

DOI: 10.5846/stxb202201040021

曹雨婷, 于水强, 邵慧妹, 谭蕊, 徐新颖, 王维枫. 不同优势树种菌根类型差异对土壤胞外酶活性的影响. 生态学报, 2023, 43(5): 1971-1980.

Cao Y T, Yu S Q, Shao H M, Tan R, Xu X Y, Wang W F. Effects of different mycorrhizal types in dominant tree species on soil extracellular enzyme activity. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(5): 1971-1980.

不同优势树种菌根类型差异对土壤胞外酶活性的影响

曹雨婷^{1,2}, 于水强^{1,2,*}, 邵慧妹^{1,2}, 谭蕊^{1,2}, 徐新颖^{1,2}, 王维枫^{1,2}

1 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037

2 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037

摘要: 土壤酶作为微生物代谢指标, 在森林生态系统土壤碳和养分循环过程中发挥着重要作用, 是土壤质量的重要指标。针对不同优势树种的内生菌根 (AM) 和外生菌根 (ECM) 所占比例差异, 设置 4 种菌根类型比例梯度 (即林分中 ECM 树种所占比例为 <25%、25%—50%、50%—75%、>75%), 分析 4 种林分中土壤水解酶 [β -葡糖苷酶 (BG)、 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG)、亮氨酸氨基肽酶 (LAP)、酸性磷酸酶 (AP)] 和过氧化物酶 (PER) 活性差异, 运用方差分析和多重比较分析方法, 探究水解酶和氧化酶沿菌根类型梯度的变化规律及原因。结果表明: ① \ln BG 和 \ln (NAG+LAP) 与 \ln AP 的回归斜率小于 1, 且 AP 远大于 BG 和 NAG+LAP, 这表明森林土壤微生物受磷 (P) 限制更严重, 随着林分中 ECM 优势树种的增加, 微生物受碳 (C) 和 P 限制的状况得到缓解; ② 土壤有机碳 (SOC) 随着 ECM 树种占比的增加而增加, ECM 森林比 AM 森林表现出更高的全氮 (TN) 和全磷 (TP) 含量; ③ 随着林分中 ECM 树种占比的增加, BG、AP 和 NAG+LAP 呈逐渐显著增加的趋势 ($P < 0.05$); 但氧化酶活性差异不显著; ④ 土壤水解酶活性与铵态氮、硝铵比、TN、TP、SOC 有显著相关关系, 氧化酶活性只与土壤水分 (SM) 含量呈现显著相关性。研究支持资源分配理论, 验证了土壤胞外酶活性随 AM 和 ECM 菌根比例变化而呈现梯度变化, 证实了菌根—养分经济模型的适用性, 研究结果可加强对不同菌根梯度林分土壤理化性质和酶活性的可预测性, 有助于生物地球化学循环模型的补充与完善。

关键词: 内生菌根; 外生菌根; 菌根类型梯度; 土壤胞外酶; 碳循环; 养分限制

Effects of different mycorrhizal types in dominant tree species on soil extracellular enzyme activity

CAO Yuting^{1,2}, YU Shuiqiang^{1,2,*}, SHAO Huimei^{1,2}, TAN Rui^{1,2}, XU Xinying^{1,2}, WANG Weifeng^{1,2}

1 School of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

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

Abstract: Soil enzyme is a crucial indicator of microbial metabolic activity and soil quality monitoring, playing an important role in the soil carbon and nutrient cycle. Global change could alter tree species composition, leading the transfer of dominant mycorrhizal at the individual or ecosystem level. In order to investigate the effect of mycorrhizal types on soil extracellular enzyme activity, four stands with percentage of different mycorrhizal type (the percentage of ECM trees was < 25%, 25%—50%, 50%—75% and > 75%, respectively) were set up in pure *Cunninghamia lanceolata* stand, pure *Quercus acutissima* stand, and the two species mixed forest. We measured the soil hydrolase activities [β -glucosidase (BG), β -N-acetylglucosaminidase (NAG), leucine aminopeptidase (LAP), acid phosphatase (AP)], and soil peroxidase (PER) activity and analyzed the pattern of hydrolase and oxidase activities along the gradient of mycorrhizal types using one-way ANOVA and multiple comparisons. The results showed that: ① the regression slope of the ratio of \ln BG

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270489, 31700555); 江苏省高等学校自然科学研究项目 (20KJA220002)

收稿日期: 2022-01-04; **网络出版日期:** 2022-10-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yusq@njfu.edu.cn

to $\ln(\text{NAG}+\text{LAP})$ and to $\ln\text{AP}$ were less than 1, indicating that AP activity was much higher than that of BG and NAG+LAP. This indicated that forest soil microorganisms were more severely restricted by phosphorus (P). The increase of ECM-associated tree species relieved the limitation of C and P for microorganisms. ② Soil organic carbon (SOC) increased as the proportion of ECM-associated tree species increased. While ECM-dominated forests had higher total soil nitrogen (TN) and total soil phosphorus (TP) contents than AM-dominated forests. ③ With the increase in the proportion of ECM-associated tree species in the forest, activities of BG, AP, and NAG+LAP showed a gradual increase trend ($P<0.05$) except for soil oxidase activity. ④ Soil hydrolase activity exhibited a significant correlation with ammonium nitrogen, nitrate-ammonium ratio, TN, TP, and SOC, while the oxidase activity only exhibited a significant correlation with the content of soil moisture (SM). These results support the theory of resource allocation, verify that the activity of soil extracellular enzymes changes gradually with the percent of AM-associated and ECM-associated tree species, and confirm the applicability of the mycorrhizal-associated nutrient economy pattern. The results also strengthen the predictability of the soil physical and chemical properties as well enzyme activities in the forest with different percentages of AM-associated and ECM-associated tree species, and thus contributing to the improvement of biogeochemical cycle model.

