

蔡思思,张明珠,董玉飞,等. 安徽铜陵水木冲尾矿库不同分层铜尾矿细菌群落特征研究[J]. 环境科学与技术, 2024, 47(11): 1-10. Cai Sisi, Zhang Mingzhu, Dong Yufei, et al. Study on characteristics of bacterial community in copper tailings at different tailing layers of Shuimuchong tailing-pond in Tongling City of Anhui Province[J]. Environmental Science & Technology, 2024, 47(11): 1-10.

安徽铜陵水木冲尾矿库不同分层铜尾矿细菌群落特征研究

蔡思思¹, 张明珠¹, 董玉飞¹, 张琴¹,
肖紫文², 田胜尼^{1*}

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 安徽 合肥 230036;
2. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 为研究铜尾矿剖面的氧化酸化过程中形成的不同分层细菌群落特征及其驱动因素, 文章选择安徽铜陵水木冲尾矿库剖面氧化酸化程度不同的3个深度分层, 对其理化性质、重金属含量及细菌群落结构进行研究。结果表明, 尾矿 pH 值随深度递增, 氮、磷元素分别在表、底层集中, 重金属 Cu、Pb 含量随深度递减, Zn、Mn 含量随深度递增, 低重金属、高有机质含量提高了中层尾矿细菌多样性。良好的重金属抗性使变形菌门、厚壁菌门与绿弯菌门在尾矿中占主导地位, 假单胞杆菌属、不动杆菌属、厌氧芽孢杆菌属作为营养循环的重要组成部分而成为优势菌属。尾矿表层各类群菌属分布均衡, 稀有类群菌属富集在中层, 稀有、普通类群菌属富集底层。pH 驱动细菌稀有类群变化, 而 Mn 和总磷则主导了普通类群变化。

关键词: 酸化氧化尾矿; 深层尾矿剖面; 尾矿分层; 丰富和稀有类群; 重金属

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **doi:** 10.19672/j.cnki.1003-6504.1159.24.338 **文章编号:** 1003-6504(2024)11-0001-10

Study on Characteristics of Bacterial Community in Copper Tailings at Different Tailing Layers of Shuimuchong Tailing-pond in Tongling City of Anhui Province

CAI Sisi¹, ZHANG Mingzhu¹, DONG Yufei¹, ZHANG Qin¹,
XIAO Ziwen², TIAN Shengni^{1*}

(1. School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. Food and Bioengineering School, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: To investigate the traits and the driving factors of bacterial community in copper tailing-pond's different tailing layers during the process of oxidation/acidification, three-depth layers of tailing-pile at the Shuimuchong tailing-pond in Tongling City of Anhui Province were studied with their physico-chemical properties, content of heavy metals, and bacterial diversity being analyzed. As a result, the study showed that pH value gradually increased with the depth, nitrogen and phosphorus were concentrated in the surface and bottom layers respectively, the contents of Cu and Pb decreased with increasing depth, while the contents of Zn and Mn increased, and the fact of low heavy-metal content and high organic matter content made it possible to enhance mid-layer bacterial diversity, Proteobacteria, Firmicutes and Chloroflexi having heavy-metal resistance ability being dominant in the tailing piles. Being an important part of the nutrient cycle, bacteria such as *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, and *Anoxybacillus* became the dominant genus, and the distribution of various taxa of bacteria in the surface tailing-pile was in balance, while the rare taxa was enriched in the middle layer, and the rare and middle taxa were enriched in the bottom. In addition, pH value was driving rare taxa to change, while Mn and TP were leading the common taxa's shift.

Key words: acidified oxidation tailings; deep-layer tailings profile; tailing stratification; abundant and rare taxa; heavy metal

尾矿是在矿产资源的选矿和冶炼过程中大量产生的一种采矿废物^[1], 其本身具有土壤结构差、有机质

和养分浓度低、金属(类)毒性大等特点^[2]。长期的大规模采矿活动产生的尾矿往往未经任何处理直接露

天堆放^[3],其中的有毒重金属离子易通过风扬和水蚀(酸性矿山废水)等途径^[4]对周围的土壤和水生环境造成严重污染^[5]。富含重金属硫化物的尾矿在特定的水氧条件下会氧化产酸,这种氧化酸化作用会加剧尾矿中有害物质的溶出引发更严重的环境污染^[6],同时会改变尾矿砂的整体结构、削弱其承载能力,导致严重的安全事故^[7]。因此,对矿山尾矿,特别是存在氧化酸化情况的酸化尾矿的修复治理工作显得尤为关键。

土壤微生物是地球上最为丰富多样的生物类群,驱动着营养元素及地球化学的循环与众多生态系统功能的实现^[8]。微生物可以通过参与包括pH中和、有机营养物质的积累、金属(类)形态和溶解度的变化、以及氰化物/硫氰酸盐污染物的降解在内的多种关键活动来协助尾矿修复^[9]。尾矿带来的高浓度的重金属污染会直接影响土壤微生物群落的生长、存活、多样性、生物量等^[5],在这样极端的环境条件下,许多土壤微生物都进化出了特殊的应对策略^[10]。这些应对环境干扰的策略由微生物的遗传与生理状态决定^[11]。基于此,有研究指出类群和群落特异性差异极大地影响了微生物群落的稳定性和弹性:丰富类群微生物能够促进呼吸作用等重要基本功能的实现和增加生物量的积累^[12,13];而稀有类群微生物具有高度的多样性和功能冗余,能够帮助群落应对环境变化。丰富和稀有类群依托各自的功能特点占据不同的生态位,在响应环境胁迫中发挥不同作用^[14]。因此,开展对丰富和稀有类群微生物及其所受影响的研究,对加强理解与应用微生物修复技术至关重要。

安徽省铜陵市是我国著名的有色多金属开采区,区内积累了数量庞大的铜尾矿,包括水木冲尾矿库这样典型的富重金属硫化物的尾矿库^[15]。该尾矿库的堆积尾矿在氧化酸化过程中自然形成了自上而下的剖面分层。此前对各类酸化尾矿的国内外研究重点大多集中在浅层尾矿的重金属含量、赋存形态、迁移特性及其潜在的环境危害等方面,而有关尾矿剖面不同分层的理化性质、重金属含量、细菌群落变化规律及其各类群优势微生物群落对环境变化的响应等方面的研究还不够充分。因此,本研究的主要目的是:(1)分析水木冲尾矿库尾矿剖面不同分层的理化性质及重金属含量;(2)分析水木冲尾矿库尾矿剖面不同分层的细菌群落结构和多样性;(3)探讨影响水木冲尾矿库尾矿剖面不同分层细菌及其不同亚群分布的主要环境因子。

