

基于生态酶化学计量研究小陇山不同植被类型土壤有机碳对微生物磷限制的影响

杨海裕^{1,2,3}, 郑子龙^{1,2,3*}, 刘小林^{1,2,3}, 李惠萍^{1,2,3}, 高鹏程⁴

(1. 甘肃省小陇山林业科学研究所, 甘肃 天水 741020; 2. 甘肃小陇山森林生态系统国家定位观测研究站, 甘肃 天水 741020;
3. 甘肃省次生林培育重点实验室, 甘肃 天水 741020; 4. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:不同林地类型会改变土壤的理化特性,尤其是土壤有机碳(SOC),但这些理化性质变化后土壤微生物的代谢限制尚不清楚。2020年,在小陇山林区测定了锐齿栎纯林和锐齿栎混交林0~10、10~20、20~30、30~40、40~60 cm土层土壤中的 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)、 β -D-纤维二糖水解酶(CBH)、 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、L-亮氨酸氨基肽酶(LAP)与酸性磷酸酶(AP)。生态酶化学计量模型用于计算微生物代谢限制,通过计算载体的向量长度与角度量化土壤微生物的C、N、P限制。与锐齿栎纯林处理相比,锐齿栎混交林各土层的平均有机碳和全N含量分别提高了21.14%和17.26%。与锐齿栎纯林处理相比,锐齿栎混交林处理下BG+CBH和AP的活性分别降低了16.6%和32.6%,而NAG+LAP活性提高了10.3%。土壤养分及其计量比、pH和土壤容重影响土壤微生物C或P限制。锐齿栎纯林和锐齿栎混交林的土壤微生物P限制主要归因于土壤有机C。土壤有机C的分解是土壤有效P的关键来源。锐齿栎纯林下较高的土壤含水量和土壤容重加快了SOC的分解,从而增加了土壤P的限制。然而,由于更多凋落物的长年输入,锐齿栎混交林增加了更多的土壤有机C,并且其分解释放的有效P减轻了土壤微生物受到的P限制。因此,在山地丛林条件下,土壤容重、土壤含水量、养分计量比和有机C都会影响土壤微生物代谢,而山地丛林酸性土壤有机C含量的降低是导致微生物受到有效P限制的主要因素。

关键词:植被类型;土壤有机碳;微生物代谢;生态酶化学计量

中图分类号:S718.43

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2022)02-0001-09

Effects of Soil Organic Carbon on Microbial Phosphorus Limitation in Different Vegetation Types in Xiaolong Mountain Based on Ecoenzymatic Stoichiometry

YANG Hai-yu^{1,2,3}, ZHENG Zi-long^{1,2,3*}, LIU Xiao-lin^{1,2,3}, LI Hui-ping^{1,2,3}, GAO Peng-cheng⁴

(1. Gansu Xiaolongshan Research Institute of Forestry Science, Tianshui 741020, Gansu, China;

2. Gansu Xiaolongshan Forest Ecosystem National Research Station, Tianshui 741020, Gansu, China;

3. Gansu Province Key Laboratory of Secondary Forest Cultivation, Tianshui 741020, Gansu, China;

4. College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: Changing forest type can change soil physicochemical properties, especially soil organic carbon (SOC). However, what happens to the metabolic limitation of soil microorganisms after the change of soil physicochemical properties is still unclear. In 2020, taking the soils of pure and mixed *Quercus acuteserrata* forests occurring in Xiaolongshan forest region as the research objects, an investigation was conducted to measure the activities of 5 different enzymes in the soil layers of 0–10, 10–20, 20–30, 30–40, and 40–60 cm, including β -1, 4-glucosidase (BG), β -D-cellobiohydrolase (CBH), β -1, 4-N-acetylglucosaminidase

收稿日期:2021-03-25 修回日期:2021-07-08

基金项目:甘肃省林业和草原局科技计划项目(2019kj083;2020kj039)。

第一作者:杨海裕,高级工程师。研究方向:森林水文。E-mail:805902553@qq.com

*通信作者:郑子龙,工程师。研究方向:森林生态。E-mail:331302885@qq.com

(NAG), L-leucine aminopeptidase (LAP), and acidic phosphatase (AP). Ecoenzymatic stoichiometry model was used to calculate microbial metabolic limitation and to quantify the carbon, nitrogen and phosphorus limitations of soil microorganisms by calculating the vector length and angle of the carrier. Compared with the pure forest, the average organic carbon and total nitrogen content of each soil layer in the mixed forest increased by 21.14% and 17.26%, respectively, the enzyme activities of BG+CBH and AP decreased by 16.6% and 32.6%, respectively, while the enzyme activities of NAG+LAP increased by 10.3%. Soil nutrients and their metering ratios, pH and soil bulk density affected soil microbial carbon or phosphorus limitation. The soil microbial phosphorus limitation in the pure and mixed forests was mainly attributed to soil organic carbon. The decomposition of soil organic carbon was the key source of soil available phosphorus. The higher soil water content and soil bulk density under the pure forest accelerated the decomposition of SOC, thereby increasing the limitation of soil phosphorus. However, due to the long-term input of more litter, more soil organic carbon was released in the mixed forest, and the effective phosphorus released by its decomposition reduced the phosphorus limitation of soil microorganisms. Therefore, under the condition of mountainous forests, soil bulk density, water content, nutrient ratio and organic carbon will affect soil microbial metabolism, and the reduction of organic carbon content in acidic soils in mountainous forests is the main factor that causes microbes to be limited by available phosphorus.

Key words: forest types; soil organic carbon; ecoenzymatic stoichiometry; microbial metabolism

土壤是森林生态系统的重要组成部分,起着为地上植被提供营养以及协调水、肥、气、热,保障植被生存生长起着重要作用^[1-2]。森林土壤由固、液、气三相构成的复杂物质体系,土壤物理、化学以及生物学特性可以决定森林土壤质量^[3-4]。土壤酶在森林土壤中扮演十分重要的角色,土壤微生物通过细胞外酶降解复杂的有机化合物来获取其自身所需的各种营养^[5-6],因此土壤酶活性成为评价土壤肥力的一个重要指标^[7-8]。但是通过对单种酶的分析测定仅仅能揭示样品之间绝对活性水平的差异,几乎不能为有关微生物群落整体行为或营养状况提供信息。相反,与C、P以及C和N循环相关酶的相对活性可以揭示C、N和P获取相对资源分配的差异^[9]。生态酶化学计量学代表了微生物能够吸取养分的能力,因此可以用作评估生态系统能量流、微生物对养分的需求以及土壤养分供应的重要指标^[10-11]。生态酶化学计量分析已用于确定半干旱地区农田生态系统以及高山和沙漠盆地生态系统中的C、N、P限制^[12-13],但较少采用生态酶化学计量法来研究森林生态系统中微生物的代谢特征。

