

干热河谷土壤酶活性和车轴草生长对氮磷添加的响应

李欢^{1,2}, 魏雅丽¹, 闫帮国², 孙毅², 和润莲², 李义林², 方海东²

(1.四川农业大学 资源学院, 成都 611130; 2.云南省农业科学院 热区生态农业研究所, 云南 元谋 651300)

摘 要:为了探讨干热河谷地区不同土地利用类型下土壤酶活性和植物生长对氮磷添加的响应以及二者之间的联系,采集了元谋干热河谷 6 种不同土地利用类型土壤,包括灌丛、草地、森林、新开垦农田(新农)、常年耕作农田(常农)、侵蚀裸地(裸地),并利用盆栽探索了土壤酶活性和车轴草(*Trifolium repens* L.)生长对氮(N)、磷(P)、氮磷(N+P)处理的响应特征。结果表明:(1)植物生物量受土地利用类型和处理双重因素影响,两者的交互作用对植物生物量具有显著作用。(2)除农田土壤(新农和常农)外,其他土地利用类型的土壤上植物生长受到养分添加的显著影响,其中添加 P 处理的生物量显著高于对照;而 N+P 处理又显著高于单一的 P 添加;而新农和常农不同养分处理间植物生物量差异不显著。(3)土壤酶活性受土地利用类型显著影响,但是不同养分添加处理之间土壤酶活性差异不显著;土壤酶活性与植物生物量无显著相关性。综上,干热河谷土壤中植物生长的限制养分主要为磷,然而土壤酶活性则不受氮磷养分的限制,其活性主要与土地利用类型有关。

关键词:干热河谷; 土地利用类型; 氮磷养分限制; 土壤酶活性; 车轴草

中图分类号:S154

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2022)04-0089-06

Response of Soil Enzyme Activities and *Trifolium repens* L. Growth to Nitrogen and Phosphorus Addition in Dry and Hot Valley

LI Huan^{1,2}, WEI Yali¹, YAN Bangguo², SUN Yi², HE Runlian², LI Yilin², FANG Haidong²

(1.College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2.Institute of Tropical Eco-agriculture, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yuanmou, Yunnan 651300, China)

Abstract: This study aims to explore the effects of nitrogen and phosphorus addition on soil enzyme activities and plant growth under different land use types in dry and hot valleys, and the association between soil enzyme activities and plant growth. Soils in 6 different land-use types including shrubs, grasslands, forests, new farming, permanent farming, eroded bare land in Yuanmou dry-hot valley were collected. Pot experiment was used to explore the response characteristics of soil enzyme activities and *Trifolium repens* L. growth to treatments of nitrogen (N), phosphorus (P), and nitrogen and phosphorus (N+P). The results show that: (1) plant biomass was affected by both land use types and fertilizer treatments as well as their interactions; (2) there were significant differences in plant growth of nutrient addition in land use types except for soils from farmlands (new farming and permanent farming); the plant biomass of P treatment was significantly higher than that of CK; the plant biomass of N+P treatment was significant higher than that of single application of P fertilizer; however, the differences in plant biomass among different treatments for soils from new farming and permanent farmland were not significant; (3) soil enzyme activities were significantly affected by land use types, but there were no significant differences in soil enzyme activities among different nutrient addition treatments; there was no significant correlation between those soil enzyme activities and plant biomass. In conclusion, plant growth was primarily limited by phosphorus on soils in this dry and hot valley. However, soil enzyme activities were not limited by phosphorus or nitrogen, but mainly affected by land use types.

收稿日期:2021-05-25

修回日期:2021-06-15

资助项目:云南省重点研发计划“云南典型生态功能区生态保护和修复技术研究与应用示范”(2019BC001)

第一作者:李欢(1995—),女,四川遂宁人,在读硕士研究生,研究方向为土地资源利用与生态修复。E-mail:1350960103@qq.com

通信作者:方海东(1979—),男,黑龙江海伦人,硕士,研究员,主要从事干热河谷生态系统退化的原因、退化生态系统恢复与重建的技术和方法及其生态学过程和机理研究。E-mail:fhd@yaas.org.cn

Keywords: dry hot valley; land use types; limitation of nitrogen and phosphorus; soil enzyme activities; *Trifolium repens* L.

