

引用格式: 严文瑾, 朱丽琴, 李静凯, 等. 长期氮添加对杉木人工林土壤团聚体微生物量碳氮磷、酶活性及其化学计量特征的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2026, 43(4): 704–713. YAN Wenjin, ZHU Liqin, LI Jingkai, *et al.* Effects of long-term nitrogen addition on microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus, enzyme activities, and their stoichiometric characteristics in soil aggregates of *Cunninghamia lanceolata* plantations[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2026, 43(4): 704–713.

长期氮添加对杉木人工林土壤团聚体微生物量碳氮磷、酶活性及其化学计量特征的影响

严文瑾, 朱丽琴, 李静凯, 刘萍渝, 肖有亮, 习航天, 万亚辉, 方 芮, 淦文涛

(江西水利电力大学 流域生态智能监测与综合治理江西省重点实验室, 江西 南昌 330099)

摘要: 【目的】阐明杉木 *Cunninghamia lanceolata* 人工林土壤团聚体微生物量碳 (MBC)、微生物量氮 (MBN)、微生物量磷 (MBP)、水解酶活性及其化学计量特征对长期氮添加的响应, 为评估氮沉降对亚热带森林土壤微域过程的影响提供依据。【方法】基于 2004 年建立的氮添加长期试验 [$0(N_0)$ 、 $60(N_1)$ 、 $120(N_2)$ 、 $240(N_3)$ $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$], 于 2024 年采集 0~10 cm 土层团聚体, 分离出粗大 (>2.00 mm)、细大 ($0.25\sim2.00$ mm) 和微团聚体 (<0.25 mm) 3 个粒径, 分析团聚体 MBC、MBN、MBP 质量分数、水解酶活性及其化学计量特征。【结果】相较于微团聚体, 细大和粗大团聚体的 MBN 质量分数分别低 23.61% 和 32.65%, 而 MBP 质量分数分别高 35.31% 和 28.15%, MBC/MBN 分别高 13.87% 和 22.84%; N_1 处理下微团聚体 MBC/MBP 和 MBN/MBP 分别比 N_0 高 97.57% 和 85.51%, 且细大和粗大团聚体的 MBC/MBP 较微团聚体分别低 53.72% 和 64.43%, MBN/MBP 分别低 60.25% 和 72.89%。长期施氮使微团聚体酸性磷酸酶 (AP) 活性降低了 44.14%~56.77%, N_0 处理下细大和粗大团聚体的 AP 活性分别比微团聚体低 54.84% 和 53.92%, 而其他酶活性无显著变化。团聚体酶碳磷比和酶氮磷比低于全球水平, 且不受氮添加影响。MBC/MBN 与 AP 活性呈负相关。【结论】在长期氮添加下, 微团聚体响应最敏感; 氮输入通过重构团聚体结构驱动微生物养分分配策略转变, 表现为大团聚体中微生物增强磷捕获能力并减少氮储存, 而微团聚体则维持高磷固持策略; 同时, 微生物通过减少生物量积累并调控磷酸酶合成来应对亚热带杉木林生态系统的磷限制。图 5 参 42

关键词: 土壤团聚体; 微生物量; 酶活性; 氮添加; 杉木人工林

中图分类号: S714 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2026)04-0704-10

Effects of long-term nitrogen addition on microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus, enzyme activities, and their stoichiometric characteristics in soil aggregates of *Cunninghamia lanceolata* plantations

YAN Wenjin, ZHU Liqin, LI Jingkai, LIU Pingyu, XIAO Youliang, XI Hangtian, WAN Yahui,
FANG Rui, GAN Wentao

(Jiangxi Key Laboratory for Intelligent Monitoring and Integrated Restoration of Watershed Ecosystem, Jiangxi University of Water Resources and Electric Power, Nanchang 330099, Jiangxi, China)

Abstract: [Objective] This study investigates the responses of microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus (MBC, MBN, MBP), hydrolytic enzyme activities and their stoichiometric characteristics in soil aggregates of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantations to long-term nitrogen (N) addition, thereby

收稿日期: 2025-06-27; 修回日期: 2025-12-14

基金项目: 江西省自然科学基金项目 (20242BAB25348); 江西水利电力大学国家级大学生创新创业训练计划项目 (202511319005)

作者简介: 严文瑾 (ORCID: 0009-0009-9467-4738), 从事森林生态学和全球变化生态学研究。E-mail: 15107908026@163.com。通信作者: 朱丽琴 (ORCID: 0000-0001-5974-3579), 副教授, 博士, 从事森林生态学和全球变化生态学研究。E-mail: zhilq.nit@163.com

providing a basis for assessing the impacts of nitrogen deposition on micro-scale processes in subtropical forest soils. **[Method]** Based on a long-term N addition experiment established in 2004 (with 4 N addition gradients: 0, 60, 120, and 240 kg·hm⁻²·a⁻¹), soil aggregates (0–10 cm depth) were collected in 2024. These aggregates were separated into 3 size fractions: coarse macroaggregates (> 2.00 mm), fine macroaggregates (0.25–2.00 mm), and micro-aggregates (< 0.25 mm). Analyses were conducted on the contents of MBC, MBN, MBP, hydrolytic enzyme activities, and their stoichiometric characteristics within these aggregates. **[Result]** Compared to microaggregates, fine and coarse macroaggregates exhibited 23.61% and 32.65% lower MBN content, but 35.31% and 28.15% higher MBP content, respectively. Their MBC/MBN ratios were 13.87% and 22.84% higher, respectively. Under the N₁ treatment, the MBC/MBP and MBN/MBP ratios in microaggregates were 97.57% and 85.51% higher than those under N₀. Furthermore, the MBC/MBP ratios in fine and coarse macroaggregates were 53.72% and 64.43% lower than those in microaggregates, while their MBN/MBP ratios were 60.25% and 72.89% lower, respectively. Long-term N addition decreased acid phosphatase (AP) activity in microaggregates by 44.14%–56.77%. Under the N₀ treatment, fine and coarse macroaggregates showed 54.84% and 53.92% lower AP activity compared to microaggregates. No significant changes were observed in other enzyme activities. The aggregate enzyme C/P and N/P ratios were lower than global averages and unaffected by N addition. A negative correlation was found between the MBC/MBN ratio and AP activity. **[Conclusion]** Under long-term N addition, microaggregates demonstrated the strongest response. N input drives a shift in microbial nutrient allocation strategies by restructuring aggregate composition, manifesting as enhanced phosphorus (P) capture coupled with reduced N storage in macroaggregates, while microaggregates maintained a strategy of high P retention. Concurrently, microorganisms respond to P limitation in this subtropical Chinese fir forest ecosystem by reducing microbial biomass accumulation and regulating phosphatase synthesis. [Ch, 5 fig. 42 ref.]

