

DOI: 10.5846/stxb201811152473

胡华英,殷丹阳,曹升,张虹,周垂帆,何宗明.生物炭对杉木人工林土壤养分、酶活性及细菌性质的影响.生态学报,2019,39(11): - .

Hu H Y, Yin D Y, Cao S, Zhang H, Zhou C F, He Z M. Effects of biochar on soil nutrient, enzyme activity, and bacterial properties of Chinese fir plantation. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(11): - .

生物炭对杉木人工林土壤养分、酶活性及细菌性质的影响

胡华英^{1,2}, 殷丹阳^{1,2}, 曹 升^{1,2}, 张 虹^{1,2}, 周垂帆^{1,2,*}, 何宗明^{1,2}

1 福建农林大学林学院, 福州 350002

2 国家林业和草原局杉木工程研究中心, 福州 350002

摘要: 为了探究添加生物炭对南方红壤人工杉木林土壤养分含量、酶活性及细菌丰度和群落结构及多样性的影响, 分析三者之间的作用机制, 本文基于高通量测序技术, 通过添加不同生物炭对人工杉木林土壤环境中细菌群落进行培养和测定, 同时挑选与土壤 C、N 循环相关的四种酶, 分析四种酶与土壤养分含量及土壤细菌相对丰度的关系。结果表明: 添加生物炭总体使得土壤 pH 值, 全磷、有效磷、速效钾等含量有所提高, 同时促进土壤- α -葡萄糖苷酶、土壤- β -葡萄糖苷酶及脲酶的活性, 对过氧化氢酶的影响不显著; 由于生物炭制备原料不同, 其自身性质和物质含量也存在差异, 因此杉木炭对土壤养分的提高量大于木屑炭, 而木屑炭处理的土壤全碳含量高于杉木炭; 低添加量生物炭对参与碳循环的土壤葡萄糖苷酶活性提高程度大于高添加量生物炭, 而与氮循环有关的土壤脲酶活性随着生物炭添加量的增加而提高, 尤其 3% BL600 处理对土壤脲酶影响十分显著; 向土壤添加杉木炭能够提高土壤细菌丰度, 而木屑炭降低了土壤细菌丰度, 低温炭大于高温炭; 添加生物炭对土壤 pH 值, 全碳、全磷、有效磷、速效钾含量等具有直接影响, 土壤组分和性质对不同细菌种群生活习性与功能产生不同的影响, 土壤酶活性与土壤细菌存在密切的联系, 细菌丰度的变化又会引起土壤酶活性的改变, 因此土壤酶活性和细菌群落相对丰度对添加生物炭的响应存在一定的相关关系。

关键词: 生物炭; 土壤细菌; 酶活性; 冗余分析

Effects of biochar on soil nutrient, enzyme activity, and bacterial properties of Chinese fir plantation

HU Huaying^{1,2}, YIN Danyang^{1,2}, CAO Sheng^{1,2}, ZHANG Hong^{1,2}, ZHOU Chuifan^{1,2,*}, HE Zongming^{1,2}

1 College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

2 State Forestry Administration Engineering Research Center of Chinese fir, Fuzhou 350002, China

Abstract: This paper aims to explore the interaction mechanism of the soil properties and nutrient contents, enzyme activity of the soil, and the abundance and activity of soil bacterial community structure and diversity, and impact analysis of three in Chinese fir plantation's red soil in southern China after biochars application. We cultivated and determined bacterial community in soil environment of the artificial Chinese fir forest by adding different biochars based on high-throughput sequencing technology. Four enzymes related to soil C and N cycling were selected to analyze the relationship between the four enzymes and the soil nutrient content and relative abundance of the soil bacteria. The results showed that the biochar application improved the soil pH, total phosphorus, available phosphorus, available potassium, and promoted the activities of soil- α -glucosidase, soil- β -glucosidase and urease, but had no significant effect on catalase. The increase of the Chinese

基金项目: 福建省科技重大专项 (Science and Technology Major Project of Fujian Province, China), 特色树种人工林林分质量精准提升技术研发与应用 (2018NZ0001-1); 国家自然科学基金项目 (31400465); 福建农林大学科技创新专项基金项目 (CXZX2018136)

收稿日期: 2018-11-15; **修订日期:** 2019-04-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhouchuifan@163.com

fir leaf biochar was greater than fir wood chip biochar, while the total carbon content of soil with fir wood chip biochar was higher than that of the Chinese fir leaf biochar because the raw materials for biochar preparation and its own properties and substance content were different. The activity of C cycle soil-glucosidase increased more with low addition of biochar than with high addition of biochar, while the soil urease activity related to the N cycle increased with the increase of the biochar addition, especially 3% BL600 treatment had a significant effect on soil urease. Adding cedar leaf charcoal to soil could increase the soil bacterial abundance, while wood charcoal reduced the soil bacterial abundance, and low temperature charcoal was higher than high temperature charcoal. Adding biochar had direct influence on the soil pH value, total carbon, total phosphorus, available phosphorus and available potassium content. The soil composition and properties had different effects on the living habits and functions of different bacterial populations. The soil enzyme activities were closely related to soil bacteria. The changes in bacterial abundance caused changes in the soil enzyme activities. Therefore, the soil enzyme activities and bacterial communities relative abundance had a certain correlation with the response to the addition of biochar.

Key Words: biochar; soil bacteria; enzyme activity; correlation

杉木[*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.]是重要速生用材树种,广泛分布于我国南方地区,在亚热带森林生态系统中占有十分重要的地位,然而杉木连栽地力衰退日趋突出,土壤性质退化,肥力和林分生产力下降,土壤酶活性逐渐下降^[1],土壤细菌群落多样性低下^[2],对森林生态系统产生不利影响,严重威胁南方地区人工林的可持续经营。近年来有研究发现,添加生物炭能够改善土壤团聚体结构和土壤理化性质,提高土壤肥力^[3],能够提供土壤细菌适宜的栖息环境,刺激土壤细菌功能和群落多样性的变化^[4],还可以影响土壤酶活性^[5]。Lehmann 等^[6]表示对土壤添加生物炭能够促进细菌与其他菌根形成共生体,对改善土壤生态系统中细菌多样性具有潜在的重要作用;Yang 等^[7]研究发现生物炭一方面可以为土壤细菌提供丰富的营养物质,另一方面为细菌提供适宜的庇护环境,从而能够促进土壤细菌的相对丰度;Oleszczuk 等^[5]通过对蔬菜地土壤添加生物炭发现,生物炭对酶活性具有保护作用,能够提高土壤中大部分酶的活性;邹春娇等^[8]研究发现,生物炭处理能显著增加黄瓜连作营养基质中的酶活性,并且对微生物数量及群落结构也有明显的调节作用;Xie 等^[9]研究发现,对土壤添加生物炭能够增加土壤 C、N 含量,降低尿素氮,从而促进土壤养分循环和作物生长。因此,开展对土壤生物炭的环境效应研究,对改良土壤理化性质及提高土壤肥力,提升林木生产力等,都具有重要的理论和实践指导意义。但目前这些研究多聚焦于农业土壤,而生物炭对林地土壤改良的研究报道国内并不多见,特别是生物炭对南方红壤杉木人工林细菌多样性、酶活性以及养分方面的作用机制的研究鲜有报道,这极大限制了生物炭在林业生产当中的应用,就亟需大量添加不同生物炭对红壤性质、细菌及酶活性影响的研究数据,以揭示杉木人工林土壤养分含量、细菌相对丰度及酶活性之间的相关关系。

