

# 氮素和水分对贝加尔针茅草原土壤酶活性和微生物量碳氮的影响

王杰, 李刚, 修伟明, 宋晓龙, 赵建宁, 杨殿林\*

(农业部产地环境质量重点实验室, 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

**摘要:**在内蒙古贝加尔针茅草原, 分别设对照(N0)、 $1.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N15)、 $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N30)、 $5.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N50)、 $10.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N100)、 $15.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N150)、 $20.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N200)和 $30 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N300)(不包括大气沉降的氮量)8个氮素( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )梯度和模拟夏季增加降水100 mm的水分添加交互试验, 研究氮素和水分添加对草原土壤养分、酶活性及微生物量碳氮的影响。结果表明: 氮素和水分添加对草原土壤理化性质和生物学特性有显著影响。随施氮量的增加土壤总有机碳、全氮、硝态氮、铵态氮含量呈增加的趋势, 相反, 土壤pH值呈降低的趋势。土壤脲酶和过氧化氢酶的活性随施氮量的增加而升高, 多酚氧化酶则随施氮量的增加呈下降的趋势。氮素和水分添加对草原土壤微生物量碳氮含量有显著影响, 高氮处理(N150、N200和N300)显著降低了微生物碳含量, 微生物氮含量随施氮量的增加呈上升趋势。水分添加能够减缓氮素添加对微生物的抑制作用, 提高微生物量碳、微生物量氮含量。草原土壤养分、土壤酶活性及土壤微生物量碳氮含量间关系密切, 过氧化氢酶与全氮、总有机碳、硝态氮呈显著正相关, 多酚氧化酶与铵态氮、硝态氮、全氮呈显著负相关。微生物量氮含量与土壤全氮、铵态氮、硝态氮含量以及过氧化氢酶和磷酸酶活性呈显著正相关, 与多酚氧化酶呈负相关; 微生物量碳与过氧化氢酶呈负相关, 与多酚氧化酶活性呈正相关。

**关键词:**贝加尔针茅草原; 氮素添加; 水分添加; 土壤理化性质; 酶活性; 微生物量碳; 微生物量氮

中图分类号:S154.2 文献标志码:A 文章编号:2095-6819(2014)03-0237-09 doi: 10.13254/j.jare.2014.0026

## Effects of Nitrogen and Water on Soil Enzyme Activity and Soil Microbial Biomass in *Stipa baicalensis* Steppe, Inner Mongolia of North China

WANG Jie, LI Gang, XIU Wei-ming, SONG Xiao-long, ZHAO Jian-ning, YANG Dian-lin\*

(Key Laboratory of Original Agro-environment Quality of Ministry of Agriculture, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

**Abstract:** In this paper, eight nitrogen treatments were applied at  $0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N0),  $1.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N15),  $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N30),  $5.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N50),  $10.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N100),  $15.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N150),  $20.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N200),  $30.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ (N300) as  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and adding water to simulate summer rainfall of 100 mm, the interactive experiment was set to explore the effects of nitrogen and water addition in *Stipa baicalensis* steppe on soil nutrients, enzyme activities and soil microbial biomass. The results showed that the nitrogen and water addition changed soil physico-chemical factors obviously, the content of soil total organic carbon, total nitrogen, nitrate nitrogen and ammonium nitrogen increased along with the increasing of application rate of nitrogen, on the contrary, the soil pH value had decreasing trend. Appropriate application of nitrogen could enhance the activity of urease and catalase but decreased the activity of polyphenol oxidase. Nitrogen and water addition had significant effect on soil microbial biomass C and N. Higher level of N fertilizer significantly reduced microbial biomass C, and the microbial biomass N was on the rise with the application rate of nitrogen. The addition of water could slow the inhibition of nitrogen to microorganism and increase the microbial biomass C and N. A closed relationship existed in soil nutrient, activities of soil enzyme and soil microbial biomass C and N. The significantly positive correlation existed between total N, organic C, nitrate N and catalase, significantly negative correlation between nitrate N, ammonium N, total N and polyphenol oxidase. Microbial biomass N was significantly positive correlated with total N, nitrate N, ammonium N, catalase, phosphatase, and was negative correlated with polyphenol oxidase. Microbial biomass C was significantly positive correlated with polyphenol oxidase, and was negative correlated with catalase.

**Keywords:** *Stipa baicalensis* steppe; nitrogen addition; water addition; soil physico-chemical properties; enzyme activities; microbial biomass C; microbial biomass N

收稿日期:2014-02-13

基金项目:国家自然科学基金项目(31170435,31000242);“十二五”国家科技计划项目(2012BAD13B07)

作者简介:王杰(1986—),女,黑龙江黑河人,在读硕士,主要从事农业生态学研究。E-mail:wangjie\_1986@126.com

\*通信作者:杨殿林 E-mail: yangdianlin@caas.cn

化石燃料和氮肥的大量使用,加速了全球活性氮的固定和排放<sup>[1]</sup>,大气氮沉降的增加已成为全球变化的重要现象之一<sup>[2]</sup>。大量氮的输入(自然氮沉降和人为施氮)不仅影响陆地生态系统可利用氮素的状况,改变与氮相关的多种土壤生化过程<sup>[3]</sup>,造成土壤富营养化,同时还会导致土壤生态系统结构与功能的改变,进而导致一系列环境问题的产生<sup>[4]</sup>。气候变暖与降水变化总是相伴而生<sup>[5-6]</sup>,降水能增加土壤湿度,有助于氮肥肥效的发挥。氮素与水分已成为影响陆地生态系统的重要因子,因此,研究氮素与水分交互作用对陆地生态系统土壤性质的影响具有重要的意义。

