

DOI:10.11766/trxb202206170325

李新悦, 李冰, 王昌全, 黄容, 谢柠杓, 莫太相, 王楠析, 张清伟. 长期秸秆还田对水稻土团聚体有机碳及胞外酶的影响[J]. 土壤学报, 2023, LI Xinyue, LI Bing, WANG Changquan, HUANG Rong, XIE Ningyi, MO Taixiang, WANG Nanxi, ZHANG Qingwei. Effects of Long-term Straw Returning on Organic Carbon and Extracellular Enzymes in Paddy Soil Aggregates [J]. Acta Pedologica Sinica, 2023,

长期秸秆还田对水稻土团聚体有机碳及胞外酶的影响*

李新悦¹, 李冰^{1†}, 王昌全¹, 黄容¹, 谢柠杓¹, 莫太相², 王楠析¹, 张清伟¹

(1. 四川农业大学资源学院, 成都 611130; 2. 四川省中江县农业农村局, 四川德阳 618100)

摘要: 土壤团聚体有机碳和胞外酶对于改善土壤结构和提高土壤碳固存能力至关重要, 且易受农艺生产措施的影响。为探讨秸秆还田下土壤有机碳组分及胞外酶活性变化, 开展了 35 年水稻-小麦轮作试验。本试验设置了无肥区(CK)、化肥区(NPK)和秸秆还田+化肥区(NPKS), 研究了不同农艺措施对土壤团聚体有机碳(SOC)及其活性组分(可溶性有机碳(DOC)、易氧化有机碳(EOC)、微生物生物量碳(MBC))含量与碳循环相关胞外酶(β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)、 β -1,4-木糖苷酶(BX)、 β -D-纤维二糖水解酶(CBH))活性的影响。结果发现, 大于 0.25 mm 团聚体中 SOC、DOC 和 MBC 含量显著高于小于 0.25 mm 粒级, 且均以 NPKS 处理的效果最优, 促进了土壤大团聚体有机碳组分更新。各粒级团聚体中 MBC/SOC 和 DOC/SOC 比值相对稳定, 这表明 MBC 和 DOC 与 SOC 的动态变化趋势较为一致, 可作为评价土壤有机碳的敏感指标。2~0.25 mm 粒级是团聚体胞外酶主要载体, 均以 NPKS 处理活性最高; 但大于 2 mm 团聚体酶活性在不同农艺措施之间差异不显著。土壤团聚体中有机碳组分与胞外酶表现为互相促进的关系, 其中 SOC、DOC 和 MBC 分配差异的主要影响因子为 CBH, 次要影响因子是 BG; 而 EOC 仅受到 CBH 的正向影响。CBH 和 BG 可促进土壤有机碳周转, 且在 2~0.25 mm 大团聚体中互促作用更剧烈。综上, 长期秸秆还田配施化肥不仅有利于提升大团聚体碳的更新和周转速率, 还提高了 SOC 含量, 是稻田土壤可持续固碳的重要农艺途径。

关键词: 农艺措施; 团聚体; 碳固存; 胞外酶活性

中图分类号: S154.1

文献标志码: A

Effects of Long-term Straw Returning on Organic Carbon and Extracellular Enzymes in Paddy Soil Aggregates

LI Xinyue¹, LI Bing^{1†}, WANG Changquan¹, HUANG Rong¹, XIE Ningyi¹, MO Taixiang², WANG Nanxi¹, ZHANG Qingwei¹

(1. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Agricultural and Rural Bureau of Zhongjiang County, Deyang, Sichuan 618100, China)

Abstract: **【Objective】** Soil aggregate organic carbon and extracellular enzymes play an important role in improving soil structure and carbon sequestration, which are easily affected by agronomic management practices. In order to study the effects of long-term straw returning combined with chemical fertilization on organic carbon components and extracellular enzymes in soil aggregates, a 35-year field positioning experiment was carried out. **【Method】** The field experiment was

*国家重点研发计划项目(2017YFD0301701)、四川省重点研发计划面上项目(2021YFN0127)共同资助 Supported by the National Key R&D Program of China (No. 2017YFD0301701) and the Key R&D Program of Sichuan Province, China (No. 2021YFN0127)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: benglee@163.com

作者简介: 李新悦(1997—), 女, 博士研究生, 主要研究从事土壤肥力和质量可持续研究。E-mail: lxyjean@163.com

收稿日期: 2022-06-17; 收到修改稿日期: 2022-10-18; 网络首发日期 (www.cnki.net):

designed to have three treatments in a rice-wheat rotation system: no chemical fertilizer (CK), chemical fertilizer only (NPK), and straw plus chemical fertilizer (NPKS). The contents of soil organic carbon (SOC) and its labile components (dissolved organic carbon (DOC), easily oxidizable organic carbon (EOC) and microbial biomass carbon (MBC)) in soil aggregate were analyzed, as well as the activities of extracellular enzymes related to carbon cycle (β -1,4-Glucosidase (BG), β -1,4-Xylosidase (BX) and β -D-Cellobiohydrolase (CBH)). **【Result】** The contents of SOC, DOC and MBC in >0.25 mm aggregates were significantly higher than those in <0.25 mm aggregates, and their contents of NPKS treatment were the highest. This showed that NPKS promoted soil macro-aggregates organic carbon regeneration. The values of MBC/SOC and DOC/SOC in each particle size aggregate were relatively stable, which indicated that dynamic change trends of MBC and DOC were consistent with that of SOC. Thus, MBC and DOC could be used as sensitive indexes to evaluate soil organic carbon. The 2-0.25 mm aggregates were the main carriers of extracellular enzymes, and their activities in NPKS treatment were the highest. However, the enzymes activities in >2 mm aggregates had no significant difference among treatments. The soil organic carbon components and extracellular enzymes in soil aggregates promoted each other, in which the contents of SOC, DOC and MBC in aggregates were mainly affected by CBH, followed by BG; while EOC was only positively affected by CBH. These two extracellular enzymes (CBH and BG) could promote soil organic carbon turnover and the interaction was enhanced in 2-0.25 mm aggregate. **【Conclusion】** Long-term application of straw returning combined with chemical fertilizer could increase organic carbon regeneration and turnover rate, and increase soil organic carbon content, which is an important agronomic way for sustainable carbon sequestration in paddy soil.