有鉴于此,本文基于高通量测序技术,通过添加不同生物炭对人工杉木林土壤环境中细菌群落进行培养和测定,同时挑选与土壤 C、N 循环相关的土壤- α -葡萄糖苷酶活性、土壤- β -葡萄糖苷酶活性、土壤过氧化氢酶及土壤脲酶,分析四种酶与土壤养分含量及土壤细菌相对丰度的关系。通过研究添加生物炭对土壤细菌多样性及酶活性的影响,能够明确生物炭对杉木人工林土壤微生物群落结构的作用,更加准确地分析酶活性与土壤养分含量及细菌相对丰度之间的作用机制,为生物炭在南方酸性林地土壤的合理利用提供依据,对提高林木生产能力等具有重要的科学价值和现实意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区三明市位于福建省中西北部,年平均气温 19.4℃,年平均降水量 1500.7mm,相对湿度 79%,日照率 44%,土壤类型为山地红壤(富铝湿润富铁土),研究所用土壤采自三明市福建农林大学莘口教学林场(118°47'E,26°28'N),为二代杉木人工林土壤,在 20m * 20m 的样方内按 S 形取多点 0-20cm 的土壤样品,混合鲜土

过 2mm 筛之后风干保存,供土壤培养实验。杉木林土壤全磷 $321 \pm 72.9 \text{ mg/kg}$ 、有效磷 $14.03 \pm 2.42 \text{ mg/kg}$ 、pH4.34 $\pm$ 0.06、全氮 $1.83 \pm 0.20 \text{ g/kg}$ 、全钾 $23.83 \pm 3.01 \text{ g/kg}$ 。

1.2 生物炭制备和性质

原料采自杉木树干和树叶,洗涤烘干粉碎后过 1mm 筛,置于马弗炉中进行厌氧热解,以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率分别加热至 300°C 、 600°C ,热解持续时间为 4h,热解结束待其自然冷却至室温后置于棕色瓶中^[10],得到 4 种生物炭,即 300°C 杉叶炭(BL300)、 600°C 杉叶炭(BL600)、 300°C 木屑炭(BW300)及 600°C 木屑炭(BW600)。制备完成后的生物炭测定其 pH 值(分别为 7.33、10.41、4.05、7.96)、灰分(分别为 9.9%、22.2%、1%、2.7%)、有效磷(分别为 2568、3604、228、615 mg/kg)、全碳(分别为 563.1、592.6、592.4、676.6 mg/kg)、全氮(分别为 15.7、12.8、3.9、3.5 mg/kg)等理化性质。

1.3 实验处理

向土壤中分别添加 1%、3% 比例的四种生物炭培养 80 天,设置 9 个处理:1)未处理土壤 CK、2)土壤加 1% BL300、3)土壤加 3% BL300、4)土壤加 1% BL600、5)土壤加 3% BL600、6)土壤加 1% BW300、7)土壤加 3% BW300、8)土壤加 1% BW600、9)土壤加 3% BW600,每个处理设置 3 个重复。设置黑暗、 25°C 培养,培养期间每隔 2–3 天称重补水,使土壤水分保持在田间持水量的 60%,培养时间为 80 天。

1.4 土壤理化性质测定方法

取土壤培养实验第 80 天的土样,土壤全磷含量测定先通过消煮,后使用电感耦合等离子体光谱仪(PekinElmer Optima 8000)来测定;土壤有效磷含量测定用 $0.03 \text{ mol/L NH}_4\text{F}$ 加 0.025 mol/L HCl 按照 1:10 土液比进行浸提,离心过滤后用连续流动分析仪(Skala San++, 荷兰)测定;速效钾含量用 $1 \text{ mol/L CH}_3\text{COONH}_4$ 按照 1:10 土液比进行浸提,离心过滤后用原子吸收分光光度计测定;pH 采用电位法测定,其中水与土壤的比例为 2.5:1;土壤铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^+\text{-N}$)含量用 2 mol/L KCl 溶液按照 1:10 土液比进行浸提,离心过滤后用连续流动分析仪测定;土壤溶解性有机碳(DOC)含量利用总有机碳分析仪加 TN 单元(SHIMADZU TOC-VCPH/CPN Analyzer 日本岛津)进行测定;土壤全碳含量采用全自动微量碳氮元素分析仪(vario MACRO CUBE)测定^[11]。

1.5 土壤酶活性测定方法

选用培养实验第 80 天的土样,每个处理设置 3 个重复。土壤 $\alpha(\beta)$ -葡萄糖苷酶的活性采用以对硝基酚衍生物为底物的分光比色法,测定每天每克土样中产生 1 umol 对-硝基苯酚的量作为一个酶活力单位(umol/d/g);土壤脲酶的活性利用靛酚蓝比色法,测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3^+\text{-N}$ 的量(ug/d/g)^[12];土壤过氧化氢酶的活性通过测定与土壤反应后, H_2O_2 溶液在 240nm 波长下吸光度的变化,利用每天每克土催化 $1 \text{ umol H}_2\text{O}_2$ 的量作为一个酶活力单位(umol/d/g)表示土壤过氧化氢酶的活性^[13]。

