

DOI: 10.5846/stxb201411182280

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. 生态学报, 2016, 36(13): - .

Chen X, Liu Y Z, Li J Q, Ge G, Wu L, Li Y X. Response of a rare earth tailing soil bacterial community structure to vegetation restoration. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(13): - .

稀土尾矿土壤细菌群落结构对植被修复的响应

陈熙^{1,2}, 刘以珍¹, 李金前¹, 葛刚¹, 吴兰^{1,*}, 李永绣¹

1 南昌大学生命学院, 南昌 330031

2 江西金达莱环保股份有限公司, 南昌 330031

摘要: 选用赣州-安远稀土废弃尾矿及其不同植被修复的堆浸田为研究对象, 调查废弃尾矿及六种不同植被修复方案下土壤理化性质的变化, 并利用变性凝胶梯度电泳 (DGGE) 技术, 分析土壤微生物群落结构对植被修复的响应。结果表明: 与未修复尾矿土壤相比, 经不同植被修复后的土壤理化性质均得到明显改良, 其中土壤含水量、有机质含量均比未修复尾矿土壤增加 2—3 倍。微生物群落结构分析表明, 植被修复后土壤微生物群落与废弃尾矿土壤微生物群落亲缘度仅为 0.21, 表明植被修复后, 土壤微生物群落结构发生了明显变化, 且微生物多样性、均匀度、丰富度与未修复尾矿土壤相比均有了明显的提高。而在不同植被修复方案中, 以湿地松和山胡椒为优势群落的两种植被修复方案对土壤改良效果最为明显, 这两种修复方案不仅能显著改善土壤的固水性、有机质含量, 并且对微生物群落的改善作用也最为显著。典范对应分析表明, 废弃尾矿土壤微生物群落结构受土壤 pH 影响最为显著, 而植被修复后土壤微生物群落的环境影响因子则转变为含水量、有机质、有机碳及总磷含量。进一步揭示了微生物在植被修复过程中所起到的重要作用, 并为矿山生态重建过程中的土壤改良工作提供了丰富的理论依据。

关键词: 赣州; 稀土; 废弃尾矿; 微生物群落多样性; 变性梯度凝胶电泳 (DGGE)

Response of a rare earth tailing soil bacterial community structure to vegetation restoration

CHEN Xi^{1,2}, LIU Yizhen¹, LI Jinqian¹, GE Gang¹, WU Lan^{1,*}, LI Yongxiu¹

1 School of Life Science, Nan Chang University, Nanchang 330031, China

2 Jiangxi JDL Environmental Protection Company Limited, Nanchang 330031, China

Abstract: Ion-absorbed-type of rare earth deposits that are located in Ganzhou have been mined on a large scale since the 1970s because of their wide distribution, high reserves, and easy extraction. The deposits are extracted locally by heap leaching and processed through centralized production. Heap leaching has higher extraction efficiency than traditional methods, but it can strip the vegetation at the mine and alter severely the ecological balance. Additionally, the residue of ammonium sulfate has an impact on the soil and water components of the rare earth tailings after exploitation. Therefore, ecological restoration of rare earth tailings has become an indispensable task. Microorganisms are important component of the soil ecosystem; they promote stability of contaminated soil ecosystems by adjusting the function of the soil. Nutrients and microbes in an ecosystem have enormous potential in environmental repair. However, questions such as how soil microbial community responds during the process of vegetation restoration or how to develop a mutually beneficial relationship within the plant-microbe-soil composite ecological restoration system during restoration of rare earth tailings do not yet have clear answers. This article studied how the plant-microbe-soil composite ecological restoration system improved soil quality in An Yuan rare earth tailing and analyzed the change of the bacterial community structure after vegetation restoration. Finally, it

基金项目: 科技部支撑计划 (2012BAE01B02); 973 计划 (2012CBA01200); 南昌大学研究生创新专项资金项目 (cx2012004)

收稿日期: 2014-11-18; **网络出版日期:** 2015-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wl690902@hotmail.com

