

## 不同生物质炭施用量下烤烟根际土壤微生物残体碳变化特征<sup>①</sup>

杨雄伟<sup>1,2</sup>, 黄晓霞<sup>2</sup>, 崔仕方<sup>2</sup>, 金 浩<sup>3</sup>, 张军刚<sup>3</sup>, 刘彦中<sup>1</sup>, 罗以贵<sup>1\*</sup>

(1 云南农业大学烟草学院, 昆明 650201; 2 西南林业大学园林园艺学院, 昆明 650224; 3 曲靖市烟草公司, 云南曲靖 655400)

**摘要:** 本研究以烤烟品种 K326 为材料, 基于连续 5 年连作(C)和轮作(R)定位田进行为期 1 年的试验, 并设定 4 种施用生物质炭处理: B0(0 kg/hm<sup>2</sup>)、B1(300 kg/hm<sup>2</sup>)、B2(750 kg/hm<sup>2</sup>) 和 B3(1 500 kg/hm<sup>2</sup>), 比较两种耕作模式下 4 种生物质炭处理对土壤微生物残体碳积累特征的影响。结果表明: 在连作模式下, 与 C-B0 相比, 各处理土壤氨基糖、残体碳含量均显著增加( $P<0.05$ ), 表现为 C-B0<C-B1<C-B2<C-B3; 其中 C-B1、C-B2、C-B3 的土壤氨基糖总量和微生物残体碳分别增加了 13.26%、24.22%、36.20% 和 10.53%、20.23%、32.89%; 但各处理间土壤微生物残体碳对有机碳的贡献值均未发生显著变化。在轮作模式下, 与 R-B0 相比, 各处理间土壤氨基糖、微生物残体碳及微生物残体碳对有机碳的贡献均表现出随生物质炭施用量的增加呈先增后降的趋势, 且在 R-B1 出现最大值。同时, 在 B0、B1 处理下, 轮作中土壤氨基糖、微生物残体碳及微生物残体碳对有机碳的贡献值均显著高于连作( $P<0.05$ ), 而 B2、B3 处理下, 连作中土壤氨基糖和微生物残体碳含量显著高于轮作( $P<0.05$ )。Mantel-test 检验及 RDA 分析表明, 土壤有机碳是影响连作土壤氨基糖及微生物残体碳含量的首要因素。综上, 在生产实践中轮作配合生物质炭施用是调节土壤-烤烟-微生物生态系统稳定性的有效途径, 可以有效缓解植烟土壤连作障碍, 实现烟草可持续种植。

**关键词:** 烤烟; 种植模式; 土壤有机碳; 氨基糖; 微生物残体碳

中图分类号: S572; S151.9 文献标志码: A

## Changes in Microbial Residue Carbon in Tobacco Rhizosphere Soil Under Different Biochar Application Rates

YANG Xiongwei<sup>1,2</sup>, HUANG Xiaoxia<sup>2</sup>, CUI Shifang<sup>2</sup>, JIN Hao<sup>3</sup>, ZHANG Jungang<sup>3</sup>, LIU Yanzhong<sup>1</sup>, LUO Yigui<sup>1\*</sup>

(1 College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2 College of Landscape Architecture and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 3 Qujing Tobacco Company, Qujing, Yunnan 655400, China)

**Abstract:** The flue-cured tobacco variety K326 was used as the material, a one-year experiment was conducted based on a long-term field trial with 5 years of C and R. Four biochar application rates were set: B0 (0 kg/hm<sup>2</sup>), B1 (300 kg/hm<sup>2</sup>), B2 (750 kg/hm<sup>2</sup>), and B3 (1 500 kg/hm<sup>2</sup>). The effects of the four biochar treatments on the accumulation of soil microbial residue carbon under the two cropping systems were compared. Results showed that under C, compared to C-B0, C-B1, C-B2 and C-B3 significantly increased soil amino sugar and residue carbon contents ( $P<0.05$ ) by 13.26%, 24.22%, 36.20%, and 10.53%, 20.23%, 32.89%, respectively. However, there was no significant difference in the contribution of microbial residue carbon to organic carbon among different treatments. Under R, compared to R-B0, soil amino sugar, microbial residue carbon, and the contribution of microbial residue carbon to organic carbon all increased first and then decreased with increasing biochar application rate, with the maximum values under R-B1. Furthermore, under B0 and B1, the values of amino sugar, microbial residue carbon, and the contribution of microbial residue carbon to organic carbon were significantly higher under R than under C ( $P<0.05$ ). Conversely, under B2 and B3, the contents of amino sugar and microbial residue carbon were significantly higher under C than under R ( $P<0.05$ ). Mantel test and RDA analysis indicated that soil organic carbon was the primary factor influencing amino sugar and microbial residue carbon contents under C. In conclusion, R combined with biochar application is an effective approach to regulating the stability of soil-tobacco-microbial ecosystem, which can effectively mitigate continuous cropping obstacles in

①基金项目: 云南省烟草公司科技计划重点项目(2020530000241023)资助。

\* 通信作者(luoygui@163.com)

作者简介: 杨雄伟(1997—), 男, 云南曲靖人, 硕士, 科研助理, 主要从事植物生理生态研究。E-mail: 492348507@qq.com

tobacco cultivation and achieving sustainable tobacco production.

**Key words:** Tobacco; Cropping systems; Soil organic carbon; Amino sugars; Microbial residue carbon

烟草(*Nicotiana tabacum* L.)是我国重要的经济作物之一<sup>[1]</sup>。云南优越的自然条件,使其成为全国烤烟种植面积最大的优质产区<sup>[2]</sup>,然而,由于耕地资源限制和粮食作物产区相对比较集中且存在争地矛盾等因素的影响,云南省烤烟连作现象日益普遍<sup>[3]</sup>。长期连作会引起植烟土壤生态系统失调,烤烟病虫害频发,进而严重影响烤烟品质和产量<sup>[4]</sup>。高林等<sup>[5]</sup>研究发现,长期连作显著降低了植烟区土壤中细菌的多样性,同时提高了真菌的多样性,连作4年后土壤中细菌和真菌的群落结构及组成均发生显著变化。Tan等<sup>[6]</sup>研究进一步表明,多年烟草连作使得土壤养分含量和细菌多样性减少,同时一些关键类群丰度发生显著变化,这些因素共同导致了土传病害增加、生产潜力下降以及烟草质量受损。因此,植烟土壤生态系统的失衡被认为是引起烤烟连作障碍的主要原因之一。相较连作,烤烟与农作物合理轮作能够改善土壤结构及其微生态环境,提高土壤肥力和酶活性,减少病害的发生<sup>[1,3,7]</sup>,从而有利于烤烟产量及品质提升。生物质炭是一种含碳多孔材料,具有可再生性、低成本、高孔隙度等特点<sup>[8]</sup>,不仅能直接作用于土壤,还能通过调节土壤性质和植物根系代谢间接影响土壤微生物多样性<sup>[9]</sup>,也能防控土传病害<sup>[10]</sup>,被广泛用作土壤改良剂。大量研究表明,生物质炭能有效降低植烟连作土壤的自毒效应,保留大量的土壤养分,进一步促进烟草的生长<sup>[11]</sup>。同时,生物质炭的孔隙结构通过改变土壤微生物的相对丰度和群落组成,进而促进烤烟的发育和生物量积累<sup>[12]</sup>。赛子林等<sup>[13]</sup>研究发现,在植烟连作土壤中施用生物质炭有利于构建土壤真菌群落的多样性及网络结构的稳定性。因此,施用生物质炭能够有效改善植烟连作土壤结构和微生物环境,提升烟草产量与品质,实现可持续种植。

