

DOI: 10.20103/j.stxb.202306081221

包金美, 陈法霖, 杨龙超, 刘波, 王欣丽, 张弛, 张静, 刘艺萱, 张全艳, 王芸. 凋落物和根系对沂蒙山区三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响. 生态学报, 2024, 44(12): 5294-5306.

Bao J M, Chen F L, Yang L C, Liu B, Wang X L, Zhang C, Zhang J, Liu Y X, Zhang Q Y, Wang Y. Effects of litter and roots on soil acid phosphatase kinetics under three forest restoration types in the Yimeng mountainous area. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(12): 5294-5306.

凋落物和根系对沂蒙山区三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响

包金美^{1,2}, 陈法霖¹, 杨龙超², 刘 波², 王欣丽², 张 弛², 张 静², 刘艺萱², 张全艳², 王 芸^{1,2,*}

1 洞庭湖区农村生态系统健康湖南省重点实验室, 湖南农业大学环境与生态学院, 长沙 410128

2 山东省水土保持与环境保育重点实验室, 临沂大学资源环境学院, 临沂 276000

摘要: 酸性磷酸酶动力学特征可反映不同底物供应下土壤磷转化状况。以人工恢复的引进种黑松人工林和本地种栓皮栎人工林以及自然恢复的天然次生林为研究对象, 开展凋落物添加去除和根系去除对土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响研究。结果表明: (1) 三种森林恢复方式下土壤酸性磷酸酶活性和最大反应速度 ($V_{\max}$) 均为双倍凋落物 > 对照 > 去除凋落物 > 去除根系 > 无输入; (2) 改变凋落物和根系输入对酸性磷酸酶的半饱和常数 (K_m) 和催化效率 ($V_{\max}/K_m$) 影响不大; (3) 酸性磷酸酶活性受速效磷含量的反馈调节; 土壤氮可利用性和含水量显著影响酸性磷酸酶活性。改变凋落物和根系输入对引进种黑松人工林土壤有机磷转化能力影响最大, 天然次生林次之, 本地种栓皮栎人工林最稳定。根系对土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响大于凋落物。其结果可为暖温带森林恢复, 应对气候变化和森林防火、收集凋落物等管理措施提供理论依据。

关键词: 自然恢复; 人工恢复; 凋落物; 根系; 土壤酸性磷酸酶动力学

Effects of litter and roots on soil acid phosphatase kinetics under three forest restoration types in the Yimeng mountainous area

BAO Jinmei^{1,2}, CHEN Falin¹, YANG Longchao², LIU Bo², WANG Xinli², ZHANG Chi², ZHANG Jing², LIU Yixuan², ZHANG Quanyan², WANG Yun^{1,2,*}

1 Hunan Provincial Key Laboratory of Rural Ecosystem Health in Dongting Lake District, College of Environment and Ecology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2 Shandong Provincial Key Laboratory of Water and Soil Conservation and Environmental Protection, College of Resources and Environment, Linyi University, Linyi 276000, China

Abstract: Acid phosphatase kinetics can reflect phosphorus (P) transformation under different soil substrates. Forest restoration types influence ecosystem services, such as soil fertility maintenance and nutrient cycling. Litter and roots are two main ways that different forest restoration types affect P maintenance and cycling. In the background of climate change and human activity, litter and roots have complex impacts on ecosystem services such as soil P maintenance and P cycling. However, there are few reports on the effects of litter and roots on soil acid phosphatase kinetics under different forest restoration types. Detritus input and removal treatment (DIRT) experiment was conducted in three typical forest restoration types (introduced black pine [*Pinus thunbergii* Parl.] plantations, native oriental oak [*Quercus variabilis* Bl.] plantations,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32071630); 山东省教育厅青创团队项目 (2020KJE009); 山东省自然科学基金项目 (ZR2020MD104); 山东省大学生创新创业项目 (S202210452062)

收稿日期: 2023-06-08; 网络出版日期: 2024-04-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangyunsd@163.com

and natural secondary forests) in the Yimeng Mountains area. DIRT included double litter treatment, litter removal treatment, roots removal treatment, no inputs treatment, and control. Soil samples were collected on August 21st, 2022, which was 7 years and 9 months after DIRT EXPERIMENT was conducted. The effects and mechanisms of changing litter and roots input on soil acid phosphatase dynamics were analyzed. The acid phosphatase activities were as follows: (1) the activity of acid phosphatase and $V_{\max}$ (the maximum reaction velocity) under the three forest restoration types showed the order of double litter>control>litter removal>roots removal >no inputs treatment. (2) K_m (half-saturation constant) and $V_{\max}/K_m$ (catalytic efficiency) were relatively stable and less susceptible to changes in litter and root inputs. However, $V_{\max}$ was easily affected, double litter treatment significantly increased $V_{\max}$ in the soils of oriental oak plantations, litter removal, roots removal and no inputs treatments significantly reduced $V_{\max}$ of the soil of black pine plantations. (3) The feedback of available P content regulated the acid phosphatase activity. The acid phosphatase activity (substrate at moderate concentrations of 80—160 $\mu\text{mol/L}$) and $V_{\max}$ were significantly and positively correlated with available P content. The soil nitrogen availability and moisture content significantly affected the soil acid phosphatase activity of the three forest restoration types. The influence of roots on acid phosphatase kinetics was larger than litter. In the background of climate change, the soil organic P transformation capacity of the introduced black pine plantations was unstable and easily disturbed, followed by the natural secondary forests, with the native oriental oak plantations being the most stable. These results provide insights into forest restoration, climate change responses, and human activities related to forest fire prevention and litter collection in warm temperate areas.

Key Words: natural restoration; plantation; litter; roots; soil acid phosphatase kinetics

土壤酸性磷酸酶 (EC:3.1.3.2) 动力学可反映不同磷底物供应下土壤磷转化特征。土壤磷酸酶将约 20%—80% 的有机磷转化为速效磷^[1]。森林恢复方式通过凋落物和根系影响土壤磷维持和磷循环等生态系统服务功能。然而,全球温度和大气 CO_2 浓度升高等气候变化,会增加地上凋落物量^[2]、细根生物量及根系凋落物输入量^[3],而极端气候(干旱^[4]等)和人类活动(薪柴收集、森林防火和病虫害管理等)则会降低凋落物量和根系生物量。国内外针对改变凋落物和根系输入开展了一系列土壤碳的相关研究^[5-6],而对土壤磷的研究较少。由于碳和磷密切相关,研究凋落物和根系对不同森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响对于应对气候变化和森林恢复具有重要意义。

凋落物和根系通过改变土壤酸性磷酸酶活性而影响土壤磷含量,但仍存在争议。研究表明在不同森林恢复方式下双倍凋落物处理显著提高^[7-8]、降低^[9]或未显著影响^[10]酸性磷酸酶活性;显著增加^[7]或降低^[8]速效磷含量,显著增加总磷^[7]或未显著影响总磷和无机磷含量^[11]。去除凋落物显著降低酸性磷酸酶活性^[11-12]和总磷含量^[11],但未显著影响速效磷含量^[7]。去除根系^[10, 13]和无输入^[9]显著降低酸性磷酸酶活性和总磷含量^[11],但未显著影响速效磷含量^[14]。凋落物和根系对土壤磷酸酶活性影响的相对大小还存在争议^[10, 15]。综上,凋落物和根系对土壤酸性磷酸酶活性和磷含量的影响受森林恢复方式的影响。

相较于单一底物浓度下的酶活性,土壤酸性磷酸酶动力学特征能更好地表征有机磷转化过程。 $V_{\max}$ 为最大酶促反应速度; K_m 为半饱和常数,表征底物亲和力^[16]; $V_{\max}/K_m$ 表征土壤酶催化效率^[17]。土壤酶动力学参数的准确预估对于改善当前土壤有机质全球模型和预测未来碳-气候反馈模拟模型具有重要意义^[18]。不同森林恢复方式通过改变凋落物和根系输入,影响土壤理化性质进而改变磷酸酶活性及其动力学特征。研究表明在温带和亚热带森林土壤酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 、 K_m 与有机碳、全氮、总磷、铵态氮、硝态氮和速效磷正相关^[19]。 K_m 和 $V_{\max}/K_m$ 还受微生物群落结构影响^[17]。此外, $V_{\max}/K_m$ 与土壤速效磷^[20] 和相对磷限制^[21] 正相关,低磷供应会刺激酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ 并促进有机磷矿化^[21]。但目前仍缺乏多个土壤理化性质综合影响下不同森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学特征研究。

