

DOI: 10.5846/stxb201803300705

董清馨, 张心昱, 王辉民, 付晓莉, 郭志明, 陈伏生. 氮添加对杉木林土壤有机碳矿化速率及酶动力学参数温度敏感性的影响. 生态学报, 2018, 38(18): 6502-6510.

Dong Q X, Zhang X Y, Wang H M, Fu X L, Guo Z M, Chen F S. Effects of nitrogen additions on the temperature sensitivities of soil organic carbon mineralization rates and enzyme kinetic parameters in Chinese fir plantations. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(18): 6502-6510.

氮添加对杉木林土壤有机碳矿化速率及酶动力学参数温度敏感性的影响

董清馨^{1,2}, 张心昱^{1,2,*}, 王辉民^{1,2}, 付晓莉^{1,2}, 郭志明^{1,2}, 陈伏生³

1 中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100190

3 江西农业大学江西省竹子种质资源与利用重点实验室, 南昌 330045

摘要:为探讨氮添加对亚热带森林土壤有机碳矿化速率(C_{\min})及酶动力学参数温度敏感性(Q_{10})的影响,选择亚热带杉木林土壤为研究对象,采用野外长期氮添加与室内控温培养试验,分析土壤 C_{\min} 及 β -1,4-葡萄糖苷酶(β G)动力学参数温度敏感性。野外试验设置对照(N0)、低氮(N1; 50 kg N hm⁻² a⁻¹)、高氮(N2; 100 kg N hm⁻² a⁻¹)3种处理,每种处理3次重复,室内培养设置10—40℃。结果表明:(1)氮添加增加土壤 C_{\min} ,为 N2>N1>N0,但其 $Q_{10}(C_{\min})$ 差异不显著。(2)氮添加增加 β G 的潜在最大反应速率(V_{\max})和催化效率(V_{\max}/K_m),且 V_{\max} 和 V_{\max}/K_m 均为 N2>N1>N0,而氮添加对半饱和常数(K_m)影响不显著。 $Q_{10}(V_{\max})$ 和 $Q_{10}(K_m)$ 大小为 N2>N1>N0 且差异显著,但是 $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$ 无显著差异。(3)相关分析表明,30℃ 培养温度下, C_{\min} 和全磷(TP)、硝态氮(NO_3^- -N)、有效磷(aP)、 V_{\max} 正相关; V_{\max} 和 TP、 NO_3^- -N 正相关,和 pH 负相关; K_m 和全氮(TN)负相关; V_{\max}/K_m 和 pH 负相关,和 TP 正相关。30—40℃ 培养温度下, $Q_{10}(V_{\max})$ 和 pH 负相关, $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$ 和 TN 负相关。研究可为氮沉降背景下土壤碳素循环的生物化学过程对增温响应的模型提供重要参数。

关键词:氮添加;有机碳矿化速率;酶动力学参数;温度敏感性;杉木林

Effects of nitrogen additions on the temperature sensitivities of soil organic carbon mineralization rates and enzyme kinetic parameters in Chinese fir plantations

DONG Qingxin^{1,2}, ZHANG Xinyu^{1,2,*}, WANG Huimin^{1,2}, FU Xiaoli^{1,2}, GUO Zhiming^{1,2}, CHEN Fusheng³

1 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

3 Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

Abstract: In recent years, nitrogen deposition has increased globally because of the worldwide combustion of fossil fuels, industrial development, and production and use of artificial nitrogen fertilizers. Nitrogen deposition can not only promote organic mineralization and increase nutrient availability, but can also cause soil acidification and nitrate leaching, once nitrogen input overcomes the accumulation ability of plants and soil microorganisms in ecosystems (i. e., nitrogen saturation). The objective of this study was to investigate the responses of temperature sensitivities (Q_{10}) of soil organic

基金项目:国家自然科学基金项目(41571251, 41571130043);中科院技术创新项目(201604)

收稿日期:2018-03-30; 修订日期:2018-07-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangxy@igsrr.ac.cn

carbon mineralization rates (C_{\min}) and enzyme kinetic parameters to nitrogen additions in a subtropical forest. We selected soil samples from a long-term field nitrogen addition experiment conducted in the subtropical soil of Chinese fir plantations. The three nitrogen addition treatments, i.e., control (N0), low nitrogen (N1: 50 kg N hm⁻² a⁻¹), and high nitrogen (N2: 100 kg N hm⁻² a⁻¹), were established in 2011 with three 20 m × 20 m replicate plots for each treatment. The soil samples were incubated at 10—40°C in the laboratory to measure Q_{10} of C_{\min} and β -1,4-glucosidase (β G) kinetic parameters. The results showed that (1) the nitrogen additions increased C_{\min} , which varied as N2 > N1 > N0, but the differences between the $Q_{10}(C_{\min})$ values were not significant. (2) The nitrogen additions increased the maximum rates of velocity (V_{\max}) and catalytic efficiencies (V_{\max}/K_m) as N2 > N1 > N0; this was consistent with the soil C_{\min} , but the nitrogen additions had no significant effect on the half-saturation constant (K_m). The $Q_{10}(V_{\max})$ and $Q_{10}(K_m)$ values varied as N2 > N1 > N0, but the $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$ value showed no significant differences between the N addition treatments. (3) At 30°C, the correlation analyses showed that the C_{\min} values were positively correlated with the total phosphorus (TP), nitrate nitrogen (NO_3^- -N), and available phosphorus (aP) contents and V_{\max} . Furthermore, the V_{\max} values were positively correlated with the TP and NO_3^- -N contents, and were negatively correlated with the pH values. Moreover, the K_m values were negatively correlated with the total nitrogen (TN) contents, and the V_{\max}/K_m values were negatively correlated with the pH values and were positively correlated with the TP contents. Under 30—40°C incubation, the $Q_{10}(V_{\max})$ values were negatively correlated with the pH values, while the $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$ values were negatively correlated with the TN contents. This study provides the key parameters for modeling the responses of soil carbon cycling biochemical process to increasing temperature under increased nitrogen deposition conditions.

