

引用格式:

高佳, 李奇洳, 杨富淋, 汪华安, 何柳, 杨春雨, 曹百川, 邹奇, 刘伟. 不同碳源对金属矿山废弃地土壤微生物群落及修复效应的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(3): 79–88.

GAO J, LI Q R, YANG F L, WANG H A, HE L, YANG C Y, CAO B C, ZOU Q, LIU W. Effects of different carbon sources on soil microbial community and remediation efficacy in metal mine wasteland[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(3): 79–88.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



不同碳源对金属矿山废弃地土壤微生物群落 及修复效应的影响

高佳^{1,2,3}, 李奇洳⁴, 杨富淋^{1,2,3}, 汪华安^{1,2,3}, 何柳^{1,2,3}, 杨春雨^{1,2,3}, 曹百川⁴, 邹奇⁴, 刘伟^{1,2,3*}

(1. 中国能源建设集团广东省电力设计研究院有限公司, 广东 广州 510663; 2. 广东科诺勘测工程有限公司, 广东 广州 510663; 3. 广东省海上风电智慧工地及生态环境保护工程技术研究中心, 广东 广州 510663; 4. 华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510635)

摘要: 选择木屑、鸡粪和蚕粪等3种常见的有机废物作为碳源, 联合石灰和微生物菌剂, 采用直接植被技术对广东省某金属矿山排土场进行生态修复, 探讨3种碳源对金属矿山废弃地土壤的修复效果及其修复过程中对土壤微生物群落的影响。结果表明: 3种碳源生态修复后, 土壤pH由3.27提升为7.19~8.31, 总有机碳(木屑修复半年和鸡粪修复一年的样品除外)、总磷质量分数显著增加, 修复半年时Cu、Zn、Fe、Pb有效态质量分数显著降低; 鸡粪前期对土壤养分的提升效果最明显, 蚕粪对土壤有效态Cu、Zn、Mn、Fe质量分数的降低效果最好, 而鸡粪对有效态Pb的抑制效果最好。相比修复前, 3种碳源修复后土壤微生物 α 多样性均显著升高; 碳源的种类显著影响了修复过程中的土壤微生物群落组成, 且随着生态修复的持续进行, 土壤微生物群落呈现明显的演替轨迹, 藤黄单胞菌属(*Luteimonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、德沃斯氏菌属(*Devosia*)、硝基轮状菌属(*Nitrolancea*)等功能性微生物相对丰度增加, 有助于促进植被生长和土壤养分积累。在生态修改过程中, 影响土壤微生物群落组成的主要环境因子是pH、净产酸量(NAG)、NAG-pH及总磷、Fe、有效态Fe、有效态Cu质量分数。

关键词: 金属矿山废弃地; 土壤微生物; 木屑; 鸡粪; 蚕粪; 碳源; 生态修复

中图分类号: X171.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)03-0079-10

Effects of different carbon sources on soil microbial community and remediation efficacy in metal mine wasteland

GAO Jia^{1,2,3}, LI Qiru⁴, YANG Fulin^{1,2,3}, WANG Huan^{1,2,3}, HE Liu^{1,2,3}, YANG Chunyu^{1,2,3},
CAO Baichuan⁴, ZOU Qi⁴, LIU Wei^{1,2,3*}

(1. China Energy Engineering Group Guangdong Electric Power Design and Research Institute Co. Ltd., Guangzhou, Guangdong 510663, China; 2. Guangdong Kono Survey Engineering Co. Ltd., Guangzhou, Guangdong 510663, China; 3. Guangdong Offshore Wind Smart Construction Site and Research Center of Engineering Technology for Ecological and Environmental Protection, Guangzhou, Guangdong 510663, China; 4. School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510635, China)

Abstract: In this study, three common organic wastes, sawdust, chicken manure and silkworm manure were selected as carbon sources and combined with lime and microbial agents for the direct vegetation technology and served to the

收稿日期: 2024-07-23

修回日期: 2024-10-16

基金项目: 中电工程重大科技专项(DG3-P01-2022); 中国能建重大科技专项(CEEC2022-KJZX-02、CEEC2021-KJZX-01); 国家自然科学基金项目(42007297); 广东省基础与应用基础研究基金项目(2019A1515110345、2021A1515011497)

作者简介: 高佳(1995—), 女, 辽宁丹东人, 硕士, 中级工程师, 主要从事矿山生态修复和生态碳汇研究, gaojia@gedi.com.cn; *通信作者, 刘伟, 硕士, 高级工程师, 主要从事矿山生态修复和污染场地土壤治理研究, liuwei3@gedi.com.cn

ecological restoration in metal mine wasteland in Guangdong Province. The three carbon sources were investigated for their remediation efficacies and their impacts on soil microbial community were assessed throughout the restoration process. The results showed that after the three carbon sources restoration, the soil pH increased from 3.27 to 7.19-8.31, and the mass fractions of total organic carbon(except for the samples with half a year of sawdust restoration and one year of chicken manure restoration) and total phosphorus increased significantly, while the mass fractions of DTPA-extractable Cu, Zn, Fe and Pb decreased significantly after half a year of restoration. Among the three carbon sources, chicken manure had the most pronounced effect on enhancing soil nutrients during the initial phase, and silkworm manure had the best effect on reducing soil mass fractions of DTPA-extractable Cu, Zn, Mn, and Fe, while chicken manure exhibited the most substantial suppression of DTPA-extractable Pb. The soil microbial α diversity significantly increased under all three carbon sources after remediation. The types of carbon sources significantly affected the composition of soil microbial communities during the restoration process, and the soil microbial communities showed obvious succession trajectories with the continuous ecological restoration. The relative abundance of functional microbes such as *Luteimonas*, *Bacillus*, *Devosia* and *Nitrolancea*, increased to promote vegetation growth and nutrient accumulation. During the ecological restoration processes, the environmental factors including pH, net acid production(NAG), NAG-pH, and the mass fractions of total phosphorus, Fe, DTPA-extractable Fe and DTPA-extractable Cu were the main driving factors affecting soil microbial community composition.

