

生物炭对土壤微生物量及其群落结构的影响

盖霞普¹, 翟丽梅¹, 王洪媛^{1*}, 刘宏斌¹, 任天志^{1,2}, 雷秋良¹, 武淑霞¹

(1. 中国农业科学院 农业资源与农业区划研究所/农业部面源污染控制重点实验室, 北京 100081;

2. 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要:大量研究表明, 生物炭对不同类型土壤中微生物量及群落结构特征影响不同, 为探讨这种影响差异是来自生物炭类型还是土壤本身特征, 选择红壤和黑土两类型土壤同时开展了生物炭对不同类型土壤微生物量及其群落结构的影响作用研究, 为生物炭在不同类型农田土壤中的应用提供一定借鉴和参考。采用玉米秸秆生物炭(炭化温度 500℃)作为供试材料, 分别按照炭土质量比 0、1%、2%和 4%施用于红壤和黑土中, 通过 41d 的好气培养试验, 研究生物炭对土壤 pH、有机碳(SOC)、全氮(TN)、铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、微生物量碳(MBC)、微生物量氮(MBN)的影响, 以及磷脂脂肪酸(PLFA)表征的微生物群落结构的影响。结果表明:从时间尺度变化规律来看, 两类土壤中 SOC 和 TN 含量随着培养时间的延长而逐渐降低, 土壤 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、MBC 以及 MBN 呈现波动性变化规律, 这与土壤中可利用态碳氮养分消耗有关。从生物炭添加效果来看, 生物炭对两类土壤生化性质和微生物群落结构的影响差异显著:生物炭能够显著提高红壤 pH, 达 1.9%~17.0%, 而对黑土 pH 影响不明显;生物炭能显著提高红壤和黑土中 SOC 含量, 对红壤 SOC 的提升潜力更大, 达 18.6%~85.7%, 而对 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量影响不显著。生物炭会降低红壤中 MBC、MBN 和 PLFA 含量及其微生物群落结构多样性, 降低幅度分别为 17.4%~50.2%、19.8%~23.9%、24.9%~43.1%, 对细菌/真菌没有显著影响;然而, 生物炭的添加能够提高黑土 MBC、MBN 和 PLFA 含量及其微生物群落结构多样性, PLFA 总量是对照的 1.2~1.6 倍, 并增加微生物群落结构中细菌的比例。施用生物炭能够改善红壤和黑土的养分状况, 且对有机质含量较低的酸性红壤的提升潜力更强;生物炭对土壤微生物量及群落结构的短期影响受特定土壤生化性质影响很大, 其长期作用影响还需进一步研究。

关键词:生物炭;土壤养分;微生物量;磷脂脂肪酸;红壤;黑土

中图分类号:S154.3

文献标识码:A

文章编号:1000-1700(2017)04-0399-12

Impacts of Biochar on Soil Microbial Biomass and Community Structure

GAI Xia-pu¹, ZHAI Li-mei¹, WANG Hong-yuan^{1*}, LIU Hong-bin¹,
REN Tian-zhi^{1,2}, LEI Qiu-liang¹, WU Shu-xia¹

(1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning/ Key Laboratory of Nonpoint Source Pollution Control,

Ministry of Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: The aim of this study was to clarify the influence of biochar on soil microbial biomass and community structure in different types of soils and provide some references for biochar application in farmland. The biochar, made from corn-straw pyrolyzed at 500 °C, was applied to soils at weight rates of 0, 1%, 2% and 4% and incubated aerobically with the red and black soils for 41 days, respectively. At the end of the incubation experiment, some soil chemical and biological properties were determined, including soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), soil ammonium nitrogen (NH₄⁺-N), nitrate nitrogen (NO₃⁻-N), microbial biomass carbon (MBC) and microbial biomass nitrogen (MBN), as well as phospholipids fatty acids (PLFA) which was used to characterize soil microbial community structure. Both SOC and TN of two soils gradually reduced with the incubation time. Meanwhile, soil NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, MBC and MBN showed fluctuated variations on time scale, which was attributed to the consumption of soil available nutrients. Soil biochemical properties and microbial community structure showed significant differences in two soils after biochar application. The addition of biochar significantly increased the pH value by 1.9%~17.0% in the red soil but had no obvious effect on that of black soil. SOC contents were significant improved in the two types of soil with the amendment of biochar, especially for the higher potential to the enhancement in the red soil and increased by 18.6%~85.7%.

收稿日期:2017-04-05

基金项目:公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303095);中央级公益性科研院所基金项目(1610132016055)

作者简介:盖霞普(1987-),女,博士研究生,从事生物炭对土壤氮素的影响研究, E-mail:happygaixiapu@126.com;* 通讯作者:王洪媛(1976-),女,博士,副研究员,从事农业废弃物资源化利用与农业面源污染控制研究, E-mail:wanghongyuan@caas.cn

Biochar showed no significant effects on soil $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ contents. The addition of biochar could decrease MBC, MBN and PLFA contents by 17.4%–50.2%, 19.8%–23.9% and 24.9%–43.1% respectively in the red soil, and the diversities of microbial community structure also reduced after biochar added. Meanwhile, the addition of biochar had no obvious effects on bacteria/fungi. On the contrary, the enhancement of MBC, MBN and PLFA contents and the diversities of microbial community structure were presented in the black soil. The total amount of PLFA was 1.2–1.6 times of the control. Application of biochar could improve soil nutrients in the red and the black soil, and had a stronger potential to increase the acidic red soil with low level of soil organic matter. The specific biochemical properties of soil had a strong influence on the effects of biochar on soil microbial biomass and community structure in the short-term study, but long-term effects of biochar needs to be further studied.

Key words: biochar; soil nutrient; microbial biomass; phospholipid fatty acid; red soil; black soil

生物炭是由生物质热解炭化制备成的一种含碳丰富的、性质稳定的产物^[1]。生物炭添加到土壤中,不仅能够提高土壤 pH,改善土壤结构,而且有利于促进土壤有机碳库的稳定性,并提高土壤对氮、磷、钾等养分的固持能力^[2-4]。土壤微生物群落作为土壤生物区系中最重要的功能组分,在“植被-土壤微生物-土壤”系统中,起着调节土壤养分供给与植被养分吸收之间响应与反馈关系的作用,因而,备受国内外学者的关注。因此,研究生物炭对土壤微生物量及其群落结构的影响,将为生物炭在农田土壤中的实际应用提供微生物学方面的相关依据。已有研究表明,生物炭能够提高土壤微生物活性^[1-5]和微生物量^[6-7],进而影响其在土壤养分循环中的调控作用。生物炭具有丰富的微孔隙结构,可以吸附可溶性有机物质、挥发性气体和一些无机离子,在土壤中为微生物生长繁殖提供良好栖息地,进而增加土壤微生物量^[8-9];也有研究认为土壤微生物能够利用生物炭中易降解碳,增强活性,从而提高微生物量^[10]。同时,生物炭能够通过改善土壤物理和化学特性(如 pH、全氮、全碳和碳氮比等),间接影响土壤中微生物丰富度^[11-13]。XU 等^[14]采用高通量测序技术研究发现,玉米秸秆生物炭能够改变土柱淋溶试验后潮褐土中细菌群落结构组成。CHEN 等^[15]采用 PCR-DGGE 技术发现生物炭的添加能够使轻度酸化水稻土中细菌基因拷贝数增加 28%~64%,真菌基因拷贝数显著降低 35%~46%。然而,也有研究发现,生物炭的添加会降低土壤微生物量,降低微生物群落结构丰富度,并将其归因于土壤有机质的降解及矿化作用的降低^[16]。以上结果说明生物炭对土壤微生物量、微生物群落结构的影响差异较大,这种差异性可能与生物炭用量、类型以及土壤类型等有关^[17]。中国南方分布着大面积的酸性红壤,是一类经过长期水耕熟化的人为土,具有高度风化、质地粘重和养分易淋失等特性。东北黑土区作为我国重要的商品粮生产基地,正面临着水土流失严重、土壤养分逐年下降、土壤结构遭到破坏等一系列问题。目前,生物炭对不同类型土壤微生物量和微生物群落结构的影响仍存争议,尤其是针对我国南方地区的红壤和东北地区的黑土,生物炭对土壤养分及生物学指标时间尺度上的变化特征影响未见深入报道,其对不同类型土壤微生物量和微生物群落结构的影响机制也有待进一步揭示。本研究以酸性红壤和中性黑土为研究对象,采用短期室内培养实验,研究玉米秸秆生物炭对两类土壤微生物量和微生物群落结构的影响,以期生物炭的实际应用提供微生物学方面的理论参考。