氮(N)、磷(P)作为主要养分元素,对维持地球生物化学循环,保证生态系统物质循环和能量流动有重要作用,同时 N、P 也是自然陆地生态系统中的主要限制性元素^[1-2]。然而由于化石燃料燃烧所产生的 N 沉降^[3-4],导致土壤中的 N 含量显著提高,改变了土壤中原有的养分限制模式,主要观点认为它缓解了原有的 N 限制,转变成 P 限制,另一些观点认为土壤养分限制模式转变为 N、P 共同限制^[5-6]。土壤酶直接参与土壤生态系统中 C、N、P 的循环,如参与土壤碳转化的 β -D-葡萄糖苷酶(BG),参与土壤氮转化的 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)和脲酶(URE),以及参与土壤磷转化的磷酸酶(AP)等^[7]。这些酶对环境因子敏感,可作为评价土壤质量和养分供应能力的重要指标^[8-9]。

土壤酶本身作为一种蛋白质,其合成过程对氮的需求较大^[10],因此氮的丰缺对土壤酶活性也具有重要的调控作用。勒佳佳等^[11]对天山高寒草原土壤酶活性研究发现氮添加显著增加 BG 和 β -1,4 木糖苷酶活性,而李欢等^[12]发现干热河谷土壤 BG、NAG、URE 和 AP 酶活性与土壤 C 有关。樊博等^[13]研究干热河谷土壤酶活性对碳氮添加的响应发现,碳氮交互作用显著影响了干热河谷土壤的 AP、BG 和亮氨酸胺酶活性。曾泉鑫等^[14]研究氮添加对毛竹林土壤微生物碳磷限制时发现,氮添加显著降低了 NAG 活性和 N:P 酶活性比,提高了 AP 酶活性和 C:P 酶活性比,加剧了微生物 C、P 限制。Marklein 等^[15]研究发现氮添加能够提高磷酸酶活性,从促进磷循环速率。当养分限制发生变化时(如,从 N 限制到 P 限制),微生物可能会调整相关酶的生产(如增加磷酸酶的活性),以平衡营养需求(微生物需求)和供应(周围环境)之间的营养平衡^[16-17]。

植物同样受到氮磷养分的限制^[1-2],但是不同的土壤中植物受到氮磷限制的程度不同。事实上,植物因不同土壤而异,分别会受到氮限制、磷限制或者氮磷共限制^[18]。土地利用对不同土壤上植物生长限制养分的影响还缺乏充分研究。植物与土壤酶活性对养分添加是否具有相同的响应特征还存在很大的不确定性。

元谋干热河谷是西南横断山区中的生态脆弱区,通过土壤养分管理促进植被恢复,对改善该区生态环境具有重要意义。本研究通过在不同土地利用类型土壤中设置不同的养分添加处理,以车轴草(*Trifolium repens* L.)作为模式植物,比较分析不同土地利用类型植物生长状况和酶的活性对氮磷添加的响应,

探讨不同土地利用类型下植物生长的限制养分和养分对土壤酶活性的调控作用,并揭示植物生长与土壤酶活性在养分处理下的相互关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

元谋县干热河谷区内(101°35'—102°06'E, 25°23'—26°06'N)水热矛盾突出,海拔差异大,气候呈垂直气候带状分布,年均降水量约 680 mm,年均蒸发量约 3 215 mm,干燥度(蒸发量/降水量)达 4.5 以上。随海拔升高,植被群落类型由稀树草原向灌木林和常绿阔叶林过渡。本研究在野外采集元谋县 6 种典型土地利用类型土壤,即灌木林地、草地、有林地、旱地、水浇地和侵蚀裸地,其土壤类型均为燥红土。每种利用类型有 5 个重复采样点,其中每个采样点再选取 10 个点采集混合样,运到云南省农业科学院热区生态农业研究所实验室内进行土壤性质分析,部分土壤置于温室大棚内进行盆栽试验。

