

张 晟, 张徐洁, 赵 远, 等. 不同温度制备的水稻秸秆生物炭对稻田土壤固碳减排及微生物群落结构的影响[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 1102-1111.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.05.015

不同温度制备的水稻秸秆生物炭对稻田土壤固碳减排及微生物群落结构的影响

张 晟¹, 张徐洁¹, 赵 远¹, 张玉虎², 胡 茜¹, 荆玉林², 符 菁¹

(1. 常州大学环境与安全工程学院, 江苏 常州 213016; 2. 首都师范大学资源环境与旅游学院, 北京 100048)

摘要: 通过田间水稻培养试验, 采用静态箱-气相色谱法和高通量测序技术, 研究了不同温度条件下制备的生物炭施用对稻田作物产量及土壤中 CO_2 、 CH_4 、 N_2O 排放通量以及累积排放量的影响, 以及对土壤微生物群落结构的影响。试验设置 4 个处理: 对照(CK)、施用 300 °C 制备的生物炭(DY-300)、施用 500 °C 制备的生物炭(DY-500)、施用 700 °C 制备的生物炭(DY-700)。结果表明, 与对照相比, 各生物炭处理 CH_4 、 N_2O 累积排放量削减, 生物炭的施入优化了土壤微生物群落结构。DY-300、DY-500、DY-700 处理中, CH_4 累积排放量抑制率分别为 39.2%、49.1% 和 24.0%, N_2O 累积排放量抑制率分别为 30.0%、39.8% 和 13.1%, Chao1 指数增幅为 2.5%~29.8%。而生物炭施用对 CO_2 排放的抑制作用不明显。总之, 500 °C 制备的生物炭抑制温室气体排放的效果最佳, 700 °C 制备的生物炭具有对微生物群落结构的优化作用以及稻田作物的增产作用。

关键词: 生物炭; 固碳减排; 高通量测序技术; 静态箱-气相色谱法; 排放通量; 微生物多样性

中图分类号: S181 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2019)05-1102-10

Effects of rice straw biochar prepared at different pyrolysis temperatures on carbon sequestration and mitigation and microbial community structure in paddy soil

ZHANG Sheng¹, ZHANG Xu-jie¹, ZHAO Yuan¹, ZHANG Yu-hu², HU Qian¹, JING Yu-lin², FU Jing¹

(1. School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213016, China; 2. College of Resource Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

Abstract: A field experiment with paddy soils was conducted using static chamber-gas chromatography and high throughput sequencing technology to investigate effects of biocarbon preparation on crop yield, carbon dioxide (CO_2), methane (CH_4), nitrous oxide (N_2O) emissions and accumulated emissions in different fields under different temperature conditions. Moreover, the analysis of soil microbial diversity by biochar was discussed. The field experiment included four

treatments as following, control group (CK), adding pyrolyzed biochar at 300 °C (DY-300), adding pyrolyzed biochar at 500 °C (DY-500), adding pyrolyzed biochar at 700 °C (DY-700). Results showed that compared with the control group, the cumulative emissions of CH_4 and N_2O were significantly reduced under biochar treatments. Simultaneously, the microbial community structure was opti-

收稿日期: 2018-12-12

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAC02B02-01); 常州市科技支撑计划(社会发展)项目(CE20175060)

作者简介: 张 晟(1976-), 男, 江苏常州人, 博士, 高级工程师, 主要从事土壤修复工程及工业水处理技术研究。(E-mail) zhangsheng@cczu.edu.cn

通讯作者: 赵 远, (E-mail) zhaoyuan@cczu.edu.cn

mized by the application of biochar. In the experimental group of DY-300, DY-500 and DY-700, CH₄ cumulative emission inhibition rate was 39.2%, 49.1% and 24.0%, and the N₂O cumulative emission inhibition rate was 30.0%, 39.8% and 13.1%, and Chao1 index increased by 2.5%–29.8%. However, the inhibitory effect of biochar on CO₂ emission was not obvious. In conclusion, the biochar prepared at 500 °C has the best effect on the inhibition of greenhouse gases. The biochar prepared at 700 °C has the best effect on the diversity of microbial community structure and the yield increase of paddy crops.

Key words: biochar; carbon sequestration and mitigation; high throughput sequencing technology; static chamber-gas chromatography; emission flux; microbiological diversity

农业生态系统产生的温室气体是全球生态系统中温室气体重要排放源^[1]。其中,甲烷(CH₄)、二氧化碳(CO₂)、氧化亚氮(N₂O)是水稻田生态系统中3种重要的温室气体^[2-3]。因人类活动引起的这3种气体排放中13.5%来自于农业生态系统^[4]。2016年度,中国水稻种植面积为3.014×10⁷ hm²,占粮食种植面积的26.7%,水稻田生态系统是中国最为广泛的人工湿地生态系统^[5]。中国每年农业产生的秸秆量大约为8×10⁸ t,其中水稻类秸秆产量位居第一^[6-7]。中国大力推广秸秆还田技术,不仅有效地避免了温室气体的排放,颗粒物的产生,还减缓了土壤肥力流失^[8-11]。但是,仍然存在随意处置,甚至焚烧秸秆的现象^[12]。

生物炭是将秸秆原料在人为控制的厌氧或无氧环境下进行高温炭化裂解,生成含有少量芳香环分子的高碳黑色固体物^[13]。炭化后秸秆生物炭具有多孔隙、高碳氮比的特性^[14]。秸秆生物炭的制备温度、施加量等对土壤的固碳减排具有不同的效应^[15]。生物炭施加量显著影响土壤的比质量、有机碳含量、孔隙度等理化性质,从而改变作物增产的潜力^[16]。李亚森等研究发现土壤施用1.5~15.0

t/hm²花生壳炭,可有效降低土壤的呼吸速率,但如果施加过多反而会增加土壤的呼吸速率^[17]。施用定量生物炭会提高土壤孔隙,增加土壤O₂,抑制厌氧反硝化过程,从而抑制N₂O和N₂排放^[18]。Singh等^[19]研究认为生物炭对土壤N₂O排放不产生影响。叶丹丹等^[20]则认为土壤中施用生物炭后,N₂O排放量高于对照土壤。总之,生物炭施用量及其制备温度影响土壤温室气体的排放。为此,本研究通过水稻田间试验,明确不同温度制备的水稻秸秆生物炭对田间CH₄、CO₂、N₂O排放以及土壤微生物群落结构的影响。

