

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220291

丛枝菌根真菌和不同形态氮对杉木幼苗 根际土壤氮磷养分含量及其相关酶 化学计量比的影响

雷梅, 甘子莹, 谭世广, 宋秀玲, 上官翰婷, 丘清燕*

(福建农林大学林学院, 福建 福州 350002)

摘要: [目的] 探究丛枝菌根真菌 (AMF) 和不同形态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$) 对杉木根际土壤氮 (N) 与磷 (P) 养分含量、相关酶活性及其化学计量比的影响, 为杉木人工林的可持续经营管理提供理论依据与数据支持。

[方法] 本研究以 1 年生杉木幼苗为研究对象, 采用盆栽实验, 研究杉木幼苗在接种摩西球囊霉 (*G. mosseae*, Gm) 和添加不同形态 N ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$) 后根际土壤 N、P 养分含量及其相关酶活性与化学计量比的变化。

[结果] (1) AMF 接种提高了土壤有效 P 含量, 降低了土壤中硝态氮、铵态氮、可溶性有机氮以及全 P 含量, 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理相比, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下 AMF 对土壤 N、P 养分的调节作用更显著 ($p < 0.05$); (2) AMF 和不同形态 N 添加提高了土壤中酸性磷酸酶 (AP)、脲酶 (URE)、N-乙酰- β -D 葡萄糖苷酶 (NAG) 活性, 其中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理下 AMF 更有利于提高 URE 活性, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下 AMF 更有利于提高 NAG 活性。 (3) 接种 AMF 降低了土壤 URE:AP、PRO:AP 以及 NAG:AP 的比值 ($p < 0.05$), 且在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下土壤 URE:AP、PRO:AP 的化学计量比的下降幅度高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理。 [结论] AMF 接种通过提高土壤中氮磷相关转化酶的活性, 降低氮磷转化酶的化学计量比来提高杉木土壤 P 有效性, 促进土壤中有效 N、P 向植物体内的转移, 维持土壤 N、P 平衡, 且 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下 AMF 对土壤 N、P 平衡的调节效果强于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理。

关键词: 丛枝菌根真菌; 不同形态氮; 根际土壤; 酶活性; 酶化学计量; 杉木

中图分类号: S791.27; S718.8

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2023)01-0059-09

丛枝菌根真菌 (AMF) 作为陆地生态系统中重要的微生物, 能与陆地上 80% 的植物形成互惠共生体^[1]。前人研究发现, AMF 在生态环境中不仅能提高植株对养分的吸收, 促进植株生长^[2], 而且对植株根际土壤中的养分循环和土壤肥力起着重要作用^[3]。有研究发现, AMF 通过提高根际土壤酸性磷酸酶 (AP)、脲酶 (URE) 和蛋白酶 (PRO) 的活性来提高土壤中的 N、P 养分含量^[4]。然而, 对于 AMF 主要调节了土壤中可利用 N、P 含量, 还是对总量也有影响以及 AMF 对 N 和 P 的调节程度是

否一致仍还有很多争议。有研究表明, AMF 可以提高根际土壤有效 N、P 含量, 降低了土壤总 N、P 含量^[4-5]; 但也有研究发现, AMF 提高了土壤中总 N 含量, 降低了土壤有效 N 含量^[6-7]。还有一些研究认为, AMF 对 N、P 的调节程度存在差异, 导致土壤 N:P 比在接种 AMF 后出现较大改变。如 AMF 接种降低了狗尾草 (*Setaria viridis* (L.) Beauv.) 根际土壤的 N:P 比^[8], 而 AMF 接种提高了桑苗 (*Morus alba* L.) 根际土壤的 N:P 比^[9]。由此可见, AMF 接种对土壤有效 N、P 含量及 N、

收稿日期: 2022-06-06 修回日期: 2022-08-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41703066); 福建农林大学科技创新专项基金项目 (KFb22029XA)

作者简介: 雷梅, 女, 硕士。主要研究方向: 丛枝菌根真菌对杉木幼苗生理影响的研究。E-mail: LMM980709@163.com

* 通讯作者: 丘清燕, 女, 博士, 讲师。主要研究方向: 全球变化生态学与土壤生态学。Email: qingyan_qiu@126.com

P 总量、土壤 N:P 比存在怎样的影响? 这种影响是否与 N、P 相关转化酶活性或其化学计量比有关仍不清楚。

N 是陆地生态系统中三大营养元素之一, 对植物的生长起着至关重要的作用。有研究发现, 施 N 能提高土壤酸性磷酸酶 (AP) 活性^[10]。也有研究发现, 施 N 提高了土壤中总 N、有效 N 含量, 但降低了总 P、有效 P 含量, 提高土壤 N:P 化学计量比, 加剧土壤 P 限制^[11]; 但植株接种 AMF 后, N 肥的添加能够促进其对 N、P 养分的吸收, 从而降低土壤总 N 含量和 N:P 化学计量比, 缓解土壤 P 限制^[8]。部分研究发现, N 添加显著提高了 AMF 接种植物根际土壤有效 N、P 含量及土壤 AP 和 N-乙酰-β-D 葡萄糖苷酶 (NAG) 活性^[12]; 但是不同形态氮对土壤氮磷转化酶的影响存在差异。有研究发现, 植株添加 NH_4^+ -N 后, 对根际微生物酶活性产生一定的毒害, 导致各种 N 相关酶活性降低^[13]; 而也有研究发现, 相对于 NO_3^- -N 添加, NH_4^+ -N 添加更容易导致土壤酸化, 从而提高了土壤 AP 活性^[14]。虽然关于 N 添加对土壤 N、P 含量以及相关酶活性的化学计量比研究较多, 但主要集中在施加单一形态 N 和 N 施加量上^[15], 关于 AMF 接种与不同形态 N 共同作用下会对土壤 N、P 含量和 N、P 相关酶活性及其化学计量比产生怎样的影响? 何种氮肥添加下更有利于 AMF 提高土壤 N、P 有效性有待进一步研究。

杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.) 是我国亚热带地区主要的人工树种之一, 面积达 1 096 万 hm^2 , 约占人工林面积的 21.35%^[16]。杉木不仅面积范围广, 还是 AMF 重要的宿主植物^[17]。前人研究表明, 在亚热带地区 N 仍是杉木生长的主要限制性因素之一^[18]。目前, 已有大量研究报道 AMF 与 N 添加对杉木生长与养分吸收的影响^[19-20], 但鲜有关于 AMF 与不同形态 N 添加对杉木根际土壤 N、P 养分含量、相关酶活性及化学计量比的研究报道。

鉴于此, 本研究以 1 年生杉木幼苗为对象, 通过向杉木接种 AMF 并添加不同形态 N (NH_4^+ -N、 NO_3^- -N) 来研究 AMF 与不同形态 N 对杉木根际土壤 N、P 含量和 N、P 相关酶活性以及化学计量比的影响。其研究结果有利于明确 AMF 接种与不同形态氮共同作用下对杉木根际土壤 N、P 的调节作用, 为杉木人工林的可持续经营管理提供理论依据

与数据支持。

1 试验材料

1.1 土壤

土壤取自福建农林大学南平校区西芹教学林场杉木人工林 0~20 cm 的表层土。将土壤过 2 mm 筛后放到 121 °C 高压灭菌锅中灭菌 2 h 备用。灭菌土壤铵态氮含量 $4.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 硝态氮含量 $12.21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 总碳含量 $13.75 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 总氮含量 $1.09 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全磷含量 $0.42 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 有效磷含量 $12.68 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 值 4.5^[21]。

1.2 菌种

本试验以摩西球囊霉 (*G. mosseae*, Gm) 为供试菌种, 购买自北京农林科学院植物营养与资源研究所。选用玉米 (*Zea mays* L.) 为此次实验的扩繁宿主植物, 玉米种子经 10%NaClO 消毒 15 min, 用无菌水 (冷水经高温杀菌后冷却) 冲洗 5 次。用上述灭菌土壤种植玉米并接种 AMF。90 d 后收获玉米, 去除玉米的地上部分, 将盆中的所有混合物作为接种剂。

1.3 植株

杉木种子灭菌处理同玉米种子, 备用。

2 研究方法

2.1 试验设计

本试验共设置 6 种处理, 为 2 种 AMF 菌种处理 (接种 AMF (简称 + M) 与未接种 AMF (简称 - M)) 分别与 3 种不同形态氮添加处理 (不施肥 (简称 CK)、施 NH_4^+ -N (简称 NH_4)、施 NO_3^- -N (简称 NO_3)), 每个处理 4 个重复。2020 年 5 月给每个花盆 (花盆底直径 30 cm, 高 20 cm) 中装入灭菌土壤 6 kg, 在每个花盆距离土壤表层 10 cm 的地方放置 500 g 的接种剂, 对照为加入等量的灭菌处理土壤。在每个花盆中随机播种 3 粒杉木种子, 出苗后进行疏苗, 每盆留 1 株长势相当的幼苗。杉木出苗 4 个月后 (2020 年 9 月) 开始添加 N 肥 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 KNO_3), N 的添加量为 $6 \text{ mg}\cdot\text{盆}^{-1}$ 。之后在 2020 年 11 月又进行了 1 次 N 肥添加, 添加量与前一次相当。在整个试验期间将土壤水分含量保持在田间持水量的 60%。

2.2 样品采集与试验指标测定

2.2.1 样品采集 培养结束后, 去除土壤表层, 采用抖落法收集杉木根际土^[22], 并在实验室中将根

际土中的根系去除, 过 2 mm 筛, 分 2 份保存。一份存于 4 °C 冰箱, 用于土壤铵态氮、硝态氮、可溶性有机氮含量及酸性磷酸酶 (AP)、脲酶 (URE)、酸性蛋白酶 (PRO)、N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性的测定; 一份进行风干研磨, 用于土壤全磷、有效磷、全氮的测定。收集一部分植株根系, 存于 4 °C 的冰箱中, 用于植株根系丛枝菌根真菌侵染率的测定。随后将植株的剩下部分先用 105 °C 的烘箱杀青, 再烘干至恒质量并研磨, 用于植株氮磷的测定。

2.2.2 植物样品测定 根系侵染率采用醋酸墨水染色法检测^[23]; 植株磷采用快速消煮-钼锑抗显色法^[24], 随后在分光光度计上进行测定; 植株氮用元素分析仪 (Elementarvario, 德国) 进行测定。

2.2.3 土壤样品测定 全氮用元素分析仪 (Elementarvario, 德国) 进行测试; 全磷测定以行业标准 LY/T. 1999-11-01 为准, 采用酸溶-钼锑抗比色法, 最后用分光光度计检测; 有效磷以行业标准 LY/T 1233-1999 为准, 采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法, 最后用分光光度计检测; 铵态氮与硝态氮取鲜土于 2 mol·L⁻¹ KCl 溶液中浸提, 随后过滤, 取过滤液于全自动间断化学分析仪 (SmartChem, 意大利) 中测定。AP、URE、PRO、NAG 活性的

