# 长期化肥配施不同有机物料对亚热带稻田土壤微生物生物量 及酶化学计量特征的影响

李雪<sup>1,2</sup>,周萍<sup>2\*</sup>,程爱武<sup>3</sup>,戴玉婷<sup>2</sup>,赖佳鑫<sup>2</sup>,李康祺<sup>2</sup>,盛浩<sup>1</sup>,吴金水<sup>2</sup>

(1湖南农业大学资源学院,湖南长沙 410128; 2 中国科学院亚热带农业生态研究所 / 亚热带农业生态过程重点 实验室 / 长沙农业环境观测研究站,湖南长沙 410125; 3 宁乡市农业农村局,湖南宁乡 410600 )

摘要:【目的】利用肥料长期定位试验,研究化肥与不同有机物料配施下,亚热带稻田土壤的微生物生物量碳 氮磷含量、土壤胞外酶活性及其化学计量比的差异、揭示不同有机肥源对土壤微生物生物量稳定性的影响特 征。【方法】依托位于湖南省宁乡市农技中心的稻田长期定位试验(始于1986年),选取5个施肥处理,分别为 不施肥对照 (CK)、单施化肥 (NPK)、30% 猪粪有机肥替代化肥氮 (30%OM)、60% 猪粪有机肥替代化肥氮 (60%OM)、秸秆还田+化肥 (NPKS),种植制度为一年三熟,早稻-晚稻-大麦轮作。于 2022 年 9 月晚稻成熟期 采集表层 (0-20 cm) 土壤样品,测定土壤有机碳 (SOC)、全氮 (TN)、全磷 (TP) 含量,微生物生物量碳、氮、 磷(MBC、MBN、MBP)含量和β-葡萄糖苷酶(βG)、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、酸性磷酸酶(ACP)活 性,并计算化学计量比。【结果】长期施肥显著提高了土壤 SOC、TN 和 TP 含量,60%OM 处理 3 个指标的增 幅均最高 (P<0.05), 30%OM 处理的增幅也显著高于 NPK 处理, 而 NPKS 处理的 TN 增幅与 NPK 处理相当。 3个有机无机肥配合处理之间土壤 C/N 无显著差异,而 NPKS 处理的 C/P 和 N/P 均显著高于 60% OM 和 30%OM 处理。3 个有机无机肥配合处理 MBC 含量无显著差异,均高于 NPK 处理; MBN 和 MBP 含量均以 60%OM 处理最高,显著高于其他处理,其次为 30%OM 处理, NPKS 处理 MBN 含量高于 NPK 处理, 而 MBP 含量与 NPK 处理相当,因而 NPKS 处理的 MBC/MBN 和 MBC/MBP 均显著高于两个猪粪处理,低于 NPK 处理。与 CK 相比, NPK 处理仅显著增加了  $\beta$ G 活性, 而有机无机肥配施提高了土壤  $\beta$ G、NAG 和 ACP 活 性, 30%OM 处理土壤中的 βG/NAG 和 βG/ACP 显著高于 NPK 处理, 而 60%OM 处理则显著低于 NPK 处理。相 关性分析表明,土壤微生物生物量及其化学计量,以及 βG 和 ACP 活性,均与土壤碳、氮、磷含量及其化学计 量呈正相关。进一步冗余分析表明,土壤 TP 含量和 N/P 是驱动土壤微生物生物量及其化学计量变化的关键因 子。【**结论**】长期将化肥与有机肥配合施用,能显著提升稻田土壤的有机碳、全氮和全磷含量,同时增加微生 物生物量和胞外酶活性。其中,以60%的猪粪替代化肥氮的效果最为突出,不仅显著提高了土壤碳、氮、磷的 含量,而且显著增加了微生物生物量碳、氮、磷含量,但降低了胞外酶化学计量比,并维持较低的胞外酶化学 计量平衡。因此,猪粪与氮磷钾配施通过增加土壤有机碳、氮、磷投入,维持较稳定的积累,进而提升土壤肥 力,提高适应环境变化的能力。而氮磷钾与秸秆配施可能造成土壤磷素的限制,降低土壤养分的供应能力。 关键词:长期试验;亚热带稻田;土壤养分;微生物生物量;土壤酶活性;元素化学计量

# Effects of long-term combined application of chemical fertilizer and organic materials on stoichiometry of soil microbial biomass and enzyme activity in subtropical paddy fields

LI Xue<sup>1,2</sup>, ZHOU Ping<sup>2\*</sup>, CHENG Ai-wu<sup>3</sup>, DAI Yu-ting<sup>2</sup>, LAI Jia-xin<sup>2</sup>, LI Kang-qi<sup>2</sup>, SHENG Hao<sup>1</sup>, WU Jin-shui<sup>2</sup> (1 College of Resources, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2 Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region / Changsha Research Station for Agricultural and Environmental Monitoring / Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 3 Rural Agriculture Bureau of Ningxiang City, Ningxiang, Hunan 410600, China)

收稿日期: 2024-06-03 接受日期: 2024-09-29

基金项目:科技基础资源调查专项课题 (2021FY100504);湖南省重点研发计划项目 (2023NK2026);国家自然科学基金项目 (41671242, 42177293, 42130716, U23A2009)。

联系方式: 李雪 E-mail: 1999-0714@stu.hunau.edu.cn; \* 通信作者 周萍 E-mail: zhouping@isa.ac.cn

