

腐植酸淋洗对重金属污染土壤微生物群落结构影响研究

方明智, 唐思琪, 孙煜璨, 陈坦, 张冰, 刘翼飞, 杨婷

引用本文:

方明智, 唐思琪, 孙煜璨, 陈坦, 张冰, 刘翼飞, 杨婷. 腐植酸淋洗对重金属污染土壤微生物群落结构影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1061–1070.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1135>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响

兰玉书, 袁林, 杨刚, 程蓉, 石楷岐, 高本汗

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2743–2751 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0637>

不同钝化机制矿物对土壤重金属的钝化效果及微生物响应

任露陆, 蔡宗平, 王固宁, 叶志钧, 张艳林, 曹美苑

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1470–1480 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1436>

有机肥中重金属对菜田土壤微生物群落代谢的影响

林辉, 孙万春, 王飞, 王斌, 翁颖, 马军伟, 符建荣

农业环境科学学报. 2016, 35(11): 2123–2130 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0674>

生物炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响

邵佳, 赵远来, 冯琰玉, 潘洋, 于金珠, 秦华, 陈俊辉

农业环境科学学报. 2022, 41(1): 66–74 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0478>

土壤灭菌方式对不同深度土壤养分和微生物群落结构的影响

陶禹, 李雪峰, 张竹青, 张清壮, 李鑫

农业环境科学学报. 2022, 41(3): 575–584 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0641>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

方明智, 唐思琪, 孙煜臻, 等. 腐植酸淋洗对重金属污染土壤微生物群落结构影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1061–1070.

FANG M Z, TANG S Q, SUN Y C, et al. Effects of humic acid washing on the microbial community composition in heavy metal-contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(5): 1061–1070.

腐植酸淋洗对重金属污染土壤微生物群落结构影响研究

方明智¹, 唐思琪¹, 孙煜臻¹, 陈坦¹, 张冰¹, 刘翼飞², 杨婷^{1*}

(1. 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081; 2. 生态环境部土壤与农业农村生态环境监管技术中心, 北京 100012)

摘要:为阐明腐植酸淋洗残留对土壤重金属形态分布、土壤理化性质与微生物群落结构变化的影响,本研究基于室内土壤淋洗实验与高通量测序技术,研究了腐植酸淋洗前后土壤重金属形态、pH、氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和土壤有机碳(SOC)含量变化特征,揭示了土壤微生物群落结构组成和多样性的变化规律与主要环境影响因素。结果表明,腐植酸淋洗可去除土壤中的Cd和Zn,对Pb的去除效果较差。淋洗后土壤中的Cd和Zn被活化,可迁移性提高;Pb的可氧化态和残渣态比例升高,可迁移性降低。在土壤微生物群落结构变化方面,淋洗后30 d内细菌群落丰富度先降低后升高,群落多样性提高。淋洗后Chloroflexi、Acidobacteria、Gemmatimonadetes、Fibrobacteres、Armatimonadetes等菌群的相对丰度增加,Actinobacteria、Firmicutes等菌群的相对丰度降低。腐植酸淋洗后土壤微生物的相互作用和网络复杂性提高;土壤微生物将会更高效地进行物质传输和利用,同时抵御环境扰动的能力也更强。腐植酸淋洗改变了土壤理化性质,驱动微生物群落结构改变的主要环境因子是酸提取态Pb、Zn含量和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量。腐植酸可以有效淋洗出Cd和Zn,但会活化土壤中残留的Cd和Zn,降低微生物群落多样性;后期培养过程中腐植酸残留可以钝化重金属,并提高微生物群落多样性、改善微生物群落结构。因此,腐植酸淋洗剂具有良好的土壤重金属去除和微生物群落结构改善能力,是一种高效且环境友好的土壤淋洗剂。此外,本研究还可对评价淋洗后土壤的微生态响应提供科学指导。

关键词: 重金属; 土壤淋洗; 腐植酸; 环境因子; 微生物群落结构

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2023)05-1061-10 doi:10.11654/jaes.2022-1135

Effects of humic acid washing on the microbial community composition in heavy metal-contaminated soil

FANG Mingzhi¹, TANG Siqi¹, SUN Yucan¹, CHEN Tan¹, ZHANG Bing¹, LIU Yifei², YANG Ting^{1*}

(1. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China; 2. Technical Centre for Soil, Agriculture and Rural Ecology and Environment, Ministry of Ecology and Environment, Beijing 100012, China)

Abstract: The aim of this study is to elucidate the characteristics of heavy metal speciation, soil physicochemical properties, and microbial community structure changes mediated by humic acid residues after soil washing. Based on soil washing laboratory experiments and high-throughput sequencing technology, pH, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and soil organic carbon(SOC) content before and after humic acid washing, further changes in soil microbial community structure and diversity, and the main environmental influencing factors were determined. The results showed that the humic acid washing process could remove Cd and Zn from the soil; however, this process was less effective in removing Pb. The mobility of Cd and Zn in the soil increased, indicating that the two metals were activated after washing. The oxidation and residual fraction of Pb increased, thus the mobility decreased. As for the soil microbial community structure, the bacterial community richness first decreased and then increased, while the community diversity increased within 30 days after washing. The relative abundance of Chloroflexi,

收稿日期: 2022-11-08 录用日期: 2022-12-21

作者简介: 方明智(1999—),男,安徽六安人,硕士研究生,从事土壤重金属钝化研究。E-mail: fangmingzhi2022@126.com

*通信作者: 杨婷 E-mail: ty672@muc.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(42007128); 中央高校基本科研业务费专项资金(2022QNYL27, 2021JCXK01); 华能集团总部科技项目基础能源科技研究专项(HNKJ20-H50)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (42007128); Fundamental Research Funds for the Central Universities (2022QNYL27, 2021JCXK01); Research Fund of Tsinghua University-China Huaneng Group Co. Ltd. Joint Institute for Base Energy (HNKJ20-H50)

Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Fibrobacteres, and Armatimonadetes increased, while that of Actinobacteria and Firmicutes decreased after washing. The interactions and network complexity of microbial communities in the soil were enhanced after humic acid washing. Soil microorganisms would utilize materials more efficiently and be more resistant to environmental disturbances after soil washing. The change of microbial community structure was mainly driven by NH_4^+-N content and changing the acid-soluble fraction of Pb and Zn. Humic acid could remove Cd and Zn from soil effectively; however, activating Cd and Zn and reduced microbial community diversity in soil; The residue of humic acid in soil could immobilize heavy metals, increase microbial community diversity, and improve microbial community structure during incubation. Therefore, humic acid is an efficient and environmentally friendly washing agent, which can remove heavy metals effectively and improve soil microbial community structure. Furthermore, this study can provide scientific guidance for evaluating the microecological response of soil after washing.