综上所述,在日益增强的气候变化和人类干扰背景下,凋落物和根系对土壤磷维持和磷循环等生态系统

服务功能产生复杂影响。(1)改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶活性影响还存在不确定性,并随森林恢复方式而改变;且不同森林恢复方式下改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响鲜见报道。(2)当前仍缺乏改变凋落物和根系输入对不同恢复方式不同底物浓度下酸性磷酸酶活性与多个土壤理化性质的影响研究。

沂蒙山区是我国最早开展森林恢复的地区之一,主要的森林恢复方式有本地阔叶树种栓皮栎(*Quercus variabilis* Bl.)人工林和引进针叶树种黑松(*Pinus thunbergii* Parl.)人工林,以及自然恢复的栎类次生林等。本研究以沂蒙山区三种典型森林恢复方式为研究对象,分析改变凋落物和根系输入对其土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响及影响机制,以期为暖温带森林恢复,森林防火、收集凋落物等人为管理措施提供理论依据,为“碳达峰、碳中和”国家战略提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于沂蒙山区山东费县塔山国家森林公园(35°10′—36°00′ N,117°35′—118°20′ E),地处鲁东南丘陵地区,棕壤,暖温带大陆性季风气候,年均温 13 ℃,年降水量 880 mm。主要森林恢复方式为人工恢复的本地阔叶树种栓皮栎(*Quercus variabilis* Bl.)人工林和引进针叶树种黑松(*Pinus thunbergii* Parl.)人工林,以及自然恢复的栎类次生林等,恢复时间约为 50 年。样地基本信息见表 1。

表 1 不同森林恢复方式样地基本信息

Table 1 Basic information of sample plots under different forest restoration types

森林恢复方式 Forest restoration type	经度 Longitude/(°E)	纬度 Latitude/(°N)	海拔 Altitude/m	坡度 Slope/(°)	坡向 Aspect/(°)
黑松人工林 Black pine plantations	118.0312—118.0597	35.4266—35.4424	317—441	20—32	78EN、154SE、154SE、284WN、331NW
天然次生林 Natural secondary forests	118.0287—118.0599	35.4272—35.4416	314—420	14—28	113ES、148SE、159SE、210SW、214SW、333NW
栓皮栎人工林 Oriental oak plantations	118.0322—118.0440	35.4328—35.4518	348—727	13—33	124ES、195SW、198SW、215SW、224SW

1.2 试验设计及采样

采用随机区组设计开展野外定位控制试验。试验设置于 2014 年 11 月,在三种森林恢复方式(引进种黑松人工林和本地种栓皮栎人工林以及自然恢复的天然次生林)中开展凋落物添加/去除和根系去除试验(Detritus inputs and removal treatment, DIRT),各选 5 个样地(20 m×30 m)。另于 2015 年 3 月增设一个天然次生林样地。每个样地内设置 5 个小样方(1.5 m×1.5 m),每个小样方上随机设置 1 种处理:①去除凋落物(No litter, NL):先移除地面矿质土上覆盖的凋落物,再用 1 mm 纱网在高于地面 50 cm 处搭建帐篷阻截样地的地上凋落物。②双倍凋落物(Double litter, DL):将 NL 处理的凋落物均匀地撒在样地上;③去除根系(No roots, NR):沿样方四周向地面下挖 50 cm 深的壕,插入聚乙烯板后再回填土;④无输入(No inputs, NI):用以上方法同时去除凋落物和根系;⑤对照(CT):不进行任何处理。2016 年 9 月以前,凋落物添加、去除和去除根系(拔草)每月进行一次,其中,在雨季每月拔草两次。2016 年 9 月以后,以上样地维护雨季每月进行一次,旱季每两月一次。

于 2022 年 8 月 21 日,用土钻(直径 3.5 cm)在每个小样方内随机取 5 个 0—10 cm 土样,混合为一个土样。用冷藏箱运回实验室,挑除残根,过 2 mm 筛。一部分土样 4 ℃冰箱保存,分析酸性磷酸酶动力学特征,另一部分风干,分析理化性质。

1.3 土壤酸性磷酸酶动力学特征分析

采用微孔板荧光法分析酸性磷酸酶动力学特征^[22]。取相当于 1 g 干土重的鲜土于 250 mL 三角瓶中,加

入 125 mL 无菌醋酸钠溶液 (50 mmol/L, pH=4.94, 与土壤样品 pH 值均值一致^[23])。200 rpm 振荡 1 min, 制成土壤悬浮液。吸取 200 μ L 土壤悬浮液 (用 8 孔排枪吹吸 3 次以上, 确保悬浮液均匀) 于 96 孔微孔板中, 再加入底物 4-甲基伞形酮-磷酸 (CAS 3368-04-5), 底物浓度为 0、10、20、40、60、80、100、120、160 μ mol/L 和 200 μ mol/L。设置 6 个样品分析 (50 μ L 相应浓度的底物+200 μ L 土壤悬浮液) 重复, 10 个空白对照 (50 μ L 醋酸钠缓冲液+200 μ L 土壤悬浮液) 和阴性对照 (50 μ L 底物+200 μ L 醋酸钠缓冲液) 重复, 8 个猝灭对照 (50 μ L 4-MUB (10 μ mol/L)+200 μ L 土壤悬浮液) 和参考标准 (50 μ L 4-MUB+200 μ L 醋酸钠缓冲液) 重复。将酶标板放入酶标仪振荡 4 s (567 cpm, 3 mm 振幅)。20 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养 2.5 h (根据荧光值随时间呈线性增加而确定^[23])。加入 10 μ L 1 mol/L NaOH 溶液终止反应, 用多功能酶标仪 (Biotek, Synergy H¹) 测荧光值 (激发光 365 nm, 发射光 450 nm), 酶活性单位为 nmol g⁻¹ h⁻¹。用 SigmaPlot 12.5 拟合酸性磷酸酶动力学参数 $V_{\max}$ 和 K_m 。

$$V = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

式中, V 为酶促反应速度 (nmol g⁻¹ h⁻¹); $V_{\max}$ 为最大反应速度 (nmol g⁻¹ h⁻¹); S 为底物浓度 (μ mol/L); K_m 为半饱和常数 (μ mol/L); $V_{\max}/K_m$ 表征酶催化效率^[17, 19]。

1.4 土壤理化性质分析

pH 值用 pH 计测定 (土水比为 1:5^[24])。含水量用烘干法测定。速效磷含量用树脂法^[25]。铵态氮和硝态氮用 2 mol/L 的氯化钾溶液提取, 分别用水杨酸法^[24] 和双波长紫外分光光度法^[26] 测定。全碳、全氮含量用元素分析仪 (Vario MACRO cube, Elementar, Germany) 测定。

1.5 统计分析

在每种森林恢复方式下, 采用单因素随机区组方差分析改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶动力学特征及理化性质的影响, 多重比较采用 Duncan 距离。用冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 分析酸性磷酸酶活性与理化性质的关系。土壤理化因子为 pH 值、含水量、铵态氮、硝态氮、全氮、碳氮比和速效磷含量。除 pH 值外, 其余数据先进行 Log₁₀(x+1) 转化, 再进行 Z 分数转化以消除量纲的影响。酸性磷酸酶活性中心化 (Center by species) 转化。用蒙特卡罗检验 (999 次) 分析显著影响酸性磷酸酶活性的理化因子。经蒙特卡罗检验后, 因子的方差膨胀因子 (variance inflation factor, VIF) 均小于 5, 共线性较小。数据正态性通过 Shapiro-Wilk 检验获得。相关分析采用 Pearson (正态数据) 和 Spearman 分析 (不正态数据)。用 SPSS 16.0 进行单因素随机区组方差分析和相关分析, Canoco for Windows 4.5 进行 RDA 分析, SigmaPlot 12.5 作图。P<0.05 为显著。

