

氮添加对油松细根分解过程中酶活性的影响

孟敏¹, 景航¹, 姚旭¹, 王国梁^{1,2†}, 刘国彬^{1,2}

(1. 西北农林科技大学水土保持研究所, 712100 陕西杨凌; 2. 中国科学院 水利部 水土保持研究所, 712100 陕西杨凌)

摘要: 探索细根分解过程中酶活性对氮(N)添加的响应特征,有助于阐明N添加影响细根分解的潜在机制,可为全球范围内大气N沉降持续增加影响森林生态系统碳平衡和养分循环研究提供依据。采用分解袋法,研究油松不同径级细根(径级:0~0.5 mm、>0.5~1.0 mm和>1.0~2.0 mm)分解过程中酶活性对N添加(0、3、6和9 g/(m²·a)分别对应N0、N3、N6和N9)的响应。研究表明:细根在300 d的分解过程中,纤维二糖酶活性先增加后减小,后期又有增加趋势,碱性磷酸酶和半乳糖苷酶活性先增加后减小,在分解中期时最高。N添加显著影响纤维二糖酶和半乳糖苷酶活性($P < 0.05$),但对碱性磷酸酶活性影响不显著。N3促进0~0.5 mm和>0.5~1.0 mm细根纤维二糖酶活性,N9促进>1.0~2.0 mm细根纤维二糖酶活性。N添加抑制0~0.5 mm细根半乳糖苷酶活性,N9抑制>0.5~1.0 mm和>1.0~2.0 mm细根半乳糖苷酶活性。在不同的分解时期,N添加对酶活性的影响会因为酶种类以及细根径级而有所差异。相关性分析表明:细根分解时各种酶不仅具有单独作用,同时也存在共性关系。3种酶活性与细根C、N、P含量呈显著正相关,和N与P质量比呈显著负相关。不同种类酶活性与细根质量之间的相关性较为一致,而与温度和水分之间的相关性差异较大。N添加对分解酶活性有促进、抑制等多种作用,并且存在N添加与分解时间、细根径级之间的交互作用,使酶活性对N添加的响应有所不同。N添加能够通过提高养分含量促进细根酶解作用,在这个过程中环境条件如温度、水分对各种类酶的作用不同。

关键词: 酶活性; 细根分解; 细根径级; 氮添加; 氮沉降

中图分类号: S714.3 文献标志码: A 文章编号: 2096-2673(2019)02-0001-09

DOI: 10.16843/j.sswc.2019.02.001

Effect of nitrogen addition on enzyme activity during fine root decomposition of *Pinus tabulaeformis*

MENG Min¹, JING Hang¹, YAO Xu¹, WANG Guoliang^{1,2}, LIU Guobin^{1,2}

(1. Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, 712100, Yangling, Shaanxi, China;

2. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, 712100, Yangling, Shaanxi, China)

Abstract [Background] Exploring the effect of nitrogen (N) addition on enzyme activity during fine root decomposition is helpful to elucidate the potential mechanism of N addition affecting fine root decomposition, and eventually provides a basis for studying N deposition affecting carbon balance and nutrient cycling in forest ecosystem. **[Methods]** The *Pinus tabulaeformis* seedling were treated with N addition (N0, 0 g/(m²·a); N3, 3 g/(m²·a); N6, 6 g/(m²·a); and N9, 9 g/(m²·a)) for 2 years, and then the fine roots were grouped with 3 diameter size classes (< 0.5 mm; 0.5–1.0 mm and 1.0–2.0 mm) and buried using litterbag method in a *P. tabulaeformis* forest where was treated with N addition

收稿日期: 2018-11-04 修回日期: 2019-03-12

项目名称: 国家科技支撑课题“陕北水蚀区植被功能调控技术与示范”(2015BAC01B03)

第一作者简介: 孟敏(1992—),女,硕士研究生。主要研究方向: 植被恢复与植物生理生态。E-mail: mengmin92114@163.com

†通信作者简介: 王国梁(1971—),男,博士,研究员。主要研究方向: 植被恢复与环境效应。E-mail: glwang@nwsuaf.edu.cn

for 2 years, respectively. The litterbags were sampled every 2 months, then the enzyme activities (cellobiase, alkaline phosphatase and galactosidase) and carbon (C), N phosphorus (P) concentrations were determined in laboratory. [Results] During fine root decomposition, the activity of cellobiase increased first and then decreased, and then increased in the later stage. The activities of alkaline phosphatase and galactosidase increased first and then decreased, and the activities were the highest in the middle stage of fine root decomposition. N addition significantly affected cellobiase and galactosidase activities ($P < 0.05$), but had no significant effect on alkaline phosphatase activity. N3 treatment increased cellobiase activity of 0–0.5 mm and >0.5–1.0 mm fine roots, N9 treatment increased cellobiase activity of >1.0–2.0 mm fine root. N addition decreased galactosidase activity of 0–0.5 mm fine root, and N9 decreased galactosidase activity of >0.5–1.0 mm and >1.0–2.0 mm fine roots. At different stages of decomposition, the effect of N addition on enzyme activity varied depending on the enzyme species and fine root diameters. There were significant positive correlations among different enzyme activities, and the correlation between alkaline phosphatase activity and galactosidase activity was the strongest. Correlation analysis showed that enzymes not only had specific influences, but also had common relations among enzyme species. Enzyme activities were significantly positively correlated with fine root C, N, P concentrations, and negatively correlated with fine root N:P ratio. The correlations between enzyme activity and fine root quality were relatively consistent, but the correlations between enzyme activity and temperature, moisture were quite different. [Conclusions] N addition has a variety of effects on the enzyme activity, such as increasing and decreasing, there is an interaction among N addition, decomposition time and fine root diameter to make the effect of N addition on enzyme activity varied during fine root decomposition. N addition increases decomposition enzyme activity by increasing fine root quality, environmental conditions such as temperature and moisture has varied effects on different enzyme activities during this process.

