

# 凋落物双倍添加和移除对米楮林土壤水解酶活性及其化学计量比的影响

陆宇明<sup>1,2</sup>, 许恩兰<sup>1,2</sup>, 吴东梅<sup>1,2</sup>, 卢胜旭<sup>1,2</sup>, 刘小飞<sup>1,2</sup>, 郭剑芬<sup>1,2</sup>

(1.福建师范大学地理科学学院,福州 350007;2.福建师范大学湿润亚热带山地生态国家重点实验室培育基地,福州 350007)

**摘要:** 土壤酶与土壤养分紧密相关,并能够活化土壤中营养元素从而改善土壤环境质量,为更加深入了解全球气候变化背景下森林凋落物数量的变化及其酶化学计量比的影响,以亚热带米楮林为研究对象设计随机区组试验,设置 3 种凋落物处理(移除凋落物(NRNL)、添加双倍凋落物(NRD L)、保留凋落物(CK)),通过测定土壤微生物生物量碳、氮和水解酶活性( $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ G)、纤维素水解酶(CBH)、 $\beta$ -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)),探讨排除根系作用下双倍添加和移除地上凋落物对米楮林土壤养分状况和土壤生态酶化学计量特征的影响。结果表明,与对照(CK)相比,NRDL 处理显著提高了 CBH 和 LAP 活性,同时提高了土壤总碳(TC)、全氮(TN)、矿质氮、可溶性有机碳(DOC)、微生物生物量氮(MBN)含量,而 NRNL 处理只降低了土壤 MBC 含量。同时发现,土壤生态酶化学计量比未受到凋落物输入处理的影响,CK、NRNL 和 NRDL 处理土壤酶活性比  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$  分别为 1.25, 1.36, 1.30;  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$  分别为 0.78, 0.78, 0.83;  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$  分别为 0.62, 0.58, 0.64。相关分析表明,TC、TN、矿质氮、DOC、DON、MBC 和 MBN 分别与  $\beta G$ 、CBH、AP 和 LAP 活性呈显著正相关;冗余分析表明,DOC 是驱动土壤水解酶活性和化学计量比变化的关键因子。综上, NRDL 通过增加土壤 DOC 的浓度,从而提高土壤水解酶活性,研究结果可为亚热带森林土壤养分管理提供基础数据。

**关键词:** 米楮; 凋落物; 水解酶; 酶化学计量比; 土壤养分

中图分类号: S154.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2021)04-0313-08

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcxb.2021.04.043

## Effects of Double Addition or Removal of Litter on Soil Hydrolases Activities and Their Stoichiometry in *Castanopsis carlesii* Forest

LU Yuming<sup>1,2</sup>, XU Enlan<sup>1,2</sup>, WU Dongmei<sup>1,2</sup>, LU Shengxu<sup>1,2</sup>, LIU Xiaofei<sup>1,2</sup>, GUO Jianfen<sup>1,2</sup>

(1.College of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007; 2.State Key Laboratory for Subtropical Mountain Ecology (Funded by Ministry of Science and Technology and Fujian Province), Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

**Abstract:** Soil enzymes are closely linked with nutrients and chemical properties of soil. Soil enzymes can activate nutrient elements in soil to improve soil quality. Changes in net primary productivity in response to climate change are likely to affect litter inputs to forest soil. However, the effects of altered litter input on soil enzymes activities and their stoichiometry remain poorly understood in *Castanopsis carlesii* forest. In this study, soil hydrolases  $\beta$ -glucosidase enzyme ( $\beta$ G), cellulose (CBH),  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase (NAG), leucine aminopeptidase (LAP), and acid phosphatase (AP) activities and their stoichiometric characteristics under different litter input treatments with root exclusion, viz. no litter (NRNL), double litter (NRDL), control (CK) were measured in a subtropical *Castanopsis carlesii* forest in Sanming, Fujian, China. The results showed that compared with CK, NRDL significantly improved CBH and LAP activities, and increased the contents of soil total carbon (TC), total nitrogen (TN), mineral nitrogen, dissolved organic carbon (DOC), and microbial biomass nitrogen (MBN), while the content of MBC was only reduced under NRNL. It was also found that the soil enzyme stoichiometric ratio was not affected by litter input

收稿日期: 2020-11-28

资助项目:福建省科技厅公益类重点项目(2019R1002-4);福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划项目(J1-1253)

第一作者:陆宇明(1993-),女,硕士研究生,主要从事森林土壤碳氮循环研究。E-mail:245806037@qq.com

通信作者:郭剑芬(1977-),女,教授,博士生导师,主要从事森林碳循环与全球变化研究。E-mail:jfguo@fjnu.edu.cn

treatments. Moreover, the values of  $\ln(\beta\text{G}+\text{CBH}) : \ln(\text{NAG}+\text{LAP})$  were 1.25, 1.36, 1.30; the values of  $\ln(\beta\text{G}+\text{CBH}) : \ln(\text{AP})$  were 0.78, 0.78, 0.83; the values of  $\ln(\beta\text{G}+\text{CBH}) : \ln(\text{NAG}+\text{LAP})$  were 1.25, 1.36, 1.30;  $\ln(\text{NAG}+\text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  were 0.62, 0.58, 0.64. The correlation analysis showed that TC, TN, mineral nitrogen, DOC, DON, MBC and MBN were significantly positively correlated with  $\beta\text{G}$ , CBH, AP and LAP activities. Redundancy analysis indicated that the changes in hydrolases activities and their stoichiometry were mainly driven by soil DOC concentration. Thus, NRDL could improve the hydrolase activity by increasing the concentration of soil DOC. This study could provide a basic theory for soil nutrient management in subtropical forests.

