

盖霞普, 刘宏斌, 翟丽梅, 等. 生物炭对中性水稻土养分和微生物群落结构影响的时间尺度变化研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(4):719-728.
GAI Xia-pu, LIU Hong-bin, ZHAI Li-mei, et al. Temporal fluctuations of impacts of corn-stover biochar on nutrients and microbial community structure in a neutral paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(4):719-728.

生物炭对中性水稻土养分和微生物群落结构影响的时间尺度变化研究

盖霞普¹, 刘宏斌¹, 翟丽梅¹, 任天志², 王洪媛^{1*}

(1. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业部面源污染控制重点实验室, 北京 100081; 2. 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 采用室内培养实验研究了生物炭对中性水稻土养分、微生物量和磷脂脂肪酸(PLFA)特征的影响。试验采用玉米秸秆生物炭(炭化温度 500 °C), 分别按照炭土质量比 0(CK)、1%(T1)、2%(T2)和 4%(T3)施用于土壤中, 进行好气培养。结果表明: 从时间尺度变化规律来看, 土壤中铵态氮和硝态氮以及微生物量碳氮呈现波动性变化规律, 在培养第 21 d 达到最低值, 随后又呈现增加趋势, 这与土壤中可利用态碳氮养分消耗有关。从生物炭的添加效果来看, 与 CK 相比, 生物炭的添加能够提高土壤 pH 值、有机质、全氮含量, 降低铵态氮、硝态氮含量; 生物炭的添加能够提高土壤微生物量碳氮含量, 与 CK 相比, T1~T3 处理微生物量碳、氮含量分别提高 5.5%~14.3%、4.8%~25.7%; 生物炭的添加降低了土壤 PLFA 含量, 但土壤中各微生物类群 PLFA 含量在处理间差异不明显, 表明其对土壤微生物群落结构影响不显著。总之, 施用生物炭在一定程度上可以改善中性水稻土养分状况, 提高土壤微生物量含量, 改善土壤肥力水平。

关键词: 生物炭; 土壤养分; 微生物量; 磷脂脂肪酸; 中性水稻土

中图分类号: X712 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2016)04-0719-10 doi:10.11654/jaes.2016.04.016

Temporal fluctuations of impacts of corn-stover biochar on nutrients and microbial community structure in a neutral paddy soil

GAI Xia-pu¹, LIU Hong-bin¹, ZHAI Li-mei¹, REN Tian-zhi², WANG Hong-yuan^{1*}

(1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Nonpoint Source Pollution Control, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: A laboratory incubation study was conducted to examine the effects of biochar on soil nutrients, microbial biomass and phospholipids fatty acids (PLFA) in a neutral paddy soil. The biochar, pyrolyzed from corn-stover at 500 °C, was applied to a neutral paddy soil at rates of 0 (CK), 1% (T1), 2% (T2) and 4% (T3) of soil mass. Results showed that soil ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, microbial biomass carbon and microbial biomass nitrogen fluctuated over time. These parameters reached the lowest levels on day 21st and then showed an increasing trend, which was attributed to the consumption of soil available nutrients. Additions of biochar increased pH values, organic matter, and total nitrogen in soil, but decreased soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen, as compared with CK. In addition, soil microbial biomass carbon and microbial biomass nitrogen were increased by 5.5%~14.3% and 4.8%~25.7% in T1~T3 treatments. Although PLFA content was slightly reduced by biochar amendments, the species of PLFA showed no significant difference among biochar treatments. The

收稿日期: 2015-11-15

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303095); 国家自然科学基金项目(41301311, 41203072)

作者简介: 盖霞普(1987—), 女, 山东德州人, 博士研究生, 主要从事生物炭对土壤氮素的影响研究。E-mail: happygaixiapu@126.com

* 通信作者: 王洪媛 E-mail: wanghongyuan@caas.cn

diversity of soil microbial community structure was not affected by the presence of corn-stover biochar. In conclusion, biochar amendments could improve soil nutrients, enhance soil microbial biomass, and promote soil fertility of the neutral paddy soil.

Keywords: biochar; soil nutrients; microbial biomass; phospholipid fatty acid; neutral paddy soil

稻田覆盖了世界灌溉农田总面积的 20%^[1],在全球温室气体交易过程中扮演了重要角色。我国稻田主要分布在南方地区,水稻土呈中性,具有土壤淋溶作用较强、易板结、质地黏重等特点,而且水稻土一般养分含量较低,氮肥利用效率低下,导致作物产量低而不稳。

生物炭(biochar)作为生物质热解炭化生成的一种含碳量极其丰富的、性质稳定的产物^[2],具有孔隙结构发达,较强的吸附特性和高度的稳定性^[3],不仅能够提高土壤 pH 和土壤含水量,改善土壤结构^[4],而且能够提高土壤有机质含量^[5],增加土壤中氮、磷、钾、钙、镁等含量^[6-7],增加土壤固碳能力及农作物产量^[8]等。近年来,利用生物炭改良水稻土的研究逐渐增多。Chen 等^[9]通过 2 年的稻田田间试验发现,生物炭的添加显著提高偏酸性稻田土壤有机碳和全氮水平,降低土壤硝态氮含量,改善了土壤肥力质量;同时,提高了土壤细菌群落结构多样性,但是对微生物量碳氮含量未产生明显影响。李明等^[10]通过 135 d 室内培养实验发现,水稻和玉米秸秆炭均能够改良红壤性水稻土的酸度,提高土壤养分含量和微生物量水平,改变土壤微生物群落结构。陈安强等^[11]通过 1 年的稻田田间试验发现,生物炭可以显著提高土壤微生物量碳。因此,将生物炭作为改良剂添加到水稻土中,有助于提高土壤肥力、改善土壤环境质量。

已有研究表明,农田施用生物炭可以促进土壤呼吸作用和提高土壤微生物活性^[12]。Zimmerman 等^[13]研究表明,施用生物炭的土壤中碳释放量比对照高,同时,累积碳矿化量随着生物炭热解温度的降低而升高。O'Neill 等^[12]和 Taketani 等^[14]发现含碳量丰富的 Arthrosols 土壤中,其微生物量高于周围邻近的贫瘠土壤。其原因是生物炭能够为多种微生物的生长与繁殖提供良好的环境^[15],另一方面,生物炭所含丰富的碳能够作为一些微生物生存的唯一碳源,促进特定微生物的生长繁殖^[16-17]。也有研究认为,施入土壤的生物炭与土壤结合,显著改善了土壤的通气状况,促进土壤团聚体的形成,进而影响土壤气体和水分状况^[18],影响微生物活性。

