

王雪梅, 黄利群, 刘成, 李佳芮, 胡金朝, 刘国. 基于Biolog-ECO分析稀土、铅和氟复合污染农田土壤微生物群落功能多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27 (6): 1485-1491

Wang XM, Huang LQ, Liu C, Li JR, Hu JZ, Liu G. Analysis of microbial community functional diversity in rare earth element, lead and fluorine compound-polluted soil based on Biolog-ECO [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2021, 27 (6): 1485-1491

基于Biolog-ECO分析稀土、铅和氟复合污染农田土壤微生物群落功能多样性

王雪梅^{1,2} 黄利群¹ 刘成¹ 李佳芮¹ 胡金朝¹ 刘国²✉

¹西昌学院资源与环境学院 西昌 615013

²成都理工大学国家环境保护水土污染协同控制与联合修复重点实验室 成都 610059

摘要 为考察四川省牦牛坪稀土矿区稀土、铅和氟复合污染对农田微生物群落功能多样性的影响, 采用Biolog-ECO法分析稀土矿区高污染区(H区)和低污染区(L区)农田土壤根际与非根际微生物群落功能多样性特征及其与土壤理化性质的相关关系. 结果显示, 不同污染区土壤微生物对31种碳源的利用能力存在显著性差异($P < 0.05$), H区的非根际土壤微生物利用能力、多样性指数均最低, 其AWCD_i ≥ 0.8的碳源仅1种, 而根际土壤有27种, 占总碳源的87.1%, 植物生长显著促进根际细菌活性; 而L区土壤根际与非根际微生物差异显著的碳源仅5种($P < 0.05$). 冗余分析(Redundancy Analysis, RDA)表明在非根际条件下稀土元素(REE)、铅、氟、碳氮比(C/N)与AWCD、Shannon指数等多样性指数呈负相关, 其中REE贡献了87.4%的微生物群落特征解释率, 是微生物群落变化的主要驱动因子. 根际条件下4个环境因子仅解释了48%的特征值, 说明植物的参与改变了污染物对微生物群落的影响. 因此在高浓度稀土、铅和氟污染农田土壤采用植物和微生物联合修复措施效果较好, 而在低浓度污染土壤植物生长对细菌的促进效果不显著, 应考虑采用其他修复措施. (图3表3参29)

关键词 Biolog-ECO; 稀土污染; 复合污染; 土壤微生物; 群落功能多样性

Analysis of microbial community functional diversity in rare earth element, lead and fluorine compound-polluted soil based on Biolog-ECO

WANG Xuemei^{1,2}, HUANG Liqun¹, LIU Cheng¹, LI Jiarui¹, HU Jinzhao¹ & LIU Guo²✉

¹ College of Resources and Environment, Xichang University, Xichang 615013, China

² State Environmental Protection Key Laboratory of Synergetic Control and Joint Remediation for Soil & Water Pollution, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

Abstract In order to explore the impact of the pollution associated with rare earth elements (REEs), lead, and fluorine compounds on soil microbial communities, the functional diversity of microbial community in soil was investigated using the Biolog-ECO system, on samples collected from farmland in high pollution (zone H) and low pollution areas (zone L) of the Maoniuping rare earth mining area, Sichuan Province. The results showed significant differences in the utilization ability of 31 carbon sources among the microorganisms from differently contaminated soils ($P < 0.05$). The lowest utilization capacity and diversity index of non-rhizosphere soil microorganisms were found in zone H. There was only 1 carbon source (AWCD_i ≥ 0.8) in the non-rhizosphere soil, and 27 species in the rhizosphere soil, accounting for 87.1% of the total carbon sources, indicating that plant growth significantly promoted the activity of rhizosphere bacteria. However, there were only five carbon sources with significant differences between the rhizosphere and non-rhizosphere in zone L ($P < 0.05$). The Redundancy Analysis (RDA) results showed that the rare earth complex pollution and C/N were all significantly negatively correlated with the average well color development (AWCD), Shannon–Wiener index, and other diversity indices in non-rhizosphere soil. REEs contributed 87.4% of the interpretation rate of microbial community characteristics, which was the main driver of microbial community change. Only 48% of the characteristic values were explained by the four environmental factors under the rhizosphere conditions, indicating that the participation of plants changed the impact of pollutants on microbial community. It can be concluded that a combination of phytoremediation and microbial remediation can be used to alleviate soil pollution caused by

收稿日期 Received: 2020-08-10 接受日期 Accepted: 2020-09-30

国家自然科学基金项目(41967033)、国家环境保护水土污染协同控制与联合修复重点实验室开放基金(GHBK-002)和四川省科技厅项目(19YYJC2826)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (41967033), the Open Fund of State Environmental Protection Key Laboratory of Synergetic Control and Joint Remediation for Soil & Water Pollution (GHBK-002), and the Project of Science and Technology Department of Sichuan Province (19YYJC2826)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: liuguo@cdu.edu.cn)

high concentrations of rare earth, lead, and fluorine compounds. However, for low concentrations of pollution, other remediation measures should be considered instead.

