

# 生物炭对酸化茶园土壤性状和细菌群落结构的影响

王义祥, 黄家庆, 叶菁, 李艳春, 林怡, 刘岑薇

(福建省农业科学院农业生态研究所/福建省红壤山地农业生态过程重点实验室, 福建福州 350013)

**摘要:**【目的】生物炭作为一种高效、绿色、多功能的土壤调理剂受到了广泛关注, 但生物炭对酸化茶园土壤改良的长期效应还缺乏了解。研究施用生物炭 5 年后对茶园土壤性状和细菌群落结构的影响, 为生物炭在酸化土壤改良上的合理应用提供科学依据。【方法】茶园生物炭田间试验在福建安溪县进行, 茶园种植年限超过 7 年, 茶树品种为铁观音, 土壤为黄壤。试验设生物炭施用量 0、2.5、5、10、20 和 40 t/hm<sup>2</sup> 共 6 个水平, 一次施入土壤, 5 年后调查了茶园土壤 pH、电导率 (EC)、可溶性有机碳含量、细菌群落结构变化及它们间的相关关系。【结果】施用生物炭 5 年后, 茶园土壤 pH 提高了 0.16~1.11 个单位, 可溶性有机碳含量提高了 52.6%~92.3%, EC 值降低了 1.85%~47.77%, 其中施用 10~40 t/hm<sup>2</sup> 生物炭处理的 pH 值均显著高于 0~5 t/hm<sup>2</sup> 处理。施用生物炭 5 年对土壤性质的改变, 进一步影响了细菌群落结构, 细菌群落 Chao 指数、ACE 指数表现为随生物炭施用量增加而增加得趋势, Shannon 指数呈现先增加后降低的趋势。施用生物炭促进了适宜酸中性或弱碱性环境的节杆菌属、硝化螺旋菌属、黄色杆菌科细菌相对丰度的增加, 降低了嗜酸性细菌如酸杆菌属细菌的相对丰度。细菌群落结构与环境因子的关联分析表明, 施用 0~10 t/hm<sup>2</sup> 生物炭处理细菌群落结构受 pH、EC 环境因子的影响较大; 施用 20~40 t/hm<sup>2</sup> 生物炭处理细菌群落结构受土壤可溶性有机碳等环境因子的影响较大; 其中硝化螺旋菌属、 $\alpha$ -变形菌门、酸杆菌属、康奈斯氏杆菌属等的相对丰度与土壤 pH、EC 值间具有显著相关性。【结论】在酸化茶园施用生物炭 5 年后, 土壤 pH、EC 和可溶性有机碳含量发生了显著变化, 增加了细菌群落多样性指数, 且适宜酸中性或弱碱性环境的细菌丰度增加, 嗜酸性细菌丰度降低; 其中施用 0~10 t/hm<sup>2</sup> 生物炭的处理土壤 pH、EC 是显著影响细菌群落结构的环境因子, 施用 20~40 t/hm<sup>2</sup> 生物炭的处理土壤可溶性有机碳含量是显著影响细菌群落结构的环境因子。

**关键词:** 茶园; 黄壤; 生物炭; pH; 细菌多样性

## Effects of different amount of biochar application on soil property and bacterial community structure in acidified tea garden

WANG Yi-xiang, HUANG Jia-qing, YE Jing, LI Yan-chun, LIN Yi, LIU Cen-wei

(Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory of Agricultural Ecological Process of Red Soil Mountain, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** 【Objectives】Biochar is considered as an efficient, green and multifunctional soil conditioner. The long-term effect of biochar application on the properties of acidified tea garden soils was researched, in order to provide scientific references for reasonable application of biochar in acidified soil improvement. 【Methods】A field experiment was carried out in Anxi County, Fujian Province, where the tea garden was planted for more than 7 years and the soil was yellow earth. Six biochar application levels of 0, 2.5, 5, 10, 20 and 40 t/hm<sup>2</sup> were setup, and all the biochar were once added into soils. The soil pH, EC and bacterial community structure were analyzed five years later. 【Results】After the biochar was applied for five years, the pH of tea garden soil increased by 0.16 to 1.11 units, the dissolved organic carbon contents (DOC) increased by 52.6% to 92.3%, and the EC values decreased by 1.85% to 47.77%. The pH of 10–40 t/hm<sup>2</sup> biochar treatments was significantly higher than that of

收稿日期: 2020-05-21 接受日期: 2020-07-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0501404-3); 福建省科技厅公益项目 (2020R1021003); 福建省农业科学院创新团队项目 (STIT20117-3-9)。

联系方式: 王义祥 E-mail: sd\_wolong@163.com

0–5 t/hm<sup>2</sup> biochar treatments. The indexes of Chao and ACE increased with the increase of biochar rate, the Shannon index firstly increased and then decreased. The relative abundance of bacteria suitable for neutral, acid or weakly alkaline environment, such as *Arthrobacter*, *Nitrospira* and *Xanthomonas*, increased due to biochar application, and the relative abundance of Acidobacteria decreased. The correlation analysis between bacterial community structure and environmental factors showed that the bacterial communities of 0–10 t/hm<sup>2</sup> of biochar treatments was greatly affected by pH and EC. The bacterial communities of 20–40 t/hm<sup>2</sup> of biochar treatments were greatly affected by DOC. The relative abundances of *Nitrospira*, Alphaproteobacteria, *Acidobacteriaceae*, *Conexibacter* had significant correlation with soil pH and EC. 【 **Conclusions** 】 Biochar has relatively long soil remediation effect. After applying biochar for five years, the pH, DOC and bacterial diversity indexes of tea garden soils are significantly increased, the abundance of bacteria suitable for weakly acid to weakly alkaline environments increased, and the abundance of acidophilic bacteria decreased. Under biochar application amount of 0–10 t/hm<sup>2</sup>, the pH and EC are the environmental factors that significantly affect the bacterial community structure, and under biochar application rate of 20–40 t/hm<sup>2</sup>, DOC is the main environmental factor.

**Key words:** tea garden; yellow soil; biochar; pH; bacterial diversity

茶树是我国热带及亚热带地区重要的经济作物。福建作为中国茶叶生产的主要省份之一，全省茶园面积共有 17.33 万 hm<sup>2</sup>，占全国茶园总面积的 10.5%，居全国第二位<sup>[1]</sup>，但长期以来茶园过度开发，不合理施肥等导致茶园土壤持续退化，茶园土壤酸化日趋严重，福建省 pH < 4.5 的茶园占比达 86.9%，11.2% 的土壤有机质低于临界值<sup>[2]</sup>，这些都影响到了茶叶品质和茶园可持续经营。由此，加强茶园土壤管理和及时采取有效措施，阻控或修复茶园土壤退化尤其是酸化是当前茶叶生产中亟待解决的现实问题。

