

# 铜尾矿库坝面土壤微生物群落动态的驱动因子

李 鑫<sup>1</sup>, 景炬辉<sup>2</sup>, 刘晋仙<sup>2</sup>, 柴宝峰<sup>2\*</sup>

(1. 山西财经大学环境经济学院, 太原 030006; 2. 山西大学黄土高原研究所, 太原 030006)

**摘要:** 随机过程和确定性过程对群落动态的影响机制及重要性是群落生态学研究的核心课题,也是目前群落生态学最具争议的问题。微生物群落在生态系统物质循环和能量流动过程中发挥着重要作用,对其结构动态的研究不仅为阐明群落构建机制提供重要的数据支持,而且为预测环境胁迫条件下微生物群落结构的动态提供理论依据。本研究通过 Illumina MiSeq 测序的方法,分析了中条山十八河尾矿库坝面不同恢复阶段细菌和真菌群落结构特征。结果表明,研究区尾矿坝不同恢复年限土壤理化性质发生梯度变化,植物群落结构呈现一定的演替趋势,植物群落多样性与土壤养分显著相关,而与土壤重金属含量无相关性。不同恢复年限的土壤微生物群落结构具有显著差异,其中优势细菌主要有变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、酸杆菌门(Acidobacteria);优势真菌主要有子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)。微生物群落组成主要受到土壤养分和重金属含量的影响,而植物多样性对微生物群落结构的影响不明显,表明在局域小尺度环境胁迫条件下,土壤环境因子是微生物群落结构动态变化的主要驱动力。

**关键词:** 铜尾矿坝面; 微生物群落; 结构动态; 环境因子; 重金属

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)04-1804-09 DOI: 10.13227/j.hjcx.201707148

## Driving Factors of the Dynamics of Microbial Community in a Dam of Copper Mine Tailings

LI Cui<sup>1</sup>, JING Ju-hui<sup>2</sup>, LIU Jin-xian<sup>2</sup>, CHAI Bao-feng<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Environmental Economics, Shanxi University of Finance and Economics, Taiyuan 030006, China; 2. Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

**Abstract:** The relative importance of the deterministic versus stochastic processes underlying community dynamics has long been a central theme in community ecology, and is intensively debated in the field. Microbial communities play key roles in nutrient cycling and the flow of energy in ecosystems. The research on the structural dynamics of microbial community will provide data and theoretical support for understanding the assembly mechanisms of community, and for predicting the dynamics of microbial community under environmental stress. In this study, the Illumina MiSeq method was applied to investigate the structural dynamics of bacterial and fungal community in a dam of Shibabe mine tailings at different restoration stages (1–45 years). The results indicated that the soil physicochemical properties in the dam of mine tailings formed an ecological gradient, and the plant community showed succession along the restoration time. The diversity of plant communities was significantly correlated with soil nutrient contents but not with soil heavy metal contents. The structure of the microbial communities showed significant differences at different restoration stages of the dam land, in which Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, and Acidobacteria were the dominant bacterial phyla, and Ascomycota, Basidiomycota, and Zygomycota were the dominant fungal phyla. The assembly of the microbial community was shaped mainly by the soil nutrients and soil heavy metal contents, but plant diversity had no significant effect on the microbial community structure. It was suggested that edaphic factors drive the dynamics of microbial communities under the stress conditions of pH and heavy metals on small, local scales.

**Key words:** copper tailing dam; microbial community; structure dynamics; edaphic factors; heavy metal

生态群落作为一个复杂的生物群体,其构建过程和结构动态受到漂变(drift)、扩散(dispersal)、成种(speciation)和选择(selection)这4个基本过程的影响<sup>[1]</sup>,其中前三者一定条件下倾向于中性随机过程(neutral stochastic processes)<sup>[2]</sup>,而选择为确定性过程(deterministic processes),符合生态位理论(niche theory),由生物因子和非生物的环境因子决定。4个基本过程对群落动态的影响机制及其相对重要性已然成为生态学研究的核心议题,也是目前群落生态学最具争议的问题<sup>[3]</sup>。尤其是 Hubbell 的

中性理论得到诸多实验的验证之后,更加剧了“随机性-确定性过程”的争议,涌现了大量与此相关的研究结果<sup>[4,5]</sup>。从刚开始认为的二者之一过渡到目前二者共同作用,认为随机过程和确定性过程是两个极端<sup>[6]</sup>,二者之间形成此消彼长的连续体

收稿日期: 2017-07-18; 修订日期: 2017-09-16

基金项目: 山西省科技攻关项目(20150313001-3); 山西省应用基础研究基金项目(201601D102054)

作者简介: 李鑫(1968~),女,博士研究生,副教授,主要研究方向为环境生态学, E-mail: aihl@sxu.edu.cn

\* 通信作者, E-mail: bfchai@sxu.edu.cn

(continuum)<sup>[6,7]</sup>. 不同的生境、研究尺度、群落物种数量、生态位重叠及物种迁移能力等可能影响确定性过程和随机过程对群落动态格局的相对重要性<sup>[8]</sup>. 然而, Clark 等对随机过程和确定性过程连续体的假说提出质疑, 认为“随机性只是统计模型的一种属性, 而不是本质, 模型确实代表一种连续体, 但是没有证据表明群落结构动态就是由这个连续体引起的”<sup>[3,9]</sup>. 因此, 需要大量不同尺度和生境的野外数据, 对群落构建的“随机性-确定性二元说”进行验证. 目前对这一理论的验证结果主要来自于植物群落, 动物和微生物群落的证据较少. 微生物在分类、系统发生和代谢方面具有高度的多样性, 在地球物质化学循环和能量流动过程中发挥重要作用. 尽管如此, 微生物多样性和分布的过程和机制仍然知之甚少<sup>[10,11]</sup>. 微生物群落结构和功能的研究近年来备受关注<sup>[12~14]</sup>, 针对生态学理论是否适合于微生物, 或是利用微生物对之前的生态学理论(群落构建理论)进行验证, 取得了长足的进展<sup>[15,16]</sup>. 微生物物种丰富, 扩散能力较强, 为中性随机理论的发展提供了数据支持<sup>[15~17]</sup>, 然而, 在不同尺度和生境下研究结论不尽一致<sup>[18~21]</sup>. 污染生境下微生物的生长受各种污染物的胁迫, 对微生物群落的构建产生一定的影响<sup>[22]</sup>, 反过来, 微生物对土壤有机污染物具有一定的分解作用<sup>[23]</sup>, 改变有毒金属价态, 减少其毒性, 从而有利于土壤环境质量的改善<sup>[24]</sup>. 尾矿常作为重金属污染生境, 用以研究微生物群落的结构和功能动态.

