

DOI: 10.11766/trxb201811230589

杨小东, 曾希柏, 文炯, 王亚男, 白玲玉, 许望龙, 苏世鸣, 吴翠霞. 猪粪施用量对红壤旱地理化性质及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2020, 57 (3): 739–749

YANG Xiaodong, ZENG Xibai, WEN Jiong, WANG Yanan, BAI Lingyu, XU Wanglong, SU Shiming, WU Cuixia. Effects of Application of Pig Manure on Physicochemical Properties and Enzyme Activities of Red Soil Upland[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57 (3): 739–749

猪粪施用量对红壤旱地理化性质及酶活性的影响*

杨小东¹, 曾希柏^{1, 2}, 文 炯², 王亚男^{1, 2}, 白玲玉^{1, 2}, 许望龙², 苏世鸣^{1, 2},
吴翠霞^{1, 2}

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所 / 农业农村部农业环境重点实验室, 北京 100081; 2. 农业农村部岳阳农业环境科学实验站, 湖南岳阳 414000)

摘 要: 为研究猪粪的合理施用及其对红壤旱地地力提升的效应, 利用在第四纪红壤旱地中连续 3 年分别施用 0、7.5、15、30、45 t·hm⁻² 猪粪的小区定位试验, 比较不同处理下菠菜和玉米地上部生物量、土壤相关理化性质、碳氮磷循环相关酶活性的差异。结果表明: 菠菜和玉米地上部生物量、土壤有机质、土壤全量和速效态氮磷钾含量均随猪粪施用量的增加呈线性增加。当猪粪施用量达 45 t·hm⁻² 时菠菜、玉米平均地上部生物量分别达到 11.48、20.84 t·hm⁻², 土壤有机质和全氮、全磷含量分别达 14.6、1.07、0.73 g·kg⁻¹, 土壤碱解氮、有效磷、速效钾含量分别达 85.47、106.9、411.7 mg·kg⁻¹, 但与猪粪施用量为 15 和 30 t·hm⁻² 时土壤养分含量的差异不显著, 而土壤中与碳氮磷循环相关的 6 种酶活性则与猪粪施用量呈线性相关, 且在施用量为 30 或 45 t·hm⁻² 时出现显著差异; 6 种酶活性与土壤有机质、养分含量间均具有显著或极显著正相关关系。研究结果显示, 第四纪红壤旱地在本试验猪粪施用量范围内, 土壤有机质和养分含量、酶活性等指标均随施用量的增加而相应提高, 作物地上部生物量亦呈线性增加, 但同时须注意土壤速效态养分含量过高可能带来的氮磷流失加剧等问题。

关键词: 猪粪; 地上部生物量; 微孔板荧光法; 土壤理化性质; 酶活性

中图分类号: S154; S158 **文献标志码:** A

Effects of Application of Pig Manure on Physicochemical Properties and Enzyme Activities of Red Soil Upland

YANG Xiaodong¹, ZENG Xibai^{1, 2}, WEN Jiong², WANG Yanan^{1, 2†}, BAI Lingyu^{1, 2}, XU Wanglong², SU Shiming^{1, 2}, WU Cuixia^{1, 2}

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of P.R.China, Beijing 100081, China; 2. Yueyang Agro-Environmental Sciences Station of Chinses Agriculture Ministry and Rural Affairs, Yueyang, Hunan 414000, China)

* 国家自然科学基金面上项目 (41877061, 41671308) 及中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-2016-IEDA) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41877061, 41671308), and the Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2016-IEDA)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangyanan@caas.cn

作者简介: 杨小东 (1993—), 女, 内蒙古通辽人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态与修复研究。E-mail: 543533088@qq.com

收稿日期: 2018-11-23; 收到修改稿日期: 2019-03-22; 优先数字出版日期 (www.cnki.net): 2019-05-14

Abstract: 【Objective】 This paper is oriented to study rational application of pig manure and its effect on soil fertility in upland red soil. 【Method】 A 3-year stationary field experiment on application of pig manure was carried out for the study. The experiment was designed to have 5 different application rates for pig manure, that is, 0, 7.5, 15, 30 and 45 t·hm⁻². Samples of the soils and the crops, i.e. spinach and maize were collected from the plots with different manure application rate for analysis biomass of the shoots, relevant soil physico-chemical properties, and activity of the enzymes involved in C, N and P recycling with the microplate flurimetric assay method. 【Result】 Results shown that soil organic matter, total N, P and K, readily available P and K and biomass of spinach and maize shoots all increased linearly with increasing pig manure application rate. In the plot applied with 45 t·hm⁻² of pig manure, the highest average biomass of shoots reached 11.48 and 20.84 t·hm⁻² in spinach and maize, respectively, organic matter, total nitrogen, total phosphorus rise up to 14.6, 1.07 and 0.73 g kg⁻¹ and available nitrogen, alkalyzable phosphorus and readily available potassium did up to 85.47, 106.9 and 411.7 mg·kg⁻¹, respectively; But there was no significant differences in soil nutrient elements contents between 15, 30 t·hm⁻² of pig manure treatments and 45 t·hm⁻² of pig manure treatment. Moreover, activities of the 6 kinds of soil enzymes involved in C, N and P cycling(β -1, 4-Glucosidase, β G; β -1, 4-Xylosidase, β X; Cellobiohydrolase, CBH; Leucine amino peptidase, LAP; β -1, 4-N-Acetyl-glucosaminidase, NAG; Acid phosphatase, AP)were linearly related with pig manure application rate, especially in the plots applied with 30 or 45 t·hm⁻² and remarkably or extremely remarkably and positively related to contents of soil organic matter and soil nutrients. In the plot applied with 45 t·hm⁻² of pig manure, β G, β X, CBH, LAP, NAG and AP enzymes reached up to 105.3, 17.49, 36.63, 47.76, 55.31 and 77.38 nmol·g⁻¹·h⁻¹, respectively. C/N did not much in plots applied with different rates of pig manure, β G/(NAG+LAP)decreased with increasing application rate of pig manure, while(NAG+LAP)/AP exhibited a reverse trend. 【Conclusion】 Soil organic matter, nutrient content and enzyme activity of the soil increase with application rate of pig manure in the red upland soil, and crop yield does linearly. Attention must be paid to problems, such as increased nitrogen and phosphorus loss, as a result of excessive available nutrients in the soil.

