中国生态农业学报(中英文)
Chinese Journal of Eco-Agriculture
中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国精品科技期刊
百种中国杰出学术期刊
中国科学引文数据库源刊

长期施氮肥对黄棕壤微生物生物性状的影响及其调控因素

王静，王磊，刘耀斌，章欢，张辉，汪吉东，吴建燕，张永春

引用本文:
王静, 王磊, 刘耀斌, 等. 长期施氮肥对黄棕壤微生物生物性状的影响及其调控因素[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2021, 29(5): 833–843.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.200583

(向下翻页，阅读全文)

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

川西平原土壤微生物生物量碳氮磷含量特征及其影响因素分析

Distribution characteristics and impact factors of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in western Sichuan plain

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(10): 1607–1616 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.190328

氯甲基吡啶对滴灌棉田土壤微生物群落功能多样性的影响

Effect of nitrapyrin on functional diversity of soil microbial community in drip–fertigated cotton field

中国生态农业学报. 2017, 25(7): 968–974 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.161159

甘肃中部沿黄灌区马铃薯连作对土壤化学和生物学性质的影响

Effect of continuous potato monoculture on soil chemical and biological properties in Yellow River Irrigation Area in central Gansu Province

中国生态农业学报. 2017, 25(4): 581–593 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.160848

潮土农田微生物研究进展*

Researchprogressesoffarmlandmicroorganismsinfluvo–aquicsoilofChina

中国生态农业学报. 2016, 24(4): 416–434 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.151347

秸秆还田施氮调节碳氮比对土壤无机氮、酶活性及作物产量的影响

Responses of soil mineral N contents, enzyme activities and crop yield to different C/N ratio mediated by straw retention and N fertilization

中国生态农业学报. 2016, 24(12): 1633–1642 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.160357

中国生态农业学报(中英文) 2021 年 5 月 第 29 卷 第 5 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, May 2021, 29(5): 833−843

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.200583

王静, 王磊, 刘耀斌, 章欢, 张辉, 汪吉东, 吴建燕, 张永春. 长期施氮肥对黄棕壤微生物生物性状的影响及其调控因素[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2021, 29(5): 833−843

WANG J, WANG L, LIU Y B, ZHANG H, ZHANG H, WANG J D, WU J Y, ZHANG Y C. Effects and associated regulatory factors of the microbial characteristics of yellow-brown soils following long-term nitrogen fertilization[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2021, 29(5): 833−843

长期施氮肥对黄棕壤微生物生物性状的影响及其调控因素*

王 静[1,2], 王 磊[1], 刘耀斌[1,2], 章 欢[1,3], 张 辉[1], 汪吉东[1,2,3], 吴建燕[4], 张永春[1,2**]

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所/农业农村部江苏耕地保育科学观测站 南京 210014; 2. 南京农业大学资源与环境科学学院 南京 210095; 3. 江苏大学农业工程学院 镇江 212023; 4. 烟台泓源生物肥料有限公司 烟台 264000)

摘 要: 基于黄棕壤小麦-甘薯轮作的长期定位试验, 探究不同施氮处理土壤微生物生物量碳(MBC)、氮(MBN)含量和酶活性的变化及其潜在调控因子, 为科学施氮提高土壤质量和改善土壤生态功能提供依据。试验选取始于 2011 年 4 个施氮处理: 不施肥(CK)、不施氮肥(PK)、施化学氮肥(NPK)和化学氮肥配施有机肥(NPKM), 调查两季作物收获后土壤 MBC 和 MBN 含量、酶活性及微生物碳氮利用效率的变化, 并通过冗余分析(RDA)和结构方程模型(SEM)明确调控弱酸性黄棕壤中 MBC 和 MBN 变化的潜在因素。小麦和甘薯两季的结果表明: 施氮肥降低了土壤 MBC、MBN 含量和蔗糖酶(SSC)、脲酶(SUE)活性, 与 NPK 处理相比, NPKM 处理增加了 MBC、MBN 含量和 SSC、SUE 活性。长期施用氮肥提高了土壤有机碳(SOC)和土壤养分[全氮(TN)和矿质态氮(MN)]含量, 但施氮肥显著降低土壤 pH 以及微生物的碳氮利用效率。与小麦季相比, 甘薯季土壤 SOC 和 MN 含量有所下降, 而 MBN 含量和 SSC 活性有所升高。RDA 和 SEM 结果表明, 氮肥的施用强化了 MBC 与 MBN、SSC 与 MBC 以及 SUE 与 MBC 之间的关联性; 不同施氮处理下土壤 pH、有机碳、氮含量以及微生物的碳氮利用效率的变化直接或间接地影响土壤 MBC、MBN 含量和 SSC、SUE 活性, 其中 pH 是调控土壤 MBC 变化的直接因素, 而土壤 SSC 和 SUE 活性与 MBC、MBN 含量相互影响。长期施用氮肥降低了黄棕壤 MBC、MBN 含量和酶活性, 化学氮肥配施有机肥有利于缓解生物性状的下降, 土壤 pH 是影响 MBC 变化的主要因素, 小麦-甘薯轮作中土壤微生物强烈的碳代谢过程利于增加 MBN。

关键词: 黄棕壤; 氮肥; 微生物生物量; 酶活性; 潜在调控因子

中图分类号: S181 开放科学码(资源服务)标识码(OSID):

Effects and associated regulatory factors of the microbial characteristics of yellow-brown soils following long-term nitrogen fertilization*

WANG Jing[1,2], WANG Lei[1], LIU Yaobin[1,2], ZHANG Huan[1,3], ZHANG Hui[1], WANG Jidong[1,2,3], WU Jianyan[4], ZHANG Yongchun[1,2**]

* 江苏省自然科学基金项目(BK20190259)、国家甘薯产业技术体系项目(CARS-10-B9)、江苏省重点研发项目(BE2019378)和国家重点研发项目(2018YFD0200505)资助

** 通信作者: 张永春, 研究方向为耕地保育等。E-mail: yczhang66@sina.com
王静, 研究方向为土壤微生物与元素循环。E-mail: 2018103149@njau.edu.cn

收稿日期: 2020-07-18 接受日期: 2020-09-28

* This study was supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20190259), the National Technology System of Sweet Potato Industry of China (CARS-10-B9), the Key Research and Development Project of Jiangsu Province (BE2019378), and the National Key Research and Development Project of China (2018YFD0200505).

** Corresponding author, E-mail: yczhang66@sina.com

Received Jul. 18, 2020; accepted Sep. 28, 2020

(1. Institute of Agricultural Resources and Environments, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences / Scientific Observing and Experimental Station of Arable Land Conservation (Jiangsu), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China; 2. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Institute of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212023, China; 4. Yantai Hongyuan Biological Fertilizer Co., LTD, Yantai 264000, China)

Abstract: Changes in soil microbial biomass C (MBC) and N (MBN) and their potential regulatory factors were investigated following long-term N fertilizer application since 2011 in a wheat-sweet potato rotation system. In the study, we aimed to provide a theoretical basis for the application of N fertilizers and to improve soil quality and ecological functions. Four N fertilization treatments were used: no fertilizer application (CK), no N-fertilizer application (PK), chemical N-fertilizer application (NPK), and chemical N-fertilizer combined with organic fertilizer application (NPKM). The soil MBC and MBN content, soil potential enzymes activities, and microbial C and N utilization efficiencies were investigated after the harvest of the two crops. Redundancy analysis and structural equation modeling were used to identify the potential biotic and abiotic factors that regulate MBC and MBN in the weakly acidic yellow-brown soils. The results showed that the contents of MBC and MBN and activities of sucrase and urease decreased in the N fertilization treatments. Compared with the NPK treatments, NPKM treatment increased the contents of MBC and MBN and the activities of sucrase and urease. Significantly higher contents of soil organic C (SOC), total N (TN), and mineral N (MN) were detected in the NPK and NPKM treated soils than in the CK and PK treated soils. However, long-term N fertilization significantly decreased the soil pH and efficiencies of microbial C and N utilization. Compared to the wheat season, the sweet potato season showed lower SOC and MN contents and higher MBN content and sucrase activity in the soils under all fertilization treatments. N fertilization strengthened the relationships between MBC and MBN and the sucrase and urease activities. Moreover, variations in the soil MBC and MBN contents and both sucrase and urease activities were regulated by soil pH, SOC and N content, and microbial C and N utilization efficiencies. Soil pH was the key factor driving the soil MBC content. Interactions were found between the activities of soil enzymes and the contents of MBC and MBN. In conclusion, long-term N fertilization decreased the MBC and MBN contents and the invertase and urease activities in yellow-brown soils. However, the combined application of chemical N fertilizers and organic fertilizer alleviated the decline in soil biological properties. The strong microbial C metabolism processes increased the MBN content in the wheat-sweet potato rotation system.

