

生物黑炭对黑土根际氮素转化相关功能菌的影响

刘志华¹, 孟颖¹, 姜振峰², 张少良¹, 王宏燕¹

(1. 东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以玉米秸秆源在 450℃ 无氧条件制备的生物黑炭为研究材料, 以 CK、F(化肥)、1% CF(1% 黑炭 + 化肥)、5% CF(5% 黑炭 + 化肥) 和 10% CF(10% 黑炭 + 化肥)(质量分数) 作为不同处理, 研究生物黑炭对黑土大豆根际氮素转化相关功能菌数量及氮素形态的影响。结果表明: 1% CF 处理显著促进大豆鼓粒期和成熟期固氮菌、氨化细菌和硝化细菌数量; 5% CF 处理显著提高根际固氮菌和硝化细菌数量, 促进除花期外其余生育时期的氨化细菌数量; 10% CF 处理对硝化细菌数量无显著影响, 对固氮菌和氨化细菌数量的影响存在时期性差异。生物黑炭影响大豆苗期、花期和结荚期根际铵态氮含量, 对鼓粒期和成熟期根际铵态氮含量无显著影响; 对花期根际硝态氮含量有显著促进作用, 对成熟期根际硝态氮含量有显著抑制作用。

关键词:生物黑炭; 固氮菌; 氨化细菌; 硝化细菌

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0528

Effects of Biochar on the Rhizospheric Functional Bacteria Related to the Nitrogen Transformation in Black Soil

LIU Zhi-hua¹, MENG Ying¹, JIANG Zhen-feng², ZHANG Shao-liang¹, WANG Hong-yan¹

(1. College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Soil amendment with biochar is evaluated globally as a method to improve soil fertility and to mitigate climate change. However, the effects of biochar on soil biota have received much less attention than its effects on soil chemical properties. To investigate the effects of biochar on the amounts of different functional bacteria related to the nitrogen transformation and available nitrogen contents, two controls were adopted including the one was the only black soil with no fertilizer and biochar, the other was black soil plus fertilizers with no biochar. Biochar made by maize straw at 450℃ insulated from oxygen were applied to black soil with the same amount of fertilizer in a weight proportion of 1%, 5% and 10% in present study, respectively. The results were as follows: the amounts of nitrogen-fixing bacteria, ammonifying bacteria and nitrifying bacteria in soybean rhizosphere were increased at the filling stage and the mature stage with 1% biochar application. The amount of nitrogen-fixing bacteria, ammonifying bacteria and nitrifying bacteria in soybean rhizosphere were increased in all growth stages except that the amount of ammonifying bacteria at the flowering stage was no remarkable effects with 5% biochar application. Significant differences were not observed of the amounts of nitrogen-fixing bacteria, ammonifying bacteria and nitrifying bacteria in soybean rhizosphere with 10% biochar application. Moreover, the amount of ammonium nitrogen was influenced with biochar application at the seedling stage, flowering stage and podding stage; the amount of nitrate nitrogen of soybean rhizosphere was increased at the flowering stage while decreased at the maturity stage with biochar application.

Key words: Biochar; Nitrogen-fixing bacteria; Ammonifying bacteria; Nitrifying bacteria

生物黑炭是有机质高温裂解的产物, 具有相对稳定的结构, 最初被认为是缓解气候变化的重要措施^[1]。大量研究表明, 生物黑炭能够影响土壤肥力进而对作物生长产生影响^[2-3]。深入研究表明, 生物黑炭与土壤有机质不同, 它不仅能够减少 CH₄ 和 N₂O 等温室气体的排放^[1], 更具有增加土壤碳库^[4]、改善土壤持水性、改变土壤容积、增加酸性土壤 pH、阳离子交换量, 进而通过影响营养物质转化(如氮的有效性)提升土壤肥力^[5-8]。尽管生物黑炭能够提高土壤肥力, 但到目前为止关于生物黑炭农

