

减氮条件下生物炭对甜菜盐碱胁迫的缓解效应

陈婧婷, 武沛然, 刘新宇, 张树友, 刘磊, 王玉波, 李彩凤*

(东北农业大学农学院, 黑龙江哈尔滨 150000)

摘要:【目的】通过模拟盐碱胁迫环境, 在施用生物炭、减施氮肥的条件下, 研究甜菜根际土壤微生物数量、甜菜氮代谢相关酶活性、块根产量和含糖率的变化, 明确生物炭对盐碱胁迫的缓解作用, 以及盐碱胁迫下施加生物炭后是否可减少氮肥的施用, 为今后盐碱地改良以及甜菜合理施肥提供理论依据和技术支撑。【方法】试验于 2018 年在黑龙江哈尔滨东北农业大学试验站进行。以甜菜品种 KWS0143 为试验材料, 在土壤中添加盐碱处理以中性盐 (Na_2SO_4 、 NaCl) 和碱性盐 (Na_2CO_3 、 NaHCO_3) 模拟盐碱胁迫土壤 (Na^+ 含量为 3 g/kg)。采用桶栽试验, 每桶装土 10 kg, 共设 6 个处理, 以在盐碱胁迫土壤施 N 180 kg/hm² 为对照 (CK), 其余 5 个处理土壤中均加入生物炭 30 g/kg, 施氮量依次为 N180、162、144、126 和 108 kg/hm²。子叶完全展开后测定甜菜出苗率, 3 对真叶后每隔 20 天左右测定土壤微生物数量及叶片硝酸还原酶 (NR)、谷氨酰胺合成酶 (GS)、谷氨酸合成酶 (GOGAT) 活性, 收获后测定块根产量和含糖率并计算产糖量。【结果】盐碱胁迫下, 施加生物炭显著提高了土壤真菌和细菌数量; BC+N180 处理显著提升放线菌数量, 在施 BC 基础上随着施氮量的降低, 各时期土壤放线菌含量呈降低趋势。施加生物炭能够显著提高盐碱胁迫下甜菜出苗率, 施氮量对出苗率的影响不大; 施加生物炭后氮代谢相关酶活性显著提高, 其中 BC+N162 和 BC+N144 各时期 NR 活性均高于 CK, BC+N144 除播种后第 117 天、第 138 天外, 叶片 GS 活性均显著高于 CK, BC+N144 叶片 GOGAT 活性始终显著高于 CK, BC+N126 除播种后第 53 天和第 138 天外, GOGAT 活性显著高于 CK; 施加生物炭后除 BC+N108 处理外, 各施加生物炭处理甜菜的块根产量、含糖率、产糖量均显著高于对照, 减施氮肥 10%~20% 的甜菜产量与 BC+N180 相当, BC+N162 的产糖量与 BC+N180 差异不显著, 但显著高于其他处理; 而 BC+N126 和 BC+N108 的产量与产糖量均显著低于 BC+N180。【结论】施加生物炭可有效缓解盐碱胁迫对土壤微生物数量及甜菜氮代谢相关酶活性的影响, 提高甜菜产量、含糖率、产糖量。在本试验条件下, 施加土壤风干质量 3% 的生物炭, 可节约氮肥施用量的 10%~20%, 提高甜菜的产糖量。

关键词: 甜菜; 盐碱胁迫; 生物炭; 减施氮肥; 土壤微生物数量; 氮代谢酶活性; 产糖量

Mitigative effect of biochar on saline-alkali stress in sugar beet under reduced nitrogen condition

CHEN Jing-ting, WU Pei-ran, LIU Xin-yu, ZHANG Shu-you, LIU Lei, WANG Yu-bo, LI Cai-feng*
(Northeast Agricultural University, Harbin 150000, China)

Abstract: 【Objectives】The paper studied the effects of biochar on soil microbial population, the activities of enzymes related to nitrogen metabolism, yield and sugar content of sugar beet under saline-alkali stress, in order to clarify the mitigation effect of biochar on saline-alkali stress and the possibility of reducing nitrogen fertilizer input. 【Methods】A pot experiment was conducted at the Experimental Station of Northeast Agricultural University in Harbin, Heilongjiang Province in 2018. The sugar beet cultivar of KWS0143 was used as the test material, and neutral and alkaline salts were added to make a saline-alkali stress soil for the experiment. There were total of six treatments, among them, saline-alkali soil applied with N 180 kg/hm² was used as control (CK), and in the other five treatments, biochar were added in rate of 30 g/kg soil, and N were applied in rates of 180,

收稿日期: 2019-12-16 接受日期: 2020-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (3671622); 国家糖料产业技术体系 (CARS-170201)。

联系方式: 陈婧婷 E-mail: 2902563423@qq.com; * 通信作者 李彩凤 Tel: 0451-55190854, E-mail: licai Feng@neau.edu.cn

162, 144, 126 and 108 kg/hm² in turn. The seedling emergence rate of sugar beet was measured when cotyledon was fully expanded. The population of soil bacteria and fungi were measured every 20 days since the six-leaf stage of sugar beet, and the activities of nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS) and glutamate synthetase (GOGAT) in leaves were analyzed at the same time. Sugar content was analyzed after harvest.

【 Results 】 The population of soil fungi and bacteria were significantly increased by the application of biochar under saline-alkali stress. BC+N180 treatment significantly increased the amount of actinomycetes, BC+N126 treatment increased the amount of bacteria, but BC+N162 treatment was more suitable for the survival of fungi in the soil. After the application of biochar, the activities of enzymes were significantly improved, and the activities of NR in BC+N162 and BC+N144 treatments were higher than that in CK. Except the 117th and 138th day after sowing, the activity of GS in BC+N144 treatment was significantly higher than that in control, and the activity of GOGAT in BC+N144 treatment was always significantly higher than that in CK. Except the 53th and 138th day after sowing, the activity of GOGAT in BC+N126 treatment was significantly higher than that in CK. Applying biochar increased the sugar beet root yield and sugar content significantly, except that in BC+N108 treatment. At the base of applying biochar, BC+N162 treatment obtained similar root and sugar yield as BC+N180 treatment, and significantly higher root and sugar yield than BC+N144 and BC+N108 treatments. **【 Conclusions 】** The application of biochar is effective to alleviate the saline-alkali stress on the population of soil microorganisms and increase the activities of enzymes related to the metabolism of beet nitrogen, and improve the yield and sugar content consequently. Under the condition of the experiment, the application of 3% biochar in soil can save 10%–20% of nitrogen fertilizer input.

