

DOI: 10.5846/stxb202206131685

陈天,程瑞梅,王丽君,肖文发,沈雅飞,孙鹏飞,张萌,曾立雄.氮添加对马尾松人工林土壤团聚体氮矿化及土壤酶活性的影响.生态学报,2023,43(16):6528-6538.

Chen T, Cheng R M, Wang L J, Xiao W F, Shen Y F, Sun P F, Zhang M, Zeng L X. Effects of nitrogen addition on the mineralization and enzymatic activities within soil aggregates in *Pinus massoniana* plantation. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(16): 6528-6538.

氮添加对马尾松人工林土壤团聚体氮矿化及土壤酶活性的影响

陈 天¹,程瑞梅^{1,2,*},王丽君¹,肖文发^{1,2},沈雅飞^{1,2},孙鹏飞¹,张 萌¹,曾立雄^{1,2}

1 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所 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:土壤氮库是生态系统氮素重要的源和汇。以三峡库区马尾松(*Pinus massoniana*)人工林为研究对象,从团聚体视角出发分析土壤养分和酶活性对氮添加的响应规律,以及相应的变化对氮矿化的影响,为预测该地区在大气氮沉降持续增加的背景下土壤氮动态提供参考。设置 4 种量的氮添加处理(N_0 :0 kg N $hm^{-2} a^{-1}$; N_{30} :30 kg N $hm^{-2} a^{-1}$; N_{60} :60 kg N $hm^{-2} a^{-1}$; N_{90} :90 kg N $hm^{-2} a^{-1}$),将土壤按粒径分为>2000 μm (大团聚体)、250—2000 μm (小团聚体)和<250 μm (微团聚体)3 个组分的团聚体,观察团聚体氮矿化特征。结果表明:(1)与对照相比, N_{30} 和 N_{60} 处理提高了有机质(SOM)含量,但土壤 SOM 和全氮(TN)含量在 N_{90} 下开始出现下降;氮添加降低了土壤速效磷(aP)含量,在小团聚体中表现最为显著。除微团聚体中的 POD 和 NAG 以外,其余 3 种酶的活性均在 N_{30} 和 N_{60} 处理之下被提高。(2)土壤平均净硝化速率整体高于土壤平均净氨化速率;大团聚体和小团聚体中净氨化速率在氮添加处理后显著降低,大团聚体净硝化速率低于其他两个粒径;土壤净氮转化速率在 N_{90} 处理下最高。(3)土壤养分和无机氮含量与土壤酸性磷酸酶(AP)、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(NAG)、过氧化物酶(POD)、硝酸还原酶(NR)和脲酶(UE)的活性呈显著相关,酶活性变化是多因子综合作用的结果;RDA 分析显示,UE 与土壤净氨化速率存在显著正相关,NAG 和 POD 是与净氮转化速率分别存在显著正相关和显著负相关的关键土壤酶。综上所述,硝化作用是土壤净氮转化的主要贡献者,微团聚体在土壤氮矿化中发挥主要作用,NAG 和 POD 是改变土壤净氮转化的主要生物酶。此外,氮添加会引起土壤氮素的流失,引起土壤的磷限制,并对土壤养分循环产生显著影响。

关键词:氮沉降;矿化;生物酶;团聚体;相关性

Effects of nitrogen addition on the mineralization and enzymatic activities within soil aggregates in *Pinus massoniana* plantation

CHEN Tian¹, CHENG Ruimei^{1,2,*}, WANG Lijun¹, XIAO Wenfa^{1,2}, SHEN Yafei^{1,2}, SUN Pengfei¹, ZHANG Meng¹, ZENG Lixiong^{1,2}

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

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

Abstract: Soil nitrogen (N) pools are important sources and sinks of N for ecosystems. A *Pinus massoniana* plantation in the Three Gorges reservoir area was used as the research object. We analyzed the patterns of responses of soil nutrients and enzyme activities to the addition of N from the perspective of soil aggregates and the corresponding changes in the mineralization of N. These factors were analyzed to provide a reference to predict the dynamics of soil N in the region against

基金项目:中国林业科学院基本科研业务费专项(CAFYBB2021ZE003)

收稿日期:2022-06-13; 网络出版日期:2023-04-14

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

the background of a continuous increase in the deposition of atmospheric N. Four levels of the accumulation of N from its addition were established. The amounts added included N_0 : 0 kg N; N_{30} : 30 kg N $\text{hm}^{-2} \text{a}^{-1}$; N_{60} : 60 kg N $\text{hm}^{-2} \text{a}^{-1}$; and N_{90} : 90 kg N $\text{hm}^{-2} \text{a}^{-1}$. The soil was divided into three component aggregates of $>2000 \mu\text{m}$ (large macroaggregates), $250\text{--}2000 \mu\text{m}$ (small macroaggregates) and $<250 \mu\text{m}$ (microaggregates) by particle size to observe the characteristics of nitrogen mineralization by the aggregates. The results showed the following: (1) Compared with the control, the N_{30} and N_{60} treatments increased the levels of soil organic matter (SOM), but the soil SOM and levels of total N began to decrease under the addition of N_{90} . This addition decreased the levels of available phosphorus (P) in the soil, which was most significant in the small macroaggregates. The activities of all three enzymes were increased under N addition treatment except POD in small macroaggregates as well as AP and NAG in microaggregates. (2) The overall average net nitrification rate in the soil was higher than the average net ammonification rate of the soil. The net ammonification rate in large and small macroaggregates was significantly lower after the addition of N, and the net nitrification rate of the macroaggregates was lower than that of the other two sizes of aggregates. The rate of conversion of net N in the soil was highest under the N_{90} treatment. (3) Soil nutrient and inorganic levels of N significantly correlated with the activities of soil acid phosphatase, N-acetyl- β -D-glucosidase (NAG), peroxidase (POD), nitrate reductase, and urease (UE), and the changes in enzyme activities were the result of a combination of multiple factors. A redundancy analysis showed that there was a significant positive correlation between UE and net soil ammonification. NAG and POD were the key soil enzymes that significantly positively and negatively correlated with the net conversion of N, respectively. In summary, nitrification is the primary contributor to the net transformation of N in the soil. Microaggregates play a major role in the mineralization of soil N, and NAG and POD are the primary biological enzymes that alter the transformation of net soil N. In addition, the addition of N causes the loss of soil N and limitation of P and significantly affects the cycling of soil nutrients.