用与土壤养分有效性之间的关系, 特别是关于功能菌群随之发生的结构性变化知之甚少^[9-11]。

氮是植物生长的必需元素, 土壤氮素可利用性与土壤氮素转化过程密切相关^[12], 受作物品种、肥料施用等影响。有研究表明, 在森林土壤中, 生物黑炭可以提高土壤硝化细菌和氨氧化细菌的数量^[13], 说明生物黑炭可能通过影响微生物活动进而影响土壤养分转化。但相关报道较少。因此, 本试验将玉米秸秆为来源的生物黑炭施用于土壤中, 通过研究生物黑炭施用对黑土大豆根际土壤氮素转

收稿日期: 2014-04-03

基金项目: 国家自然科学基金(41301316); 黑龙江省科技攻关项目(GZ11B105); 黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q13028)。

第一作者简介: 刘志华(1979-), 女, 博士, 主要从事土壤生态与生物黑炭研究。E-mail: zhihua79@126.com。

通讯作者: 王宏燕(1963-), 女, 博士, 教授, 主要从事农业生态研究。E-mail: why220@126.com。

化相关功能菌数量及氮素形态的影响,探明生物黑炭对土壤功能菌群的影响,为揭示其对土壤微生物的影响机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验采用东北黑土,生物黑炭为玉米秸秆炭,

经 450℃ 无氧条件热裂解而成,由辽宁金和福农业开发有限公司生产。供试作物为大豆品种东农 47,供试土壤与生物黑炭理化性质见表 1。

1.2 试验设计

试验为盆栽试验,在东北农业大学实验实习基地进行。共设 5 个处理,具体处理代号及施用量见表 2。

表 1 供试黑炭与土壤的理化性质

Table 1 Physics characteristics of the biochar and soil

样品 Sample	有机质 Organic matter /g·kg ⁻¹	全氮 Total nitrogen /g·kg ⁻¹	全磷 Total phosphorus /g·kg ⁻¹	碱解氮 Available nitrogen/ mg·kg ⁻¹	速效磷 Available phosphorus /mg·kg ⁻¹	速效钾 Available potassium /mg·kg ⁻¹	pH
黑土 Black soil	48.36	1.900	0.210	173.000	18.000	209.000	6.91
生物黑炭 Biochar	716.00	6.878	10.259	—	—	25.986	9.89

表 2 各处理代码及施用量

Table 2 Treatment,code and application amount

处理 Treatment	代号 Code	化肥施用量 Fertilizer application amount/mg·kg ⁻¹	生物黑炭施用量 Biochar application amount/g·kg ⁻¹
空白对照 Control	CK	0	0
单施化肥 Fertilizer only	F	N 50、P 100、K 150	0
低量生物黑炭与化肥配施 Low biochar + fertilizer	1% CF	N 50、P 100、K 150	10
中等生物黑炭与化肥配施 Medium biochar + fertilizer	5% CF	N 50、P 100、K 150	50
高量生物黑炭与化肥配施 High biochar + fertilizer	10% CF	N 50、P 100、K 150	100

每个处理 15 盆,将不同比例的黑土与黑炭混合均匀后装盆,稳定 7 d 后播种。待第一对真叶展开后,每盆保留 4 株长势一致的幼苗,定期定量浇水。在大豆苗期、花期、结荚期、鼓粒期和成熟期取样,3 次重复。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 氮素转化相关细菌的测定 氨化细菌采用蛋白胨-琼脂培养基;硝化细菌采用改良的 Stephenson 培养基;最大或然法计算细菌数量;固氮菌采用阿须贝培养基,稀释平板法测定。以上测定参照林先贵^[14]的方法。

1.3.2 土壤氮素含量的测定 铵态氮、硝态氮采用 2 mol·L⁻¹ KCl 浸提,流动分析仪测定,参照鲁如坤^[15]的方法。

1.4 数据分析

所有数据的统计分析及柱状图的绘制采用 Excel 2003 进行。试验数据差异显著性分析采用 SPSS Statistics 17 统计软件进行,采用单因素方差分析法,多个均数间的差异性比较采用 Duncan 新复极差法。

