

生物质炭配施有机肥对设施土壤理化性质、酶活性和细菌群落结构的影响^①

鲁晨妮¹, 徐再萌¹, 费冰雁², 赵川², 陈贵¹, 李建强^{2*}

(1 嘉兴市农业科学研究院, 浙江嘉兴 314016; 2 平湖市植保土肥技术推广中心, 浙江平湖 314200)

摘要: 以不施肥为对照(CK), 将生物质炭与牛粪、羊粪、猪粪按照不同质量配比混合施用, 在嘉兴市秀洲区开展大棚小区试验, 探究了不同施肥处理对设施土壤理化性质、酶活性和土壤细菌群落结构的影响。结果发现: 生物质炭配施不同种类有机肥下土壤pH和有机质含量较CK处理分别增加了4.34%~16.24%和18.70%~46.28%, 并显著提高了土壤全氮、碱解氮、有效磷含量, 其中牛粪50%+生物质炭50%(N50)、羊粪75%+生物质炭25%(Y25)和猪粪50%+生物质炭50%(Z50)处理对土壤理化性质的改善效果较好; 不同施肥处理对土壤酶活性影响不同, 其中Y25处理对土壤酶活性提升效果最好; 生物质炭配施有机肥处理可以增加土壤细菌多样性, 其中N50处理显著增加土壤细菌多样性并改变土壤细菌群落结构, N50、Y25和Z50处理的细菌群落结构与CK处理差异最大; pH和全氮是影响细菌群落结构变异的主要环境因素。综上, 生物质炭配施不同有机肥处理中效果较好的3种处理分别为N50、Y25和Z50, 推荐使用生物质炭与牛粪、羊粪、猪粪有机肥分别按照生物质炭添加比例50%、25%和50%混合来改良设施土壤。

关键词: 生物质炭; 动物粪便; 土壤改良; 土壤酶活性; 细菌群落结构

中图分类号: S156.92; S154.36 文献标志码: A

Effects of Combined Application of Biochar and Organic Fertilizer on Soil Properties, Enzyme Activity and Bacterial Community Structure

LU Chenni¹, XU Zaimeng¹, FEI Bingyan², ZHAO Chuan², CHEN Gui¹, LI Jianqiang^{2*}

(1 Jiaxing Academy of Agricultural Sciences, Jiaxing, Zhejiang 314016, China; 2 Pinghu County Plant Protection and Soil Fertilizer Technology Promotion Center, Pinghu, Zhejiang 314200, China)

Abstract: This study explored the effects of combined application of biochar and cow (N), sheep (Y) and pig (Z) manures in different proportions. The field experiment was carried out in Xiuzhou District of Jiaxing City, soil physicochemical properties, enzyme activity and bacterial community structure were determined and compared. The results showed that the treatments of biochar with manure increased soil pH and organic matter content by 4.34%–16.24% and 18.70%–46.28%, respectively, compared with CK (no biochar and manure), and also significantly increased the contents of soil total nitrogen, alkali hydrolyzable nitrogen and available phosphorus, among of which, N50 (50% cow manure and 50% biochar), Y25 (75% sheep manure and 25% biochar) and Z50 (50% pig manure and 50% biochar) treatments had better effects. Different treatments had different effects on soil enzyme activity, generally, Y25 had the best effect on improving soil enzyme activity. Biochar with manures increased soil bacterial diversity, among of which, N50 significantly increased soil microbial diversity and changed soil bacterial communities, and the bacterial communities under N50, Y25 and Z50 were the most different from CK. Soil pH and total nitrogen were the main environmental factors affecting the variation of bacterial community structure. In conclusion, N50, Y25 and Z50 are recommended to be used in facility soil due to their better effects in improving soil quality.

Key words: Biochar; Livestock manure; Soil amendment; Soil enzyme activity; Bacterial community structure

①基金项目: 嘉兴市科技计划项目(2022AZ10007)和浙江省自然科学基金项目(LTGN23D010001)资助。

* 通信作者(275279089@qq.com)

作者简介: 鲁晨妮(1993—), 女, 浙江嘉兴人, 硕士, 农艺师, 主要从事土壤肥料和土壤生态方面研究。E-mail: LCN2019@163.com

近年来,我国设施产业发展迅速,栽培面积不断扩大,至2021年设施栽培面积稳定在267万hm²上下,达到全球设施栽培面积的80%以上^[1]。虽然设施栽培收益高,但是设施栽培的土壤长期处于高温、高蒸发且缺乏雨水淋洗的环境下,导致土壤性质容易恶化^[2]。另外,调查表明,设施蔬菜氮、磷、钾的施肥总量分别平均是各自推荐量的1.9倍、5.4倍和1.6倍,过量施肥引起了土壤养分富集和不均衡的现象^[3]。设施土壤复种指数高和连作栽培的特点更加剧了土壤酸化、板结、盐渍化、自毒物质积累等土壤质量问题^[4-5]。因此,改良设施土壤理化性质,改善土壤生物学指标是培育健康设施土壤的关键^[6]。

生物质炭由农业废弃物高温炭化而来,炭化产物重新施入土壤可以实现固碳减排的目的^[7]。生物质炭通常呈碱性,具有丰富的孔隙结构,可提供并促进土壤释放可溶性有机质^[8-9],作为改良剂施入土壤可以改变土壤的理化性质,在农业领域得到了广泛的关注和应用^[10]。此外,随着我国畜禽养殖业快速发展,畜禽污粪的年产量逐年上涨,据估算2016年我国畜禽粪便和养分资源的含量已达到 2.38×10^9 t和 4.71×10^7 t^[11]。由此可见,畜禽粪便中蕴藏着丰富的养分资源。2019年我国畜禽粪便替代氮肥和磷肥的平均潜力分别为19.25%和4.55%^[12]。畜禽粪便替代化肥施用同时还能显著改变土壤的微生物群落组成,提高土壤酶活性等^[13-14]。利用生物质炭与动物粪便腐熟而成的有机肥混合施用可以有效发挥协同作用,调节土壤酸碱度,代替化肥提供养分,提高土壤有机质含量和土壤酶活性等^[15]。王玫等^[16]研究发现,利用生物质炭复合有机肥混合处理可以优化土壤微生物群落结构,降低土壤尖孢镰刀菌数量,有效防控苹果连作障碍。但目前的研究较少关注生物质炭与不同种