目前对小陇山林区植被类型的研究多集中在土壤理化性质和土壤肥力方面,而对微生物的代谢特征等生物学性质研究较少。本试验在甘肃省小陇山森林生态系统国家定位观测研究站(以下简称:小陇山生态站)沙坝监测区选取锐齿栎纯林与锐齿栎混交林进行生态酶化学计量分析研究,旨在探讨不同植被类型对土壤理化性质及土壤酶活性的影响,探究土壤中理化性质的改变对微生物代谢限制的影

响,评估各植被类型中微生物生长的C、N、P限制。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验地位于甘肃省小陇山森林生态系统国家定位观测研究站沙坝监测区,地处天水市秦州区娘娘坝镇境内(105°54'E, 34°07'N)。海拔1550~2100 m,平均坡度36°~40°,土壤是以山地棕壤与山地褐土为主。属于大陆性季风气候,为暖温带湿润区,年平均气温7.2℃,最高气温30.3℃,最低气温-22.4℃;年均降水量757 mm;平均相对湿度78%;平均年日照时数1553 h;平均年蒸发量1012.2 mm;≥10℃有效积温2480℃;初霜期10月16日,终霜期5月4日,无霜期154 d。

1.2 试验设计

在小陇山生态站沙坝监测区选择锐齿栎纯林、锐齿栎混交林2种森林类型,设置4块面积为20 m×20 m固定观测样地。

1.3 样品采集和参数计算

2020年8月在样地选取8个样点,清除表层枯枝落叶及表层浮土后,从土壤剖面的0~10、10~20、20~30、30~40、40~60 cm处每层采集3个土壤样品。在每个样地随机采取8个土样,并充分混匀成1个样品。去除根、落叶、杂物和枯枝后,将每个混匀样品分为2部分以备将来分析。一部分通过2.0 mm的筛子,并保存在4℃下,用于在1周内分析细胞外酶的活性。另一部分风干用来分析其理化性质。土壤酶活性采用微孔板荧光法测定与C、N、

P 循环相关的 5 种酶,其中与碳循环相关的酶是 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)与 β -D-纤维二糖水解酶(CBH);与 N 循环相关的酶是 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)与 L-亮氨酸氨基肽酶(LAP);与 P 循环相关的为酸性磷酸酶(AP)。

微生物代谢限制的定量:微生物代谢限制是通过计算所有未转化酶活性数据的矢量长度和角度来量

化。C 限制用矢量长度表示,计算方法为 x^2 和 y^2 之和的开平方,其中 x 表示 $(BG+CBH)/(BG+CBH+AP)$; y 代表 $(BG+CBH)/(BG+CBH+NAG+LAP)$ 。矢量角(α)表示微生物代谢受 N 或 P 限制,即用原点到点(x,y)延长线的反正切函数表示。

$$L_{\text{length}}=\sqrt{x^2+y^2}$$
$$\alpha=\text{degrees}(\text{atan2}(x,y))$$

表 1 样地信息
Table 1 The table of plot information table

林分类型	海拔/m	坡度/(°)	平均林龄/a	主要植被	郁闭度	林下植被盖度/%	凋落物层厚度/cm	腐殖质层厚度/cm
锐齿栎纯林	1 625	38	40	8 锐齿栎+1 阔叶林+1 四照花	0.8	13.5	3.5	4.0
锐齿栎纯林	1 624	40	40	8 锐齿栎+1 阔叶林+1 四照花	0.75	14.0	3.0	3.8
锐齿栎混交林	1 620	35	40	5 锐齿栎+2 山榆+1 阔叶林+1 四照花	0.8	15.5	3.3	5.3
锐齿栎混交林	1 620	32	40	5 锐齿栎+2 山榆+1 阔叶林+1 四照花	0.85	14.3	3.5	5.2

1.4 统计分析

使用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据处理;使用 R v. 3. 6. 1 软件包执行相关性分析,使用 IBM SPSS Statistics 21.0 进行其他统计分析;使用 Amos v. 24 构建结构方程模型(SEM)。

2 结果与分析

2.1 不同植被类型下的土壤理化性质和养分化学计量比

通过对 2 种植被类型不同土层深度土壤养分测定结果分析可以看出,不同植被类型和土层深度对土壤养分含量影响很大($P<0.05$,表 2)。其中有机 C 与全 N 含量随土层深度的增加而降低,而锐齿栎混交林的平均 SOC 和 TN 含量分别比锐齿栎纯林高 21.1%和 17.3%。在 0~20 cm 土层,锐齿栎混交林的 TP 含量比锐齿栎纯林处理高 16.3%,但在 10~40 cm 土层的平均 TP 含量比锐齿栎纯林低 36.9%。各植被类型之间的营养元素化学计量存在显著差异($P<0.05$)。在 0~10 cm 土层,锐齿栎纯林的 C:P(120.8±4.6)与 N:P(12.3±0.9)最高,分别为 120.8 和 4.6。锐齿栎混交林的 C:P 随土层深度的增加而减小;各植被类型的 N:P 随土壤深度增加呈下降的趋势。在锐齿栎混交林下,各土层的 C:P 与 N:P 比率均比锐齿栎纯林高 51.0%与 42.9%。

2.2 不同植被类型下的土壤酶活性和生态酶化学计量比

通过对 2 种植被类型土壤中与 C、N、P 循环相

关酶的活性及其化学计量比进行分析($P<0.05$,表 3),可以看出,2 种植被类型与 C、N、P 循环相关酶活性均随土层深度增加不断降低;锐齿栎纯林的各土层平均 BG+CBH 与 AP 含量较锐齿栎混交林分别提高了 16.6%和 32.6%,最大值分别为 $(1\ 141.6\pm78.1)\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 和 $(1\ 417.7\pm87.7)\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,而锐齿栎混交林各土层的平均 NAG+LAP 含量较锐齿栎纯林提高了 10.3%。锐齿栎纯林与锐齿栎混交林的 $(BG+CBH):(NAG+LAP)$ 随土层深度的增加呈先增加后降低的趋势,在 20~30 cm 土层达到最高,最大值分别为 2.2 和 1.6。锐齿栎纯林与锐齿栎混交林的 $(BG+CBH):AP$ 随土层深度的增加呈下降的趋势,锐齿栎混交林的平均 $(BG+CBH):AP$ 较锐齿栎纯林提高了 14.4%;锐齿栎纯林与锐齿栎混交林的 $(NAG+LAP):AP$ 随土层深度的增加不断下降,最大值分别为 0.6 和 0.8,且锐齿栎混交林的平均各土层 $(NAG+LAP):AP$ 比率显著高于锐齿栎纯林 0.5 倍。