2 结果与分析

2.1 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式土壤理化性质的影响

与 CT 相比, DL 显著增加黑松人工林土壤全碳含量和天然次生林含水量、铵态氮、硝态氮、全碳、全氮含量和碳氮比; NL 显著降低黑松人工林硝态氮含量、天然次生林碳氮比和栓皮栎人工林土壤 pH 值; NR 显著降低黑松人工林含水量; NI 显著降低栓皮栎人工林土壤 pH 值和碳氮比 (表 2)。

2.2 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式不同底物浓度下土壤酸性磷酸酶活性的影响

在三种森林恢复方式中酸性磷酸酶活性大小均为 DL>CT>NL>NR>NI。

与 CT 相比, DL 显著增加栓皮栎人工林酸性磷酸酶活性 (底物浓度为 10 和大于 60 μ mol/L) (图 1, 表 3), 未显著影响黑松人工林和天然次生林酸性磷酸酶活性 (图 1, 表 3)。NL 处理显著降低黑松人工林酸性磷酸酶活性 (底物浓度为 200 μ mol/L)。NR 处理显著降低黑松人工林 (底物浓度大于 60 μ mol/L) 和天然次生林 (底物浓度为 60 μ mol/L) 酸性磷酸酶活性。NI 处理显著降低黑松人工林和天然次生林酸性磷酸酶活性 (底物浓度 20 μ mol/L 和大于 60 μ mol/L)。NL、NR 和 NI 处理均未显著影响栓皮栎人工林酸性磷酸酶活性。

表 2 改变凋落物和根系输入对三种恢复方式下土壤理化性质的影响
Table 2 Effects of DIRT on soil physical and chemical characteristics in three forest restoration types

森林恢复方式 Forest restoration type	处理 Treatment	pH	含水量 Moisture/%	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (μg/g)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (μg/g)	全碳 Total C /(mg/g)	全氮 Total N/ (mg/g)	碳氮比 C:N	速效磷 Available P/ (μg/g)
黑松人工林 Black pine plantations	CT	5.00±0.12a	22.24±3.19ab	52.06(37.87, 183.41)a	9.85±1.78ab	22.08±1.07b	1.27±0.10ab	17.55±1.05ab	5.23±0.52ab
	DL	4.95±0.06a	23.89±3.06a	73.39±7.48a	11.60±2.46a	36.50(21.95, 39.35)a	1.63±0.19a	19.43±0.40a	6.33±0.52a
	NL	4.96±0.04a	15.15±2.37bc	36.66±9.04a	4.80±1.02c	16.32±2.78b	1.00±0.13b	15.87±0.81b	2.95±0.62b
天然次生林 Natural secondary forests	NR	4.82±0.07a	12.83±2.73c	44.06±7.67a	8.30±1.59abc	14.20(13.35, 33.50)b	0.94(0.85, 1.77)ab	16.98±0.91ab	3.49±1.24b
	NI	4.86±0.05a	14.57±1.74bc	34.72±3.08a	6.49±1.01bc	15.14±2.59b	0.95±0.10b	15.63±1.08b	2.93±0.23b
	CT	5.01±0.12a	13.94±1.49b	80.78(59.68, 88.63)b	9.39±2.18b	21.18±2.32b	1.19±0.10b	17.69±0.68b	5.48(4.08, 9.26)a
栓皮栎人工林 Oriental oak plantations	DL	4.93±0.09a	19.37±1.95a	105.44±22.32a	12.58±3.41a	35.78±3.87a	1.82±0.13a	19.39±1.12a	6.01±0.65a
	NL	4.97±0.09a	14.82±2.18b	47.61±6.97b	4.88(3.51, 12.18)b	15.45±2.26b	1.01±0.13b	15.18±0.65c	3.74±0.62a
	NR	4.80(4.74, 5.33)a	13.92±2.04b	64.33±10.04b	7.28±1.92b	23.47±2.74b	1.29±0.13b	18.94(16.98, 19.45)ab	4.70±0.94a
栓皮栎人工林 Oriental oak plantations	NI	4.85±0.14a	14.18±1.78b	52.31±6.50b	8.52±2.08b	18.42±3.51b	1.07±0.14b	16.72±1.09b	4.52±0.95a
	CT	5.11±0.13a	12.46±1.06ab	68.85±10.61ab	4.70±0.58ab	25.12±1.46ab	1.34±0.07ab	19.08(18.09, 19.24)ab	4.86±0.93a
	DL	4.87±0.15a	14.25±1.24a	83.11(71.39, 144.83)a	7.17±2.19a	28.5(26.15, 58.10)a	1.95±0.43a	20.06±0.66a	7.44±3.19a
栓皮栎人工林 Oriental oak plantations	NL	4.82±0.13b	9.81±0.79b	42.86±7.70b	3.63±0.61b	21.52±5.37b	1.21±0.20ab	17.07±1.10bc	4.25±0.92a
	NR	5.09±0.12a	12.85±1.60ab	64.51±13.40ab	3.42(2.51, 7.37)ab	21.52±5.37b	1.22±0.25ab	17.91±0.94bc	5.93±1.11a
	NI	4.86±0.10b	11.10±0.96ab	46.93±6.04b	4.49(2.21, 4.73)b	15.54±1.48b	0.86(0.85, 1.09)b	16.32±0.46c	5.29±0.52a

同一列不同小写字母表示相同森林恢复方式下不同处理之间差异显著 ($P<0.05$) ; 表内数据正态为均值±标准差, 非正态为中位数 (25%分位数, 75%分位数) ; CT: 对照, Control treatment; DL: 双倍凋落物, Double litter treatment; NL: 去除凋落物, No litter treatment; NR: 去除根系, No roots treatment; NI: 无输入, No inputs treatment

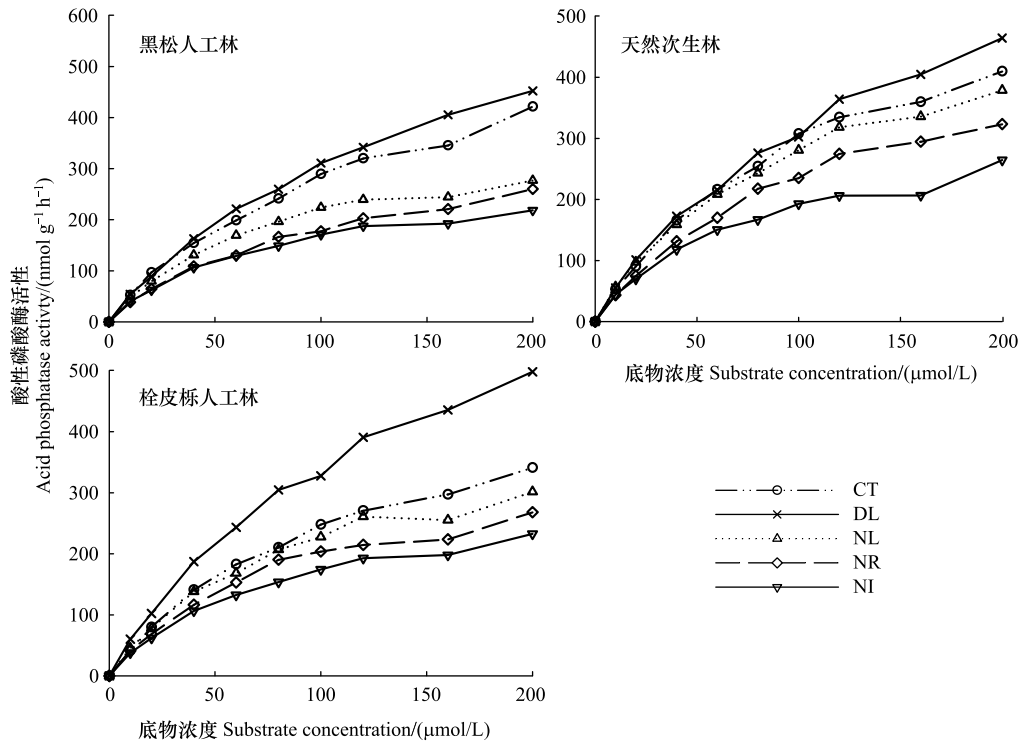


图1 三种森林恢复方式下改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶图谱的影响

Fig.1 Effects of DIRT on soil acid phosphatase profile in three forest restoration types

