

长期不同施肥条件下大豆田黑土酶活性研究

马星竹,周宝库,郝小丽

(黑龙江省农业科学院 土壤肥料与环境资源研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以农业部黑龙江耕地保育与农业环境科学观测实验站(始建于 1979 年)为研究平台,选取 4 个典型施肥处理(不施肥处理、有机肥处理、单施化肥、有机-化肥配合处理)为供试土样,于 2011 年大豆收获后采集土壤样品,研究长期不同施肥处理对黑土主要酶类(葡萄糖苷酶、脲酶和磷酸单酯酶)活性的影响。结果表明:长期不施肥处理大豆田土壤酶活性较低,施肥处理可以增加黑土酶活性,脲酶与磷酸单酯酶对施肥响应程度大于 β -葡萄糖苷酶;单施有机肥处理与化肥处理对土壤酶活性影响程度之间差异不显著,而有机肥配施化肥处理则能够显著增强黑土 β -葡萄糖苷酶、脲酶和磷酸单酯酶活性。同时,土壤 β -葡萄糖苷酶、脲酶和磷酸单酯酶活性与土壤有机碳、全氮、全磷以及速效磷含量之间具有极显著的正相关关系,与土壤 pH 之间具有极显著的负相关关系。长期有机肥配施化肥处理可以显著增强大豆田土壤酶活性,土壤酶活性与土壤主要养分含量之间关系密切。

关键词:黑土;长期施肥;土壤酶;土壤养分
中图分类号:S154;S158 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2016.01.0096

Study of Black Soil Enzyme Activity in Soybean Field Under Long-Term Different Fertilizations

MA Xing-zhu, ZHOU Bao-ku, HAO Xiao-yu

(Institute of Soil Fertilizer and Environment Resource, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Based on scientific observation station of arable land conservation and agriculture environment of Heilongjiang, Ministry of Agriculture (built in 1979), selected four typical fertilization treatments (no fertilizer, organic fertilizer, chemical fertilizer and organic fertilizer combined with chemical fertilizer), collected soil sample after soybean harvest in 2011 to study effect of long-term different fertilizations on main kinds of enzymes activities (β -glucosidase, urease and phosphatase) of black soil. The results showed that the no fertilizer treatment had lower enzyme activities, fertilization treatment could increase black soil enzyme activities, urease and phosphatase had bigger response degree than β -glucosidase; there was no significant difference between effects of organic fertilizer and chemical fertilizer on soil enzyme activities; however, treatment of organic fertilizer combined with chemical fertilizer could increase soil β -glucosidase, urease and phosphatase activities significantly. Meanwhile, there were significant and positive correlations among soil enzyme activities and contents of soil organic, soil total nitrogen, soil total phosphate and soil available phosphate, significant and negative correlations among soil enzyme activities and soil pH. Long-term treatment of organic fertilizer combined with chemical fertilizer could increase soil enzyme activity in soybean field, which had close relationships with soil nutrients.

Keywords: Black soil; Long-term fertilization; Soil enzyme; Soil nutrient

土壤酶活性作为表征土壤性质的生物活性指标,已被广泛用于评价土壤中营养物质的循环转化状况,以及农业措施和肥料施用的效果^[1-3]。土壤酶活性的增强能够促进土壤的代谢,提高土壤肥力,改善土壤性质^[4-6]。长期土壤肥力试验为土壤科学和其它相关学科提供了极为珍贵的研究平台,可以弥补短期试验的缺憾,克服一些不稳定的因素,使各种施肥、耕作方式有更好的可比性,尤其为研究不同措施影响土壤生物学性质变化提供了更为可靠的场所,有助于进一步揭示土壤酶活性、酶促反应过程的实质及其与土壤肥力之间的关系^[7-10]。东北黑土区的总土地面积为 1.02×10^6 km²,土壤有机质含量高,土层厚,结构良好。黑龙江省拥有耕地面积 1.46×10^7 hm²,粮食总产量全国第一(624.2 亿 kg,2014 年)。在粮食产量逐年增

