

DOI: 10.5846/stxb202205231452

王娜,李乐,勾蒙蒙,简尊吉,胡建文,陈会玲,肖文发,刘常富.长期生草对柑橘园土壤化学及生物学性质的影响.生态学报,2023,43(14):5890-5901.  
Wang N, Li L, Gou M M, Jian Z J, Hu J W, Chen H L, Xiao W F, Liu C F. Effects of long-term living grass mulching on soil chemical and biological properties in different soil layers of a citrus orchard. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(14): 5890-5901.

## 长期生草对柑橘园土壤化学及生物学性质的影响

王 娜<sup>1</sup>, 李 乐<sup>2</sup>, 勾蒙蒙<sup>1,3</sup>, 简尊吉<sup>1</sup>, 胡建文<sup>1</sup>, 陈会玲<sup>1</sup>, 肖文发<sup>1,3</sup>, 刘常富<sup>1,3,\*</sup>

1 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所, 国家林业和草原局森林生态环境重点实验室, 北京 100091

2 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520

3 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037

**摘要:**以柑橘园清耕、自然生草和人工生草 3 种管理模式为研究对象,对其土壤化学及生物学性质进行测定,探明了长期生草对柑橘园不同土层土壤碳氮磷、微生物生物量碳氮磷、酶活性的影响及其相互关系。结果表明:生草类型和土层显著影响土壤碳氮磷养分含量、微生物生物量碳氮磷含量和相应的酶活性,但两者交互仅对  $\beta$ -葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶有显著影响( $P < 0.05$ )。总体上,土壤生物化学性质在生草类型间表现为人工生草 > 自然生草 > 清耕;在土层间表现为 0—10 cm > 10—20 cm > 20—40 cm。冗余分析表明,前两轴土壤化学及生物学指标解释了 80.2% 土壤酶活性的变化,且主要表现为正效应。土壤化学及生物学指标对土壤酶活性的影响也因生草类型和土层而异,人工生草在各土层中对  $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、多酚氧化酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶 6 种土壤碳氮磷酶活性的影响均为正效应,而自然生草仅在 0—20 cm 土层中对  $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶活性产生正效应,两种生草类型土壤酶活性均在 0—10 cm 土层受土壤碳氮磷等因子影响最为突出。因此,相比于清耕,人工和自然生草覆盖能显著提高柑橘园土壤碳氮磷养分含量、微生物生物量碳氮磷含量和相应的酶活性,其促进作用随土层加深而降低,且人工生草的改善作用强于自然生草。

**关键词:**长期生草;土壤微生物生物量;土壤酶活性;土层;柑橘园

## Effects of long-term living grass mulching on soil chemical and biological properties in different soil layers of a citrus orchard

WANG Na<sup>1</sup>, LI Le<sup>2</sup>, GOU Mengmeng<sup>1,3</sup>, JIAN Zunji<sup>1</sup>, HU Jianwen<sup>1</sup>, CHEN Huiling<sup>1</sup>, XIAO Wenfa<sup>1,3</sup>, LIU Changfu<sup>1,3,\*</sup>

1 Key Laboratory of Forest Ecology and Environment of National Forestry and Grassland Administration, Ecology and Nature Conservation Institute, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China

3 Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

**Abstract:** In this study, three management practices, including clean tillage, natural grass mulching, and cultivated grass mulching, were identified as the research objects. The effects of long-term living grass mulching on the carbon (C), nitrogen (N), and phosphorus (P) contents of soil and microbial biomass and the soil enzyme activities in different soil layers in a citrus orchard as well as the correlations of these indicators were investigated by measuring the chemical and biological properties of soil. The results showed that grass types and soil layers had significant effects on the C, N and P contents of soil and microbial biomass and the corresponding enzyme activities. However, their interactions only showed significant effects on  $\beta$ -glucosidase, N-acetylglucosaminidase and leucine aminopeptidase ( $P < 0.05$ ). In general, the

**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(32172671);国家自然科学基金重点项目(32130074)

**收稿日期:**2022-05-23; **网络出版日期:**2023-02-16

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liucf898@163.com

biochemical properties of soil were ranked in descending order in terms of grass types and soil layers: cultivated grass mulching > natural grass mulching > clean tillage among different grass types, and 0—10 cm > 10—20 cm > 20—40 cm among soil layers. The redundancy analysis results showed that the chemical and biological indices of soil in the first two axes accounted for 80.2% of the changes in soil enzyme activities and mainly showed positive effects. The effects of the chemical and biological indices of soil on enzyme activities varied with grass types and soil layers. The cultivated grass mulching showed positive effects on the activities of  $\beta$ -glucosidase, cellobiohydrolase, phenol oxidase, N-acetylglucosaminidase, leucine aminopeptidase and acid phosphatase in each soil layer. The natural grass mulching only had positive effects on  $\beta$ -glucosidase and cellobiohydrolase activities in the 0—20 cm soil layer. Soil enzyme activities of these two grass types were most significantly affected by the C, N and P contents of soil in the 0—10 cm soil layer. Therefore, compared with clean tillage, the cultivated and natural grass mulching significantly increased the C, N and P contents of soil and microbial biomass and the corresponding enzyme activities. However, their promotion effects on the C, N and P decreased with the increase in the soil depth. Particularly, the promotion effect of the cultivated grass on the C, N and P was larger than that of natural grass.

**Key Words:** long-term living grass mulching; soil microbial biomass; soil enzyme activity; soil layer; citrus orchard

果园生态系统具有重要的生态与经济双重效益,但受自然因素与人类活动的影响,果园土壤板结、肥力下降、养分流失等问题突出,制约了果园生态系统的生态和经济效益<sup>[1]</sup>。土壤微生物生物量是土壤中最活跃的组分之一,是维持土壤养分和质量的重要因素<sup>[2]</sup>。土壤酶是参与土壤一切生物化学过程的生物催化剂,是促进土壤养分循环的重要动力<sup>[3]</sup>。土壤微生物生物量和土壤酶活性对环境变化和干扰响应敏感,面对土壤质量在时间序列或不同环境条件下的变化可发出精确的信号<sup>[4]</sup>。土壤酶、微生物生物量与土壤养分密切相关,研究表明氮、磷等养分投入会增加土壤微生物生物量,刺激相应的酶产生,从而增加土壤酶活性<sup>[5-6]</sup>;但也有研究表明氮输入的增加降低了森林和草原生态系统的土壤微生物生物量<sup>[7]</sup>。由于供试土壤和环境的差异,不同类型生态系统乃至同类型生态系统中土壤微生物生物量、土壤酶、土壤养分的变化特征以及相互关系的研究结果不尽一致。果园地面管理制度会对土壤环境产生剧烈的影响,剖析果园管理制度下土壤化学及生物学特性的变化,可为解析土壤生态过程,实现果园土壤可持续性利用提供理论支撑。