Key words: Agronomic measure; Aggregate; Carbon sequestration; Extracellular enzyme activity

土壤碳库的微小波动能显著影响全球碳循环, 引起全球气候变化^[1-2]。土壤有机碳(SOC)作为农业生态系统的重要组成部分, 在维持土壤理化性质和生物学功能中起着关键性作用。SOC 不仅有助于土壤团聚体形成和稳定, 还与大多数养分的生物地球化学循环密切相关, 其中活性有机碳(LOC)在土壤中有有效性高, 直接作用于植物生长和微生物活动^[3]。稻田土壤长期受到人类活动(耕作、施肥和灌溉等)的频繁干扰, 碳库变化活跃^[3-4]。因此, 研究水稻土中 SOC 固存机制对减缓全球气候变化、保证稻田生产力及改善土壤质量具有重要意义。

农作物秸秆是土壤中重要的有机质来源, 影响着 SOC 的分解和积累^[5]。徐蒋来等^[2]发现连续 5 年秸秆还田后, 水溶性有机碳和易氧化有机碳含量分别以 50%和 75%还田量更高。秸秆还田对 SOC 的影响具有滞后性, 唐鹏飞等^[6]研究表明, 棉秆还田 5、10、15 和 20 年 SOC 含量提高了 42.45%、47.88%、33.40%和 63.38%, 需借助长期定位试验探索 SOC 的动态平衡和土壤固碳潜力^[7]。土壤团聚体是调控有机质分解和积累的重要场所, 其稳定性主要受到土壤微生物生物量和微生物胞外酶活性的影响^[8]。土壤胞外酶是重要的催化剂, 将复杂有机物分解为可供生物利用的单体, 例如 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶和 β -木糖苷酶可分解纤维素、半纤维素为果糖、葡萄糖^[9]。碳循环相关酶催化 SOC 分解, 也可能降低土壤碳储量。王福慧等^[10]研究表明, 秦岭太白山不同植被带中等团聚体(2~0.25 mm)含有较高的活性有机碳组分, 且主要通过影响胞外酶活性来控制有机碳矿化速率。另有研究表明, 秸秆还田促进了土壤团聚体形成, 有利于微团聚体 SOC 向大团聚体 SOC 转化^[11], 或有效保护了封存在大团聚体内的微团聚体碳^[12]。不同生态系统、土壤特性和管理措施引起团聚体中碳组分变化存在明显差异。稻麦轮作系统中, 由于周期性的干湿交替, 团聚体微环境中有机碳与酶活性的相互作用关系尚无定论, 它们对长期秸秆还田后的响应程度尚不明确。

长江上游耕地多分布于丘陵山区(以紫色土为主), 四川盆地是典型的集约化水稻-小麦轮作种植区^[13]。秸秆还田兼具经济效益、社会效益和生态效益, 这种农艺措施在我国南方稻区广泛推广且效果明显, 已成为南方农田管理制度的发展趋势^[14]。本课题组前期阐明了长期秸秆还田对水稻土团聚体组成及稳定性的影响, 从土壤团聚体角度评价了土壤氮、磷、钾养分状况^[15]。本研究将进一步探索不同农艺措施下土壤有机碳活性组分和胞外酶活性在团聚体中的分布特征, 并探究有机碳组分与碳循环胞外酶的关系, 评估秸秆还田对土壤有机碳稳定性和固碳潜力的影响。这有利于加强对稻麦轮作体系中有有机碳封存机制的

理解, 对于持续提高稻麦轮作体系生产力、推动秸秆资源合理利用具有重要意义。

1 材料与amp;方法

1.1 试验地概况

试验地位于四川省德阳市玉兴镇国家级耕地质量监测点(30°59'43" N, 104°57'12" E), 属于四川盆地中部浅丘地带, 亚热带季风性湿润气候。试验区年降水量 1 000~1 300 mm, 年均气温 16.7 °C, 年有效积温 5 304 °C, 年无霜期 281 d。长期定位试验点建于 1984 年, 成土母质属白垩系下统薄砂厚页岩互层风化的坡积-洪积物, 土壤发生类型为水稻土。初始耕层土壤(0~20 cm)基本理化性质见表 1。

表 1 耕层土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of topsoil

土壤类型 Soil type	砂粒 Sand (2~0.02 mm)/(g·k g ⁻¹)	粉粒 Silt (0.02~0.00 2 mm)/ (g·kg ⁻¹)	黏粒 Clay (<0.002 mm)/ (g·kg ⁻¹)	pH	阳离子 交换量 CEC/(cm ol·kg ⁻¹)	有机质 SOM/(g· kg ⁻¹)	全氮 TN/(g· kg ⁻¹)	碱解氮 AN/(mg· kg ⁻¹)	有效磷 AP/(mg· kg ⁻¹)	速效钾 AK/(mg·k g ⁻¹)
水稻土 ^①	350.0	440.0	210.0	7.6	15.38	24.40	1.46	138.00	10.80	122.00

注: 砂粒、粉粒和黏粒含量采用比重计法测定。Note: The contents of sand, silt and clay were determined by hydrometer method. ① Paddy soil.

1.2 试验设计

设置 3 个试验区: 无肥区(CK)、化肥区(NPK)和秸秆还田+化肥区(NPKS), 1984 年建立长期定位试验点后无重大变更。试验区面积 866 m², 种植制度采用一年两熟夏水稻-冬小麦轮作模式。无肥区和化肥区在作物收获后移除地上部秸秆。化肥区施入复合肥, 2019 年小麦季肥料用量为: N 132.2 kg·hm⁻²、P₂O₅ 34.54 kg·hm⁻²、K₂O 48.88 kg·hm⁻²; 水稻季肥料用量为 N 183.5 kg·hm⁻²、P₂O₅ 34.54 kg·hm⁻²、K₂O 48.88 kg·hm⁻²。化肥+秸秆还田区在施化肥的基础上, 于每季作物收获时将原小区内水稻或小麦秸秆机械粉碎还田(秸秆长度约 5~10 cm), 其中水稻秸秆还田量约 5 000 kg·hm⁻², 小麦秸秆还田量约 3 000 kg·hm⁻²。化肥均作为基肥在小麦播种或水稻移栽前 1 周均匀施入土壤, 田间管理以当地习惯方式进行。

1.3 土样采集

2019 年 9 月中旬水稻收获后, 将每个试验区等体积划分为 3 个重复样区。每个样区按照“五点法”选择样点, 采集 0~20 cm 土层原状土于无菌硬质塑料盒内, 并放于低温保温箱中及时送回实验室。去除可见的动植物残体、石块等杂物后, 部分土样保存于低温无菌环境, 用干筛法制备新鲜土样团聚体; 另取部分土样于阴凉通风处自然风干, 并当土壤含水量降低至塑限时, 沿原状土自然结构裂隙轻轻掰开为约 1 cm³ 的小块, 用湿筛法制备风干土样团聚体。

1.4 测定项目及方法

风干土样团聚体分级采用湿筛法^[16]: 称取 50 g 风干土样均匀置于套筛(2、1、0.25 mm)最上层。将套筛置于去离子水桶中完全浸泡 10 min, 以振幅 5 cm、每分钟 40 次的频率上下振荡 10 min。依次收集每级土筛上的团聚体于铝盒中, 水桶中土样采取沉降并离心方法收集, 将装有土样的铝盒于 60 °C 烘干、称重。得到大于 2 mm、2~1 mm、1~0.25 mm 大团聚体和小于 0.25 mm 微团聚体, 用于分析团聚体有机碳及其活性组分含量。

新鲜土样团聚体分级采用改进的干筛法^[16]: 将土壤无菌低温干燥至一定水分含量(约 100 g·kg⁻¹), 沿原状土自然结构裂隙将土块轻轻掰成约 1 cm³ 的小块, 并通过套筛(2、1、0.25 mm), 依次收集每级土筛

上的团聚体,保存于4℃冰箱,用于土壤胞外酶活性和微生物生物量测定。该方法采用土壤最佳水分含量方法,以最大程度降低对微生物群落的干扰。

土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾—容量法^[5]测定;可溶性有机碳(DOC)采用去离子水浸提—TOC分析仪(Elementar, vario TOC select, 德国)测定;微生物生物量碳(MBC)采用氯仿熏蒸浸提—TOC分析仪测定;易氧化有机碳(EOC)采用333 mmol·L⁻¹高锰酸钾氧化法。DOC、MBC和EOC之和用活性有机碳(LOC)表示,统称为LOCs。

