

引用格式:

许洪扬, 付冰清, 康慧, 黄鑫浩, 王钧, 朱凡. 铅锌矿渣污染土壤的重金属含量及真菌群落特征分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(2): 203–211.

XU H Y, FU B Q, KANG H, HUANG X H, WANG J, ZHU F. Analysis of heavy metals contents and the characteristics of fungal communities in Pb-Zn tailings contaminated soils[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(2): 203–211.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



铅锌矿渣污染土壤的重金属含量及真菌群落特征分析

许洪扬¹, 付冰清¹, 康慧², 黄鑫浩¹, 王钧¹, 朱凡^{3*}

(1.中南林业科技大学生命科学与技术学院 湖南 长沙 410004 2.长沙环境保护职业技术学院 湖南 长沙 410004;
3.湖南农业大学风景园林与艺术设计学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 研究了湖南郴州某铅锌选厂铅锌矿渣污染下土壤重金属的不同化学形态含量、土壤化学性质和真菌群落的多样性。结果表明: 与湖南省重金属修复地方标准相比, 采样区 4 种重金属 Zn、Pb、Cd、Cu 的污染程度依次降低; 同种重金属不同化学形态之间比较, 铅铁锰氧化态、锌醋酸提取态、镉醋酸提取态、铜残渣态含量较高; 重金属污染显著改变真菌群落的组成和结构; 敏感性真菌(球囊菌门(Glomeromycota))的相对丰度随重金属污染程度的增加而降低, 而耐受性真菌(子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢囊门(Mortierellomycota)、被孢菌属(*Mortierella*)、青霉菌属(*Penicillium*)和镰刀菌属(*Fusarium*))的相对丰度增加, 但在重污染情况下有所减少; 冗余分析(RDA)和方差分解分析(VPA)表明, 重金属是影响真菌群落变化的主要因素。

关键词: 铅锌矿渣; 重金属不同化学形态; 真菌群落; 高通量测序

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2021)02-0203-09

Analysis of heavy metals contents and the characteristics of fungal communities in Pb-Zn tailings contaminated soils

XU Hongyang¹, FU Bingqing¹, KANG Hui², HUANG Xinhao¹, WANG Jun¹, ZHU Fan^{3*}

(1.College of Life Science and Technology, Central-South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2.Changsha Environmental Protection College, Changsha, Hunan 410004, China; 3.College of Landscape Architecture and Art Design, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: In the present study, we investigated different chemical forms of soil heavy metals, soil chemical properties, and fungal diversity and composition for the contaminated soil collected from the tailings in Chenzhou Pb-Zn mining area, Hunan. The results showed that, compared with the Hunan local standard of heavy metal remediation, the polluted extent of the four kinds of heavy metals in soil samples was as follows: Zn > Pb > Cd > Cu. Compared with different chemical forms of the same heavy metal, it was found that the contents of Fe-Mn oxidation fraction of Pb, HOAc extractable fraction of Zn, HOAc extractable fraction of Cd and residual fraction of Cu were highest. Heavy metal pollution significantly altered the composition and structure of fungal community, rather than the richness and diversity. The relative abundances of sensitive fungi (e.g., Glomeromycota) were decreased with the increase of heavy metal contamination. However, the relative abundances of tolerant fungi (e.g., Ascomycota, Basidiomycota, Mortierellomycota, *Mortierella*, *Fusarium*, and *Penicillium*) were increased with the increase of heavy metal contamination, while they were decreased under severe pollution. RDA and VPA showed that heavy metals were the main factors affecting the fungal community.

收稿日期: 2020-03-05

修回日期: 2020-03-26

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(42007383)

作者简介: 许洪扬(1994—), 男, 河北邢台人, 硕士研究生, 主要从事修复生态研究, 862465179@qq.com; *通信作者, 朱凡, 博士, 教授, 主要从事修复生态和植物生理研究, csuftzf@163.com

Keywords: Pb-Zn tailing; chemical fraction of heavy metal; fungal community; high-throughput sequencing

采矿导致的重金属污染已成为土壤污染的主要来源之一。土壤中的重金属相对稳定,很难通过自然过程去除。重金属具有很强的毒性和不可降解性,会对土壤生态系统造成长期的危害^[1],还会通过食物链危害人类健康^[2]。

土壤微生物是土壤生态系统中不可缺少的组成部分,主要由细菌、真菌、放线菌、藻类和微原生动植物组成,其中细菌最为丰富^[3]。但真菌比细菌更能耐受重金属^[4],对植物的建立和适应性也起着非常重要的作用^[5]。

本研究中,以湖南郴州某铅锌选矿厂矿渣污染土壤为研究对象,通过采集不同污染程度的土壤样品,测定其化学性质、重金属含量及重金属的化学形态,并利用基于内部转录间隔区(ITS)基因的高通量测序技术,分析不同重金属污染区的土壤真菌群落结构和多样性的差异,探讨土壤中重金属耐性菌和敏感菌的变化以及导致土壤真菌群落差异的影响因素,了解铅锌矿区重金属污染地的真菌多样性现状,旨在为铅锌矿区废弃地的生物修复提供参考依据。

1 试验区基本概况

湖南省郴州市属湿润的亚热带季风气候,年平均气温 18.2 °C,年平均降水量 1487.2 mm。本研究区设在郴州市某铅锌选矿厂矿渣污染地。2008年,选矿厂停用,在上面覆盖了一层土壤。由于多年雨水侵蚀及人为扰动,导致尾砂矿渣不同程度地裸露,零星分布了一些草本植物,主要有芒草(*Miscanthus sinensis*)和狗牙根(*Cynodon dactylon* (L.) Pers.)。

