

自海云, 姜永雷, 程小毛, 王鸿东, 黄晓霞. 千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤微生物胞外酶活性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (5): 1087-1095

Zi HY, Jiang YL, Cheng XM, Wang HD, Huang XX. Microbial extracellular enzyme activity in rhizosphere soil of ancient wild tea trees at different altitudes in the Qianjiazhai Reserve [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26 (5): 1087-1095

千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤微生物胞外酶活性特征

自海云¹ 姜永雷² 程小毛¹ 王鸿东³ 黄晓霞¹✉

¹西南林业大学园林园艺学院, 国家林业与草原局西南风景园林工程技术研究中心 昆明 650224

²云南省烟草农业科学研究院烟草农艺研究中心 昆明 650021

³云南哀牢山国家级自然保护区镇沅管护局 普洱 666500

摘 要 野生古茶树是亟需保护的珍稀种质资源。为了解野生古茶树根际土壤碳氮磷生态化学计量、微生物量碳氮和胞外酶活性的垂直分布格局, 以千家寨野生古茶树群落为对象, 采集千家寨4个海拔2 050 m (E1)、2 200 m (E2)、2 350 m (E3)、2 500 m (E4) 的野生古茶树群落的根际土壤, 测定并分析其碳氮磷 (C、N、P) 生态化学计量、微生物量碳和氮 (MBC和MBN) 和胞外酶活性[磷素获取酶碱性磷酸酶 (AKP)、碳素获取酶 β -1,4-葡萄糖苷酶 (β G)、氮素获取酶 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 和水解酶亮氨酸氨基肽酶 (LAP)、多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (PER)] 的变化及其影响因素。结果显示, 千家寨野生古茶树根际土壤C:N较高 (11.27-13.35), 并随海拔升高而增加; C:P和N:P均随海拔升高呈先升高后降低的变化规律。根际土壤MBC和MBN随海拔升高呈先上升后下降的规律, 分别受根际土壤含水量和铵态氮 (NH_4^+) 的影响。根际土壤AKP、 β G和NAG活性随海拔升高均显著增加并与总磷含量 (TP) 密切相关, LAP活性在海拔上无显著变化, PPO活性随海拔升高而显著下降 ($P < 0.05$)。根际土壤胞外酶活性生态化学计量大小顺序是 β G:(NAG + LAP) > β G:AKP > (NAG + LAP):AKP, 其中 β G:AKP和(NAG + LAP):AKP值均小于1。综上所述, 不同海拔梯度上土壤碳氮磷生态化学计量、微生物量碳氮和胞外酶活性及其计量学差异显著, 而TP是影响海拔梯度上野生古茶树根际土壤胞外酶活性大小的关键因子; 千家寨野生古茶树根际土壤微生物受磷限制和碳限制相对于氮限制程度更高, 在不同海拔中受碳氮磷限制的程度有差异; 本研究结果对了解野生古茶树的养分循环和生态适应机制有重要意义。(图6 表3 参54)

关键词 海拔梯度; 野生古茶树; 根际土壤胞外酶; 计量学; 微生物量

Microbial extracellular enzyme activity in the rhizosphere soil of ancient wild tea trees at different altitudes in the Qianjiazhai Reserve

ZI Haiyun¹, JIANG Yonglei², CHENG Xiaomao¹, WANG Hongdong³ & HUANG Xiaoxia¹✉

¹ College of Landscape and Horticulture, Southwest Forestry University, Southwest Landscape Architecture Engineering Research Center of State Forestry and Grassland Administration, Kunming 650224, China

² Tobacco Agronomic Research Center, Yunnan Academy of Tobacco Agriculture Science, Kunming 650021, China

³ Zhenyuan Management and Protection Bureau of Ailao Mountain National Nature Reserve in Yunnan Province, Puer 666500, China

Abstract This study aimed to explore the vertical distribution of carbon, nitrogen, and phosphorus, microbial biomass (carbon and nitrogen), and extracellular enzyme activities in the rhizosphere soil of an ancient wild tea tree species, which urgently needs protection as it is a rare genetic resource. Ancient wild tea communities at different altitudes of 2 050 m (E1), 2 200 m (E2), 2 350 m (E3), and 2 500 m (E4) in the Qianjiazhai Reserve were used to study the variation of rhizosphere soil C:N:P stoichiometry, microbial biomass carbon and nitrogen (MBC and MBN), and rhizosphere soil extracellular enzyme activities (phosphorus acquisition: alkaline phosphatase (AKP); carbon acquisition: β -glucosidase (β G); nitrogen acquisition: N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG); and leucyl aminopeptidase (LAP), polyphenol oxidase (PPO), and peroxidase activity (PER)). Our results revealed that C:N was relatively high (11.27-13.35) in rhizosphere soil of ancient wild tea trees in the Qianjiazhai Reserve. With an increase in altitude, C:N increased whereas C:P and N:P increased initially and then decreased. MBC and MBN followed a similar pattern as altitude increased, which were affected by rhizosphere soil water content

收稿日期 Received: 2020-03-22 接受日期 Accepted: 2020-05-19

国家自然科学基金项目 (31760197) 和部级重点学科、省高校重点实验室和校实验室共享平台项目资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31760197) and the Ministry-level Key Disciplines, Provincial Key Laboratories and School Laboratories Sharing Platform-funded projects

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: huangxx@swfu.edu.cn)

and ammonium nitrogen (NH_4^+), respectively. The activities of AKP, βG , and NAG in rhizosphere soil increased significantly with an increase in altitude and were closely related to total phosphorus content (TP). The LAP activity had no significant change owing to altitude, and the PPO activity decreased as altitude increased. The rank of extracellular enzyme stoichiometry was βG : (NAG + LAP) > βG :AKP > (NAG + LAP):AKP; both βG :AKP and (NAG + LAP):AKP were less than 1. The C:N:P stoichiometry, microbial biomass, and soil extracellular enzyme activity were significantly affected by an increase in the altitude gradient. The TP was a key factor affecting the activities of extracellular enzymes in rhizosphere soil. P and C were the main limiting elements in the determination and variation of the microbial community in the rhizosphere soil of ancient wild tea trees in the Qianjiazhai Reserve. This study provides significant information to better understand the regulatory mechanisms of nutrient cycles and ecological adaptation of wild ancient tea plants and aids in the preservation of this genetically rare resource.

Keywords altitude gradient; ancient wild tea tree; rhizospheric extracellular enzyme; ecological stoichiometry; microbial biomass

土壤胞外酶 (extracellular enzymes, EE) 是微生物和植物根系分泌到土壤中介导有机质的分解, 催化土壤碳、氮、磷循环中的关键转化的蛋白质, 可为植物和微生物提供养分^[1]. 土壤胞外酶又可根据其功能分为水解酶 (hydrolytic enzyme) 和氧化酶 (oxidase), 由于其对土壤养分转化和循环的重要性以及对环境变化极其敏感的特征, 而被认为是垂直梯度上可靠的环境指示因子之一^[2-3]. 许多研究表明, 土壤胞外酶活性在不同地区的海拔梯度上并无统一变化规律. 例如, 在念青唐古拉山 (4 325-4 956 m)^[4]和意大利阿尔卑斯山脉^[5]的研究发现土壤胞外酶活性沿海拔梯度降低; 而在智利中南部^[6]和武夷山^[7]的研究则发现土壤酶活性随海拔升高而增加. 许多学者对于土壤胞外酶活性在海拔梯度上的变化原因进行分析, 认为土壤微生物活性^[8]、土壤理化性质^[9]、土层深度^[10]和气候特征均不同程度地影响土壤胞外酶活性. 综上所述, 探索土壤微生物胞外酶活性及其化学计量的垂直分布差异及其内在因素, 对于了解土壤中养分循环过程的动向、强度及土壤微生物的功能动态具有重要意义.