CT:对照,Control treatment;DL:双倍凋落物,Double litter treatment;NL:去除凋落物,No litter treatment;NR:去除根系,No roots treatment;NI:无输入,No inputs treatment

表3 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式相同底物浓度下土壤酸性磷酸酶活性的影响差异

Table 3 Differences in the effects of DIRT on soil acid phosphatase activity under the same substrate concentration in three forest restoration types

森林恢复方式 Forest restoration type	处理 Treatment	各底物浓度下土壤酸性磷酸酶活性差异 Differences in soil acid phosphatase activity under different substrate concentrations									
		AP ₀	AP ₁₀	AP ₂₀	AP ₄₀	AP ₆₀	AP ₈₀	AP ₁₀₀	AP ₁₂₀	AP ₁₆₀	AP ₂₀₀
黑松人工林 Black pine plantations	CT	a	a	a	ab	a	ab	a	ab	ab	a
	DL	a	a	ab	a	a	a	a	a	a	a
	NL	a	a	ab	ab	ab	abc	ab	bc	bc	b
	NR	a	a	ab	b	b	bc	b	c	c	b
	NI	a	a	b	b	b	c	b	c	c	b
天然次生林 Natural secondary forests	CT	ab	ab	ab	ab	a	a	a	ab	ab	ab
	DL	a	ab	a	a	a	a	a	a	a	a
	NL	b	a	a	ab	ab	a	a	ab	b	ab
	NR	b	b	bc	bc	bc	ab	ab	bc	b	bc
	NI	ab	b	c	c	c	b	b	c	c	c
栓皮栎人工林 Oriental oak plantations	CT	a	b	ab	ab	b	b	b	b	b	b
	DL	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	NL	a	ab	b	ab	b	b	b	b	b	b
	NR	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b
	NI	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b

同一森林恢复方式中同一列不同小写字母表示相同森林恢复方式下不同碳输入方式之间土壤酸性磷酸酶活性差异显著 ($P < 0.05$); 表格中

AP₀、AP₁₀、AP₂₀、AP₄₀、AP₆₀、AP₈₀、AP₁₀₀、AP₁₂₀、AP₁₆₀、AP₂₀₀分别表示下标数字相应浓度(μmol/L)的酸性磷酸酶活性

2.3 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学参数的影响

2.3.1 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 的影响

与 CT 处理相比, DL 处理显著提高栓皮栎人工林酸性磷酸酶 $V_{\max}$ (图 2), 未显著影响黑松人工林和天然次生林酸性磷酸酶 $V_{\max}$ (图 2); NL 和 NR 处理显著降低黑松人工林酸性磷酸酶 $V_{\max}$, 而未显著影响天然次生林和栓皮栎人工林 $V_{\max}$; NI 处理显著降低黑松人工林和天然次生林酸性磷酸酶 $V_{\max}$, 而未显著影响栓皮栎人工林 $V_{\max}$ 。

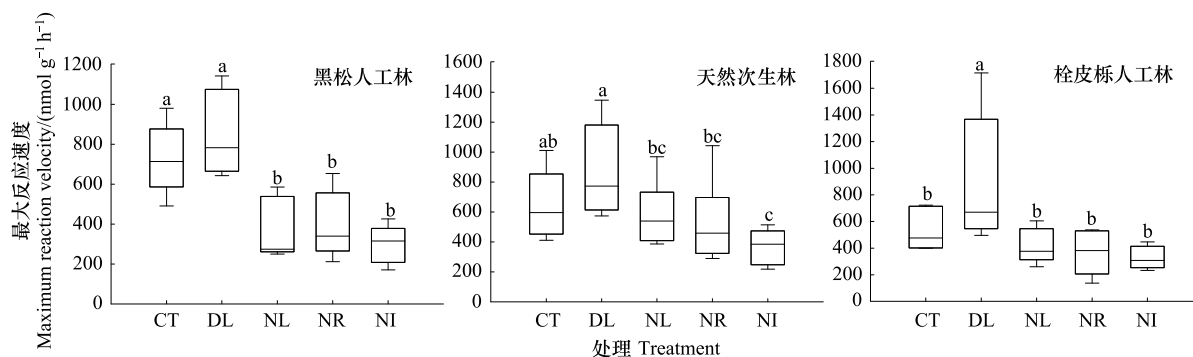


图 2 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶最大反应速度的影响

Fig.2 Effects of DIRT on the maximum reaction velocity of soil acid phosphatase in three forest restoration types

不同小写字母表示不同处理之间差异显著

2.3.2 改变凋落物和根系输入对三种森林恢复方式土壤酸性磷酸酶 K_m 及 $V_{\max}/K_m$ 的影响

与 CT 处理相比, NL 和 NI 处理显著降低黑松人工林酸性磷酸酶 K_m (图 3), 其余处理均未显著影响三种森林恢复方式酸性磷酸酶 K_m 。

改变凋落物和根系输入均未显著影响三种森林恢复方式酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ (图 4)。

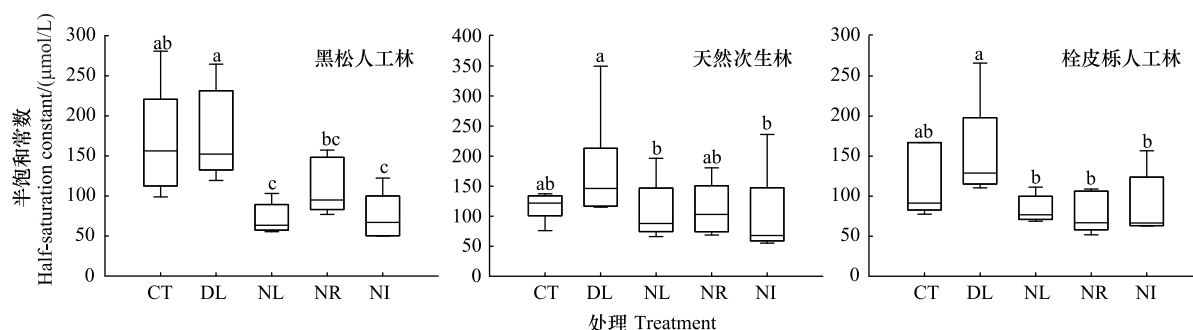


图 3 三种森林恢复方式下改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶半饱和常数的影响

Fig.3 Effects of DIRT on half-saturation constant of soil acid phosphatase in three forest restoration types

2.4 不同森林恢复方式不同凋落物和根系处理下土壤酸性磷酸酶活性与速效磷含量的回归分析

土壤酸性磷酸酶活性与速效磷含量在低底物浓度 (0—40 $\mu\text{mol/L}$) 和高底物浓度 (200 $\mu\text{mol/L}$) 相关不显著, 而在中等底物浓度 (60—160 $\mu\text{mol/L}$) 时显著正相关。酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 与速效磷含量显著正相关 (图 5)。

2.5 不同森林恢复方式不同凋落物和根系处理下土壤酸性磷酸酶活性与理化性质的冗余分析

在黑松人工林中, 土壤含水量、速效磷含量和碳氮比显著影响不同凋落物和根系处理下酸性磷酸酶活性, 解释了其变异的 66.3% ($F=6.25, P=0.001$, 图 6)。高底物浓度下 (120 和 200 $\mu\text{mol/L}$) 酸性磷酸酶活性、 $V_{\max}$ 、 K_m 与含水量、碳氮比、速效磷含量显著正相关 (表 4)。