Keywords: heavy metal; soil washing; humic acid; environmental factor; microbial community and structure

随着工业化和城市化进程加快,我国土壤重金属污染形式日益严峻并引发广泛关注^[1]。2014年《全国土壤污染状况调查公报》指出,我国土壤总超标率为16.1%,重金属是引发土壤污染的典型污染物^[2]。土壤中的重金属不能生物降解,可对土壤理化性质和微生物群落结构产生危害,还可以进入食物链并最终在人体中积累,对人类健康和环境构成巨大威胁^[3-4]。

常用的土壤重金属修复技术主要包括土壤淋洗、化学钝化、植物修复和微生物修复等,其中土壤淋洗被认为是最有效、快速且经济的技术之一^[5]。土壤淋洗可通过溶解、络合、离子交换等作用,将土壤中的重金属污染物转移到淋洗液中,从而降低土壤中重金属污染物含量^[6]。常用的淋洗剂主要有以下类型:无机酸(如盐酸、硫酸、硝酸等);合成有机螯合剂(如EDTA、DTPA、EDDS等);天然螯合剂(如腐植酸、柠檬酸、酒石酸等)^[7]。无机酸和合成有机螯合剂具有较高的金属去除效率,但无机酸会酸化土壤,改变土壤结构,降低土壤肥力和微生物活性;合成有机螯合剂具有较低的生物降解性,可能对地下水质量和土壤微生物健康产生不利影响^[8]。因此,使用环境友好型且淋洗效率高的淋洗剂对淋洗技术的工程实践具有重要意义。

腐植酸是一种天然有机大分子,其富含多种活性官能团,如羧基、酚羟基、羰基和酮基等,可以通过络合、离子交换、氧化还原及静电作用等与重金属发生相互作用^[9]。多位研究者已将腐植酸作为天然螯合剂用于重金属污染土壤淋洗并取得了良好的淋洗效果,如Yang等^[10]发现人工合成腐植酸可以将土壤中的Cu、Zn、Ni和Pb分别去除45.2%、34.6%、42.2%和15.6%;Meng等^[11]用腐殖质淋洗土壤后降低了36.8%的Cd浓度。此外,腐植酸作为土壤有机质的主要组成物质,其作为淋洗剂施用被认为不会引入二次污染,因此,腐植酸被认为是一种环境友好型土壤淋洗

剂^[12]。

土壤微生物在陆地生态系统中的几乎所有生物地球化学循环过程中都发挥着关键作用^[13],其群落数量、结构和多样性易受到环境因素影响,被认为是衡量土壤环境质量与生态功能的重要指标。土壤淋洗技术虽然可以去除部分重金属,但是可能会带来重金属的活化、养分的流失、淋洗剂的残留等一系列问题,进而可能影响土壤的微生物群落结构^[14]。但是目前针对淋洗技术的研究主要侧重淋洗效果、重金属形态变化与其对土壤理化性质的影响,针对淋洗后土壤微生物群落结构变化及其对环境因子的响应机制研究较少,无法在微观尺度评价淋洗技术的环境效应^[15-16]。基于此,本文研究了腐植酸淋洗Cd、Pb、Zn复合污染土壤后重金属的形态和活性变化,探究了淋洗对土壤微生物群落多样性和组成结构的影响,阐明了微生物群落的变化对土壤环境因子的响应机制,期为化学淋洗修复重金属污染土壤的生态安全性评价提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与试剂

供试土壤取自石嘴山市某农田的表层(0~20 cm)土壤,经自然风干后过2 mm筛保存备用。该土壤基本性质如下:pH为 8.54 ± 0.02 ,土壤有机碳(SOC)含量为 $6.10\% \pm 0.29\%$,土壤氨氮(NH_4^+-N)含量为 $5.69 \pm 0.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总Cd含量为 $6.71 \pm 0.26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总Pb含量为 $265.44 \pm 4.77 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总Zn含量为 $856.81 \pm 5.49 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。依据《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018),供试土壤中Cd含量是风险筛选值的11.18倍,Zn含量是风险筛选值的2.86倍,Pb含量是风险筛选值的1.56倍。

实验所用腐植酸购自广东翁江化学试剂有限公司(该腐植酸为煤基腐植酸,纯度为98%,C、H、N、O

含量分别为 $37.13\% \pm 0.47\%$ 、 $2.40\% \pm 0.04\%$ 、 $1.07\% \pm 0.01\%$ 、 $59.40\% \pm 0.52\%$),其余试剂购自上海麦克林生化科技股份有限公司,均为分析纯。

1.2 土壤淋洗与培养

基于课题组前期研究,淋洗条件设置为液固比为40:1,淋洗剂浓度为 $1\ 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,腐植酸用 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH充分溶解后将其pH调节为9,淋洗温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,淋洗时间为 $6\text{ h}^{[10]}$ 。淋洗结束后,将离心后土壤放入恒温振荡培养箱($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)中培养,培养时间为30 d,期间每3 d向土壤中添加适量高纯水,使土壤含水率保持在田间持水量的70%左右(土壤田间持水量为 $16.7\% \pm 1.7\%$)。对照组土壤为不进行淋洗操作的原始土壤。在淋洗结束当天、培养期第3、7、15、30天采集土壤鲜样进行DNA提取用于微生物群落结构信息分析,其余土壤自然风干并通过 2 mm 筛用于测定重金属形态与土壤理化性质。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 土壤重金属形态与基本理化性质

采用改进BCR连续提取法提取对照组,土壤淋洗当天及其淋洗后第3、7、15、30天测定土壤重金属不同形态含量。提取顺序为酸提取态(F1)、可还原态(F2)、可氧化态(F3)与残渣态(F4)^[17],各形态重金属含量采用ICP-OES(Prodigy7, LeemanLabs, 美国)测定;土壤pH依据HJ 962—2018测定;SOC依据HJ 615—2011测定;土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量依据HJ 634—2012测定。根据土壤淋洗后时间不同,分别记为淋洗后当天(AW 0),淋洗后3 d(AW3),淋洗后7 d(AW7),淋洗后15 d(AW15),淋洗后30 d(AW30)。

1.3.2 样品16S rRNA基因高通量测序

提取原始土壤和淋洗后第3、7、15、30天的土壤微生物DNA,扩增区为16S rRNA基因的V4区。PCR扩增使用的前引物为515F($5'\text{-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3'}$),反向引物为806R($5'\text{-GGACTACH-VGGGTWTCTAAT-3'}$)。完成PCR扩增后,对PCR产物进行凝胶纯化,纯化后的产物通过Illumina MiSeq平台完成16S rRNA基因测序。通过Galaxy平台对获得测序的原始数据完成数据的预处理。

1.4 数据分析

采用SPSS 26进行单因素方差(ANOVA)分析,比较各处理间的显著性差异。群落组成和聚类分析、主坐标分析(PCoA)通过R语言“vegan”包实现。共现网络分析基于Pearson相关性分析(设置阈值 $R>0.6$, $P<0.05$),通过R语言“igraph”包,构建连接矩阵,并得到

网络节点、边数据和部分拓扑参数,将“igraph”包得到的graphml格式文件导入Gephi 0.9.2软件进行可视化,图片中不同颜色代表不同微生物网络模块。Mantel test分析通过R语言“linkET”包实现,用原始微生物OTU代表群落组成,微生物 α 多样性代表群落多样性。