加的情况下,作物生长过程中产生大量 CO₂,收获时从土壤中带走大量养分,直接影响土壤肥力水平,进而影响土壤生物学过程。目前轮作是一种合理利用土壤中的养分,提高土壤肥力的种植方式。各种作物的根系发育状况不同,特别是大豆,是重要肥田的作物,其有共生固氮的特性,将豆科与禾本科作物轮作,就能使土壤中全层养分得到合理利用。留在土壤中的根残物被土壤微生物分解后,形成腐殖质,可以均衡地增加土壤养分,全面提高土壤肥力。大豆田土壤酶活性的研究有助于揭示轮作制度下土壤生物学活性变化特征及其与土壤肥力变化关系,丰富黑土肥力变化生物学过程的认识,评价不同轮作制度及施肥方式对黑土酶活性的影响,为黑土区农田土壤生物学研究提供理论依据。

收稿日期:2015-03-25
基金项目:农业部公益性行业专项(201303126);国家“十二五”科技支撑计划(2013BAD07B01,2013BAD11B03);黑龙江省留学回归人员择优资助。
第一作者简介:马星竹(1980-),女,博士,副研究员,主要从事土壤肥力与土壤生物活性研究。E-mail: maxingzhu@163.com。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

本研究以农业部黑龙江耕地保育与农业环境科学观测实验站建立的长期施肥试验(N45°50'30", E126°51'05")为研究基础(始建于1979年),该实验站共有24个试验处理,采取小麦-大豆-玉米的轮作方式。土壤类型为黑土。2011年种植作物为大豆,收获后采集耕层土壤(0~20 cm),每个处理3次重复,新鲜土壤样品去除根系等后分为2份,1份过2 mm筛放置于封口袋在4℃冰箱中保存,1份风干待用。

1.2 试验设计

试验选择4个施肥处理,分别为:不施肥处理(CK)、有机肥处理(M)、无机肥料单施(NPK)、有机-无机肥料配合处理(M+NPK)。其中种植大豆施肥量为N 75 kg·hm⁻², P₂O₅ 150 kg·hm⁻², K₂O 75 kg·hm⁻²,有机肥为纯马粪,每轮作周期施一次,施于玉米茬,按N 75 kg·hm⁻²(约马粪18 t·hm⁻²)。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 土壤酶活性 分别采用对硝基苯葡萄糖苷法、尿素残留量法和对硝基苯磷酸盐法对土壤β-糖苷酶、脲酶和磷酸酶活性进行测定^[11-13]。

1.3.2 土壤养分 土壤有机质、全氮采用德国Elementer元素分析仪测定;全磷、速效磷分别用酸溶-钼锑抗比色法和Olsen法测定;pH采用PSH-3C型pH计测定^[14]。

1.4 数据处理

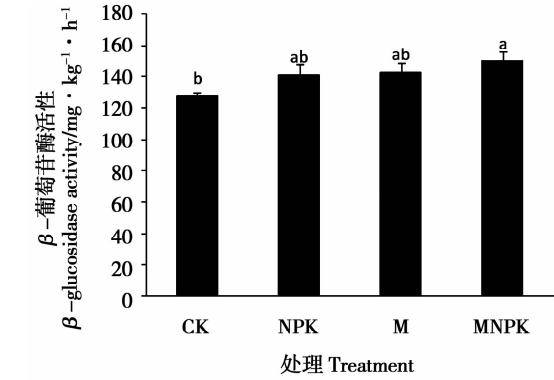
采用Office 2007的相关软件作图,SPSS 14.0进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 土壤β-葡萄糖苷酶活性变化

