稻—油轮作下有机替代对土壤胞外酶活性及多功能性的影响

李其胜，杨 凯，汪志鹏，赵 贺，焦加国，李辉信

（南京农业大学资源与环境科学学院，江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心，南京 210095）

摘要： 通过田间定位试验，研究有机肥替代部分化肥对稻—油轮作体系下土壤胞外酶活性及多功能性的影响，为稻—油轮作体系土壤培肥和合理施肥提供理论依据。试验基于总养分替代原则，以不施肥为对照(CK)，设置全量化肥(CF)、有机肥替代 20%化肥(CFM1)及有机肥替代 40%化肥(CFM2)处理，测定土壤化学性质、微生物学性质和土壤胞外酶活性，应用多元回归分析探讨土壤性质对土壤胞外酶活性及多功能性的影响。结果表明：与 CF 处理相比，CFM1、CFM2 处理的微生物量碳、氮和土壤呼吸在油菜季平均增加 275.27%，41.90%和 64.29%；而在水稻季平均增加 115.06%，338.32%，60.87%。有机肥替代部分化肥也显著提高土壤有机质、全氮、全磷和速效养分含量，增幅为 13.25%～95.48%。相比单施化肥，有机肥替代部分化肥显著增加油菜季土壤 β—葡糖苷酶、纤维素酶、木聚糖酶、亮氨酸氨基肽酶、N—乙酰—β—D—氨基葡糖苷酶和酸性磷酸酶等碳氮磷循环相关胞外酶活性，增幅为 20.33%～140.31%；而在水稻季，只有木聚糖酶活性显著增加，增幅为 133.63%～159.86%。油菜季土壤胞外酶活性变化的关键因子为土壤微生物量碳，而水稻季的则为土壤速效磷。相比不施肥和单施化肥，有机肥替代处理显著增加土壤多功能性，油菜季土壤多功能性的主要预测因子和调控因子主要是速效钾和速效氮含量，而水稻季的则为速效磷和微生物量氮。总之，有机肥替代部分化肥有利于土壤养分、土壤胞外酶活性和多功能性提高，是维持作物稳产和保持土壤生物健康的重要措施。

关键词： 有机肥替代；土壤胞外酶活性；土壤多功能性；水稻—油菜轮作

中图分类号： S147.35；S154.2 **文献标识码：** A **文章编号：** 1009-2242(2021)02-0345-08

DOI： 10.13870/j.cnki.stbcxb.2021.02.046

Effects of Organic Substitution on Soil Extracellular Enzyme Activity and Multi-functionality in Rice-Rapeseed Rotation System

LI Qisheng, YANG Kai, WANG Zhipeng, ZHAO He, JIAO Jiaguo, LI Huixin

(*Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing* 210095)

Abstract: Through fixed field experiment, the effects of organic fertilizer substitute part of chemical fertilizer on soil extracellular enzyme activity and multi-functionality was analyzed, and this study could provide theoretical basis for soil fertility improvement and rational fertilization in rice-rapeseed rotation. Based on the principle of total nutrient substitution amount of nutrients, 4 treatments, which including no fertilizer (CK), full amount of chemical fertilizer (CF), organic fertilizer substitute 20% chemical fertilizer (CFM1), and organic fertilizer substitute 40% chemical fertilizer (CFM2) were set up. Soil chemical properties, microbial properties, and extracellular enzyme activity were assessed, and the Multiple regression analysis was used to explore the effects of soil properties on soil extracellular enzyme activity and multi-functionality. The results showed that compared with CF, soil microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, and soil respiration of CFM1 and CFM2 increased 275.27%, 41.90%, and 64.29% in rapeseed season, and increased 115.06%, 338.32%, and 60.87% in rice season. Organic fertilizer application increased the contents of soil organic matter, total nitrogen, total phosphorus, and available nutrients by 13.25%～95.48%. Compared with the single application of chemical fertilizer, the replacement of part of chemical fertilizer by organic fertilizer

收稿日期： 2020-10-15

资助项目： 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(19)2012)；国家重点研发计划项目(2016YFD0300908)；山东省重点研发计划项目(2019JZZY020614)

第一作者： 李其胜(1994—)，男，河南焦作人，硕士研究生，主要从事有机肥的应用研究。E-mail：2018103026@njau.edu.cn

通信作者： 焦加国(1981—)，男，江苏连云港人，研究员，主要从事土壤生态学研究。E-mail：jiaguojiao@njau.edu.cn

significantly increased the activity of β-glucosidase, cellulase, xylanase, leucine aminopeptidase, N-acetyl-aminoglucosidase, and acid phosphatase in the carbon, nitrogen, and phosphorus cycle, with an increase of 20.33% ~ 140.31% in rapeseed season, while in rice season, only xylanase activity was significantly increased, with an increase of 133.63%~159.86%. The key factors for the changes of soil extracellular enzyme activities was soil microbial biomass carbon in rapeseed season, and was soil available phosphorus in rice season. Compared with no fertilizer treatment and full amount of chemical fertilizer, organic fertilizer replacement treatment significantly increased soil multi-functionality, the main predictive factors of soil multi-functionality were available potassium and available nitrogen in rapeseed season, and were available phosphorus and microbial biomass nitrogen content in rice season. In a word, the substitution of organic fertilizer for part of chemical fertilizer is beneficial to the improvement of soil nutrients, microbial biomass, and soil extracellular enzyme activity, which is an important measure to maintain stable crop yield and soil biological health.

