



黄家庆,叶菁,罗施行,王义祥. *Ralstonia* 生物炭菌剂对重金属污染菜地土壤细菌群落结构及氮磷钾碳含量的影响[J]. 中国农业大学学报, 2026, 31(01): 146-162.

HUANG Jiaqing, YE Jing, LUO Shixing, WANG Yixiang. Impact of *Ralstonia*-inoculated biochar on bacterial community structure and nitrogen, phosphorus, potassium, and carbon content in vegetable soil polluted with heavy metals[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2026, 31(01): 146-162.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2026.01.13

Ralstonia 生物炭菌剂对重金属污染菜地土壤细菌群落结构及氮磷钾碳含量的影响

黄家庆^{1,2} 叶菁^{1,2} 罗施行³ 王义祥^{1,2*}

(1. 福建省农业科学院 资源环境与土壤肥料研究所, 福州 350013;

2. 福建省红壤山地农业生态过程重点实验室, 福州 350013;

3. 大田县奇韬镇乡村振兴综合服务中心, 福建 三明 366100)

摘 要 为阐明西红柿秸秆生物炭及 *Ralstonia* 生物炭菌剂 (*Ralstonia*-inoculated biochar) 对蔬菜种植园土壤细菌群落多样性和养分含量的影响, 以盆栽种植芥菜为研究对象, 盆栽土为菜地土壤和重金属复合污染土壤, 分别设置重金属污染、西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂的共 13 种不同处理, 每个处理 3 个重复, 在芥菜收获期测定不同处理下土壤的细菌群落结构、差异菌群数量和氮磷钾碳含量等, 探究西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂对菜地土壤优势细菌丰度、外源菌 *Ralstonia* 存活和土壤供肥能力的影响, 以及改善重金属复合污染菜地土壤的能力。结果表明: 西红柿秸秆经过高温碳化得到热解生物炭和水热生物炭在性质和官能团方面差异较大, 均能与 *Ralstonia* 菌体固定化制备成 *Ralstonia* 生物炭菌剂; 西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia* 有效提高菜地土壤的细菌丰富度, 增加优势菌 Proteobacteria (门水平, 47.92%~72.44%) 和 Rhodanobacter (属水平, 24.11%~51.18%) 的相对丰度, 并提高差异菌群数量 (8~12 个) 和维持外源菌 *Ralstonia* 长期存活 (0.32%~1.23%); 与此同时, *Ralstonia* 生物炭菌剂增加菜地土壤的碱解氮 (7.53%~35.44%)、硝态氮 (1.57%~22.24%)、有效磷 (1.46%~50.04%)、速效钾 (1.03%~6.57%) 和有机碳 (129.20%~239.45%), 并减少铵态氮残留 (19.69%~49.45%); 与单施西红柿秸秆生物炭 (热解生物炭和水热生物炭) 或 *Ralstonia* 相比, *Ralstonia* 生物炭菌剂高效改善菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌群落结构和氮磷钾碳含量, 并能缓解西红柿秸秆生物炭或 *Ralstonia* 对菜地土壤细菌菌群生长的抑制。综上, *Ralstonia* 西红柿秸秆生物炭菌剂兼具不同类型西红柿秸秆生物炭和外源菌 *Ralstonia* 的优点, 能有效改善菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌丰富度、优势菌丰度、差异菌群数量和氮磷钾碳含量, 对促进西红柿秸秆资源化利用和改良蔬菜种植园土壤肥力具有重要的应用潜力。

关键词 罗尔斯通氏菌; 外源菌固定化; 西红柿秸秆生物炭; 重金属复合污染; 细菌群落结构; 菜地土壤养分

中图分类号 S144.1

文章编号 1007-4333(2026)01-0146-17

文献标志码 A

Impact of *Ralstonia*-inoculated biochar on bacterial community structure and nitrogen, phosphorus, potassium, and carbon content in vegetable soil polluted with heavy metals

HUANG Jiaqing^{1,2}, YE Jing^{1,2}, LUO Shixing³, WANG Yixiang^{1,2*}

(1. Institute of Resources, Environment and Soil Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China;

2. Fujian Key Laboratory of Agricultural Ecological Process of Red Soil Mountain, Fuzhou 350013, China;

3. Comprehensive Service Center of Rural Revitalization in Qitao Town of Datian County, Sanming 366100, China)

收稿日期: 2025-05-26; 接受日期: 2025-07-31

基金项目: 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)

第一作者: 黄家庆 (ORCID: 0000-0002-7250-318X), 助理研究员, 主要从事土壤改良和菌剂制备等研究, E-mail: hjq19791001@126.com

通讯作者: 王义祥 (ORCID: 0000-0003-0124-0260), 研究员, 主要从事恢复生态与生态农业技术等研究, E-mail: sd_wolong@163.com

Abstract To clarify the impact of tomato straw biochar and *Ralstonia*-inoculated biochar on bacterial community diversity and nutrient content in vegetable cultivation soil, the potted mustard plants are used as the research object; the pot soil is either vegetable soil or soil contaminated with heavy metals. Thirteen different treatments were set up, including heavy metal pollution, tomato straw biochar, and *Ralstonia*-inoculated biochar, with three replicates for each treatment. During the harvest period, the bacterial community structure, differential bacterial populations, and the contents of nitrogen, phosphorus, potassium, and carbon in the soil were measured. The effects of tomato straw biochar and *Ralstonia*-inoculated biochar on the relative abundance of dominant bacteria, exogenous *Ralstonia* survival, and soil fertilizer supply capacity, as well as the ability to improve the vegetable soil contaminated with compound heavy metals, were determined. The results indicate that: High-temperature carbonization of tomato straw generated pyrolysis biochar and hydrothermal biochar with significant differences in properties and functional groups, both of which can immobilize *Ralstonia* cells to prepare *Ralstonia*-inoculated biochar. Tomato straw biochar+*Ralstonia* treatment effectively improved bacterial richness and increased the relative abundance of dominant bacteria Proteobacteria (Phylum level, 47.92%-72.44%) and *Rhodobacter* (Genus level, 24.11%-51.18%); Moreover, it increased the number of differential bacterias by 8 to 12 and maintained the long-term survival of exogenous *Ralstonia* (0.32%-1.23%). The *Ralstonia*-inoculated biochar treatment increased the alkaline hydrolyzed nitrogen (7.53%-35.44%), nitrate nitrogen (1.57%-22.24%), available phosphorus (1.46%-50.04%), available potassium (1.03%-6.57%), and organic carbon (129.20%-239.45%) and reduced ammonium nitrogen residue (19.69%-49.45%) in vegetable soil. Compared with the application of tomato straw biochar (Pyrolysis biochar and hydrothermal biochar) or *Ralstonia* alone, the *Ralstonia*-inoculated biochar effectively improved bacterial community structure and increased the content of nitrogen, phosphorus, potassium, and carbon in the vegetable soil and the vegetable soil polluted by compound heavy metals. It alleviated the inhibition of tomato straw biochar or *Ralstonia* on the growth of bacterial communities in vegetable soil. In conclusion, *Ralstonia*-inoculated tomato straw biochar combines the advantages of different types of tomato straw biochar and exogenous *Ralstonia* effectively improving bacterial richness, dominant bacteria abundance, differential bacterial number, and the contents of nitrogen, phosphorus, potassium, and carbon in vegetable soil and soil polluted by compound heavy metals. It has considerable application potential for promoting the resource utilization of tomato straw and improving the soil fertility in vegetable plantations.

Keywords *Ralstonia*; exogenous bacteria inoculation; tomato straw biochar; heavy metal compound pollution; bacterial community structure; vegetable soil nutrients

2018年我国西红柿种植面积已突破101.17万 hm^2 ^[1]。然而,西红柿规模化种植产生大量废弃秸秆,直接焚烧易造成空气污染和浪费秸秆有机质^[2-3],因此探索西红柿秸秆资源化利用十分必要。含纤维素、半纤维素和木质素的秸秆,是碳化制备生物炭的重要材料^[4]。生物炭的制备方法主要有2种:1)高温碳化法制备热解生物炭。高温($>500\text{ }^{\circ}\text{C}$)缺氧条件下将农业有机物碳化碱性($\text{pH}>7$)、理化性质稳定和多孔富炭的固态物质^[5];2)水热裂解法制备水热生物炭。以水为反应介质(温度 $200\sim 320\text{ }^{\circ}\text{C}$),在密封压力容器内将有机高聚物热解断裂为富含香环、羟基和羧基等官能团的黑色固体物质^[6]。将秸秆制备成生物炭,具有制备方法多样、技术成熟和无污染输出等优点,但由于制备方式不同,热解生物炭和水热生物炭的理化性质、 pH 和官能团存在显著差

异^[5-6]。将西红柿秸秆碳化制备成热解生物炭和水热生物炭,并改良菜地土壤,对研究不同类型的秸秆生物炭改善蔬菜种植园土壤和推动西红柿秸秆资源化利用具有重要意义。

设施菜地土壤中,Cu、Zn和Cd的总量和有效态含量呈现不断累积趋势,重金属含量是露天栽培土壤的1.57~3.28倍,影响蔬菜长期种植^[7]。此外,已有研究表明设施菜地土壤重金属Cd、Cr、Pb、Cu和As等的复合污染问题日益突出^[8];全国部分省市蔬菜种植区土壤的Pb、Cd和Cu含量超标^[9],破坏了土壤微生物群落多样性和引起土壤肥力下降^[10]。秸秆碳化制备的生物炭在改善土壤理化性质、增加土壤肥力和修复重金属污染等发挥着重要作用^[11]。因此,探索以西红柿秸秆为原材料制备不同类型的生物炭的途径,有助于拓宽改善重金属复合污染土

壤的思路。

生物炭作为土壤改良剂有效改善土壤理化性质、提高养分含量和固持重金属^[12],其丰富的孔隙结构、稳定的理化性质和富含微量元素,为外源菌长期存活提供良好的土壤微环境和养分来源^[13]。生物炭促使土壤特定微生物种群生长^[14],改善土壤菌群的活性和多样性^[15]。此外,生物炭固定化外源细菌,具有菌种类型丰富、技术资料齐全和易于就地实施等优势^[16]。从重金属污染土壤分离出的 *Ralstonia* sp. 能耐受高浓度的 Cu 和 Zn^[17]。*Ralstonia* 对 Cd、Cr、Pb、Cu 和 Zn 等重金属具有较高的耐受浓度和吸附效率,且生物炭可以维持 *Ralstonia* 存活在养分匮乏的土壤里^[18-19],能显著提高施肥土壤中脲酶、过氧化物酶和碱性磷酸酶等氧化酶活性和促进土壤氮磷转化^[20]。

