



施用生物炭对土壤细菌群落组成和重金属形态的影响

张宏宇, 张桂香[✉], 平龙, 窦晶水, 冯苗壮, 段翔

太原科技大学 环境与资源学院, 太原 030024

摘 要 利用木屑、大豆秸秆和玉米秸秆于 200、400 和 600 °C 下缺氧热解制备生物炭, 将其以 1% 的质量分数施加到土壤中培养 30 d, 探讨其对土壤微生物群落组成和重金属 (Cr、Cd、Mn 和 Zn) 形态及其相互作用的影响。结果表明, 生物炭显著增加土壤中变形菌门的相对丰度 ($p<0.05$); 大豆和玉米秸秆生物炭显著降低放线菌门的相对丰度 ($p<0.05$), 却显著增加硝化螺旋菌门的相对丰度 ($p<0.05$); 芽单胞菌门和拟杆菌门的相对丰度变化与生物炭原料和热解温度有关。土壤中重金属形态变化受到生物炭原料来源、热解温度、重金属类型和细菌群落组成的影响, 其中 400 和 600 °C 制备的木屑生物炭显著增加了土壤中可交换态 Cd 含量 ($p<0.05$), 不利于 Cd 的稳定; 生物炭对 Mn 形态的影响与 Cd 类似, 对 Cr 形态无显著影响 ($p>0.05$), 对 Zn 形态的影响较为复杂。冗余分析结果显示, 生物炭表面丰富的极性官能团和较大的比表面积有助于 Cr、Mn 和 Zn 的稳定, 生物炭较高的 C/N 原子比不利于土壤中 Cd 的稳定; 拟杆菌门对 Cr 和 Cd 的稳定性具有积极作用, 酸杆菌门、芽单胞杆菌门和硝化螺旋菌门对土壤中 Zn 有一定活化作用。本研究结果为科学合理的利用生物炭修复重金属污染土壤提供指导。

关键词 土壤; 生物炭; 重金属; 形态; 细菌群落组成

近年来, 土壤环境问题已经成为关注焦点, 尤其是耕地土壤环境污染问题受到了广泛关注。最近的一项研究结果显示: 我国土壤中 As、Cd、Cr、Hg 和 Pb 的含量水平分别为 9.73、0.34、65.68、0.07 和 36.83 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 其中 Cd 平均含量超过《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准 (试行)》(GB15618-2018) 的限值 (0.30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[1]。土壤重金属污染主要与人类活动有关, 比如化工、机械制造和矿物开采等工业生产活动, 以及灌溉、农药喷洒、肥料施用等农业生产活动^[2-3]。重金属进入土壤后无法通过降解方式被去除, 其在土壤中积累对人体健康和生态环境构成威胁^[4-5]。目前, 土壤中重金属去除方法主要涉及淋洗法、植物提取法和电动修复。淋洗法使用大量化学淋洗剂, 易于破坏土壤理化性质, 不适用于大面积农田土壤修复; 植物提取法效率低, 修复时间漫长, 难以保障农业生产; 电动修复受限于能耗较高、土壤传质效率低和 pH 不可控, 经济适用性和可操作性较低^[6]。实际上, 土壤中重金属的形态直接影响其生物可利用性和迁移性, 进而影响其对人体健康和生态环境的风险^[7]。施加钝化剂调控土壤中重金属的形态, 能有效阻控重金属从土壤向农作物和其他环境介质迁移。

生物炭是生物质在缺氧条件下炭化得到的富含碳的固体材料, 其还田在污染土壤修复、土壤改良和应对气候变化方面的重要作用受到了广泛关注^[8]。在重金属污染土壤修复方面, 生物炭表面丰富的极性官能团、较高的电负性和阳离子交换量使其通过络合、沉淀、静电吸附和离子交换等作用机制吸附-固定重金属, 使重金属向着稳定形态转变; 生物炭也通过提高土壤 pH 和有机质含量等性质间接影响土壤中重金属形态, 降低重金属的生物有效性和迁移性^[9]。此外, 生物炭也会影响土壤中细菌等微生物群落组成, 进而影响重金属的生物可利用性。比如, 稻壳生物炭提高了土壤中变形菌门细菌属 *Steroidobacter* 的相对丰度, 有助于吸附和固定重金属, 比如 Cd^[10]。木屑和花生壳生物炭显著降低了土壤中变形菌门和拟杆菌门细菌的相对丰度, 这

收稿日期: 2025-02-05 录用日期: 2025-04-06

基金项目: 山西省科技创新人才团队专项资助项目 (202304051001036); 山西省教改资助项目 (J20230868)

第一作者: 张宏宇 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为污染土壤修复, zhy15034450343@163.com

✉通信作者: 张桂香 (1984—), 女, 博士, 教授, 研究方向为生物炭基功能材料的环境效应, zhanggx@tyust.edu.cn

两类细菌会导致土壤中可利用性 Cd 浓度水平升高^[11]。土壤中异养细菌等微生物呼吸过程生成二氧化碳也会影响土壤重金属的形态^[12]。尽管已有研究报道了生物炭通过调控土壤细菌群落组成影响重金属的可利用性,但土壤细菌群落组成变化如何影响土壤中重金属的形态还不十分清楚。

为此,本研究以农林废弃物制备生物炭,通过室内培养实验,探讨生物炭原料和热解温度对土壤细菌群落组成和重金属形态的影响,揭示土壤中重金属形态转变与细菌群落组成变化之间的关系,为合理使用生物炭稳定土壤中重金属提供科学依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 生物炭的制备和表征

