

# 红壤水稻土累积酶活性及养分对长期不同施肥处理的响应<sup>①</sup>

李委涛<sup>1,2</sup>, 李忠佩<sup>1,2\*</sup>, 刘明<sup>1</sup>, 江春玉<sup>1</sup>, 吴萌<sup>1</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:**本研究基于鹰潭农田生态系统国家野外科学观测研究站 24 年的长期定位试验, 揭示对照(不施肥, CK)、有机肥(C)、化学氮磷钾肥(NPK)、化学氮磷钾肥+有机肥(NPKC)等不同施肥处理对红壤水稻土酶活性及土壤养分的影响。于晚稻收获后采集各小区耕层土壤, 测定红壤水稻土中转化酶、脲酶活性(测定时并添加 0.5 ml 甲苯与不加甲苯处理)及转化酶动力学特征, 同时测定土壤养分含量及微生物生物量碳, 分析酶活性与养分含量及微生物生物量碳间的关系, 明确土壤中累积酶活性及土壤养分对长期不同施肥处理的响应。结果发现, 与对照相比, 施肥处理下土壤转化酶活性显著提高了 31.3%~131.7%, 微生物生物量碳显著提高了 84.9%~125.1%; 在没有甲苯抑制微生物活性下, 施肥处理的转化酶底物蔗糖转化速率增加量提高了 89.5%~153.7%, 脲酶底物尿素转化增加量提高了 59.2%~98.9%, 表明微生物显著影响两种累积酶表观酶活性; 转化酶活性、脲酶活性与微生物生物量碳呈显著正相关。与对照处理相比, 施肥处理显著增加了土壤有机碳(30.1%~36.3%)、全磷(28.6%~102.9%)、速效磷(62.2%~445.0%)、碱解氮(35.9%~56.4%)含量; 统计分析显示, 转化酶活性、脲酶活性均与碱解氮、有机碳含量显著正相关。与对照相比, 各施肥处理土壤的转化酶米氏常数( $K_m$ )差异并不显著, 而转化酶表观活性( $V_{max}$ )及转化系数( $V_{max}/K_m$ )均显著增加。长期施肥处理增加了土壤养分含量和微生物生物量碳, 提高了土壤中累积酶的活性。

**关键词:** 转化酶; 脲酶; 微生物生物量碳; 土壤酶动力学

**中图分类号:** S154.2; S154.3

土壤中几乎所有的生物化学反应都是在酶参与下进行的, 土壤酶活性反映了土壤中进行的各种生物化学过程的强度和方向, 它是土壤的本质属性之一<sup>[1]</sup>, 也是评价土壤生物活性和土壤肥力的重要指标<sup>[2]</sup>。碳氮转化是土壤中重要的生物化学过程, 研究与其相关的酶活特性, 对深入揭示碳氮转化过程机制有重要意义。累积酶通常是指没有微生物增值时存在土壤中、且具有活性的酶<sup>[1]</sup>。累积在土壤中的那部分酶, 经常被土壤黏粒吸附或与腐殖质结合成有机无机复合体的形式, 变性和分解的可能性较低, 可长期稳定地存在土壤里<sup>[1]</sup>。通常测定的酶活性是土壤理化性质与土壤酶浓度共同影响下的表观酶活性。土壤理化性质的改变对酶活性造成的直接影响无法描述, 而酶促动力学中的米氏常数( $K_m$ )是表征某一类酶的特征参数, 只与酶的种类、以及测定溶液的理化性质相关, 与酶浓度无关, 可用来表征土壤理化性质对土壤酶活性的影响<sup>[3]</sup>。累积酶活性的测定常采用甲苯抑制土壤中微

生物活性后的表观值<sup>[4]</sup>, Kiss<sup>[5]</sup>比较了加甲苯与不加甲苯两种情况下底物蔗糖的转化, 在测定过程中土壤微生物的增殖对于蔗糖的转化影响不显著, 发现转化酶是土壤中的累积酶。少量甲苯对洋刀豆脲酶活性的影响极其微弱, 但可显著增强土壤的脲酶活性<sup>[6]</sup>。比较未加甲苯和加甲苯后酶底物的转化速率, 可了解功能微生物群落对特定酶活性的影响, 但文献中相关研究报道较少。

