

铜尾矿区白羊草枯落物不同分解阶段微生物群落功能研究

梁雪丽,王昱雯,柴宝峰,贾彤*

(山西大学 黄土高原研究所,山西省黄河实验室,黄土高原生态恢复山西省重点实验室,山西 太原 030006)

摘要:枯落物分解在草地生态系统能量流动和物质循环中具有重要作用,是连接生物与土壤两大碳库的“纽带”。本研究以山西省中条山铜矿区优势植被白羊草为研究对象,在野外原生生境下,模拟枯落物分解过程,基于宏基因组测序技术,探究白羊草枯落物不同分解阶段(分解100天、200天、460天)微生物群落结构、功能及其关键影响因素。结果表明:(1)白羊草枯落物微生物群落包含125个门、1069个科、2800个属和12364个种,优势菌种为变形菌门和放线菌门。(2)基于egg NOG和KEGG数据库注释结果,表明枯落物微生物分解过程中微生物的代谢功能最为活跃,其中,糖代谢和能量代谢表现最为突出。(3)枯落物pH、碳氮比、多酚氧化酶、纤维素酶以及枯落物重金属镉和铅是影响微生物群落功能的关键生态因子。该研究结果明确了受损生态系统枯落物分解过程中的微生物碳代谢功能特征;同时,探究了枯落物微生物发挥的重要生态功能,为揭示铜尾矿区枯落物微生物对土壤碳库的贡献提供科学依据。

关键词:铜尾矿区;白羊草;枯落物;宏基因组;功能多样性

中图分类号:Q938 **文献标志码:**A **文章编号:**0253-2395(2024)01-0227-11

Study on Microbial Community Function of *Bothriochloa ischaemum* Litter at Different Decomposition Stages in Copper Tailings Area

LIANG Xueli, WANG Yuwen, CHAI Baofeng, JIA Tong*

(Shanxi Laboratory for Yellow River, Shanxi Key Laboratory of Ecological Restoration on Loess Plateau,
Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Litter decomposition plays an important role in the energy flow and material cycle of grassland ecosystem, and is one of the 'bonds' connecting the two major carbon pools, organisms and soil. In this study, *Bothriochloa ischaemum*, the dominant vegetation in Zhongtiaoshan copper mining area of Shanxi Province, was selected as the research object. The litter decomposition process was simulated in the native habitat. The microbial community structure, function, and key influencing factors at different decomposition stages (100 days, 200 days, 460 days) were investigated based on metagenomic sequencing technology. The results showed that (1) the litter microbial community of *B. ischaemum* contained 125 phyla, 1069 families, 2800 genera and 12364 species, and the dominant bacteria were Proteobacteria and Actinomycetes; (2) the metabolic function of microorganisms was the most active in the process of microbial decomposition of litter, especially carbohydrate metabolism and energy metabolism based on egg NOG and KEGG databases; (3) the key driven factors affecting the functions of microbial communities were litter pH, C/N, polyphenol oxidase, cellulase, litter heavy metals cadmium and lead. The results clarified the functional characteristics of microbial carbon metabolism during litter decomposition in damaged ecosystems. At the same time, exploring the important ecological functions played by lit-

收稿日期:2022-11-21;**接受日期:**2023-03-10

基金项目:国家自然科学基金(32171524);山西省应用基础研究项目(201901D211196);山西省高等学校科技创新项目(2019L0005);山西省留学回国人员资助项目(2021-018);山西省研究生教育创新项目(2022Y121)

作者简介:梁雪丽(2000-),女,河北邢台人,硕士研究生,主要研究方向为植物与微生物生态学,E-mail:2863723765@qq.com

* **通信作者:**贾彤(JIA Tong),E-mail:jiatong@sxu.edu.cn

引文格式:梁雪丽,王昱雯,柴宝峰,等.铜尾矿区白羊草枯落物不同分解阶段微生物群落功能研究[J].山西大学学报(自然科学版),2024,47(1):227-237. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2023056

ter microbes can provide a scientific basis for revealing the contribution of litter microbes to soil carbon pool in copper tailings area.

Key words: copper tailings area; *Bothriochloa ischaemum*; litter; metagenome; functional diversity

0 引言

我国矿产资源丰富,但由于过度开采导致矿区周边生态环境被严重破坏^[1]。山西省运城市垣曲县中条山集团北方铜业铜矿峪矿,是全国最大的地下非煤开采矿山,也是我国北方最大的铜业生产基地,每年大约有700万吨铜尾矿排入十八河尾矿库,矿产资源开采和冶炼过程中产生的废弃物,导致尾矿砂迅速堆积,对当地生态环境造成严重污染^[2]。近年来,矿区生态修复技术和方法很多,其中,植物-微生物联合修复技术,因其安全、高效和低耗等特点越来越受到重视^[3]。前期调查发现,十八河尾矿坝植被恢复过程中的优势植被为白羊草^[4]。白羊草(*Bothriochloa ischaemum*)是禾本科孔颖草属的喜温中旱生植物,属于根茎疏丛型下繁禾草,根系发达,耐旱及再生能力较强^[5]。随着铜尾矿坝恢复年限的增加,白羊草枯落物逐年累积,并成为生态恢复过程中有机物的主要来源。这对提高土壤碳库、改善土壤肥力、优化土壤结构具有重要作用^[6]。因此,探究白羊草枯落物不同分解阶段土壤微生物群落结构功能及其影响因子,对明确矿区受损生态系统中枯落物发挥的重要生态作用具有科学意义,也为改善矿区贫瘠土壤和提高尾矿区生态修复效率提供科学依据。

枯落物是联系植物与土壤的“纽带”^[7],它作为连接生态系统生产者和消费者的重要养分来源^[8],对维持生态系统物质化学循环具有重要作用^[9]。土壤碳循环是生态系统物质循环的重要部分,而土壤碳含量的变化与枯落物的分解密不可分。有研究表明,枯落物是提高森林生态系统净生产力的主要来源^[10]。孙雪等^[11]研究发现,原始红松林土壤微生物群落碳代谢功能具有季节差异性。胡明慧等^[12]运用宏基因组学方法发现,增温可增强湿季常绿阔叶林土壤有机碳代谢基因丰度。李飞等^[13]研究结果表明,不同草甸土壤微生物群落代谢活性存在显著差异。由此看来,目前大多数研究集中

于自然生态系统中土壤微生物群落功能的研究,而对于受损生态系统下枯落物分解过程中微生物群落功能的研究相对较少。因此,研究铜尾矿区白羊草枯落物不同分解阶段微生物碳代谢功能特征,对明确枯落物微生物对土壤碳库的贡献具有重要意义。

