

不同重金属胁迫对乡土树种根际土壤微生物多样性的影响

解文惠, 刘旭辉, 陈霖虹, 陆小芳, 罗美东, 覃勇荣*

河池学院化学与生物工程学院, 广西 宜州

Email: *1595677337@qq.com

收稿日期: 2021年3月28日; 录用日期: 2021年4月22日; 发布日期: 2021年4月29日

摘要

为了说明乡土树种为何能耐受重金属等不良环境因子的胁迫, 以及乡土树种根际土壤微生物群落与环境因子的相互关系, 用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS), 分别测定了枫香、银杏、紫玉兰、国槐等乡土树种根际土壤Mn、Pb、Zn、Cu、Cd、As等重金属的含量, 利用Iltmina高通量测序手段, 对乡土树种根际土壤细菌群落进行比较分析。结果表明: ① 枫香、银杏、紫玉兰、国槐对重金属元素Mn、Zn、As、Pb有较强耐性; ② KQ(矿区)组变形菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门、芽单胞菌门的丰度明显高于FKQ(非矿区)组; ③ 矿区乡土树种根际土壤特征微生物为硝化螺菌属与根瘤菌属, 推测二者的作用主要是通过改变土壤中的氮环境, 增强植物固氮循环, 提高植物代谢能力, 从而强化植物对重金属的耐受性。由此可见, 重金属对乡土树种根际土壤微生物多样性和细菌群落结构具有重要的影响, 根际土壤微生物对植物的重金属耐性及吸收能力具有重要的调控作用。

关键词

重金属胁迫, 乡土树种, 重金属耐性, 土壤微生物多样性

Effects of Different Heavy Metal Stresses on Soil Microbial Diversity in Rhizosphere of Native Tree Species

Wenhui Xie, Xuhui Liu, Linhong Chen, Xiaofang Lu, Meidong Luo, Yongrong Qin*

School of Chemistry and Biological Engineering, Hechi University, Yizhou Guangxi

Email: *1595677337@qq.com

Received: Mar. 28th, 2021; accepted: Apr. 22nd, 2021; published: Apr. 29th, 2021

*通讯作者。

文章引用: 解文惠, 刘旭辉, 陈霖虹, 陆小芳, 罗美东, 覃勇荣. 不同重金属胁迫对乡土树种根际土壤微生物多样性的影响[J]. 农业科学, 2021, 11(4): 400-411. DOI: 10.12677/hjas.2021.114056

Abstract

In order to explain why native tree species can tolerate the stress of heavy metals and other adverse environmental factors, and the relationship between the rhizosphere soil microbial community of native tree species and environmental factors, the inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) was used to detect the content of Mn, Pb, Zn, Cu, Cd, As and other heavy metals in the rhizosphere soil of native tree species such as *Liquidambar formosana*, *Ginkgo biloba*, *Yulania liliiflora*, and *Styphnolobium japonicum*. The Illumina high-throughput sequencing method was used to compare and analyze the bacterial communities in the rhizosphere soil of native tree species. The results showed that: 1). *Liquidambar formosana*, *Ginkgo biloba*, *Yulania liliiflora* and *Styphnolobium japonicum* had strong tolerance to heavy metal elements of Mn, Zn, As, Pb; 2). The abundance of *Proteobacteria*, *Chloroflexomycota*, *Nitrospira* and *Blastomonas* in KQ (Mining area) group is significantly higher than that of the FKQ (Non-mining area) group; 3). The characteristic microbes in the rhizosphere soil of the native tree species in the mining area are *Nitrospira* and *Rhizobium*. It is inferred that the role of the two is mainly to change the nitrogen environment in the soil, enhance the nitrogen fixation cycle of plants, and improve plant metabolism capacity, thereby strengthening the plant's tolerance to heavy metals. It can be seen that heavy metals have an important effect on the rhizosphere soil microbial diversity and bacterial community structure of native tree species, and rhizosphere soil microorganisms have an important regulatory role on the plant's heavy metal tolerance and absorption capacity.

Keywords

Heavy Metal Stress, Native Tree Species, Heavy Metal Tolerance, Soil Microbial Diversity

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

近年来,随着我国经济的高速发展及工业化进程的加快,土壤重金属污染的程度也不断加剧。据2014年的《全国土壤污染状况调查公报》报道,受Cd、Pb、Hg、Cr、Zn、Ni、As、Cu等重金属污染的土壤占19.4%,其中,受Cd、As、Pb等重金属污染的耕地面积达 $2 \times 10^5 \text{ km}^2$,约占耕地总面积的1/5[1]。目前,土壤重金属污染治理主要有物理修复、化学修复和生物修复。物理修复成本较高,化学修复易对环境造成二次污染;生物修复操作简单,但占地面积大,修复时间较长,且目前发现的超累积植物(hyperaccumulator)数量不多,生物量小,因而该技术仍未得到大面积的推广应用。目前,对土壤重金属污染修复的研究大多集中在草本植物方面,而对木本植物少有涉及。

河池地处桂西北,矿产资源丰富,其中锌、锡、锑、铟产量在全国占有重要地位,所辖的南丹县是全国最大的锡和锌生产基地,还伴生有大量的镉、银、钨、铅、铜、锑、铟、镓、镉、硒等稀散金属及硫、砷等非金属矿产[2]。本研究从乡土树种对土壤重金属的耐受性、吸收能力及根际土壤微生物多样性角度考虑,利用 Illumina 高通量测序技术,从细菌多样性、群落结构及其与土壤化学性质的相互关系等方面,比较分析矿区与非矿区乡土树种根际土壤细菌对重金属的响应程度,以期在今后的实际运用中,分别发挥植物、微生物修复的优点,构建利用乡土树种根际土壤微生物协同处理矿区或其他重金属异常区

土壤重金属污染的技术方法。

2. 材料与方法

2.1. 样品采集与处理

采样点主要选择在河池市境内的选矿厂、冶炼厂、矿物运输的交通要道等区域。以南丹矿区为中心，尽量选择重金属污染比较严重的区域进行野外调研和样品采集，用 GPS 进行定位。

2019 年 10 月中旬至 2020 年 5 月下旬，先后多次到河池有色金属矿区、冶炼厂及土壤重金属异常区周围进行调研采样。选择长势比较一致的植株，每种乡土树种均采集 3 株以上不同植株的根际土壤样品和叶片样品。为了更好地说明不同重金属胁迫对植物根际土壤微生物多样性的影响，同时采集非矿区相应乡土树种的根际土壤样品和叶片样品作为对照。

