



王浩, 陈永华, 杜露, 等. 施用改良剂和种植柰树对锰矿渣微生物群落的

影响[J]. 环境工程学报, 2023, 17(8): 2544-2555. [WANG Hao, CHEN Yonghua, DU Lu, et al. Effects of modifier application and *Koelreuteria Paniculata* planting on the microbial community of a manganese slag[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(8): 2544-2555.]

施用改良剂和种植柰树对锰矿渣微生物群落的影响

王浩, 陈永华[✉], 杜露, 刘慧, 文馥

中南林业科技大学环境科学与工程学院, 湖南 410004

摘要 施用改良剂可降低矿区重金属污染对植物的胁迫, 但其对根际环境的影响机制尚不清晰。以柰树(*Koelreuteria paniculata*)为供试植物、以某锰尾矿区矿渣为基质, 比较 CK(100% 矿渣)、S0(90% 矿渣+5% 蘑菇渣+5% 凹凸棒) 和 S1(90% 矿渣+5% 蘑菇渣+5% 凹凸棒, 种植柰树)等3个处理重金属赋存状态和微生物多样性等的差异, 探究施用改良剂和种植柰树等对矿渣中重金属拦截效果的影响。结果表明, 施用改良剂(即蘑菇渣和凹凸棒)提高了矿渣 pH, 增强了其肥力和持水性; 而种植柰树可降低重金属的生物有效性, Mn、Pb、Zn 的残渣态比例显著提升, 较 S0 分别提升了 5.73%、13.5% 和 6.47%, 较 CK 分别提升了 4.98%、12.8% 和 6.01%。实验前、后各基质中 Mn、Pb、Zn 随雨水径流的流失量差异显著, 表现为 S1<S0<CK。种植柰树和施用改良剂对矿渣微生物群落结构影响巨大, 其中 S0 和 S1 处理细菌 α 多样性差异较小, 而真菌差异显著。与 CK 和 S0 相比, S1 处理拟杆菌门(*Bacteroidota*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、担子菌门(*Basidiomycota*) 和 子囊菌门(*Ascomycota*) 的相对丰富显著增加, 腐生和富养菌等有益菌的相对丰度和多样性提升明显, 有利于保持土壤肥力和促进柰树生长, 提高其抗逆性和修复效率。

关键词 木本植物; 植物修复; 改良剂; 锰矿; 微生物多样性

我国是全球最大的锰资源消耗和进口国, 截至 2020 年, 我国约有矿床 230 座, 锰矿石探明储量约 2.1×10^9 t^[1]。自 2017 年以来, 诸多中小锰矿区纷纷停产、停业, 遗留了大量锰尾矿渣^[2], 经侵蚀、风化和自然雨水淋溶后, 尾矿渣中所含重金属元素进入周边的地表水、地下水、土壤等, 造成大范围的植被破坏和水土流失, 对矿区周边的生态环境和人畜健康造成严重的危害^[3-4]。植物修复作为一种绿色原位土壤修复技术, 通过植物根系吸收、挥发、转化、固定或降解重金属和有机污染物, 具有成本低、效果好、生态学价值高等特点, 已逐步成为修复重金属污染场地的重要手段之一^[5-6]。

锰矿植物修复研究主要涉及两类植物, 一类是以草本居多的超富集植物: 如商陆(*Phytolacca americana*)^[7]、莎草(*Cyperus rotundus*)^[8] 和铁杆蒿(*Artemisia sacrorum*)^[9] 等, 另一类是以木本为主的耐性或抗性植物, 这类植物对重金属的富集虽不及超富集植物, 但对污染物具有很强的耐受性或抗性, 代表植物有夹竹桃(*Nerium oleander*)、柰树(*Koelreuteria paniculata*) 和泡桐(*Paulownia tomentosa*)

收稿日期: 2023-03-09; 录用日期: 2023-06-05

基金项目: 湖南省生态环境厅环保科研项目(HBKT-2021029); 湖南省教育厅资助科研项目(20B595)

第一作者: 王浩(1997—), 男, 硕士研究生, whcsuft@163.com; ✉通信作者: 陈永华(1977—), 男, 博士, 教授, chenyonghua3333@163.com

等^[10]。目前发现的锰的超富集植物大多数是草本植物, 存在个体矮小、生物量小和生长周期短等缺陷, 重金属富集的总量少, 对水土的保持能力弱, 在大规模工程应用中有较大的局限性。木本植物生物量大、生长速度快、生长周期长, 并且具有发达的根系网络, 能快速、高效地恢复地表的植被覆盖, 减少水土流失, 在吸收、积累重金属的同时还能在一定程度上钝化、固定重金属, 尤其适用于较大矿区的重金属污染治理与生态恢复工程^[11-12]。

锰矿渣颗粒较细、结构松散、透气性和持水性能差, 养分也极易流失, 普通植物很难在尾矿中生存^[13-14]。本实验室前期进行了大量木本植物和改良剂的筛选工作, 发现栾树和凹凸棒+蘑菇渣复合改良剂用于修复锰尾矿重金属污染具有明显优势^[15]。目前, 对栾树等耐性植物的相关研究主要集中在植物自身对重金属的生理响应机制^[16-18], 而对根际环境的影响机制研究很少。根际是植物-土壤-微生物进行物质交换和信息传递的热区, 根际土壤性质和微生物是影响植物修复效果的2个重要因素^[19]。土壤肥力和其他理化性质对于植物的生长起到决定性的作用, 土壤微生物可通过自身的解毒机制降低重金属的毒性, 一方面促进根系分泌物对重金属的生物固化, 改善土壤微环境、优化植物根际并提高重金属的可利用度, 另一方面微生物通过分泌铁载体、有机酸等物质促进植株的生长发育, 提高金属耐受性和吸收量^[20-21]。

鉴此, 本研究以湖南省某锰尾矿区矿渣作为基质, 以栾树 (*Koelreuteria paniculata*) 为供试植物, 以有机蘑菇渣 (spent mushroom compost, SMC) 与无机凹凸棒粉 (attapulgite, ATP) 为改良材料, 构建中试模拟矿山实验装置, 探究改良矿渣下栾树对锰矿渣的植物修复效果和根际微环境响应, 旨在为锰尾矿区的生态修复提供科学数据和技术经验。

1 材料与方法

1.1 供试材料

栾树 (*Koelreuteria paniculata*) 购自浏阳柏加苗木基地, 均为高约 80 cm 的 1 a 生苗。蘑菇渣 (金针菇) 购自湖南省某农业基地, 主要成分有米糠、麦麸和玉米芯, 实验前测得其基本化学特征 (表 1)。凹凸棒矿粉购自甘肃省某凹凸棒矿区, 主要成分为含水镁铝硅酸盐, pH 在 8 左右。锰矿渣取自湘潭市某锰矿尾矿库, Mn、Pb、Zn、Cu、Cd 含量较高, 均值分别为 10 425、3 324、5 861、135、38.21 mg·kg⁻¹。