Key Words: nitrogen deposition; mineralization; biological enzymes; aggregates; correlation analysis

自然状态下超过 99 % 的土壤氮以有机态存在,有机氮的矿化速率直接影响土壤氮的周转速率和生产水平^[1]。大气氮沉降的增加对植物净初级生产力提高有一定的贡献,但随着氮输入的增加,就会产生氮损失增加和土壤酸化等现象,继而导致生物多样性丧失等后果^[2-3]。研究表明,氮沉降会影响土壤氮矿化水平。例如,人工模拟氮沉降处理可以显著促进森林土壤净氮矿化量,但这种促进作用会随着处理时间的延长而减弱^[4];也有研究表示氮沉降对森林土壤氮矿化的促进不显著^[5],有的地区还会出现氮沉降抑制土壤氮矿化的现象^[6-7]。团聚体是土壤结构的基本单元,表层土中的有机氮基本存在于各级的团聚体之中,团聚体的有机氮矿化整合结果是土壤有机氮矿化的实质^[8]。不同粒径的团聚体有机氮矿化速率存在差异。如 Cai 等发现微团聚体($<250 \mu\text{m}$)由于具有较小粒径,可以结合更多有机物,因此具有较高的氮矿化速率;而较大粒径的团聚体由于有机物分解空间受制等原因,导致氮矿化速率为显著低于微团聚体^[9];但是李奕等报道指出土壤有机氮矿化主要取决于土壤氮含量,而与土壤团聚体无直接关系^[10]。总体来说,对于团聚体粒径大小与有机氮矿化的关系尚无统一结论。

土壤氮矿化是一个复杂的过程,涉及生物因素(土壤酶等)和非生物因素(土壤养分、pH 等),在氮转化的每一阶段均需要专一的生物酶的参与。如薛立等^[11]发现,在一定层面上,有机氮的矿化速率可以用脲酶(UE)活性来表征。在针对亚热带地区森林的研究中发现,氮沉降显著提高了脲酶和酸性磷酸酶(AP)等土壤氮磷循环关键过程中的水解酶的活性,在作用时间达到三年时增幅更加显著^[12];而在温带森林中,土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(NAG)和过氧化物酶(POD)的活性在氮沉降作用下却受到了抑制^[13-15],这说明大气氮沉降除了通过土壤氮储量直接影响土壤氮矿化,还可以通过改变土壤酶活性对氮矿化产生影响。因此,要分析和预测区域氮沉降对森林土壤氮素动态的影响,需要结合当地土壤环境条件对氮沉降的响应。

目前已有众多学者开展了森林土壤氮循环对氮沉降响应的研究,但是仍然缺乏综合考量氮沉降量与团聚

体结合的案例。三峡库区水土流失严重,土壤养分贫瘠,是对人类活动和全球气候变化最敏感的地区之一。目前该地区大气氮沉降量超过 $30 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ [16], 远超我国氮沉降的平均值,属于典型高氮沉降地区。王丽君等 [17] 报道,氮沉降显著降低了当地马尾松林土壤 pH 值和水解酶活性,并导致土壤磷限制。目前针对当地氮沉降增加对土壤氮矿化的影响鲜有报道。基于此,本文以三峡库区马尾松 (*Pinus massoniana*) 人工林土壤为研究对象,通过研究 3 年的野外实验模拟大气氮沉降对我国亚热带季风气候森林土壤氮矿化的影响,整合有关报道,以期正确认识氮沉降及协同环境因子的变化对三峡库区马尾松人工林土壤氮动态的影响。

1 材料与方法

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,地理坐标为 $30^{\circ}78'30''\text{N}$, $110^{\circ}94'13''\text{E}$,属于亚热带大陆性季风气候,年平均气温 $14\text{--}22^{\circ}\text{C}$,年平均降水量 1400 mm 。研究区内马尾松为 20 世纪 80 年代飞播造林,样地内林分分布均匀,平均坡度 20° ,海拔 $800\text{--}850 \text{ m}$ 。土壤类型主要有黄棕壤、紫色土等,土壤深度约 40 cm 。研究区内的植被以天然植被为主,林下伴生灌木植物有:茶 (*Camellia sinensis*)、细齿叶柃 (*Eurya nitida*) 等;伴生草本植物:鱼腥草 (*Houttuynia cordata*) 和千里光 (*Senecio scandens*) 等。

1.2 试验设计与样品采集

根据当地的大气氮沉降背景值 ($30 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$),以 NH_4NO_3 为外源 N 源,通过定位添加的方式,设置 4 个不同的氮处理,分别是:① N_0 ,氮添加量为 $0 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$,此为对照处理;② N_{30} ,氮添加量为 $30 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$;③ N_{60} ,氮添加量为 $60 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$;④ N_{90} ,氮添加量为 $90 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 。2018 年 7 月,在马尾松林内拉设 3 个 $20 \text{ m} \times 20 \text{ m}$ 的样方,样方完全随机区组设计。每个样方中布设 4 个土壤条件相近的 $3 \text{ m} \times 3 \text{ m}$ 的样点,用于 4 个氮添加处理的使用。将 NH_4NO_3 的年施用量平均分成 6 等份,从 2018 年 8 月开始,每 2 个月对样点进行一次氮添加处理,对照组则喷洒相同量的清水。2021 年 8 月,在每个样方中去除表面凋落物,并随机选取 30 个采样点,用直径 5 cm ,高 10 cm 的 PVC 管采取样点中的原状土,用保鲜膜封存,置于冷藏箱中运回实验室 4°C 冰箱保存。在实验室将 PVC 管中土样小心取出,顺着土壤缝隙将土壤掰成 8 mm 以下的小块,根据 Elliott [18] 提出的筛分法将土壤团聚体进行分级,得到大团聚体 ($>2000 \mu\text{m}$)、小团聚体 ($250\text{--}2000 \mu\text{m}$) 和微团聚体 ($<250 \mu\text{m}$) 共 3 个粒径 [19]。土壤分别用于土壤酶活性检测、土壤 pH 等土壤性质检测以及后期矿化实验。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 土壤检测方法

将筛出的部分团聚体自然风干后分别过 2 mm 和 0.149 mm 的筛子,用于土壤基本性质的检测。使用电极法测定土壤 pH (水土比为 $2.5:1.0$, pH211 酸度计);高温外热重铬酸钾氧化-容重法测定土壤有机质 (SOM),凯氏定氮法测定全氮 (TN),盐酸-氟化铵浸提-钼锑抗比色法测定速效磷 (aP),乙酸铵浸提-火焰光度法测定速效钾 (aK)。土壤氨态氮和硝态氮含量使用流动分析仪完成检测。

1.3.2 土壤氮矿化速率计算

使用纯水将团聚体含水量调节至田间最大持水量的 60% ,置于 25°C 的培养箱中预培养 7 d ,以恢复样品中的微生物水平。预培养结束后,取部分团聚体放入冰箱保存,用于矿化实验前氨态氮和硝态氮含量的测定。称取相当于 20 g 干土重量的团聚体置于 350 mL 梅森瓶中,用无菌透气封口膜封住瓶口,在培养箱中于 25°C 中培养 28 d ,期间每 48 h 采用称重法调节团聚体水分。培养结束后,将梅森瓶中的土壤转移至 4°C 冰箱保存,用于矿化实验后的土壤氨态氮和硝态氮含量测定。土壤氮矿化速率的计算 [7]:

$$R_{\text{氨}} = (N_{\text{B氨}} - N_{\text{A氨}}) / d$$

$$R_{\text{硝}} = (N_{\text{B硝}} - N_{\text{A硝}}) / d$$

$$N_{\text{min}} = (N_{\text{B氨}} + N_{\text{B硝}} - N_{\text{A氨}} - N_{\text{A硝}}) / d$$

式中, $R_{\text{氨}}$ 为土壤氨化速率; $R_{\text{硝}}$ 为土壤硝化速率; $N_{\text{B氨}}$ 为培养后氨态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 量; $N_{\text{B硝}}$ 为培养后硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 量; $N_{\text{A氨}}$ 为培养前 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量; $N_{\text{A硝}}$ 为培养前 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 量; N_{min} 为土壤净氮矿化速率; d 为培养时间 (28 d)。

