

生物炭对煤矿区复垦土壤微生物固碳潜力的促升机制

马 静¹, 邹 铭¹, 骆占斌¹, 朱燕峰², 杨永均², 陈 浮^{1,2}

(1. 河海大学 公共管理学院, 江苏 南京 211100; 2. 中国矿业大学 矿山生态修复教育部工程研究中心, 江苏 徐州 221116)

摘 要: 生物炭对贫瘠土壤质量提升具有重要作用, 但生物炭对煤矿区复垦土壤理化性状、酶活性及多样性的影响尚不清晰, 尤其是微生物固碳潜力的促升。本研究将 3 种不同秸秆源生物炭(水稻秸秆、小麦秸秆和玉米秸秆)施入到矿区复垦土壤中, 测定不同质量分数生物炭添加对复垦土壤理化、酶活性及碳库管理指数的影响, 分析土壤微生物群落结构及固碳功能基因等变化。主要结论如下: ① 生物炭添加处理组土壤 pH、电导率、铵态氮、硝态氮、有效磷和有效钾含量均有所增加 ($P < 0.05$), β -葡萄糖苷酶(BG)、纤维二水解酶(CBH)和亮氨酸氨基肽酶(LAP)的活性得以提升, 而 β -N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(NAG)的活性降低。② 生物炭添加提高了变形菌门(*Proteobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)的相对丰度 ($P < 0.05$), 降低了放线菌门(*Actinobacteriota*)的相对丰度。同时降低了真菌中子囊菌门(*Ascomycota*)的相对丰度, 显著提高了担子菌门(*Basidiomycota*)的相对丰度 ($P < 0.05$)。3 种生物炭处理增强了细菌网络复杂性, 但对真菌网络复杂性并未产生显著影响。③ 水稻秸秆、小麦秸秆、玉米秸秆等不同生物炭处理的碳库管理指数分别提升了 4.7%、4.8%、24.0%。与对照组相比, 添加生物炭组的固碳功能基因 CBBL 绝对丰度均显著提高 ($P < 0.05$), 其中玉米秸秆处理的固碳功能基因 PMOA 绝对丰度显著提高 ($P < 0.05$)。生物炭添加显著提高了环境因子与固碳功能基因、碳库管理指数的相关性, 微生物是调控土壤固碳潜力的主控因子, 为未来矿山生态修复固碳增汇提供了科学依据。

关键词: 复垦土壤; 生物炭; 微生物群落; 功能基因; 固碳潜力

中图分类号: TD88 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9993(2025)02-1246-14

The promotion mechanism of how biochar affects the reclaimed soil microbial carbon sequestration capacity in coal mining areas

MA Jing¹, ZOU Ming¹, LUO Zhanbin¹, ZHU Yanfeng², YANG Yongjun², CHEN Fu^{1,2}

(1. School of Public Administration, Hohai University, Nanjing 211100, China; 2. Engineering Research Center of Ministry of Education for Mine Ecological Restoration, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China)

Abstract: Biochar application is a key measure for enhancing soil quality. However, the impact of biochar applications on the reclaimed soil for improvement on soil physicochemical properties, enzyme activity and microbial diversity is still unclear, especially for the promotion mechanism of microbial carbon sequestration capacity. This study applied three kinds of biochar originated from straw containing rice straw, wheat straw, and corn straw to mine reclaimed soil, measured the effects of biochar addition on the physicochemical properties, enzyme activity, and carbon management index of re-

收稿日期: 2024-11-30 策划编辑: 韩晋平 责任编辑: 钱小静 DOI: 10.13225/j.cnki.jccs.XH24.1494

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (42377465, 52374170)

作者简介: 马 静 (1982—), 女, 安徽淮北人, 副教授, 硕士生导师。E-mail: jingma2022@hhu.edu.cn

通讯作者: 陈 浮 (1974—), 男, 江苏射阳人, 教授, 博士生导师。E-mail: chenfu@hhu.edu.cn

引用格式: 马静, 邹铭, 骆占斌, 等. 生物炭对煤矿区复垦土壤微生物固碳潜力的促升机制[J]. 煤炭学报, 2025, 50(2): 1246-1259.

MA Jing, ZOU Ming, LUO Zhanbin, et al. The promotion mechanism of how biochar affects the reclaimed soil microbial carbon sequestration capacity in coal mining areas[J]. Journal of China Coal Society, 2025, 50(2): 1246-1259.



移动阅读

claimed soil, and analyzed the variation of soil microbial community structure and carbon sequestration functional genes. From the experimental results, the main conclusions are shown as follows: ① The soil pH, electrical conductivity, ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, available phosphorus, and available potassium content in the biochar-added groups significantly increased ($P < 0.05$), and the activities of β -glucosidase (BG), cellobiohydrolase (CBH), and leucine aminopeptidase (LAP) were enhanced, whereas the activity of β -N-acetylglucosaminidase (NAG) decreased by 15.0% to 25.0%. ② Biochar addition increased the α diversity index of soil microbial community, while the effect on bacterial α diversity index was significantly higher than that of fungi. Biochar addition increased the relative abundance of *Proteobacteria* and *Chloroflexi* ($P < 0.05$), while decreased the relative abundance of *Actinobacteriota*. In addition, it reduced the relative abundance of *Ascomycota* in fungi and significantly increased the relative abundance of *Basidiomycota* ($P < 0.05$). The three biochar treatments enhanced bacterial network complexity, but biochar addition did not significantly affect the fungal network complexity. ③ The soil carbon management index of rice straw biochar, wheat straw biochar, and corn straw biochar treatments increased by 4.7%, 4.8%, and 24.0%, respectively. Compared to the control group, the absolute abundance of carbon sequestration functional gene CBBL (the encoding gene of ribulose biphosphate carboxylase large subunit) in the straw biochar treatment group significantly increased ($P < 0.05$). The absolute abundance of carbon sequestration functional gene PMOA (the encoding gene of particulate methane monooxygenase β subunit) in the corn straw biochar treatment group significantly increased ($P < 0.05$). Biochar addition significantly improved the correlations among environmental factors, carbon sequestration functional genes, and carbon management index, with the microbial community being the main controlling factor to regulate soil carbon sequestration potential, which could provide important basis for the future ecological restoration of mines, carbon sequestration and sink enhancement.

Key words: reclaimed soil; biochar; microbial community; functional genes; carbon sequestration potential

0 引 言

人类活动产生的碳排放对全球生态系统的影响日趋严重,固碳减排已成为21世纪人类所面临的重大挑战。随着经济社会不断发展,人类对能源资源的需求也不断增加,但采矿对生态系统破坏亦持续扩大,矿山生态修复已成为限制可持续发展的重要问题^[1]。煤炭开采在助力全球经济发展的同时,也带来诸如塌陷、裂缝、污染、地下水渗漏等诸多生态问题^[2]。近20 a,我国煤炭开采累积损毁已超过500万 hm^2 ^[3],其中东部平原矿区因地下潜水位高,塌陷后极易积水成塘。然而,东部平原又是我国重要的粮食生产基地,土地复垦对修复受损耕地、维护粮食安全至关重要^[4]。当前,东部平原矿区受限于客土来源,一般土地复垦只能先剥离表土,再利用煤矿废弃物(粉煤灰、煤矸石等)充填,并回填表土,再机械压实。复垦土地一般会快速被用于农业生产或生态建设,是重要的农产品来源。然而,复垦土壤肥力薄、种植效益差,企业、农户的复垦意愿低,快速恢复复垦土壤肥力显得极为重要^[5]。

生物炭作为一种环境友好材料,在土壤中分解和周转率较低,增汇潜力巨大,被认为是有效的碳捕集方式。一些研究已将生物炭应用于各种土壤改良、污染物清除及固碳减排等^[6-9]。SINGH等^[10]研究2012—

2021年间发表的相关文献,发现生物炭施用可使土壤孔隙度增加59%。EDEH等^[11]发现生物炭可以增加土壤保水性,降低土壤导水性。NIELSEN等^[12]的田间试验研究表明生物炭可提升土壤pH,是由于生物炭中所含碱性灰分,会以钙、镁、钾、氢氧化物以及碳酸盐等形式转移到土壤中。袁访等^[13]在黄壤中施入玉米秸秆生物炭后,土壤有机碳、有效磷、碱解氮与速效钾含量显著增加。WOJEWÓDZKI等^[14]使用不同原料生物炭进行土壤实验,发现2个月后土壤酶活性受到抑制,而污泥制作的生物炭在土壤中的酶活性最高。此外,生物炭独有的多孔性及比表面积较大等优点,可作为土壤微生物群落的有利栖息地,为细菌和真菌提供良好的生存空间,改良微生物的生存环境^[15]。常芳娟等^[16]研究发现,生物炭施入可提高球囊菌门和被孢菌门相对丰度,可降低植物病原菌相对丰度,增加共生营养型真菌相对丰度。ZHANG等^[17]研究发现,在黑土中添加生物炭,可增强微生物群落间相互作用。近年来也有研究者将其运用于矿区土壤修复,如重金属污染修复。CHENG等^[18]在模拟实验中,将水稻秸秆生物炭添加到废弃铅锌尾矿表层土壤中,发现表层土壤中Pb和Cd含量显著降低,生物炭不仅提高土壤酶活性,降低重金属含量,还增加了生物量。陈浮等^[19]研究发现,生物炭可以改变土壤理化性状,如pH等,从而降低了矿区工业场地土壤中镉的生物可利用性。