表 1 蘑菇渣的化学特征

Table 1 Chemical characteristics of spent mushroom compost

pH	有机质/%	TN/(g·kg ⁻¹)	TP/(g·kg ⁻¹)	TK/(g·kg ⁻¹)	重金属质量分数/(mg·kg ⁻¹)				
					Mn	Pb	Zn	Cu	Cd
7.25±0.01	52.32±0.25	6.36±0.02	3.05±0.03	8.36±0.01	532±6.22	29±0.61	169±2.42	25±0.28	0.41±0.01

1.2 中试系统实验设计

模拟矿山玻璃中试装置定制于长沙市红星百货市场, 内部长、宽、高为 100、100 和 80 cm, 上下均设置导流管, 用以引导降雨后形成的表流和潜流, 防止雨水在装置内的累积。将锰矿渣或其与改良剂充分混匀后, 于 2021 年 1 月下旬加入装置, 使基质高度达到 80 cm。各装置均添加自来水 30 L, 用塑料薄膜掩盖, 活化 2 个月后测得各装置中基质基本理化性质。设置 1 个对照组和 2 个实验组, CK: 100% 尾矿, 无植物; S0: 90% 尾矿+5% 蘑菇渣+5% 凹凸棒, 无植物; S1: 90% 尾矿+5% 蘑菇渣+5% 凹凸棒, 选取长势一致的栾树幼苗于 21 年 3 月下旬进行种植, 每个装置 6 株。设置 3 个平行。

各装置模拟野外环境, 只接受自然雨水, 定期除草, 不额外添加肥料。植物种植前定义为实

验前期, 前3个月为植物生长稳定期, 第6个月定义为中期, 第9个月定义为末期。在植物生长各周期, 对土壤理化性质和植物生长指标等进行动态监测, 实验末期收集植物和土壤基质, 处理后进行数据的收集整理与分析。该中试实验于2021年1月至2021年12月在中南林业科技大学苗圃内开展, 实验区属亚热带季风气候, 气候温和, 年平均降雨量约1500 mm。实验期间, S1组各装置中柰树均正常存活和生长, 其根系几乎深入了整个装置的各个土层, 尤其是土壤中、上层中的根系十分发达。

1.3 样品处理和分析

1) 土壤理化性质及重金属测定。采用重铬酸钾氧化-分光光度法测定有机质含量; 采用pH酸度计测定土壤pH; 采用三氯化六氨合钴浸提-分光光度法测定阳离子交换量; 土壤基质含水率和容重分别采用烘干法和环刀法测得。土壤全氮采用凯氏法测定, 速效氮采用扩散皿法; 土壤总磷采用碱溶-钼锑抗分光光度法, 有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗分光光度法; 土壤总钾采用氢氧化钠熔融-火焰原子吸收分光光度法, 速效钾采用浸提比色法。参照关松荫的方法^[22], 采用3、5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性, 脲酶通过苯酚-次氯酸钠比色法测得; 碱性磷酸酶使用试剂盒进行测定(索莱宝生物科技有限公司); 采用欧共体BCR四步法测定土壤重金属形态。

2) 植物生长指标测定。用卷尺测量从土壤表面到植株顶端的距离; 奈树根系生长状况用根系扫描仪测定(Win RHIZO PRO 2013, Canada); 采收的植物分为根、茎和叶3部分, 在105 °C下干燥30 min, 然后在75 °C下干燥至恒重, 测定其生物量干重。

3) 土壤微生物多样性测定。在实验末期采集各装置中土壤, 土壤微生物多样性检测委托上海欧易生物医学科技有限公司进行。使用Trimmomatic软件进行去杂。采用Vsearch软件, 根据序列相似性将其归为多个OTU, 序列相似度大于或等于97%被归为一个OTU单元。使用QIIME软件包挑选出各个OTU的代表序列, 并将所有代表序列与数据库进行比对注释。16S使用Silva(version138)数据库比对, ITS使用Unite数据库比对。物种比对注释使用BLAST软件。

1.4 数据分析方法

一般实验数据运用Excel 2021进行处理; 数据方差分析和显著性检验利用SPSS 22.0软件完成, 数据均为3次重复实验的平均值±标准差($n=3$); 一般制图采用Origin 2019b软件完成, 微生物数据绘图运用欧易云平台完成。