天然草地植被是地球陆地表面最大的绿色植被层,总面积占地球陆地表面积的41%。草地生态系统不仅具有维持生物多样性、维护全球CO<sub>2</sub>平衡和水分循环等重要的生态功能。同时也是约占世界总人口的17%,是总人口9.38亿人类的家园<sup>[7-8]</sup>。草地生态系统对陆地和大气的物质循环和能量流动至关重要<sup>[9]</sup>。随着大气氮沉降和降水的气候变化,势必会使草地生态系统原有的土壤结构遭到破坏,使土壤质量受到影响。土壤酶在土壤生物化学过程中扮演重要角色,是土壤中各种生物化学反应的催化剂,是土壤系统中最活跃的组分之一,土壤微生物是草地生态系统的重要组成部分,对土壤养分的供应有重要作用,在草地生态系统的物质循环和能量流动中起到至关重要的作用<sup>[10]</sup>,其生物量对土壤条件的变化非常敏感,是草地土壤质量变化的重要指示指标<sup>[11]</sup>,大气氮沉降量的增加和降水的变化直接影响到土壤微生物的生长和土壤酶的活性,关系到土壤有机物的分解速率、产物形成,进而改变土壤生态系统的碳氮循环。国内研究主要集中于氮肥对农田生态系统的影响,本研究以贝加尔针茅草原为研究对象,探讨氮沉降和降水变化对内蒙古草原土壤理化性质、土壤酶活性和土壤微生物量碳氮的变化,为深入了解我国温带草原土壤微生物对氮沉降和降水气候变化的响应和草原合理化利用提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于大兴安岭西麓,内蒙古自治区鄂温克自治旗伊敏苏木境内,地理位置为北纬48°27'~48°35',东经119°35'~119°41',海拔高度为760~770 m,地势平坦,属于温带草甸草原区。半干旱大陆性季风气候,年均气温-1.6℃,年降水量328.7 mm,年蒸发量1 478.8

mm,≥0℃年积温2 567.5℃,年均风速4 m·s<sup>-1</sup>,无霜期113 d。土壤类型为暗栗钙土<sup>[12]</sup>。植被类型为贝加尔针茅草甸草原,建群种贝加尔针茅(*Stipa baicalensis*)在群落中占绝对优势,羊草(*Leymus chinensis*)为优势种,日荫营(*Carexpediformis*)、变蒿(*Artemisia communata*)、扁蓿豆(*Poecockia rutenica*)、草地麻花头(*Serratula yamatsutanna*)、多茎野豌(*Vicia multiflora*)、祁洲漏芦(*Rhaponticu uniflorum*)、寸草苔(*Carex duriuscula*)、肾叶唐松草(*Thaictrum petaloideum*)等为常见种或伴生种。共有植物66种,分属21科49属。

### 1.2 样地设置和土壤样品采集

#### 1.2.1 样地设置

于2010年6月在围栏样地内设置养分和水分添加试验,试验采用裂区设计,主区为水分添加,副区为氮素添加处理水平。水分添加设置2个处理,分别为不添加水分、模拟夏季增雨100 mm灌溉,模拟增雨灌溉的时间自2010年6月15日始,每7 d模拟增雨10 mm灌溉,共10次。氮素添加处理设8个水平依次为:0(CK)、15、30、50、100、150、200、300 kg N·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>,分2次施入,第1次6月15日施氮50%处理水平;第2次7月15日施氮50%处理水平,氮素为NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>。为能够尽可能均匀施肥,根据氮处理水平,将每个小区每次所需要施加的硝酸铵(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)溶解在8 L水中(全年增加的水量相当于新增降水1.0 mm),水溶后均匀喷施到小区内。CK小区同时喷洒相同量的水。共16个处理小区,6次重复,小区面积8 m×8 m。

#### 1.2.2 土壤样品采集

2012年8月,用直径为5 cm的土钻,按照“随机”、“等量”和“多点混合”的原则,在各个处理小区内按照S型取样法选取20个点,去除表面植被,取0~15 cm土壤混匀,去除根系和土壤入侵物,采用“四分法”选取1 kg土壤,迅速装入无菌封口袋,土样于室内自然风干后研磨过筛,用于实验室分析。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤中的总有机碳、pH值、全氮、硝态氮、铵态氮和水分含量的测定分别参照鲍士旦<sup>[13]</sup>的方法。

#### 1.3.2 土壤酶活性的测定

脲酶采用靛酚蓝比色法;磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法;多酚氧化酶采用乙醚萃取比色法;过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法<sup>[14]</sup>。

#### 1.3.3 土壤微生物量的测定

称取10 g过2 mm筛的新鲜土壤,调节湿度为饱

和持水量的40%,氯仿熏蒸48 h后,采用30 mL 0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液浸提,用Multi N/C 3100总有机碳/总氮分析仪(德国耶纳分析仪器公司)测定<sup>[15]</sup>。

#### 1.4 数据统计与分析

采用SAS 9.1统计软件进行方差分析(ANOVA)和相关分析(Pearson's correlation analysis),采用Duncan法进行多重比较和显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 氮素和水分添加对土壤理化性质的影响

从表1可以看出,水分添加下,土壤pH值呈下降趋势,且氮素添加水平越高,pH值下降的幅度越大,高氮处理(N300)较对照处理下降4%,差异显著( $P<0.05$ )。非水分添加处理的土壤pH值随施氮量的增加也呈下降的趋势,但是较对照处理下降幅度较小,差异不显著;相同氮素处理水平下,水分添加处理的土壤含水量普遍高于非水分添加含水量;水分添加条件下土壤有机碳含量为29.99~35.19 g·kg<sup>-1</sup>,随着氮素添加水平的增加,土壤总有机碳含量变化总体呈上升的趋势,且N50、N100、N150、N200和N300处理的含量显著高于其他处理( $P<0.05$ ),是对照的1.08~1.15倍。非水分添加条件下为27.53~32.46 g·kg<sup>-1</sup>,以N100

