DOI: 10.5846/stxb201806071284

马伟伟,王丽霞,李 娜,郑东辉,谢路路,刘庆,尹春英.不同水氮水平对川西亚高山林地土壤酶活性的动态影响.生态学报,2019,39(19): - . Ma W W, Wang L X, Li N, Zheng D H, Xie L L, Liu Q, Yin C Y.Dynamic effects of nitrogen deposition on soil enzyme activities in soils with different moisture content.Acta Ecologica Sinica,2019,39(19): - .

不同水氮水平对川西亚高山林地土壤酶活性的动态 影响

马伟伟^{1,2},王丽霞¹,李 娜¹,郑东辉^{1,2},谢路路^{1,2},刘 庆¹,尹春英^{1,*}

1 中国科学院成都生物研究所,中国科学院山地生态恢复与生物资源利用重点实验室,生态恢复与生物多样性保育四川省重点实验室,成都 610041

2 中国科学院大学,北京 100049

摘要:为探讨氮沉降在不同土壤水分状况下对林下土壤中参与土壤碳氮磷循环主要酶(β-D-葡萄糖苷酶(β-D-glucosidase, βG)、过氧化物酶(Peroxidase, PER)、多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)、β-N-乙酰葡糖胺糖苷酶(β-D-glucosidase, acetylglucosaminidase, NAG)和酸性磷酸酶(Acid phosphatase, AP))活性的动态影响,于2017年开展了盆栽模拟试验。试验以 青杨扦插苗为植物材料,采用两因素(土壤水分和氮沉降)的随机区组设计,土壤水分含量分别为40%(W40)、60%(W60)和 80%(W80)最大田间持水量,氮沉降水平分别为:0(N0)、4(N4)和8(N8)gNm⁻²a⁻¹。在土壤水分达到预定的水分含量后开始 氮沉降处理,于氮沉降后的6h、24h和3、7、14、31、62d采集土壤样品进行土壤酶活性的测定。结果表明:土壤含水量的降低显 著降低了βG、NAG和PPO活性,且在W40时达到最低;对AP和PER活性无显著影响。氮沉降抑制了βG、NAG和AP活性,而 且施氮浓度越大,抑制效应越强;对PER和PPO活性无显著影响。水氮交互作用对上述5种土壤酶活性均无显著影响。5种 土壤酶活性在施氮7d或14d内变化较大,之后随处理时间的延长逐步平稳。两个月的实验期间,在不同水氮处理下,5种土 壤酶活性基本都呈现升高-降低-升高-降低的双峰模式。该研究可为理解氮沉降对不同水分状况地区森林生态系统中土壤碳 氮磷循环的生态学过程提供科学参考。

关键词:氮沉降;土壤水分;时间动态;土壤酶

Dynamic effects of nitrogen deposition on soil enzyme activities in soils with different moisture content

MA Weiwei^{1,2}, WANG Lixia¹, LI Na¹, ZHENG Donghui^{1,2}, XIE Lulu^{1,2}, LIU Qing¹, YIN Chunying^{1,*}

1 Chinese Academy of Sciences Key Laboratory of Mountain Ecological Restoration and Bioresource Utilization & Ecological Restoration Biodiversity Conservation Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

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

Abstract: To investigate the effects of nitrogen deposition on activities of soil enzymes (β -D-glucosidase (β G), Peroxidase (PER), Polyphenol oxidase (PPO), β -N-acetylglucosaminidase (NAG), Acid phosphatase (AP)) involved in carbon, nitrogen, and phosphorus cycles in soils with different moisture content, we conducted a pot simulation experiment in 2017. In the experiment, cuttings of *Populus cathayana* Rehd were used as plant materials and a randomized block design of two factors (soil moisture and nitrogen deposition) was applied. The soil moistures were 40% (W40), 60% (W60), and 80% (W80) of field capacity, respectively; and nitrogen deposition levels were 0 (N0), 4 (N4), and 8 (N8) g N m⁻² a⁻¹,

收稿日期:2018-06-07; 网络出版日期:2019-00-00

基金项目:四川省重大科技专项(2018SZDZX0030);国家自然科学基金(31370495);中国科学院西部之光项目(Y8C2021)

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: yincy@ cib.ac.cn

respectively. When the soil moisture reached the predetermined moisture content, the simulated nitrogen deposition treatment was started. The soil samples were collected at 6 h, 24 h and 3, 7, 14, 31, and 62 d after nitrogen deposition for the determination of soil enzyme activity. The results showed that the reduction of soil water content decreased significantly the activities of β G, NAG, and PPO, which have the lowest values at W40. Soil moisture had no significant effect on the activities of AP and PER. Nitrogen deposition inhibited the activities of β G, NAG, and AP, and the inhibitory effect was greater with increasing nitrogen concentrations, while it has no significant effect on the activities of PER and PPO. No interaction effect between water moisture and nitrogen were observed on the activities of five soil enzymes. The activities of these five soil enzymes varied greatly at 7 d or 14 d, and then gradually stabilized with the extension of treatment time. During the two-month experimental period, the activities of five soil enzymes in different water and nitrogen treatments showed a "rise-fall-rise-fall" bimodal pattern. This study can provide better understanding for nitrogen deposition effects on the ecological processes of carbon, nitrogen, and phosphorus cycles in forest ecosystem soils under different water conditions, and also supply guidance for forest management.

