

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2022.07.037

生物炭对设施连作土壤真菌群落结构与多样性的影响

王雪玉 刘金泉 胡云 田勇 田凤 李明

(内蒙古农业大学职业技术学院, 包头 014109)

摘要: 为分析设施连作土壤中真菌群落结构对生物炭的响应,以缓解设施连作障碍及扩大生物炭在设施连作栽培中的应用,依托温室盆栽试验,以“德尔3号”嫁接黄瓜为试验材料,分别取连作20、15、10、5、1、0年(对照)蔬菜土壤,通过添加一定量(20 t/hm²)的生物炭处理后,研究生物炭调控对连作土壤中真菌群落结构及多样性的影响。试验结果表明:不同年限的连作土壤添加一定量生物炭处理后,增加了担子菌门(Basidiomycota)及接合菌门(Zygomycota)在土壤中的比例,在一定程度上降低了土壤中壶菌门(Chytridiomycota)及其他未知菌门的比例,并且以连作15年蔬菜土壤(L15J)表现最为明显;显著提高土壤中真菌丰度,以连作15年蔬菜土壤(L15J)及种植1年蔬菜土壤(L1J)表现最为明显;同时提高了连作20年(L20J)土壤中真菌的多样性;各处理在200~400个OTUs时有大量真菌的新物种出现,以连作20年(L20J)土壤的真菌物种种类最多。研究表明,不同连作年限土壤中施入一定量的生物炭,增加了有益真菌菌群在土壤中的比例,提高了土壤中真菌丰度及多样性。

关键词: 生物炭; 连作土壤; 真菌; 群落结构; 多样性

中图分类号: S642.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2022)07-0347-07

OSID:



Effect of Biochar on Structure and Diversity of Soil Fungal Community in Facility Continuous Cropping

WANG Xueyu LIU Jinquan HU Yun TIAN Yong TIAN Feng LI Ming

(Vocational and Technical College, Inner Mongolia Agricultural University, Baotou 014109, China)

Abstract: By analyzing the response of the fungal community structure in the facility continuous cropping soil to bio-charcoal, a theoretical foundation was laid for alleviating the obstacles of facility continuous cropping and the application of bio-charcoal in facility continuous cropping cultivation. The grafted cucumber “Der 3” was chosen for the test material based on the greenhouse pot experiment, and the vegetable soil of continuous cropping 20 a, 15 a, 10 a, 5 a, 1 a and 0 a (control) was taken respectively. After adding a certain amount of biochar (20 t/hm²), the effects of biochar on fungal community structure and diversity in continuous cropping soils were studied. The results were as follows: the proportion of Basidiomycota and Zygomycota in the soil increased adding a certain amount of biochar to the continuous cropping soil of different years, the chytridiomycota (Chytridiomycota) and other unknown fungal phyla decreased at a certain extent, and it was most obvious in the treatment of 15 a continuous cropping vegetables (L15J). The performance was most obvious in the soil (L1J); at the same time, the diversity of fungi in soil of continuous cropping for 20 a (L20J) was improved. The similarity of the number of fungi in each treatment was relatively small, and the specificity of fungi in each treatment was relatively high. With the increase of planting years, the specificity of fungal flora in the soil was increased, and a large number of new species of fungi appeared at 200~400 OTUs, and the emergence rate of new species showed a downward trend at 1 000 OTUs, the fungal species in the soil of continuous cropping 20 a (L20J) were the most. Those results showed that applying a certain amount of biochar to the soil for different continuous cropping years increased the proportion of beneficial fungal flora in the soil, and improved the fungal richness and diversity in the soil, which may contribute for soil improvement.

Key words: biochar; continuous cropping soil; fungal; community structure; diversity

收稿日期: 2022-03-14 修回日期: 2022-05-05

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY20053)

作者简介: 王雪玉(1980—),女,讲师,主要从事设施蔬菜土壤调控研究,E-mail: wangxueyu75@163.com

通信作者: 李明(1975—),男,教授,博士,主要从事设施蔬菜环境调控研究,E-mail: liming19750811@163.com

0 引言

随着设施蔬菜产业的不断发展,设施蔬菜种植土壤也随之不断退化。尤其是一些长时间连作的设施蔬菜种植地,土壤退化现象日趋严重,从而影响了设施蔬菜产业的可持续发展。近年来,各类以作物秸秆为主要原材料的营养基质逐步代替土壤进行蔬菜栽培,同时,将作物秸秆燃烧炭化后形成的生物炭作为一种新型解决连作障碍栽培方式,受到了国内外许多研究者的关注^[1-5]。

