

施用生物炭后壤土土壤微生物及酶活性变化特征

陈心想, 耿增超*, 王 森, 赵宏飞

(西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以小麦-玉米轮作试验为研究对象, 探究了施用不同量生物炭对壤土土壤生物活性动态变化的影响。生物炭用量设 5 个水平: B0(0 t·hm⁻²)、B20(20 t·hm⁻²)、B40(40 t·hm⁻²)、B60(60 t·hm⁻²) 和 B80(80 t·hm⁻²), 氮磷钾肥均作基肥施用。结果表明: 生物炭可显著提高土壤脲酶、过氧化氢酶和玉米收获后碱性磷酸酶活性, 但对蔗糖酶和小麦季碱性磷酸酶活性影响不显著, 且显著提高土壤酶指数; 提高土壤微生物量碳氮含量, 用量为 80 t·hm⁻² 时效果最显著, 但降低土壤微生物量碳氮比; 显著增加土壤三大类微生物类群的数量, 增幅随其用量的增加而增加。动态变化显示, 越冬期的土壤微生物量碳氮含量最低, 但微生物量碳在拔节期出现高峰, 而土壤微生物量氮在返青期出现高峰, 与作物生育旺盛时期一致; 显著减少微生物量碳和微生物量碳氮比的季节波动。施用生物炭可显著改善土壤微生物和酶活性, 土壤酶指数为土壤酶活性的综合表征, 可全面反映土壤酶活性对生物炭的响应特征, 能够作为一种土壤质量评价方法。

关键词: 生物炭; 壤土; 酶活性; 微生物量碳氮; 微生物数量

中图分类号: S154 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)04-0751-08 **doi:** 10.11654/jaes.2014.04.019

Effects of Biochar Amendment on Microbial Biomass and Enzyme Activities in Loess Soil

CHEN Xin-xiang, GENG Zeng-chao*, WANG Sen, ZHAO Hong-fei

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Plant Nutrition and Agri-environment in Northwest China, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: A field trial was carried out to evaluate the effects of biochar applications on the microbial biomass and enzyme activities in loess soil under a winter wheat and summer maize rotation system in temperate region, Shaanxi province, China. Biochar applications at five rates before planting spring maize: B0(0 t·hm⁻²), B20(20 t·hm⁻²), B40(40 t·hm⁻²), B60(60 t·hm⁻²) and B80(80 t·hm⁻²). Biochar applications significantly increased urease and catalase activities at wheat and maize harvests, and also alkali phosphatase activity at maize harvest, as compared with the control. However, biochar did not influence soil invertase and alkali phosphatase activities at wheat harvest. Amendments of biochar improved soil microbial biomass carbon(B_C) and nitrogen(B_N) but decreased the B_C/B_N ratios, with the maximum effects found at biochar rate of 80 t·hm⁻². Microbial population increased with increasing biochar rates. In addition, Biochar amendments significantly decreased the seasonal fluctuation of B_C and B_C/B_N. Overall, applying biochar can significantly improve soil microbes and enzyme activities.

Keywords: Biochar; loess soil; enzyme activities; B_C; B_N; microbe quantity

土壤微生物是土壤养分转化与腐殖质形成过程

收稿日期: 2013-09-22

基金项目: 农业部“948”项目“生物炭技术引进及消化”(2010-Z19); 林业局“948”项目“林果木生物质综合转化技术引进”(2009-4-64); 陕西省攻关项目“高效生物炭基缓释肥配方及施用技术研究”(2010K02-12-1); 国家级大学生创新创业训练计划项目“生物炭基氮肥的氮素利用率及对微生物活性影响研究”; 西北农林科技大学大学生创新创业训练计划项目“生物炭对壤土物理性质和生物活性的影响”

作者简介: 陈心想(1986—), 女, 硕士, 主要从事废弃生物质资源化利用研究。E-mail: xinxiang20073975@163.com

* 通信作者: 耿增超 E-mail: gengzengchao@126.com

的重要参与者, 而土壤酶活性反映土壤微生物的活性, 代表土壤中物质代谢的旺盛程度^[1]。土壤微生物量及其酶活性较其他土壤性质更迅速地响应施肥管理、种植体系以及土地利用方式的变化^[2-3]。研究指出, 生物炭的高芳香烃结构^[4]、孔隙结构及对水肥吸附作用^[5], 都使其成为适合土壤微生物栖息的良好环境, 为土壤微生物生长提供场所和养分。微生物与植物的相互作用是调节植物生长发育的主要因子之一。目前的研究表明, 生物炭施用会促进与 N、P 等矿质元素利用相关的土壤酶活性, 而降低参与土壤碳矿化