1 材料与方法

1.1 试验地与试验材料

试验地位于江苏省镇江市丹阳市(119°35′54.43″E,31°52′10.27″N),属于长江流域典型农业灌溉管理区,试验时间为2017年6月–11月。该地区年平均气温14.9 °C,日照时间2 089.6 h,无霜期224 d,雨日123 d,降水量1 066.9 mm^[21]。种植农作物为水稻武运粳(晚稻),生育期6月至11月初^[22]。水稻田土壤(0~30.0 cm)基本理化性质见表1。

表1 试验田土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the original soil in the test field

土层(cm)	有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	碱解氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	容质量(g/cm ³)	pH值
0~20.0	23.61	1.19	158.15	35.41	84.68	1.09	5.83
20.1~30.0	23.31	1.24	166.31	34.99	83.31	1.30	5.41

水稻秸秆生物炭制备方法:①将收割的水稻秸秆自然风干;②将风干后的水稻秸秆切割成段;③将其放入多功能粉碎机(转速:30 000 r/min),分成4步粉碎(时间:30 s、30 s、90 s、30 s);④将粉碎后的秸秆过100目筛,装入30 ml的坩埚中压实;⑤坩埚放入马弗

炉中,在300 °C、500 °C、700 °C条件下炭化120 min^[23]。炭化后得到3种秸秆生物炭,将300 °C、500 °C、700 °C条件下制备的生物炭分别标注为DY-300、DY-500、DY-700,生物炭的理化性质见表2。本试验使用的秸秆生物炭均未经过活化,直接施入土壤中。

表 2 不同温度下制备的秸秆生物炭的理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of straw biochar prepared at different temperatures

生物炭	灰分(%)	挥发分(%)	固定碳(%)	比表面积(m ² /g)	pH 值	平均孔径(nm)
300 ℃ 生物炭(DY-300)	25.8±1.6	37.6±1.8	36.57±2.31	5.81±1.93	9.5±0.4	5.25±0.28
500 ℃ 生物炭(DY-500)	30.3±0.8	21.5±0.2	48.26±3.04	6.40±2.09	12.3±0.4	9.06±0.33
700 ℃ 生物炭(DY-700)	33.7±2.1	12.8±3.0	53.44±2.77	184.83±4.33	12.8±0.5	4.71±0.30

1.2 试验设计

试验为田间小区试验,前茬作物为小麦。采用随机区组设计,设置施用生物炭 DY-300、DY-500、DY-700 和不施用生物炭对照 4 个处理,生物炭施用量为 1 kg/m²,每个处理设置 3 个重复,共 12 个区组,每个区组 20 m²。各区组施肥时间和施用量以及其他田间管理措施均一致。6 月上旬播种,7 月上旬施用生物炭,7 月中旬移栽,分蘖期采集土壤样品和气体样品,8 月中旬采集气体样品,抽穗期采集土壤样品和气体样品,9 月中旬采集气体样品,成熟期采集土壤样品、气体样品并记录水稻产量。气体样品收集于铝箔气样袋中,土壤样品密封保存在 4 ℃ 恒温冰箱和 -80 ℃ 超低温冰箱中。

1.3 土壤 CO₂、CH₄和 N₂O 排放通量测定

CO₂、CH₄和 N₂O 气体监测采用静态箱-气相色谱法^[24]。采样箱顶箱为 50 cm×50 cm×50 cm 灰色有机玻璃构成的正方体(底面镂空),采样箱连接箱为 50 cm×50 cm×50 cm 灰色有机玻璃构成的正方体(上、下面镂空),采样箱底座在灌水期间水平安放在距离田埂 1 m 处。为防止水稻生长对气体采样的影响,在箱内种植的水稻数均为 9 穴。每次采样时,在底座和连接箱的水平槽中注水密封,箱体外部用反光隔热布包裹,防止在采样期间箱内温度变化剧烈^[2]。气体采样时间控制在 9:00 开始,每次时间偏差为 5 min,单个样方采集 4 个气样,每个气样采集间隔为 10 min。

依据箱内气体浓度变化率计算土壤温室气体排放通量^[25],计算公式如下:

$$F = \rho \times \frac{V}{A} \times \frac{d_c}{d_i} \times \frac{T_0}{T_0 + T}$$

式中, F 为温室气体通量 [mg/(m²·h) 或 μg/(m²·h)], ρ 为标准状态下温室气体质量浓度 (kg/m³), V 为静态箱体积(m³), A 为静态箱水平面积(m²), $\frac{d_c}{d_i}$ 为温室气体排放速率[ml/(m³·h)], T 为

采样箱内气体温度(℃); T_0 为 0 ℃ 对应的热力学温度值。

依据排放通量计算土壤温室气体累积排放通量^[26],计算公式如下:

$$CE = \sum_{i=1}^n \left(\frac{F_i + F_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i+1} - t_i) \times 24$$

式中, CE 为气体累积排放量 (mg/m²), F 为气体排放通量 [mg/(m²·h)], i 为第 i 次气体采样, $t_{i+1}-t_i$ 为 2 个相邻测定日期的间隔(d), n 为累积排放量观测时间内总测定次数。

1.4 土壤理化性质测定及微生物高通量测序

1.4.1 土壤样品采集 由于试验田面积较小并且形状规整,因此采样方法选用对角线法。每个小区设置 5 个采样点,每个采样点取 0~20 cm 土层的土壤样品 200 g 左右,混匀,分别装入 2 个无菌密封袋,分别保存在 4 ℃ 和 -80 ℃ 冰箱待用。