1.3.3 土壤酶活的表征和测定

土壤使用上海通蔚生物科技有限公司生产的试剂盒 (微量法) 处理, 酶活使用赛默飞世尔 (上海) 仪器有限公司生产的 Multiskan FC 型酶标仪测定。

土壤酶活测定指标和表征意义为: 土壤脲酶 (UE): 每天每 g 土样中产生 1 μg $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位; 土壤硝酸还原酶 (NR): 每天每 g 土样中产生 1 μmol NO_2^- 的量为一个活力单位; 土壤酸性磷酸酶 (AP): 37 $^{\circ}\text{C}$ 中每 g 土壤每天释放 1 μmol 酚为 1 个酶活单位; 土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (NAG): 每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位; 土壤过氧化物酶 (POD): 每天每 g 土样中产生 1 mg 紫色没食子素定义为一个酶活力单位。

1.4 数据分析

采用 Excel 2016 进行数据整理, 使用 SPSS 19.0 和 Canoco for Windows 4.5 对数据进行统计分析。采用单因素方差分析 (Oneway ANOVA) 和 Duncan 多重比较对不同氮添加水平下各指标进行显著性检验, 检验水平 $P = 0.05$ 。图表中数据的表达形式为“平均值 $\pm$ 标准差”。使用 Origin 2021 完成绘图。

2 结果与分析

2.1 氮添加对团聚体理化性质的影响

由表 1 可得, 马尾松人工林土壤整体呈酸性, 氮添加处理未对土壤速效钾产生显著影响。 N_{30} 和 N_{60} 提高了土壤有机质 (SOM) 含量, 土壤全氮 (TN) 含量随氮添加未显示出显著的累加效应, N_{90} 低了 SOM、TN 和速效磷 (aP) 的含量。微团聚体的 SOM 和 TN 含量整体最高。

表 1 氮添加对团聚体理化性质影响

Table 1 The effects of N additions on aggregates physical and chemical properties

处理 Treatment	粒径 Size/ μm	pH ($\text{pH} \cdot \text{H}_2\text{O}$)	有机质 SOM/(g/kg)	全氮 TN/(g/kg)	速效磷 aP/(mg/kg)	速效钾 aK/(mg/kg)
N_0	>2000	5.69 $\pm$ 0.30a	25.91 $\pm$ 3.01cd	0.92 $\pm$ 0.22de	10.40 $\pm$ 1.92b	98.83 $\pm$ 6.99a
	250—2000		36.37 $\pm$ 3.11ab	1.35 $\pm$ 0.14abc	15.18 $\pm$ 1.89a	102.30 $\pm$ 3.92a
	<250		43.28 $\pm$ 1.97a	1.77 $\pm$ 0.21a	5.63 $\pm$ 1.53cde	96.71 $\pm$ 4.58a
	总土		36.27 $\pm$ 0.98a	1.49 $\pm$ 0.17ab	12.24 $\pm$ 1.73ab	100.83 $\pm$ 8.81a
N_{30}	>2000	5.71 $\pm$ 0.26a	21.90 $\pm$ 3.63d	1.09 $\pm$ 0.29cde	5.62 $\pm$ 1.19cde	101.00 $\pm$ 5.68a
	250—2000		42.30 $\pm$ 6.22a	1.49 $\pm$ 0.36abc	4.34 $\pm$ 0.56de	99.03 $\pm$ 5.02a
	<250		42.21 $\pm$ 6.17a	1.66 $\pm$ 0.36ab	9.36 $\pm$ 1.34b	102.27 $\pm$ 3.33a
	总土		39.14 $\pm$ 3.06a	1.46 $\pm$ 0.33bc	5.66 $\pm$ 0.60cd	100.00 $\pm$ 85.40a
N_{60}	>2000	5.52 $\pm$ 0.27a	22.20 $\pm$ 4.56d	0.77 $\pm$ 0.26e	3.49 $\pm$ 0.66e	102.07 $\pm$ 6.91a
	250—2000		38.29 $\pm$ 4.98ab	1.36 $\pm$ 0.31abcd	7.09 $\pm$ 0.82c	100.30 $\pm$ 6.85a
	<250		45.47 $\pm$ 5.95a	1.70 $\pm$ 0.23a	4.92 $\pm$ 0.78cde	102.37 $\pm$ 4.70a
	总土		37.22 $\pm$ 3.31a	1.53 $\pm$ 0.24a	6.11 $\pm$ 0.44c	100.94 $\pm$ 6.20a
N_{90}	>2000	5.76 $\pm$ 0.19a	20.33 $\pm$ 7.48d	0.81 $\pm$ 0.27e	6.54 $\pm$ 1.27cd	97.30 $\pm$ 4.90a
	250—2000		31.07 $\pm$ 2.08bc	1.16 $\pm$ 0.16cde	4.85 $\pm$ 0.61cde	93.76 $\pm$ 4.62a
	<250		32.83 $\pm$ 5.40bc	1.18 $\pm$ 0.38bcde	4.96 $\pm$ 0.80cde	98.41 $\pm$ 3.53a
	总土		30.24 $\pm$ 3.45bc	1.12 $\pm$ 0.22de	5.09 $\pm$ 0.73de	95.40 $\pm$ 6.80a

N_0 : 对照处理, 氮添加量为 0 kg N hm^{-2} a^{-1} ; N_{30} : 氮添加量为 30 kg N hm^{-2} a^{-1} ; N_{60} : 氮添加量为 60 kg N hm^{-2} a^{-1} ; N_{90} : 氮添加量为 90 kg N hm^{-2} a^{-1} ; SOM: 土壤有机质, Soil organic matter; TN: 土壤全氮, Soil total nitrogen; aP: 土壤速效磷, Available phosphorus; aK: 土壤速效钾, Available potassium; 不同小写字母表示在 0.05 检验水平上差异显著

2.2 氮添加对土壤团聚体氮矿化速率的影响

室内矿化实验前后团聚体氨态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 和硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 含量如表 2 所示。矿化实验前团聚体的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在 N_{90} 处理下整体最高, 而且在小团聚体中含量最高。矿化后团聚体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量整体规律与矿化实验前一致。

