

玉米秸秆覆盖还田量对黑土微生物 碳代谢活性与多样性的影响

刘宇奇^{1,2,3}, 朱雪峰^{1,3*}, 鲍雪莲^{1,3}, 郑甜甜^{1,3}, 何红波^{1,3}, 梁超^{1,3}, 解宏图^{1,3}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 辽宁省现代保护性耕作与生态农业重点实验室, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:【目的】针对东北黑土区长期集约化耕作导致的土壤退化问题, 开展不同秸秆覆盖还田量对土壤微生物碳代谢特征的影响及其驱动因素的研究。【方法】采用 MicroResp™ 方法结合土壤碳氮含量等理化性质, 测定土壤微生物碳代谢能力及其影响因素, 使用 Past v2.16、Canoco 5.0 等软件对微生物群落功能多样性、结构差异以及土壤理化性质和微生物群落碳代谢特征间的关系进行分析。【结果】秸秆连续覆盖还田 14 年后, 土壤微生物对羧酸类与氨基酸类碳源的代谢活性显著降低, 但对外源碳底物的代谢多样性显著增强。67% 和 100% 秸秆还田显著改变了土壤微生物群落碳源代谢结构, 100% 秸秆还田下微生物对芳香酸类碳源的相对代谢活性提高。土壤微生物对碳源的代谢活性主要与土壤碳氮含量显著相关, 土壤可溶性碳与碱解氮含量分别是影响土壤微生物碳源代谢多样性和结构的主要理化因子。【结论】长期秸秆还田可以通过降低土壤微生物对易利用碳源的代谢需求、提高对碳源的代谢多样性而改善免耕土壤微生物碳代谢功能。本研究可为优化东北黑土区保护性耕作管理模式、促进该地区农业可持续发展提供微生物学参考。

关键词: 玉米秸秆还田; MicroResp™; 微生物碳源代谢活性; 微生物碳源代谢多样性; 保护性耕作

中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 0564-3945(2023)02-0407-09

DOI: [10.19336/j.cnki.trtb.2022101902](https://doi.org/10.19336/j.cnki.trtb.2022101902)

刘宇奇, 朱雪峰, 鲍雪莲, 郑甜甜, 何红波, 梁超, 解宏图. 玉米秸秆覆盖还田量对黑土微生物碳代谢活性与多样性的影响[J]. 土壤通报, 2023, 54(2): 407-415

LIU Yu-qi, ZHU Xue-feng, BAO Xue-lian, ZHENG Tian-tian, HE Hong-bo, LIANG Chao, XIE Hong-tu. Impact of Corn Stover Mulch Quantity on Microbial Carbon Metabolic Activities and Diversity of Black Soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(2): 407-415

【研究意义】东北黑土区是世界四大黑土区与三大黄金玉米带之一, 以高有机质和肥力而著称, 是东北农业发展的基础, 也是保障我国粮食安全的“压舱石”和“稳压器”^[1]。然而, 长期集约化耕作与掠夺式经营导致黑土有机质含量急剧下降, 高肥力土壤锐减, 土壤生态功能严重退化, 制约了东北黑土区农业高产高效和可持续发展, 以及其农田生态系统固碳潜力的发挥^[2]; 且地上部秸秆资源的焚烧既加剧了温室气体的排放与空气污染, 又减少了生物质养分输入而降低土壤养分调控能力^[3]。因此, 以免、少耕加上作物秸秆覆盖还田为核心的保护性耕作技术成为改善农田土壤退化、提高土壤有机质含量与蓄水保墒能力以及作物产量的重要措施^[4-7]。

【研究进展】土壤微生物数量大、种类多, 是

陆地生态系统物质循环、凋落物分解与地上植被多样性维持等过程的重要参与者^[8], 其群落多样性是土壤健康与生态过程评价的重要指标之一^[9]。微生物多样性主要是指土壤生态系统中全部微生物的种类、基因及其与环境间互作的多样化程度, 通常体现在物种、遗传、结构及功能多样性等 4 个方面^[10]。土壤物质和能量的输入、输出平衡与微生物群落的碳代谢活性和功能多样性显著相关, 因此, 认知微生物碳代谢活性与功能多样性及其驱动因子是探究土壤有机碳 (SOC) 分解、转化和稳定的基础, 也是深入探寻地球生物化学循环、气候变化及生态系统可持续性的关键所在^[11-14]。并且, 土壤微生物对有机底物的代谢活性与多样性是其生长、资源获取能力与资源分配策略的综合体现, 也将进一步影响外源有机

收稿日期: 2022-10-19; 修订日期: 2022-11-09

基金项目: 国家自然科学基金委员会青年科学基金项目 (32101382)、中国科学院战略性先导科技专项子课题 (XDA28010301)、辽宁省博士科研启动基金计划项目 (2021-BS-016) 和沈阳市科学技术计划项目 (21-109-3-03 和 22-317-2-06) 资助

作者简介: 刘宇奇 (1998-), 女, 辽宁沈阳人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物生态研究。E-mail: lyq980531@163.com

*通讯作者: E-mail: zhuxuefeng@iae.ac.cn

质在土壤中的转化与周转。前人研究表明, 秸秆还田对土壤微生物群落结构、生物量以及酶活性均有所影响, 多表现为正向促进作用, 但也有研究发现微生物群落的响应会受到秸秆还田量的影响, 两者呈现非线性对应关系^[15-17]。因此, 对于不同秸秆还田量下土壤微生物群落碳代谢活性与多样性的深入认知将进一步帮助厘清保护性耕作下微生物介导的土壤碳循环机理, 并以此指导地上部秸秆还田模式的优化与发展。【本研究切入点】然而, 传统与新近发展起来的分子生物学技术手段等大都是获取微生物的群落结构和遗传信息^[18], 很难与微生物的代谢功能多样性进行关联。据此, 亟需在现有的微生物群落结构组成多样性的基础上, 进一步对原土微生物群落对不同碳源底物的代谢活性与多样性进行探究。

