

生物质炭用量对新垦耕地土壤肥力、细菌群落结构和功能以及作物生物量的影响^①

刘晓霞¹, 金秉洁², 张敏³, 吴东涛⁴, 倪治华^{1*}

(1 浙江省耕地质量与肥料管理总站, 杭州 310020; 2 中国科学院城市环境研究所城市环境与健康重点实验室, 福建厦门 361020; 3 浙江科技大学浙江省废弃生物质循环利用与生态处理技术重点实验室, 杭州 310023; 4 丽水市土肥植保能源总站, 浙江丽水 323000)

摘要: 以甘蓝为供试材料, 采用盆栽试验和高通量测序技术, 研究了 0(B0, 对照)、0.5%(B5)、1.0%(B10)、2.0%(B20)和 4.0%(B40) 五种不同生物质炭用量对新垦耕地土壤肥力参数、细菌群落结构和功能及甘蓝生长的影响。结果表明: 不同处理的甘蓝生长和土壤肥力参数差异显著, 其中 B10 处理可显著提高甘蓝株高、地上部生物量、根系质量, 土壤中的有机碳、全氮、速效钾含量以及 pH 和 CEC, 并显著降低甘蓝根冠比。相较于 B0 处理, B5、B10、B20 和 B40 处理均可显著提高土壤细菌群落 Chao 1、Observed species 和 Shannon 等 α 多样性指数, 且细菌多样性指数与甘蓝地上部生物量、根系质量, 土壤有机碳、全氮、速效钾含量以及 pH 和 CEC 均呈显著或极显著正相关。施用生物质炭也可通过调控土壤 CEC 和 pH 等途径, 显著改变土壤细菌群落结构, 且细菌群落及其代谢功能均与植物地上部生物量和根冠比呈显著相关。LEfSe 分析结果显示, 随着生物质炭用量的增加, 土壤细菌群落差异的主要指示物种数量也随之增加, 且多数指示物种与甘蓝生长指标之间呈显著相关。另外, B0 处理中的指示物种主要以拟杆菌纲(Bacteroidia)、伪诺卡氏菌科(Pseudonocardiaceae)等细菌为主, 而在门水平上, 不同施用量生物质炭处理中的指示物种则主要隶属于酸杆菌门(Acidobacteriota)、放线菌门(Actinobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、黏细菌门(Myxococcota)、变形菌门(Proteobacteria)等细菌门下的富营养菌。其中, B10 处理中指示物种以噬几丁质菌目(Chitinophagales)、Blastocatellia 为主, 而 B40 处理中指示物种主要以 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、根瘤菌目(Rhizobiales)等细菌为主。生物质炭处理显著影响了土壤微生物氨基酸、碳水化合物及脂类的代谢功能, 其中 B10 处理显著提高了氨基酸和脂类代谢功能, 并有效降低了碳水化合物代谢功能。综上, 施用生物质炭可改善新垦耕地理化性质, 丰富细菌群落, 促进作物生长, 综合考虑施用成本和改良效果, 建议新垦耕地上生物质炭的用量为 1.0%。

关键词: 生物质炭用量; 新垦耕地; 细菌群落; 作物生长

中图分类号: S-3 **文献标志码:** A

Effects of Biochar Dosage on Soil Fertilization, Bacterial Community Structure and Function, and Crop Biomass in Newly Cultivated Land

LIU Xiaoxia¹, JIN Bingjie², ZHANG Min³, WU Dongtao⁴, NI Zhihua^{1*}

(1 Cultivated Land Quality and Fertilizer Administration Station of Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China; 2 Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen, Fujian 361020, China; 3 Laboratory of Recycling and Eco-treatment of Waste Biomass, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China; 4 Soil Fertilizer and Plant Protection and Energy Sources Station of Lishui City, Lishui, Zhejiang 323000, China)

Abstract: In this study, cabbage and the newly reclaimed field were used as the test materials, a pot experiment was conducted, in which five different biochar dosages (B0, 0%; B5, 0.5%; B10, 1.0%; B20, 2.0%; and B40, 4.0%) were setup, soil physicochemical properties and the growth of cabbage were determined, bacterial community structure and function were explored by high-throughput sequencing technology. The results showed that there were significant variations in cabbage growth

①基金项目: 橘园健康土壤培育关键技术研究与示范推广项目(2023SNJF039)、丽水市科技重点研发计划项目(2022ZDYF16)和浙江省废弃生物质循环利用与生态处理技术重点实验室开放基金项目(2021REWB01)资助。

* 通信作者(hznzh@163.com)

作信简介: 刘晓霞(1986—), 女, 山东胶州人, 博士, 高级农艺师, 主要研究方向为退化耕地治理、土壤健康培育技术推广。E-mail: 10914048@zju.edu.cn

and soil physicochemical properties under different treatments. Compared with B0, B10 significantly increased plant height, aboveground biomass and root weight, the contents of soil organic carbon, total nitrogen, available potassium, pH, and CEC, while significantly reducing the root shoot ratio. Biochar treatments (B5, B10, B20, and B40) significantly increased α diversity indices of soil bacterial communities, including Chao 1, Observed species, and Shannon, these diversity indices exhibited significant positive correlations with aboveground biomass and root weight of cabbage, the contents of soil organic carbon, total nitrogen and available potassium, pH, and CEC. Biochar significantly modified the structure of soil bacterial communities by influencing soil properties such as CEC and pH, both bacterial communities and their metabolic functions were strongly associated with aboveground biomass and the root shoot ratio. LefSe analysis indicated that the increase in biochar application promoted the number of key indicator species that contribute to the variations in soil bacterial communities, and many of these species showed significant correlations with cabbage growth metrics. The indicator species identified by were dominantly from bacterial groups such as Bacteroidia and Pseudonocardiaceae under B0, while the indicator species in biochar-treated soils were mainly copiotrophic bacteria, belonging to the phyla Acidobacteriota, Actinobacteriota, Chloroflexi, Myxococcota, and Proteobacteria. The dominant indicator species were Chitinophagales and Blastocatellia under B10, while Alphaproteobacteria, Burkholderiales, and Rhizobiales under B40. Moreover, biochar application had a significant impact on the metabolic functions of soil microorganisms in terms of amino acids, carbohydrates, and lipids. B10 significantly increased the metabolic functions of amino acids and lipids while significantly decreasing the metabolic functions of carbohydrates. In conclusion, biochar application can improve the physicochemical properties of newly reclaimed soil, enrich the bacterial community, and promote crop growth. Considering the cost of application and the amelioration effect, it is recommended to use a biochar dosage of 1.0% for the newly reclaimed fields.