Keywords: organic fertilizer substitution; soil extracellular enzyme activity; soil multi-function; rice-rapeseed rotation

全球化肥施用量日益增加,预计将从 1980 年的 1.17 亿 t 增加到 2030 年的 2.21 亿 t[1]。然而,化肥过量使用会带来土壤酸化、面源水污染和温室气体排放等问题[2]。针对当前化肥不合理施用带来的负面影响,有机肥替代部分化肥将成为我国今后肥料施用的必然趋势,其对土壤养分及微生物学特性的影响也已成为土壤学与植物营养学近年来的研究热点[3]。

土壤微生物在养分循环、作物养分供应以及土壤培肥过程中发挥着重要作用。例如,土壤微生物可以通过释放各种功能酶来驱动土壤碳、氮和磷的生物化学循环,进而调节土壤的养分利用率,并最终影响作物对土壤养分的有效利用[4]。土壤微生物生物量是土壤有机质中最活跃的部分,其中,土壤微生物量碳、氮被认为是土壤活性养分的储存库,植物生长可利用养分的重要来源。土壤胞外酶是由植物根系及微生物分泌的具有高度催化作用的蛋白质,与土壤微生物群落变化密切相关,能够反映土壤养分状况,因此常被用作评价土壤质量、生态系统功能和生产力的重要指标之一[5]。农田管理措施和环境改变影响土壤微生物群落结构及其生态功能。Luo 等[4]通过分析表明,施用有机物料可以通过提高与碳、氮、磷循环相关的胞外酶活性来促进有机质的降解以及养分矿化,进而维持或提高农田土壤肥力和功能潜力;Ai 等[6]通过田间定位试验表明,有机无机肥配施可明显提高土壤有机质、全氮、微生物碳氮含量,增强根际和非根际土壤酶活性,改善微生物群落结构,还能显著提高根际土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵,并随有机肥施用量增加呈线性增加的趋势;Liu 等[7]通过长期定位试验发现,有机肥和化肥配施能够在碳氮资源的生物有效性形成互补关系,促进土壤生物和作物生长。

在生态学研究中,土壤多功能性(soil multifunctionality, SMF)常被用作量化土壤生态系统多样性重要指标之一[8]。理解农田管理措施下生态系统功能变化对于准确评估未来农业生态系统对全球变化的反应至关重要。Tuck 等[9]研究发现,与自然生态系统相比,农业土壤具有较低的土壤多功能性,从而进一步影响特定的生态系统服务(如养分循环、土壤团聚)。尽管人们在施肥对土壤化学和生物肥力影响研究许久,但对于施肥驱动的农业土壤生态功能变化的影响所知甚少。因此,本文以长江中下游最具代表性的水稻—油菜轮作系统为研究对象,通过设置不同有机肥替代比例,研究不同施肥措施下土壤肥力与酶活性的协同关系及其驱动力,并找出限制农田土壤多功能性的关键因子,旨在为我国农田土壤培肥提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验地位于江苏省南京市高淳区桠溪镇下坝禾田坊谷物种植家庭农场(119.108E,31.335N)。该地区属于亚热带季风湿润气候区,雨量充沛,四季分明,年平均温 17.8 ℃,年平均降水量 1 100 mm。

供试土壤:黄棕壤,质地为黏壤土,其基本性质为 pH 5.30,有机质含量 13.03 g/kg,全氮含量 0.73 g/kg,全磷含量 0.26 g/kg,速效磷含量 7.22mg/kg,速效钾含量 110.00 mg/kg。

供试有机肥:商品有机肥 N 含量 20.9 g/kg,P_2O_5 含量 36.4 g/kg,K_2O 含量 14.7 g/kg,原料为木薯渣和牛粪的混合物。

供试化肥:复合肥(15∶15∶15),尿素,过磷酸钙,氯化钾。

供试水稻品种为“杂交稻—Y 两优 900”,供试油菜品种为“宁杂 1818”。

1.2　试验设计与田间管理

试验于 2017 年 10 月布置，种植方式是水稻—油菜轮作。试验采用总养分替代原则，共设置 4 个处理：不施肥对照（CK）、常规全量化肥（CF）、有机肥替代 20% 化肥（CFM1）和有机肥替代 40% 化肥（CFM2），每个处理 4 个重复，小区面积为 0.067 hm^2。有机肥作为基肥在作物移栽前一次性施入，灌溉、除草和农药施用等均参照当地田间管理措施。不同施肥处理与每季作物施肥用量见表 1。

表 1　不同处理施肥方案　　单位：kg/hm^2

作物	处理	基肥						追肥			总施肥量		
		化肥			商品有机肥								
		N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
油菜季	CK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CF	96.00	96.00	96.00	0	0	0	162.00	24.00	24.00	258.00	120.00	120.00
	CFM1	67.05	45.60	75.60	28.95	50.40	20.40	162.00	24.00	24.00	258.00	120.00	120.00
	CFM2	38.25	0	55.35	57.75	100.65	40.65	162.00	19.35	24.00	258.00	120.00	120.00
水稻季	CK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CF	67.50	67.50	67.50	0	0	0	204.45	28.20	28.20	271.95	95.70	95.70
	CFM1	40.50	20.55	48.60	27.00	46.95	18.90	204.45	28.20	28.20	271.95	95.70	95.70
	CFM2	13.65	0	29.55	53.85	93.90	37.95	204.45	1.80	28.20	271.95	95.70	95.70

1.3　样品采集与测定

于 2019 年 5 月（油菜收获期）和 10 月（水稻收获期）进行土壤样品的采集。每个小区采用五点采样法采集 0—20 cm 土层深度的土壤混合样品，立即运回实验室，剔除根系后过 2 mm 筛，1/2 土样于 4 ℃冰箱保存，用于土壤微生物量碳氮、土壤呼吸和土壤胞外酶活性分析；另 1/2 土样风干后过筛（1，0.149 mm）用于基本理化性质测定。

土壤基本理化性质采用常规分析方法[10]测定；土壤微生物生物量碳（MBC）和微生物生物量氮（MBN）采用氯仿熏蒸培养法测定；土壤呼吸（SR）采用密闭培养法，气相色谱测定；铵态氮和硝态氮测定方法：称取过 2 mm 筛的鲜土 10.0 g，用 50 mL 的 2 mol/L KCl 溶液浸提振荡 0.5 h，过滤后用 AA3（Auto Analyzer 3）全自动流动分析仪测定，速效氮含量为铵态氮和硝态氮含量之和。

土壤胞外酶活性采用微孔板荧光法测定[11]。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—葡糖苷酶（AG），β—葡糖苷酶（BG），纤维素酶（CB）和木聚糖酶（XYL）），2 种参与氮循环的酶（亮氨酸氨基肽酶（LAP），N—乙酰基—β—D—氨基葡萄糖苷酶（NAG））和 1 种参与磷循环的酶（酸性磷酸酶（ACP））。用每小时每克样品的基质转化率表示样品酶活性（nmol/（g・h））。