2 材料与方法

2.1 样品采集

2018年调查发现,此地块分为3个不同程度的污染区,即重度污染区(CH)、中度污染区(CM)和轻度污染区(CL)。本研究中,在每个污染区随机布置3块样方(10 m×10 m),共9个样方。每块样方设置5个采样点。为避免植物根系干扰,每个样点采集5~20 cm土壤,其中4个采样点设置在样方4个顶点,1个采样点设置在对角线交叉处。5个样点的样品充分混合成1个样品。将当时用于覆盖矿渣废

弃地的原地土壤作为对照(CK)。共取样12份。过2 mm的尼龙筛网后,每个样品分为2部分:一部分储存在-80 °C冰箱,用于土壤真菌群落分析;另一部分储存于4 °C冰箱,用于土壤性质分析。

2.2 土壤化学性质和重金属含量的测定

土壤pH值的测定:每个样品称取风干土壤10 g,置于干燥的烧杯中,加入25 mL的蒸馏水,使用pH计(瑞士Mettler Toledo FE20)进行测定。

采用 $K_2Cr_2O_7-H_2SO_4$ 氧化法^[6]测定土壤有机碳(SOC)含量;采用凯氏定氮法^[6],用元素分析仪(德国Elementar Vario EL)测定土壤全氮(TN)含量;采用钼锑抗比色法^[6]测定土壤全磷(TP)含量。

土壤重金属铅(Pb)、锌(Zn)、铜(Cu)、镉(Cd)总量的测定:将土壤样品在含 HNO_3 、HF和 $HClO_4$ 的聚四氟乙烯坩埚中消化,然后用ICP-OES电感耦合等离子体发射光谱仪(美国ICAP6300)进行测定^[7]。

土壤重金属化学形态的测定:采用改良后的BCR顺序萃取法^[8]测定。重金属的4种化学形态为醋酸提取态、铁锰氧化态、有机结合态和残渣态。

2.3 土壤真菌群落的测定

使用Power Soil® DNA分离试剂盒(MoBio,美国)测定土壤总DNA;分别采用凝胶电泳和分光光度计(美国Nanodrop-2000)检测土壤DNA的质量和数量;采用PCR引物序列ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')扩增真菌内部转录间隔区(ITS)的基因序列。PCR扩增的总反应体积为20 μL,包括2.0 μL 10× PCR ExTaq缓冲液、0.5 μL DNA模板(0.1 μg/mL)、1.0 μL引物ITS1F(10 mmol/L)、1.0 μL引物ITS2(10 mmol/L)、2.0 μL dNTP、0.25 μL ExTaq(5 U/mL)和13.25 μL双蒸馏水。热循环条件为:95 °C预变性5 min,95 °C变性30 s、58 °C退火20 s、72 °C延伸6 s,循环30次。72 °C延伸10 min。上样检测电泳图,确认目的条带大小正确、浓度合适后,交由Illumina HiSeq测序平台(北京百迈客生物科技有限公司)进行建库测序。对原始数据进行拼接(FLASH, version 1.2.11),将拼接得到的序列进行质量过滤(Trimmomatic, version 0.33),并去除嵌合体(UCHIME, version 8.1),得到高质量的Tags

序列。运用 QIIME(version 1.8.0)中的 UCLUST 方法,在 97%的置信水平下对剩余序列进行聚类,以获得操作分类单元(OTUs)。利用基于 UNITE 7.2 ITS 真菌数据库的核糖体数据库项目(RDP)分类器,以 80%的置信阈值对每个真菌 OTU 进行分类注释分析。

2.4 数据处理与统计分析

用 Mothur(version 1.30)计算 Alpha 多样性指数(Coverage、Chao1 和 Shannon),分析真菌群落的盖度、丰富度和多样性;采用基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析法(PCoA)和样本层次聚类树,对不同采样区土壤真菌群落结构的差异性进行评价;采用基于 Bray-Curtis 距离的 PERMANOVA 方法分析不同采样区的土壤化学性质和真菌群落结构是否存在显著性差异;对土壤化学性质和真菌群落进行冗余

分析(RDA),利用 envfit 函数进行排列检验,确定土壤化学性质和微生物群落组成之间的显著性;采用方差分解分析(VPA)定量分析不同因素对真菌群落变异的影响。以上统计分析采用 R 软件(version 4.0.3)中的 vegan 包进行;采用 SPSS(美国,version 25.0)进行单因素方差分析及多重比较(Tukey-HSD),以确定不同采样区不同参数间的差异。

3 结果与分析

3.1 污染土壤重金属的含量与化学性质

从表 1 可以看出,不同采样区土壤 pH 值为 6.58~7.02,CH 区的最高,为 7.02。土壤有机碳(SOC)和全磷(TP)随着重金属污染程度的增加而升高,且不同采样区之间存在显著性差异($P<0.05$)。CL、CM 和 CH 区的土壤全氮(TN)含量差异不显著。

