

养殖池塘底泥磷酸酶活性与释磷关系及其调控的研究

王芳^{1,2}, 田秀平², 韩晓日¹, 蔡丹丹¹, 卢显芝², 李文波², 郝建朝²

(1.沈阳农业大学土地与环境学院, 辽宁 沈阳 110161; 2.天津农学院农学系, 天津 300384)

摘要:以天津市东丽区和西青区2个养殖池塘为对象,采用室内试验方法,研究了底泥中各有机磷组分与上覆水中可溶性磷(DRP)含量、底泥磷酸酶活性与有机磷各组分及上覆水中可溶性磷之间的关系,并采取不同处理对底泥酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(ALP)活性进行调控。结果表明,底泥中活性有机磷(LOP)、中等活性有机磷(MLOP)、中稳性有机磷(MROP)与上覆水中DRP之间呈显著正相关。底泥中ALP与MLOP、MROP之间相关显著,并对其直接影响较大;ACP与MLOP之间相关显著,对其产生的直接影响也很大。A、B两池塘底泥中ALP与上覆水中DRP随时间变化规律基本一致,二者之间呈显著正相关。在养殖水体中加入酶抑制剂和沸石能抑制ALP和ACP活性,并以酶抑制剂加沸石的处理效果最好。

关键词:底泥;磷酸酶活性;有机磷组分;可溶性磷

中图分类号:X524 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)08-1683-06

Control Phosphatase Activity and Its Relation with Phosphorus Release in Aquaculture Ponds Sediments

WANG Fang^{1,2}, TIAN Xiu-ping², HAN xiao-ri¹, CAI Dan-dan¹, LU Xian-zhi², LI Wen-bo², HAO Jian-chao²

(1.College of Land and Environment Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 100161, China; 2.Department of Agronomy, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China)

Abstract: The aquaculture ponds of Dongli District and the Xiqing District in Tianjin for the two objects. The relationship between organic phosphorus forms in sediments with dissolved reactive phosphorus (DRP) contents in overlying water, and sediment phosphatase activity with organic phosphorus and DRP contents in overlying water had been researched. Different treatments had been taken to inhibit the acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (ALP) activity. The results showed that DRP contents in the overlying water were positively correlated with LOP, MLOP. ALP activity with MLOP, MROP had significant positive relation and its direct effect on them was large, and the same results on ACP activity with MROP. The change with time of ALP activity in sediments were same with the DRP contents in overlying water in A, B and had significant positive correlation between them. Adding enzyme inhibitor, zeolite in ponds could inhibit ACP and ALP activity, and the treatment with enzyme inhibitor and zeolite was best of all.

Keywords: sediments; phosphatase activity; organic phosphorus; DRP

水体富营养化主要是水中氮和磷含量过多引起的,其中磷被认为是多数水体浮游藻类主要限制性营养因子。对于某些水体,尽管采取了各种措施杜绝了外源磷的输入,但水体富营养化并未得到有效控制。此现象可归因于水体底泥中磷等营养元素的释放^[1]。养殖池塘底泥中有机态磷含量较高,在一定情况下,它们

又将在磷酸酶作用下释放可溶性磷进入上覆水,引起水体富营养化^[2]。试验证明影响底泥中磷素释放的因素很多,其中磷酸酶活性对磷素的转化起着关键的作用^[3]。宋春雷等发现,发生微囊藻水华的池塘底层ALP在分布与动力学方面均具有多样性,从而表现出适应不同底物的较强的分解释放磷酸盐的能力^[3]。章婷曦等研究显示碱性磷酸酶活性与水中总磷相关显著,其次是无机磷^[4]。磷酸酶是底泥中一种以稳定蛋白酶形态存在的酶素之一,可以作为水环境中磷的指示剂^[5-7],催化所有的磷酸脂的水解反应和磷酸基团的转移反应,与有机磷的分解有一定关系,可使有机磷释放大