蒋志洋^[20]在淮南采煤沉陷区耕地土壤中施加生物炭的研究中发现,与对照组相比,施加生物炭后,土壤有机质、全氮、有效磷含量以及酶活性增加,土壤中可还原态、弱酸提取态和可氧化态 Cd 含量均出现不同程度下降。但是煤矿区复垦土壤多为客土搬运堆积形成,重构土壤发育缓慢。在碳中和目标下,添加生物炭能否改善矿区土壤环境?土壤微生物如何响应?能否提升矿区复垦土壤微生物的固碳潜力等鲜见研究^[5]。微生物作为土壤环境中活跃组成分,土壤微生物的群落组成、生物量及其生命代谢活动都揭示着土壤的状态和功能。微生物是土壤碳转化过程中重要的参与者^[21]。作为分解者,微生物参与分解植被凋落物,还可直接固定空气中的 CO₂,提升土壤碳库积累。同时,微生物本身的呼吸作用会消耗土壤碳源,并参与土壤有机碳的矿化过程。土壤微生物不仅参与矿区生态修复的重要过程,还是矿区生态修复效果的重要表征。因此,对矿区复垦土壤功能及微生物地球化学循环作用研究愈发重要。

近年来我国一直积极推动矿山生态修复和治理,但复垦土壤仍面临着土体结构散、生产力低、肥力不足、微生物活性低及碳汇功能不良等诸多负面问题^[22],尤其东部平原矿区耕地一直承受着数量、质量和生态三位一体保护的壓力。生物炭作用一种有效的土壤调理剂,其应用于矿区复垦土壤改良必将改变土壤环境因子,影响微生物群落结构与功能以及酶活性,从而改变微生物参与的复垦土壤养分循环及碳固定过

程。为此,开展生物炭添加实验,促升矿区复垦土壤功能及微生物固碳能力。主要研究目的如下:①厘清生物炭如何影响复垦土壤理化性状;②明晰生物炭施用对微生物群落的作用;③揭示生物炭对土壤微生物固碳能力的促升机制。本研究可为生物炭大规模应用于矿区复垦土壤改良以及生态修复提供技术支撑和科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

采用原位盆栽方式,一是本研究不需要控温、控湿和控光照等,二是观测纯自然条件下生物炭添加对微生物,尤其是固碳菌群的影响。试验位于徐州市柳新矿采煤塌陷复垦场地(34°23'43"N, 117°07'29"E)。该区为 2020 年新复垦田块,复垦土壤受到机械挤压,质地紧实、黏重,黏土占比大于 70.0%,土壤类型为棕壤。该区属于暖温带湿润季风气候,海拔高度为 35.4 m,年均气温 14.2 ℃,年均降水量介于 800~930 mm,地下潜水位深度为 0.5~1.2 m,属典型东部高潜水位矿区。该区从 20 世纪 90 年代起开展土地复垦,采用煤矸石充填、表土回填,再机械压实、分区治理,一般充填 200~400 cm,表土回填深度为 50~60 cm,复垦率已超过 80.0%。本次盆栽实验位于表层土壤(0~20 cm),未涉及深层充填物。但经过 3 年多时间地下潜水位季节变化的影响,表层土壤已经受下层充填物性质的影响,复垦土壤具体的基本理化性状见表 1。

表 1 复垦土壤基本理化性状
Table 1 Basic properties of reclaimed soil

pH	电导率/(μS · cm ⁻³)	质量分数			
		有机碳(g · kg ⁻¹)	铵态氮(mg · kg ⁻¹)	硝态氮(mg · kg ⁻¹)	有效磷(mg · kg ⁻¹)
5.33±0.15	357±10.5	10.4±0.44	1.97±0.67	2.10±0.87	3.50±0.03

1.2 样品采集及处理

1.2.1 试验设计

本盆栽实验使用了 3 种生物炭,分别为水稻秸秆生物炭、小麦秸秆生物炭和玉米秸秆生物炭,购买于河南立泽环保科技有限公司。该生物炭制备步骤如

下:先将 3 种秸秆原材料分别用去离子水清洗至少 3 次,随后在 75 ℃ 的烘箱中烘干,之后磨碎至通过 50 目筛。再对预处理后的生物质原料在缺氧环境下以每分钟 10 ℃ 的速率加热至 500 ℃,并在 500 ℃ 下保持 2 h,制得热解温度为 500 ℃ 的秸秆生物炭(表 2)。

表 2 不同生物炭基本理化性状
Table 2 Basic physicochemical characteristics of different biochar

原料	pH	元素质量分数/%			灰分/%
		C	N	H	
水稻秸秆	9.20±0.14	50.11±0.21	0.81±0.04	4.14±0.09	6.16±0.85
小麦秸秆	9.33±0.17	55.75±0.49	0.87±0.03	4.87±0.12	6.78±1.54
玉米秸秆	9.46±0.15	64.75±0.67	0.97±0.04	5.78±0.12	5.23±1.43

2022年7月开始试验,具体设计如下:先称取2 kg经预处理的风干复垦土壤,并生物炭充分搅拌均匀,置于直径为21 cm,高为20 cm的聚乙烯塑料花盆(底部为空心),埋于复垦地块中(图1),分4种处理,分别为水稻秸秆生物炭(RB)、小麦秸秆生物炭(WB)、玉米秸秆生物炭(CB)和未添加生物炭(CK)处理。RB、WB和CB处理又设置3种添加质量分数,分别为1.0%、3.0%和5.0%,每种设置5个重复。花盆埋置后,用去离子水完全浸润,稳定1周后再播种。小白菜种子先用去离子水浸润萌发,再选优播种。出苗的前三天适当间苗,整个实验期土壤含水率保持为12.0%~14.0%,定期测定补充去离子水。

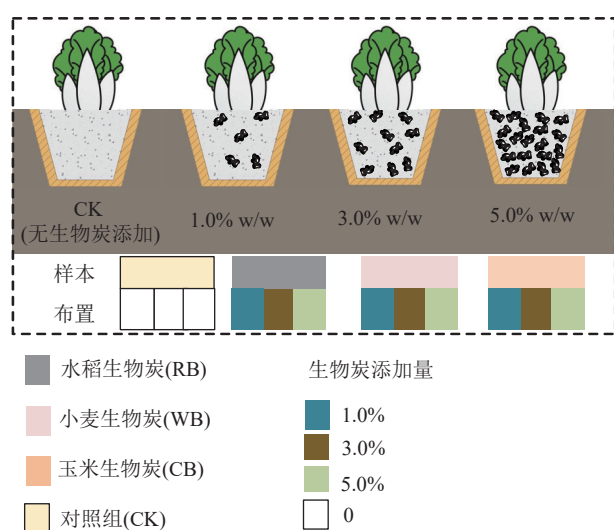


图1 盆栽实验示意

Fig.1 Schematic diagram of pot experiment

土壤样品采集于出苗后第35天,采用等距离5点采样法从盆栽中取0~10 cm表土样。收集的土样需立刻清除多余的根系和异物,放入遮光的密封袋中,保存于超低温冰箱。根据实验需求,土样分成4个部分处理:①使用5 mL无菌离心管装取适量土壤,用于微生物固碳功能基因和土壤微生物多样性分析;②部分鲜土样本保留在0~4℃冰箱中,进行有机碳组成分析;③经2 mm筛网过滤后的样本存放于-20℃冰箱中,用于新鲜土壤的理化性状和酶活性分析;④剩余的土样风干过筛,用于测定干土的基本理化性状和酶活性分析。

1.2.2 土壤理化性状和酶活性

本研究测定的土壤理化指标有pH、电导率、铵态氮、硝态氮、有效磷和有效钾^[23-24]。其中,土壤pH和电导率(Electrical Conductivity, C_E)采用电位法测定(水:土=1:2.5(质量比))(DDS-307A, 雷磁, 上海)。

土壤速效磷(Available Phosphorus AP)含量采用碳酸氢铵浸提-钼锑抗比色法测定,土壤铵态氮(Ammonia Nitrogen, AN)含量采用氯化钾浸提-紫外分光光度计法测定,土壤硝态氮(Nitrate Nitrogen, NN)含量采用氯化钙浸提-紫外分光光度计法测定,土壤有效钾(Available Potassium, AK)含量采用氯化钙浸提-火焰分光光度法测定。土壤酶活性指标主要包括β-葡萄糖苷酶(β-Glucosidase, BG)、纤维二糖水解酶(CelBioHydrolase, CBH)、亮氨酸氨基肽酶(Leucine AminoPeptidase, LAP)、β-N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(β-N-AcetylGlucosaminidase, NAG),酶活性均通过索莱宝试剂盒测定。

1.2.3 土壤微生物群落结构测定

使用E.Z.N.A.土壤试剂盒(Omega, USA)对土样提取总DNA,再根据细菌V3-V4区域的338F、806R,真菌ITS1-ITS2区域的ITS1F、ITS2R合成带有条形码的特异引物,并进行PCR扩增。扩增过程如下:循环前先预变性2 min(95℃),而后变性30 s(95℃),再退火30 s(55℃)后,延伸30 s(72℃),以上循环27个周期,最后持续延伸10 min(72℃),降温。所有样本均在正规实验设置下处理,每种样本设立3个重复实验,随后将相同样本的PCR反应产物进行汇总,并通过2%的琼脂糖凝胶电泳进行分析。利用AMPure® PB beads(PacBio科技,加利福尼亚州,美国)进行磁性珠纯化处理,并通过蓝色荧光定量体系(Promega公司,美国)对PCR产物进行精确定量。最终,根据每个样品的序列测定需求,按比例混合各样品。采用Illumina MiSeq(Illumina, 美国)开发的标准方法TruSeq™ DNA Sample Prep Kit利用纯化后的扩增片段构建样品土壤微生物测序文库,再采用美吉Miseq PE300平台测序。在使用MiSeq平台完成测序并对PE reads(成对末端读取)进行样本解复用后,首先对成对读取进行质量控制和筛选,同时依据读取间的重叠区域进行合并,以产生经过质量控制和合并的优化数据集。再应用序列去噪算法(例如DADA2或Deblur)处理这些优化数据,进而识别出精确的扩增子序列变异体(Amplicon Sequence Variants, ASVs)及其相应的丰度信息。

1.2.4 土壤有机碳组成与碳固定功能基因

本研究测定了有机碳组分^[23],主要有总有机碳、颗粒有机碳、微生物量碳、溶解性有机碳。其中,总有机碳(TOC含量)通过重铬酸钾-外加热法测定、颗粒有机碳(POC含量)通过六偏磷酸钠浸提法测定、微生物量碳(MBC含量)通过氯仿熏蒸浸提法测定、溶解性有机碳(DOC含量)通过有机碳分析法测定。