Key Words: nitrogen additions; organic carbon mineralization rates; enzyme kinetic parameters; temperature sensitivity; Chinese fir plantations

由于世界范围内化石燃料燃烧、工业发展以及人造氮肥的生产和使用,全球氮循环大规模加速,氮沉降显著增加^[1]。在我国南方热带、亚热带森林中,大气氮沉降量已经达到了 30—73 kg N hm⁻² a⁻¹^[2]。生态系统的大气氮沉降增加可以加速土壤有机碳矿化、增加养分有效性、促进植物对养分的吸收,但系统中的氮一旦超过植物及土壤微生物对氮的蓄积能力,生态系统将出现氮饱和的情况,导致土壤硝酸盐淋溶、土壤的酸化等问题^[3]。

土壤碳库是生态系统中最大并且最活跃的有机碳库^[4],土壤有机碳矿化是土壤有机碳在微生物作用下被分解变为简单无机化合物并释放二氧化碳(CO₂)的过程^[5],其强弱可用其矿化速率表示(C_{\min}),可指示土壤有效养分含量的高低。土壤 C_{\min} 的温度敏感性(Q_{10})是指土壤温度每升高 10°C,土壤有机碳矿化速率增加的倍数, Q_{10} 数值越大表示温度敏感性越高^[6]。IPCC 报告指出,1880 年以来陆地和海洋表面温度平均每年增加 0.85°C,预计到 2100 年全球温度将增加 4—7°C^[7]。在未来全球气候变暖的背景下,温度升高可能会促进碳矿化速率的增加,因此准确理解土壤碳矿化对增温的响应具有重要意义^[8]。过量的氮输入极大地影响了陆地生态系统的碳循环过程^[9]。目前关于氮添加对土壤有机碳矿化速率温度敏感性研究较多,但结果有促进^[10-11],抑制^[2, 12-13]。有机碳矿化速率及温度敏感性受底物质量^[14]、微生物群落组成和养分有效性^[15]等多种因素的影响,相关研究结果尚无统一定论。

土壤有机碳矿化过程是由土壤微生物驱动,土壤酶介导完成的^[16]。土壤微生物是参与土壤有机碳矿化和养分循环的关键要素^[17]。土壤中 β -1,4-葡萄糖苷酶(β G)催化纤维素和半纤维素的分解为葡萄糖。水解酶促反应遵循米氏方程: $V = V_{\max} [S] / (K_m + [S])$,其中, V_{\max} 是酶促反应的最大潜在反应速率,表示底物浓度充足时,土壤酶的最大潜在活性; K_m 是半饱和常数,即 $1/2V_{\max}$ 时的底物浓度,表示酶与底物结合的亲和性的强弱^[18]; V_{\max}/K_m 是催化效率^[19]。关于酶动力学参数及其温度敏感性的研究,是近年来土壤酶学领域的热点问题^[19-22]。目前,氮添加如何影响水解酶动力学参数温度敏感性还不清楚。

我国杉木(*Cunninghamia lanceolata*)林种植面积已达 911 万 hm^2 , 分别占中国和世界的 18% 和 5%^[23]。本研究分析氮添加对杉木林土壤有机碳矿化及 βG 动力学参数温度敏感性的影响, 为氮沉降背景下土壤碳素循环的生物化学过程对增温响应的模型提供重要参数。

1 材料和方法

1.1 样地概况

研究样地位于江西省泰和县石溪林场(26°52'44"N, 115°13'04"E, 海拔 102 m), 该站点属典型的中亚热带季风气候^[24], 年平均气温和降水量分别为 17.9°C 和 1471.2 mm^[25]。样地杉木(*Cunninghamia lanceolata*)建于 2000 年^[26]。土壤类型为典型低盐基湿润弱育土, 土壤母质为红色砂岩和泥石风化物^[27]。样地未施氮前的土壤容重为 1.31 g/cm³, pH 为 4.6, 土壤有机碳(SOC)含量为 17.68 g/kg, 全氮(TN)含量为 1.12 g/kg, 全磷(TP)含量为 0.1 g/kg^[28]。

1.2 试验设计

1.2.1 长期氮添加控制试验

在 2011 年 11 月设置杉木林样方, 选择 9 个 400 m²(20 m × 20 m) 的样方, 并且每个样方间有 10 m 的缓冲地带。按氮添加量的高低设置 3 个处理: 对照(N0), 低氮(N1: 50 kg N hm⁻² a⁻¹), 高氮(N2: 100 kg N hm⁻² a⁻¹), 每种处理 3 次重复, 施用氮肥为 NH₄NO₃。自 2012 年开始施肥, 每年 4 次, 其中生长季(6 月、9 月)施肥量为全年的 30%, 非生长季(3 月、12 月)施肥量为全年的 20%。本研究在 2017 年 9 月采用 5 点混合法采样。除去地表凋落物层后, 用直径 2 cm 的土钻采集 0—10 cm 土壤样品, 过 2 mm 筛, 剔除根系残体, 自封袋密封后用冷藏箱运回实验室, 4°C 冰箱保存。

1.2.2 室内控温培养实验

对杉木林 3 个处理、3 个重复共 9 个样品进行室内温度梯度培养, 分别设置 10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C 共 7 个培养温度, 总计 63 个样品。