土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)指含碳化合物的复杂混合物,由动植物组织和不同分解阶段的微生物生物量组成,是土壤质量的重要组成部分<sup>[14]</sup>。微生物残体指微生物增殖、死亡或分泌形成的细胞外聚合残留物<sup>[15]</sup>,其在土壤中的持续积累对碳动态具有重要影响<sup>[16]</sup>。有研究表明<sup>[17]</sup>,全球农田土壤(0~20 cm 表层土壤)中微生物残体碳对有机碳的平均贡献高达 51%。氨基糖(Amino sugars, Ass)作为微生物残体的重要标识物,主要来源于微生物的细胞壁且有较高的稳定性和异源性,是评价土壤微生物群落结构和功能

的重要指标之一<sup>[18]</sup>。其中,胞壁酸(Muramic acid, MurN)作为细菌微生物残体的标识物,它是以细菌细胞壁作为唯一来源;氨基葡萄糖(Glucosamine, GluN)存在于真菌和细菌中,对氨基糖的贡献较大。细菌中胞壁酸和氨基葡萄糖的含量比为 1:2;同时, GluN/MurN 的比值用于反映真菌与细菌细胞壁残留物的相对比例<sup>[19-20]</sup>。Angst 等<sup>[21]</sup>研究发现,相较于生物可利用的植物源输入,土壤中某些微生物分类群和微生物群落多样性在控制微生物坏死团碳(特别是在矿物有机质)中发挥着十分重要的作用。然而,烤烟长期连作通过降低土壤微生物多样性、增加病原菌积累、改变土壤养分循环及理化性质等方式影响微生物群落<sup>[4-6]</sup>。此外,烤烟连作土壤中微生物残体碳如何变化及其影响因素的研究相当有限。因此,探究植烟土壤中微生物残体碳对有机碳的固存和稳定,这对于理解连作障碍中微生物群落的变化具有重要意义。

曲靖市拥有优越的气候条件和丰富的土地资源,使其成为全国最大的优质烟叶生产基地<sup>[22]</sup>。本研究结合曲靖烟区实际生产情况,以烤烟品种 K326 为试验材料,依托连续 5 年连作和轮作(烟草-玉米轮作)的定位试验田进行试验,比较两种耕作模式下不同生物质炭施用量对土壤微生物残体碳积累特征的影响,探讨了微生物残体碳对土壤有机碳的贡献特性,揭示生物质炭在缓解连作障碍中的作用机制。通过本研究,旨在为解决烤烟连作障碍问题提供科学理论依据和实践指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验区概况与供试材料

试验地位于云南省曲靖市沾益区(25°40' N, 103°39' E),全年气候温和,降水充沛,干湿季分明,属低纬度高原季风气候。试验地为连续 5 年连作烟田和 5 年轮作(烟草-玉米轮作)烟田,试验田地势平坦、肥力均匀,土壤类型均为红壤土,基本理化性质见表 1。供试生物质炭为经 600 °C 热解的玉米秸秆生物质炭,基本理化性质为 pH 10.09,有机质 899.00 g/kg,全氮 10.09 g/kg,全磷 3.61 g/kg,有效磷 100.89 mg/kg,速效钾 14.59 g/kg。供试烟草品种为 K326(玉溪中烟种子有限责任公司提供),采用漂浮育苗的方式培育,待烟苗生长到四叶期,选取长势一致的健康烟苗进行移栽。

表1 供试土壤基本理化性质  
Table 1 Initial physicochemical parameters of tested soil

| 耕作模式 | pH   | 有机质(g/kg) | 碱解氮(mg/kg) | 有效磷(mg/kg) | 速效钾(mg/kg) | 全氮(g/kg) |
|------|------|-----------|------------|------------|------------|----------|
| 连作   | 4.97 | 29.40     | 93.20      | 21.42      | 304.98     | 1.56     |
| 轮作   | 5.60 | 32.71     | 126.20     | 51.70      | 401.23     | 1.61     |

## 1.2 试验设计及取样

试验设置2种耕作模式,4个生物质炭处理(表2),采用随机区组设计,各处理3次重复,每个小区( $60.61\text{ m}^2$ )100株烟,共计24个小区,1100株/ $667\text{ m}^2$ ;根据当地的农艺措施,生物质炭采用种植前穴施(基肥与生物质炭混合均匀一次施入),有机肥全部用作基肥,肥料的基肥追肥比例为5:5,按当地优质烟叶生产规范进行田间管理。

烟草于2021年2月10日开始培育,2021年4月25日进行移栽。待烤烟移栽65 d后,每个小区随机选取3株烤烟,将其根际土样混为一个重复,每小区3次重复。将烟株完整取出后,抖落松散土壤,收集根系附近土壤。将土壤装入无菌聚丙烯袋中,放置冰盒带回实验室。过2 mm筛,去除土壤中的细根碎石等杂质。每个土壤样本被分成两部分:一部分放置实验室,等待自然风干后,用于测定土壤理化性质和土壤氨基糖含量;另一部分储存在-20℃冰箱,用于测定土壤含水量、铵态氮。

表2 试验设计  
Table 2 Experimental design

| 耕作模式  | 处理组  | 处理方法                            |
|-------|------|---------------------------------|
| 连作(C) | C-B0 | 对照, 生物质炭添加量 0 kg/ $\text{hm}^2$ |
|       | C-B1 | 生物质炭添加量 300 kg/ $\text{hm}^2$   |
|       | C-B2 | 生物质炭添加量 750 kg/ $\text{hm}^2$   |
|       | C-B3 | 生物质炭添加量 1500 kg/ $\text{hm}^2$  |
| 轮作(R) | R-B0 | 对照, 生物质炭添加量 0 kg/ $\text{hm}^2$ |
|       | R-B1 | 生物质炭添加量 300 kg/ $\text{hm}^2$   |
|       | R-B2 | 生物质炭添加量 750 kg/ $\text{hm}^2$   |
|       | R-B3 | 生物质炭添加量 1500 kg/ $\text{hm}^2$  |