与传统清耕管理模式相比,生草覆盖是通过增加果园地被植物调节果园生态系统功能的有效绿色田间管理模式,有助于果园水土保持及土壤物理、化学和生物特性改善<sup>[8]</sup>。果园生草覆盖能够通过影响土壤性质调控土壤微生物群落和土壤酶活性<sup>[9]</sup>,这一调控作用在不同生草类型中存在差异。前人研究表明,自然生草能够提高樱桃园和梨园土壤有机质含量与微生物活性<sup>[10-11]</sup>,人工生草能够提高苹果园土壤速效磷钾、微生物生物量碳氮含量<sup>[12]</sup>,进而增加 $\beta$ -葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、碱性磷酸酶等土壤酶活性<sup>[13]</sup>。这与果树和草本植物的兼容性(即互补与竞争的权衡关系)以及所处的气候、土壤、地形等立地条件密切相关<sup>[7,14]</sup>。例如,土壤酶活性受到土壤养分有效性的影响,随土壤养分有效性的增加而降低,这是由于营养物质的增加降低了微生物获取该物质的难度,导致相关催化酶活性降低<sup>[15]</sup>。但也有研究表明土壤养分与酶活性呈显著正相关关系<sup>[16-17]</sup>。此外,土壤中含量相对较高的元素会促进胞外酶对其他元素的利用<sup>[18]</sup>,这种土壤养分元素之间的耦合关系导致土壤酶活性和土壤养分之间的关系存在复杂性。再者,土壤酶活性与土层变化密切相关,由于土壤温度、水分、物质组成和微生物组分等在土层间存在差异,土壤酶活性通常随土层加深而降低<sup>[19]</sup>。尽管目前对果园生草覆盖下土壤化学及生物学性质变化趋势有了一定的认识,但当前生草覆盖对果园土壤酶活性影响的研究大多集中于短期和单一土层效应<sup>[20]</sup>,长期生草覆盖下不同土层与生草类型对果园土壤酶活性、微生物生物量影响的研究缺乏相关报道。

柑橘园是我国南方丘陵地区常见的土地利用类型之一,三峡库区又是柑橘最适宜的生态种植区之一。已有证据表明,清耕管理模式导致三峡库区柑橘园土壤养分严重流失,且随着果木种植年限的延长愈加严

重<sup>[1]</sup>。本研究以三峡库区柑橘园为研究对象,分析人工生草、自然生草和清耕 3 种覆盖模式对柑橘园不同土层土壤化学和生物学性质的影响,以及土壤碳氮磷、微生物生物量碳氮磷、酶活性之间的相互关系,探明不同生草覆盖模式下柑橘园土壤酶活性变化的关键驱动因素,为科学认知三峡库区柑橘园土壤养分循环特征和可持续经营管理策略提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于湖北省秭归县水田坝乡,属亚热带季风气候,温暖湿润,光照充足,雨量充沛,无霜期长,年平均气温 16.7℃,年均降水量约 1013 mm,降水主要集中在 7—9 月,土壤类型以紫色土为主,耕地多为坡地<sup>[21]</sup>。柑橘园主要由粮食作物土地利用类型转变而形成,分布于长江两岸 600 m 以下的低山地区。截至 2020 年,本研究区柑橘园面积为 4124.07 hm<sup>2</sup>,是该区域最重要的果林类型,同时本研究区也是秭归县重要的柑橘种植区,占秭归县柑橘园总面积的 17.7%。近年来,随着果园生草覆盖技术的推广实施,该区域柑橘园逐渐形成了生草年限久、生草类型多的种植模式,为本研究提供了试验基础。

### 1.2 样地设置

试验样地为生草 8 年的柑橘园(31°4'45"N,110°40'18"E;海拔:220 m),以清耕柑橘园为试验对照。生草类型包括自然生草和人工生草。自然生草柑橘园自 2014 年开始不再进行地表除草,保留常见草本植物,例如猪殃殃(*Galium spurium*)、繁缕(*Stellaria media*)等,采样时覆草生物量为 0.22 kg/m<sup>2</sup>,碳氮磷养分含量分别为 366.46 g/kg、38.08 g/kg、0.95 g/kg;人工生草柑橘园于 2014 年全园撒播光叶苕子(*Vicia villosa*),播种量为 45 kg/hm<sup>2</sup>,采样时覆草生物量为 0.47 kg/m<sup>2</sup>,碳氮磷养分含量分别为 427.23 g/kg、53.09 g/kg、0.52 g/kg,未进行人工刈割,自然腐解还土。清耕样地定期人工除草,清除地表残留物,其他田间管理措施与生草样地一致。自然生草、人工生草和清耕柑橘园均设置 3 个重复样地,各样地面积为 200 m<sup>2</sup>。试验柑橘园种植密度约为 825 株/hm<sup>2</sup>,株距(3±0.5) m,行距(3.5±0.5) m,施肥量为 3300 kg/hm<sup>2</sup>,包含 22% N、6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>和 11% K<sub>2</sub>O。

### 1.3 土壤样品处理和测定

#### 1.3.1 土壤样品采集与处理

于 2021 年 3 月柑橘园施肥前,在每个样地按 S 型布设 5 个采样点,沿土壤剖面按照 0—10 cm、10—20 cm 和 20—40 cm 进行分层取样。去除土壤鲜样中可见的根系和石砾后,充分混匀样品后过 2 mm 筛。筛分后的土壤样品分为两份,一份样品自然风干后过 0.15 mm 网筛,用于测定土壤碳氮磷等基本化学性质;另一份样品于 4℃ 条件下保存,用于测定土壤含水量、微生物生物量碳氮磷和酶活性。

#### 1.3.2 土壤指标测定

##### (1) 化学性质

pH 值采用土壤和水比率 1:2.5 浸提,有机碳采用重铬酸钾氧化-水浴法测定,全氮测定采用凯氏定氮法,碱解氮测定采用碱解-扩散法,全磷测定采用酸溶-钼锑抗比色法,有效磷测定采用碳酸氢钠溶液浸提-钼锑抗比色法<sup>[22]</sup>。

##### (2) 微生物生物量碳氮磷

采用氯仿熏蒸提取法测定土壤微生物生物量碳氮磷含量<sup>[23—25]</sup>。其中微生物生物量碳和氮含量用 TOC-L 总碳分析仪(岛津,日本)测定,通过将熏蒸与未熏蒸样品提取液的碳氮差值分别除以转换系数  $K_C=0.45$ <sup>[26]</sup> 和  $K_N=0.57$ <sup>[24]</sup>,计算得到微生物生物量碳、氮含量;微生物生物量磷含量采用钼锑抗比色法测定,即将钼锑抗指示剂加入熏蒸与未熏蒸浸提液后,利用酶标仪进行测定。

##### (3) 土壤酶活性

测定了参与土壤碳氮磷循环的多酚氧化酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶、酸性磷酸酶<sup>[27]</sup>。将相当于 1 g 干土的鲜土样品加入至 125 mL 醋酸钠缓冲液(50 mmol/L,

pH 为 5.52—6.87) 中,搅拌均匀制备成土壤悬浮液。

水解酶( $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶、酸性磷酸酶)采用荧光微孔板法,在 96 孔微孔板中加入 200  $\mu$ L 土壤悬液与 50  $\mu$ L 对应酶底物(如亮氨酸氨基肽酶(AMC)或其他水解酶(MUB),200  $\mu$ mol/L)<sup>[28]</sup>,在 25 $^{\circ}$ C 暗培养 3 h 后采用酶标仪(SpectraMax i3x, Molecular Devices, Beckman Coulter, 加利福尼亚州,美国)测定荧光度(波长 365 nm 和 450 nm)。氧化酶(多酚氧化酶)采用比色法,在土壤悬液中加入 25 mmol/L 的底物 L-3, 4-二羟基苯丙氨酸(L-3, 4-dihydroxyphenylalanine, DOPA)<sup>[18]</sup>,震荡暗培养 1 h 后利用酶标仪测定吸光度(波长 465 nm)。