虽然生物炭广泛用于吸附重金属、促进细菌菌群生长和改善土壤肥力,且生物炭制备技术较为完备,然而不同类型秸秆生物炭和土壤高丰度菌共同作用于重金属复合污染菜地土壤细菌群落结构和养分供给量的相关研究尚少。因此,为明确西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)、重金属抗性菌 *Ralstonia* 和重金属复合污染对菜地土壤细菌群落结构及氮碳组分的作用机制,本研究拟以轮作西红柿和芥菜的菜地土壤为研究对象,设置热解生物炭、水热生物炭、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂(*Ralstonia*-inoculated biochar)治理重金属复合污染菜地土壤的盆栽试验,探究西红柿秸秆生物炭及 *Ralstonia* 生物炭菌剂作用于重金属复合污染菜地土壤及其细菌群落结构、优势菌相对丰度和氮碳转化的有效性,以期为西红柿秸秆资源化利用、秸秆生物炭固定重金属抗性菌和改良重金属复合污染菜地土壤提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及供试土壤理化性质

西红柿秸秆收集自福建省泉州市某蔬菜种植园,自然条件下晒干。*Ralstonia* 菌现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 No. 17565)。盆栽土壤取自福建省三明市大田县,在轮作西红柿和芥菜的菜园(面积>500 m²)选取8个点,每个位点周围随机确定10~12个取样点,去除

表层土壤(5 cm)后挖取5~6 kg 土壤,最终土壤取样量>400 kg。土壤在避光条件下自然风干,碾磨成细小颗粒后过100目筛子。土壤的pH、电导率(Electrical conductivity, EC)和氧化还原电位(Oxidation-reduction potential, Eh)为5.68、127.21 μ S/cm 和 162.37 mV;有机碳、总磷、总氮和总钾的含量为7.16 g/kg、2 237.42 mg/kg、0.69% 和 1.26%;重金属 Cd、Cr、As、Pb 和 Cu 的含量为0.02、5.53、0.81、6.24 和 27.43 mg/kg(根据 GB 15618—2018《土壤环境质量—农用地土壤污染风险管控标准(试行)》^[22]与袁国军等研究^[23],此土壤重金属含量低于土壤污染风险管控标准)。选生长周期为60~90 d 的芥菜品种(*Brassica juncea* (L.) Czern),在福州市资源环境与土壤肥料研究所的蔬菜大棚种植芥菜苗,盆栽试验时间为3—7月。

1.2 制备生物炭及 *Ralstonia* 生物炭菌剂

高温缺氧碳化法制备西红柿秸秆热解生物炭:裂解温度900 $^{\circ}$ C,维持时间2 h(马弗炉 Box resistance furnace, BSX2-5-12TP, 中国上海一恒科学仪器有限公司),生物炭粉末过50目筛子。水热密闭裂解法制备西红柿秸秆水热生物炭:将西红柿秸秆放入反应釜(HTLAB HT Reactor, HT-1000FJ, 中国上海霍桐实验仪器有限公司),并加入 ddH₂O(Double distilled water, 双重去离子水)淹没秸秆,热解温度300 $^{\circ}$ C,裂解时间6 h;反应结束后,用定性滤纸(Q5775-600 mm-100EA)去除反应液,生物炭用 ddH₂O 洗涤3次后,75 $^{\circ}$ C 烘干至恒重。1 mL *Ralstonia* 新鲜菌液(OD_{600 nm}=0.65, 含 2.15×10^8 个菌^[20], OD(Optical density, 光密度))和999 mL 无菌 ddH₂O 充分混匀。5 g 生物炭分批加入到250 mL 稀释菌液(持续搅拌),确保生物炭悬浮于菌液;150 r/min(25 $^{\circ}$ C)培养2 h,培养液离心5 min(25 $^{\circ}$ C, 4 000 r/min),得到 *Ralstonia* 生物炭菌剂^[15]。为便于和 *Ralstonia* 生物炭菌剂作为对照,5 g 生物炭和250 mL ddH₂O 混匀,获得含水生物炭。

1.3 盆栽试验设计及土壤样品收集

根据 GB 15618—2018《土壤环境质量:农用地土壤污染风险管控标准(试行)》^[22]与袁国军等研究^[23],土壤 Cd、Cr、Pb、Ni 和 Cu 的风险筛选值分别为0.30、150、90、70 和 50 mg/kg ($5.50 < \text{pH} \leq 6.50$)。据此设计处理组,详见表1。低浓度重金属

处理包括:添加 Cd^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} ,使土壤重金属含量处于风险筛选值。高浓度重金属处理:添加 Cd^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} ,使土壤重金属含量明显超标,其含量分别是风险筛选值的 5.00、2.40、3.00、4.37 和 3.33 倍。使用的重金属盐为 $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cr}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ 、 $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。

试验共设 13 个处理(含初始菜地土壤),每一个处理重复 3 次。每个花盆装土 5 kg,有机肥 2 g,

复合肥 ($m(\text{N}):m(\text{P}_2\text{O}_5):m(\text{K}_2\text{O})=15:17:13$) 1 g, *Ralstonia* 生物炭菌剂或含水生物炭 5 g。如表 1 所示,将初始菜地土壤、肥料、重金属盐和 *Ralstonia* 生物炭菌剂(或含水生物炭)充分混合后,置于蔬菜大棚陈化 2 周以上。选株高约 10 cm 的芥菜幼苗,每个花盆移栽 2 株。在芥菜花蕾期,收集花盆全部土壤,磨碎后保存于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱。新鲜土样(10~20 g)送生物公司进行土壤细菌高通量测序分析^[21]。

表 1 盆栽试验添加的重金属、生物炭和 *Ralstonia*
Table 1 Heavy metal, biochar and *Ralstonia* added in potted experiment

处理 Treatment	编号 Code	成分 Component
初始土壤 Initial soil	CK_O	轮作西红柿和芥菜的菜地土壤
低浓度重金属处理 Low concentration heavy metals treatment	CK_L	土壤+低浓度重金属(Cd^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} 的含量为 0.40、250、100、80 和 150 mg/kg)
	L1	土壤+低浓度重金属+热解生物炭
	L2	土壤+低浓度重+热解生物炭+ <i>Ralstonia</i> 菌体
	L3	土壤+低浓度重金属+水热生物炭
	L4	土壤+低浓度重金属+水热生物炭+ <i>Ralstonia</i> 菌体
	L5	土壤+低浓度重金属+ <i>Ralstonia</i> 菌体
高浓度重金属处理 High concentration heavy metals treatment	CK_H	土壤+高浓度重金属(Cd^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} 的含量为 2、600、300、350 和 500 mg/kg)
	H1	土壤+高浓度重金属+热解生物炭
	H2	土壤+高浓度重金属+热解生物炭+ <i>Ralstonia</i> 菌体
	H3	土壤+高浓度重金属+水热生物炭
	H4	土壤+高浓度重金属+水热生物炭+ <i>Ralstonia</i> 菌体
	H5	土壤+高浓度重金属+ <i>Ralstonia</i> 菌体

1.4 测定土壤碳氮磷及生物炭官能团

新鲜土壤加入 0.50 mol/L KCl 溶液($m(\text{KCl}):V(\text{ddH}_2\text{O})=1:10$),室温振荡 1 h(180 r/min);普通定性滤纸过滤后,用微孔滤膜(MCE Membrane Filter, 孔径:0.45 μm ,上海新亚)抽滤一次;流动分析仪(Skalar Analytical B. V. P. O BOX 3237, Netherlands)测定滤液的硝态氮和铵态氮,岛津 TOC 仪(SHIMADZU TOC-V CPH, OCT-1, Japan)测定滤液总有机碳(Total organic carbon, TOC)。土壤样品风干后碾磨成粉末状,并过 200 目筛子;土壤加

入 0.50 mol/L NaHCO_3 溶液($m(\text{NaHCO}_3):V(\text{ddH}_2\text{O})=1:20$),室温振荡 30 min;用定性无磷滤纸和微孔滤膜抽真空过滤;流动分析仪测定滤液可溶性磷总量。参考李晓菲^[24]和鲁如坤^[25]提供的土壤农化分析方法测定土壤的碱解氮和速效钾。充分碾磨生物炭和溴化钾($m(\text{生物炭}):m(\text{溴化钾})=1:100$),压成薄片后置于 FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy, Nicolet iS 50 FT-IR, USA)光谱仪测定波长 4 000~500 cm^{-1} 的红外光谱图,用 Omnic 8.20 软件分析官能团的类型和数量。

1.5 数据分析及图表绘制

数据统计分析使用 R 语言(<https://www.r-project.org/>)。图表绘制使用 R 语言和 Microsoft Excel 2021。采用单因素方差分析和 Duncan 法进行差异显著性分析,* $P<0.05$;** $P<0.01$ 。基于上海美吉生物云平台(<https://www.majorbio.com/>)提供的数据分析软件和可视化分析方法分析土壤细菌群落多样性,主要分析软件和方法如下:聚类分析、主成分分析和 Heatmap 热图聚类采用 R-3.3.1(vegan 软件包)的 UPGMA 算法和加权 UniFrac 距离分析法。Alpha 多样性指数、群落组成、多组比较分析和 LEfSe 分析分别用 Mothur 1.30.2 软件、python-2.7、R-3.3.1(stat 软件包)和 R-3.3.1(LDA>3.50)。线性判别分析(Linear discriminant analysis(LDA)Effect Size,LEfSe)用于分析对土壤可能产生重要作用的差异菌群(Biomarker)^[20]。高通量测序的原始序列已提交到美国国家生物技术信息中心的 SRA 公共数据库(NCBI SRA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>),登录号为 SRR13069618 和 SAMN16796015

(BioSample)。

2 结果与分析

2.1 西红柿秸秆生物炭的理化性质及官能团分析

不同制备方式下,比较西红柿秸秆热解生物炭和水热生物炭的官能团特征,详见图 1。可见西红柿秸秆热解生物炭和西红柿秸秆水热生物炭的官能团类型及数量存在明显差异,且官能团主要集中在 2 个吸收峰区域(绿色和紫色的虚线框所示)。其中:热解生物炭吸收峰数量高达 18 个,主要官能团为 C-O(饱和酯)、C-O-C(脂肪醚)、R-O(醚)、C=O(羧酸)、C=C(芳环)、C-N(酰胺)和 N-H(胺);水热生物炭吸收峰数量有 9 个,主要官能团为 C-H(烯烃)、C=O(羧酸)、O-H(醇酚)和 N-H(胺)。此外,热解生物炭的 pH、EC 和总碳分别为 10.26、1 491 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 和 56.18%;水热生物炭的 pH、EC(生物炭未用 ddH₂O 清洗)和总碳分别为 5.93、7 632 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 和 27.51%。结果表明,不同碳化条件制备的西红柿秸秆生物炭,其官能团、pH、EC 和总碳有明显差异,且水热生物炭的官能团数量多于热解生物炭。

