

生物炭连续还田对苏打盐碱水稻土养分及真菌群落结构的影响

李红宇, 张巩亮, 范名字, 郑桂萍, 吕艳东

(黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江省现代农业栽培技术与作物种质改良重点实验室, 黑龙江 大庆 163000)

**摘要:** 以苏打盐碱土为供试土壤, 设置 0, 3.0, 7.5, 12.0, 16.5 t/hm<sup>2</sup> 5 个梯度生物炭还田量, 通过盆栽试验研究不同量生物炭连续多年还田对苏打盐碱水稻土养分及真菌群落结构的影响。结果表明: (1) 不同量生物炭还田后, 提高了土壤 pH、有机质、速效钾、有效磷和全磷含量, 土壤全氮和全钾含量呈现先增加后降低的趋势, 对盐碱土起到了改良的效果。 (2) Illumina MiSeq 测序结果表明, 还田量为 7.5 t/hm<sup>2</sup> 时, Aphelidiomycota、担子菌门以及链格孢属的相对丰度显著高于对照; 还田量为 12.0 t/hm<sup>2</sup> 时, 子囊菌门、毛霉亚门以及被孢霉属的相对丰度显著高于对照, 相关分析显示土壤理化特性与菌门和菌属的相对丰度关系密切, 表明生物炭通过调节土壤的理化特性, 从而影响真菌的相对丰度。 (3) 生物炭还田处理对土壤真菌  $\alpha$  多样性影响不显著, 对土壤真菌群落结构产生一定的影响, 其中高生物炭还田量处理对其影响更为显著。进一步利用冗余分析(RDA)研究影响群落结构变化的环境因子表明, 全钾含量对群落结构影响最大。

**关键词:** 生物炭; 苏打盐碱水稻土; 土壤养分; 真菌群落结构

**中图分类号:** S156      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1009-2242(2020)06-0345-07

**DOI:** 10.13870/j.cnki.stbcbx.2020.06.048

Effects of Continuous Biochar Returning on Nutrients of Soda Saline-Alkali Paddy Soil and Fungal Community Structure

LI Hongyu, ZHANG Gongliang, FAN Mingyu, ZHENG Guiping, LÜ Yandong

(College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Key Laboratory of Crop Genetic, Breeding and Cultivation, Heilongjiang Provincial Department of Education, Daqing, Heilongjiang 163000)

**Abstract:** With soda saline-alkali paddy soil as the test soil, 5 treatments of 0, 3.0, 7.5, 12.0, 16.5 t /hm<sup>2</sup> were set to investigate the effects of continuous biochar returning on nutrients of soda saline-Alkali paddy soil and fungal community structure through pot experiment. The results showed that: (1) The soil pH, organic matter, available potassium, available phosphorus and total phosphorus were increased and the total nitrogen and total potassium showed a trend of increasing at first and then decreasing with the different amounts of biochar returning, which amended the saline-alkali soil. (2) Illumina MiSeq sequencing results showed that relative abundance of Aphelidiomycota, Basidiomycota and *Alternaria* under 7.5 t/hm<sup>2</sup> was significantly higher than that of control and the relative abundance of Ascomycota, Mucoromycota and *Mortierella* under 12.0 t/hm<sup>2</sup> was significantly higher than that of control. Correlation analysis indicated that soil physicochemical characteristics were closely related to the relative abundance of fungal phyla and genus, suggesting that biochar affected the relative abundance of fungi by regulating the physicochemical properties of soil. (3) Biochar returning treatment had little influence on fungal  $\alpha$  diversity, while had a certain impact on the structure of soil fungal community, especially at a higher biochar returning level. Redundancy analysis (RDA) that further analyzed the environmental factors affecting the change of community structure, indicated that the total potassium content had the greatest impact on the community structure.

**Keywords:** biochar; soda saline—alkali paddy soil; soil nutrient; fungal community structure

土地盐碱化是世界正面临且亟待解决的问题之一。据统计,世界盐碱土地面积约 10 亿 hm<sup>2</sup>,且每年以(1~1.5)×10<sup>6</sup> hm<sup>2</sup>的速度递增<sup>[1]</sup>。我国东北地区苏打盐碱地总面积达 500 万 hm<sup>2</sup><sup>[2]</sup>,是世界三大苏打

收稿日期: 2020-03-23  
资助项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0300104); 黑龙江省农垦总局重点科研计划项目(HNK135-02-02)  
第一作者: 李红宇(1979—),男,黑龙江方正人,副教授,博士,主要从事水稻高产生理生态及遗传多样性研究。E-mail: ndrice@163.com  
通信作者: 郑桂萍(1960—),女,黑龙江密山人,教授,博士,主要从事水稻生理生态及品质改良研究。E-mail: 514500662@qq.com

盐碱土集中分布的地区之一,也是中低产田的集中分布区。与滨海或内陆盐碱土相比,苏打盐碱土的 pH 高,通透性差,肥力低下,从而制约在农业上的开发利用<sup>[3]</sup>。东北地区作为我国最重要的商品粮生产基地,秸秆资源十分丰富。利用秸秆制成的生物炭具有多孔、高比表面积、高阳离子交换、高芳香化、表面官能团丰富、富含营养等独特的理化性质,对降低土壤容重、增大孔隙度、增加通气性和持水量、提高土壤有机质含量和营养元素的吸附、减少养分淋溶及提高肥料养分利用率效果显著<sup>[4-5]</sup>,是盐碱地改良的优良物料。