1 研究区概况

水木冲尾矿库(30°55'N, 117°50'E)位于安徽省

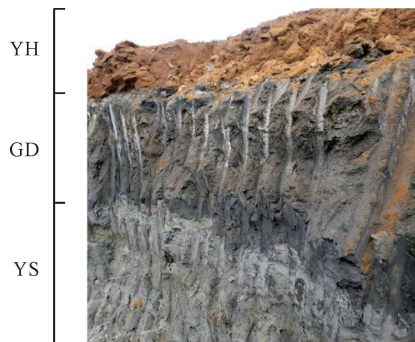
铜陵市东面约3.5 km处的铜官区西湖镇跃进林场。该库是典型的山谷型尾矿库,三面均有山体环绕,分别是北面的乌木山与南面的小峰山。尾矿库所在地为铜陵市郊,属北亚热带湿润季风气候,夏季炎热多雨,年平均降雨量1 364.4 mm,平均气温16.2℃,秋季干旱少雨。场地主风向为东北风,平均风速3.1 m/s,年均无霜期258 d^[16]。

水木冲尾矿库设计总库容838万m³,实际堆积尾砂670.49万m³,占地达44.31万m²,使用历时约19 a。库区水文地质条件简单,基岩主要为三叠系灰岩、变质岩和火成岩^[17]。钙铁榴石、石英和辉石构成了尾矿主要矿物成分。先前的调查研究发现,该尾矿库含有黄铁矿、闪锌矿、黄铜矿、方铅矿以及毒砂等多种硫化物矿物^[18],裸露矿体表层酸化明显,板状体坚硬,地表只有稀疏的植被,呈黄褐色。

2 采样及测试

2.1 野外调查及取样

现场观测发现,水木冲尾矿库堆积尾矿剖面形成了3层颜色、氧化胶结程度差异明显的分层(图1)。表层呈黄褐色,板结坚硬;中间层呈铅灰色,弱胶结层状;最底层青灰色,松散砂状,质地柔软而有一定粘性。根据前人的研究^[6,19],推断尾矿剖面分层源于尾矿随着深度加深而逐渐减弱的氧化酸化作用,氧化最终在底部松散砂状尾矿层停止。因此将该剖面分层自上而下分别命名为氧化层(YH)、氧化过渡层(GD)和未氧化原生层(YS)(下文简称为氧化层、过渡层、原生层),进行分层采样。共采集了9个尾矿剖面样本,包括氧化层、过渡层、原生层中各自的3个样本,每个样本由采样点的5个子样本混合组成。取约1 kg,去除植物根系和杂质即刻装入无菌自封袋中抽真空并注明样品编号,储存在便携式冰箱内低温运送至实验室。



注: YH.氧化层; GD.氧化过渡层; YS.未氧化原生层。下同。

图1 尾矿剖面分层

Fig.1 Tailings profile stratification

将每个样品分成两部分,一部分自然风干,过10目和100目尼龙筛以进一步去除碎石和动植物残渣,并储存用于随后的土壤理化性质和重金属含量测

定;另一部分储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用于 DNA 提取及后续的 Illumina MiSeq 测序。

2.2 测试方法

2.2.1 分层尾矿理化性质分析

土壤 pH 采用 pH 计(PHS-3CU)测定,水土比例为 2.5:1;土壤全氮(TN)采用硫酸消煮-凯氏定氮法测定;土壤有效氮(AN)采用碱解扩散法测定;土壤有机质(OM)采用重铬酸钾外加热法测定;土壤全磷(TP)采用高氯酸-硫酸消煮-钼锑抗比色法测定;土壤有效磷(AP)采用碳酸氢钠法测定;重金属铜、镉、铅、锌、锰(Cu、Cd、Pb、Zn、Mn)采用四酸消解-原子吸收分光光度计法测定。

2.2.2 微生物群落分析

参考十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)方法提取土壤样品中的总 DNA,将提取的 DNA 样品储存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。以提取的土壤基因组 DNA 为模板,使用带有 bar-coded 的细菌引物 515F(5'-GTGCCAGCMGCC-GCGG-3')/907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')扩增 16S rRNA 基因的 V4-V5 区,由此产生的扩增子送到生物公司(上海美吉生物医药科技公司)的 Illumina Miseq PE 300 仪器测序。参考最近的相关研究,将相对丰度大于 0.1% 的菌属定义为“丰富类群”

属,将相对丰度小于 0.01% 的菌属定义为“稀有类群”属,将相对丰度介于 0.01% 和 0.1% 之间的菌属定义为“普通类群”属^[20]。

2.2.3 数据分析

采用韦恩图(Venn)显示不同尾矿分层中共有和独有的操作分类单元(OTU),通过单因素方差分析(One-way ANOVA)研究尾矿环境因子和细菌的多样性指数在不同分层下的差异,结果使用 Origin 2022 制作箱型图展示。相关性分析揭示了理化参数与重金属含量之间的关系。采用非度量多维标度分析(NMDS)和聚类分析将细菌群落结构可视化,展示酸化尾矿不同分层下细菌群落结构的差异。细菌群落组成分析和 LEfSe 分析反映了酸化尾矿分层间富集的菌属与丰富、稀有类群富集菌属及其分布情况。热图揭示环境因素对尾矿细菌优势门的潜在影响,Mantel test 展现了影响富集属的丰富、稀有类群细菌群落的关键环境因素。

3 结果

3.1 土壤理化性质与重金属含量

表 1 土壤理化性质表明,尾矿剖面的 3 个层次在 pH、有效氮和有机质含量上有显著差异。

表 1 尾矿不同分层理化性质及重金属含量
Table 1 Physicochemical properties and heavy metal content of different layers of tailings

尾矿分层	氧化层	过渡层	原生层
pH	4.58±1.14b	7.28±0.12a	7.61±0.03a
全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	0.18±0.04a	0.12±0.01ab	0.09±0.02b
全磷 TP/(g·kg ⁻¹)	0.12±0.02bc	0.1±0.02c	0.17±0.01a
有效氮 AN/(mg·kg ⁻¹)	49.88±14.37	25.52±1.92	29.47±3.42
有效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	1.54±0.38b	1.8±0ab	1.54±0.26b
有机质 OM/(g·kg ⁻¹)	9.93±5.67b	41.79±5.26a	14.24±0.83b
铜 Cu/(mg·kg ⁻¹)	781.33±95.12a	647.09±169.71a	456.48±83.71a
锰 Mn/(mg·kg ⁻¹)	1 078.39±202.34b	1 170.21±430.55b	2 194.26±124.23a
铅 Pb/(mg·kg ⁻¹)	100.55±9.33a	80.29±21.78a	70.29±5.83a
锌 Zn/(mg·kg ⁻¹)	701.85±223a	1 111.23±383.93a	1 643.7±132.29a
镉 Cd/(mg·kg ⁻¹)	1.62±0.83a	1.07±0.14a	2.04±0.63a

注:不同小写字母表示差异显著。

氧化层的 pH 值最低,呈强酸性(4.58±1.14),随着剖面深度的增加,pH 值逐渐趋于碱性,过渡层 pH 呈弱碱性(7.28±0.12),参考尾矿的原始标准值^[6](pH=7.61),原生层的 pH 值达到该值,呈碱性(7.61±0.03)。在土壤营养元素水平上,氧化层的全氮和有效氮均为最高,是过渡层的 1.50、1.95 倍,原生层的 2.00 和 1.69 倍;过渡层的有效磷和有机质含量最多,氧化层含量最少;全磷含量在原生层中达到最高值。

