

doi: 10.11838/sfsc.20180403

紫云英施用量对土壤活性有机碳和碳转化酶活性的影响

李增强¹, 张 贤¹, 王建红^{1*}, 曹 凯¹, 徐昌旭², 曹卫东³

(1. 浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所, 浙江 杭州 310021;

2. 江西省农业科学院土壤肥料与资源环境研究所, 江西 南昌 330200;

3. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

摘 要: 利用紫云英还田的定位试验研究不同紫云英施用量下土壤活性有机碳含量和碳转化酶活性的变化。试验包括对照、施用化肥和4个紫云英施用量(30、60、90和120 t·hm⁻²)处理。结果表明: 与对照相比, 施用化肥和紫云英均能够显著增加土壤活性有机碳(可溶性有机碳、热水提取态有机碳、微生物生物量碳和颗粒有机碳)含量, 并且随着紫云英施用量的增加土壤活性有机碳含量显著增加。土壤碳转化酶活性的变化规律与土壤活性有机碳相同, 其中施用化肥和紫云英较对照处理分别提高14%和24%~55%的纤维素酶活性、27%和45%~187%的蔗糖酶活性、42%和51%~165%的 β -葡萄糖苷酶活性、11%和11%~24%的酚氧化酶活性以及16%和16%~27%的过氧化物酶活性。与对照相比, 施用化肥对相对酶活性(酶活性与微生物生物量碳的比值)无显著影响; 增加紫云英施用量能够显著增加相对蔗糖酶和相对 β -葡萄糖苷酶活性, 降低相对酚氧化酶活性和相对过氧化物酶活性。逐步回归分析表明土壤活性有机碳组分含量主要受纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶活性的影响。

关键词: 紫云英施用量; 活性有机碳组分; 碳转化酶活性; 相对酶活性; 逐步回归分析

中图分类号: S154.2; S142

文献标识码: A

文章编号: 1673-6257(2018)04-0014-07

土壤有机碳(SOC)是土壤质量和生产力的重要指标, 能够显著影响土壤物理性质、养分供应和微生物活性^[1]。由于土壤总有机碳含量较高且土壤环境复杂多变, 短期不同土壤管理措施对土壤总有机碳含量无明显影响^[2]。因此越来越多的研究采用土壤活性有机碳组分(如可溶性有机碳、热水提取态有机碳、微生物生物量碳和颗粒有机碳)表征土壤管理措施和环境条件的变化^[2-4]。土壤活性有机碳组分是指土壤中周转时间较短, 易被微生物利用的有机碳组分^[2]。虽然这部分有机碳在土壤总有机碳中所占比重较小, 但是与土壤大团聚体的形成和稳定有显著相关关系, 对土壤养分含量和转化供应有着重要影响^[5-6]。此外, 研究表明土壤活性有机碳组分与温室气体(如CO₂、CH₄等)排放存在显

著相关关系^[7]。由于土壤活性有机碳对土壤管理措施的反应比土壤总有机碳更灵敏, 且与土壤其他性质的变化密切相关, 因此成为评价土壤质量及管理措施的一个重要指标^[2-3]。

土壤酶主要来自于土壤微生物以及活体动植物, 是推动土壤中生物和生物化学过程的重要动力, 可以作为构成土壤功能和生物活性的重要指标^[8]。其中部分土壤酶活性与土壤有机碳的转化存在密切关系。研究表明纤维素酶活性与可溶性有机碳含量存在显著正相关关系^[9-10], 这可能是由于纤维素酶能够将难溶的纤维素类物质分解为纤维二糖、果糖和葡萄糖等易溶于水的小分子成分^[11]。Sinsabaugh^[12]认为降低酚氧化酶活性有利于土壤中可溶性酚类物质的累积, 从而抑制水解酶类的活性, 减少其对土壤有机碳的分解, 进而有利于土壤有机碳的固存。因此明确土壤碳转化酶与活性有机碳组分的关系对于准确评估碳组分的变化具有重要意义。

紫云英(*Astragalus sinicus* L.)是我国南方水稻生产区重要的冬季绿肥, 翻压还田后能够减少化肥使用、改良土壤结构、促进土壤有机质累积和养

收稿日期: 2017-08-30; 最后修订日期: 2017-09-14

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201103005); 浙江省重大科技专项重点农业项目(2015C02013)。

作者简介: 李增强(1987-), 男, 山东潍坊人, 助理研究员, 博士, 主要从事土壤生态方面的研究。E-mail: lizengqiang789@163.com。

