

引文格式: 刘楚祺, 赵高坤, 邓小鹏, 等. 连作年限对植烟土壤养分和微生物量及胞外酶化学计量特征的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(3): 494–502. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202204038](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202204038)

连作年限对植烟土壤养分和微生物量及胞外酶化学计量特征的影响*

刘楚祺¹, 赵高坤², 邓小鹏², 马二登², 李军营², 陈 颐², 姜永雷^{2**}, 王 聪^{1**}

(1. 广西大学 林学院, 广西森林生态与保育重点实验室, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530004; 2. 云南省烟草农业科学研究院, 云南昆明 650021)

摘要:【目的】研究烤烟不同连作年限对云南典型砂质红壤微生物量和胞外酶活性化学计量特征的影响, 结合土壤理化性状探究其相关机制, 为缓解烟草连作障碍提供理论参考。【方法】以连作 1、2、4、6 和 9 a 的植烟砂质红壤为研究对象, 测定其土壤理化性状、微生物量碳、微生物量氮和微生物量磷以及土壤碳、氮、磷营养元素循环相关的土壤胞外酶活性。运用生态化学计量学和冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 对土壤肥力属性与土壤胞外酶活性的关系进行分析。【结果】(1) 随着连作年限的增加, 土壤有机碳、全氮、全磷、铵态氮和硝态氮含量均呈先降低后升高的变化趋势, 且以连作 4 a 时最低。(2) 连作土壤 pH 值为 5.68~6.43; 在连作 1~6 a 范围内, 随着连作年限的增加土壤 pH 值呈下降趋势, 连作 9 a 时土壤 pH 值升高。(3) RDA 分析表明: 土壤有机碳含量、全磷含量和 pH 值与土壤胞外酶活性显著相关。土壤胞外酶化学计量分析表明: 连作 1、2 和 6 a 时, 土壤中微生物受到较强的碳源限制; 而所有连作年限的土壤中微生物都受到氮源限制。【结论】烤烟连作 4 a 后, 土壤 pH 值以及碳、氮、磷元素发生显著变化, 且与土壤氮循环相关的土壤胞外酶活性增强, 将土壤中的有机氮转化为无机氮以保持土壤氮的平衡。

关键词: 连作; 土壤养分; 微生物量; 土壤胞外酶; 化学计量特征

中图分类号: S344.4

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2023) 03-0494-09

Effects of Continuous Cropping Time on Soil Nutrient, Microbial Biomass, and Extracellular Enzyme Stoichiometry Characteristics of Tobacco-planting Soil

LIU Chuqi¹, ZHAO Gaokun², DENG Xiaopeng², MA Erdeng², LI Junying²,
CHEN Yi², JIANG Yonglei², WANG Cong¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Forest Ecology and Conservation, State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, College of Forestry of Guangxi University, Nanning 530004, China;

2. Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Kunming 650021, China)

Abstract: [Purpose] To study the effects of continuous cropping time on the microbial biomass and extracellular enzyme stoichiometry of typical red sandy soils in a tobacco field in Yunnan

收稿日期: 2022-04-15

修回日期: 2022-06-04

网络首发日期: 2023-06-06

*基金项目: 云南省科学技术厅基础研究专项 (202001AU070006); 云南中烟工业有限责任公司重点项目 (2021YL03); 中国烟草总公司云南省公司科技计划重点项目 (2019530000241011)。

作者简介: 刘楚祺 (1996—), 女, 湖北武汉人, 在读硕士研究生, 主要从事土壤生态研究。

E-mail: lchuqi77@163.com

**通信作者 Corresponding authors: 姜永雷 (1988—), 男, 河南周口人, 博士, 助理研究员, 主要从事烟叶调制技术研究。E-mail: jiangyatas@163.com; 王聪 (1989—), 男, 陕西汉中, 博士, 副教授, 主要从事土壤养分循环研究。E-mail: wangcuriel@foxmail.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/53.1044.S.20230605.1611.004.html>



Province, and combining with the physical-chemical properties to explore the underlying mechanisms, providing theoretical reference to alleviate the continuous cropping obstacle of tobacco.

[**Methods**] The red sandy soils with 1, 2, 4, 6 and 9 years continuous cropping of tobacco were studied. The soil physical-chemical properties, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, microbial biomass phosphorus, and the activity of extracellular enzymes driving the carbon, nitrogen and phosphorus cycles were measured. The relationship between soil fertility parameters and soil extracellular enzyme activities were analyzed by ecological stoichiometry and redundancy analysis (RDA). [**Results**] 1) With the continuous cropping time increasing, the contents of soil organic carbon, total nitrogen, total phosphorus, ammonium nitrogen and nitrate nitrogen decreased first, and then increased, with the lowest value at 4 years of continuous cropping. 2) The pH value of continuous cropping soil ranged in 5.68-6.43, with a decrease from 1 to 6 years of continuous cropping, and increased from 6 to 9 years. 3) RDA showed that the soil organic carbon, total phosphorus and pH value significantly correlated with extracellular enzyme activities. Stoichiometric analysis of soil extracellular enzymes showed that the soil microorganisms at 1, 2, and 6 years of continuous cropping were strongly limited by carbon sources, while the microorganisms in all continuous cropping soils were limited by nitrogen sources. [**Conclusion**] After 4 years of continuous cropping, there are significant changes in soil pH value, carbon, nitrogen, and phosphorus, and the activity of extracellular enzyme driving nitrogen cycling increases, which converts organic nitrogen into inorganic nitrogen, to maintain the soil nitrogen balance.

