

DOI: 10.5846/stxb202205121335

邓健, 赵雪, 卢笑玥, 张丹, 徐莉萍, 朱运, 吴林豪, 李江文. 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. 生态学报, 2023, 43(16): 6539-6549.

Deng J, Zhao X, Lu X Y, Zhang D, Xu L P, Zhu Y, Wu L H, Li J W. Different responses of enzymes activities related to nitrogen and phosphorus transformation to nitrogen addition in different sized soil aggregates in semi-arid grassland. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(16): 6539-6549.

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

邓 健^{1,2,*}, 赵 雪¹, 卢笑玥¹, 张 丹¹, 徐莉萍¹, 朱 运¹, 吴林豪¹, 李江文^{1,2}

1 延安大学生命科学学院, 延安 716100

2 陕西省红枣重点实验室(延安大学), 延安 716100

摘要: 日益加剧的大气氮沉降对土壤养分循环过程产生了深刻影响, 土壤养分转化相关酶是其关键调控途径, 而土壤不同粒级团聚体结构和环境差异导致其中酶活性介导的养分转换过程可能不同。但目前对半干旱区土壤团聚体水平养分转化相关酶活性对氮沉降的响应还不清楚。基于黄土高原自然草地持续 3 年的野外氮添加控制试验, 分析不同氮添加水平下土壤不同粒级团聚体中的基础理化性质、氮(亮氨酸氨基肽酶 LAP 和 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 NAG)和磷转化相关的酶(磷酸单酯酶 PME、磷酸二酯酶 PDE 和植酸酶 phyA)活性及酶计量比, 探索氮添加对团聚体酶活性的影响。结果表明: (1) 氮添加导致了不同粒级团聚体中 pH 显著降低; 高氮添加引起土壤团聚体有机碳、全氮、硝态氮、C:P 和 N:P 升高; (2) 随氮添加浓度增加, 不同粒级团聚体中 PME、PDE 和 phyA 活性先降低后升高, 而 LAP、NAG 和酶活性氮磷比均逐渐升高; 团聚体酶活性总体表现为小团聚体(<0.25 mm)>中团聚体(0.25—2 mm)>大团聚体(>2 mm); (3) 在中和大团聚体中氮添加通过影响土壤 N 相关养分调控 P 转化相关酶活性。总之, 氮添加通过改变团聚体养分及其计量比、pH 等影响氮、磷转化相关酶活性。

关键词: 氮添加; 土壤养分循环; 酶活性; 团聚体; 草地

Different responses of enzymes activities related to nitrogen and phosphorus transformation to nitrogen addition in different sized soil aggregates in semi-arid grassland

DENG Jian^{1,2,*}, ZHAO Xue¹, LU Xiaoyue¹, ZHANG Dan¹, XU Liping¹, ZHU Yun¹, WU Linhao¹, LI Jiangwen^{1,2}

1 College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716100, China

2 Shaanxi Key Laboratory of Chinese Jujube, Yan'an University, Yan'an 716100, China

Abstract: The increasing atmospheric nitrogen deposition has a profound impact on soil nutrient cycling processes, and the soil enzyme is a key regulatory pathway. Due to the differences in soil aggregate structure and environment, the nutrient transformation processes mediated by enzyme activities may be different in soil aggregates of different sizes. However, the response of nutrient transformation-related enzyme activities to nitrogen deposition in soil aggregates in semi-arid areas is still unclear. This study was based on a 3-year field experiment of nitrogen addition on natural grassland on the Loess Plateau. The soil basal physicochemical properties, nitrogen (L-leucine aminopeptidase, LAP and β -1,4-N-acetylglucosaminidase, NAG) and phosphorus (phosphomonoesterase, PME, phosphodiesterase, PDE, and phytase, phyA)

基金项目: 国家自然科学基金项目(41907086); 延安大学校级科研计划项目(YDY2020-33); 延安大学研究生教育创新项目(YCX2021078); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202210719020)

收稿日期: 2022-05-12; **网络出版日期:** 2023-04-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: deng050702@126.com

transformation-related enzyme activities and enzyme stoichiometry ratios in different sized soil aggregates under different levels of nitrogen addition were analyzed to explore the effect of nitrogen addition on the enzyme activities of the aggregates. The results showed that (1) the nitrogen addition led to a significant decrease of pH in different soil aggregates, and high nitrogen addition levels caused a significant increase in soil organic carbon, total N, nitrate N, C:P and N:P in all soil aggregates. (2) The soil PME, PDE and phyA activities in different sized aggregates decreased and then increased, while the soil LAP, NAG activities, and enzyme N:P ratio increased with the increasing levels of nitrogen addition. The order of enzyme activities in soil aggregates was small aggregates (<0.25 mm) > medium aggregates (0.25—2 mm) > large aggregates (>2 mm). (3) Nitrogen addition regulated soil enzyme activities related to P transformation by affecting soil N nutrients in medium and large aggregates. In conclusion, nitrogen addition affected the enzyme activities related to N and P transformation by changing soil nutrients and their stoichiometric ratio and pH in soil aggregates.

Key Words: nitrogen addition; soil nutrient cycling; enzyme activity; soil aggregates; grassland

人类活动导致的大气氮沉降影响着陆地生态系统的养分生物地球化学循环过程^[1]。尤其是在受养分和水分限制的干旱半干旱地区,生态系统稳定性差,对气候变化十分敏感^[2];日益严重的氮沉降导致生态系统氮、磷输入失衡^[3],这可能会强烈改变土壤养分吸收和转化过程^[4]。土壤微生物是养分循环的核心驱动力,而胞外酶调控是微生物调控养分循环的最主要过程^[5]。氮转化相关的酶如 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(β -1,4-N-acetylglucosaminidase, NAG)和 L-亮氨酸氨基肽酶(L-leucine aminopeptidase, LAP)主要参与蛋白质、核酸等的水解,促进氮素的释放^[6];而磷转化相关的酶如磷酸单酯酶(phosphomonolipase, PME)、磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)可水解土壤有机磷中的酯键促进磷素转化,植酸酶(phytases, phyA)能够催化植酸盐水解成肌醇和磷酸,决定着土壤有机磷利用效率和磷素的有效性^[7]。氮添加引起的土壤 pH 下降和养分含量提高会强烈干扰微生物胞外酶的分泌,例如氮添加导致土壤 N:P 的升高会刺激微生物分泌更多磷转化相关胞外酶(如碱性磷酸酶)^[8],催化稳定态无机磷水解和有机磷矿化^[9];此外,N 添加还会通过改变土壤 pH、有机碳含量等其他途径影响酶活性^[10]。然而,现有氮添加对土壤中养分转化相关的酶活性影响的研究存在增加^[11]、减少^[12]或者中性^[13]等不同的影响结果。这说明氮添加影响土壤酶活性的机理还有待进一步深入探讨。

土壤团聚结构强烈地影响着养分转化过程,如不同粒级土壤团聚体中的理化环境和微生物特征存在显著差异^[14]。大团聚体主要依靠微生物和有机物质的胶结作用形成,结构疏松,水分和氧气含量较多^[15];其中的微生物数量和胞外酶活性也高,因此其养分转化速率较快^[16]。小团聚体中氧气和水分少,微生物活性较低,有机质更加稳定,养分周转速率缓慢^[17]。氮添加对不同粒级团聚体中土壤养分的差异性影响已经被观察到,如氮添加后,中国内蒙古草地土壤大团聚体中较小团聚体具有更高的磷含量^[18],大团聚体中氮含量也会显著提高^[19];这种团聚体之间的差异很可能来自于不同团聚体中土壤胞外酶对氮添加的差异化响应。然而目前对不同团聚体水平中养分转化所对应胞外酶的认识还十分有限,尤其是氮添加对团聚体中氮、磷转化相关酶的调控还缺乏深入认识。