Key words: sugar beet; saline-alkali stress; biochar; reduced nitrogen application; soil microorganism population; sugar yield

甜菜是我国主要糖料作物之一, 原产于地中海沿岸, 在系统发育过程中积累了较强的耐盐性, 甜菜还是嫌酸性作物, 适宜甜菜生长的 pH 范围为 6.5~8.0, 耐碱性在栽培作物中名列前茅^[1]。我国的甜菜主要分布于西北、东北和华北等地区^[2], 我国有约 3460 万 hm² 盐碱荒地, 其中 760 万 hm² 为盐碱化耕地, 约占耕地总面积的 6%^[3]。这些盐碱地主要集中在我国东北平原、西北干旱和半干旱地区、黄淮海平原及东部沿海地区。因此, 甜菜作为我国盐碱地有种植潜力的农作物之一, 对东北地区苏打盐碱土的修复和开发利用具有重要意义。

生物炭是指由生物质在低氧或缺氧条件下高温裂解得到的富含碳具有多孔性、碱性, 且吸附能力强等的一种有机物质^[4]。生物炭本身还含有丰富的营养元素, 能改善土壤肥力提高作物产量^[5]。生物炭在农业上的应用主要为在土壤中直接添加生物炭颗粒, 以改良土壤营养状况, 改善作物的生长环境; 生物炭还能够增强作物抗逆性, 提高作物根际土壤养分有效性^[6]。农田施加生物炭, 可有效改善土壤理化性质, 提高土壤生产性能, 如提高土壤温度^[7], 增强土壤的保肥供肥能力, 还可以通过为土壤微生物

提供附着位点, 影响和调控微生物的生长发育, 提高土壤微生物数量, 进而改善土壤肥力及缓解盐碱胁迫^[8]; 施加生物炭还能提高叶片氮代谢相关酶活性, 如硝酸还原酶 (NR) 和谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性^[9]。

氮肥是世界化肥业生产和使用量最大的肥料品种, 过量施用氮肥可能会造成环境污染和能源浪费, 解决氮素面源污染问题的最有效方法就是将氮肥施用量降低至合理范围^[10]。过量施用氮肥还会导致甜菜含糖率下降^[11]。山东南四湖稻区在原有施氮水平降低 30% 后, 水稻营养生长和生殖生长更加协调, 且对水稻产量无不利影响^[12], 研究表明适当减施化肥并配施生物肥既能保证花椰菜产量, 还能够显著改善花椰菜品质^[13]。目前对生物炭的研究主要集中在生物炭的肥料作用对作物生长的影响, 作为改良剂改善农田土壤环境, 利用生物炭的吸附作用治理农业污染等方面^[14], 但在盐碱胁迫条件下探究生物炭和减施氮肥对土壤微生物和作物生长的影响鲜有报道。

因此本试验在前人研究的基础上, 围绕盐碱胁迫下生物炭配施氮肥对土壤微生物数量、甜菜氮代谢相关酶活性、产量及含糖率的影响展开研究, 在

施加生物炭后按照 10% 的梯度减施氮肥, 考虑到甜菜的耐盐碱性, 将甜菜正常土壤下氮肥施用量 150 kg/hm^2 增加 20% 作为盐碱胁迫下正常施氮处理, 即 180 kg/hm^2 ^[15]。以期筛选出在盐碱胁迫下施加生物炭条件下的合理施氮范围, 并进一步为盐碱地甜菜优质、高产、高效栽培提供理论依据, 也为盐碱地科学改良、绿色施肥提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试甜菜品种为 KWS0143, 由德国 KWS 公司生产。生物炭由东北农业大学资源与环境学院提供。

1.2 试验设计

试验于哈尔滨 ($126^{\circ}63'E$ 、 $130^{\circ}10'N$) 东北农业大学试验站进行。供试基础土壤 (0—20cm) 为本地自然黑钙土, 基础土壤肥力为: 碱解氮 176.3 mg/kg 、速效磷 83.3 mg/kg 、速效钾 153.2 mg/kg 、有机质 35.7 g/kg 、水溶性钠 28.85 mg/kg 、可溶性盐总量 0.08%、pH 7.65、水土比 5 : 1 浸提液电导率 ($EC_{5:1}$) 为 $122 \mu\text{S/cm}$ 。生物炭为玉米秸秆在 500°C 的高温低氧条件下制成, 其理化性质如下: pH 9.29、含碳量 (碳元素) 67.08%、阳离子交换量 18.40 cmol/kg 、比表面积 $78.89 \text{ m}^2/\text{g}$ 。处理后土壤碱化度 (ESP) 32.6%、土壤盐分 0.39 g/kg 、pH 9.15、 $EC_{5:1}$ 为 $781 \mu\text{S/cm}$ 。

