

DOI: 10.11766/trxb202307120214

王威雁, 沈鹏飞, 张侯平, 莫非, 温晓霞, 廖允成. 长期保护性耕作下土壤团聚体全氮与氮功能微生物关系研究[J]. 土壤学报, 2024,

WANG Weiyan, SHEN Pengfei, ZHANG Houping, Mo Fei, WEN Xiaoxia, LIAO Yuncheng. Study on the Relationship Between Total Nitrogen and Nitrogen Functional Microorganisms in Soil Aggregates under Long-Term Conservation Tillage[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024,

长期保护性耕作下土壤团聚体全氮与氮功能微生物关系研究*

王威雁^{1,2}, 沈鹏飞¹, 张侯平¹, 莫非¹, 温晓霞^{1†}, 廖允成^{1,2†}

(1. 西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100; 2. 山西农业大学黄土高原特色作物优质高效生产省部共建协同创新中心, 山西太谷 030801)

摘要: 长期不同的耕作措施能够显著改变农田土壤团聚体分布、微生物丰度以及全氮储量, 但其之间是否存在相关性尚不清楚。依托连续 10 年 (2009—2020) 旱地长期耕作试验为平台, 比较传统耕作 (翻耕+秸秆还田, PT) 和保护性耕作 (深松耕+秸秆还田, CPT; 免耕+秸秆还田, ZT) 下土壤团聚体氮含量的变化及其与功能基因 (*amoA*-AOA、*amoA*-AOB、*nirS*、*nirK*、*nosZI*和 *nosZII*) 丰度之间的关系。结果表明, 长期保护性耕作 (CPT 和 ZT) 处理显著增加了机械稳定性和水稳定性宏团聚体 (>2 mm) 和大团聚体 (0.25~2 mm) 的质量百分比, 降低了微团聚体 (<0.25 mm) 质量百分比。与传统耕作相比, 长期 CPT 和 ZT 处理 0~20 cm 土层的全氮含量分别提高了 53.4%和 49.9%, 宏团聚体全氮贡献率分别提高了 16.2%和 21.8%, 但土壤氮矿化速率、硝化潜势和反硝化潜势显著降低。通过 q-PCR 定量发现 CPT 和 ZT 显著提高了细菌、真菌以及氮功能基因 (除氨氧化细菌 (*amoA*-AOB 外)) 丰度; 在各粒级团聚体内部, 大团聚体内部真菌、*nirS*、*nosZI*的丰度显著高于微团聚体和宏团聚体, 而 *nosZII*基因丰度则表现出相反趋势。Mantel 分析结果表明, 团聚体尺寸、土壤质地、矿质氮素含量、蔗糖酶活性、脲酶活性等因素是调控团聚体内部氮功能微生物丰度的关键因子。相关性分析表明, 团聚体土壤全氮含量与微生物生物量氮、可溶性有机氮、细菌、真菌、*amoA*-AOB 和 *nosZII*基因丰度呈现显著正相关关系, 而与 *nirS* 和 *nirK* 型反硝化基因丰度呈现显著负相关关系。综上, 长期保护性耕作不仅有利于改善旱作农田土壤团聚体组分, 增加全氮在土壤团聚体中的储存, 还调控了细菌、真菌和氮功能微生物在团聚体内部的丰度, 从而改善了旱作农田土壤氮循环的趋势, 有助于提升旱作农田土壤肥力。

关键词: 保护性耕作; 团聚体全氮; 氮功能微生物; 旱作农田

中图分类号: S343.1

文献标志码: A

Study on the Relationship Between Total Nitrogen and Nitrogen Functional Microorganisms in Soil Aggregates under Long-Term Conservation Tillage

WANG Weiyan^{1,2}, SHEN Pengfei¹, ZHANG Houping¹, Mo Fei¹, WEN Xiaoxia^{1†}, LIAO Yuncheng^{1,2†}

* 黄土高原特色作物优质高效生产省部共建协同创新中心基金项目(SBGJXTZXKF-08)、陕西省重点研发计划-重点产业创新链(群)项目(2023-ZDLNY-03)、中央高校基本科研业务费项目(2452021112)共同资助 Supported by the Provincial and Ministerial Collaborative Innovation Center for High-quality and Efficient Production of Characteristic Crops on the Loess Plateau (No. SBGJXTZXKF-08), and the Key Research and Development Program of Shaanxi Province - Innovation Chain of Key Industries (Group) Project (No. 2023-ZDLNY-03), and the Basic Research Funds for Central Universities (No. 2452021112)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wenziaoxia6811@163.com; yunchengliao@nwsuaf.edu.cn

作者简介: 王威雁 (1993—), 男, 甘肃张掖人, 博士, 副教授, 主要研究方向为旱作农田土壤碳氮循环、微生物生态。E-mail: wweiyan@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2023-07-12; 收到修改稿日期: 2023-11-13; 网络首发日期 (www.cnki.net):

<http://pedologica.issas.ac.cn>

(1. College of Agronomy, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Ministerial and Provincial Co-Innovation Centre for Endemic Crops Production with High-quality and Efficiency in Loess Plateau of Shanxi Agriculture University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: 【Objective】 Long-term tillage measures can significantly change the distribution of soil aggregates, microbial abundance and total nitrogen storage in farmland. However, whether there is a correlation between these properties remains unclear. This study aimed to reveal the relationship between total nitrogen content and nitrogen functional microorganisms within different particle sizes aggregates under long-term conservation tillage in dry farming areas of the Loess Plateau. 【Method】 Based on the 10-year (2009-2020) long-term tillage experiment (conventional tillage: plow tillage, PT; conservation tillage: chisel plow tillage, CPT and zero tillage, ZT), the effects of long-term conservation tillage on the distribution of total nitrogen and its relationship with the abundance of functional genes (*amoA*-AOA, *amoA*-AOB, *nirS*, *nirK*, *nosZI* and *nosZII*) within aggregates in dry farmland were studied. 【Result】 Long-term conservation tillage (CPT and ZT) significantly increased the mass percentage of mega-aggregates (> 2 mm) and macro-aggregates (0.25 ~ 2 mm), while it decreased the mass percentage of micro-aggregates (< 0.25 mm). Compared with PT, long-term CPT and ZT treatments significantly decreased the soil nitrogen mineralization rate, nitrification potential, and denitrification potential but increased the total nitrogen content in the 0~20 cm soil layer by 53.4 % and 49.9 %, respectively. The total nitrogen contribution rate of macro-aggregates of CPT and ZT treatments increased by 16.2 % and 21.8 %, respectively. Using qPCR technology, it was found that CPT and ZT significantly increased the abundance of bacteria, fungi and nitrogen functional genes (except *amoA*-AOB); and the abundance of fungi, *nirS*, and *nosZI* in macroaggregates was significantly higher than that in microaggregates and macroaggregates, while the abundance of *nosZII* gene showed the opposite trend. Mantel analysis showed that aggregate size, soil texture, mineral nitrogen content, sucrase activity, and urease activity were the key factors regulating the abundance of nitrogen-functional microorganisms within aggregates. Correlation analysis showed that the total nitrogen content in aggregate soil was positively correlated with MBN, DON, and the abundance of bacteria, fungi, *amoA*-AOB, and *nosZII* genes, while negatively correlated with the abundance of *nirS* and *nirK* denitrification genes. 【Conclusion】 Long-term conservation tillage can increase soil total nitrogen storage mainly by increasing the contribution rate of nitrogen in macro-aggregates. As the abundance of bacteria, fungi, and nitrification process genes in macroaggregates increases, the abundance of *nirS* and *nirK* denitrifying microorganisms decreases, which improves the trend of the nitrogen cycle and significantly increases soil total nitrogen content. **Key words:** Conservation tillage; Total nitrogen within aggregates; Nitrogen functional microorganism; Dry farmland

黄土高原是典型的旱地农业区，农田大多为中低产田，加之长期的高强度利用，该区农田土壤氮库损耗、耕层浅薄、结构性障碍等问题突出，已成为国家“藏粮于技、藏粮于地”战略实施的短板^[1]。在满足快速增长人口的粮食需求下减少农田地力损耗、优化耕层结构是提高该区农业经济效益和降低环境成本、实现农业绿色发展面临的迫切需求。实施保护性耕作可显著改善土壤结构，优化土壤微生物群落结构，调节土壤的营养供应，进而促进作物产量和农田地力的协同提升^[2]。因此，研究长期保护性耕作模式下黄土高原旱作农田耕层土壤团聚体结构及其内部氮储量和氮功能微生物分布特征，可望为解决资源环境约束、保持农业生产强劲增长，协调粮食增长、地力提升和环境保护提供科学合理的耕作方案，有力推动黄土高原中低产田的提质增效与绿色可持续发展。