## 1.3 土壤样品测定

**1.3.1 土壤理化性质测定** 土壤理化性质测定方法参照《土壤农化分析》<sup>[23]</sup>。土壤含水量(Soil water content, SWC)用铝盒将新鲜土壤置于105℃烘箱持续烘干48 h至恒重后,计算烘前烘后差值;土壤pH采用pH计测定(土水比1:2.5);土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)和全氮(Total nitrogen, TN)用元素分析仪(Vario MAX, Elementar, 德国)测定,土壤全磷(Total phosphorus, TP)用钼锑抗比色法测定。土

壤铵态氮(Nitrate nitrogen,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )采用紫外分光光度法(酚二磺酸比色法)测定。

**1.3.2 土壤氨基糖的测定及计算** 根据Indorf等<sup>[24]</sup>的方法提取土壤氨基糖,并进行了少量修改<sup>[25]</sup>。胞壁酸(Muramic acid, MurN)、氨基葡萄糖(Glucosamine, GluN)、氨基半乳糖(Galactosamine, GalN)的浓度使用高性能液相色谱仪(Dionex Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific),配备十八烷基硅化硅胶柱(Accclaim120 C18, 150 mm, 4.6 mm, 3  $\mu\text{m}$ , Thermo Fisher Scientific),用邻苯二醛进行柱前衍生化处理。根据含有混合氨基糖的标准溶液的色谱图对单个氨基糖进行鉴定和定量。

从总GluN中扣除细菌来源的GluN,可以获得表征真菌残留物的真菌来源氨基葡萄糖(Fungal glucosamine, F\_GluN):  $F_{\text{GluN}} = \text{GluN} - 2 \times \text{MurN} \times 179.17 \div 251.23$ 。氨基糖总量(Total Ass)为各氨基糖含量之和。微生物残体碳含量由GluN和MurN计算转换得到,计算公式如下<sup>[26]</sup>:

$$\text{FNC} = (\text{GluN} \div 179.17 - 2 \times \text{MurN} \div 251.23) \times 179.17 \times 9 \quad (1)$$

$$\text{BNC} = \text{MurN} \times 45 \quad (2)$$

$$\text{MNC} = \text{FNC} + \text{BNC} \quad (3)$$

式中: FNC表示真菌残体碳; BNC表示细菌残体碳; MNC表示微生物残体碳; GluN表示氨基葡萄糖; MurN表示胞壁酸; 179.17和251.23是GluN和MurN的分子量; 9和45分别是真菌残体碳和细菌残体碳的转换系数。

## 1.4 数据分析

采用Excel 2019对各项基础土壤数据进行整理。运用SPSS 26.0中单因素方差分析(One-way ANOVA)比较同一耕作模式下不同生物质炭添加量处理间的差异,采用Ducan法进行多重比较( $\alpha=0.05$ );耕作模式与生物质炭处理的交互作用运用双因素方差分析;F检验后通过独立样本t检验分析同一生物质炭处理间不同耕作模式间的差异性。Mantel-test用于计算土壤氨基糖及微生物残体碳与土壤理化性质间的相关性,使用R软件,vegan包和MASS包计算。Canoco 5、Origin 2018、R软件进行绘图。所有数据均为平均值±标准误。

## 2 结果与分析

### 2.1 耕作模式与生物质炭处理下土壤理化性质特征

由表 3 可知, 生物质炭处理对 pH、SOC、TP、 $\text{NH}_4^+$ -N、C/N 均显著影响, 而 SOC 同时受耕作模式、生物质炭处理及二者交互作用的共同影响( $P<0.05$ )。在连作中, 与 C-B0 相比, C-B1、C-B2、C-B3 中 SOC

分别增加了 2.19%、19.45%、31.92%, 同时 C/N 分别增加了 20.51%、19.93%、68.13%; TP 分别降低了 17.12%、11.64%、26.71%。在轮作中, 与 R-B0 相比, R-B1、R-B2、R-B3 中 pH 和 C/N 分别显著增加了 12.44%、14.13%、16.90% 和 46.12%、41.66%、46.72%, 而  $\text{NH}_4^+$ -N 显著减低了 73.87%、93.03%、94.43% ( $P<0.05$ )。

表 3 不同耕作模式中土壤理化性质  
Table 3 Soil physicochemical properties under different tillage practices

| 处理   | pH                | SWC(%)             | SOC(g/kg)         | TN(g/kg)          | TP(g/kg)           | $\text{NH}_4^+$ -N(mg/kg) | C/N                 |
|------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|
| C-B0 | $6.73 \pm 0.32$ a | $12.33 \pm 0.90$ a | $7.30 \pm 0.13$ b | $0.95 \pm 0.21$ a | $1.46 \pm 0.08$ a  | $1.43 \pm 0.74$ a         | $8.63 \pm 2.12$ b   |
| C-B1 | $7.25 \pm 0.04$ a | $11.41 \pm 0.31$ a | $7.46 \pm 0.29$ b | $0.72 \pm 0.04$ a | $1.21 \pm 0.04$ bc | $0.56 \pm 0.24$ a         | $10.40 \pm 0.86$ ab |
| C-B2 | $6.72 \pm 0.40$ a | $12.49 \pm 1.61$ a | $8.72 \pm 0.53$ a | $0.88 \pm 0.12$ a | $1.29 \pm 0.08$ ab | $2.25 \pm 0.64$ a         | $10.35 \pm 1.68$ ab |
| C-B3 | $7.17 \pm 0.02$ a | $10.73 \pm 0.62$ a | $9.63 \pm 0.38$ a | $0.66 \pm 0.01$ a | $1.07 \pm 0.04$ c  | $0.66 \pm 0.17$ a         | $14.51 \pm 0.52$ a  |
| R-B0 | $6.51 \pm 0.48$ b | $12.31 \pm 0.84$ a | $7.01 \pm 0.12$ a | $0.98 \pm 0.26$ a | $1.29 \pm 0.19$ a  | $2.87 \pm 0.84$ a         | $8.09 \pm 1.73$ b   |
| R-B1 | $7.32 \pm 0.09$ a | $9.47 \pm 1.26$ a  | $7.26 \pm 0.47$ a | $0.61 \pm 0.04$ a | $1.09 \pm 0.03$ a  | $0.75 \pm 0.49$ b         | $11.82 \pm 0.49$ a  |
| R-B2 | $7.43 \pm 0.05$ a | $12.30 \pm 1.10$ a | $7.21 \pm 0.22$ a | $0.64 \pm 0.05$ a | $1.02 \pm 0.01$ a  | $0.20 \pm 0.02$ b         | $11.46 \pm 0.73$ a  |
| R-B3 | $7.61 \pm 0.09$ a | $10.31 \pm 0.59$ a | $6.78 \pm 0.15$ a | $0.57 \pm 0.04$ a | $0.95 \pm 0.05$ a  | $0.16 \pm 0.02$ b         | $11.87 \pm 0.51$ a  |
| P    | ns                | ns                 | ***               | ns                | *                  | ns                        | ns                  |
| B    | *                 | ns                 | *                 | ns                | **                 | *                         | *                   |
| P×B  | ns                | ns                 | **                | ns                | ns                 | *                         | ns                  |

