基于干、湿筛法下滇中森林土壤团聚体酶活性特征对氮沉降的响应

张乃木，宋娅丽，王克勤

（西南林业大学生态与环境学院，昆明 650224）

摘要：研究森林土壤团聚体酶活性对氮沉降的响应差异以及团聚体酶活性的影响因素，以滇中亚高山云南松林和华山松林为研究对象，于 2020 年 6 月至 2021 年 5 月通过野外模拟氮沉降试验，设置对照[CK，0 g/(m² · a)N]、低氮[LN，10 g/(m² · a)N]、中氮[MN，20 g/(m² · a)N]、高氮[HN，25 g/(m² · a)N]，分别采集旱季(2021 年 2 月)和雨季(2020 年 8 月)的土壤样品，分析土壤团聚体中脲酶(Ure)、蔗糖酶(Inv)和酸性磷酸酶(AP)的变化特征，以及与环境因子的交互作用，阐明不同筛分方式下土壤团聚体酶活性对氮沉降的响应特征。结果表明：(1)氮沉降对 2 种林分下土壤团聚体的分布未造成显著影响，而不同筛分方式则影响显著；不同氮沉降水平下，土壤团聚体中 3 种酶活性均表现出 LN 促进，MN 与 HN 抑制；(2)与干筛法相比，湿筛法下土壤团聚体中酶活性均有显著下降，Inv 和 Ure 的团聚体酶活性的降幅均在 20% 以上，AP 的降幅可达 57.55%；(3)土壤干筛、湿筛团聚体酶活性的几何平均数(GMea)均高于混合土壤，且干筛条件下 GMea 最高，较湿筛条件下平均增加 50.35%；影响土壤酶活性的因子中，林分对 Inv 的影响最大，而季节对 Ure 和 AP 的影响最大。综上，土壤团聚体对土壤酶活性具有隔离保护作用，同时保护效果受季节、林分类型、筛分方法与施氮水平等因素共同影响。研究结果为氮沉降下对区域森林生态系统的土壤生态学过程及维护土壤生态系统的稳定性提供理论依据。

关键词：氮沉降；团聚体；酶活性；干筛；湿筛；几何平均数

中图分类号：S154.1 **文献标识码**：A **文章编号**：1009-2242(2023)01-0246-08

DOI：10.13870/j.cnki.stbcxb.2023.01.032

Response of Enzyme Activity Characteristics of Forest Soil Aggregates to Nitrogen Deposition in Central Yunnan Based on Dry and Wet Screening Method

ZHANG Naimu, SONG Yali, WANG Keqin

(*College of Ecology and Environment*, *Southwest Forestry University*, *Kunming* 650224)

Abstract: To study the response difference of forest soil aggregate enzyme activity to nitrogen deposition and the influencing factors of aggregate enzyme activity, taking the alpine *P. yunnanensis* forest and *P. armandii* forest in Central Asia of Yunnan Province as the research object, the field simulated nitrogen deposition test was conducted from June 2020 to May 2021. The settings were: control [CK, 0 g/(m² · a)N], low nitrogen [LN, 10 g/(m² · a)N], medium nitrogen [MN, 20 g/(m² · a)N] and high nitrogen [HN, 25 g/(m² · a)N]. The soil samples in dry season (February 2021) and rainy season (August 2020) were collected respectively. The variation characteristics of urease(Vre), invertase(Inv) and acid phosphatase(AP) in soil aggregates and their interaction with environmental factors were analyzed to clarify the response characteristics of soil aggregate enzyme activity to nitrogen deposition under different screening methods. The results showed that: (1) Nitrogen deposition had no significant effect on the distribution of soil aggregates under the two stands, but different screening methods had significant effects; The activities of three enzymes in soil aggregates were promoted by LN and inhibited by MN and HN under different nitrogen deposition levels; (2) Compared with the dry sieving method, the enzyme activity in soil aggregates decreased significantly under the wet sieving method. The decline of enzyme activity in Inv and Ure aggregates was more than 20%, and the

收稿日期：2022-05-20

资助项目：云南省教育厅科学研究基金项目(2022J0510)；国家自然科学基金项目(30660037)；云南省科技厅“三区”人才支持计划项目(90202101)；云南省自然生态监测网络云南玉溪森林生态站运行项目(2022-YN-13)；云南玉溪森林生态系统国家长期科研基地项目(2020132550)

第一作者：张乃木(1997—)，男，在读硕士研究生，主要从事森林生态系统功能研究。E-mail：mg700nm@126.com

通信作者：王克勤(1964—)，男，博士，教授，博导，主要从事小流域环境综合治理的理论与技术研究。E-mail：wangkeqin7389@sina.com

decline of AP was the highest, up to 57.55%; (3) The geometric mean GMea of soil dry sieve and wet sieve aggregate enzyme activity was higher than that of mixed soil, and the GMea under dry sieve condition was the highest, with an average increase of 50.35% compared with that under wet sieve condition. The stand among different factors had the greatest impact on Inv, while season had the greatest impact on Ure and AP. In conclusion, soil aggregates can isolate and protect soil enzyme activity. At the same time, the protection effect is jointly affected by season, stand type, screening method, and nitrogen application level. The research results provide a theoretical basis for the soil ecological process of regional forest ecosystem under nitrogen deposition and maintaining the stability of soil ecosystem.

Keywords: nitrogen deposition; aggregate; enzymatic activity; dry screen; wet screen; geometric mean

随着人类对化石燃料、工业化肥需求的快速增加,以及人口和畜牧业发展,氮沉降呈比例增加,1980—2010 年全国平均值由 11.11 (kg·hm^2)/a 上升到 13.87 (kg·hm^2)/a,增加近 25%,远超生态系统的临界负荷,且对森林生态系统的生物地球化学循环过程影响越来越严重[1]。森林作为陆地生态系统中最为重要的一环,直接承受大量的氮沉降[2]。

土壤团聚体是土壤结构的基本单位,其分布受到筛分方法的影响[3],目前常用的筛分方法包括干筛法和湿筛法[4]。已有研究[4]表明,筛分方法的不同影响土壤团聚体物理结构和酶活性,土壤团聚体通过控制不同粒径团聚体有机质的可接触性、微生物群落组成、水分等因素直接影响着土壤酶的活性。Bach 等[5]研究发现,湿润条件下土壤微生物和 N—乙酰氨基葡萄糖苷酶、β—葡萄糖苷酶、β—木糖酶和纤维二糖水解酶的活性受到刺激。此外,不同筛分方式影响部分易溶和对湿度敏感的酶,影响其在不同团聚体粒级之间的分布[6]。目前针对不同筛分方式对团聚体内酶活性影响的研究较少。Bach 等[5]研究不同筛分方法对酶活性的影响表明,湿筛分可导致酶活性的增加;也有研究[5]表明,土壤团聚体在经过湿筛后酶活性显著下降。表明不同筛分方式对酶活性的影响尚未统一。

