

接种菌根真菌和氮添加处理对樟子松苗木根际微生态环境的影响

郝龙飞, 小红, 邵东华*, 刘婷岩, 许吉康, 张之月, 于凡舒

(内蒙古农业大学 林学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要:通过研究接种菌根真菌和 N 添加处理对植物根际土壤胞外酶及其计量特征,以及微生物养分限制的影响,从而探讨全球 N 沉降背景下菌根真菌对根际微生态环境的调控机制。以 1 年生樟子松的盆栽菌根苗(简称+M,混合接菌处理)和非菌根苗(简称-M,未接菌处理)为对象,设置 4 个 N 添加处理:不施 N(0N,0 kg·hm⁻²·a⁻¹)、低氮(LN,15 kg·hm⁻²·a⁻¹)、中氮(MN,30 kg·hm⁻²·a⁻¹)、高氮(HN,60 kg·hm⁻²·a⁻¹)。对比分析接菌和 N 添加处理对樟子松苗木根际土壤速效养分和胞外酶活性及其计量特征的影响,探究菌根真菌对微生物养分限制调控规律。结果表明:1)不同接菌处理下,随 N 添加量增加,土壤中碱解 N 均呈增加的趋势。HN 处理下,菌根苗根际土壤有效磷达到最大。2)LN、MN 处理下,菌根苗根际土 LAP、NAG 和 ALP 酶活性均显著高于非菌根苗。3)MN、HN 处理下,菌根苗根际土壤中微生物碳限制和磷限制较非菌根苗均显著降低。4)通过 PLS-PM 路径模型分析发现,接菌处理正效应作用于根际土壤微生物养分限制。综上,N 添加改变了根际土壤 N 平衡,菌根真菌有效调控 N 添加下根际微生态环境的稳定性,降低苗木根际微生物的碳和磷限制。

关键词:樟子松;菌根真菌;氮添加;根际微生态环境;微生物养分限制

中图分类号:S791.253 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2022)05-0135-06

Responses of the Rhizosphere Soil Microecological Environment of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* to Inoculation and Nitrogen Addition Treatments

HAO Long-fei, XIAO Hong, SHAO Dong-hua*, LIU Ting-yan, XU Ji-kang, ZHANG Zhi-yue, YU Fan-shu

(College of forestry, Inner Mongolia Agriculture University, Hohhot 010019, Inner Mongolia, China)

Abstract: In order to explore the regulation mechanisms of mycorrhizal fungi for rhizosphere microecological environment under the background of global N deposition, the response of plant rhizosphere soil exoenzymes and its stoichiometry characteristics and microbial nutrient limitation to mycorrhizal fungus inoculation and nitrogen (N) addition were studied. The 1-year-old *Pinus sylvestris* var. *mongolica* mycorrhizal (+M, mixed inoculated with 8 ectomycorrhizal fungi) and non-mycorrhizal seedlings (-M, no inoculation) in pots were used as research objects. Four N addition treatments were set, including no N (0 N, 0), low N (LN, 30), medium N (MN, 60), high N (HN, 90 kg·hm⁻²·year⁻¹). The available nutrients and ecoenzyme activities and its ecoenzymatic stoichiometry of *P. sylvestris* var. *mongolica* rhizosphere soils were analyzed under inoculation and N addition treatments to explore the regulation rule of mycorrhizal fungi to microbial nutrient limitation. 1) The soil available N increased with the increase of N addition un-

收稿日期:2021-08-27 修回日期:2021-10-09

基金项目:内蒙古自治区科技计划项目(2020GG0075, 2020GG0029);内蒙古农业大学大学生科技创新基金项目(KJCX2020009);内蒙古自治区林业厅科技支撑项目(201304);内蒙古农业大学林学院青年教师科研基金项目(DC2000001007)。

第一作者:郝龙飞,博士,讲师。研究方向:菌根生物技术。E-mail:haolongfei_00@126.com

*通信作者:邵东华,博士,副教授。研究方向:菌根生物技术。E-mail:13848511685@163.com

der different inoculation treatments. The soil available phosphorus (P) of mycorrhizal seedlings was the maximum under HN treatment. 2) The activities of LAP, NAG and ALP in the rhizospheres of mycorrhizal seedlings were significantly higher than those of non-mycorrhizal seedlings under LN and MN treatments, respectively. 3) The microbial carbon (C) and P limitation of mycorrhizal seedlings were significantly lower than those of non-mycorrhizal seedlings under MN and HN treatments, respectively. 4) The partial least squares path modelling (PLS-PM) indicated that inoculation treatment had a positive effect on microbial nutrient limitation in the rhizosphere soil. Thus, N addition changed the N balance of the rhizosphere soil, and the mycorrhizal fungi regulated the stability of rhizosphere microecological environment under nitrogen addition effectively, and reduced the microbial C and P limitation rhizosphere in the rhizospheres of seedlings.