通讯作者: 王建红, E-mail: jianhong1203@sina.com。

分供应^[13]。目前关于翻压紫云英绿肥的研究主要集中在作物养分吸收、土壤理化性质变化等方面^[14-16]，而对于土壤碳转化酶活性及其与土壤活性有机碳组分关系等方面的研究较少。本文通过田间定位试验，研究不同紫云英施用量下土壤活性有机碳组分以及土壤碳转化酶活性的变化，探讨与碳转化相关的酶活性与活性有机碳组分变化的关系，以期揭示长期紫云英绿肥还田对稻田土壤肥力及可持续生产能力的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况与供试材料

试验位于浙江省金华市婺城区蒋堂农业科学试验站 (119°32'12" E, 29°04'8" N)。该地属于中亚热带季风气候，全年平均日照时数约 1 700 h，平均降水量约 1 500 mm，平均气温约 17.9 °C。试验地土壤类型为红壤黄筋泥土发育而成的水稻土，试验前土壤基础肥力为：有机质含量 21.5 g·kg⁻¹，全氮 1.45 g·kg⁻¹，碱解氮 248.2 mg·kg⁻¹，有效磷 (P) 25.0 mg·kg⁻¹，速效钾 (K) 34.4 mg·kg⁻¹，pH 值 5.38。试验选用的紫云英品种是当地主栽的“宁波大桥种”，鲜草含水量为 92.1%，氮、磷、钾含量分别为 3.82、0.39、3.61 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验于 2011 年 4 月开始，共设 6 个处理：(1) 对照 (CK)，不施用任何肥料；(2) 常规施用化肥 (CF)；(3) 翻压紫云英鲜草 30 t·hm⁻² (GM30)；(4) 翻压紫云英鲜草 60 t·hm⁻² (GM60)；(5) 翻压紫云英鲜草 90 t·hm⁻² (GM90)；(6) 翻压紫云英鲜草 120 t·hm⁻² (GM120)。每个处理均设 4 个重复小区，小区面积为 20 m²，随机排列。每年 4 月中旬按照试验设计翻压盛花期的紫云英，然后各小区淹水常规管理。为了避免紫云英根系对土壤生物化学性质的影响，本试验采用紫云英鲜草异地还田的方式进行。

供试水稻品种为“甬优 9 号”，5 月上旬育秧，选用分蘖 2~3 个且长势相对一致的秧苗植株于 6 月中旬移栽至各小区。CF 处理，于秧苗移栽的前一天施用碳酸氢铵 525.0 kg·hm⁻²，过磷酸钙 375.0 kg·hm⁻² 作为基肥，在分蘖初期施用尿素 187.5 kg·hm⁻²、氯化钾 112.5 kg·hm⁻²，在孕穗期施用尿素 75.0 kg·hm⁻²，氯化钾 75.0 kg·hm⁻²。翻压紫云英的 4 个处理均不施用任何化肥。

1.3 样品采集与测定

2016 年水稻收获后，采用多点混合采样法采集不同处理的表层 (0~20 cm) 土壤样品。在实验室内将样品中的石砾、根系及动植物残体等挑出，一部分直接过 2 mm 筛，然后保存在 4 °C 冰箱中；另一部分风干后过 2 mm 筛，备用。

土壤可溶性有机碳 (DOC) 采用 Jones 等^[17]的方法进行测定：称取 5 g 新鲜土样，加入 25 mL 蒸馏水，震荡 1 h，离心。上清液采用 0.45 μm 滤膜过滤，然后用 TOC 分析仪 (Multi N/C 3100) 测定其中有机碳含量。热水提取态有机碳 (HEOC) 采用 Ghani 等^[3]的方法进行测定：称取 5 g 新鲜土样，加入 50 mL 蒸馏水，震荡 30 min，离心去除上清液。重新加入 50 mL 蒸馏水，涡旋使其充分混合，封口，放入 80 °C 恒温水浴锅内，保温 16 h。冷却至室温后离心，上清液利用 0.45 μm 滤膜过滤，利用 TOC 分析仪测定其中有机碳含量。土壤微生物生物量碳 (MBC) 采用氯仿熏蒸-硫酸钾浸提法测定，以熏蒸土样与不熏蒸土样提取的有机碳的差值除以转换系数 K_c (0.45) 计算土壤微生物生物量碳^[18]。颗粒有机碳 (POC) 采用六偏磷酸钠溶液提取，利用重铬酸钾外加加热法测定其中碳含量^[4]。土壤总有机碳 (TOC) 含量也采用重铬酸钾外加加热法测定^[19]。

