



文章栏目：土壤污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202106029

中图分类号 X53

文献标识码 A

叶俊沛, 陈楠, 张盼月, 等. 生物炭促进硫诱导土著硫杆菌调控土壤铅形态[J]. 环境工程学报, 2021, 15(10): 3270-3278.
YE Junpei, CHEN Nan, ZHANG Panyue, et al. Biochar promotes the regulation of fraction distribution of soil lead by sulfur-induced indigenous *Thiobacillus*[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(10): 3270-3278.

生物炭促进硫诱导土著硫杆菌调控土壤铅形态

叶俊沛^{1,2,3,4}, 陈楠¹, 张盼月^{2,✉}, 蔡雅静², 杨卓越², 常建宁², 朱桂芬^{1,3,4}

1. 河南师范大学环境学院, 新乡 453007
2. 北京林业大学环境科学与工程学院, 北京 100083
3. 黄淮水环境与污染防治教育部重点实验室, 新乡 453007
4. 河南省环境污染控制重点实验室, 新乡 453007

第一作者: 叶俊沛(1989—), 男, 博士, 讲师。研究方向: 土壤污染修复。E-mail: yjp1989777@163.com

✉通信作者: 张盼月(1967—), 男, 博士, 教授。研究方向: 土壤污染修复与固废资源化。E-mail: panyue_zhang@bjfu.edu.cn

摘要 外源硫杆菌可以促进植物修复重金属污染土壤, 然而硫杆菌对土壤中铅的活化作用机理尚不明确。通过土培实验, 研究了单质硫和生物炭对土著硫杆菌的诱导作用和对土壤铅形态的作用机理。结果表明, 单质硫能够诱导并富集土壤中的土著硫杆菌, 相对丰度从 0.02% 增加至 6.99%。生物炭促进了诱导作用, 添加生物炭和单质硫, 硫杆菌相对丰度增加至 13.33%。同时添加 3%(质量分数) 生物炭和 0.5%(质量分数) 单质硫培养 60 d 后, 土壤 pH 从 7.83 降低至 6.64, Eh 先降低至 230 mV, 后逐渐增加至 299 mV; 有机碳从 19.40 g·kg⁻¹ 增加至 28.29 g·kg⁻¹; 土壤中铅由可还原态向酸可溶态、可氧化态和残渣态转变, 可还原态铅减少了 20.13%, 酸可溶态、可氧化态和残渣态分别增加了 53.76%、35.29% 和 69.40%。单质硫和生物炭能够富集土著硫杆菌, 提高铅的生物有效性, 同时对部分铅起到钝化固定作用。本研究可为提高土壤中铅的生物有效性以促进植物修复铅污染土壤提供参考。

关键词 铅污染土壤; 硫杆菌; 生物炭; 重金属形态; 生物有效性

全球每年铅消费量约为 5×10^6 t, 而回收利用的铅约占其 25%, 故导致大量的铅进入土壤造成污染^[1]。2014 年发布的《全国土壤污染状况调查公报》^[2] 显示, 有 1.5% 的点位铅超标。土壤中的铅可通过食物链和接触进入人体, 会对神经系统和造血系统等造成危害^[3]。铅污染土壤修复技术包括化学、物理、生物和联合修复技术, 其中植物修复作为一种有效、经济和绿色的修复技术, 并得到了广泛的研究与应用。受植物生长和土壤中铅生物有效性的限制, 植物修复存在速度缓慢的问题。铅的生物有效性与铅赋存形态相关。采用 BCR 连续提取法可以将土壤中铅分为: 酸可溶态、可还原态、可氧化态和残渣态。酸可溶态具有生物有效性; 可还原态和可氧化态在一定条件下可以转化为酸可溶态, 具有潜在的生物有效性; 残渣态被认为是比较稳定的状态, 在自然条件下难以被植物吸收^[4]。将土壤中不稳定的铅转变为酸可溶态, 可以有效提高土壤铅的生物有效性,

收稿日期: 2021-06-07; 录用日期: 2021-09-26

基金项目: 河南师范大学博士科研启动项目(5101219170148); 河南省高校科技创新团队(20IRTSTHN011); 河南师范大学优秀科技创新团队(2021TD06); 河南省科技厅科技攻关计划项目(212102310528)

促进植物修复。

Thiobacillus(硫杆菌)是一种硫自养细菌。近年来,通过筛选 *Thiobacillus* 并促进植物修复铅污染土壤的研究逐步得到了关注^[5-8]。然而,相关研究关注外源 *Thiobacillus* 的筛选以及对植物富集过程的促进, *Thiobacillus* 对土壤微生物群落影响以及土壤铅的形态的影响机制尚不明确。

生物炭发达的孔隙结构能够为微生物提供生存位点,提高土壤微生物活性,吸附并提供微生物所需的营养物质,为微生物提供有利的生长环境^[9-10]。YE 等^[6]于 550 °C 下制备改性生物炭,添加 3%(质量分数)改性生物炭到铅污染土壤后,生物炭能够有效富集外源 *Thiobacillus*,提高铅的生物有效性。因此,通过硫诱导富集土壤土著 *Thiobacillus*,采用生物炭促进 *Thiobacillus* 调控土壤铅形态,提高铅生物有效性具有一定的可行性。