茶树是我国重要的经济作物, 而天然古茶树群落不仅能够反映当地民族茶文化的悠久历史, 其丰富的遗传资源还是种质创新的基础. 目前世界上发现的最大的天然古茶树群落位于云南哀牢山脉的千家寨自然保护区 (镇沅县), 主要分布在该地区海拔 1 800-2 500 m 范围内^[11]. 近年来, 由于全球气候变化以及当地居民生活区的扩大, 古茶树群落生境遭到破坏, 特别是土壤生态系统的失衡, 导致其面临种群减少甚至灭绝的危险. 土壤生态系统中的土壤生物与土壤养分对植物生长及生产力具有重要调节作用, 土壤是植物群落发展的最终控制因素^[12]. 因此, 解析古茶树土壤生态系统对于古茶树的保护具有重要意义, 在一定程度上甚至能够预测其群落发展方向. 然而, 目前关于茶树土壤生态的研究主要集中在人工种植的茶园上^[13-15], 关于自然古茶树群落的土壤生态系统的研究较少^[16], 特别是对于不同海拔梯度野生古茶树土壤生态研究未见报道. 因此, 本研究采集千家寨4个海拔梯度上的野生古茶树根际土壤, 探究海拔梯度上的野生古茶树群落的根际土壤碳氮磷化学计量、微生物量碳氮和胞外酶活性及其计量学变化和土壤理化性质之间的关系, 对于了解野生古茶树的养分循环和生态适应机制有重要意义, 进一步为气候变化和人为破坏背景下野生古茶树种质资源保护提供理论参考.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

千家寨自然保护区 (东经101°14'E, 北纬24°17') 位于中国西南云南省镇沅县哀牢山国家级自然保护区. 该地区地形复杂, 野生古茶树群落是该地区的优势种, 许多茶树的胸径经常超过0.3 m (约1 000年), 并沿海拔梯度1 800-2500 m均有分布^[17]. 研究点年平均气温较低, 约为10-12 °C, 降水量丰富, 在1 500 mm以上; 霜冻期从11月开始, 延续4个月, 降雪期从12月开始, 延续2个月^[11]. 除野生古茶树外, 保护区内还生长着许多高大的乔木, 如木果石栎 (*Lithocarpus xylocarpus*)、红河木姜子 (*Litsea honghoensis*) 和红花木莲 (*Manglietia insignis*) 等^[17]. 灌木层植物主要以优势乔木的幼树为主, 部分坡段分布有无限山箭竹 (*Fargesia wuliangshanensis* Yi)、柏拉木 (*Blastus cochinchinensis* Lour.) 和少花柏拉木 (*Blastus pauciflorus*) 等; 地被主要以一些蕨类植物、细叶冷水花 (*Pilea soma*) 和长柄异药花 (*Fordiophyton longipes*) 等为主.

1.2 样地设置和采样

在研究点内, 于2017年5月进行根际土壤样品采集, 在野生古茶树的分布范围每隔150 m设置了4个海拔梯度: E1 (2 050 m)、E2 (2 200 m)、E3 (2 350 m) 和E4 (2 500 m). 沿每个海拔梯度150 m长的横截面, 分别设置5个采样点, 每个采样点随机选择3棵生长大小一致的茶树. 按照Debnath等人的方法^[18]采集每棵茶树的3份根际土壤, 即除去表面腐殖质后, 沿古茶树侧根 (次生根或三生根) 寻找须根 (深20-40 cm), 将附着在须根上的土轻摇抖落, 与根系紧密相连的土即为根际土壤. 将每个样点的9份根际土壤混合, 每个海拔得到5份样品, 共20份样品. 将采集到的样品放置在冰盒内无菌聚丙烯袋中运送至实验室. 一部分土壤样品过2 mm筛后用于测定酶活性和土壤铵/硝态氮. 另一部分土壤样品自然风干后储存起来用于理化性质的测定.

1.3 土壤微生物胞外酶活性的测定

土壤微生物量碳 (MBC) 和氮 (MBN) 采用氯仿熏蒸- K_2SO_4 浸提法测定. 根际土壤水解酶活性, 与碳素获取相关的 β -1,4-葡萄糖苷酶 (βG)、与磷素获取相关的碱性磷酸酶 (AKP)、与氮素获取相关的 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 和亮氨酸氨基肽酶 (LAP) 采用微孔板荧光法. 氧化酶 (多酚氧化酶PPO与过氧化物酶PER) 分别采用红紫脲精

比色法与邻苯三酚比色法测定。各根际土壤胞外酶的功能见表1。

1.4 数据处理

采用单因素方差分析（One-Way ANOVA）和多重比较（邓肯法）分析不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶的差异；根际土壤胞外酶之间的关系运用一般线性回归来分析；微生物对于碳、氮和磷的获取比率通过胞外酶 $\ln(\beta G)$ ： $\ln(NAG + LAP)$ ： $\ln(AP)$ 活性来计算。通过计算皮尔森相关性系数分析根际土壤胞外酶活性和理化性质之间的相关性；利用Canoco 5来进行冗余分析（RDA）以探索不同海拔中野生古茶树根际土壤理化因子与胞外酶活性之间的约束关系，在分析之前，我们应用去趋势分析（gradient lengths < 3）来保证使用线性模型（RDA）适合；用SPSS 25软件进行数据分析，运用Origin 2019画图。

2 结果与分析

2.1 千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤碳氮磷生态化学计量学特征

由图1可知，野生古茶树根际土壤碳氮磷比（C:N:P）值约为46.02:3.52:1-81.78:6.31:1。不同海拔的土壤碳氮比（C:N）、土壤碳磷比（C:P）和土壤氮磷比（N:P）差异显著（ $P < 0.05$ ）。其中，土壤C:N随海拔升高而逐渐增加，其在最高海拔E4的值（13.35）是最低海拔E1（11.27）的118.46%；而土壤C:P和N:P呈先升高后降低的变化规律，即随海拔升高，先在海拔E2分别达到最大值81.78和6.31，随后降低，并在最高海拔E4分别有最低值46.02和3.51。

表1 根际土壤胞外酶基本信息
Table 1 Basic data of extracellular enzymes in the rhizosphere soil

酶全称（简写） Enzyme (abbreviation)	酶编号 Enzyme commission number (EC)	酶功能 Function
β -1,4-葡萄糖苷酶 β -Glucosidase (βG)	EC 3.2.1.21	参与碳素获取过程，水解纤维素生成葡萄糖 Hydrolyzing cellobiose and releasing glucose
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase (AKP)	EC 3.1.3.1	参与磷素获取过程，水解磷酸酯键释放磷酸盐 Hydrolyzing phospholipids and releasing phosphate
β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶 N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)	EC 3.2.1.52	参与碳和氮素获取过程，水解壳聚糖释放N-乙酰氨基葡萄糖 Hydrolyzing chitobiose and releasing glucosamine
亮氨酸氨基肽酶 Leucyl aminopeptidase (LAP)	EC 3.4.11.1	参与氮素获取过程，水解蛋白质和多肽释放氨基酸 Hydrolyzing proteins and peptides and releasing amino acids
多酚氧化酶 Polyphenol oxidase (PPO)	EC 1.10.3.1	降解木质素，氧化酚类化合物 Degrading lignin, and oxidizing phenolic compounds
过氧化物酶 Peroxidase (PER)	EC 1.11.1.x	降解木质素分子和酚类化合物 Degrading lignin molecules and phenolic compounds

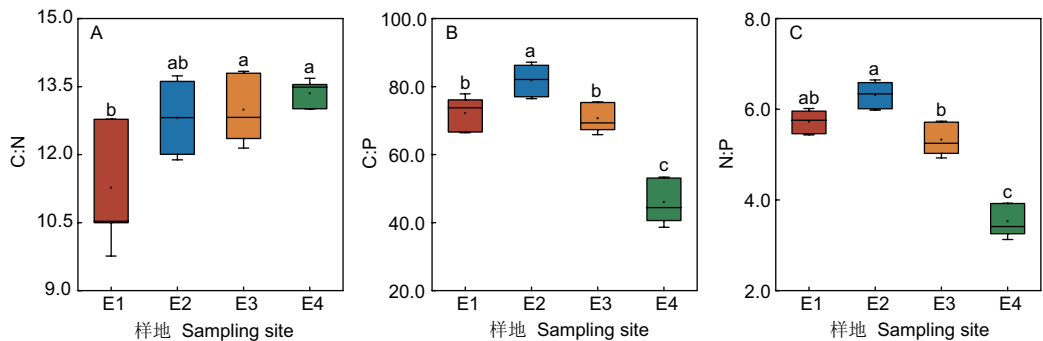


图1 不同海拔野生古茶树根际土壤碳氮磷生态化学计量特征。误差棒为平均值的标准误（standard error, SE）；不同小写字母表示数据在样点间具有统计学上的显著差异（ $P < 0.05$ ）。

Fig. 1 Characteristics of C:N:P in the rhizosphere soil of ancient wild tea at different altitudes. Error bars represent standard errors of the mean. Different lowercase letters indicate statistically significant differences between the sampling sites ($P < 0.05$).