纤维素酶和蔗糖酶活性分别以羧甲基纤维素钠和蔗糖为底物，采用 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定；β-葡萄糖苷酶活性以对硝基苯-β-D-葡萄糖苷为底物，采用比色法测定^[8]。酚氧化酶和过氧化物酶活性以 L-DOPA (L-3, 4-dihydroxyphenylalanine, 左旋多巴) 为底物，采用比色法测定^[20]。上述酶活性均采用新鲜土样测定。

总体酶活性采用下面的公式计算^[21]：

$$E_i = \sum_{i=1}^n X_i / \bar{X}$$

其中 X_i 为供试土样第 i 种酶活性实测值， $\bar{X}$ 为同种酶活性平均值。

1.4 数据处理

所得数据均以烘干土计 (105 °C, 24 h)。数据采用单因素方差分析程序进行统计分析，多重比较采用 Tukey 法进行显著性检验 ($\alpha = 0.05$ 水平)；土壤活性有机碳组分含量与碳转化酶活性之间的关系采用 Pearson 相关性分析和逐步回归分析，整个

数据分析过程采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行。表中数据均为平均值 ± 标准差。

2 结果与分析

2.1 土壤活性有机碳和总有机碳

由表 1 可知，不同活性有机碳组分对不同处理的响应不同。与 CK 处理相比，CF、GM30、GM60、GM90 和 GM120 处理的土壤可溶性有机碳（DOC）含量分别增加了 19.6%、27.7%、59.8%、75.3%

和 97.6%（ $P < 0.05$ ），热水提取态有机碳（HEOC）含量分别增加了 17.9%、24.2%、36.3%、43.1% 和 55.9%（ $P < 0.05$ ），微生物生物量碳（MBC）含量分别增加了 16.4%、22.0%、32.6%、38.3% 和 48.5%（ $P < 0.05$ ），颗粒有机碳（POC）含量分别增加了 20.7%、31.0%、44.8%、55.2% 和 65.5%（ $P < 0.05$ ），总有机碳（TOC）含量则分别增加了 8.9%、14.6%、20.3%、21.1% 和 32.5%（ $P < 0.05$ ）。

表 1 不同处理下土壤活性有机碳组分和总有机碳含量变化

处理	可溶性有机碳 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	热水提取态有机碳 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	微生物生物量碳 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	颗粒有机碳 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总有机碳 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
CK	33.6 ± 1.0e	418.1 ± 2.8e	518.9 ± 2.2d	2.9 ± 0.1d	12.3 ± 0.0d
CF	40.2 ± 0.3d	493.0 ± 2.5d	603.8 ± 5.9c	3.5 ± 0.1c	13.4 ± 0.0c
GM30	42.9 ± 1.6d	519.4 ± 6.2d	632.9 ± 15.5c	3.8 ± 0.1c	14.1 ± 0.0c
GM60	53.7 ± 0.8c	569.9 ± 10.9c	688.1 ± 6.9b	4.2 ± 0.1b	14.8 ± 0.0b
GM90	58.9 ± 1.6b	598.4 ± 6.9b	717.5 ± 16.5b	4.5 ± 0.1b	14.9 ± 0.0b
GM120	66.4 ± 3.1a	651.8 ± 15.6a	770.5 ± 9.4a	4.8 ± 0.1a	16.3 ± 0.0a

注：同一列中不同小写字母表示不同处理间差异显著（ $P < 0.05$ ）。下同。

不同活性有机碳占总有机碳的比例依次为 POC/TOC > MBC/TOC > HEOC/TOC > DOC/TOC（表 2）。其中 DOC/TOC 和 HEOC/TOC 值表现为 CK < CF、GM30 < GM60 < GM90、GM120（ $P < 0.05$ ）。CK 处理的 MBC/TOC 和 POC/TOC 值与 CF 和 GM30 处理无显著差异，但是显著低于 GM60、GM90 和 GM120 处理。

表 2 不同处理下土壤活性有机碳组分占总有机碳的比例 (%)

