DOI: 10.11766/trxb202106220680

石伟,张丽梅,王劲松,李聪平,顾朝令,赵会玉. 磷肥在旱地红壤上的后期效应及其作用机制[J]. 土壤学报,2022,59(4):1100-1111. SHI Wei, ZHANG Limei, WANG Jinsong, LI Congping, GU Chaoling, ZHAO Huiyu. The Subsequent Effects of Phosphorus Fertilization in Upland Red Soils and the Underlying Mechanisms[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(4): 1100-1111.

磷肥在旱地红壤上的后期效应及其作用机制^{*}

石 伟^{1,3,4},张丽梅^{1,3},王劲松²,李聪平²,顾朝令²,赵会玉^{2†} (1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室,北京 100085; 2. 云南省曲靖市土肥站,云南曲靖 655000; 3. 中国科学院大学,北京 100049; 4. 盐城市湿地和世界自然遗产保护管理中心,江苏盐城 224000)

摘 要: 红壤地区施入的磷肥很容易被吸附固定而留存于土壤中,降低磷肥利用效率,留存于土壤中的磷对土壤生态功能和 作物养分供应的后续效应值得关注。基于旱地红壤长期施肥定位试验,探讨常规施肥处理(CK)以及短期施入不同磷肥量 (P₂O₅, 0、50、100、150 和 1 000 kg·hm⁻²)多年后土壤养分、土壤氮循环过程和作物产量的变化特征。通过多元统计分析 方法探讨不同磷肥处理下,土壤全碳、全氮和微生物生物量碳和氮转化过程的潜在速率以及产量等因子间的相互关系及其与 磷的后期效应的关系。结果表明,在短期投入高剂量磷肥(1000 kg·hm⁻², P1000)27 年后,土壤全碳、全氮和微生物生物 量碳与常规施肥处理相比无明显差异,但显著提高了土壤 pH 和氮循环相关过程速率,包括氮矿化速率(Nitrogen mineralization rate, N_{min})、固氮酶活性(Soil nitrogenase activity, SNA)、潜在硝化速率(Potential nitrification rate, PNR) (P<0.05),同时降低了净 N₂O 排放潜能(Net N₂O production rate, N_{N,0})(P<0.05)。与不施磷(P0)和短期投入低剂量磷 肥处理(50,100,150 kg·hm⁻²)相比,P1000处理中,土壤有效磷(AP)、氮矿化速率、固氮酶活性、潜在硝化速率和潜在 N2O产生速率(PN2O)分别增加了 33.3%~76.4%、88.2%~388.1%、111.4%~4 826.3%、22.6%~152.4%和 13.8%~78.9% (P<0.05),同时净 N₂O 排放潜能也降低了 64.6%~78.9% (P<0.05),表现出明显的磷后效,且在作物生长季更为明显。相 关分析和冗余分析表明 AP 和 pH 是影响以上土壤生物化学活性最主要的因子。近三年作物平均产量在所有处理中无显著差 异,但与土壤 TP、AP 和 pH 呈显著正相关;但在长期尺度上(1992—2019 年),P1000 处理相对于其他低磷处理累积增产 效应达 3%~23%。以上结果表明,酸性红壤中短期大量施用磷肥多年后,由于大量磷肥投入导致的土壤 pH 提升和磷的缓 释效应,使得磷肥在促进土壤肥力、微生物活性和土壤氮循环转化活性方面表现出较明显的后期效应。 关键词:磷后效;氮循环;红壤;长期施肥

中图分类号: S158.3 文献标志码: A

The Subsequent Effects of Phosphorus Fertilization in Upland Red Soils and the Underlying Mechanisms

SHI Wei^{1, 3, 4}, ZHANG Limei^{1, 3}, WANG Jinsong², LI Congping², GU Chaoling², ZHAO Huiyu^{2†}

(1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Soil and Fertilizer Station, Qujing, Yunnan 655000, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Yancheng Conservation and Management Center for Wetland and World Natural Heritage, Yancheng, Jiangsu 224000, China)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: 328353017@qq.com

作者简介:石 伟(1995—),男,甘肃天水人,硕士,主要从事土壤氮循环研究。E-mail: fengyeshiwei@foxmail.com 收稿日期: 2021-06-22; 收到修改稿日期: 2021-10-25; 网络首发日期(www.cnki.net): 2021-11-26

^{*} 国家自然科学基金项目(41861130357)资助 Supported by the National Natural Science Fundation of China (No. 41861130357)

Abstract: [Objective] The utilization efficiency of phosphorus fertilizer is generally low in agro-ecosystems as phosphorus is readily co-precipitated with iron and manganese oxyhydroxides, iron aluminides, or directly adsorbed to the soil minerals, particularly in the red soil ecosystem. Thus, understanding the subsequent effects of phosphorus retained in the soil on soil ecological function and crop nutrient supply is of significance to guide the management of phosphorus fertilization. [Method] Based on a long-term fertilization experiment in red upland soil, this study investigated the effect of the conventional fertilization (CK) and short-term phosphorus fertilizer input (at rates of 0, 50, 100, 150 and 1 000 kg·hm⁻², P₂O₅) on soil nutrients, soil nitrogen cycle process and crop yields after 27 years. We evaluated the relationship between these factors and the residual effect of phosphorus using the multivariate statistical analysis method. [Result] Short-term P fertilizer addition at a high rate (1 000 kg·hm⁻², P1000) had no significant effects on soil total carbon (TC), total nitrogen (TN) and microbial biomass (MBC) compared to the conventional fertilization treatment (CK). Also, it significantly increased soil pH, nitrogen mineralization rate (N_{min}), soil nitrogenase activity (SNA), and potential nitrification rate (PNR) (P < 0.05), while it significantly decreased the net N₂O emission potential (N_{N20}) (P < 0.05). Compared with the low phosphorus dosage treatments (50, 100, 150 kg·hm⁻²), P1000 significantly increased soil available phosphorus (AP), N_{min}, SNA, PNR and potential N₂O production rate (P_{N,O}) by 33.3%-76.4%, 88.2%-388.1%, 111.4%-4, 826.3%, 22.6%-152.4% and 13.8%-78.9%, respectively (P < 0.05), but significantly (P < 0.05). decreased the net N₂O emission potential by 64.6%–78.9% (P < 0.05). These results suggest that the application of a high dosage of phosphorus fertilizer has a strong residual effect on soil microbial activity and nitrogen processes even after 27 years. Spearman correlation analysis and redundancy analysis showed that AP and pH were the most important factors affecting soil microbial activities. Maize yield in the recent three years showed no significant difference among all treatments but was significantly positively correlated with TP, AP and pH. In comparison to low phosphorus treatments, P1000 treatments showed a promotion effect of 3%-23% on maize yield based on the historical yield data during 1991-2019. [Conclusion] Our results reveal that the short-term application of a large amount of phosphorus fertilizer has significant positive effects on maintaining soil fertility, microbial activity, soil nitrogen cycle function activity and crop yield even after 27 years, owing to the promotion of soil pH and slow release of available phosphorus.