近年来,随着微生物组学技术的发展,宏基因组测序技术逐渐被用于探究微生物群落组成和功能特征的研究^[14]。基于此,本研究选取铜尾矿区优势种白羊草为研究对象,通过宏基因组测序,探究铜尾矿区白羊草枯落物不同分解阶段微生物群落功能特征及其驱动因子,为明确枯落物分解过程中微生物群落发挥的重要生态功能,提高矿区生态修复效率提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

山西省运城市垣曲县的北方铜业铜矿峪矿十八河尾矿库,于1969年建坝,该地区属大陆性季风气候,四季分明,年均气温14℃,年平均降水量780 mm^[15]。目前已形成14级子坝,本研究中,选择植被恢复22年的S536子坝作为试验区域^[2]。

1.2 研究方法

1.2.1 白羊草枯落物采集及枯落物袋设置

2019年4月末,在S536子坝的白羊草植被分布区随机设置三个样地,对白羊草枯落物和土壤进行采集,去除枯落物表面杂质,风干之后称重,装入大小为10 cm×8 cm的尼龙网袋并进行编号,每袋装8 g枯落物。2019年5月将白羊草枯落物袋埋在铜尾矿区表层土壤中(深度为0~5 cm),每个样地三个重复。2019年8月、2019年11月和2020年8月分三次取回埋好的枯落物袋,其分解时间分别为100天、200天、460天。样品一部分用于高通量测序,一部分置于-4℃用于理化性质和酶活性测定。整个取样过程中佩戴无菌手套,以避免污染样品。

1.2.2 理化性质及酶活性测定

(1)理化性质:pH(1:2.5土/水质量比,1:20枯落物/水质量比)用酸度计(HANNA HI3221)测定;土壤含水量(SWC)及枯落物含水量(LWC)的测定采用烘干法,土壤105℃烘干,枯落物65℃烘干至恒量;元素分析仪(Elementar Vario MACRO, Germany)测定全氮(TN)、全碳(TC)含量;用原子吸收光谱仪(Agilent Technologies 200 Series AA, US)测定重金属(铜(Cu)、锌(Zn)、铅(Pb)和镉(Cd))含量。

(2)酶活性的测定:过氧化氢酶用 KMnO_4 滴定法测定;碘量滴定法测定多酚氧化酶;3,5-二硝基水杨酸比色法测定纤维素酶。

1.2.3 DNA提取与宏基因组测定

样品DNA抽提用FastDNA[®] Spin Kit for Soil(MP Biomedicals,美国)试剂盒进行^[16]。每个分解阶段3个重复,共9个样品。DNA抽提后,检测其浓度、纯度和完整性,筛选约400bp的片段构建PE文库^[17]。宏基因组测序在上海美吉生物医药科技有限公司完成^[18]。

1.3 数据处理

使用Diamond(version 0.8.35, <http://www.diamondsearch.org/index.php>)将非冗余基因集与NR数据库进行比对,使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度。通过与egg NOG数据库进行比对,获得微生物的直系同源蛋白簇(Clusters of Orthologous Groups of proteins, COG)功能,用对应的功能基因丰度总和计算该COG的丰度。通过与京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)进行比对,获得微生物的KEGG功能,分别从不同水平计算对应功能类别的丰度,宏基因组数据分析在美吉云平台完成。

数据的统计分析使用R软件进行。用Wilcoxon秩和检验进行数据的成对比较,双尾检验来检验差异性,置信区间为95%。采用PCoA分析(基于Bray-Curtis的差异),即主坐标分析(principal co-ordinates analysis)来比较白羊草枯落物不同分解阶段微生物功能差异性。采用db-RDA分析(Bray-Curtis距离)分析功能(KEGG level3)与环境因子之间的关系。

2 结果

2.1 白羊草枯落物不同分解过程中微生物组成和多样性变化

从宏基因组中共筛选出193 910 394个基因。其中细菌基因187 262 912个(96.6%)。有87 708个古菌基因(0.05%),6 408 666个真核生物基因(3.3%),92 370个病毒基因(0.05%)。共鉴定4域、7界、125门、255纲、564目、1 069科、2 800属和12 364种。在门水平上共有5个微生物优势门,其相对丰度从高到底依次为变形菌门(60.73%)、放线菌门(31.67%)、拟杆菌门(2.85%)、子囊菌门(2.84%)、酸杆菌门(1.91%)。其中,真菌优势菌为子囊菌门(图1(a))。优势细菌群为变形菌门和放线菌门,占据总含量的88.45%。在属水平上,细菌群落丰度大于3%的优势菌属有五个,从高到低依次为甲基杆菌属(15.39%)、泛菌属(12.08%)、链霉菌属(11.29%)、拟无枝菌酸菌属(4.39%)、鞘氨醇单孢菌属(3.50%)。其中,链霉菌属和拟无枝菌酸菌属在分解到第200天的时候相对丰度最高(图1(b))。韦恩图结果表明,枯落物分解到第460天时物种数目最多,第100天时物种数目最少(图1(c)、图1(d))。

