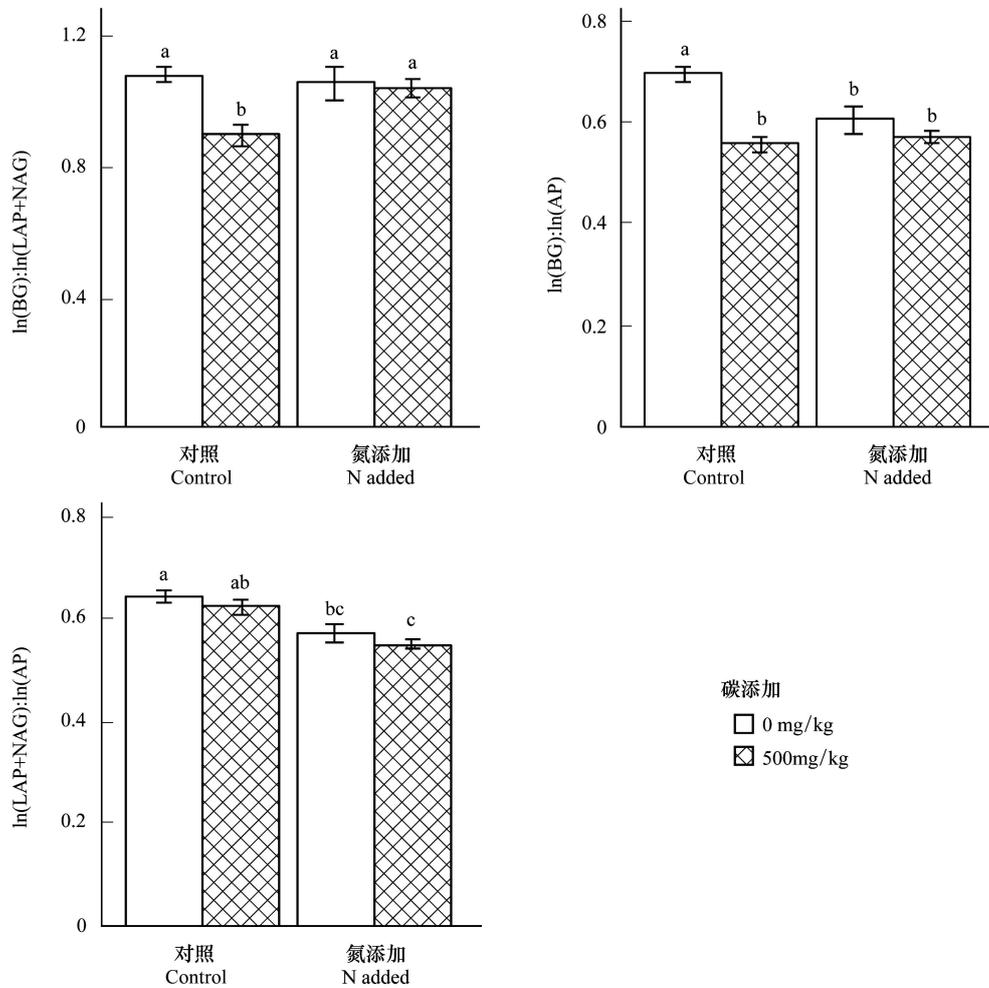


图3 碳氮添加下土壤酶化学计量学特征(平均值±标准误)

Fig.3 Soil enzymatic stoichiometry under carbon and nitrogen additions (Mean±SE)

BG,  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶( $\beta$ -1,4-glucosidase); NAG, 几丁质酶(chitinase); LAP 亮氨酸胺肽酶(leucine aminopeptidase); AP, 酸性磷酸酶(acid phosphatase)

碳氮交互作用显著影响了 C:N 和 C:P 的水解酶化学计量关系(表 1)。在对照样方中碳添加使  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{LAP} + \text{NAG})$  由 1.08 降低为 0.90, 降低了 16.9%;  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{AP})$  由 0.69 降低至 0.56, 降低了 19.9%; 而在施氮样方土壤中, 碳添加下  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{LAP} + \text{NAG})$  由 1.06 降低为 1.04, 仅降低了 1.9%;  $\ln(\text{BG}) : \ln(\text{AP})$  由 0.60 降低为 0.57, 仅降低了 5.8% (图 3)。

