

DOI: 10.20103/j.stxb.202401160141

元晓春, 谢欢, 柏欣宇, 曾泉鑫, 张晓晴, 任梦潇, 陈岳民, 曾佳宏, 林开森. 短期氮添加对罗浮栲林根际和非根际土壤生物有效磷的影响. 生态学报, 2024, 44(17): 7817-7829.

Yuan X C, Xie H, Bai X Y, Zeng Q X, Zhang X Q, Ren M X, Chen Y M, Zeng J H, Lin K M. Effects of short-term nitrogen addition on bioavailable phosphorus in rhizosphere and bulk soils of a *Castanopsis fabri* forest. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(17): 7817-7829.

短期氮添加对罗浮栲林根际和非根际土壤生物有效磷的影响

元晓春^{1, 2}, 谢欢², 柏欣宇², 曾泉鑫², 张晓晴², 任梦潇², 陈岳民², 曾佳宏³, 林开森^{1, *}

1 武夷学院旅游学院, 武夷山 354300

2 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007

3 武夷山大千茶叶有限公司, 武夷山 354300

摘要: 氮沉降通常会加剧土壤磷限制, 微生物和植物将采取策略抵消这种负面影响。然而, 氮添加下土壤微生物和/或植物如何影响土壤生物有效磷尚不明确。基于野外氮添加实验, 测定了生长季(4月)和非生长季(10月)罗浮栲林根际和非根际土壤理化性质, 微生物生物量, 磷酸酶活性以及根系形态和养分, 并通过生物学方法量化了四种形式的生物有效磷, 包括氯化钙-磷(CaCl₂-P), 柠檬酸-磷(CA-P), 盐酸-磷(HCl-P)和酶-磷(Enz-P)。研究表明, 非生长季大多数生物有效磷表现为根际含量高于非根际, 而生长季根际土壤 CaCl₂-P 和 CA-P 含量显著低于非根际土壤。氮添加显著增加了生长季非根际土壤 CA-P 含量, 同时显著降低了非生长季根际土壤 CaCl₂-P 和 Enz-P 含量和显著增加了非生长季根际土壤 HCl-P 含量, 但两个季节的总生物有效磷含量均保持不变。两个季节中, 氮添加下植物细根比根长、比表面积和组织密度均存在不同程度的降低, 但菌根感染率显著增加, 这说明氮添加下植物倾向于通过与菌根真菌合作而非改变根系形态来截留土壤中可直接获取的有效磷。从非生长季生物有效磷含量的动态来看, 氮添加下植物根系和/或微生物通过释放质子活化矿质结合态无机磷对维持罗浮栲林土壤生物磷至关重要。总之, 短期氮添加下维持了土壤有效磷的潜在供应。研究有助于进一步理解微生物和植物对低磷亚热带地区氮负荷的适应机制, 可为制定缓解土壤磷限制的可持续策略提供理论依据。

关键词: 生物有效磷; 根际和非根际土壤; 磷酸酶活性; 根系形态; 氮沉降

Effects of short-term nitrogen addition on bioavailable phosphorus in rhizosphere and bulk soils of a *Castanopsis fabri* forest

YUAN Xiaochun^{1, 2}, XIE Huan², BAI Xinyu², ZENG Quanxin², ZHANG Xiaoqing², REN Mengxiao², CHEN Yuehmin², Zeng Jiahong³, LIN Kaimiao^{1, *}

1 College of Tourism, Wuyi University, Wuyishan 354300, China

2 School of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

3 Mount Wuyi Daqian Tea Corporation, Wuyishan 354300, China

Abstract: Nitrogen deposition usually exacerbates soil phosphorus limitation, and microorganisms and plants will adopt strategies to offset this negative impact. However, it is unclear how soil microorganisms and/or plants affect soil bioavailable phosphorus under nitrogen addition. Based on field nitrogen addition experiments, this study determined physicochemical

基金项目: 国家自然科学基金项目(32201532, 32371846); 武夷学院引进人才科研启动项目(YJ202403); 安徽省高校自然科学基金项目(2023AH051667)

收稿日期: 2024-01-16; **网络出版日期:** 2024-06-26

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

properties, microbial biomass and phosphatase activities of rhizosphere and bulk soils, and root morphology and nutrients during growing season (April) and non-growing season (October) in *Castanopsis fabri* forest. We quantified four forms of bioavailable phosphorus through biological methods, including calcium chloride phosphorus ($\text{CaCl}_2\text{-P}$), citric acid phosphorus (CA-P), hydrochloric acid phosphorus (HCl-P), and enzyme phosphorus (Enz-P). The results showed that contents of most bioavailable phosphorus in rhizosphere soils were higher than those in bulk soils during growing season, and contents of $\text{CaCl}_2\text{-P}$ and CA-P in rhizosphere soils were significantly lower than those in bulk soils during non-growing season. Nitrogen addition significantly increased CA-P contents in bulk soils during growing season, while significantly reducing $\text{CaCl}_2\text{-P}$ and Enz-P contents and significantly increasing HCl-P content in rhizosphere soils during non-growing season. However, the total bioavailable phosphorus content remained unchanged under nitrogen addition in the two seasons. In the two seasons, nitrogen addition resulted in varying degrees of reduction in root length, specific surface area, and tissue density of plant fine roots. However, a significant increase in mycorrhizal infection rate was observed, indicating that plants tended to intercept soil available phosphorus through cooperation with mycorrhizal fungi rather than changing root morphology under nitrogen addition. Additionally, no significant change in soil microbial biomass and phosphatase activity was found under nitrogen addition. From dynamics of bioavailable phosphorus content in non-growing season, it can be seen that plant roots and/or microorganisms activate mineral bound inorganic phosphorus by releasing protons under nitrogen addition, which is crucial for maintaining soil bioavailable phosphorus in *Castanopsis fabri* forest. It is worth noting that a higher response of bioavailable phosphorus to nitrogen addition was found in rhizosphere soil. Therefore, focusing solely on the dynamics of phosphorus availability in bulk soil may underestimate the impact of nitrogen addition on soil phosphorus availability. Overall, the short-term nitrogen addition maintained the potential supply of soil available phosphorus. This study helps to further understand adaptation mechanisms of microorganisms and plants to nitrogen load in low phosphorus subtropical regions, and provides a theoretical basis for the development of sustainable strategies to alleviate soil phosphorus limitation.

Key Words: bioavailable phosphorus; rhizosphere and bulk soils; phosphatase activities; root morphology; nitrogen deposition

磷是微生物和植物生长不可或缺的养分^[1]。土壤磷有效性是森林生产力的主要限制因素^[2],特别是在高度风化的热带和亚热带土壤中,因为土壤中的大部分磷被铁、铝氧化物吸附^[3]。因此,如何维持土壤磷有效性是森林生态系统管理的一大难题。作为最大的发展中国家,中国自 1990 年来,经历了氮沉降的快速增长^[4]。近年来,中国氮沉降总体上趋于稳定,但我国东南地区经济发达,工业和农业活动不断发展,氮沉降仍处于较高水平^[4]。氮沉降通过提高植物的生物量生产、引发土壤酸化,进一步加剧生态系统的磷限制^[5-6]。然而,微生物和植物会采用不同的磷获取策略,以抵消氮沉降的负面影响^[7]。例如,为满足自身的磷需求,氮添加下微生物可以刺激磷酸酶的释放,以促进土壤有机磷矿化^[8]。植物会改变根系形态特征(如比根长,比表面积),或促进与菌根真菌形成共生关系以增加磷的获取^[5]。然而,氮添加下土壤有效磷的供应能否被维持仍然缺乏共识。

基于 Hedley 连续浸提等化学方法,目前多数研究发现,氮添加能刺激非根际土壤次生矿物磷的解吸附^[9],加速闭蓄态磷的溶解^[10],降低不稳定无机磷、中等不稳定无机磷和不稳定有机磷的含量^[11]。尽管有这些认识,但氮添加下土壤微生物和/或植物采用哪些关键策略影响土壤生物有效磷尚不明确。土壤微生物和/或植物获取磷的主要过程可以概括为以下四种:(1)通过根系形态改变或菌根的形成导致可溶性无机磷的截留和扩散^[12];(2)有机酸络合和溶解吸附在粘土颗粒上的无机磷或与铁(Fe)或/和铝(Al)结合较弱的活性无机磷^[13];(3)植物根系和土壤微生物释放质子($\text{H}^+/\text{H}^-/\text{HCO}_3^-$)影响矿质结合态无机磷^[14];(4)磷酸酶和植酸酶矿化不稳定的有机磷^[15]。为模拟上述四种生物过程,DeLuca 等^[16]基于生物学的方法将有效磷库划分为四