目前, MicroResp™ 土壤微呼吸检测系统乃是一种较为可行的分析方法, 其无需浸提土壤微生物群落, 且能够同时对多样本、多种碳源进行微生物碳源代谢活性测定^[19]。该方法可根据原土微生物对不同碳源底物(如碳水化合物类、羧酸类、氨基酸类及芳香酸类等)分解代谢产生 CO₂ 的速率来反映原土微生物对不同碳源底物的利用情况。自 2003 年 MicroResp™ 系统研发成功以来, 该方法已经应用于农田、森林与荒漠等陆地生态系统中土壤微生物碳代谢活性与多样性对土地利用模式或外界干扰等因素的响应研究中^[20-25]。【拟解决的问题】因此, 本研究立足于东北黑土区农业发展现状, 以农田土壤微生物为研究对象, 主要采用 MicroResp™ 方法结合土壤理化性质的测定, 探究免耕不同秸秆覆盖还田量对土壤微生物碳代谢特征的影响及其驱动因素, 为优化东北黑土区保护性耕作管理模式、促进该地区农业可持续发展提供微生物学参考。

1 材料与方法

1.1 长期实验地概况

本研究位于吉林省梨树县梨树镇高家村(43°19'N, 124°14'E), 土壤类型为软土(Mollisols), 即中层黑土, 壤质黏土。气候类型为温带半湿润大陆性季风气候, 年均温度约为 6.9 °C, 年均降水量约为 614 mm, 主要集中于 6~8 月。2007 年于该平台设置了免耕不同玉米(*Zea mays* L.) 秸秆覆盖还田量的试验区并进行连续定位实验, 采用随机区组设计,

共设 4 个区组, 每个区组内采用免耕(no-till, 简称 NT)方式, 布设 4 个不同玉米秸秆覆盖还田量处理, 包括: ① 无玉米秸秆覆盖还田(NT0); ② 33% 玉米秸秆覆盖还田(NT33), 秸秆还田量约为 2500 kg hm⁻²; ③ 67% 玉米秸秆覆盖还田(NT67), 秸秆还田量约为 5000 kg hm⁻²; ④ 100% 玉米秸秆覆盖还田(NT100), 秸秆还田量约为 7500 kg hm⁻²。每个处理小区面积为 261 m²(8.7 m × 30 m)。各处理均施用等量复合肥: 240 kg N hm⁻²、110 kg P₂O₅ hm⁻²、110 kg K₂O hm⁻²。本底土壤(0~20 cm) pH 值为 7.1, SOC 含量为 11.3 g kg⁻¹, 全氮(TN)含量为 1.2 g kg⁻¹。

1.2 供试土壤

本研究于 2021 年 10 月秋收后, 即秸秆连续还田 14 年后, 采集 NT0、NT33、NT67 与 NT100 处理下的表层 0~5 cm 土壤样品, 各处理小区采用随机五点取样, 均匀混合。采集后的土壤样品过 2 mm 筛, 去除可见的植物残体和石砾等, 一部分土壤样品保存于 4 °C 冰箱, 另一部分于阴凉干燥处风干, 取部分磨细过 0.15 mm 筛后备用。

1.3 土壤理化性质测定

土壤全碳(TC)和 TN 含量采用元素分析仪测定(Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Germany)。本研究所用土壤无碳酸盐反应, 因此以 TC 含量表示 SOC 含量。土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)用 2 mol L⁻¹ 的氯化钾溶液浸提后通过流动分析仪(Smartchem 200, Roma, Italy)测定。土壤含水量(moisture)采用烘干称重法测定。土壤酸碱度(pH)采用电位法测定。土壤碱解氮(AN)含量采用碱解扩散法测定。土壤可溶性有机碳(DOC)以去离子水浸提, 过 0.45 μm 滤膜后通过有机碳/总氮分析仪(Multi N/C3100)测定。土壤全磷(TP)采用 H₂SO₄-HClO₄ 消化, 钼锑抗比色法测定。土壤全钾(TK)含量采用氢氟酸消解法测定。具体方法详见《土壤农化分析》第三版^[26]。

1.4 土壤微生物碳代谢能力测定—MicroResp™

将存放于 4 °C 的鲜土于 25 °C 条件下密封避光培养 5 天活化微生物。配置 1% 的琼脂, 于 121 °C 下高压灭菌 25 min。避光配制 300 mmol L⁻¹ KCl、5 mmol L⁻¹ NaHCO₃、25 μg mL⁻¹ 甲酚红溶液混合作为指示染料。在 60 °C 水浴条件下按琼脂: 指示染料 = 1:1 体积比混合均匀。将混合液加入 96 孔板, 每孔 150 μL, 待检测板内混合液凝固后将检测板置

于放有石灰石和湿纸巾的自封袋中, 4 °C 避光保存。

每个深孔板依序添加 25 μL 底物, 分别为水与 13 种碳源, 碳源类别详见表 1。浓度为 30 mg g^{-1} 土壤水。将待测土样均匀添加到深孔板中, 将检测板

倒扣在深孔板上, 用夹子夹紧密封, 25 °C 避光培养 3 h。用酶标仪在 570 nm 波长下测定检测板在土样培养 3 h 前后的吸光值, 利用吸光值变化计算培养过程中的 CO_2 释放速率 (%)。

表 1 MicroResp™ 碳源类别
Table 1 Carbon sources in MicroResp™

| 碳源种类 Type of carbon sources | 碳源 Carbon source |
|--------------------------------|--|
| 氨基酸类 | γ -氨基丁酸 (GABA)、L-丙氨酸 (L-Ala)、L-半胱氨酸 (L-Cys)、N-乙酰氨基葡萄糖 (NAG) |
| 芳香酸类 | 3,4-二羟基苯甲酸 (PCA) |
| 碳水化合物类 | D-果糖 (D-Flu)、D-半乳糖 (D-Gal)、D-葡萄糖 (D-Glc)、L-阿拉伯糖 (L-Ara)、海藻糖 (TreA) |
| 羧酸类 | 柠檬酸 (CA)、L-苹果酸 (L-MA)、 α -酮戊二酸 (AKG) |