Keywords Biolog-ECO; rare earth pollution; complex pollution; soil microorganism; community functional diversity

四川省凉山彝族自治州拥有位居我国前列的稀土储备量,但无序的开采导致尾矿砂堆积,造成生态破坏,土壤利用价值降低。其中冕宁牦牛坪矿区地处安宁河流域的源头,长期的雨水侵蚀和洪水冲刷,致使稀土矿和所含有害组分大量汇入安宁河流域,造成水体污染^[1]。经前期检测分析,矿区河段中稀土元素总量达30.4 μg/L,离矿区20 km处的稀土元素总量达2.3 μg/L,该数据已远远超过世界淡水中稀土平均含量(0.52 μg/L)、达数十倍。而有研究表明农田土壤中的稀土污染主要来源于受尾矿淋滤污染的河水,离子吸附稀土矿对周边环境存在显著的影响^[2]。因此,需要深入调查和评估牦牛坪矿区稀土、铅和氟复合污染对农田生态环境的影响和相关环境风险,为当地农田的安全农用和高效修复提供依据。

大量的研究表明,土壤微生物对重金属污染的敏感性远远大于动植物,而土壤微生物群落多样性对土壤化学特性的变化非常敏感,能够有效反映土壤生态系统健康状况及污染现状^[3]。目前土壤微生物多样性研究多采用传统的微生物分离培养法^[4]、高通量测序技术^[5]、磷脂脂肪酸(PFLAs)^[6]、T-RFLP(Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism)^[7]、PCR-DGGE(Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)^[8]、Biolog-ECO^[9]等方法。Biolog-ECO是描述环境微生物群落与多样性的一种简单、快速的方法,利用微生物对碳源的利用程度获得有关微生物群落总体活性与代谢功能的信息^[10]。Biolog-ECO技术已经广泛应用于不同环境因子变化所引起的土壤微生物群落变化的研究与评价^[11-12],而采用Biolog技术研究稀土复合污染的土壤微生物功能多样性还鲜见报道。我们采用Biolog-ECO技术分析稀土复合污染农田的土壤微生物群落功能多样性,探究不同污染程度土壤中土壤微生物代谢功能多样性的变化规律,以及不同植被条件下的微生物活性差异,以期科学评价和治理稀土复合污染土壤对生态系统的影响提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区地处四川省凉山州冕宁县牦牛坪矿区,根据前期调查,选取老矿区(102°1'22"E, 28°24'29"N, 编号H)、尾矿库区(102°1'23"E, 28°25'58"N, 编号L)两个研究区的农田。老矿区属于早期稀土不规范开采导致存在遗留问题的相对高污染区,尾矿库区是规范开采后建立的,属于相对的低污染区。研究区属亚热带季风气候,土壤为砂土和黏土的混合土,主要农作物为玉米。

1.2 土壤样品采集

土壤样品于2019年5月采集,在选定高污染区和低污染区随机选取一块农田样地,每块样地按上中下分3个采样小区,采用对角线采样法分别采集根际(标记为G)与非根际0-20 cm的土壤,共计12个土壤混合样。土样去除根系、枯落物,装入无菌塑料袋,运回实验室后分成2份,一份过2 mm筛后放

在4℃冰箱保存,24 h内进行土壤微生物功能多样性的测定,另一份自然风干后过筛后测定土壤化学性质。

1.3 分析方法

每个样品取3份平行样进行分析。土壤微生物多样性采用Biolog-ECO微平板法,接种液的制备采用杜毅飞等的方法^[13],接种后的ECO板在25℃下连续培养9 d,每隔24 h用酶标仪在595 nm下读数。

土壤含水量采用烘干法测定,pH采用电位法测定,土壤有机碳采用TOC仪测定,总氮(TN)采用凯氏定氮法测定^[14]。铅(Pb)、镧(La)、铈(Ce)、镨(Pr)、钕(Nd)含量采用电感耦合等离子体质谱仪测定(GB/T 14506.30-2010)。

1.4 数据处理

土壤微生物群落利用碳源的整体能力用平均颜色变化率(average well color development, AWCD)表示,采用Biolog微平板培养168 h的数据进行统计。土壤微生物群落功能多样性分析采用Shannon指数、Simpson指数、Pielou指数和McIntosh指数。

计算公式如下:

$$H = -\sum P_i (\ln P_i) \quad (1)$$

$$D = 1 - \sum P_i^2 \quad (2)$$

$$J = H / \ln S \quad (3)$$

$$U = \sqrt{\sum n_i^2} \quad (4)$$

式中: H 为Shannon指数, D 为Simpson指数, J 为Pielou指数, U 为McIntosh指数, P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个微平板所有相对吸光值总和的比值 $(C_i - R) / \sum (C_i - R)$, S 为被利用的碳源总数, n_i 为第 i 孔的相对吸光值 $(C_i - R)$,其中 C_i 为第 i 个非对照孔的吸光值, R 为对照孔的吸光值。

数据采用SPSS 22.0软件分析,用单因素方差分析、多重比较不同污染区土壤理化性质及微生物间差异($N = 36$),土壤微生物群落与环境因子采用相关性分析,冗余分析(Redundancy Analysis, RDA)采用Canoco5.1完成。

2 结果与分析

2.1 土壤污染物浓度与理化性质

由表1可见研究区农田土壤偏酸性,同一污染区的土壤理化性质不存在显著性差异($P > 0.05$),但高污染区(简称H区)的有机碳(SOC)和TN含量显著低于低污染区(简称L区)($P < 0.05$)。在污染水平上H区显著高于L区($P < 0.05$),同一污染水平下根际土壤(简称HG、LG)与非根际土壤(H、G)污染物水平无显著性差异($P > 0.05$)。四川牦牛坪稀土矿区属于轻稀土矿,主要为氟碳铈矿,因此可见该区域农田镧、铈的含量较其他元素高,同时伴生元素铅、氟含量也较高,特别是氟污染,H区氟含量是L区的20余倍。与中国环境土壤背景值比较,所有污染物浓度均远高于背景值,该地区稀土、铅和氟复合污染严重。

2.2 土壤微生物代谢活性变化

AWCD值在一定程度上反映土壤微生物种群的数量及结

构特征, AWCD值越大, 表明土壤中微生物活性越高^[11]. 由图1可见, 随着培养时间的延长, AWCD的最大值及变化速度均呈现HG > LG > L > H的趋势, 根际与非根际土壤、不同污染程度土壤的AWCD均存在显著性差异 ($P < 0.05$). 168 h以后, 各样区的AWCD 增长速率趋于稳定, 同一样区168 h及以后的AWCD值不存在显著性差异 ($P < 0.05$), 这表明 AWCD在168 h时处于“拐点”处, 因此采用168 h的吸光值进行分析能更真实地反映实际情况^[15].

