DOI: 10.5846/stxb202010272751

王丽君,程瑞梅,肖文发,沈雅飞,曾立雄,杨邵,孙鹏飞,陈天.三峡库区马尾松人工林土壤酶活性和微生物生物量对氮添加的季节性响应.生态学报,2021,41(24):9857-9868.

Wang L J, Cheng R M, Xiao W F, Shen Y F, Zeng L X, Yang S, Sun P F, Chen T.Seasonal responses of soil enzyme activities and microbial biomass to nitrogen addition at different levels in *Pinus massoniana* plantation in the Three Gorges Reservoir area. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(24):9857-9868.

三峡库区马尾松人工林土壤酶活性和微生物生物量对 氮添加的季节性响应

王丽君¹,程瑞梅^{1,2,*},肖文发^{1,2},沈雅飞^{1,2},曾立雄^{1,2},杨 邵¹,孙鹏飞¹,陈 天¹ 1中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,国家林业和草原局森林生态环境重点实验室,北京 100091 2南京林业大学南方现代林业协同创新中心,南京 210037

摘要:以三峡库区马尾松人工林为对象,分析土壤微生物生物量、酶活性和养分含量对氦添加的初期响应规律,为预测该地区在 大气氦沉降持续增加的背景下森林土壤的季节动态提供参考。结果表明:氦添加初期,中氦水平(60 kg hm⁻² a⁻¹)的氦添加处理 使得各季节土壤β-1-4葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶、多酚氧化酶、过氧化物酶活性均增加,高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平的添加处理增加了土壤有机碳、全氮和微生物生物量碳、氮、磷的含量和酸性磷酸酶及多酚氧化酶活性,降低了土 壤pH值、全磷含量和β-1-4葡萄糖苷酶及N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性。土壤酶活性和微生物生物量存在明显的季节变化,秋 季水解酶活性和微生物生物量碳、磷含量显著高于春夏两季,而氧化酶活性和微生物生物量氮含量则是春夏季较高。土壤酶活 性与季节、土壤含水量、养分含量及微生物生物量碳氮磷含量存在显著的相关性,酶活性变化是多因子综合作用的结果,冗余分 析表明土壤含水量、微生物生物量碳、氮、磷和全氮是驱动土壤酶活性的主要环境因子。氮沉降的持续增加会加速当地马尾松 人工林土壤腐殖质的形成,增加有机碳的积累,导致土壤酸化,并产生磷限制。 **关键词**:氦添加;酶活性;微生物生物量;马尾松人工林;三峡库区

Seasonal responses of soil enzyme activities and microbial biomass to nitrogen addition at different levels in *Pinus massoniana* plantation in the Three Gorges Reservoir area

WANG Lijun¹, CHENG Ruimei^{1,2,*}, XIAO Wenfa^{1,2}, SHEN Yafei^{1,2}, ZENG Lixiong^{1,2}, YANG Shao¹, SUN Pengfei¹, CHEN Tian¹

1 Key Laboratory of Forest Ecology and Environment, National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: Anthropogenic nitrogen (N) enrichment is a concern worldwide, as it affects almost every aspect of ecosystem function and composition. Many nitrogen (N) addition experiments have been well documented to decrease plant biodiversity across various terrestrial ecosystems. However, such generalizations about the impacts of nitrogen addition on soil enzyme activities and microbial biomass are lacking, especially in the Three Gorges Reservoir area, as a key sensitive ecological barrier of the middle and lower reaches of the Yangtze River. Therefore, we conducted nitrogen addition experiments in February 2019 in *Pinus massoniana* plantation in the Three Gorges Reservoir area of subtropical China. Soil

基金项目:中国林科院基本科研业务费专项 (CAFYBB2021ZE003);十三五国家重点研发计划(2016YFD0600204)

收稿日期:2020-10-27; 网络出版日期:2021-08-05

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

samples were collected from three control plots (N_{CK}) , three low-nitrogen addition plots (N_{low}) , three middle-nitrogen addition plots (N_{middle}), three high-nitrogen addition plots (N_{high}) in May, August and November, 2019. We studied the soil enzyme activities, microbial biomass and nutrient content in response to nitrogen addition, which provided a theoretical basis for predicting soil seasonal dynamics in an increasing atmospheric nitrogen deposition background in the Three Gorges Reservoir area. The results show that, in the early stage of nitrogen addition, the medium nitrogen (60 kg hm⁻² a⁻¹) treatment increased the activities of β-1-4 glucosidase (BG), N-acetylglucosaminosidase (NAG), acid phosphatase (AP), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD); the high nitrogen (90 kg hm⁻² a^{-1}) treatment increased the contents of soil organic carbon, total nitrogen, microbial biomass carbon (MBC), nitrogen (MBN), phosphorus (MBP), and the activities of AP, PPO, while decreased the soil pH, total phosphorus content and the activities of BG and NAG. There were significantly seasonal differences between soil enzyme activities and microbial biomass. Hydrolase activities, MBC and MBP contents in autumn were significantly higher than those in spring and summer, while oxidase activities and MBN contents were higher in spring and summer. Soil enzyme activities were significantly correlated with season, soil moisture content, soil nutrient, MBC, MBN, MBP. The change of soil enzyme activities is due to the comprehensive action of multiple factors. Redundancy analysis (RDA) showed that soil moisture content, MBC, MBN, MBP and total N greatly accounted for the variation in soil enzyme activities. The increasing nitrogen deposition will accelerate the formation of soil humus, increase organic carbon accumulation, lead to soil acidification, and produce phosphorus limitation in the local Pinus massoniana plantation.

