

秦玮玺,斯贵才,雷天柱,等. 氮肥添加对土壤微生物生物量及酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2021,49(1):170-175.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.01.031

氮肥添加对土壤微生物生物量及酶活性的影响

秦玮玺¹, 斯贵才², 雷天柱², 张生银², 马建忠¹

(1. 兰州理工大学, 甘肃兰州 730050; 2. 中国科学院地质与地球物理研究所兰州油气资源研究中心, 甘肃兰州 730000)

摘要:选取青藏高原纳木错湖旁边高寒草原,通过持续 1 年对土壤进行不同量的氮肥添加处理,对不同氮肥施加量导致的土壤的理化性质、土壤微生物生物量和土壤酶活性的变化进行研究。结果显示:随着氮肥施加量的增加,土壤 pH 值降低,土壤总氮含量升高,土壤微生物生物量大幅下降;其中,土壤微生物生物量与土壤 pH 值呈显著正相关,与土壤总氮含量呈极显著负相关;土壤中脲酶的活性与土壤总氮含量呈极显著负相关, β -葡萄糖苷酶活性与 pH 值呈显著正相关;蔗糖酶、蛋白酶、L-天冬酰胺酶、和过氧化物酶活性均有显著变化。氮肥的添加改变了高寒草原土壤的理化性质和土壤微生物的生物量,可能会对高寒草原土壤的生态环境产生破坏。

关键词:高寒草原;氮肥;土壤理化性质;微生物生物量;土壤酶活性

中图分类号:S154.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)01-0170-06

土壤中存在的细菌、真菌、放线菌、藻类和原生动物被统称为土壤微生物^[1-3]。土壤微生物在参与土壤系统能量转化、元素循环等过程的同时,对土壤的理化性质也有一定影响^[4]。研究高寒草原土壤中微生物生物量的变化对其生态系统的营养状况具有重要意义。

在土壤中活动的微生物和动植物会产生大量酶进入土壤生态系统,这些酶参与土壤中各种生物化学反应过程,被定义为土壤酶。作为土壤中最基本的营养元素,土壤养分不仅维系了土壤中动植物活动,同时也影响了微生物群落和生物多样性^[5]。

土壤酶是土壤养分循环最直接的驱动力^[6-7]。因此,土壤中酶的活性可以视为土壤肥力的重要指标。

氮元素是合成氨基酸的必要元素,因此,所有生物生长发育都需要大量的氮元素。在人类工业革命之前,生物圈氮元素维持一个微妙的平衡,但自从人工固氮技术成熟并应用于农业生产之后,大量外源氮输入生态圈,使土壤的理化性质和养分度产生变化,进而影响动植物群落的分布和微生物生物量^[7-8]。

青藏高原草场面积广阔,约 1.4 亿 hm^2 ,主体为高寒草原,大部分草场都远离人类工业活动和农耕^[9]。本试验主要在纳木错湖周边高寒草原完成,研究在梯度施加氮肥的情况下,土壤理化性质的变化以及外源氮输入时微生物生物量和酶活性变化的趋势,以期发现氮肥添加导致的高寒草原土壤变化特征,为预测农业生产导致的生态环境变化提供理论依据。

收稿日期:2020-04-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31860063)。

作者简介:秦玮玺(1993—),男,甘肃定西人,硕士研究生,从事抗体制备和微生物多样性研究。E-mail:673877495@qq.com。

通信作者:马建忠,研究员,从事植物分子生物学和抗体制备研究。

E-mail:majz@lut.cn。

版),2018,44(1):95-100.

[4]吴雪梅,王芳,张富贵,等. 基于 EDEM 的深施肥器排肥与阻力影响因素分析[J]. 农机化研究,2020,42(3):175-181.

[5]杨菊. 基于扩展有限元法和离散元法的土壤-耕具接触研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2014.

[6]顿国强,陈海冯,冯夷宁,等. 基于 EDEM 软件的肥料调配装置关键部件参数优化与试验[J]. 农业工程学报,2016,34(7):36-42.