等生态学过程的土壤酶活性^[6]。

塿土(土垫旱耕人为土 Eum Orthic Anthrosols)是陕西省关中平原的主要土壤类型,小麦-玉米轮作体系是该区主要的作物体系,了解施用生物炭对土壤生物和化学性质的影响对塿土质量提升和维持其可持续生产力有重要理论意义。本文以陕西杨凌生物炭试验为研究对象,初步探究了施用不同量生物炭对塿土土壤微生物量和土壤酶活性影响,以及小麦生育期土壤微生物量碳氮的动态变化,为深入研究生物炭在土壤中的综合作用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在西北农林科技大学试验田进行,属温带大陆性气候地区。土壤类型为褐土类,塿土亚类,红油土属,黄土母质,系统分类为土垫旱耕人为土,为石灰性土壤。研究所用生物炭为陕西亿鑫生物能源科技开发有限公司在裂解炉、限氧环境下(450℃)由废弃果树树干、枝条热裂解所得,磨细过1 mm筛备用。供试作物选用西北农林科技大学选育小麦(小偃22号)和杂交玉米种“正大12”。表层(0~20 cm)土壤和生物炭的基本性质见表1。

1.2 田间试验设计

生物炭用量为5个水平:B0(0 t·hm⁻²)、B20(20 t·hm⁻²)、B40(40 t·hm⁻²)、B60(60 t·hm⁻²)、B80(80 t·hm⁻²),分别相当于田间试验用量0、20、40、60、80 t·hm⁻²,小区面积为1.35 m×3.5 m,采用随机区组设计,3次重复。除生物炭用量不同外,氮、磷、钾肥(分别为尿素、磷酸二铵、硫酸钾)均作基肥施用,用量为每公顷225 kg N、180 kg P₂O₅、150 kg K₂O,生物炭于种植前一次性施入并与耕层土壤混匀,肥料于每次种植前施入。

试验进行两季,于2012年4月28日至8月21日种植玉米,播种量为52 500株·hm⁻²,于2012年10月17日至2013年5月31日种植小麦,播种量为150 kg·hm⁻²。在作物生长期根据天气及作物生长状

况适量灌水,以满足作物正常生长发育所需。作物收获后于田间按蛇形采样法随机布3点采集0~20 cm混合土样,一部分于4℃冰箱保存用于测定土壤微生物和酶活性,另一部分室内风干,过1 mm筛,用于测定土壤化学性质。测定土壤微生物量碳氮采样日期为:玉米成熟期(2012年8月25日)、苗期(2012年11月19日)、越冬期(2013年1月22日)、返青期(2013年3月12日)、拔节期(2013年4月24日)和成熟期(2013年6月6日)。

1.3 测定指标及方法

土壤和生物炭的基本理化性质参照《土壤农化分析》测定^[7]。

1.3.1 土壤酶活性测定

土壤脲酶活性采用靛酚比色法^[8],以NH₃-N mg·g⁻¹(37℃,24 h)表示;过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法,以0.02 mol·L⁻¹KMnO₄ mL·g⁻¹(25℃,0.5 h)表示;碱性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法,以酚 mg·g⁻¹(37℃,12 h)表示;蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法,以葡萄糖 mg·g⁻¹(37℃,24 h)表示^[9]。结果表示均转化为干土重。

1.3.2 土壤微生物量碳氮测定

采用氯仿熏蒸提取-K₂SO₄提取法^[10],土壤微生物量碳B_C=E_C/0.45,其中E_C为熏蒸和未熏蒸土样用0.5 mol·L⁻¹K₂SO₄提取的总碳之差,以mg·kg⁻¹干土表示;土壤微生物量氮B_N=E_N/0.45,其中E_N为熏蒸和不熏蒸土样用0.5 mol·L⁻¹K₂SO₄提取的总氮之差,以mg·kg⁻¹干土表示。

1.3.3 土壤微生物培养记数

采用选择性培养基按稀释平板法进行微生物培养记数^[11],细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌采用高氏一号培养基,真菌采用PDA培养基,每个处理三个重复,同时测定土壤水分,最后将CFU值换算为以每克干土为基准。接种后的培养皿放在28℃培养箱中培养:细菌培养3~4 d,放线菌5~7 d,真菌3~5 d。

表1 供试土壤和生物炭的基本理化性质

Table 1 Chemical and physical properties of soil and biochar used in experiment

土壤	pH(1:2.5)	容重/ g·cm ⁻³	有机质/ g·kg ⁻¹	全氮/ g·kg ⁻¹	全磷/ g·kg ⁻¹	全钾/ g·kg ⁻¹	硝态氮/ mg·kg ⁻¹	铵态氮/ mg·kg ⁻¹	速效磷/ mg·kg ⁻¹	速效钾/ mg·kg ⁻¹
土壤	7.33	1.30	14.99	0.71	0.43	19.64	18.20	15.90	12.38	193.0
生物炭	pH(1:10)	比表面积/m ² ·g ⁻¹	N/%	O/%	C/%	H/%	硝态氮/mg·kg ⁻¹	铵态氮/mg·kg ⁻¹		
生物炭	10.43	86.70	1.19	23.81	72.38	2.62	0.52	1.86		

1.3.4 土壤酶指数(Soil enzymes index, SEI)

为全面揭示不同处理土壤酶活性的变化规律,本研究在测定酶活性的基础上进一步计算土壤酶指数(SEI)^[12]。为了消除评价指标量纲的不同对因子荷载的影响,将实测值转化为 0~1 的数值,实现指标量纲归一化。因土壤因子变化的连续性,故各评价指标采用连续性质的隶属度函数,并据主成分因子负荷量值的正负性,确定隶属度函数分布的升降性,本研究中四种酶均采用升型分布函数,其计算公式如下:

$$SEI(x_i) = (x_i - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \quad (1)$$