土壤酶活性在不同土壤团聚体中的分布是不均匀的[7]。雷蕾等[8]研究发现,马尾松林土壤微团聚体(<0.25 mm)的 5 种水解酶(β—葡糖苷酶、酸性磷酸酶、N—乙酰—葡糖苷酶、纤维二糖水解酶和亮氨基酸氨基肽酶)活性均高于大团聚体(>2 mm),并认为与马尾松林的土壤质地(黏壤土)有关;王晟强等[9]在桂南茶园赤红壤发现,与碳氮循环相关的如 β—葡糖苷酶、蔗糖酶、脲酶以及蛋白酶的酶活性在>2 mm 粒径团聚体中最高,而在 1~0.25,<0.25 mm 团聚体中则处于较低水平,活性高低与土壤有机质含量在团聚体中的分布相关。但由于不同粒级土壤团聚体的形成环境和胶结类型不同,导致包被在团聚体内的土壤酶与胶体的结合方式及吸附能力有所差异,进而影响土壤酶活性在团聚体中的变化情况[10]。因此,氮沉降对土壤酶活性影响的主导控制因子,以及由土壤团聚体不同引起的土壤酶活性变化特征仍存在不确定性[11]。

滇中亚高山区域位于我国云贵高原、青藏高原和横断山区三大自然地理区域相结合的部位,植被以亚热带常绿阔叶林、亚热带中山针阔混交林、针叶林和高山矮林为主。本研究以该区域森林生态系统华山松林(*Pinus armandii* forest)、云南松林(*Pinus yunnanensis* forest)为研究对象,通过原位模拟大气氮沉降,研究 2 种林分下土壤团聚体酶活性对氮沉降的响应差异、不同筛分方式下土壤团聚体酶活性特征,以及土壤团聚体酶活性的影响因素,旨在为研究氮沉降对区域森林生态系统的土壤生态学过程及维护土壤生态系统的稳定性提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　研究区概况

研究地区位于云南省玉溪市磨盘山国家森林定位研究站,海拔为 1 260.0~2 614.4 m,属云南热带与亚热带的过渡气候带,是典型的中亚热带气候,年降水量为 1 050 mm,年均气温 15 ℃,具体自然条件参见文献[12]。各林分类型样地基本情况见表 1。

表 1　各林分类型样地基本情况

森林类型	样地编号	海拔/m	林龄/a	平均树高/m	平均胸径/cm	郁闭度	坡度/(°)
云南松林	1	2143	23	12.2	22.7	0.60	8
	2	2148	25	10.9	19.5	0.65	10
	3	2146	23	12.4	25.3	0.68	15
华山松林	1	2339	20	11.7	23.3	0.75	12
	2	2337	19	10.6	16.5	0.79	13
	3	2336	20	9.1	20.1	0.80	15

1.2　试验设计

1.2.1　样地设置　2020 年 6 月,在磨盘山 2 种典型人工林(云南松林、华山松林)中,设置 3 个 20 m×20 m 的样地,在每个样地中随机设置 4 个 3 m×3 m 的小样方,对应 4 种不同的施氮浓度,根据林地实际情况,将高浓度样地设置在下坡面,以尽量减少坡面径流泥沙引起的氮素迁移对土壤团聚体酶活性的影响。各样方之间距离>1 m,防止相互干扰。

1.2.2 施氮处理 以 $CO(NH_2)_2$ 为氮源进行施氮，施氮水平参照福建官庄国有林场、四川华西雨屏区和山西太岳山等试验区的氮沉降设置[13-15]，并结合试验区氮沉降量水平[3.84 g/(m^2 · a)N]及该地区未来可能的氮沉降趋势，本试验 4 个氮沉降水平分别为：对照[CK，0 g/(m^2 · a)N]、低氮[LN，10 g/(m^2 · a)N]、中氮[MN，20 g/(m^2 · a)N]、高氮[HN，25 g/(m^2 · a)N]，每个水平设置 3 个重复。将 1 年的施用量均分成 12 份，自 2020 年 6 月起，每月中旬对各样方进行定量模拟氮沉降处理，各处理除施氮浓度不同外，其他措施均保持一致。

1.3 样品采集与处理

土壤样品的采集：分别于施氮后的 2020 年 8 月(雨季)和 2021 年 2 月(旱季)，分别采集 0—10，10—20 cm 土层土壤样品，等量混合，采集 500 g 土壤样品，过 1 mm 筛用于土壤酶活性的测定，同时分别采集 500 g 原状土置于铁盒中，用于土壤团聚体的筛分，干筛法采用沙维诺夫法筛分[16]，湿筛筛分参照胡慧蓉[17]，采集的土壤样品带回实验室，用于土壤团聚体酶活性的测定。用二分法将样品均分，分别进行保存：一份室温自然风干保存，用于脲酶(Ure)、和蔗糖酶(Inv)的测定；另一份冷藏于 4 ℃冰箱，用于酸性磷酸酶(AP)的测定。

土壤酶活性的测定：试验通过自主添加基质进行土壤培养，测定反应产物和消耗基质量来表示酶活性，为排除土壤本身含有的基质成分影响，每个试验均设置无基质—纯水和无土壤 2 种对照。蔗糖酶活性采用 3,5—二硝基水杨酸比色法测定；脲酶活性采用比色法测定；酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法[18]测定。

1.4 数据处理

土壤团聚体平均质量直径(MWD，mm)计算公式为：

$$MWD=\sum_{i=1}^{n}(d_i w_i)\div\sum_{i=1}^{n}(w_i)$$

式中：d_i 为第 i 粒径团聚体直径的平均值(mm)；w_i 为第 i 粒径团聚体的质量分数(%)。

土壤酶活性的几何平均数(GMea，geometric mean)[19]是综合评价土壤酶活性的指标，可用来定量反映土壤质量的变化，计算公式为：

$$GMea=\sqrt[3]{E_{Ure}\times E_{Inv}\times E_{AP}}$$

式中：E_{Ure} 为脲酶活性[(mg · g)/24 h]；E_{Inv} 为蔗糖酶酶活性[(mg · g)/24 h]；E_{AP} 为酸性磷酸酶活性[(mg · g)/24 h]。酶活性单位用 24 h 单位土壤质量中土壤酶消耗特定底物(或生成特定产物)的摩尔量表示。