2.3 不同植被类型土壤细胞外酶化学计量学的载体特征

如图 1A 所示,生态酶的化学计量学载体特征在不同植被类型和土层之间有所不同。所有采样数据点均在(1:1)直线上方,从而表明土壤微生物群落受到较强的 P 限制。不同的植被类型和土层对微生物的代谢特性具有强烈的交互作用($P<0.05$,图 1B 和图 1C)。

除 10~20 cm,锐齿栎纯林各土层的矢量长度高于锐齿栎混交林(图 1B),锐齿栎纯林各土层的矢

量长度较锐齿栎混交林提高了 5.4%；且锐齿栎纯林各土层的矢量角度均显著高于锐齿栎混交林 ($P<0.05$,图 1C)。但是,微生物的碳限制(矢量长度)与微生物的磷限制(矢量角度)没有显著的线性关系(图 1D)。线性回归分析还表明,土微生物 C 限制随 pH 的升高而降低($P<0.05$,图 2)。土壤微生物 P 限制随着容重的升高而增加,但随着有机质、全 N、速效 N、速效 P、C:P、N:P、pH 和土壤含水量的升高而降低($P<0.05$,图 3 和图 4)。

SEM 分析确定了土壤物理特性,总有效养分含量和养分比对微生物 C 和 P 限制的直接和间接影响。SEM 分析微生物养分限制与土壤理化特性之

间的关系(长度,卡方=6.380, $P=0.896$;角度,卡方=8.549, $P=0.741$)。pH 与土壤含水量和速效 N 呈负相关,与土壤容重和全 N 呈正相关;土壤容重与有机质、全 N、速效 N 呈负相关;速效 N 与土壤含水量、有机质、全 N 和全 P 呈正相关;而 pH 对微生物 C 限制具有消极的总体影响(图 4)。此外,土壤含水量与全 N、全 P 和速效 N 呈正相关,而与土壤容重呈负相关;土壤容重与有机质和速效 P 呈负相关;全氮与有机质、速效 N 和速效 P 呈正相关。土壤容重和全 P 对微生物 P 限制具有积极的总体影响,而速效 P 和有机质对微生物 P 限制具有消极的总体影响(图 4)。

表 2 不同植被类型下土壤养分和养分比的双向方差分析

Table 2 Two-way ANOVA analysis of soil nutrients and nutrient ratios under different vegetation types

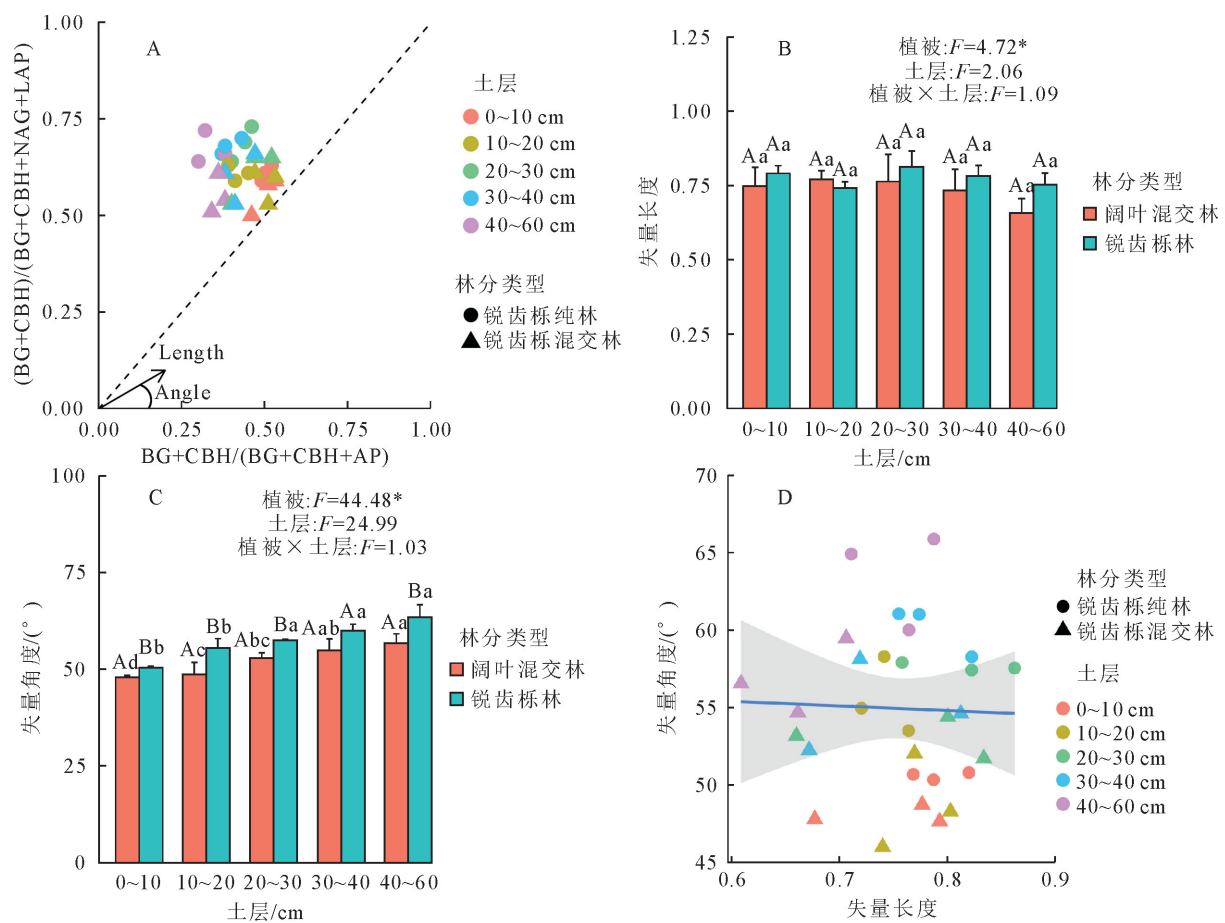
土层/cm	处理	SOC /(g·kg ⁻¹)		TN /(g·kg ⁻¹)		TP /(g·kg ⁻¹)		NO ₃ ⁻ +NH ₄ ⁺ /(mg·kg ⁻¹)		Olsen-P /(mg·kg ⁻¹)		SOC:TN		SOC:TP		TN:TP	
0~10	锐齿栎纯林	51.7±3.3Aa		5.24±0.43Aa		0.43±0.02Ba		32.5±3.4Aa		6.3±1.2Ba		9.9±0.4Aa		120.8±4.6Aa		12.3±0.9Aa	
	锐齿栎混交林	55.9±2.9Aa		5.62±0.40Aa		0.50±0.03Aa		28.2±2.5Aa		10.5±2.2Aa		9.9±0.2Ab		113.1±1.7Aa		11.4±0.1Aa	
10~20	锐齿栎纯林	22.0±1.8Bb		2.17±0.18Bb		0.34±0.01Ac		10.5±1.5Ab		1.8±0.3Bb		10.1±0.4Aa		64.4±5.5Bb		6.4±0.5Bb	
	锐齿栎混交林	34.7±1.5Ab		3.59±0.11Ab		0.31±0.01Bb		16.2±1.5Ab		6.0±1.0Ab		9.7±0.2Ab		112.1±3.6Aa		11.6±0.5Aa	
20~30	锐齿栎纯林	13.4±0.6Ac		1.37±0.09Ac		0.31±0.02Ac		7.9±0.5Acd		0.9±0.1Bbc		9.8±0.6Aa		42.9±1.7Bc		4.4±0.1Bc	
	锐齿栎混交林	15.2±1.0Ac		1.46±0.20Ac		0.17±0.01Bc		7.1±1.1Ac		2.7±0.4Ac		10.5±0.8Ab		92.0±2.9Ab		8.8±0.9Ab	
30~40	锐齿栎纯林	11.2±1.0Bcd		1.12±0.19Ac		0.38±0.02Ab		6.7±1.8Ad		0.8±0.1Bbc		10.1±1.1Aa		29.4±1.6Bd		2.9±0.4Bc	
	锐齿栎混交林	13.8±1.0Ac		1.17±0.08Acd		0.17±0.01Bc		6.2±0.7Ac		2.0±0.2Ac		11.8±0.6Aa		81.5±8.0Ac		6.9±0.3Ac	
40~60	锐齿栎纯林	8.6±0.9Ad		1.05±0.06Ac		0.27±0.01Ad		5.7±1.0Ad		0.6±0.1Bc		8.1±0.7Bb		31.4±2.9Bd		3.9±0.4Bd	
	锐齿栎混交林	9.7±0.9Ad		1.00±0.07Ad		0.27±0.07Ab		5.7±0.7Ac		1.4±0.2Ac		9.7±0.4Ab		37.5±8.2Bd		3.9±0.8Bd	
自由度(Df)		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
处理		51.0	<0.001	22.0	<0.001	40.8	<0.001	0.002	0.96	59.6	<0.001	10.2	0.005	271.4	<0.001	158.3	<0.001
土层		676.1	<0.001	424.8	<0.001	58.7	<0.001	221.5	<0.001	75.5	<0.001	8.7	<0.001	295.6	<0.001	200.5	<0.001
处理×土层		11.3	<0.001	11.1	<0.001	24.2	<0.001	6.6	0.001	5.5	0.04	3.4	0.027	53.8	<0.001	38.2	<0.001

