

# 麦玉系统周年保护性耕作下土壤微生物多样性及其关键驱动因子<sup>①</sup>

王妙芬<sup>1, 2, 3</sup>, 张先凤<sup>1</sup>, 李梦柔<sup>1, 2, 3</sup>, 刘超毅<sup>1, 2, 3</sup>, 信秀丽<sup>1</sup>, 杨文亮<sup>1</sup>, 朱安宁<sup>1, 2, 3\*</sup>

(1 土壤与农业可持续发展全国重点实验室/封丘农业生态实验站(中国科学院南京土壤研究所), 南京 211135; 2 中国科学院大学南京学院, 南京 211135; 3 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 保护性耕作是优化土壤结构与微生物多样性的重要举措, 对耕地地力与粮食产能提升具有重大意义。本研究依托黄淮海平原潮土区的麦玉系统周年保护性耕作大田定位试验, 分析连续 16 年试验后的土壤理化特性、微生物多样性及群落组成。结果表明: ①少免耕较连续性耕作显著降低了土壤通气孔隙和持水孔隙体积以及微团聚体质量比例, 显著提高了土壤容重、大团聚体质量比例以及总有机碳、活性有机碳、全氮和碱解氮含量; 相比之下, 稻秆还田较稻秆移除处理显著降低了土壤容重和微团聚体质量比例, 显著提高了土壤通气孔隙和持水孔隙体积、大团聚体质量比例以及总有机碳、活性有机碳、全氮和碱解氮含量。②细菌和真菌的群落多样性及物种组成对耕作方式与稻秆管理的响应存在显著性差异, 其中耕作方式显著改变了细菌的群落多样性和丰富度, 而稻秆管理对细菌和真菌的群落多样性和丰富度均产生显著影响; 与常规处理(连续性耕作稻秆移除)相比, 少免耕稻秆还田总体上降低了细菌 Shannon 和 Chao1 指数, 却显著提高了真菌的 Shannon 和 Chao1 指数; 在门水平上, 少免耕和稻秆还田对细菌与真菌的群落组成均有显著影响, 在属水平上, 不同处理间的物种差异主要体现在不同的稻秆管理措施上。③周年保护性耕作主要通过改变土壤化学特性(包括总有机碳、活性有机碳、全氮和碱解氮)来显著影响细菌群落多样性及丰富度, 而真菌群落多样性及丰富度的变化主要由土壤物理特性(包括容重、通气孔隙和持水孔隙)驱动。综上所述, 麦玉系统周年保护性耕作能够通过改变潮土理化特性, 不同程度影响微生物群落多样性。研究可为黄淮海平原土壤生物肥力培育提供理论指导与技术支撑。

**关键词:** 周年保护性耕作; 微生物多样性; 土壤理化特性; 驱动因子; 潮土

**中图分类号:** S154.3      **文献标志码:** A

## Soil Microbial Diversity and Its Key Driving Factors in Wheat-Maize System Under Annual Conservation Tillage

WANG Miaofen<sup>1, 2, 3</sup>, ZHANG Xianfeng<sup>1</sup>, LI Mengrou<sup>1, 2, 3</sup>, LIU Chaoyi<sup>1, 2, 3</sup>, XIN Xiuli<sup>1</sup>, YANG Wenliang<sup>1</sup>, ZHU Anning<sup>1, 2, 3\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture/State Experimental Station of Agro-Ecosystem in Fengqiu, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Nanjing 211135, China; 3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Conservation tillage is an important measure to optimize soil structure and microbial diversity, which is of great importance for soil fertility and productivity. This study based on the positional experiment of wheat-maize annual conservation tillage in fluvo-aquic soil area of the Huang-Huai-Hai Plain, soil physiochemical properties, microbial diversity and community composition were analyzed after 16 years. The results showed that: 1) Compared with continuous tillage, reduced/no-tillage significantly reduced aeration pore and water holding pore and the mass proportion of microaggregates, and significantly increased soil bulk density, the mass proportion of macroaggregates and total organic carbon (TOC), labile organic carbon (LOC), total nitrogen (TN) and alkali-hydrolyzed nitrogen (AN). In contrast, compared with straw removal, straw returning significantly reduced soil bulk density and mass proportion of microaggregates, and significantly increased soil aeration pore, water holding pore, mass proportion of macroaggregates, TOC, LOC, TN and AN. 2) The responses of bacterial and fungal community diversities and compositions to tillage and straw managements were significantly different. Tillage significantly changed bacterial

①基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1902701)和国家自然科学基金青年项目(42107337)资助。

\* 通信作者(anzhu@issas.ac.cn)

作者简介: 王妙芬(2000—), 女, 福建厦门人, 硕士研究生, 主要从事土壤有机碳氮研究。E-mail: wangmiaofen@issas.ac.cn

community diversity and richness, while straw management had significant effects on both bacterial and fungal community diversities and richness. Compared with the conventional treatment (continuous tillage with straw removing), reduced/no-tillage with straw returning decreased the Shannon and Chao1 indices of bacteria in general, increased Shannon and Chao1 indices of fungi significantly. At phylum level, reduced/no-tillage and straw returning both had significant effects on the community compositions of bacteria and fungi. At genus level, species differences among different treatments were mainly between straw managements. 3) Annual conservation tillage significantly affected the diversity and richness of bacterial community through changing soil chemical properties (TOC, LOC, TN and AN), while changes in fungal community diversity and richness were mainly driven by soil physical properties (bulk density, aeration pore and water holding pore). In conclusion, annual conservation tillage in wheat-maize system can affect the diversity of microbial community in different degrees by changing physicochemical characteristics of fluvo-aquic soil. This study can provide theoretical guidance and technical support for cultivating soil biological fertility in the Huang-Huai-Hai Plain.

**Key words:** Annual conservation tillage; Microbial diversity; Soil physicochemical properties; Driving factors; Fluvo-aquic soil

保护性耕作起源于 20 世纪 30 年代美洲的“黑风暴”事件, 目前全球保护性耕作面积将近 1.80 亿 hm<sup>2</sup>, 约占农田总面积的 12.5%, 且面积仍在扩增<sup>[1]</sup>。保护性耕作概念的提出旨在促进环境保护与农业可持续发展, 而后也延伸到了土壤培肥与固碳减排等方面。保护性耕作的三大原则包括覆盖作物、减少对土壤干扰、作物多样化。研究表明, 保护性耕作的实施有利于增加地上和地下的生物多样性、加速生物循环过程、促进土壤水分和养分的高效利用, 实现作物高产稳产<sup>[2]</sup>。同时, 保护性耕作还能提高土壤团聚体的稳定性, 增加有机物质输入, 改善土壤的水肥气热与养分状况, 从而影响土壤微生物群落结构与多样性, 形成有利于土壤碳固存与肥力保育的土壤环境<sup>[3-4]</sup>。

