

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2022.02.015

王丽, 赵惠丽, 赵英. 生物质炭配施木灰对石灰性土壤固碳和微生物群落的影响. 土壤, 2022, 54(2): 320–328.

生物质炭配施木灰对石灰性土壤固碳和微生物群落的影响^①

王丽, 赵惠丽*, 赵英

(鲁东大学资源与环境工程学院, 山东烟台 264025)

摘要: 为探讨生物质炭配施木灰对土壤碳固存和微生物群落的影响, 通过 118 d 的室内培养试验, 研究了单施生物质炭(B)、生物质炭配施木灰(B+W)处理下土壤碳固存、化学性质、酶活性、微生物群落组成的变化。结果表明: B、B+W 处理均降低了 CO₂-C 释放速率和累积释放量, 且 B+W 处理推迟 CO₂ 释放速率峰值的出现; B、B+W 处理均能提高土壤有机碳、无机碳含量。培养 118 d 时, B、B+W 处理的微生物生物量碳高于对照, 且 B 处理高于 B+W 处理; B+W 处理提高了土壤 pH 与溶解性有机碳含量; B 处理提高了土壤 β-1,4-葡萄糖苷酶活性, B+W 处理的 β-1,4-木糖苷酶、β-1,4-葡萄糖苷酶活性分别较对照降低 38.4%、15.3%, 而蔗糖酶活性较对照提高 61.4%。B 处理对细菌丰富度和多样性无显著影响, 却降低真菌 Chao1、Ace 指数; B+W 处理虽降低了细菌丰富度和多样性, 却能恢复真菌 Chao1、Ace 指数, 并显著提高 Shannon 指数。培养 118 d 时, B 处理提高了放线菌门相对丰度, 降低了子囊菌门相对丰度; B+W 处理的绿弯菌门及担子菌门相对丰度提高, 拟杆菌门相对丰度降低。冗余分析发现, B、B+W 处理通过改变土壤化学性质影响土壤微生物群落结构, 土壤有机碳与 pH 分别是影响细菌、真菌群落结构最显著的土壤因子, 且 B+W 处理在降低石灰性土壤碳矿化、维持真菌群落稳定性方面效果更佳。

关键词: 碳固存; 微生物群落; 生物质炭; 木灰; 石灰性土壤

中图分类号: S154.36 文献标志码: A

Effect of Biochar and Wood Ash Addition on Calcareous Soil Carbon Sequestration and Microbial Community

WANG Li, ZHAO Huili*, ZHAO Ying

(College of Resources and Environmental Engineering, Ludong University, Yantai, Shandong 264025, China)

Abstract: In order to explore the effects of biochar combined with wood ash on soil carbon sequestration and microbial community, the changes of soil carbon sequestration, soil chemical properties, enzyme activities and microbial community compositions under biochar (B) and biochar combined with wood ash (B+W) treatments were studied through 118-day laboratory incubation. The results showed that both B and B+W treatments decreased the respiration rate and cumulative CO₂-C respiration, and B + W treatment delayed the peak of CO₂-C respiration. B and B+W treatments could increase the content of soil organic carbon and inorganic carbon. On day 118, the microbial biomass carbon of B and B + W treatments was higher than that of control, and that of B treatment was higher than that of B + W treatment, B+W treatment significantly increased the content of soil dissolved organic carbon and pH. B treatment increased the activities of β-1,4-glucosidase, the activities of β-1,4-xylosidase, β-1,4-glucosidase in B+W treatment were decreased by 38.4%, 15.3%, and the activity of invertase was increased by 61.4% respectively, as compared to control. B treatment had no significant effect on bacterial richness and diversity, but decreased Chao1 and Ace index of fungi; B+W treatment decreased the bacterial richness and diversity, but restored the fungal Chao1 and Ace index, and significantly increased Shannon index. On day 118, B treatment increased the relative abundance of Actinomycetes and decreased the relative abundance of Ascomycetes, B+W treatment increased the relative abundance of Chloroflexi and Basidiomycota, but decreased the relative abundance of Bacteroidetes. Redundancy analysis showed that biochar and biochar combined with wood ash affected soil microbial community by changing the soil chemical

①基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2020QD115)和山东省杰出青年基金项目(ZR2019JQ12)资助。

* 通讯作者(zh1880227@126.com)

作者简介: 王丽(1996—), 女, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事滨海盐碱地改良研究。E-mail: wl15254589861@163.com

properties, soil organic carbon and pH were the most significant soil factors affecting bacterial and fungal community structure, respectively, B+W treatment showed better performance in reducing carbon mineralization in calcareous soils and maintaining the stability of the fungal community.

Key words: Carbon sequestration; Microbial community; Biochar; Wood ash; calcareous soil.

土壤中有机碳储量是决定土壤质量、支持土地可持续利用的关键因素。提高土壤有机碳固存有助于稳定大气 CO₂ 含量, 提高土壤质量^[1]。土壤微生物作为组成土壤生态系统的重要成员, 不仅是土壤质量变化的指标, 同时是推动土壤有机碳和养分转化的主要驱动力^[2]。

生物质炭作为生物质热解炭化产生的稳定富碳固体产物, 含大量惰性碳基质^[3]。施用于土壤中的生物质炭有助于形成难降解土壤有机碳, 从而增加土壤总有机碳储量, 减缓大气 CO₂ 浓度的上升, 是一种稳定碳汇的有效措施。目前, 添加生物质炭对土壤有机碳矿化影响的研究结论尚不一致。研究显示, 添加生物质炭显著降低了中性土壤的 CO₂ 通量, 但增加了酸性土壤的 CO₂ 通量^[4]。尽管生物质炭的物理保护和化学稳定性对土壤有机碳的稳定和累积起着关键作用, 但微生物的丰度和活性是主导有机碳矿化的主要因素^[5]。微生物通过直接或间接参与生物质炭在土壤中的降解、迁移和转化过程进而影响土壤有机碳储量^[6]。大量研究表明, 生物质炭强烈地改变了土壤的物理化学条件, 从而迅速改变了微生物群落结构与丰度^[7]。因此, 了解生物质炭对土壤微生物群落结构和动态的影响, 有助于更好地预测土壤碳循环动态。

