

# 中条山十八河铜尾矿库微生物群落组成与环境适应性

刘晋仙<sup>1</sup> 李鑫<sup>2</sup> 景炬辉<sup>3</sup> 贾彤<sup>1</sup> 刘兴港<sup>4</sup> 王小云<sup>1</sup> 柴宝峰<sup>1\*</sup>

(1. 山西大学黄土高原研究所,太原 030006; 2. 山西财经大学环境经济学院,太原 030006; 3. 山西大学生物技术研究所,太原 030006; 4. 中条山有色金属集团有限公司安全环保部,垣曲 043700)

**摘要:** 为了揭示尾矿区重金属污染与微生物群落组成和多样性的关系,本文选择中条山十八河铜尾矿库的水体、底泥以及矿砂为研究对象,比较分析不同生境中微生物群落组成的差异,及其与环境因子的相关性。结果表明,矿砂中微生物群落的丰富度和多样性最大,而水体中微生物群落的丰富度和多样性最小;在门和目水平上均表现出水体与底泥中微生物群落组成相似,而与矿砂的差异较大;8个优势科中只有鞘脂单胞菌科(Sphingomonadaceae)细菌的相对丰度与重金属(Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量存在显著的正相关关系,而其余7个优势科:柄杆菌科(Caulobacteraceae)、甲基杆菌科(Methylobacteriaceae)、类诺卡氏菌科(Nocardiodaceae)、微杆菌科(Microbacteriaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、链球菌科(Streptococcaceae)和类芽孢杆菌科(Paenibacillaceae)细菌的相对丰度与重金属含量存在显著的负相关关系,表明多数细菌都会受到重金属的抑制,而鞘脂单胞菌科细菌对重金属有较高的耐受性,因此具有修复重金属污染的潜力。

**关键词:** 微生物群落; 尾矿水; 底泥; 矿砂; 重金属

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)01-0318-09 DOI: 10.13227/j.hjcx.201606201

## Composition and Environmental Adaptation of Microbial Community in Shibahe Copper Tailing in Zhongtiao Mountain in Shanxi

LIU Jin-xian<sup>1</sup>, LI Cui<sup>2</sup>, JING Ju-hui<sup>3</sup>, JIA Tong<sup>1</sup>, LIU Xing-gang<sup>4</sup>, WANG Xiao-yun<sup>1</sup>, CHAI Bao-feng<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Faculty of Environment Economics, Shanxi University of Finance and Economic, Taiyuan 030006, China; 3. Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 4. Department of Environmental Protection and Work Safety, Zhongtiaoshan Non-ferrous Metal Group Co., Ltd., Yuanqu 043700, China)

**Abstract:** In order to reveal the effects of heavy metal pollution on microbial community compositions and microbial community diversity in tailing area, we conducted an experiment by examining the microbial community in tailing water, sediments and tailing sand in Shibahe copper tailing in Zhongtiao Mountain. Differences in microbial community compositions in different habitats and their relationships with environmental parameters were analyzed. The results showed that the richness and diversity of microbial community were the largest in tailing sand, but the lowest in tailing water. Microbial community compositions were similar between tailing water and sediments. There were significant positive correlations between the relative abundance of the dominant family (Sphingomonadaceae) and contents of heavy metals (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn), while there were significant negative correlations between relative abundances of Caulobacteraceae, Methylobacteriaceae, Nocardiodaceae, Microbacteriaceae, Micrococcaceae, Streptococcaceae and Paenibacillaceae and heavy metal contents. It showed that most of the bacteria were inhibited by heavy metals, but Sphingomonadaceae had a higher tolerance to heavy metals which may indicate that it has a potential for remediation of heavy metal contamination.

**Key words:** microbial community; tailing water; sediment; tailing sand; heavy metal

微生物群落组成、结构以及多样性会沿着生态梯度发生变化<sup>[1]</sup>,如 pH 梯度<sup>[2]</sup>、重金属含量<sup>[1,3]</sup>、盐度<sup>[4]</sup>以及 C/N<sup>[5]</sup>。某些特定微生物类群的改变则可以预测环境条件的变化程度<sup>[6]</sup>和发展趋势。微生物群落与生境间的相互关系可以通过特定的微生物类群来指示<sup>[6]</sup>,从而反映出微生物群落对环境变化的响应机制<sup>[7]</sup>。有研究表明一些大型无脊椎动物和水体固着生物的群落变化可以指示其生境的变化<sup>[8]</sup>。而微生物类群具有繁殖迅速、基因型多样、对生境的改变反应敏感等特点,因此可以作为指示种来反映环

境的变化。有研究表明在酸性矿山废水(AMD)中微生物群落的结构沿生态梯度会发生变化<sup>[9-11]</sup>,但对碱性尾矿(AlkMD)生境中微生物对环境变化的响应策略和应答机制的研究还非常有限<sup>[1]</sup>。

中条山铜矿是北方最大的铜生产基地,年产矿量

收稿日期: 2016-06-29; 修订日期: 2016-08-06

基金项目: 山西省科技攻关项目(20150313001-3); 山西省回国留学人员科研项目(2012-059); 山西省青年科技研究基金项目(201601D021101)

作者简介: 刘晋仙(1984~),女,博士,主要研究方向微生物生态学, E-mail: ailjx1314@126.com

\* 通信作者, E-mail: bfchai@sxu.edu.cn

400 万 t 以上,为全国最大的非煤地下开采矿山。该区域矿产资源以铜为主,伴生有钴、钼、金、银等多种金属。在矿山采选、矿石冶炼过程中有大量的含有多种重金属的尾矿废水和废渣产生,由于浮选剂硫化钠、碱石灰以及其它有机试剂在浮选过程中的使用,使得尾矿中有机化合物、硫化物含量高且呈现碱性。由于尾矿的特殊性,大量堆积对生态环境造成了严重的污染和破坏,因此对该区域的生态恢复尤为重要,研究表明微生物能够改变重金属的形态和迁移率<sup>[12]</sup>,从而为植被恢复奠定了基础,而了解微生物群落的组成和结构是矿区生态恢复的第一步。