Keywords: Yellow brown soil; N fertilizers; Microbial biomass; Enzyme activities; Potential regulatory factors

化肥是影响作物产量和土壤肥力演变的主要因素之一[1]，化学氮肥在提高作物产量方面做出了重要贡献，但其过量施用也在一定程度上为土壤生态环境带来潜在的威胁，如土壤酸化[2]和微生物活性下降等[3]。有机肥中含有丰富的有机碳源和矿质营养元素，农田施用有机肥可以显著提高土壤有机碳组分以及活性有机碳组分在总有机碳中所占比例[4-5]，且充足的矿质养分供应可保证作物高效利用，从而促进根系分泌有机物以维持土壤微生物的活性。已有研究发现在长期定位试验中，与不施肥相比，单独施用化学氮肥可在短期内快速提高土壤速效养分含量和有机碳水平，但其增幅效果显著低于长期施用有机肥料[6]。因此，为应对作物高产和培肥地力的需求，化学氮肥配施有机肥在田间施肥管理方式中尤为重要。

土壤微生物作为土壤的生物属性，对土壤质量的变化异常敏感[7]。土壤活性养分可通过微生物生物量的形式得以循环与周转，而微生物又通过分泌酶来体现其对养分的需求[8]，因此，土壤微生物生物量和酶活性常被认为是反映土壤质量和生态功能的重要指标[9-10]。由于土壤中碳氮元素转化的耦合关系[11]，长期施氮肥不仅促进了作物对土壤活性有机碳组分和矿质氮素的利用，而且改变了土壤微生物对土壤可利用的碳氮元素的吸收量与排放量[12]。据报道长期化学氮肥输入可降低 5.8%~20.0%的土壤微生物生物量[13]，但也有研究表明矿质氮肥和有机肥的输入均增加了土壤微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC)含量及其在有机碳中所占比例[14]。何甜甜等[15]研究表明与常规施肥相比，常规施肥配合秸秆显著提高褐土 MBC 和微生物生物量氮(microbial biomass nitrogen, MBN)含量。而王传杰等[16]研究表明黑钙土长期施用化肥显著降低土壤 MBC 和 MBN 含量，化肥添加有机物料可增加 MBC 和 MBN 含量，土壤碳、氮、磷元素的改变直接导致微生物量碳氮的变化。土壤蔗糖酶和土壤脲酶分别参与土壤碳氮元素的循环转化过程，不同形态氮肥的添加对于蔗糖酶和脲酶的活性产生不同影响[17]。由于土壤 MBC、MBN 和酶活性较为敏感，其受施肥引起的土壤理化性状变化的影响较大。Ren 等[18]通过 Meta 分析结果表明，肥料施用量和土壤初始理化

因子(如有机碳、全氮和黏粒含量)可能是调控土壤微生物量变化的主要因素。Mangalassery 等[19]报道了砖红壤施用有机无机肥显著提高土壤有机碳水平, 进而提高土壤 MBC、MBN 含量和土壤酶活性。而 Geisseler 等[20]通过 Meta 分析结果表明, 气候和氧的有效性是解释水田土壤微生物量变化的主要因素。李炎龙等[21]研究表明, 不同种植体系对石灰性潮土 MBC、MBN 含量的影响存在显著差异。由于土壤环境的异质性以及作物种类的差异, 在弱酸性黄棕壤旱-旱轮作体系中, 施氮肥对土壤微生物量碳氮含量及其与碳氮转化酶活性的关系仍缺乏深入探究。因此, 本研究选取小麦(*Triticum aestivum* L.)-甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]轮作的长期定位试验点, 采集两季作物收获期不同施氮处理的土壤样品, 分析了不同施氮处理对土壤 MBC 和 MBN 含量和蔗糖酶、脲酶活性的影响, 并通过回归分析、冗余分析(RDA)以及结构方程模型(SEM), 探讨施氮肥后土壤微生物生物量碳氮与酶活性之间的关系, 明确调控土壤 MBC 和 MBN 含量和酶活性变化的潜在因素, 旨在为科学施用氮肥以维持健康的土壤环境提供依据。

1　材料与方法

1.1　试验地概况与试验设计

试验在江苏省农业科学院六合基地(32°28′N, 118°37′E)进行, 该地年平均气温 15.6 ℃, 年均降水量 1100 mm。供试土壤为黄棕壤, 土壤明显黏化, pH 呈弱酸性。试验前耕层土壤(0~20 cm)有机质含量 13.31 $g\cdot kg^{-1}$, 全氮 0.73 $g\cdot kg^{-1}$, 碱解氮 106.18 $mg\cdot kg^{-1}$, pH 6.48。

试验开始于 2011 年, 采用随机区组设计, 每个处理设置 3 个重复, 小区面积为 33.3 m^2 (5 m×6.66 m), 种植制度为冬小麦-夏甘薯。本研究共选取甘薯和小麦季的 4 个处理: 1)不施肥, CK; 2)不施氮肥, PK; 3)施化学氮肥, NPK; 4)化学氮肥配施有机肥, NPKM。小麦季的氮肥施用量为纯 N 210 $kg\cdot hm^{-2}$, 磷肥施用量为 P_2O_5 90 $kg\cdot hm^{-2}$, 钾肥施用量为 K_2O 90 $kg\cdot hm^{-2}$, 有机肥施用量为 3060 $kg\cdot hm^{-2}$; 甘薯季的氮肥施用量为纯 N 120 $kg\cdot hm^{-2}$, 磷肥施用量为 P_2O_5 60 $kg\cdot hm^{-2}$, 钾肥施用量为 K_2O 180 $kg\cdot hm^{-2}$, 有机肥的施用量为 2040 $kg\cdot hm^{-2}$。试验施用的氮肥为尿素(46% N), 磷肥为过磷酸钙(14%~18% P_2O_5), 钾肥为硫酸钾(50%~55% K_2O), 试验所用有机肥为当地农家腐熟厩肥。其中小麦季有机无机混施肥的有机肥中氮磷钾分别占氮磷钾总投入的 30%、40%、40%, 甘薯季有机肥中氮磷钾分别占氮磷钾总投入的 30%、40%和 14%。小麦品种为‘宁麦 26’, 种植密度为 112.5 $kg\cdot hm^{-2}$, 于 2018 年 11 月 6 日种植, 2019 年 5 月 25 日收获; 甘薯品种为‘苏薯 29’, 种植密度为 45 000 株$\cdot hm^{-2}$, 于 2019 年 6 月 5 日种植, 2019 年 10 月 11 日收获。

1.2　土壤样品的采集与处理

土壤样品分别于 2019 年 5 月(小麦收获时)和 2019 年 10 月(甘薯收获时)采集。小麦季的样品采集为各小区按“S”形采样路线随机选取 5 个取样点。甘薯季的样品采集为每个小区选取 5 条垄, 在每条垄上随机选取 1 个点, 每个取样点选在 2 棵甘薯植株之间。两季节样品的采集均在去除土壤表面干扰物(如枯枝落叶等)后, 用采样器(直径为 2.5 cm)采集 0~20 cm 的耕作层土壤。各小区采集的 5 个土芯经初步破碎混匀后, 所有样品采用冰袋保鲜运回实验室。土壤样品在去除植物根系和大的石块后过 2 mm 筛混匀, 所有样品分为两部分, 一部分室温下风干后用于土壤理化性质和酶活性的测定, 另一部分置于 4 ℃在 1 周内完成土壤矿质态氮、MBC 和 MBN 的测定。