Key Words: nitrogen deposition; soil moisture; time dynamics; soil enzyme

大气氮(N)沉降作为全球气候变化的主要特征之一,其来源和分布一直在增长和扩散,预计到 2050 年, 亚洲的高 N 沉降地区将会大幅度增加^[1]。政府间气候变化委员会(IPCC)和国际地圈与生物圈计划(IGBP) 的很多核心项目都将 N 循环作为主要研究内容^[2]。N 循环是陆地生态系统最主要的生态过程之一^[3],它不 仅为植物生长发育提供物质基础,而且关系着生态系统的能量转化和生态演替^[4]。近年来欧美关于大气 N 沉降的¹⁵N 同位素示踪试验表明,只有约 3% 的沉降 N 被固定在森林林木中,其余大部分被固定在土壤中^[5], 但大量的沉降 N 在土壤中会对其生态学过程有何影响?至今仍不清楚。全球变化也导致降雨格局发生改 变,主要表现为降雨的时空分布不均。IPCC 2013 年报告指出,到本世纪末降雨较多的地区降雨量将会进一 步增加,而干旱地区将会越来越干旱。土壤水分与氮素有效性对植物生长存在显著的耦合效应^[6],也直接影 响着土壤生物化学过程^[7]。

在过去的十几年,全球变化对陆地生态系统影响的研究大多集中在地上部分,近年来,地下生态学成为研究热点^[8-9]。生态系统的地下部分(根系和土壤)不仅为植物提供有效的养分和水分,而且是陆地生态系统碳氮循环的重要场所和环节^[10]。土壤酶作为地下部分最主要的生物学指标之一,是森林生态系统中凋落物分解和土壤有机质转化等土壤生物化学过程中最为活跃的生物活性物质^[11],也是影响森林土壤物质循环的主要因素之一。土壤酶活性不仅受土壤水分、温度与 pH 等环境因子的影响^[12-13],还与土壤类型、群落生物量、植被特征、土壤动物类群与数量以及酶类本身的性质有关^[14]。在陆地生态系统主要物质(碳氮磷)循环过程中,土壤酶起到关键性作用^[15]。川西地区的杨属植物种类资源丰富,青杨在该区域广泛分布^[16]。因此本研究选择青杨为材料,研究氮沉降在不同土壤水分状况下对土壤酶活性的影响,对于帮助我们认识不同水分条件下氮素的环境效应具有一定理论和实际意义,对于理解森林生态系统地下生态学过程对气候变化的响应和应对具有重要的科学意义。

关于森林生态系统土壤酶的研究,大部分基于单因素试验(比如单一的氮添加或降水改变),对多因素叠加作用的研究还比较缺乏^[17]。根据现有的大部分实验结果发现,氮添加条件下,水解酶活性提高,而氧化酶活性被抑制^[18-20]。氮沉降,除对碳过程相关酶活性有影响外,对氮、磷过程相关的酶活性也有着促进或抑制作用^[21-22]。当前只有少数的研究是关于土壤酶活性对降水改变的响应,而且这些研究又大多集中在高纬度地区和美洲地区,而其他低纬度及其他洲地区此方面的研究还是相当匮乏^[23]。本研究选择与土壤 C、N、P 转化过程密切相关的 5 种土壤酶: β -D-葡萄糖苷酶(β -D-glucosidase, β G)、过氧化物酶(Peroxidase, PER)、多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)、 β -N-乙酰葡糖胺糖苷酶(β -N-acetylglucosaminidase, NAG)和酸性磷酸酶(Acid phosphatase, AP),其中 β G 主要作用是将纤维素降解为葡萄糖而参与土壤 C 循环过程;而 PER 和 PPO

主要是参与难降解的木质素分解过程、土壤腐殖化过程等^[24];NAG 是降解几丁质和肽聚糖、水解氨基葡萄糖^[25],是氮矿化的关键酶;AP 主要参与有机磷的矿化,能够催化磷酸单脂的水解及无机磷释放。探讨不同浓度的氮沉降在不同土壤水分状况下,土壤酶活性随时间的动态响应。研究结果将为理解氮沉降在不同水分状况下森林生态系统中土壤生态学过程提供理论参考,也可为森林的经营和管理提供指导依据。

1 研究地区与研究方法

1.1 试验地概况

试验于 2017 年 5 月—9 月在中国科学院成都生物研究所茂县山地生态系统定位研究站(31°42′N,103° 54′E,海拔 1826 m)进行。试验地位于四川省阿坝州的茂县,地处青藏高原东缘横断山系北段,是青藏高原东 缘和长江上游生态环境十分脆弱的高山峡谷地带的典型代表。该区属于暖温带亚高山季风气候,年平均气 温、年积温、年降水量和年蒸发量分别为 8.9℃、2690.8℃、919.5 mm、795.8 mm。植被属针阔叶落叶常绿混交 林。该区土壤主要为淋溶褐土和棕壤土。

1.2 试验设计与样品采集、处理

于 2017 年 5 月初在当地主要次生林的林下采集土壤,土壤基本情况如下:土壤为棕壤土,pH 6.88,全氮 含量 2.2 g/kg,有机质含量 27.5 g/kg,铵态氮、硝态氮含量分别为 5.28、32.20 mg/kg,有效磷含量 6.93 mg/kg。 土壤经过筛、混匀后,分装到直径 30 cm、高 28 cm 的圆形塑料花盆中,每盆装 15 kg。

2017年3月初选取直径为1.0—1.5 cm 的一年生青杨枝条,剪取长度约为15—20 cm 的扦插条(上端剪成平口,下端剪成斜口),采用直插法进行扦插,覆土浇水的同时用塑料薄膜覆盖。2017年5月初,待扦插苗长势稳定,选取大小一致的幼苗移栽到上文提到的花盆中。试验期间所有盆栽均在自然光照的遮雨塑料大棚内,目的是避免自然降雨和氮沉降的影响,大棚离地1 m 高度之间为遮阳网,目的是保证大棚内具有良好的通风性。试验期间的白天温度、夜间温度和相对湿度分别为12—31℃、9—15℃和35%—85%。