[7]姜珊珊. 基于离散元法的开沟器试验研究[D]. 长春:吉林农业大学,2014.

[8]杨雨林. 基于离散元法的芯铧式开沟器试验研究[D]. 长春:吉林农业大学,2015.

[9]杜玉奎. 施氮深度对夏玉米根系分布及产量形成的影响[D]. 泰安:山东农业大学,2015.

[10]李陶,杨殿鑫. 不同分层施肥深度与施肥比例对玉米产量性状的影响[J]. 现代化农业,2016(11):17-18.

[11]潘春丹,陆晓莉. 不同株距对申雪甜 1 号水果甜玉米植株和产量的影响初报[J]. 上海农业科技,2018(6):62,64.

[12]张海军. 不同行株距配置对夏玉米生长发育及产量影响的研究[J]. 农业科技通讯,2018(3):76-79.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

本试验地点位于青藏高原纳木错湖附近高寒草原(30°46.44'N, 90°59.31'E, 海拔 4 730 m), 该地区属于典型的半干旱高原季风气候区, 年平均气温为 -0.6 ℃, 平均气压为 571.2 hPa, 大部分降水集中在 5—9 月。

1.2 试验设计与样品采集

试验时间为 2016 年 8 月, 选取地势平坦、植被均匀且无牧民放牧的草场区域作为试验用地, 去除牛羊粪便, 确保无任何外源氮输入。增氮试验为期 1 年, 氮肥选用尿素, 含氮量约为 46.4%。分为 6 个小组对土壤进行梯度增氮处理, 增氮水平如下: 对照 N0 [0 kg/(hm²·年)], N10 [10 kg/(hm²·年)], N20 [20 kg/(hm²·年)], N40 [40 kg/(hm²·年)], N80 [80 kg/(hm²·年)], N160 [160 kg/(hm²·年)]。

1 年后于晴天采集样品, 选择植物均匀地块, 采集表层土壤(0~10 cm)作为试验样品, 每组采集 3 个重复, 共计 18 个土样。采集完成后, 过筛去除植物根丝和石子, 然后每个样品分为 2 份, 一份用于测定土壤理化性质, 保存于 -20 ℃ 冰箱, 另一份用于测定土壤微生物生物量以及酶活性, 保存在 -80 ℃ 条件下。

1.3 测定与分析方法

1.3.1 土壤理化性质测定 本研究采用常规分析方法测定土壤理化性质。将保存在 -20 ℃ 冰箱中的土壤样品取出, 放置至室温后称取 5 g 于称量瓶中, 然后在烘箱中 105 ℃ 烘至完全干燥, 称质量并算出土壤含水量。取 10 g 土样溶于 25 mL 超纯水中, 用 pH 计测定土壤 pH 值, 每个样品测 3 次取平均值。土壤粒径使用粒度分析仪测定。将风干后的土样研磨至 100 目, 用日本 TOC-TN 分析仪检测土壤有机碳含量。钼抗比色法测定土壤全磷含量。凯氏定氮仪法测量土壤总氮含量。

1.3.2 土壤微生物量的测定 微生物生物量的测定使用磷脂脂肪酸(PLFA)法测定, 使用修改后的 BD 方法^[12], 以磷脂脂肪酸的质量摩尔浓度计。称取 5 g 土壤, 冷冻干燥处理, 后用精制后的三氯甲烷 5 mL、甲醇 10 mL 和磷酸盐缓冲液 4 mL 抽提 2 h, 振荡充分后离心取上清液。然后加入水和三氯甲烷(1:1), 静置 10 min 至溶液明显分层, 吸取下层有机相, 重复此步骤 2 次。将上述步骤得到的有机

溶液过亲和色谱柱, 流动相分别为三氯甲烷、丙酮和甲醇, 其中甲醇洗脱得到磷脂。在磷脂中加入 KOH 溶液, 于 37 ℃ 条件下水浴 15 min 让磷脂水解为磷脂脂肪酸甲酯。PLFA 分析采用美国 Agilent6890A 型气相色谱仪, 鉴定采用美国 MIDI 公司的 Sherlock MIS 4.5 系统。