1.4.2 土壤理化性质测定 有机质含量测定采用浓硫酸-重铬酸钾外加热法,碱解氮含量测定采用碱解扩散法,有效磷含量测定采用碳酸氢钠提取钼锑抗比色法。

1.4.3 Illumina 高通量测序分析 利用土壤 DNA 试剂盒 (PowerSoil © DNA Isolation kit) 提取土壤 DNA,并对提取的 DNA 样品用超微量核酸测定仪测定其浓度与 DNA 质量。PCR 采用 Kapa Biosystem KE2501;KAPA HiFi 热启动 DNA 聚合酶,操作步骤按照 PCR 仪 (ABI GeneAmp © 9700 型) 提供的试验流程进行。按指定测序区域 16S V4 区,合成特异引物,上游引物为 5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3',下游引物为 5'-TACNVGGGTATCTAATCC-3'。

1.5 水稻产量测定

每个小区随机取具有代表性的 10 株水稻,单独收获,地上部分晒干后,稻穗进行脱粒,测定产量。风干后,测量株高、结实率、空瘪数、穗粒数和千粒质量。

1.6 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2016、SPSS 23.0 和 Origin 9.3 等软件进行数据处理和制图。不同处理间差异显著性用 LSD 和 Duncan's 进行检验分析,并进行 Pearson 相关性分析,采用 R 软件进行 NMDS 分析。

2 结果与分析

2.1 不同制备温度生物炭施用下水稻产量与土壤理化特征

生物炭施用下水稻产量大小顺序为 DY-700 处理>DY-500 处理>DY-300 处理>对照(表 3)。DY-300 处理与对照的株高和结实率无显著差异。DY-700 处理的水稻株高显著高于 DY-500 处理($P<0.05$),而两者结实率无显著性差异。施用生物炭条

件下水稻的千粒质量显著高于对照($P<0.05$),水稻千粒质量与产量呈极显著正相关关系($r=0.971$, $P<0.01$)。

生物炭施用下稻田土壤的有机质、碱解氮、有效磷含量均显著高于对照($P<0.05$)(表 4)。稻田基肥施用后,7 月 28 日对照的碱解氮、有效磷升高。7 月 28 日至 8 月 28 日,气温逐渐升高,土壤呼吸作用加强,有机碳转化为无机碳,土壤有机质含量下降;8 月 28 日至 10 月 12 日,气温下降,土壤呼吸作用减弱、植物腐败,植物有机碳逐渐转化为土壤有机碳,有机质含量升高。对照中,土壤碱解氮随时间增加呈现逐渐降低的趋势,而施用生物炭的土壤碱解氮普遍呈升高趋势,说明生物炭的施用使得土壤碱解氮含量维持在较高水平。

表 3 不同温度制备的生物炭施用下水稻产量

Table 3 Rice yield under application of biochar prepared at different temperatures

处理	产量 (kg/hm ²)	株高 (cm)	结实率 (%)	千粒质量 (g)
对照	7 350.76	69.40±4.66b	75.38±8.04b	19.649±0.648d
DY-300	9 200.01	68.26±4.10b	77.47±8.39b	21.928±0.244c
DY-500	10 173.97	71.86±5.05b	83.63±5.75a	23.115±0.253b
DY-700	10 654.73	78.32±4.06a	84.93±2.47a	24.111±0.337a

DY-300、DY-500、DY-700 分别为在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。同一列中不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

表 4 不同时期生物炭施用下土壤理化性质

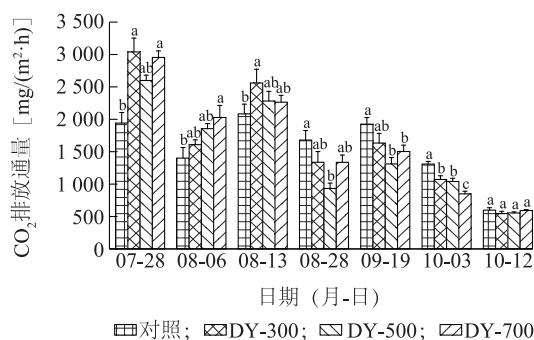
Table 4 Physical and chemical properties of soil under biochar application in different periods

采样日期 (月-日)	处理	有机质含量 (g/kg)	碱解氮含量 (mg/kg)	有效磷含量 (mg/kg)
07-28	对照	23.12±0.12i	246.08±6.13e	91.75±1.42c
	DY-300	25.40±0.09e	273.55±11.83d	114.13±3.39b
	DY-500	26.95±0.14b	293.64±5.22c	118.58±4.64b
	DY-700	28.08±0.10a	294.43±8.48c	126.55±2.91a
08-28	对照	20.47±0.17k	204.57±5.00 f	60.99±4.25f
	DY-300	23.10±0.19i	266.03±8.07d	70.09±3.17e
	DY-500	24.42±0.26g	298.00±6.47bc	82.25±3.83d
	DY-700	24.95±0.72f	306.38±3.01a	82.06±3.23d
10-12	对照	22.19±0.20j	177.29±3.14g	44.79±0.84h
	DY-300	24.14±0.17h	255.02±3.16e	53.40±2.57g
	DY-500	25.86±0.12d	304.74±5.41ab	63.62±2.82f
	DY-700	26.21±0.21c	302.99±5.15bc	72.35±1.32e

DY-300、DY-500、DY-700 分别为在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。同一列中不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同制备温度生物炭施用下土壤 CO₂、CH₄和 N₂O 排放通量

在整个水稻生育期内,各处理土壤 CO₂排放通量变化趋势一致,均为先降低,后升高,然后再缓慢降低(图1)。不同时期各处理和对照之间 CO₂排放通量存在差异。生物炭施入土壤的初期(7月28日),对照、DY-300处理、DY-500处理和DY-700处理的 CO₂排放量分别为 1 941.72 mg/(m²·h)、3 039.57 mg/(m²·h)、2 599.20 mg/(m²·h)和 2 954.38 mg/(m²·h)。生物炭多孔和富含有机质的特性,使土壤的孔隙度和有机质含量增加,致使微生物的呼吸作用加强。在DY-300、DY-500和DY-700处理中,CO₂排放通量明显高于对照,CO₂排放促进率为 33.9%~56.5%。随着微生物反应和生物炭矿化作用,经过生物炭处理的土壤 CO₂排放的优势趋于显著。水稻生长中期(8月28日),生物炭的优良性状,促使DY-300、DY-500和DY-700处理 CO₂排放通量低于对照,其排放通量分别为 1 336.84 mg/(m²·h)、933.23 mg/(m²·h)、1 335.48 mg/(m²·h)和 1 679.83 mg/(m²·h),CO₂排放抑制率为 20.4%~44.4%。水稻生长后期(10月12日),由于生物炭作用逐渐减弱,土壤中 CO₂的排放通量在对照与DY-300、DY-500和DY-700处理间差异性减小,其排放通量维持在 544.66~597.80 mg/(m²·h)。



DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。同一时期不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

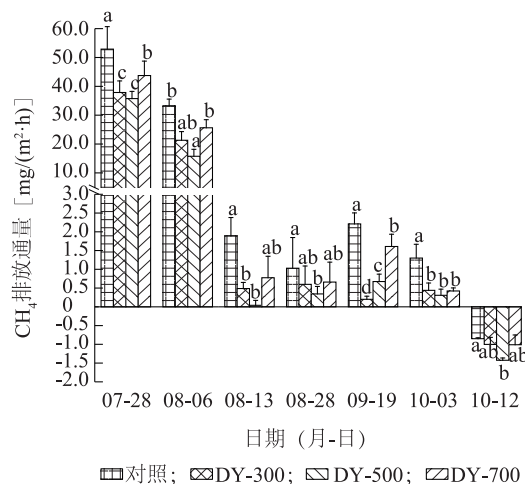
图1 生物炭施用下不同时期土壤 CO₂排放通量

Fig.1 CO₂ emission fluxes of soil under biochar application at different stages

各生物炭处理在水稻生长周期内土壤 CH₄排放通量变化趋势基本一致,呈先降低,后升高,然后再缓慢降低至负排放的规律(图2)。影响土壤中 CH₄

排放的关键因素是土壤通透性。水稻生长初期,土壤长期淹水,产甲烷古菌生命活动加剧,活性增强,大量释放 CH₄气体,同时土壤 pH 下降,使得土壤 pH 小于 6^[27];水稻生长后期,开始退水晒田,田间覆水减少,土壤通透性增强,土壤的氧化电位升高,产甲烷古菌的生命活动受到抑制,CH₄排放量减少。

不同生物炭处理间 CH₄排放通量差异明显,CH₄排放规律(除 9月19日外)为对照>DY-700处理>DY-300处理>DY-500处理。不同时期生物炭对 CH₄排放抑制作用不同。水稻生长初期,对照、DY-300、DY-500和DY-700处理 CH₄排放通量分别为 52.90 mg/(m²·h)、37.87 mg/(m²·h)、35.75 mg/(m²·h)和 43.73 mg/(m²·h),CH₄排放抑制率为 17.3%~32.4%,由于农田淹水,生物炭对 CH₄排放的抑制率较低;水稻生长中期,农田退水后,CH₄排放通量急剧下降,排放通量为 0.34~1.03 mg/(m²·h),抑制率为 35.9%~66.6%,说明生物炭对 CH₄的抑制作用受农田覆水情况影响;水稻生长后期,CH₄排放抑制率为 66.2%~76.4%,生物炭的抑制能力上升。



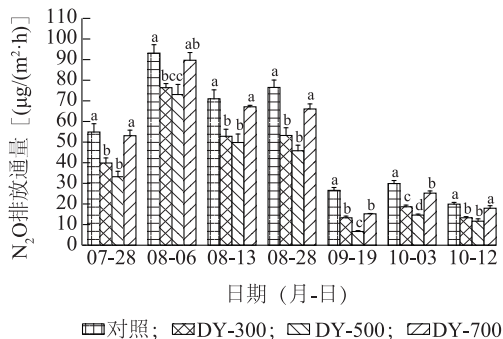
DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。同一时期不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图2 生物炭施用下不同时期土壤 CH₄排放通量

Fig.2 CH₄ emission fluxes of soil under biochar application at different stages

N₂O 排放的关键影响因子为施肥机制,其排放规律与 CH₄和 CO₂不同,排放的峰值出现在施肥后 2~10 d(图3)。在水稻生育期内,各试验组 N₂O 排

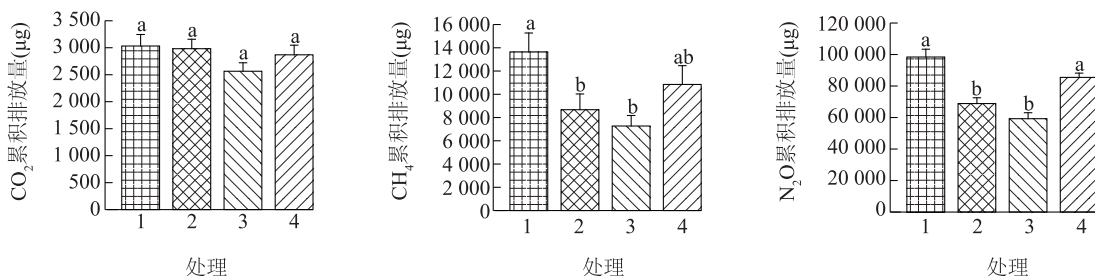
放规律基本一致,都是先升高,在8月6日左右达到排放峰值后再缓慢降低。在施肥后出现 N_2O 排放峰值, N_2O 排放通量大小顺序为对照>DY-700 处理>DY-300 处理>DY-500 处理,分别为 $93.16 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 、 $89.70 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 、 $76.41 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 和 $73.06 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 。水稻生长全周期内, N_2O 的排放规律为对照>DY-700 处理>DY-300 处理>DY-500 处理,500 $^{\circ}C$ 生物炭处理的 N_2O 排放通量最少。水稻生长后期, N_2O 排放通量减少,对照、DY-300、DY-500、DY-700 处理排放通量分别为 $19.93 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 、 $13.29 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 、 $11.65 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 和 $17.93 \mu g/(m^2 \cdot h)$ 。生物炭在水稻全生长期均对 N_2O 的排放具有抑制作用,其抑制率为 3.7%~75.0%,抑制率最高的时期在9月19日左右,DY-300、DY-500 和 DY-700 处理抑制率分别为 50.0%、75.0%和 42.7%。500 $^{\circ}C$ 制备的生物炭对 N_2O 排放具有良好的抑制作用。



DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 $^{\circ}C$ 、500 $^{\circ}C$ 、700 $^{\circ}C$ 条件下制备的生物炭。同一时期不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图3 生物炭施用下不同时期土壤 N_2O 排放通量

Fig.3 N_2O emission fluxes of soil under biochar application at different stages



1:对照;2: DY-300;3: DY-500;4: DY-700。DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 $^{\circ}C$ 、500 $^{\circ}C$ 、700 $^{\circ}C$ 条件下制备的生物炭。不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图4 生物炭施用下稻田土壤温室气体累积排放量

Fig.4 Accumulated emissions of greenhouse gases in paddy soils under biochar application

2.3 不同制备温度生物炭施用下土壤 CO_2 、 CH_4 和 N_2O 累积排放量

由图4可知, CO_2 累积排放量在生物炭处理与对照之间差异不显著,对照累积排放量为 3 032.20 g, DY-300、DY-500、DY-700 处理累积排放量分别为 2 956.18 g、2 567.57 g 和 2 846.54 g,施用生物炭对水稻生育期内土壤 CO_2 排放的抑制不明显,抑制率分别为 2.5%、15.3%和 6.1%。不同处理 CH_4 累积排放量大小顺序为对照>DY-700 处理>DY-300 处理>DY-500 处理, N_2O 累积排放量顺序为对照>DY-700 处理>DY-300 处理>DY-500 处理,各处理 CH_4 和 N_2O 累积排放量大小趋势基本一致。生物炭处理水稻 CH_4 累积排放量是对照的 50.9%~76.0%,生物炭处理水稻 N_2O 累积排放量是对照的 60.2%~86.9%,施用生物炭对稻田 CH_4 和 N_2O 排放具有显著抑制作用。在整个水稻生长季节稻田 N_2O 累积排放量较为微弱, CO_2 累积排放最为强烈, CH_4 排放主要集中在水稻生长的前、中期。

2.4 不同制备温度生物炭施用下土壤微生物多样性和丰富度

土壤微生物丰富度 Chao1 指数比较结果(表5)显示, DY-300、DY-500 和 DY-700 处理 Chao1 指数均显著高于对照,但是不同时期生物炭处理 Chao1 指数变化不同。7月28日、8月28日和10月12日 Chao1 指数大小顺序为 DY-700 处理>DY-500 处理>DY-300 处理>对照。水稻生长初期,Chao1 指数 DY-300、DY-500 和 DY-700 处理比对照分别高 19.0%、21.2%和 23.5%;水稻生长中期,各处理比对照分别高 24.8%、29.8%和 27.7%;水稻生长后期,各处理与对照差异减小,仅比对照分别高 2.5%、5.2%和 6.0%。

表 5 生物炭施用下不同时期土壤微生物丰富度指数

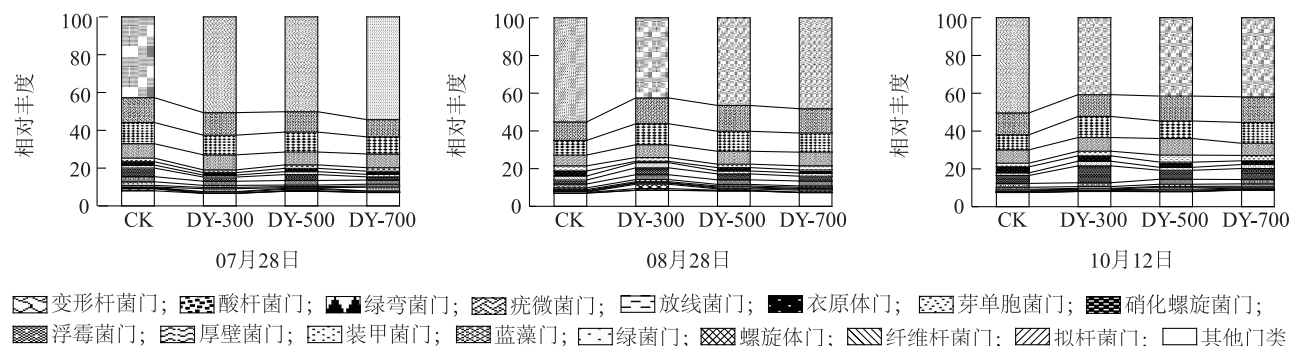
Table 5 Soil microbial richness index under biochar application at different stages

采样时间 (月-日)	处理	丰富度指数		
		Richness	Shannon	Chao1
07-28	对照	35 747±161cd	12.16±0.14bc	60 410±696e
	DY-300	36 670±80bc	12.50±0.18abc	71 857±1 035abc
	DY-500	37 596±626b	12.70±0.77ab	73 233±4 440abc
	DY-700	38 678±203a	12.82±0.41a	74 601±2 386a
08-28	对照	31 526±537g	12.16±0.38bc	54 789±1 712f
	DY-300	33 444±366f	12.26±0.29abc	68 386±1 618d
	DY-500	34 245±567ef	12.30±0.28abc	71 100±1 619bcd
	DY-700	35 567±568d	12.36±0.15abc	72 990±886abc
10-12	对照	33 905±446ef	11.96±0.16c	70 530±944cd
	DY-300	34 563±469e	12.13±0.13bc	72 302±775abc
	DY-500	34 846±1 283de	12.37±0.16abc	74 190±960ab
	DY-700	38 534±307a	12.52±0.11abc	74 774±657a

DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。同一列中不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