处理	DOC/TOC	HEOC/TOC	MBC/TOC	POC/TOC
CK	0.27 ± 0.01d	3.41 ± 0.03d	4.23 ± 0.04c	24.00 ± 0.93c
CF	0.30 ± 0.01c	3.67 ± 0.04c	4.49 ± 0.07bc	26.07 ± 0.29bc
GM30	0.31 ± 0.02c	3.69 ± 0.03c	4.49 ± 0.07bc	26.71 ± 0.47abc
GM60	0.36 ± 0.00b	3.85 ± 0.02b	4.65 ± 0.06ab	28.47 ± 1.34ab
GM90	0.40 ± 0.02a	4.02 ± 0.09a	4.82 ± 0.15a	30.06 ± 1.38a
GM120	0.41 ± 0.01a	4.00 ± 0.05a	4.73 ± 0.08ab	29.78 ± 1.25a

2.2 土壤酶活性

由表 3 可知，与 CK 处理相比，CF、GM30、GM60、GM90 和 GM120 处理的纤维素酶活性分别增加了 14.3%、24.8%、40.6%、42.9% 和 54.9%（ $P < 0.05$ ），蔗糖酶活性分别增加了 27.2%、

44.9%、92.5%、91.7% 和 186.8%（ $P < 0.05$ ），β-葡萄糖苷酶活性分别增加了 41.9%、51.0%、91.9%、127.5% 和 165.0%（ $P < 0.05$ ），酚氧化酶活性分别增加了 7.1%、7.1%、14.3%、14.3% 和 21.4%（ $P < 0.05$ ），过氧化物酶活性分别增加了 16.7%、16.7%、21.7%、23.3% 和 28.3%（ $P < 0.05$ ）。与 CK 处理相比，CF 和施用紫云英处理（GM30、GM60、GM90 和 GM120）均显著增加了总体酶活性。

表 4 是酶活性与微生物生物量碳的比值，用来表征相对酶活性。相对纤维素酶活性在不同处理间无显著差异。CK 处理的相对蔗糖酶和相对 β-葡萄糖苷酶活性与 CF 和 GM30 处理相比无显著差异，但是显著低于 GM60、GM90 和 GM120 处理。CK 处理的相对酚氧化酶和相对过氧化物酶活性与 CF 处理相比无显著差异，但是显著高于 GM60、GM90 和 GM120 处理。

2.3 土壤活性有机碳和酶活性的关系

由表 5 可知，土壤不同活性有机碳之间、活性有机碳与总有机碳之间均存在显著的正相关关系。不同酶活性之间也存在显著正相关关系。另外，不同有机碳组分和酶活性以及总酶活性之间也存在显著正相关关系。

表 3 不同处理下土壤酶活性和总体酶活性的变化

处理	纤维素酶 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	蔗糖酶 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	β -葡萄糖苷酶 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	酚氧化酶 ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	过氧化物酶 ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	总体酶活性
CK	13.3 $\pm$ 0.5d	295.5 $\pm$ 18.6d	83.5 $\pm$ 4.6d	1.4 $\pm$ 0.0c	6.0 $\pm$ 0.1c	3.64 $\pm$ 0.03d
CF	15.2 $\pm$ 0.0c	376.0 $\pm$ 21.0c	118.5 $\pm$ 2.9c	1.5 $\pm$ 0.0b	7.0 $\pm$ 0.1b	4.36 $\pm$ 0.05c
GM30	16.6 $\pm$ 0.5c	428.3 $\pm$ 30.4c	126.1 $\pm$ 8.1c	1.5 $\pm$ 0.0b	7.0 $\pm$ 0.2b	4.61 $\pm$ 0.14c
GM60	18.7 $\pm$ 0.5b	568.9 $\pm$ 14.7b	160.2 $\pm$ 20.0b	1.6 $\pm$ 0.1ab	7.3 $\pm$ 0.1ab	5.31 $\pm$ 0.13b
GM90	19.0 $\pm$ 0.2b	566.5 $\pm$ 18.7b	190.0 $\pm$ 5.9b	1.6 $\pm$ 0.0ab	7.4 $\pm$ 0.1a	5.57 $\pm$ 0.04b
GM120	20.6 $\pm$ 0.8a	847.5 $\pm$ 24.0a	221.3 $\pm$ 7.1a	1.7 $\pm$ 0.0a	7.7 $\pm$ 0.1a	6.50 $\pm$ 0.13a