2 结果与讨论

2.1 腐植酸淋洗前后土壤重金属总量与形态分布变化

腐植酸淋洗前后土壤中Cd、Pb和Zn总量和形态分布变化如图1所示。腐植酸淋洗后土壤中的Cd和Zn含量显著降低($P<0.05$),分别降低了40.5%和26.5%,说明腐植酸淋洗可以有效去除土壤中Cd和Zn;淋洗后Pb含量未显著降低($P>0.05$),主要因为原土中Pb主要以残渣态(F4)存在(图1a),可迁移性差,因此较难被淋洗去除。

阳离子型重金属主要以4种形态存在于土壤中,以酸提取态(F1)存在的重金属迁移性强且易被植物吸收利用^[18];重金属可还原态(F2)主要结合在Fe-Mn氧化物上,在厌氧或缺氧环境中不稳定,因此可还原态有潜在的生物可利用风险^[19];可氧化态(F3)比可还原态稳定;残渣态(F4)化学性质最稳定,被固定在土壤中难以迁移、转化和被吸收。因此,土壤中重金属的可氧化态和残渣态含量越高,重金属越稳定。由图1b可知,淋洗前Cd、Pb和Zn主要以残渣态存在于土壤中。腐植酸淋洗后当天土壤中酸提取态Cd和Zn所占比例分别提高了7个和12个百分点,说明腐植酸淋洗过程可以活化土壤中Cd和Zn,提高其可迁移性,且腐植酸淋洗对Cd的活化效果更显著,这可能是因为腐植酸含有多种活性官能团(如羧基、酚羟基等),可与重金属离子结合形成可溶态的有机-金属复合物,进而提高了其可迁移性^[20]。淋洗结束后,随着时间推移,可氧化态和残渣态Cd和Zn的百分比逐渐提高,与淋洗结束当天相比,第30天时分别提高了9个和8个百分点,说明其可迁移性与生物可利用性逐渐降低。淋洗后有部分腐植酸留存于土壤中,Cd可以与腐植酸中的酚羟基、羧基形成 Cd^{2+} -腐植酸配合物,使其具有类似金属-氧络合物的稳定性^[21];Zn主要通过离子交换与腐植酸结合降低可迁移性^[22]。对于Pb,与对照相比,腐植酸淋洗当天酸提取态和可还原态降低了4个百分点,第30天时降低了6个百分点。Pb不仅可以与残存的腐植酸络合,还可以与腐植酸-矿物复合体形成共沉淀,因此可氧化态和残渣

态Pb含量显著提高^[23]。

除腐植酸外,研究者目前也利用其他天然化合物(如柠檬酸、酒石酸等)进行土壤淋洗研究,Wuana等^[24]使用柠檬酸和酒石酸淋洗土壤后Cd分别降低了38.4%和19.3%,Wang等^[25]使用亚氨基二琥珀酸淋洗土壤后Cd和Zn的含量分别降低了24.1%和25.4%,通过对比可发现腐植酸用作土壤淋洗剂时对Cd有较好的去除效果。此外,为了避免二次污染,在实际应用中需重点考虑如何进一步处理含有高浓度重金属的淋洗液。近期学者的研究证明可以使用硫化钠(Na_2S)、乙基黄原酸钾(PEX)、二甲基二硫代氨基甲酸钠(DTC)等作为重金属沉淀剂处理土壤淋洗液,同步去除土壤淋洗液中络合态重金属且实现淋洗液的回收^[26]。如 Na_2S 中的 S^{2-} 可以与淋洗液中的 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 生成圆饼片状结构沉淀,其中包含CdS和PbS等物质^[26]。在淋洗成本方面,Zhang等^[27]总结了常用的土壤淋洗剂在去除Cd时的淋洗成本,发现使用腐植酸的成本远低于EDTA、EDDS和皂素等淋洗剂,因此

腐植酸可被用作绿色、高效和低成本的土壤淋洗剂。

2.2 腐植酸淋洗前后土壤理化性质的变化

腐植酸淋洗前后土壤pH、SOC和 NH_4^+-N 的含量变化见表1。土壤pH值除了在淋洗后第7天显著降低外($P<0.05$),其他时间与对照相比均无显著差异($P>0.05$),这是因为腐植酸与土壤中各种阳离子结合形成腐植酸-腐植酸盐相互转化的缓冲系统,对土壤的酸碱度起到调节作用^[28]。与原土壤相比,土壤SOC含量在淋洗当天显著提高了15.0%($P<0.05$),说明腐植酸残留可以提升土壤有机质含量;淋洗后一直到培养结束土壤SOC均无显著变化,这是由于腐植酸相比其他常被用作淋洗剂的天然小分子酸(如柠檬酸、酒石酸、草酸等)性质稳定、不易分解,具有良好的生物稳定性,可以将SOC含量稳定在一定水平上^[29]。淋洗过程会导致大量 NH_4^+-N 被洗脱,土壤中 NH_4^+-N 含量在淋洗当天与原土壤相比下降了85.4%^[30]。淋洗后, NH_4^+-N 含量随培养时间增加而逐渐增大,淋洗后第30天 NH_4^+-N 含量是淋洗后当天的3.01倍。这是由于腐植酸中含