1 材料与方 法

1.1 供试土壤性质

供试土壤类型为我国南方地区的代表性红壤和东北地区的代表性黑土,分别采自中国农业科学院祁阳红壤实验站(北纬 $\text{N}26^{\circ}45'34.49''$,东经 $\text{E}111^{\circ}52'18.21''$)和吉林省农业科学院试验地内(北纬 $\text{N}43^{\circ}30'23''$,东经 $\text{E}124^{\circ}48'33.9''$)。本试验中红壤、黑土分别用 RS(red soil)、BS(black soil)表示。采样深度为地表耕层 0~20cm。将采集的新鲜红壤、黑土挑去肉眼可见的细根和石块,然后过 2mm 筛用于培养试验。供试红壤呈酸性,黑土呈中性,两类土壤有机碳水平中等。两类土壤耕层化学性质如表 1。

表 1 土壤化学性质
Table 1 The chemical properties of soils in the experiment

土壤类型 Soil type	pH (5:1)	有机碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ SOC	全氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TN	铵态氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ $\text{NH}_4^+\text{-N}$	硝态氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ $\text{NO}_3^-\text{-N}$	全磷/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TP	全钾/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ TK	电导率/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ EC
红壤 RS	5.3	12.3	1.6	1.7	6.9	0.8	13.6	29
黑土 BS	7.9	22.6	2.3	2.8	270.0	1.3	19.7	265

1.2 玉米秸秆生物炭制备及性质

本研究中生物炭的制备方法参考盖霞普等^[18]。试验取用地上部玉米秸秆作为供试材料。将玉米秸秆用蒸馏水清洗干净后,65℃烘箱烘干。烘干的玉米秸秆利用植物粉碎机粉碎后装满不锈钢盒,压实后加盖密封,置于马弗炉(SXZ-12-10,北京)中,逐渐升温至500℃,升温速率25℃·min⁻¹,并保持500℃条件下持续碳化1.5h,碳化样品冷却后保存在棕色广口瓶中。生物炭的理化特征为:pH值10.0,灰分含量34%,含碳(C)量23.2%,含氮(N)量0.7%,NH₄⁺-N 2.4mg·kg⁻¹,NO₃⁻-N 0.4mg·kg⁻¹,阳离子交换量(CEC)23.8cmol(-)·kg⁻¹。

1.3 培养试验

试验于2014年7~8月实验室内进行。分别称取100g(相当于干土重)新鲜红壤、黑土样品,加入0、1%、2%、4%玉米秸秆生物炭(炭土比)于250mL塑料杯中(红壤各处理分别用RS1、RS2、RS3、RS4表示;黑土各处理分别用BS1、BS2、BS3、BS4表示),调节水分至田间持水量的40%^[19],用保鲜膜封口,并在保鲜膜中间留一个小孔将其置于25℃下恒温培养箱中培养,每隔3d称重补水,每个处理设置3个重复。分别在培养实验过程中的第1,3,6,9,14,21,31,41d进行破坏性取样,新鲜样品于4℃下冷藏保存,测定土壤NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、微生物量碳(MBC)、微生物量氮(MBN)、可溶性碳(DOC)、可溶性氮(DON)等指标;部分土样经冷冻干燥处理后,用于PLFA分析;风干样品测定土壤pH、TN、SOC等指标。

1.4 土壤样品的测定方法

土壤pH、SOC、TN、NH₄⁺-N和NO₃⁻-N均采用常规的土壤农化分析方法测定^[20]。土壤pH采用pH计(Mettler Toledo Delta 320)测定(水/土为5:1);土壤有机质测定采用重铬酸钾-外加热容量法;土壤全氮采用浓H₂SO₄消煮-半微量开氏法,采用全自动开氏定氮仪(KDY-9830, Beijing);土壤NH₄⁺-N、NO₃⁻-N采用0.01mol·L⁻¹CaCl₂浸提,流动分析仪(AA3)测定。土壤微生物量的测定采用氯仿熏蒸-0.5mol·L⁻¹K₂SO₄提取,Multi N/C 3100总有机碳/总氮分析仪测定^[13]。土壤微生物群落结构多样性采用PLFA分析,本研究脂类提取和磷脂脂肪酸分离的基本步骤参考FROSTEGÅRD等^[21]。基本步骤为:首先,将冷冻干燥的土样过100目筛,取2.0g样品于干净的试管内,用氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液(体积比1:2:0.8)振荡提取脂类,提取液过硅胶柱层析,分别用氯仿、丙酮和无水甲醇洗脱,将含磷脂部分用氮气吹干,然后用碱性甲醇水解和皂化(甲基化)得到磷脂脂肪酸甲酯(FAME),气相色谱仪[Agilent 6890GC (G1530N/G3172A)气相色谱仪(ECD检测器),美国Agilent公司]分析测定提取的FAME含量。PLFA的定性和定量分析以PLFA 19:0做内标物进行计算^[22]。特定脂肪酸以碳的数目、双键的数目和双键距离分子末端的位置(甲基端起)的方式命名,命名法采用X:YωZ(c/t),其中X为主链碳原子个数;Y为双键个数;Z为甲基链距离双键的位置,c,t这些字母分别为顺式和反式脂肪酸,a,i这些字母分别为反式支链脂肪酸及异式支链脂肪酸,cy为环状脂肪酸,10 Me为第10个碳原子上的甲基(从羟基端起)^[23]。磷脂脂肪酸鉴定分为5类,表征土壤微生物PLFA的标记参考盖霞普等^[13]。

1.5 数据分析

采用OriginLab 8.1软件作图,PLFA数据以nmol·g⁻¹数值进行多元统计分析,并将各种脂肪酸的含量与土壤中的化学养分进行冗余度分析(redundancy analysis,RDA)。采用Canoco 4.5软件做RDA分析,研究土壤性质与微生物群落之间的关系。所有数据采用SAS软件进行单因素方差分析,统计分析添加生物炭处理的土壤生化性质之间的差异,多重比较采用Duncan法($p=0.05$),平均值在 $p<0.05$ 水平下的任何差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 生物炭对两类土壤养分含量的影响

由表2可知,生物炭的添加能够显著提高红壤pH($p<0.05$),对黑土pH影响不显著($p>0.05$)。红壤pH随着生物炭添加量的增加而增加,与不添加生物炭处理(RS1)(pH=5.3)相比,RS2、RS3、RS4各处理分别提高土壤pH1.9%、5.7%、17.0%。生物炭能显著提高两类土壤SOC和TN含量,且对有机碳和全氮含量较低的红壤的养分含量提升潜力更大。41d培养试验后,与不添加生物炭处理相比,添加生物炭红壤SOC和TN分别提高18.6%~85.7%和2.2%~21.3%,添加生物炭黑土SOC、TN分别提高17.8%~58.4%和1.7%~13.1%。

2.2 生物炭对两类土壤微生物学过程的影响

由图1可知,从时间尺度上来看,随着培养时间的延长,红壤中NH₄⁺-N含量首先呈现降低趋势,RS1、RS2、

表2 生物炭对两类土壤 pH、有机碳及全氮养分的影响
Table 2 Effects of biochar on soil pH, soil organic carbon and total nitrogen in soils

土壤类型 Soil type	处理 Treatment	pH	有机碳/g·kg ⁻¹ SOC	全氮/g·kg ⁻¹ TN	土壤类型 Soil types	处理 Treatment	pH	有机碳/g·kg ⁻¹ SOC	全氮/g·kg ⁻¹ TN
红壤 RS	RS1	5.3 ^a	12.6 ^d	1.4 ^b	黑土 BS	BS1	7.5 ^a	22.8 ^d	2.3 ^b
	RS2	5.4 ^a	14.4 ^c	1.4 ^b		BS2	7.5 ^a	26.7 ^c	2.3 ^b
	RS3	5.6 ^{ab}	17.1 ^b	1.5 ^{ab}		BS3	7.6 ^a	30.9 ^b	2.5 ^{ab}
	RS4	6.2 ^b	22.6 ^a	1.7 ^a		BS4	7.6 ^a	36.1 ^a	2.6 ^a

注:同一列的不同小写字母代表差异显著(p<0.05),红壤和黑土单独进行多重比较。下同。

Note:Different letters indicate significant difference for the results in the same column (p<0.05). Multiple comparisons were conducted separately in red soil (RS) and black soil (BS). The same below.

