

耕作措施对玉米田耕层土壤微生物群落 功能多样性的影响

陆思旭¹, 贺丽燕¹, 王旭东^{1,2}

(1.西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2.农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘要:为研究秸秆还田基础上不同耕作措施对土壤微生物群落功能多样性的影响, 本文以渭北旱塬玉米田为研究对象, 采用 Biolog-ECO 方法研究了 6 种耕作措施, 即连年翻耕 (C/C)、连年免耕 (N/N)、连年深松 (S/S)、免耕/深松隔年轮耕 (N/S)、翻耕/免耕隔年轮耕 (C/N) 和深松/翻耕隔年轮耕 (S/C) 对土壤微生物碳源代谢能力的影响。结果表明, 不同耕作措施下碳源代谢活性 (AWCD) 随培养时间的延长均逐渐增加, 免耕、少耕的各耕作处理下碳源代谢活性较 C/C 处理显著提高了 12.70%~54.54%, 其中 N/S 和 N/N 处理的微生物多样性指数 (丰富度指数、Shannon-Wiener 指数和 Simpson 指数) 显著高于 C/C 处理。主成分分析对第 1 和第 2 主成分起分离作用的主要碳源是氨基酸类、糖类和羧酸类物质, 且是该地区土壤微生物利用的主要碳源。冗余分析表明有机碳 (SOC) 是影响微生物碳源代谢特征的主要因素。研究表明, 从微生物群落碳源代谢角度考虑, N/S 处理下的土壤微生物活性和功能多样性较高, 是适宜该地区的耕作措施。

关键词:玉米田; 耕层土壤; 耕作措施; 土壤微生物; 功能多样性; 碳源代谢活性; 碳源利用

中图分类号:S154.3; S36 **文献标志码:**A

Effects of different tillage measures on metabolic functional diversity of soil microbial community in surface soil of maize field

LU Sixu¹, HE Liyan¹, WANG Xudong^{1,2}

(1. College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Key Laboratory of Plant Nutrition and Agri-Environment in Northwestern China, Ministry of Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to study the effects of different tillage measures on soil microbial community functional diversities with straw-return in the field, this study investigated the functional diversity of the microbial community at six different tillage measures in the maize field of Weibei dryland by using Biolog-ECO analysis. There were six tillage patterns, including conventional tillage (C/C), no-tillage (N/N), subsoiling tillage (S/S), no-tillage/subsoiling tillage (N/S), conventional tillage/no-tillage (C/N), and subsoiling tillage/conventional tillage (S/C). The results showed that the carbon metabolic activity of different tillage measures increased gradually with culturing time. Compared with C/C treatment, the AWCD values of no-tillage and mini-tillage increased by 12.70%~54.54%. The biodiversity indices of N/S and N/N treatments were significantly higher than those of the C/C treatment. Principal component analysis showed that the determinant carbon sources for the differences were amino acids, carbohydrates, and carboxylic acids for the first and second principal components, and these were main carbon sources for soil microbial utilization in the region. RDA analysis showed that SOC was the main factor that controlled the metabolic activity of microbial carbon. From the perspective of carbon source utilization of soil microbial community, the N/S treatment had greater microbial functional diversity, and was the most suitable measure for the local soil conditions.

Keywords: maize field; topsoil; tillage measures; soil microorganism functional diversity; carbon source; metabolic activity; carbon sources utilization

土壤微生物作为生态系统中最重要活跃组分^[1-2],参与土壤中的生化反应,是衡量土壤质量和作物生产力的重要指标之一^[3-4]。丰富的微生物群落能够维持土壤生态系统的稳定,但土壤微生物易受到土壤环境的影响,尤其是耕作措施的改变在调控土壤理化性质的同时,常会对土壤微生物多样性产生不同的影响,这主要是由群落代谢功能的差异引起的。因此,耕作方式对土壤微生物功能多样性的影响也越来越受到国内外学者们的关注。

渭北旱塬位于黄土高原南部台塬和残垣沟壑区,该地区长期以来的耕作以传统翻耕为主,不仅加速土壤有机质的矿化,造成土壤肥力降低,而且也容易引起水蚀和风蚀,不利于土壤水分的保持^[5]和作物的生长。为了降低长期翻耕带来的不利因素,免耕、深松和秸秆还田等保护性耕作在该地区逐渐推广应用,并且在蓄水保墒、培肥地力、作物增产方面已产生了较好的效果^[5-6],土壤耕作在改变土壤结构的同时常会对土壤微生物群落产生影响,因此研究保护性耕作下土壤微生物多样性的变化,对渭北旱区农田土壤的可持续发展具有重要意义。目前国内外针对耕作措施对微生物多样性的影响已有大量研究,黄国勤^[7]、杨江山^[8]和 Lynne^[9]等学者研究发现,免耕、少耕等措施有利于土壤大团聚体的形成,秸秆覆盖在地表既可以为土壤微生物提供能源又减少了土壤水分的蒸发,为微生物的生长繁殖创造了良好的生境条件,并可在一定程度上增加土壤表层微生物量及大量的根系分泌物,增加土壤微生物群落的丰富度和多样性,增强土壤微生物群落的稳定性^[10]。张志政^[11]、何润兵^[12]和李景^[13]等通过研究发现深松可以降低土壤容重,增强土壤通透性,改变土壤的物理结构,引起土壤水、肥、气、热等变化,进而影响土壤微生物学特性,增加微生物数量和活性。而传统的翻耕措施对土壤翻动频率高、强度大,破坏了土壤结构,减少土壤大团聚体数量,加速了土壤呼吸作用和土壤水分的蒸发,降低土壤有机质含量^[14],导致微生物活性降低。