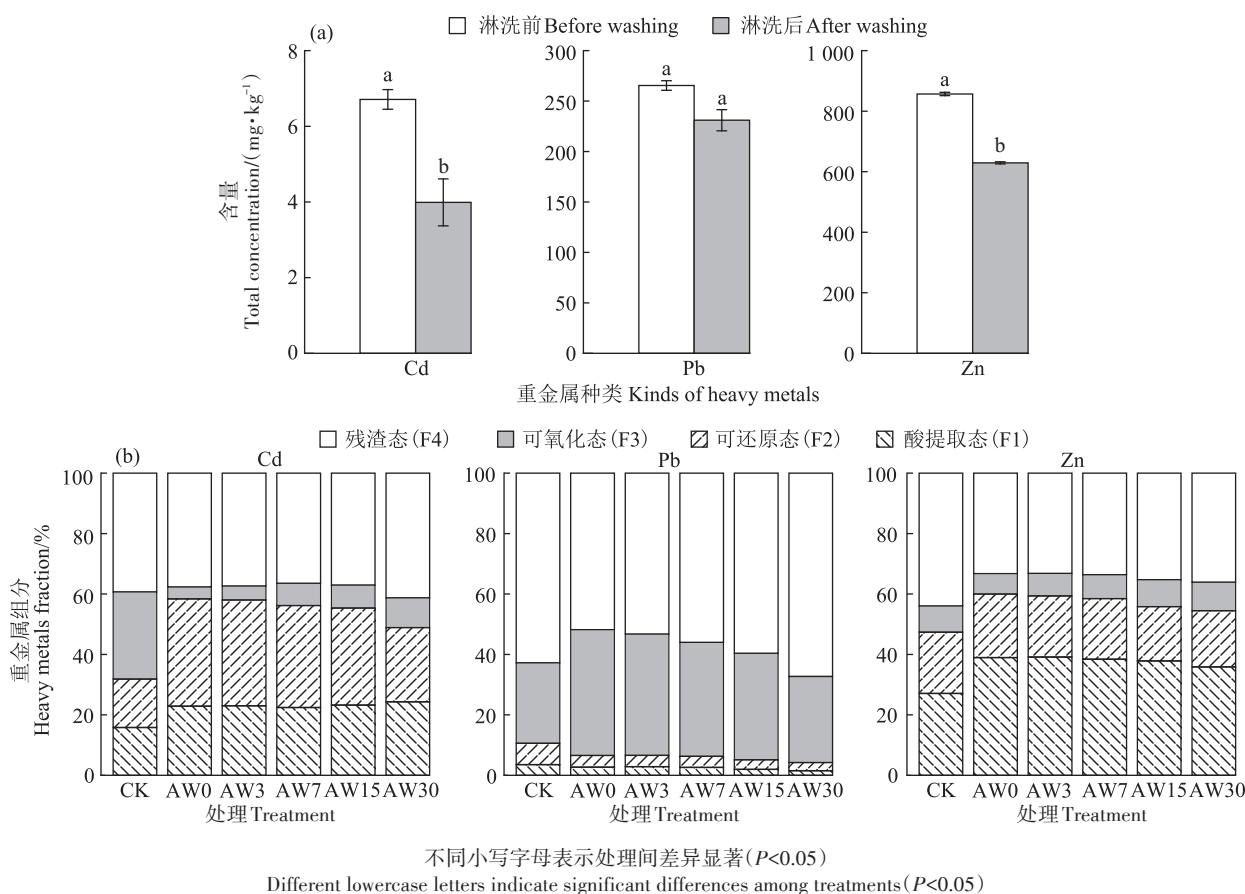


图1 腐植酸淋洗前后土壤中Cd、Pb、Zn的总量(图a)和形态分布(图b)变化

Figure 1 Changes of the total concentration(a) and speciation distribution(b) of Cd,Pb,and Zn in the soil before and after humic acid washing and during incubation

表1 腐植酸淋洗前后与培养期间土壤化学性质变化

Table 1 Changes of soil chemical properties before and after humic acid washing and during incubation

处理 Treatment	pH	SOC/%	NH ₄ ⁺ -N/(mg·kg ⁻¹)
CK	8.54±0.02a	6.10±0.29b	5.69±0.36a
AW0	8.57±0.04a	6.99±0.13a	0.83±0.11c
AW3	8.54±0.02a	6.81±0.14a	1.44±0.14c
AW7	8.26±0.23b	7.23±0.21a	2.84±0.2b
AW15	8.50±0.05ab	7.07±0.21a	2.90±0.27b
AW30	8.42±0.04ab	7.09±0.51a	2.50±0.35b

注:同列不同小写字母分别表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$ levels. The same below.

量较高的N元素可在土壤中溶解为NH₄⁺-N,使土壤中NH₄⁺-N含量逐渐提高^[31]。

2.3 腐植酸淋洗前后土壤微生物群落结构变化

2.3.1 土壤微生物群落多样性变化特征

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,相较于植物和动物,土壤微生物群落数量、结构和多样性易受到环境因素影响,被认为是衡量土壤环境质量与生态功能的重要指标,可用于预测土壤生态系统及环境质量的变化,实时反映土壤污染状况^[32-33]。在OTU水平上,本研究选取Chao1指数、ACE指数、Shannon指数和Simpson指数来评价腐植酸淋洗前后土壤微生物的 α 多样性。Chao1指数和ACE指数可反映微生物群落的丰富度,Shannon指数和Simpson指数用于衡量微生物群落的多样性。与对照组相比,ACE和Chao1指数在淋洗后的土壤第3、7天均显著降低(表2, $P<0.05$),淋洗后第7天分别降低了9.15%和9.66%;随后ACE和Chao1指数均显著回升,淋洗后第30天时恢复到与对照相比无显著差异水平($P>0.05$)。这可能是因为淋洗过程导致部分细菌被洗脱,进而细菌丰富度水平降低;淋洗后淋洗液残留物中的微量不稳定组分会在短期内迅速降解,作为细菌群落的能量来源,促进其生长,因此ACE和Chao1指数在第30天

时恢复到原来水平^[34]。Shannon和Simpson指数在淋洗后培养期间显著提高($P<0.05$),但是数值波动很小。以上结果表明土壤淋洗会洗脱微生物,但是土壤中残留的腐植酸可以为微生物生长提供养分,提高细菌群落的丰富度和多样性。

主坐标分析(PCoA)样本间的空间距离可以表示细菌群落结构的差异程度,进而可衡量群落的 β 多样性。基于Bray-Curtis距离矩阵的PCoA分析的前两轴解释度分别为64.5%和16.2%,与对照相比,腐植酸淋洗对土壤细菌群落有明显的影响,微生物群落的 β 多样性随着淋洗后培养时间的不同而不同(图2)。因此,土壤细菌群落的差异取决于腐植酸是否淋洗以及淋洗后培养时间的长短。

2.3.2 土壤微生物群落组成与聚类分析

图3为淋洗前后土壤细菌门和属水平上的组成与聚类图。在门分类水平上(图3a),土壤中微生物群落以Proteobacteria(37.8%~46.6%)、Bacteroidetes(12.2%~20.2%)、Actinobacteria(9.1%~24.1%)、Chloroflexi(4.6%~15.1%)和Acidobacteria(1.9%~8.0%)等为主,与前人对土壤优势菌门的研究一致^[35]。研究表明相对丰度最高的Proteobacteria对土壤多种环境功能有重大影响,如研究者已经证实大部分的 α -Proteobacteria有利于土壤的固氮、有机质分解和植物生长^[16],Proteobacteria菌门中还具有多种拥有涉及重金属抗性或固定化的重金属氧化酶基因的成员^[36]。在腐植酸淋洗后的培养过程中,不同培养时间下各个门的相对丰度均存在差异(图3b)。淋洗后,土壤中Chloroflexi、Acidobacteria、Gemmatimonadetes、Fibrobacteres、Armatimonadetes等菌群的相对丰度增加;Actinobacteria、Firmicutes等菌群的相对丰度降低。Chloroflexi在有机物降解和有效Cd沉淀中具有重要意义,它们可以与甲烷代谢微生物群进行共养相互作用^[35]。Acidobacteria对高浓度Cd耐受性较强,也是土壤中重要的细菌群落,可以降解植物残体,参与光合

表2 腐植酸淋洗前后与培养期间土壤中细菌的 α 多样性指数变化Table 2 Change of α diversity index of soil bacteria before and after humic acid washing and during incubation

处理 Treatment	丰富度指数 Richness index		多样性指数 Diversity index	
	ACE	Chao1	Shannon	Simpson
CK	4 230.52±148.31a	4 102.52±130.97a	8.47±0.05c	0.987±0.000e
AW3	3 799.09±118.72b	3 689.26±133.67b	8.34±0.03d	0.989±0.000d
AW7	3 843.64±58.53b	3 706.37±58.12b	8.45±0.01c	0.991±0.000c
AW15	4 053.24±26.88ab	3 928.35±19.7ab	8.98±0.01a	0.993±0.000a
AW30	3 942.52±40.54ab	3 820.07±48.3ab	8.86±0.01b	0.992±0.000b