表 1 试验样地土壤重金属的含量及化学性质

| 采样区 | pH | SOC 含量/(g·kg ⁻¹) | TN 含量/(g·kg ⁻¹) | TP 含量/(g·kg ⁻¹) |
|-----|--------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| CK | (6.58±0.06)c | (13.62±0.05)d | (0.049±0.01)b | (0.27±0.02)d |
| CL | (6.84±0.02)b | (16.70±0.57)c | (0.063±0.02)ab | (0.40±0.01)c |
| CM | (6.97±0.04)a | (20.58±0.24)b | (0.070±0.01)a | (0.56±0.02)b |
| CH | (7.02±0.01)a | (25.47±0.13)a | (0.072±0.01)a | (0.63±0.02)a |

| 采样区 | Pb 含量/(mg·kg ⁻¹) | Zn 含量/(mg·kg ⁻¹) | Cu 含量/(mg·kg ⁻¹) | Cd 含量/(mg·kg ⁻¹) |
|-----|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| CK | (37.08±2.47)d | (146.28±2.61)d | (48.79±0.33)d | (2.97±0.02)d |
| CL | (735.34±1.75)c | (1074.30±4.08)c | (72.76±0.16)c | (13.99±0.02)c |
| CM | (2014.35±33.17)b | (2884.24±24.38)b | (116.01±0.95)b | (39.39±0.22)b |
| CH | (3311.18±36.62)a | (4692.97±39.60)a | (195.24±1.46)a | (69.63±0.44)a |

同列数据不同小写字母表示不同采样区的差异显著($P<0.05$)。

从表 1 还可以看出,土壤重金属 Zn、Pb、Cu、Cd 的含量依次降低。重金属含量随着污染程度的增加而升高,且不同采样区之间差异显著($P<0.05$)。湖南省地方标准《金属污染场地土壤修复标准》(DB43/T1165—2016)(以下简称标准)规定,Pb、Zn、Cu、Cd 的含量分别不高于 600、700、500、20 mg/kg。根据此标准,3 个污染区的 Cu 含量均未超标,CL 区的 Cd 含量也未超过标准。CL 区的 Pb 和 Zn 含量分别为标准的 1.23 和 1.53 倍,CM 区的 Pb、Zn 和 Cd 含量分别是标准的 3.36、4.12 和 1.97 倍,CH 区的 Pb、Zn 和 Cd 含量分别为标准的 5.52、6.70 和 3.48 倍。由此可见,与标准相比,土壤样品中 4 种重金属 Zn、Pb、Cd、Cu 的污染程度依次降低。

土壤重金属的不同化学形态如表 2 所示。铁锰氧化态、残渣态、醋酸提取态、有机结合态的 Pb 含量依次降低;醋酸提取态、铁锰氧化态、有机结合态、残渣态的 Zn 和 Cd 含量依次降低;残渣态、有机结合态、铁锰氧化态、醋酸提取态的 Cu 含量也依次降低。铁锰氧化态的 Pb 含量、锌醋酸提取态的 Zn 含量、残渣态的 Cu 含量、醋酸提取态的 Cd 含量均较高。4 种化学形态 Pb、Zn、Cu 和 Cd 的含量均随着污染程度的增加而升高。除 CL 区的有机结合态 Pb 含量与 CK 的差异不显著外,3 个污染区醋酸提取态、铁锰氧化态、有机结合态和残渣态 Pb、Zn、Cu 和 Cd 的含量均显著高于 CK 的。

表 2 采样区土壤中重金属的 4 种化学形态含量

Table 2 Contents of four chemical fractions of heavy metals in soil of sampling sites mg/kg

| 采样区 | Pb 含量 | | | | Zn 含量 | | | |
|-----|---------------|------------------|---------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| | 醋酸提取态 | 铁锰氧化态 | 有机结合态 | 残渣态 | 醋酸提取态 | 铁锰氧化态 | 有机结合态 | 残渣态 |
| CK | (0.55±0.07)d | (8.52±0.05)d | (1.60±0.13)c | (26.42±2.37)d | (3.60±0.10)d | (2.63±0.01)d | (12.76±0.84)d | (127.29±2.39)d |
| CL | (17.36±0.21)c | (435.62±3.77)c | (2.57±1.01)c | (279.80±5.84)c | (301.96±1.67)c | (175.92±0.50)c | (396.03±1.93)c | (200.40±3.80)c |
| CM | (54.84±0.11)b | (1256.22±26.95)b | (4.69±0.57)b | (698.60±10.57)b | (1123.47±7.62)b | (755.28±2.06)b | (665.38±4.80)b | (340.10±13.46)b |
| CH | (82.53±0.27)a | (1777.40±19.69)a | (11.92±0.31)a | (1439.33±24.30)a | (2023.89±13.45)a | (1227.82±6.35)a | (774.19±8.02)a | (667.08±32.16)a |

| 采样区 | Cu 含量 | | | | Cd 含量 | | | |
|-----|--------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| | 醋酸提取态 | 铁锰氧化态 | 有机结合态 | 残渣态 | 醋酸提取态 | 铁锰氧化态 | 有机结合态 | 残渣态 |
| CK | (0.36±0.01)d | (1.36±0.02)d | (0.97±0.03)d | (46.09±0.31)d | (0.48±0.01)d | (0.26±0.01)d | (0.11±0.01)d | (2.13±0.03)d |
| CL | (2.24±0.03)c | (8.39±0.08)c | (11.22±0.08)c | (50.92±0.27)c | (5.09±0.01)c | (3.14±0.02)c | (3.01±0.01)c | (2.74±0.03)c |
| CM | (5.75±0.09)b | (11.97±0.34)b | (26.86±0.13)b | (71.43±0.88)b | (18.66±0.02)b | (9.80±0.06)b | (6.48±0.17)b | (4.45±0.13)b |
| CH | (8.88±0.08)a | (17.45±0.21)a | (30.28±1.62)a | (138.63±0.43)a | (37.17±0.13)a | (17.31±0.19)a | (8.00±0.23)a | (7.14±0.10)a |

