



## 安徽省某酸性矿山废水坑湖中细菌群落的垂向分布特征及其影响因素

潘鑫<sup>1,2</sup>, 余智祥<sup>1,2</sup>, 邵锐<sup>1,2</sup>, 杨程<sup>1,2</sup>, 王绍平<sup>3</sup>, 王广成<sup>3</sup>, 岳正波<sup>1,2</sup>, 王进<sup>1,2\*</sup>

1 合肥工业大学资源与环境工程学院, 安徽 合肥 230009

2 合肥工业大学纳米矿物与污染控制安徽省高等学校重点实验室, 安徽 合肥 230009

3 安徽马钢矿业资源集团南山矿业有限公司, 安徽 马鞍山 243000

潘鑫, 余智祥, 邵锐, 杨程, 王绍平, 王广成, 岳正波, 王进. 安徽省某酸性矿山废水坑湖中细菌群落的垂向分布特征及其影响因素. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2090–2103.

Pan Xin, She Zhixiang, Shao Rui, Yang Cheng, Wang Shaoping, Wang Guangcheng, Yue Zhengbo, Wang Jin. Vertical spatial distribution of bacteria in a pit lake affected by acid mine drainage in Anhui Province and its influencing factors. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2090–2103.

**摘要:** 【目的】探究酸性矿山废水(acid mine drainage, AMD)坑湖中细菌群落沿垂向不同水深的分布规律及与环境因子之间的相互作用。【方法】采用 16S rRNA 基因高通量测序技术, 对安徽省某 AMD 坑湖中 6 条采样垂线不同水深深度的细菌群落进行调查, 同时测定水质理化指标, 使用统计学软件分析细菌和地化参数间的联系。【结果】AMD 坑湖中水质特征及细菌群落结构出现明显分层现象, 自上而下溶解氧降低而 pH 和多种金属离子浓度增加, 微生物群落结构发生变化, 多样性和部分物种的丰度增大。细菌群落组成上, 表层水域以 *Proteobacteria* (*Alpha*、*Gammaproteobacteria*) 和 *Acidobacteria* 占据主导地位; 中下层水域则由 *Firmicutes*、*Acidobacteria*、*Actinobacteria*、*Gammaproteobacteria* 和 *Patescibacteria* 等共同主导。统计分析结果表明, TN、DO、ORP、pH、Fe、Mn、Al 和 Zn 与嗜酸细菌丰度显著相关, 是细菌空间分布的主要限制因素。【结论】AMD 坑湖中水质理化特征和细菌群落分布在垂向空间上存在显著差异, 群落的垂向分层特征是由多种环境因子共同作用下的结果。本研究对深入了解 AMD 的微生物分布规律及对 AMD 的原位生物修复和治理具有参考价值。

**关键词:** 酸性矿山废水; 酸性坑湖; 垂向分布; 细菌群落; 环境梯度

**基金项目:** 国家自然科学基金(U20A20325, 41772361)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (U20A20325, 41772361)

\*Corresponding author. E-mail: sophiawj@hfut.edu.cn

Received: 7 August 2021; Revised: 19 October 2021; Published online: 22 April 2022

# Vertical spatial distribution of bacteria in a pit lake affected by acid mine drainage in Anhui Province and its influencing factors

PAN Xin<sup>1,2</sup>, SHE Zhixiang<sup>1,2</sup>, SHAO Rui<sup>1,2</sup>, YANG Cheng<sup>1,2</sup>, WANG Shaoping<sup>3</sup>,  
WANG Guangcheng<sup>3</sup>, YUE Zhengbo<sup>1,2</sup>, WANG Jin<sup>1,2\*</sup>

1 School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, Anhui, China

2 Key Laboratory of Nanominerals and Pollution Control of Anhui Higher Education Institutes, Hefei University of Technology, Hefei 230009, Anhui, China

3 Nanshan Mining Company Ltd., Anhui Ma'anshan Iron and Steel Mining Resources Group Co. Ltd., Ma'anshan 243000, Anhui, China