本研究基于 *Thiobacillus* 生物特性,通过单质硫诱导土壤中 *Thiobacillus* 富集,以调节土壤铅形态;以家具厂废料木屑为原料,制备生物炭,促进 *Thiobacillus* 的富集,强化 *Thiobacillus* 对土壤铅形态的调节作用。本研究旨在考察生物炭和硫对土壤微生物群落结构和土壤理化特性的影响,探明 *Thiobacillus* 对土壤重金属赋存形态作用机理,以期为促进铅污染土壤的植物修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 模拟铅污染土壤的制备

铅污染土壤取自北京林业大学花棚地表 0~20 cm 土壤,为北方地区常见的褐土。土壤自然风干后过 2 mm 尼龙筛,添加乙酸铅后老化 1 a 后得到模拟铅污染土壤。模拟铅污染土壤性质见表 1。

1.2 生物炭的制备

将来源于北京某家具厂废料木屑,过 20 目筛后,在管式炉中自室温加热至 550 °C,升温速率为 10 °C·min⁻¹;恒温热解 2 h,热解结束后冷却至室温,即为实验所用生物炭。

1.3 土壤培养实验设计

设计空白组 CK,对照组 BC(添加质量分数为 3% 的生物炭)、S 组(添加质量分数 0.5% 的单质硫)和实验组(添加质量分数 0.5% 的单质硫和 3% 的生物炭),每组设置 3 个平行样。每个样本取 500 g 土壤,与生物炭和单质硫混合均匀,在室温下静置培养 60 d。每 2 d 浇 1 次水,控制土壤达到田间持水率的 70%。每 3 d 测试土壤的 pH 和 Eh。实验结束后,测试土壤中铅的形态,分析土壤微生物群落结构,测试土壤全氮(TN)、全磷(TP)和总有机碳(SOC)。

1.4 分析方法

土壤 pH 和 Eh 分别使用 pH 计和 Eh 计测量。土壤铅形态使用改进的 BCR 连续提取法分析^[11]。土壤 TN 采用半微量凯氏定氮法测定, SOC 采用重铬酸钾氧化-分光光度法测定, TP 采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法测定^[6]。生物炭微观形貌使用扫描电镜和 X 射线能谱分析(SEM-EDS)(MERLINCompact, OPTON NTS LIMITED, 德国)分析。土壤官能团使用红外分析仪(VXERTE 70, Germany)分析,扫描范围 4 000~400 cm⁻¹,分辨率 4 cm⁻¹,扫描累计次数 16 次。

土壤微生物群落结构分析。取 0.5 g 土壤,用尼龙筛筛去杂物,使用 E.Z.N.A. DNA 试剂盒对微生物 DNA 进行提取,采用微生物 16S rRNA 基因的 V4 区通用引物对基因组 DNA 进行扩增,扩增引物的序列为: 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和 806R:(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。PCR 扩增产物经纯化和定量操作后,利用 Illumina MiSeq PE250 平台进行扩增子测序。

表 1 铅污染土壤性质

Table 1 Major physicochemical characteristics of Pb-contaminated soil

黏粒/%	粉粒/%	砂粒/%	pH	Eh/mV
22.93	48.94	28.13	7.83	258
全磷/(g·kg ⁻¹)	有机碳/(g·kg ⁻¹)	全氮/(g·kg ⁻¹)	Pb/(mg·kg ⁻¹)	
1.07	19.4	1.15	995.31	

2 结果与讨论

2.1 生物炭和硫对土壤铅形态的影响

如图1所示,土壤培养60 d后,BC组中酸可溶态比CK组降低了7.79%,单独添加生物炭可以钝化土壤中的铅。安梅等^[12]将4种450 °C条件下制备的生物炭,按4%(质量分数)的比例分别进行50 d土培实验,土壤酸可溶态铅下降了2.96%~4.85%。在S组和BCS组中,酸可溶态铅分别增加了30.06%和53.76%,表明添加单质硫可以活化铅并使其向酸可溶态转变,而生物炭能够促进硫对铅的活化。有研究表明,添加负载 $Fe_{1-x}S$ 的生物炭后,土壤中酸可溶态铅增加了47.77%^[6]。S组和BCS组中可氧化态比CK组分别增加了20.07%和35.29%,残渣态分别增加了31.69%和69.40%。添加单质硫可使土壤中可还原态铅向酸可溶态、可氧化态和残渣态转变。土壤中重金属的酸可溶态与生物有效性呈正相关^[13],因此,单质硫可以提高铅的生物有效性,促进植物修复铅污染土壤;同时,增加生物有效性较低的可氧化态和残渣态而起到钝化作用。因此,生物炭的添加则促进了硫对土壤铅形态的作用。