注:值是 3 个重复的平均值(±标准误差)。列中不同的大写字母表示在不同植被类型下存在显著差异($P<0.05$),列中不同的小写字母表示同一植被在不同土层之间存在显著差异($P<0.05$)。下表同。

表 3 不同植被类型下细胞外酶活性的双向方差分析

Table 3 Two-way ANOVA of extracellular enzyme activity under different vegetation types

土层/cm	处理	C-acquiring enzymes		N-acquiring enzymes		P-acquiring enzymes		C/N-enzyme		C/P-enzyme		N/P-enzyme	
0~10	锐齿栎纯林	1441.6±78.1Aa		911.6±45.7Aa		1417.8±87.7Aa		1.58±0.14Ab		1.01±0.06Aa		0.64±0.02Ba	
	锐齿栎混交林	1143.3±241.2Ba		899.8±94.1Aa		1122.9±79.1Ba		1.27±0.23Aa		1.01±0.16Aa		0.80±0.04Aa	
10~20	锐齿栎纯林	771.9±83.6Ab		494.3±90.7Ab		1066.6±95.7Ab		1.58±0.14Ab		0.73±0.10Bb		0.46±0.08Bb	
	锐齿栎混交林	753.3±78.0Ab		547.5±59.4Ab		730.88±92.14Bb		1.39±0.22Aa		1.04±0.13Aa		0.76±0.18Aa	
20~30	锐齿栎纯林	668.1±81.0Abc		301.7±28.5Ab		859.5±41.8Ac		2.24±0.44Aa		0.78±0.09Ab		0.35±0.03Bc	
	锐齿栎混交林	596.7±121.1Abc		374.4±44.6Ac		692.0±27.0Bbc		1.62±0.44Aa		0.87±0.21Aab		0.54±0.06Ab	
30~40	锐齿栎纯林	487.6±59.0Acd		229.6±17.1Acd		757.0±49.2Acd		2.12±0.19Aab		0.65±0.10Abc		0.30±0.02Bcd	
	锐齿栎混交林	421.7±62.4Acd		278.9±46.2Acd		578.7±58.6Bcd		1.55±0.41Aa		0.73±0.14Abc		0.49±0.12Ab	
40~60	锐齿栎纯林	351.2±52.5Ad		169.3±13.6Bd		694.9±51.8Ad		2.11±0.40Aab		0.51±0.10Ac		0.25±0.07Bd	
	锐齿栎混交林	275.9±37.0Ad		222.9±21.0Ad		491.±54.00Bd		1.25±0.27Ba		0.56±0.06Ac		0.46±0.09Ab	
自由度(Df)		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
处理		6.20	0.022	4.79	0.04	91.75	<0.001	20.19	<0.001	5.81	0.026	46.71	<0.001
土层		62.91	<0.001	166.84	<0.001	93.38	<0.001	2.98	0.044	13.34	<0.001	20.8	<0.001
处理×土层		1.34	0.291	0.53	0.72	1.85	0.16	1.09	0.389	1.4	0.269	0.638	0.641



注:不同的大写字母表示在不同的植被类型上存在显著差异($P<0.05$),不同的小写字母表示在土层之间基于双向 ANOVA 和 Tukey 检验的显著差异($P<0.05$)。***, $P<0.001$; *, $P<0.05$ 。