施肥深刻影响着土壤质量的演化, 大量研究表明长期施肥能增加土壤养分、提高酶活性及增加微生物群落多样性<sup>[7-9]</sup>。土壤酶活性和施肥方式密切相关, 不同施肥处理对酶活性的影响有显著差异性, 不同累积酶对同种施肥处理的响应也并不一致<sup>[10]</sup>。然而长期不同施肥处理对土壤累积酶动力学特征的影响并不明确, 功能微生物群落对特定酶活性的影响也并不清楚。特别是红壤水稻土的肥力形成过程中不同施肥措施的影响机制仍需深入探索。本研究通过田间长期

基金项目: 国家自然科学基金项目(41171233, 41001143)资助。

\* 通讯作者(zhpli@issas.ac.cn)

作者简介: 李委涛(1987—), 男, 河南开封人, 博士研究生, 主要从事土壤有机质转化研究。E-mail: wtli@issas.ac.cn

试验的采样分析,测定转化酶动力学参数,分析不同施肥处理的红壤水稻土累积酶活性变化;在有甲苯和无甲苯抑制微生物活性情况下,分别测定转化酶、脲酶活性,评估微生物对表观酶活性的贡献;结合土壤养分及微生物生物量碳结果,明确长期施肥处理对土壤质量的影响,结果可为合理施肥提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验概况

长期定位试验设在鹰潭农田生态系统国家野外科学观测研究站,地处江西省余江县,地理位置 $116^{\circ}55'E$ , $28^{\circ}15'N$ ,属亚热带季风气候,平均气温 $17.6^{\circ}C$ ,平均降雨量 $1795\text{ mm}$ (降雨集中于3—6月),年蒸发量 $1318\text{ mm}$ ,无霜期 $261\text{ 天}$ <sup>[11]</sup>。试验始于1990年,轮作制为双季水稻。试验小区面积为 $30\text{ m}^2$ ,小区之间用水泥埂隔开(地面高 $15\text{ cm}$ ,地下部分深 $50\text{ cm}$ ),并设置有灌排设施。供试土壤属于简育红壤水稻土,发育自第四纪红色黏土,基本理化性质为:有机质 $5.7\text{ g/kg}$ ,全氮 $0.43\text{ g/kg}$ ,全磷( $P_2O_5$ ) $0.65\text{ g/kg}$ ,全钾( $K_2O$ ) $13.4\text{ g/kg}$ ,速效磷 $5.6\text{ mg/kg}$ ,速效钾 $105.9\text{ mg/kg}$ ,碱解氮 $90.2\text{ mg/kg}$ ,pH $4.5$ ,黏粒( $<1\ \mu\text{m}$ )含量 $38\%$ <sup>[12]</sup>。

### 1.2 试验设计与样品采集

本试验设以下处理:对照(不施肥,CK);有机肥(C);化学氮磷钾肥(NPK);化学氮磷钾肥+有机肥(NPKC)。肥料施用量按各处理要求,每季施肥量为 $N\ 115\text{ kg/hm}^2$ 、 $P_2O_5\ 68\text{ kg/hm}^2$ 、 $K_2O\ 42\text{ kg/hm}^2$ 。其中氮肥为尿素,磷肥为钙镁磷肥,钾肥为氯化钾。磷肥和钾肥以基肥形式施入,尿素分基肥和追肥按 $8:7$ 的比例两次施入。有机肥处理中秸秆全部还田,另每季施入 $833.3\text{ kg/hm}^2$ (干重计)猪粪以补充收获籽粒所移出的养分<sup>[11]</sup>。作物轮作制度为双季稻(*Oryza sativa* L.)。土壤样品于2014年11月下旬采集,每个小区随机选取5个点,采集 $0\sim 15\text{ cm}$ 耕层土壤组成混合样品。一部分样品挑去细根过 $2\text{ mm}$ 筛后放入 $4^{\circ}C$ 冰箱中保存,用于土壤微生物生物量及酶活性的测定。另一部分风干用于土壤转化酶动力学、以及土壤养分含量测定。

### 1.3 分析方法

采用鲜土测定酶活性及微生物生物量碳,测定前恒温 $25^{\circ}C$ 培养7天,培养过程中土壤含水量为饱和含水量的 $40\%$ 。酶活性测定时,分两类进行测定,一类是加 $0.5\text{ ml}$ 甲苯处理 $15\text{ min}$ 抑制微生物活性,另一类不加甲苯抑制微生物活性测定酶底物转化量。土壤转化酶和土壤脲酶活性的测定采用的是3,5-二硝