2.2 生物炭和硫对土壤硫杆菌的诱导作用

生物炭的微观形貌及表面元素分布见图2。生物炭表面光滑,保存有大量直径约10 μm 的管状

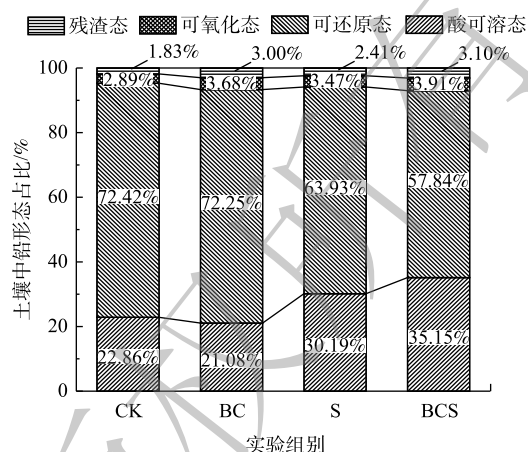
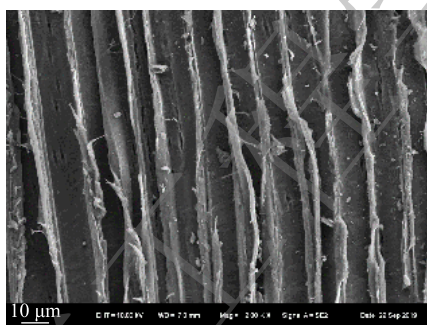
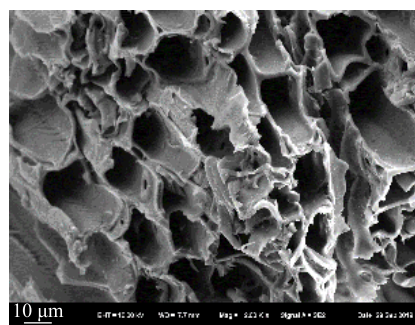


图1 生物炭和硫对土壤铅形态的影响

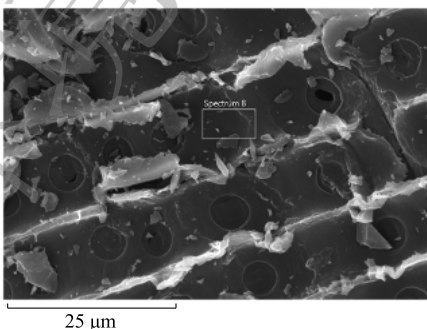
Fig. 1 Effects of biochar and sulfur on distribution of Pb fractions



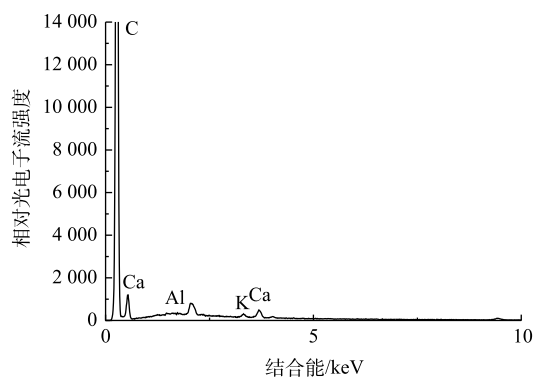
(a) 生物炭管状孔隙结构($\times 2000$)



(b) 生物炭管状孔隙结构($\times 2000$)



(c) 生物炭SEM图



(d) 生物炭EDS图

图2 BC550的SEM-EDS图

Fig. 2 SEM-EDS images of BC550

孔结构，孔径分布均匀紧密，结构发达(图 2(a)~2(b))。由 EDS 图(图 2(c)~2(d))可知，生物炭表面分布 K 和 Ca 等元素。生物炭的多孔结构能够为微生物提供更多的生存位点和较大的附着空间，并提供必需的营养盐，能够促进土壤中 *Thiobacillus* 等微生物的富集。

对土壤微生物群落结构进行了分析，土壤样本的微生物多样性指数见表 2。CK 组、S 组和 BCS 组的 Coverage 指数均大于 0.99，这说明样本中 DNA 序列检出概率较高，测序深度合适，满足微生物多样性分析的要求。Chao 1 和 Ace 指数表征微生物丰度，Shannon 指数反应微生物多样性，Simpson 指数反映微生物物种的优势度。S 组和 BCS 组的 Chao 1、Ace 和 Shannon 指数均比 CK 组有所降低，这表明土壤中微生物多样性有所下降。CK 组的 Simpson 指数为 0.014，S 和 BCS 组的 Simpson 指数分别增加至 0.021 和 0.029，这表明施加单质硫和生物炭后，土壤中出现明显的优势物种。

土壤微生物在属水平上的分布见图 3。3 个样本中共检测出 601 个属的微生物分类，对其中相对丰度大于 1% 的属进行统计，小于 1% 的属归为 others。CK 组和 S 组中 *Thiobacillus* 的相对丰度分别为 0.02% 和 6.99%。*Thiobacillus* 是化能异养细菌，通过氧化硫和硫化物生长^[14]。单质硫能诱导土壤中土著 *Thiobacillus* 的富集。*Thiobacillus* 成为土壤中的优势物种，在 *Thiobacillus* 的作用下，土壤中酸可溶态铅的增加^[5,7]。*Thiobacillus* 富集过程中的生物成矿作用形成稳定的黄钾铁矾，铅通过共沉淀作用进入黄钾铁矾晶格中，导致土壤残渣态铅的增加(图 1)^[6]。

表 2 土壤微生物多样性指数

Table 2 Bacterial diversity indices of soils

实验组别	Shannon	Simpson	Ace	Chao 1	Coverage
CK	4.87	0.014	576.82	575.50	0.999 067
S	4.61	0.021	576.04	568.33	0.998 725
BCS	4.53	0.029	531.81	522.65	0.998 663

