

长期施肥条件下栗褐土碱性磷酸酶活性及其与磷形态的关系^①

杨艳菊¹, 王改兰^{1*}, 张海鹏¹, 赵旭¹, 熊静¹, 黄学芳²

(1 湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2 山西农业科学院旱地农业研究中心, 太原 030031)

摘要: 利用长期定位试验研究了长期不同施肥对土壤碱性磷酸酶活性的影响及碱性磷酸酶与土壤磷素形态间的相关关系。结果表明: 与不施肥的对照处理相比, 长期施肥特别是有机肥与化肥配施可以显著提高土壤碱性磷酸酶活性; 碱性磷酸酶活性与土壤速效磷、有机磷总量、中活性有机磷、中稳性有机磷、Ca₂-P 和 Ca₈-P 含量相关性均达到极显著水平($P < 0.01$), 与 Al-P、Fe-P 和 O-P 相关性达显著水平($P < 0.05$); 各形态磷对碱性磷酸酶活性直接影响的大小顺序为 Ca₈-P(-5.706 9) > Fe-P(4.180 5) > Ca₂-P(2.760 4) > Ca₁₀-P(0.980 0) > 中稳性有机磷(0.892 4) > Al-P(-0.567 5) > O-P(-0.294 4) > 活性有机磷(0.268 1) > 中活性有机磷(0.210 3) > 高稳性有机磷(-0.165 2)。

关键词: 长期定位试验; 磷形态; 碱性磷酸酶活性; 相关性分析; 通径分析

中图分类号: S1584.2

土壤磷酸酶活性的大小对土壤有机磷矿化、水解作用及其对植物的有效性有着巨大的影响, 是有机磷转化为无机磷被植物利用这一过程的关键酶^[1-3]。近年来, 一些研究者认为可以将其活性的高低作为诊断土壤磷素丰缺的指标之一^[4-5]。黄土丘陵区土壤主要以石灰性土壤为主。石灰性土壤中施入的磷肥极易被固定, 所以虽然土壤全磷含量较高, 但有效磷含量并不高。为了提高和维持土壤有较高的有效磷水平, 满足作物生长发育的需要, 大量施用磷肥成为主要措施之一^[6-8]。为了更加合理利用有限的磷矿资源, 减少环境污染, 提高磷肥肥效, 本试验以 24 年长期定位试验为依托, 研究了长期不同施肥对土壤碱性磷酸酶活性的影响及其与土壤有机磷形态、无机磷形态的相关关系。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验于 1988 年布置在山西省河曲县砖窑沟流域的沙坪村窑家嘴梁顶平地上, 供试土壤按山西省第二次土壤普查分类为轻壤黄土质淡栗褐土, 以中国土壤系统分类为黄土正常新成土, 1988 年作物播种前测得试验地耕层(0~20 cm)土壤基本理化性状: 有机质 5.64 g/kg, 全氮 0.445 g/kg, 全磷(P₂O₅)1.23 g/kg, 碱

解氮 13.95 mg/kg, 速效磷(P₂O₅)2.85 mg/kg, pH 为 8.06, CaCO₃ 为 135.5 g/kg。

1.2 试验设计

试验设 8 个处理: ①不施肥(CK); ②单施氮肥(N); ③氮磷肥合施(NP); ④单施低量有机肥(M₁); ⑤低量有机肥与氮肥配合施用(M₁N); ⑥低量有机肥与氮磷肥配合施用(M₁NP); ⑦高量有机肥与氮肥配合施用(M₂N); ⑧高量有机肥与氮磷肥配合施用(M₂NP)。各处理施肥量见表 1, 所有肥料均作基肥一次性施用。试验设 3 次重复, 随机区组排列, 小区面积 4 m × 6 m。氮肥用含 N 460 g/kg 的尿素, 磷肥用含 P₂O₅ 140 g/kg 的过磷酸钙, 有机肥使用当地圈肥, N 含量 3.64 g/kg, P₂O₅ 含量为 2.46 g/kg(多年平均值)。本试验施有机肥的两种水平下, 有机肥料带入的 N 量分别为 81.9 kg/hm² 和 163.8 kg/hm², 有机肥带入的 P 量分别为 55.38 kg/hm² 和 110.77 kg/hm²。试验区种植制度为一年一熟制, 玉米单作, 耕作管理措施与大田相同。