Keywords: continuous cropping; soil nutrients; microbial biomass; soil extracellular enzymes; stoichiometric characteristics

烤烟 (*Nicotiana tabacum*) 为茄科 (Solanaceae) 烟草属 (*Nicotiana*) 一年生或有限多年生草本植物, 是世界范围内重要的经济作物^[1]。2020 年中国烟草种植面积达 887 362 hm², 居世界前列, 而云南省以 44.5% 的占比成为中国烟草种植面积最大的省份, 烟草是当地农民脱贫致富的重要经济来源^[2]。近年来, 受耕地资源、种植条件以及生产成本等诸多因素的限制, 在中国大多数烟区很难实行烟草轮作和休耕的种植方式, 常年的烟草连作种植较为普遍。连作障碍已成为制约中国烟草生产可持续发展的瓶颈问题^[3]。烟草是忌连作作物, 随着植烟年限延长, 连作障碍加剧, 植烟土壤养分比例失调, 病虫害加重, 导致烟草产量和质量下降等问题日益突出^[3]。因此, 烤烟的健康经营和长期生产力维持成为遗传育种学和农艺栽培学研究的重要课题。

在烟草生产中, 烟农往往会投入大量的化肥与农药应对连作障碍造成的土壤肥力下降和烟草病害发生。然而, 连作障碍是多种因素共同作用的结果, 包括土壤理化性质、土壤微生态和根系分泌物等^[4], 其机制是作物与土壤相互作用, 使

土壤结构、理化指标和微生物群落等发生变化, 进而影响作物生长^[5-6]。土壤微生物代谢产生的胞外酶可以将土壤中复杂的有机化合物降解为简单的无机化合物, 然后被植物根系和土壤微生物重新吸收利用, 是土壤中生化反应的催化剂, 也是土壤养分循环代谢的重要动力^[7-9]。土壤胞外酶活性既能反映土壤肥力的优劣, 又能够体现土壤中微生物的活力, 是土壤生态功能的重要指标^[10]。土壤中不同种类的酶可通过分解复杂的有机物质为微生物提供可直接利用的碳 (C)、氮 (N)、磷 (P) 和硫 (S) 等营养成分, 从而影响土壤微生物^[11], 其计量关系可有力表征土壤微生物养分限制^[8-9]。连作土壤中植物根系将植物光合作用同化 CO₂ 后的产物部分转运至根际环境, 土壤微生物通过分泌能催化土壤有机质解聚的胞外酶来获取 C、N、P^[10]。土壤胞外酶的化学计量学与 C、N、P 养分获取相关酶的化学计量学可以确定微生物所需的养分与土壤中有效养分的关系^[12]。C、N、P 是土壤养分的核心, 研究其化学计量特征能反应土壤中三者之间的相互关系; 而土壤胞外酶作为土壤中所有反应的催化剂, 直接参与土壤中

C 和 P 的循环,其化学计量特征也能反映土壤的营养供应和土壤质量^[13]。随着连作年限的增加,土壤中微生物分布程度降低,土壤中的脲酶(urcase, Ure)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)等活性随之降低。微生物是土壤胞外酶活性的主要参与者,在土壤有机质分解、腐殖质形成、土壤养分转化和循环等过程中发挥重要作用^[14-17]。目前,开展植烟土壤长期连作如何影响土壤胞外酶活性及化学性质的研究并不全面。鉴于此,本研究以不同连作年限植烟土壤为对象,分析不同连作年限植烟土壤 C、N、P 及其相关胞外酶活性,以探究产生连作障碍的机制,为烟草连作种植年限的确定提供理论基础,以促进烟草种植行业的健康可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植烟试验田位于云南省玉溪市红塔区龙树村(N24.17°, E102.32°, 海拔 1 786 m),供试土壤为云南典型的砂质红壤。当地年平均气温 21.4 °C,年降水量约 850 mm,烤烟大田生育期内(5—7月)降水量约 600 mm;前作均为大麦,且管理和施肥均一致。烤烟品种为当地主栽品种 K326,每年烤烟种植理墒前施农家肥 12 t/hm² 作为底肥;根据品种养分需求,施用烟草专用复合肥($m_N : m_{P_2O_5} : m_{K_2O} = 12 : 12 : 24$)保证施用纯氮 90 kg/hm²,烤烟生长过程中施用硫酸钾($m_{K_2O} = 50\%$)调节氮、磷、钾养分比为 1 : 1 : 3;所有肥料在栽后 40 d 前施用完毕。

1.2 样地设置和采样

根据前期定位田的设置,选取同一试验基地内不同种植年限(1、2、4、6 和 9 a)的植烟土壤为研究对象,于 2021 年 9 月 25 日(即烤烟采收后)采集根际周围 0~20 cm 的耕层土壤,每个植烟田块设置 3 个 2 m×2 m 的样方,样方间隔 3~5 m。每个土壤样本用土钻采集每个样方的四角和中心位置(5 点采样法),将 5 份土壤样品混合作为 1 个土壤样本;将土壤样本置于无菌自封袋中,放入保温盒运输到实验室中进行分析。在实验室内挑出植物根系,将土壤分为 2 份进行保存:一份风干后用于土壤化学性质分析;另一份用液氮速冻后迅速置于-80 °C 冰箱保存,用于土

壤微生物胞外酶活性和微生物量碳、氮、磷的测定。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 土壤化学指标测定

pH 值采用电位法测定;全磷(TP)含量采用高氯酸—浓硫酸消解、钼蓝比色法测定^[18];全氮(TN)含量采用半微量凯氏法测定;有机碳(TC)含量采用重铬酸钾容量法测定;铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)按照镀铜镉还原—重氮化偶合比色法测定。