### 3 讨论

#### 3.1 碳对土壤酶活性的限制

本研究发现, 碳对土壤酸性磷酸酶、几丁质酶和亮氨酸胺肽酶活性具有较大的促进作用, 表明碳是干热河谷土壤酶活性的限制因素。碳可以为土壤微生物的土壤酶合成提供能量, 同时碳也是构成土壤酶的关键元素<sup>[8]</sup>。干热河谷植物生产力较低, 土壤中有机质较为缺乏, 导致土壤中可供微生物利用的碳不足, 这在氮添加后可能显得更为突出。土壤酶活性是土壤养分循环的重要驱动力<sup>[10]</sup>, 也是土壤肥力的重要指标。碳对土壤酶活性的限制也可能存在其他生态系统中。全球范围的综合数据显示, 根际土壤的土壤酶活性总体上可以比非根际土壤高出 28%<sup>[23]</sup>, 根际土中的土壤酶活性增强的现象可能与根系分泌的碳化合物有关。事实上, 植物根际土壤酶活性与根系的碳分泌量显著正相关<sup>[24]</sup>, 表明碳对多数生态系统中的土壤酶活性都可能具有

限制作用。

### 3.2 碳氮交互作用对土壤酶活性的影响

碳氮交互作用表明碳对部分土壤酶活性的影响与氮有关。当碳氮添加后,土壤中的磷的限制作用日益突出,土壤微生物为了获取更多的磷从而合成酸性磷酸酶,促进磷从有机物中释放。这就表明植物根系分泌物或者植物枯落物对土壤酶活性的促进作用可能与氮含量有关。而另一方面,植物根系通过吸收土壤氮,造成根系周围氮的缺乏,这可能会影响根系分泌物对部分土壤酶活性的促进作用。相反,丰富的氮含量则可以加速磷的循环<sup>[25]</sup>。在氮沉降下,土壤中的氮含量不断增加,这将改变根际土壤的酶活性及其化学计量学特征,从而对植物养分吸收和土壤碳氮磷循环产生深远影响。

碳氮交互作用同样存在于 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶和亮氨酸胺酶,碳添加对这些土壤酶活性的促进作用主要发生在氮添加土壤中。 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶是水解纤维素的酶<sup>[10]</sup>,可以为微生物提供必需的碳水化合物。本研究中添加葡萄糖使得碳对微生物生长的限制作用降低,从而降低了 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶活性。但是,在氮添加样方中,微生物对碳的需求仍然较大,促使微生物继续合成 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶。此外,碳添加还可能缓解了土壤对微生物生长的限制因素<sup>[7]</sup>,极大地增加了氮添加土壤中的微生物量,导致 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶活性增高。

氮添加降低了亮氨酸胺酶活性,这与微生物分配的经济理论<sup>[26]</sup>相符。亮氨酸胺酶是氮循环的关键酶,可以降低有机态氮分解,从而为植物和微生物提供可利用的无机态氮。氮添加以后,土壤中的无机态氮含量逐渐升高,氮元素不再是限制养分,因此可能造成土壤微生物对氮循环的酶合成下降。然而,碳添加对亮氨酸胺酶活性的促进作用与土壤初始氮含量并无显著关联,表明其他因素可能影响了碳添加的效应,比如土壤 pH<sup>[27]</sup>。

已有的研究表明氮添加对土壤酶活性的影响存在很大的不确定性,存在正效应、负效应、或者没有作用<sup>[28]</sup>。氮添加对不同生态系统土壤酶活性的影响存在很大不同<sup>[29]</sup>,这是否与不同生态系统的土壤碳限制程度有关呢?本文的研究结果表明:碳氮交互作用决定了土壤酶活性。碳源充足的土壤中亮氨酸胺酶活性不受氮添加的影响,而 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性则会受到氮添加的促进;而在碳源不足的环境中,氮添加则会降低亮氨酸胺酶活性,而对 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性的促进作用较小或者没有促进作用。此外,碳氮交互作用可能也是有机肥对土壤酶活性促进作用大于化学肥料<sup>[30-32]</sup>的原因,毕竟有机肥含有大量的碳源物质。因此,以后的研究应当关注碳氮交互作用对土壤酶活性的影响。