微生物作为土壤生态系统的重要组成部分, 在协调土壤养分循环、维持土壤结构、促进作物生长中发挥着重要作用<sup>[5]</sup>。土壤微生物的代谢功能与其多样性密切相关, 土壤微生物多样性的提高能够加快土壤有机碳周转<sup>[6]</sup>。大量研究表明, 耕作和秸秆还田等农业管理措施显著影响土壤微生物的群落结构与多样性。Li 等<sup>[5]</sup>对全球的整合分析表明, 免耕显著提高了酸杆菌门相对丰度, 降低了放线菌门相对丰度, 免耕秸秆还田对土壤微生物多样性的影响最为显著。王雅芝等<sup>[3]</sup>对中国农田的整合分析发现, 免耕显著提高了真菌 Shannon 指数, 秸秆还田显著提高了细菌 Shannon 和 Simpson 指数。基于大田定位试验, Wang 等<sup>[7]</sup>发现, 保护性耕作下土壤微生物群落结构、多样性与土壤有机碳(SOC)、可溶性有机碳(DOC)和转化酶活性密切相关。目前为止, 围绕长期保护性耕作下的土壤微生物群落多样性的响应特征已有大量研究, 但是关于其潜在的驱动因子研究不足, 需开展深入的系统研究。

黄淮海平原耕地面积约占全国总耕地面积的 16%, 代表性农作制度为冬小麦-夏玉米轮作一年两熟制, 习惯性耕作模式为冬小麦旋耕播种, 夏玉米免耕播种<sup>[8]</sup>。每年一次的旋耕导致土壤结构破坏、有机质分解加快、水养保蓄能力减弱, 同时, 该区域的免耕试验结果表明, 长期免耕不利于冬小麦增产稳产<sup>[9]</sup>。在此背景下, 研究团队开展了黄淮海平原麦玉系统周年保护性耕作技术研发, 本研究基于连续 16 年的周年保护性耕作大田定位试验平台, 通过阐述不同耕作方式与秸秆管理措施对土壤理化特性与微生物多样性的长期效应, 建立微生物多样性对土壤理化特性的响应关系, 进而明确周年保护性耕作下土壤微生物多样性演变的关键驱动因子, 为黄淮海平原土壤生物肥力培育与农业可持续发展提供理论指导与技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

本研究基于河南省封丘县中国科学院封丘农业生态实验站(35°00'N, 114°24'E)的周年保护性耕作长期定位试验开展。研究点所在地区主要气候类型为半干旱半湿润的暖温带大陆性季风气候, 多年平均降水量 605 mm, 多年平均气温 13.9 °C。土壤类型主要为黄河冲积物发育形成的典型潮土, 耕层土壤质地为砂壤土(砂粒 52%、粉粒 33%、黏粒 15%)。试验开始前, 0~20 cm 耕层土壤的初始基础理化特性为: pH 8.31、有机碳 6.09 g/kg、全氮 0.55 g/kg、全磷 0.81 g/kg、全钾 18.08 g/kg、碱解氮 57.39 mg/kg、有效磷 9.67 mg/kg、速效钾 36.14 mg/kg。

### 1.2 试验设计

试验开始于 2006 年玉米季, 包含耕作方式和秸秆管理 2 种试验因子, 共 6 个处理, 每个处理 3 次重

复, 小区面积为  $7\text{ m} \times 6.5\text{ m}$ , 具体试验设计如表 1 所示。为了适应当地作物的种植模式, 不同耕作方式仅用于小麦种植季, 而玉米种植季均采取免耕播种。所有试验小区的水肥管理措施相同, 氮肥、磷肥和钾肥分别为尿素、磷酸二铵、硫酸钾。小麦种植季, 基肥为  $\text{N } 135\text{ kg}/\text{hm}^2$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5 150\text{ kg}/\text{hm}^2$  和  $\text{K}_2\text{O } 150\text{ kg}/\text{hm}^2$ ,

追肥为  $\text{N } 90\text{ kg}/\text{hm}^2$ ; 玉米种植季, 施肥分为两次追肥, 第一次追肥为  $\text{N } 78\text{ kg}/\text{hm}^2$  和  $\text{P}_2\text{O}_5 75\text{ kg}/\text{hm}^2$ , 第二次追肥为  $\text{N } 117\text{ kg}/\text{hm}^2$ 。耕作处理下小麦基肥于翻地前均匀撒施至地表, 免耕处理采取行间开沟的方式施入肥料。小麦追肥时间为 2 月底, 玉米追肥时间为 7 月初和 7 月底, 均采取撒施方式追施尿素。

表 1 试验设计  
Table 1 Experimental design

编号	处理	耕作方式	秸秆管理
T	连续性翻耕秸秆移除(常规处理)	小麦连续性翻耕, 玉米完全免耕	小麦和玉米秸秆全部移除
RT	少耕秸秆移除	小麦每 4 年翻耕一次, 玉米完全免耕	小麦和玉米秸秆全部移除
NT	免耕秸秆移除	小麦完全免耕, 玉米完全免耕	小麦和玉米秸秆全部移除
TS	连续性翻耕秸秆还田	小麦连续性翻耕, 玉米完全免耕	小麦秸秆粉碎覆盖还田, 玉米秸秆粉碎后随翻耕进入土壤
RTS	少耕秸秆还田	小麦每 4 年翻耕一次, 玉米完全免耕	小麦秸秆粉碎覆盖还田; 玉米秸秆在翻耕当年粉碎后随翻耕进入土壤, 其余年份粉碎覆盖还田
NTS	免耕秸秆还田	小麦完全免耕, 玉米完全免耕	小麦和玉米秸秆均粉碎覆盖还田

### 1.3 样品采集

2022 年 9 月玉米收获后, 在每个小区内均匀布点采集土壤样品。前期研究发现, 保护性耕作对土壤理化性质的影响主要集中在表层, 故采集  $0\sim 10\text{ cm}$  土壤样品。将采集的样品混合均匀, 剔除植物根系等杂质后分为 2 份, 一份放入带有干冰的保温箱, 立即带回实验室置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存, 用于 DNA 高通量测序。另一份先去除机械压实部分, 然后置于保鲜盒密封, 避免挤压振荡, 带回实验室后将大土块沿自然裂缝轻轻掰开, 过  $8\text{ mm}$  筛, 在避光处自然风干; 之后再次分为 2 份, 一份用于团聚体分级, 另一份过  $2\text{ mm}$ 、 $100$  目的筛子, 用于基础理化指标测定。采集表层土壤样品的同时采集环刀样品( $100\text{ cm}^3$ )。