Key words: soil aggregate; microbial biomass; enzyme activity; nitrogen addition; Chinese fir plantation

近几十年来,化石燃料燃烧和农业氮肥施用导致区域氮沉降量剧增^[1],预计至 2050 年,全球氮沉积率将达到 1995 年的 2 倍^[2]。持续的氮输入引发土壤酸化及氮磷比例失衡,影响营养元素的生物地球化学循环,并可能加剧生态系统中的磷限制^[3–4]。杉木 *Cunninghamia lanceolata* 是中国南方特有的造林和用材树种,因具有较高的经济和生态价值在亚热带林区广泛种植^[5]。因此,长期氮沉降背景下杉木人工林的生长可能因土壤氮磷失衡而受到限制。

土壤微生物量碳 (MBC)、微生物量氮 (MBN)、微生物量磷 (MBP) 是反映土壤微生物生理状态和养分状况的关键指标。已有研究表明:外源碳氮输入增加使土壤 MBP 含量增加,表现出土壤微生物对磷的吸收利用^[6–7]。然而,现有土壤微生物量研究多局限于碾压破碎、混合均匀的全土尺度,对团聚体微域关注不足。王翠丽等^[8]在农田土壤团聚体中发现 MBC、MBN 含量随团聚体粒径减小而降低;莫雪青^[9]对比不同林分土壤团聚体,发现与杉木纯林相比,杉木-红锥 *Castanopsis hystrix* 混交林显著提高了各粒径团聚体中的 MBN 和 MBP,而 MBC 无显著差异。目前,森林土壤团聚体尺度上 MBC、MBN、MBP 对长期氮添加的响应仍知之甚少。土壤酶是驱动有机质分解和养分循环的生物催化剂,其活性直接影响养分的生物有效性^[10]。适量施氮可提高土壤水解酶活性和促进微生物生长^[1, 11–12],但此类研究同样多以全土为对象,且多关注短期效应。土壤团聚体作为土壤结构的基本单元,形成了物理化学性质各异的微域生境,其通过控制有机质的可接触性、微生物群落结构(如限制微生物与底物的接触)、水分及氧气扩散等因素,对内部的生物、生化过程(包括酶活性)具有隔离和保护作用^[13–14]。因此,在长期氮添加背景下,不同粒径团聚体中酶活性及其生态化学计量比的变化特征依然存在不确定性。

本研究基于福建省三明市沙县官庄国有林场的杉木人工林模拟氮沉降长期观测样地,设置不同氮添加水平,聚焦表层土壤不同粒径团聚体,研究长期氮添加下团聚体微生物量碳氮磷、水解酶活性及其生态化学计量特征,并探讨它们之间的相互关系,为评估长期氮沉降对杉木林土壤微域过程的影响提供依据。

1 研究区与方法

1.1 研究区概况

研究区位于福建省三明市沙县官庄国有林场白溪工区(26°30'N, 117°43'E)。该区属亚热带季风气候, 全年温暖湿润, 光照充足, 年均气温为 18.8~19.6 °C, 年均降水量为 1 606.0~1 650.0 mm, 无霜期为 271.0 d。试验地土壤为低山丘陵地带发育的山地红壤, 平均海拔为 200 m, 坡向南, 坡度为 31°。样地所在试验林为 1992 年由官庄林场统一种植的杉木人工林, 总面积为 5.173 hm²。林下植被稀疏, 主要由五节芒 *Misecanthus floridulus*、芒萁 *Dicranopteris dichotoma* 和蕨 *Pteridium aquilinum* 等组成, 盖度为 3%~5%^[15]。

1.2 样地设置

2003 年 12 月, 在立地条件相似的杉木人工林中布设了 12 块 20 m × 20 m 的固定标准地。基于亚热带湿润沉降显著的地域差异及上升趋势^[16], 设置了 4 种氮处理: N₀ (0 kg·hm⁻²·a⁻¹, 对照)、N₁ (60 kg·hm⁻²·a⁻¹)、N₂ (120 kg·hm⁻²·a⁻¹) 和 N₃ (240 kg·hm⁻²·a⁻¹), 每处理 3 个重复标准地。施氮处理始于 2004 年 1 月, 每月月初使用背负式喷雾器在林地内均匀喷施相应浓度的尿素溶液, 对照处理喷施等量水。此施氮处理持续 20 a。施氮前进行的林分调查显示: 试验林杉木林龄为 12 a, 林分密度为 1 665 株·hm⁻², 平均胸径为 16.1 cm, 平均树高为 12.1 m。2023 年 6 月的林下植被调查显示: N₀、N₁、N₂ 和 N₃ 处理的灌木盖度分别为 90.8%、69.3%、60.0% 和 62.8%, 植物主要包括沿海紫金牛 *Ardisia japonica*、粗叶榕 *Ficus hirta*、枇杷叶紫珠 *Callicarpa kochiana*、杜茎山 *Maesa japonica*、山姜 *Alpinia japonica*、鳞毛蕨 *Arachniodes hasseltii*、狗脊 *Woodwardia japonica*、菝葜 *Smilax china* 等。2023 年 12 月的林分调查显示: N₀、N₁、N₂ 和 N₃ 处理的林分郁闭度分别为 0.86、0.84、0.84 和 0.83, 林分密度分别为 1 450、1 267、1 500 和 1 250 株·hm⁻², 平均胸径分别为 26.02、25.39、26.10 和 26.37 cm。

1.3 样品采集与处理

2024 年 8 月, 在样地内采用对角线法选取 5 个采样点。在每个取样点清除表层凋落物后, 挖取体积为 15 cm × 10 cm × 10 cm 的表层原状土样, 置于不锈钢饭盒中(防止挤压)保存。4 种处理 12 块样地共采集 60 份团聚体样品, 用低温保温箱尽快运回实验室。

团聚体分离根据 DORODNIKOV 等^[17]和 WANG 等^[18]改良的干筛法: 样品在低温条件下(4 °C)风干至土壤含水量达到塑限(含水量约 10%~15%), 沿着土壤自然脆弱带轻轻掰开, 去除可见的根系、石砾等, 过 8 mm 筛。将同一样地的表层团聚体样品混合, 合并为 12 份混合样品。每份样品通过四分法取 500 g, 用振筛机分离出粗大团聚体(>2.00 mm)、细大团聚体(0.25~2.00 mm)和微团聚体(<0.25 mm) 3 个粒径。分离后的各粒径组分样品置于-20 °C 冰箱保存。