量磷素到上覆水体中^[8]。因此,研究底泥磷酸酶活性

收稿日期:2008-07-28

基金项目:天津市自然科学基金重点项目(07JCZDJC04600);天津市教委基金项目(20060708)

作者简介:王芳(1984—),女,辽宁抚顺人,在读硕士,主要从事养分资源再利用方面的研究。E-mail:wangfang_2008_08@163.com

通讯作者:田秀平 E-mail:tian5918@sohu.com

与有机磷组分、上覆水可溶性磷之间的关系极为重要。本文针对天津市 2 个养殖池塘,对底泥 3 种磷酸酶活性与有机磷释放以及上覆水体中可溶性磷含量的关系进行研究,并采用不同处理对底泥磷酸酶活性进行调控,目的是在了解底泥 3 种磷酸酶活性与有机磷释放以及上覆水可溶性磷变化关系的基础上,寻找一种可以有效控制底泥磷酸酶活性,降低池塘上覆水体中可溶性磷的有效措施,为防止水体富营养化提供数据支撑。

1 材料及方法

1.1 试验样品采集

2007 年 5 月 11 日对天津市东丽区虾池 A(连续 11 年没有清池),2007 年 6 月 5 日对西青区鱼池 B(连续 9 年没有清池)的上覆水及底泥采样。按池塘大小设定取样点数,A 池塘设定 15 个,B 池塘设定 10 个。用柱状采样器取底泥(0~20 cm)、用小口塑料桶取上覆水(水面下 40 cm)样品。底泥和水样送至实验室内分别混合。部分底泥和上覆水用于室内底泥释磷控制试验;部分底泥干燥,过筛,测定其理化性质;部分水样用 0.45 μm 纤维滤膜过滤后在 24 h 内测定其理化性质。池塘上覆水和底泥的基本理化性质见表 1。

表 1 A、B 两池塘底泥及上覆水的基本理化性质

Table 1 Chemical and physical characteristics of sediment and overlying water in pond A and B

样品 Samples	总磷 TP/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总氮 TN/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	可溶性 磷 DRP/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	氨态氮 $\text{NH}_4^+-\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	pH	EC/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
池塘 A 上覆水	0.36	0.21	0.04	6.63	9.09	98.20
Ponds A 底泥	0.85	5.90	31.43	59.97	8.10	121.50
池塘 B 上覆水	0.49	0.18	0.04	1.13	8.56	110.20
Ponds B 底泥	0.76	5.96	23.46	60.07	8.50	137.20

1.2 底泥释磷控制试验

取 40 cm(长)×30 cm(宽)×35 cm(高)鱼缸 24 个,分别装入上述从 A、B 两池塘取来的上覆水和底泥样品,首先在每缸底部平铺底泥 24 kg(约 4 cm 厚),再缓慢注入上覆水至 20 cm 处。试验处理如下:A1、B1 为对照组;A2、B2 为沸石处理组,取 10 g 沸石均匀撒在底泥上面;A3、B3 为酶抑制剂处理组,取酶抑制剂 4 g 均匀撒在底泥上面;A4、B4 为沸石与芽孢杆菌制剂(分离于池塘底泥)处理组,取 10 g 沸石均匀撒在底泥上面,将芽孢杆菌 20 μL ($10^8\cdot\text{mL}^{-1}$)稀释 100 倍注入上覆水中;A5、B5 为沸石与酶抑制剂处理组,取

沸石 10 g、脲酶抑制剂 4 g 均匀撒在底泥上面;A6、B6 为芽孢杆菌制剂处理组,将芽孢杆菌 20 μL ($10^8\cdot\text{mL}^{-1}$)稀释 100 倍注入上覆水中。以上每组各设一个重复。鱼缸四周用黑布包围,随机排列在窗口,在自然光和室温下进行培养。

1.3 分析样品采集方法

室内试验采样方法:采用 5 点法取上覆水和底泥样品。采样时间:试验组 A 为 2007 年 6 月 15 日、7 月 15 日、8 月 15 日、9 月 15 日,试验组 B 为 7 月 6 日、8 月 6 日、9 月 6 日、10 月 7 日。在试验 A、B 组每次取样时,采用多点法对 A、B 实际池塘的底泥(0~20 cm)和上覆水(水面下 40 cm)采样。