采用微孔板荧光法测定参与土壤碳循环的3种胞外酶活性(β -1,4-葡萄糖苷酶, BG; β -1,4-木糖苷酶, BX; β -D-纤维二糖水解酶, CBH)^[17]。先称取1g新鲜土样,加入100 mL的50 mmol·L⁻¹醋酸缓冲液(pH约5.0)制备土壤悬浮液。再选择96孔微孔板,分别设空白孔、标准孔、待测样品孔,每个土样进行4次重复测定。使用酶标仪(Varioskan LUX, Thermo, 美国)在450 nm波长处进行荧光测定。用每小时每克样品的基质转化率表示样品酶活性(nmol·h⁻¹·g⁻¹)。

1.5 数据处理与分析

在SPSS 19.0软件中进行数据统计分析,采用单因素(one-way ANOVA)方差分析,并用最小显著差异法(LSD)和q检验(S-N-K, Student Newman Keuls)进行差异显著性检验($\alpha = 0.05$)。在Excel 2010中制图,柱状图误差线表示平均值的标准误差,用不同字母表示差异性显著($P < 0.05$)。运用Canoco 5.0软件进行冗余分析(RDA)。

2 结果

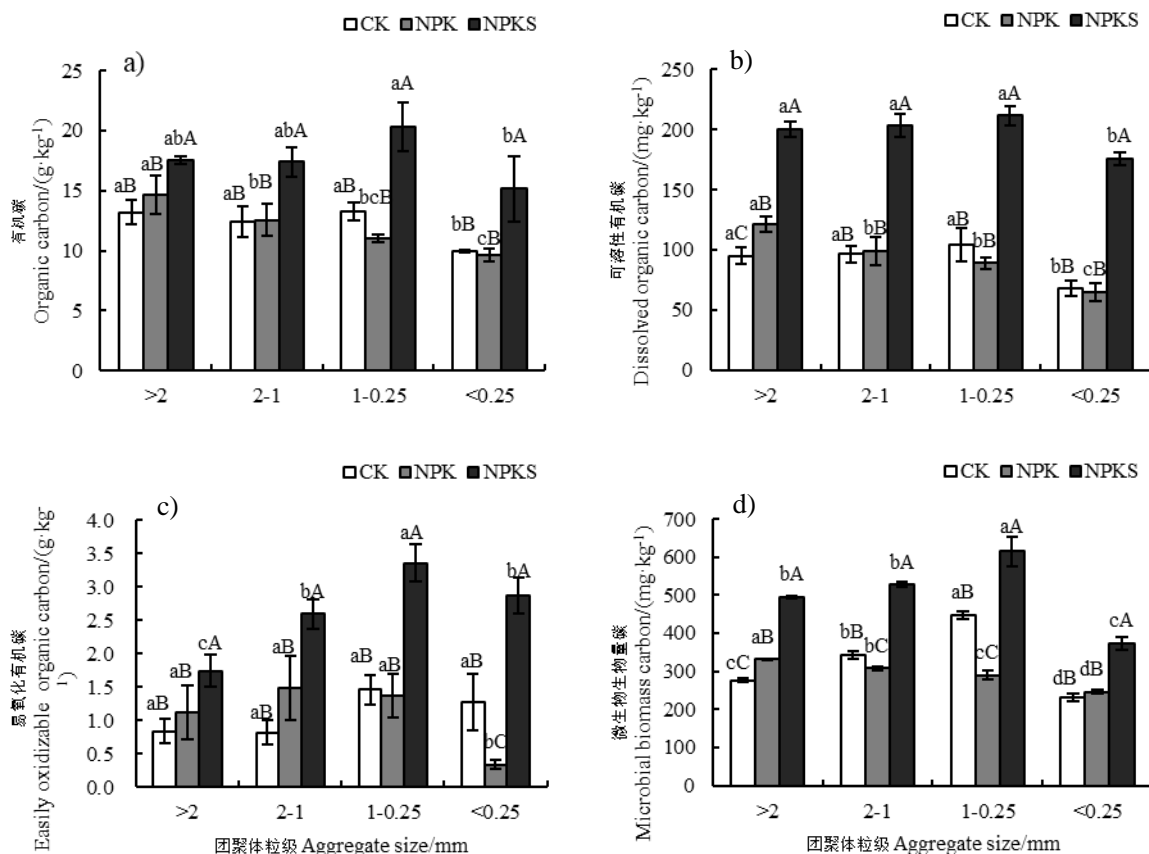
2.1 土壤团聚体有机碳及其活性组分含量变化特征

2.1.1 不同粒级团聚体有机碳 由图1a可知,NPKS处理显著提高了各粒级团聚体有机碳(SOC)含量($P < 0.05$),较CK和NPK处理分别提高32.92%~52.93%和19.90%~83.81%;且NPKS处理对1~0.25 mm粒级中SOC含量提升效果最佳。与CK处理相比,NPK处理提高了大于2 mm团聚体SOC含量,而明显降低了2~0.25 mm粒级中SOC含量,但CK与NPK处理间差异均不显著。不同粒级团聚体SOC分配状况有明显差异,以1~0.25 mm粒级最高;小于0.25 mm团聚体中SOC含量显著低于同处理其余粒级,降幅为13.01%~34.39%。

2.1.2 不同粒级团聚体可溶性有机碳 与SOC变化特征相似,不同处理对团聚体可溶性有机碳(DOC)含量有强烈影响(图1b)。NPKS处理较CK和NPK提高了各粒级团聚体中的DOC含量,差异显著($P < 0.05$)。与CK处理相比,NPK处理仅显著提高了大于2 mm团聚体中DOC含量($P < 0.05$)。就不同粒级而言,小于0.25 mm团聚体中DOC含量均显著低于同处理大团聚体(大于0.25 mm)粒级,降幅为12.22%~46.40%($P < 0.05$);NPKS和NPK处理分别在1~0.25 mm和大于2 mm粒级处出现最大值:211.5 mg·kg⁻¹(NPKS)和121.5 mg·kg⁻¹(NPK)。

2.1.3 不同粒级团聚体易氧化有机碳 从图1c可以看出,与CK和NPK处理相比,NPKS处理显著提高了各粒级团聚体易氧化有机碳(EOC)含量($P < 0.05$),其中对1~0.25 mm粒级的提升效果最优。与CK相比,NPK处理提高了大于2 mm和2~1 mm粒级团聚体EOC含量,小于0.25 mm粒级中EOC含量反而显著降低了52.54% ($P < 0.05$)。随团聚体粒径减小,EOC含量呈现先上升后下降趋势,其中1~0.25 mm粒级处于较高水平。

2.1.4 不同粒级团聚体微生物生物量碳 土壤团聚体微生物生物量碳(MBC)分布规律与SOC类似(图1d)。NPKS处理提高了各粒级团聚体MBC含量,在1~0.25 mm粒级达到最高,较CK和NPK处理分别显著提高了37.18%和112.03% ($P < 0.05$)。相较于CK处理,NPK处理大于2 mm团聚体中MBC含量显著提高了19.81%;但2~0.25 mm粒级则显著降低了10.47%~35.30% ($P < 0.05$)。随着团聚体粒径减小,CK和NPKS处理团聚体中MBC含量呈先上升后降低趋势,NPK处理则呈逐渐降低趋势,三个处理均在大团聚体(大于0.25 mm)中分配较多,而在小于0.25 mm粒级最低。



注: CK:无肥区; NPK:化肥区; NPKS:秸秆还田+化肥区. 不同大写字母表示相同粒级不同处理间差异显著, 不同小写字母表示相同处理不同粒级团聚体间差异显著($P < 0.05$). 下同. Note: CK, non-fertilizer plot; NPK, pure chemical fertilizer plot; NPKS, chemical fertilizer and straw returning plot. Different capital letters indicate significant differences among different treatments at the same particle size, and different lowercase letters indicate significant differences among different aggregates in the same treatment at 0.05 level. The same as below.

