



## 研究报告

## 镉矿废水影响下水库沉积物中细菌群落结构特征研究

李彬<sup>1</sup> 杨爱江<sup>\*1,2,3</sup> 胡霞<sup>1,2,3</sup> 徐琨<sup>1</sup> 刘吉<sup>1</sup>

1 贵州大学资源与环境工程学院 喀斯特地质资源与环境教育部重点实验室 贵州 贵阳 550025

2 贵州大学环境工程规划设计研究所 贵州 贵阳 550025

3 贵州喀斯特环境生态系统教育部野外科学观测研究站 贵州 贵阳 550025

**摘要:**【背景】水库沉积物中的微生物是水生态系统的重要组成部分,在沉积物物质循环中起重要作用。【目的】揭示含镉废水影响下水库表层沉积物中细菌群落结构特征及影响因素。【方法】基于 Illumina 高通量测序技术,对冷水沟水库表层沉积物细菌群落结构进行研究并分析其与沉积物理化性质的相关性;基于 FAPROTAX 软件对细菌功能进行预测分析。基于重金属污染负荷指数法评价水库重金属污染情况。【结果】高通量测序结果表明冷水沟水库的细菌群落较为丰富,主要由变形菌门(*Proteobacteria*, 40.32%–20.19%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 25.89%–4.44%)、脱硫杆菌(*Desulfobacter*, 9.43%–2.02%)等 81 个门 570 个属组成。相关性分析表明,不同提取形态的镉及水溶态镉与多个不同分类水平下的细菌群落有显著的相关性。FAPROTAX 软件对细菌功能进行预测,结果表明,化能异养功能细菌占优势(占总细菌的 14.59%–23.58%),包括化能异养(Chemoheterotrophy)和需氧化能异养(Aerobic Chemoheterotrophy);此外,与碳、氮、硫元素循环有关的功能微生物以及人类病原致病微生物的相对丰度(占总细菌的 12.42%–32.89%)也较高,这与水库的地理条件、周边环境及污染物类型有较大的相关性。重金属污染负荷指数法评价结果表明,水库范围重金属污染较重。【结论】研究区域受镉矿废水影响的水库(2015 年建成蓄水)沉积物中细菌的群落以变形菌门(*Proteobacteria*)及拟杆菌门(*Bacteroidetes*)为最优势菌群,细菌功能主要以化能异养为主。

**关键词:** 表层沉积物, 含镉废水, 细菌群落结构, 细菌功能预测

**Foundation items:** Science and Technology Project of Guizhou Province ([2020]1Y195); The First-Class Discipline Construction Project of Ecology in Guizhou Province (GNYL[2017] 007); Provincial Key Discipline Construction Project of Education Department of Guizhou Province (ZDXK[2016]11)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-851-84732571; E-mail: yangaij8818@sina.com

**Received:** 01-12-2020; **Accepted:** 08-02-2021; **Published online:** 29-03-2021

**基金项目:** 贵州省科技计划(黔科合基础[2020]1Y195); 贵州省国内生态学一流学科建设项目(GNYL[2017]007); 贵州省教育厅省级重点学科建设项目(黔学位合字 ZDXK[2016]11)

**\*通信作者:** Tel: 0851-84732571; E-mail: yangaij8818@sina.com

**收稿日期:** 2020-12-01; **接受日期:** 2021-02-08; **网络首发日期:** 2021-03-29

## Bacterial community structure in reservoir sediments under the influence of antimony ore waste water

LI Bin<sup>1</sup> YANG Aijiang<sup>\*1,2,3</sup> HU Xia<sup>1,2,3</sup> XU Kun<sup>1</sup> LIU Ji<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Karst Georesources and Environmental, Ministry of Education; College of Resource and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

<sup>2</sup> Institute of Environmental Engineering Planning and Designing, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

<sup>3</sup> Guizhou Karst Environmental Ecosystems Observation and Research Station, Ministry of Education, Guiyang, Guizhou 550025, China

**Abstract:** [Background] Microorganisms in reservoir sediments are an important part of the aquatic ecosystem and play an important role in the circulation of sediment materials. [Objective] To reveal the characteristics of bacterial community structure and the influencing factors in the surface sediments of the reservoir under the influence of antimony-containing wastewater. [Methods] Based on the Illumina high-throughput sequencing technology, the bacterial community structure of the surface sediments in Lengshuigou Reservoir was studied and its correlation with the physical and chemical properties of these sediments was analyzed too; the bacterial function was predicted and analyzed based on FAPROTAX. [Results] The high-throughput sequencing results showed that the bacterial community in Lengshuigou Reservoir is relatively rich, and could be divided into 81 phyla. The dominant phyla included *Proteobacteria* (40.32%–20.19%), *Bacteroidetes* (25.89%–4.44%) and *Desulfobacter* (9.43%–2.02%). Pearson correlation analysis indicated that different speciation of antimony are significantly correlated with a number of bacterial communities under different taxonomy levels. FAPROTAX was used to predict the function of bacteria. The results showed that aerobic heterotrophic bacteria dominated (14.59%–23.58% of the total bacteria), including chemoheterotrophic and aerobic heterotrophic bacteria. In addition, the relative abundance of functional microorganisms related to carbon, nitrogen and sulfur cycling and human pathogenic microorganisms (accounting for 12.42%–32.89% of the total bacteria) were also at a high level, which was significantly related to the geographical conditions of the reservoir and the surrounding environment and the type of pollutants. The heavy metal pollution load index method was used to evaluate the heavy metal pollution in the reservoir. [Conclusion] This study revealed the bacterial community structure characteristics and influencing factors in the sediments of the reservoir (built in 2015) affected by antimony mine wastewater, and analyzed and predicted the related functions of bacteria to study the biogeochemistry of antimony in the reservoir.

**Keywords:** surficial sediments, wastewater containing antimony, bacterial community, bacterial function prediction

锑属于元素周期表的第V主族,是一种有毒金属,已被美国环保总局及欧盟巴塞尔公约列为优先控制污染物<sup>[1-2]</sup>。锑矿的采矿、选矿冶炼等活动产生的污染会导致周边土壤、水、沉积物中锑含量大幅增加<sup>[3]</sup>。被污染水中的锑浓度可达自然水体(<1 µg/L)的几百倍甚至几千倍,对当地生态系统造成十分不利的影响<sup>[4]</sup>。接触污染的水和食物是人接触锑的主要途径<sup>[5]</sup>,锑会对人肝脏、肺和心血管系统造成损害<sup>[6]</sup>。

尽管锑具有毒性,但微生物仍能在锑污染的水体及沉积物中存活,同时微生物对锑的沉淀和原位固定化,是一种潜在修复锑污染沉积物和水体的方法<sup>[7]</sup>。微生物中锑的循环主要通过还原、氧化和甲基化等来实现。有学者利用实时PCR技术及宏基因组技术对锑和锑污染土壤中微生物的基因表达进行研究,发现 *arsC*、*arrA*、*aioA* 和 *arsB* 等与 As 及 Sb 循环相关功能基因的分布、多样性和丰度均与 As 和 Sb 浓度呈正相关关系<sup>[8]</sup>,说明在锑污染区的

微生物中存在 Sb 生物地球化学循环。

目前有较多学者利用 16S rRNA 基因扩增子数据研究不同环境中的微生物群落结构与环境因子之间的关系,如城市不同河段沉积物细菌群落结构特征受 pH、C/P、TC 及 C/N 等环境因子的影响较大<sup>[9]</sup>。有研究表明在受锑矿污染较重的河流沉积物中许多细菌门与 Sb 的不同形态存在正相关关系(Spearman 相关性分析)<sup>[10]</sup>。在多种重金属胶体污染的土壤中有有机质含量和 pH 是影响微生物群落多样性的主要因素;重金属的生物可利用性是影响细菌群落结构的主要因素<sup>[11]</sup>。Cr、Cu、Zn 等重金属可能对红树林沉积物中细菌的某些门或纲(如 BRC 门、 $\epsilon$ -变形杆菌纲)产生显著影响( $P<0.05$ )<sup>[12]</sup>。水库与湖泊属于相对封闭的地貌单元,水库沉积物收集了流域内由水力搬运而来的碎屑及库区内可能形成的化学沉淀和生物沉淀<sup>[13]</sup>,所处环境相对稳定。目前关于锑对微生物群落结构影响的研究主要集中在土壤<sup>[7]</sup>及河流沉积物<sup>[10]</sup>中,关于水库沉积物中锑及其他重金属复合污染下细菌群落特征的研究鲜见报道。

冷水沟水库位于中国西南贵州省独山县的都柳江流域上游,处于三都县与独山县交界处。水库于 2015 年初建成下闸蓄水,是一座以防洪为主、兼顾灌溉和供水的峡谷型水库(现无供水功能),总库容 1 751 万  $\text{m}^3$ ,最大坝高 42 m,可灌溉下游农田 2 079.2  $\text{hm}^2$ 。水库上游有独山东峰锑矿、巴年锑矿、维寨锑矿及巴年铁矿等矿山,目前仍在开采的独山东峰锑矿已有 50 多年的历史,其余矿山已经关停。本研究通过采集冷水沟水库沉积物样品,分析其中 Sb、As、Cd、Cr、Ni、Cu、Zn、Pb 等重金属含量和细菌的群落特征及多样性,进一步分析锑等重金属与微生物种群的相关性,以期揭示锑等重金属复合污染下水库沉积物中细菌群落的特征。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒

(DP712),天根生化科技(北京)有限公司;Phusion<sup>®</sup> High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer, New England Biolabs 公司;胶回收试剂盒, QIAGEN 公司;TruSeq<sup>®</sup> DNA PCR-Free Sample Preparation Kit, Illumina 公司;硫脲、抗坏血酸,天津市科密欧化学试剂有限公司;过氧化氢、盐酸、硝酸,重庆万盛川东化工有限公司;盐酸羟胺、乙酸铵,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。电感耦合等离子体质谱,赛默飞世尔科技有限公司;双道原子荧光光度计,北京海光仪器有限公司;元素分析仪,元素分析系统公司。

### 1.2 样品采集

于 2019 年 11 月采集 6 个样品,采样点详细坐标见表 1。采用重力柱状采泥器,采取水库柱状沉积物样品,取适量表层沉积物(0–5 cm)放入无菌离心管中并立即放入干冰中保存,运回实验室后放入–80 °C 冰箱保存,用于后续 16S rRNA 基因测序分析;其余沉积物按每厘米分层放入无菌自封袋中,尽快运回实验室做相关理化性质分析。每个采样点的表层水样用聚乙烯采样瓶(10%硝酸浸泡 24 h 以上)采集,滴加优级纯浓硫酸酸化,尽快运回实验室分析。

### 1.3 沉积物理化性质分析

取适量新鲜沉积物在室温下 5 000 r/min 离心 10 min,上清液即为间隙水。其余沉积物在室内自然风干,剔除大块砾石、生物残渣等杂质,研磨过 100 目标准筛。沉积物采用三酸消解法( $\text{HNO}_3$ -HF- $\text{HClO}_4$ )消解完全后测定 Sb、As、Cd、

表 1 采样点详细坐标

Table 1 Detailed coordinates of sampling points

采样点 Sampling point	经度 Longitude	纬度 Latitude
LSG01	107.741 9°E	25.807 4°N
LSG02	107.741 8°E	25.812 9°N
LSG03	107.749 5°E	25.817 7°N
LSG04	107.755 0°E	25.821 8°N
LSG05	107.759 2°E	25.826 3°N
LSG06	107.762 8°E	25.833 2°N

Cr、Ni、Cu、Zn、Pb 等重金属含量。沉积物总碳(Total Carbon, TC)、总氮(Total Nitrogen, TN)采用元素分析仪进行分析。采用改进的 BCR (The European Community Bureau of Reference)<sup>[14]</sup>顺序提取法,测定砷、镉的各提取态浓度。

#### 1.4 沉积物样品的 16S rRNA 基因测序

根据磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒(DP712)说明书的操作步骤提取样本 DNA,并用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。以稀释后的 DNA 为模板,选择 16S rRNA 基因 V3-V4 区引物 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3'),使用 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer (New England Biolabs)、带 Barcode 的特异引物以及高效高保真酶进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:Phusion Master Mix (2×) 15 μL, 引物 341F 和 806R (2 μmol/L) 各 1.5 μL, gDNA (1 ng/μL) 10 μL, ddH<sub>2</sub>O 2 μL。PCR 反应条件: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环 30 次; 72 °C 5 min。PCR 产物使用 2%琼脂糖凝胶进行电泳检测;根据 PCR 产物浓度进行等量混样,充分混匀后使用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,使用胶回收试剂盒回收目的条带产物。使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行上机测序(测序委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成)。

#### 1.5 16S rRNA 基因数据处理与分析

通过对每个样本测序的 Reads 进行拼接,得到原始数据(Raw Tags)<sup>[15]</sup>;再经过过滤处理得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)。参照 QIIME (V1.9.1)<sup>[16]</sup>的 Tags 质量控制流程进行质控,并去除其中的嵌合体序列,得到最终的有效数据(Effective Tags)。利用 UPARSE 算法<sup>[17]</sup>对上述 Effective Tags 进行聚类,默认按 97%相似度将序列聚类得到操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)。对 OTU 序列进行物种注释,用 Mothur 方法<sup>[18]</sup>与 SILVA138<sup>[19]</sup>的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析,获得分类学

信息并分别在界、门、纲、目、科、属、种各个分类水平统计各样本的群落组成。利用 Canoco 5.0 软件<sup>[10,20]</sup>对细菌群落物种信息进行冗余分析(Redundancy Analysis, RDA),分析细菌群落与环境因子之间的关系,并运用 IBM SPSS Statistics 20 做皮尔森相关性(Pearson)分析,研究不同分类水平下细菌群落结构与各环境因子间的相关性。运用 Origin 8.5 绘制相关图。

#### 1.6 重金属污染负荷指数(Pollution Load Index)分析

重金属污染负荷指数法是 Tomlinson 等<sup>[21]</sup>针对重金属污染水平评价提出的,该方法将重金属污染分为 4 个等级(表 2)。该方法可以评价某一采样点或某一区域的污染情况<sup>[22]</sup>。计算方法如下:

$$CF_i = \frac{C_i}{C_{0i}} \quad (1)$$

式中:  $CF_i$  为  $i$  元素的最高污染系数;  $C_i$  为  $i$  元素的实测含量;  $C_{0i}$  为  $i$  元素的评价标准,即其背景值。

$$I_{PL} = \sqrt[n]{CF_1 \times CF_2 \times CF_3 \cdots CF_n} \quad (2)$$

式中:  $I_{PL}$  为某点的污染负荷指数;  $n$  为评价元素个数。

$$I_{PLZONE} = \sqrt[n]{I_{PL1} \times I_{PL2} \times I_{PL3} \cdots I_{PLn}} \quad (3)$$

式中:  $I_{PLZONE}$  为某区域的污染负荷指数;  $n$  为评价点数。

## 2 结果与分析

### 2.1 环境理化性质分析

沉积物的理化性质见表 3, 6 个采样点不同重金属中镉含量最高, 在 243.93–287.95 mg/kg 之间;

表 2 重金属污染程度与污染负荷指数的对应关系

Table 2 The corresponding relationship between pollution load index and pollution degree

$I_{PL}$	污染等级 Pollution level	污染程度 Pollution degree
<1	0	无污染 Pollution free
1–2	I	强污染 Strong pollution
2–3	II	强污染 Strong pollution
≥3	III	极强污染 Stronger pollution

其次是砷，含量在 53.38–102.38 mg/kg 之间。所有采样点中 Cd 的含量最低，在 2.86–5.56 mg/kg 之间。沉积物碳氮比呈现沿水流方向逐渐降低的趋势。采用重金属污染负荷指数法评价沉积物中重金属的污染程度，结果见表 4。库区受上游锑矿影响，沉积物中 Sb 污染最严重，其含量达到贵州省水系沉积物背景值<sup>[23]</sup>的 180–213 倍；其次是 Cd 和 As，最高分别达到背景值的 6 倍和 17 倍。重金属中 Cr、Ni、Cu、Zn、Pb 的污染程度较轻，其污染指数介于 0.5–2.4 之间。水库中水溶态锑远高于《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006)<sup>[25]</sup>中规定的 5 μg/L 和《地表水环境质量标准》(GB3838-2002)<sup>[26]</sup>中集中式生活饮用水地表水源地标准限值 5 μg/L。

2.2 沉积物中锑的不同提取形态分析

BCR 法将沉积物分为 4 种形态<sup>[27-29]</sup>：(1) 弱酸

提取态(F1, Sbaex)，即可交换态以及碳酸盐结合态。吸附在黏土及腐殖质等组分上的重金属称为可交换态；与碳酸盐矿物形成共沉淀的结合形态称为碳酸盐结合态。弱酸提取态对环境变化较为敏感，易于迁移转化，生物有效性及毒性是所有提取态中最高的。(2) 可还原态(F2, Sbere)，即 Fe-Mn 氧化物结合态，指被 Fe-Mn 氧化物包裹或本身成为氢氧化物沉淀的重金属部分，处于还原条件下时容易释放。(3) 可氧化态(F3, Sbox)，指与有机质基团或硫离子结合的重金属，即有机物及硫化物结合态，在碱性或氧化环境下可以转化至活性态，具有潜在的生物毒性。(4) 残渣态(F4)，指土壤硅铝酸盐矿物晶格中的金属离子，性质稳定，通常情况下难以释放。通过沉积物中锑的不同提取形态、含量可以判断锑的迁移性及生物有效性。一般认为前三态有生物