1.4 样品分析方法

上覆水体中可溶性磷含量采用钼酸铵分光光度法 GB 11893—1989,其他水体分析项目均根据文献[9]的方法^[9]。底泥中磷酸酶活性用苯磷酸二钠法^[10],分为 3 种,分别为酸性磷酸酶(ACP)、中性磷酸酶(NEP)和碱性磷酸酶(ALP),单位为 $\mu\cdot\text{g}^{-1}$ 定义为每克泥每分钟产生酚的 mg 数(μ 的定义为每分钟产生酚的 mg 数)。底泥中可溶性磷含量测定采用 Olsen 法^[11],底泥有机磷组分采用 Bowman 和 Cole 法^[12],将其划分为活性有机磷(LOP)、中等活性有机磷(MLOP)、中稳性有机磷(MROP)和高稳性有机磷(HROP),其他分析项目均采用常规法^[10]。试验中各种磷含量均为纯磷。

2 结果与讨论

2.1 磷酸酶活性与上覆水中可溶磷及底泥各有机态磷含量的关系

2.1.1 磷酸酶活性与上覆水中可溶磷含量的关系

从图 1、图 2 看出,A 实际池塘和室内对照组底泥中 ALP 和 ACP 活性与上覆水中 DRP 随时间变化规律基本一致,即从 5 月 11 日开始上升至 7 月 16 日后又下降,8 月 16 日达最低值后又上升至 9 月 16 日,NEP 活性 7 月 16 日前数值变化不大,与上覆水 DRP 变化规律不一致。由图 3、图 4 可以看出,B 实际池塘和室内对照组底泥中的 ALP 活性与上覆水中 DRP 变化一致,即从 6 月 6 日升高至 9 月 6 日后下降,NEP 和 ACP 活性与上覆水中 DRP 变化规律不一致。

为了进一步探讨各磷酸酶与上覆水 DRP 之间的关系,对其进行了相关和通径分析。从表 2 看出,2 个池塘底泥 ALP 活性都与上覆水 DRP 之间达极显著或显著正相关,相关系数分别为 0.892 5 和 0.876 5,