Key Words: nitrogen addition; enzyme activities; microbial biomass; *Pinus massoniana* plantation; Three Gorges Reservoir area

在 20 世纪里,粮食和能源生产以及其他人类活动使大气中的氮沉降增加了 3 到 5 倍,氮沉降增加已成为 全球变化的重要现象之一。目前我国已成为第三大氮沉降区,年总沉降均值约为 21.1 kg hm⁻² a⁻¹,且仍将继 续增长^[1]。氮沉降的增加改变了土壤生态系统物质输入,对植物净初级生产力的提高和土壤固碳具有一定 的贡献,但同时也导致植物多样性的丧失,加速了土壤酸化^[2-3],并对参与碳氮磷循环关键过程的酶活性产生 显著影响^[4-5]。

目前,关于氮添加对酶活性的影响研究多集中在北方和温带森林,且结果存在差异^[6-11]。研究表明,氮添 加显著提高了温带森林生态系统和农田生态系统氮循环水解酶 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶和 酸性磷酸酶活性,但是对于热带和沙漠生态系统则影响不显著^[6]。吕来新等^[7]研究发现氮添加提高了温带 红松林土壤 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性,而对酸性磷酸酶、β-1-4 葡萄糖苷酶活性无显著影响。多数研究表 明,氮沉降通过抑制与氧化酶合成和分泌有关的真菌(如白腐真菌、丛枝菌根真菌)的活性,从而使其活性也 下降^[8-10]。但张艺等^[4]、周嘉聪等^[11]发现氮添加显著促进了土壤氧化酶活性,且低氮水平(50 kg hm⁻² a⁻¹)添 加比高氮水平(150 kg hm⁻² a⁻¹)添加的促进作用更为明显。研究表明土壤养分有效性可能是各地研究结果 差异的主要原因^[12],整合分析也表明不同生态系统类型,林分类型、氮肥类型、施肥速率和时间都对土壤酶活 性具有影响^[6,13]。相比于温带森林,亚热带森林土壤的有效氮相对富集^[14],养分循环较快,对氮沉降的响应 可能更加剧烈^[11]。因此,研究氮沉降增加对亚热带森林土壤酶活性和微生物生物量的影响十分必要。

三峡库区作为我国重点敏感生态区和长江中下游的生态屏障,大气氮沉降通量已达到约 30 kg hm⁻² a⁻¹, 超过了我国氮沉降平均值,属于高氮沉降地区^[15],库区有大面积的马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)人工 林^[16]。氮沉降的持续增加对土壤微生物的扰动势必会影响土壤的养分循环,而目前有关大气氮沉降增加对 三峡库区马尾松人工林土壤酶活性和微生物生物量的影响研究鲜有报道,影响机制也尚未明晰。基于此,本 研究以亚热带三峡库区马尾松人工林为对象,研究土壤酶活性、微生物生物量和养分含量对氮添加的初期响 应规律,为预测该地区在大气氮沉降持续增加背景下森林土壤养分循环的响应提供依据。

1 研究区域与研究方法

1.1 研究区概况

研究区域位于湖北省秭归县茅坪镇泗溪村,地处于 30°46′N,110°55′E,平均海拔 825 m,平均坡度 20°,属 于亚热带大陆性季风气候,四季分明,年平均气温 14—22℃,年平均降水量 1400 mm,降水集中于每年的 4—9 月。研究区内马尾松林为 20 世纪 80 年代飞播造林,平均树龄 40 a,平均树高 16.96 m,平均胸径 18.3 cm,平 均密度 675 株/hm²,样地内林木分布均匀。土壤类型主要有黄棕壤、紫色土等,土壤深度约 40 cm。植被以天 然植被为主,林下伴生灌木植物主要有:茶(*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze)、细齿叶柃(*Eurya nitida* Korthals)、紫金牛(*Ardisia japonica* (Thunb) Blume)、宜昌荚蒾(*Viburnum erosum* Thunb.)等;草本植物有:黑足 鳞毛蕨(*Dryopteris fuscipes* C.Chr.)、鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)和千里光(*Senecio scandens* Buch.Ham.ex D.Don)等^[17]。

1.2 试验设计

以马尾松人工林为研究对象,根据当地大气氮沉降 背景值(30 kg hm⁻² a⁻¹)^[16],通过定位氮添加的方式,设 置 4 个不同浓度梯度的氮处理,对照处理 N_{对照}(0 kg hm⁻² a⁻¹),低氮处理 N_低(30 kg hm⁻² a⁻¹),中氮处理 N_中 (60 kg hm⁻² a⁻¹),高氮处理 N_高(90 kg hm⁻² a⁻¹)。在马 尾松人工林内设置 3 块 20 m ×20 m 的样地,在每块样 地内设置 4 个 2 m ×2 m 的样方,样方之间设 10 m 缓冲 带(具体样地设置见图 1),样方边缘用 PVC 板进行隔 离,PVC 板插入土壤深度为 20 cm,共计 12 个样方。将 NH₄NO₃的年施用量平均分成 12 等份,从 2019 年 2 月 起,每月初进行定量氮添加处理:将 NH₄NO₃溶解于 2 L 水中,用喷雾器在样方内均匀喷洒,对照组则喷洒相同 量的清水^[18-19]。



图 1 氮添加实验样方示意图 Fig.1 Schematic diagram of nitrogen addition experiment

1.3 土壤样品采集分析

分别在氮添加 3(2019 年 5 月)、6(2019 年 8 月)、

9(2019年11月)个月后,在下次氮添加之前,在每个样方内随机选择5点,用土钻(内径为5 cm)采集0—20 cm的土壤,混合均匀后放入保温箱内带回实验室。一部分过2 mm 筛后置4℃冰箱里用来测定土壤酶活性、微生物生物量碳、微生物生物量氮和微生物生物量磷,一部分室内风干后过2 mm 和0.149 mm 筛后用于土壤 pH、有机碳、全氮、全磷的测定。