CO_2 产生速率及吸光值标准化计算公式^[19]为:

$$A_i = (A_{t3}/A_{t0}) \times \text{Mean}(A_{t0}) \quad (1)$$

$$\% \text{CO}_2 = A + B / (1 + D \times A_i) \quad (2)$$

$$\text{CO}_2 \text{ rate} = [(\% \text{CO}_2 / 100) \times v \times (44 / 22.4) \times (12 / 44) \times (273 / (273 + T))] / [\text{soil fwt} \times (\text{soil \% dwt} / 100)] / t \quad (3)$$

公式 (1) ~ (3) 中, A_i 为标准化吸光值, A_{t3} 为 3 h 培养后测定的吸光值, A_{t0} 为培养初始 (0 h) 测定的吸光值, $\text{Mean}(A_{t0})$ 为 96 孔检测板所有孔的 A_{t0} 平均值; $\% \text{CO}_2$ 为 CO_2 释放浓度 (%), $A = -0.2265$, $B = -1.606$, $D = -6.771$; $\text{CO}_2 \text{ rate}$ 为 CO_2 释放速率 ($\mu\text{g C g}^{-1} \text{h}^{-1}$), v 为密封气体空间的体积, 945 μL ; T 为培养温度, 25 °C; soil fwt 为深孔板单孔中土壤鲜重, 0.32 g; $\text{soil \% dwt} / 100$ 为土壤干土占比; t 为培养时间, 3 h。

1.5 数据处理

采用 Origin 2022b 进行单因素随机区组的方差分析, 采用 LSD 方法对处理间均值进行多重比较, 并进行显著性分析 ($P < 0.05$)。采用 Past v2.16 软件计算不同秸秆还田量处理下土壤微生物群落代谢功能的 Simpson 多样性、Shannon 多样性和 Evenness 均匀度指数, 计算方法如表 2 所示; 基于欧式距离将不同秸秆还田量处理下微生物群落代谢功能结构差异进行主成分分析, 利用 Past v2.16 软件对处理间差异进行非参数多元方差分析 (Permutational Multivariate Analysis of Variance, 简称 PerMANOVA), 并通过载荷值作图分析出对主成分 1 轴上处理间差异贡献较大的碳源类型。采用 Past v2.16 对土壤理化性质和微生物群落碳代谢特征进行 Pearson 相关分析, 并采用 Canoco 5.0 进行冗余分析

(Redundancy Analysis, 简称 RDA), 以分析土壤理化性质对微生物代谢结构变异的影响, 通过前置选择和蒙特卡洛置换检验确定每个土壤理化性质对微生物代谢结构变异的贡献程度。本文绘图均采用 Origin 2022b 完成。

表 2 三种 α -多样性指数的计算方式
Table 2 Formulas of the three indices of α -diversity

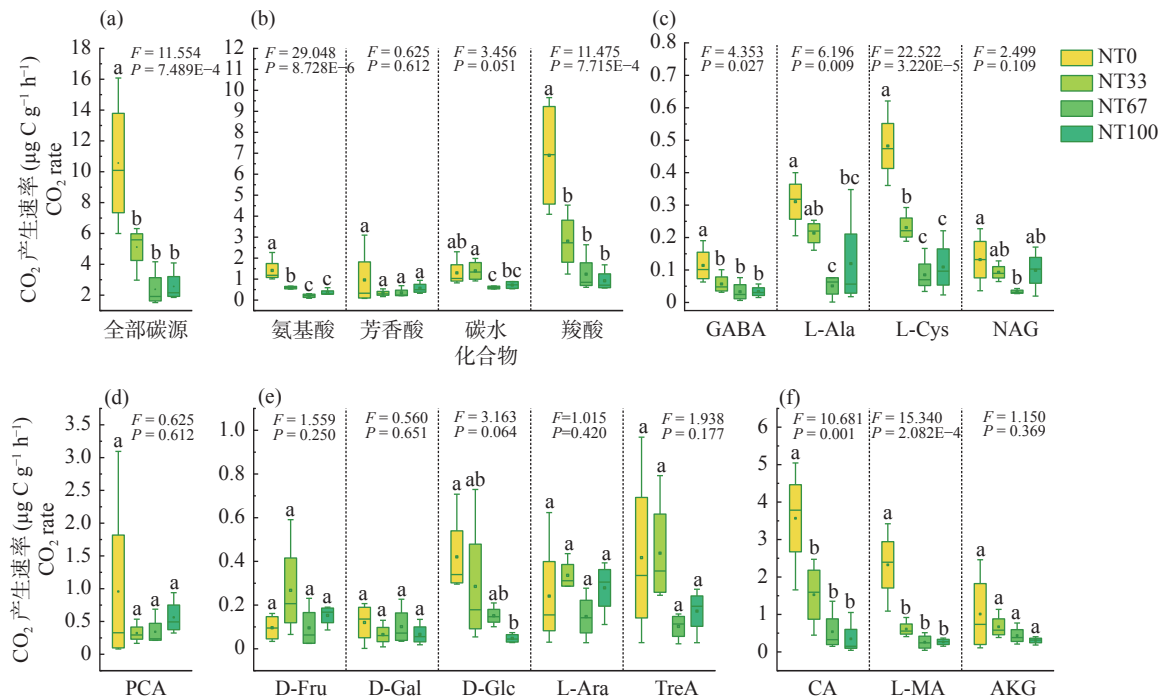
| α -多样性指数 α -diversity | 计算方式 Formula |
|--|---|
| Simpson 多样性指数 | $1 - D = 1 - \sum_i \left(\frac{n_i}{n} \right)^2$ |
| Shannon 多样性指数 | $H = - \sum_i \frac{n_i}{n} \ln \frac{n_i}{n}$ |
| Evenness 均匀度指数 | $e^{H/S}$ |

