2026, 66(1): 246-266
CSTR: 32112.14.j.AMS.20250493
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20250493

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Research Article 研究报告

生物炭复合菌剂对蔬菜种植园土壤细菌群落结构和氮组分的影响

黄家庆[1,3]，罗施行[2]，叶菁[1,3]，林怡[1,3]，王义祥[1,3*]

1 福建省农业科学院资源环境与土壤肥料研究所，福建 福州
2 大田县奇韬镇乡村振兴综合服务中心，福建 三明
3 福建省红壤山地农业生态过程重点实验室，福建 福州

黄家庆, 罗施行, 叶菁, 林怡, 王义祥. 生物炭复合菌剂对蔬菜种植园土壤细菌群落结构和氮组分的影响[J]. 微生物学报, 2026, 66(1): 246-266.
HUANG Jiaqing, LUO Shixing, YE Jing, LIN Yi, WANG Yixiang. A biochar composite bacterial agent affects the bacterial community structure and nitrogen composition in the soil of a vegetable plantation[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(1): 246-266.

摘　要：【目的】蔬菜种植园土壤存在肥力退化、pH下降和重金属溶出等问题，需探究生物炭复合菌剂对菜园土壤细菌群落结构、氮组分和重金属有效性的作用机制。【方法】以重金属抗性菌罗尔斯通氏菌(*Ralstonia*) Bcul-1 (*R*-B)和芽孢杆菌(*Bacillus cellulasensis*) Zn-B (*BC*-Z)与生物炭(biochar, BI)制备固定化菌剂，并将其添加到长期轮作番茄的菜园土壤(pH 5.6)中。基于土壤细菌高通量测序和土壤成分测定分析菜园土壤的细菌种群多样性、pH、氮碳含量和重金属化学形态，研究生物炭复合菌剂对土壤细菌群落结构、氮碳供给和土壤重金属活性的影响。【结果】生物炭固定化促使外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 在重金属复合污染的菜园土壤中生长，并与土壤原有的高抗性 *Bacillus* (10.18%−11.88%)长期共存，有效改善了土壤细菌种群结构、调整了差异菌群(biomarker)分布和增加了高丰度菌[如链霉菌(*Streptomyces*)、地嗜皮菌(*Geodermatophilus*)和类诺卡氏菌(*Nocardioides*)等]的相对丰度。此外，土壤细菌种群(属水平)、部分高丰度菌和外源菌 *R*-B 与土壤重金属化学形态和氮碳组分密切相关。添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)后，菜园土壤的 pH、EC、全氮、硝态氮(NO_3^--N)、有机质和总有机碳分别最高增加 0.41、20.74%、18.96%、24.77%、10.26% 和 21.56%，且铵态氮(NH_4^+-N)残留减少 13.91%，维持了菜园土壤氮碳供给能力。*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)减少了土壤重金属(Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn)的交换态、还原态或氧化态含量(减少 0.18%−12.33%)，同时增加了其残渣态含量(增加 0.16%−14.59%)，有效钝化了菜园土壤重金属活性。【结论】生物炭复合菌剂(BI+*R*-B+*BC*-Z)改善了重金属复合污染

资助项目：福建省自然科学基金面上项目(2024J01329)；农业高质量发展超越“5511”协同创新工程(XTCXGC2021010)
This work was supported by the Fujian Provincial Natural Science Foundation General Project (2024J01329) and the High Quality Agricultural Development Surpasses “5511” Collaborative Innovation Project (XTCXGC2021010).
*Corresponding author. E-mail: sd_wolong@163.com
Received: 2025-06-25; Accepted: 2025-08-16; Published online: 2025-09-12

的菜园土壤细菌群落结构，促进了 *R*-B 生长，增加了高丰度菌的相对丰度，并维持了外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 与土壤原有的高抗性 *Bacillus* 长期共存。同时，该菌剂提高了土壤的 pH、EC、总氮、硝态氮、总有机碳和有机质，减少了铵态氮残留，钝化了土壤重金属(Cd、Pb 和 Cu)活性，有效调控了菜园土壤细菌群落活性、外源双功能菌生长、氮碳供给、pH 和重金属化学形态，具备维持菜园土壤供肥能力和治理重金属复合污染的潜力。

关键词：功能菌固定化；外源双功能菌；重金属化学形态；土壤高丰度菌；土壤氮碳含量

A biochar composite bacterial agent affects the bacterial community structure and nitrogen composition in the soil of a vegetable plantation

HUANG Jiaqing[1,3], LUO Shixing[2], YE Jing[1,3], LIN Yi[1,3], WANG Yixiang[1,3*]

1 Institute of Resources, Environment and Soil Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian, China

2 Comprehensive Service Center of Rural Revitalization in Qitao Town of Datian County, Sanming, Fujian, China

3 Fujian Key Laboratory of Agricultural Ecological Process of Red Soil Mountain, Fuzhou, Fujian, China

Abstract: [Objective] The soil in the vegetable plantation suffered from fertility degradation, pH decrease, and heavy metal leaching, necessitating the exploration of the mechanism by which composite bacterial agents regulate the bacterial community structure, nitrogen composition, and heavy metal availability in the vegetable plantation soil. **[Methods]** The heavy metal-resistant bacterial strains *Ralstonia* Bcul-1 (*R*-B) and *Bacillus cellulasensis* Zn-B (*BC*-Z) were prepared with biochar as an immobilized bacterial agent and then applied to the acidic soil (pH 5.6) of a vegetable plantation under long-term tomato rotation. High-throughput sequencing of soil bacteria and the determination of soil composition were conducted to analyze the bacterial diversity, soil pH, nitrogen-carbon content, and heavy metal chemical speciation, on the basis of which the effects of the biochar composite bacterial agent on the bacterial community structure, nitrogen-carbon supply, and heavy metal activity in the soil were analyzed. **[Results]** Biochar immobilization facilitated the growth of exogenous bacteria *R*-B and *BC*-Z in the vegetable plantation soil contaminated with heavy metals and maintained long-term coexistence of *R*-B and *BC*-Z with the original highly resistant *Bacillus* (10.18%−11.88%) in the soil. Accordingly, it effectively improved the bacterial community structure, adjusted the distribution of differential bacteria (biomarkers), and restoratively increased the relative abundance of abundant bacteria (such as *Streptomyces*, *Geopathophilus*, and *Nocardioids*) in the soil. In addition, soil bacterial genera, partial abundant bacteria, and the exogenous bacterial strain *R*-B were closely related to heavy metal chemical speciation and nitrogen-carbon components. The application of biochar bacterial agents (BI+*R*-B, BI+*BC*-Z, and BI+*R*-B+*BC*-Z) increased the pH, EC, total nitrogen, nitrate nitrogen, organic

matter, and total organic carbon of the soil by up to 0.41, 20.74%, 18.96%, 24.77%, 10.26%, and 21.56%, respectively, while decreasing the ammonium nitrogen residue by 13.91%, maintaining the nitrogen-carbon supply capacity of the soil. BI+*R*-B and BI+*R*-B+*BC*-Z reduced the content of exchangeable, reducible, and oxidizable heavy metals (Cd, Cr, Pb, Cu, and Zn) by 0.18%−12.33%, but increased the residual content of these heavy metals by 0.16%−14.59%, effectively passivating heavy metals in the soil. **[Conclusion]** The biochar composite bacterial agent (BI+*R*-B+*BC*-Z) improved the bacterial community structure, promoted *R*-B growth, increased the abundance of abundant bacteria, and maintained the long-term coexistence of exogenous bacteria *R*-B and *BC*-Z with the original highly resistant *Bacillus* in the vegetable plantation soil with heavy metal compound pollution. Moreover, it increased soil pH, EC, total nitrogen, nitrate nitrogen, total organic carbon, and organic matter, while reducing ammonium nitrogen residue and passivating soil heavy metals (Cd, Pb, and Cu). Therefore, it effectively regulated the bacterial community activity, exogenous bifunctional bacterial growth, nitrogen-carbon supply, pH, and heavy metal chemical speciation, with the potential to maintain the fertilizer supply capacity and control heavy metal compound pollution of vegetable plantation soil.

Keywords: immobilization of functional bacteria; exogenous bifunctional bacteria; heavy metal chemical speciation; abundant bacteria in soil; soil nitrogen-carbon content

设施农田土壤存在肥力退化、pH 下降和重金属富集(Cd 0.45 mg/kg、Cr 62.67 mg/kg、Cu 33.31 mg/kg 和 Pb 24.34 mg/kg)[1]的问题。重金属污染的菜园土壤(pH 6.5)中 Pb、Cd、Zn 和 Cu 的平均含量分别为 87.18、1.06、261.01 和 97.81 mg/kg，其中 Cd 含量范围为 0.41−2.07 mg/kg[2-4]。此外，全国 8 个省市具有代表性的设施蔬菜产区，土壤中 Cd、Cu 和 Zn 的全量与有效态含量均超标[5]，且存在重金属复合污染[6]。重金属污染降低了土壤菌群丰度和土壤酶活性，阻碍了土壤微生物对土壤养分的转化[7-8]。研究土壤改良剂提高菜园土壤细菌群落活性、恢复特定细菌生长以及钝化土壤重金属的作用机制有助于治理菜园土壤重金属复合污染和维持土壤养分长效供给。

生物炭被广泛应用于修复土壤重金属污染、提高土壤 pH 和增加养分供给，但生物炭施入土壤后存在自然老化、功能基团降解和碳过量积累等缺陷，影响其长效固持土壤重金属[9-11]。过量施用生物炭会抑制农田土壤菌群生长，显著降低细菌种群的丰富度和多样性[12]。土壤重金属抗性菌具有抵抗力强、繁殖速度快和适应范围广等优势，可通过表面吸附、转化沉淀和氧化还原反应等方式钝化土壤重金属活性[13-15]。抗性菌罗尔斯通氏菌(*Ralstonia* sp.) 能耐受较高浓度的 Cu 和 Zn[16]。此外，生物炭具有多孔的微观结构、丰富的碳氮官能团和稳定的化学性质，可为外源抗性菌长期存活提供良好的土壤微环境[17-18]。施用生物炭能提高红壤特定微生物活性[19]和菜园土壤细菌丰度[20-21]。生物炭固定化功能菌可有效促进土壤细菌持续生长[22]，恢复重金属污染土壤的细菌群落多样性[23]。生物炭固化菌剂已应用于治理土壤重金属复合污染和改善酸性土壤菌群结构[22-24]。将生物炭和重金属抗性菌制备成生物炭固化菌剂，研究其维持外源菌存活、降低土壤重金属活性和改善土壤菌群多样性的作用机制，可为生物炭和重金属抗性菌治理酸性农田土壤提供参考。

重金属抗性菌 *R*. Bcul-1 和芽孢杆菌(*Bacillus cellulasensis*)可长期存活于重金属复合污染的酸性农田土壤，对 Cd、Cr、Pb、Cu、Mn、Ni 和 Zn 等重金属具有较高的耐受浓度和吸附效率[25-26]。*Ralstonia* Bcul-1(*R*-B)与生物炭固定化后

可促使 *R*-B 在 Cd (0.42 mg/kg)和 Pb (94.37 mg/kg)污染的农田土壤(pH 5.3)中持续生长为高丰度菌[27]，其对土壤可溶性 Cd 和 Pb 的吸附效率分别提高 16.23%−40.80% 和 2.71%−24.71%，且能增加施肥土壤中硝态氮(NO_3^--N)和可溶性磷的含量[25,28]。*Bacillus cellulasensis* Zn-B (*BC*-Z)耐高温(60 ℃)和存活于盐碱地，Cd^{2+}和 Zn^{2+}胁迫下仍能降解蔬菜茎叶[26]。然而，高量施用生物炭或单一功能菌(生物炭+*R*-B，生物炭+*BC*-Z)治理重金属复合污染土壤时面临着生物炭自然老化、土壤碳过量积累、菌剂适用范围小和菌种性能衰退等难题[22,27]。通过研究生物炭复合菌剂(生物炭+*R*-B+*BC*-Z)中低施用量生物炭与不同重金属抗性菌(*R*-B 和 *BC*-Z)的互作机制，可为同时钝化土壤重金属和维持养分转化提供参考。以生物炭固定化抗性菌 *R*-B 和 *BC*-Z 探究生物炭复合菌剂对菜园土壤的重金属活性、细菌种群生长和养分转化的影响具有重要的研究意义。