1.3　土壤理化性质及生物性状的测定

土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)采用重铬酸钾外加热法测定; 土壤全氮(total nitrogen, TN)采用半微量凯氏法测定; 土壤 pH 利用混合电极 pH 计测定(水土比为 2.5∶1); 土壤矿质态氮(mineral nitrogen, MN)采用 0.01 $mol\cdot L^{-1}$ 氯化钙溶液浸提, 化学分析仪(SMART CHEM^{TM} 200, Germany)测定。以上方法均参照鲍士旦[22]的《土壤农化分析》方法测定。土壤易氧化有机碳(readily oxidized organic carbon, ROC)采用 333 $mmol\cdot L^{-1}$ 高猛酸钾氧化法测定[23]。

采用氯仿熏蒸-硫酸钾溶液浸提方法测定土壤 MBC 和 MBN 含量[24-25]。土壤微生物利用碳的效率(MBC∶SOC)也称微生物熵, 用 MBC 含量占 SOC 含量的百分比计算得出; 土壤微生物利用氮的效率(MBN∶TN) 用 MBN 占土壤全氮含量的百分比计算得出[26]。土壤脲酶(urease, SUE)活性采用靛酚蓝比色法测定, 土壤蔗糖酶(invertase, SSC)活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定[27]。将 lnSSC∶lnSUE 作为土壤碳氮酶活性比, 其与土壤微生物对土壤碳氮养分需求状况相联系[28-29]。

1.4　统计分析

用 SPSS 20.0 进行统计分析, 单因素方差分析(One-way ANOVA)配合 Tukey’s-b 检验多处理间均

值的显著性，采用一般线性模型多变量进行多因素方差分析；冗余分析(RDA)采用 Canoco 5.0 软件分析土壤 MBC、MBN、酶活性与其潜在影响因子的关系；采用 Amos 22 软件构建结构方程模型(SEM)，利用广义最小二乘法对预设模型进行参数估计，卡方检验预设模型与最优模型的显著性(P>0.05)，卡方/自由度(CMIN/DF)表示模型的最小差异值(0≤CMIN/DF≤2)，RMSEA 表示近似均方根残差(0≤RMSEA<0.05)，为评价模型配适度的重要参数。

2 结果与分析

2.1 长期施氮对土壤微生物生物量碳(MBC)、氮(MBN)含量及其化学计量比的影响

如图 1 所示，施肥处理、作物季以及二者的交互作用显著影响土壤 MBC 含量，施肥处理对土壤 MBC∶MBN 无显著影响，施肥处理与作物季的交互作用对土壤 MBN 的含量无显著影响。小麦季结果表明，与 CK 处理相比，PK 处理的土壤 MBC 含量显著提高，MBN 含量轻微上升，但不显著；而 NPK 和 NPKM 处理的 MBC 和 MBN 含量显著下降，NPK 处理的 MBC 和 MBN 含量最低。NPK 处理的土壤 MBC∶MBN 显著高于 CK、PK 和 NPKM 处理，而 CK、PK 和 NPKM 处理的 MBC∶MBN 无显著差异。

甘薯季结果表明，与 CK 处理相比，NPK 处理显著降低了土壤 MBC 含量，而 CK、PK 和 NPKM 处理的土壤 MBC 含量则无显著差异。土壤 MBN 含量和 MBC∶MBN 在各施肥处理间无显著差异，与 CK 处理比较，NPK 处理的 MBN 含量和 MBC∶MBN 降幅最大。

综上结果，NPK 和 NPKM 处理分别在不同程度上降低了土壤 MBC 和 MBN 的含量，其中 NPK 处理下 MBC 和 MBN 含量的降幅最大，而 NPKM 处理有利于缓解 MBC 和 MBN 含量的下降，并有效地维持土壤微生物碳氮的生态化学计量平衡。

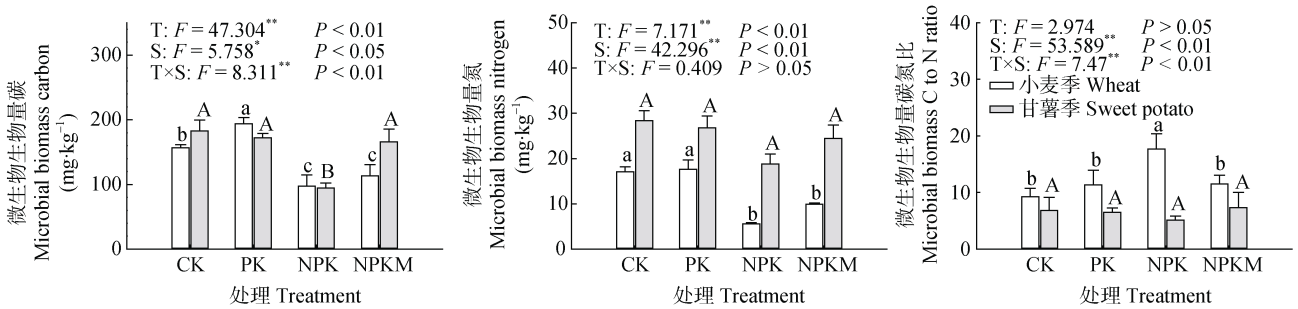


图 1 长期不同施氮处理的土壤微生物生物量碳氮含量及其比例

Fig. 1 Contents of soil microbial biomass C and N and their ratios under different long-term nitrogen fertilization treatments

CK: 不施肥; PK: 不施氮肥; NPK: 施化学氮肥; NPKM: 化学氮肥配施有机肥。S 表示作物季，T 表示施肥处理。不同字母表示不同作物季不同施肥处理在 P<0.05 (Tukey's-b test)水平差异显著，小麦季用小写字母表示，甘薯季用大写字母表示。*和**分别表示在 P<0.05 和 P<0.01 水平影响显著。CK: no fertilizer, control; PK: no N fertilizer; NPK: chemical N fertilizers; NPKM: chemical N fertilizers combined with organic fertilizers; S indicates crop season, T indicates fertilization treatment. Different lowercase letters and capital letters mean significant differences (Tukey's-b test, P<0.05) among different fertilization treatments in wheat and sweet potato seasons, respectively. * and ** indicate significant effects at P<0.05 and P<0.01, respectively.

2.2 长期施氮对土壤理化性质和微生物碳氮利用效率的影响

如表 1 所示，施肥处理、作物季以及二者的交互作用显著影响土壤 ROC、MN 含量以及 MBC∶SOC，作物季对土壤 pH 无显著影响，施肥处理与作物季的交互作用对 TN、SOC 含量和 MBN∶TN 无显著影响。小麦季结果显示，与 CK 处理相比，NPK 和 NPKM 处理显著降低土壤 pH，其降幅分别为 1.52 和 0.96，而 PK 处理的 pH 无显著变化。NPKM 处理的土壤 TN 含量显著高于 CK、PK 和 NPK 处理，增幅分别为 60.3%、48.1%和 31.5%。与 CK 处理比较，NPK 和 NPKM 处理显著提高土壤 SOC、ROC 和 MN 含量，其中 SOC 含量分别提高 24.4%和 36.4%，ROC 含量分别提高 19.3%和 32.0%，MN 含量分别提高 106.7%和 113.7%，PK 处理的 SOC、ROC 和 MN 含量与 CK 处理比较均无显著差异。与 NPK 处理相比，NPKM 处理的土壤 pH 和 SOC 含量显著升高。与 CK 和 PK 处理比较，NPK 和 NPKM 处理显著降低了 MBC∶SOC 和 MBN∶TN，其中 NPK 处理的降幅较大。

甘薯季结果显示，施肥显著降低土壤 pH，且各施肥处理间差异显著。与 CK 处理相比，PK、NPK 和 NPKM 处理的土壤 pH 分别下降 0.45、1.66 和 1.15 个单位。与 CK 处理比较，NPK 和 NPKM 处理显著增加土壤 TN、SOC、ROC 和 MN 含量，其中土壤 TN 含量的增幅分别为 34.1%和 41.2%，SOC 含量的