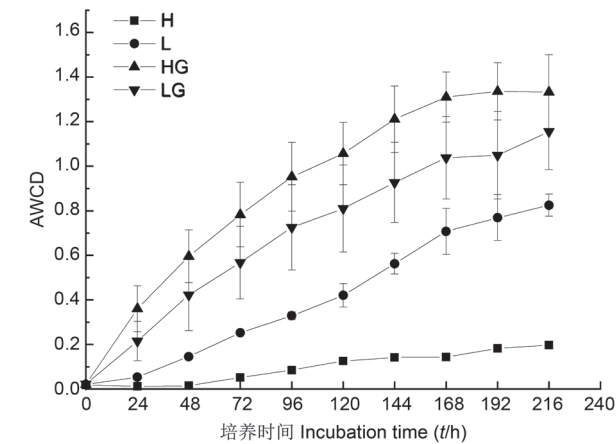


图1 污染农田土壤平均颜色变化率 (AWCD) 随时间的变化. H: 高污染区非根际土壤; L: 低污染区非根际土壤; HG: 高污染区根际土壤; LG: 低污染区根际土壤.

Fig. 1 Average well color development (AWCD) of soil microbial community in soil sample with incubation time. H: Non-rhizosphere soil in high pollution area; L: Non-rhizosphere soil in low pollution area; HG: Rhizosphere soil in high pollution area; LG: Rhizosphere soil in low pollution area.

根际土壤的AWCD最大值及变化速度在整个培养过程都显著高于非根际, 其中又以HG的最大, 而H区非根际土壤在所有样品中AWCD最大值及变化速度均为最低, 反映出高浓度的稀土、铅和氟复合污染可能抑制土壤微生物活性. 以168 h的数据进行比较, 可见H区的根际土壤AWCD极显著高于非根际土壤 ($P < 0.01$), 植物根际作用使土壤微生物活性提高了近5倍, 植物减轻了复合污染对土壤微生物活性的胁迫. 而L区的根际土壤AWCD值虽略高于非根际土壤, 但两者无显著性差异 ($P > 0.05$), 可见在高污染区种植植物对土壤微生物的

活性影响更大.

2.3 土壤微生物生理碳代谢指纹图谱

Biolog代谢指纹图谱表征了土壤微生物对微平板上不同碳源的利用能力, 有助于较为全面地了解微生物群落代谢功能特征. 由图2可见, 不同污染土壤微生物对31种碳源的利用能力存在显著性差异 ($P < 0.05$), 根际微生物显著大于非根际, H区的非根际土壤微生物利用能力最低. H区非根际土壤代谢指纹图谱AWCD_i ≥ 0.8的碳源仅有1种 (D-半乳糖醛酸), 而根际土壤有27种, 占总碳源的87.1%; L区非根际土壤有15种, 占总碳源的48.39%, 根际土壤有21种, 占总碳源的67.74%. 有研究表明植物将5%-21%的光合作用固定的碳从根系分泌输出, 同时许多分泌物作为微生物的化学引诱物, 使微生物借助趋化感应游向富含根系分泌物的根际及根表面进行定殖与繁殖^[16], 因而根际土壤微生物的活性和碳源利用多样性均较非根际高. 此外, H区土壤根际与非根际微生物碳源利用代谢功能相比, 差异显著的碳源有26种 ($P < 0.05$), 而L区土壤根际与非根际微生物差异显著的碳源仅5种 ($P < 0.05$), 说明在植物与微生物界面, 高浓度的稀土、铅和氟复合污染使土壤微生物对单一碳源的利用能力发生改变, 碳源利用的多样性显著增高. 在非根际土壤中, H区与L区土壤微生物有13种碳源的利用能力存在显著性差异 ($P < 0.05$), 可能与土壤碳氮比 (C/N) 和污染物浓度的差异有关.

2.4 土壤微生物群落功能多样性指数

采用Shannon指数、Simpson指数、Pielou指数和McIntosh指数分析土壤微生物群落功能多样性, 以上指数综合表征了土壤微生物群落中物种的丰富度、分布的均匀度以及不同微生物对碳源的利用程度^[17]. 由表2可见, 与 AWCD相似, H区的非根际土壤微生物的Shannon指数、Simpson指数、Pielou指数、McIntosh指数均最小, 且与其他样品均存在显著性差异 ($P < 0.05$), 表明非根际条件下高浓度稀土、铅和氟复合污染对微生物群落产生了抑制作用. 其他3种土壤的多样性指数无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明在植物和高浓度稀土、铅和氟复合污染共同作用下, 不仅提高了土壤微生物的活性, 还显著提高了微生物的种类数.