1.3 土壤样品的采集与测定

试验于 2011 年作物播种前采集耕层(0~20 cm)土壤样品, 风干后过筛, 测定全磷、速效磷、有机质、有机磷总量及其各组分、无机磷各组分(均为 3 次重复取平均值)。土壤有机质、全磷、速效磷均采用常

基金项目: 国家自然科学基金项目(49971040)和湖南农业大学人才引进资金项目资助。

* 通讯作者(gailanwang@hotmail.com)

作者简介: 杨艳菊(1986—), 女, 河北唐山人, 硕士研究生, 主要从事植物营养与施肥研究。E-mail: tsyangyanju@126.com

表 1 各处理的施肥量(kg/hm²)
Table 1 Fertilization of each treatment

| 处理 | 有机肥 | 氮肥 | 磷肥 |
|-------------------|--------|-----|----|
| CK | 0 | 0 | 0 |
| N | 0 | 120 | 0 |
| NP | 0 | 120 | 75 |
| M ₁ | 22 500 | 0 | 0 |
| M ₁ N | 22 500 | 120 | 0 |
| M ₁ NP | 22 500 | 120 | 75 |
| M ₂ N | 45 000 | 120 | 0 |
| M ₂ NP | 45 000 | 120 | 75 |

规方法测定^[9]；有机磷组分用 Bowman-Cole 法^[10]；无机磷分级的测定采用蒋柏藩-顾益初提出的无机磷分级体系^[11]。碱性磷酸酶的测定采用磷酸苯二钠法，具体为称取 5.00 g 新鲜土样于 100 ml 容量瓶中，加 0.8 ml 甲苯，室温下静置 15 min，加入 10 ml 磷酸苯二钠溶液和 20 ml 硼酸缓冲液，混匀后于 37℃ 下培养 1 h 后，用 38℃ 热去离子水定容，摇匀过滤。同时做空白对照，用 10 ml 去离子水代替磷酸苯二钠溶液。分取 1 ml 于 50 ml 容量瓶中，加 2.5 ml 缓冲液，用去离子水稀释至大约 30 ml，再加 0.5 ml 2,6-二溴靛氯亚胺溶液，室温下 20~30 min，定容至 50 ml，于 600 nm 处比色测定^[12]。

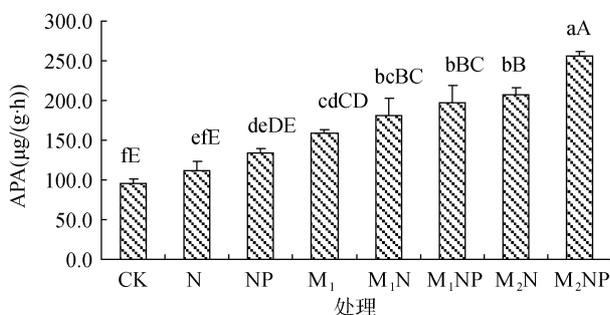
1.4 数据处理

所有数据经过 Excel 整理计算后，利用 DPS 7.05 对试验数据进行相关分析、通径分析及回归分析。

2 结果与分析

2.1 长期不同施肥对碱性磷酸酶活性的影响

Eivazi 和 Tabatabai^[13]研究表明，土壤中磷酸酶的活性和分布受 pH 的影响较大，酸性土壤中的磷酸酶主要以酸性磷酸酶形态存在，碱性土壤中主要以碱性磷酸酶形态存在。本试验研究的土壤 pH 在 8.24~8.59 之间，所以测定碱性磷酸酶更具代表性。各处理碱性磷酸酶活性如图 1 所示。



(柱图上方不同小写字母表示处理间差异在 $P < 0.05$ 水平显著，不同大写字母表示处理间差异在 $P < 0.01$ 水平显著)