1.6 土壤微生物测定方法

细菌丰度及多样性的测定样本取自培养实验第 80 天的土壤,选取添加量为 3% 的 4 种的生物炭处理 and 对照土壤进行测定,每个处理设置 3 个重复。16S rDNA PCR 产物高通量测序由广州基迪奥生物科技有限公司完成,从样本中提取基因组 DNA 后,用带有 barcode 的特异引物扩增 16S rDNA 的 V3+V4 区。引物序列为 341F(CCTACGGGNGGCWGCAG),06R(GGACTACHVGGGTATCTAAT);扩增体系为 $50 \mu\text{L}$ 反应体系中包含 $5 \mu\text{L}$ 的 $10\times \text{KOD Buffer}$, $5 \mu\text{L}$ 的 2.5 mM dNTPs , $1.5 \mu\text{L}$ 引物($5 \mu\text{M}$), $1 \mu\text{L}$ 的 KOD 聚合酶和 100 ng 模版 DNA;扩增条件为 95°C 预变性 2min,随后 98°C 变性 10 s, 62°C 退火 30 s, 68°C 延伸 30 s,共 27 个循环,最后 68°C 延伸 10min,然后将 PCR 扩增产物切胶回收,用 QuantiFluorTM 荧光计进行定量。将纯化的扩增产物进行等量混合,连接测序接头,根据 Illumina 官方说明构建测序文库,Hiseq2500 的 PE250 模式上机测序,测定土壤细菌群落的相对丰度。

1.7 数据处理分析

土壤细菌测序得到原始数据后,对原始数据的 reads 利用 tags 拼接等多个过程进行质控,根据 PE reads

之间的重叠关系,使用 FLASH(v 1.2.11)将成对双端 reads 拼接为一条序列。拼接后的 Raw Tags 经过更严格的过滤处理得到高质量的 Tags 数据,并进行 Tags 截取、长度过滤等操作^[14]。最后对处理后得到的 Tags 序列与数据库进行比对检测嵌合体序列^[15],去除其中的嵌合体序列^[16],得到最终的有效数据。测得土壤养分性质和土壤酶活性原始数据,通过 Excel2003 整理数据,采用 SPSS19.0 软件对土壤基本性质、酶活性实验数据进行单因素方差分析和 SNK 法进行显著性检验,得到数据均值及误差,运用双变量相关将土壤性质和酶活性及细菌相对丰度数据做相关性分析,运用 Origin 8.5 绘制土壤基本养分和酶活性柱状图,利用 Canoco 4.5 对土壤性质和养分含量及土壤细菌群落相对丰度做冗余分析(RDA),得到其中的相关关系。