土壤样品采集时，按梅花形采样法采集相应植株树冠垂直投影范围内 0~20 cm 的根际土，用四分法取样，一部分土壤样品存于灭菌的塑料自封袋中，低温保存，尽快带回实验室，并放入-86℃超低温冰冻箱中保存，用于土壤微生物 DNA 序列测定及微生物多样性分析；另一部分土壤样品经自然风干、研磨过筛后，密封于塑料封口袋中，供土壤理化性质及重金属含量的测定。

采集叶片样品时，尽量采集不同部位的正常叶片，保持叶片完整，同时做好相应的采样记录。将叶片样品带回实验室后，及时用清水和去离子水洗涤，超声洗净后，置于 105℃的电热鼓风恒温干燥箱中杀青 30 min，再将温度调至 60℃烘干，研磨粉碎，过 100 尼龙筛，装入塑料封口袋中，阴凉干燥处保存，备用。

2.2. 实验方法

2.2.1. 土壤理化性质的测定

水分含量测定用重量法，土壤全氮测定用半微量凯氏法[3]，土壤全磷测定用 NaOH 熔融—钼锑抗比色法[4]，土壤全钾的测定用 NaOH 熔融—火焰光度法[4]。

2.2.2. 重金属含量的测定

土壤样品和叶片样品重金属含量的测定，用湿法消解，电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)进行[5] [6] [7] [8] [9]。

2.2.3. 土壤微生物 DNA 序列的测定

利用 Fast kit DNA 试剂盒提取根际土壤总 DNA，储存于-20℃冰箱中保存备用。扩增 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域，并送至 MiSeq 测序平台测序[10]。其主要流程为：样品制备→核酸质检→PCR 扩增→产物纯化制备→文库质检→MiSeq 上机测序。

2.2.4. 数据处理

每个样品均做 3 个重复，结果取平均值，数据处理分析用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 进行[11]。高通量测序数据使用 QIIME1 Pipeline V1.9.0 处理和分析原始序列[12]。ANCOM, ANOVA, Kruskal Wallis, LEfSe 和 DEseq2 等方法被运用来鉴定分组和样本间丰度有差异的细菌[13]。

Alpha 多样性以及 Beta 多样性的分析主要用 qiime2 diversity 插件完成。Alpha 多样性指数是对某个样品中物种多样性的分析，包含样品中的物种组成的丰富度和均匀度两个因素，通常用 ObservedOTU, Shannon 以及 Faith's Phylogenetic Diversity 等指数来评估某个样本的物种多样性，指数越高，表明样本的多样性越复杂。

β 多样性分析(β diversity)根据样本的 OTU 丰度信息计算 Bray Curtis, Weighted Unifrac 和 Unweighted

Unifrac 距离来评估不同样品间的微生物群落结构差异。

3. 结果与分析

3.1. 不同乡土树种根际土壤的理化分析

不同乡土树种根际土壤基本理化特性的测定结果见表 1。由此可知, 不同乡土树种根际土壤 pH 为 4.93~7.81, 风干土含水量为 1.61%~6.58%, 土壤有机质含量为 $21.47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ~ $98.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮含量为 $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ~ $1.77 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总磷含量为 $0.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ~ $2.71 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总钾含量为 $2.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ~ $4.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 不同采样点之间, 乡土树种根际土壤的理化特性有显著差异。

Table 1. Comparison of basic physical and chemical characteristics of rhizosphere soil of different native tree species
表 1. 不同乡土树种根际土壤基本理化特性的比较