2 结果与分析

2.1 生物黑炭对大豆根际 pH 的影响

与 CK 和 F 处理相比较,生物黑炭对大豆根际 pH 具有显著提升作用,同时,生物黑炭对根际 pH 的提升存在剂量效应,根际 pH 随生物黑炭施用量的增加而增加,其中 10% CF 处理大豆根际 pH 在各生育时期中为最高(图 1),这可能与生物黑炭本身 pH 较高有关。

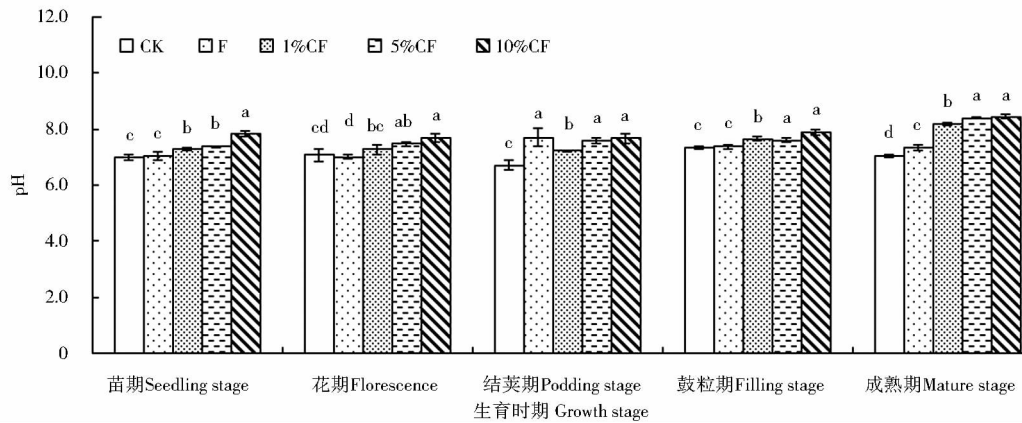


图1 生物黑炭对大豆根际 pH 的影响

Fig. 1 Effects of biochar on the pH for soybean's rhizospheric soil

2.2 生物黑炭对大豆根际固氮菌数量的影响

生物黑炭对大豆根际固氮菌数量的影响在大豆不同生育时期的表现较为一致。从图2中可以看出,低含量生物黑炭(1% CF 处理)对大豆苗期、花期根际固氮菌数量无显著影响,但显著提高大豆结荚期、鼓粒期和成熟期根际固氮菌数量($P < 0.05$);中等比例黑炭(5% CF 处理)对大豆各生育时期的根际固氮菌数量有显著促进作用($P < 0.05$),与对

照相比,根际固氮菌数量增加幅度为31.8%~50.2%;高量生物黑炭(10% CF 处理),大豆苗期、花期根际固氮菌数量显著低于对照($P < 0.05$),结荚期、鼓粒期和成熟期根际固氮菌数量与对照无显著性差异($P > 0.05$)。总的来看,生物黑炭对根际固氮菌数量的影响具有一定剂量效应,本研究条件下,5%生物黑炭施用量对大豆根际固氮菌数量提升更为有利。

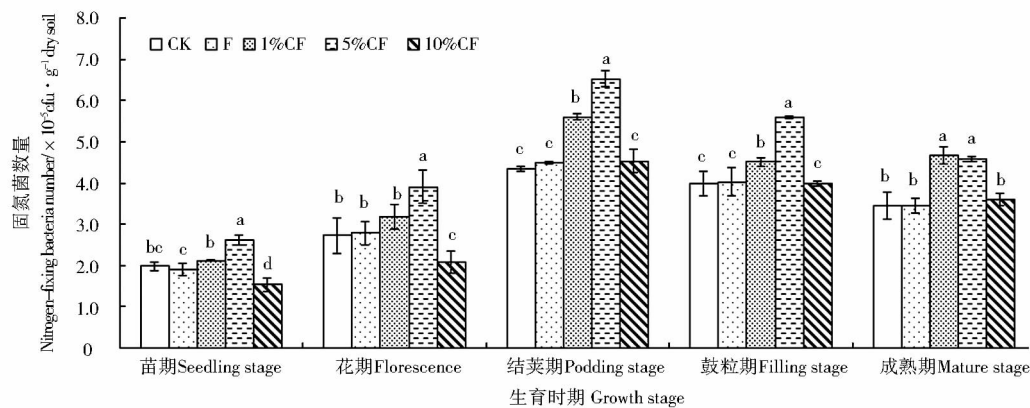


图2 生物黑炭对大豆根际固氮菌数量的影响

Fig. 2 Effects of biochar on the rhizospheric nitrogen-fixing bacteria number in soybean