#### 1.4 数据处理

采用双因素和最小显著性差异法(LSD)法对不同生草类型和土层土壤碳氮磷、微生物生物量碳氮磷及酶活性的差异进行方差分析和多重比较( $P < 0.05$ )。利用 R 语言的“vegan”包进行冗余分析(RDA)检验土壤碳氮磷、微生物生物量碳氮磷及酶活性之间的关系。采用 Excel 2019 进行数据整理,利用 SPSS 22.0 进行统计分析,利用 Excel 2019 和 R 3.6.1 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 生草类型和土层对土壤碳氮磷含量的影响

双因素方差分析表明,土层对全磷含量有极显著影响( $P < 0.001$ ),生草类型和土层对有机碳、全氮、碱解氮、有效磷含量及 pH 值影响显著( $P < 0.05$ ),但二者互作对土壤化学性质无显著影响(表 1)。

表 1 生草类型和土层对土壤碳氮磷含量、pH 值影响的双因素方差分析

Table 1 Effects of living grass mulching types and soil layers on soil carbon, nitrogen, phosphorus and pH based on two-way ANOVA

影响因素 Influence factors	有机碳 Organic carbon	全氮 Total nitrogen	碱解氮 Alkali-hydrolyzed nitrogen	全磷 Total phosphorus	有效磷 Available phosphorus	pH
类型 Types (T)	17.41 ***	6.43 **	9.10 **	2.40	13.93 ***	15.59 ***
土层 Soil layers (L)	30.19 ***	28.67 ***	19.40 ***	13.03 ***	20.91 ***	4.49 *
类型 $\times$ 土层 T $\times$ L	1.77	1.03	0.59	2.44	2.03	0.17

表中数据为  $F$  值,\*\*\*  $P < 0.001$ ,\*\*  $P < 0.01$ ,\*  $P < 0.05$

生草覆盖下,各土层土壤有机碳、全氮、碱解氮、有效磷含量和 pH 值均高于清耕(图 1)。0—10 cm 土层中,土壤有机碳、全氮、碱解氮和有效磷含量均表现为人工生草>自然生草>清耕,且人工生草覆盖下土壤有机碳、碱解氮和有效磷显著高于清耕( $P < 0.05$ ),土壤全氮在生草类型间差异不显著;土壤全磷和 pH 值表现为自然生草>人工生草>清耕,自然生草覆盖下土壤全磷和 pH 显著高于清耕( $P < 0.05$ ,图 1)。10—20 cm 土层中,土壤全氮、碱解氮和有效磷含量表现为人工生草>自然生草>清耕,人工生草柑橘园土壤碱解氮和有效磷显著高于清耕( $P < 0.05$ );土壤有机碳、全磷含量和 pH 值表现为自然生草>人工生草>清耕,自然生草覆盖下土壤有机碳和 pH 显著高于清耕( $P < 0.05$ ),土壤全磷在生草类型间差异不显著。20—40 cm 土层中,土壤全氮、碱解氮、有效磷含量表现为人工生草>自然生草>清耕,其中全氮在生草类型间差异显著( $P < 0.05$ ),其他指标差异不显著;土壤有机碳和 pH 表现为自然生草>人工生草>清耕,自然生草覆盖下土壤有机碳和 pH 显著高于清耕( $P < 0.05$ )。各生草类型柑橘园土壤有机碳、全氮、碱解氮、全磷和有效磷表现为 0—10 cm>10—20 cm>20—40 cm,pH 值恰好相反,且各土壤指标在土层间均存在显著差异( $P < 0.05$ ,图 1)。

### 2.2 生草类型和土层对土壤微生物生物量碳氮磷含量的影响

双因素方差分析表明,生草类型和土层显著影响土壤微生物生物量碳、氮、磷含量( $P < 0.05$ ),二者互作对土壤微生物生物量无显著影响(表 2)。各土层土壤微生物生物量碳、氮、磷均表现为人工生草>自然生草>清耕(图 2)。0—10 cm 和 10—20 cm 土层中,人工生草覆盖下土壤微生物生物量碳、氮、磷含量显著高于清耕( $P < 0.05$ );20—40 cm 土层中人工生草和自然生草覆盖下土壤微生物生物量碳、氮、磷含量均显著高于清耕

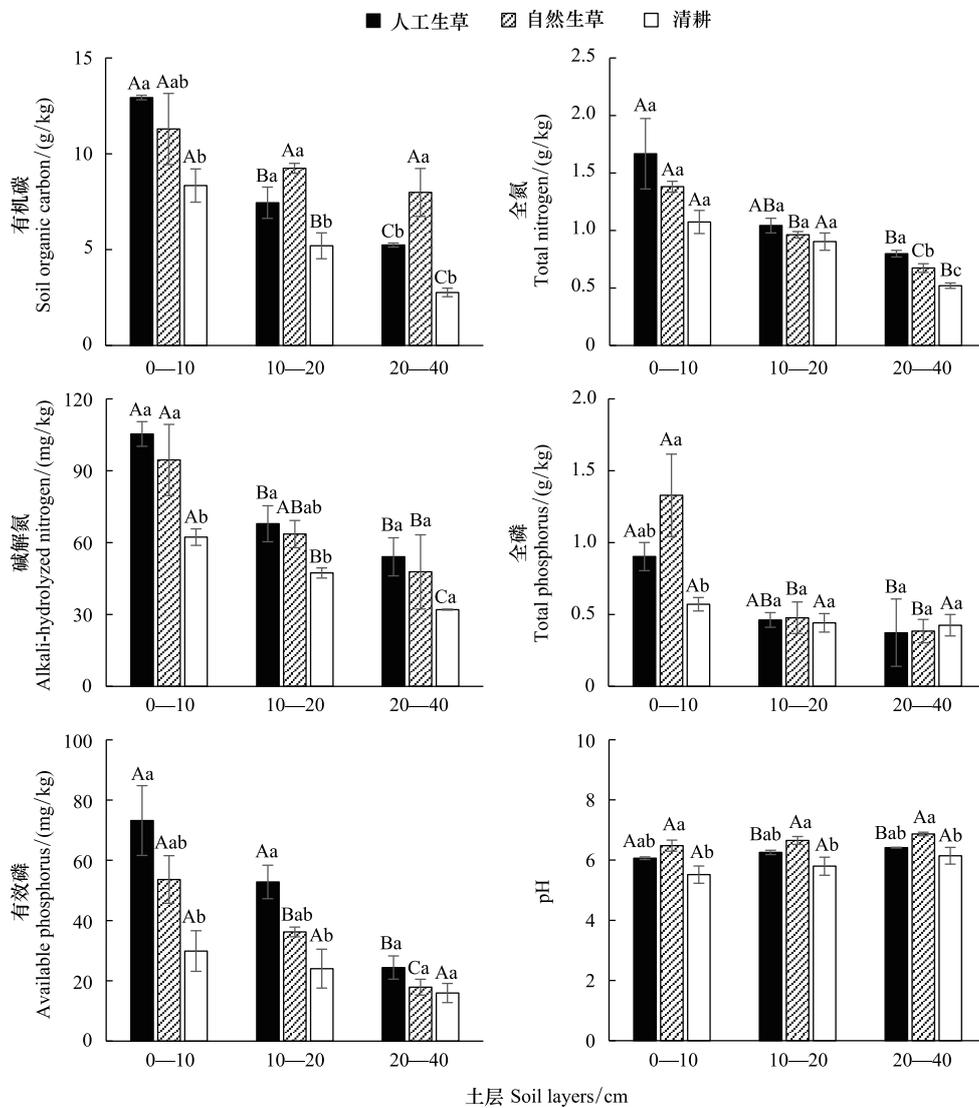


图 1 长期生草对柑橘园土壤碳氮磷含量的影响

Fig.1 Effects of long-term living grass mulching on soil carbon, nitrogen and phosphorus in citrus orchard  
不同大写字母表示同一处理不同土层间差异显著,不同小写字母表示同一土层不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