1.3.3 土壤酶活性的测定 土壤酶活性测定采用关松荫等的方法^[13]。**L-天冬酰胺酶活性测定:** 用天冬酰胺作为底物测定酶活性, 在分析天平上称取 10 g 湿土样品置于 100 mL 烧杯中, 加入 1 mL 的甲苯于土壤样品中, 然后静置 20 min, 之后在烧杯中加入 20 mL 的 3% 天冬酰胺和 20 mL (pH 值 = 6.7) PBS 缓冲液, 将样品和底物的混合物置于 37 ℃ 条件下反应 24 h。**蔗糖酶活性测定:** 称取 2 g 土壤样品加入到 30 mL 的醋酸缓冲溶液(2 mol/L)中, 振荡混匀, 然后加入 30 mL 蔗糖溶液(1.2%)作为底物, 最后将酶和底物置于 50 ℃ 培养箱中反应 3 h。**β-葡萄糖苷酶活性测定:** 取 1 g 湿土样品于 10 mL 烧杯中, 然后加入 4 mL 0.05 mol/L 缓冲液, 放置 5 min 后, 加入 1 mL 5 mmol/L 对硝基苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)溶液并混匀, 之后在 37 ℃ 条件下水浴 1 h。**脲酶活性测定:** 用尿素作为底物测定酶活性, 在 20 mL 三角锥形瓶中加入 2 g 湿土样品和 10 mL 的尿素溶液(80 mmol/L), 然后 37 ℃ 水浴 2 h 即可。**蛋白酶活性测定:** 称取 2 g 湿土样品于 30 mL 烧杯中, 然后依次加入 10 mL 三异丙基乙磺酰缓冲溶液和 10 mL 酪蛋白底物溶液, 50 ℃ 下反应 2 h。**酚氧化酶和过氧化物酶活性** 采用分光光度法测量: 以 1% 焦培酸作为酶底物, 称取 2 g 湿土样品加入到 10 mL 底物溶液中, 30 ℃ 条件下反应 10 min。**酸性磷酸酶活性测定:** 用苯基磷酸盐作基质, 以酚的释放量表示磷酸酶活性。

1.3.4 统计学分析方法 本研究所有统计学分析均在软件 SPSS 21.0 上完成。其中, 显著性差异采用单因素方差和多重比较进行分析。相关性分析采用皮尔森相关分析方法。显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同氮肥处理土壤理化性质的变化

试验地的部分理化性质随着氮肥施加量的增加有一定变化(表 1)。其中, N10、N80 和 N160 处理的土壤总氮含量随着氮肥施加量的增加而显著上升($P<0.05$), 在没有氮肥的情况下土壤总氮约

为 2.28 g/kg,而在施肥量为 160 kg/(hm²·年)的条件下,土壤总氮含量增加到 2.78 g/kg。土壤含水量和土壤全磷含量在各个氮肥处理之间没有明显变化。土壤碳氮比因为土壤总氮的上升而出现下降,在没有氮肥的情况下土壤碳氮比为 23.47,而在

施肥量为 160 kg/(hm²·年)的条件下下降为 20.05,且呈现波动降低的变化趋势($P<0.05$)。土壤 pH 值在 N10、N20、N40 和 N80 处理下均没有出现显著变化,但 N160 处理与 N0 相比显著降低。