生物炭是秸秆原料在低氧高温下裂解炭化制备的新型环境友好型土壤改良剂,并且在农业土壤改良中起到了积极作用^[6-8]。研究表明,生物炭还可以通过改变土壤微生物群落的结构组成以及微生物物种的丰富度来改变土壤养分的循环及结构^[9-10]。随着现代农业机械化产业的发展,许多农业生产活动,如过量无机肥的施入、大量地膜残留以及过量农药残留等,导致土壤中微生物群落结构的严重破坏,并且在一定程度上减少了土壤中微生物的数量及微生物的多样性^[11]。生物炭因其自身特殊结构及性质使其具有巨大的比表面积和较高的孔隙度,从而成为土壤中众多微生物栖息场所,不仅如此,生物炭由于含有特殊的有机物质,在微生物生长代谢中提供部分营养物质。因此,添加生物炭可以有效地改善土壤微生物的性质及群落结构^[12]。

真菌作为一种微生物广泛存在于土壤中,占地下总微生物量的81%~95%,在植物与土壤之间、土壤与大气之间碳循环中发挥着重要作用,在土壤中有分解部分有害生物及有毒物质的作用,且能在生物炭的孔隙中更好地生长、繁殖^[13],因此,生物炭的添加可以增加真菌丰度,提高土壤真菌与细菌丰度比^[14-15]。BAMMINGER等^[16]通过对温带农田土壤中施加2%的生物炭,发现生物炭可同时提高土壤中真菌和细菌的比例。MUHAMMAD等^[17]将不同材料制成的生物炭添加到砂质壤土中,结果表明土壤真菌丰度显著增加,同时发现真菌丰度及真菌与细菌丰度比随着生物炭用量的增加而呈增加趋势。

目前,关于生物炭对土壤改良、肥力提升及土壤微生物群落结构方面的影响已有很多报道^[18-20]。关于生物炭对微生物影响的研究主要集中在微生物量、微生物群落结构、微生物功能、土壤酶活性^[21-23]等方面。近年来土壤健康问题越来越受到重视,设施蔬菜土壤的健康状况成为关注和需要解决的瓶颈问题。不健康土壤会导致土传病害的连年发生,对植物的生长发育造成一定的危害,并且导致产量和

品质下降^[24],微生物在土壤营养物质循环中起着主要作用,同时提供重要的生态系统服务功能^[25]。基于此,本文针对设施连年种植蔬菜土壤质量退化现状,通过对不同种植年份的土壤分别添加同量的玉米秸秆生物炭,研究土壤真菌群落变化规律及真菌多样性,为生物炭改善设施土壤质量提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验于2021年4—7月和9—12月在内蒙古农业大学职业技术学院园艺园林实践教学基地日光温室进行。试验日光温室为水蓄热内保温装配式结构,南北跨度为9 m,东西长度为50 m。生物炭由河南立泽环保科技有限公司提供,类型为玉米秸秆炭,有机碳质量比404.02 g/kg,全氮质量比8.36 g/kg,全磷质量比2.33 g/kg,全钾质量比15.43 g/kg,pH值7.85。

1.2 试验方法

通过盆栽试验方法,分别取连续种植0、1、5、10、15、20年蔬菜土壤,每公顷均匀施入20 t生物炭,共6个处理,分别用CK、L1J、L5J、L10J、L15J、L20J表示。于2021年4月10日及9月20日定植嫁接黄瓜“德尔3号”幼苗,每个处理10盆,重复3次,于结果末期取根系周围土壤,测定各项指标。

1.3 项目测定

1.3.1 高可变区引物设计和PCR扩增

ITS测序使用的文库构建步骤遵循Illumina测序仪文库构建方法。本次测序以TS2为目标区域进行引物设计,利用DNA模板50 ng、25 μL的PCR体系,使用Pfusion酶扩增2~35个循环,引物序列为:ITS7 GTGATCATCGAATCTTTG和ITS4 TCCTCCGCTTATTGATATGC。

1.3.2 Illumina测序文库构建(加入接头)

由于一次上机的样本数较多,一轮PCR扩增反应之后,需要在正反引物两端分别加上不同的Barcode以区分不同的样本。扩增完成后的PCR产物使用Reads纯化之后进行上机测序。

1.3.3 归一化处理

PCR产物用AxyPrep Mag PCR Normalizer进行归一化处理。

1.3.4 上机测序

构建好的文库上样到cBot或簇生成系统,用于簇生成及MiSeq测序。

试验测序分析针对Illumina MiSeq 2 × 300 bp

paired-end 测序数据进行分析。对于 MiSeq 测序获得的双端数据,首先根据 Barcode 信息进行样品区分,然后根据 Overlap 关系进行 Merge 拼接成 Tag,接着对拼接完成的数据进行数据过滤,随后进行 Q20、Q30 等质控分析。对最终获得 Clean 数据进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析。

1.4 数据优化、分析与统计

先对原始数据进行如下处理:①去除 Reads 的 Barcode 和接头序列。②将每一对 Paired-end Reads 拼接合并成一条更长的 Tag。③去除含有 N (N 表示无法确定碱基信息)的比例大于 5% 的 Tags。④去除低质量 Tags(质量值 $Q < 10$ 的碱基数占整个 Tag 的 20% 以上)。从而得到 Clean 数据以进行后续分析。

