

DOI:10.13870/j.cnki.stbcb.2026.02.041

CSTR:32310.14.stbcb.2026.02.041

吴春育, 杨雅丽, 解宏图, 等. 东北黑土区不同覆盖作物对土壤酶活性的影响及调控机制探究[J]. 水土保持学报, 2026, 40(2): 131-139.

WU Chunyu, YANG Yali, XIE Hongtu, et al. Influence of different cover crops on soil enzyme activities and their regulatory mechanisms in black soil region of northeast China[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2026, 40(2): 131-139.

东北黑土区不同覆盖作物对土壤酶活性的影响及调控机制探究

吴春育^{1,2,3}, 杨雅丽^{2,3}, 解宏图^{2,3}, 鲍雪莲^{2,3}, 梁超^{2,3},
赵哲^{2,3}, 盛铁雍⁴, 雷登超^{2,3}, 张豪^{2,3}

(1. 辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 3. 辽宁省现代保护性耕作与生态农业重点实验室, 沈阳 110016; 4. 昌图县盛泰农机服务专业合作社, 辽宁 铁岭 112527)

摘要: [目的] 为探究不同覆盖作物种植下土壤酶活性变化规律及种植体系中生物与非生物因素对土壤酶活性的调控机制。[方法] 以常规玉米耕作为对照(CT), 设置单种苜蓿(A)、单种黑麦草(R)及二者混播(AR)3个处理, 采集0~10、10~20 cm土样, 测定土壤理化性质、微生物磷脂脂肪酸(PLFA)含量及酶活性并进行综合分析。[结果] 与常规玉米耕作相比, 单种苜蓿显著降低0~10、10~20 cm可溶性有机碳氮(DOC、DON)、硝态氮(NO_3^- -N)、全磷(TP)和速效磷(AP)含量和0~10 cm AP、10~20 cm NH_4^+ -N、DON:AP ($p < 0.05$), 以及真菌、细菌等各类群微生物生物量, 但显著提高0~10、10~20 cm DOC: DON和10~20 cm土壤中 β -葡萄糖苷酶(β G)、纤维二糖酶(CB)、N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和酸性磷酸酶(ACP)与碳、氮、磷循环相关的酶活性; 单种黑麦草显著提高0~20 cm DOC: DON和10~20 cm pH, 显著降低0~10、10~20 cm DON、 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、DON: AP及0~10 cm TP和DOC含量 ($p < 0.05$), 微生物生物量变化趋势与苜蓿相似, 但显著增加0~10 cm碳转化酶活性和10~20 cm磷转化酶活性; 混播显著提高0~10、10~20 cm pH、DOC: DON, 显著降低0~10、10~20 cm DOC、DON、 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、TP、AP和DON: AP ($p < 0.05$), 维持与常规耕作相当且显著高于单种处理的微生物生物量, 并显著提高磷转化酶活性。[结论] 不同覆盖作物种植对土壤酶活性的调控机制具有差异性, 主要体现在10~20 cm土层, 豆科覆盖作物通过增加土壤氮含量调节DOC: DON、DON: AP速效养分化学计量比, 改变土壤微生物群落养分获取途径提高土壤碳、氮、磷转化酶活性; 禾本科覆盖作物则通过增加土壤碳含量改变土壤DOC: DON和DOC: AP增加土壤氮、磷转化酶活性; 混播作物则平衡土壤养分计量比, 维持土壤高微生物生物量。从短期来看, 混播是维持微生物生物量、改善土壤健康的优选措施, 而单种苜蓿是提高土壤养分含量和促进土壤养分循环的优选措施。

关键词: 苜蓿; 黑麦草; 土壤酶活性; 微生物群落; 养分化学计量比

中图分类号: S153.6; S154.3

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2026)02-0131-09

Influence of Different Cover Crops on Soil Enzyme Activities and Their Regulatory Mechanisms in Black Soil Region of Northeast China

WU Chunyu^{1,2,3}, YANG Yali^{2,3}, XIE Hongtu^{2,3}, BAO Xuelian^{2,3}, LIANG Chao^{2,3}, ZHAO Zhe^{2,3},
SHENG Tiejong⁴, LEI Dengchao^{2,3}, ZHANG Hao^{2,3}

(1. College of Life Sciences, Liaoning University, Shenyang 110036, China; 2. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 3. Key Lab of Conservation Tillage and Ecological Agriculture, Shenyang 110016, China; 4. Shengtai Agricultural Machinery Service Professional Cooperative in Changtu County, Tieling, Liaoning 112527, China)

Abstract: [Objective] To explore the changes in soil enzyme activities under different cover crops systems and the regulatory mechanisms by which biotic and abiotic factors within the cropping system affect soil enzyme activities.

收稿日期: 2025-10-20

修回日期: 2025-12-10

录用日期: 2025-12-16

网络首发日期(www.cnki.net): 2026-01-05

资助项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1500302); 沈阳市科学技术计划项目(24-216-2-08); 辽宁省科技计划联合计划(重点研发计划项目)(2023JH2/101800055); 辽宁省“兴辽英才计划”青年拔尖人才科技计划项目(XLYC2403209)

第一作者: 吴春育(2001—), 女, 硕士研究生, 主要从事覆盖作物下微生物变化研究。E-mail: 1807856549@qq.com

通信作者: 杨雅丽(1992—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事土壤微生物生态研究。E-mail: yali_yang@iae.ac.cn