2.3 生物黑炭对大豆根际氨化细菌数量的影响

生物黑炭添加对大豆根际氨化细菌随生育时期的变化规律无显著性影响,但不同比例生物黑炭处理对氨化细菌的影响因生育时期的不同出现一定差异。如图3所示,与对照相比,低量生物黑炭对大豆苗期、花期和结荚期根际氨化细菌数量无显著性影响,但对鼓粒期和成熟期根际氨化细菌数量有显著促进作用;中等生物黑炭显著促进大豆根际氨化细菌数量(花期除外);高量生物黑炭显著促进大豆结荚期根际氨化细菌数量,对其余生育时期根际氨化细菌数量有显著抑制作用。从全生育时期的平均水平上看,生物黑炭添加促进根际氨化细菌数量,中等生物黑炭施用量对根际氨化细菌数量的提

升更为有利。

2.4 生物黑炭对大豆根际硝化细菌数量的影响

生物黑炭对根际硝化细菌的影响与生物黑炭的施用量有关,大豆各生育时期的表现较为一致。如图4所示,与CK和F处理相比,低量生物黑炭对除苗期之外的其余生育时期根际硝化细菌有显著促进作用($P < 0.05$);中等生物黑炭对大豆各生育时期根际硝化细菌数量有显著促进作用($P < 0.05$),根际硝化细菌数量在所有处理中为最高;高量生物黑炭根际硝化细菌数量与CK和F处理各生育时期无显著性差异($P > 0.05$)。说明生物黑炭对根际硝化细菌有一定促进作用,但与施用量有关,中等生物黑炭施用量对根际硝化细菌具有较高的促进作用。

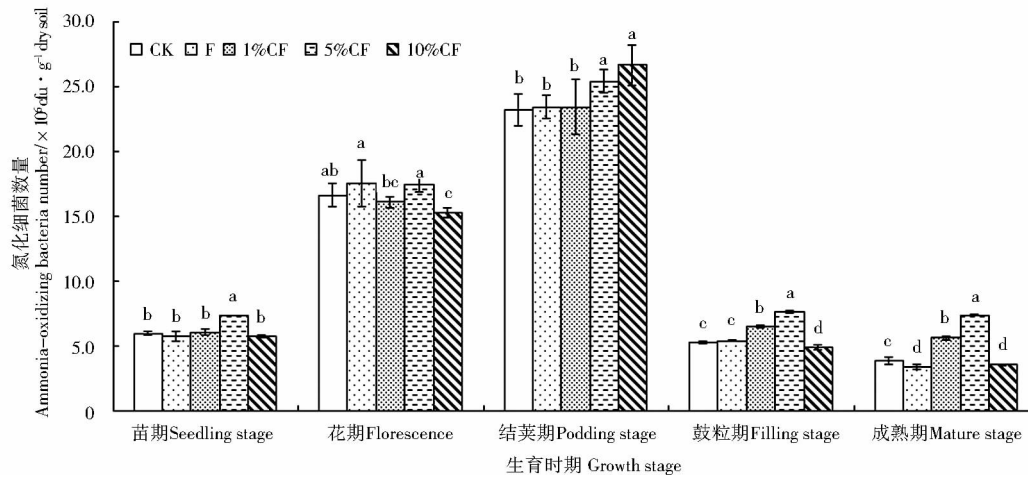


图3 生物黑炭对大豆根际氨化细菌数量的影响

Fig. 3 Effects of biochar on the rhizospheric ammonifying bacteria number in soybean

