

DOI: 10.5846/stxb201909262020

刘仁, 陈伏生, 方向民, 万松泽, 卜文圣, 王辉民, 李建军. 凋落物添加和移除对杉木人工林土壤水解酶活性及其化学计量比的影响. 生态学报, 2020, 40(16): 5739-5750.

Liu R, Chen F S, Fang X M, Wan S Z, Bu W S, Wang H M, Li J J. Effects of litter addition and removal on soil hydrolytic enzyme activities and coenzymatic stoichiometry in Chinese fir plantation. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(16): 5739-5750.

## 凋落物添加和移除对杉木人工林土壤水解酶活性及其化学计量比的影响

刘 仁<sup>1,2</sup>, 陈伏生<sup>1,2</sup>, 方向民<sup>1,2</sup>, 万松泽<sup>1,2</sup>, 卜文圣<sup>1,2</sup>, 王辉民<sup>3</sup>, 李建军<sup>1,2,\*</sup>

1 江西农业大学林学院江西省森林培育重点实验室, 南昌 330045

2 江西农业大学鄱阳湖流域森林生态系统保护与修复国家林业和草原局重点实验室, 南昌 330045

3 中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

**摘要:** 土壤生态酶化学计量比可用于评估微生物碳(C)、氮(N)和磷(P)养分的需求状况。以往从凋落物输入量变化对生态酶化学计量比的角度来探讨杉木人工林土壤养分状况的研究较少。以亚热带杉木人工林为研究对象, 采用随机区组实验设计, 对 12 块杉木人工林样地进行 3 种凋落物处理(凋落物添加(LA); 凋落物移除(LR); 对照(CK)), 通过测定土壤 C、N 和 P 水解酶( $\beta$ -葡萄糖苷酶(BG)、半纤维素酶(CB)、 $\beta$ -乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和酸性磷酸酶(AP))的活性及土壤理化性质, 探讨凋落物添加和移除对杉木人工林土壤养分状况的影响。结果表明: LR 显著抑制了 AP、BG、CB、NAG 和 LAP 活性, 同时降低了土壤含水量(SMC)、有机碳(SOC)、总氮(TN)、总磷(TP)和有效氮含量; 而 LA 对以上指标均存在显著的正效应, 表明凋落物输入量变化主要是通过改变土壤水分和养分状况来影响水解酶的活性。LR 和 CK 处理下土壤酶活性比  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  均低于全球尺度上土壤酶活性比  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  (0.62) 和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  (0.44), 表明亚热带地区杉木人工林土壤微生物生长受磷限制; LA 处理的土壤的  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  均高于全球尺度, 表明 LA 在一定程度上缓解了土壤磷限制, 生态酶化学计量比响应的差异表明磷可能是驱动亚热带杉木人工林土壤生态酶化学计量比内在联系的关键因子。相关分析表明 SMC、SOC 和有效氮含量与土壤酶活性及其化学计量比呈极显著正相关关系, 因此, 生态酶化学计量比可作为表征土壤当前养分有效性状况的重要指标, 该研究可为亚热带杉木人工林土壤养分管理和可持续性经营提供科学的基础理论。

**关键词:** 森林管理; 水解酶活性; 土壤生态酶化学计量比; 杉木人工林; 土壤养分

## Effects of litter addition and removal on soil hydrolytic enzyme activities and coenzymatic stoichiometry in Chinese fir plantation

LIU Ren<sup>1,2</sup>, CHEN Fusheng<sup>1,2</sup>, FANG Xiangmin<sup>1,2</sup>, WAN Songze<sup>1,2</sup>, BU Wensheng<sup>1,2</sup>, WANG Huimin<sup>3</sup>, LI Jianjun<sup>1,2,\*</sup>

1 Jiangxi Key Laboratory of Forest Cultivation, College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2 Key Laboratory of Forest Ecosystem Protection and Restoration in Poyang Lake Watershed, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

3 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Simulation, Institute of Geographic Sciences and Resources, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Ecoenzymatic stoichiometry has been widely employed to evaluate the carbon (C), nitrogen (N), and

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31730014, 31870427); 江西省青年科学基金项目(20181BAB214014); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ180180)

收稿日期: 2019-09-26; 修订日期: 2020-05-20

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lijianjun@jxau.edu.cn

phosphorus (P) requirements of soil microbes. Although the impacts of litter amount alteration on soil nutrient in forest ecosystem have been extensively reported, the elucidation of soil ecoenzymatic stoichiometry related to soil nutrient remains limited. In this study, a field litter manipulation experiment was established in a Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation in subtropical China using a randomized block method with three treatments as follows: litter addition (LA), litter removal (LR) and control (CK). The variations in soil hydrolytic enzyme activity ( $\beta$ -glucosidase enzyme (BG), cellulase (CB),  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase (NAG), leucine aminopeptidase (LAP), and acid phosphatase (AP)) and soil properties among the three treatments were investigated and the response pattern of soil nutrient to LA and LR treatments was revealed. The results showed that LR reduced all soil enzyme activities in this study, soil moisture content (SMC), soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), total phosphorous (TP), and mineral nitrogen, while LA had positive effects on the above variables. This result indicated that the variations of the five soil enzymes after litter manipulation were mainly affected by the alteration in soil moisture and nutrient. Moreover, the values of  $\ln(\text{BG}+\text{CB}):\ln(\text{AP})$  and  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}):\ln(\text{AP})$  of LR and CK were lower than the corresponding values ( $\ln(\text{BG}+\text{CB}):\ln(\text{AP})$  (0.62) and  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}):\ln(\text{AP})$  (0.44)) at global scale respectively, which implied that subtropical Chinese fir plantations were limited by phosphorus (P). Additionally, the values of  $\ln(\text{BG}+\text{CB}):\ln(\text{AP})$  and  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}):\ln(\text{AP})$  of LA were higher than the corresponding values at global scale, which indicates that P could be the vital factors in driving soil stoichiometric connection with hydrolytic enzyme activities and the limitation of P was alleviated in LA. And the SMC, SOC and mineral nitrogen content were positively correlated with soil enzymatic activity and ecoenzymatic stoichiometry. Our results suggest that the ecoenzymatic stoichiometry can be used as an important indicator to characterize the current soil nutrient availability. This study can provide scientific basis for soil nutrient management and sustainable management of Chinese fir plantations in subtropical China.