尾矿是矿石经过粉碎、浮选精矿后余下的粉末状尾矿砂的堆积区, 可以看成是理化性质均一的人工原生裸地. 中条山北方铜业公司十八河尾矿库建库 50 余年来, 随着采矿年限的延长形成了一定时间序列和生态梯度的尾矿库坝面(图 1), 坝面土壤有机质的含量、土壤理化性质、土壤酶活性、植物群落等会发生相应的改变, 土壤微生物群落结构和

功能呈现一定的演替特征. 本研究调查了 1~45 a 的尾矿库坝面样地的环境因子、植物和微生物群落结构和多样性, 以此分析在小尺度条件下微生物群落和植物群落的多样性和丰富度的时空格局, 以及环境因子、植物和微生物群落之间的驱动关系.

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况和样品采集

十八河尾矿库(35°26′~35°27′N, 111°66′~111°67′E)位于山西省运城市垣曲县境内. 1969 年开工建设, 1972 年投入使用, 在初期土坝基础上将矿砂采用机械堆筑、碾压处理的方式堆筑 14 道子坝, 堆积总高度 84 m, 总坡比 1:6. 坝面不做覆土处理, 植被均为自然恢复, 以草本为主, 有少量灌木. 研究区属大陆性季风气候, 年均降雨量为 780 mm, 年均气温 14℃. 2015 年 7~10 月进行野外调查取样. 样地设置如图 1 所示, 共分 3 个梯度: 45~40 a 堆筑的初期坝(长时间恢复, 坝面约有 5~3 cm 厚的土壤), 30~15 a 堆筑的子坝(较长时间恢复, 坝面约 3~1 cm 厚土壤), 5a 与 1a 前新排出的矿砂(短时间恢复, 坝面约有 1~0 cm 厚的土壤). 所取的样品均为矿砂和土壤的混合物, 在本文中均称为土壤样品. 沿梯度设置 3 条采样带, 间隔 40~50 m; 每个梯度设置 3 个 1 m×1 m 的样方. 调查植物群落的物种、高度、盖度、多度、生物量等. 根据《中国植物志》和《山西植物志》对植物种类进行鉴定. 土壤及土壤微生物样品的采集分为 6 个梯度, 分别为 1、5、15、30、40 和 45 a, 样方内采集土壤样品, 深度为 0~20 cm, 每个样方的 3 个土壤样品混合. 密封于塑料自封袋中, 置于冰盒, 快速运回实验室. 样品分成两份, 一份置于 -20℃ 冰箱, 用于提取基因组; 另一份风干处理, 用于土壤理化性质的测定.

### 1.2 土壤理化性质

土壤 pH 用 HANNA HI3221 测定(1:2.5 土/水质量比); 孔隙度(Por)由土壤容重和密度计算得出; 土壤粒度用激光衍射粒度分析仪(Mattersizer 3000 Laser Diffraction Particle Size Analyzer, UK)测定; 总氮(TN)、总碳(TC)和总硫(TS)含量用元素分析仪(Elementar Vario MACRO)测定; 重金属元素(As、Cd、Cr、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量用(ICP-AES)(iCAP 6000, Thermo Fisher, UK)测定.

### 1.3 植物多样性指数和土壤酶活性

矿区植被多样性测度方法采用了 Pielou 均匀度



图中显示样地及恢复年限

图 1 研究区样地概貌

Fig. 1 Sampling profile of the study area

指数、Shannon-Wiener 多样性指数及 Simpson 优势度指数. 过氧化氢酶活性的测定用高锰酸钾滴定法, 土壤蔗糖酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法, 土壤脲酶活性的测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法, 土壤呼吸用美国 PP Systems 公司的 CIRAS-2 光合作用测定仪测定.

#### 1.4 土壤 DNA 提取及高通量测序

利用土壤试剂盒 (Felix bio-tech, USA) 提取 45、15 和 1 a 的矿砂土壤样本微生物的宏基因组 DNA. 扩增细菌的 16S rRNA V3 区片段, 采用通用引物: 正向 338F (5'-ACTCCT ACG GGAGGCAGCA-3'), 反向 534R (5'-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'); 扩增真菌的 ITS1 区片段, 采用通用引物: 正向 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'), 反向 ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'). PCR 产物胶回收后进行定量, 构建克隆文库, 定量并质检后, 采用 Illumina MiSeq 平台进行测序, 通常在 97% 的相似水平下对序列进行 OTU 的聚类 and 后续的生物信息分析. 本研究的测序和生物信息服务在上海派森诺生物科技有限公司完成.

#### 1.5 数据分析

数据分别采用 SPSS17.0、Excel 和 Canoco4.5, R i386 3.3.1 软件进行处理和分析. 不同恢复年限样品理化性质的均值比较采用单因素方差 (One-way ANOVA) 分析, 多重比较采用 Tukey 检验, 主成分分析 (principle component analysis, PCA) 方法分析土壤理化性质、土壤酶活性等样地生态梯度的变化趋势. 非度量多维测度尺度 (NMDS) 分析土壤理化性质对微生物群落组成的影响, Mantel 检验分析土壤微生物结构、植物多样性对土壤质量的影响. 高通量测序结果运用 Mothur 软件中 uchime 的方法去除嵌合体序列. 应用软件 Mothur 中的 summary.single 命令, 计算 4 种常用的生物多样性指数. 使用 QIIME 软件构建微生物的系统发育树, 并用 R 程序 ggtree 程序包进行可视化分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 尾矿坝面土壤的生态梯度

本研究在尾矿库的坝面沿筑坝时间设置 6 个取样梯度, 分别为 1、5、15、30、40 和 45 a (图 1). 土壤理化性质测定与分析结果显示, 长时间恢复 (45 a、40 a) 的土壤 pH (7.9) 呈降低趋势, 与 1~30 a 样地土壤 pH (大于 8.2) 差异显著. 土壤总碳、总氮含量随恢复时间呈上升趋势, 第 40 a、

45 a 的坝面土壤总碳含量是第 1 a 的 2.5~3 倍, 总氮含量是第 1 a 的 5~7 倍. 土壤酶是土壤营养质量的重要指示, 坝面土壤过氧化氢酶、脲酶和蔗糖酶活性以及土壤呼吸强度随恢复时间都有显著的提高<sup>[25]</sup>, 说明长时间恢复后, 土壤营养状况有所改善, 土壤质量提高. 尾矿库坝面土壤理化特征沿样带形成了一定的生态梯度, 本文基于这一生态梯度对驱动植物群落和微生物群落结构动态的主要因素进行分析.