### 1.4 测定指标及方法

**1.4.1 土壤理化指标测定** 采用环刀法测定土壤容重(BD)。参考 Schjønning 等<sup>[10]</sup>提供的方法测定土壤通气孔隙(APO)和持水孔隙(WHPO), 具体来说, 通过测定压力水头(h)  $-50\text{、}-100\text{、}-200\text{、}-500\text{、}-1\text{ }500\text{ hPa}$  下的土壤含水率, 绘制水分特征曲线, 进而计算 APO 和 WHPO 的体积。采用湿筛法分离土壤水稳定性团聚体, 称取  $50\text{ g}$ (烘干基)土壤样品于  $0.25\text{ mm}$  筛网上, 用蒸馏水浸泡  $5\text{ min}$  后放入筛分仪, 以振幅  $3\text{ cm}$ 、频率  $30\text{ 次}/\text{min}$  上下振动  $2\text{ min}$ ; 然后将筛网上的样品于  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘干, 得到  $>0.25\text{ mm}$  的大团聚体。随后继续按照上述方法通过  $0.053\text{ mm}$  筛网得到  $0.25\sim 0.053\text{ mm}$  的微团聚体。土壤总有机碳

(TOC)采用重铬酸钾-浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  氧化外加热法测定, 土壤活性有机碳(LOC)采用  $333\text{ mmol/L KMnO}_4$  氧化-比色法测定, 全氮(TN)采用浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  消煮-凯氏定氮法测定, 碱解氮(AN)采用碱解扩散法测定, 有效磷(AP)采用  $0.5\text{ mol/L NaHCO}_3$  浸提-钼锑抗比色法测定。

**1.4.2 土壤微生物多样性测定** ①样品 DNA 提取与检测: 根据 DNA 提取试剂盒 FastDNA® Spin Kit for Soil 说明书进行总 DNA 抽提, 分别使用 NanoDrop2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific, USA)和  $1\%$  琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的数量和质量。②PCR 扩增与检测纯化: 以上述提取的 DNA 为模板, 分别使用引物 16S rDNA(515F-907R)和 18S/ITS(ITS1F\_ITS2R)对细菌和真菌进行 PCR 扩增。PCR 扩增反应程序参数为:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $3\text{ min}$ ,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $30\text{ s}$ ,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火  $30\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $45\text{ s}$ , 循环  $27\sim 35$  次;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  稳定延伸  $10\text{ min}$ ,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存直至反应结束。扩增目的条带大小检测; 使用  $2\%$  琼脂糖凝胶电泳检测产物。PCR 产物纯化使用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒(PCR Clean-Up Kit, 中国逾华)进行。③文库构建与测序: 使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行文库构建。利用 Illumina 公司的 Nextseq2000 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。④序列处理与分析: 分别使用 fastp、FLASH、UPARSE 软件进行质控、拼接、OTU 聚类(97% 相似度)。为减少测序深度对后续多样性数据分

析的影响,将所有样本序列数抽平,抽平后每个样本的平均序列覆盖度仍可达99.09%。利用RDP classifier比对Silva 138/16S rRNA(细菌)、Silva 138/18S rRNA(真菌)和Unite 9.0(真菌)基因数据库进行OTU物种分类学注释,置信度阈值为70%,并在不同物种分类水平下统计每个样本的群落组成。

### 1.5 数据处理

使用SPSS 25.0进行数据统计分析。基于最小显著差异法(LSD),采用单因素方差分析检验不同耕作方式间的显著性差异。使用独立样本t检验分析两种秸秆管理措施间的显著性差异。采用双因素方差分析检验耕作方式与秸秆管理措施以及二者交互作用对土壤理化特性的影响。然后使用R Studio(4.3.2)进行数据处理与可视化,使用“dplyr”“vegan”“ggrepel”“tidyverse”“leaps”“ggplot2”包进行微生物物种组成分析、多样性指数计算、冗余分析、广义线性模型分析,并绘制图表。差异显著性水平设置为 $P<0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同耕作方式与秸秆管理下的土壤理化特性

方差分析结果表明,耕作方式和秸秆管理显著影响土壤容重、通气孔隙、持水孔隙、大团聚体和微团聚体质量比、总有机碳、活性有机碳、全氮、碱解氮,但对有效磷影响不显著(表2)。与连续性耕作相比,少耕(RT)和免耕(NT)显著提高土壤容重2.90%~5.80%、大团聚体质量比20.03%~23.71%、总有机碳6.60%~7.18%、活性有机碳17.53%~18.56%、全氮4.12%~5.15%、碱解氮14.95%~15.20%;显著降低通气孔隙6.85%~34.25%、持水孔隙16.95%~17.80%以及微团聚体质量比16.44%~20.09%。相比之下,秸秆还田(AS)较秸秆移除(NS)处理平均降低土壤容重5.48%、微团聚体质量比15.18%,平均提高通气孔隙100%、持水孔隙9.00%、大团聚体质量比11.77%、总有机碳48.88%、活性有机碳75.32%、全氮48.75%、碱解氮32.15%。

表2 不同耕作方式和秸秆管理措施下土壤理化特性

Table 2 Soil physicochemical characteristics under different tillage and residue managements

处理	土壤物理特性				
	BD(g/cm <sup>3</sup> )	APO(cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup> )	WHPO(cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup> )	Mac(%)	Mic(%)
T	1.38 c	0.073 a	0.118 a	30.15 b	54.56 a
RT	1.42 b	0.068 a	0.098 b	37.30 a	43.60 b
NT	1.46 a	0.048 b	0.097 b	36.19 a	45.59 b
NS	1.46 A	0.040 B	0.100 B	32.62 B	51.85 A
AS	1.38 B	0.087 A	0.109 A	36.46 A	43.98 B
耕作方式(T)	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$
秸秆管理(S)	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.01$	$P<0.01$	$P<0.001$
T × S	ns	ns	ns	ns	ns
处理	土壤化学特性				
	TOC(g/kg)	LOC(g/kg)	TN(g/kg)	AN(mg/kg)	AP(mg/kg)
T	8.49 b	1.94 b	0.97 b	71.65 b	11.68 a
RT	9.10 a	2.30 a	1.02 a	82.54 a	10.93 a
NT	9.05 a	2.28 a	1.01 a	82.36 a	11.84 a
NS	7.12 B	1.58 B	0.80 B	67.93 B	12.06 A
AS	10.63 A	2.77 A	1.19 A	89.77 A	10.91 A
耕作方式(T)	$P<0.05$	$P<0.001$	$P<0.01$	$P<0.001$	ns
秸秆管理(S)	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	ns
T × S	ns	ns	ns	ns	ns

