

免耕秸秆还田和传统耕作方式下东北黑土 氨基糖态碳的积累特征*

丁雪丽¹ 张旭东^{2†} 杨学明³ 张晓平⁴

(1 中国科学院东北地理与农业生态研究所黑土农业生态院重点实验室, 哈尔滨 150081)

(2 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016)

(3 Greenhouse and Processing Crops Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Harrow N0R 1G0, Canada)

(4 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130012)

摘要 以吉林德惠市中层黑土进行7年田间定位试验的小区土壤为研究对象,对免耕(NT)和传统耕作下(CT)耕层(0~20 cm)氨基糖态碳含量的变化特征进行了分析。结果表明,与传统耕作相比,实施免耕7年后整个耕层土壤中氨基糖态碳含量显著增加($p < 0.05$),以表层(0~5 cm)增加幅度最大,高达94.7%。说明在研究地区,免耕措施有利于微生物代谢物如细胞壁物质等作为潜在的碳源逐渐积累在土壤中。免耕土壤中不同微生物来源氨基糖态碳的含量均较传统耕作有显著增加,但是变化特征有所不同,其中免耕条件下真菌来源的氨基葡萄糖的积累量较传统耕作高出1倍多,而且氨基葡萄糖与细菌来源的胞壁酸的比值(6.9~7.3)显著高于传统耕作(4.7~5.4),暗示实施免耕秸秆还田7年后土壤中真菌已逐渐转为优势群体,而真菌占优势的农田生态系统具有更大的固碳潜力。

关键词 免耕;传统耕作;微生物;氨基糖

中图分类号 S154 **文献标识码** A

土壤微生物及其调控的土壤生物化学过程是土壤有机质积累转化和养分循环过程的重要调节者^[1],也是农田生态系统可持续利用的关键作用因子^[2-3]。微生物群落结构和功能对气候和土壤管理措施变化的响应情况在土壤有机质截获/损失过程中发挥重要作用^[4-5]。农田生态系统中耕作方式的变化强烈影响微生物的作用过程,进而影响微生物参与的土壤碳氮循环过程^[6]。微生物在这一变化过程中不仅微生物量会发生显著变化,相应地,微生物死亡后的细胞残留物在土壤中的积累也会受到影响^[4]。微生物对土壤有机质的贡献直接与微生物群落变化及微生物代谢产物的形成和降解之间的平衡有关^[7]。越来越多的研究表明:微生物来源的代谢产物是土壤稳定有机碳库的重要组成部分。这部分微生物残体作为一种重要的碳源和养分中间过渡库对土壤稳定有机质的形成有着显著的贡献^[8-10]。根据 Appuhn 和 Joergense^[11]对微生物

细胞壁组分的研究,根际土壤中死亡后的真菌和细菌残余物占土壤有机质的50%。因此,通过选择能表征微生物作用过程的微生物残留物的标识物,来探讨土壤有机质形成和转化的内在的微生物作用机制,将为进一步了解微生物在农田土壤固碳中的作用及其对农田管理措施的响应增加新的研究思路。

氨基糖是一种具有较高稳定性的微生物来源物质,是土壤微生物细胞壁的组成物质,虽然土壤中氨基糖含量不足土壤碳含量的10%^[12],但它可以作为土壤微生物残留的标识物,用来研究来源于真菌和细菌的残留碳、氮的去向,使我们能从微观角度来阐明微生物对土壤有机质转化和截获的贡献^[4,6]。自1996年 Zhang 等^[13]利用气相色谱法成功分离了土壤中4种氨基糖,即氨基葡萄糖、氨基半乳糖、甘露糖胺和胞壁酸,除甘露糖胺含量极低且来源不明确外,其他3种氨基糖在养分循环研究中

* 国家自然科学基金青年基金项目(41101282)、国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2009CB118607,2010CB134509)、中国科学院创新团队国际合作伙伴计划项目(KZCX2-YW-T06)、国家自然科学基金项目(40971152)资助

† 通讯作者, E-mail: xdzhang@iae.ac.cn

作者简介:丁雪丽(1979—),女,博士,助理研究员,从事农田土壤有机碳氮转化过程研究。Tel:0451-86601048; E-mail: dingxueli@neigaehrb.ac.cn

收稿日期:2010-12-21;收到修改稿日期:2011-04-24

越来越受到重视^[14]。其中氨基葡萄糖主要来源于真菌,是真菌几丁质(Chitin)的唯一成分,也是细菌细胞壁中肽聚糖的重要成分;氨基半乳糖常被认为主要由细菌合成,但是尚存在一定的争议;胞壁酸的唯一来源是细菌,它是细菌中脂多糖(lipopolysaccharides)和细胞壁中肽聚糖(peptidoglycan)的成分^[8,15]。