图 1 不同处理下土壤团聚体有机碳及其活性组分含量

Fig.1 The contents of organic carbon and its labile fractions in soil aggregates under different treatments

2.2 活性有机碳组分比例变化特征

水稻土团聚体各活性有机碳组分比例如图 2 所示。团聚体粒径越小, LOC/SOC 越大(除 NPK 处理小于 0.25 mm 粒级外)。土壤团聚体活性有机碳(LOC=DOC+EOC+MBC)与 SOC 的比值范围为 6.79%~22.80%, 表明研究区土壤 LOC 比例较低。与 CK 和 NPK 相比, NPKS 处理可明显提高土壤团聚体 LOC/SOC; 与 CK 相比, NPK 处理则明显降低了小于 0.25 mm 粒级 LOC/SOC。

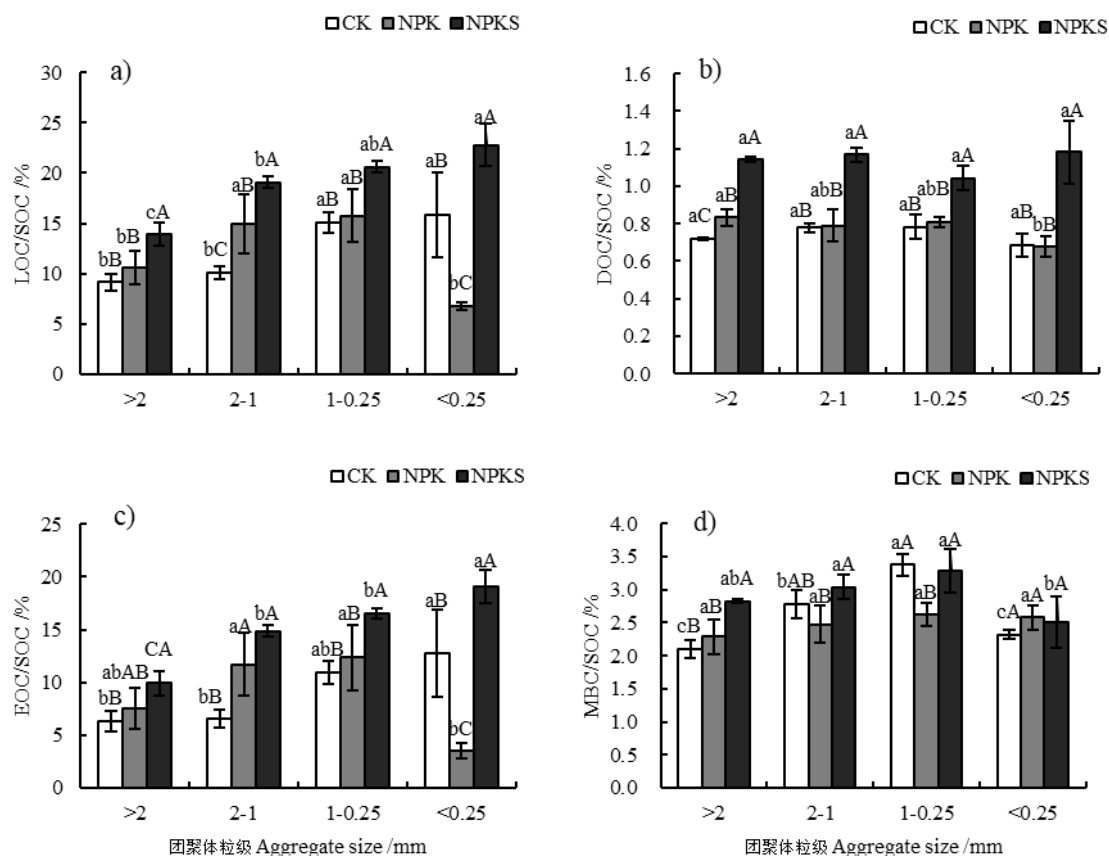
由图 2b 可看出, DOC/SOC 比值在各粒级间分布较为均匀, 这表明 DOC 占 SOC 比例受团聚体粒径影响较小。不同处理下土壤团聚体 DOC 与 SOC 比值范围为 0.68%~1.18%, 表明 DOC 仅占土壤 SOC 中极小一部分。NPKS 处理明显提高了 DOC/SOC, 较 CK 和 NPK 处理分别提高了 33.10%~72.06% 和 29.24%~74.24%。

EOC/SOC 明显高于 DOC/SOC 和 MBC/SOC, 表明 EOC 是土壤活性有机碳主要存在形式(图 2c)。EOC/SOC 与 LOC/SOC 变化趋势相似, 除 NPK 处理小于 0.25 mm 粒级外, EOC/SOC 随团聚体粒径减小而增大。NPKS 处理的 EOC/SOC 范围为 9.94%~19.11%, 较 CK 处理明显提高了 49.42%~127.06%。NPK 处理较 CK 提高了大于 0.25 mm 粒级 EOC/SOC 12.55%~78.84%, 而小于 0.25 mm 粒级则降低了 72.38%。

土壤团聚体 MBC/SOC 变化趋势与 DOC、EOC 不同(图 2d)。MBC/SOC 随团聚体粒径减小呈现先增后减规律, 均在 1~0.25 mm 粒级处出现最大值。NPKS 处理较 CK 提高了大于 2 mm 和 2~1 mm 粒级团聚

体 MBC/SOC, 增幅为 9.27%~34.16%; NPKS 处理较 NPK 提高了大于 2 mm、2~1 mm 和 1~0.25 mm 粒级 MBC/SOC, 增幅为 23.07%~25.41%。

总体而言, LOC/SOC 和 EOC/SOC 随团聚体粒径减小而增大, 而 DOC/SOC 和 MBC/SOC 在各粒级团聚体间变幅较小; 与 CK 处理相比, NPKS 可明显提高土壤团聚体各活性有机碳组分比例, 而 NPK 降低了小于 0.25 mm 粒级 LOC/SOC 和 EOC/SOC。



注: LOC/SOC 是活性有机碳(LOC)与有机碳(SOC)的比值; DOC/SOC 是可溶性有机碳(DOC)与 SOC 的比值; EOC/SOC 是易氧化有机碳(EOC)与 SOC 的比值; MBC/SOC 是微生物生物量碳(MBC)与 SOC 的比值。下同。Note: LOC/SOC is the ratio of labile organic carbon (LOC) and soil organic carbon (SOC); DOC/SOC is the ratio of dissolved organic carbon (DOC) and SOC; EOC/SOC is the ratio of easily oxidizable organic carbon (EOC) and SOC; MBC/SOC is the ratio of microbial biomass carbon (MBC) and SOC. The same as below.

