

doi:10.3969/j.issn.1007-7545.2022.06.015

废弃铬渣厂土壤理化性质对微生物多样性的影响

罗雨虹^{1,2}, 朱四喜^{1,2}, 夏国栋^{1,2}, 赵斌³, 王众⁴

(1. 贵州民族大学 生态环境工程学院, 贵阳 550025;

2. 国家民委喀斯特环境地质灾害防治重点实验室(贵州民族大学), 贵阳 550025;

3. 贵州民族大学 人文科技学院, 贵阳 550025;

4. 国家海洋局 秦皇岛海洋环境监测中心站, 河北 秦皇岛 066000)

摘要:以废弃铬渣厂及其周边表层土壤为研究对象,采集5个区域土壤样品,运用高通量测序技术,揭示了表层土壤微生物多样性及其环境主要影响因素之间的关系。结果表明,有机质(SOM)、总磷(TP)、速效磷(AP)、速效氮(AN)和铵态氮(NH_4^+-N)含量均在下游最高、车间最低。门水平上, *Actinobacteria*、*Proteobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Chloroflexi* 为优势菌种;纲水平上, *Alphaproteobacteria*、*Actinobacteria*、*Vicinamibacteria*、*Gemma proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 为优势菌种。总体来看,在重金属与土壤环境因子共同作用下,微生物丰度更倾向于受土壤环境因子的影响,其中TP、硝态氮(NO_3^+-N)和大多数重金属元素是微生物变化的主要影响因素;*Actinobacteria*与大多数重金属具有趋同性,对重金属耐受能力最强;金属元素Pb对细菌的生长繁衍存在一定的选择性,即金属元素的不同对土壤细菌类群的影响有差异。综上,废弃厂区修复治理过程中应考虑营养元素的投入与优势菌种的选择。本研究加深了对重金属污染土壤微生物的变化及其驱动因子的了解,为废弃铬渣厂受污染的土壤修复提供理论依据。

关键词:重金属污染;土壤性状;微生物群落结构;土壤修复;喀斯特地区;Cr

中图分类号:X53

文献标志码:A

文章编号:1007-7545(2022)06-0091-10

Effect of Soil Physicochemical Properties on Microbial Diversity in Waste Chromium Residue Plant

LUO Yu-hong^{1,2}, ZHU Si-xi^{1,2}, XIA Guo-dong^{1,2}, ZHAO Bin³, WANG Zhong⁴

(1. College of Eco-environment Engineering, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China;

2. The Karst Environmental Geological Hazard Prevention of Key Laboratory of State Ethnic
Affairs Commission (Guizhou Minzu University), Guiyang 550025, China;

3. College of Humanities and Science, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China;

4. Qinhuangdao Marine Environmental Monitoring Center Station of The State
Oceanic Administration, Qinhuangdao 066000, Hebei, China)

Abstract: Applying heavy metals in the surface layer soil of abandoned chromium slag plant as research object, the changes of surface soil microorganisms and physical and chemical properties were comprehensively analyzed to provide theoretical basis for remediation of soils contaminated by heavy metals in karst areas, as well as the relationship between the environmental factors, through high-throughput

收稿日期:2022-02-07

基金项目:贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2018]2807);国家自然科学基金资助项目(31560107)

作者简介:罗雨虹(1996-),女,硕士研究生;通信作者:朱四喜(1972-),男,博士,教授

sequencing technology analysis. The results show that contents of soil organic matter (SOM), total phosphorus (TP), available phosphorus (AP), available nitrogen (AN) and ammonium nitrogen (NH_4^+-N) are the highest in the downstream and the lowest in the workshop. At the phylum level, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria* and *Chloroflexi* are the dominant species. At class level, *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Vicinamibacteria*, *Thermoleophilia* and *Chloroflexi* are the dominant species. In general, under the combined action of heavy metals and soil environmental factors, microbial abundance is more likely to be affected by soil environmental factors, and TP, nitrate nitrogen (NO_3^+-N) and most heavy metals are the main driving factors of microbial change. *Actinobacteria* is similar to most heavy metals and has the strongest tolerance to heavy metals. Metal element Pb has certain selectivity to the growth and reproduction of bacteria, that is, different metal elements have different effects on soil bacteria groups. In conclusion, according to different contaminated and different plant areas, input of nutrient elements and selection of dominant strains should be considered in restoration and treatment of abandoned plant areas in karst areas. This study deepens the understanding of changes and driving factors of heavy metal contaminated soil microorganisms, and provides a theoretical basis for remediation of contaminated soil from waste chromium slag plant.

Key words: heavy metal pollution; soil properties; microbial community structure; soil remediation; karst region; Cr

中国的铬化工厂占全球约 70%, 且遍布范围广、数量多、污染复杂且严重, 修复治理和风险控制是当前迫切解决的关键问题^[1]。当代社会随着工业技术的迅速发展, 铬成为 5 种污染土壤的重金属之一^[2], 因受人为活动的影响暴露于土壤表层中, 导致表层土壤遭受污染^[3], 对环境和人类生命安全造成了一定的威胁^[4]。

21 世纪以来, 人们对于喀斯特土壤污染防控愈发重视。1980 年, 朱鸿玲^[5]较早提出了重金属污染的土壤治理意见。土壤微生物是生态系统重要的组成成分之一^[6], 是全球生物地球化学循环的重要驱动因子^[7-8], 对维持生态系统功能和服务起到至关重要的作用^[7]。2009 年, LAUBER 等^[9]首次使用高通量测序法对土壤细菌结构多样性和物种进行了探讨。2003 年, NANNIPIERI 等^[10]提出, 土壤微生物多样性与植被质量对保护生态系统平衡有着密切联系, 为后续研究土壤与微生物之间的关系奠定了基础。有研究表明, 土壤微生物对土壤中的有机质、腐殖质以及养分的分解、形成、循环和转化起到关键性驱动作用^[6], 在一定程度上保障生态的可持续性发展^[11]。微生物对土壤环境的变化十分敏感, 能够及时反映土壤质量和土壤生态系统功能的变化^[12]。