同列数据不同小写字母表示不同采样区同种化学形态的重金属含量差异显著($P < 0.05$)。

3.2 污染土壤真菌基因序列和 Alpha 多样性

12 个土壤样本的原始序列条数为 945 887，过滤低质量的序列后，得到优化序列总数为 843 788，每个样本平均有(70 316±1110)条序列。将这些优化序列进行聚类，划分为 1764 个 OTU。土壤真菌稀释曲线(图 1)表明，12 个土壤样品中的 OTU 数随着

序列数量的增加快速上升后转变为缓慢上升，序列数量达到一定值时，样品的稀释曲线均趋向平坦，表明测序深度合理，可以反映样品中的物种组成。

Alpha 多样性中 Chao1 指数反映样品中真菌群落丰富度，Shannon 指数反映真菌群落的多样性。从图 2 可以看出，重金属污染下 OTU 值和 Chao1 指数均低于 CK，且差异不显著。Shannon 指数在 CL 和 CM 区均高于对照，CH 区的低于对照，且差异均不显著。在 3 个重金属污染区，Shannon 指数随着重金属污染程度的增加而降低。Coverage 指数为 99.965%~99.995%，说明测序结果能代表样品的真实情况。

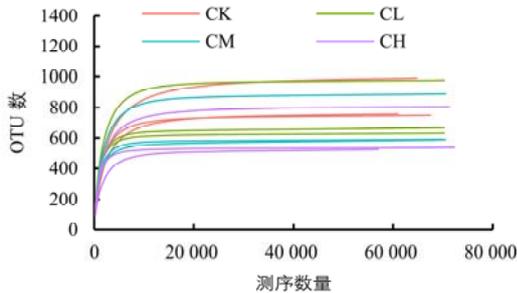


图 1 土壤样本真菌稀释曲线

Fig. 1 The rarefaction curves of fungi of soil samples

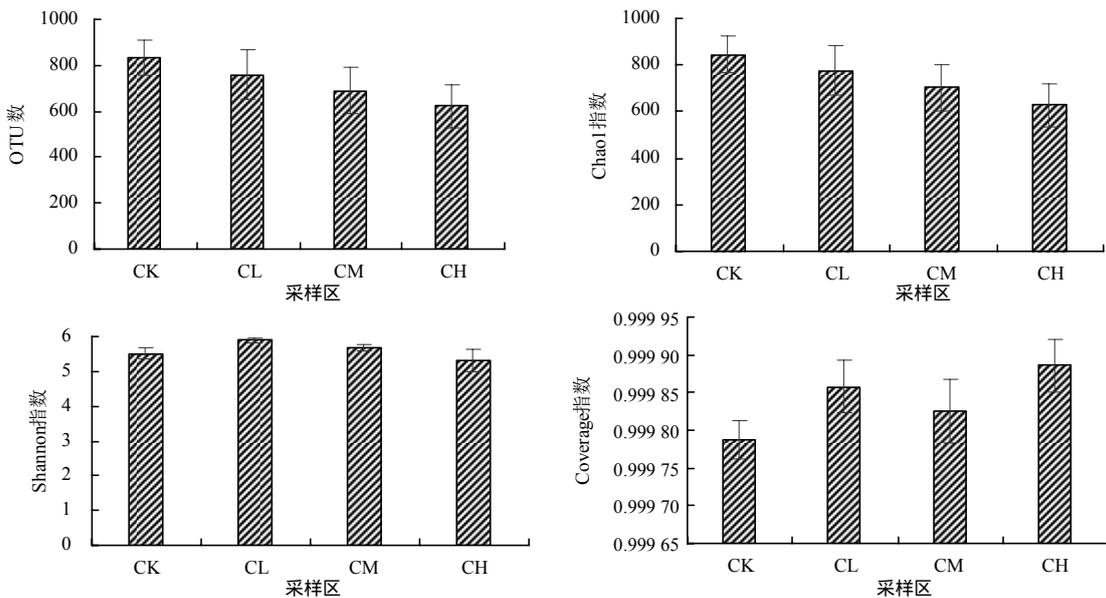


图 2 采样区土壤真菌 Alpha 多样性指数

Fig. 2 Alpha diversity indexes of soil fungal communities in sampling sites

3.3 污染土壤真菌 Beta 多样性

为了更具体地描述重金属对土壤真菌群落结构的影响，分别进行了聚类分析和主坐标分析(PCoA)。层次聚类树(图 3)把所有样本划分为 2 个大聚类和 4 个小聚类。小聚类显示对照和 3 个污染区，大聚类显示污染区和对照。3 个污染区与对照之间的真菌群落结构存在差异。除 CH_2 外，同一采样地的所有重复都具有较好的聚类性。主坐标分析(PCoA)(图 4)显示对照距 3 个污染区的样本较远，

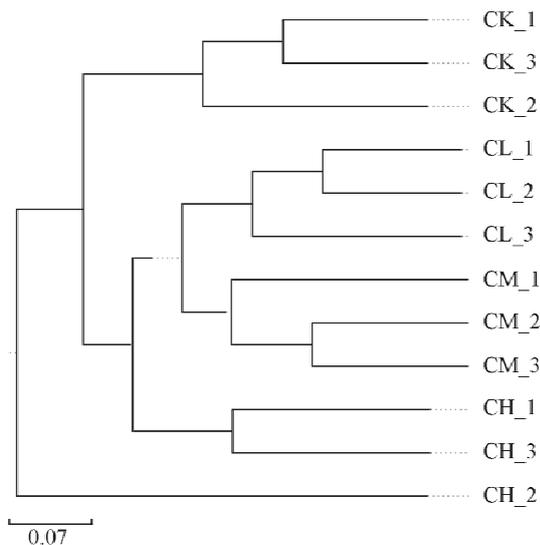


图 3 采样区土壤真菌群落结构的层次聚类树

Fig.3 Hierarchical clustering tree of soil fungal community structure in sampling sites

