



罗鉴, 吴永贵, 罗有发, 等. 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物重金属淋溶释放行为及微生物群落结构的影响[J]. 环境工程学报, 2023, 17(9): 3054-3065. [LUO Jian, WU Yonggui, LUO Youfa, et al. Effect of combined remediation with the conditioners and plants on heavy metal leaching release behavior and microbial community structure of mercury-thallium mine wastes[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(9): 3054-3065.]

改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物重金属淋溶释放行为及微生物群落结构的影响

罗鉴¹, 吴永贵^{1, 2, 3, □}, 罗有发^{2, 3}, 朱鑫维¹, 彭小裕¹, 郑煜¹

1. 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550025; 2. 贵州喀斯特环境生态系统教育部野外科学观测研究站, 贵阳 550025; 3. 贵州省劣境生态修复技术工程研究中心, 贵阳 550025

摘要 为探究改良剂赤泥(富铁铝的工业废弃物)与鱼粪(富氮磷的有机质)作为改良剂结合 2 种典型先锋速生植物(巨菌草和黑麦草)对汞铊矿废弃物中典型重金属(Hg、As、Sb、Tl 等)淋溶释放的原位控制效果, 通过 150 d 淋滤实验, 考察了单一改良剂、混合改良剂及改良剂联合植物对汞铊矿废弃物和淋滤液理化特征、重金属淋溶释放规律及微生物群落结构的影响。结果表明, 添加鱼粪和赤泥结合植物种植能显著抑制汞铊矿废弃物中 As、Tl 和 Sb 的释放, 同时显著促进废弃物中 Hg 的溶出($P<0.05$)。随着淋溶时间的延长, 5 个批次淋滤液中 As、Tl 和 Sb 的质量浓度分别降至对照组的 21.28%~56.56%、33.21%~63.15%、32.23%~56.62%。经处理后汞铊矿废弃物中养分有所提高, 相较于对照组, 各处理组废弃物 pH 由 3.87 升至 5.56~6.78, 速效钾(AK)含量是对照组的 5.60~8.75 倍, 有机质(OM)由对照组的 $0.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 增至 $2.50\sim3.14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。同时, 改良剂与植物联合修复改善了汞铊矿废弃物微生物群落丰富度和多样性, 其中以黑麦草组的细菌群落丰富度最高。综合考虑重金属淋溶释放控制和微生物群落结构改善, 选择鱼粪和赤泥混合改良并种植巨菌草对汞铊矿废弃物的修复效果最佳, 以上研究结果可为汞铊矿废弃物中重金属释放的原位控制与无土快速生态修复提供技术支持。

关键词 汞铊矿废弃物; 鱼粪; 赤泥; 黑麦草; 巨菌草; 重金属淋溶; 微生物群落

贵州省黔西南州兴仁市滥木厂汞铊矿区是一个独特的 Hg、As、Sb 及 Tl 的天然富集区, 同时也是多金属污染最严重、最典型的矿区^[1-2]。该地区存在较高的金属地质背景值, Hg、As、Sb 和 Tl 作为该矿区的典型重金属, 广泛存在于土壤、河流、沉积物以及农作物中^[3-7]。在常年风化和淋溶环境下, 长期堆存的汞铊矿废弃物被持续氧化和冲刷, 导致废弃物的 Hg、As、Sb、Tl 等重金属释放迁移至周边的水体和土壤中, 对生态环境污染和人体健康带来巨大风险^[8-10]。目前, 矿山废弃物的常用治理方法包括物理法、化学法和生物法。其中, 生物修复策略基于植物与微生物结合, 通过固化、积累和稳定污染物达到环境修复的效果, 该法因其环境友好、成本低廉且可长期自维持的优势而被广泛应用^[11-15]。然而, 矿山废弃物因其特殊的物理、化学和生物特性限制了植物与微生物的生长, 同时也阻碍了废弃物的资源化利用, 因此对矿山废弃物进行改良修复十分必要^[16-17]。鱼粪作为水产养殖废弃物, 不仅富含氮、磷、钾、碳等营养元素及多种保水成份和生物活性物质, 能对矿山生境的改善起到一定作用; 赤泥作为铝工业废弃物, 因富含铁铝及碱性物质可对酸性环境中多种重金属具有一定钝化作用, 能够降低重金属的溶出度和有效性^[18-21]。因此, 利用鱼粪与赤泥可有效地改良矿山废弃物的生境条件, 为植物生长提供有利条件。黑麦草 (*Lolium perenne L.*) 是一种常见的草本植

收稿日期: 2023-02-06; 录用日期: 2023-07-31

基金项目: 国家自然科学基金(521600132); 贵州省科技计划项目(黔科合重大专项字[2019]3010; 黔科合支撑[2021]一般 479); 国家重点研发计划项目(2018YFC1802602); 贵州省百层次人才项目(黔科合平台人才[2020]6002)

第一作者: 罗鉴(1996—), 男, 硕士研究生, 15085099028@163.com; □通信作者: 吴永贵(1972—), 男, 博士, 教授, ygwu72@126.com

物, 具有生长快、产量高、耐刈割等特点, 对重金属具有较强的抗性和富集能力; 巨菌草 (*Pennisetum giganteum*) 因其生物量大、适应性强、重金属富集能力, 已被用于土壤 Pb、Cd 等重金属的植物修复^[22-26]。基质改良与植物联合修复是改善矿业固体废弃物堆场恶劣生境及控制重金属污染物释放的有效途径。目前, 利用有机改良剂(鸡粪、牛粪等)以及无机改良剂(碳酸盐岩、石灰等)联合植物(黑麦草、三叶草等)对重金属污染场地进行修复已有较多报道^[27-31], 但关于利用鱼粪和赤泥作为改良剂并联合黑麦草及巨菌草对富含多种重金属的汞铊矿废弃物进行修复的研究鲜有报道。因此, 探明有机和无机改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物中重金属淋溶释放的原位控制及修复后的微生物群落结构特征对矿山废弃物堆场生态修复具有重要指导意义。

本研究采用富铁铝的铝业废弃物(赤泥)与富含有机质的渔业废弃物(鱼粪)作为改良剂, 结合两种典型先锋速生植物(巨菌草和黑麦草)分别探究单一改良剂、混合改良剂及改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物中典型重金属淋溶释放的原位控制效果; 在此基础上分析改良剂和植物修复对汞铊矿废弃物理化性质及微生物群落结构特征的影响。相关研究结果可为大型多金属矿山废渣堆场的重金属污染释放的原位控制与无土快速生态修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

汞铊矿废弃物采自中国贵州省黔西南兴仁市滥木厂($25^{\circ}18' \text{--} 25^{\circ}47' \text{N}$, $104^{\circ}54' \text{--} 105^{\circ}34' \text{E}$)汞铊矿矿区。现场采样按五点取样法在约 $10\,000 \text{ m}^2$ 的汞铊矿废弃物堆场现场采集样品, 样品采集完成混匀后带回, 去除样品中所含杂物, 置于牛皮纸上自然风干, 研磨过 2 mm 筛混匀后备用。鱼粪采集自贵州省黔西南兴义市某水产发展有限公司, 赤泥采集自贵州省黔东南麻江县某铝厂赤泥堆场。现场采集后带回的鱼粪和赤泥分别置于牛皮纸上, 在室内剔除杂物、自然风干, 研磨后过 2 mm 筛, 充分混匀备用。汞铊矿废弃物、鱼粪和赤泥的理化性质见表 1。黑麦草种子和巨菌草购买自河南省世纪天缘生态科技有限公司。混合改良剂与汞铊矿废弃物混匀后分别种植黑麦草和巨菌草并进行淋滤实验。