Key words: Residual effect of phosphorus; Nitrogen cycle; Red soil; Long-term fertilization

磷是植物生长必需的大量元素,也是限制生态 系统生产力的主要因子^[1-2]。由于土壤铁铝氧化物 对磷的吸附固定、磷酸盐的淋溶、土壤母质和氮肥 投入等原因^[2],农田土壤中磷肥的利用率较低。据 统计,磷肥的当季利用效率平均仅为10%~20%, 大部分的磷肥(75%以上)被固定在土壤中^[3]。此 外,研究表明世界现有磷储量远低于农业磷需求, 磷也被形容为"正在消失的元素"^[4]。因此,探明 土壤中已吸附固定的磷在多大程度和多长时间尺 度上能被植物吸收利用(即"磷后效")具有重要 的现实意义。

土壤对磷的吸附遵循吸附平衡原理^[5],即土壤 中的"吸附态磷"也可以被重新交换进土壤溶液中 供作物吸收利用。已有研究表明,单次施用大量磷 肥后,依靠磷的后效依然可以达到增产的效果,但 是磷的后效也高度依赖于土壤类型、施肥量、施肥 方式和管理措施等^[6-8]。如 Ibrikci 等^[6]的研究表明单 次施磷 99 kg·hm⁻²后,在长达 5 年的时间内仍能显 著促进作物产量和作物吸磷量。Eiik 等^[7]对五种不 同母质发育的土壤进行磷后效实验发现,在3个生 长季后,除磷丰富的母质发育的土壤外,一次性投 入磷肥在其他 4 种土壤中均对玉米产量和土壤磷含 量有显著的促进效应,少量穴施磷肥与在表层土中 大量撒播磷肥对作物产量的促进效应相似,因此认 为少量穴施磷肥是一种更为经济有效的施肥方式。 但也有研究表明不同磷肥种类在不同作物上的后效 表现不同^[8]。此外, Kisinyo 等^[9]发现磷肥和其他措 施配合(如石灰),在4个生长季后,仍具有显著增 加土壤有效磷和作物产量的效果。这主要是由于石 灰与磷肥共同使用增加了土壤 pH,降低土壤交换性 铝浓度和土壤对磷的吸附,增加了磷的生物有效性。 Kamiri 等^[10]的研究则表明单次大量施磷配合后续少 量磷添加可以更好地促进作物生长和营养吸收。基 于作物功能性状的研究也表明在小麦/玉米/大豆间

套作体系中依靠小麦季施加的磷肥就可以促进大豆 籽粒产量、大豆总荚数和饱荚率,进而提高磷肥利 用效率[11]。然而这些研究对土壤磷后效观测的时间 较短(<10年),不能在长时间尺度上反映磷的后期 效应。其次,大量观测数据表明,生态系统中氮磷 循环存在强烈的协同作用,氮添加可显著促进磷循 环,提高植物可利用性磷含量,而磷添加可促进植 物对氮的吸收^[12]。此外,微生物是土壤养分循环转 化的驱动者和土壤生态功能的执行者^[13],微生物对 氮素的转化过程与氮素的可利用性密切相关, 土壤 酶活和土壤呼吸等是表征土壤微生物代谢活性和土 壤质量的重要指标,可以更全面地反映土壤生态功 能和养分循环状况[14]。但以往的研究更多关注磷肥 在作物产量、作物功能性状和土壤养分方面的后效, 鲜有研究从土壤微生物活性和氮循环的角度探讨磷 的后期效应。

本研究以云南曲靖红壤长期磷后效定位观测试 验样地为研究对象,研究了短期投入不同浓度梯度 的磷肥多年后,对土壤养分、磷循环相关酶活性、 土壤微生物生物量以及氮循环过程的影响,并利用 主成分分析、聚类分析和冗余分析探讨了其间的相 互关系,以期从土壤酶活性、土壤微生物功能活性 等角度评价磷的后效,为揭示红壤磷的固定和解析 机制,为农田施肥管理提供科学依据和指导。

1 材料与方法

1.1 研究区概况和试验处理

研究区位于云南省曲靖市麒麟区越州镇 (25°18′6.8″N, 103°53′55.4″E),海拔1906m,年均 温13~15℃,年降水量900~1000mm。该地区属 于低纬高原季风气候,土壤类型为老冲积母质发育 的山原红壤^[15]。

长期定位试验始于 1987 年, 共包括 5 个磷梯 度处理: P0、P50、P100、P150、P1000, 施磷量 分别 0、50、100、150、1 000 kg·hm⁻² (P₂O₅计), 另设 1 个常规施肥处理 (CK)。常规施肥处理三个 小区重复,不同磷梯度处理一个小区重复,小区面 积 33.3 m²。自 1987 年种植玉米开始,P50、P100、 P150 和 P1000 处理分别施入对应剂量的过磷酸钙, 连续施用 6 年后停施磷肥以观测后效。常规施肥处 理每年施用磷肥 120 kg·hm⁻²(过磷酸钙),同时配 施与当地农田施肥水平一致的尿素(276 kg·hm⁻²·a⁻¹) 和 30 t·hm⁻²·a⁻¹的有机肥(农家肥)。有机肥中有机 质含量约 830 g·kg⁻¹,全氮含量约 22 g·kg⁻¹,有效 磷和速效钾含量分别约为 6.1 g·kg⁻¹和 4.5 g·kg⁻¹。 有机肥作为底肥一次性穴施,尿素作为追肥,苗肥 施 30%,穗肥施 70%。试验小区夏季种植玉米(4 月中旬播种),品种均为当地推广的玉米杂交良种, 冬季休耕。