式中: $SEI(x_i)$ 为升型酶(i)隶属度值; x_i 表示土壤酶(i)活性值; $x_{\max}$ 和 $x_{\min}$ 分别表示土壤酶(i)活性的最大值和最小值。

因土壤质量的各因子的状况与重要性通常不同,故常用权重系数来表示各因子的重要程度。本研究利用主成分分析因子负荷量计算各因子作用的大小,确定其权重。权重值 w_i 计算公式如下:

$$w_i = C_i / C \quad (2)$$

式中: C_i 为公因子方差; C 为公因子方差之和。

在各指标量纲归一化以及权重的基础上,采用加权法和法计算土壤酶指数。计算公式如下:

$$SEI = \sum_{i=1}^n w_i \times SEI(x_i) \quad (3)$$

1.4 数据处理

采用 Excel 2007 及 SPSS18.0 统计软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),多重比较采用最小显著差异法(LSD),显著性水平设为 0.05,结果以“平均值±标准误”表示。

2 结果与分析

2.1 生物炭对土壤酶活性的影响

由表 2 可知,两季作物收获后土壤脲酶活性随生物炭用量的增加而显著增加,仅 B80 较 B0 分别增加了 24.0%和 25.4%,土壤蔗糖酶活性无显著变化。碱性磷酸酶活性在玉米季随生物炭用量的增加而显著增加,增幅为 0.4%~14.0%,而在小麦季无显著差异。过氧化氢酶活性均随生物炭用量的增加而显著增加,其中 B80 较 B0 分别增加了 21.0%和 20.1%。

根据公式(1)、(2)和(3)计算土壤酶指数见表 2。两季作物收获后土壤酶指数均显著增加,但玉米季 SEI 增幅(77.3%~154.5%)随生物炭用量的增加而减小,而小麦季 SEI 增幅(2.3%~118.6%)随生物炭用量的增加而增大。

2.2 生物炭对土壤微生物量碳氮的影响

2.2.1 小麦季土壤微生物量碳的动态变化

由图 1 可知,在玉米成熟期各处理土壤微生物碳(Soil microbial biomass carbon, B_c)含量(336.60~354.62 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)均高于小麦整个生长期,但处理间无显著差异。小麦苗期、越冬期和返青期的 B_c 均显著增加。在苗期, B_c 的增幅(255.4%~517.8%)随生物炭用量的增加而降低,而越冬期和返青期的增幅分别为 15.1%~73.8%和 15.2%~62.9%,变化趋势与之相反。拔节期和成熟期, B_c 无显著变化。除苗期外,小麦生长期内 B_c 的高峰几乎均出现在 B80 处理,表明在本研究条件下,生物炭用量为 80 $\text{t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时对 B_c 的增加效果最显著。

表 2 土壤酶活性变化特征

Table 2 Soil enzyme activities under maize and wheat at different biochar rates

作物 Crops	处理 Treatment	Ur.	Inv.	Pho.	Cat.	SEI
玉米(Maize)	B0	2.08±0.08b	28.97±3.38a	0.93±0.04c	1.57±0.03b	0.22d
	B20	2.29±0.08ab	29.60±0.61a	0.97±0.03bc	1.59±0.06b	0.56a
	B40	2.39±0.09ab	21.42±2.71a	1.01±0.01abc	1.75±0.01ab	0.58a
	B60	2.35±0.10ab	24.08±5.09a	1.04±0.03ab	1.82±0.12a	0.43b
	B80	2.58±0.13a	31.80±2.44a	1.06±0.02a	1.90±0.07a	0.39c
小麦(Wheat)	B0	2.32±0.13b	19.72±2.78a	0.94±0.01a	1.59±0.04b	0.43c
	B20	2.53±0.16ab	19.82±2.32a	0.90±0.03a	1.79±0.06ab	0.34d
	B40	2.55±0.04ab	21.45±2.85a	0.91±0.08a	1.79±0.04ab	0.44c
	B60	2.66±0.05ab	14.26±0.12a	0.84±0.02a	1.75±0.06ab	0.58b
	B80	2.91±0.18a	15.21±2.49a	0.91±0.03a	1.91±0.13a	0.94a

注: Ur. 脲酶; Inv. 蔗糖酶; Pho. 碱性磷酸酶; Cat. 过氧化氢酶; SEI 土壤酶指数。不同小写字母表示 $P < 0.05$ 差异显著性水平。

Note: Ur. Urease; Inv. Invertase; Pho. Alkali phosphatase; Cat. Catalase; SEI. Soil enzyme index. Different letters in a column within a crop mean significant difference at 5 % levels.