东北黑土区农田是我国重要的商品粮基地,黑土开发较早,也是利用强度比较高、破坏程度比较严重的土壤。开垦之初的有机碳含量为 3.1%~6.5%,但是由于长期传统耕作的掠夺式经营方式,导致目前黑土有机碳含量已下降至 1.2%~2.9%^[16],严重影响着东北黑土地地区农业的可持续发展。如何恢复和提升退化黑土有机质的数量和质量是目前研究者们关注的热点问题。免耕措施已在东北地区进行了多年的示范试验,关于耕作措施变化后土壤有机碳总含量及团聚体结合态碳等方面的研究已多有报道^[17-19]。氨基糖来源碳的数量变化特征体现了土壤有机碳循环的微生物调控机制,然而关于东北地区黑土氨基糖态碳库的动态变化对耕作措施的影响,这方面的研究还鲜有报道。因此,本文以氨基糖作为指示物质,研究免耕和传统耕作制度下农田黑土氨基糖态碳数量的变化特征,探讨耕作措施对土壤微生物来源有机碳积累特征的影响及在此过程中微生物群落结构的变化情况。期望能从微生物标识物角度出发,在具体化合物分子水平上,探讨耕作措施对土壤有机质积累和转化的影响机制,为东北黑土区免耕措施的实施提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地点位于吉林省德惠市米沙子乡(44°12'N, 125°33'E)中国科学院东北地理与农业生态研究所黑土农业试验示范基地。该地属中温带大陆性季风气候,雨热同季,年均降雨量 520 mm,且主要集中在 6 月至 8 月。长期耕作定位监测试验始于 2001 年秋季,试验前一直采用传统耕作玉米连作制度。试验区土壤为典型黑土亚类中的中层黑土,壤质黏土,按我国系统分类属于简育湿润均腐土(Hap-Udic Isohumisols)。表层 0~20 cm 土壤的 pH 约为 6.5 左右,属中性或微酸性,土壤全碳和全氮的含量分别为 16.3 mg kg⁻¹和 1.39 mg kg⁻¹。其他土

壤理化性质详见文献[18]。

试验小区采取单因素裂区、4 次重复的随机区组设计。单因素为耕作方式,包括免耕、传统耕作,秋翻和耨作,主处理又裂分为玉米连作、大豆-玉米轮作和玉米-大豆轮作,2 种作物同时存在。本研究仅选取传统耕作玉米连作(Conventional-tillage continuous corn, CT)和免耕玉米连作(No-tillage continuous corn monoculture, NT)的试验小区进行对比分析。传统耕作方式是在秋季收获后将地上部作物残茬全部移出农田,同时进行耕翻,深度约为 20 cm 左右,翻耕后耙平,春季进行整地(7.5~10 cm),播种和施肥同时进行。免耕处理不同于传统耕作方式,所有处理秸秆全部还田,除用免耕播种机(KI NZE2 3000)直接播种外,全年不再搅动土壤。玉米施肥量为氮肥(N) 150 kg hm⁻²,分别作为底肥和追肥施入玉米地,磷肥和钾肥只在播种时作为底肥施入,施磷(P)和钾(K)量分别为 45.5 和 78 kg hm⁻²。每个小区面积为 5.2 m × 30 m。

1.2 土壤样品采集

土壤样品采于 2008 年 10 月(即田间试验第 7 年秋作物收获后)。利用取土钻(直径 2.64 cm)取土,采样深度为 0~5、5~10 和 10~20 cm。所要采样的每个小区(免耕和传统耕作)按蛇形采样法随机采集 6 点,将同一深度的 6 个重复样品混合成 1 个样品,装在铝盒中带回实验室,去除石块和根系等有机残体,样品自然风干,过 0.25 mm 筛以备土壤氨基糖测定。

1.3 样品分析测定方法

1.3.1 土壤样品中氨基糖含量的测定 土壤样品中氨基糖含量根据 Zhang 和 Amelung^[13]的糖腈乙酰酯衍生气相色谱法测定。具体操作步骤和色谱条件如下:准确称取一定量的土壤样品(约含有 5 mg C)置于水解瓶中,加入 10 ml 6 mol L⁻¹盐酸溶液,在 105℃ 水解 8 h。将水解液冷却至室温后,加入 100 μg 浓度为 1 μg ml⁻¹肌醇溶液(内标)振荡摇匀后过滤。用旋转蒸发器将滤液蒸干,残余物溶解于 20 ml 蒸馏水中,并用 0.4 mol L⁻¹ KOH 调 pH 至 6.6~6.8,然后以 3 000 r min⁻¹离心 10 min 去除沉淀。上清液用冷冻干燥仪冻干,残留的固体物质用 3 ml 无水甲醇溶解,再次以 2 000 r min⁻¹离心 10 min。将上清液转移至 5 ml 衍生瓶中,用 N₂ 在 45℃ 下吹干后,加入 1 ml 水,摇匀后再次进行冷冻干燥(8 h 以上)后进行衍生。将 300 μl 的衍生试剂(4:1 吡啶-甲醇的溶液,含有 32 mg ml⁻¹盐酸羟

胺和 40 mg ml^{-1} 4-二甲基氨基吡啶) 加入至上述衍生瓶中, 加盖密封, 在 $75 \sim 80^\circ\text{C}$ 条件下加热 $30 \sim 35 \text{ min}$, 其间振荡数次。冷却至室温后, 加入 1 ml 乙酸酐, 密封再次加热 20 min 。冷却后加入 1.5 ml 二氯甲烷, 振荡, 使衍生物进入有机相。