生物炭是生物质如秸秆、木屑、畜禽粪便、食用菌菌渣等在无氧或低氧状态下高温裂解制备的一种富碳产品，其作为一种高效、绿色、多功能的土壤调理剂近年来备受关注<sup>[3]</sup>。以往研究表明，生物炭表面含有丰富的–COOH 和–OH 等含氧官能团，多呈碱性，在酸性土壤改良方面具有良好的作用<sup>[4]</sup>，施入土壤后可以提高酸性土壤 pH，增加阳离子交换量和有效养分含量<sup>[1,4]</sup>。Wang 等<sup>[5]</sup>研究发现，生物炭添加显著增加了茶园土壤有机质含量，提高了土壤 pH 和降低了酸化茶园土壤交换性酸含量。生物炭中还含有丰富的 P、K、Ca、Mg 等矿质元素，可促进土壤养分的循环和作物的生长<sup>[3]</sup>。江福英等<sup>[6]</sup>基于 3 年的田间试验发现，施用生物炭降低了茶园土壤容重，改善了茶园土壤结构，且显著提高了有效磷、速效钾含量，茶叶产量也提高了 5.44%~17.05%。此外，生物炭因含碳量较为丰富，施入土壤会引起微生物的大量繁殖，提高土壤微生物活性，丰富的孔隙结构也为土壤有益微生物提供了栖息地<sup>[7]</sup>。但目前对生物炭的研究仍处于初级阶段，多数研究基于短

期试验，对生物炭长期应用效应的研究远远不够<sup>[8]</sup>。土壤微生物作为土壤生物区系中最重要的功能组分，在调节土壤养分供给和作物养分需求响应与反馈关系中起着十分重要的作用<sup>[9]</sup>。生物炭添加会直接或间接影响土壤微生物的生长代谢，改变土壤微生物的群落结构组成，从而影响土壤养分循环<sup>[10]</sup>。Wang 等<sup>[11]</sup>基于短期盆栽试验发现，小麦秸秆、花生壳和水稻秸秆生物炭的添加均显著影响了土壤微生物群落结构。Chen 等<sup>[12]</sup>研究发现施用生物炭 1 年后，轻度酸化水稻土中细菌基因拷贝数增加 28%~64%，真菌基因拷贝数显著降低 35%~46%。但也有研究发现，生物炭的添加导致土壤微生物量降低，并降低了微生物群落结构丰富度<sup>[13]</sup>，生物炭对土壤微生物的影响差异较大，这种差异性可能与土壤的类型、利用方式以及生物炭的种类、用量等有关<sup>[14]</sup>，且生物炭对土壤微生物群落结构的影响也会随着时间的推移而发生变化<sup>[10,15]</sup>，这些都需要开展较为系统的研究，以更加深入地了解生物炭对土壤微生物的影响机制，尤其是亟待开展长期效应的研究。因此，本研究通过茶园长期田间试验研究施用生物炭 5 年后，其不同施用量对土壤理化性状和细菌群落结构的影响，以为生物炭在茶园酸化改良上的应用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

试验茶园位于福建省安溪县感德镇槐植，北纬 25°26′，东经 117°86′，该区域属亚热带季风气候，年均气温为 15℃~18.5℃，年降水量 1700~1900

mm。茶园种植年限在 7 年以上, 茶树品种为铁观音, 土壤为黄壤。土壤基础理化性状为: 容重  $1.1 \text{ g/cm}^3$ , pH 4.2, 有机碳含量  $18.9 \text{ g/kg}$ , 全氮  $1.8 \text{ g/kg}$ , 有效磷  $72.8 \text{ mg/kg}$ , 速效钾  $101.5 \text{ mg/kg}$ 。试验用生物炭为  $500^\circ\text{C}$  下裂解 3 h 制备的小麦秸秆, 其有机碳  $470.0 \text{ g/kg}$ , 全氮  $6.0 \text{ g/kg}$ , 碱解氮  $24.4 \text{ mg/kg}$ , 有效磷  $254.2 \text{ mg/kg}$ , 灰分 20.1%, pH 9.5。

## 1.2 试验设计

田间试验采用单因素随机区组设计, 共设 6 个处理, 即生物炭田间施用量分别为 0 (BC0)、2.5 (BC2.5)、5 (BC5)、10 (BC10)、20 (BC20)、40 (BC40)  $\text{t/hm}^2$ , 小区面积为  $15 \text{ m}^2$ , 每个处理 4 次重复。生物炭施用时间为 2014 年 3 月下旬, 将生物炭均匀撒在供试小区地表, 翻土 20 cm, 使其与土壤充分混匀, 茶园按常规管理, 每年施肥量为氮 (N)  $300 \text{ kg/hm}^2$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5$   $75 \text{ kg/hm}^2$ 、 $\text{K}_2\text{O}$   $112.5 \text{ kg/hm}^2$ , 以尿素、重过磷酸钙、硫酸钾进行春季、夏季和秋季施肥, 春、夏、秋 3 季施肥量分别占全年总量的 40%、30% 和 30%; 生物炭仅在试验时施用 1 次。

## 1.3 土壤样品采集

施用生物炭 5 年后 (2019 年 10 月), 在各试验小区内以“S”型多点混合法采集 0—20 cm 土层样品, 去除植物碎屑和碎石, 混合样品后放于冷藏箱内带回实验室分析测定。

## 1.4 测定指标与方法

pH 采用 pH 计测定 (水土比 2.5 : 1 浸提), EC 值采用电导率仪测定 (水土比 5 : 1 浸提)<sup>[16]</sup>, 土壤可溶性有机碳是将样品经过水浸提后采用岛津 TOC 仪测定<sup>[17]</sup>。生物炭、有机碳和全氮含量是采用元素分析仪 (Vario EL Cube, 德国 Elementar) 测定。灰分含量是将一定质量的烘干生物炭置于马弗炉中  $750^\circ\text{C}$  下灼烧 6 h, 根据重量变化计算而得 (ASTMD1762-84)<sup>[18]</sup>。碱解氮含量采用碱解扩散— $\text{H}_3\text{BO}_3$  吸收滴定法测定; 有效磷含量采用碳酸氢钠浸提—钼锑抗分光光度法<sup>[16]</sup>测定。

## 1.5 土壤细菌群落结构分析

采用土壤 DNA 提取试剂盒 (Omega Bio-tek Inc, Doravilla, GA, USA) 提取茶园土壤细菌的总 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的质量, 然后将茶园土壤细菌的 DNA 送至上海美吉生物医药科技有限公司, 以 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序和分析。茶园土壤细菌高通量测序数据分析均是基

于上海美吉生物医药科技有限公司所提供的云服务 (<https://www.i-sanger.com>) 进行, 项目号为 MJ20191009200-MJ-M-20191010084。具体的数据分析软件和算法参考上海美吉生物医药科技有限公司官方网站提供的说明。样品的原始序列已经提交至 NCBI SRA (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>), 登录号为 (SRA accession): PRJNA592881。

## 1.6 数据处理

试验数据分析基于上海美吉生物医药科技有限公司所提供的云服务进行 (<https://www.i-sanger.com>), 数据分析前以“按最小样本序列数”进行数据抽平处理。其中多样性指数 (alpha-diversity) 利用 mothur version v.1.30.1 (<http://www.mothur.org/>) 计算; 样本层级聚类采用 UPGMA 非加权组平均法; Qiime 计算采用 beta 多样性距离矩阵, 以 R 语言作图; 相关性 Heatmap 图的软件及算法采用 R 语言 pheatmap package 提供的方法。数据多组间的比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和克氏秩和检验 (Kruskal-Wallis H test), 环境因子关联分析采用欧氏距离 (Euclidean distances) 法, 采用 SAS 9.0 软件计算。土壤基础性质数据处理和图表绘制利用 Microsoft Excel 2016 和 OriginPro 2017 SR2 软件。