表 4 不同处理下土壤酶活性与微生物生物量碳的比值

处理	纤维素酶	蔗糖酶	β -葡萄糖苷酶	酚氧化酶	过氧化物酶
CK	0.025 7 $\pm$ 0.001 0a	0.569 2 $\pm$ 0.034 3d	0.160 9 $\pm$ 0.008 9d	0.002 7 $\pm$ 0.000 1a	0.011 6 $\pm$ 0.000 2a
CF	0.025 1 $\pm$ 0.000 3a	0.622 7 $\pm$ 0.033 6d	0.196 2 $\pm$ 0.003 3cd	0.002 5 $\pm$ 0.000 1ab	0.011 5 $\pm$ 0.000 2a
GM30	0.026 3 $\pm$ 0.001 3a	0.679 9 $\pm$ 0.066 2cd	0.200 1 $\pm$ 0.017 8cd	0.002 4 $\pm$ 0.000 0bc	0.011 1 $\pm$ 0.000 5ab
GM60	0.027 1 $\pm$ 0.000 5a	0.826 9 $\pm$ 0.023 0b	0.233 0 $\pm$ 0.029 3bc	0.002 3 $\pm$ 0.000 1cd	0.010 6 $\pm$ 0.000 5bc
GM90	0.026 6 $\pm$ 0.000 9a	0.789 5 $\pm$ 0.017 4bc	0.264 8 $\pm$ 0.004 9ab	0.002 3 $\pm$ 0.000 1cd	0.010 4 $\pm$ 0.000 3bc
GM120	0.026 8 $\pm$ 0.001 1a	1.099 5 $\pm$ 0.017 6a	0.287 3 $\pm$ 0.010 1a	0.002 2 $\pm$ 0.000 1d	0.009 9 $\pm$ 0.000 1c

表 5 土壤活性有机碳组分与酶活性间的相关性分析

	DOC	HEOC	MBC	POC	TOC	纤维素酶	蔗糖酶	β -葡萄糖苷酶	酚氧化酶	过氧化物酶	总体酶活性
DOC	1										
HEOC	0.967 **	1									
MBC	0.937 **	0.981 **	1								
POC	0.919 **	0.943 **	0.964 **	1							
TOC	0.902 **	0.969 **	0.952 **	0.894 **	1						
纤维素酶	0.958 **	0.966 **	0.933 **	0.884 **	0.939 **	1					
蔗糖酶	0.929 **	0.920 **	0.913 **	0.889 **	0.910 **	0.901 **	1				
β -葡萄糖苷酶	0.959 **	0.933 **	0.923 **	0.907 **	0.865 **	0.927 **	0.902 **	1			
酚氧化酶	0.861 **	0.912 **	0.886 **	0.859 **	0.885 **	0.884 **	0.769 **	0.817 **	1		
过氧化物酶	0.884 **	0.906 **	0.901 **	0.847 **	0.844 **	0.909 **	0.843 **	0.869 **	0.818 **	1	
总体酶活性	0.925 **	0.928 **	0.929 **	0.911 **	0.869 **	0.917 **	0.893 **	0.930 **	0.747 *	0.929 **	1

注: ** 表示极显著相关 ($P < 0.01$), * 表示显著相关 ($P < 0.05$)。

采用逐步回归分析进一步分析土壤酶活性与活性有机碳含量的关系 (表 6)。不同酶对活性有机碳组分的影响程度不同, 其中 β -葡萄糖苷酶和纤维素酶是

影响 DOC 的主要酶, 纤维素酶、酚氧化酶和蔗糖酶显著影响 HEOC, MBC 主要受 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶的影响, POC 主要受纤维素酶的影响。

表 6 土壤活性有机碳组分与酶活性的逐步回归分析

活性有机碳组分	模型	R^2	P 值
DOC	$Y = 2.214X_1 + 0.122X_2 - 7.116$	0.953	< 0.001
HEOC	$Y = 12.334X_1 + 0.132X_2 + 201.683X_3 - 56.593$	0.967	< 0.001
MBC	$Y = 30.181X_2 + 105.684X_3 + 135.023$	0.871	< 0.001
POC	$Y = 0.048X_1 - 0.390$	0.864	< 0.001