Keywords: enzyme activity; fine root decomposition; fine root diameter; nitrogen addition; nitrogen deposition

植物每年投入净初级生产力的 22% ~ 67% 到根系当中,细根分解将会使大量的物质能量从植物体转入到土壤当中^[1]。相关研究表明,细根分解产生的物质能量可能大于地上凋落叶^[2-3]。近年来,细根分解研究已成为全球 C、N 等养分循环,尤其全球 C 平衡的核心环节^[4]。关于细根分解目前的研究主要有以下几方面:首先随着时间增加,细根分解速率不断发生变化,总体表现为前期快而后期慢的趋势^[5-7];其次,不同粗细的根系分解速率有所差异,以前的研究发现较细的根系分解快于较粗的根系^[8-10],但是越来越多的研究指出较粗的根系分解速率也可能快于较细的根系^[5,11],结果主要取决于具体的植被和生态系统类型;最后,环境变化对细根分解产生不同的影响,Song Xinzhang 等^[12]的研究发现 3 g/(m²·a) 水平 N 添加加速了竹林细根分解,而 ≥6 g/(m²·a) 水平 N 添加会降低竹林细根分解速率,结果取决于 N 添加量和本地区的 N 含量背景值。在影响细根分解的环境因

素中,土壤有效 N 的影响日益引起生态学家的关注^[13]。这是因为在全球范围内大气 N 沉降持续增加的情况下,土壤有效 N 可通过影响细根分解过程改变生态系统碳在土壤、植物和大气等主要碳库的分配格局,进而影响全球生态系统的碳平衡和养分循环过程^[12,14]。

从根本上来说,细根是在水分淋溶、土壤动物破碎以及微生物酶的作用下分解的,其中微生物的酶解作用最为直接也最为重要^[15]。纤维二糖酶也称 β-葡萄糖苷酶,它能将大分子纤维素降解为小分子糖以便于微生物利用。碱性磷酸酶普遍存在于土壤当中,它与土壤及植株体内有机磷的分解和再利用有着密切的关系。纤维二糖酶和碱性磷酸酶是参与土壤植物残体碳、磷等转化的重要水解酶类^[16]。另外,半乳糖苷酶在土壤中的含量也较高,它能降解植物体含半乳糖苷的胞壁多糖,释放游离的半乳糖,从而被微生物吸收利用^[17];可见,酶在细根分解过程中扮演着不可替代的角色。一般情况下,影响分解

酶活性的主要因素有温度、细根水分以及细根质量等^[18]。目前研究的热点中,径级、时间以及环境变化等对细根分解的影响都有可能通过酶来产生作用,因此研究酶活性的变化特征可以揭示分解速率随细根径级、分解时间以及环境变化的潜在机制,为预测细根分解如何影响全球 C、N 等养分循环研究提供依据;但是,目前关于细根分解酶活性的研究还比较薄弱,相关研究集中在地上凋落物与农地管理变化方面^[17,19-20]。关于不同径级细根分解过程酶活性的特征以及对环境 N 添加的响应情况还鲜有报道。通过阐明不同径级细根分解酶活性对 N 添加的动态响应过程,可以完善细根分解机制中的微生物作用部分,并为今后生态系统与全球气候变化研究提供参考。

油松(*Pinus tabulaeformis*) 林下土壤养分相对贫瘠,土壤有效 N 质量分数偏低,是研究土壤有效 N 升高如何影响植物细根分解酶活性最理想的森林生态系统之一;因此,本研究以黄土高原油松为研究对象,通过动态监测不同径级油松细根分解酶活性变化,以及可能影响酶活性的主要因素,期望为细根分解机制研究提供参考,为 N 沉降变化影响碳循环研究提供依据。

1 研究区概况

实验在延安市宜川县铁龙湾林场松峪沟流域(E 110°06', N 35°39') 进行。该地区具有典型大陆季风型气候,年平均降水量 584.4 mm,年平均气温 9.7 °C,无霜期 180 d。研究区海拔为 1000~1200 m,坡度为 20°~25°。油松是黄土高原森林区最大的人工林种之一,可用于研究 N 添加对细根分解的影响。实验区油松林于 1963 年种植,目前保存 1400~1800 株/hm²,林龄为 50 年。该林分平均郁闭度 0.7,林分蓄积量 75.5 m³/hm²,叶面积指数 6.34。2015 年 11 月对样地进行了植被调查,测定表层 0~10 cm 土壤有机碳、全氮和全磷质量分数,测定结果见表 1。乔木层、灌木层和草本层生物量分别为 112.96、3.56 和 8.28 t/hm²。植物群落种群有 20 多种,多样性指数为 0.51(用 Simpson 法计算)。林下灌木主要有胡颓子(*Elaeagnus pungens* Thunb)、黄刺玫(*Rosa xanthina* Lindl)、绣线菊(*Spiraea salicifolia*)、忍冬(*Lonicera japonica* Thunb)、荚蒾(*Viburnum dilatatum* Thunb)等,覆盖度 30%;草本植物主要为大披针苔草(*Carex lanceolata* Boott),覆盖度 30%~50%。

