

DOI: 10.5846/stxb201604270800

田善义,王明伟,成艳红,陈小云,李大明,胡锋,刘满强.化肥和有机肥长期施用对红壤酶活性的影响.生态学报,2017,37(15):4963-4972.

Tian S Y, Wang M W, Cheng Y H, Chen X Y, Li D M, Hu F, Liu M Q. Long-term effects of chemical and organic amendments on red soil enzyme activities. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(15): 4963-4972.

化肥和有机肥长期施用对红壤酶活性的影响

田善义¹, 王明伟¹, 成艳红², 陈小云¹, 李大明², 胡 锋¹, 刘满强^{1,*}

1 南京农业大学资源与环境科学学院土壤生态实验室, 南京 210095

2 江西省红壤研究所, 南昌 331717

摘要:选择长期定位试验中的不施肥对照(CK)、单施化肥(NPK)、单施有机肥(OM)及化肥有机肥配施(NPKM)4种处理,研究了长期化肥和有机肥互作对旱地红壤酶活性的影响及酶活性与土壤理化性质、微生物生物量的关系。结果表明,施肥特别是化肥和有机肥的交互作用能不同程度促进参与碳、氮循环的总体酶活性增加;其中,OM对酶活性的促进作用强于NPK,NPKM的酶活性最高。与CK相比,施用有机肥的处理(即OM和NPKM)会降低参与碳循环酶和参与氮循环酶的比值,而NPK不影响该比值。OM处理的单位微生物量碳酶活性和单位有机碳酶活性均显著低于其他处理,而在NPK处理中这两项指标最高,OM和NPKM处理则提高了单位微生物量氮酶活性。一方面说明有机肥可以缓解土壤微生物的碳限制,但是供氮能力相对不足,而与化肥配施缓解了氮素的限制状况;另一方面暗示有机肥可以提高土壤生物的生态效率。总之,化肥和有机肥配施能够在碳氮资源的生物有效性上形成互补关系,能够同时促进土壤生物和作物生长,从而满足土壤生态系统服务功能持续发挥的需要。

关键词:施肥措施;微生物生物量;土壤酶活性;酶活性比例;生态系统功能

Long-term effects of chemical and organic amendments on red soil enzyme activities

TIAN Shanyi¹, WANG Mingwei¹, CHENG Yanhong², CHEN Xiaoyun¹, LI Daming², HU Feng¹, LIU Manqiang^{1,*}

1 Soil Ecology Laboratory, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2 Jiangxi Institute of Red Soil, Nanchang 331717, China

Abstract: Red soil degradation has become a serious ecological and environmental problem due to irrational utilization. In recent years in particular, with intensive agricultural management targeting higher crop yields, overuse of chemical fertilizers has exacerbated the degradation of red soil. Organic amendment could not only reduce the dosage of chemical fertilizer used but also could improve overall soil quality, including soil physicochemical and microbiological properties that are relevant to soil ecosystem service maintenance and development. Soil enzyme activity is considered to be a valuable soil quality indicator with regard to its relevance to soil functioning and its sensitivity to soil perturbation. Numerous studies have investigated the impacts of fertilization management on soil enzyme activities, mainly focusing on the assessment of enzyme activity responses to different fertilizations however, little attention has been paid to additional information on ecophysiology and ecological stoichiometry associated with multiple enzymatic activities. In the present study, soil samples were collected from a long-term red soil fertilization experiment established in 1986 in the Jiangxi Institute of Red Soil of Jiangxi Province, and were analyzed to investigate the interactive effects of chemical and organic amendment on soil enzyme activity, soil physicochemical properties, and microbial biomass. In particular, the relationship among soil enzyme activity, soil

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41371263, 41301235);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

收稿日期:2016-04-27; **网络出版日期:**2017-03-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liumq@njau.edu.cn

physicochemical properties, and microbial biomass was explored. Four treatments, *i.e.*, no-fertilizer control (CK), only chemical fertilizer containing nitrogen, phosphorus, and potassium (NPK); only organic amendment (OM); and a combination of organic amendment and chemical fertilizer (NPKM), were selected for use in this study. The results showed that, compared with the CK, long-term fertilization practice (NPK, OM, and NPKM) could promote the activities of soil enzymes involved in carbon cycling (*i.e.*, α - and β -glucosidase, cellulase and xylanase) and nitrogen cycling (*i.e.*, leucine aminopeptidase and *N*-acetyl- β -d-glucosaminidase) to different extents. Among all the treatments, NPKM promoted overall enzyme activity the most, whereas NPK had the least affect. Organic amendment (*i.e.*, OM and NPKM) decreased the C:N acquisition ratio in comparison with CK, but there was no significant difference between NPK and CK treatments, indicating that organic amendment decreased the proportion of C-acquiring enzymes but increased N-acquiring enzymes. Microbial biomass carbon-specific enzyme activities (MBCE) or soil organic carbon-specific enzyme activities (SOCE) under the OM treatment was significantly lower than in the other three treatments. For example, compared to CK, MBCE was decreased by 56.2% and SOCE by 21.2% in the OM treatment, but these were increased by 7% and 16.9%, respectively, in the NPK treatment. Such results indicate that soil microorganisms obtained relatively more energy in the OM treatment and that the utilization efficiency of organic carbon was higher in this treatment than in the NPK treatment. Similarly, microbial biomass nitrogen-specific enzyme activities (MBNE) increased by 45% in the NPKM treatment compared to that in the CK, but no significant difference was observed between OM and NPK. The results suggest that low C:N acquisition ratio and high MBNE are indicators of N limitation in OM treatment, and organic amendment combined with chemical fertilization could alleviate N limitation. In conclusion, the soil microbial community is mainly limited by C in NPK, whereas it is mainly restricted by N in the OM treatment. Furthermore, NPKM treatment could simultaneously supply organic carbon and nitrogen, satisfying the demands of plant growth and producing a favorable environment for microbial growth. Integrating organic amendment and chemical fertilizer would facilitate sustainable development of soil ecosystem services.