1.3.2 土壤微生物量碳、氮、磷测定

土壤微生物量碳(MBC)和土壤微生物量氮(MBN)采用氯仿熏蒸—K₂SO₄ 浸提法浸提,用碳氮分析仪测定;土壤微生物量磷(MBP)采用氯仿熏蒸—NaHCO₃ 浸提法测定^[19]。

1.3.3 土壤胞外酶活性测定

Ure 活性采用苯酚钠—次氯酸钠比色法测定^[20];PPO 和 POD 活性分别采用红紫精比色法和邻苯三酚比色法测定^[20];β-1,4-葡萄糖苷酶(β-1,4-glucosidase, βG)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, AP)、β-1,4-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(β-1,4-N-acetylglucosaminidase, NAG)、亮氨酸氨基肽酶(leucine arylamidase, LAP)和纤维二糖水解酶(cellobiohydrolase, CBH)活性采用各自的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测定,试剂盒购自江苏酶免实业有限公司。

1.4 数据处理

利用生态酶化学计量学的向量长度分析计算微生物资源限制^[21]。根据 SINSABAUGH 等^[22]的方法,将酶活性数据归一化为每克土壤有机碳的单位,然后用以下公式计算向量长度(L , 无单位)和向量角(A , °):

$$X = \ln a / \ln b;$$

$$Y = \ln a / \ln(c + d);$$

$$L = \sqrt{(X^2 + Y^2)};$$

$$A = \text{ATAN2}(X, Y)。$$

式中: a 为 βG 活性; b 为 AP 活性; c 为 NAG 活性; d 为 LAP 活性;ATAN2 代表求方位角的反正切函数。 L 值越大表示有机碳限制越大; A 小于 45° 表示氮(N)的相对限制程度,大于 45° 表示磷(P)的相对限制程度。

采用 Excel 2019 对数据进行统计分析; 采用 SPSS 19.0 软件, 用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和多重比较 (Duncan 法) 分析植烟土壤化学性状及土壤胞外酶在不同连作年限的差异; 采用 Canoco 5.0 软件进行土壤化学性状和土壤微生物胞外酶之间的冗余分析 (redundancy analysis, RDA), 分析前进行去趋势分析 (gradient lengths<3) 检验线性模型的适宜度。采用 Origin 2019 制图。

2 结果与分析

2.1 不同连作年限植烟土壤的化学性状

由表 1 可知: 在保证前期施肥一致的条件

下, 随着连作年限的增加, 植烟土壤 TC、TN、TP、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量呈明显变化, 都表现出先下降后上升的趋势, 且各指标在连作 4 a 时达到最小值; 土壤 pH 值也呈先降低后升高的变化趋势, 变化范围在 5.68~6.43, 呈酸性。与连作 1 a 的植烟土壤相比, 连作 4 a 的土壤 TC 含量降低 16.04%, TN 含量降低 3.6%, TP 含量降低 17.78%, NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量分别降低 45.75% 和 60.32%; 连作 9 a 的土壤 TC 和 TP 含量显著增加 ($P<0.05$); 连作 6 a 的土壤 NH₄⁺-N 含量显著减少 ($P<0.05$); 连作 6 和 9 a 的土壤 NO₃⁻-N 含量显著减少 ($P<0.05$)。

表 1 不同连作年限的植烟土壤化学性状

Tab. 1 Chemical properties of tobacco-planting soil under different continuous cropping years

连作时间/a continuous cropping time	有机碳/(g·kg ⁻¹) organic carbon	全氮/(g·kg ⁻¹) total nitrogen	全磷/(g·kg ⁻¹) total phosphorus	pH值 pH value	铵态氮/(mg·kg ⁻¹) ammonium nitrogen	硝态氮/(mg·kg ⁻¹) nitrate nitrogen
1	13.28±0.17 bc	1.11±0.09 ab	1.35±0.05 b	6.43±0.04 a	9.64±0.96 ab	17.92±16.13 a
2	12.38±0.46 c	1.11±0.04 ab	1.50±0.03 b	6.01±0.39 ab	7.81±1.46 bc	17.23±3.66 ab
4	11.15±0.28 d	1.07±0.06 b	1.11±0.08 c	5.87±0.03 ab	5.23±0.57 c	7.11±0.44 c
6	13.61±0.37 bc	1.33±0.17 ab	1.36±0.03 b	5.68±0.09 b	5.88±0.48 c	8.21±3.94 c
9	17.21±1.13 a	1.42±0.05 a	1.67±0.03 a	6.39±0.09 a	10.95±0.58 a	13.61±11.29 b

注: 同列不同小写字母表示显著差异 ($P<0.05$); 下同。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$); the same as below.

2.2 不同连作年限植烟土壤微生物量的变化

由表 2 可知: 随着连作年限的增加, 植烟根际土壤 MBC 和 MBN 呈先降低后增加趋势, 均以连作 4 a 的植烟土壤最低, 与连作 1 a 相比, 分别降低了 68.76% 和 26.99%; 而 MBP 在不同连

作年限下无显著变化。此外, 随着连作年限的增加, MBC/MBN 和 MBC/MBP 也呈先降低后增加的趋势, 且以连作 4 a 的植烟土壤最低; MBN/MBP 随着连作年限增加也呈先降低后增加的趋势, 但不同连作年限之间变化不显著。

表 2 不同连作年限植烟土壤微生物量的变化

Tab. 2 Changes of soil microbial biomass of tobacco-planting soil under different continuous cropping years

