

文章编号: 0379-1726(2003)02-0131-08

贵州赫章土法炼锌导致的土壤重金属污染特征 及微生物生态效应

杨元根, 刘丛强, 吴攀, 张国平

(中国科学院地球化学研究所, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 贵州省赫章县妈姑镇新关寨附近的土法炼锌不仅导致植被的破坏, 而且使附近土壤中重金属有不同程度的积累, Zn 达到 162.23 ~ 877.88 mg/kg, Pb 为 37.24 ~ 305.56 mg/kg, Cd 为 0.50 ~ 16.43 mg/kg, 大大超过了当地的土壤背景值; 而且重金属含量(特别是 Pb 和 Zn 含量)与土壤中的 Fe_2O_3 和 Al_2O_3 有极显著的正相关关系, 显示土壤中铁氧化物和粘土矿物对重金属的固定作用。化学形态研究表明, Pb 和 Zn 在土壤中主要表现为铁锰氧化物结合态与残渣态, 而 Cd 的情况与 Pb 和 Zn 完全相反, 其形态以可交换态为主。本区土壤微生物生物量(用含碳量表示)较低, 仅为 57.00 ~ 388.00 $\mu\text{g/g}$, 而且与土壤重金属间有显著的负相关关系, 特别是与 Zn 的相关系数高达 -0.7801, 反映出重金属对微生物的毒害作用。Biolog 测试结果表明, 土壤微生物群落结构间没有明显的差别; 土壤微生物 DNA 经 PCR(聚合酶链式反应)和 DGGE(变性梯度胶电泳)反应后的基因片段非常一致, 反映出不同程度的重金属污染并没有导致土壤微生物群落结构的改变和基因损伤, 另一方面也表明, 土壤本身有强烈的固定重金属能力, 抵御了重金属对土壤生物的进一步毒害。

关键词: 土法炼锌; 重金属; 土壤微生物; Biolog; PCR; DGGE

中图分类号: P595; P593 **文献标识码:** A

0 引言

矿山开发造成的生态环境问题是一个世界性的问题, 国内外许多学者对此表现出浓厚的兴趣。除矿山开发直接导致的植被破坏和耕地侵蚀等外, 研究者更重视有害物质(特别是重金属)释放而导致的环境问题, 特别是表生条件下矿山废弃物(矿山尾砂)的堆积, 在一系列地球化学因素的作用下(如矿山尾砂的矿物成分^[1,2]、堆积时间^[3]、厚度^[4,5]、气候条件^[6]及微生物^[7-9]等)发生风化作用, 从而导致酸性矿山废水(AMD)的产生^[10-16], 蓄纳高浓度的重金属元素, 其排放不仅对溪流、河流、湖泊水质及其沉积物产生负面影响^[17-20], 而且有降低土壤环境质量状况的威胁^[21,22]。

矿山环境研究中涉及的微生物研究, 目前主要侧重于表生风化条件下微生物对矿山尾砂中重金属释放的双重影响, Ledin *et al.*^[23] 把它总结为以下六

个方面: 即微生物产生影响 pH、Eh 的物质、产生结合金属的物质、影响有机质合成或降解、氧化还原过程、碱化/脱碱过程以及主动或被动积累金属从而影响重金属的活动性。而对矿山开发中产生的重金属对土壤微生物的影响涉及较少。事实上, 重金属对土壤微生物的毒害作用已有较多研究, 如重金属导致土壤微生物生物量降低^[24,25]、微生物呼吸速率降低或显著增加^[26-28]、酶活性受损^[29]、微生物代谢商升高^[30,31]以及对能源碳的利用量增加而利用效率却降低^[31]。本文试图以我国著名的土法炼锌镇——赫章县妈姑镇为例, 探讨矿山开发中产生的重金属积累导致的土壤微生物生态效应。

1 材料与方法

妈姑镇地处赫章县境内 326 国道旁, 交通便利, 地势平坦。辖内煤炭资源丰富, 特别是附近的榨子厂和猫猫厂铅锌氧化矿为“土法炼锌”提供了丰富的

收稿日期: 2002-04-21; 接受日期: 2002-07-23

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-105); 国家留学基金资助项目(99491010)

作者简介: 杨元根(1965-), 男, 博士、研究员, 地球化学专业。

原料。该镇土法炼锌已有 300 多年历史,至 2000 年前夕,已有 1000 多个“马槽炉”的土法炼锌规模。炼锌过程中产生的黑色烟尘使周围山坡寸草不生,山坡上、河道边到处倾倒了废渣,使得许多旱作地荒耕。本次研究的采样点集中在妈姑镇新关寨土法炼锌点附近土壤,远离炼锌废渣堆,土壤中积累的重金属主要源于土法炼锌中产生的烟尘的沉降。主要采集了表土层(0~20 cm),部分剖面样按深度 0~20 cm 和 20~40 cm 采集。

所有湿样先过 6 mm 不锈钢筛,再过 2 mm 筛,剔除所有土壤异物。部分分样用烘干法测定湿度和烧失量。部分分样在 30 °C 风干,一部分用于土壤 pH 测定、X 射线粉晶分析;另一部分磨至过 0.15 mm 筛,用 Tessier 的连续提取法区分重金属化学形态、测定土壤 Al_2O_3 、 Fe_2O_3 和 SiO_2 含量,用 TOC 仪测定部分土壤样品的硫含量和有机碳含量。其余湿样储存在 4 °C 冷库中供土壤微生物研究之用,其中用于土壤微生物 DNA 相关分析的样品储存于 -20 °C 的冰柜中。