本试验采用两因素(即土壤水分×氮素)随机区组设计。水氮交互共9个处理,每个处理重复72盆,共计648盆。根据实测的当地土壤旱季极端含水量和前期的预备试验设置3个水分梯度,分别为最大田间持水量的40%(W40,重度干旱)、60%(W60,轻度干旱)和80%(W80,水分良好,作为对照)(实际土壤含水量分别为15.7%、23.6%和31.5%),采用称重法控制土壤水分,每3d补充一次水分,使土壤含水量维持在设定的水分梯度。基于茂县当地的氮沉降约为3.86gNm⁻²a⁻¹,设置3个施氮梯度为0(N0)、4(N4)和8(N8)gNm⁻²a⁻¹。氮沉降的主要离子是NH⁴,而近年来NO³。含量也呈现显著增加的趋势^[26],因此采用向土壤中采用一次性施加NH₄NO₃溶液的方法模拟氮沉降,分别为每株浇施200mL浓度分别为0、0.0505mM和0.1010mM的NH₄NO₃溶液。6月上旬进行水分控制实验,在水分处理一个月后,干旱处理的土壤水分达到预定的水平时(即2017年7月15日)进行施氮处理。

1.3 样品测定

在施氮后 6 h、24 h、3、7、14、31 d 和 62 d 采集土壤,采样时每处理随机选择 3 盆作为重复。具体采样方法:将土壤混匀后过 2 mm 筛,去除可见根系等,取 500 g 土样保存在自封袋中,并迅速用冰袋冷藏带回实验室,置于 4℃冰箱中保存,用于土壤酶活性测定。βG、NAG、AP 活性测定采用多孔板荧光光度法(激发波长: 365 nm;发射波长:450 nm),其主要原理是在低底物浓度条件下,通过检测酶裂解释放荧光基团(4-甲基伞形酮)所发出的荧光强度进行检测。PER 和 PPO 活性测定采用多孔板分光光度法,在 460 nm 处测定生成物 2, 3-dihydroindole-5,6-quinone-2-carboxolate 的吸光度^[27]。称取 10 克过筛的鲜土,烘干后利用重量之差计算其土壤含水量。于此同时称取两克过筛鲜土放入 250 mL 的三角瓶中,加入 100 mL pH 为 5.5 的醋酸钠缓冲液并用磁力搅拌器不断搅拌,在搅拌的同时,吸取 200 uL 土壤悬浮液到 96 孔板中,分别加入上述 5 种土壤酶的 底 物 4-Methylumbelliferyl β-D-glucopaanoside、 4-MethylumbelliferylPhosphate、EDTA 和 L-dihydroxyphenylalanine(DOPA)以及 4-Methylumbelliferone 标准溶液进

行培养,上述 5 种土壤酶在 25℃温度下分别培养 5 h、2 h、2 h、4 h、4 h 后,在培养 βG、NAG、AP 的荧光比色板 的每个孔中加入 20 μL 1 mol/L NaOH 溶液终止反应。在 PER 和 PPO 两种氧化酶培养结束时(土壤颗粒已经 沉淀在 96 孔板的底部),从每个孔中转移 100 μL 上清液至新的 96 微孔板中,用于上机测定。通过全波长多 功能读数仪(Varioskan Flash, Thermo, USA)测定每个孔中的吸光值,样品酶活性用每小时每千克样品的基质 (μmol)转化率表示。

1.4 数据处理

利用 OriginPro 8.5 软件绘制 7 个取样时间点的土壤酶活性折线图,以阐明实验期间其动态变化。为研究 实验期间的水分和氮沉降对主要土壤酶活性的影响,我们将 7 次取样的测定结果,采用 Shapiro-Wilk 和 Levene's tests 对实验数据进行正态分布检验和方差齐性检验,然后对其平均值利用 SPSS 22.0 软件进行两因 素方差分析比较土壤水分(W)、施氮(N)及交互作用对 5 种土壤酶活性的影响,采用 LSD 多重比较的方法比 较不同处理间 5 种土壤酶活性的差异。

2 结果与分析

2.1 土壤酶活性的动态变化特征

2.1.1 βG 活性动态变化特征

βG活性在施氮 7 d 内变化较大,7 d 后随处理时间的延长逐步平稳(图 1)。在两个月的实验期间,各处理的 βG 活性基本都呈现升高-降低-升高-降低的双峰模式:分别在施氮 1 天后急剧上升,然后下降,在 7 d 时又上升达到高峰。N0、N4 和 N8 沉降 N 在 W40、W60 水分处理下,βG 活性高峰均出现在 1 d,其峰值分别为 13.12、11.3、13.17、12.07、9.55、11.46 μmol kg⁻¹ h⁻¹,在 31 d 趋于平稳,其活性稳定在 5—8 μmol kg⁻¹ h⁻¹。N0、







http://www.ecologica.cn

N4 和 N8 沉降 N 在 W80 水分处理下, β G 活性高峰均出现在 7 d, 其峰值分别为 15.5、11.53、11.46 μ mol kg⁻¹ h⁻¹, 在 31d 趋于平稳, 其活性稳定在 7—10 μ mol kg⁻¹ h⁻¹左右。