discussed how bacteria improved soil quality during the restoration of vegetation on rare earth tailings. In this study, Ganzhou-AnYuan rare earth tailings area and vegetation areas undergoing different levels of restoration were selected as research study sites. We investigated the quality of soil in the original tailing area and in six vegetation restoration areas and used denatured gradient gel electrophoresis technology and canonical correspondence analysis to illustrate the characteristics of soil microbial community structure. Finally, we discussed how soil microbial community responded to the vegetation restoration. Original soil quality of rare earth mines was severely damaged by exploitation. Original rare earth tailings had poor soil moisture content, organic matter content, high nitrogen ion content, and low microbial community diversity and evenness. Soil quality in areas undergoing different levels of vegetation restoration were significantly improved compared to the quality of tailings soil without vegetation restoration, the soil moisture content and organic matter content increased 2—3 times after vegetation restoration. Bacterial community structure analysis showed that after vegetation restoration soil bacterial community structure changed significantly; the relatedness degree of bacterial community was only 0.21 between the original rare earth tailings soil and the vegetation restoration soil, bacterial diversity, evenness, and abundance were significantly improved compared to the original tailing soils. Among the different vegetation restoration schemes, the vegetation restoration schemes with the highest improvement in soil quality utilized *Pinus elliottii* and *Lindera*. These two schemes not only improved the soil moisture content and organic matter content, they also improved significantly bacterial community in the soil. Canonical correspondence analysis showed that bacterial community structure in the soil of the original rare earth tailings was significantly affected by soil pH, and once the vegetation was restored, the main environmental factors were replaced by soil moisture content, organic matter, organic carbon, and total phosphorus content. This study further reveals that microbes play an important role in the process of vegetation restoration and the study provides a rich theoretical basis for ecological restoration of rare earth tailings.

Key Words: GanZhou; rare-earth tailing; microbial community diversity; DGGE(Denatured Gradient Gel Electrophoresis)

南方离子型稀土矿自 20 世纪 70 年代在赣州被发现以来,因其分布广、储量高、易提取等特点而被大规模开采^[1],目前南方离子型稀土矿的主要开采技术包括池浸法、堆浸法、原位浸析法^[2]。堆浸法作为运用最为广泛的开采方法,可利用地形筑堆,就地浸提,集中生产,因此有着较高的提取效率^[3],但开采需剥离山体表层植被并进行“搬山运动”,使矿山生态平衡受到严重破坏,而开采后残留的硫酸铵浸提液也会对稀土尾矿的土壤及水环境产生影响,因此对受破坏稀土尾矿进行生态修复已经成了不可缺少的重要任务。

植被修复作为生态修复中的主体内容,在稀土矿山尾矿的生态修复过程中得到了广泛运用。稀土尾矿土壤营养匮乏、固水性差、含砂量高的极端环境特点给植被修复带来不利的影响^[4],因此土壤基质的改良在植被修复的过程中尤为关键。土壤微生物作为土壤生态系统中的重要组成部分,参与植物与土壤间营养物质及能量的流通^[5],在土壤基质改良过程中起到重要的作用。相关研究表明,土壤微生物群落结构受植被类型、数量影响显著^[6]。然而在植被修复过程中土壤微生物群落如何进行响应?植被-土壤养分-微生物系统在稀土尾矿修复中如何相互促进?目前国内外鲜有报道。

本研究通过分析堆浸工艺开采的矿山经不同模式植被修复后土壤微生物群落结构分布规律,并通过与未修复样地土壤相比较,分析稀土尾矿微生物群落结构对植被修复的响应,为矿山生态重建过程中的土壤改良工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况及样品采集

研究区域为安远中重稀土规划矿区,该矿区位于赣州市安远县北部约 30 km,总面积约 395 km²,为首批国家规划稀土矿区。属亚热带湿润季风气候区,光照充足,雨量充沛。整体植被修复于 2013 年 5 月进行,植

被修复在安远县板石镇岗下工区一处堆浸开采矿山的堆浸田进行(25°16′37.00″N, 115°26′18.08″E),待修复样地土壤为黄色、砂质,粘性较弱。将待修复样地进行6种不同的植被修复模式,并选取一处未修复样地为对照。每种修复模式重复三次,以田垅相隔。每种修复模式面积约0.9 km²,总修复面积为5.4 km²。各植被修复方案主要种植植被见表1,植物种植间距为1.5—2 m,各方案种植密度约为1200—1300株/km²木本植物和14000—19000株/km²草本植物。植被种植后需按照不同植物习性定期进行除草、扩穴、松土、培蔸等维护工作。

表1 植被修复方案		
Table 1 Vegetation restoration scheme		
样地 Site	植物名称 Plant Name	植物性状 Plant Traits
A	湿地松(<i>pinus elliottii</i>)、芒(<i>Miscanthus si nensis Anderss</i>)	常绿针叶乔木、多年生高大草本
B	木荷(<i>Schima superba</i>)、芒萁(<i>Dicrano pteris pedata</i>)	常绿阔叶乔木、多年生草本
C	油茶(<i>Camellia oleifera</i> Abel.)、芒	常绿阔叶灌木、多年生高大草本
D	脐橙(<i>Citrus sinensis (L.) Osbeck</i>)、百喜草(<i>Paspalum natatu</i>)	常绿阔叶灌木、多年生矮小草本
E	桉(<i>Eucalyptus</i>)、百喜草	常绿阔叶乔木、多年生矮小草本
F	山胡椒(<i>Lindera glauca (Sieb. et Zucc.) Bl.</i>)、百喜草	落叶阔叶灌木、多年生矮小草本

