

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2024.05.006

李欣冉, 林浩, 曹平丽, 等. 长期施氮加剧亚热带米楮天然林不同深度土壤磷限制: 基于土壤胞外酶活性及其化学计量比角度. 土壤, 2024, 56(5): 963–974.

长期施氮加剧亚热带米楮天然林不同深度土壤磷限制: 基于土壤胞外酶活性及其化学计量比角度^①

李欣冉^{1,2}, 林浩^{1,2}, 曹平丽^{1,2}, 林伟盛^{1,2,3}, 刘小飞^{1,2,3}, 钟羨芳^{3*}, 郭剑芬^{1,2,3}

(1 福建三明森林生态系统国家野外科学观测研究站, 福建三明 365002; 2 福建师范大学福建省植物生理生态重点实验室, 福州 350007;

3 福建师范大学地理研究所, 福州 350007)

摘要: 以福建三明格氏栲自然保护区内的米楮天然林为研究对象, 通过设置对照(CK)、低氮(LN, N 40 kg/(hm²·a))、高氮(HN, N 80 kg/(hm²·a))处理模拟氮沉降, 研究不同施氮年限(4、8 a)、不同深度(0~10 cm 和 10~20 cm)土壤理化特性和土壤酶活性及其化学计量比的变化, 探究长期氮沉降是否加剧亚热带地区土壤磷限制。结果表明: ①不同年限施氮后土壤 pH 下降, 0~10 cm 土层可溶性有机氮(DON)含量随施氮量增加而增加; 施氮 4 a, 0~10 cm 土层微生物生物量氮(MBN)含量随施氮量增加显著下降, 10~20 cm 土层则相反, 两土层土壤硝态氮含量均随施氮量的增加而增加; 施氮 8 a, HN 处理下各土层土壤微生物生物量碳(MBC)和 MBN 含量均最低, 0~10 cm 土层铵态氮含量随施氮量的增加显著降低。②不同年限 HN 处理提高了各土层土壤 β-葡萄糖苷酶(BG)活性, 但 HN 处理 8 a 明显降低 0~10 cm 土层 β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)活性; LN 和 HN 处理 4 a 显著提高 0~10 cm 土层酸性磷酸酶(ACP)活性, 但显著降低 10~20 cm 土层 ACP 活性。③不同施氮年限下, 不同深度土壤酶化学计量比向量角度均大于 45°, 而且施氮 8 a 的向量角度要显著大于施氮 4 a 的向量角度, 表明长期施氮加剧了土壤微生物磷限制; 不同施氮年限下, 0~10 cm 和 10~20 cm 土层土壤酶 C:N:P 化学计量比分别为 1:1:2 和 1:1:3, 与全球生态系统土壤酶 C:N:P 的比值 1:1:1 相比偏离。④冗余分析(RDA)表明, DON、MBN 和 NH₄⁺-N 是调控不同施氮年限各土层土壤酶活性和化学计量比变化的主要因子。总之, 长期氮沉降明显加剧了亚热带地区土壤磷限制。

关键词: 氮沉降; 酶活性; 酶化学计量; 土壤深度; 米楮天然林

中图分类号: S718.5 文献标志码: A

Long-term Nitrogen Application Exacerbates Soil Phosphorus Limitation at Different Depths in Subtropical Natural *Castanopsis carlesii* Forest: Based on Soil Extracellular Enzymes and Their Stoichiometric Ratios

LI Xinran^{1,2}, LIN Hao^{1,2}, CAO Pingli^{1,2}, LIN Weisheng^{1,2,3}, LIU Xiaofei^{1,2,3}, ZHONG Xianfang^{3*}, GUO Jianfen^{1,2,3}

(1 Fujian Sanming Forest Ecosystem National Observation and Research Station, Sanming, Fujian 365002, China; 2 Fujian Provincial Key Laboratory for Plant Eco-physiology, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; 3 Institute of Geography, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Three nitrogen application treatments viz. control (CK), low nitrogen(LN, N 40 kg/(hm²·a))and high nitrogen(HN, N 80 kg/(hm²·a))were set in a natural *Castanopsis carlesii* forest in the *Castanopsis kawakii* conservation area in Fujian Province, the changes of soil physicochemical properties, enzyme activities and their stoichiometric ratios under different nitrogen application years (4 years and 8 years) and different soil depths (0–10 cm and 10–20 cm) were studied to explore whether long-term nitrogen deposition aggravates soil phosphorus limitation in the subtropical areas. The results showed that:1) soil pH decreased after different years of nitrogen application, and soil dissolved organic nitrogen (DON) content in the 0–10 cm soil increased with the increase of nitrogen application. The content of microbial biomass nitrogen (MBN) decreased significantly in

①基金项目: 福建省科技厅对外合作项目(2022I0012), 福建省科技厅公益类项目(2021R1002004)和国家自然科学基金项目(32271717)资助。

* 通讯作者(xfzh@fjnu.edu.cn)

作者简介: 李欣冉(1999—), 女, 山西临汾人, 硕士研究生, 主要从事亚热带森林碳循环研究。E-mail: lixinran9912@163.com

the 0–10 cm soil layer but increased significantly in the 10–20 cm soil layer with the increase of nitrogen application for 4 years. Soil nitrate nitrogen in both soil layers increased with the increase of nitrogen application. The contents of microbial biomass carbon (MBC) and MBN in both soil layers under HN treatment were the lowest after 8 years of nitrogen application. The content of ammonium nitrogen in the 0–10 cm soil decreased significantly with the increase of nitrogen application, while the content of nitrate nitrogen increased significantly. 2) HN treatment increased β -glucosidase (β G) activities in both soil layers after different years of nitrogen application, but 8 years of HN treatment significantly decreased β -N-acetylglucosaminidase (NAG) activity in the 0–10 cm soil. Four years of LN and HN treatments significantly increased the activity of acid phosphatase (ACP) in the 0–10 cm soil, but significantly decreased ACP activity in the 10–20 cm soil. 3) Under different nitrogen application years, the vector angles of soil enzyme stoichiometric ratios at different soil depths were all greater than 45° , moreover, the vector angles of soil enzyme stoichiometric ratios under nitrogen application for 8 years were significantly greater than that for 4 years, indicating that long-term nitrogen application exacerbated soil microbial Phosphorus limitation. Under different nitrogen application years, the stoichiometric ratios of soil enzyme C : N : P were 1 : 1 : 2 in the 0–10 cm and 1 : 1 : 3 in the 10–20 cm soil layers, which deviated from the ratio of soil enzyme activity C : N : P in global ecosystem (1 : 1 : 1). 4) Redundancy analysis (RDA) showed that DON, MBN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ were the main factors regulating the changes of soil enzyme activities and stoichiometric ratios in two soil layers for different nitrogen application years. In conclusion, long-term nitrogen deposition significantly aggravates soil phosphorus limitation in subtropical regions.

Key words: Nitrogen deposition; Enzyme activity; Enzyme stoichiometry; Soil depth; Natural *Castanopsis carlesii* forest

19 世纪工业革命以来, 由于矿物燃料燃烧、含氮化肥的生产和使用等人类活动, 全球陆地大气排放的活性氮数量成比例增加, 预计到 2050 年全球活化氮的沉降量将增加 1 倍^[1]。目前, 北美、西欧和亚洲已经成为全球三大氮沉降热点地区, 氮沉降增加对土壤, 特别是森林土壤的影响已引起了科学家的广泛关注^[2]。

磷(P)是维持植物生长发育所必需的营养元素, 更是陆地生态系统得以正常运行的关键元素^[3]。土壤中磷的总含量在 0.02% ~ 0.2%, 相比其他营养元素, 土壤磷元素含量较低。据全国土壤普查资料估算, 我国缺磷土壤的面积达土壤总面积的 2/3^[4]。影响土壤磷有效性的因子有很多, 如土壤理化因子、土壤微生物、环境因子、不同的土地利用和耕作方式等^[5]。