将木屑(MX)、大豆秸秆(DJ)和玉米秸秆(YJ)用自来水清洗表面灰尘,于 80 °C 烘箱中干燥后,分别在 200、400 和 600 °C 的马弗炉中缺氧热解 4 h (以 10 °C·min⁻¹ 的速率升温至目标温度),冷却至室温后,取出炭化物质,用玛瑙研钵研磨后过 100 目筛。按照原料来源,所得生物炭分别标记为 MX 生物炭、DJ 生物炭和 YJ 生物炭。再根据热解温度,所得生物炭分别记为 MX200、MX400、MX600、DJ200、DJ400、DJ600、YJ200、YJ400、YJ600。生物炭的 pH 和电导率(EC)采用水浸提法测定(固体质量与液体体积之比为 1:10)。灰分(Ash)含量通过马弗炉高温灼烧(650 °C, 4 h)的方法测定。采用元素分析仪(Vario EI 型)测定碳(C)、氢(H)和氮(N)元素的含量,氧(O)含量通过质量平衡法计算。生物炭比表面积采用 N₂-BET 比表面积分析仪(ASAP-2020 型)在 77 K 条件下吸附高纯氮气测定。固态¹³C 核磁共振谱(¹³C CPMAS NMR)在频率为 100.36 MHz,魔角旋转速率为 8.0 kHz 条件下分析生物炭的碳组成特征。

1.2 土壤样品采集与分析

表层土壤(0~20 cm)采自山西省太原市郊区某农田,自然风干后过 10 目筛,备用。根据《土壤农化分析》,pH 通过水浸提法(固液比为 1:2.5)用 pH 计测定;阳离子交换量(CEC)采用乙酸铵交换法测定;土壤有机质(SOM)采用重铬酸钾容量法-外加热法测定;土壤粒径分布采用激光粒度分析仪测定。重金属形态采用 Tessier 五步连续提取法提取。采用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES, PerkinElmer Optima 7300V, 美国)测定重金属。原始土壤基本理化性质:pH 为 7.81, SOM 为 47.1 g·kg⁻¹, CEC 为 31.1 cmol·kg⁻¹,以及粘粒、粉粒和砂粒含量分别为 1.78%、13.5% 和 84.8%,属于壤质砂土。土壤中重金属总量采用(HCl:HNO₃:HF:H₂O₂=6:2:2:1)消解法提取^[13], ICP-OES 测定。原始土壤中 Cr、Cd、Mn 和 Zn 的总量分别为 491、0.27、703 和 206 mg·kg⁻¹,其中 Cr 含量超过了《土壤环境质量标准》(GB15618-2018)农用地风险筛选值(pH>7.5)。生物炭中 Cr、Cd、Mn 和 Zn 含量范围分别为 1.12~3.56、0.001~0.063、6.72~45.70 和 4.22~38.10 mg·kg⁻¹。与原始土壤相比,生物炭与土壤混匀后的重金属总量和形态几乎未受到影响。

1.3 实验设计

称取 200 g 土壤,添加 1% (质量分数)的生物炭,混匀后装入灭菌处理的塑料花盆(底部垫有尼龙布以防土壤从花盆底部渗水孔漏出),于 25 °C 恒温恒湿培养箱培养 30 d,期间采用称重法每 3 d 补充适量的灭菌去离子水,使土壤水分保持为 70% 的田间持水量。每个处理设置 3 个重复。培养结束后,一部分新鲜土壤样品用于细菌群落检测;剩余土壤风干,研磨过 100 目筛,装入自封袋密封,备用。土壤基本化学性质(pH、CEC 和 SOM)、重金属总量和形态检测分析方法同 1.2 部分。

1.4 土壤细菌群落组成分析方法

根据 MagPure soil DNA LQ Kit (D6356-03, 广州美基生物科技有限公司)试剂盒说明书提取土壤细菌的 DNA, 0.8% 琼脂糖凝胶电泳法测定 DNA。采用正向引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和反向引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')进行 V3-V4 区 16S rRNA 基因的 PCR 扩增。PCR 扩增条件:初始变性(98 °C、30 s),循环(98 °C、15 s; 50 °C、30 s; 72 °C、30 s) 27 次,72 °C 保持 5 min,退火为 4 °C 下保持 10 min。用 2% 琼脂糖凝胶电泳法处理扩增片段,切下靶片段,用 Axygen DNAGel Extraction Kit 凝胶试剂盒(AP-GX-250, Axygen, 美国)回收。Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 试剂盒(Thermo Fisher, 美国)用于定量 Microplate 读数器(BioTek, FLx800, 美国)中的

PCR 产物, 根据每个样品所需的数据量混合样品。纯化后的扩增物以等摩尔量聚合, 并用美国 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 进行建库, 取适量文库利用 Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent, 美国) 进行 2100 质检, 使用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher, 美国) 的 Promega QuantiFluor (Promega, 美国) 进行库的定量。对合格的文库, 在 Illumina 平台上利用 MiSeq Reagent Kit V3 (600 次循环) (Illumina, 美国) 的 MiSeq 机器进行双端测序 (2×300 bp)。

1.5 数据分析方法

数据采用 Excel 和 SPSS22.0 进行计算处理和统计分析, 采用 Origin 2021 绘制柱状图。处理组之间的差异显著性通过 SPSS22.0 中的单因素方差分析 (ANOVA), 再进行 Tukey 事后检验获得 (显著性水平设为 $p < 0.05$)。采用微科盟生科云工具做冗余分析 (RDA) 图。

2 结果与讨论

2.1 生物炭的基本理化性质表征分析

从表 1 可以看出, 热解温度从 200 °C 升高到 600 °C, 生物炭中 C 含量从 63.7%~71.9% 增加到 83.9%~89.5%, H 含量从 4.56%~5.69% 降低到 1.45%~1.69%, O 含量从 20.8%~30.3% 降低到 4.64%~7.69%。这与以往的研究结果一致^[14-15]。热解温度升高, 炭化程度指数 (H/C 原子比) 和极性指数 (O/C 原子比) 显著降低, 分别表示了炭化程度的增强和表面极性官能团的减少。这是因为在生物质缺氧热解过程中, 脂肪酸、纤维素、半纤维素和木质素等原始有机组分发生变化, 长链逐步断裂, 稠环逐渐形成, 并伴随着脱水反应^[15]。这些反应过程也使生物炭的 C/N 原子比逐渐增大 (除了 YJ400)。MX 生物炭的 C/N 原子比较秸秆生物炭更高, 这与其原料中 N 含量较低有关^[16]。生物质热裂解过程也使生物炭内部微孔逐渐增多, 增大了生物炭比表面积。热解温度升高, 生物炭的 pH 和 EC 逐渐增大, 这与灰分中 K、Na、Mg、Ca 等金属盐类不断积累有关^[17]。