菜园土壤的肥力退化和重金属溶出影响着蔬菜的可持续种植。采用土壤改良剂生物炭和重金属抗性菌共同改善菜园土壤的菌群结构、养分含量和重金属化学态分布具有较强的实践意义，可为避免土壤过量施用生物炭和克服单一菌剂功能菌衰退提供参考。本研究将适量生物炭与重金属抗性菌 *R*-B 和 *BC*-Z 固定化制备成生物炭复合菌剂，并施用到酸性菜园土壤中，明确其增强细菌群落活性、改善供肥能力和钝化土壤重金属的长效机制。

1 材料与方法

1.1 材料

土壤取自轮作蔬菜达 10 年以上的蔬菜种植园，自然风干后碾磨成颗粒状，过 50 目筛网(孔径 0.30 mm)。菜园初始土壤的 pH、氧化还原电位(oxidation-reduction potential, Eh)、阳离子交换量 (cation exchange capacity, CEC) 和电导率 (electrical conductivity, EC)分别为 5.6、156.29 mV、4.16 cmol/kg 和 175.18 μs/cm；重金属 Cd、Pb、Cu 和 As 的含量分别为 9.29、185.22、116.49 和 0.68 mg/kg；有机质和有机碳含量分别为 5.71% 和 7.52 g/kg。番茄秸秆生物炭：pH 为 10.3，EC 为 1 047.12 μs/cm，全氮为 6.27 mg/kg，固定碳为 57.92%，碳氮比(C/N)为 52.18。罗尔斯通氏菌(*Ralstonia*) Bcul-1 (*R*-B)和芽孢杆菌(*Bacillus cellulasensis*) Zn-B (*BC*-Z)均由本课题组自主分离和鉴定，现分别保存在福建省农业科学院资源环境与土壤肥料研究所和中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC，https://cgmcc.net/)，编号分别为 CGMCC No. 17565 和 CGMCC No. 17563。选用生长周期为 120 d 的芥菜品种。

1.2 试验设计

制备生物炭复合菌剂：1 mL *R*-B 菌液的菌体数约 2.15×10^8 (OD_{600}=0.6)，1 mL *BC*-Z 菌液的菌体数约 1.75×10^8 (OD_{600}=0.7)[25]。将菌液于 10 000 r/min 离心 2 min 收集菌体，用等量无菌水洗涤并重悬。将 100 mL 菌体稀释液(10 mL 重悬液+90 mL 无菌水)添加到番茄秸秆生物炭(10 g) (菌液:生物炭=10:1，菌液体积与生物炭质量的比例)，25 ℃、150 r/min 固定化处理 2 h。一个花盆装 10 kg 土壤(土壤:生物炭=1 000:1)[27]，添加生物炭菌剂(10 g 生物炭+100 mL 菌液)或生物炭(10 g 生物炭+100 mL ddH_2O)[22,27]，同时加入 2 g 复合肥(N:P_2O_5:K_2O=15:15:15)和 5 g 有机肥，混匀后装入花盆，在蔬菜大棚中陈化 2 周以上。设计处理组：设置 5 个处理组。对照组(control group, CK)：初始菜园土壤；生物炭组(biochar, BI)：土壤+生物炭；*R*-B 生物炭菌剂组(BI+*R*-*B*)：土壤+生物炭+*R*-B；*BC*-Z 生物炭菌剂组(BI+*BC*-Z)：土壤+生物炭+*BC*-Z；*R*-B+*BC*-Z 生物炭复合菌剂组(BI+*R*-*B*+*BC*-Z)：土壤+生物炭+*R*-B+*BC*-Z。壮苗期(50 d)的处理组编号为 CK 1、BI 1、BI+*R*-B 1、BI+*BC*-Z 1 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 1；采收期(90 d，花期)的处理组编号为 CK 2、BI 2、BI+*R*-B 2、BI+*BC*-Z 2 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 2。蔬菜种植和土壤取样：试验设 5 个处

理组，每个处理组有 5 个重复(确保每组至少有 3 个处理的蔬菜苗成活至采收期)，共 25 个处理(花盆)，移栽株高 8−10 cm 的芥菜苗。在芥菜的壮苗期和采收期选择芥菜苗生长良好的处理，用自制打孔器在芥菜苗周围随机确定 6 个土壤取样点，并垂直插取根际土壤(8 cm 深度)。壮苗期仅测定土壤细菌群落多样性，采收期测定土壤的细菌群落多样性、重金属化学形态(交换态、还原态、氧化态和残渣态)和氮素含量总氮、硝态氮(NO_3^--N)和铵态氮(NH_4^+-N)。

1.3 测定土壤重金属化学形态

将自然风干的土样碾磨成粉末状，过 100 目筛子。重金属总含量：称取 2 g 土壤，加入 200 μL 浓 H_2SO_4 和 20 mL HF，维持 200 ℃至反应液蒸干；再次加入等量浓 H_2SO_4 和 HF，继续加热至混合酸蒸干。然后加入 30 mL 浓 HNO_3、4 mL 浓 H_2SO_4 和 10 mL $HClO_4$，加热至产生白烟。用 ddH_2O 定容至 100 mL，测定 Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn 含量。重金属交换态：称取 2 g 土壤，加入 80 mL 0.10 mol/L CH_3COOH，200 r/min 振荡培养 20 h (25 ℃)，10 000 r/min 离心 20 min。上清液分别用普通定性滤纸和微孔滤膜(孔径 0.45 μm)过滤，测定重金属交换态含量。重金属还原态：向提取完重金属交换态的土壤残渣中加入 80 mL 0.50 mol/L $HONH_2HCl$ 溶液，200 r/min 振荡培养 20 h，10 000 r/min 离心 20 min，上清液过滤后测定重金属还原态含量。重金属氧化态：向提取完重金属还原态的土壤残渣中加入 20 mL H_2O_2 (8.80 mol/L，pH 2.0)，室温反应 1 h，85 ℃再反应 1 h；当反应液体积减小到 6 mL 时加入 20 mL H_2O_2，85 ℃下继续反应；当体积减小到 2 mL 时加入 100 mL CH_3COONH_4 溶液(1 mol/L，pH 2.0)，200 r/min 振荡培养 20 h，10 000 r/min 离心 20 min，上清液过滤后测定重金属氧化态含量。残渣态含量=总量−交换态−还原态−氧化态。测定仪器为石墨炉/火焰原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.4 测定土壤的总有机碳、硝态氮和铵态氮

用 0.50 mol/L KCl 溶液在 25 ℃、200 r/min 条件下对土壤抽提 2 h，分别用普通定性滤纸和微孔滤膜过滤。总有机碳(total organic carbon, TOC)和总氮采用铂金催化燃烧仪(Shimadzu 公司)测定，硝态氮(NO_3^--N)和铵态氮(NH_4^+-N)用连续流动分析仪(Skalar 公司)测定。

1.5 高通量测序分析土壤细菌群落结构

依据土壤基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提供的方法提取土壤细菌总 DNA。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳和超微量紫外分光光度计(ThermoFisher Scientific 公司)分别检测 DNA 的完整性和总量。以简并引物 338F (5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3′)和 806R (5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′)扩增细菌 16S rRNA 基因(V3−V4 区)。PCR 反应体系(50 μL)：2×Phanta Max Buffer 25 μL，dNTP Mix (10 mmol/L) 1 μL，上、下游引物(10 μmol/L)各 2 μL，Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase (5 U/μL) (南京诺唯赞生物科技有限公司) 1 μL，DNA 1 μL (<50 ng/μL)，ddH_2O 18 μL。PCR 反应条件：95 ℃ 5 min；95 ℃ 20 s，55 ℃ 35 s，72 ℃ 45 s，共 32 个循环；72 ℃ 5 min。采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的特异性。PCR 产物送上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序，基于在线的美吉生物云平台(https://cloud.majorbio.com/，上海美吉生物医药科技有限公司)分析土壤细菌群落结构，具体分析软件和方法参考美吉生物公司提供的云工具(https://cloud.majorbio.com/page/tools.html)。高通量测序原始序列已经提交至 NCBI SRA (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra)，登录号为 PRJNA948697 (BioProject) 和 SRR23980356 (Sequence Read Archive)。

1.6 数据分析和图表绘制

数据统计分析采用 R 语言(v3.3.1，https://

www.r-project.org/)。图表绘制采用 R 语言和 Microsoft Excel v2019，以平均值和标准差(standard deviation, SD)制作柱形图。组间差异性采用单因素方差分析(Duncan's test，*：P<0.05；**：P<0.01)。

2 结果与分析

2.1 重金属钝化菌剂改变酸性菜园土壤重金属化学形态分布

如图 1 所示，菜园土壤重金属含量(CK，pH 5.6)为：Cd 9.29 mg/kg、Cr 33.32 mg/kg、Pb 185.22 mg/kg、Cu 116.49 mg/kg 和 Zn 163.95 mg/kg。根据《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行) GB 15618—2018》的重金属风险筛选值(pH<6.5)[6]：Cd 0.40 mg/kg、Cr 150.00 mg/kg、Pb 90.00 mg/kg、Cu 50.00 mg/kg 和 Zn 200.00 mg/kg。菜园土壤中 Cr 和 Zn 含量低于风险筛选值，但土壤中 Cd、Pb 和 Cu 含量超标且分别达到风险筛选值的 23.23 倍、2.06 倍和 2.33 倍，属于典型的 Cd、Pb 和 Cu 复合污染土壤。此外，菜园土壤(CK)中 Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn 的交换态占比分别为 24.69% (2.30 mg/kg)、0.53% (0.18 mg/kg)、3.83% (7.26 mg/kg)、6.79% (7.96 mg/kg)和 15.98% (26.15 mg/kg)，其残渣态占比分别为 60.90% (5.67 mg/kg)、76.46% (25.40 mg/kg)、58.09% (110.10 mg/kg)、44.13% (51.76 mg/kg)和 76.61% (125.41 mg/kg)。此外，土壤中 Cd 和 Pb 的还原态占比分别为 12.75% (1.19 mg/kg)和 36.22% (68.64 mg/kg)，土壤中 Cr 和 Cu 的氧化态占比分别为 22.17% (7.37 mg/kg)

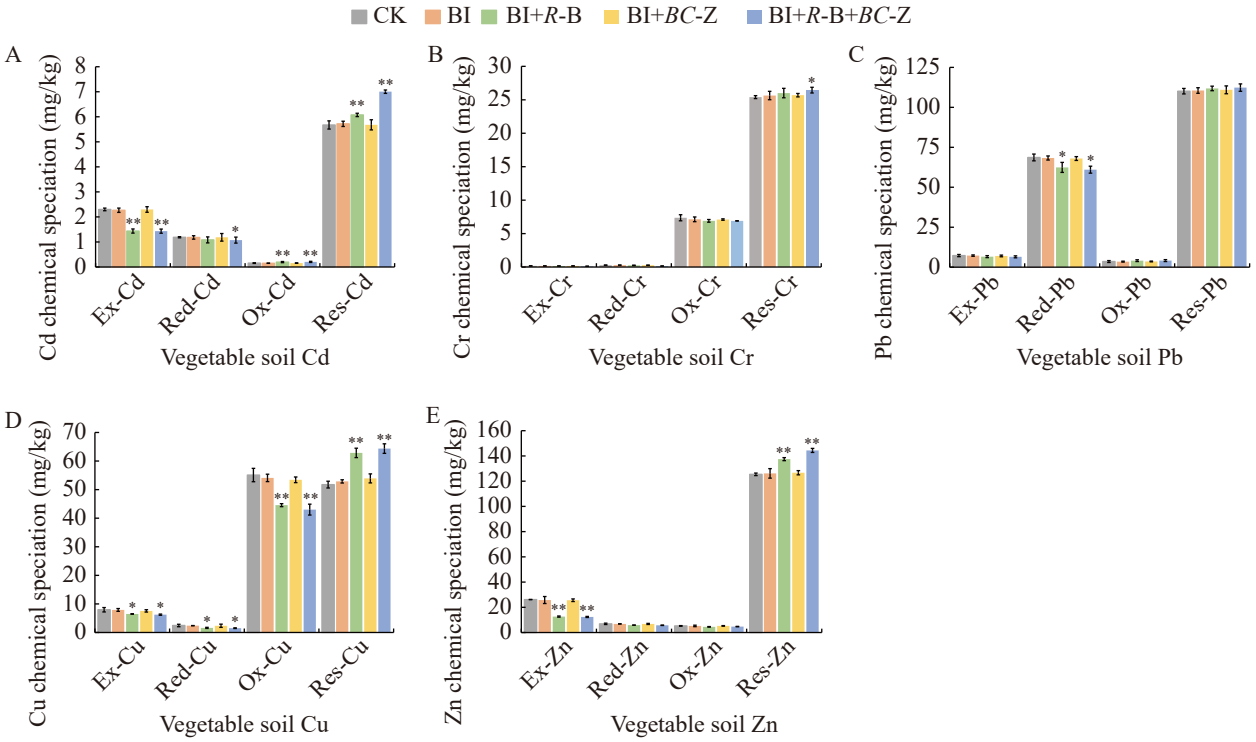

图1 菜园土壤重金属的化学形态变化。A：镉；B：铬；C：铅；D：铜；E：锌。Ex-、Red-、Ox-和Res-分别表示交换态、还原态、氧化态和残渣态。

Figure 1 Chemical speciation change of heavy metals in vegetable soil. A: Cd; B: Cr; C: Pb; D: Cu; E: Zn. Ex-, Red-, Ox- and Res- represented the exchangeable, reducible, oxidizable and residual, respectively. The same as follow. *: P<0.05; **: P<0.01.