Key Words: fertilization management; microbial biomass; enzyme activity; enzyme ratio; ecosystem function

化肥对作物增产至关重要,但是过量施用化肥不仅造成了能源和资源的浪费,还会产生土壤板结、酸化等一系列问题,尤其对氮沉降严重且土壤酸性较强的红壤地区,过量化肥施用所产生的问题更为突出^[1-3]。众所周知,有机肥施用可以减少化肥用量,而且畜禽粪便肥料化可以减轻或消除畜禽粪便处理不当带来的环境问题^[4-5]。有机肥在提高土壤有效养分的同时能够促进土壤生物群落的发展,改善土壤生态环境,但是有机肥包含的养分通常不均衡,容易导致植物和微生物的养分竞争,难以满足作物增产的需求。化肥和有机肥的配施则可以形成互补或协同作用,从而达到提高作物产量和土壤功能的双重目标^[6-7]。农田高强度利用下土壤生态系统日趋脆弱,特别是在化肥减施和有机废弃物合理利用的背景下,迫切需要研究有机肥和化肥相互作用对土壤生态系统功能的影响。

土壤生态功能与陆地生态系统为人类提供的生态福祉关系密切,选择合适的指标来反映土壤生态功能也日益受到重视^[8]。土壤微生物量被认为是活性养分的重要来源,是土壤质量或健康状况的核心指标^[9],土壤微生物量碳氮比可以间接反映土壤微生物群落结构和土壤养分限制状况^[10-11]。相比之下,土壤酶活性与土壤功能关系更为密切,特别是酶的专一性和多样性可以更全面地反映参与物质循环的土壤生物群落的功能特征,而且酶活性能够敏感响应土壤质量特别是土壤生物群落的变化,因此被认为是具有潜力的土壤生态功能指标^[12-14]。施肥对酶活性的影响已有大量研究,化肥或有机肥施用均可能刺激土壤酶活性的增加,而且一般认为化肥和有机肥配施对酶活性的促进效果最佳^[7,15-17]。然而,以往的研究往往集中在施肥对酶活性影响程度的强弱上,缺乏对酶活性调节机制的关注,而利用酶高度的功能专一性特征对其进行划分,有助于厘清土壤酶和有机碳及微生物生物量的关系,进而有助于区分微生物群落的生态代谢变化过程,并在土壤生态系统水平上了解施肥措施的影响,为今后揭示土壤生态过程的调控机制奠定基础。

红壤在我国南方广泛分布,具有较好的水热气候条件和较高的生产潜力,但是旱地红壤地区不合理的利用方式和施肥措施往往导致红壤生物功能退化严重,土壤生态系统健康水平的提升尤为迫切^[18]。基于此,本研究以旱地红壤长期施肥定位试验为平台,研究化肥和有机肥施用对微生物生物量及酶活性的影响,以不同功能酶为切入点并从生态化学计量学的角度了解养分转化和养分限制因素,为进一步明确施肥措施对土壤生态功能的影响及揭示土壤生态过程调控机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验点位于江西省红壤研究所(116°20′24″E,28°15′30″N),属亚热带季风气候,年均降水量 1727 mm,降水丰富但季节分配不均。平均温度为 17.7 °C,其中 1 月平均温度 5.5 °C,7 月平均温度 29.9 °C。

1.2 试验设计

定位试验始于 1986 年,种植制度采用早玉米-晚玉米-冬闲制,本研究选择其中的 4 个处理,构成 2 化肥×2 有机肥的 2 因素交互设计。化肥处理(NPK)每公顷分别施 60 kg 氮(N),30 kg 磷(P₂O₅),60 kg 钾(K₂O);有机肥处理(OM)每 hm² 施鲜猪粪 15000 kg;化肥有机肥配施处理(NPKM)施肥量为 NPK 和 OM 总和;不施肥处理为对照(CK)。小区面积 22.22 m²,每处理设 3 个重复,随机区组排列。

1.3 土壤采集

于 2013 年 10 月中旬玉米抽雄期,用土钻采集玉米主茎 3 cm 范围内 0—15 cm 表层土,以获得能够反映根系影响的土壤,每个小区采集 8 个点。土样采集后在 24 h 内运回实验室,在室内剔除根系等后过 2 mm 筛,酶活性和微生物生物量的待测土样于 4 °C 条件下保存并迅速测定;部分土样风干后过 0.15 mm 筛后用于全氮和有机碳测定。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 土壤基础性质

采用常规方法测定^[19]。土壤 pH 采用 1:2.5(土:水)浸提,pH 计(HANNA, HI2221)测定;全氮(TN)采用半微量开氏法;有机碳(SOC)采用 K₂Cr₂O₇容量法(180 °C 油浴)。

1.4.2 土壤微生物生物量

土壤微生物生物量碳(MBC)和氮(MBN)采用氯仿熏蒸-硫酸钾浸提法^[19]。熏蒸及未熏蒸土样以 1:4(土:水,w:v)加入 0.5 mol/L K₂SO₄浸提剂,180 r/min 震荡 30 min 后过滤。待测液中总碳用总有机碳分析仪(Elementar Vario EL III,德国)测定,总氮用流动注射分析仪(Auto Analyser AA3,德国)测定。熏蒸与未熏蒸土样的有机碳氮差值分别除以转换系数($K_C=0.38$, $K_N=0.45$),分别计算 MBC 和 MBN 含量。

1.4.3 土壤酶活性

土壤酶活性测定采用微孔板荧光法^[20]。利用荧光物质 4-羟甲基-7-香豆素(MUB)共轭物质作为测定底物,接种土壤悬液至 96 孔微孔板中,测定具有代表性酶活性,包括 4 种参与碳循环的酶(α -葡萄糖苷酶, β -葡萄糖苷酶,纤维素酶,木聚糖酶)和 2 种参与氮循环的酶(亮氨酸氨基肽酶,N-乙酰基- β -D 氨基葡萄糖苷酶)。用每小时每克样品的基质转化率表示样品酶活性(nmol g⁻¹ h⁻¹)。