图 2 不同处理下土壤团聚体活性有机碳组分比例

Fig. 2 The ratios of labile organic carbon fractions in soil aggregates under different treatments

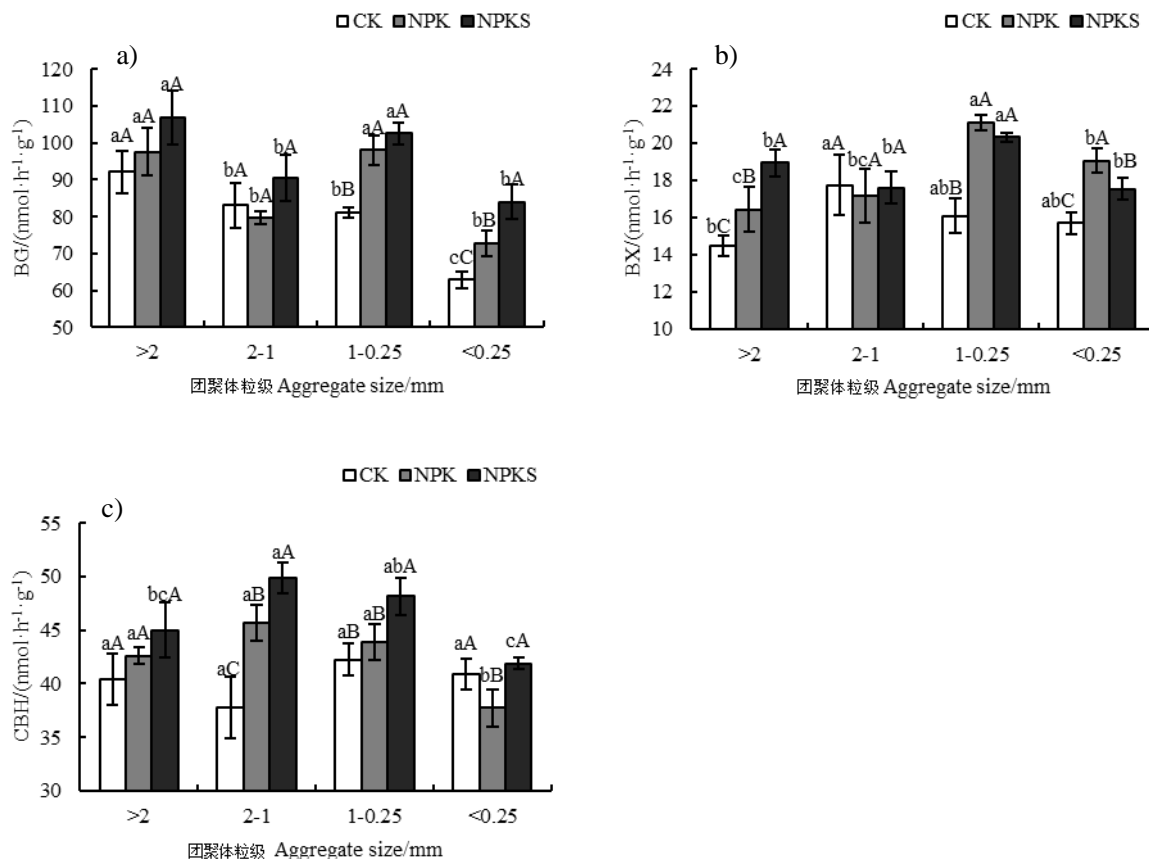
2.3 胞外酶活性的分布特征

2.3.1 不同粒级团聚体 β -1,4-葡萄糖苷酶 由图 3a 可知, 土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)活性在大于 2 mm 和 1~0.25 mm 粒级团聚体中较高, 相同处理中小于 0.25 mm 粒级最低。NPKS 处理下各粒级团聚体 BG 活性均处于较高水平, 其中 1~0.25 mm 和小于 0.25 mm 粒级中 BG 活性较 CK 分别显著提高了 26.49% 和 33.65%。与 CK 相比, NPK 处理明显提高了各粒级团聚体 BG 活性(除 2~1 mm 粒级外), 其中 1~0.25 mm 和小于 0.25 mm 粒级分别显著提高了 20.86% 和 15.78%。但是, 在大于 2 mm 和 2~1 mm 粒级团聚体, 不同处理间 BG 活性差异不显著。

2.3.2 不同粒级团聚体 β -1,4-木糖苷酶 从图 3b 可看出, 随团聚体粒级减小, 土壤 β -1,4-木糖苷酶(BX)活性呈先升后降趋势, 其中 NPK 和 NPKS 处理以 1~0.25 mm 粒级团聚体最高。与 CK 和 NPK 处理相比, NPKS 处理分别显著增强了大于 2 mm 粒级 BX 活性 30.81% 和 15.26% ($P < 0.05$); NPK 处理则显著增强了

小于 0.25 mm 粒级 BX 活性, 较 CK 和 NPK 分别提高了 21.49% 和 8.72% ($P < 0.05$)。

2.3.3 不同粒级团聚体 β -D-纤维二糖水解酶 随团聚体粒径减小, NPK 和 NPKS 处理下土壤 β -D-纤维二糖水解酶(CBH)活性呈先升后降趋势, 在 2~1 mm 粒级处出现拐点(图 3c)。NPKS 处理中团聚体 CBH 活性均较高, 较 NPK 处理显著提高了 9.28%~10.99% (除大于 2 mm 粒级外)($P < 0.05$)。与 CK 处理相比, NPK 处理显著提高了 2~1 mm 团聚体 CBH 活性, 但小于 0.25 mm 粒级显著降低了 8.45% ($P < 0.05$)。



注: BG, β -1,4-葡萄糖苷酶; BX, β -1,4-木糖苷酶; CBH, β -D-纤维二糖水解酶。下同。Note: BG, β -1,4-Glucosidase; BX, β -1,4-Xylosidase; CBH, β -D-Cellobiohydrolase. The same as below.

图 3 不同处理下土壤团聚体胞外酶活性

Fig. 3 Extracellular enzyme activities in soil aggregates under different treatments

2.4 土壤团聚体有机碳组分和胞外酶活性的相关性

不同处理间土壤团聚体胞外酶活性冗余分析(RDA)结果(图 4)显示, RDA1 和 RDA2 分别解释了酶活性总变异的 31.33% 和 6.35%。CK、NPK 处理间差异较小, 与 NPKS 处理明显被 RDA1 轴分开, 且 NPKS 处理对所有指标均有正向影响。土壤团聚体中 EOC、MBC 和 DOC 均与团聚体胞外酶活性变化显著正相关, 其中 DOC 对团聚体胞外酶活性变化的贡献最大。

采用逐步多元回归线性方程分析了胞外酶对有机碳及其活性组分的主次效应。如表 2 所示, 该方程模型的解释方差范围为 0.396~0.548。BG 和 CBH 两种酶是团聚体 SOC、DOC 和 MBC 的显著正向影响因子($P < 0.001$), 其中 CBH 起主导作用。此外, EOC 主要受到 CBH 的显著正向影响($P < 0.001$)。