**Key Words:** forest management; hydrolytic enzyme activity; ecoenzymatic stoichiometry; Chinese fir plantation; soil nutrients

土壤水解酶是土壤微生物和植物分泌的胞外酶,其活性和产量与土壤 C、N、P 养分有效性密切相关<sup>[1]</sup>,主要包括:降解纤维素的  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶(BG,  $\beta$ -1,4-glucosidase)和半纤维素酶(CB, cellobiase),降解几丁质和肽聚糖的  $\beta$ -1,4-N-乙酰葡萄糖氨糖苷酶(NAG,  $\beta$ -1,4-N-acetylglucosaminidase),水解蛋白质和多肽的亮氨酸氨基肽酶(LAP, leucine aminopeptidase),分解有机磷的酸性(或碱性)磷酸酶(AP, acid or alkaline phosphatase),这些酶的活性比值被称为生态酶化学计量比,可用于指示土壤 C、N、P 三类养分的有效性以及土壤微生物 C、N 和 P 养分需求状况<sup>[2]</sup>,因此生态酶化学计量比在驱动土壤 C、N、P 养分循环过程中发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。化学计量比理论是基于化学反应中反应物和生成物的相对数量关系,该理论也适用于土壤生态酶化学计量比<sup>[5]</sup>。目前,土壤生态酶化学计量比相关研究已成为生态系统养分循环的热点。研究发现,C 水解酶(如:BG 和 CB)、N 水解酶(如:NAG 和 LAP)和 P 水解酶(如:AP)活性分别与土壤中 C、N 和 P 的有效性呈负相关关系<sup>[6]</sup>,另外土壤酶活性及其化学计量比均受到土壤 pH、温湿度等因素的调控<sup>[7]</sup>。以往对土壤养分和生态酶化学计量比相结合的研究主要基于植物物种水平<sup>[8]</sup>,且集中在全球和流域尺度<sup>[9-10]</sup>,而在人工林生态系统中的变化规律仍不明确。

森林管理可以改变森林生态系统的结构和功能<sup>[11]</sup>。作为林下管理的常用方法,从森林中收集凋落物作为燃料和农场动物草垫的做法一直沿用至今<sup>[12]</sup>;以往研究表明,凋落物移除可能加剧人工林生态系统土壤养分和森林生产力的衰退过程<sup>[13]</sup>。全球气候变化背景下,氮沉降加剧和大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高所产生的“施肥效应”可能增加树木的生产力,最终可能使凋落物的产量增加<sup>[14]</sup>。凋落物输入量的变化可以通过改变输入土壤中 C、N、P 等养分的数量和质量对森林生态系统内部养分循环产生影响<sup>[15]</sup>。研究发现:凋落物添加可以促进土壤 C 和其他养分的循环<sup>[16]</sup>;而凋落物移除可能对土壤养分循环过程产生负效应<sup>[17]</sup>或无显著影响<sup>[18]</sup>。关

于凋落物添加和移除对土壤养分影响的研究开展了许多,然而就凋落物量改变如何调控土壤生物和非生物因素,进而对土壤生态酶化学计量比产生影响还需进行深入研究。

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是我国南方最重要的速生优良用材树种。杉木的速生特性导致其在生长期期间高效吸收土壤养分,而凋落物输入量的改变可能造成土壤养分输入和输出过程严重失衡<sup>[19]</sup>,最终可能导致土壤酶活性比值发生相应变化。但从生态酶化学计量比角度来探讨凋落物量变化对土壤养分状况影响的研究较少。本区域一项研究探讨过土壤酶活性对凋落物输入量的响应<sup>[20]</sup>,而从生态酶化学计量比的角度探讨凋落物处理效应的研究鲜有报道。为此,本试验以亚热带杉木人工林为研究对象,通过研究凋落物添加和移除处理后土壤理化性质和水解酶活性及其化学计量比的变化来检验凋落物输入量改变对土壤养分状况的影响,进而揭示凋落物添加和移除对土壤-酶化学计量特征发生变化的机制。根据已有研究,我们提出以下科学假设:(1)杉木人工林土壤通常处于养分贫瘠状态,微生物代谢可能受到限制,而凋落物移除通过减少养分的输入而使土壤养分限制加剧<sup>[21]</sup>,最终可能刺激微生物分泌更多特异性胞外酶,使土壤酶活性增加,而凋落物添加可能使土壤酶活性降低或者变化不显著;(2)土壤酶化学计量比可以确定微生物养分需求与土壤养分供应之间的关系<sup>[8]</sup>,因此我们推测土壤生态酶化学计量比与土壤养分化学计量比之间可能存在对应关系。本试验结果可能从生态酶化学计量比的角度来揭示亚热带杉木人工林凋落物添加和移除处理下土壤养分的响应和调控机制,这将有助于完善土壤生态酶化学计量比理论体系,同时也为不同林下管理对土壤养分影响的评估提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样地概况

试验样地位于江西省泰和县中国科学院千烟洲石溪林场(26°44′52″N,115°04′13″E),该区地处亚热带季风气候区,雨量充沛,四季分明,海拔 102m,年平均气温 17.9℃,年平均无霜期 280d,年平均降雨量 1471mm,是典型的红壤丘陵地貌,成土母质多为红色砂岩、砂砾岩或泥岩以及河流冲积物<sup>[22]</sup>。试验样地为 1998 年人工种植的二代杉木纯林,2013 年杉木平均高度为 13.6m,胸径为 11.4cm,郁闭度 76%,林龄为 15a,坡向为东南方向,坡度为 15°;林下灌木层主要物种有毛冬青(*Ilex pubescens*)、黄瑞木(*Adinandra millettii*)、紫珠(*Callicarpa bodinieri*)和黄梔子(*Gardenia jasminoides*)等<sup>[23]</sup>。

### 1.2 试验设计

本试验始于 2013 年 1 月,在江西省吉安市泰和县千烟洲石溪林场杉木人工林设置 4 个 30 m×30 m 样地(样地间设置>5m 的缓冲带),随机排列。每个样地通过“十字形”壕沟(规格:长 30m,宽 0.3m 和深度 1m,降低样方间水分和养分的交换速率,壕沟以内 1m 范围为缓冲区,禁止缓冲区取样)分割成 4 个 15m×15m 样方<sup>[20]</sup>。在每个样地的 4 样方间随机安排本研究的 3 个凋落物处理,每个处理 4 次重复,合计 12 个小区。3 个凋落物处理分别是凋落物移除(LR):将样地内全部凋落物移出样地;凋落物添加(LA):将从去除凋落物样地收集的凋落物均匀洒在样方内;对照(CK):凋落物不做任何处理。由于杉木枝叶同时掉落,加之每月凋落物量较少,因此凋落物处理每月进行一次,保证凋落物处理效果。

### 1.3 样品采集

2018 年 7 月,在每个 15m×15m 小样方内沿“Z”型布置 12 个取样点,首先用三角铲收集 50cm×50cm 方格内矿质层以上的腐殖质样品 12 份,混合均匀并用四分法采集约 500g,装入无菌自封袋内,做好标记放入冰盒;然后用直径 5cm 的土钻在该方格内取 3 个点各采集 0—5cm,5—10 cm 土层土壤,并把 12 个取样点 0—5cm 和 5—10 cm 两土层分别钻取的 36 个土样混合,用四分法采集约 500g 土壤装入无菌自封袋内,做好标记放入冰盒,迅速带回实验室,去除石块、根系等其它杂质,然后依次过 2 mm 孔径的土壤筛后分为两部分,一份放至 4℃ 冰箱内进行冷藏保存测酶活性和速效氮,另一份土样风干测 pH、SOC、TN、TP 养分含量<sup>[20]</sup>。

## 1.4 样品分析

### 1.4.1 土壤理化性质

土壤 pH 值采用 pH 计测定(土水比 1:2.5);土壤质量含水量(SMC)用重量法测定(105℃,48h 烘干至恒重);SOC 采用高锰酸钾-硫酸亚铁滴定法;TN 和 TP 用  $\text{HClO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$  消煮,采用连续流动分析仪测定。土壤铵态氮( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )和硝态氮( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ )用 1mol/L KCL 作为浸提液(土液比 1:10),在 180 转的振荡器上振荡 2h 后静置,采用连续流动分析仪测定<sup>[24]</sup>。