Abstract: [Objectives] In order to reveal the influence of different organic fertilizer sources on the stability of soil microbial carbon, nitrogen and phosphorus content, soil extracellular enzyme activity and stoichiometric ratio of soil microbial biomass under the combination of fertilizer and different organic materials were studied by longterm positioning experiment of fertilizer. [ Methods ] The study was based on a long-term field experiment located in the Agricultural Technology Center of Ningxiang City (since 1986). Five fertilization treatments were selected including no fertilizer (CK), chemical fertilizer (NPK), 30% pig manure organic fertilizer replaces fertilizer nitrogen (30%OM), 60% pig manure organic fertilizer replaces fertilizer nitrogen (60%OM) and chemical fertilizer with rice straw (NPKS), the planting system is three crops per year, early rice-late rice-barley rotation. Soil samples (0-20 cm) were collected at the mature stage of late rice in September 2022. Soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP) contents, microbial biomass carbon, nitrogen, phosphorus (MBC, MBN, MBP) contents, and β-glucosidase (βG), β-N-acetylglucosaminidase (NAG) and acid phosphatase (ACP) activities were determined, and the stoichiometric ratio was calculated. [Results] Longterm fertilization significantly increased SOC, TN and TP contents in soil, and 60%OM treatment had the highest increases (P < 0.05). The increase of 30%OM was also significantly higher than that of NPK treatment, while the increase of TN in NPKS treatment was similar to that in NPK treatment. There was no significant difference in soil C/N among the three combined treatments, while the C/P and N/P of NPKS treatment were significantly higher than those of 60%OM and 30%OM treatment. There was no significant difference in MBC content among the three organic and inorganic treatments, which was significantly higher than that of NPK treatment. The content of MBN and MBP in 60%OM treatment was the highest, significantly higher than that in other treatments, followed by 30%OM. Meanwhile, the MBN content in the NPKS treatment was higher than that in the NPK treatment, whereas the MBP content was equivalent to that in the NPK treatment. Therefore, the MBC/MBN and MBC/MBP in NPKS treatment were significantly higher than that in both pig manure treatments, and lower than that in NPK treatment. Compared with CK, NPK treatment only increased BG activity, while organic and inorganic application increased  $\beta G$ , NAG and ACP activities in soil. The  $\beta G$ /NAG and  $\beta G$ /ACP in soil treated with 30%OM were significantly higher than those treated with NPK, while those treated with 60%OM were significantly lower than those treated with NPK. Correlation analysis showed that soil microbial biomass and its stoichiometry as well as  $\beta G$  and ACP enzyme activities were positively correlated with soil carbon, nitrogen and phosphorus content and their stoichiometry. Further redundancy analysis showed that soil TP content and N/P were the key factors affecting soil microbial biomass and its stoichiometric changes. [Conclusions] Long-term combined application of chemical fertilizer and organic fertilizer effectively increased the contents of organic carbon, total nitrogen and total phosphorus in paddy soil, and increased microbial biomass and extracellular enzyme activity. In particular, 60% pig manure instead of fertilizer nitrogen had the most significant effect on increasing soil carbon, nitrogen and phosphorus contents, and further increased the contents and ratio of carbon, nitrogen and phosphorus in microbial biomass, but decreased the extracellular enzyme stoichiometric ratio. And maintain a low extracellular enzyme stoichiometric balance. Therefore, the combined application of pig manure and NPK can maintain a relatively stable accumulation by increasing the input of organic carbon, nitrogen and phosphorus in soil, thus improving soil fertility and having a high ability to adapt to environmental changes. The combined application of nitrogen, phosphorus and potassium with straw may limit soil phosphorus and reduce the supply capacity of soil nutrients.

Key words: long-term experiment; subtropical paddy field; soil nutrient; microbial biomass; soil enzyme activities; elemental stoichiometry

土壤微生物是土壤有机质分解转化的关键驱动 者,土壤微生物生物量和胞外酶活性是表征土壤养 分有效性和土壤质量的重要指标<sup>[1-2]</sup>。提高土壤微生 物生物量以及与土壤碳、氮、磷循环相关的胞外酶 活性,可有效提升作物产量、改善土壤质量<sup>[3-6]</sup>。土 壤微生物生物量碳氮磷和酶化学计量比,反映微生 物群落代谢活动所需养分与土壤养分有效性之间的 生物地球化学平衡[7-9]。土壤微生物生物量碳氮比一 般反映土壤微生物群落结构和指示土壤固碳能力, 土壤微生物生物量碳磷比可表征土壤无机磷损失的 风险域值和预测无机磷转化为有机磷的速率,而土 壤微生物生物量氮磷比可用于诊断土壤养分限制作 用[10-12]。土壤生物分泌的胞外酶是生物化学反应的关 键媒介和催化剂,其中,β-葡萄糖苷酶(βG)、β-N-乙 酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG)、酸性磷酸酶 (ACP) 分别 是催化土壤的碳、氮、磷转化的有代表性的酶,这 3种胞外酶含量的比值可敏感指示土壤微生物养分需 求和土壤养分周转速率13。因此,研究土壤微生物生 物量、胞外酶活性和土壤碳、氮、磷养分的平衡关 系,对于深入理解驱动土壤碳、氮、磷养分转化的 生物地球化学机制,有效提升土壤肥力和生产力具 有重要意义[14-15]。

2期

化肥施用或者化肥配合不同有机物料(秸秆、粪 肥等)还田所投入的养分量与比例存在差异,从而可 能改变土壤和微生物之间的养分平衡,影响微生物 代谢过程的养分分配以及土壤胞外酶活性,最终影 响土壤碳、氮、磷元素的积累<sup>[16-18]</sup>。已有大量研究报 道了化肥、有机肥以及两者不同配比施用方式对农 田土壤肥力的影响,均表明有机肥的施用显著提高 了土壤微复、磷、养分含量以及微生物生物量,改 变了土壤微生物群落结构组成和胞外酶活性<sup>[19-22]</sup>。土 壤中碳、氮、磷元素循环过程是耦合的。与单质化 肥相比,有机物料的元素组成更为平衡,土壤微生 物介导的元素周转过程也更为复杂。目前,有机物料 与化肥配施下土壤养分、微生物生物量以及酶化学 计量比的变化及其相互关系仍不明确,有待深入研究。

为深入理解长期化肥与有机物料施用下土壤微 生物生物量与胞外酶活性的化学计量特征及其相互 关系,本研究依托位于湖南省宁乡市的稻田长期施 肥定位试验,分析不同施肥处理下土壤微生物生物 量和胞外酶活性差异,探讨土壤微生物及胞外酶活 性计量比对长期化肥配施有机物料的响应特征,揭 示不同施肥措施对农田土壤碳、氮、磷转化生物地 球化学特征的影响,以期为区域农田土壤养分调控 和土地资源的可持续利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 试验地概况