表 1 人工油松林样地基本概况

Tab. 1 Basic characteristics of *Pinus tabulaeformis* plantation

处理 Treatment	土壤性质 Soil properties			林分特征 Stand characteristics	
	有机碳 Organic C/(mg·g ⁻¹)	全氮 Total N/(mg·g ⁻¹)	全磷 Total P/(mg·g ⁻¹)	胸径 DBH/cm	树高 Height/m
N0	19.87 ± 1.14b	1.46 ± 0.03a	0.55 ± 0.02a	16.04 ± 1.46a	16.43 ± 0.47a
N3	21.01 ± 1.10b	1.44 ± 0.06a	0.55 ± 0.02a	15.79 ± 1.92a	17.22 ± 0.40a
N6	22.78 ± 0.79a	1.52 ± 0.02a	0.52 ± 0.01b	15.96 ± 1.71a	16.12 ± 0.76a
N9	19.55 ± 1.20b	1.56 ± 0.14a	0.56 ± 0.03a	16.34 ± 3.23a	17.67 ± 0.69a

注:不同小写字母表示氮添加处理之间达到显著差异水平($P < 0.05$);N0、N3、N6 和 N9 表示氮添加水平分别为:0、3、6 和 9 g/(m²·a)。
Notes: Different lowercase letters indicate the significant difference at 0.05 level. N0, N3, N6, and N9 are 0, 3, 6, and 9 g/(m²·a) respectively.
DBH: Diameter at breast height.

2 材料与方法

2.1 细根样品收集

2014 年 3 月,在 1 年生油松苗圃建立 16 块细根收集实验田(3 m × 3 m)。同时,在油松林中建立 16 块细根分解实验林(10 m × 10 m)。细根收集实验田与分解实验林具有相同的气候条件。细根收集实验田和细根分解实验林均采用多水平的 N 添加处理:0、3、6 和 9 g/(m²·a)(分别称为 N0、N3、N6 和

N9 处理)。细根收集实验田和细根分解实验林每个 N 添加处理有 4 个重复。自 2014 年以来,硝酸铵(NH₄NO₃)溶解于蒸馏水中(每个细根分解实验林 10 L,每个细根收集实验田 1 L)并在每年 4、6、8 和 10 月中降雨前 1 天均匀喷洒于每个地块(每次喷洒每年 1/4 的 N 添加量)。N 添加 2 年后(2015 年 10 月)从 16 块细根收集实验田表层 80 cm 土壤中收集 3 种直径油松细根(0~0.5 mm, >0.5~1.0 mm 和 >1.0~2.0 mm)。将所有细根在自来水中快速

洗涤,然后在去离子水中快速洗涤以除去黏附的土壤颗粒,之后将它们在 55 °C 下烘干数天至恒质量。将细根切成约 3 cm 长,保存用于分解实验。

2.2 细根分解实验

本实验采用分解袋法研究细根分解酶活性和养分含量变化。分解袋(10 cm × 10 cm)由 0.1 mm 网孔尼龙网制成。将收集的细根样品(10.00 g)放入分解袋后缝合。2015 年 11 月,在每个细根分解实验林布设相应 N 添加处理的细根,每个细根径级布设 5 个重复分解袋用于 5 次取样。根据细根在土壤中的分布范围和相关研究实验设计的基础,布设时在土壤中 45°角开 1 个 10 cm 深的槽,将分解袋埋入。总共每个 N 添加处理(3 个细根径级 × 5 次取样 × 4 个重复样地)布设 60 个分解袋,实验中总共 240 个分解袋。

分解袋布设完成 2、4、6、8 和 10 个月后,从每个样地中随机收集 3 个径级细根分解袋样品。将收集的分解袋迅速运送到实验室,用刷子清洁粘附土壤。随后将样品分 2 部分保存,其中一部分记录质量后 -20 °C 保存用于酶活性测定,另一部分样品在 55 °C 下烘箱干燥数天至恒质量,之后记录其含水率和干质量,然后研磨用于有机碳、全氮、全磷元素质量分数分析。每次取样时还需要用温度计记录分解袋周围温度。

2.3 测定项目与方法

细根分解酶活性($\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$)测定参考土壤酶活性测定方法,主要有 3 种酶:纤维二糖酶、碱性磷酸酶和半乳糖苷酶。酶活性测定采用四甲基伞形酮与七甲基香豆素相关水合物分解荧光法测定^[18]。将细根样品彻底剪碎混匀,准确称取 1 g 加入相当于土壤 pH 的 0.05 nmol/L 醋酸-醋酸铵缓冲液 125 mL,震荡 30 min 吸取悬浊液 150 μL 入黑色 96 孔板,同时加入 50 μL 底物(不同种类酶活性测定对应的底物种类不同),每次实验做无基质对照(150 μL 悬浊液 + 50 μL 缓冲液)、空白对照(200 μL 缓冲液)。保持恒温 37 °C 培养并计时等待,经过 2 h 后选择仪器为多功能酶标仪,将其设定波长为 450 nm 和 365 nm,放入板后运行并读取其吸光值。标准曲线选择四甲基伞形酮制作,之后作为依据获得酶的活性数据。

有机碳质量分数(mg/g)测定采用重铬酸钾氧化法^[21];氮质量分数(mg/g)测定采用凯氏定氮法^[22];磷质量分数(mg/g)测定采用钼锑抗比色法^[23]。