Key Words: arbuscular mycorrhizal; ectomycorrhizal; mycorrhiza type gradient; soil extracellular enzyme; carbon cycle; nutrient limitation

土壤胞外酶作为土壤微生物、植物根系分泌的具有催化作用的蛋白质^[1-2],几乎参与土壤中所有的生化反应^[2],常被视为土壤生态系统生物地球化学循环过程发生改变的敏感性指标。近年来,关于酶的研究多以参与碳循环的 β -葡糖苷酶(BG),参与氮循环的 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP),以及参与磷循环的酸性磷酸酶(AP)为主,这几种水解酶主要参与末端的催化反应,可以反应土壤碳氮磷代谢水平^[3];过氧化物酶(PER)是一种氧化还原酶,参与土壤腐殖质组分的合成。同时土壤酶的产生可以被视为是一种觅食策略^[4],能够作为土壤养分循环的关键限制因素^[5],调控产酶微生物的资源分配以及养分和能量的供求一致^[4,6]。因此,土壤胞外酶在调控土壤有机质降解、稳定生态系统养分循环中发挥着至关重要的作用^[7-9]。

土壤胞外酶活性受气候因素^[5,10]、土壤理化性质^[11-12]、微生物群落结构^[13-14]、植被类型等因素的影响。如酶活性与真菌生物量存在显著正相关关系^[13-14];土壤温度、pH、含水量、土壤结构等^[11-12]通过改变微生物的丰度和活性,或者可利用底物的扩散和吸附而影响酶活性。而在这些影响因素中,树种多样性和内外生菌根树种的丰度,可能要比土壤因素或养分状况对土壤胞外酶活性的影响更强烈^[15]。树种组成的变化会导致个体水平或生态系统水平上优势菌根的转移^[14],导致森林向土壤输入的凋落物数量和质量的差异,以及土壤有机碳状况改变^[16],进而影响与有机质分解相关微生物的群落结构和功能。这一点在近些年研究中很少被考虑到。

内生菌根和外生菌根因其生理结构和功能差异可能导致差异化的养分利用策略,进而对森林生态系统土壤碳与养分循环产生不同的调节模式^[17]。Phillips等^[18]首次提出与菌根关联的养分经济模型(MANE)。该理论认为温带地区外生菌根(ECM)树种和内生菌根(AM)树种的差异会导致土壤碳循环和养分循环的差异,二者对养分的利用策略不一致,其原因可能是两种林分类型中土壤酶的数量及活性存在差异。ECM森林中以ECM真菌为主导,能够分泌大量的胞外酶来分解有机质,从而可以充分利用有机养分;而AM森林以细菌和腐生菌为主,缺乏胞外酶分泌能力,只能依赖腐生菌释放无机氮后再吸取,有机物质分解较慢^[16]。MANE模型在温带地区得到了很好的验证,但在亚热带地区研究结论并不一致。有研究发现ECM和AM间水解酶以及氧化酶在不同菌种上差异显著,而在不同菌根类型下没有表现出显著差异,ECM没有比AM表现出更强的根际效应^[19]。因此,MANE在温带地区以外的生态系统中仍需更多的验证。同时,关于不同菌根类型森林的对比研究中能够支持资源分配理论^[6]的研究十分有限,尚需更多研究验证。之前的研究分别在AM或

ECM 样地中进行^[20],缺乏优势菌根梯度变化条件下的研究。本研究通过测定不同优势树种菌根类型梯度 (ECM 树种占比分别为 <25%、25%—50%、50%—75%、>75%) 林分中土壤胞外酶活性,探讨胞外酶活性与不同优势菌根类型之间的联系,对于理解不同菌根类型土壤碳循环的差异和养分动态的潜在机制具有重要的意义,同时也可验证 MANE 模型的适用性提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 样地概况

研究地位于江苏省南京市溧水区无想寺国家森林公园 (119°01'E, 31°36'N)。气候属于北亚热带季风气候,平均气温 15.5℃,年均降水 1003 mm,年均日照 2146 h,无霜期 220 d,四季分明^[21]。地处丘陵岗地,平均海拔约 100 m。土壤多属地带性“黄棕壤”,厚度 10—100 cm,质地为沙壤,呈微酸性。森林植被以人工林和通过封山育林而形成的次生林为主。

本试验设置在杉木纯林 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)、麻栎林 (*Quercus acutissima* Carruth)、杉木麻栎混交林中。林地野生灌木草本植物稀少,零星分布菝葜 (*Smilax china* L.)、豆腐柴 (*Premna microphylla* Turcz.)、悬钩子 (*Rubus corchorifolius* L.f.)、海金沙 (*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.) 等。林分基本概况见表 1。

表 1 不同优势树种菌根类型林分特征

Table 1 Stand characteristic of different dominant mycorrhizal types

| ECM 树种占比 Percentage of ECM trees | 主要优势树种 Dominant tree species | 平均胸径 Mean DBH /cm | 平均树高 Mean Height /m | 密度 Density / (trees/hm ²) |
|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|------------------------|--|
| <25% | 杉木 (<i>C. lanceolata</i>) | 20.8 | 17.3 | 2300 |
| 25%—50% | 杉木 (<i>C. lanceolata</i>) | 12.2 | 10.6 | 1250 |
| | 麻栎 (<i>Q. acutissima</i>) | 12.9 | 11.3 | 670 |
| 50%—75% | 麻栎 (<i>Q. acutissima</i>) | 15.4 | 13.2 | 1000 |
| | 杉木 (<i>C. lanceolata</i>) | 10.3 | 9.8 | 700 |
| >75% | 麻栎 (<i>Q. acutissima</i>) | 22.4 | 14.5 | 1100 |
| | 马尾松 (<i>Pinus massoniana</i> Lamb.) | 16.9 | 13.0 | 200 |