http://stbcb.alljournal.com.cn

[**Methods**] Conventional corn monoculture was used as the control treatment (CT), and three cover crops treatments were established: alfalfa monoculture (A), ryegrass monoculture (R), and a mixed sowing of both (AR). Soil samples were collected from 0–10 cm and 10–20 cm depths, and soil physicochemical properties, microbial phospholipid fatty acids (PLFA) contents, and enzymatic activities were measured and analyzed comprehensively. [**Results**] Compared with CT, alfalfa monoculture significantly reduced the concentrations of dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON), nitrate nitrogen (NO_3^- -N), total phosphorus (TP), and available phosphorus (AP) at 0–10 cm and 10–20 cm depths. It also decreased the AP content in the 0–10 cm layer, ammonium nitrogen (NH_4^+ -N) in the 10–20 cm soil layer, and the DON:AP ratio ($p < 0.05$), along with the biomass of various microbial groups, such as fungi and bacteria. In addition, alfalfa monoculture notably increased the DOC:DON ratio in 0–10 and 10–20 cm layers, and the activity of carbon, nitrogen and phosphorus cycling-related enzymes, including β -Glucosidase (β G)、Cellobiohydrolase (CB)、N-acetylglucosaminidase (NAG)、Leucine aminopeptidase (LAP)、Acid phosphatase (ACP) in the 10–20 cm soil layer. Ryegrass monoculture significantly increased the DOC:DON ratio in the 0–20 cm soil layer and raised pH in the 10–20 cm soil layer. It markedly reduced DON, NH_4^+ -N, NO_3^- -N, DON:AP ratio in both soil layers, as well as TP and DOC in the 0–10 cm layer ($p < 0.05$). Microbial biomass trends were similar to those observed with alfalfa, but ryegrass also significantly enhanced the carbon-transforming enzyme activities in the 0–10 cm soil layer and phosphorus-transforming enzyme activities in the 10–20 cm layer. Mixed planting significantly increased pH and DOC:DON ratios in the 0–10 cm and 10–20 cm soil layer, while markedly reducing DOC, DON, NH_4^+ -N, NO_3^- -N, TP, AP, and the DON:AP ratio in both soil layers ($p < 0.05$). This treatment maintained microbial biomass at levels comparable to CT and significantly higher than those in the monoculture treatments, while significantly enhancing phosphorus-transforming enzyme activities. [**Conclusion**] The regulatory mechanisms of soil enzyme activities differ among cover crop types, mainly reflected in the 10–20 cm soil layer. Leguminous cover crops enhance the activities of soil carbon-, nitrogen-, and phosphorus-transforming enzymes by increasing soil nitrogen content, regulating the stoichiometric ratios of DOC:DON and DON:AP of available nutrients, and altering the nutrient acquisition pathways of soil microbial communities. Gramineous cover crops enhance the activities of soil nitrogen- and phosphorus-transforming enzymes by increasing soil carbon content and changing DOC:DON and DOC:AP ratios. Mixed planting balances soil nutrient stoichiometry and maintains a high soil microbial biomass. In the short term, mixed planting is an optimal measure for maintaining microbial biomass and improving soil health, whereas alfalfa monoculture is optimal for increasing soil nutrient content and promoting internal cycling of soil nutrients.

Keywords: alfalfa; ryegrass; soil enzyme activity; microbial community; nutrient stoichiometry

Received: 2025-10-20

Revised: 2025-12-10

Accepted: 2025-12-16

Online(www.cnki.net): 2026-01-05

黑土是世界宝贵的农业资源,东北地区是中国重要的粮食生产基地,但由于高强度单一化种植,黑土土壤肥力下降、土壤生态功能退化及质量下降严重,农业生产面临威胁。如何保护黑土资源,助力黑土可持续发展,成为东北农业工作的重中之重^[1]。

微生物作为土壤碳、氮循环的驱动者^[2]调控生态系统结构和功能^[3],其分泌的胞外酶可作为活性指标表征微生物代谢过程及土壤质量^[4]。胞外酶在土壤系统生化反应中作为催化剂并参与养分循环过程,受到多种生物和非生物因素的调控^[5]。一方面,微生物数量增加导致代谢相关的能量或营养约束,迫使其自身合成更多的酶来满足生长需要^[6]。土壤微生物群落由不同种类微生物构成,因此它们分泌的酶

在功能上会有所差异。例如,细菌主要参与有机质的快速降解,而真菌产生的大部分胞外酶则参与降解土壤中难分解养分^[7]。另一方面,土壤生境中速效养分含量和化学计量比通过影响底物可利用性来调节土壤酶的合成与分泌,通常土壤中产酶微生物会优先分泌能够获得限制性养分的酶以优化养分限制并平衡土壤中养分组成^[8]。同时王佳懿等^[9]在研究中也表明,土壤速效养分及化学计量比变化促使微生物调节胞外酶的分泌。基于此,探究囊括土壤微生物数量及其群落组成、土壤速效养分与化学计量比的变化对土壤胞外酶活性的影响具有重要意义,将为通过土壤酶调控黑土地养分蓄供,改善农田生态系统功能提供理论参考和思路。

覆盖作物种植作为一种生物耕作技术,能提高土壤肥力、增加土壤有机氮库及土壤碳储量,活化土壤磷等^[10]。豆科和禾本科为常用覆盖作物种类,豆科覆盖作物能通过促进特定微生物群落的增殖改善土壤环境^[11];通过与根瘤菌共生固氮,为农业生态系统提供有机氮源^[12],增加土壤养分含量,进一步影响土壤微生物生物量及群落。禾本科覆盖作物能够固碳,其根系的分泌物与残体分解过程中能为微生物提供碳源^[13],WANG等^[14]在玉米黑麦草轮作系统中发现,禾本科黑麦草其根系分泌物能改变土壤微生物群落的多样性和结构。种植覆盖作物能够显著增加土壤碳、氮、磷循环相关酶活性,巴晓博等^[15]在覆盖作物与玉米间作系统中发现,豆科覆盖作物通过增加土壤中氮养分含量提高土壤氮转化酶活性;胡凯玥等^[12]在豆科覆盖作物与茶园间作系统中发现,豆科覆盖作物能够增加土壤中有益微生物的比例,促进土壤碳、氮、磷转化酶活性;WANG等^[16]在果园研究中发现,黑麦草通过刺激土壤酶相关微生物基因富集,增加基因丰度促进土壤碳转化酶活性等。由此可知,覆盖作物对酶活性的影响不尽相同,大多体现在覆盖作物种植后土壤养分对酶活性的影响,而微生物对酶活性的影响方面研究较为缺乏。

尽管覆盖作物在不同种植体系下能够增强土壤酶活性,但目前常规玉米耕作模式与覆盖作物种植模式对碳、氮、磷循环相关酶活性的影响及其机制解析尚不明确。因此,研究不同覆盖作物种植模式下的土壤生物因素(土壤微生物生物量及群落)和非生物因素(土壤理化性质、养分含量)对土壤酶活性的影响及不同覆盖作物之间的机理差异成为本研究的科学问题。

1 材料与方法

1.1 试验样地与布设

本试验于2024年在辽宁省铁岭市昌图县十八家子镇康家村(42°72'N, 123°80'E)开展。试验区此前为玉米单一种植。当地气候为温带大陆性季风气候,四季分明,雨热同期,年平均气温8.9℃,年平均降水量602.5 mm。土壤类型为棕壤,耕作层(0~20 cm)初始土壤理化性质为土壤有机碳11.6 g/kg,总氮1.14 g/kg,全磷0.56 g/kg, pH 5.62。

试验共设4种处理,以常规玉米(*Zea mays* L.)耕作(简称CT)为对照,分别设置单种苜蓿(*Medicago sativa* L.),简称A;单种黑麦草(*Lolium multiflorum* L.),简称R;苜蓿和黑麦草两种覆盖作物混播,简称AR。每个处理4次重复,各小区面积为124 m²(31.0 m×4.0 m)。试验期间,覆盖作物不施用肥料,常规玉米耕作施用控释掺混肥料(900 kg/hm²),其中含氮(N)