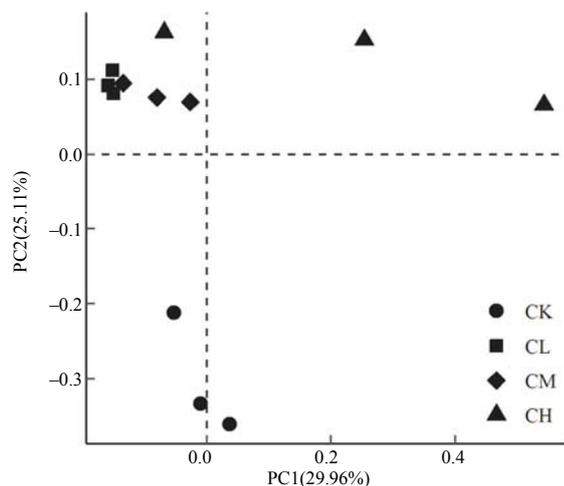


图 4 采样区土壤真菌群落结构的主坐标分析结果

Fig. 4 Principle Coordination Analysis (PCoA) of soil fungal community structure in sampling sites

即对照与 3 个污染区之间存在差异，和层次聚类树显示相似的 趋势。非参数多元方差(PERMANOVA)分析表明不同污染区和对照之间的真菌群落存在显著性差异($R^2=0.5853$ ， $P=0.001$)。

3.4 污染土壤真菌群落的组成

图 5 显示了不同采样区不同真菌种类在门和属水平上的相对丰度。优势真菌门为子囊菌门(Ascomycota)、未分类真菌门(Unclassified-Fungi)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)和 Aphelidiomycota，合计占土壤真菌总数的 95%以上(图 5-a)。虽然对照和污染区土壤真菌群落的组成相似，但各真菌门的相对丰度差异较大(图 5-c)。其中，子囊菌门、未分类真菌门、被孢霉门和球囊菌门(Glomeromycota)的相对丰度在不同采样区之间存在显著性差异($P<0.05$)。CH 区的优势真菌门为未分类真菌门(38.03%)、子囊菌门(36.19%)。CM、CL 和 CK 区子囊菌门占优势(43.70% ~ 54.46%)，以 CK 的最高。担子菌门的相对丰度以 CH 区的最高，被孢囊门的相对丰度在 CM 区最高，CL 的次之，CH 的最低。

图 5-b 和图 5-d 显示了前 15 个丰度较高的属。在 CH 区，以锥盖伞属(*Conocybe*)占优势(8.82%)，其次为被孢菌属(*Mortierella*)，占 5.21%；CM、CL 和 CK 采样区优势属是被孢霉属，占比 4.40% ~ 7.16%，其中 CM 区的被孢菌属的相对丰度最高。在不同采样区，枝孢菌属(*Cladosporium*)、*Exophiala*、*Plectospaerella*、柄孢壳属(*Zopfiella*)、链格孢属(*Alternaria*)、*Pseudeurotium* 和 *Boothiomycetes* 的相对丰度随着重金属污染水平的升高而降低。青霉菌属(*Penicillium*)、假埃希氏菌属(*Pseudallescheria*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和 *Cercophora* 的相对丰度随着重金属污染程度的升高呈先增加后降低的趋势。枝孢菌属、青霉菌属、柄孢壳属和 *Cercophora* 属于子囊菌门(Ascomycota)；被孢菌属属于被孢霉门(Mortierellomycota)。