# 2 结果与分析

## 2.1 茶园土壤 pH 和电导率变化

施用生物炭 5 年后, 茶园土壤 pH 提高了 0.16~1.11 个单位, EC 值降低 1.85%~47.77%。图 1a 显示, 随着生物炭施用量的增加, 土壤 pH 的提高幅度加大, BC10、BC20 和 BC40 处理的 pH 显著高于 BC0、BC2.5 和 BC5 ( $P < 0.05$ )。图 1b 显示, 土壤 EC 值随着生物炭施用量增加而降低, 其中 BC10、BC20 和 BC40 等 3 个处理与 BC0、BC2.5、BC5 处理间的差异均达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。

## 2.2 茶园土壤可溶性有机碳含量的变化

图 2 显示, 土壤可溶性有机碳含量随着生物炭施用量的增加而增加, 其中 BC2.5、BC5、BC10、BC20 和 BC40 处理分别比 BC0 处理增加了 52.6%、61.5%、70.2%、89.9% 和 92.3% (图 2), 且 BC2.5、BC5、BC10、BC20 和 BC40 等 5 个处理与 BC0 处理间差异均达显著水平 ( $P < 0.05$ ), BC10、BC20 和 BC40 等 3 个处理与 BC2.5 处理间的差异亦达到显著性水平 ( $P < 0.05$ )。

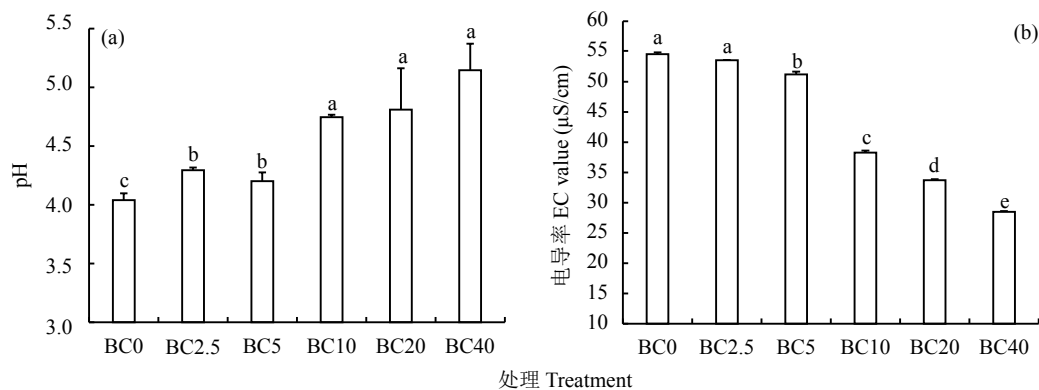


图 1 施用不同量生物炭 5 年后土壤 pH 和 EC 值

Fig. 1 pH and EC values of soil after 5 years of applying different amounts of biochar

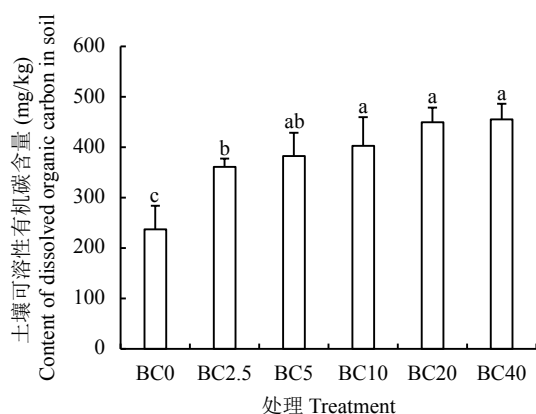


图 2 施用不同量生物炭 5 年后茶园土壤可溶性有机碳含量

Fig. 2 Dissolved organic carbon contents of tea garden soils after 5 years of applying different amounts of biochar

### 2.3 茶园土壤细菌多样性分析

6 个处理的细菌覆盖率均大于或等于 98.37%，基本覆盖了茶园土壤所有的细菌。表 1 显示，随着生物炭施用量的增加，茶园土壤细菌的多样性也随

之增加，Chao 和 Ace 值持续增大，Simpson 指数变小，其中 B10、BC20 和 BC40 处理的 Chao 和 Ace 指数与 BC0 处理间的差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ )，B10、BC20 和 BC40 处理与 BC2.5 处理间的差异亦达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。Shannon 指数随着生物炭施用量的增加呈先增加后降低的趋势，但 BC20 和 BC40 处理间的差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

层级聚类 (hierarchical clustering) 分析 (图 3) 显示，在茶园土壤细菌属 (genus) 水平上，BC2.5 和 BC5，BC20 和 BC40 处理茶园土壤细菌的总能聚合在一起，而 BC10 则不能直接和其它处理聚合。

非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling analysis, NMDS) 结果 (图 4) 显示，茶园土壤细菌的 BC5 和 BC10，BC20 和 BC40 处理分布在同一个象限，而 BC0、BC2.5 处理均独自分布在一个象限，并且与其它处理保持一定的距离。利用主坐标分析方法 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 研究细菌群落组成的相似性和差异性，结果 (图 5) 显

表 1 施用不同量生物炭 5 年后茶园土壤细菌多样性指数

Table 1 Bacteria diversity indexes of tea garden soils after 5 years of applying different amounts of biochar

处理 Treatment	Chao 指数 Chao index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	覆盖率 (%) Coverage
BC0	1355.33 c	1362.90 c	5.32 c	0.015 a	99.38 a
BC2.5	1989.92 b	1991.78 b	5.89 b	0.007 b	98.95 a
BC5	2124.91 ab	2113.868 ab	6.07 ab	0.006 b	98.74 a
BC10	2320.43 a	2304.938 a	6.49 a	0.003 b	99.23 a
BC20	2409.19 a	2434.058 a	6.54 a	0.003 b	98.69 a
BC40	2503.99 a	2470.96 a	6.47 a	0.003 b	98.37 a

注 (Note): 同列数值后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different small letters indicate significant difference among treatments at the 0.05 level.