不同耕作影响到土壤有机质含量的高低,而有机质和微生物方面存在着相互影响。因此,本文以渭北旱塬玉米田长期不同耕作定位试验为研究对象,运用 Biolog-ECO 微平板方法研究分析了不同耕作模式下(单一耕作模式如翻耕、免耕、深松;轮耕模式如免耕/深松、深松/翻耕、翻耕/免耕)土壤微

生物功能多样性的变化,同时探讨了微生物碳源代谢多样性与土壤有机碳及其活性组分之间的相关关系,揭示不同耕作方式对土壤微生物多样性的影响,以期从微生物角度为旱作农田耕作模式的优化以及构建合理的耕层土壤结构提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

本定位试验位于渭北旱塬东部的陕西省合阳县甘井镇(106°04'E, 35°19'N)。试验区属典型的黄土残塬沟壑半湿润易旱区,年均气温 11.5℃,年降水量 500~600 mm,降雨年际和季节变异性较大,主要集中在 7—9 月,是典型的黄土高原旱作雨养农业区。试验地地势平坦,全年无灌溉,土壤类型为黑垆土,属于中壤土,黄土母质疏松、深厚并含有丰富的矿质养分,蓄水保肥能力强。试验前 0~10 cm 土层土壤理化性质为:土壤 pH 值 7.9,容重 1.38 g·cm⁻³,有机质 7.1 g·kg⁻¹,全氮 0.74 g·kg⁻¹,碱解氮 40.62 mg·kg⁻¹,速效磷 3.77 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计

本试验于 2007—2018 年进行长期定位试验,采用春玉米连作一年一熟制的种植制度。试验采用随机区组设计,在作物收获后秸秆全部粉碎还田基础上实施 6 种耕作处理:连年翻耕(C/C)、连年深松(S/S)、连年免耕(N/N)、免耕/深松轮耕(N/S)、深松/翻耕轮耕(S/C)和翻耕/免耕轮耕(C/N)。其中,翻耕(C)处理为采用传统铧式犁(型号为 1LF-230 型双向反转二铧犁,耕宽 60 cm,耕深 20~30 cm)将土壤全面翻耕 20~25 cm,秸秆翻埋于土壤中,地表疏松裸露度过休闲期;深松(S)处理采用深松机(型号为 1S2200,耕宽 50 cm,耕深 30~40 cm)进行深松,深度为 30~35 cm,秸秆覆盖地表度过休闲期;免耕(N)处理在玉米收获后将秸秆粉碎覆盖地表度过休闲期,不采取任何土壤耕作措施。每种耕作处理设 3 个重复,小区面积为 112.5 m²(22.5 m×5 m),2007—2018 年土壤耕作顺序见表 1。

春玉米每年在 4 月下旬播种,9 月下旬收获。供试品种为郑单 958,播种量为 75 kg·hm⁻²,种植密度为 67 500 株·hm⁻²。各耕作处理的施肥量相同。施肥量为:N 150 kg·hm⁻²、P₂O₅ 120 kg·hm⁻²、K₂O 90 kg·hm⁻²,其中氮、磷、钾肥分别为尿素、磷酸二铵和氯化钾。50%氮肥、全部磷肥和钾肥

表 1 2007—2018 年土壤耕作次序
Table 1 The sequence of soil tillage systems from 2007 to 2018

处理 Treatment	试验年度 Experimental year											
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
C/C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
S/S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
N/N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
N/S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S
S/C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
C/N	C	N	C	N	C	N	C	N	C	N	C	N

注: N: 免耕; S: 深松; C: 翻耕。

Note: N: No-tillage; S: Subsoiling; C: Conventional tillage.

在播前施用, 剩余 50% 氮肥在大喇叭口期追施。其他田间管理措施同当地大田生产。

1.3 土壤样品的采集与分析

于 2018 年春玉米收获后, 用土钻采集 0~10 cm 土层的样品, 其中每个小区按“S”形采样法采集 6 个点, 去除土壤中石砾和植物残茬等杂物现场混匀为 1 份土壤样品, 3 个重复小区采集 3 个重复样品。置于密封袋放入冰盒中带回实验室。土样带回实验室后分成两份: 一份过 2 mm 筛后置于 4℃ 冰箱保存, 用于测定微生物功能多样性、微生物量碳和水溶性有机碳含量; 另一份置于通风、干燥、阴凉的室内风干, 将风干样过 0.25 mm 和 1 mm 筛用于测定有机碳和易氧化有机碳含量。

1.3.1 土壤因子测定 土壤微生物量碳用氯仿熏蒸浸提法^[15]测定; 水溶性碳用去离子水浸提法^[16]测定; 易氧化有机碳用 333 mmol · L⁻¹ KMnO₄ 氧化法^[17]测定; 土壤颗粒有机碳的提取采用六偏磷酸钠分散法^[18]测定, 土壤总有机碳用重铬酸钾-外加加热法^[19]测定。