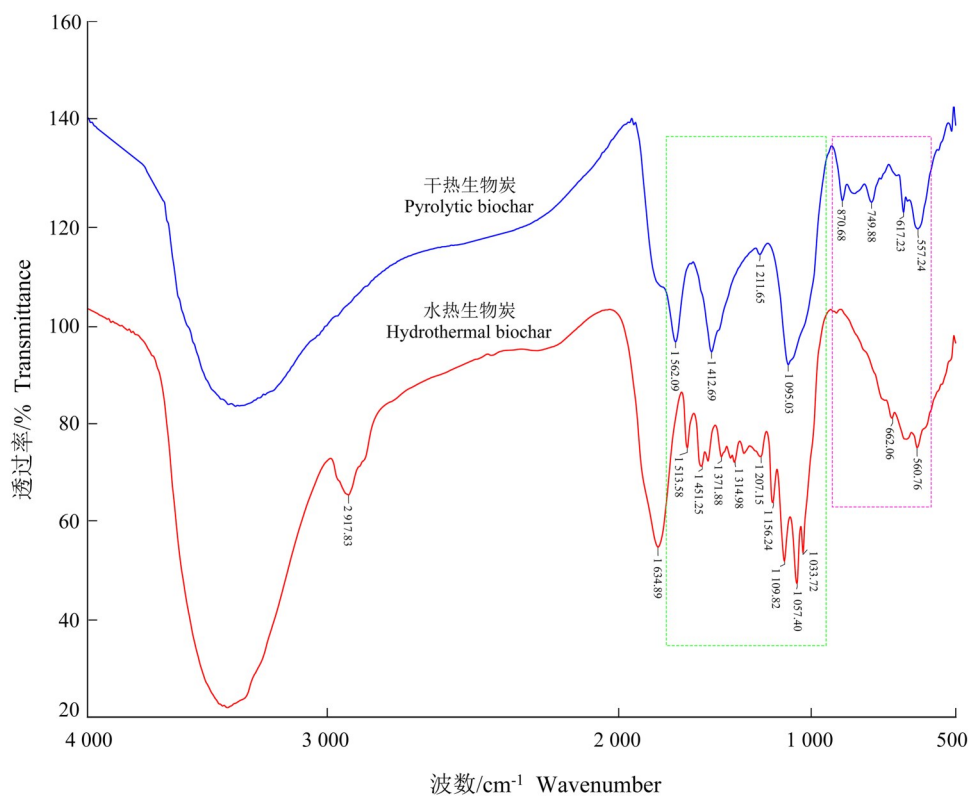
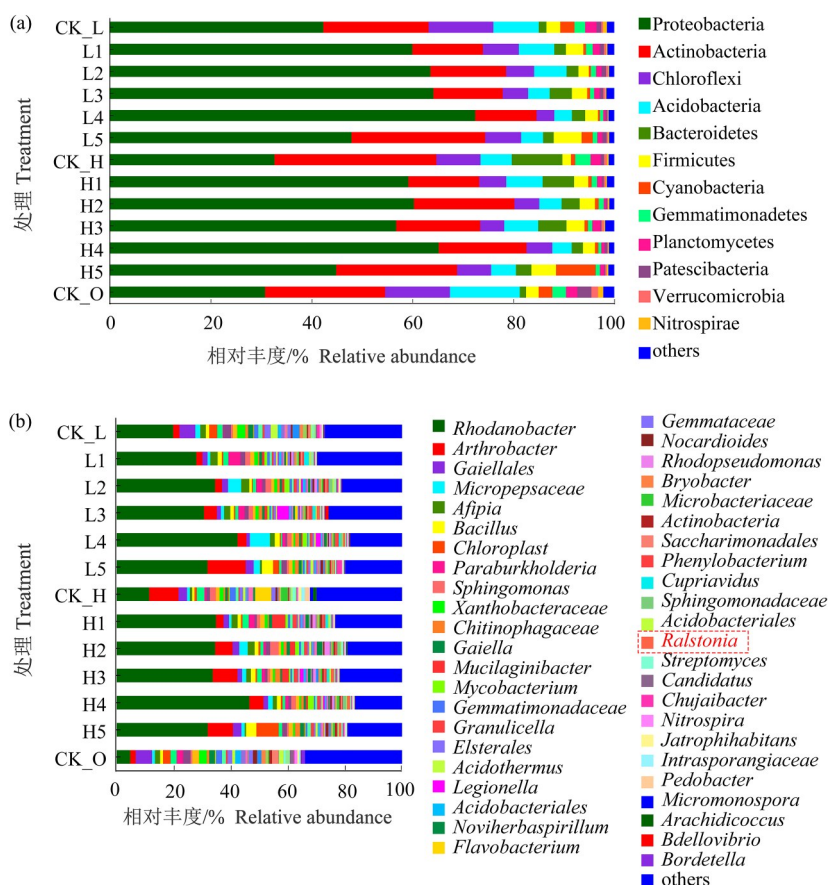


图 1 西红柿秸秆生物炭的官能团分布
Fig. 1 Functional group distribution of tomato straw biochar

2.2 菜地土壤的细菌群落组成及优势菌相对丰度变化

对比西红柿秸秆生物炭、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂对菜地土壤细菌群落结构的差异性影响, 详见图 2(a) 和 (b)。可见热解生物炭、水热生物炭、*Ralstonia* 及其制备的 *Ralstonia* 生物炭菌剂明显改变土壤细菌群落多样性和优势菌相对丰度 (丰度 > 0.20%)。其中, 优势菌 Proteobacteria (门水平, 30.78%) 和 *Rhodanobacter* (属水平, 4.76%) 受低浓度和高浓度的复合重金属胁迫时, 其相对丰度增加到 30.90%~45.32% 和 11.40%~19.76%; 西红柿秸秆生物炭 + *Ralstonia* 处理后, 其相对丰度进一步增加到 24.11%~51.18% 和 24.11%~51.18%。此外, 重金属复合污染和西红柿秸秆生物炭 + *Ralstonia* 也改变土壤优势菌 Actinobacteria、Chloroflexi、Acidobacteria 和 Bacteroidetes (门水平,

合计 31.56%) 的相对丰度, 优势菌 *Arthrobacter* (属水平) 的相对丰度增加到 2.16%~22.66%。低浓度重金属和高浓度重金属处理时, *Rhodanobacter*、*Arthrobacter*、*Gaiellales* 和 *Micropepsaceae* 等优势菌仍保持较高的相对丰度, 且部分优势菌的相对丰度在低浓度重金属和高浓度重金属胁迫下基本相同。外源菌 *Ralstonia* 在对照组土壤 (CK_O、CK_L 和 CK_H) 和生物炭处理组 (L1、L3、H1 和 H3) 无法检出; 在 *Ralstonia* 处理组 (L5 和 H5) 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂处理组 (L2、L4、H2 和 H4), *Ralstonia* 相对丰度为 0.32%~1.23%, 成为菜地土壤主要优势菌之一。结果表明, 复合重金属污染、西红柿秸秆生物炭 (热解生物炭和水热生物炭)、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂作用于菜地土壤细菌群落结构, 且热解生物炭和水热生物炭剂明显增加土壤优势菌相对丰度和维持外源菌 *Ralstonia* 长期存活。



红色虚线框标记的细菌为外源菌 *Ralstonia*。下同。

The bacteria marked with red dashed box is the exogenous *Ralstonia*. The same below.

图 2 不同重金属浓度和 *Ralstonia* 生物炭菌剂处理下门水平 (a) 及属水平 (b) 的土壤细菌群落结构和优势菌丰度

Fig. 2 Soil bacterial community structure and dominant bacteria abundance at phylum level (a) and genus level (b) under the treatment with different heavy metal concentrations and *Ralstonia*-inoculated biochar

据此,进一步比较热解生物炭、水热生物炭、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂对菜地土壤细菌多样性及丰富度的影响,详见表2。Shannon指数(数值越大,多样性越高)和Simpson指数(数值越小,多样性越高)反映土壤细菌群落多样性,ACE和Chao1指数(数值越大,丰富度越高)反映土壤细菌群落丰富度。可见西红柿秸秆生物炭和*Ralstonia*及其制备的*Ralstonia*生物炭菌剂显著降低重金属复合污染菜地土壤细菌的多样性和丰富度($P<0.05$)。其中:Shannon减少15.37%~24.87%,Simpson增加687.10%~1393.55%;ACE减少15.58%~25.63%;Chao1减少15.77%~28.98%(CK_O为对照组)。与此同时,重金属复合污染同

样降低菜地土壤细菌的多样性和丰富度,且高浓度重金属处理的土壤细菌丰富度下降幅度高于低浓度重金属处理,但西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia*增加重金属复合污染菜地土壤细菌丰富度(ACE和Chao1分别增加2.18%~28.02%和2.83%~22.29%),恢复土壤部分细菌的生长活性。结果表明,重金属复合污染、西红柿秸秆生物炭、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂显著降低菜地土壤细菌的多样性和丰富度,但西红柿秸秆生物炭、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂增加重金属复合污染土壤细菌丰富度。综上,西红柿秸秆生物炭及*Ralstonia*生物炭菌剂作用于重金属复合污染菜地土壤的细菌群落多样性、优势菌生长和外源菌存活。

表2 *Ralstonia*生物炭菌剂对重金属污染土壤细菌群落多样性及丰富度的影响
Table 2 Effect of *Ralstonia*-inoculated biochar on the diversity and richness of bacterial community in heavy metal contaminated soil

处理编号 Treatment code	香农指数 Shannon index	辛普森指数×10 ² Simpson index	ACE指数 ACE index	Chao1指数 Chao1 index
CK_O	6.80±0.10	0.31±0.06	3664.28±83.45	3649.02±72.48
CK_L	5.75±0.22	2.44±0.37	3093.48±109.34	3003.56±122.78
L1	5.25±0.09*	5.12±0.29*	3241.57±73.89*	3105.16±92.99*
L2	5.19±0.10*	5.29±0.88*	3160.87±70.01*	3114.53±111.16*
L3	4.73±0.17*	7.41±0.34**	3243.33±11.21*	3300.58±69.44**
L4	4.41±0.16**	7.96±0.42**	3303.84±21.09**	3196.69±150.89*
L5	4.84±0.28*	4.64±0.73*	3295.11±105.96**	3161.47±167.14*
CK_H	5.11±0.25	4.63±1.53	2724.99±36.62	2599.42±88.50
H1	4.87±0.11*	7.02±0.69*	2874.47±117.97*	2773.58±126.24*
H2	4.73±0.05*	6.63±0.27*	2865.54±89.58*	2737.45±82.74*
H3	4.63±0.02*	9.95±0.71**	3088.50±37.24**	2868.94±145.26**
H4	4.37±0.04**	10.25±0.77**	3048.29±19.28**	2844.12±91.61**
H5	3.82±0.03*	8.49±0.65**	2885.85±14.81*	2674.17±60.65*

注:设CK_O、CK_L及CK_H为对照组。* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。
Note: CK_O,CK_L and CK_H are set as control groups. * $P<0.05$,** $P<0.01$.