**Keywords:** *Castanopsis carlesii* (Hemsl.) Hayata; litter fall; hydrolases activity; enzymatic stoichiometry; soil nutrients

土壤酶是土壤中的生物活性物质,是土壤养分进行分解转化、能量循环的主要生物学要素<sup>[1]</sup>。土壤水解酶是土壤微生物和植物分泌的胞外酶,其活性与土壤碳、氮、磷等养分密切相关<sup>[2]</sup>,并受到地下根系、地表凋落物、土壤微生物量以及土壤养分等环境因素的影响。森林凋落物是土壤有机质和养分的主要来源,在维持和提高森林土壤养分有效性方面起着非常重要的作用<sup>[3]</sup>。C、N、P 相关的酶活性比值被称为生态酶化学计量比,可用来指示土壤养分需求和养分有效性的平衡模式。凋落物输入量的改变会引起土壤水解酶的活性及其化学计量比的变化<sup>[4]</sup>。目前,关于土壤酶活性及其化学计量比的相关研究发展迅速,已成为土壤养分循环的热点问题。

全球气候变化已成为世界广泛关注的热点,气候变暖、大气 CO<sub>2</sub> 浓度的升高和氮沉降的加剧都可能使得凋落物的数量增加<sup>[5]</sup>,而凋落物输入量的改变可能会导致土壤碳的积累或养分状况发生变化<sup>[6]</sup>。虽然有关凋落物变化对土壤酶活性及其化学计量比的研究逐渐增多,但未能达成一致的认识。Weintraub 等<sup>[7]</sup>研究认为,添加凋落物后土壤酶活性显著增强;但 Veres 等<sup>[8]</sup>研究证实,改变凋落物输入处理并没有对土壤酶活性产生影响。另外,除地上凋落物外,因根系从土壤中摄取养分和水分的同时也向土壤中分泌大量的有机质<sup>[9]</sup>,所以土壤根系微生态环境也会造成土壤酶活性差异。因本研究着重探讨地上凋落物输入量对土壤酶活性的影响,因此通过挖壕沟排除根系作用,研究凋落物移除和双倍添加处理后土壤理化性质和酶活性及其化学计量比的变化来揭示凋落物输入量的变化对土壤养分状况和水解酶活性化学计量比的影响,这有助于揭示全球气候背景下森林养分循环和土壤养分保持机制,为研究区内林地管理提供理论依据。

## 1 研究区概况与试验设计

### 1.1 试验地概况

本研究试验样地位于福建省三明市格氏栲国

家森林公园自然保护区(117°27'30"—117°36'53"E, 26°09'39"—26°19'55"N),属低山丘陵,平均海拔 305~315 m,坡度 15°~20°。属于中亚热带季风气候,具有冬冷夏热和雨热同季等特点,多年平均气温 20.1℃,年平均降水量 1 670 mm(主要集中于 3—8 月)。土壤为砂岩发育的红壤为主,表层疏松。本试验样地研究的米楮林为米楮天然林,林龄大约为 200 年,人为干扰较少,2012 年对样地进行的群落调查显示,以华山姜(*Alpinia chinensis* (Retz.) Rosc.)、硃砂根(*Ardisia crenata* Sims.)、香花崖豆藤(*Millettia dielsiana* Harms.)、桂北木姜子(*Litsea subcoriacea* Yang et P. H. Huang.)和狗脊(*Woodwardia japonica* (L. f.) Sm.)等林下植被为主。

### 1.2 试验设计

2012 年 6 月,在米楮天然林设置 3 块 20 m×20 m 标准样地,分别在各个样方内随机布设 3 个 1 m×1 m 的试验小区,设置 3 种处理,每种处理 3 个重复。各处理为:(1)去除根系保留凋落物(no roots litter, CK),沿小区四周挖 1 m 深的壕沟,埋入 2 层 0.1 mm 孔径尼龙网阻断根向内生长,防止根系进入样方内部,去除样方内的所有活体植物,尽量保持土壤表层原有性状;(2)去除根系+移除凋落物(no roots no litter, NRNL),去除根系和移除地上凋落物结合措施,在样方周围挖壕沟直到植物根系分布层以下,用厚塑料膜插入壕沟内隔离根系,防止根系进入样方内部,去除样方内的所有活体植物,移除样方内所有凋落物,并在上方设置纱网收集凋落物;(3)去除根系+添加双倍凋落物(no roots double litter, NRDL),在原有输入的基础上,添加 NRNL 处理所移除的凋落物,形成双倍凋落物输入的处理(图 1)。2017 年 11 月开始,每月末进行去除或添加双倍凋落物的措施。

