

doi: 10.12029/gc20220312001

孔祥科, 李义, 王平, 韩占涛, 刘圣华, 张兆吉, 王妍妍. 2024. 制革污泥渗滤液中特征污染物对土壤氨氮转化及微生物群落结构的影响[J]. 中国地质, 51(5): 1676–1685.

Kong Xiangke, Li Yi, Wang Ping, Han Zhantao, Liu Shenghua, Zhang Zhaoji, Wang Yanyan. 2024. Effects of characteristic pollutants in leather sludge leachate on soil ammonia nitrogen transformation and microbial community structures[J]. Geology in China, 51(5): 1676–1685(in Chinese with English abstract).

## 制革污泥渗滤液中特征污染物对土壤氨氮转化及微生物群落结构的影响

孔祥科<sup>1,2</sup>, 李义<sup>3</sup>, 王平<sup>1,2</sup>, 韩占涛<sup>4</sup>, 刘圣华<sup>1,2</sup>, 张兆吉<sup>1,2</sup>, 王妍妍<sup>1,2</sup>

(1. 中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 福建 厦门 361021; 2. 河北省/中国地质调查局地下水污染机理与修复重点实验室, 河北 石家庄 050061; 3. 河北省地质环境监测院, 河北 石家庄 050021; 4. 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:**【研究目的】查明制革污泥渗滤液中特征污染物(Cr(III)、盐分、有机质)对土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  转化和微生物群落结构的影响, 为制革污泥的安全农用及土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的污染防控提供理论依据。【研究方法】通过土壤培养实验, 研究不同污染物影响下土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  向  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的转化规律, 并利用高通量测序对比分析不同条件下的微生物群落组成和结构变化特征。【研究结果】制革污泥渗滤液中特征污染组分对土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  硝化过程的抑制程度排序为: Cr(III)>盐分>有机质。外源 Cr(III) 进入对土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的转化速率和转化量具有明显抑制作用, 而土壤中盐分和有机质主要影响硝化作用的启动时间和降低硝化速率。随着土壤中 Cr(III) 含量由 100 mg/kg 增加到 250 mg/kg, 培养 90 d 后  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的转化量由 94.23% 降低到 19.38%。高浓度 Cr(III) 和盐分在污染初期对土壤中微生物丰度和群落结构影响显著, 随土壤老化过程中 Cr(III) 生物有效性降低及微生物适应性增强, 不同污染特征土壤中微生物群落结构和组成逐渐趋同, 硝化功能菌(*Nitrosospira*、*Nitrosomonas* 和 *Nitrosospira*) 丰度增加明显。【结论】冗余(RDA)分析结果表明, 影响制革污染土壤中微生物群落结构演变的主要特征因子是 Cr(III) ( $R^2=0.53, P<0.01$ )、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  ( $R^2=0.59, P<0.005$ ) 和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  ( $R^2=0.53, P<0.01$ )。

**关键词:** 制革污泥; Cr(III); 氨氮; 硝化作用; 微生物群落结构; 土壤环境地质调查工程

**创新点:** (1) 从污染组分含量变化及微生物群落响应特征两方面研究入手, 研究制革污泥渗滤液中特征污染物 Cr(III)、盐分和有机质对土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  转化过程的影响程度; (2) 识别土壤中控制硝化作用的主要功能菌群及其丰度变化, 查明影响制革污染土壤中微生物群落结构演变的主要特征因子, 为制革污泥的安全农用及土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的污染防控提供理论支撑。

中图分类号: X794; X53 文献标志码: A 文章编号: 1000-3657(2024)05-1676-10

## Effects of characteristic pollutants in leather sludge leachate on soil ammonia nitrogen transformation and microbial community structures

KONG Xiangke<sup>1,2</sup>, LI Yi<sup>3</sup>, WANG Ping<sup>1,2</sup>, HAN Zhantao<sup>4</sup>, LIU Shenghua<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhaoji<sup>1,2</sup>,

收稿日期: 2022-03-12; 改回日期: 2022-04-26

基金项目: 河北省自然科学基金面上项目(D2020504003)及中国地质科学院基本科研业务费项目(SK202113)联合资助。

作者简介: 孔祥科, 男, 1987 年生, 副研究员, 从事土壤、地下水污染机理与修复研究; E-mail: kongxiangke@mail.cgs.gov.cn。

通讯作者: 王妍妍, 女, 1987 年生, 副研究员, 主要从事地下水污染机理研究; E-mail: wangyanyan@mail.cgs.gov.cn。

WANG Yanyan<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Xiamen 361021, Fujian, China; 2. Key Laboratory of Groundwater Remediation of Hebei Province and China Geological Survey, Shijiazhuang 050061, Hebei, China; 3. Hebei Geological Environment Monitoring Institute, Shijiazhuang 050021, Hebei, China; 4. Technical Centre for Soil, Agriculture and Rural Ecology and Environment, Ministry of Ecology and Environment, Beijing 100012, China)

**Abstract:** This paper is the result of soil environmental survey engineering.

**[Objective]** The objective is to identify the impact of characteristic pollutants (Cr (III), salt, organic matter) in the leachate of tannery sludge on the conversion of soil  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  conversion and microbial community structure. It provides a theoretical basis for the safe agricultural use of tannery sludge and soil pollution prevention and control. **[Methods]** The transformation of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  to  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  in soil was studied through soil cultivation experiments under different pollution conditions, and the high-throughput sequencing is used to analyze the composition and structure characteristics of microbial community in soil. **[Results]** The characteristic pollution components in the tannery sludge leachate inhibit the nitrification process of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  in the soil, and the influence factors are sorted as follows: Cr(III)>saltness>organic matter. The exogenous Cr(III) pollution has a significant inhibitory effect on the transformation rate and amount of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , whereas the saltness and organic matter only delay the start time of nitrification and reduce the nitrification rate in soil. With the increase of Cr(III) content from 100 mg/kg to 250 mg/kg, the transformation amount of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  decreases from 94.23% to 19.38% after 90 days of culture. The high Cr(III) and salinity in the leachate have a significant impact on the microbial community structure and distribution in the soil at the initial stage of pollution. With the decrease of the bioavailability of Cr(III) and the enhancement of microbial adaptation in soil aging process, the microbial community structure and composition in Cr(III), salinity, and organic matter contaminated soils become similar, and the abundances of nitrifying bacteria (*Nitrosospora*, *Nitrosomonas* and *Nitrosospira*) also have an obvious increase. **[Conclusions]** The results of RDA analysis show that the main characteristic factors affecting the evolution of microbial community structure in tanning contaminated soil are: Cr(III) ( $R^2=0.53$ ,  $P<0.01$ ),  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  ( $R^2=0.59$ ,  $P<0.005$ ) and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  ( $R^2=0.53$ ,  $P<0.01$ ).