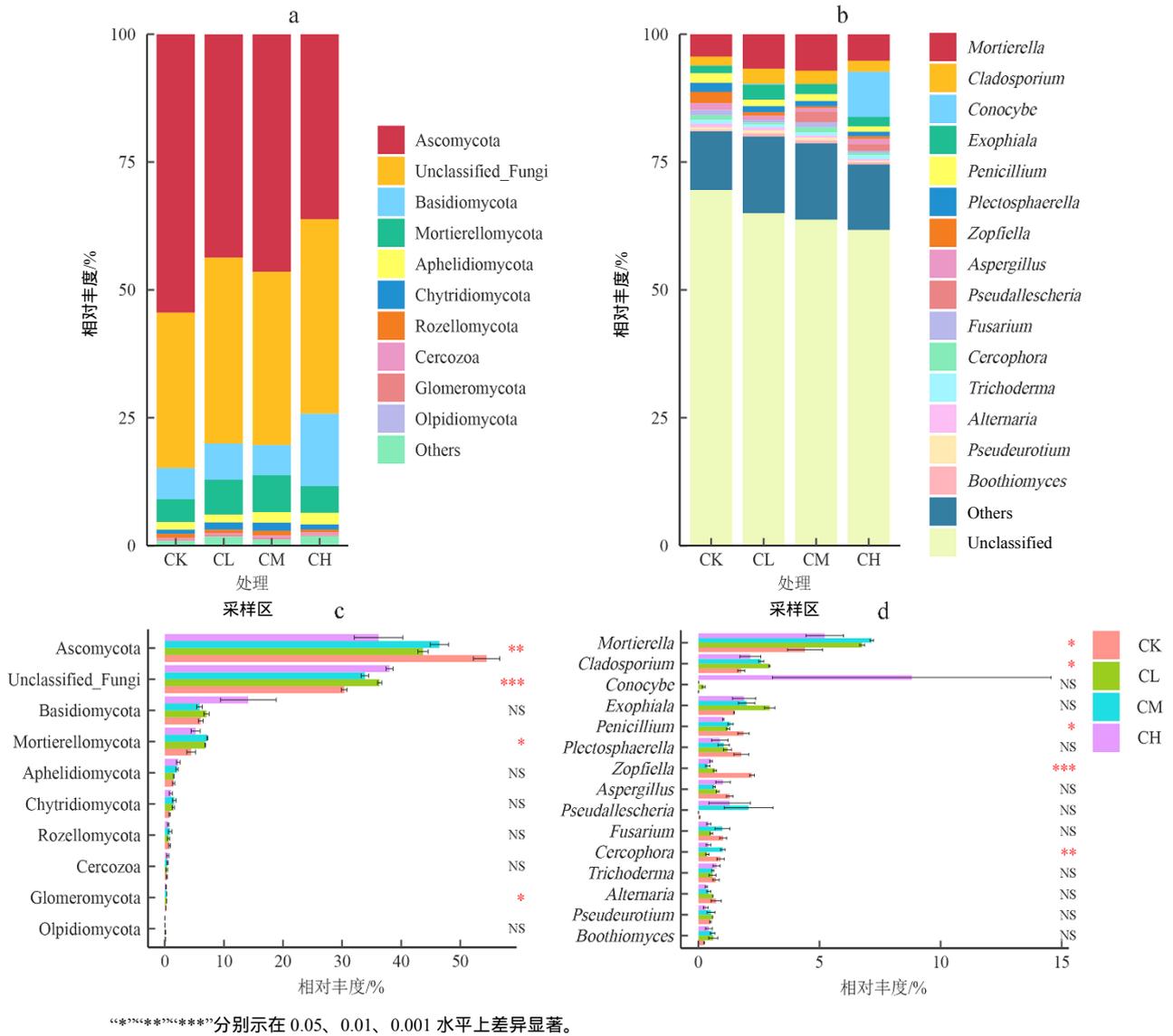


图 5 门分类水平和属分类水平土壤样本中真菌群落的组成
 Fig. 5 Composition and relative abundance of fungal communities in soil samples at phylum level and genus level

3.5 污染土壤化学性质与真菌群落的相关关系

从图 6 可以看出,枝孢菌属(*Cladosporium*)、青霉菌属(*Penicillium*)和 *Exophiala* 与重金属(Pb、Zn、Cu 和 Cd)含量呈负相关。冗余分析(RDA)结果(表 3)表明, SOC、TP 和重金属(Pb、Zn、Cu 和 Cd)含量与真菌群落显著相关。方差分解分析(VPA)结果将重金属(Pb、Zn、Cu 和 Cd)含量和土壤化学性质(pH、SOC、TN 和 TP)分成 2 类,土壤重金属含量和化学性质对真菌群落结构影响的解释量分别为 56%和 5.0%,共同解释量为 10%。此外,有 29.0%的真菌群落的分布不受上述 2 组因素的影响。

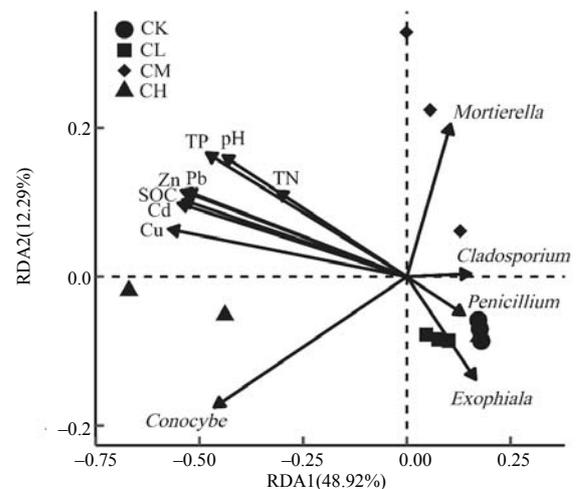


图 6 土壤化学性质与重金属含量对真菌群落组成的冗余分析结果
 Fig.6 Redundancy analysis of soil chemical properties and heavy metals content on soil fungal community composition

表 3 土壤化学性质和重金属含量与冗余分析(RDA)排序轴的相关性分析结果

Table 3 Correlation analysis between soil chemical properties and heavy metals content and the redundancy analysis (RDA) axes

| 因子 | RDA1 | RDA2 | r^2 | P 值 |
|-----|----------|---------|---------|---------|
| pH | -0.585 9 | 0.810 4 | 0.424 1 | 0.075 3 |
| SOC | -0.829 3 | 0.558 8 | 0.479 3 | 0.043 1 |
| TN | -0.584 5 | 0.811 4 | 0.211 7 | 0.356 4 |
| TP | -0.613 1 | 0.790 0 | 0.484 0 | 0.037 8 |
| Pb | -0.789 9 | 0.613 3 | 0.480 9 | 0.040 1 |
| Zn | -0.795 1 | 0.606 5 | 0.499 0 | 0.032 9 |
| Cu | -0.941 3 | 0.337 6 | 0.501 6 | 0.044 1 |
| Cd | -0.847 4 | 0.531 0 | 0.492 2 | 0.039 0 |