Keywords: metal mine wasteland; soil microbe; sawdust; chicken manure; silkworm manure; carbon source; ecological restoration

金属矿山开采过程中产生的酸性矿山废水(AMD)是导致区域土壤酸化、重金属污染和生物多样性下降的重要原因^[1-2]。金属矿中往往含有或伴生大量金属硫化物,这些金属硫化物在铁硫氧化菌等微生物的作用下发生氧化,产生具有强酸性(pH可低至2.0以下)、高硫酸根和重金属含量的AMD^[3-5]。矿业废弃地的酸化是导致区域生态退化和环境污染的主要因素,影响植物定居和破坏土壤结构,使地表生态系统恶化^[6-10]。因此,金属矿业废弃地的生态修复成为全球性的热点问题^[11]。

传统的末端治理措施存在运行费用较高、产生二次污染等问题^[12-14]。生态修复是从源头上减少金属矿山废弃地酸化和重金属溶出的有效措施^[15-16]。直接植被技术以微生物调控为核心,通过对金属矿业废弃地进行改良,直接建立植被系统。杨胜香^[17]在锰矿废弃地上开展了基于直接植被技术的生态修复工作,修复后土壤肥力得到有效提升,重金属含量显著降低,植被覆盖率达到80%以上,生物多样性得到恢复。YI等^[18]在土地退化严重、强酸性和重金属含量高的酸性铜矿山进行生态修复,显著降低了重金属毒性和硫酸根离子浓度。

微生物是土壤中碳、氮、磷、硫等元素生物地球化学循环的主要驱动者,在矿业废弃地生态修复

中扮演了重要的角色^[19-21]。在金属矿业废弃地中,强酸性和金属胁迫塑造了以嗜酸自养微生物为核心的微生物群落,这些微生物包括钩端螺旋菌(*Leptospirillum*)、热原体(*Thermoplasmataceae*)、酸杆菌(*Acidiferrobacteraceae*)、酸硫杆状菌(*Acidithiobacillus*)等,它们通过氧化硫、铁等获取能量^[22-24]。对矿业废弃地进行微生物调控,可以有效降低嗜酸菌的比例,构建健康的土壤微生物群落^[25]。在汞污染土壤修复过程中,植物-微生物修复可以有效降低土壤中与汞转化相关的微生物丰度,提高土壤酶活性,降低尾矿和植物中Hg的含量和活性^[26]。在对江西城门山极端酸性(pH=2.5)铜尾矿进行生态修复过程中,土壤中铁原体属(*Ferroplasma*)等铁/硫氧化微生物丰度大幅度下降,土壤营养元素含量和pH显著提高,重金属有效态含量和氧化还原电位显著降低^[15]。

本研究中,以木屑、蚕粪、鸡粪等有机废物为碳源,联合石灰和微生物菌剂,采用直接植被技术对广东省某金属矿山排土场进行生态修复,研究不同碳源对排土场修复半年和一年后土壤中原核微生物群落变化及改良效果的影响,旨在探索一种有效的生态修复策略,为中国金属矿山废弃地生态修复提供依据,并推动有机废物的综合利用。

1 材料和方法

1.1 材料

供试石灰、木屑、蚕粪和鸡粪分别购自韶关市翁源县的石灰厂、木材加工厂、养蚕基地和养殖场，其理化特性如表1所示。从表1可知：不同碳源理化性质的差异较大，木屑pH和总氮(TN)、总磷(TP)质量分数均显著低于蚕粪和鸡粪的；蚕粪pH最高，其总有机碳(TOC)和多种金属元素质量分数显著低于木屑和鸡粪的；鸡粪TN和金属元素(Pb除外)质量分

数显著高于木屑和蚕粪的，具有较高的环境风险。微生物菌剂来源于百川生态科技(广东)有限公司。供试修复植物包括黑麦草(*Lolium perenne* L.)、高羊茅(*Festuca elata* Keng ex E. B. Alexeev)、宽叶雀稗(*Paspalum thunbergii*)、苎麻(*Boehmeria nivea*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)、白三叶(*Trifolium repens*)等草籽及田菁(*Sesbania cannabina*)、三角梅(*Bougainvillea*)和马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)等植株幼苗，均购自翁源县花卉市场。

表1 不同添加材料的理化性质
Table 1 Physicochemical properties of different additive materials

材料	pH	营养元素质量分数/(g·kg ⁻¹)		
		TN	TP	TOC
木屑	(4.83±0.12)d	(0.77±0.05)c	(0.16±0.00)b	(420.46±13.34)a
蚕粪	(8.31±0.15)b	(2.92±0.19)b	(0.43±0.17)b	(87.89±3.77)c
鸡粪	(7.99±0.02)c	(9.49±0.63)a	(4.47±0.54)a	(152.60±3.47)b
石灰	(12.12±0.05)a	(ND)d	(ND)b	(ND)d

材料	金属元素质量分数/(mg·kg ⁻¹)				
	Cu	Zn	Fe	Mn	Pb
木屑	(17.17±6.85)b	(33.99±0.42)b	(1 259.48±366.79)b	(185.49±14.19)b	(12.02±5.37)a
蚕粪	(0.68±0.63)b	(9.56±3.24)b	(257.19±90.63)c	(32.37±7.98)c	(6.42±4.54)b
鸡粪	(304.99±94.10)a	(883.70±49.20)a	(4 142.00±8.31)a	(564.20±35.60)a	(ND)c
石灰	(ND)b	(ND)b	(ND)c	(ND)d	(ND)c

注：ND表示未检出；同列不同字母表示材料间的差异有统计学意义(P<0.05)。

1.2 野外试验设计

试验地块位于广东省韶关市翁源县境内(113°43'53"E, 24°32'01"N)某金属矿山排土场。该地区属于亚热带季风气候，年平均降水量为1 414 mm，年平均温度为21.3℃。试验地块地势较平缓，表面堆存有大量采矿剥离的废石和矿渣，表面呈红褐色，矿渣呈强酸性，重金属含量较高。试验地块总面积为900 m²，划分为3个300 m²(20 m×15 m)的区域。于2019年8月，参照HJ/T 166—2004《土壤环境监测技术规范》，对试验地土壤进行了系统采样，并对主要土壤指标进行了分析。根据预试验结果确定试验地块土壤改良材料用量：石灰20 t/hm²，碳源(木屑、蚕粪和鸡粪)20 t/hm²，微生物菌剂200 kg/hm²。于2020年1月，采用直接植被技术对试验地块进行生态修复，具体步骤如下：在试验地块外设置80 cm×60 cm的截水沟，并设置50 cm×50 cm的排水