ECM:外生菌根 Ectomycorrhizal; DBH:胸径 Diameter at breast height

1.2 试验设计和样品采集

2021 年 4 月,选取 4 种内生菌根和外生菌根树种比例不同(参照 Cheeke 等^[14]方法,以胸径断面积百分比计算)的林分(表 1),分别是杉木林(ECM 树种比例 <25%)、麻栎杉木混交林(ECM 树种比例为 25%—50%)、麻栎杉木混交林(ECM 树种比例为 50%—75%)和麻栎林(ECM 树种比例 >75%)。在每个林分内随机选取 4 块 10 m×10 m 的样方,每个样方间隔 50 m。在样方内按照“S”型路线选定 5 个样点,用直径为 3.6 cm 的土钻采集 0-10 cm 深度的土样,剔除土壤以外的侵入体(如植物残茬、石粒、砖块等)和新生体(如铁锰结核和石灰结核等)后用灭菌自封袋封装,做好标记立即放置在冰盒中带回实验室。将土样充分混匀后取出适量土壤进行分装,一份新鲜土样置于 -20℃ 冰箱保存,一周内用于土壤胞外酶等指标测定;另一份自然风干后过 2 mm 筛,用于土壤理化性质测定。

1.3 分析测定方法

1.3.1 土壤理化性质

土壤含水率(SM)采用烘干法;土壤 pH 采用电位法,水土体积质量比为 2.5:1;土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾氧化-外加热法;土壤总氮(TN)采用元素分析仪(Vario MACRO Cube, Elementar, 德国)测定;土壤铵态氮(NH₄⁺-N)采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法;土壤硝态氮(NO₃⁻-N)采用氯化钾提取-双波长紫外分光光度法;土壤总磷(TP)采用硫酸-高氯酸-钼锑抗比色法^[22]。

1.3.2 土壤胞外酶活性及酶计量的测定

参照 Saiya-Cork 等^[23]方法分别测定与碳、氮、磷循环密切相关的酶活性(各种土壤酶的名称、简称及底物详见表 2)。其中,水解酶(分别为 BG、NAG、LAP、AP)($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)采用微孔板荧光法,用多功能酶标仪(Cytation5, BioTek, 美国)在 365 nm 波长激发,450 nm 波长进行荧光测定,每个样品 8 次平行;过氧化物酶(PER, $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)采用左旋多巴(DOPA)-紫外分光光度法,用多功能酶标仪在 450 nm 处进行吸光度测定,每个样品 8 次平行。

酶计量是 C、氮(N)、P 胞外酶的活性比,计算公式为^[24]:

$$\text{C 水解酶/N 水解酶} = \ln \text{BG} / \ln(\text{NAG} + \text{LAP});$$

$$\text{C 水解酶/P 水解酶} = \ln \text{BG} / \ln \text{AP};$$

$$\text{N 水解酶/P 水解酶} = \ln(\text{NAG} + \text{LAP}) / \ln \text{AP}$$

利用酶计量的矢量长度(VL)和矢量角度(VA)检测微生物的能量和营养相对限制状况,计算公式为^[25]:

$$\text{VL} = \text{SQRT} \{ [\ln \text{BG} / \ln(\text{NAG} + \text{LAP})]^2 + (\ln \text{BG} / \ln \text{AP})^2 \}$$

$$\text{VA} = \text{Degrees} \{ \text{ATAN2}[\ln \text{BG} / \ln \text{AP}, \ln \text{BG} / \ln(\text{NAG} + \text{LAP})] \}$$

式中:VL 越长表示微生物的相对 C 限制越大;VA < 45° 或 > 45° 分别表示 N 或 P 限制的相对程度。

表 2 土壤酶的 EC 编号、简称以及所用底物

Table 2 Soil enzyme along with their enzyme commission number (EC), abbreviation and substrate

| 编号 EC number | 酶名称 Enzyme | 简称 Abbreviation | 底物 Substrate |
|-----------------|--|--------------------|--|
| EC 3.2.1.21 | β -葡萄糖苷酶 β -Glucosidase | BG | 4-MUB- β -D-glucoside |
| EC 3.2.1.52 | β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β -N-Acetylglucosaminidase | NAG | 4-MUB-N-acetyl- β -D-glucosaminide |
| EC 3.4.11.1 | 亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase | LAP | L-leucine-7-amido-4-methylcoumarin |
| EC 3.1.3.2 | 酸性磷酸酶 Acid phosphatase | AP | 4-MUB-phosphatase |
| EC 1.11.1.7 | 过氧化物酶 Peroxidase | PER | L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) and H_2O_2 |

EC: 酶学委员会 Enzyme commission; MUB: 甲基伞形酮酞 Methylumbelliferyl

1.4 数据分析

采用 SPSS 22 进行单因素方差分析和邓肯(Duncan)多重比较,分析不同菌根类型林分土壤水解酶、氧化酶活性和土壤理化性质之间的差异显著性($\alpha = 0.05$);利用线性回归分析检验土壤酶活性、酶计量的矢量长度和矢量角度在不同菌根主导林分上的变化趋势;利用 Pearson 相关性热图来分析与土壤酶活性显著相关的土壤因子。土壤胞外酶活性与环境条件之间的相互关系采用冗余分析(RAD)。首先通过方差膨胀因子(VIF)判断解释变量之间的线性关系(即共线性程度),剔除存在共线性关系变量(VIF > 5),剔除后共线性变量剩余 SM、pH、SOC、 NO_3^- -N/ NH_4^+ -N,之后再通过 RDA 分析剩余变量和酶活性之间的关系。所有图示均采用 OriginPro 2021 绘制。

2 结果与分析

2.1 不同菌根类型占比林分土壤理化性质的比较

从表 3 可以看出,优势菌根梯度变化对土壤理化性质有显著影响。SOC、TN、TP 随着 ECM 树种占比的增加而增加。 NH_4^+ -N 随 ECM 树种占比的增加呈先增后减的趋势,林分中 ECM 树种占比在 50%—75% 时, NH_4^+ -N 显著高于其他比例。随着林分中 ECM 树种比例的增加,pH、SM、 NO_3^- -N 呈先减后增的趋势,其中 pH、SM 在林分中 ECM 树种占比为 < 25% 时最高,25%—50% 时最低,而 NO_3^- -N 在 > 75% 时最低。 NO_3^- -N/ NH_4^+ -N 的值始终小于 1,且表现为先减后增,AM 树种占比比较高时, NO_3^- -N/ NH_4^+ -N 比值也较高。

