

生物质炭对黄瓜连作土壤中微生物量碳氮及酶活性的影响

张志龙¹ 陈效民^{1*} 曲成闯¹ 陈 粲² 张 俊³ 黄春燕³ 刘云梅³

(¹南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; ²南京信息工程大学应用气象学院, 南京 210044; ³如皋市农业科学研究所, 江苏如皋 226500)

摘 要 本研究旨在探索添加生物质炭对黄瓜连作土壤中微生物量及酶活性的影响, 为减缓土壤连作障碍提供科学依据。本试验设置 CK (不施生物质炭)、C₁ (5 t · hm⁻²)、C₂ (10 t · hm⁻²)、C₃ (20 t · hm⁻²)、C₄ (30 t · hm⁻²) 和 C₅ (40 t · hm⁻²) 共 6 个处理, 采集第三季黄瓜成熟期 0~20 cm 土样, 分析了添加生物质炭对土壤微生物量碳氮及酶活性的影响。结果表明: 土壤微生物量碳氮随生物质炭添加量的增加呈现先增加后降低的趋势; C₂ 处理和 C₃ 处理微生物量碳较 CK 处理分别提高了 70.62% 和 81.09% ($P < 0.01$); 与 CK 处理相比, C₂ 处理和 C₃ 处理的微生物量氮呈极显著增加 ($P < 0.01$); 土壤酶活性也呈现出先增加后降低的趋势; 与 CK 处理相比, C₂、C₃ 和 C₄ 处理的过氧化氢酶活性呈极显著增加 ($P < 0.01$), C₄ 处理脲酶的活性提高了 84.08% ($P < 0.01$), 而碱性磷酸酶活性在 C₃、C₄ 和 C₅ 三个处理中均呈极显著性增加 ($P < 0.01$)。由聚类分析可知, 6 个处理在欧氏距离为 1.01 时可以划分为 4 个类群, 分别是 CK 类、C₁ 类、C₂C₃ 类以及 C₄C₅ 类; 添加生物质炭可以增加土壤微生物的数量, 以减缓连作障碍; 当生物质炭添加水平为 20 t · hm⁻² 时, 微生物量碳氮提高效果最为显著 ($P < 0.01$); 添加水平为 20 t · hm⁻² 时过氧化氢酶活性最高, 30 t · hm⁻² 时脲酶和碱性磷酸酶活性最高。

关键词 生物质炭; 土壤微生物量碳氮; 土壤酶活性; 连作障碍

Effects of biochar addition on soil microbial biomass C, N and enzyme activities in cucumber continuous cropping. ZHANG Zhi-long¹, CHEN Xiao-min^{1*}, QU Cheng-chuang¹, CHEN Can², ZHANG Jun³, HUANG Chun-yan³, LIU Yun-mei³ (¹College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²College of Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China; ³Rugao Institute of Agricultural Sciences, Rugao 226500, Jiangsu, China).

Abstract: The objectives of this work were to clarify the effects of biochar addition on microbial biomass and enzyme activities in continuous cropping soil and to provide scientific basis for alleviating soil continuous cropping obstacles. There were six rates of biochar application (0, 5, 10, 20, 30, and 40 t · hm⁻², designated as CK, C₁, C₂, C₃, C₄ and C₅, respectively). Soil samples from 0 to 20 cm layer were collected in the third season of cucumber ripening to measure soil microbial biomass and enzyme activities. The results showed that microbial biomass C and N increased at first and then decreased with the increases of biochar addition rate. C₂ and C₃ treatments significantly increased microbial biomass C by 70.62% and 81.09% ($P < 0.01$). Meanwhile, significant increases in microbial biomass N were observed in C₂ and C₃ treatments ($P < 0.01$). Soil enzyme activity was increased first and then decreased with increasing biochar application rates. C₂, C₃ and C₄ treatments significantly increased the catalase activity. Meanwhile, C₄

国家重点研发计划项目“耕地地力影响化肥养利用的机制与调控”(2016 YFD 0200305)、土壤与农业可持续发展国家重点实验室项目(Y20160038)和中国博士后基金项目(2016M591884)资助。

收稿日期: 2018-08-03 接受日期: 2019-01-21

* 通讯作者 E-mail: xmchen@njau.edu.cn

treatment significantly increased the urease activity by 84.08%. The alkaline phosphatase activities in C₃, C₄ and C₅ treatments showed significant increases. Results from the cluster analysis revealed that the six treatments could be classified into four distinct groups (CK, C₁, C₂C₃, and C₄C₅) when the Eudidean distance was 1.01. Furthermore, the highest values of microbial biomass C and N, catalase, and urease and alkaline phosphatase activities were obtained when the application rates of biochar were 20, 20, and 30 t · hm⁻², respectively.

Key words: biochar; soil microbial biomass C, N; soil enzyme activity; continuous cropping obstacle.