本文选择尾矿废水、底泥以及矿砂为研究对象,探讨北方铜尾矿库重金属污染环境:①微生物群落的结构特征;②微生物群落的结构和功能与环境因子的关系;③微生物群落结构特征和特定类群对于铜尾矿库重金属和有机物污染的指示作用。通过阐明尾矿极端环境下与特征细菌类群的内在关系,以期为重金属污染程度与细菌群落结构的相互关系研究提供新的证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况与样品采集

十八河尾矿库(35°15′~35°17′N,111°38′~111°39′E)位于山西省运城市垣曲县境内,面积 200 万 m<sup>2</sup>,坝高 85 m,最大库容 1.25 亿 m<sup>3</sup>,目前库容 0.8 亿 m<sup>3</sup>,采样区水深约 4 m。该区域属大陆性季风气候,四季分明,春季干旱多风,夏季雨量集中,冬季少雪干燥。年均降雨量为 780 mm,年均气温 14℃,无霜期大于 200 d。本实验所用样品包括尾矿库中心区域 0~10 cm 处的底泥(SD1),10~20 cm 处的底泥(SD2),距离表层底泥 0.5 m 处的上覆水(TW)以及堆积于尾矿坝坡面 10 年 0~10 cm 处的尾矿砂(TS),每个样品 3 个重复,所有样品均采集于 2015 年 7 月。利用自动取样器收集水样 2.5 L,就地通过聚碳酸酯膜(0.22 μm,50 mm diameter, Millipore, Billerica, MA, USA)过滤 2 L,后将滤膜置于离心管中放入便携式液氮罐用于微生物 DNA 的提取,剩余的 0.5 L 带回实验室用于理化性质分析。利用底泥采样器收集底泥,同时收集矿砂,后均置于密封袋中放入 4℃的冰盒中,快速运回实验室后置于 -20℃冰箱,进行相关的实验分析。

### 1.2 样品理化性质分析

水体 pH、硝氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)和氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)含

量用多参数水质分析仪(Aquaread AP-2000,UK)原位测定,总碳(TC)含量用 TOC 分析仪(Shimadzu, TOC-V<sub>CPH</sub>, Japan)测定。底泥和矿砂的 pH 用酸度计( $M_{\text{固体}}:V_{\text{水}}=1\text{ g}:2.5\text{ mL}$ )测定,总氮(TN)、总碳(TC)和总硫(TS)含量用元素分析仪(Elementar Vario MACRO, Germany)测定;硝氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)及水体总氮(TN)和亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)含量用全自动间断化学分析仪(CleverChem 380, Germany)测定。所有样品重金属元素(As、Cd、Cr、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量用 ICP-AES(iCAP 6000, Thermo Fisher, UK)测定。

### 1.3 样品 DNA 提取及高通量测序

采样的 3 个重复样品均匀混合为一个样品后用于 DNA 提取。水体滤膜 DNA 提取:先用 1 × PBS 缓冲液洗脱滤膜上的微生物,然后利用水体快速提取试剂盒(MP Biomedicals, Solon, OH, USA)提取水体样本的 DNA, ddH<sub>2</sub>O 溶解, -20℃保存。底泥和矿砂 DNA 提取:利用土壤试剂盒(Felix biotech, USA)按照试剂盒操作步骤提取样本的 DNA。扩增细菌的 16S rRNA V3 区片段,采用通用引物:正向 338F(5′-ACTCCT ACG GG AG G C A GCA-3′),反向 534R(5′-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3′)。PCR 产物胶回收后进行定量,通过 3′→5′核酸外切酶和聚合酶的共同作用,修复带有突出末端的 DNA 片段,在 3′端引入单碱基“A-”,与 3′端含有单碱基“T-”的接头连接,利用 PCR 选择性富集连有接头的 DNA 片段,同时扩增 DNA 文库,定量并质检后,逐步稀释后用 Illumina MiSeq 测序仪上机测序,并进行生物信息分析。本研究的测序和生物信息服务在上海派森诺生物科技有限公司完成。

### 1.4 数据分析

不同采样点理化性质的均值比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析,并用最小显著差数法(LSD)进行显著性检验;不同优势科细菌的相对丰度与理化性质间进行 Pearson 相关性分析。显著性水平差异设定为  $P < 0.05$ ,统计分析采用 SPSS 20.0 软件完成,作图用 Excel 2013 软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品理化性质

所有样品 pH > 8,均表现为碱性且在 4 个样点间差异显著,其中 TW 的 pH 值最高而 TS 的 pH 值

最低; 硝氮 ( $\text{NO}_3^-$ -N)、氨氮 ( $\text{NH}_4^+$ -N) 和亚硝态氮 ( $\text{NO}_2^-$ -N) 含量在 TW 中含量最高而总氮 (TN) 含量在 4 个采样点间没有显著差异; 总碳 (TC) 含量在 SD1 中最高在 TW 中最低; C/N 在 TW 中最低,

而在其余 3 个采样点间差异不显著; 总硫 (TS) 含量 SD1 中最高, TS 中最低; 7 种重金属含量除 Cd 以外都表现出相同的趋势, 即 TS 中含量最高, 其次是 SD1, TW 中含量最低 (表 1)。

表 1 4 个采样点的理化性质<sup>1)</sup> / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

Table 1 Physical and chemical properties of four sampling points/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