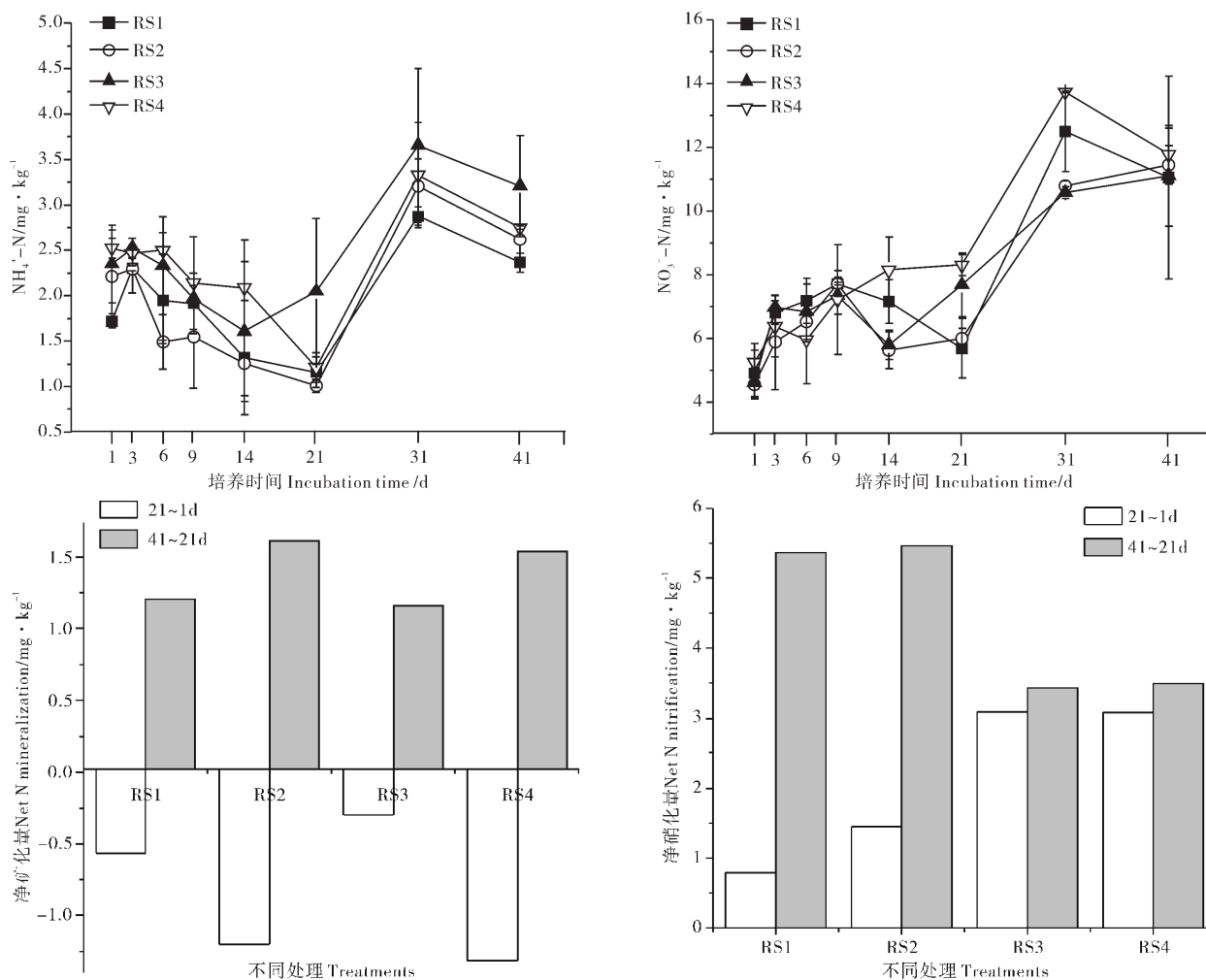


图1 生物炭对红壤中微生物学过程的影响
Figure 1 Effects of biochar on soil microbial process in the red soil

RS3、RS4 各处理 NH₄⁺-N 含量分别降低 32.6%、54.3%、12.8%、52%，培养 21d 后，随着土壤中矿化作用的增强而呈现升高趋势，在培养的第 31 天达到峰值，RS1、RS2、RS3、RS4 各处理 NH₄⁺-N 含量分别为 2.9、3.2、3.7、3.3 mg·kg⁻¹，随后由于硝化作用的增强而降低，降低幅度分别为 17.4%、18.4%、12.1%、17.4%；红壤中 NO₃⁻-N 含量表现为随着培养时间的延长呈现逐渐累积的现象。对黑土而言，土壤中 NH₄⁺-N 含量先降低，BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 NH₄⁺-N 含量分别降低 76.0%、82.5%、57.5%、22.7%，培养 21d 后，随着土壤矿化作用的增强而升高至 2.5、3.0、3.1、3.5 mg·kg⁻¹；黑土中硝化作用起初较为强烈，NO₃⁻-N 含量先升高，BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 NO₃⁻-N 含量分别升高 8.7%、25.2%、54.8%、26.7%，随后逐渐降低，培养 21d 后，土壤硝化作用逐渐加强，NO₃⁻-N 含量升高

达到稳定状态,各处理 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量分别为 314.2,283.7,266.0,268.6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 2)。从生物炭的添加效果来看,生物炭的添加对红壤、黑土两类土壤中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量影响均不显著 ($p>0.05$)(图 1,图 2)。两类土壤中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量差异不明显,各处理含量均介于 0.4~4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。而各处理黑土中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量远远高于红壤中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量,大约是红壤的 20~30 倍,这归因于黑土中初始 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量(270.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)远远高于红壤中的初始量(6.9 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。