树种	pH	MC/%	SOM/g·kg ⁻¹	TN/g·kg ⁻¹	TP/g·kg ⁻¹	TK/g·kg ⁻¹	备注
LFH1	7.34 ± 0.38 ^A	3.12 ± 0.36 ^E	62.52 ± 1.38 ^C	0.65 ± 0.05 ^C	0.70 ± 0.01 ^D	3.51 ± 0.01 ^E	FKQ
LFH2	7.37 ± 0.04 ^A	6.58 ± 0.48 ^A	62.50 ± 7.30 ^C	0.15 ± 0.01 ^D	0.96 ± 0.01 ^B	2.84 ± 0.00 ^D	KQ
LFH3	7.23 ± 0.02 ^A	4.54 ± 0.01 ^C	74.78 ± 0.03 ^A	1.23 ± 0.13 ^A	0.93 ± 0.00 ^C	2.84 ± 0.00 ^E	KQ
LFH4	6.22 ± 0.04 ^C	3.23 ± 0.05 ^{DE}	62.91 ± 6.90 ^C	0.56 ± 0.02 ^C	0.61 ± 0.00 ^E	3.82 ± 0.03 ^B	KQ
LFH5	5.25 ± 0.03 ^D	3.12 ± 0.01 ^E	63.89 ± 2.30 ^B	0.69 ± 0.04 ^C	0.58 ± 0.01 ^F	3.74 ± 0.05 ^C	KQ
LFH6	5.42 ± 0.02 ^D	3.72 ± 0.18 ^D	63.25 ± 2.30 ^B	1.14 ± 0.03 ^{AB}	2.71 ± 0.00 ^A	3.90 ± 0.01 ^{AB}	KQ
LFH7	6.54 ± 0.03 ^B	5.69 ± 0.07 ^B	61.10 ± 1.16 ^D	0.99 ± 0.06 ^B	0.42 ± 0.00 ^G	3.91 ± 0.06 ^A	KQ
GBL1	7.31 ± 0.54 ^B	2.84 ± 0.04 ^D	60.34 ± 0.01 ^A	0.57 ± 0.02 ^B	0.52 ± 0.00 ^E	3.20 ± 0.01 ^D	FKQ
GBL2	7.13 ± 0.02 ^B	3.03 ± 0.04 ^C	40.11 ± 2.61 ^B	0.82 ± 0.06 ^B	0.82 ± 0.00 ^C	3.88 ± 0.03 ^{AB}	KQ
GBL	5.48 ± 0.02 ^D	4.27 ± 0.08 ^B	61.48 ± 1.33 ^A	0.76 ± 0.31 ^B	2.14 ± 0.00 ^A	3.87 ± 0.00 ^B	KQ
GBL4	4.93 ± 0.01 ^E	4.72 ± 0.03 ^A	59.29 ± 0.71 ^A	1.51 ± 0.14 ^A	1.88 ± 0.00 ^B	3.91 ± 0.00 ^A	KQ
GBL5	6.05 ± 0.02 ^C	1.61 ± 0.02 ^F	36.65 ± 3.31 ^B	0.85 ± 0.03 ^B	0.62 ± 0.00 ^D	3.27 ± 0.01 ^C	FKQ
GBL6	7.81 ± 0.05 ^A	1.78 ± 0.03 ^E	39.06 ± 8.80 ^B	0.94 ± 0.12 ^B	0.61 ± 0.01 ^D	3.11 ± 0.00 ^E	FKQ
YL1	7.03 ± 0.03 ^C	3.49 ± 0.04 ^A	21.47 ± 1.27 ^C	0.70 ± 0.45 ^C	0.57 ± 0.00 ^E	3.50 ± 0.01 ^A	FKQ
YL2	7.28 ± 0.01 ^{BC}	3.33 ± 0.14 ^B	52.69 ± 13.23 ^B	0.81 ± 0.01 ^B	2.23 ± 0.00 ^A	2.42 ± 0.00 ^C	KQ
YL3	7.71 ± 0.04 ^A	2.20 ± 0.03 ^C	51.03 ± 0.63 ^B	0.85 ± 0.03 ^B	0.64 ± 0.00 ^D	3.20 ± 0.01 ^B	KQ
YL4	7.65 ± 0.42 ^{AB}	2.25 ± 0.06 ^C	51.79 ± 1.43 ^B	0.53 ± 0.01 ^D	2.20 ± 0.00 ^B	3.72 ± 0.00 ^A	KQ
YL5	7.55 ± 0.03 ^{AB}	3.19 ± 0.06 ^B	80.25 ± 0.91 ^A	0.98 ± 0.05 ^A	1.06 ± 0.00 ^C	2.63 ± 1.05 ^C	KQ
SJ1	7.74 ± 0.02 ^{AB}	1.62 ± 0.03 ^C	62.15 ± 7.41 ^B	0.88 ± 0.00 ^C	1.10 ± 0.00 ^C	3.80 ± 0.01 ^C	KQ
SJ2	7.54 ± 0.01 ^C	2.23 ± 0.01 ^B	64.70 ± 10.76 ^B	1.05 ± 0.14 ^B	0.33 ± 0.00 ^F	3.79 ± 0.00 ^C	KQ
SJ3	7.09 ± 0.04 ^D	4.96 ± 0.53 ^A	98.00 ± 3.15 ^A	1.18 ± 0.00 ^B	1.25 ± 0.00 ^B	4.00 ± 0.00 ^A	FKQ
SJ4	7.80 ± 0.17 ^A	2.11 ± 0.01 ^B	42.83 ± 0.81 ^C	0.83 ± 0.03 ^C	0.70 ± 0.00 ^E	3.83 ± 0.00 ^B	FKQ
SJ5	7.56 ± 0.06 ^C	5.03 ± 0.00 ^A	98.90 ± 4.48 ^A	1.00 ± 0.79 ^B	0.80 ± 0.01 ^D	3.64 ± 0.00 ^D	KQ
SJ6	7.64 ± 0.04 ^{BC}	5.02 ± 0.04 ^A	59.95 ± 2.10 ^B	1.77 ± 0.29 ^A	1.53 ± 0.00 ^A	3.80 ± 0.01 ^C	KQ

注: ① KQ 和 FKQ 分别为在矿区和非矿区采集的样品; ② LFH、GBL、YL、SJ 分别为枫香、银杏、紫玉兰和国槐, 下同; ③ 表中 MC、SOM、TN、TP、TK 分别指土壤含水量、有机质、全氮、全磷和全钾含量; ④ 同一列中, 不同大写字母表示相同数据的理化特性具有极显著差异, $p < 0.01$ 。

3.2. 不同乡土树种根际土壤及叶片样品的重金属含量

不同乡土树种根际土壤及叶片样品重金属含量的测定结果见表 2。由此可知, 生长在矿区的乡土树种根际土壤中的 Mn、Zn、As、Pb 含量比较高, 其中, LFH-2 中 Mn 含量达 5160.00 mg/kg, LFH-7 中 Zn 含量达 8020 mg/kg, LFH-6 中 As 含量达 5910 mg/kg, Pb 含量达 2760 mg/kg; GBL-2 中 Mn 含量达 2920 mg/kg、Zn 含量达 4260 mg/kg, GBL-4 中 As 含量达 7120 mg/kg, GBL-3 中 Pb 含量达 2630 mg/kg; YL-5 中 Mn 含量达 4504 mg/kg; Zn 含量达 13821.23 mg/kg、As 含量达 9513.90 mg/kg、Pb 含量达 5066.17 mg/kg; SJ-6 中 Mn 含量达 3284 mg/kg; Zn 含量达 16453.35 mg/kg、As 含量达 9184.52 mg/kg、Pb 含量达 4196.127 mg/kg。

与根际土相比, 叶片样品的重金属含量相对较低; 根际土重金属含量较高的乡土树种, 其叶片中的重金属含量也相对较高; 与矿区植物叶片样品相比, 非矿区植物叶片样品的重金属含量相对较低。在不同的乡土植物中, LFH 及 GBL 叶片中 Mn 含量和 Zn 含量高; YL 及 SJ 叶片中 Mn、Zn、As、Pb 含量也比其他金属元素含量高。

Table 2. Comparison of heavy metal content in rhizosphere soil and leaf samples of different native tree species
表 2. 不同乡土树种根际土壤及叶片样品重金属含量的比较