1.3.2 土壤微生物群落功能多样性的测定 土壤微生物功能多样性采用 Biolog-ECO 平板法测定, 具体操作步骤参照 Classen^[20] 的方法。称取相当于 5.0 g 风干土壤的新鲜土壤样品置于无菌三角瓶中, 加入 45 mL 0.85% 灭菌的 NaCl 溶液, 封口, 震荡 30 min (160 r · min⁻¹), 静置后去其上清液, 在超净工作台上, 采用十倍稀释法, 用无菌 NaCl 溶液 (0.85%) 稀释至 10⁻³, 随后用 8 通道移液器将上述稀释液加入 Biolog-ECO 微平板 (ECO Micro Plate, 美国 Marix Technologies Corporation) 上, 每孔 150 μL。将接种好的微平板放入 25℃ 条件下培养, 每 24 h 用 Biolog 微生物自动读数装置读取 Biolog-ECO 微平板在 590 nm 波长下的吸光值, 连续测定 10 d。

1.4 数据处理与统计分析

Biolog-ECO 平板每孔的平均颜色变化率 (average well color development, AWCD) 是反映土壤

中可培养微生物对不同底物 (碳源) 的利用能力, 在一定程度上反映了土壤微生物的代谢活性, AWCD 值越大, 表示土壤微生物利用碳源的能力越强, 代谢活性越高^[21], 计算公式如下:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / n \quad (1)$$

式中, C_i 为各反应孔的吸光值; R 为对照孔的吸光值; $C_i - R < 0$ 的反应孔在计算中默认为零; n 为碳源数目, 为 31。

土壤微生物群落丰富度指数 (S) 表征土壤微生物的丰富度, 其值越高表明微生物群落越丰富, 采用反应孔 (吸光值 ≥ 0.25 则代表该孔的碳源被利用) 的数目表示。

Shannon-Wiener 多样性指数 (H)、均匀度指数 (E) 和 Simpson 指数 (D) 表征微生物多样性程度, 计算公式如下:

Shannon-Wiener 多样性指数 (H):

$$H = - \sum (P_i \times \ln P_i) \quad (2)$$

式中, P_i 表示第 i 孔相对吸光值与整板平均相对吸光值总和的比值, 即:

$$P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R) \quad (3)$$

均匀度指数 (E):

$$E = H / \ln S \quad (4)$$

Simpson 指数 (D):

$$D = 1 - \sum (P_i)^2 \quad (5)$$

本试验采用培养 168 h 的数据进行土壤微生物功能多样性的计算。

试验数据采用 Excel 2010 进行初步处理分析, 采用 SPSS 19.0 进行方差分析及差异显著性检验 (LSD 法) 和主成分分析, Canoco 5.0 软件进行冗余 (RDA) 分析, 图形采用 Origin 8.5、Canoco 5.0 绘制。

2 结果与分析

2.1 不同耕作处理下土壤微生物群落的碳源代谢活性

6 种耕作处理的土壤 AWCD 值均随着培养时间

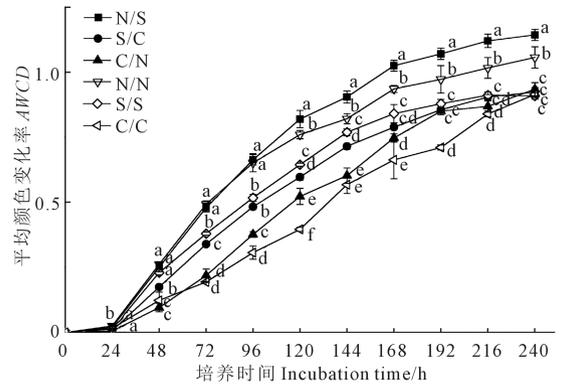
的延长呈现逐渐上升的趋势(图 1)。0~24 h 内各处理的 AWCD 值一直趋近于零,表明碳源在 24 h 之内基本未被利用,处于微生物适应期;培养 24~168 h 内,AWCD 值呈现急速上升趋势,表明土壤微生物逐渐适应了 Biolog 微平板的基质环境,进入对数生长期,此时碳源被微生物快速消耗,微生物代谢活性较强;培养 168 h 后,各处理的 AWCD 值增长速度逐渐减缓,土壤微生物的生长趋于稳定。不同耕作处理间土壤微生物群落的 AWCD 值在培养 48 h 开始出现显著差异,N/S 和 N/N 处理的 AWCD 值在 48~96 h 内接近,均显著高于 S/S、S/C、C/N 和 C/C 处理,在 120 h 时 N/S 处理的 AWCD 值达到最高,显著高于其他处理。在 168 h 处微生物进入生长稳定期,此时 N/S 处理的 AWCD 值较 N/N、S/S、S/C、C/N 和 C/C 处理分别高出 9.51%、21.90%、29.89%、37.13% 和 54.54% ($P<0.05$)。同时,N/N、S/S、S/C 和 C/N 处理的 AWCD 值也较 C/C 处理显著提高 41.12%、26.78%、18.98% 和 12.70%。因此,少耕和免耕的耕作方式可以显著提高土壤微生物的碳源代谢活性,且 N/S 处理的效果最佳。