( $P < 0.05$ )。各生草类型下土壤微生物生物量碳、磷含量表现为 0—10 cm > 10—20 cm > 20—40 cm, 土壤微生物生物量氮含量表现为 10—20 cm > 0—10 cm > 20—40 cm, 且各指标在土层间均存在显著差异 ( $P < 0.05$ , 图 2)。

### 2.3 生草类型和土层对土壤碳氮磷酶活性的影响

双因素方差分析表明,除多酚氧化酶外,生草类型和土层显著影响土壤  $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶活性,生草类型和土层的交互作用显著影响  $\beta$ -葡萄糖苷酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶活性(表 3)。

表 2 生草类型和土层对土壤微生物生物量影响的双因素方差分析

Table 2 Effects of living grass mulching types and soil layers on soil microbial biomass based on two-way ANOVA

影响因素 Influence factors	微生物生物量碳 Microbial biomass carbon	微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen	微生物生物量磷 Microbial biomass phosphorus
类型 Types (T)	96.95 ***	25.18 ***	13.20 ***
土层 Soil layers (L)	5.08 *	60.02 ***	16.00 ***
类型×土层 T×L	0.17	0.81	1.98

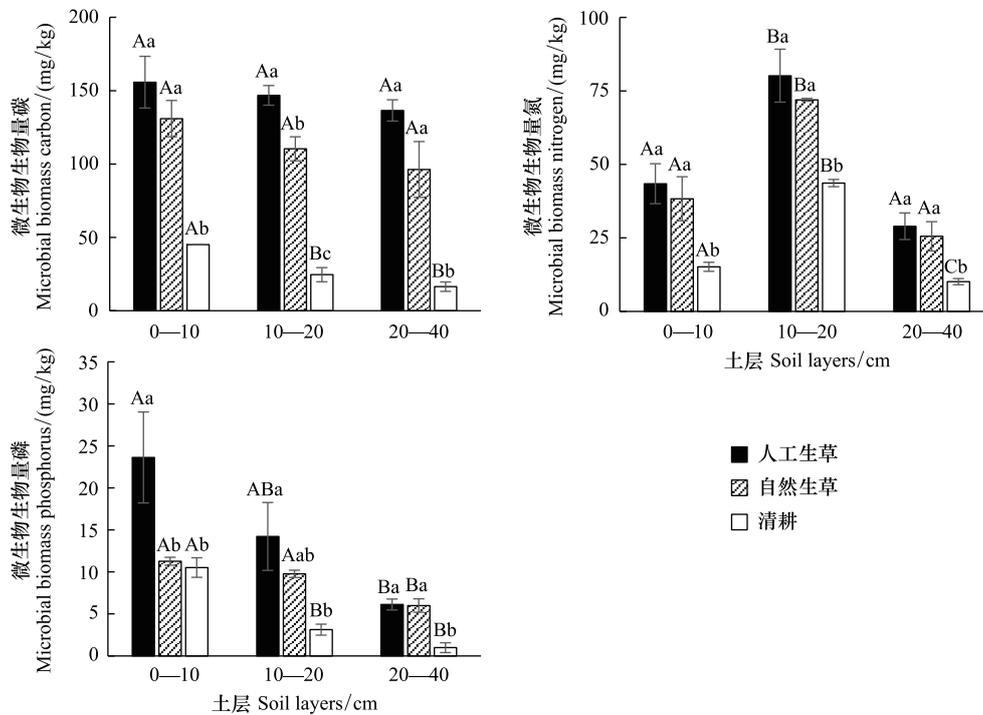


图 2 长期生草对柑橘园土壤微生物生物量的影响

Fig.2 Effects of long-term living grass mulching on soil microbial biomass in citrus orchard

表 3 生草类型和土层对土壤酶活性影响的双因素方差分析

Table 3 Effects of living grass mulching types and soil layers on soil enzyme activities based on two-way ANOVA

影响因素 Influence factors	POX	BG	CB	NAG	LAP	APH
类型 Types (T)	7.13 **	30.73 ***	5.74 *	104.43 ***	35.40 ***	89.11 ***
土层 Soil layers (L)	2.52	19.30 ***	26.31 ***	23.22 ***	9.90 ***	8.19 **
类型×土层 T×L	0.30	3.12 *	2.54	7.50 ***	3.02 *	1.20

POX: 多酚氧化酶 Phenol oxidase; BG:  $\beta$ -葡萄糖苷酶  $\beta$ -glucosidase; CB: 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase; NAG: N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 N-acetylglucosaminidase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase; APH: 酸性磷酸酶 Acid phosphatase

生草覆盖下各土层酶活性均高于清耕(图3)。各土层中土壤多酚氧化酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶活性均表现为人工生草>自然生草>清耕,人工生草显著高于自然生草和清耕( $P < 0.05$ ),分别是自然生草的1.3—2.6倍、1.3—3.4倍、2.1—2.3倍和2.2—2.9倍,是清耕的3.4—5.1倍、2.9—3.5倍、23.2—224.8倍和3.7—4.0倍。人工生草柑橘园中0—10 cm土层土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶活性是自然生草的1.1、1.0倍,10—20 cm与20—40 cm土层中分别是自然生草的0.7、0.8倍和0.8、1.0倍。各生草类型柑橘园中所有土壤酶活性均表现为0—10 cm>10—20 cm>20—40 cm,且土层间存在显著差异( $P < 0.05$ ,图3)。

#### 2.4 土壤碳氮磷酶活性与土壤生物化学性质的关系

相关分析表明,土壤碳氮磷酶活性均与微生物生物量碳磷、有效磷、碱解氮和全氮呈极显著正相关,其中多酚氧化酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶和亮氨酸氨基肽酶活性也与有机碳呈极显著正相关( $P < 0.001$ ,图4)。从不同处理来看,人工生草中土壤碳氮磷酶活性均与微生物生物量碳磷、碱解氮存在显著正相关( $P < 0.05$ ),其中 $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶和亮氨酸氨基肽酶活性也与有机碳和有效磷呈极显著正相关( $P < 0.001$ ,图4);自然生草中 $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶活性与微生物生物量磷、有效磷、全氮呈显著正相关( $P < 0.05$ ,图4);清耕中亮氨酸氨基肽酶活性与微生物生物量碳磷、碱解氮呈极显著正相关,多酚氧化