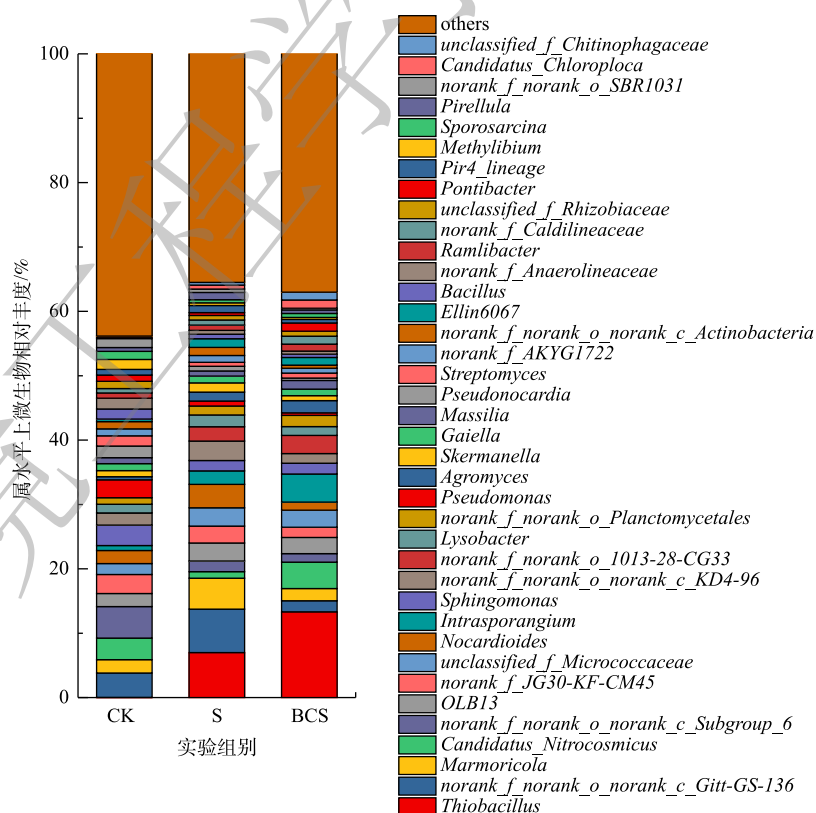


图 3 属水平上土壤微生物群落结构分布

Fig. 3 Taxonomic compositions of bacterial communities in soil at genus level

BCS组中, *Thiobacillus* 的相对丰度达到了13.33%, 比S组中增加了90.70%。生物炭的添加促进了硫对土著 *Thiobacillus* 的诱导富集作用。生物炭能够调节土壤微生物丰度, 影响微生物群落结构^[15], 负载 Fe_{1-x}S 的生物炭能够诱导土壤中 *Thiobacillus* 的相对丰度从0.06%增加至25.63%^[6]。活性炭能够吸附土壤中的 *Thiobacillus* 并促进其富集^[16], 而生物炭与活性炭多孔结构类似, 对 *Thiobacillus* 具有吸附富集作用。本研究中制备的木屑生物炭(图2)表面光滑, 具有大量分布均匀密集的管状孔隙结构, 表面主要元素为K、Ca等, 与普通生物炭结构类似。因此, 其主要通过为 *Thiobacillus* 等微生物提供大量的生存位点和必需的营养盐物质, 促进单质硫诱导的 *Thiobacillus* 的富集。此外, *Candidatus_Chloroploca* 也是一种硫氧化细菌^[17], 在CK组、S组和BCS组中相对丰度分别为0.25%、0.62%和1.28%。单质硫和生物炭显著提高了土壤中 *Candidatus_Chloroploca* 的相对丰度。因此, 单质硫能够诱导土壤硫氧化细菌富集, 生物炭则促进了该诱导作用, 并且单质硫和生物炭对 *Thiobacillus* 的富集作用更显著。

Candidatus_Nitrocosmicus 是土壤硝化细菌, 具有氨氧化能力^[18]。CK组、S组和BCS组中 *Candidatus_Nitrocosmicus* 的相对丰度分别为3.34%、1.00%和4.09%。*Pseudomonas* 是异养硝化-好氧反硝化菌^[19], *Pseudomonas* 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率可达到96.72%、91.40%和97.14%^[20]。CK组、S组和BCS组中 *Pseudomonas* 的相对丰度分别为2.77%、0.76%和0.39%。土壤中硝化细菌的相对丰度总体明显降低。抑制土壤硝化作用是降低氮淋失和提高氮肥利用率的有效手段^[21], 硫单质和生物炭能部分抑制土壤硝化细菌, 具有潜在的抑制土壤硝化作用。

CK组中, *Agromyces* 相对丰度为0.49%, S组和BCS组中 *Agromyces* 相对丰度分别增加至1.39%和1.90%。CK组中 *Skermanella* 的相对丰度为0.95%, S组和BCS组中 *Skermanella* 的相对丰度分别为1.43%和0.79%。*Agromyces* 和 *Skermanella* 的相对丰度随土壤铅的添加浓度增加而增加^[22], 添加单质硫后, 土壤中酸可溶态铅增加导致生物有效态铅增加, 导致 *Agromyces* 和 *Skermanella* 的相对丰度增加。

CK组中, *Sporosarcina* 相对丰度为1.24%, S组和BCS组中 *Sporosarcina* 的相对丰度分别降低至0.49%和0.61%。*Sporosarcina* 能够诱导碳酸钙沉积, 提高土壤pH, 降低土壤中生物有效态铅^[23]。S组和BCS组中酸可溶态铅增加(图1), 导致 *Sporosarcina* 相对丰度降低。