注: Y 代表相应的活性有机碳组分, X_1 代表纤维素酶活性, X_2 代表 β -葡萄糖苷酶活性, X_3 代表酚氧化酶活性。

3 讨论

土壤活性有机碳是土壤碳库的重要组成部分,与土壤养分供应、微生物活性等具有密切关系,能够快速响应田间管理措施的变化^[2-3]。本研究表明,随着紫云英施用量的增加,各处理的土壤活性有机碳组分含量分别较对照处理有显著提高,这与李正等^[22]的部分研究结果相似。研究表明土壤活性有机碳组分主要来自于外源有机物质和土壤有机碳的分解过程^[2]。随着紫云英施用量的增加,有利于土壤微生物将更多的紫云英碳转化为土壤活性有机碳组分。另外,随着紫云英施用量的增加,水稻产量和秸秆生物量显著增加^[14],从而导致更多的根系分泌物输入土壤中。由于根系分泌物主要是由易溶于水的小分子有机物质组成^[23],因此根系分泌物的输入能够直接促进土壤活性有机碳组分含量的增加。

由于活性有机碳易于被土壤微生物利用,活性有机碳组分与总有机碳的比值可在一定程度上表征土壤有机碳分解、矿化的难易程度,其值越大,表明土壤有机碳活性越高,较易矿化,周转期较短^[24]。本研究发现,与对照处理相比,随着紫云英施用量的增加,DOC/TOC、HEOC/TOC、MBC/TOC 和 POC/TOC 值均显著增加。一方面这可能是因为紫云英本身含有大量的可溶性有机物,紫云英施入土壤后这些物质能够直接转变为土壤活性有机碳组分,从而提高了活性有机碳组分的相对比例;另一方面紫云英作为一种新鲜有机物料施入土壤后能够促进原有土壤有机碳的分解(激发效应)^[1],形成更多的土壤活性有机碳,从而也能够增加土壤活性有机碳的相对比例。徐一兰等^[25]利用长期定位试验也发现随着有机肥施用量的增加 MBC/TOC 值显著增加。

土壤酶是土壤生物活性的重要指标,能够推动土壤物质转化和能量流动,对土壤肥力的形成和变化具有重要影响^[8]。本研究发现随着绿肥施用量的增加,酚氧化酶和过氧化物酶活性显著增加。田小明等^[26]利用盆栽试验也发现土壤酚氧化酶活性与生物有机肥施用量成正比。由于土壤酶活性不仅受环境条件(如温度、水分含量等)的显著影响,而且与底物浓度呈正相关关系^[8],紫云英施用量的增加能够为相应的酶提供更多的酚类和木质素类底物,从而导致两种酶活性的显著增加。另外本研究

也发现纤维素酶、蔗糖酶和 β -葡萄糖苷酶活性随着紫云英施用量的增加而显著增加,这与叶协锋等^[27]的研究结果类似。路文涛等^[28]也发现随着外源有机物质(秸秆)施用量的增加,土壤蔗糖酶活性显著增加。纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶能够将纤维素类物质催化分解为易溶于水的糖类物质^[11],蔗糖酶主要参与二糖类物质的催化分解^[8]。纤维素酶、蔗糖酶和 β -葡萄糖苷酶活性的增加一方面可能是由底物浓度的增加所引起的,另一方面,增加土壤酚氧化酶活性能够将更多的酚类物质转化为醌类,从而能够消除土壤酚类物质对这3种水解酶类的毒害作用,提高纤维素酶、蔗糖酶和 β -葡萄糖苷酶的活性^[29]。

由于大部分酶都是土壤微生物合成和释放的,用绝对酶活性与MBC的比值表征相对酶活性能够消除微生物对酶活性的影响,从而更加准确的评价不同管理措施对酶活性的影响^[30]。Lagomarsino等^[31]认为酶活性与MBC的比值越高表明酶催化活性越强。本研究发现,与对照相比,随着紫云英施用量的增加,相对蔗糖酶和相对 β -葡萄糖苷酶活性均显著增加。一方面可能是因为外源大量有机物质的输入能够直接提高酶的催化活性,另一方面可能是因为长期施用绿肥能够为酶提供更多的附着位点并且改善了酶促反应的微域环境条件,从而提高了酶的催化活性^[32]。然而,研究也发现与对照处理相比,随着紫云英施用量的增加,相对酚氧化酶和相对过氧化物酶活性显著降低。酚氧化酶和过氧化物酶均属于氧化酶类,主要参与土壤中木质素等复杂物质的氧化降解过程,进而为微生物群落提供足够的碳源和养分等物质^[33]。由于紫云英中含有丰富的易利用碳源和养分,随着紫云英施用量的增加,土壤微生物群落对于来自土壤的碳源和养分的依赖性逐渐降低,从而导致相对酚氧化酶和相对过氧化物酶活性的降低。