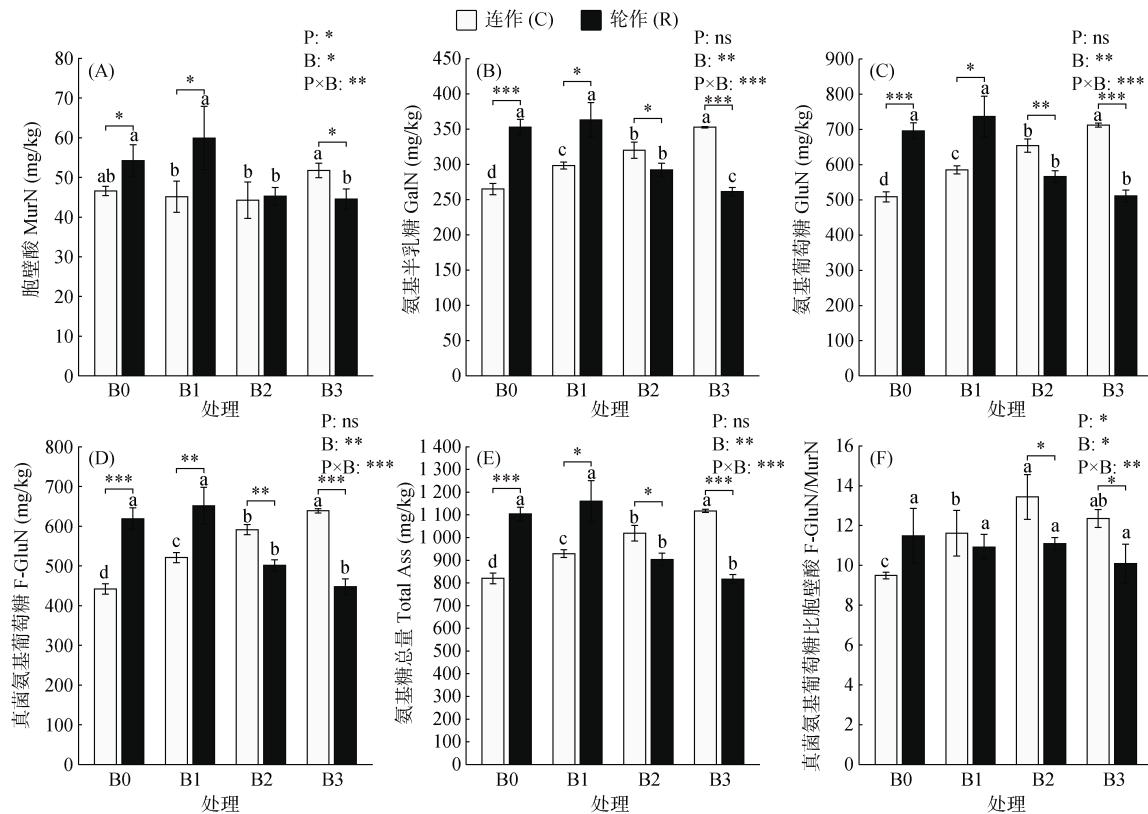
注: pH, 酸碱度; SWC, 含水量; SOC, 有机碳; TN, 全氮; TP, 全磷;  $\text{NH}_4^+$ -N, 铵态氮; C/N, 有机碳与全氮之比。C, 连作耕作模式; R, 轮作耕作模式。B0, 生物质炭 0 kg/hm<sup>2</sup>(对照组); B1, 生物质炭 300 kg/hm<sup>2</sup>; B2, 生物质炭 750 kg/hm<sup>2</sup>; B3, 生物质炭 1 500 kg/hm<sup>2</sup>; P: 耕作模式, B: 生物质炭处理。同列不同小写字母表示同一耕作模式下不同用量生物质炭处理间差异显著( $P<0.05$ ); 方差分析中, \*、\*\*、\*\*\*分别表示各因素及其交互作用的影响在  $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$  水平上显著, ns 表示差异不显著。

### 2.2 耕作模式与生物质炭处理下土壤氨基糖累积特征

由图 1 可知, 生物质炭处理及二者的交互作用对 MurN、GalN、GluN、F-GluN、Total Ass、F-GluN/MurN 均有显著影响( $P<0.05$ )。在连作中, 随着生物质炭含量的增加, GalN、GluN、F-GluN、Total Ass 均呈现显著增加的趋势( $P<0.05$ ), 表现为 C-B0<C-B1<C-B2<C-B3(图 1A~1E)。与 C-B0 相比, C-B1、C-B2、C-B3 中 F-GluN/MurN 均显著增加( $P<0.05$ ), 分别增加了 22.44%、41.62%、30.24%(图 1F)。在轮作中, 与 R-B0 相比, R-B2、R-B3 中 MurN、GalN、GluN、F-GluN、Total Ass 显著降低( $P<0.05$ ), 分别下降了 16.50%、17.24%、18.69%、18.96%、18.12% 和 17.85%、25.92%、26.60%、27.70%、25.96%(图 1A~1E)。随着生物质炭施用量的增加, 连作中土壤各氨基糖含量逐渐增加(图 1B~1D); 在生物质炭 B2、B3 处理时, 其含量显著高于轮作( $P<0.05$ )。

### 2.3 耕作模式与生物质炭处理下土壤微生物残体碳累积及其对有机碳的贡献特征

由图 2 可知, 耕作模式对 BNC、FNC/BNC 有显著影响, 而生物质炭处理及二者的交互作用均对 FNC、BNC、MNC、FNC/BNC 有显著影响( $P<0.05$ )。在连作中, 随着生物质炭含量的增加, FNC 和 MNC 呈显著增加的趋势( $P<0.05$ ), 表现为 C-B0<C-B1<C-B2<C-B3(图 2A~2C)。在轮作中, 与 R-B0 相比, FNC、BNC、MNC 均表现出一致的变化趋势, 其中 R-B2 和 R-B3 的值显著降低( $P<0.05$ ), 分别降低了 18.85%、16.39%、18.23% 和 27.65%、18.03%、24.72%, R-B1 的值无显著变化且为最大值(图 2A~2C)。在生物质炭 B0、B1 下, 连作中 FNC、BNC、MNC 显著低于轮作; 而在 B2、B3 下, 其值显著高于轮作( $P<0.05$ )。其中, FNC/BNC 反映了真菌和细菌对微生物残体的相对贡献。在连作中, 与 C-B0 相比, C-B1、C-B2、C-B3 中 FNC/BNC 均显著增加( $P<0.05$ ), 分别



