

碳源输入量变化对河南宝天曼锐齿栎林 土壤酶活性的影响

李程¹, 尤业明², 唐佐芯¹, 孙建新^{1*}

(1. 北京林业大学林学院, 北京 100083; 2. 广西大学林学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西 南宁 530004)

摘要: [目的] 通过采用实验手段人为调控森林林地凋落物量, 改变土壤碳输入, 以探究土壤酶活性与碳源输入之间的关系。[方法] 以河南宝天曼自然保护区内不同年龄序列(林龄大约为 40 a、80 a 和大于 160 a)的锐齿栎天然林为研究对象, 在样地内进行对照(CK)、凋落物加倍(LA)、凋落物去除(LR)3种处理, 分别测定了土壤理化性状、微生物生物量、并且采用底物诱导法对氧化酶(酚氧化酶和过氧化物酶)和水解酶(β -葡萄糖苷酶和 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶)的活性进行测定。[结果] 林龄仅对 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶有显著影响, 其酶活性随着林龄的增加而降低。碳输入的改变对氧化酶无显著差异, 但 β -葡萄糖苷酶活性随凋落物量的增加而提高, 呈现加倍 > 对照 > 去凋的趋势。微生物碳氮比(表征微生物结构)变化规律与专一酶活性(微生物功能)变化规律之间无严格对应关系。[结论] 碳输入量的改变可以通过影响土壤环境因子和养分输入, 从而对土壤酶活性产生影响, 但对不同酶活性的影响程度不同, 同时林分年龄也是影响土壤酶活性的一个重要指标。

关键词: 碳输入; 土壤酶活性; 土壤微生物群落; 年龄序列; 宝天曼

中图分类号: S714

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2018)04-0023-08

Effects of Carbon Input Alteration on Soil Enzyme Activities in a *Quercus aliena* var. *acuteserrata* Maxim Forest in Baotianman, Henan

LI Cheng¹, YOU Ye-ming², TANG Zuo-xin¹, SUN Jian-xin¹

(1. College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. State Key Laboratory for

Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Forestry College, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China)

Abstract: [Objective] To determine the relationship between soil enzyme activities and carbon inputs by experimentally altering the quantity of forest floor litter. [Method] In an age sequence of natural *Quercus aliena* var. *acuteserrata* forests (stand age approximately 40 years, 80 years, and > 160 years) in the Baotianman Nature Reserve, He'nan Province, three treatments were applied, including doubling of litter (LA), litter removal (LR) and the control (CK). Measurements were made on soil physiochemical properties, microbial biomass, and activities of oxidative enzymes (phenol oxidase and peroxidase) and hydrolytic enzymes (β -glucosidase and β -1,4-N-acetylglucosaminidase). [Result] The stand age affected only the β -1,4-N-acetylglucosaminidase; its activity decreased with the increasing stand age. The litter treatments had no significant effect on oxidative enzymes, but the activity of β -glucosidase increased with the increasing litter inputs, ranking in the order of LA > CK > LR. The change pattern of microbial C/N ratio (characterization of microbial structure) were not consistent with that of specific enzyme activity (microbial function). [Conclusion] The changes in the quantity of carbon inputs can affect

收稿日期: 2017-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目“亚热带-温带过渡区森林土壤有机碳固持机制及其微环境制约”(项目编号:31470623)

作者简介: 李程, 硕士研究生, 研究方向: 全球变化生态学, E-mail: chaselee_lc@163.com.

* 通讯作者: E-mail: sunjianx@bjfu.edu.cn

soil enzyme activities by modifying soil environmental factors and nutrient inputs, but the effects vary among enzymes. Forest stand age is also a factor affecting soil enzyme activities.

Keywords: carbon input; soil enzyme activity; soil microbial community; age sequence; Baotianman Nature Reserve

目前国内关于凋落物对土壤酶活性影响的研究,主要以改变凋落物种类或者改变凋落物组成为主^[1-3],而以不同林龄序列为研究对象,通过改变地表凋落物输入量,进而改变有机质输入量,研究碳源输入对土壤酶活性影响的实验较少,尤其是在亚热带—温带气候过渡区。除此之外,森林生态系统土壤C的积累是一个缓慢而且复杂的过程^[4],到目前为止,改变地表凋落物输入量对土壤C含量的影响还没有达成共识^[5],并且已有实验研究表明碳输入量的改变能够影响土壤微生物量、微生物群落结构以及微生物活性^[6]。目前许多生态学家主要采用DIRT实验和室内控制实验从而改变碳输入量,以探究不同数量和质量的植物体有机C输入对土壤养分、微生物群落结构以及土壤C循环过程的影响^[7-8]。作者以不同年龄序列(林龄大约为40年、80年和大于160年)的天然锐齿栎林为研究对象,通过人为改变锐齿栎林林下土壤碳输入量,对土壤酚氧化酶、过氧化物酶、 β -葡萄糖苷酶和N-乙酰- β -葡萄糖苷酶的活性以及土壤理化性质、微生物生物量进行测定分析,旨在探讨土壤酶活性与碳输入量之间的关系,为揭示森林土壤养分碳循环以及土壤碳的管理提供基本理论支持。