1.4.4 土壤酶活性的计算

用单一酶活性评价土壤质量不够全面^[21],而不同酶活性的量纲和绝对值存在差异也无法直接比较,用归一化的方法可以计算不同功能酶活性和总体酶活性指标^[9,22-23],其中参与碳循环和参与氮循环的酶活性的比值可以反映土壤中酶的组成结构,指示土壤微生物对土壤生态过程格局,反映微生物的养分需求和利用状况^[24-25]。

先对不同处理的同一种酶进行归一化处理,用相同处理中归一化的几种酶的几何平均数代表这几种酶的总活性。单位微生物量酶活性为酶的总活性与微生物量的比值(如:单位微生物量碳酶活性为碳循环酶活性

与微生物量碳的比值)。

计算公式:

$$x'_i = x_i / \sum_i x_i \quad (i = 1, 2, 3, 4) \tag{1}$$

$$Y' = \left(\prod_i Y'_i \right)^{\frac{1}{n}} \quad (i = 1, \cdots, n) \tag{2}$$

$$\text{MBE} = Y' / \text{SMB} \tag{3}$$

$$\text{SOCE} = C' / \text{SOC} \tag{4}$$

式中, x_i 为单一酶活性的测定值; x'_i 为归一化的酶活性(i 为不同处理编号); Y' 为酶的总活性(碳、氮循环酶总活性、总酶活性); Y'_i 为归一化的酶活性(本试验中碳循环酶 $n=4$, 氮循环酶 $n=2$, 总酶活性 $n=6$); MBE 为单位微生物量酶活性; SMB 为土壤微生物量; SOCE 单位有机碳酶活性; C' 为参与碳循环酶活性; SOC 为土壤有机碳。

1.5 数据处理

采用双因素方差分析评价化肥、有机肥及二者的相互影响, 数据进行双因素方差分析之前进行正态分布和方差齐性检验。冗余分析检测酶活性与土壤养分和微生物量之间的相关性, 以及不同施肥措施之间的差异性。数据采用 Statistica 10.0 软件进行双因素方差分析, 冗余分析及排序图的绘制采用 Canoco5.0 软件。

2 结果与分析

2.1 长期施肥对土壤理化性质和微生物生物量的影响

双因素方差分析结果显示, 化肥(NPK)和有机肥(OM)的长期施用对土壤 pH、TN 和 SOC 的影响均达到显著水平($P<0.05$, 下同), NPK 和 OM 交互作用对土壤 TN 和 SOC 有显著影响(表 1)。与 CK 相比, NPK 使土壤 pH 降低而 OM 和 NPKM 可以提高土壤 pH, NPK 和 OM 均能显著提高土壤中 TN 和 SOC, NPKM 和 OM 处理中 TN 和 SOC 含量无显著差异, 但均显著高于 NPK 处理(图 1)。

表 1 化肥和有机肥对土壤 pH、全氮、有机碳、微生物生物量碳、微生物生物量氮和微生物量碳氮比影响的方差分析结果

Table 1 ANOVAs results (F values and Probability level) on the effects of chemical fertilizer (NPK) and organic amendment (OM) on soil pH, total nitrogen, organic carbon, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and microbial biomass C:N ratio

变异来源 Sources of variation	df	pH	全氮 Total nitrogen	有机碳 Organic carbon	微生物生物量碳 Microbial biomass carbon	微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen	微生物量碳氮比 Microbial biomass C:N ratio
化肥(NPK)	1	94.7 **	27.4 **	2.1	3.9	0	2.166
有机肥(OM)	1	931.3 **	192.3 **	121.1 **	118.3 **	16.6 **	8.358 *
交互(NPK×OM)	1	3.0	7.9 *	6.5 *	20.4 **	4.21	0.137

化肥 Chemical fertilizer(NPK); 有机肥 Organic amendment(OM); 交互 Interaction of chemical and organic amendment(NPK×OM); 表中数据和星号为 F 值和显著水平, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

由方差分析结果可知, OM 对 MBC、MBN 及微生物量碳氮比均有显著影响, MBC 对 OM 的响应还依赖于 NPK 的施用与否(表 1)。NPK 与 CK 处理之间 MBC、MBN 和微生物量碳氮比的差异均不显著, 而 OM 和 NPKM 处理之间这 3 个指标均显著高于 CK 且在 OM 处理中最高(图 1)。

2.2 长期施肥对土壤酶活性的影响

参与碳循环的酶(AG, BG, CB 和 XYL)和氮循环的酶(LAP 和 NAG)以及总酶活性均受到 NPK 和 OM 的显著影响(表 2)。在参与碳循环的酶中, 除了 XYL 外(NPK 可以促进酶活性而 OM 无影响), AG、BG 和 CB 趋势一致, NPK 和 OM 处理均能促进酶活性且二者配施后具有叠加效应, 且在 NPKM 中最高, 分别是 CK 的 2.23 倍、1.69 倍和 2.42 倍(图 2); 单施有机肥处理的 OM 对 LAP 和 NAG 的促进程度显著高于 NPK(图 2)。