## 2 研究方法

### 2.1 土壤样品采集

2018 年 4 月,使用内径 2 cm 的土钻,按照“S”形混合采样方法取样,采集各小区内表层 0—10 cm 土

层土壤,5根土芯混成1个混合样,置于保温箱内运回站点实验室,挑拣出肉眼可见的砾石和动植物残体后充分混匀。过2 mm(孔径)筛网后分成2部分:第

1部分保存于4℃冰箱内,用于测定土壤水解酶活性和土壤微生物生物量碳、氮含量等;第2部分土样置于自然状态下风干测定TC、TN、pH等。

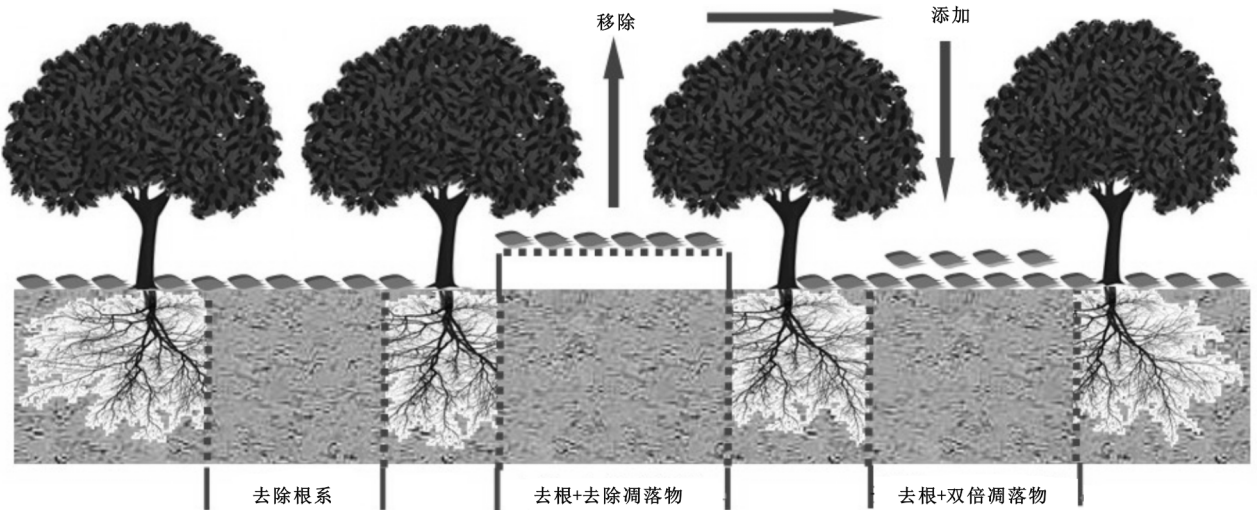


图1 不同凋落物输入处理

## 2.2 土壤基本理化性质测定

采用105℃烘干24 h测定土壤含水率(重量含水率, gravimetric water content, GWC/%);土壤pH采用便携式pH测试仪进行测定,水土比以2.5:1为准;土壤总碳(total carbon, TC)和全氮(total nitrogen, TN)含量采用土壤碳氮元素分析仪(Elemental Analyzer Vario ELIII, Elementar, 德国)进行测定(g/kg);土壤可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)、可溶性有机氮(dissolved organic nitrogen, DON)采用20 mL去离子水浸提5 g鲜土,振荡离心后用0.45 μm玻璃纤维滤膜抽滤,用总有机碳分析仪(SHIMADZU TOC-VCPH/CPN Analyze, 日本岛津)测定滤液中DOC的浓度,采用连续流动分析仪(Skalar San++, 荷兰)测定DON浓度(mg/kg);土壤矿质氮(mineral nitrogen)以20 mL 2 mol/L KCl溶液浸提5 g鲜土,振荡离心后,通过0.45 μm中速定量滤纸过滤,使用连续流动分析仪进行测定(mg/kg)。

## 2.3 土壤微生物生物量碳、氮测定

采用氯仿熏蒸—浸提法测定土壤微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC)和微生物生物量氮(microbial biomass nitrogen, MBN)<sup>[10]</sup>。简要步骤为:称取2份5 g鲜土,1份用氯仿熏蒸24 h,另1份不作处理;然后按4:1(溶液:土)比例用0.5 mol/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液浸提,滤液经振荡、离心、过滤后使用总有机碳分析仪测定有机碳含量,使用连续流动分析仪(Skalar San++, 荷兰)测定总氮含量。计算公式为:

$$MBC = E_C / k_{EC} \quad (1)$$

$$MBN = E_N / k_{EN} \quad (2)$$

式中: $E_C$ 为熏蒸和未熏蒸处理的有机碳含量的差值

(mg/kg); $k_{EC}$ 为MBC的浸提系数0.45; $E_N$ 为熏蒸和未熏蒸处理的有机氮含量的差值(mg/kg); $k_{EN}$ 为MBN的浸提系数0.54。

## 2.4 土壤酶活性测定

土壤酶活性测定参照文献[11]的研究方法,共测定5种土壤水解酶( $\beta$ G、CBH、NAG、LAP、AP)的活性:称取1 g鲜土放于含有125 mL 50 mmol/L、pH为5.0的醋酸缓冲液的广口瓶中,使用磁力搅拌器搅拌约5 min,静置澄清至土壤悬浮液。用移液器取200 μL样品于96孔微孔板中,加入相对应的底物于每个孔内,将所有的微孔板置于黑暗环境20℃恒温下培养4 h,之后向每个孔内中加入10 μL的1 mol/L NaOH溶液使其反应终止,用多功能酶标仪(SpectraMax M5, 美国)在365 nm波长激发,并测定其在450 nm处的荧光度。其中5种土壤酶的名称、缩写、底物和类型见表1。5种水解酶都进行预试验处理,以保证获得其所需要的培养时长和底物浓度。

## 2.5 数据处理

本研究计算了土壤水解酶化学计量比,即: $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$ 为土壤酶化学计量C:N; $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 为土壤酶化学计量C:P; $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 为土壤酶化学计量N:P<sup>[12]</sup>。数据经Microsoft Excel软件处理后使用SPSS 22.0软件中单因素方差分析(One-way ANOVA),不同凋落物处理间土壤理化性质、水解酶活性及生态酶化学计量比的差异显著性采用多重比较法(LSD)检验。采用Pearson相关分析法分析土壤水解酶活性、酶化学计量比与土壤理化性质的关系,在此基础上运用Canoco 5.0软件以土壤水解酶活性和酶化学计量比作为响应变量,土壤理化性质作为解释变量进行冗余分析(redundancy analy-



sis, RDA)。本文绘图主要由 Origin 9.1 软件完成, 文中图表数据均为平均值±标准差。

表 1 土壤酶活性名称、缩写底物和类型

土壤酶	缩写	底物	类型
β-葡萄糖苷酶	βG	4-MUB-β-D-glucoside	C-targeting hydrolytic
纤维素水解酶	CBH	4-MUB-β-D-cellobioside	C-targeting hydrolytic
β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶	NAG	4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide	N-targeting hydrolytic
亮氨酸氨基肽酶	LAP	L-leucine-7-amino-4-methylcoumarin	N-targeting hydrolytic
酸性磷酸酶	AP	4-MUB-phosphate	P-targeting hydrolytic