2.2 千家寨不同海拔野生古茶树根际微生物量碳和氮

2.2.1 千家寨不同海拔野生古茶树根际微生物量碳和氮含量特征

如图2所示，野生古茶树根际土壤MBC在海拔梯度上呈倒“U”型的变化特征，其含量在海拔E2和E3大于最低海拔E1和最高海拔E4。其最大值出现在海拔E3（1 062.82 mg/kg），其最小值出现在最低海拔E1（609.90 mg/kg）。与MBC相同，土壤MBN最小值和最大值也分别出现在海拔E1和E3。方差分析结果表明，海拔E1的MBC含量显著低于E2和E3（ $P < 0.05$ ），但在其他海拔间无显著差异；而海拔E1和E2的MBN含量显著低于E3（ $P < 0.05$ ）。

2.2.2 千家寨不同海拔野生古茶树根际微生物量碳氮比值和占根际土壤养分比例

如图3A所示，千家寨野生古茶树根际土壤微生物量碳氮比（MBC:MBN）为26.94-50.82，在海拔梯度上呈单峰模式，最高值出现在海拔E2（50.82）。海拔E2和E4之间的MBC:MBN有显著差异（ $P < 0.05$ ），差值为23.89；其余海拔之间无统计学差异。由图3B、C可以看出，微生物量碳和氮分别占有有机碳和总氮（MBC:TOC & MBN:TN）的0.58%-3.6%和2.37%-5.36%。其中，MBC:TOC在不同海拔间差异显著（ $P < 0.05$ ），且随海拔上升而降低，最低值是最高值的6.27倍。MBN:TN在海拔梯度上呈双峰模式，即在海拔E1和E3处高于海拔E2和E4，海拔E2处最低。

2.3 千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性

2.3.1 千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性特征

如图4A、B、C所示，随着海拔的升高，野生古茶树根际土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶（ βG ）、碱性磷酸酶（AKP）和 β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶（NAG）活性均显著增加（ $P < 0.05$ ）。 βG 活性在最高海拔E4处最高（23.86 mol g⁻¹ h⁻¹），

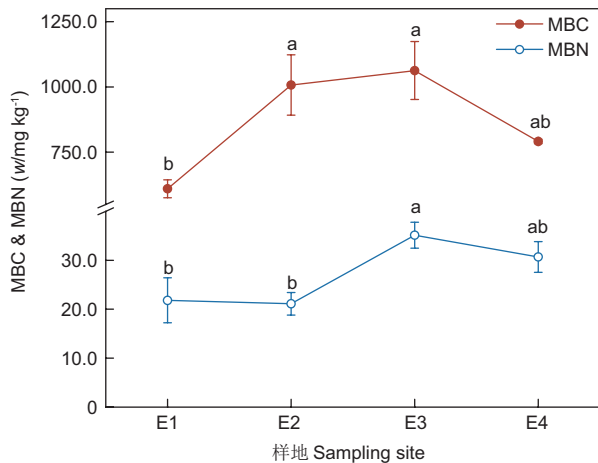


图2 不同海拔梯度土壤微生物量碳和氮 (MBC和MBN)。不同小写字母之间表示差异显著 ($P < 0.05$)；误差棒为平均值的标准误 (standard error, SE; $N = 3$)。

Fig. 2 Soil microbial biomass carbon and nitrogen (MBC & MBN) at different altitudes. Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). Error bars represent standard errors of the mean ($N = 3$).

其值是最低海拔E1处 ($14.71 \text{ mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) 的1.62倍。AKP活性在海拔E3和E4处显著高于海拔E1和E2处,且在海拔E3和E1之间差异最大,其差值为 $10.52 \text{ mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。同时,在海拔E4处,野生古茶树根际土壤NAG活性达到最高值,为 $6.39 \text{ mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$,是海拔E1处的2.07倍。而亮氨酸氨基肽酶 (LAP) 活性随海拔升高呈先降低后增加的变化规律,其在不同海拔间的大小关系是 $E4 > E1 > E2 > E3$,但其活性在海拔间的变化无统计学差异 (图4D)。

如图4E所示,随着海拔的增加,野生古茶树根际土壤多酚氧化酶 (PPO) 活性逐渐下降。同时,方差分析发现最高海拔E4的PPO活性显著低于其他海拔 ($P < 0.05$),且较最低海拔E1降低了22.02%。PPO活性在海拔E1和E2之间的差异未达到显著性水平,但在E1、E3和E4这3个海拔间差异显著 ($P < 0.05$)。在不同海拔中,野生古茶树根际土壤过氧化物酶 (PER) 活性无显著变化;其值在海拔E3处最高,为 $2.14 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$,在海拔E4处最低,为 $1.95 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (图4F)。

2.3.2 千家寨不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性生态化学计量特征 由表2可知,古茶树根际土壤 $\beta\text{G}:(\text{NAG})$

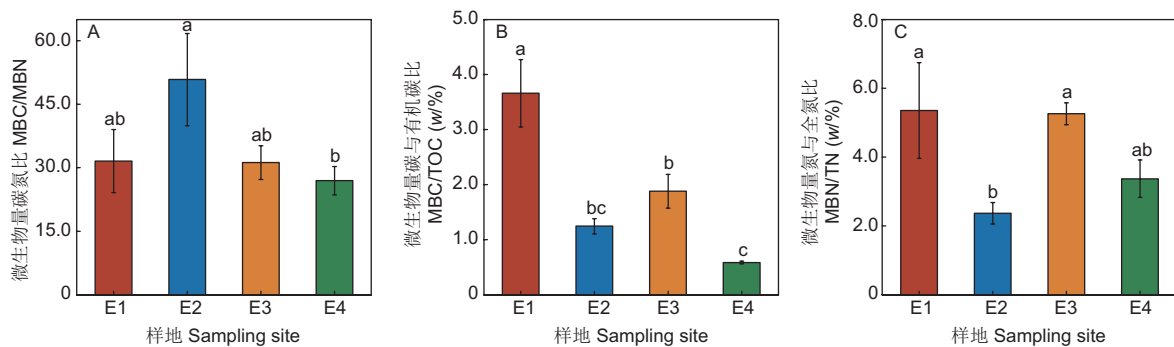


图3 不同海拔梯度土壤微生物量碳氮比 (MBC/MBN)。不同小写字母之间表示差异显著 ($P < 0.05$)；误差棒为平均值的标准误 (standard error, SE)。

Fig. 3 Soil microbial biomass carbon and nitrogen ratio (MBC/MBN) at different altitudes. Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). Error bars represent standard errors of the mean.