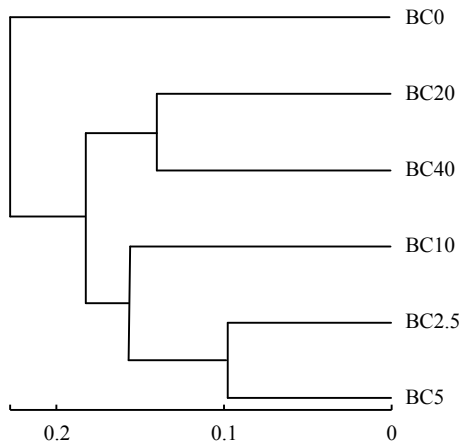


图 3 茶园土壤细菌群落的样本层级聚类分析  
Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of bacterial communities of tea garden soils

示, 在茶园土壤细菌的属 (Genus) 水平上, 第一主坐标 (PC1) 的贡献率为 55.82%, 第二主坐标 (PC2) 的贡献率为 18.23%, 二者累积贡献率达到 74.05%。BC2.5 和 BC5, BC20 和 BC40 处理茶园土壤细菌均分布在同一个象限; 而 BC0 和 BC10 处理独自分布在一个象限, 并且与其它处理间有较大的距离。

#### 2.4 茶园土壤细菌在属水平上的群落结构

图 6 显示, 属水平上茶园土壤细菌共鉴定 48 个, 占 77.38%; 不能识别的细菌占 22.62%。随着生物炭施用量的增加, 未识别的细菌比例增加, 从 22.62% 上升到 41.69%。茶园土壤中相对丰度比例 > 1% 的主要细菌有 JG30-KF-AS9 中未分类菌属 (10.92%)、Subgroup\_2 中未分类菌属 (7.44%)、*Elsterales* 属 (7.35%)、驹形杆菌属 (*Komagataeibacter*, 6.92%)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*, 4.00%) 等 24 个。随着生物炭施用量的增加, 黄色杆菌科 (*Xanthobacteraceae*) 等的相对丰度呈现逐渐增加的规律, Subgroup\_2 中未分类菌属、*Elsterales* 属、KF-JG30-C25 中未分类菌属、WPS-2 中未分类菌属、酸热菌属 (*Acidothermus*)、Subgroup\_6 中未分类菌属、放线菌门 (*Actinobacteria*)、伯克氏菌属 (*Burkholderia*)、SBR1031 中未分类菌属、酸杆菌科 (*Acidobacteriaceae*)、醋酸菌科 (*Acetobacteraceae*) 等的相对丰度呈先增加后降低的趋势, 但均高于 BC0 处理。而 JG30-KF-AS9 中未分类菌属、驹形杆菌属 (*Komagataeibacter*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、柄杆菌科 (*Caulobacteraceae*)、*Roseiarcus* 属、酸杆菌科 (*Acidobacteriaceae*)、真杆菌属 (*Eubacterium\_coprostanoligenes*)、摩替亚氏菌科 (*Moritellaceae*)、莫里特拉氏菌属 (*Moritella*)、弧

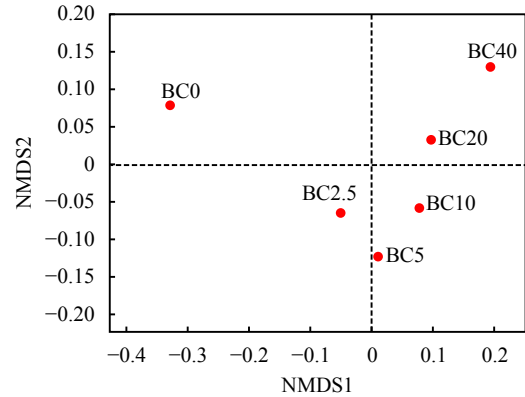


图 4 基于相似性 > 97% 的属水平上非度量多度分析  
Fig. 4 NMDS plot on genus level (similarity over 97%)

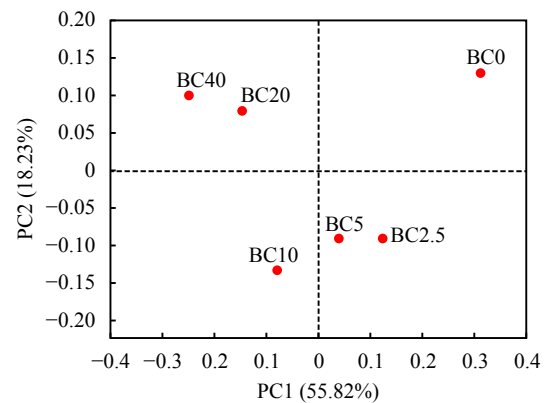


图 5 基于属水平丰度的茶园土壤细菌群落主坐标分析 (PcoA)

Fig. 5 Principal coordinate analysis (PcoA) of bacteria community based on genus abundance

菌科 (*Vibrionaceae*)、弧菌属 (*Vibrio*)、醋酸菌科 (*Acetobacteraceae*) 和红球形菌属 (*Rhodospila*) 等的相对丰度呈现降低的趋势。

以茶园土壤丰度值前 50 的细菌在属水平上构建群落 Heatmap 图 (图 7) 显示, 与 BC0 处理相比, 生物炭处理酸杆菌目 (*Acidobacteriales*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 和硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*) 发生显著变化。

#### 2.5 环境因子关联分析

采用 RDA 分析土壤环境因子对细菌群落结构的影响表明, RDA1 轴和 RDA2 轴对细菌群落结构差异的解释度分别为 56.62% 和 20.89%。施用生物炭的 BC10、BC20 和 BC40 处理与对照 (BC0) 在 RDA1 轴方向上被分离开, 施用生物炭的 BC2.5 和 BC5 处理与对照 (BC0) 在 RDA2 轴方向上被分离开 (图 8)。冗余分析显示, BC0、BC2.5、BC5 和