采用桶栽试验, 模拟东北地区盐碱土主要成分, 桶的直径为 30.0 cm、高为 26.5 cm, 每桶准确称量土壤 10 kg。盐碱处理以碱性盐和中性盐按质量比 2 : 1 加入土壤, 使 Na^+ 含量为 3 g/kg , 其中碱性盐中 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 物质的量比为 1 : 2; 中性盐中 NaCl 和 Na_2SO_4 物质的量比为 1 : 2。共设置 6 个处理: 不施生物炭施氮 180 kg/hm^2 对照 (CK); 在施生物炭基础上, 分别施 N 180、162、144、126 和 108 kg/hm^2 , 减少氮肥用量的梯度为 10%、20%、30% 和 40%, 分别用 BC+N180、BC+N162、BC+N144、BC+N126、BC+N108 表示。除对照外, 生物炭的施用量为土壤风干重量的 3%, 每桶 300 g, 将盐碱、化肥和生物炭分别称量好, 与土壤混匀后装入桶中^[16-17]。所有处理均施 P_2O_5 90 kg/hm^2 、 K_2O 90 kg/hm^2 , 供试肥料分别为尿素、磷酸二铵和硫酸钾, 一周后播种, 每个处理重复 40 次。

4 月 30 日播种, 每桶播 5 穴, 每穴播 10 粒种子。播种前每桶浇水 2 L (浇透)。搭建防雨棚, 叶丛

快速生长期每 2 天浇一次水, 每次每桶 500 mL, 其他时期每周浇水一次, 每次每桶浇 1 L。甜菜第二对真叶完全展开后于 5 月 25 日间苗, 每桶定苗 1 株; 第三对真叶展开后, 每隔 20 天左右在晴好天气 (播种后第 53、72、97、117、138 天) 每个处理各随机采集 3 株长势一致的甜菜植株, 测定相应指标。整个生育期内共取样 5 次, 9 月 29 日收获测产, 并测定糖含量。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 土壤基础肥力的测定 土壤基础肥力测定参照鲍士旦的方法^[18], 在装有未经处理土壤的桶内, 采用环刀法取土样。土壤 pH 和土壤电导率的测定: 将风干的土样按水土比 5 : 1 混合, 分别用校准过的 pH 计 (Cyber Scan1500, 上海) 和电导率仪 (METTLER TOLED FE30-Five Easy Plus™, 上海) 测定; 碱解氮的测定采用碱解扩散法, 用 1.0 mol/L 的 NaOH 水解土壤后用标准酸滴定; 速效磷的测定使用 0.5 mol/L NaHCO_3 提取法; 速效钾的测定采用 NH_4OAc 浸提—火焰光度法; 有机质的测定采用重铬酸钾容量法—外加热法; 可溶性钠的测定采用火焰光度法; 可溶性盐的测定采用水土比 5 : 1 浸提法。

1.3.2 根际土壤微生物的测定 根际土的采集: 播种后第 53、72、97、117、138 天分别采集甜菜样品的同时取土样, 将桶内 15 cm 左右深度的细根和土壤挖掘出来, 轻轻抖动使根系上附着的松散土掉落, 然后用毛刷取下细根表面土壤即为根际土样品。将采集到的土样装入封口袋, 放入冰盒中保存并迅速带回实验室进行处理。

土壤微生物数量测定参照林先贵^[19]的方法, 每处理取新鲜土壤各 3 份, 制作土壤悬液, 采用稀释涂布平板法将土壤悬液稀释至所需倍数, 取 0.05 mL 于培养基上涂匀, 倒置于恒温培养箱中培养。

放线菌使用改良高氏 1 号培养基, 选择 10^{-3} 和 10^{-4} 两个稀释倍数, 培养 5 天, 培养结束后选择含 20~200 菌落的培养基计数; 细菌使用牛肉膏蛋白胨培养基, 选择 10^{-5} 和 10^{-6} 两个稀释倍数, 培养 2 天, 培养结束后选择含 20~200 菌落的培养基计数; 真菌使用马丁氏培养基, 选择 10^{-1} 和 10^{-2} 两个稀释倍数, 培养 3 天, 培养结束后选择含 10~100 菌落的培养基计数。

1.3.3 出苗率的测定 待甜菜子叶完全展开时统计幼苗出苗情况, 计算出苗率。

出苗率 (%) = 出苗数 (株) / 播种的种子数 (粒) ×

100

1.3.4 氮代谢相关酶活性测定 选择各生育时期内的晴天(播种后第 53、72、97、117、138 天), 在上午 8:00—10:00 点选取 3 株长势良好、无病虫害的植株放入冰盒带回实验室, 选取长势良好的叶片进行酶活性测定。硝酸还原酶(NR)活性测定参照于海彬等^[20]的方法, 测定内源 NR 活力, 酶活力单位用 $\text{NO}_2^- \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, FW 表示。

谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)活性的测定, 酶提取液按照 Zhang 等^[21]的方法并改进。取 1 g 叶片于研钵中, 加 5 mL 50 mmol/L pH 8.0 的咪唑-HCl 提取缓冲液, 液氮速冻研磨, 4℃下 6000 r/min 离心 20 min, 取上清液备用。GS 活性测定按照 Lea 等^[22]的方法, 用 γ -谷氨酰基羟亏酸作标准曲线, 根据标准曲线查得酶活性。GOGAT 活性的测定参照 Singh 等^[23]的方法, 反应由 L-谷氨酰胺启动, 340 nm 下每分钟使吸光值下降 0.001 作为一个酶活性单位。

1.3.5 产量、含糖率和产糖量的测定 收获后, 每处理取长势均匀的 5 株甜菜测定块根质量, 计算平均值即为块根产量(g/株), 用便携式折光仪(WYT, 泉州)测定上述 5 株甜菜块根含糖率, 取平均数, 并计算产糖量(g/株)。

$$\text{产糖量}(\text{g}/\text{株}) = \text{含糖率}(\%) \times \text{产量}(\text{g}/\text{株})$$

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2010 数据分析软件进行数据整理, 表中数据以平均值表示, 采用 SPSS 22.0 软件的 Duncan 新复极差法在 5% 水平比较不同处理间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫下施用生物炭和减施氮肥对土壤微生物数量的影响