### 3 结果与分析

#### 3.1 土壤理化性质

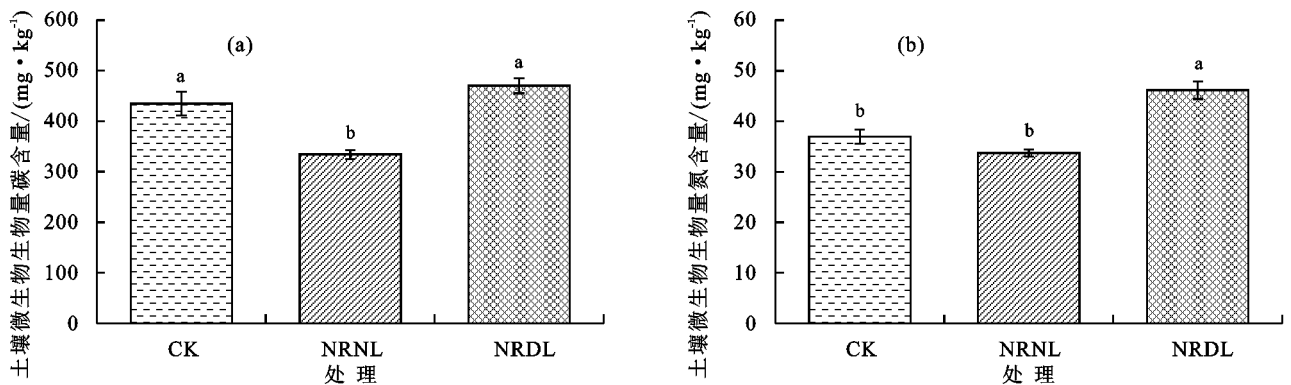
由表 2 可知,与对照(CK)相比,加倍凋落物(NRDL)处理对 TC、TN、矿质氮、DOC 和 DON 的含量影响显著,而移除凋落物(NRNL)处理土壤理化性质均未产生显著性影响,但 NRNL 处理下 TC、TN 和 DOC 含量显著低于 NRDL 处理( $P<0.05$ )。与 CK 相比, NRDL 处理显著提高土壤 TC、TN 和 DOC 含量,增幅分别为 20.42%、31.60%和 26.14%;与 NRNL 相比,

NRDL 处理土壤 TC、TN 和 DOC 分别提高 21.06%、61.03%和 81.52%。而 CK 和 NRNL 无显著性差异。与对照(CK)相比,加倍凋落物处理(NRDL)显著提高矿质氮含量( $P<0.05$ ),并高出 1.46 倍。不同凋落物输入处理下其他理化性质均无显著差异。NRDL 处理的土壤 MBC 含量显著高于 NRNL 处理,而 CK 和 NRDL 处理处理间未达到显著性差异水平(图 2a)。MBN 含量在 NRDL 处理达到最高,分别为 CK 和 NRNL 处理的 1.25、1.39 倍( $P<0.05$ ),而 CK 和 NRNL 处理之间差异不显著(图 2b)。

表 2 不同凋落物输入处理土壤理化性质

土壤理化性质	CK	NRNL	NRDL
pH	4.07±0.06a	4.00±0.03a	3.95±0.03a
含水率/%	26.31±2.47a	23.01±2.57a	27.59±2.13a
总碳含量 TC/(g·kg <sup>-1</sup> )	23.86±1.38b	21.84±1.15b	28.74±1.21a
全氮含量 TN/(g·kg <sup>-1</sup> )	1.39±0.09b	1.44±0.08b	1.75±0.05a
C/N	16.58±0.25a	15.73±0.39a	15.84±0.60a
矿质氮含量 MN/(mg·kg <sup>-1</sup> )	11.59±1.53b	14.33±1.73ab	16.92±1.25a
可溶性有机碳含量 DOC/(mg·kg <sup>-1</sup> )	39.37±3.71b	34.95±3.32b	63.44±3.69a
可溶性有机氮含量 DON/(mg·kg <sup>-1</sup> )	1.21±0.08a	1.22±0.24a	1.62±0.16a

注:表中数据为平均值±标准差, $n=3$ ;同行不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。



注:图柱上方不同字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。

图 2 不同凋落物输入处理土壤微生物生物量碳、氮含量

#### 3.2 土壤酶活性与化学计量比

不同凋落物输入处理显著影响 CBH、AP 和 LAP 活性。与 CK 相比, NRDL 处理显著增加土壤 CBH 和 LAP 活性( $P<0.05$ )(图 3b、图 3e),增幅分别为 72.31%和 128.66%,而 NRNL 处理未发生显著性变化。与 NRDL 处理相比, NRNL 处理显著降低土壤 CBH、AP 和 LAP 活性( $P<0.05$ )(图 3b、图 3d、

图 3e),这表明 NRDL 处理对 CBH、AP 和 LAP 活性存在促进作用,可提高土壤 CBH、AP 和 LAP 活性。

土壤  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$ 、 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 和  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 在不同凋落物处理中均未表现出显著性差异,说明凋落物的移除和双倍添加对酶活性化学计量比没有产生显著的影响(图 4)。CK、NRNL 和 NRDL 处理土壤酶活性比  $\ln(\beta G +$