类畜禽粪便有机肥配合施用对土壤的改良效果,特别是不同比例配合施用的改良效果差异鲜见报道。

基于以上,本研究以生物质炭、牛粪、羊粪和猪粪为原料,通过大棚小区试验,研究了不同比例生物质炭(10%、25%和50%)配施不同种类有机肥对设施土壤理化性质、酶活性以及微生物特性的影响,以评估生物质炭配施有机肥对设施土壤的改良效果,为区域农业废弃物利用和健康土壤培育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于2022年11月—2023年1月在浙江省嘉兴市秀洲区王江泾镇新桥生态农场($30^{\circ}51'42''N$, $120^{\circ}42'15''E$)设施温室大棚内进行,上茬作物为玉米。该地区属于亚热带季风气候,年平均气温15.5℃,年均日照时数1950 h。

1.2 试验材料

供试原材料:生物质炭为嘉兴桐奥环保科技有限责任公司生产的水稻秸秆生物质炭;牛粪来源为嘉兴市王店镇东兴奶牛场;羊粪购自桐乡市众成湖羊专业合作社;猪粪购自嘉兴嘉年华牧业有限公司。

供试土壤:设施温室内0~20 cm耕层土壤的理化性质为:pH 5.93,电导率559 μS/cm,有机质含量54.4 g/kg,全氮含量3.80 g/kg,碱解氮含量336.2 mg/kg,有效磷含量116.1 mg/kg,速效钾含量1 070 mg/kg。

供试作物:青菜,品种为嘉兴青,由嘉兴先丰种业有限公司生产。

1.3 试验设计

试验设置3种有机肥种类,包含牛粪、羊粪和猪粪,有机肥与生物质炭复配质量比设9:1、3:1和1:1共3个水平,并以不施肥处理为对照(表1)。每

表1 各处理施肥方案及物料基本性质
Table 1 Fertilizer treatments and basic properties of materials

处理	有机肥	有机肥 (质量比, %)	生物质炭 (质量比, %)	pH	物料基本性质		
					有机质含量 (%)	N(%)	P ₂ O ₅ (%)
CK	—	—	—	—	—	—	—
N10	牛粪	90	10	7.34	55.33	1.23	0.54
N25	牛粪	75	25	7.5	45.15	1.23	0.73
N50	牛粪	50	50	7.55	39.45	1.27	1.12
Y10	羊粪	90	10	8.35	38.38	2.48	2.42
Y25	羊粪	75	25	8.33	38.50	2.17	2.21
Y50	羊粪	50	50	8.32	35.60	1.90	1.74
Z10	猪粪	90	10	6.81	44.98	1.79	0.57
Z25	猪粪	75	25	6.88	38.91	1.73	0.75
Z50	猪粪	50	50	7.08	34.77	1.56	1.11

个处理设置3次重复,小区面积为12 m²,不同小区之间用塑料隔板隔开。不同动物粪便均腐熟约40 d后,与生物质炭混合,施用量为30 t/hm²。按照NY/T 3618—2020《生物质炭基有机肥料》^[17]方法测定混合物料的基本性质,具体试验方案及结果见表1。

嘉兴青的栽种方式为移栽,播种时间为2022年11月1日,定植时间为11月28日,收获时间为2023年1月28日,移栽密度为137 500棵/hm²。考虑到试验地土壤速效养分较丰富,未施用化肥。试验期间,根据实际水分情况浇水,并进行常规管理。

试验结束后,在每个小区采用五点取样法采集土壤样品,混合均匀后,留取一部分新鲜样品用于测定土壤酶活性和进行土壤微生物分析,另一部分土壤样品在室内自然风干,除杂并研磨过筛,用于土壤理化性质测定。

1.4 测定项目及方法

1.4.1 土壤理化指标测定 土壤pH采用pH计法(水土质量比2.5:1)测定;有机质采用重铬酸钾容量-外加热法测定;全氮采用硫酸-混合催化剂消解,全自动凯氏定氮仪测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定;速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法测定;土壤电导率采用电导率仪测定(水土质量比为5:1)^[18]。阳离子交换量采用三氯化六氨合钴浸提-分光光度法测定(HJ 889—2017)^[19]。

1.4.2 土壤酶活性测定 土壤脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定,以24 h后1 g土壤中NH₃-N的产生量表示,mg/(g·d);磷酸酶活性采用对硝基苯磷酸盐法测定,以1 h后1 g土壤中对硝基苯酚的产生量表示,mg/(g·h);蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,以24 h后1 g土壤中葡萄糖的产生量表示,mg/(g·d);过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定,以1 h后1 g土壤产生的H₂O₂消耗0.1 mol/L KMnO₄溶液的体积表示,mL/(g·h)^[20-21]。

1.4.3 土壤细菌多样性分析 土壤微生物总DNA采用Soil DNA Kit试剂盒(OMEGA公司,美国)进行抽提,之后对土壤DNA进行测序,测序片段为细菌V4~V5的16S rRNA基因,选择的引物是515F/907R,引物序列为515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'),907R(5'-CCGTCATTCTTCTT-3')。土壤DNA的测序工作委托上海派森诺生物科技股份有限公司完成。

1.5 数据处理与统计分析

采用Excel 2021和SPSS 26.0统计软件进行数

据整理,运用SPSS 26.0对不同处理下的土壤性质进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和Tukey法多重比较($P<0.05$),采用SigmaPlot 15.0软件进行柱形图和堆积图的绘制。对于细菌的16S rRNA基因,选择Greengenes数据库,采用QIIME软件,在97%相似度水平进行序列聚类和OTU划分,在门水平上统计样品的群落组成,并进行方差分析和多重比较。通过QIIME软件统计细菌 α 多样性(物种观察数、Chao 1指数、Shannon指数和Simpson指数)。采用Bray-Curtis距离进行不同土壤样品间细菌群落的ANOSIM差异分析,并通过非度量多维尺度(NMDS)进行可视化。利用R语言及pheatmap包对平均丰度前20位细菌属绘制聚类热图。在Canoco 5.0软件中将土壤细菌群落优势菌属(相对丰度前10位)作为响应变量,土壤理化性质和土壤酶活性作为环境因子进行冗余分析(RDA),并绘制分析图。