废弃铬渣堆场周边土壤重金属不仅受污染严重还难降解, 而且伴随水流和大气会迁徙到周边的农田, 废弃铬渣厂土壤污染的研究对保持喀斯

特地区生态环境至关重要^[13]。本研究选取贵州省喀斯特地区北部某废弃铬渣厂为研究区, 通过高通量测序技术对土壤中的微生物进行初步探讨, 分析不同区域受重金属污染的土壤环境因子、微生物多样性特征及其动态变化规律, 研究它们之间内在联系。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于贵州省北部喀斯特地区某地, 占地面积约为 11 000 m², 年均气温 15.2 °C, 年均降水量 1 094.2 mm, 相对湿度 74%~83%。该研究区内主要受重金属铬渣堆的污染影响, 20 世纪 90 年代用于皮革制造, 至今已停厂多年。厂区电镀车间与外界仅一墙之隔, 有一个出水口, 以出水口为临界点, 根据水流流势, 顺着水流流势, 支流越少、泥沙堆积越严重, 故分为流域上游区域和流域下游区域, 周边农田十余亩, 主要农作物有玉米、胡萝卜和白菜等; 根据受重金属堆积污染程度不同, 分轻度积累区域和重度积累区域和厂外区域, 重度积累区域之前是制造生产车间, 含有大量重金属。综合考虑将该研究区分为五片典型区域开展研究。

1.2 样点设置

取样点设置在废弃铬渣厂区及其周边区域, 根据受重金属污染程度不同划分成五片区域, 每片区域内各布置 4 个采样点, 共计 20 个采样点(图 1)。

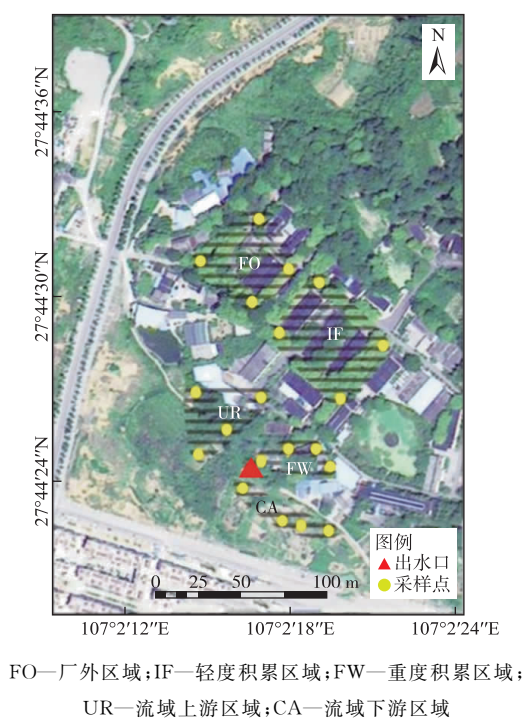


图1 采样区域概况

Fig. 1 General situation of sampling area

1.3 样品采集

2020年9月在样方内按照五点混合采样法取样,取样时采用GPS工具箱记录每个点的经纬度信息及采样点周围的环境特征。采集样点0~20 cm表层土壤样本。使用采样铲子去除土壤表面的草根、石粒、杂质等。密封于聚乙烯袋中并标记。一部分在常温下自然风干,过2 mm土壤筛,装入聚乙烯袋存放,用于土壤理化性质和微生物的研究分析,另一部分新鲜土壤装入无菌塑料袋,置于冰箱中-80℃存储,用于土壤微生物的DNA提取和测序。

1.4 样品测定

土壤pH采用酸碱度计测定法(水土比2.5:1);总磷(TP)测定采用硫酸—高氯酸消煮法;有效磷(速效磷,AP)测定采用浸提—钼锑抗比色法;碱解氮(速效氮,AN)测定采用碱解扩散法;有机质(SOM)测定采用重铬酸钾氧化分光光度法;采用2 mol/L氯化钾-靛酚蓝比色法测定铵态氮(NH_4^+-N);硝态氮(NO_3^+-N)采用紫外分光光度法。以上分析方法与赵斌等^[14]使用方法相同,土壤中重金属Cr、Cu、Pb、Zn、Mn、Ni含量采用电感耦合离子发射光谱仪(ICP-OES, Thermo630)测定,样品设置3次重复,取平均值。重金属标准质控购于国家标准物质研究中心,各元素回收率为89.4%~108.7%。使用的

酸均为优级纯,水为超纯水(制水机型号 Genpure UF)。

土壤微生物送至上海美吉生物医药科技有限公司,基于Illumina平台(Illumina, USA)进行高通量测序。细菌PCR扩增选用V3-V4区的引物对提取的16S rDNA进行PCR扩增,扩增引物及tag^[15]序列为:338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTC TAAT-3')。将所有样品按照1:1的比例进行混合,用于后续测序,三个重复理化性质和微生物样品指标的偏差小于5%。

采用内梅罗综合污染指数法评价土壤重金属综合污染状况^[16],计算公式如下:

$$P_N = \sqrt{\frac{\left(\frac{C_i}{S_i}\right)_{\max}^2 + \left(\frac{C_i}{S_i}\right)_{\text{ave}}^2}{2}}$$

其中, P_N 为内梅罗综合污染指数; C_i 和 S_i 分别为污染物*i*含量的实测值和当地背景值(mg/kg)。

1.5 统计分析

原始数据整理使用Microsoft Excel软件,采用SPSS 21.0软件的单因素方差分析(One ANOVN)进行差异性分析,为揭示样品的物种组成,通过对Reads拼接过滤,OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类(97%),并进行物种注释及丰度分析。样本内的物种多样性通过Alpha多样性的五个指数(Coverage、Simpson、Chao1、ACE、Shannon)分析。美吉微生物平台分析软件,土壤理化性质与土壤细菌群落多样性之间的关系运用高通量测序技术分析,显著性水平 $P < 0.05$,数据结果为:平均值±标准误差。

