DOI: 10.5846/stxb202205111316

王一,栾军伟,刘世荣.根系去除改变了毛竹林土壤酶活性对氮磷添加的响应.生态学报,2023,43(16):6515-6527.

Wang Y, Luan J W, Liu S R. Root exclusion changed the response of soil enzyme activity to the nitrogen and phosphorus addition in *Phyllostachys edulis* forest. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(16):6515-6527.

根系去除改变了毛竹林土壤酶活性对氮磷添加的响应

王 一1,2,栾军伟1,刘世荣3,*

- 1 国际竹藤中心 国家林业和草原局/北京市共建竹藤科学与技术重点实验室,北京 100102
- 2 四川长宁竹林生态系统国家定位观测研究站, 宜宾 644000
- 3 中国林业科学研究院 森林生态环境与自然保护研究所, 北京 100091

摘要:亚热带是我国氮和磷沉降的热点地区,森林生态系统碳(C)、氮(N)、磷(P)循环对 N 和 P 沉降的响应受到广泛关注。根系作为森林土壤碳和养分持续供给的重要来源,其输入变化在 N 和 P 沉降下通过影响土壤酶活性进而调控土壤碳和养分循环过程。以毛竹林为研究对象,选择硝酸铵和磷酸二氢钠分别进行 N 和 P 添加,共设置 4 个处理:对照、N 添加、P 添加和 N+P 添加,并结合壕沟处理,探究毛竹林土壤 C、N、P 循环相关酶活性对氮磷添加和根系去除的响应,并分析它们与土壤和细根化学性质之间的关系。结果表明:土壤 C、N 循环相关酶活性整体上对根系去除的响应比氮磷添加更敏感,这主要是因为根系去除显著降低土壤全氮和铵态氮含量,但短期氮磷添加并未显著改变调控土壤酶活性分异的土壤有机碳、全氮和铵态氮含量。与 C、N 循环相关酶活性不同,土壤 P 循环相关酶对根系去除和磷添加处理均呈现负响应,这可能是因为阻断根系 P 吸收和补充土壤 P 元素降低了微生物的 P 开采作用。但研究区土壤微生物仍受到 P 限制作用,这是因为在 P 缺乏毛竹林生态系统,根系比微生物具有更强的 P 吸收利用能力。研究结果强调了不同功能土壤酶活性对土壤养分添加和根系输入变化响应的敏感性差异,为预测低 P 毛竹林生态系统土壤 C 和养分循环提供依据。

关键词:毛竹;根系去除;氮磷添加;土壤酶

Root exclusion changed the response of soil enzyme activity to the nitrogen and phosphorus addition in *Phyllostachys edulis* forest

WANG Yi^{1,2}, LUAN Junwei¹, LIU Shirong^{3,*}

- 1 International Center for Bamboo and Rattan, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration/Beijing for Bamboo & Rattan Science and Technology, Beijing 100102, China
- 2 Changning Bamboo Forest Ecosystem Research Station, Yibin 644000, China
- 3 Research Institute of Forest Ecology, Environment and Natural Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

Abstract: As the hot spot of nitrogen (N) and phosphorus (P) deposition in the subtropical of China, the response of forest ecosystem carbon (C), N and P cycle to N and P deposition has got more and more concerns. As an important source of supplying of soil C and nutrients in forests, root input variations regulated the process of soil C and nutrient cycle by affecting soil enzyme activity under N and P deposition. Ammonium nitrate and sodium dihydrogen phosphate were added in moso bamboo forest as N and P addition to simulate N and P deposition in our study, respectively, and a total of four treatments were set up: control, N addition, P addition, and N+P co-addition. Combined with root exclusion treatment, the effects of root exclusion and N and P addition on soil C, N and P related enzyme activities were explored, and their relationships between soil C, N and P related enzyme activities were analyzed for

基金项目:国际竹藤中心基本科研业务费专项资金项目(1632019015,1632021023)

收稿日期:2022-05-11; 网络出版日期:2023-04-13

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

further. The results showed that the response of soil C and N related enzyme activities to root exclusion was more sensitive than those to N and P addition in general, which caused from the negative response of soil total nitrogen and ammonium nitrogen to root exclusion, but the neutral response of soil organic carbon, total nitrogen and ammonium nitrogen to short-term N and P addition. Different from the activities of C and N related soil enzyme to root exclusion and N and P addition, soil P related enzyme activities showed a negative response to root exclusion and phosphorus addition, respectively, which may be attributed to decline in microbial P mining effect. Because preventing of root P absorption caused from root input variations in trench plots and supplementing of soil P under P addition and N+P co-addition treatments may reduce the utilization of soil P by microorganisms in our study site. Despite all this, soil microorganisms are still suffering from P limitation under P addition treatment in our study area, and the main reason is that the underground root system has stronger P absorption and utilization capacity than microorganisms in the P-deficient moso forest ecosystem. Our results highlight the discrepancy of the responses of multiple functional soil enzyme activities to soil nutrients addition and root input variations, and provide a basis for predicting soil C and nutrient cycling in low-P moso bamboo forest ecosystem.

Key Words: Phyllostachys edulis; root exclusion; nitrogen and phosphorus addition; soil extracellular enzyme

世界范围内工业的发展、化石燃料使用以及氮(N)肥施用导致大气活性 N 沉降量逐年增加,全球大气 N 沉降速率预计在 2050 年会比工业革命前增加近 3 信 $^{[1-2]}$ 。尽管近年来我国工业减排和农业减肥使我国氮沉降量趋于稳定,但我国仍是氮沉降较严重地区之一 $^{[1,3]}$ 。通常来讲,通过沉降作用进入生态系统的氮素可作为养分满足植被对氮素的需求,增加地上部分生产力 $^{[1,4]}$ 。但长期且过量的氮沉降会引起土壤酸化、地上植被组成和地下土壤微生物群落结构的改变、甚至生态系统功能改变 $^{[5-7]}$ 。亚热带森林常被认为我国重要的 N 沉降区且相对缺乏磷元素 $(P)^{[3,8]}$,持续的 N 输入会加剧亚热带地区的 P 限制从而影响生态系统过程 $^{[9-11]}$ 。快速生长的植物由于在合成蛋白质过程中需要大量的 P 作为结构支撑 $^{[12]}$,因此可能加剧与土壤微生物对 P 元素的竞争作用。尽管已开展大量氮磷添加试验研究 $^{[13]}$,但受限于不同气候带生态系统具有不同氮磷养分状况,目前很多结论仍存在争议。尤其是在具有爆发式生长特征的毛竹林生态系统中,开展 N、P 添加试验对我们了解 N 沉降下毛竹和土壤微生物的响应具有重要的作用。