种生物有效磷,即氯化钙-磷($\text{CaCl}_2\text{-P}$),柠檬酸-磷(CA-P),盐酸-磷(HCl-P)和酶-磷(Enz-P),分别对应上述四种途径所释放的生物有效磷。相比于 Hedley 连续浸提等化学方法,该方法可以更好地探究微生物和植物根系的磷利用策略^[16]。

根际是土壤-植物根系-微生物生态系统物质和能量交换的活跃区域,其土壤养分循环速度比非根际土壤快 2 倍^[17]。随着氮沉降的加剧,根际土壤过程对于准确预测养分循环过程变化可能比非根际土壤过程更重要^[18],然而,当前研究主要集中于探究氮添加对非根际磷循环的影响。例如,高氮添加增加了青藏高原东部贡嘎山冷杉林非根际土壤有效磷,主要归因于氮添加刺激了植物对磷的需求^[19]。此外,生长季和非生长季土壤中有有效养分含量不同^[20],氮添加对生物有效磷的影响可能存在季节差异。前期团队研究发现,氮添加显著降低雨季不稳定磷和有机磷的含量,而显著增加旱季无机磷含量,这主要与不同季节下土壤酸性磷酸酶和细根磷含量有关^[20]。为此,本研究以戴云山罗浮栲为研究对象,通过测定土壤理化性质、微生物生物量、磷酸酶、植物细根形态和菌根特征,并量化四种形式的生物有效磷,旨在探讨(1)不同季节根际和非根际土壤生物有效磷对氮添加的响应;(2)氮添加下影响罗浮栲林土壤生物有效磷的关键途径是什么?

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于福建省泉州市德化县戴云山自然保护区($25^{\circ}38'07''\text{--}25^{\circ}43'40''\text{N}$, $118^{\circ}05'22''\text{--}118^{\circ}20'15''\text{E}$),该地年均温为 $15.6\text{--}19.5^{\circ}\text{C}$,年均降水为 $1700\text{--}2000\text{ mm}$,属于典型的亚热带海洋性季风气候。样地优势树种为罗浮栲,主要林下植被包括深山含笑(*Michelia maudiae*)、乌药(*Lindera aggregata*)、木荷(*Schima superba*)等,土壤类型为山地黄红壤^[21]。

1.2 试验设计与取样

在罗浮栲林布设 12 块大小为 $10\text{ m}\times 10\text{ m}$ 的样方,各样方间隔 2 m 作为缓冲带。按照随机区组法,设置三种氮添加处理:对照($0\text{ kg N hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$)、低氮($40\text{ kg N hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$)、高氮($80\text{ kg N hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$),每个处理设置 4 个重复。取根际和非根际土壤,包括根际对照(RCT),根际低氮(RLN),根际高氮(RHN)以及非根际土壤的对照(CT),低氮(LN)和高氮(HN)六种处理。试验区从 2020 年 5 月开始通过添加尿素模拟野外氮沉降,氮添加时间为每年 3—9 月,每月进行一次。具体样地设计及氮添加方法参照先前的方法^[21]。

于 2021 年生长季(4 月)和非生长季(10 月)采集根际和非根际土壤样品。即,按照五点取样法,在每个样方各取五个包含罗浮栲根系的土块,土块大小约为 $50\text{ cm}\times 50\text{ cm}$ 。通过轻轻抖动根系,将根际土壤(附着根系的土壤)和非根际土壤(非附着土壤)分开。通过无菌刷从根系表面收集根际土壤,同时收集土壤根系。另外,将同一样方收集的根际土壤和非根际土壤分别混合成一个样品,放入保温箱带回实验室处理。将土壤样本分为两部分,一部分过 2 mm 筛后的鲜土保存在 4°C 冰箱,用于测定土壤矿质氮,微生物生物量和酶活性和生物有效磷;另一部分为过筛后的自然风干土,用于测定除矿质氮外的其他土壤理化性质。将收集的根系用蒸馏水冲洗多次后,剔除林下植被根系后分为两部分。一部分用于根系形态和养分的测定,另一部分用于菌根感染率的测定。

1.3 测定项目与方法

土壤理化性质测定:采用玻璃电极 pH 计(Starter 300, Ohaus, 美国)测定土壤 pH(水土比为 2.5:1)。采用碳氮元素分析仪(Elementar Vario EL III, Elementar, 德国)测定土壤总碳(TC)和总氮(TN)。采用 2 mol/L 的 KCl 浸提矿质氮(MN),采用连续流动分析仪(Skalar san⁺⁺, Skalar, 荷兰)分别测定提取液中的铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)浓度^[22],MN 为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 之和。采用浓硫酸和硝酸消解法^[23]浸提土壤总磷(TP),采用灼烧法^[23]通过 0.2 mol/L 的硫酸溶液浸提土壤有机磷(OP),TP 和 OP 均采用连续流动分析仪测定。土壤无机磷(IP)为 TP 减 OP 的差值。通过 BaCl_2 溶液浸提土壤中交换性 $\text{Fe}^{2+/3+}$ 、 Al^{3+} ^[24],并采用 ICP-OES (Optima8000, PerkinElmer, 美国)测定。

土壤微生物生物量和磷酸酶活性测定:参照 Vance 等^[25]的提取微生物生物量碳(MBC)和微生物生物量氮(MBN),采用总有机碳分析仪和连续流动分析仪分别测定提取液中的总有机碳和总氮。参照 Brookes 等^[26]的氯仿熏蒸-NaHCO₃浸提法提取微生物生物量磷(MBP),用连续流动分析仪测定提取液中的磷酸盐。MBC 和 MBN 含量分别为熏蒸与未熏蒸土壤总有机碳和总氮含量的差值除以浸提系数。MBP 含量为熏蒸与未熏蒸土壤磷酸盐含量的差值除以磷回收率再除以浸提系数。MBC、MBN 和 MBP 浸提系数分别为 0.45、0.54 和 0.40^[27]。参照 Saiya-Cork 等^[28]的方法提取酸性磷酸单酯酶(ACP);参照 Tian 等^[29]的方法提取碱性磷酸酶(ALP)和酸性磷酸双酯酶(PD)。具体流程为:取 1 g 新鲜土壤,加入 50 mmol/L 的缓冲液提取。用磁力搅拌器搅拌 5 min 后静置 30 min,取 200 μ L 上清液于 96 孔微孔板。往微孔板加入底物后置于 20 $^{\circ}$ C 恒温培养 4 h,最终待测液的酶活性采用多功能酶标仪(SpectraMaxM5, Molecular Devices, 美国)测定。将 1 min 能转化 1 μ mol 的酶量定义为一个酶活性单位。ACP、ALP 和 PD 提取时所用的缓冲液分别为 125 mL 醋酸盐、125 mL 碳酸氢钠和 100 mL THAM 硫酸溶液。ACP 和 ALP 使用的底物为 4-甲基伞形酮磷酸酯(MUP),PD 使用的底物为 bis-4-甲基伞形酮磷酸酯。

根系形态和养分及菌根侵染率测定:利用数字化扫描仪(Epson, Nagano-ken, 日本)对活细根样品(≤ 2 mm)进行扫描,并使用根系分析系统 WinRHIZO(Pro2009b)软件(Régent Instruments, Quebec City, 加拿大)测定细根直径(RD)、总细根长、细根体积和细根表面积。将所有被扫描的细根在 65 $^{\circ}$ C 下烘干至质量恒定并称重,获得总细根干重。细根比根长(SRL)和比表面积(SRA)分别为总细根长,细根表面积除以总细根干重的所得值。细根组织密度(RTD)为细根生物量除以细根体积的所得值。使用球磨仪将烘干的细根进行研磨,采用元素分析仪测定细根总碳(RTC)和总氮(RTN)含量,用 HClO₄-H₂SO₄ 消解后通过连续流动分析仪测定细根总磷(RTP)含量。菌根侵染率采用酸性品红—显微镜观察法测定^[30]。