具体步骤为: 称取相当于 40 g 干土重的鲜土, 装入 100 mL 圆口塑料瓶中, 土壤样品含水量调节至 60% 的田间持水量^[29], 放入恒温(20°C)、恒湿(80%)培养箱内预培养 4 d, 然后放入上述温度梯度的培养箱, 在恒湿条件下培养 7 d。在培养过程中, 采用称重法给土壤样品补水, 每隔 2—3 d 补水 1 次。

1.3 样品分析

1.3.1 土壤理化性质

土壤 pH 值用 pH 计测定(土水比为 1:2.5); 土壤含水量采用烘干恒重法测定; 土壤 SOC、TN 采用元素分析仪测定(Elementar, Vario Max CN, Germany); 土壤 TP 采用硫酸高氯酸消煮法-流动分析仪测定(Bran Lubbe, AA3, Germany); 土壤可溶性有机碳(DOC)用超纯水(土水比为 1:5)浸提-总有机碳分析仪测定(Elementar, LiquiTOC II, Germany); 土壤铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)用 KCl 溶液(土水比为 1:10)浸提-流动分析仪测定(Bran Lubbe, AA3, Germany); 土壤有效磷(aP)用 NH₄F-HCl 溶液(土水比为 1:10)浸提-流动分析仪测定(Bran Lubbe, AA3, Germany)测定^[30]。

1.3.2 土壤碳矿化速率及温度敏感性

在室内控温培养的第 1、3、5、7 d, 采用实验室自主研发的室内土壤微生物呼吸自动连续测定装置^[31], 测定 C_{min} , 计算 4 次 C_{min} 平均值, C_{min} 的计算公式为:

$$C_{\text{min}} = C \times V \times \alpha \times \beta / m$$

式中, C_{min} 为土壤有机碳矿化速率($\mu\text{g C d}^{-1} \text{g}^{-1}$); C 为在测试时间内 CO₂ 浓度变化的直线斜率; V 为管线和培养瓶的总体积(ml); α 为 CO₂ 气体体积转化为质量的系数; β 为时间(s) 转化为天数(d) 的系数; m 为培养瓶内干土质量(g)。

土壤有机碳矿化速率温度敏感性的计算公式为:

$$C_{\min} = a \times e^{bT}$$

$$Q_{10}(C_{\min}) = e^{10b}$$

式中, T 为自记式纽扣温度计记录的土壤温度 ($^{\circ}\text{C}$); a 表示 0°C 时土壤有机碳矿化速率 ($\mu\text{g C d}^{-1} \text{g}^{-1}$); b 为温度反应系数, a 和 b 由土壤有机碳矿化速率与温度拟合获得; $Q_{10}(C_{\min})$ 为土壤有机碳矿化的温度敏感性, 即温度每升高 10°C 土壤有机碳矿化速率增加的倍数^[32]。

1.3.3 土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶动力学参数及温度敏感性

分别取培养后 63 个土壤样品的 1 g 鲜土于烧杯中, 加入 125 ml pH=4.5—5 的醋酸缓冲液 (50 mmol/L), 用玻璃棒搅拌, 及旋涡振荡器混匀, 制成土壤悬浮液; 吸取土壤悬浮液 200 μL 于 96 孔微孔板, 再加入 50 μL 的 4-甲基伞形酮酰- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4-MUB- β -D-glucopyranoside) 作底物, 底物浓度梯度设置为 5、10、20、30、40、60、100 和 200 $\mu\text{mol/L}$, 在标准物质孔中加入 50 μL 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的标准物质 4-甲基伞形酮 (4-MUB, 4-methylumbelliferyl) 和 200 μL 的醋酸缓冲液, 样品分析设置 8 个重复, 同时设置空白。所有微孔板在相应温度培养箱黑暗条件下培养 4 h。

停止培养后, 每个孔加入 10 μL 1mol/L NaOH 溶液, 过 1 min 后, 采用微孔板荧光法在 360 nm 激发、460 nm 下进行测定 (SynergyH4, BioTek)^[33-34]。

在 SigmaPlot 10.0 软件中对酶活性和底物浓度进行米氏方程双曲线拟合, 计算土壤酶动力学参数 (V_{\max} 和 K_m), 计算公式为:

$$V = V_{\max} [S] / (K_m + [S])$$

式中, V 为酶促反应速率 ($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$); S 为底物浓度 ($\mu\text{mol/L}$); V_{\max} 为酶促反应的潜在最大速率 ($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$); K_m 为半饱和常数 ($\mu\text{mol/L}$)。

土壤酶动力学参数温度敏感性的计算公式为:

$$Q_{10} = e^{\text{Slope} \times 10}$$

式中, Slope 为对 V_{\max} 和 K_m 进行对数转换, 与培养温度建立线性回归方程的斜率^[15]。

1.4 数据统计分析

利用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。采用协方差分析 (ANCOVA) 对不同氮添加水平和培养温度下的 C_{\min} 和 βG 动力学参数进行显著性检验, 氮添加处理作为主影响因子, 培养温度作为协变量。采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对不同处理土壤理化性质、土壤 C_{\min} 以及 βG 动力学参数的温度敏感性进行显著性检验, 采用 Duncan 法进行多重比较 ($P=0.05$)。2017 年 9 月采样时样地土壤温度为 27°C , 因此选择相近的 30°C 培养下的土壤 C_{\min} 、 βG 动力学参数, 30 — 40°C 培养温度下 βG 动力学参数的 Q_{10} 值和土壤环境因子, 采用 Pearson 法进行相关分析。利用 SigmaPlot 10.0 软件作图。图表中数据为平均值 \pm 标准误。

