#### DOI: 10.5846/stxb201809202059

乔航,莫小勤,罗艳华,刘兴元,胡亚军,陈香碧,苏以荣.不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量及其影响因素.生态学报,2019,39(6): - . Qiao H, Mo X Q, Luo Y H, Liu X Y, Hu Y J, Chen X B, Su Y R.Patterns of soil ecoenzymatic stoichiometry and its influencing factors during stand development in *Camellia oleifera* plantations.Acta Ecologica Sinica,2019,39(6): - .

## 不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量及其影响因素

乔 航1,莫小勤2,罗艳华2,刘兴元1,胡亚军1,陈香碧1,苏以荣1,\*

1 中国科学院亚热带农业生态研究所,农业生态系统过程重点实验室,长沙 4101252 邵阳县林业局,邵阳 422100

**摘要**:土壤酶化学计量比是揭示微生物生长代谢过程及评价土壤养分资源限制状况的重要指标。油茶是中国南方主要的木本 油料作物,近年来愈来愈受关注,但鲜有从生态化学计量学的角度深入理解人工经济林的土壤微生物养分限制状况。本文以亚 热带地区不同林龄油茶人工林土壤为研究对象,采用时空互代法在区域尺度上随机选取 32 个不同林龄油茶人工林并将其分为 四个林龄组(<9 年幼龄林;9—20 年近熟林;21—60 年成熟林;> 60 年过熟林),通过测定土壤碳(C)、氮(N)、磷(P)转化酶活 性(β-葡糖苷酶(BG)、α-纤维素酶(CBH)、β-乙酰葡糖胺糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、酸性磷酸酶(AP))及土壤理 化因子,探讨不同林龄油茶人工林土壤 C、N、P 转化酶化学计量特征及其与土壤理化因子的关系。结果表明:五种 C、N、P 转化 酶活性均有随林龄增大而增加的趋势,且 AP 活性显著高于其它四种酶活性。相关分析结果表明,五种土壤 C、N、P 转化酶活 性均与土壤有机碳和总氮显著相关,与土壤总磷和速效磷含量不相关。土壤酶化学计量比 Ln(CBH+BG):Ln(NAG+LAP)、Ln (CBH+BG):Ln(AP)和 Ln(NAG+LAP):Ln(AP)均随林龄增大而一定程度增加。亚热带区油茶人工林土壤酸 C:N:P 化学计量 比为1:1:1.5,这与全球生态系统土壤酶 C:N:P 化学计量比1:1:1 相偏离,表明亚热带地区油茶人工林土壤微生物生长受磷素限 制。冗余分析(RDA)进一步揭示土壤有机碳含量是影响土壤酶活性和酶化学计量比的主要因子。因此,在经营管理中应考虑 磷和外源碳的投入,提高土壤微生物酶活性,缓解油茶人工林生态系统的磷限制。研究结果可为亚热带区油茶人工林土壤养分 管理和可持续利用提供基础理论支撑。

关键词:油茶;林龄;土壤酶活性;土壤酶化学计量;养分限制

# Patterns of soil ecoenzymatic stoichiometry and its influencing factors during stand development in *Camellia oleifera* plantations

QIAO Hang<sup>1</sup>, MO Xiaoqin<sup>2</sup>, LUO Yanhua<sup>2</sup>, LIU Xingyuan<sup>1</sup>, HU Yajun<sup>1</sup>, Chen Xiangbi<sup>1</sup>, SU Yirong<sup>1,\*</sup> 1 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Subtropical Agriculture Ecology, Changsha 410125 2 Shaoyang bureau of forestry, Shaoyang 422100

**Abstract**: The stoichiometry of soil enzymatic activity is a key indicator to predict microbial growth and metabolism and can be used to evaluate soil nutrient limitation. *Camellia oleifera*, the main economically important woody oil-producing plant in southern China, has received much attention recently; however, little is known about the soil ecoenzymatic stoichiometry and microbial resource limitation in *C. oleifera* plantations. In this study, to understand soil nutrient limitations in *C. oleifera* plantations in the subtropical region of China, we collected 96 soil samples from 32 sample site plantations with varying levels of *C. oleifera* stand development and analyzed the soils' enzymatic activities. Plantation with four different *C. oleifera* stand ages were chosen: <9 years, 9 - 20 years, 21 - 60 years, and >60 years. We examined the activities of 1,4- $\beta$ glucosidase (BG),  $\alpha$ -cellulases (CBH), leucine aminopeptidase (LAP), 1,4- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase (NAG), and

收稿日期:2018-09-20; 修订日期:2019-02-26

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC0505500; 2017YFC0505503);国家自然科学基金项目(41601260)共同资助

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: yrsu@isa.ac.cn

alkaline phosphatases (AP), as well as soil physicochemical parameters. We analyzed the stoichiometric characteristics of the enzymes and the relationships between the soils' physicochemical properties and ecoenzymatic stoichiometry. The results indicate that all soil enzyme activities increased with increasing stand age in the early stage, and then the activity of those enzymes stabilized. In addition, AP activity was greater than those of BG, CBH, NAG, and LAP. According to a correlation analysis, all soil enzyme activities were positively correlated with soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (TN) content but were not correlated to total phosphorus (TP) or Olsen phosphorous (P) content. The ratios of Ln(CBH+BG):Ln(NAG+LAP), Ln(CBH+BG):Ln(AP), and Ln(NAG+LAP):Ln(AP) showed a similar pattern of increase with stand age. The soil ecoenzymatic C:N:P stoichiometry in our *C. oleifera* plantations was 1:1:1.5, which was inconsistent with the 1:1:1 global pattern of C:N:P stoichiometry. This result suggests that *C. oleifera* plantations in the subtropical region of China were limited by phosphorus. A canonical redundancy analysis (RDA) indicated that SOC was the dominant factor affecting soil enzymatic activity and ecoenzymatic stoichiometry. Additionally, TP and pH were selected by the RDA model as the significant environmental factors influencing soil ecoenzymatic activities and alleviate the phosphorus limitation of *C. oleifera* plantations. Our study provides solid data to support nutrient management and the sustainable management of *C. oleifera* plantations in the subtropical region of China.