用 Tessier 的连续提取法^[32,33],将土壤中重金属的形态区分为可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机态(硫化物)和残渣态,提取液中 Pb、Zn 和 Cd 含量用 AAS 法测定,整个实验过程用美国国家环保局标准沉积物样品 Mag#1 作为质量控制参考物质。

土壤微生物生物量的测定采用氯仿熏蒸 -0.5 mol/L K_2SO_4 提取法^[34],提取液中有机碳含量用 TOC 分析仪测定。

土壤微生物对单一碳源利用(Biolog)测定采用常规的 Biolog 方法,共测试 125 种碳源(不包括空白)^[35,36],连续读数 1 个星期。

土壤微生物活细胞内 DNA 提取和纯化采用 Miskin 提出的方法^[37],然后用 1% 的琼脂糖(agarose)胶在电压 100 V 条件下电泳 50 min,照相。纯化后的 DNA 样品进行 PCR(聚合酶链式反应)测试,在 PCR 仪上的运行程序为:94 °C,5 min;转速 30 r/s,94 °C,0.5 min;55 °C,1 min;72 °C,1 min;72 °C,5 min;冷却,然后用 1.5% 的琼脂糖胶电泳 45 min 后照相。经 PCR 反应后的样品,载于变性梯度胶(DGGE)上,在 60 °C 条件下电泳 4 h,然后用 Sybr-Green 染色 DNA,在振荡机上以 100 r/s 速度振荡 20 min,照相 5 min。

主要实验工作在英国 Newcastle 大学石油与环境地球化学系完成。

2 结果与讨论

2.1 土壤中重金属的分布

表 1 列出了土壤中重金属元素(Pb、Zn 和 Cd)的分析结果。由表 1 可见,重金属元素在土壤中的分布变异很大,明显大于土壤背景值;而且与一些国家和欧共体的最低限值相比,研究区内土壤中重金属含量大部分高于这些阈值,表明该地区土法炼锌已经导致了附近土壤中重金属元素 Pb、Zn 和 Cd 的明显积累,且远远超出了人们所规定的重金属在土壤中的最低限值,虽然与相邻地区炼锌废渣中重金属含量相比相对较低^[43],但是对该区土壤生态环境有潜在威胁。从重金属元素在土壤剖面中最大值的分布(图 1)可以看出,表层 Pb 和 Zn 含量明显高于深层,表明 Pb 和 Zn 主要集中在土壤表层,向下迁移的程度较低;对 Cd 而言,其含量在土壤表层与深层比较接近,表明 Cd 向土壤深层的迁移能力较强,这可能与 Cd 在土壤中的有效性程度较高有关。

表 1 贵州新关寨土壤中重金属含量分析结果(mg/kg)

Table 1 Heavy metal contents in soils in Xinguan village, Guizhou Province (mg/kg)

元素	Zn	Pb	Cd
均值($n=30$)	515.56	129.72	7.48
最小值	162.23	37.24	0.50
最大值	877.88	305.56	16.43
标准偏差	188.34	89.63	4.47
一些国家和欧共体的最低限值			
荷兰 ^[38]	200.00	50.00	1.00
欧共体 ^[39]	150~300	50~300	1.0~3.0
波兰 ^[40]	30~70	50~100	0.3~1.0
中国 ^[41]	200	250	0.30
中国土壤背景值 ^[42]	100	35	0.20
中国贵州土壤背景值 ^[42]	82.4	29.3	0.13

2.2 土壤中重金属的化学形态

用连续提取法对土壤中重金属的结合形态进行了区分,结果示于图 2 中。图中上曲线代表了某一结合形态的最大百分率,下曲线则为其最小百分率。显而易见,重金属 Zn 和 Pb 的主要形态为残渣态和铁锰氧化物结合态。对 Zn 而言,残渣态可占土壤总锌含量的 44.70% 到 72.15%,铁锰氧化物则占 19.20% 到 35.00%;而 Pb 与 Zn 略有区别,其铁锰

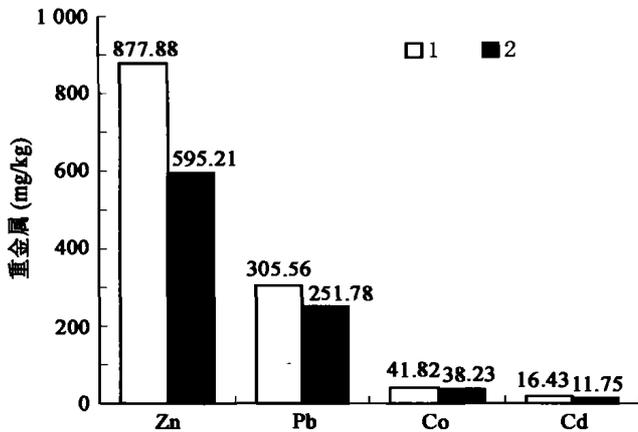


图 1 贵州新关寨土壤中重金属元素在剖面上的分布

Fig. 1 Heavy metal distribution in soil profiles from Xinguan village, Guizhou Province

- 1. 0~20 cm 的表土层; 2. 20~40 cm 土层。
- 1. surface soil in the depth of 0~20 cm; 2. subsurface soil in the depth of 20~40 cm.