表 3 每个采样点的沉积物理化性质

Table 3 Chemical and physical parameters of sediments at each sampling point

Sample	Sb (mg/kg)	As (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	TN (%)	TC (%)	C/N	Sbaq* (μg/L)
LSG01	248.05	102.38	60.36	40.13	32.10	191.15	5.56	70.44	0.39	5.55	14.15	39.15
LSG02	243.93	54.13	39.64	22.96	20.10	83.60	2.86	25.69	0.10	1.77	17.75	144.44
LSG03	262.76	53.38	51.46	30.66	26.32	139.00	3.65	40.74	0.20	3.31	16.81	66.02
LSG04	267.27	95.33	73.61	38.37	38.15	164.90	3.58	55.64	0.28	3.69	13.28	66.68
LSG05	255.17	98.48	79.11	39.01	38.56	174.85	3.60	62.59	0.25	3.19	12.56	52.99
LSG06	287.95	61.87	62.91	35.42	29.93	155.74	3.32	42.88	0.19	2.22	11.87	61.90
Background value in Guizhou <sup>[23]</sup>	1.35	14.89	79.42	32.84	29.43	89.94	0.313	29.39	—	—	—	—
Background value in China <sup>[24]</sup>	0.7	8.5	60	25	22	68	0.09	22	—	—	—	—

注：Sbaq\*：水溶态锑，单位为 μg/L；—：无此项数据

Note: Sbaq\*: Aqueous Sb (μg/L); —: No data

表 4 不同采样点沉积物重金属污染负荷指数评价结果

Table 4 Evaluation results of heavy metal pollution load index in sediments from different sampling points

Sample	Pollution load index of heavy metals ( $CF_i$ )								$I_{PL}$	污染程度 Pollution degree	$I_{PLZONE}$
	Sb	As	Cr	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb			
LSG01	183.74	6.88	0.76	1.22	1.09	2.13	17.76	2.40	4.29	Stronger pollution	3.52
LSG02	180.69	3.64	0.50	0.70	0.68	0.93	9.14	0.87	2.42	Strong pollution	
LSG03	194.64	3.58	0.65	0.93	0.89	1.55	11.66	1.39	3.14	Stronger pollution	
LSG04	197.98	6.40	0.93	1.17	1.30	1.83	11.44	1.89	4.04	Stronger pollution	
LSG05	189.01	6.61	1.00	1.19	1.31	1.94	11.50	2.13	4.17	Stronger pollution	
LSG06	213.30	4.16	0.79	1.08	1.02	1.73	10.61	1.46	3.46	Stronger pollution	

有效性, 并且生物活性次序为  $F1 > F2 > F3$ , 而残渣态难以被生物利用, 认为其不具有生物有效性<sup>[30-31]</sup>。不同采样点镉的各形态质量分数见图 1。由图 1 可见沉积物中弱酸提取态介于 5.39%–10.99%, 水库入水口处弱酸提取态含量最高; 可还原态含量在 3.20%–6.81% 之间, 水库出水口(坝后)含量最高; 可氧化态含量较低介于 0.84%–1.66%。几乎没有生物活性的残渣态镉占主要部分(83.71%–88.90%)。

### 2.3 细菌群落结构特征分析

所有沉积物样品中共发现 80 余个门的细菌(占总序列 97.71%)以及泉古菌门(*Crenarchaeota*)等古菌域细菌(占总序列 2.29%)。所有采样点中相对丰度最高的细菌为变形菌门(*Proteobacteria*), 在门水平上占总序列的 33.07%, 各采样点的相对丰度介于 20.19%–40.32% 之间, 其在 LSG02 点的相对丰度最高; 拟杆菌门(*Bacteroidetes*)为相对丰度第二的菌群(占总序列的 10.22%), 各采样点相对丰度在 4.44%–25.89% 之间; 其他主要细菌为脱硫杆菌(*Desulfobacter*, 2.02%–9.43%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 3.43%–6.68%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 3.12%–6.24%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 0.84%–3.57%)、*Actinobacteriota* (0.96%–4.00%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*, 0.80%–2.33%);

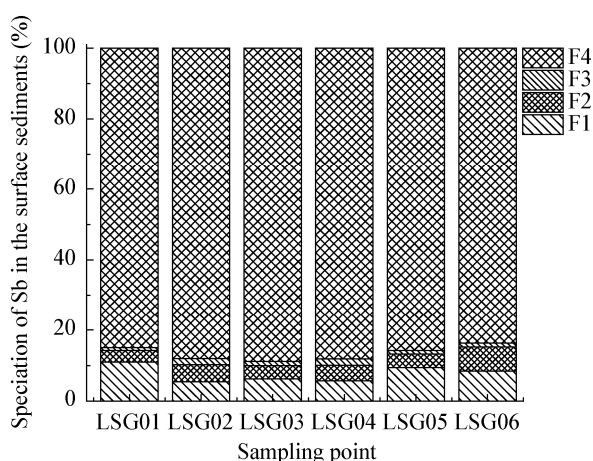


图 1 不同采样点中镉的各形态质量分数

Figure 1 Different Sb extraction fractions in six sampling sites

在所有采样点中未识别细菌(Unidentified Bacteria)占到了较高的比例 14%–25%, 具体见图 2A。

根据所有样本在属水平的物种注释及丰度信息, 选取丰度排名前 35 的属, 根据其在每个样本中的丰度信息, 从物种和样本 2 个层面进行聚类分析, 绘制热图, 热图对应的值为每一行物种相对丰度经过标准化处理后得到的 Z 值, 某点 Z 值越高说明在当前样品中该群落相对丰度较其他样品高, 反之说明该群落相对丰度较其他样品低。由图 2B 可见, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)及 *Smithella* (属互营菌科)在 LSG01 相对丰度较高; LSG02 中大肠杆菌埃希氏菌属-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)的相对丰度较高; LSG03 中地热杆菌属(*Geothermobacter*)、硫杆菌属(*Thiobacillus*)、硫弯曲菌属(*Sulfuricurvum*)、脱硫酸盐橡菌属(*Desulfatiglans*)、硫针菌属(*Sulfuritalea*)、甲基娇养杆菌属(*Methylothermobacter*)等含量较多; LSG04 中肠球菌属(*Enterococcus*)、*Ahniella* (属变形菌门)、苯基杆菌属(*Phenylobacterium*)的相对丰度较高; LSG05 采样点处 *Lachnospiraceae\_NK4A136\_Group* (属毛螺旋菌科)的含量较其他点高; LSG06 中芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、砂单胞菌属(*Arenimonas*)、甲烷鬃毛菌属(*Methanosaeta*)、pLW-20 (属变形菌门)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)等的相对丰度较高。从整个水库总的有效序列来看, 属水平上相对丰度前 10 的属分别为脱硫单胞菌属(*Dechloromonas*, 3.60%, 是典型的反硝化聚磷菌)、砂单胞菌属(*Arenimonas*, 1.24%, 是典型的异养反硝化细菌)、地热杆菌属(*Geothermobacter*, 0.92%, 能影响多种元素循环)、互营菌属(*Syntrophus*, 0.83%, 是一种极端厌氧菌)、Ellin6067 (0.83%, 属亚硝化单胞菌科)、黄杆菌属(*Flavobacterium*, 0.75%, 是常见的反硝化细菌)、BSV13 (0.74%, 属拟杆菌门)、肠球菌属(*Enterococcus*, 0.63%, 具备发酵能力)、OM60 (NOR5)\_Clade (0.61%, 属变形菌门)、甾类杆菌属(*Steroidobacter*, 0.60%, 具有反硝化作用及多糖降解作用)。

在纲水平上相对丰度最高的纲为属于 *Proteobacteria* 的  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*, 13.17%–28.25%) , 其次为  $\alpha$ - 变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*, 4.87%–10.10%), 在沉积物中检测出的其他纲包括拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、梭菌纲 (*Clostrida*) 、 脱 硫 杆 菌 纲 (*Desulfobacteria*) 、 *Vicinamibacteria* (属酸杆菌门)、芽孢杆菌纲(*Bacilli*) 等, 不同采样点纲水平相对丰度详见表 5。

2.4 细菌群落多样性分析

对 Illumina NovaSeq 测序得到的原始数据进行拼接、质控及嵌合体过滤, 最终得到可用于后续分析的有效数据(Effective Tags) 308 639 条。 $\alpha$  多样性反映了单个样品内部的物种多样性, 各采样点详细的  $\alpha$  多样性指数值见表 6。Goods Coverage 则用来评估测序深度。由表 6 可知, 各采样点各项多样性指数相互之间差别不大, 说明水库不同位置的细菌群落结构较为相似。各采样点 Goods Coverage 指数值均较高, 这与沉积物样品的稀释曲线(图 3)所

体现的趋势一致, 即稀释曲线均趋向平坦, 说明测序数据量渐进合理, 更多的数据量只会产生少量新的物种(OTU), 表明此次测序的深度较为合理, 可以真实地反映沉积物细菌的群落结构和多样性情况。

2.5 细菌群落与环境因子的相关分析

首先利用 Canoco 5.0 软件对沉积物细菌门水平群落丰度进行除趋势对应分析 (Detrended Correspondence Analysis, DCA), 结果显示 Lengths of Gradient 的第一轴小于 3, 此时线性模型中 RDA 能取得较好的效果, 因此后续分析选择 RDA 模型<sup>[32]</sup>。门水平细菌群落丰度与环境因子的 RDA 分析结果如图 4 所示。RDA 排序图中环境向量的长度表示样方物种的分布与该环境因子相关性的 大小。环境变量与物种变量箭头之间的夹角反映它们之间的相关性, 锐角是正相关, 夹角越小则正相关性越高; 钝角是负相关, 钝角越大则负相关越大。通过比较环境变量在约束轴上投影的