2.5 土壤微生物群落功能多样性对环境因子的响应

土壤微生物群落功能多样性与稀土、铅和氟复合污染存在显著的相关关系, 但其与各环境因子的具体关系仍不明确,

表1 研究区土壤理化性质及污染物浓度

Table 1 Physical and chemical characteristics and pollutant contents of the soil samples

样地 Sample area	H	L	HG	LG	中国土壤元素背景值 Background value of soil in China
含水率 Water content (w%)	30.45 ± 1.28a	30.29 ± 1.31a	30.24 ± 1.29a	28.99 ± 0.21a	
pH	5.59-6.00	6.00-6.66	5.66-5.86	5.59-6.66	
C/N	14.59 ± 2.52a	7.97 ± 0.72b	6.58 ± 0.41b	8.69 ± 0.10ab	
SOC/g kg ⁻¹	11.95 ± 3.72b	27.37 ± 3.24a	12.67 ± 3.76ab	27.90 ± 2.83a	
TN/g kg ⁻¹	1.05 ± 0.44b	3.50 ± 0.50a	1.90 ± 0.55ab	3.20 ± 0.29a	
Pb/10 ² mg kg ⁻¹	7.29 ± 1.14a	0.60 ± 0.02b	5.90 ± 0.64a	0.62 ± 0.05b	0.26
F/10 ² mg kg ⁻¹	272.06 ± 14.99a	13.07 ± 2.35b	285.28 ± 48.77a	13.34 ± 1.67b	—
La/10 ² mg kg ⁻¹	15.34 ± 1.55a	0.96 ± 0.02b	15.88 ± 1.08a	0.97 ± 0.01b	0.40
Ce/10 ² mg kg ⁻¹	18.65 ± 1.99a	1.68 ± 0.23b	18.96 ± 1.34a	1.66 ± 0.14b	0.68
Pr/10 ² mg kg ⁻¹	1.88 ± 0.20a	0.15 ± 0.02b	1.84 ± 0.12a	0.15 ± 0.01b	0.07
Nd/10 ² mg kg ⁻¹	5.48 ± 0.58a	0.50 ± 0.06b	5.36 ± 0.36a	0.48 ± 0.03b	0.26

同列不同字母表示均值差异显著 ($P < 0.05$). SOC: 有机碳; TN: 总氮. H: 高污染区非根际土壤; L: 低污染区非根际土壤; HG: 高污染区根际土壤; LG: 低污染区根际土壤.

Different letters within the same column indicate significant difference at the 0.05 level. SOC: Soil organic carbon; TN: Total nitrogen. H: Non-rhizosphere soil in high pollution area; L: Non-rhizosphere soil in low pollution area; HG: Rhizosphere soil in high pollution area; LG: Rhizosphere soil in low pollution area.

需进一步分析. 本研究中对获得的非根际与根际土壤微生物群落功能多样性指标分别与环境因子进行冗余分析, 因La、Ce、Pr、Nd等稀土离子在性质上类似, 在冗余分析中采用了4种稀土元素总量 (rare earth element, REE) 作为指标, 根据向前选择共4个指标、18个样品进入分析. 结果表明所有稀土复合污染物经Monte Carlo permutation检验与微生物群落均显著相关, 但根际与非根际表现不一致. 结果见表3, 检验所有排序轴均显著 ($P < 0.05$), 说明排序效果理想. 非根际污染土壤RDA分析的前两个排序轴特征值分别为0.954和0.045, 非根际土壤的前两个排序轴与环境因子之间的相关系数均为1, 所选的4个环境因子100%解释的微生物群落功能多样性总特征值, 对微生物群落功能多样性变化具有显著影响. 根际污染土壤的前两个排序轴特征值分别为0.467和0.015, 所选的4个环境因子仅解释了48.5%的微生物群落功能多样性总特征值, 说明根际土壤微生物群落多样性还受其他因素影响

较大.

土壤微生物群落-环境因子二维排序图 (图3、图4) 中, 各指标用不同颜色带箭头的矢量线表示, 连线的长短表示微生物群落特征与该环境因子相关系数的大小, 箭头连线与排序轴的夹角表示该环境因子与排序轴的相关性, 与排序轴的夹角越小, 该指标与排序轴的相关性越大.

从图3可以看出在非根际土壤中, 选取的4个环境因子对于微生物群落的影响均存在显著性 ($P < 0.05$), 其中稀土元素贡献了87.4%的微生物群落特征解释率, 是微生物群落变化的主要驱动因子. 从排序轴看, Axis1主要反映了土壤的营养状态和污染程度. 对于Axis1, 稀土、铅和氟复合污染物、C/N均与微生物群落多样性呈负相关.

而从图4可见, 在根际土壤选取的4个环境因子对微生物群落均有不同程度的影响, 从排序轴看稀土、铅和氟复合污染物与微生物群落多样性呈正相关, 与非根际情况不一致.