土壤中的全氮含量代表着土壤氮素的总贮量和供氮潜力，其矿化和固持过程受到土壤氮功能微生物的显著作用^[3-4]。保护性耕作通过改变土壤微生物特征进而影响土壤氮储量和周转过程^[5]。微生物介导的土壤氮素生物化学循环功能取决于其携带的功能基因的丰度变化^[6]。*nifH*、氨氧化基因（*amoA*-AOA 和 *amoA*-AOB）、*nirK*、*nirS*、*nosZ*（I簇和II簇）基因丰度分别是编码固氮酶、氨单加氧酶、含铜离子亚硝酸盐还原酶、含细胞色素 *cd1* 亚硝酸盐还原酶和 N_2O 还原酶的基因，而这些酶分别催化着固氮、硝化和反硝化过程，对土壤氮库的转化有重要调节作用^[7]。长期保护性耕作试验研究表明，保护性耕作通过显著降低 *nirK*、*nirS* 和 *nosZI* 基因丰度和增加 *nifH*、*amoA*-AOA 和 *nosZII* 基因

丰度,促使土壤氮功能微生物向着增加全氮积累的途径转变^[5,8];通过增加土壤细菌和真菌的群落多样性,进而影响微生物对土壤氮素的周转^[9];随着团聚体粒径百分比的变化,对土壤微生物、相关酶类及有机底物之间形成物理屏障,限制食物网的相互作用,提升团聚体内部土壤全氮的累积和稳定性^[10]。此外,团聚体作为土壤元素生物化学循环的载体单元,土壤有机氮不仅能够与矿物颗粒结合提高其在土壤中的稳定性,同时团聚体的物理保护作用还能将有机氮与土壤微生物及其分泌的胞外酶隔离开,从而控制土壤有机氮的固存和矿化方向。前人研究发现,土壤氮素周转速率随着团聚体粒径的增加逐渐变慢,如有机氮在粉黏粒中转化周期约为 2.61 个月,在微团聚体中增加到 9.30 个月,在大团聚体中可以稳定存在 21.10 个月^[11]。然而关于旱作农田长期保护性耕作下团聚体土壤内部氮含量、氮功能基因丰度特征及其二者之间关系的研究尚少见报道。

基于此,本研究以旱地长期保护性耕作定位试验农田为研究对象,通过测定长期保护性耕作下土壤(0~20 cm)团聚体组分、稳定性、氮含量及其理化性质,并采用实时荧光定量 PCR (Real-time Quantitative PCR, qPCR) 技术,探究不同粒径团聚体土壤中细菌、真菌和氮功能微生物分布特征,以期阐明旱作农田长期保护性耕作土壤团聚体氮含量变化的微生物驱动机制,为该地区最适保护性耕作措施的选择提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

研究于西北农林科技大学北校区西区长期保护性耕作定位试验田(34° 28'N, 108° 07'E, 海拔 521 m)开展。研究区属温带半湿润半干旱季风气候,30 年平均气温 12.9 °C,全年无霜期 221 d,年均蒸发量 880 mm,年平均降水量 632 mm,降雨主要集中在 7—10 月。试验田为褐土,中国土壤系统分类为钙积土垫旱耕人为土。土壤 pH 8.0,有机质 12.25 g·kg⁻¹,全氮 1.21 g·kg⁻¹,硝态氮 10.15 mg·kg⁻¹,铵态氮 0.74 mg·kg⁻¹,有效磷 18.25 mg·kg⁻¹,速效钾 128.63 mg·kg⁻¹,容重 1.28 g·cm⁻³,土壤颗粒机械组成为粉粒 58.76%、黏粒 39.38%、砂粒 1.86%。

1.2 试验设计

保护性耕作定位试验开始于 2009 年,种植模式为一年两熟冬小麦-夏玉米复种。共设置三个耕作处理:免耕(ZT,保护性耕作),深松耕(CPT,保护性耕作)和翻耕(PT,传统耕作),试验采用随机区组设计,3 个重复,共 9 个小区,小区面积 125 m²(长 25 m×宽 5 m)。具体耕作步骤如下:免耕采用旋耕机进行 5 cm 的浅旋作业,以最大限度降低土壤扰动和保证作物种子发芽;深松耕首先使用深松机深松土壤,深松齿间距 40 cm,深松深度 30~35 cm,然而使用旋耕机整理苗床;翻耕首先使用翻耕机进行土壤翻耕作业,耕深 20 cm,然后使用旋耕机整理苗床。耕作作业在冬小麦播种前和夏玉米播种前进行。冬小麦和夏玉米秸秆经过粉碎机粉碎作业后,均匀抛洒至小区表面,然后进行不同的耕作操作。

冬小麦种植品种为“陕麦 139”,夏玉米种植品种为“陕单 609”。冬小麦于每年 10 月中旬播种,次年 6 月上旬收获,播种量 225 kg·hm⁻²,播种行距 20 cm;夏玉米于每年 6 月中旬播种,10 月上旬收获,播种行距 70 cm,株距 23 cm。肥料基施,均匀撒于土壤表面后进行耕作处理,无追肥。单季施肥量为尿素(N > 46%) 375 kg·hm⁻²和磷酸二铵(N > 18%, P₂O₅ > 60%) 375 kg·hm⁻²。作物的生育期内未进行灌溉,田间管理根据当地生产实际进行。

1.3 研究方法

1.3.1 土壤采集与处理 2019 年 5 月参照廖超林等^[12]的方法,清理出 20 cm×20 cm×20 cm 的土方,维持原状带回实验室,在室内风干过程中沿自然裂缝结构掰成小土块,并过 10 mm 筛。各试验小区采用五点取样法均匀混合,四分法分取 2 份约 1 kg 土壤放在硬质铝饭盒内,其中一份在阴凉处风干,用于团聚体分级和土壤基理化性质测定;另一份采用干筛法立即进行团聚体分级后,储存在-80 °C冰

箱,用于团聚体土壤微生物基因组 DNA 提取。

1.3.2 土壤性质测定方法 土壤含水量、颗粒机械组成、有机碳 (SOC)、全氮 (TN)、全磷 (TP)、土壤硝态氮 (NO_3^- -N) 和铵态氮 (NH_4^+ -N) 含量参照鲍士旦^[13]的方法进行。微生物生物量氮 (MBN) 采用氯仿熏蒸法测定,换算系数 0.45;可溶性有机氮 (DON) 采用差减法测定,即采用凯氏法测定土壤浸提液中土壤可溶性总氮 (DTN),减去元素分析仪测得的浸提液中可溶性无机氮 (DIN,包括 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N);蔗糖酶 (Invertase) 活性用 3-5 二硝基水杨酸比色法测定;脲酶 (Urease) 活性用苯酚钠比色法测定。

1.3.3 土壤氮转化速率测定 参照颜晓元^[14]的方法,土壤氮矿化速率采用厌氧培养法测定,通过测定土壤初始和培养结束时 NH_4^+ -N 和 NO_3^- 的浓度,按照二者浓度总和随时间的变化计算土壤氮矿化速率;土壤硝化潜势采用氯酸盐抑制法测定,使用 AA3 流动分析仪测定培养结束时 NO_2^- 浓度,根据其浓度随时间的变化计算硝化潜势;土壤反硝化速率采用乙炔抑制法测定,使用气相色谱检测气体样品中 N_2O 浓度,根据 N_2O 浓度变化计算土壤反硝化潜势。

1.3.4 土壤团聚体分级 采用干筛法^[15]和湿筛法^[16]分别进行机械稳定性团聚体和水稳定性团聚体分级。将风干土粒细分为 7 个不同的粒径组,即分为 >5 、 $3\sim 5$ 、 $2\sim 3$ 、 $1\sim 2$ 、 $0.5\sim 1.0$ 、 $0.25\sim 0.5$ 和 <0.25 mm。最终计算得到各粒度机械稳定性团聚体和水稳定性团聚体质量的百分比。

团聚体平均重量直径 (MWD)、几何平均直径 (GMD)、 >0.25 mm 团聚体百分比 ($\text{DR}_{0.25}$ 或 $\text{WR}_{0.25}$, %) 以及团聚体结构体破坏率 (PAD, %) 根据李伟等^[15]的公示计算。

基于 Tisdall 和 Oades 提出的团聚体等级发育模型^[17],将干筛法获得的新鲜团聚体样品组合成宏团聚体 (>2000 μm)、大团聚体 ($250\sim 2000$ μm) 和微团聚体 (<250 μm) 用于探究长期保护性耕作对旱作农田土壤团聚体氮含量和氮功能微生物分布的影响。

1.3.5 团聚体土壤细菌、真菌和氮功能微生物丰度测定 团聚体土壤 DNA 采用 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒提取,每份土壤样品提取三个重复,混合后代表本小区该粒径团聚体土壤 DNA。使用 Nanodrop 2000 分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶测定 DNA 浓度和完整性。