1.2 土壤样品采集和理化性质测定

土壤样品采集于 2019 年夏季(7月15日)和 秋季(10月15日),分别代表了作物生长旺盛期 和作物收获后期,在常规施肥处理每个小区五点法 在两株玉米间采集0~20 cm的土壤,混合为一个 土壤样品。不同磷梯度处理小区则沿3条平行线进 行样品采集,每条平行线取3点混合为一个重复。 样品于冰袋上运回实验室后过2 mm筛,一部分风 干后用于测定土壤理化性质,另一部分储存在4℃ 的冰箱,用于测定生物化学活性指标。玉米产量由 小区实测产量换算得到。由于不同磷梯度处理仅有 一个小区重复,故本文选取了同一处理近三年 (2017—2019年)的产量数据平均值作为该处理的 产量重复。

土壤理化性质测定参考文献[16]: 土壤 pH(水 土比 2.5:1)采用酸度计电位法测定,土壤含水量 采取烘干称重法测定; NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 采用 1 mol·L⁻¹的 KCl 浸提、连续流动分析仪测定(AA3, Bran + Luebbe, Germany),土壤有效磷(Available Phosphorus, AP)采用 Olsen 法测定,土壤全碳(Total Carbon, TC)和全氮(Total Nitrogen, TN)含量采 用元素分析仪测定(Vario EL III-Elementar, Germany),土壤全磷(Total phosphorus, TP)含量 采用 H₂SO₄-HClO₄ 消解,钼蓝比色法测定。

1.3 土壤微生物活性和氮循环相关过程速率和潜 势分析

土壤呼吸速率(soil respiration, SR)^[17]采用微 宇宙培养法测定。微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC)采用氯仿熏蒸法进行测定^[17]。 土壤固氮酶活性(soil nitrogenase activity, SNA)采 用乙炔还原法进行测定^[18]。

酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)活性的

测定采用荧光法^[19]。称取2g鲜土,按照水土比为 125:1 的比例加入 50 mmol·L⁻¹的醋酸钠缓冲液, 并调节 pH 至土壤本底 pH。用旋涡振荡器混匀,吸 取土壤悬浊液 200 μL 置于酶标板中,并加入 50 μL 带有荧光标记的磷酸盐底物,于 25 ℃黑暗培养 2 h 后,在激发波长为 360 nm、接收波长为 460 nm 处 测定吸光度。

氮矿化速率(Nitrogen mineralization, N_{min})^[17]: 称取 20g鲜土置于 120 mL 灭菌的血清瓶中, 调整 土壤含水量至田间持水量的 60%, 于 25 ℃、黑暗 下培养 7 d, 期间称重加入无菌水保持土壤水分恒 定。培养结束后测定初始和培养结束后的土壤无机 氮(NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N)含量, 氮矿化速率以土壤无 机氮的变化速率表示。

潜在硝化速率(Potential nitrification rate, PNR)的测定采用氯酸盐抑制法^[20]。称取5g鲜 土置于50 mL离心管中,加入20 mL含1 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂SO₄和50 mg·L⁻¹ KClO₃的生理盐水(pH 7.0)(为避免磷酸缓冲液对磷的补给影响,本研究 采用生理盐水替代磷酸缓冲液)。于室温(25 ℃) 黑暗处 180 r·min⁻¹培养24 h,后加5 mL KCl(1 mol·L⁻¹)溶液浸提 NO₂,离心并过滤,上清液用 于测定 NO₂含量。潜在硝化速率以24 h 内 NO₂⁻ 的变化速率表示。

潜在 N₂O 排放速率(Potential N₂O emission rate, P_{N₂O})和净 N₂O 排放速率(Net N₂O emission rate, N_{N,0})^[21]: 分别设置两组处理(加乙炔和不加 乙炔),称取5g干土所对应的鲜土量于120mL血 清瓶中,加无菌水至总水量13 mL。用橡胶塞和铝 盖封口后, 在恒温摇床上 180 r·min⁻¹ 水平震荡 20 min 以排出土壤孔隙中的空气,后充高纯氮 5 min 排除血清瓶中的空气,然后向乙炔处理的血清瓶中 充入 10%(v/v) 的乙炔。然后再加入含 2 mg·L⁻¹氯 霉素的 DEA 溶液 8 mL。置于恒温培养箱中 25 ℃、 黑暗条件下培养 24 h, 分别于 12 和 24 h 采集血清 瓶上空气体样品,使用配备有火焰电离检测器(FID) 和电子捕获检测器 (µECD) 的气相色谱仪 (Agilent 7890, Santa Clara, CA, 美国)测量气体样品中的 N₂O浓度,以单位时间内 N₂O浓度变化表征 N₂O的 排放速率。潜在 N₂O 排放速率以乙炔处理中的 N₂O

排放速率表示,净 N₂O 排放速率以不加乙炔处理中的 N₂O 排放速率表示。

1.4 数据处理

数据的单因素、双因素方差分析和差异显著性 检验(Duncan, *P* < 0.05)以SPSS(Version 22)软 件进行。采用 R(Version 3.4.3)软件进行 Spearman 相关分析(Package="Corrplot")、主成分分析(PCA, Package="stats")、冗余分析(RDA, Package= "vegan")、聚类分析(Package="stats")。