2 结果与分析

2.1 土壤性状特征及重金属含量

总磷、速效磷、速效氮、铵态氮含量最低的都是车间区域(表1),分别为0.06 g/kg、4.72 mg/kg、19.54 mg/kg、0.51 mg/kg,含量最高的是下游区域,分别为0.27 g/kg、53.73 mg/kg、117.02 mg/kg、1.19 mg/kg。pH在五片区域都呈中性,其中最高的是车间区域,为7.58,最低的是上游区域,为6.70。厂区内部和车间区域与下游区域和厂区外部无显著差异($P > 0.05$)。土壤速效氮中五片区域都存在显著差异($P < 0.05$),对于土壤有机质数据,可以看出,车间区域与其他区域都存在显著差异($P < 0.05$)。

表1 铬渣厂不同区域土壤性状和营养物质含量

Table 1 Soil properties and nutrient contents in different regions of Cr slag plant

采样区域	pH	TP/ (g · kg ⁻¹)	A P/ (mg · kg ⁻¹)	AN/ (mg · kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/ (mg · kg ⁻¹)	NO ₃ ⁺ -N/ (mg · kg ⁻¹)	SOM/ (g · kg ⁻¹)
FO	7.10±0.69a	0.24±0.20a	21.13±3.62b	29.46±12.17b	0.92±0.13b	1.39±0.62b	43.460±6.36d
IF	6.77±0.71b	0.15±0.12b	12.71±4.51c	54.54±13.36d	0.73±0.08c	0.71±0.28c	115.16±17.52a
FW	7.58±0.14a	0.06±0.02b	4.72±0.81d	19.54±8.98f	0.51±0.09d	11.42±0.98a	95.47±6.95c
UR	6.70±0.90b	0.15±0.09b	20.94±12.99b	77.99±32.83c	0.74±0.15c	1.93±1.23b	107.22±17.83b
CA	7.12±0.10a	0.27±0.11a	53.73±9.99a	117.02±8.48a	1.19±0.18a	1.09±0.59c	124.19±16.73a

注:SPSS单因素方差分析,同列数据不同字母表示显著差异($P<0.05$),下同

Cr最高的是下游区域568.42 mg/kg,最低是厂区区域64.67 mg/kg,最高值与最低值相差约8.79倍(表2)。重金属Cu、Pb、Zn、Mn、Ni含量分别在128.08~18.17、97.69~42.54、2 121.67~131.75、859.58~401.42、216.58~27.83 mg/kg,与贵州省

土壤背景值^[17](Cr 86.6、Cu 25.7、Pb 29.3、Zn 82.4、Ni 32.9、Mn 591 mg/kg)相比,6种元素均超出背景值。根据内梅罗综合污染指数分析,矿区5种不同土地利用类型均为污染土壤($P_N>1$),依次为CA>UR>IF>FO>FW,其中CA区域为重污染($P_N>3$)。

表2 土壤重金属含量及污染指数

Table 2 Heavy metal content in soil and pollution index

采样区域	重金属含量/(mg · kg ⁻¹)						P_N
	Cr	Cu	Pb	Zn	Mn	Ni	
FO	77.58±10.54c	20.42±9.69	54.44±24.63	147.54±23.47	493.92±84.65	38.69±8.19	1.53
IF	64.67±9.14c	18.17±5.17	53.35±15.70	142.08±12.09	401.42±43.63	27.83±5.21	1.90
FW	71.08±8.61c	18.50±7.79	42.54±22.80	131.75±31.28	770.4±429.61	37.83±8.81	1.41
UR	172.75±130.14b	28.00±6.53	97.69±24.33	206.83±51.16	470.50±180.42	56.08±12.98	2.15
CA	568.42±124.79a	128.08±9.85	52.12±3.28	2 121.67±86.44	859.58±38.84	216.58±68.19k	18.85

2.2 土壤微生物群落多样性特征

Shannon-Wiener曲线趋向平坦时,说明此次取样测序数据量足够大,能够反映出样本中绝大多数的微生物多样性信息,而且土壤样品中细菌的香农指数大约在3~6.5(图2)。

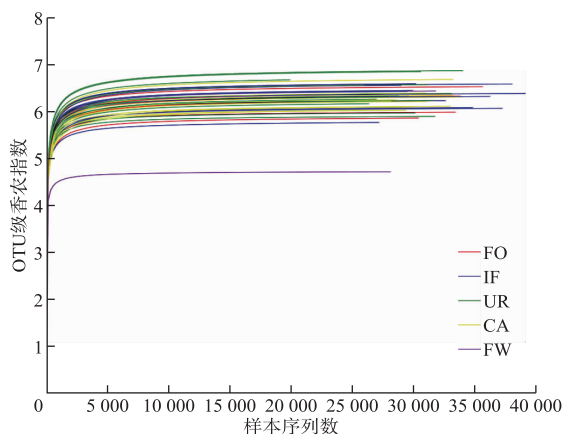


图2 样品香农指数曲线

Fig. 2 Shannon index curves of sample

Venn图可以直观地表现环境样本的OTUs数目组成相似性及重叠状况^[18]。5个区域共同的

OTUs数目为1 740个,并且各区域OTUs数目不同(图3)。5个区域的OTUs数目为UR(7 127)>CA(6 282)>IF(6 066)>FO(5 349)>FW(2 806)。

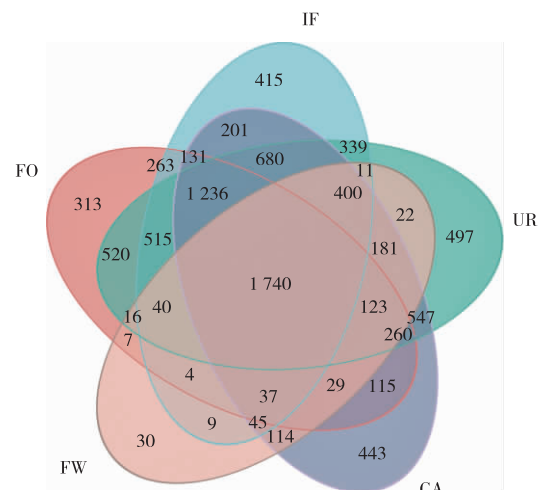


图3 OTU 韦恩图

Fig. 3 OUT Venn diagram

Shannon指数能够体现出物种多样性和均匀性(表3),下风口农田区域CA(6.47)具有最大多样性和均匀性,而车间区域FW(5.53)则最小;物种的丰

富度上,由 Ace 指数和 Chao 指数可以得出,这两种指数最大值均在 CA 区域,分别为 3 526.22 和 3 438.97;最小值均在 FW 区域,分别为 2 118.91 和 2 112.08。