测定用双抗体夹心法^[25], 在酶标仪 (Labsystems Multiskab MS, 芬兰)352 型进行测定。

可溶性有机氮=可溶性总氮-矿质氮^[26]。

2.3 数据分析

利用 Excel2010 对数据进行数据处理, 用 orgin2019 建库作图。利用 SPSS25.0 统计软件的独立样本 T 检验对接种 AMF 与未接种 AMF 处理下的测试指标平均值进行统计分析。同一接种且不同施肥处理的统计分析用单因素方差分析中的邓肯检验比较样品间的差异显著性, 显著性水平=0.05。

3 结果与分析

3.1 AMF 接种与不同形态氮添加对杉木根系侵染及氮磷吸收的影响

表 1 显示: AMF 接种对杉木根系侵染率、植株氮与磷吸收存在明显的影响, 而不同形态氮及其与 AMF 之间的交互作用对上述 3 个指标无明显影响。杉木接种 AMF 后的侵染率在 60% 左右, 说明杉木与 AMF 形成良好的菌根共生体。此外, 在未接种 AMF 的杉木根系中发现 5% 左右的侵染率, 这是可接受的菌根侵染污染范围^[27]。杉木接种 AMF 后显著提高了植株对 N、P 的吸收 (CK 处

表 1 AMF 接种与不同形态氮添加对杉木根系侵染以及氮磷吸收的影响

Table 1 Effects of AMF inoculation and different forms of N addition on root colonization and nitrogen and phosphorus uptake of Chinese fir

氮处理 Nitrogen treatment	接种处理 Inoculation treatment	根系侵染率/% Root colonization rate	植株氮含量/(g·株 ⁻¹) Plant nitrogen content	植株磷含量/(mg·株 ⁻¹) Plant phosphorus content
CK	+ M	59 ± 5Aa	0.27 ± 0.03ABa	11.61 ± 1.69Aa
	-M	5 ± 0.3Ab	0.17 ± 0.03Ab	9.17 ± 0.77Aa
NH ₄	+ M	73 ± 2Aa	0.34 ± 0.1Aa	14.00 ± 1.02Aa
	-M	5 ± 0.2Ab	0.16 ± 0.1Ab	10.02 ± 0.17Ab
NO ₃	+ M	77 ± 7Aa	0.27 ± 0.02Ba	13.34 ± 0.75Aa
	-M	6 ± 0.2Ab	0.22 ± 0.02Ab	10.43 ± 1.93Ab
	M	***	***	**
	N	NS	NS	NS
	M × N	NS	NS	NS

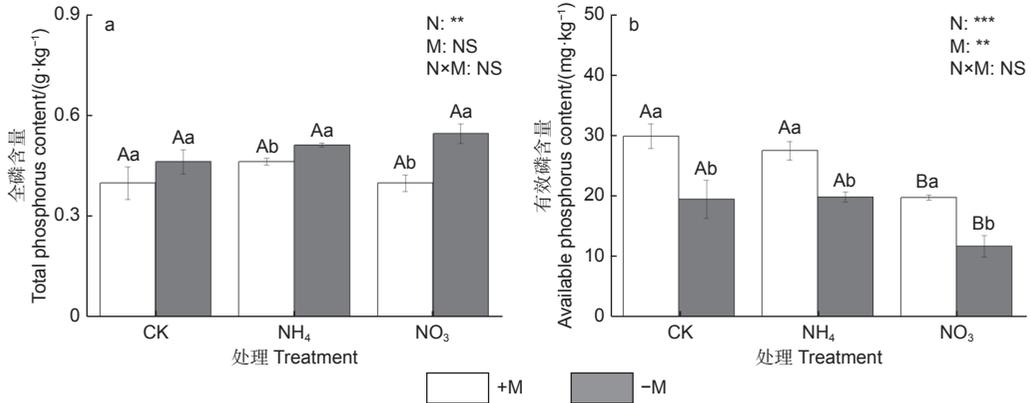
注: 表中数据为平均值 ± 标准误 (n=4), 表 1 部分来自文献^[21]。CK: 空白对照; NH₄: 铵态氮; NO₃: 硝态氮; M: 丛枝菌根真菌; N: 氮, 不同大写字母表示同一接种处理下不同氮处理间差异显著 (p<0.05), 不同小写字母表示同一氮处理下不同接种处理间差异显著 (p<0.05); **、* 分别表示 p<0.001、p<0.01、p<0.05 上差异显著, NS 表示影响不显著。下表同。

Notes: The data are means ± standard error (n=4), Part of data in Table 1 derived from our published data^[21]. CK: Blank control; NH₄: Ammonium nitrogen; NO₃: Nitrate nitrogen; M: AMF; N: Nitrogen, Different uppercase letters indicate significant difference among different nitrogen treatments for the same inoculation treatment (p<0.05), Different lowercase letters indicate significant difference between different inoculations for the same nitrogen addition treatment (p<0.05). ***, p<0.001; **, p<0.01; *, p<0.05; NS, not significant. The same below.