Key Words: Camellia oleifera; stand age; soil enzyme activity; soil ecoenzymatic stoichiometry; nutrient limitation

土壤酶是一类主要源自土壤微生物且具有生物催化活性的物质,是微生物参与土壤生物化学地球循环的 载体,也是土壤生态系统物质转化的核心动力<sup>[1]</sup>。碳(C)、氮(N)和磷(P)是土壤养分循环的核心要素<sup>[2]</sup>,土 壤C、N、P转化酶对土壤中的C、N、P元素转化和迁移具有重要作用。基于生态化学计量学原理,生态系统中 任何生物组成物质都是由C、N、P和其他元素按照一定比例组成,并且不同营养层级生物在物质能量传递过 程中存在特定的化学计量关系<sup>[3]</sup>。土壤微生物为满足生理上C、N、P合理比率的需求,将分泌与之对应的胞 外酶将土壤中有机态C、N、P转化为可利用的小分子或者无机养分<sup>[45]</sup>。土壤微生物分泌碳转化酶主要包括 β-葡糖苷酶(BG)、α-纤维素酶(CBH)和多酚氧化酶(PPO)等;氮转化酶主要包括 β-乙酰葡糖胺糖苷酶 (NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和脲酶(Urease)等;磷转化酶主要包括磷酸单酯酶(AP)和磷酸双酯酶(PD) 等,这些微生物胞外酶的活性与微生物代谢、土壤养分含量密切相关,微生物胞外酶比值反应了微生物对养分 的需求差别,Sinsabaugh等也由此提出了土壤酶化学计量的概念<sup>[6-7]</sup>。目前的研究常将微生物酶的Ln(CBH+ BG):Ln(NAG+LAP)、Ln(BG+CBH):Ln(AP)和Ln(NAG+LAP):Ln(AP)与土壤的C:N、C:P和N:P相联系, 用于评价微生物养分利用、微生物群落新陈代谢和养分需求,并在一定程度上指示土壤养分有效性<sup>[8]</sup>。在全 球尺度上,Sinsabaugh等发现总体上土壤C、N、P酶化学计量比遵循1:1:1的关系(Ln(CBH+BG):Ln(NAG+ LAP):Ln(AP)=1:1:1),揭示了土壤酶化学计量比对生物地球化学循环的重要影响<sup>[9]</sup>。

在特定的生态系统中,土壤微生物的生长受到环境胁迫和养分的限制,其酶的表达受到环境状况的调控, 可能不遵循 1:1:1 的关系。以往研究表明,非生物因子与生物因子均能影响土壤酶化学计量比<sup>[10]</sup>。例如: Sardans 等通过长期研究,发现增温会不同程度的增加灌丛生态系统土壤酶化学计量比 Ln(BG+CBH):Ln (AP)和 Ln(NAG+LAP):Ln(AP)的值<sup>[11-12]</sup>。土壤理化性质,如 pH、全磷等也能够影响土壤酶化学计量 比<sup>[13-14]</sup>,例如:Xu 等对我国不同区域森林土壤研究表明,随着 pH 增大,土壤酶化学计量比 Ln(BG+CBH):Ln (AP)和土壤酶化学计量比 Ln(NAG+LAP):Ln(AP)呈减小趋势<sup>[15]</sup>。Peng 等对我国温带草原研究发现全磷 与土壤酶化学计量比 Ln(NAG+LAP):Ln(AP)呈显著正相关<sup>[16]</sup>。此外,土壤酶还受地上植被等生物因子的影 响<sup>[17]</sup>。植被可通过凋落物和根系分泌物对土壤酶化学计量产生影响<sup>[18]</sup>。例如:王冰冰等发现岷江干旱地区 飞虹样地内灌丛地 Ln(BG):Ln(NAG+LAP)显著高于空地<sup>[19]</sup>。在不同的生态系统中,影响土壤酶化学计量的 因素可能完全不同,因此特定生态系统中土壤酶化学计量的控制因子仍值得我们研究。