2 结果与分析

2.1 生物质炭配施有机肥对土壤理化性质的影响

试验结果如表2所示,所有施肥处理的土壤pH和有机质含量均显著高于不施肥处理(CK),其中,pH较CK处理增加了4.34%~16.24%,有机质含量较CK处理增加了18.70%~46.28%。N50、Y25和Z50处理是pH和有机质含量涨幅最大的3个处理,与CK处理相比差异达到显著水平。除N25处理外,其余处理的土壤全氮和有效磷含量均显著高于CK处理,其中Y25处理的全氮含量最高,达到CK处理的1.24倍;Z50处理的有效磷含量最高,比CK处理增加46.30%。N10、N50、Y10、Y25、Z25和Z50处理的碱解氮含量显著高于CK处理,其中Z50处理增幅最大。生物质炭配施不同有机肥对土壤速效钾的影响效果不同,添加牛粪或猪粪有机肥均降低速效钾含量,降幅为0.91%~23.48%,而配施羊粪有机肥均显著增加速效钾的含量,增幅为8.66%~16.39%。生物质炭配施不同种类有机肥对土壤电导率的影响差异较大,配施牛粪有机肥的3个处理土壤电导率均略微低于CK处理,而配施羊粪和猪粪有机肥均显著提高土壤电导率,增幅与生物质炭添加比例呈负相关,分别为24.14%~36.00%和11.36%~27.39%。不同处理对土壤阳离子交换量的影响不同,其中N10、N50、Y25和Z50处理的阳离子交换量显著增加。综合土壤多项理化性质结果,N50、Y25和Z50处理对土壤理化性质的改善效果较好。

表 2 生物质炭配施有机肥对土壤理化性质的影响
Table 2 Effects of combining application of biochar and organic fertilizer on soil physiochemical properties

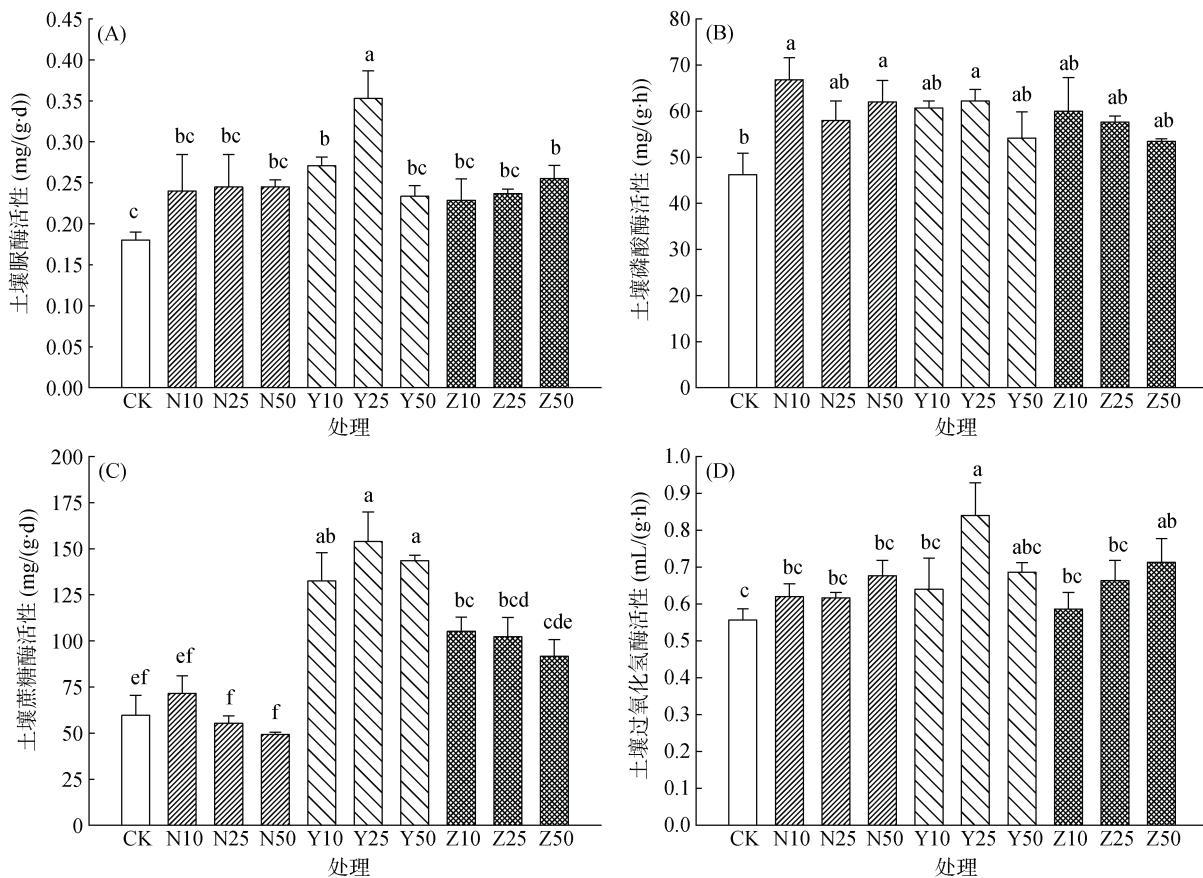
处理	pH	有机质(g/kg)	全氮(g/kg)	碱解氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	电导率(μS/cm)	阳离子交换量(cmol/kg)
CK	5.60 ± 0.03 e	48.59 ± 3.17 e	3.22 ± 0.05 f	236.22 ± 6.98 d	99.00 ± 1.55 f	808.71 ± 17.36 c	399.12 ± 3.00 d	11.99 ± 1.09 d
N10	6.08 ± 0.10 c	62.99 ± 2.37 bc	3.62 ± 0.08 cd	317.39 ± 4.18 ab	112.07 ± 2.93 e	730.40 ± 3.30 e	391.45 ± 6.03 d	16.04 ± 1.38 abc
N25	5.99 ± 0.07 cd	58.76 ± 2.12 cd	3.37 ± 0.03 ef	242.59 ± 3.75 d	100.03 ± 1.03 f	618.83 ± 2.00 f	377.45 ± 4.62 d	14.74 ± 0.97 bcd
N50	6.38 ± 0.08 a	66.86 ± 1.28 ab	3.79 ± 0.06 bc	279.34 ± 2.46 c	128.04 ± 5.77 bc	785.96 ± 11.16 cd	374.12 ± 6.55 de	15.68 ± 0.68 abc
Y10	6.03 ± 0.03 cd	57.68 ± 1.07 d	3.53 ± 0.06 de	325.83 ± 2.76 a	128.45 ± 2.95 bc	878.71 ± 7.58 b	542.79 ± 6.51 a	15.31 ± 0.70 bcd
Y25	6.51 ± 0.07 a	71.08 ± 1.23 a	3.99 ± 0.06 a	331.87 ± 5.82 a	119.14 ± 1.40 de	941.27 ± 21.69 a	537.45 ± 4.51 a	19.12 ± 0.48 a
Y50	6.15 ± 0.09 bc	64.86 ± 0.89 b	3.78 ± 0.07 bc	234.64 ± 2.80 d	121.78 ± 3.11 cd	888.77 ± 8.20 b	495.45 ± 10.97 b	14.50 ± 1.20 bcd
Z10	5.85 ± 0.03 d	61.96 ± 1.31 bcd	3.61 ± 0.14 cd	251.47 ± 2.00 d	117.04 ± 2.93 de	623.21 ± 33.75 f	508.45 ± 2.52 b	15.51 ± 0.30 bcd
Z25	5.85 ± 0.13 d	59.65 ± 1.09 cd	3.56 ± 0.03 de	297.65 ± 10.09 bc	133.92 ± 1.68 b	747.46 ± 11.91 de	498.12 ± 18.03 b	13.62 ± 2.63 cd
Z50	6.32 ± 0.04 ab	70.49 ± 1.56 a	3.82 ± 0.06 ab	330.66 ± 18.90 a	144.84 ± 2.94 a	801.27 ± 11.16 c	444.45 ± 4.62 c	17.95 ± 1.34 ab