如表 1 所示,尾矿剖面各层中重金属 Cu、Mn、Pb、Zn 和 Cd 含量均超出铜陵市土壤背景值(Cu: 79 mg/kg, Zn: 139 mg/kg, Pb: 67 mg/kg, Cd: 0.71 mg/kg, Mn:

583 mg/kg)。其中 Cu 含量在尾矿剖面氧化层(781.33 mg/kg)、过渡层(647.09 mg/kg)中的平均值分别是铜陵市土壤背景值的 9.89 倍、8.19 倍,Zn(氧化层: 701.85 mg/kg、过渡层: 1 111.23 mg/kg)在原生层中含量达到了 1 643.7 mg/kg,是背景值的 11.83 倍。Mn、Pb、Cd 在各层中的含量与背景值的差异相对较小,是背景值 1.05~3.76 倍。除此之外,各层尾矿中 Cu、Zn 和 Cd 的含量均超过国家三级土壤标准值,分别超出 1.14~1.95 倍、1.40~3.29 倍和 1.07~2.04 倍。此外尾矿剖面几种重金属含量的变化并不一致,如 Cu 和 Pb 在氧化层的含量达到最高值且存在随深度逐渐降低

的趋势,而Zn、Mn的含量随深度递增,在原生层达到最高值。

3.2 细菌群落 α 及 β 多样性变化规律

通过对3个分层尾矿样品进行测序,共从9个样本中检测到6 377个有效序列。在相似度超过97%的序列中进行聚类选择,得到1 304个OTU。图2显示,在每个采样剖面中构建的OTU的数量为氧化层(615)>过渡层(531)>原生层(158),3个分层间共有的OTU数量总计为66,表明各层间数量差异显著,共有的OTU数量分别占到3个尾矿分层样本的10.73%、12.43%和41.77%。

图3(a)展示了3个分层的微生物丰富度指数(Ace, Chao1)与多样性指数(Simpson, Shannon)的差异。结果表明,氧化层的细菌丰度最高但存在一定数量的优势群落,原生层的丰度最低且群落优势明显,

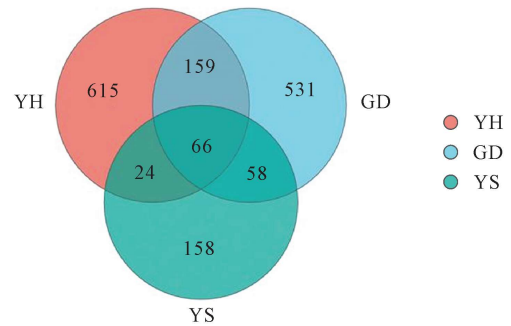
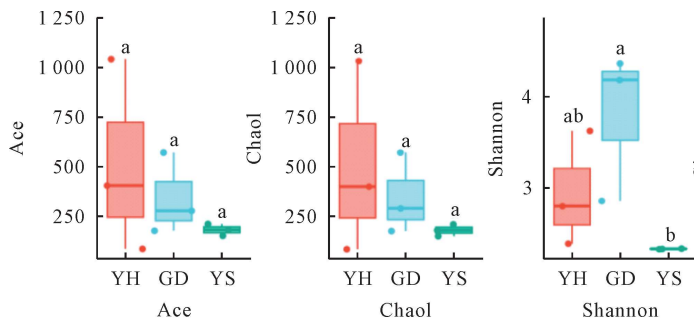
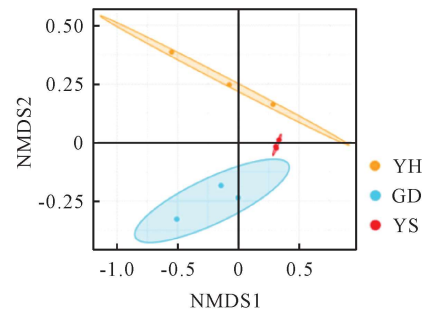


图2 尾矿不同分层OTU丰富度分布Venn图
Fig.2 Venn diagram of OTU richness distribution in different layers of tailings

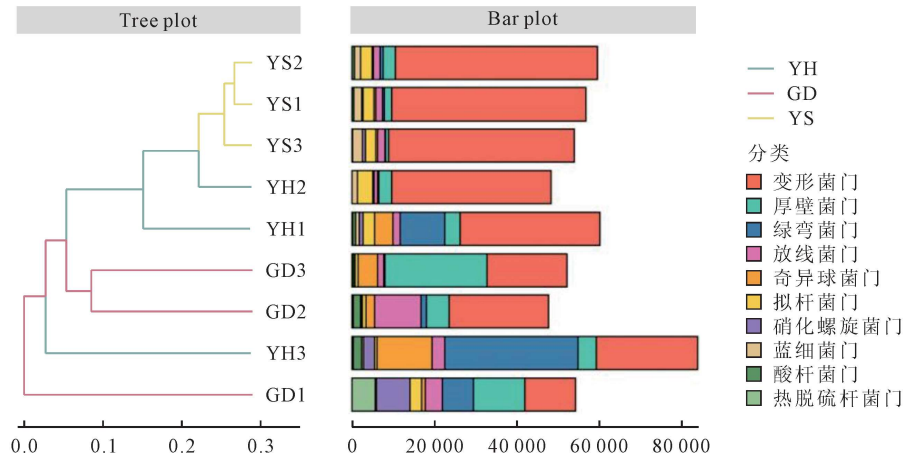
细菌类型单一,过渡层的细菌群落则更加多样化。非度量多维标度(NMDS)的结果(图3(b))反映了细菌群落组成的明显差异,特别是过渡层与原生层之间的差异明显,尾矿层次间的微生物群落(Stress=0.01, ANOSIM=0.539 1)可以清楚地分离,同样聚类分析(图3(c))也体现出二者显著不同。



(a)尾矿不同分层中细菌的 α 指数多样性的箱型图



(b)尾矿不同分层中细菌群落的NMDS分析



(c)尾矿不同分层中细菌群落组成及优势门相对丰度的聚类分析

图3 尾矿不同分层中细菌的多样性和群落结构的差异

Fig.3 Differences in bacterial diversity and community structure in different layers of tailings

3.3 细菌群落组成变化规律

细菌群落组成方面,在门水平上,变形菌门(Proteobacteria)在所有样品中占优势,其次是厚壁菌门(Firmicutes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidota)分别只在过渡(平均相对丰度26.29%)、氧化(平均相对丰度17.86%)、原生(平均相对丰度4.7%)层中占优,同时在其他层中含量较少,说明不同剖面的土壤群落结构组成存在显著差异(图4(a))。在属水平

上,氧化层和原生层中以假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)为主,过渡层中以厌氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和亚栖热菌属(*Meiothermus*)为主(图4(b))。

尾矿中丰富、稀有类群富集菌属如表2所示。丰富类群中的鞘鞍醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)是尾矿样品中广泛存在的菌属,在各层中都具有很高的相对丰度。贫铜菌属(*Cupria-*