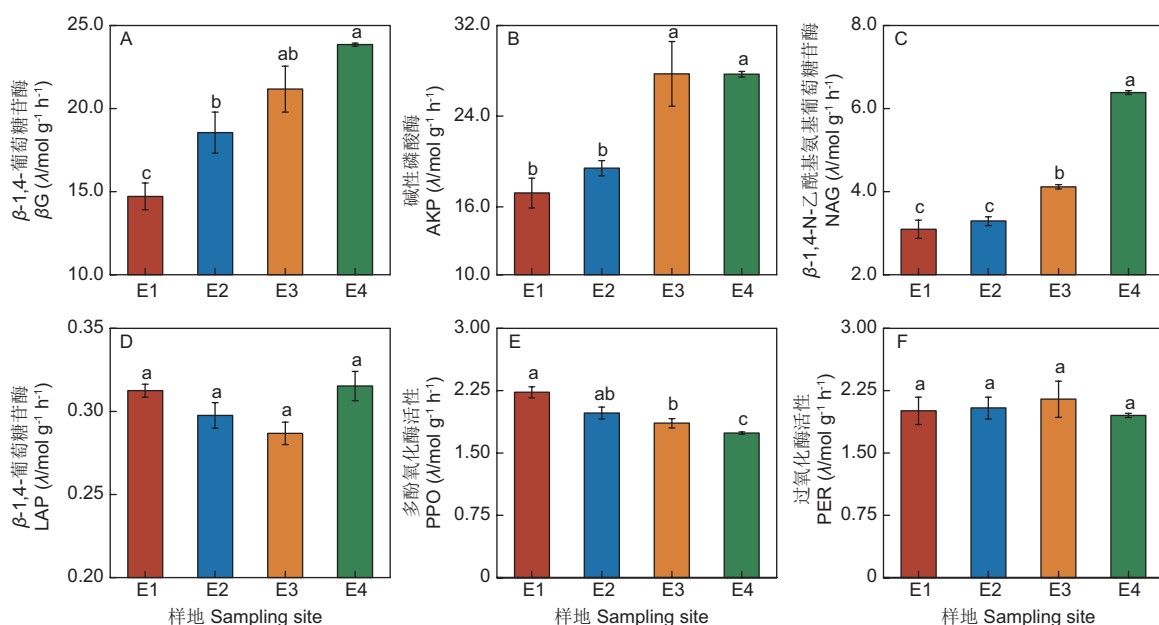


图4 不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性。不同小写字母之间表示差异显著 ($P < 0.05$)，误差棒为平均值的标准误 (standard error, SE; $N = 3$)。

Fig. 4 Extracellular enzyme activities in the rhizosphere soil of ancient wild tea at different altitudes. Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). Error bars represent standard errors of the mean ($N = 3$).

+ LAP)和(NAG + LAP):AKP在海拔E1、E2和E3之间无显著差异,但在最高海拔E4分别显著降低和升高($P < 0.05$)。古茶树根际土壤 βG :AKP在海拔梯度上的大小关系为 $\text{E2} > \text{E1} > \text{E4} > \text{E3}$ 。

利用归一化胞外酶活性的一般线性回归进一步评估古茶树根际土壤胞外酶化学计量。如图5所示,在海拔梯度上,野生古茶树根际微生物碳获取酶(βG)、氮获取酶(NAG + LAP)和磷获取酶(AKP)相互之间均显著线性相关($P < 0.01$)。土壤 βG :AKP和(NAG+LAP):AKP比值均 < 1 (图5A、C),土壤 βG :(NAG+LAP)比值为 > 1 (图5B)。

表2 不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性生态化学计量特征
Table 2 Characteristics of ecological stoichiometry of extracellular enzyme activity in the rhizosphere soil of ancient wild tea at different altitudes

样地 Sampling site	土壤胞外酶活性生态化学计量 Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity		
	βG :(NAG + LAP)	βG :AKP	(NAG + LAP):AKP
E1	$4.35 \pm 0.24\text{abc}$	$0.86 \pm 0.05\text{ab}$	$0.200 \pm 0.023\text{ab}$
E2	$5.21 \pm 0.53\text{a}$	$0.96 \pm 0.09\text{a}$	$0.185 \pm 0.003\text{b}$
E3	$4.81 \pm 0.25\text{ab}$	$0.77 \pm 0.04\text{b}$	$0.162 \pm 0.017\text{b}$
E4	$3.56 \pm 0.04\text{c}$	$0.86 \pm 0.01\text{ab}$	$0.242 \pm 0.001\text{a}$

数据为平均值±标准偏差($N = 3$)；不同小写字母之间表示差异显著($P < 0.05$)。

The data are mean $\pm$ SE ($N=3$). Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.4 不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性与土壤理化性质相关性

如图6所示,冗余分析(redundancy analysis, RDA)的前两轴RDA1和RDA2共同解释了根际土壤胞外酶活性和根际土壤理化性质变量之间关系的87.61%的变异,而53.6%(条件效应)的根际土壤胞外酶活性的变异能够被TP解释($F = 11.5$, $P = 0.004$),超过10%的变异能够被SM(条件效应 = 14.1%, $F = 3.9$, $P = 0.034$)解释。

由表3可知,古茶树根际土壤AKP活性与根际土壤总磷、C:N和MBN有显著的正相关($P < 0.05$),而与土壤C:P($r = -0.609$, $P < 0.05$)和N:P($r = -0.680$, $P < 0.05$)负相关。土壤 βG 活性与土壤总磷、土壤有机质(SOM)、总氮、总碳、C:N、C:P、N:P均相关,且与土壤总磷($r = 0.836$, $P < 0.01$)和有机质($r = 0.810$, $P < 0.01$)相关程度最高。土壤NAG活性主要与N:P、C:P、SOM和总磷相关($P < 0.01$),与土壤有效磷和总碳也有一定的相关性($P < 0.05$)。土壤PPO活性与大部分土壤理化性质存在负相关($P < 0.05$),但与土壤N:P有

显著的正相关($r = 0.643$, $P < 0.05$)。土壤LAP活性和PER活性与土壤理化性质均无显著相关关系。土壤MBC和MBN分别与 NH_4^+ 和土壤含水量极显著正相关($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 不同海拔野生古茶树根际土壤碳、氮、磷生态化学计量特征和微生物量的变化

土壤碳氮磷比(C:N:P)不仅能够反映土壤内碳氮磷养分循环,还可以衡量土壤有机质和土壤养分平衡状况^[19]。本研究中,千家寨的不同海拔野生古茶树根际土壤C:N值为11.27-13.35,高于茶园中树龄3-40年的茶树根际土壤C:N(8.70-10.43)^[20]和中国亚热带地区土壤C:N(10.13)^[21],与我国^[19]和全球^[22]土壤C:N平均值近似。刘顺等人研究发现,40年林龄的陈山红心杉根际土壤C:N要显著高于5-20年^[23]。由于本研究中的野生古茶树树龄大多在1 000年左右,因而树龄可能是古茶树根际土壤C:N高于普通茶园茶树根际土壤C:N的原因之一。除此之外,与人工栽培茶园相比,自然保护区内存在人为干扰更弱,特别是无氮肥施加,同时林叶腐烂较多而更有效地补充碳^[24]。此外,方差分析发现海拔对千家寨野生古茶树根际土壤碳氮磷比影响显著。其中,土壤C:N常与有机质分解速度成反比关系,随着海拔的升高,千家寨野生古茶树根际土壤C:N逐渐增加,说明海拔越高,有机质分解速率越慢,这可能与高海拔温度比低海拔温度更低,从而减弱或限制了土壤微生物的代谢活动有关。冯德枫和包维楷^[25]归纳分析了全球10多个地区(海拔500-4 300 m)的土壤C:N,也认为在林线高度以下,土壤C:N常随着海拔升高而增加,并指出有机质矿化能力的降低和植物向地下部分的C输入增大可能是导致该变化的可能原因。与土壤C:N不同,野生古茶树根际土壤C:P和N:P均随海拔升高呈先升高后降低的变化规律,最大值均出现在海拔E2;谢锦等对天山北坡植物土壤的研究也发现相似的变化规律^[26]。其中,较高的C:P值是磷有效性低的一个指标,本研究的结果说明海拔E2处的野生古茶树根际土壤磷有效性较低,不利于根际微生物有机磷净矿化。此外,古茶树根际土壤C:P和N:P在海拔E2处较高可能是该海拔处土壤碳氮源丰富,而参与有机碳氮循环过程的根际胞外酶和土壤微生物未能及时分解土壤碳氮而造成养分累积^[27]。

土壤微生物量碳(MBC)和氮(MBN)分别是调节陆地生态系统生物地球化学过程的土壤有机碳和有机氮中最活跃的重要组成部分,是生态系统重要的活性炭库和养分库^[28-29]。本

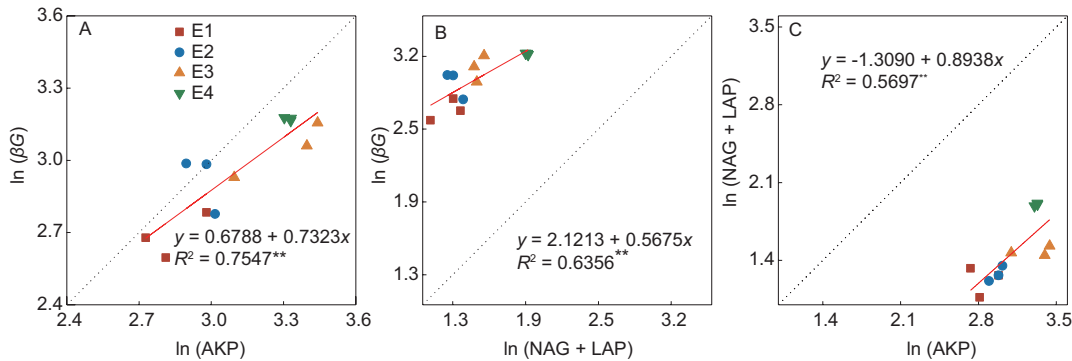


图5 野生古茶树根际土壤胞外酶活性之间一般线性回归分析。虚线为参考线($y = x$)；*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$, $N = 3$ 。
Fig. 5 Linear regression analysis of soil extracellular enzyme activity in the rhizosphere soil of ancient wild tea. Dotted line as reference line ($y = x$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $N = 3$.