2.3 西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia*作用下土壤细菌群落的差异性分析

施用热解生物炭、水热生物炭、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂时,比较土壤细菌群落的差异性,见图3(a)和(b)。可见:综合层级聚类分析

和主成分分析(主成分解释83.40%),菜地土壤细菌群落可分为5大类(属水平):I(L5和H5,黑色虚线框),II(L1、L3、H1和H3,红色虚线框),III(L2、L4、H2和H4,蓝色虚线框),IV(CK_L和CK_H,绿色虚线框)和V(CK_O)。研究结果表

明,依据土壤细菌群落分布距离,重金属复合污染(CK_L和CK_H)改变菜地土壤(CK_O)细菌种群组成;热解生物炭(L1和H1)和水热生物炭(L3和H3)处理时,土壤细菌种群组成保持相似;*Ralstonia*热解生物炭菌剂(L2和H2)和*Ralstonia*水热生物炭菌剂(L4和H4)处理时,其土壤细菌种

群组成也相似,但不同于*Ralstonia*处理(L5和H5)和西红柿生物炭处理(L1、H1、L3和H3)。综上,重金属复合污染改变菜地土壤细菌种群组成,且添加西红柿生物炭(热解生物炭和水热生物炭)、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂,其相互之间的细菌种群组成也存在差异性。

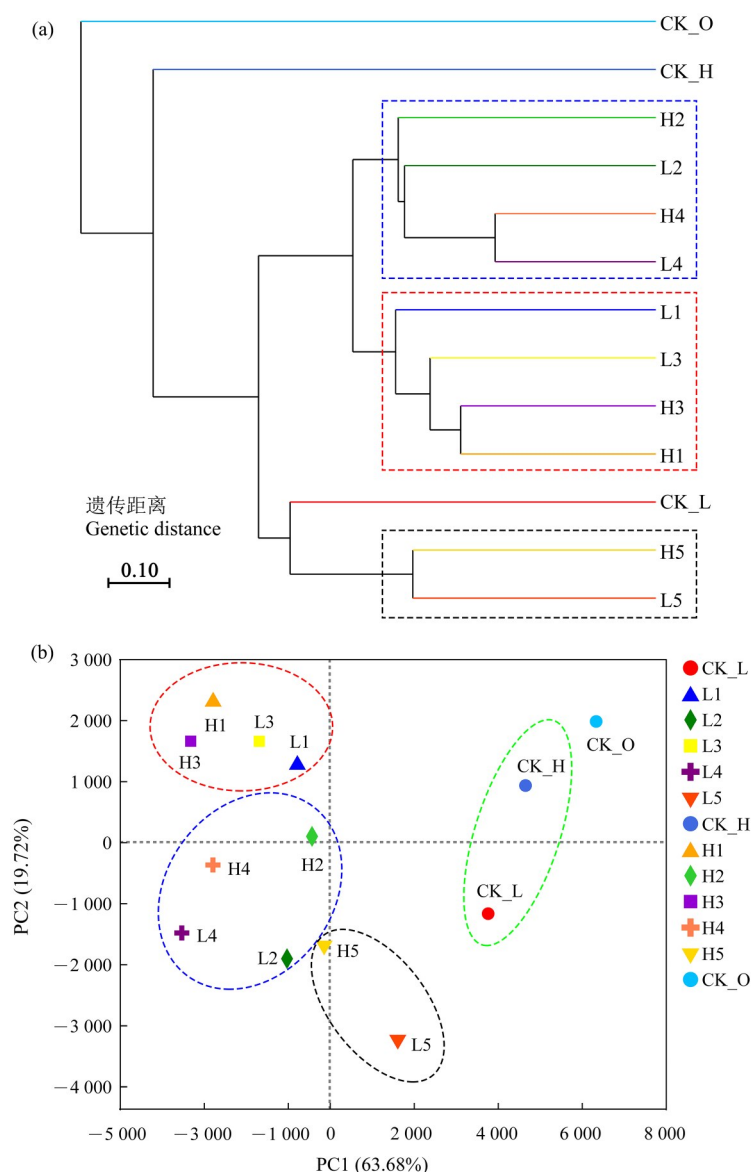


图3 菜地土壤细菌群落的层级聚类分析(a)及主成分分析(b)

Fig. 3 Hierarchical clustering analysis (a) and principal component analysis (b) of bacterial community in vegetable soil

2.4 西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia*对土壤高丰度菌相对丰度及差异菌群的影响

比较西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂对菜地土壤高丰度菌相对丰度的影响,见图4和图5。由

图4(a)和(b)可见,在低浓度和高浓度的重金属(Cd、Cr、Pb、Ni和Cu)复合污染菜地土壤,热解生物炭、水热生物炭、*Ralstonia*和*Ralstonia*生物炭菌剂改变*Rhodanobacter*、*Gaiellales*和*Micropepsaceae*等土壤主要高丰度菌的相对丰度,其中*Ralstonia*生物炭菌剂促

进高丰度菌 *Rhodanobacter* 生长,同时外源菌 *Ralstonia* (红色字体标示)相对丰度在不同处理组差别明显。结果表明,西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂作用于菜地土壤及重金属复合污染土壤的高丰度菌相对丰度。此外,由图 5 可见, *Rhodanobacter*、*Arthrobacter* 和 *Gaiellales* 等高丰度菌(Top 50,合计 75.94%)的相对丰度在西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia*

的处理组保持相似性(红色),*Ralstonia* 相对丰度在 *Ralstonia* 处理组(L2、H2、L4、H4、L5 和 H5)的变化趋势相同(蓝色转为红色),并且 32% 高丰度菌和外源菌 *Ralstonia* 的相对丰度变化与 *Ralstonia* 生物炭菌剂密切相关。结果表明,菜地土壤及重金属复合污染土壤的高丰度细菌生长与西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂存在相关性。

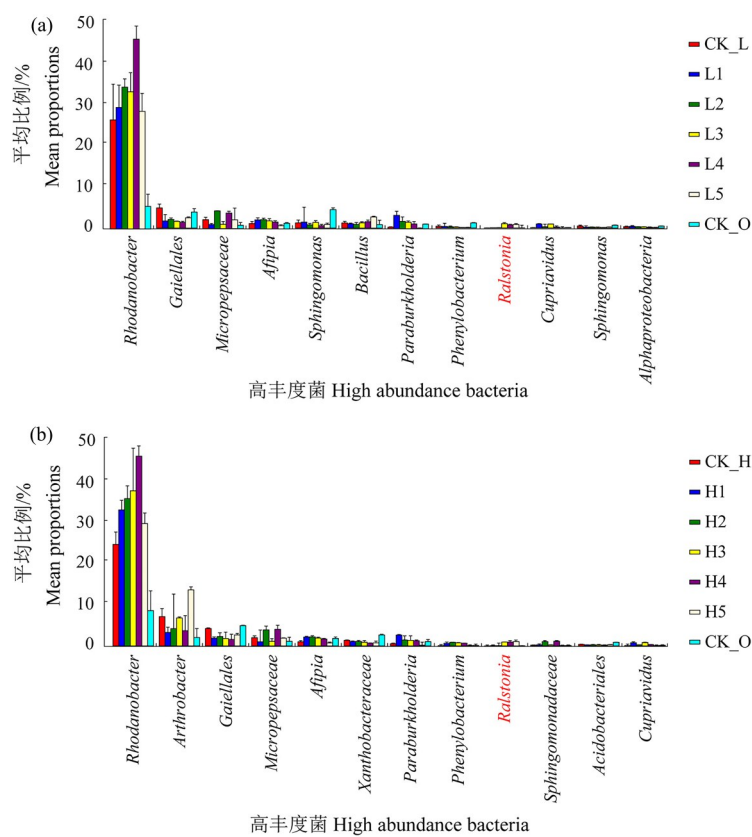


图 4 低浓度(a)及高浓度(b)的重金属和 *Ralstonia* 生物炭菌剂处理下不同优势菌丰度的变化
Fig. 4 Changes in the abundance of different dominant bacteria under the treatment of low concentration (a) and high concentration (b) of heavy metals and *Ralstonia*-inoculated biochar

比较不同处理组对菜地土壤产生重要作用的差异菌群数量,见表 3。可见,西红柿秸秆生物炭、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂明显减少菜地土壤差异菌群数量。菜地土壤(CK_O)差异菌群数量高达 26 个,低浓度或者高浓度的复合重金属污染,其差异菌群数量剧减到 4~10 个,明显抑制菜地土壤差异菌群生长;单施西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)(L1、H1、L3 和 H3)或 *Ralstonia* (L5 和 H5)时,差异菌群数量进一步减少到 1~7 个,对菜地土壤及重金属复合污染土壤的差异菌群具有强烈抑制效应;然而,添加 *Ralstonia* 生物炭菌剂

(L2、H2、L4 和 H4),差异菌群数量恢复性增加到 8~12 个。此外,外源菌 *Ralstonia* 在 *Ralstonia* 水热生物炭菌剂处理组(L4 和 H4)成为土壤差异菌株(红色字体标示)。研究结果表明,重金属复合污染、西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 抑制菜地土壤及重金属复合污染土壤的差异菌生长,但 *Ralstonia* 生物炭菌剂能增加菜地土壤差异菌的生长活性。综上,*Ralstonia* 生物炭菌剂促使重金属复合污染菜地土壤高丰度菌和外源菌 *Ralstonia* 持续生长,并缓解西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和 *Ralstonia* 对菜地土壤差异菌群的抑制作用。