3

油茶(Camellia oleifera Abel.),属山茶属(Camellia L.)山茶科(Theaceae)植物,为常绿小乔木或灌木,是我 国特有木本食用油料树种,是世界四大木本油料之一<sup>[20]</sup>。油茶主要生长在我国南方亚热带区丘陵地带,具有 较强经济价值,也具有较强的生态功能。油茶人工林作为中国独有的经济林生态系统,目前已有的研究侧重 于油茶栽培和育种等<sup>[21]</sup>,如不同地块上肥料配比对油茶生长的影响<sup>[22]</sup>,这些单个肥料试验由于立地条件、土 壤肥力的差别,结果差异较大,缺乏对亚热带区油茶人工林养分需求的宏观理解。本文在区域尺度上,以中国 亚热带油茶人工林为研究对象,测定土壤 C、N、P 转化酶活性及土壤基本理化性质,从生态化学计量学的角度 解析土壤微生物养分限制因子,旨在提高人们对油茶人工林的养分限制状况的理解,亦为油茶人工林可持续 经营管理提供理论指导。有研究表明:林龄的变化显著改变土壤环境,如:柽柳人工林随林龄增加,土壤结构 改善,有机质增加<sup>[23]</sup>,这些生态系统组成结构、内部环境及土壤性质的改变,养分分配格局的变化,深刻的影 响土壤酶活性及土壤酶化学计量比<sup>[24]</sup>。此外,油茶人工林由于果实采摘带走 N、P 养分,这势必造成不同林 龄土壤微生物可利用养分的差别,从而改变土壤微生物养分限制因子。因此本文探究林龄是否影响土壤酶活 性与酶活性化学计量,为油茶人工林的土壤养分状况管理研究提供科学理论依据。

#### 1 研究方法

#### 1.1 样地选择和研究区概况

试验研究区位于湖南、江西和湖北三省。该地区为 中国油茶的主产区,油茶面积分别为 2100 万亩<sup>[25]</sup>、 1340 万亩<sup>[26]</sup>和 370 万亩<sup>[27]</sup>,属典型亚热带季风气候 区,夏季高温多雨,冬季温和少雨,年平均气温 17 ℃,极 端最高温 39 ℃,极端最低温度-10 ℃,年平均降水量约 1600 mm。本试验采用随机取样法在该区域内共选择 32 个样地(图 1),其中湖南省 21 个,江西省 7 个,湖北 省 4 个。样地土壤类型主要以红壤为主,土壤质地以壤 质黏土为主(表 1)。根据油茶人工林的林龄分为四个 林龄组,其中< 9 年(a)油茶幼龄林 9 个,9—20 年(a) 油茶近熟林 10 个,21—60 年(a)油茶成熟林 6 个,> 60 年(a)油茶过熟林 7 个。

1.2 研究方法

1.2.1 样品采集与处理

土壤样品于 2017 年 12 月至 2018 年 1 月在选择的

 30°N
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()
 ()



32 个典型油茶人工林样地中采集,每个油茶人工林样地中设置 3 个 10 × 10 m 的样方。在每个样方内选择生 长状况相近的三棵油茶树,在每棵油茶树的滴水线内距基部 20—30 cm 之间随机取 4 个点,取 0—15 cm 表层 土壤,每个样方内三棵油茶树土壤混合成一个土壤样品。每个样地内采集三个土壤样品作为重复,32 个试验 样地共采集 96 个土壤样品。土壤样品带回实验室后挑拣出可见根系及石子,过 2 mm 筛,充分混合并分为两 份子样。一份子样自然风干用于测定土壤基本理化性质,一份子样用于测定土壤 C、N、P 酶活性。在测定土 壤酶活性之前,土壤进行培养。取 300 g 土壤调整至田间持水量的 40 %,在 25 ℃条件下黑暗静置培养 15 天, 测定土壤酶活性。

#### 1.2.2 土壤酶活性测定

参照 Saiya-Cork 等<sup>[28]</sup>的荧光光度法测定土壤酶活性。本研究测定了五种酶活性,分别为 β-葡糖苷酶 (BG)、α-纤维素酶(CBH)、β-乙酰葡糖胺糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、酸性磷酸酶(AP)。酶活性 测定的简要步骤为:称取新鲜土壤1g于200 mL 灭菌乐扣盒中,加入125 mL 50 mmol/L 的醋酸钠缓冲液(pH

= 5),磁力搅拌 5 min 使之均质化。使用移液器向 96 孔酶标板中分别对应加入 250 μL 缓冲液、200 μL 土壤 匀浆样品、50 μL 标物、50 μL 底物。置于 25 ℃黑暗条件下培养 4 个小时后,加入 10 μL 1 mol/L 的 NaOH 终 止反应。采用多功能酶标仪(SynergyH4,BioTek)测定其荧光度。每种酶活性底物如表 2 所示。

