

## 竹炭对三叶草生长及土壤细菌群落的影响\*

李松昊 何冬华 沈秋兰 徐秋芳\*\*

(浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室/浙江农林大学环境与资源学院, 浙江临安 311300)

**摘要** 研究添加不同含量(0.3%和9%)和颗粒直径(0.05、0.05~1.0和1.0~2.0 mm)竹炭对三叶草生长及土壤微生物群落结构的影响。结果表明:竹炭对三叶草生长的促进作用前期较明显,添加9%竹炭处理略好于添加3%竹炭处理,而不同颗粒直径对三叶草生长影响差异不显著;播种后0~120 d,竹炭对三叶草生长的促进作用随着时间推移而减弱,5个月后基本消失。16S rDNA V3 区片段的 DGGE 分析表明,添加竹炭改变了土壤细菌群落结构特征,大部分种类土壤细菌数量和细菌群落多样性指数均高于对照。定量分析表明,添加9%、细粒( $D<0.05$  mm)竹炭处理土壤细菌数量显著高于其他处理。同一添加含量下,细粒径竹炭对土壤细菌数量的增加效应更明显。

**关键词** 竹炭 三叶草 土壤细菌群落 土壤细菌丰度

**文章编号** 1001-9332(2014)08-2334-07 **中图分类号** S154.38 **文献标识码** A

**Effects of bamboo charcoal on the growth of *Trifolium repens* and soil bacterial community structure.** LI Song-hao, HE Dong-hua, SHEN Qiu-lan, XU Qiu-fang (Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration/School of Environment and Resource Sciences, Zhejiang A&F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2014, 25(8): 2334-2340.

**Abstract:** The effects of addition rates (0, 3% and 9%) and particle sizes (0.05, 0.05-1.0 and 1.0-2.0 mm) of bamboo charcoal on the growth of *Trifolium repens* and soil microbial community structure were investigated. The results showed that bamboo charcoal addition greatly promoted the early growth of *T. repens*, with the 9% charcoal addition rate being slightly better than the 3% charcoal addition rate. The effects of different particle sizes of bamboo charcoal on the growth of *T. repens* were not different significantly. Growth promotion declined with time during 120 days after sowing, and disappeared completely after 5 months. DGGE analysis of the bacterial 16S rDNA V3 fragment indicated that bamboo charcoal altered the soil bacterial community structure. The amount and Shannon diversity index of bacteria in the bamboo charcoal addition treatments increased compared with CK. The quantitative analysis showed that the amount of bacteria in the treatment with bamboo charcoal of fine particle ( $D<0.05$  mm) at the 9% addition rate was significantly higher than in the other treatments. The fine bamboo charcoal had a great effect on soil bacteria amount compared with the charcoal of other sizes at the same addition rate.

**Key words:** bamboo charcoal; *Trifolium repens*; soil bacterial community; soil bacterial richness.

生物炭(bio-char)是由植物生物质在完全或部分缺氧的情况下裂解产生的一类含碳量高达60%~85%的高度芳香物质<sup>[1-2]</sup>。我国竹子产业发展迅猛,竹材资源丰富,大量的竹材边角材料被制成竹炭,竹炭具有丰富的孔隙和极高的比表面积,具有良好的吸附特性<sup>[2]</sup>,是一种良好的土壤改良材

料。竹炭中丰富的灰分物质直接补充土壤养分,竹炭呈碱性<sup>[3]</sup>,施用后可提高土壤pH,对酸性土壤养分有效性的提高有良好作用;竹炭可吸附磷和其他水溶性盐离子,对土壤磷的活化有一定作用,可增加土壤速效磷含量<sup>[4]</sup>;竹炭能较好地吸收太阳光照,提高土温,减轻寒冷对植物的冻害<sup>[5-6]</sup>;竹炭可吸附土壤和空气中氮、二氧化碳和水蒸汽,为土壤微生物的生长和繁殖提供良好的场所<sup>[7]</sup>。竹炭中稳定态碳高达24%~30%<sup>[8]</sup>,不易被微生物降解,能在土壤中