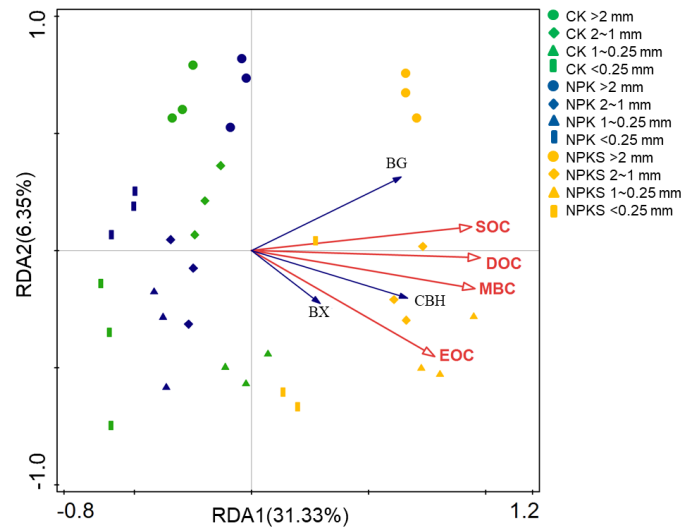


图 4 稻田土壤团聚体酶活性与有机碳组分的冗余分析 (RDA)

Fig. 4 Redundancy analysis (RDA) between enzyme activities and organic carbon fractions at the aggregate size

表 2 土壤碳循环胞外酶与有机碳组分关系的逐步多元回归分析

Table 2 Stepwise multiple regression analysis of the relationships between soil extracellular enzymes and organic carbon fractions

项目 Term	模型 Models	R^2	P
SOC	$Y=0.108BG+0.387CBH-12.19$	0.526	<0.001
DOC	$Y=1.627BG+6.642CBH-300.8$	0.543	<0.001
EOC	$Y=0.655CBH-4.895$	0.413	<0.001
MBC	$Y=3.022BG+15.65CBH-564.2$	0.504	<0.001

3 讨论

3.1 长期秸秆还田对土壤团聚体有机碳的影响

土壤各活性有机碳组分(LOCs)是土壤有机碳(SOC)演变的重要控制因子,且容易受到农田土壤管理措施的影响^[5]。本研究中,秸秆还田和施肥处理改变了土壤有机碳(SOC)及其活性组分(DOC、MBC和EOC)在团聚体中的分布(图1),可见不同农艺措施明显改变了土壤碳在团聚体中的赋存机制。秸秆还田配施化肥处理显著提高了土壤团聚体中SOC和LOCs含量,尤其对1~0.25 mm粒级提升效果最佳(图1)。荣勤雷等^[18]在设施菜地有机肥/秸秆替代部分化肥模式定位试验中报道过类似结果。一方面是因为投入外源秸秆不仅能直接提高土壤有机碳组分含量,还能作为有机胶结物质促进团聚体形成,而团聚体的物理保护作用能有效避免包裹在内的有机碳被微生物优先分解,使得团聚体中的有机碳组分逐渐积累^[19-20]。另一方面,由于稻-麦轮作土壤团聚体长期处于动态变化中,以1~0.25 mm粒级为主^[15],因此该粒级对有机碳周转速率和有机碳积累至关重要。本研究中MBC在2~0.25 mm粒级分配较多,且添加秸秆后得到显著提高(图1d),这与Li等^[21]为期八年的田间试验结果一致。由于MBC含量受到土壤团聚体结构和基质可用性的强烈影响,不同粒径大小的团聚体为微生物提供不同的微生境^[22]。适宜粒径的团聚体中孔隙率、养分和碳可利用性高于更大或更小的团聚体^[23],因此,2~0.25 mm团聚体中微生物的生物量碳和活性显著高于小于0.25 mm微团聚体。与不施肥相比,长期单施化肥处理仅显著提高了大于2 mm粒级团聚体中DOC和MBC含量(图1b和图1d)。这可能是由于化肥处理可直接提供部分速效养分,避免了大团聚体中DOC和MBC被优先分解而暂时积累下来^[20]。但由于长期单施化肥处理土壤结构性差,降低了小团聚体(小于0.25 mm)中封存的高稳定性SOC含量,也限制了土壤团聚体形成,从而不利于土壤固碳^[24]。团聚体粒径

大小也对团聚体有机碳组分分配有强烈影响, 大于 0.25 mm 团聚体中 SOC、DOC 和 MBC 含量显著高于小于 0.25 mm 粒级, 在不同地区和土壤类型中也报道了类似的分配特征^[21, 25]。这与团聚体等级概念模型 (aggregate hierarchy conceptual model) 观点^[26]一致, 微团聚体与活性有机质结合形成大团聚体, 导致大团聚体中的有机碳组分含量高于微团聚体中的; 前期研究也发现大于 0.25 mm 团聚体质量分数显著高于小于 0.25 mm 粒级^[15], 可能也是其有机碳组分含量较高的一个重要原因。

农田管理措施会显著影响土壤碳输入与输出平衡, 从而改变土壤 SOC 和 LOCs 组成。LOCs 和 SOC 的比值在一定程度上可反映土壤有机碳的更新速率^[5]。本研究中, LOC/SOC 比值和 EOC/SOC 比值随团聚体粒径减小而增大(图 2a 和图 2c), 这表明 LOC 和 EOC 在大团聚体中损失较多, 突出了大团聚体吸附 LOC 的重要性; 伴随着大团聚体中 SOC 含量明显高于微团聚体的现象, 说明大团聚体更有利于土壤固碳^[25]。各粒级团聚体中 DOC/SOC 和 MBC/SOC 比值变化不明显(图 2b 和图 2d), 这表明 MBC 和 DOC 动态变化趋势同 SOC 较为一致, 可作为评价 SOC 的敏感指标^[5]。究其原因, 土壤 DOC 和 MBC 主要来源于动植物残体、生物废弃物、有机肥以及土壤有机质分解等, 是土壤碳库极其活跃的组成部分, 受植物和微生物影响强烈。尽管土壤 DOC 和 MBC 占 SOC 的比例很低(<3.5%), 但它们对农田管理措施和土壤质量的响应十分敏感, 对于土壤碳循环过程具有关键作用^[18, 27]。秸秆还田配施化肥不仅明显提高了各粒级团聚体中 LOCs 与 SOC 的比值, 同时 SOC 含量也明显较高(图 1a 和图 2), 表明合理的田间管理有利于改善土壤有机碳的稳定性并提升土壤质量。相反地, 长期不施肥和单施化肥处理由于 LOCs/SOC 比值较低, 导致有机碳的更新速率较低, 这可能降低土壤碳同化和矿化能力, 降低土壤活性^[28]。此外, 团聚体有机碳组分对农田管理措施有强烈响应, 这表明稻田土壤团聚体碳循环过程应得到更多的关注。