PLFA 分析被广泛地应用于土壤微生物群落结构多样性的研究,PLFA 是磷脂的构成成分,它具有结构多样性和生物特异性,土壤中 PLFA 的存在及其丰度

可揭示特定生物或生物种群的存在及其丰度,可用以表征微生物群落中“存活”的那部分群体^[19]。生物炭能够通过改善土壤微环境影响微生物群落组成^[20]。Bamminger 等^[21]通过 37 d 的室内培养实验发现,在凋落物存在的条件下,生物炭的添加能够显著提高微生物 PLFA 总含量(达 16%)和细菌类 PLFA 含量(达 11%),尤其是显著提高了革兰氏阳性细菌的丰度,同时,生物炭的添加能够显著提高真菌类 PLFA 含量(达 34%)。然而,也有研究表明,生物炭的添加对土壤微生物量和 PLFA 含量无显著影响^[22]。在比利时开展的 2 年田间试验发现,施用 480 °C 炭化的硬木和软木混合制备的生物炭,能够提高砂壤土含水量,改善土壤有机碳水平,但是对第一年土壤微生物群落结构影响较小,仅仅表现为提高了细菌类 PLFA 含量,对真菌类 PLFA 无明显影响^[23]。

目前,关于生物炭对水稻土微生物群落结构多样性的影响仍存争议,尤其是生物炭对土壤养分及生物学指标时间尺度上的变化特征影响未见广泛报道。本论文采用玉米秸秆生物炭作为改良措施,从土壤养分状况及微生物群落结构等方面进行了系统的研究,以期中性水稻土的培肥改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤性质

试验用土采自湖南省农业科学院长期定位试验超级稻稻田耕作层(0~20 cm)新鲜土壤,土壤类型为第四纪红壤发育的水稻土,在选定的地点上通过多点混合采集 0~20 cm 土层土样,将采集的土壤样品自然风干至土壤含水量为 20%,挑去肉眼可见的细根和石块后过 2 mm 筛用于培养实验。耕层土壤理化性质为:pH7.5,土壤有机质(SOM)45.7 g·kg⁻¹,全氮(TN)2.3 g·kg⁻¹,铵态氮(NH₄⁺-N)2.2 mg·kg⁻¹,硝态氮(NO₃⁻-N)29.5 mg·kg⁻¹,可溶性碳(DOC)169.7 mg·kg⁻¹,可溶性氮(DON)153.2 mg·kg⁻¹,全磷(TP)1.8 g·kg⁻¹,全钾(TK)12.0 g·kg⁻¹,电导率(EC)194 μS·cm⁻¹。

1.2 玉米秸秆生物炭制备及性质

本研究所用生物炭制备方法参考盖霞普等^[24]。试验采用地上部玉米秸秆作为炭化原料,用蒸馏水清洗干净,65 °C 烘箱烘干。烘干的秸秆样品采用植物粉碎

机粉碎后装满不锈钢盒, 加盖密封, 置于马弗炉(SXZ-12-10)中, 逐渐升温至 500 °C、并保持 500 °C 条件下持续炭化 1.5 h, 炭化后样品冷却, 过 20 目筛(1 mm)后保存在棕色广口瓶中。生物炭的理化特征为: pH10.0, 灰分含量 34%, 含碳(C)量 23.2%, 含氮(N)量 0.7%, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量 $2.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 阳离子交换量(CEC) $23.8 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.3 培养实验

试验于 2014 年 7—8 月在实验室进行。称 100 g 水稻土样品, 加入 0%、1%、2%、4% 玉米秸秆生物炭(炭土比)于 250 mL 塑料杯中(分别用 CK、T1、T2、T3 表示), 调节水分至田间持水量的 40%^[25], 用保鲜膜封口, 并在保鲜膜中间留一小孔, 将其置于 25 °C 下恒温培养箱中培养, 每隔 3 d 称重补水, 每个处理设置 3 个重复。分别在培养实验过程中的第 1、3、6、9、14、21、31、41 d 进行破坏性取样。新鲜样品于 4 °C 下冷藏保存, 测定土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、微生物量碳/氮、DOC/DON、土壤呼吸等指标; 部分土样经冷冻干燥处理后, 用于 PLFA 分析; 风干样品测定土壤 pH、TN、SOM 等指标。

1.4 土壤样品的分析测定方法

土壤 pH、SOM、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TP 和 TK 均采用常规分析方法^[26]。土壤 pH 采用 pH 计(Mettler Toledo Delta 320)测定(水/土为 5:1); SOM 测定采用重铬酸钾-外加热容量法; 土壤 TN 采用浓 H_2SO_4 消煮-半微量开氏法, 全自动开氏定氮仪(KDY-9830, Beijing)测定; 土壤无机氮(土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$)采用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 浸提, 流动分析仪(AA3)测定; 土壤 TP 采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法, 紫外分光光度计(PerkinElmer UV 25)测定; 土壤 TK 采用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵浸提, 火焰光度计(FP 6410)测定。

土壤微生物量的测定: 采用氯仿熏蒸- $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2SO_4 提取, Multi N/C 3100 总有机碳/总氮分析仪^[27], 具体操作过程如下: 称取相当于干土重量 10 g 的鲜土 6 份于 50 mL 烧杯中, 3 份用于氯仿处理, 3 份不经氯仿熏蒸的作对照。用氯仿处理时, 将盛有土壤的烧杯置于内铺一层湿润滤纸的真空干燥器中, 同时内放一装有 2/3 的去乙醇氯仿的 50 mL 小烧杯(烧杯中放几粒沸石)和一装有稀氢氧化钠溶液的小烧杯, 密封真空干燥器并连到真空泵, 抽真空至氯仿沸腾 5 min。将干燥器放入 25 °C 培养箱中黑暗放置 24 h。熏蒸与对照处理结束后, 转移烧杯中的土壤于 100 mL 塑料瓶中, 加入 40 mL $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2SO_4 溶液(土:液=1:4),

在 25 °C 振荡器中振荡提取 30 min, 然后过滤取得上清液。上清液中的总有机碳、氮用 Multi N/C 3100 自动分析仪测定, 熏蒸土壤和未熏蒸土壤提取的有机碳、氮测定值之差(E_c)、(E_n)分别除以相对应的转换系数 K_{EC} (0.45)、 K_{EN} (0.68)得到土壤微生物量碳(MBC, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、微生物量氮(MBN, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。即: $\text{MBC} = E_c / K_{EC} = E_c / 0.45$, $\text{MBN} = E_n / K_{EN} = E_n / 0.68$ 。