总体来看,在小麦整个生长期,各处理 B_c 在越冬期最低、拔节期最高。 B_0 、 B_{20} 和 B_{40} 的 B_c 在拔节期和成熟期均显著高于其他时期,较越冬期的最大增幅分别为 346.5%、256.6%和 327.4%,而 B_{60} 和 B_{80} 的 B_c 在返青期和拔节期均显著高于其他时期,较越冬期的最大增幅分别为 255.4%和 235.0%,与小麦旺盛生长期一致。

2.2.2 小麦季土壤微生物量氮的动态变化

如图 2 所示,施用生物炭可显著增加玉米成熟期、返青期和拔节期的土壤微生物量氮(Soil microbial biomass nitrogen, B_N),增幅随生物炭用量的增加而增大,分别为 1.6%~58.0%、83.5%~728.6%和 16.9%~124.5%,而苗期、越冬期和成熟期 B_N 无显著变化。除返青期外, B_{80} 处理的 B_N 最高,表明在本研究条件下,壤土上生物炭施用量达 $80 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时对 B_N 的提高效果最好。

总体来看, B_N 在玉米成熟期、苗期和越冬期一直处于较低水平,变化不太明显,其中越冬期最低,而返青

期、拔节期和成熟期的 B_N 显著增加,在返青期出现其峰值,较越冬期的增幅为 264.7%~569.5%,随生物炭用量的增加而增大,此变化趋势与小麦旺盛生长期一致。

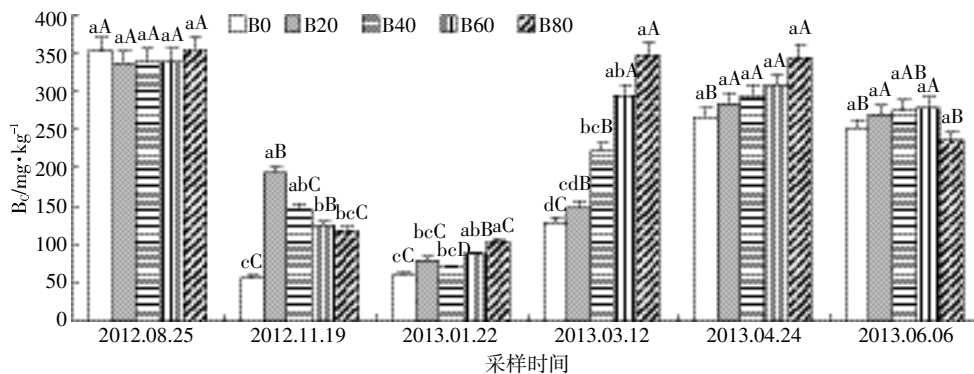
2.2.3 生物炭对土壤微生物量碳氮比的影响

由图 3 可知,施用生物炭显著降低了玉米成熟期、返青期和拔节期的 B_c/B_N ,分别较对照的降幅最大为 41.9%、70.1%和 42.7%;显著增加了苗期的 B_c/B_N ,而对越冬期和成熟期的 B_c/B_N 影响不显著。整体来看,同 B_c 变化趋势类似,玉米成熟期 B_c/B_N 显著高于小麦其他生长期,在小麦整个生长期, B_c/B_N 在拔节期最低、成熟期最高。

2.2.4 土壤微生物量碳氮及碳氮比的季节变异程度

变异系数常被用来反映样本的变异程度。本研究分析了不同处理 B_c 、 B_N 和 B_c/B_N 的季节变异,用变异系数来表示其季节变异程度,即其季节波动的剧烈程度。

由表 3 可知,施用生物炭可显著减少 B_c 的季节波动,其降幅(28.7%~33.5%)随用量的增加而减小。



不同小写字母表示同一时期不同处理间差异显著,不同大写字母表示同一处理不同时期差异显著($P < 0.05$)。下同
Significant differences in different treatments are showed by lowercase letters at the same stage; significant differences in different stage are showed by uppercase letters in the same treatment. The same below

图 1 不同处理土壤微生物量碳差异

Figure 1 Soil microbial biomass carbon in different treatments at different sampling dates

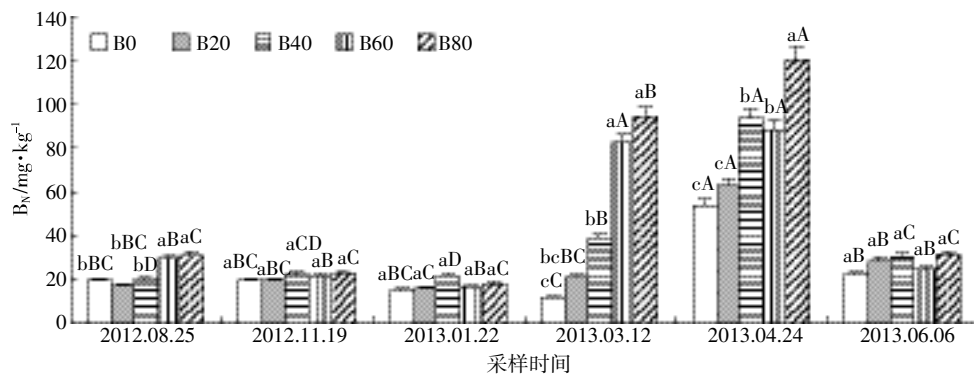


图 2 不同处理土壤微生物量氮差异

Figure 2 Soil microbial biomass nitrogen in different treatments at different sampling dates