### 2.2 尾矿库坝面植物群落演替与驱动因子

尾矿坝长时间 (40~45 a) 恢复的样地中, 植被的建群种有木贼 (*Equisetum hyemale*)、白茅 (*Imperata cylindrica*)、牡荊 (*Vitex negundo*)、披碱草 (*Elymus dahuricus* Turcz.)、艾 (*Artemisia argyi*) 等; 较长时间 (30~15 a) 恢复样地的植被建群种有白羊草 (*Bothriochloa ischaemum*)、铁杆蒿 (*Artemisia sacrorum*)、猪毛蒿 (*Artemisia scoparia*) 等; 5 a 与 1 a 短时间恢复, 主要植被有狗尾草 (*Setaria viridis*)、猪毛蒿、白羊草等. 尾矿库坝面植物多样性变化明显 (图 2), 随着恢复年限的增加, 植物群落多样性 (Shannon 指数) 和均匀度 (Pielou 指数) 明显升高, 45 a、40 a 植物 Simpson 指数较 30、15 和 5 a 有所降低. 30 a 恢复样地植物均匀度指数更接近长时间恢复的样地.

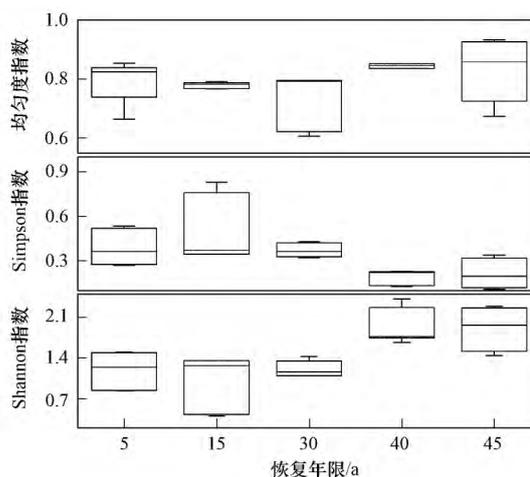


图 2 坝面植物多样性指数沿恢复年限变化趋势

Fig. 2 Changes in the plant diversity indexes along the successional chronosequence of plant communities in the tailings dam

尾矿坝土壤营养贫瘠, 缺乏植物生长必需的营养物质. 土壤有机质和氮素是限制植物群落生长的主要因子 (表 1), 植物群落 Shannon 多样性指数、Simpson 多样性指数与土壤总碳呈极显著相关关系, 与总氮显著相关; 而且植物生物量与总碳、总氮均

呈极显著正相关关系。由于选矿时浮选剂的使用,尾矿坝面土壤呈碱性。植物生物量、Shannon 多样性指数与土壤 pH 呈极显著或显著负相关,碱性土壤不利于植物定植。尾矿坝土壤重金属含量高,Cu、Zn、Cr、As 均超标,但植物生物量、植被多样性仅与 Mn、Pb 含量相关,而与其它重金属没有显著相关性。土壤酶活性和土壤呼吸在土壤物质循环和能量代谢过程中起着重要作用,可作为反映土壤

质量变化的重要指示物,土壤中的营养物质(总碳、总氮)与土壤酶活性,土壤呼吸极显著正相关。过氧化氢酶、脲酶和蔗糖酶均为酸性酶,其活性与 pH 值呈极显著负相关。土壤酶与重金属没有显著相关性(脲酶与重金属 Mn 和 Zn 极显著正相关,蔗糖酶活性也与 Mn 呈显著正相关)。由此可见,在区域小环境中土壤营养、土壤理化性质以及胁迫因子决定植物群落结构的动态特征。

表 1 不同环境因子与植物多样性的相关性<sup>1)</sup>

Table 1 Relationship among the different environmental factors and plants diversity