理下 P 除外)($p < 0.05$), 其中, 植物 N 吸收量在 CK、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下分别增加 $59\% \pm 13\%$ 、 $116\% \pm 46\%$ 、 $23\% \pm 19\%$; 植株 P 吸收量在添加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下分别增加 $40\% \pm 20\%$ 、 $28\% \pm 14\%$ 。

3.2 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤全 P 和有效 P 的影响

图 1 显示: 不同形态氮添加与 AMF 之间的交互作用对土壤全磷和有效磷没有显著影响。对土壤



注: CK: 空白对照; NH_4 : 铵态氮; NO_3 : 硝态氮; M: 丛枝菌根真菌; N: 氮。不同大写字母表示同一接种处理下不同氮处理间差异显著 ($p < 0.05$), 不同小写字母表示同一氮处理下不同接种处理间差异显著 ($p < 0.05$); **、**和*分别表示 $p < 0.001$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.05$ 上差异显著, NS 表示影响不显著。下图同。

Notes: CK: Blank control; NH_4 : Ammonium nitrogen; NO_3 : Nitrate nitrogen; M: AMF; N: Nitrogen. Different uppercase letters indicate significant difference among different nitrogen treatments for the same inoculation treatment ($p < 0.05$), Different lowercase letters indicate significant difference between different inoculations for the same nitrogen addition treatment ($p < 0.05$). ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; NS, not significant. The same below.

图 1 AMF 接种与不同形态 N 添加对土壤全 P 和有效 P 的影响

Fig. 1 Effects of AMF inoculation and different forms of N addition on soil total P and available P

3.3 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤氮素的影响

表 2 显示: 接种 AMF、不同形态氮添加及二者的交互作用对土壤硝态氮、铵态氮均有显著影响, 而不同形态氮添加对全 N 有影响, 但对可溶性有机氮 (DON) 没有影响。与对照相比, 氮添加显著提高了接种与未接种 AMF 杉木土壤中铵态氮和硝态氮的含量, 而且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的添加对土壤铵态氮含量的提升作用强于硝态氮, 而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 添加对土壤硝态氮含量的提升作用明显强于铵态氮 (表 2)($p < 0.05$)。与未接种 AMF 相比, 杉木接种 AMF 使 CK 处理中全 N 含量下降了 $7\% \pm 2\%$; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下, 硝态氮、铵态氮和 DON 的含量分别下降 $36\% \pm 3\%$ 、 $36\% \pm 3\%$ 、 $68\% \pm 11\%$; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理下, 铵态氮和 DON 含量下降幅度为

全 P 而言, 接种 AMF 在一定程度上都降低了各处理下土壤全 P 的含量 ($p < 0.05$), 且 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 添加下土壤全 P 下降 $27\% \pm 1\%$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理下降 $10\% \pm 1\%$ (图 1a)。对土壤有效 P 而言, 接种 AMF 显著提高了各处理下土壤有效 P 的含量 (图 1b) ($p < 0.05$), 其中, CK、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 以及 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下有效 P 含量分别增加 $53\% \pm 40\%$ 、 $39\% \pm 10\%$ 和 $69\% \pm 25\%$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下有效 P 的提升幅度显著高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理。

$29\% \pm 5\%$ 与 $52\% \pm 10\%$; 土壤铵态氮在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下的降幅显著高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理 (表 2)。

3.4 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤酶活性的影响

图 2 显示: 接种 AMF 与不同形态氮添加及二者的交互作用对 AP、URE、PRO 和 NAG 有显著影响 (AMF 接种与不同形态氮添加对 AP、NAG 的交互作用除外)。与对照相比, 氮添加显著提高了土壤 PRO 活性, 但添加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理显著降低了土壤 NAG 的活性 ($p < 0.05$)。接种 AMF 显著提高了各处理下 AP、URE (CK 除外) 和 NAG 的活性 (图 2), 其中, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理对 NAG 活性的促进作用 ($22\% \pm 6\%$) 高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理 ($10\% \pm 2\%$), 而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理对 URE 的促进作用 ($23\% \pm 23\%$) 高于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理 ($8\% \pm 12\%$)。

表 2 AMF 与不同形态 N 添加对土壤硝态氮、铵态氮、全氮、可溶性有机氮的影响

Table 2 Effects of AMF inoculation and different forms of N addition on soil of nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, total nitrogen and dissolved organic nitrogen

氮处理 Nitrogen treatment	接种处理 Inoculation treatment	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)	铵态氮 Ammonium nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)	可溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)
CK	+ M	1.40 ± 0.38Ca	3.06 ± 0.54Ca	895.89 ± 27.02Bb	24.06 ± 1.92Aa
	-M	2.36 ± 0.47Ca	3.83 ± 1.22Ca	967.49 ± 6.41Aa	13.18 ± 4.69Ba
NH ₄	+ M	6.48 ± 1.23Ba	17.73 ± 0.75Ab	966.40 ± 31.52Aa	22.18 ± 1.53Ab
	-M	10.33 ± 1.08Ba	25.31 ± 1.57Aa	972.71 ± 23.13Aa	50.81 ± 9.40ABa
NO ₃	+ M	14.58 ± 0.58Ab	11.64 ± 0.65Bb	1012.36 ± 27.34Aa	13.69 ± 0.25Bb
	-M	22.74 ± 1.03Aa	18.23 ± 0.6Ba	1016.57 ± 47.54Aa	53.04 ± 16.03Aa
	M	***	***	NS	**
	N	***	***	**	NS
	M × N	**	***	NS	**