**Abstract:** [Objective] The purpose of this paper is to explore the distribution of bacterial communities along different water depths in a pit lake affected by acid mine drainage (AMD) and its relationship with environmental factors. [Methods] The 16S rRNA gene high-throughput sequencing technology was used to investigate the bacterial communities along different water depths at 6 sampling sites in the lake. The physicochemical indexes of water quality were measured at the same time. The relationship between bacterial distribution and water physicochemical indexes was analyzed by statistical software. [Results] The physicochemical properties and bacterial distribution showed obvious stratification. Dissolved oxygen (DO) decreased while pH and concentrations of metal ions increased from top to bottom. Meanwhile, the bacterial diversity and the abundance of some species increased from top to bottom. *Proteobacteria* (*Alpha*, *Gammaproteobacteria*) and *Acidobacteria* were dominated in the surface water, while *Firmicutes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Patescibacteria* were rich in the middle- and deep-layer water. The total nitrogen (TN), DO, oxidation-reduction potential (ORP), pH, Fe, Mn, Al and Zn were significantly correlated with the abundance of acidophilic bacteria, which were the main factors influencing the spatial distribution of bacteria. [Conclusion] The distribution of bacteria in the pit lake affected by AMD showed an obvious vertical pattern, which was caused by the joint action of various environmental factors. This study has reference value for understanding the microbial distribution in the AMD-influencing pit lake and *in situ* bioremediation of AMD.

**Keywords:** acid mine drainage; pit lake; vertical distribution; bacterial community; environmental gradient

酸性矿山废水(acid mine drainage, AMD)作为常见的极端环境之一，是在矿山开采活动中金属硫化矿物(如黄铜矿、黄铁矿)长期暴露于露天环境，受微生物驱动，在大气、水共同作用下发生氧化性溶解过程形成的污染性水体<sup>[1-2]</sup>。因其具有pH低(一般pH<3)、金属离子(Fe、Mg、Mn、Al等)浓度高以及硫酸盐浓度高等典型特征，AMD的治理亦是全球普遍存在的环境难题<sup>[3-6]</sup>。各矿区中AMD汇集于矿坑或地

形低洼处形成大量酸性坑湖，其中部分大型酸性坑湖，如Iberian Pyrite Belt (IPB)采矿带的多个矿山坑湖和我国大宝山等矿区的酸性坑湖，由于其AMD储量大、环境影响持续时间长以及修复难度高，引起了各界的广泛关注<sup>[7-9]</sup>。

AMD生境通常表现为微生物丰度少和多样性低的特点，是微生物研究领域的经典模式系统<sup>[10]</sup>。国内外学者针对AMD环境中微生物的物种多样性和功能多样性及其时空变化特征

已进行广泛的研究，如已知在该生境中优势菌种多属于变形菌门(*Proteobacteria*)的 $\alpha$ -和 $\gamma$ -变形菌纲，优势菌属为嗜酸性的铁硫氧化和/或还原菌属<sup>[5,11-13]</sup>。嗜酸或耐酸微生物是AMD生态系统的重要组成部分，在AMD形成演替和物质能量循环过程中扮演着关键角色<sup>[14-16]</sup>。如AMD形成初期，黄铁矿物的自然氧化溶解是个缓慢的过程，嗜酸性铁硫氧化菌属能极大加速该过程，最典型的物种如 *Acidithiobacillus* 和 *Leptospirillum*<sup>[5,16-17]</sup>。在构建AMD群落的环境因子中，pH往往被认为是调控群落分布及演替最重要的环境变量，其不仅能直接影响微生物的生长活性还能通过控制其他环境变量间接影响群落结构<sup>[18-19]</sup>。此外，其他环境变量如电导率，叶绿素a、有机碳、溶解氧、重金属离子和盐度等也是影响微生物群落构建的重要因子<sup>[20-22]</sup>。

通过对表层好氧酸性水体(如酸性径流、沟渠、浅层水滩)微生物群落结构时空变化特征及其与环境变量的交互作用的大量研究，业已证明，微生物群落在水平空间距离间的随机分布同环境变量联系紧密<sup>[19,23-24]</sup>。环境中细菌群落演变可以通过水质的理化特征变化来预测，同时在大尺度空间格局中发现生态系统的空间距离对物种分布的干扰尤为显著<sup>[23-25]</sup>。然而，由于对酸性坑湖水质和微生物群落特征沿垂向变化的报道相对有限，尚不能全面认识AMD环境的微生物群落变化及其演替规律。因此，需要以水体较深的酸性矿山坑湖为研究对象，沿垂向空间分析水质变化特征，研究微生物群落的特性、组成与分布规律，这对于充分理解AMD环境中微生物群落的演替及其与环境因子交互作用关系具有重要意义。