量26%、含磷(P₂O₅)量10%,含钾(K₂O)量12%。覆盖作物的播种量分别为苜蓿单种116 kg/hm²、黑麦草单种96 kg/hm²、混播中苜蓿和黑麦草的播种量均较单种减半(苜蓿,58 kg/hm²;黑麦草,48 kg/hm²),常规玉米耕作小区玉米种植模式为均匀垄,垄距为60 cm,覆盖作物小区使用人工条播播种。

1.2 样品采集

本试验处理的所有样品均于2024年6月采集,所有小区均使用五点采样法,采取0~10、10~20 cm 2个土层土壤样品,共32个(4处理×4重复×2土层)。去除土样中肉眼可见的根和杂质后,过2 mm筛,取一部分存于4℃用于测定土壤含水率(SW)、可溶性有机碳氮(DOC、DON)、矿质氮(NH₄⁺-N和NO₃⁻-N)及土壤酶活性,另取一部分存于-20℃用于磷脂脂肪酸(PLFA)的测定,剩余部分置于室内自然风干用于测定土壤pH、土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)、总磷(TP)和速效磷(AP)指标。

1.3 指标测定方法

1.3.1 土壤理化指标 SOC和TN采用元素分析仪测定(Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, 德国);TP采用钼锑抗比色法测定;AP采用碳酸氢钠浸提法测定。DOC、DON采用超纯水浸提,水土比为5:1,样品放置于摇床200 r/min振荡30 min后离心机3 500 r/min离心20 min,上机前使用0.45 μm滤膜过滤,利用TOC仪(Multi N/C 3000, Analytik Jena, 德国)测定。土壤矿质氮采用氯化钾浸提,水土比同样为5:1,摇床200 r/min振荡1 h,静置30 min后使用滤纸过滤,过滤后通过连续流动分析仪(Technicon Corporation, Oregon, 美国)测定;pH采用电极法,水土比2.5:1,振荡1 h,静置30 min后使用pH计(雷磁PHSJ-3F,上海仪电科学仪器股份有限公司,中国)测定;SW采用烘干称重法。

1.3.2 土壤酶活性 采用酶标板检测荧光分析法进行分析测定与碳、氮、磷循环相关的水解酶活性,主要包括β-葡萄糖苷酶(βG)、纤维二糖酶(CB)、N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和酸性磷酸酶(ACP)5种水解酶活性。5种酶测定方法相同,以无水乙酸钠溶液为缓冲溶液,称取1~2 g新鲜土样于烧杯中在高速磁力搅拌器下搅拌成悬浊液,在酶标板中加入200 μL土壤悬浊液后依次加入50 μL乙酸钠缓冲液、50 μL标液[LAP酶使用AMC(7-Amino-4-methyl-coumarin)标液,其他4种酶使用MUB(4-Mellylumbeliforone)标液]和50 μL酶对应基底液后使用酶标仪(BioTek, Synergy 2, 美国)在365 nm波长下测定,具体方法步骤参考吕付泽等^[17]方法。

酶及对应基底液: β -葡萄糖苷酶(β G)为 4-Methylumbellifery- β -D-glucopyranoside、纤维二糖酶(CB)为 4-Methylumbellifery- β -D-cellobioside、N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)为 4-Methylumbellifery-N-acetyl- β -D-glucosaminide、亮氨酸氨基肽酶(LAP)为 L-Leucine-7-amido-4-methylcoumarin hydrochloride、酸性磷酸酶(ACP)为 4-Methylumbellifery phosphate。

1.3.3 土壤 PLFA 的测定 取 4 g 已冷冻干燥的土样进行 PLFA 浸提,收集氯仿相,磷脂纯化,最后对纯化后的磷脂进行酯化及测定。上机前用含 C_{19:0} 甲基酯的色谱纯正己烷溶解,以 C_{19:0} 甲基酯为内标,用气相色谱仪(Agilent 7890 GC, Agilent Technologies, 美国)完成分析测定^[18]。微生物功能群归类见表 1。

表 1 微生物功能群归类

微生物类群	磷脂脂肪酸
革兰氏阳性细菌	14:0 iso、15:0 anteiso、15:0 iso、15:1 iso ω6c、16:0 iso、17:0 anteiso、17:0 iso
革兰氏阴性细菌	16:1 ω7c、17:0 cyclo ω7c、18:1 ω7c、 19:0 cyclo ω7c
其他细菌	14:0、15:0、16:0、18:0
厌氧菌	15:0 DMA
放线菌	16:0 10-methyl、17:0 10-methyl、 17:1 ω7c 10-methyl、18:0 10-methyl
丛枝菌根真菌	16:1 ω5c
腐生真菌	18:1 ω9c、18:2 ω6c

1.3.4 指标计算 酶活性单位的定义为:

$$A_{\text{activity}} = \left(\frac{\text{NFU}}{S_{\text{standard}} \text{FU}} \right) \times \frac{0.3125}{\text{DW} \times H} \times 1000 \quad (1)$$

式中: A_{activity} 为酶活性, nmol/(g·h)。

$$\text{NFU} = \left[\frac{A_{\text{ssay}} - S_{\text{sample}}}{\left[\frac{Q_c - S_{\text{sample}}}{S_{\text{standard}}} \right]} \right] \times S_{\text{substrate}} \quad (2)$$

表 2 土壤基本理化性质

Table 2 Basic physicochemical properties of soil

土层深度/cm	处理	SW/%	DOC/ (mg·kg ⁻¹)	DON/ (mg·kg ⁻¹)	AP/ (mg·kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/ (mg·kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/ (mg·kg ⁻¹)	pH	SOC/ (g·kg ⁻¹)	TN/ (g·kg ⁻¹)	TP/ (g·kg ⁻¹)
0~10	CT	7.4±0.3b	41.1±4.2a	49.7±2.0a	78.8±7.5a	9.3±1.1a	6.8±0.5a	5.7±0b	13.1±0.1a	1.5±0a	0.79±0a
	A	9.1±0.4a	28.0±1.4b	29.9±1.0b	47.9±3.1c	11.9±1.6a	3.7±0.4b	5.8±0.1ab	11.7±0.8a	1.4±0.1a	0.58±0b
	R	9.9±0.3a	27.2±2.2b	12.2±0.1c	67.3±8.1ab	3.5±0.5b	0.9±0.3c	5.9±0ab	13.2±0.8a	1.5±0.1a	0.62±0b
	AR	9.2±0.5a	29.5±1.4b	13.5±1.7c	50.0±2.6bc	3.4±0.6b	3.1±0.1b	5.9±0.1a	11.6±0.6a	1.3±0.1a	0.59±0b
10~20	CT	9.7±0.5b	33.6±3.1a	45.8±3.6a	69.1±6.4a	6.8±0.6a	5.8±0.3a	6.0±0b	13.0±0.8a	1.4±0.1a	0.74±0a
	A	12.4±0.3a	20.3±3.0b	14.4±2.4b	52.3±5.7ab	1.8±0.2c	4.2±0.6b	6.1±0b	10.8±1.0a	1.2±0.1a	0.55±0b
	R	12.4±0.5a	32.5±3.6a	9.4±0.6bc	55.5±5.1ab	3.6±0.7b	2.1±0.1c	6.2±0.1ab	12.7±0.4a	1.4±0a	0.64±0ab
	AR	12.0±0.4a	16.9±2.0b	6.3±1.2c	38.9±5.5b	1.8±0.3c	0.9±0.1d	6.3±0a	11.0±0.8a	1.2±0.1a	0.55±0b