Key words: *Pinus sylvestris* var. *mongolica*; mycorrhiza fungus; nitrogen addition; rhizosphere microecological environment; microbial nutrient limitation

土壤酶是生态系统中不可缺少的一类蛋白质化合物的总称,主要来自微生物和根系分泌以及植物残体分解等^[1]。土壤水解酶在土壤碳(C)、氮(N)、磷(P)养分循环过程中被广泛研究,其中 β -1,4 葡萄糖苷酶(BG)、 β -1,4-N-乙酰-氨基葡萄糖氨糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨肽酶(LAP)、磷酸酶(AP)在土壤C、N、P转化和迁移过程中发挥着重要作用^[2-3]。土壤酶对外界环境变化过程较为敏感,进而反映土壤微生物的活性^[4]。全球变化是导致环境变化的主要因素之一,其中N沉降增加导致陆地生态系统发生了一系列变化,如土壤酸化和微生物群落结构改变,导致土壤酶活性发生相应变化,从而影响生态系统的养分循环^[5]。研究表明,土壤酶化学计量比可反映微生物群落的新陈代谢及养分需求与环境中养分有效性之间的生物地球化学平衡,并用来评价微生物C、N、P养分资源需求^[6]。马伟伟等^[7]对高山林地土壤酶活性的研究发现,高N质量分数抑制BG酶、NAG酶和AP酶活性。宰学明等^[8]通过对菌根化滨梅(*Prunus maritima*)苗的研究发现,菌根能增加根际土壤酶的活性,导致土壤有效养分生态化学计量比发生改变^[9]。总结以往研究发现,关于根际土壤酶及其化学计量比对N添加和菌根效应多为单一因素的响应研究,二者交互作用的相关研究较为缺乏。

本研究以菌根依赖型树种樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)苗木为材料,通过对比分析N添加对菌根苗和非菌根苗土壤胞外酶活性及其计量比、土壤理化性质以及微生物养分限制的影响。拟揭示菌根苗与非菌根苗根际土壤胞外酶活性和化学计量特征对不同N添加水平的响应差异,不同N添加水平下,菌根菌如何调控苗木根际土壤微生物养分限制,以期为全球气候变化背景下探究生态系统稳定性提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2019年2月,将樟子松种子用2%的KMnO₄溶液消毒30 min,然后用无菌水冲洗干净;在25℃恒温光照培养箱中催芽,待种子萌发后播入装有高温高压灭菌基质(蛭石与土体积比为1:2)的花盆中(D=15 cm),并放入人工气候室培育(温度25℃,最大湿度60%,最大光照强度10 000 Lx)培养2月后待用。

1.2 试验设计

1.2.1 菌剂制备 选用樟子松优势菌根真菌:褐环粘盖牛肝菌(*Suillus luteus*)、厚环粘盖牛肝菌(*Suillus grevillei*)、黄褐口蘑(*Tricholoma fulvum*)、浅灰小牛肝菌(*Boletinus grisellus*)、粘盖牛肝菌(*Suillus bovinus*)、球根白丝膜菌(*Leucocortinarius bulbiger*)、浅黄根须腹菌(*Rhizopogon luteolus*)和彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)。上述8种菌剂均采用MMN培养液与蛭石配置成固体培养基,高温高压灭菌1 h,待冷却后分别接种外生菌根真菌,置于25℃培养箱内进行暗培养扩繁,25 d长满菌袋后备用。

1.2.2 接菌处理 2019年4月,设置2种接菌处理,分别为混合接菌处理(以下简称+M)和未接菌处理(以下简称-M)。接菌方法为:在育苗盆底部放入适量灭菌基质,然后取上述培养好的8种菌根真菌菌剂质量混匀后,平铺于灭菌基质上,同时选取培养2个月的长势良好的苗木栽入育苗盆中,尽量使苗木根系与菌剂充分接触,每盆接菌量20.0 g,每盆栽植5株幼苗,每盆质量控制1.0 kg;对照处理加入经灭菌的20.0 g固体混合菌剂,同样方法栽植苗木,浇透水,将不同处理的育苗盆随机排布,置于内蒙古农业大学实验苗圃(111°43'15.88"E,40°48'

49.48"N)温室大棚内培养。

1.2.3 模拟氮添加处理 2019年6月,测定+M处理苗木菌根侵染率达到了23.9%(—M处理苗木菌根侵染率为0%),开始模拟N添加试验。根据试验区N沉降背景值为 $34.3 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ [10],设置4个N梯度处理:不施氮(0N, $0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、低氮(LN, $15 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、中氮(MN, $30 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、高氮(HN, $60 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)。用自来水溶解的 KNO_3 和 NH_4Cl ($\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 为1:1)作为N添加溶液,隔10d定量施入不同浓度的N溶液 $100 \text{ mL} \cdot \text{盆}^{-1}$,施N操作分10次施入。接菌处理包括混合接菌和未接菌,N添加包括4个N梯度,共计8种处理组合,每个处理组合设置75株苗木重复,共培育600株苗木。采用喷洒方法将N施入育苗盆中,模拟降雨方式将N带入土壤中,同时施入也更为均匀。

1.3 土壤速效养分和胞外酶活性测定

2019年9月,N添加试验结束,间隔15d后,测定N添加和接种处理下苗木单株生物量为0.21g。各处理中分别取75株苗木的根际土壤,25株苗木的根际土混合1个土壤样品,每个处理3次重复。