长期定位试验位于湖南省宁乡市农技中心 (28°

07′N, 112°18′E), 始于 1986 年。该地区为典型的双 季稻主产区,属于中亚热带湿润季风气候,海拔 36.1 m,年均气温 16.8℃,年均降水量 1553.7 mm, 年均蒸发量 1353.9 mm,常年无霜期 274 天。土壤类 型为水稻土。种植制度在 1986—1992 年间为稻-稻 -紫云英,1993 年至今为稻-稻-大麦。试验开始前 0—20 cm 耕层土壤有机碳 (SOC)、全氮 (TN) 和全磷 (TP) 含量分别为 17.05、2.01 和 0.59 g/kg,土壤 pH 值为 6.85。

#### 1.2 试验设计

本研究选取5个施肥处理:不施任何肥料(CK); 氮、磷、钾化肥平衡施用 (NPK); 以 30%、60% 猪粪 有机肥替代化肥处理中 30% 和 60% 的氮量 (30%OM、 60%OM); 水稻收获后秸秆全量还田, 化肥氮用量扣 除秸秆带入的氮量(NPKS)。早稻秸秆 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、 K<sub>2</sub>O的含量分别为 0.65%、0.13% 和 0.89%,晚稻秸 秆 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、K<sub>2</sub>O 的含量分别为 0.68%、0.15% 和 0.91%。腐熟猪粪 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、K<sub>2</sub>O 含量分别为 1.77%、 0.83%、1.12%。不同施肥处理氮、磷、钾肥施用量 如表1所示,氮肥为碳铵或尿素,磷肥为钙镁磷 肥, 钾肥为氯化钾。各试验小区面积 66.7 m<sup>2</sup> (10.00 m ×6.67 m), 小区之间以水泥埂(埋深 100 cm, 高出田 面 35 cm) 隔开, 以免水肥窜排窜灌。各施肥处理的 磷肥、秸秆和有机肥均作为基肥一次性施入,氮肥 和钾肥作基肥和追肥分两次施入(基追比7:3)。田 间管理措施按当地习惯方式进行。

#### 1.3 土壤样品采集

于 2022 年 9 月晚稻成熟期在各施肥处理小区随 机选取 5~10 个采样点,按"S"型路线用土钻采集 耕层 (0—20 cm) 土壤样品,充分混匀置于便携式冰 盒中带回实验室。采集的新鲜土样挑去可见的动植 物残体、石砾等,分成两部分,一部分过 2 mm 筛后 于 4℃ 冰箱冷藏保存,用于土壤微生物生物量和酶 活性的测定,另一部分土样自然风干后分别研磨过 2、1 和 0.149 mm 孔径的尼龙筛,用于土壤有机碳、 全氮、全磷等基本理化性状的测定。

#### 1.4 测定指标与分析方法

土壤有机碳 (SOC) 含量采用重铬酸钾氧化硫酸 亚铁滴定法测定<sup>[23]</sup>; 全氮 (TN) 和全磷 (TP) 含量分别 采用浓硫酸消煮法和硝酸-氢氟酸-高氯酸消解法提 取,后采用连续流动分析仪 (AA3 型号,布朗卢比公 司,德国)测定。

土壤微生物生物量碳、氮 (MBC、MBN) 含量采

处理 Treatment	作物 Crop	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	猪粪 Pig manure	水稻秸秆 Rice straw
NPK	早稻 Early rice	142.5	54.0	63.0	0	0
	晚稻 Late rice	157.5	43.2	81.0	0	0
	大麦 Barley	157.5	43.2	81.0	0	0
30%OM	早稻 Early rice	96.0	32.2	33.6	2625	0
	晚稻 Late rice	110.2	21.0	51.1	2670	0
	大麦 Barley	110.2	21.0	51.1	2670	0
60%OM	早稻 Early rice	49.6	10.4	4.2	5250	0
	晚稻 Late rice	63.0	9.7	3.2	5340	0
	大麦 Barley	63.0	9.7	3.2	5340	0
NPKS	早稻 Early rice	124.5	50.4	38.3	0	2775
	晚稻 Late rice	133.0	37.8	48.2	0	3600
	大麦 Barley	133.0	37.8	48.2	0	3600

表 1 不同施肥处理年均肥料施用量 (kg/hm<sup>2</sup>) Table 1 Annual fertilizer application amounts of different fertilization treatments

注:NPK为氮、磷、钾平衡施肥;30%OM和60%OM分别为30%和60%猪粪有机肥替代化肥氮;NPKS为水稻秸秆全量还田且不足的氮量以化肥氮补充。

Note: NPK represents balanced application of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer; 30%OM and 60%OM represent pig manure replacing 30% and 60% chemical N fertilizer; NPKS represents rice straw return and the insufficient N amount is supplemented with chemical N fertilizer.

用氯仿熏蒸—0.5 mol/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 浸提,利用总有机碳 分析仪 (TOC-V 系列 CPH/CPN 型号,岛津公司,日本) 测定,以熏蒸和未熏蒸土样提取液测定的碳、氮差 值除以转换系数 0.45,计算得出土壤 MBC 和 MBN 含量。土壤微生物生物量磷 (MBP)采用氯仿熏蒸-0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> 浸提,连续流动分析仪测定。

土壤 β-葡萄糖苷酶 (βG)、β-N-乙酰氨基葡萄糖 苷酶 (NAG) 和酸性磷酸酶 (ACP) 活性采用 96 微孔酶 标板荧光分析法<sup>[24]</sup>,利用多功能酶标仪 (Scientific Fluoroskan Ascent FL, Thermo) 在激发波长 365 nm、 发射波长 450 nm 的条件下测定。

#### 1.5 数据处理与统计分析

土壤微生物生物量碳、氮、磷比分别通过 MBC/MBN/MBP 计算;土壤碳、氮、磷相关酶计量 比分别通过βG/NAG/ACP 计算;土壤碳、氮、磷比 分别采用 SOC/TN/TP 计算。

采用 Microsoft Excel 2021 和 SPSS 26.0 处理数据 和统计分析,用 Origin 2022 绘图。数据通过齐次检 验后采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小 显著差异法 (LSD) 进行处理间的差异性分析 (*P*<0.05 为差异显著)。采用 Pearson 相关性分析和 Canoco 5.0 冗余分析 (RDA),探讨 SOC、TN、TP、胞外酶 活性及化学计量特征对土壤微生物生物量及其化学 计量的影响。