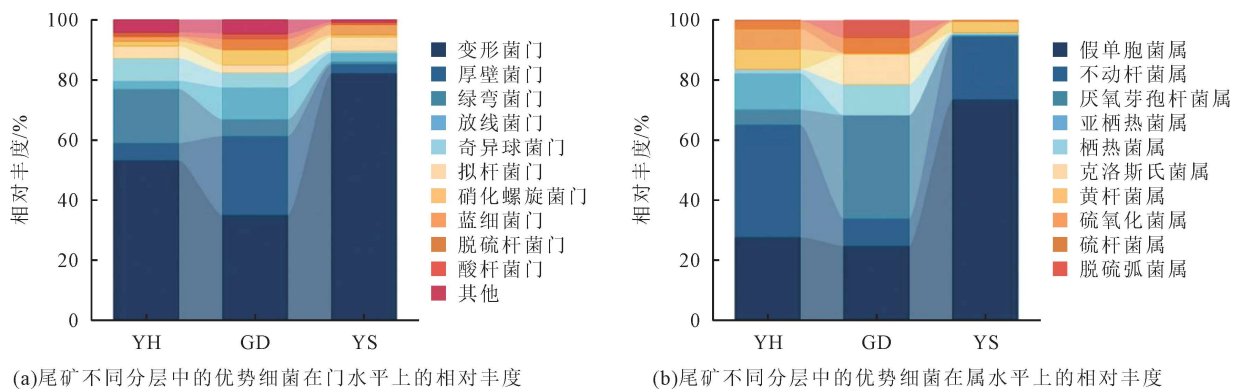


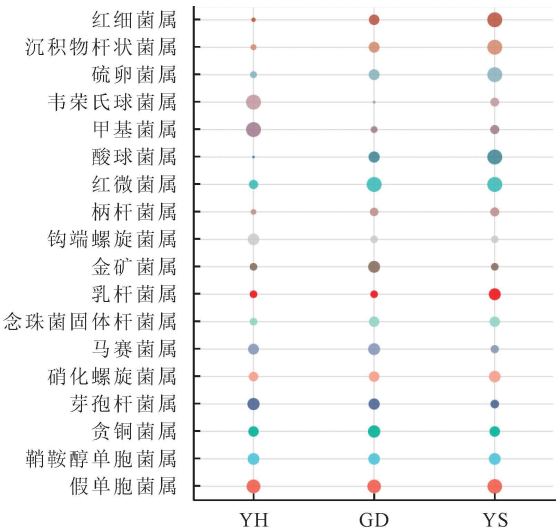
图4 尾矿不同分层中细菌群落组成差异
Fig.4 Differences in bacterial community composition in different layers of tailings

vidus)分布较为均匀,在过渡层中相对丰度略高,马赛菌属(*Massilia*)与之类似,相对丰度在过渡层中较高而在原生层中较低。稀有类群中的红细菌属(*Rhodobacter*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、硫卵菌属(*Sulfurovum*)、酸球菌属(*Acidisoma*)和柄杆菌属(*Caulobacter*)在各层中分布趋势一致,即相对丰度随深度的增加而增加,在原生层中最高。韦荣氏球菌属(*Veillonella*)与甲基菌属(*Methyloversatilis*)与之相反,在氧化层中相对丰度最高且在过渡层中相对丰度最低。红微菌属(*Rhodomicrobium*)相对丰度分布均匀,只在氧化层中较低(图5)。

表 2 尾矿样品中丰富、普通和稀有类群富集菌属
Table 2 Abundant, middle and rare groups of enriched bacteria in tailings samples

细菌类群	属名	拉丁学名
丰富类群	鞘氨醇单胞菌属	<i>Sphingomonas</i>
	假单胞菌属	<i>Pseudomonas</i>
	贪铜菌属	<i>Cupriavidus</i>
	马赛菌属	<i>Massilia</i>
普通类群	乳杆菌属	<i>Lactobacillus</i>
	硝化螺旋菌属	<i>Nitrospira</i>
	念珠菌固体杆菌属	<i>Candidatus_Solibacter</i>
	钩端螺旋菌属	<i>Leptospirillum</i>
	金矿菌属	<i>Candidatus_Desulforudis</i>
	芽孢杆菌属	<i>Bacillus</i>
稀有类群	韦荣氏球菌属	<i>Veillonella</i>
	甲基菌属	<i>Methyloversatilis</i>
	红微菌属	<i>Rhodomicrobium</i>
	柄杆菌属	<i>Caulobacter</i>
	酸球菌属	<i>Acidisoma</i>
	沉积物杆状菌属	<i>Sediminibacterium</i>
	硫卵菌属	<i>Sulfurovum</i>
	红细菌属	<i>Rhodobacter</i>

LEfSe分析可以更详细地揭示环境因子影响的相关信息,表明氧化、过渡和原生层之间土壤微生物群落的丰富度和结构不同,图6中展示LDA值大于3.3的物种。结果显示,在不同的分层间共得到30个差异物种。在门水平上,变形菌门(Proteobacteria)中的 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、绿弯菌门(Chloroflexi)富集在氧化层,变形菌门(Proteobacteria)中的 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、螺旋体门(Spirochaetota)、弯曲杆菌门(Campilobacterota)



注: 气泡的颜色同菌属, 大小表示相对丰度, 气泡越大, 表示菌属在该层相对丰度越大。

图5 尾矿不同分层中丰富、普通和稀有类群富集菌属分布图
Fig.5 Distribution maps of abundant, middle and rare taxa of enriched bacteria in different layers of tailings

富集在过渡层,而厚壁菌门(Firmicutes)在过渡层、原生层上富集。属水平上,钩端螺旋菌属(*Leptospirillum*)与鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)在氧化层中富集;假单胞菌属(*Pseudomonas*)、贪铜菌属(*Cupriavidus*)等集中在过渡层;乳杆菌属(*Lactobacillus*)、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)更多在原生层中富集。

尾矿氧化层中富集的钩端螺旋菌属(*Leptospirillum*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、红微菌属(*Rhodomicrobium*)所属的普通、丰富、稀有各类群菌属分布均衡;过渡层中主要富集了包括柄杆菌属(*Caulobacter*)、酸球菌属(*Acidisoma*)、硫卵菌属(*Sulfurovum*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、红细菌属(*Rhodobacter*)在内的丰富类群与假单胞菌属(*Pseudomonas*)、贪铜菌属(*Cupriavidus*)、马赛菌属(*Massilia*)等稀有类群菌属;原生层则集中了乳杆菌属(*Lactobacillus*)、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、金矿菌属(*Candidatus_Desulforudis*)这类普通类群菌属和韦荣氏球菌属(*Veillonella*)、甲基菌属(*Methyloversatilis*)等稀有类群菌属。