\* 浙江省重点创新团队创新课题(2010R10030-09)资助。

\*\* 通讯作者。E-mail: xuqiufang@zjfc.edu.cn

2013-10-31 收稿,2014-05-08 接受。

长期保存,因此,施用竹炭不仅能改善土壤的理化性质,提高土壤肥力,还能大大提高土壤碳储量,增加土壤的碳汇功能。

近半个多世纪以来,我国土壤退化问题日益严峻,随着森林土壤的破坏而导致森林土壤水土流失、退化和沙漠化等给农林业生产造成了巨大损失<sup>[1]</sup>。由于大量施用化肥的集约经济措施而引起的经济林土壤有机质下降、土壤退化是浙江省以及东南沿海等省份的共同特点<sup>[9]</sup>。实践证明,林下种植绿肥是改善和恢复退化土壤肥力的理想措施<sup>[10]</sup>。土壤生物学性质是肥力的核心,微生物活动是驱动土壤养分的主要动力。研究表明,施用生物质炭能促进土壤微生物活动<sup>[11]</sup>。杨敏等<sup>[11]</sup>研究表明,施加生物质炭可以显著增强水稻根际土壤甲烷氧化活性;Feng 等<sup>[12]</sup>发现,不同温度下制备的玉米秸秆生物质炭可以显著增加甲烷氧化菌群落丰度;Steinbeiss 等<sup>[13]</sup>利用磷脂脂肪酸法(PLFA)研究发现,生物质炭能明显增加土壤真菌或革兰氏阴性菌的生物量;添加生物质炭可以增加土壤丛枝状菌根真菌(AMF)或泡囊丛枝状菌根真菌(VAM)数量和活性<sup>[14-15]</sup>,因为微生物能分解吸附在生物质炭表面和内部空隙中的有机物<sup>[16]</sup>。但竹炭施用对土壤微生物影响的研究较少,如许涛<sup>[17]</sup>研究发现,加入竹炭短时间内(200 h)显著增强了梨园土壤微生物对碳源的整体利用能力,并且对土壤微生物整体代谢能力有较好的促进作用;Yoshizawa<sup>[18]</sup>研究表明,在富含粗有机质土壤中施用竹炭能显著增加土壤微生物 ATP 含量,施用 1~2 a,土壤微生物 ATP 含量是对照的 2~4 倍。Wang 等<sup>[19]</sup>认为施用竹炭后,前期种植水稻期间土壤甲烷排放明显增加,而后期种植小麦时竹炭对土壤呼吸没有影响,说明竹炭对微生物的影响主要在前期。桑忠营<sup>[20]</sup>应用平板培养法研究发现,竹炭处理土壤前期(1 周),对细菌、淀粉酶、脲酶、过氧化氢酶有不同程度的抑制作用,后期(7 周)有激活作用,对放线菌则一直起到激活作用。而 Zheke<sup>[21]</sup>研究表明,在水稻田施用竹炭(施用量为 7.5~22.5 t·hm<sup>-2</sup>)的第 1 年土壤微生物含量、呼吸作用和土壤微生物群落结构(采用 T-RFLP 法测定)几乎没有变化,但第 2 年竹炭对土壤微生物含量和呼吸作用有明显的提高。

许多研究表明,生物质炭对植物生长和土壤微生物具有短期影响<sup>[3]</sup>,而竹炭在土壤中寿命较长,目前,竹炭对植物生长和土壤微生物影响的长期作用研究较少。为此,本文研究施用竹炭一年后种植三

叶草(*Trifolium repens*),添加不同含量和颗粒直径的竹炭对三叶草生长和土壤细菌群落结构及多样性的影响,以探索施用竹炭和种植绿肥综合提高经济林土壤肥力的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料与试验设计

在浙江省临安地区选择养分水平中等的砂质板栗林土壤为供试土壤,颗粒直径  $D < 0.05$  mm 土壤占 44.9%;  $D < 0.01$  mm 土壤占 33.6%;  $D < 0.001$  mm 土壤占 16.0%; 土壤 pH 5.2、电导率 40.37 mS·m<sup>-1</sup>、碱解氮含量 61.60 mg·kg<sup>-1</sup>、有效磷和速效钾含量分别为 0.31 和 81.63 mg·kg<sup>-1</sup>。在板栗林下采集 0~30 cm 表层土壤,风干过 2 mm 钢筛后,充分混匀。

试验设 7 个处理,采用细( $D < 0.05$  mm)、中( $0.05$  mm  $< D < 1.0$  mm)、粗( $1.0$  mm  $< D < 2.0$  mm)3 种粒径,以及 0、3% 和 9% 3 个添加竹炭含量(表 1)。花盆高 22.5 cm、直径 26.5 cm,每盆土壤含水量为 22.5%,土壤湿质量为 3.42 kg。加入竹炭后露天放置 1 年,浇水使土壤保持湿润,以保证土壤微生物正常活动。2012 年 9 月 15 日播种三叶草,置于温室大棚内,定期浇水。在种植三叶草前施用磷肥,使土壤磷含量达到 30 mg·kg<sup>-1</sup>。