土壤生物有效磷的测定:采用 Deluca 等^[16]的方法提取四种生物有效磷,包括氯化钙-磷(CaCl₂-P),柠檬酸-磷(CA-P),盐酸-磷(HCl-P)和酶-磷(Enz-P),分别对应根系截留,有机酸螯合、质子释放和酶分解四种过程。具体操作为:称取 0.5 g 鲜土加入 10 mL 的提取液,装入 15 mL 离心管 25 $^{\circ}$ C 恒温震荡 3 h(180 r/min),离心后吸取上清液待测。CaCl₂-P, CA-P 和 HCl-P 的提取液分别为 0.01 mol/L 氯化钙溶液,10 mmol/L 柠檬酸溶液,1 mol/L 盐酸溶液。Enz-P 的提取在 Deluca 等提取方法上有部分改进,提取液为每毫升 0.02 内毒素单位的酶溶液。该溶液是酸性磷酸酶(Sigma P3627; Enzyme Commission Number 232-630-9)、碱性磷酸酶(Sigma P5931; Enzyme Commission Number 3.1.3.1)和植酸酶(Sigma P1259; Enzyme Commission Number 3.1.3.26)的混合液。其中,植酸酶在使用前利用透析袋在 4 $^{\circ}$ C 环境下透析 5 d 以排除植酸酶本身所含磷量。在酶溶液中加入氯化镁(0.08 mmol/L)作为反应前的激活剂^[31]。待测液通过连续流动分析仪测定磷酸盐浓度,分别计算四种生物有效磷含量。其中,总生物有效磷(TBP)为四种生物有效磷含量之和。

1.4 数据处理

采用 Excel 2021 和 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。通过单因素方差分析检验土壤理化性质,微生物生物量和酶活性以及生物有效磷在同一季节根际和非根际土壤不同氮添加处理间的差异显著性,以及根系形态和养分在同一季节不同氮添加处理间的差异显著性。通过三因素方差分析探究氮添加、根际和季节因素及其交互作用对除根系形态和养分外的其他指标影响的主效应。所有制图在 Origin 2018 和 Adobe Illustrator 2023 中完成,柱状图中数据为平均值 \pm 标准误, $n=4$ 。

2 结果与分析

2.1 氮添加下不同季节根际和非根际土壤的理化性质

氮添加整体对土壤 pH 存在抑制作用,但不具有统计显著性(表 1)。相比于生长季,高氮添加对非生长季土壤 TP、IP 和 OP 含量存在显著影响。例如,高氮添加显著增加非生长季非根际土壤 TP 和 IP 含量,显著降低非生长季非根际土壤 OP 含量($P<0.05$)。氮添加对 TC, TN, MN 无显著影响,但对 Fe^{2+/3+} 和 Al³⁺ 含量存在

表 1 氮添加对根际和非根际土壤化学性质的影响
Table 1 Effects of nitrogen addition on chemistry properties in rhizosphere and bulk soils

处理 Treatments	酸碱值 pH	总碳 TC/ (g/kg)	总氮 TN/ (g/kg)	矿质氮 MIN/ (mg/kg)	总磷 TP/ (mg/kg)	无机磷 IP/ (mg/kg)	有机磷 OP/ (mg/kg)	交换性铁离子 Fe ^{2+/3+} / (mg/kg)	交换性铝离子 Al ³⁺ / (mg/kg)
生长季									
Spring									
根际对照 RCT	—	97.80±15.7a	6.15±1.08ab	20.17±2.88ab	387.00±22.99b	132.00±33.14b	255.00±24.46ab	270.65±24.22ab	1682.63±38.55bc
根际低氮 RLN	—	97.15±3.85a	6.25±0.32a	15.73±1.00ab	489.00±10.86a	176.00±46.04b	313.00±39.86a	281.83±18.77ab	1738.95±50.57b
根际高氮 RHIN	—	95.99±2.51a	6.22±0.22ab	21.43±2.93a	499.50±27.12a	194.25±27.01b	305.25±18.71a	327.75±22.43a	1681.63±69.54bc
对照 CT	4.16±0.05a	81.63±11.52a	5.38±0.91ab	12.61±2.25b	461.00±14.04a	284.33±20.23a	176.67±7.66b	203.73±19.85b	1642.30±66.49bc
低氮 LN	4.12±0.04a	82.16±4.94a	5.00±0.35ab	14.01±3.08b	516.00±23.01a	289.00±24.33a	227.00±3.49b	232.38±8.69b	1948.07±9.90a
高氮 HN	4.05±0.08a	73.38±1.74a	4.40±0.18b	15.11±2.00ab	483.67±12.74a	263.92±8.62ab	219.75±14.44b	254.50±22.43b	1553.83±74.78c
非生长季									
Autumn									
根际对照 RCT	—	105.66±7.10b	6.34±0.48ab	26.29±3.71ab	560.00±20.00ab	192.00±25.63bc	368.00±39.54a	316.90±24.80ab	1759.48±52.50ab
根际低氮 RLN	—	138.77±22.03a	7.84±1.36a	31.34±2.84a	552.00±6.79ab	120.25±17.20c	431.75±21.65a	339.95±22.43ab	1872.25±75.81a
根际高氮 RHIN	—	114.01±4.99ab	6.70±0.17ab	34.02±4.71a	637.00±21.08a	239.25±21.70bc	397.75±28.39a	358.00±25.38a	1666.55±91.47ab
对照 CT	4.32±0.03a	63.69±5.94c	4.91±1.09b	16.27±3.34b	483.50±18.98b	206.13±48.83bc	277.38±37.05b	216.28±28.30b	1760.08±80.04ab
低氮 LN	4.31±0.08a	76.81±7.65bc	4.74±0.52b	18.01±1.25b	525.50±46.64b	247.50±60.39b	278.00±19.65b	263.28±22.27b	1907.25±101.72a
高氮 HN	4.20±0.04a	83.40±7.25bc	4.92±0.46b	20.21±1.34b	537.50±53.92b	383.75±56.06a	153.75±9.20c	272.13±27.10b	1541.23±110.39b
三因素方差分析									
氮添加 N	—	1.43	0.33	2.08	6.61**	3.99*	3.76*	5.34**	12.57***
Three-way ANOVA									
根际 R	—	31.23***	17.42***	29.85***	1.61	23.08***	68.43***	34.75***	0.04
季节 S	—	2.59	0.71	23.76***	24.7***	0.15	21.11***	6.49	1.06
氮添加×根际 N×R	—	0.41	0.6	0.21	1.53	0.25	2.44	0.24	2.94
氮添加×季节 N×S	—	1.62	0.36	0.87	1.73	3.25*	3.61*	0.23	0.59
根际×季节 R×S	—	5.75*	1.04	4.98*	9.69**	0.14	7.15*	0.92	0.27

TC:总碳 Total carbon; TN:总氮 Total nitrogen; TP:总磷 Total phosphorus; IP:无机磷 Inorganic phosphorus; OP:有机磷 Organic phosphorus; Fe^{2+/3+}:交换性铁离子 Exchangeable iron ion; Al³⁺:交换性铝离子 Exchangeable aluminum ion; RCT:根际对照 Rhizosphere control; RLN:根际低氮 Rhizosphere low nitrogen; RHIN:根际高氮 Rhizosphere high nitrogen; CT:对照 Control; LN:低氮 Low nitrogen; HN:高氮 High nitrogen; N:氮添加 Nitrogen addition; R:根际 Rhizosphere; S:季节 Season; N, R, S, N×R, N×S 和 R×S 分别代表氮添加、根际、季节主效应及其两两之间的交互作用。不同小写字母标注了同一季节根际和非根际土壤不同氮添加处理的差异,表中展示了三因素方差分析中主体间效应检测的 F 值,星号代表主效应或者交互作用具有显著性;*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001; 一代表缺失值