注: 同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$), 下同。

2.2 生物质炭配施有机肥对土壤酶活性的影响

由图 1A 可知, 与 CK 处理相比, 生物质炭配施牛粪有机肥(N10、N25 和 N50)对土壤脲酶活性的影响差异不显著, 而在生物质炭配施羊粪或猪粪有机肥中, Y10、Y25 和 Z50 处理显著提高了土壤脲酶活性, 其中 Y25 处理提高最多。生物质炭配施有机肥处理

对土壤磷酸酶活性提高范围为 15.63% ~ 44.56%(图 1B), 其中 N10、N50 和 Y25 处理与 CK 处理差异显著。生物质炭配施不同种类有机肥对蔗糖酶活性影响较大(图 1C), 与 CK 处理相比, 生物质炭配施牛粪有机肥处理影响不显著, 而配施羊粪和猪粪有机肥处理蔗糖酶活性均显著增加, 其提升幅度分别为



(图中不同小写字母表示处理间差异达 $P<0.05$ 显著水平)

图 1 生物质炭配施有机肥对土壤酶活性的影响

Fig.1 Effects of combining application of biochar and organic fertilizer on soil enzyme activity

122.41% ~ 158.31% 和 53.95% ~ 76.67%。由图 1D 可知, 生物质炭配施有机肥对土壤过氧化氢酶活性影响较小, 仅 Y25 和 Z50 处理较 CK 处理活性显著增加, 其余处理差异不显著。

2.3 生物质炭配施有机肥对土壤细菌特性的影响

2.3.1 生物质炭配施有机肥对土壤细菌群落多样性的影响 从表 3 可知, 在不同处理下, 土壤细菌丰

富度和多样性不同, 与 CK 处理相比, N50、Y10、Y50、Z25 和 Z50 处理的物种观察数、Chao 1 指数显著提高, N50、Y10、Y25、Z25 和 Z50 处理的 Shannon 指数和 Simpson 指数显著提高。在各处理中, N50 处理的物种观察数、Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均最高, 表明本试验中 N50 处理最利于提高土壤细菌的丰度和 α 多样性。

表 3 土壤细菌丰富度和多样性指数
Table 3 Soil bacterial richness and diversity index under different treatments

处理	物种观察数	Chao 1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
CK	1 838 ± 99 d	1 910.1 ± 111.4 d	9.503 ± 0.113 d	0.996 6 ± 0.000 7 b
N10	2 144 ± 135 bcd	2 204.0 ± 175.0 bcd	9.739 ± 0.098 bcd	0.997 3 ± 0.000 3 ab
N25	2 192 ± 214 bcd	2 243.7 ± 245.0 bcd	9.753 ± 0.160 bcd	0.997 3 ± 0.000 3 ab
N50	2 840 ± 174 a	3 008.1 ± 181.1 a	10.173 ± 0.108 a	0.998 0 ± 0.000 1 a
Y10	24 343 ± 24 bc	2 388.9 ± 35.7 bc	9.942 ± 0.023 abc	0.997 8 ± 0.000 1 a
Y25	2 237 ± 250 bcd	2 259.4 ± 263.3 bcd	9.901 ± 0.217 abc	0.997 6 ± 0.000 5 a
Y50	1 887 ± 94 d	1 907.7 ± 106.8 d	9.606 ± 0.050 cd	0.997 3 ± 0.000 2 ab
Z10	1 968 ± 39 cd	1 992.8 ± 37.3 cd	9.670 ± 0.027 bcd	0.997 3 ± 0.000 1 ab
Z25	2 522 ± 118 ab	2 625.6 ± 93.9 ab	9.987 ± 0.139 ab	0.997 8 ± 0.000 2 a
Z50	2 408.5 ± 159.9 b	2 458.8 ± 162.5 b	9.942 ± 0.103 abc	0.997 7 ± 0.000 1 a