土壤酶作为土壤中植物根系和微生物协同作用产生的活性物质,在调节土壤碳(C)和养分循环中发挥重要的作用,其常被作为参与土壤中 C_N P 转化和养分释放的重要工具,也被作为土壤微生物对全球变化响应的重要指示因子 [14—15]。酶的分泌过程需要能量和养分,因此土壤养分状况变化会改变土壤酶产量分配 [14]。植物通过根系获取养分,这可能会加剧根系和土壤微生物之间对养分的竞争 [16]。根系也会以分泌物的形式和自身周转为微生物生长提供必需的能量 [17]。因此,根系输入变化将会通过改变土壤养分状况以及底物数量和质量进而影响与土壤微生物生长相关的 C_N P 资源在土壤酶中的分配 [18]。在该过程中,土壤微生物通过"优化资源配置"协调分配与 C_N P 循环相关的酶产量以满足其对能量和养分的需求 [15]。目前,已开展了毛竹林土壤酶活性对 N 添加响应的研究 [19],但基于土壤酶的功能多样性 [20],探究土壤 C_N P 循环相关酶活性对 N_N P 添加和根系输入变化的响应差异将有助于我们预测全球变化对竹林生态系统 C_N P 循环的潜在影响。

毛竹(*Phyllostachys edulis*)作为我国面积最大,分布最广的竹种,广泛分布于我国亚热带地区^[21]。毛竹爆发式生长阶段需要从根系获取大量养分供应,根系输入变化可能会改变毛竹与土壤微生物之间对养分的竞争,进而影响土壤酶活性的变化。壕沟处理作为一种有效的改变根系输入的手段,可在对土壤扰动尽量小的情况下切断植物根系达到根系去除的效果,进而改变植物与微生物之间的养分竞争作用^[22]。我们之前研究发现四川长宁地区毛竹林生态系统 P 相对缺乏^[23],根系输入变化是否会改变毛竹林土壤酶活性对 N 和 P 添加的响应我们仍不清楚。因此开展毛竹林生态系统 N 和 P 添加试验并结合样地内壕沟样方试验,考察土壤 C、N、P 循环相关酶活性对氮磷添加和根系去除的响应,为深入理解 N 沉降对亚热带森林生态系统碳和养分

循环的影响提供科学依据。

1 研究区概况

研究地点位于四川省宜宾市长宁县蜀南竹海景区(28°15′—28°47′ N,104°44′—105°03′ E),位于云贵高原向四川盆地过渡区,属中亚热带湿润性季风气候,降水丰富,温暖湿润,年均降雨量 1141.7 mm,年均气温 18.3 $\mathbb{C}^{[24]}$ 。土壤以山地黄壤和紫色土为主(本研究所在区域属山地黄壤)。该区处于西南丛生竹林区,江南混合竹和西南高山竹的分布交界区。研究地点的毛竹林是我国毛竹林成片分布西北缘,林下优势植物有红盖鳞毛蕨(Dryopteris erythrosora)、芒萁(Dicranopteris dichoyoma)、狗脊蕨(Woodwardia japonica)、乌蕨(Stenoloma chusanum)、亮毛蕨(Acystopteris japonica)、千金子等(Leptochloa chinensis) [25]。

2 研究方法

2.1 试验设计

2016年11月采用随机区组试验设计^[24],在长势健康的毛竹林设置4个区组,每个区组随机安排对照处理(CK: control)、氮添加处理(N: N addition)、磷添加处理(P: P addition)和氮磷添加处理(N+P: N and P addition)。4个处理安排在4个区组内,共4个重复,共计16块样地。每个样地面积为20m×20m,样地间至少预留5m缓冲带。同时为防止毛竹鞭根生理整合效应,在每个样地周围埋入0.3cm厚、80cm宽的PVC软板。翌年4月在每块样地冠层下空地随机选择3个1m×1m样方进行深60cm壕沟断根处理(Trench),去掉样方内灌草的地上部分,并用相同规格PVC软板插入以阻隔根系重新长人,整个试验期间保持壕沟样方内

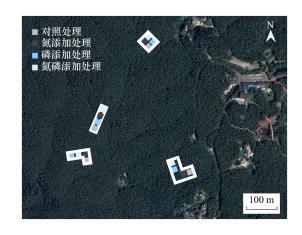


图 1 样地空间分布图 Fig.1 Spatial distribution of the plots

无活植物体。同年 6 月,采用林冠下自动喷灌方式进行外源氮磷添加。其中,N 添加量依据我国亚热带地区实际氮沉降量和未来增加趋势设置高氮浓度^[26],P 添加量参考 Cleveland 方法^[27]按照其与 N 添加量的相同配比进行。N 添加选用 NH_4NO_3 ,添加量为 10 g N m^{-2} a⁻¹;P 添加选用 NaH_2PO_4 ,添加量为 10 g P m^{-2} a⁻¹,添加量在每年平均分成 6 次隔月进行添加。每次添加将 NH_4NO_3 或 NaH_2PO_4 溶解于 100 L 水中并通过自动喷施系统均匀喷洒于样地内,对照样地喷施等体积的水,以防止氮磷添加导致的水分效应。样地空间分布图和植被信息分别见图 1 和表 1。

表 1 样地信息 e 1 Stand density and DBH in different plots

Table 1

胸径 胸径 密度 密度 样地 样地 Diameter Diameter Stand density/ Stand density/ Plots Plots at breast at breast (株/hm²) (株/hm²) height/cm height/cm 对照处理 Control 4725±350 9.61±0.10 磷添加处理 P addition 4875±520 9.65 ± 0.15 氮添加处理 N addition 4650±325 9.76±0.30 氮磷添加处理 N and P addition 4975 ± 148 9.36±0.29

2.2 土壤样品采集和化学性质测定

2018 年 8 月,在每个样地及其壕沟样方内随机选择 3 个采样点,去除地表凋落物和植被后用直径 5 cm 的不锈钢土钻采集 0 — 10 cm 土壤样品后混合均匀,分拣出可见的石粒和根系后过 2 mm 筛,然后将筛分好的土壤样品和细根(直径≤2 mm)低温冷藏带回实验室。采用 2 mol KCL 溶液浸提土壤样品后用化学分析仪