Table 1   Basic characteristics of sampling sites								
样地 Sites	纬度 Latitude	经度 Longitude	林龄(a) Stand ages	油茶覆盖度/% Coverage of Camellia oleifera	土壤质地 Soil textures	土壤类型 Soil types		
湖南常德桃源县	28°52'36.84″	111°31′18.84″	5	20—30	壤质黏土	红壤		
湖南岳阳康王乡	29°17'25.44"	113°17′57.12″	4	20—30	壤质黏土	红壤		
湖南汨罗三江镇	28°57'45.72"	113°19′14.16″	8	40—50	壤质黏土	红壤		
湖南汨罗长乐镇	28°50'18.96"	113°17′52.44″	8	40	壤质黏土	红壤		
湖南岳阳童市镇	28°45'34.20"	113°24′27.36″	15	80—90	壤质黏土	红壤		
湖南浏阳沙市镇	28°20'06.36"	113°28′36.84″	16	90	壤质黏土	红壤		
湖南长沙雨花区	28°06'48.24"	113°03′05.04″	11	70—80	壤质黏土	红壤		
湖南株洲株洲县	27°42′16.56″	113°06′21.60″	~90	100	砂质粘壤	酸性紫色土		
湖南株洲洲坪乡	27°33′22.32″	113°11′32.28″	~ 30	90	砂质粘壤	酸性紫色土		
湖南衡阳衡东县	27°13'31.44″	113°04′26.40″	~40	100	壤质黏土	红壤		
湖南衡阳耒阳市	26°33'06.48"	112°57′30.24″	20	80—90	壤质黏土	红壤		
湖南郴州安仁县	26°30'40.32"	113°16′40.08″	15	70—80	壤质黏土	红壤		
湖南郴州五里牌	25°58'41.16"	113°04′13.80″	10	70—75	壤质黏土	红壤		
湖南衡阳耒阳市	26°22'20.64"	112°43′26.76″	>60	80—90	壤质黏土	红壤		
湖南衡阳常宁市	26°22'33.60"	112°10′44.40″	~90	90—100	壤质黏土	红壤		
湖南永州祁阳县	26°32′50.64″	111°47′52.80″	85	30—40	壤质黏土	红壤		
湖南邵阳白仓镇	26°55'30.36"	111°22′05.16″	4	10	壤质黏土	红壤		
湖南邵阳绥宁县	26°52′24.96″	110°28′17.76″	3	20—30	壤质黏土	红壤		
湖南永州东安县	26°24'56.88"	111°23′18.96″	22	70—80	壤质黏土	红壤		
湖南永州市道县	25°21'05.40"	111°32′50.64″	20	80—90	壤质黏土	红壤		
湖南永州天堂镇	25°30'29.16"	111°50′45.96″	11	60—70	壤质黏土	红壤		
江西赣州社溪镇	25°55'02.64"	114°33′59.40″	7	60	壤质黏土	红壤		
江西吉安东富塅	26°19′16.32″	115°02′51.72″	15	50	壤质黏土	红壤		
江西吉安万安县	26°24'09.72"	114°56′36.60″	>100	100	壤质黏土	红壤		
江西吉安南溪乡	26°49'13.80"	114°47′15.36″	~70	85	壤质黏土	红壤		
江西吉安永丰县	27°16′07.32″	115°29′18.96″	15	70	壤质黏土	红壤		
江西吉安市上固	26°49'13.80"	115°34′47.28″	~ 30	85	壤质黏土	红壤		
江西宜春西村镇	27°44′18.60″	114°13′38.28″	~ 30	90	壤质黏土	红壤		
湖北咸宁通城县	29°12′54.00″	13°50′58.92″	3	10	壤质黏土	红壤		
湖北赤壁新店镇	29°42′06.12″	13°42′01.08″	6	30	壤质黏土	红壤		
湖北咸宁通山县	29°37′37.92″	14°35′02.04″	~60	75	壤质黏土	红壤		
湖北黄石阳新县	29°41'02.04"	15°02′45.96″	~ 90	100	粘壤	潮土		

表 1 样地基本概况

#### 1.2.3 土壤理化性质测定

土壤 pH 值采用风干土加去 CO<sub>2</sub>蒸馏水(土水比:1:2.5, W/V)浸提 15 min,用 Mettler-toledo 320 pH 计测定;土壤有机碳(SOC)采用外加热法(油浴温度为 180 ℃,沸腾 5 min),用重铬酸钾-硫酸溶液氧化有机碳,剩余重铬酸钾用硫酸亚铁溶液滴定,从所消耗的重铬酸钾量计算有机碳含量;全氮(TN)采用半微量开氏法-流动注射仪分析测定,将风干土样加入高锰酸钾用浓硫酸消煮,经高温分解,转化为硫酸铵后冷却洗出,用流动注射分析仪(AA3)自动上机测定氮浓度;全磷(TP)采用氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法测定,将风干土样与氢

氧化钠熔融,使得土壤中含磷矿物及有机磷矿物全部转化为可溶性的正磷酸盐,用水洗出,冷却定容,将样品 溶液与钼锑抗显色剂反应,生成磷钼蓝,用分光光度计在 700 nm 波长比色,读取吸光值;速效磷(Olsen-P)采 用碳酸氢钠-钼锑抗显色法,用 0.5 mol/L碳酸氢钠加入风干土样,震荡培养 30 min,过滤,取样品溶液与钼锑 抗显色剂反应,生成磷钼蓝,用分光光度计在 882 nm 波长比色,读取吸光值<sup>[29]</sup>。

Table 2         The abbreviations of types and substrates of soil enzyme					
土壤酶 Soil enzyme	缩写 Abbreviations	反应底物 Substrates			
β-葡糖苷酶	BG	4-Methylumbelliferyl $\beta$ -D-glucopyranoside			
α-纤维素酶	CBH	4-MUB-b-D-cellobioside			
β-乙酰葡糖胺糖苷酶	NAG	4-MethylumbelliferylN-acetyl-β-D-glucosaminide			
亮氨酸氨基肽酶	LAP	L-Leucine-7-amido-4-methylcoumarin hydrochloride			
酸性磷酸酶	AP	4-Methylumbelliferyl phosphate			

#### 表 2 土壤酶种类、缩写以及底物

#### 1.3 数据分析

采用 SPSS 19.0 进行数据处理和数据分析,不同林龄土壤理化性质、土壤酶活性及其计量比采用单因素 方差分析(One-way ANOVA)中的 Duncan 法检验;采用 Pearson 相关分析土壤酶活性、土壤酶化学计量比与土 壤理化性质之间的关系;采用 Canoco 5 软件以土壤酶活性和土壤酶化学计量比为响应变量,土壤基本理化性 质及 C、N、P 元素计量比为解释变量进行冗余分析(RDA)。图表数据均采用平均值±标准差表示。

