长期施肥对稻麦轮作紫色土有机碳组分及酶活性的影响

徐文静[1]，张宇亭[1,3]，魏 勇[1]，张建伟[1]，胡琪娟[1]，刘 瑞[1]，张学良[1]，石孝均[1,2,3]

(1.西南大学资源环境学院，重庆 400716；
2.国家紫色土肥力与肥料效益监测基地，重庆 400716；3.西南大学农业科学研究院，重庆 400716)

摘要：为了探明西南地区长期不同施肥处理对稻麦轮作紫色土有机碳组分和碳循环相关水解酶活性的影响，依托重庆北碚 29 年稻麦轮作紫色土长期定位试验，选取不施肥(CK)、单施氮磷钾肥(NPK)、有机无机配施(NPKM)、秸秆还田配施含氯化肥[$(NPK)_{Cl}S$]和秸秆还田配施无机肥(NPKS)5 个处理，测定土壤各组分有机碳含量及与土壤碳循环相关的水解酶活性并分析两者间的相关性。结果表明：长期施肥(NPK、NPKM 和 NPKS)显著提高土壤总有机碳和不同组分有机碳含量，各施肥处理土壤总有机碳含量较 CK 提升 11.6%～40.2%，其中以 NPKS 处理的提升效果最佳；cPOC、i_POC 和 M_s＋c 与总有机碳含量呈显著正相关，其中粗颗粒有机碳(cPOC)组分对土壤碳库变化反应最敏感，土壤总有机碳每提升 1 个单位有 0.4 个单位的碳保存于 cPOC 中。在化学保护、物理保护和未受保护三大有机碳库中，化学保护有机碳库是紫色土有机碳的主要固存组分，平均占 66.1%；土壤有机碳在不同碳库的分配受施肥影响，NPKM 和 NPKS 处理土壤未受保护有机碳和物理保护有机碳的分配比例较 CK 处理显著升高，增幅为 10.1%～24.1%。施肥显著提高土壤碳循环水解酶活性，与 CK 相比，NPKM 和 NPKS 处理的土壤 α—葡萄糖苷酶(AG)、β—葡萄糖苷酶(BG)和 β—木糖苷酶(BDX)活性提高 14.5%～89.1%，提升效果最佳；水解酶(AG、BG 和 BDX)活性与土壤未受保护有机碳呈显著正相关。综上，有机无机配施是提升土壤有机碳含量和土壤碳循环相关水解酶活性的最佳培肥措施。

关键词：长期施肥；紫色土；物理分组；有机碳组分；水解酶活性

中图分类号：S153.6　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1009-2242(2022)02-0292-08

DOI：10.13870/j.cnki.stbcxb.2022.02.037

Effects of Long-term Fertilization on Organic Carbon Fractions and Enzyme Activities in Purple Soil Under Rice Wheat Rotation

XU Wenjing[1], ZHANG Yuting[1,3], WEI Yong[1], ZHANG Jianwei[1],
HU Qijuan[1], LIU Rui[1], ZHANG Xueliang[1], SHI Xiaojun[1,2,3]

(1.*College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing* 400716;
2.*National Monitoring Station of Soil Fertility and Fertilizer Efficiency on Purple Soils, Chongqing* 400716; 3.*Academy of Agricultural Sciences, Southwest University, Chongqing* 400716)

Abstract: To explore the effects of long-term different fertilization treatments on organic carbon fractions and hydrolase activities related to carbon cycle of purple soil under rice wheat rotation in Southwest China, this work was based on the long-term fixed-point experiment of 29-years rice wheat rotation in purple soil of Beibei in Chongqing. Five treatments were applied to determine the contents of soil organic carbon fractions and the activities of hydrolases related to soil carbon cycle including no fertilization (CK), single application of NPK, combined application of organic and inorganic fertilizer (NPKM), straw returning with chlorinated fertilizer ($(NPK)_{Cl}S$), and straw returning with inorganic fertilizer (NPKS). Their correlations were further analyzed accordingly. Results showed that long-term fertilization (NPK, NPKM, and NPKS) significantly increased soil total organic carbon and different fractions of organic carbon content, the total organic carbon content of each fertilization treatment was enhanced by 11.6%～40.2% when compared with CK. Amongst them, NPKS treatment exhibited the most significant improvement effect. Coarse particle organic carbon (cPOC), particle organic carbon within microaggregates (i_POC), silt and clay particles organic carbon

收稿日期：2021-09-23
资助项目：国家绿肥产业技术体系项目(CARS-22-G-13)
第一作者：徐文静(1997—)，女，在读硕士研究生，主要从事土壤健康研究。E-mail：1586071314@qq.com
通信作者：石孝均(1964—)，女，研究员，主要从事养分循环与环境质量研究。Email：shixj@swu.edu.cn

within macroaggregates(M_s+c) showed significant positive correlation with total organic carbon content. Notably, cPOC were the most sensitive to the change of soil carbon pool, 0.4 unit of soil organic carbon was stored in cPOC for each unit increase of soil organic carbon. In the three major organic carbon pools of chemical protected, unprotected, and physically protected, the chemical protected organic carbon pool was the main fractions of organic carbon in purple soil, accounting for 66.1% on average. The distribution of soil organic carbon in different carbon pools was affected by fertilization, as compared to CK, the distribution proportion of unprotected and physically protected organic carbon in soil treated with NPKM and NPKS was significantly improved, with an increased rate of 10.1%～24.1%. Moreover, ferlilization significantly increased hydrolase activities related to carbon cycle. The activities of α-glucosidase (AG), β-glucosidase (BG), and β-xylosidase (BDX) in soil treated by NPKM and NPKS were enhanced by 14.5%～89.1% in comparison with CK, and were the best enhanced enzymes. There was a significant positive correlation between hydrolase activities (AG, BG and BDX)and unprotected soil. In conclusion, the combined application of organic and inorganic fertilizer is the best fertilization measure to improve soil organic carbon content and hydrolase activities related to the soil carbon cycle.