表 1 不同氮肥施加量对土壤理化性质的影响

处理	土壤含水量(%)	pH 值	总有机碳 (TOC,g/kg)	总无机碳 (IC,g/kg)	总氮含量 (TN,mg/kg)
N0	24.28 ± 1.42a	7.82 ± 0.05a	53.55 ± 2.01	15.35 ± 7.01	2.28 ± 0.10c
N10	23.32 ± 1.89a	7.86 ± 0.03a	56.71 ± 3.17	18.54 ± 5.97	2.41 ± 0.09b
N20	23.12 ± 1.54a	7.85 ± 0.03a	49.22 ± 2.76	17.51 ± 2.23	2.43 ± 0.03b
N40	22.97 ± 1.22a	7.82 ± 0.02a	52.30 ± 4.48	22.22 ± 4.09	2.51 ± 0.05b
N80	23.25 ± 1.78a	7.80 ± 0.01a	50.01 ± 4.56	22.09 ± 4.93	2.64 ± 0.08ab
N160	24.63 ± 2.23a	7.67 ± 0.05b	55.86 ± 3.58	11.06 ± 3.54	2.78 ± 0.05a

处理	碳氮比 (C/N)	全磷(TP,g/kg)	沙土 (%)	粉土 (%)	黏土 (%)
N0	23.47 ± 0.21a	0.66 ± 0.02a	53.45 ± 3.74	45.32 ± 3.52	1.23 ± 0.23
N10	23.51 ± 0.50a	0.71 ± 0.03a	57.50 ± 4.99	41.43 ± 4.76	1.06 ± 0.23
N20	20.27 ± 1.33ab	0.69 ± 0.04a	47.89 ± 2.75	51.15 ± 2.77	0.96 ± 0.02
N40	20.81 ± 1.73ab	0.67 ± 0.04a	50.41 ± 5.95	48.56 ± 5.86	1.04 ± 0.10
N80	18.91 ± 1.28ab	0.71 ± 0.04a	51.17 ± 2.84	47.50 ± 92.87	1.24 ± 0.06
N160	20.05 ± 1.07b	0.68 ± 0.02a	50.76 ± 1.80	48.01 ± 1.65	1.23 ± 0.19

注:不同的小写字母间表示差异显著($P<0.05$)。表 2 同。

2.2 土壤酶活性的变化

本研究共探讨了 8 种土壤酶活性随氮肥施加量变化而变化的结果,酚氧化酶(phenoloxidase)、L-天冬酰胺酶(L-asparaginase)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)活性并没有随氮肥施加量的增加而呈现显著的变化趋势,其中过氧化物酶、L-天冬酰胺酶和蛋白酶在施肥量为 10 kg/(hm²·年)的条件下活性达到最大值,相比没有施肥处理的土壤有所升高,但随着氮肥施加量的增加,这几种酶活性又出现下降趋势(图 1)。蔗糖酶(invertase)活性随氮肥施加量的增加呈现先上升后下降的趋势,

在 N40 处理条件下达到最大值 2.48 μg/(g·h)。β-葡萄糖苷酶(β-glucosidase)活性在前 4 个处理和对照没有明显变化,但 N160 处理活性显著升高($P<0.05$),达到 335.3 μg/(g·h)。与对照相比,N10 处理的过氧化物酶(oxidase)活性显著升高,而 N20、N40 处理显著降低;N10 处理的蛋白酶(protease)活性显著升高,而 N80 处理显著降低(表 2)。脲酶(urease)可以水解尿素,其活性代表了土壤水解氮肥的能力,本研究中脲酶活性随着氮肥施加量的增加显著升高($P<0.05$,图 1)。

表 2 不同氮肥施加量对土壤酶活性的影响

处理	土壤酶活性[μg/(g·h)]							
	蔗糖酶	β-葡萄糖苷酶	酚氧化酶	过氧化物酶	L-天冬酰胺酶	蛋白酶	脲酶	碱性磷酸酶
N0	1.59c	275.35b	359.41a	621.60ab	0.66a	175.86ab	102.53c	753.86a
N10	1.86bc	285.10ab	360.45a	656.20a	0.69a	195.14a	124.16bc	828.40a
N20	2.05abc	286.98ab	363.51a	564.59b	0.56a	167.13ab	143.94b	757.99a
N40	2.48a	275.71b	321.34a	566.00b	0.56a	172.98ab	149.52b	796.67a
N80	2.23ab	286.51ab	369.25a	577.55ab	0.58a	143.39b	182.24a	791.79a
N160	2.06abc	335.32a	306.94a	590.28ab	0.60a	157.84ab	207.91a	875.57a