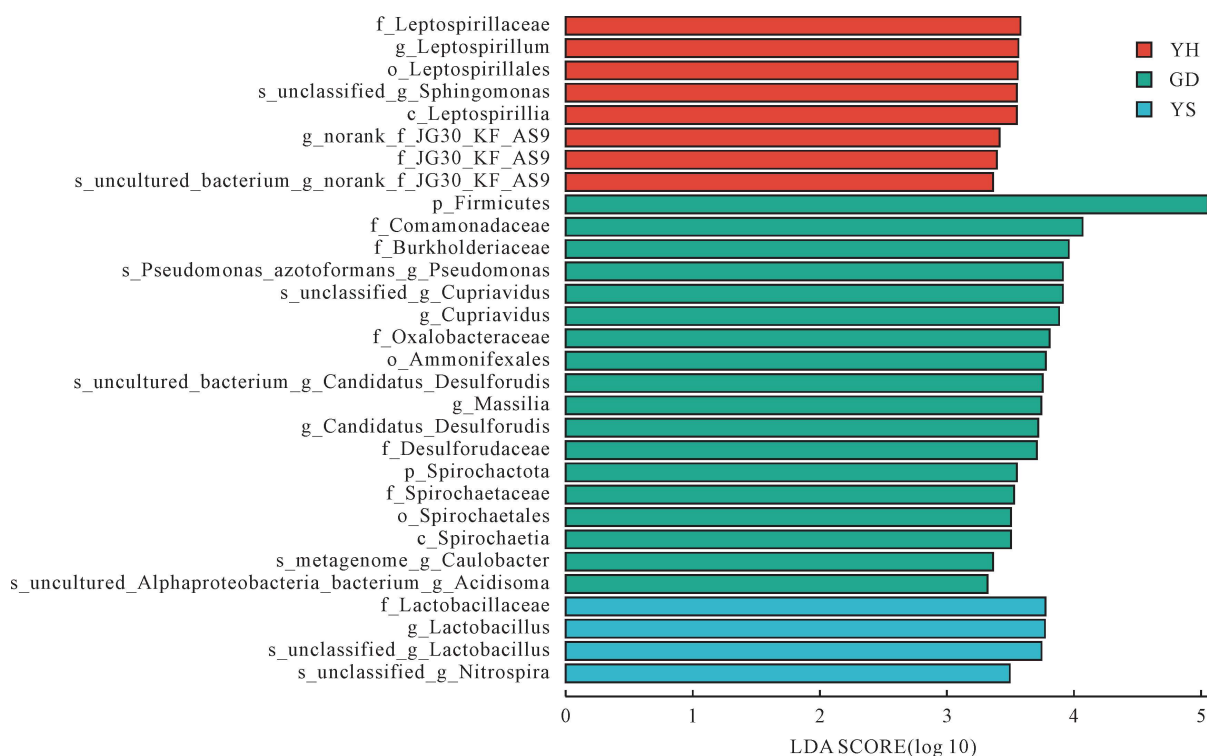
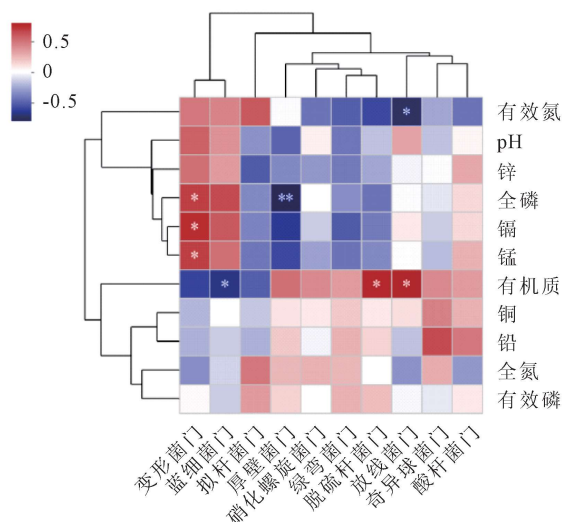


图6 尾矿不同分层中细菌的组间群落差异
Fig.6 Inter group differences of bacterial community in different layers of tailings

3.4 环境因子对细菌群落的影响

对尾矿相对丰度前10的优势细菌门与环境因子展开相关性分析。分析结果(图7)表明大部分细菌门类与有机质呈正相关,而与其他环境因子呈负相关。有效氮、全磷、有机质和重金属Mn、Cd与细菌优势门存在显著相关性。其中,放线菌门(Actinobacteria)与有效氮呈显著负相关($P<0.05$);全磷与变形菌门(Proteobacteria)呈显著正相关($P<0.05$),与厚壁菌门(Firmicutes)呈极显著负相关($P<0.01$);有机质与蓝细菌门(Cyanobacteria)呈显著负相关,与脱硫杆菌门(Desulfobacterota)、放线菌门(Actinobacteria)呈显著正相关;重金属Mn、Cd与变形菌门(Proteobacteria)呈显著正相关($P<0.05$)。



注: *表示显著相关($P<0.05$); **表示极显著相关($P<0.01$)。

图7 各优势细菌门的相对丰度与环境因子间的相关性
Fig.7 The correlation between the relative abundance of each dominant bacterial phylum and environmental factors

通过 Mantel test 分析环境因子与富集菌属的丰富、稀有类群细菌群落的关系(图8)。在丰富类群中,环境因子对尾矿各酸化层富集属的驱动作用不明显。除全磷、有效磷、有机质、Cu、Pb和Mn外,其余环境因子与之均呈正相关。而稀有类群富集属则受到土壤pH的显著影响($P<0.05$),且与除Mn之外的所有重金属负相关。全磷和Mn则与介于丰富和稀有类群之间的普通类群富集菌属呈显著正相关关系($P<0.05$),此外,除重金属Cu外,其与其他环境因子均呈正相关。

4 讨论

尾矿的pH值受到选矿工艺、碳酸盐含量和土壤中的其他环境因素的影响^[21]。过渡层和原生层的土壤pH值更接近废弃地深层及当地新排放尾矿的pH(7.5~8.5),氧化层呈现强酸性可能是尾矿中金属硫化物氧化产酸形成了酸性环境^[6]。而随着深度增加,土壤中氧气含量减少^[1],氧化酸化过程放缓,因此位于深层的过渡层和原生层土壤pH值逐渐趋于碱性。土壤总氮、总磷、有效氮、有效磷和有机质的含量通常是指示植物生长和微生物群落形成的重要标志^[13,22]。本研究发现全氮、全磷、有效氮在氧化层中含量最高,这与Yin等^[23]的结果相似。有效磷与全磷不同,没有在最上层富集,这可能是由于金属硫化物氧化产酸显著降低了表层土壤pH值,促使土壤中可溶性磷与铁铝氧化物及其氢氧化物结合,生成难以利用的磷酸盐,并在土壤中逐渐积累^[24]。与前人的许多研究类似^[5,25,26],本研究发现尾矿土壤中重金属Cu、Mn、Pb、Zn和Cd

