

DOI: 10.11766/trxb202008100444

赵婧, 王亚男, 曾希柏, 文炯, 温云杰, 吴翠霞, 郑重. 不同改良措施对第四纪红壤酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2022, 59(4): 1160–1176.
ZHAO Jing. WANG Yanan. ZENG Xibai. WEN Jiong, WEN Yunjie, WU Cuixia, ZHENG Zhong. Effects of Different Ameliorative Measures on the Enzyme Activities of Quaternary Red Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(4): 1160–1176.

不同改良措施对第四纪红壤酶活性的影响*

赵婧¹, 王亚男^{1, 2†}, 曾希柏^{1, 2}, 文炯², 温云杰¹, 吴翠霞^{1, 2},
郑重¹

(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: 红壤是我国重要的土壤类型之一, 其耕地地力低下问题亟待解决。探究不同改良措施影响下红壤地力提升效果, 对实现中低产田可持续利用具有重要意义。本研究以湖南第四纪红黏土发育的旱地红壤为研究对象, 分析了休闲 (F)、不施肥 (CK)、单施无机肥 (NPK)、无机肥配秸秆还田 (NPKS)、无机肥配施生石灰 (NPKL)、无机肥配施骨粉有机肥 (NPKA) 和无机肥配施生物有机肥 (NPKC) 等改良措施下不同土层和改良年限土壤中 pH 及养分含量的变化, 并利用微孔板荧光法比较了土壤中碳氮磷循环相关酶活性的差异。结果表明, 不同改良措施显著影响土壤养分及酶活性。与 CK 相比, 2020 年 NPKC 处理 0~20 cm 土层中有机质 (SOM)、全氮 (TN)、全磷 (TP) 和有效磷 (AP) 含量分别提高了 73%、29%、61% 和 1 847%, 同时该处理也显著增加了参与碳循环 α -1, 4-葡糖苷酶 (α G)、 β -1, 4-葡糖苷酶 (β G)、 β -1, 4-木糖苷酶 (β X)、纤维二糖水解酶 (CBH) 和参与氮循环 β -1, 4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 活性。相关分析表明, SOM 与 α G、 β G、 β X、CBH 和 NAG 酶活性呈显著正相关 ($P < 0.01$), pH 与酸性磷酸酶 (ACP) 活性呈显著负相关 ($P < 0.01$)。改良措施对 0~20 cm 土层酶活性的影响大于 20~40 cm。2019 年, NPKA 处理 0~20 cm 土层中 CBH 酶活性较 CK 提高了 352%, 而在 20~40 cm 土层中 CBH 酶活性仅较 CK 提高了 2%。此外, 不同改良措施土壤中 ACP 酶活性也呈现出随改良年限增加而增加的趋势。综上可知, 无机肥配施有机物料显著提升红壤养分状况, 改善土壤酶活性, 可作为贫瘠红壤地力提升的有效改良措施。

关键词: 红壤; 改良措施; pH; 养分含量; 酶活性

中图分类号: S156 文献标志码: A

Effects of Different Ameliorative Measures on the Enzyme Activities of Quaternary Red Soil

ZHAO Jing¹, WANG Yanan^{1, 2†}, ZENG Xibai^{1, 2}, WEN Jiong², WEN Yunjie¹, WU Cuixia^{1, 2}, ZHENG Zhong¹

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of

* 国家自然科学基金项目 (41877061, 41671308)、中国农业科学院科技创新工程项目和中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所基本科研业务费专项 (BSRF202101) 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 (No. CAAS-ASTIP-2016-IEDA) .

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

作者简介: 赵婧 (1995—), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态与修复研究。E-mail: zhaojycah@163.com

收稿日期: 2020-08-10; 收到修改稿日期: 2021-04-05; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2021-04-19

Agricultural Environment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of P.R. China, Beijing 100081, China; 2. Yueyang Agro-Environmental Sciences Station of Chinese Agriculture Ministry and Rural Affairs, Yueyang, Hunan 414000, China)

Abstract: 【Objective】 Red soil is one of the important soil types in China. Its low fertility is a problem for agricultural output. Exploring the effect of different improvement measures on soil fertility is integral for realizing sustainable use of middle and low yield fields. 【Method】 In this study, dryland red soils derived from Quaternary red earth were collected from a field experiment in Yueyang, Hunan Province and used to measure the changes in soil pH and nutrient contents across different soil layers and years of different treatments. These treatments included fallow (F), no fertilizer control (CK), a single application of inorganic fertilizer of nitrogen, phosphate, and kalium (NPK), inorganic fertilizer combined with straw-return (NPKS), inorganic fertilizer combined with lime (NPKL), inorganic fertilizer combined with amendments of organic crushed-bones (NPKA), and inorganic fertilizer combined with commercial bio-organic fertilizer (NPKC). We also compared the activity of enzymes related to carbon, nitrogen, and phosphorus cycles in this soil using the microplate fluorescence method. 【Result】 Some treatments significantly affected soil nutrients and enzyme activities. Soil organic matter (SOM), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), and available phosphorus (AP) in the 0-20 cm soil layer treated with NPKC in 2020 increased by 73%, 29%, 61%, and 1 847%, respectively, relative to the control. This treatment also significantly increased the enzyme activities of the enzymes that participate in the carbon cycle, including α -1, 4-glucosidase (α G), β -1, 4-glucosidase (β G), β -1, 4-xylosidase (β X), and cellobiohydrolase (CBH). Also, the activity of β -1, 4-N-acetylglucosamine (NAG), which is involved in the nitrogen cycle, was increased. Correlation analysis showed that SOM was significantly positively correlated with enzyme activities of α G, β G, β X, CBH, and NAG ($P < 0.01$). Additionally, the pH value was significantly negatively correlated with acid phosphatase (ACP) activity ($P < 0.01$). The effect of improvement measures on the enzyme activity of 0–20 cm soil layer was greater than on deeper layers. In 2019, compared with the control, NPKA treatment increased CBH enzyme activity in the 0–20 cm soil layer by 352%, but only by 2% in the 20–40 cm soil layer. Besides, ACP enzyme activity in the soil also showed a trend of increasing with years of treatment. 【Conclusion】 The combination of inorganic fertilizer and organic materials can significantly improve the nutrient status and soil enzyme activity in red soils. This can be used to efficiently improve the fertility of barren red soil.

Key words: Red soil; Ameliorative measures; pH; Nutrient content; Enzymatic activity

红壤是我国亚热带地区的地带性土壤，第四纪红色黏土发育的红壤在我国南方丘陵地区分布十分广泛^[1-2]。由于亚热带地区高温多雨，岩石和矿物风化速度快，易发生脱硅富铝及淋溶作用，盐基饱和度低，因此红壤大多呈酸性，养分状况较为贫瘠^[3-4]。红壤作为我国主要的耕地土壤类型之一，常年受高强度耕作模式、不合理施肥以及自然侵蚀等作用的影响，土壤的物理结构、保水保肥性、养分供应能力等逐年变差，铝离子和重金属离子的活性增加，酸化进程加速，土壤微生物群落结构稳定性和功能性降低，土壤质量下降明显^[5]。随着我国经济飞速发展，人口数量日益增多，耕地及粮食资源紧张问题日益凸显，改善贫瘠红壤酸化状况，提高土壤肥力成为亟待解决的问题。

已有研究表明，撒施石灰、添加生物有机肥和秸秆还田等措施均可作为改良贫瘠红壤的有效措

施，可显著提升红壤 pH 及肥力状况^[6-7]。秸秆还田可以提高土壤中有机质含量，活化土壤中氮磷钾养分，从而有助于土壤肥力的提升^[8]；生物有机肥可以改善土壤中的微生物结构，活化土壤中被固定的养分从而提高土壤中有效态养分含量^[9]；而施用石灰改良酸性土的效果在国内外也广泛得到认可，石灰可以与环境中的酸形成钙盐降低酸的胁迫，还可以竞争性地与植株的 Ca 结合位点结合，从而抑制铝离子的毒害作用^[10]。但针对这些改良措施的研究多集中在土壤物理结构和养分状况的变化，对土壤微生物活性和功能变化的研究相对较少。

土壤酶作为一种具有生物催化能力的高分子蛋白质活性物质^[11]，一般被认为由土壤微生物代谢过程产生，参与土壤中碳、氮、磷、硫生物地球化学过程，对有机物的分解转化也至关重要^[12-14]。如 β -1, 4-葡糖苷酶参与纤维素的降解， β -1, 4-N-乙酰基氨

基葡萄糖酐酶参与几丁质和肽聚糖的降解,亮氨酸氨肽酶参与蛋白质水解,酸性磷酸酶可从磷酸酯和磷脂中水解磷酸盐^[15]。土壤酶活性的大小可以反映出土壤微生物活性和功能的变化,也可作为表征土壤肥力水平和养分转化的重要指标^[16-17]。已有部分研究证明了土壤改良措施可以显著影响参与土壤碳、氮、磷循环的酶活性。黄尚书等^[18]研究发现秸秆覆盖可显著增强红壤 β-葡萄糖苷酶和多酚氧化酶活性;向酸性黄红壤中施加石灰可显著提高磷酸酶的活性^[19]。可知,通过监测土壤酶活性的变化可以反映出不同改良措施对土壤养分状况的影响。还有一些研究表明,改良年限的长短也可造成土壤酶活性变化程度的差异^[20]。但目前系统分析不同改良措施影响下贫瘠红壤酶活性与土壤养分的变化及其相互关系的研究还较少,且随改良时间的逐年增加,土壤酶活性的变化特征也不清楚。