2 结果与分析

2.1 生物炭对土壤化学性质影响

对培养 80 天的土壤测定理化性质,如图 1 所示,土壤全磷、有效磷、速效钾含量的变化趋势总体表现出相

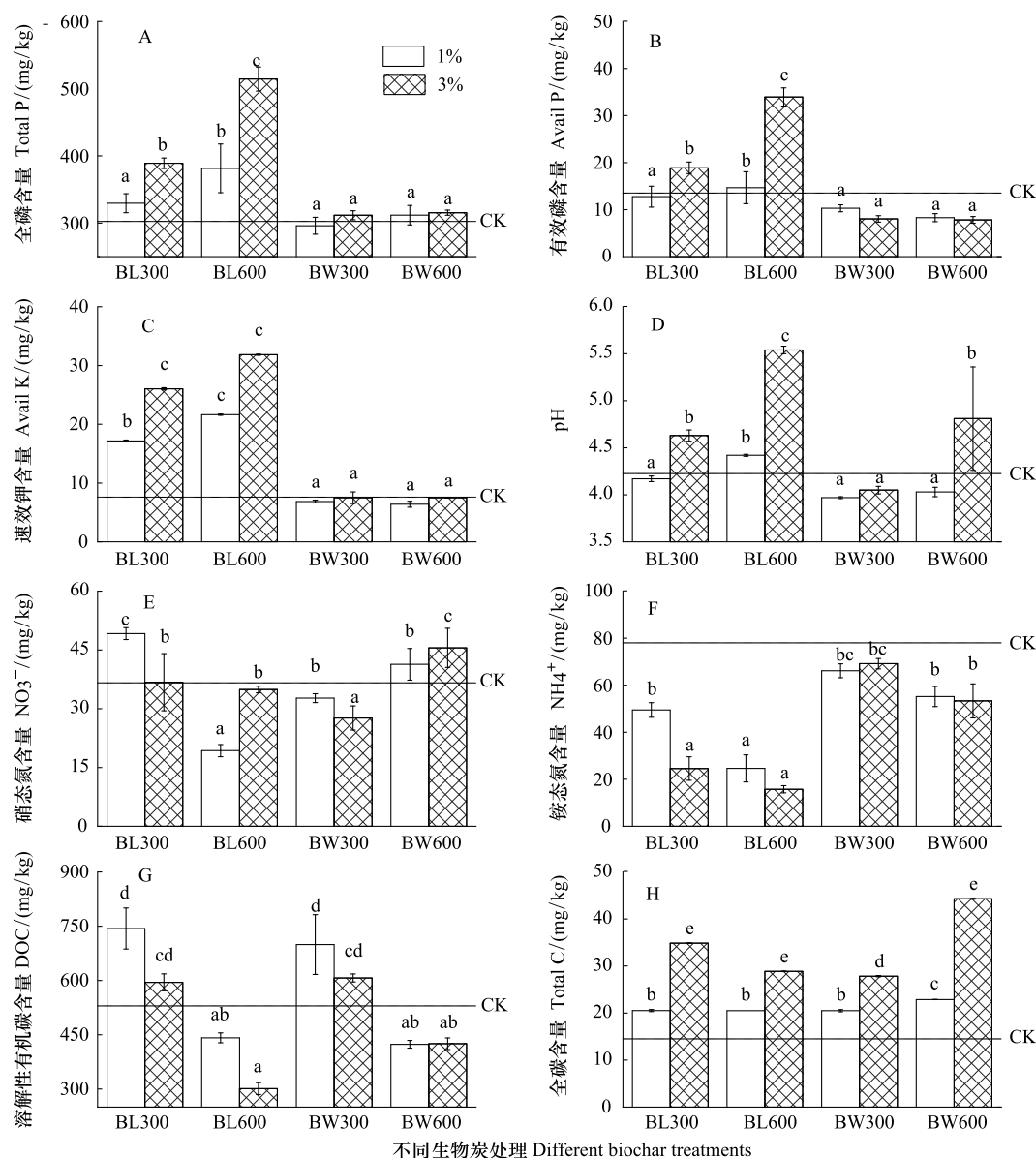


图 1 不同生物炭处理土壤 pH 及养分变化

Fig.1 Changes of soil pH and nutrients in different biochar treatments

似性,杉叶炭处理之间变化显著,BL600 处理显著高于 BL300 处理,且随着生物炭添加量增加而升高,而木屑炭处理变化不显著。所有处理的土壤 pH 值介于 3.97—5.54 之间,与对照相比,1%生物炭添加量的 BL600 比对照大,其他 1%添加量均小于对照,其中 1% BW300 比对照低 0.26,除了 BW300 其他 3%生物炭添加量均大于对照,3%添加量的 BL600 处理的 pH 值高达 5.54,比对照高出 1.31,说明土壤 pH 值随着生物炭添加量增加而升高。添加生物炭后,土壤铵态氮含量随生物炭施用比例的增加而显著降低,各处理间变化显著,较小施用量条件下铵态氮含量增幅较为明显,两种形态的氮含量大致呈相反的趋势。添加生物炭后使土壤全碳含量均显著高于对照,且随生物炭施用比例的增加而显著提高,其中以 3%添加量的 BW600 土壤全碳含量为最高,达到了 44.3g/kg;而土壤溶解性有机碳含量并无明显变化规律,仅随生物炭添加量的增加大致呈降低的趋势。

2.2 生物炭对土壤酶活性影响

对添加不同生物炭所测得的 4 种酶活性变化进行分析,如图 2 所示,除了 3%添加量的 BW600 表现为抑制,添加其他生物炭提高土壤- α -葡萄糖苷酶活性,在杉叶炭处理中 1%添加量 BL600 高于 BL300,且低添加量的酶活性大于高添加量;与对土壤- α -葡萄糖苷酶的活性影响不同,除了 3%添加量的 BL600 和 BW300 表现为抑制,添加其他生物炭提高土壤- β -葡萄糖苷酶活性,其中杉叶炭中,低添加量酶活性大于高添加量,而添加木屑炭的土壤- β -葡萄糖苷酶活性变化规律不明显;添加生物炭对土壤过氧化氢酶活性影响不大,各处理酶活性相对一致;添加生物炭对脲酶活性大致表现为提高的趋势,且随添加量的增大而提高,其中 3%添加量的 BL600 达到了极显著水平(208.13 $\mu\text{mol/d/g}$),而其他生物炭处理的土壤酶活性变化相对较小。

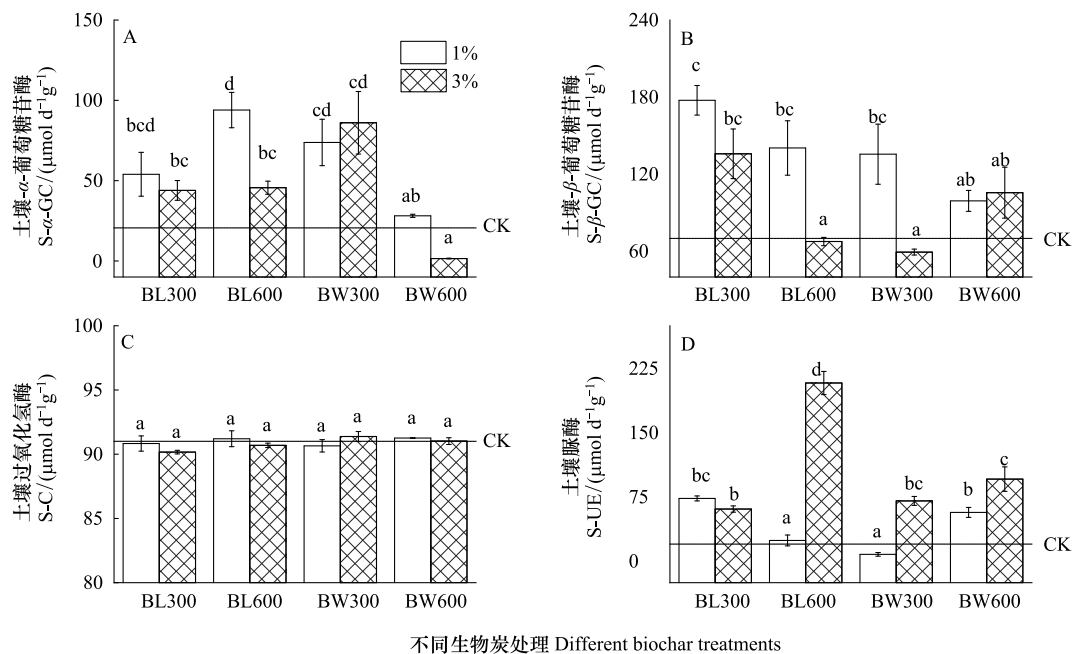


图 2 不同生物炭处理对土壤酶活性影响

Fig.2 Effects of different biochar treatments on soil enzyme activities

2.3 生物炭对土壤细菌丰度及结构的影响

土壤细菌群落 shannon 指数箱线图可以直观的反映添加不同生物炭后土壤细菌多样性的中位数、最大值、最小值及异常值等,如图 3 所示,不同处理表现出的结果有所差异,通过中位数可以看出,添加不同生物炭土壤细菌丰度 BL300> BL600>CK> BW300> BW600,与对照相比,添加杉叶炭显著提升了土壤细菌丰度,添加木屑炭则抑制了土壤细菌类群的丰度;且添加 300 $^{\circ}\text{C}$ 制备生物炭的土壤细菌丰度要高于 600 $^{\circ}\text{C}$ 生物炭,其中 BL300 的土壤细菌丰度最大,而 BW600 的土壤细菌丰度最小;由图中还可以看出 BL300、BW300 测定的细菌丰度较为均匀、误差较小,而另外三种处理最大值和最小值相差较大从而误差较大。

选取土壤细菌优势种的部分分类单元,构建土壤细菌的系统发育分类树,可以清晰地看出土壤细菌群落不同分类水平上的结构和相对丰度,图4中从左到右的列分别代表由门到种的不同分类水平,各个饼图中不同的颜色的区域代表不同的处理在该分类单元上的比率,半径的大小代表该分类单元所包含的物种丰度,半径越大代表物种丰度越高。在门分类水平上的土壤优势菌中,放线菌门(*Actinobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*) 在添加杉叶炭中占比例较低,而在木屑炭中占比较高;浮霉菌门(*Planctomycetes*) 在添加 BL600 中占含量较高;变形菌门(*Proteobacteria*) 在添加 BL300 占含量较高。在纲分类水平上的优势菌中,添加 BL600 的土壤中放线菌纲(*Actinobacteria*) 和纤维杆菌纲(*Ktedonobacteria*) 的含量较低,而在其他细菌中所占的含量较高,其他处理中细菌相对丰度差异不显著;在属分类水平上的优势菌中,嗜酸栖热菌属(*Acidothermus*) 在添加杉叶炭中占含量极低,在添加木屑炭处理中含量较高,其中在 BL600 含量最低,而 BW300 中含量最高,中华单胞菌属(*Sinomonas*) 在 BW300 中相对丰度最高。