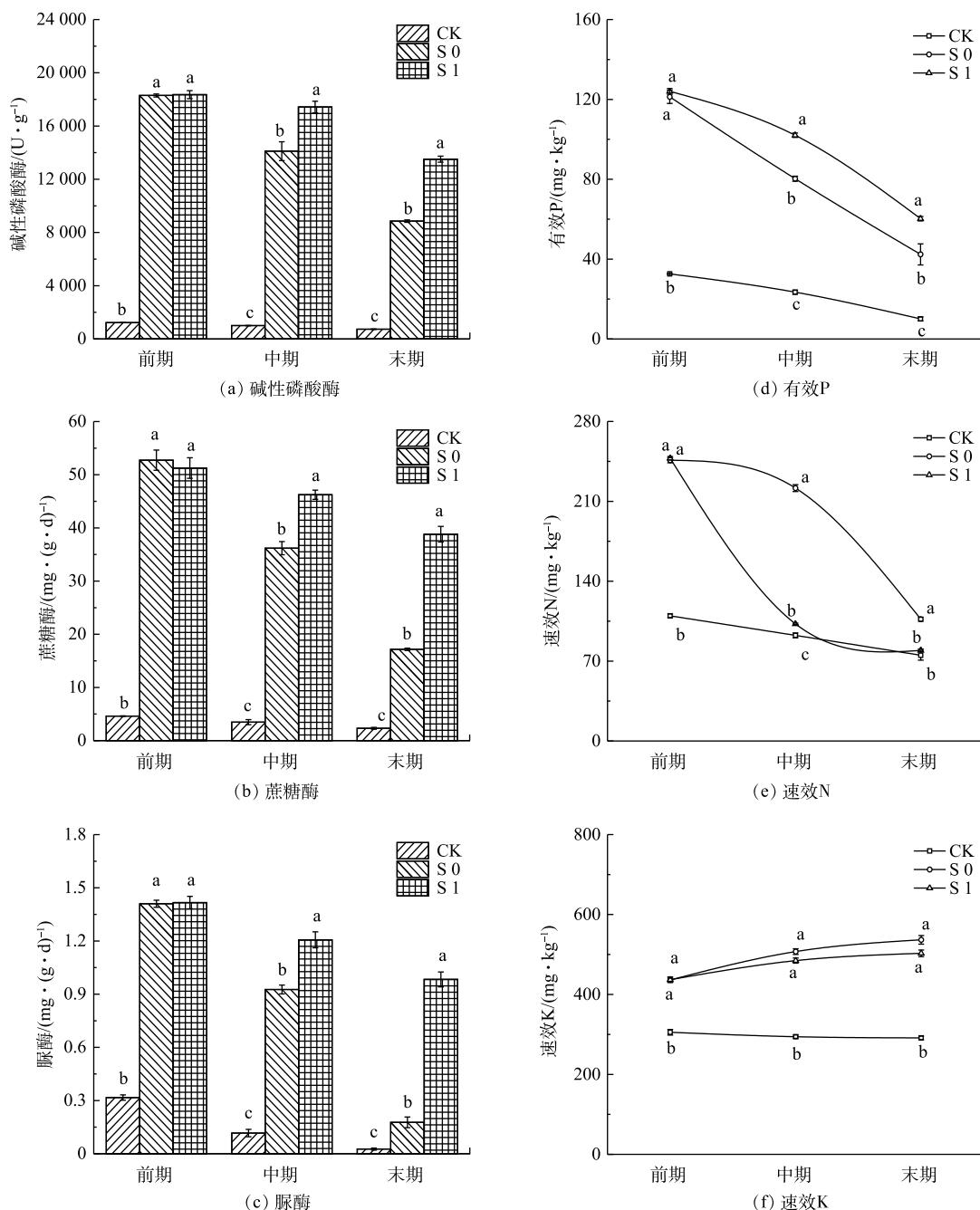
2 结果与讨论

2.1 实验前后不同处理下基质理化性质差异

从各基质基本理化性质差异(表2)来看, 改良剂加入后锰矿渣pH从7.46显著提升到了7.62($P<0.05$)。改良矿渣含水率比原矿渣高出约10%, 孔隙度高出约9%, 同时总氮、总磷、有机质含量和阳离子交换量均有提升, 增幅分别为190%、36%、2.5%和43%。矿渣中总钾的含量较高, 达到了10.07 g·kg⁻¹, 改良剂的加入略微降低了其含量。从各处理间基质主要营养元素有效态含量(图1)比较来看, 改良剂的加入对基质有效磷、速效氮和速效钾提升较大, 分别比CK提升了124.5%、271.2%和43.1%。从各处理间的基质酶活性(图1)来看, 相较于CK组, S0和S1土壤蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶的活性得到了极显著的提升($P<0.01$)。实验的前期、中期和末期3个阶段中CK组3种土壤酶活性始终处于最低水平, 显著低于S1组和S0组($P<0.05$), 实验中期和末期呈现S1处理显著高于S0处理的变化趋势($P<0.05$)。在3个实验阶段中, S1组和S0组土壤有效磷、速效氮和速效钾含量均在不同程度上高于CK处理组。由此可以看出, 添加改良剂后锰矿渣理化性质与肥力条件得到优化。同时, 奈树的生长一定程度增强了改良矿渣的水土保持能力, 使得营养元素不易随径流流失, 增强了其保肥和持水能力。

表2 实验前后各基质的基本理化性质差异
Table 2 Basic physicochemical properties of each substrate

处理组	pH	含水率/%	容重/(g·cm ⁻³)	孔隙率/%	TP/(g·kg ⁻¹)	TN/(g·kg ⁻¹)	TK/(g·kg ⁻¹)	有机质/%	CEC/(cmol·kg ⁻¹)
CK _b	7.46±0.02a	25.33±1.22a	1.57±0.04a	40.82±1.26b	0.33±0.003a	0.16±0.01a	10.07±0.02a	2.03±0.01a	17.99±0.69a
CK _a	7.38±0.02b	15.55±0.54b	1.50±0.02b	43.23±0.49a	0.32±0.001a	0.14±0.01b	8.47±0.06b	1.99±0.01b	17.65±0.30a
S0 _b	7.62±0.02a	35.02±1.23a	1.34±0.04a	49.66±1.49a	0.45±0.003a	0.47±0.01a	9.82±0.09a	4.58±0.06a	25.69±0.28a
S0 _a	7.55±0.01b	21.06±1.14b	1.27±0.02a	52.00±0.66a	0.25±0.010b	0.33±0.01b	8.60±0.08b	4.33±0.07b	22.43±0.36b
S1 _b	7.62±0.03b	34.68±1.15a	1.34±0.01a	49.33±0.34b	0.44±0.010a	0.47±0.01a	9.82±0.05a	4.52±0.03a	25.67±0.15b
S1 _a	7.74±0.01a	28.40±1.32b	1.22±0.02b	54.01±0.60a	0.35±0.006b	0.30±0.01b	8.00±0.10b	3.87±0.07b	26.45±0.44a



注:不同字母表示同一阶段不同处理下土壤酶活性或氮、磷、钾有效态含量显著差异($P<0.05$)。

图1 不同阶段土壤酶活性和氮、磷、钾有效态含量

Fig. 1 Changes in soil enzyme activity and available phosphorus, nitrogen and potassium content at three stages

2.2 不同处理下基质中重金属去向分析

比较实验前、后各基质中重金属含量变化(表3)可以发现,改良剂的加入使得单位质量的矿渣中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd等重金属的含量呈不同程度的下降,同时各处理在实验后基质中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd的含量均显著下降($P<0.05$),但不同处理组之间的下降幅度有所差异。S1处理基质中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd含量下降幅度要显著低于S0处理($P<0.05$),同时,S1处理在实验前基质中Mn、Pb和Zn含量均低于CK处理的情况下,在实验后Mn、Pb和Zn的含量仍不同程度高于CK处理。

在实验后对栾树根、茎、叶各组织干样中重金属含量进行检测(表4),可以发现栾树各组织中Mn和Zn的含量较高,在 $230\sim1100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,说明栾树对其有一定的富集能力,但远未达到超富集植物的标准。而栾树各组织中Pb、Cu和Cd含量较低,在 $0.5\sim160\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,表明栾树对这几种重金属的富集能力一般。

通过各处理基质中重金属的去向(表5)可以发现,栾树对基质中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd的吸收总量占比非常小,在 $0.001\%\sim0.026\%$,而不同处理中几种重金属随径流的流失量比例差异明显,普遍在 $6\%\sim23\%$,大量的重金属会随雨水径流流失。S1处理中Mn、Pb、Zn3种重金属的径流流失量比例显著低于($P<0.05$)

锰矿渣(CK)和改良锰矿渣(S0),较CK处理分别下降约6%、11%和13%,较S0处理分别下降约4%、13%和10%。各处理基质中Cu的径流流失量比例均无显著差异($P>0.05$)。另外值得注意的是,改良剂的加入使得S0处理中Cd的径流流失量比例显著高于CK处理($P<0.05$)。

在实验后对各处理基质中重金属形态进行分析(图2),可以直观地看出,CK和S0处理之间Mn、Pb、Zn3种重金属各形态分布占比总体差异较小。S1处理与CK和S0处理对比,最显著的差异反映在重金属残渣态比例的提高上,S1处理中Mn、Pb、Zn重金属残渣态的比例比S0处理分别高出5.73%、13.52%和6.47%,比CK处理分别高出4.98%、12.81%和6.01%。同时可以发现,S1处理中Cd的残渣态和可还原态较CK处理均显著升高($P<0.05$)。各基质中Cu绝大部分以残渣态和可氧化态存在,可交换态和可还原态比例不足5%。上述结果表明,栾树的种植和改良剂的添加在实验后可以显著提高锰矿渣中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd的残渣态比例($P<0.05$),减少矿渣中这几种重金属随雨水径流的流失量,对矿渣中重金属的流失达到了较好的拦截效果。

2.3 不同处理下基质中微生物群落的多样性

3个处理组的9个土壤样本细菌和真菌分别注释得到了17543个和1563个可操作单元(OTUs),样本生物覆盖率为96%以上,测试结果能够反映样本真实情况,测序合理。主坐标轴分析