2.2 不同耕作处理下土壤微生物群落的功能多样性指数

不同的多样性指数反映了土壤微生物群落功能多样性的不同方面。Shannon-Wiener 指数和均匀度指数越高表明微生物群落的多样性越高;Simpson 指数越大,表示微生物群落内的优势种越突出。由表 2 可知不同耕作措施下的土壤微生物群落功能多样性指数存在一定差异。与 AWCD 值相似,N/S、N/N 可以提高土壤的丰富度指数(S)、Shannon-Wiener 指数(H)和 Simpson 指数(D),且均与 C/C 处理达到显著差异($P<0.05$),而均匀度指数(E)较 C/C 处理有所降低($P<0.05$)。表明 N/S 和 N/N 处理的土壤微生物种群丰富,优势种群突出,对碳源的利用程度较高,但降低了群落的均匀度指数。

2.3 不同耕作处理下土壤微生物的碳源利用特征

根据 Biolog-ECO 微平板上碳源官能团的不同将 31 种碳源划分为 6 类,包括糖类(10 种)、氨基酸类(6 种)、羧酸类(7 种)、多聚物类(4 种)、多酚化合物类(2 种)和多胺类(2 种)^[22]。本试验对 168 h 处的吸光值进行土壤微生物碳源利用特征的计算,结果表明(图 2):各处理土壤微生物对 6 类碳源的利用程度依次为:氨基酸类>糖类>羧酸类>多聚物类>多胺类>多酚化合物类,可见氨基酸类、糖类和羧酸类物质是该地区土壤微生物利用的主要碳源。其中 N/S、N/N 和 S/S 处理土壤微生物对 6 类碳源的利用能力均大于 C/C 处理。与 C/C 处理相比,S/C 和 S/S 处理显著提高了对糖类、多聚物类和多胺类碳源的利用能力;N/N 处理显著提高了对糖类、羧酸类、多聚物类和多胺类碳源的利用能力;C/N 处理显著提高了对多胺类碳源的利用能力;N/S 处理显著提高了对各类碳源的利用能力。同时,N/S 处理对氨基酸类、多聚物类、多酚化合物类和多胺类碳源的利用能力也显著高于 N/N、S/C 和 C/N 处理。



注:图中不同小写字母表示同一时间点不同耕作处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the figure indicate that there are significant differences ($P<0.05$) between different tillage treatments at the same time point.

图 1 不同耕作处理下土壤微生物群落的平均颜色变化率
Fig.1 AWCD of the microbial community in different treatments

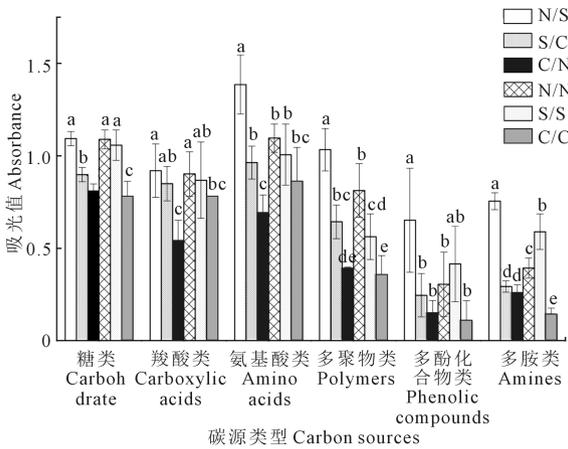
表 2 不同耕作处理的土壤微生物功能多样性指数

Table 2 Functional diversity indexes of soil microbial community in different treatments

处理 Treatment	S	H	E	D
N/S	26.00±1.73a	3.18±0.04a	0.98±0.01c	0.95±0.001a
S/C	23.33±1.53ab	3.10±0.07ab	0.98±0.02bc	0.95±0.003ab
C/N	21.33±3.21bc	3.10±0.05ab	1.01±0.01ab	0.95±0.004ab
N/N	25.00±1.73a	3.19±0.05a	0.99±0.01bc	0.95±0.004a
S/S	24.00±1.00ab	3.12±0.04ab	0.98±0.02bc	0.95±0.003a
C/C	19.33±1.53c	3.06±0.06b	1.03±0.02a	0.94±0.005b

注:表中同列标有不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Significant differences ($P<0.05$) among treatments are indicated by different lowercase letters. The same below.



注:不同小写字母表示同一碳源在不同耕作处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among tillage treatments in the same carbon sources ($P < 0.05$).