Keywords: long-term fertilization; purple soil; physical fractionation; organic carbon fractions; hydrolase enzyme activity

土壤有机碳(SOC)是评价土壤质量的关键指标,土壤固碳在改良培肥土壤、提高农业生产力以及缓解全球气候变暖等方面发挥着重要作用[1]。随着农业集约化强度增加,施肥已成为影响 SOC 数量和质量的重要管理措施,施肥既可能通过外源有机肥的投入或者根茬还田提高 SOC 含量,也可能因为激发效应降低 SOC 含量,从而改变土壤中有机碳的组分[1-3]及与之相关的土壤酶活性[4-7]。不同 SOC 组分间存在高度异质性,具有不同功能与性质的碳组分在 SOC 的稳定和积累中"各司其职"[3],是反映土壤质量的敏感性指标,明确不同有机碳组分的变化是了解施肥对土壤质量影响的重要手段。因此,研究长期施肥对土壤有机碳组分和土壤酶活性的影响,并寻求最佳施肥管理措施,对提升土壤质量有重要的实际指导意义。

近年来,国内外研究者对不同施肥处理下 SOC 组分特征开展了大量研究,已有的有机碳分组方法主要包括化学分组、物理化学分组和物理分组等[8],其中由 Six 等[2]提出物理分组技术由于基本不改变 SOC 原有的性质而被广泛应用[9],将 SOC 分为 3 个不同概念库:未受保护有机碳库、物理保护有机碳库和化学保护有机碳库。其相关研究的结论不尽相同,总体上认为有机培肥措施能显著提高土壤总有机碳和各组分有机碳含量,尤其是大幅度提高未受保护和物理保护的有机碳组分含量。不同土壤条件、有机肥种类等对碳组分的影响存在较大差异,王晓娇等[10]在黄土高原旱作玉米农田研究发现,有机培肥均能显著提高土壤总有机碳和各组分有机碳含量;刘小粉等[11]研究了水稻土 SOC 组分对绿肥有机肥配施的响应发现,在施用有机肥的基础上配施绿肥能显著提高未受保护有机碳库组分含量;Abrar 等[12]对东北黑土研究表明,粗颗粒有机碳(cPOC)含量和大团聚体内微团聚体包裹的颗粒有机碳(i_POC)含量在单施有机肥和有机无机配施处理下显著提高,物理保护机制在土壤固碳中发挥了重要作用。此外,大量研究[13-14]表明,施肥尤其是施用有机肥能直接或间接影响土壤酶活性。石丽红等[15]研究认为,有机肥或秸秆还田配合施用化肥有利于提高土壤碳循环水解酶活性;有机肥对土壤酶活性的影响随施用量的增加而增加[16]。前人对黄壤[8]、红壤[4]、黑土[12]、水稻土[15]等土壤类型有机碳库组分和土壤酶活性对施肥管理的响应特征已有报道,结果表明,施肥管理对农田 SOC 组分和土壤酶活性的影响因气候条件、作物系统和土壤类型等因素的不同存在较大的区域差异,但是关于长期施肥下紫色土碳组分特征及其与碳循环相关酶活性的研究鲜见报道。

紫色土是由紫色母岩发育形成的岩性土,集中分布于四川盆地,面积约为 16 万 km^2[17]。由于紫色土具有成土时间短、土壤固结性差、持水力弱等特点,有机质和氮缺乏已成为制约紫色土农田作物高产和土壤质量提升的主要障碍因子之一[18]。目前关于长期施肥对紫色土有机碳的影响研究主要集中在团聚体有机碳、活性有机碳和微生物碳等方面[18-19],然而,长期施肥对稻麦轮作紫色土不同保护机制有机碳组分的影响,以及不同保护机制有机碳组分与土壤酶活性的关系等尚不明确。因此,本文以 29 年的稻麦轮作紫色土长期定位试验为基础,利用物理分组技术,探讨不同施肥措施下紫色土不同保护机制有机碳组分特征,测定土壤碳循环相关水解酶活性,探究长期不同施肥处理对培肥土壤、提高土壤有机碳稳定性的内在机理,为紫色土农田优化施肥和固碳增产管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验在重庆市北碚区西南大学试验农场的国家紫色土肥力与肥料效益监测站(29°48′36″N,106°24′33″E)进行,为典型紫色土丘陵区,海拔 266.3 m,属亚热带湿润季风气候,年均气温 18.3 ℃,年降水量 1 087 mm,无霜期约 330 天,年均日照时间 1 293 h。试验地为中性紫色水稻土,初始耕层(0—20 cm)土壤基本性质为:有机质含量 24.2 g/kg,全氮含量 1.25 g/kg,全磷含量 0.67 g/kg,碱解氮含量 93 mg/kg,速效磷含量 4.3 mg/kg,速效钾含量 88 mg/kg,pH 7.7。

1.2 试验设计

长期试验始于 1991 年,主要采用小麦—水稻 1 年 2 熟的水旱轮作制。试验共设 13 个处理,每个处理 120 m^2。本研究选取其中的 5 个处理:(1)不施肥(CK);(2)单施氮磷钾肥(NPK);(3)有机无机配施(NPKM);(4)秸秆还田配施含氯化肥((NPK)$_{Cl}$S);(5)秸秆还田配施无机肥(NPKS)。1991—1996 年,化肥每季用量为 150 kg/hm^2 N,75 kg/hm^2 磷肥(P_2O_5),75 kg/hm^2 钾肥(K_2O)。从 1996 年秋季起,每季 P_2O_5、K_2O 用量改为 60 kg/hm^2;小麦 N 肥用量改为 135 kg/hm^2;水稻 N 肥仍为 150 kg/hm^2;有机肥每年施 1 次,于秋季小麦播种前作基肥施用,用量为猪粪尿 22.5 t/(hm^2 · a)、稻草 7.5 t/(hm^2 · a)(干重)。2014 年之后 NPKM 处理有机肥使用商品有机肥,用量改为 2.5 t/(hm^2 · a),秸秆用量改为 4.5 t/(hm^2 · a)。