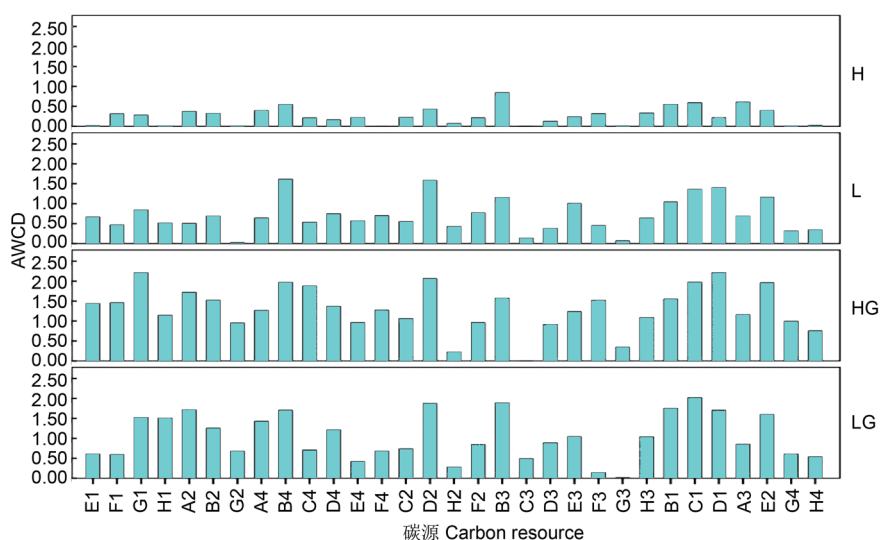


图2 污染土壤微生物生理碳代谢指纹图谱. E1-G2: 糖类; A4-F4: 氨基酸类; C2-H2: 醇类; F2-H3: 酚类; B1-A3: 酯类; E2-H4: 胺类; AWCD: 值为Biolog板上3次重复的平均值.

Fig. 2 Metabolic fingerprint of carbon physiological profiles of soil microbial community. E1-G2: Carbohydrates; A4-F4: Amino acids; C2-H2: Alcohols; F2-H3: Phenolic; B1-A3: Esters; E2-H4: Amines; AWCD: The average AWCD value of three replicates on Biolog plate.

表2 研究区土壤微生物群落功能多样性指数及AWCD值

Table 2 Diversity indices and AWCD in soil microbial community

样地 Sample area	AWCD	指数 Index			
		Shannon-wiener	Simpson	Pielou	McIntosh
H	0.25 ± 0.01c	2.31 ± 0.09b	0.87 ± 0.02b	0.67 ± 0.03b	2.53 ± 0.12b
L	0.71 ± 0.10b	2.94 ± 0.08a	0.94 ± 0.01a	0.86 ± 0.02a	5.19 ± 0.57a
HG	1.31 ± 0.11a	3.18 ± 0.07a	0.96 ± 0.00a	0.93 ± 0.02a	8.40 ± 0.40a
LG	1.04 ± 0.18ab	3.06 ± 0.06a	0.95 ± 0.00a	0.89 ± 0.02a	7.17 ± 1.07a

同列不同字母表示均值差异显著 ($P < 0.05$).

Different letters within the same column indicate significant difference at the 0.05 level.

表3 污染土壤微生物多样性与环境因子RDA排序结果

Table 3 Redundancy analysis results of microbial community functional diversity in soil and environment parameters

参数 Parameter	排序轴 Axis	特征值 Eigenvalue	相关系数 Pseudo-canonical correlation	特征变化累积 Explained variation cumulative (r/%)	特征值总和 All eigenvalue
非根际土壤 Non-rhizosphere soil	1	0.954	1.000	95.40	1
	2	0.045	1.000	99.94	
	3	0.001	1.000	99.99	
	4	0.000	0.943	100.0	
根际土壤 Rhizosphere soil	1	0.467	0.700	96.19	1
	2	0.015	0.684	99.34	
	3	0.003	0.451	100.0	

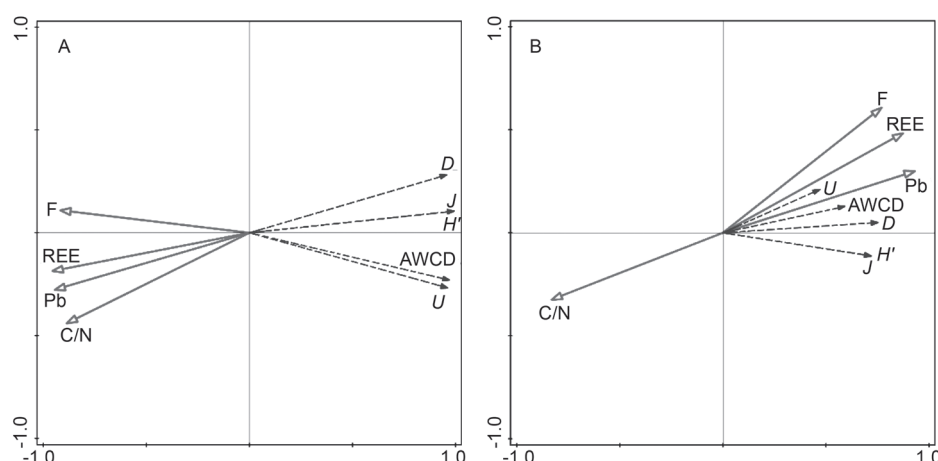


图3 土壤微生物群落-环境因子二维排序图。A: 非根际土壤; B: 根际土壤。REE: 稀土元素总量。

Fig. 3 RDA biplot of microbial community in soil and environment parameters. A: Non-rhizosphere soil; B: Rhizosphere soil. REE: Rare earth element.

而且4个环境因子仅解释了48%的特征值, 稀土元素不再是微生物群落变化的主要驱动因子, 说明植物是影响根际微生物的主要因素, 植物的参与改变了稀土污染物对微生物群落的效应。