非度量多维尺度分析(NMDS)结果显示(图 2), 土壤细菌群落在不同处理间差异显著(stress=0.098 3)。CK 处理与大部分施肥处理的菌群分离, 其中 N10、Y10、Z10 处理与 CK 处理距离较近, 说明 10% 生物质炭与 90% 有机肥添加处理的土壤细菌群落与 CK 处理相似, 而 N50、Y25 和 Z50 处理的菌群与 CK 处理距离较远, 在 NMDS1 轴存在显著分异, 说明这 3 个处理的土壤细菌 β 多样性存在明显的差异。ANOSIM 分析表明, 生物质炭配施不同种类的有机肥以及不同的配施比例能显著改变土壤细菌群落结构($r=0.712$, $P=0.001$)。

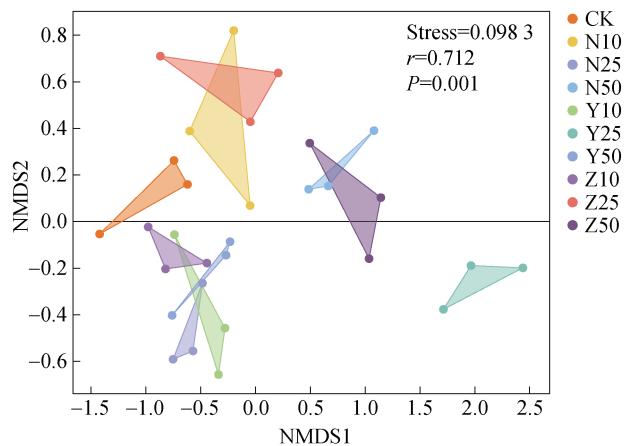
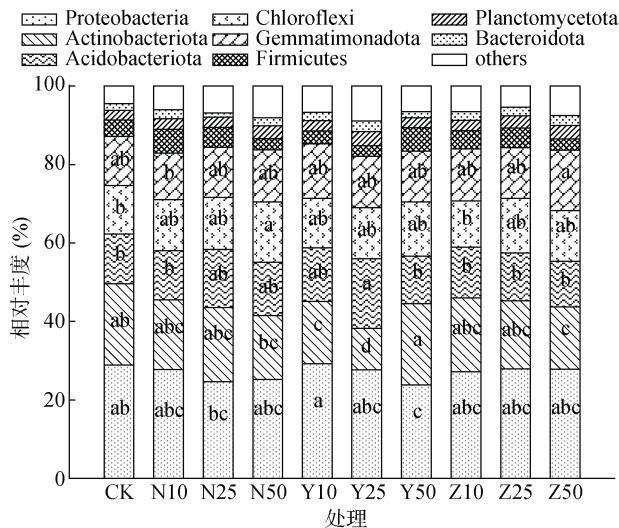


图 2 土壤细菌群落非度量多维尺度分析
Fig. 2 NMDS analyses of soil bacterial communities

2.3.2 生物质炭配施有机肥对土壤细菌门群落组成的影响 在门分类水平上, 本研究将相对丰度 $>1\%$ 的门划为优势菌门, 剩余的归为其他(others)。由图 3 可以看出, CK 处理和施肥处理土壤细菌优势菌门基本一致, 分别为变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)、厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门(Planctomycetota)和拟杆菌门(Bacteroidota)。其中, 变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和芽单胞菌门是绝对优势菌门($>10\%$), 各处理中绝对优势菌门总占比最高的为 CK 处理(87.15%), 最低的为 Y25 处理(82.15%), 说明生物质炭配施有机肥减少了 5 个绝对优势菌门的总占比, 但与此同时增加了其他菌门的占比, 这一比例从 CK 处理的 4.49% 提升到施肥处理的 5.41% ~ 8.90%。以上结果表明, 生物质炭配施有机肥显著影响土壤细菌群落的组成, 其中 Y25 处理影响最大。

比较不同处理间绝对优势门的差异可见, 与 CK 处理相比, Y50 处理的变形菌门相对丰度降低了 5.10%, 差异达显著水平, Y10、Y25 和 Z50 处理的放线菌门相对丰度分别显著降低了 4.77%、10.11%、4.76%, Y25 处理的酸杆菌门相对丰度显著增加了 5.00%, Z50 处理的绿弯菌门相对丰度显著增加了 3.09%, 芽单胞菌门的相对丰度在 CK 处理和施肥处理之间没有显著差异(图 3)。从优势菌门相对丰度变



(图中不同小写字母表示同一菌门在不同处理间差异显著
($P<0.05$))

图 3 不同处理对细菌门水平群落结构组成及优势菌门相对丰度的影响

Fig. 3 Effects of combining application of biochar and organic fertilizer on soil bacterial community structure and relative abundance of dominant bacteria at phylum level

化看，配施羊粪有机肥的 3 个处理对土壤细菌群落结构的影响大于配施牛粪有机肥和猪粪有机肥处理。

2.3.3 生物质炭配施有机肥对土壤细菌属群落组成的影响 图 4 为生物质炭配施有机肥处理下属水平细菌群落结构聚类热图。由图 4 可知，所有处理的细菌群落结构聚类为两个大的分支，Y25、N50 和 Z50 处理组成其中一个分支，CK 和其余处理组成另一个