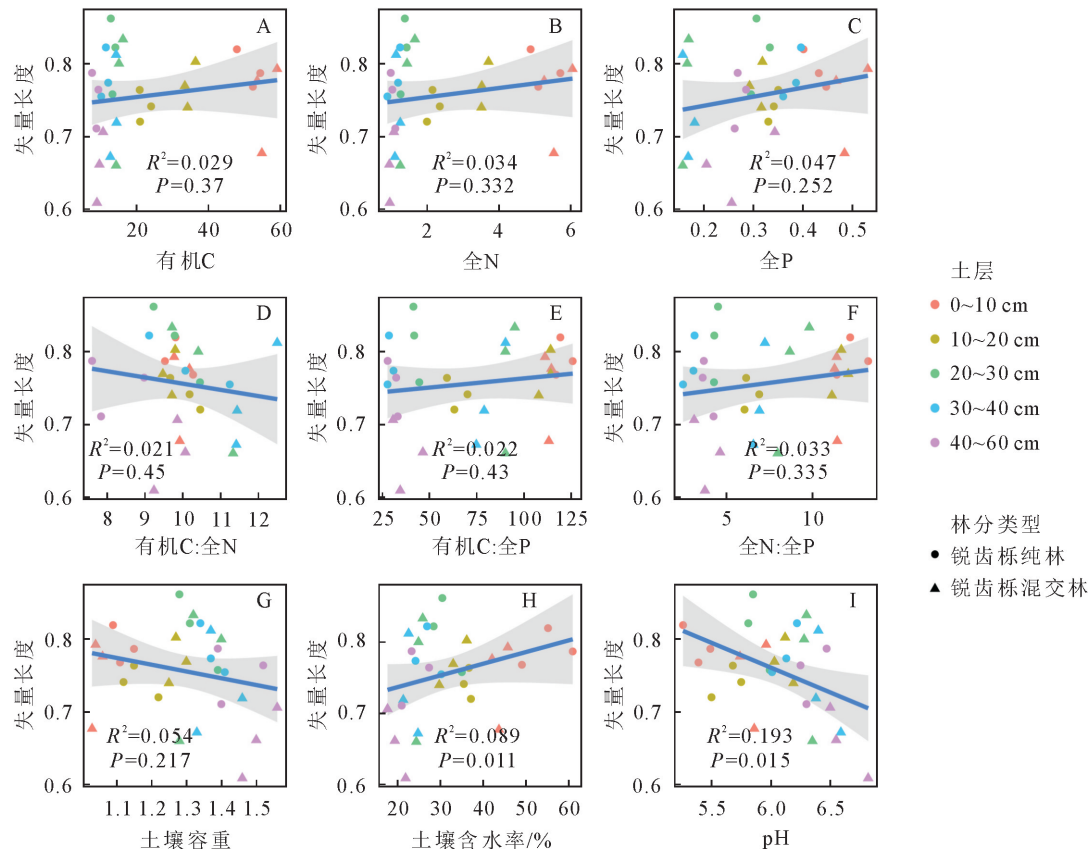
图 1 (A)C/(C+N)与 C/(C+P)相对比例的细胞外酶化学计量、(B)不同植被类型和土层之间矢量长度的差异、(C)不同植被类型和土层之间矢量角的差异、(D)向量长度和角度之间的关系

Fig. 1 (A) Extracellular enzyme stoichiometry of the relative proportions of C to N acquisition versus C to P acquisition. (B) Difference in vector length between different vegetation types and soil layers. (C) Difference in vector angle between different vegetation types and soil layers. (D) Relationships between vector length and angle.

表 4 不同植被类型下土壤理化性质的双向 ANOVA 分析

Table 4 Two-way ANOVA analysis of physicochemical properties under different vegetation types

土层/cm	处理	土壤容重		土壤含水率/%		pH	
0~10	锐齿栎纯林	1.12±0.03	Ac	55.01±5.92	Aa	5.38±0.12	Be
	锐齿栎混交林	1.04±0.02	Bd	43.82±1.84	Ba	5.85±0.11	Ad
10~20	锐齿栎纯林	1.16±0.05	Bc	36.43±0.86	Ab	5.64±0.13	Bd
	锐齿栎混交林	1.27±0.03	Ac	32.96±3.20	Ab	6.11±0.08	Ac
20~30	锐齿栎纯林	1.33±0.06	Ab	31.30±3.37	Abc	5.88±0.09	Bc
	锐齿栎混交林	1.33±0.06	Abc	25.05±0.76	Bc	6.31±0.04	Abc
30~40	锐齿栎纯林	1.37±0.04	Aab	27.11±3.01	Acd	6.12±0.10	Bb
	锐齿栎混交林	1.39±0.07	Ab	22.91±1.74	Acd	6.46±0.12	Aab
40~60	锐齿栎纯林	1.44±0.07	Aa	23.89±3.23	Ad	6.34±0.12	Ba
	锐齿栎混交林	1.51±0.05	Aa	19.64±2.12	Ad	6.62±0.17	Ba
自由度(Df)		F	P	F	P	F	P
处理		1.94	0.18	29.21	<0.001	54.68	<0.001
土层		55.43	<0.001	81.20	<0.001	94.14	<0.001
处理×土层		2.93	0.05	1.68	0.19	0.85	0.51



注:实线表示向量长度和属性的模型拟合,灰色区域是模型的95%置信区间。图3同。

图2 养分含量、养分比和土壤物理特性与向量长度的相关性

Fig. 2 Vector lengths in relation to nutrient contents, nutrient ratios and soil physical properties