注:BD,土壤容重;APO,土壤通气孔隙;WHPO,土壤持水孔隙;Mac,大团聚体质量比;Mic,微团聚体质量比;TOC,总有机碳;LOC,活性有机碳;TN,全氮;AN,碱解氮;AP,有效磷。同列小写字母不同表示不同耕作方式间差异显著( $P<0.05$ ),大写字母不同表示不同秸秆管理方式间差异显著( $P<0.05$ ),ns表示没有显著影响。AS,秸秆还田;NS,秸秆移除。下同。

### 2.2 土壤微生物多样性与群落组成

双因素方差分析结果表明,耕作方式与秸秆管理

对细菌和真菌多样性以及真菌丰富度有显著的交互作用(表3)。在秸秆移除下,少免耕对细菌和真菌的

Shannon 指数均无显著影响, 但显著降低真菌 Chao1 指数 10.76% ~ 17.18%; 在秸秆还田下, 少免耕总体上降低细菌 Shannon 指数 0.73% ~ 3.97%, 但显著提高真菌 Shannon 指数 8.79% ~ 10.05%、Chao1 指数 9.93% ~ 10.58%。与连续性耕作相比, 少免耕总体降低细菌 Chao1 指数 1.15% ~ 8.28%; 秸秆还田较秸秆移除显著降低细菌 Chao1 指数 5.54%。

在门水平上, 各处理间的微生物群落组成相似, 但相对丰度不同(图 1)。细菌的优势菌门主要是变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、放线菌门(Actinobacteriota)、浮霉菌门(Planctomycetota), 分别占比 23.56% ~ 28.86%、19.74% ~ 28.46%、7.67% ~

16.05%、8.21% ~ 10.30%。与连续性耕作相比, 少免耕主要增加了芽单胞菌门(Gemmatimonadota)相对丰度, 降低了变形菌门、拟杆菌门(Bacteroidota)相对丰度。与秸秆移除相比, 秸秆还田主要增加了变形菌门、酸杆菌门相对丰度, 但降低了放线菌门、浮霉菌门、绿弯菌门(Chloroflexi)、芽单胞菌门相对丰度。真菌的优势菌门为子囊菌门(Ascomycota), 占比 62.21% ~ 81.30%, 在连续性耕作秸秆还田处理(TS)下的相对丰度最高。秸秆还田较秸秆移除提高了子囊菌门、罗兹菌门(Rozellomycota)相对丰度, 降低了被孢霉门(Mortierellomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、壶菌门(Chytridiomycota)相对丰度。

表 3 不同耕作方式和秸秆管理措施下土壤微生物  $\alpha$  多样性  
Table 3  $\alpha$  diversity indices under different tillage and residue managements

处理	细菌				真菌			
	Shannon 指数		Chao1 指数		Shannon 指数		Chao1 指数	
	NS	AS	NS	AS	NS	AS	NS	AS
T	9.57 a	9.57 a	4 460 a	4.81 a	3.98 b*	811 a	800 b	
RT	9.50 a	9.50 a	4 409 a	4.75 a	4.33 a	724 b	885 a*	
NT	9.59 a	9.19 b*	4 091 b	4.43 a	4.38 a	672 b	880 a*	
NS	—	—	4 443 A	—	—	—	—	
AS	—	—	4 197 B	—	—	—	—	
耕作方式 (T)		$P<0.05$		$P<0.05$		ns	ns	
秸秆管理 (S)		$P<0.05$		$P<0.05$		$P<0.001$	$P<0.001$	
T × S		$P<0.01$		ns		$P<0.05$	$P<0.001$	

注: \*表示相同耕作方式下两种秸秆管理措施间差异显著( $P<0.05$ )。

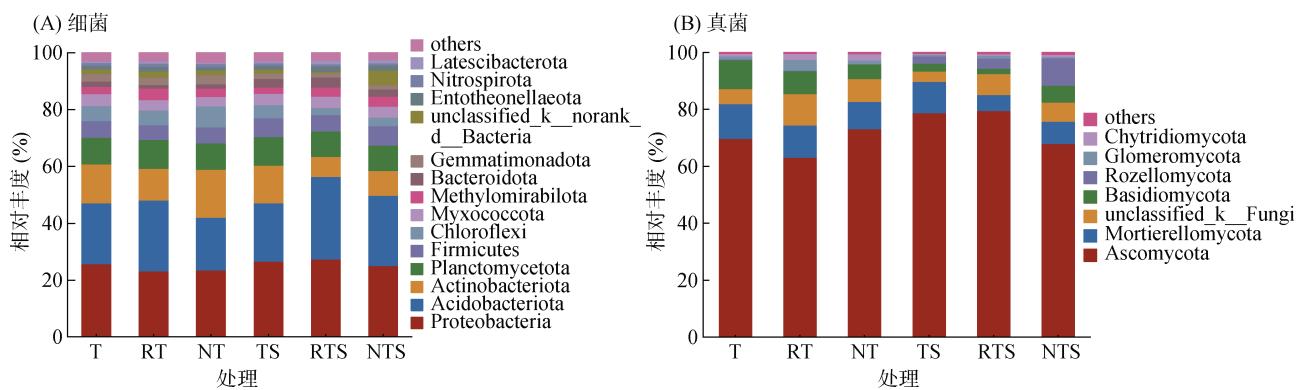


图 1 不同耕作方式和秸秆管理措施下细菌(A)和真菌(B)门水平的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of bacterial (A) and fungal (B) at phylum levels under different tillage and residue managements

在属水平, 不同处理间的物种差异主要体现在秸秆管理上(图 2)。对于细菌, 秸秆还田较秸秆移除主要提高了 *norank\_f\_norank\_o\_Vicinamibacteriales*、*norank\_f\_Vicinamibacteraceae*、*MND1*、*Bacillus*、*Bryobacter* 丰度, 降低了 *norank\_f\_Gemmataceae*、*norank\_f\_Geminicoccaceae*、*Gaiella*、*norank\_f\_norank\_o\_Gaiellales*、*norank\_f\_Gemmatimonadaceae*、

*norank\_f\_67-14*、*RB41* 丰度。对于真菌, 与秸秆移除相比, 秸秆还田主要提高了 *Aspergillus*、*unclassified\_o\_GS11*、*Preussia*、*unclassified\_o\_Pleosporales*、*Thermomyces*、*Dichotomopilus*、*Trichoderma* 丰度, 降低了 TS 处理的 *Cephaliophora* 丰度、NTS 处理的 *unclassified\_f\_Stachybotryaceae* 丰度。