表 3 不同区域微生物的多样性指数及覆盖率(均值±标准差)

Table 3 Microbial diversity index and coverage rate in different regions (Mean±SD)					
采样区域	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao 指数	Coverage 覆盖率
FO	6.16±0.25	0.006 911 5±0.00	3 080.75±540.38	3 085.14±518.77	0.98±0.00
IF	6.39±0.19	0.005 661±0.00	3 307.93±178.90	3 301.87±185.98	0.97±0.00
FW	5.53±1.19	0.014 031 5±0.01	2 118.91±1 793.16	2 112.08±1 780.56	0.98±0.01
UR	6.44±0.26	0.004 543±0.00	3 062.31±614.82	3 090.83±618.67	0.98±0.00
CA	6.47±0.19	0.007 118±0.00	3 526.22±282.06	3 438.97±169.26	0.97±0.00

2.3 微生物群落结构组成分析

土壤微生物群落在门(0.01)水平上的相对丰度由图 4a 可以看出,其中的优势菌群有 *Actinobacteria* (23.65%)、*Proteobacteria* (22.65%)、*Acidobacteria* (18.08%)和 *Chloroflexi*(16.56%),丰富度>5%,优势菌占总菌数的 80.94%。在样品中还能够观察到许多丰富度小但足以引起我们注意的菌种,如 *Gemmationadota* (3.11%)、*Methylomirabilota* (2.41%)、*Myxococcota* (2.39%)、*Firmicutes* (2.21%)和 *Bacteroidota* (1.85%)。5 个不同区域中的占比情况如图 4b 所示。*Proteobacteria* 在 FO、UR 占比较多,分别占 FO 的 28.25%,UR 的 25.60%;*Actinobacteria* 在 IF(26.2%),CA(5.79%)占比较多。

从纲的丰度图 5a 能够得出,五个区域的微生物群落在纲水平上具备较大差异。优势菌群有 *Alphaproteobacteria* (14.90%)、*Actinobacteria* (12.03%)、*Vicinamibacteria* (11.35%)、*Gemma proteobacteria* (7.76%)、*Thermoleophilia* (6.45%)和 *Chloroflexi*(5.20%),丰富度>5%。从图 5b 可知,*Alphaproteobacteria* 为最优势种菌,在三个区域分别占比为 FO (19.60%)、UR (16.29%)、FW (24.01%);*Vicinamibacteria* 是在 IF 占比最多的菌种,为 13.4%,*Actinobacteria* 在 CA 占比最大,为 17.32%。

2.4 环境因子与土壤微生物结构及多样性之间的关系

微生物群落结构与该生境中的重金属浓度、土壤养分等环境因子之间存在显著的相关性(表 4)。在门水平上,Cr、TP、NO₃⁺-N、Cu、Zn 和 Mn 是本研究中对微生物群落影响最大的环境因子。在纲水

平上,Cr、TP、NO₃⁺-N、Cu、Zn 和 Mn 是本研究中对微生物群落影响最大的环境因子。

本研究对土壤微生物群落结构及多样性与环境因子之间的关联进行分析,且选择丰度在前 10 的为微生物作图,结果见图 6。门水平上 NO₃⁺-N 与 *Actinobacteria* 菌落成正相关,Pb 与优势菌种呈负相关, *Proteobacteria* 菌种与重金属呈负相关, *Actinobacteria* 菌种与重金属呈正相关(图 6a);纲水平上,*Actinobacteria* 菌落与绝大多数重金属呈正相关, *Alphaproteobacteria* 与重金属呈负相关(图 6b)。

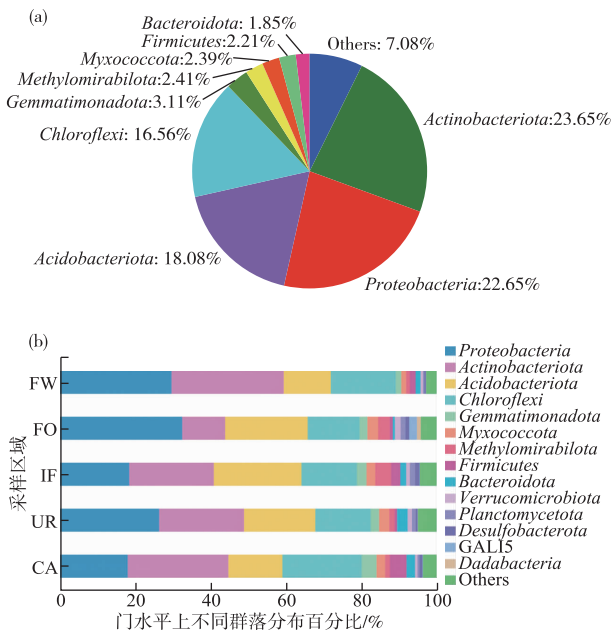


图 4 不同区域微生物群落门总体占比情况(a)及门水平分布(b)

Fig. 4 Population proportion of phylum in different regions (a) and phylum horizontal distribution (b)