试验部分原始数据采用 Excel 2003 软件整理,采用 RDP(Ribosomal database project) 11.3 数据库对真菌进行分类及群落结构分析,分类的置信度阈值为 0.8。

2 结果与分析

2.1 生物炭对土壤真菌群落结构的影响

由图 1 可以看出,同一个物种在不同样品中的变化,同时可以看出各个物种的表达量及样品序列的百分比。从门分类水平上各处理的物种表达量来看,对已知的真菌种类来说,子囊菌门(Ascomycota)的表达量最高,占总数的 58.8%,其次是担子菌门(Basidiomycota),占总数的 10.0%,表达量最少的是球囊菌门(Glomeromycota),占总数的 0.3%。从门分类水平上各物种在各处理中的样品序列百分比来看,在已知的真菌种类中,子囊菌门(Ascomycota)在 L10J 及 CK 所占比例最多,分别为 78.9% 及 76.0%,L15J 中比例最小,为 21.7%,最高处理与最低处理间存在较大差异;担子菌门(Basidiomycota)在 L15J 处理所占比例最多,为 39.9%,在 L10J 处理含量最少,为 0.7%,最高处理与最低处理间存在较大差异;壶菌门(Chytridiomycota)在 L1J 处理比例最多,为 3.7%,在 L20J 处理比例最少,为 0.1%,最高处理与最低处理间存在较大差异;球囊菌门(Glomeromycota)在各个处理的比例均非常少,其中在 L1J 处理比例为 0.7%,相比其他处理来说含量最高,在 L15J、L20J 及 CK 处理均未发现球囊菌门;接合菌门(Zygomycota)在 L15J 处理比例最多,为 14.7%,在 L10J 比例最少,为 1.9%,最高处理与最低处理间存在较大的差异。

为了更直观地反映物种的丰富度及相似性,将门分类水平上的物种信息使用 Heatmap(热图)表现

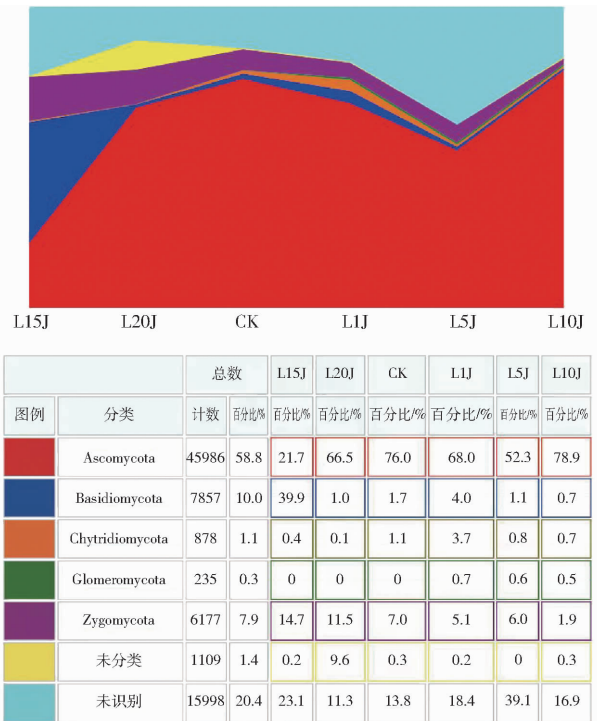


图 1 不同处理物种区域图

Fig. 1 Regional map of different treated species

(图 2)。在门分类水平上,施加生物炭后显著增加了子囊菌门(Ascomycota)在各处理中的丰富度,而且在 L10J 处理的丰富度最高,其次是 CK、L1J、L20J,在 L15J 处理丰富度最低;在一定程度上提高了担子菌门(Basidiomycota)在 L15J 处理的丰富度。经聚类分析进一步表明,担子菌门(Basidiomycota)在各处理中相对来说属于物种较高的一类,其次是接合菌门(Zygomycota),且两个菌群聚为一类;从各处理的聚类分析来看,L5J、L20J、L1J、CK 及 L10J 的物种数都比较丰富,且在这几个处理中拥有相同的物种,但每个处理的物种丰富度各不相同。

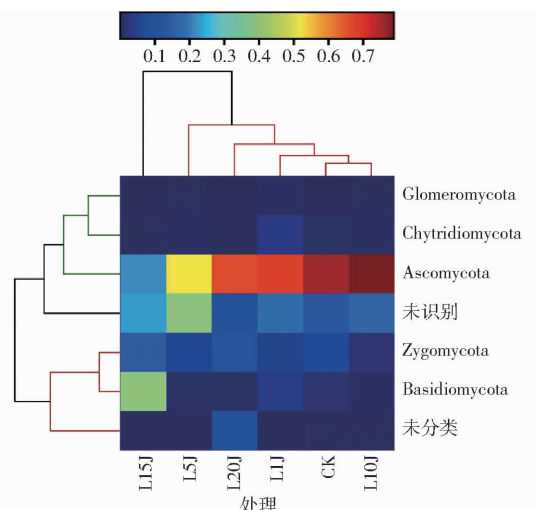


图 2 不同处理门分类水平上的分类热图

Fig. 2 Classification heatmap at different processing gate classification levels

2.2 生物炭对土壤真菌多样性的影响

相对丰度(Rank abundance)曲线用来说明多样性的两方面:物种的丰度和均匀度。从曲线水平方向来看,曲线宽度反映物种丰度,曲线在横轴上宽度越大,则代表物种丰度越高;曲线形状(平滑程度)反映样品中物种均匀度,曲线越平缓,物种分布就越均匀。从图3可以看出,各处理在 OTU 相对丰度为 10^{-4} 时的物种丰度都比较高,最高的为 L1J, L20J、L10J、CK 次之,且在 OTU 相对丰度为 10^{-4} 时的物种分布相对均匀;随着 OTU 所含序列数的增加,物种的丰度逐渐下降,物种均匀度也随之降低。总体来说, L1J 处理的物种丰度最高、物种分布最均匀,显著高于对照。

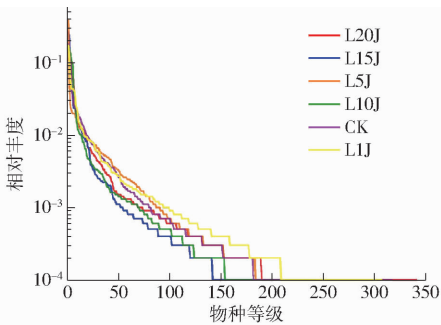


图3 不同处理等级丰度曲线

Fig.3 Abundance map of different treatment grades

Alpha 多样性通常用于度量群落生态中物种的丰度,测定土壤真菌 Alpha 多样性,结果如表1所示。由可视指数可知,各处理的物种数均很丰富,其中以 L10J 处理显著增加土壤真菌可视指数多样性,其他各处理与对照相比,在一定程度上降低了土壤真菌的可视指数多样性;从超指数来看, L10J 的指数值最大,为 692.00,说明 L10J 的物种总数最多,其次为 CK,为 613.13,物种总数最少的处理为 L20J,为 372.19;辛普森指数代表物种的多样性,从辛普森指数来看,物种多样性最高的处理是 CK,为 0.93,最低的处理是 L1J,为 0.51,各处理与对照相比,都在不同程度上降低了真菌的丰度;香浓指数同样也代表各处理中物种的多样性,从香浓指数来看,多样性最高的为 L10J,为 6.81,与对照相比,显著增加了真菌物种多样性,多样性最低的处理为 L5J,为

表1 根际土壤真菌 Alpha 指数

Tab.1 Alpha index of rhizosphere soil fungi

处理	可视指数	超指数	辛普森指数	香浓指数
CK	317.00	613.13	0.93	5.24
L1J	307.00	458.59	0.51	6.44
L5J	245.00	477.87	0.86	4.19
L10J	361.00	692.00	0.53	6.81
L15J	284.00	441.81	0.84	4.84
L20J	243.00	372.19	0.81	4.48

4.19,其他处理在不同程度上降低了真菌的物种多样性。

2.3 土壤真菌 OTU 聚类分析

通过 OTU 分析,可以知道处理中微生物多样性和不同微生物的丰度利用。venn 图可用于统计多个处理中所共有和独有的 OTU 数目,可以比较直观地表现土壤环境中各处理中的 OTU 数目组成相似性及特异性。由图4可知, L15J 与 L20J 之间共有微生物数目为 22 个,其中 L15J 独有的微生物数目为 184 个, L20J 独有的微生物数目为 206 个; L15J 与 L5J 之间所共有的微生物数目为 33 个; L20J 与 L5J 之间所共有的微生物数目为 41 个; L15J、L5J、L20J 3 个处理之间共有微生物数目为 72 个, L5J 独有的微生物数目为 152 个。CK 与 L10J 之间共有的微生物数目为 10 个,与 L15J 之间共有的微生物数目为 25 个,与 L1J 之间共有的微生物数目为 23 个; L10J 与 L5J 之间共有的微生物数目为 14 个,与 L1J 之间共有的微生物数目为 15 个; L5J 与 L1J 之间共有的微生物数目为 15 个; CK、L10J 及 L5J 之间所共有的微生物数目为 18 个, L10J、L5J 及 L1J 之间所共有的微生物数目为 7 个, CK、L1、L5J 之间所共有的微生物数目为 16 个, CK、L10J、L1J 之间所共有的微生物数目为 12 个; 4 个处理之间共有的微生物数目为 70 个; CK 独有的微生物数目为 198 个, L5J 独有的微生物数目为 133 个, L10J 独有的微生物数目为 130 个, L1J 独有的微生物数目为 165 个。从上述结果可以看出, L20J 特有微生物数目比 CK 增加了 8 个,说明在生物炭的添加下可以增加 L20J 土壤中微生物的数量; L15J、L5J、L20J 3 个处理之间共有微生物数目最多,为 72 个,说明生物炭添加下能够缩小 L15J、L5J、L20J 3 个处理之间微生物的多样性差异。

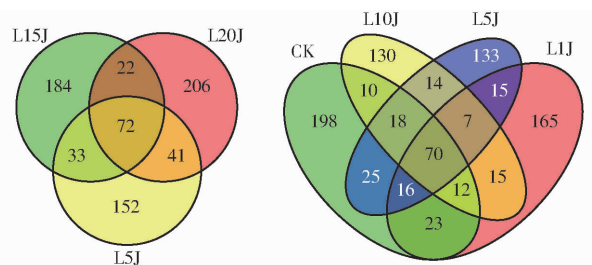


图4 不同处理 OTU 分布 venn 图

Fig.4 The venn diagram of OTU distribution for different treatments

物种累积曲线可预测抽样量是否充分,并可以预测所有处理中物种的丰度,横坐标代表抽取的样品数量,纵坐标代表抽样后 OTU 数目,结果展示持续抽样下 OTU (新物种) 出现的速率,在一定范围内,若曲线表现为急剧上升则表示环境中随着样品

量的加大有大量新物种被发现,当曲线趋于平缓,则表示此环境中的物种并不会随样品量的增加而显著增多。从真菌的物种累计曲线来看(图 5),在 200~400 个 OTUs 时有大量真菌的新物种出现,随

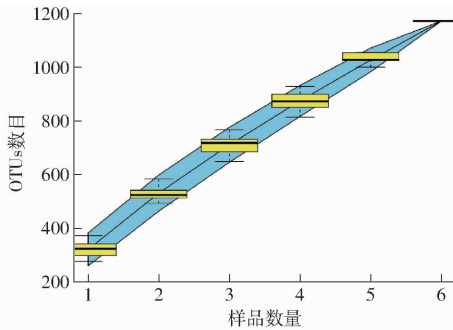


图 5 生物炭处理下物种累计曲线

Fig. 5 Species accumulation curve under biochar treatment

着样品数量的增加,新物种的数量也随之增加,但是增加不显著,在 1 000 个 OTUs 时新物种的出现速率呈下降趋势。

2.4 科分类水平土壤真菌丰度分析

表 2 为各处理在科分类水平上各真菌的丰度。从表中可见,在科分类水平上,从各科群落占总物种比例来看,未识别科、*Incertae sedis* 27、小子囊菌科 (*Microascaceae*)、毛球壳科 (*Lasiosphaeriaceae*)、爪甲团囊菌科 (*Onygenaceae*) 以及担子菌门粪锈伞科 (*Bolbitiaceae*) 在总物种比例中相对较高,分别占物种总数的比例为 9.4%、5.0%、5.0%、3.5%、3.7%、2.2%,构成了土壤中的优势菌群;从各处理在这些优势菌群中的比例来看,L10J、L15J 处理均可显著提高上述菌群不同科分类水平的丰度。

表 2 真菌在科分类水平的丰度比较

Tab. 2 Comparison of fungal species abundance at level of classification in class

真菌各科名称	物种总数	占物种总数的 比例/%	各处理比例/%					
			CK	L1J	L5J	L10J	L15J	L20JJ
未识别科	18 806	9.4	13.8	11.3	6.7	6.4	7.1	6.0
<i>Incertae sedis</i> 27	20 032	5.0	6.6	6.3	4.6	3.7	4.6	3.5
毛壳菌科 (<i>Chaetomiaceae</i>)	11 304	2.0	3.1	2.9	2.4	2.6	3.0	2.9
小子囊菌科 (<i>Microascaceae</i>)	15 210	5.0	4.3	4.6	4.9	6.5	5.9	4.6
毛球壳科 (<i>Lasiosphaeriaceae</i>)	10 021	3.5	3.0	3.3	3.7	3.8	3.5	3.2
假散囊菌科 (<i>Pseudeurotiaceae</i>)	12 103	2.6	1.9	2.3	2.4	2.8	3.0	3.1
爪甲团囊菌科 (<i>Onygenaceae</i>)	9 502	3.7	3.0	3.5	4.4	4.8	5.2	4.5
裸囊菌科 (<i>Gymnoascaceae</i>)	4 563	1.5	1.5	1.4	1.7	1.2	2.0	3.0
丛赤壳科 (<i>Nectriaceae</i>)	3 265	1.8	1.8	1.4	2.1	1.8	2.1	1.9
<i>Incertae sedis</i> 3	3 689	1.6	1.4	1.5	1.6	2.3	3.3	3.1
黄丝菌科 (<i>Cephalothecaceae</i>)	3 854	1.5	1.3	1.2	1.8	1.7	2.0	1.8
毛孢壳科 (<i>Coniochaetaceae</i>)	4 201	1.3	1.6	1.4	1.3	1.5	1.6	1.2
接合菌门被孢霉科 (<i>Mortierellaceae</i>)	4 987	0.9	1.1	1.0	0.8	1.1	1.5	1.3
球囊霉科 (<i>Glomeraceae</i>)	2 102	1.8	0.9	1.1	1.5	1.8	2.1	1.8
担子菌门粪锈伞科 (<i>Bolbitiaceae</i>)	523	2.2	3.0	2.6	2.8	3.2	3.6	2.9
小壶菌科 (<i>Spizellomycetaceae</i>)	398	0.8	1.1	0.7	1.5	1.2	1.4	1.6