2.1.1 对土壤细菌数量的影响 由表 1 可知, 在播种后第 53、72、97 和 117 天除 BC+N108 处理外, 各生物炭和氮素配施处理土壤细菌数量均显著高于 CK 处理, BC+N180 处理土壤细菌数量各时期比 N180 (CK) 处理分别增加了 39.4% (53 天)、20.5% (72 天)、34.7% (97 天)、17.6% (117 天) 和 25.6% (138 天)。随氮肥施用量的降低, 土壤中细菌数量整体呈下降趋势。与 CK 处理相比, 盐碱处理下施加生物炭, 氮肥施用量降低 30% 时土壤中细菌数量仍为增加状态。

表 1 不同氮素水平下施用生物炭对根际土壤细菌数量的影响 ($\times 10^6$ CFU/g)

Table 1 Effects of biochar application at different nitrogen levels on bacterial population in rhizosphere soil

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	19.33 c	20.34 d	13.93 c	15.35 c	7.16 b
BC+N180	31.88 a	25.59 a	21.35 a	18.62 b	9.63 a
BC+N162	31.37 a	25.20 a	22.04 a	19.44 ab	10.12 a
BC+N144	28.80 b	23.01 b	17.51 b	20.25 a	7.56 b
BC+N126	28.00 b	21.62 c	16.94 b	18.67 b	7.39 b
BC+N108	17.54 d	16.14 e	12.56 c	16.38 c	6.37 b

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

2.1.2 对土壤真菌数量的影响 由表 2 可知, 随着生育进程的推进, 各处理土壤真菌数量播种后第 72 天和第 117 天出现最高和次高。除 BC+N108、BC+N126 处理外, 各生物炭和氮素配施处理土壤真菌数量分别在不同取样时期比 CK 增加。BC+N180 处理各时期土壤真菌数量分别比 CK 处理高 31.9% (53 天)、18.3% (72 天)、23.1% (97 天)、10.6% (117 天)、15.3% (138 天), 且差异显著。BC+N162 处理比 BC+N180 处理除播种后第 72 天降低外, 其他生育期 BC+N162 处理比 BC+N180 处理分别高 12.03% (53 天)、5.05% (97 天)、12.05% (117 天)、6.95% (138 天), 即施加生物炭后氮肥减施 10% 更有利于农田土壤真菌生存。

2.1.3 对土壤放线菌数量的影响 由表 3 可知, BC+N180 处理土壤中的放线菌数量在各时期分别比 N180 (CK) 处理高 5.5% (53 天)、23.8% (72 天)、13.0% (97 天)、11.8% (117 天)、12.0% (138 天), 且差异显著。减施氮肥 10% 后土壤放线菌数量在播种后第 72 天显著高于 N180 (CK) 处理, 其他时期差异不显著, 随施氮量降低, 各时期土壤放线菌含量呈降低趋势, 减施氮肥 20% 后在播种后第 53 天、第 117 天和第 138 天土壤放线菌数量显著低于 N180 (CK) 处理。

2.2 盐碱胁迫下施用生物炭和减施氮肥对甜菜出苗率的影响

图 1 表明, 在施生物炭各处理间出苗率差异不显著, 但比 CK 处理均显著增加了 10% 以上, 即盐碱胁迫下施加生物炭后氮肥施用量为 108 kg/hm² 时

表 2 不同氮素水平下施用生物炭对根际土壤真菌数量的影响 ($\times 10^3$ CFU/g)

Table 2 Effects of biochar application at different nitrogen levels on fungi population in rhizosphere soil

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	4.43 d	18.01 bc	11.84 b	14.29 cd	9.87 c
BC+N180	6.50 ab	22.03 a	15.39 a	15.99 b	11.66 ab
BC+N162	7.39 ab	22.00 a	16.21 a	18.18 a	12.53 a
BC+N144	6.69 ab	21.13 a	13.09 b	15.73 bc	10.92 bc
BC+N126	6.18 bc	18.76 bc	12.25 b	13.62 d	11.03 bc
BC+N108	5.27 cd	16.81 c	7.59 c	10.25 e	6.98 d

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

表 3 不同氮素水平下施用生物炭对根际土壤放线菌数量的影响 ($\times 10^5$ CFU/g)

Table 3 Effects of biochar application at different nitrogen levels on actinomycetes population in rhizosphere soil

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	34.05 b	43.91 c	53.17 b	43.14 b	41.72 b
BC+N180	35.93 a	54.38 a	60.06 a	48.21 a	46.72 a
BC+N162	33.37 b	45.62 b	52.47 b	43.25 b	40.79 b
BC+N144	27.17 c	43.39 c	52.76 b	37.95 c	37.70 c
BC+N126	23.96 d	37.69 d	49.36 c	35.17 d	33.44 d
BC+N108	20.04 e	27.28 e	47.64 d	34.02 d	30.37 e

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

仍能保证出苗率。

2.3 盐碱胁迫下施加生物炭减施氮肥对甜菜叶片氮代谢相关酶活性的影响

2.3.1 对甜菜叶片 NR 活性的影响 由表 4 可知, 各处理甜菜叶片 NR 活性均在播种后第 53 天达到最大值, 播种后第 53 天至播种后第 97 天处于快速下降阶段, 播种后第 97 天至播种后第 138 天趋于稳定。施加生物炭后, BC+N180 处理甜菜叶片 NR 活性在各时期均显著高于 CK 处理, 减施氮肥 10% 和 20% 后各时期 NR 活性仍高于 CK, 且除播种后第 117 天和播种后第 138 天外差异均达显著水平。施加生物炭后氮肥施用量降至 144 kg/hm^2 时仍能显著提

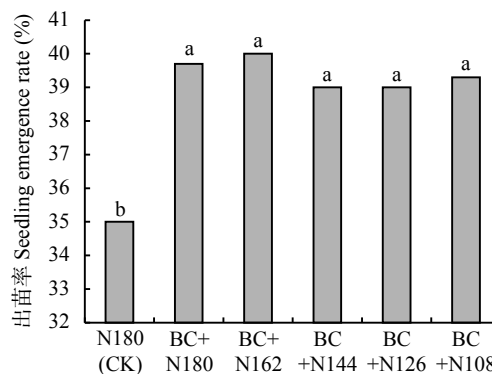


图 1 不同氮素水平下施用生物炭对甜菜种子出苗率的影响

Fig. 1 Effects of biochar application at different nitrogen levels on the seedling emergence rate of sugar beet

[注 (Note): 柱上不同字母表示处理间在 0.05 差异水平显著 Different letters above the bars indicate significant difference between treatments at the 0.05 level.]