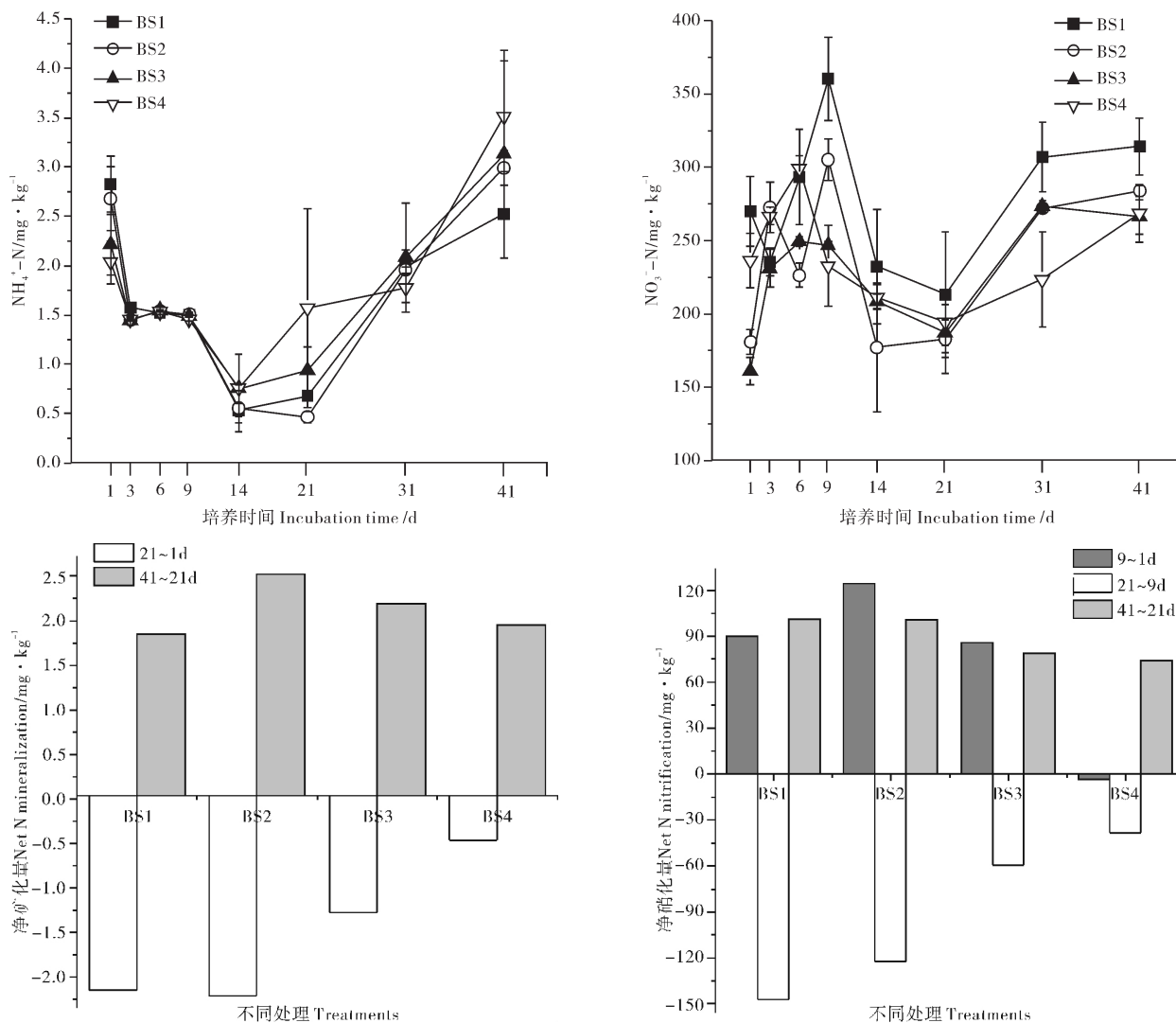


图 2 生物炭对黑土中微生物学过程的影响
Figure 2 Effects of biochar on soil microbial process in the black soil

2.3 生物炭对两类土壤微生物量的影响

由图 3 可知,从时间尺度变化规律来看,随着培养时间的延长,红壤中 MBC 含量呈波动性缓慢降低的趋势,RS1、RS2、RS3、RS4 各处理 MBC 含量分别降低 28.1%、35.2%、57.5%、58.1%,DOC 含量则呈现逐渐降低的趋势,各处理分别降低 19.4%、22.2%、17.8%、16.5%,2%~4%比例生物炭的加入抑制了红壤中 DOC 含量的降低(图 3a)。对黑土而言,黑土中 MBC 含量先逐渐降低,BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 MBC 含量分别降低 49.0%、44.5%、52.7%、50.9%,培养 21d 后,MBC 逐渐升高至稳定值,为 232.7,260.7,265.1,271.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。黑土中 DOC 含量随着培养时间的延长,也呈现逐渐降低的趋势,BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 DOC 含量分别降低 17.0%、8.7%、2.6%、14.6%,这说明生物炭的添加抑制了黑土中 DOC 含量的降低(图 3b)。从生物炭的添加效果来看,生物炭的添加能够降低红壤 MBC 和 DOC 含量,且生物炭的添加量越大,降低效果愈明显。培养 41d 后,RS2、RS3、RS4 处理的 MBC 含量分别比 RS1 (219.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 降低 17.4%、47.1%、50.2%,DOC 含量分别比 RS1 降低 9.7%、12.7%、

15.6%。与红壤变化规律不同,生物炭的添加均能增加黑土中 MBC 和 DOC 含量,培养 41d 后,BS2、BS3、BS4 处理的 MBC 含量分别比 BS1($232.7\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)高 12.0%、14.0%、16.5%,DOC 含量分别比 BS1($225.9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)高 5.7%、15.2%、25.3%。

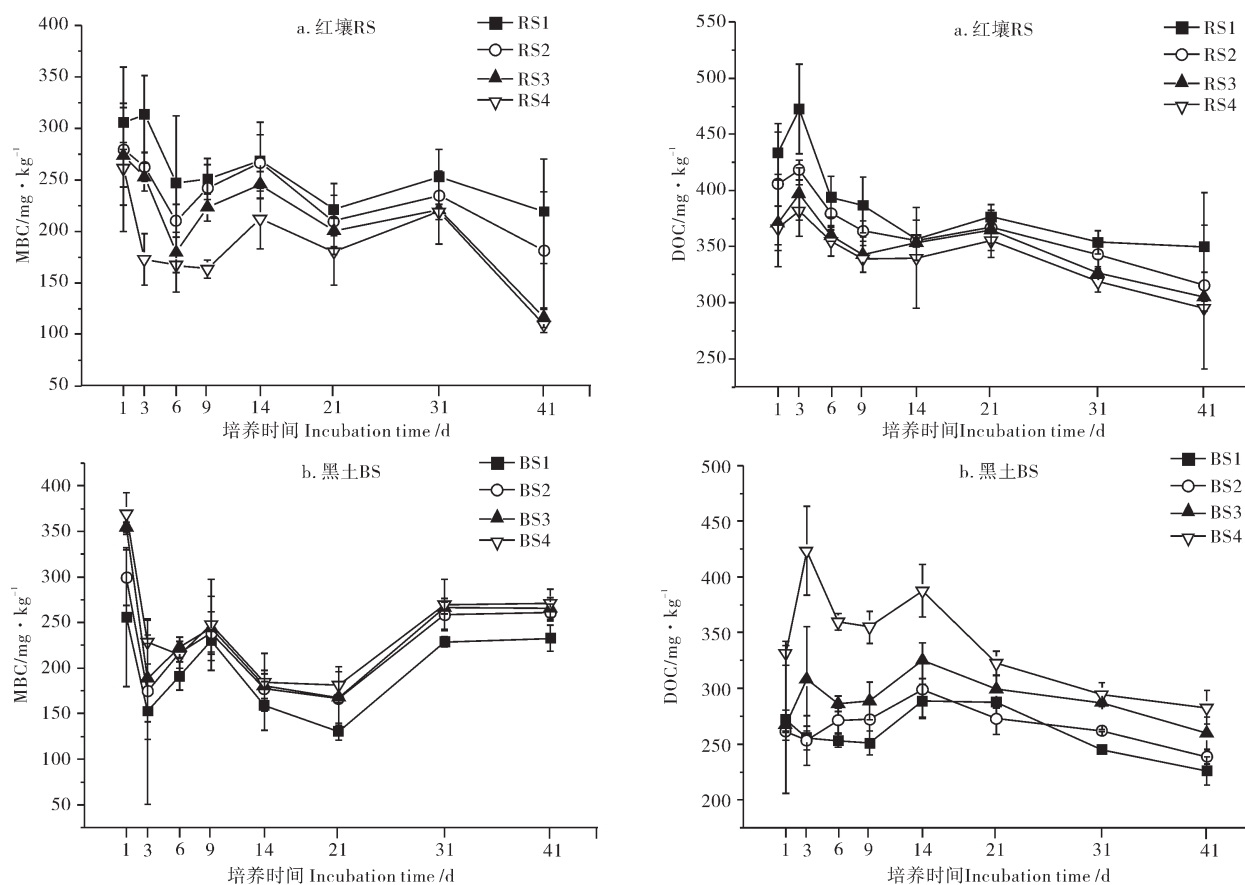


图3 生物炭对不同类型土壤中微生物量碳和可溶性碳含量的影响

Figure 3 Effects of biochar on soil microbial biomass carbon and dissolved organic carbon in different soils

由图4可知,从时间尺度变化规律来看,随着培养时间的延长,红壤中 MBN 含量先升高后降低,RS1、RS2、RS3、RS4 各处理 MBN 含量分别升高 22.2%、33.3%、31.1%、30.2%,然后分别降低 15.9%、28.4%、10.7%、3.8%,逐渐达到稳定值,DON 含量表现为随着培养时间的延长逐渐降低,RS1、RS2、RS3、RS4 各处理 DON 含量分别降低 37.4%、32.3%、27.5%、25.8%,这说明生物炭的加入能够抑制红壤中 DON 的降低。黑土中,MBN 含量先降低后升高,降低幅度分别为 50%、47.4%、39.8%、41.9%,在培养第 6d 达到峰值,各处理 MBN 含量分别为 $27.1, 35.0, 42.9, 46.8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,随后呈现降低趋势,并达到稳定,BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 MBN 含量分别为 $7.1, 9.0, 13.7, 16.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。DON 含量同样表现为随着时间的延长而逐渐降低,BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 DON 含量分别降低 41.3%、37.9%、39.4%、38.2%。从生物炭的添加效果来看,生物炭能够降低红壤中 MBN 和 DON 含量,培养 41d 后,RS2、RS3、RS4 各处理土壤 MBN 含量比 RS1($34.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)降低 19.8%~23.9%,DON 含量比 RS1($37.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)降低 0.3%~5.4%。与之相反,生物炭的添加能够增加黑土中 MBN 和 DON 含量。培养结束后,BS2、BS3、BS4 各处理土壤 MBN 含量比 BS1($7.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)提高 26.7%~127%,DON 含量比 BS1($236.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)增加 11.6%~53.5%。