2 结 果

2.1 不同磷处理对土壤理化性质和作物产量的 影响

土壤物理化学性质在不同处理间具有显著差异 (表1)。其中,土壤 pH 除在 P1000 处理中显著较高 外 (pH = 6.28),在其他处理均无显著差异 (P < 0.001,表1)。在夏季,土壤 AP 含量在常规施肥(CK) 处理中最高,为 113.7 mg·kg⁻¹,在 P100,P150 和 P1000 处理中次之 ($31.67 \sim 35.66$ mg·kg⁻¹),在 P50 和 P0 处理中最低 (P < 0.001,表1)。在秋季,土 壤 AP 表现出与夏季相似的趋势。在夏季,土壤 TP 含量在常规施肥处理中最高 (1.38 g·kg⁻¹),P50、 P100、P150 和 P1000 次之,在 P0 处理中最低 (0.76 g·kg⁻¹) (P < 0.001,表1),且土壤 TP 含量在秋季 的变化趋势与夏季类似。

在夏季, NH_4^+-N 含量在常规施肥和 P0 处理中 最高(分别为11.49 mg·kg⁻¹和9.90 mg·kg⁻¹), P50、 P100、P150 处理中次之(7.83~8.99 mg·kg⁻¹), P1000 处理中最低(4.74 mg·kg⁻¹)(P < 0.001,表1)。在 秋季,所有处理的 NH_4^+-N 含量显著降低至 1.0 mg·kg⁻¹以下(P < 0.001,表1)。在夏季,土壤 NO_3^--N 含量在常规施肥处理、P50、P100、P150 中最高 (203.3~218.6 mg·kg⁻¹),在 P0 和 P1000 处理中最低 (135.4~140.0 mg·kg⁻¹)(P < 0.001,表1)。在秋季, 各处理中土壤 NO_3^--N 含量显著低于夏季(P < 0.001, 表1),且在 P1000 处理中显著(41.04 mg·kg⁻¹)低 于其他处理。无论夏季还是秋季,土壤全碳(TC)、 全氮(TN)、土壤呼吸(SR)和土壤呼吸熵(SQ) 在不同处理间均无显著差异(P > 0.05,表1)。

					and probe							
		<u>く</u> や 単 十			有效磷		工種工	土壤呼吸熵	微生物生物量碳	人民	人信	人味
季节 Season	处理 Treatment	工現水分 Soil water content /%	$^{+}$ / (mg·kg ⁻¹)	$NO_{3}^{-}N$ / (mg·kg ⁻¹)	Available phosphorus / (mg·kg ⁻¹)	Hq	工课哔呶 Soil respiration / (μg·d ⁻¹ ·g ⁻¹)	Soil respiratory quotient / ($\mu g \cdot d^{-1} \cdot C^{-1}$)	Microbial biomass carbon / (μg·g ⁻¹)	至峽 Total carbon /(g·kg ⁻¹)	主義 Total nitrogen 7 / (g·kg ⁻¹)	 至城 Fotal phosphorus /(g·kg ⁻¹)
	СК	29.0±1.0a	11.49±2.10a	203.3±3.1a	113.7±7.1a	$5.95 \pm 0.18b$	0.57±0.05a	l	I	29.0±2.7a	2.3±0.3ab	1.38±0.10a
	P0	28.0±2.0a	9.90±0.50ab	135.4±12.9b	20.2±0.9c	5.80±0.26b	0.53±0.11a			25.6±1.6a	2.0±0.2b	0.76±0.08c
夏季	P50	29.0±0.0a	7.83±0.51c	218.6±7.2a	25.6±1.4c	5.88±0.17b	0.58±0.05a		l	27.6±0.7a	2.3±0.1ab	0.80±0.06ab
Summer	P100	28.0±1.0a	8.26±0.39bc	205.9±12.8a	31.7±0.4b	5.79±0.10b	0.55±0.13a			25.7±2.1a	2.2±0.2ab	0.88±0.11ab
	P150	28.0±1.0a	8.99±0.26bc	214.5±1.7a	33.5±0.8b	5.86±0.16b	0.53±0.01a		l	28.2±2.6a	2.5±0.2a	$0.93 \pm 0.05b$
	P1000	29.0±1.0a	4.74±0.25d	140.0±12.5b	35.7±1.4b	6.28±0.14a	0.62±0.05a			28.1±1.5a	2.3±0.1ab	0.86±0.03ab
	СК	25.0±1.0A	$0.40\pm0.08B$	67.4±1.5A	99.3±8.7A	$5.98\pm0.13B$	$0.36 \pm 0.01 \text{A}$	$0.01{\pm}0.00\mathrm{A}$	31.34±6.85 A	27.6±0.2A	2.2±0.0A	1.28±0.15A
	P0	24.0±2.0A	$0.61{\pm}0.06A$	70.1±2.2A	27.3±1.9C	$5.84\pm0.11B$	$0.29 \pm 0.04 A$	$0.01{\pm}0.00\mathrm{A}$	25.47±1.35 A	26.7±0.4A	2.2±0.0A	$0.71 \pm 0.03B$
秋季	P50	25.0±2.0A	0.24±0.08C	69.2±4.6A	24.7±1.0C	$5.84{\pm}0.13B$	$0.28 \pm 0.01 \text{A}$	0.02±0.01 A	18.38±8.76 B	25.5±1.8A	2.2±0.2A	$0.77 \pm 0.06B$
Autumn	P100	25.0±1.0A	$0.71 \pm 0.05 A$	66.0±8.3A	28.6±0.4C	$5.81\pm0.03B$	0.30±0.02A	0.02±0.00 A	17.78±2.93 B	25.4±1.2A	2.2±0.0A	$0.84\pm0.06B$
	P150	25.0±0.0A	$0.39 \pm 0.07B$	65.8±3.7A	31.5±0.6BC	$5.82 \pm 0.15B$	0.29±0.06A	$0.01{\pm}0.01\mathrm{A}$	22.10±6.52 AB	27.5±3.2A	2.2±0.3A	$0.86 \pm 0.02 B$
	P1000	25.0±1.0A	0.46±0.05B	41.0±16.9B	38.1±1.2B	6.28±0.14A	$0.37 \pm 0.08 A$	$0.01{\pm}0.00\mathrm{A}$	28.31±0.19 AB	26.4±1.4A	2.1±0.1A	$0.83 \pm 0.10B$
处理 Treat	ment (P)	0.78	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.2	0.36	0.05	0.12	0.34	<0.001
季节 Sea	son (P)	<0.001	<0.001	<0.001	0.12	0.96	<0.001	Ι	I	0.19	0.12	0.051
处理	本 本 が	0.63	<0.001	<0.001	<0.001	0.99	0.92			0.72	0.26	0.978
Treatment ×	Season (P)											
注:表	于数据为引	^本 均值+标准差,同	引一列的不同大	写和小写字母分	分别表示在秋季	季和夏季的处	地间差异显著	$(P < 0.05), \overline{F}$	同。Note: The d	lata in the table	e are mean ± sta	andard deviation.