1.4　土壤多功能性的计算

土壤胞外酶活性与土壤生物、养分循环速率以及土壤质量密切相关，并且对土壤环境的变化较为敏感。因此，土壤胞外酶活性逐渐被当成土壤生态系统中生物功能的指示因子，用来表征土壤功能的潜力[12]。在本研究中，以 7 种与碳、氮、磷循环相关的胞外酶活性作为土壤功能指示剂，采用平均值法进行土壤多功能性（SMF）的计算。通过查阅文献[13]发现，计算 SMF 的方法较多，其中多阈值法和平均值法应用较为普遍，并且这 2 种方法的结果也较为一致。本文采用平均值法进行 SMF 的计算，在计算前，先将所有功能指示因子（酶活性）进行 Z—score标准化处理[13]，然后将转化后的 7 种功能因子进行平均，从而得到 SMF。

1.5　数据处理

试验数据采用单因素方差分析（ANOVA）和 Duncan 法比较各变量的均值以检测施肥处理间各个测定指标的差异是否显著。本文所有的统计分析都基于 SPSS 22.0 和 R 语言软件。通过回归分析评估土壤胞外酶活性、土壤基本性质与土壤多功能性的关系（R 3.4.3，MASS 包和 relaimpo 包）。为了更系统地分析土壤胞外酶活性的变化，通过将具有相同功能的酶归一化为同一功能组。

碳循环酶：$C\text{—}acq=(AG+BG+CB+XYL)/4$　　(1)

氮循环酶：$N\text{—}acq=(LAP+NAG)/2$　　(2)

磷循环酶：$P\text{—}acq=ACP$　　(3)

2　结果与分析

2.1　有机肥替代部分化肥对土壤化学性质的影响

各施肥处理均不同程度提高油菜季和水稻季的土壤养分含量（表 2）。在油菜季，相比 CF 处理，CFM1 处理显著提高土壤有机质、全氮和全磷含量，分别增加 15.94%，13.25% 和 27.91%。CFM2 处理

也显著增加土壤有机质、全氮含量和硝态氮含量，且增加幅度高于 CFM1，较 CF 处理分别增加 40.41%，36.14%和 95.48%。但 CFM1、CFM2 处理与 CF 处理土壤铵态氮含量影响无显著变化。

而在水稻季，相比 CF 处理，CFM2 处理显著提高土壤有机质、全氮含量，分别增加 57.15%和 47.44%，CFM1 处理和 CF 处理无显著差异。CFM1 和 CFM2 处理较 CF 处理显著增加土壤速效钾含量，对速效磷、铵态氮和硝态氮含量无显著影响。在油菜季和水稻季，相比 CF 处理，CFM1 和 CFM2 均可改善土壤 pH。

表 2 有机肥替代部分化肥对稻—油轮作系统土壤化学性质的影响

作物	处理	pH	有机质/ (g·kg^{-1})	全氮/ (g·kg^{-1})	全磷/ (g·kg^{-1})	速效磷/ (mg·kg^{-1})	速效钾/ (mg·kg^{-1})	速效氮/ (mg·kg^{-1})
油菜	CK	5.80±0.07a	12.96±1.01bc	0.80±0.02c	0.27±0.05c	3.23±0.19c	124.50±3.66c	6.25±0.66b
	CF	5.22±0.02c	12.67±0.23c	0.83±0.02c	0.43±0.03b	14.20±1.46a	166.50±6.03ab	9.98±1.02a
	CFM1	5.28±0.04bc	14.69±0.62b	0.94±0.02b	0.55±0.01a	10.24±0.98b	161.00±6.94b	10.55±1.42a
	CFM2	5.41±0.01b	17.79±0.17a	1.13±0.02a	0.42±0.02b	9.75±0.64b	181.50±7.18a	13.14±0.79a
水稻	CK	5.71±0.20a	13.98±2.12b	0.72±0.09b	0.22±0.04c	3.67±0.24b	84.50±1.32c	7.68±0.57b
	CF	5.28±0.09b	15.45±1.11b	0.78±0.06b	0.35±0.01ab	8.33±1.47ab	92.50±2.78c	10.82±1.24ab
	CFM1	5.46±0.06ab	18.19±0.45b	0.89±0.06b	0.30±0.03b	10.42±2.27a	115.00±3.72b	10.74±0.74ab
	CFM2	5.55±0.07ab	24.28±1.25a	1.15±0.05a	0.39±0.01a	10.33±2.12a	132.75±5.02a	12.97±1.88a

2.2 有机肥替代部分化肥对土壤微生物学性质的影响

不同施肥措施对土壤微生物量碳、氮和土壤呼吸的影响存在显著差异(图 1)。在油菜季，与 CF 处理相比，CFM1 处理显著增加土壤微生物量碳含量和土壤呼吸强度，增幅分别为 250.96%和 76.19%，而对土壤微生物量氮含量无显著影响。CFM2 处理较 CF 处理也显著提高土壤微生物量碳、氮含量及土壤呼吸强度，分别增加 299.58%，53.35%和 52.38%；在水稻季，CFM2 处理较 CF 处理显著增加土壤微生物量碳、氮含量和土壤呼吸强度，分别增加 145.33%，378.18%和 60.87%，CFM1 处理较 CF 处理相比，只有土壤微生物量氮含量显著增加，增幅 298.45%。在油菜季和水稻季，CFM1 处理和 CFM2 处理微生物量碳、氮含量和土壤呼吸强度均无显著差异(除水稻季 CFM2 处理土壤呼吸强度显著高于 CFM1 处理)。