目前有关氮沉降对土壤磷素的影响研究大多是基于植物、微生物、非生物因素等角度, 如方华和莫江明^[6]研究发现, 氮沉降会通过改变林下调落物的分解速率来改变土壤中的磷含量。同时, 植物和微生物在不同氮沉降强度下, 也会受到抑制或促进, 从而使土壤磷含量减少或增加^[7]。而氮沉降亦会通过影响土壤 pH 及其他理化性质来影响土壤酶的迁移和转化^[8]。如 Fan 等^[9]研究发现, 土壤微生物生物量碳磷比(C/P)会在氮沉降下失衡, 从而加剧土壤磷限制。此外, 还有研究通过土壤酶化学计量比来评估微生物碳、氮、磷养分资源需求状况。例如, 在温带草地的研究中, 氮沉降会加剧土壤磷限制^[10]; 基于土壤酶

活性化学计量比角度, 曾泉鑫等^[11]发现, 5 a 的氮添加显著加剧了毛竹林土壤微生物的碳磷限制; 林惠瑛等^[12]亦发现, 随着海拔梯度的升高, 武夷山黄山松林土壤微生物磷限制进一步加剧。氮沉降对土壤磷的影响也会因所处环境不同而发生变化, 例如在温带地区, 土壤有效磷、中等有效磷含量会因氮沉降而降低^[13]; 在热带地区, 长达 7 a 的氮沉降未显著改变土壤磷含量^[14]; 而在原本就存在磷限制的亚热带地区, 氮沉降会进一步加剧土壤的磷限制^[11]。总之, 前人的研究结果说明氮沉降对于土壤磷的影响是一种多因子调控的结果, 环境因素、施氮年限、施氮强度等都会影响土壤磷的变化。目前从土壤酶活性化学计量比角度出发研究长期氮沉降是否加剧土壤磷限制的研究仍有限。我国亚热带地区拥有世界上面积最大的常绿阔叶林, 被称为全球同纬度带的“绿洲”, 更是全世界亚热带生物多样性的中心^[15]。基于土壤胞外酶活性化学计量比, 开展亚热带森林长期氮沉降对土壤磷限制的研究, 有助于深入认识森林土壤养分循环调控机制。

基于以上, 本研究以福建三明格氏栲(*Castanopsis kawakii*)自然保护区的米槠天然林为研究对象, 通过设置不同年限、不同强度的氮沉降模拟试验, 从土壤酶活性及其化学计量比角度出发, 探讨长期施氮对亚热带地区土壤磷限制的影响, 并分析主要影响因素, 以进一步厘清长期氮沉降下亚热带森林土壤生态过程的响应及其调控机理, 为亚热带天然林的保护提供

理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地点位于福建省三明市格氏栲自然保护区(26°11'45" N, 117°28'38" E), 该保护区内气候属亚热带季风性气候, 年均温 19.4℃, 年均降水量 1 700 mm, 降水主要集中在 3—7 月, 年均蒸发量 1 585 mm, 相对湿度 81%。保护区内土壤类型主要是红壤, 生物种类较为丰富, 植物分层明显, 乔木优势种为米楮(*Castanopsis carlesii*)^[16]。

1.2 试验设计

2012 年 11 月在研究区内设置氮沉降长期试验样地, 共 12 块, 大小均为 20 m × 20 m, 各样地之间间隔 10 m 左右。

本研究以三明地区年平均氮沉降量(N 36 kg/(hm²·a))为参考值, 设置对照(CK, N 0 kg/(hm²·a)), 低氮(LN, N 40 kg/(hm²·a))和高氮(HN, N 80 kg/(hm²·a)) 3 种施氮处理, 每个处理 4 个重复。试验时, 按试验设置用量在 20 L 去离子水中加入 NH₄NO₃(分析纯), 充分溶解后进行施氮, 施氮时间为每月月初, 在各个样地的土壤表面以溶液的形式均匀喷洒, CK 处理则使用等量去离子水喷洒。

1.3 样品采集

分别于 2017 年 1 月和 2020 年 12 月按照“S”形取样法在每个样地随机选取 4 个取样点, 用土钻分层(0~10 cm 和 10~20 cm)采集土壤。各样点土壤混合均匀后, 用镊子挑除土壤中的动植物残体以及石块, 然后分成三份: 一份置于 4℃的冰箱保存用于测定土壤含水率(SWC)、pH、可溶性有机碳(DOC)、可溶性有机氮(DON)、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N; 一份在 -20℃冰箱保存, 用于土壤微生物指标的测定; 一份自然风干, 用于土壤全氮、全碳的测定。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 土壤基本理化性质的测定 采用烘干法测定土壤(SWC)^[17]; 采用水土质量比 2.5:1, 玻璃电极计法测定土壤 pH^[17]; 采用 20 mL 去离子水浸提 5 g 土壤, 250 r/min 振荡 30 min, 4 000 r/min 离心 30 min 后, 用 0.45 μm 玻璃纤维滤膜对浸提溶液进行抽滤, 滤液中 DOC 使用总有机碳分析仪(TOC-VCPH, 日本)测定, DON 使用连续流动分析仪(Skalar San++, 荷兰)测定^[18]; 土壤 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 采用 20 mL 2 mol/L KCl 溶液浸提 5 g 鲜土, 于 250 r/min 振荡 30 min, 4 000 r/min 离心 30 min 后,

用 0.45 μm 中速定量滤纸过滤, 最后使用连续流动分析仪(Skalar San++, 荷兰)测定^[19]。此外, 土壤全氮、全碳的测定采用土壤碳氮元素分析仪(Elemental Analyzer Vario ELIII, 德国)^[17], 并计算碳氮比(C:N)。

1.4.2 土壤微生物生物量的测定 使用氯仿熏蒸-硫酸钾浸提法^[20]对微生物生物量碳(MBC)和氮(MBN)进行提取, 再分别使用总有机碳分析仪(TOC-VCPH/CPN, 日本)和连续流动分析仪(Skalar San++, 荷兰)测定。

1.4.3 土壤酶活性的测定 3 种水解酶的活性使用 Saiya-Cork 等^[21]方法测定: 称取 1 g 土壤加入装有 125 mL pH 5.0 50 mmol/L 醋酸缓冲液的广口瓶中, 用磁力搅拌器搅拌 5 min, 使土壤和溶液均质化; 再使用移液器取 200 μL 悬浮液, 添加到 96 孔微孔板; 将微孔板置于黑暗、20℃条件下培养 4 h, 再加入 10 μL 1 mol/L NaOH 溶液; 最后, 使用多功能酶标仪(Synergy H, 美国)测定土壤酶活性。3 种水解酶的缩写及其底物信息见表 1。

表 1 3 种酶的缩写、类型及底物信息
Table 1 Abbreviations, types and substrate information of activities of three enzymes

酶	缩写	类型	底物
β-葡萄糖苷酶	βG	碳获取酶	4-MUB-β-D-glucoside
β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶	NAG	氮获取酶	4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide
酸性磷酸酶	ACP	磷获取酶	4-MUB-phosphate

1.5 数据处理

首先对所有测定指标进行正态分布检验和 F 检验, 以检验数据的正态分布和方差齐性。采用 ln(βG):ln(NAG)作为土壤酶化学计量碳氮比(C:N), ln(βG):ln(ACP)作为土壤酶化学计量碳磷比(C:P), ln(NAG):ln(ACP)作为土壤酶化学计量氮磷比(N:P)^[22]。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)并使用 LSD 法检验不同施氮量、土壤深度之间土壤基本理化、土壤胞外酶活性及其化学计量比的差异(P<0.05), 施氮年限、施氮量和土壤深度之间的交互影响则使用双因素方差分析(two-way ANOVA)检验。以不同深度土壤胞外酶活性及其化学计量比作为响应变量, 土壤理化性质和微生物生物量作为解释变量进行冗余分析(RDA)。本研究的统计分析利用 SPSS 26.0 完成, 所有数据处理和图形绘制则利用 Origin 2021、CANOCO 5.0 和 AI 2021 软件完成。