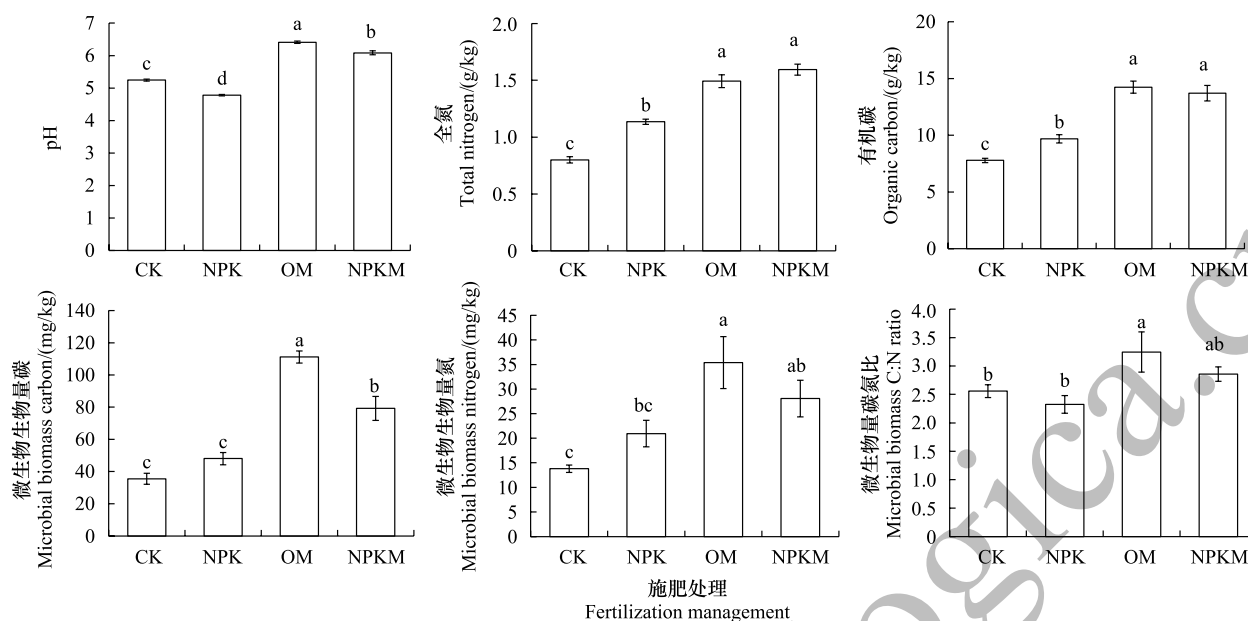


图 1 施肥对土壤 pH、全氮、有机碳、微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物量碳氮比的影响

Fig.1 Effects of fertilization management on soil pH, total nitrogen, organic carbon, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and microbial biomass C:N ratio

CK 对照;NPK 化肥处理;OM 有机肥处理;NPKM 化肥有机肥配施;图中处理间不同小写字母代表 5% 差异显著性,平均值±标准误差($n=3$)

表 2 化肥和有机肥对 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、木聚糖酶、亮氨酸氨基肽酶、N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶、碳循环酶活性、氮循环酶活性和总酶活性影响的方差分析结果

Table 2 ANOVAs results (F values and Probability level) on the effects of chemical fertilizer (NPK) and organic amendment (OM) on α -glucosidase (AG), β -glucosidase (BG), cellulase (CB), xylanase (XYL), leucine aminopeptidase (LAP), N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), normalized C-acquiring enzyme activity (NCE), normalized N-acquiring enzyme activity (NNE) and normalized enzyme activity (NE)

变异来源 Sources of variation	df	α -葡萄糖苷酶 AG	β -葡萄糖苷酶 BG	纤维素酶 CB	木聚糖酶 XYL	亮氨酸氨基肽酶 LAP	N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶 NAG	碳循环酶 NCE	氮循环酶 NNE	总酶活性 NE
化肥(NPK)	1	13.94**	15.26**	19.04**	23.68**	2.56*	11.38**	76.57**	10.9*	57.4**
有机肥(OM)	1	21.73**	33.97**	34.10**	107.57**	385.57**	73.50**	60.11**	373.6**	182.7**
交互(NPK×OM)	1	0.26	0.02	0.10	1.51	0.55	6.80*	0.43	4.3	1.2

相比未施肥处理,归一化后的碳循环酶活性(NCE),氮循环酶活性(NNE)和总酶活性(NE)在化肥 NPK 和 OM 影响下均显著增加,在 NPKM 处理均最高。且 OM 对 NNE 和 NE 促进效果较 NPK 更强(图 3)。参与碳循环和参与氮循环的酶活性的比值(RCN)在施用有机肥的处理内(OM 和 NPKM)显著低于未施有机肥的处理(图 3)。

2.3 土壤酶活性与土壤理化性质及土壤微生物生物量的关系

单位微生物量碳酶活性(MBCE)和单位有机碳酶活性(SOCE)的变化趋势一致,与 CK 相比该 2 项指标在 NPK 处理中分别增加了 7% 和 16.9%,而在施用有机肥的处理中有降低的趋势,且在 OM 处理中均最低,分别比 CK 降低了 56.2% 和 21.2%(图 4)。单位微生物量氮酶活性(MBNE)在 NPK 处理中和 CK 无显著差异,但在 OM 和 NPKM 处理中则有增加的趋势且在 NPKM 处理中最高,比 CK 高 45.0%(图 4)。

冗余分析表明,在土壤酶活性指标中除 XYL 外,不同酶之间及其和微生物生物量、理化性质也呈正相关。在酶比例指标中只有 MBNE 和其余各指标呈正相关,而和碳循环酶有关的比例指标 SOCE、MBCE 和 RCN 则和其余指标呈负相关。不同施肥措施的影响差异明显,4 个处理分别各占据 1 个象限,且 OM 和 NPKM 与除