氧化物结合态与残渣态几乎同等重要，铁锰氧化物占 27.98% 至 46.89%，而残渣态则为 22.64% ~ 49.36%。Cd 的情况与 Pb、Zn 完全相反，其结合形态

以可交换态为主，占 35.46% 到 64.58%，其次为铁锰氧化物结合态，占 18.75% ~ 39.90%。可见，虽然土壤中 Pb、Zn 的含量很高，但是它们的活动性较小，而 Cd 的含量虽低，但其活动性较强。

2.3 土壤中重金属含量与土壤化学成分关系

土壤重金属 Pb 和 Zn 的积累与土壤本身化学成分间的相关性如图 3 所示。可见，Pb 和 Zn 含量与土壤中 Fe₂O₃ 含量存在极显著的相关关系，特别是 Zn 与 Fe₂O₃ 的相关系数为 0.755 2，达 1% 的置信度水平，这与前面重金属化学形态的分析结果非常一致，可能表明土壤中 Fe₂O₃ (如针铁矿和无定形铁) 对重金属的专性吸附作用。土壤中 Zn 和 Pb 与 Al₂O₃ 也有一定的正相关关系；通常土壤中 Al₂O₃ 含量的高低反映了粘土矿物含量水平，这种相关性说明了土壤中粘土矿物对 Pb 和 Zn 的吸持作用。而 SiO₂ 则与土壤中重金属 Pb、Zn 和 Cd 间没有明显的相关关系；土壤中 Cd 与 Fe₂O₃、Al₂O₃ 间也不存在显著的相关关系，这与重金属化学形态的分析结果相吻合。

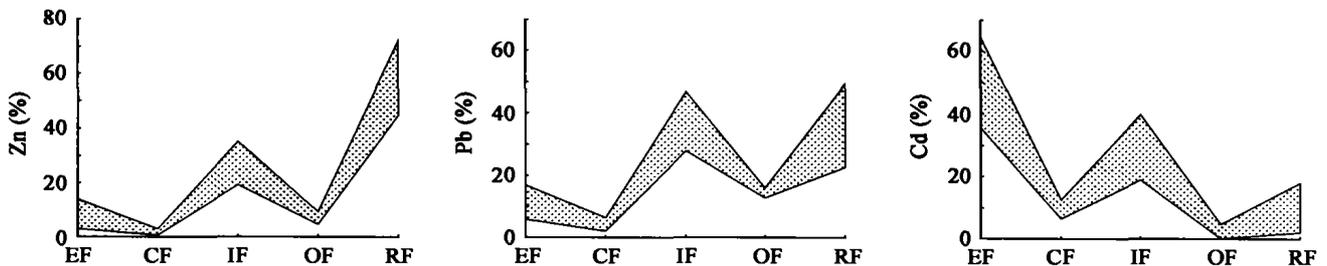


图 2 贵州新关寨土壤中重金属的化学形态

Fig. 2 Chemical forms of soil heavy metals in the Xinguan village, Guizhou Province

- EF. 可交换态; CF. 碳酸盐结合态; IF. 铁锰氧化物结合态; OF. 有机态(硫化物); RF. 残渣态。

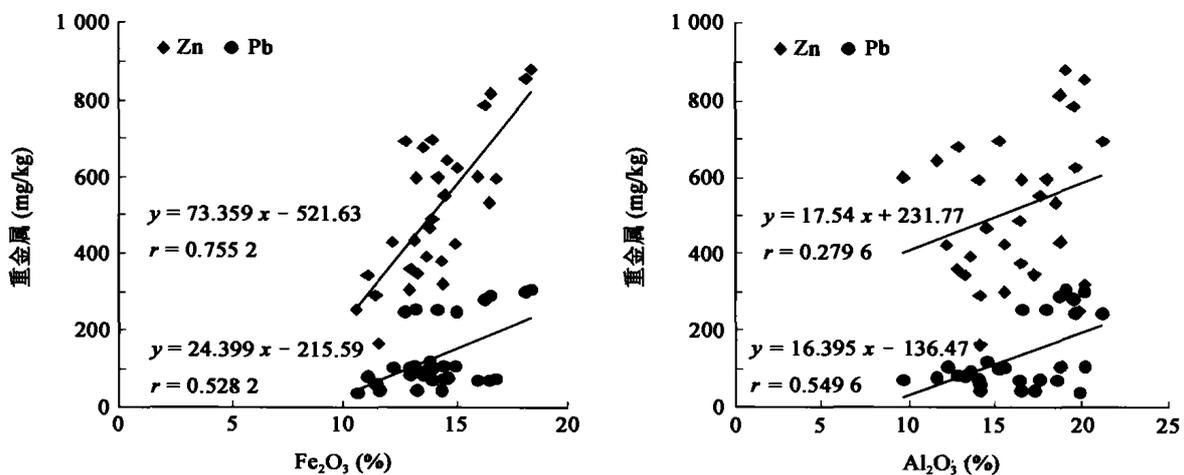


图 3 贵州新关寨土壤中重金属含量与土壤化学成分间的相关关系

Fig. 3 Correlations of heavy metal contents with soil chemical components in Xinguan village, Guizhou Province