基水杨酸法和靛酚蓝比色法测定<sup>[13]</sup>。转化酶活性以葡萄糖含量 $\text{mg/g 土}(37^{\circ}C\cdot 24\text{ h})$ 表示,脲酶活性以 $\text{NH}_3\text{-N 含量 }\mu\text{g/g 土}(37^{\circ}C\cdot\text{h})$ 表示。转化酶促动力学测定是采用设置不同底物蔗糖浓度( $2.34\sim 233.71\text{ mmol/L}$ )测定出转化酶活性,应用Michaelis线性方程拟合求得米氏常数( $K_m$ )<sup>[3]</sup>。土壤微生物生物量采用氯仿熏蒸浸提法测定<sup>[14]</sup>。称取一定量土壤,以水土比 $4:1$ 的比例加入 $0.5\text{ mol/L K}_2\text{SO}_4$ 溶液,在往复式振荡器上振荡 $30\text{ min}$ ,滤纸过滤,滤液置于 $-20^{\circ}C$ 冰箱中保存备用。同时,另取一份土样放入真空干燥器中,内置一装有 $50\text{ ml}$ 氯仿的烧杯,密封后用真空泵抽真空至氯仿沸腾 $2\text{ min}$ ,然后密闭,将干燥器放入 $28^{\circ}C$ 恒温箱中培养 $24\text{ h}$ ,次日,将氯仿抽出,如前所述提取待测液。浸提液中的总碳用碳氮自动分析仪(MultiN/C3100)测定,土壤微生物生物量碳以熏蒸和未熏蒸土壤的 $K_2SO_4$ 提取液中碳差值除以转换系数( $0.38$ )计算得到。测定土壤有机碳用高温加热重铬酸钾氧化-容量法,全氮和碱解氮分别用半微量凯式法和扩散法测定,测定全磷及速效磷分别用碱熔-钼锑抗比色法和 $\text{NaHCO}_3$ 浸提-钼锑抗比色法,全钾和速效钾的测定分别用 $\text{NaOH}$ 熔融-火焰光度法和 $\text{NH}_4\text{Ac}$ 浸提-火焰光度法<sup>[15]</sup>。

### 1.4 数据处理与统计分析

数据用SPSS18.0(SPSS Inc. Chicago, IL, USA)软件进行统计分析,处理间比较采用One-way ANOVA分析,差异显著性分析用Duncan法,相关性分析中相关性大小采用Pearson指数表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 长期不同施肥处理对红壤水稻土养分含量及微生物生物量碳的影响

经过24年长期试验,不同施肥处理的红壤水稻土壤养分含量及微生物生物量碳均表现出显著差异性。土壤有机质既是植物矿质营养和有机营养的来源,又是影响土壤结构的重要因素<sup>[16]</sup>。与对照(CK)相比,有机肥(C)、化学氮磷钾肥(NPK)、化学氮磷钾肥+有机肥(NPKC)处理的土壤有机碳含量增加了 $30.1\%$ 、 $30.1\%$ 、 $36.3\%$ (表1),各施肥处理间差异不显著;其他研究者关于不同施肥处理的长期定位试验结果也表明氮磷钾平衡施肥以及有机无机肥配施更有利于红壤水稻土中有机质的积累<sup>[17-18]</sup>;土壤全磷、速效磷在不同施肥处理间具有显著差异性,且NPKC处理增幅最大,这是因为土壤有效磷的累积主要与化学磷肥的施用有关<sup>[19]</sup>;碱解氮含量也显著增加,但

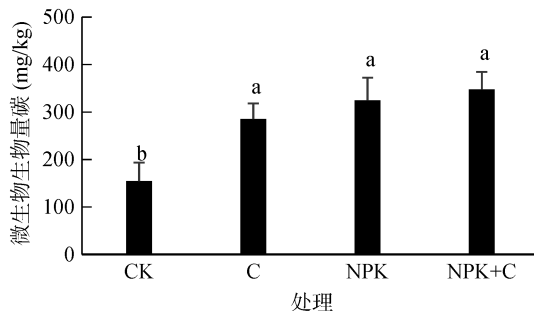
表 1 红壤水稻土中不同施肥处理的土壤养分含量变化  
Table 1 Changes of soil nutrient contents in red paddy soils under different fertilization treatments