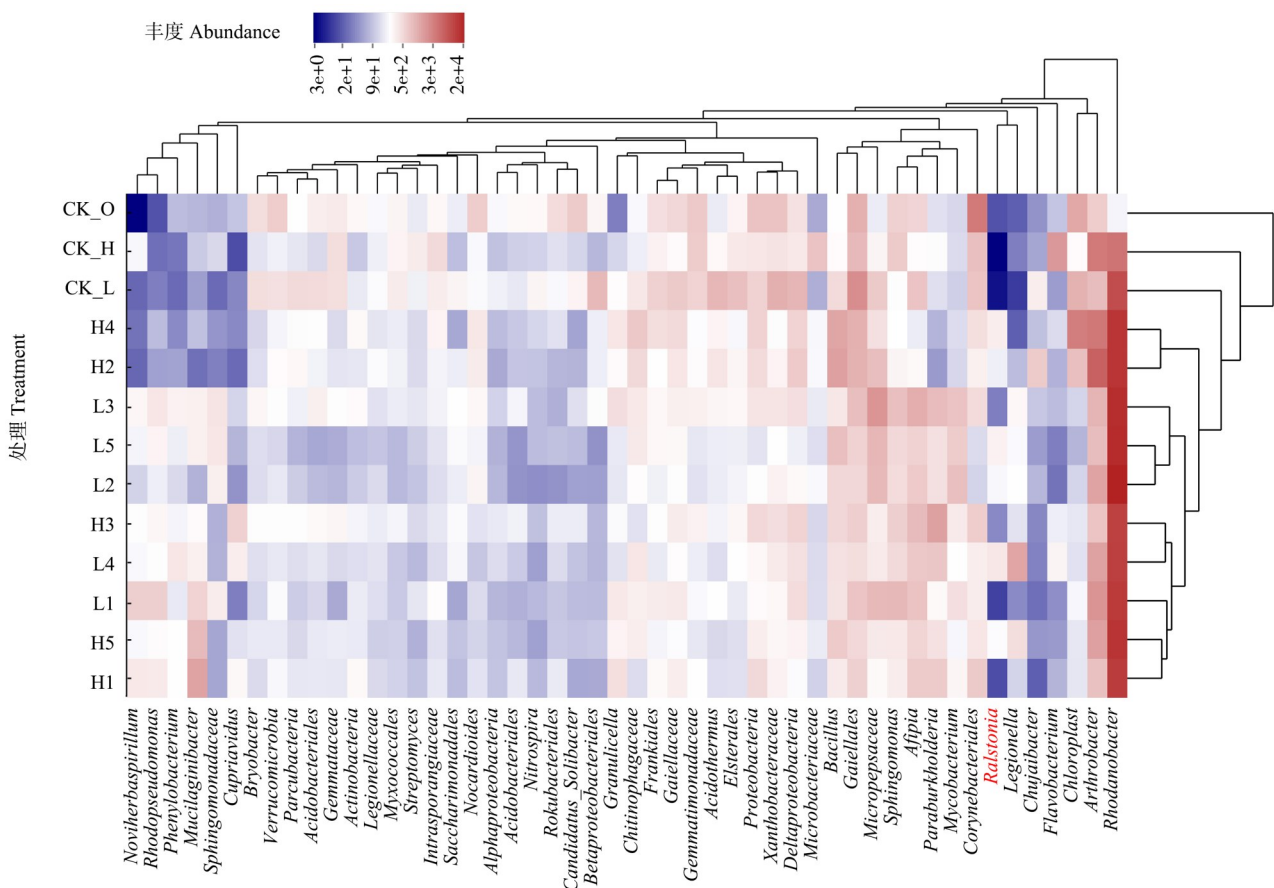


图 5 菜地土壤前 50 个土壤高丰度菌的 Heatmap 图分析

Fig. 5 Heatmap analysis of the top 50 soil high-abundance bacteria in vegetable soil

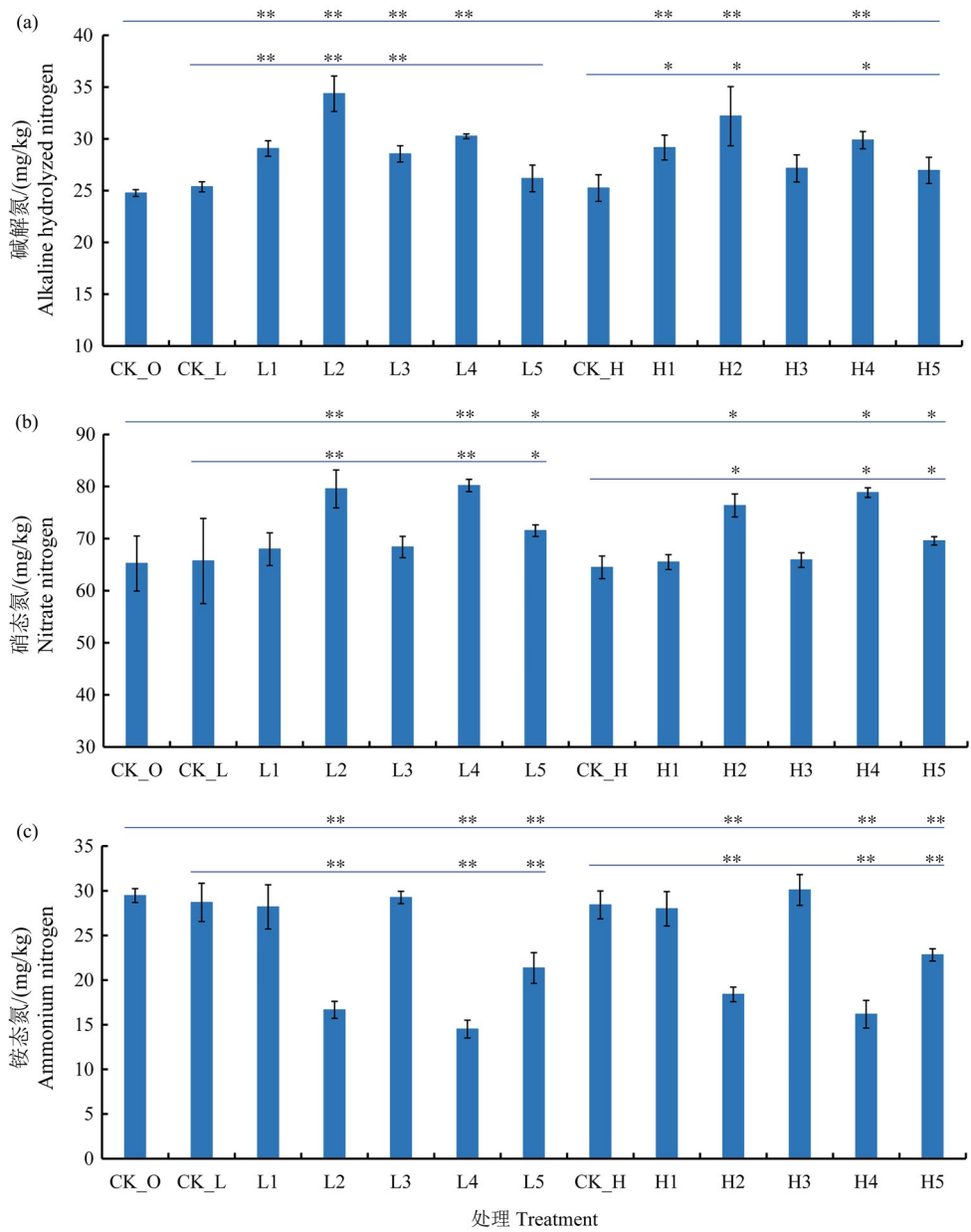
表 3 *Ralstonia* 生物炭菌剂对土壤差异菌群数量的影响

Table 3 Effect of <i>Ralstonia</i> -inoculated biochar on the quantity of soil differential bacteria			
处理 Treatment	编号 Code	数量 Number	
初始土壤 Initial soil	CK_O	26	
	CK_L	10	
	L1	7	
	L2	12	
	L3	5	
	L4	9	
低浓度重金属处理 Low concentration heavy metals treatment	L5	5	
	CK_H	5	
	H1	2	
	H2	8	
	H3	4	
	H4	11	
高浓度重金属处理 High concentration heavy metals treatment	H5	1	

2.5 *Ralstonia* 生物炭菌剂对菜地土壤氮磷钾碳含量的影响

比较西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂对菜地土壤氮组分的影响,见图 6。可见,西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂显著作用于菜地土壤的碱解氮、硝态氮和铵态氮含量($P<0.05$)。菜地土壤(CK_O)的碱解氮、硝态氮和铵态氮为 24.76、65.22 和 29.47 mg/kg。其中,添加西红柿秸秆生物炭(L1、H1、L3 和 H3)、*Ralstonia*(L5 和 H5)和 *Ralstonia* 生物炭菌剂(L2、L4、H2 和 H4),菜地土壤的碱解氮显著增加 7.53%~15.51%、3.18%~6.67% 和 18.35%~35.44%(含量 29.88~34.36 mg/kg),同时硝态氮增加 1.57%~4.10%、7.89%~8.86% 和 18.42%~22.24% ($P<0.05$);添加西红柿秸秆水热生物炭(L3 和 H3),土壤铵态氮增加 1.90%~5.89%,但添加 *Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂,土壤铵态氮显著减少 19.69%~25.62% 和

35.27%~49.45% ($P<0.05$)。此外,在低浓度或者高浓度的复合重金属污染土壤,碱解氮和硝态氮的增加幅度以及铵态氮的减少幅度基本相同。研究表明,相对于单施西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)或 *Ralstonia*, *Ralstonia* 生物炭菌剂更有效增加菜地土壤(CK_O)及其重金属复合污染土壤(CK_L或CK_H)的碱解氮和硝态氮含量,并减少铵态氮残留量($P<0.05$)。



长横线标示:对照组为CK_O,处理组为CK_L、L1-L5、CK_H及H1-H5。短横线标示:对照组为CK_L或CK_H,处理组为L1-L5或H1-H5。下同。
Long horizontal line indicates the control group is CK_O, and the treatment groups are CK_L, L1-L5, CK-H and H1-H5. Short horizontal line indicates the control group is CK_L or CK_H, and the treatment group is L1-L5 or H1-H5. The same below.