沟将试验地块划分为3个试验小区，避免地表径流对试验区产生干扰，影响研究结果；整平场地后，翻松表层0~30 cm矿渣；在试验地块加入石灰、碳源(木屑、蚕粪和鸡粪)和微生物菌剂，并将矿渣与添加材料充分混合均匀，其中，石灰和微生物菌剂以粉末形式和矿渣混合，木屑经打碎后加入试验区，而蚕粪和鸡粪经初步发酵后均匀混入矿渣；添加完土壤改良材料后播撒草籽、种植植物幼苗，草籽播撒量为20 g/m²，植物幼苗种植密度为1株/m²。

1.3 样品采集

于2019年12月，采集试验区内修复前的5个平行样品作为对照(CK)，于2020年6月和11月，分别采集生态修复半年和一年时的土壤样品，木屑、蚕粪和鸡粪修复半年时的土壤样品分别编号为A1、B1、C1，修复一年时的土壤样品分别编号为A2、B2、C2。采集土样时先清除表面植物部分，再采用

5点取样法,在每个试验小区随机采集表层土(2~20 cm),每个样地采取5个平行样品,共采集35个土壤样品。每个土壤样品分为2份:1份在4℃下保存运输,用于理化性质分析;1份保存在50 mL无菌离心管中,干冰保存运至实验室并在-80℃下保存,用于DNA提取和高通量测序。

1.4 土壤理化性质分析

土壤样品自然风干后,研磨过筛备用。一部分土壤样品过孔径为0.425 mm的筛网后测定土壤pH、电导率(EC)、净产酸量(NAG)、NAG-pH及TN、TP、TOC、硫酸根(SO_4^{2-})质量分数。采用pH计和电导率仪分别测定pH和EC(土水质量体积比为1:2.5);采用双氧水氧化法^[27]测定NAG和NAG-pH;采用凯氏定氮法^[28]测定TN质量分数,采用钼锑抗比色法^[29]测定TP质量分数;采用 $\text{K}_2\text{CrO}_7\text{-H}_2\text{SO}_4$ 法^[30]测定TOC质量分数,采用硫酸钡比浊法^[31]测定 SO_4^{2-} 质量分数。一部分土壤样品过孔径为0.15 mm的筛网后测量土壤金属(包括总态和有效态的Fe、Pb、Zn、Cu、Mn)质量分数,采用盐酸-硝酸-高氯酸体系消解总态金属,采用DTPA溶液浸提有效态金属,采用电感耦合等离子体质谱仪(安捷伦ICP-MS 7800)测量消解液和浸提液中的金属含量。

1.5 DNA提取与测序

使用FastDNA Spin kit试剂盒(MP Biomedicals)提取土壤样品DNA,并采用NanoDrop 2000分光光度计(Thermo Fisher Scientific)评估DNA质量。使用原核微生物通用引物515F(GTGYCAGCMGCCGCGGTAA)和806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)扩增16S rRNA基因的V4区,对每个样品进行3次PCR扩增,合并扩增产物后使用E.Z.N.A.凝胶提取试剂盒(奥米加)纯化,最后,运用Illumina Nova 6000 PE250平台(Illumina)测序。DNA的提取和测序均由广东美格基因科技有限公司完成。采用QIIME 2平台分析原始的成对末端序列,通过DADA2插件对序列进行去噪和组装,并在100%同一性阈值下将其聚类为扩增子序列变体(ASV),随后采用针对16S rRNA基因V4区训练的朴素贝叶斯分类器(Silva-138-99-515-806)对16S rRNA代表性序列进行分类注释,并删除叶绿

体或线粒体序列。

1.6 统计分析

运用vegan包计算土壤微生物 α 多样性(丰富度、香农多样性指数、Chao1多样性指数和谱系多样性指数),通过方差分析(One-way ANOVA)检验不同时间和碳源修复后土壤理化性质和原核微生物 α 多样性的显著性差异,并选用LSD进行事后多重比较。使用vegan、picante和phyloseq包,进行基于Bray-Curtis距离的主坐标分析(PCoA),比较不同修复时间和碳源修复后土壤微生物群落结构的差异,并运用基于Bray-Curtis距离的置换多变量方差分析(PERMANOVA)进行显著性检验。使用dplyr和pheatmap包筛选相对丰度大于0.05%的属水平物种并绘制热图。使用linkET包对土壤理化性质和微生物群落组成进行Mantel检验,以分析理化性质对微生物群落组成的影响,在此基础上同时使用vegan软件包进行主成分分析(PCA)。所有的统计分析均在R(4.3.2)环境中进行。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对土壤理化性质的影响

从表2可知,相比修复前,添加不同碳源半年和一年后的废弃地土壤理化性质均发生了较大变化,土壤pH均值由3.27提升为7.19~8.31,NAG-pH均值由3.35上升为6.19~8.11,土壤的NAG均值由19.11 kg/t下降至0.00~1.86 kg/t,表明经过生态修复后,排土场的土壤酸化情况得到了良好控制,土壤pH接近中性,产酸潜力显著降低,这为区域植被定植和生态系统恢复创造了良好的条件。此外,不同修复时间和碳源对土壤pH和NAG-pH的影响也存在较大差异,其中修复半年时蚕粪对土壤酸化控制的效果最好,修复一年时木屑的效果最好,说明木屑的修复效果更持久;修复前土壤具有较高的TN质量分数(1 317.6 mg/kg),修复后TN质量分数有所下降,但3种碳源均显著提高了土壤TOC(A1和C2除外)和TP质量分数,充分提高了土壤肥力,其中,鸡粪前期对土壤养分的提升效果最明显。所有处理土壤的TN、TP质量分数均随着修复时间的延长而