3 讨论

3.1 稀土、铅和氟复合污染对非根际土壤微生物群落的影响

利用Biolog-ECO法对微生物多样性分析虽不够全面, 但Biolog-ECO板平均吸光值AWCD能够反映出土壤微生物利用碳源的整体能力及微生物活性, 可作为土壤微生物活性的有效指标, 能够比较敏感地反映出土壤环境胁迫^[18-19]。有研究表明稀土元素因其独特性质能够广泛参与多种微生物中化合物的代谢^[20], 微量稀土离子有利于微生物生长繁殖, 但当稀土离子的加入过量时, 微生物的生长就被抑制^[21], 如有报道外源稀土对红壤微生物区系产生抑制作用的临界浓度在150 mg/kg左右^[22], 巨大芽孢杆菌对 La^{3+} 、 Ce^{3+} 的最大耐受浓度分别为300 mg/L、200 mg/L^[23], 铅对土壤微生物的 EC_{50} 为403-969 mg/kg^[24]。本研究中高污染区的单一稀土离子浓度最高达1 865 mg/kg, 铅浓度高达729 mg/kg, 氟浓度高达27 206 mg/kg, 均远大于现有报道的对微生物的抑制临界浓度, 土壤复合污染严重, 对土壤微生物具有较强的抑制作用。因此在非根际条件下H区土壤的微生物活性、多样性均显著低于其他组 ($P < 0.05$), 仅能利用少量的酸类碳源。而根据RDA结果, 在非根际土壤中稀土元素是微生物群落变化的主要驱动因子, 贡献了87.4%的微生物群落特征解释率。可能是因为稀土离子不仅结构与 Ca^{2+} 相似, 而且竞争性比 Ca^{2+} 强, 占领了微生物生物膜 Ca^{2+} 作用位点^[21], 进而对微生物群落影响较其他污染物大。同时也有研究表明土壤性质对土壤细菌组成和多样性的影响比重金属更大, 即使是在重金属污染严重的电子垃圾场^[25], 因此在本研究中H区与L区非根际土壤C/N之间存在的显著性差异 ($P < 0.05$), 也是土壤微生物群落产生差异的因素之一, 而根据RDA分析, 土壤C/N对微生物群落特征的解释率不足5%, 其影响较稀土等污染物小。若要明晰稀土、铅和氟复合污染中的各因子对微生物群落的效应, 还需要通过进一步室内模拟实验的解析。

3.2 根际微生物对稀土、铅和氟复合污染胁迫的响应

在根际条件下, 稀土元素不再是微生物群落变化的主要驱动因子, 植物的参与改变了稀土污染物对微生物群落的效应。高污染区根际微生物群落的活性和碳源利用多样性均显著高于非根际, 土壤微生物活性提高了近5倍, 有26种碳源的利用能力显著升高, 说明植物生长减轻了复合污染对土壤微生物的胁迫。这与其他学者研究的结果相似, 如陈熙等研究表明植被修复后土壤微生物多样性、均匀度、丰富度与未修复尾矿土壤相比均有了明显的提高^[25]。植物一方面可以吸收稀土元素、铅和氟等污染物, 减轻污染对微生物群落的胁迫; 另一方面植物根系分泌物可以输出5%-21%的光合作用固定碳, 增加微生物可利用碳源, 同时分泌物使微生物借助趋化感应游向富含根系分泌物的根际及根表面进行定殖与繁殖, 形成特定的根际微生物群落^[26]。根际微生物对金属污染的响应涉及重要的生物地球化学过程, 这些过程可以影响金属的生物有效性^[27], 有研究表明植物生长促进根际细菌 (PGPR) 具有促进植物生长和修复重金属污染土壤的作用^[28], 而为了适应恶劣环境, 植物会进化与其特定根际微生物相适应的生存策略^[29]。因此对高污染区农田土壤的修复可考虑利用其PGPR采用植物和微生物联合修复, 对于其机理的解释则需进一步深入对植物根际与微生物界面的稀土复合污染的生物有效性、作用机理进行探究。而在低污染区植物的根际效应不明显, L区根际与非根际微生物群落在活性、功能多样性上的差异不显著。可见在低浓度污染土壤, 植物生长对细菌的促进效果不显著, 应考虑采用其他修复措施。

4 结论

(1) 稀土、铅和氟复合污染农田土壤在非根际条件下, 高浓度的污染物对微生物的活性、功能多样性起抑制作用, 其土壤的微生物仅能利用少量的酸类碳源。RDA结果显示, 在非根际土壤中稀土元素是微生物群落变化的主要驱动因子。但土壤C/N在高污染区和低污染区存在的显著性差异 ($P < 0.05$) 也是土壤微生物群落产生差异的因素之一, 而RDA分析中土壤C/N对微生物群落特征的解释率不足5%, 其影响较稀土等污染物小。因此需要进一步通过室内模拟实验解析稀土、铅和氟复合污染中各因子对微生物群落的效应。

(2) 植物能够减轻高浓度复合污染对土壤微生物的胁迫, 促进根际细菌的活性和碳源利用多样性的增加, 高污染区的根际土壤AWCD值极显著高于非根际土壤 ($P < 0.01$), 土壤根际与非根际微生物碳源利用代谢功能差异显著的碳源有26种 ($P < 0.05$).

(3) 植物的存在改变了污染物对微生物群落的影响. 根据RDA分析, 非根际条件下稀土元素、铅、氟、C/N与AWCD、Shannon指数、Simpson指数、Pielou指数和McIntosh指数等呈负相关. 但根际条件下稀土、铅和氟复合污染物与微生物群落多样性呈正相关, 且4个环境因子仅解释了48%的特征值.

导致根际与非根际土壤微生物的差异还包括氧化还原条件、根系分泌物、菌根菌等非生物和生物因素, 对其差异的主要驱动因子辨识还需要更深入的研究. 不同污染区根际与非根际微生物活性的差异表明, 高浓度稀土、铅和氟污染农田土壤可考虑采用植物和微生物联合修复, 而对于低浓度污染土壤, 植物生长对细菌的促进效果不显著, 则考虑采用其他修复措施. 因此还需进一步深入对植物根际与微生物界面的稀土、铅和氟复合污染的生物有效性、作用机理进行探究, 为稀土复合污染农田土壤的修复提供理论支撑.