项目	采样点			
	TW	SD1	SD2	TS
pH	9.21 ± 0.009a	8.60 ± 0.023b	8.89 ± 0.038a	8.13 ± 0.019c
$\text{NO}_3^-$ -N	63.64 ± 0.053a	0.73 ± 0.037b	0.49 ± 0.017c	0.25 ± 0.022d
$\text{NH}_4^+$ -N	7.52 ± 0.041a	0.31 ± 0.015b	0.29 ± 0.009b	0.21 ± 0.121b
$\text{NO}_2^-$ -N	10.32 ± 0.062a	0.28 ± 0.011b	0.30 ± 0.011b	0.11 ± 0.021c
TN	88.54 ± 2.289	89.34 ± 4.985	65.11 ± 9.875	98.43 ± 12.336
TC	31.07 ± 1.701c	6 080.86 ± 17.137a	5 313.83 ± 79.083b	5 156.22 ± 77.152b
TS	nd	876.83 ± 3.568a	683.63 ± 17.223b	426.85 ± 60.551c
C/N	0.37 ± 0.031b	68.46 ± 3.514a	85.31 ± 12.289a	54.16 ± 7.081a
As	6.59 ± 0.695b	16.02 ± 2.701a	10.47 ± 2.360ab	16.95 ± 2.779a
Cd	0.03 ± 0.004b	0.00 ± 0.000b	1.55 ± 0.269ab	2.96 ± 1.414a
Cr	0.006 ± 0.007b	71.17 ± 4.472a	53.05 ± 11.772a	76.35 ± 6.619a
Cu	0.02 ± 0.005d	174.03 ± 10.017b	83.97 ± 22.316c	418.21 ± 33.328a
Mn	0.003 ± 0.001c	313.50 ± 4.377b	256.75 ± 55.468b	505.93 ± 17.711a
Ni	0.02 ± 0.004c	38.66 ± 2.865ab	29.74 ± 9.838b	51.48 ± 5.781a
Pb	0.33 ± 0.057c	172.64 ± 32.009b	106.29 ± 23.388b	1 277.11 ± 67.698a
Zn	0.02 ± 0.002d	36.69 ± 5.550b	16.02 ± 6.473c	77.98 ± 5.936a

1) pH 和 C/N 无单位; 数值为平均值 ± 标准偏差, 不同字母代表不同样品间在  $P < 0.05$  水平上差异显著; nd: 没有检测; C/N: TC 与 TN 的比值, 下同

## 2.2 微生物群落组成

经测序获得各采样点细菌的优质序列数, OTU 个数以及丰富度和多样性指数 (表 2)。TW 中 OTU 个数, ACE 和 Chao1 丰富度指数以及 Shannon 多样

性指数都低于其余 3 个采样点的数值, 而 TS 中的各指数均最大, SD1 中 OTU 个数, ACE 和 Chao1 丰富度指数以及 Shannon 多样性指数高于 SD2, 表明在 4 个采样点中 TW 中细菌群落结构相对单一。

表 2 4 个采样点中细菌克隆文库的多样性指数<sup>1)</sup>

Table 2 Phylotype richness and diversity estimators of the bacterial communities in four sampling points

采样点	优质序列	OTUs	ACE	Chao1	Shannon 指数	Simpson 指数
TW	39 219	258	326.38	300.37	3.40	0.80
SD1	32 885	765	1 577.29	1 499.76	4.04	0.82
SD2	40 393	453	1 114.31	983.00	3.45	0.78
TS	31 269	852	1 958.18	1 806.53	4.06	0.82

1) 优质序列表示经过过滤和去除嵌合体的序列; OTUs 表示序列相似性达到 97% 归为一类 OTU

### 2.2.1 不同采样点的优势细菌门组成

在门水平上 TW 中的优势门 (相对丰度  $\geq 1\%$ , 下同) 分别是: 变形菌门 (Proteobacteria) (66.19%)、放线菌门 (Actinobacteria) (22.29%) 和厚壁菌门 (Firmicutes) (9.78%); SD1 中的优势门分别是: 变形菌门 (64.38%)、放线菌门 (21.36%)、厚壁菌门 (12.69%) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) (1.05%); SD2 中的优势门分别是: 变形菌门 (67.91%)、放线菌门 (20.77%)、厚壁菌门 (10.66%); TS 中的优势门分别是: 变形菌

门 (39.70%)、放线菌门 (28.91%)、酸杆菌门 (Acidobacteria) (10.21%)、绿弯菌门 (Chloroflexi) (9.14%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) (3.65%)、厚壁菌门 (1.82%)、拟杆菌门 (1.53%) 和 TM7 (1.10%) (图 1)。

### 2.2.2 不同采样点的优势细菌目组成

变形菌门中的 4 个优势纲:  $\alpha$ -变形菌纲 ( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -Proteobacteria)、 $\gamma$ -变形菌纲 ( $\gamma$ -Proteobacteria) 和  $\delta$ -变形菌纲 ( $\delta$ -Proteobacteria) 在 4 个采样点中均存在但是它们所

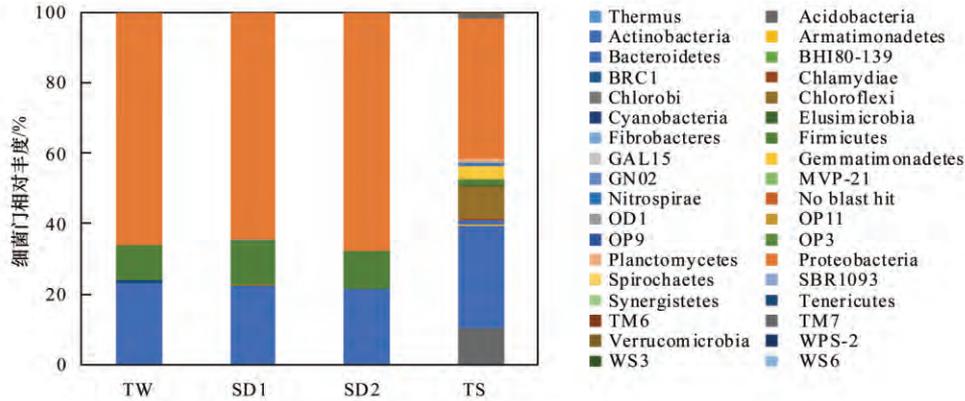


图 1 各采样点细菌群落结构在门水平上的分布

Fig. 1 Bacterial community structure of each sampling point at the phyla level

占的比例不同.  $\alpha$ -变形菌纲中的柄杆菌目 (Caulobacterales) (12.8% ~ 51.9%)、根瘤菌目 (Rhizobiales) (6.3% ~ 11.8%) 和鞘脂单胞菌目 (Sphingomonadales) (2.2% ~ 5.3%) 在 4 个采样点中都占优势, 而红螺菌目 (Rhodospirillales) (0.3% ~ 2.2%) 在 TS 中也占优势.  $\beta$ -变形菌纲中在 TW、SD1 和 SD2 中只有伯克氏菌目 (Burkholderiales) (0.4% ~ 1.8%) 占优势, 而在 TS 中 MND1 (2.3%) 也占优势.  $\gamma$ -变形菌纲中只有 TS 中的黄色单胞菌目 (Xanthomonadales) (2.7%) 占优势, 其余菌目所占比例均小于 1%.  $\delta$ -变形菌纲中只有 TS 中的黏球菌目 (Myxococcales) (1.7%) 占优势, 其余菌目所占比例均小于 1% (图 2). 在变形菌

门中 4 个采样点均表现出  $\alpha$ -变形菌纲细菌丰度最大, 其次是  $\beta$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲而  $\delta$ -变形菌纲细菌丰度最小.