有机矿物复合体的形成是保护和稳定有机碳的关键机制。研究表明, 具有高比表面积和高金属氧化物含量的矿物改良剂, 如木灰, 可与有机残留物结合, 增强土壤固碳能力^[8]。在钙质土壤中, 木灰中钙镁的碳化作用固定了土壤呼吸产生的 CO₂, 从而降低了 CO₂ 的排放, 同时增加了土壤无机碳的含量^[9]。其他研究也报道, 高 CaO 含量的树皮、锯末和树枝的木灰是低成本 CO₂ 封存的选择^[10]。此外, 施用木灰可以通过诱导土壤 pH 的增加和土壤环境元素组成的变化, 直接或间接地影响土壤微生物过程^[11]。然而, 有关木灰对土壤微生物群落影响的研究多集中在酸性或森林土壤中, 同时, 近年有关生物质炭的研究也主要集中在酸性或中性土壤中, 因此, 研究石灰性土壤条件下生物质炭配施木灰对土壤 CO₂ 排放、碳固存及其微生物群落的影响, 对于预测生物质炭与木灰的固碳潜力和农业大规模应用具有重要意义。

基于以上原因, 本研究拟通过室内培养试验, 以

黄土塬区黑垆土为研究对象, 以生物质炭和木灰为供试材料, 探讨生物质炭配施木灰对石灰性土壤碳固存、微生物群落结构及酶活性的影响, 以为评估生物质炭和木灰添加对土壤质量的改善提供理论依据, 这对废弃物资源的高效循环利用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤于 2017 年 10 月采自长武农业生态试验站(35.14°N, 107.40°E)表层(0~20 cm), 土壤类型为黄盖黑垆土。土壤经自然风干, 研磨过 2 mm 筛备用。供试土壤基本化学性质为: pH 8.1, 全氮 1.2 g/kg、有效磷 18.3 mg/kg、有效钾 152 mg/kg、有机碳 8.9 g/kg、CaCO₃ 67 g/kg。

供试生物质炭由小麦秸秆在 350°C 限氧条件下热裂解所得, 研磨过 1 mm 筛备用。生物质炭的有机碳含量为 598 g/kg, 全氮含量为 12.23 g/kg, 碳氮比为 48.90, 比表面积为 24 m²/g, pH 为 8.1。供试木灰采自杨凌, 为猕猴桃枝条燃烧后的灰烬, 风干后的木灰经研磨, 过 0.25 mm 筛装在密封塑料瓶中备用。木灰的有机碳含量为 3.2 g/kg, 全氮含量为 0.8 g/kg, CaO 含量为 43.4%, pH 为 12.4。

1.2 试验设计

试验共设 3 个处理, 即对照(CK)、单施生物质炭(B)、生物质炭配施木灰(B+W), 每个处理重复 6 次, 生物质炭、木灰的用量都为 12 g/kg。采用室内模拟恒温(25°C)培养方法进行试验, 具体操作如下: 称取 250 g 风干土壤, 生物质炭、木灰与培养土混匀后装入 1 L 带密封盖的培养瓶(高 15 cm、直径 9 cm)中, 将尿素和磷酸二铵配成浓度为 N 4.4 g/L、P₂O₅ 2.1 g/L 的溶液, 然后每瓶加入 5 ml(折纯为每瓶 22.0 mg N 和 10.3 mg P₂O₅); 将培养土含水量调至田间持水量的 70%; 将装有 20 ml 1 mol/L NaOH 溶液的塑料瓶悬挂于密闭培养瓶中, 分别在培养 2、3、4、5、7、10、13、18、23、28、35、42、49、56、70、86 和 118 d 时取下已吸收 CO₂ 的 20 ml 1 mol/L NaOH 溶液塑料瓶, 将 NaOH 溶液用蒸馏水冲洗至三角瓶中, 用 20 ml 1 mol/L 的 BaCl₂ 沉淀捕获 CO₂, 加 2 滴酚酞指示剂, 然后用 0.1 mol/L 的 HCl 滴定至红色消失,

计算 CO_2 的释放量。每次测量气体时打开盖子一段时间以保证气体交换, 然后加入新的 NaOH 溶液继续培养, 期间用质量差值法校准调节土壤含水量。

1.3 指标测定及方法

分别在培养 7、118 d 时, 对土壤样品进行破坏性取样(每个处理取 3 个重复)。一部分储存在 4°C 下用于土壤微生物生物量碳、溶解性有机碳含量和酶活性分析; 一部分储存在 -80°C 下用于土壤 DNA 提取; 剩余土壤风干用于土壤化学性质测定。

1.3.1 土壤化学性质测定 土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾-浓硫酸外加热法^[12]; 土壤无机碳(SIC)采用改良气量法^[12]; 土壤溶解性有机碳(DOC)和微生物生物量碳(MBC)分别采用蒸馏水浸提法和氯仿熏蒸法^[13]; 土壤微生物熵(q)计算为 MBC 和 SOC 的比值(MBC/SOC, %); 土壤 pH 采用水土质量比 2.5 : 1 pH 计法^[14]; β -1,4-木糖苷酶(BXYL)、 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)、纤维二糖水解酶(CBH)以及蔗糖酶(Invertase)活性采用微孔板荧光法^[15]。