和N150处理最高,且与其他处理差异显著( $P<0.05$ ),分别是对照的1.15倍和1.16倍;不同氮添加水平的土壤全氮含量的变化趋势不同,其中,水分添加条件下,随着氮添加水平的增加,土壤全氮含量变化总体呈上升的趋势,且N50、N100、N150、N200和N300处理的含量显著高于其他处理( $P<0.05$ ),以N300处理含量最高,是对照(N0)的1.12~1.28倍。非水分添加下,随着氮添加水平的增加,全氮含量先上升后下降,均以N100和N150处理最高,且与其他处理差异显著( $P<0.05$ ),分别是对照的1.09倍和1.16倍;土壤铵态氮含量随氮肥施用量的增加而明显提高,其中水分添加条件下N200、N300处理显著高于对照(N0)( $P<0.05$ ),分别是对照的2.19倍和4.01倍。非水分添加条件下铵态氮含量呈先上升后下降的趋势,其中N50、N100处理最高,分别是对照的1.98倍和2.56倍( $P<0.05$ );不同氮处理水平硝态氮含量变化范围较大,其中水分添加条件下,土壤硝态氮含量呈明显上升的趋势,其中N150、N200、N300处理的硝态氮含量显著高于其他处理,且各自之间差异显著( $P<0.05$ ),是对照的7.61~33.97倍。非水分添加条件下N100、N200和N300处理的硝态氮含量显著高于其他处理,且以N100处理含量最高,是对照的13.57~24.84倍。

表1 不同处理土壤理化因子测定结果

Table 1 Soil physico-chemical factors under different treatments

处理 Treatment		pH (1:5)	含水量 Water content/%	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/ mg·kg <sup>-1</sup>	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ mg·kg <sup>-1</sup>	全氮 Total N/ g·kg <sup>-1</sup>	总有机碳 Organic C/ g·kg <sup>-1</sup>
水分添加 Adding water	N0	7.04±0.05a	8.19±0.26a	16.11±1.90c	2.61±0.16e	1.78±0.03d	30.41±0.92b
	N15	7.03±0.13a	7.85±0.09ab	17.63±1.42c	2.94±0.26e	1.82±0.04d	30.19±0.73b
	N30	6.94±0.11ab	7.98±0.14ab	17.79±3.43c	3.11±0.31e	1.81±0.03d	29.99±0.88b
	N50	6.94±0.12ab	7.66±0.31ab	17.15±1.59c	4.27±0.54de	2.04±0.01c	33.02±0.62a
	N100	6.91±0.04ab	7.57±0.16ab	19.80±1.89bc	9.52±2.12d	1.99±0.05c	33.69±0.51a
	N150	6.91±0.04ab	7.31±0.17b	25.02±4.90bc	19.88±2.43c	2.08±0.04bc	32.74±0.78a
	N200	6.83±0.03ab	7.59±0.11ab	35.27±9.10b	38.99±4.40b	2.17±0.01ab	35.19±0.91a
	N300	6.76±0.06b	7.67±0.29ab	64.61±9.50a	88.76±0.87a	2.27±0.02a	33.01±0.67a
非水分添加 Not adding water	N0	7.07±0.04ab	7.44±0.15a	22.65±2.78c	1.92±0.17c	1.85±0.08b	27.92±0.29b
	N15	7.15±0.18a	7.75±0.16a	23.66±3.69c	1.91±0.08c	1.80±0.03b	30.29±1.48ab
	N30	7.09±0.03ab	7.49±0.21a	32.47±3.59bc	2.63±0.25c	1.86±0.05b	27.96±0.68b
	N50	7.04±0.01ab	7.25±0.17a	44.95±7.84ab	6.47±0.96c	1.81±0.02b	27.53±1.18b
	N100	6.91±0.04ab	7.36±0.12a	57.95±13.08a	44.35±3.54a	2.02±0.03a	32.34±0.46a
	N150	6.97±0.03ab	7.26±0.12a	27.72±4.38bc	17.17±3.43bc	2.14±0.01a	32.46±1.45a
	N200	7.02±0.02ab	7.47±0.12a	30.70±6.10bc	27.40±3.67ab	1.85±0.03b	29.12±0.61b
	N300	6.83±0.09b	7.50±0.20a	31.70±2.96bc	34.97±4.11ab	1.85±0.03b	27.89±1.17b

注:同列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Note: Different letters within the same column indicated significant difference at 0.05 level. The same below.

## 2.2 氮素和水分添加对土壤酶活性的影响

### 2.2.1 氮素和水分添加对土壤脲酶活性的影响

脲酶是一种酰胺酶,主要参与有机物分子中肽键的水解,脲酶可直接参与尿素形态转化水解生成氨、二氧化碳和水。其活性通常与土壤微生物数量、土壤有机质、全氮和速效氮等因素有关,可用来表征土壤氮素供应的强度。图1可以看出,2种水分添加机制下,土壤脲酶活性随施氮水平的增加总体呈先上升后下降的趋势,其中水分添加条件下以N100处理活性最高,显著高于对照( $P<0.05$ )。非水分添加条件下以N30和N50处理活性最高,也显著高于对照( $P<0.05$ )。相同氮素处理水平,水分添加条件下脲酶活性明显高于非水分添加条件下的脲酶活性,这是水分添加促进氮素有效性的主要原因。

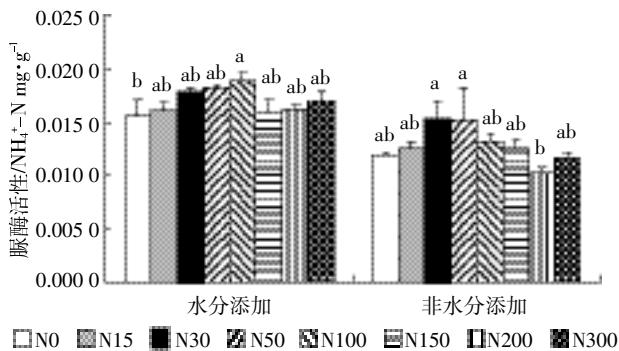


图1 不同氮素和水分添加处理条件下土壤脲酶活性

Figure 1 The activity of soil urease along with different N and water addition treatments