土壤微生物群落 PCoA 分析结果见图4。可以看出, 3个样本的分别聚类于不同象限, 这说明单质硫和生物炭对土壤微生物群落结构影响较大。对照处理均处于 PCoA1 的右侧, PCoA1 主坐标成分的影响最大, 可解释69.8%的变异。PCoA2 的解释方差分别为69.8%和30.2%, 累积解释总方差为100%。这说明, 硫和生物炭的添加对根际土壤细菌群落结构的主导因子较明显。

2.3 生物炭和硫对土壤铅形态的作用机理

1) 土壤pH和Eh。土壤pH变化见图5。CK组仅浇水保持水分, pH保持不变。BC组的pH从7.83增加至7.91, 培养第6天后, pH逐渐降低并保持稳定。生物炭具有较高的pH, 能够提高土壤pH^[24]。S组和BCS组中, 土壤pH在0~9d迅速降低后, 降低趋势减弱并最终趋于稳定, 60d后S组和BCS组的pH分别降低至6.94和6.64。Pb在土壤中酸可溶态和生物有效态都与pH呈负相关^[25-26]。H⁺与土壤中碳酸盐、氢氧化物、黏土矿物和铁锰氧化物等颗粒表面吸附的Pb²⁺发生竞争

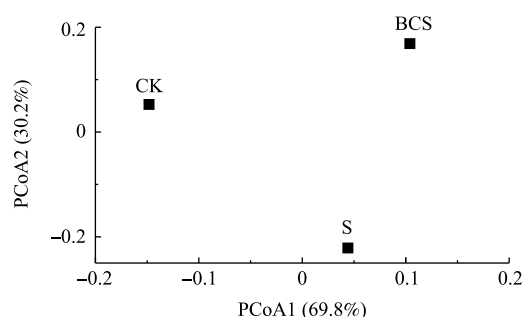
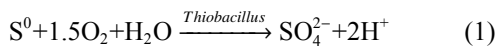


图4 微生物群落 PCoA 分析

Fig. 4 PCoA analysis of microbial communities

吸附，因此，pH 的降低导致酸可溶态 Pb 的增加^[27]。单质硫可诱导土壤中硫氧化细菌 *Thiobacillus* 和 *Candidatus_Chloroploca* 富集(图3)。*Thiobacillus* 对单质硫的氧化过程见式 (1)^[14]，随着单质硫的生物氧化，土壤 pH 随之降低。生物炭可促进 *Thiobacillus* 在土壤中的富集，进而促进了 BCS 组中硫的氧化与土壤 pH 的降低，造成酸可溶态铅的增加。同时，单质硫的生物氧化生成 SO_4^{2-} ，形成微溶于水的 $PbSO_4$ ，导致 B 组和 BCS 组中可氧化态 Pb 的增加(图 1)^[28]。



土壤 Eh 直接体现土壤氧化还原能力，土壤 Eh 变化见图 6。CK 组的 Eh 稳定在 258~267 mV。BC 组的 Eh 直接降低至 230 mV 后逐渐降低，60 d 后稳定在 220 mV。S 组和 BCS 组的 Eh 在第 1 天分别降低至 180 和 172 mV，之后 Eh 逐渐升高。土壤中可还原态铅主要以铁锰氧化物结合态存在，土壤 Eh 的降低会导致铁锰氧化物的分解，使可还原态降低，酸可溶态增加^[27]。Eh 升高可导致土壤中以硫化物和有机结合态存在的可氧化态铅的释放^[29]。土壤 Eh 降低与升高导致河滩、潮滩等土壤中多种重金属的迁移与释放^[30-31]。单质硫和生物炭的添加，直接降低了土壤 Eh，导致可还原态铅的减少和酸可溶态铅的增加。单质硫可诱导 *Thiobacillus* 和 *Candidatus_Chloroploca* 富集，生物炭促进了 *Thiobacillus* 的富集作用。*Thiobacillus* 对硫的氧化作用会造成土壤 Eh 升高^[6]。因此，单质硫和生物炭的共同作用，导致土壤 Eh 的先降低后升高，造成土壤中可还原态铅的减少，酸可溶态和可氧化态铅的增加。

2) 土壤 FT-IR 光谱分析。BCS 组土培实验前后的土壤和 CK 组土壤红外光谱见图 7。1 626 cm^{-1} 处的吸收峰归属于土壤有机质^[32]，土培实验 60 d 后，BCS-60 中 1 626 cm^{-1} 处吸收峰增强，表明土壤有机质增加。土壤有机质与可氧化态铅呈正相关^[41]，生物炭和硫的添加导致土壤有机质增加，造成可氧化态铅从 2.89% 增加至 3.91%(图 1)。1 445 和 875 cm^{-1} 处吸收峰归属于 CO_3^{2-} 的反对称伸缩振动峰^[33]，对比 CK 和 BCS，土培实验 60 d 后，BCS-60 中这 2 处吸收峰降低，这说明土壤碳酸盐减少。土培实验过程中，单质硫和生物炭富集了土壤中土著 *Thiobacillus*(图 3)，而 *Thiobacillus* 是以 CO_2 和 CO_3^{2-} 为碳源的硫自养微生物，其生物氧化作用造成土壤 pH 降低，进而造成土壤碳酸