(Smartchem 300, AMS-Alliance, Italy)测定土壤硝态氮(NO³)和铵态氮(NH⁴)含量。取部分室温风干的土壤样品用 pH 计(PHS-3C, INESA Inc.,China)测定土壤 pH(水:土=2.5:1)。风干土样品过 100 目筛用于有机碳(TOC)、全氮(TN)和全磷(TP)的分析。同时,将细根清洗干净后烘干研磨过 100 目筛用于 TOC、TN 和 TP 分析。采用元素分析仪测定(ECS 4010 CHNSO, Costech Analytical Tecnologies Inc., Vlencia, CA, USA)测定土壤和细根 TOC 和 TN,采用化学分析仪(Smartchem 300, AMS-AllianceWestco Scientific Instruments, Rome, Italy)结合 H₂SO₄/HClO₄消煮法测定土壤和细根 TP^[22,28]。

2.3 土壤酶活性测定

采用荧光微平板法测定土壤酶活性^[29]:把 1.00 — 1.25 g 鲜土加入 125ml 的醋酸钠缓冲液中(50 mmol/L pH=4.2),在搅拌机中均质 1 min 制成土壤悬液。将参与土壤 C、N、P 循环相关的共 7 种水解酶底物(表 2)取 50 μL 加入已有 200 μL 土壤悬液的 96 孔微平板中作为样品控制,样品控制采用 200 μL 土壤悬液和 50 μL 酶底物,对照控制采用 200 μL 土壤悬液和 50 μL 醋酸钠缓冲液,淬火控制为 200 μL 土壤悬液和 50 μL 标准底物,底物控制为 200 μL 醋酸钠缓冲液和 50 μL 酶底物。每个土壤样品的每种控制设置 1 列,共计 8 个孔。在 25 ℃培养箱中暗培养 3 h 后加入 5 μL NaOH(0.5 N)停止反应,并使用酶标仪(LAMBDA 35, PerkinElmer, USA)进行荧光扫描读数。

土壤酶 缩写 功能 底物 Enzyme Abbreviation Function Substrate α-葡糖苷酶 AG碳循环:水解可溶性糖转化为葡萄糖 4-MUB-α-D-glucoside α-Glucosidase β-葡糖苷酶 BG 碳循环:水解纤维素转化为葡萄糖 4-MUB-β-D-glucoside β-Glucosidase 木糖苷酶 碳循环:水解半纤维素 BX4-MUB-β-D-xyloside Xylosidase 维二糖水解酶 CB碳循环:水解纤维素转化为二糖 $4\text{-MUB-}\beta\text{-D-cellobioside}$ Cellobio hydrolaseN-乙酰-葡糖苷酶 NAG 氮循环:水解几丁质 $4\text{-}MUB\text{-}N\text{-}acetyl\text{-}\beta\text{-}D\text{-}glucosaminide}$ N-acetyl-glucosaminidase 酸性磷酸酶 磷循环:水解有机磷转化为无机磷 AP 4-MUB-phosphate Acid phosphatase 亮氨酸氨基肽酶 氮循环:水解亮氨酸以及其他疏水氨 LAP L-Leucine-7-amido-4-methylcoumarin Leucine-amino-peptidase 基酸

表 2 土壤酶活性、功能和底物信息表

Table 2 Soil enzyme activities measured, their functions, and substrates used in the assays

2.4 数据统计分析

根据 German 等人 $[^{30}]$ 方法计算 AG、BG、BX、CB、NAG、AP 和 LAP 活性,根据 Moorhead 等人 $[^{20}]$ 和 Jing 等人 $[^{13}]$ 方法进行土壤酶活性矢量分析,以明确土壤微生物受到碳限制还是养分限制。其中:矢量长度(VL, Vector length)表示土壤微生物碳和养分的相对限制,矢量角度(VD, Vector degree)表示土壤微生物 N 和 P 的相对限制,矢量角度>45°表示 P 限制,矢量角度<45°表示 N 限制。计算公式如下:

$$X = (BG+CB)/[(BG+CB)+AP]$$

 $Y = (BG+CB)/[(BG+CB)+(NAG+LAP)]$
Vector length = $SQRT(X^2+Y^2)$
Vector degree = DEGREES(ATAN2(X, Y))

采用一般线性模型将氮添加(N)、磷添加(P)和根系去除(Trench)作为固定效应,将区组作为随机效应, 检验氮磷添加和根系输入变化的主效应(N、P、Trench)及交互效应(N×P、N×Trench、P×Trench 以及 N×P× Trench)对未壕沟样地和壕沟样方土壤和细根化学性质、土壤酶活性、和土壤酶活性矢量特征的影响,采用 Pearson 相关分析分别检验未壕沟样地和壕沟样方土壤酶活性与土壤和细根化学性质相关性。以 AG、BG、BX、CB、AP、NAG 和 LAP 作为物种,使用 Canoco 4.5 进行主成分分析,并以土壤化学性质作为环境因子,使用 Canoco 4.5 进行冗余分析。所有统计分析均采用 SPSS 17.0(SPSS Inc., Chicago, USA)进行。

3 结果与分析

3.1 氮磷添加和根系去除对土壤和细根化学性质的影响

氮添加处理(N)导致土壤碳磷比和氮磷比分别显著降低 17.5%和 16.2%(P=0.035,P=0.006)(表 3),磷添加处理(P)导致细根全磷含量显著增加 88.6%(P<0.001),二者交互作用(N×P)显著改变了细根有机碳含量(P=0.003),其中 P处理降低了 N处理对细根有机碳含量的促进作用。根系去除处理(Trench)导致土壤全氮含量和铵态氮含量分别显著降低 33.6%(P=0.004)和 66.0%(P=0.014),土壤全磷含量和碳氮比分别显著增加 74.4%(P=0.008)和 38.8%(P=0.001)。根系去除处理与氮添加交互作用(N×Trench)显著改变了土壤铵态氮(P=0.034)、土壤碳磷比(P=0.003)和土壤氮磷比(P=0.001),Trench 处理抑制了 N处理对土壤铵态氮的增加,但进一步增加了土壤碳磷比和土壤氮磷比。P处理与 Trench 处理(P×Trench)及二者与 N处理的交互作用(N×P×Trench)对土壤和细根化学性质无显著影响(表 3,图 2—3)。