1.3 测定项目与方法

土壤样品于 2020 年 8 月水稻收获后采集并测定,每个处理取 4 个重复,每个重复以“S”形在 0—20 cm 的耕层土壤中随机选定 10 个点进行采集,剔除植物残根,分成 2 份:一份土样进行冷冻干燥处理后于 −20 ℃保存,用于测定土壤酶活性。剩余土样风干后用于测定各有机碳组分。

1.3.1 土壤水解酶活性测定 土壤 α—葡萄糖苷酶(AG)、β—葡萄糖苷酶(BG)、β—木糖苷酶(BDX)和纤维二糖水解酶(CBH)活性采用相关试剂盒(苏州梦犀生物医药科技有限公司)测定。

1.3.2 土壤有机碳分组 土壤有机碳分组采用物理分组方法[2,20],将土壤有机碳分为 3 个碳库,即未受保护有机碳(cPOC、M_POC、f_POC)、物理保护有机碳(i_POC、m_POC)和化学保护有机碳(f_s+c、M_s+c、i_s+c、m_s+c),分组程序见图 1。

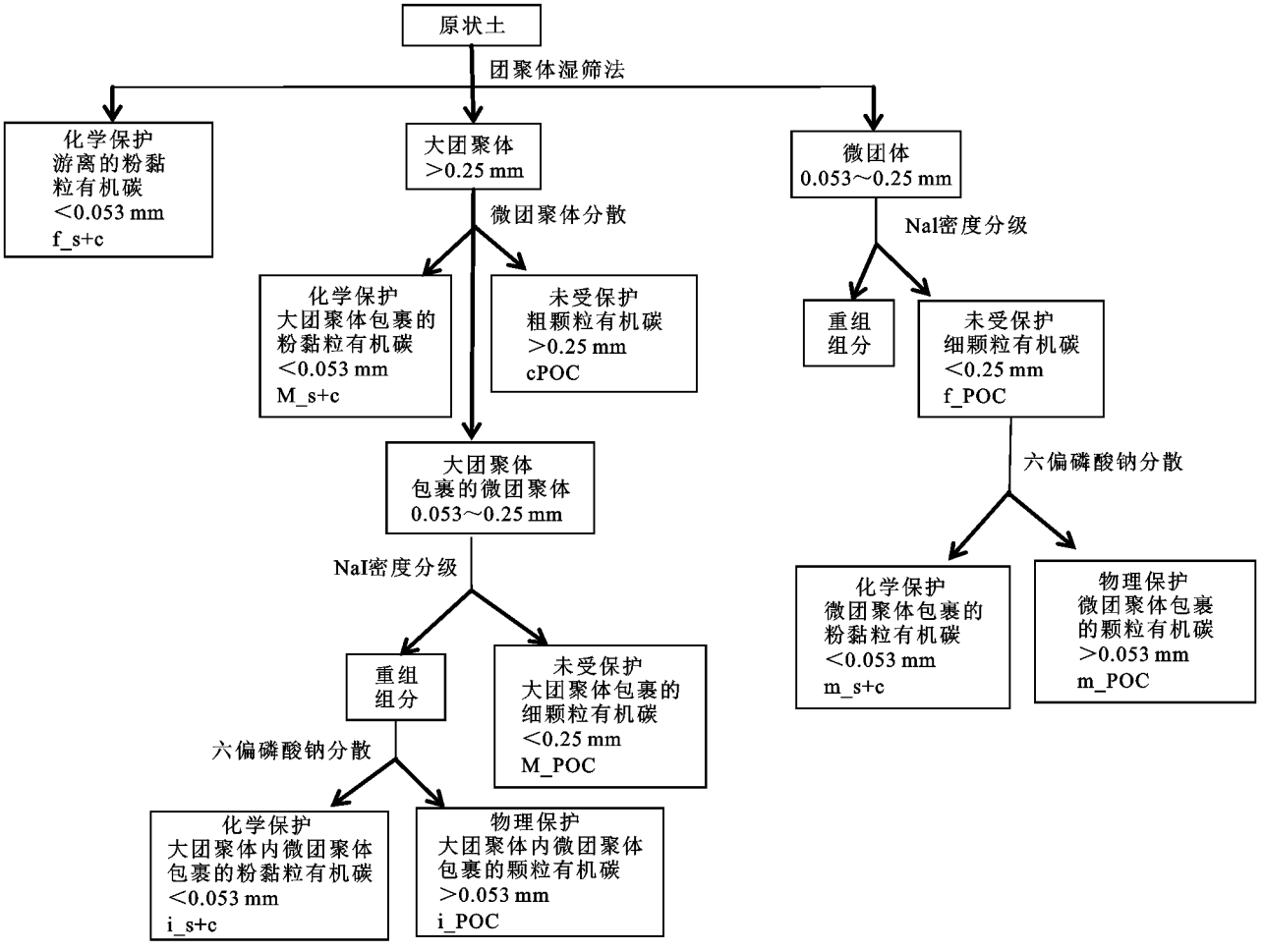


图 1 物理分组流程

土壤物理分组方法具体流程:称取 50 g 土壤,首先将过 8 mm 筛的风干土湿筛,获取 3 个组分,即受化学保护的游离粉黏粒有机碳(f_s+c),>0.25 mm 和 0.053~0.25 mm 组分;再将>0.25 mm 组分进行微团聚体分散,在 0.25 mm 筛上放置直径为 4 mm 的玻璃珠 50 颗,淹水浸泡 5 min,并下置 0.053 mm 筛,在恒定水流冲刷下振荡过筛,得到未受保护的粗颗粒有机碳(cPOC)、受化学保护的大团聚体包裹的粉黏粒有机碳(M_s+c)和大团聚体包裹的微团聚体 3 个组分;其次将第 1 步得到的 0.053~0.25 mm 组分和大团聚体包裹的微团聚体组分进行密度浮选,得到未受保护的大团聚体包裹的细颗粒有机碳(M_POC)和游离的细颗粒有机碳(f_POC),再将重组经过六偏磷酸钠分散过 0.053 mm 筛,得到受物理保护的大团聚体内微团聚体包裹的颗粒有机碳(i_POC)和微团聚体包裹的颗粒有机碳(m_POC),同时得到受化学保护的大团聚体内微团聚体包裹的粉黏粒有机碳(i_s+c)和微团聚体包裹的粉黏粒有机碳(m_s+c)。本试验中由于 M_POC、f_POC 组分所得量少,所以与 cPOC 组分一起测定。