本研究共测定了 3 种水解酶活性,分别是 β-1-4 葡萄糖苷酶(BG)、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、酸性 磷酸酶(AP),三者分别在土壤多糖类物质的水解过程和氨基酸物质的降解过程及有机磷的分解过程中起到 了重要促进作用,是土壤碳、氮、磷转化的重要参与者^[7],2 种氧化酶活性,多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶 (POD),二者是土壤氧化还原反应的主要参与者,直接制约土壤有机质的分解^[9]。土壤酶活性测定参照 Saiya-Cork 等^[20]的方法,用伞形酮(MUB)作为底物标示水解酶 BG、AP、NAG 活性,用 L-二羟苯丙氨酸 (DOPA)为底物标示氧化酶 PPO、POD 活性。用多功能酶标仪测定荧光度(水解酶)或吸光度(氧化酶)。采 用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法测定土壤微生物生物量碳(MBC)、微生物生物量氮(MBN),氯仿熏蒸-NaHCO₃浸提 法测定微生物生物量磷(MBP),电极法测定土壤 pH 值(水土比 2.5:1.0, pH211 酸度计)。高温外热重铬酸钾 氧化-容重法测定土壤有机碳(SOC),凯氏定氮法测定全氮(TN),利用钼锑抗比色法测定全磷(TP),烘干法 测定土壤含水量(SMC)。

1.4 数据分析

采用 Excel 2016 统计处理数据,用 SPSS 24.0 软件中的单因素方差分析(one-way ANONA)的最小显著差法(LSD)检验各项指标之间的差异显著性(P<0.05);用双因素方差分析(two-way ANOVA)分析氮添加和季节是否存在交互作用,用 Pearson 相关系数和逐步回归分析探索土壤酶活性与理化性质、微生物生物量之间的关系;用 Canoco 5.0 软件,以 5 种酶活性为响应变量,以土壤理化性质及微生物生物量为解释变量做冗余分析(RDA)。绘图由 Origin 9.1 软件完成。

2 结果分析

2.1 不同水平氮添加对土壤理化性质的季节性影响

土壤含水量受季节的显著影响(图 2),秋季样地土壤含水量总体上显著低于春季和夏季(P<0.05),这与 当地降水主要集中于每年的 4—9月有关。土壤 pH 值和全磷含量随着氮添加水平的提高先增加后下降,整 体呈现 N_低>N_{对照}>N_中>N_高,夏季>秋季>春季的特征。土壤有机碳在春季随着氮添加水平的提高持续增加,在 夏季和秋季则先下降后增加,全氮含量在各个季节对氮添加的响应均表现为先下降后上升,与对照相比,N_高 处理使得土壤有机碳、全氮含量均增加,秋季含量略高于春夏两季,但差异不显著(P>0.05)。整体来看,在短 期氮添加背景下,季节、施氮及其交互作用对土壤 pH 值、有机碳、全氮、全磷含量影响不显著(P>0.05),但低





Fig.2 Effects of nitrogen addition at different levels on soil physical and chemical properties

不同大写字母表示同一氮水平不同月份间差异显著,不同小写字母表示同一月份不同氮水平间差异显著(P<0.05);图中数据为平均值±标 准差(n=3);**表示 P<0.01,ns 表示 P>0.05

氮(30 kg hm⁻² a⁻¹)水平添加整体上增加了土壤 pH 值和全磷含量,高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平添加增加了土壤 有机质、全氮含量,降低了土壤 pH 值和全磷含量。

2.2 不同水平氮添加对土壤酶活性的季节性影响

2.2.1 土壤水解酶活性变化

BG 活性受季节(P<0.01)和施氮(P<0.05)的显著影响(图 3),呈现秋季>夏季>春季的特征,春季 N_低和 N_中处理均提高了 BG 活性, N_高处理降低了 BG 活性。夏季和秋季, N_中处理均使得 BG 活性增加,而 N_低和 N_高处理使得 BG 活性下降。NAG 的活性受季节的显著影响(P<0.01),呈现秋季>春季>夏季的特征,且各季节均 表现出 N_中处理使得 NAG 活性增加, N_低和 N_高处理使得 NAG 活性下降。AP 活性受季节(P<0.01)和施氮(P<0.05)的显著影响,呈现秋季>春季>夏季的特征,各季节土壤 AP 活性在 N_低处理下均有所下降,在 N_中和 N_高处 理下均增加。

总体来看,土壤水解酶活性存在显著的季节差异,即秋季显著高于春季和夏季(P<0.05)。各季节土壤酶 活性对不同水平氮添加处理的响应不一致,低氮水平(30 kg hm⁻² a⁻¹)的添加使得土壤 NAG、AP 活性均下降, 高氮水平(90 kg hm⁻² a⁻¹)的添加提高了各季节 AP 活性,抑制了 BG 和 NAG 的活性,而中氮水平(60 kg hm⁻² a⁻¹)的氮添加处理使得各季节土壤 BG、NAG、AP 活性均增加。



图 3 不同水平氮添加对土壤水解酶活性的影响



不同大写字母表示同一氮水平不同月份间差异显著,不同小写字母表示同一月份不同氮水平间差异显著(P<0.05);图中数据为平均值±标 准差(n=3);*,**分别表示 P<0.05 和 P<0.01, ns 表示 P>0.05