和 46.98% (55.10 mg/kg)。菜地土壤中 Cd 的交换态、还原态和残渣态合计占比 98.34%，Cr (或 Cu)的氧化态和残渣态合计占比 98.63% (或 91.11%)，Pb 的还原态和残渣态合计占比 94.31%，Zn 的交换态和残渣态合计占比 92.59%。向菜园土壤(CK)中添加 BI、BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 后土壤中 Cd 的交换态和还原态分别减少 1.43%−12.33% 和 0.07%−1.70%，残渣态增加 2.44%−14.59% (图 1A)；土壤中 Cr 的氧化态减少 0.70%−1.64%，残渣态增加 0.71%−2.23% (图 1B)；土壤中 Pb 的还原态减少 0.18%−2.18%，残渣态增加 0.16%−2.95% (图 1C)；土壤中 Cu 的氧化态减少 0.85%−9.63%，交换态减少 0.06%−1.37%，残渣态增加 0.95%−11.77% (图 1D)；土壤中 Zn 的交换态减少 0.26%−8.59%，残渣态增加 0.31%−9.74% (图 1E)。*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)减少 Cd、Cu 和 Zn 的交换态，减少 Cd 和 Pb 的还原态以及 Cr 和 Cu 的氧化态；同时增加 Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn 的残渣态。土壤重金属交换态为高活性化学态，还原态活性低于交换态，氧化态活性较为稳定(低活性)，残渣态无活性。由于土壤中 Cr 的氧化态和残渣态占比高达 98.63%，且土壤中 Cr 和 Zn 的含量未超标，同时 *R*-B 生物炭菌剂能同时钝化土壤中 Cd、Pb 和 Cu 的活性，因此本研究以菜园土壤中 Cd、Pb 和 Cu 为后续研究目标。

2.2 生物炭菌剂影响菜园土壤细菌种群的丰富度和多样性

如表 1 所示，ACE 指数和 Chao1 指数反映土壤细菌种群丰富度，其值越大细菌丰度越高。从芥菜的壮苗期到采收期，相对于初始菜园土壤(CK)，向菜园土壤中添加生物炭(BI)后，ACE 和 Chao1 指数仅分别下降 3.41%−3.81% 和 3.94%−4.27%；但向菜园土壤中添加 BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 后，ACE 指数分别下降 23.04%−35.64%、14.63%−44.56% 和 16.59%−40.71%，Chao1 指数分别下降 35.83%−35.93%、28.08%−43.70% 和 28.60%−40.55%。Shannon 指数和 Simpson 指数反映土壤细菌群落多样性，Shannon 值越大或 Simpson 值越小细菌群落多样性越高。向菜园土壤中添加生物炭(BI)后，Shannon 指数和 Simpson 指数无明显变化，但向菜园土壤中添加 BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+

表1 菜园土壤细菌种群的α多样性分析(OTUs水平)

Table 1 The alpha diversity analysis of bacterial community in vegetable soil (OTUs level)

Sample	ACE index	Chao1 index	Simpson index ($\times10^2$)	Shannon index	Sobs index	Coverage (%)
CK 1	3 132.69	3 120.44	0.69	6.28	2 518.67	97.97
BI 1	3 025.88	2 997.51	0.73	6.23	2 443.32	98.07
BI+*R*-B 1	2 410.94**	2 002.51**	16.81**	3.21**	1 229.01**	98.42
BI+*BC*-Z 1	2 674.41*	2 244.33**	14.01**	3.61**	1 447.66**	98.22
BI+*R*-B+*BC*-Z 1	2 612.94**	2 228.04**	11.29**	3.78**	1 437.33**	98.27
CK 2	3 259.44	3 166.02	0.81	6.28	2 651.02	97.94
BI 2	3 135.38	3 030.78	0.80	6.24	2 529.01	98.01
BI+*R*-B 2	2 097.85**	2 028.51**	13.22**	3.86**	1 512.03**	98.45
BI+*BC*-Z 2	1 806.96**	1 782.51**	16.70**	3.51**	1 283.67**	98.64
BI+*R*-B+*BC*-Z 2	1 932.55**	1 882.29**	11.07**	3.89**	1 390.31**	98.56

以CK 1和CK 2为对照组。

CK 1 and CK 2 were the control groups. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

BC-Z 后，Shannon 指数分别减少 38.62%−48.86%、42.43%−44.06% 和 38.08%−39.81%，Simpson 指数分别增加 1 532.50%−2 311.69%、1 908.57%−1 962.18% 和 1 267.11%−1 519.83%。与仅添加生物炭相比，*R*-B 和 *BC*-Z 与生物炭制备的菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)显著降低菜园土壤细菌种群的丰富度和多样性。此外，相对于初始菜园土壤(CK)和添加生物炭(BI)的土壤，生物炭菌剂处理组(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的 Sobs 指数值(Illumina 文库覆盖率>97.94%)减少 40.21%− 51.58%，进一步明确了菜园土壤细菌丰富度(物种数量)显著下降。添加 BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 后，菜园土壤细菌群落的多样性(ACE 指数减少 23.04%−44.56%)和丰富度(Shannon 指数减少 38.08%−48.86%)显著下降(P<0.05)，但土壤细菌群落结构及其优势菌相对丰度在芥菜的壮苗期和采收期保持较高稳定性，并且可鉴定的细菌种群比例从 63.21% 增加到 89.49% (非深蓝色部分，图 2)。

2.3 生物炭菌剂改变菜园土壤细菌的群落结构

如图 3 所示，从芥菜的壮苗期到采收期，PCoA 分析的第一主坐标(PC1)和第二主坐标(PC2)贡献率达到 92.47%−93.49%。根据细菌群落分布距离远近[12]，初始菜园土壤(CK)和生物炭处理组(BI)的细菌种群结构具有相似性；生物炭菌剂处理组(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的细菌种群远离 CK 和 BI 的细菌种群，这表明菜园土壤添加生物炭菌剂后细菌种群结构发生明显改变；此外，*R*-B 菌剂处理组(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的细菌种群分布距离较近，其细菌种群结构表现出相似性，但不同于 BI+*BC*-Z 的细菌种群结构(采收期，种群分布距离变大)。相对于仅施生物炭(BI)，*R*-B 和 *BC*-Z 与生物炭制备的菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)明显改变了菜园土壤原有的细菌种群结构。

如图 2 和表 2 所示，重金属复合污染的菜园中土壤高丰度菌为芽孢杆菌(*Bacillus*)、盖亚女神菌(*Gaiellales*)、氢产孢杆菌(*Hydrogenispora*)、潘多拉菌(*Pandoraea*)、膨胀芽孢杆菌(*Tumebacillus*)和链霉菌(*Streptomyces*)等(16S rRNA 基因水平可鉴定的细菌) (图 2)，其中 *Bacillus* 相对丰度为 10.18%−11.88% (表 2)。在芥菜的壮苗期和采收期，添加适量生物炭(生物炭:土壤=1:1 000，下文同此)不能明显改变菜园土壤的细菌群落结构和高丰度菌(丰度>0.50%)的相对丰度；菜园土壤添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)后 *Streptomyces* 相对丰度从 2.10%−2.49% 激增到 41.22%−49.34%，地嗜皮菌(*Geodermatophilus*)、类诺卡氏菌(*Nocardioides*)和中华单胞菌(*Sinomonas*)的相对丰度分别增加到 2.80%−3.84%、1.84%−3.52% 和 1.84%−3.12%，但 *Gaiellales*、*Pandoraea* 和 *Hydrogenispora* 的相对丰度分别减少到 0.79%−1.30%、0.00−1.29% 和 0.35%−1.04% (图 2)，显著改变了菜园土壤原有的细菌群落结构和高丰度菌相对丰度；土壤 *Bacillus* 相对丰度维持在 7.78%−13.70% (表 2)，表现出较强的抗逆性和菌群稳定性，并耐受外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 的长期竞争。仅在 *R*-B 生物炭菌剂处理组(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)检出外源菌 *Ralstonia* (*R*-B)，其相对丰度为 3.95%−9.33%，生物炭促使 *R*-B 成长为菜园土壤高丰度菌。*Bacillus* 是菜园土壤相对丰度最高的细菌种群，对土壤菌群结构和高丰度菌生长产生重要影响；土壤中存在与 *Bacillus* 序列同源和功能相似的芽孢杆菌属细菌[27]，综合分析土壤 *Bacillus* 和芽孢杆菌属细菌的相对丰度变化有助于了解土壤细菌群落变化特征。添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)，菜园土壤芽孢杆菌类细菌(top 10)的相对丰度从 7.03%−7.98% 显著减少到 1.80%−2.54% [不包括解支链淀粉芽孢杆菌(*Pullulanibacillus*)]，其中 *Tumebacillus*、类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)、脂环酸芽孢杆菌

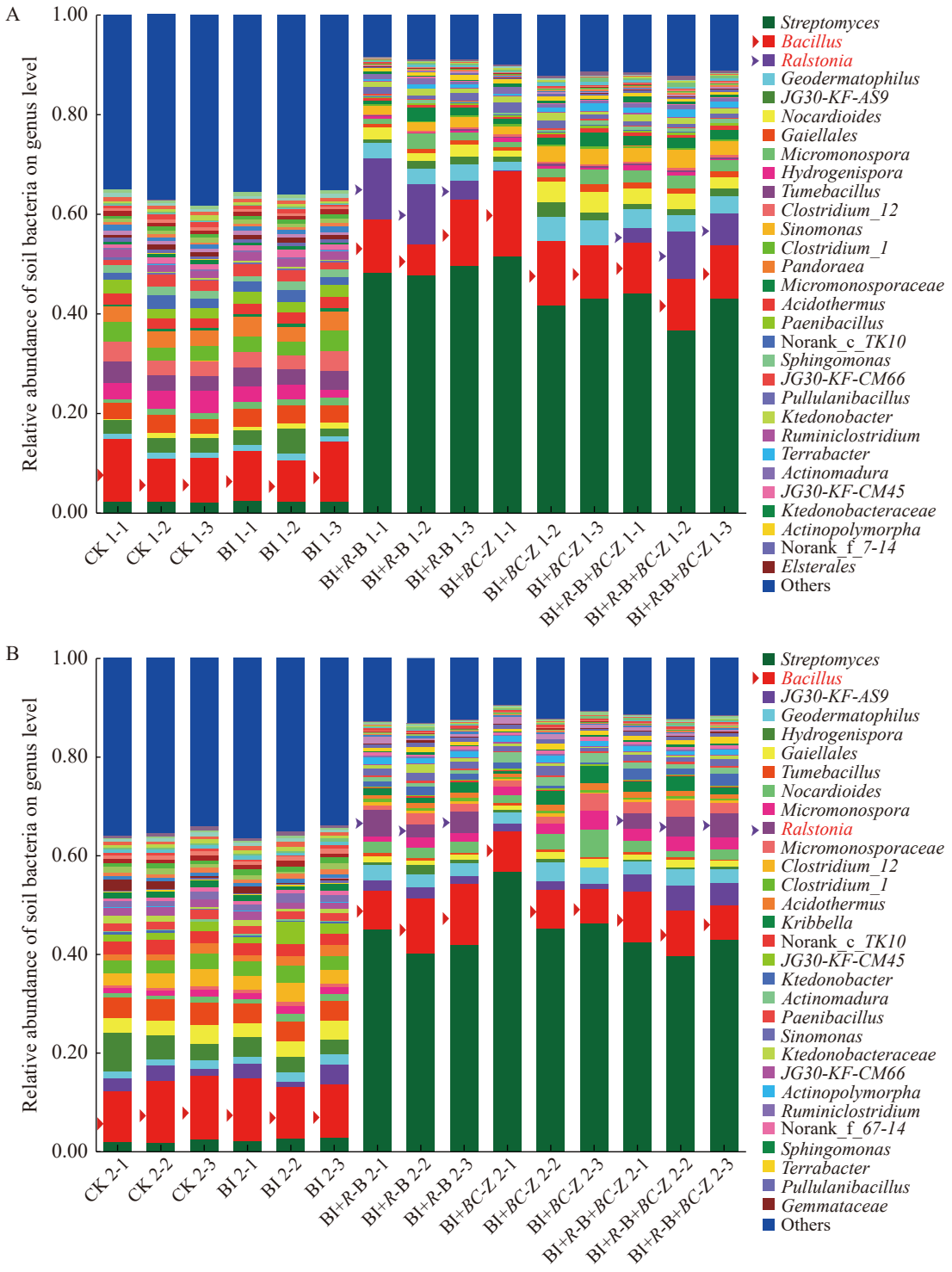

图2　菜园土壤细菌的群落结构和相对丰度(属水平)。A：壮苗期；B：采收期。红色三角表示*Bacillus*；紫色箭头表示*Ralstonia*。

Figure 2　Community structure and relative abundance of bacteria in vegetable soil (genus level). A: Strong seedling stage; B: Harvest stage. Red triangle represented *Bacillus*; Purple arrow represented *Ralstonia*.