**Key words:** tannery sludge; Cr(III); ammonia nitrogen; nitrification; microbial community structure; soil environmental survey engineering

**Highlights:** (1) The influence of characteristic pollutants in leather sludge leachate on soil ammonia nitrogen transformation are sorted as follows: Cr(III)>saltness>organic matter. (2) The main characteristic factors affecting the evolution of microbial community structure in tanning contaminated soil are: Cr(III) ( $R^2=0.53$ ,  $P<0.01$ ),  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  ( $R^2=0.59$ ,  $P<0.005$ ) and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  ( $R^2=0.53$ ,  $P<0.01$ ).

**About the first author:** KONG Xiangke, male, born in 1987, associate researcher, engaged in the mechanism and remediation of soil and groundwater pollution; E-mail: [kongxiangke@mail.cgs.gov.cn](mailto:kongxiangke@mail.cgs.gov.cn).

**About the corresponding author:** WANG Yanyan, female, born in 1987, associate researcher, engaged in the mechanism of groundwater pollution; E-mail: [wangyanyan@mail.cgs.gov.cn](mailto:wangyanyan@mail.cgs.gov.cn).

**Fund support:** Supported by Natural Science Foundation of Hebei Province (No.D2020504003) and the Basic Scientific Research Fund of Chinese Academy of Geological Sciences (No.SK202113).

## 1 引言

中国是世界制革工业大国,制革过程中除产生大量的废水外,还会产生大量的制革污泥(Zeng et al., 2016)。制革污泥成分复杂,且不同处理工艺条件下组分差异较大,但总体上特征污染物均包括Cr(III)、氨氮( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )、盐分和有机质等(畅浩, 2014; 黄雪芬等, 2017)。由于制革污泥产量大、处理费用高,部分制革企业只是将其作为普通固废进

行处置,或直接作为农肥施用于农田中(Kong et al., 2019)。制革污泥含水率高(一般大于 75%),露天堆存过程中渗滤液中所含高浓度污染物释放将对包气带造成严重的污染(马宏瑞等, 2004; 庞雅婕等, 2024)。

由于加碱沉淀法处理铬鞣废水后高浓度Cr(III)被有效去除,制革污泥中往往仅剩余高浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、盐分和有机质,近年来有学者提出将含有较低含量Cr(III)的制革污泥用于土壤改良处置

(Martines et al., 2010; Nakatani et al., 2011)。尽管适量浓度的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  释放有助于增加土壤肥力,但当土壤对其达到饱和吸附后,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  会向深层土壤迁移,并在硝化作用下转化为更易迁移的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 增大地下水的污染风险(许可和陈鸿汉, 2011; 张达政等, 2014; 吕晓立等, 2021)。另外, 制革污泥渗滤液中 Cr(III)、盐分和有机质共同作用下, 将显著影响包气带中微生物的群落结构和功能, 尤其是对环境变化敏感硝化菌群, 进而对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  在土壤中的转化过程产生影响(Cao et al., 2011)。因此, 从土壤中三氮含量变化及微生物群落响应特征两方面研究入手, 研究制革污泥渗滤液中特征污染物 Cr(III)、盐分和有机质对土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  转化及微生物群落结构的影响, 将对揭示制革污泥污染土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的转化规律及微生物种群结构变化具有重要意义。

本文通过开展污染土壤培养实验, 分析制革污泥渗滤液中不同特征污染物(Cr(III)、盐分、有机质)影响下土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的转化规律, 同时利用高通量测序对比分析不同条件下的微生物群落结构变化, 识别土壤中控制硝化作用的主要功能菌群及其丰度变化特征, 查明影响制革污染土壤中微生物群落结构演变的主要特征因子, 为制革污泥的安全农用及土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的污染防控提供理论支撑。

## 2 材料与方 法

### 2.1 实验材料

新鲜制革污泥及污染土壤采自河北省某市皮革制造工业园区旁的露天堆存区, 实验土壤取自周边未污染农田的表层粉土(黏土含量占 10.52%, 粉砂含量占 74.39%, 细砂含量占 15.09%), 实验前分别经自然阴干, 剔除样品中残渣、植物根系等, 过 100 目筛后保存待用。其中, 制革污泥污染土壤中 Cr(III) 含量为 184.0 mg/kg,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为 268.5 mg/kg, 含盐量为 10200 mg/kg, 有机质为 0.34%。实验中用于配制污染模拟液的  $\text{CrH}_3\text{O}_{12}\text{S}_3$ 、NaCl、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  等试剂均为分析纯。

### 2.2 实验方法

用天平分别称取若干份 200 g 粉土加入培养盒中, 根据制革污泥污染土壤中的特征污染组分浓度水平, 加入 50 mL 含有不同背景浓度组分(盐分、Cr(III)、有机质)的混合  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  污染液, 使污染土

壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量均为 (320±10) mg/kg, 含水率保持在 25%。共设计 5 种不同环境条件实验(表 1): ①对照组(CK), 仅利用  $\text{NH}_4\text{Cl}$  污染液配制污染土; ②Cr(III) 影响组(Cr), 利用  $\text{CrH}_3\text{O}_{12}\text{S}_3$  配制含有不同浓度 Cr(III) 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  污染液, 使土壤中 Cr(III) 污染水平分别为 100 mg/kg(Cr1) 和 250 mg/kg(Cr2); ③盐分影响组(Sal), 利用 NaCl 配制  $\text{NH}_4\text{Cl}$  污染液并加入到土壤中, 使土壤含盐量达到 10250 mg/kg; ④有机质影响组(OM), 利用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜和 732 阳离子交换树脂过滤新鲜制革污泥渗滤液, 获取不含 Cr(III) 的溶液配制  $\text{NH}_4\text{Cl}$  污染液, 使土壤有机质含量达到 0.42%; ⑤复合污染影响组(TS), 直接利用制革污泥污染土壤实验作为对比。实验每组设计 2 个平行样。

污染土壤在培养盒中搅拌均匀后, 放入恒温培养箱(赛福 DRX-680E, 中国)中进行培养(25℃, 无光照)。分别在培养的第 1 d、7 d、15 d、30 d、60 d 及 90 d 取样, 利用多点法随机采集培养盒中 5 处污染土壤样品并混合, 随后将培养盒称重并补充损失的水分, 重新放置于培养箱。用于污染物含量测定的样品直接放入 5 mL 离心管, 浸提后测定土样中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  及  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的含量。用于后续微生物高通量测序测试样品放入 2 mL 离心管储存于 -70℃ 冰箱, 送至上海美吉生物医药科技有限公司检测。

### 2.3 测试及分析方法

(1) 土样中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的测定依据《土壤 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定 氯化钾溶液提取-分光光度法》(HJ634—2012), 在利用 1 mol/L KCl 溶液提取的基础上, 分别添加指定显色剂利用分光光度计在对应波长处测试, 测得污染物液相浓度并换算成对应固相含量。土样含盐量采用《土壤检测 第 16 部分: 土壤水溶性盐总量

表 1 不同实验条件下土壤中污染组分含量

Table 1 Contents of contaminated components in soil under different experimental conditions

样品 分组	$\text{NH}_4^+\text{-N}/$ (mg/kg)	Cr(III)/ (mg/kg)	含盐量/ (mg/kg)	有机质/ %
CK	320.5	66.8	717	0.14
Cr1	316.3	103.5	1450	0.16
Cr2	318.0	252.8	2070	0.17
OM	319.7	69.8	885	0.42
Sal	318.4	67.2	10250	0.17
TS	268.5	184.0	10200	0.34

的测定》(NYT 1121.16—2006), 有机质含量采用《土壤有机碳的测定重铬酸钾氧化-分光光度法》(HJ 615—2011)。

(2) 土样微生物高通量测序送往上海美吉生物医药有限公司进行, 按照基因组 DNA 提取、设计并合成引物接头、PCR 扩增和产物纯化、PCR 产物定量和均一化、Illumina PE 文库制备、Illumina 高通量测序的基本实验流程对土壤微生物 16S rRNA 基因进行高通量测序(Liu et al., 2017)。其中, 对菌群的 16S rRNA 基因 V4-V5 区分别利用引物 515F-(5GTGCCAGCMGCCGCGG-3) 和 907R(5-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT-31) 进行扩增。获取的原始序列通过美吉云平台提供的 Mothur(Schloss et al., 2009) 和 QIIME(Caporaso et al., 2010) 软件进行处理和分析。测试结果中样品群落覆盖率(coverage)均在 0.99 以上, 反映了测序数据可覆盖样品中所有微生物信息。对获取的试验数据利用 SPSS 20.0 软件进行皮尔森(Pearson)相关性分析、方差分析及主成分分析。

(3) 根据 Sabey et al.(1959) 提出的经典“S”曲线模型, 土壤中通过硝化作用产生  $\text{NO}_3^-$ -N 的累积趋势可以用 Sigmodial 方程进行拟合, 从而通过动力模型定量描述硝化作用曲线的延迟期、最大速率期及停滞期 3 个阶段(袁巧霞等, 2007), 并根据公式推算硝化作用过程中的最大硝化速率、延迟时间及最大累积量等参数。Sigmodial 方程表达式如下。

$$\Delta\text{NO}_3^- = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(t-t_0)/dt}} + A_2 \quad (1)$$

式中:  $\Delta(\text{NO}_3^-)$  为  $\text{NO}_3^-$ -N 的累积量, mg/kg;  $A_1$  为  $\text{NO}_3^-$ -N 的最小转化量, mg/kg;  $A_2$  为  $\text{NO}_3^-$ -N 的最大转化量, mg/kg;  $t_0$  为  $\text{NO}_3^-$ -N 转化量的最大增幅时刻, d。

## 3 结果与讨论

### 3.1 特征污染物对 $\text{NH}_4^+$ -N 转化影响

单一受  $\text{NH}_4^+$ -N 污染土壤在培养 30 d 即出现明显的  $\text{NO}_3^-$ -N 累积现象(图 1), 60 d 后土壤中 99.7% 的  $\text{NH}_4^+$ -N 可完全转化为  $\text{NO}_3^-$ -N(图 1a)。低含量 Cr(III)(100 mg/kg) 污染土壤在培养 60 d 后才出现明显的  $\text{NO}_3^-$ -N 累积, 在 90 d 后可实现约 94.23% 的  $\text{NH}_4^+$ -N 转化为  $\text{NO}_3^-$ -N。相比未被

Cr(III) 污染土壤, 硝化作用的发生时间滞后约 30 d(图 1b)。而在高含量 Cr(III)(250 mg/kg) 污染土壤中, 即使在培养 90 d 后体系中仍没有明显的  $\text{NO}_3^-$ -N 累积(图 1c)。随着土壤中 Cr(III) 背景含量由 100 mg/kg 增加到 250 mg/kg, 培养 90 d 后  $\text{NH}_4^+$ -N 的转化量由 94.23% 降低到 19.38%, 表明土壤中 Cr(III) 的存在会对  $\text{NH}_4^+$ -N 转化产生明显抑制作用, 且随着土壤中 Cr(III) 含量增加, 抑制作用增强。

在模拟制革污泥渗滤液中高盐分及有机质影响条件下(图 1d、e), 培养 60 d 后污染土壤中开始出现  $\text{NO}_3^-$ -N 的累积, 并在培养 90 d 后 99% 以上的  $\text{NH}_4^+$ -N 可转化为  $\text{NO}_3^-$ -N, 表明土壤中硝化功能菌经过一定时间可以适应渗滤液中高盐分及有机质的影响。对于制革污泥污染的土壤(图 1f), 尽管受 Cr(III)、盐分及有机质复合污染影响, 土壤硝化作用强度较弱, 但随着土壤老化过程中 Cr(III) 生物有效性降低及硝化菌活性恢复(Kong et al., 2022), 培养 90 d 后土壤中仍有约 49.11% 的  $\text{NH}_4^+$ -N 可转化为  $\text{NO}_3^-$ -N。

### 3.2 硝酸盐的累积特征

由图 2 可以看出, Sigmodial 模型可以很好地对不同环境条件下土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 含量的累积变化曲线进行拟合( $R^2 > 0.996$ )。土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 累积转化量的极差值( $A_2 - A_1$ )排序为: CK > Sal ≈ OM > Cr1 ≥ Cr2, 即在制革污泥渗滤液中 Cr(III)、盐分、有机质含量水平下, Cr(III) 是影响土壤中  $\text{NH}_4^+$ -N 转化的主要因素, 而盐分和有机质组分的影响较小。随着土壤中 Cr(III) 含量由 100 mg/kg 增加至 250 mg/kg,  $\text{NO}_3^-$ -N 的最大累积转化量由 310.96 mg/kg 减小至 44.43 mg/kg, 且  $\text{NO}_3^-$ -N 含量开始出现增幅的起始时刻由 30 d 延迟到 60 d 以后, 外源 Cr(III) 进入土壤中对硝化菌群活性具有明显的抑制作用。

