陈建均,马 健,杨欣妍,等.生物炭对厌氧稻田嘧菌酯降解的影响及其微生物群落变化 [J]. 中国环境科学, 2025,45(10):5648-5656.
Chen J J, Ma J, Yang X Y, et al. Effects of biochar on the degradation of azoxystrobin in anaerobic paddy field and its microbial community changes [J]. China Environmental Science, 2025,45(10):5648-5656.

生物炭对厌氧稻田嘧菌酯降解的影响及其微生物群落变化

陈建均[1],马 健[1],杨欣妍[2],和锐敏[2],卢颖林[2],安玉兴[2],李 爽[2*] (1.华南农业大学植物保护学院,广东 广州 510640；2.广东省科学院南繁种业研究所,广东 广州 510316)

摘要：以华南稻田土壤为研究对象,通过构建微宇宙体系,研究了淹水稻田中添加甘蔗渣生物炭对嘧菌酯在土壤中的降解转化过程及其微生物群落结构组成的影响.结果表明,添加甘蔗渣生物炭(300,500,700℃)在培养前期(10d)能促进嘧菌酯降解(降解率 32.42%~34.87%),高于未添加生物炭土壤的16.48%;在培养后期(50d)抑制其最终降解(生物炭处理组降解率为 88.78%~89.76%,未添加生物炭处理组为 98.77%),呈现先促进后抑制的变化.随着土壤中 700℃生物炭(BC 700)的添加量增加,嘧菌酯降解的抑制效果越明显.同时还鉴定出嘧菌酯代谢物嘧菌酯酸.通过 16S rRNA 高通量分析体系中微生物群落结构组成,结果表明 BC700 的添加会降低土壤中微生物物种总数和丰富度.5%和 10%生物炭添加量与原始土壤、3%生物炭添加量对比,热脱硫杆菌门 Desulfobacterota 相对丰度降低,*Citrifermentans* 和芽孢杆菌属 *Bacillus* 的相对丰度提高,梭状芽孢杆菌属 *Clostridium_sensu_stricto*_12 的相对丰度减少.

关键词：嘧菌酯；甘蔗渣生物炭；微生物群落；水稻土
中图分类号：X53 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)10-5648-09

Effects of biochar on the degradation of azoxystrobin in anaerobic paddy field and its microbial community changes.

CHEN Jian-jun[1], MA Jian[1], YANG Xin-yan[2], HE Rui-min[2], LU Ying-lin[2], AN Yu-xing[2], LI Shuang[2*] (1.College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China；2.Institute of Nanfan & Seed Industry, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510316, China). *China Environmental Science*, 2025,45(10)：5648~5656

Abstract：This study investigated the effects of sugarcane bagasse biochar on the degradation of azoxystrobin and the structural composition of microbial communities in flooded paddy soils from South China using a microcosm system. Results demonstrated that biochar pyrolyzed at 300°C, 500°C, and 700°C accelerated azoxystrobin degradation during the early incubation phase (10d), achieving degradation rates of 32.42%~34.87%, significantly higher than the 16.48% observed in the control (no biochar). However, it ultimately inhibited complete degradation by the late phase (50d), with final degradation rates of 88.78%~89.76% in biochar-amended soils versus 98.77% in the control, demonstrating an initial stimulation followed by suppression. The inhibitory effect intensified with increasing application rates of 700°C biochar (BC700). Azoxystrobin acid, a key metabolite, was identified during this process. High-throughput 16S rRNA sequencing revealed that BC700 addition reduced total microbial species richness and Chao1index. Comparative analysis showed that 5% and 10% biochar treatments significantly decreased the relative abundance of Desulfobacterota while increasing *Citrifermentans* and *Bacillus* spp. compared to pristine soil and the 3% biochar treatment. Conversely, *Clostridium_sensu_stricto_12* abundance declined.

Key words：azoxystrobin；sugarcane bagasse biochar；microbial community；paddy soil

嘧菌酯作为一种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,因其具有低毒、广谱、高效等特点而广泛用于农作物[1].每年有百万吨的农药在全球生产施用,但实际农药利用率不足 40%,施用量约有 60%~70%最终进入土壤环境,因此土壤也成为农药的主要储存库[2],有研究表明在农田里随着种植时间的延长嘧菌酯在土壤中的残留浓度呈现增加趋势[3].嘧菌酯在稻田中可以有效防治稻瘟病和纹枯病,在水稻的耕作和农业生产中广泛应用,因此稻田土壤中也极有可能残留大量的嘧菌酯.

稻田作为特殊的人工生态系统,水稻土由于其季节性的干湿交替特性导致其处于好氧-厌氧交替的特殊生态系统,正是由于好氧-厌氧的交互作用,直接影响着土壤化学特性、相关元素的生物地球化

收稿日期：2025-03-20
基金项目：广东省重点领域研发计划项目(2020B1111530002);广东省科学院青年人才专项(2024GDASQNRC-0206),广东省科学院发展专项资金项目(2022GDASZH-2022030604)
* 责任作者, 副研究员, lishuangtomorrow@163.com

学循环以及微生物群落结构组成,导致稻田生态系统中的生物化学特性极其复杂,而嘧菌酯进入土壤环境后经历一系列的迁移转化与土壤微生物组成和土壤理化特性有着密切的联系.在印度的沙质壤土中发现相对于厌氧环境,嘧菌酯在好氧环境中更加持久难降解,其在厌氧土壤中的半衰期为 62.69d,嘧菌酯酸(R234886)是嘧菌酯降解的唯一的代谢产物[4-5],但是在我国厌氧稻田土壤中嘧菌酯是怎样降解转化的目前尚不清楚.

生物质炭是在缺氧条件下热解生物质产生的富碳、性质稳定的固体产物.生物质炭还田可减少农田温室气体排放、固存 CO_2 并减少 N_2O 排放[6-7].“双碳”战略下,秸秆炭化还田作为有效碳封存途径,已成为最具潜力的秸秆利用技术之一[8].生物质炭作为土壤调理剂,其在土壤农药降解与修复中的应用已成为研究热点[9-10].研究发现不同热解温度以及不同生物炭添加量会对农药的降解起到截然不同的作用,研究表明,仅添加 700℃-10%的生物炭能显著促进多菌灵降解;而不同温度的 10%生物炭及 700℃下的较低浓度生物炭均表现出抑制作用[10].