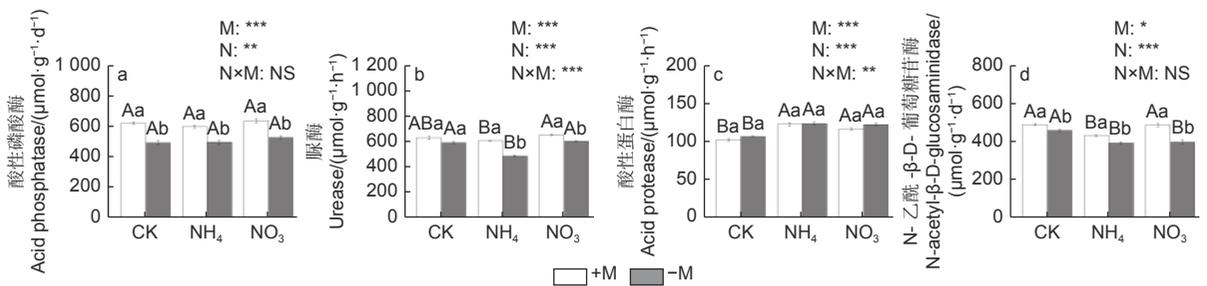


图 2 AMF 与不同形态 N 添加对土壤 AP、URE、PRO 以及 NAG 的影响

Fig. 2 Effects of AMF inoculation and different forms of N addition on the activities of soil acid phosphatase, urease, acid protease and N-acetyl-β-D glucosidase

3.5 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤氮磷比以及相关酶化学计量比的影响

图 3 表明: 接种 AMF 与不同形态氮添加对 URE:AP、PRO:AP、NAG:AP 存在显著影响, 且二者的交互作用对 URE:AP 和 NAG:AP 存在显著影响。不同接种处理和不同氮添加处理对根际土

壤 N:P 比虽没有显著影响, 但略微提高了土壤的 N:P 比。与未接种 AMF 相比, 杉木接种 AMF 后普遍降低了土壤 URE:AP、PRO:AP 及 NAG:AP 的比值, 其下降幅度分别为 -2%~16%、17%~24%、2%~15%(图 3); 但不同形态氮添加对于不同土壤酶的化学计量比的下降幅度具有差异性,

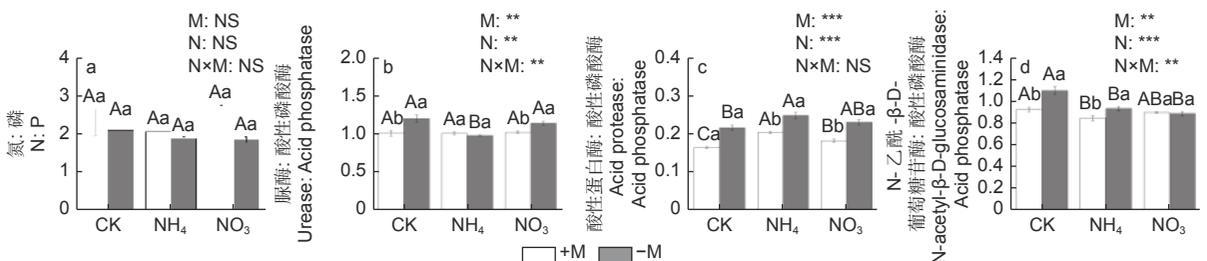


图 3 AMF 接种与不同形态 N 添加对土壤氮磷化学计量比和相关酶化学计量比的影响

Fig. 3 Effects of AMF inoculation and different forms of N addition on soil nitrogen and phosphorus ratio and related enzyme stoichiometry

NO_3^- -N 处理下 URE:AP 和 PRO:AP 的下降幅度 (分别为 $10\% \pm 3\%$ 和 $21\% \pm 4\%$) 均高于 NH_4^+ -N 处理 ($-2\% \pm 0.2\%$ 、 $17\% \pm 2\%$), 而 NH_4^+ -N 处理下 NAG:AP 下降幅度 ($9\% \pm 5\%$) 高于 NO_3^- -N 处理 ($2\% \pm 2\%$)。

4 讨论

4.1 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤 P 含量及其相关酶活性的影响

本研究发现, 杉木接种 AMF 后土壤有效 P 在根际富集, 根际土壤 AP 活性显著提高, 而土壤全 P 含量则降低 (图 1), 这一研究结果与宰学明等^[4]的研究结果一致。本研究中, 杉木接种 AMF 后提高了根际土壤中 AP 活性, 可能是因为供试土壤来自亚热带地区, 该地区土壤通常被认为受 P 限制, 接种 AMF 促进土壤微生物分泌 AP 以缓解 P 限制^[28-29]。土壤 AP 可以促进有机 P 矿化, 从而提高土壤有效 P 含量^[30], 土壤总 P 降低可能是 AMF 扩大植株根系, 促进植物对 P 的吸收 (表 1), 导致土壤中部分 P 向植物体内转移^[31]。此外, AMF 菌丝与植株根系能分泌有机酸酸化根际环境, 从而促进土壤中难溶性磷酸盐 (Ca10-P 和 O-P) 的活化, 并向有效态 P 转化^[32]。