# 2 结果与分析

### 2.1 长期不同施肥处理土壤碳、氮、磷含量及其 化学计量特征

与 CK 相比,长期施肥处理显著增加了 SOC、 TN 和 TP 的含量 (图 1),以 60%OM 处理下增加最 多,SOC、TN 和 TP 含量分别由 CK 处理的 18.21、 1.82、0.36 g/kg 增加到 27.85、2.81、2.28 g/kg,增幅 分别达 53%、54% 和 534%;其次为 30%OM 和 NPKS 处理,而 NPK 处理的增幅最低。相较于 NPK 处理,化肥与有机物料 (有机肥、秸秆) 配施由于外 源有机物质的输入,更有利于土壤有机质的形成和 养分的积累。

长期不同施肥土壤 C/N (9.68~10.01) 差异并不显著,但土壤 C/P (12.65~51.34) 和 N/P (1.23~5.10) 与 CK 相比均显著下降,降幅分别介于 39%~75% 和 39%~76%。

# 2.2 长期不同施肥处理土壤微生物生物量碳、氮磷、含量及其化学计量特征

不同施肥处理对土壤 MBC、MBN 和 MBP 含量 的影响差异显著 (图 2)。与 CK 相比, NPK 处理 MBC 含量显著增加了 58%, MBN 含量则显著降低了 56%; 30%OM 处理 MBC 和 MBP 含量分别显著增加了 73% 和 703%; 60%OM 处理下 MBC、MBN 和 MBP 含量分别显著增加了 123%、102% 和 1742%; NPKS





# Fig. 1 The contents and stoichiometric ratios of soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN) and phosphorus (TP) under different fertilization treatments

注: CK 为不施肥; NPK 为氮、磷、钾平衡施肥; 30%OM 和 60%OM 分别为 30% 和 60% 猪粪有机肥替代化肥氮; NPKS 为水稻秸秆全量还田且不足的氮量以化肥氮补充。柱上不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。

Note: CK represents no fertilizer control; NPK represents balanced application of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer; 30%OM and 60%OM represent replacing 30% and 60% chemical fertilizer N with pig manure; NPKS represents rice straw return and the straw N is deducted from chemical fertilizer N. Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments (P<0.05).

#### 处理仅显著增加了 MBC 含量, 增幅为 127%。

2期

由于不同施肥处理对微生物生物量碳氮磷含量 的影响差异,导致微生物生物量碳氮磷化学计量比 在不同施肥处理间亦存在显著差异(图 2)。与 CK 相 比,NPK、30%OM 和 NPKS 处理下 MBC/MBN 分 别显著提高了 252%、72% 和 142%,而 60%OM 处 理下 MBC/MBN 差异不显著;NPK 和 NPKS 处理 下 MBC/MBP 显著提高,而有机无机肥配施处理 (30%OM 和 60%OM)下 MBC/MBP 显著下降。但 是,长期不同施肥处理均显著降低了 MBN/MBP, 以 30%OM 和 60%OM 处理的降幅最大,分别为 86% 和 89%。

# 2.3 不同施肥处理土壤胞外酶活性及化学计量特征 不同施肥处理土壤 βG、NAG 和 ACP 活性差异



图 2 不同施肥处理土壤微生物生物量碳、氮、磷含量及其化学计量特征 Fig. 2 The contents and stoichiometric ratios of soil microbial biomass carbon (MBC), nitrogen (MBN) and phosphorus (MBP) under different fertilization treatments

注: CK 为不施肥; NPK 为氮、磷、钾平衡施肥; 30%OM 和 60%OM 分别为 30% 和 60% 猪粪有机肥替代化肥氮; NPKS 为水稻秸秆全量还田且不足的氮量以化肥氮补充。柱上不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。

Note: CK represents no fertilizer control; NPK represents balanced application of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer; 30%OM and 60%OM represent replacing 30% and 60% chemical fertilizer N with pig manure; NPKS represents rice straw return and the straw N is deducted from chemical fertilizer N. Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments (P<0.05).

较大,分别介于 15.84~78.99、55.21~340.06 和 483.85~793.11 nmol/(g·h)(图 3)。与 CK 相比,各施 肥处理均显著增加了 βG 活性,以 30%OM 处理的增 幅最大,达 399%,其次为 NPKS 处理,增幅达 258%; NAG 活性在 60%OM 和 NPKS 处理下显著增 加;而 ACP 活性仅在 NPKS 处理下明显增加。总体 而言,长期单施化肥对土壤胞外酶活性影响不大, 而化肥配合有机物料施用对胞外酶活性具有一定的 促进作用,且以秸秆还田的效果更为明显。

不同施肥处理对土壤胞外酶化学计量的影响差 异显著(图 3)。CK 处理下 βG/NAG、βG/ACP 和 NAG/ACP 分别为 0.47、0.05 和 0.12。与CK 相比, 30%OM 处理显著增加了 βG/NAG (1.12) 和 βG/ACP (0.13); 而 60%OM 处理却显著降低 βG/NAG (0.15)





注: CK 为不施肥; NPK 为氮、磷、钾平衡施肥; 30%OM 和 60%OM 分别为 30% 和 60% 猪粪有机肥替代化肥氮; NPKS 为水稻秸秆全量还田且不足的氮量以化肥氮补充。方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。

Note: CK represents no fertilizer control; NPK represents balanced application of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer; 30%OM and 60%OM represent replacing 30% and 60% chemical fertilizer N with pig manure; NPKS represents rice straw return and the straw N is deducted from chemical fertilizer N. Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments (*P*<0.05).