采用 Excel 2019 和 SPSS 22 软件对数据进行处理分析，对团聚体分布、不同氮沉降处理间、不同径级间、不同林分间，以及不同筛分方法下土壤团聚体酶活性差异特征采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行分析，并用 Duncan 法进行多重比较，采用多因素方差分析法(Multivariate ANOVA)分析施氮水平、径级、林分类型和季节对土壤团聚体酶活性的影响，显著性差异检验在 0.05 水平。

2 结果与分析

2.1 氮沉降对土壤团聚体分布的影响

各氮沉降水平下云南松林和华山松林团聚体含量均以 2～0.25 mm 最高(29.78%～55.72%)，分别为>2，0.25～0.106，<0.106 mm 粒径的 2.5～2.9，1.6～4.5，3.4～5.9 倍和 1.4～3.0，1.1～3.0，1.8～4.0 倍($p<0.05$)；而各氮沉降水平下同一径级团聚体则呈波动性变化(表 2 和表 3)。

表 2 氮沉降下的干筛团聚体粒径分布

森林类型	处理	雨季团聚体粒径占比/%					旱季团聚体粒径占比/%				
		>2 mm	2～0.25 mm	0.25～0.106 mm	<0.106 mm	MWD	>2 mm	2～0.25 mm	0.25～0.106 mm	<0.106 mm	MWD
云南松林	CK	22.09±3.41Bb	55.72±2.62Aa	12.56±2.88Cc	9.62±3.93Dc	1.428±0.04b	22.21±3.41Ba	54.44±3.14Ab	12.81±4.19Ca	10.54±1.05Da	1.418±0.04a
	LN	21.87±2.62Bb	54.02±2.88Ac	14.36±4.19Ca	9.74±3.67Db	1.404±0.04c	21.97±4.45Bb	55.15±1.57Aa	12.71±1.31Ca	10.18±3.93Db	1.417±0.07a
	MN	22.15±4.19Bb	54.23±4.72Ac	13.11±4.45Cb	10.51±1.31Da	1.414±0.07a	21.73±3.93Bb	55.27±1.05Aa	12.46±1.83Ca	10.54±4.72Da	1.410±0.05a
	HN	22.98±3.14Ba	54.62±3.67Ab	12.89±3.93Cc	9.51±4.45Dc	1.447±0.04c	22.15±3.14Ba	54.22±3.93Ab	12.98±2.88Ca	10.65±3.67Da	1.414±0.06a
华山松林	CK	20.52±1.29Bb	44.79±6.14Ab	19.07±3.23Ca	15.62±4.85Dc	1.264±0.07a	20.09±7.11Bb	44.88±4.52Ab	19.15±4.52Ca	15.88±4.52Da	1.250±0.06b
	LN	20.55±4.2Bb	44.54±2.91Ac	18.56±5.17Cb	16.35±5.17Da	1.262±0.03a	20.65±9.04Ba	44.61±4.85Ac	18.82±4.20Cb	15.92±5.17Da	1.267±0.08a
	MN	19.8±2.26Ba	45.00±7.43Aa	19.03±4.52Ca	16.17±6.14Db	1.242±0.07b	19.94±1.29Bb	45.08±5.49Ab	19.08±7.11Cab	15.90±2.26Da	1.247±0.03b
	HN	20.47±0.65Bb	45.10±1.62Aa	18.33±5.49Cc	16.1±3.55Dab	1.265±0.01a	19.90±4.2Bb	45.85±9.04Aa	18.98±5.49Cab	15.27±6.14Db	1.254±0.06b

注：表中数据为平均值±标准误；同列不同小写字母表示 $p<0.05$ 水平下同一团聚体粒径中氮沉降对团聚体分布的差异显著性；不同大写字母表示 $p<0.05$ 水平下同一氮沉降量中团聚体粒径对团聚体分布的差异显著性；$n=3$。下同。

不同筛分方法下土壤团聚体粒径分布不同，干筛法下云南松林和华山松林的大团聚体(>0.25 mm)[20]比例较湿筛法下比例降低 27.37%和 28.41%。干筛法微团聚体(<0.25 mm)在 2 种林分下较湿筛法下比例则增加 50.23%和 41.49%。通过计算团聚体土壤团聚体平均质量直径(MWD)值可知，各林分 MWD 最高值均出现在干筛团聚体中(1.447，1.267 mm)，湿筛导致 MWD 值的下降，在云南松林和华山松林中平均值分别下降 11.5%和

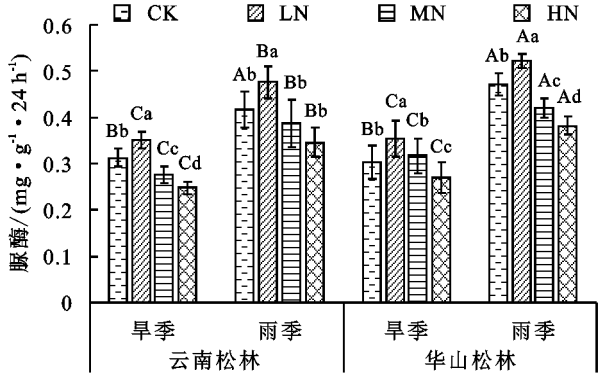
7.3%。说明湿筛导致土壤微团聚体比例增加,大团聚体比例减小,湿筛过程大团聚体可能经过破碎的过程。