4 结论与讨论

重金属总量可以用来评价尾矿渣污染土壤的状况,而重金属的不同化学形态可以反映其潜在的生物危害性和毒性,可以定量评价重金属长期污染的土壤危害性^[9-10]。本研究中,除 Pb 和 Zn 外,Cd 的污染程度较高,这可能与中国土壤 Cd 的累积指数(I_{geo})偏高有关^[11]。李晓艳等^[12]研究发现金属硫化矿(特别是铅锌矿)区附近的农田土壤 Cd 污染尤其严重。在重金属不同化学形态中,醋酸提取态被认为具有生物有效性;铁锰氧化态和有机结合态在环境发生变化后也可能具有生物有效性^[13];而大部分残渣态没有生物有效性^[14]。本研究中,Zn 和 Cd 的醋酸提取态含量最高,说明溶出风险极高,可能再次造成环境污染;Pb 的铁锰氧化态含量高,说明当环境发生改变时,可能会释放到环境中而造成污染;Cu 以残渣态含量最高,再次污染风险低。

有研究^[15-17]表明,重金属污染会导致土壤微生物群落结构的变化。本研究中,不同采样区真菌群落的 Chaol 指数和 Shannon 指数差异不显著,但 Beta 多样性分析表明真菌群落结构差异显著。说明重金属污染导致了真菌群落结构的变化,而不是真菌群落的丰富度和多样性的变化。MACDONALD 等^[18]报道 Zn 和 Cu 浓度的增加,会造成真菌群落组成的变化;Pb 污染的土壤外生菌根真菌群落结构发生了变化,但群落多样性未发生改变^[19]。其原因可能是重金属胁迫下,土壤敏感真菌数量急剧下降,而耐受真菌适应新生境后数量增加。也有研究^[20]报道,短期污染会降低微生物的丰富度和多样性,

而长期重金属污染的土壤中微生物群落却有较高丰富度和多样性^[21]。本研究中,重金属污染土壤中真菌群落结构发生变化不仅与重金属有关,还与土壤有机碳、全磷有关。土壤有机碳和全磷可以为微生物提供养分,从而能有效地减轻重金属对微生物的危害^[22-23]。通过冗余和方差分解分析进一步发现,尽管土壤重金属和土壤化学性质都是改变土壤真菌群落的因素,但重金属的影响更大,这与 LI 等^[15]的研究结果相似,可能是因为较长时期重金属污染使得耐性真菌类群成为了优势种群。

本研究还发现,长期污染下土壤真菌群落的优势菌群是子囊菌门和担子菌门,这与陈雅昕等^[24]和邓娇娇等^[25]的研究结果一致。子囊菌门在低污染区增加,在高污染区则减少;担子菌门在不同污染区间虽然没有显著性差异,但相对丰度却高于 CK 的。这说明子囊菌门和担子菌门对重金属污染有一定的耐受性。有研究^[26-27]表明,子囊菌门可以忍耐重金属;担子菌门具有转移重金属的能力,其产生的多糖可以参与土壤团聚体的形成,对土壤结构的稳定起着非常重要的作用^[28]。本研究中,球囊菌门的相对丰度较低,这与球囊菌门对重金属污染特别敏感有关^[29]。被孢菌属、青霉菌属和镰刀菌属的相对丰度会随重金属污染水平的升高而增加,但当重金属污染最严重时,其会降低。被孢菌属、青霉菌属和镰刀菌属对重金属具有一定的耐受性,但对高污染重金属的抵抗力较差^[30-32]。可见,土壤真菌处于重金属污染的土壤时,敏感真菌的相对丰度会减少,而耐受真菌的相对丰度会增加,但在高污染区域其相对丰度也会有所下降。

参考文献:

- [1] 姜蓉,吕贻忠,申思雨.华北地区有机种植和常规种植模式下土壤重金属含量及污染评价[J].中国生态农业学报,2015,23(7):877-885.
JIANG R, LYU Y Z, SHEN S Y. Assessment of heavy metal content and pollution in organic and conventional farming soils in North China[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(7): 877-885.
- [2] 徐美娟,孙丹,童桂华,等.我国东部沿海城市内河重金属污染现状和健康风险评价——以宁波为例[J].南开大学学报(自然科学版),2017,50(6):99-104.
XU M J, SUN D, TONG G H, et al. Distribution and health risk assessment of heavy metals in inland river in eastern coastal cities in China: take Ningbo City for