采用实时荧光定量 (RT-qPCR) 技术,通过 Biosystems QuantStudio™ 7 (Life Technologies Inc., Carlsbad, CA, USA) 实时荧光定量仪对土壤中细菌 16S rRNA、真菌 ITS、*amoA*-AOA、*amoA*-AOB、*nirK*、*nirS*、*nosZ*-clade I 和 *nosZ*-clade II 基因丰度进行测定,引物、反应体系和扩增条件参考 Wang 等^[17]。标准品制备:将构建的含目的基因的质粒,按照 10 倍稀释 8 个浓度梯度,与待测样品一起,进行 qPCR。以标准品拷贝数的对数值为横坐标,以 CT 值为纵坐标,构建标准曲线,根据未知样品的 CT 值,得到样品的拷贝数^[18]。

1.4 数据处理

不同粒径团聚体全氮对土壤全氮的贡献率 ($C_{\text{TN-aggregate}}$, %) 计算^[19]:

$$C_{\text{TN-aggregate}} = \frac{C_{\text{aggregate}} \times W_i}{C_{\text{soil}}} \times 100\%$$

式中, W_i 为各粒级团聚体的质量分数; $C_{\text{aggregate}}$ 为某粒级团聚体中全氮的含量; C_{soil} 为土壤中全氮的含量。

采用 SPSS 19.0 (SPSS Inc., Armonk, NY, USA) 软件,采用双因素方差分析 (Two-way ANNOVA) 比较长期保护性耕作对不同粒径团聚体比例、土壤性质以及氮功能基因丰度的影响效应;采用 R 3.6.1 的 corrplot 包进行 Mentel 分析和相关性分析;利用 Origin 2023 (OriginLab Co., USA) 进行数据可视化。

2 结果

2.1 保护性耕作对土壤团聚体及其内部全氮、微生物生物量氮、可溶性有机氮分布的影响

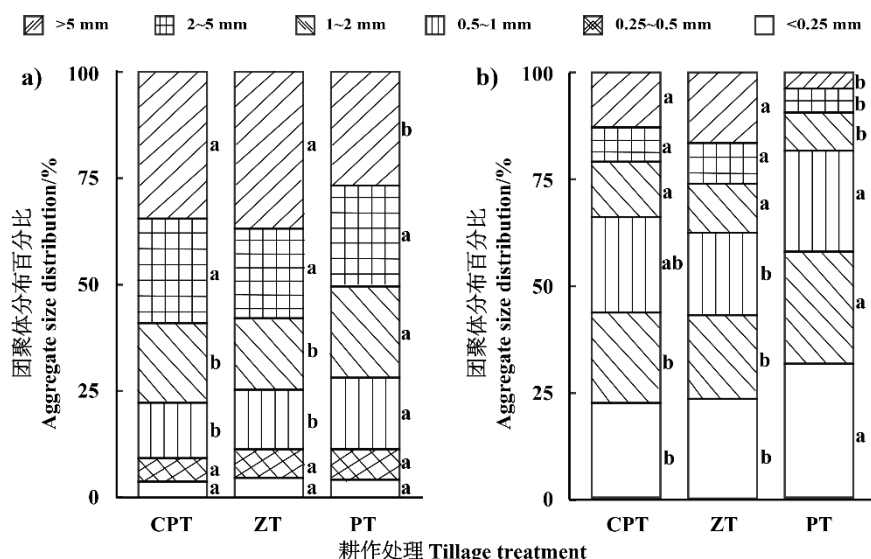
与 PT 相比, CPT 和 ZT 显著增加了机械稳定性宏团聚体和水稳定性宏团聚体和大团聚体的比例, 但降低了机械稳定性大团聚体、微团聚体以及水稳定性微团聚体的质量占比(表 1, 图 1)。此外, 随着耕作强度的增加, 机械稳定性团聚体和水稳性团聚体的 NWD 和 GMD 逐渐增加。同时, CPT 和 ZT 处理显著增加了 13.5%和 12.5%的 > 0.25 mm 水稳性团聚体百分比, 并降低了团聚体破坏率。

表 1 长期保护性耕作对团聚体分布和稳定性的影响
Table 1 Effects of long-term conservation tillage on aggregate distribution and stability

| 耕作方式 Tillage method | 机械稳定性团聚体 Mechanically stable aggregates | | | | | |
|------------------------|---|--------------|--------------|-----------------------|-------------|-------------|
| | 宏团聚体 Me/% | 大团聚体 Ma/% | 微团聚体 Mi/% | DR _{0.25} /% | MWD/mm | GMD/mm |
| 深松耕 CPT | 59.04±2.56 a | 37.23±1.27 b | 3.73±0.76 a | 96.3±6.8 a | 3.85±0.47 a | 2.49±0.19 a |
| 免耕 ZT | 57.90±1.85 a | 37.51±1.88 b | 4.59±1.02 a | 95.4±2.3 a | 3.91±0.22 a | 2.39±0.16 a |
| 翻耕 PT | 50.42±1.57 b | 45.40±2.36 a | 4.18±0.89 a | 95.8±5.7 a | 3.33±0.17 b | 2.06±0.10 b |
| F 值 | * | * | ns | ns | ** | * |

| 耕作方式 Tillage method | 水稳定性团聚体 Water-stable aggregates | | | | | |
|------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------|------------|
| | 宏团聚体 Me/% | 大团聚体 Ma/% | 微团聚体 Mi/% | WR _{0.25} /% | MWD/mm | GMD/mm |
| 深松耕 CPT | 20.87±1.28b | 56.43±3.66a | 22.70±1.69b | 77.2±9.7a | 1.71±0.14a | 0.62±0.03a |
| 免耕 ZT | 26.05±4.52a | 58.33±2.91a | 15.62±1.88b | 76.5±7.0a | 1.98±0.24a | 0.71±0.07a |
| 翻耕 PT | 9.38±1.36c | 50.74±3.18b | 39.88±2.69a | 68.0±8.8b | 0.92±0.10b | 0.37±0.02b |
| F 值 | ** | * | * | ** | ** | ** |

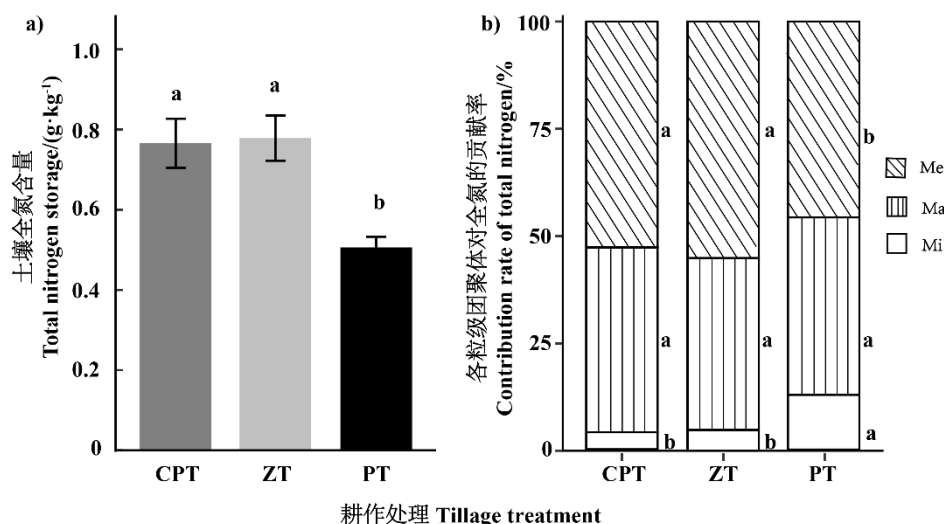
注: Me, 宏团聚体; Ma, 大团聚体; Mi, 微团聚体; DR_{0.25} 为干筛处理得到的颗粒直径 > 0.25 mm 粒级团聚体的质量比例; WR_{0.25} 为湿筛处理得到的颗粒直径 > 0.25 mm 粒级团聚体的质量比例; MWD 是团聚体的平均重量直径; GMD 是团聚体的几何平均直径。不同小写字母表示处理间差异显著 (P < 0.05); * 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平处理间存在显著差异, ns 表示处理间差异不显著。Note: Me, mega-aggregate; Ma, macro-aggregate; Mi, micro-aggregate; DR_{0.25}, > 0.25 mm mechanically stable aggregate; WR_{0.25}, > 0.25 mm water-stable aggregate; GMD, geometric mean diameter; MWD, mean weight diameter. Different lower letters in the same column indicate significant differences among treatments (P < 0.05). * and ** indicate significant differences between different treatments at 0.05 and 0.01 levels, and ns indicated no significant difference between treatments.



注: CPT, 深松耕; ZT, 免耕; PT, 翻耕。不同的小写字母表示处理间存在显著差异(单因素方差分析, P < 0.05)。Note: CPT, Chisel plow tillage; ZT, Zero tillage; PT, Plow tillage. Different lowercase letters indicate significant differences between treatments (one-way ANOVA, P < 0.05).