表 5 不同采样点纲水平细菌群落特征

Table 5 Characteristics of bacterial communities at class level in different sampling sites

Taxonomy	LSG01	LSG02	LSG03	LSG04	LSG05	LSG06
<i>Gammaproteobacteria</i>	28.07	28.25	19.07	28.09	27.00	13.17
<i>Bacteroidia</i>	6.83	4.11	16.36	4.17	4.69	25.72
<i>Alphaproteobacteria</i>	10.10	12.06	4.87	7.93	9.81	7.02
Unidentified_Actinobacteria	3.57	4.15	0.84	2.11	1.28	1.08
<i>Clostrida</i>	2.30	2.99	1.50	2.50	3.63	1.49
<i>Desulfobacteria</i>	1.05	0.72	3.42	0.89	1.58	2.13
<i>Bacilli</i>	0.93	2.66	0.33	3.10	0.78	0.92
<i>Campylobacteria</i>	0.39	0.13	3.05	0.16	0.44	0.07
<i>Vicinamibacteria</i>	1.32	2.75	0.39	1.88	1.54	0.45
<i>Syntrophia</i>	1.73	0.22	1.78	0.31	0.71	2.74
<i>Thermodesulfovibrionia</i>	0.22	0.18	2.48	0.22	0.77	0.18
<i>Verrucomicrobiae</i>	2.07	0.78	2.23	0.52	0.94	2.00
<i>Cyanobacteriia</i>	0.39	0.40	0.84	0.19	0.10	1.86
<i>Desulfobulbia</i>	0.41	0.31	1.84	0.16	0.18	1.04
<i>Acidobacteria</i>	0.76	0.99	1.68	1.15	1.21	1.20
Unidentified_Firmicutes	0.94	0.34	1.49	0.87	0.87	1.51
<i>Desulfobacteria</i>	0.48	0.33	1.45	0.42	0.72	0.33
Unidentified_Kryptonia	0.35	0.17	1.39	0.41	0.55	0.76

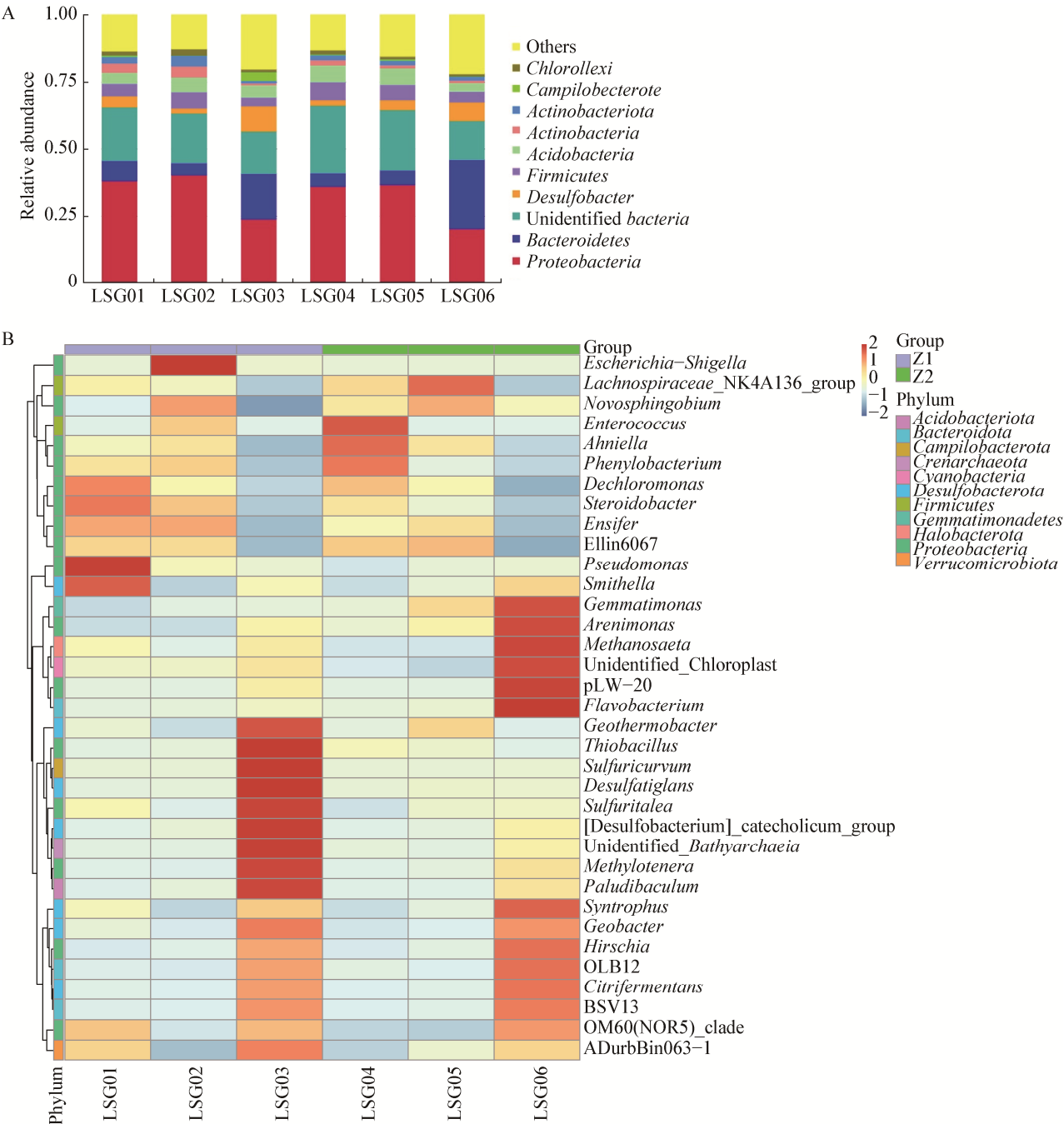


图 2 门水平上的微生物群落相对丰度图(A)及属水平上物种丰度聚类图(B)  
Figure 2 The relative abundance of microbial community at phylum level (A) and the abundance cluster analysis of bacteria at genus level (B)

注: 纵向为样本信息, 横向为物种注释信息, 图中左侧的聚类树为物种聚类树; 热图对应的值为每一行物种相对丰度经过标准化处理后得到的 Z 值, 即一个样本在某个分类上的 Z 值为样本在该分类上的相对丰度和所有样本在该分类的平均相对丰度的差除以所有样本在该分类上的标准差所得到的值, Z 值表示原始数值和总体均值之间的距离

Note: The vertical is sample information, the horizontal is species annotation information, and the clustering tree on the left is species clustering tree. Heat maps corresponding value for each row of the relative abundance of species after dealing with the standardization of the Z value, that is, a sample in a classification on the Z value of sample on the classification of relative abundance and all samples in the classification of average relative abundance of difference divided by the number of all the samples on the classification of the standard deviation of the resulting value, Z value indicates that the original value and the distance between the population mean



表 6 不同采样点沉积物细菌群落丰度和多样性指数

Table 6 Abundance and diversity index of bacterial community in sediments in different sampling sites

Sample	OTUs	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	ACE index	Goods coverage
LSG01	2 428	9.224	0.993	2 672.642	2 741.962	0.983
LSG02	2 440	9.550	0.995	2 622.099	2 655.060	0.986
LSG03	1 836	9.190	0.996	2 003.133	2 013.651	0.990
LSG04	2 454	9.141	0.990	2 675.078	2 729.200	0.984
LSG05	2 637	9.597	0.995	2 847.786	2 908.639	0.984
LSG06	1 970	9.325	0.996	2 015.661	2 060.262	0.993

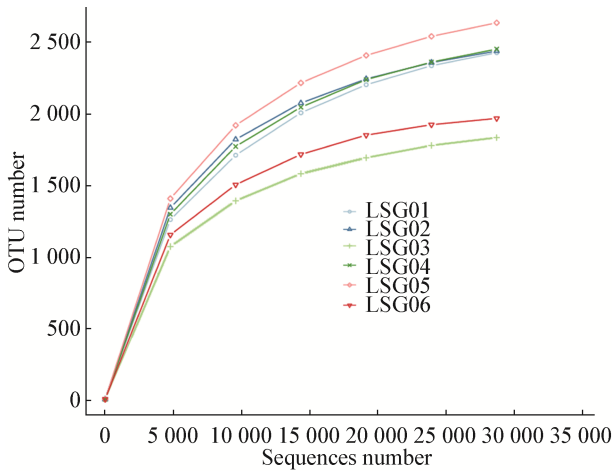


图 3 沉积物样品稀释曲线

Figure 3 Rarefaction curve in sediment samples

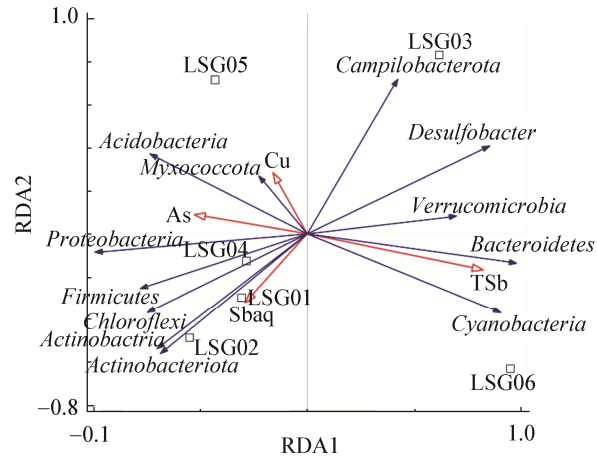


图 4 细菌门水平群落与主要环境因子的 RDA 分析

Figure 4 RDA analysis of bacterial community species at phylum level and main environmental factors

相对长度，判断环境变量对群落特征的贡献度。

RDA 分析结果表明 TSb 对群落特征的贡献度最高(63.7%)，其次为 Sbaq (15.4%)，Cu 和 As 对群落特征的贡献度分别为 13.5%和 6.1%。由图 4 可知，TSb 与拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、蓝藻细菌门(*Cyanobacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)等均呈正相关关系，与变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)等呈负相关关系。为进一步了解细菌群落与重金属等环境因子之间的相关性，将不同样品门水平细菌丰度与环境因子进行 Pearson 相关分析，结果如表 7 所示。综合图 4 及表 7 结果，TSb 与拟杆菌门(*Bacteroidetes*)呈显著正相关关系( $r=0.81$ ,  $P<0.05$ )，与变形菌门(*Proteobacteria*)呈显著负相关关系( $r=-0.84$ ,  $P<0.05$ )；Sbere 与蓝藻细菌门(*Cyanobacteria*)呈显著正相关关系( $r=0.85$ ,  $P<0.05$ )；*Myxococcota* 与碳氮比(C/N)呈显著正相关关系( $r=0.91$ ,  $P<0.05$ )。

本研究还对所有样本的其他分类水平上(纲、目、科、属)的细菌群落丰度与重金属及锑的不同提取形态进行了 Pearson 相关性分析，探究重金属与沉积物生态系统细菌群落的相互变化关系。表 8 列举了不同分类水平上与重金属显著相关的细菌群落，分析结果显示，基于纲水平上， $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)与 TSb 呈显著的负相关关系，而拟杆菌纲(*Bacteroidia*)则与 TSb 呈显著的正相关关系，芽孢杆菌纲(*Bacilli*)与 Sbox 呈显著的正相关关系。基于目水平上，Sbere 与黄杆菌目(*Flavobacteriales*)、*Chitinophagales* (属拟杆菌门)、

表 7 沉积物门水平主要细菌与主要环境因子的 Pearson 相关系数

Table 7 Pearson correlations between main bacterial community at phylum level and main environmental factors

Taxonomy	TSb	Sbaq	Sbaex	Sbere	Sbox	As	Cu	Zn	Cd	TN	TC	C/N
<i>Proteobacteria</i>	-0.84*	0.29	-0.13	-0.65	0.13	0.52	0.11	-0.07	0.21	0.24	0.27	0.24
<i>Bacteroidetes</i>	0.81*	-0.25	0.26	0.74	-0.21	-0.53	-0.21	0.05	-0.14	-0.23	-0.28	-0.26
<i>Desulfobacter</i>	0.47	-0.38	0.19	0.20	-0.45	-0.47	-0.20	0.12	0.07	-0.07	0.01	0.04
<i>Firmicutes</i>	-0.34	0.40	-0.38	-0.14	0.63	0.39	0.27	-0.17	-0.27	-0.05	-0.14	-0.05
<i>Acidobacteria</i>	-0.44	0.27	-0.49	-0.46	0.48	0.35	0.36	-0.13	-0.32	-0.07	-0.09	0.11
<i>Actinobacteria</i>	-0.72	0.52	-0.16	-0.33	0.14	0.11	-0.40	-0.34	0.24	0.05	0.15	0.46
<i>Actinobacteriota</i>	-0.69	0.72	-0.30	-0.21	0.27	-0.04	-0.48	-0.54	-0.06	-0.22	-0.14	0.50
<i>Campilobacterota</i>	-0.01	-0.14	-0.25	-0.32	-0.22	-0.42	-0.25	-0.09	0.02	-0.10	0.09	0.48
<i>Chloroflexi</i>	-0.73	0.78	-0.55	-0.32	0.46	-0.08	-0.46	-0.62	-0.16	-0.28	-0.16	0.63
<i>Verrucomicrobia</i>	0.28	-0.48	0.51	0.10	-0.69	-0.24	-0.24	0.29	0.48	0.24	0.32	-0.01
<i>Cyanobacteria</i>	0.79	-0.10	0.24	0.85*	-0.13	-0.55	-0.30	-0.06	-0.19	-0.30	-0.37	-0.26
<i>Myxococcota</i>	-0.72	0.38	-0.34	-0.62	-0.19	-0.36	-0.67	-0.45	0.17	-0.15	0.13	0.91*

注: Sbaq: 水溶态铈; Sbaex: 弱酸提取态; Sbere: 可还原态; Sbox: 可氧化态; TSb: 总铈。\*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$

Note: Sbaq: Aqueous Sb; Sbaex: Acid extractable; Sbere: Easily reducible fraction; Sbox: Oxidizable fraction; TSb: Total Sb in sediment. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$

表 8 不同分类水平上的细菌群落丰度与重金属的 Pearson 相关性分析

Table 8 Pearson correlations between different taxonomic levels of bacterial community and heavy metal contents

Taxonomy		Sbere	Sbox	Sbaq	TSb	As	Cr	Ni	Cu	Zn
Class	<i>Gammaproteobacteria</i>	—	—	—	-0.83*	—	—	—	—	—
	<i>Bacteroidia</i>	—	—	—	0.82*	—	—	—	—	—
Order	<i>Bacilli</i>	—	0.87*	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Flavobacteriales</i>	0.89*	—	—	0.87*	—	—	—	—	—
	<i>Enterobacterales</i>	—	—	0.95**	—	—	—	-0.84*	—	-0.87*
	<i>Chitinophagales</i>	0.92*	—	—	0.88*	—	—	—	—	—
	<i>Lactobacillales</i>	—	0.93**	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Bacteroidales</i>	0.85*	—	—	0.85*	—	—	—	—	—
	<i>Cytophagales</i>	—	—	—	0.84*	—	—	—	—	—
	<i>Caulobacteriales</i>	0.84*	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Chloroplast</i>	0.82*	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Gemmatimonadales</i>	0.84*	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Rhodobacterales</i>	—	—	—	—	—	-0.82*	—	-0.85*	—
Family	<i>Rhodocyclaceae</i>	-0.82*	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Flavobacteriaceae</i>	0.92**	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Enterobacteriaceae</i>	—	—	0.95**	—	—	—	-0.85*	—	-0.88*
	<i>Enterococcaceae</i>	—	0.92**	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Chitinophagaceae</i>	0.97**	—	—	0.88*	—	—	—	—	—
Genus	<i>Flavobacterium</i>	0.93**	—	—	0.86*	—	—	—	—	—
	<i>Escherichia-Shigella</i>	—	—	0.96**	—	—	—	-0.87*	—	-0.89*
	<i>Arenimonas</i>	0.84*	—	—	0.91*	—	—	—	—	—
	<i>Enterococcus</i>	—	0.92**	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Gemmatimonas</i>	0.85*	—	—	—	—	—	—	—	—

注: Sbaq: 水溶态铈; Sbaex: 弱酸提取态; Sbere: 可还原态; Sbox: 可氧化态; TSb: 总铈。\*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; —: 无数据

Note: Sbaq: Aqueous Sb; Sbaex: Acid extractable; Sbere: Easily reducible fraction; Sbox: Oxidizable fraction; TSb: Total Sb in sediment. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; —: No data

拟杆菌目 (*Bacteroidales*)、柄杆菌目 (*Caulobacteriales*)、芽单胞菌目 (*Gemmatimonadales*) 均呈显著的正相关关系; Sbox 与乳酸杆菌目 (*Lactobacillales*) 呈显著的正相关关系; Sbaq 与肠杆菌目 (*Enterobacteriales*) 呈显著的正相关关系; TSb 则与黄杆菌目 (*Flavobacteriales*)、*Chitinophagales* (属拟杆菌门)、拟杆菌目 (*Bacteroidales*)、噬纤维菌目 (*Cytophagales*) 均呈显著的正相关关系; 肠杆菌目 (*Enterobacteriales*) 与 Zn、Ni 均呈显著的负相关关系; 红杆菌目 (*Rhodobacteriales*) 与 Cu、Cr 呈显著的负相关关系。基于科水平上, Sbere 与红环菌科 (*Rhodocyclaceae*) 呈显著的负相关关系, 与黄杆菌科 (*Flavobacteriaceae*)、噬几丁质菌科 (*Chitinophagaceae*) 呈显著的正相关关系; Sbox、Sbaq、TSb 分别与肠球菌科 (*Enterococcaceae*)、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*)、噬几丁质菌科 (*Chitinophagaceae*) 呈显著的正相关关系。基于属水平上, Sbere 与黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、砂单胞菌属 (*Arenimonas*)、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*) 均呈显著的正相关关系; Sbaq、Sbox 分别与埃希氏杆菌属-志贺氏杆菌 (*Escherichia-Shigella*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 呈显著正相关关系; TSb 与黄杆菌属