过量的衍生试剂通过以下两个步骤去除: 首先, 加入 $1 \text{ ml } 1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$, 激烈振摇 30 s 后, 移走上层水相液体。然后, 与上述步骤相同, 用 1 ml 的蒸馏水洗涤 3 次, 在最后一次清洗过程中尽可能去除水相。剩余的有机相在 45°C 下用 N_2 吹干后, 用 $200 \mu\text{l}$ 的乙酸乙酯-正己烷混合溶剂 ($v/v = 1:1$) 溶解, 然后转移至色谱进样瓶 (配有内插管) 中, 进行气相色谱测定 (GC-6890, Agilent, USA; HP-5 毛细管色谱柱 $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$)。色谱条件为: 初始温度 120°C , 保持 4 min , 以 $10^\circ\text{C min}^{-1}$ 的速率升温至 230°C , 再以 5°C min^{-1} 速率升温至 250°C , 保持 4 min , 再以 $40^\circ\text{C min}^{-1}$ 升至 300°C , 保持 5 min 。高纯度氮气为载气, 载气流速为 0.8 ml min^{-1} , 进样量为 $1 \mu\text{l}$, 分流比为 $10:1$ 。进样口温度为 250°C , 采用氢火焰离子化检测器 (FID) 检测, 其温度为 300°C 。

1.3.2 氨基糖态碳含量的计算 氨基糖的含量计算根据内标法原理, 每种氨基糖态碳的含量 (C_x , mg kg^{-1}) 可利用如下公式计算:

$$C_x = C_i A_x P_y / A_i R_j$$

式中, C_i 为内标物肌醇的浓度 (mg kg^{-1}), A_i 和 A_x 分别为样品测定中肌醇和氨基糖的峰面积, P_y 为每种氨基单糖的含碳量 (%), R_j 为每种氨基糖的相对校正因子, 利用标准样品中氨基糖和肌醇的校正因子计算。

1.4 数据统计

数据处理和制图在 Microsoft Excel 2003 上进行, 不同处理之间的差异采用 SPSS11.0 分析软件中 LSD 多重比较法进行方差分析, 显著性检验设 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 免耕秸秆还田和传统耕作条件下土壤氨基葡萄糖态碳含量的变化

在所有处理中土壤氨基葡萄糖态碳 (Glucosamine C, GluN-C) 含量均最高, 对土壤氨基糖总碳量的贡献比例最大 ($62\% \sim 66\%$)。GluN-C 含量

在不同耕作管理方式下的变化情况如图 1 所示。不同耕作措施对土壤 GluN-C 的积累动态有显著影响 ($p < 0.05$)。免耕条件下 (NT) GluN-C 含量的变化范围为 $260.7 \sim 350.6 \text{ mg kg}^{-1}$, 显著高于传统耕作 (CT) 中的 GluN-C 含量 ($158.5 \sim 177.7 \text{ mg kg}^{-1}$)。NT 处理 3 个土壤层次中的氨基葡萄糖态碳的含量均显著高于 CT 处理 ($p < 0.05$), 其中以 $0 \sim 5 \text{ cm}$ 土层差异最大, NT 较 CT 高出 180.1 mg kg^{-1} , 1 倍之多。传统耕作条件下 GluN-C 各层次之间没有显著差异, 而在免耕条件下 GluN-C 含量表现为随着土层深度的增加而显著减低的趋势 ($p < 0.05$), $0 \sim 5 \text{ cm}$ 土层较 $5 \sim 10 \text{ cm}$ 和 $10 \sim 20 \text{ cm}$ 土层中的 GluN-C 含量分别高出 21.5% 和 34.4% 。

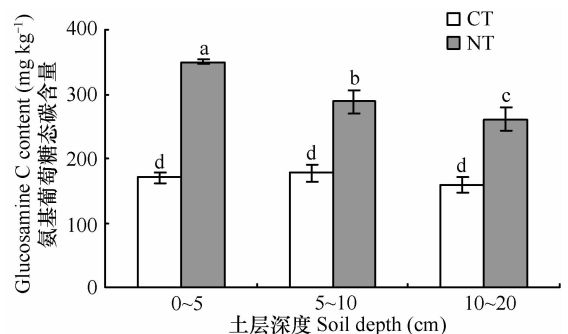


图 1 免耕和传统耕作方式下 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 各土层氨基葡萄糖态碳含量变化

Fig. 1 Changes in glucosamine C content at different depths of the soils under conventional (CT) and no-tillage (NT) cropping systems

2.2 免耕秸秆还田和传统耕作条件下土壤胞壁酸态碳含量的变化

土壤胞壁酸态碳 (Muramic acid C, MurA-C) 含量受耕作措施影响的变化情况如图 2 所示。从图中可以看出, 实施免耕秸秆还田 7 年后土壤中的 MurA-C 含量也表现出显著的增加趋势 ($p < 0.05$)。NT 条件下胞壁酸态碳含量的变化范围为 $46.5 \sim 51.5 \text{ mg kg}^{-1}$, CT 处理则为 $33.1 \sim 38.1 \text{ mg kg}^{-1}$, 总体而言, 免耕条件下 MurA-C 的增加幅度小于 GluN-C。与 GluN-C 积累动态有所不同的是, MurA-C 在土壤各层次中的积累没有明显的梯度差异, $0 \sim 5 \text{ cm}$ 土层中 MurA-C 含量仅高出 $10 \sim 20 \text{ cm}$ 土层中的 10% 左右。传统耕作方式下, 各土层 MurA-C 含量表现为 $0 \sim 5 \text{ cm}$ 显著高于 $5 \sim 10 \text{ cm}$ 和 $10 \sim 20 \text{ cm}$ 。