土壤样品采集于经两个月修复后的13年9月,采样以“S”型5点混合法的取样方式使用环刀对0—15 cm样地表层土壤进行取样,每样地各取4份平行样,共取28份样品。将样品装入已标记的自封袋中带回实验室,将土壤样品过40目筛,去除石块、昆虫残体、植物残根等杂质后,取部分样品参照《土壤农业化学分析方法》^[7]:使用电位法测定土壤pH;70℃过夜烘干法测定土壤含水量(Soil Moisture,简称SM);500℃马弗炉法测定土壤去灰分干重(Ash Free Dry Mass,简称AFDM),用来表示土壤中的有机质含量;Easychem流动注射分析仪测定土壤氨态氮、硝态氮及总氮含量;高温重铬酸钾氧化-容量法测定土壤总有机碳含量;钼钒黄吸光度法测定土壤总磷含量。另外取部分土壤放入已灭菌的2mL离心管中,并置于-80℃冰箱保存,用于土壤细菌群落结构分析。

1.2 样品分析

1.2.1 微生物总DNA提取、细菌16SrDNA的PCR扩增

土壤微生物总DNA提取采用硫酸铝-玻璃珠法提取^[8]。细菌16SrDNA使用通用引物GC-358f/907r进行扩增,GC-358f序列^[9]为:5′-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3′,下划线部分为GC夹序列,907r序列^[9]为:5′-CCGTCAATTCMTTTGAGTTT-3′(上海生工生物公司)。25μL扩增体系为:10×PCR buffer 2.5μL、MgCl₂(25mM) 3μL、dNTPS(2mM)2μL、引物(10μM)各0.25μL、DNA聚合酶(5 U/μl)0.125μL、土壤DNA模板2μL、ddH₂O 14.375 μL。细菌PCR扩增条件为:95℃预变性3 min,94℃变性30 s,57℃退火30 s,72℃延伸90 s,35个循环,最后72℃延伸7 min^[5],细菌的PCR目的片段均采用1%琼脂糖凝胶电泳检测并使用OMEGA公司的PCR纯化试剂盒进行纯化。

1.2.2 目的片段变性梯度凝胶电泳(Denatured Gradient Gel Electrophoresis)

使用美国伯乐公司的Bio-Rad Universal Mutation Detection System对PCR纯化产物进行DGGE跑胶,细菌PCR片段使用6%的聚丙烯酰胺,尿素及去离子甲酰胺作为变性剂,根据查阅文献及条件摸索,本研究中细菌PCR片段最佳变性剂浓度梯度为40%—60%,PCR纯化产物上样量为10 μL,整个电泳系统在电压85 V,60℃恒温状态下在1×TAE缓冲液中进行电泳16 h。电泳结束后采用银染法^[10]对凝胶进行染色并拍照。

1.2.3 数据分析

使用SPSS 21.0 for Windows对土壤理化参数进行统计学分析,DGGE图谱使用Photoshop CS6进行处理,Quantity One 4.6.2进行DGGE图谱分析。土壤细菌群落与理化因子的典型对应分析(CCA分析)使用软件为

Canoco 4.0 for Windows。

2 结果与分析

2.1 安远稀土矿区植被修复与未修复样地土壤理化性质

安远稀土矿区不同植被修复样地土壤理化参数如表 2 所示,结果提示,安远稀土废弃尾矿经植被修复后,六种修复方案土壤理化性质均得到改善。其中 A 方案修复后土壤中的铵态氮、硝态氮含量显著降低,而含水量、有机质、总有机碳含量增加了 3 倍左右,且总氮总磷含量亦有一定程度的提高,因此为改善土质的最佳植被修复方案,此外,C、D、E、F 方案也均能在一定程度上通过降低土壤中的铵态氮、硝态氮含量,增加土壤中的含水量、有机质、总有机碳、总氮、总磷的含量来改善土壤质量,而 B 方案并未降低土壤中的铵态氮、硝态氮含量,也无法显著提高总有机碳、总氮、总磷含量,因此 B 方案能否对土壤起到明显的改良效果还需随修复时间的增加继续进行调查、分析。