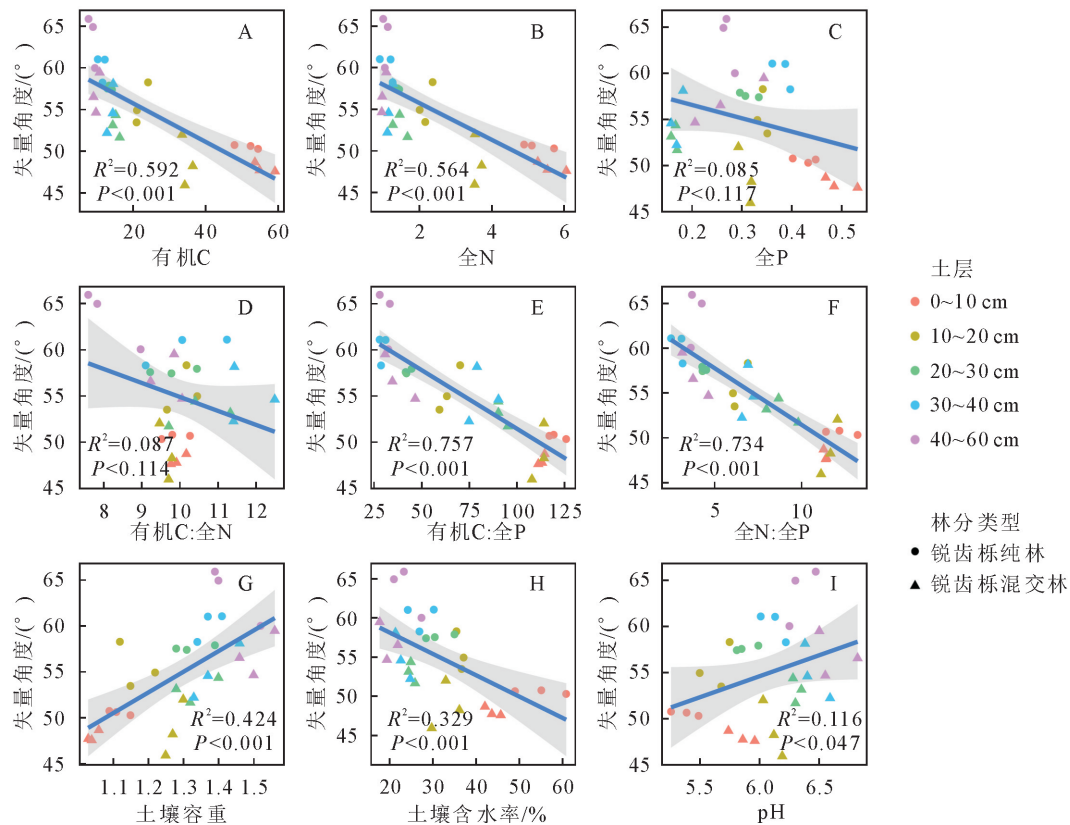
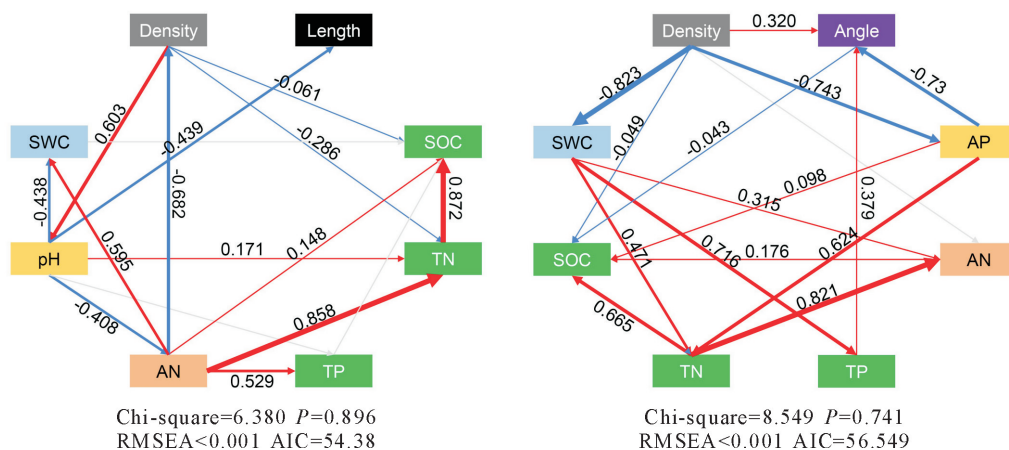


图3 养分含量、养分比和土壤物理特性与向量角度的相关性

Fig. 3 Vector angles in relation to total nutrient contents, nutrient ratios and soil physical properties



注:红色和蓝色箭头分别表示正向和负向关系($P < 0.05$)。箭头上的数字表示有效的标准化路径系数。

图4 微生物代谢限制与土壤理化性质的关系:使用结构方程模型(SEM)识别理化性质控制微生物碳限制(以矢量长度表示),微生物磷限制(以矢量角度表示)的可能途径

Fig. 4 Relationships of microbial nutrient limitation with soil physicochemical properties.

Structural Equation Modeling (SEM) was used to identify the possible pathways by which attributes controlled microbial C limitation (represented by vector length), microbial P limitation (represented by vector angle)

3 结论与讨论

3.1 讨论

3.1.1 不同植被类型对土壤养分的影响 不同植被类型会改变土壤中养分含量,并极大地影响养分的有效性,从而导致微生物代谢受到C和P的相对限制^[15]。锐齿栎混交林输入了更多的凋落物,增加了腐殖质层厚度;与锐齿栎纯林相比,土壤中有机C与全N含量分别提高了8.3%与7.3%,这与王强等^[16]、L. Huo等^[17]的研究结果一致。此外本研究发现,土壤有机质、全N与有效P含量与坡度呈负相关关系,与黄安香等^[18]研究结果相似。李昌兰等^[19]的研究表明,土壤养分N、P、K流失分为地表流失和地下流失,主要的影响因子为坡度,表现为随着坡度的增加流失量增加。有研究表明,受风向、地表径流的影响,坡度越大,土壤N、P、K含量相对越低^[20]。本研究表明锐齿栎纯林39°坡土壤肥力低于锐齿栎混交林33.5°坡(表1与表2)。微生物C限制与SOC、TN和Olsen-P无显著线性关系($P > 0.05$;图2)。微生物P限制与有机C、全N、速效N和速效P呈负相关($P < 0.05$;图3)。因此,有机C、N、P对微生物养分限制的影响不同。本研究还发现,与锐齿栎纯林相比,锐齿栎混交林平均各土层速效N含量之间无显著差异,有效P含量提高了116.6%(表2),而全P下降了17.9%,这是由于有机C分解后增加了土壤中的有效P。研究结果与Ma等^[13]的研究结果相似。C:P和N:P比率与微生物P限制相关($P < 0.05$;图3),从而表明养分化学计量很大程度地影响了微生物对养分的吸收能

力。微生物的养分需求是由微生物生物量的元素化学计量学相对于营养物质的环境利用决定的^[21]。土壤水分是能够影响土壤结构和活性的重要因素^[22],良好的水分条件有利于土壤中有机质和全N的分解,在本研究中,锐齿栎纯林较少的C和N的输入,同时锐齿栎纯林提供了良好的水分条件,造成土壤中有机C含量下降(表2、表4),限制了微生物的生长^[9,14]。