在天然次生林中, 土壤含水量、硝态氮含量和 pH 值显著影响酸性磷酸酶活性, 解释了其 43.0% 的变异

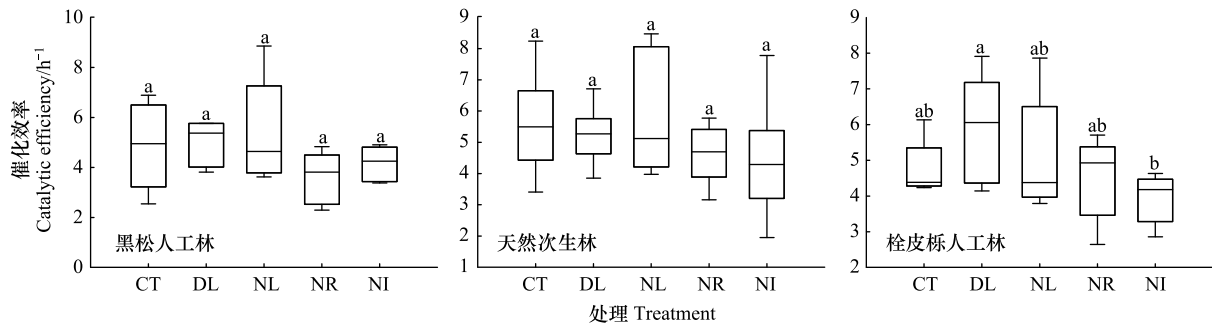
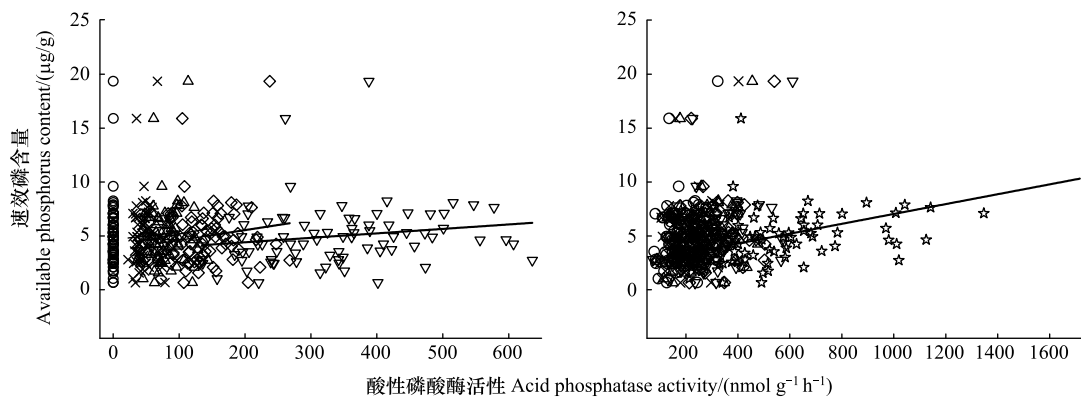


图 4 三种森林恢复方式下改变凋落物和根系输入对土壤酸性磷酸酶催化效率的影响

Fig.4 Effects of DIRT on catalytic efficiency of soil acid phosphatase in three forest restoration types

○ AP ₀	$y = 4.822 + 3.208x$	$R^2 = 0.007$	$F = 0.556$	$P = 0.457$	○ AP ₆₀	$y = 2.965 + 0.011x$	$R^2 = 0.049$	$F = 4.006$	$P = 0.049$
× AP ₁₀	$y = 4.658 + 0.007x$	$R^2 = 0.001$	$F = 0.086$	$P = 0.771$	× AP ₈₀	$y = 2.918 + 0.010x$	$R^2 = 0.057$	$F = 4.728$	$P = 0.033$
△ AP ₂₀	$y = 4.080 + 0.011x$	$R^2 = 0.008$	$F = 0.655$	$P = 0.421$	△ AP ₁₀₀	$y = 2.809 + 0.009x$	$R^2 = 0.070$	$F = 5.825$	$P = 0.018$
◇ AP ₄₀	$y = 3.654 + 0.009x$	$R^2 = 0.020$	$F = 1.600$	$P = 0.210$	◇ AP ₁₂₀	$y = 2.701 + 0.008x$	$R^2 = 0.076$	$F = 6.437$	$P = 0.013$
▽ AP ₂₀₀	$y = 3.583 + 0.004x$	$R^2 = 0.030$	$F = 2.392$	$P = 0.126$	▽ AP ₁₆₀	$y = 2.786 + 0.007x$	$R^2 = 0.084$	$F = 7.171$	$P = 0.009$
					★ V _{max}	$y = 2.462 + 0.005x$	$R^2 = 0.211$	$F = 20.865$	$P < 0.0001$

图 5 三种森林恢复方式不同凋落物和根系输入处理下土壤酸性磷酸酶活性及 V_{max} 与速效磷含量的回归分析Fig.5 Regression analysis of soil acid phosphatase activity, V_{max} and available phosphorus content using DIRT in three forest restoration types

AP₀、AP₁₀、AP₂₀、AP₄₀、AP₆₀、AP₈₀、AP₁₀₀、AP₁₂₀、AP₁₆₀、AP₂₀₀ 分别表示下标数字相应浓度 (μmol/L) 的酸性磷酸酶活性; V_{max}: 最大反应速度
Maximum reaction velocity

($F=6.26, P=0.001$, 图 6)。高底物浓度下酸性磷酸活性、V_{max}、K_m 与含水量、硝态氮含量显著正相关。

在栓皮栎人工林中, 土壤全氮、铵态氮、硝态氮和含水量显著影响酸性磷酸酶活性, 三者解释其 64.9% 的变异 ($F=9.26, P=0.001$, 图 6)。在高底物浓度 (>20 μmol/L) 下酸性磷酸活性与铵态氮和全氮含量显著正相关。硝态氮含量与酸性磷酸活性 (底物浓度为 20—100 μmol/L) 显著正相关。V_{max}、K_m 与铵态氮、全氮含量显著正相关, 而 V_{max}/K_m 与硝态氮和全氮含量显著正相关。

3 讨论

3.1 凋落物和根系对不同森林恢复方式土壤酸性磷酸酶动力学特征的影响

本研究中, DL 处理仅显著增加栓皮栎人工林高底物浓度时酸性磷酸酶活性和 V_{max}, 其原因在于: 一方面, 阔叶林的叶、枝、根的全磷含量高于混交林高于针叶林^[27]; 另一方面, 针叶林凋落物中含有较多难分解的高分子化合物, 如树脂、蜡质等^[28], 土壤有机质分解率低^[29], 而阔叶林凋落物中含有较多易变, 亲水性的低分子量化合物, 其高质量凋落物的输入刺激了微生物生长^[30], 进而增加酸性磷酸酶活性。结合前人及本研究, 气候