生物质炭作为一种土壤改良剂已受到人们的广泛关注。生物质炭是由富含碳的生物质在无氧或缺氧条件下经过高温裂解生成的一种具有高度芳香化、富含碳素的黑色多孔固体颗粒物质。它含有碳氢氧氮等丰富的植物营养元素,其中炭的质量分数最高,还具有丰富的孔隙结构、较大的比表面积,且表面含有较多的含氧活性基团,是一种多功能材料(孔丝纺等,2015)。它不仅改良土壤结构、增加土壤肥力、降低土壤盐渍化(宋延静等,2014)、吸附土壤或污水中的重金属及有机污染物,而且对碳氮具有较好的固定作用。生物质炭对土壤生态环境功能具有多方面的积极作用,但其对连作土壤的作用效果还缺乏系统全面的研究。本研究通过向连作土壤中添加生物质炭,经过长期对土壤基本理化性质的监测研究,为生物质炭对大田连作土壤的作用效果提供一些科学依据。

作物连作是在经济和技术快速发展条件下,高产品种单一连续种植以及商品化集约化生产状况下不可避免的农业生产方式。作物连作后土壤粘性增大,降低土壤交换性盐基离子总量和盐基饱和度,促使土壤容重增大,破坏土壤通透性和团粒结构,使土壤保水保肥能力下降,加重土壤酸化和盐渍化(Lithourgidis *et al.*, 2006)。土壤中的微生物活动,使土壤有机碳、氮不断分解并促进腐殖质形成,能改善土壤的结构和通气性,增加土壤中微生物数量缓解土壤连作障碍(郝永娟等,2008)。通常微生物量可以直接用微生物量碳表示,而微生物量氮是土壤中活着和死去微生物体内氮的总和。土壤酶是土壤中一切生化反应的“催化剂”,提高酶活性可以促进土壤全碳、全氮、有效养分含量显著增加,有利于土壤的培肥增产(王树起等,2009)。有研究表明,向土壤中添加生物质炭能够通过其吸附作用促进土壤孔隙中各类反应酶与底物的结合加速酶促反应的发生,从而增加土壤中的酶活性(Bailey *et al.*, 2011),另一方面生物质炭可以通过改善土壤中 pH 和阳离

子交换量从而间接对土壤酶活性产生影响(Lammirato *et al.*, 2011),但是对于真实农田环境下长期施用生物质炭对土壤微生物和土壤酶的作用规律的研究较少,而且由于土壤酶种类繁多,目前开展生物质炭对土壤酶活性研究的酶种类相对较少。因此,本研究将生物质炭添加于黄瓜连作的土壤,比较不同生物质炭添加量对土壤中微生物量碳氮及酶活性的影响,通过分析各指标之间的相关性,探讨生物质炭对连作土壤的改良效果及最佳施用量,为生物质炭的推广应用、生态环境保护、土壤修复和提高作物产量等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验位于江苏省如皋市农业科学研究所推广示范基地(120°28′54.7″E, 32°22′02.7″N),全年平均气温 15.1 °C,全年降水量 1040 mm,光照充足,无霜期长达 212~278 d,属于典型北亚热带季风气候。海拔 2~6 m,地势平坦,利于耕种,试验田土壤类型是灰潮土,表土颜色灰暗,养分含量较高,是苏北地区主要的旱作土壤。土壤基本理化性质为:容重 1.04 g · cm⁻³, pH 6.44,总孔隙度 60.79%,有机碳 17.88 g · kg⁻¹,全氮 1.03 g · kg⁻¹,有效磷 142.12 mg · kg⁻¹。

供试生物质炭是在 500 °C 高温条件下,转化率为 35%的小麦秸秆。其 pH 为 10.65,全氮 10.75 g · kg⁻¹,全磷 2.05 g · kg⁻¹,全钾 37.45 g · kg⁻¹,有机碳 364.72 g · kg⁻¹,灰分 22.44%,容重 0.45 g · cm⁻³,比表面积 8.9 m² · g⁻¹。

供试作物黄瓜,品种是博美 8 号。

1.2 试验设计

试验在 2016 年 9 月 13 日开始,采用随机区组设计,共设计 6 个处理,每个处理 3 次重复,于黄瓜种植前一次施入生物质炭,其用量分别为 CK(不施生物质炭)、C₁(5 t · hm⁻²)、C₂(10 t · hm⁻²)、C₃(20

t · hm⁻²)、C₄(30 t · hm⁻²) 和 C₅(40 t · hm⁻²),以后不再施加生物质炭。试验共分 18 个小区,随机区组排列,每个小区面积 3 m×7 m=21 m²,保护行宽为 1.0 m,小区间排水沟及走道宽均为 0.5 m。

黄瓜每年连作两季,第一季是 3 月下旬至 7 月上旬,第二季是 8 月下旬至 12 月上旬,第一季收获后至第二季种植前不种植作物,处于休闲状态。生物质炭于黄瓜种植前按照试验方案分别施入各小区,并经过人工翻耕与表层土(0~20 cm)充分混合均匀。另外,每季施用复合肥(17-17-17)作基肥,根据当地黄瓜施肥用量,于黄瓜种植前一次施入 187.5 kg · hm⁻²,以后不再施肥。在每季的黄瓜生长 31 d 的苗期时,同一天移栽入大棚各小区内,株距 25 cm,行距 50 cm。在试验期间,按照大棚管理标准进行。

1.3 土壤样品采集和制备

在黄瓜种植第三季的成熟期采样,每个小区采用“S”型路线采样,随机选 5 个点,每个点用开口土钻取 0~20 cm 土壤,5 个点的土壤混合均匀成为一个小区的代表性土样,将重复之间的土样混合均匀成一个处理土样。将一部分鲜土样立即捡去动植物残体以及石块、结核,迅速过 2 mm 筛后放置在 4 ℃ 培养箱密封保存,用于测定土壤中微生物量碳氮;另一部分土样放置塑料布上摊薄,置于室内通风阴干,土样半干时,将大土块捏碎。待完全风干后,捡去动植物残体以及石块、结核,倒入钢玻璃底的木盘上,用木棍研细,使之全部通过 2 mm 孔径的筛子。充分混合均匀后分成两份,一份用作土壤物理性质的分析,另一部分用作化学性质的分析,用作化学分析的土样在研钵中磨细使之全部通过 100 目筛子,所有土样均保存在广口瓶中备用并置于干燥阴凉处。