3.1.2 不同植被类型对土壤酶活性的影响 CBH能够促进纤维素的降解,BG能够将纤维二糖水解成葡萄糖^[23]。NAG和LAP是与N循环相关的关键酶。AP能将有机P水解为可利用的无机P,其活性与土壤P供应潜力和P有效性直接相关^[9]。不同植被类型和土层深度都会影响与C、N、P循环相关酶的活性(表3)。研究表明,不同森林植被类型土壤酶活性存在显著差异,且不同土层的土壤酶活性也有一定差异性^[24]。植被在不同土层有着不同的养分需求,不同土层的土壤含水率都会影响土壤酶活性。本研究中,锐齿栎纯林与锐齿栎混交林处理在0~10 cm土壤含水量是0~50 cm土层含水量的2.3倍和2.2倍,良好的水分加速了土壤有机P的矿化,并促进了植被的生长,因此锐齿栎纯林土壤微生物释放出更多的磷酸酶分解养分来满足微生物的代谢(表3、表4)。本研究表明,锐齿栎纯林与锐齿栎混交林的酶活性随土层深度增加不断下降,锐齿栎纯林与锐齿栎混交林0~10 cm土层的BG+CBH与NAG+LAP酶活性是40~60 cm土层的3倍,AP酶活性是40~60 cm土层的2倍,研究结果与宋霄君等^[25]的研究相似。

3.1.3 不同植被类型对微生物体内 C、N 和 P 有效性的影响 本研究中,土壤微生物的代谢受到土壤有效 P 的限制(所有数据点的角度均 $>45^\circ$,图 1A)。同样,在其他研究中确定的微生物 P 限制归因于酸性土壤中 Fe 和 Al 离子的强结合。水溶性 P 在酸性土壤中慢慢转化为稳定的闭蓄态 P,降低了 P 的利用率^[26-27]。

本研究发现,锐齿栎纯林的土壤微生物 P 限制显著高于锐齿栎混交林(图 1C)。锐齿栎纯林的有效 P 含量显著低于锐齿栎混交林(表 2)。此外,锐齿栎纯林的土壤含水量与容重高于锐齿栎混交林(表 4),他们加快了土壤有机 C 的分解,导致了锐齿栎纯林处理更强烈的微生物 P 限制。为了应对土壤中 P 素的不足,与 N 循环相关酶活性相比,微生物产生了更多的与 P 循环相关的酸性磷酸酶^[28]。除土壤含水量和土壤容重外,土壤有机质与全 N 也是影响 P 限制的关键因素(图 3A、图 3C),但是土壤全 P 与矢量角之间没有显著的相关性(图 3C),基于 C:P 和 N:P 值与矢量角之间的负相关关系(图 3e、3f),认为有机 P 的矿化速率受到 C:P 与 N:P 的影响,当 C:P 与 N:P 大时,出现了微生物与植被竞争 P 的现象,发生 P 的生物固定,加重了微生物 P 限制。这与 Ma 等^[13]的研究结果一致。酸性土壤中,锐齿栎混交林适当提高 pH 值有助于促进铁、铝形成氧化物沉淀减少它们对 P 的固定^[28],从一定程度上降低了微生物 P 限制。与锐齿栎纯林相比,锐齿栎混交林下较高的有机 C 导致较高的有效 P 含量和较低酸性磷酸酶活性(表 2、表 3)。

前人研究表明,高 C:(N、P、S)的外加 C 源年输入量不会导致土壤有机 C 含量的增加^[29]。本研究中,凋落物的年输入量显著增加了土壤有机 C 含量,以及有机残渣中释放了更多的有效 P。由于竞争争夺吸附位点和在 Fe、Al、氢氧化物等胶体表面形成保护膜,有机 C 的增加也降低了土壤对 P 的吸附潜力^[30]。然而,锐齿栎纯林显著增加了土壤水分和土壤容重,但降低了土壤 pH($P<0.05$,表 4),从而增强了微生物的活性,加速了有机 C 的分解以及增加了 P 的生物固定^[31-32],因此释放更多的有效 P 用来减缓土壤微生物的 P 限制(直接作用为 -0.73 ,图 4)。经过长年锐齿栎纯林种植后,土壤有机 C 含量比锐齿栎混交林下的土壤有机 C 降低 0.2 倍,从而影响了有效 P 的释放,并且锐齿栎纯林加速了土壤 C 的矿化,这不利于森林土壤 C 的固存。

3.2 结论

本研究结果表明,山地次生林土壤微生物的生长主要受到土壤有效 P 的限制。锐齿栎纯林与锐

齿栎混交林相比,增加了微生物 P 的限制,这主要是由于锐齿栎纯林下土壤水和容重的升高加速了土壤有机 C 的分解,最终增加了土壤微生物受到有效 P 的限制。在锐齿栎混交林模式下,由于较多的有机 C 输入,降低了土壤中 Fe、Al 离子对 P 的吸附,同时凋落物会释放更多的有效 P,因此锐齿栎混交林减缓了微生物 P 限制。

此外,微生物的 P 限制也受到了土壤容重、pH 与化学养分计量比的影响,但有机 C 是土壤微生物 P 限制的关键因素。本研究通过将次生林植被土壤的理化性质与微生物的代谢限制联系在一起,从而加深了对土壤养分循环机理的研究。

参考文献:

- [1] 盛丰. 康奈尔土壤健康评价系统及其应用[J]. 土壤通报, 2014, 45(6): 1289-1296.
SHENG F. Introduction and Application of Cornell Soil Health Assessment[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2014, 45(6): 1289-1296. (in Chinese)
- [2] 杨承栋. 森林土壤学科研究进展与展望[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 881-891.
YANG C D. Advances and prospects of forest soil research[J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(5): 881-891. (in Chinese)
- [3] 黄宇, 汪思龙, 冯宗炜, 等. 不同人工林生态系统林地土壤质量评价[J]. 应用生态学报, 2004, 15(12): 2199-2205.
HUANG Y, WANG S L, FENG Z W, et al. Soil quality assessment of forest stand in different plantation ecosystems. [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(12): 2199-2205. (in Chinese)
- [4] ABID M, LAL R. Tillage and drainage impact on soil quality: II. tensile strength of aggregates, moisture retention and water infiltration[J]. Soil and Tillage Research, 2009, 103(2): 364-372.
- [5] JONES D L, KIELLAND K, SINCLAIR F L, et al. Soil organic nitrogen mineralization across a global latitudinal gradient[J]. Global Biogeochemical Cycles, 2009, 23(1): GB1016-5.
- [6] 胡亚林, 汪思龙, 黄宇, 等. 凋落物化学组成对土壤微生物学性状及土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(10): 2662-2668.
HU Y L, WANG S L, HUANG Y, et al. Effects of litter chemistry on soil biological property and enzymatic activity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(10): 2662-2668. (in Chinese)
- [7] 郑爱泉, 范学科, 杜臻. 秦岭辛家山不同林分土壤酶活性的剖面分布特征[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(1): 80-85, 93.
ZHENG A Q, FAN X K, DU C, et al. Profile distribution characteristics of soil enzymes under different vegetation types in Xinjiashan forest in Qinling Mountains[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(1): 80-85, 93. (in Chinese)
- [8] 翟辉, 张海, 邱梅, 等. 黄土高原退耕地不同类型林分土壤生物学活性的研究[J]. 西北林学院学报, 2016, 31(4): 33-38.
ZHAI H, ZHANG H, QIU M, et al. Soil biological activity of different tree types on slope land converted from farmland in the Loess Plateau[J]. Journal of Northwest Forestry University