表 1 生物炭的基本理化性质
Table 1 Basic physicochemical properties of biochars

生物炭	C	H	N	O	H/C	O/C	C/N	pH	EC/ (ds·m ⁻¹)	灰分	比表面积/ (m ² ·g ⁻¹)
MX200	63.7%	5.69%	0.326%	30.30%	1.070	0.357	225	6.12	1.01	1.11%	1.52
MX400	79.6%	3.22%	0.335%	15.20%	0.485	0.143	273	9.23	1.04	1.57%	10.20
MX600	89.5%	1.69%	0.307%	6.78%	0.227	0.057	337	10.10	1.66	1.71%	318.00
DJ200	71.9%	5.32%	0.776%	20.80%	0.888	0.217	108	7.40	1.31	1.19%	1.65
DJ400	84.3%	2.61%	0.752%	10.60%	0.372	0.094	131	9.89	4.10	1.75%	59.20
DJ600	88.4%	1.45%	0.690%	7.69%	0.197	0.065	149	10.10	6.23	1.79%	292.00
YJ200	63.5%	4.56%	0.708%	26.30%	0.862	0.311	104	7.15	1.33	4.88%	1.98
YJ400	70.9%	2.74%	1.110%	18.30%	0.464	0.194	74	8.91	1.41	6.96%	7.86
YJ600	83.9%	1.57%	0.751%	4.64%	0.225	0.041	130	11.00	6.24	9.17%	310.00

固态¹³C NMR 分析 (表 2) 结果给出了不同碳组成的相对化学位移 (δ , 无量纲), 包括: 烷基碳 (δ 0~45)、N-取代烷基碳和甲氧基取代烷基碳 (δ 45~63)、O-取代烷基碳 (δ 63~108)、芳香碳 (δ 108~148)、酚基碳 (δ 148~165)、羧基和羰基碳 (δ 165~220)^[18-19]。热解温度升高使生物炭中脂肪碳 (δ 0~45、 δ 45~63 和 δ 63~108) 和酚基碳 (δ 148~165) 减少, 而芳香碳 (δ 108~148) 增多, 表明生物炭的炭化程度升高^[18], 这与 H/C 原子比降低的结果一致。羧基碳和羰基碳以外的极性碳组分 (δ 45~63、 δ 63~108 和 δ 148~165) 含量随热解温度的升高而降低, 这与极性指数变化趋势一致。生物质于 200 °C 及以下温度热解主要发生水分和轻挥发分的挥发; 200~500 °C 主要是纤维素和半纤维素快速裂解; 大于 500 °C 主要是木质素和其它强化学键有机质的分解^[20]。这一变化过程解释了生物炭炭化程度和极性组分随热解温度变化的规律。本研究中的羧基和羰基碳 (δ 165~220) 含量随热解温度升高而增多, 是因为制备生物炭过程中

表 2 固态¹³C NMR 分析碳的相对化学位移积分结果分布规律Table 2 Distribution of integral results of relative chemical shift for carbon analysis by solid state ¹³C NMR

处理组	δ 0~45	δ 45~63	δ 63~108	δ 108~148	δ 148~165	δ 165~220	脂肪碳	芳香碳	极性碳
MX200	28.20	16.90	32.1	15.9	8.05	5.00	72.7%	22.6%	58.5%
MX400	17.20	5.87	15.4	38.3	6.01	17.30	38.4%	44.3%	44.5%
MX600	7.01	2.00	11.8	50.3	4.12	24.70	20.8%	54.4%	42.6%
DJ200	29.30	8.94	28.2	22.4	9.02	9.65	61.8%	29.2%	51.9%
DJ400	10.30	4.78	17.3	45.1	3.94	20.00	31.9%	48.4%	45.4%
DJ600	6.12	3.02	14.8	50.0	2.31	24.70	23.7%	51.8%	44.4%
YJ200	32.40	14.40	26.9	14.4	6.03	8.35	71.6%	20.2%	54.5%
YJ400	19.80	7.35	20.4	29.7	4.88	10.10	51.6%	37.5%	46.3%
YJ600	8.33	3.21	16.7	42.1	3.04	17.90	30.9%	49.5%	44.8%