降低；除A1的Cu外，其他处理对土壤Cu、Zn和Mn总量影响不大，所有处理土壤Fe的总量显著降低，由207.72 g/kg降为111.29~127.22 g/kg；土壤中硫酸盐和有效态金属DTPA-Cu、DTPA-Zn、DTPA-Fe、DTPA-Pb质量分数均在3种碳源修复半年后显著降低，蚕粪对土壤DTPA-Cu、DTPA-Zn、DTPA-Mn、DTPA-Fe的降低效果最好，而鸡粪对DTPA-Pb的降低效果最好，但修复一年后不同碳源处理的土壤硫酸盐和有效态金属质量分数均有所回升，有些甚至高于修复前的。

表2 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年时的土壤理化性质

Table 2 Soil physicochemical properties in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources						
样品	pH	EC/($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	NAG-pH	NAG/($\text{kg}\cdot\text{t}^{-1}$)	质量分数/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
					TOC	Fe
CK	(3.27±0.47)e	(708.4±454.5)b	(3.35±0.68)c	(19.11±2.54)a	(4.30±3.10)c	(207.72±25.20)a
A1	(7.19±0.56)d	(1 123.0±502.3)a	(7.19±1.29)ab	(0.50±0.69)b	(9.10±3.94)abc	(127.22±17.63)b
B1	(8.31±0.15)a	(431.6±192.7)bc	(8.11±0.41)a	(0.00)b	(14.60±3.52)ab	(111.29±17.25)b
C1	(8.13±0.28)ab	(385.5±126.7)bc	(7.51±0.80)ab	(0.24±0.49)b	(17.38±12.55)a	(117.60±12.55)b
A2	(7.93±0.08)abc	(253.6±96.1)c	(8.02±1.14)a	(0.07±0.16)b	(16.44±5.92)ab	(125.82±12.86)b
B2	(7.66±0.10)bcd	(389.2±162.7)bc	(7.12±1.87)ab	(0.88±1.67)b	(16.37±6.22)ab	(121.85±7.38)b
C2	(7.51±0.63)cd	(351.4±99.4)bc	(6.19±2.28)b	(1.86±2.60)b	(8.29±3.62)bc	(120.11±8.03)b

质量分数/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
样品	SO_4^{2-}	TN	TP	DTPA-Cu	DTPA-Fe	DTPA-Mn
CK	(1 803.6±1157.0)a	(1 317.6±362.9)a	(341.9±220.1)d	(21.17±10.18)a	(169.52±51.65)a	(75.88±25.42)ab
A1	(162.2±72.9)b	(1 050.5±360.2)abc	(1 872.4±343.9)b	(12.06±5.03)bc	(24.09±0.42)c	(12.05±0.21)b
B1	(73.6±60.4)b	(1 227.8±423.1)ab	(1 999.9±122.4)ab	(2.22±0.35)d	(23.80±2.15)c	(11.90±1.07)b
C1	(93.6±93.4)b	(981.5±163.5)abc	(2 340.9±577.1)a	(4.18±1.16)cd	(24.60±0.22)c	(12.30±0.11)b
A2	(1 320.5±788.4)a	(817.4±51.5)c	(1 717.3±242.8)b	(19.87±7.77)ab	(75.54±25.92)b	(95.61±86.53)a
B2	(1 952.9±1 030.1)a	(1 066.7±201.8)abc	(1 290.6±306.7)c	(12.75±3.63)b	(70.94±54.73)b	(92.26±65.35)a
C2	(1 591.3±499.6)a	(872.9±140.5)bc	(1 827.9±368.9)b	(15.89±7.45)ab	(56.49±35.06)bc	(69.71±75.84)ab

质量分数/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
样品	DTPA-Zn	DTPA-Pb	Cu	Zn	Mn	Pb
CK	(40.94±7.10)b	(153.40±112.29)ab	(485.38±175.76)b	(1 757.5±605.5)ab	(844.6±714.2)ab	(5 660.7±2 231.9)a
A1	(4.06±0.27)c	(51.26±21.26)c	(973.42±464.57)a	(1 992.4±549.1)a	(882.7±586.7)ab	(6 568.1±2 229.5)a
B1	(3.75±0.20)c	(43.37±16.31)c	(387.77±66.93)b	(1 268.2±383.4)b	(600.1±826.7)ab	(4 952.4±2 314.2)ab
C1	(3.87±0.46)c	(36.93±14.51)c	(538.74±238.57)b	(1 395.6±392.6)ab	(153.3±40.6)b	(3 228.5±648.5)b
A2	(19.98±8.84)c	(182.69±61.17)a	(557.87±93.21)b	(1 677.8±323.1)ab	(1 113.8±656.9)a	(5 083.1±573.1)ab
B2	(57.89±19.08)a	(91.63±44.07)bc	(333.18±61.49)b	(1 913.9±331.7)a	(810.9±702.6)ab	(4 607.7±918.4)ab
C2	(40.37±25.49)b	(111.35±76.04)abc	(432.56±77.44)b	(1 491.9±482.1)ab	(244.6±78.8)b	(4 508.7±777.4)ab

注：同列不同字母表示样品间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 不同碳源对土壤微生物群落多样性的影响

从表3可知，3种碳源修复后土壤微生物的 α 多样性显著提高，且除A1与B1、C2的丰富度和Chao1多样性指数外，不同碳源间的差异无统计学意义：土壤微生物物种丰富度由607.8提高至1 791.0~2 640.8；

香农多样性指数由5.479提高至8.296~9.833；Chao1多样性指数由614.8提高至1 803.1~2 673.4；谱系多样性指数由38.98提高至122.30~151.69。可见，这3种碳源均能显著提高土壤微生物的多样性。

表3 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年时的土壤微生物 α 多样性

Table 3 Soil microbial α-diversity in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources				
样品	丰富度	香农多样性指数	Chao1多样性指数	谱系多样性指数
CK	(607.8±369.4)c	(5.479±1.577)b	(614.8±368.9)c	(38.98±19.24)b
A1	(1 791.0±459.2)b	(8.296±1.354)a	(1 803.1±464.6)b	(122.30±25.35)a
B1	(2 512.2±806.8)a	(9.502±0.818)a	(2 577.9±858.0)a	(144.20±46.14)a
C1	(2 401.4±710.4)ab	(8.919±1.841)a	(2 462.7±737.9)ab	(151.69±28.33)a
A2	(2 347.2±178.3)ab	(9.539±0.080)a	(2 358.1±188.9)ab	(141.49±7.819)a
B2	(2 431.4±74.6)ab	(9.434±0.606)a	(2 447.7±81.16)ab	(142.74±9.023)a
C2	(2 640.8±430.3)a	(9.833±0.366)a	(2 673.4±448.2)a	(143.99±19.14)a