2 结果与分析

2.1 氮添加对土壤理化性质的影响

氮添加处理显著降低土壤 pH 值。高氮 (N2) 添加水平显著增加 TP 和 NO_3^- -N 含量, 并降低 NH_4^+ -N 含量, 但与对照差异不显著。低氮 (N1) 添加处理显著降低 NH_4^+ -N 含量。氮添加对土壤中 SOC、TN、DOC 和 aP 含量影响不显著 (表 1)。

2.2 氮添加对有机碳矿化速率及温度敏感性的影响

在 10 — 40°C 培养温度范围内, 不同氮添加处理的土壤 C_{\min} 随温度的增加而呈指数增加, 为 $\text{N2} > \text{N1} > \text{N0}$ 。协方差分析结果表明, 氮添加对 C_{\min} 的影响极显著 ($P < 0.05$)。N0、N1、N2 的 $Q_{10}(C_{\min})$ 大小分别为 1.21、1.20、1.14, 但处理间均无显著差异 (图 1)。

表1 氮添加对土壤理化性质的影响

Table 1 The effects of nitrogen additions on soil physical and chemical properties

处理 Treatment	pH	有机碳 SOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (g/kg)	可溶性碳 DOC/ (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	有效磷 aP/ (mg/kg)	碳氮比 C/N	DOC/SOC (10 ⁻³)
N0	4.4±0.01a	19.0±0.36a	1.2±0.04a	0.1±0.01b	47.3±0.90a	16.3±0.71a	3.4±0.59b	3.6±0.06a	16.2±0.64a	2.5±0.08a
N1	4.2±0.03b	16.4±0.91a	1.1±0.04a	0.1±0.00b	43.5±1.30a	13.9±0.14b	3.9±0.35b	3.3±0.02a	15.0±0.56a	2.7±0.16a
N2	4.2±0.01b	18.5±1.28a	1.2±0.03a	0.2±0.00a	49.0±3.33a	14.1±0.83ab	6.1±0.28a	3.7±0.21a	16.1±0.92a	2.7±0.35a

每列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05, n = 3$), 数据表示平均值±标准误; N0(对照), N1(50 kg N hm⁻² a⁻¹), N2(100 kg N hm⁻² a⁻¹); SOC: Soil Organic Carbon; TN: Total Nitrogen; TP: Total Phosphorus; DOC: Dissolved Organic Carbon; aP: available Phosphorus; C/N: Carbon/Nitrogen; DOC/SOC: Dissolved Organic Carbon/Soil Organic Carbon

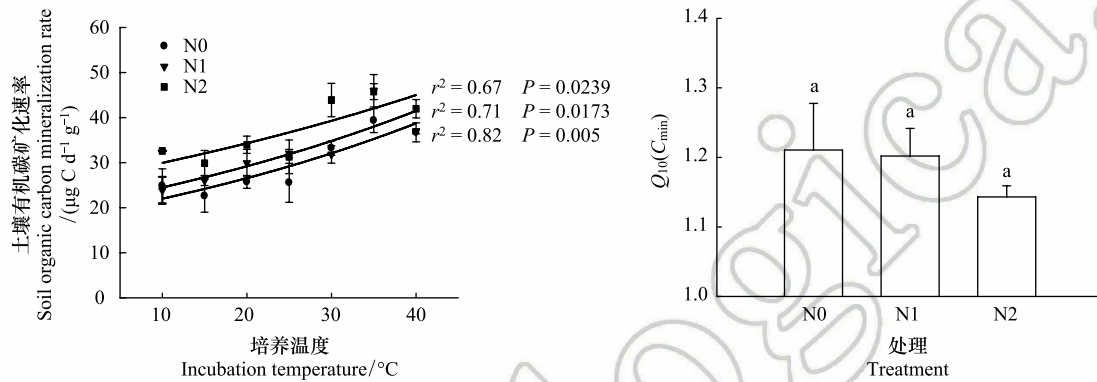


图1 不同氮添加水平土壤有机碳矿化速率及温度敏感性

Fig.1 Soil organic carbon mineralization rate and their temperature sensitivity under different nitrogen additions

C_{min}: 土壤有机碳矿化速率, soil organic carbon mineralization rates

2.3 氮添加对 β-1,4-葡萄糖苷酶动力学参数及温度敏感性的影响

不同氮添加水平下的 lnV_{max}、ln(V_{max}/K_m) 与温度呈显著正相关, 且值大小为 N2>N1>N0 (P<0.05)。不同氮添加水平的 Q₁₀(V_{max}) 和 Q₁₀(K_m) 的大小都表现 N2>N1>N0, 并且差异显著, 而不同处理间 Q₁₀(V_{max}/K_m) 无显著差异(图2)。

2.4 相关分析

在 30℃ 培养温度下, C_{min} 和 TP、NO₃⁻-N、aP、V_{max} 显著正相关; V_{max} 和 TP、NO₃⁻-N 显著正相关, 和 pH 显著负相关; K_m 和 TN 显著负相关; V_{max}/K_m 和 pH 显著负相关, 和 TP 显著正相关。在 30—40℃ 培养温度下, Q₁₀^{30-40℃}(V_{max}) 和 pH 显著负相关; Q₁₀^{30-40℃}(V_{max}/K_m) 和 TN 显著负相关(表2)。

表2 30℃土壤有机碳矿化速率、β-1,4-葡萄糖苷酶动力学参数和土壤环境因子的相关性

Table 2 The correlations between soil organic carbon mineralization rate, kinetic parameters of β-1,4-glucosidase and the soil environmental factors at 30℃