连作时间/a continuous cropping time	微生物量碳/ (mg·kg ⁻¹) microbial biomass carbon (MBC)	微生物量氮/ (mg·kg ⁻¹) microbial biomass nitrogen (MBN)	微生物量磷/ (mg·kg ⁻¹) microbial biomass phosphorus (MBP)	微生物量碳/ 微生物量氮 MBC/MBN	微生物量碳/ 微生物量磷 MBC/MBP	微生物量氮/ 微生物量磷 MBN/MBP
1	103.34±16.56 a	12.56±4.54 a	6.22±2.82 a	8.23±1.06 a	16.61±2.64 a	2.02±0.79 a
2	72.17±7.60 bc	12.79±8.22 a	6.07±2.94 a	5.64±3.64 ab	11.89±2.56 ab	2.11±1.68 a
4	32.29±1.90 c	9.17±4.21 b	6.37±2.66 a	3.52±2.25 b	5.07±1.95 b	1.44±0.52 a
6	62.68±3.29 bc	13.77±3.18 a	8.27±1.09 a	4.56±1.99 ab	7.58±1.03 b	1.67±0.60 a
9	89.27±21.15 b	16.01±2.77 a	7.35±2.57 a	5.58±0.35 ab	12.15±2.34 ab	2.18±0.92 a

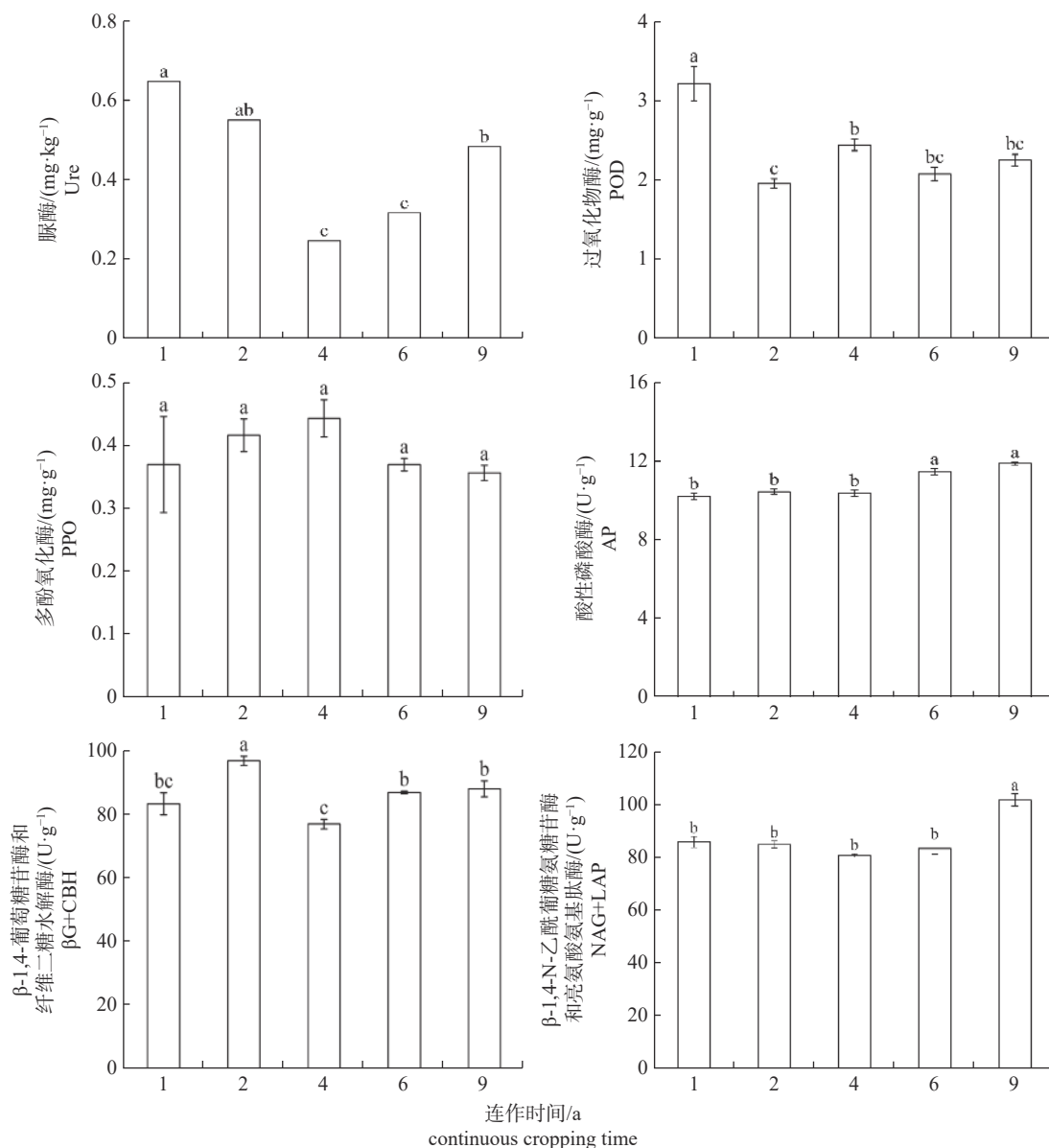
2.3 不同连作年限植烟土壤胞外酶活性的变化

由图 1 可知: 连作 1 a 时 Ure 活性最高, 分别是连作 2、4、6 和 9 a 的 1.18 倍、2.62 倍、2.04

倍和 1.34 倍, 随着连作年限的增加, Ure 活性先降低后升高, 在连作 4 a 时活性最低; 连作 1 a 时 POD 活性显著高于其他连作年限; 随着连作

年限的增加, 土壤 PPO 活性呈先升高后降低的趋势, 并在连作 4 a 时活性最高 (0.443 mg/g)、连作 9 a 时活性最低 (0.357 mg/g); 土壤 AP 活性随着连作年限的增加而逐年增加, 连作 9 a 时活性最高 (11.91 U/g); 与碳循环相关的土壤 β G 和

CBH 活性在连作 4 a 时最低; 与氮循环相关的土壤 NAG 和 LAP 活性随着连作年限的增加总体变化趋势不显著, 在连作 1~6 a 时差异不显著, 在连作 9 a 时其活性显著升高。



注: 不同小写字母表示显著差异 ($P<0.05$); 下同。

Note: Ure. urease, POD. peroxidase, PPO. polyphenol oxidase, AP. acid phosphatase, β G. β -1,4-glucosidase, CBH. cellobiohydrolase, NAG. β -1,4-N-acetylglucosaminidase, LAP. leucine arylamidase; different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$); the same as below.