土壤酶参与一系列的土壤生化过程,与土壤有机碳的转化密切相关。本研究表明,土壤活性有机碳组分与土壤酶活性间均存在显著的正相关关系,这与Li等^[34]的研究结果相似。通过逐步回归分析则进一步发现纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶是影响活性有机碳的关键酶。纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶均为水解酶,能够将外源输入的有机物质或土壤有机质转化为活性有机碳。Wickings等^[11]认为纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶能够将纤维素转化为

活性有机碳。而酚氧化酶通过氧化酚类物质,减少其在土壤溶液中的累积,从而降低酚类物质对水解酶的毒害作用,进而提高水解酶类活性,促进活性有机碳的形成^[12]。

4 结论

增加紫云英施用量能够显著增加土壤活性有机碳组分含量以及土壤活性有机碳组分与总有机碳的比值,提高与碳转化相关的酶活性。不同碳转化酶的相对活性对紫云英施用量的响应不同,其中相对蔗糖酶和相对 β -葡萄糖苷酶活性随着紫云英施用量的增加而显著增加,而相对酚氧化酶和相对过氧化物酶活性则随着紫云英施用量的增加而显著降低。增加纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶活性能够提高DOC含量,增加纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶活性能够提高HEOC含量,增加 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶活性能够提高MBC含量,增加纤维素酶活性能够提高POC含量。

参考文献:

- [1] 黄昌勇. 土壤学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [2] Haynes R J. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview [J]. *Advances in Agronomy*, 2005, 85: 221–268.
- [3] Ghani A, Dexter M, Perrott K W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilization, grazing and cultivation [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35 (9): 1231–1243.
- [4] Cambardella C A, Elliott E T. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1992, 56 (3): 777–783.
- [5] 李江涛, 钟晓兰, 赵其国. 施用畜禽粪便和化肥对土壤活性有机碳库和团聚体稳定性影响 [J]. *水土保持学报*, 2010, 24 (1): 233–238.
- [6] 刘淑霞, 刘景双, 赵明东, 等. 土壤活性有机碳与养分有效性及作物产量的关系 [J]. *吉林农业大学学报*, 2003, 25 (5): 539–543.
- [7] Bhattacharyya P, Roy K S, Neogi S, et al. Effects of rice straw and nitrogen fertilization on greenhouse gas emissions and carbon storage in tropical flooded soil planted with rice [J]. *Soil and Tillage Research*, 2012, 124: 119–130.
- [8] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [9] Li S, Zhang S R, Pu Y L, 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.
- [10] Chen X L, Chen H Y H, Chen X, et al. Soil labile organic carbon and carbon-cycle enzyme activities under different thinning intensities in Chinese fir plantations [J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 162–169.
- [11] Wickings K, Grandy A S, Reed S C, et al. The origin of litter chemical complexity during decomposition [J]. *Ecology Letters*, 2012, 15 (10): 1180–1188.
- [12] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42 (3): 391–404.
- [13] 曹卫东, 黄鸿翔. 关于我国恢复和发展绿肥若干问题的思考 [J]. *中国土壤与肥料*, 2009, (4): 1–3.
- [14] 王建红, 曹凯, 张贤. 紫云英翻压量对单季晚稻养分吸收和产量的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20 (1): 156–163.
- [15] 杨滨娟, 黄国勤, 兰延, 等. 施氮和冬种绿肥对土壤活性有机碳及碳库管理指数的影响 [J]. *应用生态学报*, 2014, 25 (10): 2907–2913.
- [16] Zhu B, Yi L X, Hu Y G, et al. Nitrogen release from incorporated ¹⁵N-labelled Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) residue and its dynamics in a double rice cropping system [J]. *Plant and Soil*, 2014, 374 (1–2): 331–344.
- [17] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38 (5): 991–999.
- [18] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, et al. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction – an automated procedure [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22 (8): 1167–1169.
- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [20] Shi W, Dell E, Bowman D, et al. Soil enzyme activities and organic matter composition in a turfgrass chronosequence [J]. *Plant and Soil*, 2006, 288 (1–2): 285–296.
- [21] 和文祥, 谭向平, 王旭东, 等. 土壤总体酶活性指标的初步研究 [J]. *土壤学报*, 2010, 47 (6): 1232–1236.
- [22] 李正, 刘国顺, 敬海霞, 等. 绿肥与化肥配施对植烟土壤微生物量及供氮能力的影响 [J]. *草业学报*, 2011, 20 (6): 126–134.
- [23] Hutsch B W, Augustin J, Merbach W. Plant rhizodeposition: an important source for carbon turnover in soils [J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2002, 165: 397–407.
- [24] 吕茂奎, 谢锦升, 周艳翔, 等. 红壤侵蚀地马尾松人工林恢复过程中土壤非保护性有机碳的变化 [J]. *应用生态学报*, 2014, 25 (1): 37–44.
- [25] 徐一兰, 唐海明, 肖小平, 等. 长期施肥对双季稻田土壤微生物学特性的影响 [J]. *生态学报*, 2016, 36 (18): 5847–5855.
- [26] 田小明, 李俊华, 危常州, 等. 不同生物有机肥用量对土壤活性有机质和酶活性的影响 [J]. *中国土壤与肥料*,

