

DOI: 10.20103/j.stxb.202411012681

刘春雅, 胡敏杰, 倪冉旭, 吴辉, 王景涛, 廖浩宇, 黄佳芳. 氮磷添加对河口湿地土壤酶活性和酶化学计量的短期影响. 生态学报, 2025, 45(12):

Liu C Y, Hu M J, Ni R X, Wu H, Wang J T, Liao H Y, Huang J F. Short-term effects of nitrogen and phosphorus additions on soil enzyme activities and enzyme stoichiometric ratios in estuarine wetlands. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(12): - .

氮磷添加对河口湿地土壤酶活性和酶化学计量的短期影响

刘春雅¹, 胡敏杰^{1,2,*}, 倪冉旭¹, 吴辉¹, 王景涛¹, 廖浩宇¹, 黄佳芳^{1,2}

1 福建师范大学地理研究所, 地理科学学院, 湿润亚热带生态-地理过程教育部重点实验室, 福州 350117

2 国家林业和草原局福建闽江河口湿地生态系统定位观测研究站, 福州 350215

摘要: 人类活动引发的氮磷负荷增加, 显著提升了生态系统中氮磷的可利用性。然而, 这一变化对滨海河口湿地土壤酶活性及养分平衡的影响仍未明晰。以闽江河口湿地为研究对象, 通过原位氮、磷及氮磷复合添加实验, 研究外源氮磷添加对河口湿地土壤酶活性和酶化学计量特征的影响。结果显示: ①相较于对照组, 氮、磷及氮磷复合添加显著提高了 β -1,4-葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶的活性 ($P < 0.05$), 其中单独添加氮的效果最为显著, 分别提升了 313.66% 和 78.38%。 β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶的活性在不同处理下呈现相反的响应趋势, β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶活性在单独添加氮和磷时分别提高了 19.49% 和 6.35%, 但在氮磷复合添加下降低了 8.27%; 相反, 亮氨酸氨基肽酶活性在单独添加氮和磷时分别降低了 34.17% 和 21.32%, 而在氮磷复合添加下显著增加了 66.87%。碱性磷酸酶活性在氮添加下提升了 2.47%, 而在单独添加磷和氮磷复合添加下分别下降了 18.3% 和 4.66%。此外, 氮、磷及氮磷复合添加均显著提高了酶碳氮比和酶碳磷比 ($P < 0.05$), 其中, 氮添加的提升效果尤为显著。②酶化学计量分析显示, 闽江河口湿地土壤微生物受到氮和碳的耦合限制。尽管短期的氮、磷及氮磷复合添加增强了微生物对营养物质的响应, 但未能完全解除氮限制, 反而进一步加剧了碳限制。③相关分析和冗余分析表明, 外源氮、磷及氮磷复合输入通过土壤碳氮比、有效磷、微生物碳及有机质等因素共同调控土壤酶活性和酶化学计量。该研究深化了对湿地生态系统营养循环机制的理解, 为预测湿地生态系统对环境变化的响应以及制定湿地保护策略提供参考。

关键词: 氮磷添加; 土壤酶活性; 酶化学计量; 氮限制

Short-term effects of nitrogen and phosphorus additions on soil enzyme activities and enzyme stoichiometric ratios in estuarine wetlands

LIU Chunya¹, HU Minjie^{1,2,*}, NI Ranxu¹, WU Hui¹, WANG Jingtao¹, LIAO Haoyu¹, HUANG Jiafang^{1,2}

1 Key Laboratory of Humid Subtropical Eco-geographical Processes, Ministry of Education, School of Geographical Sciences, Institute of Geography, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China

2 Fujian Minjiang Estuary Wetland Ecosystem Observation and Research Station, National Forestry and Grassland Administration, Fuzhou 350215, China

Abstract: Nitrogen (N) and phosphorus (P) are essential nutrients that regulate terrestrial ecosystem productivity and shape the structure and function of soil microbial communities. Their continuous input not only directly affects the energy and nutrient balance of wetland ecosystems but also induce indirect effects through complex biogeochemical processes. As transitional zones between land and sea, coastal estuaries are highly sensitive to environmental changes and represent relatively fragile ecosystems while also serving as sinks for N and P from terrestrial and atmospheric sources. In recent years,

基金项目: 国家自然科学基金 (42171102); 福建省科技厅公益类项目 (2022R1002007); 福建省林业科技项目 (2023FKJ14)

收稿日期: 2024-11-01; **网络出版日期:** 2025-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mjhu@fjnu.edu.cn.

human activities have intensified N and P loading, significantly increasing their bioavailability within these ecosystems. However, the specific mechanisms by which these changes affect soil enzyme activities and nutrient balance in coastal estuarine wetlands remain poorly understood. To address this knowledge gap, we conducted in-situ experiments in the Min River estuarine wetland, investigating the effects of exogenous N, P, and combined N+P additions on soil enzyme activities and enzyme stoichiometric characteristics. The results indicated that: ① Compared with the control treatment, N, P, and N+P treatments significantly enhanced the activities of β -1,4-glucosidase and cellobiose hydrolase in wetland soils ($P < 0.05$), with the most pronounced effects observed under N addition, leading to increases of 313.66% and 78.38%, respectively. The activities of β -1,4-N-acetylamino-glucosidase and leucine aminopeptidase exhibited opposite responses under different treatments. β -1,4-N-acetylamino-glucosidase activity increased by 19.49% and 6.35% with N and P addition, respectively, but decreased by 8.27% under the N+P treatment. Conversely, leucine aminopeptidase activity decreased by 34.17% and 21.32% with N and P addition, respectively, but significantly increased by 66.87% under N+P treatment. Alkaline phosphatase activity exhibited minimal changes, increasing by 2.47% with N addition but decreasing by 18.3% and 4.66% with P and N+P addition, respectively, with none of these changes reaching statistical significance. Furthermore, N, P, and N+P treatments significantly increased the enzyme carbon-nitrogen ratio and enzyme carbon-phosphorus ratio ($P < 0.05$), with the most substantial increase observed under N addition. ② Enzyme stoichiometry analysis indicated that microbial communities in the Min River estuarine wetland soils are co-limited by N and carbon (C). Although short-term N and P additions enhanced microbial nutrient responses, they did not completely alleviate N limitation. Instead, they exacerbated C limitation, suggesting a shift in microbial resource allocation under nutrient enrichment. ③ Correlation and redundancy analyses demonstrated that exogenous N, P, and N+P inputs regulated soil enzyme activities and enzyme stoichiometry through key soil properties, including the soil C:N ratio, available P, microbial C, and organic matter. These findings deepen our understanding of nutrient cycling mechanisms in wetland ecosystems and provide critical insights for predicting wetland responses to environmental change. Additionally, they offer valuable guidance for developing effective conservation and management strategies aimed at maintaining the ecological functions of coastal wetlands.