表1 长期不同施肥处理下土壤化学性质

 Table 1
 Soil chemical properties under different long-term fertilization treatment

http://pedologica.issas.ac.cn

Different uppercase and lowercase letters in the same column indicate significant differences in treatment between the autumn and summer, respectively (*P* < 0.05), the same below.

不同施肥处理下近三年(2017—2019) 玉米平 均产量无显著差异(3828~4164 kg·hm⁻², *P*>0.05, 图 1a)。随机森林模型模拟分析结果表明, TP 含量 是玉米产量的主要预测因子,其次为土壤 pH 和 AP (图 1b)。进一步汇总 1992—2019 年间的玉米产量 数据,结果表明在 1992—2019 年间的玉米产量均 表现为常规施肥处理最高,P1000、P150、P100、 P50 处理依次降低,P0 处理最低。但在 2011 年以后, 玉米产量在不同处理间的差异较小(图 1c)。计算 P1000 处理相对其他磷梯度处理的累积增产效应,即 P1000 处理相对其他磷梯度处理(P0、P50、P100、P150)的产量增加百分比,发现 P1000 处理相对于其他磷梯度处理的增产效应在 2006 年之前最高(累积的增产效应可以达到 4%~74%),但随着时间延长逐渐降低,2007—2011 年间的增产效应仅为 2%~3%,2011年以后进一步降低;在长期尺度上(1992—2019 年),P1000 处理相对于其他低磷处理累积增产效应达 3%~23%(图 1c)。



注:NS代表处理间无显著性差异,下同;图1c中的累积增产效应指P1000处理相对其他磷梯度处理(P0、P50、P100和P150)的增产百分比。Note:NS represents no significant difference between treatments. The cumulative yield promotion effect in Fig.1c refers to the growth rate of maize yield in the P1000 treatment in comparison to other phosphorus treatments (P0, P50, P100 and P150).

图 1 不同施肥处理下近三年(2017—2019年)玉米年平均产量(a)、不同因子对近三年玉米产量的随机森林预测(b) 以及 1992—2019年间的玉米产量(c)

Fig. 1 Maize mean yield in recent three years (2017-2019) under different fertilization treatments (a), random forest regression between crop yield and different soil factors (b), and corn yield during 1992-2019 (c)

2.2 不同磷处理对土壤微生物生物量、土壤呼吸 和磷酸酶活性的影响

土壤微生物生物量碳(MBC)在常规施肥处理 中最高(31.34 μ g·g⁻¹), P150 和 P1000 处理次之, P50 和 P100 处理最低(表 1)。土壤呼吸(SR)和 土壤呼吸熵(SQ)在不同处理间无显著性差异,但 是 SR 在秋季显著降低(P<0.05,表 1),这可能是 由于作物收获后根际分泌物减少,微生物的生长代 谢减弱所致。

酸性磷酸酶(ACP)活性反映了土壤微生物对 土壤磷的活化能力和磷供应能力,与土壤磷水平紧 密相关。夏季,ACP活性在常规施肥处理中最高 (96.08 nmol·h⁻¹·g⁻¹干土),P1000处理中最低(38.15 nmol·h⁻¹·g⁻¹干土,P < 0.001,图2),秋季表现出类 似的趋势。





图 2 不同磷处理下土壤酸性磷酸酶活性 Fig. 2 Soil acid phosphatase activity under different phosphorus

treatments

2.3 不同磷处理对氮循环相关过程的影响

P1000 处理土壤氮矿化速率(2.85 µg·d⁻¹·g⁻¹干土)显著高于其他处理(P < 0.05,图 3a)。与常规施肥处理相比,氮矿化速率在不施磷处理(P0,0.58 µg·d⁻¹·g⁻¹干土)中降低了 67.6%(P < 0.05,图 3a),但在 P50、P100、P150 处理中与常规施肥处理无明显差异。在夏季,土壤固氮酶活性在 P1000 处理中达到最高(153.1 nmol·d⁻¹·g⁻¹干土),单在常规施肥、P0、P50、P100 和 P150 处理中无显著差异(41.95~72.42 nmol·d⁻¹·g⁻¹干土)。在秋季,也表现为在 P150 和 P1000 处理中最高(76.9 nmol·d⁻¹·g⁻¹干土),并显著高于常规施肥处理(P < 0.05,图 3b)。

与土壤氮矿化速率一致,夏季土壤硝化潜势 (PNR)在 P1000 处理中最高,达 1.62 µg·h⁻¹·g⁻¹干 土,在 P50、P100 和 P150 次之(0.95~1.02 μg·h⁻¹·g⁻¹ 干土),在 P0 处理中最低(0.64 μg·h⁻¹·g⁻¹干土, P < 0.05,图 3c)。土壤硝化潜势在秋季与夏季无明显差 异,且趋势与夏季一致。