同时,土壤中蕴藏着大量的微生物,其在农药的降解中发挥着至关重要的作用,利用农药作为微生物自身生长的能源物质也成为降解农药的一种有效途径.研究发现,虽然嘧菌酯在土壤中的半衰期因为土壤理化特性等因素的影响介于56~279d,然而在灭菌的土壤中未发现嘧菌酯明显被降解,因此微生物对于土壤中嘧菌酯的降解起着关键的作用.目前,从农田土壤、畜禽粪便堆肥等环境中分离出了具有降解嘧菌酯能力的可培养菌株,如 *Ochrobactrum anthropi* sp. SH14 和 *Bacillus licheniformis* TAB7 等[11-12].研究发现在菠菜地施加生物质炭,菜地菠菜根际细菌、真菌和放线菌、氨化细菌、好氧自生固氮菌及反硝化细菌的数量都会出现不同程度的提高[13].但是在淹水稻田环境中生物质炭对嘧菌酯降解过程及土壤微生物群落结构的影响尚不清楚.深入了解稻田生物炭影响降解的过程以及微生物群落组成,有利于揭示稻田生物炭作用机制,对治理稻田嘧菌酯污染具有重要的现实意义.本研究以典型稻田土壤为研究对象,通过构建微宇宙实验模拟稻田环境,设置了添加或者未添加甘蔗渣生物炭的不同处理以及灭菌处理,研究了嘧菌酯降解的动力学变化,并利用高通量测序分析了甘蔗渣生物炭影响过程中微生物群落组成,为利用生物炭调控稻田农药残留及安全利用提供科学依据.

1　材料与方法

1.1　样品采集与理化分析

1.1.1　稻田土壤　实验用稻田土壤采自广东省普宁市南溪镇的水稻田,土壤消解动态随机取点 5~10 个,用土钻采集 0~10cm 的耕作层土壤,除去土壤中的碎石、杂草和植物根茎等杂物,混匀后采用四分法留样.土壤样品置于干燥通风阴凉处风干,风干后的样品用玛瑙研钵研磨,磨细的样品过筛(100 目尼龙筛),用封口袋收集过筛的土壤样品保存于干燥器中备用.采集的水稻土壤理化性质见表 1.

表 1　水稻土壤理化性质

Table 1　Physicochemical properties of rice soil

理化指标	取值
pH 值	5.50
有机质(g/kg)	15.56
有机碳(g/kg)	9.03
水溶性有机碳(mg/kg)	50.75
全氮(g/kg)	0.846
全磷(g/kg)	0.506
全钾(g/kg)	10.41
碱解氮(mg/kg)	77.15
有效磷(mg/kg)	41.80
速效钾(mg/kg)	67.59

1.1.2　嘧菌酯(97%)　实验用嘧菌酯购自 Acmec Biochemical.用乙腈溶解嘧菌酯,制备含有 1000mg/L 的嘧菌酯原液.所有使用的乙腈均为高效液相色谱(HPLC)级.

1.1.3　生物炭的制备　本研究中使用的生物炭是在连续吹扫氮气的条件下,以 10°C/min 的升温速率热解 2h 得到.甘蔗渣在 300、500 和 700°C 下产生的生物炭分别标记为 BC 300、BC 500 和 BC 700.

将生物炭磨碎并通过 100 目的筛.采用 BET 吸附法(ASAP 2460, Micromeritics, USA)测定生物炭的比表面积(SSA).采用扫描电镜(SEM, JSM-7800F & TEAM Octane Plus, JEOL, Japan)观察生物炭表面结构和能谱分析.所选生物炭的特性如表 2 所示,生物炭扫描电镜表征如图 1 所示,生物炭红外表征如图 2 所示.

表 2 生物炭的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of biochar

改良剂种类	C (Wt%)	O (Wt%)	Fe (Wt%)	比表面积 (m^2/g)
BC300	12.14	85.56	2.30	23.78
BC500	16.11	81.60	2.29	24.09
BC700	21.70	75.73	2.57	24.44

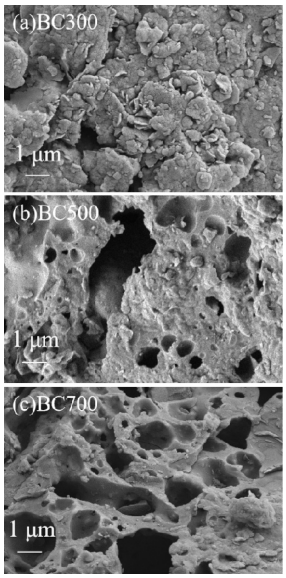


图 1 生物炭扫描电子显微镜表征

Fig.1 Scanning electron microscopy characterization of biochar

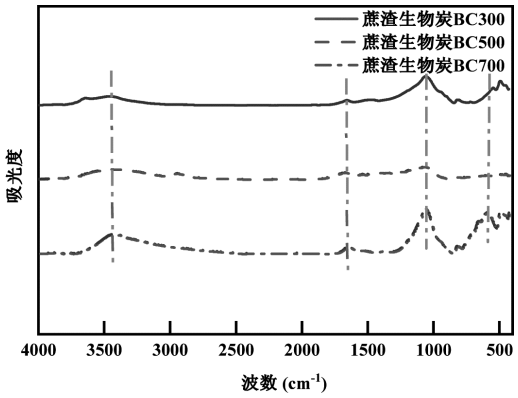


图 2 生物炭红外表征

Fig.2 FTIR characterization of biochar

1.2 实验方法

为了探究在不同温度下产生的生物炭的影响,添加 10% (*w*/*w*,干重)的 BC 300、BC 500 和 BC 700 到土壤样品中.此外,还在土壤中添加了 3%、5%和 10% (*w*/*w*,干重)的 BC 700,以研究生物炭对嘧菌酯降解的影响.

不同温度产生的生物炭实验共设计了 5 个处理组,包括灭菌非生物对照(Sterilized soil+10mg/L),生物对照组(Soil+10mg/L)以及实验组(Soil+BC300, Soil+BC500, Soil+BC700).具体的实验步骤为:将上述晾干研磨过筛的水稻土样品按照土壤:MSM 培养基为 1:10 的比例添加到 100mL 西林瓶中,然后加入 10mg/L 的嘧菌酯,实验组再添加 10%的生物炭,通入 N_2 30min,置换出里面的 O_2 后快速压上橡胶塞和铝盖,将反应样品放在(30±0.1)°C 的培养箱中暗环境静置 50d.在 0, 10, 20, 30, 50d 进行取样.生物与非生物实验取样时间为 0, 5, 12, 20, 30d.