1.2 试验设计

本试验选择车轴草(*Trifolium repens* L.)作为测试植物。车轴草是一种常见的多年生豆科草本植物,是土壤功能恢复中常用的修复植物之一^[19-20]。车轴草在元谋当地野外没有分布,在当地土壤中没有特异病原体,因此不会干扰养分对植物生长的作用。试验因子设计包括 6 种土地利用类型,5 种养分处理,每个处理重复 5 次(6 种土地利用类型 \times 5 个处理 \times 5 种重复=150 盆)。除去粗糙根和石头,土壤样品自然风干过 2 mm 筛并充分混合后,取一部分土样测定土壤养分性质(表 1),另一部分鲜土等量装入花盆中(上直径 10 cm \times 下直径 7 cm \times 高度 13 cm)约 1 kg。将花盆分成 5 份,做 5 个处理,分别为:(1)对照。不添加氮磷(CK);(2)添加氮(N)(硝酸铵,0.078 5 g N/盆,相当于每 1 hm²加 100 kg N);(3)添加磷(P)(磷酸二氢钾,0.039 2 g P/盆,相当于每 1 hm²添加 50 kg P 的标准);(4)添加氮磷(NP)(硝酸铵+磷酸二氢钾,0.078 5 g N/盆+0.039 2 g P/盆);(5)添加有机质(OM)(几丁质+植酸钾,0.078 5 g N/盆+0.039 2 g P/盆)。每盆放 15~20 粒车轴草种子,萌发后,每盆只留 10 株植物苗,盆栽试验期间,每天浇水 2 次(约 12.4 mm)。4 个月后收获植物并采集土壤,土壤鲜土混匀并过 2 mm 筛放置在 4℃冰箱中保存,测定土壤酶活性。

表 1 土壤养分及其化学计量学特征

指标	灌丛	草地	森林	新农	常农	侵蚀裸地
pH 值	7.81±0.09	7.55±0.07	7.06±0.31	6.69±0.32	8.00±0.03	6.32±0.46
TN/(g·kg ⁻¹)	2.64±0.16	1.39±0.24	0.83±0.17	0.80±0.17	1.17±0.06	0.08±0.00
TC/(g·kg ⁻¹)	33.75±2.35	14.77±2.82	11.05±1.75	6.97±1.91	14.10±1.38	0.48±0.07
TP/(g·kg ⁻¹)	0.84±0.05	0.37±0.05	0.19±0.04	0.70±0.33	0.67±0.17	0.04±0.01
Ca/(g·kg ⁻¹)	13.56±5.32	2.93±0.96	2.27±0.72	2.15±0.64	4.70±2.14	1.37±0.41
K/(g·kg ⁻¹)	3.94±0.42	3.14±1.07	3.70±0.70	2.95±0.77	4.24±0.91	3.07±0.34
Mg/(g·kg ⁻¹)	19.39±0.42	9.51±2.52	10.53±2.94	6.72±1.33	7.68±2.64	3.43±0.37
Mn/(g·kg ⁻¹)	5.05±0.45	5.25±0.24	3.56±0.95	3.49±0.91	3.11±0.39	0.39±0.09
铵态氮/(mg·kg ⁻¹)	1.13±0.51	4.79±1.14	4.84±1.42	1.20±0.41	0.87±0.14	0.42±0.07
硝态氮/(mg·kg ⁻¹)	3.89±0.86	3.61±1.03	1.51±0.96	4.85±1.02	6.69±0.39	0.30±0.09
有效磷/(mg·kg ⁻¹)	7.96±1.06	5.47±0.47	3.03±0.85	88.14±28.85	60.14±19.18	1.97±0.23
C : N	12.85±0.80	10.32±0.51	13.81±0.46	8.18±0.72	12.02±0.88	6.51±0.80
C : P	41.00±3.41	44.94±8.69	65.90±8.96	26.77±9.80	27.61±5.24	12.41±2.46
N : P	3.21±0.25	4.22±0.79	4.79±0.64	3.08±0.94	2.51±0.62	2.00±0.28