1.4 团聚体微生物量碳氮磷的测定

MBC 和 MBN 采用氯仿熏蒸浸提法测定^[19]: 称取 6 份过 2 mm 筛的鲜土 12.5 g, 3 份(不熏蒸)加入 50 mL 0.5 mol·L⁻¹ 硫酸钾溶液, 振荡 30 min 后离心过滤; 另 3 份(熏蒸)放入真空干燥器中, 在黑暗条件下经氯仿熏蒸 24 h 后, 按相同方法加入硫酸钾溶液浸提、振荡、离心、过滤。滤液使用 TOC 分析仪(multi N/C 3 100)进行测定。

MBP 采用氯仿熏蒸浸提法测定^[19]: 称取 3 份过 2 mm 筛的鲜土 5.0 g, 1 份(熏蒸)放入真空干燥器在黑暗条件下用氯仿熏蒸 24 h, 2 份不做熏蒸处理。将熏蒸土样和其中 1 份未熏蒸土样各加入 100 mL 0.5 mol·L⁻¹ 碳酸氢钠溶液, 振荡 30 min 后离心过滤; 1 份未熏蒸土样加入 0.5 mL 250 mg·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液后, 再加入 100 mL 0.5 mol·L⁻¹ 碳酸氢钠溶液, 振荡 30 min 后离心过滤。吸取上述 3 种提取液 10 mL, 加入 5 mL 5 mg·L⁻¹ 磷标液, 用适量 1.0 mol·L⁻¹ 盐酸溶液中和, 放置 4 h(期间间隙振荡), 再加入 4 mL 钼锑抗显色剂, 定容摇匀, 显色 30 min 后用紫外分光光度计在波长 880 nm 处进行比色测定。

1.5 团聚体酶活性的测定

土壤团聚体酶活性使用酶标仪法测定^[20]。按照苏州梦犀生物医药科技有限公司提供的 β -1, 4-葡萄糖苷酶(BG, 碳获取酶)检测试剂盒(M1404A)、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(NAG, 氮获取酶)检测试剂盒(M1420A)、亮氨酸氨基肽酶(LAP, 氮获取酶)检测试剂盒(M1421A)和酸性磷酸酶(AP, 磷获取酶)检测试剂盒(M1409A)操作说明, 对样品进行前处理后, 使用 FlexA-200 酶标仪进行比色测定, 其中 BG、

NAG 和 LAP 活性在 405 nm 波长下测定, 而 AP 活性则在 660 nm 波长下测定。酶碳磷比用 BG/AP 表示, 酶碳氮比用 BG/(NAG+LAP) 表示, 酶氮磷比用 (NAG+LAP)/AP 表示。

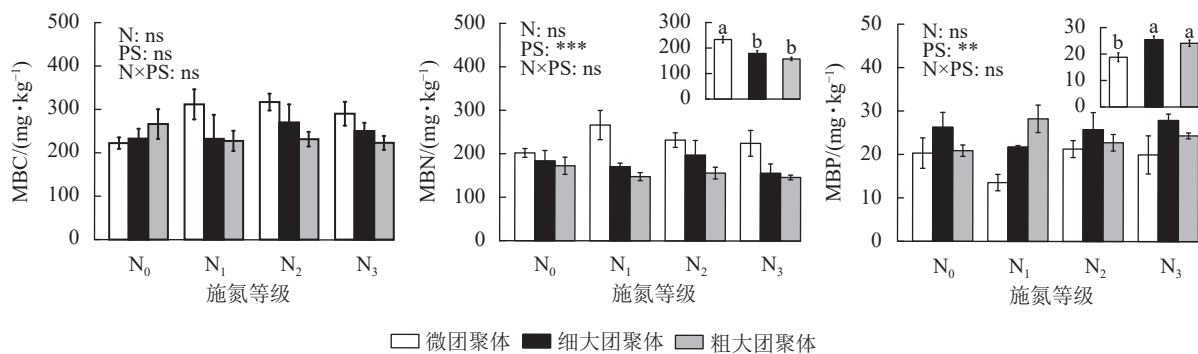
1.6 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件, 以施氮水平和团聚体粒径为固定效应、标准地为随机效应, 构建混合线性模型, 分析施氮水平、团聚体粒径及其交互作用对团聚体微生物量碳氮磷、酶活性及其化学计量比的影响。若施氮水平与团聚体粒径存在交互作用, 则进行简单效应分析; 若无显著交互作用, 则移除交互项后重新拟合模型。采用线性回归分析上述指标间的相互关系, 显著性水平设定为 0.05。运用 Origin 2021 软件绘制柱状图和回归分析图。

2 结果与分析

2.1 土壤团聚体微生物量碳氮磷及其化学计量特征

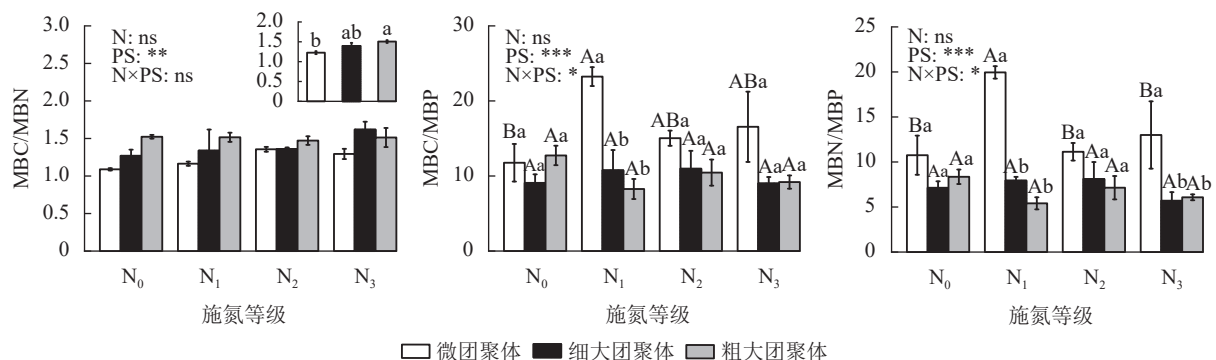
由图 1 可见: 粒径对团聚体 MBN 和 MBP 质量分数具有显著影响, 而施氮水平、粒径及其交互作用对团聚体 MBC 无显著影响。细大和粗大团聚体的 MBN 质量分数比微团聚体分别低 23.61% 和 32.65% ($P<0.05$), 而 MBP 质量分数则分别高 35.31% 和 28.15% ($P<0.05$)。



不同小写字母表示不同粒径间差异显著 ($P<0.05$); N 表示施氮水平, PS 表示粒径, N×PS 表示施氮水平与粒径的交互作用; ** 表示 $P<0.01$, *** 表示 $P<0.001$, ns 表示 $P>0.05$ 。