和  $\beta$ G/ACP (0.04),仅有 NAG/ACP 显著升高;NPKS 处理下  $\beta$ G/ACP 和 NAG/ACP 均显著升高,而  $\beta$ G/NAG 却显著降低。

# **2.4** 土壤微生物生物量、胞外酶化学计量与土壤 碳、氮、磷养分计量的关系

由图 4 可知, 土壤 MBC、MBN 和 MBP 含量与 SOC、TN 和 TP 含量均呈显著或极显著正相关关 系。MBC、MBP 与 C/P 和 N/P 呈显著负相关关系。 MBN/MBP 与 SOC、TN 和 TP 含量呈极显著负相关 关系,而与 C/P 和 N/P 则呈极显著正相关关系。此 外,土壤胞外酶活性与土壤碳氮磷养分之间的相关 性较弱,仅有 βG 和 ACP 活性与 TN 和 SOC 含量之 间存在正相关关系。

基于上述相关性分析结果,进一步以不同施肥



图 4 土壤微生物生物量、胞外酶活性与土壤碳氮磷含量及化学计量比之间的相关性

Fig. 4 Correlation between soil microbial biomass, extracellular enzyme activity and soil carbon, nitrogen, phosphorous contents and stoichiometric ratios

注: SOC一土壤有机碳; TN—全氮; TP—全磷; MBC—微生物生物量碳; MBN—微生物生物量氮; MBP—微生物生物量磷; βG—β-葡 萄糖苷酶; NAG—β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶; ACP—酸性磷酸酶。红色、蓝色圆点分别代表正、负相关,\*、\*\*、\*\*\*分别表示 0.05、 0.01、0.001 水平显著相关。

Note: SOC—Soil organic carbon; TN—Total nitrogen; TP—Total phosphorus; MBC—Microbial biomass carbon; MBN—Microbial biomass nitrogen; MBP—Microbial biomass phosphorus;  $\beta$ G— $\beta$ -Glucosidase; NAG— $\beta$ -N-acetylglucosaminidase; ACP—Acid phosphatase. Red and blue round dot indicate positive and negative correlation, respectively. \*, \*\* and \*\*\* indicate significant correlations at 0.05, 0.01, and 0.001 levels, respectively.

处理下土壤微生物生物量及其化学计量作为响应变 量,土壤碳氮磷含量及化学计量作为解释变量进行 冗余分析 (RDA),结果 (图 5)显示,第1主轴 (RDA1)和第2 主轴 (RDA2)分别解释了总变异的



图 5 土壤微生物生物量与土壤碳氮磷含量及化学计量比之间的冗余分析



注: SOC一土壤有机碳; TN—全氮; TP—全磷; MBC—微生物生物量碳; MBN—微生物生物量氮; MBP—微生物生物量磷。蓝色、红 色线段分别代表响应变量和解释变量,线段长短代表解释变量对响应变量的影响程度大小。

Note: SOC—Soil organic carbon; TN—Total nitrogen; TP—Total phosphorus; MBC—Microbial biomass carbon; MBN—Microbial biomass nitrogen; MBP—Microbial biomass phosphorus. The blue and red line segments indicate the response and explanatory variables, respectively. The length of line segment indicates the influence of the explanatory variable on the response variable.

79.97%和0.59%。TP 是影响土壤微生物生物量变化的主导因子 (P=0.008),其次是 N/P (P=0.008),两者在调节农田土壤微生物生物量及化学计量比上具有关键作用。

## 3 讨论

土壤微生物是土壤中十分活跃的生物组分,参与土壤有机质分解和养分循环过程。土壤微生物生物量是土壤养分的储备库,其含量高低也可表征土壤肥力状况<sup>[25]</sup>。本研究中长期定位试验结果表明,化肥配施有机物料可改善稻田土壤肥力状况,土壤SOC、TN、TP含量均显著高于不施肥CK,这与前人<sup>[26-27]</sup>研究结果类似。其原因在于:一方面,猪粪和秸秆本身含有较高的碳、氮、磷等养分,其施用可直接提高土壤有机质和养分水平<sup>[28]</sup>;另一方面,化肥、猪粪和秸秆等肥料施用促进了水稻增产,增加了水稻根系体积,因而增加了留在土壤中的有机物质量。

全球土壤微生物生物量 MBC:MBN:MBP 值 介于 60:7:1至 42:6:1,耕地土壤微生物生物 量 MBC:MBN:MBP 值介于 93:10:1至 9: 1:1<sup>[10]</sup>。不同的 MBC:MBN:MBP 值指示土壤微生 物受到不同养分元素、不同程度的限制作用。本研 究中,0—20 cm 表土 C/N 为 9.68~10.01,处于本区 域水稻土耕作层 C/N 的范围 (6.0~35.1)<sup>[29]</sup>。不同施肥 处理土壤的 C/N 差异不显著,在有机无机肥配施及 秸秆还田措施下,SOC 和 TN 含量提升的幅度类似 (图 1),这可能导致不同施肥处理土壤 C/N 差异不明 显。这一结果与对荒漠草原和森林生态系统的研究 结果基本类似<sup>[30-31]</sup>。化肥与有机肥配施显著降低了 土壤的 C/P 和 N/P,主要可能与施肥处理大幅度提高 土壤 TP 含量有关 (图 1),指示土壤磷素的限制作用 减弱。

本研究中, 土壤 MBC 含量在 NPK、有机肥配 施及秸秆还田处理下增加显著,原因可能是化肥以 及有机物料的投入改善了土壤碳氮磷的养分状况和 有效性,满足了土壤微生物生长所需的碳源和养分,从而促进了生物量的增加。尽管如此,化肥与 有机肥配施下 MBC/MBP 和 MBN/MBP 相比于对照 处理均显著降低,这可能是因为有机肥配施提高了 土壤中有效磷的水平,从而为微生物群体提供了丰富的磷源。这暗示,化肥与有机肥配施有助于降低 土壤磷素的限制作用,增强土壤磷素的供给能力,