处理	pH	有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	全磷(g/kg)	全钾(g/kg)
CK	5.83 ± 0.14 a	14.50 ± 0.93 b	1.17 ± 0.08 a	0.35 ± 0.02 d	13.88 ± 0.50 a
C	5.70 ± 0.13 a	18.87 ± 1.34 a	1.41 ± 0.14 a	0.45 ± 0.02 c	13.58 ± 0.28 a
NPK	5.63 ± 0.07 a	18.87 ± 0.95 a	1.29 ± 0.14 a	0.58 ± 0.03 b	13.86 ± 0.60 a
NPK+C	5.61 ± 0.11 a	19.76 ± 1.20 a	1.35 ± 0.05 a	0.71 ± 0.02 a	13.26 ± 0.51 a
处理	碱解氮(mg/kg)	速效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	黏粒含量(%)	
CK	47.78 ± 2.12 b	4.36 ± 0.62 d	118.33 ± 9.82 a	38.41 ± 0.52 a	
C	64.93 ± 2.45 ab	7.07 ± 0.89 c	65.00 ± 10.00 b	38.99 ± 0.22 a	
NPK	73.50 ± 9.25 a	13.68 ± 0.93 b	65.00 ± 1.44 b	38.91 ± 1.38 a	
NPK+C	74.73 ± 6.48 a	23.76 ± 0.78 a	98.75 ± 3.75 a	38.01 ± 0.60 a	

注：同列不同小写字母表示处理间差异在  $P < 0.05$  水平显著。下同。

在不同施肥处理间差异不显著。说明长期秸秆还田配施化肥(NPKC)对土壤养分含量提高效果更好。与对照相比,不同施肥处理土壤的 pH(5.49 ~ 6.05)、全氮含量(1.02 ~ 1.55 g/kg)、全钾含量(12.29 ~ 15.00 g/kg)、黏粒含量(36.36 ~ 41.08%)均没有显著差异。

微生物生物量碳仅占土壤有机碳很小的比例,却是有机碳中最活跃的部分,参与土壤有机质和土壤养分转化和循环。与对照相比,C、NPK 和 NPKC 处理的微生物生物量碳增加了 84.9%、110.0%、125.1% (图 1),但施肥处理间差异不显著。土壤微生物生物量碳与土壤有机碳总量的比值是微生物熵,它能更有效地反映土壤质量的变化<sup>[20]</sup>。本研究中微生物熵为 0.64% ~ 2.02%,与对照相比,施肥处理显著提高了微生物熵,其中 NPKC 处理提高的最多,为 67.6%,C 和 NPK 处理分别提高了 43.6% 和 62.5%。本研究中,施肥处理土壤中的养分含量和微生物生物量碳及微生物熵都显著高于对照处理,且 NPKC 处理增幅最大,施肥特别是有机无机配合施用提高了生物产量,增加了土壤有机养分供应和微生物生物量碳<sup>[21]</sup>,改善了土壤质量。



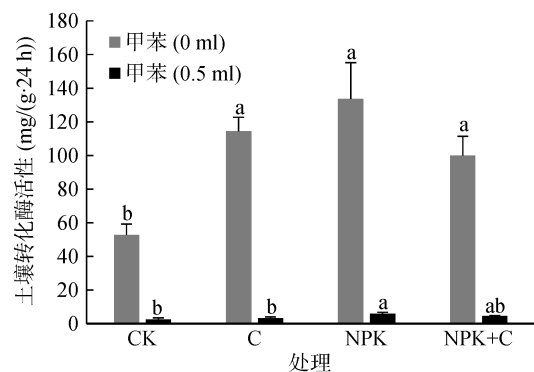
(柱图上主不同小写字母表示处理间差异在  $P < 0.05$  水平显著)

图 1 红壤水稻土中不同施肥处理的土壤微生物生物量碳变化

Fig. 1 Changes of microbial biomass C in red paddy soils under different fertilization treatments