增幅分别为 33.8%和 45.3%, ROC 含量的增幅分别为 325.3%和 305.5%, MN 含量的增幅分别为 255.9%和 147.1%。PK 处理的土壤 TN、ROC 和 MN 含量与 CK 处理比较无显著差异, 而 SOC 含量显著提高。与 CK 处理比较, NPK 和 NPKM 处理显著降低土壤 MBC：SOC, 而土壤 MBN：TN 也有所下降, 仅 NPK 处理的降幅达显著水平。

综合小麦-甘薯季结果可知, 施氮肥显著降低了土壤 pH, 其中 NPK 处理降幅最大, NPKM 有利于缓解土壤 pH 的下降; 与 CK、PK 和 NPK 处理相比, NPKM 处理显著提高了土壤 TN 和 SOC 含量; 与 CK 和 PK 处理相比, NPK 和 NPKM 处理显著提高了 ROC 含量和 MN 含量; 与 CK 处理相比, NPK 和 NPKM 处理显著降低了土壤 MBC：SOC 和 MBN：TN。

表 1　长期不同施氮处理的土壤化学性质及微生物的碳、氮利用效率

Table 1　Chemical properties, microbial biomass carbon and nitrogen utilization efficiencies under different long-term nitrogen fertilization treatments

作物季 Crop season (S)	处理 Treatment (T)	pH	全氮 Total nitrogen ($g\cdot kg^{-1}$)	有机碳 Organic carbon ($g\cdot kg^{-1}$)	易氧化有机碳 Readily oxidized organic carbon ($g\cdot kg^{-1}$)	矿质态氮 Mineral nitrogen ($mg\cdot kg^{-1}$)	微生物利用碳效率 Microbial carbon utilization efficiency (%)	微生物利用氮效率 Microbial nitrogen utilization efficiency (%)
小麦季 Wheat season	CK	6.33±0.10a	0.73±0.02b	7.41±0.36c	2.75± 0.10b	38.19±1.11b	2.11±0.07a	2.35±0.30a
	PK	6.34±0.06a	0.79±0.08b	7.28±0.32c	2.75± 0.10b	39.44±5.10b	2.67±0.25a	2.24±0.43a
	NPK	4.81±0.14c	0.89±0.16b	9.22±0.16b	3.28±0.25a	78.94±5.81a	1.05±0.19b	0.62±0.08b
	NPKM	5.37±0.06b	1.17±0.05a	10.11±0.09a	3.63±0.16a	81.61±12.62a	1.12±0.17b	0.85±0.09b
甘薯季 Sweet potato season	CK	6.53±0.04A	0.85±0.02C	6.77±0.06D	0.91±0.20B	19.67±2.55C	2.70±0.25A	3.34±0.83A
	PK	6.08±0.02B	0.87±0.05C	7.23±0.11C	1.31±0.26B	17.86±3.05C	2.38±0.12A	3.09±0.41AB
	NPK	4.87±0.05D	1.14±0.03B	9.06±0.14B	3.87±0.26A	70.00±4.07A	1.04±0.08B	1.65±0.32B
	NPKM	5.38±0.04C	1.20±0.01A	9.84±0.06A	3.69±0.45A	48.61±2.90B	1.68±0.21B	2.04±0.67AB
方差分析 Analysis of variance								
T	*F*	605.786**	43.360**	343.963**	94.695**	105.724**	98.675**	20.605**
S	*F*	0.003	18.439**	13.605**	42.773**	77.336**	8.296**	28.933**
T×S	*F*	10.396**	2.723	2.810	33.517**	4.519*	8.552**	0.135

CK: 不施肥; PK: 不施氮肥; NPK: 施化学氮肥; NPKM: 化学氮肥配施有机肥。S 表示作物季, T 表示施肥处理。不同字母表示不同作物季不同施肥处理在 $P<0.05$(Tukey's-b test)水平上差异显著, 小麦季用小写字母表示, 甘薯季用大写字母表示。*和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平影响显著。CK: no fertilizer, control; PK: no N fertilizer; NPK: chemical N fertilizers; NPKM: chemical N fertilizers combined with organic fertilizers; S indicates crop season, T indicates fertilization treatment. Different lowercase letters and capital letters mean significant differences (Tukey's-b test, P<0.05) among different fertilization treatments in wheat and sweet potato seasons, respectively. * and ** indicate significant effects at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

2.3　长期施氮对土壤蔗糖酶、脲酶活性及其化学计量比的影响

不同施氮处理的土壤蔗糖酶(SSC)、脲酶(SUE)活性及二者比值如图 2 所示。施肥处理显著影响土壤 SSC、SUE 活性及 lnSSC：lnSUE, 作物季对土壤 SUE 活性无显著影响, 施肥处理和作物季的交互作用对土壤 SSC 和 lnSSC：lnSUE 无显著影响。

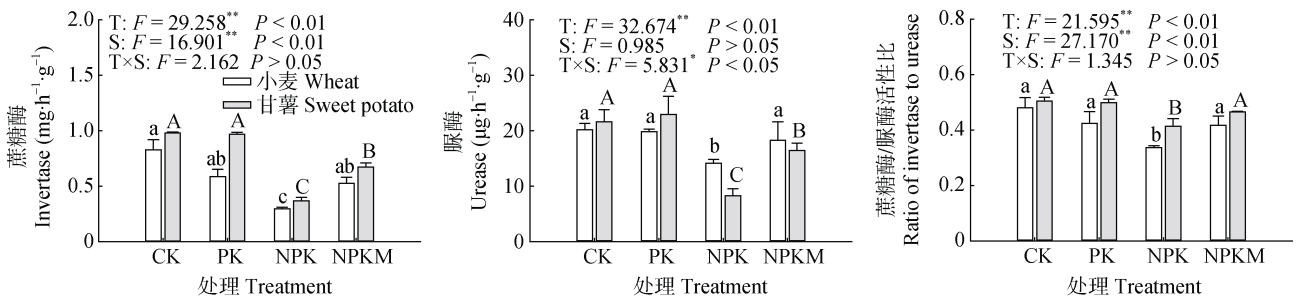


图 2　长期不同施氮处理的土壤蔗糖酶和脲酶活性及其比例

Fig. 2　Activities of soil invertase and soil urease and their ratios under different nitrogen fertilization treatments

CK: 不施肥; PK: 不施氮肥; NPK: 施化学氮肥; NPKM: 化学氮肥配施有机肥。S 表示作物季, T 表示施肥处理。不同字母表示不同作物季不同施肥处理在 $P<0.05$(Tukey's-b test)水平上差异显著, 小麦季用小写字母表示, 甘薯季用大写字母表示。*和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平影响显著。CK: no fertilizer, control; PK: no N fertilizer; NPK: chemical N fertilizers; NPKM: chemical N fertilizers combined with organic fertilizers; S indicates crop season, T indicates fertilization treatment. Different lowercase letters and capital letters mean significant differences (Tukey's-b test, $P<0.05$) among different fertilization treatments in wheat and sweet potato seasons, respectively. * and ** indicate significant effects at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

小麦季和甘薯季结果表明，与 CK 处理相比，NPK 处理显著降低了土壤 SSC 和 SUE 活性，NPKM 处理的土壤 SSC 和 SUE 活性降幅不同，小麦季 NPKM 处理的土壤 SSC 和 SUE 活性与 CK 处理差异不显著，而甘薯季 NPKM 处理的土壤 SSC 和 SUE 活性降幅达显著水平。小麦季和甘薯季 NPKM 处理的 lnSSC∶lnSUE 与 CK 处理比较无显著差异，而 NPK 处理的 lnSSC∶lnSUE 显著下降。两季作物 PK 处理的土壤 SSC、SUE 活性及 lnSSC∶lnSUE 与 CK 处理比较均无显著差异。

综上结果，施用氮肥均在不同程度上降低了 SSC 和 SUE 活性及其活性比，两作物季施用化学氮肥的土壤 SSC 和 SUE 活性及其活性比的降幅达显著水平，而有机无机肥配施则有利于缓解土壤酶活性及其活性比的下降。