注：同列不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

PCoA分析结果(图1)表明,主坐标轴1和主坐标轴2对3种碳源修复前后土壤微生物群落差异的解释度分别为20.08%和12.73%;随着修复的持续进行,修复前、修复半年和一年的土壤微生物聚类为3组,土壤微生物群落呈现出明显的演替轨迹。PERMANOVA分析结果进一步证实,修复时间对微生物群落组成具有极显著($R^2=0.29$, $P<0.001$)影响,不同碳源对土壤微生物群落组成也存在显著($R^2=0.07$, $P=0.018$)影响,相比于碳源种类,修复时间对土壤微生物群落组成的影响更为深远。

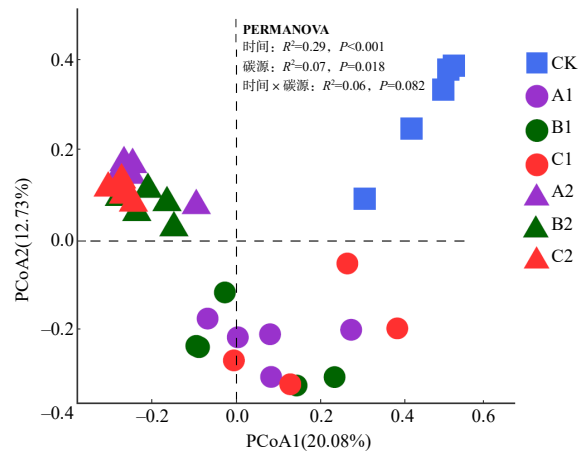


图1 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年时的土壤微生物 β 多样性

Fig.1 Soil microbial β-diversity in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources

2.3 土壤微生物群落组成演变

从图2可知:土壤微生物在门水平上的优势物种主要为变形菌门(相对丰度为20.39%~32.91%)、酸杆菌门(相对丰度为6.72%~30.08%)、浮霉菌门(相对

丰度为9.64%~14.05%)和拟杆菌门(相对丰度为6.87%~11.60%);3种碳源修复后,土壤酸杆菌门相对丰度降低,而变形菌门、浮霉菌门、拟杆菌门和厚壁菌门相对丰度提高。

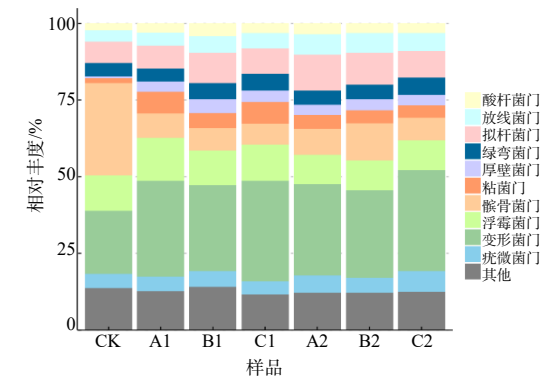


图2 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年后的土壤微生物门水平物种相对丰度

Fig.2 Relative abundance of soil microbial community composition at phylum levels in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources

从图3可知:修复前和3种碳源修复后的相对丰度大于0.05%的土壤微生物聚成2个分支;修复后土壤中 *Candidatus_Kuenenbacteria*、糖单胞菌属(*Saccharomonospora*)和*Nitrosarchaeum*的相对丰度显著减少, *Candidatus_Kuenenbacteria*隶属于酸杆菌门,这与微生物在门水平上的变化是一致的;藤黄单胞菌属(*Luteimonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、硝基轮状菌属(*Nitrolancea*)、德沃斯氏菌属(*Devosia*)、副球菌属(*Paracoccus*)和甲基杆菌属—甲基红菌属(*Methylobacterium-Methylorubrum*)等微生物在修复后相对丰度提高。

