

竹炭基有机肥对茶园土壤酶活性及微生物群落的影响

季鑫¹, 金爱武^{1,2*}, 朱强根²

(1. 浙江农林大学省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300; 2. 丽水学院生态学院, 浙江 丽水 323000)

摘要:本研究设置了有机肥(施用量 7.5 t/hm²)和4种竹炭添加量CK(0 t/hm²)、T₁(1.35 t/hm²)、T₂(1.8 t/hm²)和T₃(2.25 t/hm²)4种处理,探究不同比例竹炭与有机肥配施对茶园土壤酶活性及其微生物群落结构的影响。结果表明:施用竹炭降低了土壤酸性磷酸酶活性,提高了蔗糖酶活性,对土壤中脲酶无显著影响。添加竹炭处理使土壤中放线菌生物量显著增加,增加幅度 39.47%~57.02%,同时总 PLFA 量、细菌、真菌数量均有所增加,其中真菌 PLFA 增幅最高,达 107.82%;但对真菌/细菌(F/B)比值和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌(G⁺/G⁻)影响不显著。与CK相比,T₁、T₂和T₃处理改变了土壤酶活性,同时可以刺激土壤微生物的活动和生长。

关键词:竹炭基有机肥;茶园;土壤微生物;土壤酶

中图分类号:S154

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)02-0064-05

Effects of Bamboo Charcoal Organic Fertilizer on Soil Enzyme Activity and Microbial Community in Tea Garden

Ji Xin¹, Jin Aiwu^{1,2*}, Zhu Qianggen²

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300; 2. College of Ecology, Lishui University, Lishui 323000, China)

Abstract: In this study, organic fertilizer (7.5 t/ha) and four bamboo charcoal supplemental levels CK (0 t/ha), T₁ (1.35 t/ha), T₂ (1.8 t/ha) and T₃ (2.25 t/ha) were set up to investigate the effects of different proportions of bamboo charcoal and organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial community structure in tea garden. The results showed that the application of bamboo charcoal decreased soil acid phosphatase activity and increased soil sucrase activity, but had no significant effect on soil urease. Adding bamboo charcoal treatment significantly increased the biomass of actinomycetes in soil, with an increase range of 39.47%–57.02%. At the same time, the amount of total PLFA, bacteria and fungi increased, among which the increase of fungal PLFA was the highest, up to 107.82%. But for ratio of fungi/bacteria and Gram-positive bacteria/Gram-negative bacteria were not significant. In general, compared with CK, T₁, T₂ and T₃ treatments changed soil enzyme activity and stimulated the activity and growth of soil microorganisms.

Key words: Bamboo charcoal based organic fertilizer; Tea garden; Soil microorganism; Soil enzyme

茶(*Camellia sinensis*)广泛种植在我国的热带和亚热带地区,是一种受欢迎的经济作物。茶树是多年生植物,在现代农业中,为了获得较高收益,农户每年会向茶园施用大量化肥^[1]。但在长

期连续采集、单一栽培的茶园中过量施用化肥会导致土壤酸化和肥力下降^[2]。土壤酸化会使土壤中有益微生物的数量减少,活性降低^[3],影响土壤有机质的分解及茶树的根系发育和养分吸收,进而影响茶叶的生长和品质。不合理的施肥还会导致土壤质量退化和环境污染。目前茶园土壤酸化严重,有关研究显示,超过40%的茶园土壤pH值约为4.0,比茶园附近的森林土壤pH值低15%^[4-5]。因此,采取有效措施来缓解茶园土壤酸化进程,改良酸化土壤,恢复土壤肥力,可持续地发展茶叶种植对茶叶产业至关重要。

收稿日期:2019-11-13

基金项目:浙江省农林渔业经营与管理建设专项(浙财农[2017]91号);丽水市科技局重点研发项目(2019ZDYF16)

作者简介:季鑫(1994-),男,在读硕士,研究方向为竹林培育与利用。

通讯作者:金爱武,男,博士,研究员,E-mail: kinaw@zafu.edu.cn

生物质炭是目前的研究热点之一,已广泛应用于土壤改良之中。Zhang等^[6]研究表明,生物炭和化肥的联合应用改变了红壤细菌群落结构,促进了土壤养分循环,改善了不良营养环境。侯建伟等^[7]研究发现,生物炭对酸性黄壤的养分含量和酶活性均具有明显影响。Qin等^[8]研究发现,生物炭的施用增加了土壤真菌丰度,改变了真菌群落结构,生物炭对土壤真菌群落的改变可能是土壤理化性质的变化而间接引起的。竹炭作为生物质炭的一种,具有细密多孔、表面积大、吸附力强等特点^[9]。竹子生长迅速,价格低廉,浙江省存有大量竹类废弃物,是制取生物炭的理想材料。目前各项土壤改良试验中生物质炭施用量较大,成本过高,不利于在实际生产中大面积推广;与此同时,由于环境的差异,各项研究结果所得出的结论并非一致。本研究探究了较低竹炭施用量对茶园土壤的影响,通过田间试验和实地调查,对土壤微生物和酶活性指标进行测定和比较,以期能为竹炭基有机肥推广提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况

试验茶园位于浙江省遂昌县大拓镇,遂昌县境气候属中亚热带季风类型,全年平均气温16.8℃,年降水量1510mm,降水日数172d,无霜期251d。试验地的茶树品种为‘龙井43’,茶园土壤有机质含量41.33g/kg,碱解氮235.58mg/kg,有效磷5.24mg/kg,速效钾42.0mg/kg,pH4.2。

1.2 试验设计与采样

试验采用完全随机设计,施肥量参考当地平均施用量,为7.5t/hm²,共设4种不同的施肥处理:7.5t/hm²商品有机肥(CK)、7.5t/hm²商品有机肥+1.35t/hm²竹炭粉(T₁)、7.5t/hm²商品有机肥+1.8t/hm²竹炭粉(T₂)、7.5t/hm²商品有机肥+2.25t/hm²竹炭粉(T₃),即T₁、T₂和T₃中的竹炭添加量分别为有机肥施用量的18%、24%和30%,每个处理重复4次。商品有机肥购于遂昌绿金有机肥有限公司

(N+P₂O₅+K₂O≥5.0%,有机质≥45%)。竹炭粉为过0.149mm筛的普通商品农用竹炭粉。试验开始前,各地块均施用0.6t/hm²复合肥+0.6t/hm²尿素做基肥,试验期间不追肥,各处理的管理措施相同,定期除草浇水,最大程度保持其他条件一致。于2018年7月采集土壤样品。每个区域采用多点取样,用土钻取0~20cm土壤,除去石块根系后用自封袋带回实验室。各个区域样品均取50g鲜土于-80℃冰箱保存,用于土壤微生物群落结构检测,其余土壤风干后过2mm筛,用于土壤酶活性检测。

1.3 测定项目及方法

土壤过氧化氢酶采用紫外分光光度法^[10];土壤酸性磷酸酶采用对硝基苯磷酸二钠(pNPP)法^[11-12];脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法^[13];蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法^[13]。土壤PLFA的测定参照参考文献[14-15]进行,基于C19:0为内标计算每种PLFA的浓度,并且将单个脂肪酸的含量表示为nmol/g。以脂肪酸12:0,14:0,15:0,16:0,17:0,18:0表征一般细菌^[16];以i15:0,a15:0,i17:0,a17:0表征革兰氏阳性菌^[17];以16:1ω7,cy17:0,cy19:0表征革兰氏阴性菌^[17];以10Me16:0,10Me17:0,10Me18:0表征放线菌^[18];以18:1ω9c,18:1ω9t,18:2ω6,18:3ω6,18:3ω3表征真菌^[19];以16:1ω5c表征丛枝菌根真菌^[19]。

1.4 数据处理

数据分析柱状图在Origin 2018中完成,并对不同处理采用SPSS 19.0进行单因素方差分析,处理间差异显著时进行LSD法多重比较。为了进一步探讨不同处理对微生物群落的影响,采用Canoco 5.0软件进行主成分分析(PCA)。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理对土壤酶活性的影响

土壤酶可用于表征土壤肥力质量,一般认为,土壤中磷酸酶、脲酶和蔗糖酶活性分别与土壤中P、N和C元素的转化与循环有关。由表1可知,

表1 不同施肥处理对土壤酶活性的影响

| 处理 | 酸性磷酸酶[μg/(g·h)] | 脲酶[mg/(g·24h)] | 蔗糖酶[mg/(g·24h)] | 过氧化氢酶[mg/(g·20min)] |
|----------------|-----------------|----------------|-----------------|---------------------|
| CK | 366.14±51.20a | 1.50±0.16a | 9.35±1.23b | 0.75±0.26ab |
| T ₁ | 305.06±41.85b | 1.32±0.26a | 13.59±4.44a | 0.51±0.21b |
| T ₂ | 302.70±29.82b | 1.51±0.17a | 12.83±3.80a | 0.74±0.36ab |
| T ₃ | 259.56±27.98b | 1.70±0.49a | 12.30±3.41a | 1.00±0.17a |

注:同列小写字母不同表示差异显著(P<0.05),下同

土壤酶活性对添加竹炭处理(T_1 、 T_2 和 T_3)的响应不同:显著提高了土壤蔗糖酶活性,各处理中蔗糖酶活性提高了2.95~4.24个单位,增幅 $T_1>T_2>T_3$;降低了土壤酸性磷酸酶活性,其中 T_3 下降最多;对土壤中过氧化氢酶产生了一定影响;施用竹炭没有显著影响土壤中脲酶的活性。

2.2 不同施肥处理对土壤微生物的影响

对土壤样品 PLFA 进行提取,测定 C10~C24 的 PLFA,结果表明,不同处理间土壤 PLFA 存在较大差异。CK、 T_1 、 T_2 和 T_3 检测出的 PLFA 种类分别为 69 种、84 种、87 种和 84 种。其中,19:3 ω 6c 仅存在于 CK 中; a17:1 ω 7c、14:1 ω 5c、16:1 ω 6c 仅存在于 T_1 中; 16:4 ω 3c 仅存在于 T_2 中; 14:1 ω 9c、17:1 ω 3c、10Me19:1 ω 7c 为 T_3 特有的 PLFA。对各处理中土壤 PLFA 总量进行分析,如图 1 所示,与 CK 相比, T_1 、 T_2 和 T_3 中的 PLFA 总量均有所增加,增幅 $T_2>T_1>T_3$,其中 T_2 增幅最大, T_2 比 CK 的土壤 PLFA 总量增加 62.41%,为 48.80 nmol/g,这说明添加竹炭处理增加了土壤微生物总生物量。

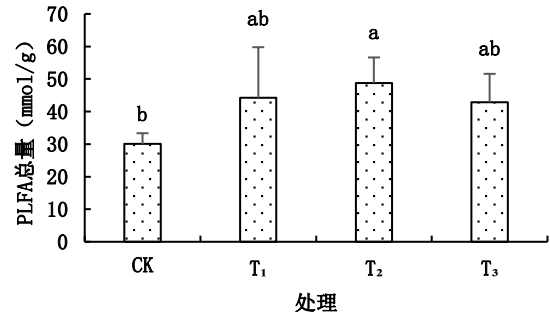


图1 不同处理下土壤的 PLFA 总量

由表 2 可知,添加竹炭处理增加了土壤中各类群的 PLFA 含量,其中 T_2 增幅最大,这表明添加竹炭处理增加了土壤中所有微生物类群,包括细菌(一般细菌、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌)、真菌和放线菌,其变化趋势与土壤总 PLFA 含量变化大致相同。与 CK 相比, T_2 处理中细菌、真菌、放线菌、 G^+ 和 G^- 的 PLFA 增幅分别为 79.01%、107.82%、57.02%、100% 和 81.25%。添加竹炭处理对土壤中放线菌 PLFA 含量影响显著,各处理均达到显著水平, T_1 、 T_2 和 T_3 分别增加了 0.93、1.30、0.90 nmol/g。

表2 不同处理各微生物类群 PLFA 含量

| 处理 | 细菌 | 真菌 | 放线菌 | G^+ | G^- |
|-------|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| CK | 14.39±0.70b | 2.43±0.82b | 2.28±0.15b | 3.81±1.18b | 3.20±0.49b |
| T_1 | 22.16±8.55ab | 4.07±1.91ab | 3.21±0.51a | 6.65±3.50ab | 5.03±1.91ab |
| T_2 | 25.76±3.71a | 5.05±1.49a | 3.58±0.49a | 7.62±0.92a | 5.80±0.82a |
| T_3 | 22.17±4.69ab | 4.20±1.45ab | 3.18±0.49a | 7.00±1.15a | 4.70±0.85ab |

由图 2 可知, T_1 、 T_2 和 T_3 处理使土壤微生物真菌细菌(F/B)值上升,增幅为 7.20%~15.27% ($T_2>T_3>T_1$);革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌(G^+/G^-)值也有所升高,增幅 $T_3>T_2>T_1$,与 CK 相比, T_3 处理中

G^+/G^- 的值增加了 19.53%。但处理间未达到显著水平,说明不同处理对土壤微生物群落结构改变较小,各类群土壤微生物同时增加,增幅大致相似。

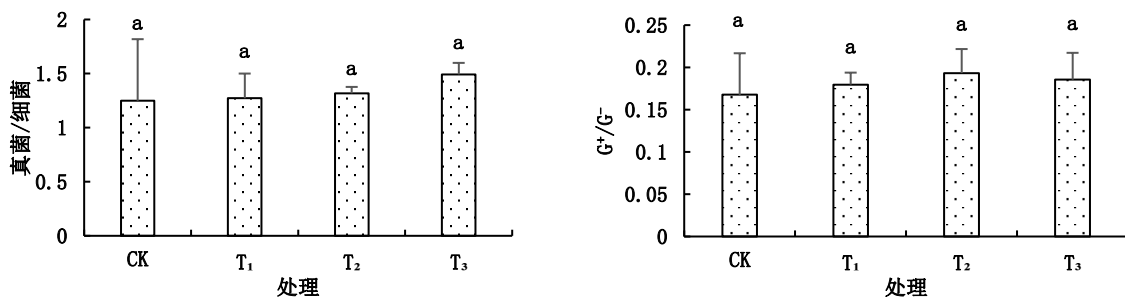


图2 不同施肥处理对土壤微生物真菌/细菌和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的影响

选取土壤中 20 种微生物 PLFA 进行方差分析,如图 3 所示,与 CK 相比, T_1 、 T_2 和 T_3 处理中的放线菌 10Me16:0 与 10Me 17:0 的 PLFA 含量显著升高($P<0.05$),增幅分别为 55.00%、68.21% 和 49.33%; 40.21%、55.65% 和 51.56%。同时,与 CK 相比,各处理中表征一般细菌的 PLFA 15:0 和 18:0;

革兰氏阳性菌 a17:0;真菌 18:2 ω 6c、18:1 ω 9c 的含量变化幅度较大,丛枝菌根真菌 PLFA 16:1 ω 5c 变化不显著。在各处理中,含量最高的两种 PLFA 为 16:0(一般细菌)和 18:1 ω 9c(真菌),其分别在 CK、 T_1 、 T_2 和 T_3 中占据 34.09%、35.10%、35.08% 和 35.48%。

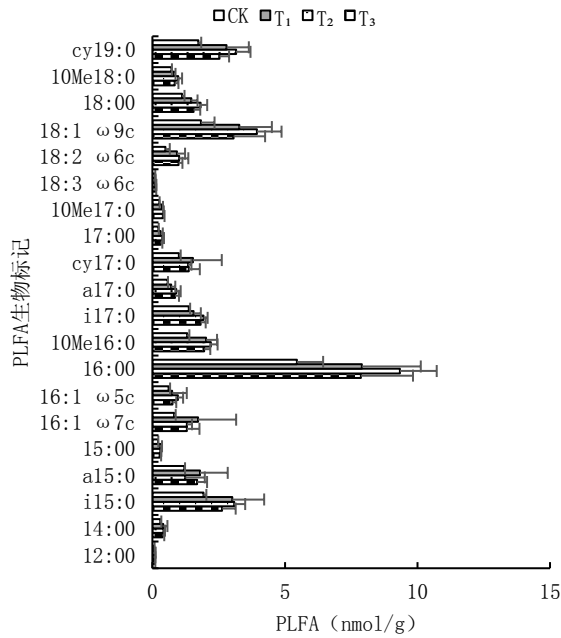


图3 不同施肥处理下土壤PLFA组成和含量的变化

2.3 土壤微生物群落结构的主成分分析

为进一步比较不同处理之间土壤微生物群落结构的差异,选取20种土壤微生物PLFA进行主成分分析,如图4所示。结果表明:第一主成分轴

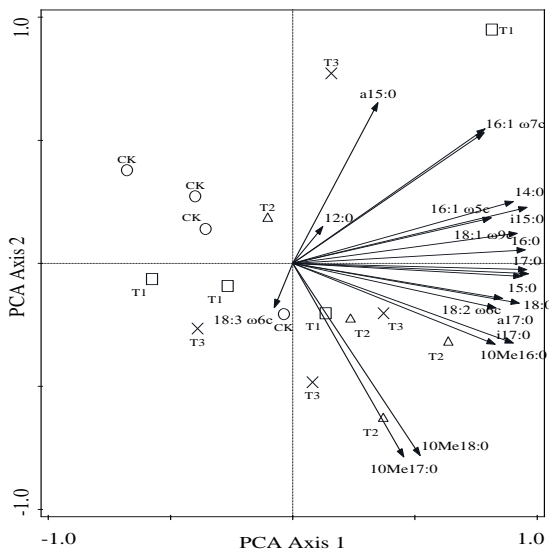


图4 土壤微生物群落结构的主成分分析

(PCA Axis 1)能解释变异量的62.6%,第二主成分轴(PCA Axis 2)能解释变异量的13.8%。在第一主成分轴得分较高的主要有cy19:0(革兰氏阴性菌)、17:0(细菌)和16:0(细菌);第二主成分轴起作用的主要为放线菌PLFA中的10Me17:0和10Me18:0。由图4可知,不同处理使土壤微生物群落在排序空间中处于不同位置:CK处理位于PCA1轴的负端,各重复之间距离较近,添加竹炭处理(T₁、T₂和T₃)大多与CK距离较远,基本能与

CK区隔开,这说明与CK相比,添加竹炭处理使土壤微生物群落结构发生了改变。

3 讨论

土壤微生物是土壤生物群落中的最大组成部分,其在土壤有机质分解、养分循环^[20]、土壤结构的形成和稳定性^[21]等方面发挥重要作用,土壤微生物群落多样性是土壤健康和动态的敏感指标^[22-23]。本研究表明,施用竹炭可以增加土壤中PLFA的含量,提高微生物的丰度,其结果与前人研究一致^[24]。这可能与竹炭吸附的养分和较高的pH有关^[25];竹炭的多孔隙结构可以为微生物提供生存空间,从而促进了微生物的生长。与CK相比,T₁、T₂和T₃中土壤放线菌PLFA中10Me16:0与10Me17:0含量升高显著,一般认为,放线菌可以分解顽固化合物,添加生物炭可以增加放线菌的丰度^[26],这在本次研究中得以证实。

土壤酶来源于土壤微生物、植物及土壤动物,因其与土壤养分矿化与循环密切相关,故土壤酶活性可以用来评估土壤质量水平^[27]。本次研究中,竹炭施用降低了土壤酸性磷酸酶的活性,提高了土壤蔗糖酶的活性,这与郑慧芬等^[3]和Zhou等^[28]的研究结果相似。土壤磷酸酶可以水解有机磷的化合物,并将它们转化为不同形式的无机磷,使其被植物吸收。土壤酸性磷酸酶主要来源于植物根系,本次研究中酸性磷酸酶活性下降可能是由于施用竹炭改变了土壤中速效磷含量,进而改变了磷酸酶活性,其结论有待进一步验证。

目前,在许多土壤改良研究中生物炭多为单独施用,不与其他肥料配施^[29],有研究指出,生物炭与营养丰富的有机基质之间存在协同作用^[24,30],生物炭可作为有机缓释肥料的基质^[31]。在之前的研究中,生物炭添加量处于10~50 t/hm²之间,现今生物炭价格高昂,投入与实际效益难以平衡,实际生产中农户难以承受如此高的成本。本次研究表明,较低施用量的竹炭与有机肥配施即可在一定程度上改变茶园土壤微生物群落结构,这将对茶树生长产生积极作用。

添加竹炭处理为微生物创造了良好的环境,提高了土壤中微生物的丰度,刺激了微生物的活动和生长,有利于促进土壤有机质的分解从而提高土壤肥力,其对土壤生态环境有积极意义。

参考文献:

[1] Ji L, Wu Z, You Z, et al. Effects of organic substitution for syn-

- thetic N fertilizer on soil bacterial diversity and community composition: A 10-year field trial in a tea plantation[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 268: 124–132.
- [2] Jiang Y, Arafat Y, Letuma P, et al. Restoration of Long-Term Monoculture Degraded Tea Orchard by Green and Goat Manures Applications System[J]. *Sustainability*, 2019, 11(4): 1011.
- [3] 郑慧芬, 吴红慧, 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.
- [4] 韩文炎, 阮建云, 林智, 等. 茶园土壤主要营养障碍因子及系列茶树专用肥的研制[J]. *茶叶科学*, 2002(1): 70–74, 65.
- [5] Yan P, Shen C, Fan L, et al. Tea planting affects soil acidification and nitrogen and phosphorus distribution in soil[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 254: 20–25.
- [6] Zhang M, Muhammad R, Zhang L, et al. Investigating the effect of biochar and fertilizer on the composition and function of bacteria in red soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 139: 107–116.
- [7] 侯建伟, 邢存芳, 邓晓梅, 等. 不同秸秆生物炭对黄壤理化性质及综合肥力的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2019, 47(11): 1–10.
- [8] Yao Q, Liu J, Yu Z, et al. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 56–67.
- [9] 杨丽, 刘洪波, 张东升, 等. 竹炭微观结构的电子显微学研究[J]. *电子显微学报*, 2011, 30(2): 137–142.
- [10] 杨兰芳, 曾巧, 李海波, 等. 紫外分光光度法测定土壤过氧化氢酶活性[J]. *土壤通报*, 2011, 42(1): 207–210.
- [11] 李莹飞, 耿玉清, 周红娟, 等. 基于不同方法测定土壤酸性磷酸酶活性的比较[J]. *中国生态农业学报*, 2016, 24(1): 98–104.
- [12] Dick R P. *Methods of soil enzymology*[M]. Madison: Soil Science Society of America, 2011: 163–168.
- [13] 关松荫. *土壤酶及其研究法*[M]. 北京: 农业出版社, 1983: 274–276, 294–297.
- [14] 张四海, 王意焜, 朱强根, 等. 根结线虫病土引入秸秆碳源对土壤微生物群落结构的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(4): 923–929.
- [15] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns[J]. *Microbial Ecology*, 1998, 35: 265–278.
- [16] Johansen A, Olsson S. Using phospholipid fatty acid technique to study short-term effects of the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* DR54 on the microbial microbiota in barley rhizosphere[J]. *Microb Ecol*, 2005, 49(2): 272–281.
- [17] L Z. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111–129.
- [18] Linda T A, Van D E A L, Kurt S, et al. Simulated Nitrogen Depletion Causes a Decline of Intraand Extraradical Abundance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Changes in Microbial Community Structure in Northern Hardwood Forests[J]. *Ecosystems*, 2010, 13(5): 683–695.
- [19] A O P. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 29(4): 303–310.
- [20] Wang S, Li T, Zheng Z, et al. Soil aggregate-associated bacterial metabolic activity and community structure in different aged tea plantations[J]. *Science Total Environment*, 2019, 654: 1023–1032.
- [21] Sun L, Xun W, Huang T, et al. Alteration of the soil bacterial community during parent material maturation driven by different fertilization treatments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96: 207–215.
- [22] Wang C, Wang G, Wang Y, et al. Fire Alters Vegetation and Soil Microbial Community in Alpine Meadow[J]. *Land Degradation & Development*, 2016, 27(5): 1379–1390.
- [23] 张亚玉, 孙海, 宋晓霞, 等. 农田栽参根区土壤微生物结构特征的研究[J]. *吉林农业科学*, 2010, 35(6): 32–36.
- [24] Kolton M, Graber E R, Tsehansky L, et al. Biochar-stimulated plant performance is strongly linked to microbial diversity and metabolic potential in the rhizosphere[J]. *New Phytology*, 2017, 213(3): 1393–1404.
- [25] Ali N, Khan S, Li Y, et al. Influence of biochars on the accessibility of organochlorine pesticides and microbial community in contaminated soils[J]. *Science Total Environment*, 2019, 647: 551–560.
- [26] Gomez J D, Deneff K, Stewart C E, et al. Biochar addition rate influences soil microbial abundance and activity in temperate soils[J]. *European Journal of Soil Science*, 2014, 65(1): 28–39.
- [27] 韩忠明, 杨颂, 韩梅, 等. 不同菌剂对人参连作土壤酶活性的影响[J]. *东北农业科学*, 2016, 41(1): 50–53.
- [28] Zhou Z, Yan T, Zhu Q, et al. Bacterial community structure shifts induced by biochar amendment to karst calcareous soil in southwestern areas of China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 19(1): 356–365.
- [29] Schmidt H-P, Pandit B H, Cornelissen G, et al. Biochar-Based Fertilization with Liquid Nutrient Enrichment: 21 Field Trials Covering 13 Crop Species in Nepal[J]. *Land Degradation & Development*, 2017, 28(8): 2324–2342.
- [30] Ghosh S, Ow L F, Wilson B. Influence of biochar and compost on soil properties and tree growth in a tropical urban environment[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2014, 12(4): 1303–1310.
- [31] Joseph S, Graber E R, Chia C, et al. Shifting paradigms: development of high-efficiency biochar fertilizers based on nanostructures and soluble components[J]. *Carbon Management*, 2013, 4(3): 323–343.

(责任编辑:王丝语)