Key Words: nitrogen and phosphorus addition; soil enzyme activity; enzymatic stoichiometry; nitrogen limitation

氮和磷是影响陆地生态系统生产力和土壤微生物群落结构与功能的关键营养元素。据估计,从 19 世纪 60 年代到 20 世纪 90 年代,人类活动(如化石燃料燃烧、氮肥施用以及畜牧业的迅速发展)导致的氮输入量已从 15 Tg/a 增加到 156 Tg/a,预计到 2050 年这一数值将上升至 270 Tg/a^[1]。同样,人类活动已经使全球磷输入量由工业革命前的 0.3 Tg/a 增加到 2005—2010 年间的 14—16 Tg/a,且预计将持续增加^[2]。

滨海河口处于海陆过渡带,是对环境变化高度敏感且相对脆弱的生态系统,也是陆源与大气源氮和磷的“汇”^[3-4]。氮、磷的持续输入将直接或间接地影响湿地生态系统的能量和养分平衡。土壤微生物通过分泌胞外酶从结构复杂的土壤有机物中获取能量和养分,而这些胞外酶通过分解和矿化土壤有机物,推动陆地生态系统的生物地球化学循环^[5]。这一过程被认为是反映土壤养分可利用性与底物丰度之间平衡的重要机制^[6]。酶化学计量指的是参与碳、氮、磷循环的土壤酶活性之间的比值^[7],主要涉及碳获取酶(如 β -1,4-葡萄糖苷酶 β GL 和纤维二糖水解酶 CBH)、氮获取酶(如 β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶 NAG 和亮氨酸氨基肽酶 LAP)以及磷获取酶(如碱性磷酸酶 ALP)。在全球尺度上,土壤微生物获取碳、氮、磷的酶活性比值约为 1:1:1^[8]。当微生物生长受限某种养分时,酶活性比值会偏离这一比例^[9],从而可能影响生态系统的养分循环。为了更精确地量化微生物养分限制状况,Moorhead 等^[10]在酶化学计量的基础上提出了矢量长度和矢量角度。这些指标不仅能够表征微生物群落的代谢功能与养分需求,还避免了受总酶活性变化的影响^[11]。同时,这些指标还为微生物的相对碳限制(矢量长度)以及相对氮或磷限制(矢量角度)提供了清晰的指示^[11]。

许多研究表明,氮、磷的输入会显著改变湿地土壤酶活性。Hu 等^[12]研究表明,氮添加提高了闽江河口湿地土壤 CBH 活性,降低了 NAG 活性。孙星照等^[13]研究表明,磷添加显著提高了湿地土壤 β G 和 CBH 的活性。杨丽娟等^[14]在黄河三角洲的研究表明,氮磷复合添加仅对 β G 的活性有显著影响,对氮和磷循环相关的 NAG、LAP 和 ALP 活性的响应不敏感。土壤酶活性的变化导致酶化学计量的稳态效应随之改变。可见,湿地土壤酶活性及其化学计量与氮、磷的可利用性存在着复杂的交互作用。然而,目前关于氮、磷添加对土壤酶活性及其化学计量的研究主要集中在森林^[15–17]、草地^[18–20]、农田^[21–22]等生态系统,对于河口湿地生态系统的研究相对较少。因此,探讨河口湿地氮、磷添加及其耦合效应对土壤酶活性及其化学计量的影响具有必要性。

基于以上背景,在闽江河口中高潮滩芦苇湿地的氮磷添加野外样地开展试验,主要探讨以下科学问题:在河口湿地生态系统中,短期氮磷添加如何改变土壤酶活性的响应特征,进而影响土壤微生物对碳、氮、磷等养分的限制状态? 研究结果不仅有助于揭示氮、磷输入对湿地土壤酶活性及其化学计量的响应过程与机制,也为湿地养分管理提供理论支撑。本研究假设:(1)单一氮或磷添加将削弱其对应养分的酶活性需求,强化对其他养分酶活性的依赖,导致养分限制从单一氮限制或磷限制向养分耦合限制转变;(2)氮磷复合添加可能产生协同效应,显著提高微生物代谢潜力并减少养分限制,从而使酶化学计量比趋向平衡。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

闽江河口湿地(25°50′56″—26°12′42″N, 119°16′30″—119°42′45″E)位于福建省福州市,属亚热带海洋性季风气候,气候暖热湿润,年均温 19.3℃,年均降水量 1380 mm。该地区潮汐为典型半日潮,每日 2 次涨退潮。芦苇是闽江河口分布最广的原生植被之一,对氮、磷养分变化具有较高敏感性。本研究选择芦苇为优势群落,同时考虑潮汐对养分添加的影响,选择在植被、土壤和水文条件等相对一致且地势平坦的中高潮滩布设实验样地,采样点如图 1 所示。

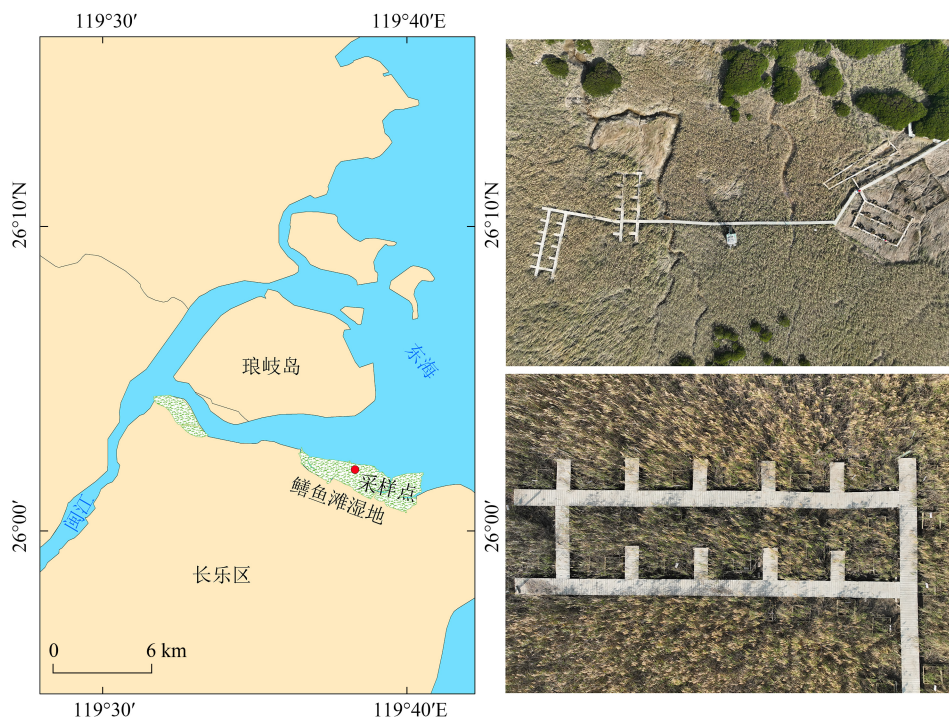


图 1 采样点示意图

Fig.1 Location of sampling sites

1.2 实验设计与样品采集

实验共设置对照、氮添加、磷添加以及氮磷复合添加 4 个处理,每个处理设 4 个重复,共 16 个样方(2 m×2 m)。为避免不同氮磷添加处理之间的相互影响,样方间隔 2 m,并用 PVC 板隔离,样方随机分布。根据本研究区大气氮沉降背景值^[23](3—3.5 g N m⁻² a⁻¹),以及闽江河口湿地氮负荷量^[24-25](21 g N m⁻² a⁻¹),设置氮添加量为 48 g N m⁻² a⁻¹(倍增),添加物为 NH₄Cl 和 KNO₃,比例为 NH₄⁺:NO₃⁻ = 1:3.3^[23-25]。基于该区域大气磷沉降背景值^[26](0.025 g P m⁻² a⁻¹)及闽江河口湿地磷负荷量^[27-28](2.94 g P m⁻² a⁻¹),设定磷添加量为 10 g P m⁻² a⁻¹(倍增),添加物为 NaH₂PO₄。氮磷复合添加按照上述总量复合配施,氮添加量为 48 g N m⁻² a⁻¹,磷添加量为 10 g P m⁻² a⁻¹。为保证氮磷添加实验的有效性,考虑潮汐的影响,每月选择两次小潮日退潮后土壤裸露时进行添加。从 2022 年 4 月起,每年共进行 24 次添加实验。每次施加时,将试剂溶解于 3.5 L 的水中,使用喷壶均匀喷洒。为控制变量,消除土壤含水量等环境异质性的影响,对照组与其他三组处理一致,添加 3.5 L 水。