表 2 矿化实验前后团聚体的无机氮含量

Table 2 Inorganic N levels of aggregates before and after the culture experiment

处理 Treatment	粒径 Size / μm	矿化前氨态氮 Before culture $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{mg}/\text{kg})$	矿化后氨态氮 After culture $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{mg}/\text{kg})$	矿化前硝态氮 Before culture $\text{NO}_3^-\text{-N}/(\text{mg}/\text{kg})$	矿化后硝态氮 After culture $\text{NO}_3^-\text{-N}/(\text{mg}/\text{kg})$
N_0	>2000	7.40 $\pm$ 0.38e	14.79 $\pm$ 1.49cd	0.71 $\pm$ 0.07e	9.21 $\pm$ 0.55e
	250—2000	9.77 $\pm$ 2.45de	10.65 $\pm$ 1.00def	3.38 $\pm$ 0.33cde	29.88 $\pm$ 2.73d
	<250	14.09 $\pm$ 1.90bcd	10.39 $\pm$ 0.74def	15.14 $\pm$ 0.51b	29.21 $\pm$ 4.63d
N_{30}	>2000	17.48 $\pm$ 1.07b	9.88 $\pm$ 1.52ef	18.87 $\pm$ 0.61ab	39.73 $\pm$ 10.18d
	250—2000	11.21 $\pm$ 1.22cde	13.94 $\pm$ 1.61cde	1.48 $\pm$ 0.21de	60.51 $\pm$ 5.36c
	<250	13.99 $\pm$ 2.35bcd	11.29 $\pm$ 1.41def	7.02 $\pm$ 0.42c	83.35 $\pm$ 5.74b
N_{60}	>2000	15.71 $\pm$ 2.14bc	11.54 $\pm$ 1.13def	18.45 $\pm$ 2.14ab	81.27 $\pm$ 12.84b
	250—2000	18.35 $\pm$ 1.27b	17.23 $\pm$ 3.56c	16.45 $\pm$ 3.01b	82.64 $\pm$ 11.56b
	<250	15.46 $\pm$ 1.96bc	13.13 $\pm$ 3.9cde	1.97 $\pm$ 0.37de	70.57 $\pm$ 8.29bc
N_{90}	>2000	15.47 $\pm$ 3.29bc	7.29 $\pm$ 2.27f	5.72 $\pm$ 0.37cd	57.55 $\pm$ 16.69c
	250—2000	17.73 $\pm$ 3.15b	24.06 $\pm$ 3.67b	19.34 $\pm$ 5.10ab	61.12 $\pm$ 7.74c
	<250	23.19 $\pm$ 4.35a	41.86 $\pm$ 3.23a	22.84 $\pm$ 4.04a	104.74 $\pm$ 8.49a

如图 1 所示, 土壤平均净氨化速率整体低于土壤净硝化速率。氮添加处理显著抑制了大团聚体和小团聚体的净氨化速率 ($P<0.05$), 微团聚体净氨化速率在 N_{90} 下达到最高。各粒径团聚体土壤净硝化速率均在 N_{90}

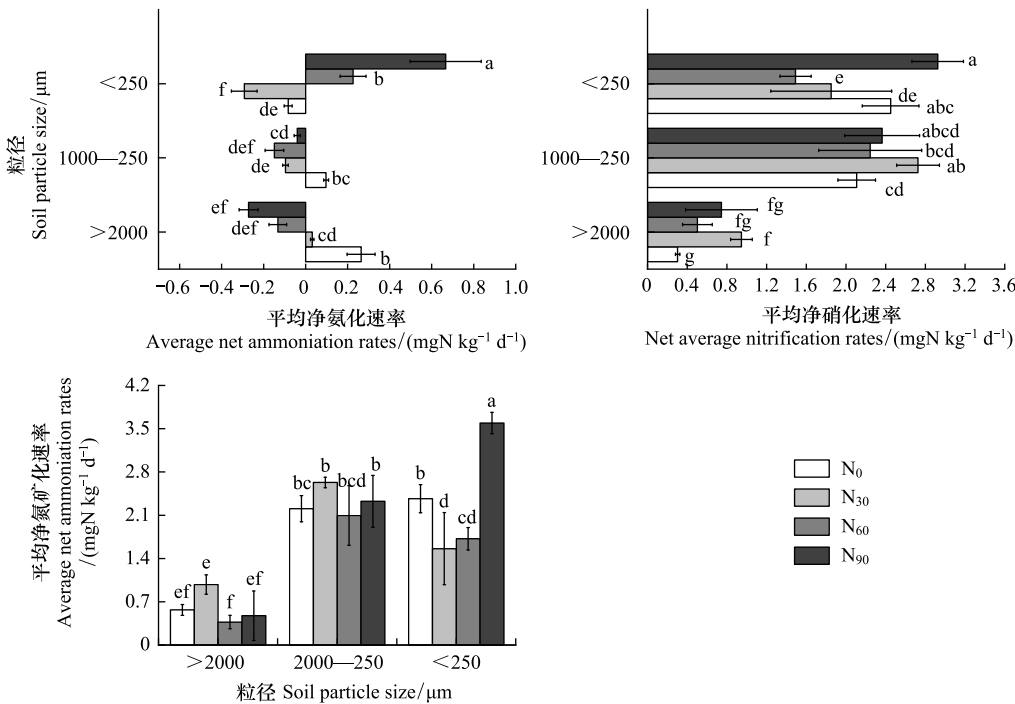


图 1 氮添加对土壤氮矿化速率的影响

Fig.1 Effect of N additions on N mineralization rates of aggregates

N_0 : 对照处理, 氮添加量为 $0 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; N_{30} : 氮添加量 $30 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; N_{60} : 氮添加量 $60 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; N_{90} : 氮添加量 $90 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$

处理下最高。大团聚体的净硝化速率整体低于小团聚体和微团聚体 ($P<0.05$)。由图 1 可得,大团聚体的净氮矿化速率均低于小团聚体和微团聚体 ($P<0.05$)。

2.3 氮添加对土壤团聚体酶活的影响

如图 2 所示为氮添加下团聚体中脲酶(UE)、过氧化物酶(POD)、硝酸还原酶(NR)、酸性磷酸酶(AP)以及 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(NAG)的活性变化。POD 在大团聚体中整体活性最低,NR 在微团聚体中活性整体最低,在小团聚体中活性整体最高。氮添加处理降低了小团聚体中的 POD 活性,提高了微团聚体 POD 的活性。 N_{60} 和 N_{90} 提高了大团聚体和小团聚体中 NR 的活性 ($P<0.05$)。与 N_0 相比,微团聚体的 AP 和 NAG 活性在氮添加处理后出现了下降 ($P<0.05$)。