黄土丘陵区属于典型的半干旱气候区,草地是该地区主要的土地利用类型之一^[20]。当地的草地生态系统受到水分和养分的强烈限制,尤其是土壤磷素有效性较低;近年来不断增加的氮沉降引起不平衡的养分输入加剧了这一问题,并对土壤微生物酶促反应过程产生影响,这可能导致土壤的退化^[21]。目前虽然对该区域氮沉降影响土壤养分循环的基本过程有了一定的认识,然而对团聚体水平上土壤性质和氮、磷转化相关的酶活性对氮沉降的响应并不清楚。因此,本研究的目的是分析草地不同粒级土壤团聚体中土壤理化性质和氮、磷转化相关酶活性对短期氮添加的响应特征,和团聚体水平上氮添加调控土壤氮、磷转化相关酶活性的关键影响因素。研究有助于加深对半干旱区氮沉降驱动的土壤养分循环过程的理解。

1 材料与方法

1.1 研究样地概况

研究区位于陕西省安塞区五里湾流域(36°52'N;109°21'E,海拔 1061—1371 m)。该地区处于黄土高原腹地,具有典型的黄土丘陵沟壑地貌。研究区属于暖温带半干旱气候,年平均气温 8.8℃,多年平均降水量 505 mm。土壤主要为黄绵土(Calcaric Cambisols,FAO),平均土壤 pH 值为 8.4。区域氮沉降主要形态为无机氮(铵态氮和硝态氮),自然氮沉降水平在 10 kg N hm⁻²a⁻¹到 30 kg N hm⁻²a⁻¹之间^[22];研究样地初始土壤有机碳、全氮和全磷含量分别为 3.88 g/kg、0.52 g/kg 和 0.67 g/kg,速效磷含量低至 4.89 mg/kg(仅占全磷含量 0.73%),以往研究也表明该区域草地受到强烈的磷限制^[23]。

1.2 试验设计

研究采用野外施肥模拟氮添加控制试验,2017 年 3 月在流域内选择典型的自然恢复草地作为试验样地,通过咨询当地农户了解土地利用历史获知该草地恢复年限约为 30 年。采用单因素随机区组试验设计。根据研究区域氮沉降水平为 10—30 kg N hm⁻²a⁻¹之间且在持续增加的特点,设置 5 个不同施氮水平的处理(0、10、20、40、80 kg N hm⁻²a⁻¹,用 N0、N1、N2、N3、N4 表示),每个处理重复 3 次,共 15 个样方,样方面积 9 m²(3 m×3 m),样方之间设置 1 m 的缓冲带以防止相互干扰。将 15 个样方分为 3 个区组,以减少潜在地形位置和养分异质性造成的误差。采用尿素(CH₄N₂O)作为氮添加剂;每年分四次将尿素溶解到 1.5 L 水中均匀喷洒。根据本区域主要为夏季湿沉降的特点,每年 6 月和 9 月分别施入全年氮添加量的 1/3;3 月和 12 月分别施入全年氮添加量的 1/6;对照样方喷洒等量的水。

1.3 样品采集和土壤理化性质测定

于 2020 年 8 月采集土壤样品,沿着每个样方的对角线选择 3 个点,清除表层杂物后,用铝盒(20 cm×12 cm×6 cm)倒扣压入土中收集表层土,以避免破坏土壤结构。随即将土壤样本运送至实验室,并沿天然裂缝破碎成约 1 cm³的小块。去除细根、碎石、动物和植物残留物之后,将同一样方的土样混合。采用最佳湿度筛分法进行团聚体分级^[24],具体筛分方法为:首先将土壤鲜样在 4℃ 的条件下进行冷却干燥,以达到 10% 的含水率。再将混合分取的土壤鲜样放置于由 2 mm 和 0.25 mm 孔径筛子组成的套筛上,以 200 rpm 的转速震动 3 min,最终得到大粒级团聚体(>2 mm)、中粒级团聚体(0.25—2 mm)和小粒级团聚体(<0.25 mm)三个粒级的团聚体样品。每个粒级的土壤样本分为两部分,其中一部分储存在 4℃ 下,用于测定土壤酶活性;另一部分置于阴凉处风干后测定土壤的理化性质。

土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)用重铬酸钾-浓硫酸外加热法测定;土壤全磷(Total phosphorus, TP)和全氮(Total nitrogen, TN)经浓硫酸—高氯酸消煮后分别采用钼锑抗比色法和全自动凯氏定氮法测定;土壤速效磷(Available phosphorus, AP)经碳酸氢钠浸提后用钼锑抗比色法测定;硝态氮(Nitrate nitrogen, NO₃⁻-N)和铵态氮(Ammonium nitrogen, NH₄⁺-N)分别采用 KCl 浸提后的紫外分光光度法和靛酚蓝比色法测定;土壤 pH 采用 pH 计测定(水土比 5:1)^[25]。

1.4 酶活性测定和计算

土壤酶活性测定采用 96 微孔板荧光光度法,使用多功能酶标仪(Synergy H4, BioTek)进行测定,其中 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶,亮氨酸氨基肽酶测定底物分别使用 4-甲基伞形酮酰-β-D-吡喃葡萄糖苷(4-MUB-Nacetyl-β-D-glucosaminide)、L-亮氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素盐酸盐(L-leucine-7-amino-4-methylcoumarin);磷酸单酯酶、磷酸二酯酶和植酸酶测定底物使用对硝基苯磷酸二钠(PNPP—NA2)和植酸钠(Sodium phytate),详细测定流程参考文献^[26],酶活性以干土质量计算。

氮、磷转化相关酶活性计量比(EEA_{N:P})采用对数转化后的计量比值:

$$EEA_{N:P} = \ln(LAP+NAG) : \ln(PME+PDE+phyA)$$

1.5 数据处理

数据经过正态性检验和方差同质性检验后采用单因素方差分析(One-way ANOVA)研究氮添加和团聚体

对酶活性的影响差异,采用 DUNCAN 法进行多重比较;采用 Spearman 相关分析研究不同团聚体水平土壤酶活性与土壤养分及化学计量比间的相关关系;采用偏最小二乘回归(Partial least squares regression, PLS)模型分析了氮添加对氮、磷转化相关酶的影响路径。所有的统计分析过程都通过 R 3.6.2 (R Core Team, Vienna, Austria)来完成。数据和柱状图采用平均值 $\pm$ 标准误表示,养分计量比均采用摩尔比。

2 结果

2.1 氮添加对土壤团聚体理化性质的影响

氮添加后土壤理化性质发生了显著变化,且在不同粒级团聚体中的变化趋势有所差异(表 1, $P<0.05$)。随氮添加浓度的增加,小粒级(<0.25 mm)团聚体中土壤 SOC、TN 等养分含量和养分 C:N:P 计量比表现为显著的先降低后升高的趋势,土壤 pH 显著降低而 NO_3^- -N 显著升高($P<0.05$);中粒级(0.25—2 mm)团聚体中 SOC 先降低后升高, TN、 NO_3^- -N、C:P 和 N:P 逐渐升高,而 pH 则显著降低($P<0.05$);在大粒级(>2 mm)团聚体中,随氮添加浓度的升高 SOC 和 C:P 先降低后升高, TN 和 NO_3^- -N 显著升高,而 pH 则显著降低($P<0.05$)。