参考文献 [References]

- 付小方, 侯立玮, 袁茜平, 蒲跃华, 郝雪峰, 潘蒙. 四川冕宁南河马厂村稀土尾矿调查评价及开发利用建议[J]. 中国稀土学报, 2017, **35** (2): 272-282 [Fu XF, Hou LW, Yuan LP, Pu YH, Hao XF, Pan M. Proposals on development and application, the investigation and assessment of Nanhe-Machangcun REE tailings mining of Sichuan [J]. *J Rare Earths*, 2017, **35** (2): 272-282]
- Liu WS, Guo MN, Liu C, Liu C, Yuan M, Chen XT, Huot H, Zhao CM, Tang YT, Morel JL, Qiu RL. Water, sediment and agricultural soil contamination from an ion-adsorption rare earth mining area [J]. *Chemosphere*, 2019, **216**: 75-83
- 刘沙沙, 付建平, 蔡信德, 周建民, 党志, 朱润良. 重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展[J]. 生态环境学报, 2018, **27** (6): 1173-1178 [Liu SS, Fu JP, Cai XD, Zhou JM, Dang Z, Zhu RL. Effect of heavy metals pollution on ecological characteristics of soil microbes: a review [J]. *Ecol Environ*, 2018, **27** (6): 1173-1178]
- 胡禅娟, 刘国华, 吴雅琼. 土壤微生物生物量及多样性测定方法评述[J]. 生态环境学报, 2011, **20** (6-7): 1161-1167 [Hu CJ, Liu GH, Wu YQ. A review of soil microbial biomass and diversity measurements [J]. *Ecol Environ*, 2011, **20** (6-7): 1161-1167]
- 余金阳, 黄潇慧, 帅正彬, 解亮, 刘轶豪, 王超仁, 柴丹, 刘蝶, 周晓宇, 陈强. 四川彭州大蒜根腐病发病土壤细菌与真菌群落结构[J]. 应用与环境生物学报, 2020, **36** (3): 1-10 [Yu JY, Huang XH, Shuai ZB, Jie L, Liu YH, Wang RC, Chai D, Liu D, Zhou XY, Chen Q. The community structure of bacteria and fungi in soils with root rot diseased garlic plants in Pengzhou, Sichuan Province [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, **36** (3): 1-10]
- Hamidović, Saud, Gordana Gojgić Cvijović, Hadi Waisi, Ljubomir Životić, Svjetlana Janković Šoja, Vera Raičević, and Blažo Lalević. Response of microbial community composition in soils affected by coal mine exploitation [J]. *Environ Monit Assess*, 2020, **192** (6): 1-17
- 姚泽秀, 李永春, 李永夫, 陈志豪. 植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2020, **31** (8): 1-12 [Yao ZS, Li YC, Li YF, Chen ZH. Effects of different tea plantation ages on soil microbial community structure and diversity [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2020, **31** (8): 1-12]
- Siczek A, Frąc M, Gryta A, Kalembasa S, Kalembasa D. Variation in soil microbial population and enzyme activities under faba bean as affected by pentachlorophenol [J]. *Appl Soil Ecol*, 2020, **150**: 1-10
- 王明亮, 刘惠芬, 王丽丽, 杨殿林, 林艳艳, 修伟明, 王慧, 黄进, 张小福. 不同覆盖作物模式对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2020, **37** (3): 332-339 [Wang ML, Liu HF, Wang LL, Yang DL, Lin YY, Xiu MW, Wang H, Huang J, Zhang XF. Effects of different cropping patterns on soil microbial community functional diversity in tea garden [J]. *J Agric Resour Environ*, 2020, **37** (3): 332-339]
- 高晓奇, 肖能文, 叶瑶, 付梦娣, 李俊生. 基于Biolog-ECO分析长庆油田土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (5): 913-918 [Gao XQ, Xiao NW, Ye Y, Fu MD, Li JS. Analysis of microbial community functional diversity in Changqing oilfield based on Biolog-ECO method [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (5): 913-918]
- 吴盼云, 晁群芳, 赵亚光, 徐苗, 肖路梅, 马腾飞. 克拉玛依石油污染土壤微生物群落结构及其代谢特征[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, **38** (5): 2062-2069 [Wu PY, Chao QF, Zhao YG, Xu M, Xiao LM, Ma TF. Microbial community structure and metabolic characteristics of oil-contaminated soil in Karamay [J]. *Genom Appl Biol*, 2019, **38** (5): 2062-2069]
- 金映虹, 吴红萍, 谭方正, 张颖. 不同红树植物类群土壤微生物功能多样性的研究[J]. 生态环境学报, 2017, **26** (8): 1292-1300 [Jin YH, Wu HP, Tan FZ, Zhang Y. Study on functional diversity of soil microorganism in different mangrove plants based on Biolog-ECO technology [J]. *Ecol Environ Sci*, 2017, **26** (8): 1292-1300]
- 杜毅飞, 方凯凯, 王志康, 李会科, 毛鹏娟, 张向旭, 王婧. 生草果园土壤微生物群落的碳源利用特征[J]. 环境科学, 2015, **36** (11): 4260-4267 [Du YF, Fang KK, Wang ZK, Li HK, Mao PJ, Zhang XX, Wang J. Carbon source utilization characteristics of soil microbial community for apple orchard with interplanting herbage [J]. *Chin J Environ Sci*, 2015, **36** (11): 4260-4267]
- 贾夏, 董岁明, 周春娟. 微生物生态研究中Biolog Eco微平板培养时间对分析结果的影响[J]. 应用基础与工程科学学报, 2013, **21** (1): 10-19 [Jia X, Dong SM, Zhou CJ. Effects of Biolog Eco-plates incubation time on analysis results in microbial ecology researches [J]. *J. Basic Sci Eng*, 2013, **21** (1): 10-19]
- Selvam A, Emmanuel ES, Anandkumar B, Maruthamuthu S, Palaniswamy N. Studies on the distribution of bacterial