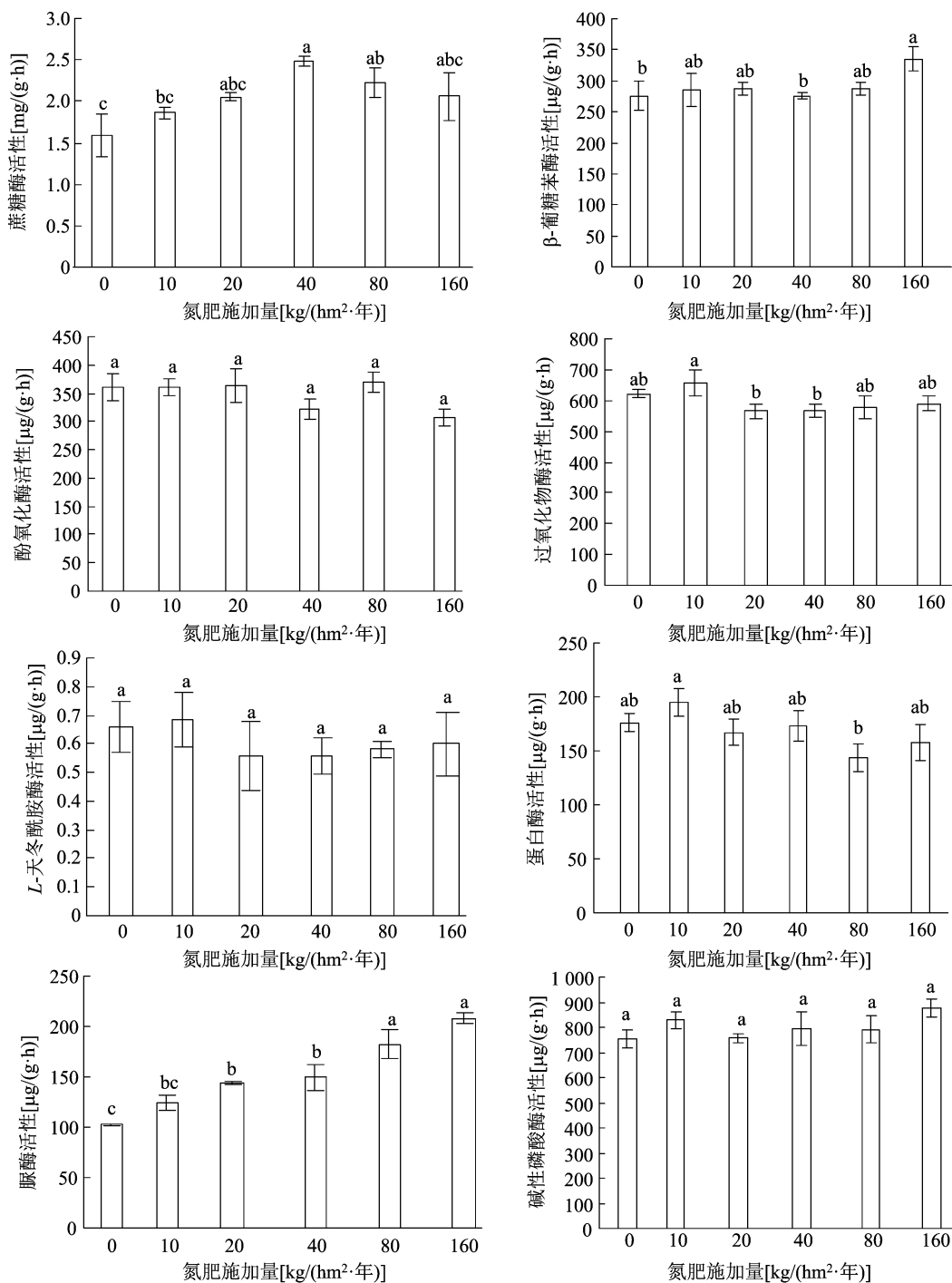


图1 土壤酶活性在不同氮肥处理下的变化趋势

2.3 微生物生物量的变化趋势

本研究高寒草原土壤总微生物生物量用磷脂脂肪酸量来表示 (C16:0, 10Me16:0, i17:0, 17:0 anteiso, 17:1 ω8c, cy17:0, C17:0, 10Me17:0, 18:1 ω7c, 18:1 ω5c, C18:0)。高寒草原土壤在 1 年的增氮处理后,微生物生物量显著下降,由不加氮肥处理时的 92.48 nmol/g 下降至 N160 处理的 48.93 nmol/g,且随着氮肥施加量的增加,生物量逐

步呈现明显下降的趋势 ($P < 0.05$, 图 2)。其中, N20 到 N80 处理间生物量的下降趋势较缓。对照 N0 到 N10 处理间下降较为明显。N80 到 N160 处理的下降幅度最大, N160 处理生物量与 CK 相比减少 43.55 nmol/g。

2.4 土壤酶活性与生物量和土壤理化性质之间的相关性

由表 3 可知,高寒草原土壤微生物生物量与土

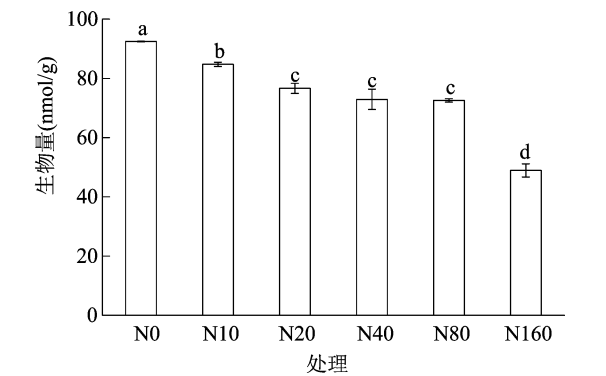


图2 微生物生物量的变化趋势

表 3 土壤理化性质和土壤微生物生物量之间的相关性