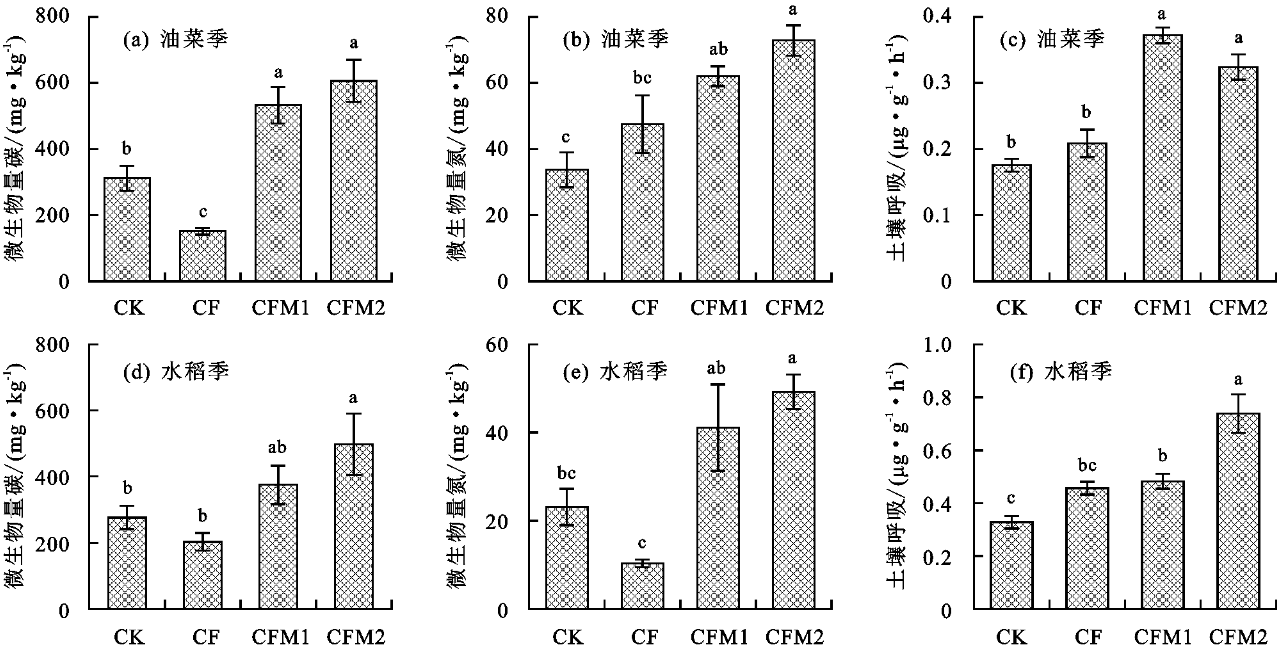


图 1 有机肥替代部分化肥对稻—油轮作系统土壤微生物量碳氮、土壤呼吸的影响

2.3 有机肥替代部分化肥对土壤胞外酶活性的影响

有机肥替代部分化肥处理均不同程度提高水稻季和油菜季的土壤胞外酶活性，其中油菜季的效果更为明显(表 3)。在油菜季，相比 CF 处理，CFM1 处理显著增加 β—葡糖苷酶(BG)、纤维素酶(CB)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和酸性磷酸酶活性(ACP)，增幅为 20.33%～67.86%。CFM2 处理较 CF 处理相比，除 α—葡糖苷酶(AG)外的其他 6 种土壤酶活性显著提高，增幅为 39.43%～140.31%；而在水稻季，与 CF 处理相比，CFM1 和 CFM2 处理仅显著增加木聚糖酶(XYL)活性，分别增加 133.63%和 159.86%。

通过加权计算将具有相同功能的酶归一化为同

一功能组(图 2)。在油菜季，与单施化肥处理(CF)相比，有机肥替代部分化肥处理均显著增加土壤参与碳氮磷循环相关胞外酶活性，且 CFM2 处理提高土壤胞外酶活性的效果较 CFM1 更为显著，增幅为 39.85%～96.31%。而在水稻季，仅 CFM2 处理较 CF 处理显著增加碳氮循环相关胞外酶活性。

表 3　有机肥替代部分化肥对稻—油轮作系统土壤胞外酶活性的影响　　单位：nmol/(g·h)

作物	处理	AG	BG	CB	XYL	LAP	NAG	ACP
油菜	CK	5.16±0.63b	36.29±3.10d	5.13±1.13c	7.77±1.39b	725.94±32.99d	31.06±4.67c	173.13±11.01c
	CF	13.72±0.80a	49.16±4.04c	12.51±2.27b	7.07±0.71b	965.72±46.10c	41.90±3.66bc	194.43±10.76c
	CFM1	14.46±1.34a	82.52±3.45b	19.56±0.83a	9.90±0.66b	1455.05±21.58b	50.69±3.37ab	233.95±6.58b
	CFM2	16.42±1.40a	105.30±4.39a	23.20±1.63a	16.99±1.15a	1704.93±57.38a	58.42±2.38a	271.91±11.62a
水稻	CK	6.05±1.02b	26.03±5.04b	8.22±1.39b	4.95±1.08b	1064.32±45.07b	17.25±2.55b	100.57±3.44b
	CF	12.03±1.06a	65.76±13.93a	24.72±4.38a	5.53±0.92b	1547.22±19.05a	33.63±3.85a	168.02±6.76a
	CFM1	13.27±1.24a	50.66±10.16ab	29.15±5.41a	12.92±1.77a	1658.32±24.96a	35.53±5.95a	162.73±11.25a
	CFM2	14.62±1.59a	67.33±10.30a	33.94±4.03a	14.37±1.06a	1810.49±180.08a	36.78±6.00a	175.23±8.79a

注：AG 为 α—葡糖苷酶；BG 为 β—葡糖苷酶；CB 为纤维素酶；XYL 为木聚糖酶；LAP 为亮氨酸氨基肽酶；NAG 为 N—乙酰基—β—D—氨基葡萄糖苷酶；ACP 为酸性磷酸酶。