2.1.2 PER 和 PPO 活性动态变化特征

如图 2 所示, PER 活性在施氮 14 d 内变化较大, 14 d 后随处理时间的延长逐步平稳。在实验期间, 各处 理的 PER 活性基本都呈现双峰模式:分别在施氮 1 天后急剧上升, 然后下降, 在 7 d 和 14 d 时又上升到高峰。 N0W60、N0W80、N4W40、N4W80、N8W40 和 N8W60 处理, PER 活性高峰均出现在 1 d, 其峰值分别为 733.5、712.7、 888.1、611.7、683.1、980.2 µmol kg⁻¹ h⁻¹。 N0W40、N4W60 和 N8W80 处理下, PER 活性高峰出现在 14d, 其峰值分 别为 633.2、597.8、596.1µmol kg⁻¹ h⁻¹。各处理均在 31 d 趋于平缓, 其活性稳定在 300—400 µmol kg⁻¹ h⁻¹。

相似地, PPO 活性也在施氮 14 d 内变化较大, 14 d 后随处理时间的延长逐步平稳(图 3).在两个月的试 验期间,各处理的 PPO 活性基本呈现双峰模式:分别在施氮后 1 天后上升, 然后下降, 在 7 d 或 14 d 时又达到 高峰。N0W40、N0W60、N0W80 和 N4W40 处理, PPO 活性高峰出现在 7d, 其峰值分别为 319.09、394.29、 417.14、314.45 µmol kg⁻¹ h⁻¹, N4W60 和 N4W80 处理 PPO 活性高峰出现在 14 d, 其峰值分别为 329.03、521.55 µmol kg⁻¹ h⁻¹, N8W40、N8W60 和 N8W80 处理, PPO 活性高峰出现在 1 d, 其峰值分别为 420.57、592.04、444.58 µmol kg⁻¹ h⁻¹。各处理均在 31 d 趋于平稳, 其活性稳定在 100—200 µmol kg⁻¹ h⁻¹。





2.1.3 NAG 活性动态变化特征

关于 NAG 活性在试验处理期间的变化,研究发现在施氮 7 d 内变化较大,7 d 后随处理时间的延长逐步 平稳(图 4)。在实验期间,各处理的 NAG 活性基本都呈现双峰模式:分别在施氮 1 天后急剧上升,然后下降, 在 7d 时又上升达到高峰。N0W40、N0W80、N4W40、N4W60、N8W40 和 N8W60 处理, NAG 活性高峰出现在 1d,其峰值分别为 5.85、7.54、6.81、6.62、5.46、6.21 μ mol kg⁻¹ h⁻¹。N0W60、N4W80 和 N8W80 处理, NAG 活性 高峰出现在 7 d,其峰值分别为 8.81、6.67、7.14 μ mol kg⁻¹ h⁻¹。各处理下的 NAG 活性均在 31 d 趋于平稳,其活 性稳定在 4 μ mol kg⁻¹ h⁻¹左右。





Fig.3 Dynamics of Polyphenol oxidase activities in different soil water content after nitrogen fertilization (mean± SE)



图 4 不同水氮处理下 β-N-乙酰葡糖胺糖苷酶活性(平均值±标准误)



2.1.4 AP 活性动态变化特征

如图 5 所示, AP 活性在施氮 14 d 内变化较大, 14 d 后随处理时间的延长逐步平稳。在两个月的实验期

间,各处理的 AP 活性基本都呈现双峰模式:分别在施氮 1 天后急剧上升,然后下降,在 7 d 和 14 d 时又上升 达到高峰。N0W40、N0W60、N0W80、N4W60、N4W80、N8W40 和 N8W60 处理, AP 活性高峰出现在 1 d,其活性 峰值分别为 12.41、12.37、12.14、10.47、8.87、9.67、9.74 μ mol kg⁻¹ h⁻¹。N4W40 和 N8W80 处理, AP 活性高峰出 现在 7 d,其活性峰值分别为 11.51、11.52 μ mol kg⁻¹ h⁻¹。各处理下的 AP 活性均在 31 d 趋于平稳,其活性在 5—8 μ mol kg⁻¹ h⁻¹。



图 5 不同水氮处理下酸性磷酸酶活性(平均值±标准误)



2.2 土壤酶活性对水氮处理的响应

2.2.1 βG 活性对水氮处理的响应

在整个试验期间,W和N均显著影响了βG活性,两者之间无显著的交互作用(表1)。总体而言,土壤含水量的降低显著降低了βG活性,随着土壤水分有效性的降低,βG活性逐渐降低,在W40时达到最低。施氮 对βG活性有显著的抑制作用,而且施氮浓度越大,抑制效应越大。由表1可以看出,无氮沉降状态下(N0), 与W80相比,βG活性在W60、W40条件,分别降低了9.1%和14.7%(P<0.05);氮沉降浓度在N4状态下,与W80相比,βG活性在W40条件降低7.5%(P<0.05),W60无显著差异;氮沉降浓度在N8状态下,与W80相比,βG 活性在W40条件降低7.5%(P<0.05),W60无显著差异;氮沉降浓度在N8状态下,与W80相比,βG 活性在 N4 (P<0.05),W60差异不显著。在W40水分状态下,与N0相比,βG 活性在N8处理下,降低了16.7%(P<0.05),N4处理无显著差异;在W60水分状态下,与N0相比,βG 活性在N8处理下,降低了8.8%(P<0.05),N4无显著差异;在W80水分状态下,βG 活性在N4、N8处理下,分别降低了10.4% 和12.2%(P<0.05)。