参数 Parameters	pH	有机碳 SOC	全氮 TN	全磷 TP	可溶性碳 DOC	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N	有效磷 aP	C _{min}
C _{min}	-0.431	0.438	0.104	0.841 **	0.195	-0.194	0.890 **	0.729 *	1.000
V _{max}	-0.720 *	-0.040	-0.257	0.894 **	0.404	-0.534	0.822 **	0.275	0.739 *
K _m	-0.010	-0.441	-0.794 *	0.080	0.195	-0.198	0.326	-0.096	0.177
V _{max} /K _m	-0.675 *	0.285	0.277	0.803 **	0.224	-0.383	0.542	0.344	0.589
Q ₁₀ ^{30-40℃} (V _{max})	-0.704 *	-0.596	-0.236	0.258	0.188	-0.422	0.485	-0.444	0.129
Q ₁₀ ^{30-40℃} (K _m)	-0.390	-0.028	0.430	0.109	0.033	-0.168	0.115	-0.184	-0.015
Q ₁₀ ^{30-40℃} (V _{max} /K _m)	-0.073	-0.440	-0.800 **	0.078	0.115	-0.151	0.273	-0.108	0.145

* P<0.05, ** P<0.01, n=9; Q₁₀^{30-40℃}(V_{max})、Q₁₀^{30-40℃}(K_m)、Q₁₀^{30-40℃}(V_{max}/K_m) 分别表示 30—40℃ 范围内 βG 的 Q₁₀(V_{max})、Q₁₀(K_m)、Q₁₀(V_{max}/K_m)。

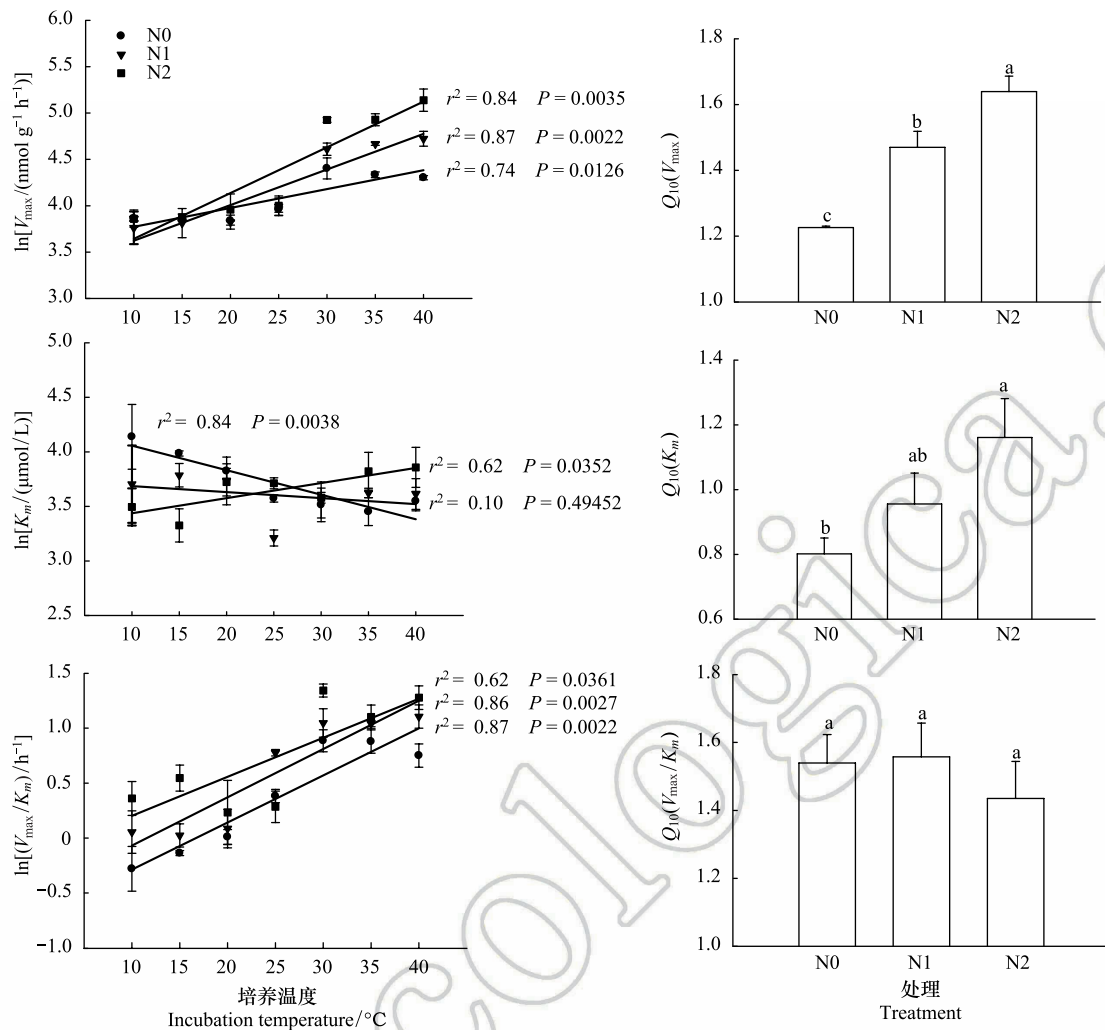


图2 不同氮添加水平 β -1,4-葡萄糖苷酶动力学参数及温度敏感性

Fig.2 Kinetic parameters and their temperature sensitivity of β -1,4-glucosidase under different nitrogen additions

V_{\max} : 最大反应速率, maximum rates of velocity; K_m : 半饱和常数, half-saturation constant; V_{\max}/K_m : 催化效率, catalytic efficiency