Key words: Pig manure; Shoot biomass; Microplate flurimetric assay method; Soil physicochemical properties; Enzyme activity

施用有机肥一直被认为是培肥地力、改善土壤理化性质、增强土壤微生物和酶活性、提高作物产量、实现农业循环发展的重要举措^[1-6],是我国传统农业的精华。猪粪是我国施用量最大的有机肥,且其中含有丰富的有机质及氮磷等养分^[7],常被用于改良及提高耕地肥力。刘希玉等^[3]通过15年长期定位研究认为,施用猪粪能有效提高红壤区水稻土团聚体的稳定性及碳氮含量;柳开楼等^[8]的研究也指出,猪粪还田可阻控土壤酸化、显著提高土壤有机质和氮磷钾等养分含量及作物产量。长期施用猪粪在改善土壤理化性质的同时,还可明显提高土壤酶活性,且猪粪与化肥配施可维持和提高土壤微生物数量、土壤呼吸等微生物学特性^[5, 9]。土壤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,相较于土壤理化性质,能更迅速地对施肥及管理措施的变化做出响应。目前,国内外有关土壤中胞外酶活性变化的研究大多数围绕参与土壤碳、氮和磷循环的相关酶活性变化,包括水解纤维素、释放葡萄糖的 β -1, 4-葡萄糖苷酶(β G),水解木质素、

释放木糖的 β -1, 4-木糖苷酶(β X),水解纤维素、释放纤维二糖的纤维二糖水解酶(CBH),水解亮氨酸及某些疏水氨基酸的L-亮氨酸氨酶(LAP),降解几丁质及 β -1, 4端连接的氨基葡萄糖聚合物、释放N-乙酰氨基葡萄糖的 β -1, 4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)以及水解磷酸单脂及磷酸二脂、释放磷酸基团的酸性磷酸酶(AP)等^[10]。研究表明,上述酶由于可专一的催化降解土壤中一些不易降解、难降解的重要生物化学物质,参与末端反应并生成易于被吸收利用的物质,并易于研究其化学反应动力学,且能用于评价生态过程等特征^[11],而广为受到关注。尽管已有诸多研究表明,施用有机肥可显著提高土壤酶活性^[12-13],但对有机肥,尤其是猪粪不同施用量下土壤酶活性变化的研究鲜有报道。南方红壤地区由于有机肥的投入量或其与化肥的配施比例不当等原因,旱地的肥力和产能逐渐降低,障碍因素也较多,已成为该区域亟待改良和培肥的耕地类型。综上,本研究利用湖南岳阳的长期定位试验,研究不同猪粪施用量对土壤相关性质及

碳氮磷循环相关 6 种胞外酶活性的影响, 以期为该地区有机肥的合理施用、红壤旱地地力的提升和农业可持续发展等提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区位于湖南省岳阳县麻塘镇的农业部农业环境监测实验站内 (112°44'14"E, 28°57'11"N)。所在区域属于亚热带气候区, 气候温暖湿润, 光照较充足, 雨量充沛, 年均气温 17℃, 年日照时数 1 722~1 816 h, 年均降雨量 1 400 mm。试验前土壤基本理化性质为: pH 6.4、有机质 19.8 g·kg⁻¹、全氮 1.11 g·kg⁻¹、全磷 0.50 g·kg⁻¹、全钾 14.6 g·kg⁻¹、碱解氮 72.10 mg·kg⁻¹、有效磷 3.84 mg·kg⁻¹、速效钾 246.7 mg·kg⁻¹、CEC 15.30 cmol·kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验小区于 2013 年开始建设, 2014 年开始种植作物。设置 5 个处理, 猪粪施用量分别为 0、7.5、15、30、45 t·hm⁻², 不施用化肥。试验用猪粪取自实验站周边的集约化养殖场, 于每年 4 月开始腐熟, 半年后达到完全腐熟状态, 再于每年 10 月施入土壤, 施用量以鲜重计。猪粪含有有机质 779.5 g·kg⁻¹、氮(N)28.20 g·kg⁻¹、磷(P₂O₅)36.61 g·kg⁻¹、钾(K₂O)14.70 g·kg⁻¹。试验小区随机区组排列, 每个小区面积 21 m², 重复 3 次, 种植作物为菠菜和玉米轮作。