- 2012, (1): 26–32.
- [27] 叶协锋, 杨超, 李正, 等. 绿肥对植烟土壤酶活性及土壤肥力的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19 (2): 445–454.
- [28] 路文涛, 贾志宽, 张鹏, 等. 秸秆还田对宁南旱作农田土壤活性有机碳及酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30 (3): 522–528.
- [29] Grandy A S, Neff J C, Weintraub M N. Carbon structure and enzyme activities in alpine and forest ecosystems [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39: 2701–2711.
- [30] Raiesi F, Beheshti A. Soil specific enzyme activity shows more clearly soil responses to paddy rice cultivation than absolute enzyme activity in primary forests of northwest Iran [J]. Applied Soil Ecology, 2014, 75: 63–70.
- [31] Lagomarsino A, Benedetti A, Marinari S, et al. Soil organic C variability and microbial functions in a Mediterranean agro-forest ecosystem [J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47 (3): 283–291.
- [32] Kandeler E, Stemmer M, Klimanek E M. Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31 (2): 261–273.
- [33] Freeman C, Ostle N J, Fenner N, et al. A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36 (10): 1663–1667.
- [34] Li Z Q, Zhao B Z, Zhang J B. Effects of maize residue quality and soil water content on soil labile organic carbon fractions and microbial properties [J]. Pedosphere, 2016, 26 (6): 829–838.

Effects of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) application rate on soil labile organic carbon and C-transformation enzyme activities

LI Zeng-qiang¹, ZHANG Xian¹, WANG Jian-hong^{1*}, CAO Kai¹, XU Chang-xu², CAO Wei-dong³ (1. Institute of Environment and Resource & Soil Fertilizer, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou Zhejiang 310021; 2. Institute of Soil & Fertilizer and Resource & Environment, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang Jiangxi 330200; 3. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: The effects of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L. hereafter vetch) application rate on changes of soil labile organic carbon fractions and C-transformation enzyme activities were studied through vetch returning site-specific experiment. The relationships between the contents of soil labile organic carbon fractions and enzyme activities were also investigated in this study. The experiment included control, application chemical fertilizer, and four vetch application rate (30, 60, 90 and 120 t·hm⁻²) treatments. The results showed that application of fertilizer or vetch both significantly increased the content of soil labile organic carbon (dissolved organic carbon, hot-water extractable organic carbon, microbial biomass carbon, particulate organic carbon) compared with control treatment. The increase in vetch application rates led to significant increase of soil labile organic carbon content. The C-transformation enzyme activities showed similar trend with soil labile organic carbon. In comparison with control treatment, fertilizer and vetch application increased the activities of cellulose, invertase, β -glucosidase, phenol oxidase and peroxidase by 14% and 24% ~ 55%, 27% and 45% ~ 187%, 42% and 51% ~ 165%, 11% and 11% ~ 24%, 16% and 16% ~ 27%, respectively. Application of chemical fertilizer treatment had similar the relative enzyme activity (the ratio of enzyme activity to microbial biomass carbon) compared with control treatment. The increase in vetch application rates significant increased the relative activities of invertase and β -glucosidase, but decreased the relative activities of phenol oxidase and peroxidase compared with control treatment. Stepwise multiple regression analysis showed that the activities of cellulose, β -glucosidase and phenol oxidase played the principal role in determining contents of soil labile organic carbon.

Key words: Chinese milk vetch application rate; labile organic carbon fractions; C-transformation enzyme activity; relative enzyme activity; stepwise multiple regression analysis