土壤碱解N采用碱解扩散法;土壤有效P测定采用浸提-钼锑抗比色法;土壤速效K含量用火焰光度法测定[11]。土壤胞外酶活性的测定包括土壤C相关酶[β -1,4葡萄糖苷酶(BG)]、土壤N相关酶[亮氨酸氨基肽酶和 β -1(LAP)和4-N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶(NAG)]、土壤P相关酶[碱性磷酸酶(ALP)],具体测定参考R. L. Sinsabaugh *et al* [12]的方法,以对硝基苯酚的浓度表征土壤胞外酶活性[13]。

酶化学计量特征计算公式:

$$C : N_{\text{EEA}} = \ln B_G / \ln (L_{\text{AP}} + N_{\text{AG}}) \quad (1)$$

$$C : P_{\text{EEA}} = \ln B_G / \ln (A_{\text{LP}}) \quad (2)$$

$$N : P_{\text{EEA}} = \ln (L_{\text{AP}} + N_{\text{AG}}) / \ln (A_{\text{LP}}) \quad (3)$$

$$V_{\text{ector L}} = S_{\text{QRT}} ((C : N_{\text{EEA}})^2 + (C : P_{\text{EEA}})^2) \quad (4)$$

$$V_{\text{ector A}} = D_{\text{EGREES}} (A_{\text{TAN2}} (C : P_{\text{EEA}}, C : N_{\text{EEA}})) \quad (5)$$

式中: $C : N_{\text{EEA}}$ 、 $C : P_{\text{EEA}}$ 、 $N : P_{\text{EEA}}$ 分别表示土壤酶化学计量C、N比; $C : P$ 比; $N : P$ 比。相对较长的向量长度($V_{\text{ector L}}$)表示更大微生物相对C限制;向量的角度($V_{\text{ector A}} < 45^\circ$)表示微生物相对N限制的程度;向量的角度 $> 45^\circ$ 表示微生物相对P限制的程度[14]。

1.4 数据处理

利用SPSS 23.0 (SPSS for windows, chicago, USA)对接菌和N添加处理进行双因素交互作用分

析,并用LSD多重比较法检验各处理间苗木根际土壤理化指标、胞外酶活性及其生态化学计量特征的差异性。采用R语言4.0.2 (R development core team 2021)进行偏最小二乘路径模型(PLS-PM)路径分析,采用Sigmaplot 10.0 (systat software inc., san jose, USA)做图。

2 结果与分析

2.1 接菌和N添加处理对樟子松苗木根际土壤速效养分的影响

接菌和N添加处理的交互作用显著影响樟子松根际土壤中有效P和速效K。不同接菌处理下,随N添加量增加根际土壤中碱解N均呈增加的趋势,菌根苗木根际土壤有效P和速效K分别在HN和LN处理下达到最大(表1)。2种接菌处理下,LN、MN、HN处理间碱解N无显著差异,但均显著高于0N处理。—M处理下,N添加处理间根际土有效P无显著差异;而+M处理下,HN处理的有效P较0N、LN、MN处理分别显著增加了44.7%、61.8%、57.1%。—M处理下,LN处理的根际土速效K较HN处理降低了12.8% ($P < 0.05$);而+M处理下,LN处理的速效K较HN处理增加了11.0% ($P < 0.05$) (表1)。

表1 接菌和N添加处理对樟子松根际土壤速效养分的影响

Table 1 The available nutrient in rhizosphere soil of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seedlings under inoculation and nitrogen addition treatments $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

处理	碱解 N(AN)	有效 P(AP)	速效 K(AK)
—M	0N	$3.10 \pm 0.45 \text{ b}$	$121.46 \pm 4.09 \text{ de}$
	LN	$4.87 \pm 0.18 \text{ a}$	$112.29 \pm 4.15 \text{ e}$
	MN	$5.23 \pm 0.18 \text{ a}$	$99.66 \pm 3.32 \text{ f}$
	HN	$5.77 \pm 0.18 \text{ a}$	$128.70 \pm 0.30 \text{ cd}$
+M	0N	$3.46 \pm 0.24 \text{ b}$	$134.73 \pm 5.91 \text{ bc}$
	LN	$4.87 \pm 0.18 \text{ a}$	$147.37 \pm 0.50 \text{ a}$
	MN	$5.41 \pm 0.47 \text{ a}$	$144.66 \pm 2.98 \text{ ab}$
	HN	$5.85 \pm 0.31 \text{ a}$	$132.78 \pm 2.50 \text{ c}$

注:同列不同字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

2.2 接菌和N添加对樟子松苗木根际土壤胞外酶活性的影响

接菌和N添加处理的交互作用显著影响LAP、NAG、ALP酶活性。—M处理下,随着N质量分数增加土壤中LAP酶活性呈下降的趋势,而NAG和ALP酶活性均呈增加的趋势;+M处理下,随着N质量分数的增加土壤中LAP、NAG、ALP酶活性均呈先增加后下降的趋势(表2)。LN、MN、HN处理下,+M处理的BG酶活性均显著低于—M处理。LN、MN处理下,+M处理的LAP、NAG和ALP活性均显著高于—M处理。HN处理下,+M处理