于 2024 年 4 月(添加 2 年后),在每个样方内采集 0—20 cm 深度原状土柱样品,过 2 mm 筛混合均匀。将土样分为 2 份:一份置于 4℃ 冷藏,用于胞外酶活性和微生物量测定;另一份样品经风干和研磨处理后,用于土壤理化指标的测定。

1.3 样品处理与分析

1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤 pH 使用 pH 计(IQ Instruments,美国)按土水比 1:5 振荡后测定。土壤盐度利用盐度计(Eutech Instruments-Salt6,美国)测定。土壤有机质用烧失量法测定。土壤含水率用烘干法测定,容重用环刀法测定。土壤总碳和总氮用元素分析仪(Elementar Vario MAX,德国)测定。土壤总磷用连续流动分析仪(Skalar Analytical San++,荷兰)测定。土壤有效氮用 2 mol/L 氯化钾浸提,用连续流动分析仪测定。土壤有效磷用 M3 浸提法浸提后,用连续流动分析仪测定。土壤可溶性有机碳用新鲜土壤和去离子水浸提,用 TOC-V_{CPH} 总有机碳分析仪(Shimadzu,日本)测定。

1.3.2 微生物量的测定和计算

微生物碳和微生物氮用氯仿熏蒸—硫酸钾浸提法^[29]提取,微生物碳用总有机碳分析仪测定,微生物氮用连续流动分析仪测定。微生物磷用氯仿熏蒸—碳酸氢钠浸提法^[30]提取,用连续流动分析仪测定。计算公式^[29-30]如下:

$$\text{MBC} = \Delta E_c / K_c \quad (1)$$

$$\text{MBN} = \Delta E_N / K_N \quad (2)$$

$$\text{MBP} = \Delta E_p / (K_p \times K_b) \quad (3)$$

式中,MBC 为微生物碳, ΔE_c 为熏蒸与未熏蒸土壤可溶性有机碳含量的差值, K_c 为微生物碳的浸提系数(0.45)^[29];MBN 为微生物氮, ΔE_N 为熏蒸与未熏蒸土壤可溶性总氮含量的差值, K_N 为微生物氮的浸提系数(0.54)^[31];MBP 为微生物磷, ΔE_p 为熏蒸与未熏蒸土壤磷酸盐含量的差值, K_p 为微生物磷的浸提系数(0.40), K_b 为添加 KH₂PO₄ 后的磷回收率^[32]。

1.3.3 土壤酶活性的测定和酶化学计量的计算

采用荧光法^[33]测定土壤 β G、CBH、NAG、LAP 和 ALP 的活性,其中 β G 和 CBH 为碳获取酶,NAG 和 LAP 为氮获取酶,ALP 为磷获取酶。

酶化学计量计算公式^[7]如下:

$$\text{酶碳氮比} = \text{碳获取酶} : \text{氮获取酶} = \ln(\beta\text{G} + \text{CBH}) / \ln(\text{NAG} + \text{LAP}) \quad (4)$$

$$\text{酶碳磷比} = \text{碳获取酶} : \text{磷获取酶} = \ln(\beta\text{G} + \text{CBH}) / \ln(\text{ALP}) \quad (5)$$

$$\text{酶氮磷比} = \text{氮获取酶} : \text{磷获取酶} = \ln(\text{NAG} + \text{LAP}) / \ln(\text{ALP}) \quad (6)$$

通过矢量分析进一步评估土壤微生物养分相对限制情况^[34]。矢量角度小于 45° 或大于 45° 分别表示土

壤微生物生长受到氮限制或磷限制,偏离程度越大,限制越强。矢量角度等于 45° 则表示土壤微生物生长未受到氮限制和磷限制或受到氮和磷的共同限制。相对较长的矢量长度表示微生物存在较大的碳限制。计算公式^[10,34]如下:

$$\text{矢量长度} = \text{SQRT}(x^2 + y^2) \quad (7)$$

$$\text{矢量角度} (^\circ) = \text{DEGREES}(\text{ATAN2}(x, y)) \quad (8)$$

矢量长度为 x 和 y 平方值之和的平方根,其中 x 表示相对碳与磷获取酶活性,即酶碳磷比; y 表示相对碳与氮获取酶活性,即酶碳氮比。矢量角度为从原点延伸到点(x, y)的线的反正切。

1.4 数据处理

所有数据经方差齐性检验和正态分布检验,符合统计分析需要。采用单因素方差分析(One-way ANOVA)评估氮、磷添加对河口湿地土壤理化性质、酶活性以及酶化学计量的影响。使用 Mantel 检验和冗余分析(RDA)揭示氮、磷添加下影响土壤酶活性和酶化学计量的主要调控因素。所有统计分析均在 SPSS 26.0 软件中完成。柱状图绘制采用 GraphPad Prism 9.5 软件。冗余分析通过 Canoco 5.0 软件完成, Mantel 检验在 R 平台上实现。

2 结果和分析

2.1 土壤理化性质

如表 1 所示,土壤 pH、含水率、容重、有机质、总碳和总氮在氮、磷及氮磷复合添加下与对照组无显著差异。土壤盐度、总磷、碳氮比、碳磷比和氮磷比在不同氮磷添加下与对照组有显著差异($P < 0.05$),盐度在氮、磷及氮磷复合添加下分别增加了 53.35%、45.65%和 60.87%($P < 0.05$);总磷在磷和氮磷复合添加下增加了 14.2%和 15.69%($P < 0.05$);碳氮比在氮、磷及氮磷复合添加下均显著降低,降幅分别为 16.68%、7.16%和 11.78%($P < 0.05$);碳磷比在磷和氮磷复合添加下显著降低了 12.31%和 12.73%($P < 0.05$);氮磷比则在氮添加下显著增加了 26.88%($P < 0.05$)。

表 1 氮、磷添加对湿地土壤理化性质的影响

Table 1 Effects of N and P additions on the physico-chemical properties of wetland soils