1.3 测试项目与方法

1.3.1 土壤性质测定 pH 值采用酸度计测定(土:水=1 g:2.5 ml);总氮(TN)、总碳(TC)采用元素分析仪测定;全磷(TP)采用钼锑抗比色法;钙(Ca)、钾(K)、硼(B)、镁(Mg)、锰(Mn)等全量元素采用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP)测定;铵态氮、硝态氮采用 2 mol/L KCL 溶液提取,分别采用水杨酸法^[21]和采用氯化钒法^[22];有效磷(Olsen-P)采用孔雀石绿测定法。

1.3.2 土壤酶活性测定 土壤酶活性测定采用荧光底物试验方法^[23],其中测定 β-D-葡萄糖苷酶(BG)、酸性磷酸酶(AP)、β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)采用 pH 值为 5.0 的 50 mmol/L 醋酸缓冲液^[24]。在微孔板中加入 50 μl 4-甲基伞形酮(MUB)为标准物,另一部分孔中加入 50 μl 底物,分别为 4-甲基伞形酮-β-D-葡萄糖苷(BG),4-甲基伞形酮酰磷酸酯(AP),4-甲基香豆素-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷(NAG)。在标准物和底物基础上加入 150 μl 土壤悬液,并在标准物和底物孔中设置无土壤的对照^[25]。所有酶测定时均放在恒温摇床在 120 r/min 下培养 3 h,温度为 25℃。然后放入 Spark 20 M 全波长扫描式多功能读数仪测定,测定时由仪器加样器加入 10 μl mol/L NaOH 到微孔板中。激发光设置为 365 nm,发射光为 450 nm。脲酶(URE)测定时,加入 pH 值为 5.0 的醋酸缓冲液,并加入尿素底物,至 25℃ 恒温培养箱培养 12 h 后,加入 60 μl 水杨酸溶液和 60 μl 次氯酸钠溶液,反应 50 min 后,用 650 nm 波长测定吸光率,标准曲线采用铵态氮溶液测定^[26]。

1.3.3 植物生物量测定 植物生物量通过 70℃ 连续

烘干植物样品至恒重称重得出。

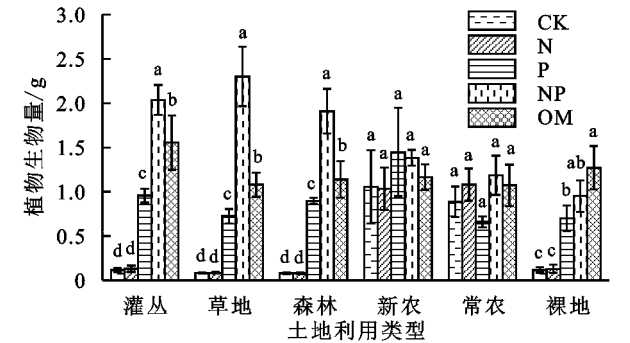
1.4 统计分析

使用 SPSS 22.0 对土地利用类型和养分添加进行多因素方差分析法(ANOVA)分析;对植物生物量和土壤酶活性的影响采用 LSD 多重比较方法;对土壤酶活性与植物生物量的相关性采用回归分析法分析。