表 3 不同优势树种菌根类型林分土壤基本性质(平均值±标准差)

Table 3 Basic properties of soil in different dominant mycorrhizal types stand (Mean±SD)

| ECM 树种占比 Percentage of ECM trees | <25% | 25%—50% | 50%—75% | >75% |
|---|-------------|--------------|--------------|--------------|
| pH | 4.48±0.03a | 4.29±0.03b | 4.37±0.10b | 4.34±0.08b |
| 含水率 SM /% | 28.10±0.90a | 24.29±1.75b | 26.64±1.73ab | 26.33±1.84ab |
| 硝态氮 NO ₃ ⁻ -N / (mg/kg) | 4.43±0.66ab | 3.54±0.31bc | 5.35±1.20a | 2.94±0.31c |
| 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N / (mg/kg) | 7.14±0.69d | 13.34±1.01b | 15.11±1.29a | 9.24±1.22c |
| 有机碳 SOC / (g/kg) | 34.69±8.04b | 42.24±4.50ab | 52.03±8.51a | 52.39±8.89a |
| 全氮 TN / (g/kg) | 2.31±0.49a | 2.44±0.39a | 2.98±0.53a | 3.00±0.46a |
| 全磷 TP / (g/kg) | 0.31±0.08b | 0.34±0.05b | 0.40±0.05ab | 0.44±0.04a |
| 硝铵比 NO ₃ ⁻ -N/NH ₄ ⁺ -N | 0.62±0.07a | 0.27±0.02c | 0.35±0.05b | 0.32±0.02bc |

pH:酸碱度 Potential of hydrogen; SM:含水率 Soil moisture; NO₃⁻-N:硝态氮 Nitrate nitrogen; NH₄⁺-N:铵态氮 Ammonium nitrogen; SOC:有机碳 Soil organic carbon; TN:全氮 Total nitrogen; TP:全磷 Total phosphorus; NO₃⁻-N/NH₄⁺-N:硝铵比 The ratio of nitrate nitrogen to ammonium nitrogen.不同小写字母表示不同优势树种菌根类型林分间差异显著($P<0.05$)

2.2 不同优势树种菌根类型林分土壤酶活性以及酶计量的变化

由图 1 可知,菌根梯度变化对土壤水解酶活性有显著影响($P<0.05$)。ECM 森林水解酶活性均高于 AM 森林。且随着林分中 ECM 树种丰度增加,BG、NAG+LAP、AP 均呈现出逐渐增加的趋势,ECM 树种占比为 50%—75%时为最高点,<25%时为最低点,50%—75%ECM 占比林分中 BG、NAG+LAP、AP 活性分别比<25%ECM 占比林分高出 1.48 倍、2.57 倍、0.25 倍。ECM 占比为 50%—75%的林分土壤中 AP 活性为(1483.30±134.15)nmol g⁻¹ h⁻¹,显著高于其他比例林分($P<0.05$)。而 BG、NAG+LAP 活性在 ECM 占比为 50%—75%和 >75%的林分中差异不显著,但显著高于以 AM 为优势树种的林分($P<0.05$)。各菌根梯度林分土壤 PER 无明显差异。

lnBG/ln(NAG+LAP)的值始终大于 1,且在菌根梯度上随着 ECM 树种占比增加而线性降低($R^2=0.78$; $P=0.07$)。lnBG/lnAP 和 ln(NAG+LAP)/lnAP 的值显著偏离 1,且均随着 ECM 树种占比增加而线性增加($R^2=0.62$; $P=0.13$ 和 $R^2=0.83$; $P=0.06$),且当林分中以 ECM 为优势树种时,酶活性比值显著高于以 AM 为优势树种的林分。

通过矢量分析发现(图 2),VL 随 ECM 树种丰度增加而降低,表明微生物受 C 限制逐渐减少。VA 均 >45°,其中以 AM 树种为优势树种的林分显著高于以 ECM 为优势树种的林分,表明 AM 森林受 P 限制程度更大,且随着林分中 ECM 树种增加,微生物受到 P 限制逐渐弱化。

2.3 土壤酶活性和土壤理化性质的相关性分析及冗余分析

相关性分析(图 3)表明土壤水解酶活性与 SM、NO₃⁻-N 的相关性较小,与 NH₄⁺-N、硝铵比、TN、TP、SOC 相关性较大。其中,BG 与 NH₄⁺-N、TN、TP、SOC 呈显著正相关,与 pH、NH₄⁺-N、硝铵比呈显著负相关;NAG+LAP 与 TN、TP、SOC 呈显著正相关,与硝铵比呈显著负相关;AP 与 NH₄⁺-N、TN、TP、SOC 呈正相关,与 pH、硝铵比呈负相关。

氧化酶表现出与水解酶不一样的相关性。PER 与 SM、pH、硝铵比呈正相关,与 NH₄⁺-N 呈负相关,与 TN、TP、SOC 无显著相关性,且只与 SM 表现出显著相关性。

冗余分析(图 4)结果表明剔除存在共线性关系的变量后,剩余的 4 个因素 SM、pH、SOC、NO₃⁻-N/NH₄⁺-N 显著影响土壤酶活性,共解释了变异的 98.58%。