2.4 数据处理与分析

使用 SPSS 20.0 统计软件包进行统计学分析。不同 N 添加处理之间酶活性差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。采用 3 因素方差分析(three-way ANOVA)对 N 添加、细根径级以及分解时间对酶活性的影响进行比较。酶活性与细根物理化学质量指标间的关系采用 Pearson 相关分析。

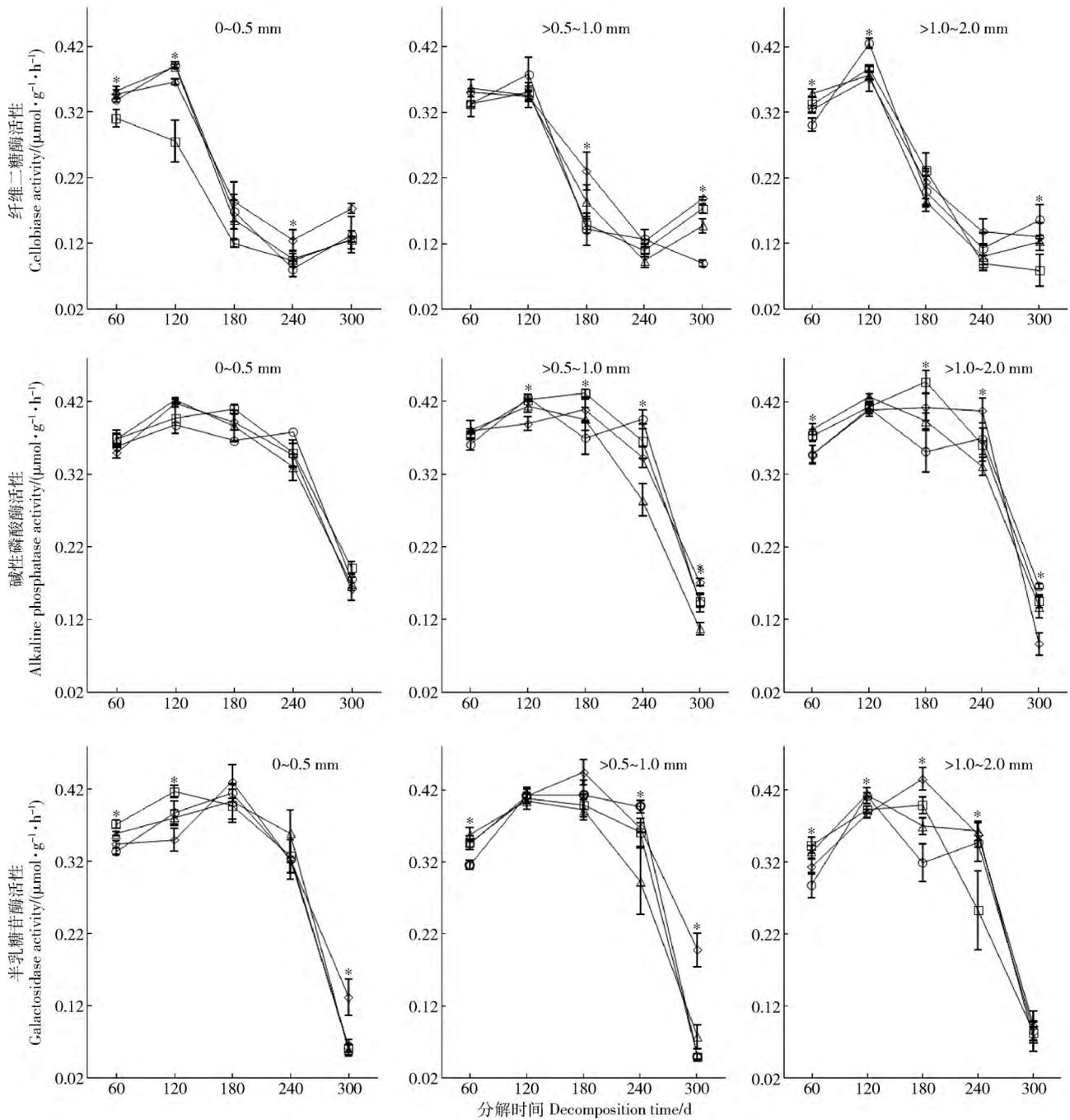
3 结果与分析

3.1 细根分解过程中酶活性变化

纤维二糖酶活性在 0.055 ~ 0.433 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 范围内,碱性磷酸酶活性在 0.071 ~ 0.463 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 范围内,半乳糖苷酶活性在 0.046 ~ 0.463 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 范围内(图 1)。细根分解前期 120 d 内纤维二糖酶活性微弱增加,120 ~ 240 d 逐渐减小,而 240 d 以后又有微弱增加。碱性磷酸酶和半乳糖苷酶活性随细根分解时间增加先增加后减小,在分解 180 d 时酶活性最高。N 添加对不同种类酶活性的影响有所差异。分解第 60、120、240 天 N3 显著促进了 0 ~ 0.5 mm 细根纤维二糖酶活性,分解第 180 和 300 天 N3 显著促进了 >0.5 ~ 1.0 mm 细根纤维二糖酶活性,分解第 120 和 300 天 N9 显著促进了 >1.0 ~ 2.0 mm 细根纤维二糖酶活性。整个分解周期内 N 添加对 0 ~ 0.5 mm 细根碱性磷酸酶活性的影响不显著,对 >0.5 ~ 1.0 mm 以及 >1.0 ~ 2.0 mm 细根碱性磷酸酶活性的影响在不同分解时间变化较大。分解第 60 和 100 天 N 添加抑制了 0 ~ 0.5 mm 细根半乳糖苷酶活性,分解第 60 和 300 天 N9 抑制了 >0.5 ~ 1.0 mm 细根半乳糖苷酶活性,分解第 60 和 180 天 N9 抑制了 >1.0 ~ 2.0 mm 细根半乳糖苷酶活性。