马弗炉中存在少量的氧气，使生物炭发生一定程度的氧化。

2.2 施用生物炭对土壤基本化学性质和细菌群落结构的影响

生物炭对土壤 pH、CEC 和 SOM 的影响如图 1 所示。除施用 DJ600 外，生物炭未显著影响土壤 pH，

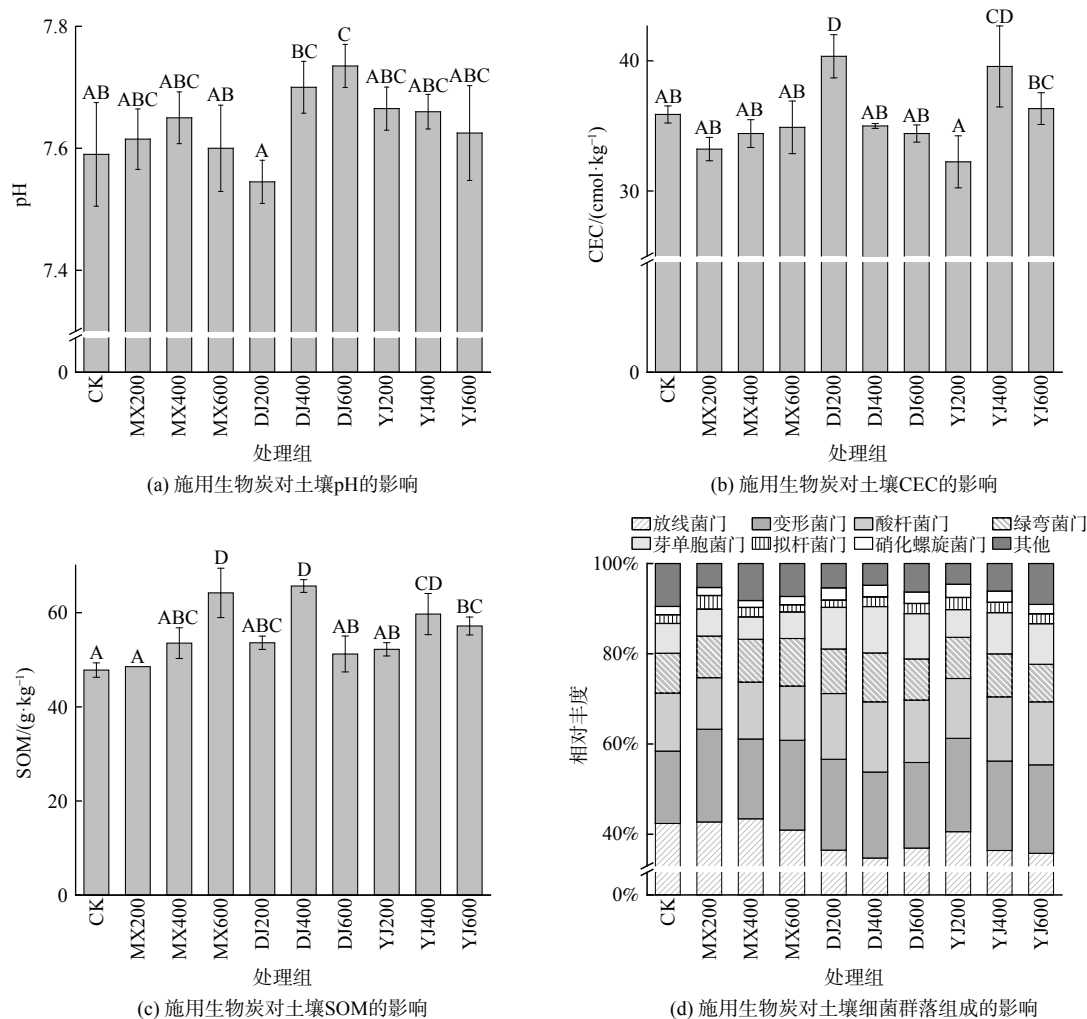


图 1 施用生物炭对土壤基本化学性质和细菌群落组成的影响

Fig. 1 Effects of biochar application on basic chemical properties and bacterial community composition of soils

是因为生物炭施加量较低 ($<3\%$) 时, 对弱碱性土壤 pH 的影响不显著^[21]。此外, 仅施用 DJ400 和 DJ600 处理土壤 pH 显著高于 DJ200 处理 ($p<0.05$), 其余生物炭的热解温度对土壤 pH 无显著影响 ($p>0.05$)。与此同时, DJ200 和 YJ400 显著升高了土壤的 CEC ($p<0.05$), 其余生物炭几乎无影响 ($p>0.05$)。这些结果表明 DJ 生物炭对土壤 pH 和 CEC 的影响与 MX 生物炭和 YJ 生物炭显著不同。生物炭是富含碳的有机物质^[22], 增加了 SOM 含量, 其中 MX600、DJ400、YJ400 和 YJ600 处理组具有差异显著性 ($p<0.05$)。

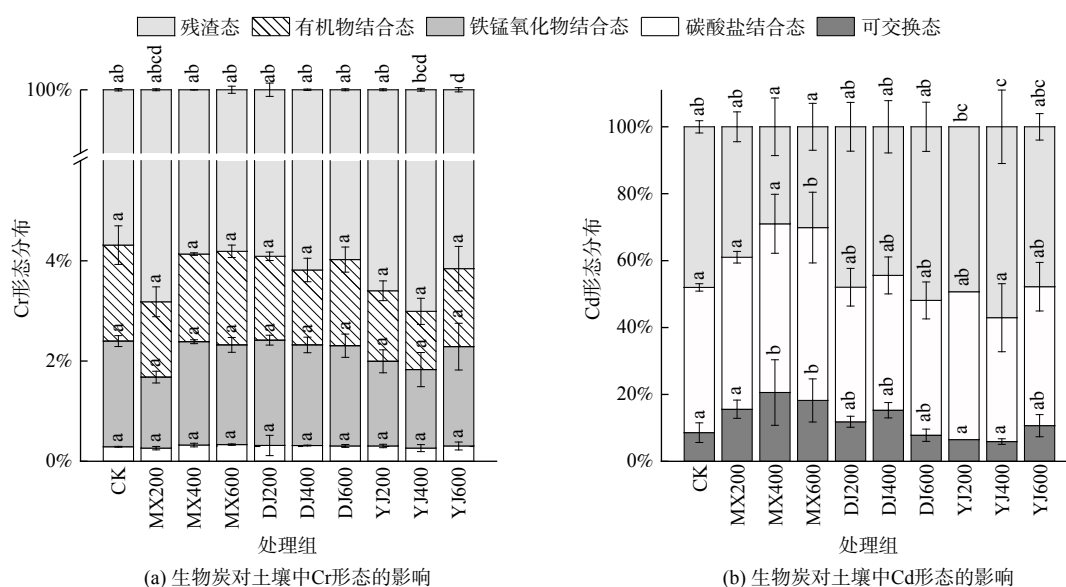
生物炭对土壤细菌群落组成的影响与生物炭原料来源和热解温度密切相关 (图 1)。生物炭不仅具有多孔性的结构, 而且含有丰富的营养物质, 为某些特定细菌群落的生长提供了有利的栖息环境^[23], 比如变形菌门。DJ 和 YJ 生物炭显著降低了放线菌门的相对丰度 ($p<0.05$, 除 YJ200), 研究表明该类细菌对土壤有机质的降解效率较低, 对难利用的有机质降解更缓慢^[24]; MX 生物炭对放线菌门无显著影响 ($p>0.05$), 因为木质生物炭中易于利用的可溶性有机质较少^[25]。而生物炭对放线菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门和硝化螺旋菌门的影响差异显著。DJ200、DJ400、YJ400 和 YJ600 显著增加了土壤中芽单胞杆菌门的相对丰度 ($p<0.05$)。MX600 和 DJ200 显著增加土壤中拟杆菌门的相对丰度 ($p<0.05$)。DJ 和 YJ 生物炭显著增加了硝化螺旋菌门的相对丰度 ($p<0.05$)。硝化螺旋菌参与土壤氮循环过程, 易受到 pH 和铵态氮含量等土壤化学性质的影响^[26]。DJ 和 YJ 生物炭的氮元素含量显著高于 MX 生物炭 (表 1), 能为硝化螺旋菌门生长提供更多含氮营养物质。生物炭对土壤中酸杆菌门 (除 DJ400 处理组) 和绿弯菌门的相对丰度无显著影响 ($p>0.05$)。