Yang 等^[33]研究认为, N 添加会引起土壤酸化, 从而加速 P 素的矿化以弥补无机 P 的不足, 且磷酸酶是一种含 N 量很高的酶, N 输入刺激了微生物获取更多的 N 元素并转给磷酸酶, 从而促进有效 P 的增加^[34]。前人研究发现, 在施肥初期相对于 NO_3^- -N, NH_4^+ -N 处理更有利于提高土壤有效 P 含量^[35], 而在本研究中, 杉木接种 AMF 后添加 NO_3^- -N 下土壤有效 P 上升幅度高于 NH_4^+ -N 处理。这可能是由于杉木幼苗接种 AMF 后根际土壤中的微生物对 NO_3^- -N 具有吸收偏好, 土壤中 NO_3^- -N 的增加为土壤微生物合成高 N 含量的磷酸酶提供了丰富的 N 源, 使得土壤酸性磷酸酶活性也随之增加。因此, NO_3^- -N 处理下有效 P 的上升幅度高于 NH_4^+ -N 处理。

4.2 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤 N 含量及其相关酶活性的影响

本研究发现, NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 的施加提高了接种与未接种 AMF 杉木根际土壤全 N 含量, 表明 N 肥的添加有利于根际土壤全 N 的积累^[36]。然

而, 与未接种 AMF 相比, 接种 AMF 在一定程度上降低了不同处理下杉木根际土壤中的 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量 (其中 NH_4^+ -N 处理下铵态氮含量以及 NO_3^- -N 处理下硝态氮和铵态氮含量显著下降) (表 2)。前人也有类似的研究结果^[7], 这是因为 AMF 能促进杉木对 N 的吸收 (表 1), 且杉木主要吸收土壤中的 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N^[37], 故 AMF 降低杉木根际土壤中无机 N 的累积。本研究中, 杉木接种 AMF 并施 N 肥后, 根际土壤中的 DON 相对于未接种显著下降, 这可能是因为 AMF 能提高土壤中 N 相关转化酶的活性 (图 2), 而 N 相关转化酶能促进有机 N 的矿化^[38], 从而减少土壤中 DON 的含量。

在本研究中, 接种 AMF 提高了杉木根际土壤 URE 和 NAG 活性 (图 2)。这是因为 AMF 的菌丝体以及根渗出液对土壤微生物产生积极影响, 从而对养分代谢产生促进作用, 并增强了土壤酶活性^[30]; 但接种 AMF 后不同形态氮添加对不同土壤酶活性的影响具有差异性, 添加 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 后 PRO 活性显著高于 CK (图 2), 这与张雪等^[39]和马宗斌等^[40]结果相似。张艺等^[15]认为, N 肥的添加缓解土壤有效 N 的限制, 植物获取 N 素增加, 提高了土壤中 PRO 的活性。本研究中, 杉木接种 AMF 后, NO_3^- -N 处理下 NAG 活性增幅最大, NH_4^+ -N 处理下 URE 活性增幅最大 (图 2)。说明 NH_4^+ -N 更有利于提高 URE 活性, NO_3^- -N 更有利于提高 NAG 活性。 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 对不同酶活性具有不同影响的原因可能是不同 N 形态对分泌不同氮转化酶微生物的影响不同所致^[41-42], 因为微生物对不同形态 N 也存在吸收偏好^[43]。

4.3 AMF 接种与不同形态氮添加对土壤 N:P 比及其酶化学计量比的影响

本研究中, 与未接种 AMF 相比, 杉木接种 AMF 后适度的提高了杉木根际土壤的 N:P 比, 这是因为接种 AMF 对土壤全 N 影响不明显, 但却显著降低了土壤全 P 含量, 从而导致土壤中 N:P 比提高。这表明 AMF 对土壤全 P 的调节作用明显强于土壤全 N。从土壤 N、P 元素相关酶活性的化学计量比看, 虽然接种 AMF 显著提高了土壤 AP、URE、NAG 活性 (图 2), 但接种 AMF 普遍降低了 URE:AP、PRO:AP 和 NAG:AP 的化学计量比 (图 3), 这表明 AMF 对土壤 AP 的促进作用明显强

于氮相关转化酶。出现这一现象的原因可能在于供试土壤取自亚热带红壤地区,该地区土壤脱硅富铝铁化严重,导致土壤受P的限制明显强于N限制^[44],而接种AMF有利于缓解土壤P的限制,维持土壤N、P平衡。此外,NO₃⁻-N处理下URE:AP、PRO:AP的下降幅度均高于NH₄⁺-N处理。这表明,相对于添加NH₄⁺-N,NO₃⁻-N更有利于通过调节土壤氮磷转化酶的活性及其化学计量比来维持土壤N、P平衡。

5 结论

接种AMF有利于提高土壤有效P含量,降低土壤硝态氮、铵态氮、DON、全P含量,NO₃⁻-N处理下有效P含量增加幅度高于NH₄⁺-N处理,但土壤硝态氮、铵态氮含量在NO₃⁻-N处理下的下降幅度高于NH₄⁺-N处理;接种AMF与不同形态N添加提高了土壤中URE、AP和NAG活性,但降低了土壤中URE:AP、PRO:AP和NAG:AP的化学计量比,其中,在NO₃⁻-N处理下土壤中URE:AP、PRO:AP的化学计量比的下降幅度高于NH₄⁺-N处理,说明AMF对土壤AP的促进作用明显强于氮相关转化酶。本研究表明,在亚热带地区特殊的生态环境中,杉木接种AMF有利于通过提高土壤氮磷转化酶活性和改变氮磷转化酶化学计量比来调节土壤氮磷含量,维持土壤氮磷平衡,且NO₃⁻-N处理下的调节效果强于NH₄⁺-N处理。为了促进该地区土壤环境的氮磷良性循环,既要保护当地杉木中已存在的AMF,且NO₃⁻-N肥的施用效果更优。

参考文献:

- [1] SCHUBLER A, SCHWARZOTT D, WALKER C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution[J]. Mycological research, 2001, 105(12): 1413-1421.
- [2] SCHNEPF A, LEITNER D, Klepsch S, *et al.* Modelling phosphorus dynamics in the soil-plant system[M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 113-133.
- [3] XIAO L, BI Y, DU S, *et al.* Effects of re-vegetation type and arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on soil enzyme activities and microbial biomass in coal mining subsidence areas of Northern China[J]. Catena, 2019, 177: 202-209.
- [4] 宰学明, 郝振萍, 赵辉, 等. 丛枝菌根滨海梅苗的根际微生态环境[J]. 林业科学, 2014, 50(1): 41-48.
- [5] 马放, 苏蒙, 王立, 等. 丛枝菌根真菌对小麦生长的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(21): 6107-6114.
- [6] 杨建军. 丛枝菌根对吉贝和木棉抗旱性及其根区营养的影响[D]. 昆明: 西南林业大学, 2015.
- [7] 赵乾旭, 史静, 张仕颖, 等. 土著丛枝菌根真菌(AMF)与不同形态氮对紫色土间作大豆生长及氮利用的影响[J]. 菌物学报, 2017, 36(7): 983-995.
- [8] MEI L, YANG X, CAO H, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi alter plant and soil C: N: P stoichiometries under warming and nitrogen input in a semiarid meadow of China[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2019, 16(3): 397-409.
- [9] 王岩, 邢丹, 宋拉拉, 等. AM真菌对石漠化地区桑树的促生及养分调控作用[J]. 热带作物学报, 2020, 41(1): 7-14.
- [10] 郑兴蕊, 王克勤, 宋娅丽, 等. 滇中高山不同森林土壤酶活性对模拟N沉降的响应[J]. 林业科学研究, 2021, 34(2): 50-62.
- [11] ZHANG N, GUO R, SONG P, *et al.* Effects of warming and nitrogen deposition on the coupling mechanism between soil nitrogen and phosphorus in Songnen Meadow Steppe, north-eastern China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 65: 96-104.
- [12] 张晓荣, 段广德, 郝飞龙, 等. 氮沉降和接种菌根真菌对灌木铁线莲非结构性碳水化合物及根际土壤酶活性的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, 46(1): 171-178.
- [13] 熊淑萍, 车芳芳, 马新明, 等. 氮肥形态对冬小麦根际土壤氮素生理群活性及无机氮含量的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(16): 5138-5145.
- [14] LI Y, WANG C, GAO S, *et al.* Impacts of simulated nitrogen deposition on soil enzyme activity in a northern temperate forest ecosystem depend on the form and level of added nitrogen[J]. European Journal of Soil Biology, 2021, 103: 1-9.
- [15] 张艺, 王春梅, 许可, 等. 模拟氮沉降对温带森林土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(6): 1956-1965.
- [16] 国家林业局. 第八次全国森林资源清查结果[J]. 林业资源管理, 2014(1): 1-2.
- [17] LI L, ZHOU G Y, LIU J A, *et al.* The resource investigation and community structure characteristics of mycorrhizal fungi associated with Chinese fir[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(30): 5719-5724.
- [18] 彭紫薇, 熊鹏宇, 高李文, 等. 不同林龄杉木人工林土壤氮转化酶活性特征[J]. 林业科学研究, 2022, 35(2): 104-111.
- [19] 徐小冲, 王新杰, 卢妮妮, 等. 不同林龄杉木人工林根际土添加对其幼苗菌根侵染及生长的影响[J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(12): 74-82.
- [20] 崔莉娜, 郭弘婷, 李维扬, 等. 不同林龄杉木人工林菌根侵染特征研究[J]. 生态学报, 2019, 39(6): 1926-1934.
- [21] 雷梅, 丁驰, 甘子莹, 等. 丛枝菌根真菌和施加不同形态氮肥对杉木幼苗养分吸收的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2022,