2.4 土壤养分、酶活性及细菌丰度之间的冗余分析

对土壤性质与土壤酶活性及细菌优势物种丰度进行冗余分析,如图5所示,左图代表土壤性质与门分类水平上土壤细菌及酶活性的冗余分析,右图代表土壤性质与属分类水平上土壤细菌及酶活性的冗余分析,深色箭头代表土壤性质及化学组分含量,箭头越长代表影响越显著,可见土壤 pH、全磷、硝态氮、铵态氮及 DOC 含量为主要影响因子,而全碳、有效磷及速效钾对土壤细菌的影响较小;浅色箭头代表土壤 4 种酶活性和在不同分类水平上土壤优势细菌群落的相对丰度,影响因子与细菌种群夹角越接近 0°代表两者呈正相关越显著,夹角越接近 180°代表两者呈负相关越显著。由左图可以看出,土壤性质和化学成分与酶活性及细菌群落三者具有显著的相关关系,其中土壤铵态氮和溶解性有机碳与放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*) 及放线菌门(*Actinobacteria*) 等显著正相关,而与土壤脲酶、浮霉菌门(*Planctomycetes*) 及疣微菌门(*Verrucomicrobia*) 等呈显著负相关,土壤全碳与土壤- β -葡萄糖苷酶及土壤过氧化氢酶呈负相关。右图显示, pH、速效钾、全磷及有效磷含量与嗜酸栖热菌属(*Acidothermus*) 丰度呈显著负相关,与浮游菌属(*Planctomyces*)、鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*) 及土壤脲酶呈显著正相关,土壤硝态氮含量与中华单胞菌属(*Sinomonas*)、土壤- α -葡萄糖苷酶及土壤过氧化氢酶呈负相关,而与土壤- β -葡萄糖苷酶及伯克氏菌属(*Burkholderia-Paraburkholderia*) 呈正相关,土壤全碳含量与外杆菌属(*Exiguobacterium*) 呈正相关关系。

3 讨论

3.1 生物炭对土壤养分的影响

关于添加生物炭影响土壤理化性质的研究已经引起研究学者的广泛关注,本研究中添加生物炭改变了土壤化学性质,其中添加杉叶炭显著提高了土壤 pH 值、土壤全磷、有效磷、速效钾等的含量,添加木屑炭提高了土壤全碳含量,且随着添加量的增加而升高;由于 1% 生物炭添加量较低,所以引起的土壤养分的变化较高添加量不显著;与高温炭相比,低温炭对土壤 DOC 的提高较为显著;添加生物炭降低了土壤铵态氮的含量,而增加了硝态氮含量,说明硝态氮与铵态氮之间相互转化,其中杉叶炭降低更为显著,说明制备原材料和温度不同的生物炭对土壤性质的影响程度存在一定的差异。这一结果和 Novak 等^[17] 的报道相似,他们研究发现添

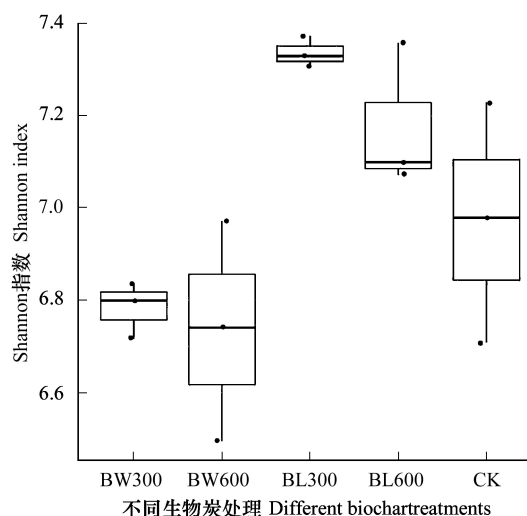


图3 不同生物炭处理细菌群落 shannon 指数箱线图

Fig. 3 Shannon index box diagram of bacteria communities under different biochar treatments