显著的正向影响 ($P < 0.05$), 其中低氮处理下生长季非根际土壤 Al^{3+} 含量显著增加 ($P < 0.05$)。此外, 季节对 MN 和 OP 存在显著影响 ($P < 0.05$), 均表现为非生长季高于生长季。除 TP, IP 和 Al^{3+} 含量外, 根际土壤 TC, TN, MN, OP, 和 $Fe^{2+/3+}$ 含量均显著高于非根际土壤 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 氮添加下不同季节根际与非根际土壤微生物生物量和磷酸酶活性

氮添加整体对土壤微生物生物量和磷酸酶活性无显著的影响 (表 2), 仅发现氮添加显著增加了生长季根际土壤 MBP 含量, 且非生长季根际和非根际土壤 PD 含量分别在低氮和高氮处理下显著增加 ($P < 0.05$, 图 1)。根际的主效应对土壤微生物生物量和 PD 含量存在显著的影响 ($P < 0.05$, 表 2)。两个季节中, 根际土壤 MBC 和 PD 含量均显著高于非根际土壤 ($P < 0.05$, 图 1)。此外, 季节仅对 MBC、MBN 和 PD 存在显著的影响 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 氮添加、根际和季节及其交互作用对土壤微生物生物量和磷酸酶活性的影响

Table 2 Effects of nitrogen addition, rhizosphere, time, and their interactions on soil microbial biomass and phosphatase activities

指标 Indices	氮添加 N	根际 R	季节 S	氮添加×根际 N×R	氮添加×季节 N×S	根际×季节 R×S
微生物生物量碳 MBC	3.39	44.48 ***	12.17 **	0.1	0.5	8.49 **
微生物生物量氮 MBN	0.75	15.75 ***	45.15 ***	0.69	1.08	5.87 *
微生物生物量磷 MBP	2.67	5.77 *	0.34	0.41	2.05	0.06
酸性磷酸单酯酶 ACP	2.69	0.2	0.27	0.44	1.9	0.07
碱性磷酸酶 ALP	1.24	2.5	0.57	1.73	5.25	4.64 *
酸性磷酸双酯酶 PD	2.02	33.44 ***	17.28 ***	1.2	5.83	1.16

MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; MBP: 微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus; ACP: 酸性磷酸单酯酶 Acid phosphate monoesterase; ALP: 碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase; PD: 酸性磷酸双酯酶 Acid phosphodiesterase

2.3 氮添加下不同季节根系形态和养分

除 RD 外, 氮添加下植物根系形态均发生了显著的变化 ($P < 0.05$, 表 3)。氮添加整体降低了根系 SRL、SRA 和 RTD, 其中低氮处理显著降低了生长季、非生长季根系的 SRL 和 SRA, 高氮处理显著降低了生长季根系的 SRL 和 RTD ($P < 0.05$)。氮添加下细根养分存在显著差异, 氮添加整体降低了生长季植物细根养分, 其中低氮处理下细根养分 RTC、RTN 和 RTP 均显著降低 ($P < 0.05$)。与生长季不同的是, 氮添加显著增加了非生长季细根的 RTC 含量, 同时导致 RTC:RTP 显著增加, 尤其在低氮处理下 ($P < 0.05$, 表 3)。此外, 两个季节中, 氮添加均显著增加了土壤菌根侵染率 ($P < 0.05$, 图 2)。

表 3 氮添加对植物细根形态和养分的影响

Table 3 Effect of nitrogen addition on the morphology and nutrients of plant fine roots

指标 Indicator	生长季 Growing season				非生长季 Non-growing season			
	对照 CT	低氮 LN	高氮 HN	P	对照 CT	低氮 LN	高氮 HN	P
比根长 SRL/(m/g)	1872.42±107.54a	1366.15±98.46b	1032.9±20.50c	<0.001	1589.57±60.10a	1049.97±50.48b	1533.88±10.87a	<0.001
比表面积 SRA/(cm ² /g)	474.98±13.94a	341.71±3.78b	426.40±42.40a	0.016	408.50±30.30a	287.65±19.21b	422.69±7.59a	0.003
直径 RD/mm	0.66±0.08b	0.87±0.06ab	1.00±0.11a	0.058	0.88±0.07a	0.89±0.03a	0.88±0.02a	0.983
组织密度 RTD/(g/cm ³)	0.11±0.02a	0.11±0.01a	0.06±0.01b	0.015	0.13±0.01a	0.14±0.01a	0.10±0.01b	0.017
根系总碳 RTC/(g/kg)	478.98±1.66a	470.29±3.67b	462.27±4.89c	<0.001	419.16±17.06b	459.67±8.49a	456.17±15.98a	0.001
根系总氮 RTN/(g/kg)	12.37±0.57a	9.62±0.43b	13.20±0.45a	<0.001	12.99±0.60b	9.46±0.73c	15.40±0.85a	<0.001
根系总磷 RTP/(g/kg)	522.00±10.30b	473.67±11.55c	627.33±26.91a	<0.001	686.25±36.73a	463.00±43.04b	678.00±34.40a	<0.001
根系总碳与根系总磷的比值 RTC:RTP	918.52±15.86a	994.12±17.09a	741.19±34.08b	<0.001	615.25±37.49b	1080.98±65.78a	706.69±23.51b	<0.001
根系总碳与根系总磷的比值 RTN:RTP	23.73±1.15a	20.36±1.16b	21.07±0.29ab	0.08	19.13±1.53a	20.84±2.21a	23.89±1.43a	0.207

SRL: 比根长 Specific root length; SRA: 比表面积 Specific root surface area; RD: 直径 Diameter; RTD: 组织密度 Root tissue density; 不同小写字母标注了同一季节不同氮添加处理的差异, $P < 0.05$ 代表氮添加处理间存在显著差异