Key words: Biochar dosage; Newly cultivated land; Bacterial community; Crop growth

“万物土中生，有土斯有粮”，土壤是万物之本、生命之源，是人类赖以生存和发展的物质基础，对于保障国家粮食安全、国民经济发展和社会稳定起着重要的作用^[1-2]。然而，工业化和城镇化进程的加速不断扩大对土地的需求，导致占用耕地数量急剧增加^[3]。“占补平衡”是指按照“占多少，垦多少”的原则，由占用耕地的单位负责开垦与所占用耕地的数量和质量相当的耕地，该项制度是缓解耕地短缺、守住耕地红线、保障区域经济高效可持续发展的重要举措^[4]。“十一五”以来，浙江省在“占补平衡”推进过程中，通过开垦荒山缓坡、土地整理、开发复垦等方式新增加了 300 多万亩的新垦耕地，新垦耕地面积约占全省耕地面积的 1/10^[3]。因此，做好新垦耕地的改良培育对于保障粮食综合生产能力和实现农业可持续发展意义重大。

调查发现，新垦耕地普遍存在酸碱失衡、养分瘠薄、结构不良、有机质偏低等问题^[5-6]。近年来，国内外学者聚焦新垦耕地土壤质量提升和生产能力提升开展了大量研究^[7-8]，主要通过应用商品有机肥、菌菇渣、秸秆以及黏土矿物、磷石膏、石灰石、羧甲基纤维素钠等物料改造提升新垦耕地，并取得了显著成效^[9-10]。土壤微生物参与土壤结构的形成、矿质养分的分解转化，并通过调控土壤生态系统的多功能性

影响土壤本身的抵抗力和恢复力^[11]，是提升土壤肥力及其可持续生产能力的核心与关键^[12]。然而，当前新垦耕地的改良培育技术研究主要集中在外源材料的施用对土壤结构和肥力水平的提升方面，对新垦耕地土壤微生物群落的关注较少。

生物质炭被誉为“黑色黄金”，是指由富含碳的生物质在无氧或缺氧条件下经过高温裂解生成的一种具有高度芳香化、富含碳素的多孔固体物质^[13-14]。生物质炭含有大量的营养元素，且具有丰富的孔隙结构、较大的比表面积和较多的活性基团，不仅在土壤肥力提升、结构改善方面表现突出^[15-16]，在提高生物多样性、改善群落结构方面也表现出较好的成效^[17-20]。基于此，本研究以新垦耕地土壤为研究对象，采用盆栽试验和高通量测序技术，研究生物质炭用量对新垦耕地土壤理化性状、细菌群落结构和功能及作物生长的影响，以期合理施用生物质炭、快速培肥改良新垦耕地土壤、保障新垦耕地高产稳产等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采集于浙江省丽水市龙泉兰巨乡炉田村新畚湾新垦耕地项目区(28°04'39.92"N、119°08'10.98"E)，

取样前为闲置荒坡。土壤取样深度为 0 ~ 20 cm, 多点采集后将土壤混匀、风干, 去除杂草根系, 风干过 5 mm 筛备用。土壤基本理化性质: 有机碳 6.9 g/kg, 全氮 0.48 g/kg, 有效磷 19.11 mg/kg, 速效钾 144 mg/kg, 水溶性盐 1.3 g/kg, pH 5.62。供试作物为甘蓝, 品种为浙甘 70。供试生物质炭为玉米秸秆炭, 在马弗炉 500 °C 厌氧热解条件下产生, 基本理化性质: 全碳 519.7 g/kg, 全氮 12.2 g/kg, 全磷 7.2 g/kg, 全钾 32.2 g/kg, pH 10.14, 灰分 135.7 g/kg。

1.2 试验设计

试验于 2023 年 4 月 14 日至 6 月 5 日在浙江科技学院试验基地进行。采用盆栽试验, 按照添加生物质炭的质量分数设置 5 个生物质炭用量水平: 0(B0, 对照)、0.5%(B5)、1.0%(B10)、2.0%(B20)和 4.0%(B40), 各处理重复 3 次, 随机排列。试验用盆规格为高 20 cm、上口直径 30 cm、下口直径 25 cm, 每盆装土 15 kg, 栽种甘蓝 3 株, 土壤容重 1.16 g/cm³。按照甘蓝常规产量约 45 000 kg/hm², 确定每公斤土壤 N、P₂O₅ 和 K₂O 用量分别为 0.97、0.39 和 0.58 g。供试化肥为尿素(N, 460 g/kg)、钙镁磷肥(P₂O₅, 150 g/kg)和氯化钾(K₂O, 600 g/kg), 全部作基肥并与生物质炭一次性混匀装盆。田间管理方式按照当地甘蓝常规生产技术标准统一执行。

1.3 植株生长和土壤理化指标测定

甘蓝采收时, 使用卷尺测量甘蓝株高, 电子天平称量电子天平地上部和根系鲜重。甘蓝采收后采集土样, 各处理采集 4 ~ 6 个土壤样品混匀, 去除杂质, 风干磨细过筛后用于土壤肥力参数的测定。其中, 土壤 pH 采用电位计法测定, 有机碳(SOC)含量采用重铬酸钾容量法测定, 全氮(TN)含量采用凯氏定氮法测定, 有效磷(AP)含量采用钼锑抗比色法测定, 速效钾(AK)含量采用火焰光度计法测定, 土壤阳离子交换量(CEC)采用 NH₄OAc 交换-蒸馏法测定, 具体方法参考文献[21]。

1.4 土壤 DNA 提取和高通量测序

采用 PowerSoil DNA 提取试剂盒 (MoBioLaboratories Inc., Carlsbad, CA, USA)提取土壤 DNA。利用 NanoDrop ND-1000(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)测定 DNA 浓度。采用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAC-3')和 519R(5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3')扩增 16S rRNA 基因的 V3 ~ V4 区, 引物的 5'端加上 barcode 以区别不同样品。PCR 扩增反应采用 50 μL×2 体系, 包括: 1 μL 模板 DNA、1 μL 10 mmol/L 上游

和下游引物、25 μL TaKaRa Ex Taq DNA 聚合酶(2×)以及 22 μL 灭菌后的超纯水。PCR 扩增程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 40 s, 持续 25 个循环; 72 °C 最终延伸 7 min, 降温至 4 °C。采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。获得的 PCR 扩增产物用 Universal DNA Purification Kit (TIANGEN, 中国)进一步进行纯化回收, 利用高通量测序仪 Illumina MiSeq 对 16S rRNA 基因进行测序(深圳微科盟科技集团有限公司)。

基因测序原始序列利用 Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME2) 软件和 DADA2 插件评估序列质量、裁剪引物、降噪并去除嵌合体。质控后的序列于 Sliva 数据库进行物种注释, 生成扩增子序列 ASV 表格。利用 Phylogenetic Investigation of Communities by Unobserved States (PICRUST2)^[22], 通过 16S rRNA 基因测序数据预测微生物代谢功能, 使用 KEGG 数据库进行功能注释。

1.5 数据处理与统计分析

采用 DPS 2000 软件进行方差分析(ANOVA), 处理间差异采用 Duncan's 新复极差法进行检验 ($P < 0.05$), 采用 Origin 8.5 软件进行制图。利用 R 4.1.3 软件的 vegan 包对抽平后的测序数据进行 α 多样性指数计算。利用生科云平台 (<https://www.bioincloud.tech>)进行 LEfSe 分析。通过 vegan 包进行 Adonis 和 Anosim 分析, 并计算 Bray-Curtis 距离, 进行细菌群落结构主坐标分析(PcoA)。采用 Canoco 5.0 软件进行冗余分析(RDA)。利用 R 软件中的 linkET、ggcor、ggplot2、dplyr 包进行植物指标相关性及其与细菌群落和代谢功能间的 Mantel 分析并绘图。利用 R 软件中的 pheatmap、psych 以及 stringr 包进行指示物种与植物指标间的相关性分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 生物质炭用量对甘蓝生长的影响

