中国农业大学学报 2024,29(6):219-229
Journal of China Agricultural University http://zgnydxxb.ijournals.cn

李艳春,叶菁,刘岑薇,林怡,王义祥. 长期施用炭基有机肥对土壤铜形态及微生物群落的影响[J]. 中国农业大学学报,2024,29(06):219-229.
LI Yanchun, YE Jing, LIU Cenwei, LIN Yi, WANG Yixiang. Effects of biochar-based organic fertilizer on Cu speciation and microbial community in soils[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(06): 219-229.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.06.22

长期施用炭基有机肥对土壤铜形态及微生物群落的影响

李艳春 叶菁 刘岑薇 林怡 王义祥*
(福建省农业科学院 资源环境与土壤肥料研究所/福建省红壤山地农业生态过程重点实验室,福州 350013)

摘 要 为明确炭基有机肥施用对土壤重金属污染的缓解作用以及对土壤微生态的改良效果,设计小区试验,研究相同施氮量条件不同炭基有机肥处理(T1、T2和T3处理炭基有机肥中生物质炭的质量分数分别为3%、6%和9%)下,连续施用5年后,对土壤养分、土壤铜形态以及微生物群落的影响。结果表明:与对照组CK1(有机肥处理)相比,T1、T2和T3处理土壤pH分别显著提高0.65、0.86和0.90个单位,T2和T3处理显著提高土壤铵态氮含量,分别提高了1.94和1.66倍,T3处理土壤有机碳含量显著提高22.7%;只有T3处理对可交换态和可还原态Cu分配率的影响较大,分别显著降低了21.9%和45.1%;T2和T3处理能显著提高土壤基础呼吸速率(增幅分别为51.5%和37.6%);T3处理能够显著提高土壤细菌、革兰氏阴性菌以及PLFAs总量(增幅分别为15.5%,16.8%和17.2%)。此外,冗余分析表明,pH和总Cu是影响土壤微生物群落特征变异的主要环境因子。综上,炭基有机肥T3处理在改善土壤化学性质、钝化重金属Cu有效性、提高土壤微生物活性和数量方面的效果最佳。

关键词 重金属污染;炭基有机肥;磷脂脂肪酸;土壤呼吸
中图分类号 S156 **文章编号** 1007-4333(2024)06-0219-11 **文献标志码** A

Effects of biochar-based organic fertilizer on Cu speciation and microbial community in soils

LI Yanchun, YE Jing, LIU Cenwei, LIN Yi, WANG Yixiang*
(Institute of Resources, Environment and Soil Fertilizer/Fujian Key Laboratory of Agricultural Ecological Process of Red Soil Mountain, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

Abstract To clarify the mitigation effect of biochar-based organic fertilizer on soil heavy metal pollution and its improvement effect on soil microecology, a field plot experiment was conducted to investigate the effects of three biochar-based organic fertilizers (T1, T2 and T3) on the soil nutrition, Cu speciation and microbial community after 5-year continuous application. T1, T2 and T3 were mixtures of organic manure and biochar, and the weight percentage of biochar were 3%, 6% and 9%, respectively. The control group was organic manure (CK1). All treatments had equal nitrogen input. Compared with CK1, T1, T2 and T3 treatments significantly increased soil pH by 0.65, 0.86 and 0.90 units, respectively; T2 and T3 significantly increased soil ammonium nitrogen by 1.94 times and 1.66 times, and T3 significantly increased soil organic carbon by 22.7%; Only T3 treatment had a significant effect on the distribution rate of exchangeable and reducible Cu, which were decreased by 21.9% and 45.1%, respectively; T2 and T3 treatments significantly increased soil basal respiration rate (51.5% and 37.6%, respectively), and T3 treatment significantly increased soil bacterial content, gram-negative bacteria and total PLFAs (15.5%,

收稿日期:2023-10-21
基金项目:福建省科技厅公益项目(2021R1021003);中央引导地方科技发展专项(2021L3021)
第一作者:李艳春(ORCID:0000-0001-9273-9213),助理研究员,主要从事生态农业研究,E-mail:lyc7758@163.com
通讯作者:王义祥(ORCID:0000-0003-0124-0260),研究员,主要从事碳氮循环研究,E-mail:sd_wolong@163.com

16.8% and 17.2%, respectively). Redundancy analysis indicated that soil pH and total Cu were the main environmental factors affected the variation in soil microbial community composition. In summary, T3 treatment had the best effects on improving soil chemical properties, reducing the availability of heavy metal Cu, and increasing the activity and quantity of soil microorganisms.

Keywords biochar-based organic fertilizer; heavy metal pollution; phospholipid fatty acids; soil respiration

科学施用有机肥可以显著提高土壤养分的有效性以及保水保肥能力,从而改善由于过量使用化肥造成的土壤板结、养分失衡、水体富营养化等生态问题[1]。然而,畜禽粪便有机肥中重金属超标现象较为普遍,特别是以Cu、Zn超标最为严重[2-4]。由于Cu、Zn是植物生长的必需微量元素,因此关于土壤重金属累积风险的已有研究大多关注Cd、Pb、As、Hg和Cr等元素,对Cu、Zn过量累积所导致的环境风险不够重视。事实上,过量的Cu、Zn在土壤中累积,会导致其表现出逆境胁迫效应,是土壤质量退化的成因之一[5]。长期大量施用畜禽有机肥会导致Cu、Zn在土壤中积累,进而影响其在土壤和农产品中的迁移转化,造成土壤环境及作物健康风险[6-9]。因此,采取安全高效的有机肥利用方式,减少土壤重金属累积风险,对保障农业健康可持续发展具有重要意义。

生物质炭是生物质在缺氧条件和一定温度下裂解产生的富碳多孔物质,多数呈碱性,具有较大的比表面积,对重金属具有较强的吸附能力,被广泛应用于污染土壤修复[10]。由生物质炭和有机肥按一定的质量比混合制成的炭基有机肥,不仅可以延长有机肥养分的释放期,而且因为生物质炭含有较多的羧基、羟基、氨基等表面官能团,可以作为吸附位点与重金属结合形成表面络合物或进行离子交换吸附,从而降低土壤中重金属生物有效性[11]。目前已有一些施用炭基有机肥对土壤重金属污染修复的相关报道。黄菲等[12]研究表明,炭基有机肥配施菌糠木醋液可以有效降低土壤中可交换态铜的含量及铜的生物有效性。此外,刘冲等[13]研究表明,炭基肥的施用能显著减少油麦菜对Cd、Cu、Pb和Zn的吸收。但这些研究都基于短期的盆栽试验,目前尚缺乏长期的田间定位试验研究。此外,微生物群落结构和活性变化能敏感地反映土壤质量和健康状况,是评价土壤环境质量的重要生物学指标[14]。但目前关于施用炭基有机肥对土壤微生物群落组成和活性影响方面的研究较少。