#### 2 结果分析

#### 2.1 不同林龄油茶人工林土壤理化性质

油茶人工林土壤 pH 值都较低(pH < 5),21—60 a 林龄组的土壤 pH 显著高于< 9 a、21—60 a 和> 60 a 林龄组。SOC 含量随林龄增大而增加(P < 0.05),但在 21—60 a 和> 60 a 林龄组间差异不显著;TN 含量随林龄的增大有一定程度的增加,< 9 a 林龄组显著低于其余三个林龄组;土壤 TP 和 Olsen-P 在各林龄组中无显著差异(表 3)。

	Table 3         The physicocher	nical properties of soil in	n <i>Camellia oleifera</i> plar	ntation at different stand	d ages
林龄	pH 值	有机碳	总氮	总磷	有效磷
Stand ages/a	pH	SOC(g/kg)	TN(g/kg)	TP(g/kg)	Olsen-P(mg/kg)
< 9	4.39±0.22a	10.52±4.27a	1.14±0.32a	0.35±0.22a	4.33±2.46a
9—20	4.4±0.19a	$17.67{\pm}6.02{\rm b}$	$1.50{\pm}0.40{\rm b}$	$0.40 \pm 0.23 a$	$4.20 \pm 2.25 a$
21—60	$4.64 \pm 0.77 \mathrm{b}$	$20.44{\pm}3.22{\rm bc}$	$1.71 \pm 0.34 \mathrm{b}$	0.30±0.09a	4.13±1.57a
> 60	4.24±0.23a	$23.11\pm6.87c$	$1.85 \pm 0.59 \mathrm{b}$	0.34±0.14a	5.09±1.65a

表 3 不同林龄油茶人工林土壤基本理化特征

不同小写字母代表差异性显著(P < 0.05); SOC:土壤有机碳 soil organic carbon; TN:总氮 total nitrogen; TP:总磷 total phosphorus; Olsen-P:速 效磷 Olsen phosphorus

#### 2.2 不同林龄油茶人工林土壤酶活性及酶化学计量比特征

总体上,土壤酶活性随林龄增大都有一定程度增加(图 2),BG 活性在> 60 a 林龄组中最高,与 9—20 a 和 21—60 a 林龄组没有显著差异,但显著高于< 9 a 林龄组;CBH 活性在< 9 a 和 9—20 a 没有显著差异。 21—60 a 和> 60 a 林龄组 CBH 活性没有显著差异,且显著高于< 9 a 和 9—20 a 林龄组;NAG 在< 9 a 林龄组 中活性最低,在 9—20 a 和 21—60 a 无显著差异,> 60 a 林龄组显著高于其他三个林龄组;LAP 和 AP 活性在 < 9 a 林龄组中活性最低,在 9—20 a、21—60 a 和> 60 a 三个林龄组中均无显著差异。土壤酶 C:N:P 化学计量比用 Ln(CBH+BG):Ln(NAG+LAP):Ln(AP)表示,总体上亚热带区油茶人工林土壤酶化学计量 C:N:P 为 1:1:1.5。土壤酶化学计量比 C:N 在一定的林龄内(< 60 a)具有增加的趋势;土壤酶化学计量比 C:P 在四个 林龄组中均无显著差异;土壤酶化学计量比 N:P 在> 60 a 林龄组显著高于其他三个林龄组(图 3)。

2.3 土壤理化因子对土壤酶活性及土壤酶化学计量比的影响

从整体上看,油茶人工林土壤的 C、N、P 转化酶活性之间呈显著正相关关系(图 4)。土壤酶活与土壤理 化性质之间的相关性分析表明:五种酶活性与 SOC 和 TN 都呈显著正相关。LAP 和 CBH 与 pH 呈显著正相 关,而 AP 和 pH 为显著负相关。土壤酶化学计量比 C:N 仅与土壤 N:P 呈正相关;土壤酶化学计量比 C:P 和 N:P 与土壤 C:N 呈显著正相关(P < 0.05,表4)。RDA 排序图结果显示,第1 轴和第2 轴的解释变量分别为



#### 图 2 不同林龄油茶人工林的土壤酶活性

Fig.2 Soil enzyme activities in Camellia oleifera plantation at different stand ages

误差线上方不同小写字母表示不同林龄间差异显著(P<0.05)

	表 4	土壤酶活性和酶化学计量比与土壤因子之间的 Pearson 相关分析	
--	-----	-----------------------------------	--

Table 4	Pearson correlation between soil enzymes	ecoenzymatic stoichiometry	and soil	nhysicochemical	nronerties
	I carson correlation between son enzymes	, ccochzymane storemonieu y	anu son	physicochemicar	properties

酶 Enzyme	pH 值 pH	有机碳 SOC	全氮 TN	全磷 TP	速效磷 Olsen-P	碳氮比 C:N	碳磷比 C:P	氮磷比 N:P
BG	-0.019	0.555 **	0.544 **	0.088	0.074	0.365 **	0.359 **	0.272 **
СВН	0.215 *	0.505 **	0.471 **	0	0.061	0.358 **	0.412 **	0.323 **
NAG	-0.105	0.482 **	0.391 **	0.019	0.036	0.429 **	0.276 **	0.129
LAP	0.583 **	0.370 **	0.394 **	0.202 *	0.117	0.165	0.101	0.041
AP	-0.219*	0.538 **	0.505 **	-0.153	-0.104	0.355 **	0.513 **	0.424 **
Ln(CBH+BG):Ln(NAG+LAP)	0.055	0.067	0.112	0.035	0.039	-0.025	0.147	0.228 *
ln(CBH+BG):Ln(AP)	0.197	0.380 **	0.362 **	0.268 **	0.212 *	0.306 **	0.138	0.048
Ln(NAG+LAP):Ln(AP)	0.156	0.351 **	0.267 **	0.215 *	0.175	0.384 **	0.045	-0.126