2.3 施用生物炭对土壤重金属形态的影响

生物炭对土壤 Cr、Cd、Mn 和 Zn 形态的影响如图 2 所示。在所有处理组中, 残渣态重金属是主要存在形态之一, 大多数生物炭处理组对土壤中残渣态重金属含量影响并不显著。对于 Cr, 除了可交换态未检出, 生物炭对土壤中其余 4 种形态的 Cr 含量无显著影响 ($p>0.05$)。Cr 易于在 Cr(VI) 和 Cr(III) 两种价态之间转变, 并且两者稳定性差异较大。Cr(VI) 常以阴离子形态存在, 不易被土壤和生物炭颗粒吸附; Cr(III) 却与之相反^[27]。因此, 对于主要以残渣态存在的 Cr, 生物炭并未显著影响其形态分布。

MX 生物炭显著增加了土壤中可交换态 Cd 和 Mn 的含量 ($p<0.05$, 除了 MX200 中的 Cd)。MX600 显著增加了碳酸盐结合态 Cd ($p<0.05$)。MX200 和 MX600 显著增加了碳酸盐结合态 Mn ($p<0.05$)。可见, MX 生物炭使土壤中 Cd 和 Mn 易于向不稳定的形态转变。一方面, 木质生物炭的可溶性有机质芳香性较强, 生物可利用性较低, 不易于矿化^[28], 导致其显著增加了土壤中可交换态 Cd 和 Mn 含量, 不利于 Cd 和 Mn 的稳定^[29]。另一方面, 木质生物炭因具有较大的比表面积, 为微生物提供了更好的栖息环境, 显著促进了某些细菌等微生物的生长, 促进了 Cd 和 Mn 向不稳定形态转变^[30]。

与 Cd 和 Mn 不同, MX 生物炭对 Zn 的形态无显著影响 ($p>0.05$); DJ600 和 YJ600 分别显著增加了



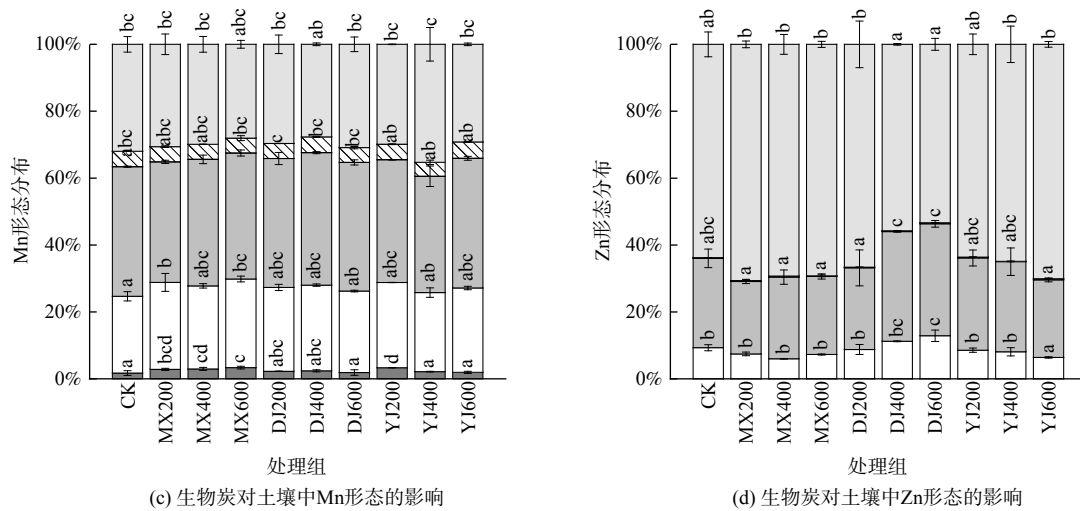


图2 生物炭对土壤中重金属形态的影响

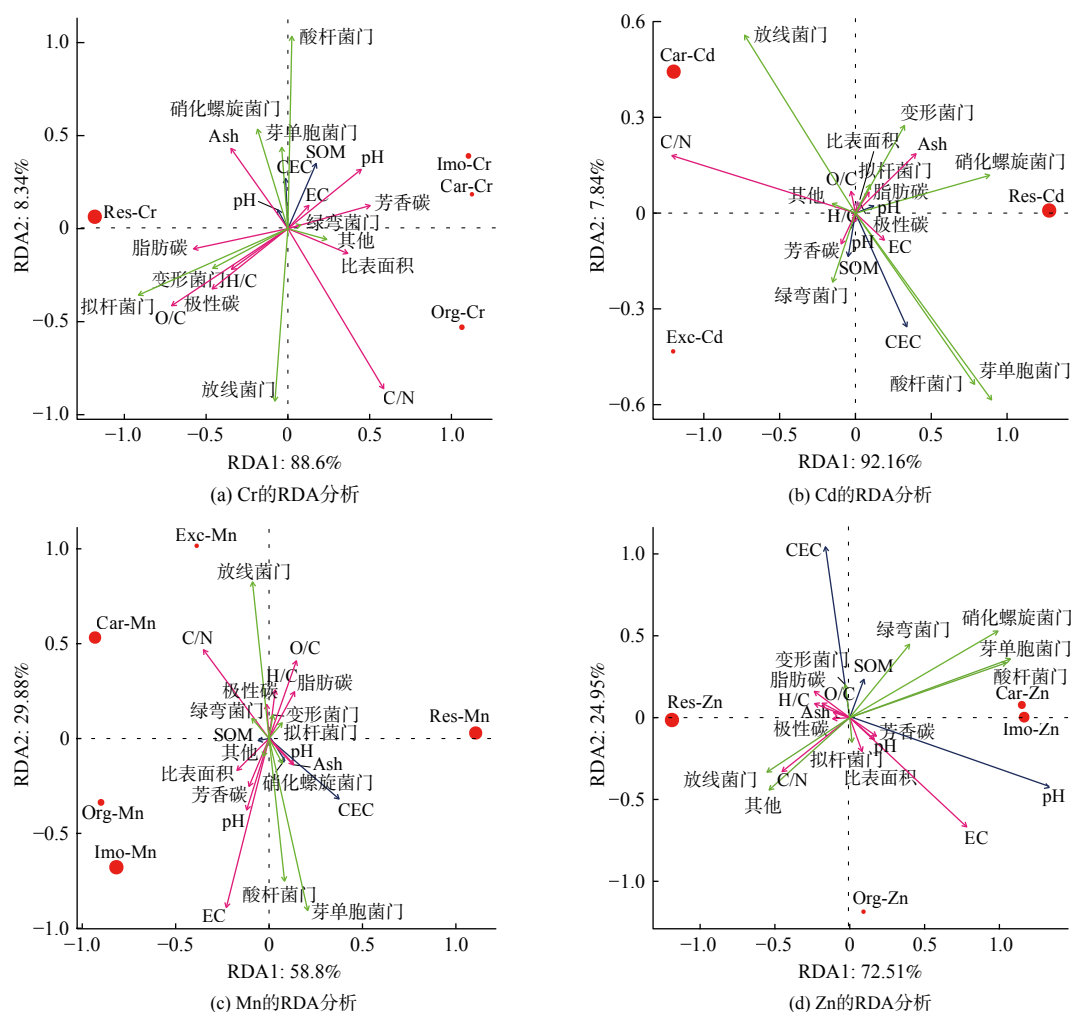
Fig. 2 Effects of biochar on heavy metal forms in soil