图 1 土壤团聚体微生物量碳氮磷质量分数对长期氮添加的响应
Figure 1 Responses of MBC, MBN, and MBP contents in soil aggregates to long-term nitrogen addition

由图 2 可见: 团聚体 MBC/MBN 仅受粒径的影响, 细大和粗大团聚体的 MBC/MBN 比微团聚体分别高 13.87% 和 22.84% ($P<0.05$)。粒径、施氮水平与粒径的交互作用对 MBC/MBP 和 MBN/MBP 具有显著影响 ($P<0.05$), 微团聚体 N_1 处理的 MBC/MBP 和 MBN/MBP 分别比 N_0 处理高 97.57% 和 85.51% ($P<0.05$), 细大和粗大团聚体的 MBC/MBP 和 MBN/MBP 在各施氮处理间无显著差异。 N_1 处理的细大和粗大团聚体 MBC/MBP 分别比微团聚体低 53.72% 和 64.43%, MBN/MBP 分别低 60.25% 和 72.89% ($P<0.05$); N_3 处理的细大和粗大团聚体 MBN/MBP 分别比微团聚体低 56.22% 和 53.25%; N_2 处理的 MBC/MBP 和 MBN/MBP 在各粒径间差异不显著。

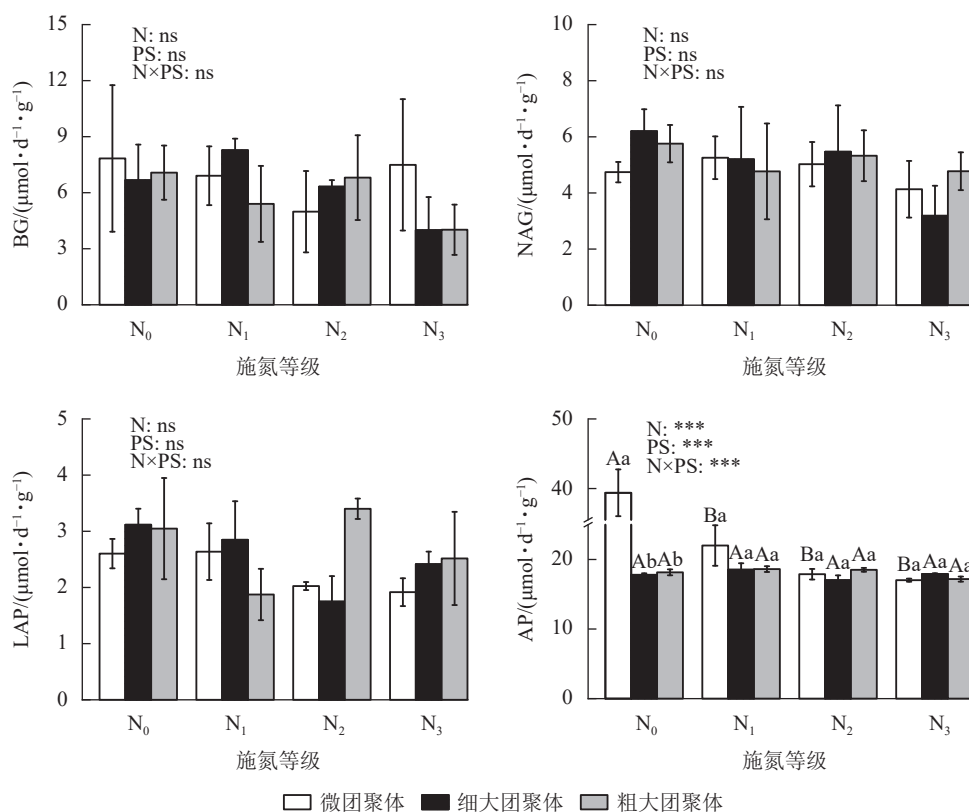


不同大写字母表示不同施氮水平间差异显著 ($P<0.05$), 不同小写字母表示不同粒径间差异显著 ($P<0.05$); N 表示施氮水平, PS 表示粒径, N×PS 表示施氮水平与粒径的交互作用; * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$, *** 表示 $P<0.001$, ns 表示 $P>0.05$ 。

图 2 土壤团聚体微生物量碳氮磷化学计量比对长期氮添加的响应
Figure 2 Responses of stoichiometric ratios of MBC, MBN, and MBP in soil aggregates to long-term nitrogen addition

2.2 土壤团聚体酶活性及其化学计量特征

由图3可见：施氮水平、粒径及其交互作用对团聚体BG、NAG和LAP活性均无显著影响，但对AP活性影响显著 ($P<0.01$)。与 N_0 处理相比，微团聚体的 N_1 、 N_2 和 N_3 处理使AP活性分别降低了44.14%、54.60%和56.77% ($P<0.05$)，细大和粗大团聚体的AP活性在各施氮水平间无显著差异。 N_0 处理的细大和粗大团聚体AP活性分别比微团聚体低54.84%和53.92% ($P<0.05$)，其他施氮水平的AP活性在各粒径间差异不显著。

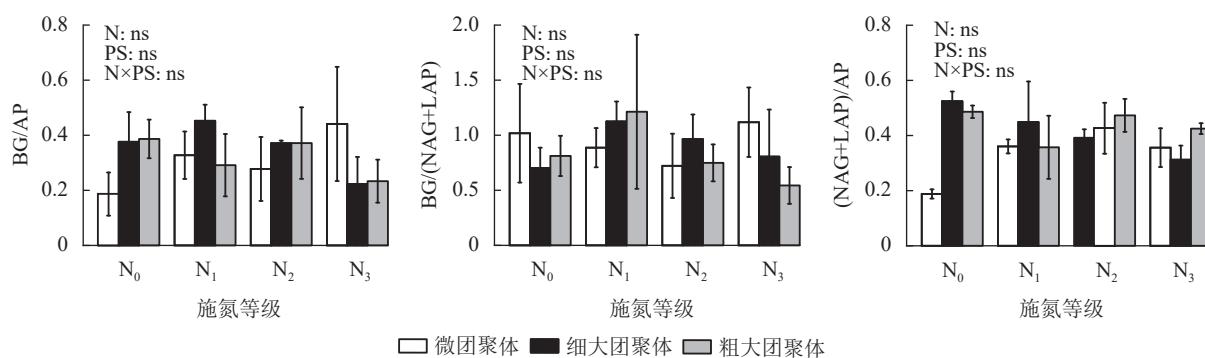


不同大写字母表示不同施氮水平间差异显著 ($P<0.05$)，不同小写字母表示不同粒径间差异显著 ($P<0.05$)；N表示施氮水平，PS表示粒径，N×PS表示施氮水平与粒径的交互作用；***表示 $P<0.001$ ，ns表示 $P>0.05$ 。