本研究选取农业农村部岳阳农业环境科学观测试验站第四纪红黏土发育的红壤为研究对象,设置不同改良措施处理的长期定位试验,连续两年采样,开展以下四方面研究:(1)分析不同改良措施对红壤旱地 pH 及土壤养分状况的影响;(2)明确土壤酶活性对改良措施的响应;(3)探究土壤酶活性与养分之间的关系;(4)分析连续两年改良土壤中酶活性的变化规律。通过以上研究,以期从土壤酶活性角度揭示红壤改良措施影响地力提升的关键作用,筛选出用于红壤可持续利用的有效改良措施,为我国中低产田旱地地力提升研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本试验依托于农业农村部岳阳农业环境科学观测试验站,位于湖南省岳阳市麻塘镇(29°23'N, 113°06'E),该地区属湿润的大陆性季风气候,年均气温为 17 °C,年降雨量为 1 400 mm。本研究基于试验站中的低产红壤旱地改良长期定位试验,建于 2012 年,2016 年开始种植作物。种植作物前施用肥料及改良剂,种植模式为玉米(5—8 月)-休闲(8—10 月)-油菜(10—5 月)轮作。试验共设置 7 个处理:(1)F(休闲,不施肥不种作物,每年定期将杂草移除);(2)CK(不施肥,种植作物);(3)NPK(施 NPK 肥);(4)NPKA(施 NPK 肥及骨粉有机肥);(5)NPKL(施 NPK 肥及生石灰);(6)NPKS(施 NPK 肥及小区内上季作物秸秆直接还田);(7)NPKC(施 NPK 肥及九业生物有机肥),具体施用量如表 1 所示。其中,氮肥为尿素,磷肥为钙镁磷肥,钾肥为氯化钾。每个处理设 3 个重复小区,长 8 m,宽 3.5 m,面积为 28 m²,随机区组排列,具体分布如图 1 所示。

1.2 样品采集

分别于 2019 年 5 月和 2020 年 5 月油菜收获后取土,分析改良措施影响下连续两年土壤养分及酶活性变化,比较改良年限对酶活性的影响。利用五点取样法采集 7 种处理小区内 0~20 cm、20~40 cm 的土样,混匀后四分法取 1 kg 左右土样,去除动植

表 1 改良剂施用量及参考标准

Table 1 Dosage of improver applied and reference standard

| 处理 Treatments | 氮肥 N (kg·hm ⁻²) | 磷肥 P ₂ O ₅ (kg·hm ⁻²) | 钾肥 K ₂ O (kg·hm ⁻²) | 改良措施 Ameliorative measure | 主要成分 Main components |
|------------------|--------------------------------|---|--|---|--|
| F | — | — | — | — | — |
| CK | — | — | — | — | — |
| NPK | 325 | 525 | 75 | — | — |
| NPKA | 325 | 525 | 75 | 2 250 kg·hm ⁻² 骨粉有机肥 ^[21] | 2.37% N, 3.89% P ₂ O ₅ , 2.40% K ₂ O, 26.2% C |
| NPKL | 325 | 525 | 75 | 1 125 kg·hm ⁻² 生石灰 ^[22] | — |
| NPKS | 325 | 525 | 75 | 2 250 kg·hm ⁻² 上季作物秸秆 ^[21] | 1.00% N, 0.21% P ₂ O ₅ , 1.39% K ₂ O, 52.5% C |
| NPKC | 325 | 525 | 75 | 2 250 kg·hm ⁻² 九业生物有机肥 ^[21] | 1.52% N, 1.25% P ₂ O ₅ , 6.18% K ₂ O, 27.0% C |

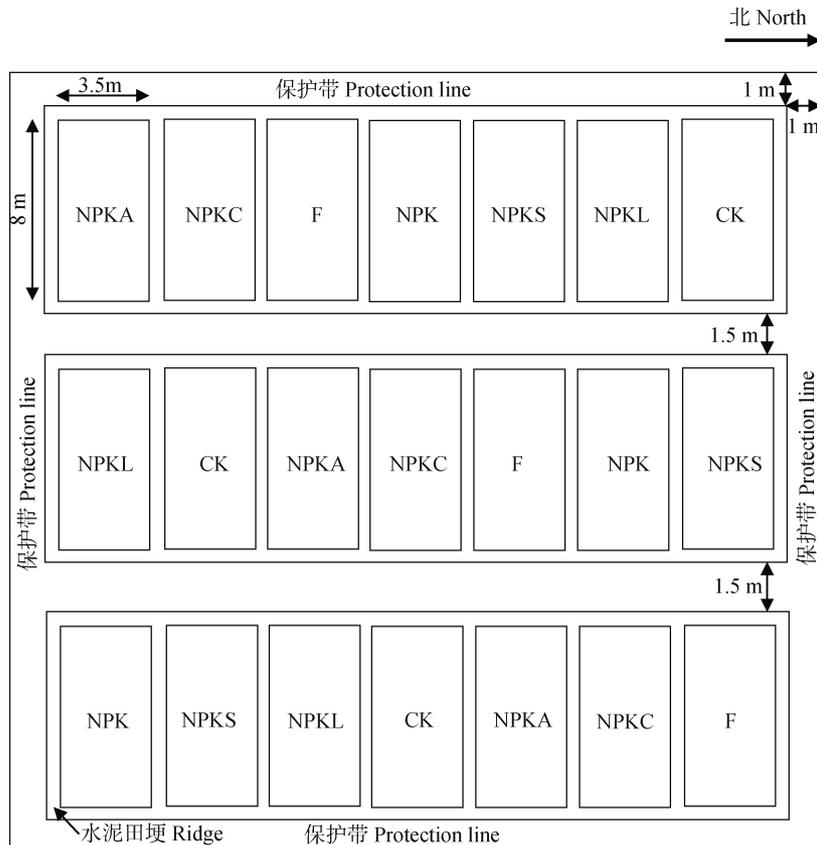


图 1 小区分布示意图

Fig. 1 Diagram of the experimental plot

物残体、石块及其他废弃物。一部分土壤样品过 2 mm 筛，置于 4 °C 冰箱保存，一周内完成土壤酶活性、硝态氮和铵态氮含量的测定。另一部分土壤风干、过筛用于土壤基本理化性质的测定。

1.3 测定方法

将风干土过 2 mm 尼龙筛后测定土壤 pH、阳离子交换量，过 1 mm 尼龙筛后测定碱解氮、速效钾，过 0.85 mm 尼龙筛后测定有效磷，过 0.15 mm 尼龙筛后测定土壤有机质、全氮、全磷和全钾等理化性质，所有指标的测定方法均参考《土壤农化分析》^[23]。用 25 mL 2 mol·L⁻¹ KCl 溶液在 25 °C 下以 200 r·min⁻¹ 的转速浸提 5.0 g 土壤中的硝态氮和铵态氮，浸提液在流动分析仪上检测。

对研究土壤中碳氮磷循环有关的 α -1, 4-葡糖苷酶 (α G)、 β -1, 4-葡糖苷酶 (β G)、 β -1, 4-木糖苷酶 (β X)、纤维二糖水解酶 (CBH)、亮氨酸氨态酶 (LAP)、 β -1, 4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 和酸性磷酸酶 (ACP) 以及参与氧化还原过程的多酚

氧化酶 (POX) 和过氧化物酶 (PER) 活性进行测定，表 2 为本研究测定酶种类及底物列表^[24]。其中，水解酶活性的测定采用改进的微孔板荧光法^[25-26]，方法为：称相当于 1.000 g 干土的鲜土于 100 mL 洁净的离心管中，向离心管中加入 50 mL 超纯水，涡旋仪上充分混匀后置于摇床中，在 180 r·min⁻¹ 的转速下震荡 30 min。震荡结束，将所有溶液转移至 500 mL 烧杯中，并用 50 mL 超纯水冲洗离心管及管盖，在磁力搅拌器的搅拌下向微孔板中加样。每个样品孔、空白孔及淬灭标准孔中均加入 200 μ L 土壤悬浮液，阴性对照孔及参考标准孔中则加入 200 μ L 超纯水。然后，样品孔和阴性对照孔中分别加入 50 μ L 底物，参考标准孔和淬灭标准孔中加入 50 μ L 标准物质 (10 μ M 的 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) 或 4-methylumbelliferone (MUB))，空白孔中加入 50 μ L 超纯水，每个孔均设 8 个重复。将加好样的微孔板封口后在 25 °C 下避光孵育 4 h。测定前，向每个孔中加入 10 mL 1.0 mol·L⁻¹ 的 NaOH 终止反应，在激发

光波长为 365 nm、发射光波长为 450 nm 的条件下测定。氧化还原酶采用无色透明酶标板在分光光度计下测定^[27]，转移悬浮液的方法步骤同上，但不需要添加参考标准孔和淬灭标准孔，每个孔仍为 8 个重复。微孔板封口后在 25 °C 下避光孵育 24 h，在

450 nm 波长下测定。土壤酶活性[nmol (g·h)⁻¹]以单位时间内每克土样转化底物的 nmol 数表示。

1.4 数据处理

微孔板荧光法测定土壤酶活性计算公式如下。水解酶活性计算公式：

$$\text{酶活性}(\text{nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{净荧光值} \times 100 \text{ mL}}{\text{激发系数} \times 0.2 \text{ mL} \times \text{时间}(\text{h}) \times \text{土重}(\text{g})} \quad (1)$$

$$\text{净荧光值}(\text{flour}) = \left(\frac{\text{样品荧光} - \text{样品对照}}{\text{淬灭系数}} \right) - \text{底物对照} \quad (2)$$

$$\text{激发系数}(\text{flour} \cdot \text{nmol}^{-1}) = \frac{\text{标准荧光}}{0.5 \text{ nmol}} \quad (3)$$

$$\text{淬灭系数} = \frac{\text{标准对照} - \text{样品对照}}{\text{标准荧光}} \quad (4)$$

氧化还原酶活性计算公式：

$$\text{酶活性}(\text{nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{冷吸光值} \times 100 \text{ mL}}{7.9 \mu\text{mol} \times 0.2 \text{ mL} \times \text{时间}(\text{h}) \times \text{土重}(\text{g})} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{净吸光值} = \text{样品吸光值} - \text{底物对照} - \text{样品对照} \quad (6)$$