指标	相关系数								
	pH 值	含水量	总氮含量	全磷含量	总有机碳含量	总无机碳含量	沙土占比	粉土占比	黏土占比
微生物生物量	0.848 *	-0.325	-0.952 **	0.007	-0.116	0.383	0.453	-0.442	-0.207

注：*、** 表示在 0.05、0.01 水平（双侧）上显著相关。表 4 同。

N160 处理下有显著下降,周细红等的研究表明,尿素在土壤中水解会消耗 H⁺,导致增氮处理前期土壤 pH 值会有所升高,而之后铵根离子转化为硝酸根和亚硝酸根的过程会产生大量的 H⁺,因此土壤 pH 值会快速下降^[15]。之前的研究表明,土壤 pH 值是影响微生物生长繁殖的重要因素,相较于其他因素,土壤微生物对 pH 值的变化非常敏感,pH 值越低,微生物生物量越低,即 pH 值与微生物生物量呈显著性正相关($r=0.848,P<0.05$)^[16],这与本试验结果一致。在本试验结果(表 1)中可以看到,土壤总氮含量随氮肥施加量的增加而显著升高。从表 3

壤 pH 值呈显著正相关,相关系数为 0.85 ($P<0.05$),与土壤总氮含量呈极显著负相关($r=-0.95,P<0.01$);与含水量、全磷(TP)含量、总有机碳(TOC)含量、总无机碳(TC)含量以及土壤粒径之间没有显著的相关性($P>0.05$)。