图 1 长期保护性耕作对土壤机械稳定性团聚体 (a) 和水稳定性团聚体 (b) 的影响
Fig. 1 Effects of long-term conservation tillage on soil mechanical stable aggregates (a) and water-stable aggregates (b)

长期保护性耕作和团聚体粒径显著影响了土壤 TN、DON 和 MBN 的含量(图 2a, 表 2)。与 PT 相比, CPT 和 ZT 显著提高土壤全氮含量 51.36%和 53.90%; CPT 和 ZT 处理下宏团聚体 TN 对土壤 TN 的贡献率显著提高, 微团聚体 TN 对土壤 TN 的贡献率显著降低, 而大团聚体 TN 贡献率在不同耕作处理之间差异不显著(图 2b)。此外, 与 PT 相比, CPT 和 ZT 处理原状土的 MBN 分别增加 86.87%和 121.80%, DON 分别增加 53.83%和 104.97%; 各粒径团聚体间, 与微团聚体相比, 大团聚体和宏团聚体的 MBN 分别平均降低 11.73%和 24.84%, 但是 DON 分别平均增加 19.00%和 8.94%。



注: Me, 宏团聚体; Ma, 大团聚体; Mi, 微团聚体。误差线表示三个重复测定的标准差。Note: Me, mega-aggregate; Ma, macro-aggregate; Mi, micro-aggregate. The error line shows the standard deviation of the three repeated measurements.

图 2 长期保护性耕作对土壤全氮含量 (a) 和不同粒径团聚体全氮贡献率 (b) 的影响

Fig.2 Effects of long-term conservation tillage on soil total nitrogen content (a) and total nitrogen contribution rate (b) of different aggregate particles

2.2 保护性耕作对团聚体土壤性质和氮转化速率的影响

与 PT 处理相比, CPT 和 ZT 分别显著增加了原状土黏粒含量、砂粒含量、SOC、TP、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、脲酶活性和蔗糖酶活性, 并降低了土壤粉粒含量和 pH。与微团聚体相比, 宏团聚体和大团聚体分别显著增加了粉粒含量、黏粒含量、pH、脲酶活性和蔗糖酶活性, 并显著降低了砂粒含量、SOC、TP、 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 含量(表 2)。

由图 3 可知, CPT 和 ZT 处理下土壤的氮矿化速率、硝化潜势和反硝化潜势平均分别显著降低 21.76%~29.80%、23.25%~27.69%和 32.14%~58.61% ($P < 0.05$); 大团聚体和宏团聚体土壤的氮矿化速率显著高于微团聚体, 大团聚体和宏团聚体土壤的硝化潜势显著高于微团聚体, 微团聚体和大团聚体土壤的反硝化潜势显著高于宏团聚体。

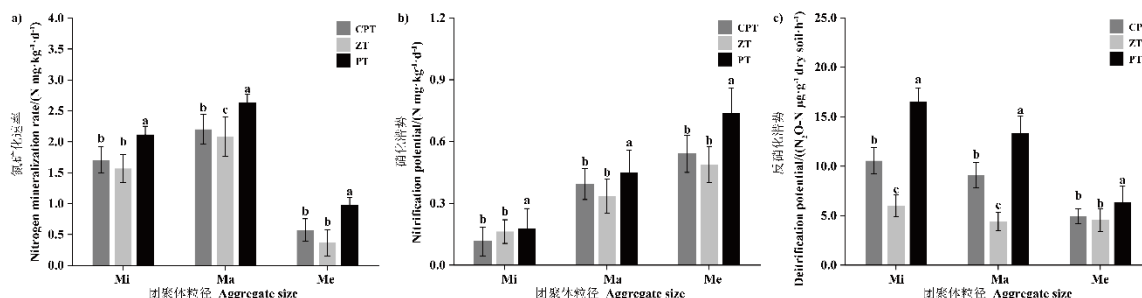


图 3 长期保护性耕作对不同粒径团聚体土壤氮矿化速率 (a)、硝化潜势 (b) 和反硝化潜势 (c) 的影响

Fig. 3 Effects of long-term conservation tillage on nitrogen mineralization rate (a), nitrification potential (b) and denitrification potential (c) of different aggregate particles

表 2 保护性耕作对不同粒径团聚体土壤物理性质、化学性质和酶活性的影响
Table 2 Effects of conservation tillage on physical, chemical properties and enzyme activities of soil aggregates with different particle sizes

| 耕作 Tillage | 团聚体尺寸 Aggregate size | 砂粒 Sand/% | 粉粒 Silt/% | 黏粒 Clay% | pH | 有机碳 SOC/(g·kg ⁻¹) | 全磷 TP/(g·kg ⁻¹) | 微生物生物量氮 MBN/(mg·kg ⁻¹) | 可溶性有机氮 DON/(mg·kg ⁻¹) | 硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg·kg ⁻¹) | 铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg·kg ⁻¹) | 脲酶 Urease/ (mg·g ⁻¹) | 蔗糖酶 Invertase/ (mg·g ⁻¹) |
|------------------------|----------------------------|--------------|--------------|-------------|------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---|---|--|--|
| 深松 耕 | Mi | 15.73±0.21a | 82.34±0.21b | 1.93±0.21a | 8.09±0.03b | 14.19±2.10a | 1.17±0.05a | 21.62±0.84a | 15.66±0.96c | 8.48±2.72a | 1.02±0.06a | 5.09±1.93a | 25.13±1.13a |
| | Ma | 14.01±1.51b | 84.05±1.51a | 1.94±1.51a | 8.18±0.07a | 13.97±0.65a | 0.93±0.24b | 18.71±0.95b | 19.76±1.63a | 5.92±1.06b | 0.95±0.12b | 5.31±1.94a | 25.94±2.84a |
| | Me | 14.22±1.40b | 83.71±1.40a | 2.07±1.39a | 8.21±0.06a | 10.90±1.81b | 0.88±0.15b | 16.75±2.29c | 17.53±0.88b | 7.82±3.60a | 0.77±0.08c | 5.89±2.07a | 26.59±1.58a |
| CPT | 原状土 Bulk soil | 14.19±1.40A | 83.80±1.40B | 2.01±1.39A | 8.19±0.18B | 12.36±1.24A | 0.91±0.18A | 17.66±1.29B | 18.26±1.25B | 7.03±1.47A | 0.86±0.10A | 5.61±1.66A | 26.25±1.58B |
| | Mi | 15.57±1.02a | 82.50±1.02b | 1.93±1.02a | 8.18±0.07b | 15.35±0.74a | 0.99±0.00a | 25.81±2.87a | 22.10±1.15b | 6.08±0.90a | 1.06±0.06a | 4.39±0.93a | 27.77±1.93a |
| 免耕 ZT | Ma | 12.61±0.93b | 85.42±0.93a | 1.97±0.93a | 8.24±0.06a | 14.14±1.15a | 0.82±0.12b | 22.44±1.29a | 25.78±1.65a | 4.93±2.51b | 1.05±0.18a | 4.59±0.56a | 28.60±1.97a |
| | Me | 13.72±0.88b | 84.29±0.88a | 2.00±0.88a | 8.27±0.08a | 11.11±1.36b | 0.82±0.07b | 19.62±0.94b | 23.58±1.33b | 5.13±1.81a | 0.87±0.15b | 4.78±0.63a | 27.80±2.00a |
| | 原状土 Bulk soil | 13.37±0.91A | 84.65±0.91B | 1.98±0.90A | 8.25±0.07B | 12.53±1.25A | 0.83±0.09A | 20.96±1.14A | 24.33±2.33A | 5.10±2.04B | 0.95±0.16A | 4.68±0.62A | 28.12±1.98A |
| | Mi | 12.32±3.01a | 86.11±3.01b | 1.57±0.27a | 8.20±0.05b | 10.46±1.89b | 0.75±0.18a | 11.53±1.20a | 10.74±0.86b | 1.06±0.71b | 0.97±0.55a | 3.27±0.57a | 16.76±1.57a |
| 翻耕 PT | Ma | 12.21±2.00a | 86.07±2.00b | 1.72±0.23a | 8.29±0.04a | 10.18±0.98b | 0.68±0.12b | 10.53±1.37a | 12.26±0.91a | 2.15±2.60b | 0.70±0.07b | 3.29±0.72a | 17.53±1.72a |
| | Me | 10.90±0.89b | 87.45±0.89a | 1.66±0.89a | 8.33±0.05a | 11.63±0.62a | 0.64±0.09b | 8.30±0.94b | 11.62±1.02b | 2.24±1.50b | 0.72±0.07b | 4.05±0.66a | 17.36±1.66a |
| | 原状土 Bulk soil | 11.63±1.62B | 86.71±1.62A | 1.67±1.62B | 8.30±0.05A | 10.88±0.93B | 0.67±0.11B | 9.45±0.94C | 11.87±1.41C | 2.05±1.86C | 0.74±0.13B | 3.63±0.67B | 17.36±2.36C |
| 方差分析 ANOVA results | | | | | | | | | | | | | |
| 耕作方式 Tillage (T) | | ** | ** | ns | * | ** | ** | ** | ** | *** | ** | * | ** |
| 团聚体粒径 Aggregate (A) | | ** | * | ns | * | ** | ** | * | * | ** | ** | ns | ns |
| T×A | | * | * | ns | * | * | ** | ** | ** | * | * | ns | ns |

注：不同小写字母表示同一耕作处理下不同团聚体之间存在差异显著 ($P < 0.05$)；不同大写字母表示不同耕作处理（根据粒径分布的加权平均）之间存在差异显著 ($P < 0.05$)；*、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平处理间存在显著差异，ns 表示处理间差异不显著。Note: Different lowercase letters indicate significant differences between different aggregate particles under the same tillage treatment ($P < 0.05$); different capital letters indicate significant differences between different tillage treatments (weighted average of aggregates particle distributions) ($P < 0.05$); *, **, *** indicate significant differences between different treatments at 0.05, 0.01 and 0.001 level, ns indicated no significant difference between treatments.