图 1 各处理碱性磷酸酶活性

Fig. 1 Alkaline phosphatase activity of each treatment

由图 1 可知，各处理碱性磷酸酶活性的大小顺序为，M₂NP > M₂N > M₁NP > M₁N > M₁ > NP > N > CK。其活性的变化范围在 95.062~256.132 苯酚 μg/(g·h)。除 N 处理外，其余处理碱性磷酸酶活性均显著或极显著高于 CK 处理。M₂NP、M₂N、M₁NP、M₁N、M₁、NP 和 N 处理的碱性磷酸酶活性分别是 CK 处理的 2.69、2.18、2.07、1.90、1.66、1.41 和 1.17 倍。其中，施用有机肥的 M₁N、M₁NP、M₂N、M₂NP 处理极显著高于 N、NP 处理。这是因为施用有机肥的同时会带入大量的微生物和酶类，微生物自身还可以分泌一定量的酶到土壤中，使土壤酶含量增加，从而促进土壤养分的循环与转化^[14-18]。王树起等^[19]研究也表明长期施用化肥和有机肥均可以提高土壤磷酸酶活性，有机肥与化肥配施的效果更为显著。因此，本研究中施用有机肥和化肥的处理磷酸酶活性高于对照处理。

2.2 碱性磷酸酶活性与各形态磷的相关分析

为了进一步了解土壤碱性磷酸酶活性与土壤磷形态间的相关关系，对碱性磷酸酶活性与土壤速效磷、有机磷总量、有机磷各形态和无机磷各形态进行相关分析，结果见表 2。

磷酸酶的活性直接影响着土壤磷素的有效性和有机磷的矿化速率，从表 2 可以看出，碱性磷酸酶与土壤速效磷(Olsen-P)、有机磷总量(T-OP)、中活性有机磷(ML-OP)和中稳性有机磷(MR-OP)间的相关系数均达到极显著水平。这说明施用化肥或有机肥在提高土壤有机磷和速效磷的含量的同时还可以促进土壤碱性磷酸酶活性，从而加速了土壤有机磷的矿化，特别是中活性有机磷和中稳性有机磷的转化，提高了土壤磷的有效性。活性有机磷(L-OP)和高稳性有机磷(HR-OP)与碱性磷酸酶活性相关性不显著，原因之一是二者含量在有机磷总量中含量较低，对磷酸酶的相对影响较小，二是因为高稳性有机磷是较稳定的形态较难被碱性磷酸酶转化。

由表 2 可知，土壤磷酸酶活性与土壤无机磷各形态的相关系数的大小顺序为 Ca₂-P > Ca₈-P > Al-P > Fe-P > O-P > Ca₁₀-P。除 Ca₁₀-P 外，相关系数均达到显著或极显著水平。这是因为土壤碱性磷酸酶的主要作用是将有机磷转化为无机磷而被作物吸收利用，因此，碱性磷酸酶活性的大小应与土壤无机磷含量呈正相关关系，且其相关系数的大小则可以间接地说明碱性磷酸酶使有机磷转化为活性较高的无机磷。一般认为石灰性土壤中 Ca₂-P 和 Ca₈-P 的有效性最高，是土壤速效磷的主要来源，Al-P、Fe-P、O-P 有效性较好，可以作为潜在性磷源。Ca₁₀-P 与碱性磷酸酶活性相关

性不显著，原因可能是 Ca₁₀-P 有效性较差，而碱性磷酸酶的主要作用是将稳定性的磷，通过水解作用使其转化成活性较高的磷，所以相关性不显著；同

时 Ca₁₀-P 在栗褐土含量较高，是 Ca-P 的主体，碱性磷酸酶的水解作用对其含量影响较小，相关性不显著。

表 2 碱性磷酸酶与各形态磷的相关分析
Table 2 Path coefficients between alkaline phosphatase activity and P fraction