表 2 安远稀土矿区不同植被修复样地土壤理化参数

Table 2 The soil physics and chemistry character in in different scheme area

样地 Site	含水量 SM/%	pH	去灰分干重 AFDM/%	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	总有机碳 TOC/ (g/kg)	总氮 TN/ (g/kg)	总磷 TP/ (g/kg)
A	36.67±5.18a	4.75±0.11a	8.49±0.54a	3.25±0.24b	0.76±0.04b	2.47±0.24b	0.50±0.03b	0.04±0.01a
B	28.19±5.00a	4.62±0.04b	7.37±1.09a	7.44±0.74a	1.45±0.16a	2.35±0.29b	0.38±0.02b	0.02±0.01b
C	23.32±4.00a	4.79±0.10a	4.55±0.69a	5.33±0.66a	0.77±0.06b	3.18±0.05a	0.42±0.04b	0.04±0.00a
D	27.36±6.87a	4.63±0.04b	6.87±1.38a	4.01±0.36a	0.71±0.07b	2.93±0.27a	0.67±0.02a	0.03±0.02b
E	33.23±6.29a	4.66±0.06b	8.05±0.38a	4.01±0.52a	0.94±0.13a	2.35±0.07a	0.63±0.08a	0.04±0.00a
F	36.17±0.83a	4.76±0.06b	8.51±0.13a	6.76±1.57a	0.87±0.11a	2.48±0.47b	0.62±0.03b	0.07±0.03a
未修复样地	9.44±0.00b	4.93±0.00a	2.41±0.06b	6.68±0.96a	1.06±0.08a	1.95±0.13b	0.47±0.03b	0.01±0.00b

a、b 代表有显著性差异。SM:含水量 Soil Moisture;AFDM:去灰分干重 Ash Free Dry Mass;NH₄⁺-N:铵态氮 Ammonium Nitrogen;NO₃⁻-N:硝态氮 Nitrate Nitrogen;TOC:总有机碳 Total Organic Carbon;TN:总氮 Total Nitrogen;TP:总磷 Total Phosphorus

2.2 土壤细菌 PCR 扩增

提取各土壤样品的微生物基因组 DNA 后,将每个样地的两个重复样品 DNA 合并后进一步使用 16S rDNA 细菌通用引物 GC-358f/907r 进行 PCR 扩增并纯化,共得到 14 个 PCR 产物(7 个样地,每个样地 2 个重复)。扩增结果如下图所示:

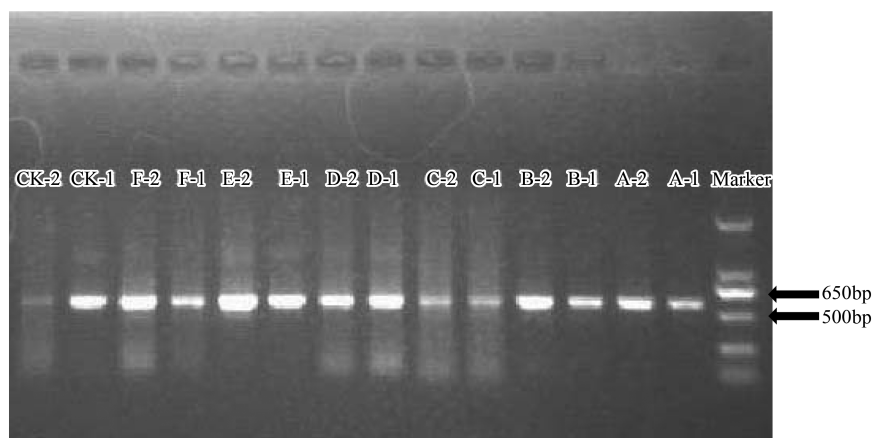


图 1 土壤细菌 PCR 结果(A:湿地松样地;B:木荷样地;C:油茶样地;D:脐橙样地;E:桉树样地;F:山胡椒样地)

Fig.1 The soil bacterium PCR result

细菌 PCR 电泳后所有样品条带均处于同一水平面,其中细菌样品条带位于 Marker 的 500bp 和 650bp 条

带之间,约 625bp,与 PCR 引物范围相符。

2.3 植被修复及未修复样地表层土壤细菌群落结构分析

2.3.1 植被修复及未修复样地表层土壤细菌 DGGE 图谱分析

由于 DGGE 凝胶通量有限,而理化参数测定结果表明本研究中各样地的平行样的重复性较好,因此将每个样地的两个重复样品 DNA 合并后进行 PCR 扩增并纯化,即每块样地共有两份平行样进行 DGGE 凝胶电泳,使用 Quantity One 4.6.2 对 DGGE 图谱进行条带识别及相似性分析,每条泳道不同位置的条带为样品中被分离的 PCR 产物片段,即不同的细菌类群。本研究结果如图 2 所示,从图中我们可以初步看出,DGGE 电泳图中各泳道条带数目、强度、迁移率均存在一定程度的差异,其中未修复样地的两份 DNA 分离出的条带数目为 10/7 条,而植被修复样地则分离出 12—25 条数目不等的条带,植被修复样地的土壤细菌群落丰富度都高于未修复样地;在不同植被修复样地中,山胡椒(*Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl.)样地的两份 DNA 分离出的条带数目为 25/23 条,为所有样地中条带数目最多的样地,而脐橙(*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)样地分离出的条带数目为 12 条,为所有样地中条带数目最低的样地。此外,在条带示意图中,1 号条带和 34 号条带仅在山胡椒样地中出现,3 号条带仅在湿地松样地中出现,28 号条带仅在木荷样地中出现,这表明在山胡椒、湿地松、木荷样地中可能存在独有的细菌类群。