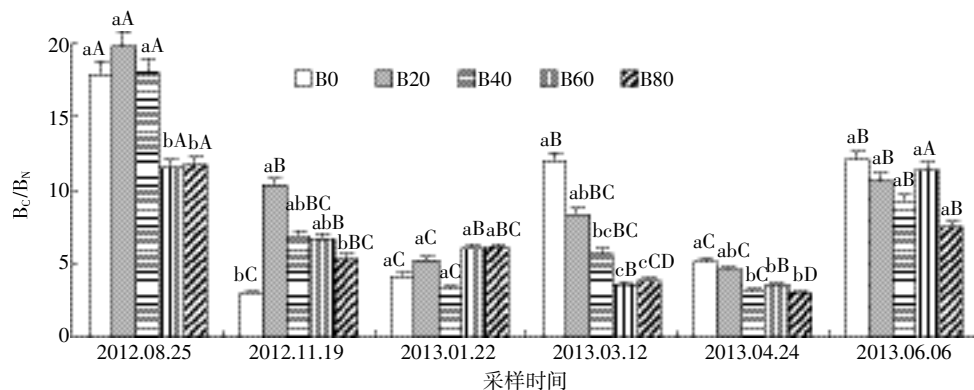


图3 不同处理微生物量碳氮比的差异

Figure 3 B_C/B_N ratios at different biochar rates at different sampling dates表3 不同处理下土壤微生物量碳、氮和碳氮比的
季节变异系数(%)Table 3 Seasonal variations of B_C , B_N and B_C/B_N ratios at different
biochar rates(%)

处理 Treatment	B_C	B_N	B_C/B_N
B0	65.60a	65.16c	64.68a
B20	43.63c	65.23c	56.07c
B40	45.08c	74.95b	61.89b
B60	44.24c	74.32b	50.30d
B80	46.78b	81.90a	50.35d

B_N 的季节变化比 B_C 大,施用生物炭显著增加了 B_N 的季节波动,其增幅(0.1%~25.7%)随用量的增加而增大;在生物炭较高用量时,由于对氮素的需求导致土壤氮素缺乏,从而增加 B_N 的季节变异。 B_C/B_N 的季节变化较 B_C 低,而较 B_N 高,总体上生物炭也显著降低了 B_C/B_N 的季节波动。

2.3 生物炭对土壤微生物数量的影响

由表4可知,施用生物炭能显著提高土壤三大类微生物的数量,其增幅随施用量的增加而增大,细菌、放线菌和真菌在玉米季的增幅分别为36.0%~103.5%、22.3%~200.2%和49.3%~161.6%,在小麦季的增幅分别为5.5%~77.0%、22.6%~114.6%和8.9%~175.0%。由此可知,三大微生物在玉米季增幅均大于小麦季,且在数量上小麦季明显低于玉米季,其中细菌数量的变化尤为明显。

3 讨论

3.1 土壤酶活性的变化

脲酶活性可表征土壤氮素供应强度,蔗糖酶能促进糖类的水解、加速土壤碳素循环,磷酸酶可促进有机磷化合物的分解,过氧化氢酶表征土壤腐殖化强度

表4 不同处理三大微生物类群的差异

Table 4 Population of three microbial groups under maize and
wheat at different biochar rates

作物 Crops	处理 Treatment	细菌 Bacteria/ 10^6 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ DW	放线菌 Actinomycetes/ 10^4 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ DW	真菌 Fungi/ 10^2 CFU $\cdot$ g $^{-1}$ DW
玉米(Maize)	B0	251.78 $\pm$ 27.5c	33.26 $\pm$ 1.64d	6.23 $\pm$ 0.34d
	B20	342.36 $\pm$ 85.1bc	40.67 $\pm$ 1.47c	9.30 $\pm$ 0.33c
	B40	398.86 $\pm$ 17.7ab	88.46 $\pm$ 3.23b	12.77 $\pm$ 0.88b
	B60	406.93 $\pm$ 19.8ab	98.69 $\pm$ 2.59a	13.33 $\pm$ 1.33b
	B80	512.33 $\pm$ 18.6a	99.84 $\pm$ 5.81a	16.3 $\pm$ 0.2a
小麦(Wheat)	B0	4.92 $\pm$ 0.14c	4.12 $\pm$ 0.26b	0.56 $\pm$ 0.02d
	B20	5.19 $\pm$ 0.46c	5.05 $\pm$ 0.33b	0.61 $\pm$ 0.04d
	B40	7.23 $\pm$ 0.46b	7.76 $\pm$ 0.35a	0.88 $\pm$ 0.06c
	B60	7.82 $\pm$ 0.09ab	8.35 $\pm$ 0.84a	1.34 $\pm$ 0.11b
	B80	8.71 $\pm$ 0.8a	8.84 $\pm$ 0.34a	1.54 $\pm$ 0.03a

及有机质积累程度^[9]。

生物炭的吸附性能增加了其对土壤酶作用的复杂性,一方面生物炭对反应底物的吸附促进了酶促反应进而提高土壤酶活性,另一方面生物炭对酶分子的吸附保护酶促反应结合位点,从而抑制了酶促反应的进行^[13-14]。