### 2.2.2 氮素和水分添加对土壤磷酸酶活性的影响

土壤磷酸酶主要参与土壤有机磷化合物的水解,磷酸酶的活性大小直接影响土壤有机磷的分解转化,进而影响土壤磷素的有效性。图2可以看出,水分添加条件下,随施氮水平的增加,磷酸酶活性呈上升趋势,但较对照增加不明显。非水分添加条件下,以N100处理活性最高,较对照差异显著。另外,除N100处理,水分添加条件下的磷酸酶活性普遍高于非水分添加条件下的磷酸酶活性。

### 2.2.3 氮素和水分添加对土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶在土壤中分布较为广泛,主要参与生物呼吸和有机物氧化过程中的物质代谢,解除氧化反应过程中产生的过氧化氢的毒害作用,缓解生物氧化作用对土壤和生物体造成的破坏,过氧化氢酶活性的大小还可以表示土壤氧化过程的强度。图3可以看出,水分添加条件下,随着氮处理水平的增加,过氧化

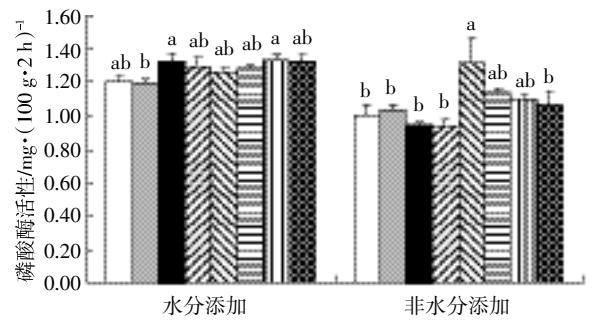


图2 不同氮素和水分添加处理条件下土壤磷酸酶活性

Figure 2 The activity of soil phosphatase along with different N and water addition treatments

氢酶活性呈上升趋势,但差异不显著。非水分添加条件下,随着氮处理水平的增加,过氧化氢酶活性先上升后下降,N100处理的活性最高,且较对照差异显著。2种水分添加机制,相同氮素水平过氧化氢酶活性无显著差异。

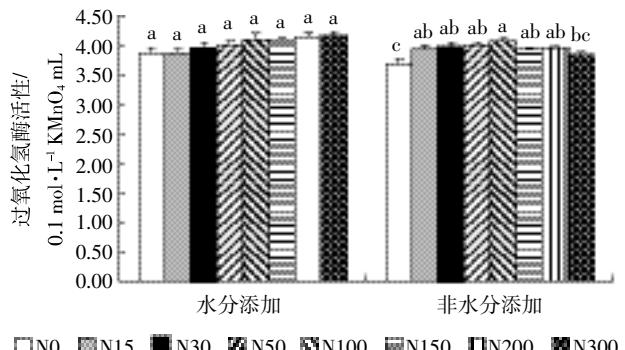


图3 不同氮素和水分添加处理条件下土壤过氧化氢酶活性

Figure 3 The activity of soil catalase along with different N and water addition treatments

### 2.2.4 氮素和水分添加对土壤多酚氧化酶活性的影响

土壤多酚氧化酶主要是酶促土壤中酚类物质氧化成醌,在土壤芳香族有机化合物转化成腐殖质的过程中起到重要作用,在一定程度上可以表征土壤腐殖化的程度。图4可以看出,水分添加条件下,随施氮水平的增加多酚氧化酶的活性呈先上升后下降的趋势,其中,N30和N50处理多酚氧化酶活性显著高于N300处理的。非水分添加条件下,多酚氧化酶活性呈下降趋势,对照(N0)处理多酚氧化酶活性显著高于N300处理的。相同氮素水平,水分添加条件下的多酚氧化酶活性高于非水分添加下的多酚氧化酶活性。

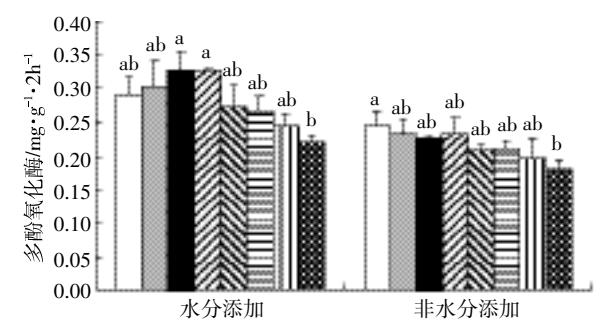


图4 不同氮素和水分添加处理条件下土壤多酚氧化酶活性

Figure 4 The activity of soil polyphenol oxidase along with different N and water addition treatments

### 2.2.5 氮素和水分添加对土壤微生物量碳氮的影响

由图5可见,水分添加条件下,不同氮素添加水平的土壤微生物量碳的含量为497.04~694.79 mg·kg<sup>-1</sup>,非水分添加条件下为334.50~552.22 mg·kg<sup>-1</sup>,低氮添加处理(N15、N30)能增加土壤微生物量碳的含量,而后随着氮素添加水平的增加,呈降低趋势,且氮素添加量越大,降低的幅度越大,其中高氮处理N150、