2.2.2 PER 和 PPO 活性对水氮处理的响应

由表1可以看出,W、N、W×N的交互作用对PER活性无显著影响;在整个试验期间,W对PPO活性有显 著影响,而N、W×N的交互作用对PPO活性无显著影响(表1)。总体而言,土壤含水量的降低显著降低了 PPO活性,随着土壤水分有效性的降低,PPO活性逐渐降低,在W40时达到最低。由表1可以看出,无氮沉降 状态下(N0),与 W80 相比,PPO 活性在 W40、W60 水分条件均无显著差异;氮沉降浓度为 N4 状态下,与 W80 相比,PPO 活性在 W40 水分条件,降低了 37.7% (*P*<0.05),W60 与 W80 相比则无显著差异;氮沉降浓度为 N8 状态下,与 W80 相比,PPO 活性在 W40 和 W60 条件无显著差异。

Table 1 Mean of soil enzyme activity in each treatment during the experiment and results of two-way ANOVA						
处理 Treatments		β-D-葡萄糖苷酶 β-D-glucosidase /	过氧化物酶 Peroxidase/ (umol kg ⁻¹ h ⁻¹)	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase / (umol kg ⁻¹ h ⁻¹)	β-N-乙酰葡糖胺糖苷酶 β-N-acetylglucosaminidase /	酸性磷酸酶 Acid phosphatase / (umol kg ⁻¹ h ⁻¹)
NO	W	(µmor kg n)	(pinor kg n)	(pantor kg in)	(µmor kg m)	(µmor kg m)
NO	W 80	10.1/4±0.21a	$527.440\pm24.76a$	288.553±3.52ab	5.531±0.06a	8.535±0.15a
	W60	$9.245{\pm}0.21\mathrm{b}$	442.373±36.65a	$266.093{\pm}6.26{\rm ab}$	$5.454 \pm 0.35a$	$8.485{\pm}0.53{\rm ab}$
	W40	$8.676{\pm}0.2{\rm bc}$	406.386±32.31a	242.851±8.31ab	$4.559{\pm}0.21\mathrm{b}$	$8.146 \pm 0.63 \mathrm{ab}$
N4	W80	$9.112{\pm}0.32\mathrm{b}$	463.094±73.21a	315.097±45.22a	$4.823{\pm}0.14\mathrm{b}$	$8.305{\pm}0.50{\rm bc}$
	W60	$8.585{\pm}0.23{\rm bc}$	464.151±64.06a	$255.205 \pm 14.03 \mathrm{ab}$	$4.635{\pm}0.18\mathrm{b}$	$8.173{\pm}0.37\mathrm{b}$
	W40	$8.430 \pm 0.16c$	527.814±33.47a	$196.073 \pm 6.16 \mathrm{b}$	$4.485 \pm 0.16 \mathrm{bc}$	$8.089{\pm}0.45{\rm ab}$
	W80	$8.934{\pm}0.25{\rm bc}$	510.632±12.35a	$277.447 \pm 24.72 ab$	$4.765{\pm}0.47\mathrm{b}$	8.094 ± 0.51 ab
N8	W60	$8.429 \pm 0.26c$	524.189±34.52a	$287.442{\pm}23.63{\rm ab}$	$4.640 \pm 0.40 \mathrm{b}$	$7.492 \pm 0.43 \mathrm{c}$
	W40	$7.225{\pm}0.12\mathrm{d}$	465.121±33.27a	$213.510 \pm 4.18 \mathrm{b}$	$4.007 \pm 0.37 \mathrm{c}$	$6.959{\pm}0.06{\rm bc}$
	W	24.933 ***	0.359ns	5.578 *	13.985 ***	1.223ns
	Ν	20.379 ***	0.518ns	0.905ns	14.416 ***	9.257 **
	W×N	2.075ns	1.046ns	0.611ns	1.447ns	2.836ns

表 1 试验期间各处理土壤酶活性平均值(±标准误)及方差分析结果

N: 氮 Nitrogen; W: 水 Water.不同字母表示处理间差异显著(P<0.05);****,P<0.001;**,P<0.01;**,P<0.05;ns;差异不显著;ns, not significant

2.2.3 NAG 活性在对水氮处理的响应

W和N均显著影响了NAG活性,两者之间无显著的交互作用(表1)。总体而言,土壤含水量的降低显 著降低了NAG活性,随着土壤水分有效性的降低,NAG活性逐渐降低,在W40时达到最低。施氮对NAG活 性有显著的抑制作用,而且随施氮浓度的增加,抑制效应越大。由表1可以看出,无氮沉降状态下(N0),与 W80相比,NAG活性在W40条件,降低了17.6%(P<0.05),在W60条件无显著差异;氮沉降状态为N4时,与 W80相比,NAG活性在W40和W60条件均无显著差异;氮沉降状态为N8时,与W80相比,NAG活性在W40 条件,降低了15.9%(P<0.05),在W60条件无显著差异。在W40水分状态下,与N0相比,NAG活性在N8处 理下降低了12.1%(P<0.05),在N4处理无显著差异;在W60条件下,与N0相比,NAG活性在N4和N8处理 下,分别降低了15.1%与14.9%(P<0.05);在W80水分条件下,NAG活性在N4和N8处理下,分别降低了 12.8%和13.8%(P<0.05)。

2.2.4 AP 活性对水氮处理的响应

N 显著影响了 AP 活性,W 以及 W×N 的交互作用对其活性无影响(表1)。总体而言,施氮对 AP 活性有显著的抑制作用,而且随施氮浓度的增加,抑制效应越大。由表1可以看出,在 W40 水分条件下,与 N0 相比, AP 活性在 N4 和 N8 处理下无显著差异;在 W60 水分条件下,与 N0 相比, AP 活性在 N8 条件下降低了 11.7% (*P*<0.05), N4 处理无显著差异;在 W80 水分条件下,与 N0 相比, AP 活性在 N4 处理下降低了 2.7% (*P*<0.05), N8 处理无显著差异。