参数 Parameters	对照组 Control	氮添加 N addition	磷添加 P addition	氮磷复合添加 Combined N and P addition
pH	7.11±0.11a	7.14±0.10a	6.99±0.08a	7.03±0.10a
含水率 Moisture/%	68.07±7.34a	75.96±8.53a	71.16±12.33a	69.27±5.25a
容重 Bulk density/(g/cm ³)	0.92±0.03a	0.87±0.08a	0.91±0.12a	0.92±0.06a
有机质 Organic matter/%	6.60±0.62a	6.66±0.42a	6.72±0.18a	6.59±0.11a
盐度 Salinity/‰	0.46±0.05b	0.71±0.08a	0.67±0.12a	0.74±0.13a
总碳 Total carbon/(g/kg)	12.55±0.67a	13.23±0.87a	12.55±0.66a	12.70±0.40a
总氮 Total nitrogen/(g/kg)	1.23±0.05a	1.56±0.08a	1.33±0.08a	1.41±0.07a
总磷 Total phosphorus/(mg/kg)	664.15±21.44b	660.08±39.24b	758.45±64.06a	768.37±25.51a
碳氮比 Carbon: Nitrogen ratio	10.19±0.54a	8.49±0.4c	9.46±0.28b	8.99±0.28bc
碳磷比 Carbon: Phosphorus ratio	18.93±1.37a	20.08±1.58a	16.6±1.06b	16.52±0.63b
氮磷比 Nitrogen: Phosphorus ratio	1.86±0.10b	2.36±0.10a	1.76±0.15b	1.84±0.11b

不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)

2.2 土壤养分和微生物量含量

如图 2 所示,与对照组相比,氮、磷及氮磷复合添加在一定程度上降低了土壤可溶性有机碳含量,增加了有效氮含量,但未达到显著水平。土壤有效磷在氮添加下显著降低了 47.38%,在磷和氮磷复合添加下显著增加了 60.84%和 41.68%($P < 0.05$)。微生物碳和微生物氮在氮添加下显著增加了 29.84%和 33.37%。微生物磷在氮、磷及氮磷复合添加下显著增加了 70.44%、110.79%和 121.11%($P < 0.05$)。

2.3 土壤酶活性

由图 3 可知,与对照组相比,βG 活性在氮、磷及氮磷复合添加下均显著提高,增幅分别为 313.66%、

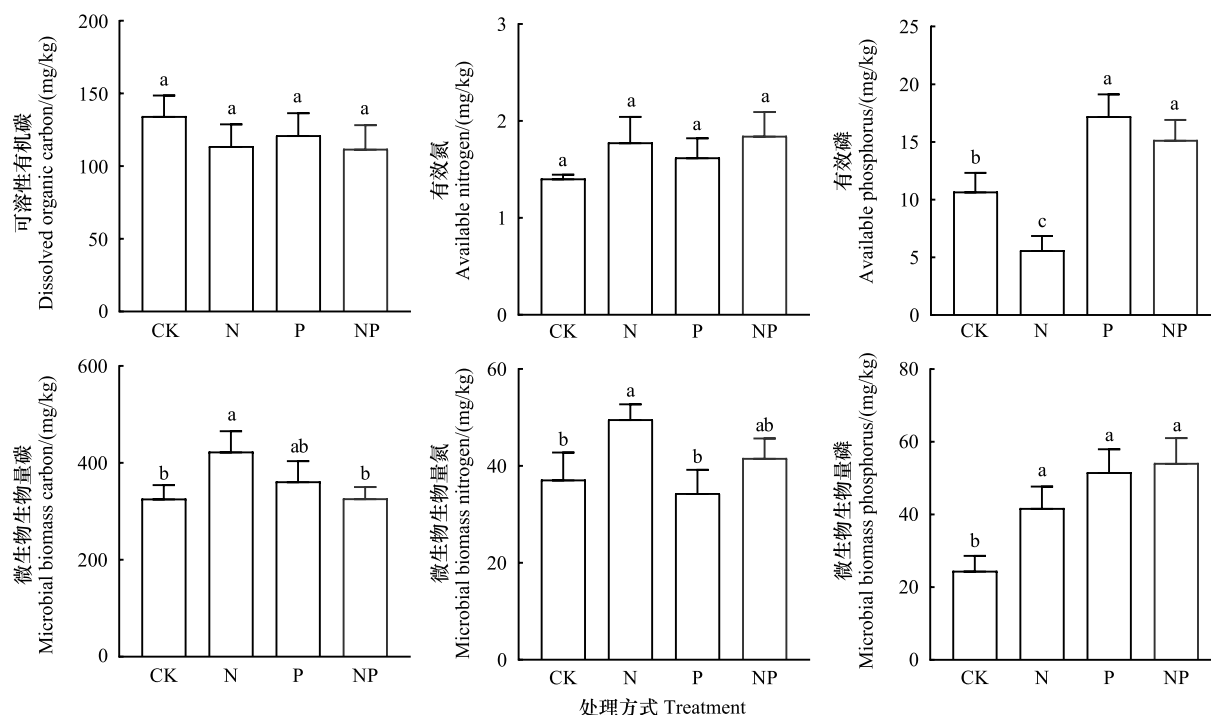


图2 氮、磷添加对河口湿地土壤养分和微生物量的影响

Fig.2 Effects of N and P addition on soil nutrients and microbial biomass in estuarine wetlands

CK: 对照组 Control; N: 氮添加 N addition; P: 磷添加 P addition; NP: 氮磷复合添加 Combined N and P addition; 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

193.82%和189.71%,且不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$)。CBH活性在氮、磷及氮磷复合添加下分别提高78.38%、40.07%和36.29%,其中氮添加与对照组差异显著 ($P < 0.05$)。NAG活性在氮和磷添加下分别增加了19.49%和6.35%,在氮磷复合添加下降低了8.27%,氮和氮磷复合添加之间差异显著 ($P < 0.05$)。LAP活性在氮和磷添加下分别降低了34.17%和21.32%,而在氮磷复合添加下显著增加了66.87% ($P < 0.05$)。此外,ALP活性在氮添加下提高了2.47%,在磷和氮磷复合添加下降低了18.3%和4.66%。

2.4 土壤酶化学计量及其矢量特征

由图4可知,相较于对照组,酶碳氮比在氮、磷和氮磷复合添加下分别提高了26.88%、17.2%和6.45% ($P < 0.05$),酶碳磷比分别提高了22.22%、22.22%和16.67% ($P < 0.05$),而酶氮磷比在氮和氮磷复合添加之间差异显著 ($P < 0.05$)。整体上,矢量长度和矢量角度的变化范围分别为1.35—1.89和35.25°—43.42°。氮、磷和氮磷复合添加均显著提高了矢量长度,分别增加了23.78%、19.58%和12.59% ($P < 0.05$),表明微生物在不同氮磷添加下的碳限制程度加剧。对照组和处理组的矢量角度均小于45°,表明微生物受到氮限制影响,其中氮磷复合添加下矢量角度值最小,表明其受到的氮限制程度最大。