3 讨论

3.1 氮添加对土壤理化性质的影响

与此前研究结果一致,氮添加导致土壤酸化^[28, 35-36]。这是因为氮添加使土壤可交换的 H^+ 增加, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 降低,因而 pH 降低^[36]。氮添加增加土壤 TP 含量,在磷限制明显的亚热带红壤地区,氮添加促进土壤中磷酸酶活性增加来缓解土壤磷限制,促进生态系统磷循环,可能导致 TP 含量增加^[37-38]。氮添加导致土壤 NO_3^- -N 增加, NH_4^+ -N 降低,已有 meta 分析结果显示,氮的输入使参与硝化作用微生物(如氨氧化细菌、氨氧化古菌)数量增加,因此硝化作用增强,促进 NH_4^+ -N 向 NO_3^- -N 的转化^[39]。我们在相同样地的研究表明,氮添加可显著降低反硝化功能基因丰度,这可能导致高氮添加条件下反硝化作用降低,从而增加土壤中 NO_3^- -N 含量^[40]。

3.2 氮添加对土壤有机碳矿化速率及温度敏感性的影响

氮添加量越高,土壤 C_{\min} 越高,这与 Wang^[13]、向元彬^[41] 等研究结果一致。氮添加增加了土壤有效氮、磷养分含量,促进微生物生物量增加^[28],并促进微生物分泌获取能量的酶活性,增加土壤有机碳矿化速率^[41]。有机碳矿化速率除与土壤养分含量有关,还受底物中元素比值的影响^[42],较低的 C/N 表示微生物的有机碳

分解作用更强,反之则较弱^[43]。但本研究中氮添加对土壤 C/N 无显著影响表明本研究中 C/N 不是影响 C_{\min} 的主要因子。

土壤有机碳矿化速率的 Q_{10} 值随氮添加量的升高而下降,但处理间差异不显著。Mo^[2] 在我国南方亚热带森林的研究也显示有机碳矿化速率的 Q_{10} 值随氮添加量的升高而显著下降。Mo 认为温度是影响 C_{\min} 最主要因素,但大量氮添加改变了温度对土壤呼吸速率的控制作用^[2]。与之相比,本研究样地氮添加为 7a,而 Mo 样地氮添加为 15a,相对较短时间的氮添加处理可能是导致差异不显著的原因。 $Q_{10}(C_{\min})$ 受多种因素影响,如有机质稳定性、底物有效性和微生物活性等^[44]。根据酶动力学原理,分子结构越复杂的底物,即生物化学上越难分解的有机质,其分解所需要的活化能就越高,其 Q_{10} 值就越高^[14]。本研究不同氮添加处理下土壤 DOC/SOC 无显著差异,这也可能是造成不同氮添加处理下的 $Q_{10}(C_{\min})$ 也无显著差异的原因之一。

3.3 氮添加对土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶活性动力学参数及温度敏感性的影响

不同氮添加水平 β G 的 V_{\max} 和 V_{\max}/K_m 随温度升高而增大,这是因为温度升高,酶分子活动加剧, β G 和底物反应速率增大,导致 V_{\max} 和 V_{\max}/K_m 增加^[21]。本研究中氮添加导致土壤氮磷含量增加,从而导致微生物能量(碳素)相对缺乏,根据微生物分泌酶的经济性原则^[45-47],微生物产生更多与碳分解有关的酶(如 β G),分解土壤中的纤维素、半纤维素等,提高土壤有机碳分解速率的同时也增大水解酶 β G 的活性以及酶和底物的催化效率^[26],在温带森林研究结果与本研究的结果一致^[15]。土壤酶 V_{\max} 和 C_{\min} 正相关表明,未来氮沉降继续增加情景下,氮添加满足微生物的养分和能量需求,微生物将分泌更多 β G 水解酶,进一步促进有机碳分解。

不同氮添加处理条件下, β G 的 K_m 随温度增加出现了增加、降低、不相关 3 种趋势。目前对于 K_m 随增温的变化趋势的研究结果不一致^[15, 20],说明温度不是影响酶与底物亲和性的唯一因素。N0 的 $\ln K_m$ 随温度线性降低,这是因为温度越高,酶与底物活动剧烈,结合更紧密,亲和性更高^[42]。而 N2 的 $\ln K_m$ 随温度线性升高,表明土壤中可能存在吸附于土壤颗粒上的其他可与酶反应的物质,其温度升高会促进这些物质的解吸附作用,与底物竞争结合酶的活性中心,导致 K_m 增加^[15]。

氮添加同时增加了 V_{\max} 和 K_m 的 Q_{10} 值,导致对 $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$ 值无影响。亚热带地区温度较高,氮添加增加 β G 的动力学参数的 Q_{10} 值,表明微生物可以适应当地氮沉降增加和增温条件。温带森林氮添加对酶动力学参数温度敏感性的研究显示,氮添加对所测 5 种酶的 $Q_{10}(V_{\max})$ 无明显影响,但显著增加了木糖苷酶(β X)的 $Q_{10}(K_m)$ ^[15]。酶动力学参数的温度敏感性与土壤环境、底物有效性等多种因素有关^[18]。本研究施氮量(50、100 kg N hm⁻² a⁻¹)高于温带森林施氮量(25.2、35 kg N hm⁻² a⁻¹)^[15],这可能导致本试验水解酶活性对温度更为敏感。而通过分析 30—40℃ 范围内 β G 的 $Q_{10}(V_{\max})$ 和 $Q_{10}(V_{\max}/K_m)$,发现前者与 pH 负相关,后者与 TN 正相关,说明土壤环境是影响动力学参数温度敏感性的重要因素。