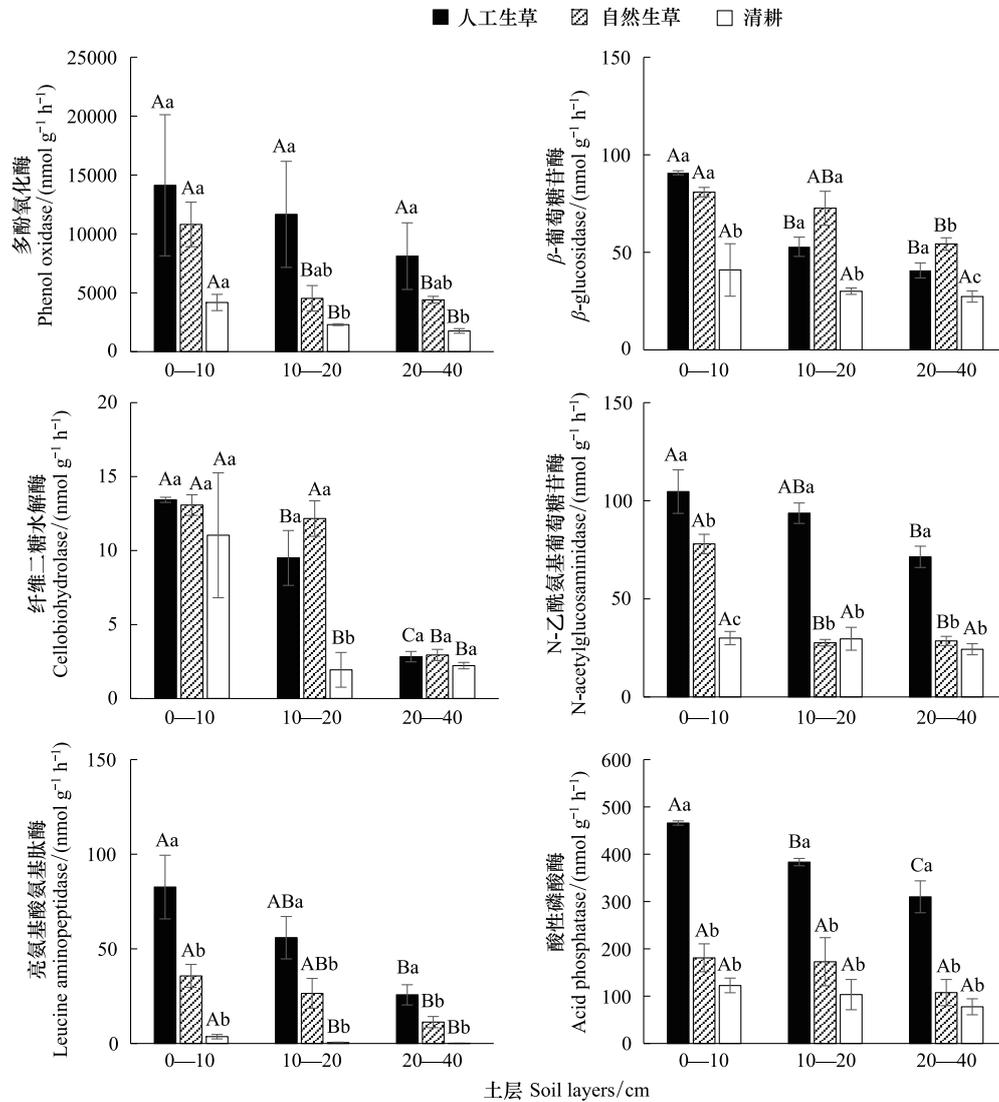


图3 长期生草对柑橘园土壤酶活性的影响

Fig.3 Effects of long-term living grass mulching on soil enzyme activities in citrus orchard

酶活性与微生物生物量磷、碱解氮呈极显著正相关( $P < 0.001$ , 图4)。

冗余分析表明,第I、II轴的解释量分别为71.6%和4.6%,前两轴对土壤碳氮磷酶活性的累计解释量为76.2%,故前两轴能够反映出土壤碳氮磷和微生物生物量碳氮磷与土壤碳氮磷酶活性的关系,且主要由第I轴决定(表4)。

冗余分析二维排序图中,自变量与原点的连线箭头越长,对因变量的影响程度越高。土壤微生物生物量碳的箭头连线最长、解释量最高(26.5%),是土壤碳氮磷酶活性最显著的影响因子( $P < 0.01$ ),其次是微生物生物量磷(13.4%)、有效磷(10.0%)、有机碳(8.9%)和碱解氮(6.8%),均显著影响土壤碳氮磷酶活性( $P < 0.05$ ,图5)。总体上,土壤碳氮磷和微生物生物量碳氮磷与土壤碳氮磷酶活性均呈正相关,其中微生物生物量碳主要影响N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶活性,微生物生物量磷主要影响多酚氧化酶活性,土壤有机碳、有效磷主要影响 $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶活性(图5)。同时不同生草类型与不同土层对土壤酶活性的影响存在明显差异,人工生草在各土层中对6种土壤碳氮磷酶活性的影响均为正效应,自然生草仅在0—20 cm土层中对 $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶活性产生正效应,两种生草类型中土壤酶活性均在0—10 cm土层受土壤碳氮磷等因子影响最为突出。

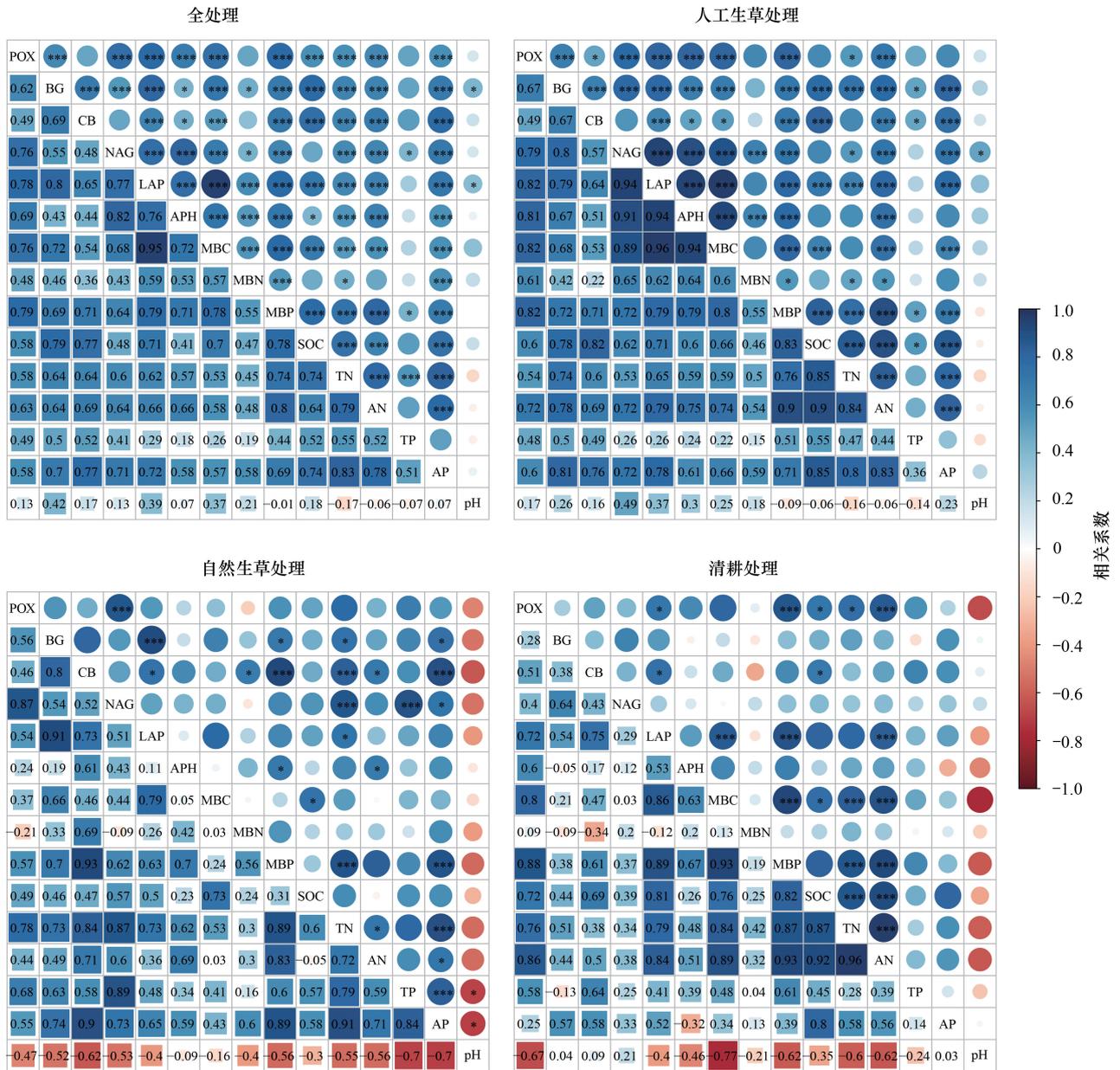


图 4 土壤酶活性与土壤生物化学性质的相关性

Fig.4 Correlation between soil enzyme activities and biochemical properties

POX: 多酚氧化酶 Phenol oxidase; BG:  $\beta$ -葡萄糖苷酶  $\beta$ -glucosidase; CB: 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase; NAG: N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 N-acetylglucosaminidase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase; APH: 酸性磷酸酶 Acid phosphatase; 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; SOC: 有机碳 Soil organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; AN: 碱解氮 Alkali-hydrolyzed nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AP: 有效磷 Available phosphorus; \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