2.5 土壤理化性质与酶活性及酶化学计量的关系

如图5, Mantel 相关分析显示,碳获取酶与土壤盐度、有机质、总氮、碳氮比和微生物磷存在显著正相关 ($P < 0.05$)。酶碳氮比与盐度呈显著正相关 ($P < 0.05$),酶碳磷比与盐度、有机质、碳氮比和微生物磷呈显著正相关 ($P < 0.05$),而酶氮磷比与有效磷呈显著正相关 ($P < 0.05$)。冗余分析表明,不同氮磷添加下酶活性及酶计量比主要受碳氮比、有效磷、微生物碳和有机质的综合调控。环境因子解释了酶活性及其化学计量变化的42.07%,其中第1轴和第2轴分别解释了24.95%和17.12%的变量变化。碳氮比和有效磷是主要影响因子,分别解释了16.9%和16.5%的变量变化,微生物碳和有机质则分别解释了7.9%和5%的变量变化。

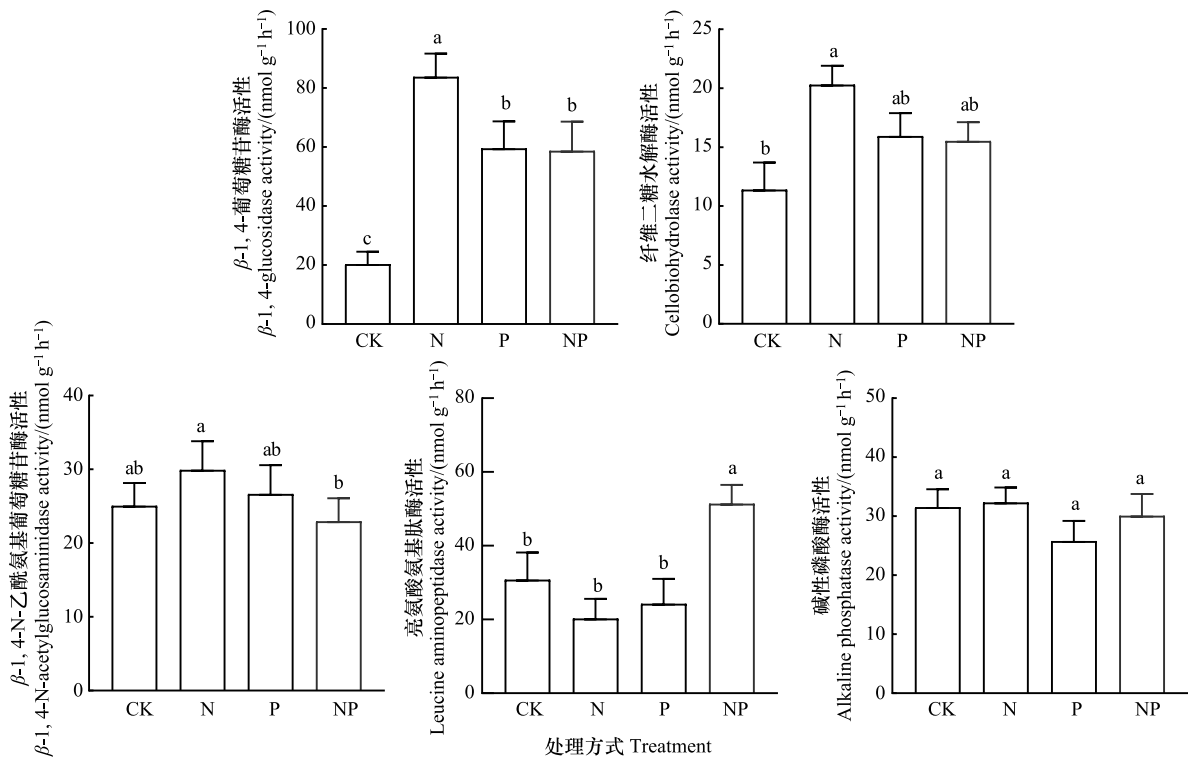


图3 氮、磷添加对河口湿地土壤酶活性的影响

Fig.3 Effects of N and P addition on soil enzyme activities in estuarine wetlands

CK: 对照组 Control; N: 氮添加 N addition; P: 磷添加 P addition; NP: 氮磷复合添加 Combined N and P addition; 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

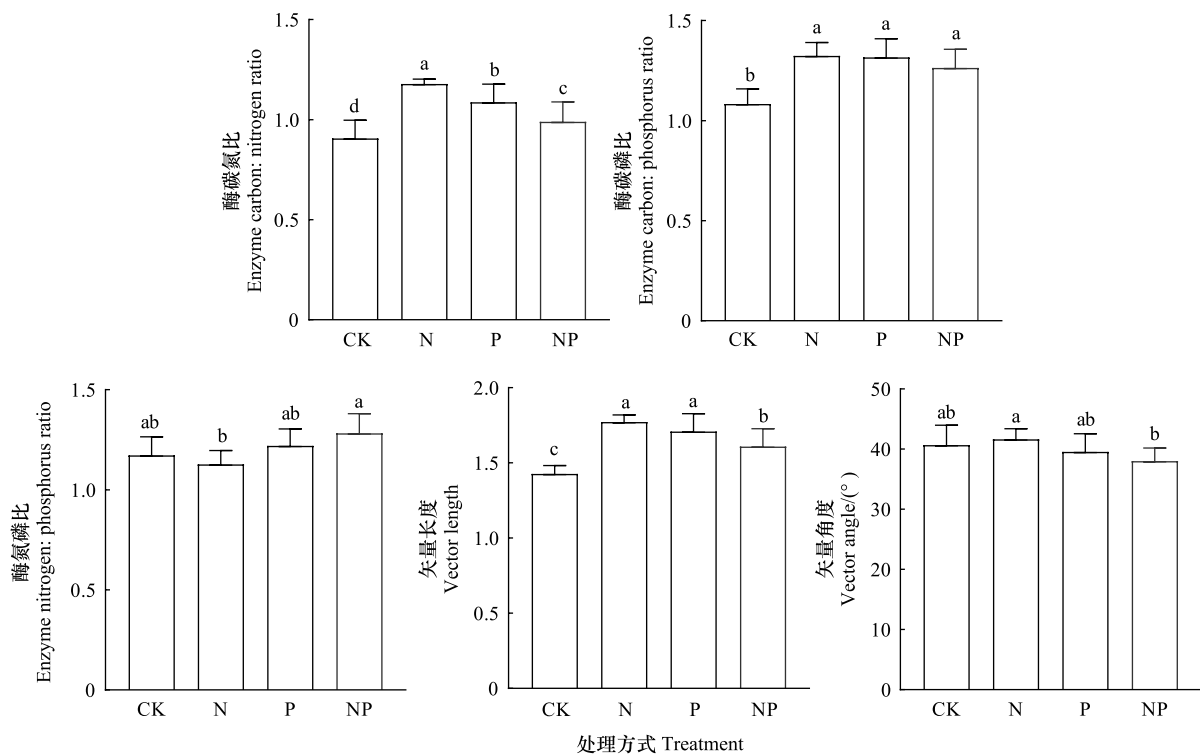


图4 氮、磷添加对河口湿地土壤酶计量和矢量特征的影响

Fig.4 Effects of N and P additions on enzyme stoichiometric ratios and vector characteristics of estuarine wetland soils

CK: 对照组 Control; N: 氮添加 N addition; P: 磷添加 P addition; NP: 氮磷复合添加 Combined N and P addition; 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