2.4 氮添加下不同季节根际和非根际土壤生物有效磷

罗浮栲林土壤生物有效磷含量从高到低依次为 HCl-P, Enz-P, CA-P 和 $CaCl_2$ -P (图 3)。氮添加下生长季

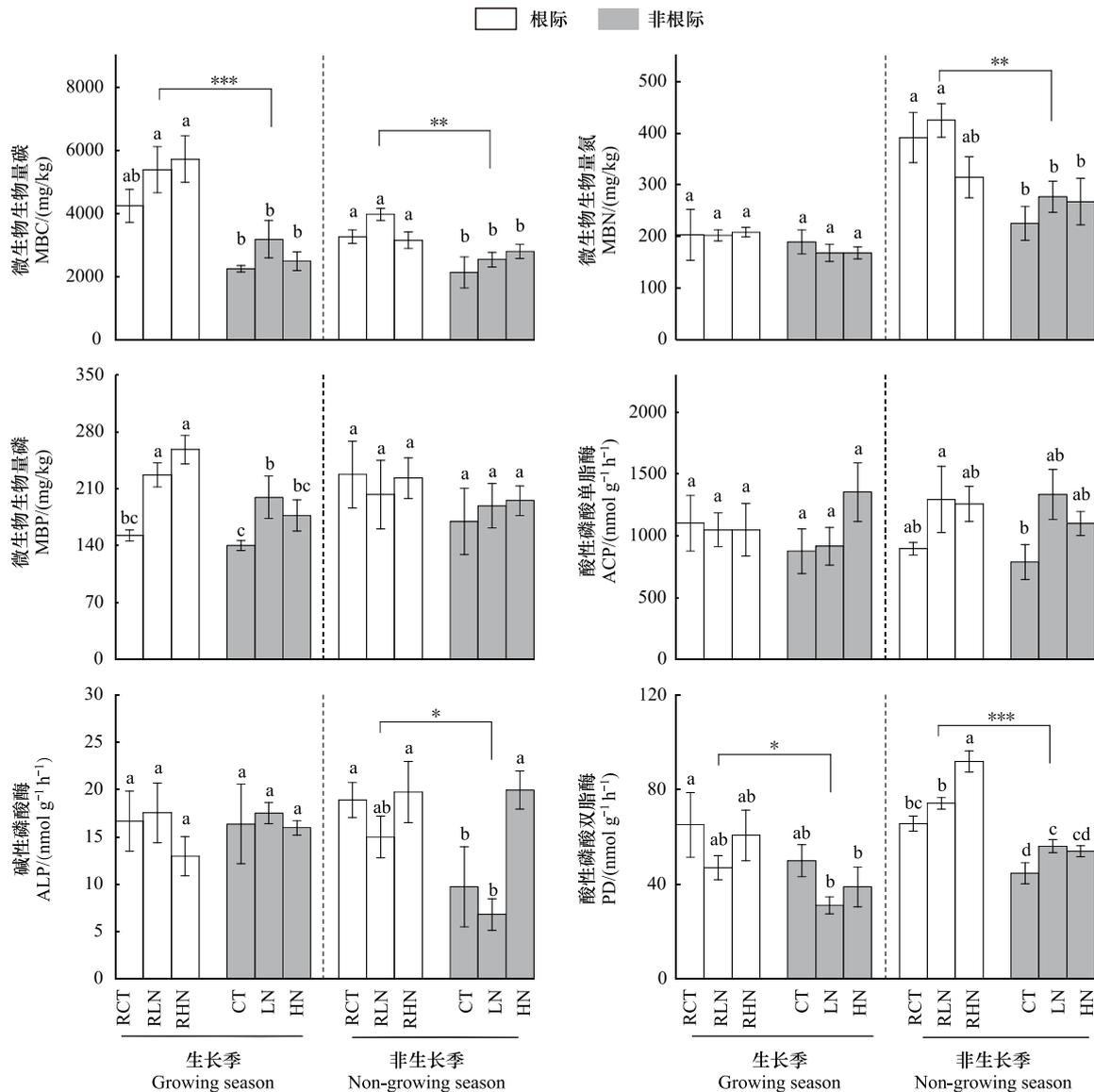


图 1 氮添加对根际和非根际土壤微生物生物量和磷酸酶活性的影响

Fig.1 Effect of nitrogen addition on microbial biomass and phosphatase activities in rhizosphere and bulk soils

MBC:微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN:微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; MBP:微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus; ACP:酸性磷酸单酯酶 Acid phosphate monoesterase; ALP:碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase; PD:酸性磷酸双酯酶 Acid phosphodiesterase; RCT:根际对照 Rhizosphere control; RLN:根际低氮 Rhizosphere low nitrogen; RHN:根际高氮 Rhizosphere high nitrogen; CT:对照 Control; LN:低氮 Low nitrogen; HN:高氮 High nitrogen; 不同小写字母标注了同一季节根际和非根际土壤不同氮添加处理的差异。星号代表不同季节根际与非根际土壤具有显著差异; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$

土壤多数生物有效磷含量(HCl-P, Enz-P 和 $\text{CaCl}_2\text{-P}$)均无显著影响,仅发现生长季非根际土壤 CA-P 含量显著增加($P < 0.05$, 图 3)。氮添加与季节对生物有效磷存在显著的交互作用($P < 0.05$, 表 4)。相比于生长季,氮添加对非生长季土壤生物有效磷的影响更加显著。具体而言,氮添加显著降低了非生长季根际土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 和 Enz-P 的含量($P < 0.05$),同时增加了非生长季根际土壤 HCl-P 和 TBP 含量($P < 0.05$),但对非生长季 CA-P 含量均无显著的影响(图 3)。除 Enz-P 含量外,生长季土壤其他生物有效磷均低于非生长季(图 3)。此外,根际与季节对多数生物有效磷存在显著的交互作用(表 4)。生长季根际土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 和 CA-P 含量显著低于非根际(图 3),而非生长季土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$, CA-P, HCl-P 和 TBP 含量均表现为根际土壤显著高于非根

际土壤(图3)。

3 讨论

3.1 不同季节根际和非根际生物有效磷的差异

土壤生物有效磷的根际主效应存在明显的季节差异。在非生长季,大多数生物有效磷含量均表现为根际含量高于非根际,而生长季 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 和 CA-P 含量则相反,表现为非根际高于根际(图3),这可能主要与植物的养分需求有关。全球尺度 meta 分析表明,由于植物和微生物对根际磷的需求增加,根际土壤磷酸酶活性相应增强,导致根际土壤有效磷比非根际土壤降低 12%^[32]。在生长季中,植物对养分的需求普遍增加,土壤中大量的有效养分将被植物用于自身的生长,这将导致生长季土壤生物有效磷以及其他有效养分(如 MN)

普遍低于非生长季(图3、表1)。此外,相比于非根际土壤,根系对根际土壤养分的吸收更强。由于 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 可以直接被根系截留,因此生长季根际土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 含量要显著低于非根际(图3)。相比于生长季,非生长季土壤中的养分未被吸收利用而保留于土壤中。当根际根系释放大量子以活化无机磷,这将直接导致根际土壤 HCl-P 含量显著高于非根际土壤。值得注意的是,这种根际主效应的季节差异似乎仅限于可以被微生物和植物直接利用的生物有效磷。其他土壤磷组分的根际主效应的季节差异并不明显,如土壤 OP 含量。一方面,根际区密集根系和活跃的微生物均会分泌有机酸和酶等有机物,可以增加根际土壤 OP 含量;另一方面,土壤微生物死亡后,可以向土壤中释放有机磷。有研究报道,土壤 MBP 主要由约 60% 的核酸、20% 的磷酸类有机磷和酸溶性无机磷以及小于 10% 磷脂类有机磷组成,是土壤有机磷的重要来源^[33]。更为主要的是,由于绝大部分土壤 OP 不会被植物或微生物直接吸收而消耗。因此,两个季节中根际土壤 OP 含量均显著高于非根际土壤。

表4 氮添加、根际和季节及其交互作用对生物有效磷的影响

Table 4 Effects of nitrogen addition, rhizosphere, time, and their interactions on bioavailable phosphorus

指标 Indices	氮添加 N	根际 R	季节 S	氮添加×根际 N×R	氮添加×季节 N×S	根际×季节 R×S
氯化钙-磷 $\text{CaCl}_2\text{-P}$	3.06	1.63	283.56 ***	8.36 ***	4.40 **	15.67 ***
柠檬酸-磷 CA-P	1.4	0.41	313.30 ***	0.3	3.87 **	44.75 ***
盐酸-磷 HCl-P	5.85 **	4.64 *	3	0.92	0.84 **	5.41 *
酶-磷 Enz-P	2.91	0.42	26.61 ***	0.11	0.27 *	1.69
总生物有效磷 TBP	3.41 *	2.84	13.51 ***	0.27	0.75 *	9.82 **

$\text{CaCl}_2\text{-P}$: 氯化钙-磷 Calcium chloride phosphorus; CA-P : 柠檬酸-磷 Citric acid phosphorus; HCl-P : 盐酸-磷 Hydrochloric acid phosphorus; Enz-P : 酶-磷 Enzyme phosphorus; TBP: 总生物有效磷 Total bioavailable phosphorus

3.2 不同季节土壤生物有效磷对氮添加的响应

先前的研究曾报道,不同季节下土壤磷组分的响应不同^[20]。本研究进一步发现,相比于生长季,氮添加对非生长季土壤生物有效磷库的影响更加显著(图3、图4)。在生长季,只有非根际土壤的 CA-P 含量在低氮下有所增加(图3)。这说明土壤中有机酸通过配位交换作用,与磷酸根竞争土壤颗粒表面的阴离子吸附位点,促进吸附于黏粒上或弱束缚于无机沉淀物中的无机活性磷的释放^[16, 34]。低氮添加下生长季非根际土壤中交换性 Al^{3+} 显著增加(表1)进一步可以佐证这个观点,因为交换性 Al^{3+} 的增加主要归因于土壤中有更多的交换性 H^+ 与土壤粘土矿物(如铝硅酸盐)发生了反应。而在非生长季,根际土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 和 Enz-P 含量显著