土壤酶化学计量的向量长度 (Vector length) 和向量角度 (Vector angle) 计算公式：

$$\text{向量长度}(\text{Vector length}) = \left\{ \left[\frac{\text{LN}(\beta\text{G})}{\text{LN}(\text{NAG} + \text{LAP})} \right] - \left[\frac{\text{LN}(\beta\text{G})}{\text{LN}(\text{ACP})} \right]^2 \right\}^{0.5} \quad (7)$$

$$\text{向量角度}(\text{Vector angle}) = \text{Degrees} \left\{ \text{ATAN2} \left[\frac{\text{LN}(\beta\text{G})}{\text{LN}(\text{ACP})}, \frac{\text{LN}(\beta\text{G})}{\text{LN}(\text{NAG} + \text{LAP})} \right] \right\} \quad (8)$$

式中，向量长度 (Vector length) 越长，代表土壤养分循环受碳限制越强。向量角度 (Vector angle) < 45° 和向量角度 (Vector angle) > 45° 分别表示土壤养分循环有较强的氮限制和磷限制^[28]，向量角度 (Vector angle) = 45° 表示土壤养分循环受氮磷养分的限制效果相同^[29]。

利用 SPSS 24.0 单因素方差分析 (one-way ANOVA) 分析比较不同处理 pH 及养分含量差异，

多元方差分析比较处理、年际和土层及其交互作用对酶活性的影响，独立样本 T 检验比较 2019 年和 2020 年酶活性的差异，Pearson 相关分析确定土壤酶活性与 pH、养分含量之间的联系性，显著性水平均设为 $P < 0.05$ 。土壤酶活性变化柱状图由 Microsoft Excel 绘制，酶活性与养分指标之间的关系由 Canoco 5 软件绘制冗余分析图 (Redundancy analysis, RDA) 来展示。

表 2 所测土壤酶列表

Table 2 List of soil enzymes tested

| 酶 Enzyme | 涉及过程 Process involved | EC | 底物 Substrate |
|--|--------------------------|----------|----------------------------|
| α -1, 4-葡萄糖苷酶 α -1, 4-Glucosidase (α G) | 碳循环 | 3.2.1.20 | 4-MUB- α -D-葡萄糖苷 |
| β -1, 4-葡萄糖苷酶 β -1, 4-Glucosidase (β G) | 碳循环 | 3.2.1.21 | 4-MUB- β -D 葡萄糖苷 |
| β -1, 4-木糖苷酶 β -1, 4-Xylosidase (β X) | 碳循环 | 3.2.1.37 | 4-MUB-木糖苷 |
| 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase (CBH) | 碳循环 | 3.2.1.91 | 4-MUB-纤维二糖苷 |
| 亮氨酸氨肽酶 Leucine amino-peptidase (LAP) | 氮循环 | 3.4.11.1 | L-亮氨酸-7-甲基香豆素 |
| β -1, 4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β -1, 4-N-acetyl-glucosaminidase (NAG) | 氮循环 | 3.2.1.30 | 4-MUB- β -D-乙酰氨基葡萄糖苷 |
| 酸性磷酸酶 Acid phosphatase (ACP) | 磷循环 | 3.1.3.2 | 4-MUB-磷酸酯 |
| 多酚氧化酶 Phenol oxidase (POX) | 氧化还原 | 1.10.3.2 | L-3, 4-二羟基苯丙氨酸 |
| 过氧化物酶 Peroxidase (PER) | 氧化还原 | 1.11.1.7 | L-3, 4-二羟基苯丙氨酸 |

2 结 果

2.1 不同改良措施下红壤 pH 及养分含量变化

表 3 和表 4 分别为 2019 年和 2020 年不同改良措施下红壤 pH 和养分含量的变化。可以看出，不同改良措施对 20~40 cm 土层 pH 及养分含量的影响不显著，因此接下来主要对不同改良措施对 0~20 cm 土层 pH 及养分含量的影响进行分析。0~20 cm 土层，无机肥配施生石灰 (NPKL) 改良后，土壤 pH 显著提高。无机肥配施其他改良剂 (NPKA、NPKC 和 NPKS) 后，土壤有机质、全氮、全磷和有效磷含量显著高于 CK。其中，NPKC 处理 2019 年土壤有机质、全氮、全磷和有效磷含量分别较 CK 提高了 46%、6%、35%和 957%，2020 年分别提高了 73%、29%、61%和 1 847%。连续两年改良后，土壤有机质含量均以 NPKA 处理中最高，分别为 10.51 g·kg⁻¹ 和 12.00 g·kg⁻¹。

多元方差分析比较处理、年际和土层及其交互作用对 pH 及养分含量的影响结果如表 5 所示。从表中可以看出，处理与年际的交互以及处理、年际和土层三者交互对红壤 pH 及养分含量并无显著影响。处理、土层以及两者的交互作用可显著影响红壤中有机质、全氮、全磷、碱解氮和有效磷的含量 ($P < 0.05$)，而年际仅对全氮和碱解氮含量影响显著 ($P < 0.05$)。这说明处理和土层对红壤 pH 及养分含

量变化的影响程度大于年际。

2.2 不同改良措施对红壤酶活性的影响

图 2 是 2019 年和 2020 年两土层土壤酶活性的变化。在 0~20 cm 土层，NPKL 中 α G、 β G、 β X 和 CBH 等碳循环酶活性显著低于 NPK，氮循环 LAP 酶活性显著高于其他处理，磷循环 ACP 酶活性显著降低。NPKS 中，碳循环 α G、 β G、 β X 和 CBH 酶，氮循环 NAG 酶和磷循环 ACP 酶活性均显著高于 CK，其中 CBH 酶活性为 CK 的 5.58 倍 (2019 年) 和 4.93 倍 (2020 年)。NPK、NPKA 和 NPKC 处理均可显著提升土壤中碳循环 α G、 β G、 β X 和 CBH 酶活性，NPKA 和 NPKC 还可提高土壤中氮循环 NAG 酶活性。

比较两土层酶活性发现，2019 年 0~20 cm 土层 NPKA 和 NPKC 处理中 CBH 酶活性分别较 CK 提高了 352%和 142%，而在 20~40 cm 土层其 CBH 酶活性仅分别较 CK 提高了 2%和 29%。表 6 结果进一步证实处理、土层、年际及其交互作用均可显著影响土壤中碳氮磷循环有关酶活性 ($P < 0.05$)。将两年土壤酶活性进行独立性 T 检验发现，两年土壤中 ACP 酶活性差异显著 ($P < 0.05$)，随改良年限的增加，土壤 ACP 酶活性显著增加。综上所述可知，土壤酶活性对不同改良措施的响应不同，不同改良措施对 0~20 cm 土层的改良效果优于 20~40 cm 土层，且随改良时间的增加，改良效果逐渐显著。

表 3 2019 年不同改良措施下红壤的 pH 和养分含量

Table 3 pH and nutrient content of red soil under different improvement measures in 2019

| 处理 | pH | 有机质 SOM (g·kg ⁻¹) | 全氮 TN (g·kg ⁻¹) | 全磷 TP (g·kg ⁻¹) | 全钾 TK (g·kg ⁻¹) | 碱解氮 AN (mg·kg ⁻¹) | 有效磷 AP (mg·kg ⁻¹) | 速效钾 AK (mg·kg ⁻¹) | 阳离子交换量 CEC (cmol·kg ⁻¹) | 硝态氮 NO ₃ ⁻ -N (mg·kg ⁻¹) | 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (mg·kg ⁻¹) |
|----------|-------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|--|--|
| 0~20 cm | | | | | | | | | | | |
| CK | 5.35b | 6.42bc | 0.76ab | 0.32b | 16.6a | 48c | 0.2d | 166.28a | 16.7a | 0.82bc | 2.36b |
| F | 5.20b | 5.00c | 0.68b | 0.30b | 15.9ab | 45c | 0.3d | 135.09a | 15.8a | 0.16c | 2.13b |
| NPK | 5.03b | 6.56bc | 0.71ab | 0.37ab | 16.0ab | 54bc | 0.8bcd | 153.83a | 15.8a | 1.50ab | 3.13ab |
| NPKA | 5.28b | 10.51a | 0.92a | 0.46a | 16.3ab | 72a | 2.0ab | 155.90a | 15.8a | 1.93a | 3.45ab |
| NPKL | 6.31a | 6.41bc | 0.69b | 0.37ab | 16.6a | 53bc | 0.6cd | 168.46a | 15.7a | 0.73bc | 5.35a |
| NPKS | 5.01b | 9.50ab | 0.88ab | 0.42a | 15.6ab | 65ab | 1.6abc | 228.44a | 15.9a | 2.16a | 3.40ab |
| NPKC | 5.31b | 9.34ab | 0.81ab | 0.43a | 15.5b | 71a | 2.2a | 188.97a | 15.9a | 1.59ab | 2.86ab |
| 20~40 cm | | | | | | | | | | | |
| CK | 5.00a | 4.30a | 0.71ab | 0.30a | 16.3a | 43a | 0.2c | 113.10a | 16.7a | 0.38b | 2.48a |
| F | 5.43a | 5.19a | 0.70ab | 0.29a | 15.8a | 44a | 0.3c | 148.45a | 16.4a | 1.27ab | 1.96a |
| NPK | 5.17a | 7.35a | 0.77a | 0.37a | 15.7a | 58a | 0.6a | 133.03a | 16.5a | 2.51a | 2.62a |
| NPKA | 5.08a | 4.75a | 0.67ab | 0.32a | 15.8a | 46a | 0.3bc | 144.30a | 16.6a | 0.54b | 2.30a |
| NPKL | 5.75a | 5.61a | 0.64ab | 0.33a | 16.4a | 50a | 0.6a | 151.09a | 16.5a | 1.49ab | 2.07a |
| NPKS | 5.30a | 4.90a | 0.63ab | 0.30a | 15.6a | 45a | 0.5abc | 144.49a | 15.5a | 1.76ab | 2.17a |
| NPKC | 5.22a | 5.03a | 0.60b | 0.29a | 15.6a | 45a | 0.4abc | 133.73a | 16.1a | 0.89ab | 2.35a |

注：同一土层的同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: Different lowercase letters after data in the same column in the same soil layer indicate significant differences between processes ($P < 0.05$). The same below.