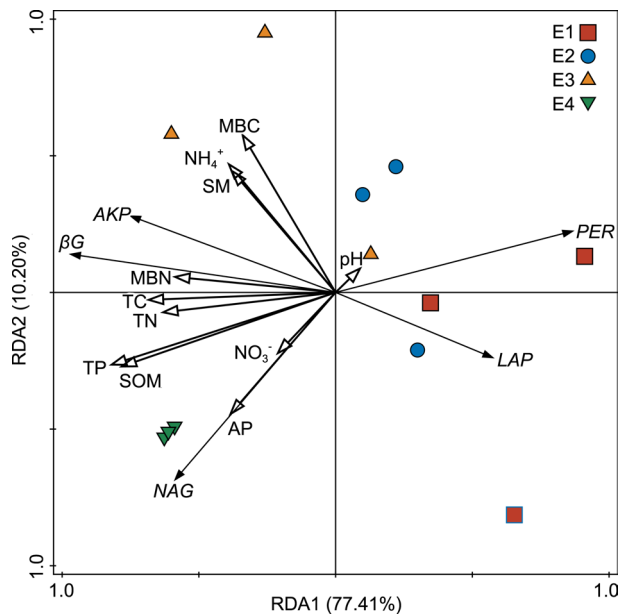


图6 野生古茶树根际土壤理化性质对土壤胞外酶活性的冗余分析. AP: 有效磷; SOM: 土壤有机质; SM: 含水量.

Fig. 6 Redundancy analysis of physico-chemical properties of the rhizosphere soil of wild ancient tea tree on extracellular enzyme activity. AP: Available phosphorus; SOM: Soil organic matter; SM: Soil moisture.

研究中,野生古茶树根际土壤中MBC和MBN最低含量分别为575.20 mg/kg和21.43 mg/kg,均高于普通茶园土壤中的含量(MBC: 88.3-185.3 mg/kg; MBN: 15-17.4 mg/kg)^[30-32].说明千家寨野生古茶树根际土壤养分贮备充足,可能是由于与长期单一栽培同种植物的茶园相比,千家寨植被丰富,大量的凋落物而使土壤有机质较多,另一方面可能是古茶树根系分泌物向根际微生物提供了大量有机物质,根际微生物在这种良好的环境下活性增加,进而增加了MBC和MBN的含量^[33].本研究还发现野生古茶树根际MBC和MBN随海拔升高呈先上升后下降的变化规律,这与胡宗达等在四川巴郎山(2 551-3 549 m)的研究结论^[34]相似,曹瑞等在海拔2 158-3 028 m也发现土壤微生物碳氮先增加后减少的规律,并指出土壤含水量、有机碳和总氮可能是影响MBN和MBC在海拔梯度变化的主要因

子^[3].此外,大量研究表明,影响MBC和MBN变化的环境因子有很多,如土壤温度^[35]、土壤含水量^[36]、有机碳和总氮^[37]等,且这些因素之间还存在一定的交互作用.本研究中,根际土壤含水量(soil moisture, SM)和根际土壤铵态氮(NH₄⁺)分别与MBN($r = 0.844$, $P < 0.01$)和MBC($r = 0.808$, $P < 0.01$)显著正相关.这说明SM可能是影响野生古茶树根际土壤MBN在海拔梯度上变化的决定因素之一,而NH₄⁺可能是影响野生古茶树根际土壤MBC在海拔梯度上变化的主要因子.有研究表明,SM和NH₄⁺还能够通过影响微生物群落活性,从而间接地影响微生物量^[18, 38].微生物量与土壤养分的比值反映了输入土壤有机质向微生物量的转化效率、土壤中养分元素的损失和土壤矿物对有机质的固定^[39].本研究中,野生古茶树根际土壤微生物量碳氮分别占土壤有机碳和总氮为0.58%-3.6%和2.37%-5.36%,与现有研究结果^[40]基本一致.MBC:TOC和在不同海拔间差异显著($P < 0.05$),且随海拔上升而降低.可能是由于随着海拔升高,有机质分解速率下降,土壤有机碳积累强度加大.

3.2 不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性及其生态化学计量特征

根际土壤胞外酶催化碳、氮和磷循环的重要转变,其活性是反映土壤质量和微生物代谢活动的重要指标^[41].β-1,4-葡萄糖苷酶(βG)、β-1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(NAG)与亮氨酸氨基肽酶(LAP)和碱性磷酸酶(AKP)分别是土壤中主要的碳素、氮素和磷素获得酶^[42].本研究中,野生古茶树根际土壤βG、NAG + LAP和AKP活性随着海拔的升高均显著增加($P < 0.05$),这与许多研究结果^[6, 43]一致.说明随着海拔升高(2 050-2 500 m),千家寨野生古茶树根际土壤微生物代谢加快,释放更多的胞外酶到根际中,加快土壤碳氮磷循环,为植物和微生物提供更多的养分.然而,有研究发现这些土壤胞外酶活性随着海拔的增加而减少或无显著变化^[44-45].但进一步分析后发现,在这些研究和本实验中,土壤胞外酶活性在海拔梯度上的变化与土壤养分含量在海拔梯度上的变化基本一致.作为最敏感的土壤属性之一,土壤胞外酶活性受多种环境因素的影响^[9].本研究中,相关性分析表明,古茶树根际土壤中大多数胞外酶活性主要与总磷有关.同时,冗余分析(RDA)结果进一步表明,53.6%(条件效应)的根际土壤胞外酶活性的变异能够被总磷解释($F = 11.5$, $P = 0.004$).因此,总磷是影响不同海拔中野生古茶树根际土壤胞外酶活性

表3 野生古茶树根际土壤微生物量碳和氮、土壤理化性质和胞外酶活性相关性分析

Table 3 Pearson correlation coefficients between soil extracellular enzyme activity and soil physicochemical properties in the rhizosphere soil of ancient wild tea at different altitudes

变量 Variable	AKP	βG	NAG	LAP	PPO	PER	MBC	MBN
TP	0.622*	0.836**	0.883**	0.007	-0.834**	-0.097	0.197	0.338
AP	0.200	0.411	0.609*	-0.039	-0.358	-0.083	-0.017	-0.057
SOM	0.571	0.810**	0.836**	0.063	-0.791**	-0.148	0.202	0.221
NH ₄ ⁺	0.318	0.440	0.053	-0.082	-0.535	0.089	0.808**	0.196
NO ₃ ⁻	-0.033	0.253	0.241	0.099	-0.282	-0.188	0.305	-0.298
TN	0.427	0.650*	0.566	0.055	-0.697*	-0.128	0.450	0.098
TC	0.487	0.722**	0.603*	0.016	-0.755**	-0.082	0.425	0.110
C:N	0.596*	0.720**	0.449	-0.211	-0.689*	0.221	0.334	0.085
C:P	-0.609*	-0.627*	-0.875**	-0.083	0.531	0.150	0.242	-0.315
N:P	-0.680*	-0.729**	-0.914**	-0.101	0.643*	0.160	0.208	-0.387
SM	0.510	0.375	0.152	-0.230	-0.406	0.300	0.302	0.844**
pH	-0.150	-0.119	-0.250	0.296	0.025	-0.310	0.281	-0.188
MBC	0.467	0.311	-0.011	-0.043	-0.374	0.107	1	0.200
MBN	0.585*	0.562	0.503	-0.086	-0.601*	0.095	0.200	1

表格数值为皮尔森相关性系数r; *表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$, $N = 3$. AP: 有效磷; SOM: 土壤有机质; SM: 含水量.