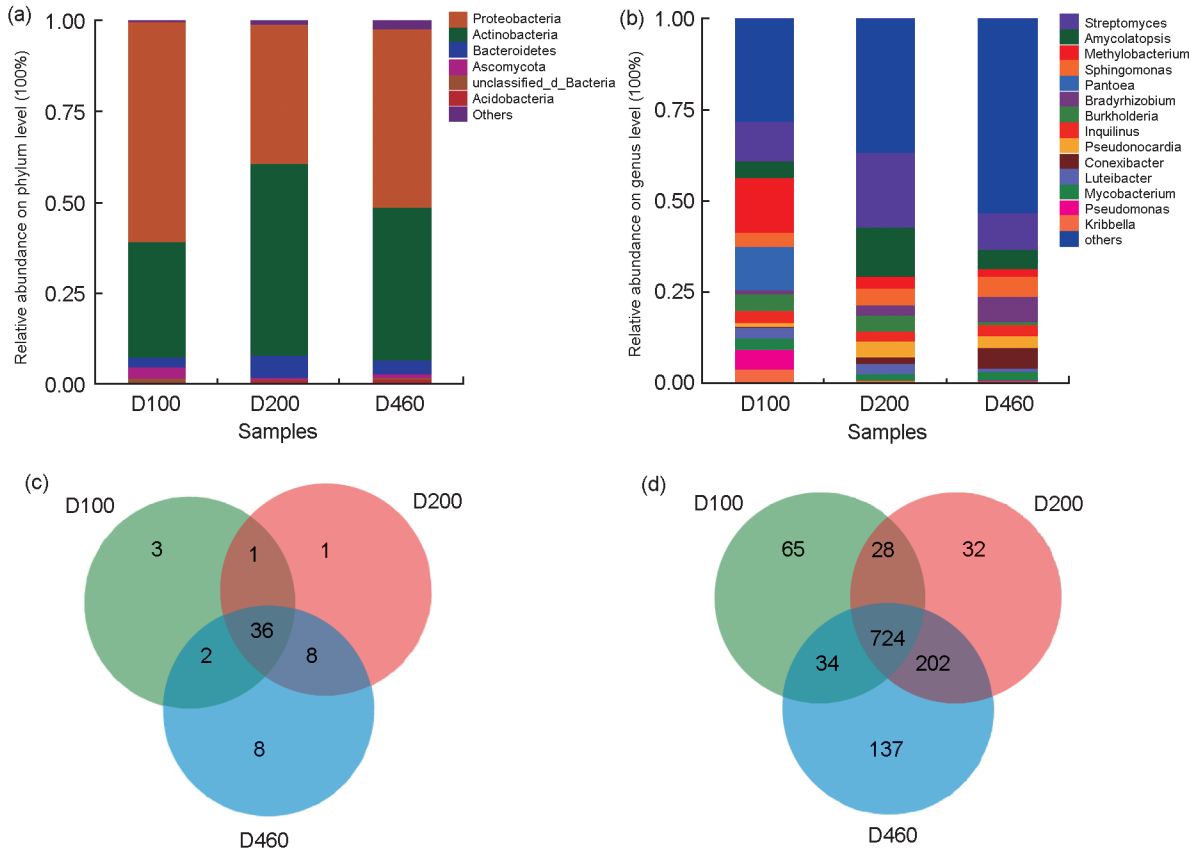
枯落物分解前期,变形菌门占主导地位,分解到第200天时,放线菌丰度最高。子囊菌门随枯落物分解呈先下降后上升的趋势,酸杆菌门则呈上升趋势。厚壁菌门、浮霉菌门、疣微菌门、绿弯菌门、线虫门、芽单胞菌门和古生菌门相对丰度随着枯落物的分解有显著差异,且随着枯落物分解而显著增加($P < 0.05$)(图2)。

2.2 枯落物不同分解阶段微生物群落间与碳代谢相关的功能分析

2.2.1 egg NOG注释的白羊草枯落物微生物群落功能

基于主成分分析,白羊草枯落物不同分解阶段微生物在eggNOG上的功能基因差异性。结果显示,白羊草枯落物不同分解阶段之间呈现明显分散现象,第一主成分和第二主成分的贡献率分别为65.87%和13.86%(图3)。

将测得的结果与egg NOG功能数据库对比,egg NOG功能注释了两大类代谢(Metabo-



注:图中D100表示枯落物分解 100 天;D200 表示枯落物分解 200 天;D460 表示枯落物分解 460 天

图 1 白羊草枯落物不同分解阶段优势微生物相对丰度和韦恩图

(a) 门水平上优势微生物相对丰度(相对丰度百分比大于 1%); (b) 属水平上优势微生物相对丰度(相对丰度百分比大于 3%); (c) 门水平上优势微生物韦恩图(相对丰度百分比大于 1%); (d) 属水平上优势微生物韦恩图(相对丰度百分比大于 3%)

Fig. 1 Relative abundances of dominant microorganisms and venn diagram of microorganisms in different decomposition stages of *B. ischaemum* litter

(a) Relative abundance of dominant microorganisms at phylum level (The relative abundance percentage is greater than 1%); (b) Relative abundance of dominant microorganisms at genus level (The relative abundance percentage is greater than 3%); (c) Venn diagram of dominant microorganisms at phylum level (The relative abundance percentage is greater than 1%); (d) Venn diagram of dominant microorganisms at genus level (The relative abundance percentage is greater than 3%)

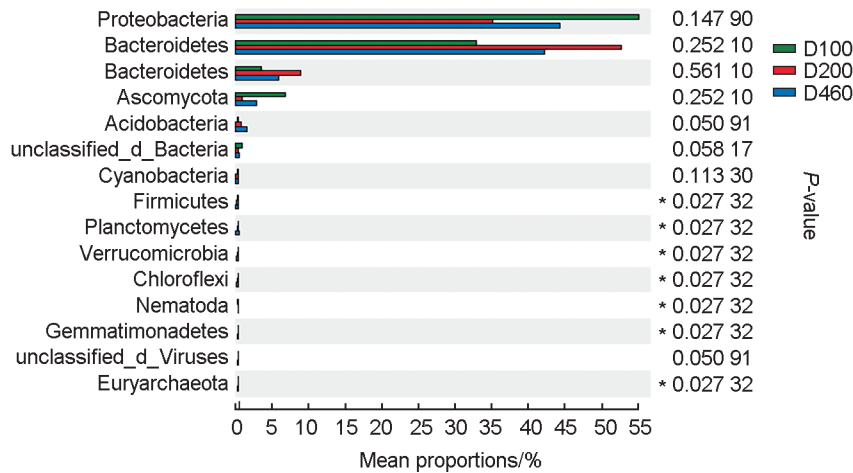
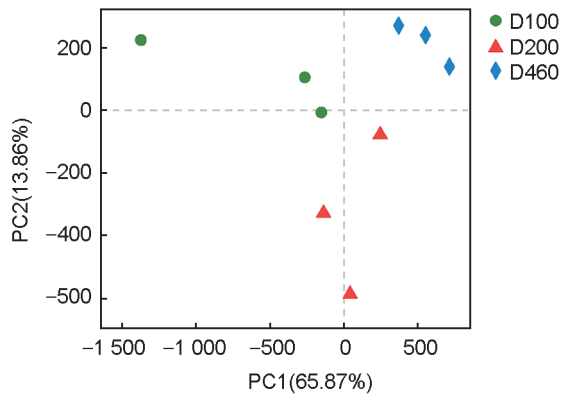


图 2 白羊草枯落物不同分解阶段优势微生物门丰度差异(* $P < 0.05$)

Fig. 2 Abundance differences of dominant phyla in litter of *B. ischaemum* at different decomposition stages(* $P < 0.05$)



注:PC1为主成分在第一轴上的解释率;PC2为主成分在第二轴上的解释率

图3 白羊草枯落物不同分解阶段在egg NOG上的功能基因主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis of functional genes of *B. ischaemum* litter at different decomposition stages on egg NOG