| 磷形态 | 相关性方程 | r | 磷形态 | 相关性方程 | r |
|---------|------------------------|----------|---------------------|------------------------|----------|
| Olsen-P | $y = 0.5704x - 48.039$ | 0.9306** | Ca ₂ -P | $y = 0.1826x - 17.004$ | 0.9182** |
| T-OP | $y = 0.3071x - 4.3652$ | 0.9287** | Ca ₈ -P | $y = 0.5423x - 23.998$ | 0.8744** |
| L-OP | $y = 0.0043x + 1.5284$ | 0.5509 | Al-P | $y = 0.2839x - 19.994$ | 0.8091* |
| ML-OP | $y = 0.1588x + 81.594$ | 0.8885** | Fe-P | $y = 0.1313x - 0.766$ | 0.8148* |
| MR-OP | $y = 0.0268x + 5.4026$ | 0.8924** | O-P | $y = 0.0199x + 5.2128$ | 0.7130* |
| HR-OP | $y = 0.0071x + 3.9445$ | 0.4122 | Ca ₁₀ -P | $y = 0.245x + 313.070$ | 0.7014 |

注：表中 Olsen-P 为速效磷，T-OP 为有机磷总量，L-OP 为活性有机磷，ML-OP 为中活性有机磷，MR-OP 为中稳性有机磷，HR-OP 为高稳性有机磷； $r_{0.05} = 0.7067$ ， $r_{0.01} = 0.8343$ ；* 和 ** 分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平显著相关；下同。

2.3 碱性磷酸酶活性与各形态有机磷的通路分析

相关系数表征两因子间简单的相关关系，是在不考虑其他磷素形态影响条件下求得的碱性磷酸酶活性与其中一种形态磷素含量的相关关系，而土壤各形态磷素间是相互影响相互制约的，所以简单的相关分析并不能说明多种磷素形态同时存在时，各形态磷素

与土壤碱性磷酸酶活性之间的相互关系。而通路分析则可以说明不同磷素形态对土壤碱性磷酸酶的影响是直接(直接通路系数)的，还是该形态磷通过其他形态磷对碱性磷酸酶间接影响的(间接通路系数)。碱性磷酸酶活性与土壤有机磷各形态间的通路分析结果见表 3。

表 3 碱性磷酸酶活性与各形态有机磷的通路分析
Table 3 Path coefficients between alkaline phosphatase activity and organic P fraction

| | L-OP | ML-OP | MR-OP | HR-OP | r |
|-------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------|
| L-OP | <u>0.2681</u> | 0.1812 | 0.1134 | -0.0118 | 0.5509 |
| ML-OP | 0.0621 | <u>0.7829</u> | 0.1529 | -0.1093 | 0.8885** |
| MR-OP | 0.1445 | 0.5691 | <u>0.2103</u> | -0.0315 | 0.8924** |
| HR-OP | 0.0191 | 0.5182 | 0.0401 | <u>-0.1652</u> | 0.4122 |

注：下划线的为直接通路系数，未划线的为间接通路系数，下表同。

由表 3 可知，有机磷各形态对土壤碱性磷酸酶的直接影响(直接通路系数)的大小顺序为：中活性有机磷(0.7829) > 活性有机磷(0.2681) > 中稳性有机磷(0.2103) > 高稳性有机磷(-0.1652)。

活性有机磷与中活性有机磷对土壤磷酸酶活性大小的影响主要是通过自身的直接影响导致的。中稳性有机磷与碱性磷酸酶的直接通路系数较小，但最终与土壤碱性磷酸酶的相关系数达到极显著相关水平，是因为中活性有机磷的间接影响(0.5691)导致的。高稳性有机磷与碱性磷酸酶的直接通路系数为负，说明高稳性有机磷对碱性磷酸酶活性的影响是负向的，其相关系数为 0.4122，也主要是由于中活性有机磷的间接影响(0.5182)。这是因为施用化肥或有机肥在提高土壤碱性磷酸酶活性的同时也可以提高土壤有机磷和速效磷的含量，碱性磷酸酶加速土壤有机磷的矿