图3 土壤团聚体酶活性对长期氮添加的响应

Figure 3 Responses of enzyme activities in soil aggregates to long-term nitrogen addition

由图4可见：施氮水平、粒径及其交互作用均未显著影响团聚体BG/(NAG+LAP)、BG/AP和(NAG+LAP)/AP，各酶计量比在不同施氮水平和粒径下的变化范围分别为0.54~1.21、0.19~0.45和0.19~0.52。



N表示施氮水平，PS表示粒径，N×PS表示施氮水平与粒径的交互作用；ns表示 $P>0.05$ 。

图4 土壤团聚体酶活性化学计量比对长期氮添加的响应

Figure 4 Responses of stoichiometric ratios of enzyme activities in soil aggregates to long-term nitrogen addition

2.3 土壤团聚体微生物量碳氮磷及酶活性间的关系

由图 5 可见：团聚体 MBC 与 MBN 呈正相关 ($P < 0.001$)，而 MBC 与 MBP、MBN 与 MBP 和 MBC/MBN 与 AP 呈负相关 ($P < 0.05$)，其他指标间相关性均不显著。

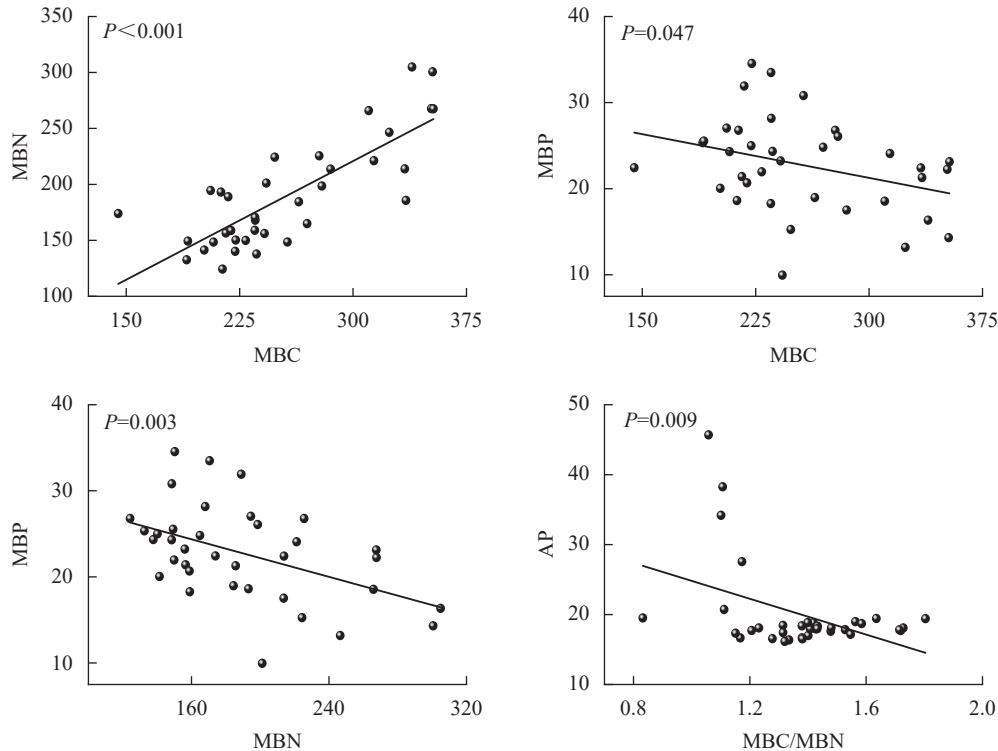


图 5 土壤团聚体微生物量碳氮磷及酶活性间的回归分析
Figure 5 Regression analysis among MBC, MBN, MBP and enzyme activities in soil aggregates

3 讨论

3.1 长期氮添加对杉木人工林土壤团聚体微生物量碳氮磷及其化学计量比的影响

土壤微生物量变化能有效指示碳氮磷循环过程的关键特征^[21]。本研究发现：长期氮添加未显著改变团聚体 MBC、MBN 和 MBP 含量，这可能是因为氮添加会改变土壤微生物群落结构，而群落通过调整自身代谢途径和功能适应了氮素环境，从而维持了微生物量碳氮磷的相对稳定^[22]。MBN 含量随团聚体粒径增大而降低，这与周学雅等^[23]的研究结果一致。微团聚体因孔隙结构细小，有利于溶解性有机氮的积累，这些有机氮可被微生物直接利用，从而维持较高的 MBN 含量^[24]；与之相反，大团聚体孔隙较大，增强了氧气流通性，加速了有机质矿化过程，导致 MBN 含量相对较低^[25]。细大和粗大团聚体 MBP 含量显著高于微团聚体，这可能与不同粒径团聚体对磷的吸附、固定及利用效率有关，大粒径团聚体因磷素有效性提升促进了微生物对磷的吸收利用^[26]。

MBC/MBN 的大小可表征土壤氮素的供应能力 (比值越小，有效性越高)，也可反映微生物群落的结构特征 (如真菌与细菌的比例)^[27]。本研究中细大和粗大团聚体的 MBC/MBN 显著高于微团聚体，表明大团聚体中真菌相对丰度更高。因为相对于微团聚体，大团聚体的大孔隙结构更有利于真菌菌丝穿透和网络构建，且其包裹的新鲜有机质为真菌提供了更多食物来源^[28]。MBC/MBP 反映微生物对磷有效性的调节作用，该比值的减小通常意味着微生物磷利用效率的提高和磷释放潜力的增加，最终促进土壤有效磷的供给^[29]；而 MBN/MBP 则反映植物对氮、磷养分的相对需求强度^[30]。本研究发现，N₁ 施氮水平下增加了微团聚体的 MBC/MBP 和 MBN/MBP，说明氮添加使植物对磷素的相对需求超过氮素。另外，微团聚体的 MBC/MBP 和 MBN/MBP 相对较高，表明其磷供给潜力低于细大和粗大团聚体，这是因为大团聚体结构疏松、稳定性低，易受水热条件波动而分解，有助于释放其固持的磷素；而微团聚体尽管可能富集有效磷，但因其致密结构限制磷素释放，导致实际供给能力受限^[31]。这种差异揭示了长期氮添加通过

重构团聚体结构,驱动微生物养分分配策略的转变,表现为大团聚体中微生物增强磷捕获能力(低MBC/MBP),同时减少氮储存(低MBN/MBP),而微团聚体则维持高磷固持策略。