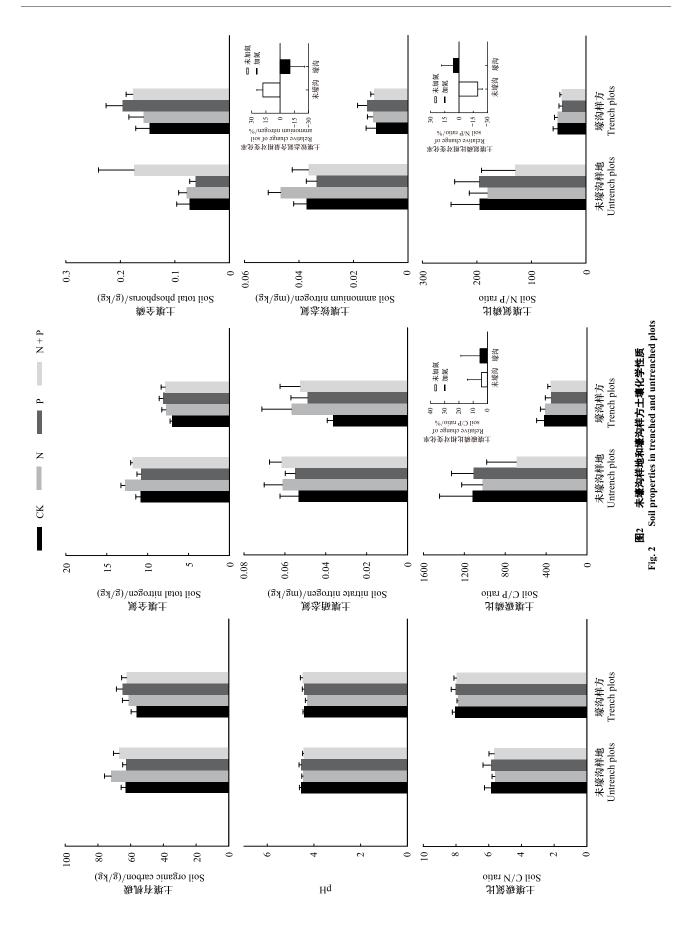
3.2 氮磷添加和根系去除对土壤酶活性和矢量特征的影响

N 处理导致土壤 α -糖苷酶(AG)活性显著增加了 29.7%(P=0.048),P 处理导致土壤酸性磷酸酶(AP)活性显著降低 34.0%(P=0.004),二者交互作用显著改变了 β -糖苷酶(BG)(P=0.032)和纤维二糖水解酶(CB)(P=0.002)活性,其中 P 处理降低了 N 处理对 BG 和 CB 的促进作用。Trench 处理导致土壤 AG、纤维二糖水解酶(CB)和亮氨酸氨基肽酶(LAP)活性分别显著增加了 313.4%(P=0.003)、113.7%(P=0.023)和 25.6%(P=0.020),AP 活性显著降低了 62.3%(P=0.024)。Trench 处理与 N 处理(N×Trench)及其与 P 处理(P×Trench)的交互作用分别显著改变了 AG(P=0.011)和 AP 活性(P=0.048),其中,与未壕沟样地相比,N 处理在壕沟样方增加了 AG 活性而 P 处理在壕沟样方降低了 AP 活性。P 处理和 Trench 处理分别导致土壤酶活性矢量角度显著降低 4.7%(P=0.013)和 11.1%(P=0.005),N 处理与 P 处理交互作用(N×P)显著改变了土壤酶活性矢量长度(P=0.027)和角度(P=0.027),P 处理将 N 处理对矢量长度的促进作用转为抑制作用,而将 N 处理对矢量角度的抑制作用转为促进作用。N 处理与 Trench 处理交互作用(N×Trench)(P=0.036)及其与 P 处理三者交互作用(N×P×Trench)(P=0.032)显著改变了土壤酶活性矢量角度(表 4, 图 4)。

表 3 氮磷添加和根系去除及其交互作用对土壤和细根化学性质的影响(P值)

Table 3 Effects of N addition, P addition and root exclusion and their interaction on soil and fine root properties (P value)

土壤和细根性质 Soil and fine root properties	氮添加 N	磷添加 P	根系去除 Trench	氮添加× 磷添加 N×P	氮添加× 根系去除 N×Trench	磷添加× 根系去除 P×Trench	氮添加× 磷添加× 根系去除 N×P× Trench
土壤有机碳 Soil organic carbon	0.300	0.645	0.289	0.055	0.376	0.192	0.721
土壤全氮 Soil total nitrogen	0.074	0.924	0.004	0.161	0.129	0.065	0.847
土壤全磷 Soil total phosphorus	0.123	0.063	0.008	0.260	0.111	0.804	0.175
土壤 pH Soil pH	0.259	0.362	0.249	0.500	0.173	0.216	0.474
土壤铵态氮 Soil ammonium nitrogen	0.121	0.342	0.014	0.257	0.034	0.150	0.812
土壤硝态氮 Soil nitrate nitrogen	0.171	0.551	0.357	0.361	0.718	0.582	0.673
土壤碳氮比 Soil C/N ratio	0.256	0.943	0.001	0.880	0.479	0.997	0.896
土壤碳磷比 Soil C/P ratio	0.035	0.188	0.067	0.298	0.003	0.397	0.248
土壤氮磷比 Soil N/P ratio	0.006	0.425	0.055	0.265	0.001	0.629	0.286
细根有机碳 Fine root organic carbon	0.770	0.901	_	0.003	_	_	_
细根全氮 Fine root total nitrogen	0.141	0.236	_	0.735	_	_	_
细根全磷 Fine root total phosphorus	0.328	0.000	_	0.413	_	_	_