注:表中数据为平均值±标准误差;n=4;同列不同小写字母表示不同处理之间差异显著(p<0.05)。下同。

http://stbcbx.alljournal.com.cn

式中: A_{ssay} 为基底液+样品; S_{sample} 为 buffer+样品; Q_c 为标液+样品; S_{standard} 为缓冲液+标液; $S_{\text{substrate}}$ 为缓冲液+基底液。

微生物代谢效率以酶活性[nmol/(g·h)]计算,用每 nmol PLFA(nmol/g)为基准进行标准化,计算公式参考 ALLISON 等^[19]。

$$E_{\text{mm}} = \frac{A_{\text{activity}}}{\text{nmol PLFA}} \quad (3)$$

式中: E_{mm} 为微生物代谢效率, nmol/(nmol PLFA·h)。

1.4 数据处理与分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2021 软件进行整理,使用 R 4.4.3 软件对所有指标进行正态分布及方差齐性检验和单因素方差分析(One-way ANOVA)并采用 LSD(least significant difference)($p<0.05$)进行多重比较分析。基于 R 4.4.3 软件中的 *rfPermute* 和 *randomForest* 包进行随机森林分析寻找影响酶活性变化的重要变量;采用 Origin 2022 (Origin Lab)进行土壤酶活性作图及主成分分析(PCA)。

2 结果与分析

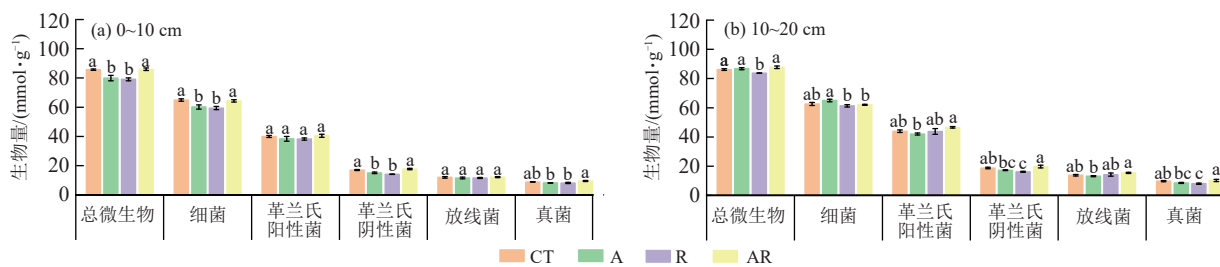
2.1 土壤理化性质

从表 2、表 3 可以看出,与常规玉米耕作相比,单种苜蓿显著增加 0~10、10~20 cm SW、10~20 cm DOC: DON,显著降低 0~10、10~20 cm 中土壤 DOC、DON、NO₃⁻-N、TP 及 0~10 cm AP、10~20 cm 土层中 NH₄⁺-N 与 DON: AP($p<0.05$);单种黑麦草显著增加 0~10、10~20 cm SW、DOC: DON,但显著降低 0~10、10~20 cm DON、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、DON: AP 及 0~10 cm DOC、TP($p<0.05$);混播显著增加 0~10、10~20 cm SW、pH、DOC: DON,显著降低 0~10、10~20 cm DOC、DON、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、TP 和 AP 及 DON: AP($p<0.05$)。

表 3 土壤速效养分计量比特征比较

Table 3 Comparison of soil available nutrient stoichiometry characteristics

土层深度/cm	处理	DOC:DON	DON:AP	DOC:AP
0~10	CT	0.84±0.12b	0.64±0.05a	0.55±0.12a
	A	0.93±0b	0.63±0.03a	0.59±0.03a
	R	2.24±0.20a	0.19±0.02b	0.42±0.04a
	AR	2.26±0.20a	0.27±0.02b	0.59±0.01a
10~20	CT	0.76±0.11d	0.67±0.07a	0.51±0.08ab
	A	1.45±0.17c	0.27±0.02b	0.39±0.04b
	R	3.47±0.28a	0.17±0.02bc	0.59±0.06a
	AR	2.81±0.26b	0.16±0c	0.44±0.01ab



注:图柱上方不同小写字母表示不同处理之间差异显著($p < 0.05$)。下同。

图 1 不同类群微生物的生物量

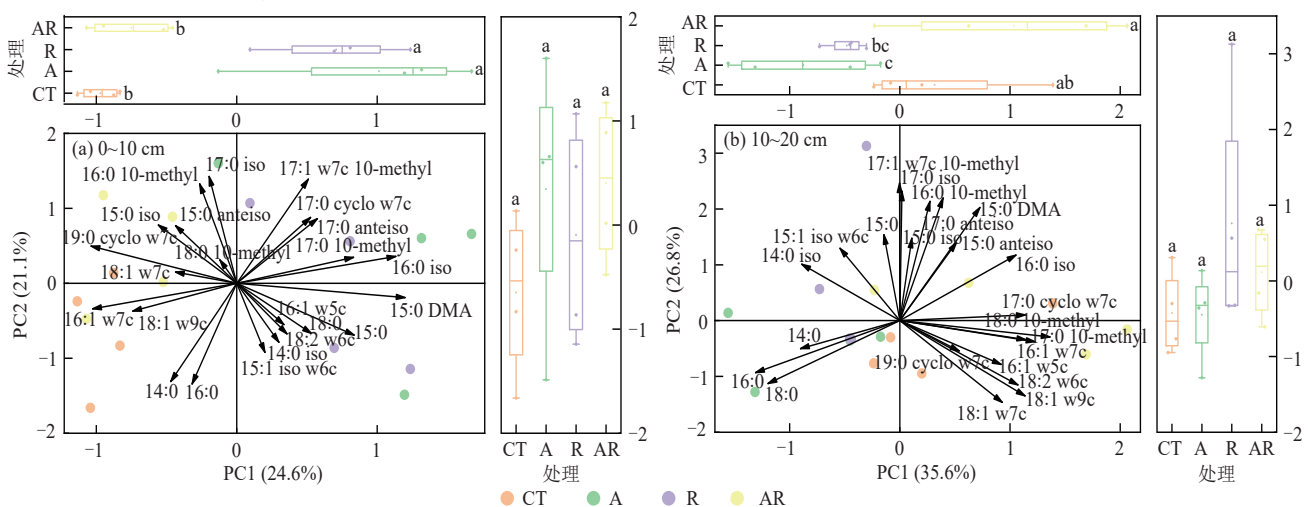
Fig. 1 Biomass of different microbial groups