放线菌门中的放线菌目 (Actinomycetales) (13.2% ~ 22.2%) 在 4 个采样点中都占优势, 而 TS 中还有酸微菌目 (Acidimicrobiales) (5.1%)、土壤红杆菌目 (Solirubrobacterales) (4.9%)、Gaiellales (2.9%) 和 0319-7L14 (1.5%) 4 个目占优势. 厚壁菌门中在 TW、SD1 和 SD2 这 3 个采样点中乳酸杆菌目 (Lactobacillales) (1.0% ~ 5.6%) 和芽孢杆菌目 (Bacillales) (1.0% ~ 5.2%) 占优势, 同时梭菌目 (Clostridiales) (1.1%) 在 SD1 中也占优势, 而在 TS 中所有菌目相对丰度均小于 1% (图 3).

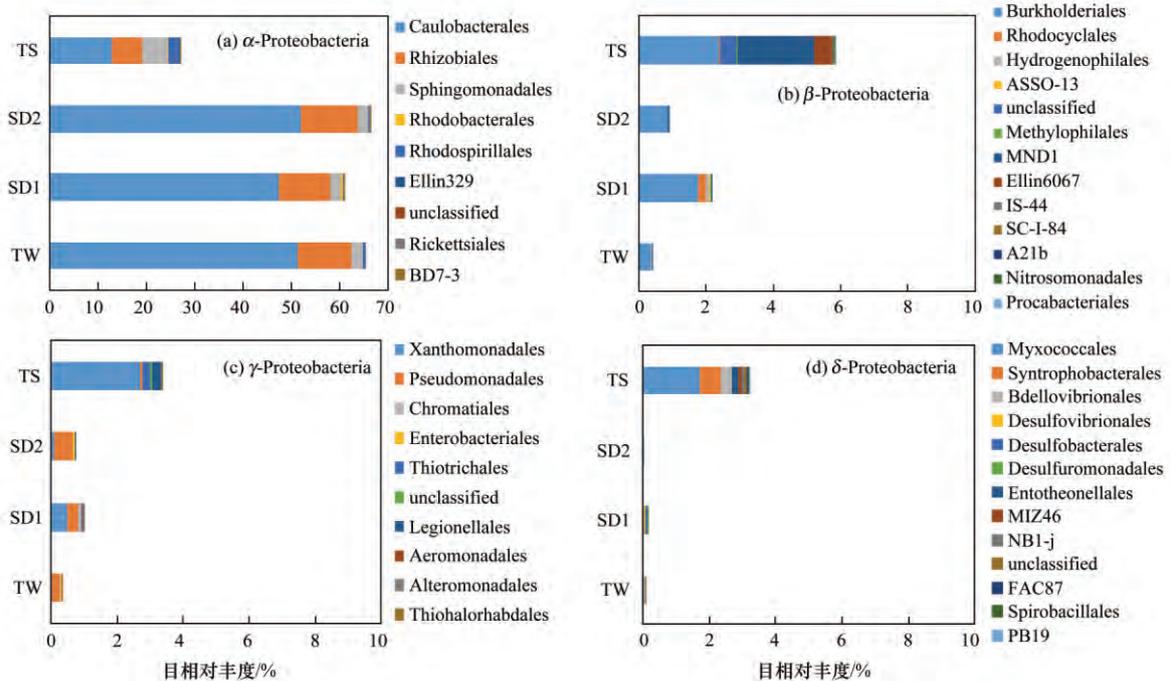


图 2 变形菌门细菌 4 个优势纲的群落组成

Fig. 2 Community composition of the four dominant classes of Proteobacteria

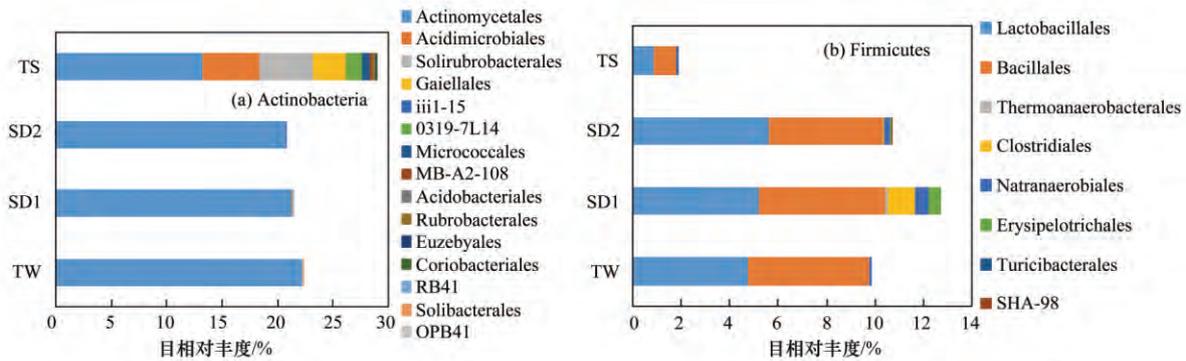


图3 放线菌门和厚壁菌门细菌群落组成

Fig. 3 Community composition of Actinobacteria and Firmicutes

### 2.3 细菌优势科与环境因子的相关性

变形菌门中的柄杆菌科 (Caulobacteraceae) 细菌的相对丰度与 pH 和 TS 的含量存在显著的正相关关系,与 TN 含量以及重金属 (Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 含量存在显著的负相关关系;甲基杆菌科 (Methylobacteriaceae) 细菌的相对丰度除与 TN 含量没有显著的相关性外,与其它环境因子的相关性,与柄杆菌科细菌相同;鞘脂单胞菌科 (Sphingomonadaceae) 细菌的相对丰度与环境因子的相关性表现出与甲基杆菌科相反的趋势,与 pH 和 TS 含量存在显著的负相关关系,与重金属 (Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 含量存在显著的正相关关系.放线菌门中的类诺卡氏菌科 (Nocardioideaceae) 和微杆菌科 (Microbacteriaceae) 细菌的相对丰度均表现出与 pH 和 TS 含量存在显著的正相关关系,与重金属 (Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 含量存在显著的负相关关系,同时微杆菌科细菌的相对丰度与 Cr 含量也存在显著的负相关关系;微球菌科 (Micrococcaceae) 细菌的相对丰度与 pH、 $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NH}_4^+$ -N 和 TS 含量存在显著的正相关关系,与 8 种重金属含量均存在显著的负相关关系.厚壁菌门中的链球菌科 (Streptococcaceae) 和类芽孢杆菌科 (Paenibacillaceae) 细菌的相对丰度与环境因子表现出一致的相关性,与 pH 和 TS 含量存在显著的正相关关系,与重金属 (Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 含量存在显著的负相关关系,而与其它环境因子之间没有显著的相关性 (表 3).