2.4 土壤微生物生物量碳、氮含量与蔗糖酶、脲酶活性的回归分析

通过线性回归分析，比较两季作物施氮肥(NPK 和 NPKM 处理)与不施氮肥(CK 和 PK 处理)的土壤 MBC、MBN 含量和酶活性的关系，如图 3 所示。不

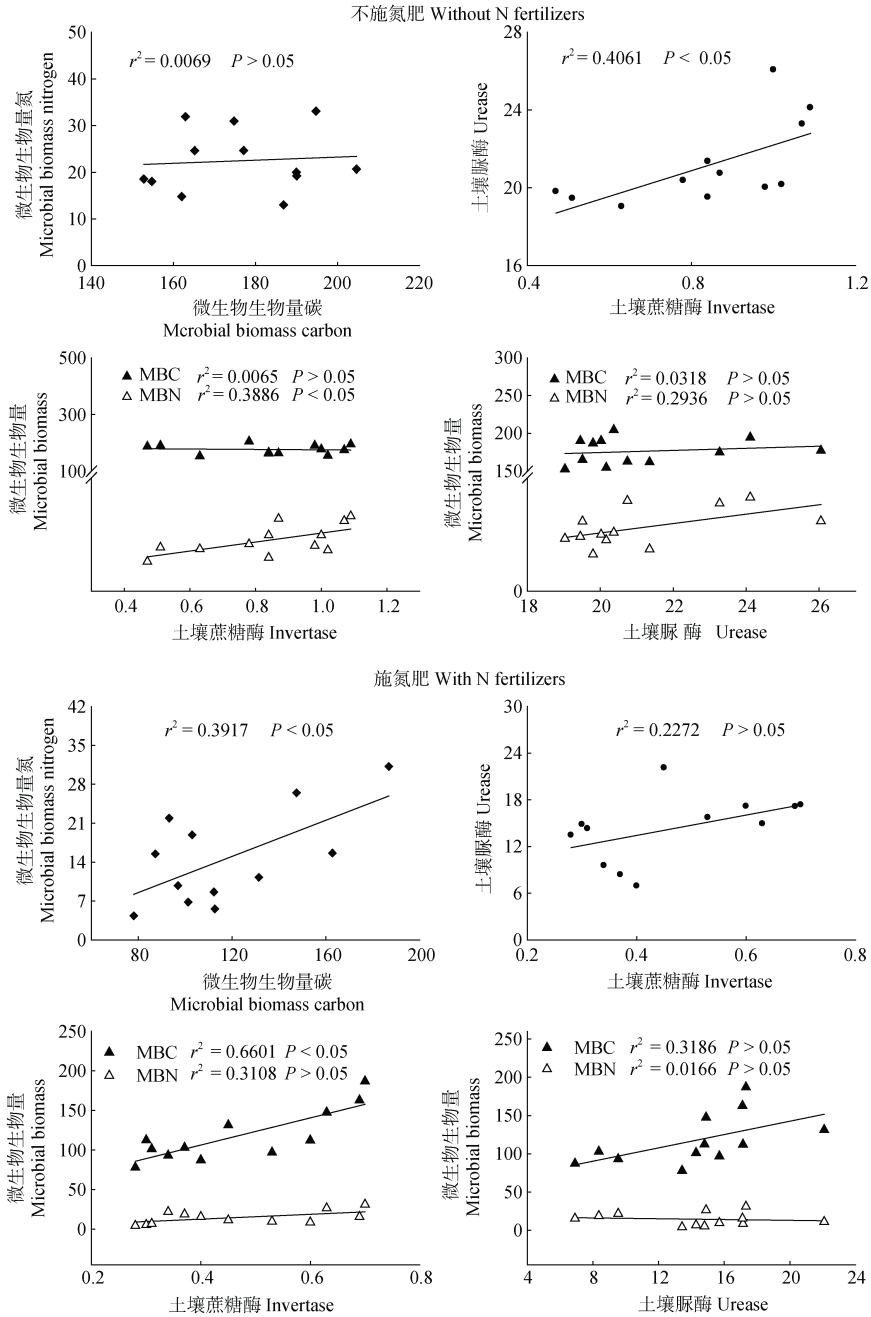


图 3 施氮和不施氮处理的土壤微生物生物量碳、氮含量与蔗糖酶、脲酶活性的关系

Fig. 3 Relationships of soil microbial biomass carbon (MBC) and nitrogen (MBN) contents, invertase and urease activities under treatments with and without N fertilizers

施氮肥的土壤 SSC 活性与 SUE 活性、土壤 SSC 活性与 MBN 含量呈显著的线性相关，土壤 SUE 活性和土壤 MBN 含量均随 SSC 活性的增加而增加。土壤 MBN 含量随土壤 SUE 活性的增加而增加，但相关关系不显著。施用氮肥的土壤 MBC 含量与 MBN 含量、土壤 SSC 活性与 MBC 含量呈显著的线性正相关，而 SSC 活性与 SUE 活性、SSC 活性与 MBN 含量、SUE 活性与 MBN 含量呈一定的线性相关关系，但未达显著水平。

综上结果，施氮肥改变了土壤 MBC、MBN 含量与蔗糖酶、脲酶活性之间的作用关系，总体来说，施氮肥强化了土壤 MBC 与 MBN 含量，蔗糖酶、脲酶活性与 MBC 含量间的相互作用关系，但氮肥的施用也弱化了土壤蔗糖酶与脲酶活性、蔗糖酶活性与 MBN 含量、脲酶活性与 MBN 含量之间的关联性。

2.5　土壤微生物量碳氮含量和酶活性与其潜在影响因子的冗余分析

如图 4 所示，利用冗余分析明确土壤理化性质、微生物的碳氮利用效率、微生物碳氮化学计量比以及土壤碳氮酶活性比与土壤微生物生物量碳、氮含量和碳氮酶活性的关系。采用前向回归分析法选取最优解释变量，“Bonferroni correction”校正 P 值，结果表明土壤 MBN：TN、MBC：MBN、MBC：SOC、SOC、pH 以及 lnSSC：lnSUE 与微生物量碳氮和酶活性显著相关($P<0.05$)，且分别解释方差变异的 63.2%、15.7%、7.5%、4.9%、2.8%和 1.2%，其中在轴一方向上共解释微生物量碳氮和酶活性变化的 72.83%，在轴二方向上共解释 20.11%。在轴一方向上，pH、MBC：SOC、MBN：TN 以及 lnSSC：lnSUE 与微生物量碳、氮和酶活性显著正相关，土壤 SOC 和 MBC：MBN 与微生物量碳、氮和酶活性呈显著负相关。

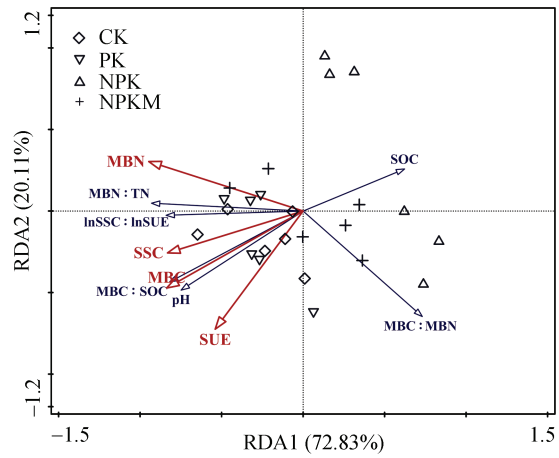


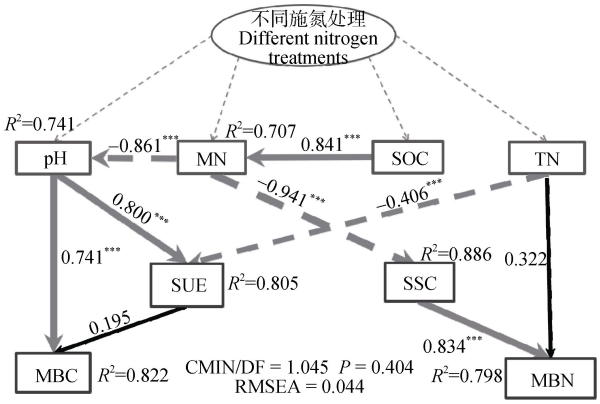
图 4　土壤微生物生物量碳氮(MBC、MBN)含量与酶活性变化的潜在影响因素

Fig. 4　Potential impact factors of soil microbial biomass carbon (MBC) and nitrogen (MBN) contents, invertase (SUE) and urease (SSC) activities

CK: 不施肥; PK: 不施氮肥; NPK: 施化学氮肥; NPKM: 化学氮肥配施有机肥。SOC: 土壤有机碳含量; TN: 土壤全氮含量; CK: no fertilizer, control; PK: no N fertilizer; NPK: chemical N fertilizers; NPKM: chemical N fertilizers combined with organic fertilizers. SOC: soil organic carbon content; TN: total nitrogen content.