表 4 2020 年不同改良措施下红壤的 pH 和养分含量

Table 4 pH and nutrient content of red soil under different improvement measures in 2020

| 处理 Treatments | pH | 有机质 SOM (g·kg ⁻¹) | 全氮 TN (g·kg ⁻¹) | 全磷 TP (g·kg ⁻¹) | 全钾 TK (g·kg ⁻¹) | 碱解氮 AN (mg·kg ⁻¹) | 有效磷 AP (mg·kg ⁻¹) | 速效钾 AK (mg·kg ⁻¹) | 阳离子交换量 CEC (cmol·kg ⁻¹) | 硝态氮 NO ₃ ⁻ -N (mg·kg ⁻¹) | 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (mg·kg ⁻¹) |
|----------------------|--------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|--|--|
| | | | | | | | | | | | |
| CK | 5.20b | 6.84cd | 0.83cd | 0.33c | 15.5a | 47bc | 0.13c | 111.00b | 15.5a | 2.95a | 1.85a |
| F | 5.12bc | 4.89d | 0.75d | 0.30c | 14.9a | 37c | 0.04c | 133.67ab | 16.9a | 1.83b | 1.30a |
| NPK | 4.81c | 8.07bc | 0.85cd | 0.44b | 15.3a | 62ab | 1.10bc | 185.33ab | 16.1a | 3.86a | 0.92a |
| NPKA | 4.99bc | 12.00a | 1.11a | 0.46ab | 15.3a | 68a | 1.57ab | 117.67b | 16.6a | 3.89a | 2.77a |
| NPKL | 7.00a | 10.14ab | 0.97abc | 0.49ab | 15.5a | 60ab | 1.50ab | 187.67ab | 15.2a | 3.05a | 0.95a |
| NPKS | 4.89bc | 9.39abc | 0.95bc | 0.45ab | 15.4a | 62ab | 1.67ab | 213.33a | 15.5a | 3.45a | 1.04a |
| NPKC | 5.12bc | 11.81a | 1.07ab | 0.54a | 15.3a | 63ab | 2.45a | 176.33ab | 16.9a | 3.91a | 1.60a |
| ————— 20~40 cm ————— | | | | | | | | | | | |
| CK | 4.94b | 5.04a | 0.76a | 0.30a | 15.6a | 38a | 0.06a | 101.67a | 17.4a | 2.15a | 1.21a |
| F | 4.98ab | 3.45a | 0.67a | 0.27a | 15.0a | 33a | 0.15a | 107.33a | 19.3a | 2.36a | 1.21a |
| NPK | 5.02ab | 4.76a | 0.70a | 0.29a | 15.7a | 45a | 0.09a | 105.00a | 18.1a | 5.07a | 1.35a |
| NPKA | 5.10ab | 4.43a | 0.71a | 0.29a | 15.3a | 40a | 0.18a | 96.67a | 18.9a | 2.69a | 1.65a |
| NPKL | 5.57a | 5.75a | 0.73a | 0.32a | 14.7a | 47a | 0.46a | 94.00a | 17.4a | 4.32a | 1.31a |
| NPKS | 5.13ab | 4.63a | 0.69a | 0.31a | 15.7a | 38a | 0.11a | 103.00a | 18.4a | 3.72a | 1.83a |
| NPKC | 5.4ab | 4.57a | 0.72a | 0.30a | 14.7a | 37a | 0.06a | 84.33a | 19.3a | 2.92a | 1.55a |

表 5 多元方差分析比较处理、年际和土层及其交互作用对 pH 及养分含量的影响

Table 5 MANOVA analysis was used to compare the effects of treatments, interannual and soil layers and their interactions on pH and nutrient contents

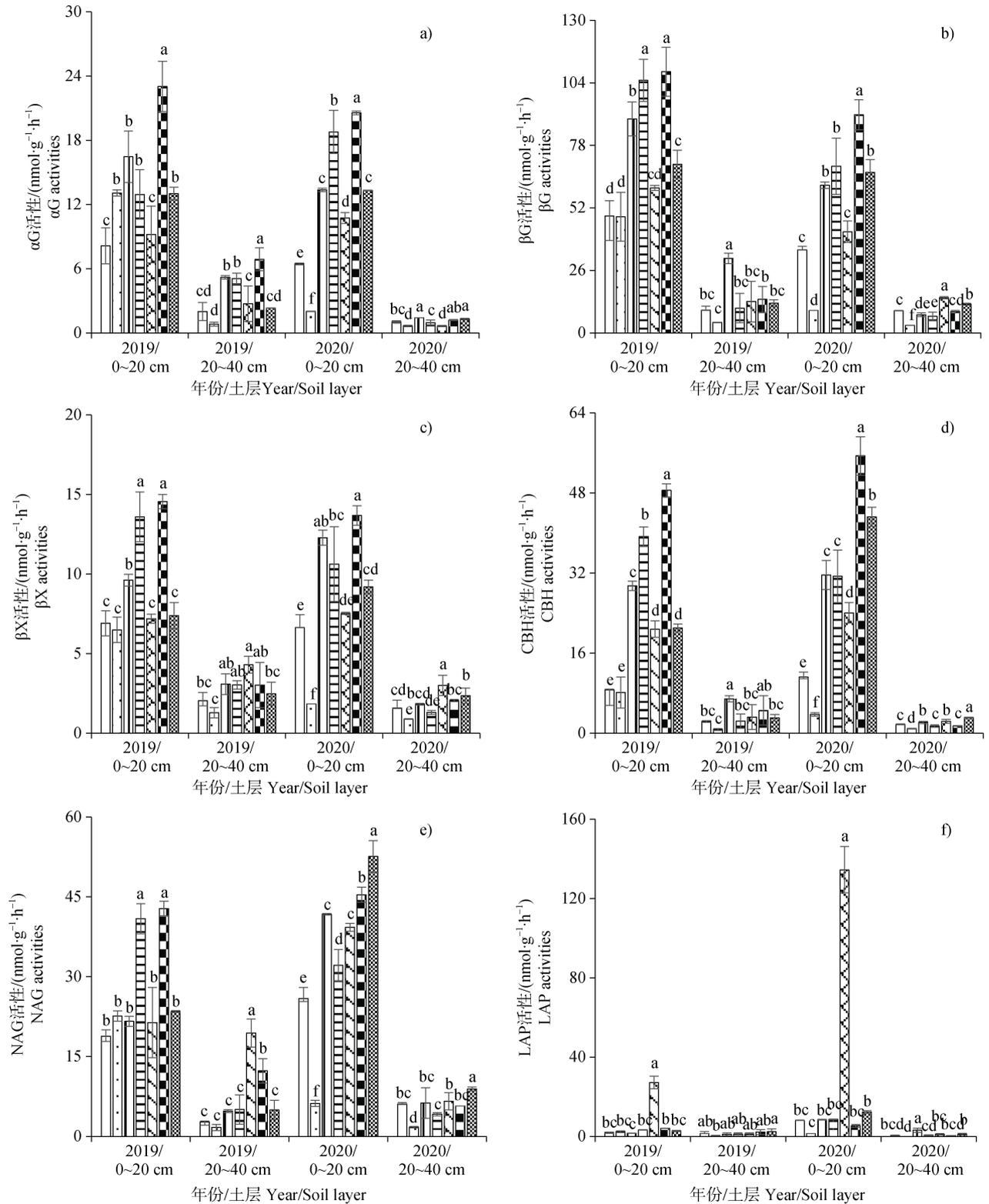
| | pH | 有机质 SOM | 全氮 TN | 全磷 TP | 全钾 TK | 碱解氮 AN |
|---|-----------|------------|----------------|--|--|-----------|
| 处理 Treatments | 15.905** | 4.775** | 3.521** | 8.103** | 1.233 | 5.059** |
| 土层 Soil layer | 1.917 | 70.205** | 78.669** | 101.633** | 0.605 | 45.853** |
| 年际 Year | 1.128 | 0.757 | 27.555** | 2.502 | 17.212** | 4.085* |
| 处理×土层 Treatments × Soil layer | 4.683** | 4.857** | 6.322** | 5.9** | 0.249 | 3.477* |
| 处理×年际 Treatments × Year | 0.731 | 0.847 | 2.055 | 1.317 | 0.962 | 0.47 |
| 土层×年际 Soil layer × Year | 0.149 | 6.098* | 10.116** | 9.276** | 0.14 | 2.307 |
| 处理×土层×年际 Treatments × Soil layer × Year | 1.218 | 0.615 | 0.661 | 1.164 | 0.4 | 0.423 |
| | 有效磷 AP | 速效钾 AK | 阳离子交 换量 CEC | 硝态氮 NO ₃ ⁻ -N | 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N | |
| 处理 Treatments | 9.15** | 1.794 | 0.77 | 5.248** | 0.957 | |
| 土层 Soil layer | 67.902** | 25.283** | 18.915** | 0.005 | 4.86* | |
| 年际 Year | 0.507 | 6.997* | 13.342** | 93.49** | 32.232** | |
| 处理×土层 Treatments × Soil layer | 8.458** | 1.654 | 0.071 | 3.072* | 0.851 | |
| 处理×年际 Treatments × Year | 0.627 | 0.324 | 1.144 | 0.594 | 1.245 | |
| 土层×年际 Soil layer × Year | 2.903 | 2.407 | 9.872** | 0.012 | 4.016 | |
| 处理×土层×年际 Treatments × Soil layer × Year | 0.736 | 0.609 | 0.166 | 0.178 | 1.511 | |