土壤微生物是土壤生态系统中不可缺少的活跃组成成分,是养分循环转化的驱动力,也是评价土壤质量的潜在指标<sup>[6-7]</sup>。因此,研究添加生物炭对苏打盐碱土壤微生物的影响,在一定水平上能够反映生物炭对土壤质量的影响效果。生物炭对微生物的影响主要有 2 个方面:一是生物炭本身多孔性的微观结构和巨大的比表面积可为微生物提供良好的环境;二是生物炭除了本身能提供少量营养物质外,还可以通过吸附养分或改良土壤性质间接影响微生物活力、丰度和多样性<sup>[8]</sup>。有研究<sup>[9-10]</sup>指出,土壤真菌丰度随着生物炭施用量的增加而增加,生物炭对微生物多样性的影响因其添加时间长短而不同。短期添加生物炭后,土壤细菌、真菌和放线菌多样性均有增加的趋势,施用生物炭多年后,土壤真菌多样性没有显著变化<sup>[10-12]</sup>。生物炭的添加量同样对土壤微生物群落结构存在显著影响。当生物炭添加量过低时,微生物群落结构无明显变化,而当施炭量达到一定值以上时,微生物群落结构则会发生明显改变<sup>[13]</sup>。

目前,关于生物炭还田对土壤改良以及土壤微生物群落影响的研究成果较多,多数试验以短期研究和改良酸性土壤为主。生物炭连续多年还田对苏打盐碱地土壤真菌群落影响的报道较少,对苏打盐碱地改良作用的机制也尚未明确。为此,本试验探讨了生物炭连续多年还田对土壤养分变化和微生物群落结构特征的影响以及二者的相关关系,以期对苏打盐碱地土壤改良和秸秆资源的合理利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验于 2014—2018 年在黑龙江八一农垦大学校内盆栽试验基地(26°10'N,119°23'E)进行,大庆市属东北半湿润—半干旱草原—草甸盐渍区,土地盐碱化类型以苏打碱化草甸土、沼泽化草甸土和苏打盐化草甸碱土为主,土壤在盐化的同时伴随着碱化过程。年日照时间 2 726 h,无霜期 166 d,年平均气温 4.2 °C,夏季平均气温 23.2 °C,农作物生长发育期气温日差达 10 °C 以上,年降水量 427.5 mm,年蒸发量 1 635 mm。

### 1.2 试验材料与设计

供试水稻品种为“垦鉴稻 5 号”,供试生物炭材料为水稻秸秆炭,购于辽宁金和福农业开发有限公司,其基本理化性质为 pH 9.04,碳含量 56.61%,氮含量 13.60%,灰分含量 21.07%。采用盆栽试验,盆钵高 30.5 cm,单因素完全随机试验设计,5 个水平,分别为生物炭每年还田量 0 t/hm<sup>2</sup> (CK)、3.0 t/hm<sup>2</sup> (RB1)、7.5 t/hm<sup>2</sup> (RB2)、12.0 t/hm<sup>2</sup> (RB3)和 16.5 t/hm<sup>2</sup> (RB4),3 次重复,每次重复种植 4 盆。2014 年在黑龙江八一农垦大学校内取 0—15 cm 土层的苏打盐化草甸碱土,土壤全盐含量 0.5%,pH 8.8,碱解氮含量 98.75 mg/kg,有效磷含量 12.10 mg/kg,速效钾含量 193.70 mg/kg,有机质含量 18.00 g/kg。将风干粉碎的供试土壤 12.00 kg 与生物炭和基肥充分混拌后装入盆钵,向盆钵内加水至水层稳定,人工搅浆模拟水整地。泥浆沉降 5 天后插秧,插秧规格为每盆 4 穴,每穴 3 苗。氮肥选用尿素和硫酸铵,磷肥选用磷酸二铵,钾肥选用硫酸钾,基肥施入 N、P、K 含量分别为 39.6,69.0,42.0 kg/hm<sup>2</sup>,分蘖肥和调节肥分别施入 N 含量为 28.35,9.35 kg/hm<sup>2</sup>,穗肥施入 N 和 K 含量分别为 14.39,28.50 kg/hm<sup>2</sup>。其他管理措施按当地常规生产进行。试验连续进行 5 年,每年每处理还田生物炭量及管理措施相同。

### 1.3 试验方法

1.3.1 土壤取样方法 生物炭连续还田第 5 年(2018 年)的 6 月中旬(水稻分蘖期),每处理使用土壤取样器采集 0—10 cm 土壤样品,3 次重复,每次重复为 4 盆,各 3 个样点的混合样。每份土样分为 2 份:其中 1 份装入无菌密封袋后,迅速置于液氮中带回实验室,在 -80 °C 下保存,供土壤微生物种群结构多样性分析;另 1 份置于避光通风处风干,挑去肉眼可见细根和杂质,过 2 mm 筛,用于土壤养分含量测定。

1.3.2 土壤基本理化性质测定 参照鲁如坤<sup>[14]</sup>方法测定土壤化学性质。土壤有机质含量采用重铬酸钾法测定;全氮含量采用凯氏定氮法测定;土壤全磷含量采用氢氧化钠熔融—钼锑抗比色法测定;土壤全钾含量、速效钾含量采用原子吸收分光光度法测定;土壤碱解氮含量采用扩散法测定;土壤速效磷含量采用碳酸氢钠浸提—钼锑抗比色法测定;土壤 pH 采用 pH 计(电位法)测定。

1.3.3 土壤总 DNA 的提取、真菌 ITS 序列的 PCR 扩增及高通量测序 称取 0.5 g 土样,利用 mobio 土壤微生物 DNA 强力提取试剂盒 PowerSoil® DNA Isolation Kit 进行真菌基因组 DNA 提取,随后对样本进行 ITS1 区域的扩增,引物为 5'-CTTGGT-CATTTAGAGGAAGTAA-3'和 5'-GCTGCGT-

TCTTCATCGATGC-3’。PCR 扩增反映体系为 50  $\mu$ L,反应程序为:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;35 个循环包括 (95  $^{\circ}$ C, 30 s; 50  $^{\circ}$ C, 30 s; 72  $^{\circ}$ C, 40 s); 72  $^{\circ}$ C, 7 min。扩增完毕后建立样本原始文库,采用 Illumina Hiseq 2500 平台 (Illumina Corporation, USA), 2  $\times$  250 bp 的双端测序策略对文库进行测序。对原始数据进行拼接 (FLASH, version 1.2.11), 将拼接得到的序列进行质量过滤 (Trimmomatic, version 0.33), 并去除嵌合体 (UCHIME, version 8.1), 得到高质量的 Tags 序列。样本测序深度指数值达 99% 以上, 则证明测序数据量合理。真菌物种注释数据库选用 Unite (<http://unite.ut.ee/index.php>)。土壤微生物总 DNA 的提取、测序委托北京百迈客生物科技有限公司完成。