1.3 样品采集

2017 年 4 月 7 日菠菜收获后, 用五点采样法采集各小区 0~20 cm 土壤, 混匀后用四分法取 1 kg 混合土样并剔除动植物残体和石砾, 一部分土壤过 2 mm 筛, 置于 4℃冰箱内冷藏, 尽快测定土壤酶活性。另一部分土壤风干过筛, 用于测定土壤 pH 及养分含量^[14]。

1.4 土壤基本理化性质测定

土壤 pH 采用 pH 计测定, 水土比为 2.5: 1; 有机质采用重铬酸钾氧化—外加加热法测定; 全氮采用凯氏定氮法测定; 全磷采用 NaOH 熔融—钼锑抗比色法测定; 全钾采用 NaOH 熔融—火焰光度法测定; 碱解氮采用碱解扩散法测定; 有效磷采用 NaHCO₃—

钼锑抗比色法测定; 速效钾采用 NH₄OAc 浸提—火焰光度法测定^[14]。

1.5 土壤酶活性测定

称取 1.000 g 新鲜土样置入洗净烘干的 100 mL 离心管内, 加去离子水 50 mL, 于涡旋仪上涡旋 15 s, 然后在摇床内 180 r·min⁻¹ 振荡 30 min, 取出后用 50 mL 去离子水清洗离心管, 将 100 mL 悬浊液全部转移至烧杯中, 在磁力搅拌器搅拌下加样。将 200 μL 土壤悬浊液和 50 μL 底物置于样品板的微孔中, 以 200 μL 土壤悬浊液和 50 μL 去离子水的空白微孔作为对照; 在阴性对照微孔内加入 200 μL 去离子水和 50 μL 底物; 在参考标准微孔内加入 200 μL 去离子水和 50 μL 标准物质; 在淬灭标准微孔内加入 200 μL 土壤悬浊液和 50 μL 标准物质, 每个样品重复 8 次。将微孔板置于恒温培养箱 (25℃) 内黑暗培养 4 h, 取出后于各微孔内加入 10 μL 0.5 mol·L⁻¹ NaOH 终止反应, 1 min 后用酶标仪测定样品的荧光值, 4-MUB 的荧光激发光波长及发射光波长分别为 365 nm、450 nm。本研究中涉及的 6 种土壤酶功能、EC 编码及相应底物如表 1^[15]。

1.6 数据处理

土壤酶活性采用下述公式进行计算^[16]:

$$A = FV / (e v_1 t m) \quad (1)$$

$$F = (f - f_b) / q - f_s \quad (2)$$

$$e = f_r / (c_s v_2) \quad (3)$$

$$q = (f_q - f_b) / f_r \quad (4)$$

式中, A 为土壤酶活性 (nmol·g⁻¹·h⁻¹); F 为校正荧光值; V 为土壤悬浊液体积 (100 mL); e 为荧光释放系数; v_1 为每一微孔内的土壤悬浊液体积 (0.2 mL); t 为黑板暗培养时间 (4 h); m 为干土样的质量 (1 g 鲜土换算成干土的质量); f 为样品微孔荧光值; f_b 为空白微孔荧光值; q 为淬灭标准系数; f_s 为阴性对照微孔荧光值; f_r 为参考标准微孔荧光值; c_s 为标液浓度 (10 μmol·L⁻¹); v_2 为标准物质体积 (0.05 mL); f_q 为淬灭标准微孔荧光值。

表 1 所测土壤酶的名称、功能、EC 编码和底物

Table 1 Names, functions, EC numbers, and substrates of the test enzymes in soil in this study

酶 Enzyme	缩写 Abbrevia-tion	功能 Function	EC 编码 EC number	底物 ¹⁾ Substrate
β -1,4-葡萄糖苷酶 β -1,4-Glucosidase	β G	水解末端非还原性 β -D-葡萄糖残基, 释放 β -D-葡萄糖, 对 β -D-葡糖苷水解有广泛的特异性	3.2.1.21	4-MUB- β -D-葡萄糖苷 4-MUB- β -D-glucoside
β -1,4-木糖苷酶 β -1,4-Xylosidase	β X	水解 1,4- β -D-木聚糖, 借此除去非还原性末端连续的 D-木糖单位, 也催化木二糖的水解	3.2.1.37	4-MUB-木糖苷 4-MUB- β -D-xyloside
纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase	CBH	水解纤维素和纤维四糖中的 1,4- β -D-糖苷键, 从链的非还原性末端释放出纤维二糖	3.2.1.91	4-MUB-纤维二糖苷 4-MUB- β -D-cellobioside
L-亮氨酸氨态酶 Leucine amino peptidase	LAP	作用于肽键, 催化 α -氨酰(基)肽水解, 生成氨基酸与低(聚)肽, 特异性为: 由猪肾、牛晶状体分离得到的酶具有广泛特异性, 催化 L-肽水解, 但对赖氨酰(基)和精氨酰(基)肽无作用, 被重金属离子激活	3.4.11.1	L-亮氨酸-7-甲基香豆素 L-Leucine-7-amino-4-me-thyl coumarin
β -1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖 苷酶 β -1, 4-N-Acetyl-glucosa-minidas e	NAG	催化壳二糖(和其他较高级类似物)和糖蛋白末端的非还原性 2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖残基	3.2.1.30	4-MUB- β -D-乙酰基氨基葡 萄糖苷 4-MUB-N-acetyl- β -D-glu-cos aminide
酸性磷酸酶 Acid phosphatase	AP	催化磷酸单酯水解, 作用于酯键, 生成醇和磷酸, 特异性广泛, 也催化磷酸基转移	3.1.3.2	4-MUB-磷酸酯 4-MUB-phosphate