3 讨论

土壤的理化性质与微生物生物量和酶活性密切相关^[14]。通过分析添加不同氮肥施加量对土壤理化性质的影响(表 1)可以发现,土壤 pH 值在

可以看到,土壤总氮含量与微生物生物量也有显著相关性($r=-0.952,P<0.01$),随着土壤氮含量的升高,微生物生物量显著下降(图 2),裴雪霞等也发现了类似的规律^[17]。结合本试验结果与 Jenkinson 等的结论^[18]推测,施加氮肥会导致土壤 pH 值降低,而酸性土壤不利于微生物生长,这是导致微生物生物量降低的主要原因。土壤水含量、全磷含量、总有机碳含量、总无机碳含量和土壤粒径在增氮处理下皆没有显著性变化,且这些指标与微生物生物量的变化没有显著性差异(表 1、表 4)。

表 4 土壤理化性质和土壤微之间的相关性

指标	相关系数							
	蔗糖酶活性	β -葡萄糖苷酶活性	酚氧化酶	过氧化物酶活性	<i>L</i> -天冬酰胺酶活性	蛋白酶活性	脲酶活性	碱性磷酸酶活性
pH 值	0.16	-0.90 *	0.51	0.73	0.20	-0.72	-0.78	-0.10
含水量	0.37	0.65	-0.12	-0.41	0.28	0.41	0.21	-0.56
总氮含量	-0.45	0.80	-0.66	-0.59	-0.42	0.75	0.99 **	0.55
全磷含量	0.07	-0.02	-0.10	0.54	0.16	0.14	0.21	0.14
总有机碳含量	0.74	0.40	0.57	-0.43	0.76	0.69	-0.05	-0.39
总无机碳含量	-0.29	-0.74	-0.04	0.41	-0.24	-0.43	-0.19	0.56
沙土占比	0.93 **	-0.18	0.66	0.23	0.96 **	0.24	-0.45	-0.51
粉土占比	-0.94 **	0.16	-0.64	-0.22	-0.96 *	-0.25	0.43	0.52
黏土占比	0.27	0.35	-0.48	-0.10	0.18	0.27	0.32	-0.29

注：* 表示在 0.05 水平（双侧）上显著相关。

土壤酶活性与土壤肥力和土壤生态环境息息相关^[19-21]。由图 1 可以看到, β -葡萄糖苷酶在氮肥添加量增多的情况下活性有下降趋势,活性由对照的 275.35 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 增加到 335.32 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$

(表 2), β -葡萄糖苷酶参与了土壤环境中的碳循环^[22],然而试验结果表明各处理之间的有机碳(TOC)含量并没有显著性差异(表 1),这与之前的研究矛盾。但通过表 4 可以看到, β -葡萄糖苷酶的活

性与土壤 pH 值有显著的相关性,因此可以将 β -葡萄糖苷酶活性的降低可以解释为因氮肥施加导致的 pH 值降低,进而影响酶的活性。蔗糖酶、过氧化物酶和蛋白酶活性在氮肥增加的过程中都有先上升后下降的趋势(图 1),说明在一定范围内,氮肥的增加可以激活这几种酶的活性,但随着氮肥施加量的进一步升高,酶活性会被抑制,其中的机理有待进一步研究。脲酶可以催化尿素将尿素水解并产生氨,氨可以被植物吸收利用,直接参与土壤氮循环,因此脲酶活性的变化会对土壤环境产生一定影响^[23-25]。在本研究中,相对于其他 2 种参与氮循环的土壤酶(L -天冬酰胺酶和蛋白酶),脲酶活性随土壤总氮含量变化表现为极显著差异($r = 0.99$, $P < 0.01$),且脲酶活性随着氮肥施加量的增加而显著增加(图 2)。蔗糖酶和 L -天冬酰胺酶与土壤粒径变化有显著相关性(表 4),2 种酶都与沙土占比呈极显著正相关,而与粉土呈极显著负相关($P < 0.01$),说明这 2 种酶活性对土壤粒径的变化敏感且在沙土中有更好的活性。综上所述,施加氮肥对植物和微生物会深刻影响氮源和碳源的利用方式,导致土壤环境产生变化。