2.3 保护性耕作对团聚体土壤细菌、真菌和氮功能微生物丰度的影响

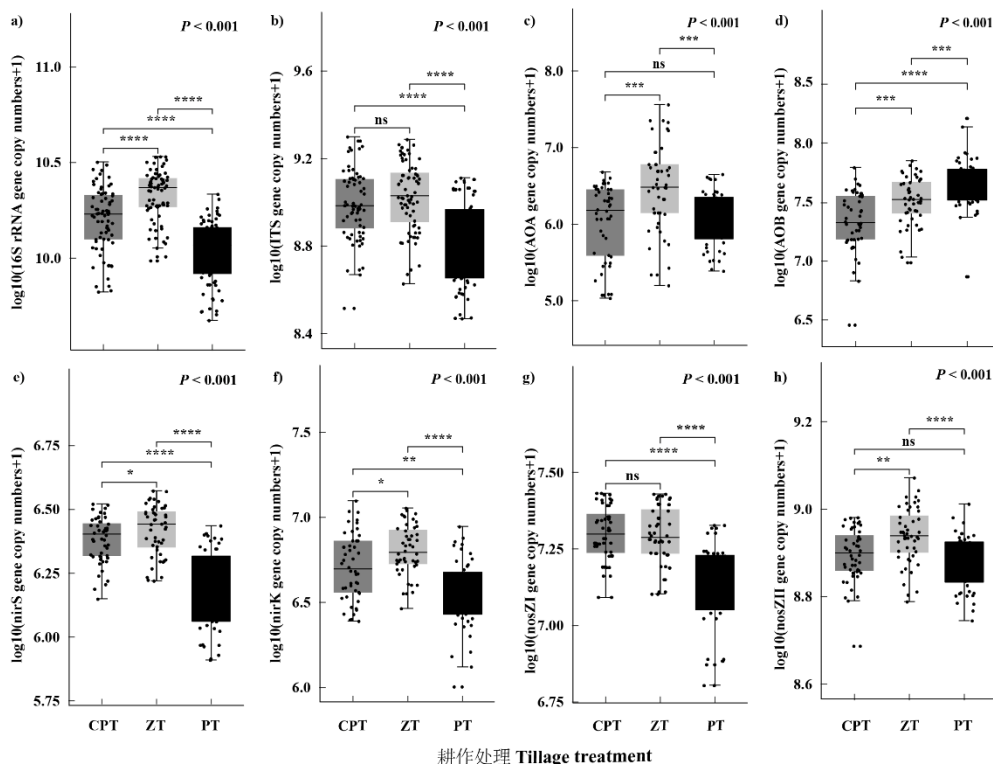
团聚体粒径对 *amoA*-AOA、*nirS*、*nirK*、*nosZI*和 *nosZII*的丰度也有显著影响，但是对于细菌、真菌和 *amoA*-AOB 无显著影响；耕作和团聚体粒径的交互仅对细菌和 *nirK* 的丰度有显著影响(表 3)。与 PT 处理相比，CPT 和 ZT 显著提高了细菌和真菌的总丰度(图 4)；ZT 处理土壤中 *amoA*-AOA 的丰度显著高于 CPT 和 PT 土壤，然而，PT 土壤中 *amoA*-AOB 基因丰度明显高于 CPT 和 ZT 土壤 ($P < 0.05$)；*nirK*、*nirS* 和 *nosZI*反硝化基因丰度在 CPT 和 ZT 土壤中的丰度显著高于 PT 土壤($P < 0.05$)，同时 *nosZII*反硝化基因丰度在 ZT 土壤中的丰度显著高于 CPT 和 PT 土壤 ($P < 0.05$)。大团聚体中真菌、*nirS*、显著高于微团聚体和宏团聚体(图 5)，*amoA*-AOA 和 *nosZI*基因在宏团聚体和大团聚体中的丰度显著高于微团聚体，而 *nosZII*型反硝化基因丰度在微团聚体中显著高于宏团聚体和大团聚体，细菌和 *nirK* 基因丰度在各粒径土壤间无显著差异。

表 3 耕作模式和团聚体粒径对氮功能微生物丰度影响

Table 3 Two-factor variance analysis of changes in soil nitrogen functional microorganisms under conservation tillage treatments and soil aggregate particles

| 变异来源 Source of variation | df | 细菌 Bacteria | 真菌 Fungi | 氨氧化微生物 Ammonia oxidizer | | 反硝化微生物 Denitrifying microorganism | | | |
|-------------------------------|----|----------------|-------------|----------------------------|------------------|--------------------------------------|-------------|--------------|---------------|
| | | | | <i>amoA</i> -AOA | <i>amoA</i> -AOB | <i>nirS</i> | <i>nirK</i> | <i>nosZI</i> | <i>nosZII</i> |
| 耕作措施 Tillage practices (T) | 2 | 5.729* | 7.319* | 6.935* | 6.908** | 25.584*** | 16.906*** | 1.995 | 15.889*** |
| 团聚体粒径 Aggregate size (A) | 2 | 0.182 | 1.381 | 3.957* | 1.485 | 3.261* | 4.123* | 3.333* | 3.934* |
| T×A | 4 | 6.318*** | 1.687 | 0.690 | 0.313 | 1.678 | 3.776** | 1.999 | 0.803 |

注：双因素方差分析采用混合效应模型进行，其中设置耕作方式为固定效应，团聚体粒径为随机效应。*，**，***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平处理间差异显著，ns 表示处理间差异不显著。Note: Two-factor analysis of variance was carried out using the mixed effects model, in which the tillage method was set as the fixed effect and the aggregate size as the random effect; ** represented extremely significant difference ($P < 0.01$); * represented significant difference ($P < 0.05$); ns represented non-significant difference ($P > 0.05$).



注：*，**，***，****分别表示在 0.05, 0.01, 0.001 和 <0.001 水平处理间存在显著差异，ns 表示处理间差异不显著。

Note: *, **, ***, **** indicate significant differences between different treatments at 0.05, 0.01, 0.001 and < 0.001 levels, and ns indicated no significant difference between treatments.

图4 长期保护性耕作对土壤细菌 (a)、真菌 (b) 和 *amoA*-AOA (c)、*amoA*-AOB (d)、*nirS* (e)、*nirK* (f)、*nosZI* (g) 和 *nosZII* (h) 氮转化功能基因丰度的影响

Fig.4 Effects of long-term conservation tillage on the abundance of bacteria (a), fungi (b), *amoA*-AOA (c), *amoA*-AOB (d), *nirS* (e), *nirK* (f), *nosZI* (g) and *nosZII* (h)