图 2 不同耕作处理下土壤微生物对六类碳源的利用状况
Fig.2 The utilization of six kinds of carbon sources in different treatments

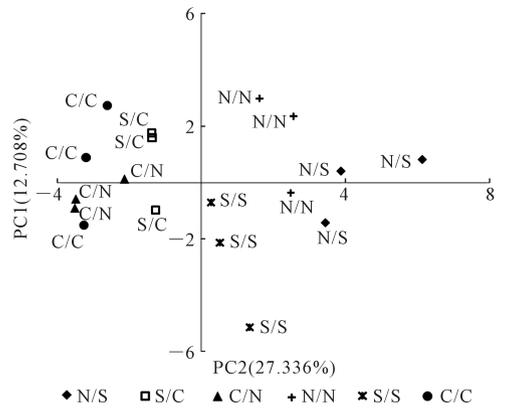
2.4 土壤微生物碳源利用的主成分分析

采用主成分分析来研究不同耕作处理下土壤微生物群落对 31 种碳源的利用情况。根据主成分个数的提取原则(相对应特征值大于 1 的主成分)共提取了前 10 个主成分,累积方差贡献率达到 90.71%,可以解释大部分原变量特征。其中第一主成分(PC1)的贡献率为 27.34%,权重最大;第二主成分(PC2)次之,贡献率分别为 12.71%,第 3~10 主成分的贡献率较小,分别为 3.65%~10.57%,因此本文选取前 2 个主成分来表征微生物群落的碳源代谢特征。

主成分分析还表明不同耕作处理的土壤微生物群落在 PC 轴上有明显的分布差异(图 3)。在 PC1 轴上, S/S、N/S 和 N/N 处理分布在正方向, C/C、C/N 和 S/C 处理分布在负方向。在 PC2 轴上, N/N、N/S、S/C 和 C/C 处理主要分布在正方向, C/N 和 S/S 处理主要分布在负方向。进一步进行方差分析(表 3)可知不同耕作处理在 PC1 和 PC2 上的得分系数出现显著差异。在 PC1 轴上, N/S、N/N、S/S、S/C 处理与 C/C 处理的分布差异显著,表明碳源利用方式不同。在 PC2 轴上, N/S、S/C、C/N、N/N 处理与 C/C 处理的分布差异不显著,表明碳源利用方式相近。

2.5 土壤微生物碳源利用与环境因子的冗余分析

选取土壤总有机碳(SOC)及其活性组分指标(易氧化有机碳 EOC、水溶性有机碳 WSOC、微生物量碳 MBC、颗粒有机碳 POC)作为环境因子变量与



注:同一耕作处理的 3 个点代表 3 个重复。

Note: Three points of the same tillage treatment represent three duplicates.

图 3 不同耕作处理下土壤微生物群落主成分分析
Fig.3 Principal component analysis of soil microbial community in different treatments

表 3 不同耕作处理的主成分得分系数

Table 3 The PC scores for different treatments

处理 Treatment	PC1	PC2
N/S	4.48±1.45a	-0.06±1.20ab
S/C	-1.34±0.06d	0.08±1.53a
C/N	-3.05±0.79e	-0.45±0.52ab
N/N	2.22±0.52b	1.66±1.78a
S/S	0.71±0.56c	-2.65±2.25b
C/C	-3.03±0.35e	0.70±2.13a

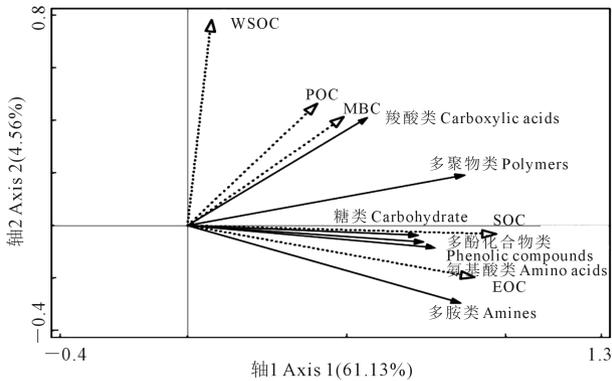
土壤微生物碳源利用特征进行冗余分析(RDA)。表 4 是不同耕作措施下土壤有机碳及活性组分指标,基本表现为免耕、深松以及两者相结合轮耕模式下的有机碳及其活性组分的含量高于传统翻耕措施,其中 N/S 处理下的 EOC、MBC 和 POC 与 C/C 处理相比均达到显著性差异。

冗余分析结果显示 Axis1 和 Axis2 的累积解释率达到 65.69%,特征根分别为 0.611 和 0.046,相关系数分别为 0.915 和 0.815,两排序轴对应的环境变量对于响应变量的解释贡献均达到统计学上的显著水平。如图 4 所示, Axis1 与 SOC、EOC、WSOC、MBC 和 POC 均呈正相关, Axis2 与 WSOC、POC 和 MBC 呈正相关,与 SOC 和 EOC 呈负相关。5 个碳指标的箭头连线均较长,且 SOC 和 EOC 与 Axis1 轴的夹角较小,表明土壤微生物碳源代谢与这两个碳指标的相关性较大,其中 SOC、EOC 对碳源利用类型具有显著影响。MBC 和 POC 与羧酸类碳源的相关性较大, SOC、EOC 与糖类、氨基酸类和多酚化合物类碳源的相关性较大,但 WSOC 与各类碳源的夹角相对较大,相关度较低。

表 4 不同耕作措施对土壤有机碳及其活性组分的影响

Table 4 Effects of different tillage measures on contents of soil organic carbon and fractions of soil active carbon