本研究表明,两季作物收获后土壤脲酶、过氧化氢酶和玉米收获后碱性磷酸酶活性均随生物炭用量的增加而显著提高,这与谢钰^[15]和黄剑^[6]的研究结果一致,表明生物炭可促进土壤的生物化学反应,促进物质循环,提高土壤养分有效性。但本研究中蔗糖酶和小麦季碱性磷酸酶活性无显著变化,这可能是由于生物炭所含的难分解碳物质并不能立即被蔗糖酶所水解,且施用时间较短,对土壤肥力的改善作用尚不显著,其长期效应有待进一步研究。

周礼恺等^[16]认为,评价土壤肥力水平时应考虑土

壤酶活性的总体而不仅仅是单一酶类的活性。土壤酶指数克服了单一酶类在反映土壤酶活性变化时的局限性及片面性,较为客观、全面地反映土壤酶活性对生物炭响应的变化特征,因而可以作为评价土壤肥力的指标之一^[12]。本研究结果显示,施用生物炭显著增加了土壤酶指数,但玉米季和小麦季的变化趋势不同,原因可能是受作物种类和种植年限的影响。

3.2 土壤微生物量碳氮的季节变化

土壤微生物量的变化是表征土壤微生物对生物炭响应的重要指标之一。本研究与前人^[17-18]研究结果一致,施用生物炭可以增加土壤微生物量碳氮,且峰值均出现在 $80 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理,表明此用量生物炭对土壤肥力的增加效果最显著。微生物量氮含量明显提高,表明有较多的氮素通过同化作用转入微生物体内暂时固定,从而减少通过 NH_3 挥发和 NO_3^- 淋失以及反硝化脱氮等途径的氮素损失,提高了氮肥利用率。然而,黄超等^[19]指出,生物炭对高肥力土壤的微生物量碳水平的抑制作用随其用量的增加而增大。游东海研究表明^[20],生物炭会降低石灰性土壤微生物量碳的水平。这可能与土壤类型、田间管理等因素有关,也可能由于生物炭对土壤的作用较为缓慢而且复杂。

总体来看,在小麦生长前期,各处理微生物量碳氮水平较低,在越冬期含量最低,返青期开始显著增加,而 B_c 和 B_n 峰值分别出现在拔节期和返青期,这与小麦旺盛生长期一致。这是由于在旺盛生长期,小麦对养分需要量增加,微生物加快对土壤养分的分解和代谢;同时,4、5月份土壤温度回升,大分子有机物分解,根系生长迅速、代谢旺盛、活化养分能力增强,根系分泌物、脱落物增多,释放土壤养分,可促进微生物繁殖从而增加微生物量^[21]。

本研究中生物炭显著降低了微生物量碳氮比,与黄剑^[6]的研究结果相反,原因可能是本研究施氮量偏高,土壤矿质态氮含量高且生物炭能够吸附 NO_3^- 、 NH_4^+ 而能满足作物生长所需,所以土壤微生物量氮含量相对较高。一般认为土壤微生物组成的不同导致土壤微生物量碳氮比的变化,在本试验中土壤微生物量碳氮比因施用生物炭而显著不同,可能是土壤微生物组成发生了变化,对此还需进一步的深入研究。

本研究结果显示,整个小麦季土壤微生物量表现出明显的季节波动,与黄剑研究结果一致^[6]。施用生物炭显著减小了土壤微生物量碳和微生物量碳氮比的季节波动,表明生物炭可减少土壤的季节变化程度,而增加土壤环境的稳定性。但目前研究认为,土壤微

生物量碳氮比在生长季内基本不变,即土壤微生物量碳、氮能维持相对稳定的比例^[22]。此外,生物炭显著增加了微生物量氮的波动,其原因可能是高水平惰性碳固持土壤氮素及促进土壤微生物繁殖的综合效应,也可能是生物炭的吸附性而引起的测量误差。

3.3 三大类群微生物数量的变化

土壤微生物参与土壤众多生物化学过程,包括有机残留物的降解、有机质的转化、营养物质的矿化和固定以及土壤团聚体的形成和稳定^[23],同时也是土壤养分的储存库和植物生长可利用养分的一个重要来源。细菌在土壤有机物和无机物转化过程中起着重要作用,真菌在土壤碳素和能源循环过程中起着巨大作用。

孙大荃等^[24]研究表明,生物炭可提高棕壤大豆多数生育期根际土壤中细菌数量,而真菌和放线菌数量在前期有所减少、成熟期却提高。本研究结果与之一致,土壤三大类微生物的数量随生物炭用量的增加而显著增加,但玉米季高于小麦季。这主要与土壤温度有关,在玉米季土壤温度和含水量较高,微生物代谢活跃。有研究指出细菌对环境的适应能力很强,占微生物总数的 91.76%^[25],本研究中细菌含量最高,占微生物总量的 99%以上,其次是放线菌,真菌含量最低,可见细菌这一类群是在微生物菌群生物降解作用中起重要作用的微生物。