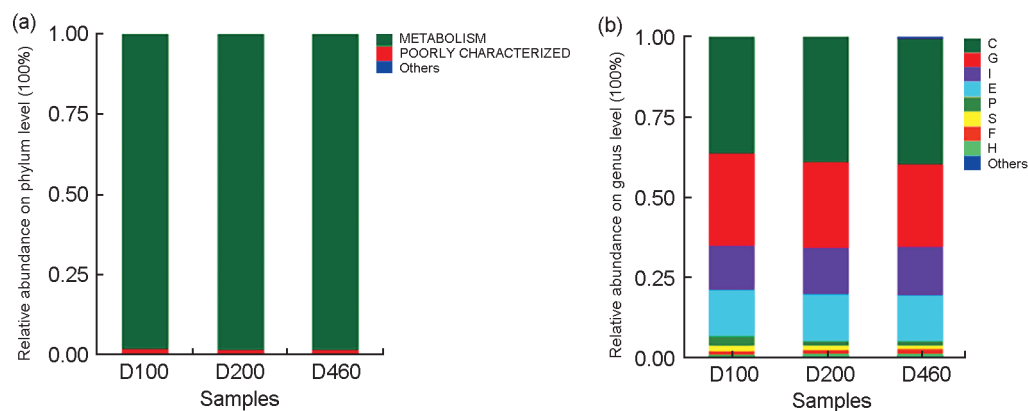
ism) 和未知的功能特征 (Poorly characterized)。结果表明,代谢功能为枯落物不同分解阶段微生物的主要功能(图4(a))。将关于碳代谢的枯落物不同分解阶段微生物基因与egg NOG功能水平对比,最主要功能是能量生产以及转换功能。随着白羊草枯落物的分解,碳水化合物运输和代谢功能基因的相对丰度逐渐降低(图4(b))。

2.2.2 KEGG注释白羊草枯落物微生物群落功能

基于KEGG中通路类型进行分类,将注释到的六大功能归类到31种信号通路上(表1)。其中,代谢功能所占比例最高,占这四大功能

类别的94.28%,其中,糖代谢所占比例最高为39%,说明白羊草枯落物微生物糖代谢能力较强;遗传信息处理功能所占比例最低,为0.20%,其主要功能包括折叠,分类和降解;环境信息处理功能占这四大功能类别的3.30%,其主要功能包括跨膜运输、信号传导。细胞过程功能占这四大功能类别的2.23%,其主要功能包括细胞生长和死亡、细胞运动、细胞群落-真核生物、细胞群落-原核生物、运输和分解。

在KEGG Level2和Level3水平上,对功能基因的丰度进行组间差异比较,结果表明,在Level2水平上,基因丰度排在前三位的依次是糖代谢、全局概览地图和能量代谢,其中,糖代谢随着白羊草枯落物分解先增加后降低,即在200时丰度最高,其次是460天,最后是100时丰度最低;而能量代谢、外源生物的生物降解与代谢和脂类代谢随着白羊草枯落物的分解功能基因持续增加(图5(a))。在Level3水平上,基因丰度前三依次是碳代谢、原核生物的碳固定途径和氨基酸的生物合成;其中,碳代谢(Carbon metabolism)和氨基酸的生物合成(Biosynthesis of amino acids)功能随着枯落物分解逐渐降低,在100天基因丰度最高,其次是200,460天基因丰度最低,而原核生物的碳固定途径(Carbon fixation pathways in prokaryotes)功能呈明显的增加趋势。甲烷代谢(Methane metabolism)、TCA循环、丙酸循环(Propanoate metabolism)功能呈上升趋势,磷酸戊糖途径(Pentose phosphate pathway)功能随着



注:C:能量生产以及转换;G:碳水化合物的运输和代谢;I:脂质运输和代谢;E:氨基酸的运输和代谢;P:无机离子的转运和代谢;F:核苷酸转运和代谢;H:辅酶转运和代谢;S:未知功能

图4 白羊草枯落物不同分解阶段功能基因Category功能水平(a)和Function功能水平(b)相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of functional genes at category (a) and function (b) levels in litter of *B. ischaemum* at different decomposition stages

表1 KEGG数据库注释的二级水平代谢通路基因数

Table 1 Number of genes in second-level metabolic pathways annotated in KEGG database

Level1	Level2	100 d	200 d	460 d
代谢(Metabolism)	氨基酸代谢(Amino acid metabolism)	799 974	947 950	906 144
	其他次生代谢产物生物合成(Biosynthesis of other secondary metabolites)	182 028	217 238	186 382
	糖代谢(Carbohydrate metabolism)	3 587 964	3 821 696	3 461 902
	能量代谢(Energy metabolism)	702 592	798 382	753 524
	全局和概览地图(Global and overview maps)	1 461 182	1 667 966	1 584 624
	聚糖生物合成和代谢(Glycan biosynthesis and metabolism)	131 656	155 766	117 946
	脂类代谢(Lipid metabolism)	351 894	468 342	402 378
	辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)	177 374	199 850	200 454
	其他氨基酸代谢(Metabolism of other amino acids)	290 940	369 352	322 584
	萜类和聚酮类代谢(Metabolism of terpenoids and polyketides)	190 286	218 994	197 798
	核苷酸代谢(Nucleotide metabolism)	47 684	47 408	46 724
	外源生物的生物降解与代谢(Xenobiotics biodegradation and metabolism)	239 856	301 044	299 624
	环境信息处理 (Environmental Information Processing)	跨膜运输(Membrane transport)	70 136	15 904
信号传导(Signal transduction)		261 722	271 626	270 140
细胞过程(Cellular Processes)	细胞生长和死亡(Cell growth and death)	28	2	0
	细胞运动(Cell motility)	2 138	422	906
	细胞群落-真核生物(Cellular community-eukaryotes)	92	2	0
	细胞群落-原核生物(Cellular community-prokaryotes)	109 720	114 244	94 536
	运输和分解(Transport and catabolism)	111 626	94 700	83 238
遗传信息处理 (Genetic Information Processing)	折叠,分类和降解(Folding, sorting and degradation)	18 776	17 548	16 560
人类疾病(Human Diseases)	癌症:概述(Cancers: Overview)	98 264	123 074	125 800
	癌症:特定类型(Cancers: Specific types)	13 230	13 400	14 058
	耐药性:抗肿瘤性药(Drug resistance: Antineoplastic)	28 350	37 100	31 470
	内分泌和代谢疾病(Endocrine and metabolic diseases)	16 756	15 982	16 660
	传染病:细菌(Infectious diseases: Bacterial)	19 126	25 006	22 592
	神经变性疾病(Neurodegenerative diseases)	57 968	39 322	39 098
有机系统(Organismal Systems)	年龄(Aging)	41 236	26 502	22 664
	消化系统(Digestive system)	1 736	266	890
	内分泌系统(Endocrine system)	75 382	97 834	100 490
	排泄系统(Excretory system)	6 038	7 372	3 670
	免疫系统(Immune system)	3 548	2 976	1 266