高甜菜叶片 NR 活性。

2.3.2 对甜菜叶片 GS 活性的影响 由表 5 可知, 各处理甜菜叶片 GS 活性随生育期的推进整体呈下降趋势, 从播种后第 53 天至第 117 天为快速下降阶段, 播种后第 117 天至第 138 天趋于稳定。随着施氮量的降低播种后不同天数 GS 活性均呈降低趋势, BC+N180 处理各时期 GS 活性与 CK 相比分别提高了 27.0% (53 天)、29.1% (72 天)、35.1% (97 天)、33.8% (117 天)、42.8% (138 天), BC+N162 处理和 BC+N144 处理甜菜叶片 GS 活性除播种后第 117 天和第 138 天外均显著高于 CK, 即 BC+144 处理仍有增加叶片 GS 活性的作用。

表 4 不同氮素水平下施用生物炭对叶片 NR 活性的影响 [$\text{NO}_2^- \mu\text{g}(\text{g}\cdot\text{h}), \text{FW}$]

Table 4 Effects of biochar application at different nitrogen levels on the NR activity in leaves

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	2.46 c	2.33 c	2.16 c	2.03 bc	1.97 b
BC+N180	2.65 a	2.50 a	2.26 a	2.07 a	2.05 a
BC+N162	2.57 b	2.43 b	2.25 a	2.06 ab	2.05 a
BC+N144	2.54 b	2.42 b	2.22 ab	2.04 bc	2.01 ab
BC+N126	2.46 c	2.35 c	2.20 bc	2.02 c	1.98 b
BC+N108	2.37 d	2.29 d	2.11 d	1.96 d	1.94 b

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

表 5 不同氮素水平下施用生物炭对叶片 GS 活性影响
[GHA $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$]

Table 5 Effects of biochar application at different nitrogen levels on the GS activity of leaves

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	0.32 e	0.21 d	0.17 c	0.06 b	0.05 bc
BC+N180	0.43 a	0.29 a	0.27 a	0.10 a	0.09 a
BC+N162	0.41 b	0.28 b	0.26 a	0.07 ab	0.06 b
BC+N144	0.39 c	0.26 c	0.23 b	0.06 b	0.05 bc
BC+N126	0.34 d	0.21 d	0.18 c	0.06 b	0.04 cd
BC+N108	0.31 e	0.17 e	0.16 c	0.02 c	0.02 d

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

表 6 不同氮素水平下施用生物炭对叶片 GOGAT 活性的影响 [Glu $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$]

Table 6 Effects of biochar application at different nitrogen levels on the GOGAT activity of leaves

处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)				
	53	72	97	117	138
N180(CK)	0.28 c	0.29 d	0.22 d	0.25 d	0.19 de
BC+N180	0.45 ab	0.40 b	0.37 a	0.43 b	0.34 a
BC+N162	0.52 a	0.42 a	0.33 b	0.46 a	0.31 b
BC+N144	0.50 a	0.39 b	0.33 b	0.36 c	0.25 c
BC+N126	0.33 bc	0.36 c	0.25 c	0.33 c	0.20 cd
BC+N108	0.20 c	0.24 e	0.25 c	0.27 e	0.18 e

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

2.3.3 对甜菜叶片 GOGAT 活性的影响 由表 6 可知, 各处理甜菜叶片 GOGAT 活性随生育期的推进, 整体呈下降趋势, 施加生物炭后 BC+N180 处理甜菜叶片 GOGAT 活性在各时期比 N180 (CK) 处理分别提高了 38.7% (53 天)、27.1% (72 天)、39.7% (97 天)、40.8% (117 天)、45.4% (138 天), BC+N162 和 BC+N144 处理在各时期叶片 GOGAT 活性均显著高于 N180 (CK) 处理。减施氮肥 10% 后 GOGAT 活性在播种后第 72 和 117 天显著高于 BC+N180 处理, 减施氮肥 20% 后 GOGAT 活性在播种后第 53 和 72 天与 BC+N180 处理差异不显著, 减施氮肥 30% 后 GOGAT 活性仍高于 N180 (CK) 处理, 且除播种后第 53 和 138 天外, 差异均达显著水平, 即施加生物炭后氮肥施用量在 162~144 kg/hm^2 能够维持叶片 GOGAT 活性与 BC+N180 处理在相同水平, 氮施用量为 126 kg/hm^2 时仍能增加盐碱胁迫下甜菜叶片 GOGAT 活性。

2.4 盐碱胁迫下施用生物炭和减施氮肥对甜菜产量、含糖率和产糖量的影响

由表 7 可知, 与 N180 (CK) 处理相比, 除 BC+N108 处理外各施加生物炭处理甜菜的产量、含糖率、产糖量均有显著增高。减施氮肥 20% (BC+N144) 后甜菜块根产量显著高出 N180 (CK) 处理 18.76%, 与 BC+N162 处理差异不显著, 减施氮肥 30% 后甜菜块根产量仍显著高于 N180 (CK) 处理, 但显著低于 BC+N144 处理; 减施氮肥 30% 含糖率仍显著高于 N180 (CK) 处理, 含糖率最高的处理为 BC+N162, 比 N180 (CK) 处理高 0.96 个百分点, 比