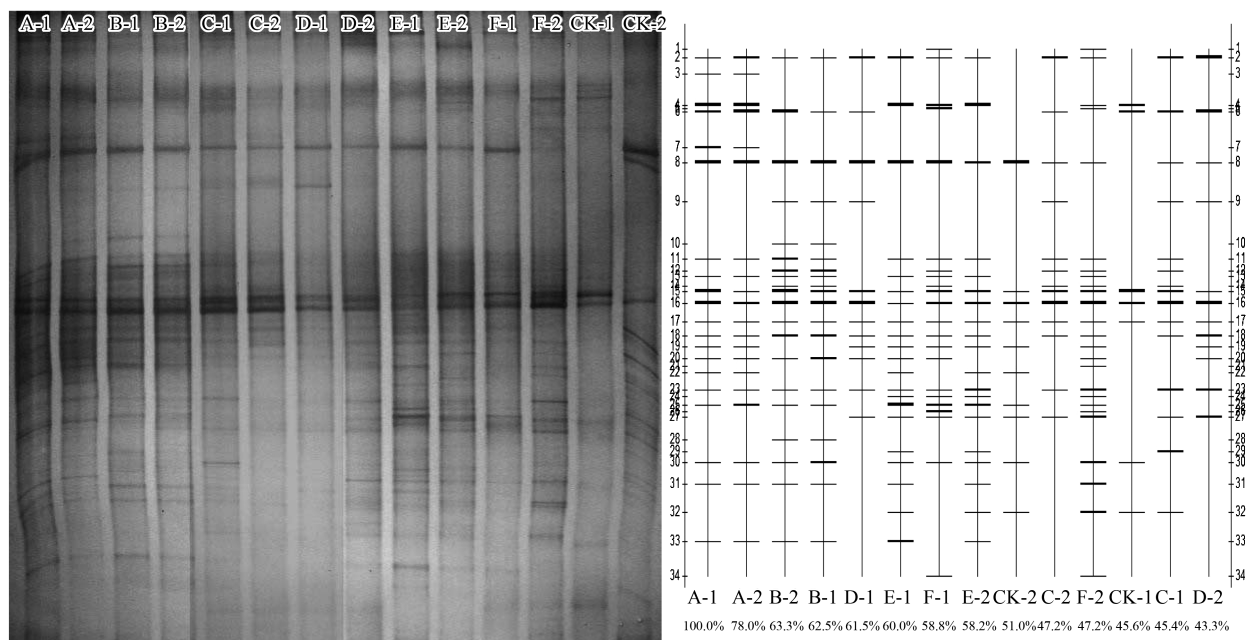


图2 不同样地表层土壤细菌 DGGE 图谱及条带分布示意图(A:湿地松样地;B:木荷样地;C:油茶样地;D:脐橙样地;E:桉树样地;F:山胡椒样地)

Fig.2 The soil bacteria DGGE atlas and band schematic diagram in different scheme area

2.3.2 植被修复及未修复样地表层土壤细菌 DGGE 聚类分析

对所有样品进行 UPGAMA 聚类分析^[12],从图 3 可知,7 种样地 14 个样品的细菌群落共分为两大族群,其中未修复样地聚为一类族群,六种不同植被修复样地聚为另一族群,两大族群相似性仅为 21%,表明与未修复样地相比,修复样地微生物群落结构发生了显著变化。而植被修复样地族群又分为两类不同的分支,其中油茶(*Camellia oleifera* Abel.),脐橙(*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)样地微生物聚为一支,相似性为 43%,而湿地松(*Pinus elliottii*),木荷(*Schima superba*)、桉树(*Eucalyptus*)、山胡椒(*Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl.)样地聚为另一支,微生物群落相似性为 45%。

2.3.3 植被修复及未修复样地表层土壤细菌群落多样性分析

通过使用基因型丰富度 (Genotypic richness, S), Shannon-Wiener 多样性指数 (Shannon-Wiener

diversityindex, H'), Pielou 均匀度指数 (Pielou evenness index, E) 这三项指标来比较各个样品的细菌多样性, 本研究中所有样地细菌群落的基因型丰富度、Shannon-Wiener 多样性指数、Pielou 均匀度指数如表 3 所示。从表中可以看出, 各样地的多样性指数均存在不同程度的差异, 其中未修复样地土壤微生物的丰富度、Shannon-Wiener 多样性指数、均匀度均低于植被修复样地, 而在六种不同植被修复方案样地中丰富度、Shannon-Wiener 多样性指数最高的样地为山胡椒 (*Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl.) 样地, 均匀度最高的样地为木荷 (*Schima superba*) 样地; 而丰富度、Shannon-Wiener 多样性指数、均匀度最低的则均为脐橙 (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) 样地。通过相关性分析表明, 该研究所有样地的土壤细菌群落的丰富度与 Shannon-Wiener 多样性指数为极显著正相关 ($P<0.01$), 而均匀度与丰富度及 Shannon-Wiener 多样性指数均为显著正相关 ($P<0.05$)。