1) 4-MUB, 4-甲基伞形酮酞(4-methylumbelliferyl)

采用 Excel 2007 处理数据并制表, 采用 DPS 15.10 对相关数据进行单因素方差分析、相关性分析, 采用 LSD 进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 猪粪施用量对菠菜和玉米地上部生物量的影响

在本试验猪粪施用量为 0~45 t·hm⁻² 范围内, 菠菜(茎叶)地上部生物量、玉米(籽粒+秸秆)地上部生物量均有随猪粪施用量增加而增加的趋势(表 2), 但不同年度间菠菜地上部生物量差异较大、

而玉米地上部生物量差异较小。根据试验期间菠菜、玉米地上部生物量与猪粪施用量数据, 可以求出试验期间作物地上部平均生物量与猪粪施用量的相互关系有如下结果:

$$\text{菠菜: } y_1 = 0.1464x + 4.7514 \quad R^2 = 0.6920^{**}$$

$$\text{玉米: } y_2 = 0.2813x + 9.0564 \quad R^2 = 0.8761^{**}$$

式中, y_1 、 y_2 分别为菠菜、玉米地上部生物量, x 为猪粪施用量 t·hm⁻², R^2 为决定系数, *表示 $P < 0.05$ 显著相关, **表示 $P < 0.01$ 极显著相关。

由上述分析可知,在猪粪施用量 $0\sim 45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 范围内,菠菜及玉米地上部生物量与猪粪施用量具有良好的线性关系,均随猪粪施用量的增加而增加,当猪粪施用量达 $45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时显著增加了菠菜地上部生物量,但在 $7.5\sim 30\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 范围内,

差异并不显著;而对玉米地上部生物量,在猪粪施用量 $7.5\sim 45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 范围内均可达显著增长水平,这说明增加猪粪施用量可明显提高作物地上部生物量,且在施用猪粪的最初几年内可实现稳产目标。

表 2 不同猪粪施用量对菠菜和玉米地上部生物量的影响

Table 2 Effect of pig manure application rate on shoot biomass of spinach and maize

施用量 Application rate / ($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)	菠菜地上部生物量 Shoot biomass of spinach/ ($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)					玉米地上部生物量 Shoot biomass of maize/ ($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)			
	2014	2015	2016	2017	平均	2014	2015	2016	平均
					Average				Average
0	3.69c	6.72b	2.08c	2.55b	3.76c	7.86c	8.11c	9.18c	8.38d
7.5	4.5bc	12.7ab	3.33c	5.55ab	6.52bc	9.67c	9.56c	10.45c	9.89d
15	5.96bc	13.93ab	6.59b	5.79ab	8.06b	15.37b	16.11b	15.39b	15.62c
30	6.45ab	11.21ab	10.84a	4.35b	8.21b	17.49ab	18.45b	18.5a	18.15b
45	8.87a	18.11a	10.37a	8.57a	11.48a	19.88a	21.08a	21.57a	20.84a

注: 同列不同字母间表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。Note: Different letters in the same column mean significant difference between treatments at 0.05 level. The same below.

2.2 猪粪施用量对土壤理化性质的影响

连续施用猪粪 3 年后,随猪粪施用量的增加,土壤有机质、全氮、全磷、碱解氮、有效磷、速效钾的含量均相应增加,且部分处理间差异达到显著水平,但对土壤 pH 的影响不大(表 3)。

应用回归分析方法可以求得猪粪施用量与土壤有机质、全氮、全磷及碱解氮、有效磷和速效钾含量间的相互关系,发现其变化均与猪粪施用量呈线性相关,并可用线性回归方程 $y=ax+b$ 表述(表 4)。

表 3 不同猪粪施用量对土壤基本理化性质的影响

Table 3 Effects of pig manure application rate on soil physicochemical properties

施用量 Application rate / ($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)	pH	有机质	全氮	全磷	全钾	碱解氮	有效磷	速效钾
		Organic matter / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Total N / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Total P / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Total K / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Alkalyzable N / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Available P / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Readily available K / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
0	6.65	11.47b	0.80b	0.39d	15.63a	64.00b	7.74b	251.0b
7.5	6.45	11.77b	0.84b	0.44cd	15.73a	65.00b	18.20b	280.7b
15	6.36	13.60ab	0.93ab	0.55bc	15.00a	77.30ab	32.80b	326.7ab
30	6.37	13.20ab	0.95ab	0.58b	15.73a	75.07ab	51.03b	327.3ab
45	6.58	14.60a	1.07a	0.73a	13.57a	85.47a	106.9a	411.7a

表 4 土壤理化性质变化与猪粪施用量的相互关系

Table 4 Relationships between soil physicochemical properties and pig manure application rate

项目 Item	线性回归方程 Equation of liner regression	R^2
有机质 Organic matter	$y=0.065 1x + 11.658$	0.424 8**
全氮 Total N	$y=0.005 9x + 0.8032$	0.623 0**
全磷 Total P	$y=0.007 2x + 0.3974$	0.736 7**
全钾 Total K	$y=-0.038 3x + 15.880$	0.197 9
碱解氮 Alkalyzable N	$y=0.453 4x + 64.524$	0.443 4**
有效磷 Available P	$y=2.102 7x + 2.3254$	0.701 1**
速效钾 Readily available K	$y=3.219 9x + 256.68$	0.426 7**