1.4 分析项目及方法

土壤理化性状的测定方法
土壤容重、土壤孔隙度采用环刀法(中国科学

院南京土壤研究所土壤物理研究室,1978)。
土壤化学性质测定参照鲍士旦(1999)的方法,pH 采用电导法,全氮采用半微量开氏法,速效磷采用 0.5 mol · L⁻¹ NaHCO₃法。
微生物量碳氮的测定方法
土壤中微生物量碳(MBC)采用熏蒸提取-容量分析法测定(吴金水,2006),计算公式为:
 $B_C(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}) = E_C / K_{EC}$
式中, E_C 为熏蒸土与未熏蒸土壤的差值; K_{EC} 为转换系数,取值 0.38。
土壤中微生物量氮(MBN)采用熏蒸提取-全氮测定法测定(吴金水,2006),计算公式为:
 $B_N(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}) = E_N / K_{EN}$
式中, E_N 为熏蒸土与未熏蒸土壤的差值; K_{EN} 为转换系数,取值 0.45。
土壤中酶活性测定方法
参照关松荫(1986)和吴金水(2006)等的方法,均以烘干土重为基础计算(105 ℃,8 h)。脲酶采用淀粉蓝比色法,过氧化氢酶(CAT)采用高锰酸钾滴定法,碱性磷酸酶(ALP)采用磷酸苯二钠比色法。

院南京土壤研究所土壤物理研究室,1978)。
土壤化学性质测定参照鲍士旦(1999)的方法,pH 采用电导法,全氮采用半微量开氏法,速效磷采用 0.5 mol · L⁻¹ NaHCO₃法。
微生物量碳氮的测定方法
土壤中微生物量碳(MBC)采用熏蒸提取-容量分析法测定(吴金水,2006),计算公式为:
 $B_C(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}) = E_C / K_{EC}$
式中, E_C 为熏蒸土与未熏蒸土壤的差值; K_{EC} 为转换系数,取值 0.38。
土壤中微生物量氮(MBN)采用熏蒸提取-全氮测定法测定(吴金水,2006),计算公式为:
 $B_N(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}) = E_N / K_{EN}$
式中, E_N 为熏蒸土与未熏蒸土壤的差值; K_{EN} 为转换系数,取值 0.45。
土壤中酶活性测定方法
参照关松荫(1986)和吴金水(2006)等的方法,均以烘干土重为基础计算(105 ℃,8 h)。脲酶采用淀粉蓝比色法,过氧化氢酶(CAT)采用高锰酸钾滴定法,碱性磷酸酶(ALP)采用磷酸苯二钠比色法。

1.5 数据分析
采用 Excel 2003 和 SPSS 19.0 软件对试验数据进行统计分析和作图。采用单因素方差分析对不同生物质炭施用量的连作土壤理化性状、微生物量碳氮以及土壤酶活性的影响。采用 Duncan 法进行多重比较,显著性水平设为 0.05。用 Pearson 相关系数分析土壤微生物量碳氮和土壤理化性状及土壤酶活性的相关性,用聚类分析将 6 个处理进行分类。

2 结果与分析
2.1 添加生物质炭对连作土壤理化性质的影响
由表 1 可知,向黄瓜连作土壤添加生物质炭对土壤理化性质有一定的影响,随着生物质炭添加量提高,土壤容重呈现下降趋势,土壤孔隙度呈上升趋势。

表 1 不同生物质炭添加量对连作黄瓜土壤理化性状的影响

Table 1 Effect of biochar addition on physical and chemical properties of continuous cropping cucumber soil					
处理	容重(g · cm ⁻³)	总孔隙度(%)	pH	全氮(g · kg ⁻¹)	速效磷(mg · kg ⁻¹)
CK	1.25±0.03 a	52.91±1.11 c	7.06±0.02 d	1.56±0.07 d	79.06±9.11 d
C ₁	1.19±0.02 b	55.12±0.86 b	7.11±0.04 ed	1.69±0.10 d	107.76±10.29 c
C ₂	1.17±0.02 b	55.73±0.74 b	7.14±0.02 bc	2.25±0.05 c	129.20±2.74 b
C ₃	1.13±0.02 c	57.55±0.72 a	7.23±0.04 a	2.59±0.06 a	130.14±15.04 b
C ₄	1.09±0.02 c	59.03±0.85 a	7.19±0.04 ab	2.43±0.07 b	152.22±6.75 a
C ₅	1.08±0.03 c	59.15±1.06 a	7.12±0.03 c	2.30±0.09 bc	102.98±12.45 c

势,土壤 pH、全氮、速效磷均呈先增高后降低的趋势。与 CK 处理的容重相比,C₁、C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 处理分别比之降低了 4.73%、6.01%、9.86%、12.98% 和 12.98%,均达到显著水平($P<0.05$),而土壤孔隙度的各处理之间的多重比较结果与土壤容重一致,C₁、C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 处理分别提高了 4.19%、5.34%、8.77%、11.57%、11.81%;与对照组相比,各处理土壤中的 pH、全氮和速效磷增幅分别为 0.75%~2.41%、8.19%~65.45%、30.25%~96.33%。因此,向土壤中添加生物质炭可以改善土壤理化性质。