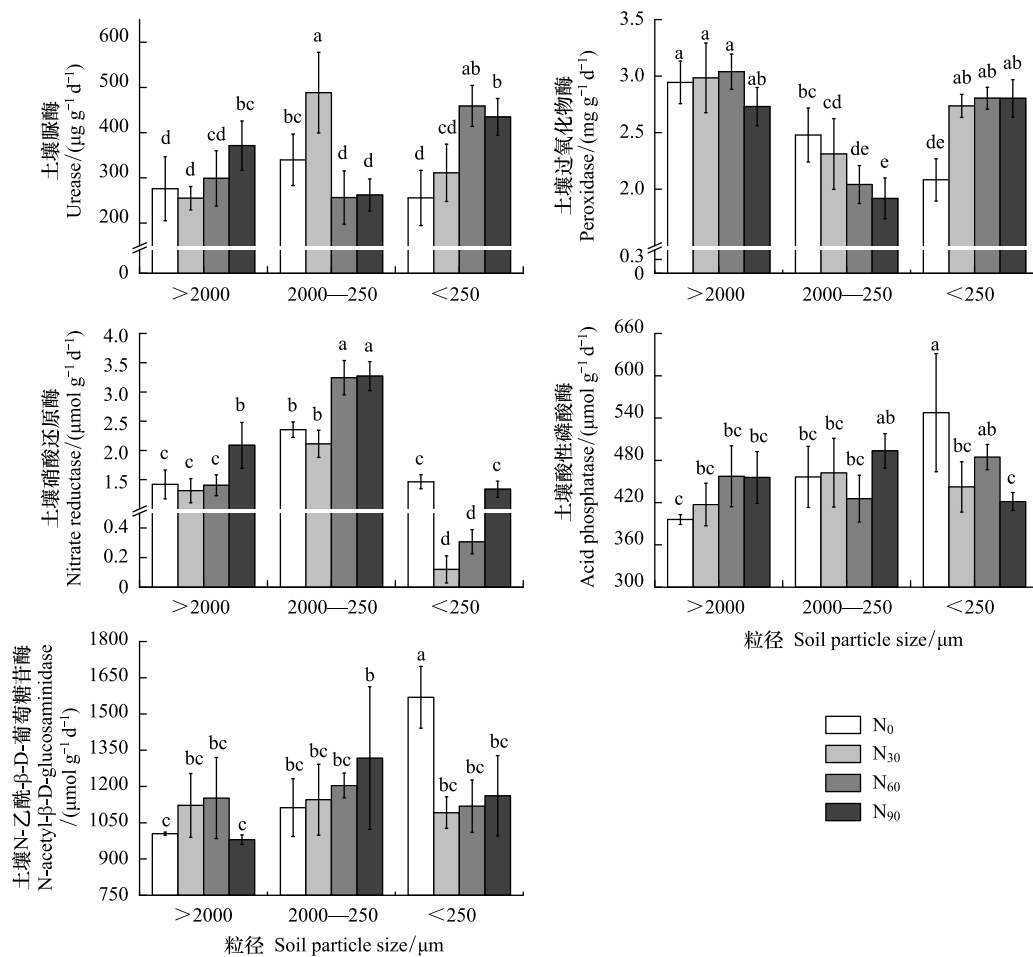


图 2 氮添加对土壤酶活的影响

Fig.2 Effect of N addition on enzyme activities of aggregates

2.4 线性相关分析

图 3 为土壤理化性质与氮矿化速率的线性回归分析。由图 3 可得,土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 存量与有机氮净氮化速率存在显著正相关 ($P<0.01$)。土壤净硝化速率与土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 存量均存在正相关 ($P<0.01$),而土壤 aP 含量与土壤净硝化速率呈负相关 ($P<0.01$)。

3 讨论

3.1 土壤理化性质和氮矿化量对氮添加的响应

氮添加对马尾松人工林土壤 pH 没有产生显著影响,这与吕来新等^[20]的研究一致,说明实验设计的氮添

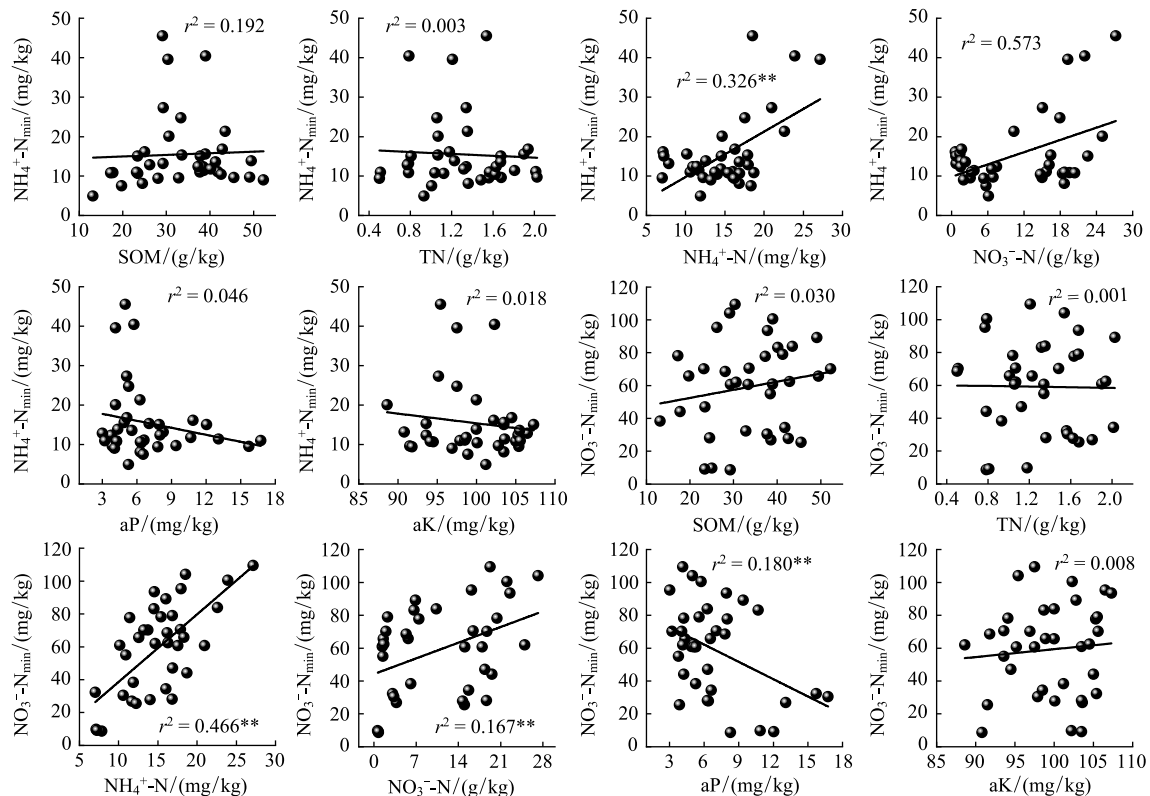


图3 土壤理化性质与氮矿化速率的相关性

Fig.3 Correlation between physical and chemical properties on aggregates and N mineralization rates.

SOM: 有机质, Soil organic matter; TN: 土壤全氮, Soil total nitrogen; aP: 土壤速效磷, Available phosphorus; aK: 土壤速效钾, Available potassium; $\text{NH}_4^+-\text{N}_{\min}$: Mineralization amount of ammonia nitrogen, NH_4^+-N 矿化量; $\text{NO}_3^--\text{N}_{\min}$: Mineralization amount of nitrate nitrogen, NO_3^--N 矿化量; r^2 值后标注“*”表示在 0.05 检验水平上相关性显著, r 值后标注“**”表示在 0.01 检验水平上相关性显著; 由图 4 可得, 土壤理化性质对所测的 5 种土壤酶活性均存在不同程度影响。土壤 SOM、TN 与 AP 和 NAG 之间的正相关达到显著水平。土壤 UE 活性与土壤 NO_3^--N 以及 aP 与 UE、POD 之间存在正相关 ($P < 0.05$); 土壤 aK 与 POD 存在负相关 ($P < 0.05$), 与 NR 存在正相关 ($P < 0.01$)

加量在土壤 pH 缓冲范围内。N₃₀ 和 N₆₀ 处理下土壤 TN 含量有显著增加, 主要是由于 N₂O 排放和 NO_3^- 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。有报道指出大量氮添加会导致土壤微生物量和地下生物量的减少^[17], 因此总土及团聚体中的 TN 和 SOM 含量在 N₉₀ 处理下有所下降。氮添加处理下的土壤 aP 有显著的降低, 这与前人研究结果一致^[21]。这是由于氮的输入促进了土壤的磷循环, 但同时预警了氮添加会引起土壤的磷限制^[22]。