### 3 讨论

微生物的群落结构与其生境密切相关,虽然 TS 中重金属含量最高 (表 1),但是微生物群落的丰富度和多样性也最高 (表 2),这与 Bier 等<sup>[1]</sup>的研究结

果存在差异,并不是中等污染水平下微生物群落的多样性最高,这可能是由于研究区域和样品的不同造成的;本研究中 TS 经过 10 a 恢复后 pH 降低 (表 1),而重金属元素经过迁移和转化后生物毒性会降低<sup>[13]</sup>,因此相对于其它采样点 TS 中更适合微生物生长;另一方面 TS 上生长有少量植被<sup>[14]</sup>,也是造成微生物群落丰富度和多样性增高的重要原因之一. SD1 中微生物群落的丰富度和多样性高于 SD2,这可能是由于 SD1 比 SD2 含有较高的  $\text{NO}_3^-$ -N 和 TC,虽然 SD1 中 Cu 和 Zn 元素含量高于 SD2 (表 1),但是对 Cu 有耐受和积累作用的  $\beta$ -变形菌和  $\gamma$ -变形菌,对 Zn 有耐受作用的芽孢杆菌 (Bacillales)<sup>[15]</sup>在 SD1 中丰度也较高 (图 2 和图 3).在 TW 中虽然细菌总量较多,但是丰富度和多样性却最低 (表 2),说明只有少数几个类群能够适应高 pH、高盐寡营养的尾矿水生境;另外尾矿水在循环利用的过程中容易扰动,从而会影响微生物群落的组成和结构.

微生物的群落结构体现其生态功能<sup>[16]</sup>.变形菌门、放线菌门和厚壁菌门在 4 个采样点均属于优势菌门,这 3 类细菌在重金属污染的尾矿区普遍占优势<sup>[1,17,18]</sup>,说明这些细菌可以通过多种方式来减轻重金属的毒害<sup>[19]</sup>而保持群落的多样性.酸杆菌门只在 TS 中是优势门,相对丰度达 10.21% (图 1).研究发现酸杆菌门是土壤菌群的主要类群<sup>[20]</sup>,该门中大多数纲细菌生活在酸性土壤中<sup>[21]</sup>,但是本研究中在碱性 TS 中也是优势门,说明酸杆菌门中不同类群对 pH 的适应性不同<sup>[20]</sup>,有些偏好酸性环境而有些偏好碱性环境<sup>[1]</sup>.也有研究表明酸杆菌门细菌的丰度主要受生境中可溶性有机碳<sup>[22]</sup>和无机氮<sup>[23]</sup>含量的影响而不是 pH.在本研究中 TS 上的植被根系<sup>[14]</sup>和凋落物也会影响其丰度.另一方面,酸

杆菌门中的细菌具有耐重金属、耐贫瘠<sup>[24]</sup>, 以及能够把复杂的有机碳<sup>[25]</sup> 氧化为乙酸的特性, 可以使其生长的微环境呈现酸性, 因此可以在碱性的 TS 上存活. 绿弯菌门细菌可以通过光合异养、光能自养、无机化能自养<sup>[26]</sup> 等多种途径获得能量, 因此能在

TS 这种寡营养高重金属环境中迅速繁殖成为优势菌群 (图 1). 芽单胞菌门在 TS 中也是优势菌门 (图 1), 该菌群一般在演替初期占优势, 该门中有些纲具有光合固氮<sup>[27]</sup> 和分解有机碳<sup>[28]</sup> 的能力, 因此也能在尾矿寡营养生境中繁殖为优势菌群.

表 3 环境因子与优势科细菌的相关性<sup>1)</sup> /mg·kg<sup>-1</sup>

Table 3 Correlation between environmental parameters and dominant families of bacteria/mg·kg<sup>-1</sup>