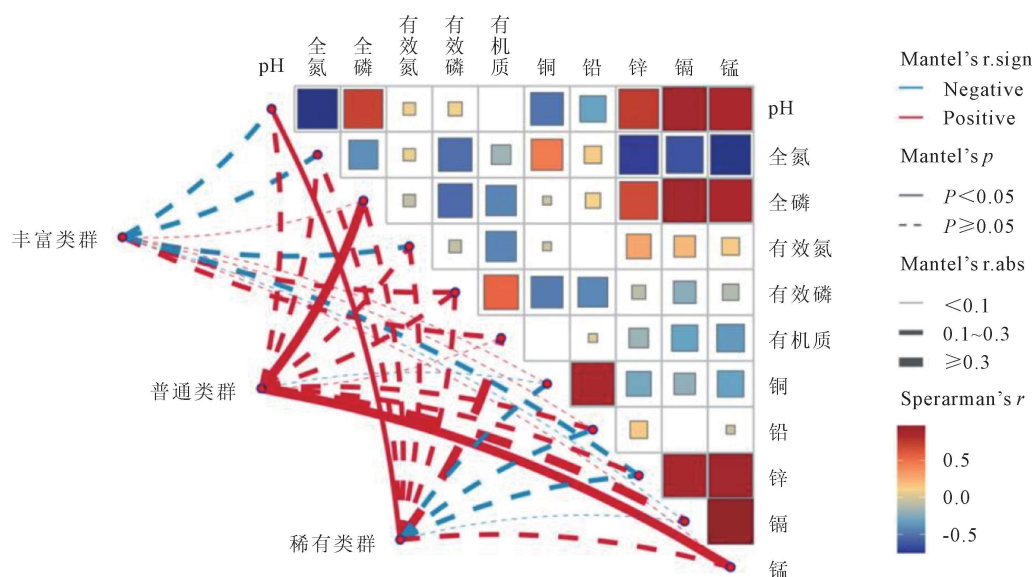


图8 环境因子对属水平上不同类群细菌的影响

Fig.8 Effects of environmental factors on different groups of bacteria at genus level

含量(表1)均远超铜陵市土壤背景值^[19]。尾矿剖面中重金属含量的变化趋势并不统一,主要呈现2种不同变化规律:一类如Cu和Pb在氧化层含量最高,随后含量逐渐降低;另一类如Zn和Mn的含量会随深度递增,并在原生层达到最高值(表1)。Zhang等^[27]的研究指出磷离子通过与土壤中溶解性有机质(DOM)竞争吸附位点促进DOM的淋溶,从而能够提高金属-DOM复合物的含量以协助重金属的迁移,本研究结果佐证了这一观点。同时,以往的研究表明,高pH值有利于土壤中稳定的Pb、Cd重金属形态的形成;低pH值有利于这些重金属碳酸盐的溶解,促进Pb、Cd的释放。Mazurek等^[29]认为,在较低的pH值下,许多重金属(包括Cu、Zn和Pb)会与有机质结合形成固体物质,从而使重金属固定在土壤中。Pérez-Esteban等^[29]指出,通过施用粪肥增加土壤有机质含量,可以降低矿区土壤中重金属(包括Cu、Zn和Cd)的生物有效性,这表明土壤有机质对重金属的有效性具有决定性作用。另外,Laing等^[30]发现,有机物对某些重金属的亲亲和流动性并不相同。因此有研究指出人们能够利用Zn和Pb与有机质的高亲和性来降低二者在土壤中的迁移效率^[31]。

综合分析OTU分布(图2)、细菌的 α 及 β 多样性(图3)和每个分类单元水平(门、属)微生物群落分布(图4)的结果表明3个剖面分层的环境、深度不同,微生物丰富性和多样性及其构成亦有差异。先前的研究表明,在未受干扰的森林中,土壤微生物群的丰富度和多样性沿着土壤深度下降^[32],在本研究中观察到类似的趋势(图3(a))。这可能是由于土壤营养成分可为细菌群落提供能量,从而对细菌丰富度和多样性产生积极影响^[33,34],但在深层土壤中变得不那么

可用。过渡层中的有机质含量与细菌多样性程度均为最高也佐证了这一观点。另一方面,通过分析土壤理化背景值,发现重金属含量越高的土壤,其微生物多样性相对越低,这与已有研究一致^[35]。重金属污染在阻碍尾矿土壤中微生物的生长生存的同时会作为一种推动力,促进微生物改变以适应新环境和特定微生物的产生^[4]。 β 多样性分析进一步证实,过渡层和原生层尾矿会在不同生境下呈现出显著不同的微生物组成特征。NMDS分析结果表明,尾矿中微生物群落分离明显,表明深度和环境因素对微生物群落的聚集起着重要作用。这些结果与先前发现重金属存在长期纵向迁移倾向的研究结果一致^[35,36]。变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidota)是尾矿剖面中相对丰度最高的细菌门(图4(a)),这与其他矿山微生物群落的结果一致^[35,37]。在更深入的分类水平上(图4(b)),还发现了假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、厌氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*)和亚栖热菌属(*Meiothermus*)等作为优势属在尾矿剖面各层中均能正常生长的菌属^[5]。其中,变形菌具备参与固氮和碳循环的能力,因此能够在诸如尾矿之类的极端环境中保持数量优势生存^[36,38];厚壁菌的一类菌属会通过抗性分化等手段对抗重金属的胁迫^[39];作为固碳和糖酵解的重要组成部分的绿弯菌也能够持续繁荣^[40]。这些优势门具有能够耐受重金属的遗传因子和针对不利环境中发展出的抗性生存策略,使它们能够在尾矿中快速生长^[41]。在属水平中,厌氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*) (属于厚壁菌门)对重金属具有抗性并能够参与营养循环^[42]。假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属

(*Acinetobacter*)作为反硝化过程的组成部分,可以驱动氮循环,为氧化提供电子受体并稳定重金属^[43,44]。这些优势类群可以反映土壤质量,代表了尾矿周围普遍存在的适应性微生物群系。有研究指出,土壤微生物群落是土壤理化性质、重金属污染等因素共同作用的结果^[45]。根据热图分析结果(图7),有效氮、全磷、有机质和重金属Mn、Cd是影响尾矿微生物多样性的重要因素。