表3 各基质重金属质量分数

Table 3 Content of heavy metal of each substrate

重金属	项目	重金属质量分数/(mg·kg ⁻¹)		
		CK	S0	S1
Mn	实验前	10 910±194.7a	9 448±34.2a	9 453±28.0a
	实验后	8 422±12.1b	7 528±20.1b	8 849±34.0b
Pb	实验前	3 340±39.2a	3 029±21.4a	3 053±28.5a
	实验后	2 612±4.5b	2 320±5.0b	2 738±24.0b
Zn	实验前	4 239±13.1a	3 822±6.8a	3 830±13.6a
	实验后	3 247±35.6b	3 050±21.2b	3 428±33.4b
Cu	实验前	143±3.2a	134±2.1a	135±1.1a
	实验后	134±2.2b	124±1.4b	125±2.4b
Cd	实验前	34.27±0.40a	30.07±0.15a	29.60±0.26a
	实验后	30.50±1.28b	22.93±0.06b	25.27±0.04b

注:同种重金属实验前后不同字母表示不同处理下基质重金属质量分数显著差异($P<0.05$)。

表4 栾树根、茎、叶中的重金属含量

Table 4 Heavy metal content in roots stems, and leaves of *Koelreuteria Paniculata*

重金属	重金属质量分数/(mg·kg ⁻¹)		
	根	茎	叶
Mn	922.3±16.8	357.5±33.7	1 116.5±2.8
Pb	10.3±0.1	1.3±0.1	163.4±9.8
Zn	295.7±20.2	237.5±6.5	234.6±0.6
Cu	27.0±1.5	7.4±0.4	16.9±0.3
Cd	0.55±0.13	0.61±0.04	0.81±0.03

(PC_0A)(图3)中同组土壤样本均很好地聚类在一起, 各样本组内相似性好, 组间区分度高。各处理组基质细菌群落结构在门水平上差异不大, 主要优势种群有变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、单芽孢菌门(*Gemmamimonadota*)和酸杆菌门(*Acidobacteriota*)。各处理组基质中真菌门水平群落结构差异非常明显, 3组土壤真菌主要由担子菌门(*Basidiomycota*)、子囊菌门(*Ascomycota*)、接合菌门(*Zygomycota*)、罗兹菌门(*Rozellomycota*)和壶菌门(*Chytridiomycota*)组成。其中, 担子菌门在3组间存在显著差异($P<0.01$), 在CK、S0和S1处理中占比分别为9.06%、76.18%和51.66%。另外2个分布差异较大的是子囊菌门和接合菌门, 子囊菌门在3组中占比分别为60.13%、18.71%和28.21%, 接合菌门占比分别为23.10%、3.11%和2.00%。土壤微生物群落 α 多样性指数分析结果(表6)表明, 细菌方面: 对于cha01指数和observed-species指数, S0和S1处理群落物种数量无显著差异($P>0.05$), 均显著多于CK处理($P<0.05$)。由simpson指数可以看出, 各处理间物种丰富度无显著差异($P>0.05$); 真菌方面: CK和S1处理群落物种数量无显著差异($P>0.05$), 均显著多于S0组($P<0.05$), 且S0组物种丰富度显著低于其他2个处理($P<0.05$)。

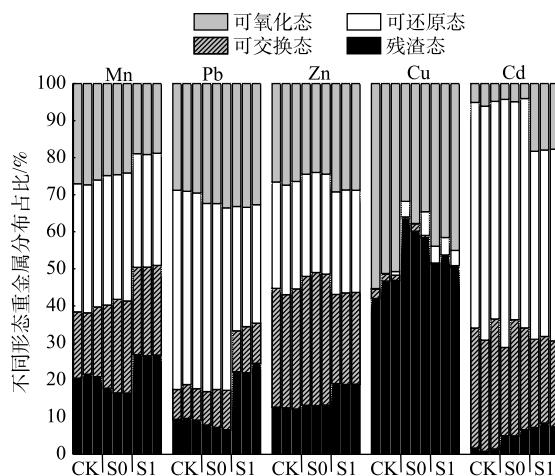


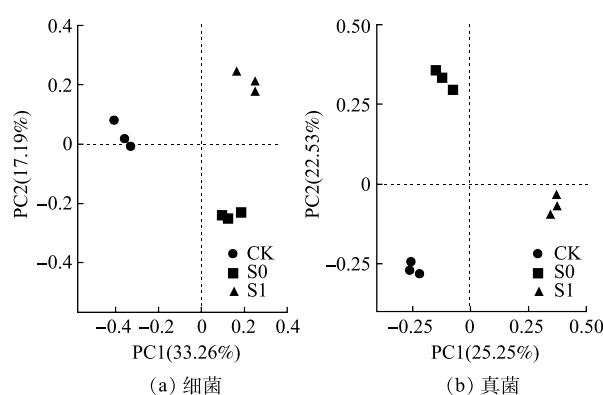
图2 各基质Mn、Pb、Zn、Cu和Cd不同形态分布
Fig. 2 Distribution proportions of heavy metals Mn、Pb、Zn、Cu and Cd of each substrate

表5 各处理基质中重金属占比

Table 5 Distribution of heavy metal of each substrate

重金属	处理组	重金属占比/%		
		基质留存量	植物吸收量	径流流失量
Mn	CK	77.216±1.50c	—	22.784±1.50a
	S0	79.686±0.50b	—	20.314±0.50b
	S1	93.608±0.60a	0.004±0.00	16.495±0.59c
Pb	CK	78.213±1.01b	—	21.786±1.01a
	S0	76.589±0.40b	—	23.411±0.40a
	S1	89.691±1.62a	0.001±0.00	10.308±1.62b
Zn	CK	76.586±1.02c	—	23.414±1.02a
	S0	79.814±0.69b	—	20.186±0.69b
	S1	89.487±0.73a	0.003±0.00	10.510±0.73c
Cu	CK	93.503±1.35a	—	6.497±1.35a
	S0	92.324±1.76a	—	7.676±1.76a
	S1	92.809±1.93a	0.006±0.00	7.394±1.93a
Cd	CK	88.949±3.05a	—	11.051±3.05b
	S0	76.331±0.60b	—	23.669±0.60a
	S1	85.372±2.07a	0.026±0.00	14.625±2.07b

注: 同列不同字母表示不同处理下该种重金属总量显著差异($P<0.05$); 利用实验前、后各基质中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd的含量和基质容重分别求得实验前、后重金属的总量, 相减得到各装置中损失的重金属的量(主要包括植物吸收量和径流流失量), 实验后装置中重金属总量记为基质留存量。S1处理中栾树对不同重金属的吸收总量由根、茎、叶各部分的干重及其重金属含量求得, 径流流失量(重金属随表流和潜流雨水的流失总量)利用实验前基质重金属总量减去植物吸收量和基质留存量求得, 所有数据均利用百分比进行归一化处理。