3 讨论

3.1 亚热带森林土壤微生物的养分限制状况

本研究分析表明,lnBG、ln(NAG+LAP)、lnAP 之间存在线性关系(图 1),比值约为 1:1:1.5,该结果显著偏

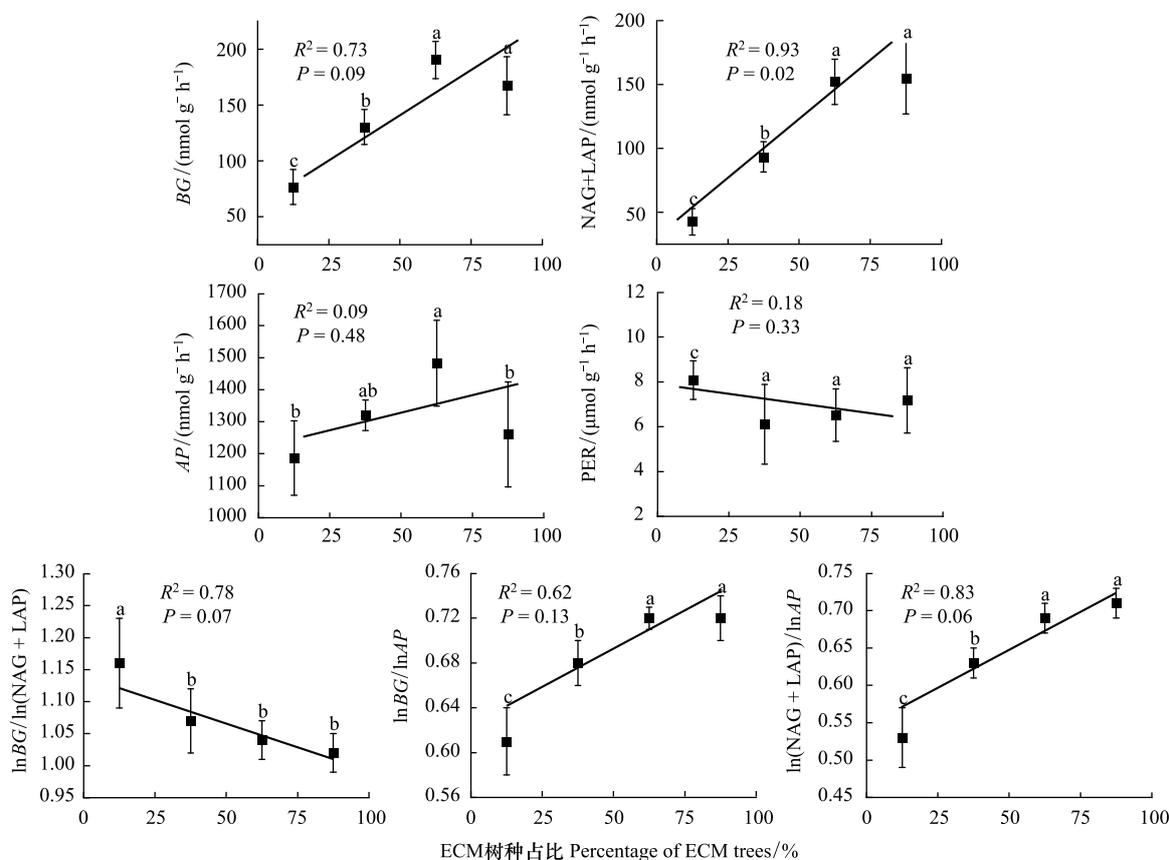


图1 不同优势树种菌根类型林分土壤酶活性以及酶计量的变化

Fig.1 Soil enzyme activities and enzyme stoichiometry along the variation of dominant mycorrhizal types

ECM: 外生菌根 Ectomycorrhizal; BG: β -葡萄糖苷酶 β -Glucosidase; NAG+LAP: β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶之和 The sum of β -N-acetylglucosaminidase and leucine aminopeptidase; AP: 酸性磷酸酶 Acid phosphatase; PER: 过氧化物酶 Peroxidase; 实线为线性回归分析 ($n=16$)

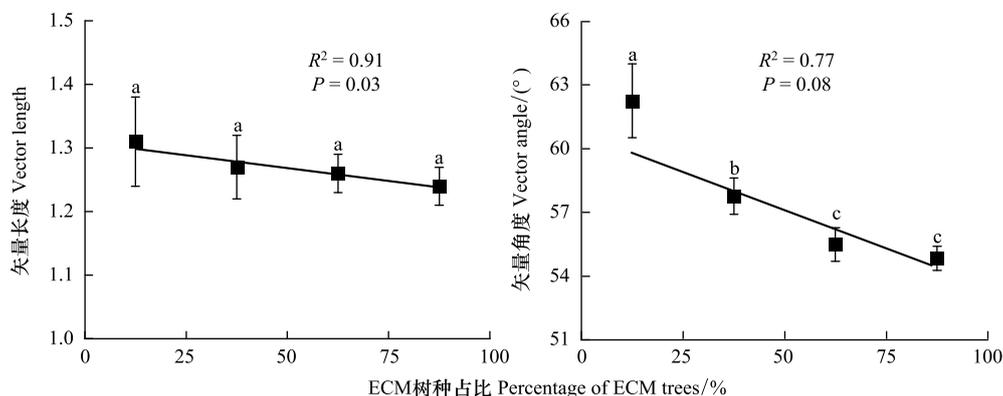


图2 不同优势树种菌根类型林分土壤酶矢量长度和矢量角度的变化

Fig.2 Soil enzymatic vector length and vector angle along the variation of dominant mycorrhizal types

离了全球尺度下 1:1:1 的比例关系^[26]。lnBG 和 ln(NAG+LAP) 与 lnAP 的回归斜率小于 1, 且 AP 活性远大于 BG 和 NAG+LAP 活性。此外, 本研究土壤 lnBG/lnAP (0.68) 和 ln(NAG+LAP)/lnAP (0.64) 均高于全球土壤对应平均水平 (0.62, 0.44)^[26]。结果表明相较于 C 与 N 循环相关的酶, 微生物会分配更多的资源投入到 P 循