的 LAP 酶活性较 -M 处理增加了 60.8% ($P < 0.05$), 而 +M 处理的 NAG 和 ALP 酶活性较 -M

处理分别降低了 18.6% ($P < 0.05$) 和 30.3% ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 接菌和氮添加处理对樟子松根际土壤胞外酶活性的影响

Table 2 The enzyme activity in rhizosphere soil of *P. sylvestris* var. *mongolica* seedlings under inoculation and nitrogen addition treatments
nmol · g⁻¹ · h⁻¹

处理		β -1,4 葡萄糖苷酶 (BG)	亮氨酸氨基肽酶 (LAP)	β -1,4-N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶 (NAG)	碱性磷酸酶 (ALP)
-M	0N	7.99±0.61 bc	16.02±0.62 a	0.63±0.08 e	21.21±1.32 c
	LN	9.70±0.56 a	11.24±1.53 bc	0.73±0.05 e	38.10±1.68 b
	MN	8.25±0.11 ab	10.35±0.79 cd	0.89±0.01 de	39.37±1.90 b
	HN	7.17±0.62 bc	7.65±0.99 d	2.16±0.22 b	53.63±1.71 a
+M	0N	6.91±0.54 bcd	10.83±0.94 bcd	1.36±0.06 cd	28.19±1.98 c
	LN	6.49±0.35 cd	14.09±0.62 ab	2.73±0.11 a	53.89±5.20 a
	MN	5.33±0.61 de	16.28±1.67 a	1.82±0.29 bc	50.33±4.21 a
	HN	4.66±0.52 e	12.30±0.58 bc	1.76±0.21 bc	37.39±1.62 b

2.3 接菌和 N 添加对樟子松苗木根际土壤酶化学计量特征的影响

接菌和 N 添加处理的交互作用显著影响根际土壤酶化学计量特征。-M 处理下,随 N 质量分数增加,根际土壤中 $C : N_{EEA}$ 、 $V_{ector A}$ 呈增加的趋势, $C : P_{EEA}$ 和 $N : P_{EEA}$ 呈下降的趋势, $V_{ector L}$ 呈先增加后下降的趋势(表 3)。+M 处理下,随 N 质量浓度增加, $C : N_{EEA}$ 、 $C : P_{EEA}$ 、 $V_{ector L}$ 呈下降的趋势, 而 $N : P_{EEA}$ 和 $V_{ector A}$ 无显著差异。0N 处理下, +M 处理的 $C : P_{EEA}$ 和 $N : P_{EEA}$ 较 -M 处理分别降

低了 14.7% ($P < 0.05$) 和 18.5% ($P < 0.05$), 而 +M 处理的 $V_{ector A}$ 较 -M 处理增加了 12.4% ($P < 0.05$)。LN、MN、HN 处理下, +M 处理的 $V_{ector L}$ 较 -M 处理分别降低了 27.0% ($P < 0.05$)、32.4% ($P < 0.05$) 和 28.3% ($P < 0.05$)。MN、HN 处理下, +M 处理的 $V_{ector A}$ 较 -M 处理分别降低了 5.5% ($P < 0.05$) 和 10.6% ($P < 0.05$)。-M 处理下, 0N、LN、MN 根际土壤 $C : N : P_{EEA}$ 均为 1 : 1 : 1, HN 转变为 1 : 1 : 2, 而 +M 处理下, 0N 为 1 : 1 : 1, LN、MN、HN 转变为 1 : 1 : 2(表 3)。

表 3 接菌和氮添加处理对樟子松根际土壤酶化学计量特征的影响

Table 3 Soil enzyme stoichiometry characteristics in rhizosphere soil of *P. sylvestris* var. *mongolica* seedlings under inoculation and nitrogen addition treatments

处理		$C : N_{EEA}$	$C : P_{EEA}$	$N : P_{EEA}$	$V_{ector L}$	$V_{ector A}$	$C : N : P_{EEA}$
-M	0N	0.74±0.02 b	0.68±0.01 a	0.92±0.01 a	1.00±0.02 bc	47.33±0.24 e	1 : 1 : 1
	LN	0.92±0.02 a	0.62±0.01 b	0.68±0.03 cd	1.11±0.01 a	55.89±1.07 bc	1 : 1 : 1
	MN	0.87±0.02 a	0.58±0.00 b	0.66±0.02 d	1.05±0.02 ab	56.68±0.54 b	1 : 1 : 1
	HN	0.86±0.01 a	0.49±0.02 c	0.57±0.02 e	0.99±0.02 bc	60.24±0.70 a	1 : 1 : 2
+M	0N	0.77±0.01 b	0.58±0.01 b	0.75±0.01 b	0.96±0.01 c	53.20±0.24 d	1 : 1 : 1
	LN	0.66±0.02 c	0.47±0.01 cd	0.71±0.02 bc	0.81±0.01 d	54.63±0.60 cd	1 : 1 : 2
	MN	0.57±0.02 d	0.42±0.02 d	0.74±0.00 b	0.71±0.03 e	53.56±0.19 d	1 : 1 : 2
	HN	0.58±0.04 d	0.42±0.03 d	0.73±0.01 b	0.71±0.05 e	53.87±0.20 d	1 : 1 : 2