土壤呼吸的测定: 称取 30 g 混有生物炭的新鲜土样于 500 mL 棕色广口瓶中, 调节土壤含水量至田间持水量的 60%, 吸取 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液 5 mL 于小烧杯中, 轻轻置于棕色广口瓶中, 塞紧瓶塞, 于 25 °C 恒温培养箱中培养 24 h。培养结束时, 用蒸馏水将 NaOH 溶液洗入滴加酚酞的三角瓶中, 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准盐酸溶液滴定至红色消失, 试验另设不加土壤的空白作对照。计算结果:

$$\text{CO}_2(\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}) = \{[(V_0 - V) \times c \times 0.022 \times (22.4/44) \times 1000] \times 2 \times 1000\} / m$$

式中: V_0 为空白滴定时消耗标准盐酸的体积, mL; V 为样品滴定时消耗标准盐酸的体积, mL; c 为标准盐酸的浓度, $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 0.022 为二氧化碳($1/2\text{CO}_2$)的摩尔质量, 其值为 $0.022 \text{ g} \cdot \text{mmol}^{-1}$; $22.4 \times 1000/44$ 为标准状态下每克 CO_2 的毫升数。

土壤微生物群落结构多样性采用 PLFA 分析。本文脂类提取和磷酸酯脂肪酸分离的基本步骤如下^[28]: 首先, 将冷冻干燥的土样过 100 目筛, 取 2.0 g 样品于干净的试管内, 用氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液(体积比 1:2:0.8)振荡提取脂类, 提取液过硅胶柱层析, 分别用氯仿、丙酮和无水甲醇洗脱, 将含磷脂部分用氮气吹干, 然后用碱性甲醇水解和皂化(甲基化)得到磷脂脂肪酸甲酯(FAME), 用 Agilent 6890GC(G1530N/G3172A)气相色谱仪(ECD 检测器)分析测定提取的 FAME 含量。PLFA 的定性和定量分析以 PLFA 19:0 做内标物进行计算^[23]。特定脂肪酸以碳的数目、双键的数目和双键距离分子末端的位置(从甲基端起)的方式命名。命名法采用 X:Y ω Z(其中 X 指主链碳原子个数, Y 为双键个数, Z 为甲基链距离双键的位置), c, t 分别表示顺式和反式脂肪酸, a, i 分别指反式支链脂肪酸及异式支链脂肪酸, cy 表示环状脂肪酸, 10 Me 表示第 10 个碳原子上的甲基(从羟基端起)^[29]。磷脂脂肪酸鉴定分为 5 类, 各类群微生物标记如表 1 所示。

1.5 数据分析

采用 OriginLab 8.1 软件作图, PLFA 数据以

表1 表征土壤微生物的 PLFA
Table 1 PLFA characterizing microbes

微生物类型 Microbial group	磷脂脂肪酸标记 PLFA signature	参考文献 Reference
细菌 Bacteria in general	i15:0;a15:0;15:0;i16:0;a16:0;16:0;16:1ω7;i17:0;a17:0;17:0;cy17:0;17:1ω8; 18:0;18:1ω5;18:1ω7;cy19:0	[30-32]
真菌 Fungi	16:3ω6c;18:1ω9c;18:2ω6,9	[33-35]
放线菌 Actinomycetes	16:0 10-Me;17:0 10-Me;18:0 10-Me	[33]

nmol·g⁻¹ 数值进行多元统计分析,并将各种脂肪酸的含量(nmol%)与土壤中的化学养分进行冗余度分析(Redundancy analysis, RDA)。采用 Canoco 4.5 软件进行 RDA 分析,研究土壤性质与微生物群落结构之间的关系。所有数据采用 SAS 软件进行(Version 9.1)单因素方差分析(One-way ANOVA),统计分析添加生物炭处理的土壤生化性质之间的差异,多重比较采用 Duncan 法($P=0.05$),平均值在 $P<0.05$ 水平下的任何差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 生物炭对土壤养分状况和土壤呼吸的影响

41 d 的培养实验结果表明(表 2),中性水稻土有机质含量显著降低,TN 含量变化较小,土壤 C:N 值从 11.5 下降到 10.5。生物炭能够提高土壤 pH 值,幅度为 0.02~0.11 个单位,处理间差异不显著。生物炭的添加能够显著增加 SOM 和 TN 含量($P<0.05$),和 CK 相比,T1、T2、T3 处理分别提高 SOM 含量为 13.0%、30.2%、53.4%,提高土壤 TN 含量为 4.4%~13.0%。

从表 2 可以看出,培养 41 d 后,生物炭的添加对土壤呼吸速率有一定的促进作用,且生物炭浓度越高,促进作用越大。和 CK 相比,T1、T2、T3 处理的土壤呼吸速率分别增加 11.1%、17.6%、28.7%。

表2 生物炭对中性水稻土养分和土壤呼吸的影响

Table 2 Nutrients and respiration in neutral paddy soil after biochar amendments

处理 Treatment	pH	土壤养分 Soil nutrient		土壤呼吸 Soil respiration CO ₂ /mL·kg ⁻¹
		SOM/g·kg ⁻¹	TN/g·kg ⁻¹	
CK(0%biochar)	7.38a	41.38d	2.29b	61.4d
T1(1%biochar)	7.40a	46.84c	2.32b	68.2c
T2(2%biochar)	7.41a	53.86b	2.60a	72.2b
T3(4%biochar)	7.49a	63.49a	2.61a	79.0a

注:同一列的不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。SOM 为土壤有机质;TN 为全氮。

Note: Different letters within a column indicate significant difference ($P<0.05$). SOM is soil organic matter; TN is total nitrogen.

2.2 生物炭对土壤无机氮含量的影响

生物炭对土壤中 NH₄⁺-N 含量的影响如图 1 所示。从时间尺度上看,在培养第 1 d, NH₄⁺-N 较高,第 3 d 时, NH₄⁺-N 降低;在随后的培养过程中,土壤中 NH₄⁺-N 含量先升高后降低,并在培养的第 21 d 降至最低值,随后 NH₄⁺-N 含量趋于稳定;在培养的第 14 d 达到峰值,CK、T1、T2、T3 处理的 NH₄⁺-N 含量分别为 4.0、2.5、2.3、2.0 mg·kg⁻¹。从生物炭添加的效果来看,处理间差异显著($P<0.05$),和 CK 相比,T1-T3 处理减少土壤 NH₄⁺-N 含量达 37.5%~50.0%。