由于碳、氮对不同酶活性影响的差异,导致了土壤碳氮磷水解酶化学计量学特征的变化。总体上碳添加降低了 C:N 和 C:P 的水解酶活性比,氮添加增加了 C:N 的水解酶活性比,但是降低了 N:P 的水解酶活性比,这与微生物分配的经济学理论相一致<sup>[26]</sup>,即微生物倾向于分泌相关的酶来水解更为稀缺的养分。

## 4 结论

碳氮交互作用显著影响了干热河谷土壤的酸性磷酸酶、 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶和亮氨酸胺酶活性。碳添加对土壤酸性磷酸酶和 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶活性的促进作用与土壤氮含量有关。碳氮交互作用对土壤酶化学计量学特征也具有显著影响,碳添加虽然降低了对照样方 C:N 和 C:P 的水解酶活性比,但是在氮添加样方的土壤中这种效应不再显著,表明碳氮交互作用可能会影响该地区土壤碳氮磷循环的平衡。土壤酶化学计量学特征反映了土壤中的养分平衡,是影响土壤生物地球化学过程的关键驱动因素。碳氮交互作用的影响,表明在研究和认识生物地球化学循环中,我们需要更多维的角度,更加注重多元养分的交互作用。

### 参考文献 (References):

- [1] Sterner R W, Elser J J. Ecological Stoichiometry: the Biology of Elements from Molecules to the Biosphere. Princeton: Princeton University Press, 2002.
- [2] 贺金生, 韩兴国. 生态化学计量学: 探索从个体到生态系统的统一化理论. 植物生态学报, 2010, 34(1): 2-6.