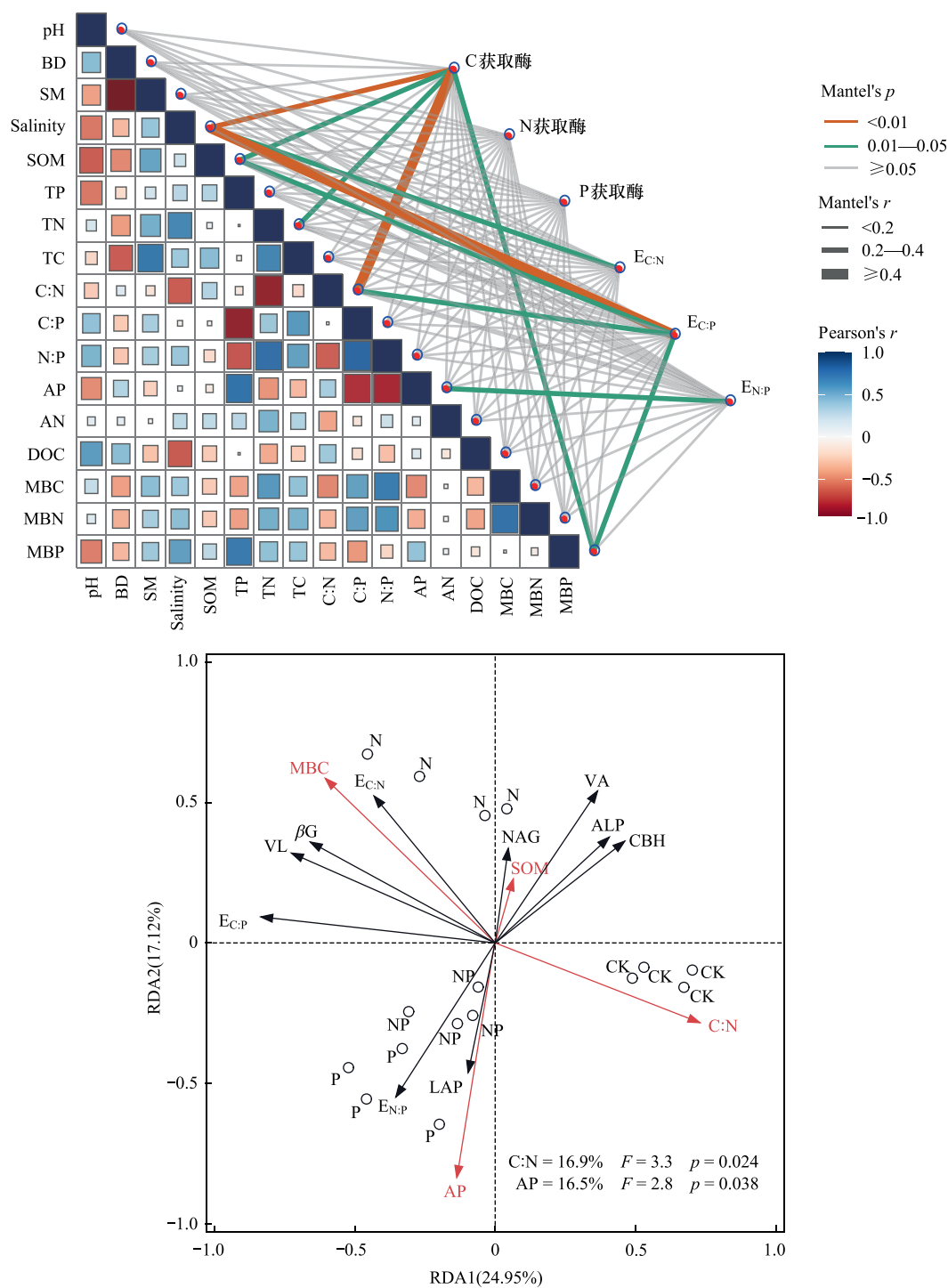


图5 土壤酶活性和酶计量比与理化因子之间的关系

Fig.5 Soil enzyme activities and enzyme stoichiometric ratios in relation to physico-chemical factors

BD:容重 Bulk density; SM: 含水率 Moisture; Salinity: 盐度; SOM: 土壤有机质 Soil organic matter; TP: 总磷 Total phosphorus; TN: 总氮 Total nitrogen; TC: 总碳 Total carbon; C:N: 碳氮比 Carbon: nitrogen ratio; C:P: 碳磷比 Carbon: phosphorus ratio; N:P: 氮磷比 Nitrogen: phosphorus ratio; AP: 有效磷 Available phosphorus; AN: 有效氮 Available nitrogen; DOC: 可溶性有机碳 Dissolved organic carbon; MBC: 微生物碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物氮 Microbial biomass nitrogen; MBP: 微生物磷 Microbial biomass phosphorus; VA: 矢量角度 Vector angle; VL: 矢量长度 Vector length; E_{C:N}: 酶碳氮比 Enzyme carbon: nitrogen ratio; E_{C:P}: 酶碳磷比 Enzyme carbon: phosphorus ratio; E_{N:P}: 酶氮磷比 Enzyme nitrogen: phosphorus ratio; β G: β -1,4-葡萄糖苷酶 β -1,4-glucosidase; CBH: 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase; NAG: β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β -1,4-N-acetylglucosaminidase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase; ALP: 碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase; CK: 对照组 Control; N: 氮添加 N addition; P: 磷添加 P addition; NP: 氮磷复合添加 Combined N and P addition

3 讨论

3.1 短期氮磷添加对土壤酶活性的影响

土壤生物和非生物因素通过调控微生物代谢影响土壤酶活性和酶化学计量^[15]。Mantel 分析和冗余分析表明(图 5),在氮、磷及氮磷复合添加下,闽江河口芦苇湿地土壤酶活性及酶化学计量主要受到土壤碳氮比、有效磷、微生物碳和有机质的综合调控,二者受到的非生物因子的影响强于生物因子。

碳获取酶 β G 和 CBH 调控纤维素和其他 β -1,4-葡聚糖的降解过程,是反映土壤碳周转过程的敏感指标^[21]。研究发现,与对照组相比,氮、磷及氮磷复合添加均提高了 β G 和 CBH 活性,与假设一致,且氮添加对 β G 和 CBH 活性的促进作用大于磷及氮磷复合添加(图 3)。一方面,这符合微生物生产酶所遵循的经济学原则^[35],即向土壤中添加氮或磷时将增加微生物对碳的需求,降低对氮或磷的需求,导致与碳相关的酶活性增加,氮和磷循环相关的酶活性减弱。此外,当土壤中某种养分含量较低时,微生物和植物能够增加相应酶的产量,以提高该养分的供应^[16]。在本研究中,氮、磷及氮磷复合添加均加剧了微生物的碳限制(图 4),从而促使其分泌了更多碳获取酶以缓解碳供应不足的压力。另一方面,土壤碳氮比的变化提供了重要佐证。表 1 显示,氮添加下土壤碳氮比的降低幅度显著高于磷添加和氮磷复合添加。据 Cenini 等^[18]和 Allison 等^[35]的研究,土壤酶活性作为关键的生物过程,反映了土壤有机质中碳与氮的相对可用性,以及微生物通过代谢活动吸收养分的能力。本研究中,氮添加导致土壤碳氮比显著下降,且降幅大于磷和氮磷复合添加(表 1)。这表明在氮添加下,碳相对氮更加有限,微生物为了满足代谢需求,产生了更多的碳获取酶以缓解碳限制。