	pH	PS	TC	TN	C/N	As	Cu	Mn	Ni	Pb
pH	1									
PS	0.53 <sup>*</sup>	1								
TC	-0.84 <sup>**</sup>	-0.41	1							
TN	-0.70 <sup>**</sup>	-0.44	0.80 <sup>**</sup>	1						
C/N	0.54 <sup>*</sup>	0.3	-0.46	-0.74 <sup>**</sup>	1					
As	-0.60 <sup>*</sup>	-0.11	0.37	0.44	-0.36	1				
Cu	-0.16	0.45	0.19	0.03	-0.24	0.19	1			
Mn	-0.72 <sup>**</sup>	-0.26	0.61 <sup>*</sup>	0.61 <sup>*</sup>	-0.60 <sup>*</sup>	0.51 <sup>*</sup>	0.25	1		
Ni	-0.54 <sup>*</sup>	0.08	0.45	0.46	-0.47	0.46	0.50 <sup>*</sup>	0.70 <sup>**</sup>	1	
Pb	-0.37	0.18	0.35	0.41	-0.59 <sup>*</sup>	0.49	0.66 <sup>**</sup>	0.61 <sup>*</sup>	0.54 <sup>*</sup>	1
Zn	-0.55 <sup>*</sup>	-0.15	0.46	0.57 <sup>*</sup>	-0.64 <sup>**</sup>	0.46	0.23	0.83 <sup>**</sup>	0.57 <sup>*</sup>	0.70 <sup>**</sup>
PB	-0.60 <sup>*</sup>	-0.38	0.68 <sup>**</sup>	0.65 <sup>**</sup>	-0.52 <sup>*</sup>	0.19	0.08	0.39	0.47	-0.58 <sup>*</sup>
Si	0.73 <sup>**</sup>	0.44	-0.76 <sup>**</sup>	-0.58 <sup>*</sup>	0.22	-0.2	0.21	-0.56 <sup>*</sup>	-0.2	0.41
Sh	-0.76 <sup>**</sup>	-0.52 <sup>*</sup>	0.82 <sup>**</sup>	0.59 <sup>*</sup>	-0.25	0.15	-0.12	0.58 <sup>*</sup>	0.3	-0.49
Pi	-0.64 <sup>**</sup>	-0.31	0.72 <sup>**</sup>	0.48	-0.13	0.3	-0.12	0.38	-0.1	-0.1
Cat	-0.72 <sup>**</sup>	-0.73 <sup>**</sup>	0.75 <sup>**</sup>	0.92 <sup>**</sup>	-0.56 <sup>*</sup>	0.3	-0.41	0.45	0.29	-0.2
Ure	-0.79 <sup>**</sup>	-0.72 <sup>**</sup>	0.71 <sup>**</sup>	0.79 <sup>**</sup>	-0.46	0.49	-0.39	0.75 <sup>**</sup>	0.44	0.07
Suc	-0.81 <sup>**</sup>	-0.78 <sup>**</sup>	0.87 <sup>**</sup>	0.86 <sup>**</sup>	-0.50 <sup>*</sup>	0.26	-0.24	0.61 <sup>*</sup>	0.34	-0.23
SR	-0.81 <sup>**</sup>	-0.71 <sup>**</sup>	0.87 <sup>**</sup>	0.71 <sup>**</sup>	-0.38	0.34	-0.15	0.67 <sup>**</sup>	0.38	-0.3
	Zn	PB	Si	Sh	Pi	Cat	Ure	Suc	SR	
Zn	1									
PB	-0.02	1								
Si	-0.27	-0.56 <sup>*</sup>	1							
Sh	0.23	0.63 <sup>**</sup>	-0.96 <sup>**</sup>	1						
Pi	0.25	0.35	-0.87 <sup>**</sup>	0.79 <sup>**</sup>	1					
Cat	0.4	0.62 <sup>**</sup>	-0.59 <sup>*</sup>	0.62 <sup>*</sup>	0.41	1				
Ure	0.68 <sup>**</sup>	0.39	-0.63 <sup>**</sup>	0.64 <sup>**</sup>	0.53 <sup>*</sup>	0.81 <sup>**</sup>	1			
Suc	0.31	0.71 <sup>**</sup>	-0.73 <sup>**</sup>	0.80 <sup>**</sup>	0.54 <sup>*</sup>	0.90 <sup>**</sup>	0.84 <sup>**</sup>	1		
SR	0.29	0.74 <sup>**</sup>	-0.67 <sup>**</sup>	0.74 <sup>**</sup>	0.56 <sup>*</sup>	0.73 <sup>**</sup>	0.73 <sup>**</sup>	0.90 <sup>**</sup>	1	

1) Rel: 相关性, PS: 土壤粒度, TC: 总碳, TN: 总氮, C/N: 碳氮比, As: 砷, Cu: 铜, Mn: 锰, Ni: 镍, Pb: 铅, Zn: 锌, PB: 植物生物量, Si: Simpson 指数, Sh: Shannon 指数, Pi: Pielou 均匀度指数, Cat: 过氧化氢酶, Ure: 脲酶, Suc: 蔗糖酶, SR: 土壤呼吸; \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$

### 2.3 尾矿库坝面土壤微生物群落组成及多样性

尾矿库坝面植物和土壤理化性质在时间序列上形成了明显的生态梯度,那么微生物群落组成和结构在这一生态梯度下的变化趋势是否呈现一定的演替规律呢。为此,选择恢复 45、15 和 1 a 样地的土壤进行宏基因组高通量测序,分析土壤微生物群落结构和多样性(表 2)。表中可以看出,随着恢复年

限增加,细菌群落 OUT 数、丰富度指数(Chao1、ACE)、多样性指数(Shannon、Simpson)均呈显著升高趋势,表明随着恢复年限的增加细菌丰富度和多样性显著增加。真菌序列数在恢复 1 年样地最大,群落丰富度指数与细菌相似,但多样性指数与细菌相反,随恢复时间逐渐降低。微生物群落系统发育树(图 3)显示,细菌群落[图 3(a)]主要包括

变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、酸杆菌门 (Acidobacteria), 其中变形菌门 (39.7% ~ 63.4%)、放线菌门 (20.6% ~ 28.9%) 相对丰度最高. 此外, 还有拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 等. 真菌群落 [图 3 (b)] 主要包括子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、接合菌门 (Zygomycota) 等, 其中子囊菌门 (58.2% ~ 77.4%) 相对丰度最高.

微生物群落结构如图 4 所示, 在 45、15 和 1 a 样地中, 细菌群落共有的优势科 (丰度  $\geq 1\%$ ) 主要包括柄杆菌科 (Caulobacteraceae, 8.9%、12.8%、47.4%)、鞘脂单胞菌科 (Sphingomonadaceae, 3.7%、5.2%、2.2%)、丛毛单胞菌科 (Comamonadaceae, 2.6%、2.1%、1.7%)、甲基杆菌科 (Methylobacteriaceae, 1.4%、2.0%、9.0%)、

微球菌科 (Micrococcaceae, 2.3%、1.7%、3.5%)、微杆菌科 (Microbacteriaceae, 1.5%、1.5%、6.2%)、类诺卡氏菌科 (Nocardioideaceae, 3.0%、3.4%、10.8%)。此外, 优势细菌科还有红螺菌科 (Rhodospirillaceae)、慢生根瘤菌科 (Bradyrhizobiaceae)、生丝微菌科 (Hyphomicrobiaceae)、链霉菌科 (Streptomycetaceae)、链球菌科 (Streptococcaceae) 等 [图 4 (a)]. 3 个样地中, 真菌群落共有的优势科 (丰度  $\geq 1\%$ ) [图 4 (b)] 主要包括假球壳科 (Pleosporaceae, 1.33%、16.9%、3.51%)、发菌科 (Trichocomaceae, 6.3%、10.3%、15.9%)、丛赤壳科 (Nectriaceae, 4.3%、2.4%、2.1%)、柔膜菌目未定 (Hypocreales Incertae\_sedis, 1.4%、1.3%、5.9%)、子囊菌门未确认 (Ascomycota unidentified, 1.9%、1.4%、1.8%)。此外, 优势真菌科还有毛壳菌科 (Chaetomiaceae)、蜡壳耳科 (Sebacinaceae) 等.