了 XYL、SOCE、MBCE 和 RCN 外的所有指标呈正相关性(图 5)。

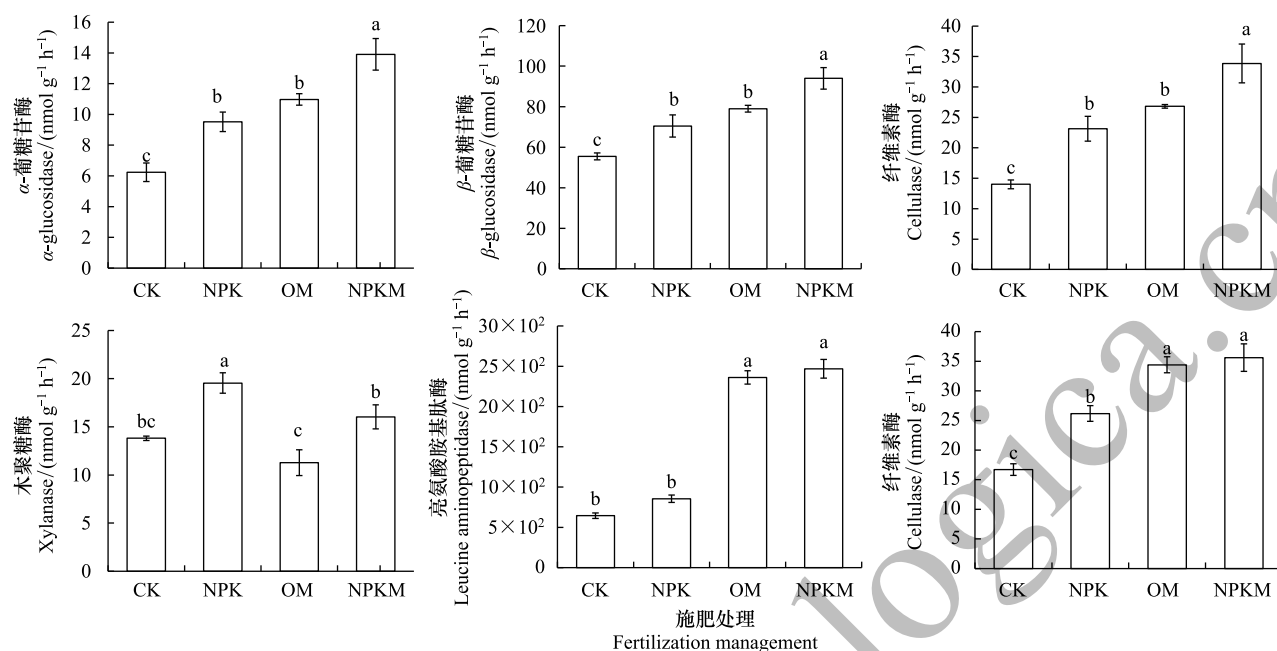


图 2 施肥对 α-葡萄糖苷酶、β-葡萄糖苷酶、纤维素酶、木聚糖酶、亮氨酸氨基肽酶及 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶的影响

Fig.2 Effects of fertilization management on α-glucosidase, β-glucosidase, cellulase, xylanase, leucine aminopeptidase and N-acetyl-β-D-glucosaminidase

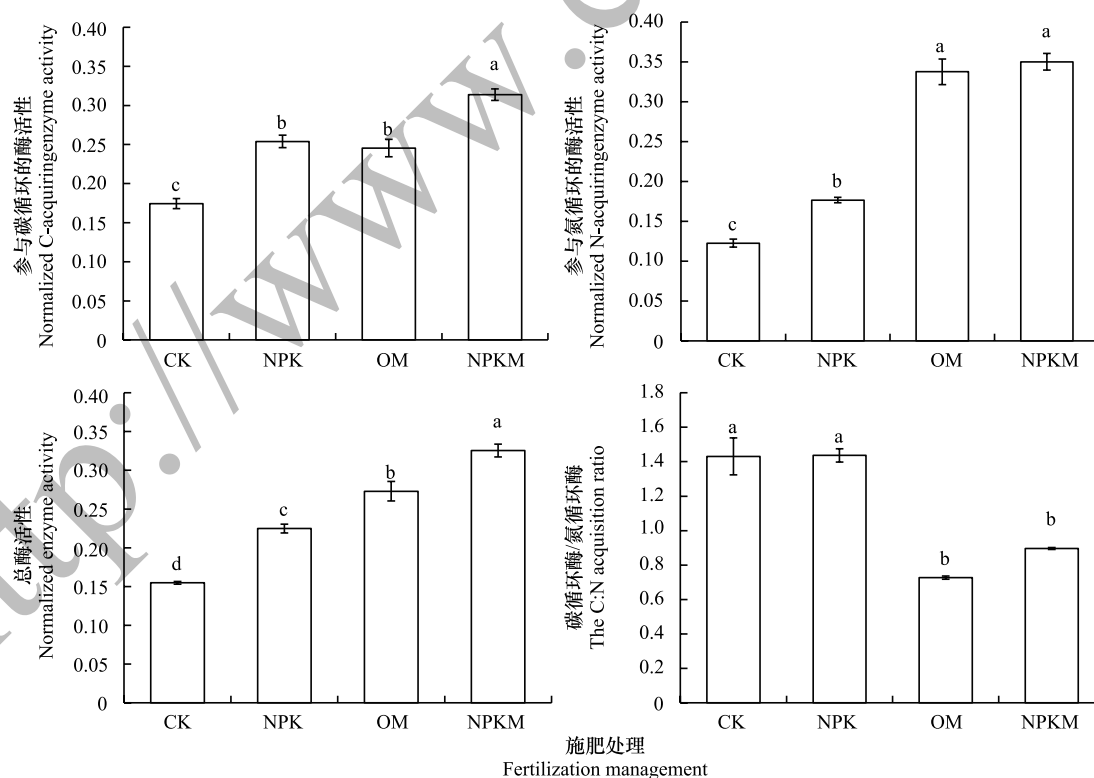


图 3 不同施肥对碳循环酶活性、氮循环酶活性、总酶活性和碳循环酶与氮循环酶比的影响

Fig.3 Effects of fertilization management on normalized C-acquiring enzyme activity (NCE), normalized N-acquiring enzyme activity (NNE), normalized enzyme activity (NE) and C:N acquisition ratio (RCN)