2.2.2 土壤氧化酶活性变化

各季节 PPO 活性均呈现随氮添加水平的提高先上升后下降的趋势(图4)。其中,春季 N_低水平处理使得 PPO 活性增加到最大,夏季和秋季 N_中水平处理使得土壤 PPO 活性增加到最大,与 N_{对照}相比,PPO 活性分别 增加了 36.0%和 43.0%。春季和夏季 N_中处理使得 POD 活性增加,N_低和 N_高处理则使得土壤 POD 活性下降, 秋季各水平氮添加处理均使得 POD 活性上升,且 POD 活性随氮添加水平的提高而增加。整体来看,在短期 氮添加背景下,施氮对 PPO 和 POD 活性的影响没有达到显著水平(*P*>0.05),但不同水平氮添加处理均提高 了各季节土壤 PPO 活性,表现为随氮添加水平的提高先上升后下降,中氮(60 kg hm⁻² a⁻¹)水平的氮添加处理 使得各季节土壤 POD 活性均增加。PPO 和 POD 活性均呈春季>夏季>秋季的特征,其中 PPO 活性受季节的 显著影响差异较大(P<0.05),而 POD 活性季节间差异不显著(P>0.05)。







2.3 不同水平氮添加对土壤微生物生物量的季节性影响

土壤 MBC、MBN 含量对氮添加的季节响应表现一致(图 5)。春季,各水平氮添加处理均使得 MBC、MBN 含量增加,且随氮添加水平的提高呈现先增加后下降的趋势,其中 $N_{\rm p}$ 处理增加最为显著,分别达到 30.5%、 37.7%。夏季, $N_{\rm ft}$ 和 $N_{\rm p}$ 处理使得 MBC、MBN 含量分别下降 39.3%、34.7%和 20.9%、27.3%,而 $N_{\rm g}$ 处理使得 MBC、MBN 含量增加。秋季, $N_{\rm ft}$ 处理使得 MBC、MBN 含量下降,而 $N_{\rm p}$ 和 $N_{\rm g}$ 处理使得其含量略有增加,变化 均不显著(P>0.05)。各季节土壤 MBP 含量对氮添加的响应一致,均表现为 $N_{\rm ft}$ 和 $N_{\rm p}$ 处理使得 MBP 含量显 著下降(P<0.05), $N_{\rm g}$ 处理使得 MBP 含量上升。



图 5 不同水平氮添加对土壤微生物生物量的影响



* * 表示 P<0.01

整体来看,土壤 MBC、MBN 含量受季节的显著影响(P<0.01),分别呈现出秋季>春季>夏季,夏季>春季> 秋季的特征,MBP 含量呈现秋季>夏季>春季的特征,氮添加整体上没有改变这种季节差异,但高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平的添加处理使得各季节土壤微生物生物量碳、氮、磷的含量都上升。

2.4 土壤酶活性与微生物生物量及环境因子的关系

相关性分析可知(表 1),BG、NAG 活性均与全氮(P<0.05)、MBC(P<0.01)和 MBP(P<0.05,P<0.01)存在显著正相关,与 MBN(P<0.05)和土壤含水量(P<0.01)存在显著负相关。AP 活性与 MBC、MBP 存在极显著正相关(P<0.01),与 MBN 和土壤含水量存在极显著负相关(P<0.01)。PPO 活性与 MBN 存在显著正相关(P<0.05),POD 活性与 MBN(P<0.05)和全磷(P<0.01)存在显著正相关。除了 POD 外,其余4种酶活性均与季节存在极显著相关性(P<0.01),说明季节变化可能是酶活性变化的主要因素之一。此外,土壤全磷含量与氮添加水平存在显著负相关(P<0.05)。整体来看,土壤水解酶活性与土壤含水量,全氮、微生物生物量碳氮磷含量相关性较高,氧化酶活性和微生物生物量氮和全磷含量相关性较高。

表1 土壤酶活性、微生物生物量和土壤环境因子的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of soil enzyme activity, microbial biomass and soil envir	vironmental factors
--	---------------------

指标 Indices	季节 Season	氮 Nitrogen	рН	BG	AP	NAG	PPO	POD	MBC	MBN	MBP	SOC	TN	SMC
рН	0.092	-0.234	1											
BG	0.598 **	-0.111	0.037	1										
AP	0.549 **	0.168	-0.085	0.622 **	* 1									
NAG	0.581 **	-0.070	0.032	0.759 **	0.870 *	* 1								
PPO	-0.888 **	0.039	0.091	-0.410 *	-0.344 *	-0.379 *	1							
POD	-0.280	-0.011	0.180	-0.037	-0.154	-0.097	0.453 *	1						
MBC	0.298	0.145	0.014	0.457 **	• 0.709 *	* 0.687 *	* -0.099	0.159	1					
MBN	-0.440 **	0.140	0.114	-0.413 *	-0.437 *	* -0.345 *	0.376 *	0.406 *	0.038	1				
MBP	0.294	0.154	-0.368 *	0.354 *	0.479 *	* 0.495 *	* -0.260	0.067	0.583 **	0.169	1			
SOC	0.012	0.146	-0.498 *	* 0.242	0.102	0.213	0.013	0.307	0.417 *	0.182	0.571 **	1		
TN	0.334 *	0.095	-0.269	0.364 *	0.272	0.386 *	-0.266	0.195	0.574 **	0.128	0.641 **	0.861 **	1	
SMC	-0.484 **	0.054	-0.294	-0.529 **	* -0.676 *	* -0.626 *	* 0.240	0.150	-0.327	0.556 *	*-0.109	0.267	0.126	1
TP	0.019	-0.359 *	0.647 *	* -0.037	-0.275	-0.119	0.160	0.510 *	* 0.040	0.143	-0.251	0.049	0.160	-0.001

BG:β-1-4 葡萄糖苷酶 β-1-4 glucosidase;NAG:N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 N-acetylglucosaminosidase;AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase;PPO:多酚氧化酶 Polyphenol oxidase;POD;过氧化物酶 Peroxidase;MBC:微生物生物量 Microbial biomass carbon;MBN:微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen;MBP:微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus;SOC:土壤含水量 Soil moisture content;**表示在 0.01 水 平上相关性显著,*表示在 0.05 水平上相关性显著