注: S 为分类数, n 为样本总数, n_i 为分类单元 i 样本数。

2 结果与分析

2.1 秸秆还田对土壤微生物碳代谢活性的影响

不同秸秆还田量处理下土壤微生物对不同碳源的代谢活性见图 1。结果表明, 秸秆还田显著影响了土壤微生物对不同单碳源、不同类别碳源及碳源整体的代谢活性。与 NT0 相比, 秸秆还田显著降低了土壤微生物对碳源的总代谢活性 (图 1a), 其中对氨基酸和羧酸类碳源的代谢率降低最为显著 (图 1b); 此外, 与 NT33 相比, NT67 和 NT100 显著降低了微生物对氨基酸和碳水化合物类底物的代谢活性 (图 1b)。对于氨基酸类底物而言, 秸秆还田均降低了微生物对 GABA 和 L-Cys 的代谢活性, NT67 与 NT100 显著降低了微生物对 L-Ala 的代谢活性, NT67 处理显著降低了微生物对 NAG 的代谢活性 (图 1c)。对于芳香酸类底物而言, 各处理间无显著差异 (图 1d)。对于碳水化合物类底物而言, NT100 显著降低了微



注: (a) 微生物对碳源的总代谢活性; (b) 微生物对四大类碳源的代谢活性; (c) 微生物对氨基酸类碳源代谢活性; (d) 微生物对芳香酸类碳源代谢活性; (e) 微生物对碳水化合物类碳源代谢活性; (f) 微生物对羧酸类碳源代谢活性。NT, 免耕; 0, 33, 67 和 100 分别表示秸秆还田量是 0%, 33%, 67% 和 100%。F 为单因素方差分析 F 值。同组不同小写字母代表同一指标不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。不同单碳源分别为: γ -氨基丁酸 (GABA)、L-丙氨酸 (L-Ala)、L-半胱氨酸 (L-Cys)、N-乙酰氨基葡萄糖 (NAG)、3,4-二羟基苯甲酸 (PCA)、D-果糖 (D-Fru)、D-半乳糖 (D-Gal)、D-葡萄糖 (D-Glc)、L-阿拉伯糖 (L-Ara)、海藻糖 (TreA)、柠檬酸 (CA)、L-苹果酸 (L-MA)、 α -酮戊二酸 (AKG)。下同。

图 1 不同秸秆还田量处理土壤微生物对碳源的代谢活性
Fig.1 Soil microbial carbon metabolic activities under different corn stover mulch treatments

生物对 D-Glc 的代谢活性 (图 1e)。对于羧酸类底物而言, 秸秆还田显著降低了微生物对 CA 和 L-MA 的代谢活性 (图 1f)。

2.2 秸秆还田对土壤微生物碳代谢多样性的影响

不同秸秆还田量处理下, 土壤微生物对碳源代谢的 Simpson 多样性指数、Shannon 多样性指数和 Evenness 均匀指数见表 3。各处理多样性指数和均匀度指数变化趋势表现一致, 与 NT0 相比, 秸秆还田显著提高了土壤微生物碳代谢的多样性和均匀度指数, 低 (33%)、中 (67%) 和高量 (100%) 秸秆还田处理间无显著差异 (表 3)。

表 3 不同秸秆还田量处理土壤微生物代谢功能 α -多样性指数

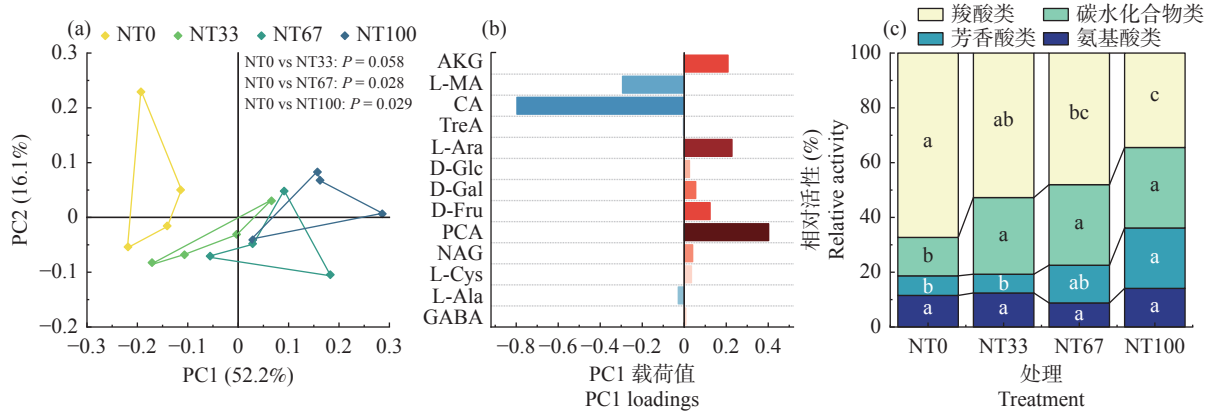
Table 3 α -diversities of soil microbial metabolic function in different amounts of corn stover mulch treatments

| 处理 Treatment | Simpson多样性指数 Simpson_1-D | Shannon多样性指数 Shannon_H | Evenness均匀度指数 Evenness_e^H/S |
|-----------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| NT0 | 0.773 ± 0.005 b | 1.837 ± 0.048 b | 0.485 ± 0.024 b |
| NT33 | 0.846 ± 0.025 a | 2.161 ± 0.098 a | 0.677 ± 0.063 a |
| NT67 | 0.855 ± 0.017 a | 2.161 ± 0.083 a | 0.675 ± 0.054 a |
| NT100 | 0.862 ± 0.013 a | 2.200 ± 0.066 a | 0.698 ± 0.045 a |