由图5可知,从时间尺度变化规律来看,红壤中微生物量碳氮比先升高,RS1、RS2、RS3、RS4 各处理 MBC:MBN 含量分别升高 0.8%、12.3%、30.4%、19.5%,后逐渐降低至 6.41、6.58、4.24、4.18;而黑土中微生物量碳氮比则表现为随着培养时间的延长,呈现波动上升的趋势,BS1、BS2、BS3、BS4 各处理 MBC:MBN 含量分别升高 151.8%、158.7%、75.6%、74.4%。从生物炭的添加效果来看,培养 41d 后,高量生物炭的添加都会显著降低红壤和黑土中微生物量的化学计量碳氮比,表明生物炭能够增强土壤微生物对氮的固持能力。尤其是对黑土而言,

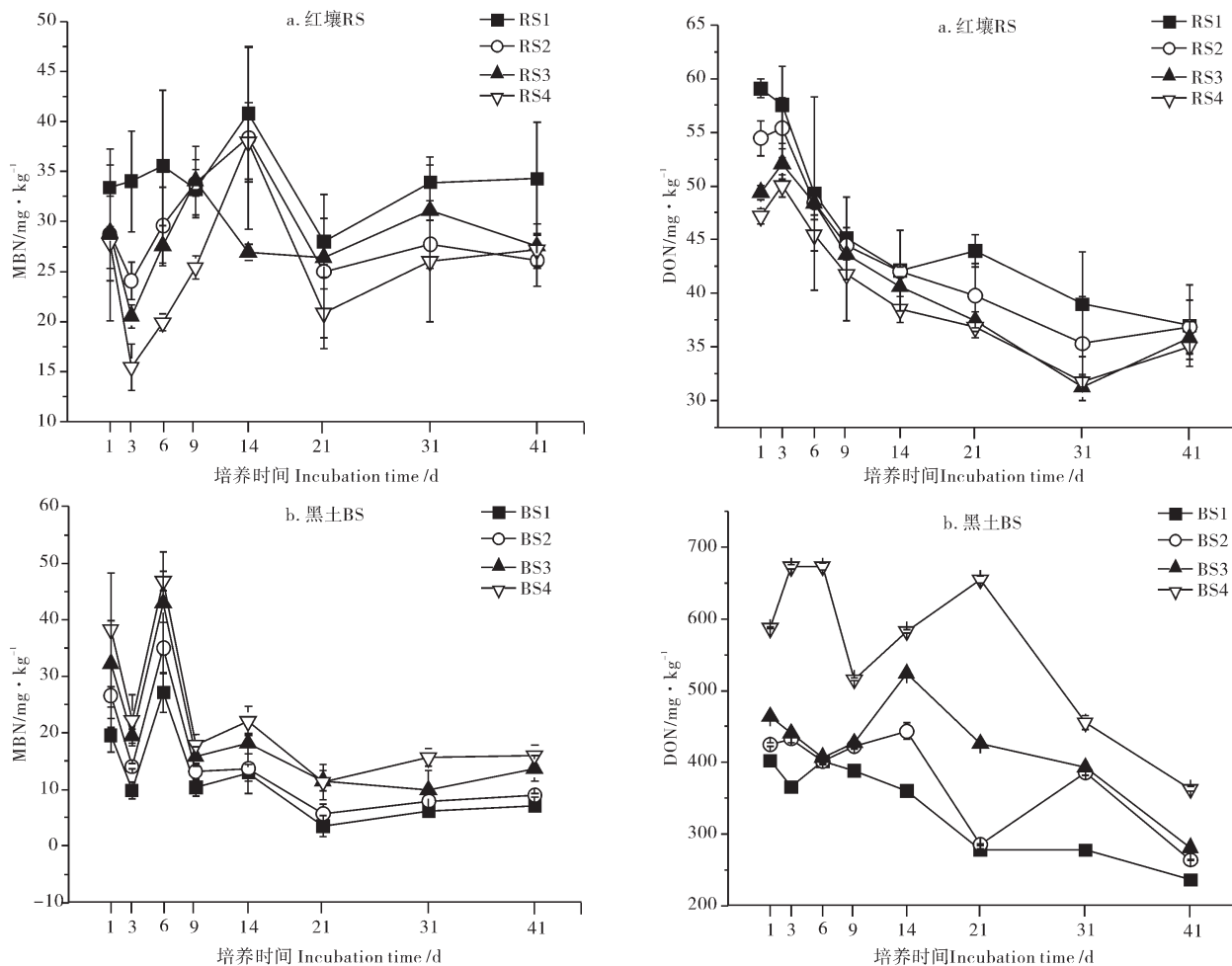


图 4 生物炭对不同类型土壤中微生物量氮和可溶性氮含量的影响

Figure 4 Effects of biochar on soil microbial biomass nitrogen and dissolved organic nitrogen in different soils

BS1 处理土壤微生物量碳氮比是培养初期的 2.5 倍，而 BS4 处理土壤微生物量碳氮比只是培养初期的 1.7 倍，表明生物炭能够增强土壤微生物氮素固持能力，减缓了黑土微生物量碳氮比随时间的剧烈变动。

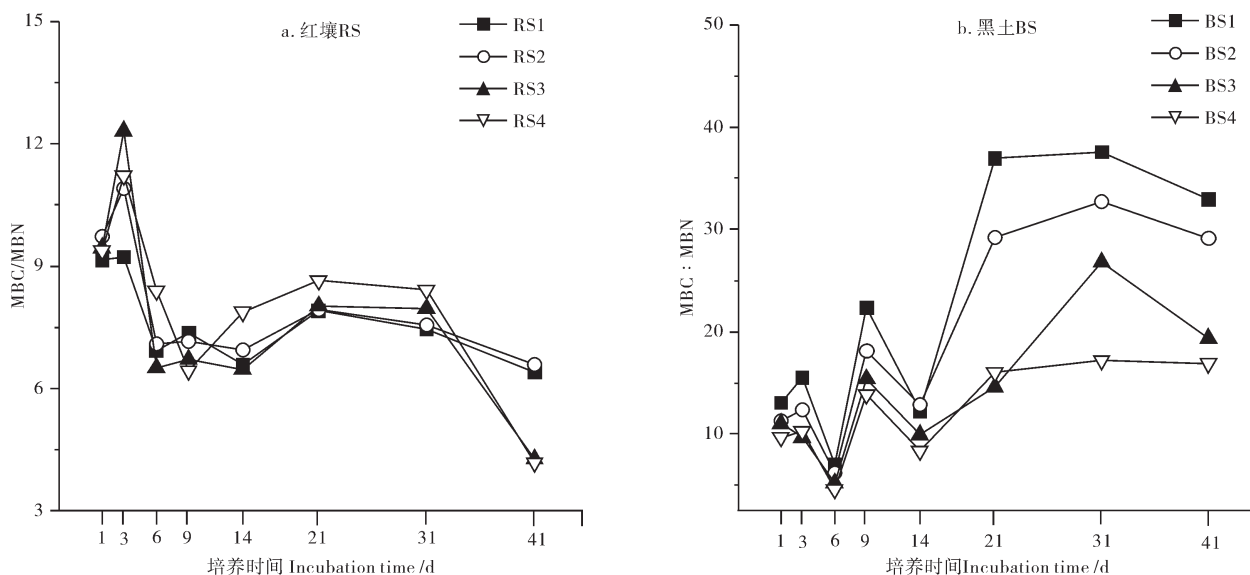


图 5 生物炭对不同类型土壤中微生物量碳氮比含量的影响

Figure 5 Effects of biochar on soil MBC/MBN in different soils

2.4 生物炭对两类土壤微生物群落结构的影响

2.4.1 生物炭对两类土壤 PLFA 种类及含量的影响 土壤 PLFA 用于表征土壤微生物群落结构的变化, 培养 41d 结束后红壤、黑土中 PLFA 的分析结果发现, 碳原子数从 10 到 20 共 94 种磷脂脂肪酸被检测出, 基于含量较高的 PLFA 进行微生物类型划分(表 3), 发现两类土壤中均表现为细菌含量最高, 其次为放线菌、真菌。对红壤而言, RS2~RS4 处理的细菌 PLFA 含量比未添加生物炭处理 RS1 低 24.7%~42.1%, PLFA 总量比 RS1 低 24.9%~43.1%, 生物炭的添加对细菌/真菌影响不显著。在黑土中, BS2~BS4 处理的细菌 PLFA 含量比 BS1 提高 18.8%~61.8%, PLFA 总量是对照的 1.2~1.6 倍, 同时, 生物炭的添加能够增加细菌/真菌, 这表明生物炭的加入更有利于黑土中细菌群落结构的生长繁殖。