以 5 种酶活性为响应变量,以土壤理化性质及微生物生物量为解释变量进行逐步回归分析和冗余分析 (表 2,图 6),可以看出,土壤含水量和全氮共同解释了 BG 活性 46.8%的变异,MBC 和土壤含水量共同解释了 NAG 活性 65.3%的变异,以 MBC、MBN、土壤含水量和全磷为主的因子共同解释了 AP 活性变化的 84.5%, MBN 和 MBP 共同解释了 PPO 活性变化的 24.9%,MBN 和全磷则共同解释了 POD 活性 37.3%的变异。两轴 共同解释了土壤酶活性变异的 59.08%,且土壤含水量、MBC、MBN、MBP 和全氮是解释度较高的 5 个环境因 子,其中,土壤含水量与 MBC 分别解释了土壤酶活性变异的 28.1%和 26%(P<0.05)。可见氮沉降背景下,土 壤酶活性的变异是多因子综合作用的结果,不同酶活性变异的主导因子不同。

3 讨论

3.1 不同水平氮添加对土壤理化性质的季节性影响

三峡库区降水主要集中于每年的4—9月份,因此秋季样地土壤含水量总体上显著低于春季和夏季(图 2)。氮添加会通过抑制稳定性碳的分解,减少土壤碳输出,同时促进土壤腐殖质及稳定性碳的形成来增加有 机碳的积累^[21-23]。在氮添加下,土壤通过 N₂O 排放、NO₃淋溶等途径产生的氮损失不足以抵消氮输入的增加,从而表现出氮素的累积效应^[24],而过量的氮素在土壤中因硝化作用转化成硝酸盐,形成 H⁺,导致了土壤酸化^[25]。本研究中,高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平添加增加了土壤有机碳、全氮含量,降低了土壤 pH 值,与前人结论一致^[26]。周纪东等^[27]研究发现,随着施氮强度的增加,土壤中全磷的含量下降,本研究同样发现,中氮和高氮处理导致马尾松人工林土壤全磷含量递减(图 2),可能是由于中高氮水平处理提高了磷循环速率,促进了土壤酸性磷酸酶的活性(图 3),从而从土壤中释放出磷酸盐^[28]。此外,马尾松为外生菌根树种,大气氮沉降可改善马尾松的氮素营养,增加菌根作用的有效性,提高菌根共生对苗木生长发育的促进程度,诱发菌根通过增加马尾松根系对土壤磷的吸收和利用,改善植株磷素营养,进而导致土壤中磷含量下降^[29]。相关性分析也表明,土壤全磷含量与氮添加水平存在显著负相关(*P*<0.05)(表 1)。由于本研究处于氮添加初期阶段,不同氮水平处理对土壤 pH 值、有机碳、全氮和全磷含量的影响没有形成显著的季节间差异,氮添加对土壤有机碳、全氮含量的增加,对 pH 和全磷含量的降低,虽未达到显著水平,但也预测了氮沉降的增加可能会导致当地马尾松人工林土壤酸化,并引起磷限制^[30-31]。

Table 2	Regression analysis model of soil enzyme activity and	microbial biomass, soil environm	iental factors
酶活性 Enzyme activity	回归方程 Regression Equation	R^2	Р
BG	$y = 122.54 - 347.10x_4 + 113.43x_6$	0.468	< 0.001
NAG	$y = 50.12 + 0.08x_1 - 116.28x_4$	0.653	< 0.001
AP	$y = 380.22 + 0.39x_1 - 0.71x_2 - 409.73x_4 - 0.35 x_7$	0.845	< 0.001
PPO	$y = 1207.47 + 11.62x_2 - 23.74x_3$	0.249	0.009
POD	$y = 4803.81 + 42.03x_2 + 23.76x_7$	0.373	0.001

表 2	土壤酶活性与微生物生物量及土壤环境因子的回归分析模型

*x*₁:微生物生物量碳 Microbial biomass carbon, *x*₂:微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen, *x*₃:微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus, *x*₄:土壤含水量 Soil moisture content, *x*₅:土壤有机碳 Soil organic carbon, *x*₆:全氮 Total nitrogen, *x*₇:全磷 Total phosphorus, *y*:土壤酶活性 Soil enzyme activity

3.2 不同水平氮添加对土壤酶活性的季节性影响

一般认为,土壤微生物生产酶遵循经济学原则,氮添加减少了微生物对氮的需求,转而增加对碳、磷的需求,因而使得氮水解酶 NAG 活性下降,碳、磷水解酶 BG、AP 活性升高^[31]。但是,经济学原则并非适用于所有森林系统,如有研究表明,氮添加抑制了温带地区土壤中碳、氮、磷水解酶活性^[32],但却显著提高了亚热带地区土壤水解酶活性^[6,11,13],可见氮添加对土壤水解酶活性的影响结果因地域类型、林分的不同存在较大差异^[33]。本文发现,低氮水平(30 kg hm⁻² a⁻¹)和高氮水平(90 kg hm⁻² a⁻¹)的添加使得 BG 和 NAG 的活性下降,而中氮水平(60 kg hm⁻² a⁻¹)的氮添加处理却使得各季节土壤 BG、NAG、AP 活性均增加,这与陈倩妹等人的研究结果相似,可能是由于中氮水平是增加当地马尾松人工林土壤有效氮的最适浓度,在此水平下,土壤水解酶 BG 和 NAG 的活性达到最大,低于或者高于此浓度,酶活性均会下降,这有待进一步验证^[34:35]。