注: 均值 ± 标准误。同一列不同英文小写字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

通过主成分分析将微生物碳代谢结构差异的结果可视化, 再通过基于欧氏距离矩阵的 PerMANOVA 对不同秸秆还田量微生物群落代谢结构差异的显著性进行分析 (图 2a)。由图中可看出, NT0 的样点在 PC1 轴上与 NT67、NT100 的样点有明显分异。通过 PerMANOVA 发现, NT0 与 NT67、NT100 碳代谢功能结构差异显著。进一步分析主成分 1 轴的载荷值 (图 2b) 发现, 羧酸类碳源 CA 与 L-MA 的代谢活性在 PC1 负向得分较高, 而芳香酸类碳源 PCA 在正向上的得分较高, 这表明 NT0 与 NT67 和 NT100 在 PC1 上的差异主要是由微生物群落对羧酸类和芳香酸类碳源的相对代谢活性差异所造成。

进一步对不同秸秆还田量处理下四大类碳源代谢活性的相对比例分析发现, NT67 和 NT100 显著降低了微生物群落对羧酸类碳源的相对代谢活性, NT67 和 NT100 处理下土壤微生物群落具有相对较高的芳香酸类碳源代谢活性 (图 2c)。上述结果表明, 中 (67%)、高 (100%) 量秸秆还田, 尤其是 100% 秸秆还田主要通过提高微生物群落对芳香酸类碳源的相对代谢活性、降低微生物对羧酸类碳源的



注:P 为 PerMANOVA 差异统计分析的 P 值。

图 2 秸秆还田量对土壤微生物碳源代谢结构影响的主成分分析图(a)、主成分 1 轴载荷值(b)及不同秸秆还田量处理土壤微生物碳源代谢活性百分比堆积图(c)

Fig.2 Visualization of soil microbial metabolic functional structure dissimilarities upon corn stover mulch treatments using principal component analysis based on Euclidean distances (a), the loadings of principal component 1 (b) and relative activity of soil microbial carbon metabolism under different corn stover mulch treatments (c)

相对代谢活性进而改变微生物群落碳源代谢结构。

2.3 微生物群落碳代谢功能与土壤理化性质的关联

本研究发现长期秸秆还田后土壤理化性质与未还田土壤相比有明显分异，且秸秆还田量越高，土壤理化性质差异越大（图 3a），这主要是因为秸秆还田后的土壤具有较高的 TC、TN、DOC 和 AN 含量（图 3b）。通过将土壤理化性质与微生物群落碳代谢活性和多样性指标进行 Pearson 相关分析，得到图 4。整体上，土壤 TN、TC、AN 和 DOC 含量与微生物对多数碳源的代谢活性间相关性较强。具体来说，土壤微生物对碳源整体的代谢活性与 TN、TC、AN 和 DOC 含量显著负相关，与土壤 pH 显著正相

关；对 GABA、L-Ala、L-Cys、D-Glc 和 L-MA 的代谢活性与土壤含水量呈显著负相关；对 L-MA 的代谢活性与土壤 pH 显著正相关；对 GABA、L-Cys、D-Glc、CA 和 L-MA 的代谢活性与 TN 含量显著负相关；对 GABA、L-Ala、L-Cys、D-Glc、CA 和 L-MA 的代谢活性与 TC 含量显著负相关；对 GABA、L-Ala、L-Cys 和 TreA 的代谢活性与 NO₃⁻-N 含量显著负相关；对 GABA、NAG、L-Ara 和 TreA 的代谢活性与 NH₄⁺-N 含量显著负相关；对 GABA、L-Cys、D-Glc、CA 和 L-MA 的代谢活性与 AN 含量显著负相关；对 GABA、L-Ala、L-Cys、CA 和 L-MA 的代谢活性与 DOC 含量显著负相关；对 GABA、L-Ala

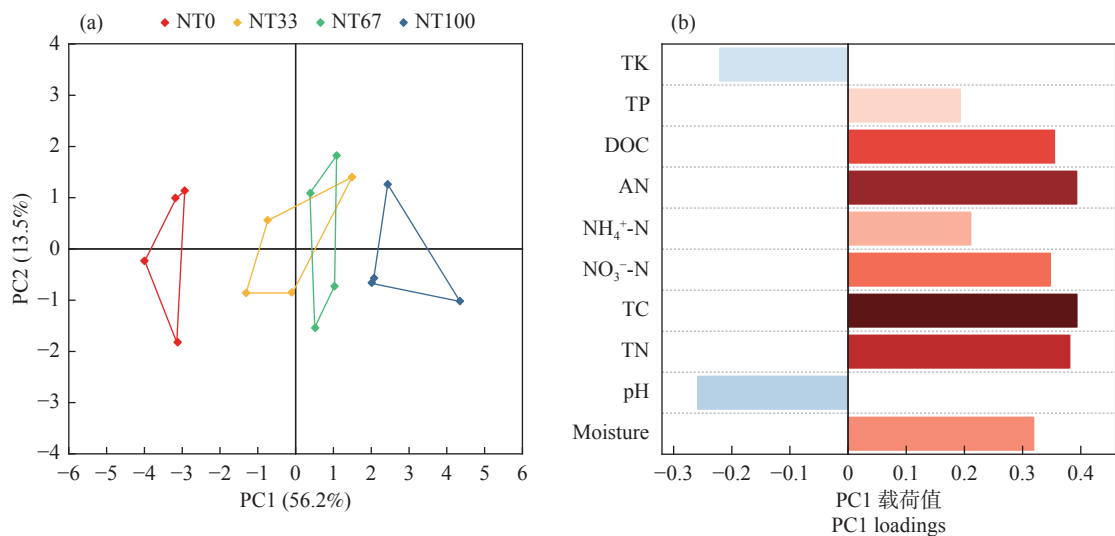


图 3 秸秆还田量对土壤理化性质影响的主成分分析图(a)及主成分 1 轴载荷值(b)