采用 Real-time PCR 法检测样本中固碳功能基因的绝对含量(上海美吉生物医药科技有限公司,上海)。本试验主要对所需测定基因的引物、序列、最佳测序条件进行确定。预试验确定 CBBL 退火温度为 55 ℃, PMOA 退火温度为 58 ℃。实验在 ABI7300 型荧光定量 PCR 仪中进行(Applied Biosystems, 美国)。PCR 循环条件:循环前先预变性 2 min(95 ℃);而后变性 5 s(95 ℃),再退火 30 s(CBBL 为 55 ℃, PMOA 为 58 ℃)后,延伸 1 min(72 ℃),共循环 40 次。最后,使用 ABI7300 型荧光定量仪进行定量,自动生成扩增和溶解曲线。通过使用 Canoco 5.10 软件,计算获得了基因的检出值和扩增循环数。采用 16SrRNA 作为参照系进行标准化后,获得了土壤基因的相对定量数据。这些数据与 Roche 荧光定量 PCR 仪器所提供的参照系绝对定量信息进行对比,计算碳固定基因的绝对定量丰度^[25]。

1.3 数据统计与分析

数据统计与分析工作在 SPSS 26.0 和 RStudio(R 版本 4.3.0) 软件中完成,实验数据以“平均值±标准差”形式展示。当数据通过 Anosim 正态分布检验 ($P < 0.05$) 时,采用单因素方差分析 (ANOVA) 来评估生物炭处理间的差异性。同时,使用 R 语言的 ggplot2 和 ggpubr 包来生成柱状图和箱型图,以直观展示数据分布情况。

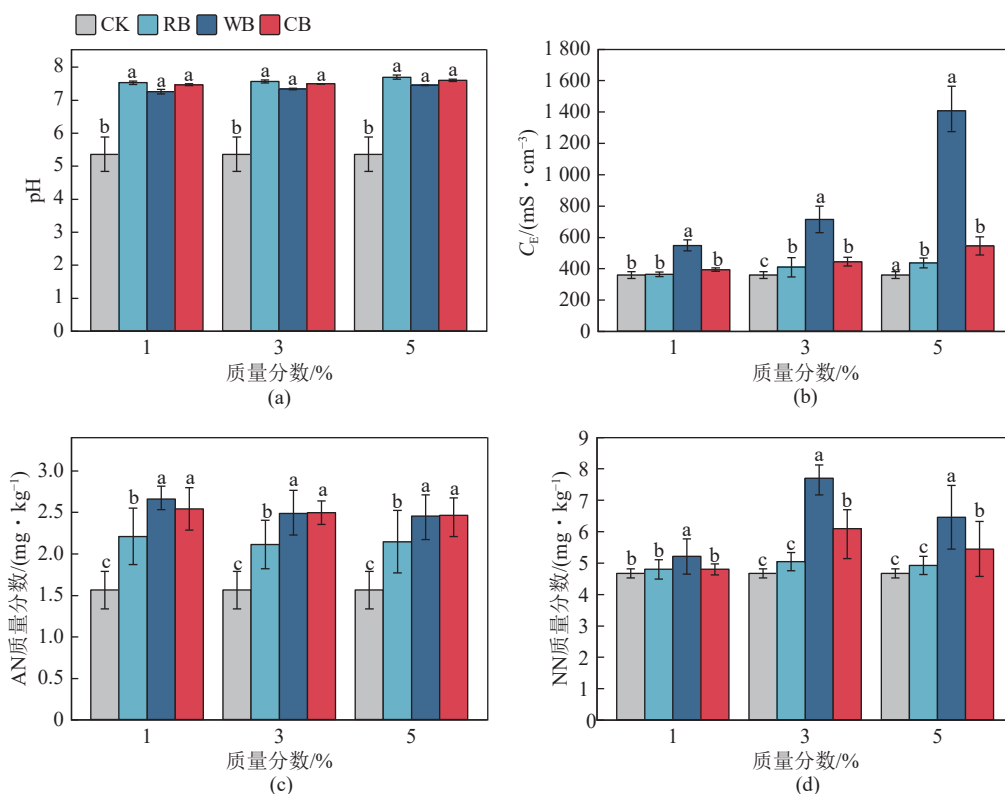
基于 ASV 数的序列数关系,通过 R 中的 ve-

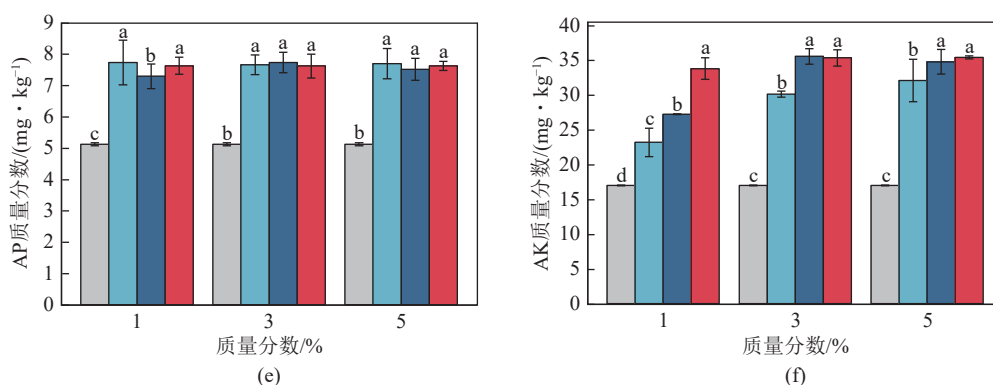
gan 包计算稀释曲线, α 多样性指数计算如下: vegan 包计算 I_{shannon} 指数 (Shannon Index, I_{shannon})、estimate 包计算 ACE (Abundance-based Coverage Estimation, I_{ACE}) 指数、picante 包计算系统发育多样性指数 (Phylogenetic Diversity Index, I_{PD})。以上及群落组成堆叠图均使用 ggplot2 包出图。对细菌和真菌群落 β -多样性进行了主坐标分析和置换多元方差分析,并使用 ggplot2 包出图。利用 R 语言中的“psych”包,对 ASV 节点间的 Spearman 秩相关系数 (r) 进行了计算,仅保留绝对值大于 0.65 且 $P < 0.01$ (经 FDR 校正) 的节点和边。随后,通过 R 包“igraph”对这些数据的拓扑特性进行分析,这包括节点和边的总数、平均度、聚类系数以及介数中心性等参数。并导入到 Gephi-0.1 软件中进行绘图,并通过 Gephi 提取不同模块的具体属性。使用 R 包 GGally 的 ggpairs 进行相关性矩阵散点图的数据分析,并使用 R 包 ggplot2 出图。相关性热图基于 spearman,并在网站 (<https://www.chiplot.online>) 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性状和酶活性特征变化

生物炭添加显著改变了土壤理化性状(图 2)。生物炭添加显著提升了土壤 pH,但不同质量分数与种类对土壤 pH 的影响不显著。相比于 CK, 5% WB 处理组 C_E 提升了 3.7 倍,显著优于 RB 和 CB,且随添加





注: 不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$)

图2 生物炭对复垦土壤理化的影响

Fig.2 The effects of biochar on reclaimed soil physicochemical properties

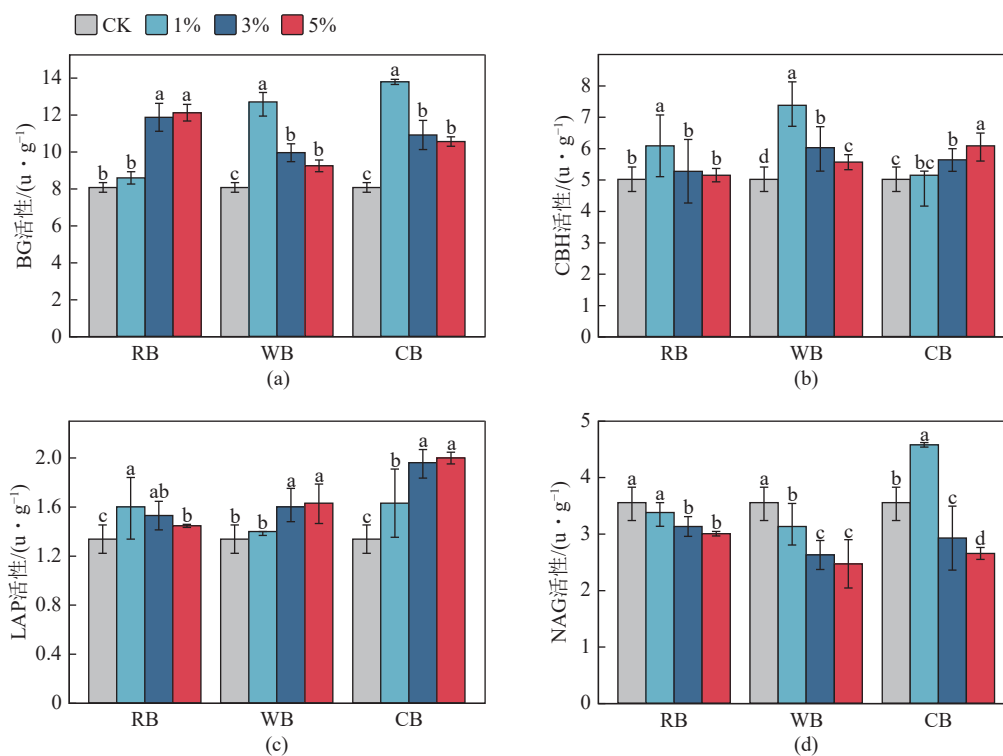
质量分数升高而增大 ($P < 0.05$)。生物炭添加显著提高了铵态氮 (AN) 含量 ($P < 0.05$), WB 和 CB 处理组优于 RB, 但未受到添加质量分数的影响。RB 添加未改变硝态氮 (NN) 含量, 而 WB 处理组显著提高了土壤 NN 含量 ($P < 0.05$), 尤其 3% WB 添加, NN 增加了 70.0%。所有添加处理均显著增加有效磷 (AP) 和有效钾 (AK) 含量 ($P < 0.05$), 但添加浓度与种类对 AP 的影响差异不明显, 而 WB 和 CB 处理对 AK 含量的提升优于 RB。相比 CK, 3% 和 5% WB 和 CB 处理组的 AK 含量增加了 100.0%。