3 讨论

3.1 土壤酶活性在不同水氮处理下的动态变化特征分析

从时间格局上看,5种土壤酶活性对氮沉降在不同土壤水分下的响应趋势大致相同,均先呈现波动性变化随后5种酶活性分别在7d和14d呈下降并逐渐平稳的趋势。由图1—图5可知,土壤酶活性的高峰主要出现在温度较高的月份,这与前人^[28-29]的研究结果相互支持。本研究中,酶的活性高峰都出现在温度较高的

7月,8月和9月酶活性有所降低且趋于平稳。这可能是因为较高的土壤温度使分泌这5种酶的微生物活动 增强^[30],也可能是因为不同季节中植物根系或微生物对营养元素摄取需求的差异^[31]、季节性的土壤温度变 化引起的底物可利用性改变^[32]引起的。至于在前几个取样时间点出现升高降低之后又升高又降低的现象, 原因可能是根际分泌物引起土壤微生物的变化或者根系分泌的化感物质对土壤酶的合成有影响^[7]。本项研 究还不能完全解释这种变化规律,还需要更进一步的深入研究。

3.2 水氮处理对土壤酶的影响

本研究结果表明,水分对 βG、NAG、PPO 活性有促进作用,对 AP、PER 活性无影响。这与 Kardol^[33]等、 Dilly^[34]等和 A'Bear^[35]等的研究结论相似,提高土壤湿度后,除亮氨酸氨肽酶外,βG、纤维二糖水解酶、β-木 糖苷酶、NAG 活性均显著提高,这可能是由于含水量的增加,促进了分泌此类酶的微生物生长繁殖,从而向土 壤中分泌更多的酶。Hackl^[36]等发现土壤含水量是微生物群落结构组成的重要调控因子,细菌和真菌的生物 量也随土壤含水量的变化发生变化^[37];而 Zhou^[38]的研究结果表明 β-D-葡萄糖苷酶活性并没有随着降水量 的增加而增加,这可能是因为微生物群落对含水量的响应存在一个阈值,超过阈值会使土壤形成厌氧环境,从 而抑制土壤酶活性^[39]。另外,土壤含水量的变化还会影响微生物胞内外的压力,进而影响微生物向环境中释 放土壤酶^[40]。本研究中,土壤水分的提高显著增加了 βG、NAG、PPO 活性,将会促进土壤有机质与养分的分 解、速效养分的释放,增强土壤肥力^[41]。

关于氮沉降对水解酶活性的影响,因林分类型^[42]、不同外加氮源^[43]、土壤 pH、亦或受到其他因素^[44]影响 而不同。现有研究表明,氮沉降下,水解酶活性提高^[20,41,45]。本研究结果表明,氮沉降对βG、NAG、AP 有抑制 作用。这与 Deforest^[19]、Kang^[46]和施瑶^[47]等研究结果类似,大气氮沉降抑制了βG、AP 活性、NAG 活性。这 可能是由于本研究中的取样地是以磷为限制性元素的生态系统。在磷为限制性元素的生态系统中,氮沉降对 土壤酶活性和微生物生物量表现为抑制作用或无作用^[48]。另外,也有可能是本研究中的氮沉降抑制了微生 物的生长,土壤酶活性是土壤微生物群落新陈代谢的直接表达^[49],土壤微生物数量越多,土壤酶活性越 高^[50]。刘星^[51]等研究认为,当生态系统中本底土壤氮含量较低时,土壤酶活性对施氮多表现为正响应,反 之,则可能表现为负响应。这说明我们研究所在区域土壤本底氮含量较高,进一步的沉降氮将会抑制酶活性, 从而使该地区碳氮磷循环速度变慢。

土壤中木质素降解酶主要是 PER 和 PPO, PER 参与腐殖质合成过程^[52] 而 PPO 与土壤腐殖化程度相 关^[53]。因此, PER 和 PPO 对土壤和环境因子的动态响应, 是影响土壤有机质积累的重要机制^[54]。 Deforest^[19]报道, PPO 活性随氮的可利用性提高而降低。这主要是因为 NO₃ 对关于氧化酶基因表达的白腐担 子菌有影响, 从而抑制木质素降解酶^[55]。本研究发现, 氮沉降对 PER 和 PPO 几乎无影响, 仅在 W80N4 处理 下对 PPO 有促进作用。这与 Zeglin^[56]等研究结果相似, 他们发现氮沉降对氧化酶无影响。我们认为, 得出氮 沉降抑制土壤氧化酶活性的结论, 大多数是基于氮沉降可能会抑制白腐担子菌的活性, 然而影响氧化酶活性 的并不只是白腐真菌一种, 还有另外一些如软腐真菌也会影响氧化酶活性。如 Gallo^[57]等发现软腐真菌在氮 沉降增加时, 将会提高 PPO 活性; 又或者本实验设计的氮沉降浓度并没有抑制到分解这两种酶的真菌的活性 等有关。近期也有许多研究发现氮沉降促进或抑制 PER 和 PPO 活性亦或对其活性无影响^[20,58]。这说明木 质素降解酶对氮素的负响应并不是普遍现象。

3.3 酶活性之间的相关分析

5 种酶之间的相关分析表明,只有 βG 和 NAG 活性呈显著正相关,其他酶活性之间无显著相关性(数据未 列出)。张德生和郑洪元^[59]认为,单独以酶活性单位作为肥力指标有一定局限性。由于酶专一作用于某一基 质,因此个别酶活性只能反映土壤专一的分解过程或营养循环,如文中的 NAG 是降解几丁质和肽聚糖、水解 氨基葡萄糖,是氮矿化的关键酶;AP 活性可与土壤有机磷酸盐联系起来。本文以土壤酶为研究对象,但土壤 酶活性变化的背后往往是微生物群落结构的变化,水分和氮素的交互作用对土壤微生物群落结构的影响仍需 进一步研究,以及在试验周期的长短上对土壤微生物及酶的活性有一定影响,因此本试验区多因素交互作用 的试验应持续进行,为该区生态系统中生态学过程提供更好的理论参考。