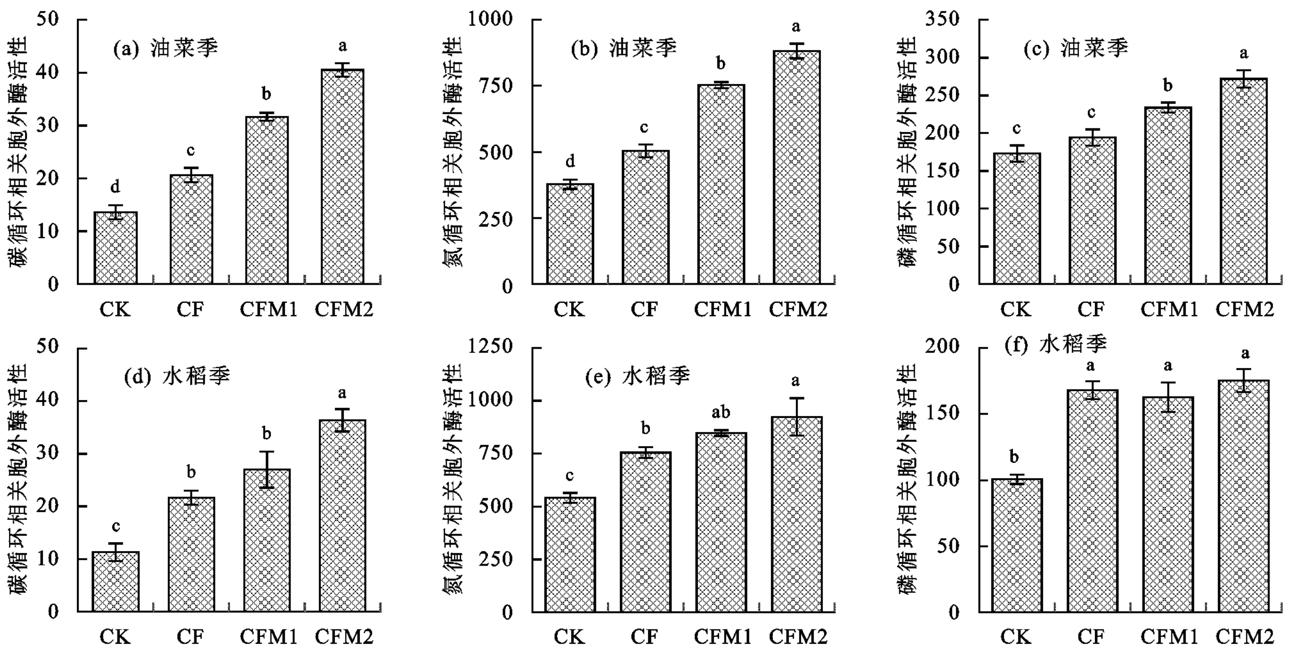


图 2　有机肥替代部分化肥对稻—油土壤碳氮磷循环相关胞外酶活性的影响

2.4　土壤化学性质、微生物学性质对土壤胞外酶活性的影响

多元回归分析表明，不同化学性质和微生物学性质驱动着土壤参与碳氮磷循环相关胞外酶活性变化。在油菜季中(表 4)，土壤碳和磷循环相关胞外酶活性的主要预测因子是土壤全氮，其次是微生物量碳和土壤基础呼吸；此外，速效钾和 pH 也能显著预测碳循环相关胞外酶活性，而土壤有机质能显著预测磷循环相关胞外酶活性变化。土壤氮循环相关胞外酶活性的主要预测因子是速效钾，其次是微生物量碳和速效氮。

在水稻季(表 5)，土壤碳和磷循环相关胞外酶活性的主要预测因子是速效磷；此外，土壤有机质和速效氮也能解释碳循环相关胞外酶活性变化，而土壤基础呼吸和 pH 能解释土壤磷循环相关胞外酶活性变化。土壤氮循环相关酶活性的主要预测因子是土壤基础呼吸，其次是速效磷、微生物量氮和微生物量碳。

2.5　有机替代对土壤多功能性的影响及其预测因子

施肥明显增加油菜季和水稻季土壤多功能性(图 3)。在油菜季，相比单施化肥，有机肥替代处理均显著增加了土壤多功能性，且 CFM2 处理显著高于 CFM1。速效钾是油菜季土壤多功能性的主要预测因子，其次是速效氮和土壤 pH；而在水稻季，仅 CFM2 处理较单施化肥处理显著增加土壤多功能性。水稻季土壤多功能性的主要预测因子是速效磷，其次是微生物量氮。

3　讨论

3.1　有机肥替代部分化肥对土壤微生物量碳、氮的影响

土壤微生物量碳、氮是土壤微生物生物量的重要表征，其含量高低及变化可以表征土壤肥力的水平，对维持土壤生态系统平衡有重要意义[14]。

本研究中,较单施化肥处理,有机肥替代化肥处理显著提高土壤微生物量碳、氮,主要是因为有机肥的施用提高土壤养分的有效性,不仅为微生物提供丰富的碳源、氮源等营养物质,还为其创造适宜的生存环境,促使土壤微生物大量生长和繁殖。唐海明等[15]通过研究双季稻田的根际土壤微生物生物量也发现,有机肥替代化肥处理的土壤微生物量碳、氮显著高于单施化肥处理。

表4 应用多元回归分析评估土壤化学性质和微生物学性质对油菜季土壤参与碳氮磷循环相关胞外酶活性的影响

油菜季	碳循环相关胞外酶活性		氮循环相关胞外酶活性		磷循环相关胞外酶活性	
	P	% ss	P	% ss	P	% ss
MBC	0***	14.04	0***	23.66	0.005**	16.66
AK	0.021*	13.15	0***	25.53	ns	
TN	0.002**	23.72	ns		0.010*	24.68
SR	0.043*	13.87	ns		0.049*	12.95
pH	0.013*	6.09	ns		ns	
AN	ns		0.043*	16.01	ns	
SOM	ns		ns		0.012*	13.40
总解释量百分比/%	70.87		65.20		67.69	
模型汇总	AIC:19.82		AIC:117.05		AIC:90.12	

注:%ss表示每个变量解释量的百分比;ns表示无显著性差异;MBC为微生物量碳;AK为速效钾;TN为全氮;SR为土壤基础呼吸;AN为速效氮;SOM为有机质。

表5 应用多元回归分析评估土壤化学性质和微生物学性质对水稻季土壤参与碳氮磷循环相关胞外酶活性的影响

水稻季	碳循环相关胞外酶活性		氮循环相关胞外酶活性		磷循环相关胞外酶活性	
	P	% ss	P	% ss	P	% ss
AP	0***	45.27	0.025*	21.25	0.009**	31.13
SOM	0.003**	26.84	ns		ns	
AN	0.011*	17.65	ns		ns	
pH	ns		ns		0.021*	13.48
MBC			0.040*	8.99	ns	
MBN			0.015*	17.26	ns	
SR			0.014*	28.26	0.039*	18.62
总解释量百分比/%	89.76		75.76		63.23	
模型汇总	AIC:44.53		AIC:150.94		AIC:99.51	