此外, 利用土壤酶化学计量的矢量分析, 预测微

生物资源限制^[23], 具体公式如下。

$$VL = \sqrt{\left[\frac{\ln(\beta G)}{\ln(NAG)} \right]^2 + \left[\frac{\ln(\beta G)}{\ln(ACP)} \right]^2} \quad (1)$$

$$VA = \text{Degrees} \left\{ \text{ATAN2} \left[\frac{\ln(\beta G)}{\ln(ACP)}, \frac{\ln(\beta G)}{\ln(NAG)} \right] \right\} \quad (2)$$

式中: VL 表示向量长度, VL 越大表示碳限制越大; VA 表示矢量角度, $VA < 45^\circ$ 表示相对氮限制, $VA > 45^\circ$ 为磷限制, 偏离程度越大, 限制越强^[24]。

2 结果与分析

2.1 不同施氮年限下不同施氮量土壤理化性质

由表 2 数据可知, 施氮 4 a 后, 各土层不同处理土壤含水率无显著变化($P > 0.05$)。在 0 ~ 10 cm 土层

中, 与 CK 处理相比, LN、HN 处理 pH 显著下降, 而 DOC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量无显著变化($P > 0.05$); 而与 CK、LN 处理相比, C : N 和 MBN 含量在 HN 处理下显著下降; DON 含量在 HN 处理下最高, MBC 含量在 LN 处理下最高, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量则随着施氮量的增加而显著增加($P < 0.05$)。在 10 ~ 20 cm 土层中, 不同处理间 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 MBC 含量无显著变化($P > 0.05$), DOC 和 DON 含量在 LN 处理下最高, pH 在 HN 处理下达到最低值; 与 CK、LN 处理相比, 在 HN 处理下 C : N 显著增加; 与 CK 处理相比, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量在 LN、HN 处理下显著增加, 而 MBN 含量则随施氮量的增加而明显增加。整体上, 随着土层的加深, 土壤 pH 显著增加, 土壤含水量、C : N 及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、MBC 和 MBN 含量均显著下降。

表 2 2017 年不同施氮量下不同深度土壤理化性质
Table 2 Soil physiochemical properties at different depths under different nitrogen application rates in 2017

指标	土层 (cm)	施氮处理			方差分析		
		CK	LN	HN	S	T	S×T
SWC(%)	0 ~ 10	0.33 ± 0.05 Aa	0.37 ± 0.07 Aa	0.31 ± 0.02 Aa	**	ns	ns
	10 ~ 20	0.22 ± 0.02 Ba	0.25 ± 0.02 Ba	0.24 ± 0.02 Ba			
pH	0 ~ 10	4.05 ± 0.03 Ba	3.93 ± 0.07 Bb	3.90 ± 0.09 Bb	**	**	ns
	10 ~ 20	4.19 ± 0.02 Aa	4.18 ± 0.02 Aa	4.09 ± 0.07 Ab			
DOC(mg/kg)	0 ~ 10	53.37 ± 8.23 Aa	54.4 ± 8.26 Aa	48.8 ± 9.45 Aa	**	**	**
	10 ~ 20	10.37 ± 0.96 Bc	50.46 ± 4.61 Aa	33.23 ± 4.01 Bb			
DON(mg/kg)	0 ~ 10	2.67 ± 0.69 Ab	2.84 ± 0.76 Ab	4.12 ± 0.30 Aa	**	*	**
	10 ~ 20	1.81 ± 0.21 Ab	3.21 ± 0.54 Aa	2.02 ± 0.91 Bb			
C : N	0 ~ 10	16.13 ± 1.24 Aab	16.96 ± 1.63 Aa	14.51 ± 0.67 Ab	**	ns	**
	10 ~ 20	7.72 ± 1.09 Bb	9.01 ± 0.32 Bb	10.95 ± 1.25 Ba			
$\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/kg)	0 ~ 10	9.31 ± 0.48 Aa	9.86 ± 1.66 Aa	11.19 ± 2.24 Aa	**	ns	ns
	10 ~ 20	5.37 ± 0.71 Ba	5.54 ± 0.31 Ba	6.43 ± 1.00 Ba			
$\text{NO}_3^+\text{-N}$ (mg/kg)	0 ~ 10	2.28 ± 0.31 Ac	4.59 ± 0.17 Ab	7.91 ± 0.97 Aa	**	**	**
	10 ~ 20	1.34 ± 0.76 Ab	2.61 ± 0.76 Ba	3.59 ± 0.66 Ba			
MBC(mg/kg)	0 ~ 10	448.74 ± 103.21 Ab	562.48 ± 54.12 Aa	424.69 ± 27.98 Ab	**	ns	**
	10 ~ 20	196.31 ± 18.17 Ba	192.2 ± 16.84 Ba	231.08 ± 44.65 Ba			
MBN(mg/kg)	0 ~ 10	41.26 ± 4.62 Aa	40.15 ± 2.57 Aab	32.54 ± 6.81 Ab	**	ns	**
	10 ~ 20	8.88 ± 0.06 Bc	14.48 ± 3.00 Bb	19.27 ± 1.20 Ba			

注: 表中数据为平均值 ± 标准差($n=4$); 同行不同小写字母表示同一土层不同处理间差异显著, 不同大写字母表示同一处理不同土层间差异显著($P < 0.05$); 方差分析中, S 表示土层, T 表示施氮量, ns、*、** 分别表示影响不显著($P > 0.05$)、显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$); 下同。

而施氮 8 a 后, 与 CK 处理相比, 各深度土壤含水率在 HN 处理下显著下降($P < 0.05$)(表 3)。在 0 ~ 10 cm 土层中, LN 和 HN 处理均显著降低了 pH、MBN 含量, 显著增加了 DOC 含量; HN 处理使 DON 含量显著增加, 而使 C : N 显著降低; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量随着施氮量增加而显著降低, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量则随着施氮

量增加而显著增加。在 10 ~ 20 cm 土层中, HN 处理下土壤 pH、C : N 及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、MBC、MBN 含量均显著低于 CK 和 LN 处理, 但 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量则相反; 与 CK 处理相比, LN 和 HN 处理下土壤 DOC 含量明显更高, 但不同处理间土壤 DON 含量差异不显著。整体上, 随着土层的加深, 土壤 pH 显著增加, DOC、

DON、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、MBN 含量均显著下降，而土壤含水率和 C : N 则无显著变化。 $(P<0.01)$ ， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DOC、C : N、MBC 和 MBN 受到施氮年限、施氮量和土层三者交互影响 $(P<0.05)$ (表 4)。

方差分析显示,施氮年限显著影响土壤理化性质

表 3 2020 年不同施氮量下不同深度土壤理化性质
Table 3 Soil physiochemical properties at different depths under different nitrogen application rates in 2020

指标	土层 (cm)	施氮处理			方差分析		
		CK	LN	HN	S	T	S×T
SWC(%)	0 ~ 10	0.20 ± 0.01 Aa	0.18 ± 0.02 Aab	0.15 ± 0.03 Ab	ns	**	ns
	10 ~ 20	0.20 ± 0.01 Aa	0.18 ± 0.02 Aab	0.17 ± 0.02 Ab			
pH	0 ~ 10	4.09 ± 0.06 Ba	3.94 ± 0.03 Bb	3.96 ± 0.04 Bb	**	**	ns
	10 ~ 20	4.28 ± 0.02 Aa	4.22 ± 0.03 Aab	4.18 ± 0.06 Ab			
DOC(mg/kg)	0 ~ 10	16.45 ± 0.52 Ac	24.54 ± 0.69 Aa	21.97 ± 0.72 Ab	**	**	**
	10 ~ 20	10.7 ± 0.40 Bb	15.19 ± 0.71 Ba	15.1 ± 0.69 Ba			
DON(mg/kg)	0 ~ 10	8.79 ± 0.29 Ab	10.44 ± 1.61 Aab	10.7 ± 0.78 Aa	**	*	ns
	10 ~ 20	4.68 ± 0.81 Ba	5.06 ± 0.65 Ba	4.91 ± 0.51 Ba			
C : N	0 ~ 10	15.73 ± 1.16 Aa	15.38 ± 1.15 Aab	13.90 ± 0.48 Ab	*	**	ns
	10 ~ 20	14.82 ± 0.76 Aa	14.57 ± 0.49 Aa	13.33 ± 0.80 Ab			
$\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/kg)	0 ~ 10	12.96 ± 1.03 Aa	11.53 ± 0.61 Ab	10.17 ± 0.36 Ac	**	**	*
	10 ~ 20	8.48 ± 0.28 Ba	8.11 ± 0.50 Ba	7.22 ± 0.40 Bb			
$\text{NO}_3^-\text{-N}$ (mg/kg)	0 ~ 10	5.87 ± 0.29 Ac	7.77 ± 1.32 Ab	10.46 ± 1.00 Aa	**	**	ns
	10 ~ 20	4.61 ± 0.70 Bb	5.12 ± 0.70 Bb	8.45 ± 0.63 Ba			
MBC(mg/kg)	0 ~ 10	613.57 ± 68.75 Aa	663.06 ± 47.85 Aa	591.43 ± 52.49 Aa	**	**	ns
	10 ~ 20	557.91 ± 25.34 Aa	606.8 ± 19.9 Aa	448.07 ± 74.93 Bb			
MBN(mg/kg)	0 ~ 10	75.58 ± 3.13 Aa	63.39 ± 1.24 Ab	59.81 ± 3.98 Ab	**	**	ns
	10 ~ 20	57.91 ± 6.6 2Ba	43.25 ± 3.17 Bb	34.88 ± 3.98 Bc			