### 1.4.2 土壤酶活性

用荧光标记底物法测定 5 种土壤酶(BG、CB、NAG、LAP 和 AP)的活性<sup>[25]</sup>。将 1.5g 新鲜土壤加入 125 mL 的乙酸钠缓冲液(50 mol/L)中制备土壤悬浮液。在 96 微孔板中加入 200  $\mu\text{L}$  的土壤悬浮液和 50  $\mu\text{L}$  的底物(200  $\mu\text{mol/L}$ )溶液。将微孔板置于 20℃ 黑暗条件下培养 4 h,每个孔中加入 10  $\mu\text{L}$  的 NaOH 溶液(1 mol/L),静置 1 min 后,用多功能酶标仪(SpectraMax M2,美国)在 365 nm 下激发,450 nm 下检测荧光值。每个样品 8 个重复。

## 1.5 数据分析

本研究采用 SPSS 19.0 软件的双因素方差分析(Two-way ANOVA)中的最小显著性差异(LSD)法比较不同处理与不同土层间 5 种土壤酶活性、生态酶活性化学计量比和土壤理化性质的差异性,并采用 Pearson 相关分析土壤酶化学计量比与土壤理化性质之间的相关性,在此基础上利用 Canoco5 软件评价以土壤酶活性为响应变量,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( $P < 0.05$ ), $\ln(\text{BG}+\text{CB})$ : $\ln(\text{NAG}+\text{LAP})$  表示土壤酶化学计量 C:N; $\ln(\text{BG}+\text{CB})$ : $\ln(\text{AP})$  表示土壤酶化学计量 C:P; $\ln(\text{NAG}+\text{LAP})$ : $\ln(\text{AP})$  表示土壤酶化学计量 N:P<sup>[1]</sup>。本研究的图形绘制均在 Origin8.0 中完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 凋落物添加和移除处理对不同土层土壤理化性质的影响

凋落物处理对 SMC、SOC、pH、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量影响显著,而土层对 pH 和 TP 影响不显著,对其其他理化性质影响显著,凋落物处理与土层的交互作用显著影响 SMC、SOC、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量(表 1)。在不同土层中,凋落物添加和移除处理对杉木人工林土壤理化性质的影响均表现一致的变化趋势,即 LA 最高,CK 次之,LR 最低(表 2)。与 CK 相比较,LA 增加了腐殖质层、0—5cm 土层和 5—10cm 土层 pH 和 SOC,而 LR 对 3 个土层 pH 和 SOC 的影响不显著(表 2)。就 SMC 而言,3 个土层均表现为 LR 使 SMC 显著降低,而 LA 对 SMC 的效应不显著(表 2)。在腐殖质层中,LA 显著增加了 TP 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的含量( $P < 0.05$ ),增幅分别为 28.44% 和 26.63%,而 LR 使 TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量降低,且降幅分别为 17.43%、23.88% 和 41.95%;另外凋落物处理对腐殖质层 TN 含量影响均不显著(表 2)。在 0—5cm 土层中,LA 使土壤 TN 和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量分别增加了 14.86% 和 56.96%;而 LR 使土壤 TN、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量分别下降了 33.49%、19.81%、11.61% 和 34.14%(表 2)。在 5—10cm 土层中 LR 使土壤中 TN、TP 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量均下降,降幅分别为 11.90%、20.00% 和 11.36%,而 LA 则使  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量增加了 66.89%(表 2)。

在 CK、LR 和 LA 中,不同土层的 SMC 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的含量均表现为腐殖质层高于 0—5cm 和 5—10cm 层( $P < 0.05$ );而 SOC、TN 和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量均随着土层深度的增加而降低,TP 含量只在 LA 中随土层深度的增加而降低(表 2)。

### 2.2 凋落物添加和移除处理对不同土层土壤酶活性的影响

凋落物处理和土层均显著影响 AP、BG、CB、NAG 和 LAP 酶活性,凋落物处理与土层的交互作用对 AP、BG、NAG 和 LAP 酶活性影响显著(表 1)。与 CK 相比较,LR 使腐殖质层中的 BG、CB、NAG 和 LAP 酶活性均降低( $P < 0.05$ ),而 LA 仅增加了腐殖质层 AP 活性,增幅为 16.18%。就 0—5cm 土层而言,LA 增加了土壤 CB 和 NAG 活性,而 LR 对二者存在抑制作用;0—5cm 土壤层中的 AP、BG 和 LAP 水解酶活性仅表现出显著的凋落物添加正效应,而对 LR 无影响。在 5—10cm 土层中,LA 使 BG、CB 和 LAP 活性增加,而 LR 分别使 AP 和

CB 活性降低了 37.56%和 45.36%。比较 3 个土层土壤酶活性发现,3 种处理下的 AP 和 BG 活性均表现为 0—5cm 和 5—10cm 土层低于腐殖质层( $P<0.05$ ),其中 0—5cm 和 5—10cm 土层间差异不显著。另外,在 3 种凋落物处理下 CB、NAG 和 LAP 3 种酶活性随土层深度的增加而显著降低(图 1)。

表 1 土层和凋落物处理对不同理化性质、酶活性及其化学计量比的影响的双因素方差分析( $F$  值)

Table 1 Two-way ANOVA of the effects of soil layer and litter treatment on different physicochemical properties, enzyme activity and stoichiometric ratio ( $F$  value)

变量来源 Source of variation	处理 Treatment	土层 Layer	处理×土层 Treatment× Layer	变量来源 Source of variation	处理 Treatment	土层 Layer	处理×土层 Treatment× Layer
SMC	14.80 ***	67.89 ***	3.18 *	AP	32.17 ***	291.01 ***	3.63 *
pH	20.28 ***	1.24 <sup>ns</sup>	2.74 <sup>ns</sup>	BG	42.58 ***	1142.88 ***	3.53 *
SOC	151.8 ***	500.89 ***	36.97 ***	CB	6.84 **	62.18 ***	1.23 <sup>ns</sup>
TN	2.86 <sup>ns</sup>	57.10 ***	1.39 <sup>ns</sup>	NAG	56.69 ***	892.36 ***	21.55 **
TP	28.25 ***	1.43 <sup>ns</sup>	3.04 *	LAP	30.10 ***	813.20 ***	10.73 **
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	18.27 ***	107.19 ***	6.35 ***	ln(BG+CB);ln(NAG+LAP)	2.21 <sup>ns</sup>	21.55 ***	3.95 *
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	61.98 ***	462.24 ***	16.62 ***	ln(BG+CB);ln(AP)	1.33 <sup>ns</sup>	202.31 ***	11.33 ***
C/N	19.94 ***	6.43 ***	6.60 **	ln(NAG+LAP);ln(AP)	1.38 <sup>ns</sup>	190.56 ***	3.64 *
C/P	13.25 ***	146.88 ***	5.92 **				
N/P	0.23 <sup>ns</sup>	32.77 ***	1.68 <sup>ns</sup>				