提高土壤肥力的稳定性。基于生长速率理论,微生 物在高速增殖阶段会加速核糖体 RNA 的生物合成, 这一生理活动可能导致 MBC/MBP 和 MBN/MBP 的 比值下降<sup>[32]</sup>: 而化肥与秸秆配施则促进了 MBC/MBN 和 MBC/MBP 的增加,其原因可能跟秸秆投入促进 了土壤微生物呼吸速率和土壤矿化作用,导致土壤 微生物生物量增加有关[33]。相关性分析也证明了 MBC、MBN 和 MBP 含量与土壤碳氮磷养分含量之 间的显著正相关关系(图4),且冗余分析结果显示 TP 和 N/P 对土壤微生物生物量及其化学计量的变化 贡献较大(图5),这也进一步证实了不同施肥措施可 能主要通过改变土壤中可利用养分的含量,进而对 微生物生物量产生影响。一方面,有机物料的投入 提高了土壤磷素的有效性,增加植物根系生物量并 进一步促进土壤微生物的生长<sup>[34]</sup>;另一方面,有机物 料的添加促进土壤有机质积累,改善土壤磷素循 环,从而促使土壤微生物生物量增加[33]。猪粪中的有 机物质易于分解,能快速直接地为微生物提供碳 源,秸秆中有机聚合物结构更为复杂,如纤维素、 半纤维素和木质素等,这些组成和结构复杂的碳源 则需要更多的微生物活动和酶解过程来分解、从而 对 MBC 含量产生更大影响<sup>[36]</sup>。NPK 处理下 MBP 含 量无显著变化,但却显著降低了 MBN 含量,这与徐 阳春等137的研究结果一致,其原因可能是:一方面, 长期单施化肥会破坏土壤团聚体,导致土壤板结, 破坏微生物的生存环境:另一方面,化肥往往以提 供氮、磷、钾等主要养分为主,长期单一施用化肥 可能导致其他微量元素缺乏,影响微生物的生长和 代谢,进而使 MBN 含量降低[17]。MBP 含量在有机 肥配施处理下均显著增加,是由于猪粪中含有一定 量的磷, 施入土壤后可以为微生物提供磷源, 促进 微生物的生长和繁殖,从而增加 MBP 含量。各施肥 处理下 MBN/MBP 均显著低于 CK,不同比例的有机 肥配施处理显著低于单施化肥和化肥配施秸秆处 理。相关性分析显示, MBN/MBP 与 N/P 呈极显著 正相关关系,而不同比例有机肥配施的 N/P 远低于 单施化肥和化肥配施秸秆,可能是由于氮素的损失 途径较多,而磷素在土壤中相对较为稳定[38-39]。

土壤胞外酶是土壤有机质分解和养分循环的催 化剂,其活性反映了土壤中各种生物化学过程速率<sup>[40]</sup>, 其活性大小主要受土壤温度、湿度及微生物群落结 构等众多因素的影响<sup>[41]</sup>。酶化学计量比能够反映土壤 微生物对碳和养分的需求状况,可作为土壤碳、 氮、磷有效性的表征指标<sup>[42]</sup>。本研究发现,长期不同 施肥处理下βG、NAG、ACP 活性变化不一。不同施 肥处理下 βG 酶活性均显著增加,这与石丽红等<sup>[27]</sup>、 Zhang 等<sup>[43]</sup>的研究结果一致,可能原因是肥料的输入 促进了土壤微生物的代谢和繁殖,改善了土壤健康 状况,促进微生物分泌更多参与碳元素循环的酶, 从而提高 βG 酶活性<sup>[44-45]</sup>。但如果肥料用量超过其最 大临界范围,这种促进作用可能不会持续增加149,比 如 60%OM 处理对 βG 酶活性促进作用较小。但是, NPK 处理对 NAG 和 ACP 活性并无显著影响,可能 是因为化肥投入并未直接提供有机碳源,对微生物 代谢的促进作用相对较弱,导致 NAG 和 ACP 活性 对其反应不敏感。NPKS 处理对 βG、NAG 和 ACP 活性均有促进作用,可能原因是:一方面,有机物 料的投入使土壤碳、氮达到适宜水平,养分含量均 衡,促进了与碳、氮相关的βG和NAG的分解[47]; 另一方面,秸秆分泌的有机酸会将有机磷转化为无 机磷,增加ACP活性<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,CK和NPK 处理的 BG/NAG 和 BG/ACP 均低于全球平均水平 (分 别为1.14和0.62)[48],可能存在一定的氮、磷养分限 制。相较于 CK 和 NPK 处理, 30%OM 处理下 βG/ NAG 和 βG/ACP 均显著增加,说明低量有机肥配合 化肥施用能够在一定程度缓解氮、磷养分资源限制 情况。60%OM 处理下 BG/NAG 和 BG/ACP 均显著降 低,这表明高量有机肥施用可能会加剧氮、磷养分 资源限制。NPKS 处理下  $\beta G/ACP$  显著升高,  $\beta G/$ NAG 却显著降低,表明长期秸秆还田下土壤微生物 生长受磷限制亦能得到缓解,但是可能会导致氮养 分资源限制。因此,尽管秸秆还田和有机肥的投入 刺激了有机质的分解,有效促进了微生物的生长四, 但是需要考虑适量的有机肥施用比例和秸秆还田 量,才能促进土壤氮、磷养分的有效利用。

## 4 结论

土壤全磷含量以及 N/P 决定着微生物量碳氮磷 含量、胞外酶活性及其化学计量比。长期施用化肥 虽然提高了土壤全磷含量,但同时提高了 MBC/MBN 和 MBC/MBP 值,增加了土壤微生物磷的限制,不 利于土壤养分的平衡和土壤微生物肥力的稳定。有 机无机肥配施处理下的土壤微生物生物量碳、氮、 磷含量显著高于氮磷钾化肥平衡施用处理,说明有 机无机肥配施有利于提升土壤微生物肥力和增强养 分供应能力。化肥配施氮磷含量丰富的有机物料可 有效提升土壤微生物碳、氮、磷含量,但配施猪粪 的效果优于配施秸秆,而配施秸秆提升土壤胞外酶 活性,增强养分供应能力的效果优于配施猪粪。然 而,猪粪替代 30% 化肥氮量条件下,则显著提高土 壤中βG/NAG和βG/ACP值,说明土壤微生物氮、 磷的限制作用减弱,土壤微生物肥力稳定性升高, 养分供应能力增强。配施秸秆对微生物生物量碳氮 磷比的降低作用弱于配施猪粪,低比例的猪粪配施 能够有效提高土壤碳氮和碳磷相关酶活性的比值。 因此,适宜比例的有机肥配施和秸秆还田是改善土 壤微生物系统稳定性和养分供应能力的有效策略。