图3 不同处理基质微生物主坐标轴分析(PC_0A)Fig. 3 PC_0A of bacteria and fungi of each substrate

注: 距离越远表示两样本间差异性越大, 距离越近表示两样本间差异性越小。

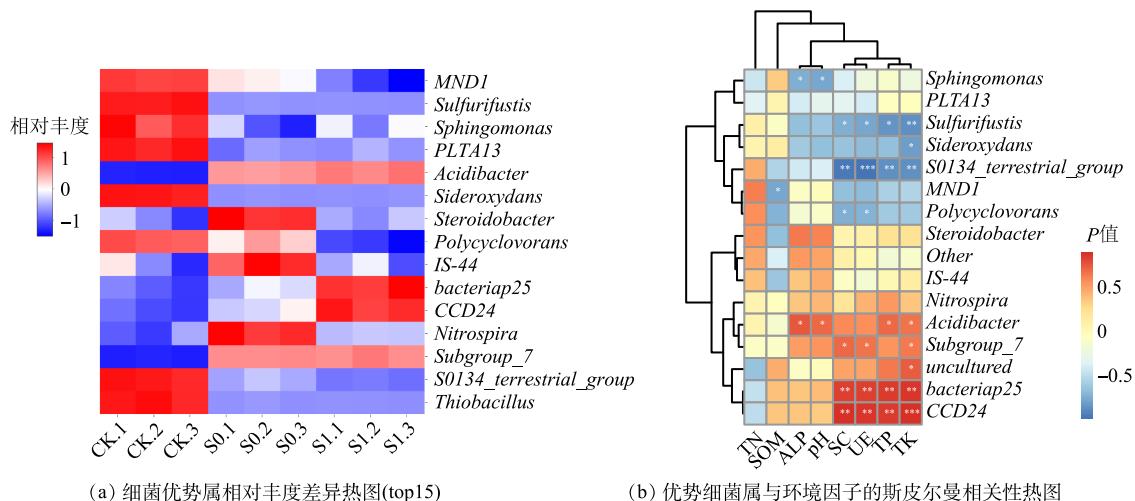
表6 土壤微生物群落 α 多样性指数
Table 6 α diversity index of soil bacterial community

微生物	处理组	chao1指数	goods_coverage指数	observed_species指数	Simpson指数
细菌	CK	3 890.44±561.08b	0.982 0±0.002 4a	2 860.30±468.34b	0.967±0.034 8a
	S0	6 353.55±458.40a	0.969 9±0.002 4b	4 816.40±387.44a	0.995±0.000 2a
	S1	6 845.26±372.30a	0.966 7±0.001 2b	5 057.53±486.56a	0.995±0.000 8a
真菌	CK	380.34±30.25b	0.999 39±0.000 22a	338.30±41.05a	0.88±0.06a
	S0	326.59±59.23b	0.998 84±0.000 23b	224.27±39.14b	0.67±0.12b
	S1	477.47±31.41a	0.998 59±0.000 01b	392.03±37.15a	0.77±0.07a

S0 和 S1 处理细菌群落 α 多样性无显著差异($P>0.05$)，在真菌群落上差异显著($P<0.05$)。

2.4 基质微生物群落、重金属以及环境因子间的相关性

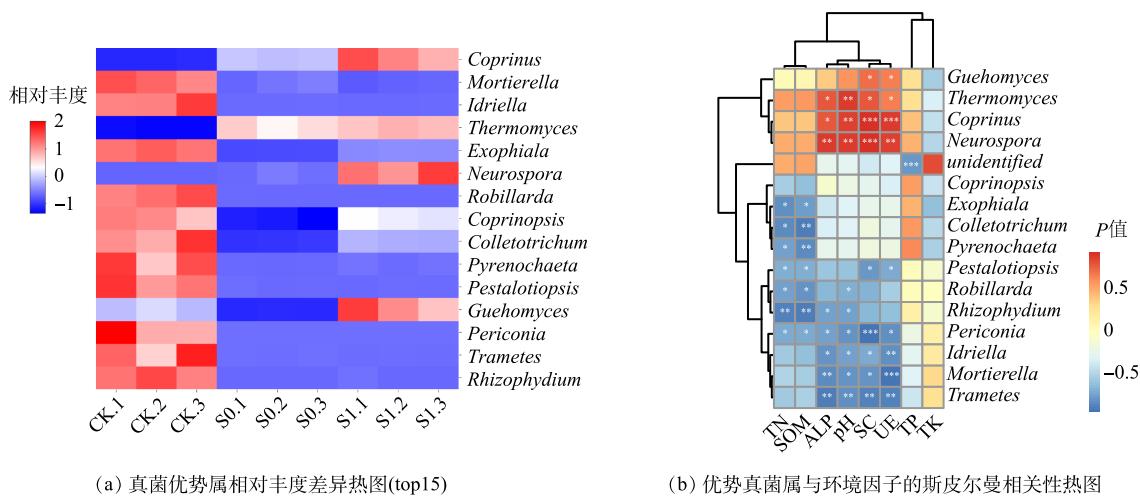
由细菌优势属丰度热图(图4(a))可以看出，各处理间优势属差异较为明显。S1 处理丰富度较高的属有变形菌门下的 *CCD24*、*Bacteriap25* 和 *Acidibacter* 属以及酸杆菌门下的 *Subgroup_7* 属。斯皮尔曼相关性分析((图4(b)))显示，S1 处理独有的优势属 *CCD24* 与 *bacteriap25* 聚类，与基质蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶和 pH 存在极显著正相关关系($P<0.01$)。*Acidibacter* 和 *Subgroup_7* 在 S0 与 S1 组中均为优势属。*Subgroup_7* 与基质蔗糖酶、脲酶和 pH 显著正相关($P<0.05$)，有研究表明，酸杆菌门下 *subgroup_7* 属丰度往往与土壤 pH 呈正相关关系^[23]，这与本研究的结果是一致的。*Acidibacter* 属被认为是具有分解蛋白质和摄取环境周围酸性物质的有益菌属^[24]，其与基质碱性磷酸酶、有机质、总氮和 pH 呈显著正相关性($P<0.05$)，*Nitrospira*(硝化螺旋菌属)是土壤中的潜在有益菌，可促进土壤化学循环，保持土壤肥力^[25]，其与图中所有环境因子均呈正相关性，但不显著($P>0.05$)。此外，CK 处理中独有的优势属 *Sulfurifustis* 和 *S0134_terrestrial_group* 与基质酶活性和 pH 呈不同程度显著($P<0.05$)或极显著负相关($P<0.01$)。



注:(b)图中*表示显著差异($P<0.05$),**和***表示极显著差异($P<0.01$, $P<0.001$);SC:土壤蔗糖酶,UE:土壤脲酶,ALP:土壤碱性磷酸酶,SOM:土壤有机质。

图4 基质细菌群落在属水平上相对丰度差异及其与环境因子相关性分析
Fig. 4 Difference in bacterial community at genus level and correlation analysis of environmental factors

在真菌 top15 优势属中(图5(a)), 各处理间的差异十分明显, CK 处理中丰度较高的达到了 11 个, S0 处理丰富度较高的仅有子囊菌门下的 *Thermomyces*(嗜热真菌属)。斯伯尔曼相关性分析结果表明(图5(b)), S1 组中丰富度较高的优势属分别为子囊菌门下 *Neurospora*(脉孢菌属)和



注:(b)图中*表示在 $P<0.05$ 差异显著,**和***表示在 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 差异显著,SC为土壤蔗糖酶,UE为土壤脲酶,ALP为土壤碱性磷酸酶,SOM为土壤有机质。

图 5 基质真菌群落在属水平上相对丰度差异及其与环境因子相关性分析
Fig. 5 Difference in fungal community at genus level and correlation analysis of environmental factors