4 结论

综上所述,两个月的实验期间,在不同水氮处理下,5种土壤酶活性的动态变化基本都呈现升高-降低-升高-降低的双峰模式,水分与氮素的交互作用对5种土壤酶均未产生显著影响。土壤水分的升高对βG、NAG、 PPO有促进作用,对AP、PER活性无影响。氮素添加抑制了3种水解酶活性,对氧化酶无显著影响。

参考文献(References):

- Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, Boyer E W, Howarth R W, Seitzinger S P, Asner G P, Cleveland C C, Green P A, Holland E A, Karl D M, Michaels A F, Porter J H, Townsend A R, Vörösmarty C J. Nitrogen cycles: past, present, and future. Biogeochemistry, 2004, 70(2): 153-226.
- [2] 李志博, 王起超, 陈静. 农业生态系统的氮素循环研究进展. 土壤与环境, 2002, 11(4): 417-421.
- [3] 隋方功, 王运华. 植物碳素营养研究中碳同位素示踪技术的应用及进展. 莱阳农学院学报, 2001, 18(2): 107-111.
- [4] 薛利红,杨林章,范小晖.基于碳氮代谢的水稻氮含量及碳氮比光谱估测.作物学报,2006,32(3):430-435.
- [5] 王效科, 白艳莹, 欧阳志云, 苗鸿. 全球碳循环中的失汇及其形成原因. 生态学报, 2002, 22(1): 94-103.
- [6] Burgess S S O, Adams M A, Turner N C, Ong C K. The redistribution of soil water by tree root systems. Oecologia, 1998, 115(3): 306-311.
- [7] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京:农业出版社, 1986: 20-20.
- [8] Phillips R P, Finzi A C, Bernhardt E S. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO₂ fumigation. Ecology Letters, 2011, 14(2): 187-194.
- [9] Brzostek E B, Dragoni D, Brown Z A, Phillips R P. Mycorrhizal type determines the magnitude and direction of root-induced changes in decomposition in a temperate forest. New Phytologist, 2015, 206(4): 1274-1282.
- [10] Schlesinger W H. Carbon and agriculture: Carbon sequestration in soils. Science, 1999, 284(5423): 2095-2095.
- [11] 林娜, 刘勇, 李国雷, 于海群. 森林土壤酶研究进展. 世界林业研究, 2010, 23(4): 21-25.
- [12] Trasar-Cepeda C, Leirós C, F Gil-Sotres, Seoane S. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. Biology and Fertility of Soils, 1998, 26(2): 100-106.
- [13] Ros M, Hernandez M T, García C. Bioremediation of soil degraded by sewage sludge: Effects on soil properties and erosion losses. Environmental Management, 2003, 31(6): 741-747.
- [14] 杨万勤, 王开运. 土壤酶研究动态与展望. 应用与环境生物学报, 2002, 8(5): 564-570.
- [15] 沈芳芳, 袁颖红, 樊后保, 刘文飞, 刘苑秋. 氮沉降对杉木人工林土壤有机碳矿化和土壤酶活性的影响. 生态学报, 2012, 32(2): 517-527.
- [16] 刘友全, 付达荣. 川西高原青杨组基因资源及开发利用. 中南林业科技大学学报, 2004, 24(5): 129-131.
- [17] 刘捷豹,陈光水,郭剑芬,杨智杰,李一清,林成芳,杨玉盛.森林土壤酶对环境变化的响应研究进展.生态学报,2017,37(1): 110-117.
- [18] 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.
- [19] DeForest J L, Zak D R, Pregitzer K S, Burton A J. Atmospheric nitrate deposition and the microbial degradation of cellobiose and vanillin in a northern hardwood forest. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(6): 965-971.
- [20] 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.
- [21] Henry H A L H, Cleland E E, Field C B, Vitousek P M. Interactive effects of elevated CO₂, N deposition and climate change on plant litter quality in a California annual grassland. Oecologia, 2005, 142(3): 465-473.
- [22] 闫钟清,齐玉春,李素俭,董云社,彭琴,贺云龙,李兆林.降水和氮沉降增加对草地土壤微生物与酶活性的影响研究进展.微生物学通报,2017,44(6):1481-1490.
- [23] Bell T H, Henry H A L. Fine scale variability in soil extracellular enzyme activity is insensitive to rain events and temperature in a mesic system. Pedobiologia, 2011, 54(2): 141-146.
- [24] 李传荣,许景伟,宋海燕,李春艳,郑莉,王卫东,王月海.黄河三角洲滩地不同造林模式的土壤酶活性.植物生态学报,2006,30(5): 802-809.