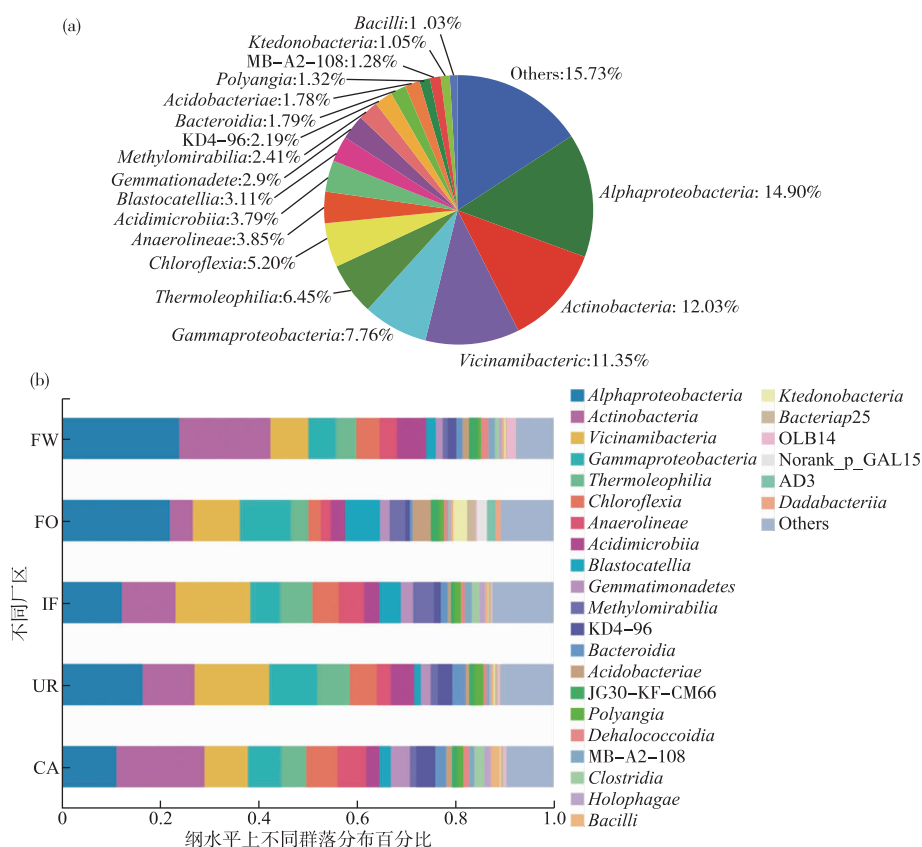


图5 不同区域微生物群落纲总体占比情况(a)及纲水平分布(b)

Fig. 5 Population proportion of class in different regions (a) and class horizontal distribution (b)

表4 门和纲水平 Envfit 环境因子表

Table 4 Table of Envfit environmental factors at phylum and class levels

门水平	<i>p</i> -values	纲水平	<i>p</i> -values
Cr	0.083	Cr	0.001
TP	0.604	TP	0.073
NO ₃ ⁺ -N	0.015	NO ₃ ⁺ -N	0.002
Cu	0.024	Cu	0.001
Pb	0.089	Pb	0.723
Zn	0.030	Zn	0.001
Mn	0.023	Mn	0.003
Ni	0.071	Ni	0.002

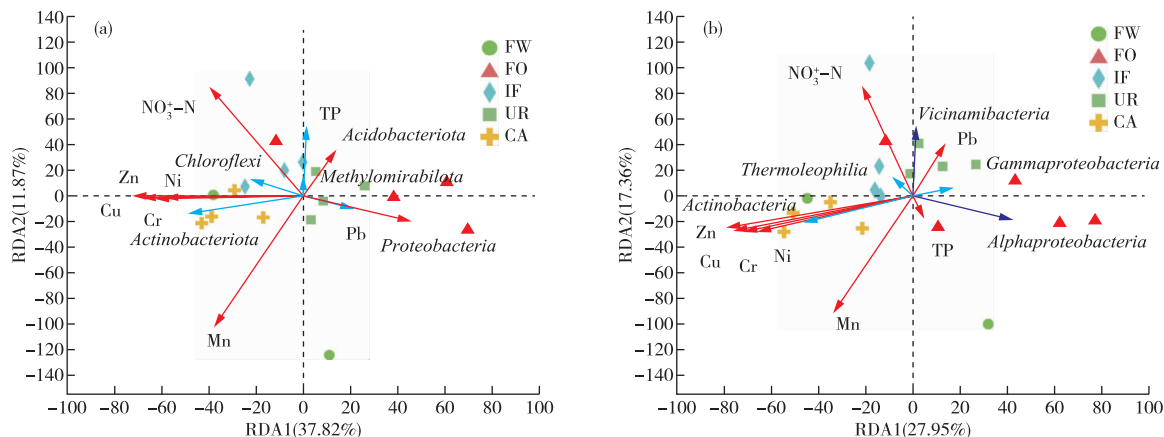


图6 门水平(a)和纲水平(b)细菌群落结构与环境变量的 RDA 排序图

Fig. 6 RDA sequence diagram of bacterial community structure and environmental variables at phylum level (a) and class level (b)

3 讨论

3.1 土壤性状的变化

土壤生态环境是受多种因素影响下的综合反映,土壤性状是影响土壤生态环境的重要因素^[19]。本研究中,FW 土壤有机质、全磷、有效磷、铵态氮、速效氮含量最低,是因为受重金属污染的影响,且铬渣厂周边植物多样性和植物群落特征较低^[20]。CA 的土壤有机质、全磷、铵态氮、速效氮和有效磷含量为五片区域最高,一方面 CA 农户种植农田、施加肥料,从而导致土壤肥力相比于其他受重金属污染的区域不降反升;另一方面固废堆积或处理产生土壤重金属污染^[21]。杨滨娟等^[22]研究表明,多种肥料的共同作用,能够缓解造成的重金属污染、改善土壤环境,但需要选择合适的配施比例。CA 区域 Cr 含量为 568.42 mg/kg,远高于贵州省土壤背景值,这可能是由于铬渣厂车间生产过程中产生的重金属通过多种途径散布至 CA 区域。值得关注的是,CA 的重金属含量虽高于 FW,但土壤理化属性和微生物丰富度较 FW 明显升高,铬渣厂至今已停厂多年,土壤六价铬离子以及其他重金属离子有较强的迁徙性,会扩散至周边下游环境中^[23],导致含量高,受污染严重;铬渣厂堆放区防渗透措施欠缺或排放废水系统不完善,也会使土壤中的铬渣随地表径流迁移至下游区域^[24-25]。这些条件造成 CA 的土壤活性有机物输入量和土壤环境因子较车间区域明显好转,进而使得土壤环境因子和微生物活性显著提高。