2.4 土壤微生物生物量及其与土壤重金属含量的关系

该地区土壤样品中微生物生物量 (用含碳量表示) 的变化很大, 最大值为 388.00 $\mu\text{g/g}$, 最小值仅为 57.00 $\mu\text{g/g}$, 平均为 167.81 $\mu\text{g/g}$ 。土壤微生物生物量通常与土壤有机碳有关; 但是研究区由于受土法炼锌的影响, 通常植被稀少, 土壤中有机碳的含量较低, 通常低于 4%; 但土壤微生物生物量与有机碳的正相关关系依然存在 (图 4), 其相关系数可达 0.5 以上, 表明土壤微生物生物量与土壤特性间的依存性。

从图 4 重金属与土壤微生物生物量的相关关系还可以看出 (由于 Cd 的含量与 Pb 和 Zn 相比太低, 为方便起见, 作图时放大 10 倍), 微生物生物量与重金属 Pb、Zn 和 Cd 含量间具有明显的负相关关系, 相关系数都在 -0.5 以下, 特别是与 Zn 和 Cd 的相关系数分别达到 -0.780 1 和 -0.714 6, 大大超过了 1% 的极显著水平, 反映了土壤中重金属的积累

对土壤微生物生物量的负面制约作用。可见, 随土壤中重金属 Pb、Zn 和 Cd 的积累, 土壤中微生物生物量显著降低。

2.5 土壤微生物 Biolog 测试结果

Biolog 方法的原理是通过测试微生物对单一能源碳利用程度, 来反映微生物群落的功能多样性^[38], 特别是污染物胁迫下土壤微生物群落结构的变异程度^[39]。实验后, 对 Biolog 数据先进行标准化变换后实施主成分分析 (分析结果所得的主成分因子分别表示为 PC1、PC2、PC3 和 PC4); 由于 Biolog 数据的因子载荷通常反映了微生物群落的生理轮廓^[40], 是其群落结构和功能多样化的具体体现, 因此因子载荷图更能直观地反映重金属胁迫下土壤中微生物群落的生理变化。图 5 反映了积累不同浓度重金属的土壤中微生物的 Biolog 结果的因子载荷变化。从图中可以看出, 虽然不同样品间的重金属含量有很大的差别, 特别是 Zn 的含量明显不同, 低者含 Zn 为

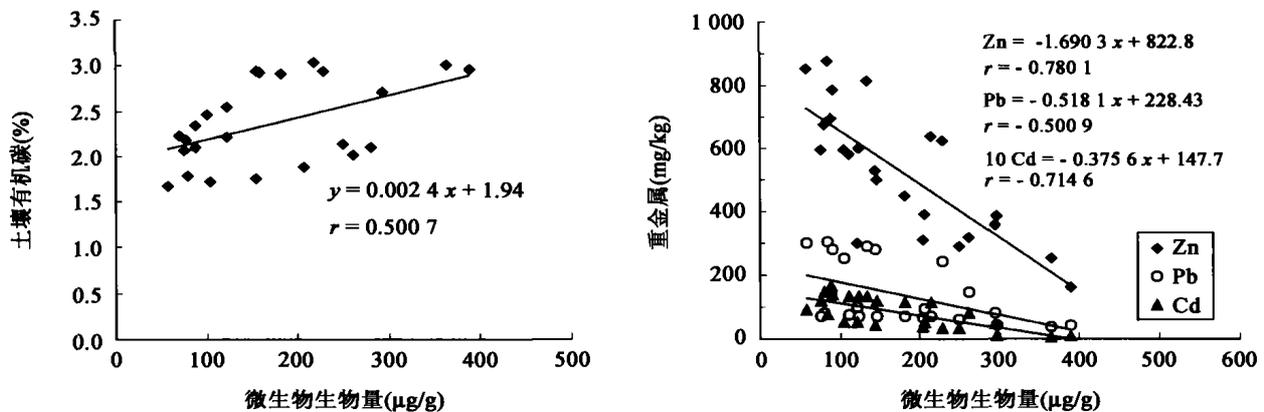


图 4 贵州新关寨土壤微生物生物量与土壤有机碳及重金属的相关关系

Fig. 4 Correlations of soil microbial biomass and organic carbon with heavy metal contents in Xinguan village, Guizhou Province

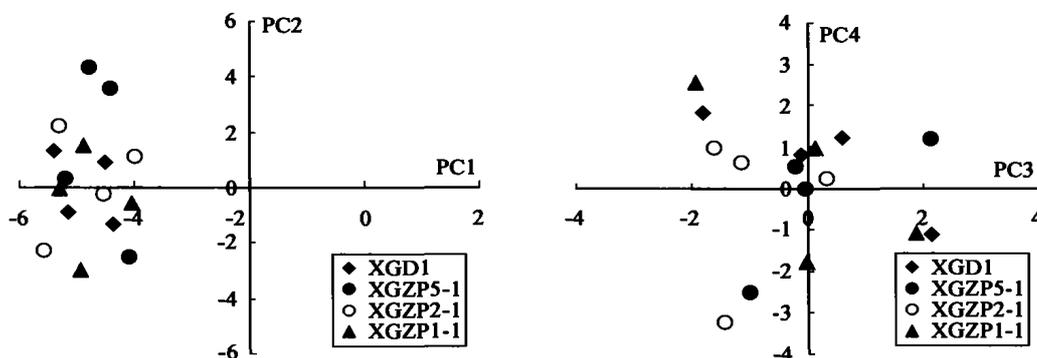


图 5 贵州新关寨土壤微生物 Biolog 测试结果的主成分因子载荷图

Fig. 5 Principal component factor loadings of Biolog data for soil microorganisms in Xinguan village, Guizhou Province
XGD1. Zn = 162.23 mg/kg; XGZP5-1. Zn = 345.21 mg/kg; XGZP2-1. Zn = 676.40 mg/kg; XGZP1-1. Zn = 877.88 mg/kg.