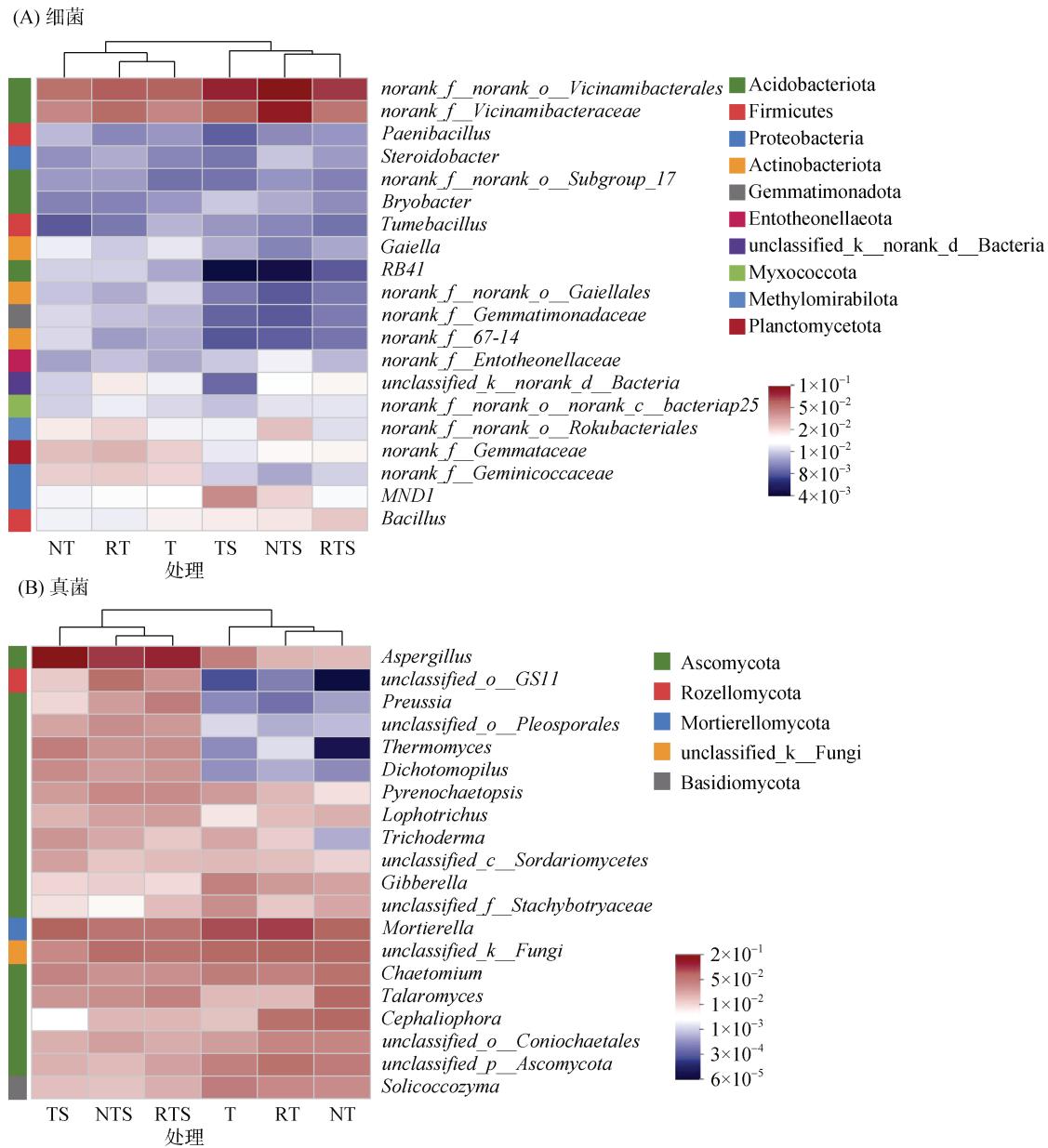


图 2 不同耕作方式和秸秆管理措施下细菌(A)和真菌(B)属水平丰度前 20 位物种组成热图

Fig. 2 Heat map of top 20 species compositions of bacterial(A)and fungal(B) at genus levels under different tillage and residue managements

### 2.3 土壤理化特性与微生物相关性分析

RDA 分析表明, 土壤的理化特性显著影响细菌和真菌群落组成(图 3)。第一标准轴(RDA1)和第二标准轴(RDA2)分别解释了细菌 OTU 38.2% 和 12.1% 的变异信息, 真菌 OTU 49.8% 和 9.9% 的变异信息。在所有理化因子中, 土壤总有机碳、活性有机碳、全氮、碱解氮、通气孔隙、容重、大团聚体质量比、微团聚体质量比与细菌 OTU 显著相关; 土壤容重、通气孔隙、持水孔隙、大团聚体质量比、微团聚体质量比、土壤总有机碳、活性有机碳、全氮、碱解氮与真菌 OTU 极显著相关。

广义线性模型分析进一步表明, 土壤细菌和真

菌的多样性和丰富度受到土壤理化因子不同程度的影响(图 4)。土壤细菌多样性(Shannon 指数)主要受土壤总有机碳、全氮和活性有机碳影响, 解释率分别为 19.31%、18.48% 和 15.28%。真菌多样性受土壤持水孔隙影响最大, 解释率为 24.7%; 其次为通气孔隙, 解释率为 11.18%。与多样性指数相类似, 细菌丰富度(Chao1 指数)主要受化学特性影响, 而真菌丰富度主要受物理特性影响, 其中碱解氮、活性有机碳和总有机碳对细菌丰富度的解释率分别为 22.92%、18.66% 和 15.08%, 而土壤容重和通气孔隙对真菌丰富度的解释率分别为 18.61% 和 16.12%。