优势门 (相对丰度)	优势科 (相对丰度)	pH	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	TN	TC	TS	C/N
Proteobacteria (39.7% ~ 67.9%)	Caulobacteraceae (12.8% ~ 51.9%)	0.882 **	0.384	0.391	0.231	-0.594 *	-0.303	0.818 **	-0.062
	Methylobacteriaceae (2.0% ~ 9.8%)	0.881 **	0.451	0.421	0.324	-0.522	-0.330	0.828 **	-0.120
	Sphingomonadaceae (2.2% ~ 5.2%)	-0.818 **	-0.312	-0.320	-0.301	0.575	0.215	-0.889 **	0.004
Actinobacteria (20.8% ~ 28.9%)	Nocardioidaceae (3.4% ~ 10.8%)	0.808 **	0.403	0.409	0.411	-0.433	-0.298	0.920 **	-0.147
	Microbacteriaceae (1.4% ~ 6.7%)	0.897 **	0.481	0.488	0.396	-0.544	-0.392	0.871 **	-0.179
	Micrococcaceae (1.7% ~ 4.1%)	0.885 **	0.591 *	0.592 *	0.483	-0.539	-0.513	0.849 **	-0.303
Firmicutes (1.8% ~ 12.7%)	Streptococcaceae (1.0% ~ 5.4%)	0.788 **	0.229	0.235	0.231	-0.553	-0.141	0.831 **	0.079
	Paenibacillaceae (1.0% ~ 4.6%)	0.776 **	0.353	0.359	0.349	-0.405	-0.241	0.921 **	-0.099
优势门 (相对丰度)	优势科 (相对丰度)	As	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Proteobacteria (39.7% ~ 67.9%)	Caulobacteraceae (12.8% ~ 51.9%)	-0.553	-0.628 *	-0.539	-0.939 **	-0.780 **	-0.654 *	-0.992 **	-0.911 **
	Methylobacteriaceae (2.0% ~ 9.8%)	-0.516	-0.632 *	-0.561	-0.936 **	-0.796 **	-0.665 *	-0.988 **	-0.905 **
	Sphingomonadaceae (2.2% ~ 5.2%)	0.462	0.714 **	0.466	0.893 **	0.720 **	0.595 *	0.984 **	0.854 **
Actinobacteria (20.8% ~ 28.9%)	Nocardioidaceae (3.4% ~ 10.8%)	-0.469	-0.715 **	-0.488	-0.876 **	-0.740 **	-0.606 *	-0.972 **	-0.822 **
	Microbacteriaceae (1.4% ~ 6.7%)	-0.560	-0.685 *	-0.596 *	-0.945 **	-0.823 **	-0.700 *	-0.991 **	-0.912 **
	Micrococcaceae (1.7% ~ 4.1%)	-0.677 *	-0.658 *	-0.623 *	-0.897 **	-0.821 **	-0.696 *	-0.898 **	-0.890 **
Firmicutes (1.8% ~ 12.7%)	Streptococcaceae (1.0% ~ 5.4%)	-0.461	-0.588 *	-0.397	-0.872 **	-0.667 *	-0.534	-0.968 **	-0.833 **
	Paenibacillaceae (1.0% ~ 4.6%)	-0.434	-0.683 *	-0.438	-0.854 **	-0.713 **	-0.565	-0.960 **	-0.809 **

1) \* 表示  $P < 0.05$ ; \*\* 表示  $P < 0.01$

优势菌群对群落功能具有主导作用, 其动态对群落结构和功能会产生显著影响且它们对生境都具有较大的适应性. 在这种高污染生境中的  $\alpha$ -变形菌纲中的柄杆菌目、根瘤菌目和鞘脂单胞菌目在 4 个采样点中都占优势, 而在 TS 中红螺菌目也占优势 (图 2), 说明这些细菌都具有适应其生境的生理特性. 该研究结果与腐木中变形菌群落组成相似<sup>[29]</sup>, 说明这些细菌是广适种, 能在水体、底泥、土壤等

多种生境下存活. 柄杆菌目细菌大多属于寡营养型细菌, 能在营养贫瘠的环境下生长, 主要是因为它们根据生境的不同可以采取异养和化能自养的代谢方式<sup>[30]</sup>, 代谢方式的多样性决定其功能的多样性. 鞘脂单胞菌目在有机碳污染的碱性环境下占优势, 且具有广泛的代谢能力<sup>[1]</sup>, 因此在该研究区域占优势. 而根瘤菌目, 除了固氮还有还原硫的能力, 它们一般是先锋物种, 能为其他菌群的定植提供营养,

采取兼性厌氧呼吸从而分布广泛,且具有多样性的生态功能<sup>[31]</sup>. TS 中光照充足是造成红螺菌目占优势的重要原因之一,该目细菌大多含有光合色素能够固定二氧化碳和氮<sup>[32]</sup>,因此能在 TS 这种寡营养生境中自养生长. 红螺菌目细菌直接参与碳、氮循环,在尾矿生态恢复过程中发挥重要作用.

$\beta$ -变形菌纲中的伯克氏菌目在 4 个采样点均是优势目(图 2),该目细菌能够耐受高盐高碱的生境<sup>[33]</sup>,可降解烃类<sup>[34]</sup>等有机大分子物质,且参与氮循环,在硝酸盐浓度较高的地方主要表现为反硝化<sup>[35]</sup>能力,而在氮贫瘠的生境中也具有固氮<sup>[36]</sup>能力. 而  $\gamma$ -变形菌纲和  $\delta$ -变形菌纲细菌只在 TS 中占优势(图 2).  $\gamma$ -变形菌纲和  $\delta$ -变形菌纲的相对丰度与盐度具有相关性<sup>[35]</sup>,但是两者的生态功能却相反.  $\gamma$ -变形菌纲细菌在利用硫化物的代谢途径中可以降低生境中的碱度<sup>[37]</sup>,而  $\delta$ -变形菌纲细菌在化能自养的代谢过程把硫酸盐还原成硫化物使碱度增加. 因此,这两个群体都有会影响碳酸盐岩地球化学和矿物溶解度. 黄色单胞菌目能够分泌胞外水解酶<sup>[38]</sup>,但生理机能还不清楚. 黏球菌目往往生长在含有大量有机碳水化合物的土壤表层能水解聚合物<sup>[39]</sup>.

放线菌门在 TS 中的相对丰度高于其余 3 个采样点,且群落结构复杂,优势目有 5 个而在 TW、SD1、和 SD2 中只有放线菌目 1 个优势目(图 3). 这是由于通气性好,含水量低、有机物丰富、微碱性的矿砂生境更适合放线菌的生长. 多数放线菌是好氧菌<sup>[40]</sup>,可利用难分解碳作为碳源,由于大多数种类能产生抗生素,钾、镁、锌、铁、锰、铜、钴等是必需元素,因此在重金属含量丰富的区域占优势. Brück 等<sup>[41]</sup>的研究发现厚壁菌大多兼性厌氧呼吸,因此只在 TW、SD1、和 SD2 的低氧环境下占优势(图 3).