播种后 2 个月,每月拍照记录三叶草的生长状况。于 2013 年 1 月 15 日(播种第 120 天)每盆随机取 25 株测量地上部到叶顶部植株高度。于 1 月 30 日(播种第 135 天),利用土钻按五点取样法采集 5~15 cm 土层土壤,将土样装入无菌封口袋,包扎密封,置于冰盒中带回实验室。过 2 mm 土壤筛后,一部分冻干后置于 -40 °C 保存,另一部分用于土壤基本理化性质测定。

### 1.2 测定项目与方法

表 1 不同处理下竹炭用量及颗粒直径

Table 1 Addition rate and particle size of bamboo charcoal in different treatments

处理 Treatment	用量 Addition rate (%)	颗粒直径 Particle size (D, mm)
对照 CK	0	-
I	3	细 Fine ( $D < 0.05$ )
II	3	中 Intermediate ( $0.05 < D < 1.0$ )
III	3	粗 Coarse ( $1.0 < D < 2.0$ )
IV	9	细 Fine ( $D < 0.05$ )
V	9	中 Intermediate ( $0.05 < D < 1.0$ )
VI	9	粗 Coarse ( $1.0 < D < 2.0$ )

**1.2.1 土壤理化性质测定** 土壤 pH 采用酸度计法(土:水=1:5)测定;有效磷含量采用 Bray 法,盐酸-氟化铵溶液浸提,钼锑抗比色法测定;速效钾含量采用乙酸铵浸提,火焰光度计法测定;碱解氮含量采用碱解扩散法测定<sup>[22]</sup>。

**1.2.2 土壤细菌多样性分析** 采用 Power Soil™ Total DNA Isolation Kit 试剂盒(美国 Mo-Bio 公司)提取土壤总 DNA,通过 1% 琼脂糖凝胶电泳辨别 DNA 提取效果,并利用紫外分光光度计(NanoDrop™ ND-1000,波长 230~280 nm,美国)测定所提土壤 DNA 的 OD 值,判断其浓度及纯度后保存于-40℃。

1) 采用 16S rDNA V3 DGGE 法分析土壤细菌群落结构。选用由大连宝生物公司合成的细菌通用引物(338F-GC, 518R)扩增 16S rDNA V3 片段基因,PCR 反应在 Bio-Rad 公司的 PTC-200 上进行,PCR 产物的片段大小为 250 bp 左右。50 μL 反应体系如下:10 × PCR (缓冲液) 5.0 μL, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol · L<sup>-1</sup>) 3.0 μL, dNTP (2.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 1.0 μL, 引物(10 μmol · L<sup>-1</sup>) 各 0.5 μL, Taq DNA 聚合酶(5 U · μL<sup>-1</sup>) 0.2 μL, 模板 DNA 1.0 μL, 用无菌双蒸水补足至 50 μL。反应条件参数:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。取 6 μL PCR 反应产物,用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳,检测产物及其长度。

采用 Dcode™ Universal Mutation Detection System (Bio-Rad) 对 PCR 产物进行变性梯度凝胶电泳。细菌 16S rDNA PCR 产物在聚丙烯酰胺浓度为 8%、变性梯度为 45%~60% 的凝胶上进行电泳,电泳前对 PCR 产物定量、校正,使上样量相同,保证每条泳道的条带能真实准确地反映出原始土壤样品单位质量基因拷贝数的含量。总细菌基因的 PCR 产物电泳的温度、电压和时间参数分别为 60℃、80 V 和 12 h,用 Gelred 染料染色 30 min 后在 Gel Doc™ EQ (Bio-Rad) 凝胶成像系统成像,对 DGGE 图谱进行聚类分析,主要采用 UPGMA 法(unweighted pair-group method using arithmetic averages),一般认为相似值>0.60 的 2 个群体具有较好的相似性。

2) 采用 16S rDNA V3 基因定量方法分析土壤细菌丰度。利用实时 PCR 对土壤 DNA 的 16S rDNA V3 区片段进行分析,利用 SPSS 软件分析 16S rDNA V3 区基因拷贝数。定量所用的标准品为实验室制备的重组质粒,将提取的重组质粒浓度转化为基因拷贝数。将重组质粒以 10 倍梯度稀释 8 个梯度,以稀