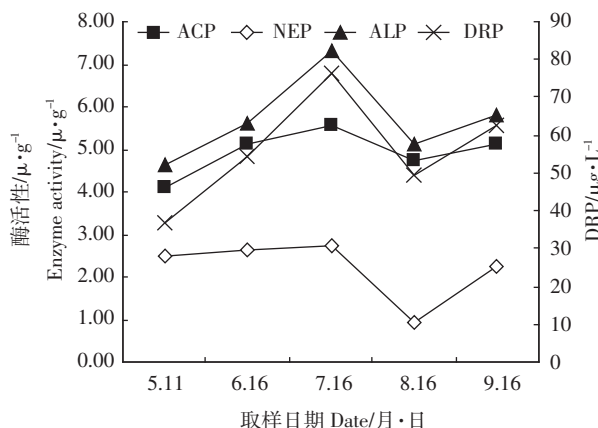


图 1 A 池塘实际磷酸酶活性和上覆水中 DRP 含量变化

Figure 1 The change of enzyme activity and DRP content of water in A pond

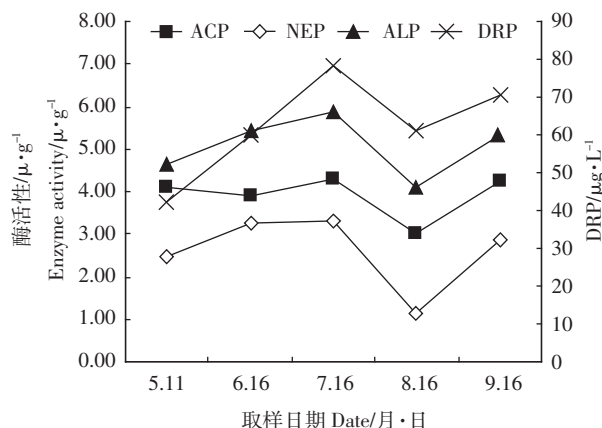


图 2 A 池塘 A1 磷酸酶活性和上覆水中 DRP 含量变化

Figure 2 The change of enzyme activity of A1 and DRP content of water in A pond

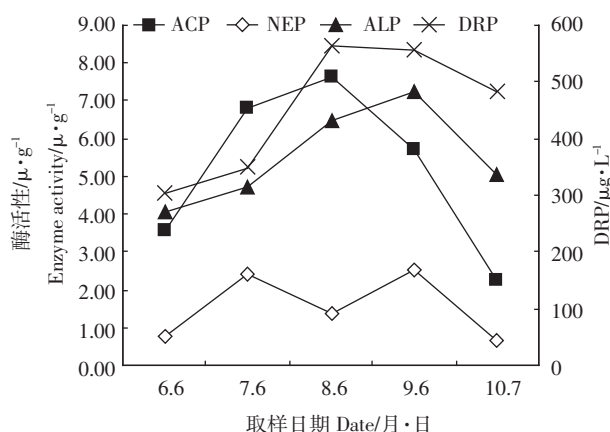


图 3 B 池塘实际磷酸酶活性和上覆水中 DRP 含量变化

Figure 3 The change of enzyme activity and DRP content in B pond

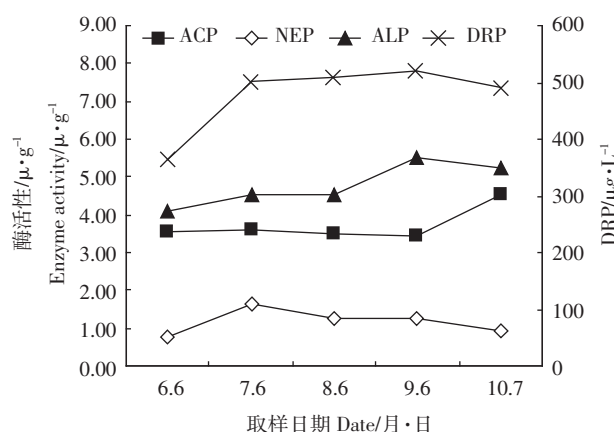


图 4 B 池塘 B1 磷酸酶活性和上覆水中 DRP 含量变化

Figure 4 The change of enzyme activity and DRP content in B pond

而 ACP 和 NEP 与上覆水 DRP 之间相关不显著。通径分析(表 3)得出,供试底泥中各磷酸酶活性对上覆水可溶性磷的直接通径系数大小依次为,A 池塘 $ALP(0.325\ 3) > NEP(-0.219\ 9) > ACP(-0.391\ 4)$;B 池塘 $ALP(0.279\ 9) > ACP(-0.064\ 3) > NEP(-0.375\ 8)$ 。说

表 2 对照组和实际底泥中磷酸酶活性与上覆水 DRP 含量间的相关系数

Table 2 Correlation coefficient between enzyme activity in sediments and DRP in overlying water of control group and actual pond

	A 池塘 A pond			B 池塘 B pond		
	酸性磷酸酶 ACP	中性磷酸酶 NEP	碱性磷酸酶 ALP	酸性磷酸酶 ACP	中性磷酸酶 NEP	碱性磷酸酶 ALP
ACP	1			1		
NEP	0.207 3	1		0.634 1	1	
ALP	0.815 1*	0.517 6	1	0.521 9	0.451 9	1
DRP	0.643 3	0.384 9	0.892 5**	0.261 0	0.017 5	0.876 5*