培养期间, 大团聚体和小团聚体在氮添加处理下净氮转化速率显著低于对照, 甚至出现负值。氮添加会对土壤微生物产生影响, 会降低氮敏感微生物的生物量和活性, 进而降低了氮矿化效应^[23]; 其次由于随着培养的进行, 前期活跃的微生物活动消耗了大量的底物, 后期供应微生物活动的碳、磷量出现不足^[24]; 此外, 在培养过程中有一部分微生物在活动中优先以 NH_4^+-N 作为优先利用氮源, 会消耗部分 NH_4^+-N ^[9]。实验结果显示, 土壤氮的净硝化随氮添加量增加有显著提升, 但这种趋促进并不无限存在。这是由于土壤氮素饱和后, 碳、磷等物质的可利用性降低导致了氮循环的减缓; 也说明了氮的输入虽然可以提升土壤的整体净氮转化速率, 但是同时会加剧矿质氮素的流失^[24]。在微团聚体中, 净硝化和净氮转化在 N₉₀ 处理下达到最大, 是由于与其他两个粒径相比, 微团聚体中包含的可供微生物利用的活性较强的新鲜有机氮含量更少, 需要更多的外源氮输入来达到促进作用向抑制作用转换的阈值^[9], 也说明大团聚体的形成降低了土壤氮周转率, 这也说明土壤团聚体在森林土壤氮固存中起着重要作用^[25]。

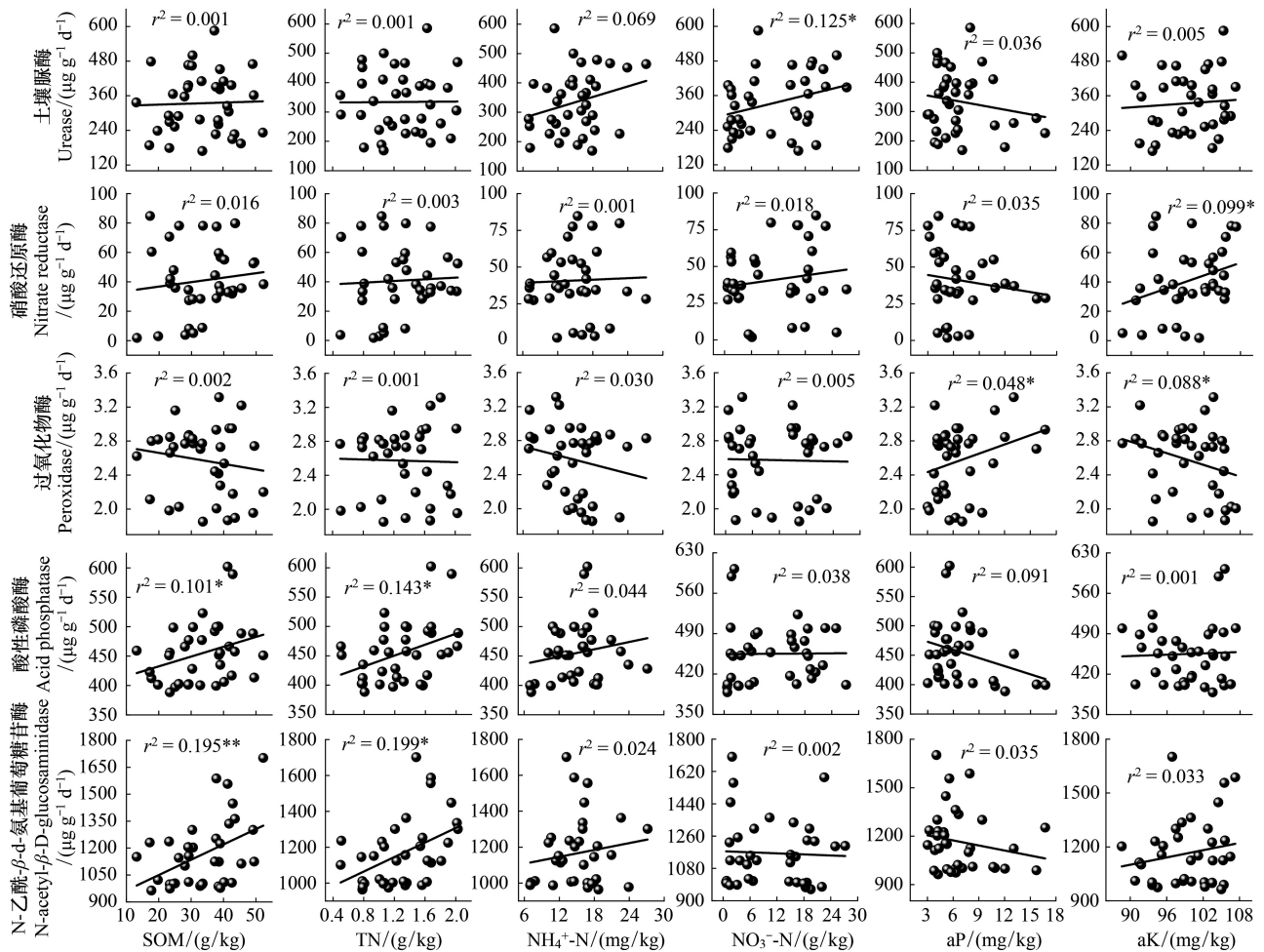


图4 土壤理化性质与土壤酶的相关性

Fig.4 Correlation between physical and chemical properties on aggregates enzymes activities

3.2 土壤酶活对氮添加的响应

脲酶(UE)是土壤重要的水解酶之一,在土壤氮循环中起到非常重要作用,以往研究多认为氮沉降可以提高土壤 UE 的活性^[26]。实验发现,氮添加量与土壤 UE 活性之间没有显著的相关,是由于氮添加解除了土壤无机氮的限制,继而土壤微生物 UE 的分泌的需求减少所致^[24]。而微团聚体中 UE 活性相对较高,某种程度上可能会增加氨气的挥发量,造成环境温室气体增加,存在无机氮利用率较低的风险^[27]。硝酸还原酶(NR)是催化反硝化作用的第一阶段的生物酶,是生态系统中氮循环过程中一个重要的调节酶和限速酶^[28]。N₃₀和 N₆₀处理下 NR 活性较 N₀处理差异不显著,这是包括马尾松在内的植物和土壤微生物等加快了对土壤氮的吸收利用,减弱了土壤氮循环过程中的反硝化强度^[28];N₉₀处理下土壤的活性较高,反映了该处理下土壤反硝化过程加快,也加重了土壤氮除了淋溶途径之外的流失,继而最终导致土壤 TN 在 N₉₀处理下较其他 3 个处理没有显著提高。在团聚体层面上,微团聚体中 TN 含量较低,同时具有较高 UE 活性,与其他两个粒径相比,微团聚体的反硝化途径受到了一定程度的抑制^[29]。N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶(NAG)活性在氮添加后活性降低,表明氮的增加可能使土壤中该水解过程速率降低,或者土壤微生物对水解产物的需求出现了下降,结合氮添加提高了大团聚体和小团聚体的酸性磷酸酶(AP)的活性,说明土壤酶活调节依照一般的自然经济学原则:即随着土壤氮添加量的增加,土壤氮限制逐渐解除,与此同时对磷的需求增加,因此这两种水解酶的活性对氮添加的响应出现相反的趋势^[17, 30]。

过氧化物酶(POD)是氧化还原反应中一个非常重要的限制酶,负责将木质素、芳香族化合物等分解为醌

和酚类等简单有机物,直接影响土壤中难分解有机物的分解^[31]。氮添加显著的抑制了大团聚体和小团聚体中的 POD 活性,这是由于氮输入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)的数量,从而使 POD 活性下降^[32];微团聚体中 POD 的活性的增加,意味着氮添加会加速微团聚体中腐殖质的形成^[31]。