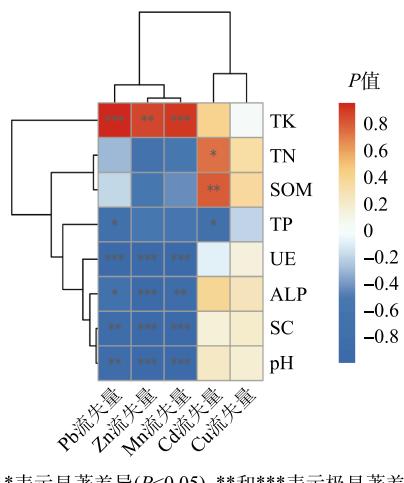
Thermomyces (嗜热真菌属)以及担子菌门下的*Guehomyces* (低温酵母属)和*Coprinus* (鬼伞属),这4个优势属聚类在一起,与基质蔗糖酶、脲酶、碱性碱性和pH在 $P<0.01$ 或 $P<0.05$ 水平上呈显著正相关,与基质总氮、总磷和有机质含量呈不同程度的正相关关系($P>0.05$)。

为了进一步探究导致不同处理下装置系统对重金属的拦截效果产生差异的因素,我们对各处理下基质中Mn、Pb、Zn、Cu、Cd流失量的百分比与基质理化性质进行了皮尔逊(Pearson)相关性分析,结果如图6所示。可以发现,Mn、Pb、Zn随雨水径流的流失量与基质pH、蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶活性呈不同程度显著负相关($P<0.05$)和极显著负相关关系($P<0.01$, $P<0.001$),与基质总氮、总磷和有机质含量等呈负相关关系($P>0.05$)。同时可以发现,Cu的流失量与图中所有环境因子均无显著相关性($P>0.05$)。Cd的流失量与基质总氮显著正相关($P<0.05$),与有机质含量极显著正相关($P<0.01$),但与基质总磷量含量表现出显著的负相关性($P<0.05$)。上述数据表明,pH和土壤酶活性的提升能够显著减少锰矿渣中Mn、Pb、Zn随雨水径流的流失、Cd的流失与基质不同营养元素含量表现出不同程度的正、负显著相关性,而基质理化性质的改变对Cu的流失量影响不大。

3 讨论

3.1 改良剂的加入和栾树的生长对锰矿渣肥力和持水性的提升

锰尾矿渣中Mn、Pb、Zn、Cu和Cd等重金属含量均远超背景值,土壤易板结,保水能力差,可供植物利用的有效态的氮、磷、钾含量低,是限制植物在锰尾矿渣中正常生长的主要因素^[26]。实验前,蘑菇渣和凹凸棒改良剂的加入使得矿渣的氮、磷、钾总量及其有效态含量、有机质、土壤阳离子交换量和含水率均得到不同程度的提升。本研究中蘑菇渣和凹凸棒改良剂的加入可改善锰矿渣的土壤结构和肥力。这与前人的研究结果一致^[27-28]。土壤中蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶的活



注: *表示显著差异($P<0.05$), **和***表示极显著差异($P<0.01$, $P<0.001$)。

图 6 基质重金属流失量与环境因子相关性分析
Fig. 6 Correlation analysis of environmental factors and loss of heavy metals in substrate

性能能够很好地反映土壤肥力和质量^[29]，在实验的中期和末期，各处理下基质中3种土壤酶活性差异显著，表现出S1>S0>CK的趋势。同时，S1和S0处理的土壤氮、磷、钾有效态均能保持在明显高于CK处理的水平。不难看出，改良剂的加入和栾树的生长在整个实验阶段较好地维持了矿渣的肥力，提高了其持水能力。

值得注意的还有2点：第一，相较于有栾树生长的S1处理，实验过程中S0处理(改良锰矿渣)中氮、磷、钾元素和有机质的流失量偏大，表明单纯改良剂的加入能在短时间内提升矿渣肥力，但植物的生长是维系土壤肥力的重要因素，而栾树地下部发达的根系和地上部植被的覆盖能对矿渣水土的保持产生了积极作用，进而减少矿渣中水分和营养元素的流失；第二，锰矿渣和改良锰矿渣中的K元素极易流失，在长期的修复过程要注意钾肥的补充。

3.2 栾树对改良矿渣中重金属的拦截作用

凹凸棒是一种镁铝硅酸盐矿物，作为土壤修复改良剂被广泛使用^[30]，有研究表明，其能显著提高土壤pH，降低Pb、Cd、Cr等重金属的生物有效性，减少植物对重金属的吸收^[31]。有机菌肥在为植物提供养分外，还能通过固定、吸附、络合、氧化等作用降低植物根际环境中重金属的毒性^[32]。重金属在土壤中的形态包括可交换态、可还原态、可氧化态和残渣态。可交换态和可还原态的重金属较易被植物吸收，具有生物有效性。可氧化态和残渣态相对更稳定，难以被植物吸收和利用^[33]。栾树对锰矿渣中重金属的吸收量极为有限，相较于随雨水径流流失的量几乎可以忽略不计，而锰矿渣中Mn、Pb、Zn等重金属随径流的流失量非常高，单纯改良剂的加入在实验周期内无法有效抑制重金属的流失，甚至显著增加了改良矿渣中Cd的流失量比例。但栾树的种植能明显增加矿渣中重金属的可氧化态和残渣态比例，显著减少矿渣中Mn、Pb、Zn等重金属的流失，这与MUTHANNA^[34]等的研究结果相似，说明短时间内植物对基质重金属的吸收量非常有限，通过减少矿渣中重金属的流失来治理矿渣中重金属的扩散和污染将更为有效。凹凸棒和蘑菇渣改良剂的加入在实验前显著提升了锰矿渣的pH，但实验后S0处理中pH有所下降，而S1处理pH显著提升。S0处理在实验后Mn、Pb、Zn等重金属的形态较CK处理无显著的变化，而S1处理中Mn、Pb、Zn重金属残渣态的比例显著高于CK和S0处理。相关性分析结果表明，基质pH、蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶的升高能够显著降低矿渣中Mn、Pb和Zn的流失。这是由于提升锰矿渣的pH会增强土壤对重金属离子的吸附能力，有助于降低重金属在土壤和植物中的迁移能力^[35]。土壤中蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶的活性能够很好地反映土壤肥力和质量^[29]，土壤酶活性的升高反映了改良矿渣肥力和土壤质量的提升，为栾树的生长提供了有利条件，栾树的生长所带来的水土保持作用进一步减少了矿渣中重金属随雨水的流失。