和降低了土壤中碳酸盐结合态 Zn ($p < 0.05$), 较低温度制备的 DJ 和 YJ 生物炭对其无显著影响 ($p > 0.05$)。YJ600 中含有最为丰富的灰分, 有助于 Zn 形成稳定性的沉淀物^[31]。此外, 研究发现 Zn 的形态也与土壤细菌群落组成变化有关^[32]。

2.4 施加生物炭影响土壤重金属形态的关键调控因子

图3给出了生物炭理化性质、土壤基本化学性质和土壤细菌群落组成对土壤中重金属形态影响。生物炭 pH 和芳香碳含量都与碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cr 正相关。极性碳和脂肪碳与碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cr 负相关, 却与残渣态 Cr 有一定正相关。一方面, 丰富的极性官能团, 能通过静电作用、离子交换作用和表面络合作用吸附 Cr^[33]。另一方面, 脂肪碳为土壤细菌提供易于利用的碳源, 有助于 Cr 的稳定, 这在后续分析中得到了证实。生物炭的芳香碳含量与铁锰氧化物结合态 Mn 和 Zn 正相关。在土壤细菌作用下, 生物炭及其可溶性组分中的芳香碳发生老化, 有利于形成相对稳定的铁锰氧化物结合态重金属^[34-35]。有机结合态 Cr、Mn 和 Zn 都与生物炭的比表面积正相关, 这是因为重金属在生物炭表面发生了络合、离子交换、静电作用和沉淀作用等吸附行为^[36]。生物炭的 C/N 原子比与碳酸盐结合态 Cd 和 Mn 正相关, 因为生物炭较高的 C/N 原子比影响土壤细菌等微生物的呼吸过程中 CO₂ 的生成^[12]。生物炭的极性碳和灰分都与残渣态 Zn 有一定正相关性。因为生物炭的极性官能团对弱碱性土壤中重金属吸附-固定起关键作用, 有助于降低重金属的可利用性^[37]。生物炭的灰分能降低非均相成核潜势, 促进 Zn 发生非均相沉淀^[31]。

土壤细菌群落组成变化也对重金属可利用性具有重要影响^[38]。土壤中重金属可利用性与其形态密切相关。RDA 分析结果显示 (图3), 拟杆菌门与生物炭的极性碳和脂肪碳正相关。拟杆菌门是一种生长速度快、碳利用效率低的共生类群, 脂肪碳含量较高的生物炭为其提供了丰富的易于利用的碳源^[39]。另外, 生物炭表面极性官能团作为水结合中心形成水簇^[40], 有利于提高生物炭微域营养物质的可利用性。拟杆菌门与碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cr 负相关, 却与残渣态 Cr 正相关, 表明土壤中拟杆菌门细菌的增加有助于 Cr 的稳定。拟杆菌门细菌对高价态的无机物有还原作用^[41]。能将 Cr(VI) 还原为易于形成沉淀 Cr(III)。放线菌门与碳酸盐结合态 Cd 和生物炭 C/N 原子比正相关。因为放线菌门有溶磷和固氮作用, 生物炭高 C/N 原子比为其提供充足的碳源进行呼吸^[42], 使较稳定的磷酸盐向不稳定的碳酸盐转变, 促进了 Cd 向不稳定形态的转变。酸杆菌门和芽单胞杆菌门都与碳酸盐结合态 Cd 负相关。最近的一项研究也发现, 土壤中芽单胞杆菌与可利用性 Cd 显著负相关, 表明该类细菌的增多有助于 Cd 的稳定^[3]。变形菌门和拟杆菌门与可交换态 Cd 负相关, 表明两类细菌的减少不利于 Cd 的稳定。比如, MX600 降低了拟杆菌门的相对丰度 (图1), 增加了可交换态 Cd 含量 (图2)。可交换态 Mn 与酸杆菌门和芽单胞杆菌门负相关, 却与放线菌门正相关。有研究报道放线菌门中富含 Mn 氧化细菌, 能将 Mn(II) 氧化成 Mn(III) 和 Mn(IV), 有助于形成 Mn 沉淀物^[43]。这与本研究的结果相反, 是否意味着放线菌门中也存在活化 Mn 的特定菌属, 尚待深入研究。酸杆菌门、芽单胞杆菌门和硝化螺旋菌门都与铁锰氧化物结合态 Zn 正相关, 却与残渣态 Zn 负相关, 表明这两类菌



注：Exc为可交换态；Car为碳酸盐结合态；Imo为铁锰氧化物结合态；Org为有机结合态；Res为残渣态。

图3 生物炭基本理化性质、土壤基本化学性质、门级细菌和重金属形态之间的冗余分析

Fig. 3 Redundancy analysis between basic physicochemical properties of biochar, basic chemical properties of soil, phyla of bacteria, and heavy metal speciation