3.3 氮添加下土壤酶活性与氮矿化的关系

如图 5 和图 6 所示为 4 种氮添加处理下土壤酶活性与土壤氮矿化速率 RDA 分析和相关性分析。UE 对土壤氨化速率、土壤硝化速率、土壤氮净矿化速率均存在促进效应,这与以往的实验结果一致^[33-34]。这是由于 UE 是水解尿素的专项生物酶,继而影响整体土壤净氮转化速率;但是在复杂的土壤环境中,有机氮的转化同时存在氮的矿化(增加矿机氮)和矿质氮被同化形成有机氮(减少矿质氮),两条路径的博弈结果最终表现为土壤有机氮矿化量的变化^[35]。氮本身作为土壤的限制因素之一,UE 活性的提高带来土壤可利用性氮的提高,对两条有机氮转化路径的激发效应也同时存在,因此在统计学上 UE 活性与土壤氨化速率、土壤硝化速率和土壤氮净矿化速率未达到显著水平^[36-37]。NAG 与土壤净硝化速率存在显著正相关,这与张锦新等人的研究一致^[38]。从经济学角度分析,马尾松人工林土壤有机氮向无机氮转化过程中,POD 的活性与无机氮储量会呈现负相关。POD 将木质素、芳香族化合物等氧化为如醌和酚类等,多种土壤微生物有机会大量繁殖,会消

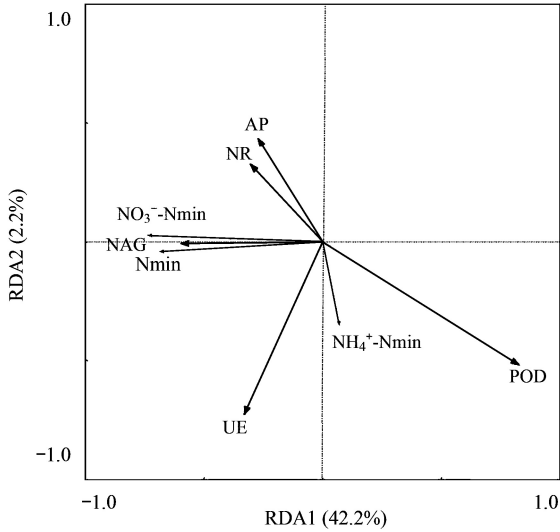


图 5 土壤酶活性与土壤氮矿化速率 RDA 分析图

Fig.5 Redundancy analysis of aggregates enzyme activities and N mineralization rates

RDA 分析:冗余分析, Redundancy analysis; UE: 土壤脲酶, Urease; POD: 过氧化物酶, Peroxidase; NR: 硝酸还原酶, Nitrate reductase; AP: 酸性磷酸酶, Acid phosphatase; NAG: N-乙酰-β-d-氨基葡萄糖苷酶, N-acetyl-β-D-glucosaminidase

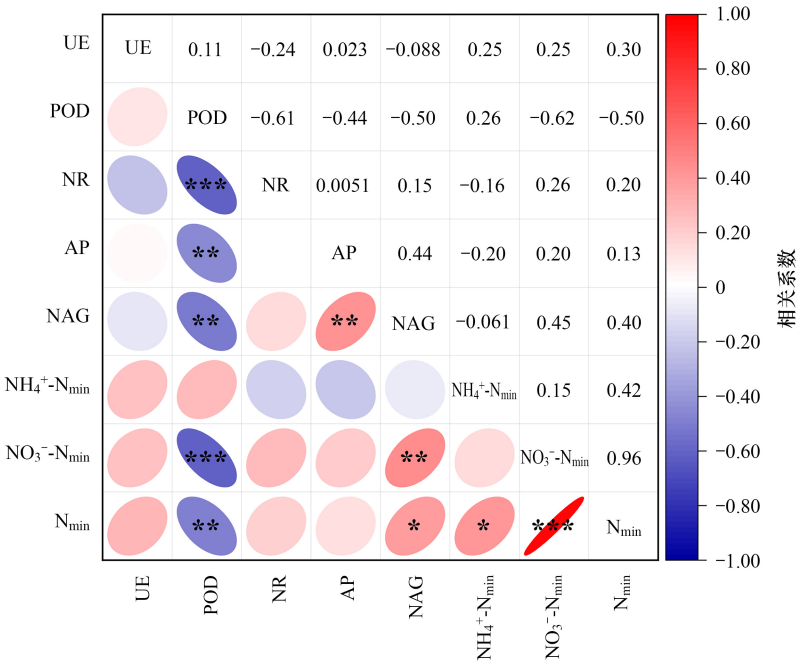


图 6 土壤氮矿化速率与土壤酶活性相关性分析

Fig.6 Correlation analysis between aggregates N mineralization rates and enzyme activities

耗部分无机氮来满足生产^[39-40];另外,过氧化物酶具有清除过氧化物质的催化效果,将减轻土壤系统中的过氧化毒害程度,可能在此过程中提高了催化反硝化过程的相关酶的活性,这需要进一步实验探究。

4 结论

(1) 土壤 SOM 和 TN 含量在高氮处理下显著降低。氮添加增加了土壤 aP 限制的风险,在小团聚体中表现最为显著。此外,氮添加降低了小团聚体的 POD 以及微团聚体中的 AP 和 NAG 的活性。

(2) 团聚体的物理结构是保护有机氮的重要机制。土壤净氮矿化主要贡献者是土壤净硝化反应;土壤净氮转化效率在 N₉₀ 处理下最高。

(3) 氮添加下 SOM 和 TN 的增加可能导致土壤 aP 限制,而 aK 的增加会降低这种风险。此外,氮添加影响土壤酶活性,可能导致土壤氮流失和氨气释放增加的风险,并导致小团聚体中含碳难分解有机物的分解受限。氮添加下多种土壤酶活性综合影响了土壤氮矿化。其中 UE、NAG 与净氨化、净硝化和净氮转化之间分别存在显著正相关,POD 与净硝化和净氮转化效率之间存在显著负相关。

参考文献 (References):