图 3 显示, 生物炭添加提升了土壤 BG、CBH、

LAP 的酶活性 ($P < 0.05$), 但在一定程度上抑制了 NAG 酶活性。生物炭对 BG 酶活性的影响最为显著, 提高了 35.0%~55.0%; 对 CBH 酶的影响相似, 约提高 10.0%; 对 LAP 酶的影响有大小顺序, 表现为 RB < WB < CB; 对 NAG 表现出明显的抑制, 活性下降了 15.0%~25.0%。

2.2 微生物群落多样性和共现网络

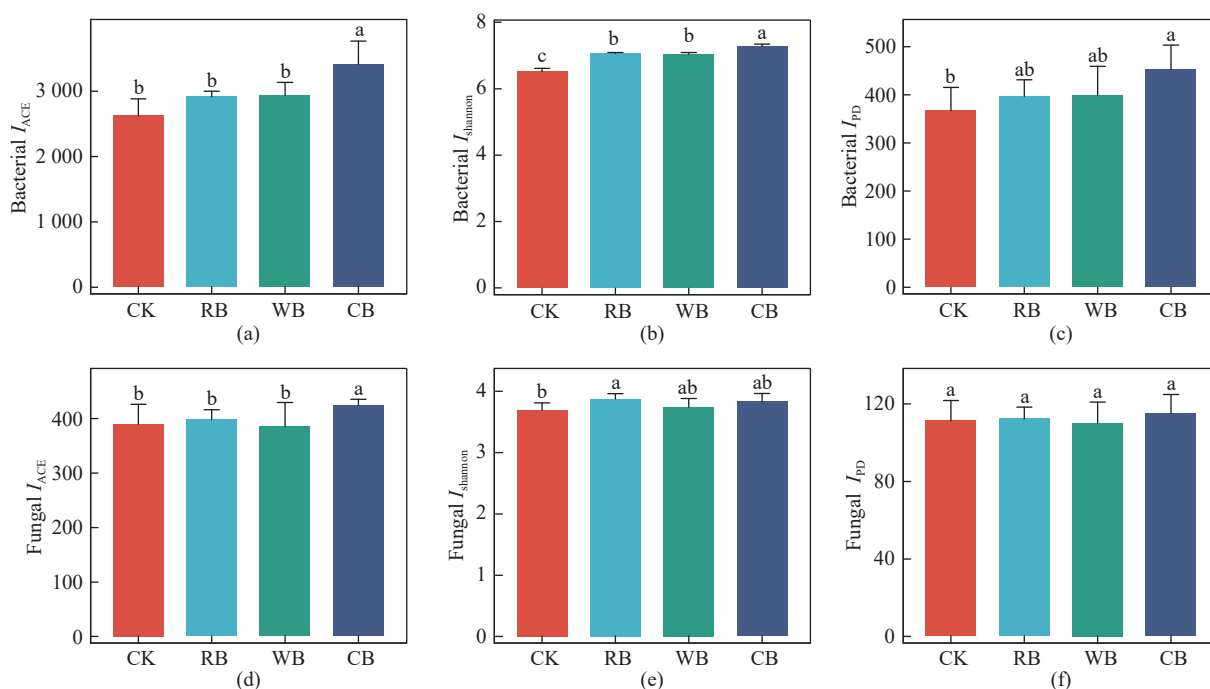
复垦土壤细菌群落的 ACE、Shannon、PD 多样性指数变化趋同, 对生物炭添加的响应规律较显著 (图 4)。与 CK 相比, RB、WB 和 CB 处理组丰富度指数 ACE 分别增加了 11.1%、10.7%、26.9% ($P < 0.05$)。但



注: 不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$)

图3 生物炭对复垦土壤酶活性的影响

Fig.3 Effects of biochar on reclaimed soil enzyme activity



注: 不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$)

图4 不同生物炭处理下细菌和真菌的 α 多样性

Fig.4 The α diversity of bacterial and fungal under different biochar treatments

仅有 CB 处理达到显著水平 ($P < 0.05$)。3 种生物炭添加使得细菌 Shannon 多样性指数显著增加 ($P < 0.05$), 但系统发育多样性指数 (I_{PD}) 仅有 CB 处理组显著增加 ($P < 0.05$)。生物炭添加对真菌群落 α 多样性指数影响明显弱于细菌, 仅有 CB 处理组 ACE 指数显著增加 ($P < 0.05$), RB 处理组 Shannon 指数显著增加。总体而言, 生物炭添加促进了矿区复垦土壤微生物群落多样性, 生物炭添加对细菌 α 多样性指数影响明显高于真菌, 同时生物炭添加对细菌多样性的影响强于丰富度。

为进一步定量评估生物炭对复垦土壤微生物群落 β 多样性的影响, 本研究对微生物群落分别进行主坐标分析 (PCoA) 和置换多元方差分析 (PERMAN-

OVA)。生物炭改变了复垦土壤细菌和真菌群落结构与组成, 但生物炭对细菌群落的影响强于真菌, 细菌群落不同处理组分离趋势更为明显 (图 5)。由表 3 可知, CB 处理组对细菌群落结构影响最显著 ($R^2=0.155$, $P < 0.05$), WB 处理组对真菌群落结构影响最显著 ($R^2=0.228$, $P < 0.05$)。

图 6 显示, 不同处理下矿区复垦土壤中细菌、真菌群落优势菌门的变化。其中, 细菌的绝对优势菌门有变形菌门 (*Proteobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteriota*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 和酸杆菌门 (*Acidobacteriota*)。生物炭提高了变形菌门 (*Proteobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 的相对丰度, 降低了放线菌门

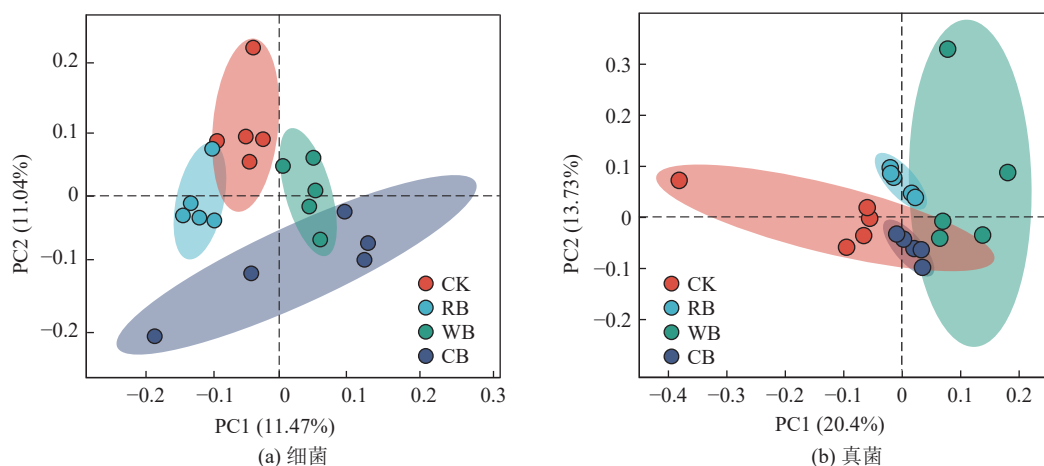


图5 不同生物炭处理下细菌、真菌群落的主坐标分析

Fig.5 Principal coordinate analysis of bacterial and fungal communities under different biochar treatments

表 3 生物炭添加对微生物群落 β 多样性的 PERMANOVA 检验结果

Table 3 The PERMANOVA results of adding biochar to soil microbial community β diversity

微生物	组别	自由度	总方差	F统计量	R ²	P
细菌	CK×RB	1	0.160	1.291	0.139	0.009
	CK×WB	1	0.143	1.229	0.133	0.007
	CK×CB	1	0.185	1.468	0.155	0.009
真菌	CK×RB	1	0.096	2.001	0.200	0.008
	CK×WB	1	0.158	2.363	0.228	0.007
	CK×CB	1	0.100	2.201	0.215	0.009

(*Actinobacteriota*) 的相对丰度 (图 6a)。真菌群落的绝对优势菌门为子囊菌门 (*Ascomycota*)、未分类真菌 (*unclassified_Fungi*)、担子菌门 (*Basidiomycota*) 和被

孢菌门 (*Mortierellomycota*)(图 6b)。生物炭添加降低了子囊菌门 (*Ascomycota*) 的相对丰度, 显著提高了担子菌门 (*Basidiomycota*) 的相对丰度 ($P < 0.05$)。

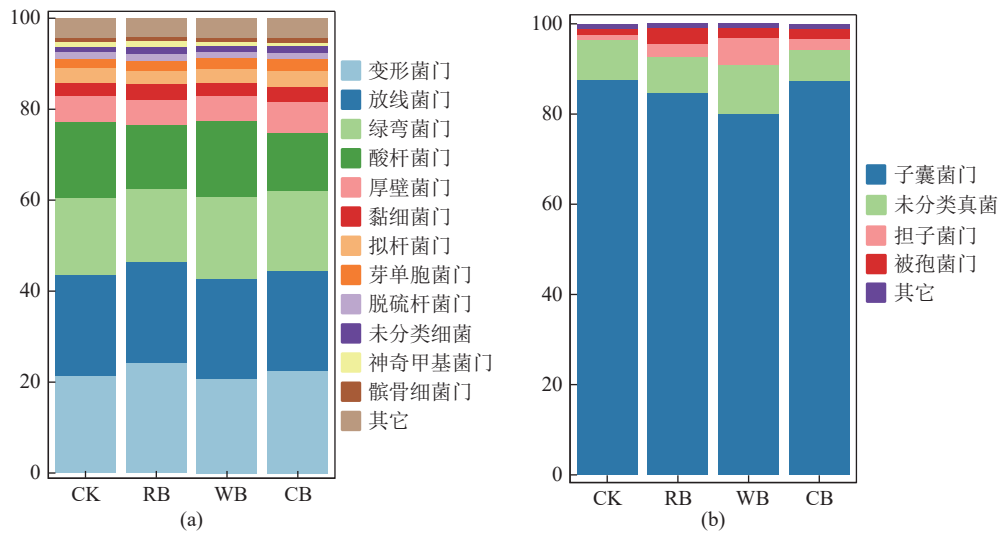


图 6 不同生物炭处理下的细菌和真菌门水平上的群落组成

Fig.6 Phylum-level community composition of bacterial and fungal communities under different biochar treatments