http://www.ecologica.cn

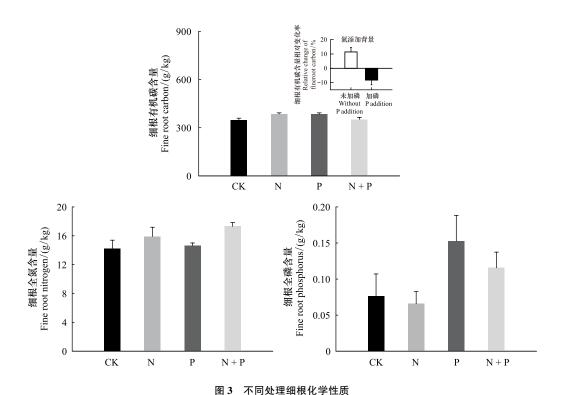


Fig.3 Fine root properties in different treatments

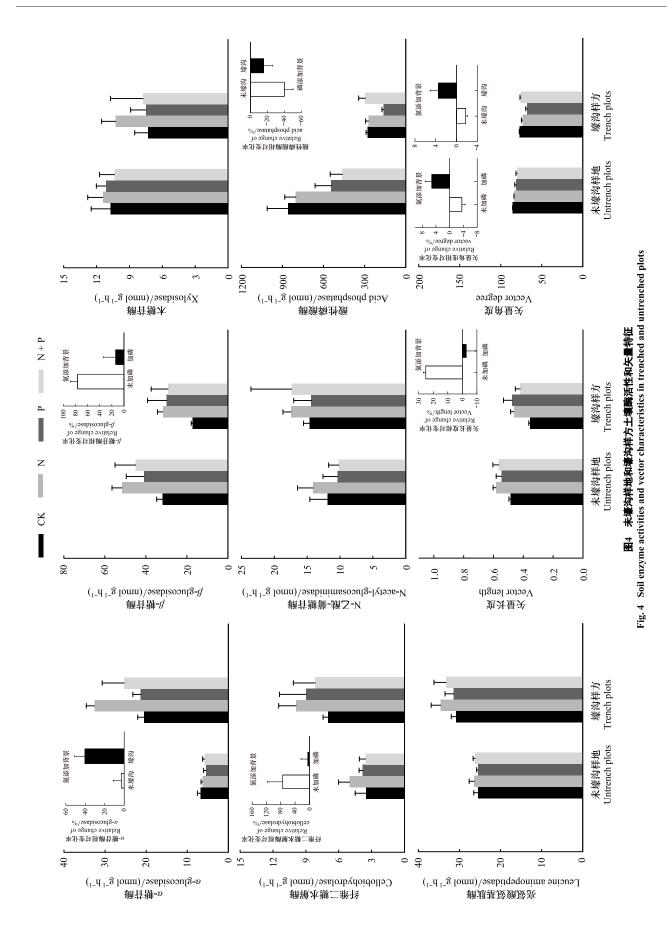
表 4 氮磷添加和根系去除及其交互作用对土壤酶活性和矢量特征的影响(P (E)

Table 4 Effects of N addition, P addition and root exclusion and their interaction on soil enzyme activities and vector characteristics (P)

土壤酶活性和矢量特征 Soil enzyme activities and vector characteristics	氮添加 N	磷添加 P	根系去除 Trench	氮添加× 磷添加 N×P	氮添加× 根系去除 N×Trench	磷添加× 根系去除 P×Trench	氮添加× 磷添加× 根系去除 N×P× Trench
α-葡糖苷酶 α-glucosidase	0.048	0.292	0.003	0.369	0.011	0.568	0.270
β-葡糖苷酶 β-glucosidase	0.085	0.295	0.202	0.032	0.404	0.799	0.976
木糖苷酶 Xylosidase	0.493	0.334	0.274	0.222	0.492	0.642	0.832
纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase	0.603	0.827	0.023	0.002	0.863	0.715	0.651
N-乙酰-葡糖苷酶 N-acetyl-glucosaminidase	0.278	0.452	0.367	0.662	0.494	0.537	0.711
酸性磷酸酶 Acid phosphatase	0.969	0.004	0.024	0.511	0.229	0.048	0.323
亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase	0.203	0.593	0.020	0.463	0.467	0.925	0.692
矢量长度 Vector length	0.102	0.091	0.066	0.027	0.182	0.822	0.312
矢量角度 Vector degree	0.658	0.013	0.005	0.027	0.036	0.928	0.032

3.3 土壤和细根化学性质对土壤酶活性的影响

综合 7 种参与土壤 C、N、P 循环相关酶活性发现:未壕沟样地和壕沟样方以第一主成分轴显著分开,解释率为 55.1%,而 N 处理与其他三种处理以第二主成分轴分开,解释率为 30.8%(图 5)。RDA 分析发现:土壤化学性质共揭示土壤酶活性整体变异的 93.6%,其中土壤碳氮比(P=0.001)、有机碳(P=0.007)、硝态氮(P=0.009)、铵态氮(P=0.026)和全氮(P=0.043)含量是影响土壤酶活性变异的主要原因(图 6)。通过进一步相关分析发现(表 5):在未壕沟样地,土壤养分含量(硝态氮和铵态氮)和细根化学性质(全氮和全磷)是影响土壤酶活性的主要因子;而在壕沟样方,土壤有机碳和全氮含量则是影响土壤酶活性的主要因子。



http://www.ecologica.cn

4 讨论与结论

4.1 氮磷添加对土壤酶活性的影响

氮添加和磷添加主效应对参与土壤 C 循环相关酶 (BG、CB 和 BX) 无显著影响(除 AG 外)。与 Chen 等 人[31] 研究一致,认为短期的养分添加尚未引起土壤 C 循环相关酶活性的改变[32]。与 C 循环相关酶活性响应相似,氮添加和磷添加主效应对土壤 N 循环相关酶活性响应相似,氮添加和磷添加主效应对土壤 N 循环相关酶活性亦未产生显著影响,这可能是因为在非 N 限制型生态系统继续添加 N 素 (10 g N m⁻² a⁻¹)超过了生态系统内植物和微生物对 N 的吸收^[33],故对土壤氮循环过程无影响;此外,赵阳等人^[34]研究亦发现短期磷添加尚未改变热带森林土壤氮循环过程。鉴于 N 获取策略的多样性及其与 C 循环过程的耦合关系,土壤 N 循环相关酶分泌将受到土壤底物数量、质量和微生物等多因素调

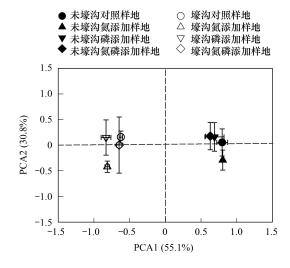


图 5 土壤酶活性主成分分析
Fig.5 Principle component analysis of soil enzyme activities

控[31,35],这也会增加 N 循环相关酶对养分添加响应的不确定性,故养分添加未对 NAG 和 LAP 产生显著影响。

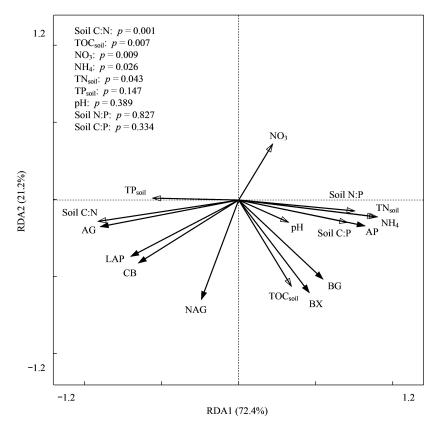


图 6 土壤酶活性与土壤化学计量特征冗余分析(RDA)