表 4 施氮年限、施氮量、土层及其交互作用对土壤理化性质影响的显著性
Table 4 Effect significances of nitrogen application years and rates, soil layer and their interactions on soil physicochemical properties

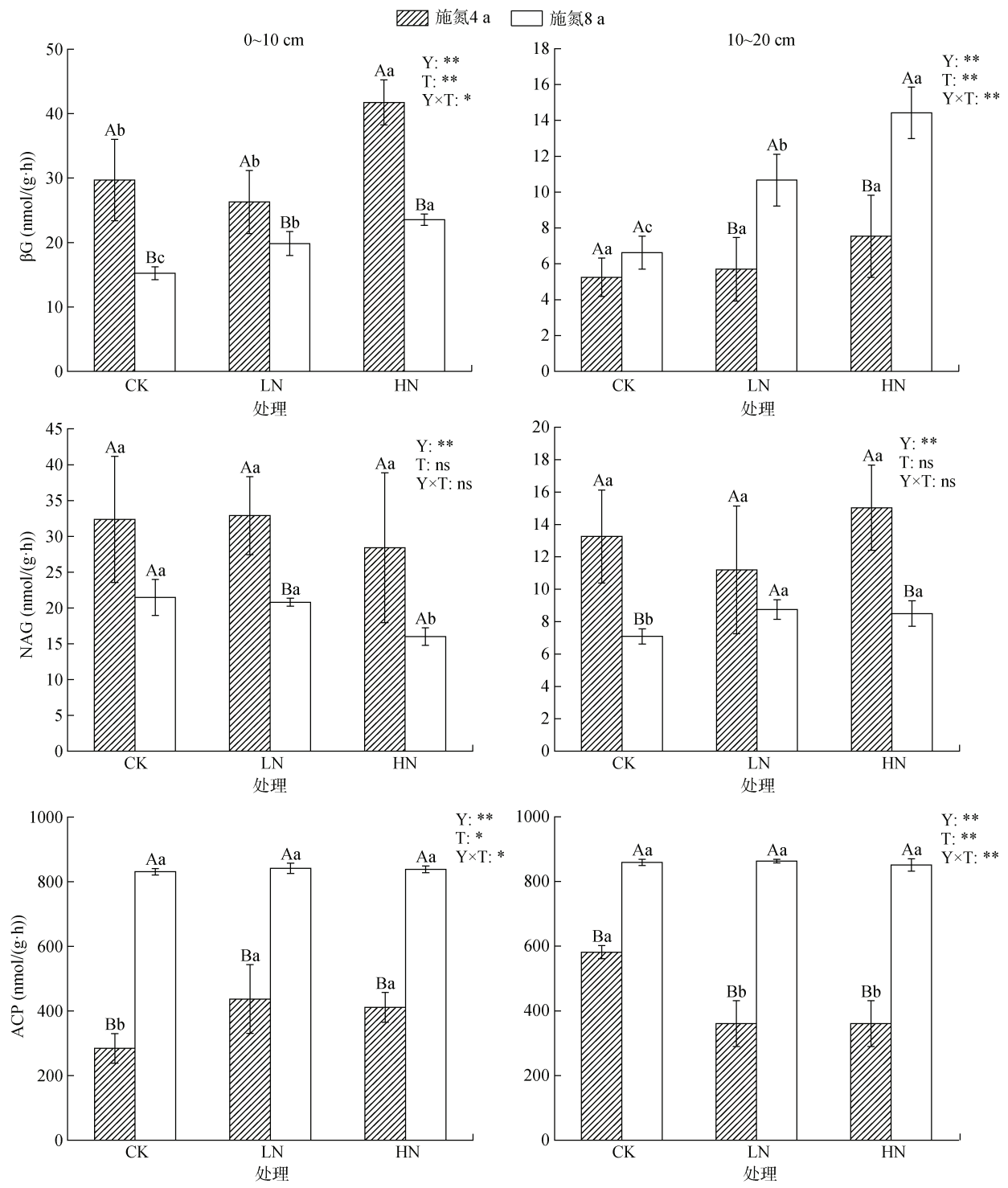
指标	S	T	Y	S×T	S×Y	T×Y	S×T×Y
SWC	**	*	**	ns	**	*	ns
pH	**	**	**	*	ns	ns	ns
DOC	**	**	**	**	**	**	**
DON	**	**	**	*	**	ns	ns
C : N	**	ns	**	**	**	**	**
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	**	ns	**	ns	ns	**	ns
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	**	**	**	**	ns	ns	*
MBC	**	**	**	ns	**	ns	**
MBN	**	**	**	ns	ns	**	**

注：表中 Y 表示施氮年限。

2.2 不同施氮年限下不同施氮量土壤酶活性

由图 1 可知，在 0 ~ 10 cm 土层，施氮 4 a 和 8 a 后 HN 处理下 βG 活性均显著增加 $(P<0.05)$ ；而在 10 ~ 20 cm 土层,施氮 4 a 对 βG 活性无显著影响,施氮 8 a 则显著增强了 βG 活性。对于 NAG，施氮 4 a 对两个土层 NAG 活性均无显著影响；而在施氮 8 a 后，HN 处理下 0 ~ 10 cm 土层中 NAG 活性显著降低，10 ~

20 cm 土层中 LN 和 HN 处理下土壤 NAG 活性均显著增加。对于 ACP，施氮 4 a 后，与 CK 处理相比，LN 和 HN 处理下 0 ~ 10 cm 土层中 ACP 活性显著增加，10 ~ 20 cm 土壤层中 ACP 活性则显著下降；而施氮 8 a 对 ACP 活性无显著影响。施氮年限显著影响土壤酶活性 $(P<0.01)$ ， βG 和 ACP 活性受到施氮年限和施氮量二者交互影响 $(P<0.05)$ (图 1)。



(图上方不同小写字母表示同一年限同一土层不同施氮处理间差异显著($P < 0.05$), 不同大写字母表示同一施氮处理同一土层不同年限间差异显著($P < 0.05$); 方差分析中, S 表示土层, T 表示施氮量, Y 表示施氮年限, ns、*、**分别表示影响不显著($P > 0.05$)、显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$))