β-葡萄糖苷酶是国内外研究较多的一种与土壤碳循环密切相关的酶,广泛存在于土壤中,参与土壤中碳水化合物的水解;它被认为是纤维素降解中重要的一种酶,其活性可以反映土壤不同管理措施的影响。本研究中黑土长期不同施肥处理土壤β-葡萄糖苷酶活性测定结果见图1。结果表明:施肥处理有助于提高黑土β-葡萄糖苷酶活性,不同施肥处理土壤β-葡萄糖苷酶活性在127.5~149.6 mg·kg⁻¹·h⁻¹,平均值为140.2 mg·kg⁻¹·h⁻¹。土壤β-葡萄糖苷酶活性高低表现为MNPK>M>NPK>CK,有机肥与化肥配施处理(MNPK)土壤β-葡萄糖苷酶活性显著高于不施肥处理(CK)(P<0.05),与单施化肥处理、单施有机肥处理相比差异不显著。有机肥配施化肥后促进了作物的生长和微生物的繁殖,微生物向土壤分泌释放更多酶,土壤酶活性

得以增强^[7]。



不同小写字母表示处理间差异显著 P<0.05。下同。
Different lowercase letters mean significantly different by LSD (P<0.05). The same below.

图1 长期不同施肥土壤β-葡萄糖苷酶活性
Fig.1 Soil β-glucosidase activity under long-term different fertilizations

2.2 土壤脲酶活性变化

脲酶是分类名称为尿素氨基水解酶类的通称,是一种将酰胺态有机氮化物水解转化为植物可以直接吸收利用的无机态氮化物的酶,是酶促尿素水解的专性酶类^[15-16],它的活性在某些方面可以反映土壤的供氮能力与水平,与土壤中氮循环体系有着密切联系。图2为黑土长期不同施肥处理土壤脲酶活性结果。结果表明:施肥处理有助于增加黑土脲酶活性,不同施肥处理土壤脲酶活性在71.7~164.5 mg·kg⁻¹·(5h)⁻¹之间,施肥处理脲酶活性平均值为157.2 mg·kg⁻¹·(5h)⁻¹。不同施肥处理条件下土壤脲酶活性高低表现为MNPK>NPK>M>CK,施肥处理土壤脲酶活性显著高于不施肥处理(P<0.05);与不施肥处理相比,单施化肥处理、单施有机肥处理以及有机肥配施化肥处理脲酶活性分别增加了86.4, 77.2以及92.7 mg·kg⁻¹·(5h)⁻¹。施肥处理能够促进作物的生长和微生物的繁殖,微生物向土壤分泌释放更多酶,使得土壤酶活性增强^[7]。

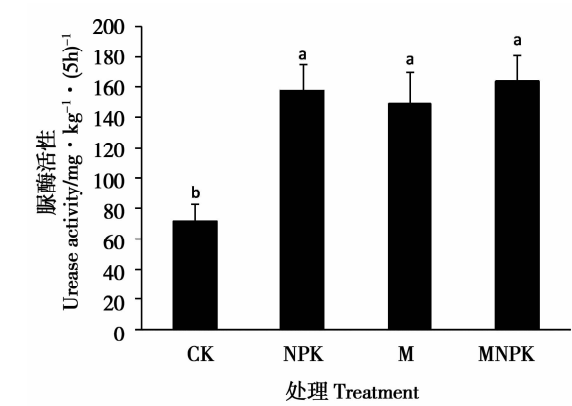


图2 长期不同施肥土壤脲酶活性
Fig.2 Soil urease activity under long-term different fertilizations