3.2 不同变异因素对细根分解酶活性的影响

表 2 总体反映 N 添加、分解时间和细根径级对酶活性的影响。可以看出,N 添加显著改变了纤维二糖酶和半乳糖苷酶活性($P < 0.05$),但对碱性磷酸酶活性没有显著影响。随着细根分解时间增加 3 种酶活性都有极显著变化($P < 0.01$)。不同径级细根分解过程中半乳糖苷酶活性有显著差异,但碱性磷酸酶和纤维二糖酶活性差异不明显。N 添加和分解时间交互作用对 3 种酶活性影响显著,时间与细根径级交互作用对纤维二糖酶和半乳糖苷酶活性影响显著,而 N 添加、分解时间以及细根径级 3 个变异因素交互作用对半乳糖苷酶活性有极显著影响。



数据点上方“*”表示不同 N 处理之间有显著差异, N0(□)、N3(◇)、N6(△)和 N9(○)分别表示 N 处理水平 0、3、6 和 9 g/(m²·a)。Notes: The * above each sample dot indicates a significant difference between the N treatments. N0, N3, N6, N9 represent N addition level 0, 3, 6, and 9 g/(m²·a). The same below.

图 1 不同施氮处理下油松不同径级细根酶活性动态

Fig. 1 Dynamics of enzyme activity of different-diameter fine roots of *Pinus tabulaeformis* in different treatments

3.3 细根物理化学性质对酶活性的影响

细根分解过程中 3 种酶活性与 C、N、P 元素质量分数以及 N 与 P 质量比均有显著相关关系 ($P < 0.05$) 其中与 N 与 P 质量比极显著负相关 ($P < 0.01$) 其余为显著正相关(表 3)。碱性磷酸酶和半

乳糖苷酶活性与细根水分含量极显著正相关, 纤维二糖酶活性与温度极显著负相关。不同种类酶活性之间均有显著正相关关系, 其中碱性磷酸酶活性和半乳糖苷酶活性之间的相关性最强。

表 2 不同径级细根酶活性方差分析

Tab. 2 Variance analysis of enzyme activities at different fine root diameters

变异 Source of variations	自由度 df	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase		纤维二糖酶 Cellobiase		半乳糖苷酶 Galactosidase	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
		氮处理 N treatment (T)	3	2. 941	>0. 05	5. 023	<0. 05
时间 Date (D)	4	698. 717	<0. 01	1 036. 893	<0. 01	1 014	<0. 01
细根直径 Root diameter size (R)	2	0. 047	>0. 05	1. 799	>0. 05	6. 112	<0. 05
T × D	12	2. 175	<0. 05	2. 366	<0. 05	3. 814	<0. 01
T × R	6	1. 951	>0. 05	2. 168	>0. 05	1. 807	>0. 05
D × R	8	4. 347	>0. 05	8. 983	<0. 05	4. 851	<0. 05
T × D × R	24	1. 684	>0. 05	1. 705	>0. 05	3. 415	<0. 01

表 3 细根物理化学性质与酶活性相关分析

Tab. 3 Correlations between enzyme activity and fine root physiochemical property

指标 Factor	纤维二糖酶 Cellobiase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	半乳糖苷酶 Galactosidase	指标 Factor	纤维二糖酶 Cellobiase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	半乳糖苷酶 Galactosidase
有机碳 C	0. 530 **	0. 203 **	0. 139 **	水分 Moisture	-0. 039	0. 539 **	0. 564 **
氮 N	0. 341 **	0. 146 *	0. 149 *	温度 Temperature	-0. 955 **	-0. 316	-0. 260
磷 P	0. 432 **	0. 521 **	0. 566 **	纤维二糖酶 Cellobiase	1. 000	0. 484 **	0. 427 **
C 与 N 质量比 Mass ratio of C to N	0. 142 *	0. 048	-0. 005	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase		1. 000	0. 909 **
C 与 P 质量比 Mass ratio of C to P	-0. 300	-0. 274 **	-0. 338 **	半乳糖苷酶 Galactosidase			1. 000
N 与 P 质量比 Mass ratio of N to P	-0. 175 **	-0. 458 **	-0. 504 **				

注: 数据上方“*”表示两者之间有显著相关关系($P < 0. 05$), “**”表示两者之间有极显著相关关系($P < 0. 01$)。Notes: The “*” above the data indicates a significant correlation between the variables, and “**” indicates a very significant correlation between two variables.