释后不同梯度的重组质粒为模板进行定量 PCR,得到标准曲线。实时 PCR 反应的引物均由大连宝生物公司合成(338F, 518R),实时 PCR 反应在定量 PCR 仪 iCycler iQ5 (Bio-Rad, 美国)上进行。反应体系按照 SYBR® Premix Ex Taq™ (TaKaRa, 日本)说明书操作,反应体系(20 μL)如下:SYBR Premix Ex Taq™ 10 μL, 引物(50 μmol · L<sup>-1</sup>) 各 0.2 μL, 模板 1.0 μL, 无菌双蒸水补足至 20 μL。反应条件参数:95℃ 预变性 3 min;95℃ 变性 40 s, 56℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 40 s, 并收集荧光信号,31 个循环。熔点曲线分析温度设于 65~95℃,每隔 0.5℃ 收集荧光信号 0.5 s。

### 1.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析,采用单因素方差分析 Duncan 检验法进行多重比较(α=0.05),图表中数据为平均值±标准差。利用 Quantity One 4.4 软件进行图谱分析,采用 UPGMA 法对 DGGE 图谱进行聚类分析。

使用 Shannon 多样性指数( $H'$ )对土壤细菌群落多样性进行分析<sup>[23]</sup>:

$$H' = - \sum (n_i/N) \ln(n_i/N)$$

式中: $n_i/N$  为 DGGE 图谱中条带的相对吸光强度; $n_i$  为根据迁移率由小到大排列第  $i$  条带的吸光峰值; $N$  为相同泳道内所有条带的吸光峰值之和。

利用稀释后不同梯度的重组质粒为模板进行定量 PCR,得到标准曲线。判断标准曲线的好坏可以从  $R^2$  值以及溶解曲线主峰是否单一,是否有引物峰或主峰以外的杂峰进行判断。样品 DNA 浓度与拷贝数之间的转化公式:

摩尔数  $M = \text{DNA 浓度} (\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}) / (\text{重组质粒片段长度} \times 324.5 \times 2)$

$$\text{Copies} = 6.02 \times 10^{23} \times M$$

## 2 结果与分析

### 2.1 不同竹炭处理对三叶草生长的影响

添加不同含量竹炭对三叶草生长的影响差异显著,播种 0~120 d,添加不同含量竹炭处理三叶草生长状况与对照差异显著,但差异程度随时间推移而缩小。播种 60 d 时,添加竹炭处理三叶草生长状况明显好于对照,添加 9% 竹炭处理略好于添加 3% 竹炭处理(图 1)。播种 120 d 时,对照三叶草株高显著小于添加竹炭处理,添加不同含量和颗粒直径处理下三叶草株高差异不显著,细粒组(处理 I 和处理 IV)略好于中粒组(处理 II 和处理 V)和粗粒组(处理 III 和处理 VI)(图 2)。播种后 5 个月时,不同处理

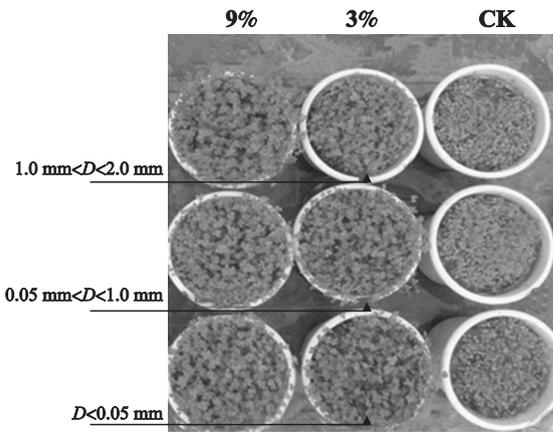


图 1 播种 60 d 不同处理三叶草生长状况

Fig. 1 Growth status of *Trifolium repens* in different treatments at 60 d after sowing.

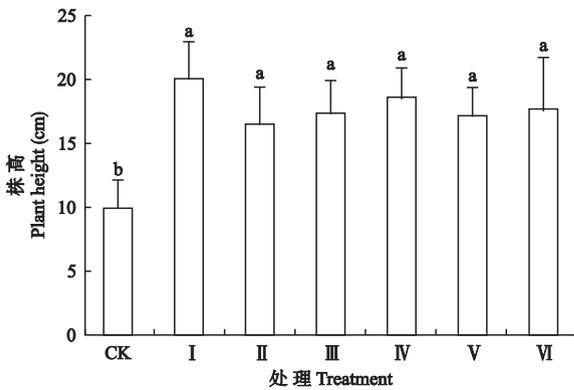


图 2 播种 120 d 不同处理三叶草株高

Fig. 2 Height of *Trifolium repens* in different treatments at 120 d after sowing.