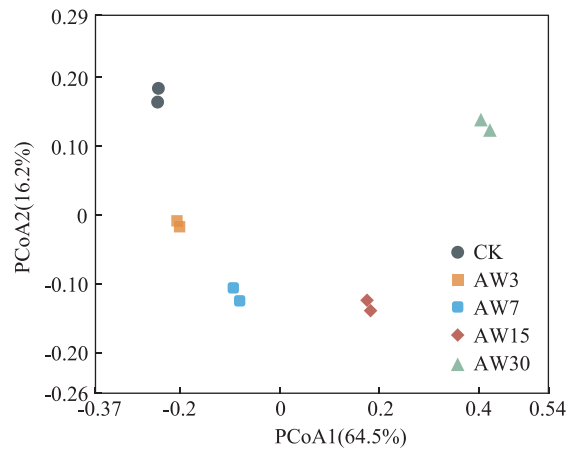


图2 不同条件下细菌群落的主坐标分析(PCoA)图
Figure 2 Principal coordinate analysis(PCoA) analysis of the bacteria community for different treatments

作用和单碳化合物代谢等多种生化行为^[37-38]。Firmicutes携带许多金属抗性基因,腐植酸淋洗降低了土壤中重金属的污染水平,导致特征微生物群 Firmicutes 的相对丰度下降^[39]。此外,将相对丰度前15的属水平细菌进行聚类分析(图3c),发现 *Pseudarthrobacter*、*Planococcus*、*Brevundimonas*、*Pontibacter* 等属的相对丰度在淋洗过程中均有所降低,而 *Thiobacillus*、*OLB13*、*Flavisolibacter* 的相对丰度淋洗后逐渐上升。研究发现 *Brevundimonas* 可以用于重金属的生物修复,淋洗后土壤重金属含量下降导致 *Brevundimonas* 丰度降低^[40]。*Thiobacillus* 和 *OLB13* 均可参与土壤的反硝化作用,其相对丰度的提高可以促进土壤的氮循环^[41-42]。*Flavisolibacter* 可以催化过氧化氢,以保护自身和宿主植物免受重金属的氧化^[43]。

2.3.3 土壤微生物群落网络分析

微生物共现网络已被广泛应用于土壤中关键模块和物种的识别。网络拓扑属性可用于描述不同物种或物种与环境因素之间相互作用的强度和复杂性^[35]。例如,生态网络的模块生态网络中的关键物种(keystone)所执行的特殊代谢功能不仅可以驱动微生物群落的形成过程,还能维持微生物群落的稳定性^[44]。本研究采用 Gephi 软件对淋洗前后土壤微生物网络做可视化处理(图4a~图b),并计算微生物网络的拓扑特征(表3)。在腐植酸淋洗后,土壤微生物网络的节点数量和边数量提高,平均路径距离降低,这表明淋洗提高了微生物网络的复杂性,同时使网络中的物种联系更加密切^[13];网络模块量增加表明淋洗后的土壤微生物结构更有组织性。

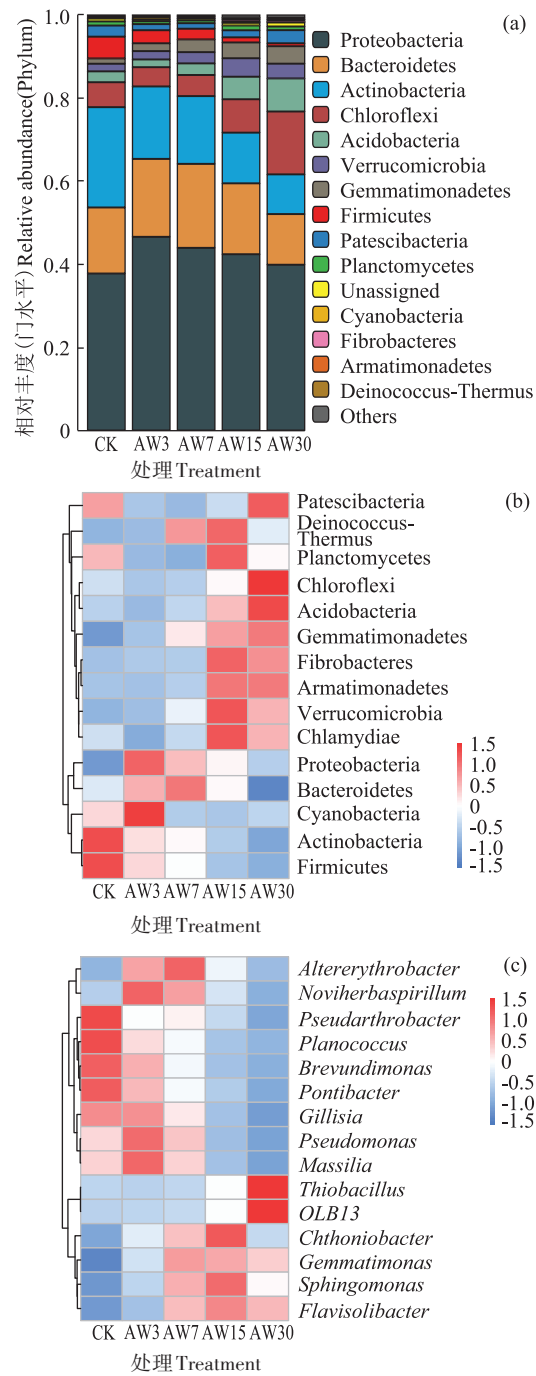


图3 不同条件下土壤中门水平(a)优势菌群相对丰度;细菌在门水平(b)和属水平(c)上相对丰度热图
Figure 3 The relative abundance of dominated phylum(a) of bacterial community in soils. Heatmap of the relative abundance of bacteria at the phylum level(b) and the genus level(c)

表3 土壤淋洗前后微生物网络的主要拓扑特征
Table 3 Main topological properties of microbial communities in soil before and after washing

处理 Treatment	节点数 Node	边数 Edge	平均路径距离 Average path distance	模块数 Number of module
CK	729	2 436	6.442	126
AW	905	3 051	5.933	138

进一步通过模块内连通度(Z_i)和模块间连通度(P_i)两个拓扑参数来评估共现网络中每个节点的作用(图4c)。 Z_i 或 P_i 值较高的节点被定义为关键分类单元,包括模块枢纽($Z_i \geq 2.5, P_i < 0.62$)、连接器($Z_i < 2.5, P_i \geq 0.62$)和网络枢纽($Z_i \geq 2.5, P_i \geq 0.62$)^[45]。在对照土壤的微生物网络结构中仅识别到两个模块枢纽,而在淋洗后土壤的微生物网络结构中识别到1个起关键作用的网络枢纽、4个模块枢纽和16个连接器。对网络枢纽进行种属分析后鉴定为*Rubellimicrobium*,该细菌作为土壤功能微生物可以分泌碳水化合物来抵抗重金属胁迫^[46]。此外,模块枢纽中的*Gemmatimonas*可以转化和分解土壤有机质^[47]。连接器包括*Planococcus*、*Ohtaekwangia*、*Ellin6067*、*Caenimonas*、*Altererythrobacter*等细菌。其中,*Pseudomonas*产生的生物表面活性剂可以与重金属形成络合物^[48],*Altererythrobacter*对土壤中的Cd具有较高的耐受性^[49],*Caenimonas*可以产生尿素酶,为植物生长固氮^[50]。