不同生物炭添加量实验设计了四个处理组,对照组 (Soil) 以及实验组 (Soil+3%BC700, Soil+5%BC700, Soil+10%BC700).具体的实验步骤为:将上述晾干研磨过筛的水稻土样品按照土壤:MSM 培养基为 1:10 的比例添加到 100mL 西林瓶中,然后加入 10mg/L 的嘧菌酯,实验组再分别添加 3%、5%、10%的生物炭,通入 N_2 30min,置换出里面的 O_2 后快速压上橡胶塞和铝盖,将反应样品放在(30±0.1)°C 的培养箱中暗环境静置 50d.在第 50d 时进行取样.

本实验西林瓶数目根据采样次数确定,实验所用培养基为 MSM 培养基:10.6g/L $Na_2HPO_4.12H_2O$, 1.5g/L KH_2PO_4, 0.3g/L NH_4Cl, 0.1g/L $MgSO_4.7H_2O$, 1mL/L 微量元素溶液.pH=7.0.

1.3 分析方法

1.3.1 每次取样测定时每个处理随机取 3 瓶,取样时将西林瓶中的悬液摇匀,然后剔去铝盖打开胶塞,将所有土壤悬液转移至 50mL 离心管中,离心(10min, 6000g),上清液用 0.2μm 的滤膜过滤转移到其他离心管中与剩余的土壤样品保存到-20℃.

1.3.2 土壤中嘧菌酯的提取 通过向 10mL 离心管中加入 2g 土壤并将其与 4mL HPLC 级乙腈混合来提取嘧菌酯.将试管摇动 1h,静置 30min 以沉淀,并以 4000r/min 离心 2min.收集 2mL 经 0.2μm 微孔有机滤膜注射式过滤器过滤收集到进样瓶中.在 4℃冰箱中避光保存,待测.

1.3.3 嘧菌酯代谢产物的提取 每个样品取 20mL 添加嘧菌酯的培养液,分别添加 5mL 2%氯化钠溶液和 1mL 0.5mol/L 盐酸,混匀.将其全部转移至 250mL 分液漏斗中,再向其加入 20mL 乙酸乙酯,剧烈振荡 1min 后静置分层,弃去下层溶液,上层溶液过滤于有

20g 无水硫酸钠的小漏斗入 250mL 圆底烧瓶中,重复萃取 2 次,滤液并于烧瓶中,45℃恒温旋蒸至干,用丙酮洗涤圆底烧瓶 3 次,转移并定容至 10mL.取 1mL 经 0.2μm 微孔有机滤膜注射式过滤器过滤收集到进样瓶中.在 4℃冰箱中避光保存,待测.

1.3.4　嘧菌酯　使用超高效液相色谱系统(UPLC)进行检测(Agilent 1260)嘧菌酯.检测器为 DAD 检测器,色谱柱为 Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6mm × 250mm, 5μm),柱温为 30℃,进样量为 10μL,流动相为乙腈:水= 65:35(*V*/*V*),检测波长为 220nm,流速为 1mL/min.

1.3.5　嘧菌酯代谢产物　采用 LC−MS 检测,使用 Accucore aQ 色谱柱(100mm×2.1mm, 2.6μm),柱温 25℃,流动相为甲醇(A)−0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~1min、5% A−5% A, 1~8min、5% A−70% A, 8~12min、70% A−70% A, 12~12.1min、70% A−5% A, 12.1~17min、5% A−5% A),流速 0.2mL/min,检测波长为 190~400nm 全扫.质谱采用电喷雾电离正负离子模式,喷射电压设置为 3.2kV,离子源温度 300℃.鞘气 40.0arb,辅助气 8.0arb,最大喷雾电流为 100μA,探头加热器温度为 300℃.

1.3.6　一级降解动力学模型.嘧菌酯的降解通常符合一级动力学方程.

$$C_t=C_0e^{-kt} \quad (1)$$

式中: t 是时间,d; C_0 为农药残留的初始量, mg; k 是降解速率常数, d^{-1}, C_t 为时间 t 时农药残留量, mg.

农药残留的半衰期计算如下:

$$T_{1/2}=\ln2/k \quad (2)$$

式中: $T_{1/2}$ 是半衰期.

1.3.7　使用 SPSS 16.0 ((SPSS Inc., Chicago, USA))进行所有统计分析,并通过显著性水平<0.05 的单向方差分析(ANOVA)确定处理方法间差异的显著性.所有图表均使用 Origin 2022(OriginLab Corp., Northampton, MA, USA)绘制.

2　结果与讨论

2.1　不同热解温度蔗渣生物炭对嘧菌酯降解动力学的影响

如图 3 所示,嘧菌酯在灭菌土壤中没有降解,而在未灭菌土壤中,30d 降解了 95.06%,在 30d 的培养过程中,灭菌和未灭菌土壤中嘧菌酯的降解可以认为是土壤微生物的作用.这意味着微生物在嘧菌酯的降解中发挥了重要作用.

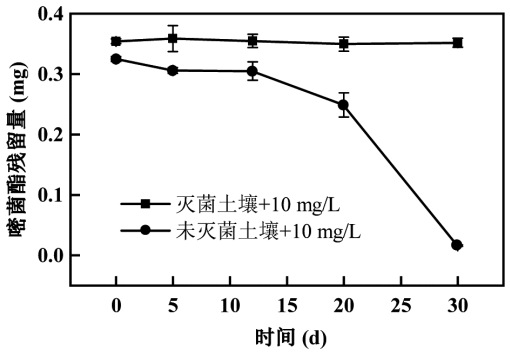


图 3　生物和非生物处理对嘧菌酯残留量的影响

Fig.3　Effects of biological treatment and abiotic treatment groups on azoxystrobin residues

如图 4 所示,测定了不同热解温度下甘蔗渣生物炭对嘧菌酯降解的影响.由图 4(a)可知,在 30d 的培养过程中,Soil+BC 300、Soil+BC 500 和 Soil+BC 700 处理组的嘧菌酯在第 10d 分别降解了 33.08%、34.87%和 32.42%,未添加生物炭的土壤中为 16.48%;而在培养至最后一天(30d)时,Soil+BC 300、Soil+BC 500 和 Soil+BC 700 处理组土壤中的嘧菌酯降解率分别为 89.47%、89.76%和 88.78%,未经处理的土壤中为 98.77%,可见在前 10d 3 种生物炭的添加均促进了土壤嘧菌酯的降解,之后生物炭抑制了嘧菌酯的降解.本文推测生物炭具有吸附部分嘧菌酯的能力,因此被吸附的嘧菌酯不能被微生物尽快降解,这反过来延缓了嘧菌酯的降解.有文献表明,初期生物炭的添加能够促进农药降解可能是由于生物炭可以提供丰富的吸附点位,从而加速农药的吸附和降解过程,并且生物炭与菌共同作用可以显著加快农药的降解,生物炭还能够通过电子穿梭机制加速土壤中有机污染物的降解[14].