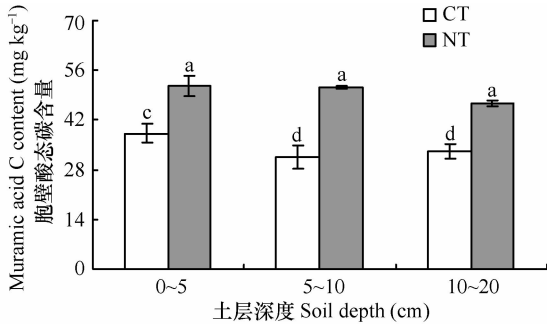


图2 免耕和传统耕作方式下0~20 cm各土层胞壁酸态碳含量变化

Fig. 2 Changes in muramic acid C content at different depths of the soils under conventional (CT) and no-tillage (NT) cropping systems

2.3 免耕秸秆还田和传统耕作条件下土壤氨基半乳糖态碳含量的变化

土壤中氨基半乳糖态碳 (Galacosamine C, GalN-C) 的积累量也受到耕作措施的显著影响 ($p < 0.05$)。免耕条件下, GalN-C 含量的变化范围为 $107.5 \sim 120.6 \text{ mg kg}^{-1}$, 显著高于传统耕作土壤中 GalN-C 含量 ($59.9 \sim 68.6 \text{ mg kg}^{-1}$)。两种耕作方式下, GalN-C 含量均显著低于 GluN-C, 但是明显高于 MurA-C, 免耕条件下 GalN-C 含量约为 MurA-C 含量的 2 倍~4 倍。氨基半乳糖来源碳对不同耕作措施的反应与氨基葡萄糖较为相似, 即与传统耕作相比, 免耕秸秆还田显著提高了基半乳糖来源碳在土壤中的积累量, 且这种积累作用在表层 (0~5 cm) 中尤为明显。传统耕作条件下, GalN-C 在各层次中的含量无显著差异。

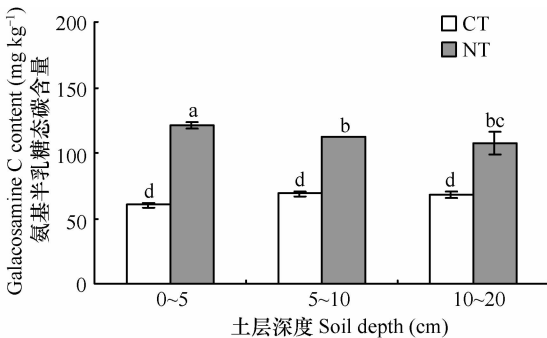


图3 免耕和传统耕作方式下0~20 cm各土层氨基半乳糖态碳含量变化

Fig. 3 Changes in galacosamine C content at different depths of the soils under conventional (CT) and no-tillage (NT) cropping systems

2.4 免耕秸秆还田和传统耕作条件下土壤总氨基糖态碳含量的变化

目前土壤中有 4 种氨基糖 (胞壁酸、氨基葡萄糖、氨基半乳糖、甘露糖胺) 可被分离并定量, 但是由于甘露糖胺含量很低, 所以常用上述 3 种单糖的加和表示氨基糖总量。本研究计算了不同耕作方式下土壤总氨基糖态碳 (Total amino sugar C) 含量的变化情况 (图 4)。从图中可以看出, 与传统耕作相比, 实施 7 年免耕后, 土壤中总氨基糖态碳含量发生显著变化 ($p < 0.05$)。与 CT 相比, NT 处理下总氨基糖态碳含量显著增加, 3 个土壤层次中以 0~5 cm 土层的增加幅度最大, 分别较 CT 处理下相同土层中总氨基糖态碳含量高 64.1%、52.9% 和 49.3%。而 CT 处理中各土层总氨基糖态碳含量无显著差异, 与氨基单糖的总体变化趋势相似。

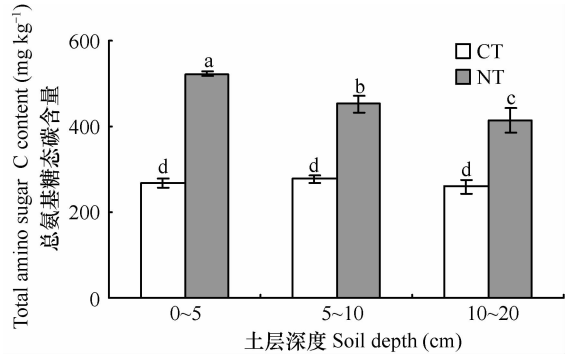


图4 免耕和传统耕作方式下0~20 cm各土层总氨基糖态碳含量的变化

Fig. 4 Changes in total amino sugar C content at different depths of the soils under conventional (CT) and no-tillage (NT) cropping systems

2.5 免耕秸秆还田和传统耕作条件下土壤氨基葡萄糖与胞壁酸含量比值的变化

土壤氨基糖是具有异源性的微生物细胞壁残留物, 可以反映微生物群落在有机质循环过程中的相对贡献情况。由于氨基葡萄糖主要来源于真菌, 而胞壁酸唯一来源于细菌, 因此, 常用氨基葡萄糖与胞壁酸含量的比值 (GluN/MurA) 来表示细菌和真菌对有机质转化的相对贡献大小。图 5 为 GluN/MurA 比值在不同耕作措施下的变化情况, 从图中可以看出免耕条件下该比值 (6.9~7.3) 显著高于传统耕作 (4.7~5.4), 且 3 个土壤层次中以 0~5 cm 土壤层次最大, 从 0~5 cm 至 5~10 cm 土层深度氨基葡萄糖与胞壁酸的比值显著下降, 而随着土层深度的