在夏季, 土壤潜在 N₂O 排放速率(P_{N_2O}) 在 P0 处理中最低($0.34 \mu g \cdot h^{-1} \cdot g^{-1} \mp \pm$, P < 0.05, 图 3d), 在其他处理中无显著性差异。在秋季, P_{N_2O} 在 常规施肥(CK)、P100 和 P1000 处理中最高($0.56 \sim$ $0.58 \mu g \cdot h^{-1} \cdot g^{-1} \mp \pm$), P150 处理次之, P0 和 P50 处理最低(P < 0.05, 图 3d)。净 N₂O 排放速率 (N_{N_2O})在夏季和秋季均表现为在 P1000 处理中最 低($0.04 \sim 0.10 \mu g \cdot h^{-1} \cdot g^{-1} \mp \pm$), 其他处理无显著 性差异(图 3e)。

2.4 不同土壤及生物因子间的相互关系

对土壤呼吸、磷酸酶活性和氮循环相关过程 (SNA, PNR, P_{N20}和N_{N20})进行主成分分析,前 两个主成分解释了 69.93%的变异(图 4a), P1000 处理和其他处理在 PC1 轴上显著分开,不同采样时 期在 PC2 轴上显著分开(处理: *P*=0.001;时期: *P*=0.001)。聚类分析进一步支持了主成分分析的结 果,样本聚为三簇,P1000处理和秋季 P150处理聚 在一起,其他的样点按照不同采样时期分别聚为两 簇(图 4b),表明 P1000处理对土壤氮循环过程、 土壤磷酸酶和土壤呼吸具有强烈的影响。

Spearman 相关分析表明, 土壤氮循环过程、磷酸酶活性和土壤呼吸速率与土壤 AP、pH、NH⁺₄-N、NO⁻₃-N等均具有极显著的相关性(*P*<0.05,图 5a)。 冗余分析(RDA)结果表明 pH 和 AP 是影响氮循环 过程、磷酸酶活性和土壤呼吸速率的主要环境因子 (*P*<0.05,图 5b)。说明土壤 pH 和 AP 对磷酸酶活 性、土壤氮矿化、固氮作用、硝化和反硝化过程等 均有显著影响。

3 讨 论

3.1 不同磷处理对土壤养分、磷酸酶活性、微生物生物量和作物产量的影响

本研究表明,在短期内(6年)连续施加大量 磷肥后,即使多年不再施磷肥,仍然可以将土壤肥 力、pH维持在较高的水平,进而有益于土壤微生物 活性和作物产量。戴茨华等^[15]对本研究的长期定位 试验前 20 年的土壤养分和产量数据分析结果表明, 在短期大量施磷后,只依赖磷的后效仍然可以有效 维持土壤磷水平、作物养分含量和作物产量,前 20 年累积增产达 51%。本研究的进一步分析发现,与 常规施肥处理相比,P1000 处理 27 年后,仍能显著 提高土壤 pH,并使 TC、TN 和 MBC 含量维持在与 常规施肥处理相似的水平。表明短期多次投入高剂



图 3 不同磷处理对氮循环过程的影响

Fig. 3 Nitrogen cycle process under different phosphorus treatments

http://pedologica.issas.ac.cn



注: b) 图字母 H 表示秋季, G 表示夏季。Note: The letter H represents autumn and G represents summer.

图 4 不同磷处理下土壤氮转化过程速率分布特征的主成分分析(a)和平均聚合聚类(方法: UPGMA)分析(b) Fig. 4 Principal component analysis(a) and cluster analysis(b)(UPGMA) for the potential rates of soil nitrogen transformation processes under different phosphorus treatments



注:图 a 中有圆圈的部分代表具有显著的相关性 (P < 0.05),圆圈的大小和颜色分别代表了相关系数的大小和正负。图 b 中的 *代表了具有显著性影响的环境因子。Note: The circles in Fig. 5a represents significant correlation (P < 0.05). The size and color of circles represent the size, plus or minus of correlation coefficients, respectively. The "*" in Fig. 5b represents the environmental factors that have a significant impact.

图 5 土壤微生物活性、非生物因子间的 Spearman 相关分析(a)和微生物活性的冗余分析(b) Fig. 5 Spearman correlation analysis between soil microbial activity and non-biological factors (a) and Redundancy analysis for microbial activity (b)

量磷肥可以使土壤养分维持在较高的水平,并有效 减缓了施氮肥导致的土壤 pH 降低。类似地,Chu 等^[22]的研究发现,在红壤稻田生态系统中施加磷肥 可以促进土壤脱氢酶活性,增加多种土壤养分含量。 Ibrikci 等^[6]的研究也表明单次施磷后,在后续的五 年时间内显著增加了土壤有效磷含量和作物磷吸收 量,对玉米的增产效应达 8%~33%。所有这些研究 均表明,短期施加大量磷肥可以在较长的时间尺度 上维持较高的土壤肥力(例如 AP、TC、TN 和 TP 等)和养分供应潜能,表现出强烈的磷后期效应。 这可能是由于在相对缺磷的红壤生态系统中,高剂 量磷的添加缓解了磷限制,并通过促进作物生长增 加了根际碳水化合物的释放,提高了微生物活性, 进而促进了土壤养分释放^[23]。对该试验平台 2006 年前的观测数据分析结果也表明,连续施磷 6 年停 施多年后玉米籽粒、茎叶和土壤有效磷的含量与施 磷量呈正相关,磷肥的残效随施磷量增加而增加^[15]。 但近年的玉米产量数据分析显示不同处理间无显著 差异,一方面可能是磷肥的效应在缓慢减弱,另一 方面可能是由于本研究中所有处理每年均有有机肥 施入(30 t·hm⁻²·a⁻¹),有机肥的添加补充了 N、P、 K 养分,弱化了不同磷处理间作物产量差异。