162.23 mg/kg, 而高者达 877.88 mg/kg, 但其微生物 Biolog 数据的主成分因子投影点在 PC1-PC2 和 PC3-PC4 图解上都没有明显的差异性。这反映了虽然土壤中重金属的含量有明显的不同, 但是其微生物的群落结构没有明显的差异性。这反映了两种可能性, 一种是同一地区土壤的性质相似, 微生物特征也基本一致, 而土壤中重金属的积累程度不至于改变微生物原来的群落结构, 从而使其微生物结构仍然表现出相似性; 另一种就是土壤重金属的积累导致微生物群落结构的显著改变而使其趋于均一化, 使不同土壤微生物的群落结构表现出很好的相似性。从本地区看来, 采样点归属在同一类土壤中, 污染前其基本特征应该是一致的, 因此前一种可能性更符合实际情况。

2.6 土壤微生物 PCR 和 DGGE 测试结果

土壤微生物 DNA 经 PCR 和 DGGE 反应后的照片见图 6。从 PCR 谱图可以看出, 与 DNA 标志物相比, 虽然受不同程度的重金属的污染, 本地区土壤中微生物的 DNA 片段主要处于 2 000 ~ 3 000 bps(碱基对) 范围内, 而且不同样品间的分布比较一致, 说明其基因型的相似性。为了进一步区分样品 DNA 间的差异性, 在对土壤微生物 DNA 经过 PCR 反应后的基础上, 进一步做 DGGE 电泳处理, 更清楚的

DNA 片段谱带可以显现出来(见图 6 的 DGGE 谱带)。由 DGGE 谱带可以看出, 与 DNA 标志物相比, 土壤样品微生物的 DNA 片段谱图明显不同, 反映了它们之间 DNA 基因型的显著差异; 而不同土壤样品间 DNA 反映出来的 DGGE 谱带却非常一致, 说明其微生物在 DNA 上没有显著的改变, 反映了该地区土壤中重金属的积累并没有导致土壤微生物在基因上的损伤。

2.7 讨论

以上的研究表明, 与环境背景值相比, 本地区土壤中重金属 Pb、Zn 和 Cd 已有不同程度的积累, 并且土壤的微生物生物量也有很大程度的降低, 微生物生物量与土壤重金属含量间有显著的负相关关系; 但是从 Biolog 和 PCR、DGGE 的结果来看, 土壤微生物在群落结构和基因型方面没有显著的改变, 这与前人研究结果(重金属积累导致土壤微生物在群落结构方面的差异性)明显不同^[44], 特别是与 Eric *et al.*^[45] 借助 16Sr DNA 方法所认识的 Cu 污染对微生物基因结构损伤的长期性明显不同。这可能与污染物的类型、浓度、化学形态以及土壤本身的理化性质等因素密切相关。事实上, 重金属进入土壤后, 可与土壤介质进行一系列的物理和化学作用, 使其化学形态发生一定转变, 有效性程度降低, 毒性减小。

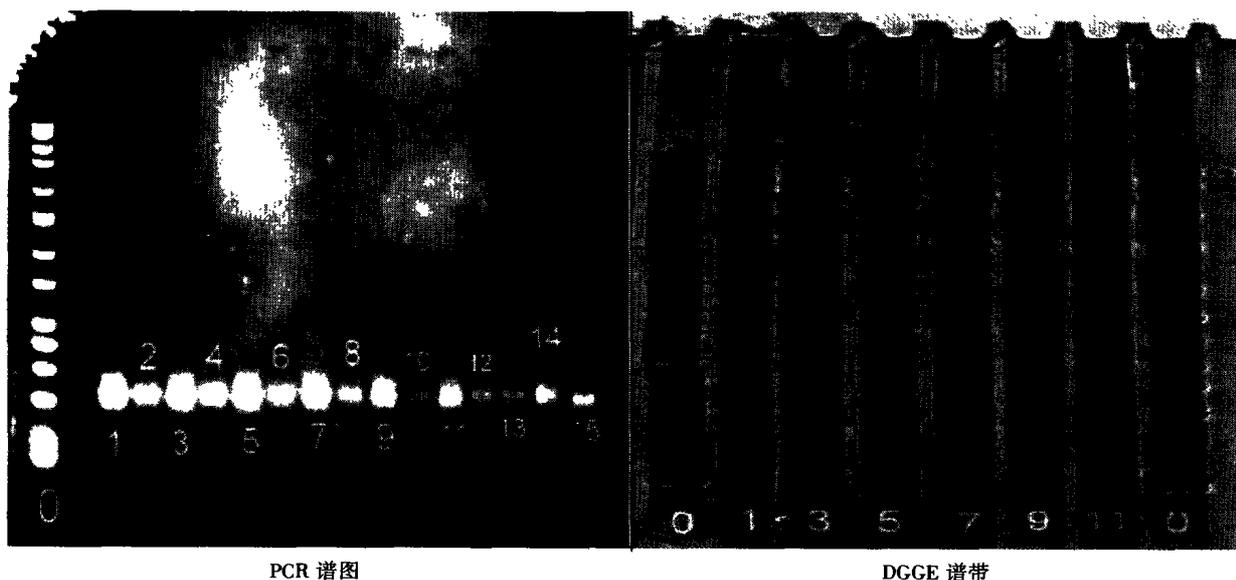


图 6 贵州新关寨土壤微生物的 PCR 谱图和 DGGE 谱带分布

Fig. 6 PCR and DGGE spectra of soil microorganisms in Xinguan village, Guizhou province