在群落结构方面,0~10 cm 土层群落结构呈现差异,主要体现在 PC1 轴,常规玉米耕作与混播相似,单种苜蓿与单种黑麦草更为相似,并且单种苜蓿和单种黑麦草与混播和常规玉米耕作处理具有显著差异。该层 PC1 正端与较高的 15:0 DMA、16:0 iso、17:0 10-methyl、15:0 iso 所指征微生物生物量有关,负端与较高的 19:0 cyclo ω7c、16:1ω7c、18:1ω9c 所

2.2 土壤微生物生物量、群落结构及土壤酶活性

与常规玉米耕作相比,单种苜蓿在 0~10 cm 土层中显著降低土壤总微生物生物量、细菌生物量和革兰氏阴性菌生物量($p < 0.05$),在 10~20 cm 土层中,单种苜蓿的总微生物生物量与常规玉米耕作没有显著差异(图 1)。单种黑麦草在 0~10 cm 土层上与单种苜蓿呈现相似规律,但在 10~20 cm 土层中,单种黑麦草显著降低总微生物生物量、革兰氏阴性菌和真菌生物量($p < 0.05$)。混播在 0~10 cm 中各类群生物量与常规玉米耕作均无显著差异。与单种苜蓿比,混播显著增加 10~20 cm 土层中革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、放线菌和真菌生物量,同时显著减少细菌生物量($p < 0.05$);与单种黑麦草相比,混播显著增加 0~10 cm、10~20 cm 总微生物生物量、革兰氏阴性菌生物量和真菌生物量(图 1)。

指征微生物生物量有关。10~20 cm 土层中常规玉米耕作与单种苜蓿和单种黑麦草呈现显著差异,同样体现在 PC1 轴,此时 PC1 正向端与 17:0 10-methyl、16:1 ω7c、17:0 cyclo ω7c、18:0 10-methyl、18:1 ω9c 所指征微生物生物量较高有关,PC1 负向端与 16:0、18:0、14:0、14:0 iso 所指征微生物生物量较高有关(图 2)。



注:箱式图中不同字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$);箱体表示 75% 和 25% 的四分位数;上下须线表示最大值和最小值;横线表示中位数。下同。

图 2 土壤微生物群落组成的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of soil microbial community composition

在酶活性方面,与常规玉米耕作相比,单种苜蓿在 10~20 cm 土层显著增加 β G、CB、LAP、NAG、ACP 酶的活性,同时该层碳、氮、磷转化相关土壤微生物效率(单位微生物量的酶活性)显著提升($p < 0.05$);单种黑麦草在 0~10 cm 土层显著增加 β G 酶的活性,并且提高

该表层碳转化相关微生物效率,单种黑麦草在 10~20 cm 土层显著增加 LAP、NAG 和 ACP 的活性,并且增加该土层氮、磷转化相关微生物效率($p < 0.05$);混播在 0~10 cm 土层显著降低 LAP 的活性,在 10~20 cm 土层显著增加 ACP 的活性($p < 0.05$)(图 3、图 4)。

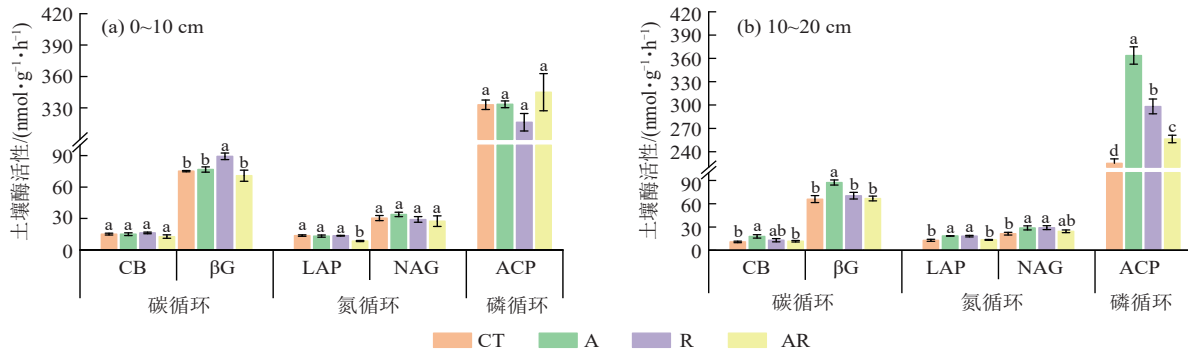


图 3 不同类型土壤水解酶活性

Fig. 3 Activities of different types of soil hydrolytic enzymes

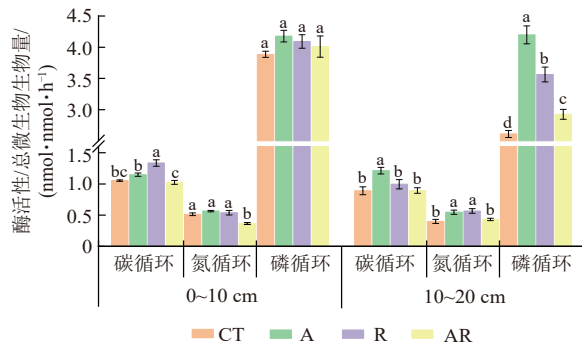
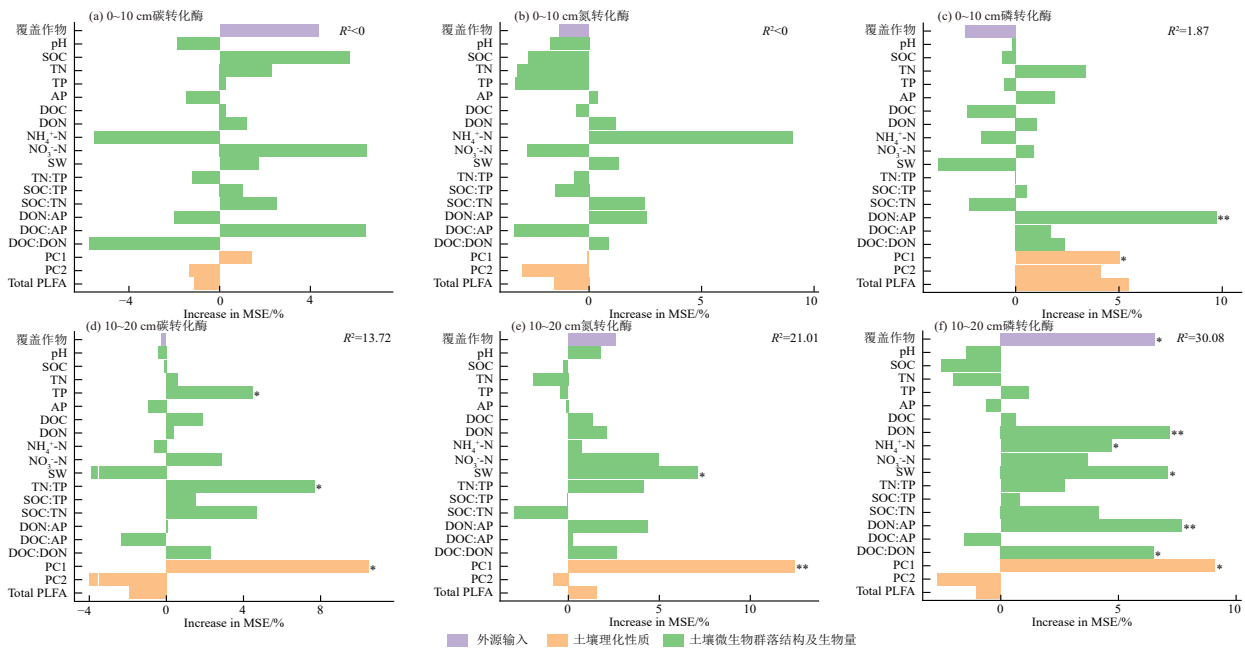