采用重铬酸钾—浓硫酸外加热法[21]测定全土以及各有机质组分中的有机碳含量。各个组分的质量以及有机碳含量的结果用于有机质组分含量、有机质含量及分配比例的计算,其计算公式为:

$$W(\mathrm{g/kg}) = W_i \times P_i$$

$$P(\%) = W/\mathrm{SOC} \times 100\%$$

式中:W 为各组分有机碳在全土中的含量(g/kg);W_i 为各组分有机碳浓度(g/kg);P_i 为该组分的质量分数(g/g);P 为各组分有机碳的分配比例(%);SOC 为全土有机碳含量(g/kg)。

1.4　数据处理

利用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。采用单因素方差分析对处理间差异进行显著性检验,显著水平为 0.05,用 LSD 法进行多重比较。用线性函数对总有机碳含量与各组分有机碳含量的关系进行拟合。用 Pearson 的双侧检验法对不同保护机制有机碳组分与碳循环相关酶活性进行相关性分析。利用 Origin 2018 绘图软件进行绘图。

2　结果与分析

2.1　长期不同施肥处理土壤总有机碳含量特征

由试验结果可知,CK、NPK、NPKM、$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS处理土壤总有机碳含量分别为 12.47,14.74,15.14,13.91,17.48 g/kg,呈现出 NPKS>NPKM≈NPK>$(NPK)_{Cl}S$>CK 的规律,各施肥处理土壤总有机碳含量较 CK 处理均有显著提高($P<0.05$),提升幅度为 11.6%~40.2%,其中 NPKS 处理对土壤总有机碳含量提升效果最大,其次为 NPKM、NPK 处理,$(NPK)_{Cl}S$ 处理对总有机碳含量的提升幅度最小。

2.2　长期不同施肥处理土壤有机碳不同组分含量特征

由表 1 可知,紫色土三大碳库有机碳含量所有处理均为化学保护有机碳>未受保护有机碳>物理保护有机碳含量,其中化学保护、未受保护有机碳比物理保护有机碳平均含量分别提高 7.3,2.8 倍。不同施肥处理对土壤有机碳库组分影响显著,NPK、NPKM 和 NPKS 处理均显著提高未受保护有机碳 cPOC 含量,与 CK 处理相比,分别提高 32.3%,58.5%和 76.3%,其中 NPKM 和 NPKS 处理优于 NPK 处理;但$(NPK)_{Cl}S$ 处理较 CK 处理无显著差异。

物理保护有机碳库各组分有机碳含量在长期不同施肥处理下也表现出明显差异(表 1)。施肥 29 年后 i_POC 含量显著高于 CK 处理,各施肥处理 i_POC 含量提升 19.5%~64.9%,其中 NPKS 处理下 i_POC 含量提升最显著;秸秆还田的$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理显著提高 m_POC 含量($P<0.05$),与 CK 处理相比,分别提高 44.6%和 65.1%,而 NPK 和 NPKM 处理与 CK 处理相比 m_POC 含量无显著变化。

化学保护碳库的 4 个组分中,以 i_s+c 组分碳含量最高,其次是 M_s+c,f_s+c 碳含量最低。长期不同施肥对化学保护碳库各组分有机碳含量也有不同程度的影响。较 CK 处理,NPK 和 NPKM 处理 f_s+c 含量显著降低,分别降低 12.7%和 19.1%,而$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理 f_s+c 含量较 CK 处理无显著变化;M_s+c 和 i_s+c 含量在长期不同施肥后较 CK 处理均有显著提高,NPK、NPKM、$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理 M_s+c 和 i_s+c 含量分别提高 16.9%,26.6%,23.0%,33.2%和 32.7%,24.6%,25.8%,38.2%,均以 NPKS 处理提升效果最佳;与 CK 处理相比,NPK 和 NPKS 处理下 m_s+c 含量显著提高,分别为 1.38,1.24 g/kg,增加 51.5%和 36.9%,NPKM 和$(NPK)_{Cl}S$ 处理 m_s+c 含量较 CK 处理无显著差异。可见,长期施肥会引起土壤各有机碳库组分含量的变化,与对照相比,未受保护有机碳库和物理保护有机碳库组分含量的提升幅度大于化学保护有机碳库组分含量。

2.3　长期不同施肥处理土壤有机碳组分与总有机碳含量的关系

图 2 相关分析结果表明,长期不同施肥下土壤中 cPOC、i_POC 和 M_s+c 与总有机碳含量呈显著正相关关系($P<0.05$),方程斜率的高低反映各组分碳随总有机碳的变化大小。由方程斜率可知,总有机碳变化引起的 cPOC 变化率最高,其次是 i_s+c;方程的斜率表明,

总有机碳含量每提升 1 个单位(g/kg),其中有 40%(即 0.4 个单位的碳)成为 cPOC 组分,21%成为 i_s+c 组分,11%成为 M_s+c 组分,8%成为 i_POC 组分,还有 20%成为 m_POC、f_s+c 和 m_s+c 组分。