(*Flavobacterium*)、砂单胞菌属 (*Arenimonas*) 均呈显著的正相关关系。这表明锑及其他重金属对该水库沉积物细菌群落结构有一定的影响。

## 2.6 沉积物细菌群落功能预测

目前关于沉积物细菌群落的高通量测序分析主要关注细菌群落结构( $\alpha$ 、 $\beta$ 多样性), 研究沉积物微生物群落组成、分布特征及其影响因素等<sup>[2,14,16]</sup>, 针对细菌群落相关功能的研究较少。目前已有较多学者利用 FAPROTAX 开展微生物的功能预测分析<sup>[33]</sup>, 本研究同样采用 FAPROTAX 分析预测冷水沟水库不同采样点细菌的功能。FAPROTAX 软件<sup>[33]</sup>维护了一个基于物种信息的功能分类数据库, 收录了碳、氮、磷、硫等元素循环及动植物病原、甲烷生成、发酵等 80 多种功能分类, 覆盖了超过 4 600 个不同原核物种, 对于环境样本的生物化学循环过程有较好的预测效果。采用 FAPROTAX 软件对研究区域沉积物细菌功能进行预测分析, 结果表明(图 5), 冷水沟水库细菌主要为化能异养型(Chemoheterotrophy)及好氧化能异养型(Aerobic Chemoheterotrophy)细菌, 具有相关功能的细菌群落相对丰度最高(14.6%–23.6%); 光能自养型及光能异养型细菌丰度较低, 仅有 0.12%–2.09%,

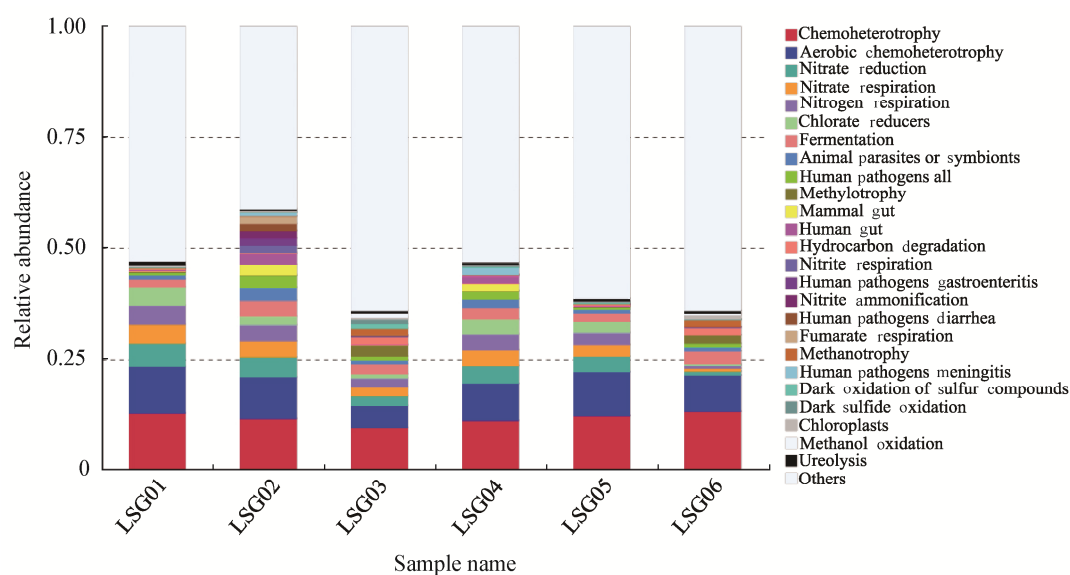


图 5 沉积物细菌 FAPROTAX 功能注释相对丰度柱形图

Figure 5 FAPROTAX functional annotation of the bacterial communities in sediments

这与水库属峡谷型水库且水库水深较深而光照不足有关。与氮循环相关的功能微生物(Nitrate Respiration、Nitrate Reduction、Nitrogen Respiration、Nitrite Respiration、Nitrogen Fixation 等)总相对丰度较高(2.84%–15.17%),并沿水流方向呈逐渐降低的趋势,这与水库来水方向有较多居民并且存在污水直排的情况有很大关系。具有发酵功能基因(Fermentation)的群落相对丰度介于 1.8%–3.6%之间。碳循环相关的功能微生物<sup>[34]</sup>(Methanotrophy、Methanol Oxidation、Methylotrophy、Methanogenesis 等)总相对丰度在各采样点均较低,介于 0.47%–7.95%之间。与硫循环相关的功能微生物(Dark Oxidation of Sulfur Compounds、Sulfate Respiration、Sulfite Respiration 等)总相对丰度介于 0.74%–4.05%之间。在各采样点均检测到了人类病原细菌的相关功能微生物,在 LSG02 点最高达到了 14.24%,其次是 LSG04 达到 8.46%,其余各点均在 1%–2%之间。此外,在各采样点还检测到相对丰度较低的铁氧化及锰氧化相关功能微生物。

### 3 讨论

#### 3.1 冷水沟水库细菌群落组成特征

目前有不少学者研究了在极高镉浓度(大于 1 000 mg/kg)环境下土壤及河流沉积物中微生物的群落结构特征<sup>[10,35-36]</sup>,但对于镉矿影响下水库的细菌群落结构特征的研究鲜见报道。本研究选取 2015 年初建成蓄水的冷水沟水库作为研究对象,水库沉积物总镉浓度达到 243.93–287.95 mg/kg,远高于贵州省水系沉积物背景值(1.35 mg/kg)<sup>[23]</sup>,也远高于全国土壤镉的背景值(0.8–3.0 mg/kg)<sup>[37]</sup>,除受镉污染较严重外,水库沉积物中砷和镉污染也较为严重。本实验基于 Illumina NovaSeq 测序平台对冷水沟水库表层沉积物细菌群落进行研究,发现沉积物细菌主要由变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、脱硫杆菌(*Desulfobacter*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、*Actinobacteriota*、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)等 81 个门

和脱氯单胞菌属(*Dechloromonas*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、埃希氏杆菌属-志贺氏杆菌(*Escherichia-Shigella*)、硫弯曲菌属(*Sulfuricurvum*)、砂单胞菌属(*Arenimonas*)等 570 个属组成。此外水库中有较多的未识别菌群,说明极有可能存在新的未知菌群<sup>[38]</sup>。从整体群落组成来说,冷水沟水库沉积物主要细菌群落门类与之前研究的镉矿区土壤<sup>[7,20,36]</sup>、河流沉积物<sup>[10,39-40]</sup>、污水厂污泥<sup>[11]</sup>、丹江口水库<sup>[41]</sup>、滇池<sup>[42-43]</sup>等淡水湖泊沉积物及海洋沉积物<sup>[44-45]</sup>等细菌种类相似,研究证明这些细菌门在有机污染物降解、碳循环、氮循环和硫循环等生态系统的生物地球化学循环过程中起到极重要作用<sup>[46-50]</sup>。在门水平具体分类上,变形菌门(*Proteobacteria*)相对丰度明显低于同地区镉污染严重的土壤(40%–80%)<sup>[36]</sup>和在极端条件下的矿山酸性废水库(Acid Mine Drainage, AMD)沉积物(>90%)<sup>[51-52]</sup>,也略低于河流沉积物<sup>[10]</sup>。除变形菌门(*Proteobacteria*)外,冷水沟水库中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、脱硫杆菌(*Desulfobacter*)呈现较高丰度。研究表明,*Bacteroidetes* 包含了 *Fulvivirga* 等与磷循环关系密切的属<sup>[53]</sup>,脱硫杆菌(*Desulfobacter*)则与水库的硫循环密切相关<sup>[46,54]</sup>,这 2 个门相对丰度相对较高,这与水库周边居民污水直排以及硫酸盐的滞留沉积有很大关系。上游矿区污染及居民生活污水共同塑造了冷水沟水库的细菌群落特征,细菌功能预测分析结果也能从侧面反映这一点。

#### 3.2 上游镉矿等采选冶行为对水库细菌群落的影响

冷水沟水库上游共有 4 个矿区,目前只有东峰镉矿仍在采选,距水库 20 km,经沿途衰减,水库镉的平均浓度为 71.86  $\mu\text{g/L}$ ,约为《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006)<sup>[25]</sup>中规定镉浓度限值的 14 倍,远高于世界范围内典型的未污染水体中的镉浓度(1  $\mu\text{g/L}$ )<sup>[55]</sup>,同时根据重金属污染负荷指数评价结果,As、Cd 污染也较为严重。镉的迁移性及其生物毒性与镉在沉积物中的存在形态有极大的相关性<sup>[56]</sup>,一般认为 BCR 顺序提取法得到的不同提取