2.2 氮添加对土壤团聚体氮、磷转化相关酶活性及酶计量比的影响

不同土壤团聚体中的土壤氮、磷转化相关酶活性对氮添加的响应有显著差异($P<0.05$,图 1)。PME、PDE 和 phyA 活性均在三个粒级团聚体中均总体表现为先降低后升高的变化趋势,均在 N2 处理下最低($P<0.05$)。不同粒级团聚体中 LAP 和 NAG 均随着氮添加水平的升高而显著升高($P<0.05$)。小粒级和中粒级中氮、磷转化相关酶活性均高于大粒级。 $\text{EEA}_{\text{N:P}}$ 在三个团聚体中都随着氮添加水平显著升高($P<0.05$)。

2.3 酶活性及其计量比和土壤基础理化性质的关系

土壤氮磷转化相关酶活性与土壤基础理化性质存在较强的相关性,但不同粒级团聚体中相关关系有差异(图 2)。在小粒级团聚体中, LAP 活性和 SOC、TP 显著正相关, NAG 则与 pH 有显著的负相关关系($P<0.05$); PME 活性与 TN、N:P 显著正相关, PDE 活性与 SOC、C:N 和 C:P 显著正相关, phyA 活性与 SOC、 NO_3^- -N、C:P 均显著正相关($P<0.05$)。在中粒级团聚中, LAP 活性与 SOC、 NO_3^- -N、AP 和 C:P 显著正相关($P<0.05$),而 NAG 与 pH 显著负相关,与 C:P 显著正相关($P<0.05$); PME 活性与 TN、C:P 和 N:P 显著正相关($P<0.05$), PDE 和 phyA 活性与 SOC、 NO_3^- -N 和 C:P 显著正相关($P<0.05$)。在大粒级团聚体中, LAP 活性与 TN、AP、N:P 显著正相关, NAG 活性与 pH 显著负相关,而与 TN、AP 显著正相关($P<0.05$); PME 活性与 SOC、TN、C:P 显著正相关, PDE 活性与 SOC、TN、 NO_3^- -N、C:P 显著正相关, phyA 活性与 SOC、TN、AP、C:P 显著正相关($P<0.05$)。

采用偏最小二乘回归模型研究了不同团聚体中氮添加对氮、磷转化相关酶活性的影响路径(图 3),结果表明,在中粒级和大粒级团聚体中氮添加通过影响土壤氮相关养分(如 TN、 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N)含量从而影响了磷转化相关酶活性;在小团聚体和大团聚体中氮添加对氮转化相关的酶活性有显著的直接作用($P<0.05$)。氮添加对不同粒级土壤团聚体 pH 均有显著的负作用($P<0.05$),虽然 pH 对氮、磷转化相关酶活性的影响均不显著,但与其与 $\text{EEA}_{\text{N:P}}$ 呈现显著的负相关关系(图 4, $P<0.05$)。

3 讨论和结论

3.1 氮添加后不同粒级团聚体酶活性和养分特征

由于不同土壤粒级的空间异质性和资源可用性不同^[27—28],导致其中的微生物群落的组成、活性和多样性以及土壤酶活性也具有显著差异^[29],例如随着团聚体粒径的减小,土壤氮、磷转化相关酶的活性反而显著增加^[30]。本研究也发现 PME、PDE、phyA、NAG 和 LAP 等氮、磷转化相关酶在小团聚体中的活性显著高于大团聚体,此前在黄土高原地区的多项研究也均表明土壤碳、氮、磷转化相关酶活性均随着土壤团聚体粒级的减小而增加^[31—32]。一方面,可能是团聚体物理结构差异导致的,小团聚体内部孔径小,养分和水分很容易通过扩散作用进入其内部,为微生物代谢和酶促反应提供更多可用基质,使得酶活性较高^[33];而大团聚体孔隙大,结构相对疏松,总体稳定性低,土壤酶活性容易受到环境变化的影响,酶活性较低^[34]。另一方面,不同粒级团聚

表 1 氮添加对不同粒径团聚体中土壤理化性质的影响
Table 1 Effects of nitrogen addition on soil physicochemical properties in different soil aggregates

处理 Treatment	有机碳 SOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (g/kg)	pH	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	速效磷 AP/ (g/kg)	碳氮比 C:N	碳磷比 C:P	氮磷比 N:P
N0 小团聚体 (<0.25 mm)	4.23±0.23aAB	0.67±0.02aA	0.59±0.01aA	8.55±0.02aA	4.73±0.05aA	5.07±0.22aA	5.33±0.95aA	7.33±0.24aC	18.71±1.33aA	2.55±0.11aA
中团聚体 (0.25—2 mm)	3.71±0.38aAB	0.38±0.02bCD	0.59±0.00aA	8.55±0.01aA	4.78±0.30aA	2.55±0.19aB	5.03±0.64aA	11.59±1.62aA	16.25±1.56aAB	1.43±0.07bB
大团聚体 (>2 mm)	3.40±0.38aA	0.41±0.02bBC	0.55±0.01aA	8.56±0.02aA	4.24±0.22aA	4.17±0.95aA	4.06±0.37aA	9.64±1.11aA	15.82±1.57aA	1.66±0.06bB
N1 小团聚体 (<0.25 mm)	4.13±0.37aAB	0.38±0.01aD	0.61±0.03aA	8.49±0.03aAB	3.75±0.37aAB	3.50±0.29aA	6.44±1.21aA	12.48±0.88aA	17.47±1.02aAB	1.4±0.04aD
中团聚体 (0.25—2 mm)	3.85±0.36aAB	0.49±0.05aBC	0.55±0.01aA	8.47±0.03aAB	3.70±0.09aB	3.74±0.38aB	5.20±0.50aA	9.84±2.11abAB	17.97±1.25aA	1.99±0.25aA
大团聚体 (>2 mm)	2.37±0.17bAB	0.48±0.01aBC	0.56±0.01aA	8.48±0.03aAB	3.21±0.44aAB	4.16±0.90aA	5.75±0.64aA	5.75±0.40bB	10.85±0.67bB	1.89±0.03aB
N2 小团聚体 (<0.25 mm)	3.03±0.07aC	0.49±0.01aC	0.57±0.03aA	8.40±0.05aBC	3.24±0.30aB	5.66±1.24aA	5.82±1.05aA	7.26±0.12bC	13.73±0.48aC	1.90±0.09aBC
中团聚体 (0.25—2 mm)	2.88±0.08aB	0.34±0.02bD	0.60±0.01aA	8.41±0.04aBC	3.08±0.35aB	6.03±1.30aAB	6.68±1.02aA	10.06±0.54aAB	12.51±0.36aB	1.25±0.06aB
大团聚体 (>2 mm)	1.83±0.01bB	0.37±0.05aBC	0.55±0.01aA	8.41±0.05aBC	2.38±0.15aB	6.17±1.47aA	6.83±1.62aA	6.06±0.77bB	8.68±0.15bB	1.53±0.25aB
N3 小团聚体 (<0.25 mm)	3.34±0.23aBC	0.47±0.01bC	0.58±0.03aA	8.43±0.02aABC	3.71±0.42aAB	4.89±0.82aA	8.94±2.09aA	8.30±0.40aBC	14.83±0.23aBC	1.80±0.06aBC
中团聚体 (0.25—2 mm)	3.11±0.20aB	0.59±0.02aAB	0.58±0.03aA	8.42±0.02aBC	4.01±0.03aAB	5.01±0.86aAB	6.06±0.40aA	6.10±0.32bB	13.8±0.15aB	2.28±0.12aA
大团聚体 (>2 mm)	2.70±0.17aB	0.50±0.01bB	0.58±0.02aA	8.42±0.02aBC	3.42±0.29aAB	5.44±1.38aA	6.43±0.53aA	6.31±0.37bB	12.16±1.20aAB	1.92±0.09bB
N4 小团聚体 (<0.25 mm)	4.81±0.09aA	0.60±0.03bB	0.62±0.03aA	8.32±0.02aC	4.28±0.41aAB	5.32±1.45aA	8.00±0.34aA	9.45±0.44aBC	20.26±0.92aA	2.14±0.03bB
中团聚体 (0.25—2 mm)	4.37±0.12aA	0.64±0.03abA	0.58±0.00aA	8.32±0.02aC	4.67±0.24aA	5.25±1.35aA	8.58±0.52aA	8.06±0.60aAB	19.43±0.55aA	2.44±0.14bA
大团聚体 (>2 mm)	3.44±0.28bA	0.72±0.01aA	0.54±0.00aA	8.34±0.02aC	3.88±0.25aA	4.47±1.33aA	6.94±0.39aA	5.62±0.56bB	16.48±1.24aA	2.95±0.07aA