- [1] Tian Q X, Wang X G, Wang D Y, Wang M, Liao C, Yang X L, Liu F. Decoupled linkage between soil carbon and nitrogen mineralization among soil depths in a subtropical mixed forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 109: 135-144.
- [2] Kong Y H, Watanabe M, Nagano H, Watanabe K, Yashima M, Inubushi K. Effects of land-use type and nitrogen addition on nitrous oxide and carbon dioxide production potentials in Japanese Andosols. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2013, 59(5): 790-799.
- [3] 王晶晶, 樊伟, 崔珺, 许崇华, 王泽夫, 徐小牛. 氮磷添加对亚热带常绿阔叶林土壤微生物群落特征的影响. *生态学报*, 2017, 37(24): 8361-8373.
- [4] 徐星凯, 韩琳, 罗献宝. 模拟氮沉降对温带阔叶红松林地氮素净矿化量的影响. *气候与环境研究*, 2012, 17(5): 628-638.
- [5] 刘晓宏, 郝明德. 添加无机氮磷与有机肥对土壤有机氮矿化的影响. *中国生态农业学报*, 2002, 10(1): 54-56.
- [6] Wang C H, Zhu F, Zhao X, Dong K H. The effects of N and P additions on microbial N transformations and biomass on saline-alkaline grassland of Loess Plateau of Northern China. *Geoderma*, 2014, 213: 419-425.
- [7] 聂二旗, 张心昱, 郑国砥, 杨洋, 王辉民, 陈伏生, 孙晓敏. 氮磷添加对杉木林土壤碳氮矿化速率及酶动力学特征的影响. *生态学报*, 2018, 38(2): 615-623.
- [8] 陈晓芬, 刘明, 江春玉, 吴萌, 李忠佩. 不同施肥处理红壤性水稻土团聚体有机碳矿化特征. *中国农业科学*, 2018, 51(17): 3325-3334.
- [9] Cai A D, Xu H, Shao X F, Zhu P, Zhang W J, Xu M G, Murphy D V. Carbon and nitrogen mineralization in relation to soil particle-size fractions after 32 years of chemical and manure application in a continuous maize cropping system. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152521.
- [10] 李奕, 刘玲玲, 房焕, 李大明, 柳开楼, 彭新华, 彭显龙, 周虎. 长期施肥对水稻土碳氮矿化与团聚体稳定性的影响. *土壤*, 2019, 51(3): 451-457.
- [11] 薛立, 邝立刚, 陈红跃, 谭绍满. 不同林分土壤养分、微生物与酶活性的研究. *土壤学报*, 2003, 40(2): 280-285.
- [12] 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.
- [13] Wang S H, Mori T, Mo J M, Zhang W. The responses of carbon- and nitrogen-acquiring enzymes to nitrogen and phosphorus additions in two plantations in Southern China. *Journal of Forestry Research*, 2020, 31(4): 1319-1324.
- [14] 勒佳佳, 苏原, 彭庆文, 耿凤展, 韩文轩, 李文利, 李凯辉, 刘学军. 氮添加对天山高寒草原土壤酶活性和酶化学计量特征的影响. *干旱区研究*, 2020, 37(2): 382-389.
- [15] Li Y, Wang C M, Gao S J, Wang P, Qiu J C, Shang S S. Impacts of simulated nitrogen deposition on soil enzyme activity in a northern temperate forest ecosystem depend on the form and level of added nitrogen. *European Journal of Soil Biology*, 2021, 103: 103287.
- [16] 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.
- [17] 王丽君, 程瑞梅, 肖文发, 孙鹏飞, 沈雅飞, 曾立雄, 陈天. 氮添加对三峡库区马尾松-栓皮栎混交林土壤微生物生物量和酶活性的影响. *应用生态学报*, 2022, 33(1): 42-50.
- [18] Elliott E T. Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Science Society of America Journal*, 1986, 50(3): 627-633.
- [19] Bach E M, Hofmockel K S. Soil aggregate isolation method affects measures of intra-aggregate extracellular enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 54-62.

- [20] 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.
- [21] Marty C, Houle D, Gagnon C, Courchesne F. The relationships of soil total nitrogen concentrations, pools and C: N ratios with climate, vegetation types and nitrate deposition in temperate and boreal forests of eastern Canada. CATENA, 2017, 152: 163-172.
- [22] 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.
- [23] 刘静, 孙涛, 程云云, 王清奎. 氮沉降和土壤线虫对落叶松人工林土壤有机碳矿化的影响. 生态学杂志, 2017, 36(8): 2085-2093.
- [24] Ma H L, Tecimen H B, Lin W, Gao R, Yin Y F, Peng Y Z. Role of soluble and exchangeable nitrogen pools in N cycling and the impact of nitrogen added in forest soil. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(5): 5398-5407.
- [25] Cao R R, Chen L C, Hou X C, Lü X T, Li H M. Nitrogen addition reduced carbon mineralization of aggregates in forest soils but enhanced in paddy soils in South China. Ecological Processes, 2021, 10(1): 45.
- [26] 刘静, 孙涛, 程云云, 王清奎. 氮沉降和土壤线虫对落叶松人工林土壤有机碳矿化的影响. 生态学杂志, 2017, 36(8): 2085-2093.
- [27] Bimüller C, Kreyling O, Kölbl A, von Lützow M, Kögel-Knabner I. Carbon and nitrogen mineralization in hierarchically structured aggregates of different size. Soil and Tillage Research, 2016, 160: 23-33.
- [28] Fu Y F, Zhang Z W, Yang X Y, Wang C Q, Lan T, Tang X Y, Chen G D, Zeng J, Yuan S. Nitrate reductase is a key enzyme responsible for nitrogen-regulated auxin accumulation in Arabidopsis roots. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 532(4): 633-639.
- [29] Kou L, Guo D L, Yang H, Gao W L, Li S G. Growth, morphological traits and mycorrhizal colonization of fine roots respond differently to nitrogen addition in a slash pine plantation in subtropical China. Plant and Soil, 2015, 391(1): 207-218.
- [30] Lagomarsino A, Grego S, Kandeler E. Soil organic carbon distribution drives microbial activity and functional diversity in particle and aggregate-size fractions. Pedobiologia, 2012, 55(2): 101-110.
- [31] Kieloaho A J, Pihlatie M, Dominguez Carrasco M, Kanerva S, Parshintsev J, Riekkola M L, Pumpanen J, Heinonsalo J. Stimulation of soil organic nitrogen pool; the effect of plant and soil organic matter degrading enzymes. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 96: 97-106.
- [32] Garbuz S A, Yaroslavl'tseva N V, Kholodov V A. Enzymatic activity inside and outside of water-stable aggregates in soils under different land use. Eurasian Soil Science, 2016, 49(3): 367-375.
- [33] 邢肖毅, 黄懿梅, 黄海波, 安韶山, 刘栋. 黄土丘陵区子午岭不同植物群落下土壤氮素及相关酶活性的特征. 生态学报, 2012, 32(5): 1403-1411.
- [34] 马源, 杨洁, 张德罡, 周恒, 周会程, 陈建纲. 高寒草甸退化对祁连山土壤微生物生物量和氮矿化速率的影响. 生态学报, 2020, 40(8): 2680-2690.
- [35] Ikbel Z, Chaabane A, Wided O S, Foued H, Brahim H, Samira S. Nitrogen and organic matter mineralization in the Tunisian cork oak forest: a laboratory study. Open Journal of Forestry, 2015, 5(3): 287-295.
- [36] 马芬, 杨荣全, 郭李萍. 控制氮肥施用引起的活性氮气体排放: 脲酶/硝化抑制剂研究进展与展望. 农业环境科学学报, 2020, 39(4): 908-922.
- [37] Krol D J, Forrester P J, Wall D, Lanigan G J, Sanz-Gomez J, Richards K G. Nitrogen fertilisers with urease inhibitors reduce nitrous oxide and ammonia losses, while retaining yield in temperate grassland. The Science of the Total Environment, 2020, 725: 138329.
- [38] 张锦新, 涂凤兰, 许恩兰, 张磊, 郭剑芬. 凋落物输入量对米槠天然林土壤氮矿化的影响. 生态学杂志, 2022, 41(10): 1916-1922.
- [39] 焦泽彬, 李羿桥, 陈子豪, 刘瑶, 杨玉婷, 母秋坪, 谭波, 徐振锋, 李晗, 张丽. 川西亚高山不同森林类型土壤酶活性对短期凋落物输入量变化的响应. 应用与环境生物学报, 2021, 27(3): 608-616.
- [40] 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.