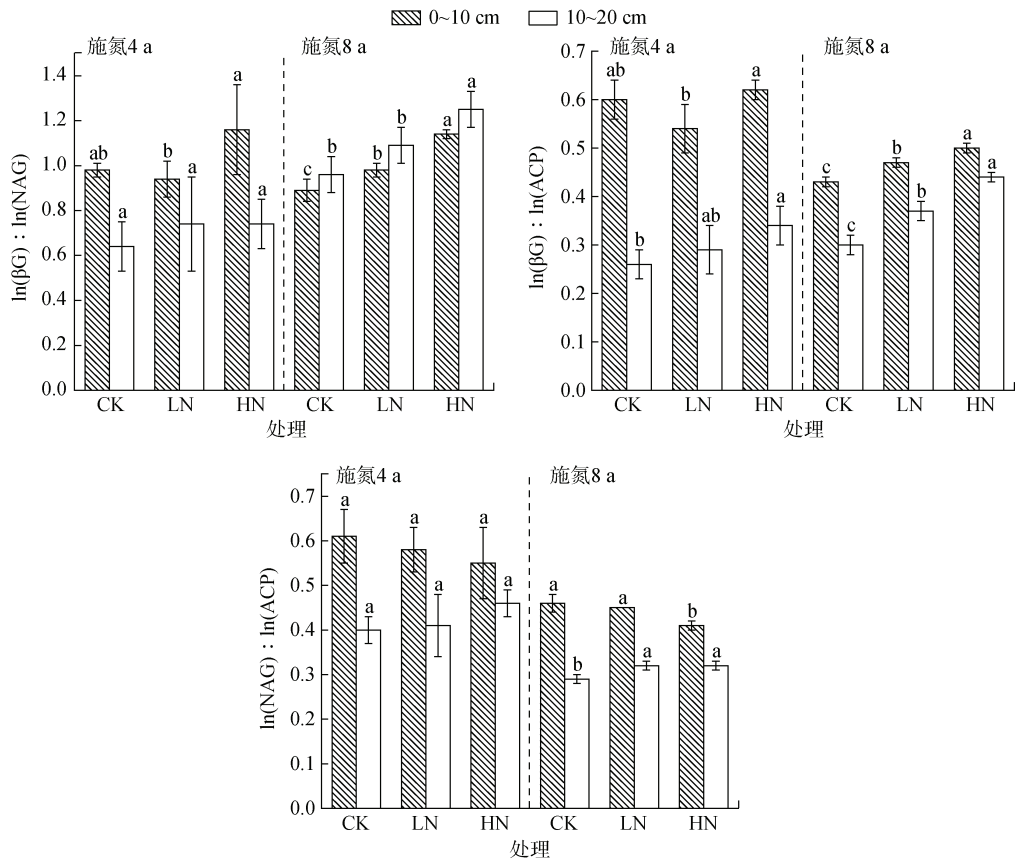
图 1 不同施氮处理下不同深度土壤酶活性

Fig. 1 Soil enzyme activities at different depths under different nitrogen application treatments

2.3 不同施氮年限下不同施氮量土壤酶化学计量比
施氮 4 a 后, 与 CK、LN 处理相比, HN 处理下 0 ~ 10 cm 土层中 $\ln(\beta G) : \ln(NAG)$ 以及两土层 $\ln(\beta G) : \ln(ACP)$ 均显著提高, 但两土层 $\ln(NAG) :$

$\ln(ACP)$ 均无显著变化(图 2) 10 ~ 20 cm 土层 $\ln(\beta G) : \ln(NAG)$ 、 $\ln(\beta G) : \ln(ACP)$ 和 $\ln(NAG) : \ln(ACP)$ 均显著低于 0 ~ 10 cm 土层。施氮 8 a 后, 与 CK、LN 处理相比, HN 处理下各土层 $\ln(\beta G) : \ln(NAG)$ 明显提

高，且随着土层的增加而增加(图 2)；HN 处理下 0 ~ 10 cm 土层 $\ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 显著低于 CK 和 LN 处理；10 ~ 20 cm 土层 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{ACP})$ 和 $\ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 均显著低于 0 ~ 10 cm 土层。



(图中不同小写字母表示同一土层不同处理间差异显著($P < 0.05$)；图 3、图 4 同)

图 2 不同施氮处理下不同深度土壤酶化学计量比

Fig. 2 Soil enzyme stoichiometric ratios at different depths under different nitrogen application treatments

不同施氮年限下，两土层在不同施氮量下土壤酶化学计量比的向量角度均 $> 45^\circ$ ，但施氮 8 a 的向量角度显著大于施氮 4 a 的向量角度(图 3)。

施氮 4 a 后，各土层土壤酶化学计量比的向量长度随着施氮量的增加而显著增加(图 4)。施氮 8 a 后，0 ~ 10 cm 土层，土壤酶化学计量比的向量长度随着施氮量的增加而显著增加；10 ~ 20 cm 土层，HN 处理下土壤酶化学计量比向量长度显著大于 CK 和 LN 处理，而 CK 和 LN 处理之间差异不显著。

2.4 土壤酶活性及其化学计量比与土壤理化性质的冗余分析

冗余分析结果(图 5)表明，施氮 4 a 后，在 0 ~ 10 cm 土层中，DON 含量显著影响土壤酶活性及其化学计量比，解释了土壤酶活性及其化学计量比变化的 28.2%；DON 含量与 βG 活性呈正相关，与 NAG 和 ACP 活性呈负相关，并且 DON 含量与 $\ln(\beta\text{G}) :$

土壤酶化学计量比 $\text{C} : \text{N} : \text{P}$ 用 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 表示，不同施氮年限下 0 ~ 10 cm 和 10 ~ 20 cm 土层土壤酶化学计量比 $\text{C} : \text{N} : \text{P}$ 分别为 1 : 1 : 2 和 1 : 1 : 3。

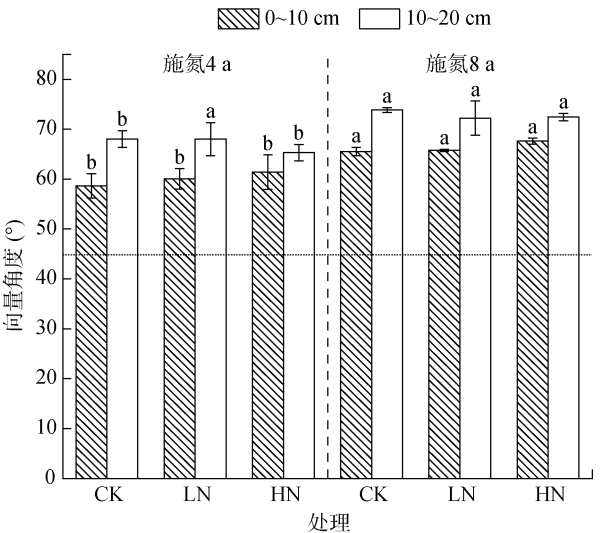


图 3 不同施氮处理下不同深度土壤酶化学计量比向量角度

Fig. 3 Vector angles of soil enzyme stoichiometric ratios at different depths under different nitrogen application treatments

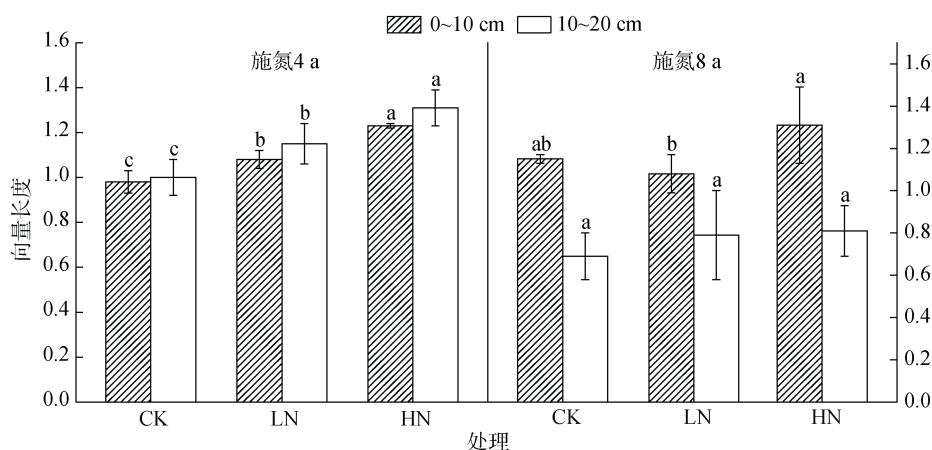


图 4 不同施氮处理下不同深度土壤酶化学计量比向量长度

Fig. 4 Vector lengths of soil enzyme stoichiometric ratios at different depths under different nitrogen application treatments