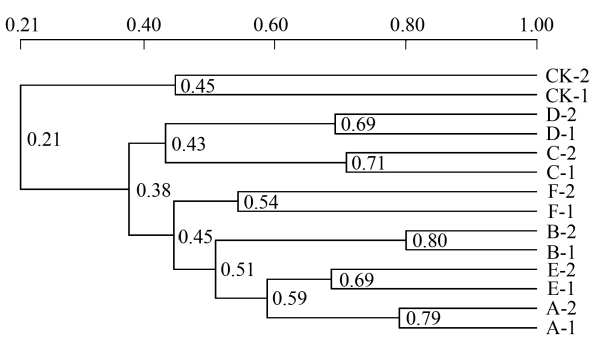


图 3 不同方案样地细菌群落 DGGE 聚类分析 (A: 湿地松样地; B: 木荷样地; C: 油茶样地; D: 脐橙样地; E: 桉树样地; F: 山胡椒样地)

Fig.3 The soil bacterial community dendrogram in different scheme area

表 3 各样地表层土壤细菌群落基因型丰富度、Shannon-Wiener 指数和均匀度指数平均值

Table 3 The average Genotypic richness, Shannon-wiener diversity index and Pielou evenness index of bacterial community			
样地 Site	丰富度 Genotypic Richness	多样性指数 Shannon-Wiener Diversity index	均匀度 Pielou Evenness Index
A	20	2.81	0.94
B	20	2.82	0.94
C	14	2.46	0.93
D	12	2.27	0.91
E	21	2.80	0.92
F	24	2.93	0.92
未修复样地	9	1.87	0.88

A: 湿地松样地; B: 木荷样地; C: 油茶样地; D: 脐橙样地; E: 桉树样地; F: 山胡椒样地

2.3.4 植被修复及未修复样地表层土壤细菌群落和环境因子的 CCA

为进一步研究土壤细菌群落结构与土壤理化性质的关系, 将 DGGE 指纹图谱中每一条带的光密度值作为物种数据, 使用 CANOCO 软件进行典范对应分析 (canonical correspondence analysis, CCA)。分析结果如表 4 所示:

表 4 安远稀土矿区土壤环境因子与细菌群落 CCA 分析结果

Table 4 Result of CCA between the bacterial communities and environmental factors in RE mine area of An Yuan				
排序轴 Axes	1	2	3	4
特征值 Eigenvalues	0.20	0.08	0.14	0.10
种-环境相关系数 Species-Environment Correlations	0.99	0.99	0.98	0.93
种累积百分比变化率 Cumulative Percentage Variance of Species Data	18.4%	35.2%	48.2%	57.6%
种-环境累积百分比变化率 Cumulative Percentage Variance of Species-Environment Relation	26.3%	50.4%	69.0%	82.5%

CCA 结果表明, 第一第二排序轴分别解释了影响细菌群落结构 18.4% 和 16.8% 的变异, 而前四个排序轴共解释了影响细菌群落结构 57.6% 的变异。该分析结果表明, 所检测的环境因子能够在一定程度上解释土壤微生物群落结构的变化, 但还存在其他可能影响微生物群落结构的环境因子。

CCA 分析结果表明安远矿区土壤细菌群落在修复前受土壤 pH 影响显著 ($P=0.038$), 而植被修复后, 土壤细菌群落的环境影响因子则转变为含水量 ($P=0.048$)、有机质 ($P=0.006$)、有机碳 ($P=0.030$) 及总磷 ($P=$

0.012)。将 CCA 分析结果使用 CanocoDraw for windows 制作土壤微生物群落结构与环境因子的排序图(图 4), 结果表明, 未修复样地则受 pH 影响较大而单独位于排序图中的第三象限, 而在植被修复后, 木荷 (*Schima superba*)、油茶 (*Camellia oleifera* Abel.)、脐橙 (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) 样地细菌群落受 TOC、 NO_3^- -N 影响较大聚为一类, 山胡椒 (*Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl.) 样地细菌群落则受 NH_4^+ -N、TN、SM、AFDM、TP 影响较大聚为一类, 湿地松 (*Pinus elliotii*.)、桉树 (*Eucalyptus*) 样地细菌群落结构受所有环境因子影响均不大聚为一类。该分析结果表明, 在植被修复模式下, 各样地土壤细菌群落结构受环境因子影响与未修复样地细菌群落结构差异明显, 而不同植被修复样地间的土壤细菌群落结构也因受不同环境因子的影响而表现出一定的差异性。