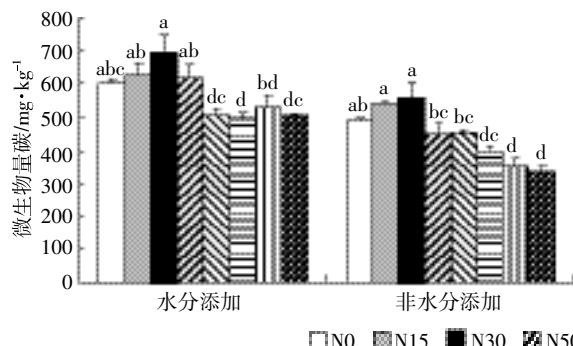


图5 不同处理土壤微生物量碳氮测定结果

Figure 5 Soil microbial biomass C and N under different treatments

表2 土壤酶活性与土壤养分的相关分析

Table 2 The correlation analysis between soil enzyme activity and soil nutrients

Pearson correlation coefficients	全氮 total nitrogen	铵态氮 ammonium nitrogen	硝态氮 nitrate nitrogen	有机碳 organic carbon
多酚氧化酶 polyphenol oxidase	-0.763 77*	-0.835 49**	-0.855 15**	-0.602 47
过氧化氢酶 catalase	0.930 48**	0.693 06	0.718 28*	0.863 20**
磷酸酶 phosphatase	-0.025 48	0.020 78	0.091 52	-0.129 17
脲酶 urease	0.113 36	-0.064 49	-0.074 46	0.221 06

注:“\*”表示显著相关( $P<0.05$ ),“\*\*”表示极显著相关( $P<0.01$ )。

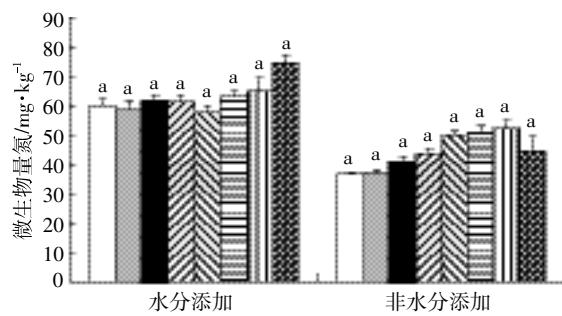
Note: “\*” indicated significant correlation ( $P<0.05$ ), “\*\*” indicated highly significant correlation ( $P<0.01$ ).

N200、N300 较对照显著降低了微生物量碳的含量( $P<0.05$ ),水分添加与非水分添加处理下的微生物量碳降低幅度分别为11.79%~17.55%和18.92%~31.64%;水分添加条件下,不同氮处理的土壤微生物量氮的含量为58.12~74.64 mg·kg<sup>-1</sup>,非水分添加条件下为36.69~52.05 mg·kg<sup>-1</sup>,微生物量氮含量随施氮量的增加而增加,但是较对照变化差异不显著。另外,相同施氮水平下,水分添加处理微生物量碳和微生物量氮含量均高于非水分添加处理的,说明水分添加有利于微生物的生长,而高氮肥不利于微生物生长。

### 2.3 土壤养分、土壤酶活性和土壤微生物量碳、氮的相关分析

#### 2.3.1 土壤养分与酶活性的相关性

对土壤养分、酶活性做相关分析,结果表明(表2):多酚氧化酶活性与全氮含量呈显著负相关( $P<0.05$ ),与铵态氮、硝态氮含量呈极显著负相关( $P<0.01$ )。过氧化氢酶活性与全氮和总有机碳含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与硝态氮含量呈显著正相关( $P<0.05$ )。说明贝加尔针茅草原土壤酶活性的高低受到土壤有机质、氮等养分含量的制约。



### 2.3.2 土壤微生物量碳、氮与酶活性的相关性

土壤微生物量碳氮与酶活性相关分析表明(表3):土壤微生物量碳与多酚氧化酶活性存在极显著的正相关关系( $P<0.01$ ),与过氧化氢酶活性存在显著负相关关系( $P<0.05$ );土壤微生物量氮与过氧化氢酶呈显著正相关( $P<0.05$ ),与多酚氧化酶呈现显著负相关( $P<0.05$ ),与磷酸酶呈显著正相关( $P<0.05$ )。

表3 土壤微生物量碳氮与酶活性相关分析

Table 3 The correlation analysis between soil enzyme activity and microbial biomass

相关系数 Pearson correlation coefficients	微生物量碳 SMB-C/mg·kg <sup>-1</sup>	微生物量氮 SMB-N/mg·kg <sup>-1</sup>
过氧化氢酶 catalase	-0.771 78*	0.638 27*
多酚氧化酶 polyphenol oxidase	0.841 66**	-0.714 37*
磷酸酶 phosphatase	-0.166 58	0.654 26*
脲酶 urease	0.088 01	-0.301 60

## 3 讨论

大气氮沉降量的增加和降水格局的变化作为全球变化的主要现象之一,对草地生态系统碳氮等物质循环产生重要影响<sup>[16]</sup>,通过模拟氮沉降和降水的气候变化得出,不同的氮素和水分添加处理下土壤理化性质、土壤酶活性和土壤微生物量均发生了相应的变化。长期添加氮素,土壤pH值发生了显著变化,低量氮素施入土壤后,土壤能够通过自身的缓冲能力调节pH值,使其保持稳定<sup>[17]</sup>,但高量的氮素使土壤中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>态氮增多,硝化作用的底物浓度加大速率升高,引起土壤酸化,使土壤pH值降低<sup>[18]</sup>。曾路生等<sup>[19]</sup>的研究也表明,大量的施肥能够导致土壤的酸化,合理的肥料施用量对保持土壤环境具有重要意义,本研究中pH值与氮素添加量呈显著负相关,与铵态氮、硝态氮量呈极显著负相关( $P<0.01$ )也能证明这一点。水分与肥料有利于地上植物的生长,凋落物和土壤植物根茬含量的增加,同时也有利于土壤微生物的生长,促进土壤腐殖质的分解,使土壤有机碳含量增加<sup>[20]</sup>;水分的添加能增加土壤含水量,改善土壤物理结构,提高土壤养分的有效性,有利于铵态氮、硝态氮在土壤中的转移,本研究中水分添加条件下,高量的氮素施入,使NH<sub>4</sub><sup>+</sup>与NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量在土壤中达到超饱和状态,造成土壤盐渍化,超出植物的吸收能力,造成土壤离子累积<sup>[21]</sup>。非水分添加条件下,土壤养分含量只是在一定的范围