菌对本研究土壤中 Zn 有一定活化作用。另外，这 2 类细菌也与土壤的 SOM 和 CEC 以及生物炭的 EC 正相关，却与生物炭的 C/N 原子比负相关。最近的一项研究也发现，硝化螺旋菌对施加氧化锌纳米颗粒土壤中可利用性 Zn 有积极影响，并且这一过程受到有机质、离子强度、矿物类型和含量等土壤性质的影响^[44]。

3 结论

1) 土壤 pH、CEC 和 SOM 受到所施加生物炭原料来源和热解温度的综合影响：DJ600 显著提高了土壤 pH；DJ200 和 YJ400 显著升高了土壤的 CEC；MX600、DJ400、YJ400 和 YJ600 显著增加了 SOM 含量。另外，生物炭对土壤细菌群落组成也有重要的影响：MX、DJ 和 YJ 生物炭都增加了土壤中变形菌门的相对丰度；DJ 和 YJ 生物炭显著降低了放线菌门的相对丰度，却显著增加了硝化螺旋菌门的相对丰度；芽单胞杆菌门和拟杆菌门受到生物炭原料来源和热解温度的综合影响。

2) 生物炭丰富的极性碳和较大的比表面积有助于 Cr、Mn 和 Zn 的稳定；生物炭较高的 C/N 原子比不利于土壤中 Cd 的稳定。更值得注意的是，生物炭调控土壤细菌群落组成也影响重金属的形态，拟杆菌门相对丰度增加有助于土壤中 Cr 和 Cd 的稳定；酸杆菌门、芽单胞杆菌门和硝化螺旋菌门相对丰度增加对土壤中 Zn 有一定活化作用，土壤 SOM 和 CEC 提高也促进了这一过程的发生。显然，生物炭调控土壤细菌群落组成变化对重金属稳定性有重要影响，应引起足够的重视。

参 考 文 献

- [1] CHAO J, GU H, LIAO Q, et al. Natural factor-based prediction and source apportionment of typical heavy metals in Chinese surface soil: Application of machine learning models[J]. *Environmental Pollution*, 2025, 366: 125373.
- [2] CUI X W, GENG Y, SUN R R, et al. Distribution, speciation and ecological risk assessment of heavy metals in Jinan Iron & Steel Group soils from China[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 295: 126504.
- [3] 吴东, 李尚珂, 施维林, 等. 稻壳与稻壳生物炭对镉污染土壤微生物群落结构影响研究[J]. *环境科学学报*, 2024, 44(2): 375-285.
- [4] 李洪刚, 汪军, 杨杉, 等. 三峡库区土壤重金属污染与环境风险研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2017, 40(S2): 171-178.
- [5] 谢邵文, 郭晓淞, 杨芬, 等. 广州市城市公园土壤重金属积累特征、形态分布及其生态风险[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(11): 2206-2215.
- [6] SONG P P, XU D, YUE J Y, et al. Recent advances in soil remediation technology for heavy metal contaminated sites: A critical review[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156417.
- [7] RASHID MS, LIU G, YOUSAF B, et al. Efficacy of rice husk biochar and compost amendments on the translocation, bioavailability, and heavy metals speciation in contaminated soil: Role of free radical production in maize (*Zea mays* L.)[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 330: 129805.
- [8] LU Y, GU K, SHEN Z T, et al. Biochar implications for the engineering properties of soils: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 888: 164185.
- [9] 刘洁, 孙可, 韩兰芳. 生物炭对土壤重金属形态及生物有效性影响的研究进展[J]. *环境化学*, 2021, 40(6): 1643-1658.
- [10] SHANG X T, WU S R, LIU Y L, et al. Rice husk and its derived biochar assist phytoremediation of heavy metals and PAHs co-contaminated soils but differently affect bacterial community[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 466: 133684.
- [11] WANG Y, SHEN X Y, BIAN R J, et al. Effect of pyrolysis temperature of biochar on Cd, Pb and As bioavailability and bacterial community composition in contaminated paddy soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 247: 114237.
- [12] LI Q, JI H X, ZHANG C, et al. Biochar amendment alleviates soil microbial nitrogen and phosphorus limitation and increases soil heterotrophic respiration under long-term nitrogen input in a subtropical forest[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 951: 175867.
- [13] ZHANG G X, GAO Y, REN R, et al. Enhanced biological stabilization of metal-chelant complexes in the chelator-washed soils by sulfate-reducing bacteria[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23: 2457-2472.
- [14] KEILUWEIT M, NICO P S, JOHNSON M G, et al. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(4): 1247-1253.
- [15] CHEN B L, ZHOU D D, ZHU L Z. Transitional adsorption and partition of nonpolar and polar aromatic contaminants by biochars of pine needles with different pyrolytic temperatures[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42: 5137-5143.
- [16] DESHOUX M, SADET-BOURGETEAU S, GENTIL S, et al. Effects of biochar on soil microbial communities: A meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 902: 166079.
- [17] MANOLIKAKI II, MANGOLIS A, DIAMADOPOULOS E. The impact of biochars prepared from agricultural residues on phosphorus release and availability in two fertile soils[J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, 181: 536-543.
- [18] SUN K, GAO B, ZHANG Z Y, et al. Sorption of atrazine and phenanthrene by organic matter fractions in soil and sediment[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158: 3520-3526.
- [19] ROSA J M, ROSADO M, PANEQUE M, et al. Effects of aging under field conditions on biochar structure and composition: Implications for biochar stability in soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 613-614: 969-976.
- [20] TOMCZYK A, SOKOŁOWSKA Z, BOGUTA P. Biochar physicochemical properties: Pyrolysis temperature and feedstock kind effects[J]. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2020, 19: 191-215.
- [21] AL-WABEL M, USMAN ARA, EL-NAGGAR AH, et al. Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015, 22: 503-511.
- [22] CEN R, FENG W Y, YANG F, et al. Effect mechanism of biochar application on soil structure and organic matter in semi-arid areas[J]. *Journal of Environment Management*, 2021, 286: 112198.
- [23] LEHMANN J, RILLING M C, THIES J, et al. Biochar effects on soil biota—A review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43: 1812-1836.
- [24] CHEN X, HAN X Z, ZOU W X, et al. Mechanism of biochar decomposition mediated by bacteria shifts the molecular structure of soil organic matter to high molecular aromatic components[J]. *Pedosphere*, 2024 (On line).
- [25] GAO Y, SUN Y R, SONG W S, et al. Intrinsic properties of biochar for electron transfer[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 475: 146356.
- [26] HAN S, LUO X S, LIOA H, et al. Nitrospira are more sensitive than Nitrobacter to land management in acid, fertilized soils of a rapeseed-rice rotation field trial[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 599-600, 135-144.
- [27] QIAN L B, ZHANG W Y, YAN J C, et al. Nanoscale zero-valent iron supported by biochars produced at different temperatures: Synthesis mechanism and effect on Cr(VI) removal[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 223: 153-160.
- [28] YAN C X, WANG W Y, NIE M H, et al. Characterization of copper binding to biochar-derived dissolved organic matter: Effects of pyrolysis temperature and natural wetland plants[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 442: 130076.
- [29] WANG Y P, WANG K, WANG X H, et al. Effect of different production methods on physicochemical properties and adsorption capacities of biochar from sewage sludge and kitchen waste: Mechanism and correlation analysis[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 461: 132690.
- [30] BANDARA T, FRANKS A, XU J, et al. Biochar aging alters the bioavailability of cadmium and microbial activity in acid contaminated soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420: 126666.
- [31] HAN R, GAO Y, JIA Y F, et al. Heterogeneous precipitation behavior and mechanism during the adsorption of cationic heavy metals by biochar: Roles of inorganic components[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 480: 136322.
- [32] PAN X M, ZHANG S R, ZHONG Q M, et al. Effects of soil chemical properties and fractions of Pb, Cd, and Zn on bacterial and fungal communities[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 715: 136904.