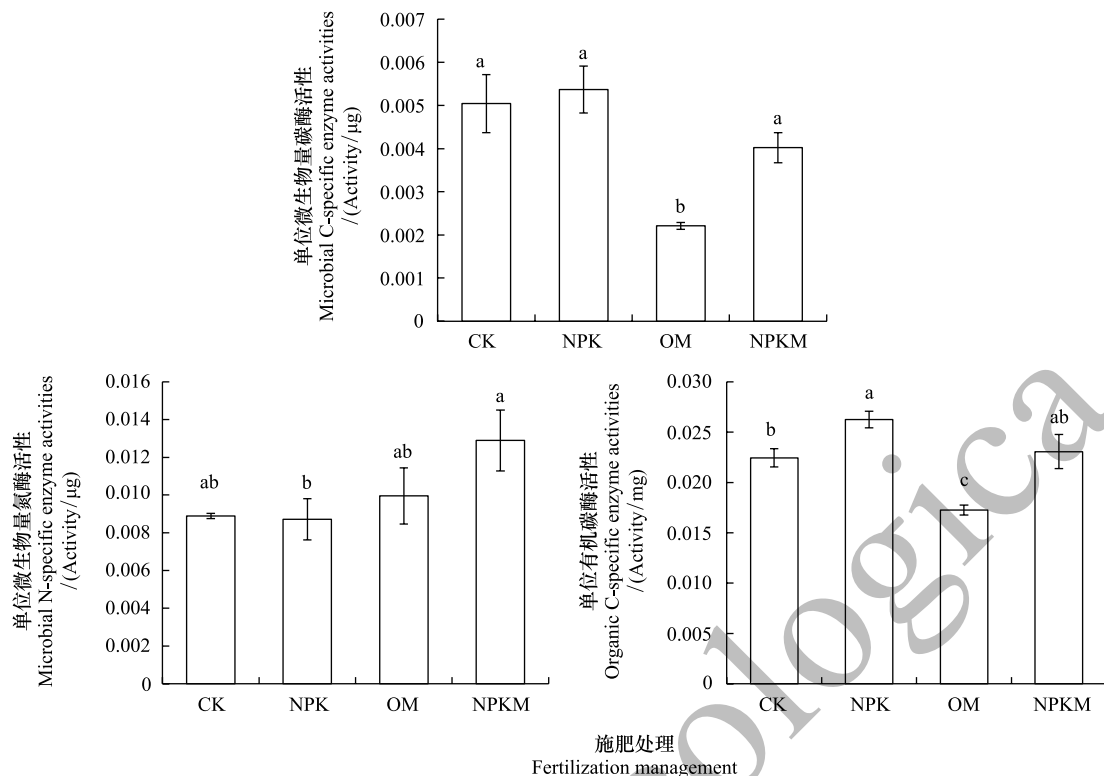


图4 不同施肥处理对单位微生物量碳酶活性、单位微生物量氮酶活性、单位有机碳酶活性的影响

Fig.4 Effects of fertilization management on microbial C-specific enzyme activities, microbial N-specific enzyme activities, organic C-specific enzyme activities

3 讨论

长期施肥可以提高土壤养分,增加根系分泌物和凋落物等碳源向土壤的输入,促进土壤微生物繁殖,增加微生物生物量,此外有机肥的施用还可以改善土壤理化性质并将额外的有机碳直接带入土壤,更有利于土壤微生物生长,因此在施用有机肥的处理中微生物量碳、氮及有机碳相对较高,这也和前人的大量研究结果相契合^[26-28]。

微生物分泌的各种酶在土壤的碳氮循环过程中发挥着重要的作用^[29],本试验中4种参与碳循环的酶活性以及2种参与氮循环的酶活性在三种施肥措施下均有增加,除木聚糖酶外其他酶活性均在化肥有机肥配施处理中活性最强,这主要是因为施肥直接或通过作物生长而间接增加了土壤的碳源和氮源,促进了微生物的繁殖,从而刺激酶活性的增加^[14]。木聚糖酶活性在化肥处理中最高,具体原因还有待进一步研究,但这也说明用单一酶活性评价土壤质量状况不够完善。通过计算不同功能酶活性和总酶活性可以明确看出有机肥对酶活性的促进作用强于化肥,且化肥有机肥配施对酶活性促进作用最强,进一步印证了前人关于施肥措施对酶活性影响的报道^[15-17,21]。

土壤中的大部分酶属于诱导酶类,其活性和数量受底物浓度和微生物自身对养分需求的限制。本试验中参与碳循环酶(NCE)和氮循环酶(NNE)的变化趋势和有机碳、全氮以及微生物量碳氮的变化趋势基本一致,而参与碳循环的酶和参与氮循环的酶比值(RCN)变化和微生物量碳氮比的变化趋势相反。土壤微生物元素组成和土壤中含有的元素之间存在化学计量平衡^[30],微生物通过调控酶的分泌来增加对限制性养分的吸收,因此酶可以反映微生物养分限制和养分的有效性^[25]。一方面,由于化肥处理直接提高了土壤氮素有效性,而碳素的输入相对不足导致长期施用化肥后土壤碳氮比较低,因此单施化肥的土壤微生物需分泌更多的碳循环酶来维持自身的碳氮比。另一方面,化肥提高了土壤无机氮供应力,从而抑制了NNE活性,因此长期施用化