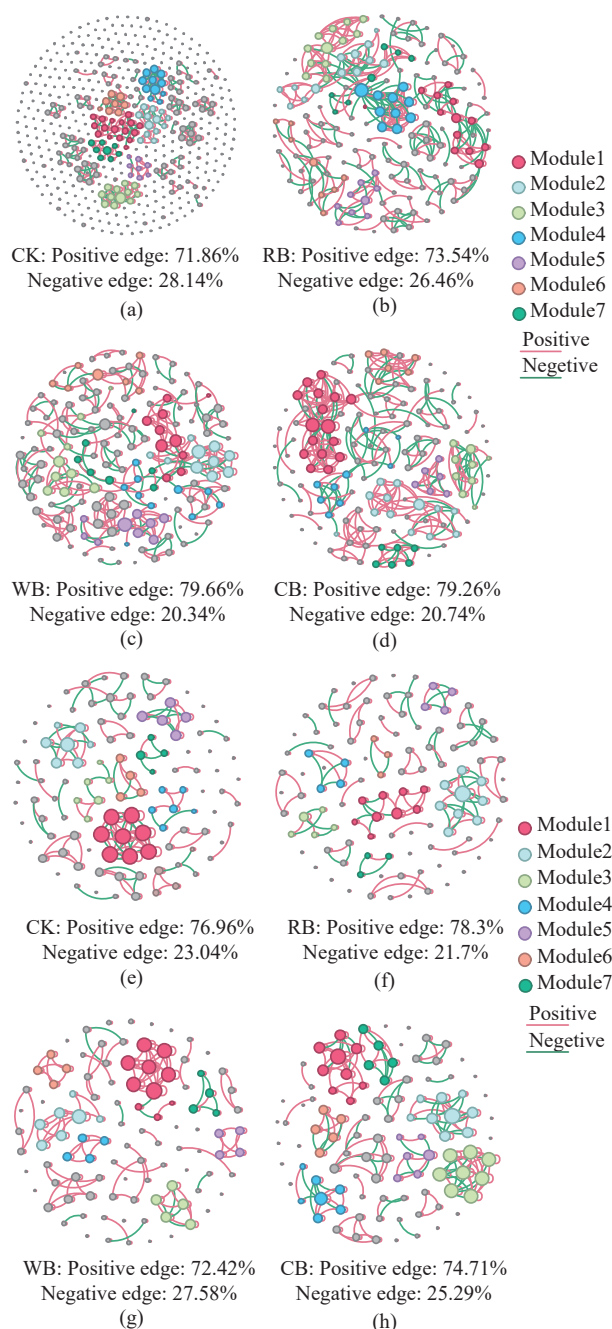
构建微生物群落共现网络, 揭示不同处理的影响。细菌共现网络中, CK 网络由 470 个节点和 469 条边组成, 添加生物炭后节点数显著下降, 下降幅度为 64.7%~68.1%, 但对网络边数影响不明显 (表 4)。细菌网络中节点连接以正相关为主, 生物炭添加提高了

正相关边数 (图 7b~图 7d)。生物炭添加增加了细菌共现网络平均度 155.5%~189.5%, 且生物炭处理组平均聚类系数显著高于 CK。但生物炭处理导致模块性系数下降, 降低幅度为 4.5%~6.5%。生物炭处理提高了复垦土壤细菌共现网络的复杂性、加强细菌群落之

表 4 不同处理下土壤微生物群落共现网络的拓扑特征

Table 4 Topological characteristics of microbial co-occurrence networks under different treatments

拓扑性质	细菌				真菌			
	CK	RB	WB	CB	CK	RB	WB	CB
节点数	470	166	159	150	112	111	104	103
边数	469	480	408	434	230	212	211	257
正相关边数占比/%	71.86	73.54	79.66	79.26	76.96	78.3	72.42	71.71
负相关边数占比/%	28.14	26.46	20.34	20.74	23.04	21.7	27.58	25.29
平均度	2.00	5.78	5.13	5.79	4.11	3.82	4.06	4.99
聚类系数	0.85	0.92	0.90	0.92	0.92	0.91	0.92	0.93
模块性系数	0.95	0.88	0.89	0.87	0.89	0.90	0.91	0.90



注: 网络中的节点表示 ASV, 绿边和红边分别表示显著正相关和负相关; 节点颜色表示模块类别。

图 7 不同处理下土壤细菌和真菌群落共现网络

Fig.7 Soil bacterial and fungal co-occurrence networks under different treatments

间的联系和组织有序性,但在一定程度上降低了抗外界干扰的稳定性。真菌共现网络中,CK 真菌网络由 112 个节点和 230 条边组成,添加生物炭后节点数和边数未发生显著变化(表 4,图 7e~图 7h)。真菌网络节点连接也以正相关为主,但生物炭添加对真菌群落节点连接的影响与细菌完全不同,RB) 和 WB 处理组节点连接正相关边数下降。与 CK 相比,表征网络复杂程度的平均度仅有 CB 处理组有显著提高。但与细

菌共现网络相比,真菌网络的平均度、聚类系数及模块性系数并未表现为一致性显著变化。

2.3 复垦土壤固碳潜力变化

生物炭添加有效改善了土壤碳库管理指数 (Carbon Pool Management Index, I_{CPM})(图 8),与 CK 相比, RB、WB、CB 处理分别提升土壤碳库管理指数 4.7%、4.8%、24.0%($P < 0.05$)(图 8a)。与 CK 相比, RB、WB 和 CB 处理组的 CBBL 绝对丰度 (Absolute Abundance of CBBL, A_{CBBL}) 均呈显著提高 (图 8b, $P < 0.05$)。此外, CB 处理组 PMOA 绝对丰度 (Absolute Abundance of PMOA, A_{PMOA}) 显著提高 ($P < 0.05$), RB 处理组 PMOA 绝对丰度下降 (图 8c, $P < 0.05$)。这些结果表明生物炭添加在一定程度上提升了微生物的固碳潜力。

2.4 复垦土壤理化性状、酶活性和微生物固碳潜力之间的互作关系

对土壤理化性状、酶活性、固碳基因及碳库管理指数进行 Spearman 相关分析。图 9 显示,生物炭添加显著改变了土壤理化性状、酶活性与碳库管理指数及固碳基因之间关系。与 CK 相比, I_{CPM} 和 BG 呈显著负相关 ($P < 0.05$)。RB 处理组内, A_{CBBL} 和 NAG 呈显著正相关 ($P < 0.05$); A_{PMOA} 和 BG 呈显著正相关 ($P < 0.05$); I_{CPM} 和 AP 呈显著负相关,和 LAP 呈显著正相关 ($P < 0.05$)。WB 处理组内, A_{CBBL} 亦和 NAG 呈显著正相关 ($P < 0.05$); I_{CPM} 与 CBH 呈极显著负相关 ($P < 0.01$),与 LAP 呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。CB 处理组内, A_{CBBL} 和 NAG 呈显著正相关 ($P < 0.05$); A_{PMOA} 和 NN 呈极显著负相关 ($P < 0.01$); I_{CPM} 与 pH、LAP 呈显著正相关 ($P < 0.05$); I_{CPM} 与 CBH 呈显著负相关 ($P < 0.05$)。整体而言, pH、NN、AP、BG、CBH、LAP、NAG 为显著影响微生物固碳潜力的环境因子。

3 讨 论

3.1 生物炭添加对矿区复垦土壤微环境的影响

土壤 pH 为土壤最重要指标,与微生物活性、酶活性和有机碳含量等密切相关。本研究结果表明,不同秸秆生物炭能有效改善矿区土壤酸化问题(图 2)。酸度调节与生物炭自身的物理和化学特性紧密相关,生物炭中钙、钾、镁等营养元素转变成碳酸盐或氧化物等迁移至土壤中,与土壤中氢离子反应或与酸性离子交换,从而有效提高土壤 pH^[26]。生物炭中带负电的羧基 (—COO—)、羟基 (—OH) 和表面酚类官能团,与酸性离子反应也会减轻土壤酸性^[27]。此外,生物炭改善土壤碱度,有利于磷的释放和形态转化,较高 pH