#### 参考文献:

- [1] 李东坡, 武志杰, 陈利军, 等. 长期培肥黑土微生物量碳动态变化及影响因素[J]. 应用生态学报, 2004, 15(8): 1334–1338.
  Li D P, Wu Z J, Chen L J, *et al.* Dynamics of microbial biomass C in a black soil under long-term fertilization and related affecting factors[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(8): 1334–1338.
- [2] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 75: 54–63.
- [3] 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):628-637.
  Xia W J, Liu K L, Zhang L F, *et al.* Effect of long-term fertilization on soil microbial biomass and enzyme activities in reddish paddy soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(3): 628-637.
- [4] 魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 等. 水稻不同生育期根际与非根际土壤胞外 酶对施氮的响应[J]. 环境科学, 2017, 38(8): 3489–3496.
  Wei L, Tang Z Z, Zhu Z K, *et al.* Responses of extracellular enzymes to nitrogen application in rice of various ages with rhizosphere and bulk soil[J]. Environmental Science, 2017, 38(8): 3489–3496.
- [5] 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.
  Du L S, Tang M L, Zhu Z K, *et al.* Effects of long-term fertilization on enzyme activities in profile of paddy soil[J]. Environmental Science, 2018, 39(8): 3901-3909.
- [6] Jian S Y, Li J W, Chen J, *et al.* Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: A metaanalysis[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 101: 32–43.
- [7] 陈玉军,李婷,朱立安,等. 淹水梯度对红树林湿地土壤微生物生物 量与酶活性的影响[J]. 水土保持通报, 2022, 42(6): 68-75.
   Chen Y J, Li T, Zhu L A, *et al.* Effects of flooding on soil microbial biomass and enzyme activities in a mangrove wetland[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2022, 42(6): 68-75.
- [8] 魏书蒙,陈详腾,赵光宇,等. 杉木人工林近自然改造对土壤化学性质及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2024, 44(10): 4277-4287.
   Wei S M, Chen X T, Zhao G Y, *et al.* Effects of closer-to-nature transformation of Chinese fir plantation on soil chemical properties and enzyme activities[J]. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(10): 4277-4287.

- [9] Feyissa A, Gurmesa G A, Yang F, et al. Soil enzyme activity and stoichiometry in secondary grasslands along a climatic gradient of subtropical China[J]. Science of the Total Environment, 2022, 825: 154019.
- [10] Chen G L, Yuan J H, Wang S Q, et al. Soil and microbial C: N: P stoichiometries play vital roles in regulating P transformation in agricultural ecosystems: A review[J]. Pedosphere, 2024, 34(1): 44–51.
- [11] 崔继文, 徐新朋, 何萍, 等. 氮素有机替代对东北黑土区土壤微生物 碳磷资源限制的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(11): 1953-1966.
  Cui J W, Xu X P, He P, *et al.* Effects of organic nitrogen substitution on soil microphial resources limitation by carbon and phosphorus in

on soil microobial resources limitation by carbon and phosphorus in black soil of Northeast China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2020, 26(11): 1953–1966.

- [12] 王传杰, 王齐齐, 徐虎, 等. 长期施肥下农田土壤-有机质-微生物的碳氮磷化学计量学特征[J]. 生态学报, 2018, 38(11): 3848-3858.
  Wang C J, Wang Q Q, Xu H, *et al.* Carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometric characteristics of bulk soil, organic matter, and soil microbial biomass under long-term fertilization in cropland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(11): 3848-3858.
- [13] Schimel J P, Weintraub M N. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: A theoretical model[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2003, 35(4): 549–563.
- [14] Yang J, Gao W, Ren S R, et al. Long-term effects of combined application of chemical nitrogen with organic materials on crop yields, soil organic carbon and total nitrogen in fluvo-aquic soil[J]. Soil and Tillage Research, 2015, 151: 67–74.
- [15] 陈飞, 刘方, 白晓永, 等. 喀斯特山地不同微地貌下土壤碳氮磷空间 异质性及生态化学计量特征[J]. 生态学报, 2022, 42(24): 10201-10213.

Chen F, Liu F, Bai X Y, *et al.* Spatial heterogeneity and ecological stoichiometric characteristics of soil carbon, nitrogen and phosphorus under different microgeomorphology in Karst mountains[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(24): 10201–10213.

[16] 王绍强,于贵瑞.生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征[J]. 生态学报,2008,28(8):3937-3947.

Wang S Q, Yu G R. Ecological stoichiometric characteristics of carbon, nitrogen and phosphorus elements[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3937–3947.

[17] 李琳琳,石宁,王菲.不同有机物料改善富磷菜田土壤微生物结构 功能和蔬菜磷素吸收利用研究[J]. 植物营养与肥料学报,2024, 30(1):114-127.

Li L L, Shi N, Wang F. Application of organic materials improves microbial communuty structure and vegetable phosphorus nutrition under optimum chemical fertilization[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2024, 30(1): 114–127.

[18] 缪玉琳,梁丰,谢军,等.长期有机肥替代化肥对水稻土有机碳稳定性的影响[J].土壤学报, 2023, 60(2): 512-522.
Miao Y L, Liang F, Xie J, *et al.* Effect of long-term organic fertilizer instead of chemical fertilizer on organic carbon stability of paddy soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(2): 512-522.

- [19] Wu L, Zhang W J, Wei W J, et al. Soil organic matter priming and carbon balance after straw addition is regulated by long-term fertilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2019, 135: 383–391.
- [20] Zhu Z K, Fang Y Y, Liang Y Q, *et al.* Stoichiometric regulation of priming effects and soil carbon balance by microbial life strategies[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2022, 169: 108669.
- [21] 李新悦, 李冰, 王昌全, 等. 长期秸秆还田对水稻土团聚体有机碳及 胞外酶的影响[J]. 土壤学报, 2024, 61(1): 235-246.
  Li X Y, Li B, Wang C Q, *et al.* Effects of long-term straw returning on organic carbon and extracellular enzymes in paddy soil aggregates
  [J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(1): 235-246.
- [22] 程琪,毛霞丽,孙涛,等.长期化肥与不同有机物料配施对土壤微生物生态化学计量特征和群落结构的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2024, 30(2): 209-220.
  Cheng Q, Mao X L, Sun T, *et al.* Effects of long-term combined application of chemical fertilizers with different organic materials on soil microbial ecological stoichiometry and community structure[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2024, 30(2): 209-220.
- [23] 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.