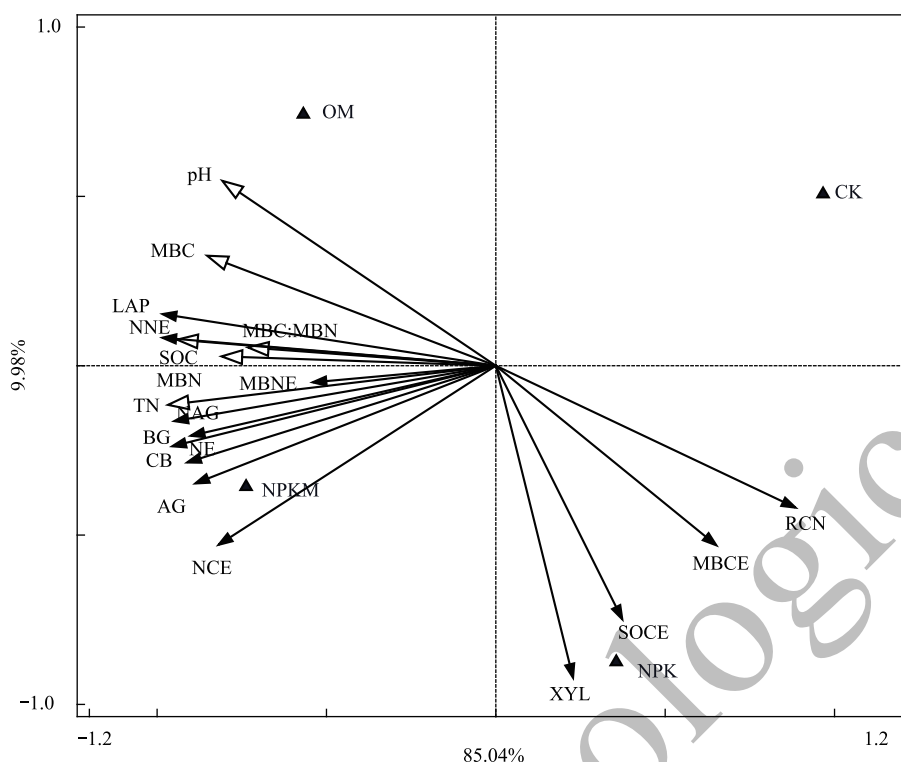


图5 土壤酶活性与土壤理化性质、土壤微生物量的冗余分析排序图

Fig.5 Redundancy analysis ordination showing the relationships among soil enzyme activity, soil physicochemical properties and soil microbial biomass

AG: α -葡萄糖苷酶, α -glucosidase; BG: β -葡萄糖苷酶, β -glucosidase; CB: 纤维素酶, cellulase; XYL: 木聚糖酶, xylanase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶, leucine aminopeptidase; NAG: N-乙酰基- β -D 氨基葡萄糖苷酶, N-acetyl- β -D-glucosaminidase; NE: 总酶活性, normalized enzyme activity; NCE: 碳循环酶活性, normalized C-acquiring enzyme activity; NNE: 氮循环酶活性, normalized N-acquiring enzyme activity; RCN: 碳氮循环酶比, the C : N acquisition ratio; SOC: 有机碳, organic carbon; TN: 全氮, total nitrogen; MBC: 微生物量碳, microbial biomass carbon; MBN: 微生物量氮, microbial biomass nitrogen; MBCE: 单位微生物量碳酶活性, microbial C-specific enzyme activities; MBNE: 单位微生物量氮酶活性, microbial N-specific enzyme activities; SOCE: 单位有机碳酶活性, organic C-specific enzyme activities; MBC : MBN: 微生物量碳氮比, microbial biomass C : N ratio

肥会导致 RCN 升高;反之有机肥的碳氮比高,因此在单施有机肥处理中微生物需要分泌更多的氮循环酶来满足对氮素的需求,虽然这有利于有机态氮的矿化,但是有机肥的养分含量往往不均衡,这就有可能加剧微生物和植物之间的养分竞争。在化肥有机肥配施的处理中化肥和有机肥可以优势互补,因此该处理的土壤养分含量和酶活性最高,但是 MBC:MBN 和 RCN 均处于中等水平。

单位微生物量酶活性和单位有机碳酶活性(SOCE)代表了微生物和有机碳对酶活性的贡献,可以反映土壤养分限制状况,一般认为微生物在受养分胁迫时会增加相应酶的分泌来满足自身的养分需求^[25],单一施用化肥的土壤易导致碳胁迫,微生物需要分泌更多的有机碳分解酶,增加土壤碳代谢效率满足自身的养分需求,这就导致了单施化肥处理的单位微生物量碳酶活性(MBCE)和 SOCE 较高,施用有机肥可以缓解土壤碳限制,但是氮供应力不足,因此需要更高的单位微生物量氮酶活性(MBNE)来满足微生物的氮素需求。冗余分析结果显示本试验所做4种施肥措施的影响差异显著,SOCE、MBCE 以及 RCN 与化肥处理呈正相关性,而其他指标则和施用有机肥的处理呈正相关性, Bowles^[31] 研究发现速效氮含量高的土壤会具有较高参与碳循环的酶活性,而当土壤中碳源充足时参与氮循环的酶活性相对较高,以上结果说明长期单施化肥导致土壤微生物主要趋于受到有机碳限制而单施有机肥的处理中微生物群落则主要趋于受到氮素养分限制,可见有机无机肥配施既能营造良好的微生物生长环境又能满足植物生长对养分的需求。通过酶活性的高低以及其衍生指

标可以较为全面的评价土壤肥力状况和生物特性,而且酶具有较高的灵敏性,因此在反映土壤质量阶段性变化时酶活性要比常规理化性质更具优势。

4 结论

(1) 化肥和有机肥的施用均能够不同程度的提高参与碳循环的酶和参与氮循环的酶活性,且不同处理间各酶活性变化趋势一致,各处理间酶活性次序: NPKM>OM>NPK>CK。

(2) 归一化后的碳、氮循环酶活性和总酶活性均在 NPKM 处理中最高,长期施用有机肥的土壤中参与氮循环的酶比例增加,而长期单一施用化肥的土壤中参与碳循环的酶比例增加。