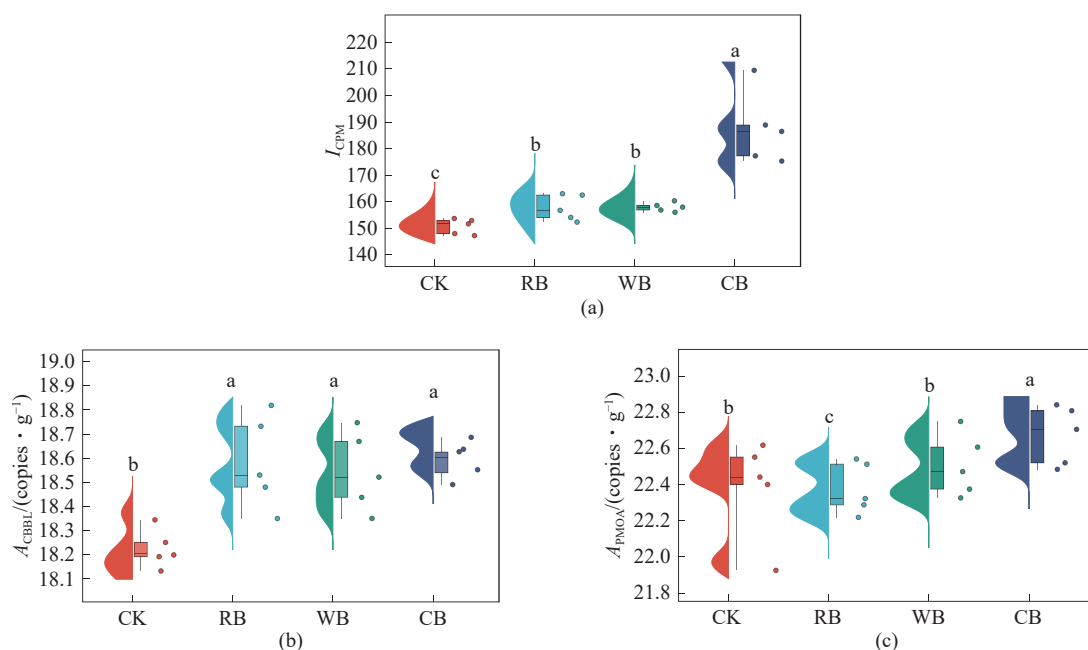


图8 不同生物炭添加处理对土壤碳库管理指数和固碳基因绝对丰度的影响

Fig.8 Effects of different biochar addition treatments on soil carbon pool management index and absolute quantification of soil carbon fixation function genes

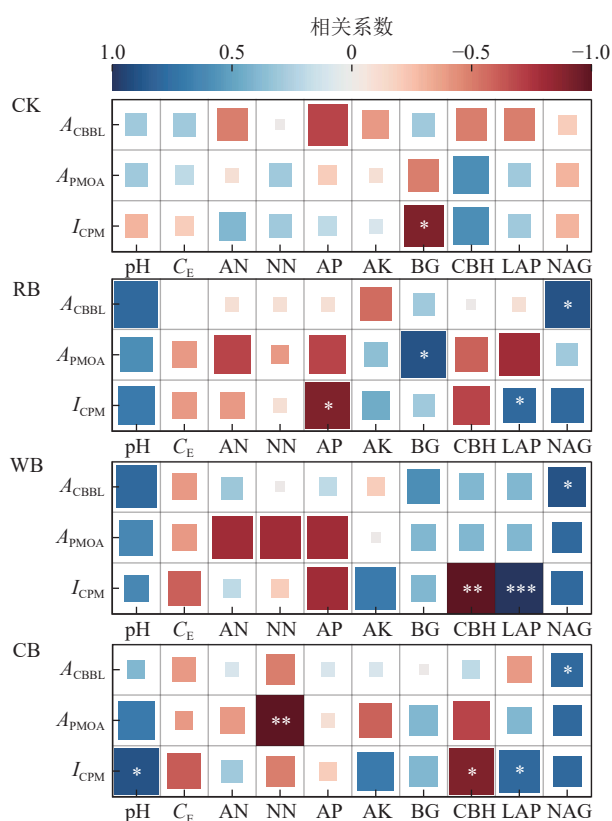


图9 不同处理组环境因子与固碳功能基因及碳库管理指数的相关性分析

Fig.9 Correlation analysis of environmental factors and carbon sequestration function gene, and carbon pool management index under different treatment

会降低磷的吸附性,易于植物吸收和利用,因此本研

究生物炭处理组 AP 较高(图2)。本研究所用生物炭具有高碱性,添加会引起土壤水溶性离子变化,而不同种类秸秆所含养分离子不同,如钾钙镁等二价离子,这可能是本研究中不同生物炭处理组 C_E 差异较大的原因,同时说明本研究小麦秸秆生物炭处理组的离子保留能力明显优于水稻和玉米秸秆生物炭^[28]。生物炭中可能含有大量有机氮,添加后逐渐分解为硝态氮和铵态氮,导致本研究复垦土壤硝态氮和铵态氮含量增加^[29]。生物炭添加对本研究复垦土壤 AK 含量表现为两方面:一是所用生物炭中有效钾成分可直接提供土壤速效钾,并活化土壤有效钾;二是基于生物炭本身特性(如高阳离子交换容量、孔隙率和比表面积等),土壤钾保留能力得以大大提升,增加土壤有效钾的固持^[30]。

土壤酶活性表征土壤健康、肥力、有机物质分解速率以及养分循环能力^[31-32]。 β -葡萄糖苷酶与纤维二糖水解酶在碳循环中扮演关键角色^[33],亮氨酸氨基肽酶在氮循环中发挥主要作用, β -N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶可同时影响碳氮循环过程^[34]。本研究表明,添加生物炭增加了 β -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶和亮氨酸氨基肽酶的活性(图5)。LIU 等^[35]将小麦秸秆衍生的生物炭掺入3种土壤中,3种土壤的 β -葡萄糖苷酶活性均显著提升,与本研究结果一致。一般来说,生物炭添加引起酶活性提高可能是有机质供应、微生物改变、土壤 pH 调节、保水保肥效应以及抑制毒素作用等多途径综合作用的结果^[36]。生物炭添加引入

了不同类型的不稳定碳化合物,激发微生物繁殖和生长,由此产生酶促反应,对酶活性产生积极影响^[37]。此外,生物炭有助于土壤团聚体形成,为微生物提供良好生存环境,促进新陈代谢和胞外酶分泌^[38]。但土壤碳、氮矿化过程相关酶活性可能会受生物炭的影响^[39-40]。本研究中 NAG 的活性显著降低(图 3),SHANG 等^[41]将玉米秸秆及玉米秸秆生物炭分别还田,发现生物炭处理组 NAG 活性远低于玉米秸秆直接还田,进一步证实了生物炭可能的负面效应。

3.2 生物炭添加对复垦土壤微生物多样性的影响

微生物对矿区土壤健康与功能至关重要^[42],土壤微生物通过改善土壤质量、促进养分循环、增强植物生长和降解污染物等途径,为受损矿区生态系统恢复提供重要支持^[43]。本研究表明,生物炭添加促进了复垦土壤微生物群落多样性恢复,主要归结于生物炭多孔结构为微生物提供保护,大量的孔隙可以增加水分、养分的保持能力^[43-44]。土壤养分增加直接促进了微生物的生长和代谢活动,也进一步提高了养分利用效率^[45]。本研究中玉米秸秆生物炭对复垦土壤微生物群落多样性的促升最为明显(图 4),可能与玉米秸秆营养成分高有关(表 2)。

生物炭添加改变了细菌群落,提高了变形菌门、绿弯菌门的相对丰度,降低了放线菌门的相对丰度(图 6),这与先前研究结果相似。郭晓雯等^[46]将棉花秸秆还田后显著增加变形菌门的相对丰度,降低放线菌门的相对丰度。萨如拉等^[47]将玉米秸秆还田后,变形菌门和酸杆菌门相对丰度增加,放线菌门相对丰度下降。土壤微生物群落组成的改变往往是群落自身对外界环境变化所做出的响应,微生物为了适应环境变化和资源竞争,展现出 2 种不同的生存策略,通常分为“r 策略”和“K 策略”^[43-45]。生物炭添加后,土壤环境发生改变,成为新生境,r 策略微生物作为新生境的开拓者,会迅速增加和繁殖。随着时间增长,生物炭改善了土壤理化性状,增加土壤有机质含量和营养元素的可利用性,为微生物提供更稳定的生境,有利于 K 策略微生物的生存和繁衍,这与本研究结果中生物炭添加后不同菌门丰富变化相关。

微生物共现网络反映土壤微生物群落间的复杂性、联系密切程度、组织有序性程度以及对外界环境的抗干扰能力,并表征群落内部在的相互关系^[48-49]。网络边的正相关性是指在外环境变动之下,微生物群落成员间展现出的协同作用,如可能共享生态位或协同参与资源分解;相反,负相关性则暗示微生物间的互动可能是竞争或抑制性质的,如对资源的争夺。然而,更为激烈的竞争关系往往有利于群落稳定性的

保持^[48-50]。本研究结果显示,生物炭添加均显著增加了土壤细菌网络的正相关边数、复杂性、联系密切程度以及菌群间的组织有序性程度,但又一定程度上降低了细菌群落应对外界环境干扰的稳定性和能力,且真菌网络变化不明显(图 7)。这可能与生物炭添加在短期内为复垦土壤微生物带来适宜的生存环境,降低了种间竞争,促进了种间合作,促进了微生物生长和繁殖,从而提升了微生物网络的复杂性、联系密切程度以及菌群间的组织有序性程度,降低了种间竞争,进而拉低了微生物群落应对外界干扰的抗性。

3.3 生物炭添加对复垦土壤微生物固碳潜力的促升机制

多数研究直接关注生物炭对土壤有机碳库或微生物的影响,极少关注生物炭对微生物固碳潜力的影响。本研究结果表明,生物炭添加显著提高复垦土壤的碳库管理指数(I_{CPM})(图 8),与丁苏雅等^[51]、ZHANG 等^[52]添加生物炭促升了碳库管理指数及碳固存结果相似。本研究还显示生物炭对固碳基因 CBBL 绝对丰度的影响(图 8),其中玉米秸秆生物炭处理组 PMOA 绝对丰度显著提高。郑一玲等^[53]将生物炭与沼液联合添加土壤后,发现反硝化功能基因与碳固定和甲烷代谢基因丰度呈现正相关。这与本研究结果相一致。LIN 等^[54]实验发现生物炭可改善碳固定相关的乙酰辅酶 A 合酶和 β -葡萄糖苷酶活性,降低了产甲烷菌相关辅酶活性,改变碳循环相关基因的丰度。本研究中部分土壤理化和酶活性与固碳基因、碳库管理指数之间关系显著加强(图 9),生物炭添加直接或间接影响酶活性,从而间接影响碳循环相关功能基因丰度,进而影响碳库管理指数。PEI 等^[55]研究表明,生物炭添加可提高微生物碳利用效率,促进土壤生物碳封存,提升碳库管理指数。陈浮等^[56]研究表明,复垦年限增加直接影响土壤理化性状,进而间接影响土壤微生物固碳功能变化。生物炭本身高度芳香化的结构和多孔隙性,有助于吸附土壤易溶有机碳,使其具有更高的生物化学和热稳定性及吸附能力,降低土壤微生物对有机碳的矿化作用,间接提升其固碳能力。生物炭自身的高碳特性激发了微生物群落碳循环相关功能菌群,潜在的改变了土壤固碳功能基因,影响了土壤碳循环相关酶及土壤有机碳组分,进而影响土壤微生物固碳潜力及碳库管理指数。