## 2.2 长期不同施肥处理对红壤水稻土酶活性的影响

由图 2 可知,与对照相比,施肥处理的土壤转化酶活性显著提高,其中 NPK 处理提高得最多为 131.7%,而 C 和 NPKC 处理分别提高了 31.3% 和 79.8%。在没有甲苯抑制土壤微生物活性下,转化酶底物蔗糖转化速率显著增加,各施肥处理增加量 C 处理为 (138.73 ± 11.09) mg/(g·24 h)(以葡萄糖含量计)、NPK 处理为(159.5 ± 27.91) mg/(g·24 h)和 NPKC 处理为(119.15 ± 14.6) mg/(g·24 h)显著高于对照 CK(62.87 ± 6.88) mg/(g·24 h),与对照相比,施肥处理的转化酶底物蔗糖转化速率增加量提高了 89.5% ~ 153.7%。长期施肥处理会对土壤理化性质造成一定影响,土壤中微生物群落也随之发生适应性进化<sup>[22-23]</sup>。由微生物产生的胞外酶也表现出一定的差异性,土壤酶可指示土壤质量的变化。本研究发现长期施肥处理导致土壤中转化酶活性显著增加,但施肥处理间的转化酶活性并没有显著差异性。在没有甲苯抑制微生物



(同一颜色柱子上不同小写字母表示处理间差异在  $P < 0.05$  水平显著,下同)

图 2 红壤水稻土中不同施肥处理的土壤转化酶活性变化  
Fig. 2 Changes of invertase activities in red paddy soils under different fertilization treatments

活性下,微生物对于转化酶底物的转化速率影响较显著,而这与 Kiss<sup>[5]</sup>的研究结果并不一致,这可能与本研究选用鲜土测定有很大关系,因为鲜土中微生物活性相对风干土中的高,对于底物蔗糖的转化速率的影响较大。由图 3 可知,土壤脲酶活性在不同处理间差异并不显著,但与对照相比,均有所增加;与加甲苯相比,不加甲苯抑制微生物活性,酶底物尿素的转化速率显著提高,各施肥处理增加量 C 处理为(6.05 ± 0.19) μg/(g·h) (以 NH<sub>3</sub>-N 含量计)、NPK 处理为(6.39 ± 0.73) μg/(g·h) 和 NPKC 处理为(7.56 ± 0.24) μg/(g·h)显著高于对照 CK 处理为 (3.8 ± 0.92) μg/(g·h), 与对照相比,施肥处理下脲酶底物尿素转化增加量提高了 59.2%~98.9%。微生物能显著影响脲酶的活性,微生物生物量碳越大对于底物尿素转化的贡献率越大。

土壤累积酶活性通常受土壤理化性质的影响<sup>[24]</sup>。

表 2 表明,转化酶活性与土壤中有机碳、全磷、微生物生物量碳含量显著正相关,与碱解氮含量极显著正

相关,而与土壤中的速效钾含量显著负相关。脲酶活性与碱解氮、微生物生物量碳含量显著正相关,与有机碳含量极显著正相关,而与土壤中的速效钾含量显著负相关。土壤中碱解氮、微生物生物量碳、有机碳含量均与两种酶活性显著正相关,说明土壤中累积酶主要是由微生物分泌产生,两种累积酶均与土壤中碳氮物质循环转化相关。

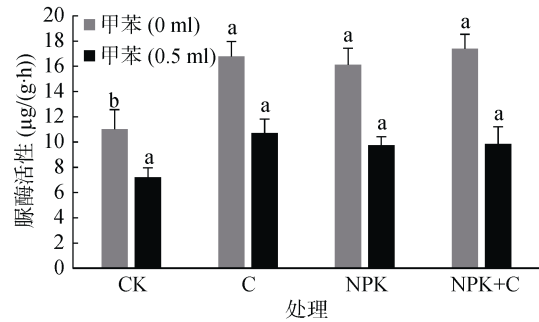


图 3 红壤水稻土中不同施肥处理的土壤脲酶活性变化  
Fig. 3 Changes of urease activities in red paddy soils under different fertilization treatments

表 2 土壤酶活性与土壤养分、微生物生物量碳的相关性

Table 2 Correlation coefficients among soil enzyme activities, soil nutrient contents, and soil microbial biomass carbon

变量	pH	有机碳	全氮	全磷	全钾	碱解氮	速效磷	速效钾	黏粒含量	MBC
转化酶	-0.367	0.634*	0.202	0.648*	0.08	0.709**	0.525	-0.692*	0.113	0.710*
脲酶	-0.449	0.789**	0.560	0.526	-0.133	0.627*	0.370	-0.767*	0.156	0.680*