表 4 土壤酶活性指标差异的解释变量冗余分析

Table 4 Redundancy analysis of explanatory variables for differences in soil enzyme activity indices

排序轴 Sorting axis	第 I 轴 Axis I	第 II 轴 Axis II	第 III 轴 Axis III	第 IV 轴 Axis IV	第 V 轴 Axis V	第 VI 轴 Axis VI	总解释方差 Total explained variance
特征值 Eigenvalues	0.607	0.039	0.020	0.008	0.004	0.001	67.94
特征解释量 Proportion explained/%	71.63	4.55	2.38	0.92	0.51	0.18	
特征累计解释量 Cumulative proportion/%	71.63	76.18	78.56	79.48	79.99	80.17	

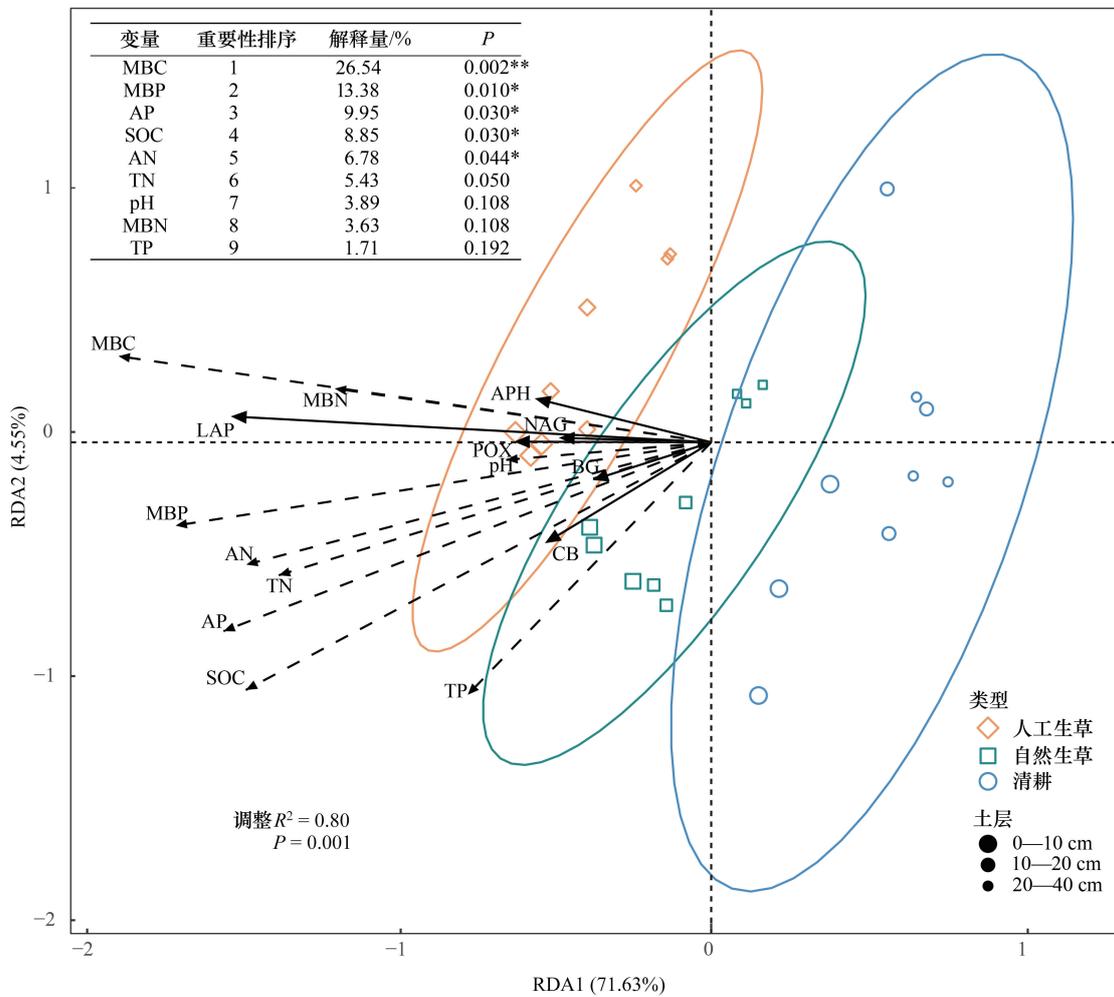


图 5 土壤酶活性与土壤生物化学性质冗余分析 (RDA) 排序图

Fig.5 Redundancy analysis (RDA) ordination plot of biochemical properties associated with soil enzyme activities

### 3 讨论

#### 3.1 长期生草对柑橘园土壤生物化学性质的调控效果

土壤碳氮磷含量是衡量土壤质量的关键指标。土壤有机质是制约土壤物理形状的关键因子,亦是土壤微生物必不可少的碳源<sup>[29]</sup>。土壤速效氮磷养分则直接关系到果树生长和果实品质<sup>[30]</sup>。本研究中,长期生草下柑橘园土壤有机碳和氮磷等养分含量显著高于清耕,土壤碱解氮和有效磷含量的增幅明显高于全氮和全磷含量(图 1),这是因为土壤氮磷等速效养分对环境变化的敏感性更高<sup>[31]</sup>。这一结果与前人研究相一致,说明果园生草有利于提高土壤养分供给能力<sup>[8,30]</sup>,且随着生草年限的增加土壤养分含量也逐渐增加<sup>[8]</sup>。生草覆盖果园中,覆盖于地表的草本植物和土壤层中根系为土壤养分含量提供了稳定来源,地表枯落物和根系残体等有机物质的输入,也会促进微生物生物量和酶活性的增加,加速果园土壤微生物过程<sup>[16,20]</sup>。本研究中长期生草柑橘园土壤微生物生物量碳氮磷含量(图 2)和与土壤碳氮磷相关的酶活性(图 3)显著高于清耕,这与苹果园<sup>[13,20]</sup>和柑橘园<sup>[14]</sup>的研究结果一致。与传统清耕相比,柑橘园生草增加了土壤中多糖(如纤维素和半纤维素)和木质素等物质含量,因此,参与这些物质分解的酶活性相应地增加<sup>[32]</sup>,如β-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解脱酶和多酚氧化酶。本研究结果表明,柑橘园长期生草改善了土壤生物化学性质和酶活性,有利于柑橘园土壤功能的发挥。