枯落物分解逐渐降低(图5(b))。

2.3 环境因子对白羊草枯落物不同分解阶段微生物功能的影响

基于碳代谢基因 KEGG level3, 枯落物 pH 及其养分特征显著影响白羊草枯落物不同分解阶段微生物群落功能, 第一排序轴解释 32.13% 的信息, 第二排序轴解释 16.80% 的信息, 共解释 48.93% (图 6(a)); 在酶活性中, 多酚氧化酶和纤维素酶是影响白羊草枯落物不同分解阶段微生物群落功能的主要因子, 第一排序轴解释

29.60% 的信息, 第二排序轴解释 8.98% 的信息, 共解释 38.58% (图 6(b))。在重金属中, Cd、Pd 对白羊草枯落物不同分解阶段微生物的功能影响较大, 第一排序轴解释 30.57% 的信息, 第二排序轴解释 12.66% 的信息, 共解释 43.23% (图 6(c)); 这些理化因子对碳代谢和氨基酸的生物合成功能的影响较为相似。

3 讨论

枯落物主要由纤维素、半纤维素和木质素

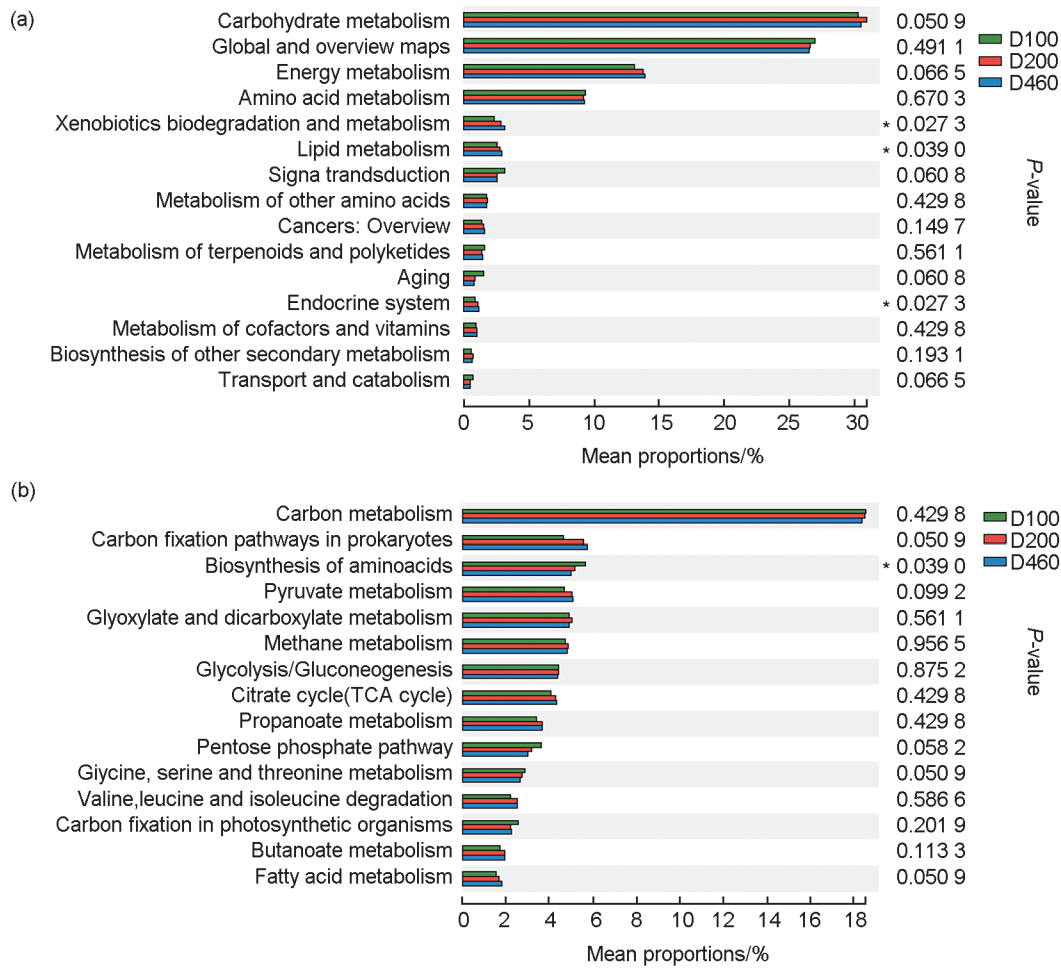
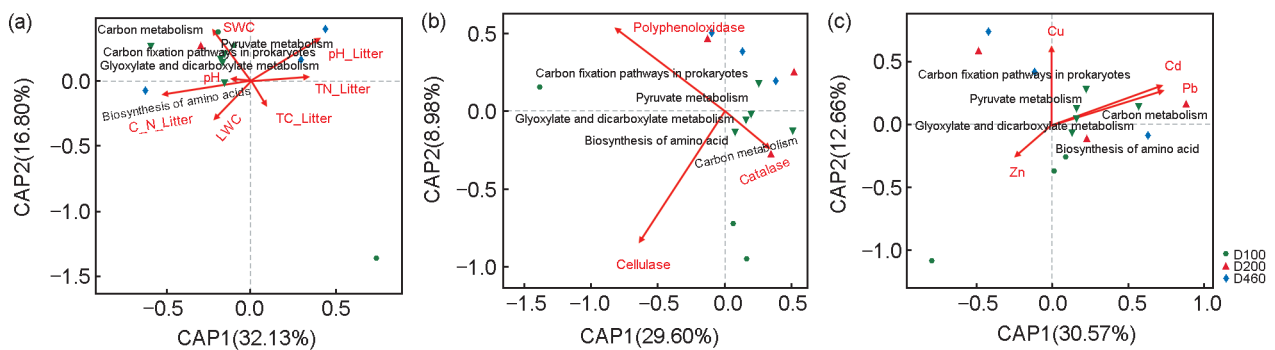


图5 白羊草枯落物不同分解阶段微生物功能基因KEGG Level2 (a)和 Level3 (b)相对丰度的差异分析(* $P < 0.05$)

Fig. 5 Differences in relative abundance of microorganism functional genes KEGG Level2 (a) and Level3 (b) in *B. ischaemum* litter at different decomposition stages (* $P < 0.05$)