(图中不同小写字母表示同一耕作模式下不同用量生物质炭处理组间差异显著( $P<0.05$ )。\*、\*\*、\*\*\*分别表示达 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$ 显著水平, ns 表示不显著。下同)

图 1 不同耕作模式中土壤氨基糖的含量

Fig. 1 Content of soil amino sugars under different tillage practices

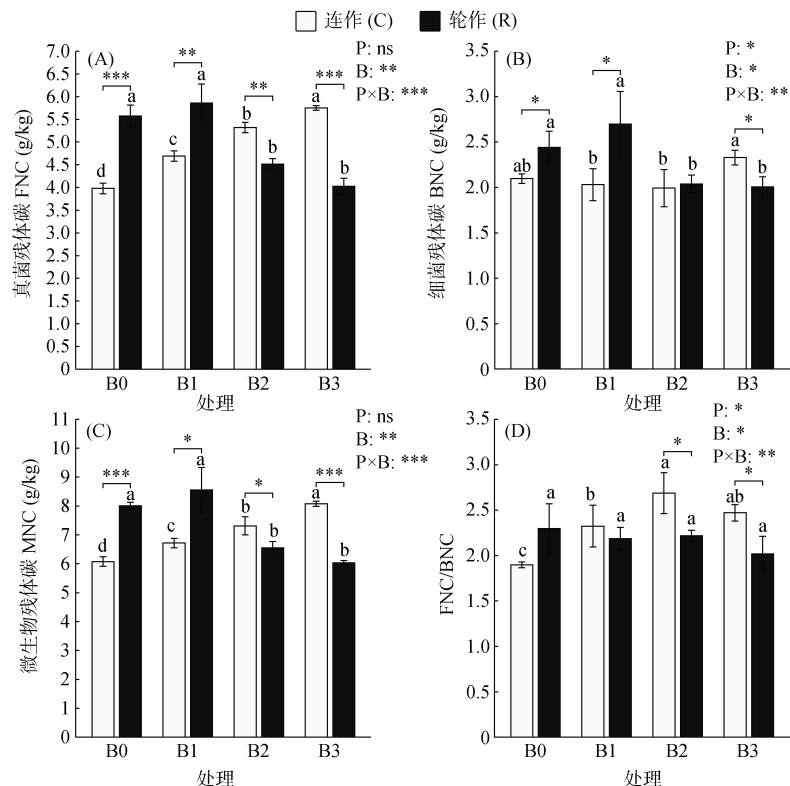


图 2 不同耕作模式中土壤微生物残体碳的含量

Fig. 2 Contents of soil microbial residue carbon under different tillage practices

增加了 22.11%、41.58%、30%(图 2D); 在轮作中, 各处理组 FNC/BNC 均无显著变化。

由图 3 可知, 耕作模式、生物质炭处理及其交互作用对 FNC/SOC、MNC/SOC 有显著影响, 耕作模式、生物质炭处理对 BNC/SOC 显著影响。在连作中, 与 C-B0 相比, C-B1、C-B2、C-B3 中 BNC/SOC 均有下降, 分别下降了 5.32%、20.24%、15.69%(图 3B)。

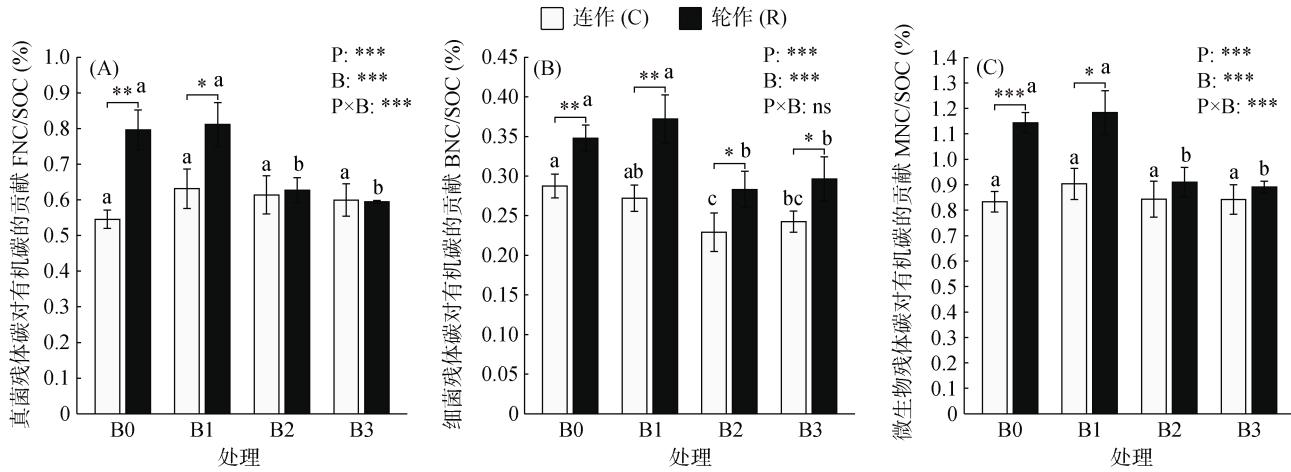


图 3 不同耕作模式中土壤微生物残体碳对有机碳的贡献

Fig. 3 Contributions of soil microbial residue carbon to organic carbon under different tillage practices

#### 2.4 耕作模式与生物质炭处理下理化因子对氨基糖及微生物残体碳的影响特征

由图 4 可知, 在连作中, pH 与 TN、TP 显著负相关, 与 C/N 显著正相关; SOC 与 C/N 显著正相关, 与 TP 显著负相关; TN 与 TP 显著正相关, 与 C/N 显著负相关; 土壤氨基糖、微生物残体碳受 SOC、TP、C/N 的显著正影响( $P<0.05$ ), 其中受 SOC 影响最大(图 4A)。在轮作中, pH 与 TN、TP 显著负相关, 与 C/N 显著正相关; TN 与 TP 显著正相关, 与 C/N 显著负相关; TP 与 C/N 显著负相关, 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>N 显著正相关。

与 C/N 显著负相关( $P<0.05$ ); 而土壤氨基糖和微生物残体碳与土壤理化性质无显著相关性(图 4B)。

此外, 根据连作中土壤氨基糖及微生物残体碳与土壤理化性质的 RDA 分析结果可知, RDA1 和 RDA2 两轴解释了 88.56% 的差异信息, 其中 SOC 对土壤氨基糖变异的解释度最高, 为 70.9%( $F=24.4, P=0.002$ ) (图 5A)。RDA1 和 RDA2 两轴解释了 89.21% 的差异信息, 其中 SOC 对微生物残体碳变异的解释度最高, 为 66.2%( $F=19.6, P=0.002$ )(图 5B)。