3.2 长期氮添加对杉木人工林土壤团聚体酶活性及其化学计量比的影响

土壤水解酶可通过催化高分子及难降解有机物的水解反应,将其转化为生物可利用养分,进而驱动生态系统的物质循环与能量流动^[32]。本研究发现:长期氮添加仅改变了团聚体中磷获取酶活性(如AP酶),而碳、氮获取酶活性无显著变化,表明碳氮获取酶活性受氮添加的影响较小。长期氮输入可能会加剧土壤磷限制,促使植物和微生物通过分泌更多的AP来调控磷的有效性^[33-34]。然而,施氮后,微团聚体的AP活性显著降低,这可能是因为长期氮添加会酸化土壤,加速矿物态磷的溶解,提高团聚体内磷有效性,导致微生物减少对AP合成的资源投入^[35]。大团聚体AP活性对施氮无显著响应,其敏感性低于微团聚体。

在未施氮条件下,微团聚体AP活性显著高于细大和粗大团聚体,表明小团聚体具有更强的有机磷矿化能力,有利于提高土壤养分循环效率。这种粒径差异主要源于3个方面:一是小团聚体通过有机-无机复合体更易吸附并固定酶蛋白,提供物理保护,减少酶降解;二是小团聚体富集高丰度细菌群落(主要酶生产者),其多样性优势促进了酶的合成与积累^[36];三是磷素在团聚体粒径间的异质性分布直接调控酶活性表达^[9]。而大团聚体因孔隙较大,稳定性较低,其酶活性易受外界环境变化的影响^[31,37],进一步加剧了与小团聚体的酶活性差距。长期施氮下,AP活性在团聚体各粒径间差异均不显著,可能是由于氮输入降低了土壤pH,改变了微生物群落结构,抑制了微生物分泌酶活性,导致酶活性在粒径间响应趋同^[14]。

土壤酶化学计量比可反映土壤养分资源的有效性和微生物对养分需求的变化^[38]。本研究中,不同氮添加水平下团聚体酶化学计量比均未呈现显著差异,表明该区域微生物对碳、氮、磷获取酶的分泌策略在长期氮输入压力下保持稳定。值得注意的是,团聚体酶碳磷比和酶氮磷比均值较低,低于全球尺度水平0.62和0.44^[39],说明本区域内土壤微生物对磷获取酶的投资高于碳氮获取酶,暗示微生物的生长可能受磷素限制,这与亚热带生态系统生产力普遍受磷限制的结论相吻合^[40]。

3.3 长期氮添加下土壤团聚体微生物量碳氮磷及酶活性间的关系

本研究发现:土壤团聚体MBC与MBN正相关。CLEVELAND等^[41]指出:碳和氮在微生物体内具有相对稳定的比例关系,因为碳是微生物生长的能量来源,氮是蛋白质、核酸等主要成分,两者在微生物细胞合成中是紧密关联的。而MBC、MBN与MBP则呈现负相关,当土壤有效磷不足时,微生物增加多聚磷酸盐的储存(MBP增加),同时减少蛋白质和核酸的合成(MBC、MBN降低),这与陈露等^[42]对湖北麦区磷肥减施后的研究结果类似。团聚体MBC/MBN与AP活性的负相关也说明在磷限制时,微生物可能倾向于减少生物量积累(较低的MBC/MBN),将更多的资源用于磷酸酶的合成,从而提升磷获取效率,这体现了微生物资源分配的权衡策略。

4 结论

微团聚体对氮添加最敏感,其微生物量碳磷比和氮磷比在 $60\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 氮处理下显著升高,酸性磷酸酶活性显著降低,而细大和粗大团聚体的微生物量碳氮磷和酶活性对氮添加响应不显著。团聚体酶碳磷比和酶氮磷比低于全球水平,证实了亚热带生态系统的磷限制特征。团聚体微生物量碳氮比与酸性磷酸酶负相关,体现了微生物资源分配的权衡策略。本研究强调了土壤团聚体大小在调节微生物对氮沉降反应中的重要性,应将其纳入生态系统模型,以预测全球变化条件下的土壤生物地球化学循环。

5 参考文献

- [1] LU Xiaofei, HOU Enqing, GUO Jieyun, *et al.* Nitrogen addition stimulates soil aggregation and enhances carbon storage in terrestrial ecosystems of China: a meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(12): 2780–2792. DOI: [10.1111/gcb.15604](https://doi.org/10.1111/gcb.15604).
- [2] PEÑUELAS J, POULTER B, SARDANS J, *et al.* Human-induced nitrogen-phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 2934. DOI: [10.1038/ncomms3934](https://doi.org/10.1038/ncomms3934).