对 16S rDNA 序列测序中已知门类的各种 OTU 相对比例进行相对丰度分析,将未知门类以及相对丰度低于 0.5% 的归类为 Other 组(图 5)。从图 5 中可知,不同生物炭处理后微生物门类中变形菌门(Proteobacteria)为田间土壤微生物细菌界中的主导门类,其相对丰度值为 40.7%~55.2%,其次为酸杆菌门(Acidobacteria),绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度为 7.7%~11.2%。硝化螺旋菌门(Nitrospirae)作为硝化细菌的大类,可将亚硝酸盐氧化成硝酸盐,是土壤中氮循环的重要成员,相对丰度值范围为 1.7%~8.9%,水稻生长前期硝化螺旋菌门丰度大小顺序为 DY-500 处理>DY-300 处理>DY-700 处理>

对照,水稻生长中期相对丰度大小顺序为对照>DY-300 处理>DY-700 处理>DY-500 处理,水稻生长后期相对丰度大小顺序为 DY-300 处理>DY-700 处理>DY-500 处理>对照。此外还有变形菌门(Proteobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)和疣微菌门(Verrucomicrobia),水稻生长后期硝化螺旋菌门的 Phylum 水平相对丰度明显高于前、中期。生物炭施用后水稻田间土壤微生物群落结构发生改变,其中施用生物炭处理水稻中、后期土壤微生物中变形菌门的主导作用减弱。

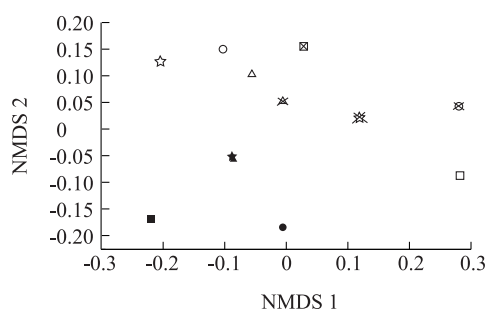


DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 ℃、500 ℃、700 ℃ 条件下制备的生物炭。

图 5 生物炭施用下不同时期土壤微生物相对丰度

Fig.5 Relative abundance of soil microbes at different stages under biochar application

从微生物属类 (Genus) 水平进行 12 个微生物 DNA 样本的非度量多维尺度分析 (NMDS), 筛选剔除聚类单元 (OTU) 值低于 1 的 OTU 后, 得到 9 594 个 OTU 进行 NMDS 分析 (图 6)。样方距离大小表示样方间微生物群落结构的相似程度, 距离越近相似程度越高。水稻生长前期 DNA 样方集聚与其他样方有明显差异, DY-500 处理和 DY-700 处理微生物样方相似度高, 这 2 个微生物样方与 DY-300 处理和对照都有差异且差异性不同。对照样方和 DY-300 样方具有差异, 说明水稻生长前期生物炭的施用对土壤微生物群落结构产生影响。水稻生长中期 DNA 样方与水稻生长前期样方相比, 对照与 DY-300、DY-500 和 DY-700 处理的差异增大, 施用生物炭对土壤微生物群落结构影响程度大小顺序为 DY-700 处理 > DY-300 处理 > DY-500 处理。水稻生长后期生物炭处理 DNA 样方与对照样方的相似度大小顺序为 DY-500 处理 > DY-700 处理 > DY-300 处理。说明施用生物炭对土壤微生物群落结构产生影响, 其中在水稻生长中期对微生物群落结构的影响最大。



■ 对照, 生长前期; □ 对照, 生长中期; ● 对照, 生长后期;
○ DY-300, 生长前期; △ DY-300, 生长中期; × DY-300, 生长后期;
▲ DY-500, 生长前期; ☆ DY-500, 生长中期; ★ DY-500, 生长后期;
★ DY-700, 生长前期; ☆ DY-700, 生长中期; × DY-700, 生长后期

DY-300、DY-500、DY-700 分别为施用在 300 °C、500 °C、700 °C 条件下制备的生物炭。

图 6 生物炭施用下不同土壤微生物样方间 NMDS 分析

Fig.6 Analysis of NMDS in different soil microbial samples under biochar application

3 讨论

3.1 施用不同制备温度生物炭对稻田 CO₂、CH₄ 和 N₂O 排放的影响

稻田中 CO₂ 排放主要是由土壤中微生物的呼吸作用以及水稻生长过程中的呼吸作用产生, 施用生

物炭并不能减弱植物的呼吸作用也无法遏制微生物的新陈代谢, 在一定程度上, 施用生物炭会促进土壤微生物的呼吸作用^[28]。试验中施用生物炭, 水稻生长前期, CO₂ 排放量增加了 33.9%~56.4%, 这种现象发生在生物炭施用后 30 d, 之后生物炭的施用并未促进 CO₂ 气体的排放, 这与其他报道中生物炭的施用会造成短期内 CO₂ 快速释放的研究结果一致^[29]。这是由于生物炭施入土壤中短时间内给土壤提供了大量有机质和提高了土壤孔隙率, 从而提高了土壤微生物活性和水稻作物根系的呼吸作用, 这可能是导致 CO₂ 短期内快速排放的重要原因。纵观水稻生长全周期, 施用生物炭处理的 CO₂ 排放反而降低了, 因此与土壤中固定的炭相比, 水稻生长前期 CO₂ 的排放量是微小的^[30]。在施用生物炭处理中, CO₂ 累积排放量均低于对照, 其中 500 °C 下制备的生物炭处理中 CO₂ 排放量最少。

稻田中 CH₄ 排放由产生甲烷气、氧化甲烷和迁移甲烷至大气 3 步完成。本试验中施用生物炭后土壤 CH₄ 排放量明显低于未施用生物炭对照, 不同种类生物炭对于 CH₄ 排放的抑制程度大小顺序为 500 °C 生物炭 > 300 °C 生物炭 > 700 °C 生物炭。生物炭具有高孔隙度和高氧化还原电位, 可以有效遏制产甲烷古菌的生物活性, 减少甲烷气产生。CH₄ 氧化过程能消耗掉稻田土壤 CH₄ 总量的 50%~90%, 主要发生在 2 个氧气较富足的根际土壤界面和水土界面区域, 主要由甲烷氧化菌和氨氧化菌完成其氧化过程^[31]。产甲烷古菌通常为厌氧菌, pH 在 6.8~7.2 时最适宜生存^[32]。试验中通过施用生物炭, 改变了土壤的通气性、pH 和氧化还原电位, 从而降低了 CH₄ 的产生。土壤中 N、P、K 等元素含量也会对 CH₄ 排放造成一定的影响, 生物炭施用使土壤 NH₄⁺-N 含量上升, NH₄⁺ 浓度增大, 而 NH₄⁺ 能促进甲烷氧化菌的生长和甲烷氧化, 从而导致 CH₄ 排放减少^[33]。