因此,为进一步探究炭基有机肥施用对土壤重金属污染和微生物群落的长期效应,本研究拟以福建省福清市的菜地土壤为研究对象,设计田间小区试验,分析炭基有机肥长期施用对菜地土壤化学性质、重金属Cu形态以及微生物群落的影响,旨在探明炭基有机肥对土壤重金属Cu的钝化作用以及对土壤微生态的改良效果,以期提出合理的炭基有机肥施用技术。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于福建省福清市渔溪镇(25°25′N,119°36′E),属亚热带海洋气候,年均温18.8 ℃,年均无霜期365 d,年降水量1 350~1 500 mm。土壤为黏质土,试验前耕层土壤基本理化性质如下:有机质13.7 g/kg、全氮0.9 g/kg、全磷0.6 g/kg、全钾25.1 g/kg、碱解氮42.0 mg/kg、有效磷35.2 mg/kg、速效钾193.04 mg/kg、pH为6.85、铜含量18.16 mg/kg。铜含量低于农用地土壤污染风险筛选值(6.5<pH≤7.5,ω(Cu)<100 mg/kg)。

1.2 供试材料及炭基有机肥的制备

猪粪有机肥购自福建弥高生物有机肥有限公司。生物质炭由花生壳在500 ℃下裂解制备,有机碳、全氮、全磷以及全钾含量分别为566.1、10.2、2.5和4.7 g/kg,Cu含量9.86 mg/kg,pH为9.31。将猪粪有机肥分别与3%、6%和9%的生物质炭混合制成炭基有机肥(T1、T2和T3),猪粪有机肥和炭基有机肥的养分含量见表1。

1.3 试验设计

共设置5个处理,分别为施用化肥(CK0)、有机肥(CK1)、炭基有机肥T1、炭基有机肥T2和炭基有机肥T3,每个处理3次重复,小区面积8 m^2,随机区组排列。于2017年开始每年3月将0.16、4.22、4.27、4.32和4.37 kg的尿素(ω(N)46%)、有机肥、炭基肥T1、T2和T3作为底肥施入(各处理等氮量施入,氮素施用量均为90 kg/hm^2)。每年3—7月种植叶用甘薯,9月—次年1月种植荠菜,每茬追施化肥1次,每次施肥量为0.08 kg尿素(ω(N)46%)、0.37 kg过磷酸钙(ω(P_2O_5)12%)、0.09 kg氯化钾(ω(K_2O)60%)。

连续施用5年后,于2022年8月在试验小区内

表 1　有机肥和炭基有机肥的养分含量

Table 1　Nutrients content of organic manure and biochar-based organic fertilizer

肥料种类 Fertilizer type	ω(生物质炭)/%	pH	ω(N)/%	ω(P_2O_5)/%	ω(K_2O)/%	ω(N+P_2O_5+K_2O)/%	ω(Cu)/(mg/kg)
有机肥 Organic manure	0	7.57	1.71	1.95	2.15	5.81	542.30
炭基有机肥 T1 Biochar-based organic fertilizer T1	3	7.75	1.69	1.90	2.10	5.69	526.32
炭基有机肥 T2 Biochar-based organic fertilizer T2	6	7.77	1.67	1.85	2.05	5.57	510.35
炭基有机肥 T3 Biochar-based organic fertilizer T3	9	7.85	1.65	1.80	2.00	5.44	494.38

采用5点取样法采集土壤样品，去除残根和碎石，过2 mm筛、混匀，分成2份，一份置于4 ℃冰箱保存，用于土壤呼吸、酶活性以及磷脂脂肪酸分析；另一份自然风干，用于土壤化学性质分析。

1.4　测定项目及方法

1.4.1　土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参考《土壤农业化学分析方法》[15]，pH采用玻璃电极法按 V(水)：V(土)＝2.5：1测定。总有机碳和全氮分别采用重铬酸钾—硫酸亚铁滴定法、凯氏定氮法测定。速效钾含量采用1.0 mol/L NH_4OAc浸提，火焰光度法测定。土壤有效磷采用$NaHCO_3$浸提，分光光度计比色测定。硝态氮和铵态氮利用流动分析仪测定。

1.4.2　土壤总铜和不同形态铜含量

土壤总铜采用HCl-HNO_3-HF-$HClO_4$湿法消解，原子吸收分光光度计进行测定(GB/T 17138—1997)[16]。土壤不同形态铜的测定采用欧洲共同体标准物质局提出的BCR提取法[17]，将金属的赋存形态分为可交换态、可还原态、可氧化态及残渣态，提取液中的Cu含量用原子吸收石墨炉分光光度计进行测定。

利用重金属分配率和生物可利用态分配率指标评价重金属的钝化效果[18]。计算公式如下：

重金属分配率＝不同形态重金属含量/重金属总量

可利用态分配率＝(可交换态重金属＋可还原态重金属)/重金属总量。

1.4.3　土壤呼吸和酶活性测定

土壤微生物基础呼吸和诱导呼吸采用NaOH吸收滴定法测定[19]：称取20 g新鲜土壤样品，调节含水量至田间持水量的60%，置于培养瓶中，然后吸取0.1 mol/L NaOH溶液10 mL于小烧杯中并放入培养瓶中，将培养瓶加盖密封，25 ℃条件下恒温培养24 h后，取出小烧杯并加入过量饱和$BaCl_2$，碳酸钡沉淀完全后，用0.1 mol/L HCl滴定剩余NaOH，计算土壤基础呼吸。土壤诱导呼吸采用在新鲜土样中添加葡萄糖诱导，NaOH吸收滴定法测定。土壤脱氢酶采用氯化三苯基四氮唑还原法测定[20]，结果以每小时每克土壤中生成的三甲基甲臜量(μg/(g·h))表示。

1.4.4　土壤微生物磷脂脂肪酸分析

土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFA)的提取和衍生化参考王娟英等[21]方法。利用0.2 mol/L的KOH甲醇溶液进行磷脂脂肪酸的释放以及甲酯化，形成脂肪酸甲酯(Fatty acidmethyl esters，FAMEs)。FAMEs经450GC/240MS(美国Varian公司)质谱分析，条件如下：70 ℃起始维持1 min，以20 ℃/min升温到170 ℃保持2 min，以5 ℃/min升温到280 ℃保持5 min，以40 ℃/min升温到300 ℃保持1.5 min。采用内标十九烷酸甲酯(Nonadecanoic acid-methyl ester，C19:0)进行定量。采用不同的PLFA进行微生物标定[22]：分支饱和磷脂脂肪酸如i13:0、i15:0、a16:0、a17:0、i18:0等代表革兰氏阳性菌(G^+)；单不饱和磷脂脂肪酸如15:1ω5c、16:1ω7c、17:1ω8c、18:1ω7c等代表革兰氏阴性菌(G^-)；采用18:1ω9c、18:2ω6c、18:3ω6c标记真菌；10Me16:0、10Me17:1ω7c等标记原生动物。同时计算细菌与真菌、革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的比例。