2.2 生物质炭对黄瓜连作土壤微生物量碳氮的影响

2.2.1 添加生物质炭对连作土壤微生物量碳的影响 由图 1 可以看出,第三季黄瓜成熟期不同生物质炭添加水平的土壤微生物量碳总体上呈现先增加后降低的趋势。其中 CK 处理的土壤微生物量碳最低,为 $83.84\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,C₁、C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 处理分别为 128.10、143.05、151.83、101.83 和 $85.14\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

添加生物质炭处理的土壤微生物量碳皆高于 CK 处理,尤其是 C₃ 处理中微生物量碳最高,C₁、C₂ 和 C₃ 处理中微生物量碳呈上升趋势,其中 C₃ 处理和 C₂ 处理较之 CK 处理微生物量碳分别增加了 81.09% 和 70.62%,效果达到极显著水平($P<0.01$);而 C₃、C₄、C₅ 处理中土壤微生物量碳增加量呈下降趋势,其中 C₄、C₅ 处理较之 CK 处理仅增加了 21.46% 和 1.55%。

随着生物质炭添加水平的递增,C₃ 处理中微生物量碳峰值出现,但 C₄、C₅ 处理的微生物量碳却均少于 C₁ 处理,且比 C₃ 处理分别降低了 32.93% 和 43.92%。

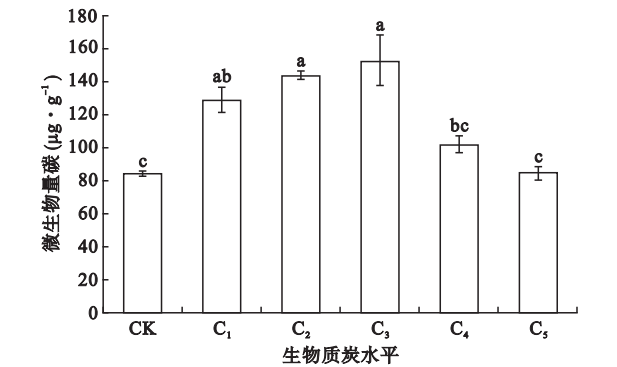


图 1 不同生物质炭添加量对连作黄瓜土壤微生物量碳的影响

Fig.1 Effect of biochar addition on microbial biomass C in continuous cropping cucumber soil

2.2.2 添加生物质炭对连作土壤微生物量氮的影响 由图 2 可知,黄瓜第三季成熟期不同生物质炭添加水平的土壤微生物量氮总体上呈现先增加后降低的趋势。其中,CK 处理中微生物量氮最低,只有 $9.52\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,而 C₁、C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 处理分别为 14.60、24.85、30.65、17.11 和 $15.98\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

生物质炭处理的土壤微生物量氮皆高于 CK 处理,尤其是 C₃ 处理中微生物量氮较之 CK 增加了 221.95%,达到极显著水平($P<0.01$)。随着 C₁ 和 C₂ 处理生物质炭水平递增,微生物量氮也呈现上升趋势,与 CK 处理相比分别增加了 53.36% 和 161.03%,达到显著水平($P<0.05$)。C₄ 和 C₅ 处理微生物量氮较之 CK 处理分别增加了 79.73% 和 67.86%,达到显著水平($P<0.05$)。

在各处理中,虽然 C₁ 至 C₅ 处理施加的生物质炭量递增,但是土壤微生物量氮却没有持续增加,而是在 C₃ 处理后降低,C₄ 和 C₅ 处理微生物量氮较 C₃ 处理分别降低了 44.18% 和 47.86%。

2.2.3 添加生物质炭对连作土壤微生物量碳氮比的影响 由图 3 可知,CK、C₁、C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 各处理微生物量碳氮比分别为 9.01、8.92、5.76、4.95、6.29 和 5.38。随着添加生物质炭量的增加,微生物量碳氮比总体呈现凹型曲线,与 C₂、C₃、C₄ 和 C₅ 处理相比,CK 和 C₁ 处理的微生物量碳氮比达到显著水平($P<0.05$)。C₃ 处理碳氮比最低,较之 CK 处理降低了 45.11%,比 C₁ 处理降低了 44.51%。C₄ 和 C₅ 处理比 C₃ 处理的碳氮比分别提高了 27.09% 和 8.83%。微生物量碳代表了土壤微生物量,微生物量氮代表了土壤供氮能力,而碳氮比越低,则表明土壤中氮素生物有效性越高,因此微生物量碳氮比变化趋势与

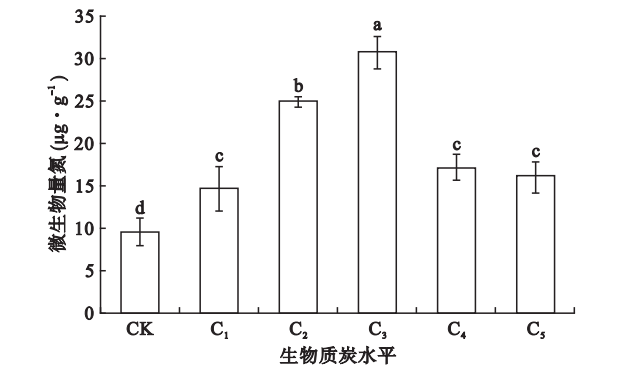


图 2 不同生物质炭添加量对连作黄瓜土壤微生物量氮的影响

Fig.2 Effect of biochar addition on microbial biomass N in continuous cropping cucumber soil

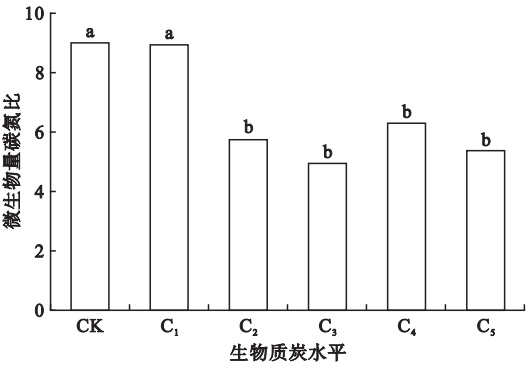


图 3 不同生物质炭添加量对黄瓜连作土壤微生物量碳氮比的影响

Fig.3 Effect of biochar addition on microbial biomass C/N in continuous cropping cucumber soil

微生物量碳氮的变化趋势基本呈现互补状态,这也证实了 C₃ 处理对微生物量碳氮的提升效果最好。

2.3 添加生物质炭对连作土壤酶活性的影响

由表 2 可知,随着生物质炭添加量的提高,三季黄瓜连作各处理土壤中过氧化氢酶、脲酶和碱性磷酸酶活性均呈现先增加后降低的趋势,所有添加生物质炭处理的过氧化氢酶、脲酶和碱性磷酸酶活性均高于 CK 对照处理。C₁、C₄ 和 C₅ 处理的过氧化氢酶活性与 CK 相比分别增加了 5.3%、12.77% 和 8.1%,C₃ 和 C₂ 处理中过氧化氢酶活性比 CK 处理的分别提高了 17.25% 和 13.33%,均达到了显著水平 ($P<0.05$)。对于土壤脲酶活性,C₃ 和 C₅ 处理比 CK 处理中脲酶活性分别提高了 57.32% 和 61.78%,C₄ 处理比 CK 处理提高了 84.07%。C₃、C₄ 和 C₅ 处理的土壤碱性磷酸酶活性与 CK 相比均达极显著水平 ($P<0.01$),分别增加了 48.24%、69.50% 和 53.70%,C₁ 和 C₂ 处理与 CK 处理相比过氧化氢酶活性分别提高了 20.59% 和 22.70%。3 种酶活性的变化趋势与微生物量碳氮的变化趋势相吻合,分析 6 种处理的

表 2 不同生物质炭添加量对黄瓜连作土壤酶活性的影响
Table 2 Effect of biochar addition on enzyme activities in continuous cropping cucumber soil

处理	过氧化氢酶 ($\text{mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$)	脲 酶 ($\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)	碱性磷酸酶 ($\mu\text{mol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)
CK	8.93±0.15 b	15.69±0.89 d	11.73±1.48 c
C ₁	9.40±0.25 ab	20.28±1.40 c	14.14±1.58 b
C ₂	10.12±0.31 a	22.38±1.12 c	14.39±1.32 b
C ₃	10.47±0.39 a	24.71±1.14 b	17.38±1.28 a
C ₄	10.07±0.29 ab	28.87±1.07 a	19.88±1.18 a
C ₅	9.65±0.25 ab	25.37±1.95 b	18.02±1.25 a

土壤中 3 种酶活性结果表明,C₄ 处理效果最佳。

2.4 微生物量碳氮与土壤理化性质及酶活性的相关性分析

由表 3 可知,土壤理化性质及酶活性与微生物量碳氮之间具有一定的相关性,过氧化氢酶、脲酶、碱性磷酸酶、容重、pH、全氮、速效磷与微生物量碳呈正相关,孔隙度与微生物量碳呈负相关。过氧化氢酶与微生物量氮呈极显著正相关($r = 0.919^{**}$),pH 与微生物量氮呈显著正相关($r = 0.822^{*}$),脲酶、碱性磷酸酶、孔隙度、全氮、速效磷与微生物量氮呈正相关,容重与微生物量氮呈负相关。而其余土壤性质各指标之间也存在比较紧密的相关性,微生物量碳和微生物量氮呈显著正相关关系($r = 0.841^{*}$)。过氧化氢酶与 pH、全氮呈现极显著正相关($r = 0.946^{**}$, $r = 0.927^{**}$),与速效磷呈显著正相关($r = 0.852^{*}$);脲酶与过氧化氢酶、孔隙度呈极显著正相关($r = 0.978^{**}$, $r = 0.958^{**}$),与全氮、速效磷呈显著正相关($r = 0.869^{*}$, $r = 0.839^{*}$),而与脲酶呈极显著负相关($r = -0.958^{**}$);碱性磷酸酶与孔隙度呈极显著正相关($r = 0.973^{**}$),与全氮呈显著正相关($r = 0.832^{*}$),而与容重呈极显著负相关($r = -0.973^{**}$);容重与孔隙度呈极显著负相关($r = -1.000^{**}$),与全氮呈显著负相关($r = -0.836^{*}$);全氮与孔隙度呈显著正相关($r = 0.836^{*}$);全氮、速效磷与 pH 呈显著正相关($r = 0.889^{*}$, $r = 0.870^{*}$)。