1.3.2 土壤微生物测定 采用 FastDNA Spin Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, Illkirch, France)提取土壤样品的 DNA。每个样品取 0.5 g 土样, 按照说明书完成操作。使用超净 DNA 纯化试剂盒(MoBio, Carlsbad, CA, USA)纯化提取 DNA, 然后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 最后将样品于 20°C 保存以备后续试验使用。选用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACNNGGG TATCTAAT-3')扩增 16S rRNA 基因的 V3 ~ V4 区域; 选用引物 ITS1(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2(5'-TGCGTTCTTCATCGATGC-3')扩增真菌 ITS rDNA 的 ITS1 区, 将纯化后的扩增产物等摩尔数混合, 并在 Illumina MiSeq 平台

(Illumina, San Diego, California, USA)上进行配对末端测序(2×250)。Illumina MiSeq 测序是在北京奥维森基因科技有限公司, 利用 Illumina MiSeq PE250 高通量测序平台完成。

Illumina MiSeq 测序原始数据经过 QIIME(v1.8.0)软件过滤、拼接、去除质量分数 <20 和序列长度 <150 bp 的序列; 将有效序列按照 97% 相似性进行操作分类单元(OTU)聚类分析, 对比 silva 数据库, 得到每个 OTU 对应的物种分类信息; 再利用 Mothur 软件(version 1.31.2)进行 α 多样性分析(包括 Shannon、Ace 和 Chao13 个指数)

1.4 统计分析

试验数据的整理以及图表的绘制采用 Microsoft Excel 2016, 所有数据均采用 DPS 统计软件(DPS7.05)进行分析, 差异显著性检验采用 LSD 法($P<0.05$), 并利用 CANOCO 5.0 软件进行细菌和真菌群落组成的冗余分析。

2 结果

2.1 生物质炭配施木灰对土壤 CO_2 释放及碳组分的影响

不同处理土壤有机碳矿化动态如图 1 所示, 可见, 对照(CK)和单施生物质炭处理(B)的土壤有机碳矿化速率在培养 2 d 时出现 $\text{CO}_2\text{-C}$ 矿化速率高峰, 分别为 100.04 和 99.51 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, 后随着时间的推移而降低(图 1A)。而生物质炭配施木灰处理(B+W)推迟 CO_2 释放速率峰值的出现。与 CK 相比, B 处理降低了 $\text{CO}_2\text{-C}$ 释放速率, B+W 处理则进一步降低了 $\text{CO}_2\text{-C}$ 释放速率。

各处理土壤 $\text{CO}_2\text{-C}$ 累积释放量的变化趋势一致, 呈现前期增长迅速, 后期增长缓慢的规律(图 1B)。

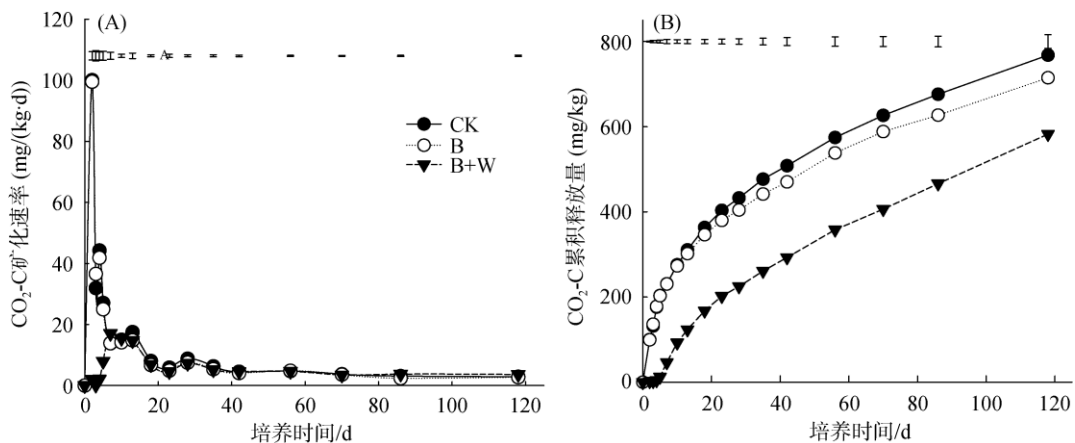
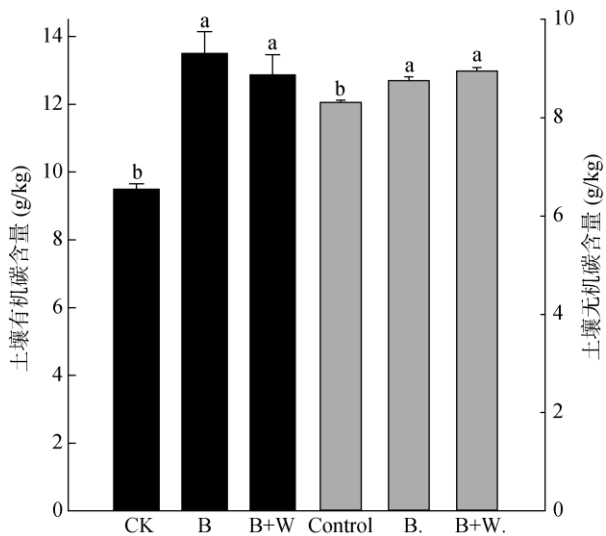


图 1 $\text{CO}_2\text{-C}$ 矿化速率(A)、累积释放量(B)的动态变化
Fig. 1 $\text{CO}_2\text{-C}$ emission rates (A) and dynamics of cumulative $\text{CO}_2\text{-C}$ emissions (B)



(误差线表示标准差; 不同小写字母表示同一指标处理间差异显著 ($P < 0.05$))

图 2 各处理土壤有机碳、无机碳含量

Fig. 2 Contents of soil organic carbon and inorganic carbon in each treatment

在培养的 0~10 d, 除 B+W 处理外, CK 和 B+W 处理的 CO_2-C 累积释放量基本相同; 整个培养期内, 各处理土壤 CO_2-C 的累积释放量大小顺序为: CK>B>B+W。

B、B+W 处理的有机碳含量分别较 CK 增加 48.26% 和 30.56%, 无机碳含量分别较 CK 提高 5.42% 和 7.70%。但 B+W 处理与 B 处理的有机碳、无机碳含量无显著性差异。