### 3.2 土壤生物化学性质在不同土层与生草类型间的差异性

本研究中表层土壤有机碳和氮磷养分含量显著高于下层(图 1),与已有研究结果一致<sup>[33]</sup>,这是因为覆于果园地表的草本植物根系主要分布于 0—20 cm 土层<sup>[34]</sup>,地表枯落物和根系残体等对土壤养分输入主要发生在表层<sup>[35]</sup>。本研究中生草覆盖下土壤碳氮磷酶活性也表现为随土层加深而降低的变化规律,这与 Sun 等<sup>[17]</sup>的研究结果一致,原因在于表层土壤环境更有利于促进酶活性<sup>[36]</sup>,而且酶活性与土壤有机碳含量在不同土层间具有相同的变化规律,表明酶活性的空间分布与有机物质的可用性呈正相关<sup>[37]</sup>。因此,有机碳和微生物生物量在土壤剖面中的分布差异也导致了酶活性在土层间的变化差异。

生草覆盖对土壤生物化学性质和酶活性的影响也因生草类型而存在差异。整体而言,人工生草柑橘园土壤有机碳和氮磷等养分、微生物生物量碳氮磷含量和土壤碳氮磷酶活性高于自然生草柑橘园中相应指标(图 3),这与梨园和苹果园的研究结果一致<sup>[20,38]</sup>,但与柑橘园的研究结果存在差异<sup>[14]</sup>。本研究中,人工生草为光叶苕子,自然生草以猪殃殃和繁缕为主。草本植物生物学特性的不同,导致其对土壤养分和酶活性的影响存在差异。光叶苕子属于豆科植物,可将大气中的氮元素固定到土壤中<sup>[16]</sup>,从而促进土壤氮素等养分的累积<sup>[8]</sup>。人工生草柑橘园土壤微生物生物量碳含量增加,与豆科植物具有更大不稳定碳库密切相关<sup>[16]</sup>,Wei 等<sup>[39]</sup>指出更高的不稳定碳含量表明土壤具有更好的底物可用性,从而促进微生物生物量的增加。同样,人工生草柑橘园 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶活性增加,是因为豆科植物通过固氮作用提高了土壤氮素含量,随着氮素的输入,植物生长速度加快,根系分泌物增加,进而促进氮循环酶活性的增加。另外,人工生草覆盖下酸性磷酸酶活性显著增加,是因为生草覆盖后地表残留物的增加促进了有机磷向无机磷的转化<sup>[40]</sup>,这与 Feng 等<sup>[41]</sup>的研究结果相似。本研究结果表明,柑橘园中以光叶苕子为主的人工生草管理改善土壤肥力的能力强于自然生草管理,因此,在果园中选择合适的生草类型十分重要。

### 3.3 土壤酶活性与土壤生物化学因子的关系

一般来说,土壤酶活性对生态系统环境变化的敏感程度高于土壤其他因子,且土壤酶活性强弱与土壤碳氮磷等息息相关<sup>[42]</sup>。研究表明,土壤酶活性受土壤有机碳、氮、磷等含量的显著影响<sup>[43]</sup>。生草覆盖能通过增加土壤有机质输入,提高微生物生物量含量,从而提高土壤相应酶活性,因此,土壤酶活性与有机质呈正相关关系<sup>[10-11]</sup>。相关分析与冗余分析表明,柑橘园土壤碳水解酶活性(如  $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶)与有机碳、碱解氮和有效磷呈显著正相关(图 4 和图 5),此结果支持了上述结论,相关研究也发现土壤碳氮酶活性与速效养分之间存在显著正相关<sup>[17]</sup>。而且相关分析表明  $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶也与全氮存在正相关性,这与 Wei 等<sup>[16]</sup>在中国南方生草果园中的研究相一致,但本研究中其相关程度因生草类型而异(图 4)。此外,柑橘园土壤多酚氧化酶和氮磷水解酶(如 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶)与土壤有机碳、碱解氮、有效磷、微生物生物量碳和磷呈显著正相关,受微生物生物量碳的影响最大(图 5),此结果与先前的研究结果相似<sup>[17]</sup>。这是因为微生物生物量是储存土壤养分的关键和高度活跃的库<sup>[11]</sup>,在一定程度上影响着土壤有机质和养分循环,导致生草根系加速酶分泌,进而影响酶活性。值得注意的是,土壤酶活性与土壤生物化学性质在土壤养分循环过程中存在复杂的关系。例如,土壤酸性磷酸酶活性与土壤有效磷含量之间往往存在显著负相关关系<sup>[44]</sup>或不存在相关关系<sup>[32]</sup>,但本研究中两者存在显著正相关关系(图 5)。有研究认为,当由于养分资源需求而增加的酶活性导致养分的过量释放时,酶活性与养分可利用性之间存在正相关关系<sup>[15]</sup>。也就是说,当有效磷含量不足以满足植物生长需求时,微生物会分泌更多的酸性磷酸酶来水解有机磷以促进有效磷的释放。

## 4 结论

(1)生草覆盖能够显著提高土壤有机碳和氮磷养分含量、微生物生物量碳氮磷含量和土壤碳氮磷酶活性,总体上表现为人工生草>自然生草>清耕。生草覆盖对柑橘园土壤生物化学性质和酶活性的促进作用随土层加深而降低。

(2) 柑橘园中土壤酶活性与土壤碳氮磷养分含量和微生物生物量碳氮磷含量显著正相关,各指标在生草类型与土层间存在差异。人工生草在各土层中对6种土壤碳氮磷酶活性的影响均为正效应,其中0—20 cm土层中的影响较强;自然生草仅在0—20 cm土层中对 $\beta$ -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶活性产生正效应。