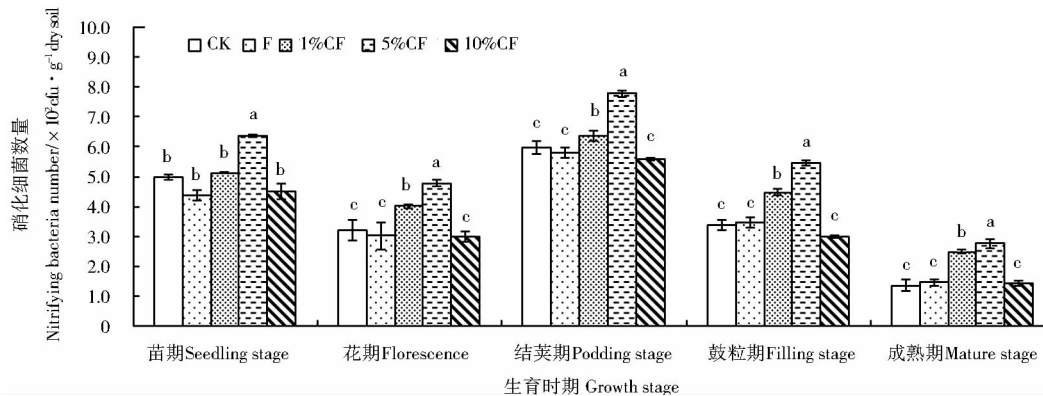


图4 生物黑炭对大豆根际硝化细菌数量的影响

Fig. 4 Effects of biochar on the rhizospheric nitrifying bacteria number in soybean

2.5 生物黑炭对大豆根际铵态氮和硝态氮数量的影响

生物黑炭对大豆根际铵态氮含量的影响与大豆的生育时期有关,对鼓粒期和成熟期根际铵态氮含量无显著性影响(图5)。与CK相比,低量生物黑炭显著促进大豆结荚期根际铵态氮含量,其余生育时期无显著性差异,与F处理相比,则对花期根

际铵态氮含量有抑制作用,其余生育时期无显著性差异;与CK和F处理比较,中等生物黑炭施用显著促进大豆苗期、花期和结荚期根际铵态氮数量,高量生物黑炭显著降低大豆苗期根际铵态氮数量,显著提高花期根际铵态氮数量($P < 0.05$)。说明生物黑炭对大豆生育前期铵态氮的影响存在一定剂量差异。总的来看,中等生物黑炭对大豆生育前期

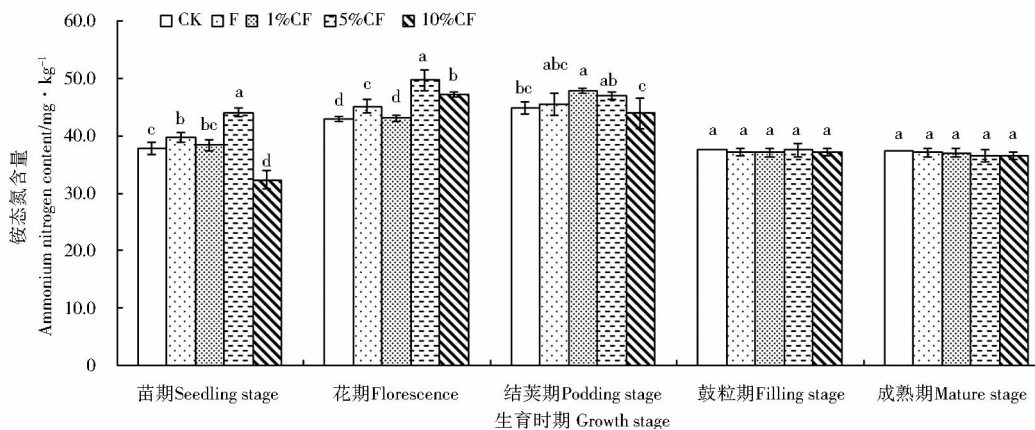


图5 生物黑炭对大豆根际铵态氮含量的影响

Fig. 5 Effects of biochar on the rhizospheric ammonium nitrogen's content in soybean