图 4 参与养分循环的微生物代谢效率

Fig. 4 Microbial metabolic efficiency involved in the nutrient cycling

2.3 土壤酶活性与生物、非生物因子的关系

通过随机森林模型探究影响土壤碳、氮、磷循环相关酶活性的因素表明,不同类型酶的活性受生物及非生物因子的调控存在差异(图 5)。在 0~10 cm 土层,碳、氮转化酶活性受各因素影响不显著,磷转化酶活性受到微生物群落结构和 DON:AP 的影响($p < 0.05$);在 10~20 cm 土层,碳转化酶活性受 TP、TN:TP 及微生物群落结构的影响($p < 0.05$),土壤氮转化酶受到微生物群落结构及 SW 的影响($p < 0.05$);与碳、氮转化酶不同,土壤磷转化酶受到非生物因子覆盖作物类型及土壤理化性质如 SW、DON、 NH_4^+ -N、DON:AP、DOC: DON 和生物因子微生物群落结构的影响($p < 0.05$)。



注:*表示显著相关($p < 0.05$);**表示极显著相关($p < 0.01$)。

图 5 影响土壤酶活性因素的随机森林模型

Fig. 5 Random forest model of factors influencing soil enzyme activities

3 讨论

3.1 覆盖作物对土壤酶活性的影响

土壤酶活性是土壤健康和肥力的重要指标。本研究表明,与常规耕作相比,单种苜蓿主要在10~20 cm增加土壤碳、氮、磷循环酶活性,与MU等^[20]研究结果一致,并进一步得到多项研究^[21-22]的支持。单种黑麦草主要增加0~10 cm碳转化酶活性,增加10~20 cm氮、磷相关转化酶活性,与HU等^[21]报道的禾本科覆盖作物抑制碳、氮转化酶活性的结果存在差异。可能的原因包括黑麦草品种差异、根系分布特征(如浅根性对表层影响更大)、管理措施(如刈割时间)及特定的土壤环境。例如,高C/N比的黑麦草残体在分解初期可能暂时抑制氮矿化相关酶,但随着分解进程,也可能刺激纤维素酶等碳源降解酶活性^[23]。混播降低氮转化酶活性但增加磷转化酶活性,与SUI等^[22]报道的豆禾混播增加氮转化酶活性的结果相反,但与FENG等^[24]观察到的混播在短期内显著提升磷转化酶活性的结论相符。混播系统中复杂的种间相互作用(如竞争、互补等)可能是造成这种矛盾结果的核心原因。一方面,混播中豆科能够固氮、禾本科能够增碳,2种科属结合能够促进养分循环^[25],因此微生物对于分泌酶来分解土壤原有有机氮的需求较小;另一方面,豆科根系能够分泌磷酸酶或禾本科根系分泌的有机酸可能活化土壤磷库,刺激磷酸酶活性^[26]。覆盖作物对酶活性的影响并非单一模式,其方向和强度受到土壤类型、气候条件、种植时间和密度等多种因素的调控,多次采样进行时间动态上的酶活性分析是未来的研究方向之一。

3.2 生物因素对土壤酶活性的影响

在未施肥情况下,与施肥的常规玉米耕作相比,豆科覆盖作物显著减少0~10 cm土壤总微生物生物量;禾本科覆盖作物显著减少0~20 cm土壤总微生物生物量,并显著减少10~20 cm真菌;而混播维持高的总微生物及各类群生物量。焦锦堂等^[27]关于冬季覆盖作物对微生物的影响中发现,覆盖作物增加土壤微生物生物量。出现该结果可能是因为单种苜蓿与单种黑麦草处理中土壤养分不足,限制了土壤中微生物的繁殖。

土壤微生物作为土壤酶的主要生产者,其生物量和群落结构变化对土壤酶活性产生直接且关键的影响,且不同类型的酶(参与碳、氮、磷等循环,或涉及氧化还原、水解等不同反应类型)对土壤微生物生物量和群落结构变化的敏感性和依赖性存在显著差异。在本研究中微生物生物量未直接显著影响酶活性。微生物生物量和酶活性增减趋势相反,单种苜蓿在10~20 cm、单种黑麦草在0~10 cm虽然土壤酶活性增加,但是并未增加土壤总微生物量,与前研究^[28]中生物量与酶活性均呈同增同减趋势,即酶活

性增加对应土壤生物量总量也会增加。土壤微生物生物量与酶活性之间并非简单的线性关系,因为土壤微生物能够在相应环境中不断调整、适应和改变^[29]。酶活性的提高而生物量没有增加,可能是由于微生物将更多可利用资源用于生产酶而不是生物量^[30]。单种苜蓿与单种黑麦草在养分供应限制下,微生物提高单位生物量的酶合成,维持自身代谢需求,直接显著增加与碳、氮转化酶有关的微生物代谢效率,即单种苜蓿与黑麦草在不增加生物量条件下能够直接增加酶活性。混播在0~10 cm维持高的生物量但在酶活性上呈下降趋势。原因可能是苜蓿和黑麦草混播可以维持土壤养分相对平衡,满足微生物生物量增加的条件,微生物更倾向于直接摄取现成的营养物质,而不是通过代谢分泌酶来“开采”有机养分,导致酶活性不高^[30]。