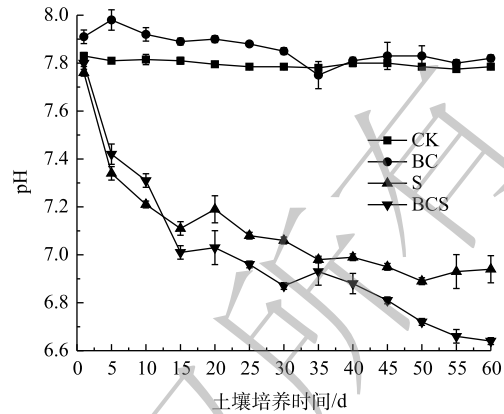


图 5 生物炭和单质硫对土壤 pH 的作用
Fig. 5 Effect of biochar and sulfur on soil pH

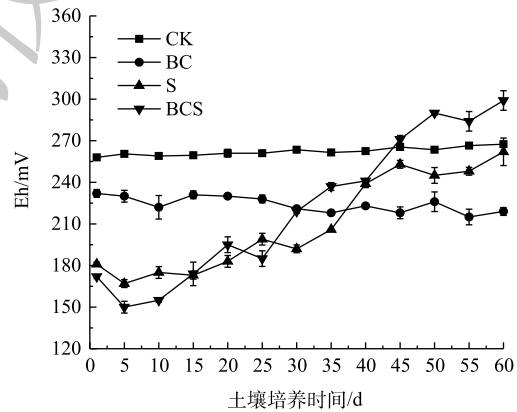


图 6 生物炭和单质硫对土壤 Eh 的影响
Fig. 6 Effects of biochar and sulfur on soil Eh

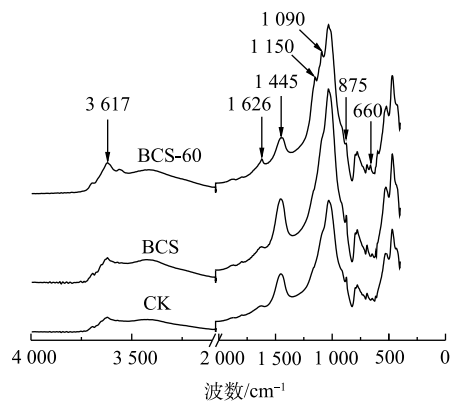


图 7 土培实验期间土壤红外光谱
Fig. 7 FT-IR spectra of soil during pot experiment

盐分解, 碳酸盐等表面吸附的 Pb^{2+} 发生解吸, 导致酸可溶态 Pb 的增加 (图 1)^[27]。1 150、1 090 和 660 cm^{-1} 处吸收峰归属于 SO_4^{2-} 吸收峰^[34-35], BCS-60 中 SO_4^{2-} 吸收峰的出现表明单质硫被 *Thiobacillus* 生物氧化形成 SO_4^{2-} 。 SO_4^{2-} 与土壤中 Pb^{2+} 形成微溶的 $PbSO_4$, 造成土壤可氧化态铅增加^[6]。

3) 土壤营养成分变化。土培实验 60 d 后, 土壤 SOC、TN 和 TP 的质量分数见表 3。CK 组中 TN、SOC 和 TP 基本保持不变。BC 组的 TN 和 TP 对比 CK 基本保持不变, SOC 增加了 46.17%。生物炭含有丰富的有机质, 添加生物炭可以增加土壤有机碳^[36]。单质硫的添加可促进土壤 SOC 的增加, S 组中 SOC 增加了 5.50%。水稻田中添加单质硫后, 土壤可溶性有机碳增加了 6.20%~14.23%^[37]。*Thiobacillus* 以 CO_2 等为碳源, 单质硫可诱导 *Thiobacillus* 富集, 相对丰度从 0.02% 增加至 6.99%(图 3), 这可能导致土壤 SOC 增加。在 BCS 组中, SOC 增加了 46.05%。添加硫和生物炭能够提高土壤 SOC 质量, 土壤有机质能通过吸附、整合等作用降低土壤铅的生物有效性, 增加可氧化态铅含量^[38], 因此, BC 组和 BCS 组中可氧化态铅分别增加了 27.34% 和 35.29%。

表 3 各实验组土壤养分
Table 3 Nutrient content of the soil

实验组别	TN/(g·kg ⁻¹)	SOC/(g·kg ⁻¹)	TP/(g·kg ⁻¹)	C/N	C/P
CK	1.132	19.371	1.05	17.11	18.45
BC	1.254	28.315	1.15	22.58	24.62
S	1.142	20.436	0.98	17.89	20.85
BCS	1.259	28.291	1.16	22.47	24.39

添加生物炭后, BC 组和 BCS 组中 TN 分别增加了 10.78% 和 11.22%, 而添加单质硫对土壤总氮影响不大。BC 组和 BCS 组中总磷分别增加了 9.52% 和 10.48%。生物炭中含有磷, 能够吸附和缓释氮和磷, 能够提高土壤肥力和减少氮磷淋失^[39]。

3 结论

1) 单质硫能够诱导土壤土著 *Thiobacillus* 的富集, 无需接种外源 *Thiobacillus*。生物炭促进了诱导过程, 同时添加生物炭和硫, 土壤中 *Thiobacillus* 的相对丰度从 0.02% 增加至 13.33%。硫和生物炭具有潜在的抑制土壤硝化细菌、降低氮淋失和提高氮肥利用率作用。