0. DNA 标志物; 1. XGZP2-2, Zn = 532.26 mg/kg; 2. XGZP2-2 之 DNA, 稀释 10 倍; 3. XGZP1-2, Zn = 595.21 mg/kg; 4. XGZP1-2 之 DNA, 稀释 10 倍; 5. XGZP1-1, Zn = 676.40 mg/kg; 6. XGZP2-1 之 DNA, 稀释 10 倍; 7. XGZd-1, Zn = 162.23 mg/kg; 8. XGZd-1 之 DNA, 稀释 10 倍; 9. XGZd-2, Zn = 300.26 mg/kg; 10. XGZd-2 之 DNA, 稀释 10 倍; 11. XGZP1-1, Zn = 877.88 mg/kg; 12. 对照; 13. 对照; 14. 正 DNA 标志物; 15. 负 DNA 标志物。

土壤对重金属元素的这种自净能力受土壤与其结合强度的控制, Blume *et al.* [46] 表述为土壤结合容量 (Binding Capacity, BC), 其大小受土壤 pH 值、有机质含量、质地及三氧化二物含量的控制。结合容量大, 结合强度大, 重金属的活动性越弱, 相对而言对土壤微生物的毒性就越小。本区土壤近中性的 pH 值 (5.5 ~ 6.5 左右)、较高的三氧化二物含量 (如 Fe_2O_3 在 10% ~ 20% 之间) 和一定数量的有机质等情况反映了其很强的结合容量 (文献 [47] 对类似土壤的计算结果)。而且从图 2 可以看出, 重金属特别是 Pb、Zn 以残渣态和铁锰氧化物结合态等闭蓄形态为主, 可交换态仅仅占 10% 左右; 虽然 Cd 的可交换态比例很高, 但其总量并不高, 所以土壤中的重金属主要被固定着。这表明研究区土壤对重金属强烈的固定能力, 使其对土壤微生物的毒性较小, 虽然使土壤微生物的生物量减小 (这可能与重金属进入土壤的早期阶段, 微生物的不适应性而导致微生物生物量的减小), 但从长远来看, 重金属积累至如此浓度并没有对土壤微生物的群落结构和基因型造成损伤, 所以 Biolog 和 PCR、DGGE 的结果并不能区分微生物群落结构和基因型的差别。

与贵州省土壤背景值相比, 研究区内土壤中重金属 Pb、Zn 和 Cd 已有一定的积累。Pb 和 Zn 以铁锰氧化物结合态和残渣态为主 (而 Cd 主要为可交换态), 生物可利用性程度较低; 而且与土壤中 Fe_2O_3 和 Al_2O_3 含量有明显的正相关关系, 反映了该区土壤中铁锰氧化物和粘土矿物等组分对重金属的强烈固定作用。重金属含量与土壤微生物生物量有明显的负相关关系, 表明重金属对土壤微生物的毒害作用; 但是 Biolog 和 PCR、DGGE 结果显示, 虽然土壤中积累的重金属含量各不相同, 但是其微生物的群落结构和基因型却没有明显的改变; 这表明虽然重金属进入土壤后使土壤中微生物在数量上有所减少, 抑制了微生物的进一步繁殖和生长, 但是研究区现有重金属的积累程度, 特别是其中生物可利用的重金属含量并没有超过土壤微生物的忍耐极限而导致微生物的基因突变及种群更新。这可归因于该地区土壤强烈的自净能力降低了重金属的生物可利用性, 从而在一定程度上保护土壤微生物免受重金属的进一步毒害。

参考文献 (References):