注:(a) 枯落物与土壤性质;(b) 酶活性;(c) 枯落物重金属;PC1:主成分在第一轴上的解释率;PC2:主成分在第二轴上的解释率

图6 环境因子与微生物功能的db-RDA分析

Fig. 6 The db-RDA analysis of environmental factors and microorganism functions

组成,微生物群落对枯落物分解具有重要作用。研究表明,枯落物分解的主要微生物为放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和变形菌门^[19-21]。本研究发现,白羊草枯落物分解中这四类优势菌门占细菌总丰度90%以上。其中,放线菌门

丰度相对较高,可能是由于放线菌产生的酯酶和氧化酶有降解纤维素和木质素的作用^[22],变形菌门微生物外膜中,脂多糖可以保护其内遗传物质,因此,变形菌门在大多数环境条件下都为优势菌^[1]。酸杆菌门具有降解植物纤维素

的作用^[23]。相对而言,枯落物分解中的真菌相对较少,本研究中,白羊草枯落物优势真菌为子囊菌门,这与董学德等^[24]的研究结果一致。子囊菌主要分解纤维素和半纤维素^[6],对枯落物分解具有重要作用。本研究发现,枯落物分解前期变形菌占主导地位,分解到第200天时,放线菌丰度最高,这可能是由于枯落物分解后期难分解物质逐渐增多,放线菌比变形菌更易于利用难分解化合物^[25]。

基于eggNOG和KEGG数据库,结果表明,最大的功能类群是代谢功能,说明枯落物分解促进了微生物群落的代谢功能。KEGG数据库在level2水平上,糖代谢功能基因丰度最高,这与邓娇娇^[26]的研究结果相似。代谢功能丰度高的原因,主要是由于养分、宿主诱导等生态因子影响微生物生长和繁殖,促进微生物对物质的运输、代谢、次生代谢及分解^[23]。随着枯落物的分解,能量代谢功能基因丰度逐渐增加,这是由于枯落物分解过程中,微生物消耗能量,由生物合成过程逐渐转变为能量释放分解代谢过程,以此弥补能量损失^[6]。微生物的氨基酸生物合成(Biosynthesis of amino acids)功能基因丰度也随枯落物的分解进程而逐渐降低,这可能是由于枯落物分解过程中,纤维素等大分子物质逐渐减少,生物合成过程逐渐转化为其他分解代谢过程^[27],因此,该功能基因丰度逐渐降低。

枯落物分解过程会受到温度、土壤含水量和pH等生态因子的影响。本研究中,枯落物pH和C/N是影响枯落物微生物的群落结构和功能的驱动因子,此外,土壤含水量也与枯落物微生物功能密切相关,这与王文波等^[28]研究结果一致。有研究表明,不同微生物对pH的要求不同,pH变化会改变微生物对营养物质的吸收能力^[29]。此外,pH还可以通过改变土壤理化性质来影响微生物的结构和功能^[30]。C/N比是衡量凋落物养分变化的重要指标之一。研究表明,C/N与微生物的生长密切相关,碳素和氮素可为微生物提供能量和养分,促进微生物繁殖,加快微生物新陈代谢^[31]。本研究中,大多优势基因都与C/N呈负相关,且C/N大于20:1。一般情况下,C/N为25:1时,最利于微

生物的生长,当C/N之比大于30:1时微生物的生长会受到氮限制,当两者之比小于20:1时,微生物的生长受到碳限制^[32]。本研究发现,土壤含水量与优势微生物具有密切联系,可以促进微生物在枯落物分解中定殖^[33],但水分过高会阻碍微生物呼吸作用,不利于微生物生长^[34]。枯落物酶活性中,多酚氧化酶和纤维素酶对微生物群落功能有显著影响,这与Dilly等^[35]研究结果一致。枯落物中的纤维素被纤维素酶降解,且部分纤维素酶也可降解半纤维素,纤维素酶影响着枯落物微生物中群落的结构和功能变化。

有研究发现,高浓度的重金属可对微生物产生胁迫,降低微生物活性^[36]。本研究中,镉和铅是影响微生物结构和功能的主要因素,这可能是由于高浓度的重金属破坏了细胞结构和功能,加快细胞死亡,从而抑制微生物活性。同时,在重金属作用下,微生物消耗过多能量来抵御重金属产生的胁迫,降低了微生物活性^[37]。史艇等^[38]研究发现,重金属对微生物的毒性中,镉的毒性最大,其次是铜、锌、铅,这与本研究的结果相类似。这些研究结果对探究铜尾矿区枯落物微生物发挥的重要生态功能具有一定科学价值,对改善铜尾矿区贫瘠土壤及提高生态修复效率具有重要的科学意义。

4 结论

(1)白羊草枯落物微生物优势菌为变形菌门和放线菌门。

(2)白羊草枯落物分解过程中,微生物群落的功能主要体现在糖代谢、能量代谢和氨基酸代谢方面。

(3)枯落物pH、碳氮比、多酚氧化酶、纤维素酶以及枯落物重金属镉和铅是影响微生物群落功能的关键生态因子。

参考文献:

- [1] 贾彤,姚玉珊,王瑞宏.铜尾矿白羊草叶际和根际细菌群落特征[J].环境科学,2020,41(12):5628-5635. DOI:10.13227/j.hj.kx.202005006.
JIA T, YAO Y S, WANG R H. Characteristics of Phyllosphere and Rhizosphere Bacterial Communities in *Bothriochloa ischaemum* in Copper Tailings[J]. *Environ Sci*,