化，特别是使有机磷向着活性较高的无机磷转化^[20]。

2.4 碱性磷酸酶活性与各形态无机磷的通路分析

由表 4 可知，各形态无机磷对碱性磷酸酶活性直接影响的大小顺序为：Ca₈-P(-5.7069) > Fe-P(4.1805) > Ca₂-P(2.7604) > Ca₁₀-P(0.9800) > Al-P(-0.5675) > O-P(-0.2944)。

由表 4 可以看出，Ca₂-P、Fe-P 和 Ca₁₀-P 对碱性磷酸酶活性的直接影响为正效应，Ca₈-P、Al-P 和 O-P 对碱性磷酸酶活性的直接影响为负效应。而最终相关系数均表现为正相关，主要是受到 Ca₂-P、Ca₈-P 和 Fe-P 的间接影响。这说明，土壤各形态无机磷对土壤碱性磷酸酶活性的影响除自身直接效应的影响外，间接效应的影响也是无法忽略的。在对碱性磷酸酶活性的影响上，各形态无机磷间的间接效应的影响决定着各形态无机磷对碱性磷酸酶最终的相关关系的显著性。

表 4 碱性磷酸酶活性与各形态无机磷的通径分析
Table 4 Path coefficients between alkaline phosphatase activity and inorganic P fraction

| | Ca ₂ -P | Ca ₈ -P | Al-P | Fe-P | O-P | Ca ₁₀ -P | r |
|---------------------|--------------------|--------------------|----------|---------|----------|---------------------|-----------|
| Ca ₂ -P | 2.760 4 | -5.259 5 | -0.493 6 | 3.428 9 | -0.216 4 | 0.698 3 | 0.918 2** |
| Ca ₈ -P | 2.544 0 | -5.706 9 | -0.555 5 | 4.06 6 | -0.274 5 | 0.801 4 | 0.874 4** |
| Al-P | 2.400 6 | -5.586 2 | -0.567 5 | 3.966 4 | -0.280 0 | 0.875 9 | 0.809 1* |
| Fe-P | 2.264 1 | -5.550 6 | -0.538 5 | 4.180 5 | -0.284 1 | 0.743 3 | 0.814 8* |
| O-P | 2.029 1 | -5.322 3 | -0.539 8 | 4.034 2 | -0.294 4 | 0.806 2 | 0.713 0* |
| Ca ₁₀ -P | 1.967 1 | -4.667 0 | -0.507 2 | 3.170 7 | -0.242 2 | 0.980 0 | 0.701 4 |

3 结论

(1) 本研究表明，长期施肥特别是有机肥与化肥配施可以显著提高土壤碱性磷酸酶活性。

(2) 相关分析表明，碱性磷酸酶活性与土壤速效磷、有机磷总量、中活性有机磷、中稳性有机磷、Ca₂-P 和 Ca₈-P 含量极显著相关($P < 0.01$)，与 Al-P、Fe-P 和 O-P 显著相关($P < 0.05$)，与活性有机磷、高稳性有机磷和 Ca₁₀-P 相关性不显著($P > 0.05$)。

(3) 通径分析表明，各形态磷对碱性磷酸酶活性直接影响大小的顺序为 Ca₈-P(-5.706 9) > Fe-P(4.180 5) > Ca₂-P(2.760 4) > Ca₁₀-P(0.980 0) > 中稳性有机磷(0.892 4) > Al-P(-0.567 5) > O-P(-0.294 4) > 活性有机磷(0.268 1) > 中活性有机磷(0.210 3) > 高稳性有机磷(-0.165 2)。