### 3.3 微生物群落结构特征

通过物种韦恩图(图 3a)分析可以直观发现, 不同环境条件下土样中微生物组成既具有显著差异, 又有一定的相近性。不同环境条件下样本中共有的微生物类群 OTU 数为 268 个, 占优势的微生物菌种主要包括 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes* 和 *Chloroflexi* 等门类。由于制革污泥污染土壤中物质组分复杂且受污染时间较长, 其所含专属菌种最多, 而其他有明显硝化作用发生的环境条件样本中菌群结构更相近, 具有相同种类的菌群

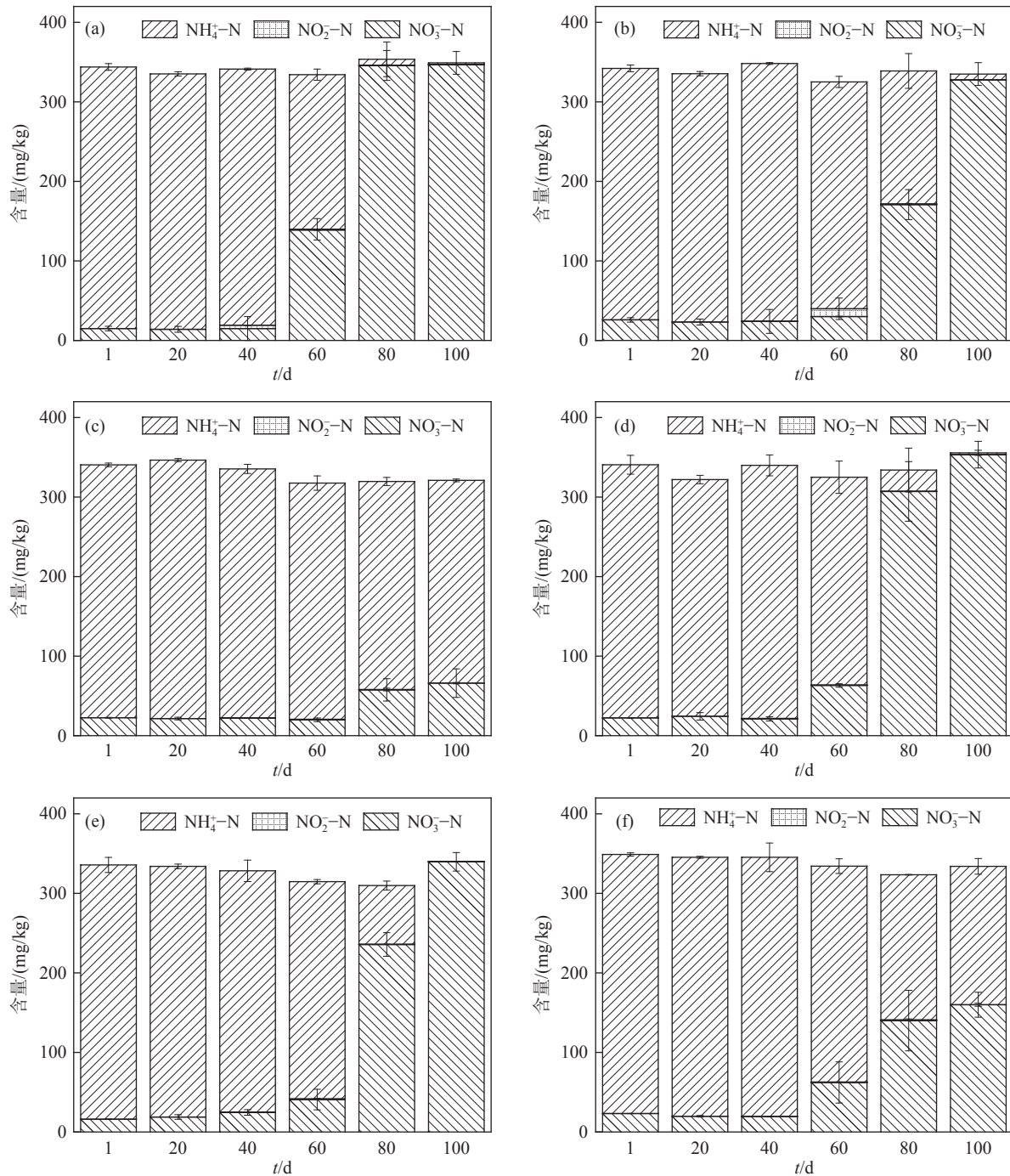


图 1 不同环境条件下土壤中氨氮、亚硝酸盐及硝酸盐含量变化

a—CK; b—Cr1; c—Cr2; d—OM; e—Sal; f—TS

Fig. 1 Changes of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N contents in soils under different conditions

占比更大。进一步分析不同样本中的菌群分型特征(图 3b), 除制革污泥污染土样在培养周期内具有相对独立的微生物群落分布外, 其他不同环境分组样品中微生物群落结构与分布在不同时期呈现分组性分布。由于微生物(尤其是硝化细菌)普遍对

外源重金属及盐分反应敏感(Pantazopoulou and Zouboulis, 2018; 于皓等, 2021), 因此在培养初期(前 30 d), 高 Cr(III) 及高盐分污染土样中菌群均集中在同一象限分布。随培养时间增加(30~60 d), 在微生物适应性增强、活性恢复的情况下, 含有

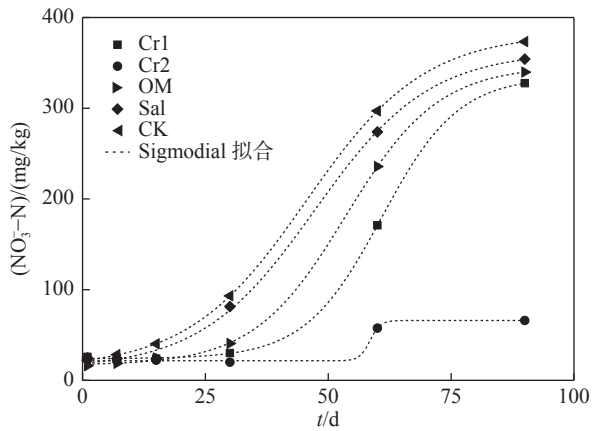


图 2 不同环境条件下硝酸盐累积过程的 Sigmodial 拟合曲线  
Fig.2 Sigmodial fitting curve of nitrate accumulation process under different conditions

*Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes* 等优势菌种的样本分布逐步聚集(图 3c)。在培养 90 d 后, 由于不同环境条件下土壤均发生明显的硝化作用, 此阶段具有硝化功能的微生物成为各自体系中的优势菌种, 各样本中微生物菌群呈聚集分布, 菌群组成差异性变小。

### 3.4 微生物群落丰度变化

根据微生物系统发育分析, 不同污染土样在属水平上主要包含 42 个优势种属细菌(图 4)。其中, 优势菌群包括溶杆菌属 (*Lysobacter*) (0.13%~25.21%)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) (0.29%~31.41%)、特吕珀菌属 (*Truepera*) (1.60%~12.91%)、芽胞杆菌属 (*Bacillus*) (0.31%~17.56%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) (0.60%~37.64%)、硝化螺菌属 (*Nitrosospira*) (0.10%~10.7%)、硝化菌属 (*Nitrolancea*) (0.004%~3.72%)、亚硝酸菌属 (*Nitrosomonas*) (0.002%~2.22%) 等。随土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 含量增加, *Lysobacter* 的丰度明显增加, 这与已有研究中 *Lysobacter* 的丰度与土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 含量呈显著正相关的结论一致(张健, 2018)。*Arthrobacter* 在高 Cr(III) 及盐分污染土样中丰度较大, *Truepera* 是一类多见于碱性和盐分环境下降解有机物的细菌(喻颖, 2020), 表明其对盐分和 Cr(III) 具有较强的耐受性(李娟等, 2017)。*Bacillus* 和 *Pseudomonas* 是环境中一类酶系丰富、环境适应性强的异养菌, 随着土样中有机质消耗, 其丰

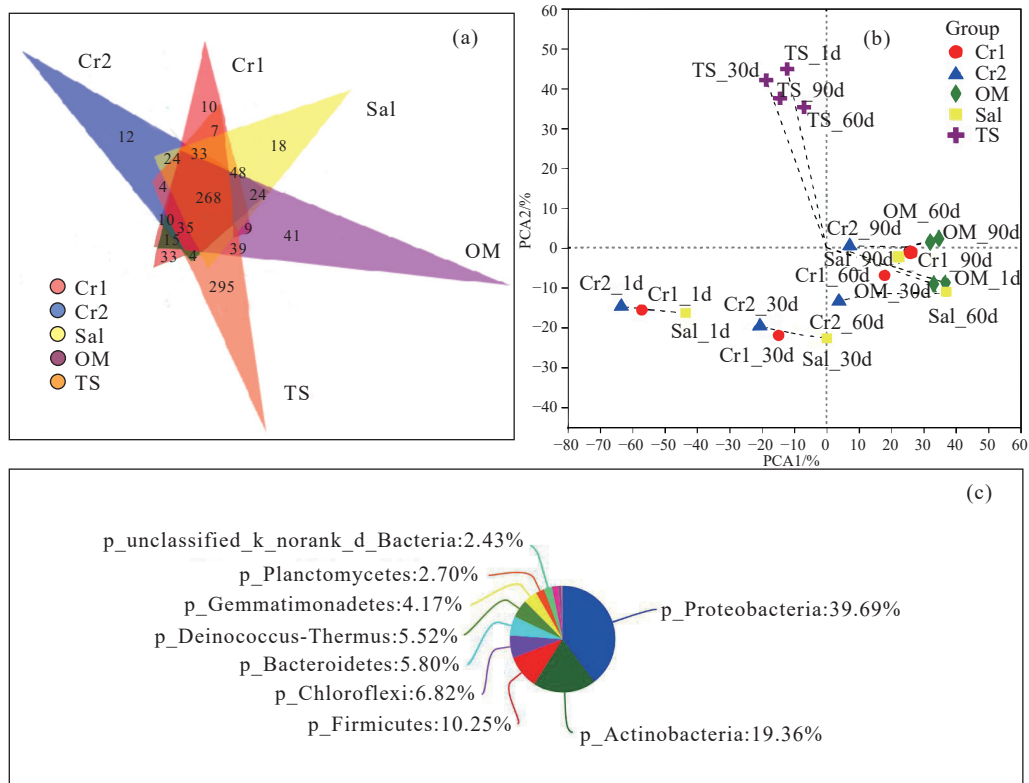


图 3 样本菌群分型图(a—韦恩图; b—聚类分布图; c—门水平组成图)

Fig.3 Classification chart of bacterial taxa (a—Venn diagram; b—Clustering distribution diagram; c—Classification diagram of phylum)

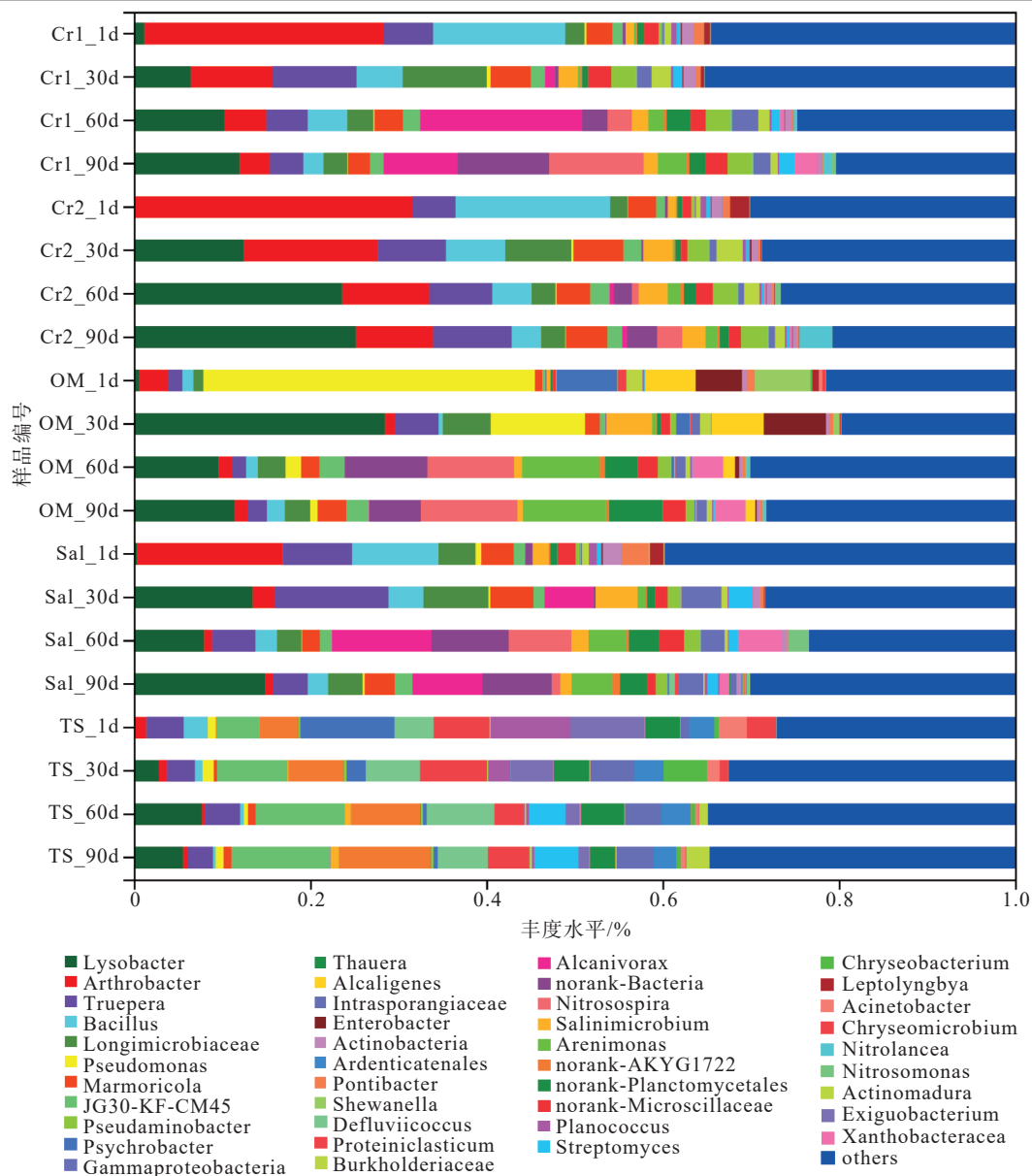


图 4 属分类水平上的微生物群落组成丰度图

Fig.4 Relative abundances of genus level of bacterial taxa recovered from samples

度逐渐降低。另外,土壤中检出的次优势菌属 *Nitrosomonas* 是主要的 AOB 细菌(曾薇等, 2015), 硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)的 *Nitrosospira* 和绿弯菌门(*Chloroflexi*)的 *Nitrolancea* 是主要的 NOB 菌属(王峰, 2006; 李猛, 2017)。以上对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  转化起控制作用的硝化功能菌在各样品中丰度均呈增大趋势, 且与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的转化规律具有一致性, 这与 Ke et al.(2013)及 Wang et al.(2015)研究结论中 *Nitrosospira*、*Nitrosomonas* 和 *Nitrosospira* 在农田土壤中处于硝化作用的支配地位相一致。

### 3.5 功能微生物响应特征

冗余分析(RDA)是基于环境因子约束化的主成分分析, 可以反映土壤样本、环境因子和菌群之间的相互关系(赖巧晖等, 2019)。不同环境条件下土壤样品中微生物群落与环境因子 RDA 分析结果表明(图 5), 第一轴 RDA1 和第二轴 RDA2 分别解释了 48.46% 和 3.54% 的细菌微生物群落变化。其中, RDA1 是决定菌群分布的主要因素, 对微生物群落结构影响最大的因子是 Cr(III)( $R^2=0.53$ ,  $P<0.01$ )、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ( $R^2=0.59$ ,  $P<0.005$ ) 和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ( $R^2=0.53$ ,  $P<$

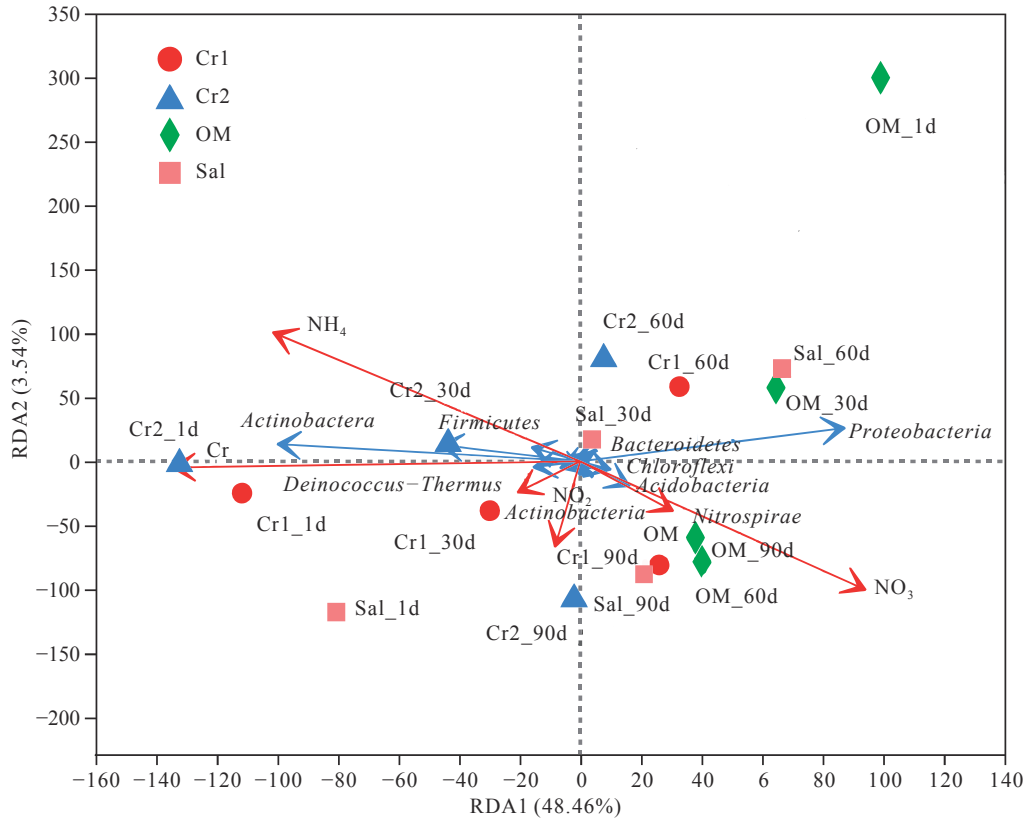


图 5 微生物群落与环境因子的 RDA 分析

Fig.5 RDA of the microbial community and environment factors

0.01)。基于不同环境样本在各象限中的分布规律可以发现,微生物菌群聚类分布主要受污染特征和培养时间的影响。*Actinobacteria* 与 Cr(III) 呈正相关关系,这与 *Actinobacteria* 可用于修复 Cr(IV) 污染土壤,对 Cr(III) 具有较好的耐受性研究结论一致 (Polti et al., 2014; Solá et al., 2019)。*Proteobacteria*、*Bacteroidetes*、*Chloroflexi* 和 *Nitrospirae* 与  $\text{NO}_3^-$ -N 呈正相关关系。作为农田土壤中优势菌种,*Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 的丰度一般与氮量呈正相关(王亚男, 2007), *Chloroflexi* 门含有包括 *Nitrolancea* 的功能菌属 (Daims et al., 2016), 同时与控制氮循环的 *Nitrospirae* 具有同源性。培养初期土壤中微生物菌群结构主要受 Cr(III) 和  $\text{NH}_4^+$ -N 影响,随着土壤中  $\text{NH}_4^+$ -N 含量降低,  $\text{NO}_3^-$ -N 含量增加,培养后期土壤中微生物主要受  $\text{NO}_3^-$ -N 影响,表明受土壤中硝化作用控制,微生物群落结构变化具有趋同性。

## 4 结论

制革污泥渗滤液中特征污染组分对土壤中

$\text{NH}_4^+$ -N 硝化过程的抑制程度排序为: Cr(III)>盐分>有机质。Sigmodial 模型可以很好地描述不同污染条件下土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 含量的累积变化过程 ( $R^2 > 0.996$ )。Cr(III) 是抑制土壤中  $\text{NH}_4^+$ -N 转化的主要因素,而盐分和有机质主要延长土壤中硝化作用的启动时间和降低硝化效率。

制革污泥渗滤液中高含量的 Cr(III) 和盐分在污染初期对土壤中微生物群落结构与分布具有显著影响,随土壤老化过程中重金属生物有效性降低及硝化功能菌适应性增强,微生物群落结构与分布趋于一致。RDA 分析结果表明,影响土壤中微生物群落结构的主要特征因子是 Cr(III) ( $R^2=0.53$ ,  $P < 0.01$ )、 $\text{NH}_4^+$ -N ( $R^2=0.59$ ,  $P < 0.005$ ) 和  $\text{NO}_3^-$ -N ( $R^2=0.53$ ,  $P < 0.01$ )。

## References

- Cao X H, Guo J, Mao J D, Lan Y Q. 2011. Adsorption and mobility of Cr(III)-organic acid complexes in soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 192(3): 1533-1538.
- Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D,



- Costello E K, Fierer N, Antonio G P, Goodrich J K, Gordon J I, Huttlely G A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 7(5): 335–336.
- Chang Hao. 2014. Study on the Pyrolysis Process and Product Properties of Leather Sludge[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 1–52 (in Chinese with English abstract).
- Daims H, Lückner S, Wagner M. 2016. A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 24(9): 699–712.
- Huang Xuefen, Meng Min, Xie Gang, Luo Yucheng, Li Lei, Wang Weisheng. 2017. Study on speciation distribution of Cr and reduction of Cr(VI) in tannery sludge[J]. *Journal of Guangxi University (Natural Science Edition)*, 42(5): 1930–1936 (in Chinese with English abstract).
- Ke X B, Angel R, Lu Y H, Conrad R. 2013. Niche differentiation of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers in rice paddy soil[J]. *Environmental Microbiology*, 15: 2275–2292.
- Kong X K, Li C H, Wang P, Huang G X, Li Z T, Han Z T. 2019. Soil pollution characteristics and microbial responses in a vertical profile with long-term tannery sludge contamination in Hebei, China[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(4): 563.
- Kong X K, Wang Y Y, Ma L S, Li H, Han Z T. 2022. Impact of  $\delta$ -MnO<sub>2</sub> on the chemical speciation and fractionation of Cr(III) in contaminated soils [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 29: 45328–45337.
- Lai Qiaohui, Zhang Hao, Liu Zhipeng. 2019. Characteristics of soil microbial community and their impact factors in different constructed wetlands with plant communities[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 26(5): 89–94,99 (in Chinese with English abstract).
- Li Juan, Uwaremwe Constantine, Leng Yan, Zhang Xiaohua, Li Shiweng, Chen Ximing. 2017. Progress on the study of biodegradation of organic pollutants and adsorption of heavy metals with arthrobacter strains[J]. *Environmental Science & Technology*, 40(10): 89–97 (in Chinese with English abstract).
- Li Meng. 2017. Effect of Combined Application of Manure with Nitrogen Fertilizer on the Diversity of Nitrifier in Installed Vegetable Fields[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 1–56 (in Chinese with English abstract).
- Liu Y C, Zhang Z J, Li Y S, Fei Y H. 2017. Response of soil microbial communities to roxarsone pollution along a concentration gradient[J]. *Journal of Environmental Science & Health Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 52(9): 819–827.
- Lü Xiaoli, Liu Jingtao, Han Zhantao, Zhu Liang, Yang Mingnan, Li Haijun. 2021. Geochemical characteristics and driving factors of high-ammonium groundwater in the rapid urbanization of the Pearl River Delta[J]. *Geology in China*, 48(6): 1770–1780 (in Chinese with English abstract).
- Ma Hongrui, Wang Xiaorong, Niu Xiaojun, Li Guiju. 2004. Releases of Cr(III) and nitrogen from contaminated soil with tannery sludge during organic matter mineralization[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 23(1): 136–139 (in Chinese with English abstract).
- Martines A M, Nogueira M A, Santos C A, Nakatani A S, Andrade C A, Coscione A R, Cantarella H, Sousa J P, Cardoso E J B N. 2010. Ammonia volatilization in soil treated with tannery sludge[J]. *Bioresource Technology*, 101(12): 4690–4696.
- Nakatani A S, Martines A M, Nogueira M A, Fagotti D S L, Oliveira A G, Bini D, Sousa J P, Cardoso E J B N. 2011. Changes in the genetic structure of bacteria and microbial activity in an agricultural soil amended with tannery sludge[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(1): 106–114.
- Pang Yajie, Li Chunhui, Han Zhantao, Zhang Zhaoji, Kong Xiangke. 2024. Migration simulation and pollution assessment of Cr (III) and ammonia from tannery wastewater in typical vadose zone in North China Plain[J]. *Geology in China*, 51(4): 1280–1289(in Chinese with English abstract).
- Pantazopoulou E, Zouboulis A. 2018. Chemical toxicity and ecotoxicity evaluation of tannery sludge stabilized with ladle furnace slag[J]. *Journal of Environmental Management*, 216: 257–262.
- Polti M A, Aparicio J D, Benimeli C S, Amoroso M J. 2014. Simultaneous bioremediation of Cr(VI) and lindane in soil by actinobacteria[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88: 48–55.
- Sabey B R, Frederick L R, Bartholomew W V. 1959. The formation of nitrate from ammonium nitrogen in soils: III Influence of temperature and initial population of nitrifying organisms on the maximum rate and delay period[J]. *Soil Science Society of America*, 23: 462–465.
- Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, Hall J R, Hartmann M, Hollister E B, Lesniewski R A, Oakley B B, Parks D H, Robinson C J, Sahl J W, Stres B, Thallinger G G, Van H D J, Weber C F. 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 75(23): 7537–7541.
- Solá M, Lovaisa N, Costa J, Benimeli C, Polti M, Alvarez, A. 2019. Multi-resistant plant growth-promoting actinobacteria and plant root exudates influence Cr(VI) and lindane dissipation[J]. *Chemosphere*, 222: 679–687.
- Wang B Z, Zhao J, Guo Z Y, Ma J, Xu H, Jia Z J. 2015. Differential contributions of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers to nitrification in four paddy soils[J]. *The ISME Journal*, 9: 1062–1075.
- Wang Feng. 2006. Study on Function and Character of Nitrifying Bacteria in Sewage Treatment Processes[D]. Shanghai: Tongji University, 1–169 (in Chinese with English abstract).
- Wang Ya'nan. 2007. Effects of Different Nitrogen Application Rates on