3.2 微生物群落结构组成及多样性分析

土壤微生物能够转变其群落结构丰度来适应高负荷的重金属污染,导致生态系统中微生物多样性和均匀性发生相应变化^[26]。如表 3 重金属积累最多的区域,微生物群落结构及其多样性低于其他 4 个区域。PEREIRA 等^[27]研究发现,长期处于重金属的污染条件下,微生物群落结构多样性和丰度会降低。FW 重度积累区域由于大量废弃铬渣堆积该区域重金属不断堆积至土壤中,导致其物种丰度最小^[28]。韩桂琪等^[29]研究发现,重金属 Cr、Cd、Zn、Cu、Ni 和 Pb 复合污染对微生物多样性的影响与其浓度有关,低浓度增加、高浓度时抑制,这与本文研究相反。在 CA 区域重金属含量最高以及土壤养分含量最高,但与此同时其土壤微生物生物量也最高。可以得出,在土壤重金属和土壤养分复合污染下,土壤微生物生物量的影响主要与土壤养分的含量有关。YIN 等^[30]发现,在重金属高污染沉积物中,

Proteobacteria 与大多数重金属呈负相关,一定浓度下随着重金属污染的加重而减少,这与本研究结果一致。*Actinobacteria* 丰度最大且与重金属呈正相关,说明 *Actinobacteria* 对重金属的耐受力最强,这可能是微生物群落间彼此作用来适应新生境而导致的,所以 *Actinobacteria* 对重金属所表现出的改变可能取决于其复杂的生活方式。一方面可以通过生物转化作用降低重金属的毒害^[31],另一方面可以利用多种土壤肥力作为能源与其他菌群共存^[32],这一特性使得 *Actinobacteria* 能够适应绝大多数环境,生存能力强。优势菌 *Actinobacteria*、*Chloroflexi* 丰度却与 Pb 呈负相关,可能是重金属元素对细菌的生长繁殖存在选择性,不同种类的重金属对土壤细菌群落的影响不同^[33]。门水平上,*Actinobacteria*、*Proteobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Chloroflexi* 为优势菌种;纲水平上,*Alphaproteobacteria*、*Actinobacteria*、*Vicinamibacteria*、*Gemma proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 优势菌种,可能源于这些细菌中的某些物种含有丰富的重金属抗性基因,有助于它们适应高浓度的金属污染^[34]。土壤微生物群落受土壤养分与重金属污染结合的影响,该铬渣厂导致的重污染土壤存在较高丰度的 *Actinobacteria*、*Proteobacteria*、*Firmicutes* 和 *Bacteroidetes* 耐受重金属菌门,原因可能是土壤细菌群落结构因重金属污染发生了定向改变^[35],这与多数重金属污染场地的微生物群落研究结果一致。

3.3 环境因子对土壤微生物多样性的影响

从 RDA 分析可知,土壤重金属、TP、NO₃⁺-N 含量对于研究区土壤细菌群落结构多样性起驱动作用。这与 LIU 等^[36]的研究结果相似。作为土壤养分主要驱动力,土壤微生物有着至关重要的作用。根据研究区各样地土壤环境因子与土壤细菌优势类群相对丰度研究得出,*Actinobacteria*、*Proteobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Chloroflexi* 的相对丰度与土壤环境因子含量有显著相关性,这说明土壤 TP、NO₃⁺-N 既是影响微生物群落结构的主要土壤因子,也是影响细菌优势类群相对丰度的主要土壤因子^[37]。微生物群落组成不仅受重金属污染的影响,还受到植物群落多样性和土壤理化因子等综合因素影响^[38],本研究中受到 TP、NO₃⁺-N、大多数重金属等环境因子的影响最大。土壤微生物对外界污染十分敏感,在重金属含量最高(P_N>3)的 CA 微生物群落结构多样性及丰富度为五片区域最高,可能是重金属含量尚在细菌群落的忍耐限度之内,没有超过其

生态阈值^[39]。大多数重金属与微生物群落呈显著相关,其中 NO_3^+-N 呈极显著相关性(表4)。在门水平下 FW 物种丰富度最低,可能是由于 FW 处于废弃铬渣厂区内,受重金属污染且植被覆盖率低,导致土壤营养物质含量较低^[40]。对于重金属含量最高($P_N>3$)的 CA,它的物种丰富度却远高于 FW 车间区域,由此可知,同时受外界肥力和重金属综合影响下,土壤环境因子是土壤微生物的丰富的主要环境驱动力,因为施肥增加了表层土壤养分含量,丰富的养分会减少微生物之间的负相互作用^[41]。土壤硝态氮等土壤养分与土壤细菌群落多样性间均呈极显著正相关($P<0.01$),这与戴雅婷等^[37]的研究一致。以上结果说明,影响微生物群落结构多样性不是由单个要素造成的,而是与多种复杂的环境因子有关。

4 结论

在土壤重金属污染与土壤环境因子影响下,土壤肥力是影响土壤微生物群落结构的主要驱动力。同时,土壤 Cr、TP、 NO_3^+-N 、Cu、Zn 和 Mn 是土壤微生物变化的内在影响因素。

2)土壤细菌分布以 *Actinobacteria*、*Proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 为优势菌种,其中 *Actinobacteria* 与大多数重金属具有趋同性,对重金属耐受能力最强;金属元素 Pb 对细菌的生长繁衍存在一定的选择性。