CBH) :  $\ln(\text{NAG} + \text{LAP})$  分别为 1.25, 1.36, 1.30;  
 $\ln(\beta\text{G} + \text{CBH}) : \ln(\text{AP})$  分别为 0.78, 0.78, 0.83;  
 $\ln(\text{NAG} + \text{LAP}) : \ln(\text{AP})$  分别为 0.62, 0.58, 0.64。

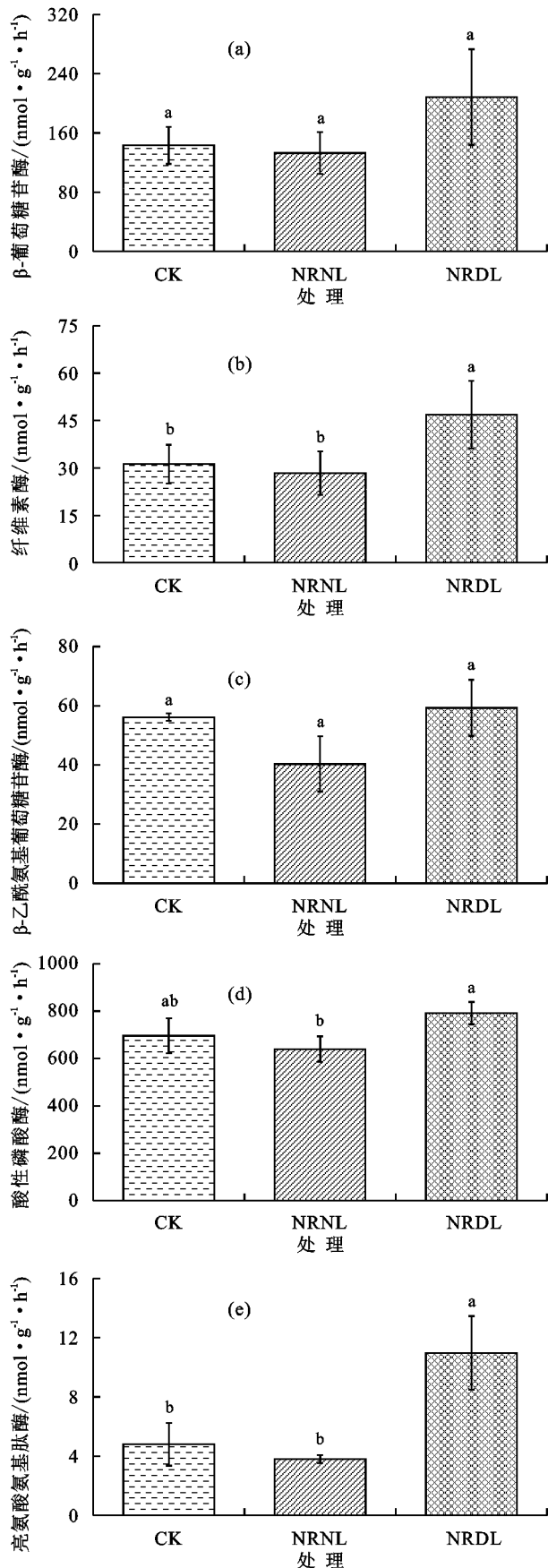


图 3 不同凋落物量输入处理土壤水解酶活性

### 3.3 土壤酶活性与土壤理化性质的相关性

由表 3 可知, Pearson 相关分析表明, 除 NAG 活性与土壤理化相关性不显著外, 其他水解酶活性分别与土壤 TC、TN、矿质氮、DOC、DON、MBC 和 MBN 呈显著正相关。 $\beta\text{G}$  活性与土壤 TC 和 MBN 呈显著正相关。CBH 活性与土壤矿质氮、DON 呈显著正相关, 并与土壤 TC、TN、DOC 和 MBN 呈极显著正相关。AP 与土壤 MBC 呈显著正相关, LAP 活性与 DOC 呈显著正相关, 与土壤 pH 呈显著负相关。 $\ln(\beta\text{G} + \text{CBH}) : \ln(\text{NAG} + \text{LAP})$  与土壤 DON 呈显著正相关,  $\ln(\beta\text{G} + \text{CBH}) : \ln(\text{AP})$  与 TC 呈显著正相关。RDA 分析显示, 环境因子解释了土壤酶活性变异的 85.72%, 第 1 轴和第 2 轴分别解释变量的 56.95% 和 28.77% (图 5)。其中, 土壤 DOC 的作用最明显, 解释土壤酶活性变化的 51.50% ( $P = 0.004$ ), 且与土壤酶活性 ( $\beta\text{G}$ 、CBH、NAG、AP、LAP) 呈显著正相关。此外, TC、TN 和 DON 也与 CBH、NAG 和 LAP 等呈显著正相关。