SMC:土壤含水量 Soil moisture content;pH:土壤酸碱度 Soil pH;SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon;TN:土壤总氮 Total nitrogen;TP:土壤总磷 Total phosphorus;NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N:铵态氮 Ammonium nitrogen;NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N:硝态氮 Nitrate nitrogen;C/N:碳氮比 Carbon:nitrogen ratio;C/P:碳磷比 Carbon:phosphorus ratio;N/P:氮磷比 Nitrogen:phosphorus ratio;AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase;BG:β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase;CB:半纤维素酶 Cellobioside;LAP:亮氨酸基肽酶 Leucine aminopeptidase;NAG:乙酰葡萄糖胺糖苷酶 β-N-acetyl-glucosaminidase;ln(BG+CB);ln(NAG+LAP)表示土壤酶化学计量 C:N;ln(BG+CB);ln(AP)表示土壤酶化学计量 C:P;ln(NAG+LAP);ln(AP)表示土壤酶化学计量 N:P。<sup>ns</sup>处理在  $P>0.05$  水平上的差异不显著;\*处理在  $P<0.05$  水平上的显著性差异;\*\*处理在  $P<0.01$  水平上的显著性差异;\*\*\*处理在  $P<0.001$  水平上的显著性差异

表 2 凋落物添加和移除对杉木人工林不同土层下的土壤理化性质的影响

Table 2 Effects of litter addition and removal on soil physical and chemical properties under different soil layers in Chinese fir plantation

因子 Parameters	土层 Soil layers	CK	LR	LA
含水量 SMC/%	腐殖质层	23.40±1.00Aa	17.23±0.69Ab	21.45±1.22Aa
	0—5cm	16.32±0.19Ba	13.04±0.63Bb	16.43±0.10Ba
	5—10cm	14.21±0.49Ba	12.40±0.08Bb	14.47±0.36Ba
pH	腐殖质层	5.05±0.08Ab	4.95±0.01Ab	5.21±0.06Aa
	0—5cm	4.97±0.05Ab	4.99±0.00Ab	5.19±0.03Aa
	5—10cm	5.07±0.04Ab	4.99±0.01Ab	5.17±0.01Aa
有机碳 SOC/(g/kg)	腐殖质层	37.02±1.80Ab	34.07±0.92Ab	64.93±0.88Aa
	0—5cm	25.88±1.25Bb	22.65±1.46Bb	32.78±1.02Ba
	5—10cm	12.04±0.39Cb	11.96±0.28Cb	18.56±0.27Ca
全氮 TN/(g/kg)	腐殖质层	2.48±0.04Aa	2.43±0.16Aa	2.55±0.08Aa
	0—5cm	2.18±0.29Bb	1.45±0.30Bc	2.31±0.23Ba
	5—10cm	0.84±0.02Ca	0.74±0.05Cb	0.85±0.03Ca
全磷 TP/(g/kg)	腐殖质层	1.19±0.05Ab	0.99±0.04Ac	1.40±0.04Aa
	0—5cm	1.12±0.05Aa	0.95±0.05Ab	1.25±0.10Ba
	5—10cm	1.00±0.04Aa	0.86±0.09Ab	1.09±0.07Ca
铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/(mg/kg)	腐殖质层	16.71±1.07Ab	12.72±0.59Ac	21.16±1.21Aa
	0—5cm	10.42±0.96Ba	9.21±0.04Bb	11.21±0.30Ba
	5—10cm	7.92±0.30Ba	7.02±0.18Bb	8.09±0.38Ba
硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(mg/kg)	腐殖质层	16.25±0.92Aa	9.95±0.51Ab	16.95±0.48Aa
	0—5cm	5.39±0.58Bb	3.55±0.20Bc	8.46±0.17Ba
	5—10cm	1.59±0.05Cb	1.32±0.17Cb	2.59±0.03Ca

CK:凋落物保留(对照) Control;LR:凋落物移除 Litter removal;LA:凋落物添加 Litter addition;不同大写字母表示同一处理中不同深度土层之间的差异性,不同小写字母表示同一土层中不同处理之间的差异

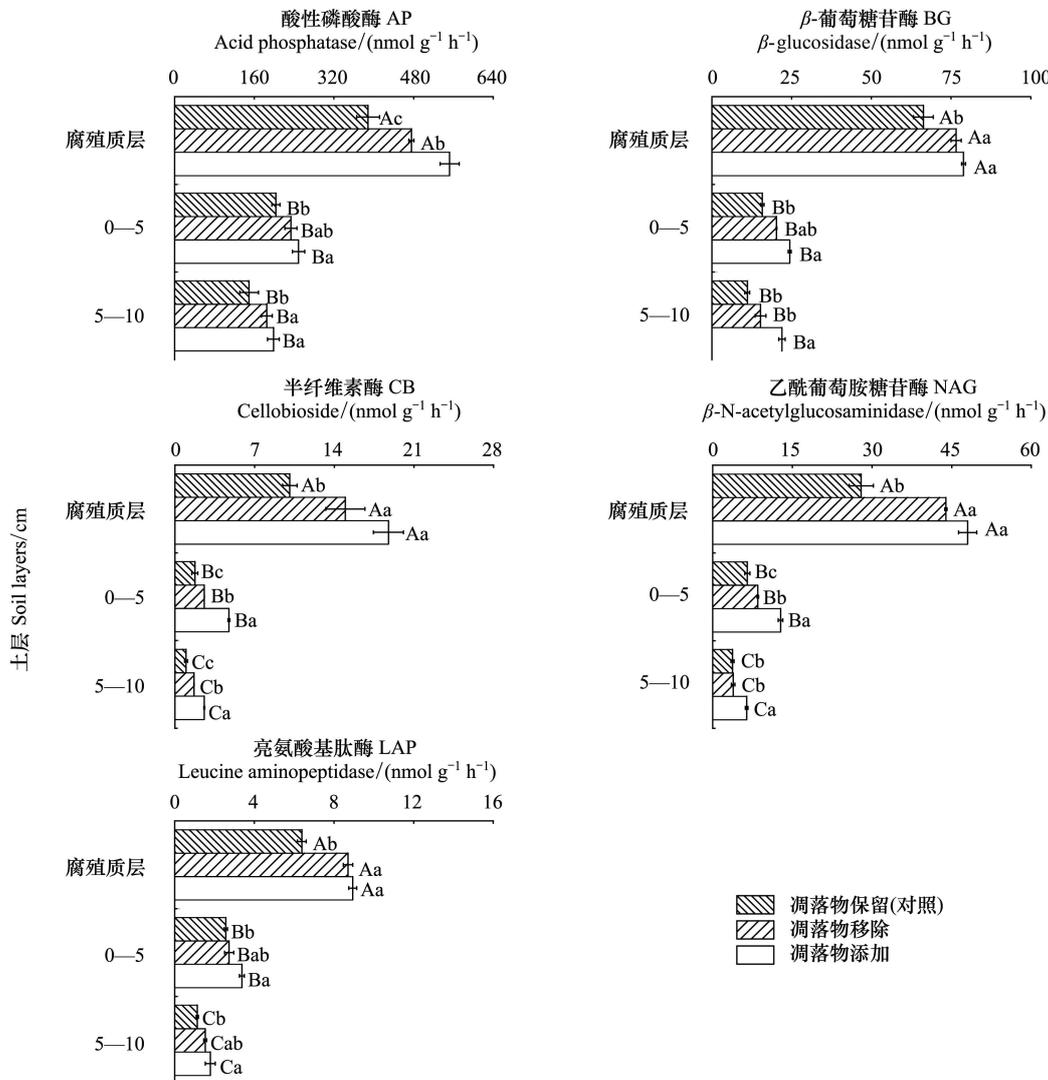


图 1 凋落物添加和移除处理对不同土层的土壤水解酶的影响

Fig.1 Effects of litter addition and removal treatment on soil hydrolytic enzymes in different soil layers