表 1 长期施肥下土壤各组分有机碳含量 单位:g/kg

处理	未受保护有机碳 cPOC	物理保护有机碳 i_POC	物理保护有机碳 m_POC	化学保护有机碳 f_s+c	化学保护有机碳 M_s+c	化学保护有机碳 i_s+c	化学保护有机碳 m_s+c
CK	2.32±0.02d	0.62±0.03d	0.21±0.01c	0.92±0.03ab	1.87±0.03d	3.11±0.07b	0.91±0.05c
NPK	3.07±0.17c	0.90±0.04b	0.22±0.02c	0.80±0.07c	2.19±0.14c	4.12±0.29a	1.38±0.09a
NPKM	3.70±0.06b	0.94±0.08b	0.23±0.02c	0.74±0.08c	2.37±0.01ab	3.87±0.33a	0.95±0.07c
$(NPK)_{Cl}S$	2.25±0.14d	0.74±0.02c	0.30±0.02b	0.90±0.02b	2.30±0.03bc	3.91±0.09a	0.91±0.06c
NPKS	4.09±0.21a	1.03±0.05a	0.34±0.03a	0.99±0.01a	2.49±0.20a	4.29±0.34a	1.24±0.07b

注:表中数据为平均值±标准差;同列数字后不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

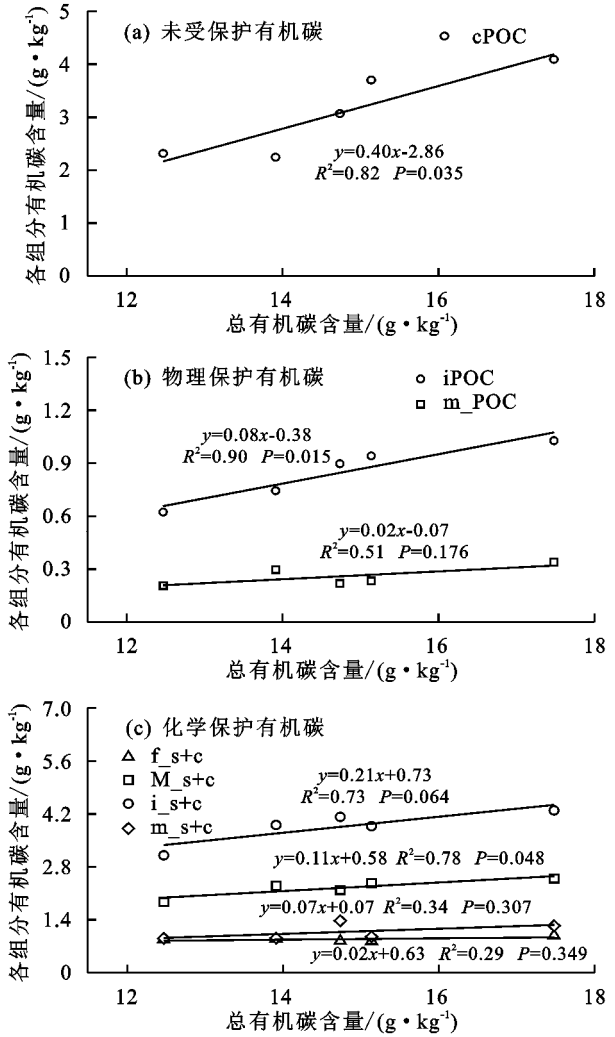


图 2 长期施肥下土壤总有机碳含量与各组分有机碳含量的相关性

2.4 长期施肥下土壤有机碳组分分配比例

从图 3 可以看出,土壤各有机碳组分占总有机碳的比例在长期不同施肥处理下存在显著差异。各施肥处理的土壤化学保护有机碳库所占比例为 61.9%~70.9%,是总有机碳库中占比最高的组分;其次为未受保护有机碳(19.9%~28.9%),物理保护有机碳库所占比例最低,为 8.3%~9.4%。土壤化学保护有机碳的分配比例是其他组分的 2~9 倍。可见,土壤化学保护有机碳是土壤中有机碳的主要储存组分。与 CK 处理相比,NPKM 和 NPKS 处理显著增加了未受保护和物理保护有机碳库所占比例,未受保护有机碳库所占比例分别增加 24.1%和 21.3%,物理保护有机碳库所占比例分别增加 10.1%和 13.3%;但同时也显著降低化学保护碳库所占比例,分别降低 9.5%和 8.9%;较 CK 处理,NPK 处理的各有机碳组分分配比例均无显著差异;而 $(NPK)_{Cl}S$ 处理的未受保护有机碳分配比例显著降低,降幅为 14.8%,物理保护有机碳和化学保护有机碳分配比例分别显著提高,增幅分别为 10.6%和 3.7%。

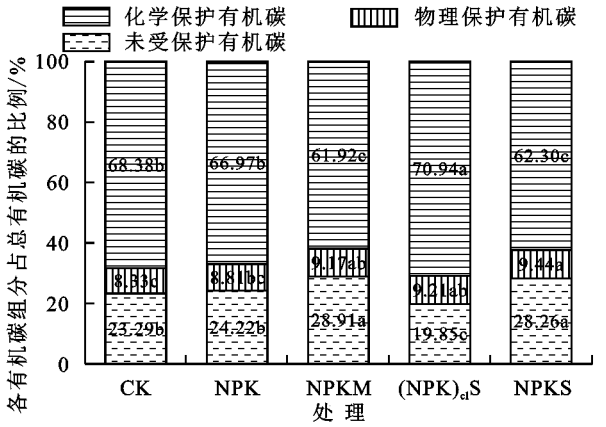


图 3 长期施肥下土壤各有机碳组分占总有机碳的比例

2.5 长期施肥下土壤水解酶活性特征

由表 2 可知,长期不同施肥处理对土壤碳循环相关水解酶活性有较大的影响。经过 29 年长期施肥后,NPK、NPKM 和 NPKS 处理下的 AG、BG 和 BDX 活性较 CK 处理均显著提高($P<0.05$),NPK、NPKM 和 NPKS 处理的土壤 AG 活性分别提高 13.2%,33.5%和 30.7%,BG 活性分别提高 14.8%,17.2%和 15.4%,BDX 活性分别提高 33.2%,49.2%和 89.1%,均以 NPKM 和 NPKS 处理提升效果为最佳;而 NPK、NPKM、NPKS 处理的 CBH 活性较 CK 处理无显著差异。可见,NPK、NPKM 和 NPKS 处理间除 CBH 外的其余 3 种碳循环相关水解酶活性的变化趋势较为一致。此外,与 CK 处理相比较,$(NPK)_{Cl}S$ 处理的 CBH 活性显著降低,降幅为 18.5%,而其余 3 种水解酶活性较 CK 处理均无显著差异。