微生物的网络结构需要依靠一些十分活跃的物种进行信息交换或者产生中间代谢产物以维持庞大而复杂的模块结构,较多的模块枢纽可以提高微生物群落的交换效率,较多的连接器可以提高群落的稳定性^[51]。腐植酸淋洗后土壤微生物网络结构的模块枢纽和连接器增加,表明淋洗后土壤微生物将会更高效地进行物质传输和利用,同时抵御环境扰动的能力也更强。

2.4 土壤中细菌群落与环境因子的相关性分析

本研究基于 Mantel test 分析(图5),进一步探究了生物可利用态重金属、土壤理化性质与微生物群落之间的相关性。结果表明,土壤中酸提取态 Pb 含量

与 SOC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量呈显著负相关($P < 0.05$),酸提取态 Zn 含量与 SOC 含量呈显著正相关($P < 0.05$)。土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、酸提取态 Pb 和酸提取态 Zn 与细菌群落组成存在显著相关性($P < 0.05$),酸提取态 Zn 与细菌群落多样性存在显著相关性($P < 0.05$)。腐植酸淋洗显著提高了酸提取态 Zn 含量,说明腐植酸淋洗引起的土壤生境变化与细菌群落的组成和多样性密切相关^[52],已有研究表明土壤中重金属的胁迫增强会对土壤微生物群落的生长、存活、多样性、生物量等生态功能产生不利影响^[53]。本研究进一步对门水平上细菌优势类群与环境因子的关系进行 Pearson 相关性分析(表4)。结果表明,细菌中 Acidobacteria、Chloroflexi 和 Armatimonadetes 与土壤的酸提取态 Pb 和酸提取态 Zn 呈显著负相关($P < 0.05$)。Gemmatimonadetes 和 Deinococcus-Thermus 与土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈显著正相关($P < 0.05$)。先前研究证实 Gemmatimonadetes 与土壤养分呈显著正相关,因此 Gemmatimonadetes 的相对丰度提高可能与腐植酸淋洗期间土壤 SOC 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的提高有关^[54]。

综上,腐植酸淋洗后改变土壤中酸提取态 Pb、酸提取态 Zn 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量等环境因子,环境因子改变会驱动土壤中微生物群落结构变化。

3 结论

(1)腐植酸淋洗可去除土壤中的 Cd 和 Zn,对 Pb 的去除效果较差。淋洗后土壤中的 Cd 和 Zn 被活化,可迁移性提高;Pb 的可氧化态和残渣态比例升高,可迁移性降低。

(2)腐植酸淋洗与残留能显著改变土壤微生物群

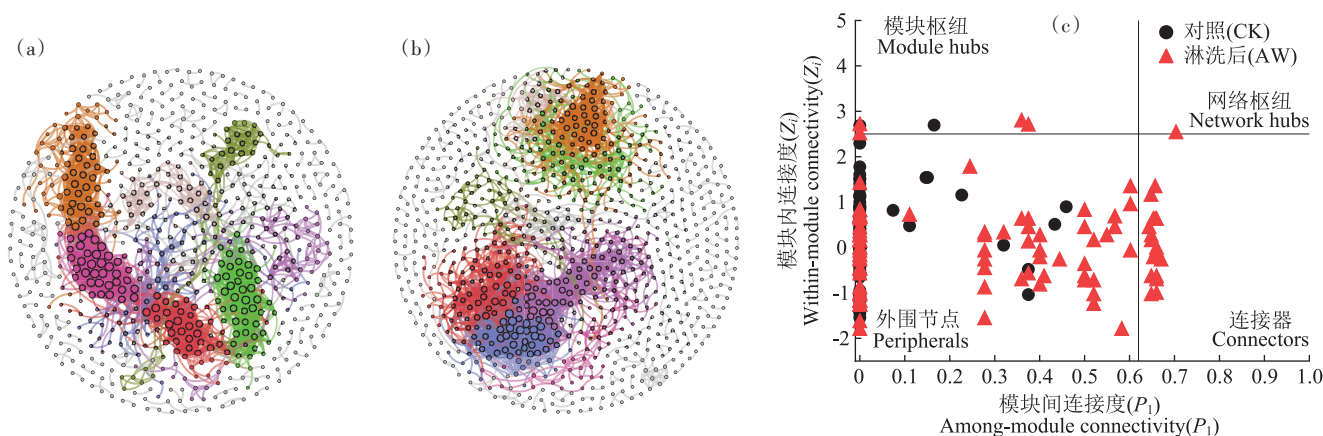


图4 淋洗前(a)与淋洗后(b)土壤微生物群落 OTU 水平上的共现网络和网络节点的分类(c)

Figure 4 Co-occurrence network of microbial communities before(a) and after washing(b) and classification of nodes within networks(c) in soils(OTU levels)

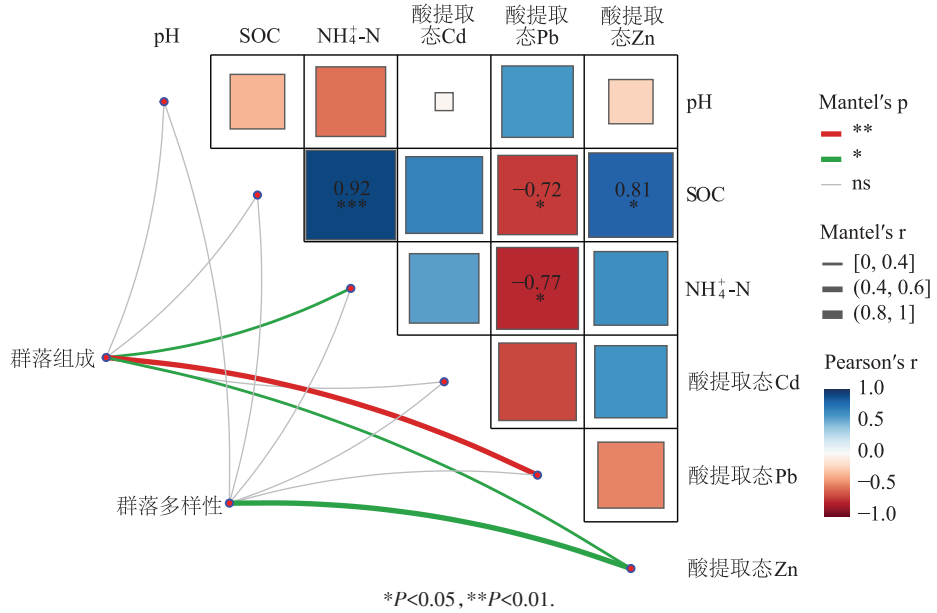


图5 土壤化学性质与微生物群落组成和多样性的 Mantel test 分析

Figure 5 Mantel test analysis of soil chemical properties and microbial community composition and diversity