2 结果与分析

2.1 植物生物量对氮磷添加的响应特征分析

植物生物量对 P 添加具有显著响应,灌丛、草地、森林和裸地这 4 种土地利用类型的 P 或 N+P 添加处理的植物生物量显著大于 CK 和 N 添加处理(图 1)。且灌丛、草地、森林土壤 NP 添加处理下的植物生物量显著高于单施 P 肥处理。结果显示灌丛、草地、森林、新农和裸地的+P 处理生物量比 CK 分别增加了 724.14%,782.93%,1 022.50%,37.38%,505.17%,而常农+P 处理生物量比 CK 减少了 25.73%。



注:CK 表示对照;N 表示 N 添加;P 表示 P 添加;NP 表示 N,P 同时添加;OM 表示有机态氮磷添加。图中不同字母表示相同土地利用类型下养分处理的差异显著($p<0.05$),下同图。

图 1 不同土地利用类型下植物生物量对养分添加处理的响应

然而,新农和常农的植物生物量在 N,P 添加处理下差异不显著,新农在 P 添加处理下植物生物量最大,比 CK 处理增加了 37.38%;常农在 NP 添加处理下植物生物量最大,比 CK 处理增加了 33.86%,在

P 添加处理下植物生物量最小,比 CK 处理降低了 25.73%。由表 2 可知,植物生物量受到土地利用类型和养分添加处理显著影响,其中养分添加处理是最重要因素。

表 2 土地利用类型与养分添加处理间的双因素方差分析(F 值)

因素	df	植物生物量	AP	BG	NAG	URE
土地利用类型	5	3.874 **	34.644 ***	42.986 ***	30.510 ***	22.78 ***
养分处理	4	34.449 ***	0.175	0.086	0.964	0.292
土地利用类型 * 养分处理	20	3.398 ***	0.25	0.597	0.988	0.088

注: * 代表 $p<0.05$; ** 代表 $p<0.01$; *** 代表 $p<0.001$,下表同。

2.2 土壤酶活性对氮磷添加的响应特征分析

土地利用类型显著影响土壤酶活性,而养分添加处理对各土壤酶活性均无显著影响(表 2)。灌丛土壤 AP,BG 酶活性中最高,显著大于其他类型的土壤,NAG 活性在灌丛和草地土壤中最高,显著大于其他类型,而 URE 酶活性在常年耕作农田中最高,这 4

种土壤酶活性均在裸地土壤最低。不同土地利用类型下,AP,BG,NAG 这 3 种土壤酶活性大致呈灌丛>草地>森林>新农>常农>裸地变化趋势,灌丛的 AP,BG,NAG 比分别是裸地的 9,26,16 倍;URE 土壤酶活性大致呈常农>新农>草地>森林>灌丛>裸地,常农的 URE 是裸地的 7 倍(图 2)。