多酚氧化酶和过氧化物酶是土壤氧化还原反应的主要参与者,直接制约土壤有机质的分解。PPO 能够 氧化酚类化合物中的苯环,POD 能够氧化木质素大分子得到简单的酚类,并能反映土壤的腐殖化和有机化的 程度^[9]。多数研究中,氮添加抑制了森林土壤氧化酶的活性,主要是因为氮添加抑制了与其合成和分泌有关 的真菌(如白腐真菌、丛枝菌根真菌)的活性,从而使其活性也下降^[8-10,36]。但本文发现,中氮(60 kg hm⁻² a⁻¹) 水平的氮添加处理使得各季节土壤 POD 活性均增加,不同水平的氮添加处理均增加了各季节土壤 PPO 的活 性,可见氮添加对土壤氧化酶活性的影响并不都是负效应。事实上,白腐真菌并不是唯一一种和多酚氧化酶 活性相关的生物,而且其他生物对氮沉降增加的响应可能与白腐真菌差异很大,如一些软腐真菌在氮沉降增 加时,多酚氧化酶活性明显提高^[37-38]。还有研究发现,环境中氮有效性的高低使得氮添加对氧化酶活性的影 响不同,在不同林型中甚至得到相反的结果,如研究发现,施氮1年后,在黑橡和白橡混交林中,多酚氧化酶活



图 6 土壤酶活性与微生物生物量及环境因子的冗余分析



BG:β-1-4 葡萄糖苷酶 β-1-4 glucosidase;NAG:N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 N-acetylglucosaminosidase;AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase;PPO:多 酚氧化酶 Polyphenol oxidase;POD:过氧化物酶 Peroxidase;MBC:微生物生物量 Microbial biomass carbon;MBN:微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen;MBP:微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus;SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon;TN:全氮 Total nitrogen;TP:全磷 Total phosphorus;SMC:土壤含水量 Soil moisture content

性降低,而在糖槭和红橡及糖槭和椴木混交林中,氮沉降增加则使多酚氧化酶活性增加^[37]。由于土壤氧化酶 在腐殖化过程中扮演重要作用,其活性的增加表明氮沉降可能会加速当地马尾松人工林土壤腐殖质的 形成^[34]。

范艳春等^[39]研究发现,土壤酶活性呈现明显的季节动态。本研究中,土壤水解酶 BG、AP、NAG 和氧化酶 PPO 活性均存在显著的季节差异。秋季土壤水解酶活性显著高于春季和夏季(*P*<0.05), PPO 和 POD 活性均 呈现春季>夏季>秋季的特征,而氮添加对森林土壤酶活性的时间分异规律没有显著影响,这与前人研究结果 一致^[4]。

3.3 不同水平氮添加对土壤微生物生物量的季节性影响

土壤微生物生物量对推动土壤物质转换和能量流动起着重要作用,是衡量土壤微生物对养分循环影响的 重要指标,也是土壤质量评价的有效指标^[40]。研究表明,超过微生物耐受范围的氮沉降必然导致土壤微生物 生物量下降^[41],而本研究发现高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平的添加处理使得各季节土壤微生物生物量碳、氮、磷 的含量都上升,可能由于短期高氮水平的添加试验并没有使土壤中的氮超过微生物耐受范围,达到饱和状态, 土壤中的微生物能够及时将输入的氮吸收利用^[42]。众多研究表明,土壤微生物生物量含量存在明显的月动 态变化特征^[43-44],本研究发现,土壤微生物生物量碳、氮、磷含量存在显著的季节差异,微生物生物量氮含量 在春夏季偏高,秋季较低,而微生物生物量碳、磷含量均在秋季最高,氮添加没有改变这种季节差异。这与前 人的研究结果有一定差别,如宋蕾等^[43]研究发现微生物生物量碳、氮含量的最大值在夏季,而周世兴等^[45]研 究得出微生物生物量碳、氮含量在秋季最高。这些结论差异与土壤温湿度、林分类型、地域气候类型等环境因 子综合作用有关^[46],有研究发现不同海拔梯度带土壤微生物生物量氮的季节变化与其对应的土壤湿度显著 相关,土壤湿度是调控森林土壤微生物生物量氮含量也偏低。也有研究发现地处高纬度的森林,春季和 秋季温度较低,土壤微生物主要受到温度的限制,生物量低;夏季气温升高,适合微生物生长,因而土壤微生物 生物量增加。而亚热带和热带地区土壤微生物生物量受温度影响较小,主要与土壤养分含量有关^[44]。秋季 植物生长缓慢,对土壤养分的吸收相对较少,土壤中积累的碳氮含量较高(图 2),微生物有充足的碳源、氮源 用于生长,因而秋季微生物生物量较多。

3.4 氮添加背景下土壤酶活性和微生物生物量及土壤环境因子的关系

周嘉聪等^[11]研究发现,可溶性有机碳是驱动土壤酶活性的重要环境因子,本研究发现土壤酶活性和季节、土壤含水量、养分含量及微生物生物量碳氮磷均存在显著的相关性,其活性变化是多因子综合作用的结果,不同酶活性变异的主导因子不同。其中,土壤含水量、微生物生物量碳、氮、磷和全氮是解释度较高的5个环境因子(表1、表2,图6)。研究表明,环境因子综合作用会掩盖了单一环境因子对土壤养分、酶活性和微生物的作用^[46],不同生态系统类型、氮肥类型、施肥速率和施肥试验时间都对土壤酶活性和微生物群落组成具有影响,土壤酶化学计量比与土壤养分化学计量比也可能存在动态平衡关系^[6,13]。多数研究中,在同一氮水平处理下,水解酶和氧化酶活性变化不同^[7-8,10],而在本研究中,中氮水平(60 kg hm⁻² a⁻¹)添加在各个季节都提高了土壤水解酶和氧化酶活性,且使大多数酶活性达到最大值,由此可提出进一步的研究方向,目前的氮添加速率和中氮水平的添加是否是增加当地马尾松人工林土壤有效氮和微生物活性的最适浓度?这有待结合区域环境条件,通过控制变量进行长期实验来进一步探讨。