(苗期、花期和结荚期)根际铵态氮具有一定的活化作用。

与对铵态氮含量的影响相类似,生物黑炭对大豆根际硝态氮含量的影响也存在时期性差异(图6)。与CK和F处理相比较,生物黑炭添加显著降低大豆成熟期根际硝态氮含量($P < 0.05$);与CK相比,低量生物黑炭对苗期、鼓粒期根际硝态氮含量无显著性影响,对花期根际硝态氮含量有显著促进作用,对结荚期根际硝态氮含量有一定抑制作

用;中等生物黑炭显著增加苗期、花期和鼓粒期根际硝态氮含量,对结荚期根际硝态氮含量有促进作用,但与CK差异不显著;高量生物黑炭对大豆花期和鼓粒期根际硝态氮含量有显著促进作用,对结荚期根际硝态氮有显著抑制作用($P < 0.05$)。表明生物黑炭对不同生育时期土壤硝态氮具有调节作用,这可能是生物黑炭影响土壤氮素转化过程的表征,其机制有待于进一步研究。

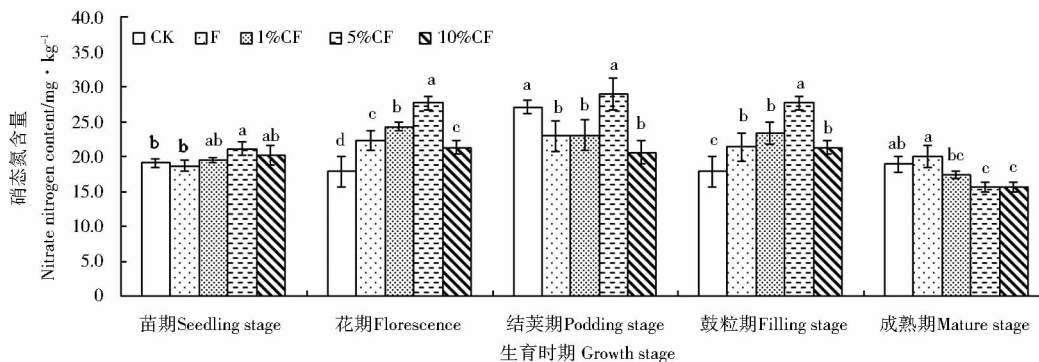


图6 生物黑炭对土壤硝态氮含量的影响

Fig. 6 Effects of biochar on the rhizospheric nitrate nitrogen's content in soybean

2.6 氮素转化功能菌与氮素形态之间的相关分析

土壤硝化细菌数量与硝态氮含量之间、土壤铵态氮与氨化细菌数量之间分别呈极显著的正相关($n = 90$),说明土壤硝化细菌数量增加促进土壤硝态氮含量的增加(图7);与之类似土壤氨化细菌数量增加促进土壤铵态氮含量增加(图8)。

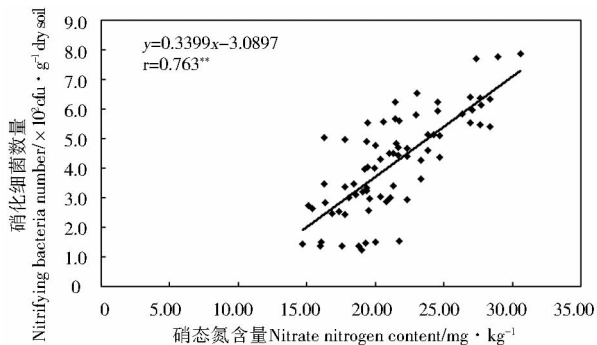


图7 土壤硝态氮含量与硝化细菌数量之间的相关分析($n = 90$)

Fig. 7 Correlation analysis between the nitrate nitrogen's content and nitrifying bacteria number

3 结论与讨论

生物质炭(biomass-derived black carbon 或 biochar)是由植物生物质在完全或部分缺氧的情况下经 $300 \sim 700^\circ\text{C}$ 热解产生的一类高度芳香化难熔性物质^[16],因其具有较大的表面积而具有一定的养分固持能力,同时具有改善土壤结构、降低土壤酸度