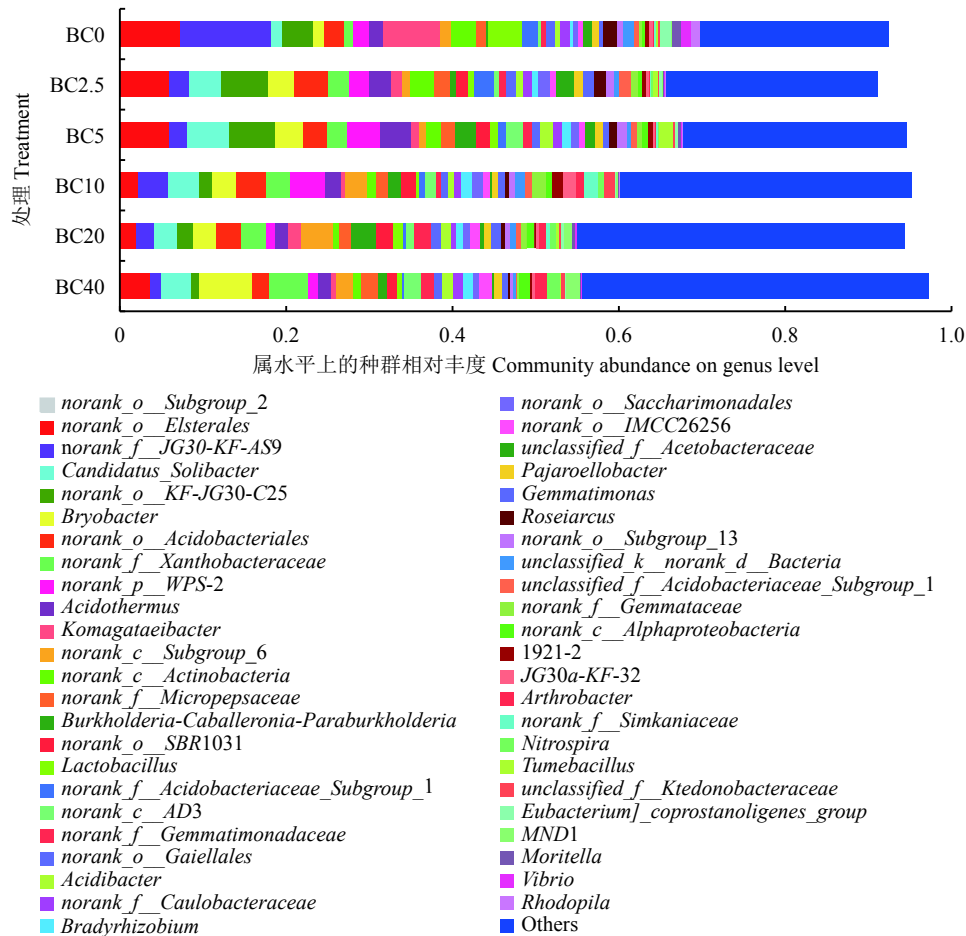


图 6 属水平上茶园土壤优势细菌种群的组成和相对丰度

Fig. 6 The composition and relative abundance of the dominant bacteria at the genus level

BC10 处理 pH、EC 对细菌群落结构的影响较大；BC20 和 BC40 处理土壤可溶性有机碳对细菌群落结构的影响较大。Heatmap 相关性分析 (图 9) 显示，康奈斯氏杆菌属 (*Conexibacter*)、硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*)、 $\alpha$  变形杆菌纲 (Alphaproteobacteria)、酸杆菌科 (Acidobacteriaceae)、*Roseiarcus* 属与 pH 具有显著相关性，与 EC 值和土壤可溶性有机碳 (DOC) 具有极显著相关性。黄色杆菌科 (Xanthobacteraceae) 与 pH 具有显著相关性，但与 EC 和土壤可溶性有机碳间没有显著相关性。放线菌门 (Actinobacteria) 与 EC 和土壤可溶性有机碳具有显著相关性，而与 pH 无显著相关性。土壤细菌区系和土壤理化指标的 Mantel 检验分析表明，土壤细菌群落结构与土壤环境因子密切相关，其中 DOC ( $r = 0.962$ ) 和 pH ( $r = 0.859$ ) 与细菌群落结构相关性较大。

### 3 讨论

施用生物炭 (2.5~40 t/hm<sup>2</sup>) 显著提高了茶园土

壤 pH，其原因是生物炭本身含有丰富的碱性基团，能对土壤酸度起到直接中和作用，此外生物炭中还含有可溶态的灰分元素，可提高酸性土壤的盐基饱和度，有利于降低土壤氢离子和交换性铝的含量，从而提高土壤 pH<sup>[19]</sup>，这也与以往的许多研究<sup>[20-21]</sup>结果相一致。本研究还发现，茶园土壤 pH、EC 的提高幅度随着生物炭施用量的增加而增加，且在施用生物炭 5 年后仍保持较好的改良效果。可溶性有机碳是易被微生物分解利用的土壤活性有机质，其含量也直接影响土壤养分有效性<sup>[22]</sup>。本研究表明，施用生物炭 5 年后，茶园土壤可溶性有机碳得到了不同程度的提高且与生物炭用量成正比，其原因可能是生物炭本身含有一定量的可溶性有机碳<sup>[23]</sup>，是土壤活性有机碳的一部分来源；二是施用生物炭提高了茶园土壤 pH，土壤 pH 的增加可能导致水溶性有机碳中弱酸性官能团的去质子化，提高了活性有机碳的亲水性和电荷密度<sup>[24]</sup>，从而促进固相有机碳的溶解和提

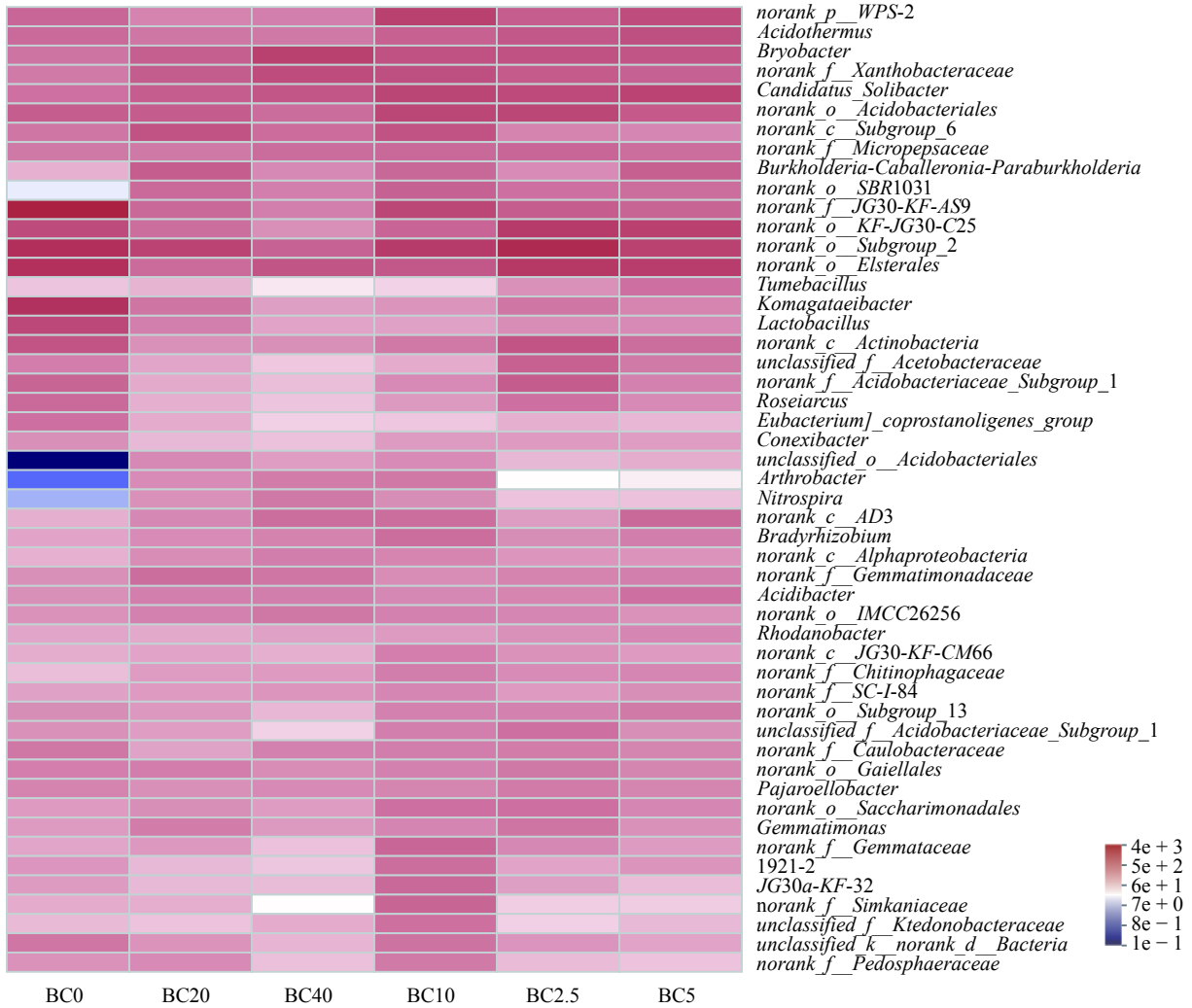


图 7 细菌群落在属水平的群落热图

Fig. 7 The community heatmap of bacterial population at the genus level in tea garden soils