表 3　氮沉降下的湿筛团聚体粒径分布

森林类型	处理	旱季团聚体粒径占比/%					雨季团聚体粒径占比/%				
		>2 mm	2~0.25 mm	0.25~0.106 mm	<0.106 mm	MWD	>2 mm	2~0.25 mm	0.25~0.106 mm	<0.106 mm	MWD
云南松林	CK	19.21±1.25Bd	39.44±3.03Aa	20.81±1.57Ba	20.54±0.4Ba	1.164±0.05b	19.73±1.35Ba	40.27±2.6Aa	19.54±1.12Bc	20.46±1.50Ba	1.189±0.07a
	LN	21.97±1.75Ba	40.15±1.53Aa	18.7±0.45Cd	19.18±1.50Cb	1.264±0.05a	21.28±0.95Ba	41.54±2.75Aa	18.02±1.61Cd	19.16±1.40Cb	1.254±0.03a
	MN	20.73±1.46Bb	39.27±1.89Aa	19.46±0.68Bc	20.54±1.76Ba	1.213±0.09b	20.48±1.56Ba	40.06±4.56Aa	20.37±1.67Bb	19.09±0.5Cb	1.214±0.07b
	HN	20.15±1.19Bc	39.22±3.69Aa	19.98±1.06Bb	20.65±1.45Ba	1.193±0.07b	20.15±1.21Ba	39.05±3.38Aa	21.2±1.50Ba	19.06±1.70Cb	1.193±0.01a
华山松林	CK	19.33±2.15Ca	30.07±3.40Ba	35.15±3.47Aa	15.45±1.39Da	1.086±0.05c	18.42±1.95Cc	30.09±1.01Ba	35.21±2.53Aa	16.28±1.50Ca	1.055±0.02a
	LN	21.98±2.80Ca	29.78±3.84Ba	34.28±3.13Aa	13.96±1.6Da	1.173±0.06a	21.82±0.89Ca	31.81±3.18Ba	32.29±3.97Aa	14.08±1.61Db	1.187±0.05a
	MN	20.09±0.38Ca	30.20±1.70Ba	35.08±5.51Aa	14.63±0.66Da	1.113±0.04b	19.96±2.33Cb	30.45±1.70Ba	33.14±3.57Aa	16.45±1.86Da	1.109±0.02a
	HN	20.22±1.25Ca	30.09±2.75Ba	35.27±4.29Aa	14.42±1.91Da	1.117±0.08bc	20.34±0.76Cb	31.64±1.13Ba	33.9±4.27Aa	14.12±1.10Db	1.136±0.05a

2.2　氮沉降对土壤团聚体酶活性的影响

与 CK 相比,不同氮沉降水平表现出 LN 均显著提高土壤团聚体脲酶(Ure)活性($p<0.05$)(图 1),平均增幅为 13.58%;而 MN 与 HN 则表现为抑制,相较 CK 平均降幅分别为 6.37%和 16.99%。不同林分间,华山松林 Ure 活性略高于云南松林,2 种林分下均表现出雨季(8 月)显著高于旱季(3 月)($p<0.05$)。



注:图柱上方不同小写字母表示 $p<0.05$ 水平下同一团聚体粒径中氮沉降对团聚体分布的差异显著性;不同大写字母表示 $p<0.05$ 水平下同一氮沉降量中团聚体粒径对团聚体分布的差异显著性;$n=3$。下同。

图 1　不同氮沉降水平下脲酶活性变化

不同氮沉降处理下土壤团聚体 Inv 和 AP 活性规律与 Ure 一致,Inv 对氮沉降增加的响应比 Ure 和 AP 更为敏感(图 2 和图 3)。相较于 CK,LN 处理均提高土壤团聚体 Inv 和 AP 酶活性,且 Inv 在各处理间差异显著($p<0.05$)。华山松林土壤团聚体 Inv 活性显著高于云南松林,平均增幅可达 61.20%;且土壤团聚体 Inv 活性随着季节的变化,各处理间差异性显著增加,但在 AP 中不明显,且雨季高于旱季($p<0.05$)。

2.3　筛分方法对土壤团聚体酶活性的影响

2 种筛分方法下各林分间土壤团聚体酶活性变化表现出不同的趋势。湿筛后 Ure、Inv 和 AP 的酶活性均有不同程度的下降(图 4~图 6)。华山松林 Ure 活性均值[0.38 (mg·g)/24 h]整体高于云南松林[0.35 (mg·g)/24 h]。不同径级下云南松林和华山松林的 Ure 活性均表现为 0.25~0.106 mm 最高[0.40,0.43 (mg·g)/24 h],与干筛法相比,湿筛法下 2 种林分 Ure 的平均降幅分别为 28.34%和 32.51%,且雨季降幅均显著高于旱季($p<0.05$);与干筛法相比,2 种林分大团聚体(>0.25 mm)的 Ure 活性在湿筛法下降幅分别为 29.84%和 26.30%,低于微团聚体(<0.25 mm)的 35.17%和 30.38%。

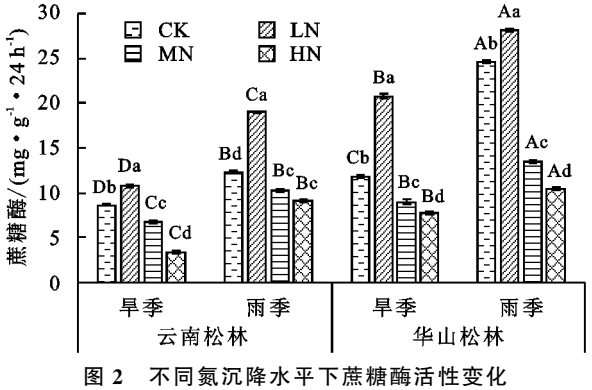


图 2　不同氮沉降水平下蔗糖酶活性变化

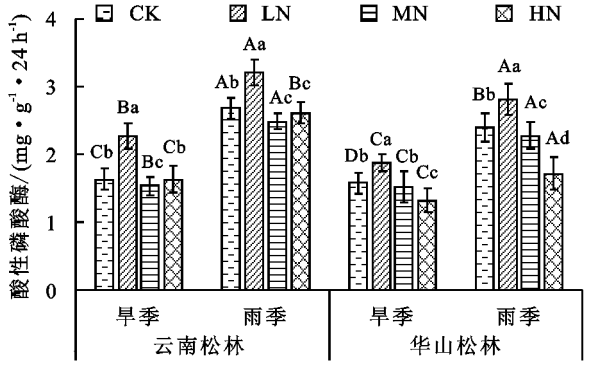


图 3　不同氮沉降水平下酸性磷酸酶活性变化

云南松林和华山松林的 Inv 活性与 Ure 一致,表现为华山松林[15.76 (mg·g)/24 h]显著高于云南松林[10.03 (mg·g)/24 h],而 AP 则相反($p<0.05$)。不同径级下 Inv 与 AP 均表现出 0.25~0.106 mm 径级的酶活性最高,分别为其他 3 种径级的 1.10~1.77,1.09~1.33 倍。与干筛法相比,湿筛法下 2 种酶活性的平均降幅为 31.15%和 38.07%,其中华山松林的 AP 降幅显著高于云南松林($p<0.05$),但在 Inv 中则差异不大。与干筛法相比,湿筛法下大团聚体与微团聚体的差异在 Inv 与 AP