酸性磷酸酶(ACP)活性反映了土壤微生物对 土壤磷的活化能力和磷供应能力^[24]。本研究发现 ACP 活性在常规施肥处理中最高,在其他磷梯度处 理中较低。这可能是由于常规施肥处理中磷肥的大 量投入增加了磷酸酶的底物可利用性,同时有机肥 施加也为土壤微生物提供了充足的碳源和氮源,进 而增加了土壤磷酸酶活性。类似地, Zhang 等^[24]对 比了磷含量不同的两种森林土壤,结果表明磷酸酶 活性在磷含量丰富的温带森林土壤中更高, 而在相 对缺磷的热带森林和亚热带森林土壤中较低,与土 壤中磷的含量紧密相关,且与碳源和氮源的可利用 性正相关^[25]。然而,我们研究还发现在短期投入不 同磷梯度的处理中,随着施磷量增加,ACP活性呈 现下降趋势,并在 P1000 处理中最低,相关分析也 表明 ACP 活性和 AP 显著负相关。与此相一致, Meta 分析和相当多的研究结果均表明 ACP 活性常与无 机磷含量负相关^[26]。综上所述,磷酸酶活性在常规 施肥处理中较高而在高磷梯度处理中较低,可能与 不同土壤系统中磷的存在形态和微生物的可利用性 等密切相关,其机制有待进一步解析。

微生物既是土壤养分循环的执行者,也是土壤 中有效养分的储备库,因而可以作为土壤养分状况 和土壤质量的表征^[27]。本研究发现,与不施磷和低 磷处理相比,P1000 处理显著提高了土壤微生物碳 含量,但与常规施肥处理无显著差异。这表明短期 添加大量磷可以在较长时间尺度上促进微生物生 长,提高土壤中微生物总生物量。与此类似,Chu 等^[22]在红壤稻田生态系统中的研究结果表明,磷肥 添加可以显著增加土壤微生物量碳和土壤脱氢酶活 性。Zheng 等^[28]的研究表明,相比长期不施磷肥, 磷肥添加可以显著增加细菌、真菌和放线菌的数量, 并且显著增加土壤微生物活性指标(例如,峰值功 率 *P*max、总热量输出 *Q*t、出峰时间 *t*max 和热量输出 速率 *Q*tt)。这些研究结果表明短期大量施加磷肥可 以在长时间尺度上增加土壤总微生物量,表现出强 烈的磷后期效应。一方面可能是因为磷的添加缓解 了红壤生态系统中的磷限制,另一方面可能是磷的 添加提升了土壤养分含量,进而促进微生物的生长 和活性。本研究中土壤呼吸和微生物代谢熵在不同 磷处理中无显著差异,可能为有机肥添加整体刺激 了土壤微生物的活性所致。

3.2 不同磷处理对氮循环过程的影响

土壤矿化作用,生物固氮和硝化作用是土壤重要 的氮素转化过程,决定中土壤中有效态氮的供应。本 研究发现 P1000 处理中土壤氮矿化速率(N_{min})和固 氯酶活性(SNA)均显著高于常规施肥处理和不施磷 处理。与此类似, P1000 处理中潜在硝化速率(PNR) 也显著高于常规施肥处理和 P0 处理。表明短期大量 磷添加可以在长时间尺度上促进红壤的有机氮矿化、 固氮作用和硝化作用过程,表现出明显的磷后效。 Chen 等^[23]的研究表明在红壤中合理施用磷肥(< 25 mg·kg⁻¹)可以通过增加脲酶和脱氢酶活性促进氮的 矿化。Mehnaz 等^[29]的研究也表明磷添加可以显著提 升土壤的正激发效应,促进土壤有机质矿化。此外, Tang 等^[30]的结果表明在红壤农田中,磷的添加可以 显著地促进 nifH 基因的表达和生物固氮速率。已有 的多数研究结果也表明,磷肥添加可以显著促进土壤 硝化潜势和氨氧化微生物的丰度^[31]。这可能是由于 短期大量磷添加一方面增加了土壤 AP 和 TP,缓解 了依赖于"磷元素"的能量供应限制,从而激活了参 与氮循环的功能微生物的活性[23]。另一方面,我们 的分析结果表明氮矿化、固氮酶活性和潜在硝化速率 均与土壤 pH 呈显著正相关关系 (P < 0.05,图5), 表明短期大量施肥磷肥通过提高土壤 pH 进而促进了 土壤的矿化、固氮和硝化速率[32]。

反硝化作用是农田土壤温室气体 N₂O 排放的主 要来源,对于全球变暖具有重要的贡献^[25]。本研究 表明 P1000 处理中净 N₂O 排放速率显著低于其他处 理(*P* < 0.05,图 3e)。与之相类似,Baral 等^[12]通 过室内培养实验表明磷添加可以通过促进植物对土 壤中无机氮的吸收,进而降低了土壤 N₂O 排放,原 位分根实验进一步表明在植物根系存在时,磷添加 可以降低 N₂O 排放,而根系不存在时则表现为增加 了 N₂O 排放,这进一步证明了磷添加可以促进植物 对土壤中无机氮的吸收,进而降低土壤 N₂O 排放。 施加磷肥降低土壤潜在 N₂O 排放潜能,一方面可能 是由于磷添加促进了植物对无机氮的吸收利用,减 少了土壤无机氮含量,进而降低了 N₂O 排放^[12]。另 一方面,可能是短期大量磷添加增加了土壤 pH 所 致,已有研究表明较高的 pH 条件有利于 N₂O 的还 原,从而减少了 N₂O 的净排放速率^[33]。这些结果表 明通过磷肥施用减少农田生态系统磷限制对于消减 N₂O 具有极其重要的意义。

4 结 论

在酸性红壤中短期大量施用磷肥(1000 kg·hm⁻², P1000)多年后(长达27年),由于大量磷肥投入导 致的土壤 pH 提升和磷的缓释效应,使得磷肥在提 升土壤肥力、微生物活性、土壤氮循环功能活性以 及维持产量方面表现出明显的后期效应。在酸性红 壤中长期投入较高的磷肥后,应关注磷的残效及其 对氮循环过程的影响。

参考文献(References)

- [1] Camenzind T, Hättenschwiler S, Treseder K K, et al. Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical forests[J]. Ecological Monographs, 2018, 88(1): 4–21.
- Du E Z, Terrer C, Pellegrini A F A, et al. Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation[J]. Nature Geoscience, 2020, 13 (3): 221–226.
- [3] Cheng M F, He P, Jin J Y. Advance of phosphate recovery rate in Chinese main crops[J]. Crops, 2010(1): 12—14.
 [程明芳,何萍,金继运.我国主要作物磷肥利用率的研究进展[J]. 作物杂志,2010(1): 12—14.]
- [4] Gilbert N. Environment: The disappearing nutrient[J]. Nature, 2009, 461 (7265): 716-718.
- [5] Weihrauch C, Opp C. Ecologically relevant phosphorus pools in soils and their dynamics: The story so far[J]. Geoderma, 2018, 325: 183—194.
- [6] Ibrikci H, Ryan J, Ulger A C, et al. Maintenance of phosphorus fertilizer and residual phosphorus effect on corn production[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2005, 72 (3): 279–286.
- [7] Van der Eijk D, Janssen B H, Oenema O. Initial and residual effects of fertilizer phosphorus on soil

phosphorus and maize yields on phosphorus fixing soils: A case study in south-west Kenya[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2006, 116(1/2): 104-120.