3 讨论

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,其施入土壤中可以增加土壤有机碳含量,并能提供微生物可利用组分^[26],微生物在土壤生态系统的物质循环和能量流动过程中发挥着重要的作用,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^[27];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^[28-29]。与细菌相比,真菌在土壤中以多种方式吸收营养,土壤环境发生变化,部分真菌会迅速改变自身的营养方式,以对抗因环境变化带来的不利影响,这是一种较高的

生存策略^[30]。本试验中,经生物炭处理的土壤均在一定程度提高了部分有益真菌的菌群数量,担子菌门在土壤中通常会与植物根系共生形成菌根,有利于植物生长,所以属于优势菌群,本试验中担子菌门的表达量占 10.0%,在门分类水平上与对照相比,增加了有益菌群担子菌门 (*Basidiomycota*) 及接合菌门 (*Zygomycota*) 在 L15J 处理中的比例,降低了不利菌群壶菌门在 L15J 处理中的比例,而壶亚门属于高等植物上的寄生物,会引起玉米褐斑病及马铃薯癌肿病等,所以属于不利菌群;通过不同处理在门分类水平上分类热图进一步可以看出,生物炭处理下均在不同程度上提高了各处理优势菌群担子菌门的比例。综合来看,以种植 15 年蔬菜土壤 (L15J) 添加生物炭效果最为显著,这为设施蔬菜土壤改良提供

理论依据。

施加生物炭可以改变土壤环境,进而促进微生物群落组成和结构的改变^[31]。通过对不同处理物种等级丰度分析及 Alpha 多样性分析表明,施加生物炭后提高了连作蔬菜土壤中真菌的多样性,其中以 L1J 处理的物种等级最高,而且在 OTU 丰度为 10^{-4} 时物种分布最均匀;从 Alpha 指数来看,各处理以 L20J 中的物种数量最多、丰度最高,表明在一定的生物炭处理下,能够增加种植 20 年蔬菜土壤中的真菌多样性及真菌丰度,这与前人的研究结果一致^[32]。土壤真菌 OTU 聚类分析表明:在对所有处理样本进行聚类后,所有样本平均 OTU 数目为 166.85,以 L20J 独有的真菌数目最多,为 206 个,说明连作 20 年土壤中真菌数量具有特异性;其次是 L15J,为 184 个,独有真菌数目最少的处理为 L10J,为 130 个,各处理之间共同拥有的真菌数量为 70 个及 72 个,说明各处理之间拥有真菌多样性的差异比较小,同时可以看出,随着种植年限的增加,土壤中

的菌群特异性随之增加,并且在 200 ~ 400 个 OTUs 时有大量真菌的新物种出现,在 1 000 个 OTUs 时新物种的出现速率呈下降趋势,这一试验结果既在前人的研究基础上得到了进一步的补充和创新,又为后期的研究奠定了基础。

4 结束语

通过盆栽试验,利用高通量测序技术分析不同种植蔬菜年限土壤经一定量的生物炭处理后的真菌群落结构,结果表明:通过对不同种植蔬菜年限的土壤施入一定量的生物炭处理后,改变了土壤真菌群落结构,影响了土壤真菌菌群的物种数量,并且在一定程度上提高了部分有益菌群担子菌门(Basidiomycota)及接合菌门(Zygomycota)的丰度及多样性,综合来看,以 L15J 及 L20J 处理中优势菌群丰度及物种多样性最高,同时降低了部分有害菌群壶菌门(Chytridiomycota)的丰度及多样性。