3.2 长期秸秆还田对土壤团聚体胞外酶的影响

微生物作为土壤团聚体形成过程以及有机碳循环过程中最活跃的生物因素^[29], 结合微生物分泌的酶可进一步理解团聚体中碳转化和固定机制。本研究发现, 秸秆还田配施化肥处理可显著提高 2~0.25 mm 团聚体 BG 和 CBH 酶活性(图 3a 和图 3c), 它们可将纤维素降解为葡萄糖为作物提供能量, 其主要来源于土壤中微生物的代谢活动^[30]。秸秆还田后可作为微生物分解底物, 增强微生物代谢能力, 刺激土壤 BG 和 CBH 分泌^[31]。2~0.25 mm 粒级团聚体作为土壤胞外酶的主要载体, 其对于促进 SOC 稳定及循环有重要意义。这与张帅等^[32]研究结果类似, 2~0.25 mm 粒级团聚体中含有更高浓度的底物, 可能对外源碳引发的 SOC 激发效应有更强烈的响应, 同时增加了碳循环相关酶活性。此外, 1~0.25 mm 团聚体酶活性均保持在较优水平, 可能是适宜的团聚体粒径可与胞外酶形成稳定复合物, 进而保护酶免于降解并在较长时间内维持酶活性^[33]。不同的是, 大于 2 mm 团聚体中胞外酶活性在不同农田管理措施之间差异不显著(图 3a 和图 3c), 表明这部分团聚体酶活性主要受团聚体粒径的调控, 这可能是大孔隙团聚体对酶分子的吸附作用掩盖了酶活性位点, 导致农田管理措施对大于 2 mm 团聚体酶活性影响较小^[32]。

土壤胞外酶催化有机质的分解和组成, 从而影响有机碳组分分配^[34]。为了更好地了解 SOC 的变化特征, 有必要观察有机碳各组分与碳循环胞外酶活性的关系。冗余分析(RDA)表明, 土壤团聚体中的 EOC、MBC 和 DOC 含量均与胞外酶活性变化呈正相关关系(图 4), 这是因为可利用的 LOCs 可为微生物活动和分泌胞外酶提供碳源。有研究表明, SOC 可通过影响微生物群落和固碳基因调控碳循环相关胞外酶活性^[35], 大团聚体由于高的孔隙率和碳可利用性, 成为了微生物的主要栖息地, 进而提高了大团聚体胞外酶活性。本研究中, 秸秆还田后不同碳循环胞外酶对土壤有机碳组分存在主次的影响(表 2)。团聚体 DOC 和 MBC 分配差异的主要影响因子是 CBH 活性, 其次是 BG 活性。这进一步说明这两种酶主要促进 LOCs 形成, 从而为土壤带来更多的新鲜碳^[5], 有利于促进 SOC 循环转化^[25]。与 DOC 和 MBC 相比, 土壤团聚体 EOC 仅受到 CBH 的正向影响(表 2), 表明 EOC 中可能含有被纤维素酶催化分解的有机物; 而与其他胞外酶的相关性较弱, 这可能是由于 EOC 的易氧化性质, 它是土壤酶水解和氧化反应的常见底物^[36]。前人^[37]研究还证明了 SOC 转化速率不仅受胞外酶活性的影响, 还取决于团聚体粒径大小。有研究认为微团聚体具有更大的比表面积和更小的孔隙, 可在一定程度上附着更多 SOC 和胞外酶^[25], 但其高稳定性也降低了团聚体活性。秸秆还田后腐烂分解可释放出驱动微生物生长的活性有机碳, 极大地提高了土壤胞外酶活性, 增加的有机物和微生物分泌副产物进一步将微团聚体胶结成稳定的大团聚体^[25]。最后, 在长期

秸秆还田配施化肥的情况下, 土壤团聚体逐渐以大团聚体为主。本研究中周期性干湿交替条件又导致了 2~0.25 mm 团聚体中有机碳组分含量和胞外酶活性均较高(图 1 和图 3), 该粒级具备胞外酶反应和 SOC 周转的有利条件, 强化了有机碳组分和胞外酶的相互促进作用^[16]。胞外酶对 SOC 分解的影响在不同大小团聚体中存在差异, 与微团聚体相比, 大团聚体中的酶活性高会导致 SOC 周转加快。由于本研究的局限性, 尽管湿筛法是对土壤团聚体水稳性及有机碳分析的有效方法^[38], 但也可能损失部分较大粒级团聚体碳。未来必须提出一种更好的筛分土壤团聚体方法, 以便在团聚体尺度上更准确地分析土壤生化性质, 或者利用同位素技术, 在不同农艺措施中针对性探讨土壤碳循环的微生物调控。

4 结论

团聚体中有机碳组分与碳循环胞外酶互相促进, 其中可溶性有机碳和微生物量碳主要受到 β -D-纤维二糖水解酶的影响, 其次是 β -1,4-葡萄糖苷酶。2~0.25 mm 粒级大团聚体中有机碳各组分含量与胞外酶活性均处于较高水平, 这为有机碳更新和周转提供了良好的微环境。农艺措施改变了土壤碳在团聚体中的赋存机制, 长期化肥处理显著降低了小于 0.25 mm 团聚体中有机碳及其活性组分含量。秸秆还田配施化肥处理则提高了大团聚体中有机碳及其活性组分含量, 有利于可持续的土壤碳增加。

参考文献(References)

- [1] Zhang X B, Sun N, Xu M G, et al. Soil organic carbon in agricultural soils in China under global climate change[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(23): 4648-4657. [张旭博, 孙楠, 徐明岗, 等. 全球气候变化下中国农田土壤碳库未来变化[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(23): 4648-4657.]
- [2] Xu J L, Hu N J, Zhang Z W, et al. Effects of continuous straw returning on soil nutrients and carbon pool in rice-wheat rotation system[J]. *Soils*, 2016, 48(1): 71-75. [徐蒋来, 胡乃娟, 张政文, 等. 连续秸秆还田对稻麦轮作农田土壤养分及碳库的影响[J]. *土壤*, 2016, 48(1): 71-75.]
- [3] Amin M N, Hossain M S, Lobry de Bruyn L, et al. A systematic review of soil carbon management in Australia and the need for a social-ecological systems framework[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 719: 135182.
- [4] Balasubramanian D, Zhou W J, Ji H L, et al. Environmental and management controls of soil carbon storage in grasslands of southwestern China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 254: 109810.
- [5] Li S, Zhang S, Pu Y, et al. Dynamics of soil labile organic carbon fractions and C-cycle enzyme activities under straw mulch in Chengdu Plain[J]. *Soil and Tillage Research*, 2016, 155: 289-297.
- [6] Tang P F, Han B B, Wang J M, et al. Effects of cotton straw returning on the soil organic carbon and organic carbon mineralization dynamics[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2021, 35(12): 127-133. [唐鹏飞, 韩兵兵, 王佳敏, 等. 棉秆还田不同年限对土壤有机碳及其矿化特征的影响[J]. *干旱区资源与环境*, 2021, 35(12): 127-133.]
- [7] Zhang Y Y, Mo F, Han J, et al. Research progress on the native soil carbon priming after straw addition[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(6): 1381-1392. [张叶叶, 莫非, 韩娟, 等. 秸秆还田下土壤有机质激发效应研究进展[J]. *土壤学报*, 2021, 58(6): 1381-1392.]
- [8] Yang H B, Xiao Y H, Li M, et al. Coupling relationship between soil aggregate stability and microbial extracellular enzyme activities in typical urban forests during the dry season[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(10): 1976-1989. [杨洪炳, 肖以华, 李明, 等. 典型城市森林旱季土壤团聚体稳定性与微生物胞外酶活性耦合关系[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(10): 1976-1989.]
- [9] Liu Q, Xu X, Wang H, et al. Dominant extracellular enzymes in priming of SOM decomposition depend on temperature[J]. *Geoderma*, 2019, 343: 187-195.
- [10] Wang F H, Zhou L Y, Hu H, et al. Changes of soil aggregate carbon pool and temperature sensitivity in different vegetation zones of Taibai Mountain in Qinling Mountains[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(8): 3300-3314. [王福慧, 周林燕, 胡汗, 等. 秦岭太白山不同植被带土壤团聚体碳库变化及温度敏感性[J]. *生态学报*, 2022, 42(8): 3300-3314.]
- [11] Dong J X, Cong P, Liu N, et al. Effects of deep straw incorporation on subsoil physical properties and aggregate distribution in black

- soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(4): 921-934. [董建新, 丛萍, 刘娜, 等. 秸秆深还对黑土亚耕层土壤物理性状及团聚体分布特征的影响[J]. *土壤学报*, 2021, 58(4): 921-934.]
- [12] Pang D, Chen J, Jin M, et al. Changes in soil micro- and macro-aggregate associated carbon storage following straw incorporation[J]. *Catena*, 2020, 190: 104555.
- [13] Li X D, Tang Y L, Sui P, et al. The evaluation on sustainability of paddy field Conservation Farming System(CFS) in Sichuan Basin, China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(6): 942-948. [李向东, 汤永禄, 隋鹏, 等. 四川盆地稻田保护性耕作制可持续性评价研究[J]. *作物学报*, 2007, 33(6): 942-948.]
- [14] Huang R, Lan M L, Liu J, et al. Soil aggregate and organic carbon distribution at dry land soil and paddy soil: the role of different straws returning[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(36): 27942-27952.
- [15] Li X Y, Li B, Mo T X, et al. Effects of long-term straw returning on distribution of aggregates and nitrogen, phosphorus, and potassium in paddy[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(9): 3257-3266. [李新悦, 李冰, 莫太相, 等. 长期秸秆还田对水稻土团聚体及氮磷钾分配的影响[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(9): 3257-3266.]
- [16] Zheng J, Wang L, Zhao J, et al. Forty-year-old orchards promote carbon storage by changing aggregate-associated enzyme activities and microbial communities[J]. *Catena*, 2022, 213: 106195.
- [17] Liu X, Li X, Li X, et al. Dominant plant identity determines soil extracellular enzyme activities of its entire community in a semi-arid grassland[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 161: 103872.
- [18] Rong Q L, Li R N, Huang S W, et al. Characteristics of nutrients and microbial biomass in soil aggregates under different fertilization modes in greenhouse vegetable production[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(7): 1084-1096. [荣勤雷, 李若楠, 黄绍文, 等. 不同施肥模式下设施菜田土壤团聚体养分和微生物量特征[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(7): 1084-1096.]
- [19] Zhang S T, Ren T, Zhou X Q, et al. Effects of rapeseed/wheat-rice rotation and fertilization on soil nutrients and distribution of aggregate carbon and nitrogen[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(1): 194-205. [张顺涛, 任涛, 周橡棋, 等. 油/麦-稻轮作和施肥对土壤养分及团聚体碳氮分布的影响[J]. *土壤学报*, 2022, 59(1): 194-205.]
- [20] Sun X, Zhang Y M, Zhang L J, et al. Effects of long-term exogenous organic material addition on the organic carbon composition of soil aggregates in farmlands of North China[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2021, 29(8): 1384-1396. [孙雪, 张玉铭, 张丽娟, 等. 长期添加外源有机物料对华北农田土壤团聚体有机碳组分的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2021, 29(8): 1384-1396.]
- [21] Li N, Yao S, Qiao Y, et al. Separation of soil microbial community structure by aggregate size to a large extent under agricultural practices during early pedogenesis of a Mollisol[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 88: 9-20.
- [22] Ding X L, Han X Z. Effects of long-term fertilization on contents and distribution of microbial residues within aggregate structures of a clay soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(3): 549-554.
- [23] Jiang X, Wright A L, Wang J, et al. Long-term tillage effects on the distribution patterns of microbial biomass and activities within soil aggregates[J]. *Catena*, 2011, 87(2): 276-280.
- [24] Huang X, Jia Z, Guo J, et al. Ten-year long-term organic fertilization enhances carbon sequestration and calcium-mediated stabilization of aggregate-associated organic carbon in a reclaimed Cambisol[J]. *Geoderma*, 2019, 355: 113880.
- [25] Zhao Z, Gao S, Lu C, et al. Effects of different tillage and fertilization management practices on soil organic carbon and aggregates under the rice-wheat rotation system[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 212: 105071.
- [26] Puget P, Chenu C, Balesdent J. Dynamic of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates[J]. *European Journal of Soil Science*, 2000, 51: 595-605.
- [27] Liu F, Wang D, Zhang B, et al. Concentration and biodegradability of dissolved organic carbon derived from soils: A global perspective[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 754: 142378.
- [28] Lü Z Z, Liu X M, Zhong J F, et al. Effects of long-term fertilization on mineralization of soil organic carbon in red paddy soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(15): 2636-2645. [吕真真, 刘秀梅, 仲金凤, 等. 长期施肥对红壤性水稻土有机碳矿化的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(15): 2636-2645.]
- [29] Liu X, Li T Y, An T T, et al. Sequestration characteristics of straw residue carbon and nitrogen in aggregates following plastic film mulching on Mollisols with different fertilization treatments[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(11): 4439-4450. [刘旭, 李庭宇, 安婷

- 婷, 等. 不同施肥处理黑土覆膜后秸秆碳氮在团聚体中的固存特征[J]. 生态学报, 2022, 42(11): 4439-4450.]
- [30] Zhang Q, Zhou W, Liang G, et al. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 94: 59-71.
- [31] Yao H Y, Huang C Y. Soil microbial ecology and its experimental techniques[M]. Beijing: Science Press, 2006. [姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.]
- [32] Zhang S, Cheng Y Y, Wu H, et al. Microbial biomass carbon, nitrogen and enzyme activities within aggregates of calcareous soil under biochar application[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(3): 369-379. [张帅, 成宇阳, 吴行, 等. 生物炭施用下潮土团聚体微生物量碳氮和酶活性的分布特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(3): 369-379.]
- [33] Stock S C, Köster M, Dippold M A, et al. Environmental drivers and stoichiometric constraints on enzyme activities in soils from rhizosphere to continental scale[J]. *Geoderma*, 2019, 337: 973-982.
- [34] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 391-404.
- [35] Chen J, Sinsabaugh R L. Linking microbial functional gene abundance and soil extracellular enzyme activity: Implications for soil carbon dynamics[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(7): 1322-1325.
- [36] Wang Q K, Xiao F M, He T X, et al. Responses of labile soil organic carbon and enzyme activity in mineral soils to forest conversion in the subtropics[J]. *Annals of Forest Science*, 2013, 70(6): 579-587.
- [37] Zhang H J, Ding W X, Yu H Y, et al. Linking organic carbon accumulation to microbial community dynamics in a sandy loam soil: Result of 20 years compost and inorganic fertilizers repeated application experiment[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(2): 137-150.
- [38] Han Z G, Zhou Y C, Ren J J, et al. Distribution of organic carbon after wet sieving of soil aggregates of various particle sizes in Masson Pine plantation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(23): 9388-9398. [韩贞贵, 周运超, 任娇娇, 等. 马尾松人工林土壤各粒径团聚体湿筛后的有机碳分配[J]. 生态学报, 2021, 41(23): 9388-9398.]

(责任编辑: 陈荣府)