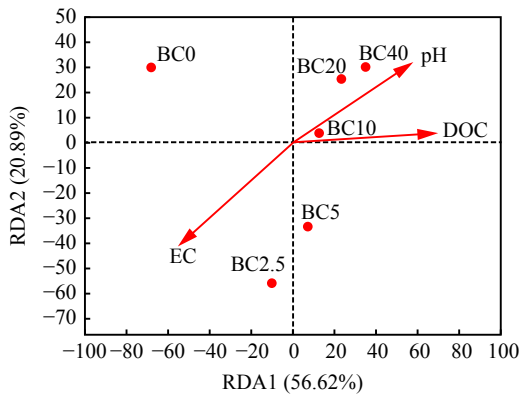


图 8 土壤细菌群落结构与环境因子的冗余分析

Fig. 8 Redundancy analysis (RDA) of bacteria community changes with soil parameters

高土壤可溶性有机碳含量; 三是生物炭中的部分脂肪族和氧化态碳被微生物分解, 转化为小分子的可溶性有机碳<sup>[25]</sup>。

影响土壤肥力的主要因素之一是土壤微生物群落数量与活性, 而酸化茶园低产或减产的原因之一就是土壤中大部分适宜于中性环境的有益微生物减少, 不利于土壤养分的转化<sup>[19]</sup>。本研究发现, 施用生物炭可提高茶园土壤 pH、DOC 和细菌群落多样性, 这与 Demisie 等<sup>[26]</sup>研究结果相一致。生物炭对土壤微生物群落结构的影响主要有两方面, 一是生物炭丰富的孔隙结构及其对水肥的吸附作用可为微生物繁殖提供良好的栖息环境, 二是生物炭除了本身能提供少量养分外, 还可以通过改良土壤性质如提高茶园土壤 pH 等, 间接作用于土壤微生物群落组成<sup>[27]</sup>。Muhammad 等<sup>[28]</sup>在红壤上的研究也表明, 猪粪炭和果皮炭等添加主要通过增加土壤 pH、DOC 和碳氮养分元素含量, 改变微生物群落结构。周凤等<sup>[29]</sup>通过生物炭用量对垆土微生物影响的试验表明, 当生物炭

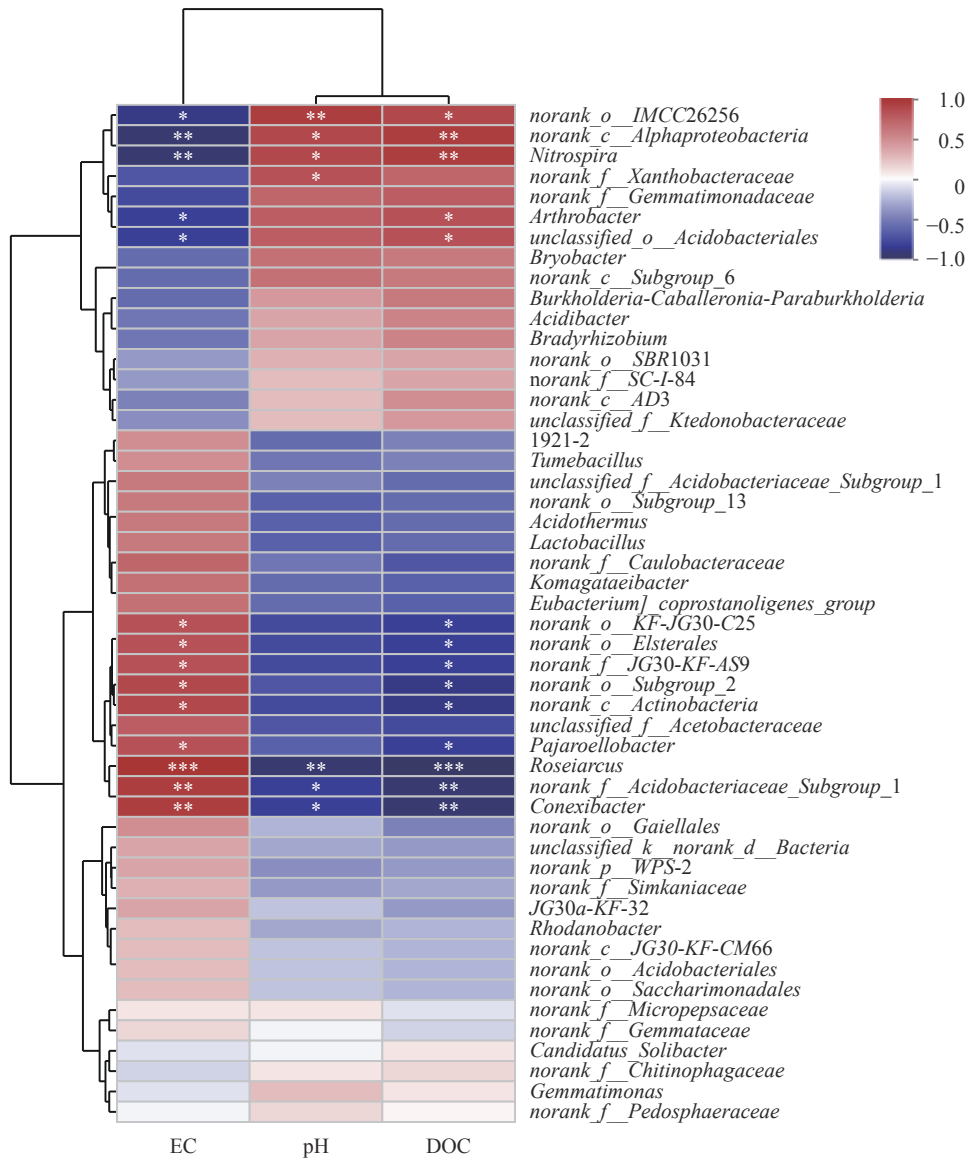


图 9 土壤细菌与环境因子的 Heatmap 相关性分析

Fig. 9 The heatmap correlation analysis between bacteria and soil parameters

[注 (Note) : EC—电导率 Electrical conductivity; DOC—可溶性有机碳 Dissolved organic carbon.]