处理 Treatment	SOC/(g · kg ⁻¹)	MBC/(mg · kg ⁻¹)	WSOC/(mg · kg ⁻¹)	POC/(g · kg ⁻¹)	EOC/(g · kg ⁻¹)
N/S	16.06±0.45a	235.55±7.08ab	40.21±0.57ab	3.54±0.27a	1.70±0.10a
S/C	10.23±0.32cd	224.38±11.64bc	38.84±1.46b	2.30±0.32b	1.08±0.06d
C/N	10.35±0.41cd	227.06±6.79bc	39.29±2.29ab	3.83±0.30a	1.22±0.09c
N/N	12.41±0.43b	249.64±12.75a	41.94±1.94a	2.62±0.32b	1.51±0.05b
S/S	10.87±0.40c	234.61±5.34ab	39.31±2.41ab	2.46±0.14b	1.44±0.07b
C/C	9.84±0.55d	217.57±9.94c	38.11±0.89b	2.56±0.24b	0.98±0.07d



注:实线代表土壤微生物对 6 类碳源的利用,虚线代表环境因子(土壤有机碳及其组分指标)。SOC:土壤有机碳;EOC:易氧化有机碳;WSOC:水溶性有机碳;MBC:微生物量碳;POC:颗粒有机碳。

Note: The solid line represents the utilization of 6 types of carbon sources by soil microorganisms, and the dotted line represents environmental factors (soil organic carbon and its fractions). SOC: Soil organic carbon; EOC: Easily oxidizing organic carbon; WSOC: Water soluble organic carbon; MBC: Microbial biomass carbon; POC: Particulate organic carbon.

图 4 土壤微生物功能多样性的冗余分析

Fig.4 Redundancy analysis on the functional diversity indexes of soil microbial community

3 讨论

微生物在农田生态系统中起重要作用,其结构和功能的多样性在一定程度上反映了农田生态系统的基本状况^[4]。本研究发现,免耕和少耕等轮耕的耕作方式较传统翻耕显著提高了土壤微生物的碳源代谢活性(图 1),碳源代谢活性较高的土壤也具有较高的微生物多样性指数,N/S 和 N/N 处理的 Shannon-Wiener 指数、丰富度指数和 Simpson 指数均较高(表 2)。这主要与土壤扰动程度引起的土壤环境变化以及秸秆的还田量有关。有研究表明^[23],土壤耕作对土壤含水量、容重、pH 值和土壤全氮等有显著影响,土壤理化性质等的变化影响着微生物生存的微环境,进而影响土壤微生物群落的种类、活性和分布的关键因素。C/C 处理长期频繁地扰

动土壤,加快了表层土壤有机质的矿化^[24],导致大团聚体比例降低^[25],同时会引起水分的大量损失,破坏了微生物生存的土壤环境,使微生物的代谢活性降低。免耕和深松措施较翻耕减少了对土壤的扰动,改善了土壤结构和理化性质,有效降低耕作层的土壤容重,增加毛管孔隙的比例,使土壤能够容纳更多的水分,进而提高了微生物的代谢活性^[26]。N/S 处理的轮耕模式既避免了对耕层土壤过度扰动,也对土壤的通气以及透水性等理化性状和生物性状起到调控作用^[27],更大程度地保持了土壤原有的结构体,有利于土壤微生物代谢活性的维持,且 N/S 的秸秆还田量(14 433 kg · hm⁻²)高于其他处理(12 636 ~ 14 205 kg · hm⁻²),大量秸秆覆盖于地表,为土壤微生物提供了丰富的碳源和物质来源,因此微生物的碳源代谢活性达到最高。这与姬艳艳^[28]和邵洪峰^[29]等研究结果相似。但也有研究认为,过高的秸秆还田量(13 000 kg · hm⁻²)会对土壤微生物碳源代谢活性产生不利影响^[30],这与试验地的土壤类型、土壤肥力、气候条件等有关,东北地区黑土有机质含量高,秸秆还田量过高会导致土壤碳、氮比例失调,从而抑制了微生物代谢活性,而在本试验西北半湿润易旱区,黑垆土有机质含量低,接近全量秸秆还田后,可以增加土壤有机碳、活性有机碳和全氮含量,继而增加微生物活性。土壤微生物多样性的变化也通常受到土壤理化因子等环境因素的驱动^[31-33],前人研究结果显示^[5-6],西北黑垆土区秸秆还田后的少耕和免耕措施可以有效增加土壤有机碳含量,改善土壤理化性质,减少土壤中水分的蒸发,使植物生长代谢加快、根系分泌物增多,因此会促进土壤微生物的生长,增加其多样性。土壤微生物量与微生物群落结构具有显著相关性^[34]。一些研究也表明,免耕土壤的微生物 Shannon-Wiener 指数、丰富度指数和 Simpson 指数都显著高于传统耕作^[35-36]。如 Balota 等^[37]研究认为耕作强度的降低会增加土壤微生物多样性。张志政等^[11]的研究也发现,深松改善了耕层土壤物理结构,使土壤的微生物 Shannon-Wiener 指数、丰富