- isolates in rare earth environment [J]. *Environ Biol*, 2012, **33** (1): 143
- 16 王会会, 李前正, 王川, 周巧红, 吴振斌. 根系分泌物介导的根际效应及在水体生态修复中的应用潜力[J]. *水生生物学报*, 2020, **44** (2): 453-460 [Wang HH, Li ZQ, Wang C, Zhou QH, Wu ZB. Root exudates mediated rhizospheric effect and its potential application in water body ecological rehabilitation [J]. *Acta Hydr Sin*, 2020, **44** (2): 453-460]
- 17 王彩云, 武春成, 曹霞, 贺字典, 曾晓玉, 姜涛. 生物炭对温室黄瓜不同连作年限土壤养分和微生物群落多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, **30** (4): 1359-1366 [Wang CY, Wu CC, Cao X, He ZD, Zeng XY, Jiang T. Effects of biochar on soil nutrition and microbial community diversity under continuous cultivated cucumber soils in greenhouse [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2019, **30** (4): 1359-1366]
- 18 O'Donnell AG, Seasman M, Macrae A, Waite I, Davies JT. Plants and fertilizers as drivers of changes in microbial community structure and function in soil [J]. *Plant Soil*, 2001, **232**: 135-145
- 19 郑丽萍, 龙涛, 林玉锁, 于赐刚, 刘燕, 祝欣. Biolog-ECO解析有机氯农药污染场地土壤微生物群落功能多样性特征[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, **19** (5): 759-765 [Zheng LP, Long T, Lin YS, Yu CG, Liu Y, Zhu X. Biolog-eco analysis of functional diversity of soil microbial communities [J]. *Chin J Environ Sci*, 2013, 1905: 759-765]
- 20 Shiller AM, Chan EW, Joung DJ, Redmond MC, Kessler JD. Light rare earth element depletion during Deepwater Horizon blowout methanotrophy [J]. *Sci Rep*, 2017 (7): 10389
- 21 王雅波, 刘占英, 张冬艳, 李永丽, 胡建华. 稀土离子对微生物Hormesis效应机制的研究进展[J]. *中国稀土学报*, 2019, **37** (4): 402-408 [Wang YB, Liu ZY, Zhang DY, Li YL, Hu JH. Research progress on effects mechanisms of rare earth ions on microbial Hormesis [J]. *J Rare Earths*, 2019, **37** (4): 402-408]
- 22 褚海燕, 李振高, 谢祖彬, 朱建国, 曹志洪. 稀土元素镧对红壤微生物区系的影响[J]. *环境科学*, 2000, **21** (6): 28-31 [Chu HY, Li ZG, Xie ZB, Zhu JG, Cao ZH. Effect of Lanthanum on the microflora of red soil [J]. *Chin J Environ Sci*, 2000 (6): 28-31]
- 23 郑春丽, 王亚琴, 陈敏洁, 姜志艳, 杨栗清, 张雪峰. 巨大芽孢杆菌与稀土离子的相互作用研究[J]. *稀土*, 2016, **37** (1): 132-136 [Zheng CL, Wang YQ, Chen MJ, Jiang ZY, Yang LQ, Zhang XF. Interactions between bacillus *Megaterium* and rare earth ions [J]. *Chin Rar-Earths*, 2016, **37** (1): 132-136]
- 24 Zheng H, Chen L, Li N, Liu B, Meng Nan, Wang M, Chen SB. Toxicity threshold of lead (Pb) to nitrifying microorganisms in soils determined by substrate-induced nitrification assay and prediction model [J]. *J Integr Agric*, 2017, **21** (8): 1832
- 25 Jiang B, Adebayo A, Jia JL, Xing Y, Deng SQ, Guo LM, Liang YT, Zhang DY. Impacts of heavy metals and soil properties at a Nigerian e-waste site on soil microbial community [J]. *J Hazard Mater*, 2019, **362**: 187-195
- 26 陈熙, 刘以珍, 李金前, 葛刚, 吴兰, 李永绣. 稀土尾矿土壤细菌群落结构对植被修复的响应[J]. *生态学报*, 2016, **36** (13): 3943-3950 [Chen X, Liu YZ, Li JQ, Ge G, Wu L, Li YX. Response of a rare earth tailing soil bacterial community structure to vegetation [J]. *Acta Ecol Sin*, 2016, **36** (13): 3943-3950]
- 27 Sun WM, Xiao EZ, Krumins V, Haggblom MN, Dong YR, Pu ZL, Li BQ, Wang Q, Xiao TF, Li FB. Rhizosphere Microbial response to multiple metal(loid)s in different contaminated arable soils indicates crop-specific metal-microbe interactions [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, **84** (24): e00701-18
- 28 Guo JK, Muhammad H, Lü X, Wei T, Hua L. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: a review [J]. *Chemosphere*, 2020, **246**: 125823
- 29 Xiao EZ, Ning ZP, Xiao TF, Sun WM, Qiu YQ, Zhang Y, Chen JY, Gou ZL, Chen YX. Variation in rhizosphere microbiota correlates with edaphic factor in an abandoned antimony tailing dump [J]. *Environ Pollut*, 2019, **253**: 141-151