通过图 4(b)和图 4(c)可以看出,虽然生物炭抑制了农药的降解,但是生物炭可以吸附农药,降低其移动性.该结果与之前的研究报道相一致,生物炭虽然能够吸附农药,但其吸附的残留农药难以被土壤微生物降解[15].生物炭的添加会增加土壤对某些农药的吸附能力,同时滞后效应更加明显,使农药解吸较为困难.同时高剂量的生物炭对土壤微生物呼吸有抑制作用,这可能会影响土壤中微生物对农药的降解能力[16].

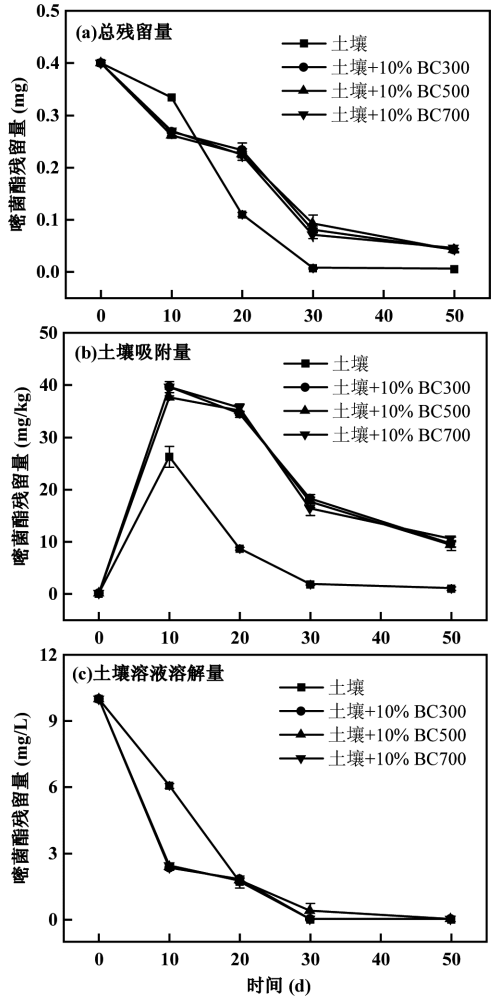


图 4 不同热解温度甘蔗渣生物炭对嘧菌酯残留量的影响

Fig.4 Effect of sugarcane bagasse-derived biochars pyrolyzed at different temperatures on azoxystrobin residues

表 3 一级降解动力学方程

Table 3 First-order degradation kinetics

处理	一级动力学方程	R^2	$T_{1/2}$
原始土壤	C_t=0.433e$^{-0.0592t}$	0.852	13.0
Soil+BC300	C_t=0.407e$^{-0.0405t}$	0.928	17.6
Soil+BC500	C_t=0.404e$^{-0.0403t}$	0.950	17.5
Soil+BC700	C_t=0.408e$^{-0.0419t}$	0.931	17.0

根据图 4(a)结果对嘧菌酯的一级降解动力学方程进行拟合,结果如表 3 所示,在未添加生物炭的土壤中嘧菌酯的降解速率为 0.0592d^{-1},Soil+BC300、Soil+BC500 和 Soil+BC700 处理组嘧菌酯的降解速率分别为 0.0405d^{-1},0.0403d^{-1},0.0419d^{-1},随着生物炭热解温度的升高,嘧菌酯降解速率也逐渐提高,但是添加生物炭并没有提高嘧菌酯的降解速率.三种生物炭半衰期的差异可能是由于它们具有不同的嘧菌酯吸附能力.Soil+BC300、Soil+BC500、Soil+BC700 处理组的半衰期为 17.6,17.5,17.0d,未添加生物炭的土壤中为 13.0d,这表明 BC300、BC500、BC700 的添加对嘧菌酯降解延缓了 35.4%、34.6%、30.8%.此前也有研究报道这种延缓作用,在土壤中添加 1%稻壳生物炭时,乙草胺的半衰期提高了 8 倍[17].同时还有研究发现 BC 300、BC 500 和 BC 700 处理的土壤中多菌灵残留量随着生物炭的热解温度升高而降低[18],这与本实验结果基本一致.

2.2 生物炭的添加量对嘧菌酯降解的影响

相比于添加 BC300 和 BC500,添加 BC700 降解速率更快,因此选择 BC700 作为研究对象,进一步探究其不同添加量对嘧菌酯降解和微生物群落组成的影响.如图 5 所示,Soil 处理组的残留量为 0.0041mg, Soil+3%BC700 处理组残留量为 0.0125mg, Soil+5%BC700 处理组残留量为 0.0179mg, Soil+10%BC700 残留量为 0.0275mg.说明降解率会随着甘蔗渣生物炭 BC700 添加量的增加而降低.同样,有研究发现杂草生物炭的添加率增加时,降解会受到抑制[19].添加橡树生物炭能显著减少土壤中异硫氰酸甲酯的降解[20].然而,也有研究表明随着贝壳生物炭添加率的增加,二甲基二硫在土壤中的降解会加快[19].木质生物炭随着添加率的增加会加快异硫氰酸甲酯的降解[20].