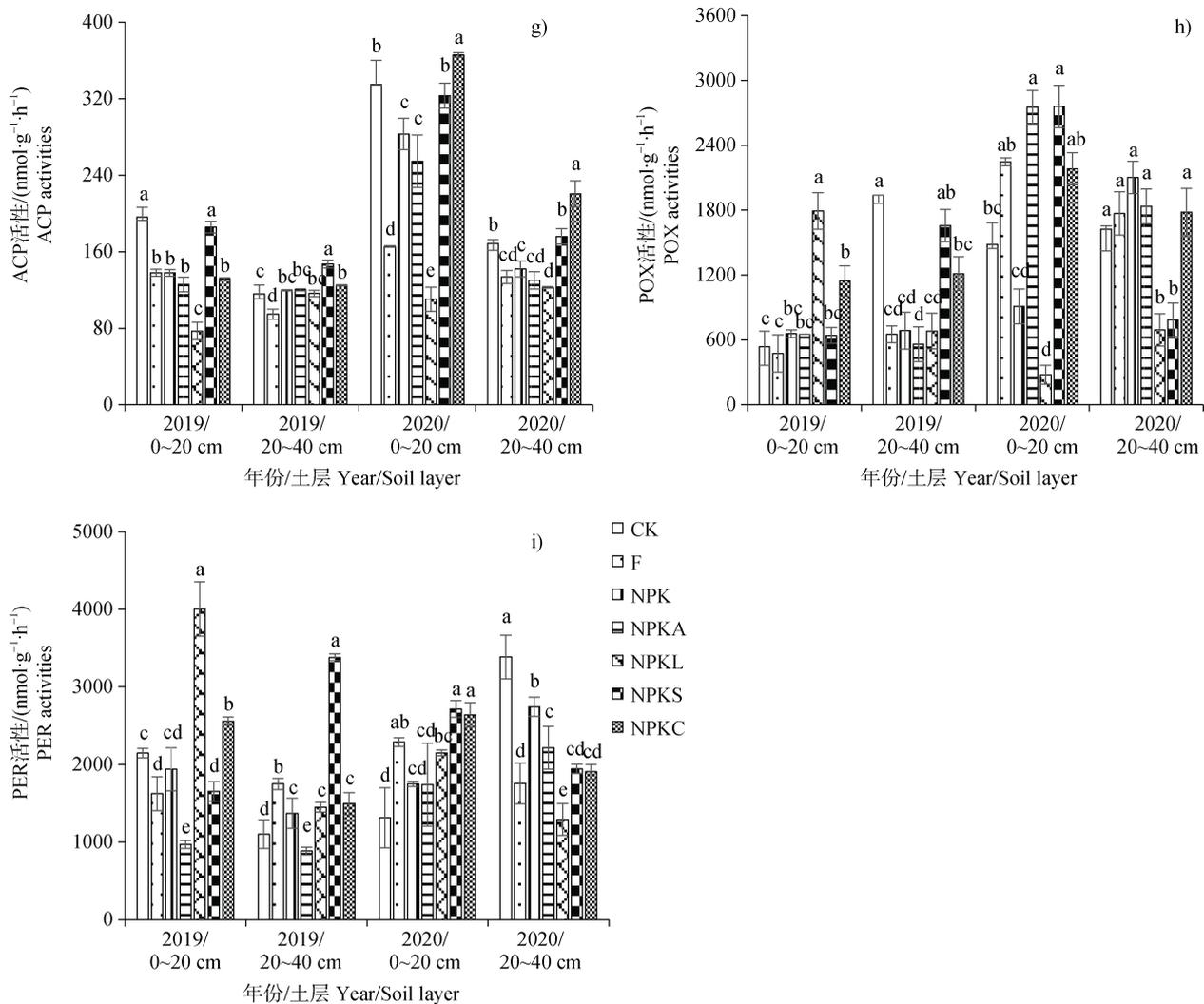
注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。下同。 Note: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. The same below.

表 6 多元方差分析比较处理、年际和土层及其交互作用对红壤酶活性的影响

Table 6 MANOVA analysis was used to compare the effects of treatments, interannual and soil layers and their interactions on soil enzyme activities

| | α G | β G | β X | CBH | NAG |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|
| 处理 Treatments | 91.168** | 81.965** | 73.69** | 232.266** | 111.002** |
| 土层 Soil layer | 1828.205** | 2123.948** | 1663.977** | 3570.239** | 3069.791** |
| 年际 Year | 66.922** | 134.209** | 19.089** | 6.621* | 41.98** |
| 处理×土层 Treatments × Soil layer | 38.832** | 59.732** | 54.078** | 198.269** | 53.949** |
| 处理×年际 Treatments × Year | 13.023** | 7.608** | 9.043** | 21.326** | 55.627** |
| 土层×年际 Soil layer × Year | 4.259* | 58.211** | 0.966 | 37.388** | 102.575** |
| 处理×土层×年际 Treatments × Soil layer × Year | 22.771** | 4.673** | 8.704** | 20.232** | 53.952** |
| | LAP | ACP | POX | PER | |
| 处理 Treatments | 435.442** | 187.955** | 4.403** | 28.046** | |
| 土层 Soil layer | 797.099** | 828.909** | 0.182 | 20.782** | |
| 年际 Year | 327.786** | 1243.424** | 62.161** | 32.3** | |
| 处理×土层 Treatments × Soil layer | 433.31** | 65.031** | 4.761** | 49.451** | |
| 处理×年际 Treatments × Year | 201.285** | 64.381** | 11.279** | 33.637** | |
| 土层×年际 Soil layer × Year | 360.138** | 359.651** | 7.776** | 44.109** | |
| 处理×土层×年际 Treatments × Soil layer × Year | 198.386** | 22.473** | 10.17** | 60.118** | |





注：同一年同一土层柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Different lowercase letters on the same soil column in the same year indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

图 2 2019 年和 2020 年两个土层土壤酶活性的变化
Fig. 2 Changes in the activity of soil enzymes in two soil layers in 2019 and 2020

2.3 不同改良措施对红壤酶活性化学计量的影响

表 7 为不同改良措施对红壤酶活性化学计量的影响。根据酶活性化学计量的向量长度和向量角度可知, 各处理土壤均受到碳养分和磷养分的限制, 2019 年 0~20 cm 土层 NPK 受碳养分和磷养分的限制程度显著大于添加改良剂的处理 (NPKA、NPKL、NPKS、NPKC), 但其受磷养分的限制程度显著小于 CK; 2020 年 0~20 cm 土层中, NPKA 和 NPKS 受碳素的限制程度较高, NPKL 受氮素限制, NPK、NPKA、NPKS、NPKC、F 和 CK 均受磷素的限制, 且 F 中磷素限制最大。20~40 cm 土层仍以 F 受磷素限制最大, 相比于 2019 年, 2020 年添加改良剂

的处理 (NPKA、NPKL、NPKS、NPKC) 中碳素和磷素养分的限制程度显著大于 NPK 处理, 小于 CK 和 F 处理, 说明施用改良剂后可以有效激活土壤 0~20 cm 土层的养分, 但由于贫瘠红壤养分亏缺严重, 连续 3~4 a 改良还不足以有效促进 20~40 cm 土层养分状况的改善。

2.4 土壤酶活性与土壤养分含量的关系

(1) 土壤酶活性与土壤养分含量的 RDA 分析。图 3a 和图 3b 分别为 0~20 cm 和 20~40 cm 土层养分含量与土壤酶活性的冗余分析结果, 探究影响土壤酶活性变化的关键因子。图 3a 中解释变量可解释模型的 52.48% ($P < 0.05$)。从图中可以看出, 0~

20 cm 土层 NPKA、NPKS 和 NPKC 明显聚类且主要受土壤 SOM (18.4%, $F=9.0$, $P=0.002$)、TP (22.3%, $F=11.5$, $P=0.002$)、AN (19.2%, $F=9.5$, $P=0.002$) 等养分含量的影响, CK 和 F 聚类, 受土壤养分含量的影响较小, NPKL 处理酶活性单独聚类主要受土壤 pH 变化的影响 (20.8%, $F=14.3$, $P=0.002$)。图 3b 中解释变量可解释模型的 28.09% ($P < 0.05$)。从图中可以看出, 20~40 cm 土层各处理没有单独聚类, 表明不同改良措施对该土层酶活性影响不显著。由 RDA 分析结果可知, 不同改良措施对红壤 0~20 cm 土层中酶活性的影响更显著, 添加石灰显著提高土壤的 pH 进而提高土壤中 LAP 活性, 而其他改良措施则通过改变土壤养分状况来影响土壤酶活性。