2.4 微生物养分限制与土壤速效养分和胞外酶活性的关系

通过 PLS-PM 路径分析 N 添加处理、接菌处理、土壤速效养分和胞外酶活性对微生物养分限制影响的拟合度为 0.67(图 1A)。接菌处理(0.47)和 N 处理(0.44)对微生物养分限制的直接影响均为正效应。接菌处理通过影响土壤速效养分和胞外酶活性,最终通过胞外酶活性正效应作用于微生物养分限制。N 添加处理通过影响土壤速效养分作用于土壤胞外酶活性,间接影响微生物养分限制。影响微生物养分限制的因子总效应分析发现,接菌处理调

控微生物养分限制的最重要的路径,效应系数顺序为接菌处理>N 添加处理>土壤速效养分>土壤胞外酶活性(图 1B)。

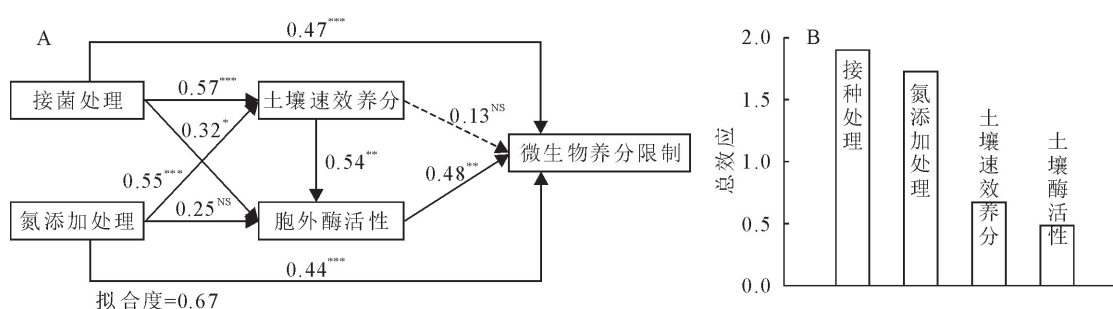
3 结论与讨论

3.1 接菌处理调控樟子松根际土壤微生态环境对 N 添加的响应

菌根共生体作为植物和土壤之间物质循环的纽带^[15],对调控根际微生态环境的稳定性具有重要的作用^[16]。不同接菌处理下,随 N 添加增加樟子松根际土壤碱解 N 呈增加的趋势,表明外源 N 输入已改

变根际土壤的 N 平衡。研究也发现接种菌根真菌提高了高 N 环境中根际土壤有效 P 和速效 K 含量,原因可能是接种菌根真菌与植物形成共生体,且菌丝网络扩大了植物养分吸收范围,进而增强了植物根际微生物对高 N 添加的忍受能力^[17]。土壤微生物与植物根系通过分泌根际土壤酶影响根际微生态环境中矿质元素的转化和分解^[18-19]。研究发现,随着 N 质量分数的增加非菌根苗根际土壤中与 N 相关的酶活性呈下降的趋势,与 P 相关的酶呈上升的趋势,原因为外源进入土壤中减少土壤 N 相关水解酶的合成,N 添加提高了植物对土壤 P 的吸收,导

致土壤 P 相关水解酶增加。然而,N 添加导致菌根苗木根际土壤胞外酶活性均呈先增加后下降的趋势,表明菌根真菌改变根际土壤酶的原有的响应规律,原因可能为不同微生物生态策略存在差异,研究表明菌根真菌符合 K 生长策略,相较于细菌 r 生长策略,使生态系统相对稳定^[20],因此接种菌根真菌提高了生态系统的稳定性。研究发现,一定范围的 N 添加,+M 处理的 LAP、NAG 和 ALP 活性均显著高于-M 处理(表 2),表明 N 添加对苗木菌根的影响存在阈值,因为大量 N 输入一定程度上破坏菌根共生关系^[13]。



注:PLS-PM 分析接种菌根菌和 N 添加处理下生态化学计量特征对微生物养分限制影响的主要路径(图 A 和 B)。实线和虚线箭头表示正向和负向效应关系。箭头上的数字表示路径系数(*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$, ***表示 $P < 0.001$, NS 表示不显著)。

图 1 偏最小二乘路径模型(PLS-PM)微生物养分限制路径图和总效应分析

Fig. 1 Partial least squares path modelling (PLS-PM) and total standardized effects of microbial nutrient limitation