4 结论

氮添加增加土壤有机碳矿化速率、 β -1,4-葡萄糖苷酶的最大潜在反应速率和催化效率,并且高氮处理效果更显著。氮添加对 β -1,4-葡萄糖苷酶最大潜在反应速率和半饱和常数的温度敏感性有显著促进作用,且高氮处理效果更显著,但氮添加对有机碳矿化速率和 β -1,4-葡萄糖苷酶催化效率的温度敏感性影响不显著。30℃ 培养温度下的数据相关分析表明,土壤有机碳矿化速率与土壤全磷、硝态氮、有效磷、 β -1,4-葡萄糖苷酶最大潜在反应速率正相关; β -1,4-葡萄糖苷酶最大潜在反应速率与土壤总磷、硝态氮含量正相关,与土壤 pH 负相关;半饱和常数和全氮负相关;催化效率和 pH 负相关,和全磷正相关。30—40℃ 培养温度下, β -1,4-葡萄糖苷酶最大潜在反应速率的温度敏感性和 pH 负相关,催化效率的温度敏感性和全氮负相关。本研究结果表明,未来氮沉降加剧和全球变暖情景下,亚热带杉木林土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶活性和催化效率会持续增强,土壤有机碳矿化速率会增加。

参考文献 (References):

- [1] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 2008, 320(5878): 889-892.
- [2] Mo J M, Zhang W, Zhu W X, Gundersen P, Fang Y T, Li D J, Wang H. Nitrogen addition reduces soil respiration in a mature tropical forest in southern China. *Global Change Biology*, 2008, 14(2): 403-412.
- [3] Gruber N, Galloway J N. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 2008, 451(7176): 293-296.
- [4] Janzen H H. Carbon cycling in earth systems—a soil science perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2004, 104(3): 399-417.
- [5] Bhattacharya S S, Kim K H, Das S, Uchimiya M, Jeon B H, Kwon E, Szulejko J E. A review on the role of organic inputs in maintaining the soil carbon pool of the terrestrial ecosystem. *Journal of Environmental Management*, 2016, 167: 214-227.
- [6] Perkins D M, Yvon-Durocher G, Demars B O L, Reiss J, Pichler D E, Friberg N, Trimmer M, Woodward G. Consistent temperature dependence of respiration across ecosystems contrasting in thermal history. *Global Change Biology*, 2012, 18(4): 1300-1311.
- [7] Pachauri R K, Meyer L. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Geneva, Switzerland; IPCC, 2014.
- [8] Liu Y, He N P, Zhu J X, Xu L, Yu G R, Niu S L, Sun X M, Wen X F. Regional variation in the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition in China's forests and grasslands. *Global Change Biology*, 2017, 23(8): 3393-3402.
- [9] Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante M, Cinnerby S, Davidson E, Dentener F, Emmett B, Erisman J W, Fenn M, Gilliam F, Nordin A, Pardo L, De Vries W. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications*, 2010, 20(1): 30-59.
- [10] Coucheny E, Strömgen M, Lerch T Z, Herrmann A M. Long-term fertilization of a boreal Norway spruce forest increases the temperature sensitivity of soil organic carbon mineralization. *Ecology and Evolution*, 2013, 3(16): 5177-5188.
- [11] Liu B Q, Mou C C, Yan G Y, Xu L J, Jiang S L, Xing Y J, Han S J, Yu J H, Wang Q G. Annual soil CO₂ efflux in a cold temperate forest in northeastern China: effects of winter snowpack and artificial nitrogen deposition. *Scientific Reports*, 2016, 6: 18957.
- [12] Li Y, Liu Y H, Wu S M, Niu L, Tian Y Q. Microbial properties explain temporal variation in soil respiration in a grassland subjected to nitrogen addition. *Scientific Reports*, 2015, 5: 18496.
- [13] Wang R, Sun Q Q, Wang Y, Liu Q F, Du L L, Zhao M, Gao X, Hu Y X, Guo S L. Temperature sensitivity of soil respiration: Synthetic effects of nitrogen and phosphorus fertilization on Chinese Loess Plateau. *Science of the Total Environment*, 2017, 574: 1665-1673.
- [14] Davidson E A, Janssens I A. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 2006, 440(7081): 165-173.
- [15] Stone M M, Weiss M S, Goodale C L, Adams M B, Fernandez I J, German D P, Allison S D. Temperature sensitivity of soil enzyme kinetics under N-fertilization in two temperate forests. *Global Change Biology*, 2012, 18(3): 1173-1184.
- [16] 沈芳芳, 袁颖红, 樊后保, 刘文飞, 刘苑秋. 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. *生态学报*, 2012, 32(2): 517-527.
- [17] Liang C, Schimel J P, Jastrow J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature Microbiology*, 2017, 2(8): 17105-17105.
- [18] Blagodatskaya E, Blagodatsky S, Khomyakov N, Myachina O, Kuzyakov Y. Temperature sensitivity and enzymatic mechanisms of soil organic matter decomposition along an altitudinal gradient on Mount Kilimanjaro. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22240.
- [19] Moscatelli M C, Lagomarsino A, Garzillo A M V, Pignataro A, Grego S. β -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. *Ecological Indicators*, 2012, 13(1): 322-327.
- [20] German D P, Marcelo K R B, Stone M M, Allison S D. The Michaelis-Menten kinetics of soil extracellular enzymes in response to temperature: a cross-latitudinal study. *Global Change Biology*, 2012, 18(4): 1468-1479.
- [21] Bárta J, Šlajšová P, Tahovská K, Píček T, Šantrůčková H. Different temperature sensitivity and kinetics of soil enzymes indicate seasonal shifts in C, N and P nutrient stoichiometry in acid forest soil. *Biogeochemistry*, 2013, 117(2/3): 525-537.
- [22] Stone M M, Plante A F. Changes in phosphatase kinetics with soil depth across a variable tropical landscape. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 71: 61-67.
- [23] Huang Z Q, He Z M, Wan X H, Hu Z H, Fan S H, Yang Y S. Harvest residue management effects on tree growth and ecosystem carbon in a Chinese fir plantation in subtropical China. *Plant and Soil*, 2013, 364(1/2): 303-314.
- [24] 戴尔阜, 李双元, 吴卓, 闫浩文, 赵东升. 中国南方红壤丘陵区植被净初级生产力空间分布及其与气候因子的关系——以江西省泰和县