表 1 汞铊矿废弃物、鱼粪和赤泥的理化性质和重金属含量

Table 1 Physicochemical properties and heavy metal content of mercury thallium mine waste, fish manure and red mud

实验材料	pH	Eh	EC/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	OM/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AP/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AN/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AK/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Hg/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	As/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Sb/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Tl/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
汞铊矿废弃物	3.67	238.33	1 265.67	0.93	1.56	10.35	28.64	46.85	58.76	6.84	197.79
鱼粪	6.54	13.47	3 243.24	3.56	312.08	976.69	306.24	0.12	3.21	ND	ND
赤泥	10.09	8.75	975.98	2.74	4.07	0.56	601.23	12.74	15.93	1.48	21.93

注: ND表示质量分数低于检出限; “/”表示未检测; AN为碱解氮; AP为有效磷; AK为速效钾。

1.2 淋滤实验设计

为考察不同改良剂在单一及复合使用条件下联合不同植物对汞铊矿废弃物的污染释放的原位控制作用, 开展了为期 150 d 的淋滤(淋滤柱为直径 110 mm 、高 400 mm 的圆柱形 PVC 管)实验。共设置 6 个处理组(见表 2), 包括一个对照组和 5 个处理组, 每个组设置 3 个平行, 共 18 根淋滤柱。淋滤量根据采样地年降雨

表 2 淋滤实验设计

Table 2 Leaching filtration test design

处理组名称	标记	汞铊矿废弃物/g	鱼粪/g	赤泥/g	黑麦草/粒	巨菌草/节
对照组	CK	3 500				
鱼粪组	FY	3 325	175			
赤泥组	FC	3 465		35		
混合改良组	FYC	3 290	175	35		
巨菌草组	FYJC	3 290	175	35		3
黑麦草组	FYCH	3 290	175	35	100	

量(1 250~1 400 mm)与淋滤柱横截面积确定为1 000 mL,根据前期预实验确定鱼粪添加量为5%(质量百分比)、赤泥添加量为1%(质量百分比)。实验时间确定为3~7月,该时间段符合黑麦草与巨菌草的生长周期和气温要求,且淋滤量能够满足2种植物的生长。实验淋滤实验后为防止淋滤柱间产生边际效应,柱与柱之间间隔10 cm,完全随机摆放,且不定期随机更换淋滤柱位置。淋滤柱实验平衡30 d后收集第一次淋滤液(L1),后期每隔30 d收集一次淋滤液,共收集5个批次的淋滤液(L1、L2、L3、L4和L5)。

淋滤实验结束后,去除淋滤柱样品中植物根系及其他杂物,充分混匀样品后按四分法采集,所得各组样品分成2份,1份置于-80℃冰箱中保存,用于微生物群测序分析;另1份放在室内通风处自然风干后研磨、过筛,用于理化特性和养分特性的测定。

1.3 样品分析

汞铊矿废弃物样品及淋滤液的基本理化性质和养分含量按鲁如坤编写的《土壤农业化学分析方法》的要求进行测定^[32]:利用pH计(PHSJ-3F)、电导率仪(DDS-11 A)及氧化还原电位测定仪(ORP-422)分别测定pH、电导率(EC)和氧化还原电位(Eh);速效钾采用1 mol·L⁻¹乙酸铵浸提,再用原子吸收光谱仪(TAS-990A)测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;有效磷采用0.5 mol/L NaHCO₃溶液浸提-钼锑抗比色法测定;OM采用水合热重铬酸钾氧化比色法测定。汞铊矿废弃物和淋滤液样品的Hg、As、Sb利用原子荧光光谱仪(AFS-8510)测定(HJ 694-2014);Tl利用原子吸收光谱仪(TAS-990)测定(HJ 748-2015)。

1.4 DNA提取、PCR扩增和 Illumina MiSeq 测序

使用HiPure Soil NDA Kit试剂盒(美国OMEGA公司)提取实验样品中细菌总的DNA。扩增区域为16S rRNA基因的V3-V4区,引物为338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'和806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAAT-3'。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测所提取的基因组DNA,然后进行PCR扩增(PCR仪,ABI GeneAmp® 9700型),利用AxyprepDNA凝胶回收试剂盒(美国AXYGEN公司)切胶回收PCR产物,Tris-HCl洗脱,2%琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果,将PCR产物用QuantiFluor™-ST蓝色荧光定量系统(美国,Promega公司)进行定量检测。构建Illumina PE 250文库,通过Illumina公司的NovaSeq PE250平台进行测序。

1.5 数据处理

利用Excel 2019和IBM SPSS Statistics 19.0软件进行实验数据处理和统计分析,Origin 2017用于图形的生成。

2 结果与讨论

2.1 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物物理化性质的影响

由表3可知赤泥与鱼粪与植物联合修复可显著改善汞铊矿废弃物的理化性质($P<0.05$),并显著提高汞铊矿废弃物的养分含量。经150 d淋滤实验,各处理组废弃物中pH值均显著升高($P<0.05$),由对照组(CK)的强酸性升至接近中性,其中混合改良并种植巨菌草组pH最高;Eh值与对照组相比降幅范围为51.08%~90.34%,均显著降低($P<0.05$);EC值相较于CK的272.67 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 降至128.67~223.00 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。养分含量方面,各处理组OM(OM)、有效磷(AP)、碱解氮(AN)及速效钾(AK)的含量相较于CK组均有显著增加。其中鱼粪的添加对提高汞铊矿废弃物中OM、AP和AN含量效果最好,分别达到3.14 g·kg⁻¹、

表3 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物物理化性质的影响

Table 3 Effects of the combined remediation with conditioner and plants on the physicochemical properties of mercury-thallium ore waste

处理组	pH	Eh/(mV)	EC/($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	OM/(g·kg ⁻¹)	AP/(mg·kg ⁻¹)	AN/(mg·kg ⁻¹)	AK/(mg·kg ⁻¹)
CK	3.87±0.11c	169.00±6.48a	272.67±11.50a	0.64±0.05c	2.07±0.35c	15.40±1.51d	33.47±2.88e
FY	5.56±0.09b	82.67±5.31b	194.67±12.58c	3.14±0.09a	6.96±1.22a	75.13±4.62a	187.41±3.38d
FC	6.76±0.24a	32.33±3.09c	128.67±12.34d	2.72±0.25ab	2.84±0.38bc	14.47±4.05d	227.78±8.29c
FYC	6.76±0.08a	16.33±4.64d	153.33±8.62d	3.09±0.23a	5.89±0.72a	69.47±3.35ab	225.37±4.86c
FY CJ	6.78±0.11a	16.33±3.30d	223.00±7.23b	2.50±0.25b	4.15±0.87b	52.20±7.54c	273.95±4.85b
FY CH	6.66±0.07a	23.00±1.63cd	198.50±4.00b	2.87±0.19ab	3.39±0.35bc	58.87±7.01bc	292.89±10.47a

注:不同小写字母表示处理组间差异显著($P=0.05$)。

6.96 mg·kg⁻¹ 和 75.13 mg·kg⁻¹; 赤泥的添加对提高汞铊矿废弃物中 AK 含量效果最好, 达到 227.78 mg·kg⁻¹。综上, 赤泥和鱼粪混合改良可显著改善汞铊矿废弃物物理化特性及养分条件, 为植物的生长提供有利条件, 而混合改良并种植巨菌草则进一步改善了废弃物物理化性质。