本研究中 7 个优势科(柄杆菌科、甲基杆菌科、类诺卡氏菌科、微杆菌科、微球菌科、链球菌科和类芽孢杆菌科)的相对丰度与 pH 和 S 的含量存在显著的正相关关系,而与重金属(Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量存在显著的负相关关系(表 3). 这是由于在尾矿区大多数细菌都会受到重金属的毒害<sup>[1,42]</sup>,从而对环境变化的响应表现一致<sup>[43]</sup>. 而鞘脂单胞菌科细菌与环境因子的相关性表现出与其它优势科细菌相反的趋势(表 3). 这是由于鞘脂单胞菌科细菌属于先锋物种,能耐受较高浓度的重金属,分解能力强,能快速分解石油烃类<sup>[44]</sup>;该科中的多

数细菌会产生胞外聚合物,为其他菌群的定置提供条件,同时这类细菌通过化能异养呼吸获得能量,因此对环境有很强的适应能力.

#### 4 结论

(1) 在中条山十八河铜尾矿库中,尾矿水、不同深度底泥以及尾矿砂中细菌群落组成和多样性存在差异,尾矿水中细菌群落的多样性和丰富度最低而尾矿砂中最高.

(2) 尾矿砂中较高的重金属(As、Cd、Cr、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量对细菌群落没有产生显著的抑制作用,说明在尾矿区除了重金属营养元素也是影响细菌群落组成和结构的限制因子.

(3) 鞘脂单胞菌科细菌的相对丰度与重金属(Cd、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn)含量存在显著的正相关关系,该科菌群有较高的重金属耐受性,因此可以作为矿区恢复的理想菌种.

致谢: 本项目得到中条山有色金属集团有限公司胡岳明、垣曲县环境保护局王艳等大力协助.

#### 参考文献:

- [1] Bier R L, Voss K A, Bernhardt E S. Bacterial community responses to a gradient of alkaline mountaintop mine drainage in Central Appalachian streams [J]. *The ISME Journal*, 2015, **9**(6): 1378-1390.
- [2] Rousk J, Bååth E, Brookes P C, *et al.* Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil [J]. *The ISME Journal*, 2010, **4**(10): 1340-1351.
- [3] Giller K E, Witter E, McGrath S P. Heavy metals and soil microbes [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, **41**(10): 2031-2037.
- [4] Lozupone C A, Hamady M, Kelley S T, *et al.* Quantitative and qualitative  $\beta$  diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(5): 1576-1585.
- [5] Bates S T, Berg-Lyons D, Caporaso J G, *et al.* Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil [J]. *The ISME Journal*, 2011, **5**(5): 908-917.
- [6] Logares R, Lindström E S, Langenheder S, *et al.* Biogeography of bacterial communities exposed to progressive long-term environmental change [J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(5): 937-948.
- [7] Sims A, Zhang Y Y, Gajaraj S, *et al.* Toward the development of microbial indicators for wetland assessment [J]. *Water Research*, 2013, **47**(5): 1711-1725.
- [8] Hering D, Buffagni A, Moog O, *et al.* The development of a system to assess the ecological quality of streams based on macroinvertebrates-design of the sampling programme within the AQEM project [J]. *International Review of Hydrobiology*, 2003, **88**(3-4): 345-361.
- [9] He Z G, Xie X H, Xiao S M, *et al.* Microbial diversity of mine water at Zhong Tiaoshan copper mine, China [J]. *Journal of*