生物炭中富含活性有机碳和营养元素,不仅为微生物提供碳源,提升生物碳泵潜力,还能改善复垦土壤结构,形成物理性保护,提升保水保肥能力。多因子相关关系分析表明微生物群落变化是调控土壤固碳潜力的主要因子。本研究推测可能有多种途径(图

10): 一是生物炭本身所带有的矿物质如灰分、营养元素和离子等会影响土壤的酸碱度和其他理化性能,进而改变土壤酶活性,影响功能微生物群落组成,改变土壤碳库管理指数;二是生物炭添加可能启动激发效

应,生态位发生改变,微生物群落中的 r-策略菌和 K-策略菌及功能菌群会调节自身结构来适应环境改变,微生物群落又通过自身碳泵即体内周转和体外调节以及续埋效应影响固碳潜力。

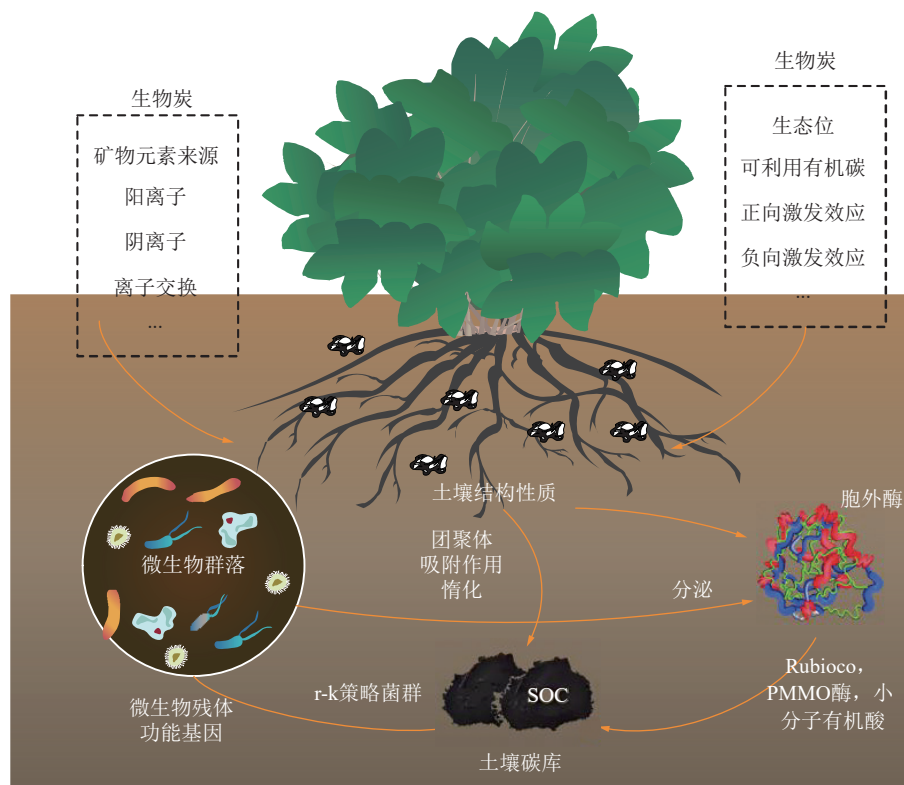


图 10 生物炭对复垦土壤微生物固碳潜力的提升机制

Fig.10 Promotion mechanism of biochar on the carbon sequestration potential of reclaimed soil microorganism

目前矿区复垦土壤生物炭应用仍处于室内模拟阶段,尚未形成大规模工程化应用。但农业废弃物生物炭具备诸多优点,对缓解矿区复垦土壤贫瘠、酸化、重金属污染等问题有重要作用,大力推广生物炭对东部平原矿区复垦土壤改良和固碳增汇意义重大。

4 结 论

(1) 生物炭添加显著改善了复垦土壤理化性状和酶活性,且对复垦土壤微生物群落影响显著,微生物群落结构、组成、共现性分子生态网络结构及相关功能发生显著变化。

(2) 3 种生物炭处理显著提升了细菌网络的正相关边数、平均度、和平均聚类系数,从而增强了细菌网络的复杂性,使得细菌群落之间联系更加紧密,组织有序性更高;但生物炭添加降低了细菌群落模块性系数,一定程度上降低了细菌网络抗外界干扰能力。

(3) 生物炭添加显著改变了复垦土壤碳库管理指数和固碳功能基因丰度。微生物群落、碳循环相关的功能菌群、酶活性以及土壤微生物碳量操控了固碳基

因的丰度与碳库的变化。生物炭添加显著影响了东部平原矿区复垦土壤微生物碳固定潜力与途径。

参考文献(References):

- [1] 陈浮,朱燕峰,骆占斌,等. 黄土高原露天煤矿复垦土壤-植被系统恢复力及协同/权衡关系[J]. 煤炭学报, 2024, 49(11): 4590-4602.
CHEN Fu, ZHU Yanfeng, LUO Zhanbin, et al. Resilience and synergy/trade-off relationship of soil-vegetation system in dump reclamation of surface coal mines on the Loess Plateau[J]. Journal of China Coal Society, 2024, 49(11): 4590-4602.
- [2] YANG Y J, ZHANG Y Y, SU X W, et al. The spatial distribution and expansion of subsided wetlands induced by underground coal mining in Eastern China[J]. Environmental Earth Sciences, 2021, 80(3): 112.
- [3] 杨金中, 许文佳, 姚维岭, 等. 全国采矿损毁土地分布与治理状况及存在问题[J]. 地学前缘, 2021, 28(4): 83-89.
YANG Jinzhong, XU Wenjia, YAO Weiling, et al. Land destroyed by mining in China: Damage distribution, rehabilitation status and existing problems[J]. Earth Science Frontiers, 2021, 28(4): 83-89.
- [4] 马静, 董文雪, 朱燕峰, 等. 东部平原矿区复垦对土壤微生物固碳潜力的影响[J]. 煤炭学报, 2022, 47(3): 1306-1317.
MA Jing, DONG Wenxue, ZHU Yanfeng, et al. Impact of land re-