注: $n=9, r_{0.05}=0.807, r_{0.01}=0.885$ 。

明,ALP 是促使底泥中磷源释放的主导因素,在底泥磷素释放过程中所起的作用远远大于 ACP 和 NEP。

2.1.2 底泥中磷酸酶活性与有机态磷组分的关系

底泥中磷酸酶活性大小直接到底泥有机态磷的矿化分解,本试验得出两池塘底泥中有机磷总量平均值为 $496.97\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,占全磷总含量的 59.83%,所以其在水体磷素转化中的作用不可忽略。

底泥中磷酸酶活性与各有机磷组分的相关分析表明(表 4),A 和 B 池塘底泥中 ALP 活性与 MLOP 和 MROP 之间均呈显著正相关,相关系数分别为 0.944 6、0.862 8 和 0.852 6、0.851 0,与 LOP 和 HROP 之间相关不显著;ACP 活性与 MLOP 之间均呈显著正相关,相关系数两池塘分别为 0.855 9 和 0.826 9,与其余 3 种有机磷组分之间相关不显著;NEP 与所有有机磷组分之间相关不显著。表 5 分析数据得出,A、B 池塘底泥 ALP 和 ACP 的活性对 MLOP 和 MROP 的直接通

表3 对照组和实际底泥中磷酸酶对上覆水体中DRP含量的通径分析

Table 3 Path analysis of enzyme activity in sediments to DRP of overlying water in control group and actual pond

	A 池塘 A pond				B 池塘 B pond			
	直接通径系数 Direct	酸性磷酸酶→ ACP	中性磷酸酶→ NEP	碱性磷酸酶→ ALP	直接通径系数 Direct	酸性磷酸酶→ ACP	中性磷酸酶→ NEP	碱性磷酸酶→ ALP
ACP	-0.391 4		-0.045 6	1.080 2	-0.064 3		-0.238 3	0.563 5
NEP	-0.219 9	-0.081 1		0.686 0	-0.375 8	-0.040 8		0.488 0
ALP	0.325 3	-0.319 0	-0.113 9		0.279 9	-0.033 6	-0.169 8	
决定系数 Coefficient of determination			R ² =0.846 4				R ² =0.902 8	

径系数较大,且ALP高于ACP;对LOP和HROP的直接影响较小,NEP活性对4种形态有机磷的直接影响较小。Bowman和Cole认为LOP是以核酸形态存在的磷,在底泥中极易分解,MLOP是植素形态的磷,而MROP和HROP则是分别存在于富啡酸和胡敏酸中的磷^[13]。从以上分析看出,池塘底泥中ALP和ACP对MLOP和MROP分解矿化起很大作用。

上覆水体中DRP与各有机磷组分相关分析表明(表6),上覆水体中DRP与LOP、MLOP之间呈显著正相关,相关系数分别为0.585、0.629。与MROP、HROP之间相关不显著。由此可知,LOP、MLOP可直接矿化成为上覆水体中DRP源,即它们含量高低制约着上覆水体中DRP的多寡。至于MROP、HROP是底泥中活性不强的磷组分,它们一般很难转化成可溶性磷源,与上覆水体中可溶性磷的相关性很差。底泥各有机磷组分与DRP建立的相关方程为:

$$y(\text{DRP})=-96.087+0.377x_1(\text{LOP})+0.401x_2(\text{MLOP})-0.474x_3(\text{MROP})+2.134x_4(\text{HROP})$$

2.2 不同处理对底泥磷酸酶活性的影响

鉴于ALP和ACP对有机磷矿化分解的作用,上覆水体中DRP又来自于底泥某些有机磷的矿化,所以

表6 上覆水体中可溶性磷和有机磷组分间的相关系数

Table 6 Single correlation coefficient among DRP of overlying water and organic phosphorus forms

相关系数 correlation coefficient	活性有机 磷 LOP	中活性有 机磷 MLOP	中稳性有机 磷 MROP	高稳性有机 磷 HROP	可溶性磷 DRP
LOP	1	0.797**	0.474	-0.194	0.585*
MLOP	0.797**	1	0.647*	-0.047	0.629*
MROP	0.474	0.647*	1	-0.507	0.134
HROP	-0.194	-0.047	-0.507	1	0.289
DRP	0.585*	0.629*	0.134	0.289	1