The values in the table are Pearson's correlation coefficient (r). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $N = 3$. AP: Available phosphorus; SOM: Soil organic matter; SM: Soil moisture.

大小的关键因子。有研究表明,土壤总磷通过直接和间接效应成为影响土壤酶活性的主要因素^[46]。土壤总磷含量较高时,微生物在生物吸收和土壤吸附有效磷的竞争中起支配作用,并促进微生物量和参与分解的胞外酶活性提高^[47];另一方面,总磷能够直接影响微生物的新陈代谢活动,从而影响土壤酶的分泌^[48]。除总磷外,野生古茶树根际 βG 和NAG活性还与SOM显著正相关($P < 0.05$),而AKP活性与C:N和MBN有显著的正相关。此外,相关性分析表明, βG 、NAG和AKP3种酶活性之间呈显著正相关关系($P < 0.01$)。土壤PPO活性与大部分土壤理化性质存在负相关($P < 0.05$),但与土壤N:P有显著的正相关($r = 0.643$, $P < 0.05$)。土壤LAP活性和PER活性与土壤理化性质均无显著相关关系。多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(PER)是土壤中主要的木质素分解酶,直接影响着土壤有机物的分解和腐殖质的合成^[49]。随着海拔的增加,野生古茶树根际土壤PPO活性呈下降的变化规律,而PER活性无显著变化。可能是由于氧化酶主要由真菌分泌合成,随海拔升高,古茶树根际真菌群落活性降低,从而减少了氧化酶活性^[50]。相关性分析表明,PPO活性与许多土壤养分含量和土壤胞外酶之间存在负相关。

土壤胞外酶活性生态化学计量(碳素获取酶 βG ,氮素获取酶NAG + LAP,磷素获取酶AKP)代表不同功能酶的相对丰度,反映了微生物代谢和养分需求与土壤养分有效性之间的生物地球化学平衡,还可以进一步说明土壤微生物能量和养分限制^[51]。本研究所有海拔样点中,土壤胞外酶活性生态化学计量大小顺序均为 $\beta\text{G}:(\text{NAG} + \text{LAP}) > \beta\text{G}:\text{AKP} > (\text{NAG} + \text{LAP}):\text{AKP}$,其中 $\beta\text{G}:\text{AKP}$ 和 $(\text{NAG} + \text{LAP}):\text{AKP}$ 均值都小于1。根据资源分配学说,较高的碳氮磷获取酶分别对应高的能量限制(C)和养分限制(N和P)^[52]。本研究中,微生物分配更多资源用于磷和碳循环相关酶的生产,表明千家寨野生古茶树根际微生物生长受磷限制和碳限制相对于氮限制程度更高。高雨秋等研究也发现,亚热带人工林林下植被根际土壤微生物生长和活性更易受磷限制^[53]。这可能是因为本研究地区的酸性土壤中铁铝离子含量较高,磷元素易络合成不易被微

生物利用的形态^[54]。另一方面,千家寨自然保护区内丰富的降水量及其所引起的淋溶也会降低磷的有效性,因此微生物加大了对磷获取酶的投资。在不同海拔中,海拔E3处的 $\beta\text{G}:\text{AKP}$ 和 $(\text{NAG} + \text{LAP}):\text{AKP}$ 均为最低且小于1,受到磷限制最严重; $\beta\text{G}:(\text{NAG} + \text{LAP})$ 和 $\beta\text{G}:\text{AKP}$ 在海拔梯度E2最高,可能古茶树根际微生物加大了对碳获取酶的投资,标志着海拔E2处土壤微生物对碳资源获取的功能发挥较好;此外,最高海拔E4处的 $\beta\text{G}:(\text{NAG} + \text{LAP})$ 和 $(\text{NAG} + \text{LAP}):\text{AKP}$ 分别显著低于和高于其他3个海拔($P < 0.05$),同时,相关性分析也表明 $\beta\text{G}:(\text{NAG} + \text{LAP})$ 和 $(\text{NAG} + \text{LAP}):\text{AKP}$ 与NAG活性负相关。说明古茶树根际微生物在海拔E4处加大了对氮获取酶的投资,土壤微生物氮资源功能发挥较好。

4 结论

本研究首次探究海拔梯度上的野生古茶树群落的根际土壤碳氮磷化学计量、微生物量碳氮和胞外酶活性及三者的计量学的变化和土壤理化性质之间的关系,得到结论如下:不同海拔野生古茶树根际土壤碳氮磷生态化学计量、微生物量碳氮和胞外酶活性及其计量学差异显著;微生物量碳氮分别与根际土壤铵态氮(NH_4^+)和含水量(SM)密切相关,总磷含量是影响不同海拔野生古茶树根际土壤胞外酶活性大小的关键因子;千家寨4个海拔野生古茶树根际微生物受磷限制和能量限制(碳素获取)相对于氮限制程度更高;4个海拔中,海拔2 350 m处受到磷限制最严重,海拔2 200 m处土壤微生物对碳资源获取的功能发挥较好,海拔2 500 m处土壤微生物氮资源功能发挥好于其他海拔。本研究对于了解野生古茶树的养分循环和生态适应机制具有重要意义,可进一步为气候变化和人为破坏背景下野生古茶树种质资源保护提供理论参考。此外,未来我们还将进一步从消费者驱动的养分循环、溢出代谢、碳氮磷利用效率和微生物周转率以及微生物群落结构等方面进一步探究野生古茶树根际土壤的养分循环和微生物生理代谢活动。

参考文献 [References]

- 赵盼盼,周嘉聪,林开森,林伟盛,袁萍,曾晓敏,苏莹,徐建国,陈岳民,杨玉盛.不同海拔对福建戴云山黄山松林土壤微生物生物量和土壤酶活性的影响[J].生态学报,2019,39(8):2676-2686 [Zhao PP, Zhou JC, Lin KM, Lin WS, Yuan P, Ceng XM, Su Y, Xu JG, Chen YM, Yang YS. Effects of different altitudes on soil microbial biomass and enzyme activities in *Pinus taiwanensis* forests on Daiyun Mountain, Fujian Province [J]. *Acta Ecol Sin*, 2019, 39 (8): 2676-2686]
- 曹瑞,吴福忠,杨万勤,徐振锋,谭波,王滨,李俊,常晨晖.海拔对高山峡谷区土壤微生物生物量和酶活性的影响[J].应用生态学报,2016,27(4):1257-1264 [Cao R, Wu FZ, Yang WQ, Xu ZF, Tan B, Wang B, Li J, Chang CH. Effects of altitudes on soil microbial biomass and enzyme activity in alpine-gorge regions [J]. *Chin J App Ecol*, 2016, 27 (4): 1257-1264]
- Burns RG. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology [J]. *Soil Biol Biochem*, 1982, 14 (5): 423-427
- 斯贵才,王建,夏燕青,袁艳丽,张更新,雷天柱.念青唐古拉山沼泽土壤微生物群落和酶活性随海拔变化特征[J].湿地科学,2014,12(3):340-348 [Si GC, Wang J, Xia YQ, Yuan YL, Zhang GX, Lei TZ. Change characteristics of microbial communities and enzyme activities in soils of marshes in Nyaiqentanglha Mountains with heights above sea level [J]. *Wetl Sci*, 2014, 12 (3): 340-348]
- Margesin R, Minerbi S, Schinner F. Long-term monitoring of soil microbiological activities in two forest sites in South Tyrol in the Italian Alps [J]. *Microbe Environ*, 2014, 29 (3): 277-285
- Reyes F, Lillo A, Ojeda N, Reyes M, Alvear M. Influence of slope and orientation on biological activities of a relict temperate forest from south-central Chile [J]. *Bosque*, 2011, 32 (3): 255-265
- 金裕华,汪家社,李黎光,阮宏华,徐自坤,韩凌云.武夷山不同海拔典型植被带土壤酶活性特征[J].生态学报,2011,30(9):1955-1961 [Jin YH, Wang JS, Li LG, Ruan HH, Xu ZK, Han LY. Soil enzyme activities in typical vegetation zones along an altitude gradient in Wuyi Mountains [J]. *Chin J Ecol*, 2011, 30 (9): 1955-1961]
- 冯瑞章,周万海,龙瑞军,马玉寿.江河源区不同退化程度高寒草地