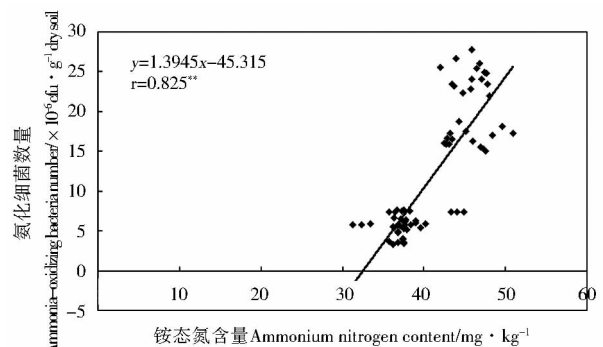


图8 土壤铵态氮含量与氨化细菌数量之间的相关分析

Fig. 8 Correlation analysis between the ammonium nitrogen's content and ammonifying bacteria number

的特性^[17]。本研究结果表明,生物黑炭添加显著提高土壤 pH,同时随施用量的增加而增加,高量生物黑炭(10% CF 处理)根际 pH 为各个时期中的最高。Yuan 和 Xu^[18]研究酸性红壤时也发现生物黑炭显著提高红壤 pH,这与本研究的结果一致。更进一步的研究发现,生物质炭表面的-COO-和-O-等有机官能团和生物质炭中的碳酸盐是碱的主要存在形态,因此导致土壤 pH 升高^[19]。

土壤微生物因其对环境条件的敏感性通常作为土壤质量评价的指标之一。生物黑炭添加通过影响土壤结构进而对土壤微生物生物量、活性及微生物数量产生影响^[20]。李芳芳等^[21]研究杉木人工林土壤时发现,黑炭添加在一定程度上缓解了土壤微生物量氮含量的减少,并随着黑炭添加量的增

加,土壤微生物量氮含量呈现增加而土壤可溶性氮呈减少的趋势。说明生物黑炭通过影响土壤微生物活动影响养分转化,这与本研究结果一致。本研究中,中等生物黑炭对大豆根际固氮菌、硝化细菌数量有显著促进作用,对氨化细菌数量也表现出一定促进趋势。其机理可能与生物黑炭能够提供微生物更为适宜的生存环境^[22]及生物黑炭表面可溶性有机碳或其他养分的高获取性^[23]有关。

生物黑炭添加对土壤微生物活性存在一定浓度效应已有报道^[21],向杉木人工林土壤中分别添加不同用量黑炭,以 0、1% 和 5% 添加量时发现,除培养 1 d 外,土壤微生物量氮和微生物量碳含量呈现 $5\% > 1\% > 0$ 的变化。本研究中大豆根际 pH 也有 $10\% > 5\% > 1\% > 0$ 的变化趋势,但对氮素转化相关功能菌的研究时发现,并不是生物黑炭数量越多对菌群数量的提升越有利,中等生物黑炭对根际氮素转化相关功能菌数量有一定促进作用,高量生物黑炭对氮素转化功能菌数量有一定抑制作用或差异不显著,说明生物黑炭对氮素转化功能菌的影响存在正效应或负效应。Anderson 等^[24]和 Chen 等^[25]研究时也发现生物黑炭对土壤氮转化相关功能菌群的影响因功能菌类型的不同而出现正效应或负效应,这与本研究结果一致。