不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters meant significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

三叶草生长状况的差异基本消失。

## 2.2 不同竹炭处理对土壤细菌群落结构的影响

DGGE 具有分离长度相同而序列不同 DNA 片段的能力, 每一个条带大致与群落中的一个优势菌群或操作分类单位 (operational taxonomic unit, OTU) 相对应, 条带数越多说明生物多样性越丰富, 条带染色后的荧光强度反映该细菌的丰富度, 条带信号越亮, 表示该种属的数量越多。应用细菌通用引物 338F-GC 和 518R 对土壤 DNA 进行 16S rDNA V3 区片段的扩增, 均获得片段长度约 250 bp 特异性较强的 16S rRNA 基因 V3 区目标条带。

不同处理均分离到 >40 条电泳条带, 大多数条带是所有处理所共有的, 对照土壤的所有条带亮度均低于添加竹炭处理, 表明对照土壤细菌数量少, 添加竹炭能促进土壤细菌的繁殖。同一处理的 3 个土壤样品条带的相似性较高, 除了处理 I 的 3 个重复

外, 其他处理重复间的相似性较高, 对照条带位置几乎一致, 只是亮度略有差别。添加 9% 竹炭处理 (处理 IV ~ VI) 重复间的一致性好于添加 3% 竹炭的 3 个处理 (处理 I ~ III)。

条带 1、2 只存在于竹炭处理组 (图 3), 是添加竹炭后的特征条带, 但不是优势条带。一致性较好的共性条带为条带 12、16、20、22、23, 其中, 条带 16 的亮度最强, 但对照明显比竹炭处理弱; 其次为条带 20, 对照与竹炭处理的差异不大; 而条带 12、22 和 23 相对较弱, 对照与竹炭处理的差异不明显。条带 3、8、10 是处理 I 的优势条带; 条带 16、18、19 和 21 是处理 II 的优势条带, 条带 21 是处理 IV 和 V 的优势条带。

通过非加权组平均法 (UPGMA) 进行聚类分析, 将 21 个样品归为一类的相似值达 0.61 (图 4), 一般认为相似值 > 0.60 的 2 个群体具有较好的相似性, 说明添加不同含量和粒径的竹炭对土壤细菌群落结构未发生显著影响。同一处理的 3 个样品相邻并首先聚在一组 (处理 I 除外), 说明不同处理土壤细菌结构存在差异, 不同粒径以及不同含量竹炭对细菌群落结构有一定影响。对照与竹炭处理聚在不同大类, 说明对照土壤细菌的群落结构与竹炭处理存在较大差异。竹炭处理的所有土壤样品又可分为 3 大类, 处理 III (包括处理 I 的 4 号) 为第 1 组, 处理 I 和处理 II 为第 2 组, 处理 IV ~ VI 为第 3 组, 说明竹炭加入的比例对细菌的群落结构有一定影响。

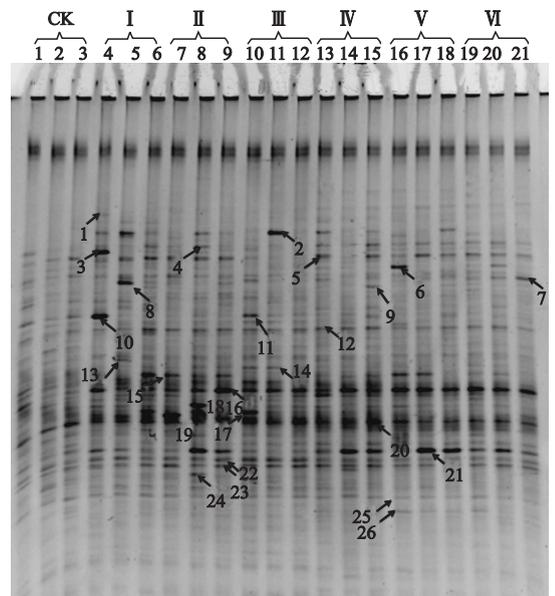


图 3 不同处理土壤细菌 16S rDNA V3 区片段 DGGE 图

Fig. 3 DGGE map of soil bacterial 16S rRNA V3 bands in different treatments.

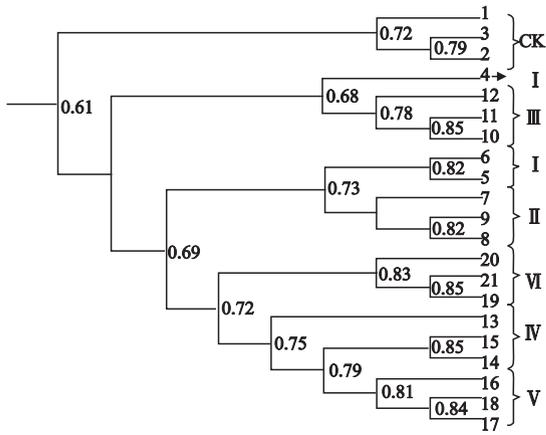


图4 不同处理土壤细菌 16S rDNA V3 条带图谱的聚类图  
Fig. 4 Cluster dendrogram derived from soil bacterial 16S rDNA V3 bands pattern under different treatments.