图 1 不同连作年限的植烟土壤胞外酶活性变化

Fig. 1 Changes of extracellular enzymes activities of tobacco-planting soil under different continuous cropping years

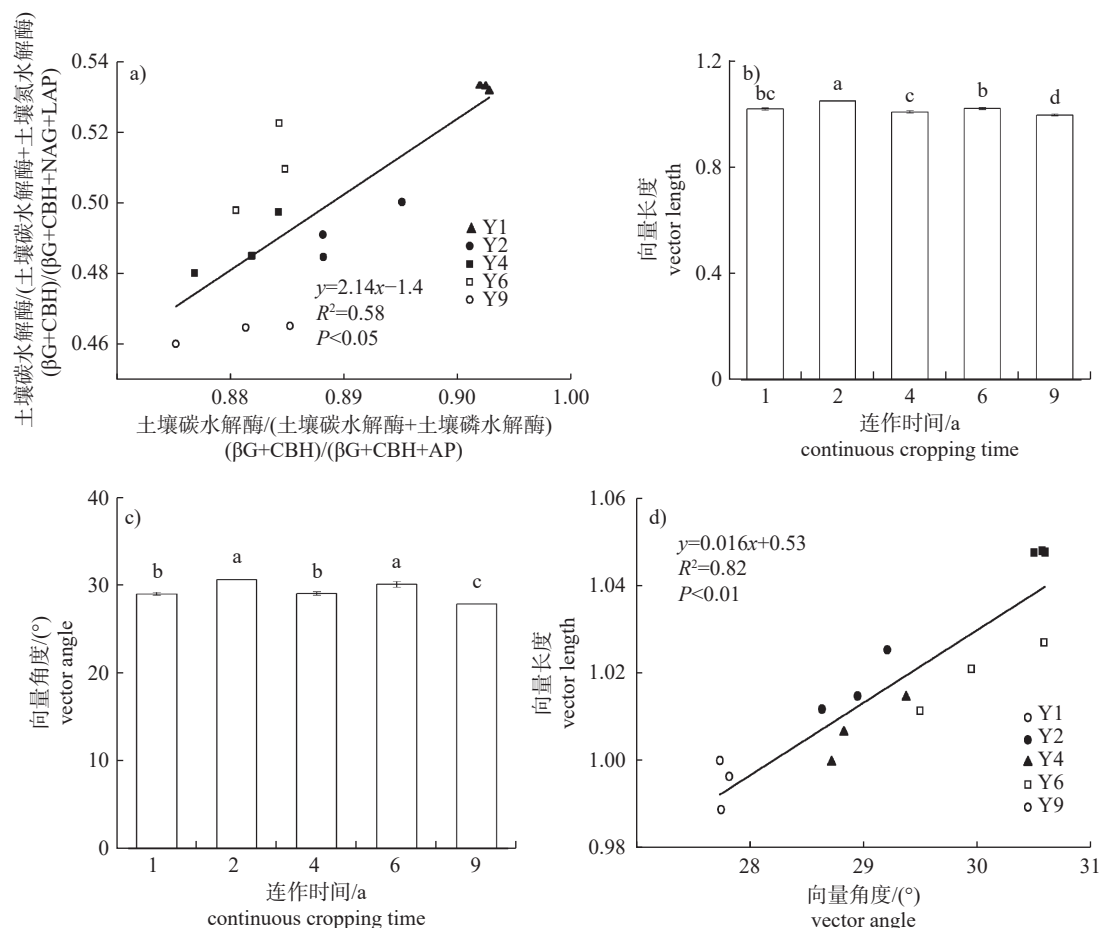
2.4 不同连作年限植烟土壤胞外酶化学计量分析

不同连作年限土壤胞外酶的化学计量特征变化不同。由图 2a 可知: 连作 1、4 和 6 a 土壤中, 微生物投入较多的资源用于合成驱动有机碳

矿化的 β -1,4-葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶 (β G+CBH), 从而提高土壤中碳源的获取效率。由图 2b 可知: 向量长度的范围为 0.995~1.048, 最大值为连作 2 a 的土壤。由图 2c 可知: 向量角度的范围

为 $27.76^{\circ}\sim 30.55^{\circ}$, 均小于 45° , 说明连作植烟土壤中微生物受氮限制较大。由图 2d 的线性回归

方程可知: 向量长度和角度呈极显著正相关 ($P<0.01$)。



注: Y1、Y2、Y4、Y6 和 Y9 分别表示连作 1、2、4、6 和 9 a; 下同。

Note: Y1, Y2, Y4, Y6 and Y9 indicates with 1, 2, 4, 6 and 9 years continuous cropping, respectively; the same as below.

图 2 不同连作年限植烟土壤胞外酶化学计量特征比较分析

Fig. 2 Comparative analysis of the chemometric characteristics of extracellular enzymes in tobacco-planting soils with different continuous crop years

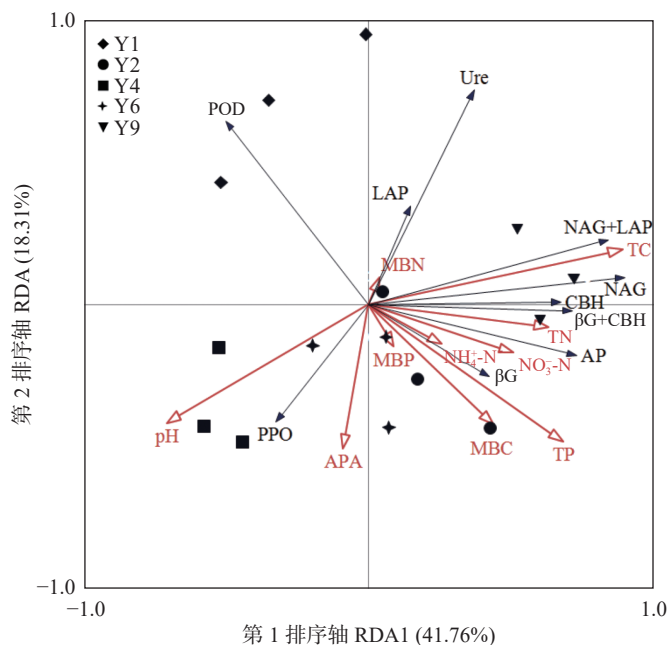
2.5 长期连作下土壤胞外酶活性与土壤理化性状的关系

由图 3 可知: RDA 分析的前两轴共解释了土壤胞外酶活性和根际土壤化学性状变量间 60.07% 的变异, 其中 RDA1 和 RDA2 分别能解释 41.76% 和 18.31% 的环境变量。土壤胞外酶活性的变异能够被 TC 含量解释 34.10% ($F=2.7$, $P=0.018$), 能被 pH 值解释 26.01% ($F=4.6$, $P=0.018$), 能被 TP 含量解释 24.90% ($F=4.3$, $P=0.036$)。连作 1 a 分布在第 2 象限, 连作 2 和 9 a 分布在 1、4 象限, 连作 4 a 分布在第 3 象限, 连作 6 a 分布在 3、4 象限。由箭头长度和箭头间的夹角可以看出: 土壤 TC 含量与 NAG、Ure、LAP、CBH

活性呈正相关, 且与 NAG 活性的相关性最高; 土壤 TN 含量、TP 含量分别与 AP 活性、βG 活性呈显著正相关, 且相关性最高; 氮获取相关的酶 NAG 和 LAP 活性与土壤 TC、TN、TP 含量均显著正相关。

3 讨论

前人针对连作障碍开展了较多研究, 明确了连作障碍是植物与土壤生态系统诸多因素作用下长期互作的结果^[5, 13, 20]。土壤中养分含量变化也是衡量土壤肥力和健康的重要指标, 在本研究中, 植烟土壤的 TC、TN 和 TP 含量均呈先降低后升高的趋势, 不同连作年限之间存在差异, 这与杜



注: TC. 有机碳, TN. 全氮, TP. 全磷, NO_3^- -N. 硝态氮, NH_4^+ -N. 铵态氮, MBC. 微生物量碳, MBN. 微生物量氮, MBP. 微生物量磷, APA. 有效磷, LAP. 氮水解酶, POD. 过氧化物酶, Ure. 脲酶, PPO. 多酚氧化酶, AP. 酸性磷酸酶, βG . β -1,4-葡萄糖苷酶, NAG. β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶, LAP. 亮氨酸氨基肽酶, CBH. 纤维二糖水解酶; 红色箭头表示土壤肥力属性, 黑色箭头表示土壤胞外酶活性。

Note: TC. organic carbon, TN. total nitrogen, TP. total phosphorus, NO_3^- -N. nitrate nitrogen, NH_4^+ -N. ammonium nitrogen, MBC. microbial biomass carbon, MBN. microbial biomass nitrogen, MBP. microbial biomass phosphorus, APA. effective phosphorus, LAP. nitrogen hydrolase, POD. peroxidase; red arrows indicate soil fertility properties, black arrows indicate soil extracellular enzyme activity.

图 3 烟田根际土壤肥力属性与胞外酶活性间的冗余分析

Fig. 3 Redundancy analysis of extracellular enzyme activities in the rhizosphere physical and chemical properties of tobacco-planting soil

杏蓉等^[13]、王鹏等^[23]和王棋等^[24]的研究结论相似。本研究土壤的 pH 值为 5.68~6.43, 处于烟草种植的最适宜 pH 范围 (5.5~6.5)^[19]。此外, 氮素对于农作物的生长至关重要, NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 是大部分作物主要的氮素来源。本研究中, 连作 1~4 a 植烟土壤的 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量均下降, 土壤肥力降低; 而连作 4 a 后土壤养分含量又逐渐上升, 即随着连作年限增加, 部分养分会在土壤中积累, 出现土壤养分含量增加的现象, 这可能是由于土壤发生连作障碍后导致施入土壤的肥料无法被烤烟充分吸收, 使土壤中积累了较多的氮和磷。

韩翠莲等^[25]对不同连作年限马铃薯土壤中酶活性的研究发现: 连作 6 a 内, 土壤中 Ure 和 AP 活性随连作年限的增加呈先升高后降低的趋势, 且均在马铃薯连作 2 a 时活性最高; 土壤中 POD 活性则表现为随着马铃薯连作年限的增加而显著下降。苜蓿连作有利于土壤蔗糖酶、磷酸酶和 Ure 活性升高, 而对 POD 的影响不明显^[26]。在草莓连作过程中, Ure 活性的变化呈先升后降的