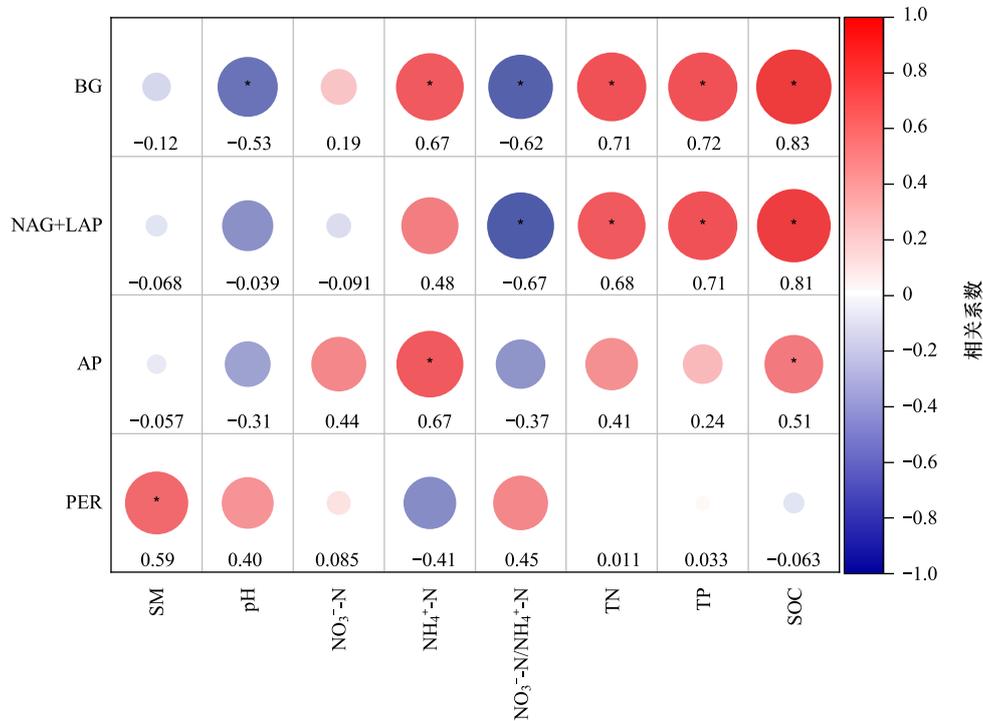


图3 土壤酶活性和土壤理化性质相关性分析

Fig.3 Correlation analysis between enzyme activities and soil physical and chemical properties of soil

SM: 含水率 Soil moisture; pH: 酸碱度 Potential of hydrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N/NH₄⁺-N: 硝铵比 The ratio of nitrate nitrogen to ammonium nitrogen; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; SOC: 有机碳 Soil organic carbon; * 表示 P<0.05; 每个格子的颜色代表行与列对应的酶活性与土壤理化性质的相关性, 红色代表正相关, 蓝色代表负相关, 颜色越深相关性越强, 圆形的大小代表显著性, 形状越大显著性越高; 数字代表相关性系数, 系数大于 0.7 时强相关

环相关酶的生产。如 AP 酶活性分别是 BG 酶、NAG+LAP 酶活性的 9.33 倍和 11.86 倍(图 1)。这也意味着亚热带地区森林土壤微生物受 P 限制更为严重^[27]。这与张星星等^[28]的研究结果一致。土壤中 P 的主要来源是岩石风化, 过程漫长, 量少且难以补充^[29]。另一方面, P 是动物、植物、微生物生长和代谢必需的养分元素^[30], 亚热带地区水热条件充足, 适宜生物生长和养分周转, 植物和微生物对 P 的竞争进一步加剧。同时, 亚热带地区大量降水造成的径流和淋溶作用也会带走土壤中的有效磷^[14], 因此微生物通过提高 AP 活性以缓解自身的 P 限制。本研究土壤中 C/P 为 115.9, N/P 为 7.2, 显著高于全球森林土壤平均水平 (81.9, 6.6)^[31]。说明本研究结果符合资源分配理论^[6], 即当微生物受到某一元素限制时, 该元素对应的胞外酶的合成就会进一步增加。另外, 随着林分中 ECM 优势树种占比的增加, VL 逐渐降低, 表明微生物受 C 限制减少; 而 VA 均 > 45°, 且 AM 森林的 VA 值显著高于 ECM 森林, 表明 AM

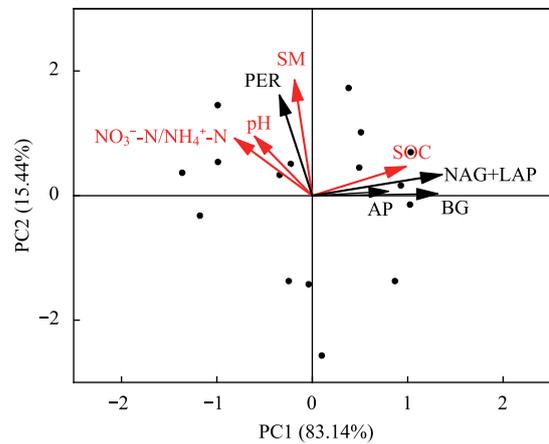


图4 不同优势树种菌根类型林分土壤酶活性与土壤理化性质关系的冗余分析

Fig.4 Redundancy analysis of enzyme activities and physical and chemical properties of soil among different dominant mycorrhizal type stands

森林受 P 限制程度更大,随着林分中 ECM 树种占比增加,微生物受 P 限制的状况得到缓解。这可以从 ECM 和 AM 森林土壤的酶活性和对应的土壤养分含量差异中得到证明,也与 Phillips 等^[18]及 Cheeke 等^[14]研究结论一致。

3.2 不同优势树种菌根类型对土壤化学性质的影响

优势树种菌根类型显著影响土壤化学性质(表 3)。ECM 森林土壤 pH 显著低于 AM 森林,这与根系丰富的有机酸分泌有关^[3,18,32]。同时,与 AM 森林相比,ECM 森林具有更高的土壤 SOC、TN、TP 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量。AM 和 ECM 森林间土壤有机碳和养分含量差异可能原因是:1)ECM 真菌通常可以从宿主分配得到更多的碳水化合物,释放到土壤中的 C 含量也更高^[33]。菌根真菌的根外菌丝本身也是土壤中重要的碳源。ECM 真菌的外部菌丝对土壤碳汇的贡献大于 AM 真菌,据估算 ECM 真菌根外菌丝输入量可达地下碳库输入量的 50%—60%^[34—35]。2)ECM 森林要比 AM 森林具有更强的水解酶活性。有研究表明,ECM 真菌在土壤中通过分泌土壤酶来正向促进土壤激发效应,导致土壤中养分含量增加,尤其是有机氮、磷含量的增加^[18];而 AM 真菌由于缺失土壤酶的分泌功能,同时其生长需要养分供应,从而会与腐生菌和细菌等微生物产生养分竞争,导致 AM 树种占优势的林分土壤养分含量低于 ECM 林分^[20]。