CK:凋落物保留(对照) Control; LR:凋落物移除 Litter removal; LA:凋落物添加 Litter addition, Humus layer:腐殖质层;不同大写字母表示同一处理中不同深度土层之间的差异性,不同小写字母表示同一土层中不同处理之间的差异,AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase;BG: $\beta$ -葡萄糖苷酶  $\beta$ -glucosidase;CB:半纤维素酶 Cellobioside; NAG:乙酰葡萄糖胺糖苷酶  $\beta$ -N-acetyl-glucosaminidase;LAP:亮氨酸基肽酶 Leucine aminopeptidase

### 2.3 凋落物添加和移除处理对不同土层土壤养分和酶活性化学计量比的影响

土层对土壤养分和酶活性化学计量比的影响显著,凋落物处理只对 C/N 和 C/P 的影响显著,两者的交互作用显著影响 C/N、C/P 和酶活性化学计量比(表 1)。LR 增加了腐殖质层的 N/P,而 LA 降低腐殖质层 N/P,同时还增加了 3 个土层 C/N、C/P。与 CK 相比较,LA 使腐殖质层和 0—5cm 土壤层的  $\ln(BG+CB) : \ln(NAG+LAP)$  分别减少了 10.00% 和 17.60%,另外 LR 降低了 0—5cm 土壤层的  $\ln(NAG+LAP) : \ln(AP)$  和 5—10cm 土壤层的  $\ln(BG+CB) : \ln(AP)$ 。

在 3 种凋落物处理中, C/P、N/P 和  $\ln(NAG+LAP) : \ln(AP)$  均随土层深度的增加而降低,而  $\ln(BG+CB) : \ln(NAG+LAP)$  和  $\ln(BG+CB) : \ln(AP)$  则表现为腐殖质层高于 0—5cm 和 5—10cm 土层(表 3)。

### 2.4 土壤理化性质与土壤水解酶活性及其化学计量比的相关分析

土壤水解酶活性与土壤环境因子 RDA 结果显示,第一标准轴(RD1)和第二标准轴(RD2)分别解释水解酶变量的 92.17% 和 3.36%;其中土壤水解酶 BG、CB、NAG、LAP 和 AP 的活性与 SMC、SOC、 $NH_4^+-N$ 、 $NO_3^- -N$ 、C/

P、TN 和 N/P 均呈极显著的正相关( $P<0.01$ ),而与土壤 pH、TP 和 C/N 无显著相关(图 2)。

表 3 凋落物添加和移除处理对不同土层的土壤养分和酶化学计量比的影响

Table 3 Effects of litter addition and removal treatment on the stoichiometric ratio of soil enzymes in different soil layers

因子 Parameters	土层 Soil layers/cm	CK	LR	LA
碳氮比 C/N	腐殖质层	15.90±0.17Ab	14.76±1.23Ab	25.52±0.32Aa
	0—5	15.03±2.05Ab	16.62±3.44Ab	24.44±1.32Aa
	5—10	14.58±0.80Ab	16.45±0.81Ab	22.01±0.82Aa
碳磷比 C/P	腐殖质层	34.92±1.49Ab	34.29±2.51Ab	46.69±0.94Aa
	0—5	24.51±0.73Bb	23.56±1.16Bb	26.34±2.91Ba
	5—10	14.01±0.42Cb	13.99±2.80Cb	17.42±0.33Ca
氮磷比 N/P	腐殖质层	2.23±0.07Ab	2.45±0.07Aa	1.83±0.03Ac
	0—5	2.09±0.36Ba	1.69±0.34Ba	1.78±0.37Ba
	5—10	0.84±0.05Ca	0.86±0.10Ca	0.79±0.02Ca
ln(BG+CB) : ln(NAG+LAP)	腐殖质层	1.70±0.05Ab	1.65±0.12Ab	1.87±0.09Aa
	0—5	1.25±0.02Bb	1.23±0.08Bb	1.47±0.01Ba
	5—10	1.14±0.00Ba	1.13±0.03Ba	1.21±0.02Ba
ln(BG+CB) : ln(AP)	腐殖质层	0.73±0.00Aa	0.72±0.02Aa	0.73±0.01Aa
	0—5	0.58±0.01Bb	0.55±0.01Bb	0.62±0.00Ba
	5—10	0.54±0.01Bb	0.53±0.02Bb	0.61±0.02Ba
ln(NAG+LAP) : ln(AP)	腐殖质层	0.64±0.00Aa	0.60±0.01Aa	0.64±0.00Aa
	0—5	0.46±0.01Ba	0.37±0.02Bb	0.50±0.00Ba
	5—10	0.32±0.01Ca	0.32±0.01Ba	0.33±0.02Ca

C/N;碳氮比 Carbon:nitrogen ratio;C/P;碳磷比 Carbon:phosphorus ratio;N/P;氮磷比 Nitrogen:phosphorus ratio;ln(BG+CB) : ln(NAG+LAP) 表示土壤酶化学计量 C:N;ln(BG+CB) :ln(AP) 表示土壤酶化学计量 C:P;ln(NAG+LAP) :ln(AP) 表示土壤酶化学计量 N:P;不同大写字母表示同一处理中不同深度土层之间的差异性,不同小写字母表示同一土层中不同处理之间的差异

土壤 SOC、TN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、SMC、C/P 和 N/P 与生态酶活性计量比指标 ln(BG+CB) : ln(AP) 和 ln(NAG+LAP) : ln(AP) 均呈显著负相关,而与 ln(BG+CB) :ln(NAG+LAP) 呈显著正相关,但是 ln(BG+CB) : ln(NAG+LAP)、ln(BG+CB) :ln(AP) 和 ln(NAG+LAP) :ln(AP) 与土壤 TP、pH 和 C/N 间无统计学上的相关性(表 4)。

表 4 土壤理化性质与土壤酶活性化学计量比的相关性

Table 4 Correlation between soil physicochemical properties and soil enzyme activity stoichiometric ratio

因子 Parameters	ln(BG+CB) :ln(NAG+LAP)	ln(BG+CB) :ln(AP)	ln(NAG+LAP) :ln(AP)
有机碳 SOC	-0.755 ***	0.746 ***	0.810 ***
总氮 TN	-0.725 ***	0.815 ***	0.838 ***
总磷 TP	-0.069 <sup>ns</sup>	-0.006 <sup>ns</sup>	0.115 <sup>ns</sup>
铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	-0.732 ***	0.761 ***	0.807 ***
硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	-0.767 ***	0.821 ***	0.842 ***
含水量 SMC	-0.674 ***	0.737 ***	0.778 ***
pH	-0.195 <sup>ns</sup>	0.011 <sup>ns</sup>	0.069 <sup>ns</sup>
碳氮比 C/N	-0.090 <sup>ns</sup>	-0.020 <sup>ns</sup>	0.085 <sup>ns</sup>
碳磷比 C/P	-0.762 ***	0.822 ***	0.867 ***
氮磷比 N/P	-0.597 ***	0.733 ***	0.765 ***

<sup>ns</sup>处理在  $P>0.05$  水平上的差异不显著;\* 处理在  $P<0.05$  水平上的显著性差异;\*\* 处理在  $P<0.01$  水平上的显著性差异;\*\*\* 处理在  $P<0.001$  水平上的显著性差异