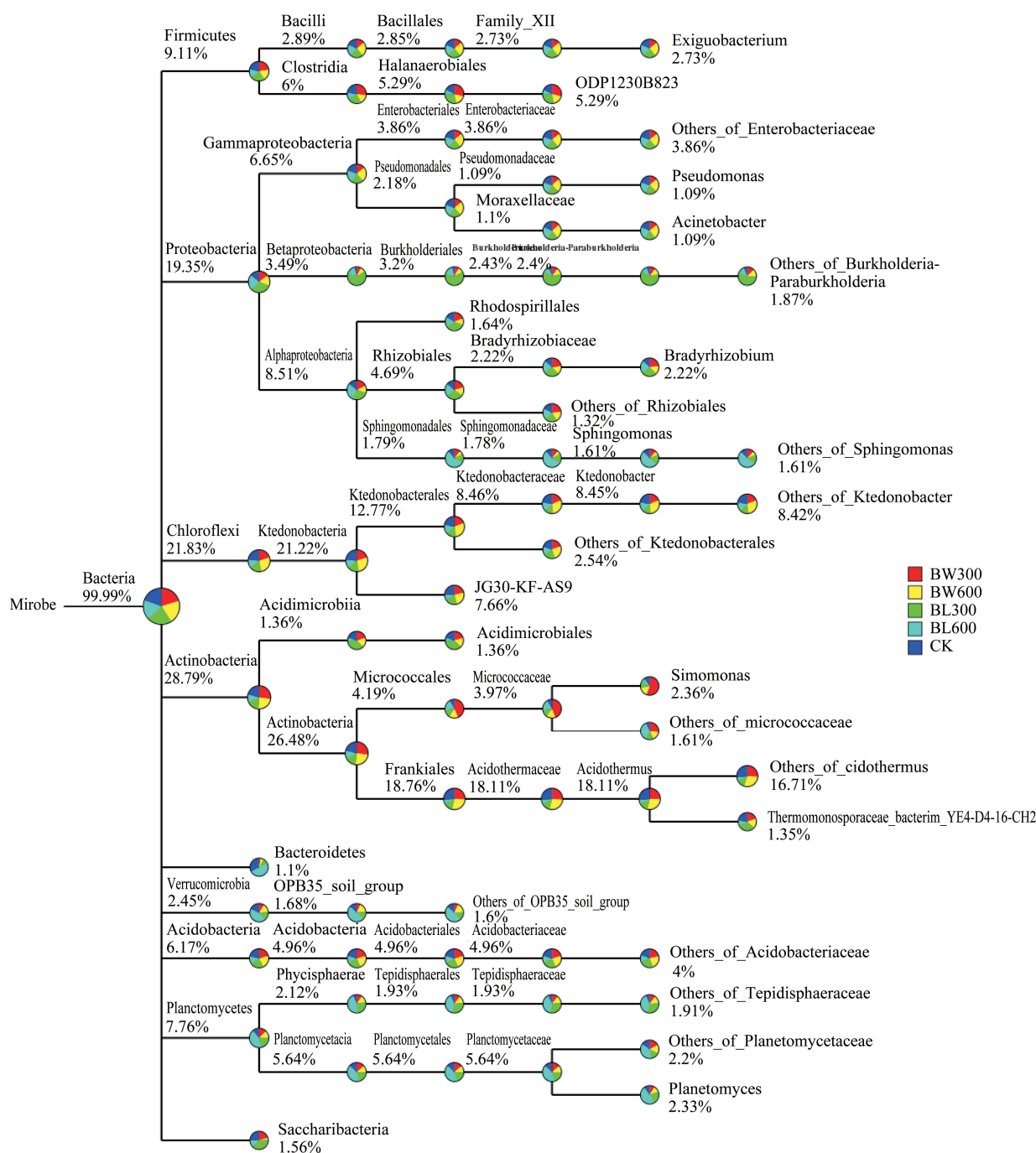


图 4 不同生物炭处理下土壤细菌系统分类树

Fig.4 Soil bacterial taxonomy tree under different biochar treatments

加生物炭能够有效提高土壤速效氮、磷、钾含量, Van 等^[18]认为生物炭的 pH 值大多呈碱性, 灰分含量较高, 可以降低土壤中交换性氢离子含量, 从而添加生物炭能够提高土壤 pH 值, 与本研究结果相似。不同的制备原料和热解温度对生物炭的性质具有很大的影响^[19], 通过对生物炭的物质含量测定可知, 杉叶炭的 pH、灰分含量、有效磷等明显高于木屑炭, 因此添加杉叶炭对土壤 pH 值、全磷、有效磷、速效钾含量提高更显著, 而木屑炭的碳含量更高, 从而能够更显著提高土壤全碳含量。

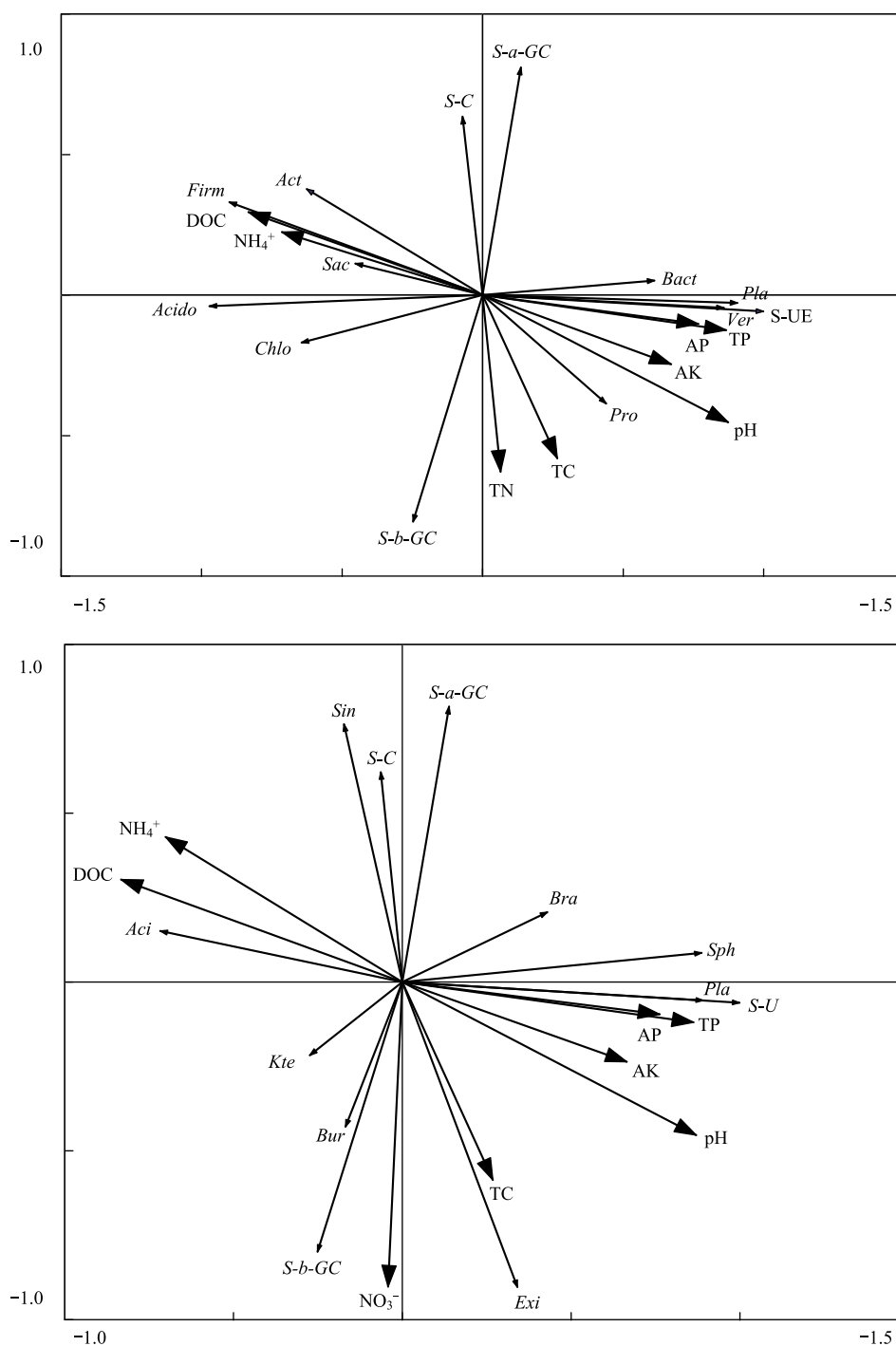


图5 土壤性质与酶活性及细菌相对丰度相关分析

Fig.5 Correlation analysis between soil properties and enzyme activity and relative abundance of bacteria