注: \*\*表示在  $P < 0.01$  水平显著相关, \*表示在  $P < 0.05$  水平显著相关。

### 2.3 长期不同施肥处理对红壤水稻土转化酶酶促动力学特性的影响

土壤转化酶活性表征的是土壤理化性质及土壤酶浓度共同影响下的表观酶活性,通过测定转化酶的动力学特征参数,可以了解土壤理化性质对酶活性的影响。与对照相比,各处理红壤水稻土中转化酶的米氏常数( $K_m$ )没有显著差异,而施肥处理的红壤水稻土中积累的转化酶表观活性( $V_{max}$ )及转化系数( $V_{max}/K_m$ )均显著增加。与对照相比,NPK 处理的  $V_{max}$  和  $V_{max}/K_m$  增加的最多分别为 213.2%、153.5%, C 和 NPKC 处理的  $V_{max}$  增加了 99.2%、170.3%, C 和 NPKC 处理的  $V_{max}/K_m$  增加了 55.8% 和 141.9% (表 3)。施肥处理显著提高了土壤转化酶的表观酶活性和转化系数,对  $K_m$  影响不显著。表观酶活性和转化系数主要依赖土壤酶的浓度,而土壤酶主要来源是土壤微生物,施肥处理下微生物生物量碳较对照显著增加,这是导致施肥处理 NPK 和 NPKC 的转化酶表观酶活性和转化系数显著增加的主要原因,而施肥处理 C,转化酶表观酶活性和转化系数较对照并没有显著差异性,可能是功能微生物群落分泌胞外酶的量较

对照差异不显著。 $K_m$  值表征酶复合物与底物的亲和力常数<sup>[4]</sup>,  $K_m$  值小,表示酶与底物较强结合,  $K_m$  值大,表示酶与底物的结合较弱,  $K_m$  的大小与酶、反应体系的特征以及反应条件相关,不随酶浓度改变<sup>[3,25]</sup>。本研究中,不同施肥处理对  $K_m$  值的影响不显著,主要原因是供试红壤基质相同,并且长期的施肥处理下土壤的 pH、全氮含量、全钾含量、黏粒含量的差异并不显著。

表 3 红壤水稻土中不同施肥处理的土壤转化酶动力学参数  
Table 3 Invertase kinetic parameters of red paddy soil under different fertilization treatments

处理	$K_m$ (mM)	$V_{max}$ (mg/(g·24 h))	$V_{max}/K_m$
CK	3.38 ± 0.35 a	1.21 ± 0.31 b	0.43 ± 0.17 b
C	3.81 ± 0.77 a	2.41 ± 0.20 b	0.67 ± 0.11 ab
NPK	3.47 ± 0.10 a	3.79 ± 0.36 a	1.09 ± 0.10 a
NPK+C	2.60 ± 0.58 a	3.27 ± 0.39 a	1.04 ± 0.21 a

### 3 结论

长期不同施肥处理显著提高了土壤中有机碳、全磷、速效磷、碱解氮养分含量,同时显著增加了土壤中微生物生物量碳和转化酶活性。转化酶活性、脲酶

活性与微生物生物量碳、碱解氮、有机碳含量显著正相关。在没有甲苯抑制微生物活性下, NPKC 处理下功能微生物群落对于特定底物转化的影响最大。长期施肥处理对转化酶  $K_m$  的影响不显著, 却能显著提高转化酶的表现酶活性和转化系数。合理平衡施肥能显著增加土壤中微生物生物量及酶活性, 同时提高土壤的养分含量, 提高土壤质量。