1.5　数据处理及分析

数据采用Microsoft Excel 2007和Matlab 7.0软件进行统计分析和制图。多重比较采用Duncan极值法，显著性水平为5%。利用Canoco 4.5软件进行冗余分析(Redundancy analysis，RDA)。

2 结果与分析

2.1 长期施用炭基有机肥对土壤化学性质的影响

长期施用炭基有机肥对土壤化学性质的影响结果见表2。可见：与施用化肥（CK0）相比，施用有机肥（CK1）能显著提高土壤全氮和有效磷含量。与CK1相比，炭基有机肥T1、T2和T3处理土壤pH分别显著提高了0.65、0.86和0.90个单位，T3处理的土壤有机碳含量显著提高了22.7%，T2和T3处理的土壤铵态氮含量显著提高了1.94和1.66倍，T1、T2和T3处理的硝态氮、有效磷、速效钾以及 C/N 变化不明显。

表2 炭基有机肥处理对土壤化学性质的影响

Table 2 Effects of different biochar-based organic fertilizers on soil chemical properties

处理 Treatment	pH	ω(有机碳)/(g/kg)	ω(全氮)/(g/kg)	C/N	ω(铵态氮)/(mg/kg)	ω(硝态氮)/(mg/kg)	ω(有效磷)/(mg/kg)	ω(速效钾)/(mg/kg)
CK0	5.58±0.20 b	12.07±0.17 c	1.34±0.05 b	9.01±0.21 a	12.59±1.00 b	5.29±1.11 b	128.20±16.97 b	380.33±34.96 a
CK1	5.75±0.29 b	14.49±1.16 bc	1.73±0.09 a	8.38±0.23 a	8.57±2.03 b	6.70±0.57 ab	193.97±19.26 a	424.67±74.53 a
T1	6.39±0.13 a	15.29±1.87 ab	1.71±0.18 a	8.95±0.20 a	12.54±2.47 b	7.28±2.19 ab	202.53±22.30 a	453.67±58.24 a
T2	6.61±0.08 a	16.14±1.24 ab	1.69±0.06 a	9.57±0.58 a	25.21±0.65 a	5.20±1.26 b	199.83±8.92 a	465.33±17.21 a
T3	6.65±0.01 a	17.78±0.70 a	1.86±0.14 a	9.62±0.85 a	22.82±2.37 a	9.75±1.33 a	221.50±16.40 a	442.33±58.19 a

注：同列数据后不同小写字母表示各处理间差异显著（$P<0.05$）。下同。

Note：Different lowercase letters indicate significant differences among treatments（$P<0.05$）. The same below.

2.2 长期施用炭基有机肥对土壤中铜形态的影响

由于不同炭基肥所含生物质炭比例的差异，在等氮量施入的情况下可能造成不同处理下土壤重金属含量的差异。因此，利用铜形态分配率指标更能直观反映炭基有机肥对重金属形态转化的影响。不同处理对土壤中Cu形态的影响结果见表3。可见：与CK0相比，施用有机肥（CK1）和炭基有机肥处理（T1、T2和T3）的菜地土壤总Cu及各形态Cu

表3 炭基有机肥处理下土壤中Cu形态含量变化

Table 3 Contents changes of different Cu forms in soils with different treatments

处理 Treatment	总Cu Total Cu	可交换态Cu Exchangeable Cu		可还原态Cu Reducible Cu		可氧化态Cu Oxidizable Cu		残渣态Cu Residual Cu		生物可利用态分配率/% Distribution rate of bioavailability
	ω/(mg/kg)	ω/(mg/kg)	分配率/%	ω/(mg/kg)	分配率/%	ω/(mg/kg)	分配率/%	ω/(mg/kg)	分配率/%	
CK0	20.79±0.83 b	0.11±0.01 c	0.54±0.07 c	0.14±0.04 c	0.66±0.22 bc	0.46±0.24 b	2.23±1.12 b	20.07±0.92 b	96.56±1.26 b	1.20±0.27 c
CK1	34.42±2.66 a	0.57±0.06 ab	1.60±0.17 a	0.30±0.02 b	0.82±0.06 b	2.45±0.23 a	6.83±0.66 a	31.10±2.68 a	90.29±0.97 a	2.42±0.11 b
T1	35.11±3.14 a	0.62±0.05 a	1.78±0.13 a	0.28±0.05 b	0.79±0.08 b	2.25±0.74 a	6.32±1.64 a	31.96±2.34 a	91.11±1.60 a	2.57±0.16 b
T2	34.67±0.85 a	0.56±0.04 ab	1.61±0.14 a	0.47±0.02 a	1.36±0.07 a	2.81±0.53 a	8.08±1.37 a	30.84±0.44 a	88.95±1.31 a	2.97±0.20 a
T3	36.51±2.53 a	0.46±0.02 b	1.25±0.03 b	0.16±0.06 c	0.45±0.15 c	2.75±0.52 a	7.61±2.00 a	33.14±2.98 a	90.69±2.00 a	1.70±0.13 c

含量都有显著增加；与CK1相比，炭基有机肥T1处理对土壤中各形态铜的影响不明显，T2处理中可还原态Cu分配率显著升高了65.4%，T3处理中可交换态Cu和可还原态Cu分配率分别显著降低了21.9%和45.1%，同时生物可利用态分配率也显著降低了29.8%。

2.3　长期施用炭基有机肥对土壤呼吸和酶活性的影响

不同处理土壤呼吸和酶活性分析结果见图1。有机肥处理（CK1）的土壤基础呼吸速率为5.53 mg/(kg·h)，T2和T3处理的土壤基础呼吸速率分别为8.37和7.61 mg/(kg·h)，分别比CK1处理显著提高了51.5%和37.6%。有机肥处理（CK1）的土壤底物诱导呼吸速率为27.54 mg/(kg·h)，T3处理的土壤底物诱导呼吸速率为40.83 mg/(kg·h)，比CK1处理显著提高了48.3%。土壤脱氢酶活性在各处理间的变化不显著。