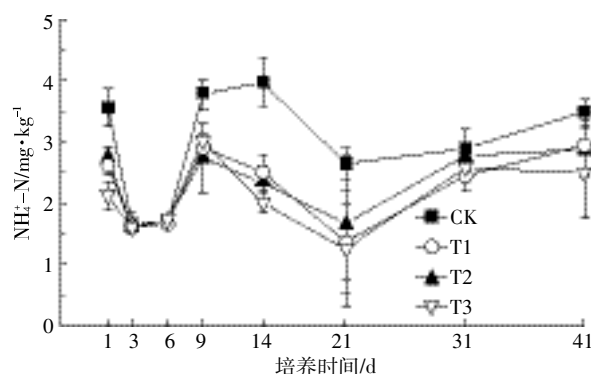


图1 生物炭对土壤铵态氮含量影响的时间尺度变化特征
Figure 1 Temporal changes of soil ammonium nitrogen content after biochar amendments

生物炭对土壤 NO₃⁻-N 含量的影响如图 2 所示。从时间尺度上看,随培养时间的延长,土壤中 NO₃⁻-N 含量逐渐升高(1~9 d),第 9~14 d NO₃⁻-N 含量趋于稳定,第 14~21 d 稍稍下降,而在培养第 31 d 达到最大值,CK、T1、T2、T3 处理的土壤 NO₃⁻-N 含量分别为 81.4、76.0、71.4、70.3 mg·kg⁻¹,呈现土壤中 NO₃⁻-N 累积现象。从生物炭添加处理上看,高量(4%)生物炭的添加能够降低土壤 NO₃⁻-N 含量,而少量(1%~2%)生物炭的添加对土壤 NO₃⁻-N 含量影响不显著。

2.3 生物炭对土壤微生物量的影响

生物炭的添加对土壤 MBC 含量的影响如图 3a 所示。从时间尺度变化上看,随着培养时间的延长,土

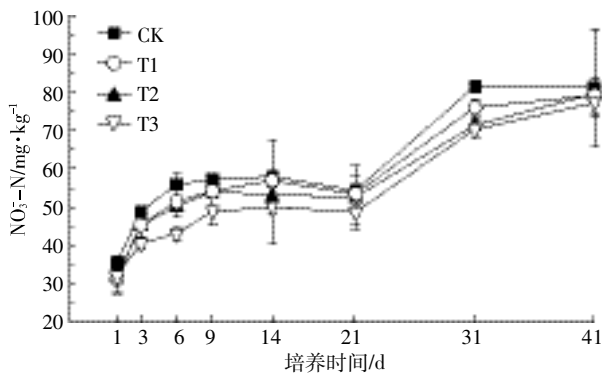


图 2 生物炭对土壤硝态氮含量影响的时间尺度变化特征

Figure 2 Temporal changes of soil nitrate nitrogen content after biochar amendments

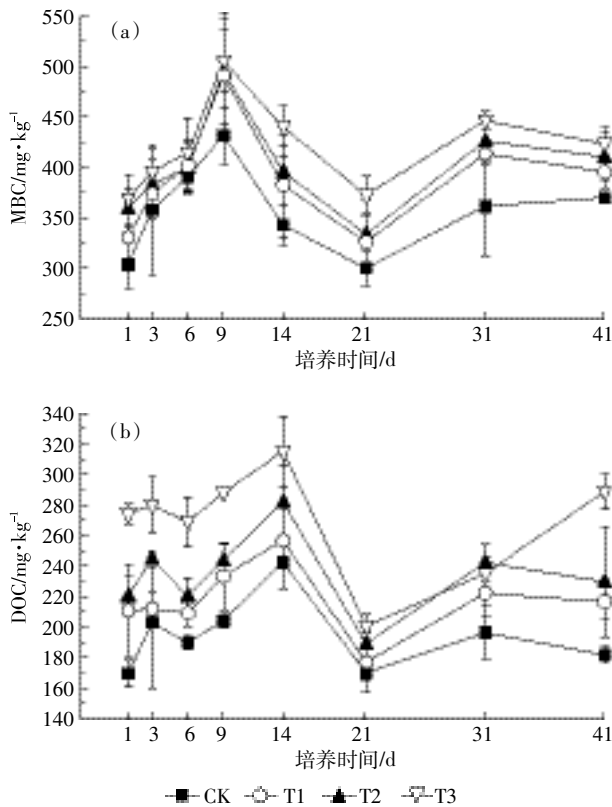


图 3 生物炭对土壤微生物量碳(a)与可溶性碳(b)含量影响的时间尺度变化特征

Figure 3 Temporal changes of soil MBC and DOC content after biochar amendments

壤 MBC 含量表现为先逐渐增加, 在培养第 9 d 达到峰值, 随后逐渐降低, 在培养第 21 d 达到最低值, 最后逐渐达到稳定状态, 至第 41 d 时, CK、T1、T2、T3 各处理土壤 MBC 含量分别为 370.3、395.7、410.6、423.3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。从生物炭添加的处理效果来看, 在每一个培养时间内, 和 CK 相比, 生物炭的添加均能够增加土

壤 MBC 含量, 且添加量越大, MBC 增加幅度越大, 以培养第 9 d 峰值数据为例, T1、T2、T3 各处理土壤 MBC 含量分别比 CK ($431.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 高 13.7%、14.7%、17.1%。

生物炭的添加对土壤 DOC 含量的影响如图 3b 所示。DOC 与 MBC 的变化趋势相似, 从时间尺度上看, DOC 含量在培养的第 1~14 d 逐渐升高, 第 14 d 达到峰值后, DOC 含量迅速降低, 在第 21 d 降至最低值, 随后逐渐升高, 至第 41 d 时, CK、T1、T2、T3 各处理土壤 DOC 含量分别为 182.1、216.8、229.9、288.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。从生物炭添加效果来看, 生物炭的添加均能够提高每一个培养时间内的 DOC 含量, 以培养第 14 d 峰值数据为例, T1、T2、T3 各处理的土壤 DOC 含量分别是 CK 的 1.30、1.16、1.06 倍。

生物炭的添加对土壤 MBN 含量的影响如图 4a 所示。从时间尺度上看, 土壤中的 MBN 含量随着培养时间的延长逐渐降低, 在培养第 21 d 达到最低值, 而后呈增加趋势, 在培养第 31 d, MBN 含量增至接近初状态, 随后又呈现降低趋势。在培养第 41 d, CK、