Fig.6 Redundancy analysis of soil enzyme activity and soil characteristics

AG:α-葡糖苷酶;BG:β-葡糖苷酶;BX:木糖苷酶;CB:纤维二糖水解酶;NAG:N-乙酰-葡糖苷酶;AP:酸性磷酸酶;LAP:亮氨酸氨基肽酶; TOC_{soil}:土壤有机碳;TN_{soil}:土壤全氮;TP_{soil}:土壤全磷;Soil C:N:土壤碳氮比;Soil C:P:土壤碳磷比;Soil N:P:土壤氮磷比;NO₃:土壤硝态氮;NH₄:土壤铵态氮;pH:土壤 pH 值

与土壤 C 和 N 循环相关酶活性不同,磷添加主效应显著降低了 AP 活性。已有大量研究表明磷添加对土壤磷酸酶活性有显著的抑制作用^[36—37]。这是因为 P 添加缓解了生态系统磷元素限制作用,降低了土壤微生物和植物对 P 的竞争性利用^[36],因此土壤微生物和植物的协同互作关系会降低以获取磷为目的的 AP 分泌量。"资源配置理论"和"最优分配原则"认为养分添加会改变土壤酶活性,且优先分配给缺乏的资源以缓解土壤养分的限制作用^[15,20,38]。研究发现 P 循环相关酶活性比 C 和 N 循环相关酶活性对氮磷添加的响应更敏感,且 AP 活性远高于 C 和 N 循环相关酶活性。这可能是因为我们的研究区域属于 P 缺乏型生态系统^[23],所以在 C、N、P 资源分配中优先满足用于磷酸酶的分泌,以保证在植物和微生物在低磷环境的生长发育。氮添加和磷添加二者交互作用显著影响了土壤 BG 和 CB 活性,主要表现为氮磷共添加降低了单一氮或磷添加对 BG和 CB的促进作用。这可能是因为单一氮或磷添加可能会相应造成磷和氮元素的限制作用,进而引发土壤微生物对有机质氮磷养分的开采作用^[39—40],微生物在该过程中分泌更多的酶以降解大分子有机物并从中获取更多的能量和养分。因此,当氮磷共添加时,氮磷养分的协调供应可能会降低土壤微生物以养分开采为目的的酶产量。

4.2 根系去除对土壤酶活性的影响

与氮磷添加对土壤酶活性的影响不同,壕沟处理显著改变了土壤 C、N、P 循环相关酶活性(表 4)。其中,根系去除显著增加了 AG、CB 和 LAP 的活性,但显著降低了 AP 活性(表 4,图 4)。作为土壤中重要的生物组分,根系通过自身周转和分泌物的形式向土壤提供底物以供微生物利用^[41-42]。壕沟切断根系势必会降低细根周转和根系分泌物等活性有机碳输入,进而改变降解纤维素的 CB 活性和分解可溶性糖的 AG 活性^[18,43]。根系去除引起土壤活性底物输入减少降低了土壤质量,增加了土壤碳氮比(表 3,图 2)。土壤微生物需要分泌更多的酶分解较难利用的底物以应对土壤质量降低,故导致 AG 和 CB 活性增加。RDA 分析(图 6)亦表明根系去除引起土壤碳氮比的增加是促使未壕沟样地和壕沟样方土壤酶活性产生分异的主要原因。土壤中含C底物输入的减少也会伴随着含N底物输入的减少^[44],可以从壕沟样方中土壤全氮和铵态氮含量的降低得到验证(表 3,图 2)。土壤氮素状态作为调控 LAP 活性的重要影响因子^[43],根系去除引起土壤全氮和铵态氮含量降低亦是影响土壤酶活性变异的主要原因(图 6)。根系去除一定程度降低了土壤氮磷比(表 3, P = 0.055),增加了土壤氮限制作用,微生物需要分泌更多的 LAP 酶开采有机质中的氮素供吸收利用。与土壤 C 和 N 循环相关酶不同,根系去除显著降低了 AP 活性(表 4,图 4)。这主要是因为根系去除降低了根系对土壤中磷元素的吸收,进而间接增加了土壤中全磷含量(表 3,图 2)。在土壤中磷含量增加的情况下,土壤微生物会降低 AP 的分泌量以降低其对有机质中磷元素的开采作用^[39],故壕沟样方中 AP 活性显著降低。

4.3 土壤酶活性变异的生物和非生物驱动因素

冗余分析表明除土壤碳氮比外,土壤有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量也是影响土壤酶变化的重要原因(图 6)。通过进一步的相关分析,发现土壤有机碳和全氮是影响壕沟样方土壤 C、N 循环相关酶(BG、CB 和 LAP)活性的重要因子,而在未壕沟样地,土壤养分含量(硝态氮和铵态氮)和细根养分含量(全氮和全磷)则是影响土壤 C、N 循环相关酶(AG、BG、CB 和 NAG)活性的重要因子(表 5)。这可能是因为根系去除加剧了土壤底物输入的限制作用[17],故土壤底物性质(有机碳和全氮)主要调控酶活性变化;而在未壕沟样地内,土壤底物输入并非主要限制因子,毛竹细根和土壤微生物对养分的竞争作用可能造成土壤和细根养分在调控酶活性变化中的重要作用[43]。土壤酶活性对氮添加和磷添加的中性响应主要是因为短期的养分添加并未显著改变土壤有机碳、硝态氮和铵态氮含量(表 3)。而根系去除显著降低了土壤全氮含量和铵态氮含量,故根系输入变化对土壤酶活性的影响整体上大于氮磷添加效应(表 3 和 4)。