(2) 土壤酶活性与土壤养分含量的相关性。表 8 是 0~20 cm、20~40 cm 土层酶活性与土壤养分含量的相关性分析, 明确酶活性变化及土壤养分含量之间的相互关系。从表中可以看出, 0~20 cm 土层, αG 、 βG 、 βX 、CBH、NAG 与 SOM、TP、AN、AP 呈极显著正相关 ($P < 0.01$), ACP 和 POX 与

NO_3^-N 极显著正相关 ($P < 0.01$), LAP、ACP 和 PER 与 pH 呈极显著 ($P < 0.01$) 或显著相关 ($P < 0.05$)。与 0~20 cm 土层相比, 20~40 cm 土层仅 βG 和 CBH 活性与 SOM、TP、AN、AP 呈极显著正相关 ($P < 0.01$), LAP 活性只与 AN 具有显著相关性 ($P < 0.05$), ACP 和 POX 与 AP 呈显著负相关 ($P < 0.05$)。两土层中碳循环 βG 和 CBH 酶连续两年均表现出主要受 SOM、TP、AN 和 AP 的影响, pH 对其影响不显著。

3 讨 论

3.1 不同改良措施对红壤养分的影响

通过对比休闲 (F)、不施肥 (CK)、单施无机肥 (NPK)、无机肥配秸秆还田 (NPKS)、无机肥配施生石灰 (NPKL)、无机肥配施骨粉有机肥 (NPKA) 和无机肥配施生物有机肥 (NPKC) 等改良措施对红壤肥力的改良效果发现, 与 CK 相比, 不同改良措施对红壤 20~40 cm 土层 pH 及养分含量的影响并不显著, 但却显著提高了贫瘠红壤 0~20 cm 土层有机质、全氮、全磷和有效磷的含量, 且以 NPKA 和

表 7 不同改良措施对红壤酶活性化学计量的影响

Table 7 Effects of different improvement measures on the stoichiometry of enzyme activity of red soil

| 土层 Soil layer | 处理 Treatments | 2019 年 | | 2020 年 | |
|------------------|------------------|---------------|--------------------------|---------------|--------------------------|
| | | 向量长度 | 向量角度 | 向量长度 | 向量角度 |
| | | Vector Length | Vector Angle/ $^{\circ}$ | Vector Length | Vector Angle/ $^{\circ}$ |
| 0~20 cm | CK | 1.47cd | 60.1a | 1.18d | 58.8b |
| | F | 1.44d | 56.8b | 1.18d | 68.3a |
| | NPK | 1.69a | 57.4b | 1.28b | 55.3cd |
| | NPKA | 1.56b | 51.9d | 1.38a | 56.2c |
| | NPKL | 1.42d | 48.2e | 1.08e | 42.4e |
| | NPKS | 1.51bc | 53.6c | 1.39a | 55.8cd |
| | NPKC | 1.57b | 56.2b | 1.23c | 54.7d |
| 20~40 cm | CK | 1.62a | 73.0b | 1.25bcd | 69.8cd |
| | F | 2.56a | 82.8a | 2.07a | 83.6a |
| | NPK | 2.07a | 69.7bc | 0.99d | 65.6e |
| | NPKA | 1.36a | 69.1bc | 1.36bc | 73.1b |
| | NPKL | 1.00a | 57.5d | 1.43b | 67.0de |
| | NPKS | 1.12a | 61.8d | 1.27bcd | 70.5bc |
| | NPKC | 1.36a | 67.5c | 1.17cd | 66.8de |

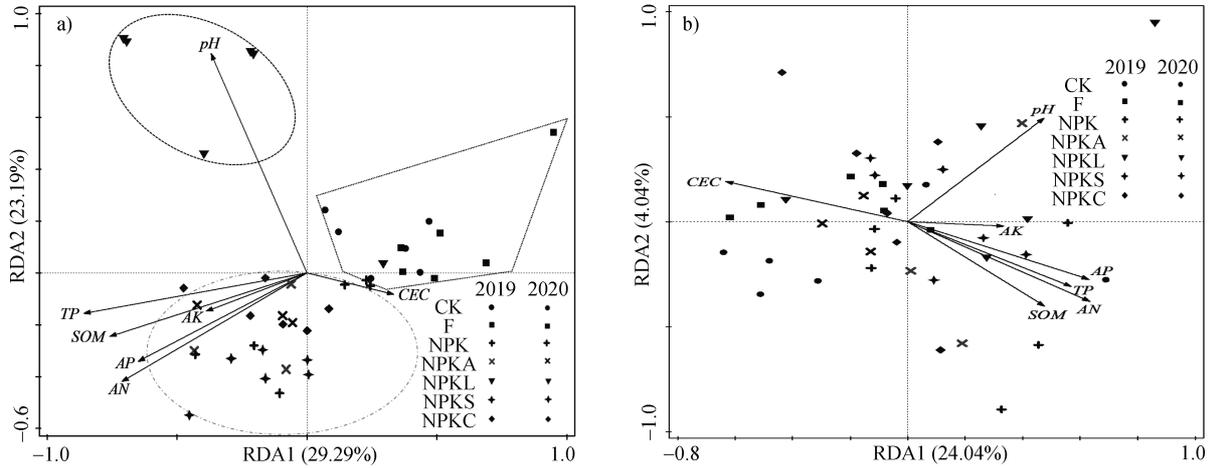


图 3 0~20 cm (a) 和 20~40 cm (b) 土层土壤养分含量与酶活性的 RDA 分析

Fig. 3 RDA analysis of soil nutrient content and enzyme activities in soil layers 0~20 cm (a) and 20~40 cm (b)

表 8 0~20 cm 和 20~40 cm 土层酶活性与土壤养分含量的相关性

Table 8 The correlation between soil enzyme activity and soil nutrient content in 0~20 cm and 20~40 cm soil layers

| | α G | β G | β X | CBH | NAG | LAP | ACP | POX | PER |
|-------------------------------------|------------|-----------|-----------|----------|---------|---------|----------|---------|---------|
| -----0~20 cm----- | | | | | | | | | |
| pH | -0.321* | -0.249 | -0.282 | -0.216 | -0.07 | 0.805** | -0.504** | -0.297 | 0.334* |
| 有机质 SOM | 0.453** | 0.438** | 0.525** | 0.617** | 0.687** | 0.198 | 0.28 | 0.131 | -0.058 |
| 全氮 TN | 0.339* | 0.228 | 0.404** | 0.511** | 0.624** | 0.204 | 0.463** | 0.286 | -0.142 |
| 全磷 TP | 0.417** | 0.424** | 0.519** | 0.655** | 0.741** | 0.316* | 0.251 | 0.113 | 0.047 |
| 全钾 TK | -0.009 | 0.184 | 0.032 | -0.111 | -0.179 | -0.035 | -0.405** | -0.317* | 0.173 |
| 碱解氮 AN | 0.554** | 0.593** | 0.616** | 0.608** | 0.591** | 0.055 | 0.083 | -0.004 | -0.051 |
| 有效磷 AP | 0.466** | 0.503** | 0.482** | 0.608** | 0.619** | 0.113 | 0.146 | 0.081 | 0.052 |
| 速效钾 AK | 0.319* | 0.37* | 0.354* | 0.397** | 0.337* | 0.141 | -0.032 | -0.084 | 0.134 |
| 阳离子交换量 CEC | -0.125 | -0.166 | -0.176 | -0.107 | -0.109 | -0.257 | 0.153 | 0.24 | -0.016 |
| 硝态氮 NO ₃ -N | 0.249 | 0.119 | 0.399** | 0.523** | 0.621** | 0.172 | 0.702** | 0.443** | -0.174 |
| 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N | 0.104 | 0.315* | 0.119 | 0.036 | -0.101 | -0.164 | -0.382* | -0.083 | 0.121 |
| -----20~40 cm----- | | | | | | | | | |
| pH | 0.102 | 0.229 | 0.419** | 0.208 | 0.309* | 0.027 | -0.066 | -0.368* | -0.148 |
| 有机质 SOM | 0.197 | 0.491** | 0.262 | 0.445** | 0.072 | 0.179 | -0.086 | -0.254 | -0.072 |
| 全氮 TN | -0.15 | 0.275 | -0.103 | 0.209 | -0.233 | -0.082 | 0.129 | -0.014 | 0.037 |
| 全磷 TP | 0.242 | 0.519** | 0.345* | 0.466** | 0.093 | 0.19 | -0.049 | -0.274 | -0.195 |
| 全钾 TK | 0.124 | 0.054 | 0.236 | 0.082 | 0.097 | 0.175 | -0.201 | -0.086 | -0.053 |
| 碱解氮 AN | 0.34* | 0.497** | 0.336* | 0.477** | 0.124 | 0.336* | -0.254 | -0.31* | -0.163 |
| 有效磷 AP | 0.447** | 0.487** | 0.392* | 0.457** | 0.312* | 0.115 | -0.373* | -0.347* | -0.238 |
| 速效钾 AK | 0.339* | 0.088 | 0.197 | 0.177 | 0.141 | 0.266 | -0.403** | -0.197 | -0.064 |
| 阳离子交换量 CEC | -0.459** | -0.335* | -0.348* | -0.404** | -0.115 | -0.205 | 0.311* | 0.319* | 0.102 |
| 硝态氮 NO ₃ -N | -0.286 | 0.03 | -0.036 | -0.036 | 0.004 | -0.032 | 0.296 | 0.073 | 0.224 |
| 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N | 0.48** | 0.408** | 0.34* | 0.435** | 0.072 | 0.063 | -0.264 | -0.279 | -0.308* |