2.3 土壤磷酸单酯酶活性变化

土壤磷酸酶是催化含磷有机酯和酞水解的一类酶的总称。通常土壤磷酸酶指磷酸酯酶类,主要为磷酸单酯酶(酸性、中性、碱性)、磷酸二酯酶、磷酸三酯酶^[17]。土壤中的有机磷化合物是在土壤磷酸酶作用下参与磷素循环的^[18-19]。通常农用地上,酸性土壤中磷酸酶活性以酸性磷酸酶为主,碱性土壤中则以碱性磷酸酶为主。黑土长期施肥各个处理土壤酸性磷酸酶活性测定结果见图3。结果表明:施肥能够显著增强黑土酸性磷酸酶活性($P < 0.05$)。不同施肥处理土壤酸性磷酸酶活性在 $127.9 \sim 394.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间,施肥处理酸性磷酸酶活性平均值为 $312.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。土壤酸性磷酸酶活性高低表现为 $\text{MNPK} > \text{NPK} > \text{M} > \text{CK}$,施肥处理土壤酸性磷酸酶活性显著高于不施肥处理($P < 0.05$),有机肥配施化肥处理土壤酸性磷酸酶活性最高,显著高于其它各个处理($P < 0.05$)。与不施肥处理相比,单施化肥处理、单施有机肥处理以及有机肥配施化肥处理酸性磷酸酶活性分别增加了 $147.1, 138.3$ 以及 $266.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

2.4 黑土酶活性与土壤肥力的关系

土壤酶活性是土壤生物活性的总体现,反映了土壤的综合肥力特征及土壤养分转化进程,可以作为衡量土壤肥力水平高低的指标。土壤中可供植

物利用的营养元素的多少与土壤酶活性的高低直接相关;在良好的有机养分状况下,土壤酶活性较高,其对土壤中营养元素的矿质化作用强度越大,越有利于系统内的营养物质循环。土壤肥力水平在很大程度上受制于土壤酶的影响,与土壤酶活性之间存在着非常密切的相关关系。表1为黑土几种酶活性与土壤主要养分含量之间的相关系数。由表1可得,黑土 β -葡萄糖苷酶、脲酶和磷酸单酯酶活性与土壤总有机碳、全氮、全磷、有效磷含量之间均具有极显著的正相关关系($P < 0.01$),与pH间呈极显著的负相关关系($P < 0.01$)。

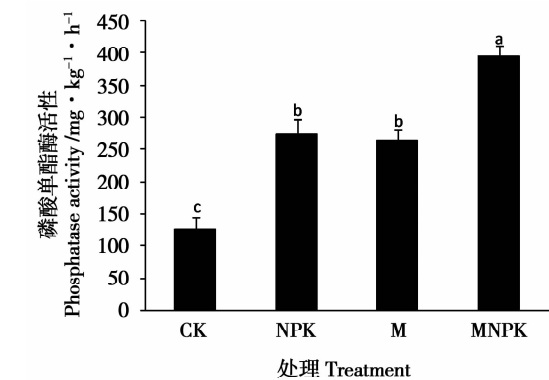


图3 长期不同施肥土壤磷酸单酯酶活性
Fig. 3 Soil phosphatase activity under long-term different fertilizations

表1 黑土土壤酶活性与主要养分含量的相关系数 Table 1 Coefficient of enzyme activities and main nutrient content of black soil					
土壤酶/养分 Enzyme/Nutrient	总有机碳 TOC	全氮 TN	全磷 TP	有效磷 Avail - P	pH
β -葡萄糖苷酶 β -glu	0.913 ***	0.908 ***	0.911 ***	0.832 ***	-0.837 ***
脲酶 Urease	0.921 ***	0.937 ***	0.852 **	0.908 ***	-0.841 **
磷酸单酯酶 Phosphatase	0.945 ***	0.927 ***	0.895 ***	0.957 ***	-0.912 ***

*** 表示相关关系达到极显著水平, $P < 0.01$ 。
*** means significant correlationship by $P < 0.01$.
TOC: Total organic carbon; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; Avai-P: Available phosphorus.