与 B0 对照处理相比, 0.5% 生物质炭用量(B5)对甘蓝地上部生物量、根系质量及根冠比影响不大; 增加生物质炭用量至 1.0%(B10)有效提高了甘蓝地上部生物量、根系质量, 并显著降低了根冠比; 继续增加生物质炭用量至 2.0%(B20)和 4.0%(B40), 甘蓝地上部生物量、根系质量及根冠比变化不大(表 1)。此外, 生物质炭的施用显著提高了甘蓝株高, 其中 B5、B10、B20 和 B40 处理甘蓝株高分别较 B0 处理提高 34.51%、32.26%、16.04% 和 18.73%, 但不同生物质炭用量间甘蓝株高无显著差异。

表 1 生物质炭用量对甘蓝生长的影响
Table 1 Effect of biochar dosage on cabbage growth

处理	株高(cm)	地上部生物量(g/株)	根系质量(g/株)	根冠比
B0	22.60 ± 1.92 b	106.03 ± 3.18 b	3.58 ± 0.19 b	0.034 ± 0.003 a
B5	30.40 ± 2.79 a	124.69 ± 14.93 b	3.73 ± 0.14 b	0.030 ± 0.003 ab
B10	31.80 ± 2.90 a	186.63 ± 19.24 a	4.52 ± 0.28 a	0.024 ± 0.003 c
B20	27.70 ± 2.11 a	159.45 ± 27.47 a	4.49 ± 0.44 a	0.027 ± 0.001 bc
B40	27.80 ± 2.78 a	175.96 ± 21.63 a	4.46 ± 0.43 a	0.026 ± 0.003 bc

注：同列数据后小写字母不同表示不同处理间差异达 $P<0.05$ 显著水平，下同。

2.2 生物质炭用量对新垦耕地土壤肥力参数的影响

土壤养分是土壤的本质属性,其含量的高低直接影响作物产量和品质^[23]。由表 2 可见,施用生物质炭提高了土壤有机碳、全氮、速效钾含量以及土壤 pH 和 CEC,但不影响土壤有效磷含量水平。不同生物质炭用量的土壤理化性状不同,B5 处理显著提高了土壤 pH 和 CEC,但土壤有机碳、全氮和速效含量

与 B0 处理无显著差异;B10 处理土壤有机碳、全氮和速效钾含量及土壤 pH 和 CEC 均显著提高,其中土壤有机碳、全氮、速效钾含量和 CEC 分别较 B0 处理提高 52.93%、20.33%、95.03% 和 38.19%,土壤 pH 较 B0 处理提高 0.61 个单位;继续提高生物质炭用量,B20 和 B40 处理土壤有机碳、速效钾含量和 pH 进一步提高,但土壤全氮含量和 CEC 变化不大。

表 2 生物质炭用量对土壤肥力参数的影响
Table 2 Effects of biochar dosages on soil physicochemical properties

处理	有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	有效磷(g/kg)	速效钾(g/kg)	pH	CEC(cmol/kg)
B0	9.37 ± 0.52 d	0.59 ± 0.02 c	41.33 ± 2.97 a	45.30 ± 3.83 d	5.65 ± 0.07 d	4.32 ± 0.78 b
B5	11.17 ± 1.13 d	0.64 ± 0.02 bc	41.11 ± 4.61 a	58.50 ± 6.60 cd	6.14 ± 0.19 c	6.03 ± 0.23 a
B10	14.32 ± 0.69 c	0.71 ± 0.05 ab	38.96 ± 1.91 a	88.35 ± 6.85 c	6.26 ± 0.03 c	5.97 ± 0.34 a
B20	22.81 ± 2.27 b	0.78 ± 0.04 a	45.41 ± 5.69 a	129.20 ± 18.00 b	6.59 ± 0.22 b	6.33 ± 0.69 a
B40	26.62 ± 2.40 a	0.76 ± 0.07 a	38.50 ± 1.82 a	252.40 ± 44.10 a	7.17 ± 0.14 a	6.53 ± 0.16 a

2.3 生物质炭用量对新垦耕地土壤细菌多样性的影响

为明确生物质炭用量对新垦耕地土壤细菌群落多样性的影响,对土壤细菌群落 α 多样性进行分析,结果(表 3)表明,相较于 B0 对照,B5 处理显著提高了 Chao 1、Observed species 和 Shannon 指数,而 B10 处理还在此基础上提高了 Faith's PD 指数,即 Chao 1、

Faith's PD、Observed species 和 Shannon 指数分别较 B0 处理提高 31.66%、15.65%、30.69% 和 14.00%。继续增加生物质炭用量,B20 和 B40 处理的 Chao 1、Faith's PD、Observed species 和 Shannon 指数基本不变。此外,不同处理土壤细菌获得质控后序列数为 82 420 ~ 86 185 条,且处理间 Simpson 指数无显著差异,主要集中在 0.987 2 ~ 0.997 8。

表 3 生物质炭用量对土壤细菌群落 α 多样性指数的影响
Table 3 Effects of biochar dosage on α diversity indices of soil bacterial community

处理	序列数	Chao 1	Faith's PD	Observed species	Shannon	Simpson
B0	84 910 ± 3730 a	1 626.14 ± 199.48 c	113.26 ± 9.38 b	1 619 ± 198 c	8.64 ± 0.71 b	0.987 2 ± 0.014 7 a
B5	82 420 ± 5393 a	1 946.14 ± 170.34 b	122.73 ± 7.28 ab	1 924 ± 173 b	9.44 ± 0.29 a	0.992 5 ± 0.002 9 a
B10	84 570 ± 848 a	2 141.04 ± 34.52 ab	130.99 ± 4.90 a	2 116 ± 38 ab	9.85 ± 0.15 a	0.996 9 ± 0.001 2 a
B20	84 943 ± 5899 a	2 165.72 ± 5.00 ab	131.76 ± 5.17 a	2 150 ± 6 ab	9.96 ± 0.15 a	0.997 8 ± 0.000 7 a
B40	86 185 ± 2019 a	2 300.24 ± 137.96 a	134.41 ± 9.61 a	2 285 ± 143 a	10.07 ± 0.26 a	0.997 6 ± 0.001 3 a

2.4 细菌群落组成及其驱动因子

如图 1 所示,Adonis 和 Anosim 分析结果表明,土壤细菌群落在不同生物质炭处理间具有显著差异。

PCoA 分析结果表明,PCoA1 和 PCoA2 分别解释了土壤细菌群落变异的 29.65% 和 13.54%。生物质炭处理(B5、B10、B20 和 B40)与 B0 处理之间距离较远,

表明生物质炭的施用显著改变了土壤细菌群落结构。B5 与 B10 处理距离接近, 与 B20、B40 处理距离逐渐拉大, 表明细菌群落结构随着生物质炭用量的增加显著改变。