3.4 生物炭与土壤生物活性

生物炭对土壤酶活性、微生物量碳氮和三大类微生物数量的影响,归结起来均是对土壤生物活性的影响。其原因一方面可能是生物炭具有疏松多孔的结构、较大的比表面积和孔隙分布,能吸附可溶性有机物、气体、土壤养分和水分,为多种微生物的聚集、生长与繁殖提供良好的环境^[26]。另一方面,生物炭所含丰富的碳、能量和矿质养分降解后为微生物的生长提供原材料,且其所含的黑色碳可作为一些微生物生存的唯一碳源,进而促进特定微生物的生长^[27]和改变微生物群落结构^[28-29]。施入土壤的生物炭与土壤结合,能显著改变土壤的通气状况,促进土壤团聚体的形成,进而影响土壤气体和水分状况^[30]。并且,生物炭会加深土壤颜色,使土壤温度升高,也有利于土壤微生物代谢^[26]。综合表现为提高土壤酶活性,增加土壤微生物量碳氮含量和三大类群微生物数量。

诸多研究表明,土壤微生物对生物炭的响应与试验条件(室内培养或田间试验)、土壤质地及肥力状况、土地利用方式、养分管理及生物炭自身性质(材料

来源、热解温度)等密切相关^[31-32]。Steinbeiss等^[28]研究表明,Yeast-derived的生物炭促进土壤真菌的繁殖,而Glucose-derived的生物炭却促进革兰氏阴性细菌的繁殖。添加不同量木炭(0、5、25 t·hm⁻², 600℃)的室内培养试验表明^[33],高用量生物炭处理较对照显著降低了微生物量碳。生物炭的稳定性决定了其对土壤肥力的改变是一个不断积累的过程,因此应根据生物炭的性质和土壤类型的差异针对土壤生物活性的变化来开展长期的试验研究。

4 结论

(1)施用生物炭可以显著提高土壤脲酶、过氧化氢酶和玉米收获后碱性磷酸酶活性,但对蔗糖酶和小麦季碱性磷酸酶活性影响不显著。生物炭还可以显著提高土壤酶指数,但两季作物收获后土壤酶指数增幅变化趋势相反。

(2)生物炭可显著提高苗期、越冬期和返青期土壤微生物量碳以及玉米成熟期、返青期和拔节期微生物量氮含量,其中用量为80 t·hm⁻²时效果最显著,但显著降低玉米成熟期、返青期和拔节期土壤微生物量碳氮比。土壤微生物量碳氮含量在越冬期最低,但其峰值分别出现在拔节期和返青期,这与作物生育旺盛时期一致。生物炭还显著降低了微生物量碳和微生物量碳氮比的季节波动,但提高了微生物量氮的季节变异,其增幅(0.1%~25.7%)随用量的增加而增大。

(3)生物炭显著增加了土壤三大类微生物类群的数量,其增幅随用量的增加而增大,但小麦季明显低于玉米季。

参考文献:

- [1] 马晓霞,王莲莲,黎青慧,等.长期施肥对玉米生育期土壤微生物量碳氮及酶活性的影响[J].生态学报,2012,32(17):5502-5511.
MA Xiao-xia, WANG Lian-lian, LI Qing-hui, et al. Effects of long-term fertilization on soil microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activities during maize growing season[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(17):5502-5511.
- [2] 贾伟,周怀平,解文艳,等.长期有机无机肥配施对褐土微生物量碳氮及酶活性的影响[J].植物营养与肥料学报,2008,14(4):700-705.
JIA Wei, ZHOU Huai-ping, XIE Wen-yan, et al. Effects of long-term inorganic fertilizer combined with organic manure on microbial biomass C, N and enzyme activity in cinnamon soil[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2008, 14(4):700-705.
- [3] Liu E K, Zhao B Q, Mei X R, et al. Effects of no-tillage management on soil biochemical characteristics in Northern China[J]. *Agric Sci Camb*, 2010, 148:217-223.
- [4] Knicker H. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon: A review[J]. *Biogeochemistry*, 2007, 85:91-118.
- [5] Kolton M, Harel Y M, Pasternak, et al. Impact of biochar application to soil on the root-associated bacterial community structure of fully developed greenhouse pepper plants[J]. *Applied Environment Microbiology*, 2011, 77(14):4924-4930.
- [6] 黄剑.生物炭对土壤微生物量及土壤酶的影响研究[D].北京:中国农业科学院,2012.
HUANG Jian. The effect of biochar application on soil microbial biomass and soil enzymes[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Science, 2012.
- [7] 鲍士旦.土壤农化分析[M].三版.北京:中国农业出版社,2001.
BAO Shi-dan. Soil and agro-chemistry analysis[M]. 3rd Ed. Beijing: China Agricultural Press, 2001.
- [8] 严昶升.土壤肥力研究法[M].北京:农业出版社,1988:141-147.
YAN Chang-sheng. Soil fertility research methods[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1988:141-147.
- [9] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986:271-319.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and study method[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986:271-319.
- [10] 吴金水,林启美,黄巧云,等.土壤微生物生物量测定方法及其应用[M].北京:气象出版社,2006:54-79.
WU Jin-shui, LIN Qi-mei, HUANG Qiao-yun, et al. Soil microbial biomass-methods and application[M]. Beijing: China Meteorological Press, 2006:54-79.
- [11] 程丽娟,薛泉宏.微生物学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000:63-83.
CHENG Li-juan, XUE Quan-hong. Laboratory manual of microbiology[M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000:63-83.
- [12] 王兵,刘国彬,薛莲,等.黄土丘陵区撂荒对土壤酶活性的影响[J].草地学报,2009,17(3):282-287.
WANG Bing, LIU Guo-bin, XUE Jie, et al. Effect of farmland abandonment on soil enzyme activities in loess hilly region[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2009, 17(3):282-287.
- [13] Czimczik C I, Masiello C A. Controls on black carbon storage in soils[J]. *Global Biogeochemistry Cycles*, 2007, 21(3):113.
- [14] Lehmann J, Joseph S. Biochar for environmental management: Science and technology[M]. Earthscan Ltd, London, UK. 2009.
- [15] 谢钰.王草产量、品质和土壤性状对生物炭浓度梯度的响应[D].海口:海南大学,2012.
XIE Yu. Responses of king grass yield, quality and soil to biochar rates[D]. Haikou: Hainan University, 2012.
- [16] 周礼恺,张志明,曹承绵.土壤酶活性的总体在评价土壤肥力水平中的作用[J].土壤学报,1983,20(4):413-417.
ZHOU Li-kai, ZHANG Zhi-ming, CAO Chen-mian. On the role of the totality of soil enzyme activities in the evaluation of the level of soil fertility[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1983, 20(4):413-417.
- [17] 吕伟波.生物炭对土壤微生物生态特征的影响[D].杭州:浙江大学,2012.
LÜ Wei-bo. Effect of biochar on soil microbial biomass, respiration and community structure[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.