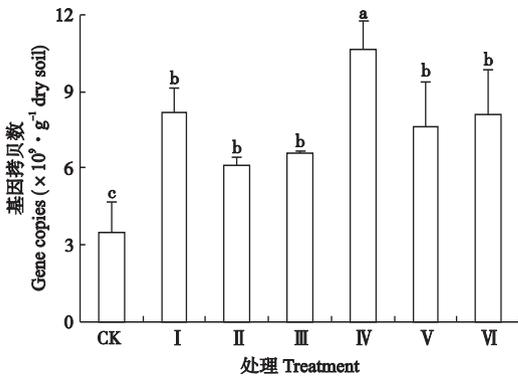


图5 不同处理土壤细菌 16S rDNA V3 基因拷贝数  
Fig. 5 Soil bacterial 16S rDNA V3 gene copies in different treatments.

不同处理土壤细菌 16S rDNA V3 区扩增片段的 DGGE 条带的 Shannon 多样性指数分别为: CK 3.39、I 3.47、II 3.42、III 3.45、IV 3.54、V 3.45、VI 3.46, 其中, 处理 IV 土壤细菌 Shannon 多样性指数显著高于对照。

### 2.3 不同竹炭处理对土壤细菌丰度的影响

由于实时 PCR 绝对定量是建立在模板初始浓度和阈值循环数  $C_t$  (cycle threshold) 值关系的基础上, 因此, 实时 PCR 标准曲线参数可保证样品定量稳定及取得重复性好的试验结果。较理想的实时 PCR 参数具有 3 个特点: 高线性  $R^2 > 0.980$ , 高扩增效率  $E$  为 90% ~ 105%, 斜率  $S \approx -3.32$ , 且重复性好, 说明此标准曲线是合格的<sup>[24]</sup>。本研究中, 标准曲线参数较好, 符合要求 ( $R^2 = 0.995$ ,  $E = 105.5\%$ ,  $S = -3.196$ )。

利用实时 PCR 技术获得各样品细菌 16S rDNA V3 基因起始拷贝数, 换算出每克干土 16S rDNA V3

基因的拷贝数。由图 5 可知, 不同处理土壤 16S rDNA V3 基因拷贝数由高到低依次为: IV > I > VI > V > III > II > CK, 处理组显著高于对照, 且 IV (添加 9% 竹炭) 显著高于其他处理, 粗粒的处理 III 和处理 VI 居中, 粗粒组的平均值略大于中粒组, 但差异不显著。表明竹炭的颗粒直径对土壤细菌数量的影响大于添加竹炭含量的影响, 其中添加细粒效果最好。

## 3 讨论

### 3.1 施用竹炭对三叶草生长的影响

本研究中, 三叶草生长 120 d 之内, 添加竹炭土壤中三叶草生长优于对照, 且添加 9% 竹炭处理略好于添加 3% 竹炭处理, 但这种差异随时间推移而缩小, 5 个月后差异基本消失。原因是早期三叶草根系吸收养分能力较弱, 一方面, 施用竹炭后直接补充植物生长所需的各种养分, 土壤磷和钾含量显著高于对照, 添加竹炭含量越多, 土壤养分越多 (表 2); 另一方面, 添加竹炭提高土壤 pH, 使土壤养分有效性增加。因此, 添加竹炭对植物生长有利。随着三叶草生长, 根系不断发育, 植物生长受土壤养分的制约削弱, 而且三叶草根系的固氮能力不断增强, 对土壤氮素的依赖逐渐下降, 对照和添加 3% 竹炭处理土壤的碱解氮普遍高于添加 9% 竹炭处理, 说明添加过多竹炭对三叶草固氮作用有不良影响。种植 120 d 后, 竹炭处理与对照的三叶草生长差异减弱甚至消失, 原因可能是对照土壤固氮作用好于竹炭处理, 从而抵消了前期生长弱势。傅秋华等<sup>[5]</sup>研究发现, 施用竹炭的土壤, 其理化性能得到改良, 水解氮、有效磷、速效钾、交换性钙和镁等元素含量均明显提高; Novak 等<sup>[25]</sup>研究表明, 土壤中添加 2% 的生物炭, 67 d 后土壤 pH、Ca、K 和 P 含量明显升高。本研究结果与沈信权等<sup>[9]</sup>竹炭对三叶草生长影响的研究结果一致。