表 3 土壤类型和生物炭用量对土壤各微生物类群 PLFA 含量的影响

Table 3 The microbial groups and PLFA contents after adding different rates of biochar in the two soils

土壤类型 Soil type	生物炭用量/% Biochar rate	细菌 Bacteria in general	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycete	细菌/真菌 B/F	PLFA 总量 Total PLFA
红壤 RS	0	19.8±1.78 ^c	2.5±0.23 ^b	4.2±0.97 ^b	12.5±1.34 ^a	26.5±3.00 ^c
	1	14.9±1.32 ^b	1.9±0.18 ^{ab}	3.1±0.59 ^{ab}	12.5±1.29 ^a	19.9±2.56 ^b
	2	12.5±2.29 ^{ab}	1.5±0.26 ^a	2.5±0.82 ^a	12.5±1.28 ^a	16.4±2.43 ^{ab}
	4	11.5±1.07 ^a	1.3±0.32 ^a	2.3±0.73 ^a	12.6±1.47 ^a	15.1±1.88 ^a
黑土 BS	0	14.1±1.98 ^a	1.7±0.39 ^a	3.7±0.82 ^a	7.9±0.78 ^a	19.4±2.78 ^a
	1	16.7±2.46 ^{ab}	1.9±0.54 ^{ab}	5.4±1.09 ^d	8.0±0.86 ^a	24.1±3.17 ^b
	2	18.4±3.09 ^b	2.0±0.63 ^b	4.2±0.99 ^b	8.6±0.93 ^b	24.6±3.45 ^b
	4	22.8±3.51 ^c	2.6±0.66 ^c	5.0±0.81 ^c	8.7±1.07 ^b	30.3±3.63 ^c

土壤类型和生物炭用量对两类土壤微生物类群 PLFA 含量影响的方差分析表明, 生物炭用量对土壤各微生物类群 PLFA 含量影响差异不显著, 除细菌/真菌外, 土壤类型及土壤类型×生物炭用量均能够显著影响两类土壤中各微生物类群 PLFA 含量(表 4)。

表 4 土壤类型和生物炭用量对两类土壤微生物类群 PLFA 含量影响的方差分析
Table 4 Two-way ANOVA results for the microbial groups and PLFA contents in the two soils with different biochar rates

	土壤类型 Soil type		生物炭用量 Rate of biochar		交互作用 Interaction	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
细菌 Bacteria in general	21.778	<0.01	0.800	0.512	19.936	<0.01
真菌 Fungi	26.655	<0.01	0.749	0.539	28.351	<0.01
放线菌 Actinomycete	17.677	<0.01	2.166	0.132	5.798	<0.01
细菌/真菌 B/F	0.042	0.840	0.111	0.952	0.080	0.970
PLFA 总量 Total PLFA	25.946	<0.01	0.918	0.455	24.094	<0.01

注: *p* 表示显著性水平; *F* 表示 *F* 分布的检验值。

Note: *p* represents the significant level; *F* represents the test values of *F* distribution.

2.4.2 PLFA 总量与土壤养分之间的 RDA 分析 为了进一步分析土壤养分与微生物群落之间的关系, 进行了 RDA 分析(图 6)。对红壤而言, 生物炭处理的红壤 PLFA 总量与其化学养分的 RDA 分析如图 6 a, 这 2 个轴共解释了 98.8% 的土壤化学养分的信息, 其中第 1 轴解释了 96.6% 的土壤化学养分的信息, pH、SOC、TN 和 DOC 是影响 PLFA 总量的主要控制因素, 生物炭的添加抑制了土壤中 PLFA 总量。对黑土而言, 生物炭处理的黑土中 PLFA 总量与其化学养分的 RDA 分析如图 6 b, 这 2 个轴共解释了 95.6% 的土壤化学养分信息, 其中第 1 轴解释了 78.2% 的土壤化学养分信息, pH、SOC、TN 和 DOC 是影响黑土中 PLFA 总量的主要控制因素, 生物炭的添加提高了土壤中 PLFA 总量。可见, 土壤中微生物 PLFA 总量主要受土壤 pH、SOC、TN 以及 DOC 含量的影响。

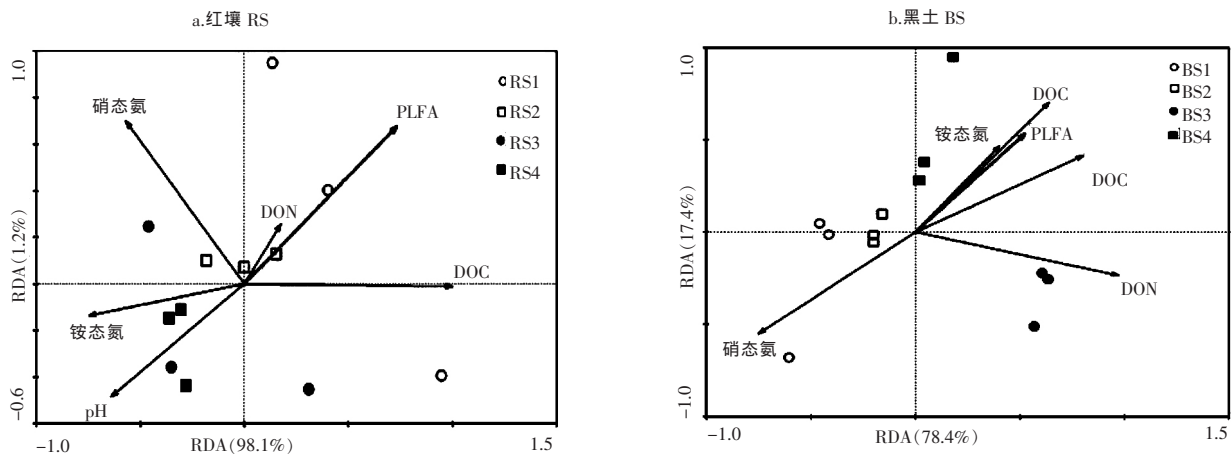


图 6 生物炭对两类土壤 PLFA 总量和土壤养分的冗余度分析的影响
Figure 6 RDA of soil PLFA and soil nutrients in two soils after adding different rates of biochar

3 讨论与结论

3.1 生物炭对土壤养分含量的影响

生物炭材料多为碱性,含有的灰分元素如 K、Ca、Mg 都呈可溶态,可增加酸性土壤的盐基饱和度,进而可以交换降低土壤氢离子及交换性铝的水平^[22]。在本研究中,生物炭能够显著提升酸性红壤 pH 值,但是对中性黑土的影响并不显著,这与以往研究相一致。黄超等^[24]研究发现在酸性红壤中添加生物炭,土壤 pH 增加量最高可达 1 个单位,而 STEWART 等^[25]的研究结果表明生物炭对碱性和有机质含量高的土壤 pH 值没有显著影响,这可能与土壤有机质的缓冲能力有关。本研究表明,生物炭可以显著提高红壤和黑土两类土壤 SOC 含量(表 2),且由于黑土中 SOC 水平高于红壤,故生物炭对 SOC 水平较低的红壤的提升潜力较大。生物炭因高度的稳定特性,难以被微生物降解^[26],将其添加到土壤后部分生物炭经过转化可成为土壤 SOC 的一部分^[27],使其具有持续增加土壤 SOC 效果,可以作为固碳减排和提升土壤碳库的有效途径^[28]。同时,生物炭的添加提高了土壤中 TN 含量,主要是生物炭向土壤中释放的氮素引起的^[29]。