3.3 改良剂的加入和栾树生长对基质微生物群落结构的影响

土壤微生物对外界环境(植物种类、土壤结构、肥力、温度、湿度、酸碱度)的变化高度敏感。长期受重金属污染的土壤，根际微生物群落结构及多样性和丰度都会受到显著的影响^[36-38]。不论是改良剂的加入还是栾树生长对锰矿渣微生物群落结构都有一定影响。改良剂的加入对锰矿渣中门水平下细菌物种群落结构的影响较小，但显著提升了细菌物种数量。在本研究中，纯矿渣和改良矿渣中变形菌门都是绝对的优势种群，这与BOUSKILL^[39]等的研究结果一致。变形菌门是土壤中分布最广，最普遍的一个细菌门，在矿山径流、被重金属污染的水体及其沉积物和重金属污染土壤中都有丰富的存在^[40]，改良剂加入后，细菌门水平上，拟杆菌门和酸杆菌门等腐生型细菌相对丰度也大大提升，拟杆菌门为富营养菌，相对丰度在高有机质水平下增加，且具有溶磷作用^[41]，酸杆菌门被证明能够适应重金属污染等极端生存条件^[42]。细菌属水平上，S1处理独有的优势属*CCD24*和*bacteriap25*与基质蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶和pH存在极显著正相关关系($P<0.01$)，与总氮、总磷以及有机质含量等土壤肥力指标也存在正相关关系。这表明，改良剂的加入带来的丰富营养元素和对土壤结构的改善为上述细菌种群的生长提供了有利条件，促进了他们的生长和繁殖，增强它们的活动水平。

土壤真菌参与土壤有机矿化，分解土壤中植物残体和有机质，但多数真菌也能引起植物的病变^[43]。改良剂加入后对锰矿渣真菌群落结构的影响巨大，门水平上锰矿渣(CK)中真菌群落绝对优

势种群为子囊菌门,而改良矿渣(S0、S1)为担子菌门,子囊菌和担子菌是土壤中重要的分解者,子囊菌多营腐生,而担子菌对植物残体中的复杂的木质素和纤维素具有较强的分解能力^[44]。蘑菇渣中主要成分米糠和麦麸等富含纤维素和木质素,充足的营养源使得担子菌门取代子囊菌门成为改良矿渣中绝对的优势种群。过多的子囊菌会引起植物根和茎的腐烂^[43],改良剂的加入显著降低了其在矿渣中的丰度从而减轻其对柰树根系的威胁。同时,无植物下的改良矿渣(S0)在实验后真菌丰富度和多样性显著降低,子囊菌门下 *Thermomyces*(嗜热真菌属)大量繁殖,成为唯一的优势属,其在堆肥过程中对半纤维素的降解起到非常关键的作用,是堆肥中常见的真菌属^[45]。这直接导致了改良锰矿渣中真菌群落结构平衡的破坏,营养元素在真菌的分解作用和雨水冲刷下大量流失。而柰树的生长有效避免了这一极端情形的发生,同时使得 S1 处理中子囊菌门丰度显著低于 CK 处理,并提高了如担子菌门和接合菌门(接合菌门对土壤中腐殖质分解起到重要作用^[46])等有益菌的占比,有利于改良矿渣中有机质和营养元素的缓释,保持锰矿渣的肥力。

土壤微生物在维持土壤肥力、驱动土壤养分循环、稳定生态系统功能等方面发挥着重要作用,是维持土壤生产力的重要部分^[47]。植物通过根系的分泌物影响微生物群落结构的组成,同时,土壤微生物群落的结构和多样性也影响了土壤生态系统的结构和功能^[47]。总体来看,锰矿渣中 Mn、Pb、Zn、Cu、Cd 等重金属浓度非常高,且缺乏营养物质,改良剂的加入带来了丰富的营养物质,同时提升了矿渣的土壤质量。而土壤肥力和土壤质量的提升给原本处于弱势的微生物群落的生长和繁殖创造了条件,这是导致矿渣中微生物结构发生转变的主要原因。根际土壤中微生物群落结构的改变和柰树根系的作用使得矿渣的肥力达到了一种缓释的状态,柰树生长过程中植被和根系对矿渣水土的庇护和保持可巩固这一状况,从而形成一种良性循环。

4 结论

1) 蘑菇渣和凹凸棒改良剂的加入显著增强了锰矿渣的肥力和持水性,促进了改良锰矿渣肥力的保持和缓释,增强了柰树的抗逆性。2) 奈树地下部发达的根系和地上部植被的覆盖对锰矿渣水土的保持具有积极作用,改良剂的加入和柰树的生长能显著提升锰矿渣中 Mn、Pb 和 Zn 的残渣态比例,显著降低这 3 种重金属在锰矿渣中的流失,提高了修复效率。3) 改良剂的加入提高了锰矿渣中微生物多样性,门水平和属水平上腐生和富养菌等有益菌丰度和多样性均显著提升,微生物群落结构的这种改变改善了土壤质量,促进了柰树生长,对植物修复效率的提升具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 任辉,刘敏,王自国,等.我国锰矿资源及产业链安全保障问题研究[J].中国工程科学,2022,24(3): 20-28.
- [2] 张雅静.中国锰矿行业安全环保新政下优劣势分析与发展路径研究[J].中国锰业,2022,40(6): 21-25.
- [3] WANG J, CHENG Q, XUE S, et al. Pollution characteristics of surface runoff under different restoration types in manganese tailing wasteland[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25: 9998-10005.
- [4] LI Z, MA Z, KUIJP T J V D, et al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment[J]. Science of the Total Environment, 2014, 468-469: 843-853.
- [5] 王庆仁,崔岩山,董艺婷.植物修复-重金属污染土壤整治有效途径[J].生态学报,2001,21(2): 326-331.
- [6] CHANEY R L, LI Y M, BROWN S L, et al. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress[J]. Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. CRC Press, 1999: 129-158.
- [7] 张慧智,刘云国,黄宝荣,等.锰矿尾渣污染土壤上植物受重金属污染状况调查[J].生态学杂志,2004,23(1): 111-113.
- [8] 李有志,罗佳,张灿明,等.湘潭锰矿区植物资源调查及超富集植物筛
- [9] 李礼,刘灿,徐龙君.重庆秀山锰矿废弃地优势种植物调查分析[J].湖南生态科学报,2017,4(3): 19-25.
- [10] 何蔚.锰矿渣基质改良下木本植物修复效果研究[D].长沙:中南林业科技大学,2018.
- [11] 潘淑桢,唐敏,谭欣蕊,等.2种常见园林灌木对Zn的富集及耐性机制研究[J].环境科学与技术,2022,45(4): 154-163.
- [12] 商侃侃,张国威,蒋云.54种木本植物对土壤Cu、Pb、Zn的提取能力[J].生态学杂志,2019,38(12): 3723-3730.
- [13] 周连碧.铜尾矿废弃地重金属污染特征与生态修复研究[D].北京:中国矿业大学(北京),2012.
- [14] LI M S. Ecological restoration of mineland with particular reference to the metalliferous mine wasteland in China: A review of research and practice[J]. Science of the Total Environment, 2006, 357(1): 38-53.
- [15] 何蔚,陈永华,梁希,等.改良锰矿渣中木本植物筛选及锰的亚细胞分布和化学形态[J].环境工程,2018,36(9): 154-160.
- [16] ZHANG M Y, CHEN Y H, DU L, et al. The potential of *Paulownia fortunei* seedlings for the phytoremediation of manganese slag amended with spent mushroom compost[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 196: 110538.