左图代表土壤性质与门分类水平上土壤细菌及酶活性的冗余分析,右图代表土壤性质与属分类水平上土壤细菌及酶活性的冗余分析,TP代表土壤全磷,AP代表土壤有效磷,AK代表土壤速效钾,NO₃⁻代表土壤硝态氮,NH₄⁺代表土壤铵态氮,DOC代表土壤溶解性有机碳,TC代表土壤全碳,TN代表土壤全氮,S-a-GC代表土壤-α-葡萄糖苷酶,S-b-GC代表土壤-β-葡萄糖苷酶,S-C代表土壤过氧化氢酶,S-UE代表土壤脲酶;左图中Act代表放线菌门(*Actinobacteria*),Chlo代表绿弯菌门(*Chloroflexi*),Pro代表变形菌门(*Proteobacteria*),Firm代表厚壁菌门(*Firmicutes*),Pla代表浮霉菌门(*Planctomycetes*),Acido代表酸杆菌门(*Acidobacteria*),Ver代表疣微菌门(*Verrucomicrobia*),Sac代表糖菌门(*Saccharibacteria*),Bact代表拟杆菌门(*Bacteroidetes*);右图中Pla代表浮游菌属(*Planctomyces*),Sph代表鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*),Kte代表纤线杆菌属(*Ktedonobacter*),Exi代表外杆菌属(*Exiguobacterium*),Aci代表嗜酸栖热菌属(*Acidothermus*),Sin代表中华单胞菌属(*Sinomonas*),Bur代表伯克氏菌属(*Burkholderia-Paraburkholderia*)

3.2 生物炭对土壤酶活性的影响

生物炭由于其自身独特的性质,添加后对土壤理化性质产生了一定的影响,并且在一定程度上也使得土壤酶活性发生了变化。添加生物炭整体促进了土壤- α -葡萄糖苷酶、土壤- β -葡萄糖苷酶及脲酶的活性,低添加量对葡萄糖苷酶的提高作用大于高添加量,高添加量对土壤脲酶的提高作用大于低添加量,而生物炭对土壤过氧化氢酶的影响不显著。Wang 等^[20]研究表明,低添加量的生物炭(质量分数为 0.5%)可以提高参与 C 循环的土壤酶活性,高添加量的生物炭则降低其活性,而与 N 循环有关的土壤脲酶活性随着生物炭添加量的增加而提高,与本研究结果相印证。冯爱青等^[21]表明在棕壤土中添加玉米秸秆生物炭能够提高土壤脲酶活性,却抑制了土壤过氧化氢酶活性,而本文中生物炭土壤过氧化氢酶的影响不显著。有研究发现,添加生物炭能够吸附植物根系土壤中反应底物,促进土壤酶活性;相反,添加生物炭也能够吸附土壤中的酶分子,对酶促反应结合位点形成保护作用,抑制土壤酶活性^[22]。由于不同生物炭的组分和吸附具有特异性,不同土壤酶活性对添加生物炭的响应并非单一的促进或者抑制作用,土壤酶活性的改变程度主要受自身性质和生物炭性质及添加量的影响。

3.3 生物炭对土壤细菌群落结构及多样性的影响

添加生物炭对土壤细菌群落结构及多样性也具有一定的影响,添加杉叶炭能够提高土壤细菌丰度,而木屑炭对土壤细菌生长有一定的抑制作用,且添加低温炭的土壤细菌丰度大于高温炭,这与 Liao 等^[23]研究结果一致,生物炭具有较大的比表面积和孔隙结构,为土壤细菌提供了有利的繁殖场所,并含有丰富 C、N、P、K 等营养物质,对土壤细菌的生长和相对丰度产生有利作用,也有研究发现添加有些生物炭抑制部分细菌的生长和繁殖,致群落多样性指数减小,有些木质原料制备的生物炭可利用性营养物质较低,氮素不足而不能支撑细菌生长代谢过程,从而降低细菌相对丰度^[24],这些发现与本研究结果相似,添加杉叶炭对土壤营养物质的提高更显著,从而能够提高土壤细菌丰度和群落多样性,而木屑炭降低了土壤细菌丰度和群落多样性。Zhang 等^[25]通过添加 300℃ 和 700℃ 生物炭,发现土壤溶解性有机碳(DOC)在 300℃ 生物炭处理时呈增加趋势,而 700℃ 生物炭会降低 DOC 含量,因此印证了本文的实验结果,添加低温炭培养后土壤 DOC 含量大于高温炭,所以添加低温炭土壤细菌丰度大于高温炭。生物炭相对稳定,土壤细菌并不容易分解利用,从本文看出,由于生物炭本身的特性,添加生物炭后,直接对土壤 pH、N、P、K 等养分含量产生影响,可见生物炭是通过改变土壤性质间接影响土壤细菌群落结构及多样性。

3.4 生物炭处理土壤养分、酶活性及细菌丰度之间关系分析

土壤酶主要由土壤微生物、动植物及残体分泌,其中土壤微生物中的土壤细菌和放线菌等是土壤酶的主要来源,可见土壤酶活性与细菌存在直接相关关系^[20],刘善江等^[26]指出,酶是各种生化反应的催化剂,也是土壤细菌活性的表现,同时土壤微生物又是土壤酶的影响因素,印证本文结果,土壤细菌与酶活性有密切的联系。土壤细菌及放线菌产生大量的酶,其活力受到土壤物理状态和营养元素含量等的影响^[17],从而土壤酶活性与土壤性质及养分有密切的关系。添加生物炭改变土壤 pH 值和营养元素含量,直接或间接影响土壤细菌群落结构及多样性,进一步影响了土壤酶活性。有研究证明,高 pH 值和灰分含量的生物炭施入土壤后,有机阴离子($-O^-$ 和 $-COO^-$)和无机碳酸盐增加,从而提高土壤 pH 值^[18],本研究中杉叶炭本身具有更高的 pH 值和灰分含量,添加后比木屑炭提高土壤 pH 更显著;由于嗜酸栖热菌属(*Acidothermus*)是一种喜酸细菌,其相对丰度随着土壤 pH 的升高而降低,从而添加木屑炭使嗜酸栖热菌属丰度相对提高,而添加杉叶炭使嗜酸栖热菌属丰度降低;土壤疣微菌门(*Verrucomicrobia*)能够分泌一些与硝化作用有关的酶,促进硝态氮分解转化为铵态氮,故疣微菌与土壤铵态氮呈负相关而与硝态氮呈正相关;木屑炭中由于含有纤维素及复杂芳香物质较多而导致含碳量较高,放线菌分泌的胞外酶可以促进降解纤维素及复杂芳香物质,因此添加木屑炭能够提高土壤放线菌门(*Actinobacteria*)的相对丰度;土壤细菌改变能够引起酶活性的变化,因此添加生物炭对土壤细菌群落结构及多样性和酶活性的影响呈显著的正负相关。但图中有些土壤酶与土壤养分及细菌群落关系不显著,这可能是由于土壤细菌种类繁多且作用方式有差异,或者该土壤酶的影响因素还有其他真菌或动植物。