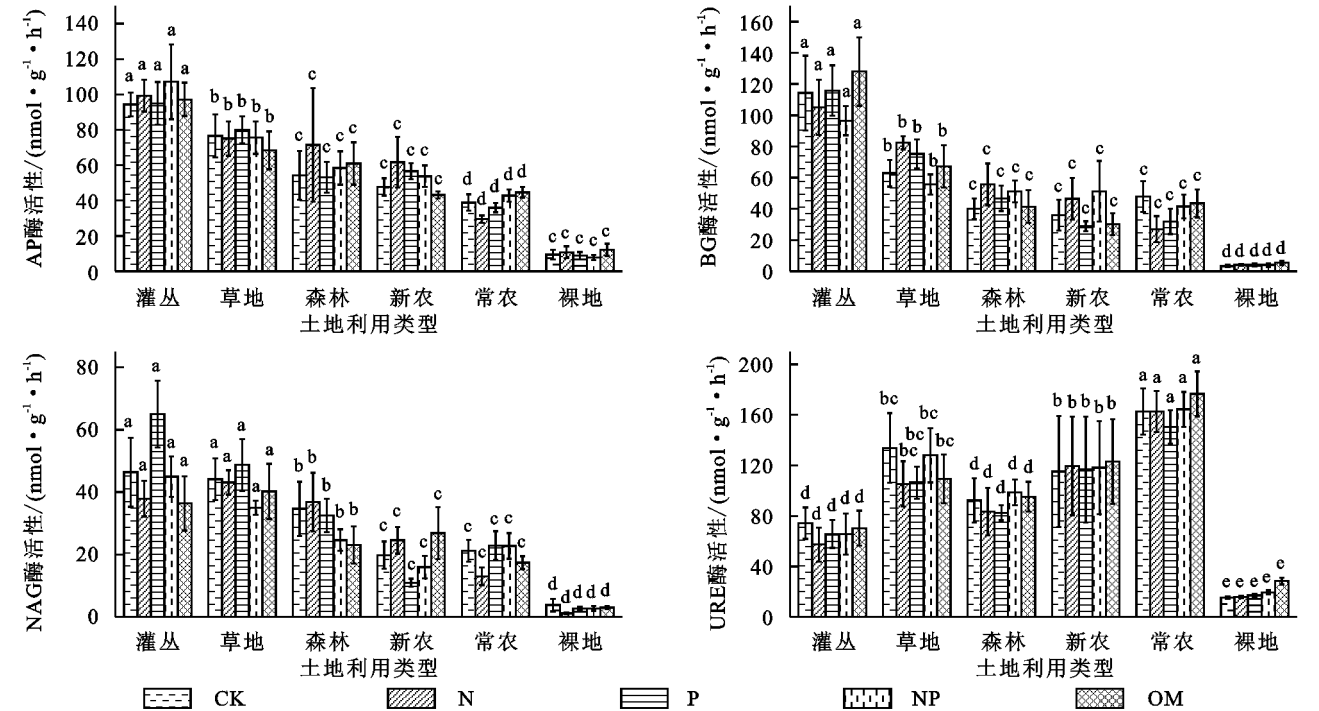


图 2 不同土地利用类型和养分处理下的土壤酶活性

2.3 植物生物量、土壤酶活性与养分的相关性分析

结合植物生物量、土壤酶活性和土壤养分背景值相关指标进行相关性分析(表 3)发现,植物生物量仅与土壤有效养分(铵态氮、有效磷)相关,与土壤酶活性、全量养分和硝态氮不相关;除 URE 酶外,其余土壤酶均与土壤 TC,TN 含量显著相关,且相互间呈显著相关关系;URE 酶仅与有效养分(铵态氮、有效磷)相关。

3 讨论

本研究发现植物生物量对 P 添加响应强烈,且

在 P 和 NP 养分添加条件下灌丛、草地、森林和裸地的植物生物量显著高于 CK 和 N 养分添加处理,整体上看 NP 同时添加的植物生物量显著高于单施 P 肥处理。这可能是因为 N,P 同时添加,可以产生协同效应,刺激植物生长,促进 P 的吸收,这与卢广超^[27]、范爱连^[28]、Bucci^[29]等研究一致。且通过双因素方差分析(表 2)和相关性分析(表 3)发现,植物生物量仅与有效养分(硝态氮、有效磷)相关,由此可见氮磷含量是影响植物生物量变化最关键因素。进一步分析可以发现植物生长可能为序列限制(首先受到 P

限制,当 P 限制缓解后开始出现 N 限制,造成 N,P 共同添加效果大于单独的 P 添加)。研究区干热河谷属于热带亚热带区域,前人研究发现越来越多的 P 限制出现在具有高度风化土壤的热带和温带森林中^[30-31],与本研究结果一致。因此,P 限制是影响干热河谷地区植被生长的主要因素之一。P 添加能够缓解 P 限制产生的影响,但会将植物生长所受的限制进一步转变为 N 限制或 N,P 共同限制,这与郑斯元^[32]的研究一致。此外,本研究发现侵蚀裸地添加有机质的植物生物量最高,说明有机质可有效促进裸地的植物生长,这可能与裸地土壤中有机质严重缺乏有关。值得注意的是,本研究中采用一种豆科植物作为研究对象,其养分限制模式可能与非豆科植物不同。但是本研究中发现除了极少个例外,车轴草根系并未形成根瘤,可能与土壤中缺少对应的根瘤菌有关,因此,可以排除固氮对车轴草 N,P 限制的影响。

