

# 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落 功能多样性研究\*

滕应<sup>1,2</sup> 黄昌勇<sup>1†</sup> 骆永明<sup>2</sup> 龙健<sup>1</sup> 姚槐应<sup>1</sup>

(1 浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

(2 中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

**摘要** 通过对浙江省天台铅锌银尾矿区土壤微生物活性指标以及微生物群落功能多样性研究, 结果表明, 尾矿污染区土壤几种重金属含量比非矿区土壤有明显的增加。尾矿区土壤微生物特征发生了显著的变化, 微生物生物量和可培养细菌数量显著降低, 但土壤基础呼吸和微生物代谢商 ( $qCO_2$ ) 值却明显升高。Biolog 测试结果显示, 随着重金属污染程度的加剧其土壤微生物群落结构发生了相应变化, 尾矿区土壤微生物群落代谢剖面 (AWCD) 及群落丰富度、多样性指数均显著低于非矿区土壤, 且供试土壤间均达极显著水平差异 ( $p < 0.01$ ), 表明尾矿区重金属污染引起了土壤微生物群落功能多样性的下降, 减少了能利用有关碳源底物的微生物数量、降低了微生物对单一碳源底物的利用能力。

**关键词** 铅锌银尾矿; 重金属污染; 土壤微生物活性; 群落功能多样性

**中图分类号** S154.36 **文献标识码** A

铅锌银尾矿是开采过程中产生的一种固体废弃物。这些废弃物中通常含有较高的有毒重金属, 当它们通过搬运、扩散到地表后, 在表生地球化学作用下, 尾矿中重金属元素的释放、迁移使土壤等表生环境产生了严重的重金属污染, 因而尾矿区土壤环境质量监测及生态恢复等问题不可忽视<sup>[1~3]</sup>。近年来, 国内外学者对部分铅锌尾矿、铜尾矿区土壤的重金属污染及生态恢复, 包括重金属含量、形态以及对矿区植被的毒害等已进行了一些研究, 并取得了一定的成果<sup>[4~10]</sup>。但有关尾矿区这一特定生境中土壤微生物活性参数及其微生物群落多样性研究报道甚少。土壤微生物是维持土壤生物活性的重要组分, 它们不仅调节着土壤动植物残体和土壤有机物质及其它有害化合物的分解、生物化学循环和土壤结构的形成等过程, 且对外界干扰比较灵敏, 微生物活性和群落结构的变化能敏感地反映出土壤质量和健康状况, 是土壤环境质量评价不可缺少的重要生物学指标<sup>[11~19]</sup>。据此, 本文对浙江省天台铅锌银尾矿区土壤微生物活性及群落功能多样性进行了研

究, 旨在探讨该矿区铅锌银复合污染程度与土壤微生物学特征指标之间的内在关系, 有助于揭示表征铅锌银复合污染的土壤微生物生态参数, 为同类污染矿区土壤环境质量评价提供科学依据。

## 1 矿区自然概况和研究方法

### 1.1 矿区自然概况

浙江天台铅锌银尾矿库位于浙江省东部天台县境内, 北纬 28°57'02", 东经 120°41'24", 海拔为 50~150 m。属亚热带季风性湿润气候, 年平均气温 16.8, 1 月份平均气温 5.0, 7 月份平均气温 28.3; 年均降水量 1 332 mm, 降雨多集中于 3 月~8 月, 无霜期 234 d。地貌多为低山、丘陵, 土壤类型是砂页岩母质上发育的山地黄壤, 植被为次生的马尾松 (*Pinus massoniana*)—芒箕 (*Dicranopteris linearis*) 植物群落。该尾矿库是山谷型尾矿库, 共有 4 个堆积坡和 1 个平台, 大部分区位尾矿表面基本裸露, 疏松, 风蚀水蚀现象严重, 库内有大量尾矿浆和部分积水, 在尾矿库边缘的植被以白茅草 (*Imperata Cylindrica*)

\* 国家自然科学基金项目 (40171054)、国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB410810) 资助

† 通讯作者, E-mail: chyhuang@zju.edu.cn

作者简介: 滕应 (1975~), 男, 汉族, 博士, 贵州江口人, 主要从事环境生物与生物化学方面研究

收稿日期: 2002-09-10; 收到修改稿日期: 2003-03-26

*drica* Var. *major*.) 和蕨类 (*Sinopteridaceae*) 为主。

## 1.2 取样及样品处理

在铅锌银尾矿区设置 8 个样块。其取样点位分别为：. 尾矿库中心区 (主要是尾矿砂、矿浆以及少量从山上带来的土壤, 部分积水混合组成); . 老尾矿堆放区 (尾矿库坝未修之前, 原来大量尾矿及矿渣堆放处, 大部分的尾矿及矿渣呈半风化状态); . 尾矿库坝梯级区; . 尾矿库坝边缘区 (主要是尾矿砂和少量土粒组成, 且很干燥); . 尾矿库角冲积土覆盖区 (位于坝下一个冲积处, 主要由部分尾矿砂以及从附近山上冲刷下来的部分土壤混合组成); . 离尾矿库 300 m 远荒草区 (主要由部分尾矿、矿渣及人工覆盖土壤混合而成, 上面生长稀疏白茅草等); . 离尾矿库 500 m 远人工林区 (主要由部分尾矿、矿渣及人工覆盖土壤混合而成, 人工栽植杉树和松树); . 远离尾矿库 1.5 km 的非矿区土壤 (土样取自土壤剖面的 20~40 cm 土层)。每个样块随机取 8 个样点样品组成混合代表样。土壤编号分别为 1~8 号 (见表 1)。土壤装入无菌封口塑料袋内, 带回实验室。将一部分新鲜土壤研磨过 2 mm 尼龙网筛, 调节土壤水分至田间持水量的 45% 左右, 装入无菌塑料袋, 置于 4℃ 冰箱内保存以供土壤微生物学指标分析。另一部分土壤于室内自然风干, 研磨、过筛, 供土壤基本理化性质测定。供试土壤基本理化性质见表 1。从表 1 中可以看出, 供试土壤 C/N 比很低, 其可能原因是取样点的特定环境条件变异所致, 因为土壤 C/N 比的变化与其环境的水热条件和成土作用过程密切相关。

## 1.3 土壤微生物群落功能多样性测试

在试验之前, 将供试土壤置于 25℃ 条件下的生化培养箱中活化 3 d。土壤微生物群落功能多样性采用 Biolog 测试方法<sup>[19]</sup>。Biolog 微平板是一种多底物的酶联 (ELISA) 反应平板, 除对照孔仅有指示剂 (四氮叠茂) 和一些营养物质外, 其余 95 孔作为反应孔还装有不同的单一碳源底物。在进行 ELISA 反应时, 各孔中微生物利用碳源底物, 呼吸作用产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH), 引起四氮叠茂

发生氧化还原变色反应, 根据反应孔中颜色变化的吸光值来指示微生物对 95 种不同碳源的利用模式差别, 从而反映微生物群落的功能代谢能力差异。操作过程: 将 Biolog GN 平板从冰箱内取出, 预热到 25℃。用 200 μL 自动多头移液器取合乎 Biolog GN 系统要求的土壤稀释液 ( $10^{-3}$ ) 加到 Biolog GN 微平板孔中, 每孔加 150 μL, 28℃ 培养 7 d, 每隔 12 h 用 Biolog 自动读数装置在 590 nm 下测定其吸光值。

## 1.4 土壤微生物活性指标分析

土壤微生物生物量碳采用氯仿熏蒸 -  $K_2SO_4$  提取法<sup>[20]</sup>, 提取液中的有机碳用总有机碳自动分析仪测定 (Shimadzu, TOC-500); 土壤基础呼吸采用密闭培养碱液吸收滴定法测定<sup>[21]</sup>; 土壤细菌计数采用牛肉膏蛋白胨培养基稀释平板法<sup>[21]</sup>。

## 1.5 土壤重金属含量及理化性质分析

土壤 Pb、Zn、Cu、Cd、Ag 全量采用王水—高氯酸消化, 原子吸收分光光度法测定; 土壤中相应重金属元素的有效态含量采用 0.1 mol L<sup>-1</sup> HCl 溶液提取 (液:土=5:1), 待测液用原子吸收分光光度法测定; 土壤理化性质按常规方法测定<sup>[22]</sup>。

## 1.6 数据表达及统计

土壤微生物群落 Biolog 代谢剖面的表达: Biolog GN 微平板中多底物酶联 (ELISA) 反应采用每孔的平均吸光值 (AVERAGE WELL COLOR DEVELOPMENT, AWCD) 来描述<sup>[23]</sup>, 计算表达式为: {AWCD 值 = [ (C - R) ] / 95}, 其中 C 是所测得 95 个反应孔的吸光值, R 是对照孔的吸光值。

土壤微生物群落功能多样性测度方法<sup>[24, 25]</sup>: 采用 Biolog GN 微平板孔中吸光值来计算土壤微生物群落功能多样性指数, 即 Shannon 指数 (H), 其计算公式为:  $H = - \sum P_i \ln P_i$ , 式中  $P_i$  为第  $i$  孔相对吸光值 (C - R) 与整个平板相对吸光值总和的比率。代谢剖面反应孔的数目可代表微生物群落的丰富度 (S)。

试验数据采用 SPSS (V10.1) 和 SAS (V8.0) 统计软件分析。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Some physical and chemical properties of soil samples tested

土壤 编号 Soil No.	pH (H <sub>2</sub> O)	有机碳 Organic C (g kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N (g kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Alkali - hyd rolysable N (mg kg <sup>-1</sup> )	阳离子 交换量 CEC (cmol kg <sup>-1</sup> )	颗粒组成 (%)		
						Particle composition		
						2~0.02 mm	0.02~0.002 mm	<0.002 mm
1	7.84	4.52	0.87	8.25	1.51	58.35	32.53	9.12
2	6.48	0.22	0.08	1.31	1.26	65.87	25.59	8.54
3	7.61	2.05	0.96	9.71	2.75	67.23	23.81	8.96
4	7.17	1.58	0.75	6.46	2.51	63.08	27.47	9.45
5	5.38	5.79	0.95	67.87	6.01	54.45	33.20	12.35
6	6.14	4.48	0.73	48.48	4.87	48.71	40.08	11.21
7	5.18	6.24	1.97	105.44	9.75	31.06	58.30	10.64
8	5.02	11.3	3.22	86.21	10.51	35.12	36.85	28.03

## 2 结果与分析

### 2.1 铅锌银尾矿区土壤重金属污染特征及土壤因子分析

供试土壤的 Pb、Zn、Ag、Cu、Cd 全量和有效含量分析结果(表 2)可知,尾矿区土壤的 Pb、Zn、Ag、Cu、

Cd 含量从尾矿库中心到外围逐渐降低,其相应的全量平均值分别是对照土壤(8 号土)的 30.74、8.35、9.72、3.83、33.50 倍;有效量平均值分别高出对照土壤 28.84、7.37、3.72、16.14、44.38 倍,表明矿区土壤均受到不同程度的重金属复合污染。表 2 数据经 LSR 0.05 测验表明,从尾矿库中心到外围各土壤中 Pb、Zn、Ag、Cu、Cd 的全量及有效量均存在显著性差异( $p < 0.05$ )。

表 2 供试土壤的重金属含量

Table 2 The heavy metal contents of soil samples collected in the Pb, Zn, Ag mine area(mg kg<sup>-1</sup>)

土壤编号 Soil No.	重金属全量 Total metal					有效态重金属含量 Available metal				
	Pb	Zn	Ag	Cu	Cd	Pb	Zn	Ag	Cu	Cd
1	1604.09a	1836.42a	41.92a	50.92a	15.21a	53.55a	230.46a	1.40a	16.16a	1.96a
2	1399.09b	1565.45b	32.71b	39.83b	11.11b	52.12b	281.64b	1.30a	13.82b	1.25b
3	1104.41c	1272.54c	25.15c	31.75c	9.77c	40.21c	198.41c	1.31b	10.48c	1.21b
4	1061.37d	1015.16d	24.27d	26.11d	7.23d	31.76d	210.88d	1.40b	11.57d	1.26c
5	714.54e	923.14e	17.03e	19.81e	5.10e	22.66e	163.00e	0.53c	1.09e	0.59d
6	658.81f	759.98f	13.04f	16.74f	5.70ef	19.64f	143.80f	0.51c	1.02f	0.46e
7	433.94g	597.80g	9.44g	11.90g	4.62f	16.68g	144.60g	0.46d	0.96g	0.35f
8	28.48h	121.14h	2.13h	6.64h	0.22g	1.03h	23.68h	0.24e	0.43h	0.02g
平均值	875.59	1011.45	20.71	25.46	7.37	29.71	174.56	0.89	6.94	0.89

注:表中数据均为 3 次重复的平均值

为了进一步研究上述重金属污染对该矿区土壤质量环境变异的贡献大小,本文将供试土壤的重金属元素含量和基本理化性质进行了因子分析,其结果表明第一主因子的方差贡献率为 83.03%,且在第一主因子中除 Zn 元素的有效含量的权系数比土壤 pH 值的稍低外,其它几个重金属元素的全量和有效量的权系数均比土壤理化因子的权系数要高,这说明了在这一主因子中重金属元素含量的变异信息占据主导地位。由此可见,重金属元素是影响该

尾矿区土壤环境质量变异的主要因素。

### 2.2 铅锌银尾矿区土壤微生物生物量碳(SMBC)、基础呼吸、代谢商及细菌数量的变化

近年来,在重金属污染土壤环境质量评价工作中用得较多的微生物学评价指标主要有土壤微生物生物量、微生物数量、基础呼吸及生理代谢活性和微生物群落多样性等微生物生理生态参数<sup>[11~19]</sup>。本研究中供试土壤微生物活性指标分析结果见表 3。由表 3 可知,尾矿区不同区位段土壤微生物活性指

标均存在一定程度上的差异,土壤微生物生物量碳和细菌数量随着离尾矿中心区距离越近其数值越低,其相应的平均值分别是对照土壤(8号土)的43.90%和30.90%,这表明该尾矿区土壤的微生物生物量和细菌数量受到重金属的严重污染,土壤微生物生物量在一定程度上敏感地反映了尾矿区不同区位段土壤间重金属污染程度的差异,这一结论与Kandeler<sup>[17]</sup>等人的报道相一致。但土壤基础呼吸、微生物代谢商则越来越高,其相应的平均值分别是对照土壤的1.43倍、7.02倍。对这一现象的解释,Insan<sup>[14]</sup>等人认为高浓度重金属污染土壤中微生物

能够更多地利用有机碳作为能源,以CO<sub>2</sub>的形式释放,而低浓度重金属污染土壤中微生物能更有效地利用有机碳转化为生物量碳,从而导致土壤基础呼吸和微生物代谢商随着重金属污染程度的加剧而升高。以上可见,供试土壤的不同微生物生态参数在铅锌银尾矿区这一特定生境中存在空间变异特性差异。多重比较分析(LSR法)得出,土壤微生物生物量碳、基础呼吸及细菌数量在各土壤间的差异均达极显著水平( $p < 0.01$ );而微生物代谢商在1~5号土壤间存在极显著差异,5~8号土壤间的差异未达极显著水平。

表3 供试土壤微生物生物量碳、基础呼吸、代谢商以及细菌数量分析

Table 3 Soil microbial biomass carbon, basal respiration and bacteria number of soil samples tested

土壤编号 Soil No.	微生物生物量碳 Microbial biomass (C $\mu\text{g g}^{-1}$ )	基础呼吸 Basal respiration (CO <sub>2</sub> - C $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	代谢商 Metabolic quotient ( $\text{h}^{-1}$ )	细菌数量 Bacteria number (10 <sup>5</sup> cfu $\text{g}^{-1}$ )
1	16.82G	0.332A	0.020A	6.65G
2	9.24H	0.160H	0.017B	1.23H
3	30.75F	0.320B	0.010C	11.05F
4	63.64E	0.307C	0.005DE	25.38E
5	85.85D	0.275D	0.003E	43.21D
6	95.47C	0.256E	0.003E	73.68C
7	123.60B	0.240F	0.002E	96.36B
8	169.50A	0.180G	0.001E	213.63A
平均值	74.36	0.259	0.008	58.90

注:不同大写字母间表示LSR检验差异达极显著水平( $p < 0.01$ )

### 2.3 铅锌银尾矿区土壤微生物群落功能多样性分析

从以上微生物学指标分析可知,非矿区土壤微生物生物量和细菌数量较高,但其微生物代谢活性较低,而矿区土壤的微生物生物量和细菌数量较低,但其代谢活性较强,这在一定程度上反映了非矿区土壤条件下低水平、稳定态的微生物活动向矿区土壤重金属胁迫环境下的高水平、非稳定态的微生物活性状态过渡。可见,这些微生物学指标可作为尾矿污染区土壤环境质量评价的生物活性参数,但它们仅反映了土壤微生物在总量和活性上的差异,而无法表征土壤微生物群落结构组成上的变化。所以,要较为全面地揭示尾矿区土壤环境质量的生物活性状况还需进行土壤微生物群落结构的研究。土壤微生物群落结构也称之为微生物多样性,它能较早地预测土壤养分及环境质量的变化过程,是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数之一。目前碳素利用法(Biolog测试系统)已广泛应用于不

同生境土壤微生物群落功能多样性研究,尤其是重金属胁迫环境下<sup>[11,12,16~19]</sup>,它可以从微生物功能代谢水平上来揭示微生物群落结构的多样性及其变化,并可定量分析以克服经典计数方法的不足。

**2.3.1 铅锌银尾矿区土壤微生物群落代谢剖面的变化** 本文采用Biolog测试系统研究了该尾矿区土壤微生物群落功能多样性的变化。Biolog盘中每孔的平均吸光值(AWCD)是反映土壤微生物群落生理功能多样性的一个重要指标,对土壤环境胁迫的反应比较敏感,尤其在重金属胁迫环境下<sup>[16~19]</sup>。从图1可以看出,各供试土壤微生物群落的AWCD值在60h之前未表现出明显的变化,培育至72h时开始出现变化,于108h时出现了明显变化,且这种变化总体上随着离尾矿中心区距离越远,其数值越来越高。与对照土壤(8号土)相比,尾矿区土壤(1~7号)的AWCD值分别是对照土壤的5.75%、4.61%、15.15%、30.83%、50.31%、57.11%、

74.04%,多重比较结果得出各土壤间差异达极显著水平( $p < 0.01$ ),表明尾矿区不同区位段土壤的微生物群落代谢剖面发生了一定程度的改变,这也暗示了该尾矿区重金属复合污染会导致土壤微生物群落功能多样性的下降,减少能利用有关碳源底物的微生物数量,降低微生物对单一碳底物的利用能力。

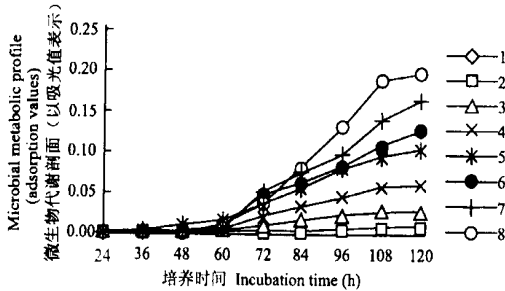


图1 供试土壤微生物群落代谢剖面的变化

Fig. 1 Changes of microbial metabolic profiles on Biolog plates for soil samples tested

Biolog 数据主成分分析结果进一步表明,重金属污染程度不同的供试土壤在 95 种碳源构建的主成分坐标体系中存在明显的空间分异(见图 2)。从图 2 中 PCA1 轴可见,污染严重的土壤在 PCA1 轴上的得分值较低,反之则较高(尤其是非矿区土壤(8 号土))。从分析结果 PCA1 轴的因子组成来看,PCA1 主要反映了一些碳水化合物(糖类)、不饱和长链脂肪酸和氨基酸碳源的利用情况。可见,矿区土壤微生物对碳源的选择性利用存在差异,反映了尾矿区土壤微生物利用能源碳的种类发生了转移,这也暗示了矿区土壤生态系统丧失微生物群落功能正常化所需的生化特征,因而尾矿区土壤微生物的群落功能多样性必然会发生相应的变化。

2.3.2 铅锌银尾矿区土壤微生物群落丰富度和多

表 4 供试土壤微生物群落丰富度和 Shannon 指数分析

Table 4 Analysis of soil microbial community richness and Shannon index

土壤编号 Soil No.	微生物群落丰富度(S) Community richness	群落 Shannon 指数(H) Community Shannon index
1	11G	1.280G
2	6H	0.977H
3	17F	1.850F
4	25E	2.530E
5	31D	2.980D
6	38C	3.170CD
7	52B	3.550B
8	74A	4.070A
平均值	26	2.334

注:不同大写字母间表示 LSR 检验差异达极显著水平( $p < 0.01$ )

样性 Shannon 指数的变化 由于 Biolog GN 盘中制备有 95 种不同性质的碳源,在培养过程中土壤的不同类群微生物对各自的优先利用碳源基质具有选择性,进而使 Biolog GN 盘中反应孔的颜色变化出现不同程度的差异。因而,Biolog GN 盘中反应孔的颜色变化数目在一定程度上可以间接反映土壤微生物群落结构组成上的差异,颜色变化孔数越多则表明土壤微生物群落种类相对就越丰富。通常把颜色变化孔数作为土壤微生物群落功能多样性的丰富度(S)<sup>[24]</sup>。从表 4 可知,尾矿影响区不同区位段的土壤微生物群落的丰富度存在明显差异,其中非矿区土壤(8 号土)的显色孔数最多(达 74 目),其微生物群落丰富度最大;尾矿区土壤(2 号土)的显色孔数最少(仅为 6 目),其微生物群落丰富度最小。与对照土壤相比,尾矿区各供试土壤的微生物群落丰富度分别为对照土壤的 14.86%、8.11%、22.97%、33.78%、41.89%、51.35%、70.27%,说明土壤微生物群落的丰富度能够简明地表达土壤微生物群落功能多样性的一个侧面,但它未能反映群落功能多样性相对多度的信息。

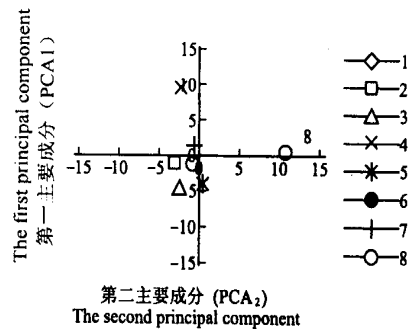


图 2 供试土壤 Biolog 读数值的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of Biolog readings for soil samples tested

Shannon 指数是研究群落物种数及其个体数和分布均匀程度的综合指标,是目前应用最为广泛的群落多样性指数之一<sup>[25]</sup>。本文采用这个指数来研究尾矿区土壤微生物群落功能多样性相对多度的信息,其结果如表 4 所示。从表 4 可知,在尾矿区土壤(1~7 号)的微生物群落功能多样性 Shannon 指数明显低于非矿区土壤(8 号土),最大为 3.550,最小为 0.977,其平均值是对照土壤的 57.34%。统计分析显示,各供试土壤微生物群落 Shannon 指数的差异也达极显著水平( $p < 0.01$ )。可见,该尾矿区土壤微生物群落的种群结构受到了重金属复合污染的影响,从而使其微生物群落功能多样性出现相应地降低。土壤微生物群落功能多样性是反映该尾矿区土壤生态系统稳定性的重要指示因子。因此要较为理想地恢复一个受扰受损的土壤生态系统、建立一个高质量的健康土壤生态应该具有良好的生物活性状况和稳定的微生物种群组成,如矿山复垦,不仅要恢复地上部植被,还应考虑恢复地下部土壤微生物群落多样性。

### 3 结 论

从以上研究结果可以看出,铅锌银尾矿库区土壤环境中重金属含量明显升高,并使土壤微生物生物量和细菌数量出现明显降低,而土壤微生物的基础呼吸量显著增加,微生物生理活动强度(代谢商  $qCO_2$ )有所提高。Biolog 测试结果显示,该尾矿区土壤微生物群落结构发生了相应变化,微生物群落代谢剖面及群落丰富度、多样性指数均显著低于非矿区土壤,表明尾矿区重金属污染引起了土壤微生物群落功能多样性的下降,减少了能利用有关碳源底物的微生物数量,降低了微生物对单一碳源底物的利用能力,最终导致土壤微生物群落功能多样性发生变化。可见,微生物活性和群落功能多样性是指示尾矿区土壤环境质量变化的灵敏、有效生物学指标。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Jung M C, Thornton I. Heavy metal contamination of soils and plants in the vicinity of a lead - zinc mine , Korea. *Applied Geochemistry*, 1996, 11 :53 ~ 59
- [ 2 ] McGregor R G, Blowes D W, Jambor J L. The solid - phase controls on the mobility of heavy metals at the copper cliff tailings area , Sudbury, Ontario, Canada. *Journal of Contaminant Hydrology*, 1998, 33 :247 ~ 271
- [ 3 ] 李玉臣,吉日格拉. 矿区废弃地的生态恢复研究. *生态学报*, 1995, 15(3) :339 ~ 343. Li Y C, Ji R L. The ecological restoration study on mining derelict land (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 1995, 15(3) :339 ~ 343
- [ 4 ] Shun W S, Yeb Z H, Lana C Y, *et al.* Acidification of lead-zinc mine tailings and its effect on heavy metal mobility. *Environment International*, 2001, 26 :389 ~ 394
- [ 5 ] Lee C G, Chon H T, Jung M C. Heavy metal contamination in the vicinity of the Daduk Au-Ag-Pb-Zn mine in Korea. *Applied Geochemistry*, 2001, 16 :1 377 ~ 1 386
- [ 6 ] 孙庆业,蓝崇钰,杨林章. 铅锌尾矿废弃地的化学性质研究. *农村生态环境*, 2000, 16(4) :36 ~ 39, 44. Sun Q Y, Lan C Y, Yang L Z. Chemical properties of lead-zinc tailings at disposal ground (In Chinese). *Rural Eco-Environment*, 2000, 16(4) :36 ~ 39, 44
- [ 7 ] 王亚平,鲍征宇,侯书恩. 尾矿库周围土壤中重金属存在形态特征研究. *岩矿测试*, 2000, 19(1) :7 ~ 13. Wang Y P, Bao Z Y, Hou S E. Study on characteristics of heavy metal species in the soils near the tailings (In Chinese). *Rock and Mineral Analysis*, 2000, 19(1) :7 ~ 13
- [ 8 ] Tördo G M, Baker A M, Willis A J. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 2000, 41 :219 ~ 228
- [ 9 ] 涂从,郑春荣,陈怀满. 铜矿尾矿库土壤-植物体系的现状研究. *土壤学报*, 2000, 37(2) :284 ~ 287. Tu C, Zheng CR, Chen H M. The current status of soil - plant system in copper mine tailings (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2000, 37(2) :284 ~ 287
- [ 10 ] 杨修,高林. 德兴铜矿矿山废弃地植被恢复与重建研究. *生态学报*, 2001, 21(11) :1 933 ~ 1 940. Yang X, Gao L. A study on re-vegetation in mining wasteland of dexing copper mine, China (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(11) :1 933 ~ 1 940
- [ 11 ] Bååth E. Effects of heavy metal in soil on microbial processes and populations: A review. *Water Air Soil Pollut.*, 1989, 335 ~ 379
- [ 12 ] Knight B. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63 :39 ~ 43
- [ 13 ] Flie bach A R, Martens H. Soil microbial biomass and activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, 26 :1 201 ~ 1 205
- [ 14 ] Insam H, Hutchinson T C. Effects of heavy metals on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biol. Biochem.*, 1996, 28 (4/5) :691 ~ 697
- [ 15 ] 蒋先军,骆永明,赵其国. 重金属污染土壤的微生物学评价. *土壤*, 2000, 32(3) :130 ~ 134. Jiang X J, Luo Y M, Zhao Q G. Assessment of soils contaminated with heavy metals by microbiological methods (In Chinese). *Soils*, 2000, 32(3) :130 ~ 134
- [ 16 ] 滕应,黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及修复研究进展. *土壤与环境*, 2002, 11(1) :85 ~ 89. Teng Y, Huang C Y. Ecological effect of heavy metals on soil microbes and research advances on the mechanisms of bioremediation (In Chinese). *Soil and Environmental Sciences*, 2002, 11(1) :85 ~ 89

- [17] Kandeler E, Luftnegger G, Schwarz S. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 23:299 ~ 306
- [18] Kell J J, Tate R L. Use BIOLOG for the analysis of microbial communities from zinc - contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27(3):601 ~ 608
- [19] Zak J C. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, 26:1 101 ~ 1 108
- [20] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D C. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, 19:703 ~ 707
- [21] 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 226 ~ 228. Xu G H, Zhen H Y. eds. *Analytical Methods Manual of Soil Microorganisms (In Chinese)*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986. 226 ~ 228
- [22] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 107 ~ 240. Lu R K ed. *Analytical Methods of Soil and Agricultural Chemistry (In Chinese)*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999. 107 ~ 240
- [23] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community - level sole - carbon - source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, 57:2 351 ~ 2 359
- [24] Bronwyn D H, Raymond L C. Using the Gni coefficient with BIOLOG substrate utilization data to provide an alternative quantitative measure for comparing bacterial soil communities. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30:91 ~ 101
- [25] Magurran A E. *Ecological Diversity and Its Measurement*. Princeton: Princeton University Press, 1988. 34 ~ 59

## MICROBIAL ACTIVITIES AND FUNCTIONAL DIVERSITY OF COMMUNITY IN SOILS POLLUTED WITH Pb-Zn-Ag MINE TAILINGS

Teng Ying<sup>1,2</sup> Huang Changyong<sup>1†</sup> Luo Yongming<sup>2</sup> Long Jian<sup>1</sup> Yao Huaiying<sup>1</sup>

(1 College of Environmental and Resources Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2 Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

**Abstract** In this study, the microbial activity and structure of microbial communities in soils polluted by tailings from Pb, Zn, Ag mine area were studied. The results showed both total and soluble metal loadings in these soils increased with proximity to the mine tailing reserve. Indicators of soil microbial features varied significantly because of heavy metal contamination stress. Soil microbial biomass and viable population size (plant counts) were negatively affected by the elevated metal levels, but the size of soil basal respiration rate and microbial metabolic quotients were positively influenced by the increasing heavy metal pollution levels. Microbial community structure also changed with increasing contamination, as indicated by Biolog data and principal component analysis of Biolog community metabolic profiles. Soil microbial metabolic profiles (AWCD) values, community richness and diversity index in mine-soils decreased remarkably as compared with adjacent non-mine soils ( $p < 0.01$ ). It was suggested that the decline of soil microbial community functional diversities would occur in soils polluted by heavy metals from mine tailing, decreased microbial number used energy carbon and utilization ability of microbial communities for carbon substrates. The microbial activities and community functional diversities can effectively indicate soil environmental quality transition from mine area to non-mine conditions.

**Key words** Pb-Zn-Ag mine tailings; Heavy metal contamination; Soil microbial activities; Functional diversities of microbial communities