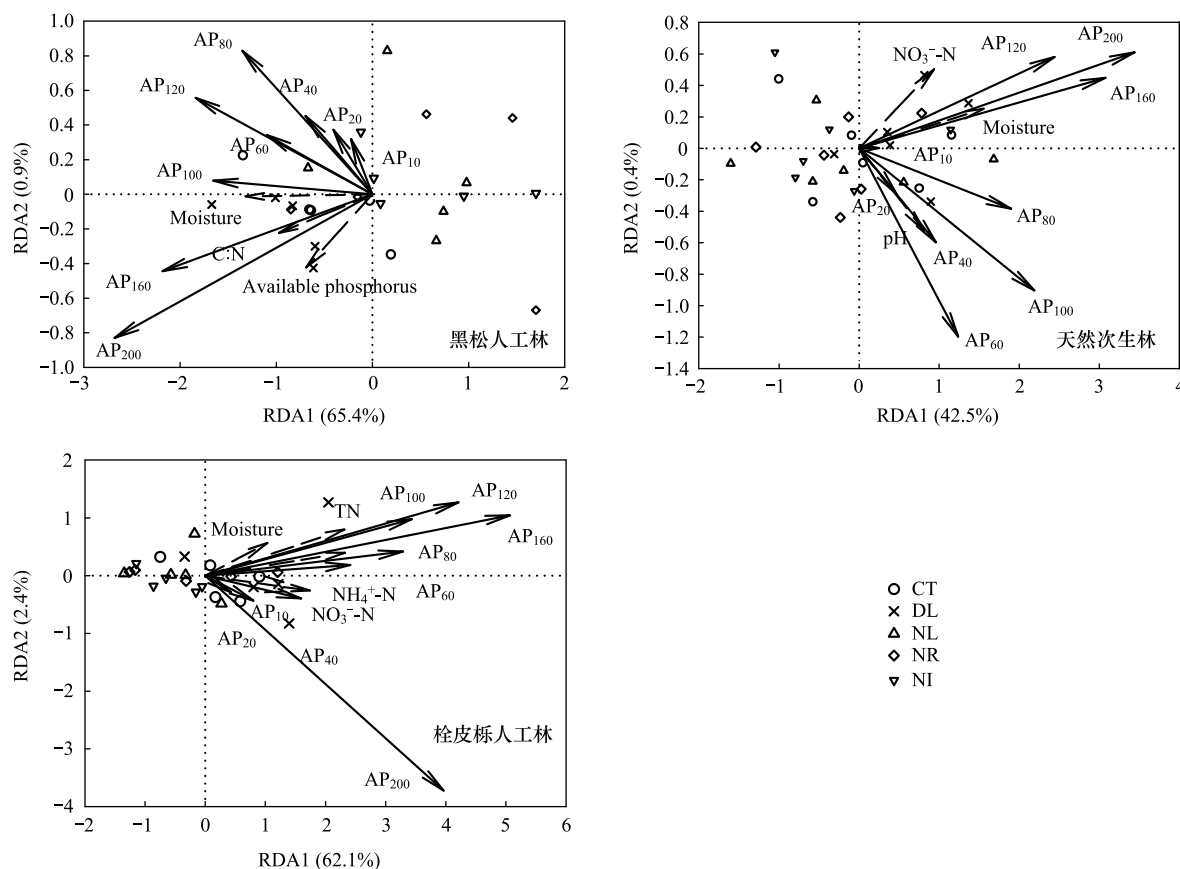


图6 三种森林恢复方式不同凋落物和根系输入处理下土壤酸性磷酸酶活性与土壤理化性质的冗余分析

Fig.6 Redundancy analysis of soil acid phosphatase activities and soil physical and chemical properties under DIRT in three forest restoration types

C:N:碳氮比;Moisture:含水量;Available phosphorus:速效磷含量; $\text{NH}_4^+\text{-N}$:铵态氮含量; $\text{NO}_3^-\text{-N}$:硝态氮含量;TN:全氮含量

变暖背景下,凋落物数量增加^[2],暖温带阔叶林酸性磷酸酶活性增加,土壤有机磷转化能力升高。

NL 处理显著降低黑松人工林的酸性磷酸酶活性(高底物浓度下)、 $V_{\max}$ 和 K_m 。有研究亦表明,NL 处理显著降低亚热带常绿阔叶林^[12-13]和杉木人工林^[9]酸性磷酸酶活性。可能是因为 NL 处理显著降低土壤总有机碳^[31]、微生物生物量碳^[15]和腐殖质含量^[32],而有机碳和养分含量是土壤磷酸酶动力学特征的主要驱动因素^[33]。值得注意的是,NL 处理显著提高酸性磷酸酶与底物的亲和力。这可能是因为低底物可利用性导致微生物提高底物亲和力^[19],以获取更多的资源。综上,由于干旱或人类活动(收集薪柴、病虫害防治、森林防火等)导致凋落物量减少,会降低暖温带针叶林土壤酸性磷酸酶活性、 $V_{\max}$ 和 K_m ,进而降低土壤有机磷转化能力,且在磷含量高的土壤中影响更明显。

NR 处理显著降低黑松人工林酸性磷酸酶活性(高底物浓度下)和 $V_{\max}$ 。这与 NR 处理显著降低匈牙利温带白皮栎(*Quercetum petraeacerris*)^[10]和亚马逊热带雨林^[13]酸性磷酸酶活性研究结果相似。这可能是因为根系分泌物能刺激解磷微生物分泌磷酸酶^[34],根系能调节酶对底物的亲和力^[35]。因而,NR 会降低磷酸酶产生和磷酸酶底物浓度^[11],进而降低酶活性及 $V_{\max}$ 。可见干旱或极端气候引起的根系生物量下降会降低暖温带针叶林不同肥力条件下土壤有机磷转化能力,并对土壤肥力高的样地影响更明显。

NI 处理显著降低黑松人工林和天然次生林酸性磷酸酶活性(高底物浓度下)、 $V_{\max}$ 以及黑松人工林 K_m 。前人研究表明,NI 显著降低亚热带常绿阔叶林^[12-13]、杉木人工林^[9]和 Meta 分析^[36]的酸性磷酸酶活性。这可

表 4 三种森林恢复方式不同凋落物和根系输入处理下土壤酸性磷酸酶动力学参数与 RDA 中显著的土壤理化性质之间的相关分析

森林恢复方式 Forest restoration type	土壤理化性质 Soil physiochemical characteristics										最大反 应速度 $V_{\max}$				半饱 常数 K_m		催化效率 $V_{\max}/K_m$
	AP ₀	AP ₁₀	AP ₂₀	AP ₄₀	AP ₆₀	AP ₈₀	AP ₁₀₀	AP ₁₂₀	AP ₁₆₀	AP ₂₀₀							
黑松人工林	0.008 [#]	0.728 ^{***}	0.580 ^{**}	0.544 ^{**}	0.659 ^{**}	0.672 ^{**}	0.635 ^{**}	0.705 ^{**}	0.714 ^{**}	0.738 ^{**}	0.770 ^{**}	0.586 ^{**}			0.342		
Black pine plantations	0.218 [#]	0.355 [#]	0.313	0.407 [*]	0.505 ^{**}	0.459 [*]	0.512 ^{**}	0.507 ^{**}	0.567 ^{**}	0.607 ^{**}	0.621 ^{**}	0.480 [*]			0.073		
NF 天然次生林	0.010 [#]	0.236 [#]	0.169	0.216	0.329	0.256	0.380	0.333	0.473 [*]	0.515 ^{**}	0.666 ^{**}	0.785 ^{**}			-0.161		
	0.021 [#]	0.193	0.266	0.310	0.380 [*]	0.300	0.320	0.237	0.188 [#]	0.251	0.078	-0.038 [#]			0.342		
Natural secondary forests	0.126 [#]	0.388 [*]	0.444 [*]	0.446 [*]	0.381 [*]	0.550 ^{**}	0.458 [*]	0.537 ^{**}	0.559 ^{**}	0.623 ^{**}	0.717 ^{**}	0.499 ^{**}			0.200		
栓皮栎人工林	0.281 [#]	0.266	0.191	0.203	0.175	0.315	0.255	0.401 [*]	0.285 [#]	0.409 [*]	0.596 ^{**}	0.467 ^{**}			0.005		
	-0.292 [#]	0.159 [#]	0.265 [#]	0.151 [#]	0.326	0.357	0.357	0.344	0.338	0.311	0.385	0.287 [#]			0.327 [#]		
Oriental oak plantations	-0.154 [#]	0.298 [#]	0.542 ^{**}	0.432 [*]	0.645 ^{**}	0.652 ^{**}	0.672 ^{**}	0.680 ^{**}	0.737 ^{**}	0.723 ^{**}	0.847 ^{**}	0.635 ^{**}			0.388 [#]		
	-0.172 [#]	0.346 [#]	0.510 ^{**}	0.418 [*]	0.408 [*]	0.480 [*]	0.453 [*]	0.391	0.350	0.314	0.244	0.332 [#]			0.511 ^{**}		
	-0.034 [#]	0.358 [#]	0.606 ^{**}	0.558 ^{**}	0.627 ^{**}	0.680 ^{**}	0.713 ^{**}	0.680 ^{**}	0.660 ^{**}	0.680 ^{**}	0.768 ^{**}	0.623 ^{**}			0.507 ^{**}		