不同微生物类群的生理特性和功能定位不同,其所分泌的酶类型和数量也存在显著差异。微生物群落结构显著影响10~20 cm碳、氮、磷转化相关酶活性,并且由图2b可得苜蓿和黑麦草单种处理具有相似的群落结构,并在PC1轴与常规玉米耕作有显著差异,群落均以细菌为主(如14:0、16:0、18:0),革兰氏阳性菌占据重要地位(如16:0 iso、15:1 iso w6c),同时具有较高的碳、氮、磷转化相关酶活性。先前已有研究^[31]表明,细菌能够参与土壤碳、氮循环且占据主导地位,并且革兰氏阳性细菌在土壤碳、氮、磷循环中起重要作用^[32],因为革兰氏阳性细菌更能够利用土壤中难以利用的养分。

3.3 非生物因素对土壤酶活性的影响

本研究中,土壤酶活性受到非生物因素的影响,但碳、氮、磷相关酶活性受到不同因素的调控。氮转化相关酶主要受SW的影响,碳转化相关酶主要受到土壤TP、TN:TP的影响。

磷转化相关酶受到覆盖作物类型、SW、DON、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、SW和速效养分比值如DON:AP、DOC:DON的影响。施翠娥等^[33]研究同样表明,酸性磷酸酶受到SW、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的影响。除此之外,豆科苜蓿和禾本科黑麦草2种不同科属在速效养分及化学计量比影响上呈相反趋势。二者相比,苜蓿有较高的土壤DON含量与DON:AP,而DOC、AP含量和DOC:DON小于黑麦草。一方面,苜蓿通过固定大气中游离氮素增加土壤含氮有机化合物,再通过生化反应合成DON等化合物^[14]。DON含量的增加导致DOC:DON的降低。另一方面,豆科作物喜磷的特性吸收磷降低土壤中磷含量,DON:AP增加,加剧土壤养分比值失衡。有研究^[8]表明,养分比例失衡能够改变土壤中底物可利用性,从而刺激土壤微生物分泌与磷转化相关的酶以平衡土壤养分

比例。黑麦草根分泌DOC至土壤中,增加土壤的DOC:DON。DOC含量的增加促进磷酸酶的活性,与王超等^[34]研究结果相似,原因可能为DOC含量的增加为土壤微生物提供可利用碳源,显著增加DOC:AP,促进微生物代谢活动,加速土壤磷的转化,从而提高土壤磷酸酶活性,与10~20 cm土壤磷循环相关酶的代谢效率相符。因此,豆科通过影响土壤中氮素、禾本科通过影响土壤中碳素2种不同的方式调控土壤中可利用性养分比值,从而改变土壤中磷转化酶活性。

4 结论

本文系统研究不同覆盖作物种植与常规玉米耕作种植模式下,生物与非生物因素对土壤酶活性的影响。结果表明,不同科属通过不同方式调节土壤酶活性,且差异在10~20 cm较为显著。豆科和禾本科相比较,豆科覆盖作物能够通过提高土壤氮含量,调节土壤速效养分化学计量比(DOC:DON、DON:AP),显著增强碳、氮、磷转化酶活性;禾本科覆盖作物则主要通过增加土壤中碳含量,改变DOC:DON和DOC:AP速效养分化学计量比,促进氮、磷转化酶活性。混播模式能够维持高生物量并提升磷转化酶活性。综合分析,混播模式在短期内能维持微生物生物量,是增加生物多样性、改善土壤健康和抗逆性的优选措施;而单种苜蓿则在短期内能够提高土壤养分含量,是促进土壤养分内循环的优选措施。

参考文献:

- [1] 王东印,裴莉.东北黑土资源现状及保护措施[J].农业与技术,2021,41(21):100-102.
WANG D Y, PEI L. Present situation and protection measures of black soil resources in northeast China [J]. Agriculture and Technology, 2021, 41(21): 100-102.
- [2] 文艺,文涛,牛国庆,等.基于大数据鉴定农田和非农业土壤细菌群落组成及功能特征[J].江苏农业科学,2025,53(8):242-248.
WEN Y, WEN T, NIU G Q, et al. Integrated analysis of composition and functional characteristics of bacterial communities in farmland and non-agricultural soils [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2025, 53(8): 242-248.
- [3] OPOKU A, OGUNLEYE A M, SOLOMON J K Q, et al. Cover crop systems impact on biomass production, carbon-to-nitrogen ratio, forage quality, and soil health in a semi-arid environment [J]. Heliyon, 2024, 10(20): e39600.
- [4] 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 gradient on soil microbial biomass and enzyme activities in a mangrove wetland [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2022, 42(6): 68-75.
- [5] LIU Q, YAO W, ZHOU J, et al. Winter green manure cultivation benefits soil quality and ecosystem multifunctionality under upland paddy rotations in tropics [J]. Plant and Soil, 2025, 511(1): 395-407.
- [6] ZHAO Y M, CHEN D W, TIAN G, et al. Co-fermentation of hot-pressed rapeseed meal with multiple strains and cellulase: Evaluating changes in protein quality and metabolite profiles [J]. LWT, 2024, 210: e116880.
- [7] 曹建鹏,曾瀚轩,卢晋晶,等.有机物添加下土壤活性有机碳组分变化规律及其对有机碳的影响[J].中国土壤与肥料,2025(9):1-11.
CAO J P, ZENG H X, LU J J, et al. The effect of addition of organic materials on soil labile organic carbon fractions and its impact on soil organic carbon [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(9): 1-11.
- [8] 庞丹波,吴梦瑶,吴旭东,等.贺兰山东坡不同海拔梯度土壤酶化学计量特征[J].生态学报,2023,43(19):7950-7962.
PANG D B, WU M Y, WU X D, et al. Responses of soil enzyme activities and their stoichiometric characteristics to different altitude on the eastern slope of Helan Mountain [J]. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(19): 7950-7962.
- [9] 王佳懿,王兴,王源苗,等.降水改变下撂荒草地的化学计量失衡改变调节土壤呼吸[J].环境科学,2023,44(8):4689-4697.
WANG J Y, WANG X, WANG Y Z, et al. Stoichiometric imbalance of abandoned grassland under precipitation changes regulate soil respiration [J]. Environmental Science, 2023, 44(8): 4689-4697.
- [10] 尚程,陈泽建,许嘉杰,等.南方多熟制覆盖作物的丰产增效与固碳减排协同效应[J].中国生态农业学报(中英文),2026,34(2):284-296.
SHANG C, CHEN Z J, XU J J, et al. Synergistic effects of cover crops on productivity enhancement and carbon sequestration with emission reduction in multiple cropping systems of Southern China [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2026, 34(2): 284-296.
- [11] MEI L L, LIN Y L, LI A, et al. Alfalfa increases the soil N utilization efficiency in degraded black soil farmland and alleviates nutrient limitations in soil microbes [J]. Agronomy, 2024, 14(10): e2185.
- [12] 胡凯玥,段玉,杨焱,等.茶园间作种植模式的研究进展[J].南京农业大学学报,2025,48(2):263-273.
HU K Y, DUAN Y, YANG Y, et al. Research progress on intercropping planting patterns in tea gardens [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2025, 48(2): 263-273.
- [13] LANDRISCINI M R, DUVAL M E, GALANTINI J A, et al. Changes in soil organic carbon fractions in a sequence with cover crops [J]. Spanish Journal of Soil Science, 2020, 10: e4089.
- [14] WANG P C, XIE W H, DING L L, et al. Effects of maize-crop rotation on soil physicochemical properties, enzyme activities, microbial biomass and microbial community structure in southwest China [J]. Microorganisms, 2023, 11(11): e2621.