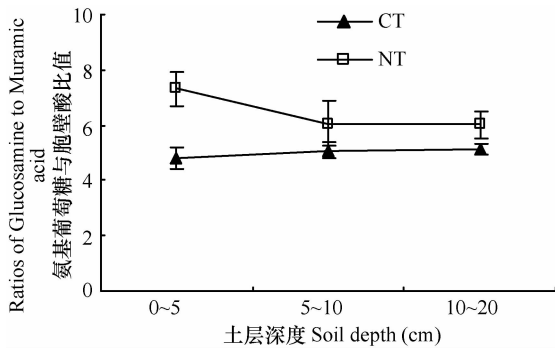


图5 免耕和传统耕作方式下0~20 cm各土层氨基葡萄糖与胞壁酸比值的变化

Fig. 5 Changes in ratios of glucosamine to muramic acid at different depths of the soils under conventional (CT) and no-tillage (NT) cropping systems

继续增加5~10 cm和10~20 cm土层之间差异不显著。传统耕作处理中,3个土层中GluN/MurA的比值没有显著差异。

3 讨论

3.1 传统耕作和免耕秸秆还田对土壤氨基糖态碳含量的影响

氨基糖在土壤中具有一定的稳定性和异源性,氨基糖的积累动态和土壤养分的同化过程密切相关。以氨基糖为指示物质研究微生物对外界环境变化的响应和对有机质积累和周转方面的研究越来越受到重视^[10]。已有研究表明气候变化和土地利用方式^[20-21]等均会引起土壤中氨基糖数量和分布特征的变化。本研究结果表明:氨基糖态碳在农田土壤中的积累动态受耕作措施的显著影响。与传统耕作措施相比,实施免耕7年显著促进了微生物来源的氨基糖态碳在土壤中的积累。这是因为实施免耕秸秆覆盖后,作物残体作为一种重要的能源和养分物质可为微生物生长活动提供必要的底物,会刺激土壤中微生物的活性,进而加快土壤微生物利用外源养分进行新陈代谢和自身物质的合成^[22]。在养分同化过程中,不仅微生物量有所提高,所形成的稳定代谢产物和细胞壁残留物也在土壤中逐渐积累下来^[23-25]。此外,免耕的土壤环境有利于保护微生物的生境(habitat)免遭翻耕引起的破坏,相对稳定的土壤温湿度变化以及良好的团聚体结构^[7]这些因素均有利于微生物在土壤中的生长繁殖,进而促进了氨基糖态碳在土壤中的积累和保持。

相反,传统耕作方式下,有机物料的补给不足,加之土地频繁翻动,使得有机碳等养分损耗加快,微生物的生长和代谢作用会受到养分缺乏的限制,相应的代谢产物的积累强度较低。梁爱珍等^[17]在相同地块的研究中发现,即使在秸秆还田的条件下,随着翻耕强度和次数的增加,土壤有机碳含量也会有所降低,即频繁的翻耕不利于有机碳的固定。而土壤有机碳含量是影响氨基糖在土壤中积累水平的一个重要影响因子^[10, 25]。因而不同耕作方式下微生物来源的氨基糖态碳在土壤中积累的显著差异可归因于土壤有机碳含量之间的差异。有研究认为有机肥料的施用对土壤-植物系统中物质和能量的输入-输出平衡产生扰动,从而影响了微生物的活性和数量及有机质的生物降解过程^[26],这与本研究结果是一致的。由于氨基糖的积累动态与农田生态系统养分循环密切相关,氨基糖一方面作为微生物新陈代谢的副产物在土壤中积累,另一方面又可进一步参与土壤碳氮循环^[4, 12]。因而不同耕作方式下土壤氨基糖含量的这一变化结果说明:在东北地区免耕秸秆还田措施的实施有利于促进微生物来源有机碳在土壤中的显著积累,这对土壤碳素的稳定和养分循环具有重要意义。而传统耕作方式由于频繁的翻耕和有机物料补给不足不利于微生物来源有机碳在土壤中的积累,会相应降低微生物及其代谢产物在土壤有机碳循环和稳定过程中的作用。而且,研究发现与传统耕作相比,实施免耕秸秆还田7年后,3个层次土壤总氨基糖态碳含量的增加比例为60%~95%,显著高于土壤总有机碳的增加比例(9%~29%)。Amelung等^[27]对北美农田区开垦近百年的土壤样品进行分析时发现,长期耕作和作物秸秆移出农田会引起土壤有机碳和氨基糖含量的显著下降,与开垦初始氨基糖的含量相比,开垦98年后土壤氨基糖含量下降了近60%。因此,结合本试验结果,笔者认为在特定的农业生态系统下氨基糖含量的变化可以作为评价不同耕作措施对土壤有机质积累与转化过程中的一个重要评价指标。

不同氨基单糖来源碳素积累量之间有显著差异,说明土壤中不同微生物对耕作措施的反应有所不同。与传统耕作相比,实施免耕7年后真菌来源的氨基葡萄糖态碳含量增加幅度(约64%)高于细菌来源的胞壁酸态碳的增幅(约44%)。这一结果说明真菌对耕作措施的反应较细菌更为敏感。因为免耕条件下,减少了机械作用对真菌菌丝体的破