样品 编号	土样重金属含量(mg/kg)						植物叶片重金属含量(mg/kg)						备注
	Mn	Cu	Zn	As	Cd	Pb	Mn	Cu	Zn	As	Cd	Pb	
LFH1	169.00	32.88	240.18	20.35	34.82	29.20	173.94	7.39	24.99	0.07	1.47	1.09	FKQ
LFH2	5160.00	74.00	311.00	33.40	8.73	8.73	952.48	8.20	33.59	0.00	0.00	5.33	KQ
LFH3	4880.00	46.00	164.00	11.80	2.60	2.60	258.86	6.98	33.15	3.22	3.22	2.33	KQ
LFH4	1710.00	20.00	171.00	181.00	1.30	122.00	941.34	8.81	49.47	2.85	0.26	3.28	KQ
LFH5	1600.00	7.00	89.00	30.20	1.25	61.00	930.73	8.21	35.04	1.95	0.50	4.00	KQ
LFH6	2150.00	278.00	6030.00	5910.00	64.60	2760.00	283.96	5.71	140.75	7.03	6.81	28.24	KQ
LFH7	1390.00	241.00	8020.00	4080.00	72.90	1270.00	282.53	6.42	138.35	11.60	4.62	14.00	KQ
GBL1	485.00	23.00	249.00	129.00	1.64	90.00	16.23	5.13	26.56	1.32	0.05	3.02	FKQ
GBL2	2920.00	667.00	4260.00	5390.00	40.40	698.00	15.91	3.65	40.18	4.40	0.31	5.78	KQ
GBL3	830.00	579.00	1590.00	1470.00	16.20	2630.00	13.81	3.52	36.74	6.30	0.24	4.37	KQ
GBL	995.00	479.00	920.00	7120.00	5.58	1810.00	10.53	3.60	47.59	6.54	0.32	1.45	KQ
GBL5	1216.63	52.80	816.03	437.87	5.57	307.67	19.71	2.48	16.91	1.69	0.08	5.12	FKQ
GBL6	1174.56	64.08	987.69	319.58	5.16	349.72	20.77	3.44	15.90	2.32	0.10	5.69	FKQ
YL1	176.36	7.38	85.74	11.33	0.04	70.70	5.86	4.96	22.18	0.41	0.02	3.04	FKQ
YL2	2640.00	243.00	1100.00	8650.00	112.00	3720.00	71.39	6.94	87.05	45.59	0.77	56.21	KQ
YL3	1715.85	151.55	4104.02	1333.34	20.69	1196.74	13.65	5.83	115.95	22.73	0.23	13.33	KQ
YL4	2588.66	319.59	12914.42	7649.64	91.42	3662.35	16.90	7.01	65.80	18.27	0.30	20.25	KQ
YL5	4504.71	276.36	13821.23	9513.90	95.63	5066.17	35.06	6.50	78.19	39.63	0.44	26.24	KQ
SJ1	2760.00	173.00	1740.00	196.00	25.00	2340.00	37.10	5.55	34.23	3.23	0.84	14.51	KQ
SJ2	3220.00	130.00	1080.00	136.00	17.80	1540.00	51.69	2.64	28.86	0.95	0.26	5.58	KQ
SJ3	462.12	23.24	90.96	9.53	1.54	22.23	24.06	3.35	27.82	0.40	0.05	1.63	FKQ
SJ4	650.75	39.05	275.70	236.27	1.85	324.55	52.94	3.72	18.21	1.20	0.08	2.94	FKQ
SJ5	1265.39	271.73	943.73	181.82	414.15	43.16	77.41	6.37	51.83	14.51	3.91	6.16	KQ
SJ6	3284.49	678.37	16453.35	9184.52	142.66	4196.12	91.08	7.44	477.37	25.56	2.54	19.25	KQ

3.3. 土壤细菌测序数据分析

3.3.1. 乡土树种根际土壤细菌 Alpha 多样性指数统计分析

本项目研究的样本共 24 个, 将其分为两组对细菌群落结构进行分析, 其中对照组(FKQ)共 7 个样本, 实验组(KQ)共 17 个样本。高通量焦磷酸测序共产生 619,835 条有效序列, 其中实验组共 17 个样本, 获得 445,538 条有效序列; 对照组 7 个样本, 共获得 174,297 条有效序列。利用独立样本 t 检验(双侧)对所有样本有效序列的物种丰富度指数(species richness)和物种多样性指数(species diversity)进行比较分析, 不同组别样本对于 shannon, chao1 均不会表现出显著性($p > 0.05$), 但明显可看出细菌多样性指数 FKQ > KQ。结果见图 1 和图 2。

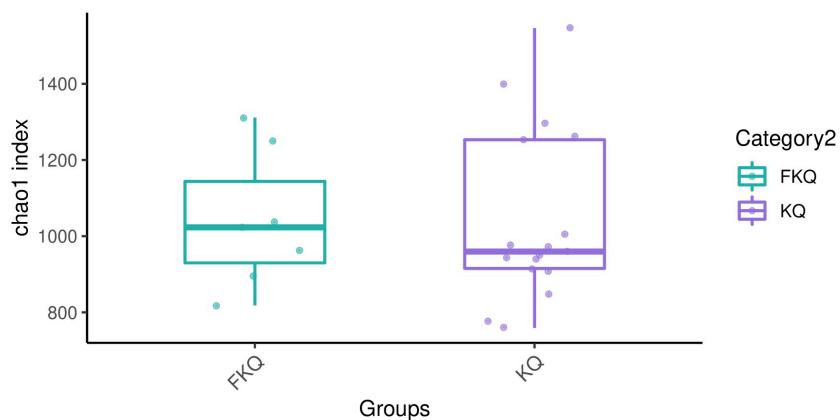


Figure 1. Box plot of Chao1 index

图 1. Chao1 指数的箱型图

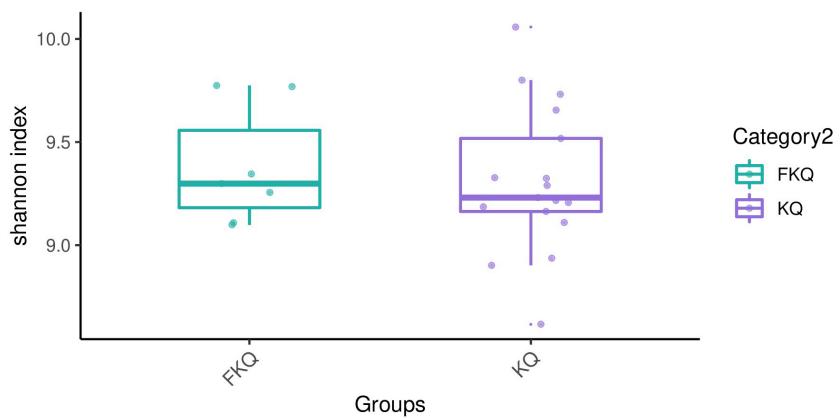


Figure 2. Box plot of Shannon index

图 2. Shannon 指数的箱型图

3.3.2. 乡土树种根际土壤细菌群落结构分析

β 多样性分析(β diversity)是用来比较物种多样性方面存在的差异大小, 本文采用 Unweighted Unifrac 指数衡量 β 多样性, 结果见图 3 ($p < 0.05$)。由此可推断 KQ 与 FKQ 组间菌群结构存在显著差异。利用该指数得到的分析图中两点之间的距离越远, 表示两个样本之间的微生物群落结构相似度越低, 差异越大。除个别样本存在偏差外, 矿区乡土树种实验组(KQ)和非矿区乡土树种对照组(FKQ)的菌群差异基本呈现在相同区域。