可见, 在红壤区土壤气候及耕作等条件下, 除土壤全钾外, 随猪粪施用量的增加, 土壤有机质及养分含量均呈现出线性增加的趋势, 说明增加有机肥施用量对提高红壤地力具有显著效果。

2.3 猪粪施用量对土壤酶活性的影响

土壤中与碳氮磷循环相关的 6 种酶的活性均随猪粪施用量的增加而呈增加趋势, 且不同处理间达到显著水平 (表 5)。

表 5 不同猪粪施用量对土壤酶活性的影响

Table 5 Effects of pig manure application rate on soil enzyme activities

施用量 Application rate ($t \cdot hm^{-2}$)	酶活性 Enzyme activity/($nmol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)					
	βG	βX	CBH	LAP	NAG	AP
0	55.03c	3.22b	10.92b	10.81c	18.68c	53.31c
7.5	67.30bc	6.70ab	15.33ab	16.79bc	25.57c	57.30bc
15	80.82abc	10.03ab	21.33ab	20.74bc	33.53bc	68.35bc
30	100.2ab	10.64ab	26.11ab	35.32ab	44.11ab	90.61a
45	105.3a	17.49a	36.63a	47.76a	55.31a	77.38ab

同样地, 应用回归分析方法可求得猪粪施用量与 6 种土壤酶活性之间的相互关系, 发现 6 种酶的

活性均与猪粪施用量呈线性相关, 并可用 $y=ax+b$ 方程表述 (表 6)。

表 6 土壤酶活性变化与猪粪施用量的相互关系

Table 6 Relationships between soil enzyme activities and pig manure application rate

项目 Item	线性回归方程 Equation of liner regression	R^2
βG	$y=1.1433x + 59.429$	0.5353**
βX	$y=0.2838x + 4.0669$	0.4234**
CBH	$y=0.5488x + 11.346$	0.5794**
LAP	$y=0.8301x + 10.098$	0.5966**
NAG	$y=0.8063x + 19.708$	0.7378**
AP	$y=0.6819x + 56.093$	0.4337**

由表 6 可以看出: 在猪粪施用量 $0\sim 45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 范围内, 红壤中与碳氮磷循环相关的酶活性随猪粪施用量的增加呈线性增长趋势, 且可达到显著增长水平, 说明增加有机肥对提高土壤酶活性有明显效果, 可以加速土壤中的碳氮磷等养分的循环过程。

2.4 猪粪施用量对土壤 C/N 及酶活性相对比值的影响

在猪粪施用量 $7.5\sim 45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 的范围内, 土壤 C/N 维持在 $8:1\sim 8.5:1$ 范围, 并无明显差异; $\beta\text{G}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 随猪粪施用量的增加而降低, 当猪粪

施用量达到 $30\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时显著降低, 之后随猪粪施用量的增加比值继续降低。 $\beta\text{G}/\text{AP}$ 随猪粪施用量的增加呈增加趋势, 但变化并不显著。 $(\text{NAG}+\text{LAP})/\text{AP}$ 随猪粪施用量的增加而增加, 且当猪粪施用量达 $45\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时达到显著增加水平 (表 7)。

2.5 土壤理化性质与酶活性的相关性

由于猪粪会带入至土壤中大量有机碳源及活性养分, 增加了酶的底物, 且酶可能会在一定程度上反映土壤肥力变化, 因此对酶活性与有机质、养分含量进行相关性分析 (表 8)。

表 7 不同猪粪施用量对土壤 C/N 及酶活性相对比值的影响

Table 7 Effects of pig manure application rate on C/N and relative ratios of soil enzyme activities

施用量 Application rate/ ($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)	C/N	$\beta\text{G}/(\text{NAG}+\text{LAP})$	$\beta\text{G}/\text{AP}$	$(\text{NAG}+\text{LAP})/\text{AP}$
0	8.37a	1.89 a	1.05a	0.56b
7.5	8.16a	1.59ab	1.18a	0.75b
15	8.51a	1.51abc	1.18a	0.80b
30	8.03a	1.26bc	1.10a	0.87b
45	8.11a	1.04c	1.35a	1.30a

表 8 土壤基本理化性质与酶活性的相关性

Table 8 Correlations between soil basic physicochemical properties and soil enzyme activities ($n=3$)

项目 Item	有机质 Organic matter	全氮 Total N	全磷 Total P	全钾 Total K	碱解氮 Alkalyzable N	有效磷 Available P	速效钾 Readily available K
βG	0.8684**	0.5507*	0.8900**	-0.5713*	0.8712**	0.8635**	0.8345**
βX	0.9320**	0.4137	0.9085**	-0.7232**	0.8885**	0.9207**	0.9075**
CBH	0.8943**	0.6218*	0.9207**	-0.7631**	0.9423**	0.9138**	0.9168**
LAP	0.8698**	0.5335*	0.8969**	-0.6074*	0.8560**	0.9312**	0.8921**
NAG	0.8777**	0.6573**	0.9724**	-0.6686**	0.8892**	0.9506**	0.8867**
AP	0.7185**	0.3620*	0.7522*	-0.3599	0.6855**	0.7079**	0.6426**