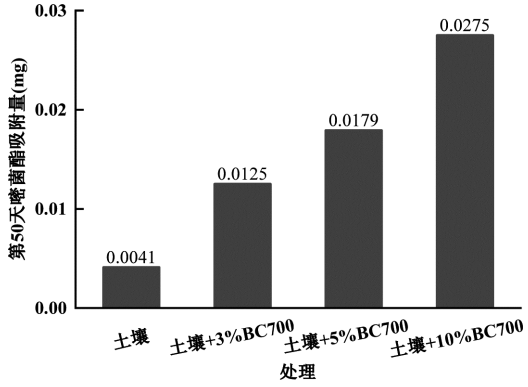


图 5 不同生物炭 BC700 添加量处理第 50d 残留量

Fig.5 The residual amount of different biochar BC700 was treated for 50 days

2.3 生物炭特性分析

如图 1 所示,不同裂解温度处理的蔗渣生物炭显示出不同的孔隙结构,随着温度的升高,孔隙结构变得更加发达,孔径也有所变化.这表明炭化温度对蔗渣生物炭的孔隙结构具有影响[21].图 2 中,3 种生

物炭在 1100 和 1600cm^{-1} 附近具有吸收峰,1600cm^{-1} 这个区域与芳香环的 C=C 键有关,说明样品中可能含有酮、醛、羧酸或酯等含有羰基的化合物. 1100cm^{-1} 与 C—O 伸缩振动和 Si—O 振动有关,其中 BC300 和 BC700 在 1100cm^{-1} 中吸收峰较强,BC300 可能是由于裂解温度较低导致含氧官能团醚键、羧酸或醇羟基得以保留[22],BC700 则可能是因为高温下形成硅酸盐[23].有研究表明,微孔硅酸盐可以作为催化剂催化臭氧化敌敌畏,使敌敌畏被吸附并分解[24],BC700 的较高降解效果可能与表面的硅酸盐有关.

2.4　嘧菌酯在淹水稻田土壤中的降解产物

嘧菌酯代谢产物的全扫描质谱图见图 6.根据质谱图解析和数据库检索,最终分析预测嘧菌酯降解的过程中产生的代谢产物为嘧菌酯酸(质谱图见图 7),该代谢产物保留时间为 11.37min.

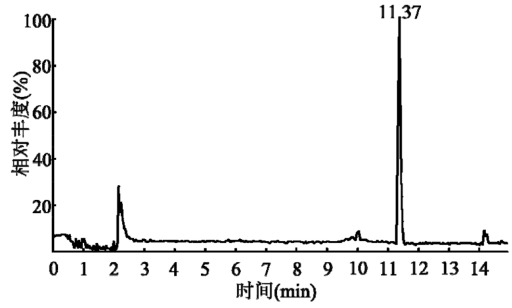


图 6　嘧菌酯代谢产物的全扫描质谱图

Fig.6　Full scan mass spectra of azoxystrobin metabolites

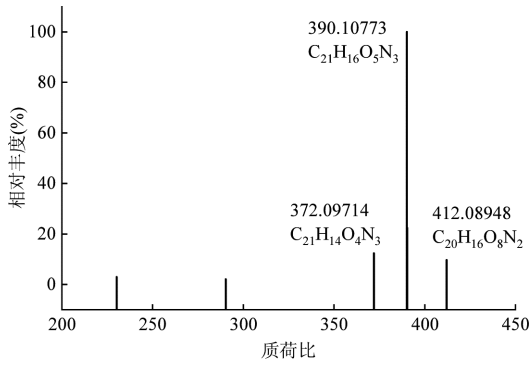


图 7　LC–MS 鉴定的嘧菌酯代谢产物的质谱和结构

Fig.7　Mass spectra and proposed structures of detected degradation products of azoxystrobin identified by LC–MS

根据嘧菌酯及中间代谢产物的化学结构,推测嘧菌酯降解的代谢途径如图 8 所示.推测嘧菌酯的甲氧基经过酶催化或光热的催化发生羟基化反应,形成代谢物嘧菌酯酸.这与报道的嘧菌酯代谢产物一致[25].

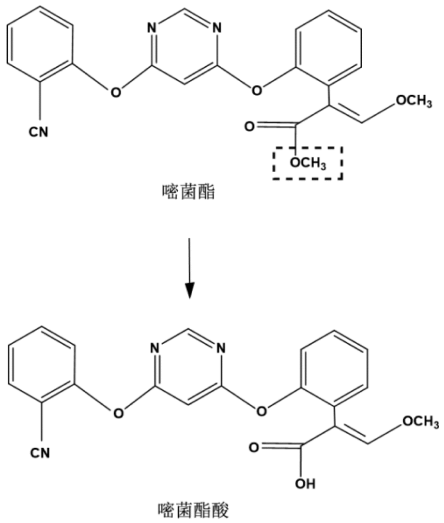


图 8　在厌氧稻田土壤中嘧菌酯的代谢途径

Fig.8　Degradation products of azoxystrobin

2.5　微生物群落多样性分析

为进一步探索添加生物炭后厌氧稻田嘧菌酯的微生物群落分布和其相关性特征,采用 Illumina 高通量测序对稻田土壤中微生物菌群进行多样性分析.通过对原始土壤以及培养至最后一天(50d) Soil、Soil+3%BC700、Soil+5%BC700、Soil+10%BC700 处理的土壤进行测序分析其微生物群落多样性.

表 4　不同处理 16S rRNA 高通量测序水稻土中菌群 α 多样性指数

Table 4　Microbial diversity metrics (α–diversity) in each treatment based on 16S rRNA high–throughput sequencing

实验处理	OTUs	chao1	shannon
Soil	5101	2028	9.17
Soil+3%BC700	4818	1912	9.09
Soil+5%BC700	4426	1756	8.91
Soil+10%BC700	4455	1759	8.98

多样性指数是用于评价土壤微生物丰富度和群落多样性的综合指标.表 4 为 4 个处理的 α 多样性指标.土壤添加生物炭培养了 50d 的稻田土壤 OTUs 数量分别为 5101(Soil)、4818(Soil+3%BC700)、4426(Soil+5%BC700)和 4455(Soil+10%BC700),相对于土壤处理来说生物炭的添加都会使土壤中物种总数减少,这与先前的研究一致,生物炭添加后对土壤的 OTUs 具有降低作用[26],可能是由于生物炭对

土壤菌群的毒性导致的[27],这可能也是生物炭添加会抑制土壤中嘧菌酯降解的原因之一,生物炭添加量达到 5%时,对土壤中物种总数的减少就已达到最大.相对于土壤处理来说,添加生物炭处理的 chao1 指数降低,说明随着生物炭的添加致使功能微生物富集菌群的丰富度降低,可能是由于生物炭的添加降低了土壤微生物的整体代谢活性,并影响微生物群落的丰富度[28].土壤中微生物的 shannon 指数为 8.94~9.23,说明该稻田土壤中的微生物物种较为丰富,生物群落多样性较好.