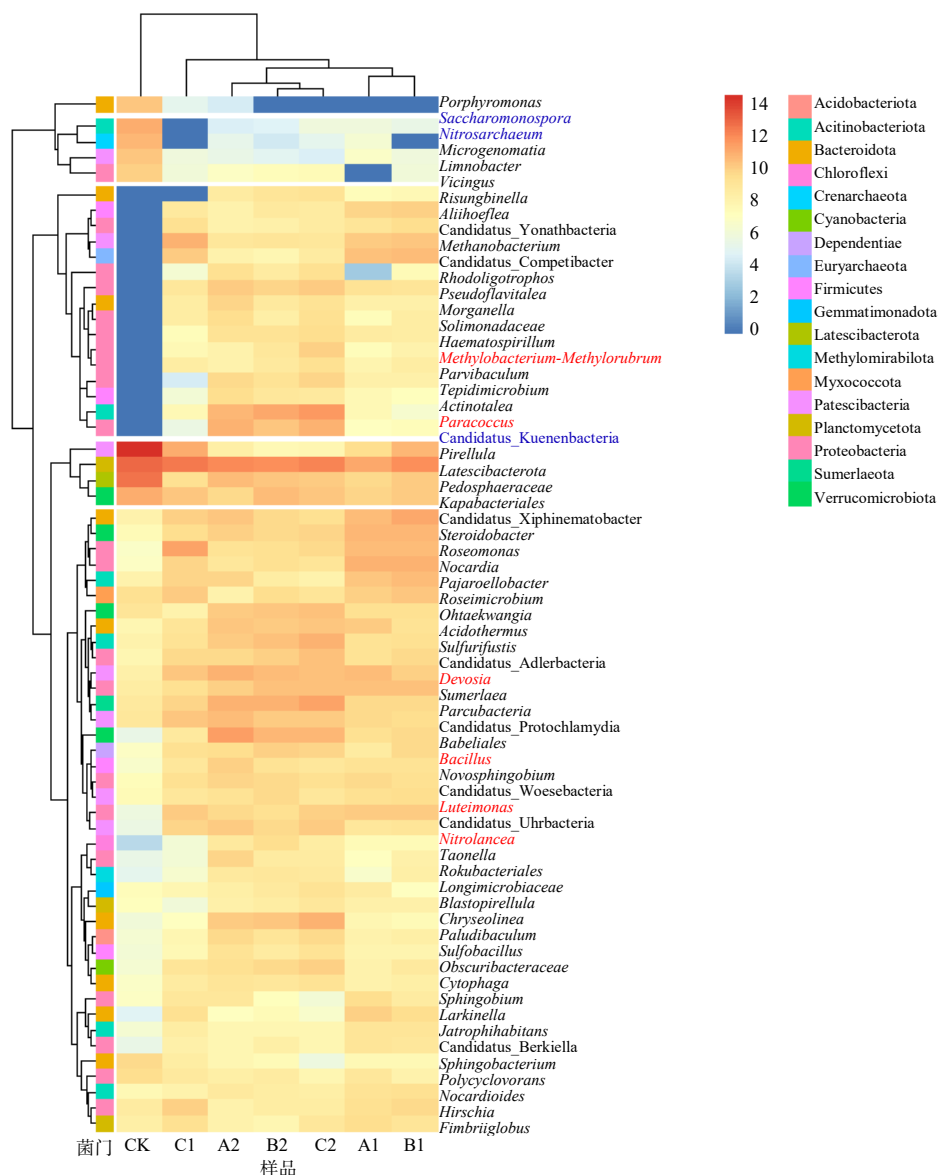


图3 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年后的土壤微生物属水平热图(相对丰度大于0.05%)

Fig.3 Heatmap of soil microbial genera in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources(relative abundance greater than 0.05%)

2.4 土壤理化性质与土壤微生物群落的关系

PCA分析结果(图4)表明, 2个主成分(PC1和PC2)对3种碳源修复前后土壤微生物群落差异的解释度分别为35.48%和13.97%, 影响修复前和修复后微生物群落差异的主要环境因子包括pH、NAG、NAG-pH和TOC、 SO_4^{2-} 、Fe、DTPA-Fe、DTPA-Zn、DTPA-Mn、DTPA-Pb质量分数等, TN、Pb、Zn、Mn质量分数对微生物群落差异的贡献度较小。Mantel分析结果(图5)表明, pH对微生物群落的影响最大($P < 0.001$), 其次是NAG-pH、NAG及TP、Fe、DTPA-Fe质量分数等环境因子的影响($P < 0.01$), EC和 SO_4^{2-} 、DTPA-Cu、DTPA-Zn质量分数的影响也较大($P < 0.05$), 这与PCA分析结果一致。

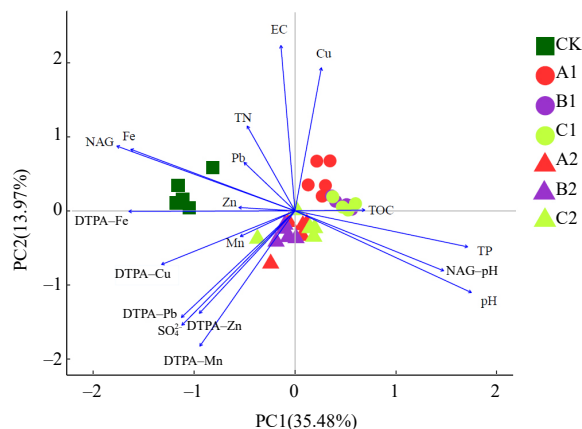


图4 修复前和添加3种碳源修复金属矿山废弃地半年和一年时的土壤微生物PCA分析结果

Fig.4 PCA analysis result of soil microbial community composition in metal mine wasteland before remediation and six months and one year after remediation with different carbon sources

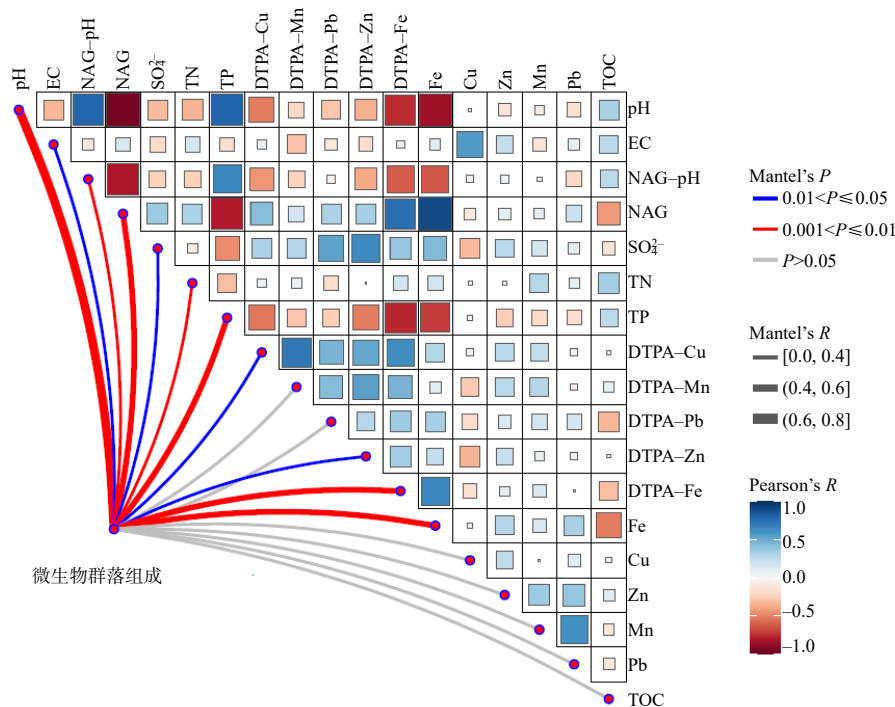


图5 土壤微生物群落与理化性质Mantel分析结果

Fig.5 Mantel test result of the soil physicochemical properties and microbial community composition