BC+N180 处理高 0.25 个百分点; 产糖量最高的处理为 BC+N162, 比 N180 (CK) 处理高 27.76%, 比 BC+N180 处理高 0.55%, 与除 BC+N180 处理外的所有处理差异均达显著水平。施加生物炭后氮肥施用量降至 144 kg/hm^2 时产糖量仍显著高于 N180 (CK) 处理, 且与 BC+N180 处理差异不显著。

3 讨论

土壤微生物是农田土壤中比较活跃的组分之一, 推动着土壤代谢的进程。土壤中的细菌、真菌和放线菌状况还可以作为盐碱土改良指标^[24]。有研究认为在盐碱胁迫下蔬菜地土壤细菌、真菌数量下降, 放线菌数量上升^[25], 与本试验结果一致。在播种后第 53 天、第 72 天、第 97 天、第 117 天除 BC+N180 处理外各施加生物炭处理土壤细菌数量均显著高于 N180 (CK) 处理, 即施加生物炭能够显著提高土壤细菌数量。这可能与土壤 pH 有关, 真菌在偏酸性土壤中较多, 且生长随 pH 升高而降低, 细菌和放线菌在偏碱性土壤中数量最多^[26]。本试验施加生物炭后土壤环境可能更适合放线菌生长, 与细菌生长形成竞争, 导致细菌数量下降。施加生物炭后减施氮肥 10% 仍能保持土壤中真菌和细菌数量, 减施氮肥 30% 后与 N180 (CK) 相比土壤中真菌和细菌数量仍为增加趋势, 这可能是因为施加生物炭为土壤微生物提供了更多的附着位点和有机质, 细菌和真菌的代谢达到饱和状态, 故减施氮肥对真菌和细菌数量影响不大。与 BC+N180 处理相比土壤放线菌数量在各减氮处理均显著降低, 但与 N180 (CK) 处理相比

表 7 不同氮素水平下施用生物炭对甜菜块根产量、含糖率和产糖量的影响

Table 7 Effects of biochar application at different nitrogen levels on root yield, sugar content and sugar yield of sugar beet

处理 Treatment	块根产量 (g/plant) Root yield	增产率 (%) Broot yield increase	含糖率 (%) Sugar content	产糖量 (g/plant) Sugar yield	产糖量增加率 (%) Sugar yield increase
N180(CK)	185.00 c		13.20 c	24.42 d	
BC+N180	223.05 a	20.57	13.91 ab	31.03 ab	27.06
BC+N162	220.36 a	19.11	14.16 a	31.20 a	27.76
BC+N144	219.71 a	18.76	13.83 b	30.39 b	24.42
BC+N126	198.75 b	7.43	13.78 b	27.38 c	12.11
BC+N108	184.39 c	-0.33	13.07 c	24.09 d	-1.36

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 Different letters in the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

减施氮肥 10% 仍能保持土壤放线菌数量, 这可能与土壤微生物群落的稳定性有关。

生物炭能增加土壤对 NH_4^+ 等离子的吸附和保持, 减少氮损失, 从而为作物生长提供充足氮素营养, 促进种子萌发^[27]。而植物种子能否正常萌发是研究植物抗盐碱能力的前提。有研究认为可能受土壤电导率变化的影响, 轻度盐碱化条件下施加生物炭对小麦种子出苗有抑制作用, 只有在重度盐碱化的土壤中, 低浓度的生物炭才能显著促进小麦出苗^[8], 本试验中施加生物炭后各施氮处理出苗率比 N180 (CK) 均增加了 10% 以上, 减施氮肥各处理间出苗率差异不显著, 这可能与甜菜自身的耐盐碱性有关, 且施加生物炭能够将土壤温度提高到更有利于甜菜出苗水平, 因此氮肥施用量为 108 kg/hm² 时生物炭仍能缓解盐碱胁迫对甜菜出苗的抑制。

NR 是氮代谢的限速酶, 其活性可以代表氮素同化效率, 但易受逆境胁迫的影响^[28], 在盐碱胁迫下苜蓿幼苗生长受到抑制, NR、GS 和 GOGAT 活性均降低, 进而影响硝态氮含量, 降低氮同化^[29]。施加生物炭能有效提高玉米氮代谢相关酶活性, 延缓玉米衰老^[30], 本试验中施加生物炭后, 施氮 180 kg/hm² 甜菜叶片 NR 活性在播种后不同天数均显著高于 CK 处理, 减施氮肥 10% 和 20% 后, 各时期 NR 活性仍高于 N180 (CK), 除播种后第 117 和 138 天外差异均达显著水平, 即生物炭能够缓解盐碱胁迫对甜菜叶片氮代谢相关酶活性的抑制作用, 这可能是由于除了生物炭自身的养分供应外, 施加生物炭还增强了土壤对肥料的吸收和缓释作用, 提高了土壤的养分供应能力, 土壤供氮充足。GOGAT 活性在施生物炭后随氮肥施用量的减少先增加后降低, 氮肥施用量减少 20% 处理下 GOGAT 活性仍显著高于不施生物炭

只施 N 180 kg/hm² 的 CK 处理。另外, 本试验还发现盐碱胁迫下施加生物炭后减施氮肥对 GOGAT 活性的影响程度大于对 NR 和 GS 的影响, 但具体机制尚不清楚。

有研究认为, 施加生物炭会降低残留除草剂对甜菜的危害, 提高甜菜产量、含糖率、总产糖量, 与不施加生物炭处理差异显著^[31]。本研究表明, 与 CK 相比除 BC+N108 处理外施加生物炭后甜菜块根产量、含糖率、产糖量均显著升高, 这可能是因为生物炭施入土壤后易形成大团聚体, 对 NH_4^+ 有强吸附和保持作用, 减少氮损失, 提高土壤氮素营养, 而植物所需氮素除种子能提供少部分外, 绝大多数来源于土壤, 因此对根系的扩展和养分吸收十分有利^[32]。而且生物炭对土壤持水性的改善作用也是生物炭施入土壤后作物增产的主要原因^[33]。还有研究认为, 生物炭和氮肥交互作用对作物产量影响更显著^[34], 张万杰等^[35]发现生物炭和氮肥配施可以使菠菜增产。本试验施加生物炭后减施氮肥 10% 甜菜块根产量和产糖量仍与 BC+N180 处理差异不显著, 减施氮肥 20% 后甜菜块根含糖率与 BC+N180 处理差异不显著, 这一方面可能是因为生物炭提高了盐碱胁迫下甜菜出苗率, 直接提高了产量; 另一方面可能是因为生物炭与氮肥配合施用提高了盐碱土养分供应能力, 提高了甜菜叶片氮代谢相关酶活性, 生长前期有足够的物质积累, 从而延长了甜菜块根膨大期和糖分积累期持续时间, 提高了产量和产糖量, 但具体影响机理还需进一步研究。

本试验为桶栽试验, 与田间自然环境有一定差异, 因此关于本研究结果还有待进一步在田间条件下检验。

4 结论

施加生物炭能够有效缓解盐碱胁迫对土壤微生物数量的影响, 显著增加土壤中细菌、真菌、放线菌数量。施加生物炭还能够有效缓解盐碱胁迫对甜菜叶片氮代谢相关酶活性的抑制, 提高产量、含糖率和产糖量。本试验条件下, 施加土壤风干质量 3% 的生物炭后, 可节约氮肥施用量 10%~20%。

参考文献:

- [1] 秦树才, 李刚, 李实, 蔡葆. 我国甜菜抗盐资源的鉴定[J]. *中国糖料*, 2004, (2): 43-47.
- Qin S C, Li G, Li S, Cai B. Identification of salt resistant sugar beet resources in China[J]. *Sugar Crops of China*, 2004, (2): 43-47.
- [2] 李承业, 王燕飞, 黄润, 董心久. 我国甜菜抗逆性研究进展[J]. *中国糖料*, 2010, (1): 56-58.
- Li C Y, Wang Y F, Huang R, Dong X J. Research progress in stress resistance of sugar beet[J]. *Sugar Crops of China*, 2010, (1): 56-58.
- [3] 何锦. 大地之殇——盐碱地[N]. *中国自然资源报*, 2019-10-24.
- He J. The war of the earth—saline-alkali land[N]. *China Natural Resources News*, 2019-10-24.
- [4] 田阿林, 雷涛, 邹应斌, 黄敏. 施用生物炭对水稻生长生理特性及产量的影响[J]. *中国稻米*, 2018, 24(3): 25-29.
- Tian A L, Lei T, Zou Y B, Huang M. Effects of biochar addition on growth and physiological characteristics and yield of rice[J]. *Chins Rice*, 2018, 24(3): 25-29.
- [5] 杨放, 李心清, 王兵, 程建中. 生物炭在农业增产和污染治理中的应用[J]. *地球与环境*, 2012, 40(1): 100-107.
- Yang F, Li X Q, Wang B, Cheng J Z. The application of biochar to improving agricultural production and pollution abatement[J]. *Earth and Environment*, 2012, 40(1): 100-107.
- [6] 夏阳. 生物炭对滨海盐碱植物生长及根际土壤环境的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 2015.
- Xia Y. Impact of biochar-rhizosphere system on plant growth by affecting soil nutrient availability and microbial community in coastal saline soil[D]. Qingdao: MS Thesis of Ocean University of China, 2015.
- [7] Obia A, Mulder J, Martinsen V, *et al.* In situ effects of biochar on aggregation, water retention and porosity in light-textured tropical soils[J]. *Soil and Tillage Research*, 2016, 155: 35-44.
- [8] 王桂君, 许振文, 田晓露, 等. 生物炭对盐碱化土壤理化性质及小麦幼苗生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(12): 390-393.
- Wang G J, Xu Z W, Tian X L, *et al.* Effects of biochar on physicochemical properties of salinized soil and wheat seedling growth[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, 41(12): 390-393.
- [9] 张伟明. 生物炭的理化性质及其在作物生产上的应用[D]. 沈阳: 沈阳农业大学博士学位论文, 2012.
- Zhang W M. Physical and chemical properties of biochar and its application in crop production[D]. Shenyang: PhD Dissertation of Shenyang Agricultural University, 2012.
- [10] 高鹏程, 同延安, 张树兰, 等. 减氮施肥推广技术在陕西的实践[J]. *陕西农业科学*, 2010, (1): 135.
- Gao P C, Tong Y A, Zhang S L, *et al.* The practice of nitrogen reduction spreading technique in Shaanxi Province[J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2010, (1): 135.
- [11] 曲文章, 崔杰, 李滨胜, 等. 施氮量与甜菜产量的形成[J]. *中国甜菜*, 1992, (4): 31-36.
- Qu W Z, Cui J, Li B S, *et al.* The formation of sugarbeet yield and amounts of nitrogen applied[J]. *China Beet*, 1992, (4): 31-36.
- [12] 赵庆雷, 吴修, 高洁, 等. 氮肥不同用量对南四湖区水稻产量及氮素利用率的影响[J]. *山东农业科学*, 2013, 45(7): 78-82.
- Zhao Q L, Wu X, Gao J, *et al.* Influence of different nitrogen application amounts on rice yield and nitrogen use efficiency in Nansi Lake area[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2013, 45(7): 78-82.
- [13] 李杰, 贾豪语, 颜建明, 等. 生物肥部分替代化肥对花椰菜产量、品质、光合特性及肥料利用率的影响[J]. *草业学报*, 2015, 24(1): 47-55.
- Li J, Jia H Y, Jie J M, *et al.* Effects of partial substitution of mineral fertilizer by bio-fertilizer on yield, quality, photosynthesis and fertilizer utilization rate in broccoli[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(1): 47-55.
- [14] 吕贝贝, 张贵云, 张丽萍, 等. 生物炭在农业上的应用进展[J]. *山西农业科学*, 2018, 46(12): 2118-2121.
- Lü B B, Zhang G Y, Zhang L P, *et al.* Application progress of biochar in agriculture[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Science*, 2018, 46(12): 2118-2121.
- [15] 巨晓棠, 谷保静. 我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(4): 783-795.
- Ju X T, Gu B J. Status quo, problem and trend of nitrogen fertilization in China[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2014, 20(4): 783-795.
- [16] 徐璐, 王志春, 赵长巍, 等. 东北地区盐碱土及耕作改良研究进展[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(27): 23-31.
- Xu L, Wang Z C, Zhao C W, *et al.* A review of saline-sodic soil and tillage amelioration in northeast of China[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(27): 23-31.
- [17] 刘磊, 李彩凤, 郭广浩, 等. NaCl+Na₂SO₄ 胁迫对甜菜根际土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. *核农学报*, 2016, 30(10): 2022-2040.
- Liu L, Li C F, Guo G H, *et al.* Effects of NaCl+Na₂SO₄ stress on microbial population and enzyme activity in rhizosphere of beetroot[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(10): 2022-2040.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- Bao S D. Soil and agricultural chemistry (3rd Edition)[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2007.
- [19] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- Lin X G. Principles and methods of soil microorganism research[M]. Beijing: Higher Education Press, 2010.
- [20] 于海彬, 蔡葆, 孙国琴, 王秋. 甜菜硝酸还原酶活性研究[J]. *中国甜菜*, 1993, (3): 22-27.
- Yu H B, Cai B, Sun G Q, Wang Q. Studies on nitrate reductase activity in sugar beet[J]. *China Beet*, 1993, (3): 22-27.
- [21] Zhang C, Peng S, Bennett J. Glutamine synthetase and its isoforms in rice spikelets and rachis during grain development[J]. *Journal of Plant*