图6 菜地土壤添加重金属和 *Ralstonia* 生物炭菌剂后碱解氮(a)、硝态氮(b)和铵态氮(c)的含量变化

Fig. 6 Change in the content of alkaline hydrolyzed nitrogen (a), nitrate nitroge (b) and ammonium nitrogen (c) in vegetable soil after adding heavy metals and *Ralstonia*-inoculated biochar

比较西红柿秸秆生物炭、*Ralstonia*和 *Ralstonia* 生物炭菌剂对菜地土壤磷钾碳的影响,见图7。可见,西红柿秸秆生物炭显著增加土壤有机碳含量,西红柿秸秆水热生物炭+*Ralstonia*作用于土壤有

效性磷钾。菜地土壤(CK_O)的有效磷和速效钾为 19.67、37.81 和 376.98 mg/kg。其中,添加西红柿秸秆生物炭(L1、H1、L3 和 H3)、*Ralstonia* (L5 和 H5)和 *Ralstonia* 生物炭菌剂(L2、L4、H2 和 H4),菜地土壤的有效磷显著增加 1.46%~7.25%、16.16%~16.46% 和 35.15%~50.04%,速效钾增加 1.03%~5.36%、5.80%~6.57% 和 14.17%~21.56%。菜地土壤有机碳含量为 376.98 mg/kg (CK_O),添加西红柿秸秆热解生物炭(L1 和 H1)和

Ralstonia 热解生物炭菌剂(L2 和 H2),有机碳增加 227.75%~239.45%(含量 1 207.26~1 267.72 mg/kg);添加西红柿秸秆水热生物炭(L3 和 H3)和 *Ralstonia* 水热生物炭菌剂(L4 和 H4),土壤有机碳增加 129.20%~132.76%(含量 855.98~878.25 mg/kg)。此外,在低浓度或者高浓度的重金属复合污染土壤,有效磷、速效钾和有机碳的增加趋势基本一致。研究结果表明,与添加西红柿秸秆生物炭或 *Ralstonia* 相比,*Ralstonia* 生物炭菌剂更有效增加菜

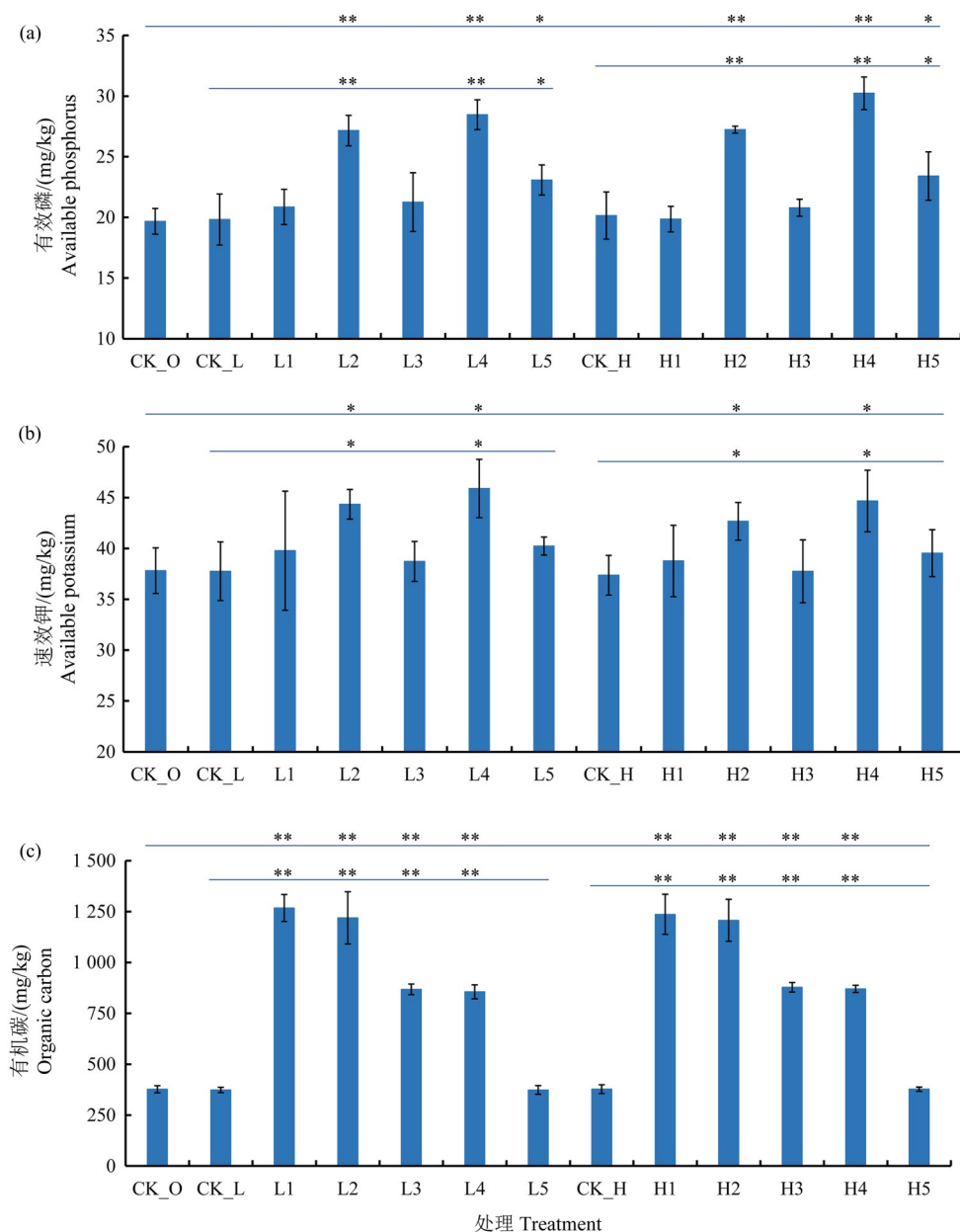


图 7 菜地土壤添加重金属和 *Ralstonia* 生物炭菌剂后有效磷(a)、速效钾(b)及有机碳(c)的含量变化
Fig. 7 Change in the content of available phosphorus (a), available potassium (b) and organic carbon (c) in vegetable soil after adding heavy metals and *Ralstonia*-inoculated biochar

地土壤及重金属复合污染土壤的有效磷和速效钾;菜地土壤有机碳主要源于西红柿秸秆生物炭,但 *Ralstonia* 生物炭菌剂与西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)等效增加土壤有机碳含量。综上, *Ralstonia* 生物炭菌剂综合了西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和外源重金属抗性菌 *Ralstonia* 作用于菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌群落活性和优势菌相对丰度,实现其共同改善土壤碱解氮、硝态氮、有效磷、速效钾和有机碳的持续供肥能力,并降低菜地土壤铵态氮残留可能产生的副作用。

3 讨论

3.1 西红柿秸秆生物炭及 *Ralstonia* 菌体制备生物炭固定化菌剂

农业有机废弃物不同裂解方式得到理化性质、pH和官能团等差异显著的生物炭^[5-6],西红柿秸秆不同碳化方式,得到pH、EC、总碳和官能团等明显差异的热解生物炭和水热生物炭,并且水热生物炭官能团的类型和数量多于热解生物炭,这与高温缺氧碳化和水热密闭裂解法制备的生物炭,其有机碳含量和官能团类型存在较大差异的研究结果基本一致^[26-27]。养分组成、有机碳含量和多孔径结构等差异较大的秸秆生物炭,分别与外源菌固定化制备成生物炭菌剂,为细菌长期存活提供良好的土壤微环境和养分供给^[12],面临着生物炭固持能力和维持功能菌活性的双重挑战。西红柿秸秆的热解生物炭和水热生物炭均能固定化 *Ralstonia* 菌体制备成 *Ralstonia* 生物炭菌剂,并增强土壤优势菌(Proteobacteria(门水平, 47.92%~72.44%)), *Rhodanobacter*(属水平, 24.11%~51.18%))和外源菌 *Ralstonia* 的生长活性,有效维持生物炭长期固定外源菌 *Ralstonia* 和促进土壤高丰度菌生长。生物炭的盐离子能降低土壤氢离子和交换性铝离子水平,缓解土壤重金属毒性^[28],有利于外源菌在重金属污染的土壤存活,但单施生物炭治理高浓度重金属和重金属复合污染的农田土壤,受限于生物炭施用量和制备高活性生物炭^[21]。低浓度和高浓度的重金属复合污染菜地土壤,施用 *Ralstonia* 生物炭菌剂能提高细菌群落活性和增加高丰度菌相对丰度,实现西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和重金属抗性菌 *Ralstonia* 共同改善重金属

(Cd、Cr、Pb、Ni和Cu)复合污染土壤。本研究结果表明,西红柿秸秆通过不同碳化方式制备的热解生物炭和水热生物炭,均能增强菜地土壤细菌群落活性和固定外源功能菌,为西红柿秸秆碳化制备成不同类型的秸秆生物炭及生物炭固定化菌剂,治理重金属复合污染土壤提供重要支撑。

3.2 西红柿秸秆生物炭+*Ralstonia* 改善重金属复合污染土壤的优势菌群结构

西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)、*Ralstonia* 和 *Ralstonia* 生物炭菌剂显著增加菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌丰富度(增加2.18%~28.02%)和优势菌相对丰度,其中 Proteobacteria(门水平, 30.78%)^[29]和 *Rhodanobacter*(属水平, 4.76%)^[30]的相对丰度增加至47.92%~72.44%和24.11%~51.18%,外源菌 *Ralstonia*^[18]成长为高丰度菌(0.32%~1.23%)。土壤部分优势菌 Proteobacteria(门水平)丰度变化与重金属(Cd、Pb和Mn等)密切相关^[29,31],土壤天然存在的优势菌 *Rhodanobacter*(属水平)耐受Cd、Cu和Zn等重金属^[30,32-33],存活于重金属(Cd、Cr和Cu等)污染土壤的 *Ralstonia* 吸附土壤重金属和改善土壤微生物群落结构^[18-19,34],这说明部分 Proteobacteria(门水平)以及 *Rhodanobacter* 和 *Ralstonia*(属水平)为土壤重金属细菌,西红柿秸秆生物炭和 *Ralstonia* 生物炭菌剂显著增强其生长活性;此外, *Ralstonia* 生物炭菌剂吸附土壤重金属^[18-19]和改善细菌栖息地^[35],且生物炭的养分组成和孔隙结构可刺激土壤特定细菌激发生长活力和增加相对丰度^[36-37],有效促进土壤部分重金属抗性菌(Proteobacteria(门水平)、*Rhodanobacter*(属水平)和外源菌 *Ralstonia*)持续生长^[38]和提高优势菌群生长活性,从而改善重金属复合污染土壤的优势细菌群落结构^[39]。与此同时,优势菌(*Rhodanobacter*、*Arthrobacter*和 *Gaiellales*等)和外源菌 *Ralstonia* 增加相对丰度造成菜地土壤细菌多样性下降,但 *Ralstonia* 生物炭菌剂增加菜地土壤差异菌群数量^[20],并缓解单施西红柿秸秆生物炭或 *Ralstonia* 对土壤细菌菌群生长的抑制作用。此外, *Rhodanobacter* 相对丰度变化在低浓度和高浓度的重金属复合污染土壤仍保持基本相同,表现出较强的生长活性。研究表明,西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和 *Ralstonia* 生物炭菌剂能增强土壤细菌群落活性、促进土壤高丰度菌生