- [25] 陈旭飞,张池,戴军,郭彦彪,刘婷.赤子爱胜蚓和毛利远盲蚓对添加造纸污泥土壤的化学和生物学特征的影响.生态学报,2014,34 (5):1114-1125.
- [26] Zhao C Z, Liang J, He J, Liu Q. Effects of elevated temperature and nitrogen fertilization on nitrogen metabolism and nutrient status of two coniferous species. Soil Science and Plant Nutrition, 2012, 58(6): 772-782.
- [27] 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.
- [28] Sinsabaugh R L, Antibus R K, Linkins A E, McClaugherty C A, Rayburn L, Repert D, Weiland T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. Ecology, 1993, 74(5): 1586-1593.
- [29] Criquet S, Farnet A M, Tagger S, Le Petit J. Annual variations of phenoloxidase activities in an evergreen oak litter: influence of certain biotic and abiotic factors. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(11/12): 1505-1513.
- [30] Bardgett R D, Freeman C, Ostle N J. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. The ISME Journal, 2008, 2(8): 805-814.
- [31] Weintraub M N, Schimel J P. The seasonal dynamics of amino acids and other nutrients in alaskan arctic tundra soils. Biogeochemistry, 2005, 73 (2): 359-380.
- [32] Averill C, Finzi A. Plant regulation of microbial enzyme production in situ. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 43(12): 2457-2460.
- [33] Kardol P, Cregger M A, Campany C E, Classen A T. Soil ecosystem functioning under climate change: plant species and community effects. Ecology, 2010, 91(3): 767-781.
- [34] Dilly O, Munch J C. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(8): 1073-1081.
- [35] A'Bear A D, Jones T H, Kandeler E, Boddy L. Interactive effects of temperature and soil moisture on fungal-mediated wood decomposition and extracellular enzyme activity. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 70: 151-158.
- [36] Hackl E, Pfeffer M, Donat C, Bachmann G, Zechmeister-Boltenstern S. Composition of the microbial communities in the mineral soil under different types of natural forest. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(4): 661-671.
- [37] Morris S J, Boerner R E J. Spatial distribution of fungal and bacterial biomass in southern Ohio hardwood forest soils: scale dependency and landscape patterns. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(6): 887-902.
- [38] Zhou X Q, Chen C R, Wang Y F, Xu Z H, Han H Y, Li L H, Wan S Q. Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland. Science of the Total Environment, 2013, 444: 552-558.
- [39] Freeman C, Ostle N, Kang H. An enzymic 'latch' on a global carbon store. Nature, 2001, 409(6817): 149-149.
- [40] Schimel J, Balser T C, Wallenstein M. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. Ecology, 2007, 88(6): 1386-1394.
- [41] 蔡晓布,彭岳林,薛会英,陈芝兰,熊伟.不同培肥方式对西藏中部退化土壤微生物的影响研究.中国生态农业学报,2004,12(1): 108-110.
- [42] Wang Y S, Cheng S L, Yu G R, Fang H J, Mo J M, Xu M J, Gao W L. Response of carbon utilization and enzymatic activities to nitrogen deposition in three forests of subtropical China. Canadian Journal of Forest Research, 2015, 45(4): 394-401.
- [43] Li S S, Du Y H, Guo P, Guo L D, Qu K Y, He J P. Effects of different types of N deposition on the fungal decomposition activities of temperate forest soils. Science of the Total Environment, 2014, 497-498: 91-96.
- [44] Zheng M H, Huang J, Chen H, Wang H, Mo J M. Responses of soil acid phosphatase and beta-glucosidase to nitrogen and phosphorus addition in two subtropical forests in southern China. European Journal of Soil Biology, 2015, 68: 77-84.
- [45] 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.
- [46] Kang H, Lee D. Inhibition of extracellular enzyme activities in a forest soil by additions of inorganic nitrogen. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2005, 36(15/16): 2129-2135.
- [47] 施瑶. 氮沉降对内蒙古温带草原土壤酶活性影响的试验研究[D]. 长春:东北师范大学, 2014.
- [48] Johnson D, Leake J R, Lee J A, Campbell C D. Changes in soil microbial biomass and microbial activities in response to 7 years simulated pollutant nitrogen deposition on a heathland and two grasslands. Environmental Pollution, 1998, 103(2/3): 239-250.
- [49] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. Pedobiologia, 2005, 49(6): 637-644.
- [50] 唐万鹏,李吉跃,胡兴宜,崔鸿侠. 江汉平原杨树人工林连栽对林地土壤质量的影响. 华中农业大学学报, 2009, 28(6): 750-755.
- [51] 刘星, 汪金松, 赵秀海. 模拟氮沉降对太岳山油松林土壤酶活性的影响. 生态学报, 2015, 35(14): 4613-4624.
- [52] 刘建国,张伟,李彦斌,孙艳艳,卞新民.新疆绿洲棉花长期连作对土壤理化性状与土壤酶活性的影响.中国农业科学,2009,42(2):

725-733.

- [53] 涂利华, 胡红玲, 胡庭兴, 张健, 肖银龙, 雒守华, 李仁洪, 戴洪忠. 模拟氮沉降对华西雨屏区光皮桦林土壤酶活性的影响. 应用生态学报, 2012, 23(8): 2129-2134.
- [54] 潘新丽,林波,刘庆.模拟增温对川西亚高山人工林土壤有机碳含量和土壤呼吸的影响.应用生态学报,2008,19(8):1637-1643.
- [55] Schimel J P, Weintraub M N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(4): 549-563.
- [56] Zeglin L H, Stursova M, Sinsabaugh R L, Collins S L. Microbial responses to nitrogen addition in three contrasting grassland ecosystems. Oecologia, 2007, 154(2): 349-359.
- [57] Gallo M, Amonette R, Lauber C, Sinsabaugh R L, Zak D R. Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north temperate forest soils. Microbial Ecology, 2004, 48(2): 218-229.
- [58] 张艺, 王春梅, 许可, 杨欣桐. 模拟氮沉降对温带森林土壤酶活性的影响. 生态学报, 2017, 37(6): 1956-1965.
- [59] 郑洪元,张德生.土壤动态生物化学研究法.北京:科学出版社, 1982: 29-29.