- 30 (4): 518-527.
- [22] 苏宝玲, 韩士杰, 王建国. 根际微域研究中土样采集方法的研究进展[J]. 应用生态学报, 2000, 11 (3): 477-480.
- [23] 盛萍萍, 刘润进, 李 敏. 丛枝菌根观察与侵染率测定方法的比较[J]. 菌物学报, 2011, 30 (4): 519-525.
- [24] 张淑民. 植物氮、磷、钾联合测定的快速消煮法[J]. 北京农业大学学报, 1988, 14 (3): 295-300.
- [25] 索沛衡, 杜大俊, 王玉哲, 等. 杉木连栽对土壤氮含量和氮转化酶活性的影响[J]. 森林与环境学报, 2019, 39 (2): 113-119.
- [26] 吴汉卿, 杜世宇, 高 娜, 等. 水氮调控对设施土壤有机氮组分、全氮和矿质氮的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31 (6): 212-219.
- [27] SECK-MBENGUE M F, MULLER A, NGWENE B, *et al.* Transport of nitrogen and zinc to rhodes grass by arbuscular mycorrhiza and roots as affected by different nitrogen sources (NH_4^+ -N and NO_3^- -N)[J]. *Symbiosis*, 2017, 73(3): 191-200.
- [28] 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.
- [29] QIU L, BI Y, JIANG B, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi ameliorate the chemical properties and enzyme activities of rhizosphere soil in reclaimed mining subsidence in northwestern China[J]. *Journal of Arid Land*, 2019, 11(1): 135-147.
- [30] YE S, YANG Y, XIN G, *et al.* Studies of the Italian ryegrass-rice rotation system in southern China: Arbuscular mycorrhizal symbiosis affects soil microorganisms and enzyme activities in the *Lolium multiflorum* L. rhizosphere[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 90: 26-34.
- [31] 苏友波, 林 春, 张福锁, 等. 不同AM菌根菌分泌的磷酸酶对根际土壤有机磷的影响[J]. 土壤, 2003, 35 (4): 334-338, 343.
- [32] 张宇亭, 朱 敏, 钱岩相洼, 等. 接种AM真菌对玉米和油菜种间竞争及土壤无机磷组分的影响[J]. 生态学报, 2012, 32 (22): 7091-7101.
- [33] YANG K, ZHU J, GU J, *et al.* Changes in soil phosphorus fractions after 9 years of continuous nitrogen addition in a *Larix gmelinii* plantation[J]. *Annals of Forest Science*, 2015, 72(4): 435-442.
- [34] TRESEDER K K, VITOUSEK P M. Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition of N and P in Hawaiian rain forests[J]. *Ecology*, 2001, 82(4): 946-954.
- [35] 黄 眯. 不同形态氮对油茶幼苗生长及土壤酶活性的影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2021.
- [36] 刘春华, 吴东梅, 刘雨晖, 等. 氮沉降对米楮天然林土壤有机碳及微生物群落结构的影响[J]. 林业科学研究, 2021, 34 (2): 42-49.
- [37] 彭正萍. 植物氮素吸收、运转和分配调控机制研究[J]. 河北农业大学学报, 2019, 42 (2): 1-5.
- [38] 严 君, 韩晓增, 王树起, 等. 不同形态氮素对种植大豆土壤中微生物数量及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16 (2): 341-347.
- [39] 张 雪, 刘守伟, 吴凤芝, 等. 不同氮素形态对黄瓜根区土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. 中国蔬菜, 2014 (3): 19-25.
- [40] 马宗斌, 熊淑萍, 何建国, 等. 氮素形态对专用小麦中后期根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2008, 28 (4): 1544-1551.
- [41] HE W, ZHANG M, JIN G, *et al.* Effects of nitrogen deposition on nitrogen-mineralizing enzyme activity and soil microbial community structure in a korean pine plantation[J]. *Microbial Ecology*, 2021, 81(2): 410-424.
- [42] WANG C, LV Y, LIU X L, *et al.* Ecological effects of atmospheric nitrogen deposition on soil enzyme activity[J]. *Journal of forestry research*, 2013, 24(1): 109-114.
- [43] LV Y, WANG C, WANG F, *et al.* Effects of nitrogen addition on litter decomposition, soil microbial biomass, and enzyme activities between leguminous and non-leguminous forests[J]. *Ecological research*, 2013, 28(5): 793-800.
- [44] HUANG W, LIU J, WANG Y P, *et al.* Increasing phosphorus limitation along three successional forests in southern China[J]. *Plant and Soil*, 2013, 364(1): 181-191.

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation and Different Forms of Nitrogen Addition on Soil Nitrogen and Phosphorus Contents and Enzyme Stoichiometry in the Rhizosphere of Chinese Fir Seedlings

LEI Mei, GAN Zi-ying, TAN Shi-guang, SONG Xiu-ling, SHANG-GUAN Han-ting, QIU Qing-yan

(College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China)

Abstract: [Objective] To understand the influences of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation and different forms of nitrogen (N) addition on soil nitrogen (N) and phosphorus (P) nutrients, soil N and P enzyme activities and their enzyme stoichiometry in the rhizosphere of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) for providing theoretical basis of sustainable management of Chinese fir plantations. [Method] In the present study, a pot experiments were carried out to investigate the AMF inoculation (*G. mosseae*, Gm) and different forms of N (NH_4^+ -N, NO_3^- -N) addition on soil N and P nutrients, related enzyme activities and their stoichiometry of one-year-old Chinese fir seedlings. [Result] The results showed that: (1) AMF inoculation increased soil available P content, but decreased the NO_3^- -N, NH_4^+ -N, DON and total P content. Compared with NH_4^+ -N treatment, AMF under NO_3^- -N treatment had more significant effect on soil N and P nutrients ($P < 0.05$). (2) AMF inoculation and different forms of N addition increased the activities of soil acid phosphatase (AP), urease (URE), and N-acetyl- β -D glucosidase (NAG). Inoculation of AMF under NH_4^+ -N treatment was more conducive to improve urease activity, and inoculation of AMF under NO_3^- -N treatment was more conducive to improve N-acetyl- β -D glucosidase activity. (3) AMF inoculation reduced the ratios of soil URE: AP, PRO: AP and NAG: AP ($p < 0.05$), and the decrease of soil URE: AP, PRO: AP stoichiometry under NO_3^- -N treatment was higher than that under NH_4^+ -N treatment. [Conclusion] AMF inoculation can improve soil P availability, and increase the transfer of soil available N to the plants by increasing the activities of nitrogen and phosphorus-related enzyme in the soil and reducing the stoichiometry of nitrogen and phosphorus-related enzyme to maintain soil N and P balance. Moreover, the effects of NO_3^- -N treatment on soil nitrogen and phosphorus balance is larger than that under NH_4^+ -N treatment.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; nitrogen forms; rhizosphere soil; enzyme activity; enzyme stoichiometry; Chinese fir

(责任编辑: 徐玉秀)