$V_{\max}$: 最大反应速度; K_m : 半饱和常数; $V_{\max}/K_m$: 催化效率; Catalytic efficiency; *: <0.05; **: <0.01; # 正态数据采用 Pearson 相关, * 不正态数据采用 Spearman 秩相关

能是因为 NI 处理显著降低全磷^[15]。而当底物可利用性低时,为保持相同的酶催化速率,微生物能增加酶与底物亲和力^[19, 33]。可见 NI 处理会降低暖温带针叶林土壤酸性磷酸酶活性,且降低效应随土壤磷供应水平的增加而更明显。

有研究表明,我国陆地生态系统中叶的氮、磷含量大于根^[27],但也有研究表明根系是土壤酸性磷酸酶的主要驱动因素,而非凋落物^[10]。这是因为相较于地上凋落物,根系分泌物(主要包括糖、氨基酸和有机酸)是土壤中最不稳定的碳^[37],更易被微生物利用,增加微生物酸性磷酸酶产生,且根系能调节酶对底物亲和力^[35]。本研究表明,根系对暖温带森林土壤有机磷转化能力的影响大于凋落物。

与 CT 相比,在三种森林恢复方式下改变凋落物和根系输入均未显著影响酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ 。类似地,同时去除林下植被和凋落物未显著影响酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ ^[38]。这可能是因为,一方面,酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 和 K_m 正相关^[17, 19], $V_{\max}$ 和 K_m 同时增加或减少使酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ 保持不变^[35]。另一方面,酸性磷酸酶 $V_{\max}/K_m$ 受土壤总磷含量、pH 值、相对磷限制^[21] 和有机碳^[19] 的影响,改变凋落物和根系输入引起的土壤碳、磷和 pH 值变化量不足以改变 $V_{\max}/K_m$ 。综上, $V_{\max}/K_m$ 保持稳定,这表明改变凋落物和根系输入后,土壤微生物可能主要集中于维持 $V_{\max}/K_m$,即在获得酸性磷酸酶产生的效益和投资之间保持平衡^[38]。

3.2 凋落物和根系对不同森林恢复方式土壤磷酸酶动力学特征的影响途径

本研究在中等底物浓度时,酸性磷酸酶活性与速效磷含量显著相关,而在低或高底物浓度时相关不显著。这表明酸性磷酸酶活性受土壤速效磷含量的反馈调节。这可能是因为当底物浓度适中时,土壤速效磷含量主要受酸性磷酸酶活性的影响;而在低或高底物浓度时速效磷含量受酸性磷酸酶活性的影响较小,受土壤水分、小分子有机酸、微生物量磷和铵态氮的影响^[39] 较大。酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 与速效磷含量显著正相关,这与温带针阔混交林和亚热带杉木人工林^[19] 的研究结果相似。酸性磷酸酶基因 *phoC* 丰度与速效磷含量正相关^[20]。本研究表明土壤酸性磷酸酶活性受速效磷含量的反馈调节,这深化了对酸性磷酸酶动力学特征与速效磷含量关系的认识。

酸性磷酸活性与土壤含水量显著正相关^[40]。本研究发现,含水量与黑松人工林、天然次生林的酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 和 K_m 显著正相关。一方面,土壤含水量能强烈耦合土壤养分和微生物代谢,是微生物磷代谢限制的主要驱动力^[41],低土壤含水量会降低酸性磷酸酶活性^[42],降低底物扩散速率,抑制微生物代谢活性从而减少酸性磷酸酶的产生^[43]。另一方面,土壤含水量是影响细菌磷酸酶基因多样性的主要因素,含水量降低会对矿化有机磷微生物群落产生强烈选择压力^[44]。

改变凋落物和根系输入对酸性磷酸酶活性的影响受土壤氮含量的驱动^[36]。亦有研究表明,全氮与酸性磷酸酶 $V_{\max}$ 和 $V_{\max}/K_m$ 正相关^[17, 38]。这是因为一方面,温带陆地森林生态系统受氮限制^[45];另一方面,酸性磷酸酶是高氮需求酶^[46],受有效氮限制^[47]。高氮供应可以通过将微生物化学计量需求从氮转移到磷进而增加酸性磷酸酶活性^[21]。本研究表明,土壤氮可利用性在不同森林恢复方式土壤有机磷转化功能上具有重要作用。

4 结论

通过对沂蒙山区三种森林恢复方式(引进种黑松人工林、本地种栓皮栎人工林和天然次生林)的研究,本文认为双倍凋落物提高土壤酸性磷酸酶活性和 $V_{\max}$,而去除凋落物、去除根系和无输入降低酸性磷酸酶活性和 $V_{\max}$ 。根系对土壤有机磷转化的影响大于凋落物。土壤氮可利用性和含水量是酸性磷酸酶活性的主要驱动因素。引进种黑松人工林的有机磷转化对凋落物和根系输入最敏感,天然次生林次之,本地种栓皮栎人工林最稳定。该结果可为暖温带森林恢复,应对气候变化和森林管理提供理论依据。

参考文献 (References):

- [1] Houlton B Z, Wang Y P, Vitousek P M, Field C B. A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. *Nature*, 2008, 454:

327-330.

- [2] Dieleman W I J, Vicca S, Dijkstra F A, Hagedorn F, Hovenden M J, Larsen K S, Morgan J A, Volder A, Beier C, Dukes J S, King J, Leuzinger S, Linder S, Luo Y Q, Oren R, De Angelis P, Tingey D, Hoosbeek M R, Janssens I A. Simple additive effects are rare: a quantitative review of plant biomass and soil process responses to combined manipulations of CO₂ and temperature. *Global Change Biology*, 2012, 18(9): 2681-2693.
- [3] Kwatcho Kengdo S, Peršoh D, Schindlbacher A, Heinze J, Tian Y, Wanek W, Borken W. Long-term soil warming alters fine root dynamics and morphology, and their ectomycorrhizal fungal community in a temperate forest soil. *Global Change Biology*, 2022, 28(10): 3441-3458.
- [4] Deng L, Peng C H, Kim D G, Li J W, Liu Y L, Hai X Y, Liu Q Y, Huang C B, Shangguan Z P, Kuzyakov Y. Drought effects on soil carbon and nitrogen dynamics in global natural ecosystems. *Earth-Science Reviews*, 2021, 214: 103501.
- [5] Lajtha K, Bowden R D, Crow S, Fekete I, Kotrocó Z, Plante A, Simpson M J, Nadelhoffer K J. The detrital input and removal treatment (DIRT) network: insights into soil carbon stabilization. *Science of the Total Environment*, 2018, 640/641: 1112-1120.
- [6] 王清奎. 碳输入方式对森林土壤碳库和碳循环的影响研究进展. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1075-1081.
- [7] Liu R, Zhang Y, Hu X F, Wan S Z, Wang H M, Liang C, Chen F S. Litter manipulation effects on microbial communities and enzymatic activities vary with soil depth in a subtropical Chinese fir plantation. *Forest Ecology and Management*, 2021, 480: 118641.
- [8] Zhao Q, Classen A T, Wang W W, Zhao X R, Mao B, Zeng D H. Asymmetric effects of litter removal and litter addition on the structure and function of soil microbial communities in a managed pine forest. *Plant and Soil*, 2017, 414(1): 81-93.
- [9] Lyu M K, Li X J, Xie J S, Homyak P M, Ukonmaanaho L, Yang Z J, Liu X F, Ruan C Y, Yang Y S. Root-microbial interaction accelerates soil nitrogen depletion but not soil carbon after increasing litter inputs to a coniferous forest. *Plant and Soil*, 2019, 444(1): 153-164.
- [10] Kotrocó Z, Veres Z, Fekete I, Krakomperger Z, Tóth J A, Lajtha K, Tóthmérész B. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 237-243.
- [11] 张磊, 贾淑娴, 李啸灵, 陆宇明, 林伟盛, 郭剑芬. 亚热带米槠天然林凋落物和根系输入变化对土壤磷组分的影响. *生态学报*, 2022, 42(2): 656-666.
- [12] 刘珊杉, 周文君, 况露辉, 刘占锋, 宋清海, 刘运通, 张一平, 鲁志云, 沙丽清. 亚热带常绿阔叶林土壤胞外酶活性对碳输入变化及增温的响应. *植物生态学报*, 2020, 44(12): 1262-1272.
- [13] Martins N P, Fuchslueger L, Fleischer K, Andersen K M, Assis R L, Baccaro F B, Camargo P B, Cordeiro A L, Grandis A, Hartley I P, Hofhansl F, Lugli L F, Lapola D M, Menezes J G, Norby R J, Rammig A, Rosa J S, Schaap K J, Takeshi B, Valverde-Barrantes O J, Quesada C A. Fine roots stimulate nutrient release during early stages of leaf litter decomposition in a Central Amazon rainforest. *Plant and Soil*, 2021, 469(1): 287-303.
- [14] 李秋梅, 黎胜杰, 王欣丽, 刘波, 张广娜, 张弛, 高远, 梅鹤平, 王芸. 改变碳输入对沂蒙山区典型次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响. *生态学报*, 2021, 41(10): 4110-4119.
- [15] Feng J G, He K Y, Zhang Q F, Han M G, Zhu B. Changes in plant inputs alter soil carbon and microbial communities in forest ecosystems. *Global Change Biology*, 2022, 28(10): 3426-3440.
- [16] Nannipieri P, Gianfreda L. Kinetics of enzyme reactions in soil environments. // Buffle J, Van Leeuwen H P. Structure and surface reactions of soil particles. New York: John Wiley & Sons, 1998: 449-479.
- [17] Tischer A, Blagodatskaya E, Hamer U. Microbial community structure and resource availability drive the catalytic efficiency of soil enzymes under land-use change conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 89: 226-237.
- [18] Allison S D, Wallenstein M D, Bradford M A. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nature Geoscience*, 2010, 3(5): 336-340.
- [19] Zhang X Y, Yang Y, Zhang C, Niu S L, Yang H, Yu G R, Wang H M, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y, Tian D S, Tang Y Q, Liu S, Sun X M. Contrasting responses of phosphatase kinetic parameters to nitrogen and phosphorus additions in forest soils. *Functional Ecology*, 2018, 32(1): 106-116.
- [20] Liu S, Zhang X Y, Pan J X, Ma Z Q. Differences in available phosphorus in temperate and subtropical forest soils. *Applied Soil Ecology*, 2023, 187: 104849.
- [21] Peng Z Y, Wu Y T, Guo L L, Yang L, Wang B, Wang X, Liu W X, Su Y J, Wu J, Liu L L. Foliar nutrient resorption stoichiometry and microbial phosphatase catalytic efficiency together alleviate the relative phosphorus limitation in forest ecosystems. *The New Phytologist*, 2023, 238(3): 1033-1044.
- [22] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [23] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1387-1397.