#### 参考文献:

- [1] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 133-238
- [2] 姬兴杰, 熊淑萍, 李春明, 等. 不同肥料类型对土壤酶活性与微生物数量时空变化的影响[J]. 水土保持学报, 2008, 22(1): 123-133
- [3] 朱铭莪. 土壤酶动力学及热力学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 17-87
- [4] Burns R G. Soil enzymes[M]. London: Academic Press, 1978: 9-11
- [5] Kiss S. Experiments on the production of saccharase in soil[J]. Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd., 1958, 81: 117
- [6] 和文祥, 蒋新, 朱茂旭, 等. 甲苯对土壤脲酶活性影响的实验研究[J]. 环境科学, 2001, 22(6): 91-94
- [7] Su J Q, Ding L J, Xue K, et al. Long-term balanced fertilization increases the soil microbial functional diversity in a phosphorus-limited paddy soil[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(1): 136-150
- [8] 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 & Biochemistry, 2014, 75: 237-247
- [9] Shi Y C, Lalonde R, Ziadi N, et al. An assessment of the soil microbial status after 17 years of tillage and mineral P fertilization management[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 62: 14-23
- [10] 王灿, 王德建, 孙瑞娟, 等. 长期不同施肥方式下土壤酶活性与肥力因素的相关性[J]. 生态环境, 2008, 17(2): 688-692
- [11] 陈晓芬, 李忠佩, 刘明, 等. 不同施肥处理对红壤水稻土团聚体有机碳、氮分布和微生物生物量的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(5): 950-960
- [12] 李忠佩, 唐永良, 石华, 等. 不同施肥制度下红壤稻田的养分循环与平衡规律[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 46-54
- [13] 关松荫等. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-320
- [14] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring microbial biomass C[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19(6): 703-707
- [15] 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
- [16] 焦晓光, 魏丹, 隋跃宇. 长期施肥对黑土和暗棕壤土壤酶活性及土壤养分的影响[J]. 土壤通报, 2011, 42(3): 698-703
- [17] 余喜初, 李大明, 柳开楼, 等. 长期施肥红壤稻田有机碳演变规律及影响因素[J]. 土壤, 2013, 45(4): 655-660
- [18] 李忠佩, 刘明, 江春玉. 红壤典型区土壤中有机质的分解、积累与分布特征研究进展[J]. 土壤, 2015, 47(2): 220-228
- [19] 高菊生, 黄晶, 董春华, 等. 长期有机无机肥配施对水稻产量及土壤有效养分影响[J]. 土壤学报, 2014, 51(2): 314-324
- [20] Sparling G P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter[J]. Australian Journal of Soil Research, 1992, 30(2): 195-207
- [21] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 176-182
- [22] Borjesson G, Menichetti L, Kirchmann H, et al. Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilisation and different organic amendments[J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 48(3): 245-257
- [23] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, et al. The variations in soil microbial communities, enzyme activities and their relationships with soil organic matter decomposition along the northern slope of Changbai Mountain[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 86: 19-29
- [24] 柳燕兰, 宋尚有, 郝明德. 长期定位施肥对黄绵土酶活性及土壤养分状况的影响[J]. 土壤通报, 2012, 43(4): 798-803
- [25] 周晓云. 酶学原理与酶工程[M]. 北京: 北京轻工业出版社, 2005

## Activities of Extracellular Enzymes and Nutrients in Red Paddy Soil Response to Long Term Fertilizations

LI Weitao<sup>1,2</sup>, LI Zhongpei<sup>1,2\*</sup>, LIU Ming<sup>1</sup>, JIANG Chunyu<sup>1</sup>, WU Meng<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Based on 24-year long-term field experiment established in 1990 in Yingtan Red Soil Ecological Experiment Station, the experiment included 4 treatments: CK(without fertilization), C(manure), NPK(N,P,K fertilizers), NPKC(NPK plus manure), soil samples were collected. The activities of invertase, urease (adding 0.5 ml toluene and not) and invertase kinetics were determined, and the soil nutrient contents and microbial biomass carbon were measured, in order to analyze the relationships among enzyme activity, soil nutrient and microbial biomass carbon to disclose the response of the activity of extracellular enzyme and nutrients to the long term fertilizations. Compared with CK, application of fertilizers increased the invertase activities by 31.3%–131.7% and microbial biomass carbon by 84.9%–125.1%. Without toluene inhibiting the microorganism activity, the invert rate of the substrate of invertase and urease significantly increased by 89.5%–153.7% and by 59.2%–98.9%, respectively; Microbial biomass carbon had significant positive correlations with the activities of invertase and urease, which imply microorganism significantly influenced the activities of these enzymes. Compared with CK, application of fertilizers increased significantly organic matter (by 30.1%–36.3%), total phosphorus (by 28.6%–102.9%), available phosphorus (by 62.2%–445.0%) and available nitrogen (by 35.9%–56.4%), the activities of soil urease and invertase were positively correlated with the contents of available nitrogen and organic matter. Compared with CK, application of fertilizers increased significantly the transfer coefficient ( $V_{max}/K_m$ ) and maximum velocity ( $V_{max}$ ) but influenced little on the Michaelis constant ( $K_m$ ). Long term fertilization increased the soil nutrient contents and microbial biomass carbon, which result in the increase of the activity of the extracellular enzymes.

**Key words:** Invertase; Urease; Microbial biomass carbon; Enzyme kinetics