### 3.2 施用竹炭对土壤细菌的影响

DGGE 分析显示, 添加竹炭后土壤细菌的条带亮度明显高于对照 (图 3), 细菌群落的多样性指数也高于对照, 但只有处理 IV 与对照之间有显著差异, 说明添加竹炭改变了土壤细菌群落结构特征。原因是竹炭的输入增加了土壤养分 (表 2)、改善土壤通气环境, 竹炭表面巨大, 其吸附的养分和水分对微生物群落生存提供良好的环境, 对于保水、保肥能力差的砂质土壤尤为重要; 同时添加竹炭能提高土壤 pH 值 (表 2), 细菌更适宜生长在微碱性条件下。有研究表明, 氨氧化细菌的丰度与土壤 pH 具有显著

表 2 播种 135 d 土壤基本理化性质

Table 2 Basic soil physical and chemical properties at 135 d after sowing

处理 Treatment	pH	电导率 Conductivity (mS · m <sup>-1</sup> )	碱解氮 Hydrolyzable N (mg · kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available P (mg · kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (mg · kg <sup>-1</sup> )
对照 CK	6.29±0.14b	54.47±10.47a	29.83±1.86a	4.80±0.07d	102.00±0.14c
I	6.59±0.08ab	62.40±9.76a	28.59±2.15a	6.71±0.07cd	314.63±0.06bc
II	6.55±0.06ab	64.83±4.47a	27.35±2.85ab	8.06±0.91bc	346.53±0.04b
III	6.62±0.06ab	54.93±2.40a	28.71±1.29a	8.90±2.40b	299.73±0.08bc
IV	7.02±0.32a	65.70±6.70a	22.12±2.25cd	11.80±0.91a	617.82±0.25a
V	6.85±0.59a	59.23±8.76a	20.51±1.08d	11.23±0.48a	518.03±0.11a
VI	6.97±0.51a	59.50±5.96a	24.24±3.73bc	7.06±1.17cd	550.02±0.22a

同列不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level.

相关性<sup>[26]</sup>; 添加生物质炭可以提高酸性设施土壤 pH 值, 继而增加土壤中氨氧化细菌的丰度<sup>[27]</sup>; 添加生物质炭提高了土壤 pH, 有利于甲烷氧化菌的生长<sup>[11]</sup>. 然而, 相同含量的竹炭或相同粒径的竹炭处理没有明显的特征条带, 添加 9% 竹炭的 3 个处理中条带的一致性较好; 而添加 3% 竹炭的 3 个处理间条带一致性较差, 主要表现在优势条带位置不同, 说明某些微环境有利于个别细菌的生长. 这是因为添加较高含量竹炭后土壤均匀性较高, 土壤细菌在土壤中的分布较均匀. 处理 IV (添加 9% 细粒竹炭) 土壤细菌的多样性指数高于其他竹炭处理, 说明加入较高含量的细粒径竹炭对土壤细菌有较好的促进作用.

竹炭处理显著高于对照, 虽然添加竹炭的 6 个处理中只有处理 IV (添加 9% 细粒竹炭) 显著高于其他添加竹炭处理 (图 3), 但竹炭的颗粒直径对土壤细菌数量的影响大于添加含量, 添加 3% 和 9% 细粒径竹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, 说明加入细颗粒竹炭对土壤细菌的促进作用最好.