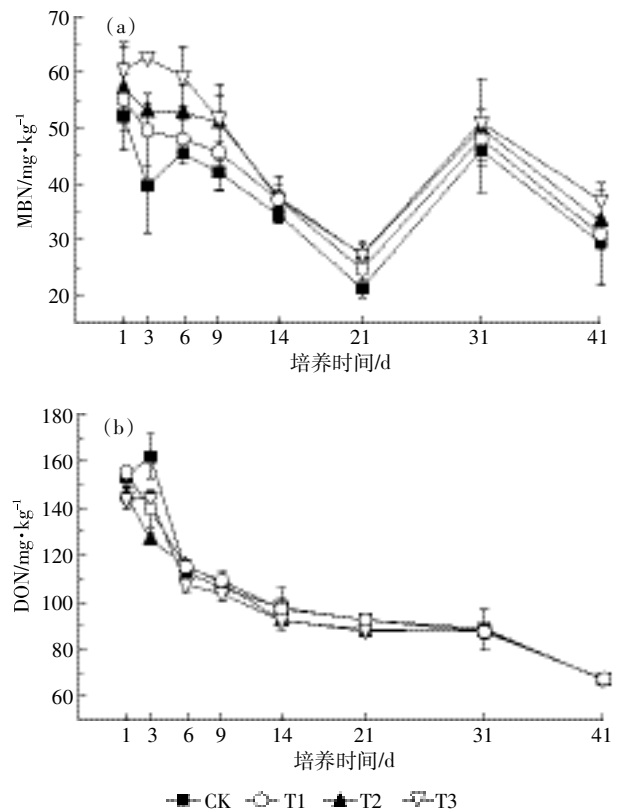


图 4 生物炭对土壤微生物量氮(a)与可溶性氮(b)含量影响的时间尺度变化特征

Figure 4 Temporal changes of soil MBN and DON content after biochar amendments

T1、T2、T3 各处理 MBN 含量分别为 29.5、30.9、33.3、37.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。从生物炭添加效果来看,和 MBC 变化趋势相似,生物炭的添加可增加每一时间段内的 MBN 含量,以培养 41 d 结束时为例,T1、T2、T3 处理的 MBN 含量分别比 CK(29.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)高 4.8%、12.9%、25.7%。

生物炭的添加对土壤可溶性氮(DON)含量的影响如图 4b 所示。与 MBN 和 DOC 含量的变化趋势不同,从时间尺度上看,DON 含量表现为培养初期(第 1~3 d),DON 含量较高,随着时间的延长而逐渐降低,并在培养末期,降至最低值。此外,生物炭的添加对土壤 DON 含量影响不显著($P>0.05$)。

2.4 生物炭对土壤微生物 PLFA 特性的影响

2.4.1 对土壤微生物 PLFA 种类和含量的影响

对培养 41 d 结束后土壤进行 PLFA 分析,碳原子数从 10 到 20 共 94 种 PLFA 被检测出,选择了含量较高的 19 种 PLFA 来作分析比较,PLFA 的种类和含量见表 3。结果发现水稻土的 4 个处理中均含有各种饱和、不饱和、带有支链和环状的 PLFA,PLFA 种类表现为处理间差异不显著;对每一种 PLFA 而言,生物炭的添加对其影响不明显。以土壤中较丰富的 i15:0、16:0 和 16:0 10-Me 脂肪酸进行分析,CK、T1、T2、T3 处理的土壤中 3 类 PLFA 含量分别为 7.64~6.74 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 、10.61~9.38 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 7.19~6.02 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

基于含量较高的 19 种 PLFA 来进行微生物类型划分,分为 3 类(表 4),包括细菌、真菌、放线菌。其中,细菌含量最高,其次为放线菌,真菌最少。添加生物炭降低了 PLFA 含量,但土壤中各微生物类群 PLFA 含量处理间差异不明显。和 CK(56.72 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)相比,T1、T2、T3 处理的 PLFA 总量分别为 53.85~49.27 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。对细菌 PLFA 含量而言,CK、T1、T2、T3 各处理的 PLFA 含量为 44.09~38.52 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$,生物炭对放线菌、真菌 PLFA 含量的影响与细菌相似,CK、T1、T2、T3 各处理的 PLFA 含量为 9.10~7.70 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 、3.53~

表 3 生物炭对土壤微生物主要 PLFA 构成特征的影响

Table 3 Profiles of main PLFA of microbes in soil after biochar amendments

PLFA 种类 PLFA Species	PLFA 含量 PLFA content/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$			
	CK 0% biochar	T1 1% biochar	T2 2% biochar	T3 4% biochar
i15:0	7.64	7.12	6.85	6.74
a15:0	4.56	4.37	4.19	4.09
16:3 ω 6c	2.15	1.98	1.96	1.83
i16:0	2.42	2.52	2.50	2.16
16:1 ω 7c	7.13	6.91	6.63	6.26
16:1 ω 5c	3.49	3.07	3.01	2.94
16:0	10.61	10.30	9.99	9.38
16:0 10-Me	7.19	6.46	6.42	6.02
i17:1 ω 9c	1.95	2.10	2.28	2.32
i17:0	1.99	1.87	1.86	1.76
a17:0	1.69	1.64	1.63	1.50
cy 17:0 ω 7c	3.32	3.13	3.03	2.87
18:2 ω 6c	1.38	1.38	1.29	1.22
18:1 ω 9c	3.66	3.46	3.38	3.07
18:1 ω 7c	5.27	4.82	4.56	4.29
18:1 ω 5c	1.12	0.98	0.97	0.89
18:0	1.66	1.61	1.56	1.45
18:0 10-Me	1.91	1.89	1.83	1.68
cy 19:0 ω 7c	2.93	2.51	2.48	2.24

3.05 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。土壤真菌/细菌比的范围为 0.080 06~0.079 18,表明生物炭的添加并没有显著影响这一比值($P>0.05$)。

2.4.2 PLFA 总量与土壤化学养分间的 RDA 分析

生物炭处理的 PLFA 总量与土壤化学养分的 RDA 分析表明,生物炭的添加影响了土壤 PLFA 的含量(图 5)。RDA 分析结果表明,第 1 轴(横轴)共解释了 85.6%的土壤化学养分信息,这 2 个轴(横轴+纵轴)共解释了 95.9%的土壤化学养分的信息。进一步对 7 个养分指标的 RDA 结果进行分析发现,DOC、DON 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 是影响 PLFA 总量的主要控制因素;添加生物

表 4 生物炭对土壤各微生物类群 PLFA 含量的影响

Table 4 Content of PLFA in microbial groups after biochar amendments

微生物类型 Microbial group	PLFA 含量 PLFA content/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$			
	CK 0% biochar	T1 1% biochar	T2 2% biochar	T3 4% biochar
细菌 Bacteria	44.09	42.14	40.74	38.52
真菌 Fungi	3.53	3.36	3.25	3.05
真菌/细菌 Ratio of bacteria and fungi	0.080 06	0.079 73	0.079 77	0.079 18
放线菌 Actinomycetes	9.10	8.35	8.25	7.70
PLFA 总量 Total PLFA	56.72	53.85	52.24	49.27