1.4 数据处理

采用 Excel 2003 进行数据整理,用 DPS v7.05 软件进行方差分析,运用 Graph Padprism 6.02 软件完成绘图。在相似性 97% 的水平上对序列进行聚类 (USEARCH, version 10.0), 以测序所有序列数的

0.005% 作为阈值过滤 OTU; 采用 R 软件进行主坐标分析 (PCoA) 法研究不同处理间群落结构组成差异; 冗余分析 (RDA) 研究土壤理化性质和微生物群落结构之间的关系; 使用 Mothur (version v.1.30) 软件对样品 Alpha 多样性指数进行评估。

2 结果与分析

2.1 土壤理化特性的比较

从表 1 可以看出,生物炭连续还田 5 年后, RB2、RB3、RB4 处理的 pH、有机质、全磷和速效钾含量显著提高, RB1 与 CK 差异不显著。pH 呈 RB3>RB2>RB4>RB1>CK 的趋势, 相互差异显著。有机质和速效钾含量随着生物炭还田量的增加呈增加趋势, 其中 RB3 和 RB4 显著高于 RB2, RB2 显著高于 RB1 和 CK。RB1、RB2 处理的全氮含量显著高于对照, 而 RB3、RB4 显著低于对照。RB2 的碱解氮显著高于其他处理, 其他处理之间差异不显著。RB1~RB4 处理的有效磷相互差异不显著, 显著高于 CK。全钾处理间差异不显著。

表 1 不同处理土壤理化特性的比较

| 处理  | pH    | 有机质/<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) | 全氮/<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) | 全磷/<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) | 全钾/%  | 碱解氮/<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 有效磷/<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 速效钾/<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) |
|-----|-------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| CK  | 7.67c | 22.40c                          | 2.16b                          | 0.40d                          | 2.15a | 103.10b                          | 25.13b                           | 306.00c                          |
| RB1 | 7.77c | 24.20c                          | 2.42a                          | 0.43cd                         | 2.18a | 97.40b                           | 32.87a                           | 289.33c                          |
| RB2 | 8.17b | 30.27b                          | 2.45a                          | 0.45bc                         | 2.17a | 138.27a                          | 31.23a                           | 354.33b                          |
| RB3 | 8.46a | 34.13a                          | 1.56c                          | 0.47ab                         | 2.15a | 89.60b                           | 32.33a                           | 392.67a                          |
| RB4 | 8.08b | 36.70a                          | 1.69c                          | 0.51a                          | 2.13a | 97.45b                           | 33.13a                           | 395.33a                          |

注: 每列数据后不同小写字母表示 Duncan 多重比较不同处理在 5% 水平下差异显著。下同。

2.2 土壤真菌相对丰度的比较

排名前 10 的菌门分别为子囊菌门 (Ascomycota)、Aphelidiomycota、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)、被孢霉门 (Mortierellomycota)、轮虫门 (Rotifera)、毛霉亚门 (Mucoromycota)、芽枝霉门 (Blastocladiomycota)、Anthophyta、单毛壶菌门 (Rozellomycota)。着重分析生物炭还田后相对丰度产生显著差异的菌门 (图 1)。子囊菌门相对丰度范围为 15.73%~45.03%, 生物炭还田后其相对丰度呈现增加趋势, RB3 处理达到了最大值, 显著高于对照和其他处理。Aphelidiomycota 相对丰度范围为 3.60%~24.03%, RB2 处理显著高于对照和其他处理, 其他处理均低于对照, 其中 RB1 和 RB4 与对照差异达到显著水平。担子菌门相对丰度范围为 0.36%~2.16%, 随着还田量的增加, 呈现先增加后降低的趋势, RB2 处理显著高于对照和其他处理, RB3 处理显著低于对照。毛霉亚门相对丰度范围为 0.05%~0.48%, RB3 和 RB4 处理分别显著高于和低于对照。

进一步分析生物炭连续还田对相对丰度影响较大的菌属 (图 2)。裂壳菌属 (*Schizothecium*)、链格孢

属 (*Alternaria*)、被孢霉属 (*Mortierella*) 和柄孢壳属 (*Zopfiella*) 相对丰度变化范围分别为 0.74%~3.40%, 0.08%~0.84%, 0.17%~0.82%, 0.03%~0.32%。RB2 处理中链格孢属的相对丰度显著高于对照和其他处理, RB3 处理中裂壳菌属和被孢霉属相对丰度分别显著低于和高于对照, RB4 处理中柄孢壳属的相对丰度显著高于对照和其他处理, 其余处理与对照间差异均未达到显著水平。综合表明, RB2 和 RB3 处理对菌门和菌属相对丰度影响较大。相关分析 (表 2) 表明, 土壤理化性质指标与门和属水平下物种的相对丰度关系密切, 推测生物炭通过调节土壤理化性质, 从而影响真菌的相对丰度。