2.6　土壤微生物量碳氮含量与其潜在影响因子的结构方程

如图 5 所示，综合小麦和甘薯两季的土壤生物和非生物因素与 MBC 和 MBN 含量的关系构建结构



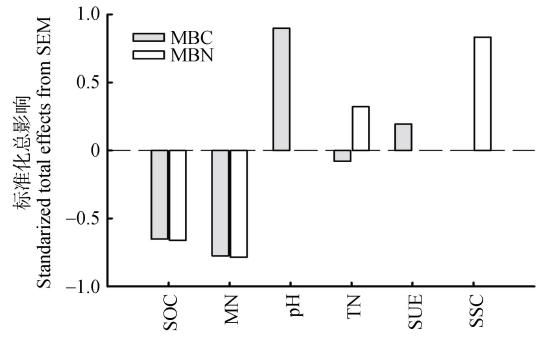


图 5　土壤微生物生物量碳氮含量和酶活性与土壤理化性质的关系

Fig. 5　SEM (structural equation model) showing the relationships between soil microbial biomass carbon and nitrogen contents, enzyme activities and physicochemical properties

图中 MN 为土壤矿质态氮, SOC 为土壤有机碳, TN 为土壤全氮, SUE 为土壤脲酶, SSC 为土壤蔗糖酶, MBC 为土壤微生物生物量碳, MBN 为土壤微生物生物量氮, R^2 为标准化回归权重, CMIN/DF、P 值以及 RMSEA 为评价模型配适度的参数。左图中实线表示正效应，虚线表示负效应，灰色表示相关性在 $0<P<0.05$ 水平显著相关，黑色表示不显著，线型粗细表示路径系数大小。*、**和***分别表示相关性在 $P<0.05$、$P<0.01$ 和 $P<0.001$ 水平显著。In figure, MN is soil mineral nitrogen, SOC is soil organic carbon, TN is soil total nitrogen, SUE is soil urease, SSC is soil invertase, MBC is soil microbial biomass carbon, MBN is soil microbial biomass nitrogen. R^2 is standardized regression weights, CMIN/DF, P and RMSEA are critical parameters of model fit summary. In left figure, the solid line indicates a positive correlation, the dashed line indicates a negative correlation, grey indicates that the correlation is significant at $0<P<0.05$ level, black indicates that the correlation is not significant, and the line thickness indicates the path coefficient size. *, ** and *** indicate significant correlation at $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively.

方程模型。不同施氮处理通过改变土壤 pH、SOC、MN 和 TN 的含量以及土壤 SSC 和 SUE 活性从而直接或间接地影响了土壤 MBC 和 MBN 含量的变化，其中 pH 和 SUE 是影响土壤 MBC 变化的直接因素，且 pH 对 MBC 的变化最为重要。土壤 SSC 和 TN 是影响土壤 MBN 变化的直接因素，其中 SSC 活性对 MBN 含量变化的影响较大，此外，SOC 和 MN 含量间接地调控土壤 MBC 和 MBN 含量的变化，且均为负效应。

3 讨论

3.1 长期施氮对土壤理化性质和微生物碳氮利用效率的影响

氮肥的施用对土壤有机碳、易氧化有机碳、氮素养分含量以及土壤 pH 的影响较为明显。本研究结果表明，长期施氮肥显著降低土壤 pH，施用化学氮肥的土壤pH降幅最大，化学氮肥配施有机肥可明显缓解由单施化学氮肥造成的土壤酸化。周晓阳等[30]研究也呈现相同结果，酸性土壤长期施用化肥和有机肥均在不同程度上导致土壤酸化。但也有研究表明，施用矿质氮肥对土壤 pH 无显著影响[20]，这可能与肥料的施用量和土壤本身的性质密切相关。本研究结果表明施用氮肥显著提高土壤有机碳、易氧化有机碳和氮素养分含量，其中施用化学氮肥配施有机肥的土壤有机碳和养分含量最高，这与邢鹏飞等[31]和沈冰涛等[32]研究结果一致。此外，在本研究中施氮肥明显降低了土壤微生物量碳、氮在土壤有机碳和全氮中的比例，说明氮肥的施用抑制了微生物对土壤碳和氮的利用效率，其中施用化学氮肥的抑制作用更强，这与田伟等[33]研究结果相一致。但也有研究表明，施用氮肥提高了土壤微生物对土壤中碳和氮的利用效率[20,34]。结果不同的原因可能是土壤微生物碳、氮的利用效率受施肥处理、不同作物季以及二者之间的交互作用共同影响，不同作物季施氮肥显著降低了土壤 pH (表 1)，且 pH 与微生物碳、氮的利用效率密切相关(图 4)，微生物受土壤环境变化的响应异常敏感。因此，当微生物的生长环境强烈变化时，如土壤酸化严重，则不利于其对营养物质的吸收从而降低了养分的利用效率。

3.2 长期施氮对土壤微生物量碳氮含量和碳氮转化酶活性的影响

已有研究表明施氮肥提高了碱性土壤中根际土的微生物生物量碳、氮含量[35]。但在本研究结果中，施用氮肥降低了土壤微生物生物量碳、氮的含量，不施氮肥的土壤微生物生物量碳、氮含量保持相对平稳。有研究[36-37]显示氮肥的施用降低草地和森林土壤的微生物生物量碳、氮含量。以上结果不同可能与土壤类型、肥料施用量以及作物种类有关，碱性土壤施用氮肥对于微生物所处环境的影响相对较小，而对于弱酸性黄棕壤来说，氮肥的施用加速土壤酸化进程，因此微生物的活性和吸收土壤养分的能力受土壤酸碱性的影响较大。此外，土体和根际土壤中碳源和养分含量不同，相对而言，根际土壤微生物的活性和代谢较为旺盛，可能导致微生物生物量碳、氮含量的变化不同。本研究中小麦季不施氮肥处理的微生物量碳含量显著上升，可能是由于微生物生物量碳受施肥、采样时间以及二者的交互作用影响较大，与甘薯相比，小麦的根系较为浓密发达，其根系分泌有机物的增加量可能是微生物量碳含量增加的主要原因。

土壤酶在微生物生物量与土壤养分的周转过程中起重要的调节作用，土壤微生物可通过调控酶活性进而提高其对限制性养分的吸收[38]。土壤蔗糖酶可以增加土壤中易溶性营养物质，其活性与土壤有机碳的转化密切相关，土壤脲酶促进土壤中含氮有机化合物和尿素的分解[27]。本研究中氮肥的添加降低了土壤蔗糖酶和脲酶的活性，其中施用化学氮肥的酶活性降幅更高，化学氮肥配施有机肥有利于缓解土壤酶活性的下降。许多研究结果表明，施氮肥可显著增加土壤蔗糖酶和脲酶活性[39-41]，且土壤酶活性变化与土壤肥力密切相关。本研究结果不同的原因可能是在适宜的土壤环境下，土壤中营养物质和养分含量充足以至于酶水解过程所需底物浓度高，进而使其活性明显提高。当土壤环境变化较大时，土壤微生物和酶活性对环境变化极为敏感，如土壤酸化程度加剧，微生物生长受抑制则导致其分泌酶的能力减弱，进而表现出土壤碳氮转化相关酶活性降低。由于有机肥料的缓冲性，化学氮肥配施有机肥则通过缓解 pH 的下降从而减缓了土壤微生物活性的下降，有机肥中充足的有机碳和氮素养分也有利于促进土壤中碳氮转化酶活性的提高。此外，单施氮磷钾肥虽然也显著提高了土壤有机碳、易氧化有机碳、全氮和矿质态氮含量，但土壤碳氮酶活性比却显著下降，根据微生物的资源分配理论推测，微生物可获取的氮形态受到限制，增加了其分泌脲酶的能力，进而降低了土壤碳氮酶活性比。已有研究结果表明土壤脲酶活性与肥料中氮素形态密切相关[42]。化学氮肥配施有机肥后土壤有机碳、易氧化有机碳以及可利用的氮素供微生物吸收，并维持其自身的生态计量平衡，从而消除了微生物受碳氮元