表 2　长期施肥下土壤水解酶活性

单位:μmol/(d·g)

处理	A—葡萄糖苷酶	β—葡萄糖苷酶	β—木糖苷酶	纤维二糖糖苷酶
CK	19.61±1.00c	22.57±2.58c	1.36±0.08d	8.35±0.31a
NPK	21.20±1.05b	25.90±1.31ab	1.82±0.19bc	7.78±0.81a
NPKM	26.18±1.15a	26.46±0.50a	2.04±0.19b	7.59±0.56ab
$(NPK)_{Cl}S$	21.46±0.89bc	22.94±1.21bc	1.47±0.14cd	6.80±0.11b
NPKS	25.62±1.40a	26.05±0.73a	2.58±0.22a	7.52±0.33ab

2.6　土壤水解酶活性与有机碳组分相关性分析

表 3 相关分析结果显示,未受保护有机碳与 AG、BG 和 BDX 活性的相关性呈显著或极显著正相关,与 CBH 活性的相关性未达显著水平;物理保护有机碳与 BDX 活性的相关性呈显著正相关,与碳循环其余 3 种酶活性的相关性均未达显著水平;化学保护有机碳与 AG、BG、BDX 和 CBH 活性的相关性均未达显著水平。

表 3　土壤水解酶与碳组分的相关分析

土壤水解酶	未受保护有机碳	物理保护有机碳	化学保护有机碳
AG	0.960**	0.857	0.601
BG	0.936*	0.784	0.788
BDX	0.931*	0.932*	0.726
CBH	−0.053	−0.448	−0.356

注:* 表示相关性显著($P<0.05$);** 表示相关性极显著($P<0.01$)。

3　讨论

3.1　长期施肥对土壤总有机碳含量的影响

SOC 含量主要受有机物质的外源输入、作物生物量、根系分泌物和微生物活性等影响[22]。本试验结果表明,29 年长期施肥后 NPK、NPKM、$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理的土壤总有机碳含量较 CK 处理均有显著提高,其中 NPKS 处理最佳。施用化肥 NPK 提高土壤有机碳,主要原因是为作物提供所需的养分,从而提高作物产量,作物根茬和枯枝落叶来源的有机碳投入增加[23];有机肥与化肥配施的 NPKM 和 NPKS 处理通过大量外源有机物质的输入,从而提高有机碳含量[24-25],表明在现有的试验条件下紫色土发挥了碳汇作用。毛霞丽等[26]关于长期施肥对浙江稻田土壤有机碳的影响研究表明,有机无机配施处理较单施化肥处理对土壤有机碳的提升作用效果更佳,与本文研究结果基本吻合;安永齐[27]对不同培肥方式下土壤有机质提升效应的研究也得到相同结论。本研究还发现,尽管 $(NPK)_{Cl}S$ 处理也进行秸秆还田,但该处理下土壤总有机碳含量的提升幅度最小,其原因可能是含氯化肥的长期施用引起土壤酸化,导致土壤生物肥力下降,影响微生物群落和降低土壤酶活性[28],使 SOC 的分解转化作用减弱,因而土壤总有机碳含量提升幅度较小。因此本试验条件下 NPKS 处理为提升土壤总有机碳含量的最佳施肥措施。

3.2　长期施肥对土壤有机碳组分的影响

根据 Six 等[29]提出的概念模型,未受保护有机碳库主要来自植物残渣,易被侵蚀消耗,也易因外源有机碳的补充而变化。本研究中,除 $(NPK)_{Cl}S$ 处理,其余施肥处理较 CK 处理均显著增加 cPOC 含量,NPKM 和 NPKS 处理较 CK 处理显著增加未受保护有机碳库分配比例,且 cPOC 组分随着总有机碳含量的提升表现出显著的增加趋势。与其他组分相比,cPOC 的变化率最高,研究结果表明,未受保护有机碳组分是土壤新增有机碳的主要固存组分,cPOC 可作为长期不同施肥下紫色土土壤质量变化的敏感指标。Tian 等[30]的相关研究表明,有机无机肥配合施用不仅显著增加 cPOC 含量,还增加未受保护有机碳库的分配比例,与本文研究结果一致。各施肥处理尤其是有机无机配施处理增加作物地上部和地下部生物量,导致更多的作物残茬和根系分泌归还到土壤中,而秸秆还田处理直接输入植物残渣,显著增加 cPOC 含量,以及提高未受保护有机碳的分配比例[31]。

i_POC 和 m_POC 组分是土壤团聚体的包裹碳,属于物理保护有机碳库[9]。本研究中,各施肥处理均显著提高 i_POC 含量,$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理显著提高 m_POC 含量,NPKM、$(NPK)_{Cl}S$ 和 NPKS 处理也显著提高物理保护有机碳库分配比例。谢钧宇[20]对塿土的相关研究中也得出一致的结果,即施用有机肥能显著提高 i_POC 含量。其主要原因可能是根茬归还和有机肥的施用能提供团聚作用所需的胶结物质,促进团聚体的形成和团聚体有机碳的累积;也能提高土壤生物活性,增加对大团聚体和微团聚体的形成具有重要作用的真菌和细菌比例,间接使土壤中的团聚体结构得到改善,增加土壤有机碳的物理保护作用[32],因此,有机无机配施条件下 i_POC 和 m_POC 含量提升幅度高于其他碳组分,物理保护有机碳的分配比例也显著提高。

化学保护有机碳是指高价铁铝氧化物和黏土矿物通过配位体置换等作用产生的有机碳固存,属于矿物结合态有机碳[18];本研究中,较不施肥处理,各施肥处理均显著提高土壤中 M_s+c 和 i_s+c 组分有机碳含量,但 NPKM 和 NPKS 处理均显著降低化学保护有机碳库的分配比例。安永齐[27]研究发现,5 年覆土复垦土壤中化学保护有机碳组分在各施肥处理间均无显著差异,与本试验研究结果并不一致。这主要是因为通过有机肥施用等途径输入的外源碳先分解转化为未受保护和物理保护有机碳,经过长时间的

