

不同秸秆生物炭对贵州黄壤细菌群落的影响

侯建伟, 邢存芳, 卢志宏, 陈芬, 余高

(铜仁学院乌江学院, 贵州铜仁 554300)

摘要:【目的】表征不同生物炭处理的黄壤细菌群落结构特征和组成差异, 探讨引起黄壤细菌群落变化的主控环境因子, 为土壤改良和秸秆资源的合理利用提供理论参考。【方法】以玉米、水稻和油菜秸秆 500℃ 炭化得到的生物炭为添加材料, 以贵州省地带性黄壤为供试土壤, 通过室内培育试验, 采用高通量测序 (Illumina HiSeq) 技术, 研究不同生物炭处理的黄壤细菌的菌群变化, 并对细菌群落结构与环境因子进行相关性分析和因子分析。试验共设 4 个处理: 对照 (CK)、添加玉米秸秆生物炭 (BC1)、水稻秸秆生物炭 (BC2) 和油菜秸秆生物炭 (BC3)。【结果】细菌 16S rRNA 基因拷贝数与土壤全氮、pH 和全碳呈极显著或显著正相关关系 (r 分别为 0.78**、0.62* 和 0.66*)。施用生物炭增加了细菌门和纲水平上的优势菌群的丰富度和多样性, 且与 pH 和 C/N 具有较强的正相关性。Actinobacteria (放线菌门)、Cyanobacteria (蓝藻菌门) 和 Chloroflexi (绿弯菌门) 为黄壤的 3 大优势菌门, 占有菌门的 68.5%。因子分析显示, 土壤全氮、C/N、pH、有效磷和阳离子交换量 (CEC) 总共解释了 80.8% 的群落变化, 成为黄壤细菌群落结构变化的主控环境因子, 贡献率依次为: 土壤 C/N > pH > 有效磷 > 全氮 > CEC。【结论】生物炭改变了细菌的群落构成和化学性质, 土壤全氮、C/N、pH、有效磷和 CEC 对细菌群落结构变化贡献较大, 其中全氮和 pH 是提高土壤细菌群落多样性和丰富度的主控环境因子。

关键词: 生物炭; 黄壤; 高通量测序; 细菌群落; 土壤化学性质

Effects of the Different Crop Straw Biochars on Soil Bacterial Community of Yellow Soil in Guizhou

HOU JianWei, XING CunFang, LU ZhiHong, CHEN Fen, YU Gao

(Wujiang College, Tongren University, Tongren 554300, Guizhou)

Abstract: 【Objective】The objective of the experiment was to determine the effects of different straw biochars on bacterial community structures and composition in yellow soil, and to find main environmental factors as the changes in order to provide information for soil amelioration and proper management of straw residue. 【Method】Through a laboratory incubation experiment and used a zonal yellow soil of Guizhou province, the influences of corn, rice and rape straw biochar that were pyrolyzed at 500℃ on bacterial communities were investigated by a high-throughput sequencing (Illumina HiSeq). Correlation and factor analysis of the bacterial community structure with environmental factors were followed. The experiment consisted of four treatments: control soil (CK), soil amended with 500℃ corn (BC1), rice (BC2) and rape (BC3) straw biochar. 【Result】The results showed that the gene copy numbers of bacterial 16S rRNA were closely related with soil total nitrogen (TN), pH and total carbon (TC) ($r=0.78^{**}$, 0.62^{*} and 0.66^{*} , respectively). Biochar addition to soil increased the richness and diversity of dominant bacteria at phylum and class level, which were a strong positive with pH and C/N. The analysis of bacterial community at phylum level showed that Actinobacteria, Cyanobacteria and Chloroflexi were dominant bacteria, occupying 68.5% of all phyla. Factor analysis showed that soil total nitrogen (TN), C/N ratio, pH, available phosphorus (AP) and cation exchange capacity (CEC) were main environmental factors on the soil bacterial community structure, total explaining 80.8% of the community changes. The order of contribution rate was soil C/N > pH >

收稿日期: 2018-03-19; 接受日期: 2018-09-11

基金项目: 铜仁市科学技术局科技计划面上项目 (2017TRS19949)、铜仁学院博士科研启动基金项目 (trxyDH1702)

联系方式: 侯建伟, E-mail: hjw19860627@126.com. 通信作者邢存芳, E-mail: 294911662@qq.com

AP>TN>CEC. 【Conclusion】 This study provided clear evidence that community composition and chemical properties of bacterial were changed due to biochar addition to yellow soil. And soil TN, C/N, pH, AP and CEC had a greater contribution than environmental factors on the change of the bacterial community structure, in addition, TN and pH were more efficient on improving soil richness and diversity of bacterial community.

Key words: biochar; Yellow soil; high-throughput sequencing; bacterial community; soil physiochemical characteristics

0 引言

【研究意义】土壤酸化是土壤退化的一个重要方面,土壤酸化会造成土壤质量和肥力的下降,营养元素的流失,从而对生长的作物产生严重危害^[1]。黄壤是贵州省面积最大的地带性土壤,面积共 738.43 万 hm^2 ,分别占贵州省土壤面积和全国黄壤面积的 46.4% 和 25.3%。pH 小于 5.5 的强酸性黄壤面积占贵州省黄壤总面积的 41.2%^[2]。生物炭改变土壤理化性质的同时,也对土壤微生物群落结构产生影响,土壤微生物能够促进土壤有机质的分解以及土壤养分的转化,对维持土壤质量和土壤的健康有十分重要的作用^[3]。其中,细菌在微生物数量中占有绝对优势,可决定土壤微生物总量的分布和有机物的分解与转化^[4]。开展不同秸秆生物炭对酸性黄壤细菌群落影响的研究,分析细菌群落结构特征、组成以及引起细菌群落变化的主控环境因子,有利于进一步认识黄壤细菌群落的结构变化。【前人研究进展】秸秆生物炭不仅是富含碳的有机物质,还包括氮、氧、硫等多种养分元素和无机碳酸盐成分,其输入可以增加黄壤有机碳含量水平,提供微生物可利用组分^[5]。同时,秸秆生物炭具有一定的离子交换能力和吸附特性,其对营养元素(如 NO_3^- -N, NH_4^+ -N, PO_4^{3-})的吸附和截留,可以降低肥料养分的流失,提高养分利用率^[6]。此外,生物炭还可以通过改变土壤 pH、CEC 等环境的改变,间接地改变微生物群落多样性及氮素转化过程^[7]。周桂玉等^[8]研究发现,添加玉米秸秆生物炭可以提高草甸黑土有机碳和有效养分含量;但张晗芝等^[9]则报道,秸秆生物炭的添加对砂浆水稻土有效磷和 pH 没有显著影响。生物炭类型和炭化温度可决定生物炭的组分及特性^[10],随着裂解温度的升高,C、N 元素富集,表面吸附特性及孔度也发生变化^[10],都会影响其对土壤养分状况的改变程度。微生物在土壤生态系统的物质循环和能量流动过程中扮演着重要的角色,它可以直接或间接参与生物炭在土壤中的降解、迁移和转化过程^[11]。生物炭作为一种性质独特的物质,其孔隙结构及对水肥的吸附作用可直接为土壤微生物提供良好的栖息环境

和生长所需养分^[12]。KOLB 等^[13]指出,秸秆炭较木质炭可能含有更为丰富的微生物可利用组分以及适宜的栖息环境,更能提高微生物数量和生物量水平。不同来源的生物炭因结构特性及组分差异,往往会被不同的微生物群体所利用^[14],其引起的微生物群落结构变化也会有差异。生物炭对土壤微生物活性和群落结构组成的改变往往与试验条件、生物炭自身性质、土壤质地及肥力水平等密切相关^[13]。【本研究切入点】黄壤是贵州省喀斯特地区主要的农业土壤类型,具有质地黏重,比水容量小,养分含量低和酸性强等特点,已限制了农业的可持续发展^[15]。基于《贵州统计年鉴》(2004—2013 年)全省以水稻、玉米和油菜秸秆产量最大,分别为 300×10^4 — 480×10^4 t、 260×10^4 — 382.2×10^4 t 和 200×10^4 — 260×10^4 t^[16]。近年来,秸秆废弃物转化生物炭还田改良酸性土壤,并从生物分类学的角度准确描绘数量庞大的微生物群体,一直以来都是备受关注的焦点问题^[17]。但是不同秸秆生物炭对酸性黄壤细菌群落结构特征和组成的影响并未见广泛报道;不同秸秆生物炭引起细菌群落变化的主控环境因子还不十分清楚。【拟解决的关键问题】本研究以玉米、水稻和油菜秸秆 500℃炭化得到的 3 种生物炭为添加材料,以贵州省地带性黄壤为改良对象,通过室内培育试验,研究不同秸秆生物炭对黄壤细菌群落结构特征和组成的影响,分析土壤菌群与环境因子的相关关系和主控环境因子,以期为黄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 供试材料

生物炭:玉米秸秆生物炭、水稻秸秆生物炭和油菜秸秆生物炭,由辽宁金和福有限公司生产(炭化温度 500℃,炭化时间 6 h)。

土壤:取自铜仁学院试验田耕层土壤(0—20 cm 土层)。土样在实验室自然风干并过 2 mm 的土壤筛。供试土壤和生物炭的理化性质见表 1。

1.2 试验设计与样品采集

试验于 2017 年 5—12 月室内进行。称取 4 kg 风

表 1 供试土壤和生物炭的理化性质

Table 1 The physical and chemical properties of the experimental soil and biochar

变量 Variables	生物炭种类 Biochar categories			土壤 Soil
	玉米秸秆生物炭 Corn straw biochar	水稻秸秆生物炭 Rice straw biochar	油菜秸秆生物炭 Rape straw biochar	
pH	8.23	9.59	9.55	4.60
比表面积 Surface area (m ² ·g ⁻¹)	160.2	35.8	0.88	/
总孔容积 Total pore volume (mL·g ⁻¹)	0.331	0.068	1.69	/
平均孔径 Pore diameter (nm)	2.42	30.1	5.85	/
全碳 Total C (g·kg ⁻¹)	534.5	248.6	521.7	5.82
全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	10.51	8.92	8.53	0.65
有效磷 Available P (g·kg ⁻¹)	3.99	4.34	3.75	0.001
有效钾 Available K (g·kg ⁻¹)	15.34	16.07	14.32	0.09

生物炭 pH: 水 : 炭=10 : 1; 土壤 pH: 水 : 土=5 : 1

The pH value of biochar was determined under the condition of water and carbon ratio of 10:1; pH value of soil was determined under the condition of water and carbon ratio of 5:1

干，按照 2%添加量将玉米秸秆生物炭（BC1）、水稻秸秆生物炭（BC2）和油菜秸秆生物炭（BC3）分别与土壤充分混匀装入塑料培养盆（直径：20 cm；高：22 cm）中。补加蒸馏水至田间饱和持水量的 60%，同时做无生物炭空白对照（CK），无菌膜封口，保持一定的透气性，培养盆底部中心打直径 1 cm 小孔，置于（25±1）℃培养箱中进行培养试验。每个处理 3 次重复，每隔 5 d 称重法补水一次。培养 186 d 后，于培养盆中均匀、分散的选取 3 点（培养盆半径中点）用土钻直通盆底取样（土层厚度 20 cm）、混匀，即为该处理的 1 个样品。土壤样品储存于保鲜自封袋中，一部分于-80℃冰箱保存，用于土壤微生物群落分析；另一部分室温风干研磨，分别过 2 mm 筛和 0.15 mm 筛，用于测定土壤化学性质。

1.3 测试项目与方法

生物炭：pH 用复合电极电位法测定^[18]；全碳和全氮用 CHN 元素分析仪（德国 Elementar，Vario Macro）测定^[18]；有效磷用 0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 浸提-分光光度计法测定^[19]；速效钾用 NH₄OAc 浸提-火焰光度法测定^[19]；孔容积、孔径、比表面积采用全自动气体吸附仪（ASAP2020）测定^[18]。

土壤：全氮用开氏定氮法测定；全磷用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法测定；全钾用 NaOH 熔融-火焰光度法测定；全碳用重铬酸钾外加热法测定；碱解氮用碱解扩散法测定；有效磷用 0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 浸提-分光光度计法测定；速效钾用 NH₄OAc 浸提-火焰光度法测定；阳离子交换量（CEC）用乙酸钠-火焰光度法测

定；pH 用复合电极电位法测定；C/N 用全碳与全氮的比计算得出。上述测试方法参见《土壤农化分析》^[19]。

土壤 DNA 的提取与高通量测序^[20]：具体测试方法包括基因组 DNA 的提取（采用 CTAB 方法对样本的基因组 DNA 进行提取，之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度，取适量的样品于离心管中，使用无菌水稀释样品至 1 ng·μL⁻¹）→PCR 扩增（以稀释后的基因组 DNA 为模板，根据测序区域的选择，使用带 Barcode 的特异引物，New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真的酶进行 PCR，确保扩增效率和准确性。细菌针对 V4 区的 16S rRNA 基因（引物为 515F 和 806R））→PCR 产物的混样和纯化（PCR 产物使用 2%浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测；根据 PCR 产物浓度进行等量混样，充分混匀后使用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物，对目的条带使用 Qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物）→建库测序策略（采用 IlluminaHiSeq PE 测序平台对 16s rRNA 的 V4 高变区进行测序）→文库构建和上机测序（使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建，构建好的文库经过 Qubit 和 QPCR 定量，文库合格后，使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序）。

1.4 数据分析

数据处理利用 SAS9.0 进行主分量分析（Principal component analysis）和方差分析（ANOVA）；用 EXCEL2007 计算数据置信区间、绘制图表，使用

CANOCO4.5 软件对土壤化学性质和细菌群落结构进行冗余分析(RDA);利用软件 mothur 计算 Alpha 多样性指标,包括丰度指数(ACE 和 Chao1)和多样性指数(Shannon 和 Simpson)。

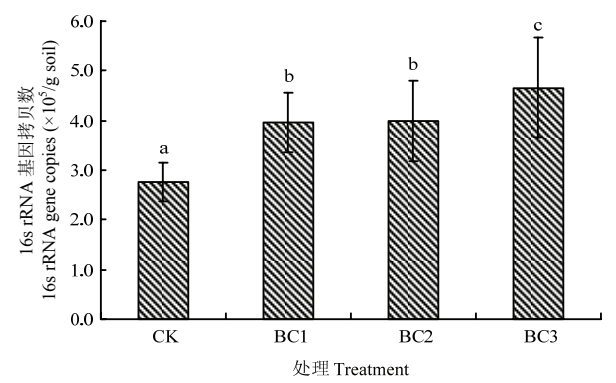
2 结果

2.1 细菌 16s rRNA 基因拷贝数

不同生物炭处理的细菌 16S rRNA 基因拷贝数为 2.76×10^5 — 4.66×10^5 copies/g soil (图 1)。其中, BC3 处理的细菌 16S rRNA 基因拷贝数最多,为 4.66×10^5 copies/g soil,比 CK 处理增加了 68.8%;其次是 BC2 处理,为 3.99×10^5 copies/g soil,比 CK 处理增加了 44.6%;BC1 处理最少,为 3.95×10^5 copies/g soil,比 CK 处理增加了 43.1%。BC1 处理与 BC2 处理间的细菌 16S rRNA 基因拷贝数没有显著性差异,其他处理间均达显著差异水平 ($P<0.05$)。

不同生物炭处理的细菌 16S rRNA 基因拷贝数与黄壤化学性质的相关性分析表明(表 2),细菌 16S rRNA 基因拷贝数与土壤全氮呈极显著正相关关系

($r=0.78^{**}$);与 pH 和全碳均呈显著正相关关系(r 分别为 0.62^* 和 0.66^*);而与其他化学性质间无显著的相关性。



图柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)
Different small letters on the pillars mean significant difference at 0.05 level among treatments

图 1 细菌 16s rRNA 基因拷贝数

Fig. 1 The gene copy number of 16s rRNA

表 2 黄壤化学性质及其与细菌 16s rRNA 基因拷贝数的相关性分析

Table 2 The Yellow soil chemical properties and its correlation analysis with gene copy number of 16s rRNA

变量 Variables	处理 Treatment				相关系数 Correlation coefficient
	CK	BC1	BC2	BC3	
pH	4.60±0.22c	5.68±0.03b	5.67±0.07b	5.81±0.08a	0.62*
全碳 Total C (g·kg ⁻¹)	5.82±0.31d	13.58±0.80c	14.04±1.32b	17.49±0.99a	0.66*
全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	0.65±0.08	0.85±0.06c	0.96±0.02b	1.07±0.01a	0.78**
全磷 Total P (g·kg ⁻¹)	0.17±0.02b	0.20±0.01a	0.18±0.01a	0.19±0.01a	0.36
全钾 Total K (g·kg ⁻¹)	22.19±1.06c	23.23±0.52b	23.84±0.62b	24.08±1.22a	0.44
碱解氮 Available N (mg·kg ⁻¹)	12.32±1.20d	22.55±1.82a	13.63±1.09b	12.58±0.91c	0.58
速效磷 Available P (mg·kg ⁻¹)	1.07±0.02d	1.79±0.15a	1.63±0.23b	1.56±0.20c	0.69
有效钾 Available K(mg·kg ⁻¹)	90.32±10.11d	336.55±35.37b	320.09±16.34c	417.26±65.08a	0.55

样本数为 12 个; *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$); 同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)
The number of sample is 12; * Means significant difference at $P<0.05$, ** Means significant difference at $P<0.01$; The data followed by different small letters in the same line mean significant difference at 0.05 level among treatments

2.2 不同生物炭处理细菌多样性分析

将序列相似性达到 97%的序列作为一个 OTU,在 4 个土壤处理中,细菌群落分析共获得有效序列 657 762 条,覆盖率达 96.3%,可以满足解释土壤细菌多样性的需要。由表 3 可知,4 个处理的 OTU 数为 2 621—3 431,生物炭处理显著高于 CK 处理 ($P<0.05$)。BC3 处理的 OTU 数最高,较 CK 处理增加了 30.9%;BC2 处理最低,较 CK 处理增加了 8.1%。各土壤处理

的 Richness 指数和 Diversity 指数(表 3)表明,生物炭能够影响细菌群落的丰富度和多样性,但其影响程度因生物炭的种类而差异显著,其中 BC3 处理最有利于提高土壤细菌群落的丰富度和多样性。

2.3 黄壤中细菌群落组成

由门水平的细菌群落组成(图 2)可知,Actinobacteria(放线菌门)相对丰度最高,占 19.3%—43.0%,平均为 32.7%,其次为 Cyanobacteria(蓝藻菌

表 3 16S rRNA 基因 OTU 数、Read 数、丰富度和多样性指数

Table 3 Estimated 16S rRNA number of OTUs, Reads, richness and diversity

处理 Treatment	OTUs	Reads	丰富度 Richness		多样性 Diversity	
			Chao 1	ACE	Shannon	Simpson
CK	2621±145c	54267±165a	2122±115d	2311±36c	6.42±0.39c	0.9023±0.002a
BC1	2994±117b	53972±211a	2376±126c	2845±47a	8.31±0.31b	0.9386±0.005a
BC2	2832±195b	54376±139a	2678±72b	2687±105b	8.23±0.11b	0.910±0.001a
BC3	3431±132a	54511±97a	2826±150a	2926±76a	8.68±0.23a	0.908±0.003a

同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)

The data followed by different small letters in the same column mean significant difference at 0.05 level among treatments

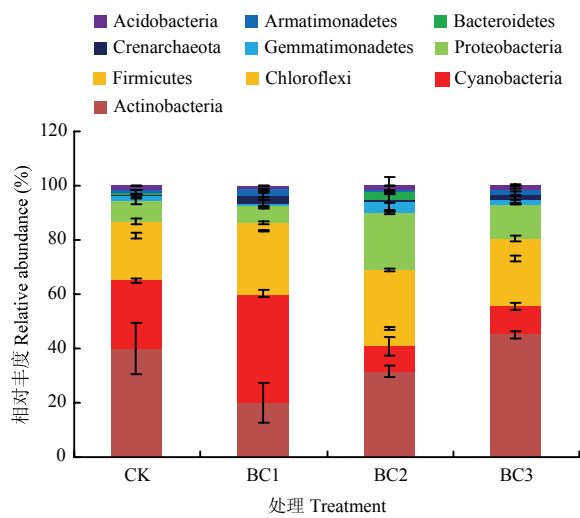


图 2 不同处理相对丰度前 10 的菌门

Fig. 2 The relative abundance of the top 10 phylum under different treatment

门), 占 9.0%—39.0%, 平均为 20.4%, 随后依次为 Chloroflexi (绿弯菌门, 6.4%—22.4%)、Proteobacteria (变形菌门, 5.8%—20.5%)、Firmicutes (厚壁菌门, 6.4%—22.4%)、Gemmatimonadetes (芽单胞菌门, 0.7%—3.8%)、Crenarchaeota (泉古菌门, 0.6%—3.0%)、Acidobacteria (酸杆菌门, 1.2%—1.6%)、Armatimonadetes (装甲菌门, 0.7%—2.1%) 和 Bacteroidetes (拟杆菌门, 0.4%—3.0%)。CK 处理中只有 Acidobacteria (酸杆菌门) 的相对丰度均高于其他 3 个处理, 而其余菌门在 BC1、BC2 和 BC3 处理间的响应不同。具体表现为, BC1 处理有利于增加 Cyanobacteria、Chloroflexi、Crenarchaeota 和 Armatimonadetes 的相对丰度; BC2 处理有利于增加 Firmicutes、Proteobacteria、Gemmatimonadetes 和

Bacteroidetes 的相对丰度; 而 BC3 处理有利于增加 Actinobacteria、Chloroflexi、Firmicutes、Proteobacteria、Crenarchaeota、Bacteroidetes 和 Armatimonadetes 的相对丰度。说明在细菌群落组成前 10 的菌门中, BC1 处理增加了相对丰度较大 (Cyanobacteria 和 Chloroflexi) 和较小 (Crenarchaeota 和 Armatimonadetes) 的菌门丰度; BC2 处理增加了相对居中的菌门丰度; 而 BC3 处理几乎提高了整体优势菌门的相对丰度。

由纲水平的相对丰度 (表 4) 可知, 只有 Actinobacteria (放线菌纲) 和 Anaerolineae (厌氧绳菌纲) 的相对丰度表现为 CK 最高, 而其余菌纲在 CK、BC1、BC2 和 BC3 处理间的响应不同。具体表现为: BC1 处理增加了 Oscillatorioophycideae (颤藻亚纲)、Ellin6529、Chloroflexi (绿弯菌纲) 和 Thermomicrobia (热微菌纲) 的相对丰度, 较 CK 分别提高了 65.8%、64.8%、108.9%和 234.7%; BC2 处理增加了 Thermoleophilia (嗜热油菌纲)、Bacilli (芽孢杆菌纲)、Alphaproteobacteria (α -变形杆菌纲) 和 Gammaproteobacteria (丙型变形菌纲) 的相对丰度, 较 CK 分别提高了 92.1%、83.8%、92.5%和 3197.%; 而 BC3 处理增加了 Thermoleophilia、Bacilli、Alphaproteobacteria、Gammaproteobacteria 和 Chloroflexi 的相对丰度, 较 CK 分别提高了 155.6%、27.8%、87.4%、92.9%和 22.9%。说明细菌群落组成对不同生物炭的响应不同, BC2 处理和 BC3 处理在提高细菌群落纲水平影响上有很大的相似性, 均主要集中在 Thermoleophilia、Bacilli、Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 四个纲上。

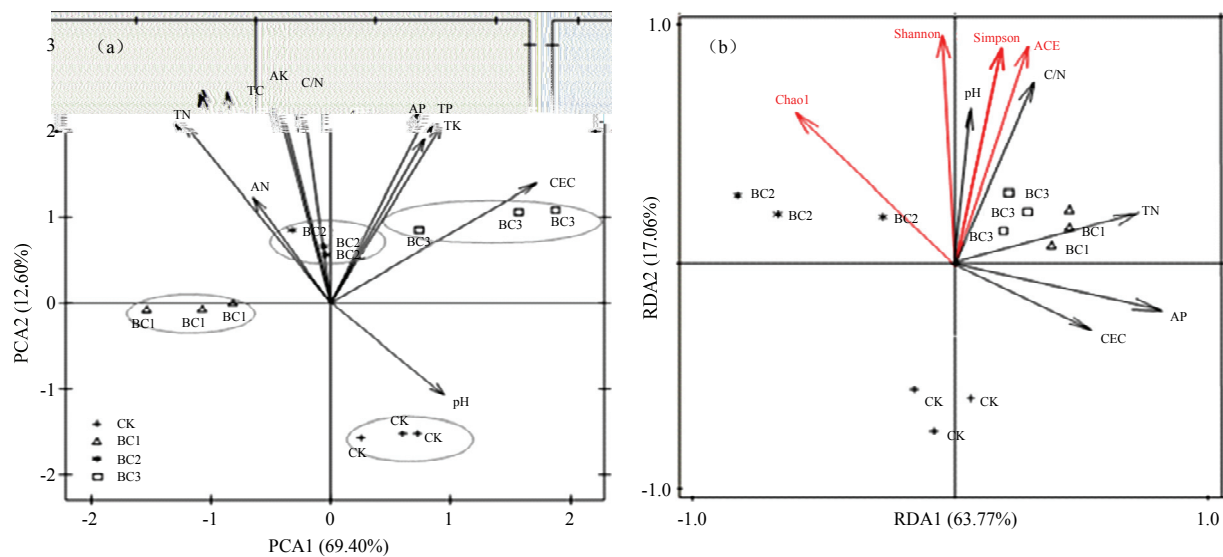
2.4 影响黄壤细菌群落的因子分析

由土壤化学性质参数与细菌群落组成的主分量分析 (图 3-a) 可知, 相同处理的土壤都聚集在一起, 且生物炭处理土壤彼此较为接近并与对照土壤区分开。

表 4 不同生物炭处理细菌纲水平的相对丰度（前 10 的菌纲）
Table 4 The relative abundance of the top 10 class under different treatment

门 Phylum	纲 Class	处理 Treatment			
		CK	BC1	BC2	BC3
Cyanobacteria	Oscillatoriophycideae	22.70±3.25b	37.63±6.78a	8.28±0.96c	6.58±1.11d
Actinobacteria	Actinobacteria	25.22±1.92a	8.55±0.87d	11.01±2.01c	18.57±0.97b
	Thermoleophilia	7.21±1.30c	9.04±1.22d	13.85±0.98b	18.43±2.54a
Firmicutes	Bacilli	1.91±0.32b	1.47±0.22b	3.51±0.11a	2.44±0.09b
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	4.90±0.13b	4.09±0.06c	9.43±0.33a	9.18±0.25a
	Gammaproteobacteria	0.28±0.03c	0.23±0.06c	1.17±0.10a	0.54±0.03b
Chloroflexi	Ellin6529	4.89±0.11b	8.06±0.47a	1.54±0.22d	4.35±0.05c
	Chloroflexi	3.36±0.18c	7.02±0.44a	1.27±0.08d	4.13±0.33b
	Anaerolineae	5.12±0.31a	2.10±0.09c	1.44±0.24d	3.55±0.11b
	Thermomicrobia	1.27±0.20c	4.25±0.29a	0.99±0.12d	3.07±0.23b

同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）
The data followed by different small letters in the same line mean significant difference at 0.05 level among treatments



TN: 全氮; TP: 全磷; TK: 全钾; TC: 全碳; AN: 碱解氮; AP: 有效磷; AK: 速效钾; CEC: 阳离子交换量; C/N: 碳氮比; BC1: 玉米秸秆生物炭; BC2: 水稻秸秆生物炭; BC3: 油菜秸秆生物炭
TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; TK: Total potassium; TC: Total carbon; AN: Soil inorganic nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; CEC: Cation exchange capacity; C/N: The ratio of total carbon and total nitrogen; BC1: Corn straw biochar treatment; BC2: Rice straw biochar treatment; BC3: Rape straw biochar treatment

图 3 土壤化学性质参数与细菌群落组成的主分量分析（a）及与细菌群落多样性的冗余分析（b）

Fig. 3 Principal component analyses (PCA) of bacterial community composition in soils from different treatments (a), and redundancy analyses (RDA) of the correlations between soil parameters and bacterial community diversity (b)

说明生物炭的添加改变了土壤的细菌群落组成，且不同生物炭对土壤细菌群落组成的影响具有差异性。根据土壤环境因子间的相关性分析剔除相关性较高的变量，最终选出土壤全氮、碳氮比、有效磷、阳离子交

换量和 pH 等 5 个因子来替代原有 10 个土壤环境因子变量覆盖的 82% 的土壤环境信息。第 I 轴（PCA1）的特征值为 6.94，且土壤全氮、阳离子交换量与第 I 轴有显著的相关性，证明在水平方向影响了土壤细菌群

落的分布，将玉米秸秆生物炭处理土壤（BC1）与其他土壤处理区分开。第Ⅱ轴（PCA2）的特征值为 1.26，土壤 pH、速效钾、有效磷与第Ⅱ轴有显著的相关性，证明这些因素的共同作用影响了垂直方向土壤细菌群落的组成，将对照土壤（CK）与生物炭处理土壤（BC1、BC2 和 BC3）区分开。

通过对各土壤细菌群落多样性与土壤环境关系冗余分析（图 3-b）发现，pH 对细菌群落的丰度指数（ACE 和 Chao1）和多样性指数（Simpson 和 Shannon）均呈现较强的正相关性，且土壤碳氮比与 ACE 和 Simpson 相关性也较好，说明土壤 pH 和 C/N 是改变土壤细菌群落多样性和丰富度的主控因子。CEC 与土壤细菌群落丰度和多样性均呈现负相关，单一的阳离子交换量水平增加是不利于土壤细菌菌群变化的。所有理化因子总共解释了 80.8% 的群落变化，影响顺序依次为：土壤 C/N>pH>全氮>有效磷>CEC，因此土壤全氮、碳氮比、有效磷、阳离子交换量和 pH 是

改变黄壤细菌群落结构的主控环境因子。

黄壤中优势细菌群落（门水平）与土壤化学性质的相关性分析（表 5）表明，除了 Crenarchaeota 和 Armatimonadetes 与 5 个化学指标都不具有相关性外，其他优势细菌群落对土壤化学性质的响应不同。其中，相对丰度靠前的 Cyanobacteria、Chloroflexi、Proteobacteria 和 Firmicutes 与土壤 pH 和 C/N 均具有很强的正相关性，尤其与 Proteobacteria 呈极显著正相关关系（ r 分别为 0.436** 和 0.622**）。其他化学指标对土壤细菌优势菌群变化均有影响，土壤全氮与 Proteobacteria 和 Bacteroidetes 有较强的正相关性；有效磷与 Cyanobacteria 和 Acidobacteria 呈显著负相关关系；CEC 与 Actinobacteria 和 Acidobacteria 呈显著正相关关系。说明土壤 pH 和 C/N 的提高更有助于相对丰度较高的优势细菌菌群的生长繁殖，而土壤全氮、有效磷和 CEC 对细菌群落的影响具有差异性。

表 5 土壤优势菌群（门水平）与土壤化学性质的相关性分析

Table 5 The correlation analysis between advantage bacterial community (at phylum level) and soil chemical parameters

菌群 Phylum	pH	C/N	全氮 Total N	有效磷 Available phosphorus	CEC
Actinobacteria	0.458*	-0.159	-0.230	-0.496	0.136
Cyanobacteria	0.592*	0.492*	0.192	-0.376*	0.278
Chloroflexi	0.661**	0.537*	0.303	-0.203	-0.195
Proteobacteria	0.436**	0.622**	0.721**	0.441	0.318
Firmicutes	0.613*	0.486*	0.117	0.369*	-0.255
Gemmatimonadetes	0.695**	0.335	0.316	-0.579	0.194
Crenarchaeota	-0.139	-0.257	0.089	0.572	-0.148
Acidobacteria	0.301	0.378*	0.144	-0.198*	0.247*
Armatimonadetes	0.176	0.426	0.196	-0.236	0.208
Bacteroidetes	-0.314	0.344*	0.372*	0.299	-0.119

样本数为 12 个。*表示显著相关 $P<0.05$ ），**表示极显著相关（ $P<0.01$ ）
The number of sample is 12. * Means significant correlation at $P<0.05$, ** Means significant correlation at $P<0.01$

3 讨论

3.1 生物炭对黄壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数和多样性的影响

施用秸秆生物炭显著增加了细菌 16S rRNA 基因拷贝数，较 CK 增加了 43.1%—68.8%，油菜秸秆生物炭提升效果最佳（图 1）。表明生物炭能够提高黄壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数且提升幅度与生物炭类型有关。这可能得益于生物炭的孔隙结构及其对水分

和养分的吸附作用可以为微生物提供良好的栖息环境^[12]。以往研究认为，秸秆生物炭的输入可以增加温带土壤^[13]、塿土^[21]和田园土壤^[22]的细菌 16S rRNA 基因拷贝数；而 DEMPSTER 等认为，木质生物炭的添加降低了土壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数^[23]。本研究表明，玉米、水稻和油菜秸秆生物炭均不同程度地增加了黄壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数（图 1）。相关分析也显示，细菌 16S rRNA 基因拷贝数与土壤全氮、全碳和 pH 均有很好的正相关关系（表 2）。这可能归

因于不同类型生物炭的结构特性及组分差异被不同的微生物群体所利用,从而引起细菌数量的差异变化及土壤化学性质的改变^[14]。土壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数不仅与生物炭类型和土壤类型有关,还与生物炭炭化条件、施用量及颗粒细度有关^[24-26]。高温(500℃、400℃)较低温(300℃)制备的生物炭更能促进微生物量的增加^[24]。添加 3%和 9%细粒径生物炭处理的土壤细菌基因拷贝数均高于对应含量的中粒组和粗粒组,且 9%细粒径生物炭处理的细菌基因拷贝数最高^[25]。说明高温炭化、高添加量的细颗粒生物炭更有利于提高土壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数。

各生物炭处理对黄壤细菌群落多样性的影响并不相同,表现为施用生物炭均影响了细菌群落的丰富度和多样性,但其影响程度因生物炭的种类而差异显著。说明生物炭种类能够显著影响黄壤细菌群落多样性。一些研究表明,因生物炭的组分及结构特异性,不同微生物群落对添加生物炭的响应往往不同。比如,武爱莲等^[26]研究指出,随着生物炭施用量的增加,土壤细菌 OTU 数目及丰富度指数(Chao1)呈增加趋势;而 PIETIKAINEN 等^[27]研究表明生物炭施用对总体微生物量影响不大。JIN 研究表明,温带土壤细菌群落多样性随着生物炭的增加而变大^[28];而 MARRIS 研究发现生物炭的施用会降低土壤微生物的多样性^[29]。白浆土、潮土、灰漠土和棕壤土上施用玉米芯生物炭,添加生物炭对不同类型土壤微生物群落多样性的影响不尽相同,但 4 种土壤短时间(15 d)内添加生物炭处理的多样性指标低于对照,而 45 d 后生物炭添加量为 40 t·hm⁻²(相当于 1.6%的用量)处理的多样性指数最高^[26]。这表明土壤细菌群落多样性对生物炭的响应非常复杂,与生物炭类型、添加量及土壤类型均有关系。研究认为,因生物炭可直接被微生物所利用的组分含量有限^[12],其对微生物群落结构的改变主要是通过间接途径实现,如影响土壤的营养状况、化学性质^[20]和微生物细胞间信号物质的传递^[21]等。本研究显示,在相同土壤类型和生物炭添加量下,油菜秸秆生物炭较玉米和水稻秸秆生物炭更利于提高黄壤细菌群落的丰富度和多样性(表 3)。这可能是由于油菜秸秆生物炭的结构特性及组分,能够被更多不同的微生物群体所利用,其引起的微生物群落结构变化差异较大,增加了土壤细菌群落多样性。

3.2 生物炭对黄壤细菌群落组成的影响

对不同生物炭处理 10 大优势菌门的分析(图 2)发现,Actinobacteria(放线菌门)、Cyanobacteria(蓝

藻菌门)和 Chloroflexi(绿弯菌门)是黄壤中相对丰度最高的 3 个菌门,占有优势菌门的 68%以上,表明在黄壤细菌群落中,放线菌、蓝藻菌和绿弯菌的生长能力较强。生物炭处理可以增加放线菌门丰度方面与大部分研究类似^[25-26],而本研究中蓝藻菌门和绿弯菌门丰度的提高可能与土壤类型或生物炭种类有关。KHODADAD 等^[30]研究发现,生物炭的添加为降解顽固碳源的微生物提供了生长机会,放线菌可以有效地降解复杂的芳香类化合物,因此可以增加土壤中放线菌门丰度。本研究与一些研究^[20-22]均表明,生物炭可以增加土壤的细菌丰度,但不同微生物类别对不同来源生物炭处理所产生的响应仍存有差异。如在纲水平上(表 4),生物炭抑制了 Actinobacteria(放线菌纲)和 Anaerolineae(厌氧绳菌纲)的生长繁殖,而增加了其他菌纲的生长繁殖。水稻和油菜秸秆生物炭处理主要增加了 Thermoleophilia(嗜热油菌纲)、Bacilli(芽孢杆菌纲)、Alphaproteobacteria(α -变形杆菌纲)和 Gammaproteobacteria(丙型变形菌纲)四个菌纲的相对丰度;而玉米秸秆生物炭处理增加了 Oscillatorioophycidae(颤藻亚纲)、Ellin6529、Chloroflexi(绿弯菌纲)和 Thermomicrobia(热微菌)的相对丰度,说明这三种生物炭处理在提高细菌群落纲水平上具有补偿效应。尹昌等^[31]对东北黑土 nir S 型反硝化菌的系统发育分析表明,黑土中 nir S 型反硝化菌主要由 α -、 β -和 γ -变形菌纲的微生物组成。本研究发现 Alphaproteobacteria(α -变形杆菌纲)在水稻和油菜秸秆生物炭处理中丰度要明显高于 CK 和玉米秸秆生物炭处理(表 4),而其他研究中的烟草秸秆生物炭降低了红壤中变形菌门丰度^[32]。表明生物炭类型和土壤类型可能是引起土壤 α -变形杆菌生长繁殖的重要因子。变形杆菌纲是反硝化细菌的组分,此菌纲丰度的提高可能会引起氮素发生反消化作用几率变大,引起氮素损失。因此推断,本研究中添加水稻和油菜秸秆生物炭致使黄壤中 Alphaproteobacteria(α -变形杆菌纲)丰度变大,可能不利于黄壤固持氮素养分。同时,一些研究也表明生物炭因比表面积巨大、表面负电荷丰富和电荷密度较高等特点,决定其具有很强的吸附能力,可一定程度地影响着土壤的养分含量^[33]。土壤养分的持留主要靠吸附作用来实现,如矿物质和有机质的吸附^[33]。水稻田试验研究表明,生物炭与肥料合理配施的情况下,显著增强了土壤中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 的吸附与固持作用,降低了氮素损失,从而显著提高了水稻对氮的利用率^[34]。还有研究

通过生物炭作为尿素的包膜材料来实现持留氮素养分的作用, 并得出竹炭包膜尿素可将氨挥发损失量比普通尿素减少 16.7%—31.8%^[35]。因此, 生物炭对养分的持留作用可能大于细菌中变形杆菌纲丰度增加带来的负面影响, 但这种强弱关系还有待进一步研究。

细菌群落与土壤化学性质参数的冗余分析(图 3)表明, 土壤全氮对细菌群落的影响最显著, 这与 LIU 等^[36]的研究结果是一致的。土壤 C/N、有效磷、阳离子交换量和 pH 也对细菌群落有很大的影响, 这可能与生物炭自身的养分含量和性质有关。土壤 pH 对细菌群落的丰度指数(ACE 和 Chao1)和多样性指数(Simpson 和 Shannon)均呈现较强的正相关性; 土壤 C/N 与 ACE 和 Simpson 相关性也较好, 表明土壤 pH 和 C/N 可能是引起土壤中细菌群落多样性和丰富度变化的重要因子。高圣超等^[37]研究发现, Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)与土壤 pH 呈极显著正相关, Proteobacteria(变形菌门)与土壤全氮呈极显著正相关。本研究对优势细菌群落(门水平)与土壤化学性质的相关性分析(表 5)表明, 绝大多数优势菌门都与土壤化学因子有一定的相关性。其中 Proteobacteria 与 C/N 呈极显著正相关关系; Bacteroidetes 与土壤全氮呈显著正相关关系, 表明土壤全氮可能是影响 Proteobacteria 和 Bacteroidetes 丰度的重要因子。因此, 生物炭的添加可能主要是通过影响土壤 pH、C/N 和全氮等土壤化学性质与土壤细菌菌群的相互作用来改变其群落组成的。

4 结论

生物炭明显改变了黄壤的化学性质、细菌群落结构与组成, 在一定程度上缓解了土壤酸度。土壤全氮、碳氮比、pH、有效磷和阳离子交换量是改变黄壤细菌群落结构变化的重要环境因子, 其中土壤全氮和 pH 又是提高土壤细菌群落多样性和丰富度的主控环境因子。

References

- [1] 曾希柏. 红壤酸化及其防治. 土壤通报, 2000, 31(3): 111-113.
ZENG X B. Red soil acidification and its prevention and cure. *Chinese Journal of Soil Science*, 2000, 31(3): 111-113. (in Chinese)
- [2] 张文安, 徐大地, 肖厚军. 磷石膏改良贵州黄壤及其应用前景. 贵州农业科学, 2002, 30(2): 61-63.
ZHANG W A, XU D D, XIAO H J. Yellow soil improvement by using phosphorous gypsum and its prospects. *Guizhou Agricultural Sciences*,

- 2002, 30(2): 61-63. (in Chinese)
- [3] TRYON E H. Effect of charcoal on certain physic, chemical, and biological properties of forest soils. *Ecological Monographs*, 1998, 18(3): 81-115.
- [4] ZIMMERMAN A R. Abiotic and microbial oxidation of laboratory-produced black carbon (biochar). *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(5): 1295-1301.
- [5] WOOLF D, AMONETTE J E, STREET-PERROTT F A, LEHMANN J, JOSEPH S. Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature Communications*, 2010, 1(2): 56.
- [6] XIE Z, XU Y, LIU G, Qi L, ZHU J G, TU C, JAMES E, AMONETTE J E, CADISCH G, YONG J W H, HU S J. Impact of biochar application on nitrogen nutrition of rice, greenhouse-gas emissions and soil organic carbon dynamics in two paddy soils of China. *Plant and Soil*, 2013, 370(1/2): 527-540.
- [7] ZHAO X, WANG S Q, XING G X. Nitrification, acidification, and nitrogen leaching from subtropical cropland soils as affected by rice straw-based biochar: laboratory incubation and column leaching studies. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 14(3): 471-482.
- [8] 周桂玉, 窦森, 刘世杰. 生物质炭结构性性质及其对土壤有效养分和腐殖质组成的影响. 农业环境科学学报, 2011, 30(10): 2075-2080.
ZHOU G Y, DOU S, LIU S J. The structural characteristics of biochar and its effects on soil available nutrients and humus composition. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(10): 2075-2080. (in Chinese)
- [9] 张晗芝, 黄云, 刘钢, 许燕萍, 刘金山, 卑其诚, 蔺兴武, 朱建国, 谢祖彬. 生物炭对玉米苗期生长、养分吸收及土壤化学性状的影响. 生态环境学报, 2010, 19(11): 2713-2717.
ZHANG H Z, HUANG Y, LIU G, XU Y P, LIU J S, BEI Q C, LIN X W, ZHU J G, XIE Z B. Effects of biochar on corn growth, nutrient uptake and soil chemical properties in seeding stage. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(11): 2713-2717. (in Chinese)
- [10] YUAN J H, XU R K, ZHANG H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 3488-3497.
- [11] GOLDBERG. *Black Carbon in the Environment: Properties and Distribution*. New York: John Wiley, 1985.
- [12] LEHMANN J, RILLIG M C, THIES J, MASIELLO C A, HOCKADAY W C, CROWLEY D. Biochar effects on soil biota-A review. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812-1836.
- [13] KOLB S E, FERMANICH K J, DORNBUSH M E. Effect of charcoal quantity on microbial biomass and activity in temperate soils. *Soil Science Society of America Journal*, 2009, 73(4): 1173-1181.

- [14] STEINBEISS S, GLEIXNER G, ANTONIETTI M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(6): 1301-1310.
- [15] 郭文, 熊康宁, 张锦华, 杨苏茂, 刘凯旋, 许留兴. 饲用灌木资源开发利用研究现状及其对贵州石漠化地区的启示. 中国农业科技导报, 2017, 19(7): 108-116.
- GUO W, XIONG K N, ZHANG J H, YANG S M, LIU K X, XU L X. Research status of forage shrub resources utilization and enlightenment for rocky desertification area in Guizhou province. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2017, 19(7): 108-116. (in Chinese)
- [16] 张雅蓉, 李渝, 蒋太明, 张文安. 贵州主要农作物秸秆资源分布及综合利用现状. 贵州农业科学, 2015, 43(8): 262-267.
- ZHANG Y R, LI Y, JIANG T M, ZHANG W A. Distribution and comprehensive utilization of straw resources of main crops in Guizhou. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(8): 262-267. (in Chinese)
- [17] PACE N R. Problems with "Prokaryote". *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(7): 2008-2010.
- [18] 张伟明. 生物炭的理化性质及其在作物生产上的应用[D]. 辽宁: 沈阳农业大学, 2012.
- ZHANG W M. Physical and chemical properties of biochar and its application in crop production[D]. Liaoning: Shenyang Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- BAO S D. *The Method of Analysis for Soil Agro-chemistry*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. (in Chinese)
- [20] 王佩雯, 朱金峰, 陈征, 许自成, 武劲草, 常安然. 高通量测序技术下连作植烟土壤细菌群落与土壤环境因子的耦合分析. 农业生物技术学报, 2016, 24(11): 1754-1763.
- WANG P W, ZHU J F, CHEN Z, XU Z C, WU J C, CHANG A R. Coupling analysis based on high throughput sequencing technology of soil bacterial community and soil environmental factors in continuous cropping tobacco soil. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2016, 24(11): 1754-1763. (in Chinese)
- [21] 陈心想, 耿增超, 王森, 赵宏飞. 施用生物炭后壤土土壤微生物及酶活性变化特征. 农业环境科学学报, 2014, 33(4): 751-758.
- CHEN X X, GENG Z C, WANG S, ZHAO H F. Effects of biochar amendment on microbial biomass and enzyme activities in loess soil. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4): 751-758. (in Chinese)
- [22] 陈伟, 周波, 束怀瑞. 生物炭和有机肥处理对平邑甜茶根系和土壤微生物群落功能多样性的影响. 中国农业科学, 2013, 46(18): 3850-3856.
- CHEN W, ZHOU B, SHU H R. Effects of organic fertilizer and biochar on root system and microbial functional diversity of *Malus hupehensis* Rehd. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(18): 3850-3856. (in Chinese)
- [23] DEMPSTER D N, GLEESON D B, SOLAIMAN Z M, JONES D L, MURPHY D V. Decreased soil microbial biomass and nitrogen mineralisation with eucalyptus biochar addition to a coarse textured soil. *Plant and Soil*, 2012, 354(1/2): 311-324.
- [24] 李明, 李忠佩, 刘明, 江春玉, 吴萌. 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. 中国农业科学, 2015, 48(7): 1361-1369.
- LI M, LI Z P, LIU M, JIANG C Y, WU M. Effects of different straw biochar on nutrient and microbial community structure of a red paddy soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(7): 1361-1369. (in Chinese)
- [25] 李松昊, 何冬华, 沈秋兰, 徐秋芳. 竹炭对三叶草生长及土壤细菌群落的影响. 应用生态学报, 2014, 25(8): 2334-2340.
- LI S H, HE D H, SHEN Q L, XU Q F. Effect of bamboo charcoal on the growth of *Trifolium repens* and soil bacterial community structure. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(8): 2334-2340. (in Chinese)
- [26] 武爱莲, 丁玉川, 焦晓燕, 王劲松, 董二伟, 郭珺, 王浩. 玉米秸秆生物炭对褐土微生物功能多样性及细菌群落的影响. 中国生态农业学报, 2016, 24(6): 736-743.
- WU A L, DING Y C, JIAO X Y, WANG J S, DONG E W, GUO J, WANG H. Effects of corn stover biochar on microbial functional diversity and the bacterial community in brown soil. *Journal of Chinese Ecological Agriculture*, 2016, 24(6): 736-743. (in Chinese)
- [27] PIETIKAINEN J, KIIKKILA O, FRITZE H. Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus. *Oikos*, 2000, 89(5): 231-242.
- [28] JIN H. Characterization of microbial life colonizing biochar and biochar-amended soils[D]. New York: Cornell University, Ithaca, 2010.
- [29] MARRIS E. Putting the carbon back: Black is the new green. *Nature*, 2006, 442(3): 624-626.
- [30] KHODADAD C L M, ZIMMERMAN A R, GREEN S J, UTHANDI S, FOSTER J S. Taxa-specific changes in soil microbial community composition induced by pyrogenic carbon amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(2): 385-392.
- [31] 尹昌, 范分良, 李兆君, 宋阿琳, 朱平, 彭畅, 梁永超. 长期施用有机和无机肥对黑土 nir S 型反硝化菌种群结构和丰度的影响. 环境科学, 2012, 33(11): 3967-3975.
- YIN C, FAN F L, LI Z J, SONG A L, ZHU P, PENG C, LIANG Y C.

- Influences of long-term application of organic and inorganic fertilizers on the composition and abundance of nir S-type denitrifiers in black soil. *Environmental Science*, 2012, 33(11): 3967-3975. (in Chinese)
- [32] 周之栋, 卜晓莉, 吴永波, 薛建辉. 生物炭对土壤微生物特性影响研究进展. 南京林业大学学报(自然科学版), 2016, 40(6): 1-8.
ZHOU Z D, BU X L, WU Y B, XUE J H. The research progress on effect of biochar on soil microbial characteristics. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2016, 40(6): 1-8. (in Chinese)
- [33] GLASER B. Manioc peel and charcoal: A potential organic amendment for sustainable soil fertility in the tropics. *Soil Biology and Fertilizer*, 2005, 41(1): 15-21.
- [34] WARNOCK D D, LEHNLANN J, KUYPER T W. Mycorrhizal responses to biochar in soil-concepts and mechanisms. *Plant and Soil*, 2007, 300 (1/2): 9-20.
- [35] 纪锐琳, 朱义年, 佟小微, 张爱莉, 朱本富, 王敦球. 竹炭包膜尿素在土壤中的氨挥发损失及其影响因素. 桂林工学院学报, 2008, 28(1): 113-118.
- JI R L, ZHU Y N, TONG X W, ZHANG A L, ZHU B F, WANG D Q. Ammonia volatilization of bamboo-charcoal coated urea in soil and affecting factors. *Journal of Guilin University of Technology*, 2008, 28(1): 113-118.
- [36] LIU J J, SUI Y Y, YU Z H, SHI Y, CHU H Y, JIN J, LIU X B, WANG G H. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 70(2): 113-122.
- [37] 高圣超, 关大伟, 马鸣超, 张伟, 李俊, 沈德龙. 大豆连作条件下施肥对东北黑土细菌群落的影响. 中国农业科学, 2017, 50(7): 1271-1281.
- GAO S C, GUAN D W, MA M C, ZHANG W, LI J, SHEN D L. Effects of fertilization on bacterial community under the condition of continuous soybean monoculture in black soil in the northeast China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(7): 1271-1281. (in Chinese)
- (责任编辑 李云霞)