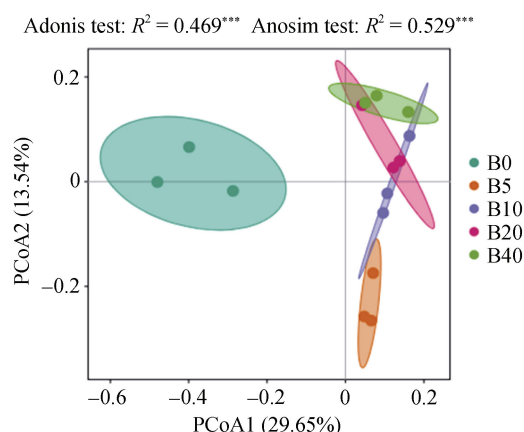


图 1 生物质炭处理土壤细菌群落结构差异分析

Fig. 1 Difference analysis of soil bacterial community structures treated by biochar

如图 2 所示, LEfSe 分析可筛选出每个生物质炭处理下对群落差异贡献最高的指示物种(LDA>3.0), 能够直观反映样本中对群落变化具有显著影响的细菌类群。结合图 2 和图 3 可知, B0 处理共筛选出指示物种 18 个, 而随着生物质炭施用量的增加, B5、B10、B20、B40 处理中指示物种数量呈逐渐上升趋势, 分别为 8、13、27、42 个。

如图 3 所示, 根据不同指示物种的 LDA 值分布

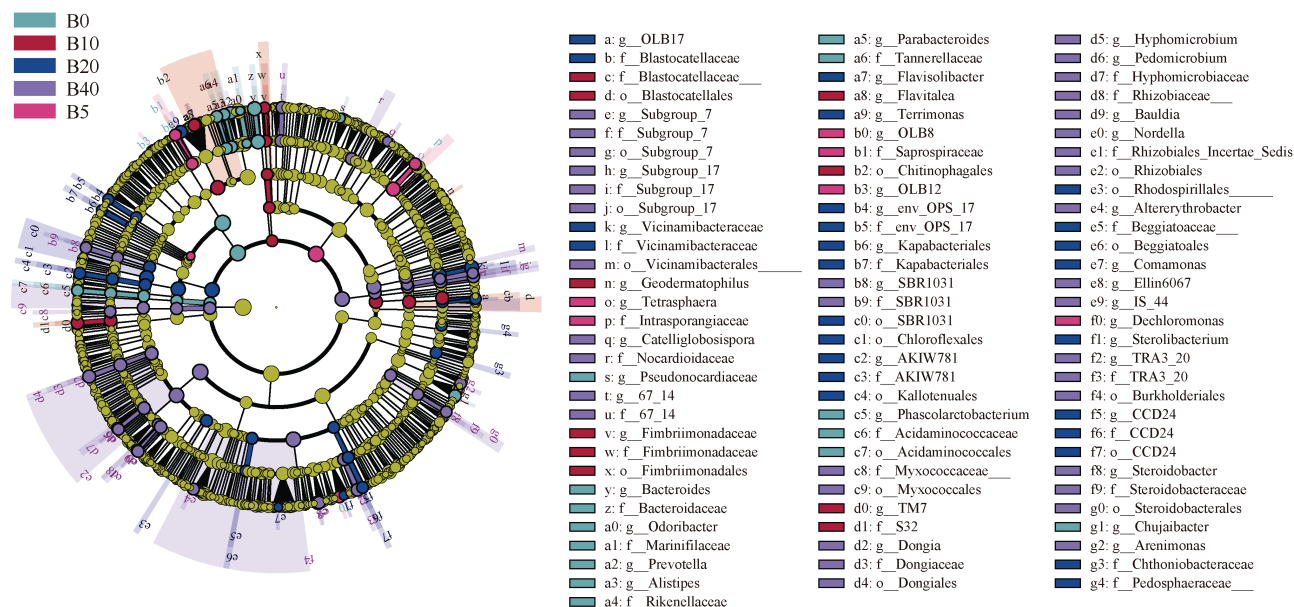


图 2 不同处理中细菌群落的 LEfSe 分析(LDA>3.0)

Fig. 2 LEfSe analysis of bacterial communities under different treatments (LDA>3.0)

可知, B0 处理下的指示物种主要隶属于拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)两种菌门, 并主要以拟杆菌纲(Bacteroidia)、伪诺卡氏菌科(Pseudonocardiaceae)等菌群为主。随着生物质炭施用量的增加, 不同处理的指示物种则主要隶属于酸杆菌门(Acidobacteriota)、放线菌门(Actinobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、黏细菌门(Myxococcota)、变形菌门(Proteobacteria)等细菌门, 其中 B40 处理指示物种主要以 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、根瘤菌目(Rhizobiales)等菌类为主。

根据 RDA 结果, 除有效磷外, 土壤 pH、CEC、全氮、有效钾以及有机碳含量可显著驱动土壤细菌群落变化, 且这些环境因子的升高均可正向调控施用生物质炭处理土壤中的细菌群落(图 4A)。其中, 土壤 CEC 和 pH 是驱动土壤细菌群落变化最主要的两个环境因子($R^2>0.75$, 图 4B)。

2.5 土壤细菌群落代谢功能预测

根据 ASV 信息与 KEGG 数据库的 ASV 比较和注释, 本研究获得了在 KEGG L1 水平上的 6 类主要代谢传递途径(图 5), 不同处理中代谢传递途径的相对丰度为: 新陈代谢(Metabolism)>遗传信息处理(Genetic information processing)>细胞过程(Cellular processes)>人类疾病(Human diseases)>有机系统(Organismal systems)>环境信息处理(Environmental information processing)。