从表 8 的结果分析可知, 6 种酶均与有机质、全磷、有效态氮磷钾含量呈显著或极显著相关, 除 βX , 其余 5 种酶与全氮含量呈显著或极显著相关, 除 AP, 其余 5 种酶与全钾含量呈显著或极显著相关。其中, βG 与全磷含量, βX 、AP 与有机质含量, CBH 与碱解氮含量, LAP 与有效磷含量相关性最高。总体而言, 6 种酶活性与有机质、养分含量存在着密

切关系。

3 讨论

3.1 猪粪施用量对土壤理化性质的影响

诸多研究结果表明, 施用有机肥可明显提高土壤有机质及氮磷钾养分含量^[2, 17-18], 增强土壤中与

碳氮磷循环相关的酶活性^[9, 12]，保障作物稳产、高产。本研究通过比较分析作物地上部生物量及土壤理化性质的结果可知，猪粪施用量的不同对红壤的培肥效果有较大差异。作物地上部生物量随猪粪施用量的增加而呈线性增加的趋势，与对照相比，猪粪施用量在 7.5~45 t·hm⁻² 内，菠菜地上部生物量增加了 73%~205%，玉米地上部生物量增加了 18%~149%，这与胡留杰等^[18]报道的在 2 倍~8 倍猪粪施用量间，油麦菜产量随猪粪施用量的增加而显著增加相一致。同样，土壤有机质、全氮、全磷、碱解氮、有效磷、速效钾含量也随着猪粪施用量的增加而呈线性增加的趋势，与对照相比均有不同程度的增加，这与前人的研究结果相一致^[8, 12]。

本试验中，外源输入的猪粪中有机质及氮、磷、钾含量显著高于土壤本身的有机质及氮、磷、钾含量。Dick^[19]研究表明，35 t·hm⁻² 新鲜粪肥可提供 7~8 t 有机物质，猪粪腐熟过程由于腐殖化作用，使新鲜有机质转变为腐殖物质，这是土壤中有机质含量显著升高的主要原因。已有研究结果^[14]表明土壤全氮与有机质含量呈正相关，且全氮变异很大程度来自于有机质；由于磷素易被土壤固定，其差异主要受猪粪中的磷在土壤中累积的影响；但全钾含量变化不显著，这可能是由于施用猪粪输入的钾素含量与输出的钾素含量大致相等，输出的钾素一方面是作物地上部生物量增加使得土壤钾素被大量带走，另一方面是红壤对钾素的吸附固持作用较弱，钾素易随水淋失。对于能够被植物吸收利用的有效态氮磷钾，其养分含量随猪粪施用量增加而显著增加，这是因为猪粪含有大量有机质养分及丰富的微生物，施入土壤后在带入大量活性物质的同时也会促进有机质的激发反应，微生物生物量明显增加，生化反应速率加快，多种难以被植物吸收利用的养分活化为有效养分^[20-21]。本研究中，当猪粪施用量达到 45 t·hm⁻² 时，速效钾及有效磷含量分别较对照增加了 64%、1 281%。虽然高量猪粪会显著提高有效态养分，但应注意在施肥过程中保证适量原则，以免造成磷钾面源污染。

3.2 猪粪施用量对土壤酶活性的影响

土壤中一切生化反应均是在酶的催化作用下完成的，土壤中酶活性的高低能够反映土壤生物活性及生化反应强度。荣勤雷等^[12]通过研究化肥分别与绿肥、秸秆、猪粪及腐熟菌剂配施对土壤酶活性的

影响，结果表明不同类型的有机肥均可显著提高土壤酶活性。徐丽丽等^[13]研究结果同样表明有机肥能够显著提高土壤中碳氮磷循环相关的酶活性。本试验结果显示，不同猪粪用量对土壤酶活性影响不同，在猪粪施用量 0~45 t·hm⁻² 范围内，土壤酶活性总体表现为随猪粪施用量的增加而线性增加，原因可能为：1) 猪粪会向土壤带入大量微生物和与碳氮磷循环相关的酶，进而增加酶活性^[5, 22]；2) 猪粪可显著改善土壤理化性质，促进作物和土壤微生物生长，提高土壤酶活性；3) 猪粪为土壤提供更多、更丰富的底物^[23-24]，发挥底物诱导效应，诱导更多酶的产生；4) 猪粪可为微生物提供大量碳源，进而诱导微生物产生更多的胞外酶^[25]。

氮磷钾是植物生长必须的大量营养元素，土壤中氮磷钾的供给情况直接影响着作物的生长发育状况。土壤中的有机态氮磷钾经过复杂的生物化学反应最终转变成植物可以吸收利用的形式，均是在土壤酶催化作用下完成的。因此，不同土壤酶活性的差异也代表着土壤中养分的转化情况。本试验所测 6 种酶在一些重要有机态养分分解和释放的过程中起到关键作用，如 β G、 β X、CBH 水解葡萄糖苷、木聚糖、纤维素或含有相应糖苷键的物质，将多糖降解为单糖或二糖，为有机质彻底分解、释放能量提供保障。猪粪施用量的增加使得与碳循环相关的酶活性增加，加速了土壤碳循环，促进了土壤中能量的释放。此外，由于碱解氮中易矿化的有机态氮（如氨基酸、酰胺等）与无机态氮（如铵态氮、硝态氮等）的形成有着直接或间接的影响，且氮是酶蛋白质形成所必须的元素，因此碱解氮含量也可能成为影响参与碳循环酶活性的重要因素^[26-27]。