4 结论

(1)氮添加对土壤 pH 值、有机碳、全氮和全磷含量没有形成显著的季节间差异,但高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹) 水平添加增加了土壤有机碳、全氮含量和酸性磷酸酶活性,降低了土壤 pH 值和全磷含量,且全磷与氮添加水 平显著负相关(P<0.05),这预测了氮沉降的持续增加可能会导致当地马尾松人工林土壤酸化,促进磷酸盐的 释放,引起磷限制。

(2)各季节土壤酶活性、微生物生物量对不同水平氮添加处理的响应不一致,但不同水平氮添加处理均提高了土壤 PPO 活性,且中氮水平(60 kg hm⁻² a⁻¹)的氮添加处理使得各季节土壤 BG、NAG、AP、PPO、POD 活性均增加,高氮(90 kg hm⁻² a⁻¹)水平的添加处理提高了各季节土壤微生物生物量碳、氮、磷含量,抑制了 BG、NAG 活性。水解酶活性下降,氧化酶活性的增加表明氮沉降会加速当地马尾松人工林土壤腐殖质的形成,增加有机碳的积累。

(3)土壤酶活性和微生物生物量存在显著的季节差异,秋季水解酶活性和微生物生物量碳、磷含量显著高于春夏两季,而氧化酶活性和微生物生物量氮含量则是春夏季较高,氮添加对这种季节分异规律没有显著影响。

(4)氮沉降增加背景下,土壤酶活性和季节、土壤含水量、养分含量及微生物生物量碳氮磷含量存在显著的相关性,其活性变化是多因子综合作用的结果,不同酶活性变异的主导因子不同。冗余分析表明土壤含水量、微生物生物量碳、氮、磷和全氮是驱动土壤酶活性的主要环境因子。

参考文献(References):

- Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A H, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erisman J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. Nature, 2013, 494(7438):459-462.
- [2] Du Y H, Guo P, Liu J Q, Wang C Y, Yang N, Jiao Z X. Different types of nitrogen deposition show variable effects on the soil carbon cycle process of temperate forests. Global Change Biology, 2014, 20(10): 3222-3228.
- [3] 黄锦铌,程煜,杨红玉,郑凯舟,王家骏.模拟 N 沉降下三种林分土壤营养动态分析. 生态学报, 2017, 37(1): 63-73.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 范珍珍, 王鑫, 王超, 白娥. 整合分析氮磷添加对土壤酶活性的影响. 应用生态学报, 2018, 29(4): 1266-1272.
- [7] 吕来新, 宋蕾, 刘志理, 张金波, 金光泽. 红松人工林土壤酶活性与化学性质对氮添加的响应. 环境科学, 2020, 41(4): 1960-1967.
- [8] 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.
- [9] 张闯, 邹洪涛, 张心昱, 寇亮, 杨洋, 孙晓敏, 李胜功, 王辉民. 氮添加对湿地松林土壤水解酶和氧化酶活性的影响. 应用生态学报,

2016, 27(11): 3427-3434.