- Physiology*, 2000, 156(2): 230–233.
- [22] Lea P J, Joy K W, Blackwell R D. Nitrogen metabolism of mutants of barley lacking key enzymes of ammonia assimilation[A]. Ullrich W R, Rigano C, Fuggi A, Aparicio P J. Inorganic nitrogen in plants and microorganisms[M]. Springer, Berlin, Heidelberg. 1990.
- [23] Singh R P, Srivastava H S. Increase in glutamate synthase (NADH) activity in maize seedlings in response to nitrate and ammonium nitrogen[J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 66(3): 413–416.
- [24] 肖克飏. 宁夏银北地区耐盐植物改良盐碱土机理及试验研究[D]. 西安: 西北农林科技大学博士学位论文, 2013.
- Xiao K B. Experimental study on mechanism of halophyte remediation in alkali-saline soil in the north region of Yinchuan, Ningxia[D]. Xi'an: PhD Dissertation of Northwest A&F University, 2013.
- [25] 周德平, 吴淑杭, 褚长彬, 等. 盐胁迫对蔬菜地土壤微生物及土壤酶活的毒害效应[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(8): 1602–1607.
- Zhou D P, Wu S H, Chu C B, *et al.* Eco-toxicological effects of salt stress on microorganisms and enzymes activities in vegetable soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(8): 1602–1607.
- [26] 孙冰洁, 张晓平, 贾淑霞. 农田土壤理化性质对土壤微生物群落的影响[J]. *土壤与作物*, 2013, 2(3): 138–144.
- Sun B J, Zhang X P, Jia S X. The effect of soil physical and chemical properties on soil microbial community in agro-ecosystem[J]. *Soil and Crop*, 2013, 2(3): 138–144.
- [27] Rondon M A, Lehmann J, Ramirez J, Hurtado M. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with biochar additions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, 43(6): 699–708.
- [28] Kaiser W M, Huber S C. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52(363): 1981–1989.
- [29] 周万海, 师尚礼, 寇江涛. 盐胁迫下外源 NO 对苜蓿幼苗生长及氮代谢的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(11): 3003–3008.
- Zhou W H, Shi S L, Kou J T. Effects of exogenous nitric oxide on the growth and nitrogen metabolism of alfalfa seedlings under salt stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(11): 3003–3008.
- [30] 刘国玲, 王宏伟, 蒋健, 等. 生物炭对郑单 958 生理生化指标及产量的影响[J]. *玉米科学*, 2016, 24(4): 105–109.
- Liu G L, Wang H W, Jiang J, *et al.* Effects of biochar on physiology and biochemistry and yield in Zhengdan 958[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2016, 24(4): 105–109.
- [31] 李玉梅, 宋柏权, 刘峥宇, 等. 除草剂残留下生物炭对甜菜生长的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2015, 32(3): 269–274.
- Li Y M, Song B Q, Liu Z Y, *et al.* Effects of biochar on sugar beet growth in clomazone residual soil[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2015, 32(3): 269–274.
- [32] 张娟. 种植密度和氮肥水平互作对冬小麦产量和氮素利用率的调控效应研究[D]. 泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2014.
- Zhang J. Combined effect of plant density and nitrogen level on grain yield and nitrogen use efficiency in winter wheat[D]. Tai'an: PhD Dissertation of Shandong Agricultural University, 2014.
- [33] 杨洋. 生物炭对氧四环素吸附热力学研究和对土壤持水性的影响[D]. 北京: 中国地质大学硕士学位论文, 2017.
- Yang Y. Study on thermodynamic adsorption of oxytetracycline on biochar and soil water-holding capacity under biochar amendment [D]. Beijing: MS Thesis of China University of Geosciences, 2017.
- [34] Chan K Y, Zwieter L V, Meszaros L, *et al.* Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2007, 45(8): 629–634.
- [35] 张万杰, 李志芳, 张庆忠, 等. 生物质炭和氮肥肥施对菠菜产量和硝酸盐含量的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(10): 1946–1952.
- Zhang W J, Li Z F, Zhang Q Z, *et al.* Effects of biomass carbon and nitrogen fertilizer on yield and nitrate content of spinach[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(10): 1946–1952.