2.2 生物质炭配施木灰对土壤化学性质及酶活性的影响

表 1 反映了添加生物质炭和木灰后土壤微生物熵 (q)、微生物生物量碳(MBC)、溶解性有机碳(DOC)、pH 的变化(表 1)。随着培养时间的延长, q 、MBC、DOC 整体呈下降趋势。在培养 7 d 时, B+W 处理 MBC 含量较 CK 降低 43.56%, 至培养 118 d 时, B、B+W 处理的 MBC 含量显著高于 CK, 且 B 处理的 MBC 含量高于 B+W 处理。此外, 培养 118 d 时, B+W 处理的 DOC 含量、pH 分别较 CK 提高 47.14% 和 2.08%。

表 1 生物质炭配施木灰对土壤化学性质的影响

Table 1 Effects of biochar combined with wood ash on soil chemical properties

培养时间(d)	处理	q	MBC (mg/kg)	DOC (mg/kg)	pH
7	CK	1.44 ± 0.11 a	136.40 ± 9.76 a	58.65 ± 4.43 a	8.15 ± 0.08 b
	B	0.90 ± 0.01 b	126.01 ± 1.56 a	63.18 ± 2.73 a	8.11 ± 0.02 b
	B+W	0.62 ± 0.07 c	76.98 ± 9.75 b	58.84 ± 2.11 a	8.50 ± 0.03 a
118	CK	0.29 ± 0.01 a	27.63 ± 1.67 c	34.22 ± 0.80 b	8.16 ± 0.02 b
	B	0.30 ± 0.01 a	42.56 ± 1.88 a	36.34 ± 4.41 b	8.14 ± 0.03 b
	B+W	0.33 ± 0.01 a	33.21 ± 0.70 b	50.35 ± 1.28 a	8.33 ± 0.04 a

注: 表中同列不同小写字母表示同一时间处理间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

如表 2 所示, 不同处理间土壤酶活性变化不同, 在培养 7 d 时, B+W 处理降低了 β -1,4-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、蔗糖酶活性; 至 118 d 时, B 处理的 β -1,4-葡萄糖苷酶活性较 CK 提高 10.9%, B+W 处理的 β -1,4-木糖苷酶、 β -1,4-葡萄糖苷酶活性分别较 CK 降低 38.4% 和 15.3%, 且 B+W 处理的蔗糖酶活性显著高于 CK 和 B 处理。

2.3 生物质炭配施木灰对土壤微生物 α 多样性的影响

土壤细菌 α 多样性指数如表 3 所示, Chao1、Ace 指数以及 Shannon 指数分别表征土壤微生物类群的丰富度和多样性。在培养 118 d 时, 相较 CK 处理, B 处理对细菌 Chao1、Ace 指数无显著性影响; 而 B+W 处理的 Chao1、Ace、Shannon 指数显著低于 CK 与 B 处理。

表 2 生物质炭配施木灰对土壤酶活性的影响

Table 2 Effects of biochar combined with wood ash on soil enzyme activities

培养时间(d)	处理	β -1,4-木糖苷酶	β -1,4-葡萄糖苷酶	纤维二糖水解酶	蔗糖酶
7	CK	15.1 ± 0.69 ab	31.5 ± 1.27 a	14.9 ± 0.70 a	41.7 ± 0.43 a
	B	18.8 ± 2.20 a	28.1 ± 1.40 ab	13.5 ± 0.67 a	40.8 ± 0.64 a
	B+W	13.5 ± 0.94 b	22.3 ± 2.92 b	9.3 ± 0.54 b	34.5 ± 2.02 b
118	CK	15.9 ± 0.91 a	29.4 ± 0.42 b	10.3 ± 0.49 ab	20.7 ± 1.92 c
	B	12.2 ± 1.64 ab	32.6 ± 1.02 a	12.5 ± 1.22 a	26.6 ± 2.19 b
	B+W	9.7 ± 0.36 b	24.9 ± 0.68 c	8.5 ± 8.50 b	33.4 ± 0.61 a

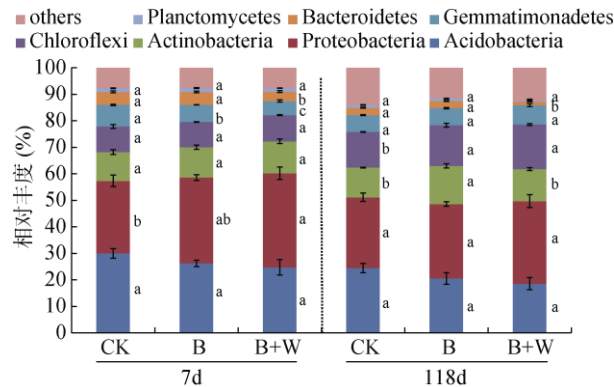
表 3 生物质炭与木灰配施下细菌、真菌 α 多样性指数
Table 3 α diversity indexes of soil bacteria and fungi under combined application of biochar and wood ash

培养时间(d)	处理	细菌			真菌		
		Chao1 指数	Ace 指数	Shannon 指数	Chao1 指数	Ace 指数	Shannon 指数
7	CK	4192 ± 55.54 a	3930 ± 50.44 a	9.88 ± 0.06 a	1080 ± 54.26 a	1328 ± 9.13 a	5.43 ± 0.05 a
	B	4033 ± 73.44 a	3822 ± 70.91 a	9.80 ± 0.03 a	1100 ± 34.79 a	1266 ± 75.41 a	5.38 ± 0.16 a
	B+W	4043 ± 50.39 a	3812 ± 39.60 a	9.75 ± 0.02 a	1089 ± 43.31 a	1311 ± 3.68 a	5.16 ± 0.01 a
118	CK	4243 ± 46.59 a	4268 ± 34.06 a	10.02 ± 0.01 b	1085 ± 21.14 a	1342 ± 34.59 a	5.11 ± 0.08 b
	B	4329 ± 44.55 a	4241 ± 47.42 a	10.06 ± 0.01 a	760 ± 11.46 b	835 ± 33.83 b	4.99 ± 0.07 b
	B+W	3684 ± 22.95 b	3582 ± 19.66 b	9.74 ± 0.01 c	1108 ± 34.14 a	1328 ± 17.55 a	5.40 ± 0.07 a