- [ 3 ] Reich P B, Hungate B A, Luo Y Q. Carbon-nitrogen interactions in terrestrial ecosystems in response to rising atmospheric carbon dioxide. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2006, 37: 611-636.
- [ 4 ] Norby R J, Warren J M, Iversen C M, Medlyn B E, McMurtrie R E. CO<sub>2</sub> enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(45): 19368-19373.
- [ 5 ] Reich P B, Hobbie S E, Lee T, Ellsworth D S, West J B, Tilman D, Knops J M H, Naeem S, Trost J. Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO<sub>2</sub>. *Nature*, 2006, 440(7086): 922-925.
- [ 6 ] Drake J E, Gallet-Budynek A, Hofmockel K S, Bernhardt E S, Billings S A, Jackson R B, Johnsen K S, Lichter J, McCarthy H R, McCormack M L, Moore D J P, Oren R, Palmroth S, Phillips R P, Phippen J S, Pritchard S G, Treseder K K, Schlesinger W H, DeLucia E H, Finzi A C. Increases in the flux of carbon belowground stimulate nitrogen uptake and sustain the long-term enhancement of forest productivity under elevated CO<sub>2</sub>. *Ecology Letters*, 2011, 14(4): 349-357.
- [ 7 ] Kamble P N, Bååth E. Induced N-limitation of bacterial growth in soil: Effect of carbon loading and N status in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74: 11-20.
- [ 8 ] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 216-234.
- [ 9 ] 杨瑞, 刘帅, 王紫泉, 曹永昌, 赵翊明, 和文祥, 耿增超. 秦岭山脉典型林分土壤酶活性与土壤养分关系的探讨. *土壤学报*, 2016, 53(4): 1037-1046.
- [ 10 ] Sinsabaugh R L, Shah J J F. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43: 313-343.
- [ 11 ] Cenini V L, Fornara D A, McMullan G, Ternan N, Lajtha K, Crawley M J. Chronic nitrogen fertilization and carbon sequestration in grassland soils: evidence of a microbial enzyme link. *Biogeochemistry*, 2015, 126(3): 301-313.
- [ 12 ] Haddix M L, Paul E A, Cotrufo M F. Dual, differential isotope labeling shows the preferential movement of labile plant constituents into mineral-bonded soil organic matter. *Global Change Biology*, 2016, 22(6): 2301-2312.
- [ 13 ] Fontaine S, Barot S, Barré P, Bdioui N, Mary B, Rumpel C. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, 2007, 450(7167): 277-280.
- [ 14 ] Van Groenigen K J, Qi X, Osenberg C W, Luo Y Q, Hungate B A. Faster decomposition under increased atmospheric CO<sub>2</sub> limits soil carbon storage. *Science*, 2014, 344(6183): 508-509.
- [ 15 ] Fornara D A, Banin L, Crawley M J. Multi-nutrient vs. nitrogen-only effects on carbon sequestration in grassland soils. *Global Change Biology*, 2013, 19(12): 3848-3857.
- [ 16 ] Yan B G, Ji Z H, Fan B, Wang X M, He G X, Shi L T, Liu G C. Plants adapted to nutrient limitation allocate less biomass into stems in an arid-hot grassland. *New Phytologist*, 2016, 211(4): 1232-1240.
- [ 17 ] Jia Y L, Yu G R, He N P, Zhan X Y, Fang H J, Sheng W P, Zuo Y, Zhang D Y, Wang Q F. Spatial and decadal variations in inorganic nitrogen wet deposition in China induced by human activity. *Scientific Reports*, 2014, 4: 3763.
- [ 18 ] Weatherburn M W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 1967, 39(8): 971-974.
- [ 19 ] Doane T A, Horváth W R. Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. *Analytical Letters*, 2003, 36(12): 2713-2722.
- [ 20 ] 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.
- [ 21 ] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 2009, 462(7274): 795-798.
- [ 22 ] Sinsabaugh R L, Klug M J, Collins H P, Yeager P E, Petersen S O. Characterizing soil microbial communities//Robertson G P, Coleman D C, Bledsoe C S, Sollins P, eds. *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. New York: Oxford University Press, 1999.
- [ 23 ] Finzi A C, Abramoff R Z, Spiller K S, Brzostek E R, Darby B A, Kramer M A, Phillips R P. Rhizosphere processes are quantitatively important components of terrestrial carbon and nutrient cycles. *Global Change Biology*, 2015, 21(5): 2082-2094.
- [ 24 ] Yin H J, Wheeler E, Phillips R P. Root-induced changes in nutrient cycling in forests depend on exudation rates. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78: 213-221.
- [ 25 ] 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.
- [ 26 ] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, Waldrop M P. Evolutionary-economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function//Shukla G, Varma A, eds. *Soil Enzymology*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010.
- [ 27 ] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, Ahmed B, Allison S D, Crenshaw C, Contosta A R, Cusack D, Frey S, Gallo M E, Gartner T B,

- Hobbie S E, Holland K, Keeler B L, Powers J S, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M P, Wallenstein M D, Zak D R, Zeglin L H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 2008, 11(11): 1252-1264.
- [28] Jian S Y, Li J W, Chen J, Wang G S, Mayes M A, Dzantor K E, Hui D F, Luo Y Q. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: a meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 101: 32-43.
- [29] Cusack D F, Torn M S, McDowell W H, Silver W L. The response of heterotrophic activity and carbon cycling to nitrogen additions and warming in two tropical soils. *Global Change Biology*, 2010, 16(9): 2555-2572.
- [30] 王文锋, 李春花, 黄绍文, 高伟, 唐继伟. 不同施肥模式对设施菜田土壤酶活性的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(3): 873-882.
- [31] 陶磊, 褚贵新, 刘涛, 唐诚, 李俊华, 梁永超. 有机肥替代部分化肥对长期连作棉田产量、土壤微生物数量及酶活性的影响. *生态学报*, 2014, 34(21): 6137-6146.
- [32] 林天, 何园球, 李成亮, 杨芳, 徐江兵. 红壤旱地中土壤酶对长期施肥的响应. *土壤学报*, 2005, 42(4): 682-686.