2.5 对添加生物质炭后 6 个处理的聚类分析

为了研究第三季连作黄瓜的土壤中微生物量碳氮与酶活性的关系,将 6 种处理进行了聚类分析(图 4),在欧氏距离为 1.01 时可以划分为 4 个类群。

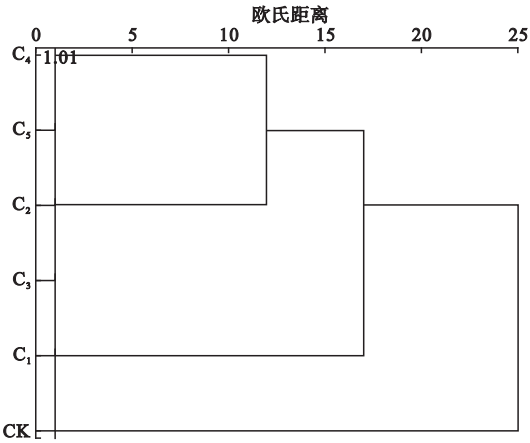


图 4 6 个处理的聚类分析
Fig.4 Cluster analysis of six treatments

表 3 微生物量碳氮与土壤理化性质及酶活性的相关性
Table 3 Correlation between microbial biomass C, N and soil physical and chemical properties and enzyme activities

	MBC	MBN	CAT	脲酶	ALP	容重	孔隙度	pH	全氮	速效磷
MBC	1									
MBN	0.841 *	1								
CAT	0.687	0.919 * *	1							
脲酶	0.134	0.454	0.753	1						
ALP	0.008	0.364	0.666	0.978 * *	1					
容重	0.005	-0.377	-0.649	-0.958 * *	-0.973 * *	1				
孔隙度	-0.005	0.377	0.649	0.958 * *	0.973 * *	-1.000 * *	1			
pH	0.607	0.822 *	0.946 * *	0.784	0.745	-0.670	0.670	1		
全氮	0.380	0.778	0.927 * *	0.869 *	0.832 *	-0.836 *	0.836 *	0.889 *	1	
速效磷	0.488	0.614	0.852 *	0.839 *	0.741	-0.656	0.656	0.870 *	0.778	1

* *: 在置信度(双侧)为 0.01 时,相关性是显著的。* : 在置信度(双侧)为 0.05 时,相关性是显著的。

第一类是 CK 处理,土壤中微生物量碳氮较低,分别是 83.84 和 9.52 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,微生物量碳氮比为 9.01,土壤中碱性磷酸酶、脲酶和过氧化氢酶的活性分别是 11.73 $\mu\text{mol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 、15.69 $\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 和 8.93 $\text{mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$ 。此处理组没有添加生物质炭,所测各指标数值普遍较低,可以为其他处理组提供基准值。

第二类是 C₁处理,微生物量碳氮比 CK 对照组明显提高,分别是 128.10 和 14.60 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,而碳氮比降为 8.92,土壤中酶活性也有了明显的提高,3 种酶活性分别是 14.14 $\mu\text{mol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 、20.28 $\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 、9.40 $\text{mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$ 。

第三类是 C₂和 C₃处理,这类处理对于土壤中微生物量碳氮的提高效果最显著($P<0.05$),与 CK 处理相比提高了 70.62%~81.09%和 161.03%~221.95%,碳氮比降至 4.95~5.96,3 种酶活性提升效果也比较显著($P<0.05$),提升范围分别是 22.70%~48.24%、42.68%~57.32%、13.33%~17.25%。

第四类是 C₄和 C₅处理,这类处理对于土壤三种酶活性提高比较显著($P<0.05$),与 CK 处理相比分别提高了 53.70%~69.50%、61.78%~84.07%和 8.1%~12.77%。对于土壤中微生物量碳氮的作用效果分别提高了 1.55%~21.46%和 67.86%~79.73%。

3 讨 论

3.1 添加生物质炭对连作土壤微生物量碳氮的影响

土壤微生物量的变化是土壤微生物对添加生物质炭影响的重要指标(陈心想等,2014;Galvez *et al.*, 2014)。添加生物质炭可以明显增加土壤微生物量

碳氮含量(黄剑,2012;陶朋闯等,2015;尚杰等,2016)。本试验中,向黄瓜连作土壤中添加生物质炭也达到了同样的效果,原因是生物质炭具有高度芳香化的核心结构、不同羧基和酚的富氧结构外层(Lehmann *et al.*, 2005)以及巨大的表面积和多孔特性,这些特殊的微观结构和宏观结构使得生物质炭在提高土壤团聚性(Brodowski *et al.*, 2006)、增强对土壤水分和土壤离子的吸附能力(Chen *et al.*, 2009)、增加土壤持水性能(Chen *et al.*, 2008)和养分有效性(Deluca *et al.*, 2008)等方面具有巨大的作用,进而为微生物提供了良好的栖息生态环境。此外,生物质炭本身含有的矿质养分(Brewer *et al.*, 2008;Novak *et al.*, 2009;Lee *et al.*, 2010)以及高吸附特性所固定的养分在土壤中缓慢释放(Steiner *et al.*, 2007)为微生物生长提供了持久的养分,促使微生物的生长繁殖,提高土壤中微生物量。而微生物量的增加,又可以加速土壤中有机的分解,促进腐殖质形成,吸收和固定并释放养分,进而改善连作土壤理化性状和降低土壤盐渍化,缓解土壤连作障碍(周丽霞等,2007)。本研究结果表明,随着生物质炭添加水平的提高,黄瓜连作土壤中微生物量碳氮呈现先增加后降低的趋势,这可能是由于生物质炭富含性质稳定的非活性有机碳,直接提高了土壤中 TOC 含量(尚杰等,2015),降低了可被微生物利用的活性碳(Lichtfouse *et al.*, 2010)比值,导致微生物量降低。李玖龄(2016)的研究也表明过量的生物质炭会使得土壤环境中碳氮比过高,导致微生物代谢不平衡,抑制了其活动。