注:%ss表示每个变量解释量的百分比;ns表示无显著性差异;AP为速效磷;SOM为有机质;AN为速效氮;MBC为微生物量碳;MBN为微生物量氮;SR为土壤基础呼吸。

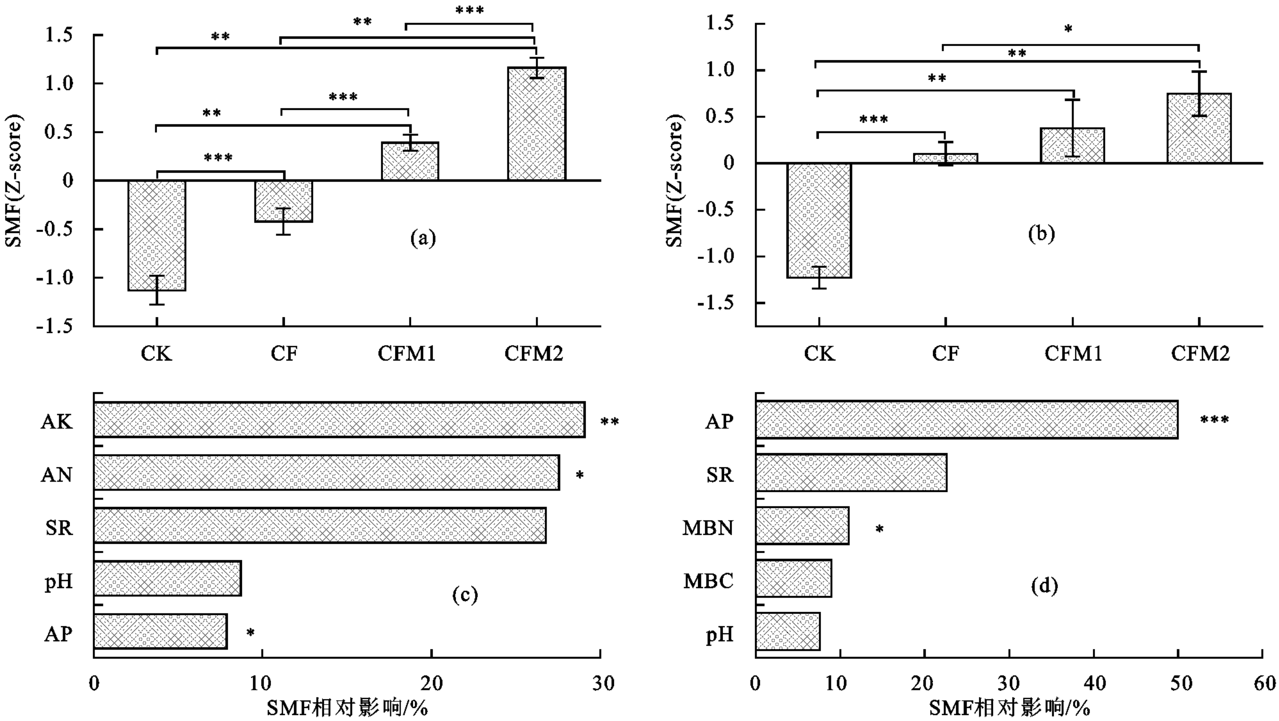
唐海明等[15]在双季稻田土壤微生物量的研究结果表明,不同有机肥施用处理显著增加土壤微生物量碳、氮,表现为100%有机肥>50%有机肥>30%有机肥。本研究中,有机肥替代40%化肥处理微生物碳氮含量与有机肥替代20%化肥处理虽无显著差异,但仍表现出微生物量碳氮随替代比例升高而增加的趋势,其原因是高比例有机肥施用量有利于改善土壤生态环境和促进水稻根系生长,同时也为作物根系生长提供充足的养分来源和活性更强的微生物群体。单施化肥处理的土壤微生物碳氮含量较不施肥处理有所降低,这可能是由于化肥的长期施用,使土壤酸化、板结,通气性降低,抑制土壤微生物的活动,进而减少土壤微生物数量。然而,也有研究[14]表明,单施化肥可以提高土壤微生物碳氮含量,这是因为施用化肥可以增加作物产量,继而有更多的作物残体等碳源返回土壤中,促进土壤微生物繁殖,增加微生物生物量。

土壤呼吸方面,施用有机肥处理(CFM1、CFM2)的土壤呼吸明显高于单施化肥处理,这与前人[16]的研究相一致。一方面是因为土壤呼吸的主要碳源是土壤有机质,施有机肥增加土壤中的有机质和养分含量从而刺激微生物活性,增加土壤呼吸量;另一方面是由于施用有机肥后可溶性有机质增加,导致部分细菌种群(变形菌门、厚壁菌门等)结构变化,从而刺激土壤呼吸[16]。

3.2 有机肥替代部分化肥对土壤胞外酶活性的影响

土壤酶活性的高低能够反映土壤生物活性和土壤质量健康状况[17]。前人[17]研究表明,有机肥及有机无机肥配施均能显著提升参与碳、氮、磷循环相关胞外酶活性;肖琼等[18]通过整合分析也表明,施肥显

著提高了 BG 和 NAG 酶活性。本研究中，相比 CK 处理，CF 处理显著增加油菜和水稻季土壤 AG、BG、CB 和 LAP 酶活性，这与范森珍等[19]研究结果相似。其主要原因是施肥通过增加养分投入，提高作物产量，使根系分泌物也相应增加，提供更多有机碳源，促进土壤酶活性增加。



注：图(a)为施肥对油菜季多功能性的影响；图(b)为施肥对水稻季多功能性的影响；图(c)为油菜季土壤化学性质和微生物学性质对土壤多功能性的相对重要性；图(d)为水稻季土壤化学性质和微生物学性质对土壤多功能性的相对重要性；SMF 为土壤多功能性；AK 为速效钾；AP 为速效磷；MBN 为微生物量氮；MBC 为微生物量碳；AN 为速效氮；SR 为土壤基础呼吸；*、** 和 *** 分别代表 0.05，0.01和0.001 水平的显著性。