坏作用,同时秸秆覆盖在地表,真菌能通过菌丝的作用在土壤和植物残体之间搭建起“养分运输的桥梁”,能充分利用截获在地表的碳氮等养分,满足自身生长代谢需要^[7,28]。同时,以几丁质形态存在的氨基葡萄糖在土壤中的稳定性较高,加之由于黑色素的保护使其分解性远低于胞壁酸聚合物^[14,29],这也是氨基葡萄糖态碳在土壤中积累量较高的原因之一。另一方面,本试验中两种耕作方式下胞壁酸态碳的含量均较低(38.1~51.5 mg kg⁻¹),这与胞壁酸自身稳定性相对较低、周转较快有关^[15]。但是从本试验结果中仍可以看出:与传统耕作相比,免耕秸秆还田措施对胞壁酸来源碳的积累也表现出显著的正效应,这与免耕条件下相对较高的底物可利用性密切相关。何红波等^[24]认为,胞壁酸对土壤中碳源和氮素养分的数量变化非常敏感,在碳氮元素供给充足时,胞壁酸会在土壤中积累下来。其中任何一种元素的缺乏,均会造成胞壁酸作为碳源或氮源被微生物分解利用。不同耕作方式下,胞壁酸来源碳的含量支持了该观点。氨基半乳糖态碳的含量变化与氨基葡萄糖的较为相似,即免耕条件下显著高于传统耕作。但是根据何红波等室内模拟试验的研究结果,即使在有大量可利用碳和养分存在的情况下,土壤氨基半乳糖的合成作用仍然十分有限,即土壤氨基半乳糖数量受到养分改变的影响相对较小^[25]。这与本试验结果似有矛盾,实施免耕秸秆还田7年后,氨基半乳糖态碳的含量较传统耕作土壤中的含量显著增加,笔者认为这可能与室内模拟试验的时间相对较短(不到一年)有关,而氨基半乳糖在土壤中的合成转化过程相对缓慢^[24]。此外,田间原位试验与室内模拟试验之间的土壤环境差异较大,可能会导致与氨基半乳糖有关的微生物群落在活性和数量方面均有很大的差异。有关氨基半乳糖的来源至今一直存在着不同的推断,多数研究认为氨基半乳糖主要来源于细菌的贡献^[15],然而也有研究表明真菌对氨基半乳糖的贡献更大^[23]。在本实验中,不同耕作措施下氨基半乳糖的积累特征与氨基葡萄糖很相似,暗示着真菌对氨基半乳糖的贡献不可忽视。有关氨基半乳糖在土壤中的来源及其转化特征有待于进一步研究。

3.2 传统耕作和免耕秸秆还田对氨基糖态碳在土壤剖面中分布特征的影响

不同耕作措施引起了氨基糖来源碳素在土壤剖面上分布的显著差异(图4)。总体来看,免耕处理7年后0~5 cm土层氨基糖来源碳的含量显著增

加,其次为5~10 cm和10~20 cm土层。这主要是由于免耕条件下不翻动土壤,每年还田的作物秸秆只覆盖在地表,导致土壤有机质在表层累积、亚表层有所降低的分层化现象^[10]。而这种养分分布的空间异质性,导致了微生物活性及其相应代谢产物在土壤中的这种梯度分布特征。传统耕作方式下,由于机械的耕翻导致整个耕层土壤有机碳和养分在空间分布的相对均一性,相应的也会引起微生物活性及数量沿土壤剖面相对均匀的分布^[30]。本研究中传统耕作方式下土壤氨基糖态碳在各土层中的含量没有表现出明显差异,这与Liang等^[18]在相同试验地块下土壤中有机碳含量的分布特征较一致。各氨基单糖来源的碳素在各土层中的分布特征与氨基糖来源总碳量的变化趋势相似(图1~图4)。在免耕土壤中,随着土层的加深,氨基葡萄糖态碳含量显著降低。Fierer等^[31]发现在免耕土壤中真菌的生物量及其丰富度均会随着土壤深度的增加而有所下降,我们的研究结果与之相吻合。氨基半乳糖态碳含量沿土壤剖面的变化趋势与氨基葡萄糖的相似。但是免耕条件下胞壁酸来源碳素的含量除0~5 cm土层外,其他两个土层之间并没有表现出明显的差异。这可能是由于秸秆表施于土壤,细菌与真菌相比由于没有菌丝体的存在,无法通过菌丝运动伸展接触到植物残体表面,对其进行降解,导致较深土层中细菌对养分的利用受到一定的限制^[30],而0~5 cm土层中较高的细菌残体积量可能与该层次中养分相对充足有关,因为作物秸秆中一部分容易降解的碳源和养分可通过淋溶等作用渗透至表层土壤,进而刺激该层土壤中微生物的生长和代谢活性^[24,32],使相应的细胞壁代谢产物有所增加。

3.3 传统耕作和免耕秸秆还田对土壤微生物群落结构变化的影响

土壤微生物对有机碳的利用和转化主要有真菌和细菌主导的两种途径,了解真菌和细菌对环境因子改变的响应情况有助于更好地预测土壤碳素储量及外源底物在土壤中的去向及其保留时间^[7]。由于胞壁酸唯一来源于细菌,氨基葡萄糖主要来源于真菌,研究中通过考虑氨基葡萄糖/胞壁酸(GluN/MurN)含量的比例,可以获得有关真菌和细菌对土壤养分利用和有机质转化过程中的相对贡献情况^[4,32]。与初始值相比,该比值升高表明真菌残留物相对贡献大于细菌,该比值降低表明细菌残留物对土壤有机质积累的贡献大于真菌,本研究中