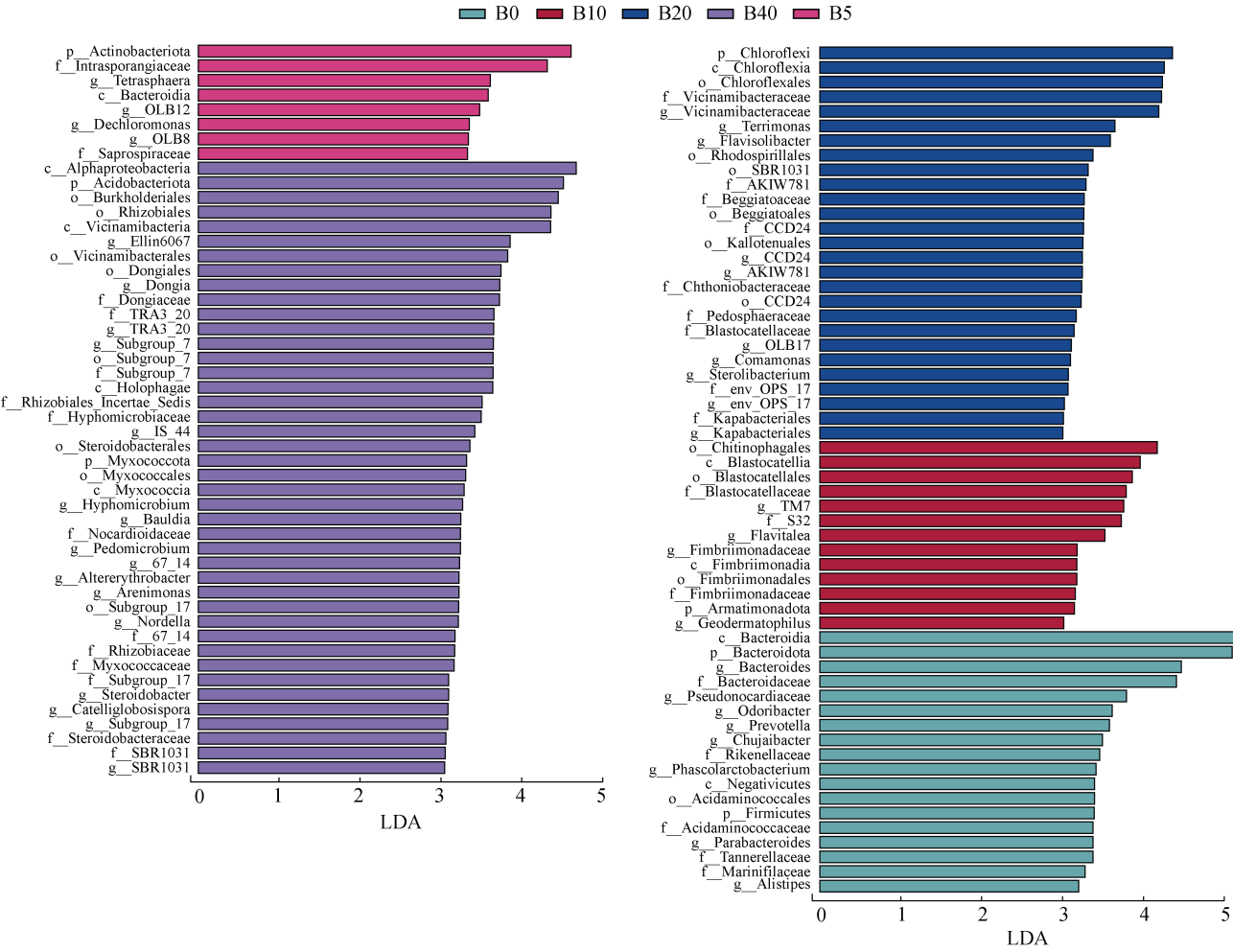
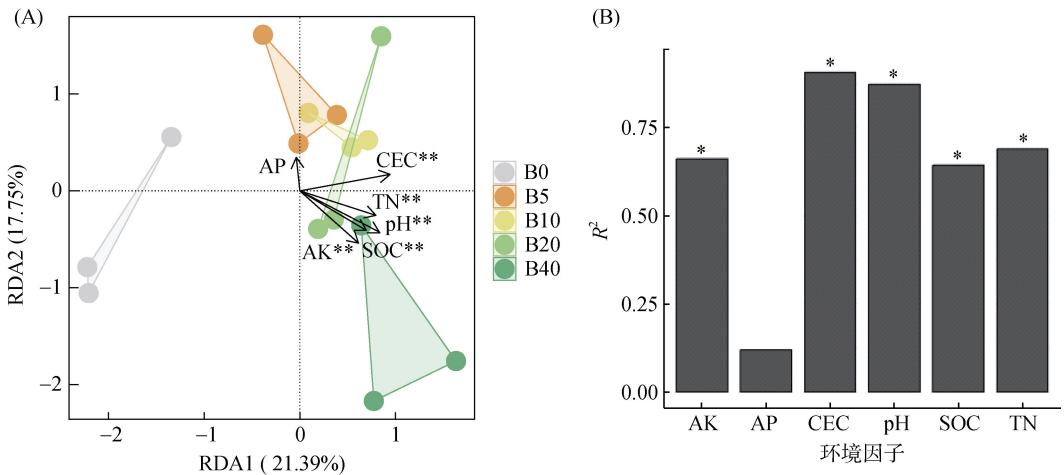


图 3 不同处理中细菌群落指示物种 LDA 值 (LDA>3.0)

Fig. 3 LDA values of bacterial biomarkers under different treatments (LDA>3.0)



(图中*、**表示该环境因子在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 水平具有显著影响)

图 4 施用生物质炭土壤细菌群落结构的 RDA 分析(A)以及各个驱动因子的 R^2 (B)

Fig. 4 RDA analysis (A) of soil bacterial community structures treated by biochar and R^2 (B) of each driving factor

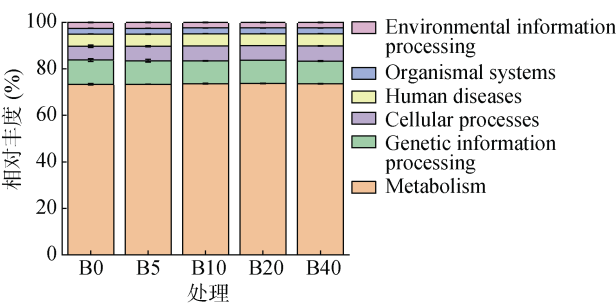


图 5 不同处理土壤中细菌群落主要代谢途径在 KEGG L1 水平上的分布

Fig. 5 Distribution of major metabolic pathways of bacterial communities at KEGG L1 level in different treated soils

如表 5 所示,本研究针对 L1 水平上丰度最高的新陈代谢(Metabolism)功能类别开展进一步分析,发现在 L2 水平下,该功能类别中氨基酸代谢、维生素代谢、碳水化合物代谢、其他氨基酸代谢、脂类代谢、

其他次生代谢等代谢途径的相对丰度均大于 5%,是新垦耕地土壤细菌的主要子功能。生物质炭处理显著影响了氨基酸代谢、碳水化合物代谢、其他氨基酸代谢、脂类代谢和 KEGG 代谢通路中的全局和总览图谱,其中 B10 处理氨基酸代谢和脂类代谢代谢显著高于 B10 处理,而碳水化合物代谢和其他氨基酸代谢显著低于 B10 处理。

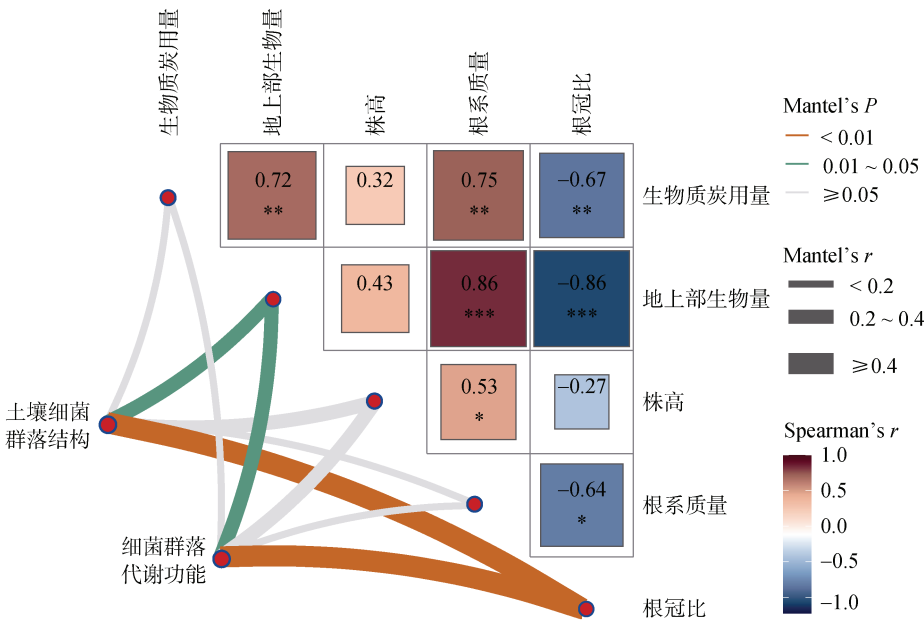
2.6 细菌群落变化与甘蓝生长间的潜在联系

如图 6 所示,生物质炭施用量与甘蓝地上部生物量、根系质量呈显著正相关,而与根冠比则呈显著负相关。此外, Mantel 分析结果进一步表明,土壤细菌群落及其相应的代谢功能均与甘蓝地上部生物量和根冠比显著相关,其中与根冠比相关性达到极显著相关水平($P<0.01$),然而土壤细菌群落则与株高和根系质量无显著相关性。