本研究以安徽省某形成约50年左右的AMD坑湖为研究对象，根据环境监测水质分析方法，设置不同采样垂线，采集不同水深梯度

水样，分析生态稳定的AMD坑湖中细菌群落的生物地理格局以及环境变量的梯度变化特征，从而揭示AMD坑湖中细菌群落结构的垂向变化特征及其与环境变量的相互作用关系。研究结果对深入了解AMD中微生物群落分布规律及其原位生物修复治理具有参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样点及样本采集

本研究采样时间为2019年6月，采样点位于安徽省马鞍山市某矿山酸性坑湖(31°38'49.96" N, 118°37'35.37" E)，该坑湖已形成有60多年，水生生态系统稳定。坑湖水面长约500 m，宽约250 m，中央区域最深约30 m，湖泊周边倾倒的废矿主要是周边矿产开采后遗留的废渣废石，Fe、S含量丰富。该地区矿产资源丰富，金属矿产以硫铁矿为主，其次为规模较小的黄铜矿；非金属矿产种类较多，主要有明矾石、莹石、高岭石、石膏、磷矿等。该区域年平均温度为16 °C，年降雨量约为900–1 100 mm，降雨及地表/地下径流是AMD的主要来源。为研究嗜酸微生物在不同水深处的分布情况，采样区域布设6条采样垂线，每个采样点按照4个水深梯度(分别为水下0.5、5、10、15 m)依次采集水样和微生物样品(图1)。利用有机玻璃采样器在每个深度采集3份500 mL水样储存于聚乙烯采样瓶，经预处理后用于理化指标和重金属离子分析。微生物样品采用0.22 μm混合纤维素酯滤膜富集，每片滤膜富集400–500 mL AMD水样。所有样品于4 °C低温冷藏脱氧保存并迅速运至合肥工业大学实验室测定。

### 1.2 理化指标测定

AMD坑湖的温度(temperature, T)、pH、溶解氧(dissolved oxygen, DO)、氧化还原电位(oxidation reduction potential, ORP)等指标利用

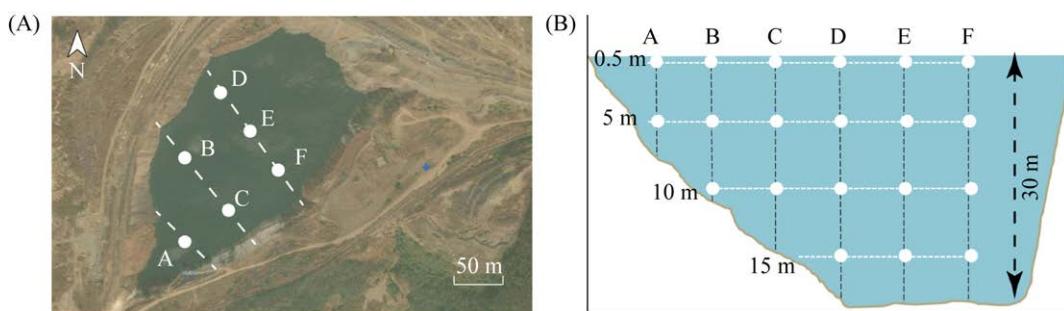


图 1 AMD 坑湖的采样垂线(A)和采样深度(B)示意图

Figure 1 Schematic diagram of sampling vertical line (A) and sampling depth (B) of AMD pit lake.

六位参数仪(MYRONL 6PFC)现场测定,记录保存数据。经预处理低温冷藏保存的水样过膜后采用 TOC 仪(耶拿 multi N/C 3000)测定总氮(total nitrogen, TN)、溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)、溶解性无机碳(dissolved inorganic carbon, DIC)含量; 磷酸盐(phosphate,  $\text{PO}_4^{3-}$ )和氨氮(ammonia nitrogen,  $\text{NH}_4\text{-N}$ )含量分别按照标准方法采用钼酸铵和纳氏试剂分光光度法测定; 硫酸盐浓度用离子色谱法(戴安 ICS-900)进行测定; 溶解性重金属离子(Mn、总 Fe、Mg、Al、Cu、Zn、Cd、Cr)采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)进行测定, 亚铁 Fe(II)采用邻菲罗啉分光光度法测定。

### 1.3 DNA 提取、高通量测序及数据处理

所有样品 DNA 采用 FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedical)试剂盒进行提取, 用微量分光光度计(NanoDrop ND-100)测定 DNA 浓度。利用通用引物 F515 (5'-GTGYCAGCM GCCGCGGTAA-3') 和 R806 (5'-GGACTACNV GGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因 V4 区。按照 NEBNext<sup>®</sup> Ultra<sup>TM</sup> DNA Library Prep Kit for Illumina 标准流程进行建库操作, 利用广东美格基因科技有限公司 Illumina Hiseq2500 平台对构建的扩增子文库进行 PE250 测序。