利用该比值的变化来探讨不同耕作方式下细菌和真菌群落结构的变化情况。免耕秸秆还田条件下, 氨基葡萄糖和胞壁酸的含量均有显著的提高, 但是 GluN/MurA 比值显著高于传统耕作, 说明实施免耕后的土壤环境更有利于真菌的生长代谢, 真菌逐渐转为优势群体, 这与他人利用氨基糖与磷脂质脂肪酸作为指示物质研究免耕条件下微生物群落结构的变化结果相一致^[6,33]。在传统耕作方式下, GluN/MurA 比值较低且变化平缓, 说明在连续多年的传统耕作方式下细菌和真菌群落结构已经达到了一个基本平衡的状态。而且通过真菌和细菌来源的氨基糖比值的变化情况, 可以看出在不同的农田耕作措施下, 细菌和真菌通过自身代谢物的积累对土壤有机质转化的相对贡献不同。免耕土壤中较高的 GluN/MurA 比值, 说明真菌来源的有机碳对土壤总有机碳的贡献比例大于细菌。而且与细菌相比, 真菌具有较高的碳素同化速率, 其代谢过程中储存的碳素较多。有研究表明真菌体内吸收植物残体中的碳量是细菌的 26 倍还多。因此, 真菌调控的土壤碳储备相对稳定, 而细菌调控的则相对活跃^[28]。因此本试验结果暗示着实施免耕结合秸秆还田后土壤有机碳的截获潜力增大, 这对由于长期耕作导致土壤有机质含量显著降低的农田黑土而言, 对其提高有机碳的恢复潜力及增加土壤有机质稳定方面具有重要的意义。

4 结 论

与传统耕作相比, 免耕结合秸秆还田显著提高了农田黑土氨基糖态碳的含量, 说明减少土壤翻耕、增加有机物料投入有利于氨基糖物质在土壤中的积累和保持, 这部分微生物截获的碳源和氮源在土壤养分循环过程中具有重要的作用。其中以真菌来源的氨基葡萄糖的积累最具明显优势, 暗示免耕条件下真菌逐渐转为优势群体, 这有利于提高农田土壤有机碳的储备量及其稳定性。本实验结果也表明, 氨基糖作为微生物细胞壁的特定产物可以用来指示农田生态系统中不同耕作措施对土壤微生物群落结构的影响及不同微生物残体对土壤有机质积累的贡献情况。

参 考 文 献

[1] Wardle D A, Yeates G W, Nicholson K S, et al. Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decom-

position to agricultural intensification over a seven year period. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 1 707—1 720

- [2] Smith J L. Cycling of nitrogen through microbial activity//Hadfield J C, Steward B A. *Soil biology: Effects on soil quality*. Boca Raton; Lewis Publishers, 1994: 91—120
- [3] Spedding T A, Hamel C, Mehuys G R, et al. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36: 499—512
- [4] Amelung W, Miltne A, Zhang X, et al. Fate of microbial residues during litter decomposition as affected by minerals. *Soil Science*, 2001, 166: 598—606
- [5] Kiem R, Kögel-Knabner I. Contribution of lignin and polysaccharides to the refractory carbon pool in C-depleted arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35: 101—118
- [6] Guggenberger G, Frey S D, Six J, et al. Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. *Soil Science Society of American Journal*, 1999, 63: 1 188—1 198
- [7] Six J, Frey S D, Thiet R K, et al. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of American Journal*, 2006, 70: 555—569
- [8] Chantigny M H, Angers D A, Prévost D, et al. Soil aggregation and fungal and bacterial biomass under annual and perennial cropping systems. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61: 262—267
- [9] Glaser B, Turrión M B, Alef K. Amino sugars and muramic acid-biomarkers for soil microbial community structure analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36: 399—407
- [10] Liang C, Balser T C. Preferential sequestration of microbial carbon in subsoils of a glacial-landscape toposequence, Dane County, WI, USA. *Geoderma*, 2008, 148:113—119
- [11] Appuhn A, Joergensen R G. Microbial colonisation of roots as a function of plant species. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 1 040—1 051
- [12] Stevenson F J. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison; American Society of Agronomy, 1982
- [13] Zhang X, Amelung W. Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, galactosamine, and mannosamine in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28: 1 201—1 206
- [14] Parsons J W. *Chemistry and distribution of amino sugars in soils and soil organisms*//Paul E A, Ladd J N. *Soil biochemistry*. New York; Marcel Dekker, 1981
- [15] Amelung W. Methods using amino sugars as markers for microbial residues in soils//Lal R, Kimble J M, Follett R F, et al. *Assessment methods for soil carbon*. Boca Raton; Lewis Publishers, 2001
- [16] 韩晓增, 王守宇, 宋春雨, 等. 土地利用/覆盖变化对黑土生态环境的影响. *地球科学*, 2005, 25(2): 203—209. Han X Z, Wang S Y, Song C Y, et al. Effects of land use and cover change on ecological environment in black soil region (In Chinese). *Scientia Geographica Sinica*, 2005, 25(2): 203—209
- [17] 梁爱珍, 张晓平, 杨学明, 等. 耕作对东北黑土团聚体粒级