表 3 植物生物量、土壤酶活性与土壤化学性质的相关性					
指标	植物生物量	AP	BG	NAG	URE
TC	-0.021	0.666 **	0.790 **	0.501 **	0.206
TN	0.011	0.694 **	0.815 **	0.590 **	0.291
TP	0.026	0.047	-0.016	-0.074	0.179
硝态氮	-0.298	0.362 *	0.123	0.503 **	0.141
铵态氮	0.572 **	0.282	0.358	0.327	0.521 **
有效磷	0.741 **	-0.158	-0.009	-0.186	0.436 *

注:本表为对照处理下植物生物量与微生物活性值与土壤背景值的关系($n=30$)。

本研究中土壤酶活性受土地利用类型的显著影响(图 2),但各养分处理间差异不显著。土壤酶参与土壤的各种生化反应,其活性体现了反应的强度和转化情况^[33]。土壤中的各种物质转化主要由磷酸酶、脲酶、水解酶等参与的酶促反应产生,可以有效反映土壤 C,N,P 养分之间的变化特征。基于资源配置理论,在添加 N,P 处理下,微生物生长和酶合成过程中的限制养分得以缓解,从而促进土壤酶活性增加^[34]。然而这里并未发现氮磷对土壤酶活性的促进作用,表明其他因素可能限制了土壤酶活性。本研究发现同时 BG,NAG 和 AP 活性与土壤背景 C 含量之间具有高度相关性,说明 C 含量可能是限制酶活性变化的重要影响因子。同时本研究发现土壤酶活性与植物生物量不存在明显相关关系(表 3)。尤为明显的是,裸地土壤中添加 P,N+P 和 OM 时植物生物量显著提高(图 1),但土壤酶活性仍处于较低水平,与 CK 无显著差异(图 2),这可能与土壤酶活性和植物生长的调控养分不一致有关。

4 结 论

元谋干热河谷土壤类型和氮磷养分都会对植物生物量产生影响,土壤氮磷养分是最关键因素。灌丛、草地、森林和裸地的植物生长受 P 限制,而农田土壤(新农和常农)的养分限制不明显。同时添加 N,P 比单施 P 肥对植物生长的促进作用更明显。而土壤酶活性变化与土地利用类型相关,灌丛草地的 BG,NAG 和 AP 活性较高,而农田的 URE 活性较高。土壤酶活性与土壤 C 含量紧密相关,不受氮磷添加的影响,与植物生长之间没有明显的关联特征。土壤酶活性不能作为指示土壤支撑植物生长的指标。

参考文献:

[1] Elser J J, Acharya K, Kyle M, et al. Growth rate-stoichiometry couplings in diverse biota[J]. Ecology Letters, 2003,6 (10):936-943.

[2] 卢同平,张文翔,武梦娟,等.干湿度梯度及植物生活型对土壤氮磷空间特征的影响[J].土壤,2017,49(2):364-370.

[3] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions[J]. Science, 2008, 320(5878):889-892.

[4] Liu X, Zhang Y, Han W, et al. Enhanced nitrogen deposition over China[J]. Nature, 2013,494(7438):459-462.

[5] Craine J M, Morrow C, Stock W D. Nutrient concentration ratios and co-limitation in South African grasslands [J]. New Phytologist, 2008,179(3):829-836.

[6] Hedwall P O, Bergh J, Brunet J. Phosphorus and nitrogen co-limitation of forest ground vegetation under elevated anthropogenic nitrogen deposition[J]. Oecologia, 2017,185(2):317-326.

[7] 闵凯凯,何向阳,吴倩怡,等.参与碳氮磷转化的水解酶对不同施肥响应的差异[J].土壤,2020,52(4):718-727.