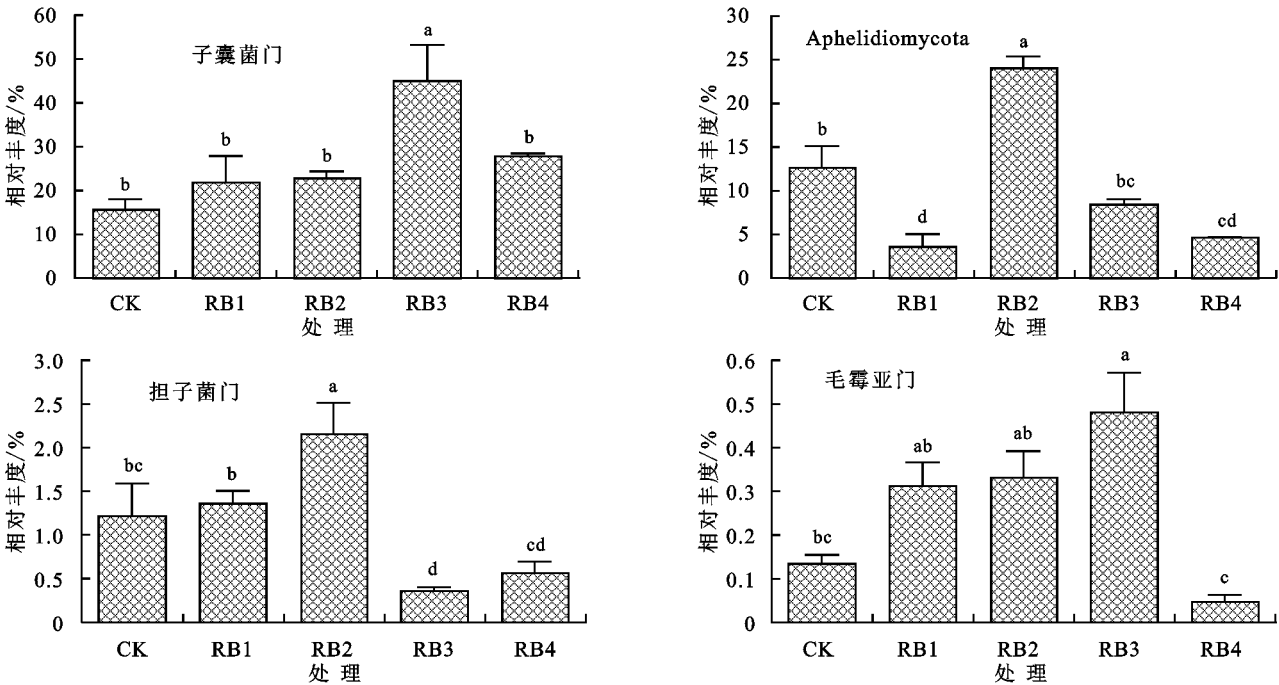
2.3 土壤真菌群落多样性比较

在 97% 相似度水平下, 各处理 Alpha 多样性统计结果见表 3。真菌 OTU 数量为 361~428, 呈 RB1>RB2>CK>RB3>RB4 的趋势, 各处理与对照间差异不显著。以 Chao1 和 ACE 指数衡量物种丰度, 即物种数量的多少。除 RB4 处理的 Chao1 和 ACE 指数低于对照外, 其他处理均高于对照。Simpson 和 Shannon 指数用于衡量物种多样性, Shannon 指数值越大, Simpson



指数值越小,说明样品的物种多样性越高。RB2 和 RB4 处理的 Simpson 值低于对照,而 Shannon 值高于对照,其中 RB4 处理的 Simpson 最小,Shannon 指

数值最大,但各处理的所有指数与对照间的差异均未达显著水平,表明生物炭添加对真菌 OTU 指数和 Alpha 多样性的影响不显著。



注:图中不同小写字母表示 Duncan 多重比较不同处理在 5%水平下差异显著。下同。

图 1 不同处理对真菌门水平上物种相对丰度的影响

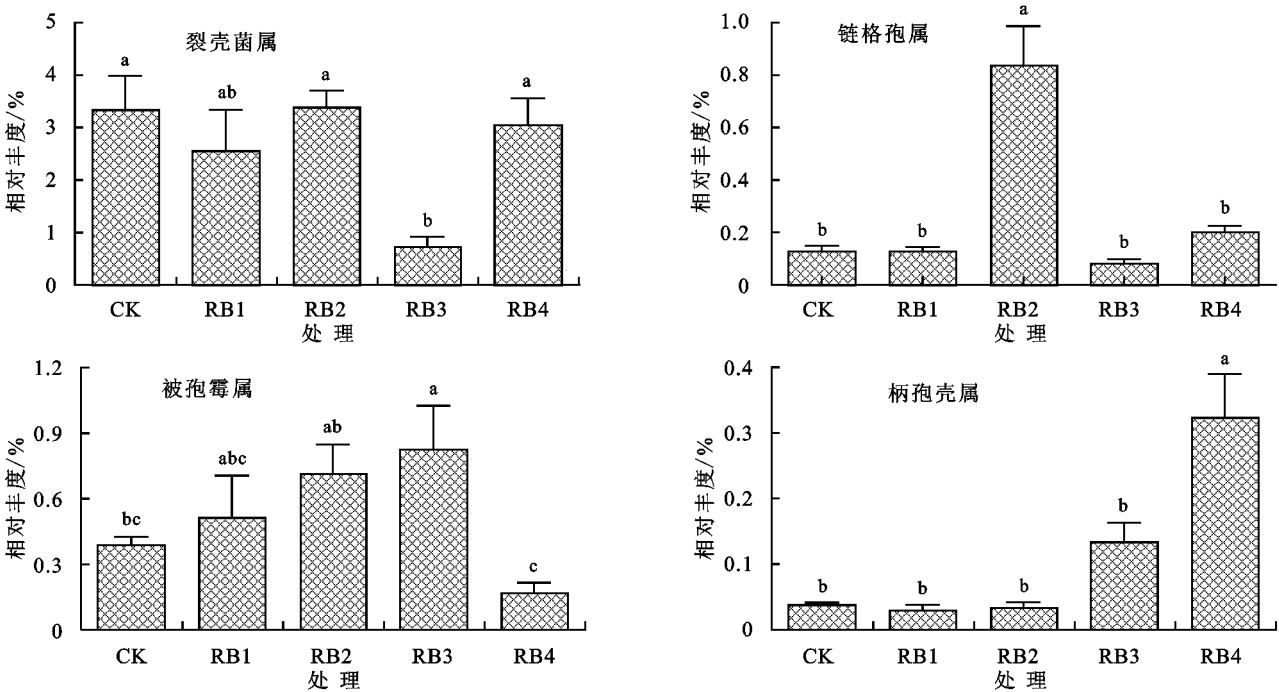


图 2 不同处理对真菌属水平上物种相对丰度的影响

2.4 生物炭连续还田对真菌群落结构的影响

为研究生物炭连续还田后真菌群落结构的变化,基于 OTU 层次进行 PCoA 分析,选取贡献率最大的主坐标组合(图 3)。第一、二主坐标轴对真菌群落结构变异的解释量分别为 15.74%和 11.25%。各处理的 3 次重复距离较接近,表示同一处理的样品群落结构相似度较高。CK、RB1、RB2 在 PC1 轴上的投影