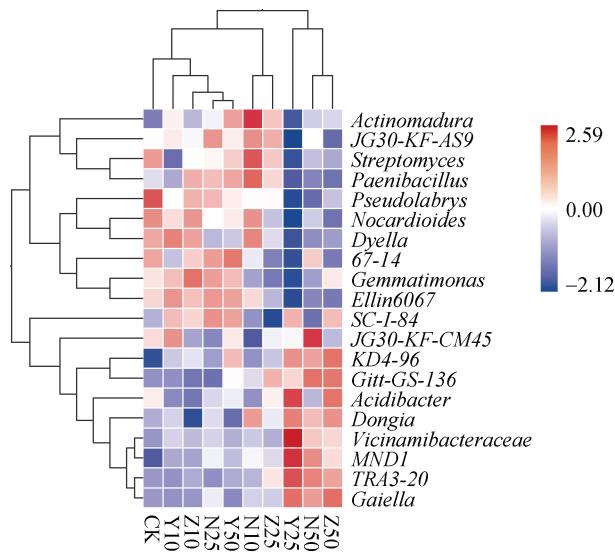


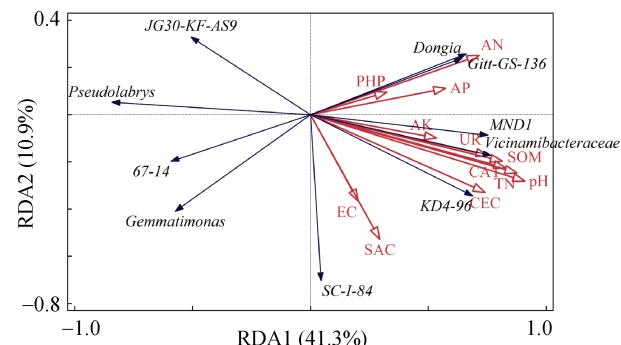
图 4 生物质炭配施有机肥处理土壤细菌群落在属水平上相对丰度聚类热图

Fig. 4 Clustering heatmap of relative abundance of soil bacterial communities at genus level under combining application of biochar and organic fertilizer

分支，说明前 3 个处理的土壤细菌群落结构与 CK 处理相比有显著差异。在 CK 处理中，优势细菌属为 *Pseudolabrys*、*Nocardoides*、*Dyella*、67-14 和 *Streptomyces*，而在 Y25、N50 和 Z50 处理中则降低了上述菌属的相对丰度，而 *Vicinamibacteraceae*、*MND1*、*TRA3-20*、*Gaiella*、*KD4-96* 等菌属相对丰度明显增加，成为优势菌属。

2.4 生物质炭配施有机肥处理下土壤细菌群落结构与环境因子的关系

将土壤理化性质、土壤酶活性和细菌属作为指标进行 RDA 分析，获得二维排序图(图 5)，RDA1 和 RDA2 分别解释了土壤细菌群落变异的 41.3% 和 10.9%。环境因子中 pH 对土壤细菌属水平群落结构的解释率最高，为 35.3%($P=0.002$)，其次是碱解氮，解释率为 8.4%($P=0.006$)，均达到了极显著水平($P<0.01$)。而有效磷和电导率对土壤细菌群落的解释率分别为 5.3% 和 5.5%，均达到显著影响($P=0.014$)。pH、全氮、过氧化氢酶活性、有机质、脲酶活性、速效钾含量与 *MND1*、*Vicinamibacteraceae*、*KD4-96* 三个菌属相对丰度呈正相关，而与 *JG30-KF-CM45*、*Pseudolabrys*、67-14 和 *Gemmamimonas* 菌属相对丰度呈负相关。pH 和碱解氮是影响群落结构变异的主要因素，对群落结构变异影响达到极显著水平($P<0.01$)。



(SOM: 有机质含量；TN: 全氮含量；AN: 碱解氮含量；AP: 有效磷含量；AK: 速效钾含量；EC: 土壤电导率；CEC: 阳离子交换量；UR: 脲酶活性；PHP: 磷酸酶活性；SAC: 蔗糖酶活性；CAT: 过氧化氢酶活性)

图 5 环境因子与土壤细菌群落优势菌属的 RDA 分析

Fig. 5 Redundancy analysis of environmental parameters and dominant bacteria of soil bacterial community

3 讨论

3.1 生物质炭配施有机肥对土壤理化性质和酶活性的影响

施用炭基有机肥可以改善土壤结构，提高土壤养

分含量,调节设施酸性土壤的pH,同时达到延缓养分释放的目的^[2]。本研究选用的试验土壤为长期进行设施栽培的土壤,其有机质、全氮、有效磷、速效钾水平均远超全国第二次土壤普查养分分级标准中的一级水平,即有机质 $\geq 40\text{ g/kg}$,全氮 $\geq 2\text{ g/kg}$,有效磷 $\geq 40\text{ mg/kg}$,速效钾 $\geq 200\text{ mg/kg}$ ^[22]。在土壤养分背景值很高的情况下,生物质炭配施有机肥能显著提高土壤的pH、有机质、全氮、有效磷和阳离子交换量,这与以往研究成果一致^[2,23],主要是由于施用的有机肥本身含有不等量的氮、磷、钾养分和大量有机质,同时生物质炭具有多孔结构、碱性等特性,能在施加后聚集大量负电荷,从而达到中和土壤氢离子和增加土壤阳离子交换量的效果^[24]。此外,生物质炭和有机肥同时施用,生物质炭的吸附作用可以减缓有机肥速效养分的淋失^[25],有机肥可以调节生物质炭施用产生的高C/N^[23],提高土壤活性碳和活性氮组分^[26],而土壤C/N和pH的改善以及养分的增加又进一步影响了土壤养分转化相关微生物活性,进而使土壤有机碳、全氮等含量增加^[24]。土壤有效磷的提高还一方面可能与生物质炭的部分不稳定有机结合态磷化物在进入土壤后矿化释放有关^[27],另一方面可能是有机肥促进土壤有机磷向无机磷转化,并通过腐殖质包裹氧化物降低对磷的吸附,增加磷素的有效性^[28]。本研究发现,生物质炭配施羊粪或猪粪的土壤盐分含量(电导率)显著高于配施牛粪,这与物料本身的性质影响有关。黄绍文等^[29]研究发现,商品有机肥中羊粪和牛粪的土壤盐分(用电导率表示)平均值分别7.9和6.5 mS/cm,高于牛粪的5.9 mS/cm。本研究还发现,生物质炭配施不同有机肥处理土壤各理化性状随着生物质炭添加比例的增加,变化趋势不同,如生物质炭配施羊粪有机肥的Y25处理的pH、有机质、全氮、速效钾和阳离子交换量均为3个配施比例处理中最高。这是因为土壤养分一方面受到物料投入量的影响,另一方面不同比例生物质炭和有机肥之间的协同效果存在差异,这主要受到微生物活动的影响,与物料本身的C/N、土壤的酸碱度等相关^[30-31]。