## 4 讨论

### 4.1 不同凋落物输入处理对土壤理化性质的影响

凋落物作为森林土壤营养元素的重要来源之一, 是森林土壤有机质的主要补给者<sup>[13]</sup>。在本研究中, 与对照相比, NRDL 提高 TC、TN、矿质氮和 DOC 含量, 这与 Cleveland 等<sup>[14]</sup>的研究结果一致, 即凋落物添加处理显著增加土壤碳含量, 尤其是增加可供微生物活动利用的可溶性有机碳含量。相关研究<sup>[15]</sup>证实, 保留凋落物林分的土壤有机质、全 C 和全 N 含量均显著高于去除凋落物林分。因此本研究推测, 凋落物作为一种底物, 双倍添加后增加了土壤有机质来源, 从而提高土壤 DOC 浓度, 添加双倍凋落物明显增加土壤养分输入, 反映出凋落物增强土壤水解酶活性的影响机制与底物 DOC 浓度的增加有关。凋落物数量微小的变化在一定程度上可以影响土壤有机质的含量<sup>[16]</sup>。卢胜旭等<sup>[17]</sup>研究表明, 凋落物加倍与去除处理土壤微生物生物量碳 (MBC) 和氮 (MBN) 含量分别显著增加和下降。同时凋落物作为一种激发底物, 可以激发原有土壤有机碳分解, 提高土壤有机碳的可利用性, 进而增加土壤微生物生物量。本研究发现, 与对照相比, NRDL 显著提高 MBN 含量, 但 NRDL 处理下 MBC 含量未发生显著变化, 这与前人<sup>[18]</sup>研究结果类似, 凋落物添加或移除处理均对土壤 MBC 含量无显著影响。而本研究中 NRNL 处理显著降低 MBC 含量, 这可能由于移除凋落物使有机质输入减少, 从而导致土壤微生物更容易利用的碳来源降低, 使土壤 MBC 含量降低。

### 4.2 不同凋落物输入处理对土壤水解酶的影响

土壤酶作为森林土壤中生物生命活动的标志性产

物,其活性与土壤的有机质和微生物数量密切相关<sup>[15]</sup>。Wang 等<sup>[19]</sup>研究认为,移除凋落物降低土壤 C、N 养分,抑制土壤微生物生长,从而使土壤酶活性降低。本研究发现,凋落物输入量的变化影响亚热带米楮林土壤水解酶活性,与对照相比,NRDL 提高 CBH 和 LAP 活性,以往研究<sup>[20]</sup>也发现,可利用性底物的浓度与土壤酶活性息

息相关。本研究发现,NRDL 处理明显增加土壤中 TC、TN、矿质氮、DOC、DON 和 MBN 浓度,而 CBH 活性又与土壤 TC、TN 和 MBN 呈显著正相关,LAP 与 DOC 呈明显正相关,该研究结果与刘仁等<sup>[21]</sup>的研究结果一致,凋落物添加提高土壤 SOC、TN 和有效氮含量,从而提高土壤水解酶活性。

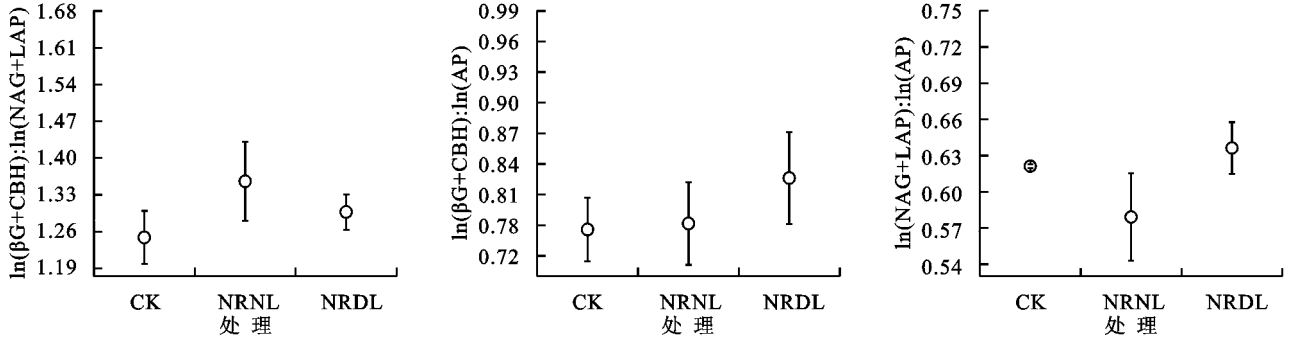


图 4 不同凋落物输入处理土壤酶化学计量比

表 3 土壤理化性质与土壤酶活性及其化学计量比的相关性

土壤理化性质	$\beta G$	CBH	NAG	AP	LAP	$\ln(\beta G+CBH) : \ln(NAG+LAP)$	$\ln(\beta G+CBH) : \ln(AP)$	$\ln(NAG+LAP) : \ln(AP)$
pH	-0.134	-0.488	-0.112	-0.191	-0.706*	-0.143	-0.145	-0.066
含水率	-0.119	0.176	0.074	0.608	0.534	-0.166	-0.267	-0.243
TC	0.761*	0.887**	0.585	0.070	0.503	0.454	0.724*	0.553
TN	0.651	0.898**	0.487	0.158	0.645	0.426	0.614	0.423
C/N	0.536	0.204	0.519	-0.325	-0.368	0.162	0.538	0.617
矿质氮	0.371	0.674*	0.025	-0.096	0.475	0.643	0.404	0.030
DOC	0.651	0.932**	0.520	0.348	0.682*	0.397	0.557	0.356
DON	0.639	0.758*	0.291	-0.169	0.198	0.697*	0.650	0.312
MBC	0.356	0.591	0.644	0.713*	0.649	-0.181	0.168	0.312
MBN	0.668*	0.841**	0.544	0.492	0.615	0.296	0.516	0.326

注: \*表示  $P < 0.05$ ; \*\*表示  $P < 0.01$ ; MBC 为土壤微生物生物量碳; MBN 为土壤微生物生物量氮;  $\beta G$  为  $\beta$ -葡萄糖苷酶; CBH 为纤维素水解酶; NAG 为  $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶; AP 为酸性磷酸酶; LAP 为亮氨酸氨基肽酶。下同。