度指数和 Simpson 指数都显著提高。所以在秸秆还田下,少耕、免耕等耕作措施比传统翻耕更有利于维持土壤微生物的活性及多样性。

微生物对不同类群碳源的相对利用程度可以反映微生物的代谢功能类群^[38]。主成分分析结果显示,在秸秆还田基础上的6种耕作措施下土壤微生物利用的主要碳源为氨基酸类、糖类和羧酸类物质(图2),可能是因为秸秆还田后显著增加了氨基酸和单糖等物质的含量^[39],进而促进了以偏好氨基酸类、单糖类物质为碳源的微生物群落的生长发育,这与李春格^[40]和邵丽^[41]等的研究结果一致。根据已有研究认为玉米根系分泌物组分有利于土壤中偏好羧酸类碳源的微生物种群增长^[38,42]。不同耕作处理在 PC 轴坐标上的分布存在显著差异与在该轴上的碳源利用能力是相互对应的^[43]。其中 N/S 对氨基酸类、糖类和羧酸类碳源利用能力的显著提高是导致其代谢活性最强的原因之一,而 N/N 仅显著提高了对糖类和羧酸类碳源利用能力,S/S 和 S/C 仅显著提高了对糖类碳源的利用能力,这也是导致其碳源代谢活性较强的原因之一。充分说明氨基酸、糖类和羧酸这3类碳源是导致微生物代谢呈现差异的敏感碳源,这与吴迪等^[44]的研究结果一致。冗余分析结果表明,耕作方式对土壤微生物群落结构产生了影响;SOC 和 EOC 主要通过影响土壤微生物对糖类、多酚化合物类和氨基酸类碳源的利用来影响土壤微生物的碳源代谢特征,而土壤有机碳是影响微生物群落结构变化的关键因素^[45],所以以糖类、多酚化合物类和氨基酸类碳源为主要能源物质的微生物较活跃。这与 Li 等^[46]的研究结果一致,即土壤有机碳是引起微生物碳源代谢发生分异的重要因素。Chen 等^[34]研究发现,总有机碳和微生物生物量碳是影响土壤微生物群落结构的主要因素,土壤有机碳能够为土壤微生物提供丰富的碳源,影响土壤微生物群落结构。本研究结果与其相一致,也表明微生物碳源代谢与 SOC 的相关性较好,在一定条件下,土壤中较高的有机碳含量与较高的微生物活性和生物量是一致的。

4 结 论

秸秆还田基础上,免耕、少耕的土壤微生物碳源代谢活性显著高于翻耕,且相应的微生物多样性指数(丰富度指数、Shannon-Wiener 指数和 Simpson 指数)也显著高于翻耕处理,其中 N/S 处理的土壤微生物代谢活性和多样性指数均较高。土壤微生物对碳源利用的偏好因耕作方式不同有所差异,其

中氨基酸类、糖类和羧酸类物质是微生物主要利用的碳源,SOC 和 MBC 主要通过影响土壤微生物对糖类、氨基酸类和羧酸类碳源的利用来影响土壤微生物的碳源代谢,其中 N/S 轮耕处理对各类碳源的利用率都高于 C/C 处理。所以,N/S 轮耕是适宜该地区的推荐耕作模式。

参 考 文 献:

- [1] Li F L, Liu M, Li Z P, et al. Changes in soil microbial biomass and functional diversity with a nitrogen gradient in soil columns [J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 64:1-6.
- [2] 朱丹,张磊,韦泽秀,等.菌肥对青稞根际土壤理化性质以及微生物群落的影响[J].*土壤学报*,2014,51(3):627-637.
- [3] 张心昱,陈利顶,傅伯杰,等.农田生态系统不同土地利用方式与管理措施对土壤质量的影响[J].*应用生态学报*,2007,18(2):303-309.
- [4] 刘占锋,傅伯杰,刘国华,等.土壤质量与土壤质量指标及其评价[J].*生态学报*,2006,26(3):901-913.
- [5] 杨艳,刘丹,张霞,等.渭北旱塬不同耕作措施对土壤养分分布及作物产量的影响[J].*干旱地区农业研究*,2018,36(1):171-178.
- [6] 张霞,张育林,刘丹,等.种植方式和耕作措施对土壤结构与水分利用效率的影响[J].*农业机械学报*,2019,50(3):250-261.
- [7] 黄国勤,滨滨娟,王淑彬,等.稻田实行保护性耕作对水稻产量、土壤理化及生物学性状的影响[J].*生态学报*,2015,35(4):1225-1234.
- [8] 杨江山,张恩和,黄高宝,等.保护性耕作对麦药轮作土壤酶活性和微生物数量的影响[J].*生态学报*,2010,30(3):824-829.
- [9] Lynne C B, Stahl P D, Lindstrom M J, et al. Soil microbial properties under permanent grass, conventional tillage, and no-till management in South Dakota[J]. *Soil & Tillage Research*, 2003, 71(1):15-23.
- [10] Souza R C, Hungria M, Cantão, M E, et al. Metagenomic analysis reveals microbial functional redundancies and specificities in a soil under different tillage and crop-management regimes[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86:106-112.
- [11] 张志政,马森,张旭龙.深松对乌拉尔甘草根际土壤养分以及微生物群落功能多样性的影响[J].*生态学报*,2017,37(15):5137-5145.
- [12] 何润兵,李传友,王明武.深松对土壤理化性质和冬小麦生长特性的影响[J].*中国农机化学报*,2014,35(2):119-122.
- [13] 李景,吴会军,武雪萍,等.长期不同耕作措施对土壤团聚体特征及微生物多样性的影响[J].*应用生态学报*,2014,25(8):2341-2348.
- [14] Wang X B, Cai D X, Hoogmoed W B, et al. Developments in conservation tillage in rainfed regions of North China[J]. *Soil & Tillage Research*, 2006, 93(2):239-250.
- [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,2000:228-237.
- [16] Ghani A, Dexter M, Perrott K W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(9):1231-1243.
- [17] 袁可能.土壤有机矿质复合体研究:I.土壤有机矿质复合体中腐殖