- 土壤物理、化学及生物学特征研究[J]. 土壤通报, 2010, **41** (2): 263-269 [Feng RZ, Zhou WH, Long RJ, Ma YS. Characteristics of soil physical, chemical and biological properties on degraded Alpine meadows in the headwater areas of the Yangtze and Yellow Rivers, Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Chin J Soil Sci*, 2010, **41** (2): 263-269]
- 9 Burns RG, Deforest JL, Marxsen J, Sinsabaugh RL, Stromberger ME, Wallenstein MD, Weintraub MN, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions [J]. *Soil Biol Biochem*, 2013, **58**: 216-234
 - 10 Stone MM, Deforest JL, Plante AF. Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory [J]. *Soil Biol Biochem*, 2014, **75**: 237-247
 - 11 张芳赐, 虞富莲, 张顺高. 哀牢山自然保护区云南省镇沅千家寨野生古茶树考察论证意见[J]. 农业考古, 1997 (2): 216-217 [Zhang FC, Yu FL, Zhang SG. Opinions on the investigation and study of ancient wild tea tree in the Qianjiazhai Reserve of Yunnan Ailao Mountains (Zhenyuan County) [J]. *Agric Arch*, 1997 (2): 216-217]
 - 12 王邵军. “植物—土壤”相互反馈的关键生态学问题: 格局、过程与机制[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, **44** (2): 1-9 [Wang SJ. Key ecological issues in plant-soil feedback: pattern, process and mechanism [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 2020, **44** (2): 1-9]
 - 13 韩文炎, 阮建云, 林智, 吴洵, 许允文, 石元值, 马立峰. 茶园土壤主要营养障碍因子及系列茶树专用肥的研制[J]. 茶叶科学, 2002, **22** (1): 70-74 [Han WY, Ruan JY, Lin Z, Wu X, Xu YW, Shi YZ, Ma LF. The major nutritional limiting factors in tea soils and development of tea specialty fertilizer series [J]. *J Tea Sci*, 2002, **22** (1): 70-74]
 - 14 杨广容, 王秀青, 谢瑾, 吕才有, 李永梅. 云南古茶园和现代茶园土壤养分与茶叶品质成分关系的研究[J]. 茶叶科学, 2015, **35** (6): 574-582 [Yang GR, Wang XQ, Xie J, Lu CY, Li YM. Analysis of the relationship between soil nutrients and tea main quality components of ancient tea arboretum and modern tea garden in Yunnan Province [J]. *J Tea Sci*, 2015, **35** (6): 574-582]
 - 15 Cakmakçı R, Dönmez MF, Ertürk Y, Erat M, Haznedar A, Sekban R. Diversity and metabolic potential of culturable bacteria from the rhizosphere of Turkish tea grown in acidic soils [J]. *Plant Soil*, 2010, **332** (1-2): 299-318
 - 16 卢开阳, 张云峰, 贾邬, 高林瑞, 田飞, 唐蜀昆. 基于16S rRNA序列分析南糯山不同生境茶树根际土壤细菌群落分布多样性[J]. 昆明理工大学学报(自然科学版). 2016, **41** (2): 89-95 [Lu KY, Zhang YF, Jia M, Gao LR, Tian F, Tang SK. Bacteria distribution diversity in tea rhizospheric soil from different habitats at Nannuo Mountain based on 16S rRNA sequence analysis [J]. *J Kunming Univ Sci Tech*, 2016, **41** (2): 89-95]
 - 17 柴勇, 朱华, 孟广涛, 施济普, 杨国平. 云南哀牢山古茶树群落优势树种的种群结构与分布格局[J]. 林业科学研究, 2011, **24** (3): 277-284 [Chai Y, Zhu H, Meng GT, Shi JP, Yang GP. Population structure and distribution pattern of dominant tree species in ancient tea tree community in Ailao Mountains of Yunnan Province, China [J]. *For Res*, 2011, **24** (3): 277-284]
 - 18 Debnath R, Yadav A, Gupta VK, Singh BP, Handique PJ, Saikia R. Rhizospheric bacterial community of endemic *Rhododendron arboreum* Sm. ssp. *delavayi* along eastern Himalayan slope in Tawang [J]. *Front Plant Sci*, 2016, **7**: 1345
 - 19 Tian H, Chen G, Zhang C, Melillo JM, Hall CAS. Pattern and variation of C:N:P ratios in China's soils: a synthesis of observational data [J]. *Biogeochemistry*, 2010, **98** (1-3): 139-151
 - 20 贾国梅, 岳云飞, 王世彤, Liu X, 向瀚宇, 瞿红云. 茶树根际土壤微生物碳氮磷及其生态化学计量[J]. 江苏农业科学, 2018, **46** (20): 125-128 [Jia GM, Yue YF, Wang ST, Liu X, Xiang HY, Ju HY. Ecological stoichiometry of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in rhizosphere soil of Tea [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2018, **46** (20): 125-128]
 - 21 Li Y, Wu J, Liu S, Shen J, Huang D, Su Y, Wei W, Syers JK. Is the C:N:P stoichiometry in soil and soil microbial biomass related to the landscape and land use in southern subtropical China? [J]. *Global Biogeochem Cy*, 2012, **26** (4): GB4002
 - 22 Batjes NH. Total carbon and nitrogen in the soils of the world [J]. *Eur J Soil Sci*, 2014, **65** (1): 2-3.
 - 23 刘顺, 盛可银, 云哲, 肖复明, 朱新传, 胡冬南, 张文元. 不同林龄陈山红心杉根际与非根际土壤碳、氮、磷化学计量特征[J]. 江西农业大学学报, 2018, **40** (4): 725-733 [Liu S, Sheng KY, Yun Z, Xiao FM, Zhu XC, Hu DN, Zhang WY. Ecological stoichiometry of rhizosphere and non-rhizosphere soil C, N and P of chenshan-red-heart Chinese fir of different stand ages [J]. *Acta Agric Jiangxiensis*, 2018, **40** (4): 725-733]
 - 24 鲁志云, 宋亮, 王训, 李玉武, 张一平, 沙丽清. 哀牢山森林凋落物与腐殖质及土壤的生态化学计量特征[J]. 山地学报, 2017, **35** (3): 274-282 [Lu ZY, Song L, Wang X, Li YW, Zhang YP, Sha LQ. Ecological stoichiometry characteristics of the litterfall-humus-soil continuum systems under different successional stages of the subtropical forest in SW China [J]. *Mount Res*, 2017, **35** (3): 274-282]
 - 25 冯德枫, 包维楷. 土壤碳氮磷化学计量比时空格局及影响因素研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23** (2): 400-408 [Feng DF, Bao WK. Review of the temporal and spatial patterns of soil C:N:P stoichiometry and its driving factors [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2017, **23** (2): 400-408]
 - 26 谢锦, 常顺利, 张毓涛, 王慧杰, 宋成程, 何平, 孙雪娇. 天山北坡植物土壤生态化学计量特征的垂直地带性[J]. 生态学报, 2016, **36** (14): 4363-4372 [Xie J, Chang SL, Zhang YT, Wang HJ, Song CC, He P, Sun XJ. Plant and soil ecological stoichiometry with vertical zonation on the northern slope of the middle Tianshan Mountains [J]. *Acta Ecol Sin*, 2016, **36** (14): 4363-4372]
 - 27 Cusack DF, Silver WL, Torn MS, Burton SD, Firestone MK. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests [J]. *Ecology*, 2011, **92** (3): 621-632
 - 28 Edwards KA, McCulloch J, Kershaw GP, Jefferies RL. Soil microbial and nutrient dynamics in a wet Arctic sedge meadow in late winter and early spring [J]. *Soil Biol Biochem*, 2006, **38** (9): 2843-2851
 - 29 Allison SD, Wallenstein MD, Bradford MA. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology [J]. *Nat Geosci*, 2010, **3** (5): 336-340
 - 30 徐华勤, 肖润林, 杨知建, 宋同清, 夏艳君, 罗文, 李盛华. 不同培肥措施对红壤茶园土壤微生物量碳的影响[J]. 生态学报, 2007, **26** (7):