大多数土壤微生物都进化出了特殊的策略以求得生存^[10]。土壤微生物对环境干扰的反应策略通常取决于它们的遗传因子和生理状态^[11]。因此,不同的分类群和群落特异性差异对于影响微生物组的稳定性和弹性至关重要。通过Mantel test分析(图8)环境因子与富集属的丰富、稀有类群细菌群落的关系,结果显示韦荣氏球菌属(*Veillonella*)、甲基菌属(*Methyloversatilis*)、红微菌属(*Rhodomicrobium*)、柄杆菌属(*Caulobacter*)、酸球菌属(*Acidisoma*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)与硫卵菌属(*Sulfurovum*)、红细菌属(*Rhodobacter*)的相对丰度与pH呈显著正相关($P < 0.05$),而鞘鞍醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、贪铜菌属(*Cupriavidus*)、马赛菌属(*Massilia*)的相对丰度与pH值呈负相关,表明pH值对细菌群落有一定影响,并在一定程度上促进了富集菌属的丰富、稀有类群细菌群落在尾矿分层中的分布(图5)。然而,在斯皮尔曼相关性分析结果中(图7),土壤pH值的贡献低于其他土壤性质,这可能是由于研究区其他土壤因子的变异性较大,从而对这些微生物产生了更为显著的影响。乳杆菌属(*Lactobacillus*)、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、念珠菌固体杆菌属(*Candidatus_Solibacter*)、钩端螺旋菌属(*Leptospirillum*)、金矿菌属(*Candidatus_Desulfuridis*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)的相对丰度与全磷和Mn呈显著正相关($P < 0.05$),许多研究表明,磷与土壤微生物群落组成的变化有关,并能吸附重金属以减轻其对土壤微生物的潜在毒性作用^[46,47]。长期重金属污染下能够促进土壤中抗性微生物的适应并使其丰度增加,微生物结构发生变化,其中的芽孢杆菌属具有重金属抗性机制和孢子形成能力^[48]。Ayangbenro等^[49]研究发现从采矿土壤中分离出的蜡状芽孢杆菌NWUAB 01中含丰富的重金属抗性基因。此外,已证实芽孢杆菌属的许多其他菌株,如蜡状芽孢杆菌VITSH 1^[50]、苏云金芽孢杆菌菌株OSM 29^[51]和环状芽孢杆菌菌株EB 1^[52],具有重金属抗性基因。与之类似,相对丰度与Mn呈显著正相关的微生物中,可以考虑筛选出对该地区重金属污染的修复具有重要意义

5 结论

(1)水木冲铜尾矿库在氧化酸化过程中形成的不同分层间pH值随深度递增,氮、磷元素在表层和底层集中,有机质在中间过渡层中累积。重金属含量呈现出2种变化趋势:含量随深度递减(Cu、Pb)和含量随深度递增(Zn、Mn)。

(2)中间过渡层的细菌多样化程度最高,说明营养元素和重金属含量可能影响了细菌群落多样性。

(3)变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicute)与绿弯菌门(Chloroflexi)因重金属抗性成为尾矿中最丰富的细菌门类。假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)以及厌氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*)在养分循环中发挥重要作用,因此成为尾矿中的优势属。

(4)尾矿氧化层富集的丰富、稀有、普通类群各菌属分布均衡,过渡层中富集了相对更多的丰富和稀有类群菌属,而原生层则集中了稀有和普通类群的菌属。Mantel test分析指出,pH影响着稀有类群细菌的动态变化及其分布,而普通类群更多受到Mn和总磷的驱动。

[参考文献]

- [1] 邓会娟,季根源,易锦俊,等. 中国铜矿资源现状及国家级铜矿床实物地质资料筛选[J]. 中国矿业, 2016,25(2):143-149.
Deng Huijuan, Ji Genyuan, Yi Jinjun, et al. Current status of copper-ore resources in China and screening of national copper-ore geological material data[J]. China Mining Magazine, 2016,25(2):143-149.
- [2] Hayes S M, Root R A, Perdrial N, et al. Surficial weathering of iron sulfide mine tailings under semi-arid climate[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014,141:240-257.
- [3] 李嘉义,孙蔚旻,孙晓旭,等. 尾矿硫氧化微生物的分离鉴定与功能验证[J]. 生态环境学报, 2022,31(4):785-792.
Li Jiayi, Sun Weimin, Sun Xiaoxu, et al. Isolation, identification and functional verification of sulfur-oxidizing microorganisms in mine tailing[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2022,31(4):785-792.
- [4] Wu B H, Luo H Y, Wang X T, et al. Effects of environmental factors on soil bacterial community structure and diversity in different contaminated districts of southwest China mine tailings[J]. Science of the Total Environment, 2022, 802:149899.
- [5] Li S, Wu J L, Huo Y L, et al. Profiling multiple heavy metal contamination and bacterial communities surrounding an iron tailing pond in northwest China[J]. Science of the Total Environment, 2021,752:141827.
- [6] 詹婧. 植被建立下铜尾矿废弃地中金属硫化物氧化特征研

- 究[D]. 合肥:安徽大学, 2014.
- Zhan Jing. Oxidation Characteristics of Metal Sulfides in Wastelands of Copper Mine Tailings Under Different Plant Communities[D]. Hefei: Anhui University, 2014.
- [7] Wang G, Liu X Q, Song L B, et al. Micro-structure and morphology of tailings sand under different oxidation and acidification degree[J]. Scientific Reports, 2023,13(1):981.
- [8] Liu J, He X X, Lin X R, et al. Ecological effects of combined pollution associated with e-waste recycling on the composition and diversity of soil microbial communities[J]. Environmental Science and Technology, 2015,49(11):6438–6447.
- [9] Huang L N, Tang F Z, Song Y S, et al. Biodiversity, abundance, and activity of nitrogen-fixing bacteria during primary succession on a copper mine tailings[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011,78(3):439–450.
- [10] de Vries F T, Griffiths R I, Knight C G, et al. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production [J]. Science, 2020,368(6488):270–274.
- [11] Schimel J, Balser T C, Wallenstein M. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function[J]. Ecology, 2007,88(6):1386–1394.
- [12] Saunders A M, Albertsen M, Vollertsen J, et al. The activated sludge ecosystem contains a core community of abundant organisms[J]. The ISME Journal, 2016,10(1):11–20.
- [13] Rivett D W, Bell T. Abundance determines the functional role of bacterial phylotypes in complex communities[J]. Nature Microbiology, 2018,3(7):767–772.
- [14] Li Y B, Sun X X, Zhang M M, et al. Dominant role of rare bacterial taxa rather than abundant taxa in driving the tailing primary succession[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 462:132807.
- [15] 李杨. 铜尾矿废弃地生态恢复过程中参与铁硫氧化和氮转化的功能微生物研究[D]. 合肥:安徽大学, 2017.
- Li Yang. Research on Iron-/Sulfur- Oxidization and Nitrogen Transformation Functional Microorganisms in the Ecological Restoration Process of a Copper Mine Tailings Wasteland[D]. Hefei: Anhui University, 2017.
- [16] 陈政. 铜尾矿废弃地生态恢复过程中植物群落与基质性质变化研究[D]. 合肥:安徽大学, 2010.
- [17] Zheng L G, Qiu Z, Tang Q, et al. Micromorphology and environmental behavior of oxide deposit layers in sulfide-rich tailings in Tongling, Anhui Province, China[J]. Environmental Pollution, 2019,251:484–492.
- [18] 王小芳, 李方晓, 黄涛, 等. 安徽铜陵铜尾矿硫形态及硫同位素分布特征[J]. 中国环境科学, 2019,39(4):1664–1671.
- Wang Xiaofang, Li Fangxiao, Huang Tao, et al. Distribution characteristics of sulfur species and isotopes in a copper tailing at Tongling, Anhui Province[J]. China Environmental Science, 2019,39(4):1664–1671.
- [19] 邱征, 郑刘根, 夏毅民. 安徽铜陵水木冲尾矿重金属赋存状态及污染特征研究[J]. 岩石矿物学杂志, 2018,37(6):993–1001.
- Qiu Zheng, Zheng Liugen, Xia Yimin. A study of modes of occurrence and pollution characteristics of heavy metals in Shuimuchong tailings of Tongling, Anhui Province[J]. Acta Petrologica et Mineralogica, 2018,37(6):993–1001.
- [20] Jiao S, Lu Y H. Soil pH and temperature regulate assembly processes of abundant and rare bacterial communities in agricultural ecosystems[J]. Environmental Microbiology, 2020,22(3):1052–1065.
- [21] 何明珠, 胡天光, 程斌让, 等. 干旱区尾矿污染环境的植物修复技术研究进展[J]. 中国沙漠, 2014,34(5):1329–1336.
- He Mingzhu, Hu Tianguang, Cheng Binrang, et al. Research progress on phytoremediation to polluted environments by mine tailings in arid regions[J]. Journal of Desert Research, 2014,34(5):1329–1336.
- [22] Abaker W E, Berninger F, Saiz G, et al. Linkages between soil carbon, soil fertility and nitrogen fixation in *Acacia senegal* plantations of varying age in Sudan[J]. PeerJ, 2018,6: e5232.
- [23] Yin Y, Wang X J, Hu Y A, et al. Insights on the assembly processes and drivers of soil microbial communities in different depth layers in an abandoned polymetallic mining district[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,458:132043.
- [24] Huang L B, Li X F, Nguyen T A H. Extremely high phosphate sorption capacity in Cu–Pb–Zn Mine tailings[J]. PLoS One, 2015,10(8):e0135364.
- [25] Midhat L, Ouazzani N, Hejjaj A, et al. Accumulation of heavy metals in metallophytes from three mining sites (Southern Centre Morocco) and evaluation of their phytoremediation potential[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019,169:150–160.
- [26] 焦慧. 两种铜矿废弃地土壤微生物的研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2016.
- [27] Zhang M K, Zhang H M. Co-transport of dissolved organic matter and heavy metals in soils induced by excessive phosphorus applications[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010,22(4):598–606.
- [28] Mazurek R, Kowalska J, Gałsiorek M, et al. Assessment of heavy metals contamination in surface layers of Roztocze National Park forest soils (SE Poland) by indices of pollution [J]. Chemosphere, 2017,168:839–850.
- [29] Pérez-Esteban J, Escolástico C, Ruiz-Fernández J, et al. Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus*[J]. Environmental and Experimental Botany, 2013,88:53–59.
- [30] Laing G D, Rinklebe J, Vandecasteele B, et al. Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(13):3972–3985.