氮获取酶 LAP 和 NAG 主要负责几丁质和氨基葡萄糖聚合物的降解过程,可有效指示土壤氮素有效性^[21]。本研究发现,在氮、磷及氮磷复合添加下,LAP 和 NAG 的活性变化呈现相反趋势(图 3)。Zeglin 等^[19]在草地生态系统的研究发现,LAP 与 NAG 的活性对氮输入的响应与二者之间的比率密切相关。Jian 等^[36]进一步指出,当 LAP 与 NAG 比值较高时,氮输入会降低 LAP 活性并增加 NAG 活性;而当比值较低时,则表现出相反趋势。在本研究中,氮添加下 LAP 和 NAG 的变化趋势与比值较高时的情形一致。这一现象可能与 LAP 和 NAG 分解的底物类别不同有关。具体而言,LAP 主要分解亮氨酸和其他氨基酸,而 NAG 主要分解来源于 N-乙酰葡萄糖胺和肽聚糖衍生的低聚物^[7]。然而,LAP 和 NAG 对磷及氮磷复合添加的响应机制是否也符合上述规律,尚需进一步研究以明确。

磷获取酶 ALP 能够催化多种正磷酸单酯的酯磷酸键水解,从而提高土壤中磷的有效性^[37]。本研究中,氮添加抑制了有效磷含量(图 2),提高了 ALP 活性(图 3);相反,磷和氮磷复合添加增加了有效磷含量(图 2),抑制了 ALP 活性(图 3)。该结果与 Sinsabaugh^[7]的研究一致,符合本研究假设。高盐分会抑制碱性磷酸酶的活性,制约有机磷的矿化分解过程,使有机磷的有效性降低^[38]。氮添加下土壤盐度显著提高(表 1),氮添加可能通过提高土壤盐度,抑制 ALP 的活性,从而导致有机磷的矿化受到制约,降低了有效磷的含量。而磷及氮磷复合添加可能是通过向土壤中直接添加无机磷(NaH_2PO_4)显著提高了有效磷的含量(图 2),从而抑制了 ALP 的活性。

3.2 短期氮磷添加对酶化学计量及微生物养分相对限制的影响

生态化学计量学认为,土壤微生物元素组成具有相对稳定的比例。当土壤中底物的化学计量比无法满足微生物生长需求时,微生物会调整胞外酶的分配格局,从土壤有机质中获取生长过程中所缺乏的能量或养分,进而维持自身的化学计量平衡^[39]。Liu 等^[17]研究表明,在杉木林进行的三年氮添加实验减轻了微生物的氮限制,并加剧了碳限制,与本研究的结果一致,但与假设(1)不符。本研究从土壤酶化学计量的角度提供了氮添加缓解微生物氮限制的证据。一方面,氮添加提高了土壤总氮(表 1)和有效氮含量(图 2);另一方面,根据矢量分析,对照组微生物的矢量角度小于 45° ,表明芦苇湿地土壤微生物受到氮限制。在氮添加后,微生物的矢量角度值较对照组增加,表明两年氮添加在整体上缓解了微生物的氮限制。然而,氮添加没有解除微生物的氮限制,可能与养分添加的持续时间有关。Chen 等^[40]利用 Meta 分析比较了短期(<5 年)、中期(5—10 年)

和长期(>10 年)下的养分添加处理,发现长期养分添加对土壤微生物的影响更为显著。此外,微生物同时还受到碳限制,可能降低了其对养分梯度的响应灵敏度^[21]。在前人研究中,氮添加加剧微生物碳限制有几种可能,包括碳损失增加和碳输入减少^[41]。其中碳输入减少的重要途径之一是难降解有机碳的分解受到抑制。氮添加可能通过减少土壤有机质的矿化,降低碳输入,从而加剧微生物的碳限制^[42]。

研究发现,磷添加加剧了微生物的氮限制和碳限制(图 4),符合假设(1)。这可能与土壤氮磷比例的失衡有关。本研究区域的微生物群落本身受氮限制,而单独添加磷打破了土壤的养分平衡,显著降低土壤碳氮比和碳磷比,这可能加剧了微生物对碳和氮的需求。为了维持元素稳态,微生物可以选择调整其胞外酶的产生,最大限度地促进富含限制元素的底物分解^[43]。因此,微生物通过提高 β G 和 CBH 的活性分解土壤有机质,从而缓解碳限制,同时通过增加 NAG 活性来部分减轻氮限制。

研究表明,与对照组相比,氮磷复合添加下酶的矢量角度值呈下降趋势,矢量长度值则显著增加(图 4),说明氮磷复合添加进一步加剧了微生物氮和碳的耦合限制,这与 Liu 等^[17]的结论一致,但与假设(2)不符。根据酶化学计量理论,微生物对某一养分的代谢可能受到另一养分元素的限制^[20]。一方面,可能是氮循环对土壤养分的响应比磷循环更弱,导致氮素的循环速度较慢,难以快速补充到土壤中^[44],从而加剧了微生物的氮限制。另一方面,Gao 等^[45]研究表明,在养分相对缺乏的环境下,微生物量的状况是决定酶活性强度的主导因素。氮磷复合添加下微生物氮和微生物磷含量显著提高(图 2),使微生物对碳的相对需求更加迫切,进一步加剧了碳限制。为了维持体内元素的平衡,微生物需要分泌更多的碳获取酶来满足对氮和磷的需求。

4 结论

(1)短期氮、磷及氮磷复合添加显著促进了河口湿地土壤 β G 和 CBH 活性($P<0.05$),但 NAG 和 LAP 活性在不同处理下呈现相反的变化趋势。此外,氮、磷及氮磷复合添加显著提高了酶碳氮比和酶碳磷比($P<0.05$),其中氮添加处理下的提升幅度最大。

(2)酶化学计量分析表明,闽江河口区域土壤微生物受到氮和碳的共同限制。短期外源氮、磷及氮磷复合输入下未解除微生物的氮限制,反而加剧了碳限制。

(3)相关分析和冗余分析显示,氮磷输入条件下,土壤碳氮比、有效磷、微生物碳和有机质是影响河口湿地土壤酶活性和酶化学计量的主要因素。研究结果对于理解养分输入对滨海湿地生态系统功能和养分平衡的影响,以及河口湿地养分管理,提供了重要参考价值。

参考文献(References):

- [1] Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, Boyer E W, Howarth R W, Seitzinger S P, Asner G P, Cleveland C C, Green P A, Holland E A, Karl D M, Michaels A F, Porter J H, Townsend A R, Vöösmary C J. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 2004, 70(2): 153-226.
- [2] Peñuelas J, Sardans J, Rivas-ubach A, Janssens I A. The human-induced imbalance between C, N and P in Earth's life system. *Global Change Biology*, 2012, 18(1): 3-6.
- [3] 章光新. 水文情势与盐分变化对湿地植被的影响研究综述. *生态学报*, 2012, 32(13): 4254-4260.
- [4] 姜德娟, 毕晓丽. 流域-河口-近海系统氮、磷营养盐输移研究综述. *水科学进展*, 2010, 21(3): 421-429.
- [5] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 2009, 462(7274): 795-798.
- [6] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43(1): 313-343.
- [7] 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.
- [8] Cleveland C C, Liptzin D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 2007, 85(3): 235-252.