3.3 不同优势树种菌根类型对土壤酶活性的影响

优势树种菌根类型对土壤酶活性有显著影响。本研究发现水解酶活性与优势菌根类型有很强的相关性,随 ECM 树种所占比例增加而显著增加。ECM 树种占优势的林分水解酶活性要显著高于 AM 树种占优势的林分。这与以往的研究结果一致^[17]。ECM 树种为优势树种的林分中(ECM 树种占比>50%)C、N、P 相关水解酶活性 $[(178.73\pm 23.65)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}, (153.41\pm 21.54)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}, (1371.77\pm 182.95)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}]$ 分别比以 AM 树种为优势树种的林分[ECM 树种占比<50%, $(102.53\pm 33.19)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}, (67.97\pm 28.98)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}, (1253.02\pm 109.17)\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}]$ 高 0.73 倍、1.25 倍、0.09 倍。虽然在 AM 和 ECM 林分之间,AP 酶活性仅表现出部分的显著差异,这是因为研究区域整体上处于严重缺 P 状况,刺激了微生物大量分泌 AP 酶,可能抵消了 ECM 真菌和 AM 真菌分泌胞外酶能力的差异;而 C 和 N 相关水解酶活性则呈现出显著的林分间差异(图 1)。研究结果也证明了 AM 真菌和 ECM 真菌在土壤胞外酶分泌,以及养分利用策略方面不同^[18,36]。ECM 真菌能够分泌大量的水解酶来分解有机质^[17],更多地利用有机养分,采用“有机养分利用策略”,而在 AM 树种为优势的林分中,土壤以细菌和腐生菌为主,缺乏胞外酶分泌能力^[37],只能依赖腐生菌释放无机氮后再吸取,因此,AM 真菌采用“无机养分利用策略”。Brzostek^[20]通过树木环割法分别对 AM 和 ECM 树种根际土壤胞外酶活性研究发现,树木环割后 ECM 树种根际土壤酶活性下降了 45%,而 AM 树种没有显著变化,表明 AM 真菌分泌胞外酶能力较弱^[37]。这也验证了观点。另外,土壤酶活性的在林分间的梯度变化也受林地土壤微生物生物量(包括细菌、菌根真菌和腐生菌)影响。初步结果显示,随着 ECM 树种占比增加,土壤微生物总磷脂脂肪酸(PLFA)生物量与水解酶活性表现出一致的上升趋势,分别为 $(32.02\pm 2.40)\text{nmol/g}, (37.60\pm 6.96)\text{nmol/g}, (79.64\pm 1.17)\text{nmol/g}, (53.35\pm 8.14)\text{nmol/g}$ 。同时,土壤酶活性受到土壤理化性质的直接或间接影响^[5,26]。土壤水分和 pH 可以直接促进或抑制酶的催化反应,同时也可与土壤养分一起通过影响土壤微生物的增殖而间接影响土壤胞外酶的分泌^[2]。在本研究中,ECM 树种占优势的林分土壤 SOC、TN 和 TP 含量要显著高于 AM 林分。因此,ECM 林分中微生物有丰富的 C 源和养分来增殖生物量,进而分泌更多的胞外酶^[33]。这在本研究中可以得到印证。如随 ECM 树种所占比例增加,土壤 SOC、TN、TP 含量、水解酶活性,以及土壤微生物总生物量都呈现增加趋势,具有显著的正相关关系。

不同菌根类型对 PER 活性无明显影响。这是因为 PER 属于氧化还原酶,其活性大小除与凋落物组成和根系分泌物有关外,土壤环境是主要影响因素。本研究显示 PER 与 SM 表现出显著正相关($P<0.05$),与 pH 表现出正相关,与其他养分因素无显著相关关系。该结果与崔嵘等^[38]研究结果一致。但李林海等^[39]研究发现草地 SM 和 SOC 含量越高,土壤环境越容易处于还原状态,从而抑制 PER 活性。研究结果不一致的原因是该试验选取样地的土壤背景值远远大于李林海等研究样地(含水率为 13.27%,有机质含量为 9.57 g/kg)。

4 结论

土壤胞外酶活性与林地中优势树种菌根类型有很强的相关性,尤其是水解酶活性,随 ECM 树种所占比例增加而显著增加。树种菌根类型的差异导致土壤酶活性发生改变,会使不同林分类型产生差异化的养分利用策略。本研究结果验证了 MANE 理论的适用性,同时可以加强森林地上优势树种和地下对应菌根类型对土壤理化性质和酶活性影响的可预测性,有助于生物地球化学循环模型的补充与完善。

参考文献(References):