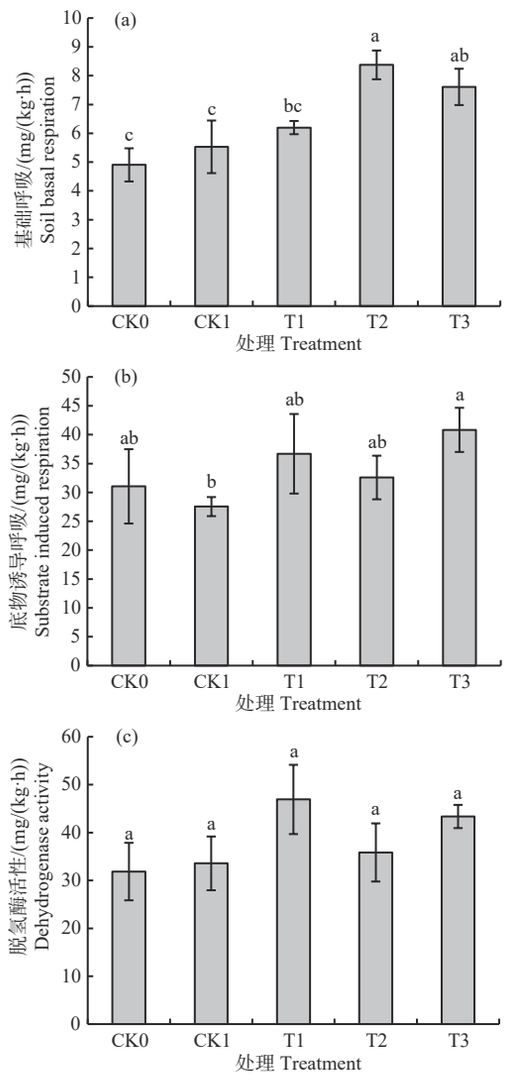


图1　炭基有机肥处理下土壤基础呼吸(a)、底物诱导呼吸(b)和脱氢酶活性变化(c)

Fig.1　Changes in soil basal respiration (a), substrate-induced respiration (b) and dehydrogenase activity (c) under different treatments

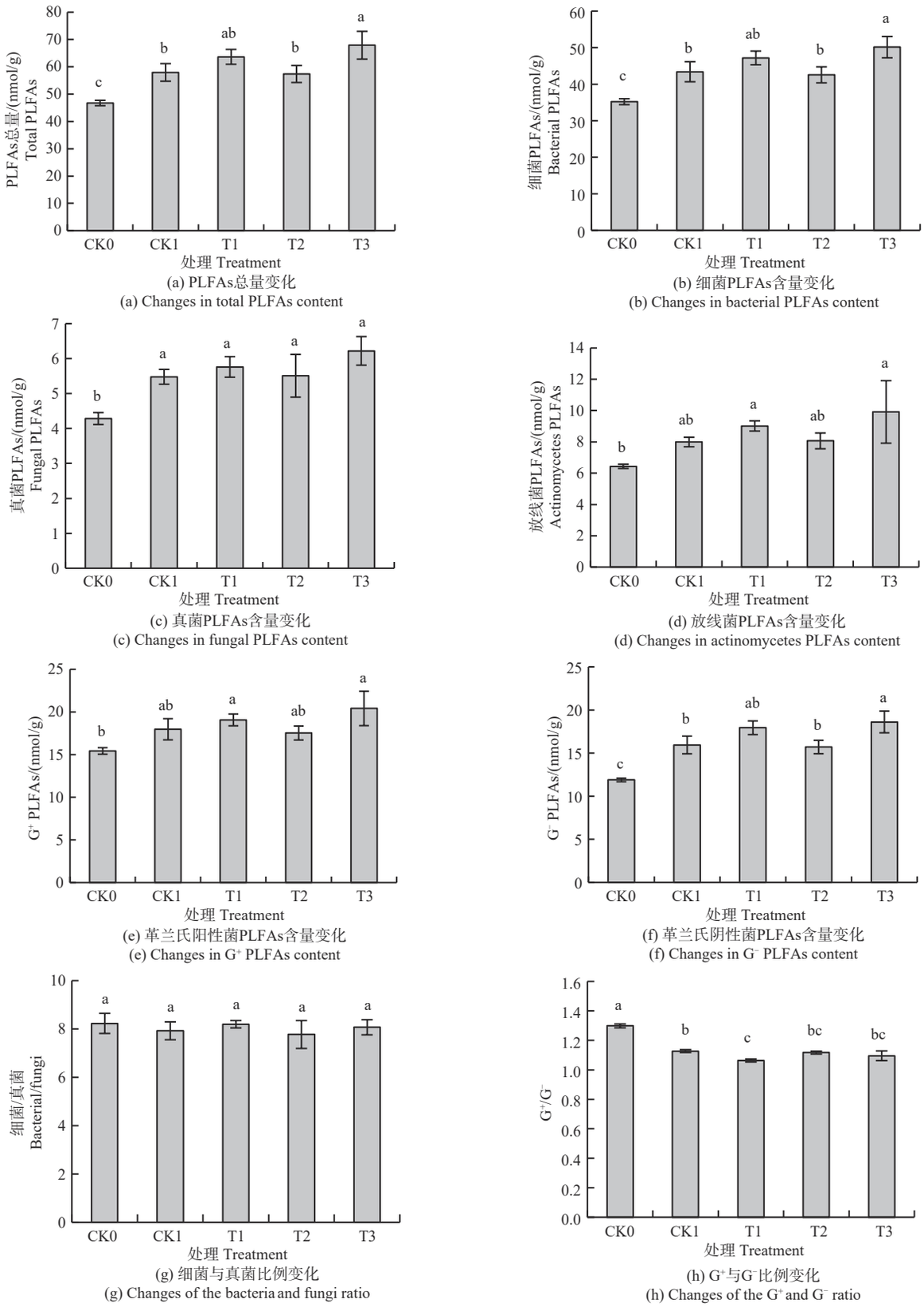
2.4　长期施用炭基有机肥对土壤微生物群落结构的影响

运用PLFA方法对不同处理的土壤微生物群落结构分析结果见图2。可知：与CK0相比，施用有机肥（CK1）和炭基有机肥处理（T1、T2和T3）能够显著提高土壤细菌、真菌、革兰氏阴性菌、放线菌、革兰氏阳性菌以及PLFAs总量，同时显著降低G^+与G^-比值。CK1处理的土壤细菌、革兰氏阴性菌和PLFAs总量分别为43.39、15.94和57.97 nmol/g，炭基有机肥T3处理提高到50.13、18.61和67.92 nmol/g，分别比CK1处理显著提高了15.5%、16.8%和17.2%。与CK1相比，T1处理显著降低了G^+与G^-比值，T2处理对微生物群落的影响不显著。