3.2 菌根菌和 N 添加处理对根际土壤微生物养分限制的影响

土壤生态酶化学计量学反映了微生物对 C、N 和 P 的养分需求,在全球尺度和中国南北样带上,C、N 和 P 获取酶的对数比趋近于 1:1:1,表明土壤微生物营养元素的化学计量稳态^[21-22]。研究发现,0N、LN、MN 处理下非菌根苗根际土壤中 C:N:P_{EEA} 均为 1,表明微生物在低 N 输入的背景下,微生物营养元素获取酶之间趋于稳态,而 HN 添加打破了微生物养分平衡,以上结果也证明了根际微生态环境对 N 添加存在阈值范围。研究也发现随 N 质量分数增加,非菌根苗根际土壤微生物 P 限制增加。原因为非菌根苗随外源 N 输入,增加植物对土壤中 P 获取,导致土壤中微生物 P 限制增强^[23]。研究发现,LN、MN、HN 处理下菌根苗土壤微生物的养分获取酶生态计量关系同样被破坏,然而菌根苗根际土微生物 P 限制并无显著差异,一方面原因为菌根真菌改善了微生态环境^[24],维持根际微生态环境的自稳态^[25],另一方面原因为菌根真菌可以直接或间接影响微生物群落结构组成^[26],其中土壤中磷酸盐溶解细菌提高了磷酸盐的溶解度^[27],进而导致菌根苗根际土壤微生物 P 限制未发生明显改变。

研究也发现,随 N 质量分数增加,非菌根苗根际土壤微生物 C 限制呈先增加后下降的趋势,而菌根苗呈下降的趋势。以上结果的原因可能是一定范围的 N 添加减少细根数量,同时增加根系寿命^[28],导致土壤中 C 释放减少,根际微生物间 C 竞争增强,而高 N 输入破坏原有生态平衡^[29],导致根际土壤微生物 C 限制降低。同时接种处理促进植物生长,增强微生态环境对 N 添加的适应能力^[30],因此,高 N 添加下接种处理中土壤微生物 C 限制降低。通过路径分析也发现,接种处理对微生物养分限制为正效应。因此,本研究发现菌根真菌有效调控了氮添加下根际微生态环境的稳定性,降低苗木根际微生物的 C 和 P 限制。

参考文献:

- [1] 蒋萍萍,刘杰,游少鸿,等. 原位酶谱技术在土壤酶学中的应用的研究进展与展望[J]. 土壤通报,2021,52(2):454-461.
JIANG P P, LIU J, YOU S H, et al. Application prospect and future perspective of *in-situ* zymography of soil enzymes[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2021, 52(2): 454-461. (in Chinese)
- [2] 李邵宇,孙建,王毅,等. 青藏高原不同退化梯度草地土壤酶活性特征[J]. 草业科学,2020,37(12):2389-2402.
LI S Y, SUN J, WANG Y, et al. Characteristics of soil enzyme

- activities in different degraded gradient grasslands on the Tibetan Plateau[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(12): 2389-2402. (in Chinese)
- [3] 孙思怡, 卢胜旭, 陆宇明, 等. 杉木林下套种阔叶树对土壤生态酶活性及其化学计量比的影响[J]. *林业科学研究*, 2021, 34(1): 106-113.
- SUN S Y, LU S X, LU Y M, *et al.* Effects of Chinese fir interplanted with broadleaved trees on soil ecological enzyme activity and stoichiometry[J]. *Forest Research*, 2021, 34(1): 106-113. (in Chinese)
- [4] 栾历历, 刘恩媛, 顾新, 等. 凋落物处理和氮添加对松栎混交林土壤生态酶化学计量的影响[J]. *生态学报*, 2020, 40(24): 9220-9233.
- LUAN L L, LIU E Y, GU X, *et al.* Effects of litter manipulation and nitrogen addition on soil ecoenzymatic stoichiometry in a mixed pine and oak forest[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(24): 9220-9233. (in Chinese)
- [5] 胡家欣, 彭思利, 张栋, 等. 氮添加对不同林龄杨树人工林丛枝菌根真菌群落的影响[J]. *生态环境学报*, 2020, 29(9): 1768-1775.
- HU J X, PENG S L, ZHANG D, *et al.* Effects of nitrogen addition on arbuscular mycorrhizal fungi community in poplar plantations at different ages[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2020, 29(9): 1768-1775. (in Chinese)
- [6] HILL B H, ELONEN C M, JICHA T M, *et al.* Sediment microbial enzyme activity as an indicator of nutrient limitation in the great rivers of the upper Mississippi River basin [J]. *Biogeochemistry*, 2010, 97(2-3): 195-209.
- [7] 马伟伟, 王丽霞, 李娜, 等. 不同水氮水平对川西亚高山林地土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(19): 7218-7228.
- MA W W, WANG L X, LI N, *et al.* Dynamic effects of nitrogen deposition on soil enzyme activities in soils with different moisture content [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(19): 7218-7228. (in Chinese)
- [8] 宰学明, 郝振萍, 赵辉, 等. 丛枝菌根化滨梅苗的根际微生态环境[J]. *林业科学*, 2014, 50(1): 41-48.
- ZAI X M, HAO Z P, ZHAO H, *et al.* Rhizospheric niche of beach plum seedlings colonized by arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2014, 50(1): 41-48. (in Chinese)
- [9] 勒佳佳, 苏原, 彭庆文, 等. 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[J]. *干旱区研究*, 2020, 37(2): 382-389.
- LE J J, SU Y, PENG Q W, *et al.* Effects of nitrogen addition on soil enzyme activities and ecoenzymatic stoichiometry in alpine grassland of the Tianshan Mountains[J]. *Arid Zone Research*, 2020, 37(2): 382-389. (in Chinese)
- [10] 张菊, 康荣华, 赵斌, 等. 内蒙古温带草原氮沉降的观测研究[J]. *环境科学*, 2013, 34(9): 3552-3556.
- ZHANG J, KANG R H, ZHAO B, *et al.* Monitoring nitrogen deposition on temperate grassland in Inner Mongolia[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(9): 3552-3556. (in Chinese)
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] SINSABAUGH R L, KLUG M J, COLLINS H P, *et al.* Characterizing soil microbial communities[M]//ROBERTSON G P, COLEMAN D, BLEDSOE C S, *et al.* Standard soil methods for long-term ecological research. New York: Oxford University Press, 1999, 329-333.
- [13] 刘婷岩, 郝龙飞, 王续富, 等. 氮沉降及菌根真菌对长白落叶松苗木根系构型及根际酶活性的影响[J]. *植物研究*, 2021, 41(1): 145-151.
- LIU T Y, HAO L F, WANG X F, *et al.* Effects of nitrogen deposition and ectomycorrhizal fungi on root architecture and rhizosphere soil enzyme activities of *Larix olgensis* seedlings [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2021, 41(1): 145-151. (in Chinese)
- [14] 陈倩妹, 王泽西, 刘洋, 等. 川西亚高山针叶林土壤酶及其化学计量比对模拟氮沉降的响应[J]. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(4): 791-800.
- CHEN Q M, WANG Z X, LIU Y, *et al.* Response of soil enzyme activity and stoichiometric ratio to simulated nitrogen deposition in subalpine coniferous forests of western Sichuan [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2019, 25(4): 791-800. (in Chinese)
- [15] 郝龙飞, 李星月, 武晓倩, 等. 施肥方式及接种菌根真菌对1年生油松苗木根系构型的影响[J]. *西北林学院学报*, 2021, 36(3): 168-174.
- HAO L F, LI X Y, WU X Q, *et al.* Responses of the root system architecture of one-year-old *Pinus tabulaeformis* seedlings to fertilization and ectomycorrhizal fungi inoculation[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2021, 36(3): 168-174. (in Chinese)
- [16] GARTNER T B, TRESEDER K K, MALCOLM G M, *et al.* Extracellular enzyme activity in the mycorrhizospheres of a boreal fire chronosequence [J]. *Pedobiologia*, 2012, 55(2): 121-127.
- [17] 赵鑫, 赵丽丽, 王普昶, 等. 内生真菌和丛枝菌根真菌提高植物逆境适应性研究进展[J]. *云南大学学报: 自然科学版*, 2020, 42(3): 577-591.
- ZHAO X, ZHAO L L, WANG P C, *et al.* Review on the progress of adaptability to adversity by endophytic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in plants [J]. *Journal of Yunnan University: Natural Sciences Edition*, 2020, 42(3): 577-591. (in Chinese)
- [18] IGALAVITHANA A D, FAROOQ M, KIM K H, *et al.* Determining soil quality in urban agricultural regions by soil enzyme-based index [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2017, 39(6): 1531-1544.
- [19] 李丽娟, 谢婷婷, 张松林, 等. 三峡库区消落带4种适生植物根际与非根际土壤养分与酶活性特征研究[J]. *生态学报*, 2020, 40(21): 7611-7620.
- LI L J, XIE T T, ZHANG S L, *et al.* Characteristics of nutrient content and enzyme activity in the rhizosphere and bulk soils of four suitable plant species in the hydro-fluctuation zone of the Three Gorges Reservoir [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(21): 7611-7620. (in Chinese)
- [20] ZHOU Z H, WANG C K, JIANG L F, *et al.* Trends in soil microbial communities during secondary succession [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 115: 92-99.

- gistically exploiting VIIRS I- and MBand data in regional active fire detection and FRP assessment: a demonstration with respect to agricultural residue burning in eastern China[J]. *Remote Sensing of Environment*, 2017, 198: 407-424.
- [23] 李鹏, 李文君, 封志明, 等. 基于 FIRMS MODIS 与 VIIRS 的东南亚活跃火频次时空动态分析[J]. *资源科学*, 2019, 41(8): 1526-1540.
- [24] UL-HAQ Z, TARIQ S, ALI M. Spatiotemporal patterns of correlation between atmospheric nitrogen dioxide and aerosols over South Asia[J]. *Meteorology and Atmospheric Physics*, 2017, 129(5): 507-527.
- [25] 邱昀, 李令军, 鹿海峰, 等. 基于热异常探测的北京水泥厂大气污染排放评估[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(10): 2265-2271.
- QIU Y, LI L J, LU H F, *et al.* Estimation of air pollution emission from cement plant in Beijing based on thermal anomaly detection[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(10): 2265-2271. (in Chinese)
- [26] GUO F T, SU Z W, WANG G Y, *et al.* Wildfire ignition in the forests of southeast China: identifying drivers and spatial distribution to predict wildfire likelihood. [J]. *Applied Geography*, 2016, 66: 12-21.
- [27] GUO F T, SU Z W, WANG G Y, *et al.* Understanding fire drivers and relative impacts in different Chinese forest ecosystems[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 605: 411-425.
- [28] GB/T 20481—2017 气象干旱等级[S]. 北京: 中国国家标准化管理委员会, 2017.
- [29] 高开通, 刘鹏举, 唐小明. 森林资源小班火险天气等级预报方法研究[J]. *北京林业大学学报*, 2013, 35(4): 61-66.
- GAO K T, LIU P J, TANG X M. Forecasting forest fire grade of forest subcompartment[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2013, 35(4): 61-66. (in Chinese)
- [30] STRYDOM S, SAVAGE M J. A spatio-temporal analysis of fires in the southern African Development Community region[J]. *Natural Hazards*, 2018, 92(3): 1617-1632.
- [31] QX/T 77—2007 森林火险气象等级[S]. 北京: 气象出版社, 2007.
- [32] EHSAN C, QUAZI H. Development of a new daily-scale forest fire danger forecasting system using remote sensing Data[J]. *Remote Sensing*, 2015, 7(3): 2431-2448.
- [33] 陈波. 基于 MODIS 数据的云南省森林火灾时空分布及火险区划研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2018.
- [34] 范阔, 谢士琴, 陈玥璐, 等. 河北省围场县森林火险区划研究[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(4): 162-166.
- FAN K, XIE S Q, CHEN Y L, *et al.* Forest fire risk zone mapping in Weichang County of Hebei Province[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(4): 162-166. (in Chinese)
- [35] 张雪一, 薛伟, 李奇. 基于改进交叉影响法的兴安落叶松人工林采伐迹地火险因素研究[J]. *森林工程*, 2021, 37(6): 10-16.
- [36] 郭福涛, 苏漳文, 王光玉, 等. 我国北方针叶林人为火发生的预测模型[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(7): 2099-2106.
- GUO F T, SU Z W, WANG G Y, *et al.* Prediction model of human-caused fire occurrence in the boreal forest of northern China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(7): 2099-2106. (in Chinese)

(上接第 140 页)

- [21] SINSABAUGH R L, HILL B H, SHAH J J F. Eoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 2009, 462: 795-798.
- [22] ZHENG W, GONG Q L, LV F L, *et al.* Tree-scale spatial responses of extracellular enzyme activities and stoichiometry to different types of fertilization and cover crop in an apple orchard[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2020, 99: 103207.
- [23] CUI Y, ZHANG Y, DUAN C, *et al.* Eoenzymatic stoichiometry reveals microbial phosphorus limitation decreases the nitrogen cycling potential of soils in semi-arid agricultural ecosystems[J]. *Soil and Tillage Research*, 2020, 97: 104463.
- [24] ALGUACIL M M, TORRES M P, TORRECILLAS E, *et al.* Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land[J]. *Soil Biology Biochemistry*, 2011, 43: 167-173.
- [25] TAPIA-TORRES Y, ELSER J J, SOUZA V, *et al.* Eoenzymatic stoichiometry at the extremes: how microbes cope in an ultra-oligotrophic desert soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 87: 34-42.
- [26] 巩闪闪, 徐越, 冯志培, 等. 太行山南麓侧柏人工林土壤酶活性和无机氮含量分布特征[J]. *西北林学院学报*, 2020, 35(2): 1-7.
- GONG S S, XU Y, FENG Z P, *et al.* Distribution characteristics of soil enzyme activities and inorganic nitrogen content under Chinese cypress artificial forest in the southern Taihang Mountains[J]. *Journal of Northwest Forest University*, 2020, 35(2): 1-7. (in Chinese)
- [27] TRAN C T K, WATTS-WILLIAMS S J, SMERNIK R J, *et al.* Effects of plant roots and arbuscular mycorrhizas on soil phosphorus leaching[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 722: 137847.
- [28] 于水强, 王政权, 史建伟, 等. 氮肥对水曲柳和落叶松细根寿命的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(10): 2332-2338.
- YU S Q, WANG Z Q, SHI J W, *et al.* Effects of nitrogen fertilization on fine root lifespan of *Fraxinus mandshurica* and *Larix gmelinii* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(10): 2332-2338. (in Chinese)
- [29] LIU X F, YANG Z J, LIN C F, *et al.* Will nitrogen deposition mitigate warming-increased soil respiration in a young subtropical plantation[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2017, 246: 78-85.
- [30] 郝龙飞, 郝文颖, 刘婷岩, 等. 氮添加及接种处理对 1 年生樟子松苗木根系形态及养分含量的影响[J]. *北京林业大学学报*, 2021, 43(4): 1-7.
- HAO L F, HAO W Y, LIU T Y, *et al.* Responses of root morphology and nutrient content of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seedlings to nitrogen addition and inoculation treatments[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2021, 43(4): 1-7. (in Chinese)