形态的生物有效性排序为:弱酸提取态>可还原态>可氧化态>残渣态<sup>[31]</sup>。根据各水平上细菌群落丰度与锑的不同形态及其他重金属指标的 Pearson 相关性分析结果表明,锑的不同提取形态与不同分类水平上的细菌群落均有显著的相关性,这与 Sun 等<sup>[10]</sup>研究锑污染严重的河流沉积物中细菌群落结构得出的结论相似。然而 As、Cd 等重金属对细菌群落结构没有显著的影响。虽然锑等重金属可能会对某一个具体群落产生显著的影响,但是各点的微生物多样性( $\alpha$ 多样性)与重金属含量没有显著的相关性,重金属并未影响细菌群落的多样性。这与研究重金属对深港红树林沉积物细菌多样性的影响时发现重金属对微生物多样性并无显著影响而重金属可能对某一等级群落内微生物多样性产生显著影响的结论有一致性<sup>[12]</sup>。谢学辉等<sup>[57]</sup>、Du 等<sup>[58]</sup>的研究同样得出了相似的结论,即重金属对微生物多样性影响不大,这可能与微生物对重金属的适应性及选择性有关。

#### 4 结论

本实验对受活跃锑矿开采活动影响下的水库沉积物中重金属及细菌群落结构和功能预测分析展开研究,采用高通量测序技术研究表层沉积物细菌群落结构特征及不同提取形态锑的影响,并采用 FAPROTAX 软件预测其功能,结果表明:

(1) 冷水沟水库的细菌群落较为丰富,主要由变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、脱硫杆菌(*Desulfobacter*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)等 81 个门和脱氯单胞菌属(*Dechloromonas*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、埃希氏杆菌属-志贺氏杆菌(*Escherichia-Shigella*)、硫弯曲菌属(*Sulfuricurvum*)等 570 个属组成。

(2) 沉积物中 Sb、As、Cr、Ni、Cu、Zn、Cd、Pb 等重金属及 TN (%)、TC (%)、C/N 等理化指标对细菌多样性( $\alpha$ 多样性)无显著影响,但不同提取形态的锑及水溶态锑与多个不同分类水平下的细菌群落有显著的相关性。污染负荷指数评价结果表

明水库区域重金属污染较重( $I_{PLZONE}>3$ )。

(3) 冷水沟水库细菌功能主要为化能异养(包括 Chemoheterotrophy、Aerobic Chemoheterotrophy)、氮碳硫等生物地球循环相关功能以及人类病原致病功能,这与水库的地理条件、周边环境及污染物类型有较大的相关性。

#### REFERENCES

- [1] Gebel T. Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 1997, 107(3): 131-144
- [2] Hammel W, Debus R, Steubing L. Mobility of antimony in soil and its availability to plants[J]. *Chemosphere*, 2000, 41(11): 1791-1798
- [3] Ning ZP, Xiao QX, Lan XL, Liu YZ, Xiao TF, Zhao YL, Wu SL. Spatial distribution characteristics and potential ecological risk of antimony and selected heavy metals in sediments of Duliujiang river[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(7): 2784-2792 (in Chinese)  
宁增平, 肖青相, 蓝小龙, 刘意章, 肖唐付, 赵彦龙, 吴世良. 都柳江水系沉积物锑等重金属空间分布特征及生态风险[J]. *环境科学*, 2017, 38(7): 2784-2792
- [4] Filella M, Williams PA. Antimony interactions with heterogeneous complexants in waters, sediments and soils: a review of binding data for homologous compounds[J]. *Geochemistry*, 2012, 72: 49-65
- [5] Belzile N, Chen YW, Filella M. Human exposure to antimony: I. sources and intake[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2011, 41(14): 1309-1373
- [6] Feng RW, Wei CY, Tu SX, Ding YZ, Wang RG, Guo JK. The uptake and detoxification of antimony by plants: a review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 96: 28-34
- [7] Majzlan J, Lalinska B, Chovan M, Blass U, Brecht B, Gottlicher J, Steininger R, Hug K, Ziegler S, Gescher J. A mineralogical, geochemical, and microbiological assessment of the antimony- and arsenic-rich neutral mine drainage tailings near Pezinok, Slovakia[J]. *American Mineralogist*, 2011, 96(1): 1-13
- [8] Luo JM, Bai YH, Liang JS, Qu JH. Metagenomic approach reveals variation of microbes with arsenic and antimony metabolism genes from highly contaminated soil[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e108185
- [9] Yu XY, Zhang PJ, Zhang JW, Chen F, Yang YF. Characteristics of distribution patterns of microbial biomass and community structures in the sediments from urban river[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(2): 585-596 (in Chinese)

- 于小彦, 张平究, 张经纬, 陈芳, 杨艳芳. 城市河流沉积物微生物量分布和群落结构特征[J]. 环境科学学报, 2020, 40(2): 585-596
- [10] Sun WM, Xiao EZ, Dong YR, Tang S, Krumins V, Ning ZP, Sun M, Zhao YL, Wu SL, Xiao TF. Profiling microbial community in a watershed heavily contaminated by an active antimony (Sb) mine in Southwest China[J]. The Science of the Total Environment, 2016, 550: 297-308
- [11] Wang JW, Liu T, Sun WL, Chen Q. Bioavailable metal(loid)s and physicochemical features co-mediating microbial communities at combined metal(loid) pollution sites[J]. Chemosphere, 2020, 260: 127619
- [12] Ding SL, Zhang QJ, Dong J, Chen ZW, Chen S. Microbial community structure and its relationship to heavy metals in Shenzhen and Hong Kong mangrove sediments[J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(10): 3018-3030 (in Chinese)  
丁苏丽, 张祁灵, 董俊, 陈总威, 陈思. 深港红树林沉积物微生物群落多样性及其与重金属的关系[J]. 生态学杂志, 2018, 37(10): 3018-3030
- [13] Fan CX. Advances and prospect in sediment-water interface of lakes: a review[J]. Journal of Lake Sciences, 2019, 31(5): 1191-1218 (in Chinese)  
范成新. 湖泊沉积物—水界面研究进展与展望[J]. 湖泊科学, 2019, 31(5): 1191-1218
- [14] Nemati K, Bakar NKA, Abas MR, Sobhanzadeh E. Speciation of heavy metals by modified BCR sequential extraction procedure in different depths of sediments from Sungai Buloh, Selangor, Malaysia[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 192(1): 402-410
- [15] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963
- [16] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336
- [17] Haas BJ, Gevers D, Earl AM, Feldgarden M, Ward DV, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander SK, Sodergren E, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. Genome Research, 2011, 21(3): 494-504
- [18] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998
- [19] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267
- [20] Sun XX, Kong TL, Xu R, Li BQ, Sun WM. Comparative characterization of microbial communities that inhabit arsenic-rich and antimony-rich contaminated sites: responses to two different contamination conditions[J]. Environmental Pollution, 2020, 260: 114052
- [21] Tomlinson DL, Wilson JG, Harris CR, Jeffrey DW. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index[J]. Helgoländer Meeresuntersuchungen, 1980, 33(1/2/3/4): 566-575
- [22] Chen M, Cai QY, Xu H, Zhao L, Zhao YH. Research progress of risk assessment of heavy metals pollution in water body sediments[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2015, 24(6): 1069-1074 (in Chinese)  
陈明, 蔡青云, 徐慧, 赵玲, 赵永红. 水体沉积物重金属污染风险评估研究进展[J]. 生态环境学报, 2015, 24(6): 1069-1074
- [23] He SL. Geochemical background of supergene sediments in Guizhou[J]. Guizhou Geology, 1998, 15(2): 149-156 (in Chinese)  
何邵麟. 贵州表生沉积物地球化学背景特征[J]. 贵州地质, 1998, 15(2): 149-156
- [24] Yan MC, Chi QH, Gu TX, Wang CS. Average element content of various sediments in China[J]. Geophysical and Geochemical Exploration, 1995, 19(6): 468-472 (in Chinese)  
鄢明才, 迟清华, 顾铁新, 王春书. 中国各类沉积物化学元素平均含量[J]. 物探与化探, 1995, 19(6): 468-472
- [25] Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB 5749-2006 Standards for drinking water quality[S]. Beijing: Standards Press of China, 2006 (in Chinese)  
中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [26] Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB 3838-2002 Environmental quality standards for surface water[S]. Beijing: China Environmental Press, 2002 (in Chinese)  
国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. GB 3838-2002 地表水环境质量标准[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002
- [27] Chakraborty P, Raghunadh Babu PV, Vudamala K, Ramteke D, Chennuri K. Mercury speciation in coastal sediments from the central east Coast of India by modified BCR method[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 81(1): 282-288
- [28] Rosado D, Usero J, Morillo J. Ability of 3 extraction methods (BCR, Tessier and protease K) to estimate bioavailable metals in sediments from Huelva estuary (Southwestern Spain)[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 102(1): 65-71