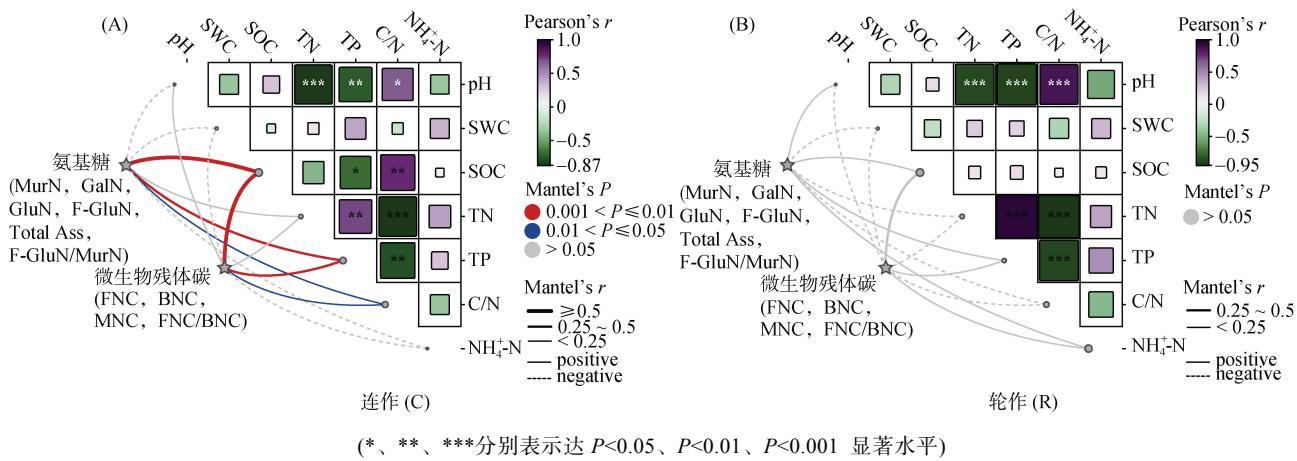
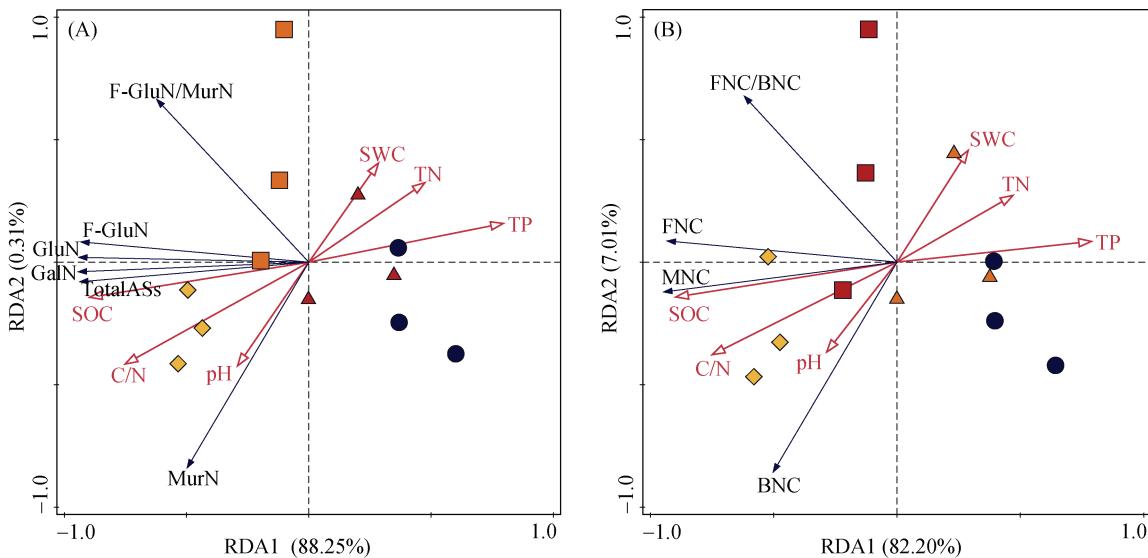


图 4 不同耕作模式中土壤氨基糖及微生物残体碳受土壤理化性质的影响

Fig. 4 Effects of soil physicochemical properties on amino sugars and microbial residue carbon under different tillage practices



(pH, 酸碱度; SWC, 含水量; SOC, 有机碳; TN, 全氮; TP, 全磷; C/N, 有机碳与全氮之比; MurN, 胞壁酸; GalN, 氨基半乳糖; GluN, 氨基葡萄糖; F-GluN, 真菌氨基葡萄糖; Total Ass, 氨基糖总量; F-GluN/MurN, 真菌氨基葡萄糖与胞壁酸之比; FNC, 真菌残体碳; BNC, 细菌残体碳; MNC, 微生物残体碳; FNC/BNC, 真菌残体碳与细菌残体碳之比)

图 5 连作模式中土壤氨基糖及微生物残体碳与土壤理化性质的 RDA 分析

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of soil amino sugars and microbial residue carbon in relation to soil physicochemical properties under cropping patterns

### 3 讨论

#### 3.1 耕作模式与生物质炭处理下土壤氨基糖及其残体碳累积特征的影响

生物质炭是一种富含碳的物质,因其稳定性和多孔性而被用于改善土壤质量<sup>[8]</sup>。在不同的耕作模式中施用生物质炭对土壤氨基糖含量的影响可以通过多种机制表现出来。本研究发现,随着生物质炭施用量的增加,连作土壤中氨基糖含量显著增加;这与之前的研究结果一致,长期连作可能导致土壤养分耗竭和微生物多样性下降,施用生物质炭一定程度能缓解连作引起的“土壤疲劳”,改善土壤环境,进而促进氨基糖积累<sup>[11]</sup>。同时生物质炭也改善了植烟土壤微生态环境,从而为微生物提供更好的生存场所,增强了微生物的活性和多样性<sup>[27]</sup>。相反,在轮作中,300 kg/hm<sup>2</sup> 的生物质炭有利于土壤中氨基糖的积累;而随着施用量的增加,氨基糖的含量显著下降。本研究推测,作物轮作中多样化的植物残体输入和更健康的微生物群落可能与生物质炭形成协同作用,进一步提高氨基糖含量;而过量生物质炭可能改变微生物的群落结构和活性,同时影响有机质的分解,从而影响氨基糖的生成和积累。这与 Xie 等<sup>[28]</sup>对生物质炭调节小麦-玉米轮作的研究结果类似。