3 结论与讨论

本研究中,笔者研究了木屑、蚕粪和鸡粪联合石灰和微生物菌剂对金属矿山废弃地微生物群落及修复效果的影响,发现土壤肥力得到显著提升,土壤酸化程度和重金属溶出量得到较好控制。石灰通过中和酸性土壤提高pH值,同时促进铁和铝的氢氧化物形成,有助于金属的吸附和沉淀^[32]。木屑、蚕粪和鸡粪均可显著改善土壤理化性质,抑制土壤酸化、促进营养元素积累和降低有效态金属含量,并为微生物和植物生长提供营养,改善土壤物理结构和持水保肥能力^[21]。石灰和有机碳源的联合添加,在提高土壤pH的同时,可通过有机质的羟基、羧基等官能团螯合固定金属,降低金属有效态^[32]。此外,微生物菌剂(如硫酸盐还原菌、固氮菌、溶磷菌和植物促生菌等)的添加,能够激发土壤有益微生物的活性,加速有毒有害物质的降解转化,加快营养元素积累和周转,促进植物生长发育,进一步提升土壤的生态功能^[33]。随着修复的持续进行,土壤植被逐渐恢复,土壤氧化还原电位持续降低,进一步抑制铁硫氧化细菌代谢活动,降低土壤产酸量和金属溶出量,提高营养元素含量^[15]。而修复一年后土壤中硫酸盐和有效态金属含量升高,可能是由于修复时间较短,一年生植物在11月份(修复一年后的

样品采集时间)凋零,植被根系介导的抑硫氧化效应减弱,导致铁硫氧化细菌代谢增强^[34]。此外,木屑、蚕粪和鸡粪对金属矿山废弃地的修复效果有所不同:木屑对抑制土壤酸化和金属溶出、提升土壤TN和TP等营养元素含量的效果低于蚕粪和鸡粪的;鸡粪本身含有较高含量的Fe、Zn和Cu等金属元素,添加后可能导致土壤有效态金属含量升高,具有潜在的生态环境风险;蚕粪金属含量低,对土壤酸化和金属溶出的抑制效果好,且能够较好地提升土壤肥力,具有更好的应用前景。

木屑、蚕粪和鸡粪均显著提高了微生物的物种多样性,这归功于更好的土壤微环境构建。极端酸性和贫瘠、高重金属含量均会影响微生物的生长和代谢^[35],而3种碳源均显著提高了土壤pH和营养元素含量,降低了有效态金属含量。此外,本研究中,PERMANOVA分析结果证实,不同碳源对土壤微生物群落组成存在显著的影响,这可能是木屑、蚕粪和鸡粪在营养元素含量、组成和分解难易程度的差异造成的,如鸡粪具有更高的TN和金属含量,而木屑的有机质组分更难以分解^[36]。同时,随着修复的持续进行,矿山废弃营养元素含量及其化学计量比、植被组成和多样性也发生动态变化,从而导致微生物群落组成呈现明显的演替轨迹^[37]。不同碳源添加后,土壤微生物群落组成发生显著变化,

Candidatus_Kuenenbacteria 相对丰度显著降低, 该菌属隶属于酸杆菌门, 细胞体积小, 基因组精简, 代谢能力强, 能够在极端酸性、营养有限的严苛环境下生存^[38]。修复后部分可以帮助植物抵御病害、促进元素循环和植物生长的微生物相对丰度显著提高, 如藤黄单胞菌属、芽孢杆菌属、甲基杆菌属—甲基红菌属等能够参与土壤有机物的分解, 增强植物的抗病性, 德沃斯氏菌属等可通过固氮作用来促进植物生长^[39-40], 硝基轮状菌属可促进土壤的硝化作用等^[41], 这与修复后植被覆盖度大幅度提高相关^[37]。PCA和Mantel分析结果表明, pH、NAG、NAG-pH及TP、Fe、DTPA-Fe、DTPA-Cu质量分数等均影响了微生物的群落组成。pH和有效态金属含量直接影响微生物蛋白的功能^[42]。在不同的pH和有效态金属含量条件下, 适宜生存的微生物的种类和功能有所差异, 微生物群落组成和功能的变化可能进一步调控土壤pH和重金属有效态含量^[15]; 而营养元素(TP和TN)含量等可能通过影响核心物种组成、微生物相互作用和微生物生活史策略改变微生物群落组装和功能, 从而影响微生物群落组成^[43]。

参考文献:

- [1] KEFENI K K, MSAGATI T A M, MAMBA B B. Acid mine drainage: prevention, treatment options, and resource recovery: a review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 151: 475-493.
- [2] 许洪扬, 付冰清, 康慧, 等. 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.
- [3] TABELIN C B, CORPUZ R D, IGARASHI T, et al. Acid mine drainage formation and arsenic mobility under strongly acidic conditions: importance of soluble phases, iron oxyhydroxides/oxides and nature of oxidation layer on pyrite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 399: 122844.
- [4] LINDSAY M B J, MONCUR M C, BAIN J G, et al. Geochemical and mineralogical aspects of sulfide mine tailings[J]. *Applied Geochemistry*, 2015, 57: 157-177.
- [5] SÁNCHEZ-ANDREA I, SANZ J L, BIJMANS M F M, et al. Sulfate reduction at low pH to remediate acid mine drainage[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 269: 98-109.
- [6] MADEJÓN P, CARO-MORENO D, NAVARRO-FERNÁNDEZ C M, et al. Rehabilitation of waste rock piles: impact of acid drainage on potential toxicity by trace elements in plants and soil[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 280: 111848.
- [7] 陈宏坪, 韩占涛, 沈仁芳, 等. 废弃矿山酸性矿井水产生过程与生态治理技术[J]. *环境保护科学*, 2021, 47(6): 73-80.
- [8] AGRAWAL A, SAHU K K. An overview of the recovery of acid from spent acidic solutions from steel and electroplating industries[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 171(1/2/3): 61-75.
- [9] AGUIAR A O, ANDRADE L H, RICCI B C, et al. Gold acid mine drainage treatment by membrane separation processes: an evaluation of the main operational conditions[J]. *Separation and Purification Technology*, 2016, 170: 360-369.
- [10] AL-ZOUBI H, RIEGER A, STEINBERGER P, et al. Optimization study for treatment of acid mine drainage using membrane technology[J]. *Separation Science and Technology*, 2010, 45(14): 2004-2016.
- [11] ADIANSYAH J S, ROSANO M, VINK S, et al. A framework for a sustainable approach to mine tailings management: disposal strategies[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2015, 108: 1050-1062.
- [12] AKCIL A, KOLDAS S. Acid mine drainage(AMD): causes, treatment and case studies[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2006, 14(12/13): 1139-1145.
- [13] BEJAN D, BUNCE N J. Acid mine drainage: electrochemical approaches to prevention and remediation of acidity and toxic metals[J]. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2015, 45(12): 1239-1254.
- [14] CARABALLO M A, MACÍAS F, RÖTTING T S, et al. Long term remediation of highly polluted acid mine drainage: a sustainable approach to restore the environmental quality of the Odiel river basin[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(12): 3613-3619.
- [15] YANG T T, LIU J, CHEN W C, et al. Changes in microbial community composition following phytostabilization of an extremely acidic Cu mine tailings[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 114: 52-58.
- [16] WU S, LIU Y, BOUGOURE J J, et al. Organic matter amendment and plant colonization drive mineral weathering, organic carbon sequestration, and water-stable aggregation in magnetite Fe ore tailings[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(23): 13720-13731.
- [17] 杨胜香. 广西锰矿废弃地重金属污染评价及生态恢复研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2007.
- [18] YI X Z, WEN P, LIANG J L, et al. Phytostabilization mitigates antibiotic resistance gene enrichment in a copper mine tailings pond[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 443: 130255.
- [19] 姚东良, 彭德元, 王振华, 等. 氧气对水稻土N₂O排放和narG型反硝化微生物的短期影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2023, 49(3): 335-343.
- [20] DUAN P P, FU R T, NOTTINGHAM A T, et al. Tree species diversity increases soil microbial carbon use