真菌 α 多样性指数对 B 和 B+W 处理具有不同的响应(表 3)。培养 118 d 时, B 处理的真菌 Chao1、Ace 指数分别较 CK 降低 29.95% 和 37.78%, B+W 处理不但将 Chao1、Ace 指数维持在与 CK 相似的水平上, 同时提高了 Shannon 指数。

2.4 生物质炭配施木灰对土壤微生物相对丰度的影响

土壤细菌种类门水平丰度在 1% 以上的有 7 种(图 3), 其中, 变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)为优势菌门, 其相对丰度分别为 26.72% ~ 35.47%、18.58% ~ 29.98%。在培养 7 d 时, B+W 处理提高了变形菌门相对丰度, B、B+W 处理的芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)相对丰度分别较 CK 降低 20.61% 和 35.09%。在培养 118 d 时, B 处理提高了放线菌门(Actinobacteria)相对丰度, B+W 处理降低了拟杆菌门(Bacteroidetes)相对丰度; B、B+W 处理的绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度分别较 CK 提高 14.18% 和 24.50%。



(图中误差线表示标准差; 不同小写字母表示同一时间处理间差异显著(P<0.05), 下同)

图 3 生物质炭配施木灰对细菌主要门水平相对丰度的影响
Fig. 3 Effects of biochar combined with wood ash on relative abundances of main phylum levels of bacteria

B、B+W 处理对土壤真菌门水平相对丰度的影响如图 4 所示。各处理下子囊菌门(Ascomycota)保持

了较高的相对丰度。培养 7 d 时, B 处理显著提高了被孢霉菌门(Mortierellomycota)和担子菌门(Basidiomycota)的相对丰度。培养 118 d 时, B+W 处理的子囊菌门相对丰度较 B 处理增加 17.43%, 且 B+W 处理的担子菌门相对丰度显著高于 CK。

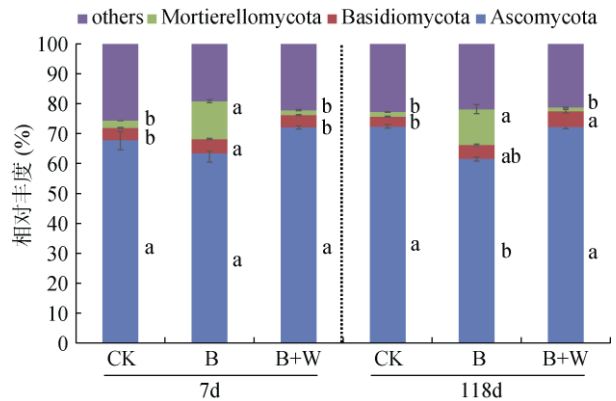


图 4 生物质炭配施木灰对土壤真菌主要门水平相对丰度的影响

Fig. 4 Effects of biochar combined with wood ash on relative abundances of major phyla of soil fungi

2.5 土壤性质与细菌和真菌群落组成之间的关系

由图 5A 可知, 土壤环境因子共同解释了 75.15% 的细菌群落组成变异, 其中 RDA1 和 RDA2 分别解释了细菌群落 68.02% 和 7.13% 的变异。Invertase(蔗糖酶)、BXYL(β-1,4-木糖苷酶)、CBH(纤维二糖水解酶)、BG(β-1,4-葡萄糖苷酶)活性与土壤 pH 呈负相关关系, 变形菌门相对丰度与土壤 pH、DOC 含量呈正相关关系, 绿弯菌门、放线菌门相对丰度与土壤 SOC 含量、CO₂ 释放量呈正相关关系, 在土壤细菌门水平上, SOC 含量对细菌的群落分布影响最为显著(F = 21.6, P = 0.002)。通过对各土壤环境因子与土壤真菌群落结构关系的冗余分析(图 5B)发现, 土壤环境因子解释了真菌群落总变化的 58.35%。BXYL、CBH、BG 活性与 CO₂ 释放量呈正相关关系, 子囊菌门相对丰度与 pH、SOC 含量呈正