- Basic Microbiology, 2007, **47**(6): 485-495.
- [10] Xie X H, Xiao S M, Liu J S. Microbial communities in acid mine drainage and their interaction with pyrite surface [J]. Current Microbiology, 2009, **59**(1): 71-77.
- [11] Sun W M, Xiao E Z, Krumins V, et al. Characterization of the microbial community composition and the distribution of Fe-metabolizing bacteria in a creek contaminated by acid mine drainage [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, **100**(19): 8523-8535.
- [12] Zhang H B, Yang M X, Shi W, et al. Bacterial diversity in mine tailings compared by cultivation and cultivation-independent methods and their resistance to Lead and Cadmium [J]. Microbial Ecology, 2007, **54**(4): 705-712.
- [13] Xie X H, Zhu W X, Liu N, et al. Bacterial community composition in reclaimed and unreclaimed tailings of Dexing copper mine, China [J]. African Journal of Biotechnology, 2013, **12**(30): 4841-4849.
- [14] 王春香, 李媛媛, 徐顺清. 生物监测及其在环境监测中的应用 [J]. 生态毒理学报, 2010, **5**(5): 628-638.  
Wang C X, Li Y Y, Xu S Q. Biological monitoring and its application in environmental monitoring [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, **5**(5): 628-638.
- [15] 谢冰. 分子生物学技术研究铜锌重金属离子对活性污泥微生物的影响 [D]. 上海: 东华大学, 2002. 1-5.  
Xie B. The effect of copper and zinc ions on activated sludge microbes and its analysis with molecular biological technique [D]. Shanghai: Donghua University, 2002. 1-5.
- [16] Loreau M, Naeem S, Inchausti P, et al. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges [J]. Science, 2001, **294**(5543): 804-808.
- [17] He Z G, Xiao S M, Xie X H, et al. Molecular diversity of microbial community in acid mine drainages of Yunfu sulfide mine [J]. Extremophiles, 2007, **11**(2): 305-314.
- [18] Kamika I, Momba M N B. Synergistic effects of vanadium and nickel on heavy metal-tolerant microbial species in wastewater systems [J]. Desalination and Water Treatment, 2013, **51**(40-42): 7431-7446.
- [19] Chihomvu P, Stegmann P, Pillay M. Identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from the Klip River [J]. International Scholarly and Scientific Research & Innovation, 2014, **8**(11): 1107-1117.
- [20] Liu J, Sui Y, Yu Z, et al. Diversity and distribution patterns of acidobacterial communities in the black soil zone of northeast China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, **95**: 212-222.
- [21] Kleinstaub S, Müller F D, Chatzinotas A, et al. Diversity and *in situ* quantification of *Acidobacteria* subdivision I in an acidic mining lake [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, **63**(1): 107-117.
- [22] Whitman T, Pepe-Ranney C, Enders A, et al. Dynamics of microbial community composition and soil organic carbon mineralization in soil following addition of pyrogenic and fresh organic matter [J]. The ISME Journal, 2016, doi: 10.1038/ismej.2016.68.
- [23] Kaiser C, Fuchsluger L, Koranda M, et al. Plants control the seasonal dynamics of microbial N cycling in a beech forest soil by belowground C allocation [J]. Ecology, 2011, **92**(5): 1036-1051.
- [24] Fierer N, Morse J L, Berthrong S T, et al. Environmental controls on the landscape-scale biogeography of stream bacterial communities [J]. Ecology, 2007, **88**(9): 2162-2173.
- [25] Eichorst S A, Breznak J A, Schmidt T M. Isolation and characterization of soil bacteria that define *Terriglobus* gen. nov., in the Phylum *Acidobacteria* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, **73**(8): 2708-2717.
- [26] Fernández N, Sierra-Alvarez R, Field J A, et al. Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge [J]. Chemosphere, 2008, **70**(3): 462-474.
- [27] Hemp J, Lücker S, Schott J, et al. Genomics of a phototrophic nitrite oxidizer: insights into the evolution of photosynthesis and nitrification [J]. The ISME Journal, 2016, doi: 10.1038/ismej.2016.56.
- [28] Fawaz M N. Revealing the ecological role of Gemmatimonadetes through cultivation and molecular analysis of agricultural soils [D]. Knoxville: Tennessee University, 2013. 44-50.
- [29] Valášková V, Boer W D, Gunnewiek P J A K, et al. Phylogenetic composition and properties of bacteria coexisting with the fungus *Hypholoma fasciculare* in decaying wood [J]. The ISME Journal, 2009, **3**(10): 1218-1221.
- [30] Gray C J, Engel A S. Microbial diversity and impact on carbonate geochemistry across a changing geochemical gradient in a karst aquifer [J]. The ISME Journal, 2013, **7**(2): 325-337.
- [31] Masuda S, Eda S, Ikeda S, et al. Thiosulfate-dependent chemolithoautotrophic growth of *Bradyrhizobium japonicum* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, **76**(8): 2402-2409.
- [32] 有小娟, 李秋芬, 张艳, 等. 象山港内西沪港海域沉积环境细菌群落结构的时空变化及其主要环境影响因子 [J]. 应用与环境生物学报, 2013, **19**(5): 742-749.  
You X Y, Li Q F, Zhang Y, et al. Spatial and temporal variation of bacterial community structures and their main environmental influencing factors in sediment environment of Xihu Area in Xiangshan Bay [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, **19**(5): 742-749.
- [33] 郑贺云, 黎志坤, 李超, 等. 新疆阿克苏地区盐碱地细菌类群多样性及优势菌群分析 [J]. 微生物学通报, 2012, **39**(7): 1031-1043.  
Zheng H Y, Li Z K, Li C, et al. Analysis of the bacterial diversity and dominant population in Akesu Saline-alkali in Xinjiang [J]. Microbiology China, 2012, **39**(7): 1031-1043.
- [34] Mukherjee S, Juottonen H, Siivonen P, et al. Spatial patterns of microbial diversity and activity in an aged creosote-contaminated site [J]. The ISME Journal, 2014, **8**(10): 2131-2142.
- [35] Ishii S, Ohno H, Tsuboi M, et al. Identification and isolation of active N<sub>2</sub>O reducers in rice paddy soil [J]. The ISME Journal, 2011, **5**(12): 1936-1945.
- [36] Saito T, Ishii S, Otsuka S, et al. Identification of novel *Betaproteobacteria* in a succinate-assimilating population in denitrifying rice paddy soil by using stable isotope probing [J]. Microbes and Environments, 2008, **23**(3): 192-200.
- [37] Rossmassler K, Engel A S, Twing K I, et al. Drivers of epsilonproteobacterial community composition in sulfidic caves and springs [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, **79**(2): 421-432.

- [38] Meyers M E J , Sylvan J B , Edwards K J. Extracellular enzyme activity and microbial diversity measured on seafloor exposed basalts from Loihi Seamount indicate the importance of basalts to global biogeochemical cycling [J]. *Applied and Environmental Microbiology* ,2014 ,**80**( 16) : 4854-4864.
- [39] Reichenbach H. The ecology of the myxobacteria [ J ]. *Environmental Microbiology* ,1999 ,**1**( 1) : 15-21.
- [40] Goodfellow M , Kämpfer P , Busse H J , *et al.* *Bergey's manual® of systematic bacteriology: volume five the Actinobacteria* , part A [M]. New York: Springer ,2012. 33-42.
- [41] Brück W M , Brück T B , Self W T , *et al.* Comparison of the anaerobic microbiota of deep-water *Geodia* spp. and sandy sediments in the Straits of Florida [J]. *The ISME Journal* ,2010 ,**4**( 5) : 686-699.
- [42] 林海,崔轩,董颖博,等. 铜尾矿库重金属 Cu、Zn 对细菌群落结构的影响 [J]. *中国环境科学* ,2014 ,**34**( 12) : 3182-3188.
- Lin H , Cui X , Dong Y B , *et al.* Impact on bacterial community structure of heavy metal of Cu and Zn in copper mine tailings [J]. *China Environmental Science* , 2014 , **34** ( 12) : 3182-3188.
- [43] Fierer N , Lef J W , Adams B J , *et al.* Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* ,2012 ,**109**( 52) : 21390-21395.
- [44] Pérez-Pantoja D , Leiva-Novoa P , Donoso R A , *et al.* Hierarchy of carbon source utilization in soil bacteria: hegemonic preference for benzoate in complex aromatic compound mixtures degraded by *Cupriavidus pinatubonensis* strain JMP134 [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology* ,2015 ,**81**( 12) : 3914-3924.