有机结合氮是重要的氮储存库，蛋白质、壳二糖及肽聚糖等有机氮化合物又是主要的有机氮储存库^[28]，LAP、NAG 作为催化这类物质的重要降解酶类，催化 α -酰氨（基）肽和壳二糖水解，生成氨基酸与低（聚）肽，为后续转变为植物可利用的养分形态做准备，猪粪施用量的增加使得氮循环酶活性增加，进而加速了氮循环，促进了土壤活性养分的释放。

AP 作用于酯键，催化磷酸单酯水解生成醇和磷酸，对土壤有机磷的降解有重要意义。诸多研究均表明，猪粪中含有较多的 AP，施入土壤后会增加含磷量、促进含磷化合物的分解^[13, 29]，本研究中，当

猪粪施用量增加至 $45 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时, AP 活性有一定程度的下降, 可能是因为其矿化的有机磷较多, 导致土壤中无机磷积累, 对 AP 有一定程度的抑制。在此基础上继续增加猪粪的施用量, 由于土壤中微生物的数量和活性不可能无限增加, 因而其他酶的活性亦可能会相应出现下降, 但相关规律尚待进一步验证。

不同酶活性比值可以更好地反映出环境底物的比例变化, 具有特殊的生态涵义, 因 βG 、LAP、NAG、AP 这几种酶有很大的潜在催化速率, 且其催化的底物种类丰富多样, 因此 $\beta\text{G}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 、 $\beta\text{G}/\text{AP}$ 、 $(\text{NAG}+\text{LAP})/\text{AP}$ 几种酶的比例被较多研究和讨论^[30]。Sinsabaugh 和 Shah^[30]曾分析多个地区河流底泥及土壤中的 $\beta\text{G}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 、 $\beta\text{G}/\text{AP}$, 因在河流底泥中两者有较高的比值范围而得出结论: 在河流底泥中, 微生物新陈代谢主要受碳素养分控制而非氮素及磷素。本研究结果发现, 随猪粪施用量增加 $\beta\text{G}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 、 $(\text{NAG}+\text{LAP})/\text{AP}$ 呈降低趋势, 推测微生物的生理代谢活动在低浓度猪粪施用量时受到了碳素养分的控制, 而逐渐增大猪粪施用量, 微生物代谢活动则主要受氮素养分的控制, 相关结论仍需要进一步的试验证实。

本试验中, 当猪粪施用量为 $15 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $30 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时, 土壤养分含量及酶活性等指标与猪粪施用量 $45 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时差异并不显著。尽管继续增加猪粪的施用量, 上述指标均有一定程度的增加, 但值得注意的是, 当猪粪施用量高达 $45 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时, 土壤中的有效态氮磷钾等养分与对照相比分别增加了 33%、1281%、64%, 且以有效磷含量增长幅度最大。因此, 为避免在施肥过程中氮磷钾有效养分的过量累积, 推荐第四纪红壤旱地猪粪的最佳施肥量在 $15\sim 30 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 范围内。

4 结 论

在第四纪红壤旱地连续施用猪粪 3 年, 土壤 pH 并无明显变化, 而除全钾含量无明显变化外, 土壤中的有机质、全氮、碱解氮、有效磷、速效钾含量及菠菜、玉米地上部生物量均呈现出随猪粪施用量的增加而线性增加的趋势。施用猪粪有利于南方红壤有机质及氮素、磷素的积累。土壤中的 βG 、 βX 、CBH、NAG、LAP、AP 6 种酶活性随猪粪施用量增

加也呈现线性增加趋势。由于酶活性比值可以反映土壤中环境底物的比例变化, 说明施用猪粪后可以加速土壤中的碳、氮、磷等元素的循环转化过程, 也进一步证实酶活性可以间接地反映出土壤肥力的变化。结合作物地上部生物量、土壤中养分含量及酶活性的变化情况, 在红壤旱地开展作物种植或培肥地力等生产活动所推荐的猪粪施用量为 $15 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}\sim 30 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 之间。

参考文献 (References)

- [1] Jiang C L, He Y Q, Liu X L, et al. Effect of long-term application of organic manure on structure and stability of aggregate in upland red soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47 (4): 715—722. [姜灿烂, 何园球, 刘晓利, 等. 长期施用有机肥对旱地红壤团聚体结构与稳定性的影响[J]. *土壤学报*, 2010, 47 (4): 715—722.]
- [2] Mahmood F, Khan I, Ashraf U, et al. Effects of organic and inorganic manures on maize and their residual impact on soil physico-chemical properties[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2017, 17 (1): 22—32.
- [3] Liu X Y, Wang Z Q, Zhang X Y, et al. Effects of long-term fertilization on aggregate dynamics and organic carbon and total nitrogen contents in a reddish paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33 (16): 4949—4955. [刘希玉, 王忠强, 张心昱, 等. 施肥对红壤水稻土团聚体分布及其碳氮含量的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33 (16): 4949—4955.]
- [4] Wang Y N, Zeng X B, E S Z, et al. Effects of fertilization treatments on community structure and abundance of ammonia-oxidizing bacteria in greenhouse soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31 (12): 2425—2432. [王亚男, 曾希柏, 俄胜哲, 等. 施肥对设施菜地氨氧化细菌群落和丰度的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31 (12): 2425—2432.]
- [5] Liu Z J, Rong Q L, Zhou W, et al. Effects of inorganic and organic amendment on soil chemical properties, enzyme activities, microbial community and soil quality in yellow clayey soil[J]. *PLoS One*, 2017, 12 (3): e0172767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172767>.
- [6] Maltas A, Kebli H, Oberholzer H R, et al. The effects of organic and mineral fertilizers on carbon sequestration, soil properties, and crop yields from a long-term field experiment under a Swiss conventional farming system[J]. *Land Degradation & Development*, 2018, 29 (4): 926—938.
- [7] Huang G F, Wong J W C, Wu Q T, et al. Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust[J]. *Waste Management*, 2004, 24 (8): 805—813.
- [8] Liu K L, Yu P L, Tan W G, et al. Effect of long-term application of pig manure on soil arsenic content and