- [9] Zhang W, Xu Y D, Gao D X, Wang X, Liu W C, Deng J, Han X H, Yang G H, Feng Y Z, Ren G X. Ecoenzymatic stoichiometry and nutrient dynamics along a revegetation chronosequence in the soils of abandoned land and *Robinia pseudoacacia* plantation on the Loess Plateau, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 134(7): 1-14.
- [10] 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(2): 1-7.
- [11] 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.
- [12] Hu M J, Wilson B J, Sun Z G, Ren P, Tong C. Effects of the addition of nitrogen and sulfate on CH₄ and CO₂ emissions, soil, and pore water chemistry in a high marsh of the Min River estuary in southeastern China. *Science of the Total Environment*, 2017, 579(3): 292-304.
- [13] 孙星照, 沈建国, 王忠, 刘萌, 楼莉萍, 岳春雷, 张志剑. 外源磷输入对农区湿地土壤碳库有效性及周转特性的影响. *中国生态农业学报*, 2017, 25(10): 1433-1443.
- [14] 杨丽娟, 孙凯, 程蕊, 杨小立, 王大郅, 李红丽, 王光美. 长期氮磷添加对滨海湿地土壤微生物残体碳和酶活性的影响. *生态与农村环境学报*, 2024, 40(12): 1624-1633.
- [15] 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.
- [16] 周嘉聪, 刘小飞, 郑永, 纪宇毓, 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.
- [17] Liu M H, Gan B P, Li Q, Xiao W F, Song X Z. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil extracellular enzyme activity and stoichiometry in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) forests. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 834184.
- [18] Cenini V L, Fomara D A, McMullan G, Ternan N, Carolan R, Crawley M J, Clément J C, Lavorel S. Linkages between extracellular enzyme activities and the carbon and nitrogen content of grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96(5): 198-206.
- [19] Zeglin L H, Stursova M, Sinsabaugh R L, Collins S L. Microbial responses to nitrogen addition in three contrasting grassland ecosystems. *Oecologia*, 2007, 154(2): 349-359.
- [20] Yang Y, Liang C, Wang Y Q, Cheng H, An S S, Chang S X. Soil extracellular enzyme stoichiometry reflects the shift from P to N limitation of microorganisms with grassland restoration. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 149(10): 107928.
- [21] 郭佳玲, 魏亮, 祝贞科, 葛体达, 吴金水, 毛蓉. 碳和养分添加对亚热带稻田土壤酶活性化学计量学特征的影响. *土壤与作物*, 2020, 9(3): 231-239.
- [22] 王传杰, 王齐齐, 徐虎, 高洪军, 朱平, 徐明岗, 张文菊. 长期施肥下农田土壤-有机质-微生物的碳氮磷化学计量学特征. *生态学报*, 2018, 38(11): 3848-3858.
- [23] 李爱萍, 黄广华, 高人, 马红亮, 章伟, 陈仕东, 杨智杰, 林捷, 郑群瑞. 福州、建瓯和武夷山大气氮/硫湿沉降特征分析. *亚热带资源与环境学报*, 2015, 10(3): 33-40.
- [24] 郑小宏. 闽江口海域氮磷营养盐含量的变化及富营养化特征. *台湾海峡*, 2010, 29(1): 42-46.
- [25] Mou X J, Liu X T, Sun Z G, Tong C, Lu X R. Short-term effect of exogenous nitrogen on N₂O fluxes from native and invaded tidal marshes in the Min River Estuary, China. *Wetlands*, 2019, 39(1): 139-148.
- [26] Chen H Y, Hung C C, Fang T H, Gong G C. Dry deposition and particle-size distribution of phosphorus in the marine atmosphere over the northeastern coast of Taiwan. *Continental Shelf Research*, 2008, 28(6): 756-766.
- [27] Liu S M, Hong G H, Zhang J, Ye X W, Jiang X L. Nutrient budgets for large Chinese estuaries. *Biogeosciences*, 2009, 6(10): 2245-2263.
- [28] Xiong Y L, Gao L, Qu L Y, Xu J T, Ma Z L, Gao G. The contribution of fish and seaweed mariculture to the coastal fluxes of biogenic elements in two important aquaculture areas, China. *Science of the Total Environment*, 2023, 856(1): 159056.
- [29] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6): 703-707.
- [30] Brookes P C, Powlson D S, Jenkinson D S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(4): 319-329.
- [31] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 837-842.
- [32] Murphy J, Riley J P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 1962, 27: 31-36.
- [33] 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.

- [34] Moorhead D L, Rinkes Z L, Sinsabaugh R L, Weintraub M N. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme-based decomposition models. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 223.
- [35] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, Waldrop M P. Evolutionary-economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function//*Soil Enzymology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 229-243.
- [36] Jian S Y, Li J W, Chen J, Wang G S, Mayes M A, Dzanter 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(10): 32-43.
- [37] Fraser T D, Lynch D H, Bent E, Entz M H, Dunfield K E. Soil bacterial *phoD* gene abundance and expression in response to applied phosphorus and long-term management. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88(9): 137-147.
- [38] 高珊. 苏北滨海盐渍农田土壤磷素有效性及其增效调控研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2019.
- [39] Nannipieri P, Trasar-Cepeda C, Dick R P. Soil enzyme activity: a brief history and biochemistry as a basis for appropriate interpretations and meta-analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(1): 11-19.
- [40] Chen H, Li D J, Zhao J, Xiao K C, Wang K L. Effects of nitrogen addition on activities of soil nitrogen acquisition enzymes: a meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 252(1): 126-131.
- [41] Kopáček J, Cosby B J, Evans C D, Hruška J, Moldan F, Oulehle F, Šantrůčková H, Tahovská K, Wright R F. Nitrogen, organic carbon and sulphur cycling in terrestrial ecosystems: linking nitrogen saturation to carbon limitation of soil microbial processes. *Biogeochemistry*, 2013, 115(1): 33-51.
- [42] Chen H, Li D J, Zhao J, Zhang W, Xiao K C, Wang K L. Nitrogen addition aggravates microbial carbon limitation: Evidence from ecoenzymatic stoichiometry. *Geoderma*, 2018, 329(11): 61-64.
- [43] Mooshammer M, Wanek W, Zechmeister-Boltenstern S, Richter A. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 22.
- [44] Zhang P, Lü X T, Li M H, Wu T G, Jin G Z. N limitation increases along a temperate forest succession: evidences from leaf stoichiometry and nutrient resorption. *Journal of Plant Ecology*, 2022, 15(5): 1021-1035.
- [45] Gao J T, Wang E X, Ren W L, Liu X F, Chen Y, Shi Y W, Yang Y S. Effects of simulated climate change on soil microbial biomass and enzyme activities in young Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) in subtropical China. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(4): 272-278.