长和维持外源菌长期存活,为西红柿秸秆生物炭和土壤高丰度重金属细菌共同改善菜地土壤及重金属复合污染土壤的优势菌群结构提供重要依据。

3.3 *Ralstonia* 生物炭菌剂维持菜地土壤及重金属复合污染土壤的供肥能力

西红柿秸秆碳化制备的热解生物炭和水热生物炭均能增加菜地土壤的氮碳磷钾且改善重金属复合污染菜地土壤的肥力,具备秸秆生物炭富含碳、氮和磷等营养元素^[5],并吸附土壤氮磷钾、固持土壤铵态氮和减少硝态氮淋溶流失的特征^[40-41],对富含重金属的农田土壤具有修复潜力。菜地土壤及重金属复合污染土壤单施 *Ralstonia*,有效促进土壤硝态氮和铵态氮的转化,同时增加土壤有效磷,这与 *Ralstonia* 增强施肥土壤氧化酶活性、高效转化土壤无机氮和增加磷酸盐含量的研究结果一致^[20],明确 *Ralstonia* 能提高重金属复合污染土壤氮磷的有效态含量。然而,单施生物炭或功能菌促进土壤氮形态转化和可溶性磷钾溶出,存在着增加生物炭施用量高和菌株衰老解体的难题^[17, 21],结合生物炭和功能菌是维持土壤养分转化和改善土壤供肥能力的重要途径。与菌株制成的固体菌肥^[42-43]和微生物菌肥^[44]提高土壤肥力指标相比,西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和重金属抗性菌 *Ralstonia* 固定化制备的 *Ralstonia* 生物炭菌剂,同样显著增加菜地土壤及重金属复合污染土壤的碱解氮、硝态氮、有效磷、速效钾、有机质和有机碳,并提高土壤可溶性盐含量^[45],有效改善菜地土壤的氮磷钾供给量和有机碳储备量。土壤施用生物炭和外源功能菌,有利于生物炭阳离子与土壤铵根离子的交换反应,提高土壤氮素的形态转化和利用效率^[46];与单施 *Ralstonia* 相比,西红柿秸秆的热解生物炭和水热生物炭与 *Ralstonia* 制备的 *Ralstonia* 生物炭菌剂均促进铵态氮转化和磷酸盐溶出,显著增加土壤硝态氮和有效磷的含量,避免不同类型的生物炭菌剂显著影响土壤的碳氮转化和氮含量^[47],从而有效提高土壤肥力。本研究结果表明, *Ralstonia* 生物炭菌剂兼备生物炭固持土壤氮磷钾化合物和氧化型菌 *Ralstonia* 促进土壤磷钾化合物溶出的特征,并提高菜地土壤的供肥能力和有机碳储量,为开展西红柿秸秆生物炭固定化重金属抗性菌改善菜地土壤及重金属复合污染土壤的肥力提供保障。

4 结 论

为研究西红柿秸秆生物炭和重金属抗性菌 *Ralstonia* 对菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌群落结构、优势菌相对丰度和氮磷钾含量的影响,本研究以轮作西红柿和芥菜的菜地土壤为研究对象,利用西红柿秸秆碳化制备热解生物炭和水热生物炭,并与 *Ralstonia* 固定化制备成 *Ralstonia* 生物炭菌剂,探究西红柿秸秆生物炭和重金属抗性菌 *Ralstonia* 对重金属复合污染菜地土壤优势菌群结构、外源菌 *Ralstonia* 存活和供肥能力的影响。主要结论如下:

1) 西红柿秸秆制备的热解生物炭和水热生物炭,其 pH、EC、总碳和官能团差异较大,但均能与重金属抗性菌固定化制备成 *Ralstonia* 生物炭菌剂,并降低不同类型西红柿秸秆生物炭对菜地土壤细菌群落结构的差异性影响;2) *Ralstonia* 生物炭菌剂改善菜地土壤及重金属复合污染土壤的细菌群落结构、增强部分高丰度抗性菌活性(Proteobacteria(门水平), Rhodanobacter(属水平))、维持外源菌 *Ralstonia* 存活,并缓解西红柿秸秆生物炭或 *Ralstonia* 对土壤差异菌群的抑制作用;3) *Ralstonia* 生物炭菌剂增加菜地土壤的碱解氮、硝态氮、有效磷、速效钾和有机碳,并减少铵态氮残留,实现生物炭固持土壤氮磷钾化合物和 *Ralstonia* 促进土壤磷钾化合物溶出,有效改善重金属复合污染土壤的供肥能力和有机碳储量。

综上, *Ralstonia* 生物炭菌剂实现西红柿秸秆生物炭(热解生物炭和水热生物炭)和 *Ralstonia* 共同改善土壤优势菌群结构、增强重金属抗性菌活性和提高土壤氮磷钾含量,并缓解单施西红柿秸秆生物炭或 *Ralstonia* 抑制菜地土壤细菌菌群生长的缺点,为西红柿秸秆资源化利用和改善菜地土壤及其重金属复合污染土壤的肥力提供参考。

参考文献 References

- [1] 李君明, 项朝阳, 王孝宣, 国艳梅, 黄泽军, 刘磊, 李鑫, 杜永臣. “十三五”我国番茄产业现状及展望[J]. 中国蔬菜, 2021, 1(2): 13-20
Li J M, Xiang C Y, Wang X X, Guo Y M, Huang Z J, Liu L, Li X, Du Y C. Current situation of tomato industry in China during ‘the thirteenth Five-Year Plan’ period and future prospect[J]. China Vegetables, 2021, 1(2): 13-20 (in Chinese)
- [2] 时振宇, 陈健, 贾凯, 程云霞, 刘迁杰, 崔拥民, 吴慧. 番茄秸秆复合基质对

- 温室黄瓜生长、产量及果实品质的影响[J]. 新疆农业科学, 2020, 57(1): 78-85
- Shi Z Y, Chen J, Jia K, Cheng Y X, Liu Q J, Cui Y M, Wu H. Effects of tomato straw composite substrate on growth, yield and fruit quality of cucumber in greenhouses[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2020, 57(1): 78-85 (in Chinese)
- [3] 周顺, 李洋, 张冠智, 徐鹏, 林爱雨, 武永军, 杨振超. 添加剂对番茄茎秆好氧堆肥发酵过程及氮素损失的影响[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(3): 79-86
- Zhou S, Li Y, Zhang G Z, Xu P, Lin A Y, Wu Y J, Yang Z C. Effects of additives on the fermentation process and nitrogen loss of tomato stem aerobic composting[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(3): 79-86 (in Chinese)
- [4] 黄家庆, 刘岑薇, 叶菁, 王义祥, 任丽花. 不同反应条件下番茄秸秆水热生物炭的理化性质和微观结构变化[J]. 河南农业科学, 2023, 52(5): 170-180
- Huang J Q, Liu C W, Ye J, Wang Y X, Ren L H. Physicochemical properties and microstructure changes of tomato straw hydrothermal biochar under different reaction conditions[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2023, 52(5): 170-180 (in Chinese)
- [5] 吕贝贝, 张贵云, 张丽萍, 刘珍, 范巧兰, 姚众. 生物炭制备技术研究进展[J]. 河北农业科学, 2019, 23(5): 95-98
- Lv B B, Zhang G Y, Zhang L P, Liu Z, Fan Q L, Yao Z. Research progress of biochar preparation technology [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2019, 23(5): 95-98 (in Chinese)
- [6] 吴艳姣, 李伟, 吴琼, 刘守新. 水热炭的制备、性质及应用[J]. 化学进展, 2016, 28(1): 121-130
- Wu Y J, Li W, Wu Q, Liu S X. Preparation, properties and applications of hydrochar[J]. *Progress in Chemistry*, 2016, 28(1): 121-130 (in Chinese)
- [7] 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 X X, Fang L P, Zhang T P, 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)
- [8] 张旭, 宋雪英, 由明超, 张慧钰, 赵晓旭. 设施菜地土壤重金属污染源解析技术研究进展[J]. 生态科学, 2024, 43(1): 211-217
- Zhang X, Song X Y, You M C, Zhang H Y, Zhao X X. Research advances in the source apportionment techniques of heavy metal pollution in soil of greenhouse vegetable fields[J]. *Ecological Science*, 2024, 43(1): 211-217 (in Chinese)
- [9] 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 W H, Liu J, Zhang N M M, Zhang Y J, Hao K W, Ren L J, 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)
- [10] Mitra S, Pramanik K, Ghosh P K, Soren T, Sarkar A, Dey R S, Pandey S, Maiti T K. 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
- [11] 宫磊, 贾通通, 王在钊, 耿风华. 瓜子皮、茶叶、树叶和核桃壳的水热炭化产物及机理[J]. 青岛科技大学学报: 自然科学版, 2018, 39(1): 22-28
- Gong L, Jia T T, Wang Z Z, Geng F H. Biomass product after hydrothermal carbonization and its mechanism of melon skin, tea, leaves and walnut shells [J]. *Journal of Qingdao University of Science and Technology: Natural Science Edition*, 2018, 39(1): 22-28 (in Chinese)
- [12] Basumatary V, Saikia R, Narzari R, Bordoloi N, Gogoi L, Sut D, Bhuyan N, Kataki R. Tea factory waste as a feedstock for thermo-chemical conversion to biofuel and biomaterial[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2018, 5(11): 23413-23422
- [13] Zhang L Y, Jing Y M, Xiang Y Z, Zhang R D, Lu H B. 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
- [14] Zhou X, Chen Z H, Li Z R, Wu H M. 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
- [15] Ma L L, Hu T, Liu Y C, Liu J, Wang Y Y, Wang P Z, Zhou J Y, Chen M Y, Yang B, Li L L. 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
- [16] 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 Z J, He Y H, Shi W S, Lu S N, Kong Z Y, 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)
- [17] Yin D X, Niu L L, Liu J, Yang R, Han B, Liu Z Y, Han Y H, Zhao X L. Cadmium-resistant bacterium *Ralstonia* sp. YDR alleviated Cd toxicity in rice seedlings by enhancing antioxidant defense and inhibiting Cd²⁺ influx and H⁺ efflux[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2024, 34: 103614
- [18] Huang J Q, Liu C W, Price G W, Li Y C, Wang Y X. Identification of a novel heavy metal resistant *Ralstonia* strain and its growth response to cadmium exposure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125942
- [19] 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 J Q, Ye J, Li Y C, Liu C W, Wang Y X. Removal efficiency and mechanism of heavy metal lead(Pb) by *Ralstonia beul-1* in soil[J]. *Journal of Subtropical Resources and Environment*, 2022, 17(1): 29-35 (in Chinese)
- [20] Huang J Q, Ye J, Gao W H, Liu C W, Price G W, Li Y C, Wang Y X. 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
- [21] 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 J Q, Lai Y X, Weng B Q, Ye J, Liu C W, Wang Y X. 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)
- [22] 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: 中华人民共和国生态环境部, 2018
- GB 15618—2018. Soil environmental quality: Risk control standard for soil contamination of agricultural land (Trial version)[S]. Beijing: Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, 2018 (in Chinese)
- [23] 袁国军, 卢绍辉, 梅象信, 庞荣丽. 农用地土壤污染风险管控标准延伸理解及其评价标准现状分析[J]. 中国农学通报, 2020, 36(2): 84-89
- Yuan G J, Lu S H, Mei X X, Pang R L. Extended understanding of soil pollution risk management standards for agricultural lands and the status of evaluation standards[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(2): 84-89 (in Chinese)