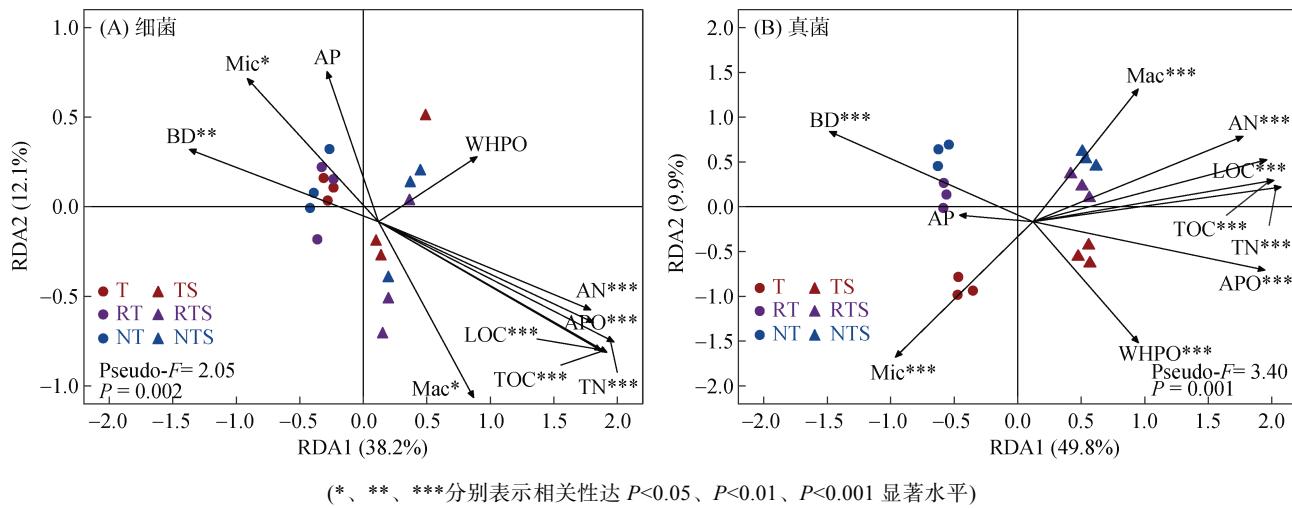


图 3 不同耕作方式和秸秆管理措施下细菌(A)和真菌(B)群落组成与土壤理化特性冗余分析

Fig. 3 Redundancy analysis of community compositions of bacterial(A) and fungal(B) and soil physicochemical properties under different tillage and residue managements

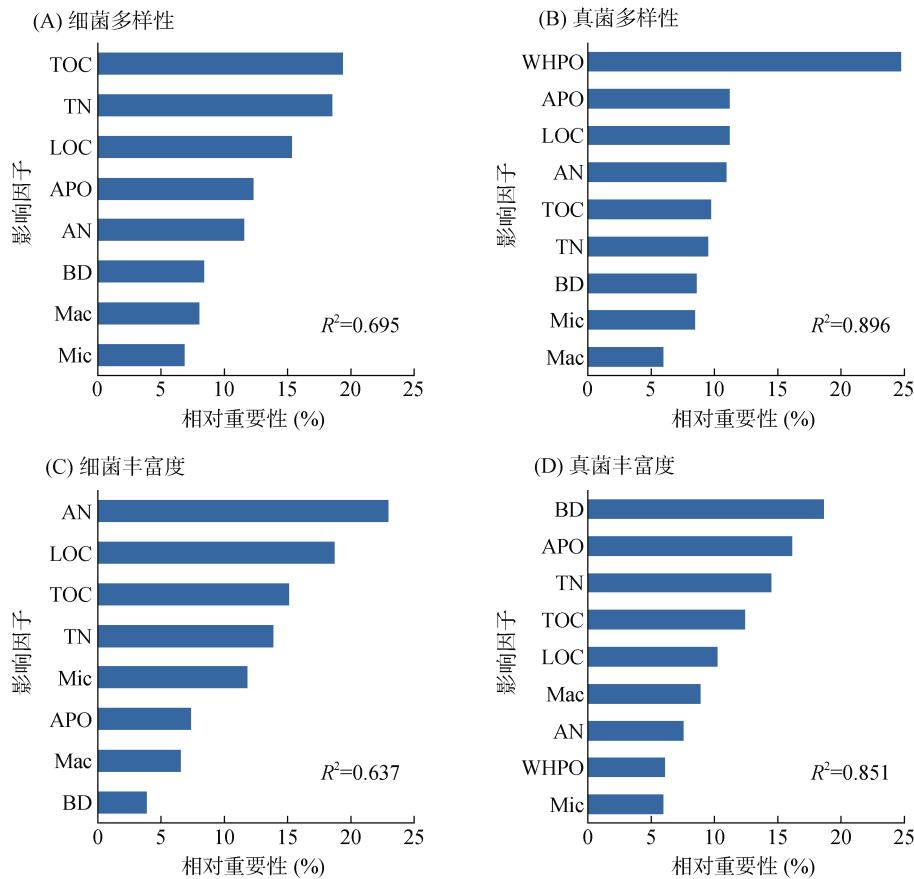


图 4 不同耕作方式和秸秆管理下土壤细菌(A, C)和真菌(B, D)群落多样性与土壤理化特性的广义线性模型分析

Fig. 4 Generalized linear model analysis of bacterial(A, C) and fungal(B, D) community diversities and soil physicochemical properties under different tillage and straw managements

### 3 讨论

#### 3.1 保护性耕作改变土壤理化特性

本研究发现长期少免耕提高了土壤大团聚体质量比, 整合分析也发现少免耕有利于提高土壤团聚体

稳定性<sup>[4]</sup>。这主要是由于: 一方面, 少免耕减少了对土壤的干扰, 对由瞬时性和暂时性胶结剂连接的大团聚体的破坏减少<sup>[11-12]</sup>; 另一方面, 耕作频率的降低也有利于土壤微生物活性提升与菌群网络构建, 促使微生物分泌更多的多糖类物质、菌丝等胶结剂, 促进土

壤团聚体形成与稳定<sup>[3, 11]</sup>。耕作频率的降低提高了土壤碳氮养分含量, Li 等<sup>[5]</sup>研究也发现免耕显著提升了土壤有机质与全氮含量。这主要是由于保护性耕作下土壤团聚体能够有效保护有机质免受分解, 同时微生物活性的提高也有利于为土壤供应更多的养分<sup>[12]</sup>。长期少免耕降低了土壤孔隙度, 提高了土壤容重, 土壤孔隙度与容重呈负相关<sup>[13]</sup>。连续性耕作对土壤产生高频率的扰动, 促使土壤形成大量的孔隙, 降低土壤容重; 而长期免耕则不利于土壤孔隙的形成, 可能面临土壤压实风险。因此, 保护性耕作下适当翻耕更有利于土壤结构优化。

长期秸秆还田显著改善了土壤的养分总量与有效性, 提高了大团聚体质量比、孔隙度, 降低了土壤容重, 这与 Sadiq 等<sup>[13]</sup>研究结果一致。秸秆本身富含丰富的矿质营养元素, 经微生物腐解后释放出大量的养分<sup>[14]</sup>, 并且秸秆还田还能提高微生物多样性与活性, 促进土壤本底养分的释放<sup>[12]</sup>。研究发现, 秸秆还田显著提高了土壤微生物参与的 CO<sub>2</sub> 固定和有机酸代谢途径相关的基因丰度, 降低了参与二糖和寡糖代谢途径相关的基因丰度, 从而促进土壤有机质含量的增加<sup>[15]</sup>。也有研究发现, 秸秆还田可能通过降低土壤温度来减少氮的淋失和挥发, 从而增加土壤氮素积累<sup>[16]</sup>。此外, 秸秆具有高纤维素含量、多孔隙的特征, 还田后能够有效增加土壤孔隙度和降低土壤容重, 改善土壤结构。还田的秸秆也可作为有机胶结剂, 促进土壤团聚体尤其是大团聚体的形成, 从而有利于土壤团聚体稳定性的提高<sup>[12]</sup>。