- 为例. 地理研究, 2015, 34(7): 1222-1234.
- [25] Wen X F, Wang H M, Wang J L, Yu G R, Sun X M. Ecosystem carbon exchanges of a subtropical evergreen coniferous plantation subjected to seasonal drought, 2003-2007. *Biogeosciences*, 2010, 7(1): 357-369.
- [26] 聂二旗, 张心昱, 郑国祗, 杨洋, 王辉民, 陈伏生, 孙晓敏. 氮磷添加对杉木林土壤碳氮矿化速率及酶动力学特征的影响. *生态学报*, 2018, 38(2): 615-623.
- [27] Kou L, Chen W W, Zhang X Y, Gao W L, Yang H, Li D D, Li S G. Differential responses of needle and branch order-based root decay to nitrogen addition; dominant effects of acid-unhydrolyzable residue and microbial enzymes. *Plant and Soil*, 2015, 394(1/2): 315-327.
- [28] Dong W Y, Zhang X Y, Liu X Y, Fu X L, Chen F S, Wang H M, Sun X M, Wen X F. Responses of soil microbial communities and enzyme activities to nitrogen and phosphorus additions in Chinese fir plantations of subtropical China. *Biogeosciences*, 2015, 12(18): 5537-5546.
- [29] Conant R T, Drijber R A, Haddix M L, Parton W J, Paul E A, Plante A F, Six J, Steinweg J M. Sensitivity of organic matter decomposition to warming varies with its quality. *Global Change Biology*, 2008, 14(4): 868-877.
- [30] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-98.
- [31] He N P, Wang R M, Gao Y, Dai J Z, Wen X F, Yu G R. Changes in the temperature sensitivity of SOM decomposition with grassland succession: implications for soil C sequestration. *Ecology and Evolution*, 2013, 3(15): 5045-5054.
- [32] Rey A N A, Jarvis P. Modelling the effect of temperature on carbon mineralization rates across a network of European forest sites (FORCAST). *Global Change Biology*, 2006, 12(10): 1894-1908.
- [33] 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. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [34] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1387-1397.
- [35] Zhang C, Zhang X Y, Zou H T, Kou L, Yang Y, Wen X F, Li S G, Wang H M, Sun X M. Contrasting effects of ammonium and nitrate additions on the biomass of soil microbial communities and enzyme activities in subtropical China. *Biogeosciences*, 2017, 14(20): 4815-4827.
- [36] Lu X K, Mao Q G, Gilliam F S, Luo Y Q, Mo J M. Nitrogen deposition contributes to soil acidification in tropical ecosystems. *Global Change Biology*, 2014, 20(12): 3790-3801.
- [37] Ratliff T J, Fisk M C. Phosphatase activity is related to N availability but not P availability across hardwood forests in the northeastern United States. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 94: 61-69.
- [38] Zhang X Y, Yang Y, Zhang C, Niu S L, Yang H, Yu G R, Wang H M, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y, Tian D S, Tang Y Q, Liu S, Sun X M. Contrasting responses of phosphatase kinetic parameters to nitrogen and phosphorus additions in forest soils. *Functional Ecology*, 2018, 32(1): 106-116.
- [39] Carey C J, Dove N C, Beman J M, Hart S C, Aronson E L. Meta-analysis reveals ammonia-oxidizing bacteria respond more strongly to nitrogen addition than ammonia-oxidizing archaea. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 99: 158-166.
- [40] Tang Y Q, Zhang X Y, Li D D, Wang H M, Chen F S, Fu X L, Fang X M, Sun X M, Yu G R. Impacts of nitrogen and phosphorus additions on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and denitrifying bacteria in Chinese fir plantations. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 284-293.
- [41] 向元彬, 黄从德, 胡庭兴, 涂利华, 杨万勤, 李仁洪, 胡畅. 华西雨屏区巨桉人工林土壤呼吸对模拟氮沉降的响应. *林业科学*, 2014, 50(1): 21-26.
- [42] 樊金娟, 李丹丹, 张心昱, 何念鹏, 部金凤, 王情, 孙晓敏, 温学发. 北方温带森林不同海拔梯度土壤碳矿化速率及酶动力学参数温度敏感性. *应用生态学报*, 2016, 27(1): 17-24.
- [43] 王绍强, 于贵瑞. 生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征. *生态学报*, 2008, 28(8): 3937-3947.
- [44] von Lütow M, Kögel-Knabner I. Temperature sensitivity of soil organic matter decomposition-what do we know? *Biology and Fertility of Soils*, 2009, 46(1): 1-15.
- [45] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, Waldrop M P. Evolutionary-economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function//Shukla G, Varma A, eds. *Soil Enzymology*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011: 229-243.
- [46] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 216-234.
- [47] Nannipieri P, Trasar-Cepeda C, Dick R P. Soil enzyme activity: a brief history and biochemistry as a basis for appropriate interpretations and meta-analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(1): 11-19.