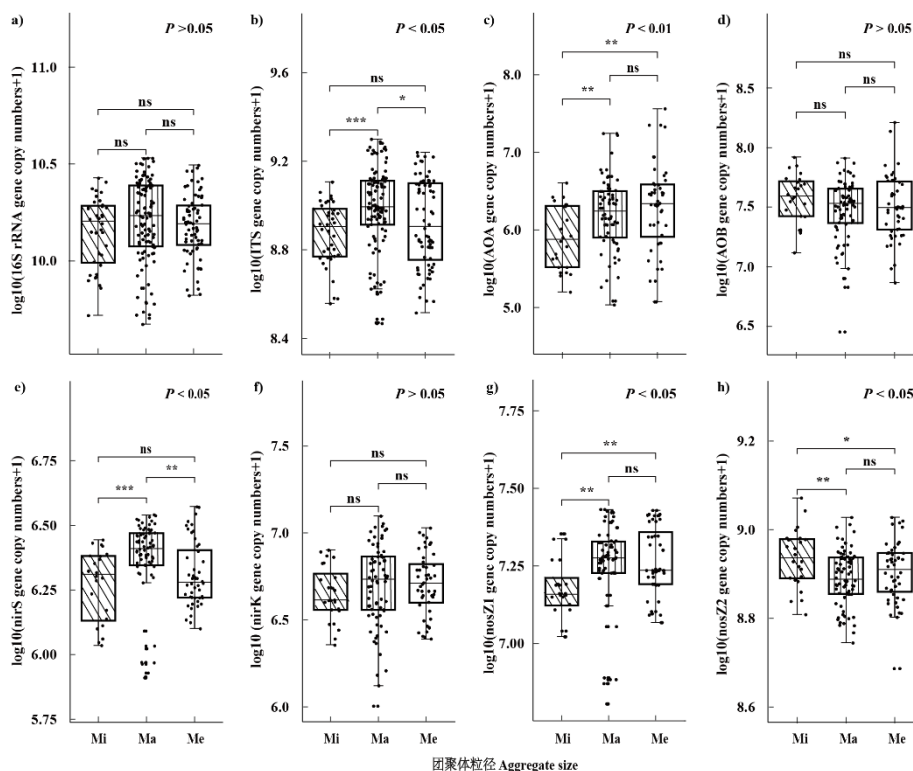


图5 团聚体粒径大小对细菌 (a)、真菌 (b) 和 *amoA*-AOA (c)、*amoA*-AOB (d)、*nirS* (e)、*nirK* (f)、*nosZI* (g) 和 *nosZII* (h) 氮转化功能基因丰度的影响

Fig.5 Effects of aggregate particle size on the abundance of bacteria (a), fungi (b), *amoA*-AOA (c), *amoA*-AOB (d), *nirS* (e), *nirK* (f), *nosZI* (g) and *nosZII* (h)

2.4 团聚体土壤细菌、真菌和氮功能微生物丰度的驱动因子

Mantel 分析表明 (图 6), 细菌总丰度的关键土壤性质驱动因子为土壤质地、SOC、pH、蔗糖酶活性、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N 和脲酶活性; 真菌总丰度的驱动因子为团聚体大小、土壤质地、TP、NH₄⁺-N、脲酶活性和蔗糖酶活; 硝化基因丰度的驱动因子为团聚体大小、蔗糖酶活性、NH₄⁺-N 和 TN; 反硝化基因丰度的驱动因子为土壤质地、TN、蔗糖酶活性、脲酶活性、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N、团聚体大小。此外, 从团聚体土壤性质相关性可以看出, 团聚体土壤 TN、SOC、TP 和 NH₄⁺-N 和 pH 呈现显著负相关, 而与脲和蔗糖酶活性呈现显著正相关; 同时, pH 与脲和蔗糖酶活性也呈现显著负相关。

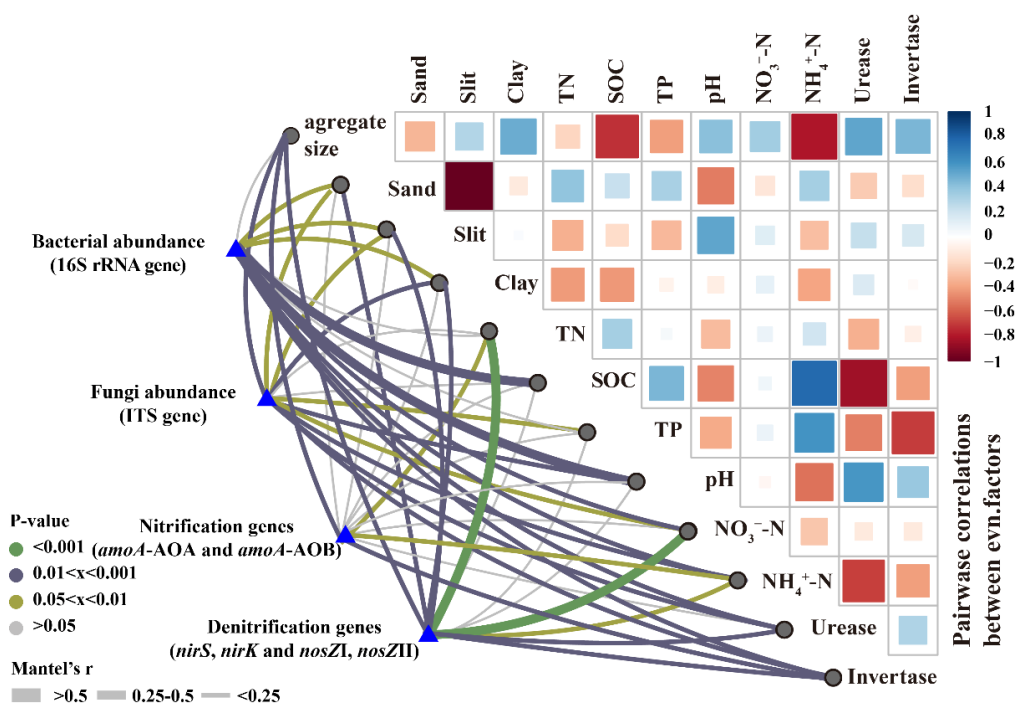


图 6 细菌、真菌和氮功能基因丰度的环境驱动因子
Fig. 6 Environmental drivers of bacteria, fungi, and nitrogen functional genes abundance

2.5 团聚体土壤全氮、硝态氮和铵态氮与功能微生物丰度之间的关系

相关性分析表明 (表 4), 团聚体土壤 TN 与 MBN、DON、NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 以及细菌、真菌、AOB 和 *nosZII* 型反硝化基因丰度呈显著正相关, 而与 *nirS* 和 *nirK* 型反硝化基因丰度呈显著负相关; 团聚体土壤 MBN 和 DON 与细菌、真菌以及氮功能微生物丰度均呈显著正相关; 团聚体土壤 NO₃⁻-N 与 AOB 硝化基因丰度呈显著正相关, 而与细菌、真菌、*nirS*、*nosZI* 和 *nosZII* 基因丰度呈显著负相关; 团聚体土壤 NH₄⁺-N 与 *nirS*、*nirK* 和 *nosZI* 型反硝化基因丰度呈显著正相关, 而与细菌和 *nosZII* 基因丰度呈显著负相关。此外, *nosZI* 型反硝化基因丰度与真菌丰度显著正相关, *nosZII* 反硝化基因丰度与细菌和真菌均显著正相关, 其他氮功能基因丰度与真菌和细菌丰度无显著相关性。*nirS* 与 AOA 无相关性, *nirK* 和 *nirZI* 与 AOA 显著正相关, *nirS*、*nirK* 和 *nosZI* 与 AOB 显著负相关。

表 4 长期保护性耕作下不同粒径团聚体土壤中氮功能基因丰度与全氮、硝态氮和铵态氮的相关性分析
Table 4 Correlation analysis between the abundance of nitrogen functional genes and total nitrogen, nitrate nitrogen and ammonium nitrogen in aggregate soils with different particle sizes under long-term conservation tillage

| | TN | MBN | DON | NO ₃ ⁻ -N | NH ₄ ⁺ -N | Bacteria | Fungi | AOA | AOB | <i>nirS</i> | <i>nirK</i> | <i>nosZI</i> | <i>nosZII</i> |
|---------------------------------|----------|---------|---------|---------------------------------|---------------------------------|----------|--------|---------|----------|-------------|-------------|--------------|---------------|
| TN | 1.000 | | | | | | | | | | | | |
| MBN | 0.744** | 1.000 | | | | | | | | | | | |
| DON | 0.603** | 0.848** | 1.000 | | | | | | | | | | |
| NO ₃ ⁻ -N | 0.450** | 0.501** | 0.449** | 1.000 | | | | | | | | | |
| NH ₄ ⁺ -N | 0.560** | 0.734** | 0.541** | 0.251* | 1.000 | | | | | | | | |
| Bacteria | 0.533** | 0.628** | 0.624** | -0.454** | -0.265* | 1.000 | | | | | | | |
| Fungi | 0.339** | 0.452** | 0.360** | -0.394** | -0.121 | 0.805** | 1.000 | | | | | | |
| AOA | 0.027 | 0.249* | 0.252* | 0.033 | 0.071 | -0.129 | -0.082 | 1.000 | | | | | |
| AOB | 0.235* | 0.244* | 0.337** | 0.372** | -0.172 | 0.208 | 0.009 | -0.194 | 1.000 | | | | |
| <i>nirS</i> | -0.420** | 0.520** | 0.630** | -0.266* | 0.374** | -0.199 | 0.131 | 0.204 | -0.371** | 1.000 | | | |
| <i>nirK</i> | -0.243* | 0.422** | 0.521** | 0.146 | 0.321** | -0.185 | 0.138 | 0.334** | -0.269* | 0.761** | 1.000 | | |
| <i>nosZI</i> | 0.199 | 0.299* | 0.411** | -0.224* | 0.268* | 0.005 | 0.279* | 0.291** | -0.394** | 0.806** | 0.816** | 1.000 | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|--------|---------|---------|---------|----------|----------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|-------|
| nosZII | 0.364** | 0.414** | 0.568** | -0.292** | -0.320** | 0.431** | 0.272* | -0.100 | 0.312** | -0.272* | -0.156 | -0.051 | 1.000 |
|--------|---------|---------|---------|----------|----------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|-------|

注: *表示在 0.05 水平(双尾)上显著相关; **表示在 0.01 水平(双尾)上显著相关($n=84$)。Note: * indicates a significant correlation at the 0.05 level, ** represents a significant association at the 0.01 level (double-tailed) ($n=84$).