SOC:土壤有机碳;TN:土壤全氮;TP:土壤全磷;total phosphorus;NO₃⁻-N:硝态氮;NH₄⁺-N:铵态氮;ammonium nitrogen;AP:速效磷;available phosphorus;C:N:碳氮比;soil organic carbon;total nitrogen;C:P:碳磷比;total phosphorus;N:P:氮磷比;total nitrogen;total phosphorus。N0、N1、N2、N3、N4 分别表示 5 个不同施氮水平;0、10、20、40、80 kg N hm⁻² a⁻¹;不同的大写字母表示不同氮添加水平间差异显著(P<0.05),小写字母表示不同粒径团聚体之间差异显著(P<0.05)

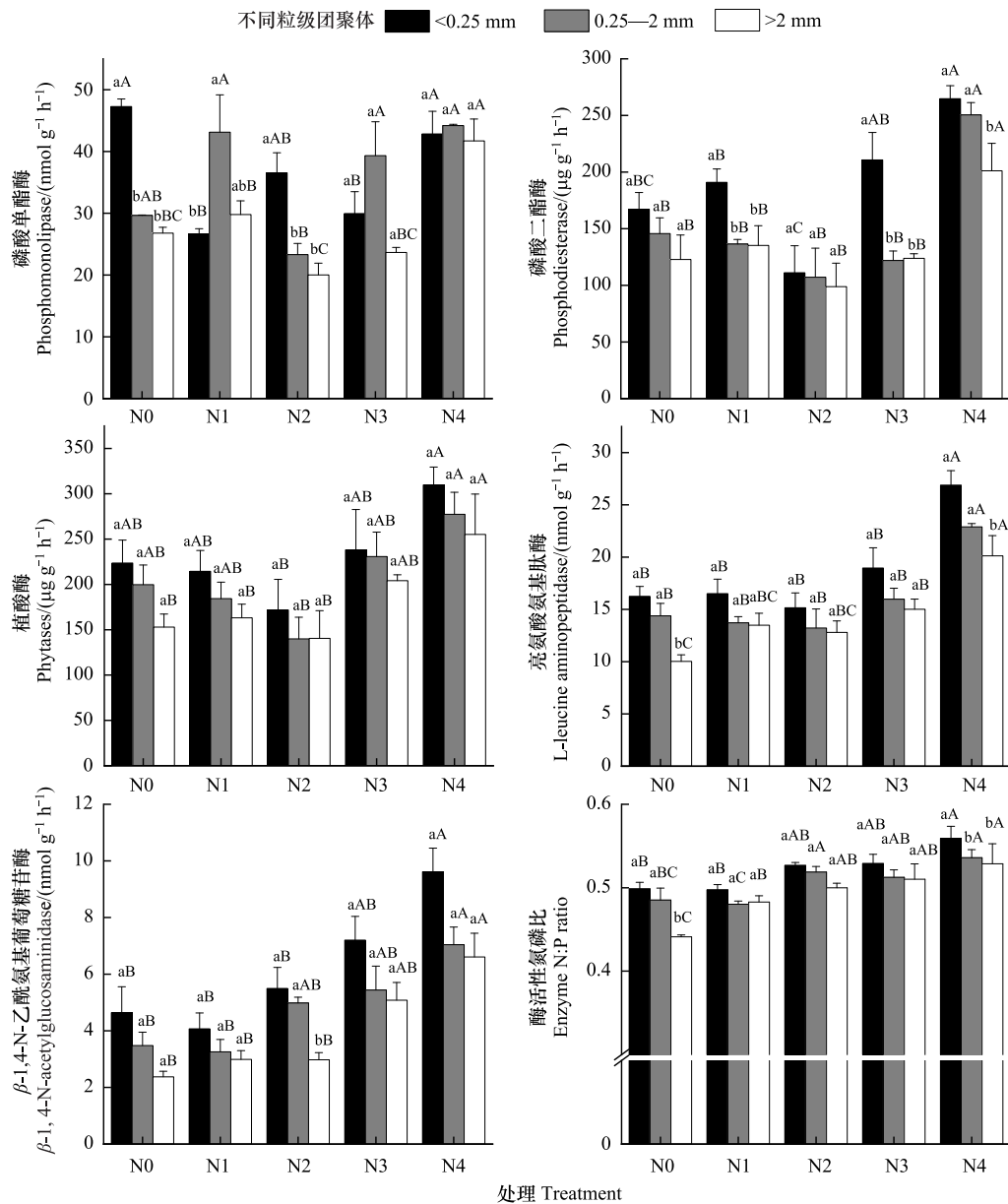


图1 氮添加对不同土壤团聚体中氮、磷转化相关酶活性及其计量比的影响

Fig.1 Effects of nitrogen addition on the enzymes activities of related to nitrogen and phosphorus transformation and their stoichiometric ratios in different soil aggregates

不同的大写字母表示不同氮添加水平之间存在显著差异 ($P < 0.05$); 小写字母表示不同粒级土壤团聚体之间存在显著差异 ($P < 0.05$); N0、N1、N2、N3、N4 表示 5 个不同施氮水平的处理 ($0, 10, 20, 40, 80 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)

体土壤底物质量的高低对酶活性也有影响^[35]。土壤小团聚体通过矿物结合等过程对土壤有机质具有更强的保护作用,其有机质稳定性更高^[36],因而其中的微生物需要分泌更多的胞外酶来获取所需养分资源;而大团聚体中新输入有机物多,更容易分解的有机体较含量高,微生物很容易从中获取所需养分^[28,37]。此外,从微生物组成的角度,小团聚体中细菌多样性较高,而大团聚体中真菌多样性较高^[38],相对于真菌,细菌对氮、磷等养分的需求更大,因而其在小团聚体中需要更多氮磷转化相关的酶来获取营养^[27]。最后,本研究发现小团聚体中 SOC、TP 等养分含量总体高于大团聚体,可能是由于微团聚体中主要以稳定的腐殖质碳为主,而大团聚体中则主要以易分解、矿化的活性有机碳为主^[39]。因此,小团聚体中有机碳不断累积富集,而大团聚体中的活性有机碳被微生物分解利用,导致土壤总有机碳含量小团聚体中高于大团聚体。