Fig.3 Visualization of soil properties dissimilarities upon corn stover mulch treatments within each soil layer using principal component analysis based on Euclidean distances (a) and the loadings of principal component 1 (b)

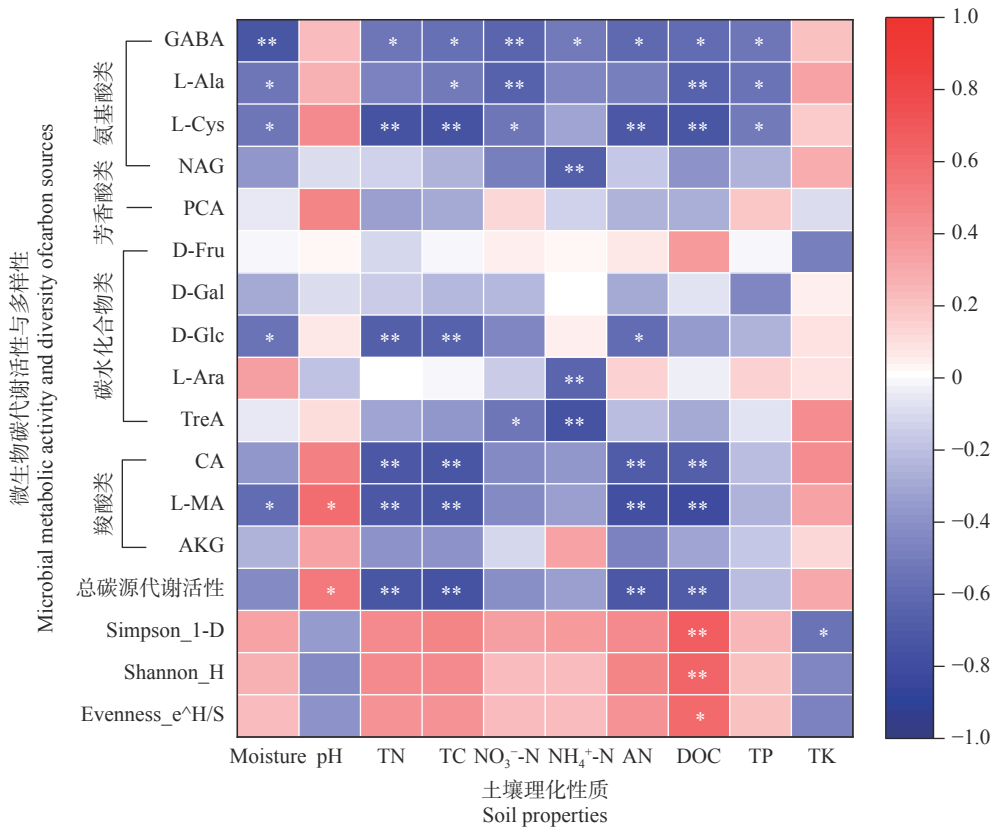


图 4 土壤理化性质与微生物对各类底物代谢活性与多样性的相关分析 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig.4 Correlation analysis of soil properties and microbial metabolic activity and diversity of carbon sources (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

和 L-Cys 的代谢活性与 TP 含量显著负相关。此外，土壤微生物碳源代谢多样性和均匀度均与 DOC 显著正相关；土壤微生物对碳源代谢的 Simpson 多样性指数与 TK 含量显著负相关。

蒙特卡洛置换检验结果显示，所测理化性质可解释 76.4% 的微生物碳代谢结构变异，其中土壤 AN 含量显著影响了微生物碳代谢结构，解释度为 19.2%，是对微生物碳代谢结构变异影响贡献最大的土壤理化性质 (表 4)。

3 讨论

东北黑土地土壤有机碳的提升不仅对保障我国粮食安全至关重要，也与农田生态系统“碳中和”与“碳达峰”目标的实现紧密相关^[27]。在外源有机质输入下，土壤微生物较高的有机质底物利用效率与功能多样性更有利于土壤有机质数量增加与质量的改善^[28-29]。本研究通过 MicroResp™ 微呼吸检测系统探究不同秸秆覆盖还田量对土壤微生物碳代谢活性与多样性的影响及其驱动因素，结果显示，长期秸秆还田显著降低了微生物对外源碳底物的代谢活性，尤其是氨基酸和羧酸类碳源，但提高了微生物对外

表 4 土壤理化性质对土壤微生物代谢结构变异的解释度及显著性分析

Table 4 Percentage and significance analysis of soil properties in explaining soil microbial carbon-source utilized composition variation and associated F and P values

| 土壤理化性质 Soil property | 解释度 Explains (%) | F值 pseudo-F | P值 P value |
|-------------------------|---------------------|----------------|---------------|
| 碱解氮 | 19.2 | 3.3 | 0.004 |
| 铵态氮 | 9.6 | 1.7 | 0.098 |
| 酸碱度 (pH) | 8.8 | 1.7 | 0.122 |
| 全碳 | 11.0 | 2.4 | 0.01 |
| 可溶性有机碳 | 5.9 | 1.3 | 0.244 |
| 全钾 | 5.2 | 1.2 | 0.312 |
| 全磷 | 5.3 | 1.2 | 0.296 |
| 全氮 | 3.8 | 0.9 | 0.56 |
| 硝态氮 | 3.8 | 0.8 | 0.548 |
| 含水量 | 3.8 | 0.8 | 0.582 |

源碳代谢的多样性以及对碳水化合物类碳源的相对代谢活性，其中，中 (67%)、高 (100%) 量秸秆覆盖显著改变了微生物对碳源的代谢结构，100% 秸秆还田还显著提高了微生物对芳香酸类碳源的相对代谢活性。土壤理化性质与微生物碳源代谢特征间的关联分析表明，土壤碳氮含量与碳源代谢活性密切相关，土壤易利用碳源含量 (DOC) 和养分可利用性 (AN) 分别是影响土壤微生物碳源代谢多样性