表 2 不同生态梯度土壤微生物多样性指数<sup>1)</sup>

Table 2 Diversity indexes of the microbial clonal library in soil with different gradients

类型	恢复年限/a	序列	OTU	多样性指数			
				Chao1	ACE	Shannon	Simpson
细菌	45	30572	6118	17 664.09	18 054.41	9.991 4	0.993 4
	15	31267	4697	11 675.25	11 682.02	9.318 0	0.987 0
	1	32885	364	447.02	424.76	3.850 8	0.815 6
真菌	45	47730	395	551.72	670.04	5.06	0.92
	15	31701	365	502.28	573.28	5.04	0.92
	1	71160	211	238.89	253.63	5.19	0.95

1) 高通量测序建库过程中的 PCR 扩增会产生嵌合体序列, 测序过程中会产生点突变等测序错误, 为了保证分析结果的准确性, 需要对有效序列进行进一步过滤和去除嵌合体处理, 得到最终用于后续分析的优质序列

#### 2.4 尾矿库坝面土壤微生物群落动态的驱动因子

如上所述, 尾矿坝面土壤微生物群落组成和结构在不同的恢复年限具有显著差异. 非度量多维分析 (NMDS, stress = 0.01) 结果 (图 5) 显示, 在科水平上土壤细菌 (Micrococcaceae、Microbacteriaceae、Nocardioideaceae、Caulobacteraceae、Methylobacteriaceae、Methylobacteriaceae) 丰富度主要受土壤养分 (TC、TN、TS、C/N)、土壤孔隙度 Por 的影响, Micrococcaceae, Methylobacteriaceae 还受土壤重金属 Ni、Mn、As 的影响, 此外鞘脂单胞菌科 (Sphingomonadaceae) 与其它细菌不同, 主要与重金属 Cu、Cd、Zn、Pb 的含量相关. 土壤真菌 (Hypocreales Incertae\_sedis、Nectriaceae、Ascomycota unidentified、unidentified) 与大部分细菌相似, 受土壤养分、土壤孔隙度影响. Nectriaceae、Ascomycota unidentified、unidentified 等也与重金属

Ni、Mn、As 相关, Trichocomaceae 受土壤 pH、土壤粒度、Ps、Cr 的影响. 另外, 假球壳科 (Pleosporaceae) 受土壤理化性质的影响较小. Microbacteriaceae、Nocardioideaceae、Caulobacteraceae、Methylobacteriaceae 和 Hypocreales Incertae\_sedis 主要集中在恢复 1a 的样地, 而 Micrococcaceae, Methylobacteriaceae、Nectriaceae、Ascomycota unidentified、unidentified 主要集中在恢复 45 a 样地. 总之, 土壤微生物群落结构动态在优势科水平主要与土壤养分相关, 部分科受重金属含量影响.

Mantel 分析方法分析土壤微生物群落、植物群落多样性以及土壤质量之间的相关性 (表 3). 表中可以看出, 土壤细菌与真菌群落极显著正相关 ( $r = 0.956, P < 0.05$ ). 土壤细菌、真菌群落与植物多样性无显著相关性. 细菌群落、真菌群落和植物群落

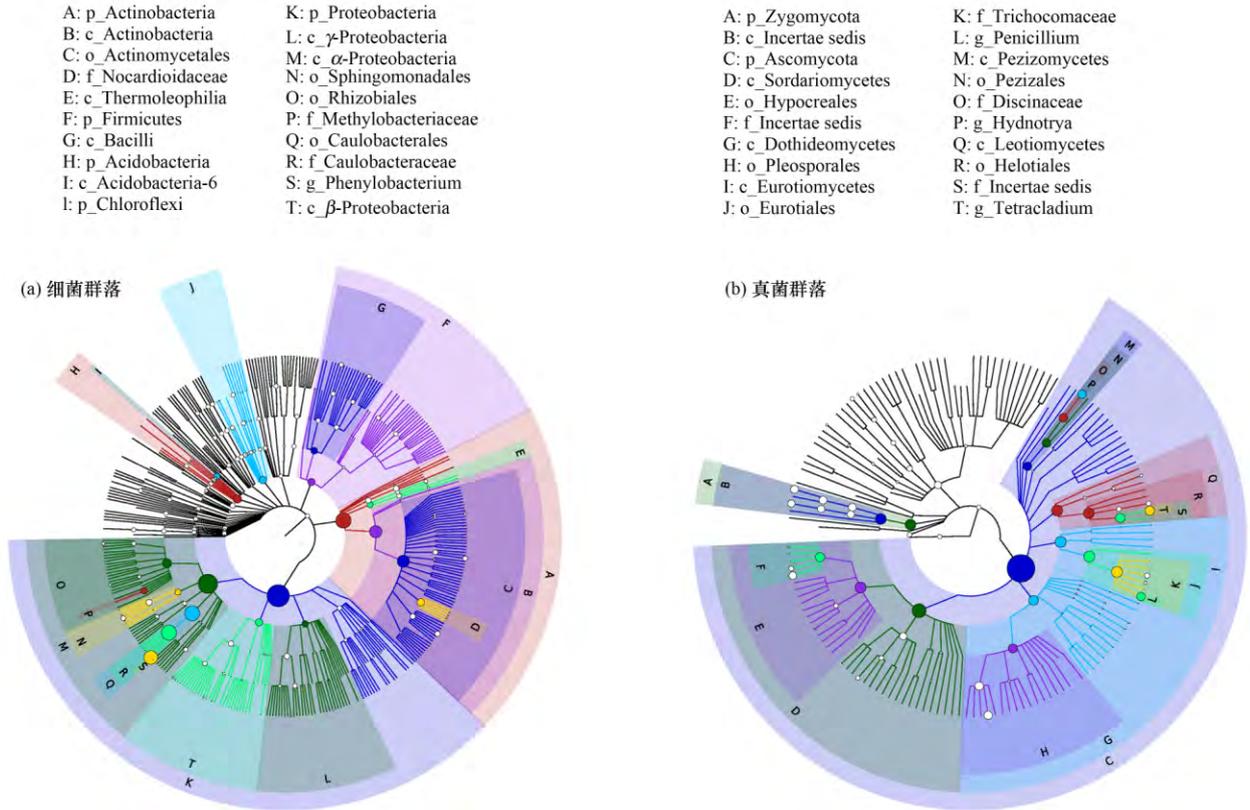


图3 尾矿坝面土壤微生物群落系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of the microbial community in the soil of the tailings dam