注:n=12,r_{0.05}=0.576,r_{0.01}=0.708。

表4 底泥中磷酸酶活性与各有机磷组分之间的相关分析

Table 4 Correlation analysis among enzyme activity and various organic phosphorus forms in sediments

	A 池塘 A pond				B 池塘 B pond			
	活性有机磷 LOP	中活性有机磷 MLOP	中稳性有机磷 MROP	高稳性有机磷 HROP	活性有机磷 LOP	中活性有机磷 MLOP	中稳性有机磷 MROP	高稳性有机磷 HROP
ACP	-0.049 6	0.855 9	-0.116 0	0.007 2	-0.766 2	0.826 9	0.323 7	0.070 6
NEP	-0.846 8	0.790 8	0.772 5	-0.159 9	-0.699 0	0.778 1	0.571 1	-0.429 7
ALP	-0.737 5	0.944 6	0.852 6	-0.297 3	0.142 8	0.862 8	0.851 0	-0.664 0

注:n=9,r_{0.05}=0.807,r_{0.01}=0.885,ACP、NEP、ALP分别为酸性磷酸酶、中性磷酸酶、碱性磷酸酶。

表5 底泥中磷酸酶活性对各有机磷组分的直接通径系数

Table 5 Direct path coefficient of enzyme activity to various organic phosphorus forms in sediments

	A 池塘 A pond				B 池塘 B pond			
	活性有机磷 LOP	中活性有机磷 MLOP	中稳性有机磷 MROP	高稳性有机磷 HROP	活性有机磷 LOP	中活性有机磷 MLOP	中稳性有机磷 MROP	高稳性有机磷 HROP
ACP	-0.448 2	0.335 6	0.223 0	-0.049 6	-0.641 9	0.491 6	-0.382 2	0.172 8
NEP	-0.603 4	0.068 5	0.070 6	-0.223 4	-0.574 0	0.029 0	0.056 3	-0.461 7
ALP	-0.164 5	0.634 6	0.254 7	-0.106 7	-0.379 9	0.501 3	0.143 2	-0.057 6

注:ACP、NEP、ALP分别为酸性磷酸酶、中性磷酸酶、碱性磷酸酶。

调控底泥 ALP 和 ACP 活性,可减少底泥磷素释放。从图 5~8 表明,A 和 B 池塘底泥 ALP 和 ACP 活性在不同时期不同,并且同一时期,不同处理底泥中也不相同。具体表现为 A、B 两池塘均以酶抑制剂和酶抑制剂加沸石处理组 ALP 和 ACP 的活性低,说明底泥中加入酶抑制剂可抑制 ALP 和 ACP 活性。

脲酶抑制剂抑制底泥中微生物的固氮,通过控制微生物的量间接地抑制 ALP 和 ACP 的活性^[14]。与对照相比底泥中加入的沸石的处理组 ALP 和 ACP 活性也有所下降,其原因可能是沸石具有强大表面、并带负电荷,对营养元素可产生物理吸附和极性吸附,增强了底泥对氮、磷等营养物质吸附能力;另外,其边面裸露的 Al-OH 基或 Si-OH 基对营养元素进行专性吸附,由于营养元素减少,使底泥中生物量减少,其分泌酶的量也相应减少;在上覆水中加入芽孢杆菌制剂的 ALP 和 ACP 活性在不同时期表现不同,有的时期两种酶活性高于对照。其影响因素极其复杂,还需进一

步研究。

3 结论

(1)养殖池塘底泥中 LOP、MLOP 和 MROP 与上覆水中可溶性磷含量之间呈显著正相关,这 3 种形态有机磷可矿化成为上覆水中可溶性磷源。

(2)底泥 ALP 活性与 MLOP 和 MROP 之间,ACP 与 MLOP 之间呈显著正相关;ALP 对各组分有机磷的直接影响是 MLOP>MROP>HROP>LOP,ACP 对 MLOP 和 MROP 直接影响也较大。因此 ALP 和 ACP 活性会直接影响 MLOP 和 MROP 的矿化分解,并且 ALP 影响大于 ACP。