2.3.5 讨论

土壤微生物是土壤生态系统的重要生命体, 它可以通过对土壤生态系统营养元素的调节作用促进污染土壤的生态系统稳定性, 具有巨大的潜在环境修复功

能^[11], Junjian Li^[12] 等人研究了土壤酶活性及微生物多样性对中国西北地区煤矿开采后废弃尾矿植被修复的影响, 结果表明土壤中的细菌、真菌、古菌均在植被修复过程中起着重要的作用。而在废弃尾矿上种植植物, 也能够有效抑制土壤肥力、水分的流失, 植物的根系, 残体也能提供土壤微生物生长所需能量, 方晰^[13] 等人就研究了湘潭锰矿渣废弃地进行植被修复对土壤微生物数量及酶活性的影响, 结果表明植被修复能明显提高矿渣废弃地土壤微生物数量和酶活性。目前国内外对于废弃尾矿微生物协同植被的修复生态系统研究较少, 尤其稀土尾矿在植被修复过程中微生物所进行协同作用的研究更是未见报道。本研究在安远稀土尾矿植物-微生物-土壤复合生态恢复体系下, 分析了土壤理化性质、细菌群落结构的变化及其它它们之间的关系, 对细菌群落在稀土尾矿植被修复过程中对土壤所起到的改良作用进行了初步的探讨。本研究结果表明, 经 2 个月植被修复后, 土壤的理化性质得到了明显提高, 微生物群落结构发生了明显变化, 其中植被修复后土壤含水量, 有机质含量均增加了 2—3 倍左右, 土壤微生物群落结构多样性和丰富度也显著增加, 这表明废弃尾矿整体土壤得到了明显改良。安远稀土尾矿土壤土质以粉粒和沙粒为主, 土壤肥力保持能力极差, 环境贫瘠, 而土壤 pH 受硫酸铵溶液浇灌影响呈酸性, 微生物活动受到抑制, 群落多样性均匀度均处于较低水平, 受此影响土壤中物质及能量循环受到抑制, 导致含水量、有机质、总有机碳及总氮等理化参数均处于较低水平, 土壤环境极其恶劣, 经此推断 pH 可能为未修复土壤微生物群落的主要影响因子。而本研究采用的修复植物均为抗性较强的本地植物, 这有利于植被群落的迅速构建, 植被修复后, 植物的固着作用使得土壤营养元素得到一定程度的积累, 土壤也逐渐由强酸性转变为弱酸性, 影响土壤微生物群落结构的环境因子发生改变, 受土壤理化性质的改善的影响, 土壤微生物群落有了积极的响应, 生物量及多样性增加, 能够对土壤中更多种类的碳源加以利用, 并通过分泌不同功能的土壤酶, 进一步改善土壤营养元素的含量, 而根系微生物通过促进土壤与植被间的能量传输, 确保植物生长所需营养元素。因此在微生物的调节功能下, 植被修复后土壤环境得到明显的改良, 而土质的改良又能确保植物能够顺利生长, 稳定植被群落。

不同植被类型会对土壤微生物群落结构产生显著的影响^[14]。在本研究中, 不同的植被恢复方案对土壤环境有着不同的改良效果。在本研究中, 对土壤环境改良效果较好的方案为湿地松 (A) 及山胡椒 (F) 修复方

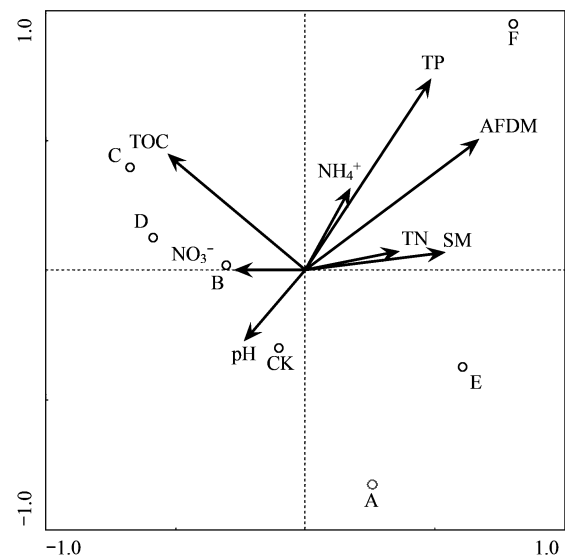


图 4 安远稀土矿区细菌群落结构与环境因子 CCA 排序图 (A: 湿地松样地; B: 木荷样地; C: 油茶样地; D: 脐橙样地; E: 桉树样地; F: 山胡椒样地)

Fig.4 CCA ordination graph between the bacterial communities and environmental factors in RE mine area of An Yuan