2) 在单质硫和生物炭的作用下, 土壤中铅分别从可还原态向生物有效性高的酸可溶态转变, 以及向生物有效性低的可氧化态和残渣态转变。铅形态的变化, 能够在促进植物修复的同时, 对部分铅进行稳定化, 提高修复效率。

3) 添加生物炭和硫后, 土壤 pH 降低, Eh 先降低后逐渐升高, 土壤有机质增加了 46.17%, pH、Eh、有机碳以及 *Thiobacillus* 的协同作用改变了土壤中的铅形态。

参考文献

- [1] 姜宇. 耐铅微生物与景观植物协同修复铅污染土壤研究[D]. 合肥: 安徽建筑大学, 2019
- [2] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. [2021-06-05]. http://www.gov.cn/xinwen/2014-04/17/content_2661765.htm.
- [3] LI P Z, LIN C Y, CHENG H G, et al. Contamination and health risks of soil heavy metals around a lead/zinc smelter in southwestern China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 113: 391-399.
- [4] 唐文忠, 孙柳, 单保庆. 土壤/沉积物中重金属生物有效性和生物可利用性的研究进展[J]. *环境工程学报*, 2019, 13(8): 1775-1790.
- [5] MANI D, KUMAR C, PATEL N K. Integrated micro-biochemical approach for phytoremediation of cadmium and lead contaminated soils using *Gladiolus grandiflorus* L cut flower[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 124: 435-446.

- [6] YE J P, LIAO W M, ZHANG P Y, et al. Fe₃S₂/biochar combined with *thiobacillus* enhancing lead phytoavailability in contaminated soil: Preparation of biochar, enrichment of *thiobacillus* and their function on soil lead[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 267: 115447.
- [7] MISHRA R, DATTA S P, ANNAPURNA K, et al. Enhancing the effectiveness of zinc, cadmium, and lead phytoextraction in polluted soils by using amendments and microorganisms[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(17): 17224-17235.
- [8] KESHAVARZ S, GHASEMI-FASAEI R, RONAGHI A, et al. Innovative assisted phytoremediation of multi-elements contaminated soil by ryegrass: An electro-bio-chemical approach[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21: 2604-2618.
- [9] KONG L J, XIONG Y, TIAN S H, et al. Preparation and characterization of a hierarchical porous char from sewage sludge with superior adsorption capacity for toluene by a new two-step pore-fabricating process[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146: 457-462.
- [10] 李琦, 王雅璇, 罗廷, 等. 利用生物炭负载微生物修复石油烃-铜复合污染土壤[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(2): 677-687.
- [11] PEREZ-MORENO S M, GAZQUEZ M J, PEREZ-LOPEZ R, et al. Validation of the BCR sequential extraction procedure for natural radionuclides[J]. *Chemosphere*, 2018, 198: 397-408.
- [12] 安梅, 董丽, 张磊, 等. 不同种类生物炭对土壤重金属镉铅形态分布的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(5): 892-898.
- [13] JIN Y, LIU W, LI X L, et al. Nano-hydroxyapatite immobilized lead and enhanced plant growth of ryegrass in a contaminated soil[J]. *Ecological Engineering*, 2016, 95: 25-29.
- [14] PANDA S, AKCIL A, PRADHAN N, et al. Current scenario of chalcopyrite bioleaching: A review on the recent advances to its heap-leach technology[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 694-706.
- [15] IGALAVITHANA A D, LEE S E, LEE Y H, et al. Heavy metal immobilization and microbial community abundance by vegetable waste and pine cone biochar of agricultural soils[J]. *Chemosphere*, 2017, 174: 593-603.
- [16] BONAGLIA S, BROMAN E, BRINDEFALK B, et al. Activated carbon stimulates microbial diversity and PAH biodegradation under anaerobic conditions in oil-polluted sediments[J]. *Chemosphere*, 2020, 248: 126023.
- [17] GORLENKO V M, BRYANTSEVA I A, KALASHNIKOV A M, et al. *Candidatus* 'Chloroploca asiatica' gen. nov., sp. nov., a new mesophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacterium[J]. *Microbiology*, 2014, 83(6): 838-848.
- [18] 徐如玉, 左明雪, 袁银龙, 等. 氮肥用量优化对甜玉米氮肥吸收利用率及氮循环微生物功能基因的影响[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(12): 2919-2926.
- [19] HE X L, SUN Q, XU T Y, et al. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel halotolerant bacterium *Pseudomonas mendocina* TJPU04[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2019, 42(5): 853-866.
- [20] 胡锦涛, 肖春桥, 邓祥意, 等. 稀土浸矿场土壤异养硝化-好氧硝化菌株K3的分离及脱氮研究[J]. *稀土*, 2021, 42(5): 1-12.
- [21] 刘钰莹, 张妍, 汪哲远, 等. 硝化抑制剂与生物炭配施对水稻土氮素转化及氮肥利用率的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2021, 47(2): 223-232.
- [22] 安凤秋, 吕家琰, 刁展, 等. 铅对壤土细菌群落组成的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(2): 268-275.
- [23] CUAXINQUE-FLORES G, AGUIRRE-NOYOLA J L, HERNANDEZ-FLORES G, et al. Bioimmobilization of toxic metals by precipitation of carbonates using *Sporosarcina luteola*: An in vitro study and application to sulfide-bearing tailings[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 724: 138124.
- [24] 韩宝红, 宋蕾, 李浩, 等. 不同温度条件下稳定剂对沉积物中镉稳定化的影响[J]. *环境科学学报* 2019, 39(8): 2610-2616.
- [25] ZHAI X Q, LI Z W, HUANG B, et al. Remediation of multiple heavy metal-contaminated soil through the combination of soil washing and in situ immobilization[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 635: 92-99.
- [26] WATERLOT C, PRUVOT C, CIESIELSKI H, et al. Effects of a phosphorus amendment and the pH of water used for watering on the mobility and phytoavailability of Cd, Pb and Zn in highly contaminated kitchen garden soils[J]. *Ecological Engineering*, 2011, 37(7): 1081-1093.
- [27] AHARONOV-NADBORNY R, TSECHANSKY L, RAVIV M, et al. Mechanisms governing the leaching of soil metals as a result of disposal of olive mill wastewater on agricultural soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 630: 1115-1123.
- [28] CAO X D, MA L Q, SINGH S P, et al. Phosphate-induced lead immobilization from different lead minerals in soils under varying pH conditions[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 152(1): 184-192.
- [29] 毛凌晨, 叶华. 氧化还原电位对土壤中重金属环境行为的影响研究进展[J]. *环境科学研究*, 2018, 31(10): 1669-1676.
- [30] FROHNE T, RINKLEBE J, DIAZ-BONE R A. Contamination of floodplain soils along the Wupper River, Germany, with As, Co, Cu, Ni, Sb, and Zn and the impact of pre-definite redox variations on the mobility of these elements[J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2014, 23(7): 779-799.
- [31] GUO S H, LIU Z L, LI Q S, et al. Leaching heavy metals from the surface soil of reclaimed tidal flat by alternating seawater inundation and air drying[J]. *Chemosphere*, 2016, 157: 262-270.
- [32] 罗松英, 陈东平, 陈碧珊, 等. 红树林湿地土壤矿物的分析[J]. *分析测试学报*, 2019, 38(7): 823-829.
- [33] LINKER R, SHMULEVICH I, KENNY A, et al. Soil identification and chemometrics for direct determination of nitrate in soils using FTIR-ATR mid-infrared spectroscopy[J]. *Chemosphere*, 2005, 61(5): 652-658.