较为接近,位于轴的左侧,RB4 在 PC1 轴上的投影位于轴的右侧,与对照明显区分开。说明生物炭添加对土壤真菌群落结构产生一定的影响,但是高生物炭还田量对其影响更为显著。

将土壤理化性质与排名前 10 的真菌属进行 RDA 分析(图 4),明确影响群落结构变化的环境因子。图 4 中射线与射线之间的关系由夹角表示,钝角

表示负相关,锐角表示正相关。RDA 分析表明,2 个主要轴特征值分别为 19.7%和 10.66%。裂壳菌属和链格孢属与全钾、全氮和碱解氮呈正相关关系,柄孢壳属与 pH、有效磷、全磷、有机质含量以及速效钾含量呈正相关关系,被孢霉属与速效钾、全钾、全磷、全

氮含量呈正相关关系,与其他环境因子呈负相关关系。针对土壤真菌区系结构和土壤理化指标的 Mantel 检验结果(表 4)表明,全钾含量对群落结构的影响最大,但是所有的土壤环境因子与真菌群落结构差异不相关。

表 2 土壤理化特性与真菌相对丰度的相关性分析

| 真菌              | pH    | 有机质   | 全氮    | 全磷    | 全钾     | 碱解氮    | 有效磷   | 速效钾   |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|
| 子囊菌门            | 0.89* | 0.71  | −0.76 | 0.59  | −0.28  | −0.43  | 0.55  | 0.73  |
| Aphelidiomycota | 0.17  | −0.10 | 0.45  | −0.27 | 0.27   | 0.91*  | −0.34 | 0.02  |
| 担子菌门            | −0.37 | −0.36 | 0.87* | −0.32 | 0.53   | 0.90*  | −0.16 | −0.41 |
| 毛霉亚门            | 0.58  | 0.04  | 0.01  | −0.11 | 0.54   | 0.03   | 0.31  | 0.08  |
| 裂壳菌属            | −0.58 | −0.23 | 0.61  | −0.09 | 0.08   | 0.59   | −0.16 | −0.32 |
| 链格孢属            | 0.20  | 0.10  | 0.53  | 0.03  | 0.34   | 0.97** | 0.07  | 0.10  |
| 被孢霉属            | 0.58  | 0.00  | 0.09  | −0.19 | 0.52   | 0.24   | 0.13  | 0.09  |
| 柄孢壳属            | 0.35  | 0.81  | −0.75 | 0.88* | −0.84* | −0.39  | 0.44  | 0.75  |

注: \* 和 \*\* 分别表示两者在  $P<0.05$  和  $P<0.01$  水平显著相关。

表 3 不同处理土壤真菌群落丰富度指数和多样性指数

| 处理  | OTU      | ACE 指数         | Chao1 指数 | Simpson 指数   | Shannon 指数  | 覆盖度/% |
|-----|----------|----------------|----------|--------------|-------------|-------|
| CK  | 406±11ab | 415.53±10.47ab | 420±10ab | 0.056±0.009a | 4.02±0.009a | 99.96 |
| RB1 | 428±6a   | 440.86±3.26a   | 442±3a   | 0.069±0.024a | 3.49±0.058a | 99.96 |
| RB2 | 418±18a  | 425.95±18.06a  | 429±20ab | 0.049±0a     | 4.33±0.04a  | 99.96 |
| RB3 | 394±3ab  | 435.14±16.37a  | 438±18a  | 0.059±0.021a | 4.07±0.38a  | 99.91 |
| RB4 | 361±29b  | 366.36±30.12b  | 369±32b  | 0.021±0a     | 4.47±0.17a  | 99.97 |

注:表中数据为平均值±标准差;同列不同小写字母表示各处理间差异显著( $P<0.05$ )。

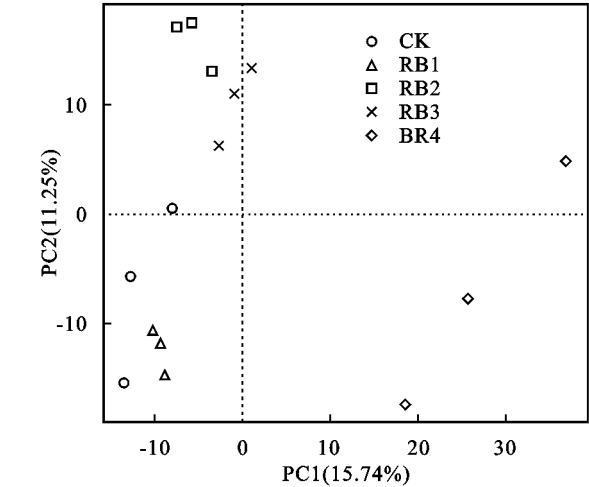


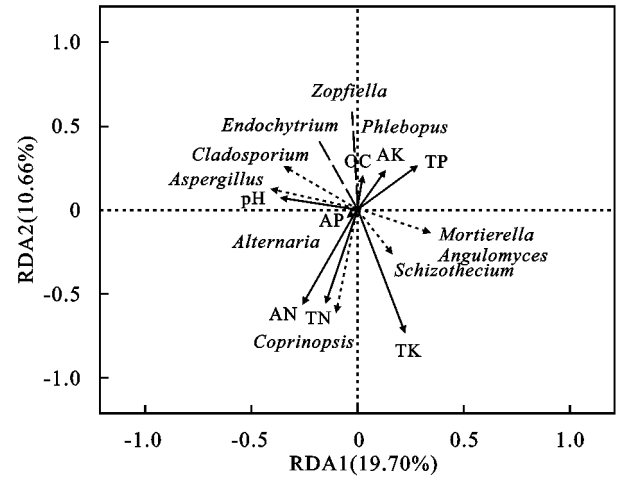
图 3 不同处理主坐标分析

3 讨论

3.1 生物炭连续还田对苏打盐碱水稻土理化特性的影响

已有大量的研究<sup>[15-16]</sup>表明,生物炭能够改善土壤的理化特性,但是关于生物炭对苏打盐碱土改良效果的长期定位试验报道较少。生物炭多为碱性,并且生物炭中含有较多的盐基离子,施入土壤后这些离子得到一定程度的释放,交换土壤中的氢离子和铝离子,导致土壤 pH 升高<sup>[17]</sup>。本研究结果表明,土壤 pH 随生物炭连续还田量的增加呈先升后降的趋势,还田量 12.0 t/hm<sup>2</sup> pH 最高,显著高于其他处理,原因可能