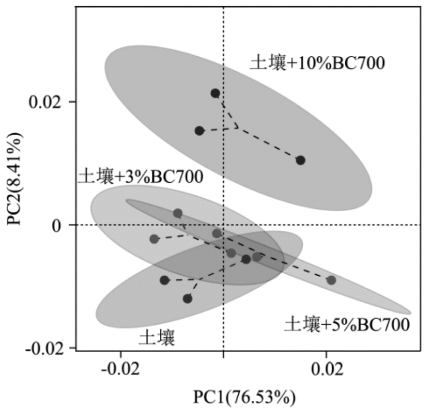


图 9 不同处理组 PCA 图

Fig.9 PCA diagram of different treatment groups

通过对各个处理组的菌属组成进行主成分分析(PCA),来反映组间微生物组成的差异和距离,微生物群落组成越相似,在 PCA 图中的距离越近.PCA 结果(图 9)显示,原始土壤处理组和 Soil+3%BC700、Soil+5%BC700 两个处理组组内的微生物群落结构组成相似度较高,而 Soil+10%BC700 处理组的微生物群落结构与原始土壤和低生物炭添加量处理组的微生物群落结构组成有明显差异,可能是大量的生物炭会显著改变土壤的理化性质,如 pH 值、有机质含量和养分状况,这些变化间接影响了土壤微生物群落的结构[29-30].

2.6 微生物群落结构组成分析

从图 10(a)的微生物群落在门水平的组成中得知,无论是否添加生物炭,Firmicutes 微生物所占的比例较高(40.2%~44.2%).在原始土壤中主要的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes(41%)、热脱硫杆菌门 Desulfobacterota(13.3%)、绿弯菌门 Chloroflexi (11.2%)、放线菌门 Actinobacteriota(9.4%)、酸杆菌门 Acidobacteriota(6.7%)、粘菌门 Myxococcota (6.2%)、变形菌门 Proteobacteria(5.4%)(相对丰度大于 5.0%).

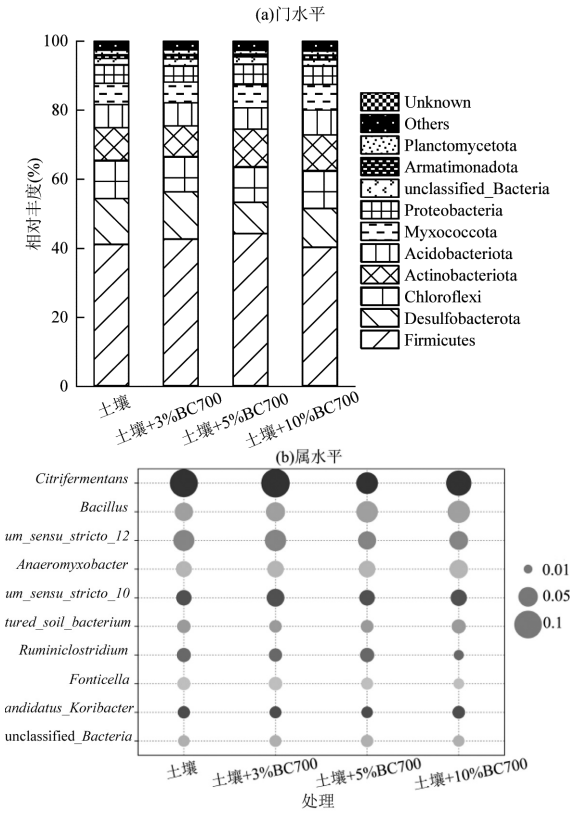


图 10 培养至最后一天不同处理微生物群落在门(a)和属(b)水平结构组成

Fig.10 Composition of microbial communities at phylum(a) and genus(b) levels across treatments after final day of incubation

仅显示相对丰度前 10 的微生物群落

培养至 50d 时, Soil+3%BC700 处理中的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes(42.6%)、热脱硫杆菌门 Desulfobacterota(13.7%)、绿弯菌门 Chloroflexi (10.2%)、放线菌门 Actinobacteriota(8.9%)、酸杆菌门 Acidobacteriota(6.7%)、粘菌门 Myxococcota(6.1%) (相对丰度大于 5.0%). Soil+5%BC700 处理中的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes(44.2%)、放线菌门 Actinobacteriota(10.9%)、绿弯菌门 Chloroflexi (10.4%)、热脱硫杆菌门 Desulfobacterota(9.0%)、粘菌门 Myxococcota(6.6%)、酸杆菌门 Acidobacteriota (6.2%)、变形菌门 Proteobacteria(6.0%)(相对丰度大于 5.0%). Soil+10%BC700 处理中的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes(40.2%)、热脱硫杆菌门

Desulfobacterota(11.3%)、绿弯菌门 Chloroflexi (11.0%)、放线菌门 Actinobacteriota(10.3%)、粘菌门 Myxococcota(7.4%)、酸杆菌门 Acidobacteriota (7.2%)、变形菌门 Proteobacteria(5.4%)(相对丰度大于 5.0%).

可以看出,相比于原始土壤,添加 5%BC700 生物炭致使土壤中热脱硫杆菌门 Desulfobacterota 降低了 4.3%,厚壁菌门 Firmicutes 提高了 3.2%,这与先前的研究一致,在堆肥过程中,生物炭的添加显著增加了厚壁菌门的相对丰度[31],而过量的生物炭(10%)使厚壁菌门 Firmicutes 的丰度降低,也有研究表明过量生物炭不会增加厚壁菌门 Firmicutes 相对丰度[32],这可能是由于生物炭中含有苯酚等有毒物质,过量生物炭可能会对细菌造成毒害[33]. Soil+5%BC700 和 Soil+10%BC700 处理组与原始土壤相比,放线菌门 Actinobacteriota 增加了 1.5%和 0.9%,有研究表明长期施用生物炭后,放线菌门 Actinobacteria 的相对丰度高于对照组 CK 土壤,这可能与生物炭的吸附和封闭作用以及其固碳能力有关[34].