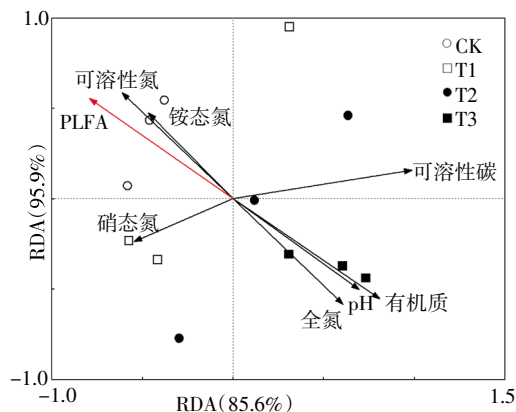


图5 添加生物炭对 PLFA 总量和土壤养分影响的冗余度分析结果

Figure 5 RDA results of soil PLFA and soil nutrients after biochar amendments

炭处理的点分布比较分散,代表了生物炭的添加对微生物群落结构的影响不显著。此类样点位于 pH、TN、SOM 和 DOC 的正方向上,说明添加生物炭,会相对提高这些指标的含量;同时,位于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 DON 的反方向上,说明添加生物炭能够降低这些指标的含量。

3 讨论

3.1 生物炭对土壤养分含量的影响

生物炭大多呈碱性,可改良酸性土壤^[36]。生物炭之所以能够提高土壤的 pH 值,主要是因为生物炭灰分中含有较多的钾、钠、钙、镁等盐基离子,可通过吸附作用降低土壤的交换性氢离子和铝离子水平^[36-37]。在本研究中,供试水稻土呈中性(pH7.5),生物炭对其 pH 的提高作用并不明显。

在土壤整个培养过程中,中性水稻土有机质含量显著降低。这表明,在没有外源碳加入的情况下,土壤有机质含量在环境适宜的条件下,会通过微生物活动显著下降,进而导致土壤中 C:N 比下降。施入生物炭后,土壤有机质含量显著升高,4%的生物炭添加量能够增加土壤有机质含量 53.4%。Ameloot 等^[38]的研究也发现施用 $49 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 木本生物炭能够提高土壤有机碳含量 115%。生物炭中含有部分易挥发物质,且表面官能团易被氧化^[39],随着生物炭在土壤中存在时间的延长,与土壤相互作用会产生一种保护机制,增加土壤有机质的稳定性,提高土壤有机碳积累水平^[40]。这之前报道的生物炭具有固碳、温室气体减排等作用相吻合^[2,15]。

土壤培养过程中,土壤 TN 含量略有降低,可

能是由于土壤微生物硝化及反硝化过程中 N_2O 等的损失所致。生物炭的添加提高了土壤中 TN 含量,主要是生物炭向土壤中释放的氮素引起的,与 Dong 等^[41]的研究结果一致。施入生物炭还能够改善土壤通气状况,抵制氮素微生物的反硝化作用,从而减少 N_2O 的形成和排放,进而使得土壤中 TN 含量增加^[15]。

土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的时间尺度变化规律为培养 3 d 含量迅速降低,随后先升高后降低,并在培养第 21 d 降至最低值,然后逐渐升高至稳定状态。与此同时,土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量初期比较稳定,在培养第 14~21 d 稍稍降低,随后呈逐渐增加的趋势,表现为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量逐渐累积的现象。主要原因是培养初期,在 DOC 充足的条件下(图 3b),微生物快速生长, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量在 3 d 内即被耗竭,而后,随着矿化作用的增强,土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量也逐渐增多,到第 21 d 时,土壤 DOC 含量达到最低,土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 均达到最低值。培养第 21~31 d 期间,由于土壤微生物的矿化作用与硝化作用^[42],土壤中无机氮含量以及 DOC 含量不断增加,最终在培养第 31 d 达到稳定。同时,高量生物炭的添加,可明显降低土壤无机氮含量。这一方面归因于生物炭凭借其巨大的比表面积、大量的表面负电荷以及较高的电荷密度,具有较强的吸附能力,吸附了以交换态形式存在的养分物质^[43],如 NH_4^+ ^[44];另一方面归因于生物炭刺激了土壤硝化作用^[45],从而降低了土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量。本研究中,少量生物炭的添加(1%~2%)对土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的影响不明显,与生物炭对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 不具有吸附能力有关^[44,46];而高量生物炭(4%)的添加能够降低土壤中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量,与 Beck 等^[47]的研究结果一致,生物炭(添加量 7%)处理的土壤中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 含量减少 79%~97%。

3.2 生物炭对土壤微生物活性及群落结构的影响

生物炭的添加能够显著改善微生物活性,一方面,生物炭可以通过促进微生物生长,加速土壤中不稳定碳组分的分解^[48];另一方面,加入生物炭的短时间内,生物炭中的易挥发性物质可以刺激微生物活性^[49-50],从而提高土壤呼吸强度。这与本研究的结果一致,表现为添加 1%~4% 生物炭,土壤呼吸强度提高 11.1%~28.7%。

土壤微生物量碳、氮和可溶性有机碳、氮是反应土壤被干扰程度的重要灵敏性指标^[51],在农田生态系统中,特别是外源有机物料的添加能够显著影响土壤微生物量碳、氮和可溶性有机碳、氮含量的变化^[11]。土

壤 MBC 的时间尺度变化规律主要是随着培养时间的延长, MBC 含量逐渐降低, 在第 21 d 降至最低值, 随后逐渐升高至接近起初水平; MBN 的时间尺度变化规律与 MBC 含量略有差异, 表现为随着时间的延长, 逐渐降低。主要因为培养初期, 在 DOC 含量充足的条件下, 微生物活性较高, MBC 和 MBN 含量较高, 随着时间的延长, 土壤中 DOC 含量达到最低值, 微生物可利用态碳最少, MBC、MBN 降至最低值。随后, 在土壤微生物的矿化作用与硝化作用下^[42], 土壤中无机氮含量以及 DOC 含量又逐渐增加, 土壤 MBC 含量也随之增加, 最终在培养第 31 d 达到稳定状态。MBN 的时间尺度变化规律与 MBC 略有不同, 主要是由于培养初期, 土壤中 DON 含量无法满足微生物合成氮量需求, 导致微生物有机体中碳氮比急剧下降^[52], MBN 含量持续下降, 直到培养第 21 d, MBN 含量达到最低, 之后随着土壤微生物矿化作用的增强, 微生物固氮能力逐渐提高, 在第 31 d 基本达到初始含量水平, 但随着培养试验时间的延长, 土壤中养分含量逐渐降低, 尤其是土壤 DON 含量的持续下降, MBN 含量又呈现了下降趋势。在本研究中, 生物炭的添加对土壤微生物量的影响与 Zhang 等^[17,53]的研究结果相似, 即生物炭能够增加土壤微生物量碳氮含量。生物炭的添加可增加土壤中 DOC 含量, 土壤中 DOC 浓度的增加, 刺激了微生物的活性, 导致 MBC 含量的增加; 同时, MBN 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, 与生物炭减少土壤中无机氮含量的结果一致。但也有研究报道农田施用生物炭对微生物量碳氮影响并不显著^[54-55], Dempster 等^[56]的研究则发现施用生物炭显著地降低了砂质土中微生物量碳, 且降低幅度随施用量的增加而增加, 与土壤类型、生物炭来源等因素有关^[57]。