添加量  $\leq 40 \text{ t/hm}^2$  时土壤微生物多样性指数并无显著性变化, 而当生物炭添加量  $\geq 60 \text{ t/hm}^2$  时, 显著降低了 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数。而本研究表明, 茶园土壤细菌 Chao 指数、ACE 指数随着生物炭用量增加而增加, Shannon 指数随生物炭用量增加呈先增加后降低的趋势。本研究茶园土壤酸性极强 (pH 为 4.04), 过度的酸化会抑制细菌、放线菌的繁殖<sup>[30]</sup>,  $2.5 \sim 40 \text{ t/hm}^2$  生物炭施用处理提高了茶园土壤 pH 0.16~1.11 个单位,  $40 \text{ t/hm}^2$  生物炭处理茶园土壤 pH 为 5.15, 土壤酸性条件得到了不同程度的改善, 微生物代谢所需的营养物质如可溶性有

机碳含量也增加, 从而有利于微生物群落结构与功能恢复<sup>[31]</sup>。

从茶园土壤细菌种群结构来看, 不可培养细菌 JG30-KF-AS9, 酸杆菌门的 Subgroup\_2、Elsterales 属、驹形杆菌属、乳杆菌属、放线菌属、酸杆菌属等是酸化黄壤的主要细菌菌群。随着生物炭用量的增加, 黄色杆菌科丰度增加, 而酸杆菌属、不可培养细菌 JG30-KF-AS9、驹形杆菌属、乳杆菌属、柄杆菌科等的丰度降低。其中酸杆菌属、节杆菌属、硝化螺旋菌属的相对丰度在不同生物炭用量处理间发生明显变化。酸杆菌是土壤微生物的重要成员,



在土壤物质循环和生态环境构建过程中起非常重要的作用, 酸杆菌属细菌一般具有嗜酸、寡营养、难培养的特点<sup>[32]</sup>, 许多研究也表明土壤酸杆菌的相对丰度与土壤 pH 呈显著负相关关系<sup>[33-34]</sup>, 说明茶园土壤酸杆菌属菌群丰度降低, 这与生物炭施入提高了土壤 pH 有关。硝化螺旋菌属细菌与土壤氮循环密切相关, 是参与亚硝酸盐氧化和碳氮循环的主要类群, 生物炭通过改变土壤性状及在土壤中的降解过程, 直接或间接的增加了硝化螺旋菌属的相对丰度<sup>[35]</sup>。节杆菌属细菌是土壤中最常见的细菌之一, 是一种具有较高遗传适应性的细菌, 能利用各种有机物碳源和能源并降解土壤中难分解的物质和多种化学污染物。Chen 等<sup>[36]</sup>通过褐土生物炭田间试验研究发现, 施用生物炭显著提高了土壤 pH, 影响了土壤细菌和真菌群落的组成和共生网络关系, 并表明施用生物炭后细菌网络关键物种变为节杆菌属和芽单胞菌科属, 施用生物炭促进了这些关键物种与其他微生物之间的竞争作用。本研究也表明施用生物炭提高了茶园土壤节杆菌属细菌相对丰度, 但本研究中节杆菌属不是黄壤的主要优势菌群, 这可能与土壤类型有关。本研究还发现, 提高生物炭施用量能增加茶园土壤细菌的数量, 尤其是非优势细菌如黄色杆菌科等。目前人们对黄色杆菌科细菌的了解还非常有限。杨尚东等<sup>[37]</sup>对甘蔗宿根矮化病感病与非感病植株根际土壤细菌群落结构特征的研究发现, 感病植株根际土壤中黄色杆菌属细菌占比呈倍数降低。赵晓楠等<sup>[38]</sup>有关有机肥施用对茶园土壤微生物区系的影响研究也发现, 与不施肥相比, 施用有机肥处理茶园土壤黄色杆菌科数量显著增加。刘雯雯<sup>[39]</sup>对喀斯特植被恢复不同阶段土壤微生物组成及土壤酶相关分析表明, 土壤碱性磷酸酶活性与黄色杆菌科呈极显著的正相关。本研究发现, 随生物炭施用量增加, 黄色杆菌科细菌的丰度增大, 施用生物炭也提高了茶园土壤碱性磷酸酶活性<sup>[19]</sup>, 黄色杆菌科细菌与土壤磷素转化间的关系还有待进一步研究。

## 4 结论

施用生物炭 5 年后, 茶园土壤 pH 和可溶性有机碳含量发生显著变化, 土壤性质的变化影响了土壤细菌群落的多样性, Chao 指数、ACE 指数随生物炭施用量增加而增加, Shannon 指数随生物炭施用量增加呈先增加后降低的趋势。施用生物炭显著提高了

节杆菌属、硝化螺旋菌属、黄色杆菌科的相对丰度, 降低了酸杆菌属的相对丰度。相关分析显示, 土壤细菌群落结构与土壤可溶性有机碳、pH 和 EC 间具有显著的相关性。施用 0~10 t/hm<sup>2</sup> 生物炭处理中 pH、EC 是显著影响细菌群落结构的环境因子, 而施用 20~40 t/hm<sup>2</sup> 生物炭的处理中 DOC 是显著影响细菌群落结构的环境因子。

## 参 考 文 献:

- [1] 王义祥, 辛思洁, 叶菁, 等. 生物炭对强酸性茶园土壤酸度的改良效果研究[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(12): 108-111.  
Wang Y X, Xin S J, Ye J, *et al.* Improvement effect of biochar on soil acidity in strong acidity tea garden[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(12): 108-111.
- [2] 杨冬雪, 钟珍梅, 陈剑侠, 等. 福建省茶园土壤养分状况评价[J]. *海峡科学*, 2010, (6): 129-131.  
Yang D X, Zhong Z M, Chen J X, *et al.* Evaluation of soil nutrient status of tea gardens in Fujian[J]. *Straits Science*, 2010, (6): 129-131.
- [3] 黄燕, 黎珊珊, 蔡凡凡, 等. 生物质炭土壤调理剂的研究进展[J]. *土壤通报*, 2016, 47(6): 1514-1520.  
Huang Y, Li S S, Cai F F, *et al.* Research progress of biochar used as soil conditioner[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2016, 47(6): 1514-1520.
- [4] Xu R K, Yuan J H, Zhang H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 3488-3497.
- [5] Wang L, Butterly C R, Wang Y, *et al.* Effect of crop residue biochar on soil acidity amelioration in strongly acidic tea garden soils[J]. *Soil Use & Management*, 2014, 30(1): 119-128.
- [6] 江福英, 吴志丹, 尤志明, 等. 生物黑炭对茶园土壤理化性状及茶叶产量的影响[J]. *茶叶科学技术*, 2015, 56(1): 16-22.  
Jiang F Y, Wu Z D, You Z M, *et al.* Effect of biochar on soil physiochemical properties and production yield of tea plantations[J]. *Tea Science and Technology*, 2015, 56(1): 16-22.
- [7] Demisie W, Liu Z Y, Zhang M K. Effect of biochar on carbon fractions and enzyme activity of red soil[J]. *Catena*, 2014, 121: 214-221.
- [8] 高文慧, 叶菁, 刘朋虎, 等. 农业废弃物生物质炭化技术及其应用进展[J]. *亚热带农业研究*, 2019, 15(4): 279-284.  
Gao W H, Ye J, Liu P H, *et al.* Reviews on the application of carbonization technology of agricultural waste biomass[J]. *Subtropical Agriculture Research*, 2019, 15(4): 279-284.
- [9] 王芬, 刘会, 冯敬涛, 等. 牛粪和生物炭对苹果根系生长、土壤特性和氮素利用的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2018, 26(12): 1795-1801.  
Wang F, Liu H, Feng J T, *et al.* Effects of cow dung and biochar on root growth, soil properties and nitrogen utilization of apple[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2018, 26(12): 1795-1801.
- [10] 张又弛, 李会丹. 生物炭对土壤中微生物群落结构及其生物地球化学功能的影响[J]. *生态环境学报*, 2015, 24(5): 898-905.