表 5 生物质炭用量对土壤细菌群落 Metabolism 功能类别下 KEGG L2 水平上多种主要代谢途径丰度的影响

Table 5 Effects of biochar dosage on the abundance of multiple major metabolic pathways at the KEGG L2 level in the Metabolism functional class of soil bacterial communities

处理	氨基酸代谢	维生素代谢	碳水化合物代谢	其他氨基酸代谢	脂类代谢	其他次生代谢	KEGG 代谢通路的全局和总览图谱
B0	10.54 ± 0.52 b	9.47 ± 0.11 a	10.01 ± 0.51 a	7.19 ± 0.42 a	5.85 ± 0.21 b	5.77 ± 0.16 a	5.49 ± 0.14 b
B5	10.91 ± 0.07 ab	9.50 ± 0.17 a	9.71 ± 0.19 ab	6.95 ± 0.13 ab	6.06 ± 0.04 ab	5.81 ± 0.06 a	5.63 ± 0.04 a
B10	11.23 ± 0.08 a	9.61 ± 0.04 a	9.07 ± 0.09 bc	6.72 ± 0.06 b	6.14 ± 0.04 a	6.00 ± 0.04 a	5.67 ± 0.03 a
B20	11.13 ± 0.07 a	9.52 ± 0.08 a	9.18 ± 0.13 c	6.80 ± 0.02 b	6.22 ± 0.14 a	5.88 ± 0.07 a	5.64 ± 0.02 a
B40	11.14 ± 0.05 a	9.65 ± 0.04 a	9.24 ± 0.18 c	6.79 ± 0.07 b	6.12 ± 0.09 a	6.01 ± 0.14 a	5.69 ± 0.02 a



(*、**、***分别表示相关性在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$ 水平显著;下同)

图 6 不同植物指标间相关性及其与土壤细菌群落和代谢功能间的 Mantel 分析

Fig. 6 Correlations between different plant indices and their Mantel analysis with soil bacterial communities and metabolic functions

利用 Spearman 相关性进一步分析不同处理中指示物种与甘蓝生长指标间的相关性(图 7), 发现在 B0 处理的 18 指示物种中, 仅有 7 个指示物种与甘蓝生长指标呈显著相关; 而在施用生物质炭处理中,

除 B20 处理下 27 个指示物种中有 16 个与植物生长指标显著相关以外, 其他生物质炭处理中的绝大多数细菌指示物种均与至少 1 种甘蓝生长指标呈显著相关。

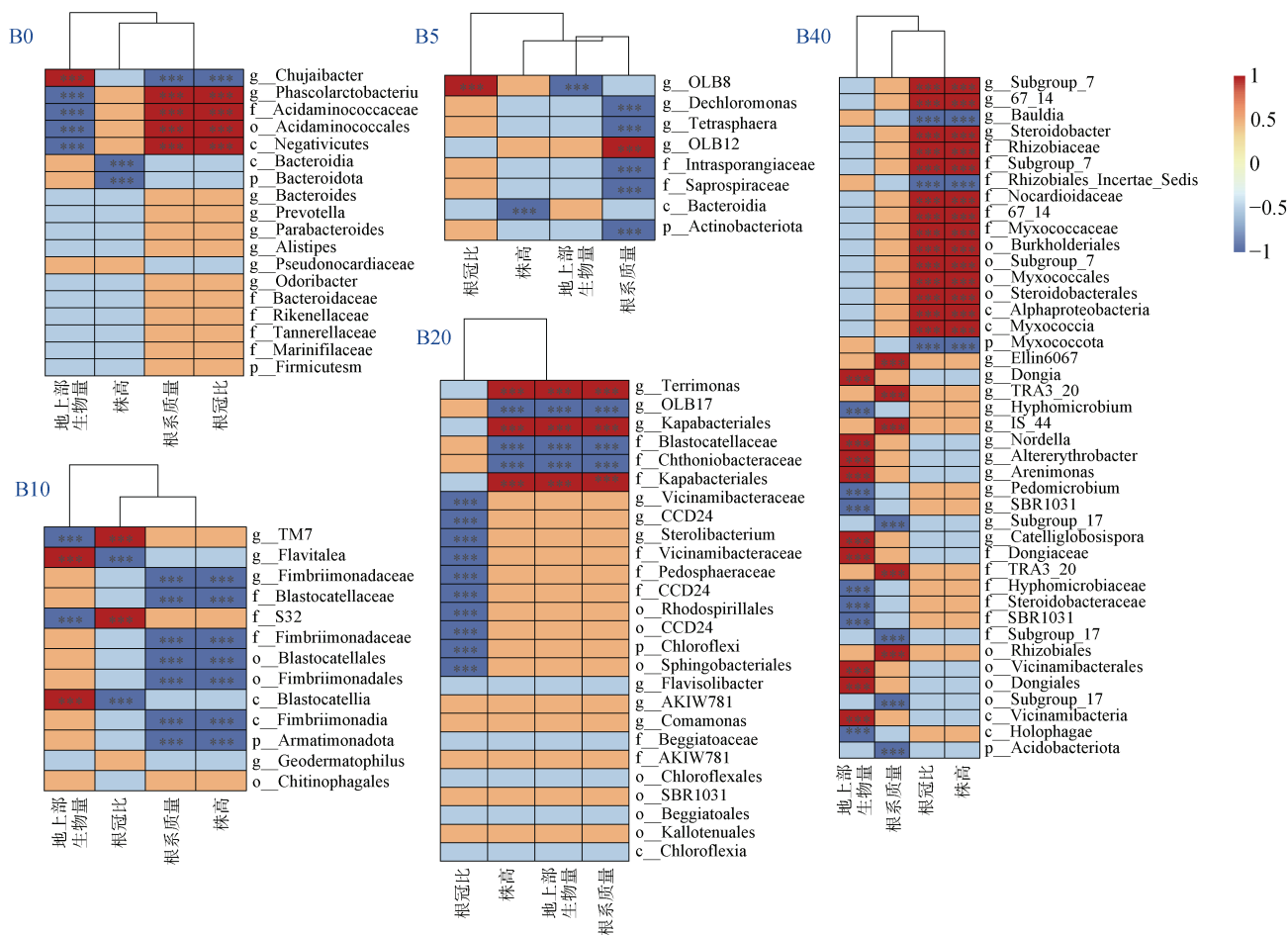


图 7 不同处理中细菌指示物种与植物指标间的 Spearman 相关性分析

Fig. 7 Spearman correlation analysis between bacterial biomarkers and plant indices under different treatments