- [24] 李晓菲. 一种土壤中缓效钾测定的改进方法[J]. 中国土壤与肥料, 2023, (2): 242-244
- Li X F. An improved method for determination of non-exchangeable potassium content in soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023, (2): 242-244 (in Chinese)
- [25] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 第2版. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
- Lu R K. *Chemical Analysis Methodes of Soil Agriculture* [M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000 (in Chinese)
- [26] 高凯芳, 简敏菲, 余厚平, 陈朴青, 谢永琛, 于培德. 裂解温度对稻秆与稻壳制备生物炭表面官能团的影响[J]. 环境化学, 2016, 35(8): 1663-1669
- Gao K F, Jian M F, Yu H P, Cheng P Q, Xie Y C, Yu P D. Effects of pyrolysis temperatures on the biochars and its surface functional groups made from rice straw and rice husk[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(8): 1663-1669 (in Chinese)
- [27] 邢献军, 范方宇, 施苏薇, 张贤文, 马培勇, 李永玲. 锯末水热生物炭特征研究[J]. 太阳能学报, 2018, 39(2): 299-306
- Xing X J, Fan F Y, Shi S W, Zhang X W, Ma P Y, Li Y L. Feature research of hydrothermal biochar from sawdust[J]. *Acta Energiæ Solaris Sinica*, 2018, 39(2): 299-306 (in Chinese)
- [28] 刘赛男. 生物炭影响土壤磷素、钾素有效性的微生态机制[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016
- Liu S N. Microecological mechanism of biochar affecting the availability of phosphorus and potassium in soil[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [29] Li X, Li X F, Li Y Y, Dai X Z, Zhang Q Z, Zhang M, Zhang Z Q, Tao Y, Chen W C, Zhang M X, Zhou X Y, Yang S, Ma Y Q, Zhan M, Zou X X. Improved immobilization of soil cadmium by regulating soil characteristics and microbial community through reductive soil disinfection[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 778: 146222
- [30] Zhang Z M, Yan J, Han X Z, Zou W X, Chen X, Lu X C, Feng Y T. Labile organic carbon fractions drive soil microbial communities after long-term fertilization[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2021, 32: e01867
- [31] Porru S, Esplugues A, Llop S, Delgado-Saborit J M. The effects of heavy metal exposure on brain and gut microbiota: A systematic review of animal studies[J]. *Environmental Pollution*, 2024, 348: 123732
- [32] Wang D D, Sun T T, Zhao S Y, Pan L M, Liu H F, Tian X L. Physiological change alters endophytic bacterial community in clubroot of tumorous stem mustard infected by *Plasmodiophora brassicae* [J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 244
- [33] Caldeira J B, Chung A P, Morais P V, Branco R. Relevance of FeoAB system in *Rhodanobacter* sp. B2A1Ga4 resistance to heavy metals, aluminium, gallium, and indium[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(8): 3301-3314
- [34] Zhen Z, Wang S B, Luo S W, Ren L, Liang Y Q, Yang R C, Li Y T, Zhang Y Q, Deng S Q, Zou L N, Lin Z, Zhang D Y. Significant impacts of both total amount and availability of heavy metals on the functions and assembly of soil microbial communities in different land use patterns[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2293
- [35] Rees F, Dhyèvre A, Morel J L, Cotel S. Decrease in the genotoxicity of metal-contaminated soils with biochar amendments [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2017, 24(36): 27634-27641
- [36] Cheng C H, Lehmann J, Thies J E, Burton S D, Engelhard M H. Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes[J]. *Organic Geochemistry*, 2006, 37(11): 1477-1488
- [37] Schommer V A, Vanin A P, Nazari M T, Ferrari V, Dettmer A, Colla L M, Piccin J S. Biochar-immobilized *Bacillus* spp. for heavy metals bioremediation: A review on immobilization techniques, bioremediation mechanisms and effects on soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 881: 163385.
- [38] Xin X, Liu S Q, Qin J W, Ye Z X, Liu W, Fang S H, Yang J. Performances of simultaneous enhanced removal of nitrogen and phosphorus via biological aerated filter with biochar as fillers under low dissolved oxygen for digested swine wastewater treatment[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2021, 44(8): 1741-1753
- [39] 王雅君, 李珊珊, 姚宗路, 赵立欣, 邱凌. 生物炭生产工艺与还田效果研究进展[J]. 现代化工, 2017, 37(5): 17-20
- Wang Y J, Li S S, Yao Z L, Zhao L X, Qiu L. Study advances regarding production technology of biochar and effects of its returning to field[J]. *Modern Chemical Industry*, 2017, 37(5): 17-20 (in Chinese)
- [40] van Zwieten L, Kimber S, Morris S, Chan K Y, Downie A, Rust J, Joseph S, Cowie A. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility[J]. *Plant and Soil*, 2010, 327(1): 235-246
- [41] 林婉婷, 夏建国, 肖欣娟, 李祥羽, 王湘怡. 不同热解温度茶渣生物质炭对茶园土壤吸附解吸 NH_4^+ -N 的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(6): 326-331
- Lin W P, Xia J G, Xiao X J, Li X Y, Wang X Y. Effect of NH_4^+ -N adsorption-desorption by tea residue biochar prepared at different pyrolysis temperatures in tea plantation soil [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2019, 33(6): 326-331 (in Chinese)
- [42] 何国兴, 宋建超, 温雅洁, 刘彩婷, 祁娟. 不同根瘤菌肥对紫花苜蓿生产力及土壤肥力的综合影响[J]. 草业学报, 2020, 29(5): 109-120
- He G X, Song J C, Wen Y J, Liu C T, Qi J. Effects of different *Rhizobium* fertilizers on alfalfa productivity and soil fertility [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(5): 109-120 (in Chinese)
- [43] 雷宏军, 肖哲元, 张振华, 金翠翠, 潘红卫, 孙克平, 席海鹏. 水氮耦合氧灌对温室辣椒土壤肥力及细菌群落的影响[J]. 农业工程学报, 2021, 37(1): 158-166
- Lei H J, Xiao Z Y, Zhang Z H, Jin C C, Pan H W, Sun K P, Xi H P. Effects of oxygen and nitrogen coupled irrigation on soil fertility and bacterial community under greenhouse pepper cropping system [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(1): 158-166 (in Chinese)
- [44] 刘莹, 杨岩松, 刘晓乐, 李翠萍, 明慧琳, 惠麦侠, 赵志国. 增施微生物菌肥对结球甘蓝产量、品质、抗氧化酶活性及土壤肥力的影响[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(6): 13-25
- Liu Y, Yang Y S, Liu X L, Li C P, Ming H L, Hui M X, Zhao Z G. Effects of microbial fertilizer on the yield, quality and antioxidant activity of cabbage, and soil fertility[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(6): 13-25 (in Chinese)
- [45] 李雪菲, 靳拓, 张凯, 严昌荣, 丁超武, 刘勤. 微生物菌剂对设施辣椒秸秆原位堆肥土壤理化性质及细菌群落的影响[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(10): 33-43
- Li X F, Jin T, Zhang K, Yan C R, Ding C W, Liu Q. Effects of microbial agents on the physical and chemical properties and bacterial community of pepper straw in situ composting soil [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2022, 27(10): 33-43 (in Chinese)
- [46] 郜礼阳, 林威鹏, 张凤姬, 周巧仪, 刘淑娟, 熊蔓, 凌彩金. 生物炭对酸性土壤改良的研究进展[J]. 广东农业科学, 2021, 48(1): 35-44
- Gao L Y, Lin W P, Zhang F J, Zhou Q Y, Liu S M, Xiong M, Ling C J. Research progress of biochar in improving soil acidification [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2021, 48(1): 35-44 (in Chinese)

[47] 张国言,董元杰,孙桂阳,于滨,徐珂. 复合菌剂对兔粪堆肥碳氮转化与损失的影响[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(11): 153-165

Zhang G Y, Dong Y J, Sun G Y, Yu B, Xu K. Effects of compound bacterial inoculant on the conversion and loss of carbon and nitrogen during rabbit

manure composting[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2022, 27(11): 153-165 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东



第一作者简介: 黄家庆,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。主要从事土壤改良和功能菌鉴定等研究。主持农业农村厅耕地质量提升项目、福建省自然科学基金面上项目、福建省公益类项目等研究课题10余项。在 *Journal of Hazardous Materials*、*Science of the Total Environment*、《应用与环境生物学报》、《微生物学通报》、《中国土壤与肥料》等期刊以第一作者发表学术论文15余篇。



通讯作者简介: 王义祥,博士,研究员,现任福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 *Journal of Hazardous Materials*、*Science of the Total Environment*、*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。