- ty, 2016, 31(4):33-38. (in Chinese)
- [9] MOORHEAD D L, RINKES Z L, SINSABAUGH R L, *et al.* Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme based decomposition models[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013(4):1-12.
- [10] CLEVELAND C C, LIPTZIN D. C : N : P stoichiometry in soil: is there a "redfield ratio" for the microbial biomass? [J]. *Biogeochemistry*, 2007, 85(3):235-252.
- [11] SINSABAUGH R L, LAUBER C L, WEINTRAUB M N, *et al.* Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale[J]. *Ecology Letters*, 2008, 11(11):1252-1264.
- [12] CUI Y X, BING H J, FANG L C, *et al.* Extracellular enzyme stoichiometry reveals the carbon and phosphorus limitations of microbial metabolisms in the rhizosphere and bulk soils in alpine ecosystems[J]. *Plant and Soil*, 2019, 458:1-14.
- [13] MA Z Z, ZHANG X C, ZHENG B Y, *et al.* Effects of plastic and straw mulching on soil microbial P limitations in maize fields: dependency on soil organic carbon demonstrated by ecoenzymatic stoichiometry [J]. *Geoderma*, 2021, 388: 114928.
- [14] MOORHEAD D L, SINSABAUGH R L, HILL B H, *et al.* Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 93:1-7.
- [15] CUI Y X, ZHANG Y L, DUAN C J, *et al.* Ecoenzymatic stoichiometry reveals microbial phosphorus limitation decreases the nitrogen cycling potential of soils in semi-arid agricultural ecosystems[J]. *Soil and Tillage Research*, 2020, 197: 104463.
- [16] 王强, 韩欢, 耿增超, 等. 秦岭辛家山典型植被类型土壤活性有机碳分布特征[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(2):35-42.
- WANG Q, HAN H, GENG Z C, *et al.* Distribution characteristics of active soil organic carbon under typical vegetation types in Xinjiashan Forest in Qinling Mountains[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 2018, 33(2):35-42. (in Chinese)
- [17] HUO L, PANG H C, ZHAO Y G, *et al.* Buried straw layer plus plastic mulching improves soil organic carbon fractions in an arid saline soil from Northwest China[J]. *Soil Tillage. Research*, 2017, 165:286-293.
- [18] 黄安香, 周显勇, 杨守禄, 等. 坡度对油茶林土壤氮磷钾含量与剖面分布特征的影响[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(34):25-31.
- HUANG A X, ZHOU X Y, YANG S L, *et al.* Camellia oleifera forest land: NPK content and distribution characteristics in soil profile under different slopes[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(34):25-31. (in Chinese)
- [19] 李昌兰. 喀斯特典型坡耕地土壤养分流失试验研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2016.
- [20] 曹艳, 刘峰, 包蕊. 西南丘陵山区坡耕地植物篱水土保持效益研究进展[J]. *水土保持学报*, 2017, 31(4):57-63.
- CAO Y, LIU F, BAO R, *et al.* Soil and water conservation benefits of hedgerows in sloping cropland in hilly region of Southwest China: a review[J]. *Journal of Soil & Water Conservation*, 2017, 31(4):57-63. (in Chinese)
- [21] SINSABAUGH R L, HILL B H, SHAH J J F. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2009, 462:795-798.
- [22] ZHOU X Q, CHEN C R, WANG Y F, *et al.* Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 444:552-558.
- [23] SINSABAUGH R L. Fungal enzymes at the community scale [J]. *Mycology Series*, 2004, 23:349-360.
- [24] 邱莉萍, 刘军, 王益权, 等. 土壤酶活性与土壤肥力的关系研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(3):277-280.
- QIU L P, LIU J, WANG Y Q, *et al.* Research on relationship between soil enzyme activities and soil fertility[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2004, 10(3):277-280. (in Chinese)
- [25] 宋霄君, 吴会军, 武雪萍, 等. 长期保护性耕作可提高表层土壤碳氮含量和根际土壤酶活性[J]. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24(6):1588-1597.
- SONG X J, WU H J, WU X P, *et al.* Long-term conservation tillage improves surface soil carbon and nitrogen content and rhizosphere soil enzyme activities[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2018, 24(6):1588-1597. (in Chinese)
- [26] ZHANG W, XU Y D, GAO D X, *et al.* Ecoenzymatic stoichiometry and nutrient dynamics along a revegetation chronosequence in the soils of abandoned land and *Robinia pseudoacacia* plantation on the Loess Plateau, China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 134:1-14.
- [27] WANG Y P, LI X G, FU T T, *et al.* Multi-site assessment of the effects of plastic-film mulch on the soil organic carbon balance in semiarid areas of China[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2016, 228:42-51.
- [28] 朱玉祥, 马良, 朱黎明, 等. 氧化还原条件下有机物料对酸性土壤 pH、铁形态和铜吸附解吸的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2011(5):65-68.
- ZHU Y X, MA L, ZHU L M, *et al.* Effect of organic material incorporation on pH, iron species and adsorption and desorption of copper in acid soils under redox condition[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2011(5):65-68. (in Chinese)
- [29] KIRKBY C A, KIRKEGAARD J A, RICHARDSON A E, *et al.* Stable soil organic matter: a comparison of C : N : P : S ratios in Australian and other world soils [J]. *Geoderma*, 2011, 163:197-208.
- [30] POBLETE-GRANT P, SUAZO-HERNÁNDEZ LEO, CONDORON L, RUMPEL C, *et al.* Soil available P, soil organic carbon and aggregation as affected by long-term poultry manure application to andisols under pastures in Southern China[J]. *Geoderma Reg.*, 2020, 21:e00271.
- [31] HIRADATE SYUNTARO, UCHIDA, NATSUYO. Effects of soil organic matter on pH-dependent phosphate sorption by soils[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2004, 50:665-675.
- [32] MA D D, CHEN L, QU H C, *et al.* Impacts of plastic film mulching on crop yields, soil water, nitrate, and organic carbon in Northwestern China: a meta-analysis[J]. *Agricultural Water Management*, 2018, 202:166-173.