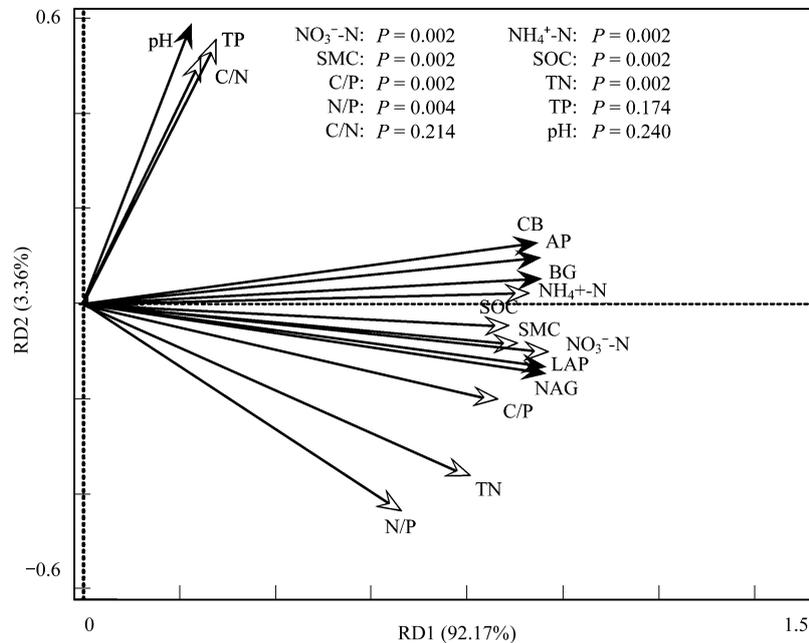


图2 土壤理化性质与土壤水解酶活性的相关性

Fig.2 Correlation between soil physical and chemical properties and soil hydrolytic enzyme activity

SMC:土壤含水量 Soil moisture content; pH:土壤酸碱度 Soil pH; SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon; TN:土壤总氮 Total nitrogen; TP:土壤总磷 Total phosphorus; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N:铵态氮 Ammonium nitrogen; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N:硝态氮 Nitrate nitrogen; C/N:碳氮比 Carbon:nitrogen ratio; C/P:碳磷比 Carbon:phosphorus ratio; N/P:氮磷比 Nitrogen:phosphorus ratio, AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase; BG:β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase; CB:半纤维素酶 Cellobioside; LAP:亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase; NAG:乙酰葡萄糖胺糖苷酶 β-N-acetyl-glucosaminidase

### 3 讨论

#### 3.1 凋落物添加和移除处理对土壤理化性质及酶活性的影响

土壤水解酶作为评价土壤微生物活性及土壤肥力的重要指标,其活性的高低直接影响养分循环的效率。本研究发现凋落物输入量的改变会对亚热带杉木人工林土壤酶活性产生显著的影响。与假设(1)不同,本研究发现LR显著降低了土壤AP、BG、CB、NAG和LAP酶的活性,该结果与欧洲落叶林<sup>[26]</sup>、温带落叶橡树林<sup>[27]</sup>、亚热带米楮人工林<sup>[28]</sup>和热带雨林<sup>[29]</sup>的凋落物移除试验研究结果一致,这些研究认为,LR通过限制土壤微生物碳源和酶促反应底物的供应来调控土壤微生物的生长,最终使土壤酶的活性降低<sup>[26-29]</sup>。虽然亚热带杉木人工林土壤养分有退化趋势,LR减弱了生态系统土壤养分回收强度<sup>[30]</sup>,但根据前人的研究结果表明土壤养分缺乏可能会刺激微生物分泌更多胞外酶来获取限制性养分来弥补植物和微生物得生长,而在本研究中,与CK相比,LR处理后土壤SOC含量减少不显著,并未刺激微生物分泌更多的胞外酶,但LA处理后的土壤SOC显著提高,而且酶活性与土壤SOC含量呈正相关,土壤酶活性在LA处理下表现出显著的促进作用,说明了LA可能通过提高SOC的输入量来促进土壤微生物的生长和繁殖,最终导致土壤酶活性提高<sup>[31]</sup>,但LR处理可能改变其他养分的输入影响微生物活性。

非生物因素可通过改变土壤微生物生存环境间接影响土壤酶的活性<sup>[32]</sup>。在本研究中,LR降低了SMC,而SMC与土壤酶(AP、BG、CB、NAG和LAP)活性呈极显著正相关关系,这与杨洋等<sup>[20]</sup>的研究结果一致,表明LR降低土壤酶活性可能与土壤变干有关。通常LR使土壤裸露面积增加,凋落物“隔温保水”功能的减弱可能促使土壤水分蒸发,导致土壤含水量降低<sup>[33]</sup>,根据杨洋等<sup>[20]</sup>在本区域的研究发现,SMC降低可能会影响底物和土壤酶的扩散速率,最终导致微生物生物量和活性发生下降<sup>[34]</sup>,从而间接地抑制了土壤酶活性。另

外,根据桂慧颖等<sup>[35]</sup>的研究发现 SMC 调控土壤中氮素的转化过程,该研究认为 SMC 与土壤净矿化速率间存在显著的正相关关系,因此本研究推测 LR 可能通过降低土壤 SMC 来抑制土壤 N 的矿化过程降低有效氮含量。RDA 分析结果表明,铵态氮和硝态氮与 NAG 和 LAP 间存在显著的正相关关系,以往研究也发现 NAG 和 LAP 酶活性随着无机氮含量增加而提高<sup>[36]</sup>,这表明在 LR 处理可能通过降低土壤中铵态氮和硝态氮的含量,最终使土壤中 NAG 和 LAP 酶的活性降低。相反,LA 处理显著增加了土壤有效氮含量以及土壤酶活性。匈牙利北部温带落叶林研究发现 LA 对土壤酶无显著影响<sup>[17]</sup>,而山西太岳山的油松-辽东栎针阔混交林的凋落物添加处理反而使土壤 BG 和 NAG 活性增加<sup>[37]</sup>。表明 LA 处理对土壤酶活性的影响受林分类型的影响。以往研究也证明,可利用性底物的浓度(如土壤 C、N、P 等养分浓度)与土壤酶活性密切相关<sup>[32]</sup>。这可能是由于凋落物添加改变了土壤中 C 和 N 含量以及微生物生物量进而对土壤酶活性产生影响。本研究发现,LA 处理显著增加了土壤中 SOC、TN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量,而土壤水解酶活性与 SOC、TN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量间呈极显著正相关,该结果与舒媛媛等<sup>[38]</sup>研究结果一致,因此本研究认为,LA 处理提高了土壤水解酶活性可能与土壤 SOC、TN 和有效氮含量增加有关。土壤 C:N:P 养分化学计量比是衡量土壤有机质和养分状况的重要指示器<sup>[39]</sup>,该指标通常随养分输入的变化而改变<sup>[28]</sup>。本研究发现凋落物添加使土壤 SOC 养分含量提高,进而使 C/N 与 C/P 值增加。