与生物炭对土壤微生物量的影响不同, 生物炭的添加降低了土壤中 PLFA 含量, 但土壤中各微生物类群 PLFA 含量处理间差异不明显, 生物炭的添加对土壤微生物群落结构影响不显著。因生物炭的组分及结构特异性, 不同微生物群落对生物炭的响应往往不同; 微生物群落结构的改变程度主要受生物炭性质、添加量及土壤类型的影响。前人研究表明, 在森林土壤中, 添加 500 °C 碳化制备的糖枫木生物炭, 通过 24 周的室内培养实验发现, 培养 1~12 周以内, 生物炭的添加导致细菌、真菌 PLFA 含量呈现降低趋势, 归因于土壤中可利用态养分的快速消耗^[58]。然而, Ameloot 等^[38]开展的为期 14 个月的田间试验表明, 添加木质

生物炭 (30 或 60 t·hm⁻²) 对土壤微生物活性及细菌多样性无影响, 其原因还不清楚。RDA 分析表明, 土壤 DOC、DON 和 NO₃-N 的含量, 是影响中性水稻土的微生物群落结构的主要因素 (图 5), 正是生物炭对 DOC 含量的正效应与对 NO₃-N 的负效应的综合作用, 可能导致生物炭的添加对土壤微生物群落结构的影响不明显。因此, 生物炭的添加可能主要是通过改善土壤养分环境, 如 pH、SOC 和 DOC 含量等, 间接改善土壤微生物组成及群落结构, 此过程往往与试验条件、生物炭自身性质、土壤类型等密切相关, 其内在机制还需要进一步探讨。

4 结论

(1) 从时间尺度变化规律来看, 土壤中铵态氮和硝态氮以及微生物量碳氮均呈现波动性变化规律, 在培养的第 21 d 达到最低值, 随后又呈现增加趋势, 这与土壤中可利用态碳氮养分耗竭有关。

(2) 从生物炭的添加效果来看, 生物炭能够提高土壤 pH 值、有机质、全氮以及微生物量碳氮含量, 降低土壤中铵态氮、硝态氮以及 PLFA 含量, 但对微生物群落结构多样性影响不明显。

参考文献:

- [1] Frolking S, Qiu J, Boles S, et al. Combining remote sensing and ground census data to develop new maps of the distribution of rice agriculture in China[J]. *Global Biogeochemistry Cycles*, 2002, 16(4): 1091-1101.
- [2] Lehmann J, Joseph S. Biochar for environmental management: an introduction[M]//Lehmann J and Joseph S (Eds.), *Biochar for environmental management—science and technology*. Earthscan Publisher, UK and USA, 2009: 1-9.
- [3] Rebecca R. Rethinking biochar[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(17): 932-933.
- [4] Gaskin J W, Speir A, Morris L M, et al. Potential for pyrolysis char to affect soil moisture and nutrient status of a loamy sand soil[C]//Proceedings of the 2007 Georgia Water Resources Conference, University of Georgia, 2007.
- [5] Kimetu J M, Lehmann J. Stability and stabilisation of biochar and green manure in soil with different organic carbon contents[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2010, 48(7): 577-585.
- [6] Gaskin J W, Steiner C, Harris K, et al. Effects of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use[J]. *Transactions of the ASABE*, 2008, 51(6): 2061-2069.
- [7] Zhai L M, Cai J Z, Liu J, et al. Short-term effects of maize residue biochar on phosphorus availability in two soils with different phosphorus sorption capacities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(1): 113-122.
- [8] Lehmann J, Pereira da Silva J, Steiner C, et al. Nutrient availability and

- leaching in an archaeological anthrosol and a ferralsol of the Central Amazon Basin; Fertilizer, manure and charcoal amendments[J]. *Plant and Soil*, 2003, 249(2):343–357.
- [9] Chen J H, Liu X Y, Zheng J W, et al. Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 71:33–44.
- [10] 李明, 李忠佩, 刘明, 等. 不同秸秆生物炭对红壤性水稻土养分及微生物群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(7):1361–1369.
- LI Ming, LI Zhong-pei, LIU Ming, et al. Effects of different straw biochar on nutrient and microbial community structure of a red paddy soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(7):1361–1369.
- [11] 陈安强, 付斌, 鲁耀, 等. 有机物料输入稻田提高土壤微生物碳氮及可溶性有机碳氮[J]. 农业工程学报, 2015, 31(21):160–167.
- CHEN An-qiang, FU Bin, LU Yao, et al. Exogenous organic materials applied to paddy field improving soil microbial biomass C, N and dissolved organic C, N[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(21):160–167.
- [12] O'Neill B, Grossman J, Tsai M-T, et al. Bacterial community composition in Brazilian anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(1):23–35.
- [13] 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.
- [14] Taketani R G, Lima A B, da Conceicao Jesus E, et al. Bacterial community composition of anthropogenic biochar and Amazonian anthrosols assessed by 16S rRNA gene 454 pyrosequencing[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 104(2):233–242.
- [15] Lehmann J, Gaunt J, Rondon M. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems: A review[J]. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 2006, 11(2):403–427.
- [16] Hamer U, Marsehner B, Brodowski S, et al. Interactive priming of black carbon and glucose mineralization[J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(7):823–830.
- [17] Zhang Q Z, Dijkstra F A, Liu X R, et al. Effects of biochar on soil microbial biomass after four years of consecutive application in the North China Plain[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(7):e102062.
- [18] 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):219–230.
- [19] 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.
- [20] Khodadad C L, Zimmerman A R, Green S J, et al. Taxa-specific changes in soil microbial community composition induced by pyrogenic carbon amendments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(2):385–392.
- [21] Bamminger C, Zaiser N, Zinsner P, et al. Effects of biochar, earthworms and litter addition on soil microbial activity and abundance in a temperate agricultural soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(8):1189–1200.
- [22] Plaza C, Pawlett M, Fernández J M, et al. Does biochar interfere with standard methods for determining soil microbial biomass and phenotypic community structure? [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 81:143–146.
- [23] Nelissen V, Ruyschaert G, Manka'Abasi D, et al. Impact of a woody biochar on properties of a sandy loam soil and spring barley during a two-year field experiment[J]. *European Journal of Agronomy*, 2015, 62:65–78.
- [24] 盖霞普, 刘宏斌, 翟丽梅, 等. 玉米秸秆生物炭对土壤无机氮素淋失风险的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(2):310–318.
- GAO Xia-pu, LIU Hong-bin, ZHAI Li-mei, et al. Effects of corn-stalk biochar on inorganic nitrogen leaching from soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(2):310–318.
- [25] Ding Y, Liu Y X, Wu W X, et al. Evaluation of biochar effects on nitrogen retention and leaching in multi-layered soil columns[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2010, 213(1–4):47–55.
- [26] 鲁如坤. 土壤和农业化学分析法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- LU Ru-kun. The analytic method of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [27] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6):703–707.
- [28] Frostegård A, Tunlid A, Bååth F. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1993b, 59(11):3605–3617.
- [29] 王曙光, 侯彦林. 磷酸脂肪酸的方法在土壤微生物分析中的应用[J]. 微生物学通报, 2004, 31(1):114–117.
- WANG Shu-guang, HOU Yan-lin. Application of phospholipid fatty acid method in soil microbial analysis[J]. *Microbiology China*, 2004, 31(1):114–117.
- [30] Frostegård A, Bååth E, Tunlid A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993a, 25(6):723–730.
- [31] Tunlid A, Hoitink H A J, Low C, et al. Characterization of bacteria that suppress rhizoctonia damping-off in bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 55(6):1368–1374.
- [32] Zelles L, Bai Q Y, Beck T, et al. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1992, 24(4):317–323.
- [33] Marshall C B, McLaren J R, Turkington R. Soil microbial communities resistant to changes in plant functional group composition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(1):78–85.
- [34] Allison V J, Miller R M, Jastrow J D, et al. Changes in soil microbial community structure in a tallgrass prairie chronosequence[J]. *Soil Sci-*