趋势, 蔗糖酶活性则呈升高的趋势^[27]。通过以上研究可以看出: 不同作物连作对土壤胞外酶活性的影响存在明显差异。Ure 作为植烟土壤中分解铵类物质的酶, 为烟草生长提供氮源, 保证烟株正常生长^[20]。本研究中, 连作前 4 a Ure 的活性呈下降趋势, 与张迪等^[28]的研究结果相同, 但在连作 4 a 后呈现上升趋势。PPO 能够促进土壤中酚类物质降解, 并且能够保护植物生长免受生物和非生物的胁迫^[29], 本研究中随着连作年限的增加 PPO 活性逐渐降低。 βG 和 CBH 在连作 2 a 时活性最强, 在连作 4 a 后活性呈增强趋势, 这可能是由于土壤中含碳化合物随着连作年限增加逐渐积累使酶活增强; 连作 1~6 a 间 NAG 和 LAP 的活性没有显著变化; 而 AP 活性则一直呈现增长趋势。本研究表明: 不同连作年限植烟土壤的胞外酶活性变化不同, Ure、PPO、 βG 和 CBH 以及 NAG 和 LAP 变化的转折点均在连作 4 a, 其中氮水解酶随连作年限的增加变化不显著, 这与蔡秋燕等^[30]的研究结果不完全一致, 其研究发现植烟土壤胞外酶活性随着连作年限的延长呈不同

程度地下降。但杜杏蓉等^[13]的研究发现:烤烟连作5 a后,紫色土、水稻土和红壤的POD活性均显著下降,但红壤的蔗糖酶活性则增加,紫色土、水稻土和红壤的Ure和磷酸酶活性均有所增加,其中,紫色土的Ure活性增幅最小、磷酸酶活性增幅最大。分析以上研究结果不同的原因可能与不同类型土壤的质地有关,不同质地的土壤其机械组成不同,而土壤胞外酶活性与土壤黏粒含量呈正相关^[31],土壤质地越黏重,土壤胞外酶的活性越强,反之,土壤粒径越大,其土壤胞外酶尤其是水解酶的活性越弱。

土壤微生物量是指土壤中生存的活体微生物总量,具有很强的动态性,是土壤中最活跃的部分^[28],能够反映土壤肥力的高低。本研究中MBC和MBN含量随着连作年限的增加呈先增后降趋势,可能是短时间连作(1~4 a)使烤烟根系受到的影响较小,而长期连作(6~9 a)使得土壤肥力下降,土壤中的营养物质含量随之降低,微生物数量减少,导致生物量降低。研究表明:影响MBC、MBN和MBP含量变化的环境因子很多,如土壤含水量、TC含量和TN含量等^[16, 32]。冗余分析显示:MBC、MBN、MBP与TC、TN、TP均呈正相关关系。MBC代表土壤微生物量碳,MBN代表土壤供氮能力,碳氮比越低,反映出土壤氮素具有较高的生物有效性,其利用效率较高。本研究中MBC/MBN的变化趋势与有机碳的变化趋势基本相同,这可能是由于连作条件下,烤烟根际微生态环境恶化,微生物种群区系失衡,病原微生物大量繁殖所致。后续的研究需加强对连作土壤中病原微生物的研究。

4 结论

随着连作年限的增加,土壤TC、TN、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量呈先减少后增加的变化趋势,且在连作4 a时最低。连作土壤pH值在5.68~6.43之间,整体呈下降趋势。因此,连作4 a的植烟土壤理化性状最差。在烤烟连作4 a后,土壤pH和碳、氮、磷元素发生变化,且与土壤氮循环相关的土壤胞外酶活性增加,将土壤中的有机氮转化为无机氮以保持土壤中的氮平衡。

[参考文献]

[1] SIERRA N, BATTEY J N D, OUADI S, et al. The to-

bacco genome sequence and its comparison with those of tomato and potato[J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 3833. DOI: [10.1038/ncomms4833](https://doi.org/10.1038/ncomms4833).

[2] 闫新甫,孔劲松,罗安娜,等.近20年全国烤烟产区种植规模消长变化分析[J].*中国烟草科学*, 2021, 42(4): 92. DOI: [10.13496/j.issn.1007-5119.2021.04.014](https://doi.org/10.13496/j.issn.1007-5119.2021.04.014).

[3] 高林,王新伟,申国明,等.不同连作年限植烟土壤细菌和真菌群落结构差异[J].*中国农业科技导报*, 2019, 21(8): 147. DOI: [10.13304/j.nykjdb.2018.0660](https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2018.0660).

[4] LI S L, XU C, WANG J, et al. Cinnamic, myristic and fumaric acids in tobacco root exudates induce the infection of plants by *Ralstonia solanacearum*[J]. *Plant and Soil*, 2017, 412(1/2): 381. DOI: [10.1007/s11104-016-3060-5](https://doi.org/10.1007/s11104-016-3060-5).

[5] 卢维宏,张乃明,包立,等.我国设施栽培连作障碍特征与成因及防治措施的研究进展[J].*土壤*, 2020, 52(4): 65. DOI: [10.13758/j.cnki.tr.2020.04.001](https://doi.org/10.13758/j.cnki.tr.2020.04.001).

[6] 周倩怡,李屹,韩睿,等.根际促生菌缓解园艺作物连作障碍的研究进展[J].*生态学杂志*, 2022, 41(9): 1845. DOI: [10.13292/j.1000-4890.202209.018](https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.202209.018).

[7] DARYL L M, ROBERT L S. A theoretical model of litter decay and microbial interaction[J]. *Ecological Monographs*, 2006, 76(2): 151. DOI: [10.2307/27646035](https://doi.org/10.2307/27646035).

[8] SINSABAUGH R L, HILL B H, FOLLSTAD S J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2009, 462(7274): 122. DOI: [10.1038/nature08632](https://doi.org/10.1038/nature08632).

[9] ROBERT L S, JENNIFER J F S. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43(1): 313. DOI: [10.1146/annurev-ecolsys-071112-124414](https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-071112-124414).