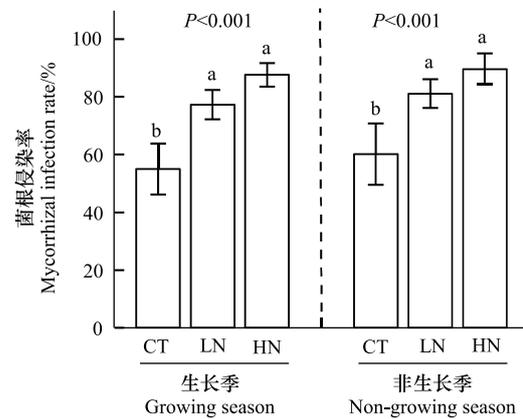


图2 氮添加对土壤菌根感染率的影响

Fig.2 Effect of nitrogen addition on soil mycorrhizal infection rate

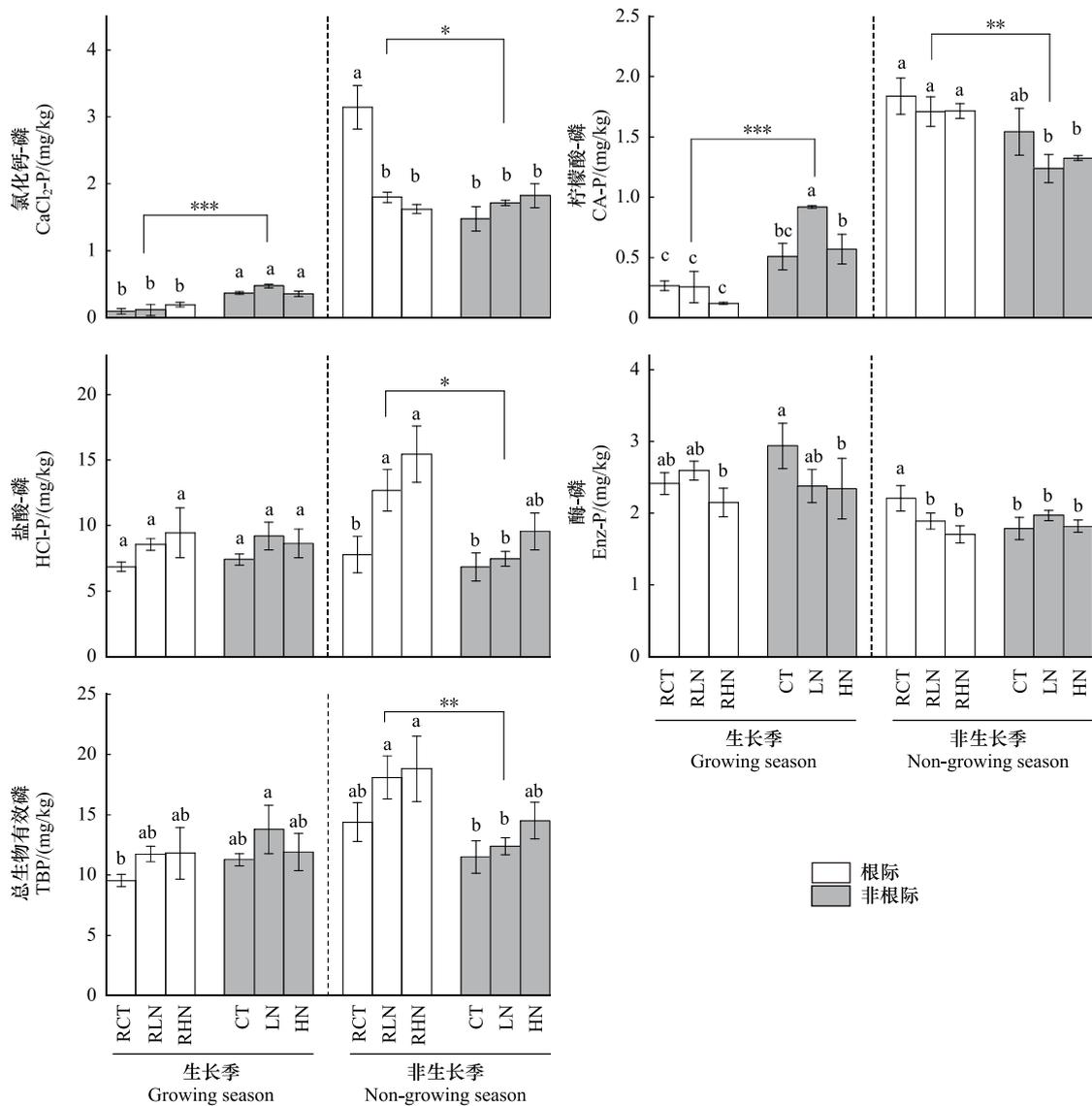


图3 氮添加对根际和非根际土壤生物有效磷组分的影响

Fig.3 Effects of nitrogen addition on bioavailable phosphorus components in rhizosphere and bulk soils

CaCl₂-P:氯化钙-磷 Calcium chloride phosphorus; CA-P:柠檬酸-磷 Citric acid phosphorus; HCl-P:盐酸-磷 Hydrochloric acid phosphorus; Enz-P:酶-磷 Enzyme phosphorus; TBP:总生物有效磷 Total bioavailable phosphorus

降低,同时根际土壤 HCl-P 含量显著增加(图3)。这说明经历了一个生长季植物对养分的吸收和消耗,氮添加下非生长季生物有效磷含量比生长季的变化更加明显。值得注意的是,相比于生长季,非生长季细根 RTC: RTP 明显增加(表3),这说明氮添加导致了非生长季植物体内化学计量的不平衡,使非生长季植物出现了一定的磷限制。先前研究曾报道,氮添加会增加植物氮磷比和碳磷比,刺激植物的磷需求,迫使其采取养分获取策略从土壤中获得磷^[35],导致土壤生物有效磷发生变化。

通常,根际土壤磷组分相比于非根际土壤更容易受到扰动,由于植物根系会通过分泌、周转、菌根共生等一系列活动优先影响根际土壤磷循环^[18]。在本研究也发现,氮添加下非生长季生物有效磷的变化仅发生在根际土壤中(图3、图4)。一方面,非生长季根际土壤可供根系直接吸收利用 CaCl₂-P 含量在氮添加下显著降低(图3),这说明植物为满足自身磷需求通过截留的方式将大部分土壤 CaCl₂-P 吸收利用。细根生长和菌根共生是植物获取养分的两个重要策略^[36]。氮添加抑制了细根生长(比根长、比表面积和组织密度均存在不同

程度的降低(表3),而促进了菌根共生关系(菌根侵染率显著增加,图2)。前期研究还发现,氮添加下罗浮栲土壤中外生菌根真菌生物量显著增加(未发表数据)。这说明相比于促进细根生长,氮添加后植物主要以增强菌根共生的方式从土壤中截留有效磷。因为细根生长和菌根共生关系的维持都需要植物从地下分配碳^[37],通常两者存在拮抗关系^[36]。氮添加下菌根共生关系的促成有利于根外菌丝扩大根系表面积,提高根系吸收养分的有效面积^[38],进而导致土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 含量降低。另一方面,氮添加后非生长季根际土壤中 HCl-P 含量显著增加(图3)。先前研究曾报道氮添加会加速闭蓄态磷的溶解^[10],这部分溶解的无机磷可能是 HCl-P 的重要来源。 HCl-P 主要来源于植物根系和土壤微生物释放质子($\text{H}^+/\text{OH}^-/\text{HCO}_3^-$)溶解的无机磷^[16]。尽管本研究土壤 pH 仅有下降趋势,但交换性 Al^{3+} 有所增加(表1),说明土壤中潜性酸度有所增加。土壤中更高的潜性酸度有利于活矿物表面结合态等难溶性无机磷,进而导致 HCl-P 含量增加。此外,非生长季根际土壤的 Enz-P 含量显著降低(图3),这可能与磷酸酶被腐殖酸固定有关。先前研究表明氮添加会提高土壤腐殖化程度^[39],导致更多的土壤酶被土壤腐殖酸固定^[40]。前期研究也发现氮添加提高了可溶性有机质的腐殖化程度^[41]。因此,磷酸酶被腐殖酸固定会降低酶促反应中磷酸酶与有机磷的结合并减少磷酸盐的释放。

3.3 氮添加下影响土壤有效磷的关键途径

多数的研究表明,氮添加将加剧土壤磷限制^[5-6],尤其在低磷的亚热带地区。但在本研究,尽管氮添加下土壤不同季节四种生物有效磷含量存在不同程度的变化,但土壤总生物有效磷含量维持稳定(图3、图4)。氮添加引发的土壤磷限制在很大程度上取决于土壤 pH 的降低^[10, 42]。但本研究中非根际土壤 pH 变化不大(表1),这可能是因为土壤 pH 值接近铝的酸缓冲阈值($\text{pH} \approx 4$),土壤缓冲能力较强^[35]。因此,土壤 pH 没有变化可能是本研究中土壤生物有效磷被维持的原因之一。