参 考 文 献

- [1] CHENG J Z, LEE X, TANG Y, et al. Long-term effects of biochar amendment on rhizosphere and bulk soil microbial communities in a Karst region, Southwest China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 140(3): 126 - 134.
- [2] MENG J, ZHONG L B, WANG L, et al. Contrasting effects of alkaline amendments on the bioavailability and uptake of Cd in rice plants in a Cd-contaminated acid paddy soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(9): 8827 - 8835.
- [3] 魏永霞, 朱焯豫, 刘慧. 连年施加生物炭对黑土区土壤改良与玉米产量的影响[J]. *农业机械学报*, 2022, 53(1): 291 - 301. WEI Yongxia, ZHU Bayu, LIU Hui. Effects of successive application on soil improvement and maize yield of black soil region [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2022, 53(1): 291 - 301. (in Chinese)
- [4] 刘慧, 温小艳, 李禹韬, 等. 生物炭施用模式生态效益与经济效益耦合协调度研究[J]. *农业机械学报*, 2021, 52(11): 287 - 296. LIU Hui, WEN Xiaoyan, LI Yutao, et al. Coupling coordination degree of ecological benefits and economic benefits of biochar application models[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2021, 52(11): 287 - 296. (in Chinese)
- [5] 夏桂敏, 王宇佳, 王淑君, 等. 灌溉方式与生物炭对花生根系、磷素利用及产量的影响[J]. *农业机械学报*, 2022, 53(2): 316 - 326. XIA Guimin, WANG Yujia, WANG Shujun, et al. Effects of irrigation methods and biochar on peanut root, phosphorus utilization and yield[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2022, 53(2): 316 - 326. (in Chinese)
- [6] 孙再庆, 符菁, 徐晓云, 等. 生物炭稻田施用下的土壤固氮减排效应及其微生物群落机构分析[J]. *农业与技术*, 2021, 41(12): 36 - 43.
- [7] 黄家庆, 赖永祥, 翁伯琦, 等. 花生壳生物炭对镉污染菜园土壤细菌群落结构的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(5): 1115 - 1128. HUANG Jiaqing, LAI Yongxiang, WENG Boqi, et al. Effects of peanut shell biochar on bacterial community structure in cadmium-contaminated vegetable soil[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(5): 1115 - 1128. (in Chinese)
- [8] 高文慧, 郭宗昊, 高科, 等. 生物炭与炭基肥对大豆根际土壤细菌和真菌群落的影响[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(1): 205 - 212. GAO Wenhui, GUO Zonghao, GAO Ke, et al. Effects of biochar and biochar compound fertilizer on the soil bacterial and fungal community in the soybean rhizosphere[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(1): 205 - 212. (in Chinese)
- [9] 桂意云, 李海碧, 韦金菊, 等. 生物炭对旱坡地宿根甘蔗土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响[J]. *南方农业学报*, 2022, 53(3): 776 - 784. GUI Yiyun, LI Haibi, WEI Jinju, et al. Effects of biochar on soil nutrients, enzyme activities and microbial diversity of ratoon sugarcane in dry slope land[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53(3): 776 - 784. (in Chinese)
- [10] 李发虎, 李明, 刘金泉, 等. 生物炭对温室黄瓜根际土壤真菌丰度和根系生长的影响[J]. *农业机械学报*, 2017, 48(4): 265 - 270, 341. LI Fahu, LI Ming, LIU Jinquan, et al. Effect of biochar on fungal abundance of rhizosphere soil and cucumber root growth in greenhouse[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(4): 265 - 270, 341. (in Chinese)
- [11] 饶霜, 卢阳, 黄飞, 等. 生物炭对土壤微生物的影响研究进展[J]. *生态与农村环境学报*, 2016, 32(1): 53 - 59. RAO Shuang, LU Yang, HUANG Fei, et al. Research progress on the effects of biochar on soil microorganisms[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2016, 32(1): 53 - 59. (in Chinese)
- [12] 饶霜, 卢阳, 黄飞, 等. 生物炭与氮肥配施对土壤肥力及红枣产量、品质的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(2):