通过图 10(b)中属水平的微生物群落组成进行分析可知,四个处理组的优势菌属分别为 *Citrifermentans* (6.13%~10.68%)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(4.42%~6.49%)、梭状芽孢杆菌属 *Clostridium_sensu_stricto_12*(4.31%~6.01%)、粘细菌属 *Anaeromyxobacter*(3.34%~4.49%)、梭状芽孢杆菌属 *Clostridium_sensu_stricto_10*(3.10%~4.13%).可以看到相对于原始土壤, Soil+3%BC700 处理组的 *Citrifermentans* 相对丰度增加,从 10.18%增加到 10.68%,在目前的报道中生物炭的添加会提高 *Citrifermentans* 的相对丰度[35-36]. 而在 Soil+5%BC700、Soil+10%BC700 处理组中明显减少(6.13%和 8.33%),可能是由于过量生物炭会对部分土壤菌群生物量产生抑制作用[37].相对于原始土壤和 Soil+3%BC700 处理组, Soil+5%BC700 和 Soil+10%BC700 处理组的芽孢杆菌属 *Bacillus* 相对丰度增加,从 4.42%~4.81%增加到 6.05%~6.49%,有研究表明水稻土中加入锰改性生物炭后也会提高 *Bacillus* 的相对丰度[35].

3　结论

3.1　嘧菌酯在灭菌土壤中没有降解,而在未灭菌土壤中,30d 降解了 95.06%,因此可以认为在淹水稻田中嘧菌酯降解是土壤微生物驱动的.

3.2　300,500 和 700℃裂解温度下产生的甘蔗渣生物炭在第 10d 时对嘧菌酯在土壤中的降解均具有促进作用,之后产生抑制作用.在原始土壤中嘧菌酯的半衰期为 14.2d,在添加生物炭的处理中,随着生物炭热解温度的升高其半衰期降低,Soil+BC300、Soil+BC500、Soil+BC700 处理的半衰期为 18.7,18.4,17.9d.土壤中 BC700 生物炭的添加量越高,嘧菌酯降解的抑制效果越明显.

3.3　通过 LC-MS 测定嘧菌酯的降解产物,推测在淹水稻田土壤中嘧菌酯的微生物降解产物为嘧菌酯酸.

3.4　甘蔗渣生物炭 BC700 的添加都会使土壤中物种总数减少.随着生物炭的添加会使功能微生物富集菌群的丰富度降低.Soil 处理组和 Soil+3%BC700、Soil+5%BC700 两个处理组组内的微生物群落结构组成相似度较高,而 Soil+10%BC700 处理组的微生物群落结构与 Soil 处理组和低生物炭添加量处理组的微生物群落结构组成有明显差异.

3.5　在门水平所有的处理组主要的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes、热脱硫杆菌门 Desulfobacterota、绿弯菌门 Chloroflexi、放线菌门 Actinobacteriota、酸杆菌门 Acidobacteriota、粘菌门 Myxococcota、变形菌门 Proteobacteria.在原始土壤与 Soil+3%BC700 和 Soil+5%BC700、Soil+10%BC700 处理组对比中,优势菌门相对丰度有明显差异.

3.6　在属水平中,与原始土壤、3%生物炭添加量对比,添加 5%和 10%生物炭会提高土壤中 *Citrifermentans* 和芽孢杆菌属 *Bacillus* 的相对丰度,还会减少梭状芽孢杆菌属 *Clostridium_sensu_stricto_12* 的相对丰度.

参考文献：

[1] Bartlett D W, Clough J M, Godwin J R et al. The strobilurin fungicides [J]. Pest Management Science, 2002,58(7):649-662.

[2] Yadav I, Devi N, Syed J et al. Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: a comprehensive review of India [J]. Science of the Total Environment, 2015,511:123-137.

[3] Edwards P G, Murphy T M, Lydy M J. Fate and transport of agriculturally applied fungicidal compounds, azoxystrobin and propiconazole [J]. Chemosphere, 2016,146:450-457.

[4] Kumar G R, Neera S. Effect of organic manure on sorption and degradation of azoxystrobin in soil [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2009,57(2):632-636.

[5] Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azoxystrobin [J]. EFSA Journal, 2010,8(4):1542.