是苏打盐碱土土质黏重,孔隙度低,随生物炭还田量的增加,土壤通透性和 pH 同步增加,离子淋洗加速,达到一定程度之后,pH 则呈下降趋势。



注:TP 为全磷;AK 为速效钾;OC 为有机质;AP 为有效磷;AN 为碱解氮;TN 为全氮;TK 为全钾;Schizothecium 为裂壳菌属;Coprinopsis 为鬼伞属;Aspergillus 为曲霉菌;Cladosporium 为枝孢属;Phlebobus 为脉柄牛肝菌属;Endochytrium 为内囊壶菌属;Zopfiella 为柄孢壳属;Alternaria 为链格孢属;Mortierella 为被孢霉属。

图 4 土壤真菌群落与土壤环境因子的冗余分析

生物炭本身具有丰富的矿质成分,特殊的微孔结构和极强的吸附能力能够较好地吸附并固定土壤中植物生长所必需的营养元素,减少土壤淋溶引起的土

壤养分流失,从而有效调控土壤中营养元素的循环,达到改良土壤的目的<sup>[18-19]</sup>。本研究表明,生物炭连续还田 5 年,土壤有机质、有效磷、全磷和速效钾含量均明显增加,而全钾含量随着生物炭施用量的增加呈先增加后降低的趋势,其原因可能是生物炭本身含有的钾含量低于土壤中钾含量,随着添加量的增加,对土壤全钾含量有一定的稀释作用,降低了混合土壤中的全钾含量;另外可能是生物炭施用较大程度地增加了土壤速效钾含量,来自土壤或生物炭中的钾更多地被作物吸收利用。已有研究<sup>[20]</sup>证实,生物炭施用能增加植物对钾素的吸收利

用,从而使土壤中剩余的钾量降低<sup>[10]</sup>。3 个处理的碱解氮含量均低于对照,与郭伟等<sup>[21]</sup>、赵铁民等<sup>[22]</sup>的研究结果相似,原因是生物质炭具有比表面积大、孔隙结构发达的特点,施入土壤后使土壤的通气性得到改善,耕层土壤所受的扰动比较大,加速了土壤中尿素的挥发,使得土壤中碱解氮的百分比减少<sup>[8]</sup>。土壤类型和生物炭种类不同,可能导致其对不同营养元素的吸附能力存在差异,不同植物对不同营养元素的利用效率也存在差异,这些可能是生物炭引起不同类型土壤中营养成分含量存在差异的原因。

表 4 Mental test 分析

| 参数       | pH    | 有机质   | 全氮    | 全磷    | 全钾   | 碱解氮  | 有效磷  | 速效钾   |
|----------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|-------|
| <i>r</i> | -0.06 | -0.12 | -0.06 | -0.06 | 0.41 | 0.19 | 0.03 | -0.14 |
| <i>P</i> | 0.62  | 0.92  | 0.66  | 0.59  | 0.07 | 0.18 | 0.35 | 0.90  |

3.2 生物炭连续还田对真菌相对丰度的影响

土壤微生物作为土壤生物的重要组成者,以及土壤各项生态功能的重要参与者,其丰度和多样性可灵敏反映土壤环境变化。真菌是有机物质分解和土壤生物量的主要组成部分,在农业生态系统中起着重要作用<sup>[23]</sup>。已有大量的研究<sup>[9-10]</sup>认为,土壤真菌丰度随着生物炭施用量的增加而增加,即施用生物炭能促进土壤真菌的生长。本研究发现,还田量 7.5 t/hm<sup>2</sup>时,Aphelidiomycota、担子菌门以及链格孢属的相对丰度显著高于对照;还田量 12.0 t/hm<sup>2</sup>时,子囊菌门、毛霉亚门以及被孢霉属的相对丰度显著高于对照,表明生物炭还田能够提高部分菌门和菌属的相对丰度。已有研究<sup>[24]</sup>表明,土壤理化特性是影响土壤微生物的重要因素,直接或间接使微生物丰度和结构发生改变。相关性分析(表 2)显示,土壤理化特性指标与 4 个菌门和菌属的相对丰度关系密切,所以推测生物炭改变了土壤的理化特性,从而影响了真菌的相对丰度。子囊菌门和担子菌门在真菌中种类最多<sup>[25]</sup>,Aphelidiomycota 相对丰度仅次于子囊菌门,它不是典型的土壤真菌,相关报道较少<sup>[26]</sup>,有待于进一步进行研究。

3.3 生物炭连续还田对真菌多样性的影响

多样性指数是评价土壤微生物群落丰富度和多样性的评价指标,Chao1 和 ACE 指数衡量物种丰度即物种数量的多少,Simpson 和 Shannon 指数用于衡量物种多样性。本研究中除了 RB4 处理的 Chao1 和 ACE 低于对照外,其他处理均高于对照。RB2 和 RB4 处理的 Simpson 值低于对照,而 Shannon 值高于对照,但是各处理与对照差异均未达到显著水平,即长期施用生物炭对盐碱地土壤真菌多样性影响不显著。根据前人的研究显示生物炭长期和短期添加试验的研究结果不同。Lucheta 等<sup>[27]</sup>指出,富含生物