图 3　土壤化学性质、微生物学性质、胞外酶活性对土壤多功能性的相对重要性

经典的微生物经济学理论和资源限制理论[20]认为，酶的分配模式反映微生物对营养物质的需求，当环境中可利用资源缺乏时，微生物会分泌更多的酶来降解复杂的有机化合物获取有限的营养物质，而环境中丰富的无机养分和有机资源也会引起土壤酶活性的提高，此时酶的产生可能非常依赖于微生物的需求，以及 C 和 N 在酶合成中的有效性。与本研究结论相似，较单施化肥处理，有机无机肥配施增加土壤碳源，直接增加参与碳循环相关胞外酶活性，同时改变土壤 C/N、C/P，使得土壤氮、磷相对碳偏低，故而增加参与氮磷循环相关胞外酶活性。

大量研究[8,12-13,21]表明，土壤 pH、有机质和微生物生物量是驱动土壤酶活性变化的主要因子，但不同的试验条件也会进一步影响土壤酶活性。本研究中，与微生物量碳氮趋势相似，有机肥替代 40%化肥处理土壤碳氮循环相关胞外酶活性高于有机肥替代 20%化肥处理，这是因为高量有机肥增加土壤微生物生物量，使得土壤微生物活性更强，增加土壤酶活性。这与微生物量碳、氮是土壤酶活性变化的主要预测因子所得结论一致。土壤酶活性会调节植物和微生物从土壤环境中获取养分过程，这个过程在很大程度上取决于土壤碳和氮的有效性，因此土壤全氮和有机质等土壤化学性质也可以解释土壤酶活性变化。

3.3　有机肥替代部分化肥对土壤多功能性的影响

与自然生态系统相比，施肥等农田管理措施会显著影响农田土壤生物学特性以及生态功能潜力和多样性[22]。本研究表明，施肥显著改善油菜季和水稻季土壤多功能性。其中，有机肥替代处理较单施化肥处理显著增加土壤多功能性，这与 Chen 等[13]研究结果相一致，这是因为添加有机肥不仅为土壤增加养分，而且带来很多外源微生物；Hartmann 等[23]研究发现，集约施肥可通过改变土壤微生物的多样性，间接影响土壤生态系统功能；Cui 等[24]在氮磷添加试验中表明，氮磷化学计量学比和植物多样性在调节土壤多功能性起着至关重要的作用，当氮磷比为 20∶10 混合添加可以帮助维持较高的土壤多功能性；也有大量研究[12-13,25]表明，土壤微生物多样性与土壤多功能性呈显著相关关系，微生物多样性的减少导致土壤多功能性以及生态系统服务的降低。

本研究表明，速效钾和速效磷是预测土壤多功能

性的主要调控因子。此外,土壤速效氮和微生物量氮等均能解释土壤多功能性的变化。与先前研究[12]一致,土壤中一切生化反应取决于有机物矿化为无机养分过程,因而归根结底还是受速效养分的调控。前人[25]研究表明,微生物多样性和pH是预测土壤多功能性变化的主要因子。Luo等[12]研究表明,碳循环相关胞外酶活性也可作为预测土壤多功能性的预测因子,这是因为土壤生物过程与土壤碳的固定、释放息息相关。土壤氮的有效性与作物生产力相关,因而土壤速效氮和微生物氮含量对土壤多功能性尤为重要。也有研究[26]表明,土壤团聚体组成作为土壤生境的物理结构,可以通过多种途径来调节土壤多功能性,例如,土壤物理结构能限制某些微生物对资源的获取,以及生物体之间的相互作用。一直以来,相关研究[25]都强调,pH是土壤生物多样性和土壤多功能性的调控因子。总之,土壤化学性质、物理结构、养分循环相关胞外酶活性都能在一定程度上影响土壤多功能性。因此,在实际生产中可以通过施用有机肥来提高农田土壤的功能潜力以及土壤功能的稳定性,进一步维持或提高农田生产力,从而满足土壤生态系统服务功能持续发挥的需要。

4 结 论

有机肥替代部分化肥较单施化肥显著提高土壤养分、土壤微生物量碳氮,增强土壤呼吸和土壤碳氮磷循环相关胞外酶活性,其中有机肥替代40%化肥相比有机肥替代20%化肥效果更明显。驱动油菜季土壤碳氮磷循环相关胞外酶活性的主要因子是微生物量碳,而水稻季的关键因子为土壤速效磷。有机肥替代部分化肥处理较单施化肥和不施肥处理显著增加农田土壤多功能性,油菜季土壤多功能性的主要预测和调控因子是速效钾,而水稻季的预测因子是速效磷,此外土壤速效氮和微生物量氮也能预测土壤多功能性的变化。

参考文献:

[1] Roser M, Ritchie H. Fertilizers[EB/OL].Our World in Data, 2013. [2020-10-15]. http://ourworldindata. org/fertilizers.

[2] Smith L E D, Siciliano G. A comprehensive review of constraints to improved management of fertilizers in China and mitigation of diffuse water pollution from agriculture[J]. Agriculture Ecosystem and Environment, 2015,209(SI):15-25.

[3] 梁路,马臣,张然,等.有机无机肥配施提高旱地麦田土壤养分有效性及酶活性[J].植物营养与肥料学报,2019,25(4):544-554.

[4] Luo G W, Li L, Friman V, et al. Organic amendments increase crop yields by improving microbe-mediated soil functioning of agroecosystems: A meta-analysis[J].Soil Biology and Biochemistry,2018,124:105-115.

[5] 肖新,朱伟,肖靓,等.适宜的水氮处理提高稻基农田土壤酶活性和土壤微生物量碳氮[J].农业工程学报,2013,29(21):91-98.

[6] Ai C, Liang G Q, Sun J W, et al. Responses of extracellular enzyme activities and microbial community in both the rhizosphere and bulk soil to long-term fertilization practices in a fluvo-aquic soil[J].Geoderma,2012,173:330-338.