NPKC 在提升土壤有机质方面发挥的作用最为重要。该结果与 Ai 等^[30]的长期试验结果发现添加有机肥可以提高土壤中有机质含量相一致。与 NPK 相比, NPKA 和 NPKC 也可以提高土壤 pH, 但效果不如 NPKL 显著, 因为生石灰含有较高的 CaO, 主要通过酸碱中和提高土壤碱浓度以中和土壤酸性^[31], 而有机肥则通过其包含的具有羟基和羧基官能团的腐殖质中和土壤酸性^[32], 过程较缓慢, 但具有一定的缓冲性和持久性。研究发现 NPKS 中有机质、全氮和全磷的含量也有所提升, 与无机肥配施有机改良剂对比发现, 三种改良措施对土壤中有机质、全氮和全磷含量的提升效果分别为: 2019 年, NPKA>NPKC≈NPKS; 2020 年, NPKA>NPKC>NPKS, 这可能是由于生物有机肥分解速度快, 可以迅速补充土壤中有机质、全氮和全磷含量, 而秸秆的主要成分是纤维素和木质素, 较难降解, 但是秸秆本身含有丰富的氮磷钾等元素, 因此秸秆还田仍能实现改善和提高土壤地力的目的, 只是过程较缓慢。综上所述可知, NPKA 和 NPKC 处理对酸性贫瘠红壤养分的提升效果好且更为持久。

3.2 不同改良措施对土壤酶活性的影响

通过比较不同改良措施对酸性红壤酶活性的影响发现, 与 CK 相比, NPKA 和 NPKC 可显著提高土壤中碳氮循环 α G、 β G、 β X、CBH 和 NAG 酶活性。一方面是因为 NPKA 和 NPKC 中有机质含量显著高于 CK, 可以为土壤微生物提供充足的营养, 使得微生物代谢旺盛进而提升土壤酶活性; 另一方面则是因为有机物料可以缓解土壤酸化, 改善土壤结构, 提高土壤保水保肥能力和微生物的数量, 进而提高酶活性^[33]。与 NPK 相比, NPKA 和 NPKC 处理对土壤碳循环 α G、 β G、 β X 和 CBH 酶活性的提升效果更好。可能是由于 NPKA 和 NPKC 处理除了增加了贫瘠红壤中的氮磷养分外, 还以外源碳源的形式增加了土壤中有机质含量, 而参与碳循环的水解酶能吸附于土壤有机质上, 形成一种具有较强抗分解能力和热稳定性的“酶—腐殖质复合物”, 更利于土壤酶的生存^[34]。此外, NPKS 也能显著提高土壤中碳循环相关的酶活性, NPKL 则显著抑制 α G、 β G、 β X 和 CBH 酶活性, 这可能与不同酶的底物和土壤 pH 有关。碳循环有关的 β X 参与水解木质素, α G、 β G 和 CBH 参与水解纤维素^[35], 秸秆的碳主要以纤维素和木质素的形式存在^[18], 因此对土壤进行

秸秆还田使参与土壤碳循环的酶底物增多, 从而提高碳循环有关酶的活性。但添加生石灰后, 显著提升了红壤的 pH, 却超过了碳循环有关酶的最适 pH 范围^[36-38], 从而抑制了这些功能酶活性。结合不同改良措施对红壤养分含量影响的结果(表 3 和表 4)来看, NPKA 和 NPKC 处理对提升红壤功能酶活性、促进养分循环的效果更优。无机肥配施有机改良剂可以通过提高土壤肥力, 促进土壤酶与有机质的结合, 增强其在土壤中的稳定性^[39], 进而影响土壤酶活性, 改善土壤养分循环状况, 最终实现土壤改良的作用。

不同改良剂的添加除了对红壤表层酶活性产生影响外, 也会对不同土层深度的酶有不同影响。本研究中对土壤 0~20 cm 表层土壤酶活性的改善状况显著高于 20~40 cm 土层, 可能是因为土壤表层积累了较多的腐殖质从而使表层土壤的有机质含量高(表 3 和表 4), 养分状况良好, 有利于土壤微生物的生存从而使表层土壤酶活性较高^[40], 随着土壤深度的增加, 一方面土壤中空气、养分含量以及动植物残体等减少, 土壤中有机质含量减少, 使土壤酶活性降低; 另一方面土壤容重增大, 孔隙减小, 微生物的代谢速率受限从而使酶活性降低^[41]。

随着改良时间的延长, 0~20 cm 土层不同改良措施土壤中磷循环 ACP 酶活性增加, 这可能是因为缺磷微生物分泌 ACP 酶以适应生存环境, 但是因为本研究中全磷含量低于 $0.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 土壤始终处于供磷不足的状态, 因此土壤中全磷对 ACP 酶活性之间的相关性并不显著。相关性分析(表 8)表明 ACP 酶活性与全氮呈极显著正相关($P<0.01$), 且 Marklein 和 Houlton^[42]的研究表明, 氮肥可以增强土壤中 ACP 酶活性, 可能因为氮循环和磷循环之间广泛耦合, ACP 酶活性对氮和磷的变化高度敏感, 随着土壤中全氮含量的升高, 土壤中磷循环速度加快, 从而使土壤中 ACP 酶活性增强。还有研究也表明在磷限制的环境中, 随着氮含量的增加, ACP 酶活性增强^[43]。

3.3 土壤养分指标状况与土壤酶活性间的关系

土壤养分含量与土壤酶活性可以共同表征土壤的肥力水平。由土壤酶活性与养分含量的 RDA 分析(图 3)和相关性分析(表 8)可知, 在本研究中 0~20 cm 土层, 碳氮循环 α G、 β G、 β X、CBH 和 NAG 酶与 SOM 呈极显著正相关, 根据以往的研究可知土壤有机质是酶促反应的主要底物, 当土壤中有有机质

含量增加时,可以极大地促进土壤微生物的系列活动从而使土壤酶活性提高^[44-45]。此外,土壤酶也可以和有机质相结合增强其稳定性。很多研究还认为土壤 pH 也与酶活性的变化显著相关^[46-47]。本研究中 LAP 和 PER 酶活性随 pH 的升高而增大,而磷循环 ACP 酶与 pH 则极显著负相关,推测一方面可能是因为土壤 pH 通过诱导酶结构的变化、酶活性部位催化基团的功能特性或者影响土壤中底物和酶辅助因子的可利用性进而对土壤酶活性产生影响^[48];另一方面可能是因为 pH 通过影响土壤中微生物的群落组成、生态位和群落活性来影响酶活性。对比两土层土壤酶活与养分变化关系发现,20~40 cm 土层土壤酶活性与土壤养分含量之间的相关关系不如 0~20 cm 土层显著,但两土层中酶活性与养分的变化趋势基本一致(表 8)。由于本研究的长期定位试验年限较短(2016 年开始种作物),且研究红壤非常贫瘠,不同改良措施对土壤酶活性的影响仅在 0~20 cm 土层发生了显著变化,探究不同改良措施对 20~40 cm 土层酶活性的影响仍需进一步观察。

4 结 论

无机肥配施石灰能显著提高红壤的 pH,改善红壤酸化状况,但其对提高土壤养分含量和土壤酶活性的促进作用不显著。而无机肥配施有机物料可通过显著提升贫瘠红壤中有机质、氮磷等养分含量,进而改善土壤中碳氮循环 αG 、 βG 、 βX 、CBH 和 NAG 酶活性。因此,认为无机肥配施骨粉有机肥或生物有机肥可作为改善贫瘠红壤养分、提升土壤地力的可持续性改良措施。土壤中 αG 、 βG 、 βX 、CBH 和 NAG 等参与碳氮循环的酶活性与土壤有机质含量密切相关。在磷供应不足的情况下,磷循环 ACP 酶与表层土壤氮含量显著相关($P < 0.01$),LAP、PER 和 ACP 可作为反映表层土壤 pH 变化的重要酶活指标。通过对部分酶活性指标的测定可以评价不同改良措施对酸性红壤的改良效果。

参考文献 (References)

- [1] Cai Z J, Sun N, Wang B R, et al. Effects of long-term fertilization on pH of red soil, crop yields and uptakes of nitrogen, phosphorous and potassium[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2011, 17 (1): 71—78. [蔡泽江, 孙楠, 王伯仁, 等. 长期施肥对红壤 pH、作物产量及氮、磷、钾养分吸收的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17 (1): 71—78.]
- [2] Liu K L, Hu Z H, Ye H C, et al. Long-term fertilization changes soil nitrogen and phosphorus activation in red soil under double maize system[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2016, 30 (2): 187—192, 207. [柳开楼, 胡志华, 叶会财, 等. 双季玉米种植下长期施肥改变红壤氮磷活化能力[J]. *水土保持学报*, 2016, 30 (2): 187—192, 207.]
- [3] Li X Y. Soil chemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2001, 218. [李学垣. 土壤化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001, 218.]
- [4] Yu T Y, Sun X S, Shi C R, et al. Advances in soil acidification hazards and control techniques[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33 (11): 3137—3143. [于天一, 孙秀山, 石程仁, 等. 土壤酸化危害及防治技术研究进展[J]. *生态学杂志*, 2014, 33 (11): 3137—3143.]
- [5] Xun W B. Upland red soil bacterial community structure under long-term different fertilizations and the driving factor[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015. [荀卫兵. 长期不同施肥下旱地红壤细菌群落结构特征及驱动因子的探究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.]
- [6] He C C. Effects of long-term fertilization on soil carbon pools and enzymes activity of black soil in cropland of northeast China[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014. [何翠翠. 长期不同施肥措施对黑土土壤碳库及其酶活性的影响研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.]
- [7] Sánchez M E, Lindao E, Margaleff D, et al. Pyrolysis of agricultural residues from rape and sunflowers: Production and characterization of bio-fuels and biochar soil management[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2009, 85 (1/2): 142—144.
- [8] Ji B Y. Research on the effect of deep tillage and straw retained improve soil quality and enhance the yield of crop[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2013. [冀保毅. 深耕与秸秆还田的土壤改良效果及其作物增产效应研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.]
- [9] Yang Y G, Wang S L, Liu G, et al. Effects of bio-organic fertilizer on yield and quality of flue-cured tobacco and soil improvement[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2012, 33 (4): 70—74. [杨云高, 王树林, 刘国, 等. 生物有机肥对烤烟产质量及土壤改良的影响[J]. *中国烟草科学*, 2012, 33 (4): 70—74.]
- [10] Yu X Y. The effects of applying lime and biochar on the growth and nutrient uptake of phaseolus calcutus roxb in acid soils[D]. Chongqing: Southwest University, 2018. [于翔宇. 施用石灰与生物炭对酸性土壤竹豆生长及养分吸收的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2018.]
- [11] Liu S J, Xia X, Chen G M, et al. Study progress on functions and affecting factors of soil enzymes[J].

- Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27 (21): 1—7. [刘善江, 夏雪, 陈桂梅, 等. 土壤酶的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27 (21): 1—7.]
- [12] Acosta- Martínez V, Moore-Kucera J, Cottone J, et al. Soil enzyme activities during the 2011 Texas record drought/heat wave and implications to biogeochemical cycling and organic matter dynamics[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 75: 43—51.
- [13] Bandick A K, Dick R P. Field management effects on soil enzyme activities[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31 (11): 1471—1479.
- [14] Ndiaye E L, Sandeno J M, McGrath D, et al. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality[J]. American Journal of Alternative Agriculture, 2000, 15: 26—36.
- [15] Wang J Y, Hayes F, Turner R, et al. Effects of four years of elevated ozone on microbial biomass and extracellular enzyme activities in a semi-natural grassland[J]. Science of the Total Environment, 2019, 660: 260—268.
- [16] Acosta-Martínez V, Zobeck T M, Gill T E, et al. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2003, 38 (4): 216—227.
- [17] Guan S Y. Soil enzymes and soil fertility[J]. Chinese Journal of Soil Science, 1980, 11 (6): 41—44. [关松荫. 土壤酶与土壤肥力[J]. 土壤通报, 1980, 11 (6): 41—44.]
- [18] Huang S S, Cheng Y H, Zhong Y J, et al. Effects of soil and water conservation measures on soil labile organic carbon and soil enzyme activity in gentle slope land of red soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, 53 (2): 468—476. [黄尚书, 成艳红, 钟义军, 等. 水土保持措施对红壤缓坡地土壤活性有机碳及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2016, 53 (2): 468—476.]
- [19] Deng X H, Yang Z Y, Li Y H, et al. Effects of amendment application on enzyme activities and nutrient contents in tobacco-planting soils[J]. Tobacco Science & Technology, 2019, 52 (2): 33—39. [邓小华, 杨哲宇, 李玉辉, 等. 施用改良剂对植烟土壤酶活性和养分含量的影响[J]. 烟草科技, 2019, 52 (2): 33—39.]
- [20] Ai C, Liang G Q, Sun J W, et al. The alleviation of acid soil stress in rice by inorganic or organic ameliorants is associated with changes in soil enzyme activity and microbial community composition[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 51 (4): 465—477.
- [21] Zeng X B, Li J M, Xu M G, et al. Fertility of red upland soil and effects of fertilization and utilization on its fertility[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37 (3): 434—437. [曾希柏, 李菊梅, 徐明岗, 等. 红壤旱地的肥力现状及施肥和利用方式的影响[J]. 土壤通报, 2006, 37 (3): 434—437.]
- [22] Zeng X B. Acidification of red soils and control methods[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2000, 31 (3): 111—113, 145. [曾希柏. 红壤酸化及其防治[J]. 土壤通报, 2000, 31 (3): 111—113, 145.]
- [23] Bao S D. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 25—100. [鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25—100.]
- [24] Qin Y N. Biocatalyst - Handbook of enzyme catalysis[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015: 228—270. [秦永宁. 生物催化剂——酶催化手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 228—270.]
- [25] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34 (9): 1309—1315.
- [26] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33 (12/13): 1633—1640.
- [27] 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.
- [28] Moorhead D L, Rinkes Z L, Sinsabaugh R L, et al. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme-based decomposition models[J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 223—234.
- [29] Burpee B, Saros J E, Northington R M, et al. Microbial nutrient limitation in Arctic lakes in a permafrost landscape of southwest Greenland[J]. Biogeosciences, 2016, 13 (2): 365—374.
- [30] 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, 173/174: 330—338.
- [31] Li P, Wang X X, Zhang T L, et al. Effects of several amendments on rice growth and uptake of copper and cadmium from a contaminated soil[J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, 20 (4): 449—455.
- [32] Tan K H, Leonard R A, Bertrand A R, et al. The metal complexing capacity and the nature of the chelating ligands of water extract of poultry litter[J]. Soil Science Society of America Journal, 1971, 35 (2): 265—269.
- [33] Lu Y H, Yang Z P, Zheng S X, et al. Effects of long-term application of chemical fertilizer, pig manure, and rice straw on chemical and biochemical properties of reddish paddy soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21 (4): 921—929. [鲁艳红, 杨曾平, 郑圣先, 等. 长期施用化肥、猪粪和稻草对红壤水稻土化学和生物化学性质的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21 (4): 921—929.]
- [34] Huang Q Y, Li X Y. Effects of clay minerals and organic matter on enzyme activities [J]. Progress in Soil Science, 1995, 23 (4): 12—18. [黄巧云, 李学垣. 粘粒矿物、

- 有机质对酶活性的影响[J]. 土壤学进展, 1995, 23(4): 12—18.]
- [35] 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.
- [36] Liu Q, Li D J, Chen L L, et al. Cloning and expression of α -glucosidase gene from *Thermotoga neapolitana* and study on the enzymatic properties[J]. Food and Fermentation Technology, 2013, 49(1): 4—7, 12. [刘琼, 李大军, 陈丽丽, 等. 栖热袍菌 α -葡糖苷酶的基因克隆表达及酶学性质[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(1): 4—7, 12.]
- [37] Zhou J, Yin P. Mechanisms of pH control on β -glucosidase produced in *Trichoderma reesei*[J]. Journal of Tsinghua University: Science and Technology, 2012, 52(2): 271—276. [周进, 银鹏. pH 调控对里氏木霉菌产 β -葡萄糖苷酶的影响机制[J]. 清华大学学报: 自然科学版, 2012, 52(2): 271—276.]
- [38] Huang Y, Yao X Y, Liu T F, et al. Biochemical characterization of a novel thermostable β -1, 4-xylosidase from *Caldicellulosiruptor owensensis* OL [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(4): 689—699. [黄颖, 姚雪妍, 刘腾飞, 等. 新型耐热 β -1, 4-木糖苷酶的重组表达及酶学性质[J]. 微生物学报, 2019, 59(4): 689—699.]
- [39] Liang L, Ma C, Zhang R, et al. Improvement of soil nutrient availability and enzyme activities in rainfed wheat field by combined application of organic and inorganic fertilizers[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(4): 544—554. [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.]
- [40] Wang B, Xue S, Liu G B, et al. Changes in soil nutrient and enzyme activities under different vegetations in the Loess Plateau area, Northwest China[J]. Catena, 2012, 92: 186—195.
- [41] Han X N. Briefly on soil enzyme's function and effect on the quality of soil environment[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2008, 36(4): 90—92. [韩新宁. 土壤酶对土壤环境质量的作用及影响[J]. 内蒙古农业科技, 2008, 36(4): 90—92.]
- [42] 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.
- [43] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability[J]. Biogeochemistry, 2000, 49(2): 175—191.
- [44] Taylor J P, Wilson B, Mills M S, et al. Comparison of microbial of microbial numbers and enzymatic activities in surface and subsoils using various techniques[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34: 387—401.
- [45] Sui Y Y, Jiao X G, Gao C S, et al. The relationship among organic matter content and soil microbial biomass and soil enzyme activities[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2009, 40(5): 1036—1039. [隋跃宇, 焦晓光, 高崇生, 等. 土壤有机质含量与土壤微生物量及土壤酶活性关系的研究[J]. 土壤通报, 2009, 40(5): 1036—1039.]
- [46] Liu H M, Zhou G F, Li J, et al. Effects of nitrogen deposition on soil enzyme activities of *Stipa baicalensis* steppe[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2018, 27(8): 1387—1394. [刘红梅, 周广帆, 李洁, 等. 氮沉降对贝加尔针茅草原土壤酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2018, 27(8): 1387—1394.]
- [47] Si G C, Yuan Y L, Wang J, et al. Microbial community and soil enzyme activities along an altitudinal gradient in Sejila mountains[J]. Microbiology China, 2014, 41(10): 2001—2011. [斯贵才, 袁艳丽, 王建, 等. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化[J]. 微生物学通报, 2014, 41(10): 2001—2011.]
- [48] Yao H Y, Bowman D, Ruffly T, et al. Interactions between N fertilization, grass clipping addition and pH in turf ecosystems: Implications for soil enzyme activities and organic matter decomposition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2009, 41(7): 1425—1432.

(责任编辑: 檀满枝)