炭的亚马逊黑土中的真菌群落丰富度与邻近土壤没有显著差异。与此同时,众多学者<sup>[10-12]</sup>的研究也证明施用生物炭多年后,土壤真菌多样性没有显著变化。顾美英等<sup>[11]</sup>对新疆连作棉田土壤的研究发现,相比于常规施肥,生物炭处理的土壤中细菌、真菌和放线菌多样性均呈增加的趋势,而 Li 等<sup>[28]</sup>实验室培养试验表明,添加生物炭降低了真菌多样性。原因可能是短期施用生物炭后土壤微生物能够吸收利用生物炭中的可溶性碳<sup>[29]</sup>,但是施入土壤后 1 年内生物炭的可溶性碳会被土壤微生物消耗殆尽<sup>[30]</sup>,所以微生物的多样性不再发生显著变化,同时不同材质的生物炭可能对微生物多样性的影响也不同。

3.4 生物炭连续还田对真菌群落结构的影响

施用生物炭可以改变微生物群落结构<sup>[28]</sup>,但生物炭的施用量和施用时间不同对其影响也不同。本研究 PCoA 分析表明,CK 与 RB1、RB2、RB3 较为接近,与 RB4 明显区分开,说明施用生物炭影响了土壤的真菌群落结构,当施用量达到一定值,微生物群落结构则发生明显改变<sup>[13]</sup>。通过 RDA 分析进一步明确影响群落结构变化的环境因子,全钾含量对群落结构的影响最大,但是 Mantel 检验结果显示,所有土壤环境因子与真菌群落结构差异相关性均不显著。一般情况下,生物炭直接影响土壤微生物群落结构的物质在短期内被微生物快速利用<sup>[15]</sup>,生物炭对微生物群落结构的长期影响主要通过间接途径实现,如影响土壤的养分状况<sup>[10]</sup>、化学性质<sup>[31]</sup>和微生物细胞间信号物质的传递<sup>[32]</sup>等。由此推测,本试验中生物炭可能通过影响土壤其他理化指标或者通过其他途径而间接影响真菌的群落结构;另一方面,土壤类型、生物炭种类、种植作物以及还田时间等都可能造成试验结果的不同,故生物炭对盐碱土真菌群落结构的影响机制还需要进一步深入研究。

## 4 结 论

(1)生物炭作为一种良好的土壤改良剂,在改良苏打盐碱土方面有重要的作用。生物炭还田显著提高氮、磷、钾含量,从而改善土壤的养分状况,其中 7.5 t/hm<sup>2</sup> (RB2)和 16.5 t/hm<sup>2</sup> (RB4)处理改良效果尤为显著。

(2)生物炭通过调节土壤理化特性,提高了部分土壤真菌门和菌属的相对丰度,其中 7.5 t/hm<sup>2</sup> (RB2)和 12.0 t/hm<sup>2</sup> (RB3)处理提高效果尤为显著。

(3)生物炭还田对真菌  $\alpha$  多样性影响不大,但改变了真菌的群落结构,其中全钾含量是影响土壤微生物群落结构差异的重要环境因子。

### 参考文献:

[1] 岳健敏,任琼,张金池.植物盐耐机理研究进展[J].林业科技开发,2015,29(5):9-13.

[2] 王军,顿耀龙,郭义强,等.松嫩平原西部土地整理对盐渍化土壤的改良效果[J].农业工程学报,2014,30(18):266-275.

[3] 马玉涛,苑佰飞,张鹏,等.硫酸铝对新开垦苏打盐碱水田的快速改良和培肥效果[J].水土保持学报,2020,34(2):325-330,339.

[4] 杨刚,周威宇.生物炭对盐碱土壤理化性质、生物量及玉米苗期生长的影响[J].江苏农业科学,2017,45(16):68-72.

[5] Rehrah D, Bansode R R, Hassan O, et al. Physico-chemical characterization of biochars from solid municipal waste for use in soil amendment[J].Journal of Analytical and Applied Pyrolysis,2016,118:42-53.

[6] Diacono M, Montemurro F. Long-term effects of organic amendments on soil fertility: A review[J].Agronomy for Sustainable Development,2010,30(2):401-422.

[7] Wang S, Fu B J, Gao G Y, et al. Responses of soil moisture in different land cover types to rainfall events in a revegetation catchment area of the Loess Plateau, China[J].Catena,2013,101:122-128.

[8] Steiner C, Glaser B, Gherardes T W, et al. Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal[J].Journal of Plant Nutrition and Soil Science,2008,171(6):893-899.

[9] Jones D L, Rousk J, Edwards-Jones G, et al. Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in a three year field trial[J].Soil Biology and Biochemistry,2012,45:113-124.

[10] Yao Q, Liu J J, Yu Z H, et al. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of north-east China [J].Soil Biology and Biochemistry,2017,110:56-67.

[11] 顾美英,刘洪亮,李志强,等.新疆连作棉田施用生物炭对土壤养分及微生物群落多样性的影响[J].中国农业

科学,2014,47(20):4128-4138.

[12] 阎海涛,殷全玉,丁松爽,等.生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响[J].环境科学,2018,39(5):2412-2419.

[13] Mitchell P J, Simpson A J, Soong R, et al. Shifts in microbial community and water-extractable organic matter composition with biochar amendment in a temperate forest soil [J].Soil Biology and Biochemistry,2015,81:244-254.

[14] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,1999:431-472.

[15] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, et al. Biochar effects on soil biota: A review[J].Soil Biology and Biochemistry,2011,43(9):1812-1836.

[16] Pandian K, Subramaniayan P, Gnasekaran P, et al. Effect of biochar amendment on soil physical, chemical and biological properties and groundnut yield in rainfed Alfisol of semi-arid tropics[J].Archives of Agronomy and Soil Science,2016,62(9):1293-1310.

[17] Van Zwieten L, Kimber S, Morris S, et al. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility [J].Plant and Soil,2010,327(1/2):235-246.

[18] 陈温福,张伟明,孟军.农用生物炭研究进展与前景[J].中国农业科学,2013,46(16):3324-3333.

[19] Randolph P, Bansode R R, Hassan O A, et al. Effect of biochars produced from solid organic municipal waste on soil quality parameters[J].Journal of Environmental Management,2017,192:271-280.