### 3.2 保护性耕作影响土壤微生物多样性与群落组成

耕作和秸秆还田显著影响土壤微生物多样性, 对细菌和真菌影响的差异性可能是由于微生物生态位分化<sup>[17]</sup>。与细菌相比, 真菌具有更广泛的酶促能力和更高的植物聚合物分解能力, 能够分解难利用态碳<sup>[18]</sup>。秸秆还田下, 少免耕提高了真菌 Shannon、Chao1 指数, 这与王雅芝等<sup>[3]</sup>研究一致。保护性耕作改变了土壤养分供应与化学计量比<sup>[19]</sup>, 导致真菌系统发育和分类组成差异, 多样性显著提高<sup>[7]</sup>。一方面, 少免耕减少了对土壤的干扰, 秸秆还田为真菌提供营养物质并携带其他微生物进入土壤<sup>[12]</sup>, 直接影响了真菌群落多样性; 另一方面, 少免耕促进土壤团聚体的形成与根系分泌物的增加, 秸秆覆盖能够调节土壤温度和减少水分蒸发, 为真菌提供适宜的栖息环境和丰富的底物, 间接提高了真菌群落的多样性与丰富度<sup>[5, 7]</sup>。少免耕秸秆还田降低了细菌 Shannon、Chao1 指数, 这可能是由于保护性耕作对土壤性质的

改变主要作用于细菌生物量的增加, 而非多样性的提升<sup>[20]</sup>。此外, 不同细菌物种在土壤生态系统中的功能存在重叠, 因此细菌多样性指数的下降可能不会影响土壤的整体过程<sup>[21]</sup>。土壤微生物的稀有物种对环境变化敏感<sup>[22]</sup>, 其数量由 Chao1 指数反映, 秸秆移除和少免耕都有助于降低土壤的环境异质性, 使微生物栖息环境均一化, 导致细菌的稀有菌群减少, 丰富度下降<sup>[17]</sup>。

本研究发现, 保护性耕作下土壤细菌和真菌相对丰度最高的菌门分别为变形菌门和子囊菌门, 这与 Sun 等<sup>[18]</sup>研究一致。变形菌门具有很强的养分利用能力, 是土壤功能转变的主要驱动力<sup>[7]</sup>。秸秆还田后土壤有机质丰富, 变形菌门相对丰度增加, 有助于对氨基酸、碳水化合物和羧酸的利用, 而在少免耕等矿化速率较低的土壤中, 变形菌门相对丰度较低<sup>[23]</sup>。子囊菌门主要利用活性碳源降解新鲜有机质, 是土壤有机质的主要分解者<sup>[24]</sup>。秸秆还田通过增加外源有机物输入并驱动有机质周转, 提高了子囊菌门相对丰度, 同时, 子囊菌门丰度的增加又反过来促进了秸秆的分解<sup>[25]</sup>。秸秆还田增加了酸杆菌门相对丰度, 但降低了放线菌门、浮霉菌门相对丰度, 这可能是由于秸秆还田引起土壤 pH、有机质含量与活性的变化导致的<sup>[7]</sup>。少免耕主要影响芽单胞菌门和拟杆菌门相对丰度, 这可能是由于耕作频率的变化影响了土壤有机质的周转过程, 从而改变了作为反应驱动者的芽单胞菌以及介导土壤有氧呼吸和硝酸盐还原过程的拟杆菌门相对丰度<sup>[26-27]</sup>。

### 3.3 保护性耕作下土壤微生物群落的驱动因子

保护性耕作下, 土壤微生物群落的驱动因子与特定的土壤环境、作物类型以及微生物群落等因素密切相关。耕作、秸秆管理、种植制度等农业管理措施引起土壤扰动与重构, 造成土壤物理、化学、生物特性差异, 影响着土壤细菌和真菌的群落结构与多样性<sup>[28]</sup>。

细菌是土壤中数量最多、种类最丰富的微生物群落, 对环境变化响应明显<sup>[5]</sup>。研究发现, 保护性耕作实施 10 年后的耕层土壤有机质分解仍以细菌分解为优势通道<sup>[6]</sup>。本研究表明, 土壤总有机碳和碱解氮是影响麦玉周年保护性耕作下细菌群落多样性与丰富度的关键因子。这可能是由于保护性耕作下细菌倾向于利用活性有机碳, 且细菌 C/N 低, 对可利用氮源需求较高<sup>[24]</sup>。免耕条件下, 表层土壤有机碳的累积为细菌的生长和繁殖提供了资源<sup>[5]</sup>; 秸秆还田下, 土壤碳氮含量影响着细菌的碳源代谢功能<sup>[15]</sup>。多项研究表明, 土壤有机碳的含量与活性是驱动保护性耕

作土壤微生物群落多样性的重要环境因子。Yan 等<sup>[29]</sup>研究表明,微生物生物量碳和可溶性有机碳对中国东北水稻秸秆还田系统的土壤微生物群落的影响较大。Li 等<sup>[5]</sup>通过整合分析发现,免耕秸秆还田通过改变土壤有机碳和全氮对微生物多样性产生显著影响。此外,土壤孔隙度等物理因素也能影响细菌群落。耕作提高了土壤通气率和氧气扩散速率,有利于好氧细菌和兼性厌氧细菌繁殖;氧气含量的提高与微生物活动的增强也有利于由微生物驱动的土壤有机质的矿化周转过程<sup>[18]</sup>。

真菌对土壤有机质与农业管理措施响应敏感,更容易受到耕作等物理作用的影响<sup>[5, 20]</sup>。本研究发现,土壤持水孔隙和容重是影响麦玉周年保护性耕作下真菌多样性与丰富度的关键因子。这可能是由于土壤持水孔隙的数量影响着氧气含量与分布,氧气是影响土壤微生物活性与碳氮循环的关键参数,耕作改变了土壤通气孔隙度和氧气扩散速率,从而影响了真菌活性与有机质降解速率<sup>[18, 28]</sup>。Li 等<sup>[5]</sup>也认为适当的土壤孔隙有利于真菌生长繁殖,而厌氧环境可能抑制真菌生长。真菌直径约 2~70 μm,能够在持水孔隙(2~60 μm)和通气孔隙(>60 μm)中生存。大多数真菌以菌丝的形式进行生长,以孢子的形式进行繁殖,都需要一定的空间条件,耕作与秸秆还田增加的土壤孔隙可为真菌提供有效的生长繁殖空间<sup>[18]</sup>。并且,土壤孔隙有利于真菌菌丝连接土壤-秸秆界面,更好地利用原本难以触及的碳氮资源<sup>[20]</sup>。土壤容重与孔隙度呈负相关<sup>[13]</sup>,耕作与秸秆管理措施通过影响土壤容重和孔隙度,间接作用于真菌群落多样性。此外,也有研究发现保护性耕作通过影响土壤总有机碳、全氮、pH 和土壤酶活性等特性,从而改变土壤真菌群落结构,这可能与区域地理条件、土壤与作物类型、管理措施等差异有关<sup>[4, 29]</sup>。