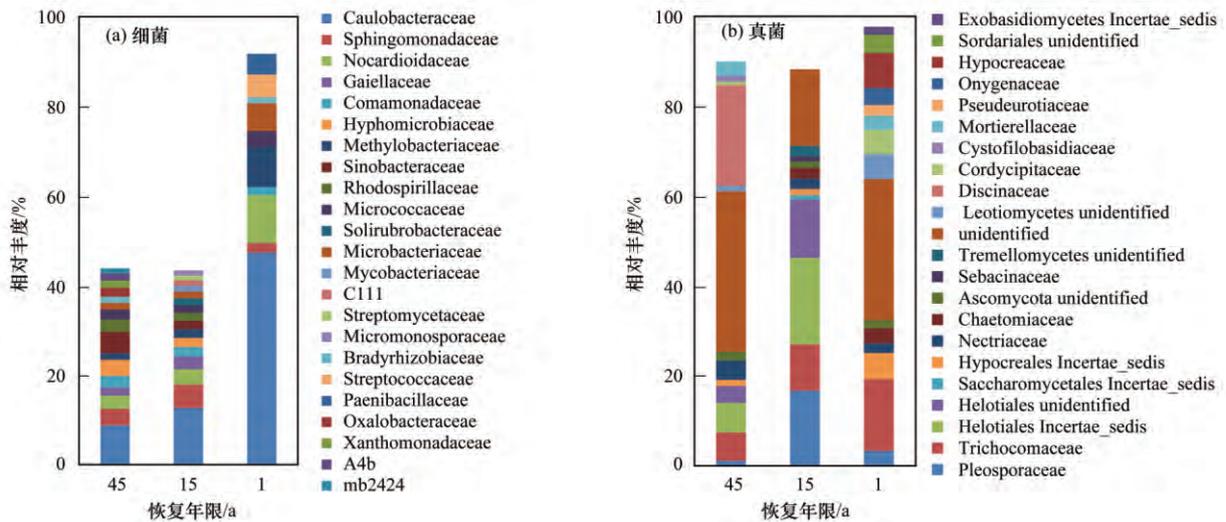


图4 坝面土壤微生物群落优势科相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of the dominant families of bacteria and fungi in the microbial community in the soil of the tailings dam

均与土壤质量显著相关. 说明生物因子(微生物间)和土壤理化性质是尾矿坝土壤微生物群落结构的主要驱动力.

### 3 讨论

本文在小尺度(200 m × 200 m)水平排除扩散限制对群落结构的影响,分析环境因子(生物和非

生物因子)对微生物群落结构和动态的影响. 矿砂中重金属含量超标,对植物和微生物具有一定的胁迫作用,那么,在重金属胁迫生境中环境因子如何驱动植物和微生物群落的多样性和结构形成是值得探讨的问题.

首先,植物群落演替与土壤营养显著相关,尤其是土壤总碳和总氮含量,以及土壤的酸性. 植

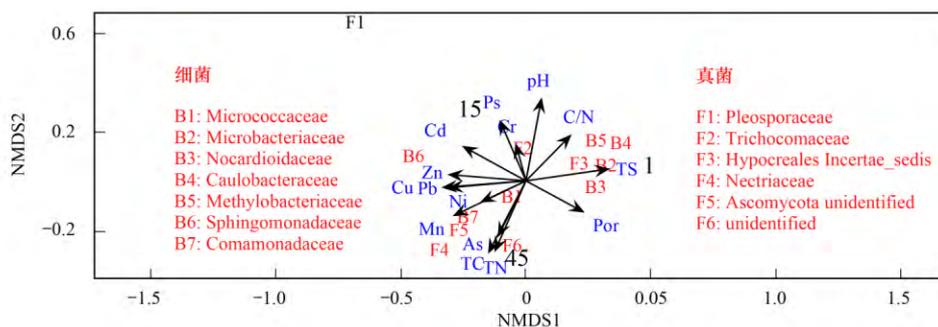


图5 非度量多维尺度 (NMDS) 分析微生物群落 (优势科) 与理化因子的相关性

Fig. 5 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) of the correlation between the microbial community (dominant families) and the physicochemical factors

表3 土壤微生物\* 与植物多样性、土壤质量的 Mantel 分析<sup>1)</sup>

Table 3 Mantel analysis of the soil microbial diversity, plant diversity, and soil quality

项目	<i>r</i>	<i>P</i>
细菌-真菌	0.956	0.002
细菌-植物	0.598	0.08
真菌-植物	0.671	0.091
细菌-土壤质量	0.730	0.029
真菌-土壤质量	0.817	0.037
植物-土壤质量	0.817	0.034

1) 土壤微生物包括细菌和真菌的优势科; 土壤质量指土壤酶活性、土壤呼吸

物群落演替与土壤营养的之间具有一定的驱动关系<sup>[26]</sup>, 植被分布格局引起土壤异质性<sup>[27, 28]</sup>. 尾矿坝面起初土壤相对均一(以矿砂为主), 随恢复年代的增加, 土壤质地(粒径、孔隙度)、土壤有机质、氮和土壤酶活性的空间异质性显著增强, 同时植物群落结构也发生了显著变化. 尾矿坝土壤呈碱性(pH 7.97~8.76), 植物群落多样性受pH的影响(表1), 即当土壤pH处于较高水平时, 与植物群落多样性呈线性负相关. 尾矿坝植物生物量、多样性与养分(TC、TN)含量极显著或显著正相关(表1). 在贫瘠的矿砂环境, 养分含量是影响先锋植物定植的限制因子. 反过来, 植物的定植促进土壤营养的积累和循环, 植物生物量越大, 多样性越高, 凋落物越多, 土壤养分含量也越高. 在本区中, 植物生物量和多样性不受土壤重金属含量的影响, 这可能是在本区土壤中的pH呈碱性, 植物对重金属的利用率较低, 且在长期的恢复条件下, 植物耐受性和抗性得以提高, 减轻了重金属的毒害作用<sup>[29, 30]</sup>.