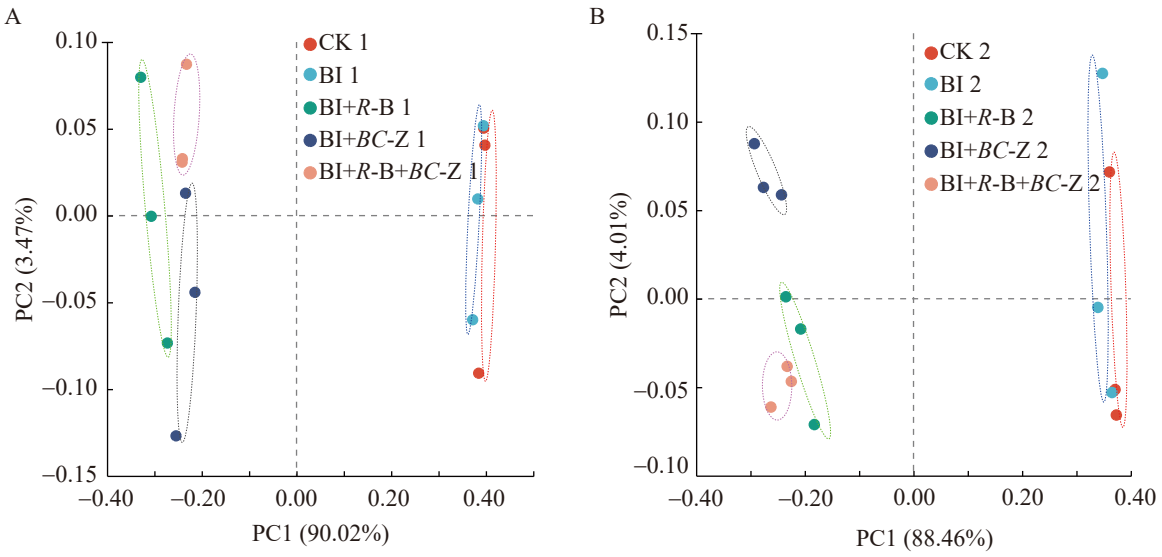

图3　菜园土壤细菌种群的PCoA分析。A：壮苗期；B：采收期。

Figure 3　PCoA analysis of bacterial community in vegetable soil. A: Strong seedling stage; B: Harvest stage.

表2　菜园土壤芽孢杆菌属细菌的相对丰度变化

Table 2　Relative abundance of *Bacillus* genus (top 10, %) in vegetable soil

Species name	CK 1	BI 1	BI+*R*-B 1	BI+*BC*-Z 1	BI+*R*-B+*BC*-Z 1	CK 2	BI 2	BI+*R*-B 2	BI+*BC*-Z 2	BI+*R*-B+*BC*-Z 2
Bacillus	10.18	10.10	10.08	13.70	10.43	11.88	11.35	10.48	7.78	8.90
Tumebacillus	3.45	3.53	0.21	0.34	0.38	4.33	3.99	0.55	0.43	0.47
Paenibacillus	2.19	2.24	0.25	0.38	0.44	1.66	1.54	0.51	0.37	0.37
Alicyclobacillus	0.63	0.63	0.12	0.19	0.14	0.40	0.44	0.17	0.12	0.13
Lysinibacillus	0.53	0.53	0.04	0.07	0.08	0.42	0.37	0.09	0.08	0.06
Pullulanibacillus	0.33	0.35	1.15	1.44	0.81	0.34	0.29	0.81	0.73	0.69
Oceanobacillus	0.19	0.16	0.02	0.03	0.02	0.10	0.10	0.03	0.01	0.02
Solibacillus	0.14	0.14	0.02	0.02	0.02	0.14	0.08	0.04	0.02	0.02
Geobacillus	0.11	0.13	0.01	0.03	0.02	0.06	0.07	0.01	0.02	0.02
Brevibacillus	0.11	0.14	0.01	0.02	0.01	0.07	0.07	0.02	0.01	0.01
Fictibacillus	0.10	0.13	0.00	0.02	0.02	0.06	0.08	0.02	0.01	0.02

(*Alicyclobacillus*)和赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus*)的丰度分别减少到0.34%、0.25%、0.12%和0.04% (表2)，显著降低了菜园土壤芽孢杆菌类细菌的相对丰度。生物炭维持外源菌*R*-B和*BC*-Z与高抗性*Bacillus*在重金属复合污染的菜园土壤长期共存，但生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z和BI+*R*-B+*BC*-Z)抑制菜园土壤芽孢杆菌类细菌生长(top 10，丰度>0.10%)。

2.4　生物炭菌剂作用于菜地土壤高丰度菌、*R*-B和*Bacillus*的相对丰度

如图4所示，Heatmap相关性分析显示，从芥菜的壮苗期到采收期生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z和BI+*R*-B+*BC*-Z)改变了菜园土壤细菌种群(top 25)的丰度(颜色从红色转向绿色)，但*Bacillus*维持较高丰度(保持红色)。BI+*R*-B和

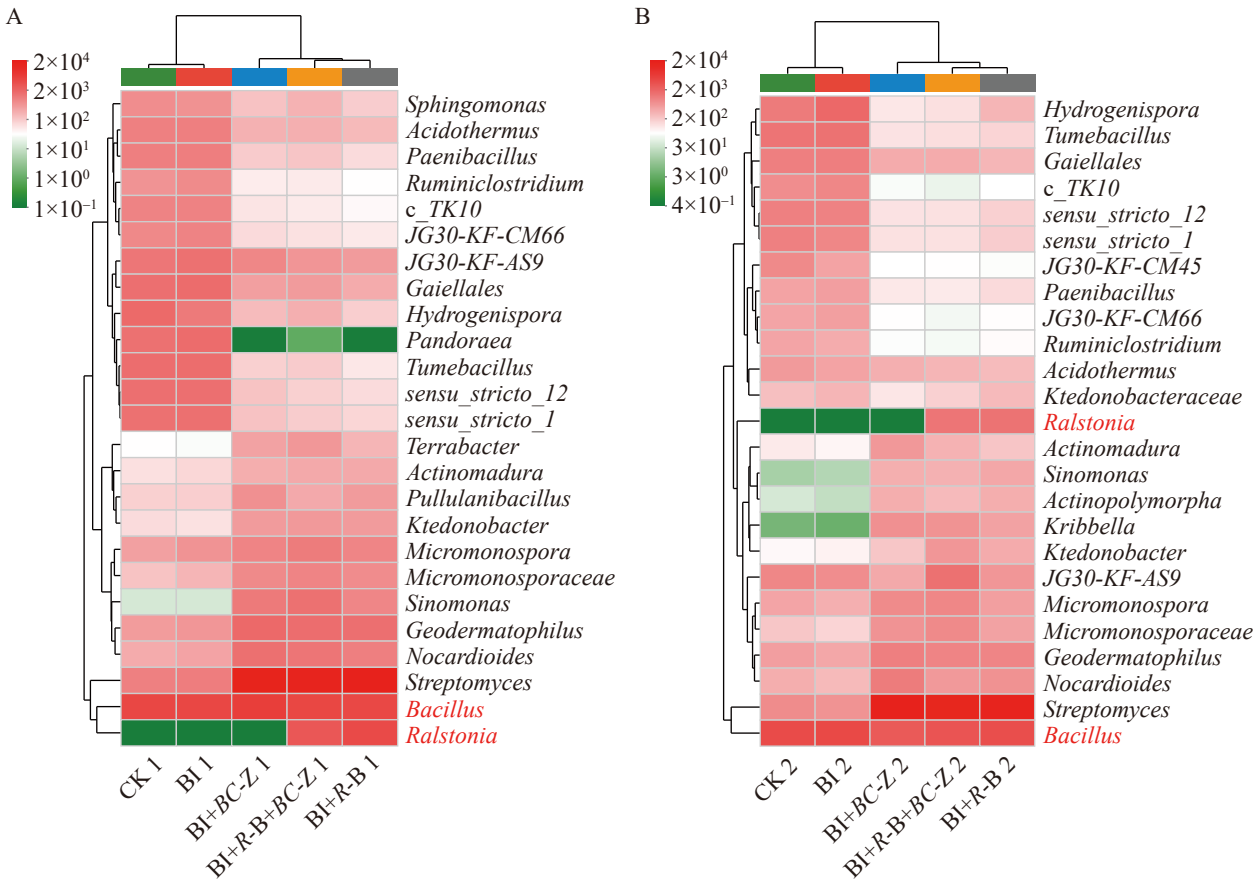

图4　菜园土壤*R*-B和*Bacillus*的丰度分布。A和B：Heatmap分析(top 25)。A：壮苗期；B：采收期。

Figure 4　The abundance distribution of *R*-B and *Bacillus* in vegetable soil. A and B: Heatmap analysis (top 25). A: Strong seedling stage; B: Harvest stage.

BI+*R*-B+*BC*-Z 促使 *Ralstonia* (*R*-B)成长为高丰度菌且呈正相关(红色)；此外，*Sinomonas*、放线多形菌(*Actinopolymorpha*)和克里布所菌(*Kribbella*)与生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)呈正相关，*Pandoraea* 与生物炭菌剂呈负相关(绿色)。BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 与外源菌 *Ralstonia* (*R*-B)密切相关，但 BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 与菜园土壤原有的 *Bacillus* 无明显相关性。

2.5　*R*-B 和 *BC*-Z 与生物炭制备的菌剂显著减少菜地土壤潜在功能细菌数量

如图 5 所示，线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)图直观展示了对土壤产生显著作用的差异菌群(biomarker)。外源菌 *Ralstonia* 在壮苗期的 BI+*R*-B 1 处理组成为差异菌群(图 5A，红色字体标示)，*Bacillus* 在壮苗期和采收期的所有处理中均并非差异菌群。从芥菜的壮苗期到采收期，初始菜园土壤(CK)的差异菌群数量为 30−35 个，添加生物炭(BI)后差异菌群数量激增到 42−46 个，但添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)后其差异菌群数量锐减到 2−8 个，显著减少了菜园土壤差异菌群的数量和类型。适量生物炭促进菜园土壤差异菌群生长，但 *R*-B 和 *BC*-Z 与生物炭制备的菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)明显抑制土壤差异菌群生长，并改变了菜园土壤原有的差异菌群分布。