(3)A 池塘底泥 ALP、ACP 活性,B 池塘底泥 ALP 活性与上覆水体可溶性磷含量随时间变化规律基本一致,并且各两者之间达显著或极显著正相关。所以有效控制 ALP 和 ACP 活性会减少上覆水中可溶性磷含量。

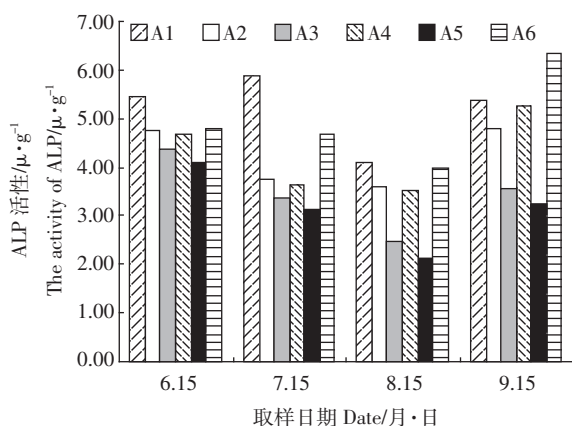


图 5 A 池塘不同处理 ALP 的活性

Figure 5 ALP activity of sediment of different treatments in A pond

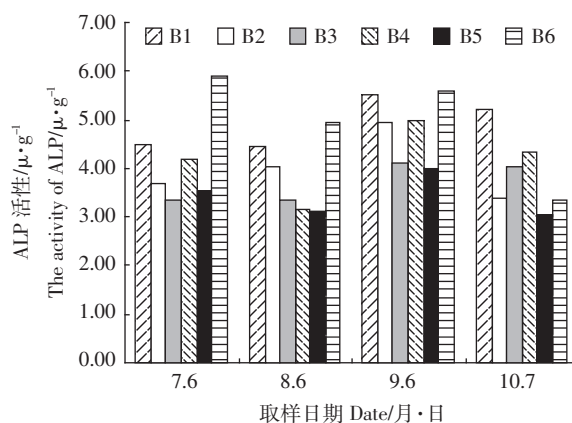


图 6 B 池塘不同处理 ALP 的活性

Figure 5 ALP activity of sediment of different treatments in B pond

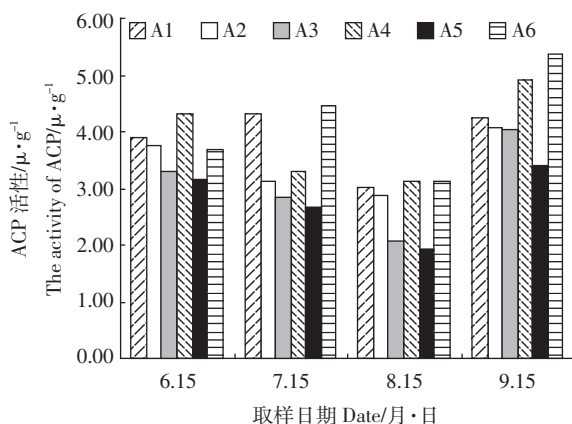


图 7 A 池塘不同处理底泥 ACP 的活性

Figure 7 ACP activity of sediment of different treatments in A pond

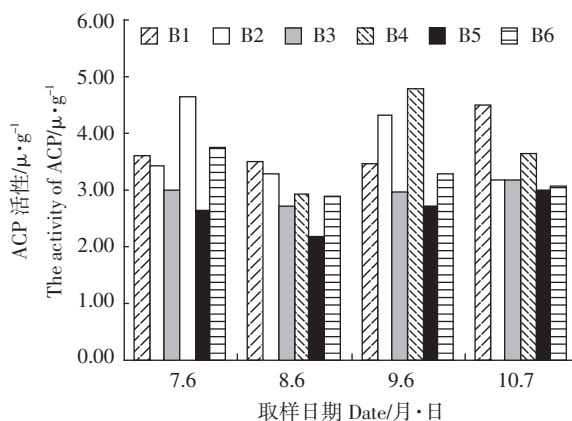


图 8 B 池塘不同处理底泥 ACP 的活性

Figure 8 ACP activity of sediment of different treatments in B pond

(4)底泥中加入酶抑制剂和沸石均能有效抑制 ALP 和 ACP 活性,并以酶抑制剂配合沸石处理效果为好。

参考文献:

- [1] 金相灿,屠清瑛.湖泊富营养化调查规范[M].北京:中国环境科学出版社,1990:208-232.
JIN Xiang-can, TU Qing-ying. Investigate norms of lake eutrophication [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1990: 208-232.
- [2] Feuillade J, Feuillade M, Blanc P. Alkaline phosphatase activity fluctuations and associated factors in eutrophic lake dominated by *Oscillatoria rubescens*[J]. *Hydrobiologia*, 1990, 207: 233-240.
- [3] 宋春雷,曹秀云,刘兵钦,等.池塘水华与底层磷营养状态的关系[J].水生生物学报,2004,28(1):7-12.
SONG Chun-lei, CAO Xiu-yun, LIU Bing-qin, et al. A relationship between algae blooms and benthic phosphorus status in ponds[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(1): 7-12.
- [4] 章婷曦,王晓蓉,金相灿.太湖沉积物中碱性磷酸酶活力和磷形态的垂向特征及相关性[J].农业环境科学学报,2007,26(1):36-40.
ZHANG Ting-xi, WANG Xiao-rong, JIN Xiang-can. Vertical variation of alkaline phosphatase activity and phosphorus forms in the Taihu Lake sediment and the relationship between them[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(1): 36-40.