- [1] Burns R G. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(5): 423-427.
- [2] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43(1): 313-343.
- [3] Fraç M, Hannula S E, Bełka M, Jędrzycka M. Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 707.
- [4] 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.
- [5] Gomez E J, Delgado J A, Gonzalez J M. Environmental factors affect the response of microbial extracellular enzyme activity in soils when determined as a function of water availability and temperature. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(18): 10105-10115.
- [6] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 2000, 49(2): 175-190.
- [7] Cheng L, Zhang N, Yuan M, Xiao J, Qin Y, Deng Y, Tu Q, Xue K, van Nostrand J D, Wu L, He Z, Zhou X, Leigh M B, Konstantinidis K T, Schuur E A, Luo Y, Tiedje J M, Zhou J. Warming enhances old organic carbon decomposition through altering functional microbial communities. *The ISME Journal*, 2017, 11(8): 1825-1835.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] Guan P T, Yang J J, Yang Y R, Wang W, Zhang P, Wu D H. Land conversion from cropland to grassland alleviates climate warming effects on nutrient limitation: evidence from soil enzymatic activity and stoichiometry. *Global Ecology and Conservation*, 2020, 24: e01328.
- [11] 忙顺兰, 罗晓蔓, 丁贵杰. 马尾松幼苗根系分泌物对土壤酶活性和养分的影响. *中南林业科技大学学报*, 2021, 41(12): 53-59.
- [12] Dorodnikov M, Blagodatskaya E, Blagodatsky S, Marhan S, Fangmeier A, Kuzyakov Y. Stimulation of microbial extracellular enzyme activities by elevated CO₂ depends on soil aggregate size. *Global Change Biology*, 2009, 15(6): 1603-1614.
- [13] Midgley M G, Phillips R P. Spatio-temporal heterogeneity in extracellular enzyme activities tracks variation in saprotrophic fungal biomass in a temperate hardwood forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 138(C): 107600.
- [14] Cheeke T E, Phillips R P, Brzostek E R, Rosling A, Bever J D, Fransson P. Dominant mycorrhizal association of trees alters carbon and nutrient cycling by selecting for microbial groups with distinct enzyme function. *New Phytologist*, 2017, 214(1): 432-442.
- [15] Crim P M, Cumming J R. Extracellular soil enzyme activities in high-elevation mixed red spruce forests in central Appalachia, USA. *Forests*, 2020, 11(4): 468.
- [16] 陈亮, 蔡咏欣, 雷惠敏, 齐晓旭, 林俊均, 廖伟, 黄子玄. 亚热带丛枝菌根与外生菌根森林对土壤氮循环的影响. *生态学杂志*, 2022, 41(2): 218-226.
- [17] 王薪琪, 王传宽, 张泰东. 森林土壤碳氮循环过程的新视角: 丛枝与外生菌根树种的作用. *植物生态学报*, 2017, 41(10): 1113-1125.
- [18] Phillips R P, Brzostek E, Midgley M G. The mycorrhizal-associated nutrient economy: a new framework for predicting carbon-nutrient couplings in temperate forests. *New Phytologist*, 2013, 199(1): 41-51.
- [19] Chen X, Ding Z J, Tang M, Zhu B. Greater variations of rhizosphere effects within mycorrhizal group than between mycorrhizal group in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 237-246.
- [20] Brzostek E R, 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.
- [21] 刁娇娇, 肖文姬, 费菲, 关庆伟, 陈斌. 间伐对杉木人工林生长及生态系统碳储量的短期影响. *西南林业大学学报: 自然科学*, 2017, 37(3): 134-139.
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.

- [23] 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.
- [24] 林惠瑛, 周嘉聪, 曾泉鑫, 孙俊, 谢欢, 刘苑苑, 梅孔灿, 吴玥, 元晓春, 吴君梅, 苏先楚, 程栋梁, 陈岳民. 土壤酶计量揭示了武夷山黄山松林土壤微生物沿海拔梯度的碳磷限制变化. *应用生态学报*, 2022, 33(1): 33-41.
- [25] Moorhead D L, Sinsabaugh R L, Hill B H, Weintraub M N. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 93: 1-7.
- [26] 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.
- [27] Waring B G, Adams R, Branco S, Powers J S. Scale-dependent variation in nitrogen cycling and soil fungal communities along gradients of forest composition and age in regenerating tropical dry forests. *New Phytologist*, 2016, 209(2): 845-854.
- [28] 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.
- [29] Hou E, Luo Y, Kuang Y, Chen C, Lu X, Jiang L, Luo X, Wen D. Global meta-analysis shows pervasive phosphorus limitation of aboveground plant production in natural terrestrial ecosystems. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 637.
- [30] Helfenstein J, Tamburini F, von Sperber C, Massey M S, Pistocchi C, Chadwick O A, Vitousek P M, Kretschmar R, Frossard E. Combining spectroscopic and isotopic techniques gives a dynamic view of phosphorus cycling in soil. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3226.
- [31] 刘兴诏, 周国逸, 张德强, 刘世忠, 褚国伟, 闫俊华. 南亚热带森林不同演替阶段植物与土壤中 N、P 的化学计量特征. *植物生态学报*, 2010, 34(1): 64-71.
- [32] 刘婷岩, 郝龙飞, 王续富, 闫海霞, 白淑兰. 氮沉降及菌根真菌对长白落叶松苗木根系构型及根际酶活性的影响. *植物研究*, 2021, 41(1): 145-151.
- [33] Soudzilovskaia N A, van der Heijden M G A, Cornelissen J H C, Makarov M I, Onipchenko V G, Maslov M N, Akhmetzhanova A A, van Bodegom P M. Quantitative assessment of the differential impacts of arbuscular and ectomycorrhiza on soil carbon cycling. *New Phytologist*, 2015, 208(1): 280-293.
- [34] Godbold D L, Hoosbeek M R, Lukac M, Cotrufo M F, Janssens I A, Ceulemans R, Polle A, Velthorst E J, Scarascia-Mugnozza G, Angelis P, Miglietta F, Peressotti A. Mycorrhizal hyphal turnover as a dominant process for carbon input into soil organic matter. *Plant and Soil*, 2006, 281(1/2): 15-24.
- [35] Clemmensen K E, Bahr A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H, Stenlid J, Finlay R D, Wardle D A, Lindahl B D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science*, 2013, 339(6127): 1615-1618.
- [36] Midgley M G, Brzostek E, Phillips R P. Decay rates of leaf litters from arbuscular mycorrhizal trees are more sensitive to soil effects than litters from ectomycorrhizal trees. *Journal of Ecology*, 2015, 103(6): 1454-1463.
- [37] Wurzburger N, Brookshire E N J, McCormack M L, Lankau R A. Mycorrhizal fungi as drivers and modulators of terrestrial ecosystem processes. *New Phytologist*, 2017, 213(3): 996-999.
- [38] 崔嵘, 邹莉, 于洋, 郭静, 任清政, 王世新. 小兴安岭红松林土壤酶活性与土壤理化性质的时空变化. *东北林业大学学报*, 2016, 44(8): 49-54.
- [39] 李林海, 邱莉萍, 梦梦. 黄土高原沟壑区土壤酶活性对植被恢复的响应. *应用生态学报*, 2012, 23(12): 3355-3360.