- 1009-1013 [Xu HQ, Xiao RL, Yang ZJ, Song TQ, Xia YJ, Luo W, Li SH. Effects of different fertilization on red soil microbial biomass C in tea garden [J]. *Chin J Ecol*, 2007, **26** (7): 1009-1013]
- 31 王利民, 邱珊莲, 林新坚, 黄东风, 李卫华, 邱孝煊. 不同培肥茶园土壤微生物量碳氮及相关参数的变化与敏感性分析[J]. *生态学报*, 2012, **32** (18): 5930-5936 [Wang LM, Qiu SL, Lin XJ, Huang DF, Li WH, Qiu XX. Sensitivity analysis and dynamics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and related parameters in red-yellow soil of tea garden with different fertilization practices [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, **32** (18): 5930-5936]
- 32 沈程文, 肖润林, 徐华勤, 夏艳君, 任全, 黄瑶. 覆盖与间作对亚热带丘陵区茶园土壤微生物量的影响[J]. *水土保持学报*, 2006, **20** (3): 141-144 [Shen CW, Xiao RL, Xu HQ, Xia YJ, Ren Q, Huang Y. Effects of cover and intercropping on soil microbial biomass of tea plantations in subtropical hilly region [J]. *J Soil Water Conserv*, 2006, **20** (3): 141-144]
- 33 Zak DR, Tilman D, Parmenter RR, Rice CW, Fisher FM, Vose J, Milchunas D, Martin CW. Plant production and soil microorganisms in late-successional ecosystems: a continental-scale study [J]. *Ecology*, 1994, **75** (8): 2333
- 34 胡宗达, 刘世荣, 史作民, 刘兴良, 何飞. 不同海拔梯度川滇高山栎林土壤颗粒组成及养分含量[J]. *林业科学*, 2012, **48** (3): 1-6 [Hu ZD, Liu SR, Shi ZM, Liu XL, He F. Soil particle composition and its relationship with nutrient contents in a *Quercus aquifolioides* forest at different altitudinal gradient [J]. *Sci Silv Sin*, 2012, **48** (3): 1-6]
- 35 Uselman SM, Qualls RG, Thomas RB. Effects of increased atmospheric CO₂, temperature, and soil N availability on root exudation of dissolved organic carbon by a N-fixing tree (*Robinia pseudoacacia* L.) [J]. *Plant Soil*, 2000, **222** (1-2): 191-202
- 36 Carvalho NS, Rocha SMB, Santos VMD, Araujo FFD, Araújo ASD. Soil microbial biomass across a gradient of preserved native cerrado [J]. *Flor Amb*, 2018, **25** (2): e20170536
- 37 De Carvalho Mendes I, Fernandes MF, Chaer GM, Bueno Dos Reis Junior F. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types [J]. *Plant Soil*, 2012, **359** (1-2): 183-195
- 38 Eaton WD, Chassot O. Characterization of soil ecosystems in Costa Rica using microbial community metrics [J]. *Trop Ecol*, 2012, **53** (2): 185-195
- 39 Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment [J]. *Soil Biol Biochem*, 2003, **35** (3): 453-46.
- 40 张雅茜, 方晰, 洗应男, 王振鹏, 项文化. 亚热带区4种林地土壤微生物生物量碳氮磷及酶活性特征[J]. *生态学报*, 2019, **39** (14): 5326-5338 [Zhang YQ, Fang X, Xian YN, Wang ZP, Xiang WH. Characteristics of soil microbial biomass carbon, nitrogen, phosphorus and enzyme activity in four subtropical forests, China [J]. *Acta Ecol Sin*, 2019, **39** (14): 5326-5338]
- 41 Luo L, Meng H, Gu J. Microbial extracellular enzymes in biogeochemical cycling of ecosystems [J]. *J Environ Manage*, 2017, **197**: 539-549
- 42 Zhou X, Chen C, Wang Y, Xu Z, Han H, Li L, Wan S. Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland [J]. *Sci Total Environ*, 2013, **444**: 552-558
- 43 Zuo Y, Li J, Zeng H, Wang W. Vertical pattern and its driving factors in soil extracellular enzyme activity and stoichiometry along mountain grassland belts [J]. *Biogeochemistry*, 2018, **141** (1): 23-39
- 44 斯贵才, 袁艳丽, 王建, 夏燕青, 雷天柱, 张更新. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化[J]. *微生物学通报*, 2014, **41** (10): 2001-2011 [Si GC, Yuan YL, Wang J, Xia YQ, Lei TZ, Zhang GX. Microbial community and soil enzyme activities along an altitudinal gradient in Sejila Mountains [J]. *Microbiology*, 2014, **41** (10): 2001-2011]
- 45 Väre H, Vestberg M, Ohtonen R. Shifts in mycorrhiza and microbial activity along an oroarctic altitudinal gradient in northern Fennoscandia [J]. *Arct Antarct Alp Res*, 1997, **29** (1): 93-104
- 46 刘广深, 徐冬梅, 许中坚, 王红宇, 刘维屏. 用通径分析法研究土壤水解酶活性与土壤性质的关系[J]. *土壤学报*, 2003, **40** (5): 756-762 [Liu GS, Xu DM, Xu ZJ, Wang HY, Liu WP. Relationship between hydrolase activity in soils and soil properties in Zhejiang province [J]. *Acta Pedol Sin*, 2003, **40** (5): 756-762]
- 47 洪慧滨, 林成芳, 彭建勤, 陈岳民, 魏翠翠, 杨玉盛. 磷添加对中亚热带米槠和杉木细根分解及其酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2017, **37** (1): 136-146 [Hong HB, Lin CF, Peng JQ, Chen YM, Wei CC, Yang YS. Effects of phosphorus addition on fine root decomposition and enzyme activity of *Castanopsis carlesii* and *Cunninghamia lanceolata* in subtropical forest [J]. *Acta Ecol Sin*, 2017, **37** (1): 136-146]
- 48 Richardson AE, Simpson RJ. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus [J]. *Plant Physiol*, 2011, **156** (3): 989-996
- 49 Sinsabaugh RL. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 2010, **42** (3): 391-404
- 50 谷晓楠, 贺红土, 陶岩, 靳英华, 张心昱, 徐志伟, 王钰婷, 宋祥霞. 长白山土壤微生物群落结构及酶活性随海拔的分布特征与影响因素[J]. *生态学报*, 2017, **37** (24): 8374-8384 [Gu XN, He HS, Tao Y, Jin YH, Zhang XY, Xu ZW, Wang YT, Song XX. Soil microbial community structure, enzyme activities, and their influencing factors among different altitudes of Changbai Mountain [J]. *Acta Ecol Sin*, 2017, **37** (24): 8374-8384]
- 51 Sinsabaugh RL, Hill BH, Follstad Shah JJ. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment [J]. *Nature*, 2009, **462** (7274): 795-798
- 52 Waring BG, Weintraub SR, Sinsabaugh RL. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils [J]. *Biogeochemistry*, 2014, **117** (1): 101-113
- 53 高雨秋, 戴晓琴, 王建雷, 付晓莉, 寇亮, 王辉民. 亚热带人工林下植被根际土壤酶化学计量特征[J]. *植物生态学报*, 2019, **43** (3): 258-272 [Gao YQ, Dai XQ, Wang JL, Fu XL, Kou L, Wang HM. Characteristics of soil enzymes stoichiometry in rhizosphere of understory vegetation in subtropical forest plantations [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2019, **43** (3): 258-272]
- 54 Chapin FS III, Matson PA, Mooney HA. Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology [M]. New York: Springer-Verlag, 2002: 436