参考文献：

- [1] Pant HK, Warman PR. Enzymatic hydrolysis of soil organic phosphorus by immobilized phosphatases[J]. *Biology and Fertility of Soil*, 2000, 30: 306-311
- [2] 于群英. 土壤磷酸酶活性及其影响因素的研究[J]. *安徽技术师范学院学报*, 2001, 15(4): 5-8
- [3] 沈有信, 周文君, 刘文耀, 戴开结. 云南松根际与非根际磷酸酶活性与磷的有效性[J]. *生态环境*, 2005, 14(1): 91-94
- [4] 刘芷宇. 植物的磷素营养和土壤磷的生物有效性[J]. *土壤*, 1992, 24(2): 97-101
- [5] Staddon WJ, Duchesne LC, Trevors JT. Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulfatase activities in soils from a jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 27: 1-4
- [6] 刘秀珍, 梁小宏. 玉米生长期间石灰性土壤 Ca-P 转化特征与土壤速效磷、磷酸酶活性及其相关性研究[J]. *水土保持学报*, 2003, 17(3): 45-47
- [7] 刘建玲, 张凤华. 土壤磷素化学行为及影响因素研究进展[J]. *河北农业报*, 2000, 23(3): 36-45
- [8] 来璐, 郝明德, 彭令发. 土壤磷素研究进展[J]. *水土保持研究*, 2003, 10(3): 65-67
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-165
- [10] 范业宽, 李世俊. Bowman-Cole 石灰性土壤有机磷分组方法的改进[J]. *土壤通报*, 2004, 35(6): 743-749
- [11] 蒋柏藩, 顾益初. 石灰性土壤无机磷分级体系的研究[J]. *中国农业科学*, 1989, 22(3): 58-66
- [12] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 412-413.
- [13] Eivazi F, Tabatabai MA. Phosphatase in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*. 1977, 9: 167-172
- [14] 王淑英, 樊庭录, 丁宁平, 姜小凤, 张平良, 苏敏. 长期定位施肥对黄土旱塬黑垆土土壤酶活性的影响[J]. *土壤通报*, 2011, 42(2): 307-310
- [15] 任祖淦, 陈玉水, 唐福钦. 有机无机肥料对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1996, 2(6): 179-183
- [16] 秦韧, 杨团结, 刘树堂, 王万志, 韩晓日. 长期定位施肥对无石灰性潮土酶活性的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2007, 15(1): 33-36
- [17] 樊军, 郝明德. 黄土高原旱地轮作与施肥长期定位试验研究 II. 土壤酶活性与土壤肥力[J]. *植物营养与肥料学报*, 2003, 9(2): 146-150
- [18] 杨丽娟, 李天来, 付时丰, 须晖. 施用有机肥和化肥对菜田土壤酶动态特性的影响[J]. *土壤通报*, 2005, 36(2): 223-226
- [19] 王树起, 韩晓增, 乔云发. 长期施肥对东北黑土酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2005, 19(3): 551-556
- [20] 李和生, 王林权, 赵春生. 小麦根际磷酸酶活性与有机磷之关系[J]. *西北农业大学学报*, 1997, 25(2): 47-50

Effects of Long-term Fertilization on Relationship Among Phosphorus Forms in Loess Hilly-gully Region

YANG Yan-ju¹, WANG Gai-lan^{1*}, ZHANG Hai-peng¹, ZHAO Xu¹, XIONG Jing¹, HUANG Xue-fang²

(1 *College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;*

2 *Institute of Dryland Farming, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China*)

Abstract: Effects of long-term fertilization on the relationship of alkaline phosphatase activity (APA) with phosphorus forms in loess hilly-gully region were studied by long-term fertilization experiment from 1988 to 2011. The results showed that compared with CK, the long-term fertilization of organic manure and chemical fertilizer could significantly increase APA. The correlations of APA were extremely significant with the content of Olsen-P, total organic phosphorus (T-OP), moderately labile organic phosphorus (ML-OP), moderately resistant organic phosphorus (MR-OP), Ca₂-P and Ca₈-P. The order of direct-effect of different phosphorous forms on APA was Ca₈-P (-5.706 9) > Fe-P (4.180 5) > Ca₂-P (2.760 4) > Ca₁₀-P (0.980 0) > MR-OP (0.892 4) > Al-P (-0.567 5) > O-P (-0.294 4) > L-OP (labile organic phosphorus) (0.268 1) > ML-OP (0.210 3) > HR-OP (high resistant organic phosphorus) (-0.165 2).

Key words: Long-term fertilizer experiment, Phosphorus forms, Alkaline phosphatase activity, Correlation coefficient, Path coefficient