其次 随着恢复时间增加, 尾矿坝面土壤细菌群落的丰富度和多样性指数显著升高(表2), 土壤真菌群落丰富度指数也升高, 但是多样性指数有所

降低. 在尾矿贫瘠环境中, 土壤养分对微生物群落的发展起主要作用, 随恢复时间增加, 土壤碳、氮含量的升高促进了微生物丰富度的提高<sup>[31]</sup>. 在重金属浓度高的样地, 细菌多样性也高, 可能是细菌繁殖迅速, 对环境适应能力强, 能耐高pH、高重金属含量的极端环境, 同时细菌胞外聚合物通过配位、吸附等作用使重金属发生迁移转化, 降低其生物毒性<sup>[32]</sup>. 1 a样地的土壤营养贫瘠, 菌根真菌吸附在植物根系上, 与植物共生, 长时间恢复样地高浓度的重金属, 影响了真菌的多样性<sup>[33]</sup>.

再次, 群落的结构和多样性决定其生态功能<sup>[34]</sup>. 研究区优势细菌门有变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、酸杆菌门[图3(a)和图4(a)], 这些微生物通过各种方法减轻重金属的毒害, 变形菌门的肠杆菌编码金属硫蛋白结合重金属<sup>[35]</sup>, 厚壁菌门的芽孢杆菌科分泌胞外聚合物吸附重金属, 使重金属发生迁移转化<sup>[32]</sup>. 另外, 拟杆菌门、绿弯菌门、浮霉菌门、芽单胞菌门也能较好地适应矿区极端的环境<sup>[36]</sup>. 优势真菌门有子囊菌门、接合菌门、担子菌门[图3(b)和图4(b)]. 丝状真菌(子囊菌门、接合菌门)可通过胞外分泌物的沉淀作用、细胞壁的吸附, 减轻重金属的毒害作用<sup>[37]</sup>. 丛枝菌根真菌的原生质膜也可以吸附重金属离子, 并通过离子交换作用, 减轻重金属的毒害作用<sup>[38]</sup>. 微生物参与土壤营养循环过程, 固氮菌、弗兰克氏菌和菌根真菌参与大部分的碳、氮循环, 假单胞菌属在氮循环过程中起关键作用. 鞘脂单胞菌科与Cu、Pb、Zn、Cd等土壤重金属含量相关, 作为先锋物种, 在尾矿坝极端环境下耐受重金属的影响, 分解难分解的有机物<sup>[39]</sup>, 为后续植物、微生物生存提供养分. 微生物群落优势科受到土壤养分的影响, 细菌群落优势科(鞘脂单胞菌科除外)、真菌群落优势科(假球壳科除外)丰富度均与土壤总碳、总氮及碳氮比相关(图

5), 土壤中的微生物群落形成特定的结构, 从而具备特定的功能。

本研究中, 土壤微生物(细菌、真菌)群落组成、植物多样性对土壤质量有显著影响(表 3), 是尾矿坝土壤生态系统恢复的主要驱动力。植物物种丰富度影响细菌(属水平)群落结构, 植物可以通过选择作用(碳输入、抗菌素的分泌、矿物风化)调节微生物的群落组成<sup>[40,41]</sup>。一些研究认为, 植物群落与真菌群落高度相关<sup>[42]</sup>, 在区域尺度上, 植物群落的组成可以预测真菌群落的分布, 且相比于非生物因素, 植物群落对真菌群落的影响更大<sup>[43,44]</sup>。细菌、真菌群落组成随植物群落的演替发生变化。而在本研究中, 土壤微生物(细菌、真菌)与植物多样性不相关, 可能是受到土壤 pH 的影响, 本研究尾矿砂土壤 pH 较高, 影响植物群落多样性, 植物根瘤、菌根的形成在尾矿坝较高 pH 的影响下, 仍处于发展阶段。

#### 4 结论

在本研究小尺度条件下, 由于尾矿土壤环境因子的特殊性, 致使土壤微生物群落结构和功能主要受到土壤因子决定, 生物因子的影响主要表现在细菌和真菌间的相互作用, 而植物群落与微生物群落间的关系表现不明显。因此, 在矿区土壤环境胁迫条件下, 确定性过程对微生物群落结构的构建发挥主要作用。

#### 参考文献:

[1] Vellend M. Conceptual synthesis in community ecology[J]. *The Quarterly Review of Biology*, 2010, **85**(2): 183–206.

[2] Hubbell S P. *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography*[M]. Princeton: Princeton University Press, 2001.

[3] Clark J S. Beyond neutral science[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2009, **24**(1): 8–15.

[4] Rosindell J, Hubbell S P, He F, *et al.* The case for ecological neutral theory[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2012, **27**(4): 203–208.

[5] Gravel D, Guichard F, Hochberg M E. Species coexistence in a variable world[J]. *Ecology Letters*, 2011, **14**(8): 828–839.

[6] Gewin V. Beyond neutrality—ecology finds its niche[J]. *PLoS Biology*, 2006, **4**(8): e278.

[7] 牛克昌, 刘恽宁, 沈泽昊, 等. 群落构建的中性理论和生态位理论[J]. *生物多样性*, 2009, **17**(6): 579–593.

Niu K C, Liu Y N, Shen Z H, *et al.* Community assembly: the relative importance of neutral theory and niche theory[J]. *Biodiversity Science*, 2009, **17**(6): 579–593.

[8] Chase J M, Myers J A. Disentangling the importance of ecological niches from stochastic processes across scales[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2011, **366**(1576): 2351–2363.

[9] Clark J S, Dietze M, Chakraborty S, *et al.* Resolving the biodiversity paradox[J]. *Ecology Letters*, 2007, **10**(8): 647–662.

[10] Logue J B, Findlay S E G, Comte J. Editorial: microbial responses to environmental changes [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, **6**: 1364.

[11] Rosen M J, Davison M, Bhaya D, *et al.* Microbial diversity, fine-scale diversity and extensive recombination in a quasisexual bacterial population occupying a broad niche [J]. *Science*, 2015, **348**(6238): 1019–1023.

[12] Widder S, Allen R J, Pfeiffer T, *et al.* Challenges in microbial ecology: building predictive understanding of community function and dynamics[J]. *The ISME Journal*, 2016, **10**(11): 2557–2568.

[13] Kuang J L, Huang L N, He Z L, *et al.* Predicting taxonomic and functional structure of microbial communities in acid mine drainage[J]. *The ISME Journal*, 2016, **10**(6): 1527–1539.

[14] Powell J R, Welsh A, Hallin S. Microbial functional diversity enhances predictive models linking environmental parameters to ecosystem properties[J]. *Ecology*, 2015, **96**(7): 1985–1993.

[15] Evans S, Martiny J B H, Allison S D. Effects of dispersal and selection on stochastic assembly in microbial communities [J]. *The ISME Journal*, 2016, **11**(1): 176–185.