Lu R K. Soil agricultural chemistry analysis method[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Publishing House, 2000.

- [24] 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.
- [25] Zhang J H, Li M X, Xu L, et al. C: N: P stoichiometry in terrestrial ecosystems in China[J]. Science of the Total Environment, 2021, 795: 148849.
- [26] 郭振, 王小利, 徐虎, 等. 长期施用有机肥增加黄壤稻田土壤微生物 量碳氮[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(5): 1168-1174. Guo Z, Wang X L, Xu H, et al. A large number long-term application of organic fertilizer can efffectively increase microbial biomass carbon and nitrogen in yellow paddy soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2017, 23(5): 1168-1174.
- [27] 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.

Shi L H, Li C, Tang H M, *et al.* Effects of long-term fertilizer management on soil labile organic carbon fractions and hydrolase enzyme activity under a double-cropping rice stystem of southern China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2021, 32(3): 921–930.

- [28] Zhou P, Sheng H, Li Y, et al. Lower C sequestration and N use efficiency by straw incorporation than manure amendment on paddy soils[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2016, 219: 93– 100.
- [29] Sheng H, Yin Z R, Zhou P, et al. Soil C: N: P ratio in subtropical paddy fields: Variation and correlation with environmental controls [J]. Journal of Soils and Sediments, 2022, 22(1): 21–31.
- [30] 刘姝萱, 安慧, 张馨文, 等. 氮磷添加对荒漠草原土壤养分含量及生态化学计量特征的影响[J]. 环境科学, 2023, 44(5): 2724-2734.
   Liu S X, An H, Zhang X W, *et al.* Effects of nitrogen and phosphorus

addition on soil nutrient content and stoichiometry in desert grassland[J]. Environmental Science, 2023, 44(5): 2724–2734.

- [31] Gao Y, He N P, Yu G R, et al. Long-term effects of different land use types on C, N, and P stoichiometry and storage in subtropical ecosystems: A case study in China[J]. Ecological Engineering, 2014, 67: 171–181.
- [32] Liu X, Zhou F, Hu G Q, *et al.* Dynamic contribution of microbial residues to soil organic matter accumulation influenced by maize straw mulching[J]. Geoderma, 2019, 333: 35–42.
- [33] 宋大利, 侯胜鹏, 王秀斌, 等. 中国秸秆养分资源数量及替代化肥潜 力[J]. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(1): 1-21.
  Song D L, Hou S P, Wang X B, *et al.* Nutrient resource quantity of crop straw and its potential of substituting[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2018, 24(1): 1-21.
- [34] Chen C, Xiao W Y. The global positive effect of phosphorus addition on soil microbial biomass[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2023, 176: 108882.
- [35] 张燕,强薇,罗如熠,等. 氮磷添加对土壤微生物生长、周转及碳利用效率的影响研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(2): 526-534.
   Zhang Y, Qiang W, Luo R Y, *et al.* Effects of nitrogen and

phosphorus addition on soil microbial growth, turnover, and carbon use efficiency: A review[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2022, 28(2): 526–534.

- [36] Liu Q Y, Xu X L, Wang H M, *et al.* Dominant extracellular enzymes in priming of SOM decomposition depend on temperature[J]. Geoderma, 2019, 343: 187–195.
- [37] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物 量碳、氮、磷的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(1): 89-96.
  Xu Y C, Shen Q R, Ran W. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N and P after sixteen years of cropping[J]. Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(1): 89-96.
- [38] Sparling G P, Shepherd T G, Kettles H A. Changes in soil organic C, microbial C and aggregate stability under continuous maize and cereal cropping, and after restoration to pasture in soils from the Manawatu region, New Zealand[J]. Soil and Tillage Research, 1992, 24(3): 225–241.
- [39] 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.
   Xu Y L, Tang H M, Xiao X P, *et al.* Effects of different long-term fertilization regimms on the soil microbiological properties of a paddy

field[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(18): 5847-5855.

[40] 姚云柯,周卫,孙建光,等.田间条件下不同促腐菌对水稻秸秆腐解及胞外酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2020,26(11): 2070-2080.

Yao Y K, Zhou W, Sun J G, *et al*. Effects of different straw decomposition inoculants on increasing the activities of extracellular enzymes and decomposition of rice straw buried into soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2020, 26(11): 2070–2080.

- [41] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, et al. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in eastern China (NSTEC)[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 104: 152–163.
- [42] He L Y, Lu S X, Wang C G, et al. Changes in soil organic carbon fractions and enzyme activities in response to tillage practices in the Loess Plateau of China[J]. Soil & Tillage Research, 2021, 209: 104940.
- [43] Zhang X Y, Dong W Y, Dai X Q, et al. Responses of absolute and specific soil enzyme activities to long term additions of organic and mineral fertilizer[J]. Science of the Total Environment, 2015, 536: 59–67.
- [44] 郭天财, 宋晓, 马冬云, 等. 施氮量对冬小麦根际土壤酶活性的影响
  [J]. 应用生态学报, 2008, 19(1): 110–114.
  Guo T C, Song X, Ma D Y, *et al.* Effect of nitrogen application rate on soil enzyme activity in wheat rhizosphere[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(1): 110–114.
- [45] Chen J, Sinsabaugh R L. Linking microbial functional gene abundance and soil extracellular enzyme activity: Implications for soil carbon dynamics[J]. Global Change Biology, 2021, 27(7): 1322-1325.
- [46] Adetunji A T, Lewu F B, Mulidzi R, *et al.* The biological activities of β-glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: A review[J]. Journal of Soil Science & Plant Nutrition, 2017, 17(3): 794–807.
- [47] Zhao S C, Li K J, Zhou W, et al. Changes in soil microbial community, enzyme activities and organic matter ractions under longterm straw return in north-central China[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2016, 216: 82–88.
- [48] 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: 795–798.