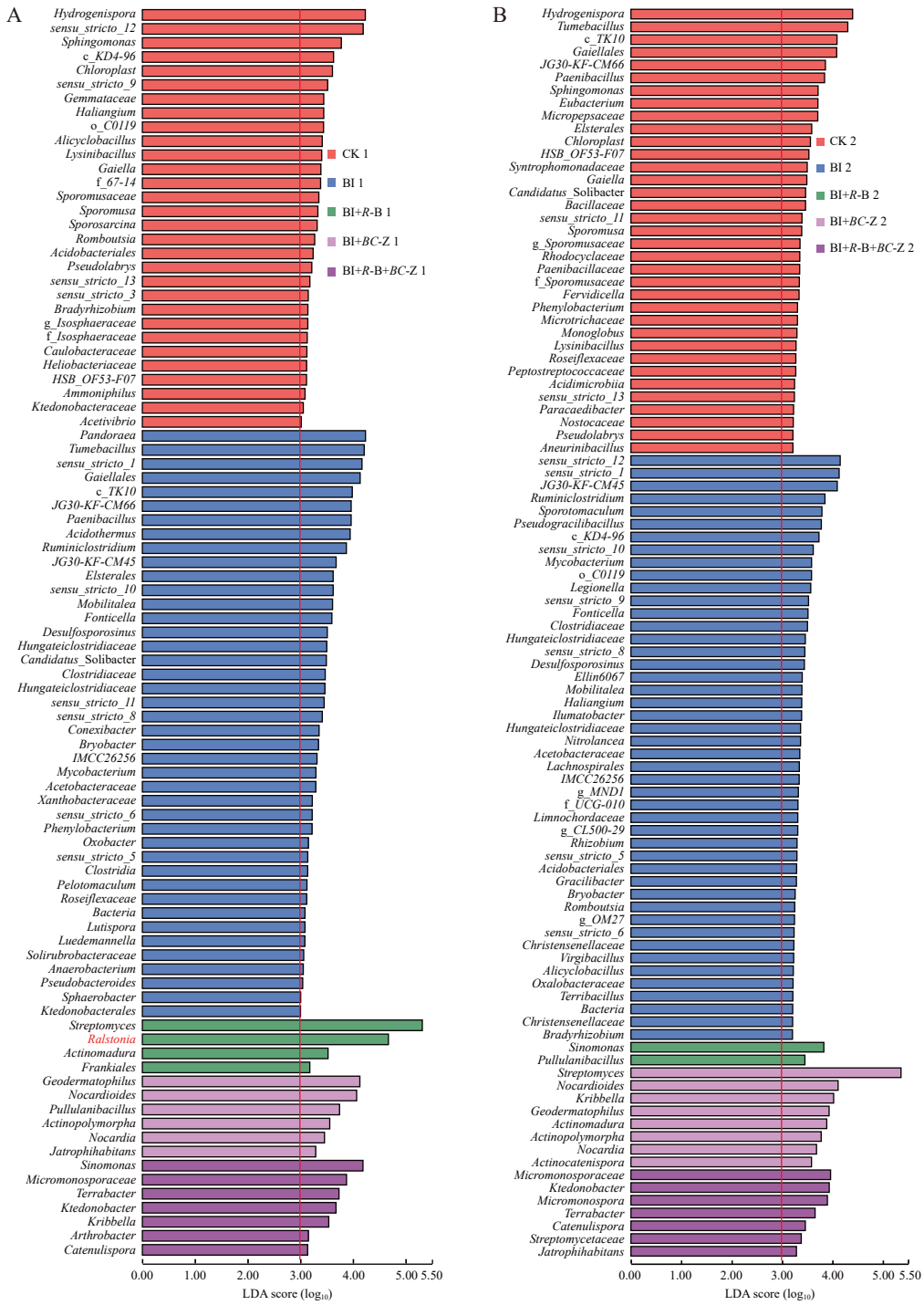

图5 菜园土壤潜在功能细菌的LEfSe分析(LDA>3，属水平)。A：壮苗期；B：采收期。LDA值越大，该功能菌对土壤的作用能力越显著。

Figure 5 LEfSe analysis of potential functional-bacteria in vegetable soil (LDA>3, genus level). A: Strong seedling stage; B: Harvest stage. The greater the LDA value, the more significant the functional bacteria's effect on soil.

2.6 *R*-B+*BC*-Z 生物炭复合菌剂显著提高菜园土壤的 pH 和氮碳含量

如图 6 所示，在芥菜的采收期，菜园土壤(CK)的 pH、EC、含水率、总有机碳、全氮、硝态氮(NO_3^--N)、铵态氮(NH_4^+-N)和有机质分别为 5.0、130.83 μs/cm、12.06%、1 144.40 mg/kg、94.11 mg/kg、43.91 mg/kg、23.07 mg/kg 和 5.42%。添加生物炭(BI)和生物炭菌剂(BI+*R*-B、

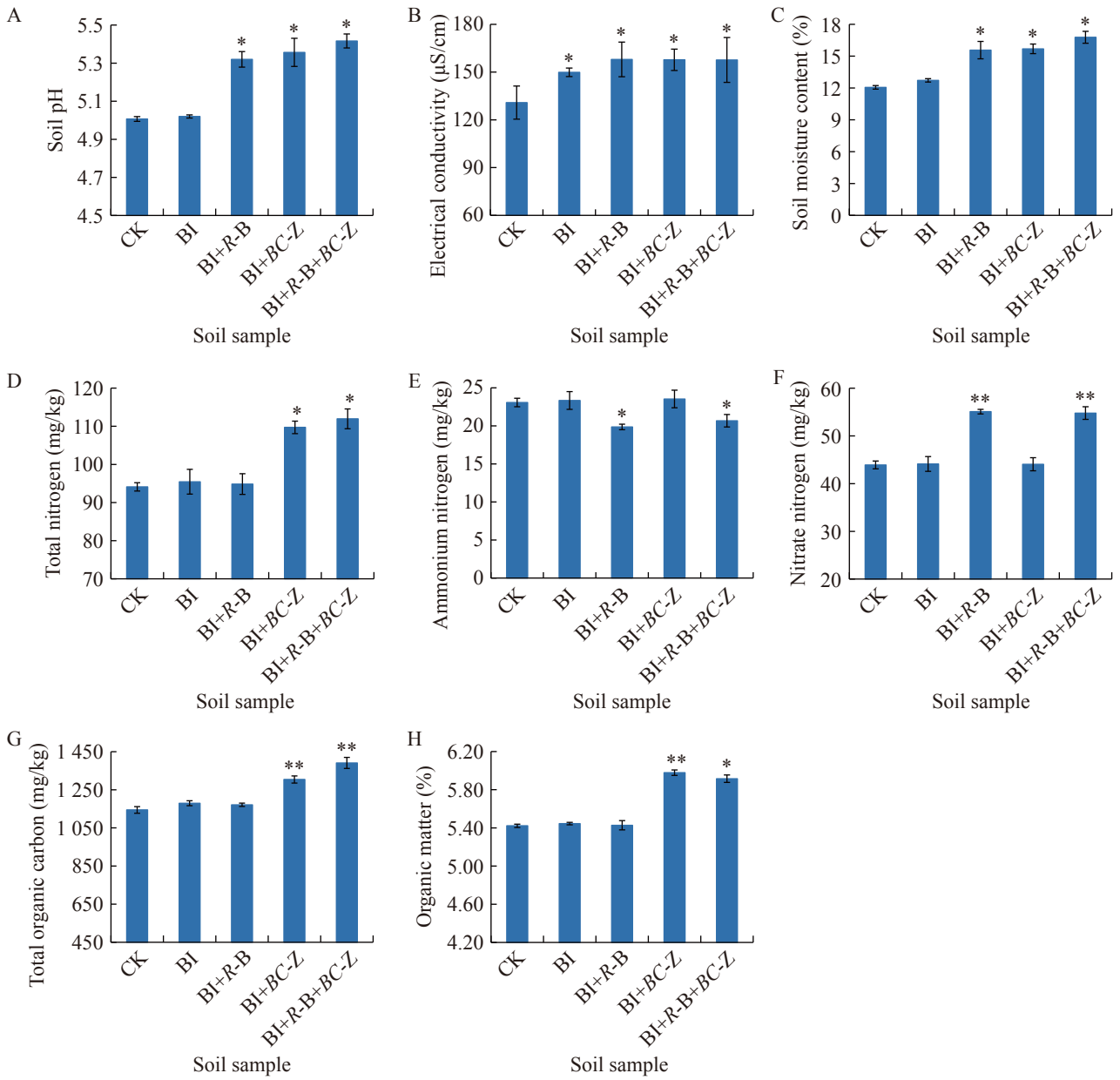

图6　菜园土壤理化性质和养分组成的变化。A：土壤pH；B：土壤电导率；C：土壤含水率；D：总氮；E：铵态氮；F：硝态氮；G：总有机碳；H：有机质。以CK为对照组。

Figure 6　Changes of physicochemical properties and nutrient composition in vegetable soil. A: Soil pH; B: Soil electrical conductivity (EC); C: Soil moisture content; D: Total nitrogen; E: Ammonium nitrogen; F: Nitrate nitrogen; G: Total organic carbon; H: Organic matter. CK was the control group. *: P<0.05; **: P<0.01.

BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)后菜园土壤 pH 分别增加 0.02 和 0.31−0.41 (图 6A)，EC 分别增加 14.55% 和 20.48%−20.74% (图 6B)，含水率分别增加 0.66% 和 3.51%−4.72% (图 6C)。与添加适量生物炭相比，生物炭菌剂增加菜园土壤的 pH、EC 和含水率，能缓解土壤酸化、增加土壤离子总量和固持土壤水分。菜园土壤添加 BI、BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z，土壤总氮分别增加 1.44%、0.78%、16.57% 和 18.96% (图 6D)，硝态氮分别增加 0.48%、17.85%、0.34% 和 24.77% (图 6F)，总有机碳分别增加 3.08%、2.37%、13.95% 和 21.56% (图 6G)，有机质分别增加 0.43%、0.10%、10.26% 和 9.10% (图 6H)；土壤铵态氮在 BI 和 BI+*BC*-Z 处理组分别增加 1.18% 和 2.02%，但在 BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 处理组分别减少 13.91% 和 10.38% (图 6E)。*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)显著增加土壤硝态氮且减少土壤铵态氮残留，*BC*-Z 生物炭菌剂(BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)显著增加土壤的总氮、总有机碳和有机质。综上所述，生物炭复合菌剂(BI+*R*-B+*BC*-Z)有效提高了菜园土壤氮碳和有机质的供给量。

2.7 生物炭菌剂影响菜园土壤细菌种群与氮组分和重金属化学形态的相关性

如图 7 所示，RDA/CCA 分析展示了土壤细菌种群与氮组分和重金属(Cd、Pb 和 Cu)化学形态的相关性(锐角：正相关，钝角：负相关；夹角越小，相关性越大)。在芥菜的采收期，*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的土壤细菌种群与硝态氮(NO_3^--N)呈正相关，与铵态氮(NH_4^+-N)呈负相关；*R*-B+*BC*-Z 的土壤细菌种群与总氮(TN)和有机质(OM)呈正相关(图 7A)。添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的菜园土壤，其细菌种群与土壤氮组分[总氮、硝态氮(NO_3^--N)和铵态氮(NH_4^+-N)]和有机质均密切相关。*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的土壤细菌种群：与 Ex-Cd 和 Red-Cd 呈负相关，与 Ox-Cd 和 Res-Cd 呈正相关(图 7B)；与 Ox-Pb 呈正相关，与 Ex-Pb、Red-Pb 和 Res-Pb 均呈负相关(图 7C)；与 Res-Cu 呈正相关，与 Ex-Cu、Ox-Cu 和 Red-Cu 均呈负相关(图 7D)。此外，BI+*BC*-Z 的菜园土壤细菌种群与 Cd、Pb 和 Cu 的化学形态无明显相关性。*R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的菜园土壤细菌种群与土壤重金属(Cd、Pb 和 Cu)高活性的交换态(Ex-)和还原态(Red-)呈负相关，与无活性的残渣态(Res-)或低活性的氧化态(Ox-)呈正相关，具备钝化土壤 Cd、Pb 和 Cu 的潜力。

2.8 菜园土壤高丰度细菌(top 25)与土壤氮组分和 Cd-Pb 化学形态的相关性

如图 8 所示，Heatmap 图直观展示了高丰度菌与土壤养分的相关性(P<0.05)。菜园土壤高丰度菌氢产孢杆菌(*Hydrogenispora*)、瘤胃梭菌(*Ruminiclostridium*)和 *Tumebacillus* 等(top 25，合计 60%)与土壤 OM、TN 和 TOC 呈显著正/负相关(P<0.05)，与 NH_4^+-N 无显著相关性(图 8A)。*Hydrogenispora*、*Paenibacillus* 和小单孢菌(*Micromonosporaceae*)等(top 25，合计 40%)与土壤 NO_3^--N 呈显著正/负相关。其中，*Bacillus* 与土壤 OM、TN 和 TOC 呈显著正相关，与 NO_3^--N 和 NH_4^+-N 无显著相关性；*Ralstonia* (*R*-B)与 NO_3^--N 和 NH_4^+-N 呈极显著正/负相关(P<0.001)，与土壤 OM、TN 和 TOC 无显著相关性。菜园土壤中 *Ralstonia* (*R*-B)和 *Bacillus* 对土壤 OM、TN、TOC、NO_3^--N 和 NH_4^+-N 的相关性截然不同。添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的菜园土壤中，高丰度菌(top 25)、*Ralstonia* 和 *Bacillus* 共同作用于土壤氮组分(TN、NO_3^--N 和 NH_4^+-N)、总有机碳和有机质。菜园土壤 80% 的高丰度细菌(top 25)与 Ox-Cd 和 Ex-Cd 呈显著正/负相关(图 8B)，40% 的高丰度细菌(top 25)与 Res-Cd 和 Red-Cd 呈显著正/负相