相关关系，担子菌门相对丰度与 DOC、SOC 含量呈正相关关系，与土壤 pH 呈负相关关系。在土壤真

菌门水平上，pH 对真菌的群落分布影响最为显著 ($F = 6.7, P = 0.026$)。

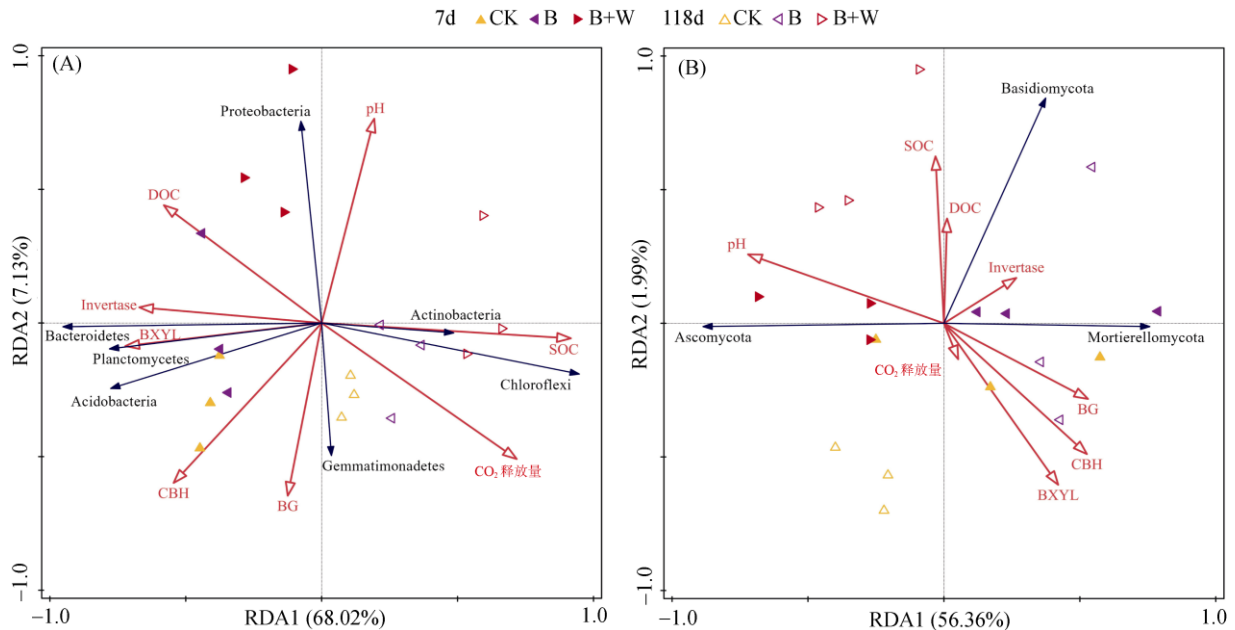


图 A 代表土壤性质与细菌相对丰度的相关性；图 B 代表土壤性质与真菌菌相对丰度的相关性；Proteobacteria 为变形菌门；Bacteroidetes 为拟杆菌门；Planctomycetes 为浮霉菌门；Acidobacteria 为酸杆菌门；Gemmatimonadetes 为芽单胞菌门；Chloroflexi 为绿弯菌门；Actinobacteriota 为放线菌门；Ascomycota 为子囊菌门；Mortierellomycota 为被孢霉菌门；Basidiomycota 为担子菌门

图 5 土壤性质与细菌、真菌相对丰度的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of soil properties with enzyme activities and relative abundances of bacteria and fungi

3 讨论

3.1 生物质炭配施木灰对碳矿化、土壤化学性质及酶活的影响

本研究发现，各处理 CO_2 矿化速率均表现为前期(前 7 d)急速增加，然后降低，最后趋于平稳的现象，这是因为添加外源物料后，前期土壤微生物可迅速利用易分解组分，土壤有机碳的矿化速率迅速增长，但随着培养时间的延长，易分解组分逐渐被消耗，矿化速率随之减缓。单施生物质炭(B 处理)， CO_2 释放量降低，表明土壤有机碳矿化降低，这与生物质炭的自身结构特性有关。生物质炭强大的孔隙结构和表面积，通过包封和吸附作用与土壤有机质结合，强烈抑制被吸附有机质的降解^[16]。生物质炭配施木灰处理(B+W)较 B 处理进一步降低了 CO_2 的释放量(图 1B)，说明木灰具有长期稳定 CO_2 的独特优势。原因可能是与木灰中的 CaO 促进了土壤无机碳(如 CaCO_3)的形成有关。此外，在钙质土壤中，木灰中的矿物质与土壤中的有机质结合形成有机-矿物组合，增强了有机质抗分解能力^[17]。

添加生物质炭(B、B+W 处理)提高了土壤有机碳含量，这与其他学者研究结果一致^[18]。除生物质炭

自身结构特性外，生物质炭含有大量惰性碳基质，一定程度上可以抵抗微生物对它的分解作用，增加土壤有机碳的同时降低土壤碳矿化。土壤有机碳矿化是微生物参与下，对土壤中易分解组分进行分解利用并释放 CO_2 的过程，B+W 处理提高土壤有机碳含量的原因可能是木灰通过间接增加土壤 pH 或直接影响土壤微生物和酶的活性，进而调控土壤碳矿化。

微生物量碳(MBC)是重要的活性有机碳组分，其含量高低可表征土壤微生物活性的强弱。土壤微生物熵 q 作为 MBC 含量与 SOC 含量的比值，其大小变化反映了 SOC 向 MBC 的转化效率。在培养至 7 d 时，B+W 处理提高了土壤 pH，降低了土壤微生物活性、MBC 含量和 q 值；B 处理对土壤 DOC、MBC 含量没有显著影响，与 Zhao 等^[19]研究结果一致。这是因为大多数生物质炭的碳是难降解的，短时间内限制了其对 DOC 和 MBC 水平的贡献能力。在培养至 118 d 时，B+W 处理显著提高了 DOC 含量，这可能与施用木灰提高土壤 pH 有关。Andersson 等^[20]也研究发现，土壤 pH 高于土壤微生物活性对 DOC 含量的影响，并且 pH 的增加可以提高土壤有机质的溶解度。此外，生物质炭在土壤中并不是一成不变的，它也可以被缓慢分解，只是其降解速度比土壤中的一

般有机质要慢得多^[21]。B、B+W 处理土壤中微生物可分解利用的有机质含量相对高于 CK，因此，培养至 118 d 时，两处理的 MBC 含量显著高于 CK，而木灰的强碱性减弱了微生物活性，导致 B+W 处理的 MBC 含量低于 B 处理。