- 分布及其稳定性的短期影响. 土壤学报, 2009, 46(1): 154—158. Liang A Z, Zhang X P, Yang X M, et al. Short-term effects of tillage on soil aggregate size distribution and stability in black soil in northeast China (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46(1): 154—158
- [18] Liang A Z, Zhang X P, Fang H J, et al. Short-term effects of tillage practices on soil organic carbon in clay loam soil in Northeast China. *Pedosphere*, 2007, 17(5): 619—623
- [19] 梁爱珍, 张晓平, 申艳, 等. 东北黑土水稳性团聚体及其结合碳分布特征. 应用生态学报, 2008, 19(5): 1 052—1 057
Liang A Z, Zhang X P, Shen Y, et al. Distribution of soil water-stable aggregates and aggregate-associated C in black soil in Northeast China (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(5): 1 052—1 057
- [20] Glaser B, Millar N, Blum H. Sequestration and turnover of bacterial-and fungal-derived carbon in a temperate grassland soil under long-term elevated atmospheric CO₂. *Global Change Biology*, 2006, 12: 1 521—1 531
- [21] 肖伟伟, 范晓晖, 杨林章, 等. 长期施肥对太湖地区黄泥土有机氮和有机碳的影响. 土壤, 2008, 40(1): 93—99. Xiao W W, Fan X H, Yang L Z, et al. Effect of long-term fertilization on soil organic nitrogen forms and organic carbon in paddy soil in the Tai Lake region in China (In Chinese). *Soils*, 2008, 40(1): 93—99
- [22] Buyer J S, Teasdale J R, Roberts D P, et al. Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42: 831—841
- [23] Engelking B, Flessa H, Joergensen R G. Shifts in amino sugar and ergosterol contents after addition of sucrose and cellulose to soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 2 111—2 118
- [24] 何红波, 李晓波, 张威, 等. 葡萄糖和不同数量氮素供给对黑土氨基糖动态的影响. 土壤学报, 2010, 47(4): 760—766. He H B, Li X B, Zhang W, et al. Effect of glucose and nitrogen supply on dynamics of amino sugars in mollisol (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(4): 760—766
- [25] 丁雪丽, 何红波, 白震, 等. 不同供氮水平对施用玉米秸秆后黑土氨基糖转化的影响. 应用生态学报, 2009, 20(9): 2 207—2 213. Ding X L, He H B, Bai Z, et al. Effect of different amounts of inorganic nitrogen addition on microbial transformation of amino sugars during decomposition of maize residues in a mollisol (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(9): 2 207—2 213
- [26] Gronli K E, Frostegard A, Bakken L R, et al. Nutrient and carbon additions to the microbial soil community and its impact on tree seedlings in a boreal spruce forest. *Plant and Soil*, 2005, 278: 275—291
- [27] Amelung W, Lobe I, Du Preez C C. Fate of microbial residues in sandy soils of the South African Highveld as influenced by prolonged arable cropping. *European Journal of Soil Science*, 2002, 53: 29—35
- [28] Beare M H, Parmalee R W, Hendrix P F, et al. Microbial and faunal interactions and effects on litter nitrogen and decomposition in agroecosystems. *Ecological Monographs*, 1992, 62: 569—591
- [29] Paul E A, Clark F E. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1996
- [30] Frey S D, Elliott ET, Paustian K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 573—585
- [31] Fierer N, Schimel J P, Holden P A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35: 167—176
- [32] Zhang X, Amelung W, Yuan Y, et al. Land-use effects on amino sugars in particle size fractions of an Argiudoll. *Applied Soil Ecology*, 1999, 11: 271—275
- [33] 张彬, 白震, 解宏图, 等. 保护性耕作对黑土微生物群落的影响. 中国农业生态学报, 2010, 18(1): 83—88. Zhang B, Bai Z, Xie H T, et al. Effect of conservation tillage on microbial community in Chinese Mollisol (In Chinese). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(1): 83—88

ACCUMULATION OF AMINO SUGAR CARBON AFFECTED BY TILLAGE IN BLACK SOIL IN NORTHEAST CHINA

Ding Xueli¹ Zhang Xudong^{2†} Yang Xueming³ Zhang Xiaoping⁴

(1 Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

(2 Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

(3 Greenhouse and Processing Crops Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Harrow N0R 1G0, Canada)

(4 Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China)

Abstract Soil tillage practices have been shown to have significant influence on microbial activity and community structure through changing soil chemical and physical properties, and as a further consequence on sequestration of soil organic carbon (C). Analysis of soil amino sugar C helps us further understand the underlying microbial processes mediating soil organic carbon stabilization and turnover in soils under different tillage practices. Effects of no-tillage (NT) vs. con-

ventional tillage (CT) over 7 years on the accumulation of amino sugar C in the plow layer (0 ~ 20 cm) in black soil of a 7-year-long experiment in Northeast China were analyzed. It was found that NT significantly increased the content of total amino sugar C in the whole plow layer ($p < 0.05$), especially in the top soil (0 ~ 5 cm) by 94.7% as compared with CT. The finding indicates that NT favors sequestration of microbial derived organic C in the black soils under study. The amounts of amino sugar C's of different sources all increased in NT over CT in a varying degree. At all the three soil depths, the ratios of glucosamine to muramic acid were significantly higher in NT soils (6.9 ~ 7.3) than in their respective CT soils (4.7 ~ 5.4) mainly because of more pronounced enrichment of gulcosamine. The enrichment of fungal-derived glucosamine suggests that fungi have gradually grown into dominance in the NT agroecosystems, thus leading to higher soil organic C storage in the soils.

Key words No-tillage; Conventional tillage; Microorganism; Amino sugar