3 讨论

3.1 生物质炭对新垦耕地土壤肥力参数的影响

生物质炭被誉为“黑色黄金”, 通常呈碱性, 有较大的表面积、发达的孔隙结构和较强的吸附能力, 在提高土壤肥力、改善土壤结构方面表现优异, 近年来被广泛应用于退化耕地的改良培肥^[24]。前人研究发现, 施用生物质炭的土壤有机质、全氮、有效磷、速效钾、碱解氮等养分含量以及土壤 pH 和 CEC 均显著提升^[25-26]。本研究证实, 生物质炭的施用提高了土壤养分含量, 且土壤有机碳、全氮和速效钾含量随着生物质炭用量的增加而提高, 当生物质炭用量 $\geq 1.0\%$ 时, 土壤有机碳、全氮和速效钾等养分含量显著高于对照。一方面是因为生物质炭的灰分中富含大量的矿质元素, 其中全氮、全磷和全钾的含量分别为 12.2、

7.2 和 32.2 g/kg, 生物质炭用量增加自然会提高土壤养分含量水平; 另一方面, 本研究同样发现, 施用生物质炭可显著提高土壤 CEC, 这可能是由于生物质炭具有疏松多孔的结构和较强的吸附能力, 且其表面拥有丰富的阴离子芳香族碳的氧化和羧基官能团, 不仅可吸附固定大量土壤氮磷有效养分, 也可显著提高土壤 CEC 值, 从而显著降低土壤养分的淋溶损失^[27]。本研究还发现, 生物质炭的施用提高了土壤 pH, 这与前人的研究结果基本一致^[25, 28], 主要是因为本研究施用的生物质炭 pH 为 10.14, 本身呈碱性, 其疏松多孔的表面结构富含丰富的碳酸盐和碱基官能团, 因此随着生物质炭施用量的增加土壤 pH 显著升高。可见, 施用生物质炭是快速提高新垦耕地土壤肥力水平、改善土壤保水保肥能力的有效措施, 从而有助于植物生长。

3.2 生物质炭对新垦耕地土壤细菌群落的影响

细菌群落是土壤生态系统最重要的组成部分,其具有多样性高、生物量大、代谢速率快等特点,是土壤养分生物地球化学循环的关键驱动者和重要载体,并显著影响农作物产量和品质^[29-30]。本研究发现,施用生物质炭显著提高了土壤细菌群落多样性,这可能是由于生物质炭为土壤细菌群落提供充足且种类更为多样的养分,从而刺激了土壤中不同类型细菌的大量增殖,这也与前人的研究结果相吻合^[31-32]。此外,LEfSe 分析结果进一步发现,随着生物质炭施用量的增加,土壤中对细菌群落差异贡献最高的指示物种数量也随之增加,进一步证明施用生物质炭可促使土壤中更多的细菌类群大量增殖,进而显著影响土壤养分代谢潜力以及甘蓝的生长发育。

PCoA 分析以及 Adonis、Anosim 分析结果共同表明,施用生物质炭可显著改变土壤细菌群落结构,且不同生物质炭施用量间的差异同样显著。有研究证明,土壤 pH 是驱动土壤微生物群落变化最关键的环境因素之一^[19]。本研究利用 RDA 分析证明,生物质炭诱导的土壤 pH 升高同样是新垦耕地土壤细菌群落变化最关键的驱动因子,这与前人的研究结果相吻合^[32-33]。此外,生物质炭通常具有较强的吸附性能和良好的多孔结构,从而能够显著增强土壤阳离子交换能力,这也进一步解释了 LEfSe 分析中指示物种数量随着生物质炭施用量增加而递增的结果。且本研究发现,在高量施用生物质炭处理中, α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、根瘤菌目(Rhizobiales)、噬几丁质菌目(Chitinophagales)等典型的富营养菌群丰度显著增加,表明施用生物质炭可通过塑造富营养的土壤环境为部分细菌类群提供良好的栖息环境,显著改变土壤微生物多样性和群落结构,进而改善土壤细菌群落的代谢能力^[34-35]。以上结果表明,施用生物质炭可通过提供更丰富的养分、提高土壤 pH 和保肥能力等方式促使新垦耕地中富集更多的有益菌群,从而有助于加快土壤养分周转效率,进而促进甘蓝生长。

3.3 生物质炭对新垦耕地土壤微生物功能的影响

为进一步阐明不同生物质炭施用量对土壤细菌群落功能的影响,本研究利用 PICRUST 2 功能预测软件分析,发现不同处理下微生物群落结构的变化可显著影响其代谢功能。土壤细菌群落部分代谢功能在施用生物质炭的新垦耕地土壤中显著升高,例如, B10 处理可显著提高氨基酸代谢和脂类代谢等代谢功能,并显著降低碳水化合物代谢和其他氨基酸代谢等代

谢功能。可见,施用生物质炭不仅可调控土壤细菌群落结构,同时也能增强细菌群落的部分关键代谢功能,从而有助于促进生物质炭中养分的快速释放和甘蓝生长。

3.4 生物质炭对甘蓝生长的影响

本研究进一步发现,施用生物质炭可提高土壤养分含量以及改善土壤细菌群落结构及其代谢功能等方式影响甘蓝的生长发育。当生物质炭施用量增加至 1.0%、2.0% 和 4.0% 时,甘蓝地上部和根系生物量显著提高,这可能是由于施用生物质炭增加了新垦耕地土壤养分含量并改善土壤环境导致的,与以往针对小麦、葡萄、白菜、烟草等其他农作物的研究结果类似^[36-37]。其中,生物质炭施用量为 1.0% 的处理甘蓝地上部生物量达到最高,且其根冠比同样显著低于其他处理。这一结果表明,适量施用生物质炭在促进甘蓝根系生长发育的同时,也可有效协调地上部和地下的生物量比例,促使更多生物质炭中的养分转移至地上部,从而显著提高甘蓝产量。本研究还进一步发现,甘蓝地上部生物量和根冠比与土壤细菌群落结构及其代谢功能变化显著相关,且施用生物质炭可促使土壤中绝大多数细菌指示物种丰度与甘蓝生长指标间呈显著相关,表明适量施用生物质炭可促使土壤中更多功能菌群与植物根系之间形成良好的互惠关系,从而显著促进土壤养分活化并提高养分利用率。此外,本研究还发现,高量施用生物质炭可促使土壤中更多的指示物种与甘蓝根冠比呈显著正相关,这表明高量施用生物质炭虽然能够富集更多的富营养菌群,但同时较高的土壤碳氮比也加剧了土壤细菌群落与根系对土壤养分的竞争关系^[38-39],进而导致甘蓝吸收的养分被更多的分配在根部,降低了甘蓝地上部生物量。