[16] Van Der Gast C J. Microbial biogeography: the end of the ubiquitous dispersal hypothesis? [J]. *Environmental Microbiology*, 2015, **17**(3): 544–546.

[17] Wang X L, Wang X L, Zhang W X, *et al.* Invariant community structure of soil bacteria in subtropical coniferous and broadleaved forests[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 19071.

[18] Griffiths R I, Thomson B C, James P, *et al.* The bacterial biogeography of British soils [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, **13**(6): 1642–1654.

[19] Hanzel J, Myrold D, Sessitsch A, *et al.* Microbial ecology of biogeochemical interfaces—diversity, structure, and function of microhabitats in soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, **86**(1): 1–2.

[20] Hazard C, Gosling P, Van Der Gast C J, *et al.* The role of local environment and geographical distance in determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at the landscape scale [J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(3): 498–508.

[21] Ranjard L, Dequiedt S, Prévost-Bouré N C, *et al.* Turnover of soil bacterial diversity driven by wide-scale environmental heterogeneity[J]. *Nature Communications*, 2013, **4**: 1434.

[22] 刘晋仙, 李巍, 景炬辉, 等. 中条山十八河铜尾矿库微生物群落组成与环境适应性[J]. *环境科学*, 2017, **38**(1): 318–326.

Liu J X, Li C, Jing J H, *et al.* Composition and environmental adaptation of microbial community in Shibabe copper Tailing in Zhongtiao mountain in Shanxi [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(1): 318–326.

[23] 叶茜琼, 吴蔓莉, 陈凯丽, 等. 微生物修复油污土壤过程中氮素的变化及菌群生态效应[J]. *环境科学*, 2017, **38**(2): 728–734.

Ye X Q, Wu M L, Chen K L, *et al.* Impacts of bioremediation on microbial communities and different forms of nitrogen in petroleum contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(2): 728–734.

- [24] 郑家传, 张建荣, 刘希雯, 等. 污染场地六价铬的还原和微生物稳定化研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(10): 3882-3887. Zheng J C, Zhang J R, Liu X W, et al. Bioremediation of chromium (VI) contaminated site by reduction and microbial stabilization of chromium[J]. Environmental Science, 2014, **35**(10): 3882-3887.
- [25] 景炬辉, 刘晋仙, 李巍, 等. 中条山铜尾矿坝面土壤细菌群落的结构特征[J]. 应用与环境生态学报, 2017, **23**(3): 527-534.
- [26] Tilman D, Kareiva P. Spatial ecology: the role of space in population dynamics and interspecific interactions [M]. Princeton: Princeton University Press, 1997.
- [27] Dodd M B, Lauenroth W K, Burke I C, et al. Associations between vegetation patterns and soil texture in the shortgrass steppe[J]. Plant Ecology, 2002, **158**(2): 127-137.
- [28] Ettema C H, Wardle D A. Spatial soil ecology[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2002, **17**(4): 177-183.
- [29] Gray C W, McLaren R G, Roberts A H C, et al. Sorption and desorption of cadmium from some New Zealand soils: effect of pH and contact time[J]. Australian Journal of Soil Research, 1998, **36**(2): 199-216.
- [30] Gray C W, Dunham S J, Dennis P G, et al. Field evaluation of in situ remediation of a heavy metal contaminated soil using lime and red-mud [J]. Environmental Pollution, 2006, **142**(3): 530-539.
- [31] Li Y, Wen H, Chen L, et al. Succession of bacterial community structure and diversity in soil along a chronosequence of reclamation and re-vegetation on coal mine spoils in China [J]. PLoS One, 2014, **9**(12): e115024.
- [32] Acosta M P, Valdman E, Leite S G F, et al. Biosorption of copper by *Paenibacillus polymyxa* cells and their exopolysaccharide [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2005, **21**(6-7): 1157-1163.
- [33] Abdel-Azeem A M, Abdel-Moneim T S, Ibrahim M E, et al. Effects of long-term heavy metal contamination on diversity of terri-colous fungi and nematodes in Egypt—a case study [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2007, **186**(1-4): 233-254.
- [34] Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications[J]. Nature, 2009, **459**(7244): 193-199.
- [35] Chihomvu P. Identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from the Klip River [A]. In: International Conference on Ecological, Environmental and Biological Sciences, WASET, Cape Town, 2014.
- [36] Bier R L, Voss K A, Bernhardt E S. Bacterial community responses to a gradient of alkaline mountaintop mine drainage in Central Appalachian streams [J]. The ISME Journal, 2015, **9**(6): 1378-1390.
- [37] Yuan H L, Li Z J, Ying J Y, et al. Cadmium(II) removal by a hyperaccumulator fungus *Phoma* sp. F2 isolated from blende soil [J]. Current Microbiology, 2007, **55**(3): 223-227.
- [38] González-Guerrero M, Melville L H, Ferrol N, et al. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2008, **54**(2): 103-110.
- [39] Pérez-Pantoja D, Leiva-Novoa P, Donoso R A, et al. Hierarchy of carbon source utilization in soil bacteria: hegemonic preference for benzoate in complex aromatic compound mixtures degraded by *Cupriavidus pinatubonensis* strain JMP134 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, **81**(12): 3914-3924.
- [40] Schlatter D C, Bakker M G, Bradeen J M, et al. Plant community richness and microbial interactions structure bacterial communities in soil [J]. Ecology, 2015, **96**(1): 134-142.
- [41] Massaccesi L, Bardgett R D, Agnelli A, et al. Impact of plant species evenness, dominant species identity and spatial arrangement on the structure and functioning of soil microbial communities in a model grassland [J]. Oecologia, 2015, **177**(3): 747-759.
- [42] LeBlanc N, Kinkel L L, Kistler H C. Soil fungal communities respond to grassland plant community richness and soil edaphics [J]. Microbial Ecology, 2015, **70**(1): 188-195.
- [43] Ke P J, Miki T, Ding T S. The soil microbial community predicts the importance of plant traits in plant-soil feedback [J]. The New Phytologist, 2015, **206**(1): 329-341.
- [44] Gao C, Shi N N, Liu Y X, et al. Host plant genus-level diversity is the best predictor of ectomycorrhizal fungal diversity in a Chinese subtropical forest [J]. Molecular Ecology, 2013, **22**(12): 3403-3414.