- 质氧化稳定性的初步研究[J]. 土壤学报, 1963, 11(3): 286-293.
- [18] Cambardella C A, Elliott E T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence[J]. Soil Science Society of America Journal, 1992, 56(3): 777-783.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-34.
- [20] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 44(3): 319-328.
- [21] 张恩平, 田悦悦, 李猛, 等. 长期不同施肥对番茄根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(14): 5027-5036.
- [22] 周凤, 许晨阳, 金永亮, 等. 生物炭对土壤微生物 C 源代谢活性的影响[J]. 中国环境科学, 2017, 37(11): 4202-4211.
- [23] Hao M M, Hu H Y, Liu Z, et al. Shifts in microbial community and carbon sequestration in farmland soil under long-term conservation tillage and straw returning[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 136: 43-54.
- [24] 张霞, 杜昊辉, 王旭东, 等. 不同耕作措施对渭北旱塬土壤碳库管理指数及其构成的影响[J]. 自然资源学报, 2018, 33(12): 2223-2237.
- [25] 刘丹, 张霞, 李军, 等. 渭北旱塬农田不同耕作模式对土壤性状、玉米产量和水分利用效率的影响[J]. 应用生态学报, 2018, 29(2): 573-582.
- [26] Chong S K, Cowser P T. Infiltration in reclaimed mined land ameliorated with deep tillage treatments[J]. Soil & Tillage Research, 1997, 44(3): 255-264.
- [27] 李娟, 李军, 尚金霞, 等. 轮耕对渭北旱塬春玉米田土壤理化性状和产量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(7): 867-873.
- [28] 姬艳艳, 张贵龙, 张瑞, 等. 耕作方式对农田土壤微生物功能多样性的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(6): 117-123.
- [29] 邵泱峰, 梅洪飞, 潘忠潮, 等. 玉米秸秆还田对土壤有机碳、微生物功能多样性及甘蓝产量的影响[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(5): 838-842.
- [30] 周东兴, 王广栋, 郭欣慧, 等. 不同还田量对秸秆养分释放规律及微生物功能多样性的影响[J]. 土壤通报, 2018, 49(4): 848-855.
- [31] 李玉洁, 王慧, 赵建宁, 等. 耕作方式对农田土壤理化因子和生物学特性的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 939-948.
- [32] 郭梨锦, 曹凑贵, 张枝盛, 等. 耕作方式和秸秆还田对稻田表层土壤微生物群落的短期影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(8): 1577-1584.
- [33] Hungria M, Franchini J C, Brandão-Junior O, et al. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems[J]. Applied Soil Ecology, 2009, 42(3): 288-296.
- [34] Chen L, Zhang J B, Zhao B Z, et al. Effects of straw amendment and moisture on microbial communities in Chinese fluvo-aquic soil[J]. Journal of Soils and Sediments, 2014, 14(11): 1829-1840.
- [35] Lupwayi N Z, Monreal M A, Clayton G W, et al. Soil microbial biomass and diversity respond to tillage and sulphur fertilizers[J]. Canadian Journal of Soil Science, 2001, 81(5): 577-589.
- [36] Wang Y, Xu J, Shen J H, et al. Tillage, residue burning and crop rotation alter soil fungal community and water-stable aggregation in arable fields[J]. Soil and Tillage Research, 2010, 107(2): 71-79.
- [37] Balota E L, Colozzi-Filho A, Andrade D S, et al. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems[J]. Biology and Fertility of Soils, 2003, 38(1): 15-20.
- [38] 朱珂, 王蕊, 李刚, 等. 土地利用方式变化对白浆土微生物生物量碳及代谢特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(10): 2194-2201.
- [39] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 等. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 740-748.
- [40] 李春格, 李晓鸣, 王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(4): 1144-1150.
- [41] 邵丽, 谷洁, 张社奇, 等. 生物复混肥对土壤微生物功能多样性及土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6): 1153-1159.
- [42] 许建晶, 罗珠珠, 陈英. 坡耕地土壤微生物功能多样性对间作体系的响应. 草业科学, 2019, 36(2): 314-323.
- [43] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1996, 28(2): 213-221.
- [44] 吴迪, 张萌萌, 张钰莹, 等. 帽儿山针阔混交林及纯林土壤碳代谢微生物群落特征研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, 41(2): 81-89.
- [45] Drenovsky R E, Vo D, Graham K J, et al. Soilwater content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition[J]. Microbial Ecology, 2004, 48(3): 424-430.
- [46] Li Q, Hu Q, Zhang C, et al. The effect of toxicity of heavy metals contained in tailing sands on the organic carbon metabolic activity of soil microorganisms from different land use types in the karst region[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 74(9): 6747-6756.