2.5　微生物群落特征与土壤化学性质、铜形态之间的相关性分析

对微生物群落特征和经过变异膨胀因子筛选后的8个土壤环境因子进行RDA分析结果见图3。可见：微生物群落特征与pH、硝态氮、总Cu、铵态氮、可氧化态Cu、速效钾、可还原态Cu、碳氮比之间存在极显著的相关性（$P=0.002$）；微生物群落特征在第1排序轴（RDA1）和第2排序轴（RDA2）的解释量分别为60.2%和12.2%。RDA1与pH和总Cu的相关系数最大，分别为−0.808 8和−0.787 1，说明pH和总Cu为主要影响因子；pH能解释微生物群落特征变异的44.7%（$P=0.002$），其次是硝态氮和总Cu，分别解释变异的14.1%（$P=0.004$）和9.6%（$P=0.028$）；土壤环境因子铵态氮、可氧化态Cu、速效钾、可还原态Cu、碳氮比分别解释变异的4.6%、4.4%、3.9%、3.3%和3.0%（$P>0.05$）；RDA分析表明，炭基肥处理（T1、T2和T3）都位于RDA1的左半轴，说明微生物群落结构与土壤中较高的pH和总Cu含量相关（图3）。

利用Spearman秩相关分析微生物群落特征与土壤理化性质、铜形态之间的相关性结果见表4。可见：PLFA总量、细菌、真菌和G^-都与土壤有机碳、全氮、碳氮比呈极显著正相关（$P<0.01$），与土



(a) PLFAs总量变化
(a) Changes in total PLFAs content

(b) 细菌PLFAs含量变化
(b) Changes in bacterial PLFAs content

(c) 真菌PLFAs含量变化
(c) Changes in fungal PLFAs content

(d) 放线菌PLFAs含量变化
(d) Changes in actinomycetes PLFAs content

(e) 革兰氏阳性菌PLFAs含量变化
(e) Changes in G^+ PLFAs content

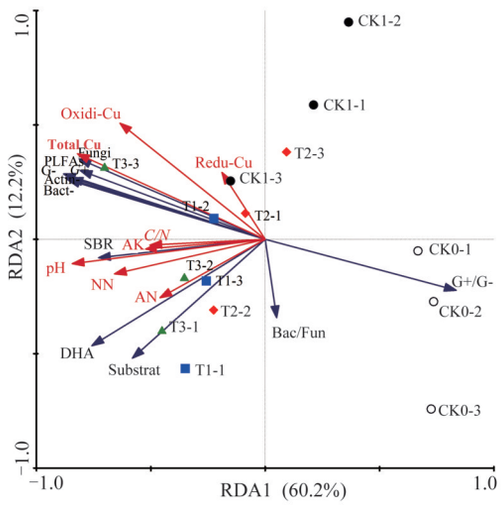
(f) 革兰氏阴性菌PLFAs含量变化
(f) Changes in G^- PLFAs content

(g) 细菌与真菌比例变化
(g) Changes of the bacteria and fungi ratio

(h) G^+与G^-比例变化
(h) Changes of the G^+ and G^- ratio

图 2 炭基有机肥处理下土壤磷脂脂肪酸含量变化

Fig. 2 Changes in soil phospholipid fatty acid (PLFA) under different treatments



SBR，基础呼吸；SIR，底物诱导呼吸；DHA，脱氢酶活性；AN，铵态氮；NN，硝态氮；AK-速效钾。

SBR, soil basal respiration; SIR, substrate induced respiration; DHA, dehydrogenase activity; AN, ammonium nitrogen; NN, nitrate nitrogen; AK, available K.

图 3　土壤微生物群落特征与土壤化学性质及铜形态的冗余分析

Fig. 3　Redundancy analysis (RDA) of soil microbial community and chemical properties and different Cu forms

壤 pH、总铜含量呈显著正相关（$P<0.05$）。土壤基础呼吸与土壤 pH、有机碳、铵态氮、硝态氮、有效磷呈极显著正相关（$P<0.01$），与全氮、碳氮比、可还原态 Cu、可氧化态 Cu 呈显著正相关（$P<0.05$）。

3　讨　论

3.1　炭基有机肥对土壤重金属 Cu 形态的影响

畜禽粪便有机肥的施用是农田土壤重金属污染的重要来源。研究表明，有机肥施入导致了设施菜地中重金属 Zn、Cu 元素的累积[23]，农田土壤中 69% 的 Cu 和 51% 的 Zn 都来源于施入的畜禽粪便[24]。本研究中，连续 5 年施用猪粪有机肥（CK1）后，菜地土壤的总 Cu 含量比施用化肥处理（CK0）显著增加，说明猪粪有机肥的施用导致了土壤中重金属 Cu 的累积，这与上述的研究结果相一致。作物对重金属元素的吸收与重金属累积之间并不具有显著的相关性，而是与重金属元素有效态含量有关[25]。在重金属各形态分级中，可交换态迁移性强，在自然条件下易被生物吸收利用；可还原态在适当环境下可转化为可交换态，因此也存在安全隐患；可氧化态和残渣态则比较稳定并以络合态存在，对生物的毒性较弱，能长期稳定存在于土壤中[26]。本研究表明，与施用有机肥相比，炭基有机肥 T3 处理对土壤可交换态 Cu 和可还原态 Cu 的分配率都有显著的降低作用，说明炭基有机肥对土壤 Cu 有一定的钝化效果。已有研究发现施用生物质炭可以大幅降低有效态重金属含量，并促进重金属从酸溶态向可还原态和残渣态转化[27-28]，与本研究结果相一致。本研究中长期施用炭基有机肥能有效降低 Cu 生物有效性的原因可能与生物质炭本身性质有关：一方面生物质炭表面含有丰富的羟基等含氧官能团，具有较大的比表面积以及较高的阳离子交换量，能够与重金属形成表面络合物，降低重金属的迁移率和生物有效性[29]；另一方面，长期施入炭基有机肥后使得土壤 pH 提高，不仅可以促进土壤胶体和黏粒负电荷对重金属离子的吸附能力，而且也可以促进金属离子与溶液中多余的 OH^- 形成沉淀，从而降低重金属的有效性[30]。