[7] Liu M Q, Hu F, Chen X Y, et al. 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[J].Applied Soil Ecology,2009,42(2):166-175.

[8] Allan E, Manning P, Alt F, et al. Land use intensification alters ecosystem multifunctionality via loss of biodiversity and changes to functional composition[J].Ecology Letters,2015,18(8):834-843.

[9] Tuck S L, Winqvist C, Mota F, et al. Land-use intensity and the effects of organic farming on biodiversity: A hierarchical meta-analysis[J].Journal of Applied Ecology,2014,51(3):746-755.

[10] 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,2000.

[11] Bell C W, Fricks B E, Rocca J D, et al. High-throughput fluorometric measurement of potential soil extracellular enzyme activities[J/OL].Journal of Visualized Experiments,2013(81).DOI:10.3791/50961.

[12] Luo G W, Rensing C, Chen H, et al. Deciphering the associations between soil microbial diversity and ecosystem multifunctionality driven by long-term fertilization management[J].Functional Ecology,2018,32(4):1103-1116.

[13] Chen Q L, Ding J, Zhu D, et al. Rare microbial taxa as the major drivers of ecosystem multifunctionality in long-term fertilized soils[J/OL].Soil Biology and Biochemistry,2020,141. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107686.

[14] 夏文建,柳开楼,张丽芳,等.长期施肥对红壤稻田土壤微生物生物量和酶活性的影响[J/OL].土壤学报,2021,58(3).DOI:10.11766/trxb201912050570.

[15] 唐海明,李超,肖小平,等.有机肥氮投入比例对双季稻田根际土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵的影响[J].应用生态学报,2019,30(4):1335-1343.

[16] 吴瑞娟,王迎春,朱平,等.长期施肥对东北中部春玉米农田土壤呼吸的影响[J].植物营养与肥料学报,2018,24(1):44-52.

(下转第360页)

分布特征[J].干旱区地理,2013,36(4):631-636.

[21] Daliakopoulos I N, Tsanis I K, Koutroulis A, et al. The threat of soil salinity: A European scale review[J].Science of the Total Environment,2016,573(1):727-739.

[22] 王遵亲,祝寿泉,俞仁培,等.中国盐渍土[M].1版.北京:科学出版社,1993.

[23] 潘根兴.中国土壤有机碳和无机碳库量研究[J].科技通报,1999,15(5):330-332.

[24] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].1版.北京:中国农业科技出版社,1999.

[25] 张珍明,周运超,黄先飞,等.喀斯特小流域土壤有机碳密度及碳储量空间分布异质性[J].水土保持学报,2017,31(2): 184-190,214.

[26] 寇太记,于伟伟,朱建国,等.臭氧污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响[J].环境科学,2012,33(8):2862-2867.

[27] 苗惠田,吕家珑,张文菊,等.潮土小麦碳氮含量对长期不同施肥模式的响应[J].植物营养与肥料学报,2015,21(1):72-80.

[28] 邹璐,范秀华,孙兆军,等.盐碱地施用脱硫石膏对土壤养分及油葵光合特性的影响[J].应用与环境生物学报,2012,18(4):575-581.

[29] Li M, Jiang L L, Sun Z J, et al. Effects of flue gas desulfurization gypsum by-products on microbial biomass and community structure in alkaline-saline soils[J].Journal of Soils and Sediments,2012,12(7):1040-1053.

[30] Tao J, Wu L H, Liu X J, et al. Effect of brackish ice on salt and nutrient contents of saline soil in flue-gas desulfurization gypsum amended, raised bed agroecosystem[J]. Soil Science Society of America Journal, 2014,78(5):1734-1740.

[31] 乐章燕,廖荣伟,刘晶淼,等.水分胁迫对华北平原冬小麦地上部分及产量的影响[J].气象与环境学报,2014,30(6):120-124.

[32] 解怀亮,王玉刚,李彦.干旱区灌溉过程中碳淋溶试验研究[J].干旱区研究,2015,32(5):903-909.

[33] 张蕊,赵钰,何红波,等.基于稳定碳同位素技术研究大气CO_2浓度升高对植物—土壤系统碳循环的影响[J].应用生态学报,2017,28(7):2379-2388.

[34] 王金满,杨培岭,张建国,等.脱硫石膏改良碱化土壤过程中的向日葵苗期盐响应研究[J].农业工程学报,2005,21(9):33-37.

(上接第352页)

[17] 王宁,南宏宇,冯克云.化肥减量配施有机肥对棉田土壤微生物生物量、酶活性和棉花产量的影响[J].应用生态学报,2020,31(1):173-181.

[18] 肖琼,王齐齐,邬磊,等.施肥对中国农田土壤微生物群落结构与酶活性影响的整合分析[J].植物营养与肥料学报,2018,24(6):1598-1609.

[19] 范淼珍,尹昌,范分良,等.长期不同施肥对红壤碳、氮、磷循环相关酶活性的影响[J].应用生态学报,2015,26(3):833-838.

[20] Allison S D, Vitousek P M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs[J].Soil Biology and Biochemistry,2005,37(5):937-944.

[21] Jian S Y, Li J W, Chen J, et al. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: A meta-analysis[J].Soil Biology and Biochemistry,2016,101:32-43.

[22] Rodrigues J L M, Pellizari V H, Mueller R, et al. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2013,110(3):988-993.

[23] Hartmann M, Frey B, Mayer J, et al. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming[J].ISME Journal,2015,9(5):1177-1194.

[24] Cui H Y, Sun W, Delgado-Baquerizo M, et al. Phosphorus addition regulates the responses of soil multifunctionality to nitrogen over-fertilization in a temperate grassland[J/OL]. Plant and Soil: 1-15[2020-10-15].https://doi.org/10.1007/s11104-020-04620-2.

[25] Delgado-Baquerizo M, Maestre F T, Reich P B, et al. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems[J].Nature Communications,2016,7(1):1857-1861.

[26] Jiang Y J, Jin C, Sun B. Soil aggregate stratification of nematodes and ammonia oxidizers affects nitrification in an acid soil[J].Environmental Microbiology,2014,16(10):3083-3094.