(3) 总体而言,人工生草覆盖对柑橘园土壤生物化学性质和酶活性的改善作用强于自然生草覆盖,果园中选择合适的生草类型对维持和发挥土壤功能十分重要。

**致谢:** 本研究得到湖北秭归三峡库区森林生态系统国家定位观测研究站的支持。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 郭恢财, 廖鹏飞, 陈伏生. 脐橙果园土壤养分动态与酶活性的季节变化. 生态学杂志, 2010, 29(4): 754-759.
- [ 2 ] 罗明霞, 胡宗达, 刘兴良, 李亚非, 胡璟, 欧定华, 吴德勇. 川西亚高山不同林龄粗枝云杉人工林土壤微生物生物量及酶活性. 生态学报, 2021, 41(14): 5632-5642.
- [ 3 ] Cao X W, Shi Z M, Chen J, Liu S, Zhang M M, Chen M, Xu G X, Wu J M, Xing H S, Li F F. Extracellular enzyme characteristics and microbial metabolic limitation in soil of subalpine forest ecosystems on the eastern Qinghai-Tibetan Plateau. *Plant and Soil*, 2022: 1-17.
- [ 4 ] 张雅茜, 方晰, 洗应男, 王振鹏, 项文化. 亚热带区4种林地土壤微生物生物量碳氮磷及酶活性特征. 生态学报, 2019, 39(14): 5326-5338.
- [ 5 ] Chen H, Li D J, Zhao J, Zhang W, Xiao K C, Wang K L. Nitrogen addition aggravates microbial carbon limitation: evidence from ecoenzymatic stoichiometry. *Geoderma*, 2018, 329: 61-64.
- [ 6 ] 夏文建, 柳开楼, 张丽芳, 刘佳, 叶会财, 邓国强, 李大明, 李祖章, 王萍, 李瑶, 杨成春, 彭春瑞, 陈金. 长期施肥对红壤稻田土壤微生物生物量和酶活性的影响. 土壤学报, 2021, 58(3): 628-637.
- [ 7 ] Zhang T A, Chen H Y H, Ruan H H. Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes. *The ISME Journal*, 2018, 12(7): 1817-1825.
- [ 8 ] Wei H, Xiang Y Z, Liu Y, Zhang J E. Effects of sod cultivation on soil nutrients in orchards across China: a meta-analysis. *Soil and Tillage Research*, 2017, 169: 16-24.
- [ 9 ] Zheng J Y, Zhao J S, Shi Z H, Wang L. Soil aggregates are key factors that regulate erosion-related carbon loss in citrus orchards of Southern China: bare land vs. grass-covered land. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 309: 107254.
- [ 10 ] 陈俊朴, 黄圣杰, 陈涛, 方从刚, 马鑫鹏, 郭文涛, 黄成毅. 不同地面覆盖模式对樱桃园土壤活性有机碳组分及相关酶活性的影响. 西南农业学报, 2021, 34(11): 2465-2472.
- [ 11 ] 王艳廷, 冀晓昊, 张艳敏, 吴玉森, 安萌萌, 张芮, 王立霞, 张晶, 刘文, 李敏, 李文燕, 陈学森. 自然生草对黄河三角洲梨园土壤物理性状及微生物多样性的影响. 生态学报, 2015, 35(16): 5374-5384.
- [ 12 ] 杨野, 杜国栋, 吕三三, 吕德国, 徐田伟. 生草对果园土壤速效养分含量及树体发育的影响. 北方果树, 2017(1): 4-8.
- [ 13 ] 巩庆利, 翟丙年, 郑伟, 刘杰, 郑朝霞, 赵志远, 李紫燕, 王朝辉. 渭北旱地苹果园生草覆盖下不同肥料配施对土壤养分和酶活性的影响. 应用生态学报, 2018, 29(1): 205-212.
- [ 14 ] Wang P, Wang Y, Wu Q S. Effects of soil tillage and planting grass on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and soil properties in citrus orchards in southeast China. *Soil and Tillage Research*, 2016, 155: 54-61.
- [ 15 ] 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.
- [ 16 ] Wei H, Zhang K, Zhang J E, Li D F, Zhang Y, Xiang H M. Grass cultivation alters soil organic carbon fractions in a subtropical orchard of Southern China. *Soil and Tillage Research*, 2018, 181: 110-116.
- [ 17 ] Sun X D, Ye Y Q, Ma Q X, Guan Q W, Jones D L. Variation in enzyme activities involved in carbon and nitrogen cycling in rhizosphere and bulk soil after organic mulching. *Rhizosphere*, 2021, 19: 100376.
- [ 18 ] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 391-404.
- [ 19 ] 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.
- [ 20 ] Qian X, Gu J, Pan H J, Zhang K Y, Sun W, Wang X J, Gao H. Effects of living mulches on the soil nutrient contents, enzyme activities, and bacterial community diversities of apple orchard soils. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 70: 23-30.
- [ 21 ] 韩庆忠, 夏立忠, 向琳, 王功明, 杨爱民. 三峡库区脐橙园土壤养分、酸度变化特征与施肥管理对策——以秭归县水田坝乡为例. 土壤, 2008, 40(4): 602-607.
- [ 22 ] 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.
- [ 23 ] 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.

- [24] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 837-842.
- [25] 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.
- [26] Beck T, Joergensen R G, Kandeler E, Makeschin F, Nuss E, Oberholzer H R, Scheu S. An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(7): 1023-1032.
- [27] 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.
- [28] Zhou L H, Liu S S, Shen H H, Zhao M Y, Xu L C, Xing A J, Fang J Y. Soil extracellular enzyme activity and stoichiometry in China's forests. *Functional Ecology*, 2020, 34(7): 1461-1471.
- [29] 左玉环, 刘高远, 杨莉莉, 梁连友, 同延安. 陕西渭北柿子园种植白三叶草对土壤养分和生物学性质的影响. *应用生态学报*, 2019, 30(2): 518-524.
- [30] 秦秦, 宋科, 孙丽娟, 孙雅菲, 王峻, 江建兵, 薛永. 猕猴桃园行间生草对土壤养分的影响及有效性评价. *果树学报*, 2020, 37(1): 68-76.
- [31] Zhang S L, Huffman T, Zhang X Y, Liu W, Liu Z H. Spatial distribution of soil nutrient at depth in black soil of Northeast China: a case study of soil available phosphorus and total phosphorus. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 14(11): 1775-1789.
- [32] Zheng W, Gong Q L, Zhao Z Y, Liu J, Zhai B N, Wang Z H, Li Z Y. Changes in the soil bacterial community structure and enzyme activities after intercrop mulch with cover crop for eight years in an orchard. *European Journal of Soil Biology*, 2018, 86: 34-41.
- [33] Suo G D, Xie Y S, Zhang Y, Luo H. Long-term effects of different surface mulching techniques on soil water and fruit yield in an apple orchard on the Loess Plateau of China. *Scientia Horticulturae*, 2019, 246: 643-651.
- [34] Liu S B, Zamanian K, Schless P, Zarebanadkouki M, Kuzakov Y. Degradation of Tibetan grasslands: consequences for carbon and nutrient cycles. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 252: 93-104.
- [35] Chen G, Liu S B, Xiang Y Z, Tang X L, Liu H T, Yao B, Luo X Q. Impact of living mulch on soil C: N: P stoichiometry in orchards across China: a meta-analysis examining climatic, edaphic, and biotic dependency. *Pedosphere*, 2020, 30(2): 181-189.
- [36] Avazpoor Z, Moradi M, Basiri R, Mirzaei J, Taghizadeh-Mehrjardi R, Kerry R. Soil enzyme activity variations in riparian forests in relation to plant species and soil depth. *Arabian Journal of Geosciences*, 2019, 12(23): 708.
- [37] Uksa M, Schlotter M, Kautz T, Athmann M, Köpke U, Fischer D. Spatial variability of hydrolytic and oxidative potential enzyme activities in different subsoil compartments. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(4): 517-521.
- [38] Xu L F, Zhou P, Han Q F, Li Z H, Yang B P, Nie J F. Spatial distribution of soil organic matter and nutrients in the pear orchard under clean and sod cultivation models. *Journal of Integrative Agriculture*, 2013, 12(2): 344-351.
- [39] Wei H, Chen X M, Xiao G L, Guenet B, Vicca S, Shen W J. Are variations in heterotrophic soil respiration related to changes in substrate availability and microbial biomass carbon in the subtropical forests? *Scientific Reports*, 2016, 5: 18370.
- [40] Singh G, Bhattacharyya R, Das T K, Sharma A R, Ghosh A, Das S, Jha P. Crop rotation and residue management effects on soil enzyme activities, glomalin and aggregate stability under zero tillage in the Indo-Gangetic Plains. *Soil and Tillage Research*, 2018, 184: 291-300.
- [41] Feng H, Sekaran U, Wang T, Kumar S. On-farm assessment of cover cropping effects on soil C and N pools, enzyme activities, and microbial community structure. *The Journal of Agricultural Science*, 2021, 159: 216-226.
- [42] 孙彩丽, 王艺伟, 王从军, 黎庆菊, 吴志红, 袁东昇, 张建利. 喀斯特山区土地利用方式转变对土壤酶活性及其化学计量特征的影响. *生态学报*, 2021, 41(10): 4140-4149.
- [43] Jian S Y, Li J W, Chen J, Wang G S, Mayes M A, Dzantor K E, Hui D F, Luo Y Q. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: a meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 101: 32-43.
- [44] Zheng M H, Huang J, Chen H, Wang H, Mo J M. Responses of soil acid phosphatase and beta-glucosidase to nitrogen and phosphorus addition in two subtropical forests in Southern China. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 68: 77-84.