中均表现出与 Ure 相同的趋势，均为微团聚体湿筛后的下降幅度大于大团聚体。

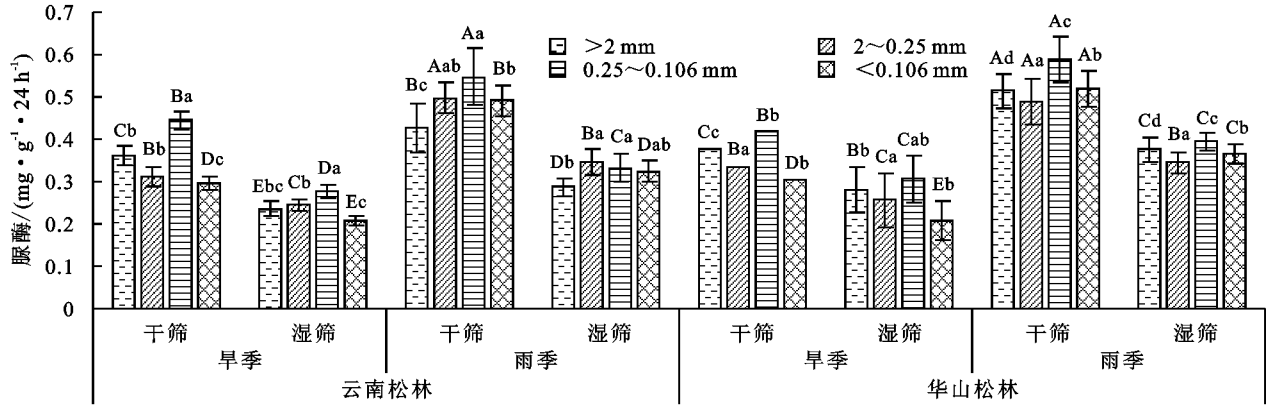


图 4 不同筛分方法下的土壤团聚体脲酶活性

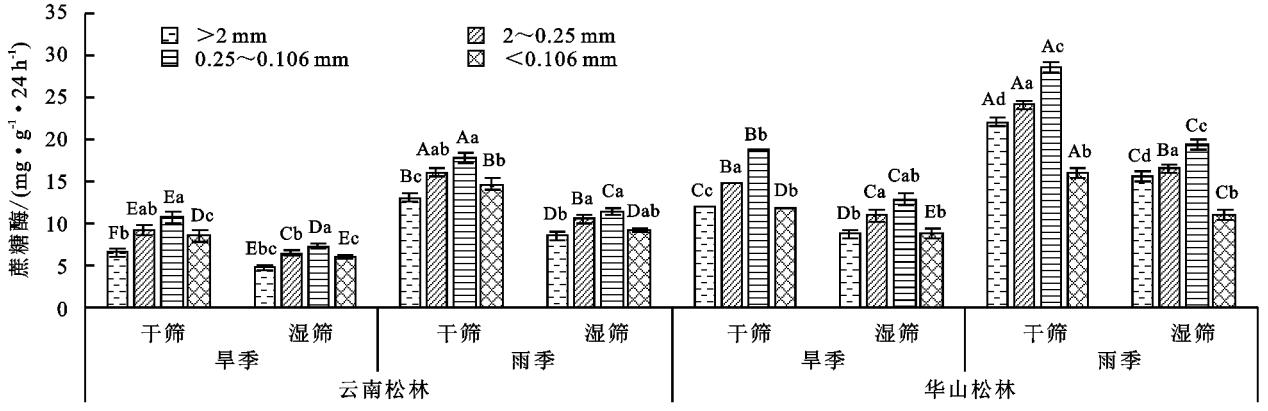


图 5 不同筛分方法下的土壤团聚体蔗糖酶活性

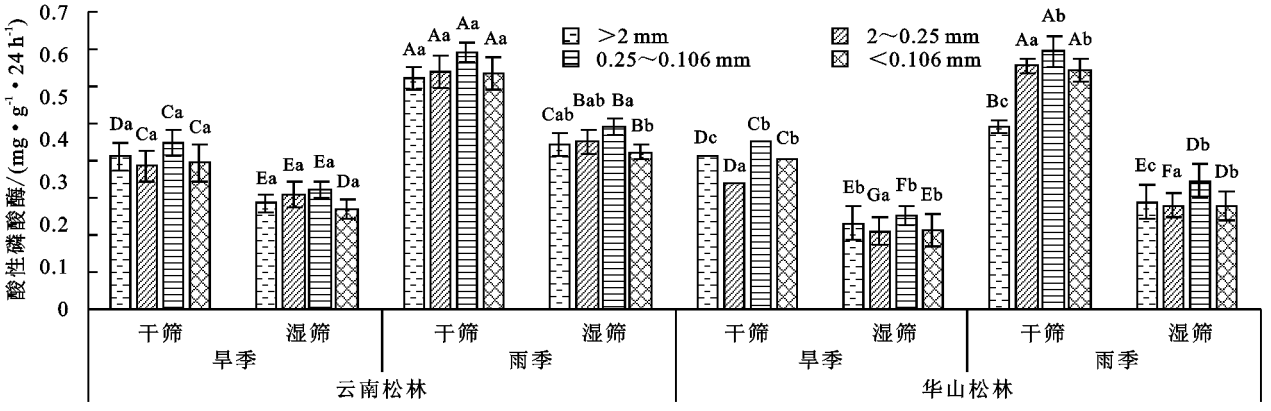


图 6 不同筛分方法下的土壤团聚体酸性磷酸酶活性

2.4 土壤团聚体酶的相对活性指数

土壤酶活性的几何平均数 GMea 可用于指示土壤生物质量。通过计算得知，不同氮沉降处理下云南松林和华山松林土壤混合后 GMea 的平均值为 1.38，低于土壤团聚体 2.10，表现出土壤酶活性综合指标 GMea 显著低于团聚体($p<0.05$)，表明土壤团聚体具有更高的土壤酶保护能力。

各氮沉降处理下 2 种林分土壤团聚体 GMea 均表现出 LN 促进，而 MN 与 HN 则表现为抑制，相较于 CK，LN 提高 27.15%和 26.14%，而 MN 与 HN 则降低 12.02%，23.47%和 14.81%，28.28%；各氮沉降水平下土壤团聚体的 GMea 均高于混合土壤(图 7 和图 8)。