案。这两种修复方案对土壤的固水性、有机质含量来改及微生物群落的改善作用最为显著。湿地松因其耐寒,抗高温,耐旱亦耐水湿的特征而被广泛运用于植被修复工程中,相关研究表明,湿地松^[15]对土壤微生物多样性影响显著,其中湿地松土壤微生物对糖类、羧酸类和氨基酸类碳源有着较高的利用率。山胡椒喜好的土壤环境为微酸的砂质壤土,这与稀土尾矿土质相类似,山胡椒修复方案有利于群落的构建,地被的迅速形成,从而改善土壤环境,而山胡椒与土壤微生物群落结构之间相互影响还有待进一步研究。结果显示,湿地松及山胡椒均能积极适应稀土矿山尾矿极端的土壤环境,并在生长过程中通过与微生物的相互作用而明显改善尾矿的土壤理化性质,最终使得土壤环境得到显著的改良效果。

本研究取样时间处于植被修复初期,虽然植被修复 2 个月后土壤质量得到了明显改善,但该植被修复方案能否长期稳定且有效工作,仍需至少一年或更长时间的监测。此外,目前国内外对植被修复过程中微生物群落功能的研究较少,为揭示土壤微生物在植被修复中所起到的作用,进一步的微生物功能分析尤为必要,例如对土壤酶活性的分析及微生物对碳源利用能力的分析,通过植被修复后土壤微生物群落结构与功能变化研究,能够进一步揭示微生物在植被修复过程中所起到的重要作用,为矿山生态重建过程中的土壤改良工作提供更丰富的理论依据。

3 结论

(1) 稀土矿的开采严重破坏了矿山土壤质量,稀土尾矿土壤固水性差、有机质含量低、氮离子含量高、微生物群落多样性及均匀度较低。而 2 个月的植被修复使得稀土尾矿的土壤环境得到了一定程度的改良,各修复方案下土壤含水量,有机质增加了 2—3 倍,土壤微生物多样性丰富度也显著增加。

(2) 从土壤微生物对植被修复的响应来看,不同的植被恢复方案对土壤环境有着不同的改良效果,其中显著提高土壤含水量和有机质、微生物多样性和丰富度的湿地松及山胡椒修复方案较为理想。

(3) 典范对应分析表明,植被修复后土壤细菌群落结构受环境因子变化的影响与未修复样地细菌群落结构有明显差异,而不同植被修复样地间的土壤细菌群落结构也因受不同环境因子的影响而存在差异。

参考文献 (References):

- [1] 杨芳英, 廖合群, 金姝兰. 赣南稀土矿产开采环境代价分析. 价格月刊, 2013, (6): 87-90.
- [2] 伍红强, 尹艳芬, 方夕辉. 风化壳淋积型稀土矿开采及分离技术的现状与发展. 有色金属科学与工程, 2011, 1(2): 73-76.
- [3] 李永绣, 张玲, 周新木. 南方离子型稀土的资源 and 环境保护性开采模式. 稀土, 2010, 31(2): 80-85.
- [4] Li M S. Ecological restoration of mineland with particular reference to the metalliferous mine wasteland in China; A review of research and practice. Science of the Total Environment, 2006, 357(1/3): 38-53.
- [5] 张杰, 余潮, 王自海, 董昌强, 刘倩纯, 吴兰. 不同植被群落表层土壤中细菌群落多样性. 环境科学研究, 2013, 26(8): 866-872.
- [6] Waid J S. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences?. Applied Soil Ecology, 1999, 13(2): 151-158.
- [7] Lu R K. Analytical Methods for Soil and Agricultural Chemistry. Beijing: Agricultural Science and Technology Press of China, 1999.
- [8] Wu L, Ge G, Zhu G F, Gong S J, Li S G, Wan J B. Diversity and composition of the bacterial community of Poyang Lake(China) as determined by 16S rRNA gene sequence analysis. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(1): 233-244.
- [9] Muyzer G, Teske A, Wirsén C O, Jannasch H W. Phylogenetic relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. Archives of Microbiology, 1995, 164(3): 165-172.
- [10] Sanguinetti C J, Dias N E, Simpon A J. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. Biotechniques, 1994, 17(5): 914-921.
- [11] 滕应, 骆永明, 李振高. 污染土壤的微生物修复原理与技术进展. 土壤, 2007, 39(4): 497-502.
- [12] Li J J, Zhou X M, Yan J X, Li H J, He J Z. Effects of regenerating vegetation on soil enzyme activity and microbial structure in reclaimed soils on a surface coal mine site. Applied Soil Ecology, 2015, 87: 56-62.
- [13] 方晰, 田大伦, 武丽花, 唐志娟. 植被修复对锰矿渣废弃地土壤微生物数量与酶活性的影响. 水土保持学报, 2009, 23(4): 221-226.
- [14] Loranger-Merciris G, Barthes L, Gastine A, Leadley P. Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2336-2343.
- [15] 陈法霖, 郑华, 阳柏苏, 欧阳志云, 张凯, 屠乃美. 外来种湿地松凋落物对土壤微生物群落结构和功能的影响. 生态学报, 2011, 31(12): 3543-3550.