4 结论

由于生物炭自身的性质和物质含量能够改变土壤 pH 值及全磷、有效磷、速效钾等养分含量,其中杉叶炭高于木屑炭,而添加木屑炭土壤全碳含量高于杉叶炭;生物炭能够促进土壤葡萄糖苷酶及脲酶的活性,其中低添加量提高程度更显著,对过氧化氢酶的影响不大,与 N 循环有关的土壤脲酶活性随着生物炭添加量的增加而提高;添加杉叶炭能够提高土壤细菌丰度,而木屑炭降低了土壤细菌丰度,添加低温炭土壤细菌丰度大于高温炭;添加生物炭对土壤 pH 值、全碳、全磷、有效磷、速效钾含量等具有直接影响,土壤组分和性质对不同细菌种群生活习性与功能产生不同的影响,细菌群落的变化又会引起土壤酶活性的改变,因此土壤养分含量、酶活性和细菌群落相对丰度具有密切的联系,对生物炭的添加存在规律性的响应。

参考文献 (References):

- [1] 秦国宣, 方晰, 田大伦, 徐桂林. 湖南会同第 2 代杉木人工林地土壤酶活性. 中南林业科技大学学报, 2008, 28(2): 1-7.
- [2] 夏丽丹, 于姣姐, 邓玲玲, 李小艳, 周垂帆, 徐永兴. 杉木人工林地力衰退研究进展. 世界林业研究, 2018, 31(2): 37-42.
- [3] Liu X H, Han F P, Zhang X C. Effect of biochar on soil aggregates in the loess plateau: results from incubation experiments. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2012, 14(6): 975-979.
- [4] Ameloot N, Graber E R, Verheijen F G A, De Neve S. Interactions between biochar stability and soil organisms: review and research needs. *European Journal of Soil Science*, 2013, 64(4): 379-390.
- [5] Oleszczuk P, Joško I, Futa B, Pasieczna-Patkowska S, Pałys E, Kraska P. Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil. *Geoderma*, 2014, 214-215: 10-18.
- [6] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, Masiello C A, Hockaday W C, Crowley D. Biochar effects on soil biota - A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812-1836.
- [7] Yang Y N, Sheng G Y. Pesticide adsorptivity of aged particulate matter arising from crop residue burns. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(17): 5047-5051.
- [8] 邹春娇, 张勇勇, 张一鸣, 郭小鸥, 李明静, 李天来. 生物炭对设施连作黄瓜根域基质酶活性和微生物的调节. 应用生态学报, 2015, 26(6): 1772-1778.
- [9] Xie Z B, Xu Y P, Liu G, Liu Q, Zhu J G, Tu C, Amonette J E, Cadisch G, Yong J W H, Hu S J. Impact of biochar application on nitrogen nutrition of rice, greenhouse-gas emissions and soil organic carbon dynamics in two paddy soils of China. *Plant and Soil*, 2013, 370(1/2): 527-540.
- [10] 李莹, 魏志超, 李惠通, 邱云霄, 周垂帆, 马祥庆. 生物炭对杉木人工林土壤碳氮矿化的影响. 农业环境科学学报, 2017, 36(2): 314-321.
- [11] Li Y, Zhou C, Qiu Y, Tigabu M, Ma X. Effects of biochar and litter on carbon and nitrogen mineralization and soil microbial community structure in a China fir plantation. *Journal of Forestry Research*, 2018, 1-11.
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [13] 杨兰芳, 曾巧, 李海波, 闫静静. 紫外分光光度法测定土壤过氧化氢酶活性. 土壤通报, 2011, 42(1): 207-210.
- [14] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D, Costello E K, Fierer N, Peña A G, Goodrich J K, Gordon J I, Huttley G A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [15] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [16] Haas B J, Gevers D, Earl A M, Feldgarden M, Ward D V, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander S K, Sodergren E, Methé B, DeSantis T Z, The Human Microbiome Consortium, Petrosino J F, Knight R, Birren B W. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Research*, 2011, 21(3): 494-504.
- [17] Novak J M, Lima I, Xing B S, Gaskin J W, Steiner C, Das K C, Ahmedna M, Rehrah D, Watts D W, Busscher W J, Schomberg H. Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, 2009, 3: 195-206.
- [18] Van Zwieten L, Kimber S, Morris S, Chan K Y, Downie A, Rust J, Joseph S, Cowie A. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste

- on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil*, 2010, 327(1/2): 235-246.
- [19] Manyà J J. Pyrolysis for biochar purposes: a review to establish current knowledge gaps and research needs. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(15): 7939-7954.
- [20] Wang X B, Song D L, Liang G Q, Zhang Q, Ai C, Zhou W. Maize biochar addition rate influences soil enzyme activity and microbial community composition in a fluvo-aquic soil. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 265-272.
- [21] 冯爱青, 张民, 李成亮, 杨越超, 陈宝成. 秸秆及秸秆黑炭对小麦养分吸收及棕壤酶活性的影响. *生态学报*, 2015, 35(15): 5269-5277.
- [22] Elzobair K A, Stromberger M E, Ippolito J A, Lentz R D. Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol. *Chemosphere*, 2016, 142: 145-152.
- [23] Liao N, Li Q, Zhang W, Zhou G W, Ma L J, Min W, Ye J, Hou Z A. Effects of biochar on soil microbial community composition and activity in drip-irrigated desert soil. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 72: 27-34.
- [24] Dempster D N, Gleeson D B, Solaiman Z M, Jones D L, Murphy D V. Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralisation with Eucalyptus biochar addition to a coarse textured soil. *Plant and Soil*, 2012, 354(1/2): 311-324.
- [25] Zhang P, Sun H W, Min L J, Ren C. Biochars change the sorption and degradation of thiacloprid in soil: insights into chemical and biological mechanisms. *Environmental Pollution*, 2018, 236: 158-167.
- [26] 刘善江, 夏雪, 陈桂梅, 卯丹, 车升国, 李亚星. 土壤酶的研究进展. *中国农学通报*, 2011, 27(21): 1-7.