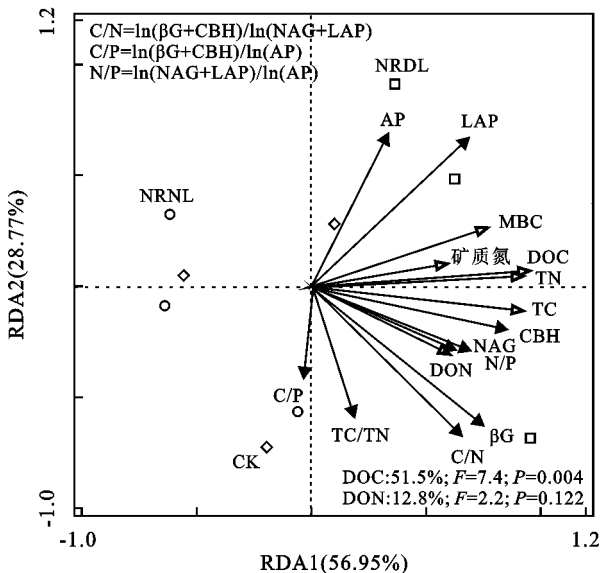


图 5 土壤理化性质与土壤水解酶活性的冗余分析

RDA 分析结果表明,DOC 是土壤酶活性和化学

计量比变化的驱动因子,而 DOC 与 LAP、CBH 之间存在显著的正相关关系,以往研究<sup>[22]</sup>也发现,CBH 和 LAP 活性的提高与土壤 SOC 和 TN、MBN 含量的增加有关。由此推测,土壤 CBH 和 LAP 活性在 NRDL 处理下表现出明显的促进作用,说明 NRDL 可能通过增加 DOC 的输入量或改变其他养分的输入量(TC、TN、MBN)来促进土壤微生物的生长和繁殖,最终提高微生物活性。Weintraub 等<sup>[7]</sup>研究表明,亚热带森林碳循环快,土壤可溶性有机碳在凋落物分解初期从有机层向土壤快速传输,被认为与酶活性显著正相关;Kivlin 等<sup>[20]</sup>研究认为,土壤水解酶活性与 DOC 浓度呈正相关,由于碳输入增加产生的激发效应加速微生物对有机质的分解过程,DOC 浓度上升,反过来作为微生物底物的 DOC 含量会刺激微生物分泌更多的酶,进而提高水解酶活性。同样,杨

洋<sup>[23]</sup>研究发现,移除凋落物减少土壤微生物生物量及其分泌的土壤酶含量,从而降低土壤酶活性;Xiong等<sup>[24]</sup>研究证实,土壤有机质和全氮含量下降,降低土壤微生物量,这种抑制性使土壤酶活性降低。本研究中,与对照相比,NRNL处理下土壤TC、TN、矿质氮、DOC和MBN含量均未发生显著变化,故其土壤水解酶活性均未出现明显的变化。

#### 4.3 不同凋落物输入处理对土壤酶化学计量比的影响

本研究发现,土壤  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$ 、 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 和  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 在凋落物输入的处理后未发生显著变化。 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$ 和  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 与土壤DON和DON含量呈显著正相关,且冗余分析表明,土壤DOC和DON是对土壤酶活性及其化学计量比影响较大的因子,这说明DOC和DON含量的增加,可能更有利于促进土壤微生物C和N的水解酶增加,这与前人<sup>[25]</sup>研究结果一致,土壤微生物养分利用效率会受到土壤养分的影响,从而使微生物酶活性发生变化。相关研究<sup>[26]</sup>认为,SOC可能是影响酶化学计量比变化的驱动因子。在本研究中, $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 的平均值为0.79,接近于全球尺度上土壤酶活性比  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ (0.62); $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 的平均值为0.61,接近全球尺度上土壤酶活性比  $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ (0.44)<sup>[27]</sup>,而NRDL处理后 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 和  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 分别是0.83和0.64,均呈大于CK和NRNL的趋势,表明添加双倍凋落物在一定程度上可能会相对缓解土壤磷限制的问题。这与其他研究相似,以往研究<sup>[28]</sup>通常认为,土壤磷是亚热带森林生态系统生产力的重要限制性养分。当土壤微生物具有磷限制状况时,微生物会通过分泌更多与磷相关的酶来提高有机磷的矿化,促进土壤磷有效性,一定程度上缓解自身磷缺失问题<sup>[29]</sup>,本研究相对应也表现出土壤磷相关的酶(AP)含量较高的现象。但本研究中理化性质与酶化学计量比未呈现出明显相关性。这可能是由于土壤环境因子对生态酶化学计量比未产生显著影响,从而使得凋落物量输入变化后生态酶化学计量未发生显著变化,这也可能与取样季节、试验周期有关。总而言之,凋落物输入变化对土壤水解酶活性的影响较复杂,主要与研究区域的气候、土壤环境因素、取样季节和试验样地周期的长短等有所关联,还需要进一步探讨。

## 5 结论

(1)NRDL处理明显提高土壤全碳、全氮和可溶

性有机碳的含量,其中土壤全碳和全氮的含量分别是CK和NRNL处理的1.2,1.3倍和1.3,1.2倍;土壤可溶性有机碳的含量显著提高1.6,1.8倍,这说明NRDL处理更有利于改善土壤养分状况。

(2)与NRDL和CK相比,NRNL处理土壤微生物生物量碳含量明显下降,降幅分别为41%和30%;而NRDL处理后土壤微生物生物量氮含量显著高于CK和NRNL处理,增幅分别是25%和37%,说明NRDL处理更有利于提升土壤微生物生物量碳、氮含量。

(3)NRDL处理明显提高CBH和LAP酶活性,不同凋落物输入处理下土壤理化性质与土壤酶活性具有较好的相关性,其中土壤DOC是影响该区土壤酶活性变化的关键因子,NRDL通过增加土壤DOC的浓度,从而提高土壤水解酶活性,而本研究中土壤 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(NAG + LAP)$ 、 $\ln(\beta G + CBH) : \ln(AP)$ 和  $\ln(NAG + LAP) : \ln(AP)$ 在不同凋落物输入处理中均未出现显著性差异。