- [15] 巴晓博,隋鑫,鲍雪莲,等.覆盖作物-玉米间作对土壤碳氮含量及相关酶活性的影响[J].土壤通报,2022,53(3):577-587.
BA X B, SUI X, BAO X L, et al. Impacts of intercropping with cover crops and maize on soil carbon and nitrogen contents and related enzyme activities [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(3): 577-587.
- [16] WANG Y J, HUANG Q Q, LIU C, et al. Mulching practices alter soil microbial functional diversity and benefit to soil quality in orchards on the Loess Plateau [J]. Journal of Environmental Management, 2020, 271: e110985.
- [17] 吕付泽,杨雅丽,鲍雪莲,等.免耕不同秸秆覆盖量对土壤酶活性及土壤有机碳含量的影响[J].土壤与作物, 2024, 13(2): 140-153.
LYU F Z, YANG Y L, BAO X L, et al. Effects of different amounts of stover mulching with no-tillage on soil enzyme activities and soil organic carbon content [J]. Soils and Crops, 2024, 13(2): 140-153.
- [18] BOSSIO D, SCOW K, GUNAPALA N, et al. Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles [J]. Microbial Ecology, 1998, 36(1): 1-12.
- [19] ALLISON V J, CONDRON L M, PELTZER D A, et al. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(7): 1770-1781.
- [20] MU C H, LI J Q, HUANG F C, et al. Response of extracellular enzyme stoichiometric properties and microbial metabolic limitations to the ecosystem transition mode employed in red jujube economic forests on the Loess Plateau [J]. Microorganisms, 2025, 13(4): e729.
- [21] HU Q J, ZHANG Y T, CAO W D, et al. Legume cover crops sequester more soil organic carbon than non-legume cover crops by stimulating microbial transformations [J]. Geoderma, 2024, 450: e117024.
- [22] SUI X, BAO X L, XIE H T, et al. Contrasting seasonal effects of legume and grass cover crops as living mulch on the soil microbial community and nutrient metabolic limitations [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2025, 380: e109374.
- [23] 杨苏,李传哲,徐聪,等.绿肥和凹凸棒添加对黄河故道潮土土壤结构和碳氮含量的影响[J].水土保持通报, 2020, 40(2): 199-204.
YANG S, LI C Z, XU C, et al. Effects of adding straw and attapulgite on soil structure and carbon and nitrogen contents of old Yellow River course [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2020, 40(2): 199-204.
- [24] FENG H X, SEKARAN U, WANG T, et al. On-farm assessment of cover cropping effects on soil C and N pools, enzyme activities, and microbial community structure [J]. The Journal of Agricultural Science, 2021, 159(3/4): 216-226.
- [25] PINTO P, CARTONI-CASAMITJANA S, STOL-
TENBERG D E, et al. Forage boost or grain blues? Legume choices shape Kernza intermediate wheatgrass dual-purpose crop performance [J]. Field Crops Research, 2024, 316: e109522.
- [26] XU L X, TANG G J, WU D, et al. Yield and nutrient composition of forage crops and their effects on soil characteristics of winter fallow paddy in south China [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 14: e1292114.
- [27] 焦锦堂,孙万仓,方彦,等.冬油菜覆盖对土壤理化性状及微生物的影响[J].干旱地区农业研究,2023,41(6):128-139.
JIAO J T, SUN W C, FANG Y, et al. Effects of different winter rape mulchings on soil physical and chemical properties and microorganisms [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2023, 41(6): 128-139.
- [28] LIU W J, YANG Z P, YE Q X, et al. Positive effects of organic amendments on soil microbes and their functionality in agro-ecosystems [J]. Plants, 2023, 12(22): e3790.
- [29] 焦蒙,胡链,杨丝雨,等.叠氮溴化丙锭染色技术在水体活性微生物监测中的应用[J/OL].水利水电技术(中英文), 1-13. [2025-12-11]. <https://link.cnki.net/urlid/10.1746.TV.20250804.1502.006>.
- JIAO M, HU L, YANG S Y, et al. Application of PMA staining technique in monitoring viable microorganisms in aquatic ecosystems [J/OL]. Water Resources and Hydropower Engineering, 1-13. [2025-12-11]. <https://link.cnki.net/urlid/10.1746.TV.20250804.1502.006>.
- [30] SMITH B C, ROGAN T A, REDDING M R, et al. Carbon-to-nitrogen stoichiometry of organic amendments regulates microbial biomass growth and nitrogen mineralization in soil [J]. Soil Use and Management, 2024, 40(4): e13116.
- [31] ZHANG Q, ZHANG Y, WANG Y H, et al. Effects of pruning on tea tree growth, tea quality, and rhizosphere soil microbial community [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(5): e0160123.
- [32] PHONGHANPOT S, JARINTANAN F. Secondary metabolism gene diversity and cocultivation toward isolation and identification of potent bioactive compounds producing bacterial strains from Thailand's natural resources [J]. Scientifica, 2022, 2022(1): e2827831.
- [33] 施翠娥,高扬,王玉龙,等.松材线虫对马尾松林土壤微生物生物量及酶活性的影响[J].生态学杂志, 2015, 34(4): 1046-1051.
SHI C E, GAO Y, WANG Y L, et al. Soil microbial biomass and enzyme activities in *Pinus massoniana* forest infected by pine wood nematode [J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(4): 1046-1051.
- [34] 王超,杨倩楠,张池,等.丹霞山不同土地利用方式土壤磷组分特征及其有效性[J].生态环境学报, 2023, 32(5): 889-897.
WANG C, YANG Q N, ZHANG C, et al. The characteristics of soil phosphorus fractions and their availability under different land use types in Danxia Mountain [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2023, 32(5): 889-897.