对于原始数据(raw reads), 利用 FASTP (<https://github.com/OpenGene/fastp>) 进行质量过

滤, 去除低质量的 reads; 再利用 Usearch (<http://www.drive5.com/usearch/>) 进行拼接组装, UPARSE 算法对组装好的序列进行聚类, 默认以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTU (operational taxonomic units), 最后利用 SILVA SSU rRNA 数据库 (v138) 进行物种注释。

利用 R 语言(v4.0; <http://www.r-project.org/>) “vegan”程序包计算  $\alpha$  多样性指数(Chao1、Shannon、Simpson)用以确定物种的丰富度和分布均匀性, 同时观察测序深度能否反映绝大多数物种的多样性; 基于 Bray-Curtis 距离对  $\beta$  多样性进行分析(PCoA、NMDS、heatmap)来分析不同样本间的组成及差异情况; 通过统计学软件(R)进行 Spearman 和冗余分析(redundancy analysis, RDA)的交互分析, 探究细菌同环境因子间的相互关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 AMD 坑湖理化性质

4 个水深梯度的理化参数测定结果表明, 该 AMD 坑湖含有高浓度硫酸盐(14 918–33 283 mg/L) 及多种溶解性有毒金属离子。如表 1 所示, 水深 0.5 m 区域的理化参数同 5.0–15.0 m 区域相比存在显著差异, 表明坑湖水质在垂向分布上出现分层现象, 因此将其分为表层水域(水下 0.5 m)和中下层水域(5.0–15.0 m)。

在该坑湖中表层 pH 约为 3.07, 在中下层水体增至 3.37–3.50。氧化还原电位(ORP)和溶解氧(DO)表明该水库整体为好氧状态, ORP 在 0.5 m 处为 +535 mV 左右, 5.0–15.0 m 水深处降低至 +357–+296 mV; DO 含量则由 11.77 mg/L 降低至 2–4 mg/L。

该坑湖中高含量的重金属离子主要来源于矿物的溶解释放, 含量最高的分别为 Mg、Al、Mn、Fe, 微量元素 Cd 和 Cr 也有检测出, 且金属离子(除 Cu 外)均表现出在中下层水体富集的趋势。其中, Fe 因生物及大气氧化作用在表层以 Fe(III)形式存在, 同时由于 Fe(III)在低 pH 高硫酸盐环境中容易形成施氏矿物、水铁矿等次生矿物向下沉降, 故表层(0.5 m)处 Fe 浓度处于一个适中的范围(TFe 为  $106 \pm 7.37$  mg/L, Fe(III) 为  $88.61 \pm 6.82$  mg/L), 在中下层(5.0–15.0 m)处则以 Fe(II)为主, 浓度为 366–532 mg/L; Cu 离子含

量随着水深增加由 40.64 mg/L 降至 35.50 mg/L。

碳氮磷等元素沿深度的分布趋势同金属离子类似, 在中下层水域检测到了最高的含量。坑湖整体 DOC 含量约为 3–5 mg/L, 中下层水域含量略高; DIC 的垂向分层特征更为明显, 表层含量处于很低水平, 为 1.30 mg/L, 部分位点甚至未检测出, 而在中下层水体发现了较高的 DIC, 约为 26–53 mg/L。水体中无机氮以氨氮为主同时含有微量硝酸盐, 总氮含量在表层约为 3.6 mg/L, 中下层约为 12 mg/L。 $\text{PO}_4^{3-}$  浓度在表层和中下层水域含量分别约为 1.85 mg/L 和 21.23–25.07 mg/L。因此, 酸性坑湖的营养条件呈现为表层匮乏而中下层相对丰富。

## 2.2 AMD 坑湖中细菌的多样性分布

利用 16S rRNA 基因片段的高通量测序从 20 个样品中一共获得了 2 868 971 条序列, 通过相似度阈值为 0.97 聚类出 1 805 个 OTUs。稀

**表 1 AMD 坑湖不同深度水体样品的理化性质**

Table 1 Physicochemical factors of water samples from AMD pit lake at different depths (m)