表 5 土壤和细根化学性质与土壤酶活性相关分析

		Table	5 Correlations	s between soil en	zyme activities	Table 5 Correlations between soil enzyme activities and soil and fine root properties	oot properties			
		土壤有机碳 Soil organic carbon	土壤全氮 Soil total nitrogen	土壤全磷 Soil total phosphorus	土壤 pH Soil pH	土壤铵态氮 Soil ammonium nitrogen	土壤硝态氦 Soil nitrate nitrogen	细根有机碳 Fine root organic carbon	细根全氮 Fine root total nitrogen	细根全磷 Fine root total phosphorus
未壕沟样地	α-葡糖苷酶	0.470	0.069	-0.034	0.267	0.504*	-0.114	0.179	0.320	-0.455
Untrenched plots	β-葡糖苷酶	0.527*	0.236	0.182	0.153	0.563*	-0.043	0.312	0.378	-0.294
	木糖苷酶	0.238	-0.124	-0.017	0.079	0.293	-0.431	0.040	0.372	-0.187
	纤维二糖水解酶	0.311	0.161	-0.164	0.025	0.333	-0.363	0.219	0.523 *	-0.230
	N-乙酰-葡糖苷酶	0.349	0.138	-0.287	-0.065	0.655 **	-0.603*	0.071	0.386	-0.713 **
	酸性磷酸酶	0.231	0.023	-0.454	-0.026	0.604 *	-0.563*	0.040	0.103	-0.771^{**}
	亮氨酸氨基肽酶	0.315	0.021	0.107	-0.129	-0.200	0.466	0.154	0.026	0.123
壕沟样方	α-葡糖苷酶	0.275	0.333	-0.100	-0.087	-0.048	0.050		I	I
Trenched plots	β-葡糖苷酶	0.692 **	0.741 **	0.035	0.043	0.049	090.0		I	I
	木糖苷酶	0.356	0.476	0.173	0.420	0.072	-0.337		1	I
	纤维二糖水解酶	0.475	0.532 *	0.141	0.406	-0.035	-0.084			1
	N-乙酰-葡糖苷酶	0.033	0.040	-0.278	0.069	-0.185	-0.098		1	I
	酸性磷酸酶	0.466	0.580 *	0.133	0.217	0.004	-0.146		1	I
	亮氨酸氨基肽酶	0.707**	0.791 **	0.026	0.140	0.032	0.177		_	-

*代表 P<0.05; **代表 P<0.05

除土壤 C 和 N 循环相关酶活性外,我们发现磷添加和根系去除主效应及二者交互效应均显著改变了土壤 P 循环相关酶活性(表4),其中磷添加主效应和根系去除主效应均显著降低 AP 活性,但二者交互效应(P× Trench)则表现出在磷添加背景下未壕沟样地 AP 活性显著高于壕沟样方,说明毛竹根系可加剧土壤磷元素对微生物的限制作用,故未壕沟样地土壤微生物分泌更多的 AP 酶。这是因为外源养分添加的磷元素被毛竹细根吸收,磷添加主效应显著增加了毛竹细根全磷含量(图 3)。我们亦发现未壕沟样地 AP 活性与细根全磷含量呈显著负相关关系(表 5),磷添加在增加毛竹细根全磷含量的同时降低了 AP 活性,且壕沟样方磷添加使 AP 活性降低了 73.4%,未壕沟样地磷添加使 AP 活性降低了 58.4%(图 3 和图 4),壕沟样方 AP 活性降低的更多说明毛竹根系和土壤微生物在对土壤中磷元素竞争性利用中具有优势,因此当有毛竹根系存在时,土壤微生物仍需分泌更多的 AP 以保证对磷元素的需求。此外,磷添加主效应和根系去除主效应均显著降低矢量角度,但矢量角度仍大于 45°(图 4),说明短期磷添加和根系去除一定程度缓解了磷缺乏[32],但研究区毛竹林生态系统土壤微生物仍然受到磷限制作用。这也进一步验证了研究区毛竹根系比土壤微生物具有更强的磷竞争能力,因此短期磷添加并未彻底改变土壤微生物的磷限制作用。

短期氮添加和磷添加对毛竹林土壤 C、N 循环相关酶活性影响较小,但根系去除显著改变了土壤 C、N 循环相关酶活性。其中,土壤有机碳、全氮和铵态氮含量对短期氮添加和磷添加的中性响应是土壤 C、N 循环相关酶活性无变化的主要原因,而根系去除降低土壤全氮和铵态氮含量则是调控土壤酶活性变异的主要原因。短期磷添加和根系去除虽显著降低了土壤 P 循环相关酶活性,但研究区土壤微生物仍受到磷限制作用。这主要是因为在磷缺乏的毛竹林生态系统中,毛竹根系比土壤微生物具有更强的磷吸收能力。在磷缺乏的毛竹林生态系统中,土壤 C、N、P 循环相关酶活性对土壤环境因子(氮磷养分添加)和生物因子(根系去除)变化的响应具有不同的敏感性。因此,应注重区分环境和生物因子协调调控的土壤酶活性变异,以进一步认识不同功能土壤酶在参与调控土壤碳和养分循环中的作用。

参考文献(References):