#### 参考文献:

- [1] Deforest J L. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and l-DOPA[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(6): 1180-1186.
- [2] Peng X Q, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of northern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 74-84.
- [3] 樊星火, 葛红艳, 张参参, 等. 江西省生态公益林典型林分土壤肥力状况研究[J]. *北京林业大学学报*, 2018, 40(11): 84-92.
- [4] Hill B H, Elonen C M, Seifert L R, et al. Microbial enzyme stoichiometry and nutrient limitation in US streams and rivers[J]. *Ecological Indicators*, 2012, 18: 540-551.
- [5] 徐胜, 付伟, 平琴, 等. 气候变化对树木凋落物分解的影响研究进展[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(11): 3266-3272.
- [6] Kramer C, Trumbore S, Frberg M, et al. Recent (<4 year old) leaf litter is not a major source of microbial carbon in a temperate forest mineral soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(7): 1028-1037.
- [7] Weintraub S R, Wieder W R, Cleveland C C. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest[J]. *Biogeochemistry*, 2012, 114(1/3): 313-326.
- [8] Veres Z, Kotroczo Z, Fekete I, et al. Soil extracellular enzyme activities are sensitive indicators of detrital in-



- puts and carbon availability[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 92:18-23.
- [9] 沈宏, 严小龙. 根分泌物研究现状及其在农业与环境领域的应用[J]. *农村生态环境*, 2000, 16(3):51-54.
- [10] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6):703-707.
- [11] 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[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9):1309-1315.
- [12] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2010, 462(7274):795-798.
- [13] Maisto G, Marco A D, Meol A A, et al. Nutrient dynamics in litter mixtures of four Mediterranean maquis species decomposing in situ[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(3):520-530.
- [14] Cleveland C C, Neff J C, Hood T E. Composition, dynamics, and fate of leached dissolved organic matter in terrestrial ecosystems: Results from a decomposition experiment[J]. *Ecosystems*, 2004, 7(3):275-285.
- [15] 郑卫国, 薛立, 许鹏波, 等. 加勒比松林地土壤对凋落物的响应[J]. *华南农业大学学报*, 2011, 32(1):120-123.
- [16] Prescott C E. Do rates of litter decomposition tell us anything we really need to know? [J]. *Forest Ecology and Management*, 2005, 220(1/3):66-74.
- [17] 卢胜旭, 许恩兰, 吴东梅, 等. 米楮人工林土壤微生物群落组成对凋落物输入的响应[J]. *森林与环境学报*, 2020, 40(1):16-23.
- [18] Brant J B, Sulzman E W, Myrold D D. Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long-term carbon input manipulation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(8):2219-2232.
- [19] Wang F M, Zou B, Li H F. The effect of understory removal on microclimate and soil properties in two subtropical lumber plantations[J]. *Journal of Forest Research*, 2014, 19(1):238-243.
- [20] Kivlin S N, Treseder K K. Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition[J]. *Biogeochemistry*, 2014, 117(1):23-37.
- [21] 刘仁, 陈伏生, 方向民, 等. 凋落物添加和移除对杉木人工林土壤水解酶活性及其化学计量比的影响[J]. *生态学报*, 2020, 40(16):5739-5750.
- [22] 舒媛媛, 黄俊胜, 赵高卷, 等. 青藏高原东缘不同树种人工林对土壤酶活性及养分的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(2):394-402.
- [23] 杨洋. 凋落物和林下植被对杉木林土壤碳氮水解酶活性的影响机制[J]. *生态学报*, 2016, 36(24):8102-8110.
- [24] Xiong Y M, Xia H P, Li Z A, et al. Impacts of litter and understory removal on soil properties in a subtropical *Acacia mangium* plantation in China[J]. *Plant and Soil*, 2008, 304(1/2):179-188.
- [25] Waring B G, Weintraub S R, Sinsabaugh R L. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils [J]. *Biogeochemistry*, 2014, 117(1):101-113.
- [26] 乔航, 莫小勤, 罗艳华, 等. 不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量及其影响因素[J]. *生态学报*, 2019, 39(6):1887-1896.
- [27] Bell C, Carrillo Y, Boot C, et al. Rhizosphere stoichiometry: Are C : N : P ratios of plants, soils, and enzymes conserved at the plant species-level? [J]. *New Phytologist*, 2014, 201(2):505-517.
- [28] Hou E, Chen C, McGroddy M E, et al. Nutrient limitation on ecosystem productivity and processes of mature and old-growth subtropical forests in China[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e52071.
- [29] 殷爽, 王传宽, 金鹰, 等. 海拔梯度变化对雪乡土壤一微生物胞外酶 C : N : P 化学计量特征的影响[J]. *植物生态学报*, 2020, 43(11):999-1009.
- (上接第 312 页)
- [14] 魏树伟, 王少敏, 张勇, 等. 不同土壤管理方式对梨园土壤养分、酶活性及果实风味品质的影响[J]. *草业学报*, 2015, 24(12):46-55.
- [15] 李会科, 张广军, 赵政阳, 等. 生草对黄土高原旱地苹果园土壤性状的影响[J]. *草业学报*, 2007, 16(2):32-39.
- [16] 俞立恒. 果园生草栽培及其对园区生态环境的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [17] Heo J Y, Park Y S, Um N Y, et al. Selection of native ground cover plants for sod culture in an organic apple orchard[J]. *Korean Journal of Plant Research*, 2015, 28(5):641-647.
- [18] Xu Q X, Wang T W, Cai C F, et al. Effects of soil conservation on soil properties of citrus orchards in the Three Gorges Area, China[J]. *Land Degradation and Development*, 2012, 23(1):34-42.