与结构的主要理化因子。由于本研究发现长期秸秆还田后土壤具有较高的 TC、TN、DOC 含量和 AN, 据此提示, 土壤有机质含量与养分可利用性高的情况下土壤微生物群落对外源碳代谢需求降低, 土壤易利用碳较为充足时, 土壤微生物碳代谢多样性更高。

氨基酸是活性相对较高的有机底物, 其兼具碳与养分^[30], 长期秸秆还田后, 土壤微生物对氨基酸类碳源代谢活性显著下降, 表明微生物群落对外源可利用碳与养分的需求相对较低。柠檬酸和苹果酸为玉米根系分泌物中对外界环境变化较为敏感的成分, 两者分子量相对较低, 微生物较容易摄取利用^[31]。本研究中, 秸秆还田后, 微生物群落对这两种外加羧酸类碳源的代谢活性显著降低, 一方面表明土壤微生物对可利用碳源的需求降低, 秸秆还田后土壤碳源相对充足, 另一方面也提示, 秸秆还田后土壤的根际激发效应也潜在降低, 更有利于土壤碳的积累和固存。此外, 本研究发现长期秸秆还田的土壤中微生物群落碳代谢多样性提高, 且与 DOC 含量显著正相关, 这可能是由于长期秸秆还田提高了土壤可利用碳含量, 微生物群落处于碳源较为富足的环境, 底物可选择性增多, 促进了微生物群落碳源代谢多样性的提高。土壤微生物具备了更加多元化的底物利用能力, 也更有利于土壤健康保育。

对于土壤微生物群落碳源代谢结构的分析发现, 中、高量的秸秆还田显著改变了土壤微生物群落的碳代谢结构, 而这主要是因为上述两个处理具有相对较高的芳香酸类碳源 3, 4-二羟基苯甲酸的相对代谢活性。3, 4-二羟基苯甲酸属于酚类物质, 是相对不易被微生物分解利用的植物组分之一^[32], 这表明秸秆还田量越高, 微生物群落对植物源难分解碳的相对代谢能力越强, 这将有助于秸秆碳向土壤碳库的转化。该现象也提示土壤微生物群落的功能类群可能发生了变化或者演替, 进而导致群落的底物利用能力或偏好性发生了变化。前期有研究发现, 常年高水平养分输入促进了富营养细菌群落, 增强了细菌群落的功能多样性^[33]。据此, 后续应该进一步分析微生物群落结构的变化, 深入解析群落结构与功能间的偶联机制。

4 结论

通过 MicroResp™ 微呼吸检测系统探究我国东北黑土地保护性耕作下秸秆覆盖还田量对免耕土壤微

生物碳代谢活性与多样性的影响及其驱动因素, 结果发现长期秸秆还田有利于免耕土壤微生物群落碳代谢功能的改善: 显著降低了土壤微生物群落对羧酸类与氨基酸类碳源的代谢需求, 但增强了微生物对外源碳底物的代谢多样性。67% 和 100% 秸秆还田量显著改变了土壤微生物群落碳源代谢结构, 100% 秸秆还田下微生物对芳香酸类碳源的相对代谢活性提高。土壤微生物对碳源的代谢活性主要与土壤碳氮含量显著相关, 土壤可溶性碳与碱解氮含量分别是影响土壤微生物碳源代谢多样性和结构的主要理化因子。上述结果提示, 秸秆连续多年覆盖还田后土壤微生物群落利用外源碳的种类多样性增强, 这将更有利于群落功能的稳定, 在气候变化与人类活动干扰加剧的情况下, 更有利于东北黑土碳的稳定性与生态系统的可持续性。综上, 本研究为探明免耕秸秆还田下土壤碳循环驱动机制提供了机理支撑, 也为东北黑土地保护性耕作措施的优化与创新提供了微生物学参考。

参考文献:

- [1] 韩晓增, 邹文秀. 我国东北黑土地保护与肥力提升的成效与建议[J]. *中国科学院院刊*, 2018, 33(2): 206–212.
- [2] 韩晓增, 李娜. 中国东北黑土地研究进展与展望[J]. *地理科学*, 2018, 38(7): 1032–1041.
- [3] 宋大利, 侯胜鹏, 王秀斌, 等. 中国秸秆养分资源数量及替代化肥潜力[J]. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24(1): 1–21.
- [4] Lal R. Sequestering carbon in soils of agro-ecosystems[J]. *Food policy*, 2011, 36: S33–S39.
- [5] Scopel E, Triomphe B, Affholder F, et al. Conservation agriculture cropping systems in temperate and tropical conditions, performances and impacts. A review[J]. *Agronomy for sustainable development*, 2013, 33(1): 113–130.
- [6] 薛斌, 黄丽, 鲁剑巍, 等. 连续秸秆还田和免耕对土壤团聚体及有机碳的影响[J]. *水土保持学报*, 2018, 32(01): 182–189.
- [7] Wang L, Yuan X, Liu C, et al. Soil C and N dynamics and hydrological processes in a maize-wheat rotation field subjected to different tillage and straw management practices[J]. *Agriculture, ecosystems & environment*, 2019, 285: 106616.
- [8] Liu Z, Fu B, Zheng X, et al. Plant biomass, soil water content and soil N: P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: a regional scale study[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 445–450.
- [9] White D C, MacNaughton S J. Chemical and molecular approaches for rapid assessment of the biological status of soils[J]. *Biological indicators of soil health*, 1997: 371–396.
- [10] Liu G H, Ye Z F, Wu W Z. Culture-dependent and culture-