土壤酶活性主要来源于微生物的代谢活动，在一定程度上可反映土壤微生物活性^[22]。在培养至 7 d 时，B+W 处理的 β -1,4-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、蔗糖酶活性显著降低，原因可能是施用木灰提高了土壤 pH，减弱了土壤微生物活性，进而减少土壤酶的分泌，降低了土壤酶活性。此外， β -1,4-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、蔗糖酶作为参与碳循环的主要水解酶类，其活性降低表明土壤有机碳矿化程度低，这与本试验观察到的 B+W 处理对 CO₂ 累积释放量的影响是一致的。在培养至 118 d 时，B 处理 β -1,4-葡萄糖苷酶活性增加，证实了先前的研究^[23]，原因可能与生物质炭制备条件有关，在低温(350 ~ 500℃)下产生的生物质炭中的挥发性化合物可以刺激 β -1,4-葡萄糖苷酶活性^[24]；B+W 处理较 B 处理进一步提高了蔗糖酶活性，这是因为施用木灰后土壤 DOC 含量较高，DOC 有利于直接为土壤微生物提供碳源，促进微生物繁殖，刺激了微生物对酶的分泌，进而提高土壤酶活性^[25]。此外，冗余分析也表明，蔗糖酶的活性与 DOC 含量呈正相关关系。

3.2 生物质炭配施木灰对土壤微生物多样性的影响

与 CK 相比，B 处理对细菌丰富度无显著影响，却显著降低了真菌 Chao1、Ace 指数，这主要是与培养时间和土壤 pH 有关。首先，生物质炭自身结构相对稳定，且含有大量不易被分解利用的多环芳香族化合物，对土壤细菌的影响是一个漫长的过程^[26]；此外，土壤理化环境，尤其土壤 pH，是细菌丰富度和多样性变化的主要驱动因素^[27]，本研究供试土壤呈碱性，添加生物质炭后土壤 pH 没有显著变化，故 B 处理对细菌丰富度和多样性没有显著影响。此外，细菌比真菌更容易被生物质炭吸附^[28]，在一定程度上使细菌比真菌更能适应生物质炭引起的土壤环境变化^[29]，进而导致 B 处理下真菌 Chao1、Ace 指数降低。B+W 处理下土壤 pH 显著增加，导致细菌多样性降低，这与 Bang-Andreasen 等^[30]的研究结果一致。然而，B+W 处理不仅将真菌 Chao1、Ace 指数恢复到与 CK 相似的水平，同时显著提高了 Shannon 指数，表明木灰的石灰效应和养分投入可提高真菌群落稳定性^[31]。

3.3 生物质炭配施木灰对微生物群落结构的影响

土壤微生物群落结构对 B 和 B+W 处理的不同响应可能与其生态特性和生态功能有关，因为微生物在营养需求、胁迫耐受性方面存在较大差异。本研究中，优势门变形菌门保持了较高的相对丰度，这种高丰度可能是由于变形菌门对环境变化的普遍抗性导致的。在培养 7 d 时，B+W 处理提高了变形菌门相对丰度，这是由于木灰保留了除氮以外的大多数主要矿质营养物质，而变形菌门能够迅速利用这些营养^[32]，从而优化了细菌群落；另一方面，由于木灰的强碱性及其丰富的碱金属，B+W 处理降低了芽单胞菌门和拟杆菌门相对丰度。在培养 118 d 时，与 CK 相比，B 和 B+W 处理提高了绿弯菌门的相对丰度，同样，Chen 等^[33]也报道了生物质炭对这一群体的积极影响。绿弯菌门被认为是相对难降解碳的潜在降解者，可氧化芳香族化合物，将难降解碳源作为代谢底物^[32]。放线菌在有机物转化中发挥着重要作用，放线菌分泌的胞外酶可参与复杂芳香物质的降解过程，因此 B 处理提高了其相对丰度^[34]。本研究发现，B 和 B+W 处理拟杆菌门相对丰度显著降低，类似的细菌群落组成变化在石灰性土壤中也有记录^[35]。这可能与土壤类型、土壤理化环境以及细菌群落内的相互竞争有关。

子囊菌门的高丰度可能是由于它们易于进行繁殖和快速生长，而不像担子菌门生长缓慢^[36]。被孢霉菌具有将生物质炭中难分解有机物降解为不稳定纤维素类化合物的能力^[37]，因此，B 处理提高了培养过程中被孢霉菌门的相对丰度。在培养 7 d 时，B 处理中活性碳组分可在施用初期降解，为微生物提供碳源进而促进担子菌门相对丰度的增加。此外，担子菌门相对丰度的增加有利于土壤中难降解化合物的降解和促进土壤碳循环^[38]。在培养 118 d 时，B+W 处理增加了土壤微生物能够吸收利用的可溶性碳源，导致子囊菌门相对丰度显著高于 B 处理。

4 结论

1) 单施生物质炭、生物质炭配施木灰处理均能降低石灰性土壤有机碳的矿化，减少 CO₂ 的释放，且生物质炭配施木灰的效果优于单施生物质炭处理。

2) 单施生物质炭对细菌丰富度没有影响，但在一定程度上改变了细菌群落结构，体现在单施生物质炭显著提高了放线菌门和绿弯菌门相对丰度；生物质炭配施木灰降低了细菌 α 多样性，同时，可维持真菌丰富度，并提高真菌多样性。

3) 冗余分析表明，单施生物质炭、生物质炭配

施木灰可以通过改变土壤的理化性质间接引起微生物群落结构的变化,其中 SOC、pH 分别对细菌、真菌群落结构影响最显著,且生物质炭配施木灰在降低石灰性土壤碳矿化、维持真菌群落稳定性方面效果更佳。

参考文献:

- [1] 王昆艳, 官会林, 卢俊, 等. 生物质炭施用量对旱地酸性红壤理化性质的影响[J]. 土壤, 2020, 52(3): 503–509.
- [2] 袁晶晶, 同延安, 卢绍辉, 等. 生物炭与氮肥配施改善枣区土壤微生物学特性[J]. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(4): 1039–1046.
- [3] Xiao X, Chen B L, Chen Z M, et al. Insight into multiple and multilevel structures of biochars and their potential environmental applications: A critical review[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(9): 5027–5047.
- [4] Sheng Y Q, Zhan Y, Zhu L Z. Reduced carbon sequestration potential of biochar in acidic soil[J]. Science of the Total Environment, 2016, 572: 129–137.
- [5] Zheng H, Wang X, Luo X X, et al. Biochar-induced negative carbon mineralization priming effects in a coastal wetland soil: Roles of soil aggregation and microbial modulation[J]. Science of the Total Environment, 2018, 610/611: 951–960.
- [6] 胡瑞文, 刘勇军, 周清明, 等. 生物炭对烤烟根际土壤微生物群落碳代谢的影响[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(9): 49–56.
- [7] Pan F X, Li Y Y, Chapman S J, et al. Microbial utilization of rice straw and its derived biochar in a paddy soil[J]. Science of the Total Environment, 2016, 559: 15–23.
- [8] Reed E Y, Chadwick D R, Hill P W, et al. Critical comparison of the impact of biochar and wood ash on soil organic matter cycling and grassland productivity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 110: 134–142.
- [9] Zhao H L, Tian X H, Chen Y L, et al. Effect of exogenous substances on soil organic and inorganic carbon sequestration under maize stover addition[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2017, 63(6): 591–598.
- [10] Guo Y F, Zhao C W, Chen X P, et al. CO₂ capture and sorbent regeneration performances of some wood ash materials[J]. Applied Energy, 2015, 137: 26–36.
- [11] Peltoniemi K, Pyrhönen M, Laiho R, et al. Microbial communities after wood ash fertilization in a boreal drained peatland forest[J]. European Journal of Soil Biology, 2016, 76: 95–102.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [13] Huang Z S, Fu Y H, Yu L F. Characteristics of soil microbial biomass carbon and soil water soluble organic carbon in the process of natural restoration of Karst forest[J]. The Journal of Applied Ecology, 2012, 23(10): 2715–2720.
- [14] 马列, 刘金华, 杨靖民, 等. 新型复合改良剂对苏打盐碱土的改良效果研究[J]. 中国土壤与肥料, 2021(5): 144–149.
- [15] DeForest J L. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and 1-DOPA[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(6): 1180–1186.
- [16] Zimmerman A R, Gao B, Ahn M Y. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(6): 1169–1179.
- [17] Kleber M, Eusterhues K, Keiluweit M, et al. Mineral-organic associations: Formation, properties, and relevance in soil environments[J]. Advances in Agronomy, 2015, 130: 1–140.
- [18] 杜倩, 黄容, 李冰, 等. 生物炭还田对植烟土壤活性有机碳及酶活性的影响[J]. 核农学报, 2021, 35(6): 1440–1450.
- [19] Zhao C S, Zhang Y P, Liu X B, et al. Comparing the effects of biochar and straw amendment on soil carbon pools and bacterial community structure in degraded soil[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2020, 20(2): 751–760.
- [20] Andersson S, Nilsson S I, Saetre P. Leaching of dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) in mor humus as affected by temperature and pH[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(1): 1–10.
- [21] 章明奎, Waleign D Bayou, 唐红娟. 生物质炭对土壤有机质活性的影响[J]. 水土保持学报, 2012, 26(2): 127–131, 137.
- [22] 张帅, 成宇阳, 吴行, 等. 生物炭施用下潮土团聚体微生物量碳氮和酶活性的分布特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(3): 369–379.
- [23] Song X N, Razavi B S, Ludwig B, et al. Combined biochar and nitrogen application stimulates enzyme activity and root plasticity[J]. Science of the Total Environment, 2020, 735: 139393.
- [24] Ameloot N, De Neve S, Jegajeevagan K, et al. Short-term CO₂ and N₂O emissions and microbial properties of biochar amended sandy loam soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57: 401–410.
- [25] 张桃香, 郑钰钢, 陈辉. 不同温度生物炭对油茶林红壤呼吸作用和酶活性的影响研究[J]. 土壤通报, 2019, 50(1): 96–102.
- [26] Dong X L, Li G T, Lin Q M, et al. Quantity and quality changes of biochar aged for 5 years in soil under field conditions[J]. CATENA, 2017, 159: 136–143.
- [27] Joa J H, Weon H Y, Hyun H N, et al. Effect of long-term different fertilization on bacterial community structures and diversity in *Citrus* orchard soil of volcanic ash[J]. Journal of Microbiology, 2014, 52(12): 995–1001.
- [28] Pietikänen J, Kiikkilä O, Fritze H. Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus[J]. Oikos, 2000, 89(2): 231–242.

- [29] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, et al. Biochar effects on soil biota - A review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812–1836.
- [30] Bang-Andreasen T, Nielsen J T, Voriskova J, et al. Wood ash induced pH changes strongly affect soil bacterial numbers and community composition[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1400.
- [31] Augusto L, Bakker M R, Meredieu C. Wood ash applications to temperate forest ecosystems—potential benefits and drawbacks[J]. *Plant and Soil*, 2008, 306(1/2): 181–198.
- [32] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354–1364.
- [33] Chen J H, Liu X Y, Li L Q, et al. Consistent increase in abundance and diversity but variable change in community composition of bacteria in topsoil of rice paddy under short term biochar treatment across three sites from South China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 91: 68–79.
- [34] 顾美英, 唐光木, 刘洪亮, 等. 施用棉秆炭对新疆连作棉花根际土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(1): 173–181.
- [35] Cheng J Z, Lee X, Tang Y, et al. Long-term effects of biochar amendment on rhizosphere and bulk soil microbial communities in a Karst region, southwest China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 140: 126–134.
- [36] Liu D, Keiblinger K M, Schindlbacher A, et al. Microbial functionality as affected by experimental warming of a temperate mountain forest soil—A metaproteomics survey[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 117/118: 196–202.
- [37] Koechli C, Campbell A N, Pepe-Ranney C, et al. Assessing fungal contributions to cellulose degradation in soil by using high-throughput stable isotope probing[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 130: 150–158.
- [38] Ren C J, Zhao F Z, Kang D, et al. Linkages of C: N stoichiometry and bacterial community in soil following afforestation of former farmland[J]. *Forest Ecology and Management*, 2016, 376: 59–66.