$\ln(\text{NAG})$ 和 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{ACP})$ 呈正相关,与 $\ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 呈负相关。在 10~20 cm 土层中,MBN 含量与土壤酶活性显著相关,解释了土壤酶活性及其化学计量比变化的 27.6%,且与 βG 和 NAG 活性呈正相关,与 ACP 活性呈负相关(图 5)。

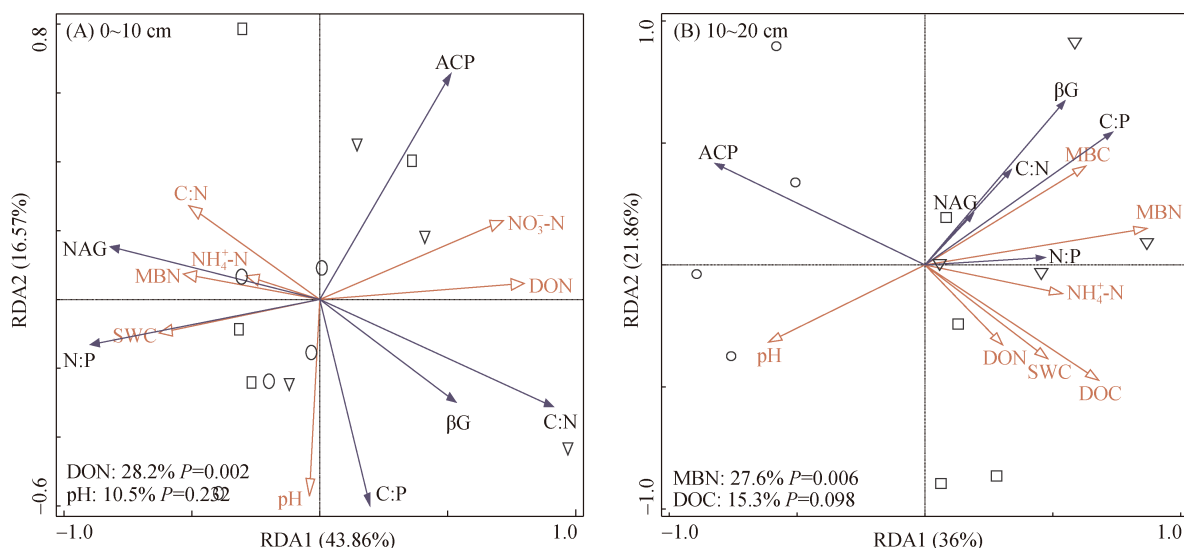
施氮 8 a 后,在 0~10 cm 土层中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与土壤酶活性及其化学计量比显著相关,解释了土壤酶活性及其化学计量比变化的 67.0%; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与 NAG 活性呈正相关,与 βG 和 ACP 活性呈负相关,并且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与 $\ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 呈正相关,与 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{NAG})$ 和 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{ACP})$ 呈负相关(图 6)。在 10~20 cm 土层中,MBN 含量与土壤酶活性及其化学计量比显著相关,解释了其变化的 71.6%,其中与 βG 和 NAG 活性呈负相关,与 ACP 活性呈正相关,

与 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{NAG})$ 、 $\ln(\beta\text{G}) : \ln(\text{ACP})$ 和 $\ln(\text{NAG}) : \ln(\text{ACP})$ 均呈负相关(图 6)。

3 讨论

3.1 氮沉降对土壤理化性质的影响

本研究发现,不同施氮年限下 LN 处理各土层土壤 DOC 含量显著提高,这为微生物生长提供更多的能量来源,微生物活性增强^[25]。此外,施氮 4 a 后土壤中有效氮(主要是 $\text{NO}_3^+\text{-N}$)含量增加;而在施氮 8 a 的情况下,随着施氮量的增加 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量显著增加, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著降低。这可能受降水、温度等因素影响,长期施氮导致土壤有效氮含量增加,当超过该森林生态系统的氮需求时,土壤中微生物硝化作用加强,产生了更多的 $\text{NO}_3^+\text{-N}$,而土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被硝化



(图中○为对照处理,□为低氮处理,▽为高氮处理;下图同)

图 5 2017 年不同施氮量下不同深度土壤酶活性及其化学计量比的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analyses of soil enzyme activities and stoichiometric ratios at different depths under different nitrogen application rates in 2017

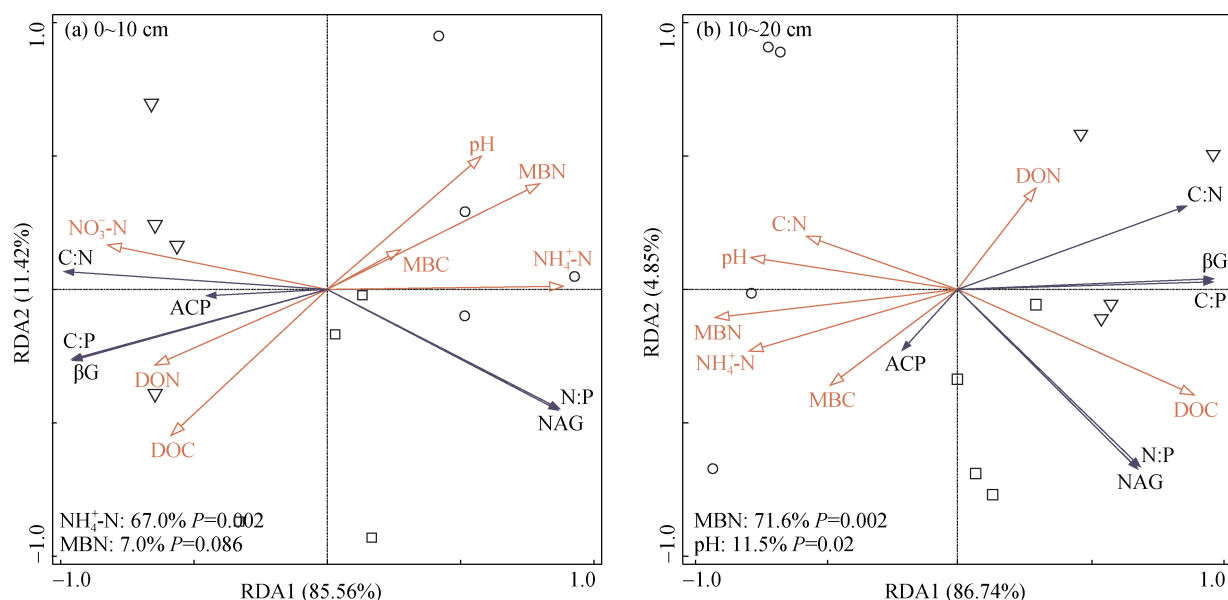


图6 2020年不同施氮量下不同深度土壤酶活性及其化学计量比的冗余分析

Fig. 6 Redundancy analyses of soil enzyme activities and stoichiometric ratios at different depths under different nitrogen application rates in 2020

细菌消耗, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量下降^[26](表2)。本研究还发现, DON 含量在氮沉降处理中增加, 这与 Fan 等^[27]研究结果一致。部分 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是 DON 被微生物利用分解转化而成, 这可能也是氮沉降导致 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量增加的原因之一。

土壤微生物生物量是土壤中最活跃易变的部分, 其直接参与调控土壤养分循环^[28]。本研究中, 不同施氮年限下 MBC 和 MBN 含量随着土层的变化呈现出不同的结果。施氮 4 a 和 8 a 后, 0~10 cm 土层中的 MBC 含量在 LN 处理下达到最高值。LN 处理下土壤中的氮有效性增加, C:N 降低, 土壤微生物对土壤有机质的利用、分解效率提高, MBC 含量增加。与之不同的是施氮 8 a 后, HN 处理减少 MBC 和 MBN 含量, 这可能是由于长期施氮导致土壤中的 NO_3^- 含量显著增加, 土壤酸化(表2), 这一方面会抑制微生物生长^[16], 另一方面也会导致植物在地下分配的养分减少^[28], 因此, 土壤微生物的养分获取能力被削弱, MBC 和 MBN 含量下降。王晖等^[29]研究亦发现, LN 处理会促进亚热带地区土壤 MBC 含量增加, 但在 HN 处理下则降低。因此, 氮沉降所造成的土壤酸化可能是影响土壤微生物生物量的关键因子。