作用后才能转化为腐殖化程度较高的矿物结合有机碳[33]，本试验布置长达 29 年，有充足的时间完成向矿物结合有机碳的转变，因此不同施肥能显著提高化学保护有机碳组分含量。另外，本试验中 NPKM 和 NPKS 处理化学保护有机碳库分配比例显著下降，可能是因为当季所施化肥和有机肥大幅度地提升未受保护和物理保护有机碳库占比，导致化学保护有机碳组分碳库占比相对降低。

3.3 长期施肥对土壤水解酶活性的影响

土壤水解酶是土壤生态系统养分循环和代谢的主要驱动力，水解酶活性反映土壤的生物活性和生化反应的活跃程度。土壤水解酶活性对土壤环境因素敏感，不同研究者在不同区域和土壤上的研究结果存在较大差异[4]。杜林森等[34]的研究表明，土壤 BG 活性在各施肥处理中表现出施化肥高于不施肥，秸秆还田高于单施化肥的趋势；夏文建等[4]通过研究红壤双季稻田土壤水解酶活性在长期施肥下的变化特征发现，长期施用化肥或有机无机配施提高稻田土壤碳循环相关的 AG、BG 活性，与本试验研究结果相吻合。本研究表明，长期施肥条件下，NPK、NPKM 和 NPKS 处理较 CK 处理显著提高 AG、BG 和 BDX 活性，且 NPKM 和 NPKS 对酶活性提高效果更佳，主要原因是为微生物提供了丰富的碳源，刺激微生物生长，提高酶活性[35]；同时有机肥的施用改善土壤物理与化学性质，为微生物的生长提供一个良好的环境，进一步提高酶活性；且有机肥自身也携带丰富的酶类[5]。本研究还发现，$(NPK)_{Cl}S$ 处理显著降低 CBH 活性，且该处理其余 3 种水解酶活性较 CK 处理均无显著差异，可能是因为长期施用含氯化肥降低土壤的 pH，从而影响土壤生境对微生物的适宜性，降低酶活性[28]。

3.4 土壤水解酶活性与有机碳组分的关系

研究土壤不同有机碳组分与酶活性之间的相关性，可进一步从生物学角度探究土壤有机碳转化与土壤碳循环相关水解酶间的相互作用[36]。本试验结果表明，未受保护有机碳与 AG、BG 和 BDX 活性的相关性呈显著或极显著正相关，物理保护有机碳与 BDX 活性的相关性呈显著正相关，但化学保护有机碳与碳循环相关水解酶活性的相关性未达显著水平，这可能与不同碳组分的物质组成与微生物对碳的利用效率及其产生的酶活性有关。未受保护有机碳属于高活性有机碳组分，主要是淀粉、可溶性糖类、纤维素、半纤维素等成分，容易被微生物利用，酶活性增加；AG、BG 和 BDX 对土壤纤维素的分解及可溶性糖类的形成起重要作用[37]，因此未受保护有机碳组分与 AG、BG 和 BDX 活性呈显著正相关；物理保护有机碳库中不同级别团聚体对 SOC 的保护程度也不尽相同，大团聚体内微团聚体(i_POC)不稳定，是活性有机碳库的一部分，易被微生物和酶接触分解，周转快[38]，因此与部分碳循环相关水解酶(BDX)活性呈正相关。而化学保护有机碳属于惰性矿物结合态有机碳范畴，是有机物分解的最终产物与土壤黏粒和粉粒结合的部分，稳定性强，难以被微生物和酶接触分解[39]，与碳循环相关水解酶活性的相关性差。说明长期施肥使得土壤未受保护和物理保护有机碳组分含量增加，从而刺激微生物活动，增加土壤碳循环相关水解酶活性；而酶活性的提高有利于加强土壤中碳循环强度，促进有机碳的分解和合成，对保持土壤有机碳的活性、维持土壤肥力质量有重要意义[36,40]。

4 结 论

(1)长期施肥(NPK、NPKM 和 NPKS)有利于提高土壤总有机碳和不同组分有机碳(cPOC、i_POC、M_s+c 和 i_s+c)含量，以 NPKM 和 NPKS 处理提升作用最大。

(2)cPOC 有机碳组分对土壤碳库变化的响应最敏感，土壤有机碳每提升 1 个单位，其中有 40%的碳保存于未受保护有机碳库 cPOC 组分中。化学保护有机碳库是紫色土有机碳的主要固存组分，平均占土壤总碳的 66.1%，NPKM 和 NPKS 处理显著提高未受保护和物理保护有机碳库占总有机碳的比例。

(3)施肥显著提高土壤碳循环水解酶(AG、BG 和 BDX)活性，水解酶(AG、BG 和 BDX)与土壤未受保护有机碳均呈显著正相关。

参考文献：

[1] Yang F, Tian J, Meersmans J, et al. Functional soil organic matter fractions in response to long-term fertilization in upland and paddy systems in South China[J].Catena,2018,162:270-277.

[2] Six J, Callewaert P, Lenders S, et al. Measuring and understanding carbon storage in afforested soils by physical fractionation[J].Soil Science Society of America Journal,2002,66(6):1981-1987.

[3] 徐香茹，蔡岸冬，徐明岗，等.长期施肥下水稻土有机碳固持形态与特征[J].农业环境科学学报，2015,34(4):753-760.

[4] 夏文建，柳开楼，张丽芳，等.长期施肥对红壤稻田土壤微生物生物量和酶活性的影响[J].土壤学报，2021,58(3):1-10.

[5] 高瑞，吕家珑.长期定位施肥土壤酶活性及其肥力变化研究[J].中国生态农业学报，2005,13(1):143-145.

[6] 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.