4 讨论

4.1 N 添加对细根分解酶活性的影响

我们的研究中纤维二糖酶活性在 $0. 055 \sim 0. 433 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 范围内,碱性磷酸酶活性在 $0. 071 \sim 0. 463 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 范围内,半乳糖苷酶活性在 $0. 046 \sim 0. 463 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 范围内,这些结果与前人的研究结果^[24-26]一致。随着细根分解时间增加,不同种类酶活性变化趋势有所差异。纤维二糖酶分解前期活性增加,中期逐渐减小,后期又微弱增加。碱性磷酸酶和半乳糖苷酶活性在整个分解周期内先增加后减小,在中期时活性最高。相比而言,洪慧滨等^[25]的研究从 4 月开始,米槠和杉木细根分解纤维二糖酶活性前期迅速升高,而后迅速降低,最后趋于缓和,宁南山区草本植物茎叶分解过程中其周围土壤碱性磷酸酶活性呈现出先增加后减小的趋势^[27]。另外,从 3 月开始对农田土壤加入有机质进行分解,土壤半乳糖苷酶活性前期增加迅速,后期则

趋于缓慢降低^[28]。研究表明对于不同种类的酶,其活性在分解过程中变化趋势差异较大。这主要是由于酶活性十分敏感容易受到环境因素变化的影响,如温度、水分、凋落物质量、土壤结构以及酸碱度等,并且不同种类酶活性对环境变化的耐受能力也有所不同,导致在不同的研究中,酶活性随分解过程的变化趋势差异很大。我们的实验开始于 11 月,此时植物凋落物大量产生,秋季环境温度、水分条件等明显发生变化。细根分解实验从这一时期开始能够较完整的模拟自然环境减少人为误差,其分解酶活性动态过程更加接近真实情况;因此证实细根分解过程中不同种类酶活性变化趋势差异较大,并且不同研究中分解酶活性变化趋势会因为温度、水分、凋落物质量等环境因子而有所不同。

N 添加对不同种类酶活性的影响有所差异。低 N(N3) 促进 $0 \sim 0. 5 \text{ mm}$ 和 $> 0. 5 \sim 1. 0 \text{ mm}$ 细根纤维二糖酶活性,高 N(N9) 促进 $> 1. 0 \sim 2. 0 \text{ mm}$ 细根纤维二糖酶活性;N 添加对 $0 \sim 0. 5 \text{ mm}$ 细根碱性磷酸

酶活性的影响不显著,对 $>0.5 \sim 1.0 \text{ mm}$ 以及 $>1.0 \sim 2.0 \text{ mm}$ 细根碱性磷酸酶活性的影响在不同分解时间变化较大。N 添加抑制 $0 \sim 0.5 \text{ mm}$ 细根半乳糖苷酶活性,高 N 添加(N9)抑制 $>0.5 \sim 1.0 \text{ mm}$ 和 $>1.0 \sim 2.0 \text{ mm}$ 细根半乳糖苷酶活性。总体表现为低 N 促进较细细根纤维二糖酶活性,高 N 促进较粗细根纤维二糖酶活性;N 添加抑制较细细根半乳糖苷酶活性,高 N 抑制较粗细根半乳糖苷酶活性。多重比较分析的结果表明:N 添加显著改变了纤维二糖酶和半乳糖苷酶活性($P < 0.05$),但对碱性磷酸酶活性没有显著影响。并且存在 N 添加与分解时间之间的交互作用对酶活性的影响有所差异。同样,对沼泽湿地小叶章凋落物的研究也发现 N 添加对分解酶活性的影响会因为酶种类以及时间而有所差异^[29]。王晖等^[30]通过总结近年来国内外模拟 N 沉降影响凋落物分解酶活性的研究发现,由于酶种类、凋落物质量等差异,N 沉降增加对纤维素酶类、木质素酶类以及蛋白水解酶类的影响差异较大,这与本研究的结果保持一致。不同的是,王晖等人的研究指出随着 N 沉降增加,磷酸酶类活性总体随 N 增加而增加,而本研究中 N 添加对碱性磷酸酶的活性影响不显著。出现这种差异可能与 N 添加处理时间有关,模拟 N 沉降是一个长期过程,我们的 N 添加实验持续 2 年(时间较短),短期 N 添加对一些生态过程的影响还不够明显,比如土壤呼吸、微生物群落组成^[31-32];但是随着 N 添加时间的增加,土壤有效 N 质量分数升高的效应可能会逐渐明显,我们的研究将持续关注。

4.2 细根物理化学性质对酶活性的影响

不同种类酶活性之间均有显著正相关关系,并且碱性磷酸酶活性和半乳糖苷酶活性之间相关性最强。此结果符合碱性磷酸酶活性和半乳糖苷酶活性随分解时间有相似变化的规律,并证实参与细根分解的各种酶并不是单独作用的,它们之间不仅显示出专有性特点,同时也存在共性关系^[29]。影响分解酶活性最常见的因素包括温度、水分以及细根质量等^[30]。相关性分析表明:1) 在 N 添加条件下,3 种酶活性与细根分解过程中 C、N、P 质量分数以及 N 与 P 质量比显著相关($P < 0.05$),其中与 N 与 P 质量比极显著负相关($P < 0.01$),其余为显著正相关。这与前人的研究^[17,33]一致,研究表明外界环境变化能够通过影响细根质量进而改变其分解速率与酶活性^[17,30]。2) 本研究显示 N 添加能够通过提高主要养分含量(C、N、P 等)促进细根酶解过程。N 与 P

质量比与分解酶活性之间显著负相关,可能是微生物在 N 添加环境里更需要 P 导致的。3) 另外,酶活性与温度、水分条件的相关性分析发现,碱性磷酸酶和半乳糖苷酶活性与细根水分含量极显著正相关,纤维二糖酶活性与温度极显著负相关。这与相关研究一致^[17,34],温度对细根分解酶活性具有不同程度的影响,这主要取决于酶本身的性质。通过比较酶活性与温度、水分以及细根质量之间的相关性发现,不同种类酶活性与细根质量之间的相关性较为统一,而与温度和水分之间的相关性变异较大。也就是说在 N 添加条件下,细根质量是影响各种分解酶活性的普遍因素,而温度和水分的作用效果因酶种类不同而有所差异。