本研究中,腐殖质层 N/P 在 LR 处理中显著增加,而 LA 处理显著降低。结果表明在腐殖质层中,LR 处理下,土壤微生物主要受 P 限制,而 LA 处理下的土壤微生物主要受到 N 限制。这是因为凋落物移除显著降低 P 的输入量,相反,凋落物添加显著增加土壤 SOC 和 TP 含量,但不改变 TN,所以导致微生物可利用 N 减少,进而受到 N 限制。但是 LR 处理下的 P 水解酶和 LA 处理下的 N 水解酶活性及化学计量比间均为表现显著差异,这与假设(1)不符,这可能是由于微生物分泌的胞外酶的相对活性可能同时受土壤养分条件和微生物本身元素组成的共同影响,后者可能占主导地位<sup>[40]</sup>,因此单纯从土壤酶活性角度可能不足以很好地反映土壤养分状况。另外,土壤酶活性随土层的加深呈逐渐下降的趋势,这与吴传敬等<sup>[41]</sup>研究结果一致。可能的解释为土壤腐殖质层聚集了较多的动植物残体的分解物,营养源丰富,水热和通气状况也相对较好,为微生物生长和繁殖提供良好的环境,促使腐殖质层土壤酶活性较高<sup>[42]</sup>,而随着土层的加深,土壤养分含量均逐渐下降,养分供应的减少导致微生物生长受到限制,最终土壤酶活性降低。本研究可为亚热带杉木人工林土壤质量评估提供一定的参考依据。

### 3.2 凋落物添加和移除处理下土壤生态酶化学计量特征

土壤酶化学计量比是指示土壤微生物养分限制的重要因子<sup>[1]</sup>,本研究发现,在 LR 和 CK 处理下 0—5cm 和 5—10cm 土层中土壤酶活性比  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  均低于全球尺度上土壤酶活性比  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  (0.62) 和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  (0.44)<sup>[8]</sup>,说明亚热带杉木人工林 0—10cm 土层微生物受到磷限制,这与大多数研究结果一致,以往研究通常认为热带和亚热带区域磷是生态系统生产力的主要限制因子<sup>[43]</sup>。在本研究中,LA 处理下的土层土壤酶活性比  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  均高于相应全球酶化学计量比,表明凋落物添加在一定程度上缓解了土壤磷限制,而长期的凋落物移除处理因为磷归还量减少,最终加剧了土壤磷的限制。该差异表明磷可能是驱动土壤生态酶化学计量比内在的联系的关键因子<sup>[44]</sup>。另外,从本研究发现土壤含水量与  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{NAG}+\text{LAP})$  间存在显著的负相关关系,而与  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  间呈正相关关系,这表明土壤含水量的提高会加剧土壤微生物 N 限制,从而导致土壤微生物产生合成更多分解 N 的 NAG 和 LAP 酶,最终使土壤水解氮酶活性提高。该结果与袁萍<sup>[45]</sup>的研究结论一致。可能解释为土壤水分的有效性通常制约了微生物活性和土壤有机底物酶的有效性,从而改变了生态酶化学计量比<sup>[46]</sup>。以往研究还表明,土壤生态酶化学计量能够有效地衡量微生物对 C、N 和 P 养分的需求<sup>[47]</sup>。在本研究中我们发现土壤  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  均与 SOC 和有效氮含量间均呈显著的正相关关系,说明 SOC 和有效氮含量增加,能够促进土壤微生物合成更多的 C 和 N 水解酶。这与 Waring<sup>[48]</sup>关于土壤有效性养分会影响微生物养分利用效率而改变微生物酶活性的结果一致,也与乔航

等<sup>[49]</sup>发现 SOC 可能是限制土壤酶化学计量比的关键因子研究结果一致。由于土壤养分化学计量仅反映土壤养分现状,而土壤酶化学计量比可以表征微生物养分利用现状,在本研究中,  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{AP})$  和  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  与土壤 C/P 和 N/P 呈极显著正相关,而  $\ln(\text{BG}+\text{CB}) : \ln(\text{NAG}+\text{LAP})$  与土壤 C/N 间无相关关系,表明了土壤酶化学计量与土壤元素计量比存在一定的对应关系,这与本文科学假设基本(2)一致,但与 Xu 等<sup>[50]</sup>研究结果不一致。可能是土壤养分比土壤环境因子(如:温度、水分)对生态酶化学计量的影响更为强烈,从而加强了生态酶化学计量比和土壤化学计量比之间的联系<sup>[51-52]</sup>。

#### 4 结论

杉木人工林生态系统中凋落物添加和移除后的土壤 C、N、P 水解酶活性与对照处理间存在显著差异。土壤 C、N、P 水解酶活性随土层深度的加深而降低。亚热带地区杉木人工林土壤受 P 限制,而凋落物添加在一定程度上缓解了土壤磷限制,相反,凋落物移除因降低磷归还量,可能加重了土壤磷缺乏。该差异表明磷可能是驱动土壤生态酶化学计量比内在联系的关键因子。土壤 SMC、SOC 和有效氮含量是驱动土壤酶活性和改变酶化学计量比的关键因子,表明生态酶化学计量比可作为表征土壤当前养分有效性状况的重要指标,因此,在杉木人工林经营管理过程中,应长期注重水分、SOC 和土壤氮磷有效性的管理。本研究结果可为亚热带杉木人工林土壤养分管理和可持续经营提供科学的理论依据。

**致谢:**感谢中国科学院千烟洲生态试验站对野外工作的帮助。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Sinsabaugh R L, Hill B H, Shah J J F. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 2009, 462(7274): 795-798.
- [ 2 ] Hamido S A, Kpombekou-A K. Cover crop and tillage effects on soil enzyme activities following tomato. *Soil and Tillage Research*, 2009, 105(2): 269-274.
- [ 3 ] 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.
- [ 4 ] Cui Y X, Fang L C, Deng L, Guo X B, Han F, Ju W L, Wang X, Chen H S, Tan W F, Zhang X C. Patterns of soil microbial nutrient limitations and their roles in the variation of soil organic carbon across a precipitation gradient in an arid and semi-arid region. *Science of the Total Environment*, 2019, 658: 1440-1451.
- [ 5 ] Sinsabaugh R L, Shah J J F. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43(1): 313-343.
- [ 6 ] Allison V J, Condon L M, Peltzer D A, Richardson S J, Turner B L. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(7): 1770-1781.
- [ 7 ] Baldrian P, Šnajdr J, Merhautová V, Dobiášová P, Cajthaml T, Valášková V. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 56: 60-68.
- [ 8 ] Bell C, Carrillo Y, Boot C M, Rocca J D, Pendall E, Wallenstein M D. Rhizosphere stoichiometry: are C:N:P ratios of plants, soils, and enzymes conserved at the plant species - level? *New Phytologist*, 2014, 201(2): 505-517.
- [ 9 ] 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.
- [ 10 ] 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.
- [ 11 ] Fox T R. Sustained productivity in intensively managed forest plantations. *Forest Ecology and Management*, 2000, 138(1/3): 187-202.
- [ 12 ] Chevasco E D, Minogue P J, Mackowiak C, Comerford N B. Fertilization and pine straw raking in slash pine plantations: P removals and effects on total and mobile soil, foliage and litter P pools. *Forest Ecology and Management*, 2016, 376: 310-320.
- [ 13 ] Wang Y D, Wang H M, Ma Z Q, Dai X Q, Wen X F, Liu Y F, Wang Z L. The litter layer acts as a moisture-induced bidirectional buffer for