- [18] 匡崇婷. 生物质炭对红壤水稻土有机碳分解和重金属形态的影响[D]. 南京:南京农业大学, 2012.
KUANG Chong-ting. Influence of biochar amendments on decomposition of soil organic carbon and morphology of heavy metal in red paddy soil[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [19] 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.
HUANG Chao, LIU Li-jun, ZHANG Ming-kui. Effects of biochar on properties of red soil and ryegrass growth[J]. *Journal of Zhejiang University(Agric & Life Sci)*, 2011, 37(4): 439–445.
- [20] 游东海. 秸秆直接还田效果及秸秆热解制成生物炭还田模拟研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2012.
YOU Dong-hai. The study of straw and biochar returning on soil quality and soil carbon content in Guanzhong plain[D]. Xi'an: Northwest A&F University, 2012.
- [21] 李东坡, 王志杰, 陈利军, 等. 长期培肥黑土微生物量碳动态变化及影响因素[J]. 应用生态学报, 2004, 15(8): 1334–1338.
LI Dong-po, WU Zhi-jie, CHEN Li-jun, et al. Dynamics of microbial biomass C in a black soil under long-term fertilization and related affecting factors[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(8): 1334–1338.
- [22] Chan K Y, Zwieter L, Meszaros I, et al. Agronomic values of green-waste biochar as a soil amendment[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2007, 45: 629–634.
- [23] Pignataro A, Moscatelli M C, Mocali S, et al. Assessment of soil microbial functional diversity in a coppiced forest system[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 62: 115–123.
- [24] 孙大奎, 孟军, 张伟明, 等. 生物炭对棕壤大豆根际微生物的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2011, 42(5): 521–526.
SUN Da-quan, MENG Jun, ZHANG Wei-ming, et al. Effect of biochar on soybean rhizosphere microbes from brown earth soil[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2011, 42(5): 521–526.
- [25] 邹莉, 唐庆明, 王轶. 落叶松、樟子松纯林及混交林土壤微生物的群落分布特征[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(11): 63–64.
ZOU Li, TANG Qing-ming, WANG Yi. Ecological distribution of soil microorganism in pure and mixed forests of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and *Larix gmelini*[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2010, 38(11): 63–64.
- [26] Lehmann J, Gaunt J, Rondon M. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems: A review[J]. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 2006, 11: 403–427.
- [27] Hamer U, Marschner B, Brodowski S, et al. Interactive priming of black carbon and glucose mineralization[J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(7): 823–830.
- [28] Steinbeiss S, Gleixner G, Antonietti M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41: 1301–1310.
- [29] Grossman J, O'Neill B E, Tsai S M, et al. Amazonian anthrosols support similar microbial communities that differ distinctly from those extant in adjacent, unmodified soils of the same mineralogy[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 60: 192–205.
- [30] Glaser B, Lehmann J, Zech W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal: A review[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35: 4.
- [31] Kolb S E, Fermanich K J, Dornbush M, et al. Effect of charcoal quantity on microbial biomass and activity in temperate soils[J]. *Soil Science Society of American Journal*, 2009, 73(4): 1173–1181.
- [32] Steiner C, Das K C, Garcia M, et al. Charcoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthic Ferral-sol[J]. *Pedobiologia*, 2008, 51: 359–366.
- [33] 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*, 2011, 354(1/2): 311–324.