5 结论

1) 细根分解过程中不同种类酶活性的变化趋势有所差异。也就是说在细根分解不同阶段中,参与分解的酶种类和活性可能不同。

2) N 添加对酶活性的影响总体表现为:低 N 促进较细细根纤维二糖酶活性,高 N 促进较粗细根纤维二糖酶活性;N 添加抑制较细细根半乳糖苷酶活性,高 N 抑制较粗细根半乳糖苷酶活性,但是 N 添加对碱性磷酸酶活性影响不显著。N 添加对酶活性的影响会由于酶种类、分解时期以及细根级级而有所差异。

3) 在 N 添加影响各种酶活性的过程中,细根质量的作用较为一致,而温度和水分的作用差异明显。

6 参考文献

- [1] BEIDLER K V, PRITCHARD S G. Maintaining connectivity: Understanding the role of root order and mycelial networks in fine root decomposition of woody plants [J]. *Plant & Soil* 2017, 80: 1.
- [2] 宋森,谷加存,全先奎等. 水曲柳和兴安落叶松人工林细根分解研究[J]. *植物生态学报*, 2008, 32(6): 1227.
SONG Sen, GU Jiacun, QUAN Xiankui, et al. Fine-root decomposition of *Fraxinus Mandshurica* and *Larix Gmelinii* plantations [J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(6): 1227.
- [3] FAHEY T J, ARTHUR M A. Further studies of root decomposition following harvest of a northern hardwoods forest [J]. *Forest Science*, 1994, 40(4): 618.
- [4] FAN Pingping, GUO Dali. Slow decomposition of lower order roots: A key mechanism of root carbon and nutrient

- retention in the soil [J]. *Oecologia* 2010 ,163(2) : 509.
- [5] CAMIRE C ,COTE B ,BRULOTTE S. Decomposition of roots of black alder and hybrid poplar in short-rotation plantings: Nitrogen and lignin control [J]. *Plant & Soil* ,1991 ,138(1) : 123.
- [6] CHEN Hua ,HARMON M E ,SEXTON J ,et al. Fine-root decomposition and N dynamics in coniferous forests of the Pacific Northwest ,U. S. A [J]. *Canadian Journal of Forest Research* 2002 ,32(2) : 320.
- [7] 谷利茶 ,王国梁. 氮添加对油松幼苗不同径级细根碳水化合物含量的影响[J]. *生态学杂志* 2017 ,36(8) : 2184.
- GU Licha ,WANG Guoliang. Effects of N addition on carbohydrate contents in different diameter fine roots of *Pinus tabulaeformis* seedlings [J]. *Chinese Journal of Ecology* 2017 ,36(8) : 2184.
- [8] LIN Chengfang ,YANG Yusheng ,GUO Jianfen ,et al. Fine root decomposition of evergreen broadleaved and coniferous tree species in mid-subtropical China: Dynamics of dry mass , nutrient and organic fractions [J]. *Plant and Soil* 2011 ,338(1/2) : 311.
- [9] YANG Yusheng ,CHEN Guangshui ,GUO Jianfen ,et al. Decomposition dynamic of fine roots in a mixed forest of *Cunninghamia lanceolata* and *Tsoongiodendron odorum* in mid-subtropics [J]. *Annals of Forest Science* ,2004 ,61(1) : 65.
- [10] USMAN S ,SINGH S P ,RAWAT Y S ,et al. Fine root decomposition and nitrogen mineralization patterns in *Quercus leucotrichophora* and *Pinus roxburghii* forests in central Himalaya [J]. *Forest Ecology and Management* ,2000 ,131(1) : 191.
- [11] MCCLAUGHERTY C A ,ABER J D ,MELILLO J M. Decomposition dynamics of fine roots in forested ecosystems [J]. *Oikos* ,1984 ,42(3) : 378.
- [12] SONG Xinzhang ,LI Quan ,GU Honghao. Effect of nitrogen deposition and management practices on fine root decomposition in Moso bamboo plantations [J]. *Plant and Soil* 2017 ,410(1/2) : 207.
- [13] GALLOWAY J N ,DENTENER F J ,CAPONE D G ,et al. Nitrogen cycles: Past , present , and future [J]. *Biogeochemistry* 2004 ,70(2) : 153.
- [14] TU Lihua ,PENG Yong ,CHEN Gang ,et al. Direct and indirect effects of nitrogen additions on fine root decomposition in a subtropical bamboo forest [J]. *Plant and Soil* 2015 ,389(1/2) : 273.
- [15] CHAPIN F S I ,MATSON P A I ,MOONEY H A. Principles of terrestrial ecosystem ecology [R]. Springer ,2011: 369.
- [16] FIORETTO A ,PAPA S ,PELLEGRINO A ,et al. Decomposition dynamics of *Myrtus communis* and *Quercus ilex* leaf litter: Mass loss , microbial activity and quality change [J]. *Applied Soil Ecology* 2007 ,36(1) : 32.
- [17] 张东来 ,毛子军 ,张玲 ,等. 森林凋落物分解过程中酶活性研究进展[J]. *林业科学* 2006 ,42(1) : 109.
- ZHANG Donglai ,MAO Zijun ,ZHANG Ling ,et al. Advances of enzyme activities in the process of litter decomposition [J]. *Scientia Silvae Sinicae* 2006 ,42(1) : 109.
- [18] DEFOREST J L. The influence of time , storage temperature , and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and l-DOPA [J]. *Soil Biology and Biochemistry* ,2009 ,41(6) : 1180.
- [19] 王建武 ,冯远娇 ,骆世明. Bt 玉米秸秆分解对土壤酶活性和土壤肥力的影响[J]. *应用生态学报* 2005 ,16(3) : 129.
- WANG Jianwu ,FENG Yuanqiao ,LUO Shiming. Effects of Bt corn straw decomposition on soil enzyme activities and soil fertility [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* 2005 ,16(3) : 129.
- [20] 杨青华 ,韩锦峰. 棉田不同覆盖方式对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *土壤学报* 2005 ,42(2) : 173.
- YANG Qinghua ,HAN Jingfeng. Effects of mulching on soil microorganisms and enzyme activities in cotton field [J]. *Acta Pedologica Sinica* 2005 ,42(2) : 173.
- [21] MEBIUS L J. A rapid method for the determination of organic carbon in soil [J]. *Analytica Chimica Acta* ,1960 ,22(1) : 120.
- [22] PAGE A L ,MILLER R H ,KEENEY D R. Methods of soil analysis [J]. *Catena* ,1982 ,15(1) : 99.
- [23] 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 ,1999.
- LU Rukun. Soil agrochemistry analysis protocols [M]. Beijing: China Agriculture Science Press ,1999.
- [24] MARTINEZ-INIGO M J ,PERERZ-SANZ A ,ORTIZ I ,et al. Bulk soil and rhizosphere bacterial community PCR-DGGE profiles and beta-galactosidase activity as indicators of biological quality in soils contaminated by heavy metals and cultivated with *Silene vulgaris* (Moench) Garcke [J]. *Chemosphere* 2009 ,75(10) : 1376.
- [25] 洪慧滨 ,林成芳 ,彭建勤 ,等. 磷添加对中亚热带米槠和杉木细根分解及其酶活性的影响[J]. *生态学报* 2017 ,37(1) : 136.
- HONG Huibin ,LIN Chengfang ,PENG Jianqin ,et al. Effects of phosphorus addition on fine root decomposition