- [34] DROUET C, NAVROTSKY A. Synthesis, characterization, and thermochemistry of K-Na-H₃O jarosites[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2003, 67(11): 2063-2076.
- [35] 彭玉旋. 红外光谱在几种相似硫酸盐矿物判别中的应用[J]. *新疆地质*, 2015, 33(1): 130-133.
- [36] 施川. 污泥生物炭作为吸附剂和酸性土壤改良剂的可行性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [37] ZHAO M, LIU X W, LI Z T, et al. Inhibition effect of sulfur on Cd activity in soil-rice system and its mechanism[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 407: 124647.
- [38] 王一帆. DOM对铅在黑土中吸附行为的影响与黑土中铅原位钝化[D]. 辽宁: 东北农业大学, 2019.
- [39] 孟依柯, 王媛, 汪传跃. 木屑生物炭在雨水径流中的氮磷淋出和吸附特性[J]. *环境科学*, 2021, 42(9): 4332-4340.

(责任编辑: 金曙光)

Biochar promotes the regulation of fraction distribution of soil lead by sulfur-induced indigenous *Thiobacillus*

YE Junpei^{1,2,3,4}, CHEN Nan¹, ZHANG Panyue^{2,*}, CAI Yajing², YANG Zhuoyue², CHANG Jianing², ZHU Guifen^{1,3,4}

1. School of Environment, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

2. College of Environmental Science and Engineering, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

3. Key Laboratory of Yellow River and Huai River Water Environment and Pollution Control, Ministry of Education, Xinxiang 453007, China

4. Henan Key Laboratory for Environmental Pollution Control, Xinxiang 453007, China

*Corresponding author, E-mail: panyue_zhang@bjfu.edu.cn

Abstract The promotion of exotic *Thiobacillus* on phytoremediation has attracted in recent years, however, the mobilization mechanism of *Thiobacillus* on soil lead is still unclear. The mechanism of sulfur and biochar on the induction of indigenous *Thiobacillus* and the distribution of soil lead content were studied through soil culture experiments. The relative abundance of *Thiobacillus* in soil was increased from 0.02% to 6.99%, which was induced by sulfur in soil. The induction was promoted by biochar. The relative abundance of *Thiobacillus* was increased to 13.33% with biochar addition. With a 3% (mass fraction) of biochar and 0.5% (mass fraction) of sulfur addition in a 60 d pot experiment, the soil pH was decreased from 7.83 to 6.64. The soil Eh was decreased to 230 mV directly at the beginning of experiment, and increased to 299 mV after 60 d. The soil organic carbon was increased from 19.40 g·kg⁻¹ to 28.29 g·kg⁻¹. 20.13% of reducible Pb species was transformed to acid extractable, oxidizable and residual Pb species, which was increased by 53.76%, 35.29% and 69.40%, respectively. The combined of biochar and sulfur can promote the bioavailability, and immobilize Pb in soil at same time. This study can provide an approach for regulating the Pb bio-availability for phytoremediation of Pb-contaminated soil

Keywords Pb-contaminated soil; *Thiobacillus*; biochar; form of heavy metal; bioavailability