- clamation on the carbon sequestration potential of soil microorganisms in the disturbed mining area of eastern plain[J]. *Journal of China Coal Society*, 2022, 47(3): 1306–1317.
- [5] 陈浮, 朱燕峰, 马静, 等. 东部平原采煤沉陷区降污固碳协同修复机制与关键技术[J]. *煤炭学报*, 2023, 48(7): 2836–2849.
CHEN Fu, ZHU Yanfeng, MA Jing, et al. Cooperative remediation mechanism and key technologies for pollution reduction and carbon sequestration in coal mining subsidence areas of the eastern plain[J]. *Journal of China Coal Society*, 2023, 48(7): 2836–2849.
- [6] NAN H Y, MAŠEK O, YANG F, et al. Minerals: A missing role for enhanced biochar carbon sequestration from the thermal conversion of biomass to the application in soil[J]. *Earth-Science Reviews*, 2022, 234: 104215.
- [7] LEHMANN J, COWIE A, MASIELLO C A, et al. Biochar in climate change mitigation[J]. *Nature Geoscience*, 2021, 14: 883–892.
- [8] GROSS A, BROMM T, GLASER B. Soil organic carbon sequestration after biochar application: A global meta-analysis[J]. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2474.
- [9] ZHANG J, SHEN J L. Effects of biochar on soil microbial diversity and community structure in clay soil[J]. *Annals of Microbiology*, 2022, 72(1): 35.
- [10] SINGH H, NORTHUP B K, RICE C W, et al. Biochar applications influence soil physical and chemical properties, microbial diversity, and crop productivity: A meta-analysis[J]. *Biochar*, 2022, 4(1): 8.
- [11] EDEH I G, MAVSEK O. The role of biochar particle size and hydrophobicity in improving soil hydraulic properties[J]. *European Journal of Soil Science*, 2022, 73(1): e13138.
- [12] NIELSEN S, JOSEPH S, YE J, et al. Crop-season and residual effects of sequentially applied mineral enhanced biochar and N fertiliser on crop yield, soil chemistry and microbial communities[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 255: 52–61.
- [13] 袁访, 李开钰, 杨慧, 等. 生物炭施用对黄壤土壤养分及酶活性的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(9): 4655–4661.
YUAN Fang, LI Kaiyu, YANG Hui, et al. Effects of biochar application on yellow soil nutrients and enzyme activities[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(9): 4655–4661.
- [14] WOJEWÓDZKI P, LEMANOWICZ J, DEBSKA B, et al. Soil enzyme activity response under the amendment of different types of biochar[J]. *Agronomy*, 2022, 12(3): 569.
- [15] HOU J B, PUGAZHENDHI A, PHUONG T N, et al. Plant resistance to disease: Using biochar to inhibit harmful microbes and absorb nutrients[J]. *Environmental Research*, 2022, 214: 113883.
- [16] 常芳娟, 张贵云, 张丽萍, 等. 生物炭对西瓜连作土壤真菌群落结构和功能类群的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45(6): 3553–3561.
CHANG Fangjuan, ZHANG Guiyun, ZHANG Liping, et al. Effects of biochar application on the structure and function of fungal community in continuous cropping watermelon soil [J]. *Environmental Science*, 2024, 45(6): 3553–3561.
- [17] ZHANG H J, WANG S J, ZHANG J X, et al. Biochar application enhances microbial interactions in mega-aggregates of farmland black soil[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 213: 105145.
- [18] CHENG Y Z, BU X, LI J, et al. Application of biochar and compost improved soil properties and enhanced plant growth in a Pb-Zn mine tailings soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2023, 30(12): 32337–32347.
- [19] 陈浮, 朱燕峰, 马静, 等. 生物炭+速生植物对工业场地周边土壤镉污染原位修复[J]. *煤炭学报*, 2021, 46(5): 1477–1486.
CHEN Fu, ZHU Yanfeng, MA Jing, et al. *In-situ* remediation of Cd contaminated soil around industrial site by biochar combined with rank vegetation[J]. *Journal of China Coal Society*, 2021, 46(5): 1477–1486.
- [20] 蒋志洋. 采煤沉陷耕地土壤肥力质量提升与镉污染控制研究[M]. 淮南: 安徽理工大学, 2024: 76–77.
- [21] 陈浮, 赵姣, 马静, 等. 植被恢复对黄土高原露天矿区土壤碳氮磷功能微生物类群的影响[J]. *土壤学报*, 2023, 60(5): 1507–1519.
CHEN Fu, ZHAO Jiao, MA Jing, et al. Effects of vegetation restoration on functional groups related to soil carbon, nitrogen and phosphorus cycles in open-pit mining area of the Loess Plateau[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(5): 1507–1519.
- [22] 胡振琪. 矿山复垦土壤重构的理论与方法[J]. *煤炭学报*, 2022, 47(7): 2499–2515.
HU Zhenqi. Theory and method of soil reconstruction of reclaimed mined land[J]. *Journal of China Coal Society*, 2022, 47(7): 2499–2515.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 39–236.
- [24] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274–339.
- [25] 尤云楠, 朱燕峰, 陈浮, 等. 植被类型对露天矿复垦土壤微生物固碳潜力及路径的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2023, 39(9): 1170–1179.
YOU Yunnan, ZHU Yanfeng, CHEN Fu, et al. Effects of vegetation types on the potential and pathway of microbial carbon sequestration in reclaimed soil of open-pit mine[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2023, 39(9): 1170–1179.
- [26] BUSS W, SHEPHERD J G, HEAL K V, et al. Spatial and temporal microscale pH change at the soil-biochar interface[J]. *Geoderma*, 2018, 331: 50–52.
- [27] LIU L C, SUN P, CHEN Y Y, et al. Distinct chromium removal mechanisms by iron-modified biochar under varying pH: Role of iron and chromium speciation[J]. *Chemosphere*, 2023, 331: 138796.
- [28] RUZICKOVA J, KOVAL S, RACLAVSKA H, et al. A comprehensive assessment of potential hazard caused by organic compounds in biochar for agricultural use[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123644.
- [29] ZHAO P N, WANG S, LIU D, et al. Study on influence mechanism of biochar on soil nitrogen conversion[J]. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 2022, 34(1): 419–432.
- [30] WANG Y T, TIAN G L, QIU H S, et al. Biochar drives changes in soil bacterial communities and cotton growth by improving nutrients availability under saline conditions[J]. *Land Degradation & Development*, 2024, 35(4): 1335–1351.
- [31] ZUCCARINI P, SARDANS J, ASENSIO L, et al. Altered activities of extracellular soil enzymes by the interacting global environmental changes[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(8): 2067–2091.
- [32] 宋世杰, 张玉玲, 王双明, 等. 陕北煤矿区采动地裂缝对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *煤炭学报*, 2021, 46(5): 1630–1640.
SONG Shijie, ZHANG Yuling, WANG Shuangming, et al. Influ-

- ence of mining ground fissures on soil microorganism and enzyme activities in Northern Shaanxi coal mining area[J]. *Journal of China Coal Society*, 2021, 46(5): 1630–1640.
- [33] SHENG Y Z, DONG H L, COFFIN E, et al. The important role of enzyme adsorbing capacity of soil minerals in regulating β -glucosidase activity[J]. *Geophysical Research Letters*, 2022, 49(6): e2021GL097556.
- [34] XIAO L, LIU F Y, LI P, et al. Changes in rhizosphere-specific enzyme activity during secondary grassland succession in the Loess Plateau, China[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2023, 69(7): 999–1012.
- [35] LIU X W, AN Q, SONG X Y, et al. Urease and β -glucosidase activity enhanced the transformation of functional groups of humin amended by straw and straw-derived biochar[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2022, 9(1): 87.
- [36] LIAO X L, KANG H, HAIDAR G, et al. The impact of biochar on the activities of soil nutrients acquisition enzymes is potentially controlled by the pyrolysis temperature: A meta-analysis[J]. *Geoderma*, 2022, 411: 115692.
- [37] 李开钰, 宋理洪, 张龔, 等. 生物炭施用量与频率对黄壤养分和关键酶活性的影响[J]. *环境科学*, 2025, 46(2): 1065–1075.
LI Kaiyu, SONG Lihong, ZHANG Yan, et al. Effects of biomass charcoal application rate and frequency on nutrients and key enzyme activities in yellow soil[J]. *China Industrial Economics*, 2025, 46(2): 1065–1075.
- [38] YAN M F, LI X R, LIU Y, et al. Biochar enhanced soil aggregation and C-related enzyme activity in post-mining land on the Loess Plateau, China[J]. *Land Degradation & Development*, 2022, 33(7): 1054–1061.
- [39] HU L N, HUANG R, ZHOU L M, et al. Effects of magnesium-modified biochar on soil organic carbon mineralization in citrus orchard[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1109272.
- [40] JIN Z W, ZHANG X L, CHEN X M, et al. Dynamics of soil organic carbon mineralization and enzyme activities after twomonths and sixyears of biochar addition[J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2023, 13(2): 1153–1162.
- [41] SHANG W H, RAZAVI B S, YAO S H, et al. Contrasting mechanisms of nutrient mobilization in rhizosphere hotspots driven by straw and biochar amendment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 187: 109212.
- [42] XU D L, LI X F, CHEN J, et al. Research progress of soil and vegetation restoration technology in open-pit coal mine: A review[J]. *Agriculture*, 2023, 13(2): 226.
- [43] MAO Z, HARRIS J, ZHANG Z Y. Responses of natural microorganisms to land reclamation and applications of functional microorganisms in bioremediation of coal mining area[J]. *Diversity*, 2024, 16(2): 86.
- [44] GOROVTSOV A V, MINKINA T M, MANDZHIEVA S S, et al. The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2020, 42(8): 2495–2518.
- [45] ZHAO Y M, WANG X J, YAO G W, et al. Advances in the effects of biochar on microbial ecological function in soil and crop quality[J]. *Sustainability*, 2022, 14(16): 10411.
- [46] 郭晓雯, 向贵琴, 张发朝, 等. 生物炭和秸秆还田对咸水滴灌棉田土壤微生物群落特征及功能差异的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45(6): 3571–3583.
- GUO Xiaowen, XIANG Guiqin, ZHANG Fachao, et al. Effects of biochar and straw return on soil microbial community characteristics and functional differences in saline water drip irrigation cotton fields[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(6): 3571–3583.
- [47] 萨如拉, 于森, 李媛媛, 等. 不同年限玉米秸秆还田对土壤微生物多样性的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2023(11): 34–40.
- SA Rula, YU Miao, LI Yuanyuan, et al. Effects of maize straw returning for different years on soil microbial diversity[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(11): 34–40.
- [48] FAUST K. Open challenges for microbial network construction and analysis[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(11): 3111–3118.
- [49] GUSEVA K, DARCY S, SIMON E, et al. From diversity to complexity: Microbial networks in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 169: 108604.
- [50] PAN Z, CHEN Y H, ZHOU M, et al. Microbial interaction-driven community differences as revealed by network analysis[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2021, 19: 6000–6008.
- [51] 丁苏雅, 马姜明, 覃云斌, 等. 生物炭对毛竹林土壤有机碳组分及碳库管理指数的影响[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2024, 42(1): 180–190.
- DING Suya, MA Jiangming, QIN Yunbin, et al. Effects of biochar on soil organic carbon composition and carbon pool management index of moso bamboo forests[J]. *Journal of Guangxi Normal University (Natural Science Edition)*, 2024, 42(1): 180–190.
- [52] ZHANG Z M, YAN J, HAN X Z, et al. Labile organic carbon fractions drive soil microbial communities after long-term fertilization[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2021, 32: e01867.
- [53] 郑一玲, 范栩妙, 钟哲伦, 等. 生物质炭-沼液配施条件下旱地红壤碳氮循环功能基因丰度主控因子与耦合关系[J]. *农业资源与环境学报*, 2024, 41(4): 835–845.
- ZHENG Yiling, FAN Xumiao, ZHONG Zhelun, et al. The main controlling factors and coupling relationship of functional gene abundance in carbon and nitrogen cycling in dryland red soil with biochar and biogas slurry co-application[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2024, 41(4): 835–845.
- [54] LIN X, WANG N Y, LI F H, et al. Evaluation of the synergistic effects of biochar and biogas residue on CO₂ and CH₄ emission, functional genes, and enzyme activity during straw composting[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 360: 127608.
- [55] PEI J M, LI J Q, MIA S, et al. Biochar aging increased microbial carbon use efficiency but decreased biomass turnover time[J]. *Geoderma*, 2021, 382: 114710.
- [56] 陈浮, 宋晓君, 董文雪, 等. 采煤沉陷区复垦对土壤细菌群落组装及固碳功能的影响[J]. *煤炭科学技术*, 2024, 52(1): 345–354.
- CHEN Fu, SONG Xiaojun, DONG Wenxue, et al. Effects of land reclamation on soil bacterial community assembly and carbon sequestration function in coal mine subsidence area: Taking Dongtan Mining Area as an example[J]. *Coal Science and Technology*, 2024, 52(1): 345–354.