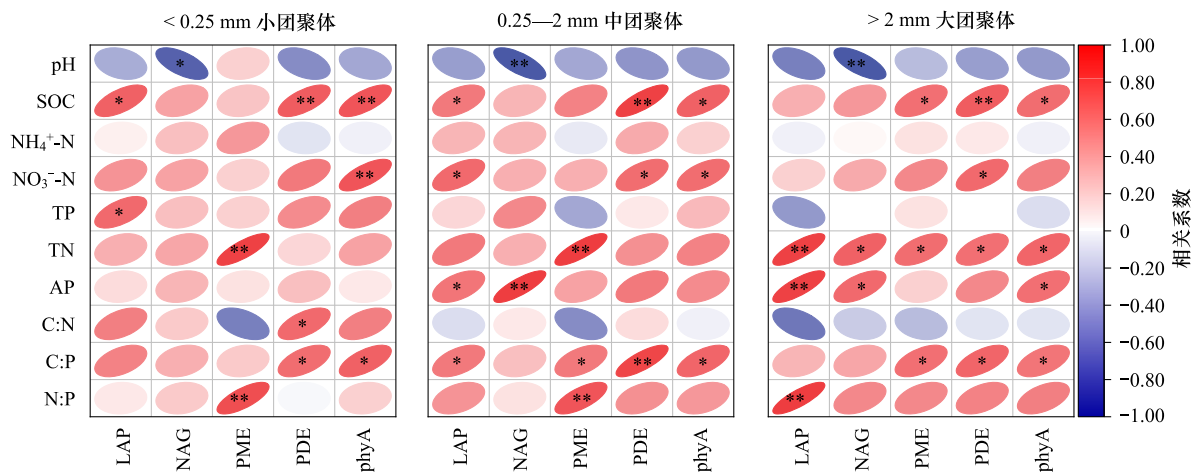


图2 不同团聚体中土壤酶活性和土壤基础理化性质的相关性

Fig.2 Correlation coefficients between soil enzyme activities and basic soil physicochemical properties in different aggregates

SOC:土壤有机碳 soil organic carbon; TN:土壤全氮 total nitrogen; TP:土壤全磷 total phosphorus; NO_3^- -N:硝态氮 nitrate nitrogen; NH_4^+ -N:铵态氮 ammonium nitrogen; AP:速效磷 available phosphorus; C:N:碳氮比 soil organic carbon: total nitrogen; C:P:碳磷比 soil organic carbon: total phosphorus; N:P:氮磷比 total nitrogen: total phosphorus; PME:磷酸单酯酶 phosphomonolipase; PDE:磷酸二酯酶 phosphodiesterase; phyA:植酸酶 phytases; NAG: β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷 β -1, 4-N-acetylglucosaminidase; LAP:亮氨酸氨基肽酶 L-leucine aminopeptidase; * 表示在 0.05 水平下显著; ** 表示在 0.01 水平下显著

3.2 氮添加对土壤团聚体氮、磷转化相关酶活性的影响

本研究中氮添加对氮、磷转化相关的酶均有显著影响,尤其是高浓度氮添加导致了土壤团聚体磷转化相关的酶活性的显著增加,这与藏北高寒草地氮添加试验^[40]和全球养分添加的 Meta 分析^[41–42]的研究结果类似,都表明土壤磷酸酶活性会随着氮添加浓度的增加而增加。其主要原因是氮添加提高了土壤氮素含量及其有效性,导致土壤 N:P 的升高(表 1),导致微生物对磷的相对需求增加,因而通过分泌更多植酸酶、磷酸酶等磷转化相关的酶的方式获取代谢所需的磷元素^[43],资源分配理论认为微生物胞外酶产量随着复合营养物质的投入和简单营养物质的匮乏而增加^[44]。一般来说,氮添加引起土壤氮的可利用性增加^[45],最终会限制氮转化相关酶(NAG+LAP)的活性^[46]。然而本研究中,氮添加之后氮转化相关酶(NAG+LAP)的活性却有所升高,这与前人氮添加试验的研究结果类似^[47–48],其原因可能来自于氮添加剂的影响。尿素作为有机氮被施入土壤之后,不能被微生物所利用吸收,因而微生物需要通过提高 NAG、LAP 酶的分泌来分解利用尿素^[49];而如硝酸铵(NH_4NO_3)等无机氮添加剂施入土壤后,微生物可以直接利用吸收,因此氮转化酶(NAG+LAP)的活性反而降低^[50]。

氮添加对土壤氮磷转化相关酶活性的影响特征及其路径在不同粒级团聚体中存在较大差异,这可能主要来自于不同粒级团聚体中基础养分含量及其物理性质的差异(图 3)。尤其是在中粒级和大粒级团聚体中,氮添加通过影响土壤 N 相关的养分,从而显著调控 P 转化酶的活性(图 3)。一方面可能是因为外部输入的养分更容易进入孔隙较大的大团聚体中,而小粒级团聚体对养分的物理保护作用比较强,因而大粒级和中粒级团聚体中氮素相关养分对外部氮添加的响应更加敏感^[51],本研究中从 N0 到 N4 处理下大粒级团聚体中 TN 的增加幅度(72.90%)显著高于小粒级团聚体(-11.19%)也证实了这一推测。另一个可能的原因是微生物群落落在大和中团聚体中具有更高活性,对土壤养分的周转更快^[16],因而磷转化相关酶活性更容易受到土壤氮素变化的干扰;此前的研究结果也表明氮添加会显著改变土壤大团聚体微生物群落和酶活性,而对小团聚体微生物没有显著影响^[52]。