2.2 改良剂与植物联合修复对淋滤液理化性质的影响

由图 1 可知, 改良剂耦合植物修复可显著改善汞铊矿废弃物淋滤液的理化性质 ($P<0.05$)。赤泥组 (FC)、鱼粪组 (FY) 及混合改良组 (FYC) 对淋滤液理化性质均有明显改善, 种植巨菌草与黑麦草能在改良的基础上进一步提高淋滤液的 pH 值和总有机 (TOC) 浓度, 降低淋滤液 Eh 和 EC 值。各批次淋滤 pH 呈逐步上升的趋势, 巨菌草组 (FYCJ) 和黑麦草组 (FYCH) 淋滤液 pH 值分别达到 6.99 和 6.91。各处理组汞铊矿废弃物淋滤液 Eh 明显低于对照组, 除第 2 批次淋滤液外, 在各批次淋滤液中呈逐渐降低的趋势, 巨菌草组及黑麦草组 Eh 降幅为 52.85%~81.21%。巨菌草组及黑麦草组淋滤液中 TOC 质量浓度相较于 CK 组提升 6.54~27.89 倍, 赤泥组淋滤液 TOC 质量浓度相对较低。除 L2 批次的 FC 组外, 各处理淋滤液 EC 均低于 CK, 值得注意的是, L3~L5 批次的赤泥组 EC 相较于 CK 及其他处理组均有大幅降低, 降幅可达 12.25%~52.18%。综上, 鱼粪和赤泥混合改良并种植黑麦草和巨菌草可显著改善汞铊矿废弃物淋滤液的理化性质, 混合改良并种植巨菌草后对汞铊矿废弃物理化性质的改善效果最佳。

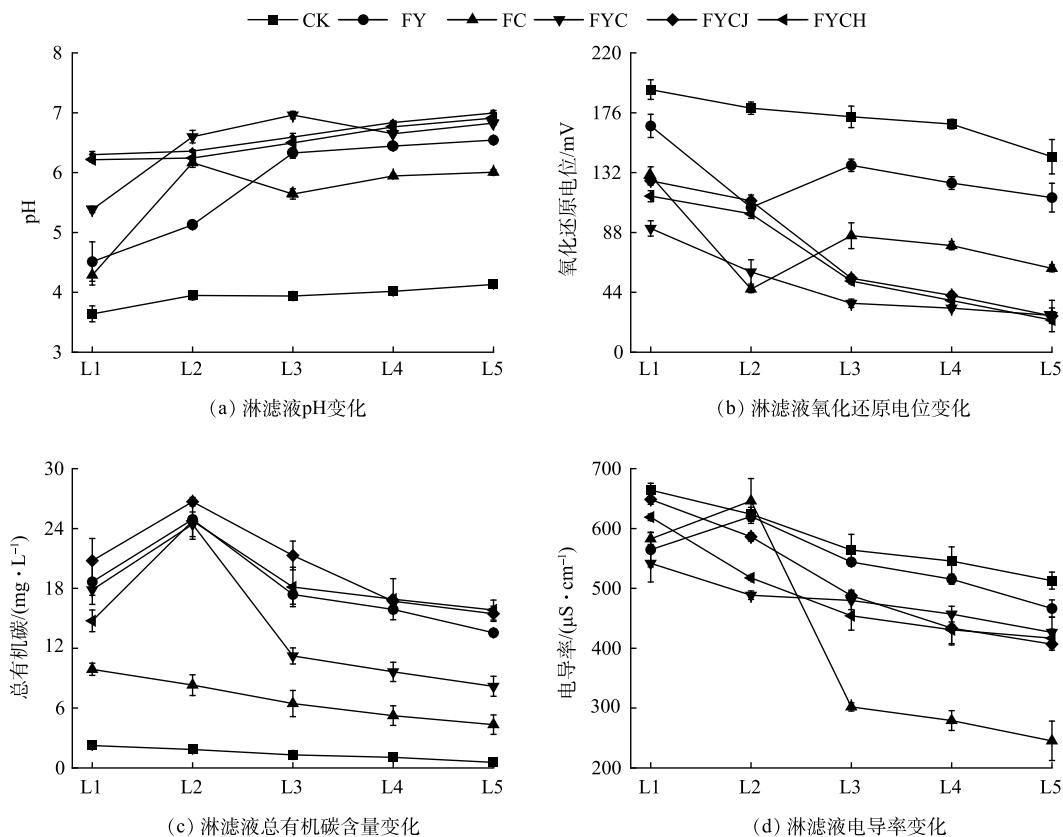


图 1 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物淋滤液理化性质的影响

Fig. 1 Effects of the combined remediation with conditioner and plants on the physicochemical properties of mercury-thallium ore waste leaching fluid

2.3 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物中重金属淋溶释放的影响

1) 改良剂对汞铊矿废弃物重金属淋溶释放的影响。由图 2 可知, 改良剂的加入对汞铊矿废弃物淋溶释放有显著的影响 ($P<0.05$), 鱼粪组 (FY) 各批次淋滤液中的 Tl 和 Sb 质量浓度可降至对照组 (CK) 的 18.29%~61.31%, Tl、Sb 的质量浓度最低值分别为 $45.89 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $4.14 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; As 的质量浓度除 L1 批次淋滤液外均有增加; 而 Hg 的质量分数随时间推移并无显著趋势, 呈上升下降交替出现的特点。赤泥改良组 (FC) 的各批次淋滤液中 Tl 和 Sb 的溶出量相较于 CK 得到有效的抑制, L5 批次淋滤液中 Tl 和 Sb 最低质量

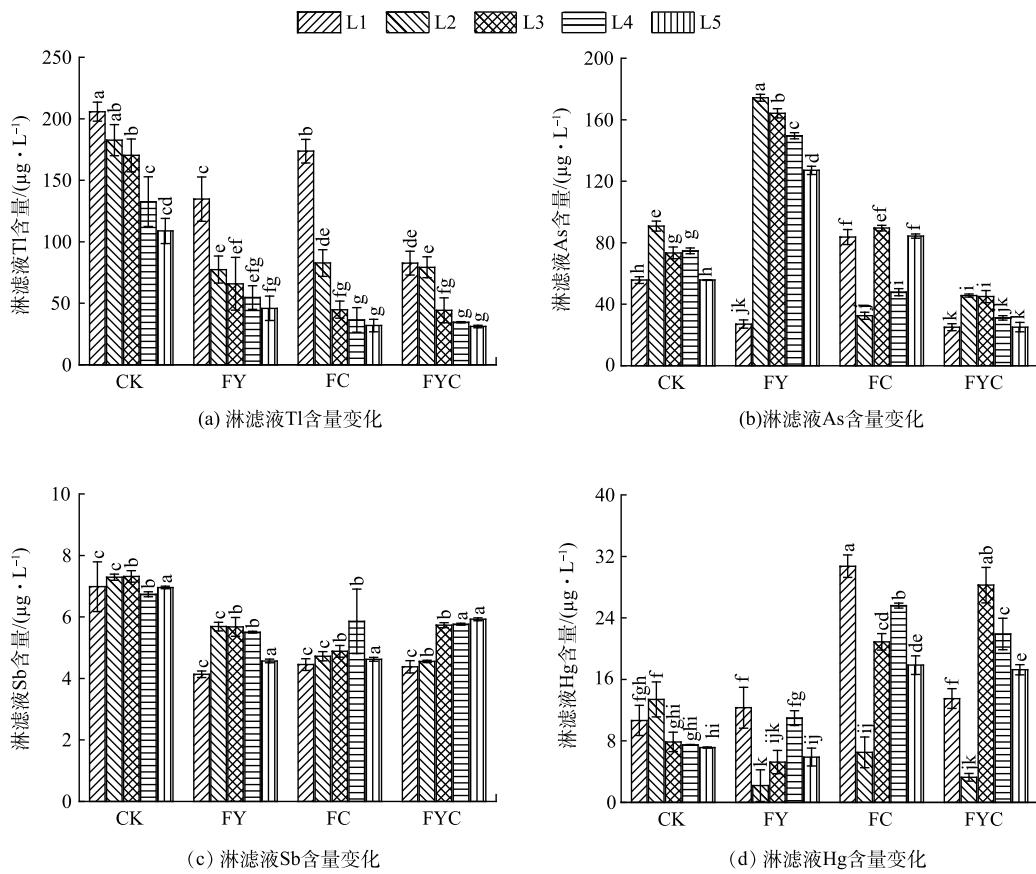


图 2 改良剂对淋滤液中重金属溶出量的影响

Fig. 2 Effects of the conditioner on the leaching of heavy metals from leachate

浓度分别降至 $31.92 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $4.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。赤泥组淋滤液中 As 的质量浓度无显著变化趋势, 而 Hg 的质量浓度相较于 CK 呈显著促进释放的趋势 ($P<0.05$)。混合改良组 (FYC) 对 As 和 Tl 的释放有显著的抑制效果 ($P<0.05$), 且低于其余 3 组。As 的质量浓度下降至对照组的 $38.71\% \sim 58.34\%$ 。混合改良组中 Sb 的质量浓度较 CK 虽然降低, 但对比鱼粪组、赤泥组发现并未提升 Sb 的控制效果。对于重金属 Hg 而言, 除 L2 批次淋滤液较 CK 和 FY 组有明显降低外, 其余批次淋滤液并无显著抑制效果, 反而促进 Hg 的释放。改良剂的加入可有效控制汞铊矿废弃物中 Hg、As、Sb、Tl 的淋溶释放, 在 150 d 淋滤实验后所产淋滤液 Hg、As 含量均符合《污水综合排放标准》要求。综上, 鱼粪和赤泥混合改良对汞铊矿废弃物重金属淋溶释放的控制效果最佳。

2) 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物重金属淋溶释放的影响。由图 3 可知, 混合改良后分别种植巨菌草和黑麦草对汞铊矿废弃物中重金属淋溶释放的影响。混合改良并分别种植巨菌草 (FYCJ) 和黑麦草组 (FYCH) 淋滤液中的 As、Tl 和 Sb 的质量浓度较对照组 (CK) 有显著的降低 ($P<0.05$), 巨菌草组各批次淋滤液中 3 种重金属下降率均超过 30%, 而 As、Tl 和 Sb 最低质量浓度均出现在 L5 批次淋滤液, 分别为 24.20 、 52.10 、 $3.11 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 黑麦草组各批次淋滤液中 3 种重金属下降率均超过 20%, As、Tl 和 Sb 最低质量浓度均出现在第五批次淋滤液 (L5), 分别为 26.78 、 47.48 、 $3.07 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。值得注意的是, 混合改良并种植巨菌草、黑麦草并未提升 As、Tl 的控制效果; Sb 的质量浓度对比混合改良组 (FYC) 在 L2~L5 批次淋滤液均有显著下降, 而 Hg 的质量分数相较于 CK 均有所上升, 对比混合改良组除第一、二批次外均有提升, 说明巨菌草和黑麦草种植能有效抑制汞铊矿废弃物中 Sb 的淋溶释放, 而在一定程度上促进 Hg 的淋溶释放。但 150 d 淋滤实验后所产淋滤液 Hg、As 含量均符合《污水综合排放标准》要求。

2.4 改良剂与植物联合修复对汞铊矿废弃物微生物群落结构的影响

表 4 中列出了改良剂耦合植物修复后汞铊矿废弃物中细菌群落丰富度和多样性指数差异。根据

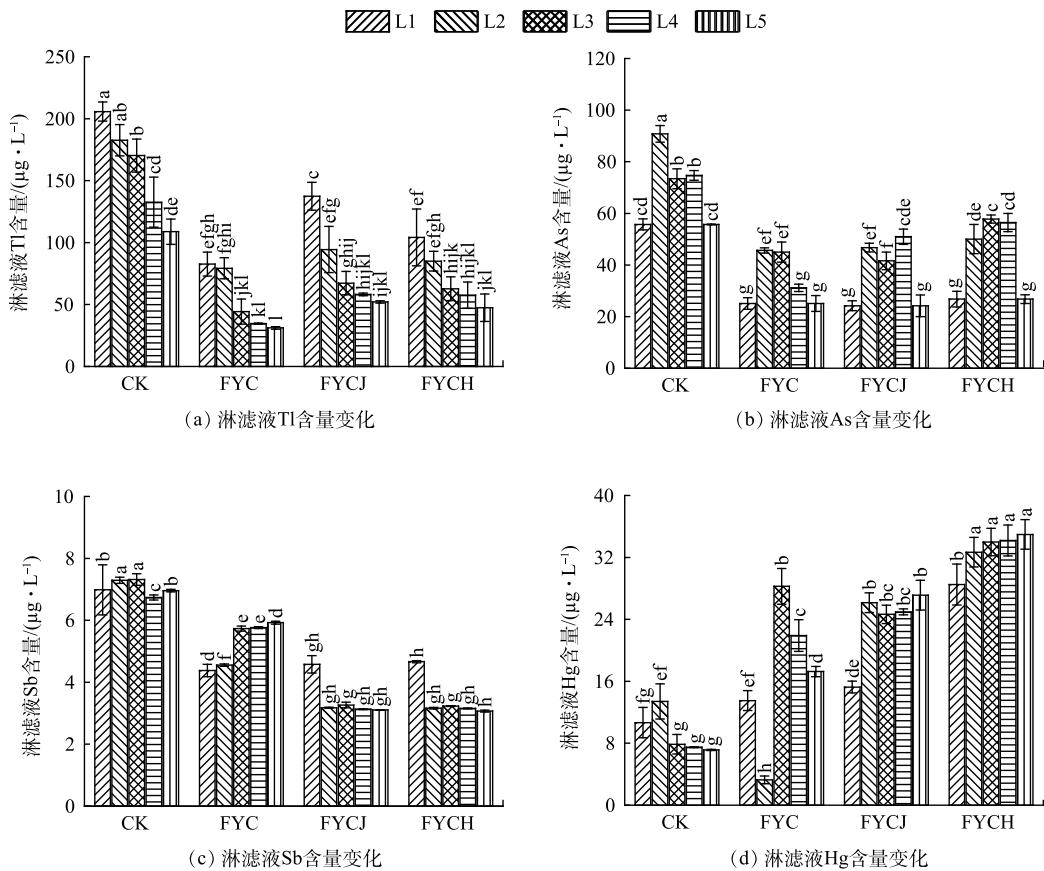


图3 混合改良与植物联合修复对淋滤液中重金属溶出量的影响

Fig. 3 Effect of the combined remediation with mixed conditioners and plants on the leaching of heavy metals from leachate

Chao1 指数和 ACE 指数, 改良剂耦合植物修复处理有利于改善汞铊矿废弃物中细菌群落丰富度和多样性指数, 其中黑麦草组 (FYCH) 的细菌群落丰富度最高, Chao1 和 ACE 指数分别为对照组的 18.45 倍和 18.74 倍。

由图 4 可知, 改良剂耦合植物修复对汞铊矿废弃物在门水平下细菌群落丰度的影响。变形菌门 (*Proteobacteria*) 和放线菌门 (*Actinobacteria*) 具有较高的相对丰度, 除赤泥组 (FC) 外, 不同处理组的变形菌门 (*Proteobacteria*) 相对丰度较对照组均有降低, 鱼粪组降幅最大 (达到 44.42%)。不同处理中拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 相对丰度明显增加, 其中黑麦草组增幅最大 (达到 14.30%)。此外, 与对照组相比, 处理后汞铊矿废弃物中绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、蓝细菌门 (*Cyanobacteria*) 的相对丰度均有不同程度的增加。

改良剂耦合植物修复后汞铊矿废弃物在属水平下的物种丰度聚类热图 (图 5) 显示了在不同处理条件下汞铊矿废弃物样品中丰富度前 50 的细菌属。结果表明, 对照组 (CK) 与巨菌草组 (FYCJ) 的细菌群落差异最为明显, CK 与赤泥组 (FY) 的细菌群落差异最小。对照组中相对丰度较高的菌属主要是硫氧化菌属 (*Sulfuriferula*), 其相对丰度为 66.19%, 各处理组中相对丰度较高的菌属则主要是单胞菌属 (*Micro-*

表4 淋滤实验后汞铊矿废弃物中细菌群落

丰富度和多样性指数差异

Table 4 Differences in bacterial community richness and diversity indices in mercury-thallium mine waste after leaching test

样品	OUT	ACE	Chao1	Shannon	覆盖率/%
CK	57	57	57	1.77	99.9
FY	551	632	617	3.74	99.7
FC	401	413	412	3.92	99.9
FYC	720	793	777	4.52	99.7
FYCJ	999	1 068	1 033	5.26	99.6
FYCH	1 020	1 068	1 052	5.48	99.7

monospora) 和马赛菌属 (*Massilia*)；而颗粒杆菌属 (*Granulicella*)、红球菌属 (*Rhodococcus*) 的相对丰度降低，厌氧绳菌属 (*Anaerolineaceae uncultured*)、铜绿假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 的相对丰度是增加的。

3 讨论

本研究结果表明，鱼粪和赤泥作为改良剂可有效地改善汞铊矿废弃物的理化性质，且有机和无机混合改良的改善效果最佳，改良剂的添加可在不需要土壤覆盖下为汞铊矿废弃物堆场后续的植被恢复过程中大量种植的各类植物的生长提供了有利的生境条件。由表1可知，由于鱼粪和赤泥偏中性和碱性，两者的添加有效的调节了汞铊矿废弃物的pH。改良剂的添加，可使环境介质(如土壤及矿山废弃物)pH升高的同时，环境介质中的重金属可形成重金属的氢氧化物、碳酸盐结合态沉淀或共沉淀等，从而降低环境介质中重金属的移动性和生物有效性^[33]而大大减轻重金属对后续植物和微生物的危害与周边的环境污染。鱼粪富含的OM、AP和AN(表1)与赤泥富含的铁铝混合添加于汞铊矿废弃物后可较好地实现汞铊矿废弃物物理化性质的改善并增加环境中养分物质的含量(表3)，同时有效地改善了汞铊矿废弃物淋滤液的理化性质，植生环境的改善也有利于后续种植的巨菌草或黑麦草，并可进一步改善汞铊矿废弃物及淋滤液理化性质(图1)。因此，鱼粪和赤泥混合改良并种植巨菌草后对汞铊矿废弃物和淋滤液的理化性质改善效果最佳。

实验结果表明，鱼粪和赤泥混合改良不仅具有显著改善汞铊矿废弃物生境的优良作用，还能显著抑制汞铊矿废弃物中Tl、Sb和As的淋溶释放，但一定程度上促进了Hg的淋溶。进一步的分析表明，鱼粪和赤泥混合改良所引入的大量OM、铁铝氧化物是Tl、Sb和As重要的吸附剂，相关组分通过吸附作用和化学沉淀作用控制着汞铊矿废弃物中Tl、Sb和As在环境中的迁移释放行为^[33-35]。同时，赤泥中富含的铁氧化物和铝氧化物由于颗粒细小，表面积和孔隙体积较大，由此增加的表面活性位点也可为环境中的重金属离子提供更多吸附位点，从而使得环境中的重金属更易与铁、铝氧化物结合而被固定^[36-39]。此外，具有强碱性物质的赤泥的添加还显著改善了汞铊矿废弃物的酸性(表3)，在pH接近中性时，赤泥中所含的碳酸盐可沉淀汞铊矿废弃物中的重金属离子，使得汞铊矿废弃物淋滤液中As、Sb和Tl的含量减少^[40]。鱼粪的添加可使大量OM进入汞铊矿废弃物中(表3)，其中所含的OM可与汞铊矿废弃物中的Tl、Sb和As发生络合或螯合作用，进而减少汞铊矿废弃物中Tl、Sb和As淋溶释放。有研究表明，动物粪便的添加可提供大量的羧基，羧基的质子化可结合废弃物中的Tl而降低其释放迁移能力^[41-43]。本研究中汞铊矿废弃物混合改良显著提升了废弃物的pH和OM含量，且淋滤液中Tl、Sb和As含量较CK组显著降低，由此使得赤泥与鱼粪混合改良后能够有效控制汞铊矿废弃物中Tl、As和Sb的淋溶释放。但需要注意的是，鱼粪和赤泥混合改良在一定程度上促进了汞铊矿废弃物中Hg的释放，其原因可能是加入赤泥使汞铊矿废弃物pH上升影响了鱼粪中的OM对Hg的固定，减少Hg的吸附量，从而促进Hg释放，这与许多研究结果一致^[44-46]。混合改良并种植黑麦草和巨菌草进一步的减少了Sb的淋溶释放，巨菌草组对Hg淋溶释放的控制较好，但未进一步的加强对Tl、As和Hg的固化作用。这可能是因为黑麦草和巨菌草吸收了部分有效态的Sb；As的植物吸收量较低可能是因为植物根际或植物体内的大量磷酸根与砷酸根存在竞争吸收，导致As吸收量降低；鱼粪在中和废弃物酸性时产生的磷酸根可能抑制Tl的迁移释放，导致植物对Tl吸收量较低；巨菌草因其较大的生物量，因此相对黑麦草可能吸收更多的Hg^[25,28,47-49]。综上所述，鱼粪和赤泥混合改良并种植巨菌草对汞铊矿废弃物和

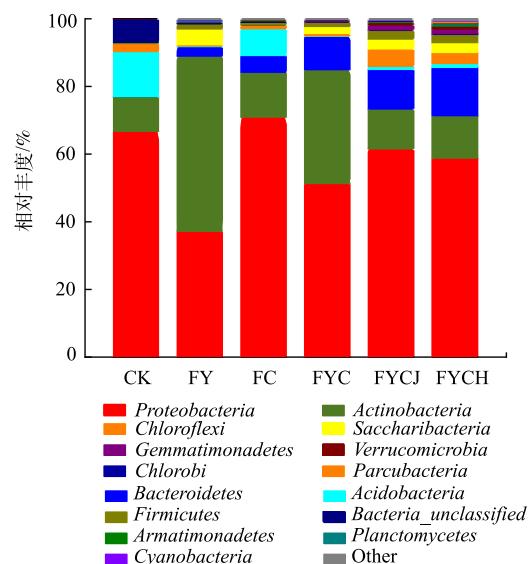


图4 淋滤实验后汞铊矿废弃物在门水平下细菌群落丰度

Fig. 4 Bacterial community abundance at phylum level in mercury-thallium ore waste after leaching test

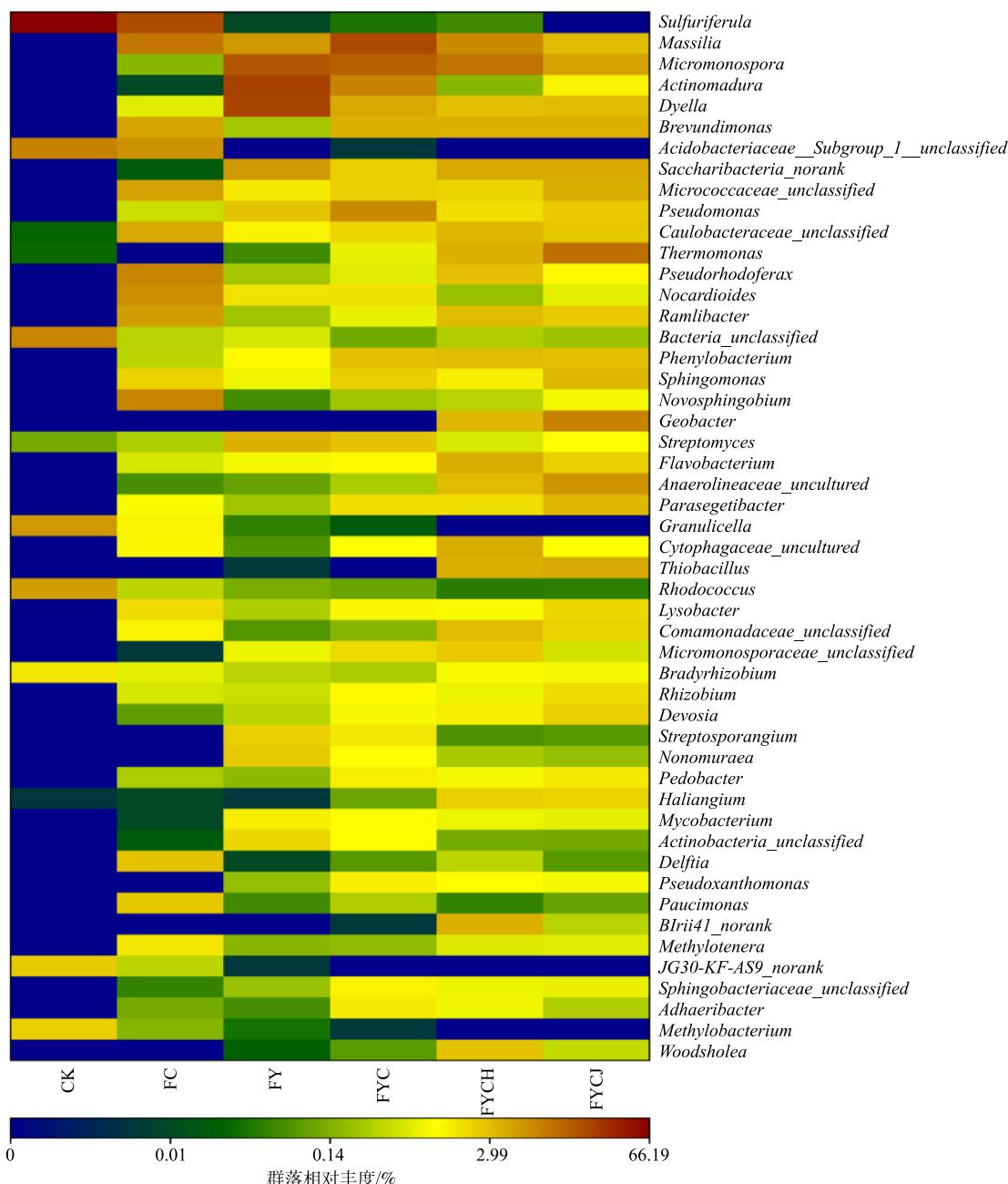


图 5 淋滤实验后汞铊矿废弃物在属水平下物种丰度聚类热图

Fig. 5 Heat map of species abundance clustering at the genus level for mercury-thallium mine waste after leaching test

淋滤液的理化性质、养分含量和淋滤液重金属含量的改善效果最佳，该方案可用于汞铊矿废弃物污染释放原位控制的原位控制与无土快速生态修复。

与对照相比，赤泥与鱼粪耦合植物修复后矿山废弃物中微生物群落丰富度和多样性增加。汞铊矿废弃物的强酸性会抑制微生物活动和细菌生长，破坏细菌细胞膜的通透性和稳定性，但使用富含微生物的鱼粪并加上具有优良中和作用的赤泥进行改良会显著的提高汞铊矿废弃物中的外源微生物的丰富度和多样性，并改善土壤理化性质情况，在短期内增加微生物多样性和生物量^[50-53]。由图 6 对淋滤实验后汞铊矿废弃物门水平下的细菌群落组成及其环境因子进行主成分分析可知，对照组中汞铊矿废弃物的细菌群落组成受 EC 和 Eh 的影响较大，各处理组受 pH、AN、AK、OM、AP 含量的影响较大。汞铊矿废弃物 pH、OM 和 AK 含量与

微生物群落呈极显著正相关 ($P<0.01$)。土壤微生物是维持土壤功能的关键,如C、N循环和OM分解代谢,微生物群落受土壤pH、养分和有机碳含量等因素的影响^[54-55]。OM是土壤中重要的基础指标,鱼粪中含有丰富的OM,使得汞铊矿废弃物肥力得到大幅度提高,这是FY组OM含量增加的重要原因;实验期内黑麦草和巨菌草凋落物较少,后期没有外加营养物质进行营养元素的补充,加上植物由于自身生长需要不断消耗汞铊矿废弃物肥力及其氧化还原作用^[56],导致实验后期汞铊矿废弃物的OM含量有所降低。OM的积累与分解状况对于氮素和磷素的供应会造成影响,因此碱解氮和速效磷的变化与OM具有一定的相似性。废弃物中营养状况的改善不仅促进其土壤化过程,而且加速其中微生物的活动,最终有利于矿山废弃物堆场生境的持续改善和生态植被的恢复。

赤泥与鱼粪联合植物修复后汞铊矿废弃物中蓝细菌门(*Cyanobacteria*)相对丰度有所增加,先前的研究发现接种蓝细菌可以增加土壤有机碳并防止土壤侵蚀以改善土壤质量,又由于蓝细菌具有固氮、促进植物生长激素和抗氧化酶的产生等显著特征,使其在盐渍化土壤修复和改良方面具有广阔的前景^[57]。另外,植物的生命活动通常会促进微生物群落通过创造有吸引力的环境(如根系分泌物、脱落的根系细胞和粘液)来促进发育^[58]。微生物参与生物降解、固氮和矿物风化,这可以促进植物的生长。植物和微生物相互作用有利于植物的建立和微生物群落物种的改善,从而显著改善强酸性矿山废弃物堆场的生境条件,保障生物生长与促进生态修复的作用,最终促进生态系统的恢复。

4 结论

1) 鱼粪和赤泥混合改良并种植巨菌草(FYCJ)对汞铊矿废弃物中重金属的淋溶释放控制和微生物群落重建综合效果最佳。

2) 鱼粪和赤泥混合改良并种植巨菌草(FYCJ)组显著改善了汞铊矿废弃物的理化性质和养分条件,使废弃物pH接近中性,废弃物中AN、AK、OM、AP养分含量显著上升。植生条件显著改善。同时,处理后的该组淋滤液中As、Tl和Sb含量较对照组显著下降($P<0.05$),从而降低了As、Tl和Sb淋溶释放进入生态环境的风险。该处理中淋滤液重金属含量和理化性质改善效果最佳,提升淋滤液pH至中性,降低淋滤液的Eh、EC和TOC含量,淋滤液Hg、As含量及pH均符合《污水综合排放标准》要求。

3) 梅铊矿废弃物中微生物群落的丰富度和多样性得到显著改善,其中蓝菌门(*Cyanobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)等功能菌群的相对丰度明显升高。pH、OM和速效钾含量与微生物群落丰富度和多样性呈极显著正相关关系($P<0.01$),因此矿山开采废弃物微生物群落重建可从改善pH、OM及AK含量3个方向开展。

参 考 文 献

- [1] 徐秀月.贵州滥木厂开采废渣对地下水的生物毒性效应研究[D].贵阳:贵州大学,2009.
- [2] WEN J C, WU Y G, LI X L, et al. Migration characteristics of heavy metals in the weathering process of exposed argillaceous sandstone in a mercury-thallium mining area[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208: 111751.
- [3] NING Z P, LIU E G, YAO D J, et al. Contamination, oral bioaccessibility and human health risk assessment of thallium and other metal(lloid)s in farmland soils around a historic Tl-Hg mining area[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 758: 143577.
- [4] XIAO T F, GUHA J, BOYLE D, et al. Environmental concerns related to high thallium levels in soils and thallium uptake by plants in southwest Guizhou, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 318(1/2/3): 223-244.

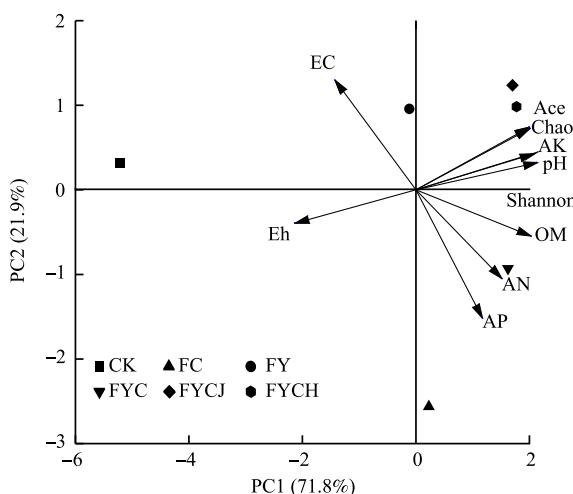


图 6 梅铊矿废弃物细菌群落特征与环境因子间的主成分分析

Fig. 6 Principal component analysis between bacterial community characteristics and environmental factors for mercury-thallium mine waste

- [5] XIAO T F, GUHA J, BOYLE D, et al. Naturally occurring thallium: A hidden geoenvironmental health hazard? [J] Environment International, 2004, 30(4): 501-507.
- [6] MA L, XIAO T F, NING Z P, et al. Pollution and health risk assessment of toxic metal(loid)s in soils under different land use in sulphide mineralized areas[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 724: 138176.
- [7] QIU G L, FENG X B, WANG S F, et al. Mercury contaminations from historic mining to water, soil and vegetation in Lanmchang, Guizhou, southwestern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2006, 368(1): 56-68.
- [8] 张宝贵, 张忠, 胡静, 等. 铊、铊中毒及铊在生态系中迁移径迹[J]. 地球与环境, 2009, 37(2): 131-135.
- [9] ZHAO Y, LI H, LI B, et al. Process design and validation of a new mixed eluent for leaching Cd, Cr, Pb, Cu, Ni, and Zn from heavy metal-polluted soil[J]. *Analytical Methods*, 2021, 13(10): 1269-1277.
- [10] 彭景权, 肖唐付, 何立斌, 等. 黔西南滥木厂铊矿化区河流沉积物重金属形态特征及其生态环境效应[J]. 环保科技, 2010, 16(3): 30-34.
- [11] SHAH V, DAVEREY A. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 18: 100774.
- [12] GOMES HI. Phytoremediation for bioenergy: Challenges and opportunities[J]. *Environmental Technology Reviews*, 2012, 1(1): 59-66.
- [13] ZHU G X, ZHAO J J, CHEN Q, et al. The comparative potential of four compositae plants for phytoremediation of karst lead/zinc mine tailings contaminated soil[J]. *BioResources*, 2022, 17(2): 2997-3013.
- [14] ZHONG H T, LAMBERS H, WONG W S, et al. Initiating pedogenesis of magnetite tailings using *Lupinus angustifolius*(narrow-leaf lupin) as an ecological engineer to promote native plant establishment[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 788: 147622.
- [15] LUO Y F, WU Y G, XING R R, et al. Assessment of chemical biochemical and microbiological properties in an artisanal Zn-smelting waste slag site revegetated with four native woody plant species[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 124: 17-26.
- [16] WANG L, JI B, HU Y H, et al. A review on in situ phytoremediation of mine tailings[J]. *Chemosphere*, 2017, 184: 594-600.
- [17] MUTHUSARAVANAN S, SIVARAJASEKAR N, VIVEK JS, et al. Phytoremediation of heavy metals: Mechanisms, methods and enhancements[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2018, 16(4): 1339-1359.
- [18] SUTAR H, MISHRA S C, SAHOO S, et al. Progress of red mud utilization: An overview[J]. *American Chemical Science Journal*, 2014, 4(3): 255-279.
- [19] 张雪, 王重庆, 曹亦俊. 赤泥固废土壤化修复研究进展[J]. 有色金属(冶炼部分), 2021(3): 84-92.
- [20] 乔卫龙, 张烨, 徐向阳, 等. 水产养殖废水及固体废弃物处理的研究进展[J]. 工业水处理, 2019, 39(10): 26-31.
- [21] WANG F, XU J, YIN H L, et al. Sustainable stabilization/solidification of the Pb, Zn, and Cd contaminated soil by red mud-derived binders[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 284: 117178.
- [22] LI J B, ZHAO Q, XUE B H, et al. Arsenic and nutrient absorption characteristics and antioxidant response in different leaves of two ryegrass(*Lolium perenne*) species under arsenic stress[J]. *PLOS ONE*, 2019, 14(11): 0225373.
- [23] 邓世杰, 马辰宇, 严岩, 等. 3种抗生素对黑麦草种子萌发的生态毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(3): 279-285.
- [24] YANG S L, ZHANG J, CHEN L H. Growth and physiological responses of *Pennisetum sp.* to cadmium stress under three different soils[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(12): 14867-14881.
- [25] 龚建华, 薛合伦, 康敏, 等. 巨菌草的重金属富集特性及对土壤的修复效果[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(2): 154-161.
- [26] XU L, XING X Y, LIANG J P, et al. In situ phytoremediation of copper and cadmium in a co-contaminated soil and its biological and physical effects[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(2): 993-1003.
- [27] WANG J X, SUN X C, XING Y, et al. Immobilization of mercury and arsenic in a mine tailing from a typical carlin-type gold mining site in southwestern part of China[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 240: 1264-1273.
- [28] 李鑫龙, 吴永贵, 文吉昌, 等. 黔西南汞矿废弃物中污染物释放的联合调控研究[J]. 地球与环境, 2021, 49(5): 539-550.
- [29] 孙航, 吴永贵, 罗有发, 等. 三叶草和黑麦草修复对炼锌废渣剖面养分及重金属分布特征的影响[J]. 环境科学学报, 2020, 40(3): 1063-1073.
- [30] RONG Q, ZHANG C, HUANG H, et al. Immobilization of As and Sb by combined applications Fe-Mn oxides with organic amendments and alleviation their uptake by brassica campestris L[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 288: 125088.
- [31] WANG S H, JIN H X, DENG Y, et al. Comprehensive utilization status of red mud in china: A critical review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 289: 125136.
- [32] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [33] 周睿, 魏建宏, 罗琳, 等. 赤泥添加对石灰性土壤中Pb、Cd形态分布及小麦根系的影响[J]. 环境工程学报, 2017, 11(4): 2560-2567.
- [34] HUA, Y, HEAL K V, FRIESL-HANL W. The use of red mud as an immobiliser for metal/metalloid-contaminated soil: A review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 325: 17-30.
- [35] 吴川, 黄柳, 薛生国, 等. 赤泥对砷污染的调控研究进展[J]. 环境化学, 2016, 35(1): 141-149.
- [36] 毛宽, 张国平, 王庆云, 等. 锡矿区冶炼废渣Sb和As的浸出特征—pH的影响[J]. 地球与环境, 2023, 51(1): 102-107.
- [37] HU A D, REN G P, CHE J G, et al. Phosphate recovery with granular acid-activated neutralized red mud: Fixed-bed column performance and breakthrough curve modelling[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 90(C): 78-86.
- [38] YANG D Z, DENG W W, TAN A, et al. Protonation stabilized high As/F mobility red mud for Pb/As polluted soil remediation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 404(PB): 124143.