3)建议下一步进行室内盆栽试验与酶活性研究,以探讨土壤酶活性、微生物多样性和环境因子的相互关系,为土壤重金属污染修复提供更有力的依据。

参考文献

- [1] 王兴润,李磊,颜湘华,等. 铬污染场地修复技术进展[J]. 环境工程, 2020, 38(6): 1-8, 23.
WANG X R, LI L, YAN X H, et al. Progress in remediation of chromium-contaminated sites [J]. Environmental Engineering, 2020, 38(6): 1-8, 23.
- [2] 张志雯,秦素平,陈于和,等. 硅对铬胁迫下小麦幼苗超微结构和铬吸收积累的影响[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(4): 548-554.
ZHANG Z W, QIN S P, CHEN Y H, et al. Effect of silicon on ultrastructure, chromium absorption and accumulation of wheat seedlings under chromium stress[J]. Journal of Triticeae Crops, 2015, 25(4): 548-554.
- [3] 宋富强,杨改河,冯永忠. 黄土高原不同生态类型区退耕还林(草)综合效益评价指标体系构建研究[J]. 干旱地区农业研究, 2007(3): 169-174.
SONG F Q, YANG G H, FENG Y Z. Research and establishment of the multi-effect assessment index system of the returning farmland to forest project in different ecological zones of Loess Plateau [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2007(3): 169-174.
- [4] 吴卫蔚,毛磊,胡慧兰,等. 不同铁改性剂对磁性麦秆生物炭吸附 Cr(VI)的影响[J]. 有色金属(冶炼部分), 2022(2): 90-98.
WU W W, MAO L, HU H L, et al. Effect of Fe-bearing modifying agents on adsorption performance of magnetic straw-derived biochars for Cr(VI) [J]. Nonferrous Metals (Extractive Metallurgy), 2022(2): 90-98.
- [5] 朱鸿铃. 我市铬渣污染及其治理意见[J]. 环境保护科学, 1980(1): 59-61, 58.
ZHU H L. Chromium residue pollution and its treatment in Zhuhai [J]. Environmental Protection Science, 1980(1): 59-61, 58.
- [6] CHENG L, ZHANG N F, YUAN M T, et al. Warming enhances old organic carbon decomposition through altering functional microbial communities [J]. The ISME Journal, 2017, 11(8): 1825-1835.
- [7] CHEN Q L, DING J, ZHU D, et al. Rare microbial taxa as the major drivers of ecosystem multifunctionality in long-term fertilized soils [J/OL]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107686. DOI: 10. 1016/j. soilbio. 2019. 107686.
- [8] JIA T, GUO T Y, YAO Y S, et al. Seasonal microbial community characteristic and its driving factors in a copper tailings dam in the Chinese Loess Plateau [J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11. DOI: 10. 3389/fmicb. 2020. 01574.
- [9] LAUBER C L, HAMADY M, KNIGHT R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [10] NANNIPIERI P, ASCHER J, CECCHERINI M T, et al. Microbial diversity and soil functions [J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54: 655-670.
- [11] 林先贵,胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 892-900.
LIN X G, HU J L. Scientific connotation and ecological service function of soil microbial diversity [J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(5): 892-900.

- [12] CARAVACA F, ALGUACIL M M, FIGUEROA D, et al. Re-establishment of *Retama sphaerocarpa* as a target species for reclamation of soil physical and biological properties in a semi-arid Mediterranean area[J]. Forest Ecology and Management, 2003, 182 (1/2/3): 49-58.
- [13] ZHAO F J, MA Y B, ZHU Y G, et al. Soil contamination in China: Current status and mitigation strategies[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(2). DOI:10.1021/es5047099.
- [14] 赵斌,朱四喜,李相兴,等. 贵州草海不同土地利用方式表层土壤重金属污染现状评估[J]. 环境化学, 2018, 37(10):2219-2229.
- ZHAO B, ZHU S X, LI X X, et al. Assessment of heavy metal pollution in the surface soils of different land use patterns in Caohai, Guizhou[J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(10):2219-2229.
- [15] GUAN Y, SHAO C F, GU Q B, et al. Study of a comprehensive assessment method of the environmental quality of soil in industrial and mining gathering areas[J]. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment, 2015, 30(1). DOI:10.1007/s00477-015-1036-2.
- [16] 王鹏,陈波,张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析[J]. 生态学报, 2017, 37(5): 1650-1658.
- WANG P, CHEN B, ZHANG H. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in soils of a typical Poyang Lake wetland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(5):1650-1658.
- [17] 王云. 土壤环境元素化学. 北京: 中国环境科学出版社, 1995:35-37
- WANG Y. Element chemistry of soil environment[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995: 35-37.
- [18] 郭笑笑,刘丛强,朱兆洲,等. 土壤重金属污染评价方法[J]. 生态学杂志, 2011, 30(5):889-886.
- GUO X X, LIU C Q, ZHU Z Z, et al. Evaluation methods for soil heavy metals contamination: A review[J]. Chinese Journal of Ecology, 2011, 30(5):889-896.
- [19] 刘国顺,常栋,叶协锋,等. 基于GIS的缓坡烟田土壤养分空间变异研究[J]. 生态学报, 2013, 33(8): 2586-2595.
- LIU G S, CHANG D, YE X F, et al. Spatial variability characteristics of soil nutrients in tobacco fields of gentle slope based on GIS[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(8):2586-2595.
- [20] 李向磊,毕银丽,彭苏萍,等. 西部露天矿区周边植物多样性与土壤养分空间变异性特征[J]. 煤炭科学技术, 2020, 48(12):205-213.
- LI X L, BI Y L, PENG S P, et al. Spatial variability of plant diversity and soil nutrients in the Western open-pit mining area[J]. Coal Science and Technology, 2020, 48(12):205-213.
- [21] OGUNDIRAN O O, AFOLABI T A. Assessment of the physicochemical parameters and heavy metals toxicity of leachates from municipal solid waste open dumpsite[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2008, 5(2):243-250.
- [22] 杨滨娟,黄国勤,吴龙华,等. 施氮和冬种绿肥对稻田土壤重金属含量、微生物数量及酶活性的影响[J]. 生态科学, 2018, 37(3):1-10.
- YANG B J, HUANG G Q, WU L H, et al. Effects of nitrogen application and winter green manure on soil heavy metal content, soil microorganism and enzyme activities in paddy field[J]. Ecological Science, 2018, 37(3):1-10.
- [23] 张琴. 重金属铬渣污染场地土壤修复及风险评价[J]. 资源节约与环保, 2020(2):24.
- ZHANG Q. Soil remediation and risk assessment of heavy metal chromium residue contaminated site[J]. Resources Economization & Environmental Protection, 2020(2):24.
- [24] 郭书海,吴波,胡清,等. 污染土壤修复技术预测[J]. 环境工程学报, 2017, 11(6):3797-3804.
- GUO S H, WU B, HU Q, et al. Forecast of remediation technology of contaminated soil[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2017, 11(6):3797-3804.
- [25] 裴廷权,王里奥,钟山,等. 典型铬渣简易掩埋场铬渣及土壤铬污染特征和处置分析[J]. 环境工程学报, 2008, 2(7):994-999.
- PEI T Q, WANG L A, ZHONG S, et al. Pollution characteristics and treatment analysis of chromium residue and soil chromium in typical chromium residue simple stock[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2008, 2(7):994-999.
- [26] 黄健,朱旭炎,陆金,等. 狮子山矿区不同土地利用类型对土壤微生物群落多样性的影响[J]. 环境科学, 2019, 40(12):5550-5560.
- HUANG J, ZHU X Y, LU J, et al. Effects of different land use types on microbial community diversity in the Shizishan mining area[J]. Environmental Science, 2019, 40(12):5550-5560.
- [27] PEREIRA L B, VICENTINI R, OTTOBONI L M M. Changes in the bacterial community of soil from a neutral mine drainage channel[J]. PLoS ONE, 2017, 9(5):e96605. DOI:10.1371/journal.pone.0096605.