- [8] Ojo O D, Akinrinde E A, Akoroda M O. Residual effects of phosphorus sources in grain amaranth production[J]. Journal of Plant Nutrition, 2010, 33 (5): 770-783.
- [9] Kisinyo P O, Othieno C O, Gudu S O, et al. Immediate and residual effects of lime and phosphorus fertilizer on soil acidity and maize production in western Kenya[J].
 Experimental Agriculture, 2014, 50 (1): 128–143.
- [10] Kamiri W M H, Pypers P, Vanlauwe B. Residual effects of applied phosphorus fertilizer on maize grain yield and phosphorus recovery from a long-term trial in western Kenya[M] Netherlands: Springer Netherlands, 2011.
- [11] Chen Y X, Zhou T, Huang W, et al. Phosphrous aftereffects on soybean yield and nutrition status in wheat/maize/soybean intercropping system[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2013, 19(2): 331—339.
 [陈远学,周涛,黄蔚,等.小麦/玉米/大豆间套作体系 中小麦施磷后效对大豆产量、营养状况的影响[J]. 植物 营养与肥料学报, 2013, 19(2): 331—339.]
- Baral B R, Kuyper T W, van Groenigen J W. Liebig's law of the minimum applied to a greenhouse gas: Alleviation of P-limitation reduces soil N₂O emission[J]. Plant and Soil, 2014, 374 (1/2): 539-548.
- [13] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16 (5): 263-276.
- [14] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43 (1): 313-343.
- [15] Dai C H, Wang J S, Dai P. Studies on the residual effect of application phosphorus on red soil of a long-term experiment[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25 (11): 93—97. [戴茨华,王劲松,代平.从 长期定位试验论红壤施磷的残效[J].中国农学通报, 2009, 25 (11): 93—97.]
- [16] Lu R K. Analytical methods for soil and ago-chemistry
 [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology
 Press, 2000. [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.]
- [17] Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, et al. Methods in soil biology[M]. Berlin: Springer, 1995.
- Patra A K, Abbadie L, Clays-Josserand A, et al. Effects of management regime and plant species on the enzyme activity and genetic structure of N-fixing, denitrifying and nitrifying bacterial communities in grassland soils[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(6): 1005-1016.
- [19] DeForest J L. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and

I-DOPA[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2009, 41 (6): 1180–1186.

- [20] Kurola J, Salkinoja-Salonen M, Aarnio T, et al. Activity, diversity and population size of ammonia-oxidising bacteria in oil-contaminated landfarming soil[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 250 (1): 33-38.
- [21] Gardner L M, White J R. Denitrification enzyme activity as an indicator of nitrate movement through a diversion wetland[J]. Soil Science Society of America Journal, 2010, 74 (3): 1037-1047.
- [22] Chu H Y, Lin X G, Fujii T, et al. Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39 (11); 2971–2976.
- [23] Chen Y, Sun T T, Qian H Y, et al. Nitrogen mineralization as a result of phosphorus supplementation in long-term phosphate deficient soil[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 106: 24–32.
- [24] Zhang X Y, Yang Y, Zhang C, et al. Contrasting responses of phosphatase kinetic parameters to nitrogen and phosphorus additions in forest soils[J]. Functional Ecology, 2018, 32 (1): 106-116.
- [25] Allison S D, Vitousek P M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2005, 37 (5): 937-944.
- [26] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems[J]. New Phytologist, 2012, 193 (3): 696-704.
- [27] Sun B, Zhao Q G, Zhang T L, et al. Soil quality and sustainable environment—Ⅲ. Biological indicators for soil quality assessment[J]. Soils, 1997, 29 (5):

225—234. [孙波,赵其国,张桃林,等. 土壤质量与 持续环境——Ⅲ.土壤质量评价的生物学指标[J]. 土 壤, 1997, 29 (5): 225—234.]

- Zheng S X, Hu J L, Chen K, et al. Soil microbial activity measured by microcalorimetry in response to long-term fertilization regimes and available phosphorous on heat evolution[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2009, 41 (10): 2094-2099.
- [29] Mehnaz K R, Corneo P E, Keitel C, et al. Carbon and phosphorus addition effects on microbial carbon use efficiency, soil organic matter priming, gross nitrogen mineralization and nitrous oxide emission from soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2019, 134: 175–186.
- [30] Tang Y F, Zhang M M, Chen A L, et al. Impact of fertilization regimes on diazotroph community compositions and N2-fixation activity in paddy soil[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2017, 247: 1—8.
- [31] Chu H Y, Fujii T, Morimoto S, et al. Population size and specific nitrification potential of soil ammonia-oxidizing bacteria under long-term fertilizer management[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40 (7): 1960–1963.
- [32] Wang C, Zheng M M, Song W F, et al. Impact of 25 years of inorganic fertilization on diazotrophic abundance and community structure in an acidic soil in Southern China[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 113: 240-249.
- [33] McMillan A M S, Pal P, Phillips R L, et al. Can pH amendments in grazed pastures help reduce N₂O emissions from denitrification? - The effects of liming and urine addition on the completion of denitrification in fluvial and volcanic soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 93: 90—104.

(责任编辑:卢 萍)