就不同粒径土壤团聚体而言，2 种林分的 GMea 表现出相同的趋势，2 种林分下均表现为大团聚体(>0.25 mm)低于微团聚体(<0.25 mm)，在干筛条件下差异显著($p<0.05$)，而在湿筛条件下差异不显著($p>0.05$)。不同季节下 2 种林分 GMea 趋势表现一致，均表现为雨季显著高于旱季(13.99%～58.98%)($p<0.05$)；2 种林分不同筛分方式下，GMea 则表现为干筛法高于湿筛法(30.55%和 35.33%)。

2.5 土壤团聚体酶活性影响因素分析

通过不同因子间的多因素方差分析可知(表 4)，不同筛分方法下土壤团聚体 Ure、Inv、AP 酶活性均具有极显著影响($p<0.01$)。在干筛条件下，3 种酶活性均表现为受季节差异的影响最大，受 4 种因素相互影响最小。在湿筛条件下，Inv 表现出受林分差异

对其影响最大,季节差异影响次之;而 Ure 和 AP 则表现出均受季节差异影响最大,林分差异影响次之。

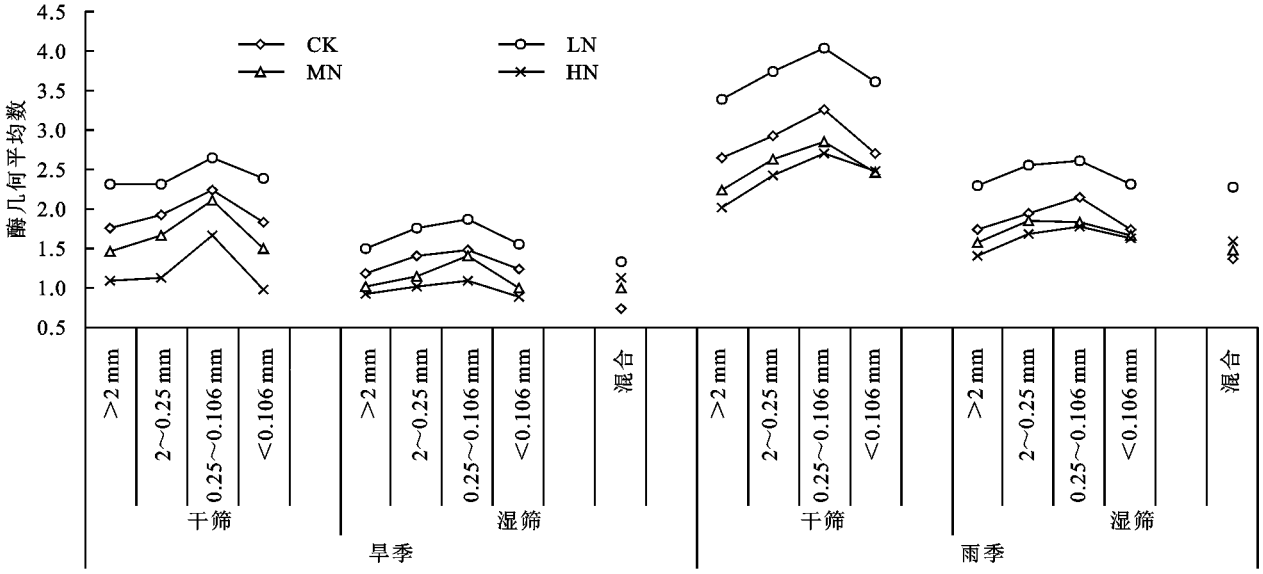


图 7　云南松林土壤团聚体酶几何平均数

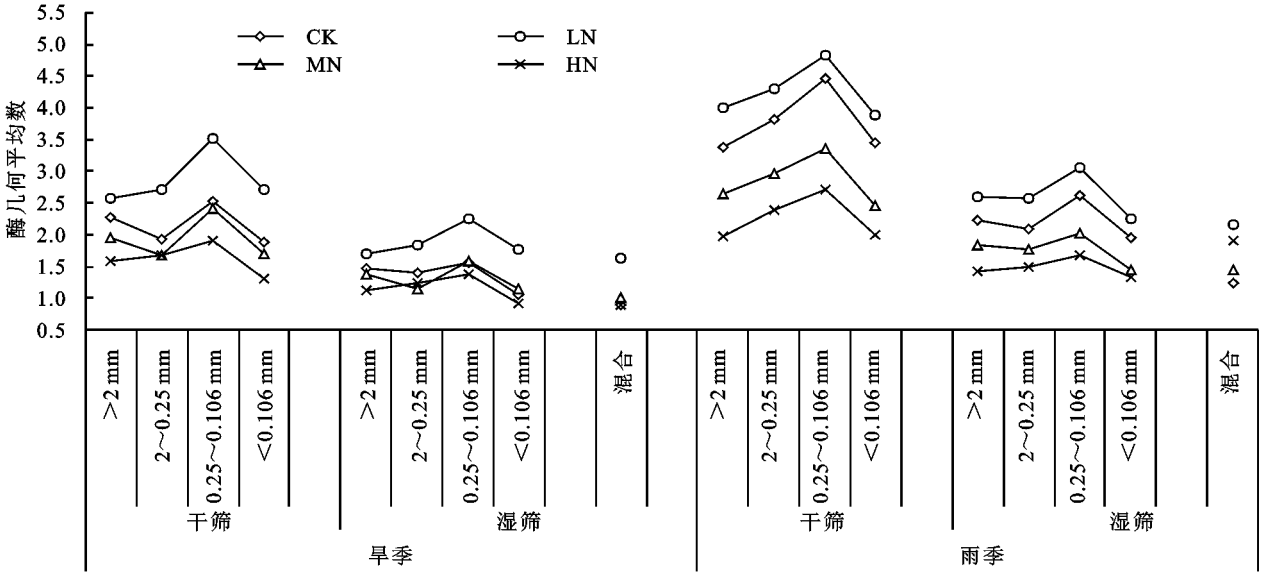


图 8　华山松林土壤团聚体酶几何平均数

表 4　不同施氮水平、团聚体径级、森林类型与季节对土壤团聚体酶活性的多因素方差分析

筛分方式	变异类型	自由度	Ure		Inv		AP	
			F	*p*	*F*	*p*	*F*	*p*
干筛	施氮水平	3	89.195	0	1201.005	0	47.906	0
	径级	3	136.336	0	2555.183	0	56.335	0
	林分	1	46.599	0	5215.251	0	6.433	0.009
	季节	1	2488.998	0	6953.602	0.001	1252.118	0
	径级×施氮水平×季节×林分	9	3.651	0	18.968	0	3.765	0
湿筛	施氮水平	3	31.053	0	650.636	0	21.895	0
	径级	3	68.082	0	1608.432	0	19.243	0
	林分	1	125.751	0	4449.461	0	355.565	0
	季节	1	947.848	0	3732.115	0	356.877	0
	径级×施氮水平×季节×林分	9	4.230	0	16.070	0	1.675	0.101