内随着氮素添加量的增加而增加,一般N100和N150处理的各项土壤理化指标值最高,而后下降,说明氮素的添加对植物群落氮素吸收的调控、土壤理化状况的影响存在一个阈值,超过这个阈值增加不明显或起抑制作用。

适当的氮素、水分添加处理可以提高土壤脲酶的活性,水分的添加可以增加氮肥的有效性,本研究中,水分添加条件下,土壤脲酶活性在N100处理达到最高,非水分添加条件下以N30和N50处理活性最高,水分使土壤中溶解的土壤有机质的浓度升高,微生物活性增加,因而脲酶活性也随之增加<sup>[22]</sup>,高氮处理使土壤中氮素含量过高,脲酶活性反而下降,徐福利等<sup>[23]</sup>的研究也表明,少量施肥,有利于地上植物的生长,根系分泌物的增加,因而土壤微生物的活性增强,土壤脲酶活性升高,但如果氮肥用量超过最大临界范围,脲酶活性将会降低;氮素添加对土壤过氧化氢酶活性影响不明显,过氧化氢酶是一类氧化还原酶,本研究中,过氧化氢酶活性与土壤全氮、有机碳呈极显著正相关,与硝态氮呈显著正相关,土壤中水分与高量有机碳、全氮含量造成了相对较强的还原状况;土壤多酚氧化酶能将土壤中的酚类物质氧化,形成腐殖质的大分子化合物,当施入氮肥时,土壤微生物和地上植物可直接利用的养分含量增加,不需要多酚氧化酶过多合成腐殖质化合物,再分解为可直接利用的养分,所以微生物和植物根系分泌量减少,酶活性降低<sup>[24]</sup>。Deforest等<sup>[25]</sup>的研究也指出,土壤多酚氧化酶活性随着可利用性氮的增加呈下降趋势,土壤中高浓度的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>抑制了分泌多酚氧化酶的真菌活性<sup>[10]</sup>,本研究中,多酚氧化酶活性也与铵态氮、硝态氮含量呈极显著负相关。土壤酶是一个对外界环境变化较敏感的指标,其活性的高低主要受到土壤有机质、氮、磷等养分含量的制约,所以,土壤酶与土壤养分因子之间的相互作用机制共同影响着土壤有机质的转化过程、转化效率和土壤养分的演化方向。一方面,土壤有机质与全量养分的增加为微生物提供了充足的能源物质,促进微生物的快速繁殖和代谢过程,分泌的土壤酶数量与活性不断增强;另一方面,土壤酶活性的增强又促进了土壤有机质与全量养分的分解、速效养分的释放<sup>[26]</sup>,有利于地上植物的快速生长。土壤养分、酶与微生物是土壤生态系统重要的组成部分,其中养分与酶活性对微生物的生长有重大影响,对保持土壤生态系统结构和功能稳定性起到重要作用。

高量氮素添加处理(N100~N300)能显著降低微

生物量碳含量,而低量氮素添加处理能明显提高其含量,金淑兰等<sup>[27]</sup>的研究也表明,单施低浓度氮肥可以增加土壤微生物量碳,而高浓度的氮肥能明显导致土壤微生物量碳的下降,高浓度的氮肥抑制了微生物的生长和活性,产生的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>对微生物有直接的毒害作用,长期添加氮肥又造成了土壤质量下降,从而导致微生物活性下降<sup>[28]</sup>,Andersson等<sup>[29]</sup>研究也发现凋落物层的土壤微生物量碳随氮沉降量的增加而降低,而施用适量无机氮肥,土壤有效氮含量增加,提高了植物生产力,增加了凋落物、植物根茬等的残留,使土壤中积累的有机碳总量增加,而有机碳含量高的土壤能提供更多的有效碳源,有利于保持相对高的微生物活性<sup>[30]</sup>。Dalmonech等<sup>[31]</sup>的研究也表明土壤微生物的活性与土壤有机碳的含量相关。而微生物量氮含量随施氮梯度的升高而增加,相关分析表明,水分添加下微生物量氮含量与土壤全氮含量呈显著正相关( $P<0.05$ ),与铵态氮和硝态氮含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),氮素的添加可能促进了某些喜氮微生物的生长,改变土壤微生物的群落组成<sup>[32]</sup>,赵俊晔等<sup>[33]</sup>的研究也表明,施用氮肥能明显提高0~40 cm土层的微生物量氮含量,当施氮量小于240 kg·hm<sup>-2</sup>时,微生物量氮含量随施氮量的增加而增加,氮肥的施用,促进了土壤微生物对氮素的固持,微生物量碳氮含量也表现为水分添加下较高,说明水分有利于氮肥肥效的发挥,能提高土壤微生物的活性,是影响微生物生长的重要因素,Cederlund等<sup>[34]</sup>的研究表明,含水量高的土壤有较高的微生物量与微生物活性。有研究发现土壤湿度在调节微生物活性与多样性方面至关重要,它直接影响微生物的生理状态,限制微生物分解某些化合物的能力,同时调节土壤酶和土壤理化性质,进而影响微生物组成与活性<sup>[35]</sup>。相关分析表明,土壤微生物量碳氮与土壤过氧化氢酶、多酚氧化酶和磷酸酶有显著的相关性,有研究表明,土壤过氧化氢酶和磷酸酶活性的增加能提高土壤微生物量氮含量,而多酚氧化酶活性的提高能为土壤微生物提供更多的能源物质,有利于微生物量碳的增加。土壤养分、酶与微生物是土壤生态系统重要的组成部分,三者之间相互影响、相互作用,一方面,土壤中的营养物质能为微生物生长和繁殖提供能量;另一方面,这些营养物质的循环也要依赖于微生物和酶对底物的转化和生成。在草地生态系统中,土壤的稳定性是维持草地生态系统结构和功能的稳定重要因素,是草地生态系统恢复的前提<sup>[36]</sup>。