氮添加导致的土壤 pH 下降(即酸化)也是其对酶活性调控的重要路径之一,且已经被广泛证实^[53–55],主

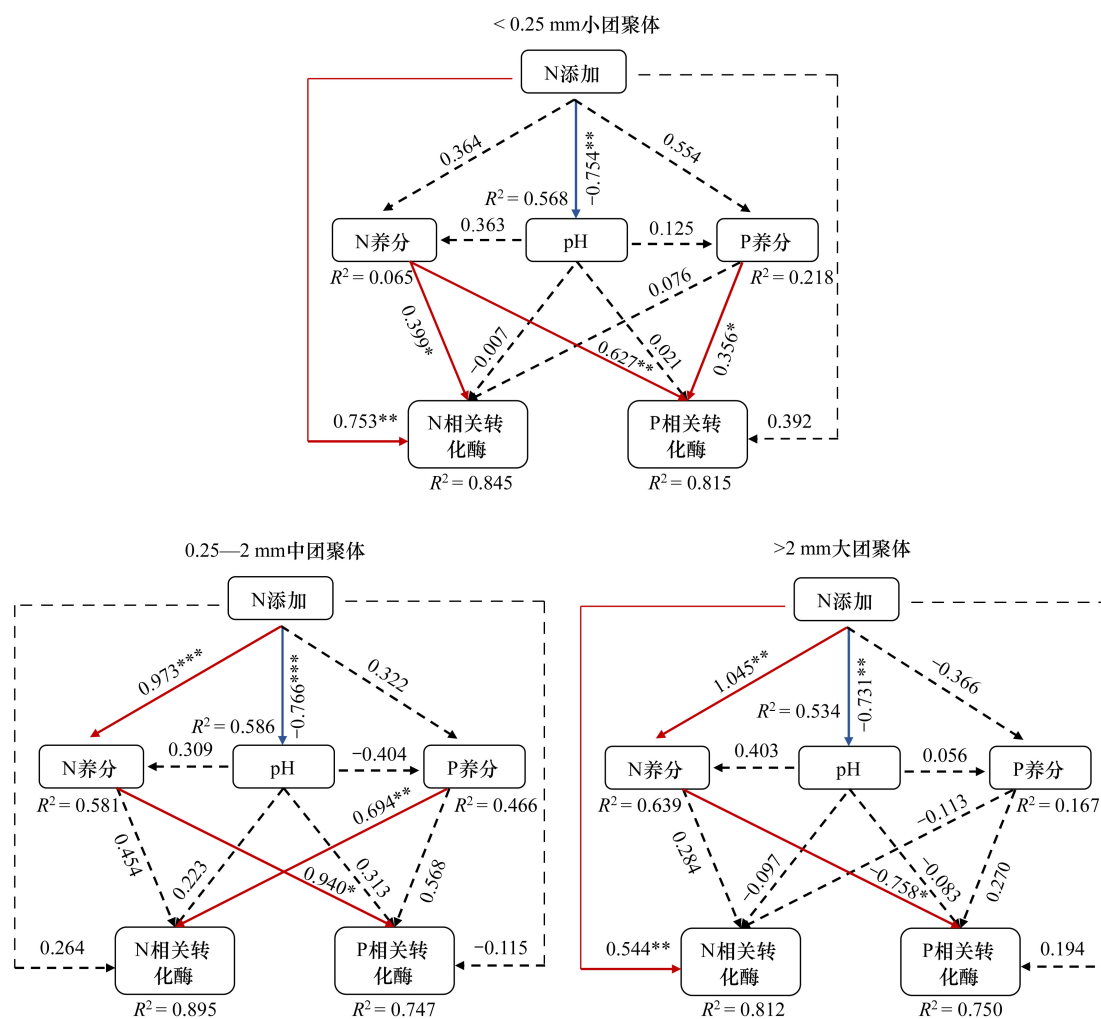


图3 氮添加对不同团聚体土壤氮、磷转化相关酶活性的影响

Fig.3 Effects of nitrogen addition on soil enzyme activities related to nitrogen and phosphorus transformation in different aggregates

采用氮添加梯度水平表示 N 添加;采用 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 表示氮相关养分;采用 TP 和 AP 表示磷相关养分;采用 NAG 和 LAP 表示氮转化相关酶;采用 PME、PDE 和 phyA 表示磷转化相关酶;虚线表示不显著;实线表示显著;红色表示正向影响;蓝色表示负向影响;* 表示在 0.05 水平下显著;** 表示在 0.01 水平下显著;*** 表示在 0.001 水平下显著

要是 pH 的降低可能改变土壤养分如磷、铁等元素有效性,并引起土壤微生物群落和土壤酶活性的显著变化^[56]。但本研究虽然观察到了不同团聚体粒级中 pH 的显著下降(表 1),但 pH 与除 NAG 活性外的其他酶活性均无显著关系,这与此前研究结论并不一致。尽管如此,本研究却发现土壤 pH 在不同团聚体粒级中均与土壤 $\text{EEA}_{\text{N-P}}$ 呈显著负相关关系(图 4, $P<0.05$)。这表明 pH 主要影响氮、磷转化相关酶活性的相对平衡特征,这很可能来自于 pH 对氮、磷转化功能微生物的调控^[57]。土壤酸化可以直接改变土壤微生物群落组成^[47],例如细菌的相对丰度和多样性都与 pH 值呈正相关^[58],而且氮、磷转化功能微生物也对土壤 pH 比较敏感,例如 pH 是调控土壤 *phoD* 基因丰度和功能微生物群落的主要变量,而 *phoD* 基因则是编码磷酸酶基因的主要基因^[54,59]。因此,未来有必要继续探索不同粒级团聚体氮磷转化功能微生物群落对氮添加引起 pH 变化的响应。

土壤水分也是影响土壤酶活性的关键因子之一,在半干旱地区一定范围土壤水分的升高能提高微生物活性和土壤氮磷转化相关酶活性^[60],而氮添加可能会通过改变地表植被覆盖、有机物输入或改变土壤结构等影响土壤水分特征^[61],由此引起土壤酶活性的变化。然而本研究对水分指标并未涉及,这可能导致对氮添加影

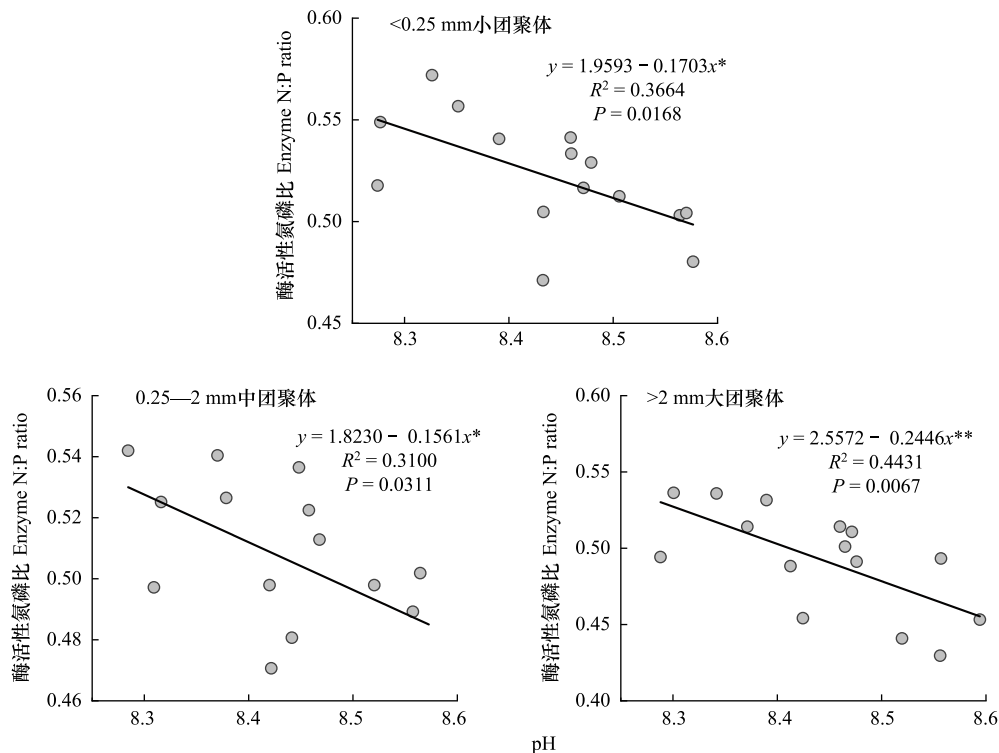


图4 不同团聚体土壤 pH 和酶活性氮磷比的关系

Fig.4 The relationship between soil pH and nitrogen-phosphorus ratio of enzyme activities in different aggregates

* 表示在 0.05 水平下显著; ** 表示在 0.01 水平下显著

响团聚体酶活性机理认识的不确定性,因此有必要在今后将水分因子纳入研究中。同时,本研究采用的最佳湿度筛分法在样品处理中需要将土壤水分调节到 10% 左右,而处理时不同粒级团聚体由于结构差异其水分散失比例不同^[62],这有可能引起不同粒级团聚体中的酶活性的改变,这也会对研究结果产生一定的影响。

4 结论

本研究证实了草地不同粒级团聚体中参与土壤氮、磷转化相关的酶活性和土壤性质的差异化响应。总体上,磷转化相关的酶活性在低浓度氮添加下降低而在高浓度氮添加下增加,而氮转化相关的酶活性和 $EEA_{N:P}$ 在不同氮添加水平下均显著增加;小粒级团聚体比大粒级具有更高的酶活性;氮添加通过改变土壤养分含量及其计量比(如 TN、SOC、C:P 等)调控着土壤氮、磷转化相关的酶活性,其中大粒级和中粒级中对磷转化相关酶活性的调控主要是通过改变土壤氮素养分含量来实现;此外氮添加引起土壤 pH 的降低显著影响了不同团聚体粒级中土壤氮、磷转化相关的酶计量比。研究结果有助于预测未来氮沉降背景下半干旱区土壤的养分循环过程的变化,为草地管理提供一定理论依据。