3.2 氮沉降对土壤胞外酶活性及其化学计量比的影响

本研究中, 施氮 4 a 后, 各土层 βG 活性虽有所增加但不显著, 这可能是由于施氮年限较短的原因; 而在施氮 8 a 后, 各土层 βG 活性显著增加, 且在 10~20 cm 土层中 βG 活性显著高于施氮 4 a。范跃新^[30]

早期的研究也发现, 施氮 6 a 的土壤 βG 活性要比施氮 4 a 的显著增加。这主要是因为长期氮沉降提高了凋落物的分解速率, βG 活性随之增加。此外, 不同施氮量也会影响土壤酶活性, 如沈芳芳等^[31]研究表明亚热带杉木人工林土壤 βG 活性在 LN 处理下增加, 而在 HN 处理下受到抑制。这进一步说明土壤 βG 活性受施氮的影响较为复杂, 包含许多因子的参与, 施氮量、施氮年限、季节等都会在不同程度上影响土壤 βG 活性。

本研究中, 施氮 4 a 后各土层 NAG 活性变化均不显著, 施氮 8 a 后 0~10 cm 土壤 NAG 活性呈现下降趋势, 这与曹平丽等^[32]研究结果不同。这可能是因为当土壤氮有效性较低时, 微生物需要通过消耗自身生长所需的养分来生产 NAG; 当土壤处于氮饱和和状态时, 微生物生长代谢所需得到满足, 就会降低对 NAG 的投资, 使得 NAG 活性呈现下降趋势^[32]。可见, 这说明长期氮沉降会通过影响土壤微生物的养分需求或微生物分泌酶的能力, 间接影响土壤酶活性。

本研究中, 施氮 8 a 后不同施氮处理下 ACP 活性无明显变化, 但与施氮 4 a 相比, 施氮 8 a 后 ACP 活性均显著增加(图1), 这一发现符合亚热带森林土壤磷有效性低的已有认知^[33]。与温带森林相比, 低磷有效性在土壤高度风化的亚热带生态系统中很常见^[34]。在长达 8 a 的施氮处理下, 土壤微生物和植物对磷养分的竞争加剧, 土壤中一部分磷元素被植物根系所吸收, 进而导致土壤中微生物可利用的磷含量减少^[16]。总之, 氮添加对土壤 ACP 活性的影响较复杂,

主要与施氮量、施氮年限、研究区域的气候和土壤环境因素等有关。国内外大多学者研究认为,施氮年限的长短与土壤理化和生物性质的变化密不可分,进而会间接影响土壤 ACP 活性和磷有效性^[33-34]。

土壤酶化学计量比是衡量土壤微生物对碳、氮、磷养分需求的重要指标,也反映了土壤有机质和土壤微生物生物量之间的平衡状态^[35]。本研究中,不同施氮年限土壤 0~10 cm 土层碳、氮、磷酶活性对数转换后的比值均为 1:1:2,10~20 cm 土层均为 1:1:3,均与全球生态系统 1:1:1 的比值相偏离^[36],这表明研究区域内不同深度土壤磷素均相对缺乏。施氮 4 a 后 $\ln(\beta G): \ln(ACP)$ (0.44)低于全球生态系统的平均值(0.62),但 $\ln(NAG): \ln(ACP)$ (0.50)则高于全球生态系统的平均值(0.44);施氮 8 a 后 $\ln(\beta G): \ln(ACP)$ 和 $\ln(NAG): \ln(ACP)$ (0.39 和 0.37)分别低于全球生态系统的平均值(0.62 和 0.44)^[35],这进一步表明长期施氮显著加剧了土壤磷限制。

本研究中,随着施氮年限的增加, $\ln(\beta G): \ln(NAG)$ 和 $\ln(\beta G): \ln(ACP)$ 显著升高,而 $\ln(NAG): \ln(ACP)$ 显著降低,其中施氮 8 a 变化更为显著,这表明在亚热带生态系统中,微生物群落的磷限制大于氮限制^[30],且长期施氮会加剧磷限制。全球性研究也表明,土壤和微生物群落的养分限制一般为:磷限制>氮限制>碳限制^[37]。此外,有研究认为,在磷有效性低的亚热带地区,持续的氮添加可能会加剧土壤微生物磷限制^[38]。本研究中,土壤酶化学计量的矢量分析也印证了这一观点,不同施氮年限下不同深度土壤碳、氮、磷酶活性的向量角度均大于 45°,但施氮 8 a 的向量角度显著大于施氮 4 a,表明随着施氮年限增加,土壤微生物磷限制加剧。这可能是因为亚热带地区土壤盐基离子含量较低,且富含铁铝氧化物,土壤微生物更容易吸收土壤磷,因此在土壤高度风化的亚热带地区,长时间的氮沉降使得土壤微生物可利用性磷含量减少,从而加剧土壤的磷限制^[39]。早前的研究也认为,在亚热带地区森林生态系统中,土壤磷元素是限制性养分之一,当土壤微生物处于磷限制的情况下,为了进一步提高土壤有机磷的矿化,微生物会通过分泌更多与磷相关的酶来提高土壤磷有效性,从而缓解自身磷限制的问题^[40]。

3.3 影响土壤胞外酶活性及其化学计量比的主要因素

本研究冗余分析结果显示,不同施氮年限下影响土壤胞外酶活性及其化学计量比的因子各不相同。在施氮 4 a 下,DON 含量是调控 0~10 cm 土层土壤胞

外酶活性及化学计量比的主要因子。Cusack^[41]研究表明,土壤有机氮是微生物生长不可或缺的关键营养,在土壤酶活性变化中起着举足轻重的作用。短期施氮使得土壤有机氮含量增加,为了获取更多的营养物质,土壤微生物对有机氮进行分解和利用,从而刺激土壤酶活性及其化学计量比的变化。此外,MBN 和 DOC 含量是调控 10~20 cm 土层土壤胞外酶活性的主要因子。这主要是由于短期施氮后该土层 MBN 含量增加(表 2),对微生物活动产生有利影响,从而导致土壤酶活性的变化^[26]。土壤 DOC 含量反映土壤微生物的活性,为微生物生长提供营养^[16]。短期施氮后,DOC 含量增加,微生物可以从土壤中汲取更多的营养来促进自身生长,其活性进一步提高,刺激土壤酶活性的变化。

本研究中,在施氮 8 a 后,0~10 cm 土层 NH_4^+-N 含量与土壤胞外酶活性及化学计量比的相关性较强。由于长期施氮, NH_4^+-N 和 MBN 含量随着施氮量的持续增加而降低,其含量的减少使微生物可利用的 NH_4^+-N 含量减少,微生物活性减弱,这在一定程度上降低了微生物分泌胞外酶的能力,使 NAG 活性呈现下降状态, $\ln(NAG): \ln(ACP)$ 也相应地呈下降趋势。与 0~10 cm 土层相比,10~20 cm 土层土壤 βG 和 NAG 酶活性显著降低,MBN 含量显著影响该土层 βG 和 NAG 酶活性。这可能是因为一方面土壤含水量和氧气含量随土层深度的加深而减少,土壤中 MBC 和 MBN 含量下降,从而导致 βG 和 NAG 活性降低^[27];另一方面,由于土壤微生物的硝化作用会产生 H^+ ,加之长时间施氮,导致土壤酸化,阳离子的淋失加剧,土壤微生物生长所需营养被限制,从而影响土壤胞外酶活性^[37]。MBN 含量也显著影响该层土壤酶活性化学计量比,长期施氮可能造成了土壤的氮饱和,MBN 含量下降, $\ln(\beta G): \ln(NAG)$ 和 $\ln(\beta G): \ln(ACP)$ 显著增加, $\ln(NAG): \ln(ACP)$ 则显著下降,土壤微生物对碳相关酶的投资高于对氮、磷相关酶的投资,进而加剧了该地区的磷限制^[42]。与 0~10 cm 土层向量长度相比,该土层土壤酶化学计量比向量长度的降低也说明 10~20 cm 土层微生物的碳限制减小。