- Zhang Y C, Li H D. Influence of biochar on the community structure and biogeochemical functions of microorganisms in soils[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(5): 898–905.
- [11] Wang H H, Ren T B, Yang H J, *et al.* Research and application of biochar in soil CO<sub>2</sub> emission, fertility, and microorganisms: A sustainable solution to solve China's agricultural straw burning problem[J]. *Sustainability*, 2020, 12(5): 1922.
- [12] 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.
- [13] Dempster D N, Gleeson D B, Soliman Z M, *et al.* Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralization with *Eucalyptus* biochar addition to a coarse textured soil[J]. *Plant and Soil*, 2012, 354(1–2): 311–324.
- [14] 王洪媛, 盖霞普, 翟丽梅, 等. 生物炭对土壤氮循环的影响研究进展[J]. *生态学报*, 2016, 36(19): 5998–6011.  
Wang H Y, Gai X P, Zhai L M, *et al.* Effect of biochar on soil nitrogen cycling: A review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(19): 5998–6011.
- [15] Hao M M, Hu H Y, Liu Z, *et al.* Shifts in microbial community and carbon sequestration in farmland soil under long-term conservation tillage and straw returning[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 43–54.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.  
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007.
- [17] 王义祥, 黄毅斌, 叶菁, 等. 水保措施对油桃园土壤有机碳库及其组分的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(4): 803–809.  
Wang Y X, Huang Y B, Ye J, *et al.* Effects of different soil conservation measures on soil organic carbon pools in nectarine orchard[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4): 803–809.
- [18] Carrier M, Hardie A G, Uras Ü, *et al.* Production of char from vacuum pyrolysis of South-African sugar cane bagasse and its characterization as activated carbon and biochar[J]. *Journal of Analytical & Applied Pyrolysis*, 2012, 96(3): 24–32.
- [19] 郑慧芬, 吴红, 翁伯琦, 等. 施用生物炭提高酸性红壤茶园土壤的微生物特征及酶活性[J]. *中国土壤与肥料*, 2019, (2): 68–74.  
Zheng H F, Wu H, Weng B Q, *et al.* Improved soil microbial characteristics and enzyme activities with wheat straw biochar addition to an acid tea plantation in red soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2019, (2): 68–74.
- [20] Dai Z M, Zhang X J, Tang C, *et al.* Potential role of biochars in decreasing soil acidification – A critical review[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 581–582: 601–611.
- [21] Shi R Y, Ni N, Nkoh J N, *et al.* Beneficial dual role of biochars in inhibiting soil acidification resulting from nitrification[J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 43–51.
- [22] Silveira M L A. Dissolved organic carbon and bioavailability of N and P as indicators of soil quality[J]. *Scientia Agricola*, 2005, 62(5): 502–508.
- [23] Qu X L, Fu H Y, Mao J D, *et al.* Chemical and structural properties of dissolved black carbon released from biochars[J]. *Carbon*, 2016, 96: 759–767.
- [24] De Wit H A, Groseth T, Mulder J. Predicting aluminum and soil organic matter solubility using the mechanistic equilibrium model WHAM[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2001, 65(4): 1089–1100.
- [25] 刘杰云, 邱虎森, 汤宏, 等. 生物质炭对双季水稻土微生物量碳、氮及可溶性有机碳氮的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(8): 3799–3807.  
Liu J Y, Qiu H S, Tang H, *et al.* Effects of biochar amendment on soil microbial biomass carbon, nitrogen and dissolved organic carbon, nitrogen in paddy soils[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(8): 3799–3807.
- [26] Demisie W, Zhang W. Effect of biochar application on microbial biomass and enzymatic activities in degraded red soil[J]. *African Journal of Agricultural Research*, 2015, 10(8): 755–766.
- [27] Warnock D D, Lehmann J, Kuypers T W, *et al.* Mycorrhizal responses to biochar in soil—concepts and mechanisms[J]. *Plant and Soil*, 2007, 300(1/2): 9–20.
- [28] Muhammad N, Dai Z M, Xiao K C, *et al.* Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties[J]. *Geoderma*, 2014, 226/227: 270–278.
- [29] 周凤, 耿增超, 许晨阳, 等. 生物炭用量对矮土微生物量及碳源代谢活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(8): 1277–1289.  
Zhou F, Geng Z C, Xu C Y, *et al.* Effect of biochar addition on soil microbial biomass and metabolic activities of carbon sources in Lou soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(8): 1277–1289.
- [30] 王海斌, 陈晓婷, 丁力, 等. 土壤酸度对茶树根际土壤微生物群落多样性影响[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(3): 448–454.  
Wang H B, Chen X T, Ding L, *et al.* Effect of soil acidity on microbial diversity in rhizospheric soils of tea plants[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39(3): 448–454.
- [31] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, *et al.* Biochar effects on soil biota: A review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812–1836.
- [32] Sait M, Davis K E R, Janssen P H. Effect of pH on isolation and distribution of members of subdivision I of the phylum Acidobacteria occurring in soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 1852–1857.
- [33] Griffiths R I, Thomson B C, James P, *et al.* The bacterial biogeography of British soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13: 1642–1654.
- [34] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, *et al.* The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40: 2407–2415.
- [35] You J, Das A, Dolan E M, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal[J]. *Water Research*, 2009, 43:

- 1801–1809.
- [36] Chen L J, Jiang Y J, Liang C, *et al.* Competitive interaction with keystone taxa induced negative priming under biochar amendments [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 77.
- [37] 杨尚东, 郭霜, 任奎喻, 等. 甘蔗宿根矮化病感病与非感病株根际土壤生物学性状及细菌群落结构特征[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(6): 910–916.
- Yang S D, Guo S, Ren K Y, *et al.* Soil biological properties and bacterial community structures in rhizosphere soil of canes infected and non-infected by ratoon stunting disease[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(6): 910–916.
- [38] 赵晓楠, 李玉红, 芦阿虔, 等. 有机肥不同施肥量对茶园土壤微生物区系的影响[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(24): 311–314.
- Zhao X N, Li Y H, Lu A Q, *et al.* Impacts of different amounts of organic fertilizer on soil microbial flora of tea plantation[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(24): 311–314.
- [39] 刘雯雯. 喀斯特植被恢复不同阶段土壤微生物组成及氮磷土壤酶对生境响应[D]. 贵州: 贵州大学硕士学位论文, 2019.
- Liu W W. Soil microbial composition and response of nitrogen and phosphorus soil enzymes to habitat in different stages of karst vegetation restoration[D]. Guizhou: MS Thesis of Guizhou University, 2019.