参考文献 (References):

- [1] 闫钟清, 齐玉春, 董云社, 彭琴, 孙良杰, 贾军强, 曹丛丛, 郭树芳, 贺云龙. 草地生态系统氮循环关键过程对全球变化及人类活动的响应与机制. 草业学报, 2014, 23(6): 279-292.
- [2] 井光花, 陈智坤, 路强强, 张昭, 赵宁, 贺丽燕, 毛祝新, 李伟. 半干旱黄土区不同管理措施下草地群落结构对短期氮、水添加的响应. 生态学报, 2021, 41(20): 8192-8201.
- [3] Li Y, Niu S L, Yu G R. Aggravated phosphorus limitation on biomass production under increasing nitrogen loading: a meta-analysis. Global Change Biology, 2016, 22(2): 934-943.
- [4] 舒锟, 李西悦, 刘选茹, 柳奇, 杨林凯, 陈良华. 杉木人工林土壤碳、氮、磷化学计量特征对短期氮添加的响应. 云南大学学报: 自然科学版, 2022, 44(4): 840-851.

- [5] Yang K, Zhu J J, Gu J C, Yu L Z, Wang Z Q. Changes in soil phosphorus fractions after 9 years of continuous nitrogen addition in a *Larix gmelinii* plantation. *Annals of Forest Science*, 2015, 72(4): 435-442.
- [6] Mori T, Imai N, Yokoyama D, Kitayama K. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on the ratio of activities of carbon-acquiring to nitrogen-acquiring enzymes in a primary lowland tropical rainforest in Borneo, Malaysia. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2018, 64(5): 554-557.
- [7] Chen Q Y, Yuan Y L, Hu Y L, Wang J, Si G C, Xu R, Zhou J Z, Xi C W, Hu A, Zhang G X. Excessive nitrogen addition accelerates N assimilation and P utilization by enhancing organic carbon decomposition in a Tibetan alpine steppe. *Science of the Total Environment*, 2021, 764: 142848.
- [8] Margalef O, Sardans J, Fernández-Martínez M, Molowny-Horas R, Janssens I A, Ciais P, Goll D, Richter A, Obersteiner M, Asensio D, Peñuelas J. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. *Scientific Reports*, 2017, 7: 1337.
- [9] Zhu J, Qu B, Li M. Phosphorus mobilization in the Yeyahu Wetland: Phosphatase enzyme activities and organic phosphorus fractions in the rhizosphere soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 124: 304-313.
- [10] 李焕茹, 朱莹, 田纪辉, 魏锴, 陈振华, 陈利军. 碳氮添加对草地土壤有机碳氮磷含量及相关酶活性的影响. *应用生态学报*, 2018, 29(8): 2470-2476.
- [11] 王丽君, 程瑞梅, 肖文发, 沈雅飞, 曾立雄, 杨邵, 孙鹏飞, 陈天. 三峡库区马尾松人工林土壤酶活性和微生物生物量对氮添加的季节性响应. *生态学报*, 2021, 41(24): 9857-9868.
- [12] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. *The New Phytologist*, 2012, 193(3): 696-704.
- [13] 郭银花, 赵洪涛, 高雨, 沈颖, 周志勇. 山西太岳山油松林无机氮添加对土壤微生物养分限制类型的影响. *应用与环境生物学报*, 2022, 28(1): 137-144.
- [14] Yang C, Liu N, Zhang Y J. Soil aggregates regulate the impact of soil bacterial and fungal communities on soil respiration. *Geoderma*, 2019, 337: 444-452.
- [15] 文倩, 李培培, 林启美, 李青松. 半干旱地区不同土地利用方式下土壤团聚体的微生物量属性. *生态学报*, 2014, 34(24): 7403-7410.
- [16] Wang Y D, Hu N, Ge T D, Kuzyakov Y, Wang Z L, Li Z F, Tang Z, Chen Y, Wu C Y, Lou Y L. Soil aggregation regulates distributions of carbon, microbial community and enzyme activities after 23-year manure amendment. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 65-72.
- [17] Wang Y, Gao S Q, Li C L, Zhang J J, Wang L C. Effects of temperature on soil organic carbon fractions contents, aggregate stability and structural characteristics of humic substances in a Mollisol. *Journal of Soils and Sediments*, 2016, 16(7): 1849-1857.
- [18] Wang R Z, Creamer C A, Wang X, He P, Xu Z W, Jiang Y. The effects of a 9-year nitrogen and water addition on soil aggregate phosphorus and sulfur availability in a semi-arid grassland. *Ecological Indicators*, 2016, 61: 806-814.
- [19] 李明, 秦洁, 红雨, 杨殿林, 周广帆, 王宇, 王丽娟. 氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体碳、氮和磷生态化学计量学特征的影响. *草业学报*, 2019, 28(12): 29-40.
- [20] Gang C C, Zhao W, Zhao T, Zhang Y, Gao X R, Wen Z M. The impacts of land conversion and management measures on the grassland net primary productivity over the Loess Plateau, Northern China. *Science of the Total Environment*, 2018, 645: 827-836.
- [21] Deng J, Sun P S, Zhao F Z, Han X H, Yang G H, Feng Y Z, Ren G X. Soil C, N, P and its stratification ratio affected by artificial vegetation in Subsoil, Loess Plateau China. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151446.
- [22] 魏祥, 同延安, 乔丽, 刘学军, 段敏, 李俊. 陕西省不同生态区大气氮沉降量的初步估算. *农业环境科学学报*, 2010, 29(4): 795-800.
- [23] Xu M P, Li W J, Wang J Y, Zhu Y F, Feng Y Z, Yang G H, Zhang W, Han X H. Soil ecoenzymatic stoichiometry reveals microbial phosphorus limitation after vegetation restoration on the Loess Plateau, China. *The Science of the Total Environment*, 2022, 815: 152918.
- [24] Bach E M, Hofmockel K S. Soil aggregate isolation method affects measures of intra-aggregate extracellular enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 54-62.
- [25] 郑慧, 薛江博, 郝杰, 刁华杰, 陈晓鹏, 王常慧, 董宽虎. 短期不同水平氮添加对华北盐渍化草地土壤磷组分的影响. *草地学报*, 2022, 30(3): 712-720.
- [26] Ye D H, Li T X, Zhang X Z, Zheng Z C, Dai W Y. Rhizosphere P composition, phosphatase and phytase activities of *Polygonum hydropiper* grown in excess P soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(8): 823-836.
- [27] Liao H, Zhang Y C, Zuo Q Y, Du B B, Chen W L, Wei D, Huang Q Y. Contrasting responses of bacterial and fungal communities to aggregate-size fractions and long-term fertilizations in soils of northeastern China. *Science of the Total Environment*, 2018, 635: 784-792.
- [28] Han S, Delgado-Baquerizo M, Luo X S, Liu Y R, van Nostrand J D, Chen W L, Zhou J Z, Huang Q Y. Soil aggregate size-dependent relationships between microbial functional diversity and multifunctionality. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 154: 108143.
- [29] Ling N, Sun Y M, Ma J H, Guo J J, Zhu P, Peng C, Yu G H, Ran W, Guo S W, Shen Q R. Response of the bacterial diversity and soil enzyme activity in particle-size fractions of Mollisol after different fertilization in a long-term experiment. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(6): 901-911.
- [30] Nie M, Pendall E, Bell C, Wallenstein M D. Soil aggregate size distribution mediates microbial climate change feedbacks. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 357-365.
- [31] 马瑞萍, 安韶山, 党廷辉, 戴相林. 黄土高原不同植物群落土壤团聚体中有机碳和酶活性研究. *土壤学报*, 2014, 51(1): 104-113.
- [32] 邱莉萍, 张兴昌, 张晋爱. 黄土高原长期培肥土壤团聚体中养分和酶的分布. *生态学报*, 2006, 26(2): 364-372.
- [33] 马寰菲, 胡汗, 李益, 郭垚鑫, 任成杰, 赵发珠. 秦岭不同海拔土壤团聚体稳定性及其与土壤酶活性的耦合关系. *环境科学*, 2021, 42(9): 4510-4519.
- [34] 钟晓兰, 李江涛, 李小嘉, 叶永昌, 刘颂颂, 徐国良, 倪杰. 模拟氮沉降增加条件下土壤团聚体对酶活性的影响. *生态学报*, 2015, 35(5): 1422-1433.