## 4 结论

1) 在保护性耕作系统中,耕作方式与秸秆管理对土壤理化特性的影响程度与方向均存在显著差异,其中少免耕较连续性翻耕显著提高土壤容重、大团聚体质量比、总有机碳、活性有机碳、全氮、碱解氮,显著降低土壤通气孔隙、持水孔隙、微团聚体质量比;而秸秆还田较秸秆移除显著降低土壤容重、微团聚体质量比,显著提高通气孔隙、持水孔隙、大团聚体质量比、总有机碳、活性有机碳、全氮、碱解氮。

2) 黄淮海麦玉系统周年保护性耕作通过影响土壤理化特性,能够显著改变微生物群落多样性与丰富

度,其中土壤化学特性(包括土壤总有机碳、活性有机碳、全氮和碱解氮等)显著影响细菌 Shannon 和 Chao1 指数,而真菌 Shannon 和 Chao1 指数的变化主要由土壤物理特性(包括容重、通气孔隙和持水孔隙等)驱动。

3) 保护性耕作对土壤理化特性及微生物多样性的影响受到区域生物气候、土壤与作物类型、管理措施等的综合影响,因此保护性耕作制度的实施需要综合考虑区域特征,因地制宜。

## 参考文献:

- Cárceles Rodríguez B, Durán-Zuazo V H, Soriano Rodríguez M, et al. Conservation agriculture as a sustainable system for soil health: A review[J]. *Soil Systems*, 2022, 6(4): 87.
- Farooq M, Nawaz A, Rehman A, et al. Conservation agriculture effects on ecosystem health and sustainability—A review of rice-wheat cropping system[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 957: 177535.
- 王雅芝,齐鹏,王晓娇,等. *Meta 分析中国保护性耕作对土壤微生物多样性的影响*[J]. *草业科学*, 2021, 38(2): 378-392.
- Li Y, Li Z, Cui S, et al. Residue retention and minimum tillage improve physical environment of the soil in croplands: A global meta-analysis[J]. *Soil and Tillage Research*, 2019, 194: 104292.
- Li Y, Song D P, Liang S H, et al. Effect of no-tillage on soil bacterial and fungal community diversity: A meta-analysis[J]. *Soil and Tillage Research*, 2020, 204: 104721.
- Zhang S X, McLaughlin N B, Cui S Y, et al. Effects of long-term tillage on carbon partitioning of nematode metabolism in a Black soil of Northeast China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 138: 207-212.
- Wang Z T, Li T, Li Y Z, et al. Relationship between the microbial community and catabolic diversity in response to conservation tillage[J]. *Soil and Tillage Research*, 2020, 196: 104431.
- 孙波,朱安宁,姚荣江,等. *潮土、红壤和盐碱地障碍消减技术与产能提升模式研究进展*[J]. *土壤学报*, 2023, 60(5): 1231-1247.
- Zhang X F, Zhu A N, Xin X L, et al. Tillage and residue management for long-term wheat-maize cropping in the North China Plain: I. Crop yield and integrated soil fertility index[J]. *Field Crops Research*, 2018, 221: 157-165.
- Schjønning P, Munkholm L J, Moldrup P, et al. Modelling soil pore characteristics from measurements of air exchange: The long-term effects of fertilization and crop rotation[J]. *European Journal of Soil Science*, 2002, 53(2): 331-339.
- Tisdall J M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils[J]. *Plant and Soil*, 1994, 159(1): 115-121.
- 刘红梅,李睿颖,高晶晶,等. *保护性耕作对土壤团聚体及微生物学特性的影响研究进展*[J]. *生态环境学报*, 2020, 29(6): 1277-1284.

[13] Sadiq M, Rahim N, Tahir M M, et al. Conservation tillage: A way to improve yield and soil properties and decrease global warming potential in spring wheat agroecosystems[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1356426.

[14] 邱丽丽, 李丹丹, 张佳宝, 等. 基于共现网络的关键微生物对秸秆还田土壤小麦产量的影响[J]. *土壤学报*, 2023, 60(2): 491–502.

[15] 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.

[16] Sadiq M, Li G, Rahim N, et al. Sustainable conservation tillage technique for improving soil health by enhancing soil physicochemical quality indicators under wheat monocropping system conditions[J]. *Sustainability*, 2021, 13(15): 8177.

[17] Tang S, Ma Q X, Marsden K A, et al. Microbial community succession in soil is mainly driven by carbon and nitrogen contents rather than phosphorus and sulphur contents[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 180: 109019.

[18] Sun R B, Li W Y, Dong W X, et al. Tillage changes vertical distribution of soil bacterial and fungal communities[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 699.

[19] 张童欣, 侯岳彤, 滕岳洪, 等. 不同种类和裂解温度生物质炭添加对稻田土壤微生物多样性和群落结构的影响[J]. *土壤*, 2024, 56(4): 776–787.

[20] Li Y, Zhang Q P, Cai Y J, et al. Minimum tillage and residue retention increase soil microbial population size and diversity: Implications for conservation tillage[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 716: 137164.

[21] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, et al. Microbial diversity and soil functions[J]. *European Journal of Soil Science*, 2017, 68(1): 12–26.

[22] 彭敬轩, 陈玲姐, 徐畅, 等. 有机肥部分替代化肥对皖北麦玉轮作区土壤细菌亚群的影响[J]. *土壤*, 2025, 57(1): 86–94.

[23] Ahn J H, Lee S A, Kim J M, et al. Dynamics of bacterial communities in rice field soils as affected by different long-term fertilization practices[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 54(11): 724–731.

[24] Yang Y, Dou Y X, Wang B R, et al. Deciphering factors driving soil microbial life-history strategies in restored grasslands[J]. *iMeta*, 2023, 2(1): e66.

[25] Xu L H, Ravnskov S, Larsen J, et al. Soil fungal community structure along a soil health gradient in pea fields examined using deep amplicon sequencing[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 46: 26–32.

[26] Hu X J, Liu J J, Liang A Z, et al. Soil metagenomics reveals reduced tillage improves soil functional profiles of carbon, nitrogen, and phosphorus cycling in bulk and rhizosphere soils[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2025, 379: 109371.

[27] Zhu X C, Sun L Y, Song F B, et al. Soil microbial community and activity are affected by integrated agricultural practices in China[J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(5): 924–935.

[28] Romano I, Bodenhausen N, Basch G, et al. Impact of conservation tillage on wheat performance and its microbiome[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1211758.

[29] Yan S S, Song J M, Fan J S, et al. Changes in soil organic carbon fractions and microbial community under rice straw return in Northeast China[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2020, 22: e00962.