- [10] 李吉玫,张毓涛.模拟氮沉降对天山云杉林土壤酶活性的季节性影响.西南林业大学学报,2019,39(4):1-8.
- [11] 周嘉聪,刘小飞,郑永,纪宇皝,李先锋,徐鹏程,陈岳民,杨玉盛. 氮沉降对中亚热带米槠天然林微生物生物量及酶活性的影响. 生态 学报, 2017, 37(1): 127-135.
- [12] Treseder K K, Vitousek P M. Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition of N and P in Hawaiian rain forests. Ecology, 2001, 82(4): 946-954.
- [13] 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.
- [14] Lu X, Gilliam F S, Yu G, Li L, Mao Q, Chen H, Mo J. Long-term nitrogen addition decreases carbon leaching in a nitrogen-rich forest ecosystem. Biogeosciences, 2013, 10(6): 3931-3941.
- [15] 郑丹楠, 王雪松, 谢绍东, 段雷, 陈东升. 2010年中国大气氮沉降特征分析. 中国环境科学, 2014, 34(5): 1089-1097.
- [16] Ge X G, Xiao W F, Zeng L X, Huang Z L, Zhou B Z, Schaub M, Li M H. Relationships between soil-litter interface enzyme activities and decomposition in *Pinus massoniana* plantations in China. Journal of Soils and Sediments, 2017, 17(4): 996-1008.
- [17] Yang S, Cheng R M, Xiao W F, Shen Y F, Wang L J, Guo Y, Sun P F. Heterogeneity in decomposition rates and nutrient release in fine-root architecture of *Pinus massoniana* in the Three Gorges Reservoir area. Forests, 2019, 11(1): 14.
- [18] Tu L H, Peng Y, Chen G, Hu H L, Xiao Y L, Hu T X, Liu L, Tang Y. Direct and indirect effects of nitrogen additions on fine root decomposition in a subtropical bamboo forest. Plant and Soil, 2015, 389(1/2): 273-288.
- [19] 谷利茶,王国梁,景航,姚旭.氮添加对油松不同径级细根分解及其养分释放的影响.应用生态学报,2017,28(9):2771-2777.
- [20] 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.
- [21] 李嵘, 常瑞英. 土壤有机碳对外源氮添加的响应及其机制. 植物生态学报, 2015, 39(10): 1012-1020.
- [22] Zak D R, Freedman Z B, Upchurch R A, Steffens M, Kögel-Knabner I. Anthropogenic N deposition increases soil organic matter accumulation without altering its biochemical composition. Global Change Biology, 2017, 23(2): 933-944.
- [23] 刘佳婷, 廖迎春, 谢越, 施星星. 氮沉降对土壤养分影响研究综述. 中国水土保持, 2019, (9): 63-65.
- [24] 李贵才,韩兴国,黄建辉,唐建维.森林生态系统土壤氮矿化影响因素研究进展.生态学报,2001,21(7):1187-1195.
- [25] 郭群. 氮添加对内蒙古温带典型草原土壤的酸化效应及水分的影响. 应用生态学报, 2019, 30(10): 3285-3291.
- [26] 胡波,王云琦,王玉杰,王彬,张会兰,郭平,刘春霞.模拟氮沉降对土壤酸化及土壤酸缓冲能力的影响.环境科学研究,2015,28(3): 418-424.
- [27] 周纪东, 史荣久, 赵峰, 韩斯琴, 张颖. 施氦频率和强度对内蒙古温带草原土壤 pH 及碳、氮、磷含量的影响. 应用生态学报, 2016, 27 (8): 2467-2476.
- [28] Gress S E, Nichols T D, Northcraft C C, Peterjohn W T. Nutrient limitation in soils exhibiting differing nitrogen availabilities: what lies beyond nitrogen saturation? Ecology, 2007, 88(1): 119-130.
- [29] 庞丽,周志春,张一,丰忠平.大气氮沉降提高低磷土壤条件下马尾松菌根共生和磷效率的原因.植物营养与肥料学报,2016,22(1): 225-235.
- [30] Dong C C, Wang W, Liu H Y, Xu X T, Zeng H. Temperate grassland shifted from nitrogen to phosphorus limitation induced by degradation and nitrogen deposition: evidence from soil extracellular enzyme stoichiometry. Ecological indicators, 2019, 101: 453-464.
- [31] Zhu X M, Liu M, Kou Y P, Liu D Y, Liu Q, Zhang Z L, Jiang Z, Yin H J. Differential effects of N addition on the stoichiometry of microbes and extracellular enzymes in the rhizosphere and bulk soils of an alpine shrubland. Plant and Soil, 2020, 449(3): 285-301.
- [32] 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影响. 生态学报, 2019, 39(19): 7218-7228.
- [33] 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.
- [34] 陈倩妹, 王泽西, 刘洋, 郑海峰, 李洪杰, 王利峰, 陈亚梅, 谌贤, 唐实玉. 川西亚高山针叶林土壤酶及其化学计量比对模拟氮沉降的响应. 应用与环境生物学报, 2019, 25(4): 791-800.
- [35] 李瑞瑞, 卢艺, 王益明, 万福绪. 氮添加对墨西哥柏人工林土壤碳氮磷化学计量特征及酶活性的影响. 生态学杂志, 2019, 38(2): 384-393.
- [36] 刘红梅,周广帆,李洁,王丽丽,王慧,杨殿林.氮沉降对贝加尔针茅草原土壤酶活性的影响.生态环境学报,2018,27(8):1387-1394.
- [37] Waldrop M P, Zak D R, Sinsabaugh R L. Microbial community response to nitrogen deposition in northern forest ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(9): 1443-1451.

- [38] Waldrop M P, Zak D R. Response of oxidative enzyme activities to nitrogen deposition affects soil concentrations of dissolved organic carbon. Ecosystems, 2006, 9(6): 921-933.
- [39] 范艳春, 王鹏程, 肖文发, 曾立雄, 黄志霖, 雷静品. 三峡库区 2 类典型森林 5 种土壤酶季节动态及其与养分的关系. 华中农业大学学报, 2014, 33(4): 39-44.
- [40] 曾全超,李鑫,董扬红,李娅芸,安韶山.黄土高原不同乔木林土壤微生物量碳氮和溶解性碳氮的特征.生态学报,2015,35(11): 3598-3605.
- [41] Zhang N L, Wan S Q, Li L H, Bi J, Zhao M M, Ma K P. Impacts of urea N addition on soil microbial community in a semi-arid temperate steppe in northern China. Plant Soil, 2008, 311(1/2): 19-28.
- [42] 康海军,李春光.武夷山亚热带常绿阔叶林土壤养分及酶活性对氮沉降的响应.水土保持研究, 2019, 26(2):93-99.
- [43] 宋蕾,林尤伟,金光泽.模拟氮沉降对典型阔叶红松林土壤微生物群落特征的影响.南京林业大学学报:自然科学版,2017,41(5): 7-12.
- [44] 单文俊, 付琦, 邢亚娟, 闫国永, 韩士杰, 张军辉, 王庆贵. 氮沉降对长白山白桦山杨天然次生林土壤微生物量碳氮和可溶性有机碳氮 的影响. 生态环境学报, 2019, 28(8): 1522-1530.
- [45] 周世兴, 邹秤, 肖永翔, 向元彬, 韩博涵, 唐剑东, 罗超, 黄从德. 模拟氮沉降对华西雨屏区天然常绿阔叶林土壤微生物生物量碳和氮的 影响. 应用生态学报, 2017, 28(1): 12-18.
- [46] 贾培龙,安韶山,李程程,曾全超,王宝荣,白雪娟.黄土高原森林带土壤养分和微生物量及其生态化学计量变化特征.水土保持学报, 2020,34(1):315-321.
- [47] 何容,王国兵,汪家社,许波峰,汪科继,方燕鸿,施政,阮宏华.武夷山不同海拔植被土壤微生物量的季节动态及主要影响因子.生态 学杂志,2009,28(3):394-399.