3 讨论

3.1 长期保护性耕作对团聚体全氮分布及全氮贡献率的影响

与传统耕作相比,长期(10年以上)保护性耕作提高了土壤团聚体的稳定性,同时显著增加了宏团聚体(>2 mm)的比例,这与前人研究结果一致^[19-20]。保护性耕作减少土壤扰动和增加外源碳输入,减少了对团聚体的破坏并增强了土壤的团聚能力^[21]。传统翻耕措施具有较强的土壤扰动,使得宏团聚体、大团聚体和微团聚体之间发生相互转化和再分配,进而降低了土壤团聚结构的稳定性^[22]。以少耕、免耕和秸秆还田为核心的保护性耕作措施降低了土壤扰动强度和次数,降低了对土壤团聚结构的破坏,在一定程度上有助于耕层土壤结构稳定性的恢复。此外,少耕或免耕可显著提高还田秸秆残茬转化为有机质的效率,有机质是团聚体形成优良的粘合剂,进一步提高了微团聚体之间的团聚性能,从而促进土壤大团聚体的形成^[23]。

本研究表明,长期的保护性耕作显著增加了耕层土壤全土的全氮含量和全氮储量,这与保护性耕作显著增加各粒径团聚体全氮含量、宏团聚体比例及宏团聚体全氮贡献率密切相关(图2)。在一项为期18年的长期研究中发现,与常规耕作相比,免耕土壤的全氮显著增加^[24]。一项全球元分析也发现了类似的结果,随着时间的推移,免耕是对全氮储量提升最有效的土壤管理措施之一^[25]。此外,基于保护性农业对全球农田全氮储量的全球元分析同样表明,与传统翻耕管理措施相比,保护性农业管理措施(如少耕、免耕、秸秆还田、作物多样性轮作等)均能够显著增加土壤全氮含量和储量^[26]。本研究发现,所有耕作处理下团聚体全氮贡献率均表现为宏团聚体高于大团聚体高于微团聚体,且长期保护性耕作下宏团聚体全氮贡献率显著高于传统耕作,而微团聚体全氮贡献率显著低于传统耕作,大团聚体全氮贡献率差异不显著。前人在团聚体有机碳上的研究表明,秸秆还田和免耕结合显著增加了土壤中宏观团聚体的比例,减少了有机质矿化,增加了有机碳储量^[23, 27]。同时,土壤碳氮具有较强的耦合能力,全氮的含量与储量随着有机碳的增加而呈现增加趋势,这主要是由于土壤有机碳具有吸附和保护全氮的作用^[28]。此外,保护性耕作有利于土壤宏团聚体和大团聚体的形成,对团聚体内部有机质可以起到与分解微生物物理隔离保护的作用,降低有机氮的矿化,从而有利于全氮的储存^[10]。少耕、免耕可以塑造适宜的耕层结构,优化耕层土壤孔隙度,增加土壤导热系数,减少土壤中的热量积累,从而优化微生物群落结构及其介导的碳氮循环功能,从而调控有机物矿化强度,从而增加土壤中全氮的积累^[1, 23]。

3.2 细菌、真菌和氮功能微生物丰度对团聚体大小和土壤性质的响应

耕作方式能显著影响土壤团聚体分布比例和微生物群落丰度。本研究发现,细菌、真菌和氮功能微生物(细菌、真菌、AOA、AOB、*nirS*、*nirK*和*nosZII*)对耕作方式的响应均极为敏感(图3),同时团聚体粒径大小显著影响了真菌、AOA、*nirS*、*nosZI*和*nosZII*的丰度(图4)。土壤团聚体是土壤结构的基本单元,受到土壤耕作方式的显著影响;同时土壤团聚体中的异质性微生境在调节土壤中微生物的丰度和功能方面起着重要作用^[29]。Mantel分析表明,土壤pH、有机碳含量和土壤质地(砂粒、粉粒和黏粒含量)等是驱动细菌丰度变化的因子;同时团聚体粒径大小、土壤矿质氮、蔗糖酶和土壤质地等含量与土壤真菌丰度有紧密联系(图5)。此前对细菌和真菌的研究也发现土壤微生物群落丰度会受到耕作方式和土壤理化因子综合影响^[5]。究其原因,与传统的翻耕方式相比,保护性耕作可以改善土壤质量,为微生物生存提供丰富的资源,增加土壤微生物丰度。

团聚体大小、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度和蔗糖酶活性是调控硝化微生物丰度产生差异的关键因子(图5)。重

要的是,不同粒径团聚体对 AOA 丰度有显著影响,而对 AOB 的影响不显著。前人研究表明,氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的丰度与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度有关^[30],低浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 会刺激 AOA 的增殖,因而表现为 AOA 的丰度随着团聚体粒径的增加而增加。而 AOB 对环境因子的敏感性不同,但在弱碱性土壤和高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 条件下 AOB 会迅速增殖^[31]。本研究发现随着团聚体粒径的增加 pH 增高,而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度却降低,因而对 AOB 的丰度影响不显著。

长期保护性耕作农田土壤反硝化微生物丰度在团聚体中的空间分布特征由矿质氮含量($\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 含量)、土壤质地(砂粒、粉粒和黏粒含量)、脲酶活性等因子的显著影响(图 5),这与前人研究结果一致^[26]。重要的是,与传统翻耕相比,长期保护性耕作均显著增加了所有反硝化微生物群落的丰度(图 3),而团聚体尺寸对反硝化微生物的影响效应存在差异(图 4)。耕作对反硝化微生物一致性的影响主要是由于翻耕使肥料埋入了 10~20 cm 的土壤层,缺氧和充足底物有利于反硝化细菌的繁殖^[32]。而团聚体作为土壤养分循环功能的主要反应器,在不同粒径中所承载的氮循环作用有所差异。本研究结果强烈地支持了这一结论,即表明大团聚体中 *nirS* 型和 *nosZI* 反硝化群落丰度显著高于微团聚体和宏团聚体,而微团聚体中 *nosZII* 型反硝化微生物群落丰度显著高于大团聚体和宏团聚体。究其原因主要是由于不同反硝化微生物群落对异质性的土壤微生境的敏感性不同。

3.3 不同耕作方式下,团聚体土壤微生物群落丰度和全氮含量的关系

土壤微生物是土壤氮循环的主要驱动因子,对土壤全氮的矿化和储存以及 MBN、DON 和矿质氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$)的累积有重要作用^[8]。其中,氮功能基因的丰度被认为是土壤氮功能微生物活性的重要指标^[31]。本研究中,长期保护性耕作处理相较传统耕作处理降低了土壤氮矿化速率和反硝化速率,且氮矿化速率和反硝化速率随着团聚体粒径的增加呈降低趋势(图 3)。长期保护性耕作下土壤细菌、真菌、AOB 和 *nosZII* 微生物的增加有利于土壤全氮储量的增加,而 *nirS* 和 *nirK* 型反硝化微生物群落丰度的增加则驱使全氮发生矿化。大量研究表明,反硝化作用使硝酸盐还原成氮气,从而降低了土壤中氮素营养的含量。*nirS* 和 *nirK* 型反硝化基因是编码气态氮氧化物(如 NO 和 N_2O)和氮气产生过程中的关键限速酶(亚硝酸还原酶),因而其丰度的增加可能标志着土壤氮素损失的加剧;而 *nosZII* 基因是编码氧化亚氮还原酶的关键基因,其丰度的增加有利于减少土壤气态氮损失;AOB 主要编码氨单加氧酶,催化铵态氮向硝态氮的转化,从而增加硝态氮含量^[4,7-8]。此前研究也表明,长期保护性耕作通过增强微生物 N_2O 汇的能力,同时抑制微生物 N_2O 源的能力显著降低了旱作农田 N_2O 的排放损失^[5]。前人研究也证实,细菌和真菌丰度和多样性的增加有利于土壤氮循环趋于平衡,从而增加氮储量减少无效氮损失^[8]。此外,保护性耕作处理土壤中细菌和真菌丰度的增加也是提升土壤全氮储量的关键因素。前人研究已经表明,微生物残体氮对于土壤有机氮的增加具有显著的贡献^[33]。长期保护性耕作有利于形成富碳的土壤微生境,有助于促进微生物将外源有机碳同化为自身组分,并以死亡残体的形式累积在土壤中^[27],增强了土壤有机氮的增加。本研究发现,长期保护性耕作土壤中 MBN 的含量显著增加(表 2),有力支持了这一结果。综上,通过优良农业管理措施促进细菌、真菌以群落丰度,抑制 *amoA*-AOA、*nirS* 和 *nirK* 基因丰度,增强 *nosZI* 和 *nosZII* 基因丰度有利于土壤氮储量的增加。