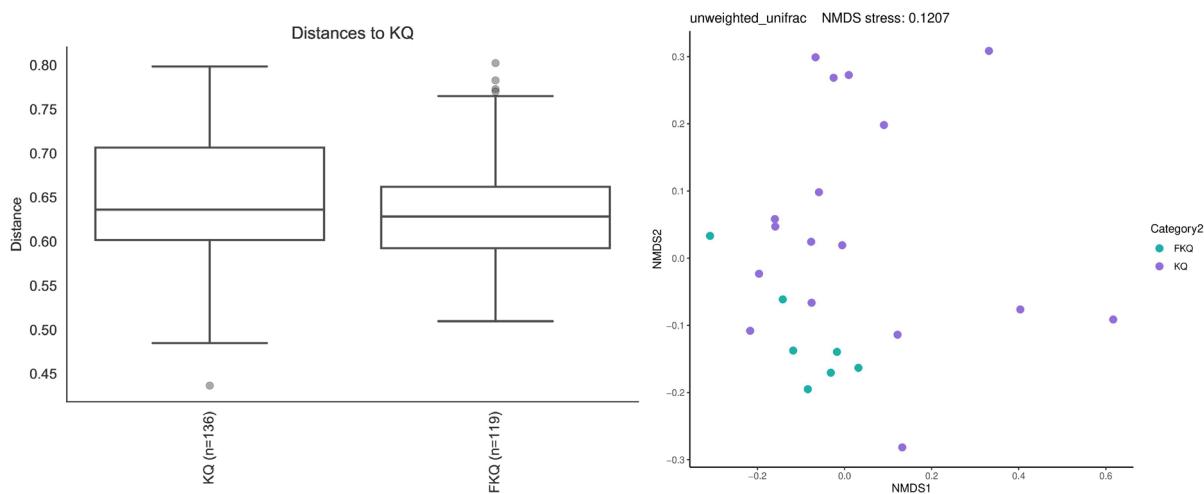


Figure 3. Analysis of soil microbial β diversity
图3. 土壤微生物 β 多样性分析

3.3.3. 土壤细菌群落在门水平上的相对丰度

采用 16SrRNA 测序技术对矿区与非矿区乡土树种根际土壤样品细菌门水平多样性分析, 结果见图 4, 由此可知, FKQ 组中的优势菌门为变形菌门(26.95%)、放线菌门(29.21%)、酸杆菌门(18.17%)、绿弯菌门(9.93%)等, KQ 组中的优势菌门为变形菌门(30.37%)、放线菌门(20.23%)、酸杆菌门(17.32%)、绿弯菌门(14.38%)、硝化螺旋菌门(4.51%)、芽单胞菌门(3.86%), 其中, KQ 组变形菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门、芽单胞菌门的丰度明显高于 FKQ 组。

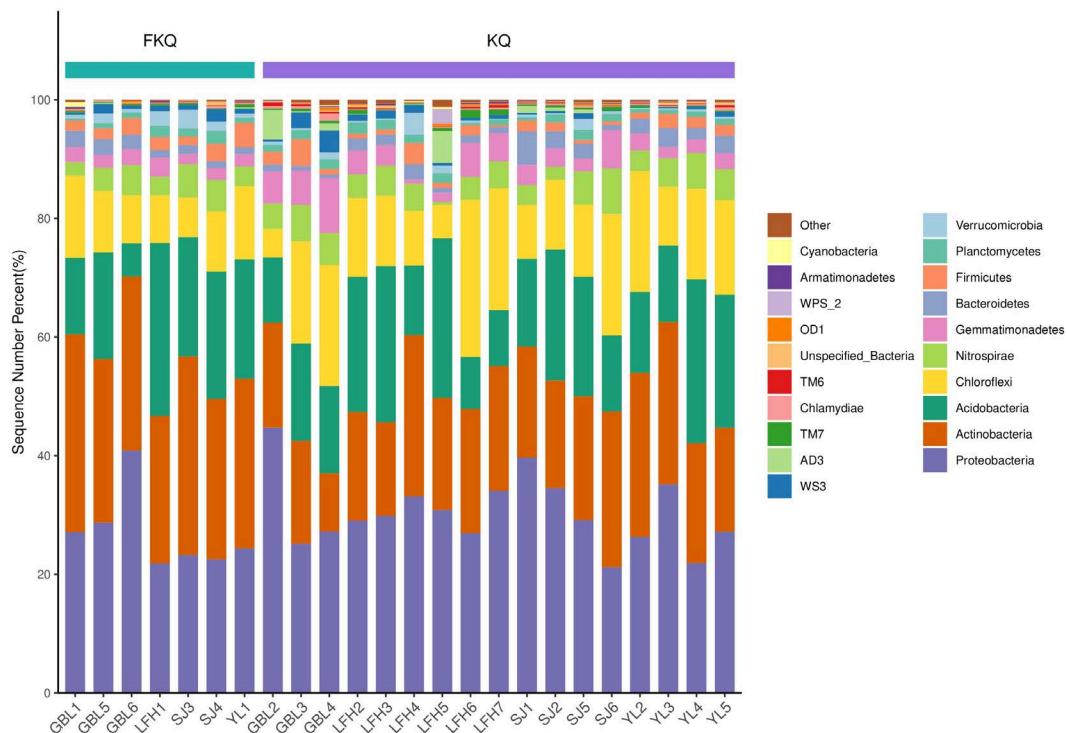


Figure 4. Column chart of the relative distribution of soil bacterial communities at the phylum level
图4. 土壤细菌群落在门水平上的相对分布情况柱形图

3.3.4. 土壤细菌群落在属水平的相对丰度

采用 16SrRNA 测序技术对矿区与非矿区乡土树种根际土壤样品细菌属水平多样性分析, 结果见图 5。从属的相对丰度来看, KQ 组种的优势菌为红游动菌属(4.66%)、芽孢杆菌属(1.5%)、节细菌属(1.85%)、分枝杆菌属(1.01%); FKQ 组种的优势菌为红游动菌属(3.99%)及一些未指明的菌属等。从属水平来看, KQ 乡土树种根际特征微生物为根瘤菌属、硝化螺菌属, 其相对丰度在对应分组中较高; FKQ 乡土树种根际特征微生物为褐螺菌属、芽孢杆菌属、小月菌属, 其相对丰度在对应分组中较高。具体情况见图 6。