- [5] Janson M, Olsson H, Pettersson K. Phosphatases, origin, characteristic and function in lakes[J]. *Hydrobiologia*, 1988, 170: 157-175.
- [6] Vrbá J, Vyhnaček V, Hejzlar J, et al. Comparison of phosphorus deficiency indices during a spring phytoplankton bloom in a eutrophic reservoir[J]. *Freshwater Biology*, 1995, 33: 73-81.
- [7] Rose C, Axler P R. Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency[J]. *Hydrobiologia*, 1988, 361: 145-156.
- [8] 陈宜宜,朱荫渭,胡木林,等.西湖底泥中酶活性与养分释放的关系[J].浙江农业大学学报,1997,23(2):171-174.
CHEN Yi-yi, ZHU Yin-mei, HU Mu-lin, et al. The relationship between enzymatic activity and nutrition release in the sediment of West Lake[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1997, 23(2): 171-174.
- [9] 雷衍之.养殖水环境化学实验[M].北京:中国农业出版社,2006.
LEI Yan-zhi. Aquaculture Water Environment Chemistry Experiment[M]. China Agricultural Press, 2006.
- [10] 严昶升.土壤肥力研究法[M].北京:农业出版社,1988:277-280.
YAN Chang-sheng. Method of Soil fertility research[M]. Beijing Agricultural Press, 1988: 277-280.
- [11] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
BAO Shi-dan. Agricultural Chemical Analysis of Soil[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [12] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,1999.
LU Ru-kun. Method of agricultural chemical analysis on Soil[M]. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 1999.
- [13] Bowman R A, Cole C V. An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils[J]. *Soil Sci.* 1978, 125: 95-101.
- [14] 隗英华,陈利军,武志杰,等.脲酶/硝化抑制剂在土壤N转化过程中的作用[J].土壤通报,2007,38(4):773-780.
JUAN Ying-hua, CHEN Li-jun, WU Zhi-jie, et al. Effect of urease and nitrification inhibitor on soil-N transformation[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(4): 773-780.