- ence Society of America Journal, 2005, 69(5): 1412–1421.
- [35] Frederle T W. Microbial distribution in soil: New techniques[J]. *Slovene Society for Microbiology, Ljubljana*, 1986: 493–498.
- [36] Novak J M, Busscher W J, Laird D L, et al. Impact of biochar amendment on fertility of a Southeastern Coastal Plain soil[J]. *Soil Science*, 2009, 174(2): 105–112.
- [37] Van Zwieten L, Kimber S, Morris S, et al. Effects of biochar from slow pyrolysis of paper mill waste on agronomic performance and soil fertility[J]. *Plant and Soil*, 2010, 327(1–2): 235–246.
- [38] Ameloot N, Sleutel S, Case S D C, et al. C mineralization and microbial activity in four biochar field experiments several years after incorporation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78: 195–203.
- [39] Deenik J L, McClellan T, Uehara G, et al. Biochar volatile matter content effects on plant growth and nitrogen and nitrogen transformations in a tropical soil[C]. Western Nutrient Management Conference. Salt Lake City, Utah, 2009.
- [40] 张千丰, 王光华. 生物炭理化性质及对土壤改良效果的研究进展[J]. *土壤与作物*, 2012, 4(1): 219–226.
- ZHANG Qian-feng, WANG Guang-hua. Research progress of physiochemical properties of biochar and its effects as soil amendments[J]. *Soil and Crop*, 2012, 4(1): 219–226.
- [41] Dong D, Feng Q, McGrouther K, et al. Effects of biochar amendment on rice growth and nitrogen retention in a waterlogged paddy field[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(1): 153–162.
- [42] Prayogo C, Jones J E, Baeyens J, et al. Impact of biochar on mineralization of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(4): 695–702.
- [43] Liang B, Lehmann J, Solomon D, et al. Black carbon increases cation exchange capacity in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70(5): 1719–1730.
- [44] Gai X P, Wang H Y, Liu J, et al. Effects of feedstock and pyrolysis temperature on biochar adsorption of ammonium and nitrate[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(12). doi: 10.1371/journal.pone.0113888.
- [45] Ulyett J, Sakrabani R, Kibblewhite M, et al. Impact of biochar addition on water retention, nitrification and carbon dioxide evolution from two sandy loam soils[J]. *European Journal of Soil Science*, 2014, 65(1): 96–104.
- [46] Hollister C C, Bisogni J J, Lehmann J. Ammonium, nitrate, and phosphate sorption to and solute leaching from biochars prepared from corn stover (*Zea mays* L.) and oak wood (*Quercus* spp.)[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2013, 42(1): 137–144.
- [47] Beck D A, Johnson G R, Spolek G A. Amending greenroof soil with biochar to affect runoff water quantity and quality[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(8/9): 2111–2118.
- [48] Knoblauch C, Maarifat A A, Pfeiffer E M, et al. Degradability of black carbon and its impact on trace gas fluxes and carbon turnover in paddy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1768–1778.
- [49] Das K C, Garcia-Perez M, Bibens B, et al. Slow pyrolysis of poultry litter and pine woody biomass: Impact of chars and bio-oils on microbial growth[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2008, 43(7): 714–724.
- [50] Steiner C, Das K C, Gareia M, et al. Chareoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthic ferral soil[J]. *Pedobiologia-International Journal of Soil Biology*, 2008, 51(5/6): 359–366.
- [51] 任天志, Grego Stefano. 持续农业中的土壤生物指标研究[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(1): 71–78.
- REN Tian-zhi, Grego Stefano. Soil bioindicators in sustainable agriculture[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(1): 71–78.
- [52] Cleveland C C, Liptzin D. C:N:P stoichiometry in soil: Is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass?[J]. *Biogeochemistry*, 2007, 85(3): 235–252.
- [53] Zhang Y, Tan Q, Hu C, et al. Differences in responses of soil microbial properties and trifoliate orange seedling to biochar derived from three feedstocks[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(3): 541–551.
- [54] Castaldi S, Riondino M, Baronti S, et al. Impact of biochar application to a Mediterranean wheat crop on soil microbial activity and greenhouse gas fluxes[J]. *Chemosphere*, 2011, 85(9): 1464–1471.
- [55] Zavalloni C, Alberti G, Biasiol S, et al. Microbial mineralization of biochar and wheat straw mixture in soil: A short-term study[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 50: 45–51.
- [56] 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.
- [57] Durenkamp M, Luo Y, Brookes P. Impact of black carbon addition to soil on the determination of soil microbial biomass by fumigation extraction[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(11): 2026–2029.
- [58] Mitchell P J, Simpson A J, Soong R. Shifts in microbial community and water-extractable organic matter composition with biochar amendment in a temperate forest soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 81: 244–254.