- 468 - 475.
- RAO Shuang, LU Yang, HUANG Fei, et al. Effects of combined application of biochar and nitrogen fertilizer on soil fertility, yield and quality of jujube[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2017, 23(2):468 - 475. (in Chinese)
- [13] 周之栋, 卜晓丽, 吴永波, 等. 生物炭对土壤微生物特性影响的研究进展[J]. *南京农业大学学报(自然科学版)*, 2016, 40(6):1 - 8.
- ZHOU Zhidong, BU Xiaoli, WU Yongbo, et al. Research progress on the effect of biochar on soil microbial characteristics [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2016, 40(6):1 - 8. (in Chinese)
- [14] 胡云, 严海欧, 赵淑文, 等. 高粱绿肥对设施黄瓜根际土壤理化性质及真菌群落的影响[J]. *北方园艺*, 2020(3):93 - 101.
- HU Yun, YAN Haiou, ZHAO Shuwen, et al. Effects of sorghum green manure on rhizosphere soil physicochemical properties and fungal community of cucumber in facility[J]. *Northern Horticulture*, 2020(3):93 - 101. (in Chinese)
- [15] 王雪玉, 刘金泉, 胡云, 等. 生物炭对黄瓜根际土壤细菌丰度、速效养分含量及酶活性的影响[J]. *核农学报*, 2018, 32(2):370 - 376.
- WANG Xueyu, LIU Jinquan, HU Yun, et al. Effects of biochar on bacterial abundance, available nutrients and enzyme activities in cucumber rhizosphere soil[J]. *Journal of Nuclear Agriculture*, 2018, 32(2):370 - 376. (in Chinese)
- [16] BAMMINGER C, ZAISER N, ZINSSER P, et al. Effects of biochar, earthworms, and litter addition on soil microbial activity and abundance in a temperate agricultural soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(8):1189 - 1200.
- [17] MUHAMMAD N, DAI Z, XIAO K, et al. Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties[J]. *Geoderma*, 2014, 226:270 - 278.
- [18] SONG Y, LI X, XU M, et al. Does biochar induce similar successions of microbial community structures among different soils [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, 103(4):642 - 650.
- [19] DANGI S, GAO S, DUAN Y, et al. Soil microbial community structure affected by biochar and fertilizer sources[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 150:103452.
- [20] 陆欣春, 郑永强, 韩晓增, 等. 生物炭对白浆土土壤微生物功能多样性的影响[J]. *土壤与作物*, 2021, 10(2):194 - 201.
- LU Xinchun, ZHENG Yongqiang, HAN Xiaozeng, et al. Effects of biochar addition on soil microbial metabolic activities of carbon sources in Albic soil[J]. *Soils and Crops*, 2021, 10(2):194 - 201. (in Chinese)
- [21] 何秀峰, 赵丰云, 于坤, 等. 生物炭对葡萄幼苗根际土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2020(6):19 - 26.
- HE Xiufeng, ZHAO Fengyun, YU Kun, et al. Effects of biochar on nutrients, enzyme activities and microbial diversity of rhizosphere soil of grape seedlings[J]. *Soil and Fertilizer Science in China*, 2020(6):19 - 26. (in Chinese)
- [22] 杨涣涣, 李茂森, 王丽渊, 等. 生物炭对烤烟成熟期土壤养分及根际细菌群落结构的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2021, 40(5):62 - 71.
- YANG Huanhuan, LI Maosen, WANG Liyuan, et al. Effects of biochar on soil nutrients and rhizosphere bacterial community structure of fluecured tobacco at maturity[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2021, 40(5):62 - 71. (in Chinese)
- [23] 徐民民, 黄莹, 李波, 等. 生物炭对小麦根际和根内微生物群落结构的影响[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(3):516 - 525.
- XU Minmin, HUANG Ying, LI Bo, et al. Effects of biochar on wheat root-associated microbial community structures[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33(3):516 - 525. (in Chinese)
- [24] 冯慧琳, 付兵, 任天宝, 等. 生物炭对青枯病烟株的根际土壤微生物群落结构调控机制分析[J]. *农业资源与环境学报*, 2022, 39(1):173 - 181.
- FENG Huilin, FU Bing, REN Tianbao, et al. Analysis and mechanism of biochar on soil microbial community structure of tobacco bacterial wilt[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, 39(1):173 - 181. (in Chinese)
- [25] 邱云霄, 郭实荣, 黄晓霞. 生物炭对土壤微生物影响的研究[J]. *内蒙古林业调查设计*, 2017, 40(1):84 - 85, 88.
- [26] WOOLF D, AMONETTE J E, STREET-PERROTT F A, et al. Sustainable biochar to mitigate global climate change[J]. *Nature Communications*, 2010(1):56.
- [27] GOLDBERG E. *Black carbon in the environment: properties and distribution*[M]. New York: John Wiley, 1985.
- [28] LEHMANN J, RILLIG M C, THIES J, et al. Biochar effects on soil biota—a review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(9):1812 - 1836.
- [29] 顾美英, 徐万里, 唐光木, 等. 生物炭对灰漠土和风沙土土壤微生物多样性及与氮素相关微生物功能的影响[J]. *新疆农业科学*, 2014, 51(5):926 - 934.
- GU Meiyang, XU Wanli, TANG Guangmu, et al. Effects of biochar on soil microbial diversity and function related with N transformation in gray desert soil and aeolian sandy soil in Xinjiang[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(5):926 - 934. (in Chinese)
- [30] 阎海涛, 殷全玉, 丁松爽, 等. 生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(5):2412 - 2419.
- YAN Haitao, YIN Quanyu, DING Songshuang, et al. Effect of biochar amendment on physicochemical properties and fungal community structures of cinnamon soil[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(5):2412 - 2419. (in Chinese)
- [31] 李茂森, 王丽渊, 样波, 等. 生物炭对烤烟成熟期根际真菌群落结构的影响及功能预测分析[J/OL]. *农业资源与环境学报*, 2021. <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0318>.
- LI Maosen, WANG Liyuan, YANG Bo, et al. Effect of biochar on fungal community structure and function on flue cured tobacco[J/OL]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2021. <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0318>. (in Chinese)
- [32] 韩光明, 蓝家祥, 陈全求, 等. 生物炭对连作棉田细菌群落及代谢通路的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2021, 52(6):736 - 742.
- HAN Guangming, LAN Jiayang, CHEN Quanqiu, et al. Impact of biochar on bacterial communities and metabolic pathways in continuous cropping cotton field[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2021, 52(6):736 - 742. (in Chinese)