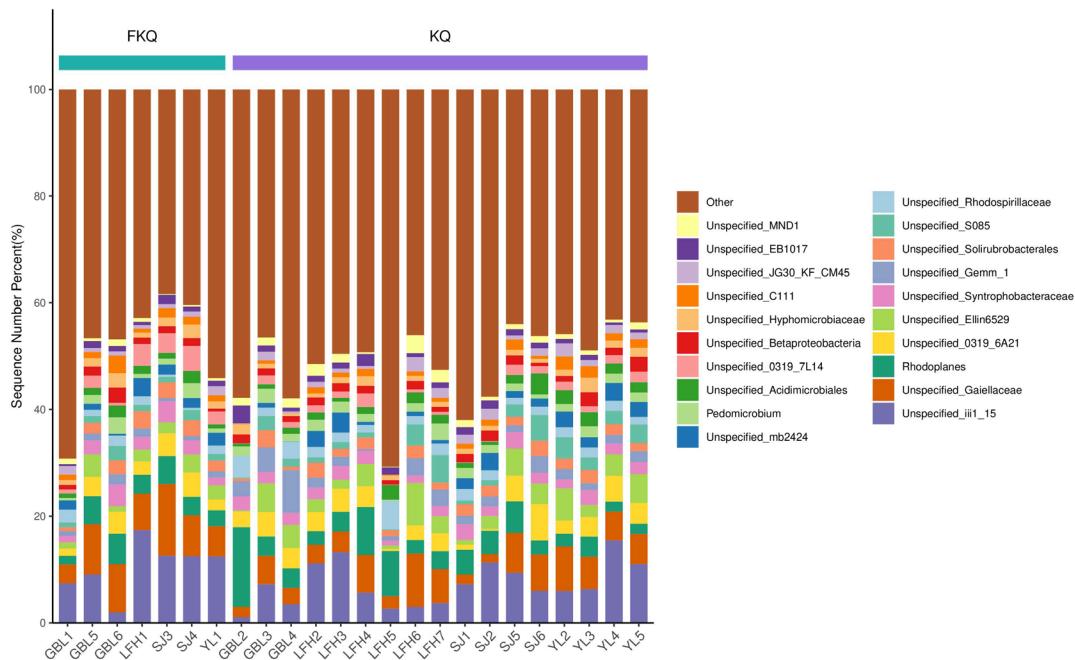


Figure 5. Column chart of the relative distribution of soil bacterial communities at the genus level
图 5. 土壤细菌群落在属水平上的相对分布情况柱形图

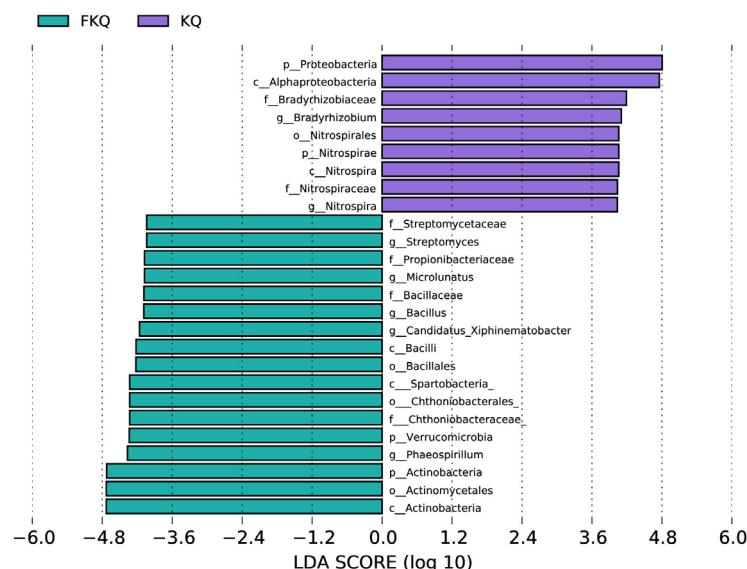
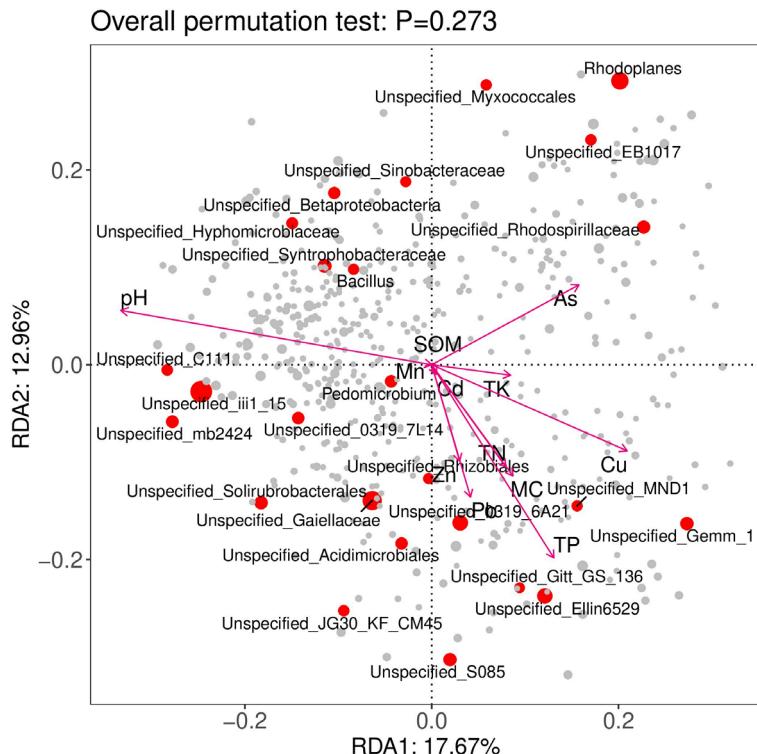


Figure 6. LDA bar graph of LEfSe analysis
图 6. LEfSe 分析 LDA 柱形图

3.3.5. 微生物种群与环境因素相关性分析

基于 RDA 分析的结果表明, 在所有被测化学性质中, pH 和 TP 与细菌群落分布和种群分布间的相关性最大(P 值分别为 0.0005 和 0.0035); 从重金属含量分析, As、Cu、Pb 与细菌群落分布和种群分布间也有明显的相关性, 其 P 值分别为 0.0425、0.0035、0.0440。具体情况见图 7。