#### 4 结论

长期氮素和水分添加能够显著改变土壤的理化性状,影响土壤酶活性和微生物的生长,高氮处理(N150~N300)较显著降低了微生物量碳的含量,微生物量氮的含量随施氮量的增加而升高。土壤理化性质、酶活性和土壤微生物量之间具有显著相关性,三者之间相互影响、相互作用。本研究中适量的氮素和水分添加能改善土壤理化和生物性状,利于土壤生态系统的恢复与发展。反之,过量的氮素添加不利于维持草地土壤生态系统的稳定。

#### 参考文献:

- [1] 张璐,黄建辉,白永飞,等.氮素添加对内蒙古羊草草原净氮矿化的影响[J].植物生态学报,2009,33(3): 563~569.  
ZHANG Lu, HUANG Jian-hui, BAI Yong-fei, et al. Effects of nitrogen addition on net nitrogen mineralization in *Leymus Chinensis* Grassland, Inner Mongolia, China[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2009, 33(3): 563~569.(in Chinese)
- [2] Zhou X B, Zhang Y M, Downing A. Non-linear response of microbial activity across a gradient of nitrogen addition to a soil from the Gurbantunggut Desert, northwestern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 47: 67~77.
- [3] 张乃莉,郭继勋,王晓宇,等.土壤微生物对气候变暖和大气N沉降的响应[J].植物生态学报,2007,31(2): 252~261.  
ZHANG Nai-li, GUO Ji-xun, WANG Xiao-yu, et al. Soil microbial feedbacks to climate warming and atmospheric deposition[J]. *Journal of Plant Ecolog*, 2007, 31(2): 252~261.(in Chinese)
- [4] Xu Y B, Cai Z C. Denitrification characteristics of subtropical soils in China affected by soil parent material and land use[J]. *Eur J Soil Sci*, 2007, 58(6): 1293~1303.
- [5] IPCC. Climate change 2007: the physical science basis: summary for policymakers[R]. IPCC WGI Fourth Assessment Report, 2007.
- [6] 王冀,娄德君,曲金华,等. IPCC-AR4模式资料对东北地区气候及可利用水资源的预估研究[J].自然资源学报,2009,24(9): 1647~1657.  
WANG Ji, LOU De-jun, QU Jin-hua, et al. Prediction of climate and utilizable precipitation change in northeast China by using IPCC-AR4 model data[J]. *Journal of Natural Resources*, 2009, 24(9): 1647~1657. (in Chinese)
- [7] 联合国开发计划署,联合国环境规划署,世界银行,世界资源研究所.世界资源报告(2000—2001).北京:中国环境出版社,2000: 44.  
The United Nations Development Program(UNDP), United Nations Environment Programme(UNEP), the World Bank, the World Resources Institute. *World resources report(2000—2001)*[R]. Beijing: China Environmental Press, 2000: 44.(in Chinese)
- [8] White R S, Murray M, Rohweder. Pilot analysis of global ecosystems: grassland ecosystems technical report[R]. Washington, D C: World Re-