- [1] Holmstrom H, Ljungberg J, Olander B. Role of carbonates in mitigation of metal release from mining waste: Evidence from humidity cells tests [J]. *Environ Geol*, 1999, 37(4): 267 ~ 280.
- [2] Shum M, Lavkulich L. Speciation and solubility relationships of Al, Cu and Fe in solutions associated with sulfuric acid leached mine waste rock [J]. *Environ Geol*, 1999, 38(1): 59 ~ 68.
- [3] Boulet M P, Larocque A C L. A comparative mineralogical and geochemical study of sulfide mine tailings at two sites in New Mexico, USA [J]. *Environ Geol*, 1998, 33(2/3): 130 ~ 142.
- [4] Al T A, Blowes D W, Jambor J L, *et al.* The geochemistry of mine-waste pore water affected by the combined disposal of natrojarosite and base-metal sulfide tailings at Kidd creek, Timmins, Ontario [J]. *Can Geotechnol J*, 1994, 31(4): 502 ~ 512.
- [5] Lin Z X. Leachate chemistry and precipitates mineralogy of Rudolfsgruvan mine waste rock dump in central Sweden [J]. *Water Sci Tech*, 1996, 33(6): 163 ~ 171.
- [6] Schippers A, Jozsa P G, Sand W. Evaluation of the efficiency of measures for sulphidic mine waste mitigation [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998, 49(6): 698 ~ 701.
- [7] Cummings D E, Caccavo J F, Spring S, *et al.* *Ferribacterium limneticum*, gen. nov., sp. nov. [J]. *Archives Microbiol*, 1999, 171(3): 183 ~ 188.
- [8] Schippers A, Hallmann R, Wentzien S, *et al.* Microbial diversity in microbial diversity in uranium-mine waste heaps [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61(8): 2 930 ~ 2 935.
- [9] Batarseh K I, Stiller A H. Biological extraction of metals: The rate-controlling step [J]. *Chem Eng Commun*, 1996, 155: 229 ~ 241.
- [10] Soucek D J, Cherry D S, Trent G C. Relative acute toxicity of acid mine drainage water column and sediments to *Daphnia magna* in the Puckett's Creek Watershed, Virginia, USA [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2000, 38: 305 ~ 310.
- [11] Williams T M, Smith B. Hydrochemical characterization of acute acid mine drainage at Iron Duke mine, Mazowe, Zimbabwe [J]. *Environ Geol*, 2000, 39(3/4): 272 ~ 278.
- [12] Gray N F. Environmental impact and remediation of acid mine drainage: A management problem [J]. *Environ Geol*, 1997, 30(1/2): 62 ~ 71.
- [13] Gray N F. Field assessment of acid mine drainage contamination in surface and ground water [J]. *Environ Geol*, 1996, 27(4): 358 ~ 361.
- [14] Schoiring J, Oling M K, Schulz H D. The potential formation of acid mine drainage in pyrite-bearing hard-coal tailings under water-saturated conditions: An experimental approach [J]. *Environ Geol*, 1997, 31(1/2): 59 ~ 65.
- [15] Foos A. Geochemical modeling of coal mine drainage, Summit County, Ohio [J]. *Environ Geol*, 1997, 31(3/4): 205 ~ 210.
- [16] Sanchez L E. Industry response to the challenge of sustainability: The case of the Canadian Nonferrous Mining Sector [J]. *Environ Manag*, 1998, 22: 521 ~ 531.
- [17] Hettler J, Irion G, Lehmann B. Environmental impact of mining waste disposal on a tropical lowland river system: A case study on the Ok Tedi Mine, Papua New Guinea [J]. *Mineral Deposit*, 1997, 32(3): 280 ~ 291.
- [18] Kumar R, Patterson T. Arcellaceans (thecamoebians): New tools

- for monitoring long- and short-term changes in lake bottom acidity [J]. *Environ Geol*, 2000, 39(6): 689 ~ 697.
- [19] Lottermoser G, Ashley P M, Lawie D C. Environmental geochemistry of the Gulf Creek copper mine area, northeastern New South Wales, Australia [J]. *Environ Geol*, 1999, 39(1): 61 ~ 74.
- [20] Das K. Environmental pollution of Udaisagar lake and impact of phosphate mine, Udaipur, Rajasthan, India [J]. *Environ Geol*, 1999, 38(3): 244 ~ 248.
- [21] Leiros M C, Trasar-Cepeda C, Garcia-Fernandez F, *et al.* Defining the validity of a biochemical index of soil quality [J]. *Biol Fertil Soil*, 1999, 30(1/2): 140 ~ 146.
- [22] Dudley L M, Mclean J E, Furst T H, *et al.* Sorption of cadmium and copper from an acid-mine waste extract by 2 calcareous soils-column studies [J]. *Soil Sci*, 1991, 151(2): 121 ~ 135.
- [23] Ledin M, Pedersen K. The environmental impact of mine wastes-roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes [J]. *Earth Sci Rev*, 1996, 41: 67 ~ 108.
- [24] Fritze H, Vanheda P, Pietikainen J, *et al.* Vitality fertilization of Scots pine stands growing along a gradient heavy metal pollution: Short-term effects on microbial biomass and respiration rate of the humus layer [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1996, 354(5-6): 750 ~ 755.
- [25] Kaperman R G, Carreiro M M. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grass land ecosystem [J]. *Soil Biol Biochem*, 1997, 29(2): 179 ~ 190.
- [26] Bogomolov D M, Chen S K, Parmelee R W. An ecosystem approach to soil toxicity testing: A study of copper contamination in laboratory soil microcosms [J]. *Appl Soil Ecol*, 1996, 4(2): 95 ~ 105.
- [27] Brookes P C, Chander K. Effects of heavy metals at around current permitted EC limits on the synthesis and turnover of the soil microbial biomass [J]. *Trans 15th World Congr Soil Sci*, 1994, V4b: 58 ~ 59.
- [28] Barajas M, Brookes P C. Effects of heavy metals from a mine in Gipuzkoa, Spain on soil microbial biomass and organic matter dynamics [J]. *Trans 15th World Congr Soil Sci*, 1994, V4b: 60 ~ 61.
- [29] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities [J]. *Biol Fertil Soil*, 1996, 23(3): 299 ~ 312.
- [30] Fliessbach A, Marten S R, Reber H H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge [J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, 26(9): 1 201 ~ 1 205.
- [31] Bardgett R D, Saggiar S. Effects of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled C-14 glucose in a pasture soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, 26(6): 727 ~ 733.
- [32] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals [J]. *Anal Chem*, 1979, 51(7): 844 ~ 851.
- [33] Li X, Coles B J, Ramsay M H, *et al.* Sequential extraction of soils for multielement analysis by ICP-AES [J]. *Chem Geol*, 1995, 124(1-2): 109 ~ 123.
- [34] Wu J, Joergensen R G, Pemmerening B, *et al.* Measurement of soil microbial biomass by fumigation-extraction: An automated procedure [J]. *Soil Biol Biochem*, 1990, 22: 1 167 ~ 1 169.
- [35] Garland J L, Mills A L. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole-carbon-source utilization [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57: 2 351 ~ 2 359.
- [36] Campbell C D, Grayston S J, Hirst D J. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon sources tests to discriminate soil microbial communities [J]. *J Microbiol Method*, 1997, 30: 33 ~ 42.
- [37] Miskin L. Extraction for DNA, rRNA and mRNA [J]. *Microbiol*, 1999, 145: 1 977 ~ 1 987.
- [38] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach [J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, 26: 1 101 ~ 1 108.
- [39] Campbell C D, Gelder J V, Davidson M S, *et al.* Use of sole carbon source utilisation patterns to detect changes in soil microbial communities affected by Cu, Ni and Zn [A]. Wilken R, Forstner U, Knochel A. *Heavy Metals in the Environment* [C]. Edinburgh: CEP Consultants, 1995. 447 ~ 450.
- [40] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities [J]. *Environ Manag*, 1997, 21(2): 233 ~ 238.
- [41] GB 15618-1995, 土壤环境质量标准 [S]. 国家环境保护局. 1995. 3 ~ 4.
GB 15618-1995. Soil Environmental Quality Standards [S]. National Environmental Protection Bureau of China. 1995. 3 ~ 4 (in Chinese).
- [42] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 334; 367; 379.
Environmental Monitoring Station. Element Background Values of China's Soil [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1990. 334; 367; 379 (in Chinese).
- [43] 吴樊, 刘丛强, 杨元根, 等. 炼锌固体废物渣中重金属 (Pb, Zn) 的存在状态及环境影响 [J]. *地球化学*, 2003, 32(2): 139 ~ 145.
Wu Pan, Liu Cong-qiang, Yang Yuan-gen, *et al.* Environmental impacts and geochemical partitioning of heavy metals (Pb, Zn) in the historical Zn smelting wastes [J]. *Geochimica*, 32(2): 139 ~ 145 (in Chinese with English abstract).
- [44] 杨元根, Paterson E, Campbell C. 用微生物对单一碳源利用方法探讨重金属在城市土壤中积累的环境效应 [J]. *地球化学*, 2001, 30(5): 459 ~ 464.
Yang Yuan-gen, Paterson E, Campbell C. Environmental effects of heavy metal accumulation in urban soils by application of Biolog method [J]. *Geochimica*, 2001, 30(5): 459 ~ 464 (in Chinese with English abstract).
- [45] Eric S, Paula L, Karel W. Detection of shifts in microbial community structure and diversity in soil caused by copper contamination using amplified ribosomal DNA restriction analysis [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 1997, 23: 249 ~ 261.
- [46] Blume H P, Brummer G. Prediction of heavy metal behavior in soil by means of simple field tests [J]. *Ecotoxicol Environ Safety*,