- fertility of red upland and paddy soils[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(6): 1057—1062. [柳开楼, 余跑兰, 谭武贵, 等. 长期施用猪粪对红壤旱地和水稻土肥力和土壤 As 转化的影响[J]. *生态环境学报*, 2015, 24(6): 1057—1062.]
- [9] Liu G M, Zhang X C, Wang X P, et al. Soil enzymes as indicators of saline soil fertility under various soil amendments[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2017, 237: 274—279.
- [10] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2009, 462(7274): 795—798.
- [11] Allison S D, Gartner T B, Holland K, et al. Soil enzymes: Linking proteomics and ecological processes[M]//*Manual of environmental microbiology*. 3rd ed. Washington D.C.: American Society of Microbiology, 2007: 704—711.
- [12] Rong Q L, Liang G Q, Zhou W, et al. Effects of different organic fertilization on fertility and enzyme activities of yellow clayey soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(5): 1168—1177. [荣勤雷, 梁国庆, 周卫, 等. 不同有机肥对黄泥田土壤培肥效果及土壤酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(5): 1168—1177.]
- [13] Xu L L, Wang Q B, Zhang X Y, et al. Effects of applying different kind fertilizers on enzyme activities related to carbon, nitrogen, and phosphorus cycles in reddish paddy soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(4): 909—914. [徐丽丽, 王秋兵, 张心昱, 等. 不同肥料对稻田红壤碳、氮、磷循环相关酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(4): 909—914.]
- [14] Bao S D. *Soil and agricultural chemistry analysis*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. *土壤农化分析*[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [15] Qin Y N. *Biocatalyst: Enzyme catalysis manual*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015. [秦永宁. *生物催化剂: 酶催化手册*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.]
- [16] 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 L-DOPA[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(6): 1180—1186.
- [17] Song M Y, Li Z P, Liu M, et al. Effects of mixtures of different organic materials on soil nutrient content and soil biochemical characteristics[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(17): 3594—3603. [宋蒙亚, 李忠佩, 刘明, 等. 不同有机物料组合对土壤养分和生化性状的影响[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(17): 3594—3603.]
- [18] Hu L J, Liu J F, Liao D X, et al. Effects of applying pig manure on lettuce yield and nitrate content and soil nutrients[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(7): 1931—1937. [胡留杰, 刘剑飞, 廖敦秀, 等. 施用猪粪对油麦菜产量、硝酸盐含量及土壤养分的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(7): 1931—1937.]
- [19] Dick R P. A review: Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1992, 40(1/4): 25—36.
- [20] Yanardağ I H, Zornoza R, Bastida F, et al. Native soil organic matter conditions the response of microbial communities to organic inputs with different stability[J]. *Geoderma*, 2017, 295: 1—9.
- [21] Maillard É, Angers D A, Chantigny M, et al. Greater accumulation of soil organic carbon after liquid dairy manure application under cereal-forage rotation than cereal monoculture[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 233: 171—178.
- [22] Ni Z H, Xue Z Y. Changes of main enzymes activities of pig manure during composting[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(3): 406—411. [倪治华, 薛智勇. 猪粪堆制过程中主要酶活性变化[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(3): 406—411.]
- [23] Wang Y D, Hu N, Ge T D, et al. Soil aggregation regulates distributions of carbon, microbial community and enzyme activities after 23-year manure amendment[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 65—72.
- [24] He Y T, Zhang W J, Xu M G, et al. Long-term combined chemical and manure fertilizations increase soil organic carbon and total nitrogen in aggregate fractions at three typical cropland soils in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 532: 635—644.
- [25] Schimel J P, Weintraub M N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: A theoretical model[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35(4): 549—563.
- [26] Bowles T M, Acosta-Martínez V, Calderón F, et al. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 252—262.
- [27] Piotrowska A, Wilczewski E. Effects of catch crops cultivated for green manure and mineral nitrogen fertilization on soil enzyme activities and chemical properties[J]. *Geoderma*, 2012, 189/190: 72—80.
- [28] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil

- biodiversity: A review[J]. *Pedobiologia*, 2005, 49 (6): 637—644.
- [29] Tian S Y, Wang M W, Cheng Y H, et al. Long-term effects of chemical and organic amendments on red soil enzyme activities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37 (15): 4963—4972. [田善义, 王明伟, 成艳红, 等. 化肥和有机肥长期施用对红壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2017, 37 (15): 4963—4972.]
- [30] 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.

(责任编辑: 卢 萍)