#### 参考文献

- [1] Luo Q (罗 强), Yang W-Q (杨万勤), Song G-Y (宋光煜). Capital biological approaches and evaluation indices on forest-soil ecological construction. *World Science R & D* (世界科技研究与发展), 2000 (4): 68 (in Chinese)
- [2] Wang G-W (王高伟), Hu G-Z (胡光洲), Kong Q (孔 倩). Research progress in properties of bamboo charcoal. *Journal of Bamboo Research* (竹子研究汇刊), 2006, **25**(4): 5-8 (in Chinese)
- [3] Marris E. Putting the carbon back: Black is the new green. *Nature*, 2006, **442**: 624-626
- [4] Watanabe M, Miyake K, Fujino T, et al. Study on phosphorus removal in water by using charcoal made from waste materials. *Journal of the Water Environment of Japan*, 2003, **26**: 47-52
- [5] Fu Q-H (傅秋华), Zhang W-B (张文标), Zhang H (张 宏), et al. Bamboo charcoal's effect on the soil characteristics and *Fescue arundinacea* growth. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报), 2004, **21**(2): 159-163 (in Chinese)
- [6] Lehmann J, Joseph S. *Biochar systems*// Lehmann J, ed. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. London: Earthscan, 2009: 147-164
- [7] Thies E, Rilling MC. Characteristics of biochar; Biological properties// Lehmann J, ed. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. London: Earthscan, 2009: 85-102
- [8] Zhong Z-K (钟哲科), Li W-C (李伟成), Liu Y-X (刘玉学), et al. Soil environmental remediation functions of bamboo charcoal. *Journal of Bamboo Research* (竹子研究汇刊), 2009, **28**(3): 5-9 (in Chinese)
- [9] Shen X-Q (沈信权), Xu J-L (徐佳乐), Xu Q-F (徐秋芳), et al. Effect of addition of bamboo charcoal on soil fertility. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology* (浙江林业科技), 2012, **9**(5): 2 (in Chinese)
- [10] Fu B-J (傅伯杰), Chen L-D (陈利顶), Ma K-M (马克明), et al. The effect of land use change on the regional environment in the Yangjuangou catchment in the Loess Plateau of China. *Acta Geographica Sinica* (地理学报), 1999, **54**(3): 241-246 (in Chinese)
- [11] Yang M (杨 敏), Liu Y-X (刘玉学), Sun X (孙雪), et al. Biochar improves methane oxidation activity in rice paddy soil. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2013, **29**(17): 148-149 (in Chinese)
- [12] Feng Y, Xu Y, Yu Y, et al. Mechanisms of biochar decreasing methane emission from Chinese paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, **46**: 80-88
- [13] Steinbeiss S, Gleixner G, Antonietti M, et al. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, **41**: 1301-1310
- [14] Ishii T, Kadoya K. Effects of charcoal as a soil conditioner on citrus growth and VA mycorrhizal development. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 1994, **3**: 529-535
- [15] Matsubara Y, Hasegawa N, Fukui H, et al. Incidence of fusarium root rot in asparagus (*Asparagus officinalis*)

- seedlings infected with arbuscular mycorrhizal fungus as affected by several soil amendments. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 2002, **71**: 370–374
- [16] Zackrisson O, Nilsson MC, Wardle DA, *et al.* Key ecological function of charcoal from wildfire in the boreal forest. *Oikos*, 1996, **77**: 10–19
- [17] Xu T (许涛). Effect of Bamboo Biochar on Carbon-Nitrogen-Phosphorus and Microbial Diversity in Pear Orchard Soil. Master Thesis. Hangzhou: Zhejiang University, 2012 (in Chinese)
- [18] Yoshizawa S. Application of Charcoal Compost Mixture Technology to Big-toilet. Master Thesis. Tokyo: Meisei University, 2008
- [19] Wang J, Pan X, Liu Y, *et al.* Effects of biochar amendment in two soils on greenhouse gas emissions and crop production. *Plant and Soil*, 2012, **360**: 287–298
- [20] Sang Z-Y (桑忠营). Influences of Bamboo Charcoal Amendment on the Adsorption of Glyphosate, Lead and the Microbial Activity in Soils. Master Thesis. Hefei: Agricultural University of Anhui, 2009 (in Chinese)
- [21] Zheke Z. The physical and chemical properties of bamboo charcoal and its application as a soil conditioner. Proceedings of International Agrichar Initiative (IAI) 2007 Conference. New South Wales, Australia, 2007: 36–37
- [22] Lu R-K (鲁如坤). Analytical Methods of Soil and Agrochemistry. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [23] Zhang J-T (张金屯). Quantitative Ecology. Beijing: Science Press, 2004 (in Chinese)
- [24] Gu Q (顾卿), Xu Y-L (许艳丽), Wei W (魏巍), *et al.* The establishment of the real-time PCR system for detecting soil bacteria abundance. *Soil and Crop (土壤与作物)*, 2012, **6**(2): 119–120 (in Chinese)
- [25] Novak JM, Busscher WJ, Laird DL, *et al.* Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science*, 2009, **174**: 105–111
- [26] Ball PN, Mackenzie MD, DeLuca TH, *et al.* Wildfire and charcoal enhance nitrification and ammonium-oxidizing bacterial abundance in dry montane forest soils. *Journal of Environmental Quality*, 2010, **39**: 1243
- [27] Wang X-H (王晓辉), Guo G-X (郭光霞), Zheng R-L (郑瑞伦), *et al.* Effect of biochar on abundance of N-related functional microbial communities in degraded greenhouse soil. *Acta Pedologica Sinica (土壤学报)*, 2013, **50**(3): 205–208 (in Chinese)

---

作者简介 李松昊,男,1988年生,硕士研究生.主要从事土壤生物与生物化学研究. E-mail: lsh880217@gmail.com

责任编辑 孙菊

---