土壤微生物量碳氮比的高低能够反映土壤的供氮能力,当碳氮比较低时,反映出土壤氮素具有较高的生物有效性,提高了土壤氮素的利用效率(吴金

水,2006)。本研究发现,添加生物质炭可以降低土壤中微生物量的碳氮比,其变化趋势随着生物质炭添加量的增加呈现出“凹型”的变化,与微生物量碳氮曲线呈现出互补状态,原因是土壤中添加了过量的生物质炭,使可被微生物直接利用的活性氮比值降低,导致微生物量碳氮比升高。陶朋闯等(2016)使用生物质炭和氮肥配施的方法解决了土壤氮源不足的问题,使得微生物量碳氮比降低,也证实了这一结论。土壤中的微生物碳氮比一般规律是真菌>放线菌>细菌,而且在熟化程度高且肥力好的土壤中,细菌所占比例较高(周丽霞等,2007),更反映出生物质炭在添加量为 $20 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时更加有利于细菌的生长,其所占的比重增加,从而导致碳氮比下降,也从侧面证实了添加生物质炭可以促进土壤的熟化,改善土壤理化性状和生态环境条件,缓解土壤的连作障碍。

3.2 添加生物质炭对连作土壤酶活性的影响

土壤中酶活性能反映土壤中营养元素转化能力及土壤生物活性的变化,可用于衡量土壤的健康状况,是土壤环境监测的敏感指标(赵玉涛等,2008;苏洁琼等,2014)。土壤酶对生态环境变化十分敏感,与土壤 pH、有机质和盐含量等有关,且与土壤微生物量碳氮具有显著关系(张学鹏等,2016;周东兴等,2018)。本研究中,施用生物质炭处理后的土壤酶活性均明显高于 CK 组,随着生物质炭添加量的增加,土壤中酶活性呈现出先增加后降低的趋势,这与韩召强等(2017)的研究基本一致。土壤中脲酶能催化尿素水解成铵,其活性高低能反映土壤供氮能力;过氧化氢酶能水解过氧化氢,其活性高低能反映土壤微生物氧化过程的强弱;碱性磷酸酶可以催化有机磷分解释放正磷酸盐,这是生物可利用磷的重要补充途径,其酶活性的高低能反映土壤磷素的水平。由于土壤中的生物和生物化学过程受控于酶的活性,因此这些酶活性的指标都直接或间接地反映出土壤中微生物量状况,对于微生物量碳氮和酶活性的相关性分析也证实了其具有正相关性关系。土壤中的酶主要集中在土壤微团聚体中,生物质炭含有丰富的有机碳、氮、磷和钾等营养物质,且有机碳还能改善土壤孔隙度、通气性和团粒结构(贾曼莉等,2014),随着生物质炭添加量的增加,土壤中营养物质显著增加,土壤物理性状得到极大改善,连作土壤的盐渍化也得到了有效缓解,因此土壤中酶活性随之增强(李凤霞等,2012)。C₄和 C₅处理

的过氧化氢酶活性低于 C₃处理,是因为随着生物质炭的进一步增加,其较稳定和较低密度的结构会降低土壤中的微团聚体含量(韩召强等,2017),减少了酶的作用载体,因此土壤中酶活性反而会下降,而 C₄、C₅处理的脲酶和碱性磷酸酶高于 C₃处理,是因为 C₃处理所添加的生物质炭量未达到两种酶活性的最适水平,因而随着生物质炭的进一步添加,这两种酶活性会进一步提高。

本研究只调查了黄瓜连作第三季的试验,在连作时间方面可能存在着连作年限不足的问题,并且对改良之后的土壤所种作物的养分利用率方面缺乏系统研究,这些问题将通过进一步的试验来解决。利用生物质炭对连作土壤的改良效果,研究农业生产中对化肥的减施也是一个很有价值的研究方向。

4 结 论

添加生物质炭能提高连作土壤微生物量碳氮以及酶活性,当施用水平为 $20 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时,微生物量碳氮提高效果最显著。在 $20 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理时过氧化氢酶活性最高, $30 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时脲酶和碱性磷酸酶性最高。由聚类分析可知,6 个处理在欧氏距离为 1.01 时可以划分为 4 个类群,分别是 CK 类、C₁类、C₂C₃类以及 C₄C₅类。综上所述,添加生物质炭能缓解土壤连作障碍, $20 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的施用量效果最好。

参考文献

- 鲍士旦. 1999. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社: 30-34.
- 陈心想, 耿增超, 王 森, 等. 2014. 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, **33**(4): 751-758.
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法. 北京: 中国农业出版社: 271-319.
- 韩召强, 陈效民, 曲成闯, 等. 2017. 生物质炭施用对潮土理化性状、酶活性及黄瓜产量的影响. 水土保持学报, **31**(6): 272-278.
- 郝永娟, 魏 军, 刘春艳, 等. 2008. 生物土壤添加剂减轻黄瓜连作障碍的微生物效应// 中国植物病理学会 2008 年学术年会论文集: 231-234.
- 黄 剑. 2012. 生物炭对土壤中微生物量及土壤酶的影响研究(硕士学位论文). 北京: 中国农业科学院.
- 贾曼莉, 郭 宏, 李会科. 2014. 渭北生草果园土壤有机碳矿化及其与土壤中酶活性的关系. 环境科学, **35**(7): 2777-2784.
- 孔丝纺, 姚兴成, 张江勇, 等. 2015. 生物质炭的特性及其应用的研究进展. 生态环境学报, **24**(4): 716-723.
- 李凤霞, 王学琴, 郭永忠, 等. 2012. 银川平原不同类型盐渍