- [24] Sparks D L, Page A L, Helmke P A, Loeppert R H, Soltanpour P N, Tabatabai M A, Johnston C T, Sumner M E. Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods. Wisconsin: Soil Science Society of America, 2009.
- [25] Pierzynski G M. Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters. Raleigh: North Carolina State University, 2000: 396-396.
- [26] Norman R J, Edberg J C, Stucki J W. Determination of nitrate in soil extracts by dual-wavelength ultraviolet spectrophotometry. Soil Science Society of America Journal, 1985, 49(5): 1182-1185.
- [27] Tang Z Y, Xu W T, Zhou G Y, Bai Y F, Li J X, Tang X L, Chen D M, Liu Q, Ma W H, Xiong G M, He H L, He N P, Guo Y P, Guo Q, Zhu J L, Han W X, Hu H F, Fang J Y, Xie Z Q. Patterns of plant carbon, nitrogen, and phosphorus concentration in relation to productivity in China's terrestrial ecosystems. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(16): 4033-4038.
- [28] Kalbitz K, Schwesig D, Schmerwitz J, Kaiser K, Haumaier L, Glaser B, Ellerbrock R, Leinweber P. Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(8): 1129-1142.
- [29] Castañeda-Gómez L, Lajtha K, Bowden R, Mohammed Jauhar F N, Jia J, Feng X J, Simpson M J. Soil organic matter molecular composition with long-term detrital alterations is controlled by site-specific forest properties. Global Change Biology, 2023, 29(1): 243-259.
- [30] Craig M E, Geyer K M, Beidler K V, Brzostek E R, Frey S D, Stuart Grandy A, Liang C, Phillips R P. Fast-decaying plant litter enhances soil carbon in temperate forests but not through microbial physiological traits. Nature Communications, 2022, 13(1): 1229.
- [31] Guo X W, Luo Z K, Sun O J. Long-term litter type treatments alter soil carbon composition but not microbial carbon utilization in a mixed pine-oak forest. Biogeochemistry, 2021, 152(2): 327-343.
- [32] 刘瑶, 焦泽彬, 谭波, 李晗, 王丽霞, 刘思凝, 游成铭, 徐振锋, 张丽. 川西亚高山森林凋落物去除对土壤腐殖质动态的影响. 植物生态学报, 2022, 46(3): 330-339.
- [33] Tan X P, Nie Y X, Ma X M, Guo Z M, Liu Y, Tian H X, Megharaj M, Shen W J, He W X. Soil chemical properties rather than the abundance of active and potentially active microorganisms control soil enzyme kinetics. Science of the Total Environment, 2021, 770: 144500.
- [34] Richardson A E, Barea J M, McNeill A M, Prigent-Combaret C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant and Soil, 2009, 321(1): 305-339.
- [35] Tian P, Razavi B S, Zhang X C, Wang Q K, Blagodatskaya E. Microbial growth and enzyme kinetics in rhizosphere hotspots are modulated by soil organics and nutrient availability. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107662.
- [36] Ai L, Wu F Z, Fan X B, Yang Y, Zhang Y, Zheng X P, Zhu J J, Ni X Y. Different effects of litter and root inputs on soil enzyme activities in terrestrial ecosystems. Applied Soil Ecology, 2023, 183: 104764.
- [37] Williams A, de Vries F T. Plant root exudation under drought: implications for ecosystem functioning. The New Phytologist, 2020, 225(5): 1899-1905.
- [38] Yang Y, Zhang X Y, Wang H M, Fu X L, Wen X F, Zhang C, Chen F S, Wan S Z. How understory vegetation affects the catalytic properties of soil extracellular hydrolases in a Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) forest. European Journal of Soil Biology, 2019, 90: 15-21.
- [39] Zhu H, Bing H J, Wu Y H, Sun H Y, Zhou J. Low molecular weight organic acids regulate soil phosphorus availability in the soils of subalpine forests, eastern Tibetan Plateau. Catena, 2021, 203: 105328.
- [40] Keller N, Bol R, Herre M, Marschner B, Heinze S. Catchment scale spatial distribution of soil enzyme activities in a mountainous German coniferous forest. Soil Biology and Biochemistry, 2023, 177: 108885.
- [41] Cui Y X, Wang X, Zhang X C, Ju W L, Duan C J, Guo X B, Wang Y Q, Fang L C. Soil moisture mediates microbial carbon and phosphorus metabolism during vegetation succession in a semiarid region. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 147: 107814.
- [42] Margalef O, Sardans J, Maspons J, Molowny-Horas R, Fernández-Martínez M, Janssens I A, Richter A, Ciais P, Obersteiner M, Peñuelas J. The effect of global change on soil phosphatase activity. Global Change Biology, 2021, 27(22): 5989-6003.
- [43] Brockett B F T, Prescott C E, Grayston S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 44(1): 9-20.
- [44] Chen X D, Condon L M, Dunfield K E, Wakelin S A, Chen L J. Impact of grassland afforestation with contrasting tree species on soil phosphorus fractions and alkaline phosphatase gene communities. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 159: 108274.
- [45] Zeng W J, Zhang J Y, Wang W. Strong root respiration response to nitrogen and phosphorus addition in nitrogen-limited temperate forests. Science of the Total Environment, 2018, 642: 646-655.
- [46] Treseder K K, Vitousek P M. Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition of N and P in Hawaiian rain forests. Ecology, 2001, 82(4): 946-954.
- [47] 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.