[8] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013,58: 216-234.

[9] Sinsabaugh R L, Antibus R K, Linkins A E. An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1991,34(1):43-54.

[10] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43 (1): 313-343.

- [11] 勒佳佳, 苏原, 彭庆文, 等. 氮添加对天山高寒草原土壤酶活性和酶化学计量特征的影响[J]. 干旱区研究, 2020, 37(2): 111-118.
- [12] 李欢, 魏雅丽, 闫帮国, 等. 元谋干热河谷沟蚀地区植被恢复对土壤养分和酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2020, 51(5): 1118-1126.
- [13] 樊博, 史亮涛, 潘志贤, 等. 干热河谷土壤酶活性对碳氮添加的响应[J]. 生态学报, 2018, 38(23): 341-348.
- [14] 曾鑫鑫, 张秋芳, 林开森, 等. 酶化学计量揭示5年氮添加加剧毛竹林土壤微生物碳磷限制[J]. 应用生态学报, 2021, 32(2): 521-528.
- [15] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems[J]. New Phytologist, 2012, 193(3): 696-704.
- [16] mineau M M, Fatemi F R, Fernandez I J, et al. Microbial enzyme activity at the watershed scale: response to chronic nitrogen deposition and acute phosphorus enrichment[J]. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 131-142.
- [17] 王杰, 李刚, 修伟明, 等. 氮素和水分对贝加尔针茅草原土壤酶活性和微生物量碳氮的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(3): 237-245.
- [18] Elser J J, Bracken M E S, Cleland E E, et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems[J]. Ecology Letters, 2007, 10(12): 1135-1142.
- [19] Refsgaard K, Bjarnholt N, Møller B L, et al. Dissipation of cyanogenic glucosides and cyanide in soil amended with white clover (*Trifolium repens* L.)[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(7): 1108-1113.
- [20] D'Annibale A, Sechi V, Larsen T, et al. Does introduction of clover in an agricultural grassland affect the food base and functional diversity of Collembola[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 112: 165-176.
- [21] Weatherburn M W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia[J]. Analytical Chemistry, 1967, 39(8): 971-974.
- [22] Doane T A, Horwath W R. Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent[J]. Analytical Letters, 2003, 36(12): 2713-2722.
- [23] 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[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [24] Turner B L. Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 19(76): 6485-6493.
- [25] Dick R P, Dick L K, Deng S, et al. Cross-laboratory comparison of fluorimetric microplate and colorimetric bench-scale soil enzyme assays[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 121: 240-248.
- [26] Cordero I, Snell H, Bardgett R D. High throughput method for measuring urease activity in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 134: 72-77.
- [27] 卢广超, 邵怡若, 薛立. 氮沉降对凋落物分解的影响研究进展[J]. 世界林业研究, 2014, 27(1): 35-42.
- [28] 范爱连, 张礼宏, 陈廷廷, 等. 常绿阔叶林外生、内生菌根树种细根化学计量学性状对N添加的响应[J]. 生态学报, 2020, 40(14): 4966-4974.
- [29] Bucci S, Scholz F, Goldstein G, et al. Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savanna trees[J]. Plant, Cell & Environment, 2007, 29(12): 2153-2167.
- [30] Liu L, Gundersen P, Zhang W, et al. Effects of nitrogen and phosphorus additions on soil microbial biomass and community structure in two reforested tropical forests[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 14378.
- [31] Turner B L, Joseph Wright S. The response of microbial biomass and hydrolytic enzymes to a decade of nitrogen, phosphorus, and potassium addition in a lowland tropical rain forest[J]. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 115-130.
- [32] 郑斯元. 氮磷添加对羊草-土壤-根际微生物化学计量特征的影响[D]. 长春: 东北师范大学, 2020.
- [33] Malcolm R E. Assessment of phosphatase activity in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1983, 15(4): 403-408.
- [34] Allison S D, Vitousek P M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 37(5): 937-944.