- 2020, **41**(12): 5628–5635. DOI: 10.13227/j.hjcx.202005006.
- [2] JIA T, CAO M W, JING J H, *et al.* Endophytic Fungi and Soil Microbial Community Characteristics over Different Years of Phytoremediation in a Copper Tailings Dam of Shanxi, China[J]. *Sci Total Environ*, 2017, **574**: 881–888. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.161.
- [3] 张仪平, 黄国贤, 程明. 矿区土壤重金属污染植物修复研究概述[J]. 内蒙古林业调查设计, 2019, **42**(6): 78–80. DOI: 10.13387/j.cnki.nmld.2019.06.024.
- ZHANG Y P, HUANG G X, CHENG M. Overview of Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils in Mining Areas[J]. *Inn Mong For Investig Des*, 2019, **42**(6): 78–80. DOI: 10.13387/j.cnki.nmld.2019.06.024.
- [4] 曹苗文, 贾彤, 景炬辉, 等. 铜尾矿库白羊草内生真菌的分布及rDNA-ITS系统发育[J]. 草业学报, 2017, **26**(5): 163–172. DOI: 10.11686/cyxb2016271.
- CAO M W, JIA T, JING J H, *et al.* Distribution and RDNA-ITS Sequence Analysis of Endophyte Symbionts of *Bothriochloa ischaemum* at a Copper Tailings Site[J]. *Acta Prataculturae Sin*, 2017, **26**(5): 163–172. DOI: 10.11686/cyxb2016271.
- [5] 米佳. 山西白羊草种群繁殖特性及再生性能研究[D]. 太谷: 山西农业大学, 2005.
- MI J. The Reproductive Character and Regrowth Performance of Old World Bluestem (*Bothriochloa ischaemum*) Population in Shanxi Rangelands[D]. Taiyu: Shanxi Agricultural University, 2005.
- [6] 王昱雯. 铜尾矿区白羊草枯落物不同分解阶段细菌群落特征[D]. 太原: 山西大学, 2021.
- Wang Y W. Characteristics of Bacterial Community in Different Decomposition Stages of *Bothriochloa ischaemum* Litter in a Copper Mining Area[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.
- [7] TAN X P, MACHMULLER M B, *et al.* Shifts in Fungal Biomass and Activities of Hydrolase and Oxidative Enzymes Explain Different Responses of Litter Decomposition to Nitrogen Addition[J]. *Biol Fertil Soils*, 2020, **56**(3): 423–438. DOI: 10.1007/s00374-020-01434-3.
- [8] 史贝贝. 凋落物不同处理对土壤有机碳含量的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2018.
- SHI B B. Effects of Different Litter Treatment on Soil Organic Carbon Content[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018.
- [9] 郭雪莲, 吕宪国, 郗敏. 植物在湿地养分循环中的作用[J]. 生态学杂志, 2007, **26**(10): 1628–1633.
- GUO X L, LV X G, XI M. Roles of Plant in Nutrient Cycling in Wetland[J]. *Chin J Ecol*, 2007, **26**(10): 1628–1633.
- [10] BHATNAGAR J M, PEAY K G, TRESEDER K K. Litter Chemistry Influences Decomposition Through Activity of Specific Microbial Functional Guilds[J]. *Ecol Monogr*, 2018, **88**(3): 429–444. DOI: 10.1002/ecm.1303.
- [11] 孙雪, 韩冬雪, 刘岩, 等. 原始红松林土壤理化及微生物碳代谢特征对生长季动态的响应[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, **41**(5): 18–26. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2006.201609042.
- SUN X, HAN D X, LIU Y, *et al.* Responses of Soil Physicochemical Properties and Soil Microorganism Characteristics Regarding as Carbon Metabolism in Original Korean Pine Forest[J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2017, **41**(5): 18–26. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2006.201609042.
- [12] 胡明慧, 赵建琪, 王玄, 等. 自然增温对南亚热带森林土壤微生物群落与有机碳代谢功能基因的影响[J]. 生态学报, 2022, **42**(1): 359–369. DOI: 10.5846/stxb202011102907.
- HU M H, ZHAO J Q, WANG X, *et al.* Effects of Natural Warming on Soil Microorganisms Communities and Functional Genes of Soil Organic Carbon Metabolism in Subtropical Forests[J]. *Acta Ecol Sin*, 2022, **42**(1): 359–369. DOI: 10.5846/stxb202011102907.
- [13] LI F, LIU Z H, JIA T H, *et al.* Functional Diversity of Soil Microbial Community Carbon Metabolism with the Degradation and Restoration of Alpine Wetlands and Meadows[J]. *Acta Eco Sin*, 2018, **38**(17): 6006–6015. DOI: 10.5846/stxb201706161096.
- [14] 李孟芝. 三七不同生育期根际土壤微生物组研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- LI M Z. Study on Rhizosphere Soil Microbiome of *Panax notoginseng* at Different Developmental Stages[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2020.
- [15] JIA T, WANG R, CHAI B. Effects of Heavy Metal Pollution on Soil Physicochemical Properties and Microbial Diversity over Different Reclamation Years in a Copper Tailings Dam[J]. *J Soil Water Conserv*, 2019, **74**(5): 439–448. DOI: 10.2489/jswc.74.5.439.
- [16] 张欢, 牟怡晓, 张桂杰. 添加枸杞副产物对紫花苜蓿青贮发酵品质及微生物多样性的影响[J]. 草业学报, 2022, **31**(4): 136–144. DOI: 10.11686/cyxb2021053.
- ZHANG H, MU Y X, ZHANG G J. Effects of *Lycium barbarum* By-products on Fermentation Quality and Microbial Diversity of Alfalfa Silage[J]. *Acta Prataculturae Sin*, 2022, **31**(4): 136–144. DOI: 10.11686/cyxb2021053.
- [17] 马龙, 高伟, 栾好安, 等. 基于宏基因组学方法分析施肥模式对设施菜田土壤微生物群落的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, **27**(3): 403–416. DOI: 10.11674/zwyf.20486.
- MA L, GAO W, LUAN H A, *et al.* Soil Microbial Com-