Parameters	0.5	5.0	10.0	15.0
$T/^\circ\text{C}$	$23.13 \pm 1.52$	$23.40 \pm 1.22$	$23.18 \pm 1.10$	$23.67 \pm 1.10$
pH	$3.07 \pm 0.06$	$3.45 \pm 0.05$	$3.43 \pm 0.06$	$3.43 \pm 0.05$
$c(\text{DO})/(\text{mg/L})$	$11.77 \pm 2.37$	$3.51 \pm 1.05$	$3.51 \pm 1.00$	$3.83 \pm 0.58$
$c(\text{ORP})/(\text{mV})$	$535 \pm 21$	$318 \pm 22$	$330 \pm 27$	$343 \pm 3$
$c(\text{DOC})/(\text{mg/L})$	$3.70 \pm 1.52$	$4.77 \pm 0.57$	$4.05 \pm 0.40$	$4.61 \pm 0.32$
$c(\text{DIC})/(\text{mg/L})$	$1.30 \pm 1.57$	$39.99 \pm 12.35$	$41.94 \pm 11.55$	$33.37 \pm 7.30$
$c(\text{TN})/(\text{mg/L})$	$3.59 \pm 1.75$	$12.62 \pm 0.53$	$12.36 \pm 0.89$	$13.17 \pm 0.68$
$c(\text{NH}_4^+/\text{N})/(\text{mg/L})$	$1.20 \pm 0.27$	$3.11 \pm 0.32$	$3.11 \pm 0.43$	$4.11 \pm 0.80$
$c(\text{PO}_4^{3-})/(\text{mg/L})$	$2.06 \pm 0.35$	$25.58 \pm 3.06$	$23.06 \pm 4.22$	$21.58 \pm 0.69$
$c(\text{SO}_4^{2-})/(\text{mg/L})$	$17 329.00 \pm 1 311.00$	$25 114.00 \pm 2 966.00$	$28 701.00 \pm 1 150.00$	$28 684.00 \pm 3 868.00$
$c(\text{Mg})/(\text{mg/L})$	$2 233.00 \pm 180.00$	$5 137.00 \pm 415.00$	$4 975.00 \pm 526.00$	$4 868.00 \pm 235.00$
$c(\text{Al})/(\text{mg/L})$	$777.00 \pm 29.00$	$1 058.00 \pm 56.00$	$1 053.00 \pm 72.00$	$1 018.00 \pm 40.00$
$c(\text{Mn})/(\text{mg/L})$	$364.00 \pm 26.00$	$796.00 \pm 50.00$	$768.00 \pm 65.00$	$763.00 \pm 29.00$
$c(\text{Cu})/(\text{mg/L})$	$40.64 \pm 1.10$	$37.34 \pm 0.49$	$37.26 \pm 0.71$	$35.50 \pm 2.54$
$c(\text{Zn})/(\text{mg/L})$	$20.29 \pm 1.24$	$36.45 \pm 2.66$	$37.22 \pm 2.17$	$36.10 \pm 1.22$
$c(\text{Total Fe})/(\text{mg/L})$	$106.00 \pm 7.37$	$480.00 \pm 60.00$	$454.00 \pm 69.00$	$456.00 \pm 47.00$
$c(\text{Fe(II)})/(\text{mg/L})$	$17.01 \pm 1.68$	$465.00 \pm 56.00$	$421.00 \pm 74.00$	$443.00 \pm 53.00$
$c(\text{Fe(III)})/(\text{mg/L})$	$88.61 \pm 6.82$	$15.09 \pm 11.10$	$33.45 \pm 15.68$	$13.39 \pm 5.11$
$c(\text{Cd})/(\text{mg/L})$	$0.150 \pm 0.005$	$0.240 \pm 0.008$	$0.240 \pm 0.008$	$0.240 \pm 0.005$
$c(\text{Cr})/(\text{mg/L})$	$0.040 \pm 0.003$	$0.050 \pm 0.005$	$0.050 \pm 0.007$	$0.050 \pm 0.003$

释曲线均趋于平坦, 说明测序数据量足够, 能有效反映出绝大多数细菌的微生物信息。本研究获得的所有原始序列均保存在 NCBI 序列数据库的 PRJNA723739 项目中, 生物样本登录号为 SAMN18828496–SAMN18828515。

Alpha 多样性分析结果如图 2A 所示, 表层水体细菌的 Shannon 和 Simpson 指数显著低于中下层( $P<0.05$ , Kruskal-Wallis test), 而物种丰富度指数(Richness 和 Chao1)表现为先下降后逐渐上升的趋势。细菌多样性指数的变化表明, 0.5–5.0 m 水生环境急剧的变化抑制了优势物种的活性甚至淘汰了部分物种, 而中下层(5.0–15.0 m)区域种群丰富度的上升体现出微生物对极端环境的耐受性逐渐增强。