- independent approaches to studying soil microbial diversity[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(14): 4421 – 4433.
- [11] Schimel J P, Schaeffer S M. Microbial control over carbon cycling in soil[J]. *Frontiers in microbiology*, 2012, 3: 348.
- [12] 宋长青, 吴金水, 陆雅海, 等. 中国土壤微生物学研究10年回顾[J]. *地球科学进展*, 2013, 28(10): 1087 – 1105.
- [13] Wang Y, Li C, Tu C, et al. Long-term no-tillage and organic input management enhanced the diversity and stability of soil microbial community[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 609: 341 – 347.
- [14] Malik A A, Puissant J, Buckeridge K M, et al. Land use driven change in soil pH affects microbial carbon cycling processes[J]. *Nature communications*, 2018, 9(1): 1 – 10.
- [15] 董亮, 田慎重, 王学君, 等. 秸秆还田对土壤养分及土壤微生物数量的影响[J]. *中国农学通报*, 2017, (11): 77 – 80.
- [16] Li T, Sun Z, He C, et al. Changes in soil bacterial community structure and microbial function caused by straw retention in the North China Plain[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2019.
- [17] Zhu X F, Xie H T, Masters M D, et al. Microbial trade-off in soil organic carbon storage in a no-till continuous corn agroecosystem[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2020, 96: 103146.
- [18] Leckie S E. Methods of microbial community profiling and their application to forest soils[J]. *Forest Ecol Manag*, 2005, 220: 88 – 106.
- [19] Campbell C D, Chapman S J, Cameron C M, et al. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2003, 69(6): 3593 – 3599.
- [20] Artz R R E, Chapman S J, Campbell C D. Substrate utilisation profiles of microbial communities in peat are depth dependent and correlate with whole soil FTIR profiles[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(9): 2958 – 2962.
- [21] Kaufmann K, Chapman S J, Campbell C D, et al. Miniaturized test system for soil respiration induced by volatile pollutants[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 140(2): 269 – 278.
- [22] Ginzburg O, Whitford W G, Steinberger Y. Effects of harvester ant (Messor spp.) activity on soil properties and microbial communities in a Negev Desert ecosystem[J]. *Biology and fertility of Soils*, 2008, 45(2): 165 – 173.
- [23] Lagomarsino A, Knapp B A, Moscatelli M C, et al. Structural and functional diversity of soil microbes is affected by elevated CO₂ and N addition in a poplar plantation[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2007, 7(6): 399 – 405.
- [24] Lalor B M, Cookson W R, Murphy D V. Comparison of two methods that assess soil community level physiological profiles in a forest ecosystem[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(2): 454 – 462.
- [25] Oren A, Steinberger Y. Catabolic profiles of soil fungal communities along a geographic climatic gradient in Israel[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(10): 2578 – 2587.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析第三版[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [27] 张卫建, 严圣吉, 张俊, 等. 国家粮食安全与农业双碳目标的双赢策略[J]. *中国农业科学*, 2021, 54(18): 3892 – 3902.
- [28] Creamer R E, Stone D, Berry P, et al. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method[J]. *Applied soil ecology*, 2016, 97: 36 – 43.
- [29] Song D, Dai X, Guo T, et al. Organic amendment regulates soil microbial biomass and activity in wheat-maize and wheat-soybean rotation systems[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2022, 333: 107974.
- [30] Nannipieri P, Eldor P. The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components[J]. *Soil biology and biochemistry*, 2009, 41(12): 2357 – 2369.
- [31] 王亚, 冯发运, 葛静, 等. 植物根系分泌物对土壤污染修复的作用及影响机理[J]. *生态学报*, 2022, 42(03): 829 – 842.
- [32] Yu J, Unc A, Zhang X, et al. Responses of the soil microbial catabolic profile and diversity to vegetation rehabilitation in degraded semiarid grassland[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 101: 124 – 131.
- [33] van der Bom F, Nunes I, Raymond N S, et al. Long-term fertilisation form, level and duration affect the diversity, structure and functioning of soil microbial communities in the field[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 122: 91 – 103.

Impact of Corn Stover Mulch Quantity on Microbial Carbon Metabolic Activities and Diversity of Black Soil

LIU Yu-qi^{1,2,3}, ZHU Xue-feng^{1,3*}, BAO Xue-lian^{1,3}, ZHENG Tian-tian^{1,3},
HE Hong-bo^{1,3}, LIANG Chao^{1,3}, XIE Hong-tu^{1,3}

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Lab of Conservation Tillage and Ecological Agriculture, Shenyang 110016, China)

Abstract: [Objective] Aiming to propose support for solving soil degradation caused by long-term intensive tillage in Northeast China, this study was carried out to explore the impact of corn stover mulch quantity on soil microbial carbon metabolism characteristics and its driving factors. [Method] Combining with soil carbon and nitrogen contents and other physicochemical properties, MicroRespTM method was used to determine soil microbial carbon metabolic activity and its influencing factors. Software including Past v2.16 and Canoco5.0 were used to analyze the microbial carbon metabolic diversity and structure variations, as well as their correlations with soil physicochemical properties. [Result] The results showed that microbial metabolic activities of carboxylic acids and amino acids were significantly reduced by corn stover mulch, but microbial carbon metabolic diversity indices were significantly increased. Moreover, 67% and 100% corn stover mulch significantly changed microbial carbon metabolic structure, and the latter significantly increased the relative metabolic activities of aromatic acid carbon sources. Microbial metabolic activities of carbon sources were mainly related to soil carbon and nitrogen contents. Soil dissolved organic carbon and alkaline hydrolysable nitrogen were the main physicochemical factors affecting microbial carbon metabolic diversity and structure, respectively. [Conclusion] Long-term corn stover mulch could improve soil microbial carbon metabolic functions by reducing microbial metabolic demand for readily available carbon sources and increasing microbial carbon metabolic diversities. This study will provide microbial references for optimizing conservation tillage management model and promoting sustainable agricultural development in Northeast China.

Key words: Corn stover mulch; MicroRespTM; Microbial carbon metabolic activity; Microbial carbon metabolic diversity; Conservation tillage

[责任编辑: 裴久渤 高晓丹]