\*在 0.05 水平上显著相关, \*\*在 0.01 水平上显著相关; 碳氮比 carbon to nitrogen ratio; C:P:碳磷比 carbon to phosphorus ratio; N:P:氮磷比 nitrogen to phosphorus ratio



图 3 不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量比特征



误差线上方不同小写字母表示不同林龄间差异显著(P<0.05); BC;β-葡糖苷酶β-glucosidase;CBH;α-纤维素酶β-D-cellobiosidase;NAG;β-乙酰葡糖胺糖苷酶N-acetyl-β-glucosaminidase;AP;亮氨酸氨基肽酶leucine aminopeptidase;AP;酸性磷酸酶 acid phosphatase;Ln(CBH+BG):Ln(NAG+LAP)表示土壤酶化学计量C:N;Ln(CBH+BG):Ln(AP)表示土壤酶化学计量N:P;Ln(NAG+LAP):Ln(AP)表示土壤酶化学计量N:P

40.05%和0.73%, 土壤SOC(F = 38.1; P = 0.002)、TP(F = 5.9; P = 0.016)和pH(F = 4.1; P = 0.03)是影响土壤酶活性和酶化学计量比的显著影响因子, 分别解释了土壤酶活性和土壤酶化学计量比的28.9%, 4.2%, 2.9%的变异(图 5)。

#### 3 讨论

#### 3.1 土壤养分和土壤酶活性对不同林龄油茶人工林的响应

林龄通过改变植被状况和林分环境对土壤理化性质产生影响,同时通过影响凋落物的形成分解、根系分 泌物含量进而改变微生物群落与数量,从而影响土壤酶活性<sup>[30-31]</sup>。不同林龄油茶人工林 SOC、TN 含量及酶 活性均表现为幼龄林最低,过熟林最高,这可能与不同林龄油茶人工林凋落物产量、分解速率和根系生物量不 同有关<sup>[32]</sup>。随林龄增大,林下凋落物及植物残体增多,补充了土壤 SOC 含量和 TN 含量,为土壤微生物提供 使其生存的碳源和氮源,微生物酶活性增加<sup>[33]</sup>。此外,随林龄增加,长时间的土壤微生物固碳、固氮和大气氮 干湿沉降也使得土壤养分积累<sup>[34-36]</sup>,微生物酶活性增加。新造油茶人工林一般采用全垦方式<sup>[37]</sup>,表层土壤 养分含量低,微生物量少,酶活性较低,且在油茶幼龄期间,油茶生长速率快,需要大量土壤养分以满足自身需 求,并与土壤微生物竞争氮磷养分,因此通过植物根际过程能够提供给微生物的养分含量少。在油茶生长的 中后期,油茶生长缓慢,养分积累速率下降,C、N、P 转化酶活性缓慢增加,趋于稳定<sup>[38-40]</sup>。由此可得,随林龄 改变,土壤养分和土壤酶活性变化具有趋同性。一般而言,土壤酶活性与土壤养分含量呈显著正相关,如吕春 花等的研究,这与本文研究基本一致<sup>[41]</sup>。值得注意的是,油茶人工林的磷转化酶活性并没有随着土壤磷含量



图 4 不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量关系图

Fig.4 Relationships between ecoenzymatic stoichiometry in Camellia oleifera plantation at different stand ages

的变化而变化,且活性一致处于较高水平,这可能与研究区普遍缺磷有关。本研究大部分的油茶人工林土壤 Olsen-P 含量一般低于 5 mg/kg,显著低于该区域内柑 橘园 Olsen-P 含量(14.3 mg/kg)和茶园土壤 Olsen-P 含 量(11.2 mg/kg)<sup>[42]</sup>。

### **3.2** 油茶人工林土壤酶化学计量比与土壤理化性质的 关系

土壤酶化学计量受土壤 C、N、P 资源有效性的调 控<sup>[43]</sup>。本研究结果发现,SOC 是影响土壤酶化学计量 比的关键因子,且相关分析结果表明土壤酶化学计量比 C:P 和 N:P 与 SOC 呈显著的正相关关系,SOC 含量越 高,土壤酶化学计量比 C:P 和土壤酶化学计量比 N:P 越高,说明 SOC 含量增加,能够同时促进土壤微生物分 泌 C、N 转化酶。这与曹等的研究结果增加土壤有机 质,土壤蔗糖酶和几丁质酶活性增高一致<sup>[44]</sup>。研究发 现土壤酶化学计量比 C:N 为 1:1,与 SOC 含量无关,表 现出 C、N 等速矿化的特征,这与全球尺度酶 C:N 化学 计量比一致。



图 5 土壤酶活性和酶化学计量比与土壤理化因子的冗余分析 (RDA)



此外,本研究中土壤酶化学计量比还受到土壤 C:N 和 N:P 的影响。鉴于土壤酶主要来源于土壤微生物、植物根系分泌及植物降解的产物,而微生物生物量化学计量比随土壤和植物组织养分化学计量比的改变 而改变<sup>[45]</sup>,导致了土壤酶化学计量比亦能够受土壤养分化学计量比的影响。值得注意的是,土壤酶 C:N 化 学计量比与土壤 C:N 无显著相关,而土壤酶 N:P 化学计量比和 C:P 化学计量比均与土壤 C:N 显著相关,表