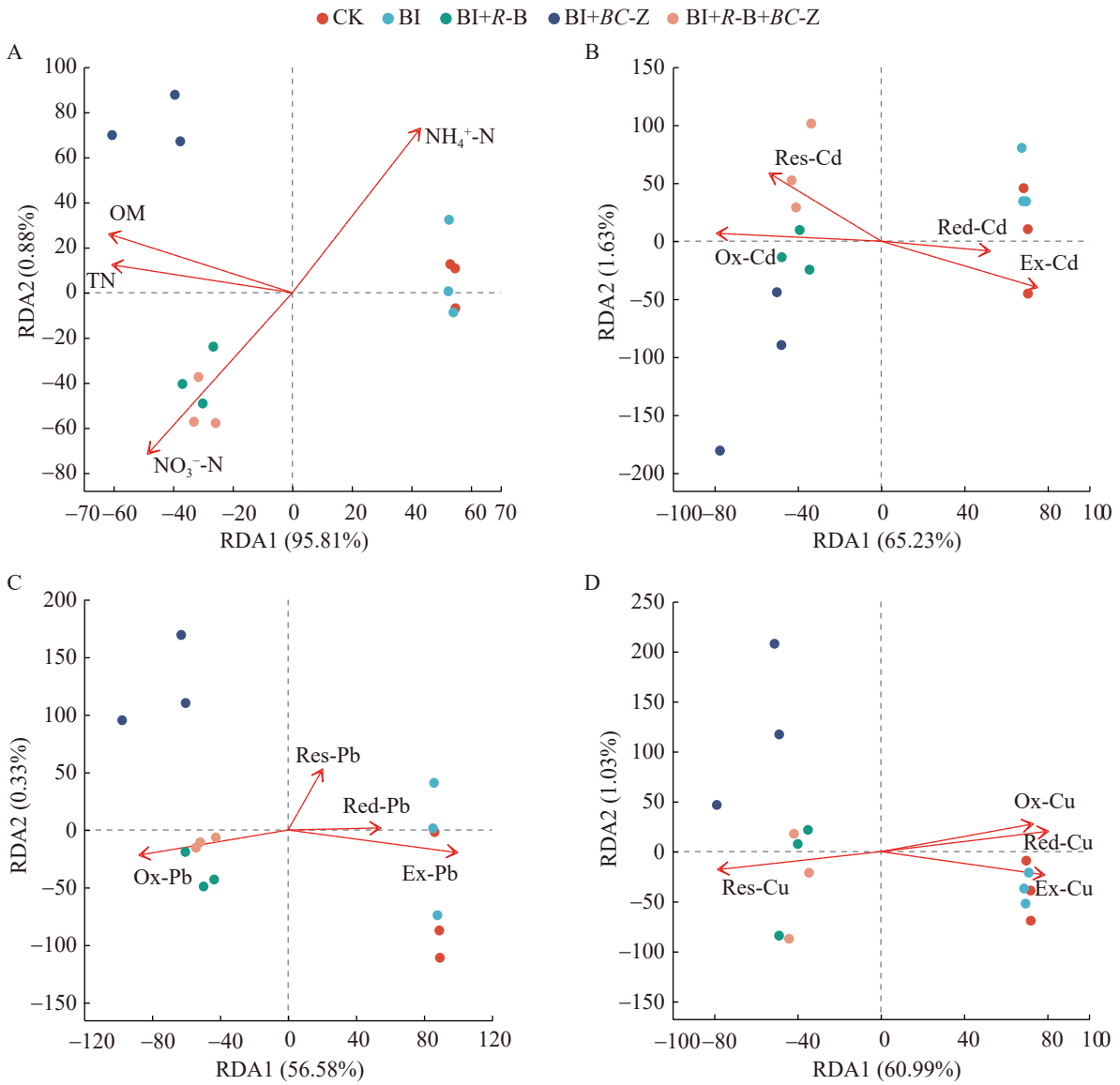

图7　土壤细菌种群(属水平)与氮组分和重金属化学形态的相关性分析。A：土壤氮素；B：镉；C：铅；D：铜。TN：总氮；OM：有机质。

Figure 7　Correlation analysis of soil bacterial community (genus level) with nitrogen component and heavy-metal chemical speciation. A: Soil nitrogen; B: Cd; C: Pb; D: Cu. TN: Total nitrogen; OM: Organic matter.

关。其中 *Ralstonia* 与 Ex-Cd 呈极显著负相关，与 Ox-Cd 和 Res-Cd 呈显著正相关。菜园土壤 52% 的高丰度细菌(top 25)与 Ox-Pb 呈显著正/负相关(图 8C)，与 Ex-Pb、Red-Pb 和 Res-Pb 的相关性降低。其中，*Ralstonia* 与 Ex-Pb、To-Pb 和 Red-Pb 呈极显著负相关(P<0.01)，与 Ox-Pb 呈极显著正相关。然而，*Bacillus* 与土壤 Cd 和 Pb 的化学形态无显著相关性。添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)的菜园土壤中，高丰度细菌(top 25)和外源菌 *Ralstonia* 显著影响土壤重金属(Cd 和 Pb)高活性的交换态和还原态、性质较为稳定的氧化态以及无活性的残渣态(Pb 除外)。

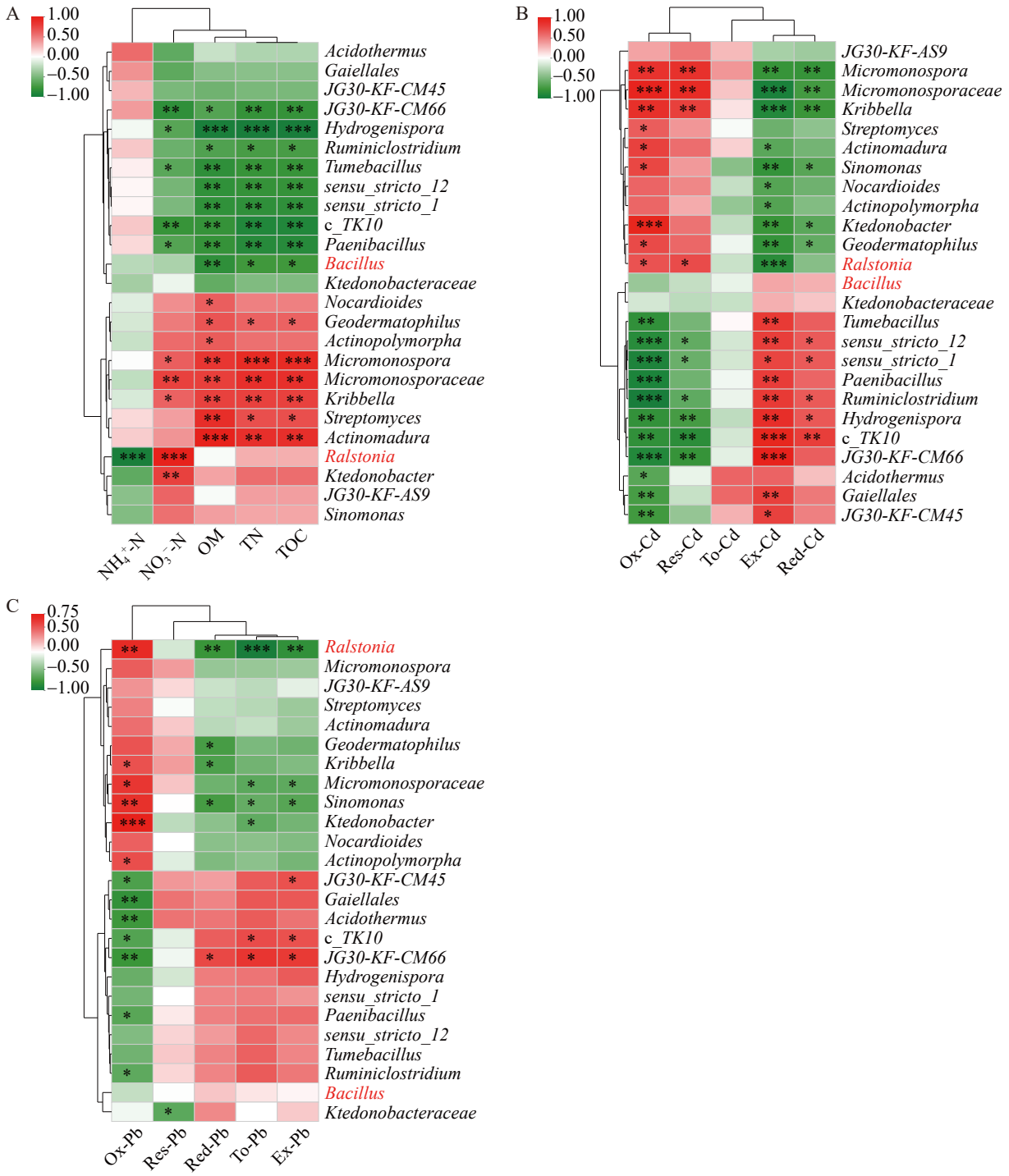

图8　土壤高丰度菌(top 25)与氮组分和Cd化学形态的Heatmap分析。A：氮碳；B：镉；C：铅。红色：正相关；绿色：负相关；TOC：总有机碳；To-Cd：Cd总量；To-Pb：Pb总量。

Figure 8　Heatmap analysis of high abundance bacteria (top 25) with nitrogen component and Cd chemical speciation. A: Nitrogen and carbon; B: Cd; C: Pb. Red: Positive correlation; Green: Negative correlation; TOC: Total organic carbon; To-Cd: Total Cd; To-Pb: Total Pb. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$。

3 讨论

3.1 生物炭复合菌剂改善菜园土壤细菌群落结构并促进高丰度细菌生长

重金属复合污染会显著降低土壤菌群的多样性和丰富度[29-30]。生物炭具有多孔微结构且能提供养分，可维持功能菌在土壤中的长期存活[17-18,31-32]，还能改善重金属复合污染土壤的细菌群落结构[20-21,33-34]。生物炭固定外源功能菌能够高效钝化土壤重金属、增强土壤细菌群落活性并增加土壤优势菌的相对丰度[22-23]。抗性菌 *Ralstonia* Bcul-1 (*R*-B)和 *Bacillus cellulasensis* Zn-B (*BC*-Z)分离自重金属污染土壤，与生物炭固定化后促使 *R*-B 在重金属复合污染土壤中持续生长，并成为施肥土壤中的高丰度菌[25-26]。此外，农田土壤(pH 5.5)中的高丰度细菌(丰度>0.50%)包括节杆菌(*Arthrobacter*) (32.79%)、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*) (7.90%)、类诺卡氏菌(*Nocardioides*) (5.45%)、*Streptomyces* (1.51%)和 *Bacillus* (0.90%)等；施用炭基肥后，土壤中 *Streptomyces* 和 *Bacillus* 的相对丰度仍维持 1.11%−2.43% 和 0.46%−2.12%[35-37]。在重金属(Cd、Pb 和 Cu)复合污染的菜园土壤中添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)，细菌种群的多样性和丰富度下降 14.63%−48.86%，差异菌群数量从 30−46 个减少到 2−8 个，但土壤中 *Bacillus* 保持稳定的相对丰度(7.78%−13.70%)，高丰度菌 *Streptomyces* (2.10%)、地嗜皮菌(*Geodermatophilus*)、*Nocardioides* 和 *Sinomonas* 的相对丰度分别增加到 49.34%、3.84%、3.52% 和 3.12% (合计 59.82%)；此外，从芥菜生长的壮苗期到采收期，土壤细菌群落结构和优势菌相对丰度维持着较高的稳定性。在适量生物炭作用下，外源重金属抗性菌 *R*-B 和 *BC*-Z 与菜园土壤原有的高丰度菌相互共存，其中 *R*-B 和 *BC*-Z 显著增强了 *Streptomyces* 的活性，且生物炭+*R*-B 改善了施肥土壤微生物群落结构并钝化了重金属活性[27]，为外源菌 *R*-B (3.95%−9.33%，此百分比为相对丰度，下文同此)和 *Streptomyces* (相对丰度从 2.10%−2.49% 增至 41.22%−49.34%)的快速生长营造了良好的土壤环境，有效改善了菜园土壤原有的细菌群落结构和优势菌相对丰度。