- [3] LUCAS R W, KLAMINDER J, FUTTER M N, *et al.* A meta-analysis of the effects of nitrogen additions on base cations: implications for plants, soils, and streams[J]. *Forest Ecology and Management*, 2011, **262**(2): 95–104. DOI: [10.1016/j.foreco.2011.03.018](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.03.018).
- [4] MAO Qinggong, LU Xiankai, ZHOU Kaijun, *et al.* Effects of long-term nitrogen and phosphorus additions on soil acidification in an N-rich tropical forest[J]. *Geoderma*, 2017, **285**: 57–63. DOI: [10.1016/j.geoderma.2016.09.017](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.017).
- [5] ZHU Liqin, SUN Jie, YAO Xiaodong, *et al.* Fine root nutrient foraging ability in relation to carbon availability along a chronosequence of Chinese fir plantations[J]. *Forest Ecology and Management*, 2022, **507**: 120003. DOI: [10.1016/j.foreco.2021.120003](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.120003).
- [6] EHLERS K, BAKKEN L R, FROSTEGÅRD Å, *et al.* Phosphorus limitation in a Ferralsol: impact on microbial activity and cell internal P pools[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, **42**(4): 558–566. DOI: [10.1016/j.soilbio.2009.11.025](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.025).
- [7] RICHARDSON A E, SIMPSON R J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus[J]. *Plant Physiology*, 2011, **156**(3): 989–996. DOI: [10.1104/pp.111.175448](https://doi.org/10.1104/pp.111.175448).
- [8] 王翠丽, 王军强, 陈亮, 等. 不同耕作方式对绿洲区农田土壤团聚体中微生物生物量碳、氮含量的影响[J]. *江苏农业科学*, 2022, **50**(12): 246–251. WANG Cuili, WANG Junqiang, CHEN Liang, *et al.* Effects of different cultivation methods on microbial biomass carbon and nitrogen contents in soil aggregates in Oasis area[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, **50**(12): 246–251. DOI: [10.15889/j.issn.1002-1302.2022.12.037](https://doi.org/10.15889/j.issn.1002-1302.2022.12.037).
- [9] 莫雪青. 杉木纯林引入红锥混交改造对土壤团聚体磷组分及其转化的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2022. MO Xueqing. *Effects of Cunninghamia and Castanopsis Mixed Plantation on Phosphorus Composition and Transformation in Soil Aggregates* [D]. Nanning: Guangxi University, 2022. DOI: [10.27034/d.cnki.ggxu.2022.001493](https://doi.org/10.27034/d.cnki.ggxu.2022.001493).
- [10] 李雅男, 李邵宇, 孙宇, 等. 荒漠草原土壤酶活性及化学计量特征对不同载畜率的响应[J]. *草地学报*, 2022, **30**(8): 2019–2026. LI Ya'nan, LI Shaoyu, SUN Yu, *et al.* Responses of soil enzyme activities and stoichiometry characteristics of desert steep to different stocking rates[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, **30**(8): 2019–2026. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0435.2022.08.011](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0435.2022.08.011).
- [11] JIAN Siyang, LI Jianwei, CHEN Ji, *et al.* Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: a meta-analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, **101**: 32–43. DOI: [10.1016/j.soilbio.2016.07.003](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.003).
- [12] ZHOU Zhenghu, WANG Chuankuan, ZHENG Mianhai, *et al.* Patterns and mechanisms of responses by soil microbial communities to nitrogen addition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, **115**: 433–441. DOI: [10.1016/j.soilbio.2017.09.015](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.09.015).
- [13] FANG Xiong, ZHOU Guoyi, LI Yuelin, *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. DOI: [10.1007/s00374-015-1081-5](https://doi.org/10.1007/s00374-015-1081-5).
- [14] 张乃木, 宋娅丽, 王克勤. 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[J]. *水土保持学报*, 2023, **37**(1): 246–253. ZHANG Naimu, SONG Yali, WANG Keqin. Response of enzyme activity characteristics of forest soil aggregates to nitrogen deposition in central Yunnan based on dry and wet screening method[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2023, **37**(1): 246–253. DOI: [10.13870/j.cnki.stbxb.2023.01.032](https://doi.org/10.13870/j.cnki.stbxb.2023.01.032).
- [15] 袁颖红, 樊后保, 李辉信, 等. 模拟氮沉降对杉木人工林土壤微生物的影响[J]. *林业科学*, 2012, **48**(9): 8–14. YUAN Yinghong, FAN Houbao, LI Huixin, *et al.* Effects of simulated nitrogen deposition on soil microorganism in a Chinese fir plantation[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, **48**(9): 8–14. DOI: [10.3969/j.issn.0253-9829.2013.01.019](https://doi.org/10.3969/j.issn.0253-9829.2013.01.019).
- [16] 樊后保, 刘文飞, 李燕燕, 等. 亚热带杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 人工林生长与土壤养分对氮沉降的响应[J]. *生态学报*, 2007, **27**(11): 4630–4642. FAN Houbao, LIU Wenfei, LI Yanyan, *et al.* Tree growth and soil nutrients in response to nitrogen deposition in a subtropical Chinese fir plantation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, **27**(11): 4630–4642. DOI: [10.3321/j.issn.1000-0933.2007.11.031](https://doi.org/10.3321/j.issn.1000-0933.2007.11.031).
- [17] DORODNIKOV M, BLAGODATSKAYA E, BLAGODATSKY S, *et al.* Stimulation of r- vs. K-selected microorganisms by elevated atmospheric CO₂ depends on soil aggregate size[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **69**(1): 43–52. DOI: [10.1111/j.1574-6941.2009.00697.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00697.x).
- [18] WANG Ruzhen, DUNGAIT J A J, CREAMER C A, *et al.* Carbon and nitrogen dynamics in soil aggregates under long-term nitrogen and water addition in a temperate steppe[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2015, **79**(2): 527–535. DOI: [10.2136/sssaj2014.09.0351](https://doi.org/10.2136/sssaj2014.09.0351).

- [19] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 土壤微生物生物量的测定 熏蒸提取法: GB/T 39228—2020[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020. Standardization Administration of the People's Republic of China. *Determination of Soil Microbial Biomass—Fumigation-Extraction Method*: GB/T 39228—2020[S]. Beijing: Standards Press of China, 2020.
- [20] CUI Hang, ZHOU Yang, GU Zhenhong, *et al.* The combined effects of cover crops and symbiotic microbes on phosphatase gene and organic phosphorus hydrolysis in subtropical orchard soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **82**: 119–126. DOI: [10.1016/j.soilbio.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.003).
- [21] 吴晓玲, 张世熔, 蒲玉琳, 等. 川西平原土壤微生物生物量碳氮磷含量特征及其影响因素分析[J]. 2019(10): 1607–1616. WU Xiaoling, ZHANG Shirong, PU Yulin, *et al.* Distribution characteristics and impact factors of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in western Sichuan plain [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2019(10): 1607–1616. DOI: [10.13930/j.cnki.cjea.190328](https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.190328).
- [22] LÜ Fenglian, XUE Sha, WANG Guoliang, *et al.* Nitrogen addition shifts the microbial community in the rhizosphere of *Pinus tabulaeformis* in Northwestern China[J]. *PLoS One*, 2017, **12**(2): e0172382. DOI: [10.1371/journal.pone.0172382](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172382).
- [23] 周学雅, 陈志杰, 耿世聪, 等. 氮沉降对长白山森林土壤团聚体内碳、氮含量的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, **30**(5): 1543–1552. ZHOU Xueya, CHEN Zhijie, GENG Shicong, *et al.* Effects of nitrogen deposition on carbon and nitrogen contents in soil aggregates in temperate forests of Changbai Mountain, Northeast China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, **30**(5): 1543–1552. DOI: [10.13287/j.1001-9332.201905.025](https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.201905.025).
- [24] COTRUFU M F, WALLENSTEIN M D, BOOT C M, *et al.* The microbial efficiency-matrix stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter?[J]. *Global Change Biology*, 2013, **19**(4): 988–995. DOI: [10.1111/gcb.12113](https://doi.org/10.1111/gcb.12113).
- [25] RABOT E, WIESMEIER M, SCHLÜTER S, *et al.* Soil structure as an indicator of soil functions: a review[J]. *Geoderma*, 2018, **314**: 122–137. DOI: [10.1016/j.geoderma.2017.11.009](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.11.009).
- [26] 杨家明, 胡健, 潘军晓, 等. 氮添加对高寒草甸土壤团聚体分布及其碳氮含量的影响[J]. *北京林业大学学报*, 2022, **44**(12): 102–110. YANG Jiaming, HU Jian, PAN Junxiao, *et al.* Effects of nitrogen addition on soil aggregate distribution and carbon and nitrogen contents in Alpine meadow[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2022, **44**(12): 102–110. DOI: [10.12171/j.1000-1522.20210439](https://doi.org/10.12171/j.1000-1522.20210439).
- [27] 石思博, 王旭东, 叶正钱, 等. 菌渣化肥配施对稻田土壤微生物量碳氮和可溶性碳氮的影响[J]. *生态学报*, 2018, **38**(23): 8612–8620. SHI Sibao, WANG Xudong, YE Zhengqian, *et al.* Effects of the combination of fungal residue and chemical fertilizer on soil microbial biomass carbon and nitrogen and dissolved organic carbon and nitrogen in paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, **38**(23): 8612–8620. DOI: [10.5846/stxb201711272117](https://doi.org/10.5846/stxb201711272117).
- [28] WU Jianping, XIONG Xin, HUI Dafeng, *et al.* Soil aggregate size distribution mediates microbial responses to prolonged acid deposition in a subtropical forest in South China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024, **198**: 109544. DOI: [10.1016/j.soilbio.2024.109544](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109544).
- [29] CHEN Guanglei, YUAN Jiahui, CHEN Hao, *et al.* Manure application influences microbial stoichiometry and alters microbial life strategies to regulate phosphorus bioavailability in low-P paddy soil[J]. *Soil and Tillage Research*, 2024, **244**: 106241. DOI: [10.1016/j.still.2024.106241](https://doi.org/10.1016/j.still.2024.106241).
- [30] 李品, 木勒德尔·吐尔汗拜, 田地, 等. 全球森林土壤微生物生物量碳氮磷化学计量的季节动态[J]. *植物生态学报*, 2019, **43**(6): 532–542. LI Pin, Muledeer Tuerhanbai, TIAN Di, *et al.* Seasonal dynamics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometry across global forest ecosystems[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2019, **43**(6): 532–542. DOI: [10.17521/cjpe.2019.0075](https://doi.org/10.17521/cjpe.2019.0075).
- [31] 邓健, 赵雪, 卢笑玥, 等. 半干旱草地土壤团聚体氮磷转化相关酶活性对氮添加的响应[J]. *生态学报*, 2023, **43**(16): 6539–6549. DENG Jian, ZHAO Xue, LU Xiaoyue, *et al.* Different responses of enzymes activities related to nitrogen and phosphorus transformation to nitrogen addition in different sized soil aggregates in semi-arid grassland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, **43**(16): 6539–6549. DOI: [10.5846/stxb202205121335](https://doi.org/10.5846/stxb202205121335).
- [32] 孙彩丽, 王艺伟, 王从军, 等. 喀斯特山区土地利用方式转变对土壤酶活性及其化学计量特征的影响[J]. *生态学报*, 2021, **41**(10): 4140–4149. SUN Caili, WANG Yiwei, WANG Congjun, *et al.* Effects of land use conversion on soil extracellular enzyme activity and its stoichiometric characteristics in karst mountainous areas[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, **41**(10): 4140–4149. DOI: [10.5846/stxb202007161864](https://doi.org/10.5846/stxb202007161864).