3.2　炭基有机肥对土壤微生物群落结构的影响

连续 5 年施用炭基有机肥 T3 后，土壤基础呼吸、底物诱导呼吸、G^-、细菌和总 PLFA 含量都比有机肥处理（CK1）显著增加，说明炭基有机肥 T3 能有效提高土壤微生物的活性和数量。这可能是由于生物质炭本身具有多孔结构能为微生物提供额外的生存环境，以及炭基有机肥通过改善土壤理化性质和养分状况对微生物的生长和繁殖有促进作用[31]。邵佳等[32]研究发现，施用不同原料生物质炭都能显著提高土壤细菌、真菌、放线菌等微生物群落丰度，与本研究结果相一致。G^+ 与 G^- 比值在一定程度上可表征土壤微生物受生理胁迫的程度，G^+ 与 G^- 比值越大，表示土壤微生物受到环境胁迫越强[33]。本研究中，炭基有机肥处理的 G^+ 与 G^- 比值比对照处理有所降低，说明长期施用炭基有机肥后土壤微生物群落受到的环境胁迫程度下降，微生物群落结构得到良性发展。

3.3　微生物群落与土壤化学性质、铜形态的相关性

RDA 分析表明，pH 是影响微生物群落变异的最主要环境因子，土壤微生物基础呼吸、PLFA 总量、G^-、细菌、真菌和放线菌都与 pH 呈显著正相关，这与已有研究结果相一致[34-35]，其原因可能是由于 pH 能影响多种环境因素，包括营养物质、重金属形态以及酶活性等[35]。重金属 Cu 通常在较低浓度下

表4 微生物群落特征与土壤化学性质、铜形态之间的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between microbial community characteristics and soil chemical properties and different Cu forms

指标 Index	PLFA总量 Total PLFAs	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycetes	革兰氏阳性菌 G^+	革兰氏阴性菌 G^-	细菌/真菌 Bacteria/Fungi	G^+与G^-比值 G^+ and G^- ratio	基础呼吸 Soil basal respiration	底物诱导呼吸 Substrate induced respiration	脱氢酶活性 Dehydrogenase activity
pH	0.58 *	0.58 *	0.61 *	0.57 *	0.47	0.59 *	−0.24	−0.53 *	0.88 **	0.51	0.42
有机碳 Organic carbon	0.69 **	0.71 **	0.67 **	0.61 *	0.64 *	0.70 **	−0.14	−0.50	0.80 **	0.44	0.48
全氮 Total N	0.66 **	0.69 **	0.63 *	0.52 *	0.64 *	0.67 **	−0.11	−0.58 *	0.52 *	0.40	0.52*
碳氮比 C/N	0.67 **	0.67 **	0.68 **	0.59 *	0.61 *	0.68 **	−0.30	−0.62 *	0.63 *	0.34	0.48
铵态氮 NH_4^+-N	0.36	0.39	0.43	0.19	0.35	0.37	−0.13	−0.41	0.67 **	0.28	0.35
硝态氮 NO_3^--N	0.38	0.34	0.28	0.48	0.28	0.40	0.11	−0.32	0.70 **	0.46	0.36
有效磷 Available P	0.12	0.12	0.23	0.12	0.00	0.13	−0.20	−0.22	0.69 **	0.46	0.16
速效钾 Available K	0.51	0.50	0.32	0.47	0.43	0.49	0.20	−0.24	0.13	0.39	0.69**
可交换态铜 Exchangeable Cu	0.27	0.22	0.22	0.33	0.24	0.28	−0.09	−0.66 **	0.35	0.03	0.42
可还原态铜 Reducible Cu	0.12	0.11	0.24	0.13	0.22	0.12	−0.25	−0.35	0.52 *	−0.30	−0.01
可氧化态铜 Oxidizable Cu	0.41	0.39	0.38	0.43	0.43	0.41	−0.07	−0.34	0.63 *	−0.08	0.24
残渣态铜 Residual Cu	0.51	0.54 *	0.51	0.42	0.52 *	0.51	−0.23	−0.53 *	0.46	0.23	0.33
总铜 Total Cu	0.62 *	0.63 *	0.58 *	0.53 *	0.61 *	0.62 *	−0.16	−0.55 *	0.44	0.26	0.44

注：*和**分别表示在0.05和0.01水平差异显著。

Note：* and ** denote significant correlations at $P<0.05$ and $P<0.01$ levels, respectively.

表现为营养元素，而过量累积时才表现出逆境胁迫效应。研究表明[37]，低浓度Cu（≤100 mg/kg）可促进细菌生长，而高浓度Cu（≥200 mg/kg）则有抑制作用。本研究中，连续5年施用有机肥和炭基有机肥后，土壤总Cu含量为34.42～36.51 mg/kg，仍低于农用地土壤污染风险筛选值（GB 15618—2018[38]，6.5＜pH≤7.5，Cu＜100 mg/kg）。RDA分析表明，总Cu对微生物群落变异的影响仅次于pH和硝态氮，PLFA总量、细菌、真菌等各类微生物含量都与总Cu呈显著正相关，表明本研究中土壤铜累积量对土壤微生物生长有促进作用，尚未产生抑制作用。

4　结　论

长期施用炭基有机肥能提高土壤pH，对土壤有机碳和铵态氮含量有提升作用。然而，只有炭基有机肥T3能使土壤可交换态Cu和可还原态Cu分配率降低，对土壤Cu有一定的钝化效果。此外，炭基有机肥T3施用后微生物群落活性和数量都得到显著提升。可见，炭基有机肥T3在改善土壤化学性质、降低重金属Cu有效性，提高土壤微生物的活性和数量方面效果显著。

参考文献　References

[1] 温延臣，李燕青，袁亮，李娟，李伟，林治安，赵秉强．长期不同施肥制度土壤肥力特征综合评价方法[J]．农业工程学报，2015，31(7)：91-99
Wen Y C, Li Y Q, Yuan L, Li J, Li W, Lin Z A, Zhao B Q. Comprehensive assessment methodology of characteristics of soil fertility under different fertilization regimes in North China[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(7): 91-99 (in Chinese)

[2] 覃丽霞，马军伟，孙万春，王飞，陆宏，俞巧钢，林辉，符建荣．浙江省畜禽有机肥重金属及养分含量特征研究[J]．浙江农业学报，2015，27(4)：604-610
Qin L X, Ma J W, Sun W C, Wang F, Lu H, Yu Q G, Lin H, Fu J R. Characteristics of heavy metal and nutrient contents in livestock manure in Zhejiang Province[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(4): 604-610 (in Chinese)

[3] 贾武霞，文炯，许望龙，段然，曾希柏，白玲玉．我国部分城市畜禽粪便中重金属含量及形态分布[J]．农业环境科学学报，2016，35(4)：764-773
Jia W X, Wen J, Xu W L, Duan R, Zeng X B, Bai L Y. Content and fractionation of heavy metals in livestock manures in some urban areas of China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(4): 764-773 (in Chinese)

[4] 王飞，邱凌，沈玉君，葛一洪，候月卿．华北地区饲料和畜禽粪便中重金属质量分数调查分析[J]．农业工程学报，2015，31(5)：261-267
Wang F, Qiu L, Shen Y J, Ge Y H, Hou Y Q. Investigation and analysis of heavy metal contents from livestock feed and manure in North China[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(5): 261-267 (in Chinese)