- [31] Waroszewski J, Kabała C, Szopka K. Trace elements in soils of upper zone of spruce forest on Szrenica Mount and the Kowarski Grzbiet range in the Karkonosze Mountains[J]. *Journal of Elementology*, 2012(4/2009):805–814.
- [32] Will C, Thürmer A, Wollherr A, et al. Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010,76(20):6751–6759.
- [33] Seuradge B J, Oelbermann M, Neufeld J D. Depth-dependent influence of different land-use systems on bacterial biogeography[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017,93(2): fiw239.
- [34] Li L, Xu M G, Eyakub Ali M, et al. Factors affecting soil microbial biomass and functional diversity with the application of organic amendments in three contrasting cropland soils during a field experiment[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203812.
- [35] 张堃,徐颖,周媛,等. 砷尾矿污染土壤的细菌群落结构多样性及其相关环境影响因子分析[J]. *生态环境学报*, 2021,30(2):391–399.
- Zhang Kun, Xu Ying, Zhou Yuan, et al. Analysis of microbial community structure and environmental impact factors of arsenic mine tailings[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021,30(2):391–399.
- [36] Kasemodel M C, Sakamoto I K, Varesche M B A, et al. Potentially toxic metal contamination and microbial community analysis in an abandoned Pb and Zn mining waste deposit[J]. *Science of the Total Environment*, 2019,675:367–379.
- [37] 蒋永荣,梁英,张学洪,等. 铅锌矿区不同程度尾矿砂重金属污染土壤的纵向微生物群落结构分析[J]. *生态环境学报*, 2019,28(10):2079–2088.
- Jiang Yongrong, Liang Ying, Zhang Xuehong, et al. Vertical microbial community structure of heavy metal contaminated soils from mine tailings of different degrees in lead-zinc mining areas[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2019,28(10):2079–2088.
- [38] Liu H K, Wang C, Xie Y L, et al. Ecological responses of soil microbial abundance and diversity to cadmium and soil properties in farmland around an enterprise-intensive region [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020,392:122478.
- [39] Fajardo C, Costa G, Nande M, et al. Pb, Cd, and Zn soil contamination: monitoring functional and structural impacts on the microbiome[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019,135:56–64.
- [40] Hug L A, Castelle C J, Wrighton K C, et al. Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the Chloroflexi Phylum and indicate roles in sediment carbon cycling[J]. *Microbiome*, 2013,1(1):22.
- [41] Zhao X Q, Huang J, Lu J, et al. Study on the influence of soil microbial community on the long-term heavy metal pollution of different land use types and depth layers in mine [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 170: 218–226.
- [42] Xiao E Z, Ning Z P, Xiao T F, et al. Variation in rhizosphere microbiota correlates with edaphic factor in an abandoned antimony tailing dump[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 253:141–151.
- [43] Diamond S, Andeer P F, Li Z, et al. Mediterranean grassland soil C–N compound turnover is dependent on rainfall and depth, and is mediated by genomically divergent microorganisms[J]. *Nature Microbiology*, 2019,4(8):1356–1367.
- [44] Kadnikov V V, Mardanov A V, Beletsky A V, et al. Phylogeny and physiology of candidate Phylum BRC1 inferred from the first complete metagenome-assembled genome obtained from deep subsurface aquifer[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2019,42(1):67–76.
- [45] Frossard A, Hartmann M, Frey B. Tolerance of the forest soil microbiome to increasing mercury concentrations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017,105:162–176.
- [46] Huang J S, Hu B, Qi K B, et al. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in a subalpine spruce plantation[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016,72:35–41.
- [47] 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*, 2017,601:57–65.
- [48] Fakhar A, Gul B, Gurmani A R, et al. Heavy metal remediation and resistance mechanism of *Aeromonas*, *Bacillus*, and *Pseudomonas*: a review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2022,52(11):1868–1914.
- [49] Ayangbenro A S, Babalola O O. Genomic analysis of *Bacillus cereus* NWUAB01 and its heavy metal removal from polluted soil[J]. *Scientific Reports*, 2020,10(1):19660.
- [50] Matilda C S, Mannully S T, Viditha R P, et al. Protein profiling of metal-resistant *Bacillus cereus* VITSH1[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019,127(1):121–133.
- [51] Oves M, Khan M S, Zaidi A. Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2013,20(2):121–129.
- [52] Yilmaz E I. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1[J]. *Research in Microbiology*, 2003,154(6):409–415.