- [33] 勒佳佳, 苏原, 彭庆文, 等. 氮添加对天山高寒草原土壤酶活性和酶化学计量特征的影响[J]. *干旱区研究*, 2020, **37**(2): 382–389. LE Jiajia, SU Yuan, PENG Qingwen, *et al.* Effects of nitrogen addition on soil enzyme activities and ecoenzymatic stoichiometry in Alpine grassland of the Tianshan Mountains[J]. *Arid Zone Research*, 2020, **37**(2): 382–389. DOI: [10.13866/j.azr.2020.02.13](https://doi.org/10.13866/j.azr.2020.02.13).
- [34] 陈天, 程瑞梅, 王丽君, 等. 氮添加对马尾松人工林土壤团聚体氮矿化及土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2023, **43**(16): 6528–6538. CHEN Tian, CHENG Ruimei, WANG Lijun, *et al.* Effects of nitrogen addition on the mineralization and enzymatic activities within soil aggregates in *Pinus massoniana* plantation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, **43**(16): 6528–6538. DOI: [10.5846/stxb202206131685](https://doi.org/10.5846/stxb202206131685).
- [35] 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. ZHONG Xiaolan, LI Jiangtao, LI Xiaojia, *et al.* Early effect of soil aggregates on enzyme activities in a forest soil with simulated N deposition elevation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, **35**(5): 1422–1433. DOI: [10.5846/stxb201310092422](https://doi.org/10.5846/stxb201310092422).
- [36] 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. WANG Shengqiang, ZHANG Zhe, YE Shaoming. Response of soil aggregate-associated enzyme activities to tea planting age in the hilly region of southern Guangxi, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(18): 6532–6541. DOI: [10.5846/stxb201911112374](https://doi.org/10.5846/stxb201911112374).
- [37] 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. LEI Lei, XIAO Wenfa, ZENG Lixiong, *et al.* Distribution of enzymatic activities within soil aggregates in two types of *Pinus massoniana* mixed plantations in the Three Gorges Reservoir area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(17): 6179–6188. DOI: [10.5846/stxb201912252783](https://doi.org/10.5846/stxb201912252783).
- [38] SINSABAUGH R L, HILL B H, FOLLSTAD SHAH J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2009, **462**(7274): 795–798. DOI: [10.1038/nature08632](https://doi.org/10.1038/nature08632).
- [39] WARING B G, WEINTRAUB S R, SINSABAUGH R L. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils [J]. *Biogeochemistry*, 2014, **117**(1): 101–113. DOI: [10.1007/s10533-013-9849-x](https://doi.org/10.1007/s10533-013-9849-x).
- [40] 栾历历, 刘恩媛, 顾新, 等. 凋落物处理和氮添加对松栎混交林土壤生态酶化学计量的影响[J]. *生态学报*, 2020, **40**(24): 9220–9233. LUAN Lili, LIU Enyuan, GU Xin, *et al.* Effects of litter manipulation and nitrogen addition on soil ecoenzymatic stoichiometry in a mixed pine and oak forest[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(24): 9220–9233. DOI: [10.5846/stxb202001030024](https://doi.org/10.5846/stxb202001030024).
- [41] CLEVELAND C C, LIPTZIN D. C: N: P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass?[J]. *Biogeochemistry*, 2007, **85**(3): 235–252. DOI: [10.1007/s10533-007-9132-0](https://doi.org/10.1007/s10533-007-9132-0).
- [42] 陈露, 王秀斌, 朱瑞利, 等. 长江中下游小麦产量、土壤酶活性及微生物群落结构对磷肥减施的响应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2021, **27**(3): 392–402. CHEN Lu, WANG Xiubin, ZHU Ruili, *et al.* Response of wheat yield and soil microbial activity to phosphorus fertilizer reduction in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2021, **27**(3): 392–402. DOI: [10.11674/zwzf.20506](https://doi.org/10.11674/zwzf.20506).