3 讨论

土壤酶是表征土壤中物质、能量代谢程度和土壤质量水平的一个重要生物学指标^[20]。在目前已发现的土壤酶中,一些水解酶对土壤有机质的形成和养分循环具有重要作用,土壤酶活性对环境的变化反应灵敏已被证实。长期不同施肥措施对土壤酶活性影响较大。有机肥配施化肥处理土壤酶活性增强显著,主要源于有机肥向土壤中带入大量的微生物和酶,刺激了微生物活性和增殖,使新产生的土壤酶活性增强。以往研究表明,在土壤C、N、P养分循环起重要作用的葡萄糖苷酶、脲酶、磷酸酶以及其它酶活性均与土壤有机碳含量、全氮含量等养分具有显著相关关系^[21-23]。另外,由于pH能够影响酶的解离形式、酶的构象、酶活性中心的形成以及土壤中许多营养元素尤其是重金属的形态,进而影

响植物、微生物及动物的生命活动,通常,酶活性与土壤pH之间的关系密切^[24-25]。关于土壤酶活性作为土壤肥力指标的研究已有很多,如周礼恺等^[26]用聚类分析的方法证明了土壤酶活性的总体在评价土壤肥力水平中的重要作用。土壤酶活性与土壤养分含量之间存在显著或极显著的相关关系,表明可以用酶活性来指示土壤中养分含量变化,其与土壤肥力关系密切。土壤酶活性在参与土壤养分循环、保持和提高土壤肥力方面具有重要的作用。

本研究中有有机肥无机肥配合处理土壤 β -葡萄糖苷酶活性增高的原因是土壤经高有机质含量的有机物料处理后,有机质与游离的酶形成复合体的可能性更高,酶更容易在土壤中积累,活性由于酶量的增加而增强。土壤脲酶广泛存在于微生物、植物和动物体内,通常与微生物数量、土壤有机质、全氮和速效氮等因素有关。已有研究表明长期有机肥

配施无机肥处理能够显著提供土壤脲酶活性^[7,15];在施用有机肥的基础上配合施用化肥,脲酶活性增加可能的原因是:(1)脲酶反应底物即尿素的浓度升高;(2)有机肥的使用使土壤有机质增加,更多地保护土壤酶活性使之免遭变性或降解,因而脲酶活性也随之增加^[16]。施用有机肥后磷酸单酯酶活性与对照相比显著增加,主要是由于有机肥(或配施化肥)施用后促进了作物的生长和微生物的繁殖,微生物向土壤分泌释放更多酶,土壤酶活性得以增强^[7],同时与有机肥本身具有较高的磷酸酶活性有关。有相关研究表明,无论是微生物合成和释放磷酸单酯酶的速率,或者磷酸单酯酶本身的稳定性都与土壤 pH 有关,pH 很小的差异,都会影响土壤磷酸单酯酶的活性和土壤有机磷的矿化^[12]。

本研究中长期不同施肥处理土壤生物学活性变化显著,表明土壤生物学活性可以用于指示不同施肥措施的作用效果,是表征土壤肥力变化的敏感指标。目前针对土壤生物学活性的研究较多,然而关于土壤酶活性的变化以及酶促反应动力学方面的研究有待进一步加强,应该主要针对长期不同施肥措施,不同耕作措施以及应对气候变化条件下的酶促反应过程进行研究。

参考文献

- [1] Manjaiah K, Dhyan S. Soil organic matter and biological properties after 26 years of maize-wheat-cowpea cropping as affected by manure and fertilization in a Cambisol in semiarid region of India [J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2001, 86: 155-162.
- [2] Elfstrand S, Hedlund K, Martensson A. Soil enzyme activities, microbial community composition and function after 47 years of continuous green manuring [J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35 (6): 610-621.
- [3] Mandal A, Patra A K, Singh D, et al. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages [J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98: 3585-3592.
- [4] Katsalirou E, Deng S, Nofziger D L, et al. Long-term management effects on organic C and N pools and activities of C-transforming enzymes in prairie soils [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2010, 46: 335-341.
- [5] Guenet B, Lenhart K, Leloup J, et al. The impact of long-term CO₂ enrichment and moisture levels on soil microbial community structure and enzyme activities [J]. *Geoderma*, 2012, 170: 331-336.
- [6] 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 & Biochemistry*, 2014, 68: 252-262.
- [7] Nayak D R, Babu Y J, Adhya T K. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aerobic Endoaquept planted to rice under flooded condition [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(8): 1897-1906.
- [8] Roldán A, Caravaca F, Hernández M T, et al. No-tillage, crop residue additions, and legume cover cropping effects on soil quality characteristics under maize in Patzcuaro watershed (Mexico) [J].