- munity Characteristics in Greenhouse Vegetable Production Under Different Fertilization Patterns Based on Metagenomic Analysis[J]. *J Plant Nutr Fertil*, 2021, **27**(3): 403–416. DOI:10.11674/zwyf.20486.
- [18] 陈阳雪, 赵晓佳, 谈家金. 松树内生细菌GD2对松材线虫入侵寄主时转录组的影响[J]. 华中农业大学学报, 2021, **40**(5): 37–45. DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.05.006. CHEN Y X, ZHAO X J, TAN J J. Effect of *Bacillus cereus* GD2 on Transcriptome of Pine Wood Nematode Invading Host[J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2021, **40**(5): 37–45. DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.05.006.
- [19] URBANOVÁ M, ŠNAJDR J, BALDRIAN P. Composition of Fungal and Bacterial Communities in Forest Litter and Soil is Largely Determined by Dominant Trees[J]. *Soil Biol Biochem*, 2015, **84**(125): 53–64. DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.02.011.
- [20] 周永娜, 乔沙沙, 刘晋仙, 等. 庞泉沟自然保护区华北落叶松与桦树林土壤微生物群落结构[J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23**(3): 520–526. DOI: CNKI: SUN: YYHS.0.2017-03-019. ZHOU Y N, QIAO S S, LIU J X, *et al.* Characteristics of the Soil Microbial Community Structures of *Betula platyphylla* and *Larix Principis-rupprechtii* Forests in the Pangquangou Reserve[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2017, **23**(3): 520–526. DOI: CNKI: SUN: YYHS.0.2017-03-019.
- [21] ABHAUER K P, WEMHEUER B, DANIEL R, *et al.* Tax4Fun: Predicting Functional Profiles from Metagenomic 16S rRNA Data[J]. *Bioinformatics*, 2015, **31**(17): 2882–2884. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv287.
- [22] PANKRATOV T A, IVANOVA A O, DEDYSH S N, *et al.* Bacterial Populations and Environmental Factors Controlling Cellulose Degradation in an Acidic *Sphagnum* Peat [J]. *Environ Microbiol*, 2011, **13**(7): 1800–1814. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02491.x.
- [23] 崔浩然. 黄河三角洲不同树种混交对土壤微生物群落组成及其功能特性的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021. CUI H R. Effects of Mixed Tree Species on the Composition and Functional Characteristics of Soil Microbial Communities in the Yellow River[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.
- [24] 董学德. 麻栎-刺槐林凋落物分解过程中土壤微生物群落变化特征及影响因素[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021. DONG X D. Changing Characteristics and Influencing Factors of the Soil Microbial Community During Litter Decomposition in the Mixed *Quercus acutissima* Carruth. and *Robinia Pseudoacacia* L. Forest[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.
- [25] VOŘÍŠKOVÁ J, BALDRIAN P. Fungal Community on Decomposing Leaf Litter Undergoes Rapid Successional Changes[J]. *ISME J*, 2013, **7**(3): 477–486. DOI: 10.1038/ismej.2012.116.
- [26] 邓娇娇. 辽东山区不同森林恢复类型土壤有机碳固存的微生物学机理[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020. DOI: 10.27327/d.cnki.gshnu.2020.000045. DENG J J. Microbiological Mechanism of Soil Organic Carbon Sequestration in Different Revegetation Forests in the Eastern Mountainous Region of Liaoning Province[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020. DOI: 10.27327/d.cnki.gshnu.2020.000045.
- [27] 周通, 潘根兴, 李恋卿, 等. 南方几种水稻土重金属污染下的土壤呼吸及微生物学效应[J]. 农业环境科学学报, 2009, **28**(12): 2568–2573. 10.3321/j.issn: 1672-2043.2009.12.020. ZHOU T, PAN G X, LI L Q, *et al.* Effects of Heavy Metals on Soil Respiration and Microbial Indices in Paddy Field of South China[J]. *J Agro Environ Sci*, 2009, **28**(12): 2568–2573. 10.3321/j.issn:1672-2043.2009.12.020.
- [28] 王文波. 日本落叶松和檫木混交林凋落物分解的微生物碳氮代谢功能研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2020. 10.27625/d.cnki.gzlkjy.2020.000052. WANG W B. The Study on Microbial Carbon and Nitrogen Metabolism Function of Litter Decomposition in *Larix kaempferi* and *Sassafras tzumu* Mixed Plantation[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2020. 10.27625/d.cnki.gzlkjy.2020.000052.
- [29] 陈燕飞. pH对微生物的影响[J]. 太原师范学院学报(自然科学版), 2009, **8**(3): 121–124. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2027.2009.03.032. CHEN Y F. PH to Uygur Biology Influence[J]. *J Taiyuan Norm Univ Nat Sci Ed*, 2009, **8**(3): 121–124. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2027.2009.03.032.
- [30] 乔沙沙. 庞泉沟针叶林微生物群落结构与碳代谢功能特征[D]. 太原: 山西大学, 2017. QIAO S S. The Structure and Carbon Cycle Characteristics of Temperate Coniferous Forests Driven by Soil Microbial Community in Pangquangou Natural Reserve, Shanxi Province[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2017.
- [31] 张恩平, 田悦悦, 李猛, 等. 长期不同施肥对番茄根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2018, **38**(14): 5027–5036. DOI: 10.5846/stxb201705030816. ZHANG E P, TIAN Y Y, LI M, *et al.* Effects of Various Long-term Fertilization Regimes on Soil Microbial Functional Diversity in Tomato Rhizosphere Soil[J]. *Acta Ecol Sin*, 2018, **38**(14): 5027–5036. DOI: 10.5846/stxb201705030816.

- [32] 郭绪虎,肖德荣,田昆,等.滇西北高原纳帕海湿地湖滨带优势植物生物量及其凋落物分解[J].生态学报,2013,33(5):1425-1432. DOI: 10.5846/stxb201208271209.
GUO X H, XIAO D R, TIAN K, *et al.* Biomass Production and Litter Decomposition of Lakeshore Plants in Napahai Wetland, Northwestern Yunnan Plateau, China [J]. *Acta Ecol Sin*, 2013, 33(5): 1425-1432. DOI: 10.5846/stxb201208271209.
- [33] HOBBI E S, OLEKSYN J, EISSENSTAT D M, *et al.* Fine Root Decomposition Rates do not Mirror those of Leaf Litter among Temperate Tree Species[J]. *Oecologia*, 2010, 162(2): 505-513. DOI: 10.1007/s00442-009-1479-6.
- [34] 程曼.黄土丘陵区典型植物枯落物分解对土壤有机碳、氮转化及微生物多样性的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2015.
CHENG M. Effect of Litter Decomposition on Soil Carbon, Nitrogen, and Soil Microbial Community Structure on the Loess Plateau, China[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2015.
- [35] DILLY O, MUNCH J C. Microbial Biomass Content, Basal Respiration and Enzyme Activities during the Course of Decomposition of Leaf Litter in a Black Alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) Forest[J]. *Soil Biol Biochem*, 1996, 28(8): 1073-1081. DOI: 10.1016/0038-0717(96)00075-2.
- [36] 刁展.外源重金属对不同类型土壤养分及微生物活性的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
DIAO Z. Effects of Exogenous Heavy Metals on Soil Nutrients and Biological Activity in Different Types of Soil [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.
- [37] 刘沙沙,付建平,蔡信德,等.重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展[J].生态环境学报,2018,27(6):1173-1178. DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2018.06.024.
LIU S S, FU J P, CAI X D, *et al.* Effect of Heavy Metals Pollution on Ecological Characteristics of Soil Microbes: a Review[J]. *Ecol Environ Sci*, 2018, 27(6): 1173-1178. DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2018.06.024.
- [38] 史艇,蔡士悦,阎雨平.重金属和矿物油对土壤微生物生态活性的影响[J].农业环境科学学报,1993,12(3):105-107.
SHI T, CAI S Y, YAN Y P. The Influence of Various Heavy Metal Compounds and Mineral Oil on the Ecological Activity of Soil Microorganisms[J]. *J Agro Environ Sci*, 1993, 12(3): 105-107.