N₂O 的产生和排放是一个复杂多变的过程, 土壤的水肥控制、生物炭施用、土壤性质等条件都会对 N₂O 排放产生影响, 影响的关键因子是微生物。微生物进行的主要生命活动为硝化作用、反硝化作用、硝态氮异化还原成铵作用 (DNRA) 及化学反硝化^[34]。施用生物炭对 N₂O 排放具有抑制作用。有研究表明, 生物炭可以通过影响土壤中微生物数量的变化进而影响土壤 N₂O 的排放^[35]。本试验

中 N_2O 的排放规律为对照>DY-700 处理>DY-300 处理>DY-500 处理,生物炭施入土壤后在水稻全周期发挥着良好的抑制作用,同时,生物炭处理的种群丰度明显高于对照。在试验期内,对照 N_2O 排放量明显高于生物炭处理,其中以 500 °C 生物炭处理 N_2O 排放量最低。黄益宗等认为生物炭腐解能产生化感物质,可明显阻遏土壤 N_2O 的释放^[36]。500 °C 制备的生物炭孔径为 9.06 nm,在 3 种生物炭中孔径最大,适合硝化菌、反硝化菌在微孔中生长繁殖,从而减少 N_2O 排放。

3.2 施用不同制备温度生物炭对微生物多样性的影响

在常规施肥的基础上添加生物炭可以提高土壤中微生物群落丰度、丰富度和优势度。施用生物炭对土壤微生物群落结构产生影响,其中在水稻生长中期对微生物群落结构的影响最大。施用生物炭可以有效地控制土壤 pH 值,土壤 pH 值与土壤中微生物群落丰度之间存在显著相关性^[37],同时,生物炭可以有效减缓土壤的酸化,给微生物的生存提供良好的环境。其次,生物炭具有较大的表面积,为土壤微生物的生存提供了优异的环境,可以促进土壤微生物的生长繁殖^[38]。最后,生物炭含有较高浓度的有机质和营养元素,可以为土壤中异养微生物的新陈代谢提供营养底物,提高微生物的生物活性。本试验中,在水稻生长的 3 个时期生物炭处理的 Chao1 指数均显著高于对照 ($P<0.05$)。施用生物炭后土壤微生物种群丰度呈 DY-700 处理>DY-500 处理>DY-300 处理>对照的趋势,其中以 700 °C 制备的生物炭的效果最佳。

3.3 土壤理化性质、生物多样性与温室气体排放的相关性

本研究结果表明,施用生物炭可以增加产量,生物炭制备温度与水稻千粒质量呈显著正相关 ($P<0.05$)。施用生物炭可以提高水稻生长周期内土壤有机质、碱解氮、有效磷含量。将土壤理化性质、生物多样性和气体排放通量进行 Pearson 相关性分析,发现水稻生长周期内,土壤有机质、碱解氮含量与生物多样性、种群丰度均呈极显著正相关关系 ($P<0.01$)。土壤中生物种群的丰富度是由稻田土壤的有效营养物质决定的,土壤有机质含量越高,生物的丰富程度就越高。 CO_2 和 CH_4 气体的排放量与土壤有机质、有效磷含量呈显著正相关关系 ($P<$

0.05),土壤有机质、碱解氮含量升高时,在短期内生物异养代谢加剧,促进 CO_2 和 CH_4 气体排放,但在施用生物炭一定时间后, CO_2 和 CH_4 气体的累积排放量会削减。 ^{14}C 研究结果也表明,生物炭施入土壤后 CO_2 排放量约等于生物炭中有机碳分解和无机碳释放的量^[39]。且以 CO_2 形态释放的 C 只占生物炭 C 总量的 0.1%~0.8%^[40]。因此,如果只考虑生物炭引起的碳排放,并与其在土壤中固定的碳量以及将存在相当长的时间相比,短期内生物炭引起的碳排放量也是微小的^[39]。此外,硝化螺旋菌门的物种丰度与土壤硝态氮含量呈显著正相关 ($P<0.05$),而与亚硝态氮含量的负相关不显著,可能是由于亚硝化菌的转化效率低。稻田氮素转化特征有待进一步的验证。

参考文献:

- [1] 郭树芳,齐玉春,罗小玲,等.滴灌对干旱区春小麦田土壤 CO_2 、 N_2O 排放及综合增温潜力的影响[J].农业环境科学学报,2016,35(4):792-800.
- [2] 王永生,张爱平,刘汝亮,等.优化施氮对宁夏引黄灌区稻田 CO_2 、 CH_4 和 N_2O 通量的影响[J].农业资源与环境学报,2016,35(6):1218-1224.
- [3] 胡泓,王东启,李杨杰,等.崇明东滩芦苇湿地温室气体排放通量及其影响因素[J].环境科学研究,2014,27(1):43-50.
- [4] SOLOMON S. IPCC (2007): Climate change the physical science basis[J]. American Geophysical Union, 2007, 9(1): 123-124.
- [5] 周锡跃,李凤博,徐春春,等.浙江稻田人工湿地生态系统服务价值评估[J].浙江农业科学,2009,1(5):971-974.
- [6] 黄华,王雅雄,唐景春,等.不同烧制温度下玉米秸秆生物炭的性质及对苯的吸附性能[J].环境科学,2014,35(5):1884-1890.
- [7] 朱德峰,陈惠哲,徐一成,等.我国双季稻生产机械化制约因子与发展对策[J].中国稻米,2013,19(4):1-4.
- [8] 龚静静,胡宏祥,朱昌雄,等.秸秆还田对农田生态环境的影响综述[J].江苏农业科学,2018,46(23):36-40.
- [9] 中国国际经济交流中心课题组.中国实施绿色发展的公共政策研究[M].北京:中国经济出版社,2013:102-110.
- [10] 黄芬,韦红群,曹建华.土壤微生物对玉米秸秆还田的响应特征——亚热带石灰土与红壤的典型对比[J].南方农业学报,2018,49(1):22-29.
- [11] HE K, ZHANG J, ZENG Y, et al. Households' willingness to accept compensation for agricultural waste recycling: taking biogas production from livestock manure waste in Hubei, P. R. China as an example[J]. Journal of Cleaner Production, 2016, 131: 410-420.
- [12] 王舒娟,蔡荣.农户秸秆资源处置行为的经济学分析[J].中国人口·资源与环境,2014,24(8):162-167.