- [39] YANG C Y, HAN Z W, LUO G F, et al. In situ remediation and stability assessment of solid waste: alkaline amendments to stabilize acid-generating high-concentration antimony (sb) tailings in southwest china[J]. International Journal of Environmental Research, 2023, 17(1): 5.
- [40] WANG C A, FAN G F, SUN R J, et al. Effects of coal blending on transformation of alkali and alkaline earth metals and iron during oxy fuel co-combustion of Zhundong coal and high-Si/Al coal[J]. Journal of the Energy Institute, 2021, 94(1): 96-106.
- [41] LI T Q, TAO Q, LIANG C F, et al. Complexation with dissolved organic matter and mobility control of heavy metals in the rhizosphere of hyperaccumulator Sedum alfredii[J]. Environmental Pollution, 2013, 182: 248-255.
- [42] YANG S, ZHAI W W, TANG X J, et al. The effect of manure application on arsenic mobilization and methylation in different paddy soils[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2022, 108(1): 158-166.
- [43] YAMAMURA S, SUDO T, WATANABE M, et al. Effect of extracellular electron shuttles on arsenic-mobilizing activities in soil microbial communities[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 342: 571-578.
- [44] LUO H W, CHENG Q Q, PAN X L. Photochemical behaviors of mercury (Hg) species in aquatic systems: A systematic review on reaction process, mechanism, and influencing factor[J]. Science of the Total Environment, 2020, 720: 137540.
- [45] YANG Y K, ZHANG C, SHI X J, et al. Effect of organic matter and pH on mercury release from soils[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(11): 1349-1354.
- [46] WANG P C, PENG H, LIU J L, et al. Effects of exogenous dissolved organic matter on the adsorption-desorption behaviors and bioavailabilities of Cd and Hg in a plant-soil system[J]. Science of the Total Environment, 2020, 728: 138252.
- [47] MEMON, S Q, MEMON N, SOLANGI A R, et al. Sawdust: A green and economical sorbent for thallium removal[J]. Chemical Engineering Journal, 2008, 140(1/2/3): 235-240.
- [48] 杨冰霜, 陈翰博, 杨兴, 等. 不同改良剂施用对污染土壤养分转化及砷和铅生物有效性的影响[J]. 水土保持学报, 2022, 36(1): 332-339.
- [49] WANG H N, LIU J C, YAO J N, et al. Transport of Tl(I) in water-saturated porous media: role of carbonate, phosphate and macromolecular organic matter[J]. Water Research, 2020, 186: 116325.
- [50] FENG Y Z, PAUL G, CAPORASO J G, et al. pH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 74: 193-200.
- [51] WU Q H, LI S, HUANG Z X, et al. Variations in soil bacterial communities and putative functions in a sugarcane soil following five years of chemical fertilization[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2021, 67(6): 727-738.
- [52] YANG J X, GUO Q J, YANG, J, et al. Red mud (RM)-Induced enhancement of iron plaque formation reduces arsenic and metal accumulation in two wetland plant species[J]. International Journal of Phytoremediation, 2016, 18(3): 269-277.
- [53] FEIGL V, UJACZKI É, VASZITA E, et al. Influence of red mud on soil microbial communities: Application and comprehensive evaluation of the Biolog EcoPlate approach as a tool in soil microbiological studies[J]. Science of the Total Environment, 2017, 595: 903-911.
- [54] 丁红利, 吴先勤, 张磊. 粕秆覆盖下土壤养分与微生物群落关系研究[J]. 水土保持学报, 2016, 30(2): 294-300.
- [55] 邱静, 吴永贵, 罗有发, 等. 沼渣对铅锌冶炼废渣生物化学性质及植物生长的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(3): 340-347.
- [56] REKHA K, BASKAR B, SRINATH S, et al. Plant-growth-promoting rhizobacteria Bacillus subtilis RR4 isolated from rice rhizosphere induces malic acid biosynthesis in rice roots[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2018, 64(1): 20-27.
- [57] LI H, ZHAO Q Y, HUANG H, et al. Current states and challenges of salt-affected soil remediation by cyanobacteria[J]. Science of the Total Environment, 2019, 669: 258-272.
- [58] LI Y, WATANABE T, MURASE J, et al. Growth of hydrogenotrophic and acetoclastic methanogens on substrate from rice plant callus cells in anaerobic soil: An estimation to the role of slough-off root cap cells to their growth[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2013, 59(4): 548-558.

(责任编辑: 曲娜)

Effect of combined remediation with the conditioners and plants on heavy metal leaching release behavior and microbial community structure of mercury-thallium mine wastes

LUO Jian¹, WU Yonggui^{1,2,3,*}, LUO Youfa^{2,3}, ZHU Xinwei¹, PENG Xiaoyu¹, ZHENG Yu¹

1. School of Resource and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Field Science Observation and Research Station of Ministry of Education of Guizhou Karst Environment Ecosystem, Guiyang 550025, China; 3. Engineering Research Center for Ecological Restoration Technology for Inferior Environments of Guizhou Province, Guiyang 550025, China

*Corresponding author, E-mail: ygwu72@126.com

Abstract To investigate the in-situ control effects of typical heavy metal leaching release from mercury-thallium mine wastes by combining the conditioners of the modified red mud (Iron and Aluminum-rich industrial waste) and fish manure (Nitrogen and Phosphorus-rich organic matter) with two typical pioneer fast-growing plants (giant fungus grass and ryegrass), the 150d-leaching experiments were conducted to study the effects of single conditioner, mixed conditioner and modified conditioner-plant cultivation on the physicochemical characteristics, heavy metal leaching release and microbial community structure of mercury thallium mine waste and leachate. The results showed that the addition of fish manure and red mud combined with plant cultivation significantly inhibited the release of As, Tl and Sb from the mercury thallium mine waste, and significantly promoted Hg leaching from the waste ($P<0.05$). With the extension of the leaching time, the mass concentrations of As, Tl and Sb in the leachate of 5 batch experiments decreased to 21.28%~56.56%, 33.21%~63.15% and 32.23%~56.62% of the control group, respectively. The nutrients of the treated wastes increased. Compared with the control group, the pH of the treated wastes increased from 3.87 to 5.56~6.78, the content of fast-acting potassium was 5.60~8.75 times higher than that of the control group, and the organic matter increased from $0.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the control group to $2.50\sim3.14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. At the same time, the conditioner-plant combined remediation improved the microbial community richness and diversity of mercury thallium mine waste, with the highest bacterial community richness in the ryegrass group. Considering the control of leaching and release of heavy metals and the improvement of microbial community structure, the best remediation effect on mercury thallium ore wastes occurred when the combined conditioners of fish manure and red mud was accompanied with planting giant bacteria grass. The result can provide a technical support for in-situ control of release and soilless rapid ecological restoration.

Keywords mercury-thallium mine waste; fish manure; red mud; *Lolium perenne L.*; *Pennisetum giganteum*; heavy metal leaching; microbial community