- atmospheric methane uptake by soil of a subtropical pine plantation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 66: 45-50.
- [14] Leff J W, Wieder W R, Taylor P G, Townsend A R, Nemergut D R, Grandy A S, Cleveland C C. Experimental litterfall manipulation drives large and rapid changes in soil carbon cycling in a wet tropical forest. *Global Change Biology*, 2012, 18(9): 2969-2979.
- [15] Sheldrake M, Rosenstock N P, Revillini D, Olsson P A, Mangan S, Sayer E J, Wallander H, Turner B L, Tanner E V J. Arbuscular mycorrhizal fungal community composition is altered by long - term litter removal but not litter addition in a lowland tropical forest. *New Phytologist*, 2017, 214(1): 455-467.
- [16] Zhao Q, Classen A T, Wang W W, Zhao X R, Mao B, Zeng D H. Asymmetric effects of litter removal and litter addition on the structure and function of soil microbial communities in a managed pine forest. *Plant and Soil*, 2017, 414(1/2): 81-93.
- [17] Kotrocó Z, Veres Z, Fekete I, Krakomperger Z, Tóth J A, Lajtha K, Tóthmérész B. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 237-243.
- [18] Huang W J, Spohn M. Effects of long-term litter manipulation on soil carbon, nitrogen, and phosphorus in a temperate deciduous forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 12-18.
- [19] 马雪华. 降雨在杉木和马尾松人工林养分循环中的作用. *林业科学研究*, 1988, 1(2): 123-131.
- [20] 杨洋, 王继富, 张心昱, 李丹丹, 王辉民, 陈伏生, 孙晓敏, 温学发. 凋落物和林下植被对杉木林土壤碳氮水解酶活性的影响机制. *生态学报*, 2016, 36(24): 8102-8110.
- [21] Fujita K, Miyabara Y, Kunito T. Microbial biomass and ecoenzymatic stoichiometries vary in response to nutrient availability in an arable soil. *European Journal of Soil Biology*, 2019, 91: 1-8.
- [22] 邵全琴, 杨海军, 刘纪远, 黄麟, 陈卓奇. 基于树木年轮信息的江西千烟洲人工林碳蓄积分析. *地理学报*, 2009, 64(1): 69-83.
- [23] Yang Y, Zhang X Y, Zhang C, Wang H M, Fu X L, Chen F S, Wan S Z, Sun X M, Wen X F, Wang J F. Understory vegetation plays the key role in sustaining soil microbial biomass and extracellular enzyme activities. *Biogeosciences*, 2018, 15(14): 4481-4494.
- [24] 中国生态系统研究网络科学委员会. 陆地生态系统土壤观测规范. 北京: 中国环境科学出版社, 2007.
- [25] 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.
- [26] Fekete I, Varga C, Kotrocó Z, Tóth J A, Várbíró G. The relation between various detritus inputs and soil enzyme activities in a Central European deciduous forest. *Geoderma*, 2011, 167-168: 15-21.
- [27] Veres Z, Kotrocó Z, Fekete I, Tóth J A, Lajtha K, Townsend K, Tóthmérész B. Soil extracellular enzyme activities are sensitive indicators of detrital inputs and carbon availability. *Applied Soil Ecology*, 2015, 92: 18-23.
- [28] 魏翠翠, 刘小飞, 林成芳, 李先锋, 李艳, 郑裕雄. 凋落物输入改变对亚热带两种米楮次生林土壤酶活性的影响. *植物生态学报*, 2018, 42(6): 692-702.
- [29] Weintraub S R, Wieder W R, Cleveland C C, Townsend A R. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest. *Biogeochemistry*, 2013, 114(1/3): 313-326.
- [30] Lajtha K, Townsend K L, Kramer M G, Swanston C, Bowden R D, Nadelhoffer K. Changes to particulate versus mineral-associated soil carbon after 50 years of litter manipulation in forest and prairie experimental ecosystems. *Biogeochemistry*, 2014, 119(1/3): 341-360.
- [31] Zhou Z H, Wang C K, Jin Y. Stoichiometric responses of soil microflora to nutrient additions for two temperate forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(4): 397-406.
- [32] 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.
- [33] 李建军, 刘恋, 陈迪马, 许丰伟, 程军回, 白永飞. 底座入土深度和面积对典型草原土壤呼吸测定结果的影响. *植物生态学报*, 2019, 43(2): 152-164.
- [34] Brockett B F T, Prescott C E, Grayston S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1): 9-20.
- [35] 桂慧颖, 李雪江, 王景燕, 龚伟, 黄帅, 唐海龙, 周于波. 温度和水分对华西雨屏区毛竹林土壤氮矿化的影响. *四川农业大学学报*, 2018, 36(6): 758-764.
- [36] 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.
- [37] 赵静. 氮添加与凋落物对土壤微生物和酶活性的影响. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [38] 舒媛媛, 黄俊胜, 赵高卷, 包维楷, 李根前, 庞学勇. 青藏高原东缘不同树种人工林对土壤酶活性及养分的影响. *生态学报*, 2016, 36(2): 394-402.
- [39] Zechmeister-Boltenstern S, Keiblinger K M, Mooshammer M, Peñuelas J, Richter A, Sardans J, Wanek W. The application of ecological

- stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations. *Ecological Monographs*, 2015, 85(2): 133-155.
- [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] 吴传敬, 郭剑芬, 许恩兰, 贾淑娴, 吴东梅. 采伐残余物不同处理方式对杉木幼林土壤有机碳组分和相关酶活性的影响. *土壤学报*, 2019, 56(6): 1504-1514.
- [42] 哈文秀, 周金星, 庞丹波, 关颖慧, 崔明. 岩溶区不同恢复方式下土壤有机碳组分及酶活性研究. *北京林业大学学报*, 2019, 41(2): 1-11.
- [43] 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.
- [44] Vitousek P M, Farrington H. Nutrient limitation and soil development: experimental test of a biogeochemical theory. *Biogeochemistry*, 1997, 37(1): 63-75.
- [45] 袁萍, 周嘉聪, 张秋芳, 曾晓敏, 鲍勇, 高颖, 高金涛, 司友涛, 陈岳民, 杨玉盛. 中亚热带不同森林更新方式生态酶化学计量特征. *生态学报*, 2018, 38(18): 6741-6748.
- [46] Feng J, Turner B L, Wei K, Tian J H, Chen Z H, Lü X T, Wang C, Chen L J. Divergent composition and turnover of soil organic nitrogen along a climate gradient in arid and semiarid grasslands. *Geoderma*, 2018, 327: 36-44.
- [47] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, Wang X, Zhang Y J, Li P F, Zhang X C. Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation in rhizosphere soil in the arid area of the northern Loess Plateau, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 116: 11-21.
- [48] Waring B G, Weintraub S R, Sinsabaugh R L. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils. *Biogeochemistry*, 2014, 117(1): 101-113.
- [49] 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): 1887-1896.
- [50] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, He N P, Wang Q F, Wang S Z, Wang R L, Zhao N, Jia Y L, Wang C Y. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in eastern China (NSTEC). *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 152-163.
- [51] Feng J, Wei K, Chen Z H, Lü X T, Tian J H, Wang C, Chen L J. Coupling and decoupling of soil carbon and nutrient cycles across an aridity gradient in the drylands of northern China: evidence from ecoenzymatic stoichiometry. *Global Biogeochemical Cycles*, 2019, 33(5): 559-569.
- [52] Ushio M, Balsler 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.