1 研究区域和研究方法

1.1 研究区概况

本研究区处于北亚热带气候向南暖温带气候过渡区的河南宝天曼自然保护区长期森林生态定位站(33°20′~33°36′ N, 111°46′~112°04′ E, 海拔600~1 830 m)。气候类型属于季风型大陆性气候,年均温15.1℃,年均降雨量900 mm,年蒸发量991.6 mm,相对湿度68%,极端最高温41.2℃,极端最低温-14.8℃,≥10℃的年积温4 200~4 900℃,无霜期高山区160 d,低山区227 d。土壤类型主要以风化的砂质岩演化而成的不饱和始成土为主,植被类型属于北亚热带常绿阔叶林向南暖温带落叶林过渡的典型代表,以栎类植物为优势树种^[9-10]。

1.2 实验设计与采样

选取3个龄级的锐齿栎林作为研究对象,分别

为:幼龄林(约40 a),中龄林(约80 a),和老龄林(约160 a),林龄由森林经营记录结合平均木生长锥获得。每组年龄随机布设3块20 m×20 m的样地。于2011年6月在每块样地中采用随机区组设计,布设9个2 m×2 m小样方,分为3个区组,每个区组内分别进行对照(CK)、去除(去凋落物,LR)和加倍(加倍凋落物,LA)处理。把实验小样方中的地表凋落物全部移除作为去除地表凋落物处理,把去除凋落物处理小样方中的凋落物全部均匀加入到相应的小样方中作为加倍凋落物处理,以未经过任何处理的作为自然对照(CK),并在试验过程中定期进行样地维护。

于2015年8月,用内径5 cm的土钻“S”型采集地表0~5 cm土壤样品,混匀后挑拣出石砾和根系等杂物后过2 mm筛后混匀并分成2份,一份用于测定土壤基本理化性质,另一份保存于-20℃用于测定土壤酶活性。

1.3 样品测定和数据处理

土壤酶活性的测定采用底物诱导法,测定步骤参照You等^[9]的方法:酚氧化酶活性由土壤悬浮液(1 g鲜土+1.5 mL醋酸钠缓冲液)和2 mL L-DOPA混合充分反应后测定(20℃,100 rpm震荡1 h);过氧化物酶活性由土壤悬浮液(1 g鲜土+1.5 mL醋酸钠缓冲液)和2 mL L-DOPA(5 mmol·L⁻¹)充分混合(20℃,100 rpm震荡1 h),再加入0.2 mL H₂O₂(0.3%)反应后测定。 β -葡萄糖苷酶活性和N-乙酰- β -葡萄糖苷酶活性由4 g鲜土和10 mL醋酸钠缓冲液充分混合(100 rpm震荡0.5 h)后,分别加入0.2 mL PNG(50 mmol·L⁻¹)和0.2 mL NAG(10 mmol·L⁻¹),37℃培养1 h后加入氯化钙和Tris缓冲液终止反应后测定。酶活性测定均利用紫外可见分光光度计进行比色,具体基质和培养条件如表1所示。

所有总土壤酶活性单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$;专一酶活性采用每单位微生物量C(MBC)的酶活性表示,数值=总土壤酶活性/MBC^[11]。

参照Jin等^[12]描述的方法,采用室内培养碱式吸收法测定CO₂的释放量,计算得到土壤微生物呼

表1 土壤酶活性测定所用基质和培养条件

Table 1 Substrates, incubation conditions and determination products of soil enzyme activity assays

酶 Enzyme	基质 Substrate	培养温度/℃ Incubation temperature	培养时间/h Incubation time	测定产物 Determination product
酚氧化酶 Polyphenol oxidase	左旋多巴胺 L-DOPA	20	1	DOPA 转化
过氧化物酶 Peroxidase	左旋多巴胺 + 过氧化氢 L-DOPA + H ₂ O ₂	20	1	DOPA 转化
β-葡萄糖苷酶 β-1,4-glucosidase	对硝基苯-β-D 葡萄糖苷 4-MUB-β-D-glucoside	37	1	对硝基酚
N-乙酰-β-葡萄糖苷酶 β-1,4-N-acetylglucosaminidase	对硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷 4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide	37	1	对硝基酚