9

明了土壤酶化学计量与土壤元素计量不存在严格的对应关系,体现了土壤酶化学计量关系的复杂性。土壤酶 化学计量比并不能够很好的反映土壤元素的比例组成,可能的原因之一是土壤元素的计量比不能表征有效态 养分的计量比,此外,一些未测量因子如土壤温度、土壤水分可能间接的调控了土壤酶化学计量比<sup>[46-47]</sup>。

#### 3.3 油茶人工林土壤养分限制因子

土壤酶化学计量比是指示微生物养分限制的重要因子,土壤 C、N、P 转化酶活性对数转换后的比值为 1:1 :1.5,与全球生态系统 1:1:1 的比值相偏离<sup>[13]</sup>,表明研究区域内具有较高的 P 转化酶活性,从而反应了研究区 内土壤 P 素的相对缺乏。微生物为满足自身 P 的需求,将分泌更多的 P 转化酶矿化土壤中的有机磷,本研究 结果与大多数的研究认为亚热带地区磷是生态系统生产力的限制因子一致<sup>[48-49]</sup>。全球范围内,土壤全磷含 量平均为 0.5 g/kg,远大于亚热带地区全磷含量(0.35 g/kg),且亚热带地区土壤高度风化呈酸性,土壤磷被含 量较高的活性铁和铝强烈吸附,形成难溶性磷酸铁和磷酸铝等,导致土壤磷在亚热带地区有效磷含量低<sup>[50]</sup>。 本研究还发现,四个林龄组土壤酶活性比(CBH+BG):(AP)和土壤酶活性比(NAG+LAP):(AP)均显著低于 全球尺度上土壤酶活性比(CBH+BG):(AP)(0.62)和(NAG+LAP):(AP)(0.44)<sup>[13]</sup>,说明所有林龄油茶人工 林土壤均存在磷限制。此外,随林龄增加土壤 P 转化酶活性有增加趋势,表明成年林土壤较幼龄林土壤磷限 制更严重,这可能的原因是长期的油茶果实采摘带走的磷素导致土壤磷缺乏趋于严重。

#### 4 结论

亚热带区不同林龄油茶人工林生态系统的 C、N、P 转化酶活性存在显著差异。土壤 C、N、P 转化酶活性 随林龄增大均有一定程度增加。在四个林龄组中,P 转化酶的活性均高于 C 和 N 转化酶活性。整体上,油茶 人工林土壤酶活 C:N:P 计量比值为 1:1:1.5,与全球生态系统中土壤酶活 C:N:P 计量比 1:1:1 的比值发生偏 离,表明该区域的油茶人工林土壤受 P 限制。土壤 SOC 含量是驱动土壤酶活性和改变酶化学计量比的关键 因子。因此,在油茶人工林经营管理中,应长期注重磷养分以及有机物料的添加管理。

#### 参考文献(References):

- [1] 王理德, 王方琳, 郭春秀, 韩福贵, 魏林源, 李发明. 土壤酶学研究进展. 土壤, 2016, 48(1): 12-21.
- [2] 王绍强,于贵瑞. 生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征. 生态学报, 2008, 28(8): 3937-3947.
- [3] Hessen D O, Elser J J. Elements of ecology and evolution. Oikos, 2005, 109(1): 3-5.
- [4] Jetten M S M. The microbial nitrogen cycle. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 2903-2909.
- [5] 许森平,任成杰,张伟,陈正兴,付淑月,刘伟超,杨改河,韩新辉.土壤微生物生物量碳氮磷与土壤酶化学计量对气候变化的响应机制.应用生态学报,2018,29(7):2445-2454.
- [6] Hill B H, Elonen C M, Jicha T M, Cotter A M, Trebitz A S, Danz N P. Sediment microbial enzyme activity as an indicator of nutrient limitation in Great Lakes coastal wetlands. Freshwater Biology, 2006, 51(9): 1670-1683.
- [7] Hill B H, Elonen C M, Jicha T M, Bolgrien D W, Moffett M F. Sediment microbial enzyme activity as an indicator of nutrient limitation in the great rivers of the Upper Mississippi River basin. Biogeochemistry, 2010, 97(2/3): 195-209.
- [8] Hill B H, Elonen C M, Seifert L R, May A A, Tarquinio E. Microbial enzyme stoichiometry and nutrient limitation in US streams and rivers. Ecological Indicators, 2012, 18: 540-551.
- [9] 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.
- [10] Kivlin S N, Treseder K K. Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 23-37.
- [11] 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.
- [12] Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M. Warming and drought alter soil phosphatase activity and soil P availability in a Mediterranean shrubland. Plant and Soil, 2006, 289(1/2): 227-238.
- [13] 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.
- [14] Alvarez R, Lavado R S. Climate, organic matter and clay content relationships in the Pampa and Chaco soils, Argentina. Geoderma, 1998, 83(1/2): 127-141.