同样,随着生物质炭施用量的增加,连作中土壤微生物残体碳显著增加;而轮作中微生物残体碳表现

出先增后降的趋势,这与土壤氨基糖的变化类似。植物-微生物-土壤之间的相互作用一直保持着动态平衡<sup>[29]</sup>;长期连作土壤中养分匮乏、微生物群落单一,而生物质炭的输入改变了土壤中微生物群落结构,促进了养分循环,从而调节烟叶的生长及代谢<sup>[30]</sup>;也增加了微生物活性及代谢,导致了微生物残体碳的积累,进而一定程度上缓解了植烟土壤连作障碍。相反,轮作土壤中养分较均衡,且微生物活性及多样性较高;过量的生物质炭输入反而抑制了微生物的活性,导致积累较少微生物残体碳。此外,随着生物质炭施用量的增加,连作中土壤氨基糖及残体碳含量逐渐增加且显著高于轮作,这可能是微生物在不同养分条件下的应对策略不用。有研究表明<sup>[31]</sup>,不同连作年限土壤中施用一定量生物质炭,有利于促进微生物群落组成和结构的改变,提高了土壤中真菌丰度及多样性。

#### 3.2 耕作模式与生物质炭处理下土壤微生物残体碳对有机碳贡献的影响

在土壤碳循环和土壤有机质形成中微生物的合成代谢活动发挥着重要作用,而不仅仅是作为其矿化到 CO<sub>2</sub> 的参与者,这也被纳入“土壤微生物碳泵”的概念框架<sup>[32-33]</sup>。本研究发现,微生物坏死团对有机碳的贡献达 50% 以上,同时真菌残体碳的贡献高于细菌残体碳;这与 Liang 等<sup>[16]</sup>对微生物坏死团对土壤有机质贡献的定量评价的结果一致。这可能由于土壤

中的细菌残留物主要被分解为多肽, 可直接被微生物利用<sup>[34]</sup>; 而真菌残留物周转时间较长<sup>[35]</sup>, 并且在长期内对有机碳的稳定贡献更大。在保护性耕作的农田中, Yang 等<sup>[36]</sup>也发现真菌比细菌更能决定土壤有机碳的增加。因此, 对于田间管理需要促进微生物生物量的形成和坏死体的保存, 以维持健康的土壤状况。微生物坏死团是土壤有机碳储存的重要贡献者, 是微生物利用的资源池<sup>[32]</sup>。Kallenbach 等<sup>[37]</sup>研究表明, 微生物生理直接受到农业管理的影响, 并与有机碳循环和储存密切相关。本研究发现, 连作土壤中施用不同比例生物质炭后土壤微生物残体碳对有机碳的贡献并没有显著变化; 这与 Liu 等<sup>[38]</sup>研究结果一致, 外源碳输入促进了微生物的同化与代谢, 但微生物残留物对有机碳的相对贡献可能具有一定饱和性。此外, 土壤中有机碳的截获过程由微生物代谢周转和植物组分存留共同调控<sup>[39]</sup>, 连作土壤中氨基糖及微生物残体碳含量随着生物质炭施用量的增加而增加, 同时土壤中有机碳含量同样增加, 这也导致微生物残体碳对有机碳的贡献没有发生显著变化。然而, 与连作相比, 轮作中未施用及适量施用生物质炭(300 kg/hm<sup>2</sup>)后, 土壤中细菌、真菌及微生物残体碳对有机碳的贡献比显著增加, 说明轮作土壤中适量添加生物质炭有利于增加微生物的群落结构和活性, 进而提高其贡献比。因此, 阐明土壤微生物生存策略形成微生物坏死团的机制, 对理解农业生态系统有机碳储量具有重要意义。

### 3.3 耕作模式与生物质炭处理下土壤氨基糖及微生物残体碳的影响因素

通过 Mantel-test 检验及 RDA 分析, 本研究发现土壤有机碳是影响连作中土壤氨基糖及微生物残体碳含量的最主要因素; 这与吕付泽等<sup>[40]</sup>探究免耕和不同秸秆覆盖量下土壤微生物群落组成及残留物的变化的研究结果类似, 土壤有机碳是影响微生物群落组成及其残留物积累的重要因素之一。Huang 等<sup>[41]</sup>研究表明, 土壤有机碳和活微生物量是影响土壤微生物残留量动态的主要因素。土壤的生物地球化学性质对于微生物残留物在土壤中的持久性尤为重要<sup>[42]</sup>, 连作土壤中养分及微生物较单一匮乏, 不足以维持微生物残留物的积累, 而外源有机碳的输入有利于改善土壤环境、提高微生物的活性及代谢, 一定程度上能缓解植烟土壤连作障碍。相反, 轮作土壤中, 土壤氨基糖及微生物残体碳未明显受到土壤理化因素的影响, 这可能与土壤中养分充足和功能多样性较高有关。Zhang 等研究表明<sup>[43]</sup>, 轮作通过增加碳输入的数

量、质量和化学多样性, 促进了土壤群落和生物-非生物之间的相互作用, 对土壤有机质的形成和储存产生了积极影响。本研究推测, 连作中土壤有机碳的变化在短期内对微生物残体碳的影响可能更加显著, 而生物质炭的影响需要更长时间或在特定条件下才能显现。因此, 下一步将进行长期的田间试验, 更深入探索生物质炭施用对连作障碍的缓解机制, 以期为缓解烤烟连作障碍提供理论与试验参考。

## 4 结论

本研究比较分析了轮连作烤烟耕作模式土壤配施不同量玉米秸秆生物质炭处理下的根际土壤微生物残体碳积累特征及影响因素。本研究结果表明, 生物质炭施用对土壤微生物残体积累的影响因耕作模式而异。在连作中, 随着生物质炭施用量的增加, 土壤氨基糖和微生物残体碳含量均显著提升, 但其对土壤有机碳的贡献率保持稳定; 而在轮作模式下, 土壤氨基糖、微生物残体碳及土壤微生物残体碳对有机碳的贡献呈现先升高后降低的响应趋势。进一步分析发现, 土壤有机碳含量是决定连作模式中土壤微生物残体积累的关键控制因素。土壤微生物群落结构组成及多样性导致了连作和轮作土壤间的差异, 而施用生物质炭有利于增加连作土壤中微生物的活性及多样性, 能达到缓解植烟土壤连作障碍及土壤改良作用。

## 参考文献:

- [1] 田震, 张灿, 孙晋浩, 等. 酒糟有机肥施用对植烟土壤养分和真菌群落结构的影响[J]. 土壤, 2024, 56(3): 533–539.
- [2] 王政, 刘久羽, 彭博, 等. 云南红壤坡耕地烤烟生长季土壤养分迁移特征[J]. 土壤, 2023, 55(4): 918–924.
- [3] 周旭东, 韩天华, 申云鑫, 等. 4 种轮作模式下长期连作烟田土壤微生态的响应特征[J]. 中国农业科技导报, 2024, 26(3): 174–187.
- [4] 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.
- [5] 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): 147–152.
- [6] Tan G, Liu Y J, Peng S G, et al. Soil potentials to resist continuous cropping obstacle: Three field cases[J]. Environmental Research, 2021, 200: 111319.
- [7] 王亚麒, 刘京, 芮剑渝, 等. 长期有机无机配施下烤烟-玉米轮作优化土壤微生物活化无机磷[J]. 土壤学报, 2022, 59(3): 808–818.
- [8] Sashidhar P, Kochar M, Singh B, et al. Biochar for delivery of agri-inputs: Current status and future perspectives[J]. Science of the Total Environment, 2020, 703: 134892.