土壤有机磷可占土壤总磷的 20%—80%^[43]。在本研究中,有机磷含量大概约总磷的 50%(表1),说明本

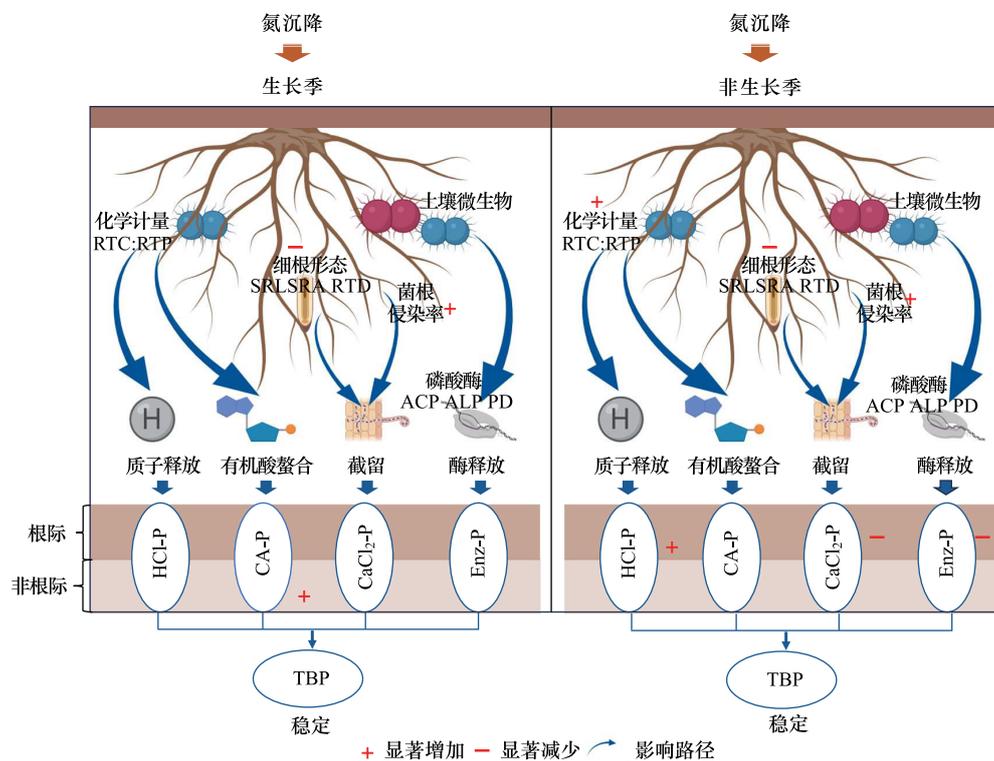


图4 氮添加对不同季节根际和非根际土壤生物有效磷的影响示意图

Fig.4 Schematic diagram of the effect of nitrogen addition on bioavailable phosphorus in rhizosphere and bulk soils in different seasons
 SRL:比根长 Specific root length;SRA:比表面积 Specific root surface area;RTD:组织密度 Root tissue density;RTC:RTP:根系总碳与根系总磷的比值 The ratio of total root carbon to total root phosphorus

地有机磷含量处于较高水平,这为微生物分解有机质获取生物有效磷提供了有利的途径。然而,整体上氮添加对 Enz-P 含量无显著的影响(表 4)。这主要归因于氮添加下土壤微生物生物量和磷酸酶活性没有显著的变化(表 2),因为微生物分泌胞外酶促使有机质矿化是 Enz-P 的主要来源。尽管氮添加下充足的氮资源会刺激微生物的生长。然而,有效氮容易通过浸出而流失^[44]。土壤磷酸酶主要由微生物产生,尤其是碱性磷酸酶,其主要来源于土壤中的细菌^[45]。以上导致土壤微生物生物量和磷酸酶活性均没有显著变化。相比于有机磷矿化,无机磷的溶解可能是短期氮添加下导致维持生物有效磷的关键途径。首先,罗浮栲土壤生物有效磷主要来源于矿物结合态的无机磷。本研究中 HCl-P 是土壤生物磷的主要成分,其含量约为 Enz-P 的 2—8 倍(图 3),HCl-P 含量的变化主导了生物有效磷含量的变化。此外,当氮添加下生物有效磷库发生变化时,HCl-P 含量的正增长有利于维持总生物有效磷库的稳定,这进一步说明植物根系或微生物通过释放质子活化矿质结合态无机磷对维持磷的生物有效性至关重要(图 4)。

4 结论

本研究探究了氮添加下生长季、非生长季罗浮栲林根际与非根际土壤生物有效磷的变化。生长季、非生长季罗浮栲林总生物有效磷含量对氮添加的响应均不显著,但氮添加下四种类型土壤生物有效磷含量存在显著差异。相比于生长季,非生长季根际土壤 $\text{CaCl}_2\text{-P}$ 和 Enz-P 含量显著降低,而根际土壤 HCl-P 含量显著增加。这说明植物根系或微生物通过释放质子活化矿质结合态无机磷是氮添加下维持磷的生物有效性的重要途径。氮添加整体降低了两个季节根系比根长和比表面积,但显著增加菌根侵染率。这说明相比于改变根系形态,植物主要采取增强与菌根共生的方式从土壤中截留有效磷。此外,由于根际土壤生物有效磷对氮添加的响应高于非根际土壤,仅关注非根际土壤磷有效性的动态可能会低估氮添加对土壤磷有效性的影响。综合而言,短期氮添加下土壤生物有效磷被维持,研究结果可为制定缓解土壤磷限制的可持续策略提供了新的思路。

参考文献(References):

- [1] Cui Y X, Bing H J, Fang L C, Jiang M, Shen G T, Yu J L, Wang X, Zhu H, Wu Y H, Zhang X C. Extracellular enzyme stoichiometry reveals the carbon and phosphorus limitations of microbial metabolisms in the rhizosphere and bulk soils in alpine ecosystems. *Plant and Soil*, 2021, 458 (1): 7-20.
- [2] Jian Z J, Ni Y Y, Lei L, Xu J, Xiao W F, Zeng L X. Phosphorus is the key soil indicator controlling productivity in planted Masson pine forests across subtropical China. *The Science of the Total Environment*, 2022, 822: 153525.
- [3] Reed S C, Townsend A R, Taylor P G, Cleveland C C. Phosphorus cycling in tropical forests growing on highly weathered soils. Bünemann E, Oberson A, Frossard E. *Phosphorus in Action*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011: 339-369.
- [4] Yu G R, Jia Y L, He N P, Zhu J X, Chen Z, Wang Q F, Piao S L, Liu X J, He H L, Guo X B, Wen Z, Li P, Ding G A, Goulding K. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. *Nature Geoscience*, 2019, 12: 424-429.
- [5] Luo M, Moorhead D L, Ochoa-Hueso R, Mueller C W, Ying S C, Chen J. Nitrogen loading enhances phosphorus limitation in terrestrial ecosystems with implications for soil carbon cycling. *Functional Ecology*, 2022, 36(11): 2845-2858.
- [6] Yao X Y, Hui D F, Hou E Q, Xiong J F, Xing S, Deng Q. Differential responses and mechanistic controls of soil phosphorus transformation in Eucalyptus plantations with N fertilization and introduced N₂-fixing tree species. *New Phytologist*, 2023, 237(6): 2039-2053.
- [7] Qi X X, Chen L, Zhu J A, Li Z, Lei H M, Shen Q, Wu H L, Ouyang S, Zeng Y L, Hu Y T, Xiang W H. Increase of soil phosphorus bioavailability with ectomycorrhizal tree dominance in subtropical secondary forests. *Forest Ecology and Management*, 2022, 521: 120435.
- [8] 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.
- [9] Zhang Z L, Guo W J, Wang J P, Lambers H, Yin H J. Extraradical hyphae alleviate nitrogen deposition-induced phosphorus deficiency in ectomycorrhiza-dominated forests. *The New Phytologist*, 2023, 239(5): 1651-1664.
- [10] Zhang X, Zhao Q, Sun Q Y, Mao B, Zeng D H. Understorey vegetation interacts with nitrogen addition to affect soil phosphorus transformations in a