[6] Kelli G R, Brent A G, Stephen J et al. Life cycle assessment of biochar

systems: estimating the energetic, economic, and climate change potential [J]. Environmental Science & Technology, 2010,44(2):827−833.
[7] Mukherjee A, Lal R, Zimmerman A R. Effects of biochar and other amendments on the physical properties and greenhouse gas emissions of an artificially degraded soil [J]. Science of the Total Environment, 2014,487:26−36.
[8] Ahmed A A, Mohamed H H A, Jianhua L. Biochar: The black diamond for soil sustainability, contamination control and agricultural production [M]. Engineering Applications of Biochar, 2017,2:7−27.
[9] Tong H, Hu M, Li F B, et al. Biochar enhances the microbial and chemical transformation of pentachlorophenol in paddy soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014,70:142−150.
[10] Tuo H, Tengda D, Dehua L, et al. Degradation of carbendazim in soil: Effect of sewage sludge−derived biochars [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2020,68(12):3703−3710.
[11] Feng Y, Zhang W, Pang S, et al. Kinetics and new mechanism of azoxystrobin biodegradation by an *Ochrobactrum anthropi* strain SH14 [J]. Microorganisms, 2020,8(5):625.
[12] Enock M, Amirah A, Keisuke T, et al. Azoxystrobin amine: A novel azoxystrobin degradation product from *Bacillus licheniformis* strain TAB7 [J]. Chemosphere, 2021,273:129663.
[13] 韩光明,孟 军,曹 婷,等.生物炭对菠菜根际微生物及土壤理化性质的影响.沈阳农业大学学报, 2012,43(5):515−520.
Han G M, Meng J, Cao T, et al. Effects of biochar on rhizosphere microorganisms and soil physical−chemical properties of spinach [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2012,43(5):515–520.
[14] 魏 岚.生物炭促进农田土壤中酰胺类农药降解行为的生物化学机制及应用研究 [D]. 广州:广东省农业科学院农业资源与环境研究所, 2019.
Wei L. Biochemical mechanisms and application research of biochar in promoting the degradation of amide pesticides in farmland soil [D]. Guangzhou: Institute of Agricultural Resources and Environment, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, 2019.
[15] 黄彩凤,朱梦银.生物炭对土壤残留农药生物毒性和有效性的影响 [J]. 四川农业科技, 2016,(12):31−33.
Huang C F, Zhu M Y. Effects of biochar on bioavailability and biotoxicity of residual pesticides in soil [J]. Sichuan Agricultural Science and Technology, 2016,(12):31–33.
[16] 蒋靖佰伦.施用生物炭对干旱区农田土壤农药残留的影响 [D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2020.
Jiangjing B L. Effects of biochar application on pesticide residues in farmland soil of arid regions [D]. Urumgi: Xinjiang Agricultural University, 2020.
[17] Li Y, Liu X, Wu X, et al. Effects of biochars on the fate of acetochlor in soil and on its uptake in maize seedling [J]. Environmental Pollution, 2018,241:710−719.
[18] Huang T, Ding T, Liu D, et al. Degradation of carbendazim in soil: Effect of sewage sludge−derived biochars [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2020,68(12):3703−3710.
[19] Han D, Yan D, Cao A, et al. Degradation of dimethyl disulphide in soil with or without biochar amendment [J]. Pest Management Science, 2017,73(9):1830−1836.
[20] Fang W, Wang Q, Han D, et al. The effects and mode of action of biochar on the degradation of methyl isothiocyanate in soil [J]. Science of the Total Environment, 2016,565:339−345.
[21] 梁 桓,索全义,侯建伟,等.不同炭化温度下玉米秸秆和沙蒿生物炭的结构特征及化学特性 [J]. 土壤, 2015,47(5):886−891.
Liang H, Suo Q Y, Hou J W, et al. Structural characteristics and chemical properties of biochar from corn straw and *Artemisia ordosica* at different carbonization temperatures [J]. Soil, 2015,47(5):886−891.
[22] 魏亚俊,刘婧妍,陈再明,等.裂解温度调控溶解性生物炭光敏化产生活性氧自由基 [J]. 环境科学学报, 2023,43(2):286−299.
Wei Y J, Liu J Y, Chen Z M, et al. Effects of pyrolysis temperature on the generation and mechanism of active oxygen radicals produced by dissolved biochar with different structures under ultraviolet light [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2023,43(2):286–299.
[23] 徐玮璘,沈宏芳,阳云飞,等.制备方法对胡麻不同部位生物质炭材料吸附活性的影响 [J]. 硅酸盐通报, 2022,41(4):1464−1472.
Xu W L, Shen H F, Yang Y F, et al. Effect of preparation method on adsorption activity of different part of hemp biochar material [J]. Bulletin of the Chinese Ceramic Society, 2022,41(4):1464–1472.
[24] Kim B S, Fujita H, Sakai Y, et al. Catalytic ozonation of an organophosphorus pesticide using microporous silicate and its effect on total toxicity reduction [J]. Water science and technology: A journal of the International Association on Water Pollution Research, 2002, 46(4/5):35−41.
[25] Hu W X, Chihwei L, A J J, et al. Detection of azoxystrobin fungicide and metabolite azoxystrobin−acid in pregnant women and children, estimation of daily intake, and evaluation of placental and lactational transfer in mice [J]. Environmental health perspectives, 2022,130(2):27013.
[26] 邓建强,谭 军,施河丽,等.生物炭对土地整治区土壤微生物调控效应 [J]. 中国烟草学报, 2018,24(3):46−52.
Deng J Q, Tan J, Shi H L, et al. Regulatory effects of biochar on soil microorganisms in land reclamation areas [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2018,24(3):46−52.
[27] Khan S, Irshad S, Mehmood K, et al. Biochar production and characteristics, its impacts on soil health, crop production, and yield enhancement: A review [J]. Plants, 2024,13(2):166.
[28] 周 凤,耿增超,许晨阳,等.生物炭用量对(土娄)土微生物量及碳源代谢活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2019,25(8):1277−1289.
Zhou F, Geng Z C, Xu C Y, et al. Effects of biochar application rate on microbial biomass and carbon source metabolic activity in Lou soil [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2019,25(8):1277−1289.
[29] Fan S, Zuo J, Dong H. Changes in soil properties and bacterial community composition with biochar amendment after six years [J]. Agronomy, 2020,10(5):746.
[30] 李 明,李忠佩,刘 明,等.不同秸秆生物炭对红壤性水稻土养分及微生物群落结构的影响 [J]. 中国农业科学, 2015,48(7):1361−1369.
Li M, Li Z P, Liu M, et al. Effects of different straw biochars on nutrients and microbial community structure in red paddy soil [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015,48(7):1361−1369.
[31] Chen L J, Lin Y, Liu C W, et al. Improving the utilization offlammulina velutipeswaste during biochar−amended composting: Emphasis on bacterial communities [J]. Agronomy, 2024,14(5):1046.
[32] 周煜文.生物炭协同蒙脱石对堆肥的改良及内源微塑料降解的调控机制研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2024.
Zhou Y W. Research on improvement of composting and regulation mechanism of endogenous microplastic degradation by biochar synergized with montmorillonite [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2024.
[33] Paulina G, Yong S O, Patryk O, The dark side of black gold: Ecotoxicological aspects of biochar and biochar−amended soils [J]. Journal of hazardous materials, 2021,388:123833.
[34] He H, Liu J, Shu Z, et al. Microbially driven iron cycling facilitates organic carbon accrual in decadal biochar−amended soil [J]. Environmental science & technology, 2024,58(28):12430−12440.
[35] 王德正,谭文韬,曾 鹏,等.铁锰改性生物炭对水稻镉吸收和土壤微生物群落的影响 [J]. 中国环境科学, 2024,44(4):2297−2308.
Wang D Z, Tan W T, Zeng P, et al. Effects of iron−manganese modified biochar on cadmium uptake by rice and soil microbial community [J]. China Environmental Science, 2024,44(4):2297−2308.
[36] 程 朗.Fe(Ⅱ)/Fe(Ⅲ)循环驱动的自养脱氮在富营养化水体中的应用 [D]. 北京:北京建筑大学, 2023.
Cheng L. Application of Fe(Ⅱ)/Fe(Ⅲ) cycle−driven autotrophic denitrification in eutrophic water bodies [D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2023.
[37] Hongguang C, Dan X, Shan L, et al. Iron−modified biochar strengthens simazine adsorption and decreases simazine decomposition in the soil [J]. Frontiers in Microbiology, 2022,13:901658.

作者简介：陈建均(1999−),男,广东中山人,华南农业大学硕士研究生,主要从事农田土壤污染修复研究.发表论文 1 篇.779273238@qq.com.