[10] 刘姣姣,何静,陈伟,等.花椒连作对土壤化学性质及酶活性的影响[J].*分子植物育种*, 2019, 17(22): 7545. DOI: [10.13271/j.mpb.017.007545](https://doi.org/10.13271/j.mpb.017.007545).

[11] 刘善江,夏雪,陈桂梅,等.土壤酶的研究进展[J].*中国农学通报*, 2011, 27(21): 1. DOI: [10.11924/j.issn.1000-6850.2011-0787](https://doi.org/10.11924/j.issn.1000-6850.2011-0787).

[12] MOMMER L, KIRKEGAARD J, VAN RUIJVEN J. Root-root interactions: towards a rhizosphere framework[J]. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(3): 209. DOI: [10.1016/j.tplants.2016.01.009](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.009).

[13] 杜杏蓉,李运国,邓小鹏,等.连作对不同类型植烟土壤化学性状、酶活性及细菌群落的影响[J].*中国烟草科学*, 2021, 42(5): 30. DOI: [10.13496/j.issn.1007-5119.2021.05.005](https://doi.org/10.13496/j.issn.1007-5119.2021.05.005).

[14] KÖNÖNEN M, JAUHIAINEN J, STRAKOVÁ P, et al. Deforested and drained tropical peatland sites show poorer peat substrate quality and lower microbial biomass and activity than unmanaged swamp forest[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 123: 229. DOI: [10.1016/j.soilbio.2018.04.028](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.04.028).

[15] 李万年,黄则月,赵春梅,等.望天树人工幼林土壤微生物量碳氮及养分特征[J].*北京林业大学学报*, 2020,

- 42(12): 51. DOI: [10.12171/j.1000-1522.20200191](https://doi.org/10.12171/j.1000-1522.20200191).
- [16] 魏猛, 唐忠厚, 张爱君, 等. 长期不同施肥对潮土微生物量碳、氮的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(22): 307. DOI: [10.15889/j.issn.1002](https://doi.org/10.15889/j.issn.1002).
- [17] 朱利霞, 陈居田, 徐思薇, 等. 生物炭施用下土壤微生物量碳氮的动态变化[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(8): 193. DOI: [10.13304/j.nykjdb.2020.0416](https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2020.0416).
- [18] 张健, 郭倩, 孙一铭, 等. 武夷山不同海拔毛竹林土壤碳氮磷的生态化学计量特征[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2022, 51(3): 367. DOI: [10.13323/j.cnki.j.fafu\(nat.sci.\).2022.03.010](https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).2022.03.010).
- [19] 肖建强, 张维维, 于立忠, 等. 辽东山区次生林林窗大小对土壤微生物量碳、氮、磷的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(11): 3043. DOI: [10.13292/j.1000-4890.201711.009](https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.201711.009).
- [20] 姜永雷, 肖雨, 邓小鹏, 等. 微生物菌剂对烟草连作土壤理化性质及土壤胞外酶活性的影响[J]. 中国烟草学报, 2022, 28(4): 59. DOI: [10.16472/j.chinatobacco.2021.239](https://doi.org/10.16472/j.chinatobacco.2021.239).
- [21] MOORHEAD D L, RINKES Z L, SINSABAUGH R L, et al. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme-based decomposition models[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 223. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00223](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00223).
- [22] SINSABAUGH R L, HILL B H, SHAH J J F. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. *Nature*, 2009, 462(7274): 795. DOI: [10.1038/nature09548](https://doi.org/10.1038/nature09548).
- [23] 王鹏, 孟蕾, 张吉立, 等. 不同连作时期对烤烟氮素吸收和利用的影响[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(4): 75. DOI: [10.3969/j.issn.1007-5119.2012.04.016](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5119.2012.04.016).
- [24] 王棋, 徐传涛, 王昌全, 等. 烤烟连作对土壤生态化学计量特征的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2020, 37(5): 702. DOI: [10.13254/j.jare.2019.0163](https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0163).
- [25] 韩翠莲, 霍铁珍, 田志强. 不同连作年限对马铃薯土壤环境及产量的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 83. DOI: [10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.021](https://doi.org/10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.021).
- [26] 张丽琼. 长期轮作与施肥对土壤肥力的影响及其综合评价[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [27] 赵帆, 赵密珍, 王钰, 等. 草莓不同连作年限土壤养分及微生物区系分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(16): 110. DOI: [10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.027](https://doi.org/10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.027).
- [28] 张迪, 李冬, 李俊营, 等. 种植模式对土壤酶活性与烤烟光合特性的影响[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(2): 250. DOI: [10.16178/j.issn.0528-9017.20210203](https://doi.org/10.16178/j.issn.0528-9017.20210203).
- [29] SULLIVAN M L. Beyond brown: polyphenol oxidases as enzymes of plant specialized metabolism[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 5: 783. DOI: [10.3389/fpls.2014.00783](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00783).
- [30] 蔡秋燕, 阳显斌, 孟祥, 等. 不同连作年限对植烟土壤性状的影响[J]. 江西农业学报, 2020, 32(10): 93. DOI: [10.19386/j.cnki.jxnyxb.2020.10.18](https://doi.org/10.19386/j.cnki.jxnyxb.2020.10.18).
- [31] 吴礼树. 土壤肥科学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [32] 王丽霞, 井涛, 殷晓敏, 等. 不同种植模式对香蕉根区土壤养分及可培养微生物数量的影响[J]. 中国南方果树, 2020, 49(4): 80. DOI: [10.13938/j.issn.1007-1431.20190647](https://doi.org/10.13938/j.issn.1007-1431.20190647).

责任编辑: 何承刚