- example[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2017, 50(6): 99–104.
- [3] YOUNG I M, CRAWFORD J W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex[J]. *Science*, 2004, 304: 1634–1637.
- [4] 闫华, 欧阳明, 张旭辉, 等. 不同程度重金属污染对稻田土壤真菌群落结构的影响[J]. *土壤*, 2018, 50(3): 513–521.
YAN H, OUYANG M, ZHANG X H, et al. Effects of different gradients of heavy metal contamination on soil fungi community structure in paddy soils[J]. *Soils*, 2018, 50(3): 513–521.
- [5] 杨琴, 邹凯, 陈爱佳, 等. 不同树龄银杏叶内生真菌的多样性及群落结构分析[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2019, 45(1): 42–49.
YANG Q, ZOU K, CHEN A J, et al. Endophytic fungal communities structure and variation in *Ginkgo biloba* leaf tissues with different ages[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2019, 45(1): 42–49.
- [6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
LU R K. *Methods of Soil Agricultural Chemistry Analysis*[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [7] 龙加洪, 谭菊, 吴银菊, 等. 土壤重金属含量测定不同消解方法比较研究[J]. *中国环境监测*, 2013, 29(1): 123–126.
LONG J H, TAN J, WU Y J, et al. A comparative study on the detection of heavy metal in soil with different digestion methods[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2013, 29(1): 123–126.
- [8] RAURET G, LÓPEZ-SÁNCHEZ J F, SAHUQUILLO A, et al. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 1999, 1(1): 57–61.
- [9] GOPE M, MASTORE E, GEORGE J, et al. Bioavailability and health risk of some potentially toxic elements (Cd, Cu, Pb and Zn) in street dust of Asansol, India[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 138: 231–241.
- [10] 叶宏萌, 李国平, 郑茂钟, 等. 武夷山茶园土壤中五种重金属的化学形态和生物有效性[J]. *环境化学*, 2016, 35(10): 2071–2078.
YE H M, LI G P, ZHENG M Z, et al. Speciation and bioavailability of five toxic heavy metals in the tea garden soils of Wuyishan[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(10): 2071–2078.
- [11] LI Z Y, MA Z W, VAN DER KUIJP T J, 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.
- [12] 李晓艳, 吴超. 某铅锌矿区公路两侧土壤重金属污染分布研究[J]. *环境工程*, 2017, 35(1): 137–140.
LI X Y, WU C. Distribution and analysis of heavy metals pollution in roadsides soil of a Pb-Zn mine[J]. *Environmental Engineering*, 2017, 35(1): 137–140.
- [13] KIERCZAK J, NEEL C, ALEKSANDER-KWATERCZAK U, et al. Solid speciation and mobility of potentially toxic elements from natural and contaminated soils: a combined approach[J]. *Chemosphere*, 2008, 73(5): 776–784.
- [14] ZONG Y T, XIAO Q, LU S G. Chemical fraction, leachability, and bioaccessibility of heavy metals in contaminated soils, Northeast China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(23): 24107–24114.
- [15] LI X Q, MENG D L, LI J, et al. Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231: 908–917.
- [16] 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]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14266.
- [17] PEREIRA L B, VICENTINI R, OTTOBONI L M. Changes in the bacterial community of soil from a neutral mine drainage channel[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96605.
- [18] MACDONALD C A, CAMPBELL C D, BACON J R, et al. Multiple profiling of soil microbial communities identifies potential genetic markers of metal-enriched sewage sludge[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(3): 555–564.
- [19] HUI N, JUMPPONEN A, NISKANEN T, et al. EcM fungal community structure, but not diversity, altered in a Pb-contaminated shooting range in a boreal coniferous forest site in Southern Finland[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(1): 121–132.
- [20] PAISSÉ S, COULON F, GOÑI-URRIZA M, et al. Structure of bacterial communities along a hydrocarbon contamination gradient in a coastal sediment[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66(2): 295–305.
- [21] BOURCERET A, CÉBRON A, TISSERANT E, et al. The bacterial and fungal diversity of an aged PAH- and heavy metal-contaminated soil is affected by plant cover and edaphic parameters[J]. *Microbial Ecology*, 2016, 71(3): 711–724.
- [22] WU W C, DONG C X, WU J H, et al. Ecological effects of soil properties and metal concentrations on the

- composition and diversity of microbial communities associated with land use patterns in an electronic waste recycling region[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 601/602: 57–65.
- [23] CHODAK M, GOŁĘBIEWSKI M, MORAWSKA-PŁOSKONKA J, et al. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 64: 7–14.
- [24] 陈雅昕, 邓娇娇, 周永斌, 等. 蒙古栎天然次生林土壤微生物群落特征及其与土壤理化特性的关系[J]. *沈阳农业大学学报*, 2018, 49(4): 409–416.
- CHEN Y X, DENG J J, ZHOU Y B, et al. Characteristics of soil microbial community and its relationship with soil physical and chemical properties in natural secondary forests of *Quercus mongolica*[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2018, 49(4): 409–416.
- [25] 邓娇娇, 周永斌, 殷有, 等. 辽东山区两种针叶人工林土壤真菌群落结构特征[J]. *北京林业大学学报*, 2019, 41(9): 130–138.
- DENG J J, ZHOU Y B, YIN Y, et al. Characteristics of soil fungal community structure at two coniferous plantations in mountainous region of eastern Liaoning Province, northeastern China[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2019, 41(9): 130–138.
- [26] LIN Y B, YE Y M, HU Y M, et al. The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 180: 557–564.
- [27] BLACKWOOD C B, WALDROP M P, ZAK D R, et al. Molecular analysis of fungal communities and laccase genes in decomposing litter reveals differences among forest types but no impact of nitrogen deposition[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(5): 1306–1316.
- [28] CAESAR-TONTHAT T C. Soil binding properties of mucilage produced by a basidiomycete fungus in a model system[J]. *Mycological Research*, 2002, 106(8): 930–937.
- [29] 张伟珍, 李应德, 闫智臣, 等. AM 真菌分子生物学研究进展[J]. *草业科学*, 2018, 35(7): 1641–1652.
- ZHANG W Z, LI Y D, YAN Z C, et al. Research advances of molecular biology technology in the study of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Pratacultural Science*, 2018, 35(7): 1641–1652.
- [30] FRÖHLICH-NOWOISKY J, HILL T C J, PUMMER B G, et al. Ice nucleation activity in the widespread soil fungus *Mortierella alpina*[J]. *Biogeosciences*, 2015, 12(4): 1057–1071.
- [31] ZAFAR S, AQIL F, AHMAD I. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(13): 2557–2561.
- [32] EZZOUHRI L, CASTRO E, MOYA M, et al. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2009, 3(2): 35–48.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳正