

铅锌矿区土壤真菌响应重金属污染的群落组成变化

杨金水¹ 杨扬¹ 孙良明¹ 刘伟杰¹ 曾远² 邓春萍¹ 邢冠岚¹ 袁红莉^{1,†}

1. 农业生物技术国家重点实验室, 中国农业大学生物学院, 北京 100193; 2. 国家地质实验测试中心, 北京 100037;

† 通信作者, E-mail: hlyuan@cau.edu.cn

摘要 为研究土壤真菌适应不同程度重金属污染的群落组成变化,以云南省勐糯铅锌矿区土壤样品为研究对象,通过对其重金属含量和理化性质聚类分析,选取5个重金属高污染和4个低污染样品为代表,提取土壤样品总DNA,利用Illumina MiSeq测序技术对其进行测序分析,并在门、纲、目、科、属、种水平上,分析比较真菌的群落组成变化。研究结果表明,在高浓度重金属污染样品中,未被分类真菌占绝对优势,其次是*Aspergillus*, Un--s-Clavulinaceae sp.及 Un--s-fungal sp. ARIZ L453等。污染低的样品中未被分类真菌也含有较高丰度,但低于高污染样品,其次是*Geastrum*, *Aspergillus*和*Mortierella*等。利用代表性差异分析技术(RDA)分析重金属对土壤真菌多样性的影响,发现Pb含量对微生物群落结构具有极显著影响。研究结果可为寻找表征重金属污染程度的“核心微生物”奠定一定的理论及实验基础。

关键词 铅锌矿; 重金属污染; 高通量测序; 真菌群落组成

中图分类号 X172

Characterization of Soil Fungal Community in Response to Heavy Metal Pollution in Lead-Zinc Mining Area

YANG Jinshui¹, YANG Yang¹, SUN Liangming¹, LIU Weijie¹, ZENG Yuan², DENG Chunping¹,
XING Guanlan¹, YUAN Hongli^{1,†}

1. State Key Laboratory of Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193;

2. National Research Center of Geoanalysis, Beijing 100037; † Corresponding author, E-mail: hlyuan@cau.edu.cn

Abstract Heavy metal contamination is one of the most concerned global environmental problems and the soil heavy metal contamination is especially severe in lead-zinc mining areas in China. In order to study the soil fungal community composition changes responding to different degree of heavy metal pollution, soil samples from the lead-zinc mine field of Yunnan Mengnuo were studied. 5 samples from the heavy metal pollution soil (HP) and other 4 from the low pollution (LP), based on the cluster analysis of heavy metal contents and the physical and chemical properties of the sample were analyzed. Genomic DNA of the soil samples were extracted and the Internal Transcribed Spacer (ITS) genes were sequenced by the high-throughput sequencing Illumina MiSeq. The fungal communities at different taxonomic levels (Phylum, Class, Order, Family, Genus and Species) were compared. In HP samples, the abundance of unclassified fungi were the highest, then followed by *Aspergillus*, Un--s-Clavulinaceae sp. and Un--s-fungal sp. ARIZ L453 respectively. In LP samples, the unclassified fungi were also high, but less than HP. The relative abundance of fungi from high to low was *Geastrum*, *Aspergillus* and *Mortierella*. The Representational Difference Analysis (RDA) showed that different heavy metals influence fungal community diversity and the concentrations of Pb was significantly correlated with fungal community.

Key words lead-zinc mining; heavy metal pollution; high-throughput sequencing; fungal community

随着工业的发展,重金属通过多种途径进入土壤和环境中^[1]。重金属作为土壤污染的常见污染物,不仅破坏自然生态平衡,影响农业生产,而且通过食物链积累,危害人类健康^[2]。因此,重金属污染引起的环境生态问题日益受到关注^[3],其治理也刻不容缓^[4]。土壤微生物是土壤的重要组成部分,重金属污染一方面影响土壤微生物的群落组成及数量,另一方面,微生物通过自身的进化与适应,可通过生物固定、转化、溶解、氧化还原和吸附等作用对重金属进行无害化处理^[5],从而修复污染土壤。在矿区这种长时间受重金属污染的环境中,存在大量能够抵抗和转化重金属的潜在的高效微生物资源^[6],对于重金属污染土壤中微生物多样性的研究,有助于揭示土壤质量与微生物数量和活性之间的相关性^[7]。利用微生物群落多样性不仅可以评价与表征重金属污染程度,而且为抗重金属优良菌种的选育提供依据。传统的分离培养技术不能真实地反应土壤中微生物群落结构^[8],而高通量测序技术能全面深入的分析环境微生物组成,为土壤微生物的研究提供了可靠的途径。

云南省作为“有色金属王国”^[9],对其铅锌矿区微生物群落结构研究具有典型意义。因此,本研究在国家地质试验测试中心协助下,对采自云南省勐糯铅锌矿区的 9 个土壤样品进行土壤理化性质和重金属含量分析,并通过内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)高通量测序,分析其真菌群落组成及多样性,比较不同程度重金属污染样品的真菌群落结构差异,为阐明高浓度重金属污染对生态系统的影响,建立重金属污染检测的生物指标奠定理论及实验基础。

1 材料与方法

1.1 铅锌矿区土壤样品的采集

2013 年 8 月,在云南省勐糯铅锌矿区,采用多点混合取样的方法,采集深度 0~30 cm 处土壤样品 9 份,并记录采样点周边环境和信息。采集后立即将样品装入无菌袋,及时送回实验室保存。将采集的样品分 3 份保存:一份存储于-20℃冰箱,用于分子生物学分析;一份存储于 4℃,用于测定土壤酶活性及分离可培养微生物;一份自然风干,用于测定重金属含量和土壤理化性质。

1.2 铅锌矿区土壤样品重金属含量测定

由中国地质科学院地质测试中心利用能量色散

X 射线荧光光谱(EDXRF)分析测定 8 种常见重金属离子含量,包括 Pb, Cd, Cu, Zn, Hg, Cr, As 和 Ni^[10]。

1.3 铅锌矿区土壤样品理化性质测定

理化性质参数包括有机质、全氮、有效磷、速效钾、铵态氮、硝态氮及 pH,由中国农业大学农学院分析测试中心完成。有机质含量测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法^[11]。有效磷的测定利用 0.5 mol/L NaHCO₃ 浸提,基于钼锑抗比色法^[12]。速效钾的测定用 NH₄OAc 浸提,基于火焰光度法^[13]。全氮测定基于凯氏定氮法;土壤 NH₄⁺-N 的测定利用 2 mol/L KCl 浸提,基于靛酚蓝吸光光度法^[14]。土壤 NO₃⁻-N 的测定采用酚二磺酸吸光光度法^[15]。pH 的测定基于电位法。

1.4 矿区样品 DNA 提取

利用 E.Z.N.A Soil DNA 试剂盒(Omega 公司)提取土壤样品基因组 DNA。

1.5 ITS 高通量测序分析

2×Taq PCR StarMix 购自北京康润诚业生物科技有限公司; dNTPs 和 DNAMaker 购自大连 TaKaRa 公司;引物由生工生物工程(上海)有限公司合成; ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3'; ITS4: 5'-TCCTCCTCTTATTGATATGC-3'。ITS 序列测定和基本序列信息分析由北京诺禾致源生物信息科技有限公司完成,每个样品 3 次重复。

同一个 OTU 中的序列被视为来源于某一个相同分类单元的序列,作为一个假定的分类单元, cut-off 为 0.03。Uparse 构建 OTUs 时,会选取代表性序列(依据其算法原则,筛选的是 OTUs 中出现频数最高的序列),将这些代表性序列集合用 Qiime 中的 Blast 方法与 Unite_INSDC 数据库(Version 2014.05.13)进行物种注释分析(设定阈值为 0.6~1)。样品之间微生物群落结构的差异采用基于 Bray-Curtis 距离的主成分分析(PCA)方法。

2 结果与分析

2.1 样品土壤重金属含量

9 个土壤样品重金属含量见表 1。将重金属浓度 Pb 含量低于 500 μg/g, Zn 含量低于 2000 μg/g 命名为 LP (low pollution), Pb 含量大于 500 μg/g, Zn 含量大于 2000 μg/g 的区域命名为 HP (high pollution)。为了便于统计分析,将样品 Cp5, Mc3, Mc1, Cp3, Es3 和样品 Es4, Nf5, Ra1, Sd4 分别命名为 HP1, HP2, HP3, HP4, HP5 和 LP1, LP2, LP3, LP4。

2.2 铅锌矿区土壤样品理化性质

9 个土壤样品理化性质的测定结果如表 2 所示。每个样品做 3 个平行测定。

2.3 ITS 高通量测序结果

根据扩增的 ITS1 区域特点, 基于 Illumina MiSeq 测序平台^[16], 利用双末端测序的方法, 构建小片段文库进行双末端测序。通过对 Reads 拼接过滤, OTUs 聚类, 并进行物种注释及丰度分析, 可以揭示样品的物种构成。进一步的 α 多样性分析和 β 多样性分析可以挖掘样品间的物种差异。

2.3.1 样品测序预处理结果及质量检控

将经过标准化预处理后的数据用 Uparse 软件对所有样品的全部 Effective Tags 序列进行聚类,

以 97% 的一致性 (Identity) 将序列聚类成为 OTUs, 得到的有效 reads 一共 641905 条, 平均每个样品 23774 条, 其中, 样品 Cp3.1 最多, 为 40082 条。平均碱基数高达 5615400, 平均片段长度为 237。在 cut-off 为 0.03 水平上, OTU 数量从最少的 Es3.3 的 217 至最多的 Ra1.2 的 567 之间, 且高污染样品比低污染样品 OTU 少。

2.3.2 α 多样性分析

α 多样性可以表示群落内部或生境内的物种多样性, 通常用 Chao 1 和 Shannon 指数表示。Chao 1 常用来估计物种总数^[17], Shannon 指数可以用来描述一个区域的生物多样性。Shannon 值越大, 说明物种丰富度越高。对测序结果的 Chao1 和 Shannon

表 1 样品中 8 种重金属含量
Table 1 Heavy metal contents in soil samples

样品	编号	重金属含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)							
		Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Hg	Pb
Cp5	HP1	71.5	95.9	92.7	21700	338.4	240.7	3.4	10560
Mc3	HP2	91.6	64.7	60.4	7001	192.6	70.1	1.0	3713
Mc1	HP3	91.8	68.6	63.4	8896	163.7	84.8	0.8	3818
Cp3	HP4	101.5	43.6	43.2	2398	67.9	19.8	0.8	1549
Es3	HP5	95.3	51.0	58.5	4176	35.1	114.3	0.8	530.3
Es4	LP1	88.1	41.6	42.9	1198	27.1	29.0	0.5	277.8
Nf5	LP2	102.7	59.3	65.0	604.3	36.2	1.5	0.7	134.3
Ra1	LP3	105.0	63.3	59.0	246.2	51.7	1.7	0.6	178.0
Sd4	LP4	69.6	40.1	33.4	150.6	23.3	1.4	0.6	72.0

表 2 样品理化性质
Table 2 Physical and chemical properties of samples

编号	TC/%	TN/%	含量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			pH
			AP	NH_4^+-N	NO_3^--N	
HP1	4.31 \pm 0.38	0.35 \pm 0.01	20.17 \pm 1.10	17.80 \pm 2.53	1.37 \pm 0.52	7.50 \pm 0.00
HP2	3.84 \pm 0.16	0.18 \pm 0.01	10.24 \pm 0.41	17.20 \pm 0.55	0.81 \pm 0.15	7.37 \pm 0.06
HP3	3.32 \pm 0.21	0.21 \pm 0.01	6.18 \pm 0.68	50.89 \pm 1.79	2.66 \pm 0.12	7.50 \pm 0.10
HP4	3.80 \pm 0.39	0.20 \pm 0.01	15.31 \pm 0.03	2.85 \pm 0.29	127.71 \pm 9.26	6.80 \pm 0.00
HP5	3.58 \pm 0.21	0.22 \pm 0.00	15.98 \pm 1.75	11.58 \pm 0.99	1.07 \pm 0.40	6.83 \pm 0.06
LP1	1.85 \pm 0.52	0.16 \pm 0.00	7.59 \pm 2.88	10.33 \pm 1.55	0.84 \pm 0.18	6.40 \pm 0.00
LP2	0.36 \pm 0.14	0.11 \pm 0.00	0.06 \pm 0.49	3.15 \pm 0.70	6.46 \pm 0.69	6.10 \pm 0.00
LP3	4.20 \pm 0.38	0.17 \pm 0.01	15.09 \pm 0.17	13.00 \pm 2.35	0.78 \pm 0.14	7.23 \pm 0.06
LP4	1.78 \pm 0.55	0.13 \pm 0.00	16.62 \pm 1.40	4.22 \pm 0.92	16.87 \pm 0.39	7.40 \pm 0.00

说明: TC 为总有机质; TN 为总氮; AP 为有效磷; NH_4^+-N 为铵态氮; NO_3^--N 为硝态氮。

指数进行计算,并进一步计算 HP 区样品和 LP 区样品 OTU 和 Chao 1 的平均值,结果如图 1 所示。总体上,随重金属浓度增加,土壤样品中真菌种类及多样性呈现降低趋势。

2.3.3 β 多样性分析

β 多样性是对不同样品之间微生物群落构成进行比较,是分析样品间微生物群落差异的重要指标。对 9 个样品共 27 个测序样品进行 β 多样性分析。首先根据所有样品的物种注释结果和 OTUs 的丰度信息,在纲水平分类单元进行 PCA 分析,结果如图 2 所示。

纲水平 OTU 的含量和种类聚类主要分为 4 个区域。说明样品群落多样性主要分为 4 大群。其中,HP1, HP2, HP3, HP4, HP5 和 LP1 样品的群落结构聚在一起,LP2, LP3 和 LP4 各自聚在一起。从采样位置的地理描述看,HP5 和 LP1 均位于三江口居民区下大片水稻田,两者地理位置近,周边环境相

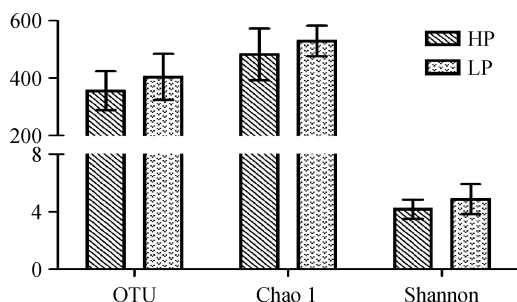


图 1 HP 与 LP 区 OTU, Chao 1 和 Shannon 平均值
Fig. 1 Average value of OTU, Chao 1 and Shannon in HP and LP area

似, LP1 重金属含量与其他 HP 样品的差距也最接近。结果表明:重金属浓度对微生物群落组成具有重要影响,当重金属含量超过一定水平后,影响程度的变化则不显著。

目水平分类单元的 PCA 分析与纲水平的结果相似,差别只是 HP1 样品与其他重金属含量较高的样品分开,其他基本相同。HP1 的重金属含量明显高于其他样品,说明土壤中重金属浓度确实对真菌群落有重要影响,而且在越小的分类单元水平上,重金属污染胁迫对真菌群落的影响越显著。

2.4 不同程度重金属污染土壤中的真菌群落结构

为了研究不同程度重金属污染土壤样品中真菌的群落结构,基于 27 个样品在 cut-off 为 0.03 水平均一化处理后绝对丰度矩阵的 OTU,计算同一样点 3 个平行样品 OTU 的平均值。分别在物种相对丰度最高的 5 个门(Ascomycota, Zygomycota, Un--s-fungal sp. ARIZ L453, Basidiomycota, Chytridiomycota)水平、9 个纲水平、15 个目水平、25 个科水平、40 个属水平和 50 个种水平上进行真菌群落多样性比较。

2.4.1 门水平真菌多样性

在丰度最高的前 5 个门水平上分析真菌群落结构多样性,结果见图 3。样品 HP1, HP3 和 HP4 中,未分类真菌为最高相对丰度真菌,表明在重金属含量高的土壤中,未分类真菌有较高的丰度。在 9 个样品整体水平上观察,子囊菌门在所有门类中占据最高丰度,这与颜森^[18]的结果一致,其次为担子菌

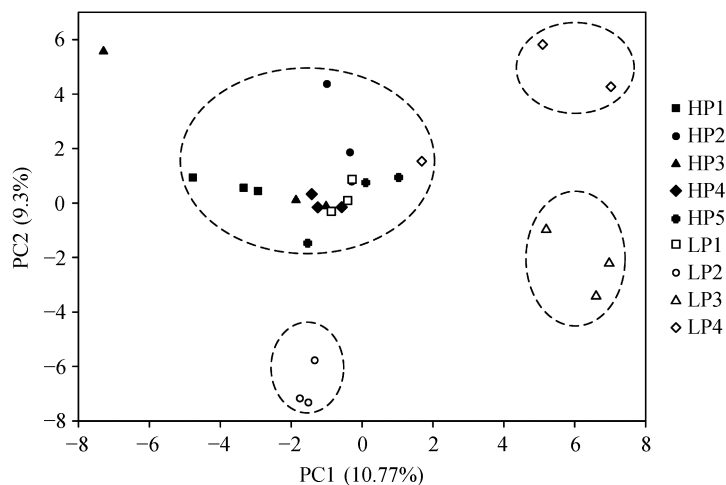


图 2 纲水平分类单元的 PCA 分析
Fig. 2 Analysis of PCA on level of Class

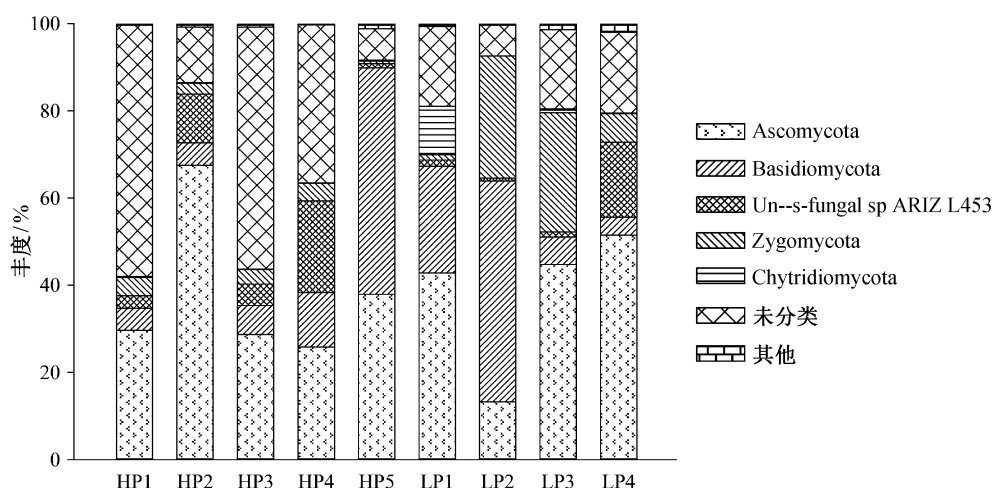


图3 9个样品门水平真菌相对丰度

Fig. 3 Relative abundance on phylum level of 9 samples

门。此外, 接合菌门和壶菌门也有较高的丰度。

2.4.2 纲水平真菌多样性

在纲水平上真菌群落结构的多样性见图4。仍然是未分类真菌相对丰度最大, 但LP样品丰度远低于HP样品, 表明随着分类单元的细化, 未知分类真菌的数量也随之增加。子囊菌门中粪壳菌纲和散囊菌纲在9个样品中都具有较高的相对丰度, 说明在铅锌矿区重金属污染土壤中广泛存在。除未分类菌株外, HP1样品中子囊菌门中粪壳菌纲相对丰度最高, 为11.76%, 远远高于其他样品(1.41%~5.37%)。担子菌门的伞菌纲在HP5, LP1和LP2样品中的相对丰度分别为50.1%, 23.32%和50.18%。

所以, 伞菌纲也是重金属污染土壤中的主要真菌, 但其重金属耐受性可能不如座囊菌纲。

2.4.3 目水平真菌多样性

在丰度最高的前15个目水平上分析了真菌群落结构多样性, 结果见图5。在HP1样点中Un--s-Sordariomycetes sp. genotype 83所占的比例较高, 在其他样品中分布很低。推测该真菌具有较强的抗重金属能力。散囊菌目为样点HP2, HP3, LP3和LP4中相对丰度较高的菌目, 且为HP2样点中的最高相对丰度菌目, 表明散囊菌目在铅锌矿区分布较为广泛, 对重金属的适应能力较强, 因此在多个位点作为最优势菌目出现。

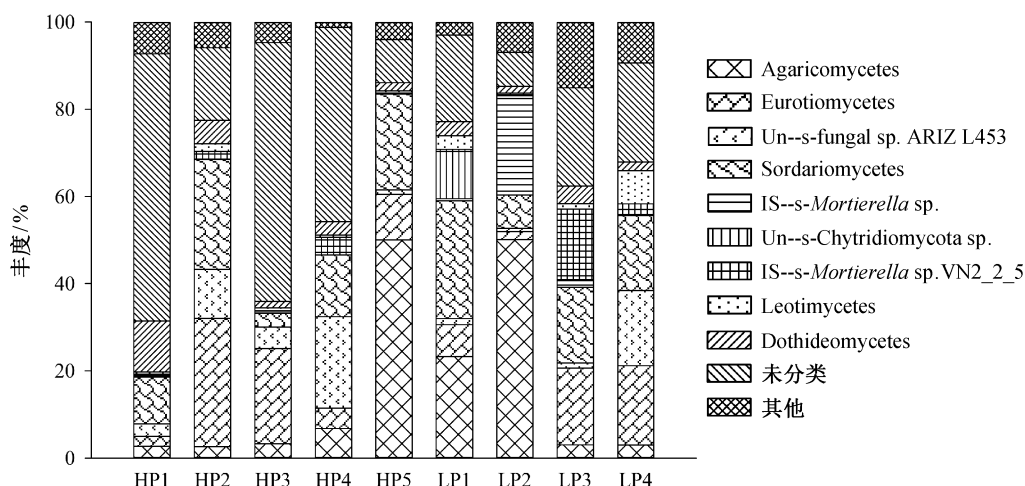


图4 9个样品纲水平真菌相对丰度

Fig. 4 Relative abundance on class level of 9 samples

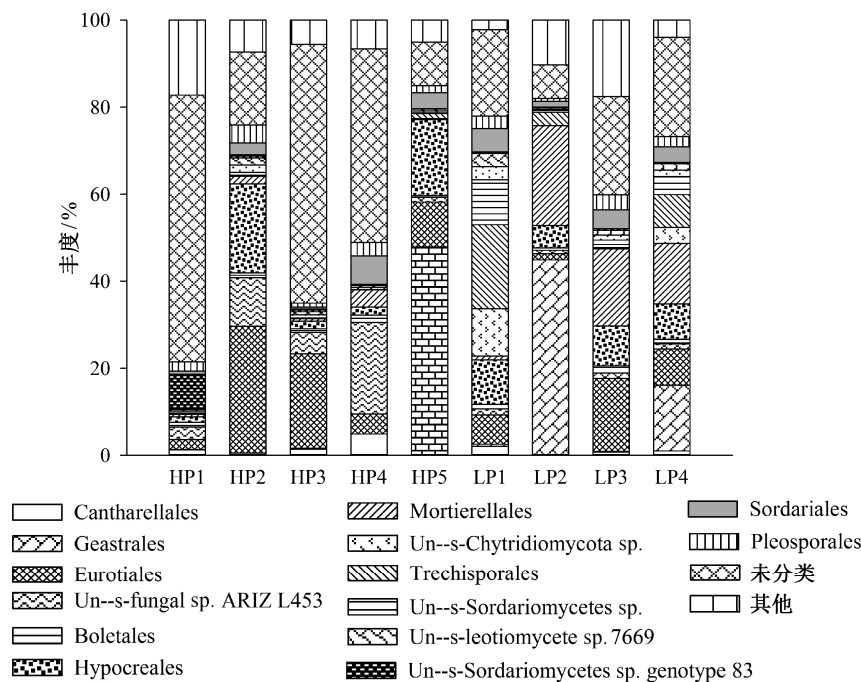


图 5 9 个样品目水平真菌相对丰度
Fig. 5 Relative abundance on order level of 9 samples

另外,肉座菌目(Hypocreales)在各个样品中,特别是在 HP2, HP5 和 LP1 中相对丰度较高,说明该目真菌有较强的适应重金属毒害的能力。Un--s-fungal sp. ARIZ L453 在 HP4 样品中也占有重要比例。HP5 样品中,鸡油菌目(Cantharellales)相对丰度最大,占有绝对优势。在 LP2 样品中主要优势真菌集中在地星目和被毛霉目。

通过在目水平上分析真菌群落多样性可以看出,大部分样品中丰度较高的目比较集中。可以推测,在重金属污染土壤样品中富集了大致相同的真菌。这可能是因为长期重金属胁迫环境下,一些真菌形成较高的抗性能力,逐渐成为铅锌矿区优势真菌。

2.4.4 科水平真菌多样性

在丰度最高的前 25 个科水平上分析真菌群落结构多样性,结果见图 6。散囊菌目中的发菌科真菌在 HP2, HP3, LP3 和 LP4 中有较高的相对丰度;HP1 样品中座囊菌纲的假散囊菌科为主要优势真菌;LP2 样品中主要优势物种为地星科(Geastraceae);HP5 样品中鸡油菌目的锁瑚菌科(Clavulinaceae)相对丰度最高;Un--s-fungal sp. ARIZ L453 在样点 HP4 和 LP4 中相对丰度较高;LP1 样品中糙

孢孔目(Trechisporales)的丰度最高;LP2 中地星目(Geastrales)地星科的丰度最高。

从科水平的分析结果看,大部分结论与目水平一致,说明在科水平与目水平之间的主要优势真菌比较集中。

2.4.5 属水平真菌多样性

在丰度最高的前 39 个属水平上分析真菌群落结构多样性,结果见图 7。HP1, HP3, HP4, LP1, LP3 和 LP4 的相对丰度最高的属仍是未分类真菌。在 HP1 样点中,Un--s-Sordariomycetes sp. genotype83 和假散囊菌属(*Pseudeurotium*)的相对丰度较高;样点 HP2 中,曲霉属(*Aspergillus*)、Un--s-fungal sp. ARIZ L453 和 *Fusarium* 为主要优势菌属;HP3 样品中,曲霉属(*Aspergillus*)相对丰度超过 20%;Un--s-fungal sp. ARIZ L453 在样品 HP4 中超过 20%;Un--s-Clavulinaceae sp. 为样品 HP5 和 LP1 的优势属;在样品 LP2 中,地星属(*Geastrum*)和被孢霉属(*Mortierella* I)为优势菌;LP3 样品中,被孢霉属(*Mortierella* II)和曲霉属(*Aspergillus*)为优势菌;Un--s-fungal sp. ARIZ L453 和曲霉属(*Aspergillus*)在 LP4 中比例较高。

通过在属水平的真菌多样性比较,能够初步确

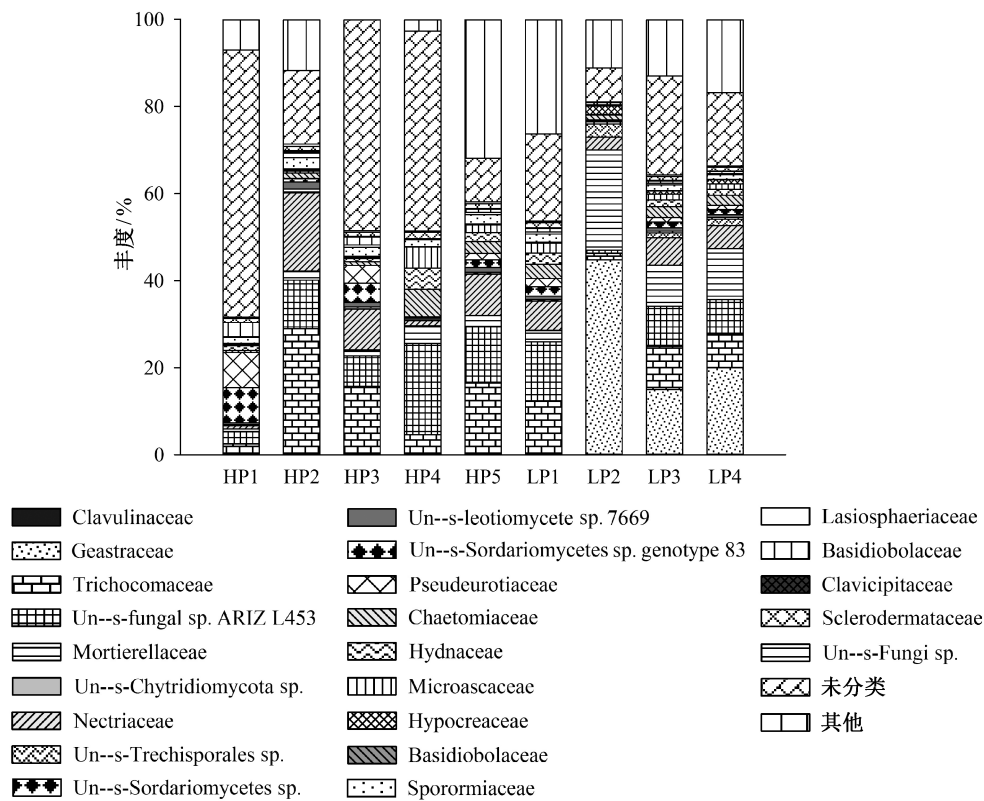


图 6 9 个样品科水平真菌相对丰度
Fig. 6 Relative abundance on family level of 9 samples

定各个样品的优势菌属。曲霉在重金属污染样品中的丰度较高,而且分布较广泛,之前有报道在铅锌矿区分离过优势菌种曲霉^[19],但在 HP1 样品中含量并不高,说明不同真菌能够抵抗的重金属浓度有差别。

2.4.6 种水平真菌多样性

在丰度最高的前 50 个种水平上分析真菌群落结构多样性,结果见图 8。同样是 HP1, HP3 和 HP4 中的未分类菌最多,而且比例超过其他较高级水平分类单位的结果。

除未分类真菌外,在重金属浓度高的土壤样品中粪壳菌纲的 *Sordariomycetes* sp. Genotype 83 种、*Schizangiella* sp. ARSEF2237、曲霉属的红绶黑曲霉 (*Aspergillus nomius*)、Un--s-fungal sp. ARIZ L453 属的真菌 fungal sp. ARIZ L453 和 Un--s-Clavulinaceae sp. 的 *Clavulina* sp. 相对丰度较大;重金属浓度低的土壤中,地星属的花冠状地星(*Geastrum corollinum*)和被孢霉属的 *Mortierella* sp. VN2_2_5 为优势菌株,分布较多。另外一些曲霉(*Aspergillus*)和

青霉(*Penicillium*)在重金属含量高、低的土壤中均有分布,只是含量相差很大,可能是重金属种类对真菌分布也有一定影响。

2.5 不同理化性质与微生物群落多样性影响研究

土壤微生物群落结构受多种因素影响。为了分析不同重金属污染程度和理化性质对微生物群落结构的综合影响,进行线性模型 RDA^[20]分析,结果如图 9 所示。

在 RDA 排序图内,环境因子一般用箭头表示,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之间的相关程度,箭头越长,说明相关性越大,反之越小。箭头连线与排序轴的夹角代表某个环境因子与排序轴的相关性,夹角越小,相关性越高,反之越低。环境因子之间的夹角为锐角时,表示两个环境因子之间呈正相关关系,为钝角时呈负相关关系。RDA 分析表明,Pb 含量对微生物群落结构具有极显著的相关性,TC, Cr 和 Cu 与微生物群落结构显著相关。

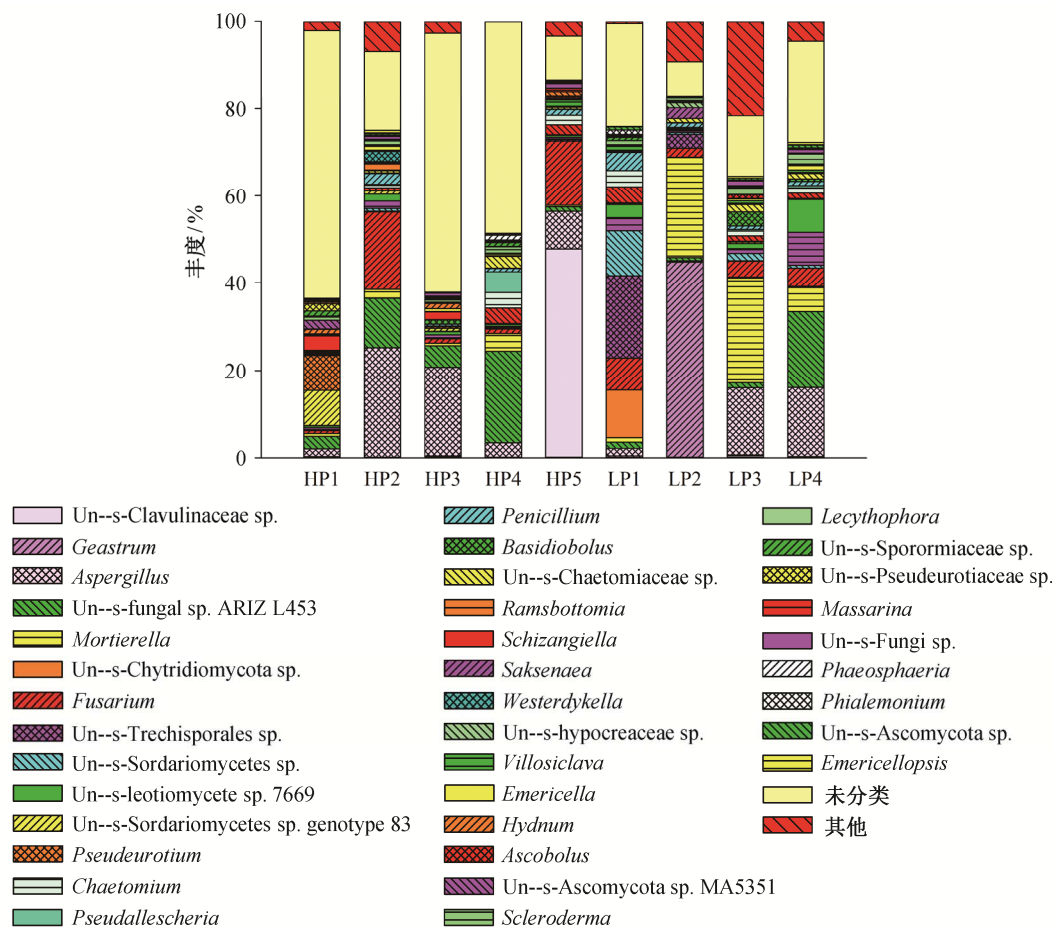


图 7 9 个样品属水平真菌相对丰度
Fig. 7 Relative abundance on family level of 9 samples

3 讨论与结论

本研究采用 Illumina MiSeq 测序技术, 对采自云南勐糯铅锌矿区的 9 个土壤样品中真菌群落组成从门、纲、目、科、属、种不同水平上进行分析, 得到以下结果。

污染程度严重的区域和污染程度较低的区域未分类菌属于优势菌, 但低污染样品中的丰度低于高污染样品, 说明重金属对土壤真菌群落有重要影响, 且土壤重金属含量与真菌的数量负相关, 与李小林等^[21]报道的重金属污染程度与土壤微生物数量负相关的结论一致。除未分类真菌外, 高污染样品和低污染样品中的优势真菌种类也不相同。在属水平上, 高浓度重金属污染土壤中主要的优势真菌为 *Aspergillus*, 低浓度重金属污染样品中主要的优势菌为 *Geastrum*, *Mortierella* 及目前研究不多的 Un--

s-Trechisporales sp.。与杨振兴等^[22]对湖南水口山有色金属矿区的优势真菌分析结果相比, 虽然 *Aspergillus* 都是优势真菌, 但本研究未发现湖南水口山矿区具有的木霉属菌株, 表明在重金属污染矿区, 不同地理位置矿区的真菌群落结构具有一定的差异性。在种水平上, 高浓度样品中优势菌为 *Aspergillus nomius*, *Clavulinaceae* sp. 及功能未知的 fungal sp. ARIZ L453, 而低浓度样品中 *Geastrum* 显著高于高污染样品, *Mortierella* sp., *Trechisporales* sp. 以及 *Leotiomycete* sp. 7669 也明显增多。在纲、目、科水平上的分析结果基本与属和种趋势一致。RDA 分析表明, 土壤中重金属和有机质含量对土壤真菌群落结构具有显著影响, 其中 Pb 含量具有极显著相关性, 而 TC, Cr 和 Cu 与真菌群落结构显著相关。本研究初步从整体水平上探究了不同浓度重金属对铅锌矿区真菌多样性的影响, 结果表明

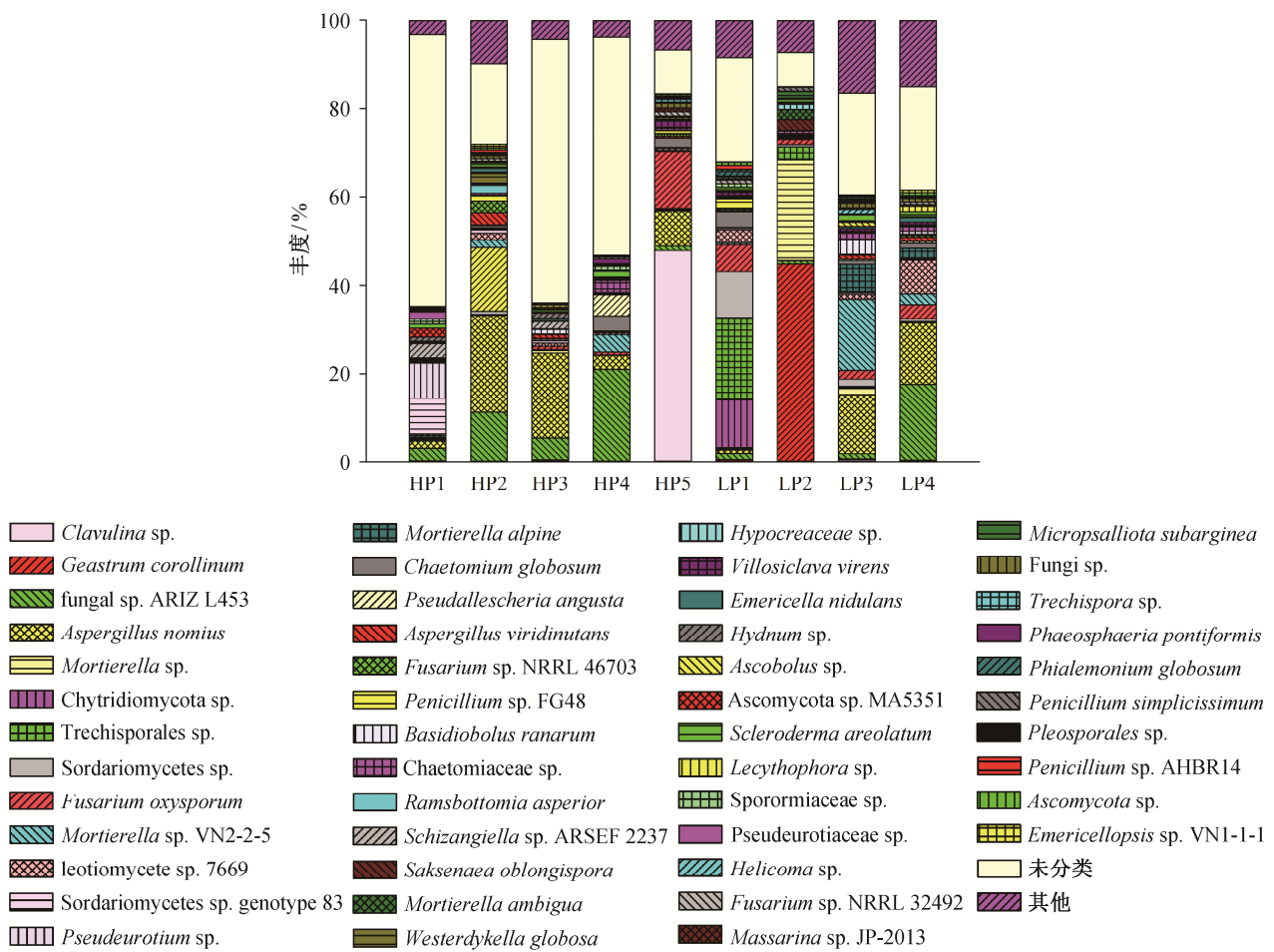


图 8 9 个样品种水平真菌相对丰度
Fig. 8 Relative abundance on species level of 9 samples

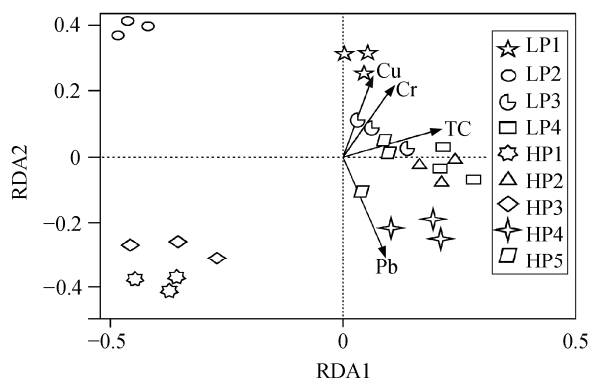


图 9 RDA 分析结果
Fig. 9 The result of RDA analysis

Pb 含量与微生物群落结构具有极显著相关性，散囊菌目在铅锌矿区分布较为广泛，对重金属的适应能力较强，是矿区的最优势菌，具有作为重金属污

染土壤监测生物表征及污染防治的应用潜力。

参考文献

[1] 王义, 黄先飞, 胡继伟, 等. 重金属污染与修复研究进展. 河南农业科学, 2012, 41(4): 1-6

[2] Granero S, Domingo J L. Levels of metals in soils of Alcala de Henares, Spain: human health risks. Environ Int, 2002, 28: 159-164

[3] 宋伟, 陈百明, 刘琳. 中国耕地土壤重金属污染概况. 水土保持研究, 2013, 20(2): 293-298

[4] Jarup L. Hazards of heavy metal contamination. British Medical Bulletin, 2004, 68: 167-182

[5] 滕应, 黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及其修复研究进展. 土壤与环境, 2002, 11(1): 85-97

[6] Gómez-Sagasti M T, Alkorta I, Becerril J M, et al. Microbial monitoring of the recovery of soil quality during heavy metal phytoremediation. Water, Air, and

- Soil Pollution, 2012, 223(6): 3249–3262
- [7] Kandeler E, Tschirko D, Bruce K, et al. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32: 390–400
- [8] Ward D M, Weller R, Bateson M M. 16S ribosomal-RNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 1990, 345: 63–65
- [9] 李志群, 陈耀光, 李伟中, 等. 云南省有色金属矿产资源及其接替对策探讨. *有色金属: 矿山部分*, 2005, 57(1): 2–5
- [10] 储彬彬, 罗立强. 铅锌矿区土壤重金属的 EDXRF 分析. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(3): 825–828
- [11] 鲍士旦. *土壤农化分析*. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [12] 王芹, 徐清波, 姚振琴. 土壤中有效磷的测定. *仪器仪表与分析监测*, 2009(4): 36–40
- [13] 何琳华, 曹红娣, 李新梅, 等. 浅析火焰光度法测定土壤速效钾的关键因素. *上海农业科技*, 2012(2): 23
- [14] 熊伟, 王志霞, 王丽丽. 靛酚蓝分光光度法测定空气中氨浓度的影响因素研究. *工程质量*, 2004(2): 36–38
- [15] 周聪, 范云, 高丽花. 酚二磺酸标准加入分光光度法分析水样中 NO_3^- 的研究. *海南大学学报: 自然科学版*, 1999, 17(3): 234–237
- [16] Quail Michael A, Smith Miriam, Coupland Paul, et al. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 341–353
- [17] Chao A. Non-parametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal Statistics*, 1984, 11: 265–270
- [18] 颜森. 铅锌矿区土壤微生物特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010
- [19] 王建坤. 铅锌污染对土壤微生物多样性的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009
- [20] Jon Pasher, Douglas J. King. Multivariate forest structure modelling and mapping using high resolution airborne imagery and topographic information. *Remote Sensing of Environment*, 2010, 114(8): 1718–1732
- [21] 李小林, 颜森, 张小平, 等. 铅锌矿区重金属污染对微生物数量及放线菌群落结构的影响. *农业环境科学学报*, 2011, 30(3): 468–475
- [22] 杨振兴, 田从魁, 党晨原, 等. 真菌对重金属 Pb(II), Cd(II), As(III) 和 Cr(VI) 耐受性的比较研究. *北京大学学报: 自然科学版*, 2015, 51(4): 667–676