3.2 生物炭对土壤微生物量的影响

在本研究中,红壤中 MBC 时间尺度变化规律主要是随着培养时间的延长,呈波动性降低的趋势(图 4a),原因之一是在整个培养过程中,红壤 DOC 含量显著降低(图 4b),这表明在没有外源碳加入的情况下,土壤 SOC 含量在环境适宜的条件下,会通过微生物自身代谢活动显著下降。另一方面是由于培养初期 DOC 充足,微生物活性较高,MBC 和 MBN 含量较高,随着培养时间的延长,红壤中 DOC 含量逐渐降低,微生物可利用态碳变少,MBC 呈逐渐降低的趋势^[29]。同时,红壤中 MBN 含量先升高,后降低,逐渐达到稳定值,主要是由于培养初期 DON 含量较为丰富,微生物能够吸收利用较多的可利用态氮合成 MBN,随着 DON 的不断被消耗(图 5),土壤中 DON 含量无法满足微生物合成氮量需求,MBN 含量持续下降,直到培养 21d 后,随着土壤微生物矿化作用的增强,微生物氮素固持能力逐渐提高,在第 31 天基本达到初始含量水平。此外,在整个培养过程中,红壤 TN 含量显著降低,这表明在没有外源物质加入的情况下,土壤在硝化、反硝化过程中气态氮损失导致的^[30]。生物炭添加导致的红壤中 MBC、MBN 及 PLFA 含量的显著降低表明,生物炭对红壤中微生物有一定的抑制作用。生物炭对红壤微生物的抑制作用与生物炭添加后 pH 的显著提高有关。土壤微生物量与土壤 pH 显著相关^[31],土壤 pH 的大幅度增加,会对土壤土著微生物活性产生抑制作用,甚至导致大量嗜酸性微生物的凋亡,进而降低土壤微生物量和微生物群落结构多样性^[32]。

生物炭的添加使得黑土中 TN 含量呈现逐渐降低的趋势,土壤碳氮比显著增加。培养初期,微生物生长消耗较多的 DOC, MBC 含量降低;培养 21d 后,微生物的生长适应了黑土中外界环境,虽然 DOC 含量呈降低趋势,生物炭的添加抑制了黑土中 DOC 含量的降低,但是微生物矿化作用加强,同时土壤中存在硝化作用,微生物活性增加, MBC 含量升高。与此同时,在培养第 9 天后, MBN 含量降低幅度较大,这主要是由于培养初期,微

生物快速利用土壤中的 DON, MBN 含量较高;随着培养时间的延长,土壤中 SOC 和 TN 等养分含量逐渐降低,尤其是土壤中 DON 含量的持续下降,MBN 含量降低幅度较大。黑土中微生物量化学计量碳氮比呈现波动上升的趋势,表明微生物能够高效的利用土壤可利用态碳含量,转化为自身微生物量碳。生物炭的添加对黑土微生物量的促进作用,一方面是由于生物炭添加后对土壤 pH 改变不明显,微生物生长的酸碱环境未发生显著变化,微生物活性较高。另一方面是由于生物炭添加到黑土中引起了土壤碳氮比升高,微生物能够利用土壤和生物炭中的可利用态碳等养分^[10,33],微生物活性提高,土壤矿化作用、硝化作用较强,从而促进了微生物量的增加。很多研究表明了生物炭对土壤微生物量的积极效应,例如,在 117d 的盆栽试验中,700℃热解的柳木生物炭能够增加砂质壤土 MBC 含量达 29%^[34],施用 700℃热解制备的生物炭 3 个月后能够引起黏壤土 MBC 显著增加 62%^[35]。

3.3 生物炭对土壤微生物群落结构的影响

生物炭具有较高的生物化学和热稳定性,并非微生物的理想碳源;然而,其多孔结构和易分解成分可为微生物生长提供栖息地和养分,并对微生物生长的土壤环境产生影响^[36]。已有研究表明,添加生物炭到不同性质土壤中能被不同的微生物群落利用,其引起的微生物群落结构变化也存在差异。陈伟等^[37]研究得出稻壳炭处理的褐土真菌、细菌、放线菌分别为对照的 3.3~4.9, 4.1~4.6, 1.3~2.0 倍。NELISSEN 等^[38]添加生物炭到 SOC 含量较少的砂壤土中,在第 8 个月和第 12 个月测定土壤磷脂脂肪酸,发现生物炭对土壤微生物生物量无显著影响。本研究中,生物炭对红壤和黑土 PLFA 的影响显著不同。生物炭抑制了红壤中微生物类群 PLFA 总量,对细菌/真菌影响不明显,这主要归因于生物炭添加到酸性红壤中,显著增加红壤 pH,抑制了微生物活性,降低了微生物群落结构多样性;同时,培养末期土壤 DOC 含量降低,引起红壤中各微生物类群 PLFA 总量的降低。对黑土而言,生物炭显著提高了黑土中微生物类群 PLFA 总量,并提高了土壤细菌/真菌比值,这主要归因于生物炭添加到土壤中,对土壤 pH 改变不明显,对土壤有机质产生激发效应,提高了土壤中可利用态碳等养分含量,为土壤微生物的生长繁殖提供了有利条件。SUN 等^[39]发现施用生物炭的棕壤田间试验中,细菌群落结构的动态变化比真菌活跃。GOMEZ 等^[40]发现在施用 12 个月的培养实验中,生物炭显著提高了砂壤土、粘土和粘壤土中的细菌/真菌,说明微生物群落结构更倾向于向革兰氏阳性细菌方向转变,与本研究黑土的研究结果类似。与革兰氏阴性细菌相比,革兰氏阳性细菌对环境胁迫的适应能力更强,能优先选择降解土壤中的芳香碳,可更好地利用具有高芳香化结构的生物炭^[41]。同时,微生物群落结构的变化与土壤中易代谢底物碳氮比的改变密切相关^[42-43]。亦有研究表明,生物炭能够通过改变土壤通气性和土壤持水能力,促使土壤微生物群落结构发生变化^[44-45]。可见,微生物对生物炭施用的响应机制还需进一步探讨。

本研究结果表明,从时间尺度变化规律来看,土壤无机氮含量及微生物量受土壤中可利用碳氮养分消耗的影响,呈现波动性变化,最终达到稳定状态。生物炭对红壤和黑土中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量影响均不显著。从生物炭的添加效果来看,生物炭对红壤和黑土的生化性质及微生物群落结构影响差异显著。生物炭能够显著提高两类土壤 SOC、TN 含量,且对有机碳含量较低的红壤 SOC 提升潜力更大;生物炭对红壤 pH 具有较强的扰动作用,对红壤中微生物量和群落结构多样性产生抑制作用;生物炭对黑土 pH 影响不明显,能够显著提高黑土中微生物量和群落结构多样性;土壤中微生物 PLFA 总量主要受土壤 pH、SOC、TN 以及 DOC 含量的影响,但不同类型土壤中,PLFA 对这些理化性质的反馈机制不同。本研生物炭对红壤微生物量及群落结构的抑制作用以及对黑土的强化作用仅是由玉米秸秆生物炭在短期室内培养实验条件下得到的,其长期作用效果尚需进行更多的试验研究才可判定。

参考文献:

- [1] LEHMANN J, JOSEPH S. Biochar for environmental management: an introduction. In: Lehmann J. and Joseph S. (Eds.), Biochar for environmental management—science and technology [M]. Earthscan, UK and USA, 2009: 1-9.
- [2] KAMEYAMA K, MIYAMOTO T, SHIONO T, et al. Influence of sugarcane bagasse derived biochar application on nitrate leaching in calcareous dark red soil [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 41(4): 1131-1137.