[20] Major J, Rondon M, Molina D, et al. Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol[J].Plant and Soil,2010,333(1/2):117-128.

[21] 郭伟,陈红霞,张庆忠,等.华北高产农田施用生物炭对耕层土壤总氮和碱解氮含量的影响[J].生态环境学报,2011,20(3):425-428.

[22] 赵铁民,李渊博,陈为峰,等.生物炭对滨海盐渍土理化性质及玉米幼苗抗氧化系统的影响[J].水土保持学报,2019,33(2):196-200.

[23] 徐雪雪,王东,秦舒浩,等.沟垄覆膜连作马铃薯根际土壤真菌多样性分析[J].水土保持学报,2015,29(6):301-305.

[24] Zheng J F, Chen J H, Pan G X, et al. Biochar decreased microbial metabolic quotient and shifted community composition four years after a single incorporation in a slightly acid rice paddy from southwest China[J].Science of The Total Environment,2016,571:206-217.

[25] Xu L H, Ravnskov S, Larsen J, et al. Soil fungal community structure along a soil health gradient in pea fields examined using deep amplicon sequencing[J].Soil Biology and Biochemistry,2012,46:26-32.



- 碳氮磷生态化学计量特征[J].林业科学研究,2017,30(6):954-960.
- [14] 胡敏杰,任洪昌,邹芳芳,等.闽江河口淡水、半咸水沼泽土壤碳氮磷分布及计量学特征[J].中国环境科学,2016,36(3):917-926.
- [15] 邢文黎,王臣,熊静,等.浦东东滩湿地围垦对土壤碳氮储量及酶活性影响[J].生态环境学报,2018,27(4):651-657.
- [16] 李海云,姚拓,张建贵,等.东祁连山不同干扰生境草地土壤养分时空变化特征[J].水土保持学报,2018,32(3):249-257.
- [17] 李丹维,王紫泉,田海霞,等.太白山不同海拔土壤碳、氮、磷含量及生态化学计量特征[J].土壤学报,2017,54(1):160-170.
- [18] 陈印平,夏江宝,赵西梅,等.黄河三角洲典型人工林土壤碳氮磷化学计量特征[J].土壤通报,2017,48(2):392-398.
- [19] 张友,徐刚,高丽,等.黄河三角洲新生湿地土壤碳氮磷分布及其生态化学计量学意义[J].地球与环境,2016,44(6):647-653.
- [20] 刘兴华,陈为峰,段存国,等.黄河三角洲未利用地开发对植物与土壤碳、氮、磷化学计量特征的影响[J].水土保持学报,2013,27(2):204-208.
- [21] 刘兴华,公彦庆,陈为峰,等.黄河三角洲自然保护区植被与土壤 C、N、P 化学计量特征[J].中国生态农业学报,2018,26(11):124-133.
- [22] Jiang Y F, Guo X. Stoichiometric patterns of soil carbon, nitrogen, and phosphorus in farmland of the Poyang Lake region in southern China[J].Journal of Soils and Sediments,2019,19(10):3476-3488.
- [23] Zhang X F, Xin X L, Zhu A N, et al. Linking macro-aggregation to soil microbial community and organic carbon accumulation under different tillage and residue managements[J].Soil and Tillage Research,2018,178:99-107.
- [24] 崔宁洁,刘小兵,张丹桔,等.不同林龄马尾松人工林碳氮磷分配格局及化学计量特征[J].生态环境学报,2014,23(2):188-195.
- [25] 吴明,邵学新,周纯亮,等.中亚热带典型人工林土壤质量演变及其环境意义[J].生态学杂志,2009,28(9):1813-1817.
- [26] Quan Z, Li S L, Zhang X, et al. Fertilizer nitrogen use efficiency and fates in maize cropping systems across China: Field  $^{15}\text{N}$  tracer studies[J].Soil and Tillage Research,2020,197:104498.
- [27] Ai Z M, Xue S, Wang G L, et al. Responses of non-structural carbohydrates and C : N : P stoichiometry of, *bothriochloa ischaemum*, to nitrogen addition on the Loess Plateau, China[J].Journal of Plant Growth Regulation,2017,36(3):714-722.
- [28] Zhang P, Wei T, Li Y L, et al. Effects of straw incorporation on the stratification of the soil organic C, total N and C : N ratio in a semiarid region of China[J].Soil and Tillage Research,2015,153:28-35.
- [29] 雷军,张凤华,林海荣,等.干旱区盐渍化荒地不同开垦年限土壤碳氮储量研究[J].干旱地区农业研究,2017,35(3):266-271.
- (上接第 351 页)
- [26] Li J, Bao H Y, Xing W J, et al. Succession of fungal dynamics and their influence on physicochemical parameters during pig manure composting employing with pine leaf biochar [J]. Bioresource Technology, 2020,297:122377.
- [27] Lucheta A R, Cannavan S de F, Roesch L F W, et al. Fungal community assembly in the Amazonian Dark Earth[J].Microbial Ecology,2016,71(4):962-973.
- [28] Li Y, Yang Y Q, Shen F, et al. Partitioning biochar properties to elucidate their contributions to bacterial and fungal community composition of purple soil[J].Science of The Total Environment,2019,648:1333-1341.
- [29] Quilliam R S, Glanville H C, Wade S C, et al. Life in the 'charosphere'-Does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms? [J].Soil Biology and Biochemistry,2013,65:287-293.
- [30] Wang J Y, Xiong Z Q, Kuzyakov Y. Biochar stability in soil: Meta-analysis of decomposition and priming effects[J].GCB Bioenergy,2016,8(3):512-523.
- [31] Muhammad N, Dai Z M, Xiao K C, et al. Changes in microbial community structure due to biochar generated from different feed stocks and their relationships with soil chemical properties[J].Geoderma,2014,226:270-278.
- [32] Masiello C A, Chen Y, Gao X D, et al. Biochar and microbial signaling: Production conditions determine effects on microbial communication[J].Environmental Science and Technology,2013,47(20):11496-11503.