参考文献

- [1] Lehmann J, Joseph S. Biochar for environmental management: an introduction [M]//Lehmann J, Joseph S. Biochar for environmental management: science and technology. London: Earth Scan, 2009: 1-12.
- [2] Marris E. Putting the carbon back: black is the new green [J]. Nature, 2006, 442: 624-626.
- [3] 蔺海红, 付琳琳, 李恋卿, 等. 生物质炭对土壤特性及葡萄幼苗植株生长的影响 [J]. 中国农学通报, 2013, 29 (28): 195-200. (Lin H H, Fu L L, Li L Q, et al. Effect of biochar application on soil properties and grape seedling growth [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29 (28): 195-200.)
- [4] 尹云锋, 高人, 马红亮, 等. 稻草及其制备的生物质炭对土壤团聚体有机碳的影响 [J]. 土壤学报, 2013, 50 (5): 909-914. (Yin Y F, Gao R, Ma H L, et al. Effects of application of rice straw and straw biochar on organic carbon in soil aggregates [J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50 (5): 909-914.)
- [5] 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: 235-246.
- [6] 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.
- [7] Steiner C, Glaser B, Teixeira W G, 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: 893-899.
- [8] Rillig M C, Mummey D L. Mycorrhizas and soil structure [J]. New Phytologist, 2006, 171: 41-53.
- [9] Warnock D D, Lehmann J, Kuyper T W, et al. Mycorrhizal responses to biochar in soil concepts and mechanisms [J]. Plant Soil, 2007, 300: 9-20.
- [10] Major J, Steiner C, Downie A, et al. Biochar effects on nutrient leaching [J]. Biochar for Environmental Management Science and Technology, 2009, 15: 271-288.
- [11] 孟颖, 王宏燕, 于崧, 等. 生物黑炭对玉米苗期根际土壤氮素形态及相关微生物的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2014, 22 (3): 270-276. (Meng Y, Wang H Y, Yu S, et al. Effect of biochar on nitrogen forms and related microorganisms of rhizosphere soil of seedling maize [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2014, 22 (3): 270-276.)
- [12] 蔡延江, 王小丹, 丁维新, 等. 冻融对土壤氮素转化和 N_2O 排放的影响研究进展 [J]. 土壤学报, 2013, 50 (5): 1032-1042. (Cai Y J, Wang X D, Ding W X, et al. Effects of freeze-thaw on soil nitrogen transformation and N_2O emission: A review [J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50 (5): 1032-1042.)
- [13] Ball P N, MacKenzie M D, DeLuca T H, et al. Wildfire and charcoal enhance nitrification and ammonium-oxidizing bacteria abundance in dry montane forest soils [J]. Journal of Environmental Quality, 2010, 39: 1243-1253.
- [14] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010. (Lin X G. Study on the principle and method of soil microorganism [M]. Beijing: Higher Education Press, 2010.)
- [15] 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, 2000. (Lu R K. The analysis method of soil agricultural chemistry [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.)
- [16] Antal M J, Gronli M. The art, science, and technology of charcoal production [J]. Industrial and Engineering Chemistry Research, 2003, 42: 1619-1640.
- [17] Sohi S P, Krull E, Lopez-Capel E, et al. A review of biochar and its use and function in soil [J]. Advance in Agronomy, 2010, 105: 47-82.
- [18] Yuan J H, Xu R K. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic Ultisol [J]. Soil Use Management, 2011, 27: 110-115.
- [19] Yuan J H, Xu R K, Zhang H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures [J]. Biore-source Technology, 2011, 102: 3488-3497.
- [20] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, et al. Biochar effects on soil biota: a review [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43: 1812-1836.
- [21] 李芳芳, 高人, 尹云锋, 等. 黑炭添加对杉木人工林土壤微生物量碳氮的影响 [J]. 亚热带资源与环境学报, 2011, 6 (4): 49-54. (Li F F, Gao R, Yin Y F, et al. Effects of black carbon application on soil microbial biomass carbon and nitrogen in the plantation of *Cunninghamia Lanceolata* [J]. Journal of Subtropical Resources and Environment, 2011, 6 (4): 49-54.)
- [22] Thies J, Rillig M C. Characteristics of biochar: biological properties [M]//Lehmann J, Josep S. Biochar for environmental management: science and technology. London: Earthscan Limited, 2009.
- [23] Bruun E W, Ambus P, Egsgaard H, et al. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics [J]. Soil Biology and Biochemistry 2012, 46: 73-79.
- [24] Anderson C R, Condron L M, Clough T J, et al. Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus [J]. Pedobiologia, 2011, 54 (5-6): 309-320.
- [25] 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.