4 结论

1)施氮 4 a 仅显著影响各土层 ACP 活性,在 LN、HN 处理下 0~10 cm 土层 ACP 酶活性显著升高,10~20 cm 土层 ACP 活性显著下降;而施氮 8 a 显著增强了各土层 βG 活性,在 HN 处理下各土层的 NAG 活性显著降低,各处理 ACP 活性则无显著变化。

2)不同施氮年限下, $\ln(\beta G) : \ln(NAG)$ 和 $\ln(\beta G) : \ln(ACP)$ 在 HN 处理下均显著增加, 施氮 4 a 的 $\ln(NAG) : \ln(ACP)$ 变化不显著, 施氮 8 a 的 $\ln(NAG) : \ln(ACP)$ 则显著下降。不同施氮年限下亚热带森林土壤酶 C : N : P 化学计量比低于全球生态系统土壤酶 C : N : P 比值, 表明亚热带地区土壤存在磷素限制, 且在长期施氮下土壤磷限制加剧。

3)DON、MBN 和 NH_4^+-N 是调控不同施氮年限、不同深度土层下土壤酶活性及其化学计量比的主要因子。

参考文献:

- [1] 郑裕雄, 曹际玲, 杨智杰, 等. 氮沉降对亚热带常绿阔叶天然林不同季节土壤微生物群落结构的影响[J]. 土壤学报, 2018, 55(6): 1534–1544.
- [2] 郑翔, 刘琦, 曹敏敏, 等. 森林土壤氧化亚氮排放对氮输入的响应研究进展[J]. 土壤学报, 2022, 59(5): 1190–1203.
- [3] 郑威, 李晨曦, 谭玲, 等. 南亚热带桉树人工林与典型乡土树种人工林土壤磷组分及磷吸附特性比较[J]. 土壤, 2020, 52(5): 1017–1024.
- [4] 来璐, 郝明德, 彭令发. 土壤磷素研究进展[J]. 水土保持研究, 2003, 10(1): 65–67.
- [5] 宋春, 韩晓增. 长期施肥条件下土壤磷素的研究进展[J]. 土壤, 2009, 41(1): 21–26.
- [6] 方华, 莫江明. 氮沉降对森林凋落物分解的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(9): 3127–3136.
- [7] 刘修元, 杜恩在, 徐龙超, 等. 落叶松原始林树木生长对氮添加的响应[J]. 植物生态学报, 2015, 39(5): 433–441.
- [8] Wang C, Lu X K, Mori T, et al. Responses of soil microbial community to continuous experimental nitrogen additions for 13 years in a nitrogen-rich tropical forest[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 121: 103–112.
- [9] Fan Y X, Lin F, Yang L M, et al. Decreased soil organic P fraction associated with ectomycorrhizal fungal activity to meet increased P demand under N application in a subtropical forest ecosystem[J]. Biology and Fertility of Soils, 2018, 54(1): 149–161.
- [10] Dong C C, Wang W, Liu H Y, et al. Temperate grassland shifted from nitrogen to phosphorus limitation induced by degradation and nitrogen deposition: Evidence from soil extracellular enzyme stoichiometry[J]. Ecological Indicators, 2019, 101: 453–464.
- [11] 曾泉鑫, 张秋芳, 林开森, 等. 酶化学计量揭示 5 年氮添加加剧毛竹林土壤微生物碳磷限制[J]. 应用生态学报, 2021, 32(2): 521–528.
- [12] 林惠瑛, 周嘉聪, 曾泉鑫, 等. 土壤酶计量揭示了武夷山黄山松林土壤微生物沿海拔梯度的碳磷限制变化[J]. 应用生态学报, 2022, 33(1): 33–41.
- [13] Yang K, Zhu J J, Gu J C, 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.
- [14] Mirabello M J, Yavitt J B, Garcia M, et al. Soil phosphorus responses to chronic nutrient fertilisation and seasonal drought in a humid lowland forest, Panama[J]. Soil Research, 2013, 51(3): 215.
- [15] 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.
- [16] 周嘉聪, 刘小飞, 郑永, 等. 氮沉降对中亚热带米楮天然林微生物生物量及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(1): 127–135.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 146–195.
- [18] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38: 991–999.
- [19] 苏涛, 司美茹, 王朝辉, 等. 土壤矿质氮分析方法的影响因素研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1238–1242.
- [20] 孙宇, 彭天驰, 李顺, 等. 模拟氮沉降对湿性常绿阔叶次生林土壤碳氮组分和酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(2): 235–243, 250.
- [21] 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.
- [22] Tian J H, Wei K, Condron L M, et al. Impact of land use and nutrient addition on phosphatase activities and their relationships with organic phosphorus turnover in semi-arid grassland soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2016, 52(5): 675–683.
- [23] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. Nature, 2009, 462: 795–798.
- [24] 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.
- [25] Cui Y X, Wang X, Zhang X C, et al. Soil moisture mediates microbial carbon and phosphorus metabolism during vegetation succession in a semiarid region[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 147: 107814.
- [26] 曹平丽, 孙思怡, 卢胜旭, 等. 亚热带米楮天然林不同深度土壤胞外酶活性对隔离降雨的响应[J]. 水土保持学报, 2022, 36(1): 205–211.
- [27] Fan Y X, Yang L M, Zhong X J, et al. N addition increased microbial residual carbon by altering soil P availability and microbial composition in a subtropical *Castanopsis* forest[J]. Geoderma, 2020, 375: 114470.
- [28] Pregitzer K S, Zak D R, Burton A J, et al. Chronic nitrate additions dramatically increase the export of carbon and nitrogen from northern hardwood ecosystems[J]. Biogeochemistry, 2004, 68(2): 179–197.
- [29] 王晖, 莫江明, 鲁显楷, 等. 南亚热带森林土壤微生物

- 量碳对氮沉降的响应[J]. 生态学报, 2008, 28(2): 470–478.
- [30] 范跃新. 氮沉降对中亚热带米槠天然林土壤磷组分的影响及其调控机理[D]. 福州: 福建师范大学, 2019.
- [31] 沈芳芳, 袁颖红, 樊后保, 等. 氮沉降对杉木人工林土壤有机碳矿化和土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(2): 517–527.
- [32] 曹平丽, 孙思怡, 卢胜旭, 等. 亚热带米槠天然林土壤有机氮组分对模拟氮沉降的响应[J]. 水土保持学报, 2023, 37(4): 243–249.
- [33] Wisawapipat W, Kheoruenromne I, Suddhiprakarn A, et al. Phosphate sorption and desorption by Thai upland soils[J]. *Geoderma*, 2009, 153(3/4): 408–415.
- [34] 郝亚群, 谢麟, 陈岳民, 等. 中亚热带地区氮沉降对杉木幼林土壤细菌群落多样性及组成的影响[J]. 应用生态学报, 2018, 29(1): 53–58.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] Cui Y X, Moorhead D L, Peng S S, et al. New insights into the patterns of ecoenzymatic stoichiometry in soil and sediment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 177: 108910.
- [38] 张晓晴, 曾泉鑫, 元晓春, 等. 氮添加诱导的磷限制改变了亚热带黄山松林土壤微生物群落结构[J]. 应用生态学报, 2023, 34(1): 203–212.
- [39] Fink J R, Inda A V, Tiecher T, et al. Iron oxides and organic matter on soil phosphorus availability[J]. *Ciência e Agrotecnologia*, 2016, 40(4): 369–379.
- [40] 陆宇明, 许恩兰, 吴东梅, 等. 凋落物双倍添加和移除对米槠林土壤水解酶活性及其化学计量比的影响[J]. 水土保持学报, 2021, 35(4): 313–320.
- [41] Cusack D F. Soil nitrogen levels are linked to decomposition enzyme activities along an urban-remote tropical forest gradient[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 192–203.
- [42] 史丽娟, 王辉民, 付晓莉, 等. 中亚热带典型人工林土壤酶活性及其化学计量特征[J]. 应用生态学报, 2020, 31(6): 1980–1988.