注: 在 CCA/RDA 物种排序图内, 环境因子用箭头表示, 箭头连线的长度代表某个环境因子与群落分布和种类分布间相关程度的大小(解释方差的大小), 箭头越长, 说明相关性越大, 反之越小。

Figure 7. Correlation between different environmental factors and the genera of soil bacteria

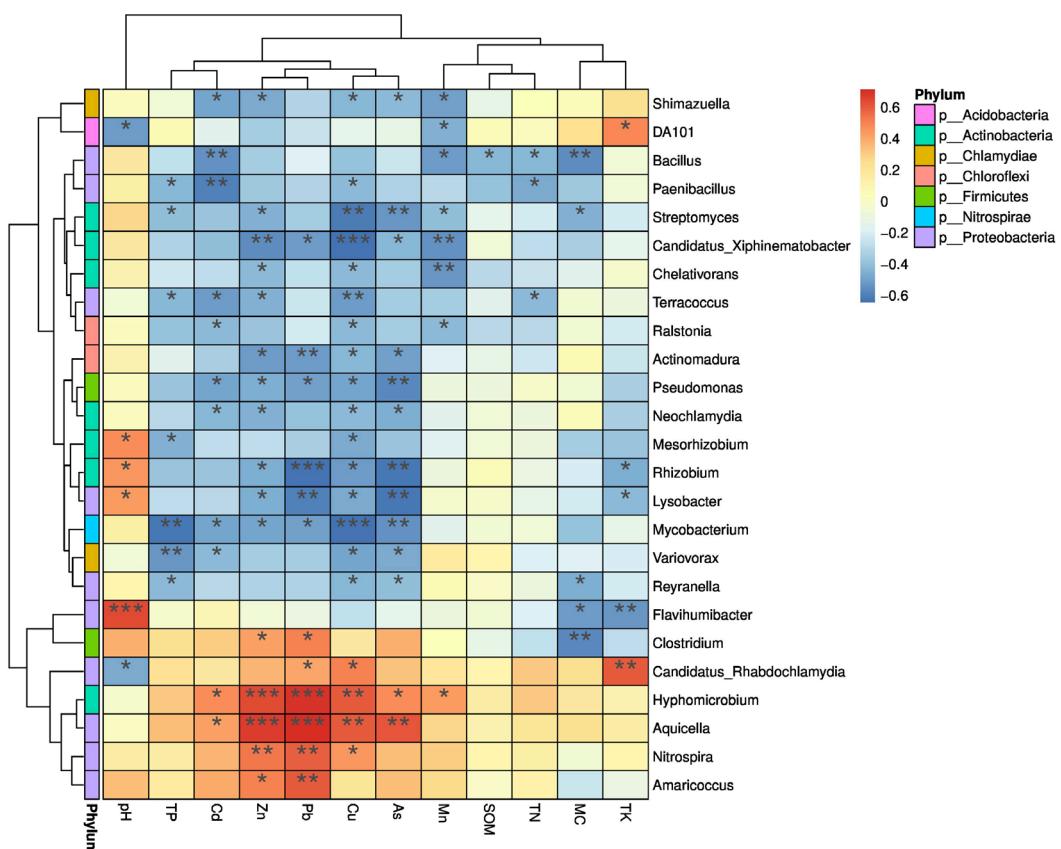
图 7. 不同环境因子与土壤细菌属水平的相关性

其中, 生丝微菌属与 Zn、Cu、Pb 具有极显著的正相关, 与 Mn 和 As 具有显著正相关性; 硝化螺菌属和芽孢梭菌属与 Zn、Pb 具有极显著正相关性, 具体情况见图 8。

4. 讨论

4.1. 重金属对根际土壤细菌多样性的影响

随着矿物开采、金属冶炼加工、化工生产、化肥农药施用等人类活动强度的不断增加, 重金属污染已成为当今人类社会面临的突出问题。土壤是一个复杂的体系, 其容纳量有限, 随着有毒有害物质的积累, 最终必定会导致土壤环境的恶化。土壤微生物是土壤的重要组成部分, 其活性和群落结构变化是衡量土壤质量的重要指标[14]。相关研究结果表明, 土壤微生物群落的变化, 可以敏感地反映土壤重金属污染的状况[15]。本研究结果表明, 从细菌 Alpha-多样性 Chao 指数和 Shanno 指数来看, FKQ 均大于 KQ。一些研究者发现, 土壤受到重金属污染后, 在一定时间内, 微生物多样性呈下降趋势, 但这种影响因土壤类型、重金属污染剂量和污染周期长短而异[16] [17] [18], 本研究所得的结果与之相似。



注: X 轴上为环境因子, Y 轴为物种。通过计算获得 R 值(秩相关)和 P 值。R 值在图中以不同颜色展示, P 值若小于 0.05 则用*号标出, 右侧图例是不同 R 值的颜色区间, 同时, 左边的色条标注了物种所属门分类。* $0.01 \leq P < 0.05$, ** $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Figure 8. Heat map of the correlation between microbial species and phenotype at the genus level
图 8. 属水平微生物物种与表型之间的相互关系热图

4.2. 重金属对根际土壤细菌群落结构的影响

实验结果表明, 土壤重金属背景不同, 即 KQ 与 FKQ 对乡土树种根际细菌群落结构(Beta-多样性)有显著影响。基于 PCoA 结果发现, KQ 与 FKQ 细菌群落沿 Axis.1 轴出现显著分离, 说明 KQ 与 FKQ 根际土壤细菌群落结构的差异明显。

通过对实验结果的比较分析可知, 在门水平上, 在 KQ 组与 FKQ 组中, 根际细菌群落变形菌门、放线菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门、芽单胞菌门为优势菌门, 这与赵立君[19]等人的相关研究结果一致; 在属水平上, KQ 组乡土树种根际特征微生物为根瘤菌属、硝化螺菌属, 说明这两种特征菌属对重金属有较强的耐受性, 由此推测, 生活在矿区的乡土树种, 之所以能够很好地适应矿区重金属污染的环境, 并且生长良好, 可能与其根际特征微生物密切相关。硝化螺菌属于硝化细菌, 硝化细菌是完成氮循环的关键细菌[20], 它能将土壤中的氨或铵盐转变为硝酸盐, 增加植物可利用的氮素; 根瘤菌属是一类固氮细菌, 可通过改变土壤中的氮环境来提高植物的氮循环, 增加植物的抗逆性, 从而对重金属矿区和工业废弃地的土壤污染起到修复作用, 这与黄兴如[21]及张洁[22]等人的研究结果一致。