3　讨 论

3.1　土壤团聚体粒径对酶活性的影响

土壤是由很多不同大小颗粒的团聚体通过胶结作用形成,一般情况下,土壤团聚体酶通过被土壤胶体吸附或与之结合,起到物理保护的作用,避免降解和变性失活[3]。由于其不同粒径间养分、通气和水分等状况的不同,使得土壤酶活性在各团聚体粒径间存在差异。本研究中,不同筛分方式与不同季节下 3 种酶活性在土

壤团聚体中的变化特征具有一致性，即土壤酶活性更多地集中在微团聚体(<0.25 mm)中，且均表现出随着团聚体粒径增大而先增后降的趋势，这可能是由于土壤团聚体物理结构存在差异，水分与养分通过扩散作用进入团聚体速度与团聚体粒径不同，粒径越小，水分与养分进入土壤团聚体速度越快，为酶促反应提供可利用的物质越多，酶活性越高[8,21]。

土壤酶是敏感的生物学指标，土壤团聚体筛分方法也影响土壤团聚体酶活性。因此，选择合适的筛分方法对研究团聚体中的酶具有重要意义[5]。本研究中，湿筛法下土壤团聚体酶活性较干筛法下降 20%以上，最高降幅达 47.06%，其中 AP 平均降幅最高(33.18%)，这与齐思明等[22]的研究结果一致。原因可能是在湿筛筛分过程中，土壤团聚体沉入水中，土壤中的微生物遇到厌氧环境，导致酶活性下降[23]；其次，部分产生酶的微生物在团聚体中所处的位置也导致其在筛分过程中损失，降低酶活性。而 Bach 等[5]通过对玉米耕地的研究则得到相反结论，认为湿筛土壤部分土壤酶的酶活性高于干筛土壤，原因可能是耕地土壤的熟化作用产生大量可溶性碳，而湿筛延长微生物在水中与可溶性碳的反应时间，表现为湿筛酶活性高于干筛酶活性[5]。同时本研究湿筛后大团聚体(>0.25 mm)3 种酶活性的降幅低于微团聚体(<0.25 mm)，表明水稳性大团聚体比微团聚体更能抵抗水扰动，从而保护土壤酶。

3.2 氮沉降对土壤团聚体及其酶活性的影响

土壤团聚体作为土壤结构的重要组成部分，通过控制不同粒径团聚体有机质的可接触性、微生物群落组成、水分等因素直接影响土壤酶活性[4]。本研究中，氮沉降对 2 种林分下土壤团聚体粒径分布无显著影响，这与钟晓兰等[11]的研究结果一致。经过湿筛后的大团聚体比例降低，湿筛对土壤的破坏更强，2 种林分团聚体的平均质量直径(MWD)平均降低 14.68%和 10.70%，表现为大团聚体向微团聚体聚集，这与 Lu 等[23]的研究结果一致。

本研究中，与 CK 相比，3 种酶活性均表现出 LN 促进，随着氮沉降的增加则受到抑制。Inv 活性在各处理下表现出 LN 促进，这可能是由于较低的氮沉降促进林下植物的生长，进而向土壤中提供更多的碳[7]；而中高氮则表现出抑制，这与刘星等[13]的研究结果一致，这可能是由于研究区土壤 pH 随着施氮浓度的增加而显著降低[24]，导致土壤硝化作用增强，同时土壤酸化抑制微生物分泌酶和基质有效性[25]，导致土壤有效碳降低，间接抑制 Inv 专性微生物的数量和活动强度[26]。Ure 活性则表现为 LN 促进，这是由于外来氮源[$CO(CNH_2)_2$]的添加提高土壤氮(NH_4^+ 和 NO_3^-)的有效性，加速有机氮的矿化，而高氮条件下酶活性受到抑制，高氮沉降量产生的高氮盐类物质导致微生物群落结构的改变，从以真菌为主逐渐转变为细菌为主或是依赖更不稳定碳源的共养微生物增加，造成微生物活性降低或者功能发生改变[26]，进而导致 Ure 活性降低。本研究区的相关研究[27]也表明，氮沉降对不同林分不同土层的 MBC/MBN 影响存在差异，但均受到高氮的抑制作用，表明高氮沉降确实改变土壤微生物群落组成。本研究中，持续氮沉降对 AP 的影响与 Ure 和 Inv 一致。已有研究[28]表明，氮沉降不仅影响土壤碳循环，而且对磷循环也存在交互作用；土壤酶活性的几何平均数(GMea)是基于所测的 3 种酶活性计算得到，通常用作将多个生物性指标整合简化为单一值来反映土壤环境微小变化的土壤生物质量综合评价指标[19]。本研究中氮沉降对 GMea 的影响与土壤团聚体酶活性一致，表现出 LN 促进，MN 和 HN 抑制，且各氮沉降水平下土壤团聚体中 GMea 均高于混合土壤，表现出干湿筛团聚体对酶更强的保护作用，这是由于土壤团聚体具有容积密度大、孔隙小、易弯曲等特性，降低外部微生物进入到团聚体内部的机会，对团聚体内部酶起到物理保护作用[22]。2 种林分下 GMea 表现出华山松林高于云南松林，这可能是由于华山松林土壤有机质含量高于云南松林，有机质含量的提高增加微生物的活性，导致酶的底物增加，进而诱导酶活性的增强[29]。

氮沉降对土壤团聚体的影响由于受到施氮水平、团聚体径级、季节以及森林类型的不同而略有差异。本研究表明，土壤团聚体酶活性主要受到林分类型和季节差异的影响。3 种酶活性均具有较明显的季节动态，且均表现出雨季酶活性大于旱季，这主要是由于土壤温度和湿度是影响土壤微生物结构与功能的重要环境因子，在雨季，土壤温湿度较高，土壤环境有利于微生物的生长；而旱季较低的土壤温度使得微生物的生长受限。而湿筛后 Inv 更多地受林分类型的影响，分析原因为华山松林为人工林，土壤质地较云南松天然林比较松散，湿筛后团聚体更多地向微团聚体迁移(表 2 和表 3)，造成酶活性变化幅度更大。本研究从施氮水平、径级、季节以及森林类型对土壤团聚体的影响进行讨论，而不同筛分条件下土壤团聚体酶活性产生差异的机理还有待进一步研究。

4 结 论

短期模拟氮沉降对土壤团聚体的分布未造成显著影响，不同筛分方式对团聚体分布影响显著。低浓度促进土壤团聚体酶活性。湿筛后土壤团聚体中酶活性均显著下降，大团聚体较微团聚体表现出更强的抵抗水扰动的能力。土壤干筛、湿筛团聚体酶活性的几何平均数 GMea 均高于混合土壤，表明土壤团聚体

对土壤酶具有隔离保护作用。林分类型和季节差异是影响土壤团聚体酶活性的重要因素。土壤团聚体对土壤酶活性具有隔离保护作用,同时保护效果受季节、筛分方法、施氮水平等因素影响。

参考文献:

[1] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, et al. Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions[J].Science,2008,320(5878):889-892.

[2] 郑世伟,江洪.氮沉降对森林生态系统影响的研究进展[J].浙江林业科技,2014,34(2):56-64.

[3] Zhang Q, Zhou W, Liang G Q, et al. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment[J]. Applied Soil Ecology, 2015,94(1):59-71.

[4] Fang X, Zhou G Y, Li Y L, et al. Warming effects on biomass and composition of microbial communities and enzyme activities within soil aggregates in subtropical forest[J]. Biology and Fertility of Soils, 2016, 52(3): 353-365.

[5] Bach E M, Hofmockel K S. Soil aggregate isolation method affects measures of intra-aggregate extracellular enzyme activity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014,69(1):54-62.

[6] Dorodnikov M, Blagodatskaya E, Blagodatsky S, et al. Stimulation of *r*-vs. *K*-selected microorganisms by elevated atmospheric CO_2 depends on soil aggregate size [J].FEMS Microbiology Ecology,2009,69(1):43-52.

[7] Wu W, Zheng Z C, Li T X,et al. Distribution of inorganic phosphorus fractions in water-stable aggregates of soil from tea plantations converted from farmland in the hilly region of western Sichuan, China[J].2018,18(1):906-916.

[8] 雷蕾,肖文发,曾立雄,等.三峡库区 2 种马尾松混交林土壤团聚体酶活性分布特征[J].生态学报,2020,40(17):6179-6188.

[9] 王晟强,张喆,叶绍明.桂南茶园土壤团聚体酶活性对植茶年限的响应[J].生态学报,2020,40(18):6532-6541.

[10] 袁俊吉,蒋先军,胡宇,等.不同植被覆盖对养分在土壤水稳性团聚体中分布特征的影响[J].水土保持学报,2009,23(6):112-117,122.

[11] 钟晓兰,李江涛,李小嘉,等.模拟氮沉降增加条件下土壤团聚体对酶活性的影响[J].生态学报,2015,35(5):1422-1433.

[12] 张雨鉴,宋娅丽,王克勤,等.滇中亚高山森林乔木层各器官生态化学计量特征[J].生态学杂志,2019,38(6):1669-1678.

[13] 刘星,汪金松,赵秀海.模拟氮沉降对太岳山油松林土壤酶活性的影响[J].生态学报,2015,35(14):4613-4624.

[14] 李曾燕,邱细容,陈冠陶,等.多年模拟氮沉降对华西雨屏区苦竹人工林土壤节肢动物的影响[J].生态学杂志,2019,38(5):1419-1425.

[15] 廖珂,沈芳芳,刘文飞,等.长期氮沉降下杉木人工林凋落物与土壤的 C、N、P 化学计量特征[J].广西植物,2020,40(11):1551-1562.

[16] 胡慧蓉.土壤学实验指导教程[M].北京:中国林业出版社,2012.

[17] 刘孝义.土壤物理及土壤改良研究法[M].上海:上海科学技术出版社,1982.

[18] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986.

[19] García R R, Ochoa V, Hinojosa M B, et al. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems[J]. Soil Biology and Biochemistry,2008,40(9):2137-2145.

[20] 李娜,韩晓增,尤孟阳,等.土壤团聚体与微生物相互作用研究[J].生态环境学报,2013,22(9):1625-1632.

[21] Steffens M, Kölbl A, Schörk E, et al. Distribution of soil organic matter between fractions and aggregate size classes in grazed semiarid steppe soil profiles[J].Plant and Soil,2011,338(1/2):63-81.

[22] 齐思明,韩瑛,陈祥伟.植被恢复对典型黑土表层土壤团聚体水解酶活性的影响[J].东北林业大学学报,2017,45(6):42-46.

[23] Lu G N, Tian H X, Tan X P, et al. Distribution of soil nutrients and enzyme activities in different aggregates under two sieving methods[J].Soil Science Society of America Journal,2020,84(2):331-344.

[24] 尚旭冉,王克勤,宋娅丽,等.滇中亚高山森林土壤有机碳组分对模拟氮沉降的响应[J].福建农林大学学报(自然科学版),2020,49(6):838-845.

[25] 陈向峰,刘娟,姜培坤,等.模拟氮沉降对毛竹林土壤生化特性和酶活性的影响[J].水土保持学报,2020,34(5):277-284.

[26] 佟德利,徐仁扣.3 种氮肥对红壤硝化作用及酸化过程影响的研究[J].植物营养与肥料学报,2012,18(4):853-859.

[27] Enrique A G, Bruno C, Christopher A, et al. Effects of nitrogen availability on microbial activities, densities and functional diversities involved in the degradation of a Mediterranean evergreen oak litter[J]. Soil Biology and Biochemistry,2008,40(7):1654-1661.

[28] 潘禹,宋娅丽,王克勤,等.模拟氮沉降对滇中亚高山典型森林凋落物分解及土壤微生物的影响[J].林业科学研究,2021,34(03):88-97

[29] Hu Y L, Zeng D H, Liu Y X, et al. Responses of soil chemical and biological properties to nitrogen addition in a Dahurian larch plantation in Northeast China[J]. Plant and Soil,2010,333(S1/2):81-92.