- [33] SINHA R, KUMAR R, SHARMA P, et al. Removal of hexavalent chromium via biochar-based adsorbents: State-of-the-art, challenges, and future perspectives[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 317: 115356.
- [34] CAMPOS P, KNICKER H, MILLER AZ, et al. Biochar ageing in polluted soils and trace elements immobilisation in a 2-year field experiment[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 290: 118025.
- [35] ZENG K, HUANG X C, DAI C S, et al. Bacterial community regulation of soil organic matter molecular structure in heavy metal-rich mangrove sediments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 465: 133086.
- [36] MEI Y C, ZHUANG S T, WANG J L. Adsorption of heavy metals by biochar in aqueous solution: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2025, 968: 178898.
- [37] ZHANG G X, GUO X F, ZHAO Z H, et al. Effects of biochars on the availability of heavy metals to ryegrass in an alkaline contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 218: 513-522.
- [38] REN W, REN G, KURAMAE EE, et al. Mode of application of sulfonated graphene doped bioavailable heavy metal contents and microbial community composition in long-term heavy metal contaminated soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 954: 176295.
- [39] CUI J W, YANG B G, ZHANG M L, et al. Investigating the effects of organic amendments on soil microbial composition and its linkage to soil organic carbon: A global meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 894: 164899.
- [40] WANG, X L, SATO T, XING, B S. Competitive sorption of pyrene on wood chars[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40: 3267-3272.
- [41] STEWART DI, VASCONCELOS EJR, BURKE IT, et al. Metagenomes from microbial populations beneath a chromium waste tip give insight into the mechanism of Cr(VI) reduction[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 931: 172507.
- [42] BOUBEKRI K, SOUMARE A, MARDAD I, et al. Multifunctional role of Actinobacteria in agricultural production sustainability: A review[J]. *Microbiological Research*, 2022, 261: 127059.
- [43] 杨伟红. 锰核土壤不同土层锰氧化细菌群落结构与多样性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [44] CHEN C, UNRINE JM, HU Y W, et al. Responses of soil bacteria and fungal communities to pristine and sulfidized zinc oxide nanoparticles relative to Zn ions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 405: 124258.

(责任编辑: 陶雪)

Influences of biochar application on soil bacterial community composition and heavy metal speciation

ZHANG Hongyu, ZHANG Guixiang*, PING Long, DOU Jingshui, FENG Miaozihuang, DUAN Xiang

School of Environment and Resources, Taiyuan University of Science and Technology, Taiyuan, 030024, China

*Corresponding author, E-mail: zhanggx@tyust.edu.cn

Abstract Wood chips, soybean straw and corn stalks were used to produce biochars by pyrolysis at 200, 400 and 600 °C under oxygen-limited condition. To probe into effects of biochars on bacterial community composition and speciation of heavy metals (Cr, Cd, Mn and Zn) as well as their interactions, biochars at the application rate of 1% (mass proportion) were added into soil to incubate for 30 days. The results showed that biochar significantly increased the relative abundance of Proteobacteria in soil ($p < 0.05$). Soybean-derived and corn straw-derived biochars significantly decreased the relative abundance of Actinobacteria ($p < 0.05$), but significantly increased the relative abundance of Nitrospira in soil ($p < 0.05$). The relative abundances of Gemmatimonadetes and Bacteroidetes were related to biochar feedstocks and pyrolysis temperatures. The changes in heavy metal speciation in soil were affected by biochar feedstocks, pyrolysis temperatures, heavy metal types, and bacterial community composition. Specifically, biochars prepared at 200 and 400 °C significantly increased exchangeable Cd contents in soil ($p < 0.05$), which was not conducive to the stability of Cd. Effects of biochars on the speciation of Mn in soil were similar to those of Cd. Biochars had little influence on the speciation of Cr, but had a complicated influence on the speciation of Zn in soil. The results of redundancy analysis showed that polar functional groups on biochar surface and the specific surface areas of biochars contributed to the stability of Cr, Mn and Zn in soil. High C/N atomic ratios of biochars were not conducive to the stability of Cd in soil. Bacteroidetes had positive effects on the stability of Cr and Cd in soil. Acidobacteria, Gemmatimonadetes, and Nitrospira had certain activation effects on Zn in soil. The results of this study provide a guidance for scientifically and reasonably using biochars to remediate heavy metals-contaminated soils.

Keywords soil; biochar; heavy metal; speciation; bacterial community composition