- 化土壤酶活性及其与土壤养分间相关分析研究. 干旱区资源与环境, **26**(7): 121–126.
- 李玖龄. 2016. 基于信号分子 AHLs 检测的微氧废水处理系统脱氮机制研究(硕士学位论文). 哈尔滨: 哈尔滨工业大学.
- 尚杰, 耿增超, 陈心想, 等. 2015. 施用生物炭对旱作农田土壤有机碳、氮及其组分的影响. 农业环境科学学报, **34**(3): 509–517.
- 尚杰, 耿增超, 王月玲, 等. 2016. 施用生物炭对(土娄)土微生物量碳、氮及酶活性的影响. 中国农业科学, **49**(6): 1142–1151.
- 宋延静, 龚骏, 张晓黎. 2014. 添加生物质炭对滨海盐碱土固氮菌丰度及群落结构的影响. 生态学杂志, **33**(8): 2168–2175.
- 苏洁琼, 李新荣, 鲍婧婷. 2014. 施氮对荒漠化草原土壤理化性质及酶活性的影响. 应用生态学报, **25**(3): 664–670.
- 陶朋闯, 陈效民, 靳泽文, 等. 2016. 生物质炭与氮肥配施对旱地红壤微生物量碳、氮和碳氮比的影响. 水土保持学报, **30**(1): 231–235.
- 王树起, 韩晓增, 乔云发, 等. 2009. 不同土地利用和施肥方式对土壤酶活性及相关肥力因子的影响. 植物营养与肥料学报, **15**(6): 1311–1316.
- 吴金水. 2006. 土壤微生物量测定方法及其应用. 北京: 气象出版社.
- 张学鹏, 曹玉博, 宁堂原, 等. 2016. 套作糯玉米对西兰花连作田土壤微生物量及酶活性的影响. 生态学杂志, **35**(1): 149–157.
- 赵玉涛, 李雪峰, 韩士杰, 等. 2008. 不同氮沉降水平下两种林型的主要土壤中酶活性. 应用生态学报, **19**(12): 2769–2773.
- 中国科学院南京土壤研究所土壤物理研究室. 1978. 土壤物理性质测定法. 北京: 科学出版社.
- 周东兴, 李磊, 李晶, 等. 2018. 玉米/大豆轮作下不同施肥处理对土壤微生物生物量及酶活性的影响. 生态学杂志, **37**(6): 1856–1864.
- 周丽霞, 丁明懋. 2007. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用. 生物多样性, **2**(2): 162–171.
- Bailey VL, Fansler SJ, Smith JL, *et al.* 2011. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology & Biochemistry*, **43**: 296–301.
- Brewer CE, Schmidt K, Satrio JA, *et al.* 2008. Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, **28**: 386–396.
- Brodowski S, John B, Flessa H, *et al.* 2006. Aggregate-occluded black carbon in soil. *European Journal of Soil Science*, **57**: 539–546.
- Chen BL, Zhou DD, Zhu LZ, *et al.* 2008. Transitional adsorption and partition of nonpolar and polar aromatic contaminants by biochars of pine needles with different pyrolytic temperatures. *Environmental Science Technology*, **42**: 5137–5143.
- Chen H, Yao J, Wang F, *et al.* 2009. Study on the toxic effects of diphenol compounds on soil microbial activity by a combination of methods. *Journal of Hazardous Materials*, **167**: 846–851.
- Deluca TH, Aplet GH. 2008. Charcoal and carbon storage in forest soils of the Rocky Mountain West. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **6**: 18–24.
- Galvez A, Sinicco T, Cayuela ML, *et al.* 2014. Short term effects of bioenergy by-products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **160**: 3–14.
- Lamirato C, Miltner A, Kaestner M. 2011. Effects of wood char and activated carbon on the hydrolysis of cellobiose by β -glucosidase from *Aspergillus niger*. *Soil Biology & Biochemistry*, **43**: 1936–1942.
- Lee JW, Kidder M, Evans BR, *et al.* 2010. Characterization of biochars produced from cornstovers for soil amendment. *Environmental Science and Technology*, **44**: 7970–7974.
- Lehmann J, Liang B, Solomon D, *et al.* 2005. Near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) spectroscopy for mapping nano-scale distribution of organic carbon forms in soil: Application to black carbon particles. *Global Biogeochemical Cycles*, **19**: 1–12.
- Lithourgidis AS, Damalas CA, Gagianas AA. 2006. Long-term yield patterns for continuous winter wheat cropping in northern Greece. *European Journal of Agronomy*, **25**: 208–214.
- Novak JM, Busscher WJ, Laird DL, *et al.* 2009. Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science*, **174**: 105–112.
- Steiner C, Teixeira WG, Lehmann J, *et al.* 2007. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. *Plant and Soil*, **291**: 275–290.

作者简介 张志龙,男,1992年生,硕士,主要从事水土资源利用研究。E-mail: 1124586863@qq.com
责任编辑 李凤芹