本研究中,生物质炭配施有机肥处理土壤脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性较CK处理增加,但大部分处理间差异不显著,这与杨慧豪等^[21]施用生物质炭基调理剂对土壤脲酶和过氧化氢酶活性影响的结果相近。施用腐熟的动物粪便有机肥虽然增加了酶促反应的底物,会一定程度上促进酶的活性^[32],但也可能引起生物质炭吸附酶分子,保护酶反应的位点,抑制酶活性^[21]。土壤脲酶和磷酸酶都属于水解酶,设

施土壤养分富集,过量施用的氮肥会抑制土壤脲酶的活性^[33],而过氧化氢酶活性受到土壤环境中氧气浓度的影响,配施有机肥可以增加土壤微生物的数量,微生物的代谢降低了土壤中氧气的浓度,则对过氧化氢酶活性产生抑制作用^[34]。另外,有研究发现,设施土壤中可能存在重金属含量较高的状况,其来源主要是化学肥料和有机肥^[35]。本研究供试设施土壤存在过量施肥的现象,可能导致土壤本身部分金属离子含量较高,加之试验输入大量有机肥和生物质炭,也会加剧土壤中金属离子累积^[29,36],而这些金属离子可能对土壤中脲酶、磷酸酶和蔗糖酶的活性产生抑制作用,因为金属离子与酶游离的巯基(-SH)结合,会导致其分子构象发生变化,从而使酶变性失活^[37]。另外,生物质炭表面官能团与含磷有机物相似,可与磷酸酶通过静电作用等发生结合,从而对磷酸酶产生竞争性抑制作用。以上结果共同影响使生物质炭在施用动物粪便有机肥的基础上,酶活性未表现显著差异^[36]。本研究中, Y25 处理土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性均显著高于 CK 处理,可能还与该配施比例对土壤中微生物丰度和群落结构的影响密切相关^[38]。

3.2 生物质炭配施有机肥对土壤细菌群落特性的影响

本研究结果显示,生物质炭配施不同种类有机肥提高土壤细菌丰度和细菌 α 多样性(表3),这与胡坤等^[38]研究结果一致。其中,生物质炭与牛粪有机肥1:1混合施用(N50)显著提高土壤细菌多样性,这可能是因为一方面生物质炭巨大的比表面积为微生物的活动提供了良好的生境,另一方面有机肥的施入提供了丰富的营养成分,为微生物生长提供养分^[38]。NMDS结果显示,不同处理影响了土壤细菌的 β 多样性,其中N50、Y25和Z50处理影响显著,这一结果也体现在细菌群落结构的组成上,有机肥的投入增加了其他菌门others的比例,可能是因为生物质炭配施不同有机肥处理中,N50、Y25和Z50处理为这些菌群提供了较适宜的生长环境,从而部分抑制了优势菌门细菌的生长,改变了细菌的群落结构^[13]。

本研究还发现,不同处理对土壤细菌群落属水平相对丰度的影响不同,3种不同有机肥添加10%生物质炭处理土壤细菌群落与CK处理较相似,而N50、Y25和Z50这3种处理则差异显著,说明生物质炭添加比例并不与细菌群落的变异成正比,在生物质炭与羊粪有机肥的配施中,生物质炭添加25%时差异最大,后续可就该结果展开更为精细的试验,进一步验

证两种物料配比对微生物结构的影响。

土壤的理化性状和微生物活性等互相影响,土壤改良是多方面因素作用的结果^[39]。本研究运用 RDA 分析,将 8 个土壤养分指标和 4 个土壤酶活性对土壤微生物优势菌属的影响降维提取出 2 个解释轴,累积解释率达 52.2%,其中土壤 pH 和全氮对群落结构变异影响达到极显著水平。氮素是影响植物和土壤微生物生长的重要因子之一,养分含量的改变会影响氮循环相关微生物的活动,进而影响微生物的群落结构和植物生长^[40]。本研究供试土壤养分较富集,其中全氮和碱解氮含量也较高,可能是全氮对土壤细菌群落结构影响显著的原因,而 pH 受到添加物料的影响,其变化可能进一步影响土壤酶活性以及土壤中不同细菌的相对丰度,而起到显著的影响效果。

4 结论

生物质炭配施不同种类有机肥均能显著提高土壤 pH、有机质含量,部分处理能不同程度增加土壤全氮、碱解氮和有效磷含量,但配施羊粪和猪粪也可能会增加土壤电导率,N50、Y25 和 Z50 处理对土壤理化性质的改善效果较好。生物质炭配施有机肥对土壤酶活性的影响受到不同配施比例的影响,Y25 处理对土壤酶活性提升效果最好。生物质炭配施有机肥可以增加土壤细菌多样性,其中 N50 处理增加土壤微生物多样性并改变土壤细菌群落结构,N50、Y25 和 Z50 处理的细菌群落结构与空白处理差异较大。pH 和全氮是影响群落结构变异的主要因素。

本研究选用的试验土壤为养分含量较高的设施土壤,因此利用生物质炭配施有机肥改良设施土壤质量的同时可以减施或不施化肥,针对长期过量施肥的设施土壤更应该关注养分均衡且科学供应。

综合来看,在使用生物质炭配施动物粪便有机肥改良设施土壤时,推荐生物质炭与牛粪、羊粪、猪粪有机肥混施的添加比例分别为 50%、25% 和 50%。

参考文献:

- [1] 董金龙, 徐烨红, 全智, 等. 中国设施种植土壤可持续利用的难点与应对策略[J]. 土壤学报, 2024, 61(6): 1467–1480.
- [2] 李夏, 汪玉瑛, 吕豪豪, 等. 炭基有机肥对设施番茄生长及其土壤性质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(3): 568–577.
- [3] 黄绍文, 唐继伟, 李春花, 等. 我国蔬菜化肥减施潜力与科学施用对策[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(6): 1480–1493.
- [4] 周冉冉, 马司光, 张文晶, 等. 生物质炭与生物基质对设施黄瓜连作土壤改良效果研究[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(3): 537–546.
- [5] 李建勇, 王齐旭, 张瑞明. 有机肥和生物质炭对设施蔬菜生产及土壤养分积累利用的影响[J]. 北方园艺, 2019(22): 16–21.
- [6] 张江周, 李奕赞, 李颖, 等. 土壤健康指标体系与评价方法研究进展[J]. 土壤学报, 2022, 59(3): 603–616.
- [7] 黄兆琴, 周强, 胡林潮, 等. 生物质炭添加对土壤腐殖物质组成的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 285–288.
- [8] 闫代红, 马亚培, 宋凯悦, 等. 原料和热解温度对生物质炭中可溶性有机质的影响[J]. 环境科学, 2021, 42(10): 5030–5036.
- [9] 徐敏, 伍钧, 张小洪, 等. 生物质炭施用的固碳减排潜力及农田效应[J]. 生态学报, 2018, 38(2): 393–404.
- [10] 吴立东, 刘亚婷, 林淑婷, 等. 生物质炭与化肥配施对辣椒产量、品质及肥料利用率的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2023(8): 144–151.
- [11] 石晓晓, 郑国砥, 高定, 等. 中国畜禽粪便养分资源总量及替代化肥潜力[J]. 资源科学, 2021, 43(2): 403–411.
- [12] 李艳丽, 白金顺, 赵林萍, 等. 我国畜禽粪污资源化利用潜力与时空分布特征[J]. 中国土壤与肥料, 2023(5): 114–124.
- [13] 徐祎萌, 章磊, 白美霞, 等. 有机物料单施及与生物质炭配施对红壤微生物群落组成的影响[J]. 土壤学报, 2025, 62(1): 273–284.
- [14] 唐奇志, 汪帆, 时金泽, 等. 有机肥部分替代氮肥的盐碱土壤改良与水稻增产效应研究[J]. 土壤, 2024, 56(1): 97–102.
- [15] 文慧宝, 杜双江, 程贵庆, 等. 生物质炭与有机肥配施对白菜生长品质、土壤养分及酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(20): 224–230.
- [16] 王玫, 徐少卓, 刘宇松, 等. 生物质炭配施有机肥可改善土壤环境并减轻苹果连作障碍[J]. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(1): 220–227.
- [17] 中华人民共和国农业农村部. 生物质炭基有机肥料: NY/T 3618—2020[S]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] 中华人民共和国环境保护部. 土壤阳离子交换量的测定三氯化六氨合钴浸提-分光光度法: HJ 889—2017[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科学出版社, 2000.
- [21] 杨慧豪, 郭秋萍, 黄帮裕, 等. 生物质炭基土壤调理剂对酸性菜田土壤的改良效果[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(1): 15–24.
- [22] 全国土壤普查办公室. 中国土壤普查技术[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [23] 马丹妮, 盛建东, 张坤, 等. 生物质炭和有机肥配施对土壤养分影响的研究进展[J]. 中国农学通报, 2024, 40(2): 42–51.

- [24] 张健乐, 曾小英, 史东梅, 等. 生物质炭对紫色土坡耕地侵蚀性耕层土壤有机碳的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(4): 2209–2218.
- [25] 燕金锐, 律其鑫, 高增平, 等. 有机肥与生物质炭对沙化土壤理化性质的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(9): 303–307.
- [26] 宁川川, 王建武, 蔡昆争. 有机肥对土壤肥力和土壤环境质量的影响研究进展[J]. 生态环境学报, 2016, 25(1): 175–181.
- [27] 甘国渝, 金慧芳, 李燕丽, 等. 稼秆及其生物质炭添加对土壤 Olsen-P 及磷素组分的影响[J]. 灌溉排水学报, 2023, 42(5): 43–51.
- [28] 杨丽娟, 李天来, 周崇峻. 塑料大棚内长期施肥对菜田土壤磷素组成及其含量影响[J]. 水土保持学报, 2009, 23(5): 205–208.
- [29] 黄绍文, 唐继伟, 李春花. 我国商品有机肥和有机废弃物中重金属、养分和盐分状况[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(1): 162–173.
- [30] 黄兆琴, 周强, 胡林潮, 等. 生物质炭添加对土壤腐殖物质组成的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 285–288.
- [31] 邓正昕, 高明, 熊子怡, 等. 有机肥配施生物质炭对果园土壤反硝化微生物和酶活性的影响[J]. 环境科学, 2023, 44(12): 6955–6964.
- [32] 李增强, 张贤, 王建红, 等. 化肥减施对紫云英还田土壤活性有机碳和碳转化酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(4): 525–534.
- [33] 卢艺, 李瑞瑞, 胡菲, 等. N 添加对林地土壤脲酶活性及动力学参数的影响[J]. 河北农业大学学报, 2019, 42(2): 48–53.
- [34] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [35] 王子豪, 梁红怡, 张冬寒, 等. 中国设施土壤重金属累积特征与污染阻控技术研究进展[J]. 农业工程学报, 2024, 40(9): 1–14.
- [36] 李博文, 刘洋, 李宗霖, 等. 生物质炭对土壤酶活性影响的机理研究进展[J]. 材料导报, 2022, 36(7): 163–168.
- [37] 冯丹, 王金生, 滕彦国. 重金属 Cu 对土壤碱性磷酸酶活性的影响[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2015, 51(1): 69–74.
- [38] 胡坤, 张红雪, 郭力铭, 等. 稼秆炭基肥对薏苡土壤有机碳组分及微生物群落结构和丰度的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2021, 29(9): 1592–1603.
- [39] 刘会芳, 韩宏伟, 王强, 等. 不同蔬菜与番茄轮作对设施土壤微生物多样性、酶活性及土壤理化性质的影响[J]. 微生物学报, 2021, 61(1): 167–182.
- [40] 刘威, 陈小龙, 赵园园, 等. 有机肥施用对植烟土壤氮素矿化及土壤酶和微生物群落的影响[J]. 土壤, 2023, 55(5): 1025–1034.