[5] 卢维宏，刘娟，张乃明，李芳艳，韩东锦，于泓，李嘉琦，韩政．中国典型设施栽培土壤Cu、Zn累积特征及风险预测[J]．农业工程学报，2021，37(11)：189-196
Lu W H, Liu J, Zhang N M, Li F Y, Han D J, Yu H, Li J Q, Han Z. Accumulation characteristics and risk prediction of Cu and Zn contents in typical facility soils in China[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(11): 189-196 (in Chinese)

[6] 张丽芳，夏文建，张文学，刘秀梅，李祖章，刘光荣．长期施用猪粪和化肥对稻田土壤Cu、Zn和Cd含量及有效性的影响[J]．农业环境科学学报，2022，41(9)：1944-1954
Zhang L F, Xia W J, Zhang W X, Liu X M, Li Z Z, Liu G R. Effects of long-term application of pig manure and chemical fertilizers on soil Cu, Zn, and Cd contents and their availability in paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(9): 1944-1954 (in Chinese)

[7] 王美，李书田．肥料重金属含量状况及施肥对土壤和作物重金属富集的影响[J]．植物营养与肥料学报，2014，20(2)：466-480
Wang M, Li S T. Heavy metals in fertilizers and effect of the fertilization on heavy metal accumulation in soils and crops[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(2): 466-480 (in Chinese)

[8] 何梦媛，董同喜，茹淑华，苏德纯．畜禽粪便有机肥中重金属在土壤剖面中积累迁移特征及生物有效性差异[J]．环境科学，2017，38(4)：1576-1586
He M Y, Dong T X, Ru S H, Su D C. Accumulation and migration characteristics in soil profiles and bioavailability of heavy metals from livestock manure[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(4): 1576-1586 (in Chinese)

[9] 夏吉林，姜贝贝，余婷，苏琪，王树霞，吴娱，陈尧易．重金属铜、锌、铅胁迫对长鬃蓼部分抗性生理指标的影响[J]．湖北农业科学，2016，55(11)：2751-2754
Xia J L, Jiang B B, Yu T, Su Q, Wang S X, Wu Y, Chen Y Y. Effects of heavy metal Cu^{2+}, Zn^{2+} and Pb^{2+} stress on some resistance physiological indexes of *Polygonum longisetum* De Br.[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(11): 2751-2754 (in Chinese)

[10] Zhu X M, Chen B L, Zhu L Z, Xing B S. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227: 98-115

[11] Mohan D, Pittman C U, Bricka M, Smith F, Yancey B, Mohammad J, Steele P H, Alexandre-Franco M F, Gómez-Serrano, Gong H. Sorption of arsenic, cadmium, and lead by chars produced from fast pyrolysis of wood and bark during bio-oil production[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 310(1): 57-73

[12] 黄菲，王効举，程红艳，李丹洋，郝千萍，常建宁，张国胜，闫梦．炭基有机肥配施菌糠木醋液对污灌区土壤Cu形态及玉米吸收的影响[J]．山西农业科学，2019，47(3)：398-404
Huang F, Wang X J, Cheng H Y, Li D Y, Hao Q P, Chang J N, Zhang G S, Yan M. Effect of carbon-based organic fertilizer combined with mycelium vinegar on soil Cu form and maize absorption in sewage irrigation district[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2019, 47(3): 398-404 (in Chinese)

[13] 刘冲，刘晓文，吴文成，蔡信德，梁啸，李云标，南忠仁．生物炭及炭基肥对油麦菜生长及吸收重金属的影响[J]．中国环境科学，2016，36(10)：3064-3070
Liu C, Liu X W, Wu W C, Cai X D, Liang X, Li Y B, Nan Z R. Effect of biochar and biochar based fertilizer on growth of *Lactuca sativa* L and

absorption of heavy metals[J]. *China Environmental Science*, 2016, 36(10): 3064-3070 (in Chinese)

[14] 王秀丽, 徐建民, 姚槐应, 谢正苗. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响[J]. 环境科学学报, 2003, 23(1): 22-27
Wang X L, Xu J M, Yao H Y, Xie Z M. Effects of Cu, Zn, Cd and Pb compound contamination on soil microbial community[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(1): 22-27 (in Chinese)

[15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
Lu R K. *Methods of Soil Agrochemical Analysis*[M]. Beijing: China Agriculture Scientech Press, 2000 (in Chinese)

[16] 中华人民共和国生态环境部. 土壤环境质量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997
Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. Soil environmental quality standard[S]. Beijing: China Standards Press, 1997 (in Chinese)

[17] 刘恩峰, 沈吉, 朱育新. 重金属元素BCR提取法及在太湖沉积物研究中的应用[J]. 环境科学研究, 2005, 18(2): 57-60
Liu E F, Shen J, Zhu Y X. Determination of heavy metal chemical forms by BCR method for Taihu Lake sediments[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2005, 18(2): 57-60 (in Chinese)

[18] Nemati K, Abu Bakar N K, Abas M R, Sobhanzadeh E. Speciation of heavy metals by modified BCR sequential extraction procedure in different depths of sediments from Sungai Buloh, Selangor, Malaysia[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 192(1): 402-410

[19] 张雯雯. 杀菌剂四氟醚唑对土壤微生物群落的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014
Zhang W W. Effect of fungicide tetraconazole application on soil microbial community[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014 (in Chinese)

[20] Serra-Wittling C, Houot S, Barriuso E. Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 20(4): 226-236

[21] 王娟英, 许佳慧, 吴林坤, 吴红淼, 朱铨, 孔露霏, 林文雄. 不同连作年限怀牛膝根际土壤理化性质及微生物多样性[J]. 生态学报, 2017, 37(17): 5621-5629
Wang J Y, Xu J H, Wu L K, Wu H M, Zhu Q, Kong L F, Lin W X. Analysis of physicochemical properties and microbial diversity in rhizosphere soil of *Achyranthes bidentata* under different cropping years[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(17): 5621-5629 (in Chinese)

[22] 刘波, 胡桂萍, 郑雪芳, 张建福, 谢华安. 利用磷脂脂肪酸(PLFAs)生物标记法分析水稻根际土壤微生物多样性[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(3): 278-288
Liu B, Hu G P, Zheng X F, Zhang J F, Xie H A. Analysis on microbial diversity in the rhizosphere of rice by phospholipid fatty acids biomarkers[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2010, 24(3): 278-288 (in Chinese)