3.2 生物炭维持外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 与土壤 *Bacillus* 长期共存于菜园土壤

促生菌菌剂能有效提高土壤细菌数量、活化功能菌并改变细菌群落结构[38]。复合微生物菌剂维持土壤细菌生态平衡并增加根际土壤细菌数量[39]。农田土壤施用复合菌剂能显著改善土壤细菌群落结构并增加有益细菌丰度，同时减少有害细菌丰度[40]。复合微生物菌剂提高细菌种群丰富度并增强土壤特定细菌活性，明显增加土壤功能菌相对丰度[41]。富含 Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn 的菜园土壤中存活着重金属抗性菌 *Bacillus* (10.18%−11.88%)，添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)后，外源菌 *Ralstonia* (*R*-B)和土壤 *Bacillus* 的相对丰度分别为 3.95%−9.33% 和 7.78%−13.70%。生物炭固定化促使重金属抗性菌 *R*-B 和 *BC*-Z 在菜园土壤中定殖和持续生长，且 *Ralstonia* (*R*-B)成长为土壤主要优势菌，有效缓解了土壤高抗性 *Bacillus* 对外源重金属抗性菌潜在的拮抗作用。此外，生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)维持菜园土壤 *Bacillus* 稳健生长，但抑制相对丰度较高(丰度>0.10%)的芽孢杆菌属细菌(*Tumebacillus*、*Paenibacillus* 和 *Alicyclobacillus* 等)的生长。生物炭促使外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 与菜园土壤原有的抗性菌 *Bacillus* 长期共存。然而，施入农田土壤的生物炭会发生改性和自然老化，并且高量生物炭会抑制土壤细菌种群生长[22]。单一功能菌无法克服菌种衰老解体和适用范围受限的缺陷[25,27]。通过将 *R*-B 和 *BC*-Z 与适量生物炭制备成生物炭复合菌剂，有效提高了外源菌(*R*-B 和 *BC*-Z)的生长活性，并维持其与菜园土壤 *Bacillus* 和优势菌 *Streptomyces* (41.22%−49.34%)

长期共存，为实现重金属复合污染土壤减少生物炭施用量、*R*-B 降低土壤重金属活性[27]和 *BC*-Z 增加土壤养分[26]，从而改善菜园土壤细菌群落结构和优势菌相对丰度提供了参考。

3.3 *R*-B 生物炭复合菌剂提高菜园土壤 pH 并钝化土壤多种重金属活性

土壤重金属的化学形态主要有交换态(酸溶态)、还原态、氧化态和残渣态，交换态性质活跃且易于被微生物吸收，还原态活性低于交换态，氧化态性质较为稳定，残渣态无活性且不能自由迁移[42-45]。减少高活性的交换态和还原态，增加残渣态或氧化态，可有效降低土壤重金属的活性和迁移能力[44-45]。生物炭固定化重金属抗性菌能明显提高其吸附土壤可溶性重金属的能力，并促使重金属的交换态或还原态转化为残渣态，降低土壤重金属的生物有效性和迁移率[35-36]。*R*-B 和 *BC*-Z 对 Cd^{2+}、Cr^{3+}、Pb^{2+}、Cu^{2+}和 Zn^{2+}等重金属离子的耐受浓度为 50–2 000 mg/L，且吸附效率达到 6.95%–78.97%[25-26]。*R*-B 和 *BC*-Z 长期存活于农田土壤，与生物炭固定化提高 *R*-B 吸附土壤可溶性 Cd 和 Pb 的能力，并改变了土壤重金属 Cd、Cr 和 Cu 的化学形态分布[27]。重金属复合污染的菜园土壤添加 *R*-B 生物炭菌剂(BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)，土壤 pH 增加 0.31–0.41；土壤 Cd、Cu、Pb 和 Zn 的高活性化学态(交换态和还原态)减少 8.59%–14.03%，残渣态增加 2.95%–14.59%；Cr 氧化态减少 1.64%，残渣态增加 2.23%；同时，土壤细菌种群、部分高丰度菌和外源菌 *Ralstonia* (*R*-B)与土壤 Cd、Pb 和 Cu 化学形态(交换态、还原态、氧化态和残渣态)相关性显著(P<0.05)。BI+*R*-B 和 BI+*R*-B+*BC*-Z 能吸附土壤重金属，并促进重金属高活性化学态转化为无活性残渣态或低活性氧化态，同时增强土壤细菌种群和高丰度菌对土壤重金属化学形态的作用，显著降低土壤 Cd、Pb、Cr、Cu 和 Zn 的活性(增加残渣态，P<0.05)。*R*-B 或 *R*-B+*BC*-Z 与生物炭固定化制备的菌剂通过缓解土壤酸化、吸附土壤重金属、增强土壤细菌群落活性以及维持外源菌(*R*-B 和 *BC*-Z)和高丰度菌长期存活，有效促进土壤重金属化学形态转化，具备同时钝化菜园土壤多种重金属的潜力。

3.4 高丰度细菌与外源菌 *R*-B 和 *BC*-Z 共同作用于菜园土壤氮碳供给

芽孢杆菌联合菌剂能增加土壤有机质含量并促进秸秆纤维素降解[46]，有效提高土壤供肥能力[47]。双功能复合菌群可修复 Cd 污染土壤，并促使芽孢杆菌种群成长为高丰度菌[48]。土壤细菌相对丰度与有机质、总氮、铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)显著相关[49]。具有氧化酶活性的 *R*-B 与生物炭固定化，能显著增加施肥菜地土壤供肥能力，同时调节土壤硝态氮和铵态氮的含量[27]。热稳定性菌 *BC*-Z 能产纤维素酶且耐受高浓度 Cd^{2+}，在多种重金属胁迫下仍能高效降解蔬菜残留物[26]。富含重金属(Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn)的菜园土壤添加生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)，土壤 EC、总氮、硝态氮、总有机碳和有机质增加 10.26%–24.77%，铵态氮残留减少 13.91%；此外，菜园土壤细菌种群、高丰度菌 *Streptomyces* 和土壤 *Bacillus* 与总氮、硝态氮、有机质或总有机碳相关性显著(P<0.05)，外源菌 *Ralstonia* (*R*-B)与硝态氮和铵态氮显著相关。在重金属复合污染的菜园土壤中外源菌 *R*-B 促进了施肥农田土壤氮形态转化[27]，*BC*-Z 降解蔬菜残留物增加了土壤养分含量[26]，且生物炭菌剂(BI+*R*-B、BI+*BC*-Z 和 BI+*R*-B+*BC*-Z)维持了土壤高丰度菌 *Streptomyces* (41.22%–49.34%)和 *Bacillus* (7.78%–13.70%)的持续生长。生物炭复合菌剂(BI+*R*-B+*BC*-Z)同时实现 BI+*R*-B 调节土壤氮形态和 BI+*BC*-Z 增加土壤氮碳含量，并维持外源菌(*R*-B+*BC*-Z)和土壤高丰度菌(*Streptomyces*+*Bacillus*)长期共存于菜园土壤，促进土壤菌群共同作用于土壤氮组分(总氮、硝态氮和铵态氮)、

总有机碳和有机质的转化，有效改善菜园土壤供肥能力。

4 结论

生物炭与 *R*-B 和 *BC*-Z 固定化制备的生物炭复合菌剂(BI+*R*-B+*BC*-Z)调控了菜园土壤的细菌群落活性、高丰度菌(*Streptomyces* 和 *Bacillus*)生长、外源双功能菌(*R*-B 和 *BC*-Z)存活、氮碳组分、pH、EC 和重金属化学形态，并维持了 *R*-B 和 *BC*-Z 与土壤抗性菌 *Bacillus* (7.78%−13.70%)长期共存；从而有效增加了菜园土壤的全氮、有机质和总有机碳，调节硝态氮和铵态氮的含量，同时促使土壤重金属高活性的交换态和还原态转化为无活性的残渣态或低活性的氧化态，实现了改善菜园土壤氮碳供给能力和钝化土壤重金属(Cd、Pb 和 Cu)活性。

作者贡献声明

黄家庆：撰写文章，数据分析，获取基金，项目管理，设计实验；罗施行：提供资源，执行调研，数据收集；叶菁：项目管理，数据收集；林怡：监督管理，技术支持；王义祥：研究构思，执行调研，文章审阅，监督管理。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] 苑学霞, 方丽萍, 张太平, 张勇. 不同年限设施菜地土壤中重金属和抗生素污染特征[J]. 生态环境学报, 2020, 29(8): 1669-1674.
YUAN XX, FANG LP, ZHANG TP, ZHANG Y. Characteristics of heavy metals and antibiotics pollution in vegetable greenhouses after different cultivating years[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2020, 29(8): 1669-1674 (in Chinese).

[2] 余志, 陈凤, 张军方, 黄代宽, 于恩江, 刘鸿雁. 锌冶炼区菜地土壤和蔬菜重金属污染状况及风险评价[J]. 中国环境科学, 2019, 39(5): 2086-2094.
YU Z, CHEN F, ZHANG JF, HUANG DK, YU EJ, LIU HY. Contamination and risk of heavy metals in soils and vegetables from zinc smelting area[J]. China Environmental Science, 2019, 39(5): 2086-2094 (in Chinese).

[3] 余江, 黄志勇, 陈兰. 福建省部分菜园土壤及蔬菜重金属含量的测量及污染评价[J]. 土壤通报, 2010, 41(4): 985-989.
YU J, HUANG ZY, CHEN L. Heavy metal contents and pollution assessment of soils and vegetables sampled in Fujian province[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2010, 41(4): 985-989 (in Chinese).

[4] YU J, HUANG ZY, CHEN T, QIN DP, ZENG XC, HUANG YF. Evaluation of ecological risk and source of heavy metals in vegetable-growing soils in Fujian Province, China[J]. Environmental Earth Sciences, 2012, 65: 29-37.

[5] 卢维宏, 刘娟, 张乃明, 张玉娟, 郝康伟, 任利娟, 于畅, 侯红. 设施菜地土壤重金属累积及影响因素研究[J]. 中国环境科学, 2022, 42(6): 2744-2753.
LU WH, LIU J, ZHANG NM, ZHANG YJ, HAO KW, REN LJ, YU C, HOU H. Study on the accumulation of heavy metals and influencing factors in the soil of facility vegetable fields[J]. China Environmental Science, 2022, 42(6): 2744-2753 (in Chinese).

[6] 方月梅, 张晓玲, 刘娟, 何明礼. 铜绿山矿区菜地土壤重金属污染特征[J]. 环境污染与防治, 2018, 40(1): 69-74.
FANG YM, ZHANG XL, LIU J, HE ML. Pollution characteristics of heavy metals in vegetable soil in the mining area of Tonglvshan[J]. Environmental Pollution & Control, 2018, 40(1): 69-74 (in Chinese).

[7] MITRA S, PRAMANIK K, GHOSH PK, SOREN T, SARKAR A, DEY RS, PANDEY S, MAITI TK. Characterization of Cd-resistant *Klebsiella michiganensis* MCC3089 and its potential for rice seedling growth promotion under Cd stress[J]. Microbiological Research, 2018, 210: 12-25.

[8] LU WL, ZHUO KY, JIA D. Influence of dark brown soil respiration and microbial community under cadmium stress[J]. Agricultural Science & Technology, 2014, 15(12): 2135-2137.

[9] 黄晓雅, 李莲芳, 朱昌雄. 生物炭老化对土壤重金属的固定效应研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(1): 157-164.
HUANG XY, LI LF, ZHU CX. Research progress on the fixation effect of biochar aging on heavy metals in soil[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2022, 39(1): 157-164 (in Chinese).

[10] 吴文卫, 周丹丹. 生物炭老化及其对重金属吸附的影响机制[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(1): 7-13.
WU WW, ZHOU DD. Influence of biochar aging on its physicochemical properties and adsorption of heavy metals[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(1): 7-13 (in Chinese).

[11] 姜晶, 邓精灵, 盛光遥. 生物炭老化及其对重金属吸附影响研究进展[J]. 生态环境学报, 2022, 31(10): 2089-2100.
JIANG J, DENG JL, SHENG GY. A review of biochar aging and its impact on the adsorption of heavy metals[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2022, 31(10): 2089-2100 (in Chinese).

[12] 黄家庆, 赖永翔, 翁伯琦, 叶菁, 刘岑薇, 王义祥. 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 JQ, LAI YX, WENG BQ, YE J, LIU CW, WANG YX. Effect of peanut shell biochar on the bacterial community structure in cadmium-containing vegetable soil[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(5): 1115-1128 (in Chinese).