- and enzyme activity of *Castanopsis carlesii* and *Cunninghamia lanceolata* in subtropical forest [J]. *Acta Ecologica Sinica* 2017 37(1): 136.
- [26] 张超, 刘国彬, 薛蕙, 等. 黄土丘陵区不同林龄人工刺槐林土壤酶演变特征 [J]. *林业科学*, 2010, 46(12): 23.
ZHANG Chao, LIN Guobin, XUE Sha, et al. Evolution of soil enzyme activities of *Robinia pseudoacacia* plantation at different ages in loess hilly region [J]. *Scientia Silvae Sinicae* 2010 46(12): 23.
- [27] 李鑫, 李娅芸, 安韶山, 等. 宁南山区典型草本植物茎叶分解对土壤酶活性及微生物多样性的影响 [J]. *应用生态学报* 2016 27(10): 3182.
LI Xin, LI Yayun, AN Shaoshan, et al. Effects of stem and leaf decomposition in typical herbs on soil enzyme activity and microbial diversity in the south Ningxia loess hilly region of Northwest China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* 2016 27(10): 3182.
- [28] FLOCH C, CAPOWIEZ Y, CRIQUET S. Enzyme activities in apple orchard agroecosystems: How are they affected by management strategy and soil properties [J]. *Soil Biology and Biochemistry* 2009 41(1): 61.
- [29] 万忠梅, 宋长春, 刘德燕. 氮输入对沼泽湿地小叶章枯落物分解过程中酶活性的影响 [J]. *环境科学学报* 2009 29(9): 1830.
WAN Zhongmei, SONG Changchuan, LIU Deyan. The enzyme activity of *Calamagrostis angustifolia* litter decomposition affected by exogenous nitrogen input in a fresh water mars [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009 29(9): 1830.
- [30] 王晖, 莫江明, 薛璟花, 等. 氮沉降增加对森林凋落物分解酶活性的影响 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2006 14(6): 539.
WANG Hui, MO Jiangming, XUE Jinghua, et al. Effects of elevated nitrogen deposition on the activities of enzymes in forest litter decomposition: A review [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2006 14(6): 539.
- [31] QI Yuchun, LIU Xinchao, DONG Yunshe, et al. Differential responses of short-term soil respiration dynamics to the experimental addition of nitrogen and water in the temperate semi-arid steppe of Inner Mongolia, China [J]. *Journal of Environmental Sciences* 2014 26(4): 834.
- [32] DENNIS F W, JOS T A, VERHOEVEN V S, et al. Responses of *Avicennia germinans*, (*Black Mangrove*) and the soil microbial community to nitrogen addition in a hypersaline wetland [J]. *Estuaries and Coasts* 2009 32(5): 926.
- [33] 赵恒毅, 耿玉清, 杨英, 等. 北京低山区油松林和元宝枫林凋落物酶活性研究 [J]. *中南林业科技大学学报* 2016 36(6): 23.
ZHAO Hengyi, GENG Yuqing, YANG Ying, et al. Enzyme activities in litter of *Pinus tabulaeformis* and *Acer truncatum* forests in lower mountain area, Beijing [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology* 2016 36(6): 23.
- [34] 邓仁菊. 季节性冻融对亚高山森林凋落物分解的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2008: 53.
DENG Renju. Effects of seasonal freeze-thaw on litter decomposition in the subalpine forest [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2008: 53.