表4 门水平优势菌群与土壤化学性质的 Pearson 相关性分析

Table 4 Pearson correlations of dominated species at the phylum level to chemical properties in soil

物种 Specy	pH	SOC	NH ₄ ⁺ -N	酸提取态 Cd F1-Cd	酸提取态 Pb F1-Pb	酸提取态 Zn F1-Zn
Proteobacteria	0.200	-0.428	0.005	0.194	0.687	0.687
Bacteroidetes	0.250	-0.066	-0.044	-0.396	0.887	0.877
Actinobacteria	0.747	-0.340	-0.820	-0.688	0.742	0.758
Chloroflexi	-0.502	0.245	0.328	0.470	-0.957*	-0.959*
Acidobacteria	-0.553	0.368	0.535	0.514	-0.996***	-0.999***
Verrucomicrobia	-0.441	0.429	0.803	0.522	-0.720	-0.721
Gemmatimonadetes	-0.790	0.571	0.906*	0.498	-0.787	-0.807
Firmicutes	0.743	-0.367	-0.855	-0.673	0.720	0.737
Patescibacteria	0.043	-0.017	-0.340	0.019	-0.613	-0.599
Planctomycetes	0.405	-0.016	-0.043	0.148	-0.433	-0.399
Others	-0.209	0.160	0.009	0.234	-0.861**	-0.852**
Cyanobacteria	0.712	-0.911*	-0.780	0.109	0.635	0.663
Fibrobacteres	-0.351	0.252	0.638	0.663	-0.863	-0.855
Armatimonadetes	-0.417	0.297	0.632	0.636	-0.921*	-0.916*
Deinococcus-Thermus	-0.474	0.673	0.859*	0.026	-0.200	-0.220

注 Note: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

落结构。淋洗后培养期间,细菌群落丰富度先降低后升高,群落多样性提高;Chloroflexi、Acidobacteria、Gemmatimonadetes、Fibrobacteres、Armatimonadetes等菌群的相对丰度增加,Actinobacteria、Firmicutes等菌群的相对丰度降低。

(3)腐植酸淋洗后土壤微生物的相互作用和网络复杂性提高;淋洗后土壤微生物网络结构的模块枢纽和连接器增加,土壤微生物将会更高效地进行物质传

输和利用,同时强化了抵御环境扰动的能力。

(4)腐植酸淋洗会改变土壤中酸提取态 Pb、Zn 的含量和 NH₄⁺-N 含量等环境因子,其变化可驱动微生物群落结构发生变化。

参考文献:

[1] PALANSOORIYA K N, SHAHEEN S M, CHEN S S, et al. Soil amendments for immobilization of potentially toxic elements in contaminated

- soils: a critical review[J]. *Environment International*, 2020, 134: 105046.
- [2] 陈能场, 郑煜基, 何晓峰, 等. 《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689–1692. CHEN N C, ZHENG Y J, HE X F, et al. Analysis of the report on the national general survey of soil contamination[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1689–1692.
- [3] CHANG J, DUAN Y, DONG J, et al. Bioremediation of Hg-contaminated soil by combining a novel Hg-volatilizing *Lecythophora* sp. fungus, DC-F1, with biochar: Performance and the response of soil fungal community[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 671: 676–684.
- [4] MA Y, WANG Y, CHEN Q, et al. Assessment of heavy metal pollution and the effect on bacterial community in acidic and neutral soils[J]. *Ecological Indicators*, 2020, 117: 106626.
- [5] 陈远其, 陈章, 李志贤, 等. 锰污染土壤修复研究现状与展望[J]. 生态环境学报, 2017, 26(8): 1451–1456. CHEN Y Q, CHEN Z, LI Z X, et al. A review and perspective on remediation of manganese contaminated soil research[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2017, 26(8): 1451–1456.
- [6] 季蒙蒙, 王星星, 马欢欢, 等. 磷酸氨基酸盐对Cd污染土壤的淋洗效果[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 329–337. JI M M, WANG X X, MA H H, et al. Removal of Cd from contaminated soil using amino acid salt[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(2): 329–337.
- [7] 李世业, 成杰民. 化工厂遗留地铬污染土壤化学淋洗修复研究[J]. 土壤学报, 2015, 52(4): 869–878. LI S Y, CHENG J M. Effect of chemical leaching remedying chromium contaminated soil in deserted chemical plant site[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52(4): 869–878.
- [8] YANG Z H, DONG C D, CHEN C W, et al. Using poly-L-glutamic acid as soil-washing agent to remediate heavy metal-contaminated soils[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(6): 5231–5242.
- [9] XU P, ZHU X, TIAN H, et al. The broad application and mechanism of humic acids for treating environmental pollutants: insights from bibliometric analysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022: 130510.
- [10] YANG T, HODSON M E. Investigating the potential of synthetic humic-like acid to remove metal ions from contaminated water[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 635: 1036–1046.
- [11] MENG F, YUAN G, WEI J, et al. Humic substances as a washing agent for Cd-contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2017, 181: 461–467.
- [12] YANG F, TANG C, ANTONIETTI M. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(10): 6221–6239.
- [13] ZHANG L, GUAN Y. Microbial investigations of new hydrogel-biochar composites as soil amendments for simultaneous nitrogen-use improvement and heavy metal immobilization[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127154.
- [14] 张宇, 吴春发, 张锦路, 等. 不同淋洗剂淋洗对镉污染农田土壤微生物群落结构的影响[J]. 环境科学学报, 2022, 42(6): 398–404. ZHANG Y, WU C F, ZHANG J L, et al. Effect of soil washing with different washing agents on the structure of microbial community in agricultural soil contaminated with cadmium[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2022, 42(6): 398–404.
- [15] WU B, LUO H, WANG X, 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.
- [16] QU J, YUAN Y, ZHANG X, et al. Stabilization of lead and cadmium in soil by sulfuric acid functionalized biochar: performance, mechanisms and microbial community evolution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 425: 127876.
- [17] QUEVAUVILLER P, RAURET G, LÓPEZ-SÁNCHEZ J F, et al. Certification of trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three-step sequential extraction procedure[J]. *Science of the Total Environment*, 1997, 205(2/3): 223–234.
- [18] NEMATI K, BAKAR N K A, ABAS M R, et al. Speciation of heavy metals by modified BCR sequential extraction procedure in different depths of sediments from Sungai Buloh, Selangor, Malaysia[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 192(1): 402–410.
- [19] MÄKELÄ M, WATKINS G, PÖYKIÖ R, et al. Utilization of steel, pulp and paper industry solid residues in forest soil amendment: relevant physicochemical properties and heavy metal availability[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 207: 21–27.
- [20] 李杰, 赵转军, 马翔邦, 等. 优化水铁矿-腐殖酸复合材料对镉、铅污染土壤的稳定化[J]. 环境化学, 2022, 41(8): 1–10. LI J, ZHAO Z J, MA X B, et al. Study on stabilization of soil contaminated with cadmium and lead by optimization of carbon and iron composites[J]. *Environmental Chemistry*, 2022, 41(8): 1–10.
- [21] DATTA A, SANYAL S, SAHA S. A study on natural and synthetic humic acids and their complexing ability towards cadmium[J]. *Plant and Soil*, 2001, 235(1): 115–125.
- [22] LI Y, YUE Q, GAO B. Adsorption kinetics and desorption of Cu(II) and Zn(II) from aqueous solution onto humic acid[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178(1–3): 455–461.
- [23] DU Q, LI G, ZHANG S, et al. High-dispersion zero-valent iron particles stabilized by artificial humic acid for lead ion removal[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 383: 121170.
- [24] WUANA R, OKIEIMEN F, IMBORVUNGU J. Removal of heavy metals from a contaminated soil using organic chelating acids[J]. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 2010, 7(3): 485–496.
- [25] WANG G, ZHANG S, ZHONG Q, et al. Feasibility of Chinese cabbage (*Brassica bara*) and lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation in heavily metals-contaminated soil after washing with biodegradable chelators[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 197: 479–490.
- [26] 郑雄开, 陶雪琴, 杜建军, 等. 模拟土壤淋洗废液中重金属的选择性去除与淋洗液的回收研究[J]. 环境科学学报, 2020, 40(3): 995–1003. ZHENG X K, TAO X Q, DU J J, et al. Selective removal of heavy metals from simulated wastewater from leaching soil and recovery of eluent[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(3): 995–1003.
- [27] ZHANG S, WEN J, HU Y, et al. Humic substances from green waste compost: an effective washing agent for heavy metal (Cd, Ni) removal from contaminated sediments[J]. *Journal of Hazardous Materials*,