4.3. 根际细菌群落与土壤环境的相互关系

利用 RDA 分析细菌群落时发现, 土壤理化性质中的 pH 和 TP 对细菌群落分布的有较大的影响; As、

Cu、Zn、Pb 等重金属元素对乡土树种根际土壤微生物具有较大影响，其中，硝化螺菌属和芽孢梭菌属与 Zn、Pb 具有极显著的正相关，这与王梦姣^[23]等人的研究结果相似。

5. 结论

通过以上实验数据及分析讨论，可以初步得到以下结论：

- 1) 根际土壤微生物对植物吸收重金属具有重要的调控作用。
- 2) 乡土树种枫香、银杏、紫玉兰、国槐对重金属元素 Mn、Zn、As、Pb 有较强耐性，之所以能在重金属含量较高的土壤环境中正常生长，与其根际土壤细菌群落结构多样性密切相关。
- 3) 重金属对不同乡土树种根际土壤细菌群落具有较大的影响，其中，KQ 组变形菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门、芽单胞菌门的丰度明显高于 FKQ 组；在属水平上，矿区乡土树种(KQ 组)根际土壤特征微生物为硝化螺菌属与根瘤菌属，可能通过改变土壤中的氮环境，增强植物的固氮作用和氮循环，提高植物代谢能力，从而强化植物对重金属的耐性。

基金项目

广西高校重点实验室项目(桂教科研〔2010〕6号)，河池学院硕士专业学位建设基金课题(2016HJA007)，河池学院高层次人才科研启动费项目(XJ2018GKQ016)，河池学院重点实验室项目(校政发〔2016〕91号)，广西高校大学生创新创业计划训练项目(202010605014)。

参考文献

- [1] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[J]. 中国环保产业, 2014, 36(5): 10-11.
- [2] 叶绪孙, 潘其云. 广西南丹大厂锡多金属矿田发现史[J]. 广西地质, 1994, 7(1): 85-94.
- [3] 刘燕. 《土壤质量全氮的测定凯氏法》的方法改进[J]. 化工管理, 2020(14): 45-46.
- [4] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 31-34, 42-46, 56-58, 76-78, 81-83, 101-103, 106-107.
- [5] 李旭, 韦靖, 欧杨丽桃, 赵丽, 谢佳, 魏得良. 不同有色金属矿区的三种植物中五种重金属元素含量的测定[J]. 福建分析测试, 2015, 24(5): 18-22.
- [6] 江锦花, 柯世省. 海洋沉积物中重金属含量测定样品前处理方法研究[J]. 齐鲁渔业, 2005, 22(6): 17-19.
- [7] 王初丹, 罗盛旭. 硝酸-氢氟酸消解 ICP-MS 测定海洋沉积物中多种金属元素[J]. 桂林理工大学学报, 2016, 36(2): 337-340.
- [8] 王彦美, 张欣, 陈道华, 郑凯清. 微波消解 ICP-MS 快速测定沉积物中 Co、Ni、Cu、Zn、Pb[J]. 现代仪器, 2010, 16(6): 37-39+36.
- [9] 易磊, 张增强, 沈锋, 刘浩. 浸提条件和浸提剂类型对土壤重金属浸提效率的影响[J]. 西北农业学报, 2012, 21(1): 156-160.
- [10] Jiang, Y., Song, H., Lei, Y., Korpelainen, H. and Li, C. (2019). Distinct Co-Occurrence Patterns and Driving Forces of Rare and Abundant Bacterial Subcommunities Following a Glacial Retreat in the Eastern Tibetan Plateau. *Biology and Fertility of Soils*, **55**, 351-364. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01355-w>
- [11] 杨瑞卿. 不同配方土对上海市 4 种行道树叶片净光合速率和蒸腾速率的影响及矢量关系分析[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(1): 52-59.
- [12] Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J. and Holmes, S.P. (2016). DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data. *Nature Methods*, **13**, 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- [13] Love, M.I., Huber, W. and Anders, S. (2014). Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2. *Genome Biology*, **15**, Article No. 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- [14] 闫华, 欧阳明, 张旭辉, 应多, 赵熙君, 张玉娇, 等. 不同程度重金属污染对稻田土壤真菌群落结构的影响[J]. 土壤, 2018, 50(3): 513-521.
- [15] 孙斌, 魏志敏, 张力浩, 代子雯, 方成, 胡峰, 等. 地质高背景土壤重金属赋存特征及微生物群落结构差异

- [J/OL]. 土壤学报: 1-12[2020-07-28].
- [16] 石琪晗, 马玲, 石奥情, 李其斌, 曾雅君, 马启彬, 等. 废弃矿区大豆根际土壤细菌群落对施肥方式的响应[J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(2): 55-65.
- [17] 丁传雨, 郑远, 任学敏, 陈兆进. 能源植物修复土壤镉污染过程中细菌群落分析[J]. 环境科学学报, 2016, 36(8): 3009-3016.
- [18] 蔡萍萍, 宁卓, 何泽, 张敏, 石建省. 采油井场土壤微生物群落结构分布[J]. 环境科学, 2018, 39(7): 3329-3338.
- [19] 赵立君, 任伟, 郑毅, 赵蓉, 王妍, 李佳璇, 等. 砷污染湿地生境下土壤微生物多样性及群落结构特征[J]. 环境科学研究, 2019, 32(1): 150-158.
- [20] 季民, 翟洪艳, 欧阳帆. 重金属 Cu 对硝化菌菌群及其功能基因转录水平的影响[C]//中国化学会应用化学学科委员会水处理化学理事会. 第十三届全国水处理化学大会暨海峡两岸水处理化学研讨会摘要集-S2 生物法. 2016: 179.
- [21] 黄兴如, 张彩文, 张晓霞. 根瘤菌在污染土壤修复中的地位和作用[J]. 中国土壤与肥料, 2016(5): 5-10.
- [22] 张洁, 张榕, 李智燕, 谭立伟, 温洪, 冯今, 等. 根瘤菌在污染土壤修复中的作用探讨[J]. 甘肃畜牧兽医, 2020, 50(6): 10+13.
- [23] 王梦姣, 杨国鹏, 乔帅, 邓百万, 陈文强. 植物-根际微生物协同修复有机物污染土壤的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 5-8.