- 1991, 22: 161 ~ 174.
- [47] 杨元根, Paterson E, Campbell C. 用土壤微生物方法评价重金属 Cu 的毒性及其时间效应[J]. 自然科学进展, 2001, 11(3): 243 ~ 249.

Yang Yuan-gen, Paterson E, Campbell C. Use of the soil microbial methods to assess the toxicity of the heavy metal Cu and its time effects [J]. *Prog Natur Sci*, 2001, 11(3): 243 ~ 249 (in Chinese with English abstract).

Soil heavy metal accumulation induced by local smelting and its microbial environmental effects in Hezhang County, Guizhou Province

YANG Yuan-gen, LIU Cong-qiang, WU Pan, ZHANG Guo-ping

(*Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China*)

Abstract: Local smelting near the Xinguan village, Magu town, Hezhang County, Guizhou Province not only causes the damage of vegetation, but also induces various accumulation of heavy metals in the vicinal soils. Heavy metal Zn in soils varies from 162.23 to 877.88 mg/kg, Pb from 37.24 to 305.56 mg/kg, while Cd in the range of 0.50 to 16.43 mg/kg, which are obviously over the local soil heavy metal background values. And extremely positive relationship can be observed between the heavy metal contents (especially Pb and Zn) and the soil Fe₂O₃, Al₂O₃ levels, which implies the strong immobilization of soil iron oxides and clay minerals to heavy metal inputs. Sequential extraction results give the deep impression of occupied chemical forms of Pb and Zn being Fe-Mn oxide bound and residue forms, while Cd dominating as the exchangeable form. Spot soils gain lower levels of microbial biomass only ranging from 57.00 to 388.00 μg/g, and negative correlation can be observed for heavy metal content and soil microbial biomass level, especially for Zn, the correlation coefficient can reach -0.7801, reflecting the poison of heavy metal to soil microorganisms. There was no remarkable shift of microbial community structures deduced from Biolog tests. Soil microbial DNA fragments purified from different polluted levels of heavy metals match very well after PCR (polymerase chain reaction) amplification and DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) reaction, which indicates heavy metal accumulation at different levels have not caused pollution induced diversity in soil microbial community structure, neither the DNA damage, on the other hand, strongly binding capacity of soils on heavy metals can resist the impairment of soil organisms from these pollutants in some degree.

Key words: local smelting; heavy metals; soil microorganisms; Biolog; PCR; DGGE