- [29] Mittermüller M, Saatz J, Daus B. A sequential extraction procedure to evaluate the mobilization behavior of rare earth elements in soils and tailings materials[J]. *Chemosphere*, 2016, 147: 155-162
- [30] Gao YH, Yu ZH, Liu FF, Dong MM. Study and development of sequential extraction procedures for the speciation of particulate trace metals analysis in marine sediments[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2008(1): 140-145 (in Chinese)  
高玉花, 于增慧, 刘菲菲, 董明明. 海洋沉积物的顺序淋滤萃取分析研究现状与发展趋势[J]. *海洋湖沼通报*, 2008(1): 140-145
- [31] Martin R, Sanchez DM, Gutierrez AM. Sequential extraction of U, Th, Ce, La and some heavy metals in sediments from Ortigas river, Spain[J]. *Talanta*, 1998, 46(5): 1115-1121
- [32] Sheik CS, Mitchell TW, Rizvi FZ, Rehman Y, Faisal M, Hasnain S, McInerney MJ, Krumholz LR. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40059
- [33] Louca S, Parfrey LW, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. *Science*, 2016, 353(6305): 1272-1277
- [34] Li CC, Gan YD, Dong JY, Fang JH, Chen H, Quan Q, Liu J. Impact of microplastics on microbial community in sediments of the Huangjinxia Reservoir: water source of a water diversion project in Western China[J]. *Chemosphere*, 2020, 253: 126740
- [35] Wang J, Li SJ, Chen TH, Zhang H, Zhang N, Yue ZB. Effects of heavy metals on the performance of anaerobic sulfidogenic reactor using rape straw as carbon source[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2012, 67(7): 2161-2167
- [36] Sun WM, Xiao EZ, Xiao TF, Krumins V, Wang Q, Häggblom M, Dong YR, Tang S, Hu M, Li BQ, et al. Response of soil microbial communities to elevated antimony and arsenic contamination indicates the relationship between the innate microbiota and contaminant fractions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(16): 9165-9175
- [37] He MC, Wang XQ, Wu FC, Fu ZY. Antimony pollution in China[J]. *The Science of the Total Environment*, 2012, 421/422: 41-50
- [38] Jiang JS, Wang Y, Liu J, Yang XL, Ren YQ, Miao HH, Pan YW, Lv J, Yan GX, Ding LJ, et al. Exploring the mechanisms of organic matter degradation and methane emission during sewage sludge composting with added vesuvianite: insights into the prediction of microbial metabolic function and enzymatic activity[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 286: 121397
- [39] Abia ALK, Alisoltani A, Keshri J, Ubomba-Jaswa E. Metagenomic analysis of the bacterial communities and their functional profiles in water and sediments of the Apies river, South Africa, as a function of land use[J]. *The Science of the Total Environment*, 2018, 616/617: 326-334
- [40] Yuan RQ, Lü JL, Wang SQ. Characteristics of seasonal variation of microbial composition and structure in upstream sediment of the Fen river[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, 39(7): 2190-2199 (in Chinese)  
袁瑞强, 吕嘉丽, 王仕琴. 受引黄影响的河流沉积物细菌群落季节变化[J]. *环境科学学报*, 2019, 39(7): 2190-2199
- [41] Yin XW, Tian W, Ding Y, Sun F, Yuan J, Li YY, Chen ZJ. Composition and predictive functional analysis of bacterial communities in surface sediments of the Danjiangkou Reservoir[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, 30(4): 1052-1063 (in Chinese)  
阴星望, 田伟, 丁一, 孙峰, 袁键, 李玉英, 陈兆进. 丹江口库区表层沉积物细菌多样性及功能预测分析[J]. *湖泊科学*, 2018, 30(4): 1052-1063
- [42] Ji BH, Li W, Chang JJ, Li X, Si GZ, He F, Chen JQ. Characteristics of bacterial community structure in sediments with different emergent plants in Dianchi lakeside wetland[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(3): 390-398 (in Chinese)  
寄博华, 李玮, 常军军, 李璇, 司光正, 何芳, 陈金全. 滇池湖滨湿地不同挺水植物区沉积物细菌群落结构特征[J]. *生态与农村环境学报*, 2020, 36(3): 390-398
- [43] Yang WH, Shi DJ, Zhang Y, Li WP, Jing SY, Yu LH. Community characteristics of denitrifying microorganisms in plateau lake sediments: taking Nanhaihu lake as example[J]. *China Environmental Science*, 2020, 40(1): 431-438 (in Chinese)  
杨文焕, 石大钧, 张元, 李卫平, 敬双怡, 于玲红. 高原湖泊沉积物中反硝化微生物的群落特征: 以包头南海湖为例[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(1): 431-438
- [44] Su J, Ming HX, Chen QR, Zhang CX, Guan DM, Fan JF. Analysis on bacterial diversity in Nansha deep-sea sediments[J]. *Journal of Biology*, 2020, 37(1): 50-53 (in Chinese)  
苏洁, 明红霞, 陈泉睿, 张春鑫, 关道明, 樊景凤. 南沙海区深海沉积物中细菌多样性分析[J]. *生物学杂志*, 2020, 37(1): 50-53
- [45] Zhang QF, Yang C, Yu S, Liu CY, Chi NY. Bacterial diversity of marine sediments in the Yellow Sea[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(2): 370-378 (in Chinese)  
张庆芳, 杨超, 于爽, 刘春莹, 迟乃玉. 黄海海域海洋沉积物细菌多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(2): 370-378
- [46] Chen JS, Yang J, Jiang HC. Research progress on microbes involved in lacustrine sulfur cycling[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(6): 1177-1191 (in Chinese)



- 陈俊松, 杨渐, 蒋宏忱. 湖泊硫循环微生物研究进展[J]. 微生物学报, 2020, 60(6): 1177-1191
- [47] Zheng BX, Zhu YG, Sardans J, Peñuelas J, Su JQ. QMEC: a tool for high-throughput quantitative assessment of microbial functional potential in C, N, P, and S biogeochemical cycling[J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(12): 1451-1462
- [48] Inagaki F, Nunoura T, Nakagawa S, Teske A, Lever M, Lauer A, Suzuki M, Takai K, Delwiche M, Colwell FS, et al. Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(8): 2815-2820
- [49] Cheng W, Zhang JX, Wang Z, Wang M, Xie SG. Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir[J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 64(2): 875-878
- [50] Niu FX, Ji FY, Zhao G, Zhang Q, Shen QS, He Q, Yan HB. Vertical distribution of bacterial communities in sediments of Longjing Lake[J]. *China Environmental Science*, 2017, 37(6): 2322-2331 (in Chinese)
- 牛凤霞, 吉芳英, 赵艮, 张倩, 沈秋实, 何强, 颜海波. 龙景湖沉积物的细菌群落垂直分布特征[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(6): 2322-2331
- [51] Cao ZM, Banda J, Pei LX, Wei PF, Xin RR, Dong HY, Hao CB. Microbial community structure characteristics in different mine drainage lakes of an iron mine in Anhui Province[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 1076-1088 (in Chinese)
- 曹子敏, Joseph Frazer Banda, 裴理鑫, 卫朋飞, 辛瑞瑞, 董慧渊, 郝春博. 安徽某铁矿不同矿山废水库中微生物群落结构特征[J]. *微生物学报*, 2019, 59(6): 1076-1088
- [52] Liu S, Cao XX, Wu P, Yang SD, Fei XH, Chen MZ, Liao JH. Characteristics of bacterial community structure in the reservoir affected by acid mine drainage and its relationship with environmental factors[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(12): 4349-4357 (in Chinese)
- 刘闪, 曹星星, 吴攀, 杨诗笛, 费学海, 陈满志, 廖家豪. 酸性矿山废水影响下水库细菌群落结构特征与环境因子关系[J]. *环境科学学报*, 2020, 40(12): 4349-4357
- [53] Liu JS, Ma Q, Hui XL, Ran JY, Ma QX, Wang XS, Wang ZH. Long-term high-P fertilizer input decreased the total bacterial diversity but not phoD-harboring bacteria in wheat rhizosphere soil with available-P deficiency[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 149: 107918
- [54] Dong SB, Li N, Xu JF, Li JQ. Influence of high-sulfur coal cover on composition and diversity of soil bacterial community in mining areas[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(3): 710-721 (in Chinese)
- 董书博, 李宁, 许继飞, 李静泉. 矿区高硫煤覆盖对土壤细菌群落组成和多样性的影响[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(3): 710-721
- [55] Filella M, Belzile N, Chen YW. Antimony in the environment: a review focused on natural waters: I. Occurrence[J]. *Earth-Science Reviews*, 2002, 57(1/2): 125-176
- [56] Savonina EY, Fedotov PS, Wennrich R. Fractionation of Sb and As in soil and sludge samples using different continuous-flow extraction techniques[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403(5): 1441-1449
- [57] Xie XH, Fan FX, Yuan XW, Zhu WX, Liu N, Ping J, Liu JS. Impact on microbial diversity of heavy metal pollution in soils near Dexing copper mine tailings[J]. *Microbiology China*, 2012, 39(5): 624-637 (in Chinese)
- 谢学辉, 范凤霞, 袁学武, 朱文祥, 刘娜, 平婧, 柳建设. 德兴铜矿尾矿重金属污染对土壤中微生物多样性的影响[J]. *微生物学通报*, 2012, 39(5): 624-637
- [58] Du HX, Harata N, Li FS. Responses of riverbed sediment bacteria to heavy metals: integrated evaluation based on bacterial density, activity and community structure under well-controlled sequencing batch incubation conditions[J]. *Water Research*, 2018, 130: 115-126