- [9] 马泊泊, 黄瑞林, 张娜, 等. 稼秆生物质炭对根际土壤细菌-真菌群落分子生态网络的影响[J]. 土壤学报, 2019, 56(4): 964–974.
- [10] Zhu X Q, Chen Y, Jia M, et al. Managing tobacco black shank disease using biochar: Direct toxicity and indirect ecological mechanisms[J]. Microbiology Spectrum, 2024, 12(10): e0014924-24.
- [11] Hu H J, Meng J, Zheng H, et al. Relief effect of biochar on continuous cropping of tobacco through the reduction of p-hydroxybenzoic acid in soil[J]. Heliyon, 2024, 10(12): e33011.
- [12] Yang L Y, Li S C, Ahmed W, et al. Exploring the relationship between biochar pore structure and microbial community composition in promoting tobacco growth[J]. Plants, 2024, 13(21): 2952.
- [13] 赛子林, 韩世欣, 齐虹凌, 等. 添加生物炭对烟草连作土壤化学性质及真菌群落的影响[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(8): 242–252.
- [14] Lal R. Digging deeper: A holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems[J]. Global Change Biology, 2018, 24(8): 3285–3301.
- [15] Hall S J, Ye C L, Weintraub S R, et al. Molecular trade-offs in soil organic carbon composition at continental scale[J]. Nature Geoscience, 2020, 13(10): 687–692.
- [16] Liang C, Amelung W, Lehmann J, et al. Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter[J]. Global Change Biology, 2019, 25(11): 3578–3590.
- [17] Wang B R, An S S, Liang C, et al. Microbial necromass as the source of soil organic carbon in global ecosystems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 162: 108422.
- [18] 李庭宇, 李双异, 刘旭, 等. 土壤微生物标识物—氨基糖的研究进展[J]. 土壤通报, 2022, 53(1): 241–252.
- [19] Engelking B, Flessa H, Joergensen R G. Shifts in amino sugar and ergosterol contents after addition of sucrose and cellulose to soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(8): 2111–2118.
- [20] Chen X B, Xia Y H, Hu Y J, et al. Effect of nitrogen fertilization on the fate of rice residue-C in paddy soil depending on depth:  $^{13}\text{C}$  amino sugar analysis[J]. Biology and Fertility of Soils, 2018, 54(4): 523–531.
- [21] Angst G, Angst Š, Frouz J, et al. Stabilized microbial necromass in soil is more strongly coupled with microbial diversity than the bioavailability of plant inputs[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 190: 109323.
- [22] 杨树明, 余小芬, 邹炳礼, 等. 曲靖植烟土壤 pH 和主要养分空间变异特征及其影响因素[J]. 土壤, 2021, 53(6): 1299–1308.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [24] Indorf C, Dyckmans J, Khan K S, et al. Optimisation of amino sugar quantification by HPLC in soil and plant hydrolysates[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(4): 387–396.
- [25] Mou Z J, Kuang L H, Yan B Y, et al. Influences of sample storage and grinding on the extraction of soil amino sugars[J]. Soil Ecology Letters, 2020, 2: 157–163.
- [26] Xu Y D, Gao X D, Pei J B, et al. Crop root vs. shoot incorporation drives microbial residue carbon accumulation in soil aggregate fractions[J]. Biology and Fertility of Soils, 2022, 58(8): 843–854.
- [27] Ahmed A, Kurian J, Raghavan V. Biochar influences on agricultural soils, crop production, and the environment: A review[J]. Environmental Reviews, 2016, 24(4): 495–502.
- [28] Xie Y X, Dong C, Chen Z Y, et al. Successive biochar amendment affected crop yield by regulating soil nitrogen functional microbes in wheat-maize rotation farmland[J]. Environmental Research, 2021, 194: 110671.
- [29] Janzen H H. Beyond carbon sequestration: Soil as conduit of solar energy[J]. European Journal of Soil Science, 2015, 66(1): 19–32.
- [30] Yan S, Ren T B, Wan Mahari W A, et al. Soil carbon supplementation: Improvement of root-surrounding soil bacterial communities, sugar and starch content in tobacco (*N. Tabacum*)[J]. Science of the Total Environment, 2022, 802: 149835.
- [31] 王雪玉, 刘金泉, 胡云, 等. 生物炭对设施连作土壤真菌群落结构与多样性的影响[J]. 农业机械学报, 2022, 53(7): 347–353.
- [32] Zhu X F, Min K K, Feng K, et al. Microbial necromass contribution to soil carbon storage via community assembly processes[J]. Science of the Total Environment, 2024, 951: 175749.
- [33] Li Y Z, Wang S N, Yang Y L, et al. Global synthesis on the response of soil microbial necromass carbon to climate-smart agriculture[J]. Global Change Biology, 2024, 30(5): e17302.
- [34] Hu Y T, Zheng Q, Noll L, et al. Direct measurement of the *in situ* decomposition of microbial-derived soil organic matter[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107660.
- [35] Schweigert M, Herrmann S, Miltner A, et al. Fate of ectomycorrhizal fungal biomass in a soil bioreactor system and its contribution to soil organic matter formation[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 88: 120–127.
- [36] Yang Y L, Xie H T, Mao Z, et al. Fungi determine increased soil organic carbon more than bacteria through their necromass inputs in conservation tillage croplands[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 167: 108587.
- [37] Kallenbach C M, Grandy A S, Frey S D, et al. Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 91: 279–290.
- [38] Liu X, Zhou F, Hu G Q, et al. Dynamic contribution of microbial residues to soil organic matter accumulation influenced by maize straw mulching[J]. Geoderma, 2019, 333: 35–42.

- [39] 霍海南, 李杰, 张效琛, 等. 不同施肥管理措施对农田土壤中植物和微生物残留组分的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(9): 3060–3066.
- [40] 吕付泽, 杨雅丽, 鲍雪莲, 等. 免耕不同秸秆覆盖量对黑土微生物群落及其残留物的影响[J]. 应用生态学报, 2023, 34(4): 903–912.
- [41] Huang Y, Liang C, Duan X W, et al. Variation of microbial residue contribution to soil organic carbon sequestration following land use change in a subtropical karst region[J]. *Geoderma*, 2019, 353: 340–346.
- [42] Ni X Y, Liao S, Tan S Y, et al. A quantitative assessment of amino sugars in soil profiles[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 143: 107762.
- [43] Zhang K L, Maltais-Landry G, Liao H L. How soil biota regulate C cycling and soil C pools in diversified crop rotations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 156: 108219.