素的限制, 促进其分泌土壤酶并维持酶活性比以实现对土壤碳氮养分的获取与固定[43]。

将施氮肥和不施氮肥的土壤微生物量与酶活性之间的关系进行比较, 结果表明施氮肥强化了土壤微生物量碳与氮, 蔗糖酶、脲酶与微生物生物量碳之间的关联性, 进一步说明微生物量碳氮之间紧密的关系更加强化了微生物调控碳氮元素循环的耦合关系, 也影响了微生物参与的合成和代谢过程。

3.3 土壤微生物生物量碳氮含量及酶活性变化的调控因素

土壤微生物生物量和酶活性受土壤酸碱度、养分浓度及土壤有机碳水平等因素共同影响[44]。本研究通过冗余分析结果显示, 土壤 pH、有机碳含量以及土壤的生物指标(微生物的碳氮利用效率、微生物碳氮比以及碳氮酶活性比)均显著影响微生物生物量和酶活性的变化。由结构方程模型可知, pH 和脲酶活性是影响土壤微生物生物量碳变化的直接因素, 其中 pH 为影响微生物量碳变化的主要因素, 当土壤 pH 严重下降时, 微生物在不利于其生长的环境中活性明显降低。尽管有文献中报道, 土壤中可利用碳含量的提高可以促进微生物活性的提高[45-46], 但本研究结果充分说明微生物对于自身生长环境的要求明显高于其对碳源的需求。土壤蔗糖酶活性为影响土壤微生物生物量氮变化的主要因素, 郭俊姮等[47]研究表明土壤蔗糖酶活性与微生物量氮的变化存在密切相关, 说明土壤微生物为了维持其自身的生态计量平衡, 则需分泌蔗糖酶从而促进体内碳周转, 并且固定土壤中的氮素为微生物量氮。土壤有机碳和矿质态碳氮的含量对于微生物生物量碳氮含量的影响存在间接效应。

4 结论

小麦-甘薯轮作体系下, 氮肥的施用可显著提高土壤有机碳、易氧化有机碳和氮素养分含量, 但显著降低土壤 pH 和微生物对土壤碳氮的利用效率。在弱酸性黄棕壤中长期施用化学氮肥对微生物生物量碳氮含量、蔗糖酶和脲酶活性存在显著的抑制作用, 而化学氮肥配施有机肥有利于缓解微生物生物量和酶活性的下降。长期施氮肥影响土壤微生物生物量碳、氮与蔗糖酶、脲酶之间的关联性, 通过冗余分析和结构方程模型结果表明, 施氮肥引起土壤理化性质的变化(如 pH、有机碳、全氮和矿质态氮), 直接或间接地影响了微生物生物量碳氮含量和酶活性, 土壤 pH 是调控土壤微生物生物量碳含量变化的主要因素, 土壤蔗糖酶和脲酶与微生物量碳氮之间相互影响, 土壤微生物强烈的碳代谢过程有利于增加微生物生物量氮含量。

参考文献 References

[1] 赵秉强. 传统化肥增效改性提升产品性能与功能[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(1): 1–7
ZHAO B Q. Modification of conventional fertilizers for enhanced property and function[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(1): 1–7

[2] IDKOWIAK M. The effect of tillage system and nitrogen fertilization on changes in physical properties of the soil for winter triticale[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 181(18): 5852–5854

[3] MIAO Y X, STEWART B A, ZHANG F S. Long-term experiments for sustainable nutrient management in China. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2011, 31(2): 397–414

[4] 戚瑞敏, 赵秉强, 李娟, 等. 添加牛粪对长期不同施肥潮土有机碳矿化的影响及激发效应[J]. 农业工程学报, 2016, 32(S2): 118–127
QI R M, ZHAO B Q, LI J, et al. Effects of cattle manure addition on soil organic carbon mineralization and priming effects under long-term fertilization regimes[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(S2): 118–127

[5] 贺美, 王立刚, 朱平, 等. 长期定位施肥下黑土碳排放特征及其碳库组分与酶活性变化[J]. 生态学报, 2017, 37(19): 6379–6389
HE M, WANG L G, ZHU P, et al. Carbon emission characteristics, carbon library components, and enzyme activity under long-term fertilization conditions of black soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(19): 6379–6389

[6] 温延臣, 李燕青, 袁亮, 等. 长期不同施肥制度土壤肥力特征综合评价方法[J]. 农业工程学报, 2015, 31(7): 91–99
WEN Y C, LI Y Q, YUAN L, et al. Comprehensive assessment methodology of characteristics of soil fertility under different fertilization regimes in North China[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(7): 91–99

[7] KIBOI M N, NGETICH K F, MUGENDI D N, et al. Microbial biomass and acid phosphomonoesterase activity in soils of the Central Highlands of Kenya[J]. Geoderma Regional, 2018, 15: e00193

[8] 潘根兴, 陆海飞, 李恋卿, 等. 土壤碳固定与生物活性: 面向可持续土壤管理的新前沿[J]. 地球科学进展, 2015, 30(8): 940–951
PAN G X, LU H F, LI L Q, et al. Soil carbon sequestration with bioactivity: A new emerging frontier for sustainable soil management[J]. Advances in Earth Science, 2015, 30(8): 940–951

[9] TRASAR-CEPEDA C, LEIRÓS M C, GIL-SOTRES F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(9): 2146–2155

[10] BANDICK A K, DICK R P. Field management effects on soil enzyme activities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(11): 1471–1479

[11] 吴金水, 葛体达, 胡亚军. 稻田土壤关键元素的生物地球化学耦合过程及其微生物调控机制[J]. 生态学报, 2015, 35(20): 6626–6634
WU J S, GE T D, HU Y J. A review on the coupling of bio-geochemical process for key elements and microbial regulation mechanisms in paddy rice ecosystems[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(20): 6626–6634

[12] 高扬, 徐亚娟, 陈维梁, 等. 紫色土坡耕地 C、N 与微生物 C、N 变化及其耦合特征[J]. 环境科学学报, 2014, 34(7): 1794–1800
GAO Y, XU Y J, CHEN W L, et al. Changes and coupling of C and N in hillslope cropland of purple soil and microbial biomass[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(7): 1794–1800

[13] POWLSON D S, PROOKES P C, CHRISTENSEN B T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19(2): 159–164

[14] GEISSELER D, SCOW K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 54–63

[15] 何甜甜, 王静, 符云鹏, 等. 等碳量添加秸秆和生物炭对土壤呼吸及微生物生物量碳氮的影响[J]. 环境科学. https://doi.org/10.13227/j.hjkx.202004196
HE T T, WANG J, FU Y P, et al. Effects of adding straw and biochar with equal carbon content on soil respiration and microbial biomass carbon and nitrogen[J]. Environmental Science. https://doi.org/10.13227/j.hjkx.202004196

[16] 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 stoichiometry 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

[17] 陈晓光, 李洪民, 张爱君, 等. 氮素形态对甘薯土壤微生物及酶活性的影响[J]. 西南农业学报, 2017, 30(3): 619–623
CHEN X G, LI H M, ZHANG A J, et al. Effect of nitrogen forms on soil microbes and soil enzyme activities in sweet potato yield[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(3): 619–623

[18] REN F L, SUN N, XU M, et al. Changes in soil microbial biomass with manure application in cropping systems: A meta-analysis[J]. Soil and Tillage Research, 2019, 194: 104291