- Soil & Tillage Research*, 2003, 72: 65-73.
- [9] Livia B, Frank B. Soil microbiological and biochemical properties affected by plant growth and different long-term fertilization [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2006, 42(1): 1-12.
- [10] Mijangos I, Perez R, Albizu I, et al. Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters [J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2006, 40: 100-106.
- [11] Eivazi F, Tabatabai M A. Factors affecting glucosidases and galactosidases in soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1990, 22 (7): 891-897.
- [12] Tabatabai M A. Soil enzymes [M]//Weaver R W, Augle J S, Bottomley P S. *Methods of soil analysis*. Wishton: Madison, 1994:775-883.
- [13] Ekenler M, Tabatabai M A. Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2003, 39: 51-61.
- [14] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999:146-185. (Lu R K. *Soil agrochemical analysis* [M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 1999, 146-185.)
- [15] Deng S P, Tabatabai M A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III Phosphatases and arylsulfatase [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 1997, 24: 141-146.
- [16] Goyal S, Mishra M M, Dankar S S, et al. Microbial biomass turnover and enzyme activities following the application of farmyard manure to field soils with and without previous long-term applications [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 1993, 15: 60-64.
- [17] Tabatabai M A, Dick W A. Enzymes in soil [M]//Burns R G, Dick R P. *Enzymes in the environment: activity, ecology and applications*. New York: Marcel Dekker Inc. 2002:567-596.
- [18] Sarkar J M, Leonowicz A, Bollag J M. Immobilization of enzymes on clays and soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1989, 21: 223-230.
- [19] Nannipieri P, Greco S, Ceccanti B. Ecological significance of the biological activity in soil [M]//Bollag J M, Stotzky G. *Soil Biochemistry*. New York:1990: 293-355.
- [20] 周礼恺. 土壤酶学 [M]. 北京: 科学出版社, 1987. (Zhou L K. *Soil enzymology* [M]. Beijing: Science Press, 1987.)
- [21] 金继运, 刘荣乐, 译. 土壤肥力与肥料 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998:95-155. (Jin J Y, Liu R L. *Soil fertility and fertilizer* [M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 1998:95-155.)
- [22] Nsabimana D, Haynes R J, Wallis F M. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use [J]. *Applied Soil Ecology*, 2004, 26: 81-92.
- [23] Mungai N W, Motavalli P P, Kremer R J, et al. Spatial variation of soil enzyme activities and microbial functional diversity in temperate alley cropping systems [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2005, 42: 129-136.
- [24] 陆琴. 太湖地区典型水稻土的酶学特征及水肥管理的酶学效应 [D]. 南京: 中国科学院南京土壤研究所, 2002. (Lu Q. *Enzymatic characteristic and enzymatic effect of water and fertilizer management of typical Paddy soil in Taihu lake region* [D]. Nanjing: Institute of Soil Science of CAS, 2002.)
- [25] Wang X C, Lu Q. Beta-glucosidase activity in paddy soils of the Taihu lake region, China [J]. *Pedosphere*, 2006, 16 (1): 118-124.
- [26] 周礼恺, 张志明, 曹承绵. 土壤酶活性的总体在评价土壤肥力水平中的作用 [J]. *土壤学报*, 1983, 20 (4): 413-416. (Zhou L K, Zhang Z M, Cao C J. *On the role of totality of soil enzyme activities in the evaluation of the level of soil fertility* [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1983, 20(4): 413-416.)