- [3] WANG X,ZHOU W,LIANG G,et al.Characteristics of maize biochar with different pyrolysis temperatures and its effects on organic carbon,nitrogen and enzymatic activities after addition to fluvo-aquic soil [J].Science of the Total Environment, 2015,538:137-144.
- [4] 王月玲,耿增超,尚杰,等.施用生物炭后壤土土壤有机碳、氮及碳库管理指数的变化[J].农业环境科学学报,2016,35(3):532-539.
- [5] ATKINSON C J,FITZGERALD J D,HIPPS N A.Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils:a review[J].Plant and Soil,2010,337(1-2),1-18.
- [6] ZHANG Q Z,DIJKSTRA F A,LIU X R,et al.Effects of biochar on soil microbial biomass after four years of consecutive application in the north China plain[J].PLoS ONE,2014,9(7):e102062.
- [7] 张星,刘杏认,张晴雯,等.生物炭和秸秆还田对华北农田玉米生育期土壤微生物量的影响[J].农业环境科学学报,2015,34(10):1943-1950.
- [8] XU H J,WANG X H,LI H,et al.Biochar impacts soil microbial community composition and nitrogen cycling in an acidic soil planted with rape[J].Environmental Science & Technology,2014,48(16):9391-9399.
- [9] NELISSEN V,RUTTING T,HUYGENS D,et al.Temporal evolution of biochar's impact on soil nitrogen processes under field conditions—a 15N tracing study[J].Global Change Biology Bioenergy,2015,7(4):635-645.
- [10] CROSS A,SOHI S P.The priming potential of biochar products in relation to labile carbon contents and soil organic matter status[J].Soil Biology & Biochemistry,2011,43(10):2127-2134.
- [11] 李明,李忠佩,刘明,等.不同秸秆生物炭对红壤性水稻土养分及微生物群落结构的影响[J].中国农业科学,2015,48(7):1361-1369.
- [12] 姚玲丹,程广焕,王丽晓,等.施用生物炭对土壤微生物的影响[J].环境化学,2015,34(4):697-704.
- [13] 盖霞普,刘宏斌,翟丽梅,等.玉米秸秆生物炭对中性水稻土养分和微生物群落结构影响的时间尺度变化研究[J].农业环境科学学报,2016,35(4):719-728.
- [14] XU N,TAN G C,WANG H Y,et al.Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching,microbial biomass and bacterial community structure[J].European Journal of Soil Biology,2016,74:1-8.
- [15] CHEN J H,LIU X Y,ZHENG J W,et al.Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China[J].Applied Soil Ecology,2013,71:33-44.
- [16] DEMPSTER D N,GLEESON D B,SOLAIMAN Z M,et al.Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralisation with Eucalyptus biochar addition to a coarse textured soil[J].Plant and Soil,2012,354(1-2):311-324.
- [17] 王洪媛,盖霞普,翟丽梅,等.生物炭对土壤氮循环的影响研究进展[J].生态学报,2016,36(19):5998-6011.
- [18] 盖霞普,刘宏斌,翟丽梅,等.玉米秸秆生物炭对土壤无机氮素淋失风险的影响研究[J].农业环境科学学报,2015,34(2):310-318.
- [19] DING Y,LIU Y X,WU W X,et al.Evaluation of biochar effects on nitrogen retention and leaching in multi-layered soil columns[J].Water Air and Soil Pollution,2010,213(1-4):47-55.
- [20] 鲁如坤.土壤和农业化学分析法[M].北京:中国农业科技出版社,2000.
- [21] FROSTEGÅRD A,TUNLID A,BÅÅTH F.Phospholipid fatty acid composition,biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals[J].Applied Environmental Microbiology,1993,59(11):3605-3617.
- [22] VAN ZWIETEN L,KIMBER S,MORRIS S,et al.Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility[J].Plant and Soil,2010,327:235-246.
- [23] 王曙光,候彦林.磷酸脂脂肪酸的方法在土壤微生物分析中的应用[J].微生物学通报,2004,31:114-117.
- [24] 黄超,刘丽君,章明奎.生物质炭对红壤性质和黑麦草生长的影响[J].浙江大学学报:农业与生命科学版,2011,37(4):439-445.
- [25] STEWART C,ZHENG J,BOTTE J,et al.Co-generated fast pyrolysis biochar mitigates green-house gas emissions and increases carbon sequestration in temperate soils[J].Global Change Biology Bioenergy,2013,5 (Suppl.2):153-164.
- [26] SCHMIDT M W I,NOACK A G.Black carbon in soils and sediments:Analysis,distribution,implications,and current challenges[J].Global Biogeochemical Cycles,2000,14(3):777-794.
- [27] 高海英,何绪生,陈心想,等.生物炭及炭基硝酸铵肥料对土壤化学性质及作物产量的影响[J].农业环境科学学报,2012,31(10):1948-1955.
- [28] LEHMANN J,GAUNT J,RONDON M.Biochar sequestration in terrestrial ecosystems—a review [J].Mitigation and Adaptation

- Strategies for Global Change,2006,11:395-419.
- [29] MUKHERJEE A,ZIMMERMAN A R.Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar-soil mixtures[J].Geoderma,2013,193-194:122-130.
- [30] JU X,XING G,CHEN X,et al.Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems[J].Proceedings of the National Academy of Science,2009,106,3041-3046.
- [31] ACIEGO PIETRI J C,BROOKES P C.Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil [J].Soil Biology & Biochemistry,2008,40(7):1856-1861.
- [32] 吴超,曲东,刘浩.初始 pH 值对碱性和酸性水稻土微生物铁还原过程的影响[J].生态学报,2014,34(4):933-942.
- [33] BERGLUND L M,DELUCA T H,ZACKRISSON O.Activated carbon amendments to soil alters nitrification rates in Scots pine forests[J].Soil Biology & Biochemistry,2004,36(12):2067-2073.
- [34] AMELOOT N,NEVE S D,JEGAJEEVAGAN K,et al.Short-term CO₂ and N_xO emissions and microbial properties of biochar amended sandy loam soils[J].Soil Biology & Biochemistry,2013,57,401-410.
- [35] LUO Y,DURENKAMP M,NOBILI M D,et al.Microbial biomass growth following incorporation of biochars produced at 350°C or 700°C,in a silty-clay loam soil of high and low pH[J].Soil Biology & Biochemistry,2013,57,513-523.
- [36] LEHMANN J,RILLIG M C,THIES J,et al.Biochar effects on soil biota-A review [J].Soil Biology & Biochemistry,2011,43(9): 1812-1836.
- [37] 陈伟,周波,束怀瑞.生物炭和有机肥处理对平邑甜茶根系和土壤微生物群落功能多样性的影响[J].中国农业科学,2013,46 (18):3850-3856.
- [38] NELISSEN V,RUYSSCHAET G,MANKA'ABUSI D,et al.Impact of a woody biochar on properties of a sandy loam soil and spring barley during a two-year field experiment[J].European Journal of Agronomy,2015,62:65-78.
- [39] SUN D,JUN M,ZHANG W,et al.Implication of temporal dynamics of microbial abundance and nutrients to soil fertility under biochar application-field experiments conducted in a brown soil cultivated with soybean,north China [J].In:SUN D,JUN M, ZHANG W et al.(Eds.),Advances in Environmental Science and Engineering,518-523.Trans Tech Publications,Switzerland, 2012:384-394.
- [40] GOMEZ J D,DENEF K,STEWART C E,et al.Biochar addition rate influences soil microbial abundance and activity in temperate soils[J].European Journal of Soil Science,2014,65(1):28-39.
- [41] FARRELL M,KUHN T K,MACDONALD L M,et al.Microbial utilization of biochar-derived carbon[J].Science of the Total Environment,2013,465:288-297.
- [42] FARRELL M,KUHN T K,MACDONALD L M,et al.Microbial utilization of biochar-derived carbon[J].Science of the Total Environment,2013,465(SI):288-297.
- [43] MUHAMMAD N,DAI Z,XIAO K,et al.Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties[J].Geoderma,2014,226:270-278.
- [44] BAMMINGER C,ZAISER N,ZINSSER P,et al.Effects of biochar,earthworms,and litter addition on soil microbial activity and abundance in a temperate agricultural soil[J].Biology and Fertility of Soils,2014,50(8):1189-1200.
- [45] JINDO K,SÁNCHEEZ-MONEDERO M A,Hernández T,et al.Biochar influences the microbial community structure during manure composting with agricultural wastes[J].Science of the Total Environment,2012,416:476-481.

[责任编辑 亓国]