- 2019, 366:210–218.
- [28] 陈静, 黄占斌. 腐植酸在土壤修复中的作用[J]. 腐植酸, 2014(4): 30–34, 65. CHEN J, HUANG Z B. Effect of humic acid on soil restoration[J]. *Humic Acid.*, 2014(4):30–34, 65.
- [29] ZHAO K, YANG Y, PENG H, et al. Silicon fertilizers, humic acid and their impact on physicochemical properties, availability and distribution of heavy metals in soil and soil aggregates[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 822:153483.
- [30] QIAN G, XU L, LI N, et al. Enhanced arsenic migration in tailings soil with the addition of humic acid, fulvic acid and thiol-modified humic acid[J]. *Chemosphere*, 2022, 286:131784.
- [31] 龚庆. EDTA与柠檬酸联合腐植酸去除存余垃圾腐殖土中重金属污染研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2021. GONG Q. Study on the removal of heavy metal pollution in aged refuse humus soil by EDTA/humic acid and citric acid/humic acid[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2021.
- [32] CHEN X W, WU L, LUO N, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and the associated bacterial community influence the uptake of cadmium in rice[J]. *Geoderma*, 2019, 337:749–757.
- [33] WANG X, LU X, YI X, et al. Changes in soil available cadmium and bacterial communities after fallowing depend on contamination levels [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21(3):1408–1419.
- [34] QI X, XIAO S, CHEN X, et al. Biochar-based microbial agent reduces U and Cd accumulation in vegetables and improves rhizosphere microecology[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022:129147.
- [35] CHENG Z, SHI J, HE Y, et al. Assembly of root-associated bacterial community in cadmium contaminated soil following five-year consecutive application of soil amendments: evidences for improved soil health[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 426:128095.
- [36] ALTIMIRA F, YÁÑEZ C, BRAVO G, et al. Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile[J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12(1):1–12.
- [37] ALI A, SHAHEEN S M, GUO D, et al. Apricot shell- and apple tree-derived biochar affect the fractionation and bioavailability of Zn and Cd as well as the microbial activity in smelter contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 264:114773.
- [38] WANG R, WEI S, JIA P, et al. Biochar significantly alters rhizobacterial communities and reduces Cd concentration in rice grains grown on Cd-contaminated soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 676:627–638.
- [39] XU Z M, ZHANG Y X, WANG L, et al. Rhizobacteria communities reshaped by red mud based passivators is vital for reducing soil Cd accumulation in edible amaranth[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 826:154002.
- [40] ALI A, LI M, SU J, et al. *Brevundimonas diminuta* isolated from mines polluted soil immobilized cadmium (Cd^{2+}) and zinc (Zn^{2+}) through calcium carbonate precipitation: microscopic and spectroscopic investigations[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 813:152668.
- [41] ZHANG L, HAO S, WANG Y, et al. Rapid start-up strategy of partial denitrification and microbially driven mechanism of nitrite accumulation mediated by dissolved organic matter[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 340:125663.
- [42] KELLY D P, WOOD A P. Confirmation of *Thiobacillus denitrificans* as a species of the genus *Thiobacillus*, in the beta-subclass of the *Proteobacteria*, with strain NCIMB 9548 as the type strain[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(2): 547–550.
- [43] LIU C, LIN H, LI B, et al. Responses of microbial communities and metabolic activities in the rhizosphere during phytoremediation of Cd-contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202:110958.
- [44] 张冰, 孙晨翔, 文湘华. F/M对活性污泥微生物生态网络的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(3):1529–1534. ZHANG B, SUN C X, WEN X H, et al. Impacts of F/M ratio on microbial networks in activated sludge[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(3):1529–1534.
- [45] LIN J, HE F, OWENS G, et al. How do phytochemical iron oxide nanoparticles drive redox reactions to reduce cadmium availability in a flooded paddy soil?[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403:123736.
- [46] AN M, CHANG D, HONG D, et al. Metabolic regulation in soil microbial succession and niche differentiation by the polymer amendment under cadmium stress[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416:126094.
- [47] YUAN M M, GUO X, WU L, et al. Climate warming enhances microbial network complexity and stability[J]. *Nature Climate Change*, 2021, 11(4):343–348.
- [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] REN C, TENG Y, CHEN X, et al. Impacts of earthworm introduction and cadmium on microbial communities composition and function in soil[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2021, 83:103606.
- [50] WANG A, FU W, FENG Y, et al. Synergetic effects of microbial-phytoremediation reshape microbial communities and improve degradation of petroleum contaminants[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 429:128396.
- [51] ZHOU J, DENG Y, LUO F, et al. Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO_2 [J]. *MBio*, 2011, doi:10.1128/mBio.00122–11.
- [52] ZHU Y, WANG L, YOU Y, et al. Enhancing network complexity and function of soil bacteria by thiourea-modified biochar under cadmium stress in post-mining area[J]. *Chemosphere*, 2022, 302:134811.
- [53] JIANG B, ZHANG B, LI L, et al. Analysis of microbial community structure and diversity in surrounding rock soil of different waste dump sites in Fushun western opencast mine[J]. *Chemosphere*, 2021, 269:128777.
- [54] QIU L, ZHANG Q, ZHU H, et al. Erosion reduces soil microbial diversity, network complexity and multifunctionality[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(8):2474–2489.

(责任编辑:叶飞)