- [35] 王永琪, 杜保军, 张树振, 孙群策, 徐婉, 张博. 放牧对新疆天山山地草甸土壤团聚体和土壤呼吸潜力的影响. 草地学报, 2022, 30(10): 2729-2736.
- [36] 刘红梅, 李睿颖, 高晶晶, 朱平, 路杨, 高洪军, 张贵龙, 张秀芝, 彭畅, 杨殿林. 保护性耕作对土壤团聚体及微生物学特性的影响研究进展. 生态环境学报, 2020, 29(6): 1277-1284.
- [37] Tian J, Pausch J, Yu G R, Blagodatskaya E, Gao Y, Kuzyakov Y. Aggregate size and their disruption affect ^{14}C -labeled glucose mineralization and priming effect. Applied Soil Ecology, 2015, 90: 1-10.
- [38] Zhang P J, Zheng J F, Pan G X, Zhang X H, Li L Q, Rolf T. Changes in microbial community structure and function within particle size fractions of a paddy soil under different long-term fertilization treatments from the Tai Lake region, China. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 58(2): 264-270.
- [39] 马瑞萍, 刘雷, 安韶山, 党廷辉. 黄土丘陵区不同植被群落土壤团聚体有机碳及其组分的分布. 中国生态农业学报, 2013, 21(3): 324-332.
- [40] 吴建波, 王小丹. 藏北高寒草原土壤酶活性对氮添加的响应及其影响因素. 草地学报, 2021, 29(3): 555-562.
- [41] Xiao W, Chen X, Jing X, Zhu B. A meta-analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 123: 21-32.
- [42] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. The New Phytologist, 2012, 193(3): 696-704.
- [43] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Eoenzymatic stoichiometry and ecological theory. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43: 313-343.
- [44] Allison S D, Vitousek P M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(5): 937-944.
- [45] Tian D, Du E Z, Jiang L, Ma S H, Zeng W J, Zou A L, Feng C Y, Xu L C, Xing A J, Wang W, Zheng C Y, Ji C J, Shen H H, Fang J Y. Responses of forest ecosystems to increasing N deposition in China: a critical review. Environmental Pollution, 2018, 243: 75-86.
- [46] Stock S C, Köster M, Dippold M A, Nájera F, Matus F, Merino C, Boy J, Spielvogel S, Gorbushina A, Kuzyakov Y. Environmental drivers and stoichiometric constraints on enzyme activities in soils from rhizosphere to continental scale. Geoderma, 2019, 337: 973-982.
- [47] Francioli D, Schulz E, Lentendu G, Wubet T, Buscot F, Reitz T. Mineral vs. organic amendments: microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1446.
- [48] Dong W Y, Zhang X Y, Liu X, Fu X L, Chen F S, Wang H Y, Sun X D, Wen X. Responses of soil microbial communities and enzyme activities to nitrogen and phosphorus additions in Chinese fir plantations of subtropical China. Biogeosciences, 2015, 12: 5537-5546.
- [49] Chen H, Li D J, Zhao J, Xiao K C, Wang K L. Effects of nitrogen addition on activities of soil nitrogen acquisition enzymes: a meta-analysis. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2018, 252: 126-131.
- [50] Li Z Y, Qiu X R, Sun Y, Liu S N, Hu H L, Xie J L, Chen G, Xiao Y L, Tang Y, Tu L H. C : N : P stoichiometry responses to 10 years of nitrogen addition differ across soil components and plant organs in a subtropical *Pleioblastus amarus* forest. Science of the Total Environment, 2021, 796: 148925.
- [51] Helgason B L, Walley F L, Germida J J. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. Applied Soil Ecology, 2010, 46(3): 390-397.
- [52] Wang Y D, Wang Z L, Zhang Q Z, Hu N, Li Z F, Lou Y L, Li Y, Xue D M, Chen Y, Wu C Y, Zou C B, Kuzyakov Y. Long-term effects of nitrogen fertilization on aggregation and localization of carbon, nitrogen and microbial activities in soil. Science of the Total Environment, 2018, 624: 1131-1139.
- [53] 田沐雨, 于春甲, 汪景宽, 丁凡, 陈振华, 姜楠, 蒋晖, 陈利军. 氮添加对草地生态系统土壤 pH、磷含量和磷酸酶活性的影响. 应用生态学报, 2020, 31(9): 2985-2992.
- [54] Chen X, Hao B H, Jing X, He J S, Ma W H, Zhu B. Minor responses of soil microbial biomass, community structure and enzyme activities to nitrogen and phosphorus addition in three grassland ecosystems. Plant and Soil, 2019, 444(1): 21-37.
- [55] Liu X C, Zhang S T. Nitrogen addition shapes soil enzyme activity patterns by changing pH rather than the composition of the plant and microbial communities in an alpine meadow soil. Plant and Soil, 2019, 440(1): 11-24.
- [56] Buthelezi K, Buthelezi-Dube N. Effects of long-term (70 years) nitrogen fertilization and liming on carbon storage in water-stable aggregates of a semi-arid grassland soil. Heliyon, 2021, 8(1): e08690.
- [57] Tan H, Barret M, Mooij M J, Rice O, Morrissey J P, Dobson A, Griffiths B, O'Gara F. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the *phoD* phosphorus mineraliser group in pasture soils. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(6): 661-672.
- [58] Rousk J, Bååth E, Brookes P C, Lauber C L, Lozupone C, Caporaso J G, Knight R, Fierer N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. The ISME Journal, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [59] Ragot S A, Huguenin-Elie O, Kertesz M A, Frossard E, Bürenmann E K. Total and active microbial communities and *phoD* as affected by phosphate depletion and pH in soil. Plant and Soil, 2016, 408(1): 15-30.
- [60] 李强, 漆昊, 何国兴, 张德望, 韩天虎, 孙斌, 潘冬荣, 柳小妮. 东祁连山高寒草甸土壤酶活性及其化学计量特征对海拔和坡向的响应. 水土保持学报, 2022, 36(4): 357-364.
- [61] 苏洁琼, 李新荣, 鲍婧婷. 施氮对荒漠化草原土壤理化性质及酶活性的影响. 应用生态学报, 2014, 25(3): 664-670.
- [62] 陈升龙, 梁爱珍, 张晓平, 陈学文. 土壤团聚体结构与有机碳的关系、定量研究方法与发展. 土壤与作物, 2015, 4(1): 34-41.