- Ammonia-oxidizing Bacteria Community Structure in Paddy Soil[D]. Beijing: China Agricultural University, 1-59 (in Chinese with English abstract).
- Xu Ke, Chen Honghan. 2011. Progression three forms of nitrogen contaminant transport and transform in groundwater[J]. China Population, Resources and Environment, 21(12): 421-424 (in Chinese with English abstract).
- Yu Hao, An Yijun, Jin Decai, Jin Tuo, Wang Xingrun. 2021. Effects of chromium pollution on soil bacterial community structure and assembly processes[J]. Environmental Science, 42(3): 1197-1204 (in Chinese with English abstract).
- Yu Ying. 2020. Hydroxylamine Promotes Nitrogen Removal and Microbial Mechanism during In-situ Aerobic Remediation of Landfill [D]. Shanghai: Shanghai University, 1-130. (in Chinese with English abstract).
- Yuan Qiaoxia, Wu Yajuan, Ai Ping, Zhen Yucun, Zhu Duanwei. 2007. Effects of moisture, temperature and nitrogen supply rate on  $\text{NO}_3^-$ -N accumulation in greenhouse soil[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 23(10): 192-198 (in Chinese with English abstract).
- Zeng J, Gou M, Tang Y Q, Li G Y, Sun Z Y, Kida K. 2016. Effective bioleaching of chromium in tannery sludgewith an enriched sulfur-oxidizing bacterial community[J]. Bioresource Technology, 218: 859-866.
- Zeng Wei, Zhang Liming, Wang Anqi, Zhang Jie, Peng Yongzhen, Duan Junling. 2015. Community structures and population dynamics of nitrifying bacteria in activated sludges of wastewater treatment plants[J]. China Environmental Science, 35(11): 3257-3265 (in Chinese with English abstract).
- Zhang Dazheng, Li Haiming, Zhan Xiaoyan, Xia Yuezhen. 2014. Characteristics of groundwater salt pollution in a typical leather-contaminated site[J]. Hydrogeology & Engineering Geology, 41(2): 18-23 (in Chinese with English abstract).
- Zhang Jian. 2018. Effects of Continuous Nitrogen Application on Community Structure of Ammonia-oxidizing Flora and Bacteria on Potato-planting Soil[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 1-44 (in Chinese with English abstract).
- 科技大学, 1-52.
- 黄雪芬, 蒙敏, 谢刚, 罗宇晨, 李磊, 王维生. 2017. 制革污泥中 Cr 形态分布及 Cr(VI) 还原性研究[J]. 广西大学学报 (自然科学版), 42(5): 1930-1936.
- 赖巧晖, 张浩, 刘治鹏. 2019. 不同植物配置下人工湿地微生物群落特征及其影响因素[J]. 水土保持研究, 26(5): 89-94,99.
- 李娟, Uwaremwe Constantine, 冷艳, 张晓华, 李师翁, 陈熙明. 2017. 节杆菌属细菌处理有机物和重金属污染物的研究进展[J]. 环境科学与技术, 40(10): 89-97.
- 李猛. 2017. 有机肥配施氮肥条件下设施菜地硝化菌群多样性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 1-56.
- 吕晓立, 刘景涛, 韩占涛, 朱亮, 杨明楠, 李海军. 2021. 快速城镇化进程中珠江三角洲高铍地下水赋存环境及驱动因素[J]. 中国地质, 48(6): 1770-1780.
- 马宏瑞, 王晓蓉, 牛晓君, 李桂菊. 2004. 制革污泥污染土壤矿化过程中 Cr(III) 和氮的释放[J]. 农业环境科学学报, 23(1): 136-139.
- 庞雅婕, 李春辉, 韩占涛, 张兆吉, 孔祥科. 2024. 华北平原制革废水 Cr(III) 和氨氮在典型包气带中迁移模拟与污染评价[J]. 中国地质, 51(4): 1280-1289.
- 王峰. 2006. 城市污水处理过程硝化菌群功能与群落特征研究[D]. 上海: 同济大学, 1-169.
- 王亚男. 2007. 不同施氮量对稻田土壤中氨氧化细菌群落结构的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 1-59.
- 许可, 陈鸿汉. 2011. 地下水中三氮污染物迁移转化规律研究进展[J]. 中国人口·资源与环境, 21(12): 421-424.
- 于皓, 安益君, 金德才, 靳拓, 王兴润. 2021. 铬污染对土壤细菌群落结构及其构建机制的影响[J]. 环境科学, 42(3): 1197-1204.
- 喻颖. 2020. 填埋场原位好氧修复过程中羟胺促进脱氮效果及微生物作用机理研究[D]. 上海: 上海大学, 1-130.
- 袁巧霞, 武雅娟, 艾平, 甄玉存, 朱端卫. 2007. 温室土壤硝态氮积累的温度、水分、施氮量耦合效应[J]. 农业工程学报, 23(10): 192-198.
- 曾薇, 张丽敏, 王安其, 张洁, 彭永臻, 段俊岭. 2015. 污水处理系统中硝化菌的菌群结构和动态变化[J]. 中国环境科学, 35(11): 3257-3265.
- 张达政, 李海明, 詹晓燕, 夏跃珍. 2014. 典型制革污染场地地下水盐污染特征[J]. 水文地质工程地质, 41(2): 18-23.
- 张健. 2018. 连续施氮对土壤氨氧化菌及细菌群落结构的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 1-44.

## 附中文参考文献

畅浩. 2014. 制革污泥热解过程及其产物特性的研究[D]. 西安: 陕西