[7] 袁梦，邢稳，罗美玲，等.东北稻田有机肥替代部分氮肥措施

下土壤酶群分析[J].生态学杂志,2021,40(1):123-130.
[8] 张丽敏,徐明岗,娄翼来,等.长期施肥下黄壤性水稻土有机碳组分变化特征[J].中国农业科学,2014,47(19):3817-3825.
[9] 李鉴霖,江长胜,郝庆菊.缙云山不同土地利用方式土壤有机碳组分特征[J].生态学报,2015,35(11):3733-3742.
[10] 王晓娇,齐鹏,蔡立群,等.培肥措施对旱地农田产量可持续性及土壤有机碳库稳定性的影响[J].草业学报,2020,29(10):58-69.
[11] 刘小粉,贺小思,易柏宁,等.有机肥绿肥配施对水稻土有机碳组分和水稻产量的影响[J].中国土壤与肥料,2020(5):147-151.
[12] Abrar M M, Xu M G, Shah S A A, et al. Variations in the profile distribution and protection mechanisms of organic carbon under long-term fertilization in a Chinese Mollisol[J]. Science of the Total Environment, 2020,723:e138181.
[13] Böhme L, Langer U, Böhme F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments[J].Agriculture, Ecosystems and Environment,2005,109(1/2):141-152.
[14] 戚瑞敏.不同施肥制度潮土有机碳矿化对温度和牛粪的响应及其机制研究[D].北京:中国农业科学院,2016.
[15] 石丽红,李超,唐海明,等.长期不同施肥措施对双季稻田土壤活性有机碳组分和水解酶活性的影响[J].应用生态学报,2021,32(3):921-930.
[16] Qi R B, Li J, Lin Z A, et al. Temperature effects on soil organic carbon, soil labile organic carbon fractions, and soil enzyme activities under long-term fertilization regimes [J].Applied Soil Ecology,2016,102:36-45.
[17] 晏昭敏,袁大刚,余星兴,等."紫色砂、页岩岩性特征"颜色修订建议:基于四川紫色土母岩颜色特征[J].土壤学报,2020,57(1):60-70.
[18] 赵亚南,柴冠群,张珍珍,等.稻麦轮作下紫色土有机碳活性及其对长期不同施肥的响应[J].中国农业科学,2016,49(22):4398-4407.
[19] 周泉,王龙昌,邢毅,等.秸秆覆盖条件下紫云英间作油菜的土壤团聚体及有机碳特征[J].应用生态学报,2019,30(4):1235-1242.
[20] 谢钧宇.冬小麦/夏玉米体系长期施肥墁土固碳潜力及机制研究[D].陕西 杨凌:西北农林科技大学,2017.
[21] 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.
[22] 齐中凯,赵诣,黄智勇,等.不同施肥措施对华北平原土壤有机碳的影响[J].水土保持学报,2016,30(6):271-277.
[23] Tonitto C, Goodale C L, Weiss M S, et al. The effect of nitrogen addition on soil organic matter dynamics: A model analysis of the Harvard Forest chronic nitrogen amendment study and soil carbon response to anthropogenic N deposition[J].Biogeochemistry,2014,117(2/3):431-454.
[24] Sleutel S, Neve S D, Nemeth T, et al. Effect of manure and fertilizer application on the distribution of organic carbon in different soil fractions in long-term field experiments[J].European Journal of Agronomy, 2006,25(3):280-288.
[25] Yan D Z, Wang D J, Yang L Z. Long-term effect of chemical fertilizer, straw and manure on labile organic matter fractions in a paddy soil[J].Biology and Fertility of Soils,2007,44:93-101.
[26] 毛霞丽,陆扣萍,何丽芝,等.长期施肥对浙江稻田土壤团聚体及其有机碳分布的影响[J].土壤学报,2015,52(4):828-838.
[27] 安永齐.不同复垦和培肥方式对土壤有机碳的提升效应及其机制[D].贵阳:贵州大学,2020.
[28] 杨林生,张宇亭,黄兴成,等.长期施用含氯化肥对稻—麦轮作体系土壤生物肥力的影响[J].中国农业科学,2016,49(4):686-694.
[29] Six J, Conant R T, Paul E A, et al. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils[J].Plant and Soil,2002,241(2):155-176.
[30] Tian J, Lou Y L, Gao Y, et al. Response of soil organic matter fractions and composition of microbial community to long-term organic and mineral fertilization[J].Biology and Fertility of Soils,2017,53(5):523-532.
[31] 邓文悦,柳开楼,田静,等.长期施肥对水稻土不同功能有机质库碳氮分布的影响[J].土壤学报,2017,54(2):468-479.
[32] 刘满强,胡锋,陈小云.土壤有机碳稳定机制研究进展[J].生态学报,2007,27(6):2642-2650.
[33] 刘骅,佟小刚,许咏梅,等.长期施肥下灰漠土有机碳组分含量及其演变特征[J].植物营养与肥料学报,2010,16(4):794-800.
[34] 杜林森,唐美铃,祝贞科,等.长期施肥对不同深度稻田土壤碳氮水解酶活性的影响特征[J].环境科学,2018,39(8):3901-3909.
[35] 李艳鹏,贺同鑫,王清奎.施肥对杉木林土壤酶和活性有机碳的影响[J].生态学杂志,2016, 35(10):2722-2731.
[36] 曲成闯,陈效民,张志龙,等.施用生物有机肥对黄瓜连作土壤有机碳库和酶活性的持续影响[J].应用生态学报,2019,30(9):3147-3154.
[37] 吴传敬,郭剑芬,许恩兰,等.采伐残余物不同处理方式对杉木幼林土壤有机碳组分和相关酶活性的影响[J].土壤学报,2019,56(6):1504-1513.
[38] 张延,梁爱珍,张晓平,等.土壤团聚体对有机碳物理保护机制研究[J].土壤与作物,2015,4(2):85-90.
[39] 包建平,袁根生,董方圆,等.生物质炭与秸秆施用对红壤有机碳组分和微生物活性的影响[J].土壤学报,2020,57(3):721-729.
[40] 庞丹波.断陷盆地区典型林分土壤有机碳组分特征研究[D].北京:北京林业大学,2019.