- sources Institute, 2000.
- [9] 赵 帅, 张静妮, 赖 欣, 等. 放牧与围栏内蒙古针茅草原土壤微生物生物量碳、氮变化及微生物群落结构 PLFA 分析[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(6): 1126–1134.
- ZHAO Shuai, ZHANG Jing-ni, LAI Xin, et al. Analysis of microbial biomass C, N and soil microbial community structure of *Stipa Steppes* using PLFA at grazing and fenced in Inner Mongolia, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(6): 1126–1134. (in Chinese)
- [10] 赵玉涛, 李雪峰, 韩士杰, 等. 不同氮沉降水平下两种林型的主要土壤酶活性[J]. 应用生态学报, 2008, 19(12): 2769–2773.
- ZHAO Yu-tao, LI Xue-feng, HAN Shi-jie, et al. Soil enzyme activities under two forest types as affected by different levels of nitrogen deposition[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(12): 2769–2773. (in Chinese)
- [11] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 等. 施肥和土壤管理对土壤微生物生物量碳、氮和群落结构的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(1): 32–42.
- BI Ming-li, YU Wan-tai, JIANG Zi-shao, et al. Effects of fertilization and soil management on microbial biomass and community[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(1): 32–42. (in Chinese)
- [12] 杨殿林, 韩国栋, 胡跃高, 等. 放牧对贝加尔针茅草原群落植物多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2006, 25(12): 1470–1475.
- YANG Dian-lin, HAN Guo-dong, HU Yue-gao, et al. Effects of grazing intensity on plant diversity and aboveground biomass of *Stipa baicalensis* grassland[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2006, 25(12): 1470–1475. (in Chinese)
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30–83.
- BAO Shi-dan. Soil chemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30–83. (in Chinese)
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 296–339.
- GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 296–339. (in Chinese)
- [15] 张海芳, 李 刚, 宋晓龙, 等. 内蒙古贝加尔针茅草原不同利用方式土壤微生物功能多样性变化[J]. 生态学杂志, 2012, 31(5): 1143–1149.
- ZHANG Hai-fang, LI Gang, SONG Xiao-long, et al. Functional diversity of soil microbial communities in *Stipa baicalensis* steppe in Inner Mongolia as affected by different land use patterns[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(5): 1143–1149. (in Chinese)
- [16] Zhang Y, Zheng L, Liu X, et al. Evidence for organic N deposition and its anthropogenic sources in China[J]. *Atmospheric Environment*, 2008, 42(5): 1035–1041.
- [17] Glaser K, Hackl E, Inselsbacher E, et al. Dynamics of ammonia-oxidizing communities in barley-planted bulk soil and rhizosphere following nitrate and ammonium fertilizer amendment[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 74: 575–591.
- [18] Khalil M I, Rahman M S, Schmidhalter U, et al. Nitrogen fertilizer-induced mineralization of soil organic C and N in six contrasting soils of Bangladesh[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2007, 170: 210–218.
- [19] 曾路生, 高 岩, 李俊良, 等. 寿光大棚菜地土壤酸化与土壤养分变化关系研究[J]. 水土保持学报, 2010, 24(4): 157–161.
- ZENG Lu-sheng, GAO Yan, LI Jun-liang, et al. Changes of acidification and nutrient accumulation in greenhouse vegetable soils in Shouguang[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(4): 157–161. (in Chinese)
- [20] 曾 骏, 郭天文, 包兴国, 等. 长期施肥对土壤有机碳和无机碳的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2008(2): 11–14.
- ZENG Jun, GUO Tian-wen, BAO Xing-guo, et al. Effect of soil organic carbon and soil inorganic carbon under long-term fertilization[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2008(2): 11–14. (in Chinese)
- [21] 张英俊, 杨高文, 刘 楠, 等. 草原碳汇管理对策[J]. 草业学报, 2013, 22(2): 290–299.
- ZHANG Ying-jun, YANG Gao-wen, LIU Nan, et al. Review of grassland management practices for carbon sequestration [J]. *Acta Pratoculturae Sinica*, 2013, 22(2): 290–299. (in Chinese)
- [22] 金继运, 刘荣乐译. 土壤肥力与肥料[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 95–155.
- JIN Ji-yun, LIU Rong-le. Soil fertility and fertilizer[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1998: 95–155. (in Chinese)
- [23] 徐福利, 梁银丽, 张成娥, 等. 施肥对日光温室黄瓜生长和土壤生物学特性的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(7): 1227–1230.
- XU Fu-li, LIANG Yin-li, ZHANG Cheng-e, et al. Effect of fertilization on cucumber growth and soil biological characteristics in sunlight greenhouse[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(7): 1227–1230. (in Chinese)
- [24] 刘 磊, 谷 洁, 高 华, 等. 不同施肥水平对小麦生长期土壤氧化还原酶活性的影响[J]. 水土保持通报, 2010, 30(6): 13–16.
- LIU Lei, GU Jie, GAO Hua, et al. Effect of different fertilizer levels on soil oxidoreductases activities in wheat growing stage[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2010, 30(6): 13–16. (in Chinese)
- [25] Deforest J L, Zak D R, Pregitzer K S, et al. Atmospheric nitrate deposition and the microbial degradation of cellobiose and vanillin in a northern hardwood forest[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36: 965–971.
- [26] 蔡晓布, 彭岳林, 薛会英, 等. 不同施肥方式对西藏中部退化土壤微生物的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(1): 108–111.
- CAI Xiao-bu, PENG Yue-lin, XUE Hui-ying, et al. Effects of different methods of applying fertilizers on the living beings in soil in central Tibet[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2004, 12(1): 108–111. (in Chinese)
- [27] 金兰淑, 郑 佳, 徐 慧, 等. 施氮及灌溉方式对玉米地土壤硝化潜势及微生物量碳的影响[J]. 水土保持学报, 2009, 23(4): 218–226.
- JIN Lan-shu, ZHENG Jia, XU Hui, et al. Effect of different nitrogen condition for soil microbial biomass carbon and potential nitrification rate of corn[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2009, 23(4): 218–226. (in Chinese)
- [28] 张成霞, 南志标. 土壤微生物生物量的研究进展[J]. 草业科学, 2010, 27(6): 50–57.
- ZHANG Cheng-xia, NAN Zhi-biao. Research progress of soil microbial biomass in China[J]. *Pratacultur Science*, 2010, 27(6): 50–57. (in Chinese)

- [29] Andersson M, Kjøller A, Struwe S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36: 1527–1537.
- [30] Vanegas J, Landazabal G, Melgarejo L M, et al. Structural and functional characterization of the microbial communities associated with the upland and irrigated rice rhizospheres in a neotropical Colombian savannah[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 55: 1–8.
- [31] Dalmonech D, Lagomarsino A, Moscatelli M C, et al. Microbial performance under increasing nitrogen availability in a Mediterranean forest soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42: 1596–1606.
- [32] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 等. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 740–748.  
LUO Xi-qian, HAO Xiao-hui, CHEN Tao, et al. Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2): 740–748. (in Chinese)
- [33] 赵俊晔, 于振文, 李延奇, 等. 施氮量对土壤无机氮分布和微生物量氮含量及小麦产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(4): 466–472.  
ZHAO Jun-ye, YU Zhen-wen, LI Yan-qi, et al. Effects of nitrogen application rate on soil inorganic nitrogen distribution, microbial biomass nitrogen content and yield of wheat[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(4): 466–472. (in Chinese)
- [34] Cederlunda H, Thierfelder T, Stenströma J. Functional microbial diversity of the railway track bed[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 397: 205–214.
- [35] Chen M M, Zhu Y G, Su Y H, et al. Effects of soil moisture and plant interactions on the soil microbial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43: 31–38.
- [36] 王长庭, 龙瑞军, 王启兰, 等. 放牧扰动下高寒草甸植物多样性、生产力对土壤养分条件变化的响应[J]. 生态学报, 2008, 28(9): 4144–4153.  
WANG Chang-ting, LONG Rui-jun, WANG Qi-lan, et al. Response of plant diversity and productivity to soil resources changing under grazing disturbance on an alpinemeadow[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(9): 4144–4153. (in Chinese)