- [13] MEYER S, GLASER B, QUICKER P. Technical, economical, and climate-related aspects of biochar production technologies: A literature review [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45 (22): 9473-9483.
- [14] SOHI S P, KRULL E, LOPEZ-CAPEL E, et al. A review of biochar and its use and function in soil [J]. *Advances in Agronomy*, 2010, 105: 47-82.
- [15] ZIMMERMAN A R, GAO B, AHN M Y. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43 (6): 1169-1179.
- [16] 陈心想, 耿增超, 王 森, 等. 施用生物炭后壤土土壤微生物及酶活性变化特征 [J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33 (4): 751-758.
- [17] 李亚森, 丁松爽, 殷全玉, 等. 多年施用生物炭对河南烟区土壤呼吸的影响 [J]. *环境科学*, 2019 (2): 1-17.
- [18] BRUUN E W, AMBUS P, ECGAARD H, et al. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 46: 73-79.
- [19] SINGH R, BABU J N, KUMAR R, et al. Multifaceted application of crop residue biochar as a tool for sustainable agriculture: An ecological perspective [J]. *Ecological Engineering*, 2015, 77: 324-347.
- [20] 叶丹丹, 谢立勇, 郭李萍, 等. 华北平原典型农田 CO₂ 和 N₂O 排放通量及其与土壤养分动态和施肥的关系 [J]. *中国土壤与肥料*, 2011 (3): 15-20.
- [21] 赵伯康, 茅玉兰, 赵玉兰. 丹阳市主要粮食作物品种应用布局规划 [J]. *北方水稻*, 2016, 46 (4): 60-61.
- [22] 宋卫兵. 南陵县双季晚稻武运梗 19 号的特征特性及栽培技术 [J]. *现代农业科技*, 2011 (13): 90.
- [23] 金 梁, 魏 丹, 李玉梅, 等. 生物炭制备及其稳定性估测方法研究进展 [J]. *农业资源与环境学报*, 2015, 32 (5): 423-428.
- [24] 宋长春, 王毅勇, 王跃思, 等. 季节性冻融期沼泽湿地 CO₂、CH₄ 和 N₂O 排放动态 [J]. *环境科学*, 2005, 26 (4): 7-12.
- [25] WANG Y S, WANG Y H. Quick measurement of CH₄, CO₂ and N₂O emissions from a short-plant ecosystem [J]. *Advances in Atmospheric Sciences*, 2003, 20 (5): 842-844.
- [26] ZHONG J, WEI Y, WAN H, et al. Greenhouse gas emission from the total process of swine manure composting and land application of compost [J]. *Atmospheric Environment*, 2013, 81 (2): 348-355.
- [27] 陈中云, 闵 航, 陈美慈, 等. 不同水稻土甲烷氧化菌和产甲烷菌数量与甲烷排放量之间相关性的研究 [J]. *生态学报*, 2001, 21 (9): 1498-1505.
- [28] 魏雪勤, 孙 楠, 张旭博, 等. 基于不同施肥模式添加生物炭后菜地土壤 CO₂ 释放特征及不同形态碳含量变化 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49 (18): 3578-3587.
- [29] JEFFREY L S, HAROLD P C, VANESSAL B. The effect of young biochar on soil respiration [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42 (12): 2345-2347.
- [30] JONES D L, MURPHY D V, KHALID M, et al. Short-term biochar-induced increase in soil CO₂ release is both biotically and abiotically mediated [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43 (8): 1723-1731.
- [31] 王明星. 中国稻田甲烷排放 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 72-83.
- [32] 麻婷婷, 承 磊, 郑珍珍, 等. 不同 pH 缓冲液对由乙酸产甲烷菌群结构的影响 [J]. *微生物学报*, 2014, 54 (12): 1453-1461.
- [33] SCHIMMEL J. Global change: Rice, microbes and methane [J]. *Nature*, 2000, 403 (6768): 375-377.
- [34] 蒋静艳, 黄 耀. 农业土壤 N₂O 排放的研究进展 [J]. *农业环境科学学报*, 2001, 20 (1): 51-54.
- [35] CAYUELA M L, ZWIETEN L V, SINGH B P, et al. Biochar's role in mitigating soil nitrous oxide emissions: A review and meta-analysis [J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2014, 191: 5-16.
- [36] 黄益宗, 张福珠, 刘淑琴, 等. 化感物质对土壤 N₂O 释放影响的研究 [J]. *环境科学学报*, 1999, 19 (5): 478-482.
- [37] 王晓辉, 郭光霞, 郑瑞伦, 等. 生物炭对设施退化土壤氮相关功能微生物群落丰度的影响 [J]. *土壤学报*, 2013, 3 (3): 624-631.
- [38] STEINBEISS S, GLEIXNER G, ANTONIETTI M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41 (6): 1301-1310.
- [39] JONES D L, MURPHY D V, KHALID M, et al. Short-term biochar-induced increase in soil CO₂ release is both biotically and abiotically mediated [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43 (8): 1723-1731.
- [40] LUO Y, DURENKAMP M, DE NOBILI M, et al. Short term soil priming effects and the mineralisation of biochar following its incorporation to soils of different pH [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43 (11): 2304-2314.

(责任编辑: 张震林)