4 结论

本研究表明,随着在青藏高原高寒草原中氮肥施加量的增多,土壤碳氮比降低,土壤 pH 值下降,土壤微生物生物量会有显著下降, β -葡萄糖苷酶、蔗糖酶、蛋白酶、过氧化物酶以及脲酶的活性也会因氮肥施加量的不同而产生变化。氮肥的添加改变了高寒草原土壤的理化性质和土壤微生物的生物量,可能会对高寒草原土壤的生态环境产生破坏。

参考文献:

- [1] 周丽霞,丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性,2007,15(2):162-171.
- [2] 王伟,德科加. 不同氮肥及施氮水平对称多县高寒草甸生物量和养分的影响[J]. 草地学报,2015,23(5):968-977.
- [3] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2006,103(3):626-631.
- [4] Angeloni N L, Jankowski K J, Tuchman N C, et al. Effects of an invasive cattail species (*Typha x glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland[J]. FEMS Microbiology Letters,2006,263(1):86-92.
- [5] 曹文侠,李文,李小龙,等. 施氮对高寒草甸草原植物群落和土壤养分的影响[J]. 中国沙漠,2015,35(3):658-666.
- [6] Aon M A, Colaneri A C. II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil[J]. Applied Soil Ecology,2001,18(3):255-270.
- [7] 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.
- [8] 张艺. 氮添加对若尔盖高寒泥炭湿地土壤碳稳定性的影响[D]. 北京:北京林业大学,2016.
- [9] 毛绍娟,吴启华,祝景彬,等. 藏北高寒草原群落维持性能对封育年限的响应[J]. 草业学报,2015,24(1):21-30.
- [10] 尉建埔,张洁,王文娜,等. 施氮肥对东北帽儿山云杉人工林土壤微生物生物量和群落结构的影响[J]. 东北林业大学学报,2016,44(5):52-56.
- [11] Kautz T, Wirth S, Ellmer F. Microbial activity in a sandy arable soil is governed by the fertilization regime[J]. European Journal of Soil Biology,2004,40(2):87-94.
- [12] White D C, Wm D, Nickels J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate[J]. Oecologia,1979,40(1):51-62.
- [13] 关松荫,张德生,张志明. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京:农业出版社,1986.
- [14] 牛小云,孙晓梅,陈东升,等. 辽东山区不同林龄日本落叶松人工林土壤微生物、养分及酶活性[J]. 应用生态学报,2015,26(9):2663-2672.
- [15] 周细红,曾清如,蒋朝辉,等. 尿素施用对土壤 pH 值和模拟温室内箱内 NH_3 和 NO_2 浓度的影响[J]. 土壤通报,2004,35(3):374-376.
- [16] Högborg M N, Högborg P, Myrold D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? [J]. Oecologia,2007,150(4):590-601.
- [17] 裴雪霞,周卫,梁国庆,等. 长期施肥对黄棕壤性水稻土生物学特性的影响[J]. 中国农业科学,2010,43(20):4198-4206.
- [18] Jenkinson D S, Davidson S A, Powlson D S. Adenosine-triphosphate and microbial biomass in soil [J]. Soil Biology & Biochemistry,1979,11(5):521-527.
- [19] 王启兰,曹广民,王长庭. 放牧对小嵩草草甸土壤酶活性及土壤环境因素的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2007,13(5):856-864.
- [20] Dick R P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality, in defining soil quality for a sustainable environment[J]. Soil Science Society of America Special Publication,1994,35:107-124.
- [21] 裴海昆. 不同施肥量对天然草地土壤酶活性的影响[J]. 青海畜牧兽医杂志,2001,31(2):15-16.
- [22] 斯贵才,袁艳丽,王建,等. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化[J]. 微生物学通报,2014,41(10):2001-2011.
- [23] 李潮海,王小星,王群,等. 不同质地土壤玉米根际生物活性研究[J]. 中国农业科学,2007,40(2):412-418.
- [24] 王华,郭小敏,胡冬南. 不同类型肥料对油茶幼林土壤微生物特性的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):252-255.
- [25] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review[J]. Pedobiologia,2005,49(6):637-644.