[23] 魏益华, 邱素艳, 张金艳, 陈庆隆, 陈柳萌, 涂田华, 戴廷灿. 农业废弃物中重金属含量特征及农用风险评估[J]. 农业工程学报, 2019, 35(14): 212-220
Wei Y H, Qiu S Y, Zhang J Y, Chen Q L, Chen L M, Tu T H, Dai T C. Characteristic of heavy metal contents in agricultural wastes and agricultural risk assessment[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019, 35(14): 212-220 (in Chinese)

[24] Luo L, Ma Y B, Zhang S Z, Wei D P, Zhu Y G. An inventory of trace element inputs to agricultural soils in China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(8): 2524-2530

[25] 王锐, 胡小兰, 张永文, 余飞, 朱海山, 李瑜. 重庆市主要农耕区土壤Cd生物有效性及影响因素[J]. 环境科学, 2020, 41(4): 1864-1870
Wang R, Hu X L, Zhang Y W, Yu F, Zhu H S, Li Y. Bioavailability and influencing factors of soil Cd in the major farming areas of Chongqing[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(4): 1864-1870 (in Chinese)

[26] 郑国砥, 陈同斌, 高定, 罗维, 李艳霞. 好氧高温堆肥处理对猪粪中重金属形态的影响[J]. 中国环境科学, 2005, 25(1):6-9
Zheng G D, Chen T B, Gao D, Luo W, Li Y X. Influence of high temperature aerobic composting treatment on the form of heavy metals in pig manure[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(1): 6-9 (in Chinese)

[27] 张迪, 李婷, 方炫, 吴晓霞, 丁爱芳. 钝化剂对土壤镉铅有效性和微生物群落多样性影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(12): 2729-2737
Zhang D, Li T, Fang X, Wu X X, Ding A F. Effects of passivating agents on the availability of Cd and Pb and functional diversity of the microbial community in contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(12): 2729-2737 (in Chinese)

[28] Uchimiya M, Chang S, Klasson K T. Screening biochars for heavy metal retention in soil: Role of oxygen functional groups[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1-3): 432-441

[29] Zhang X K, Wang H L, He L Z, Lu K P, Sarmah A, Li J W, Bolan N S, Pei J C, Huang H G. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(12): 8472-8483

[30] 邹紫今, 周航, 吴玉俊, 周歆, 朱维, 曾敏, 彭佩钦, 廖柏寒. 羟基磷灰石+沸石对稻田土壤中铅镉有效性及糙米中铅镉累积的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(1): 45-52
Zou Z J, Zhou H, Wu Y J, Zhou X, Zhu W, Zeng M, Peng P Q, Liao B H. Effects of hydroxyapatite plus zeolite on bioavailability and rice bioaccumulation of Pb and Cd in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(1): 45-52 (in Chinese)

[31] 赵淑雯, 张倩茹, 张楚晨, 冀琳宇, Yongsik O. 土壤污染修复中的生物炭-微生物交互作用研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1423-1435
Zhao S W, Zhang Q R, Zhang C C, Ji L Y, Yongsik O. Biochar-microbial interactions in contaminated soil remediation: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(7): 1423-1435 (in Chinese)

[32] 邵佳, 周文晶, 宋瑶, 潘洋, 秦华, 陈俊辉. 不同原料生物质炭对重金属污染土壤微生物活性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2022, 39(3):644-652
Shao J, Zhou W J, Song Y, Pan Y, Qin H, Chen J H. Effects of biochar from different raw materials on microbial activity in heavy metal contaminated soil[J]. *Journal of Zhejiang A & F University*, 2022, 39(3): 644-652 (in Chinese)

[33] 陈法霖, 张凯, 王芸, 吴爱平, 李有志, 邹冬生, 郑华. 引进种桉树人工林取代天然次生林对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(22): 8070-8079
Chen F L, Zhang K, Wang Y, Wu A P, Li Y Z, Zou D S, Zheng H. Impacts of converting natural secondary forests to exotic *Eucalyptus* plantations on structure and function of soil microbial communities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(22): 8070-8079 (in Chinese)

[34] 陈坤, 徐晓楠, 彭靖, 冯小杰, 李亚朋, 战秀梅, 韩晓日. 生物炭及炭基肥对土壤微生物群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(10): 1920-1930
Chen K, Xu X N, Peng J, Feng X J, Li Y P, Zhan X M, Han X R. Effects of biochar and biochar-based fertilizer on soil microbial community structure[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(10): 1920-1930 (in Chinese)

[35] 任露陆, 蔡宗平, 王固宁, 叶志钧, 张艳林, 曹美苑. 不同钝化机制矿物对土壤重金属的钝化效果及微生物响应[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(7): 1470-1480

Ren L L, Cai Z P, Wang G N, Ye Z J, Zhang Y L, Cao M Y. Effects of minerals with different immobilization mechanisms on heavy metals availability and soil microbial response[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(7): 1470-1480 (in Chinese)

[36] Xiao S Q, Zhang Q, Chen X M, Dong F Q, Chen H, Liu M X, Ali I. Speciation distribution of heavy metals in uranium mining impacted soils and impact on bacterial community revealed by high-throughput sequencing[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10:1867

[37] 李大乐, 陈建文, 张红, 李君剑. 铜污染对土壤细菌群落结构及重金属抗性基因的影响[J]. 环境科学学报, 41(3): 1082-1090

Li D L, Chen J W, Zhang H, Li J J. Effects of copper pollution on soil bacterial community structure and heavy-metal resistance genes[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, 41(3): 1082-1090 (in Chinese)

[38] GB 15618—2018. 土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)[S]. 北京:中国环境出版集团,2018

GB 15618—2018. Soil environmental quality: Risk control standard for soil contamination of agricultural land[S]. Beijing: China Environment Publishing Group, 2018 (in Chinese)

责任编辑：杨爱东

第一作者简介： 李艳春，博士，福建省农业科学院资源环境与土壤肥料研究所助理研究员。主要从事生态农业、植物与土壤微生物相互作用等研究。主持福建省自然科学基金项目、福建省公益类项目等研究课题10余项。在《应用生态学报》、《中国生态农业学报》、*European Journal of Soil Biology* 等期刊以第一作者发表学术论文20余篇，出版论著1部。

通讯作者简介： 王义祥，博士，研究员，博士生导师，现任建省农业科学院资源环境与土壤肥料研究所副所长。主要从事恢复生态与生态农业技术等研究，先后主持承担国家科技支撑计划课题、福建省科技计划重点项目、省自然科学基金等多项研究课题。在 *Environmental Pollution*、*Pedosphere*、《农业工程学报》等国内外期刊上发表第一作者(含通讯作者)文章60余篇。出版专著1部，参编3部，有12项成果获省部级以上科技奖励。