[19] MANGALASSERY S, KALAIVANAN D, PHILIP P S. Effect of inorganic fertilisers and organic amendments on soil aggregation and biochemical characteristics in a weathered tropical soil[J]. Soil and Tillage Research, 2019, 187: 144–151

[20] GEISSELER D, LINQUIST B A, LAZICKI P A. Effect of fertilization on soil microorganisms in paddy rice systems—A meta-analysis[J]. Soil and Tillage Research, 2017, 115: 452–460

[21] 李炎龙, 刘梓雅, 严景, 等. 华北平原典型农田土壤微生物生物量碳氮磷库的县域分布特征——以河北省曲周县为例[J]. 土壤学报, 2021, 58(1): 235–245
LI Y L, LIU Z Y, YAN J, et al. Spatial distribution of microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus pools in typical farmland soils in North China Plain—A case study of Quzhou County[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(1): 235–245

[22] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
BAO S D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000

[23] LEFROY R D B, BLAIR G J, STRONG W M. Changes in soil organic matter with cropping as measured by organic carbon fractions and ^{13}C natural isotope abundance[J]. Plant and Soil, 1993, 155(1): 399–402

[24] JOERGENSEN R G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the k_{EC} value[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(1): 25–31

[25] JOERGENSEN R G, MUELLER T. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the k_{EN} value[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(1): 33–37

[26] LIU E K, YAN C R, MEI X R, et al. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China[J]. Geoderma, 2010, 158(3/4): 173–180

[27] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986
GUAN S Y. Soil Enzyme and its Research Methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986

[28] 王冰冰, 曲来叶, 马克明, 等. 岷江上游干旱河谷优势灌丛群落土壤生态酶化学计量特征[J]. 生态学报, 2015, 35(18): 6078–6088
WANG B B, QU L Y, MA K M, et al. Patterns of ecoenzymatic stoichiometry in the dominant shrubs in the semi-arid Upper Minjiang River Valley[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(18): 6078–6088

[29] 许淼平, 任成杰, 张伟, 等. 土壤微生物生物量碳氮磷与土壤酶化学计量对气候变化的响应机制[J]. 应用生态学报, 2018, 29(7): 2445–2454
XU M P, REN C J, ZHANG W, et al. Responses mechanism of C∶N∶P stoichiometry of soil microbial biomass and soil enzymes to climate change[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(7): 2445–2454

[30] 周晓阳, 徐明岗, 周世伟, 等. 长期施肥下我国南方典型农田土壤的酸化特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(6): 1615–1621
ZHOU X Y, XU M G, ZHOU S W, et al. Soil acidification characteristics in southern China's croplands under long-term fertilization[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(6): 1615–1621

[31] 邢鹏飞, 高圣超, 马鸣超, 等. 有机肥替代部分无机肥对华北农田土壤理化特性、酶活性及作物产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2016, (3): 98–104
XING P F, GAO S C, MA M C, et al. Impact of organic manure supplement chemical fertilizer partially on soil nutrition, enzyme activity and crop yield in the north China plain[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2016, (3): 98–104

[32] 沈冰涛, 张孝倩, 陈红, 等. 有机肥替代化肥对小麦产量及土壤养分和酶活性的影响[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2019, 16(5): 46–52
SHEN B T, ZHANG X Q, CHEN H, et al. Effect of substituting organic fertilizer for chemical fertilizer on wheat yield and soil nutrient and enzyme activity[J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2019, 16(5): 46–52

[33] 田伟, 李刚, 陈秋会, 等. 等氮条件下化学肥料与有机肥连续大量施用下的环境风险[J]. 生态与农村环境学报, 2017, 33(5): 440–445
TIAN W, LI G, CHEN Q H, et al. Environmental risk caused by successive and heavy application of mineral fertilizer and compost with the same amount of nitrogen applied[J], Journal of Ecology and Rural Environment, 2017, 33(5): 440–445

[34] 唐海明, 李超, 肖小平, 等. 有机肥氮投入比例对双季稻田根际土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(4): 1335–1343
TANG H M, LI C, XIAO X P, et al. Effects of different manure nitrogen input ratio on rhizosphere soil microbial biomass carbon, nitrogen and microbial quotient in double-cropping rice field[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(4): 1335–1343

[35] LIU C J, GONG X W, DANG K, et al. Linkages between nutrient ratio and the microbial community in rhizosphere soil following fertilizer management[J]. Environmental Research, 2020, 184: 109261

[36] 何亚婷, 齐玉春, 董云社, 等. 外源氮输入对草地土壤微生物特性影响的研究进展[J]. 地球科学进展, 2010, 25(8): 877–885
HE Y T, QI Y C, DONG Y S, et al. Advances in the influence of external nitrogen input on soil microbiological characteristics of grassland ecosystem[J]. Advances in Earth Sciences, 2010, 25(8): 877–885

[37] 罗献宝, 梁瑞标, 王亚欣. 森林表层土壤微生物碳氮库对大气氮沉降增加的响应[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3): 365–370
LUO X B, LIANG R B, WANG Y X. Response of soil microbial carbon and nitrogen pools to increasing atmospheric nitrogen deposition in forest surface soil[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(3): 365–370

[38] STONE M M, DEFOREST J L, PLANTE A F. Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 237–247

[39] 马亚娟, 徐福利, 王渭玲, 等. 氮磷提高华北落叶松人工林地土壤养分和酶活性的作用[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(3): 664–674
MA Y J, XU F L, WANG W L, et al. Increase of soil nutrients and enzymatic activity by adding nitrogen and phosphorus to *Larix principis-rupprechtii* plantation[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(3): 664–674

[40] 郭天财, 宋晓, 马冬云, 等. 氮素营养水平对小麦根际微生物及土壤酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2006, 20(3): 129–131
GUO T C, SONG X, MA D Y, et al. Effect of nitrogen fertilizer on soil enzymatic activity and rhizosphere microorganisms of wheat[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2006, 20(3): 129–131

[41] 严君, 韩晓增, 王树起, 等. 不同氮素形态对种植大豆土壤中微生物数量及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 341–347
YAN J, HAN X Z, WANG S Q, et al. Effects of different nitrogen forms on microbial quantity and enzymes activities in soybean field[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(2): 341–347

[42] 马宗斌, 熊淑萍, 何建国, 等. 氮素形态对专用小麦中后期根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(4): 1544–1551
MA Z B, XIONG S P, HE J G, et al. Effects of nitrogen forms on rhizosphere microorganisms and soil enzyme activity under cultivation of contrasting wheat cultivars during booting and grain filling period[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(4): 1544–1551.

[43] 黄海莉, 宗宁, 何念鹏, 等. 青藏高原高寒草甸不同海拔土壤酶化学计量特征[J]. 应用生态学报, 2019, 30(11): 3689–3696
HUANG H L, ZONG N, HE N P, et al. Characteristics of soil enzyme stoichiometry along an altitude gradient on Qinghai-Tibet Plateau alpine meadow, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(11): 3689–3696

[44] SAGGAR S, YEATES G W, SHEPHERD T G. Cultivation effects on soil biological properties, microfauna and organic matter dynamics in Eutric Gleysol and Gleyic Luvisol soils in New Zealand[J]. Soil and Tillage Research, 2001, 58(1/2): 55–68

[45] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期有机无机肥料配施对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 144–152
LI J, ZHAO B Q, LI X Y, et al. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on soil microbiological properties and soil fertility[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(1): 144–152

[46] FAN J L, XIAO J, LIU D Y, et al. Effect of application of dairy manure, effluent and inorganic fertilizer on nitrogen leaching in clayey fluvo-aquic soil: A lysimeter study[J]. Science of the Total Environment, 2017, 592: 206–214

[47] 郭俊姆, 姜慧敏, 张建峰, 等. 玉米秸秆炭还田对黑土土壤肥力特性和氮素农学效应的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(1): 67–75
GUO J M, JIANG H M, ZHANG J F, et al. Effects of maize straw derived biochar on the soil fertility and nitrogen agronomic responses in black soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(1): 67–75