- efficiency in a subtropical forest[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(24): 7131–7144.
- [21] ARUNACHALAM A, PANDEY H N. Microbial C, N and P along a weeding regime in a valley cultivation system of northeast India[J]. *Tropical Ecology*, 2003, 44(2): 147–154.
- [22] LI L Z, LIU Z H, MENG D L, et al. Comparative genomic analysis reveals the distribution, organization, and evolution of metal resistance genes in the genus *Acidithiobacillus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(2): e02153–18.
- [23] ISSOTTA F, MOYA-BELTRÁN A, MENA C, et al. Insights into the biology of acidophilic members of the *Acidiferrobacteraceae* family derived from comparative genomic analyses[J]. *Research in Microbiology*, 2018, 169(10): 608–617.
- [24] MA L Y, YANG W Y, HUANG S S, et al. Integrative assessments on molecular taxonomy of *Acidiferrobacter thiooxydans* ZJ and its environmental adaptation based on mobile genetic elements[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 826829.
- [25] CHEN Y T, LI J T, CHEN L X, et al. Biogeochemical processes governing natural pyrite oxidation and release of acid metalliferous drainage[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(10): 5537–5545.
- [26] 王璐, 陈功锡, 杨胜香, 等. 汞污染土壤植物修复研究现状与展望[J]. *地球与环境*, 2022, 50(5): 754–766.
- [27] SHU W S, YE Z H, LAN C Y, et al. Acidification of lead/zinc mine tailings and its effect on heavy metal mobility[J]. *Environment International*, 2001, 26(5/6): 389–394.
- [28] BREMNER J M, SHAW K. Denitrification in soil. I. methods of investigation[J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1958, 51(1): 22–39.
- [29] MURPHY J, RILEY J P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1962, 27: 31–36.
- [30] WALKLEY A, BLACK I A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method[J]. *Soil Science*, 1934, 37(1): 29–38.
- [31] 梁运献. 硫酸钡比浊法测定土壤全硫的改进[J]. *广西农业科学*, 2002(4): 186–187.
- [32] ZHANG H, LIU W J, XIONG Y, et al. Effects of dissolved organic matter on distribution characteristics of heavy metals and their interactions with microorganisms in soil under long-term exogenous effects[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 947: 174565.
- [33] 叶振城, 苏亦凡, 杨云锋. 基于分子生物学的微生物修复技术在石油污染环境中的应用[J]. *生物工程学报*, 2024, 40(3): 739–757.
- [34] QING Y, FANG Y, ZHEN L, et al. Elemental sulfur and organic matter amendment drive alkaline pH neutralization and mineral weathering in iron ore tailings through inducing sulfur oxidizing bacteria[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(51): 21744–21756.
- [35] LIANG J L, LIU J, JIA P, et al. Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(6): 1600–1613.
- [36] DENG W K, HE J L, CHEN J Y, et al. Effects of microplastics on functional genes related to CH₄ and N₂O metabolism in bacteriophages during manure composting and its planting applications[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 460: 132288.
- [37] ZHOU W H, WANG Y T, LIAN Z H, et al. Revegetation approach and plant identity unequally affect structure, ecological network and function of soil microbial community in a highly acidified mine tailings pond[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 744: 140793.
- [38] TIAN R M, NING D L, HE Z L, et al. Small and mighty: adaptation of superphylum Patenscibacteria to groundwater environment drives their genome simplicity[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 51.
- [39] LI J T, JIA P, WANG X J, et al. Metagenomic and metatranscriptomic insights into sulfate-reducing bacteria in a revegetated acidic mine wasteland[J]. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2022, 8(1): 71.
- [40] ROLANDO J L, KOLTON M, SONG T, et al. Sulfur oxidation and reduction are coupled to nitrogen fixation in the roots of the salt marsh foundation plant *Spartina alterniflora*[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 3607.
- [41] DAIMS H, LÜCKER S, WAGNER M. A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(9): 699–712.
- [42] KRULWICH T A, SACHS G, PADAN E. Molecular aspects of bacterial pH sensing and homeostasis[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(5): 330–343.
- [43] YANG L Y, CANARINI A, ZHANG W S, et al. Microbial life-history strategies mediate microbial carbon pump efficacy in response to N management depending on stoichiometry of microbial demand[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30(5): e17311.

责任编辑: 邹慧玲

英文编辑: 柳 正