吸 (Soil microbial respiration, MR): 将相当于 20 g 干土的新鲜土壤放入 250 mL 的培养瓶中, 用 10 mL 的 NaOH (0.1 mol · L⁻¹) 溶液吸收培养土壤释放的 CO₂ 气体。所有的培养瓶用橡胶瓶盖密封, 在黑暗条件 25℃ 中进行恒温连续培养 12 天, 每隔 2 天用 0.05 mol · L⁻¹ HCl 滴定 NaOH 溶液吸收的 CO₂ 量; 氯仿熏蒸浸提法测定土壤微生物生物量 C (MBC) 和微生物生物量 N (MBN): 称取 5 g 新鲜土壤于培养瓶中在黑暗恒温条件下进行氯仿熏蒸 24 h, 用 20 mL 0.5 mol · L⁻¹ K₂SO₄ 溶液进行浸提 (20℃, 100 r · min⁻¹ 震荡 0.5 h), 浸提液利用总有机碳分析仪 (TOC) 进行测定; 重铬酸钾氧化 - 外加热法测定土壤有机碳; 利用 pH 计 (STARTER2100, OHAUS) 对土壤 pH 进行测定; 水土比 2.5:1 充分混合后 (20℃, 100 r · min⁻¹ 震荡 0.5 h) 测定; 烘干法测定土壤质量含水量: 称取 15 g 鲜土于铝盒中, 在 105 ± 2℃ 条件下烘干土壤至恒质量 (至少 48 h) 后通过计算得到。

利用统计软件 SPSS19.0 对数据进行统计和方差分析 (ANOVA), 多重比较不同处理间的差异性 ($P < 0.05$); 在多元统计分析软件 Canoco for Windows 4.5 上进

行主成分分析, 分析凋落物处理对土壤专一酶活性变异程度的影响; 在软件 Sigma Plot 12.0 上完成作图。

2 结果与分析

2.1 改变碳输入对土壤理化性质及微生物性状的影响

如表 2、表 3 所示, 3 组不同龄级的锐齿栎之间, 仅土壤 pH 和微生物呼吸受林龄的影响, 均在中龄林中最高, 老龄林次之, 幼龄林最低。改变碳输入方式对幼龄林和中龄林的土壤微环境和微生物生物量碳氮无影响。老龄林中, 碳输入方式的改变对土壤 pH 和微生物生物量碳氮比产生一定影响, 与对照组相比, 去除凋落物处理显著增加土壤 pH 值, 加倍凋落物处理显著降低微生物的碳氮比 ($P < 0.05$)。

2.2 改变碳输入对土壤酶活性的影响

研究表明, N-乙酰-β 葡萄糖苷酶活性受林分年龄的影响显著 ($P < 0.05$), 而其他 3 种酶活性受林分年龄的影响不显著 ($P > 0.05$), 2 种水解酶 (β-葡萄糖苷酶、N-乙酰-β 葡萄糖苷酶) 受碳输入方式的影响显著 ($P < 0.05$) (表 4)。

表2 土壤理化性质及微生物性状 (平均值 ± 标准误差)

Table 2 Soil chemical and physical properties and microbial community characteristics (mean ± std. error)

林龄 Age/a	处理 Treatment	% SWC /(w/w)	pH /(2.5:1)	SOC /(g · kg ⁻¹)	MBC /(mg · kg ⁻¹)	MBN /(mg · kg ⁻¹)	C/N _{mic}	MR /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)
幼龄 40	对照 CK	33.6 ± 0.3a	4.5 ± 0.0a	56.4 ± 2.4a	495.3 ± 27.0a	45.4 ± 3.1a	10.2 ± 0.3a	0.62 ± 0.01a
	加倍 LA	33.7 ± 0.7a	4.5 ± 0.0a	52.0 ± 7.8a	762.8 ± 66.0a	77.0 ± 9.2a	10.1 ± 0.4a	0.59 ± 0.02a
	去凋 LR	32.7 ± 0.8a	4.4 ± 0.0a	48.7 ± 4.3a	446.7 ± 8.7a	36.0 ± 1.9a	12.6 ± 0.6a	0.57 ± 0.01a
中龄 80	对照 CK	32.9 ± 3.0a	4.9 ± 0.0a	37.6 ± 3.2a	338.8 ± 61.0a	51.5 ± 3.7a	11.4 ± 0.9a	0.65 ± 0.02a
	加倍 LA	28.2 ± 3.5a	4.8 ± 0.0a	63.2 ± 3.8a	475.3 ± 36.0a	46.6 ± 1.5a	11.1 ± 1.0a	0.68 ± 0.02a
	去凋 LR	34.7 ± 1.7a	4.9 ± 0.0a	49.7 ± 0.9a	167.0 ± 59.2a	32.0 ± 0.6a	5.3 ± 1.4a	0.70 ± 0.01a
老龄 160	对照 CK	33.3 ± 1.7a	4.6 ± 0.0b	61.9 ± 1.6a	375.5 ± 53.8a	28.1 ± 3.9a	12.8 ± 0.4a	0.67 ± 0.01a
	加倍 LA	36.8 ± 2.1a	4.6 ± 0.0b	60.2 ± 3.5a	487.3 ± 34.0a	47.6 ± 3.3a	7.4 ± 1.0b	0.68 ± 0.02a
	去凋 LR	31.9 ± 1.2a	4.7 ± 0.0a	48.0 ± 6.3a	515.8 ± 65.1a	49.2 ± 7.7a	10.6 ± 0.2ab	0.64 ± 0.02a

注: 同列不同小写字母表示处理间差异性显著。% SWC: 土壤质量含水量; SOC: 土壤有机碳含量; MBC: 微生物生物量碳; MBN: 微生物生物量氮; C/N_{mic}: 微生物碳氮比; MR: 微生物呼吸。

Note: Different letters in the same column indicate significant effect (at $P = 0.05$ level). % SWC: gravimetric soil water content (w/w); pH: soil pH value; SOC: soil organic carbon concentration; MBC: microbial biomass carbon; MBN: microbial biomass nitrogen; C/N_{mic}: microbial C/N; MR: microbial respiration.

表3 林分年龄和处理对土壤理化性质及微生物性状影响的 F 值和显著性水平Table 3 Summary of F -values and significance level in ANOVA evaluating the effects of stand age and treatment on soil chemical and physical properties and microbial community characteristics

因素	自由度	% SWC	pH	SOC	MBC	MBN	C/N _{mic}	MR
林龄	2	1.447	56.91 ***	1.002	2.226	1.049	1.078	26.137 ***
处理	2	0.223	0.947	1.863	1.498	1.432	0.642	0.399
林龄 × 处理	4	0.280	1.622	0.728	2.498	1.763	0.695	3.350 **

注: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Note: ** and *** Denote significant correlations at $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively.

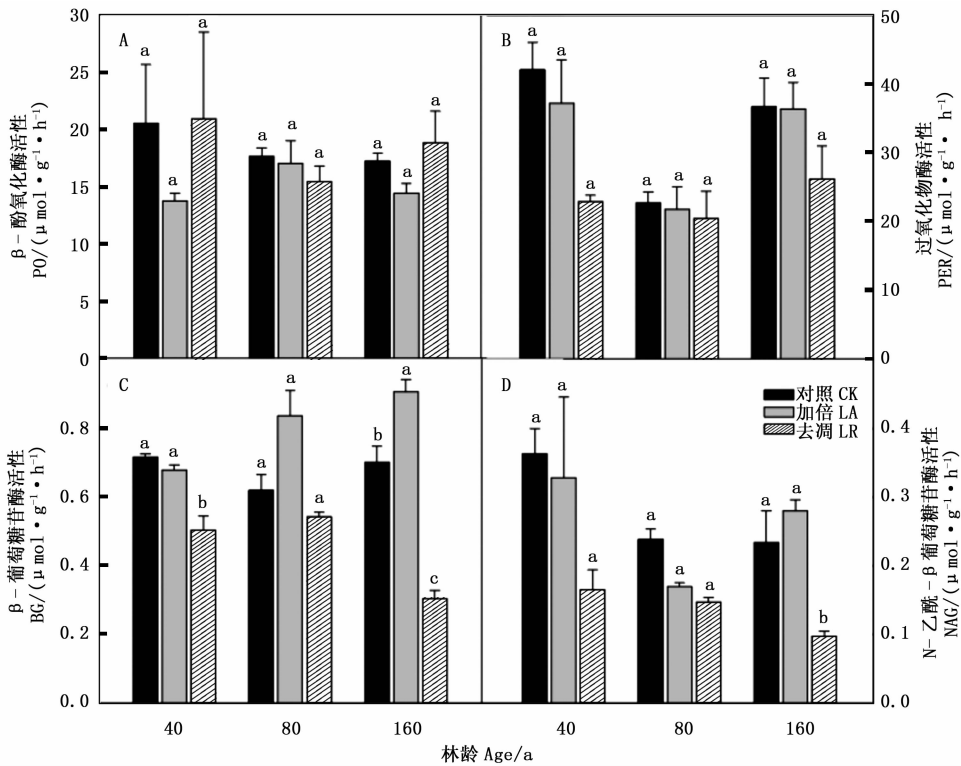
表4 林分年龄和处理对土壤总酶活性影响的 F 值和显著性水平Table 4 Summary of F -values and significance level in ANOVA evaluating the effects of stand age and treatment on soil total enzyme activities.

因素	自由度	酚氧化酶	过氧化物酶	β -葡萄糖苷酶	N-乙酰- β 葡萄糖苷酶
林龄	2	0.919	0.658	0.154	3.577 *
处理	2	0.786	0.255	9.099 **	3.888 *
林龄 × 处理	4	0.202	0.202	2.526	0.456

注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Note: * and ** Denote significant correlations at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

如图 1A 和图 1B 所示,不同处理对土壤氧化酶活性无明显影响,3 种林龄中不同处理间氧化酶活性均无显著差异($P > 0.05$)。在幼龄林和老龄林中不同处理间酚氧化酶活性均为:去凋 > 对照 > 加倍,而在中龄林中则表现为:对照 > 加倍 > 去凋,3 种林龄中酚氧化酶活性总的趋势均为对照高于加倍;3 种林龄的不同处理间过氧化物酶活性均表现为:对照 > 加倍 > 去凋,其中在幼龄林中加倍处理和去凋处理分别比对照降低了 11.6%、45.6%,在中龄林中分别降低了 4.3%、10.1%,在老龄林中分别降低了 0.8%、28.6%。



不同小写字母表示处理间差异性显著 ($P < 0.05$)。误差线为标准误差 ($n = 3$)

Different letters indicate significant effect (at $P = 0.05$ level). Vertical bars illustrate standard errors of means ($n = 3$)

图1 不同处理下土壤总酶活性的变化。

Fig. 1 Soil total enzyme activities under different treatments.

如图 1C 和图 1D 所示, β -葡萄糖苷酶活性在中龄林的不同处理间无显著差异 ($P > 0.05$)。幼龄林和老龄林均表现为去凋处理时 β -葡萄糖苷酶活性最低, 与对照组相比分别降低了 29.7% 和 56.7%; 老龄林中加倍处理酶活性增加了 29.2%。中龄林和老龄林中不同处理间 β -葡萄糖苷酶活性大小表现为: 加倍 > 对照 > 去凋。幼龄林和中龄林不同处理间 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶活性差异不显著, 大小均表现为: 对照 > 加倍 > 去凋; 老龄林与对照相比, 加倍处理使 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶活性增加了 19.5%, 但无显著差异 ($P > 0.05$), 去凋处理使 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶活性降低了 58.6%, 差异性显著 ($P < 0.05$)。老龄林中水解酶活性表现为: 加倍 > 对照 > 去凋。

对 3 组不同年龄的锐齿栎林土壤专一酶活性 (表征微生物功能) 进行主成分分析, 结果表明, 在 40 a 和 80 a 的锐齿栎林中, 第一主成分轴能把去除凋落物处理与对照和加倍凋落物处理区分开, 表明在处理 4 a 后, 去除凋落物处理土壤专一酶活性与对照组和加倍凋落物处理的专一酶活性之间存在明显差异, 但加倍凋落物处理与对照组无差异 (图 2A 和图 2B); 在 160 a 的锐齿栎林中, 第一主成分轴能把加倍凋落物处理与对照和去除凋落物处理区分开, 而第二主成分轴能把去除凋落物处理与对照组区分开 (图 2C), 表明在处理 4 a 后, 不管是加倍凋落物还是去除凋落物, 都能在一定程度上改变土壤专一酶活性, 加倍凋落物处理的效果更明显。

3 讨论

3.1 不同处理对土壤理化性质及微生物性状的影响

凋落物分解为森林土壤提供大量氮、磷、钾等生长必需的营养元素以及生物量有机碳、氮等^[13], 去除森林凋落物可以减少土壤养分输入, 降低土壤保水能力, 加快土壤营养流失, 土壤中碳氮含量下降^[14], 导致土壤微生物的生长受到严重抑制。据相关实验研究发现土壤微生物与土壤有机质呈正相关关系, 即土壤有机质含量下降, 土壤微生物量和土壤微生物活性也随之降低^[15]。虽然土壤对 pH 值的变化有一定的缓冲能力^[16], 但在本实验中, 3 组不同年龄林分长期改变碳源输入对土壤 pH 及微生物呼吸产生了影响。在幼龄林和老龄林中去凋处理显著降低了土壤有机碳含量, 加倍凋落物处理增加

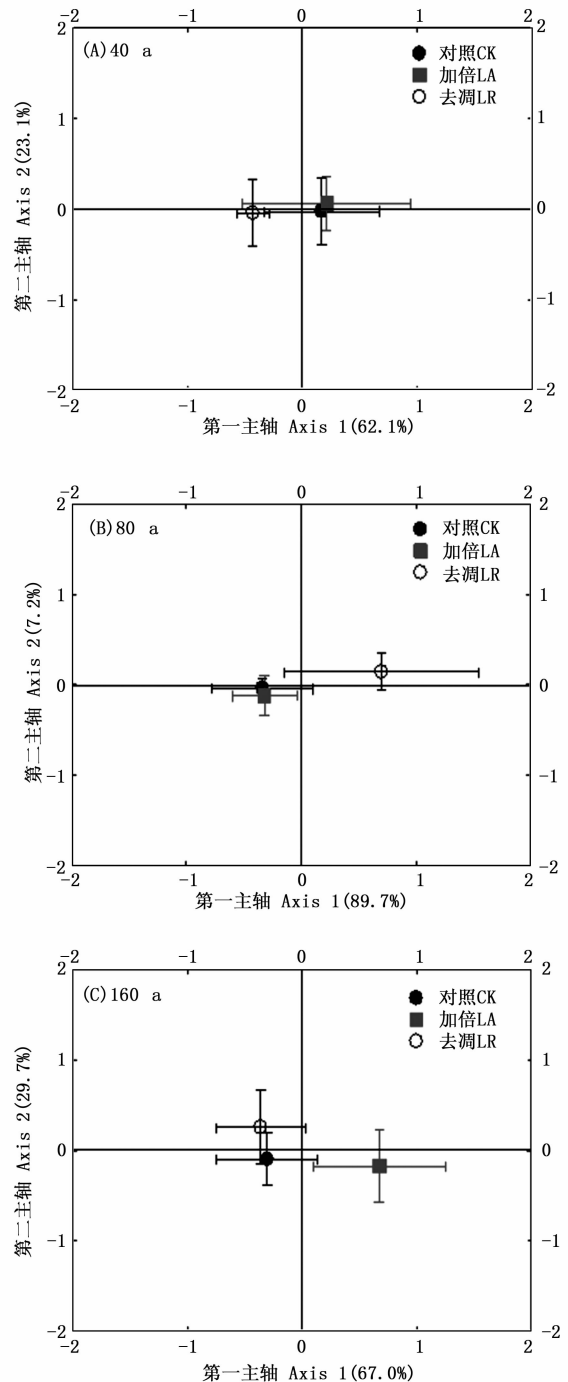


图 2 不同处理下 3 组林龄的土壤专一酶活性主成分分析 (误差线为标准误差 ($n = 3$))

Fig. 2 Principal Component Analysis (PCA) of specific activities of the enzymes in 40, 80 and 160-year-old stands under different treatments (Error bar indicate \pm SE, $n = 3$)

了土壤有机碳含量。老龄林中, 碳输入方式的改变对土壤 pH 和微生物生物量碳氮比产生一定影响, 与对照组相比, 去除凋落物处理显著增加土壤 pH 值, 加倍凋落物处理显著降低微生物的碳氮比。

Weintraub 等^[17]通过实验证明,凋落物是影响土壤有机碳的主要因素,增加凋落物量可显著提高土壤有机碳含量;反之,降低。

3.2 改变碳源输入对土壤酶活性的影响

土壤有机质作为土壤微生物的主要碳源,通过植物凋落物、根系和根系分泌物等形式输入,为酶促反应提供重要底物。改变凋落物输入量不仅直接影响土壤微生物量,还可以改变酶促反应所需底物浓

度,进而对土壤酶产生影响。通过分析发现,改变碳源输入对土壤 pH 产生一定影响,土壤酶活性与土壤 pH 呈负相关关系(表 5),同时也有相关文献研究表明土壤 pH 显著影响土壤酶活性^[18]。这可能是由于酶空间构象和氨基酸残基微环境易受土壤 pH 的变化而改变,从而对酶活性产生影响^[19],也可能是由于 pH 的改变造成酶与土壤颗粒之间的结合状态发生改变,导致土壤酶活性发生变化。

表 5 土壤理化性质、微生物性状与土壤总酶活性的相关性分析($n=27$)

Table 5 Pearson's correlations between soil chemical and physical properties, microbial community characteristics and soil total enzyme activities.

变量	% SWC	pH 值	SOC	MBC	MBN	MR
酚氧化酶 Polyphenol oxidase	-0.210	-0.080	-0.206	-0.123	-0.057	-0.300
过氧化物酶 Peroxidase	0.360	-0.087	0.549 *	0.280	0.247	-0.054
β -葡萄糖苷酶 β -1, 4-glucosidase	0.314	-0.176	0.510 *	0.059	0.055	0.076
N-乙酰- β 葡萄糖苷酶 β -1, 4-N-acetylglucosaminidase	-0.128	-0.391 *	0.279	0.364	-0.134	-0.164

注: * $P < 0.05$ 。

Note: * Denote significant correlations at $P < 0.05$, respectively.

本实验中,去除凋落物处理中的氧化物酶活性、 β -葡萄糖苷酶活性和 N-乙酰- β 葡萄糖苷酶活性均有不同程度的降低,而这些酶在土壤获取碳、氮等营养元素过程中起到了重要作用,这说明去除凋落物处理造成土壤水解酶生物活性下降,与刘星等^[1]在太岳山油松林进行的研究结果一致。杨敬天等^[20]通过通径分析研究发现,土壤有机质含量显著影响多种土壤酶生物活性,并且具有显著相关性。碳输入的减少对过氧化物酶和酚氧化酶的影响不显著,可能是因为去除凋落物处理只是减少了土壤地表凋落物的碳输入,而忽略了植物根系也是作为植物碳输入的主要来源。当土壤碳输入减少时, β -葡萄糖苷酶活性和 N-乙酰- β -葡萄糖苷酶活性均降低,该结果也从侧面证实了水解酶活性与土壤有机碳含量呈正相关关系,去除凋落物处理切断了凋落物的碳源、氮源输入,减少了土壤中的碳、氮含量,导致 β -葡萄糖苷酶和 N-乙酰- β -葡萄糖苷酶活性下降。Hernandez 等^[21]通过相关研究发现,水解酶活性随着相应底物、产物浓度的增加而升高。斯贵才等^[22]通过研究也发现水解酶活性与土壤有机碳含量呈显著正相关关系。

不同林分年龄间碳输入减少对酚氧化酶和过氧化物酶活性影响并不显著,在幼龄林和老林龄中经过去除凋落物处理的酚氧化酶活性略有升高,这可能是与植物根系提供大量底物有关。同时,在老龄

林中改变碳源输入, β -葡萄糖苷酶活性和 N-乙酰- β -葡萄糖苷酶活性均有显著的升高或降低,而在幼龄林和中龄林中无显著变化。这可能是由于不同年龄林分中凋落物成分和微生物群落结构具有差异性:随着林龄的增加,自疏作用越来越明显导致郁闭度降低,光照条件良好使得林内光照更加充足,为土壤微生物的生长和繁殖提供了有利条件,土壤微生物的多样性随土壤微生物数量和种类的增多而增大^[23],从幼龄林、中龄林到成熟林随着林分密度及郁闭度先升高后下降的趋势,微生物多样性呈现出“高-低-高”的规律性变化,从而影响土壤微生物活性的变化程度^[24]。

3.3 不同碳源输入对土壤微生物群落结构和功能(专一酶活性)的影响

有关研究结果表明细菌的碳氮比(C/N)通常在 3~5 之间,而真菌的 C/N 通常在 4~15 之间,微生物群落中细菌和真菌的构成情况可以通过当时土壤微生物的 C/N 反映,土壤微生物 C/N 越低,在整个土壤微生物群落中细菌群落所占的比重就越大^[25]。C 输入方式不仅可以通过控制输入 C 的数量和质量改变土壤微生物群落结构,还可以改变土壤 C 和 N 的有效性以及微环境来影响土壤 MBC 和 MBN^[26-27]。本研究结果表明,除了在老年林中的加倍凋落物处理中能显著降低土壤微生物 C/N,其他林分各个处理之间的微生物 C/N 均无明显差异,这

与 Nadelhoffer 等^[28] 在美国马萨诸塞州的落叶林中通过加倍凋落物处理后,发现土壤矿质层细菌或真菌的生物量不随地表凋落物数量的增加而发生变化的研究结论相似。同时,Cusack 等研究发现,微生物群落的功能(土壤酶专一酶活性)随着其结构的改变而显著变化^[29]。

虽然在 40 a 和 80 a 锐齿栎林去除凋落物后,其中微生物 C/N 无差异,但其专一酶活性却发生明显改变。该结果表明,只通过较短期的观测不能完全区分微生物群落结构和功能之间的关系,原因可能有如下几点:(1)本研究只是通过测定微生物的 C/N 来表征微生物的结构,这种方法只能粗略反映土壤细菌和真菌的比例,不能精确反映土壤微生物的群落组成;(2)本研究中测定的微生物类群为土壤中所有具有活性的类群,没有考虑微生物实际是否具有活性,实际上土壤中可能有很多微生物处于休眠状态,此类微生物不具有活性。因此,更好的量化微生物群落组成与其生态系统功能之间的关系,需要深入了解微生物功能的冗余^[30]; (3)环境因素如温度、水分和土壤养分的变化极易引起微生物群落结构和功能的改变^[9],但目前由于技术手段原因,还没有一种测量方法可以准确地反映出原状土壤的酶活性^[31]。

4 结论

(1)改变碳源输入对幼龄林和中龄林的土壤微环境和微生物生物量碳氮无显著影响,对老龄林的土壤 pH 和微生物生物量碳氮比产生一定影响。不同龄级的锐齿栎之间,仅土壤 pH 和微生物呼吸受林龄的影响。

(2)改变碳源输入对 β -葡萄糖苷酶和 N-乙酰- β -葡萄糖苷酶的活性影响显著;林分年龄对 N-乙酰- β -葡萄糖苷酶活的影响显著,对其他 3 种酶影响不显著。除碳输入方式的改变,林分年龄也是影响土壤酶活性的一个重要指标。

(3)在 40 a 和 80 a 的锐齿栎林中,去除凋落物处理土壤专一酶活性与对照组和加倍凋落物处理的专一酶活性之间存在明显差异;在 160 年的锐齿栎林中,改变碳源输入在一定程度上改变土壤专一酶活性,加倍凋落物处理的效果更明显。但在本研究中,土壤微生物结构(微生物 C/N)和功能(专一酶活性)没有必然联系,还需开展更加长期的连续观测,为准确评估特定微生物群落结构与功能之间的

关系提供理论依据。

参考文献:

- [1] 刘星,王娜,赵博,等. 改变碳输入对太岳山油松林土壤酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(4): 655-661.
- [2] Hu Y L, Wang S L, Zeng D H. Effects of single Chinese fir and mixed leaf litters on soil chemical, microbial properties and soil enzyme activities[J]. Plant and Soil, 2006, 282 (1/2): 379-386.
- [3] 林晗,陈辉,吴承祯,等. 千年桐与毛竹凋落叶混合分解对土壤酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(4): 539-545.
- [4] Elgersma K J, Ehrenfeld J G, Yu S, et al. Legacy effects overwhelm the short-term effects of exotic plant invasion and restoration on soil microbial community structure, enzyme activities, and nitrogen cycling [J]. Oecologia, 2011, 167(3): 733-745.
- [5] Busse M D, Sanchez F G, Ratcliff A W, et al. Soil carbon sequestration and changes in fungal and bacterial biomass following incorporation of forest residues[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(2): 220-227.
- [6] Feng W, Zou X, Schaefer D. Above-and belowground carbon inputs affect seasonal variations of soil microbial biomass in a subtropical monsoon forest of southwest China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(5): 978-983.
- [7] Geisseler D, Horwath W R. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil[J]. Pedobiologia, 2009, 53(1): 87-98.
- [8] Bowden R D, Deem L, Plante A F, et al. Litter input controls on soil carbon in a temperate deciduous forest[J]. Soil Science Society of America Journal, 2014, 78(S1): S66-S75.
- [9] You Y M, Wang J, Huang X M, et al. Relating microbial community structure to functioning in forest soil organic carbon transformation and turnover[J]. Ecology and Evolution. 2014, 4(5): 633-647.
- [10] Wang J, You Y M, Tang Z X, et al. Variations in leaf litter decomposition across contrasting forest stands and controlling factors at local scale[J]. Journal of Plant Ecology, 2015, 8(3): 261-272.
- [11] Waldrop M P, Balser T C, Firestone M K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(13): 1837-1846.
- [12] Jin H, Sun O J, Liu J F. Changes in soil microbial biomass and community structure with addition of contrasting types of plant litter in a semiarid grassland ecosystem[J]. Journal of Plant Ecology, 2010, 3(3): 209-217.
- [13] Maisto G, Marco A D, Meola 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] 王涵,王果,黄颖颖,等. pH 变化对酸性土壤酶活性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(6): 2401-2406.
- [15] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, et al. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale[J]. Ecology Letters, 2008, 11: 1252-1264.

- [16] 张玉兰, 陈利军, 刘桂芬, 等. 土壤水解酶类催化动力学研究进展[J]. 应用生态学报, 2003(12): 2326 - 2332.
- [17] Weintraub S R, Wieder W R, Cleveland C C, *et al.* Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest [J]. *Biogeochemistry*, 2013, 114(1 - 3): 313 - 326.
- [18] Xiong Y, Xia H, 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.
- [19] 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): 21 - 25.
- [20] 杨敬天, 苏智先, 胡进耀, 等. 珙桐林土壤有机质与酶活性的通径分析[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(2): 164 - 167.
- [21] Hernandez D L, Hobbie S E. The effects of substrate composition, quantity, and diversity on microbial activity[J]. *Plant and Soil*, 2010, 335(1 - 2): 397 - 411.
- [22] 斯贵才, 袁艳丽, 王建, 等. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化[J]. 微生物学通报, 2014, (10): 2001 - 2011.
- [23] 高晶, 韩海荣, 康峰峰, 等. 冀北辽河源不同林龄油松天然次生林土壤微生物生物量及酶活性[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(9): 78 - 83.
- [24] 葛晓改, 黄志霖, 程瑞梅, 等. 三峡库区马尾松人工林凋落物和根系输入对土壤理化性质的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(12): 3301 - 3308.
- [25] 尤业明. 宝天曼森林土壤碳转化的微生物调控机制[D]. 北京:北京林业大学, 2014.
- [26] Jonasson S, Castro J, Michelsen A. Litter, warming and plants affect respiration and allocation of soil microbial and plant C, N and P in arctic mesocosms[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(7): 1129 - 1139.
- [27] Matsushima M, Chang S X. Effects of understory removal, N fertilization, and litter layer removal on soil N cycling in a 13-year-old white spruce plantation infested with Canada bluejoint grass[J]. *Plant and Soil*, 2007, 292(1 - 2): 243 - 258.
- [28] Nadelhoffer K, Aitkenhead J, Boone R, *et al.* The DIRT experiment[M]. *Forests in Time: The Environmental Consequences of 1,000 Years of Change in New England*, 2006, pp300.
- [29] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, *et al.* Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests[J]. *Ecology*, 2011, 92(3): 621 - 632.
- [30] Schmidt M W, Torn M S, Abiven S, *et al.* Persistence of soil organic matter as an ecosystem property [J]. *Nature*, 2011, 478(7367): 49 - 56.
- [31] Toberman H, Freeman C, Evans C, *et al.* Summer drought decreases soil fungal diversity and associated phenol oxidase activity in upland Calluna heathland soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66(2): 426 - 436.

(责任编辑:崔 贝)