- [1] Galloway J, Townsend A, Erisman J, Bekunda M, Cai Z, Freney J, Martinelli L, Seitzinger S, Sutton M. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. Science, 2008, 320: 889-892.
- [2] Kanakidou M, Myriokefalitakis S, Daskalakis N, Fanourgakis G, Nenes A, Baker A, Tsigaridis K, Mihalopoulos N. Past, present and future atmospheric nitrogen deposition. Journal of the Atmospheric Sciences, 2016
- [3] Yu G R, Jia Y L, He N, Zhu J X, Chen Z, Wang Q F, Piao S, Liu X J, He H L, Guo X B, Wen Z, Li P, Ding G, Goulding K. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. Nature Geoscience, 2019, 12: 424-429.
- [4] LeBauer D, Treseder K. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. Ecology, 2008.
- [5] Lu X K, Mao Q G, Gilliam F, Luo Y Q, Mo J. Nitrogen deposition contributes to soil acidification in tropical ecosystems. Global Change Biology, 2013.
- [6] Manning P, Newington J, Robson H R, Saunders M, Eggers T, Bradford M, Bardgett R, Bonkowski M, Ellis R, Gange A, Grayston S, Kandeler E, Marhan S, Reid E, Tscherko D, Godfray H, Rees M. Decoupling the direct and indirect effects of nitrogen deposition on ecosystem function. Ecology Letters, 2006.
- [7] Liu W X, Liu L L, Yang X, Deng M, Wang Z, Wang P D, Yang S, Li P, Peng Z Y, Yang L, Jiang L. Long term nitrogen input alters plant and soil bacterial, but not fungal beta diversity in a semiarid grassland. Global Change Biology, 2021, 27: 3939-3950.
- 8 Vitousek P M, Sanford Jr R L. Nutrient cycling in moist tropical forest. Annual Review of Ecology and Systematics, 1986, 17(1): 137-167.
- [9] Harpole W, Ngai J, Cleland E, Seabloom E, Borer E, Bracken M E, Elser J, Gruner D, Hillebrand H, Shurin J, Smith J. Nutrient co-limitation of primary producer communities. Ecology Letters, 2011.
- [10] Hou E Q, Wen D Z, Jiang L F, Luo X Z, Kuang Y W, Lu X K, Chen C R, Allen K T, He X J, Huang X Z, Luo Y Q. Latitudinal patterns of terrestrial phosphorus limitation over the globe. Ecology Letters, 2021, 24(7): 1420-1431.
- [11] Zhu J X, Wang Q F, He N P, Smith M D, Elser J J, Du J Q, Yuan G F, Yu G R, Yu Q. Imbalanced atmospheric nitrogen and phosphorus depositions in China: Implications for nutrient limitation. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2016, 121(6): 1605-1616.
- [12] Elser J J, Dobberfuhl D R, MacKay N A, Schampel J H. Organism Size, Life History, and N: P Stoichiometry: toward a unified view of cellular and ecosystem processes. BioScience, 1996, 46(9): 674-684.
- [13] Jing X, Chen X, Fang J Y, Ji C J, Shen H H, Zheng C Y, Zhu B. Soil microbial carbon and nutrient constraints are driven more by climate and soil physicochemical properties than by nutrient addition in forest ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107657.
- [14] 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.
- [15] Sinsabaugh R L, Moorhead D L. Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(10): 1305-1311.
- [16] Courty P E, Smith P, Koegel S, Redecker D, Wipf D. Inorganic nitrogen uptake and transport in beneficial plant root-microbe interactions. Critical Reviews in Plant Sciences, 2015, 34(1/2/3); 4-16.
- [17] Bais H P, Weir T L, Perry L G, Gilroy S, Vivanco J M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 233-266.
- [18] 黄梓敬,徐侠,张惠光,蔡斌,李良彬. 根系输入对森林土壤碳库及碳循环的影响研究进展. 南京林业大学学报:自然科学版,2022,46 (1):25-32.
- [19] 彭春菊,李全,顾鸿昊,宋新章. 模拟氮沉降及经营方式对毛竹林土壤酶活性的影响. 应用生态学报, 2017, 28(2): 423-429.
- [20] 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.
- [21] Li P H, Zhou G M, Du H Q, Lu D S, Mo L F, Xu X J, Shi Y J, Zhou Y F. Current and potential carbon stocks in Moso bamboo forests in China. Journal of Environmental Management, 2015, 156: 89-96.
- [22] 张磊,贾淑娴,李啸灵,陆宇明,林伟盛,郭剑芬.亚热带米槠天然林凋落物和根系输入变化对土壤磷组分的影响.生态学报,2022,42 (2):656-666.
- [23] 高小敏, 刘世荣, 王一, 栾军伟, 蔡春菊, 任立宁. 穿透雨减少和氮添加对毛竹叶片和细根化学计量学的影响. 生态学报, 2021, 41(4): 1440-1450.
- [24] Wu X P, Liu S R, Luan J W, Wang Y, Cai C J. Responses of water use in moso bamboo (*Phyllostachys* heterocycla) culms of different developmental stages to manipulative drought. Forest Ecosystems, 2019, 6(1): 31.
- [25] 张蕊,申贵仓,张旭东,张雷,高升华.四川长宁毛竹林碳储量与碳汇能力估测.生态学报,2014,34(13):3592-3601.
- [26] Reay D S, Dentener F, Smith P, Grace J, Feely R A. Global nitrogen deposition and carbon sinks. Nature Geoscience, 2008, 1(7): 430-437.
- [27] Cleveland C C, Townsend A R. Nutrient additions to a tropical rain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(27); 10316-10321.
- [28] 王一,刘彦春,刘世荣, 暖温带森林土壤酶活性对增温的响应及其环境解析, 林业科学研究, 2017, 30(1): 117-124.
- [29] 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.
- [30] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(7): 1387-1397.
- [31] Chen X, Hao B, Jing X, He J S, Ma W H, Zhu B. Minor responses of soil microbial biomass, community structure and enzyme activities to nitrogen and phosphorus addition in three grassland ecosystems. Plant and Soil, 2019, 444: 21-37.
- [32] Jing X, Yang X X, Ren F, Zhou H K, Zhu B, He J S. Neutral effect of nitrogen addition and negative effect of phosphorus addition on topsoil extracellular enzymatic activities in an alpine grassland ecosystem. Applied Soil Ecology, 2016, 107: 205-213.
- [33] Bell T H, Klironomos J, Henry H. Seasonal responses of extracellular enzyme activity and microbial biomass to warming and nitrogen addition. Soil Science Society of America Journal, 2010, 74: 820-828.
- [34] 赵阳,栾军伟,王一,杨怀,刘世荣.模拟干旱和磷添加对热带低地雨林氮矿化过程的影响.植物生态学报,2022,46(1):102-113.
- [35] Sinsabaugh R, Lauber C, Weintraub M, Ahmed B, Allison S, Crenshaw C, Contosta A, Cusack D, Frey S, Gallo M, Gartner T B, Hobbie S, Holland K, Keeler B, Powers J, Štursová M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M, Wallenstein M, Zak D, Zeglin L. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. Ecology Letters, 2008.
- [36] Wang C, Mori T, Mao Q G, Zhou K J, Wang Z H, Zhang Y Q, Mo H, Lu X K, Mo J M. Long-term phosphorus addition downregulates microbial investments on enzyme productions in a mature tropical forest. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20(2): 921-930.
- [37] 冯慧芳,余明,薛立.外源性氮磷添加及林分密度对大叶相思林土壤酶活性的影响.生态学报,2020,40(14):4894-4902.
- [38] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activityby N and P availability. Biogeochemistry, 2000, 49(2): 175-191.
- [39] DeForest J L. Chronic phosphorus enrichment and elevated pH suppresses Quercus spp. leaf litter decomposition in a temperate forest. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135; 206-212.
- [40] Craine J M, Morrow C, Fierer N. Microbial nitrogen limitation increases decomposition. Ecology, 2007, 88(8): 2105-2113.
- [41] 尹华军,张子良,刘庆.森林根系分泌物生态学研究:问题与展望.植物生态学报,2018,42(11):1055-1070.
- [42] Poirier V, Roumet C, Munson A D. The root of the matter; linking root traits and soil organic matter stabilization processes. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 120; 246-259.
- [43] Wallenstein M, McMahon S, Schimel J. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. Global Change Biology, 2009.
- [44] 于贵瑞,高扬,王秋凤,刘世荣,申卫军.陆地生态系统碳氮水循环的关键耦合过程及其生物调控机制探讨.中国生态农业学报,2013,21(1):1-13.