- nutrient-poor *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation. *Forest Ecology and Management*, 2022, 507: 120026.
- [11] Touhami D, McDowell R W, Condrón L M, Bouray M. Nitrogen fertilization effects on soil phosphorus dynamics under a grass-pasture system. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2022, 124(2): 227-246.
- [12] Bolan N S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 1991, 134(2): 189-207.
- [13] Giles C D, Richardson A E, Cade-Menun B J, Mezeli M M, Brown L K, Menezes-Blackburn D, Darch T, Blackwell M S, Shand C A, Stutter M I, Wendler R, Cooper P, Lumsdon D G, Wearing C, Zhang H, Haygarth P M, George T S. Phosphorus acquisition by citrate- and phytase-exuding *Nicotiana tabacum* plant mixtures depends on soil phosphorus availability and root intermingling. *Physiologia Plantarum*, 2018, 163(3): 356-371.
- [14] Latati M, Blavet D, Alkama N, Laoufi H, Dreven J J, Gérard F, Pansu M, Ounane S M. The intercropping cowpea-maize improves soil phosphorus availability and maize yields in an alkaline soil. *Plant and Soil*, 2014, 385(1): 181-191.
- [15] Fatemi F R, Fernandez I J, Simon K S, Dail D B. Nitrogen and phosphorus regulation of soil enzyme activities in acid forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 171-179.
- [16] DeLuca T, Glanville H, Harris M, Emmett B, Pingree M R A, Sosa L L, Cerdá-Moreno C, Jones D L. A novel biologically-based approach to evaluating soil phosphorus availability across complex landscapes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 110-119.
- [17] Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 184-199.
- [18] Chen Y, Xia A Q, Zhang Z J, Wang F, Chen J H, Hao Y B, Cui X Y. Extracellular enzyme activities response to nitrogen addition in the rhizosphere and bulk soil: a global meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 356: 108630.
- [19] Liu Y, Bing H J, Wu Y H, Zhu H, Tian X, Wang Z G, Chang R Y. Nitrogen addition promotes soil phosphorus availability in the subalpine forest of eastern Tibetan Plateau. *Journal of Soils and Sediments*, 2022, 22(1): 1-11.
- [20] Zeng Q X, Fan Y X, Zhang Q F, Yuan X C, Lin K M, Zhou J C, Lin H Y, Xie H, Cui J Y, Wu Y, Chen Y. Differential factors determine the response of soil P fractions to N deposition in wet and dry seasons in a subtropical Moso bamboo forest. *Plant and Soil*, 2022: 1-19.
- [21] 戴辉, 曾泉鑫, 周嘉聪, 彭园珍, 孙雪琦, 陈静琪, 陈文伟, 陈岳民. 罗浮栲林土壤微生物碳利用效率对短期氮添加的响应. *应用生态学报*, 2022, 33(10): 2611-2618.
- [22] 周嘉聪, 刘小飞, 郑永, 纪宇骥, 李先锋, 徐鹏程, 陈岳民, 杨玉盛. 氮沉降对中亚热带米槠天然林微生物生物量及酶活性的影响. *生态学报*, 2017, 37(1): 127-135.
- [23] Gregorich E G, Carter M R. *Soil sampling and methods of analysis*. CRC press, 2007
- [24] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [25] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6): 703-707.
- [26] Brookes P C, Powlson D S, Jenkinson D S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(4): 319-329.
- [27] 谢欢, 张秋芳, 陈廷廷, 曾泉鑫, 周嘉聪, 吴玥, 林惠瑛, 刘苑苑, 尹云锋, 陈岳民. 氮添加促进丛枝菌根真菌和根系协作维持土壤磷有效性. *植物生态学报*, 2022, 46(7): 811-822.
- [28] 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.
- [29] Tian J H, Wei K, Condrón L M, Chen Z H, Xu Z W, Chen L J. Impact of land use and nutrient addition on phosphatase activities and their relationships with organic phosphorus turnover in semi-arid grassland soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52(5): 675-683.
- [30] Cao J L, Lin T C, Yang Z J, Zheng Y, Xie L, Xiong D C, Yang Y S. Warming exerts a stronger effect than nitrogen addition on the soil arbuscular mycorrhizal fungal community in a young subtropical *Cunninghamia lanceolata* plantation. *Geoderma*, 2020, 367: 114273.
- [31] Ahlers J. Kinetics of alkaline phosphatase from pig kidney. Mechanism of activation by magnesium ions. *The Biochemical Journal*, 1974, 141(1): 257-263.
- [32] Liu S B, He F K, Kuzyakov Y, Xiao H X, Hoang D T T, Pu S Y, Razavi B S. Nutrients in the rhizosphere: a meta-analysis of content, availability, and influencing factors. *The Science of the Total Environment*, 2022, 826: 153908.
- [33] Turner B L, Lambers H, Condrón L M, Cramer M D, Leake J R, Richardson A E, Smith S E. Soil microbial biomass and the fate of phosphorus during long-term ecosystem development. *Plant and Soil*, 2013, 367(1): 225-234.
- [34] 王辉, 王清洲, 付庆灵, 朱俊, 叶磊, 胡红青. 秸秆还田深度对稻田土壤磷生物有效性的影响. *中国土壤与肥料*, 2023(8): 33-41.

- [35] Fan Y X, Yang L M, Zhong X J, Yang Z J, Lin Y Y, Guo J F, Chen G S, Yang Y S. N addition increased microbial residual carbon by altering soil P availability and microbial composition in a subtropical *Castanopsis* forest. *Geoderma*, 2020, 375: 114470.
- [36] Ma X M, Zhu B, Nie Y X, Liu Y, Kuzyakov Y. Root and mycorrhizal strategies for nutrient acquisition in forests under nitrogen deposition: A meta-analysis. 2021, 163: 108418.
- [37] Fan Y X, Lin F, Yang L M, Zhong X J, Wang M H, Zhou J C, Chen Y, Yang Y S. Decreased soil organic P fraction associated with ectomycorrhizal fungal activity to meet increased P demand under N application in a subtropical forest ecosystem. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(1): 149-161.
- [38] 蒲子天, 张林, 张弛, 王红, 王鑫鑫. 丛枝菌根真菌与植物共生影响植物水分状态的研究进展. *土壤*, 2022, 54(5): 882-889.
- [39] Liu Q, Zhuang L Y, Ni X Y, You C M, Yang W Q, Wu F Z, Tan B, Yue K, Liu Y, Zhang L, Xu Z F. Nitrogen additions stimulate litter humification in a subtropical forest, southwestern China. *Scientific Reports*, 2018, 8: 17525.
- [40] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 216-234.
- [41] 元晓春, 陈岳民, 袁硕, 郑蔚, 司友涛, 元志鹏, 林伟盛, 杨玉盛. 氮沉降对杉木人工幼林土壤溶液可溶性有机物质浓度及光谱学特征的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(1): 1-11.
- [42] Han B, Li J J, Liu K S, Zhang H, Wei X T, Shao X Q. Variations in soil properties rather than functional gene abundances dominate soil phosphorus dynamics under short-term nitrogen input. *Plant and Soil*, 2021, 469(1): 227-241.
- [43] Dalai R C. Soil organic phosphorus. *Advances in Agronomy*. Amsterdam: Elsevier, 1977: 83-117.
- [44] Ma X M, Zhou Z, Chen J, Xu H, Ma S H, Dippold M A, Kuzyakov Y. Long-term nitrogen and phosphorus fertilization reveals that phosphorus limitation shapes the microbial community composition and functions in tropical montane forest soil. *The Science of the Total Environment*, 2023, 854: 158709.
- [45] Spohn M, Kuzyakov Y. Distribution of microbial- and root-derived phosphatase activities in the rhizosphere depending on P availability and C allocation-Coupling soil zymography with ¹⁴C imaging. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 67: 106-113.