4 结论

通过 10 年的保护性耕作试验,免耕覆盖和深松覆盖显著提高了 0~20 cm 层土壤全氮、可溶性有机氮、微生物生物量氮、硝态氮、铵态氮的含量。这主要是由于免耕秸秆还田和深松秸秆还田可显著提高 0~20 cm 土层水稳定性宏团聚体和大团聚体质量百分比和团聚体稳定性,导致长期保护性耕作显著提高宏团聚体中氮的贡献率和微生物生物量氮以及降低了土壤氮矿化速率和反硝化速率,进而增加土壤全氮储量;同时,土壤全氮储量和氮转化速率的变化与细菌、真菌和氮功能微生物对耕作和团聚体大小的敏感响应密切相关;长期保护性耕作措施增加了细菌和真菌丰度,同时抑制 *amoA*-

AOA、*nirS* 和 *nirK* 基因丰度, 增强 *nosZI* 和 *nosZII* 基因丰度, 从而显著增加了土壤全氮储量。未来应进一步揭示土壤团聚体内活性微生物对氮转化的作用机制, 为农业固碳减排提供理论依据和技术支撑。

参考文献 (References)

- [1] Zhou J M. Protection of arable land resources and increase of soil productivity in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2013, 28(2): 269–274+263. [周健民. 我国耕地资源保护与地力提升[J]. 中国科学院院刊, 2013, 28(2): 269–274+263.]
- [2] Liu H M, Li R Y, Gao J J, et al. Research progress on the effects of conservation tillage on soil aggregates and microbiological characteristics[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2020, 29(6): 1277–1284. [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.]
- [3] Xu L Q, Li J J, Chang X, et al. The mechanism of soil nitrogen mineralization: Research progress[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(34): 97–101. [徐翎清, 李佳佳, 常晓, 等. 土壤氮矿化相关机理的研究进展[J]. 中国农学通报, 2022, 38(34): 97–101.]
- [4] He J Z, Zhang L M. Key processes and microbial mechanisms of soil nitrogen transformation[J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 98–108. [贺纪正, 张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 98–108.]
- [5] Wang W Y, Hou Y T, Pan W H, et al. Continuous application of conservation tillage affects in situ N₂O emissions and nitrogen cycling gene abundances following nitrogen fertilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 157: 108239.
- [6] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(5): 263–276.
- [7] Butterbach-Bahl K, Baggs E M, Dannenmann M, et al. Nitrous oxide emissions from soils: How well do we understand the processes and their controls? [J] Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2013, 368(1621): 20130122.
- [8] Gao Y, Liang A Z, Huang D D, et al. Effects of long-term no-tillage on the functional potential of microorganisms involved in the nitrogen, phosphorus and sulfur cycles of black soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2023, 34(4): 913–920. [高燕, 梁爱珍, 黄丹丹, 等. 长期免耕对黑土氮磷硫循环微生物功能潜力的影响[J]. 应用生态学报, 2023, 34(4): 913–920]
- [9] Chen J, Sinsabaugh R L. Linking microbial functional gene abundance and soil extracellular enzyme activity: Implications for soil carbon dynamics[J]. Global Change Biology, 2021, 27: 1322–1325.
- [10] Liu Y, Li S Q, Li S X. Distribution of nitrogen pools in different sizes of Loess Plateau soil aggregates[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(2): 304–313. [刘毅, 李世清, 李生秀. 黄土高原不同类型土壤团聚体中氮库分布的研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(2): 304–313.]
- [11] Kong A Y Y, Fonte S J, van Kessel C, et al. Soil aggregates control N cycling efficiency in long-term conventional and alternative cropping systems[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2007, 79: 45–58.
- [12] Liao C L, Li L N, Xie L H, et al. Effect of increased or decreased application of organic manure on aggregates stability and soil cement in red paddy soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(4): 978–988. [廖超林, 黎丽娜, 谢丽华, 等. 增减施有机肥对红壤性水稻土团聚体稳定性及胶结物的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58(4): 978–988.]
- [13] Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [14] Yan X Y. Experimental methods for nitrogen cycling in soils[M]. Beijing: Science Press, 2020. [颜晓元. 土壤氮循环实验研究方法[M]. 北京: 科学出版社, 2020.]
- [15] Su Y Z, Wang F, Zhang Z H, et al. Soil properties and soil aggregate characteristics in marginal farmlands of oasis in middle Hexi Corridor Region[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(4): 741–748. [苏永中, 王芳, 张智慧, 等. 河西走廊中段边缘绿洲农田土壤性状与团聚体特征[J]. 中国农业科学, 2007, 40(4): 741–748.]
- [16] Li W, Dai Z, Zhang G X, et al. Combination of biochar and nitrogen fertilizer to improve soil aggregate stability and crop yield in Lou soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(5): 782–791. [李伟, 代镇, 张光鑫, 等. 生物炭和氮肥配施提高土团聚体稳定性及作物产量[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(5): 782–791.]
- [17] Tisdall J M, Oades J M. Organic matter and water stable aggregates in soils[J]. Journal of Soil Science, 1982, 33(2): 141–163.
- [18] Wang W Y, Yang M, Shen P F, et al. Conservation tillage reduces nitrous oxide emissions by regulating functional genes for ammonia oxidation and denitrification in a winter wheat ecosystem[J]. Soil and Tillage Research, 2019, 194: 104347.

- [19] Six J, Elliott E T, Paustian K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 2099–2103.
- [20] Zhang S, Li Q, Zhang X, et al. Effects of conservation tillage on soil aggregation and aggregate binding agents in black soil of Northeast China[J]. *Soil and Tillage Research*, 2012, 124: 196–202.
- [21] Devine S, Markewitz D, Hendrix P, et al. Soil aggregates and associated organic matter under conventional tillage, no-tillage, and forest succession after three decades[J]. *PLoS One*, 2014, 9: e84988.
- [22] Puget P, Chenu C, Balesdent J. Dynamics of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates[J]. *European Journal of Soil Science*, 2000, 51: 595–605.
- [23] Hati K M, Jha P, Dalal R C, et al. 50 years of continuous no-tillage, stubble retention and nitrogen fertilization enhanced macro-aggregate formation and stabilisation in a Vertisol[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 214:105163.
- [24] López-Fando C, Pardo M T. Use of a partial-width tillage system maintains benefits of no-tillage in increasing total soil nitrogen[J]. *Soil and Tillage Research*, 2012, 118: 32–39.
- [25] Mondal S, Chakraborty D. Soil nitrogen status can be improved through no-tillage adoption particularly in the surface soil layer: A global meta-analysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 366: 132874.
- [26] Bohoussou Y N, Kou Y H, Yu W B, et al. Impacts of the components of conservation agriculture on soil organic carbon and total nitrogen storage: A global meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 842: 156822.
- [27] Kan Z R, Ma S T, Liu Q Y, et al. Carbon sequestration and mineralization in soil aggregates under long-term conservation tillage in the North China Plain[J]. *CATENA*, 2020, 188: 104428.
- [28] Xie J Y, Xu M G, Ciren Q, et al. Soil aggregation and aggregate associated organic carbon and total nitrogen under long-term contrasting soil management regimes in loess soil[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14(12): 2405–2416.
- [29] Trivedi P, Rochester I J, Trivedi C, et al. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 91: 169–181.
- [30] Levicnik-Hofferle S, Nicol G W, Ausec L, et al. Stimulation of thaumarchaeal ammonia oxidation by ammonia derived from organic nitrogen but not added inorganic nitrogen[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80: 114–123.
- [31] Jiang X, Ma Y, Yuan J, et al. Soil particle surface electrochemical property effects on abundance of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea, NH_4^+ activity, and net nitrification in an acid soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43: 2215–2221.
- [32] Wertz S, Dandie C E, Goyer C, et al. Diversity of nirK denitrifying genes and transcripts in an agricultural soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75: 7365–7377.
- [33] Li T T, Zhang J Z, Wang X, et al. Fungal necromass contributes more to soil organic carbon and more sensitive to land use intensity than bacterial necromass[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 176: 104492.

(责任编辑: 卢萍)