(3) 长期单一施用化肥会提高单位微生物量碳酶活性和单位有机碳酶活性,但会降低单位微生物量氮酶活性,而有机肥与化肥的作用相反;说明长期单施化肥会导致土壤有机碳的限制,而单一施用有机肥可以缓解碳胁迫但是有可能导致氮素养分限制,有机肥和化肥配施则可优势互补,在满足微生物和植物养分的同时可以提高土壤生物活性和生态代谢效率,更有利于土壤生态功能的持续发挥。

参考文献 (References):

- [1] Vitousek P M, Naylor R, Crews T, David M B, Drinkwater L E, Holland E, Johnes P J, Katzenberger J, Martinelli L A, Matson P A, Nziyheba G, Ojima D, Palm C A, Robertson G P, Sanchez P A, Townsend A R, Zhang F S. Nutrient imbalances in agricultural development. *Science*, 2009, 324(5934): 1519-1520.
- [2] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 2008, 320(5878): 889-892.
- [3] 徐仁扣. 土壤酸化及其调控研究进展. *土壤*, 2015, 47(2): 238-244.
- [4] Crecchio C, Curci M, Pizzigallo M D R, Ricciuti P, Ruggiero P. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(10): 1595-1605.
- [5] 许小伟, 樊剑波, 陈晏, 张其海, 何园球, 郑学博. 不同有机无机肥配施比例对红壤旱地花生生产量、土壤速效养分和生物学性质的影响. *生态学报*, 2014, 34(18): 5182-5190.
- [6] Liu M Q, Hu F, Chen X Y, Huang Q R, Jiao J G, Zhang B, Li H X. Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: the influence of quantity, type and application time of organic amendments. *Applied Soil Ecology*, 2009, 42(2): 166-175.
- [7] 陶磊, 褚贵新, 刘涛, 唐诚, 李俊华, 梁永超. 有机肥替代部分化肥对长期连作棉田产量、土壤微生物数量及酶活性的影响. *生态学报*, 2014, 34(21): 6137-6146.
- [8] Marinari S, Mancinelli R, Campiglia E, Grego S. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecological Indicators*, 2006, 6(4): 701-711.
- [9] 潘根兴, 陆海飞, 李恋卿, 郑聚锋, 张旭辉, 程琨, 刘晓雨, 卞荣军, 郑金伟. 土壤碳固定与生物活性: 面向可持续土壤管理的新前沿. *地球科学进展*, 2015, 30(8): 940-951.
- [10] Xu G, Chen J, Berninger F, Pumpanen J, Bai J W, Yu L, Duan B L. Labile, recalcitrant, microbial carbon and nitrogen and the microbial community composition at two *Abies faxoniana* forest elevations under elevated temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91: 1-13.
- [11] 刘满强, 胡锋, 何园球, 李辉信. 退化红壤不同植被恢复下土壤微生物量季节动态及其指示意义. *土壤学报*, 2003, 40(6): 937-944.
- [12] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 2005, 49(6): 637-644.
- [13] Trasar-Cepeda C, Leirós M C, Gil-Sotres F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2146-2155.
- [14] Bandick A K, Dick R P. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 31(11): 1471-1479.
- [15] 张继光, 秦江涛, 要文倩, 周睿, 张斌. 长期施肥对红壤旱地土壤活性有机碳和酶活性的影响. *土壤*, 2010, 42(3): 364-371.
- [16] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, 李燕婷, So H B. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响. *植物生态学报*, 2008, 32(1): 176-182.
- [17] 马晓霞, 王莲莲, 黎青慧, 李花, 张树兰, 孙本华, 杨学云. 长期施肥对玉米生育期土壤微生物量碳氮及酶活性的影响. *生态学报*, 2012, 32(17): 5502-5511.
- [18] 黄国勤, 赵其国. 红壤生态学. *生态学报*, 2014, 34(18): 5173-5181.

- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [20] Bell C W, Fricks B E, Rocca J D, Steinweg J M, McMahon S K, Wallenstein M D. High-throughput fluorometric measurement of potential soil extracellular enzyme activities. *Journal of Visualized Experiments*, 2013, (81): e50961.
- [21] 范森珍, 尹昌, 范分良, 宋阿琳, 王伯仁, 李冬初, 梁永超. 长期不同施肥对红壤碳、氮、磷循环相关酶活性的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(3): 833-838.
- [22] 和文祥, 谭向平, 王旭东, 唐明, 郝明德. 土壤总体酶活性指标的初步研究. *土壤学报*, 2010, 47(6): 1232-1236.
- [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] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, Ahmed B, Allison S D, Crenshaw C, Contosta A R, Cusack D, Frey S, Gallo M E, Gartner T B, Hobbie S E, Holland K, Keeler B L, Powers J S, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M P, Wallenstein M D, Zak D R, Zeglin L H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 2008, 11(11): 1252-1264.
- [25] Stone M M, DeForest J L, Plante A F. Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 237-247.
- [26] 孙凤霞, 张伟华, 徐明岗, 张文菊, 李兆强, 张敬业. 长期施肥对红壤微生物生物量碳氮和微生物碳源利用的影响. *应用生态学报*, 2010, 21(11): 2792-2798.
- [27] 陈晓芬, 李忠佩, 刘明, 江春玉. 不同施肥处理对红壤水稻土团聚体有机碳、氮分布和微生物生物量的影响. *中国农业科学*, 2013, 46(5): 950-960.
- [28] 吴晓晨, 李忠佩, 张桃林, 车玉萍. 长期施肥对红壤性水稻土微生物生物量与活性的影响. *土壤*, 2009, 41(4): 594-599.
- [29] Sinsabaugh R L, Shah J J F. Coenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43: 313-343.
- [30] Cleveland C C, Liptzin D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass?. *Biogeochemistry*, 2007, 85(3): 235-252.
- [31] Bowles T M, Acosta-Martínez V, Calderón F, Jackson L E. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 252-262.