4 结论

适量施用生物质炭可通过提供充足的养分,改善土壤环境和保肥能力,以及调控土壤有益菌群丰度、生态功能及其多样性等多种途径,显著改善新垦耕地土壤理化性状和土壤生物肥力。其中,施用 1.0% 水平的生物质炭不仅能够显著提升新垦耕地土壤的有机碳、全氮、速效钾含量以及土壤 pH 和 CEC,甘蓝地上部产量最高,且根冠比达到最低,表明 1.0% 是最有助于甘蓝生长的生物质炭施用量。

参考文献:

- [1] 李玉浩,王红叶,张骏达,等. 华南区稻田耕地质量空间分布与产能提升潜力[J]. 中国生态农业学报(中英文),

- 2023, 31(10): 1613–1625.
- [2] Song W, Pijanowski B C. The effects of China's cultivated land balance program on potential land productivity at a national scale[J]. *Applied Geography*, 2014, 46: 158–170.
- [3] 陈惠英, 王峰, 王强, 等. 新垦耕地土壤肥力提升路径探析——以浙江省为例[J]. *中国农学通报*, 2023, 39(18): 75–80.
- [4] 耿丽娟, 黄宏胜, 何亚芬. 中国耕地占补平衡制度的演变与展望[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(7): 231–235.
- [5] 沈建国, 王忠, 李丹, 等. 余杭区新垦红壤耕地肥力特征及地力评价[J]. *土壤通报*, 2018, 49(1): 55–60.
- [6] 郑铭洁, 姜铭北, 章明奎, 等. 浙江省新垦耕地土壤熟化指标研究[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(10): 1834–1840.
- [7] 吕晓茜, 章明奎, 严建立. 黏土矿物改良剂对新垦砂壤质耕地土壤有机碳积累的影响[J]. *农学学报*, 2021, 11(12): 48–52.
- [8] Han J Q, Dong Y Y, Zhang M. Chemical fertilizer reduction with organic fertilizer effectively improve soil fertility and microbial community from newly cultivated land in the Loess Plateau of China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 165: 103966.
- [9] 严建立, 章明奎, 王道泽. 磷石膏与石灰石粉配施对新垦红壤耕地的改良效果[J]. *农学学报*, 2022, 12(7): 33–37.
- [10] 丁志峰, 陈宇航, 徐秋桐, 等. 组合调理剂对南方低丘新垦耕地肥力质量提升效果研究[J]. *江西农业大学学报*, 2023, 45(4): 994–1005.
- [11] Philippot L, Chenu C, Kappler A, et al. The interplay between microbial communities and soil properties[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2024, 22(4): 226–239.
- [12] 向春雨, 罗栋源, 郭莉, 等. 植物-微生物联合修复化学退化土壤研究进展[J]. *土壤通报*, 2024, 55(1): 288–300.
- [13] Xie Y Q, Wang L, Li H L, et al. A critical review on production, modification and utilization of biochar[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2022, 161: 105405.
- [14] Qian K Z, Kumar A, Zhang H L, et al. Recent advances in utilization of biochar[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 42: 1055–1064.
- [15] Hossain M Z, Bahar M M, Sarkar B, et al. Biochar and its importance on nutrient dynamics in soil and plant[J]. *Biochar*, 2020, 2(4): 379–420.
- [16] Nguyen T T N, Xu C Y, Tahmasbian I, et al. Effects of biochar on soil available inorganic nitrogen: A review and meta-analysis[J]. *Geoderma*, 2017, 288: 79–96.
- [17] 虞铁俊, 徐青山, 张均华, 等. 土壤培肥技术对土壤健康的影响途径与作用机制[J]. *中国土壤与肥料*, 2024(2): 220–227.
- [18] 冯今萍, 周际海, 魏倩, 等. 花生壳及其生物炭施用对旱地红壤微生物活性及红薯产量的影响[J]. *土壤通报*, 2023, 54(2): 392–399.
- [19] 李富, 王雪力, 张武, 等. 生物炭添加对三江平原白浆土玉米农田细菌群落的影响[J]. *土壤通报*, 2024, 55(3): 758–768.
- [20] 谢祖彬, 刘琦, 许燕萍, 等. 生物炭研究进展及其研究方向[J]. *土壤*, 2011, 43(6): 857–861.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [22] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6): 685–688.
- [23] 张学林, 徐钧, 安婷婷, 等. 不同氮肥水平下玉米根际土壤特性与产量的关系[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(14): 2687–2699.
- [24] 傅志强, 刘祯, 马春花, 等. 生物炭及炭基肥对土壤质量与植物生长的影响[J]. *浙江农业学报*, 2024, 36(7): 1634–1645.
- [25] 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.
- [26] 陈明婉, 金鑫, 李晨, 等. 施用生物炭对燥红土基本理化性质及酶活性的影响[J]. *土壤通报*, 2022, 53(4): 919–930.
- [27] 康日峰, 张乃明, 史静, 等. 生物炭基肥料对小麦生长、养分吸收及土壤肥力的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2014(6): 33–38.
- [28] 刘冲, 刘晓文, 吴文成, 等. 生物炭及炭基肥对油菜生长及吸收重金属的影响[J]. *中国环境科学*, 2016, 36(10): 3064–3070.
- [29] 褚海燕, 冯毛毛, 柳旭, 等. 土壤微生物生物地理学: 国内进展与国际前沿[J]. *土壤学报*, 2020, 57(3): 515–529.
- [30] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 等. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. *土壤学报*, 2017, 54(3): 735–748.
- [31] 谭春玲, 刘洋, 黄雪刚, 等. 生物炭对土壤微生物代谢活动的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2022, 30(3): 333–342.
- [32] Xiang Y Z, Liu Y, Niazi N K, et al. Biochar addition increased soil bacterial diversity and richness: Large-scale evidence of field experiments[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 893: 164961.
- [33] Singh H, Northup B K, Rice C W, et al. Biochar applications influence soil physical and chemical properties, microbial diversity, and crop productivity: A meta-analysis[J]. *Biochar*, 2022, 4(1): 8.
- [34] Li X, Romanyà J, Li N, et al. Biochar fertilization effects on soil bacterial community and soil phosphorus forms depends on the application rate[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 843: 157022.
- [35] Liao H K, Zheng C L, Long J, et al. Effects of biochar amendment on tomato rhizosphere bacterial communities and their utilization of plant-derived carbon in a calcareous soil[J]. *Geoderma*, 2021, 396: 115082.
- [36] 许跃奇, 赵铭钦, 尤方芳, 等. 生物炭与常规施肥对烟草生长及镉污染吸收的影响[J]. *土壤*, 2016, 48(3): 510–515.
- [37] 惠超, 杨卫君, 宋世龙, 等. 生物炭施用对麦田土壤团聚体机械稳定性及春小麦产量的影响[J]. *土壤通报*, 2022, 53(2): 349–355.
- [38] Wang D, Lan Y, Chen W F, et al. Response of bacterial communities, enzyme activities and dynamic changes of soil organic nitrogen fractions to six-year different application levels of biochar retention in Northeast China[J]. *Soil and Tillage Research*, 2024, 240: 106097.
- [39] Yao Q, Liu J J, Yu Z H, et al. Changes of bacterial community compositions after three years of biochar application in a black soil of NorthEast China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 113: 11–21.