- [28] 李楠,迟杰. 港口矿石堆场矿石中重金属形态及模拟酸雨淋溶释放行为研究[J]. 安全与环境学报,2013,13(5):99-102.
- LI N, CHI J. Speciation of heavy metals in the ore scattering in the harbor yard and their simulated acid rain leaching behaviors [J]. Journal of Safety and Environment,2013,13(5):99-102.
- [29] 韩桂琪,王彬,徐卫红,等. 重金属 Cd、Zn、Cu 和 Pb 复合污染对土壤生物活性的影响[J]. 中国生态农业学报,2012,20(9):1236-1242.
- HAN G Q, WANG B, XU W H, et al. Effects of heavy metal compound contamination of Cd, Zn, Cu and Pb on soil biological activity [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture,2012,20(9):1236-1242.
- [30] YIN H Q, NIU J J, REN Y H, et al. An integrated insight into the response of sedimentary microbial communities to heavy metal contamination [J/OL]. Scientific Reports, 2015, 5: 14266. DOI: 10. 1038/srep14266.
- [31] 滕应,黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及其修复研究进展[J]. 土壤与环境,2002,11(1):85-89.
- TENG Y, HUANG C Y. Ecological effect of heavy metals on soil microbes and research advances on the mechanisms of bioremediation [J]. Ecology and Environmental Sciences,2002,11(1):85-89.
- [32] BOUSKILL N J, BARKER-FINKEL J, GALLOWAY T S, et al. Temporal bacterial diversity associated with metal-contaminated river sediments[J]. Ecotoxicology, 2010,19(2):317-328.
- [33] 焦慧. 两种铜矿废弃地土壤微生物的研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2016.
- JIAO H. Study on soil microorganisms of two copper mine wastelands [D]. Hefei: Anhui Agricultural University,2016.
- [34] CHEN Y, JIANG Y M, HUANG H Y, et al. Long-term and high-concentration heavy-metal contamination strongly influences the microbiome and functional genes in Yellow River sediments[J]. Science of the Total Environment,2018,637-638:1400-1412.
- [35] 陈任连,蔡茜茜,周丽华,等. 甘肃某冶炼厂区土壤重金属铅、镉污染特征及其对微生物群落结构的影响[J]. 生态环境学报,2021,30(3):596-603.
- CHEN R L, CAI Q Q, ZHOU L H, et al. Characteristics of soil contamination with heavy metals (Pb and Cd) in a smelting plant of gansu and their effects on microbial community structure[J]. Ecology and Environmental Sciences,2021,30(3):596-603.
- [36] LIU Z F, FU B J, ZHENG X X, et al. Plant biomass, soil water content and soil N : P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: A regional scale study[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010,42(3):445-450
- [37] 戴雅婷,闫志坚,解继红,等. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. 土壤学报. 2017,54(3):735-748.
- DAI Y T, YAN Z J, XIE J H, et al. Soil bacteria diversity in rhizosphere under two types of vegetation restoration based on high throughput sequencing[J]. Acta Pedologica Sinica,2017,54(3):735-748.
- [38] SONG L. A study on the relationship between the surface soil-plant-microbe interaction and the optimized model of vegetation restoration in the lead-zinc mine tail reservoir area of west Sichuan dry-hot valley[D]. Chengdu: Chengdu University of Technology,2020.
- [39] 王永杰,张雪萍. 生态阈值理论的初步探究[J]. 中国农学通报,2010,26(12):282-286.
- WANG Y J, ZHANG X P. Pilot study of the theory of ecological threshold [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2010,26(12):282-286.
- [40] 胡芳,王芳,韩晓增,等. 不同土地利用方式下典型黑土区土壤微生物群落演替规律[J/OL]. 土壤学报: 1-10 [2021-08-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20210809.1259.008.html>.
- HU F, WANG F, HAN X Z, et al. Succession law of soil microbial community in typical black soil area under different land use modes[J/OL]. Acta Pedologica Sinica: 1-10 [2021-08-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20210809.1259.008.html>.
- [41] DE MENEZES A B, RICHARDSON A E, THRALL P H. Linking fungal-bacterial co-occurrences to soil ecosystem function[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017,37:135-141.