- [16] Peng X Q, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of northern China. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 98: 74-84.
- [17] 杨文彬, 耿玉清, 王冬梅. 漓江水陆交错带不同植被类型的土壤酶活性. 生态学报, 2015, 35(14): 4604-4612.
- [18] Waldrop M P, Harden J W, Turetsky M R, Petersen D G, McGuire A D, Briones M J I, Churchill A C, Doctor D H, Pruett L E. Bacterial and enchytraeid abundance accelerate soil carbon turnover along a lowland vegetation gradient in interior Alaska. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 50: 188-198.
- [19] 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.
- [20] 黄敦元,郝家胜,余江帆,张彦周,丁亮,朱朝东.油茶研究现状与展望.生命科学研究,2009,13(5):459-465.
- [21] 王瑞,陈永忠.油茶高光效育种及其栽培技术探讨.林业科技开发,2011,25(3):1-4.
- [22] 周文才,孙颖,左继林,徐林初.滴灌配方施肥对盛果期油茶春梢生长的影响. 经济林研究, 2017, 35(4): 211-215.
- [23] 姜沛沛,曹扬,陈云明,王芳.不同林龄油松(Pinus tabulaeformis)人工林植物、凋落物与土壤 C、N、P 化学计量特征. 生态学报, 2016, 36 (19): 6188-6197.
- [24] 李永涛, 王振猛, 李宗泰, 陈苗苗, 刘德玺. 黄河三角洲不同林龄柽柳人工林土壤养分及生物学特性研究. 干旱区资源与环境, 2018, 32 (4): 89-94.
- [25] 谭晓风, 管天球, 袁军. 升级打造湖南千亿元油茶产业调查研究. 经济林研究, 2018, 36(3): 1-4.
- [26] 钟南清. 大力推进油茶产业 扎实推进精准扶贫. 国土绿化, 2017, (6): 46-47.
- [27] 刘自贤. 湖北省油茶产业缘何一路攀升. 中国林业产业, 2017, (10): 82-84.
- [28] 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.
- [29] 鲍士旦.土壤农化分析(第三版).北京:中国农业出版社, 2000:30-177.
- [30] 邱新彩,彭道黎,李伟丽,姜昊辰.北京延庆区不同林龄油松人工林土壤理化性质.应用与环境生物学报,2018,24(2):221-229.
- [31] Peri P L, Gargaglione V, Pastur G M. Dynamics of above- and below-ground biomass and nutrient accumulation in an age sequence of Nothofagus antarctica forest of Southern Patagonia. Forest Ecology and Management, 2006, 233(1): 85-99.
- [32] 杨凯,朱教君,张金鑫,闫巧玲.不同林龄落叶松人工林土壤微生物生物量碳氮的季节变化.生态学报,2009,29(10):5500-5507.
- [33] 陆梅,卫捷,韩智亮. 滇池西岸 4 种针叶林的土壤微生物与酶活性. 东北林业大学学报, 2011, 39(6): 56-59.
- [34] 潘根兴,周萍,李恋卿,张旭辉.固碳土壤学的核心科学问题与研究进展.土壤学报,2007,44(2):327-337.
- [35] 孙瑞莲,朱鲁生,赵秉强,周启星,徐晶,张夫道.长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用.应用生态学报,2004,15 (10):1907-1910.
- [36] 陈伏生, 曾德慧, 何兴元. 森林土壤氮素的转化与循环. 生态学杂志, 2004, 23(5): 126-133.
- [37] 李意心,房顺达,沈利梅.梅州油茶栽培管理与低产林改造技术初报.安徽农学通报,2007,13(24):95-97.
- [38] 孙鹏跃,徐福利,王渭玲,王玲玲,牛瑞龙,高星,白小芳.华北落叶松人工林地土壤养分与土壤酶的季节变化及关系.浙江农林大学学报,2016,33(6):944-952.
- [39] Rutigliano F A, D' ascoli R, De Santo A V. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(11): 1719-1729.
- [40] 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.
- [41] 吕春花,郑粉莉,安韶山.子午岭地区植被演替过程中土壤养分及酶活性特征研究.干旱地区农业研究,2009,27(2):227-232.
- [42] 曾希柏,李菊梅,徐明岗,高菊生,孙楠. 红壤旱地的肥力现状及施肥和利用方式的影响. 土壤通报, 2006, 37(3): 434-437.
- [43] 林诚, 王飞, 李清华, 李昱, 何春梅, 林新坚. 不同施肥制度对黄泥田土壤酶活性及养分的影响. 中国土壤与肥料, 2009, (6): 24-27.
- [44] 曹慧,孙辉,杨浩,孙波,赵其国.土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展.应用与环境生物学报,2003,9(1):105-109.
- [45] 陶宝先, 张金池, 愈元春, 丛日亮. 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.
- [46] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Integrating resource utilization and temperature in metabolic scaling of riverine bacterial production. Ecology, 2010, 91(5): 1455-1465.
- [47] Ushio M, Balser T C, Kitayama K. Effects of condensed tannins in conifer leaves on the composition and activity of the soil microbial community in a tropical montane forest. Plant and Soil, 2013, 365(1/2): 157-170.
- [48] 陈建会, 邹晓明, 杨效东. 热带亚热带常绿阔叶林维持酸性土壤有效磷水平的磷转化过程. 生态学报, 2006, 26(7): 2294-2300.
- [49] 曾晓敏,范跃新,林开森,袁萍,赵盼盼,陈怡然,徐建国,陈岳民.亚热带不同植被类型土壤磷组分特征及其影响因素.应用生态学报, 2018,29(7):2156-2162.
- [50] 张星星,杨柳明,陈忠,李一清,林燕语,郑宪志,楚海燕,杨玉盛.中亚热带不同母质和森林类型土壤生态酶化学计量特征.生态学报, 2018,38(16):5828-5836.