- [17] TANG C F, CHEN Y H, ZHANG Q N, et al. Effects of peat on plant growth and lead and zinc phytostabilization from lead-zinc mine tailing in southern China: Screening plant species resisting and accumulating metals[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 176: 42-49.
- [18] 谢天志, 陈永华, 苏荣葵, 等. 改良铅锌矿渣对柰树幼苗铅锌富集与耐性机制[J]. 环境科学, 2022, 43(10): 4687-4696.
- [19] HENAO S-G, GHNEIM-HERRERA T. Heavy metals in soils and the remediation potential of bacteria associated with the plant microbiome[J]. Frontiers in Environmental Science, 2021, 9: 604216.
- [20] YIN K, WANG Q, LV M, et al. Microorganism remediation strategies towards heavy metals[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 360: 1553-1563.
- [21] ABDU N, ABDULLAHI A A, ABDULKADIR A. Heavy metals and soil microbes[J]. Environmental chemistry letters, 2017, 15: 65-84.
- [22] 关松荫, 张德生, 张志明, 等. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [23] SWATHI A T, RAKESH M, PREMSAI S B, et al. Chronic N -amended soils exhibit an altered bacterial community structure in harvard forest, Ma, Usa[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 83(2): 478-493.
- [24] 周柳婷, 李建鹃, 赵艳玲, 等. 基于高通量测序的连栽木麻黄根际土壤细菌群落变化研究[J]. 生态学报, 2020, 40(8): 2670-2679.
- [25] 宋秀丽, 黄瑞龙, 柯彩杰, 等. 不同种植方式对连作土壤细菌群落结构和多样性的影响[J]. 生态环境学报, 2022, 31(3): 487-496.
- [26] 欧阳林男. 锰矿污染区植物群落模式修复效应研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2017
- [27] HAN J, XU Y, LIANG X, et al. Sorption stability and mechanism exploration of palygorskite as immobilization agent for Cd in polluted soil[J]. Water, Air and Soil Pollution, 2014, 225(10): 1-13.
- [28] 吴瑾. 锰矿渣的改良剂筛选与改良效果研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019
- [29] 解雪峰, 潘励杰, 朱明, 等. 基于MDS与TOPSIS模型的滨海滩涂围垦区土壤质量评价[J]. 环境科学, 2019, 40(12): 5484-5492.
- [30] 陶玲, 马奔, 李中兴, 等. 污泥-凹凸棒石共热解生物炭对矿区重金属污染土壤的钝化修复效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(6): 1251-1260.
- [31] XU C, QI J, YANG W, et al. Immobilization of heavy metals in vegetable-growing soils using nano zero-valent iron modified attapulgite clay[J]. Science of the Total Environment, 2019, 686: 476-483.
- [32] 欧阳林男, 吴晓英, 李芸, 等. 锰矿修复区泡桐与柰树生长与重金属积累特性[J]. 中国环境科学, 2016, 36(3): 908-916.
- [33] 林淑芬, 李辉信, 胡锋. 蚕粪对黑麦草吸收污染土壤重金属铜的影响[J]. 土壤学报, 2006, 43(6): 911-918.
- [34] MUTHANNA T M, VIKLANDER M, GJESDAHL N, et al. Heavy metal removal in cold climate bioretention[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2007, 183(1): 391-402.
- [35] NAIDU R, BOLAN N S, KOOKANA R S, et al. Ionic - strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils[J]. European journal of soil science, 1994, 45(4): 419-429.
- [36] YUANPENG W, JIYAN S, HUI W, et al. The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity, and community composition near a copper smelter.[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 67(1): 75-81.
- [37] KANDELER F, KAMPICHLER C, HORAK O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities[J]. Biology and Fertility of Soils, 1996, 23(3): 299-306.
- [38] 张秀, 尚艺婕, 王海波, 等. 重金属污染条件下生物质炭对土壤微生物群落结构及多样性影响的研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(25): 147-152.
- [39] BOUSKILL N J, BARKER-FINKEL J, GALLOWAY T S, et al. Temporal bacterial diversity associated with metal-contaminated river sediments[J]. Ecotoxicology, 2010, 19: 317-328.
- [40] MARCIN G, EDYTA D, MARCIN C, et al. 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy metals polluted soils[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(3): 635-647.
- [41] SHEN C, XIONG J, ZHANG H, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57: 204-211.
- [42] BARNS S M, CAIN E C, SOMMERVILLE L, et al. *Acidobacteria* phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2007, 73(9): 3113-3116.
- [43] 陈丹梅, 段玉琪, 杨宇虹, 等. 轮作模式对植烟土壤酶活性及真菌群落的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(8): 2373-2381.
- [44] FREY S D, KNORR M, PARRENT J L, et al. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests[J]. Forest Ecology and Management, 2004, 196(1): 159-171.
- [45] 葛勉慎, 周海宾, 沈玉君, 等. 添加剂对牛粪堆肥不同阶段真菌群落演替的影响[J]. 中国环境科学, 2019, 39(12): 5173-5181.
- [46] 徐一兰, 唐海明, 李益峰, 等. 长期施肥大麦生育期双季稻田土壤微生物和酶活性动态变化特征[J]. 中国农学通报, 2017, 33(13): 12-20.
- [47] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 等. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24(1): 48-52.

(责任编辑: 曲娜)

Effects of modifier application and *Koelreuteria Paniculata* planting on the microbial community of a manganese slag

WANG Hao, CHEN Yonghua*, DU Lu, LIU Hui, WEN Fu

College of Environmental Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 430004, China

*Corresponding author, E-mail: chenyonghua3333@163.com

Abstract The application of amendments can reduce the stress of heavy metal pollution on plants in mining areas, but the mechanism of its impact on the rhizosphere environment is still unclear. In this study, *Koelreuteria paniculata* was taken as the test plant and a manganese tailings slag was taken as the substrate, the differences in the occurrence status and microbial diversity of heavy metals in CK (100% slag), S0 (90% slag+5% spent mushroom slag+5% attapulgite), and S1 (90% slag+5% mushroom slag+5% attapulgite, planting *Koelreuteria paniculata* trees) were compared, and the effects of application of modifiers and planting Luan tree on the interception of heavy metals in slag were explored. The results showed that the application of modifiers (i.e. mushroom residue and attapulgite) increased the pH of the slag, enhanced its fertility and water holding capacity. Planting *Koelreuteria paniculata* trees could reduce the bioavailability of heavy metals, and significantly increased the residual proportions of Mn, Pb, and Zn, which were 5.73%, 13.5%, and 6.47% higher than S0, and 4.98%, 12.8%, and 6.01% higher than CK, respectively. A significant difference occurred in the amount of Mn, Pb, and Zn loss with rainwater runoff in each substrate before and after the experiment, and the corresponding order was S1<S0<CK. Planting *Koelreuteria paniculata* trees and applying amendments had a significant impact on the microbial community structure of slag, and slight difference occurred in bacteria between S0 and S1 treatments, while the significant differences appeared in fungal α diversity. Compared with CK and S0, S1 treatment significantly increased the relative abundance of *Bacteroidota*, *Acidobacteria*, *Basidiomycota* and *Ascomycota*, as well as the relative abundance and diversity of beneficial bacteria such as saprophytic and eutrophic bacteria, which was conducive to maintaining soil fertility and promoting the growth of *Koelreuteria paniculata* trees, improving their stress resistance and repair efficiency.

Keywords woody plants; phytoremediation; modifiers; Mn slag; microbial diversity