[13] 杨成德, 李振东, 陈秀蓉, 徐长林, 薛莉. 高寒草地珠芽蓼内生拮抗固氮菌Z19的鉴定及其固氮功能[J]. 微生物学通报, 2014, 41(2): 267-273.
YANG CD, LI ZD, CHEN XR, XU CL, XUE L. Identification, pathogen inhibiting and nitrogen fixation of endophytic bacterium Z19 of *Polygonum viviparum*[J]. Microbiology China, 2014, 41(2): 267-273 (in Chinese).

[14] ZHENG SX, SU J, WANG L, YAO R, WANG D, DENG YJ, WANG R, WANG GJ, RENSING C. Selenite reduction by the obligate aerobic bacterium *Comamonas testosteroni* S44 isolated from a metal-contaminated soil[J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 204.

[15] HAN H, CAI H, WANG XY, HU XM, CHEN ZJ, YAO LG. Heavy metal-immobilizing bacteria increase the biomass and reduce the Cd and Pb uptake by pakchoi (*Brassica chinensis* L.) in heavy metal-contaminated soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 195: 110375.

[16] HAN C, WRIGHT GS, FISHER K, RIGBY SE, EADY RR, HASNAIN SS. Characterization of a novel copper-haem c dissimilatory nitrite reductase from *Ralstonia pickettii*[J]. Biochemical Journal, 2012, 444(2): 219-226.

[17] ZHANG LY, JING YM, XIANG YZ, ZHANG RD, LU HB. Responses of soil microbial community structure changes and activities to biochar addition: a meta-analysis[J]. Science of The Total Environment, 2018, 643: 926-935.

[18] SIMARANI K, AZLAN HALMI MF, ABDULLAH R. Short-term effects of biochar amendment on soil microbial community in humid tropics[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2018, 64(13): 1847-1860.

[19] QIN X, HUANG QQ, LIU YY, ZHAO LJ, XU YM, LIU YT. Effects of sepiolite and biochar on microbial diversity in acid red soil from southern China[J]. Chemistry and Ecology, 2019, 35(9): 846-860.

[20] ZHOU X, CHEN ZH, LI ZR, WU HM. Impacts of aeration and biochar addition on extracellular polymeric substances and microbial communities in constructed wetlands for low C/N wastewater treatment: implications for clogging[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 396: 125349.

[21] 常栋, 马文辉, 张凯, 王晓强, 何晓冰, 许跃奇, 徐放达. 生物炭基肥对植烟土壤微生物功能多样性的影响[J]. 中国烟草学报, 2018, 24(6): 58-66.
CHANG D, MA WH, ZHANG K, WANG XQ, HE XB, XU YQ, XU FD. Effect of biochar fertilizer on microbial functional diversity in tobacco growing soil[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2018, 24(6): 58-66 (in Chinese).

[22] MA LL, HU T, LIU YC, LIU J, WANG YY, WANG PZ, ZHOU JY, CHEN MY, YANG B, LI LL. Combination of biochar and immobilized bacteria accelerates polyacrylamide biodegradation in soil by both bio-augmentation and bio-stimulation strategies[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 405: 124086.

[23] WAHLA AQ, ANWAR S, MUELLER JA, ARSLAN M, IQBAL S. Immobilization of metribuzin degrading bacterial consortium MB3R on biochar enhances bioremediation of potato vegetated soil and restores bacterial community structure[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 390: 121493.

[24] 黄程, 吴子君, 何颖慧, 石文苏, 路世娜, 孔召玉, 吴兰. 鄱阳湖-乐安河段湿地耐Cu、Zn、Pb植物促生菌的分离、筛选及鉴定[J]. 微生物学通报, 2018, 45(6): 1283-1294.
HUANG C, WU ZJ, HE YH, SHI WS, LU SN, KONG ZY, WU L. Isolation, screening and identification of Cu, Zn and Pb resistant plant growth-promoting bacteria from Le'an River-Poyang Lake Wetland[J]. Microbiology China, 2018, 45(6): 1283-1294 (in Chinese).

[25] HUANG JQ, LIU CW, PRICE GW, LI YC, WANG YX. Identification of a novel heavy metal resistant *Ralstonia* strain and its growth response to cadmium exposure[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 125942.

[26] HUANG JQ, LIU CW, PRICE GW, WANG YX. Zinc and cadmium change the metabolic activities and vegetable cellulose degradation of *Bacillus cellulasensis* in vegetable soils[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30: 76867-76880.

[27] HUANG JQ, YE J, GAO WH, LIU CW, PRICE GW, LI YC, WANG YX. Tea biochar-immobilized *Ralstonia* Bcul-1 increases nitrate nitrogen content and reduces the bioavailability of cadmium and chromium in a fertilized vegetable soil[J]. Science of The Total Environment, 2023, 866: 161381.

[28] 黄家庆, 叶菁, 李艳春, 刘岑薇, 王义祥. 罗尔斯通菌去除土壤重金属铅的效能及机制[J]. 亚热带资源与环境学报, 2022, 17(1): 29-35.
HUANG JQ, YE J, LI YC, LIU CW, WANG YX. Removal efficiency and mechanism of heavy metal lead (Pb) by *Ralstonia* Bcul-1 in soil[J]. Journal of Subtropical Resources and Environment, 2022, 17(1): 29-35 (in Chinese).

[29] MANDAL S, PU SY, HE LL, MA H, HOU DY. Biochar induced modification of graphene oxide & nZVI and its impact on immobilization of toxic copper in soil[J]. Environmental Pollution, 2020, 259: 113851.

[30] CAO YN, MA CX, CHEN HJ, CHEN GC, WHITE JC, XING BS. Copper stress in flooded soil: impact on enzyme activities, microbial community composition and diversity in the rhizosphere of *Salix integra*[J]. Science of The Total Environment, 2020, 704: 135350.

[31] SONG DL, XI XY, ZHENG Q, LIANG GQ, ZHOU W, WANG XB. Soil nutrient and microbial activity responses to two years after maize straw biochar application in a calcareous soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 180: 348-356.

[32] HUNG CM, HUANG CP, CHEN CW, HSIEH SL, DONG CD. Effects of biochar on catalysis treatment of 4-nonylphenol in estuarine sediment and associated microbial community structure[J]. Environmental Pollution, 2021, 268: 115673.

[33] MENG LL, SUN T, LI MY, SALEEM M, ZHANG QM, WANG CX. Soil-applied biochar increases microbial diversity and wheat plant performance under herbicide fomesafen stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 171: 75-83.
[34] ZHOU ZD, YAN TT, ZHU Q, BU XL, CHEN B, XUE JH, WU YB. Bacterial community structure shifts induced by biochar amendment to karst calcareous soil in southwestern areas of China[J]. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19: 356-365.
[35] TU C, WEI J, GUAN F, LIU Y, SUN YH, LUO YM. Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil[J]. Environment International, 2020, 137: 105576.
[36] QI X, GOU JL, CHEN XM, XIAO SQ, ALI I, SHANG R, WANG D, WU YW, HAN MW, LUO XG. Application of mixed bacteria-loaded biochar to enhance uranium and cadmium immobilization in a co-contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 401: 123823.
[37] 黄家庆, 叶菁, 陈彪, 翁伯琦, 王义祥. 餐厨垃圾生物炭、炭基肥对种植芥菜土壤细菌群落结构的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2022, 3: 182-192.
HUANG JQ, YE J, CHEN B, WENG BQ, WANG YX. Effects of kitchen biochar and biochar-based fertilizer on soil bacterial community structure of mustard planting[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022, 3: 182-192 (in Chinese).
[38] 黄文茂, 易伦, 彭思云, 黄承森, 程代松, 韩丽珍. PGPR复合菌剂对辣椒生长及根际土壤微生物结构的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2020, 1: 195-201.
HUANG WM, YI L, PENG SY, HUANG CS, CHENG DS, HAN LZ. Effect of PGPR compound bacterial agents on growth of chilli and changes of soil microbial structure[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2020, 1: 195-201 (in Chinese).
[39] 宋以玲, 于建, 陈士更, 肖承泽, 李玉环, 苏秀荣, 丁方军. 复合微生物菌剂对棉花生理特性及根际土壤微生物和化学性质的影响[J]. 土壤, 2019, 51(3): 477-487.
SONG YL, YU J, CHEN SG, XIAO CZ, LI YH, SU XR, DING FJ. Effects of complex microbial agent on cotton physiological characteristics, microorganism and physicochemical properties in rhizosphere soil[J]. Soils, 2019, 51(3): 477-487 (in Chinese).
[40] 柳晓磊, 齐钊, 闫臻, 徐敏, 陈剑山, 张曼丽, 骆娟, 熊睿, 程玉, 李阳, 何文娅, 李鹏, 汤华. 复合微生物菌剂与氨基酸水溶肥组合施用对香蕉土壤理化性质及微生物群落的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019, 1: 151-158.
LIU XL, QI Z, YAN Z, XU M, CHEN JS, ZHANG ML, LUO J, XIONG R, CHENG Y, LI Y, HE WY, LI P, TANG H. Effects of compound microbial fertilizer and amino acid water-soluble fertilizer on physic-chemical properties and microbial community structures in banana soil[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2019, 1: 151-158 (in Chinese).
[41] 宋时丽, 吴昊, 黄鹏伟, 孙凯, 张振华, 张勇, 戴传超. 秸秆还田土壤改良培肥基质和复合菌剂配施对土壤生态的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(11): 4562-4576.
SONG SL, WU H, HUANG PW, SUN K, ZHANG ZH, ZHANG Y, DAI CC. Effects of total straw incorporation combined with soil modified fertilizer substrate and compound microbial agent on soil ecology and wheat yield[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(11): 4562-4576 (in Chinese).
[42] HAN R, DAI HP, SKUZA L, WEI SH. Comparative study on different organic acids for promoting *Solanum nigrum* L. hyperaccumulation of Cd and Pb from the contaminated soil[J]. Chemosphere, 2021, 278: 130446.
[43] LIAN MM, WANG LF, FENG QQ, NIU LY, ZHAO ZS, WANG PT, SONG CP, LI XH, ZHANG ZJ. Thiol-functionalized nano-silica for *in situ* remediation of Pb, Cd, Cu contaminated soils and improving soil environment[J]. Environmental Pollution, 2021, 280: 116879.
[44] WENG HX, MA XW, FU FX, ZHANG JJ, LIU Z, TIAN LX, LIU CX. Transformation of heavy metal speciation during sludge drying: mechanistic insights[J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 265: 96-103.
[45] FAN JJ, CAI C, CHI HF, REID BJ, COULON F, ZHANG YC, HOU YW. Remediation of cadmium and lead polluted soil using thiol-modified biochar[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 388: 122037.
[46] 魏蔚, 吴昊, 宋时丽, 管永祥, 张振华, 张勇, 戴传超. 复合菌剂对小麦秸秆降解速率、土壤酶和土壤微生物类群的影响[J]. 土壤, 2019, 51(5): 955-963.
WEI W, WU H, SONG SL, GUAN YX, ZHANG ZH, ZHANG Y, DAI CC. Effects of compound microbial agents on wheat straw degradation rate, soil enzyme activity and microbial community[J]. Soils, 2019, 51(5): 955-963 (in Chinese).
[47] 甄静, 杜志敏, 李冠杰, 王继雯, 杨文玲, 岳丹丹, 赵俊杰, 孙玉飞. 复合菌剂对玉米秸秆的降解及土壤微生物多样性的影响[J]. 河南农业大学学报, 2019, 53(5): 791-798.
ZHEN J, DU ZM, LI GJ, WANG JW, YANG WL, YUE DD, ZHAO JJ, SUN YF. Effects of microbial inoculants on cron stalk decomposition and function diversity of microbial communities in soil[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2019, 53(5): 791-798 (in Chinese).
[48] 林海, 秦康佳, 董颖博, 李冰, 侯学文, 唐亚鲁. 双功能菌群在金属矿区黄药、镉复合污染土壤修复中的应用[J]. 金属矿山, 2022, 7: 225-232.
LIN H, QIN KJ, DONG YB, LI B, HOU XW, TANG YL. Application of bifunctional bacterial flora in the remediation of butyl xanthate and Cd compound contamination soil in metal mining areas[J]. Metal Mine, 2022, 7: 225-232 (in Chinese).
[49] PANG XY, NING W, QING L, BAO WK. The relation among soil microorganism, enzyme activity and soil nutrients under subalpine coniferous forest in Western Sichuan[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(5): 286-292.