基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析表征了群落的 beta 多样性(图 2B)。结果表明, 所有位点的群落可以聚类为 2 个区域, 0.5 m 的表层群落及 5.0–15.0 m 的中下层群落, 且 Anosim (analysis of similarities) 检验证明 2 个区域的细菌群落组

成在分类学上存在着显著差异( $P<0.05$ )。

### 2.3 AMD 坑湖中不同水深区域的细菌群落结构组成

为进一步了解微生物群落组成, 采用 RDP classifier 对 OTUs 进行物种注释。在门水平(图 3A), 表层水体以变形菌门(*Proteobacteria*)为主导, 其中 *Alphaproteobacteria* 为含量最高的类群, 相对丰度为 56.83%, 其次为  $\gamma$ -变形菌门(*Gammaproteobacteria*, 22.54%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 12.62%)和蓝细菌门(*Cyanobacteria*, 1.47%)。此外还有相对丰度低于 1% 的厚壁菌门(*Firmicutes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、WPS-2 等多种类群。同表层群落不同, 在中下层水体中原有优势类群 *Alphaproteobacteria* 相对丰度急剧下降, 仅占整体的 3.67%–5.23%, 而 *Firmicutes* (表层含量<1%)成为新的优势微生物, 相对丰度高达 39.01%–48.84%, 主要成员为杆菌纲(*Bacilli*, 26.51%–39.63%)和梭菌纲(*Clostridia*,

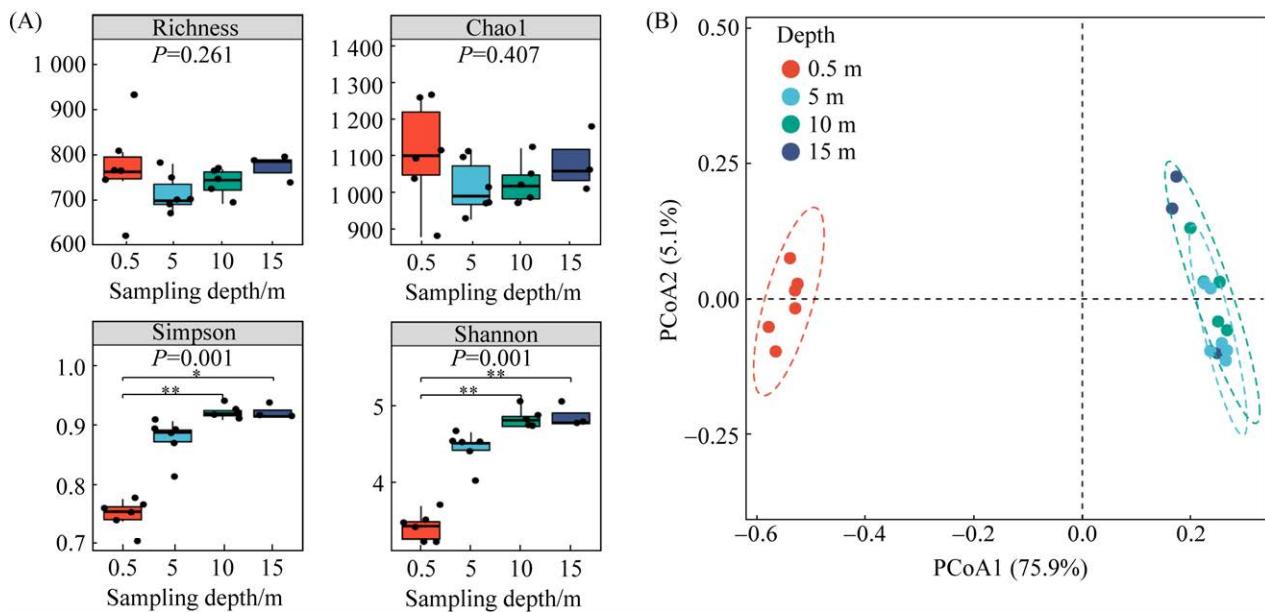


图 2 不同水深细菌群落的  $\alpha$  (A) 和  $\beta$  (B) 多样性

Figure 2 Alpha (A) and beta (B) diversity of bacterial communities at different water depths. Asterisks indicate significantly higher values in alpha diversity index ( $*P<0.05$ ;  $**P<0.01$ ; Dunn's test).

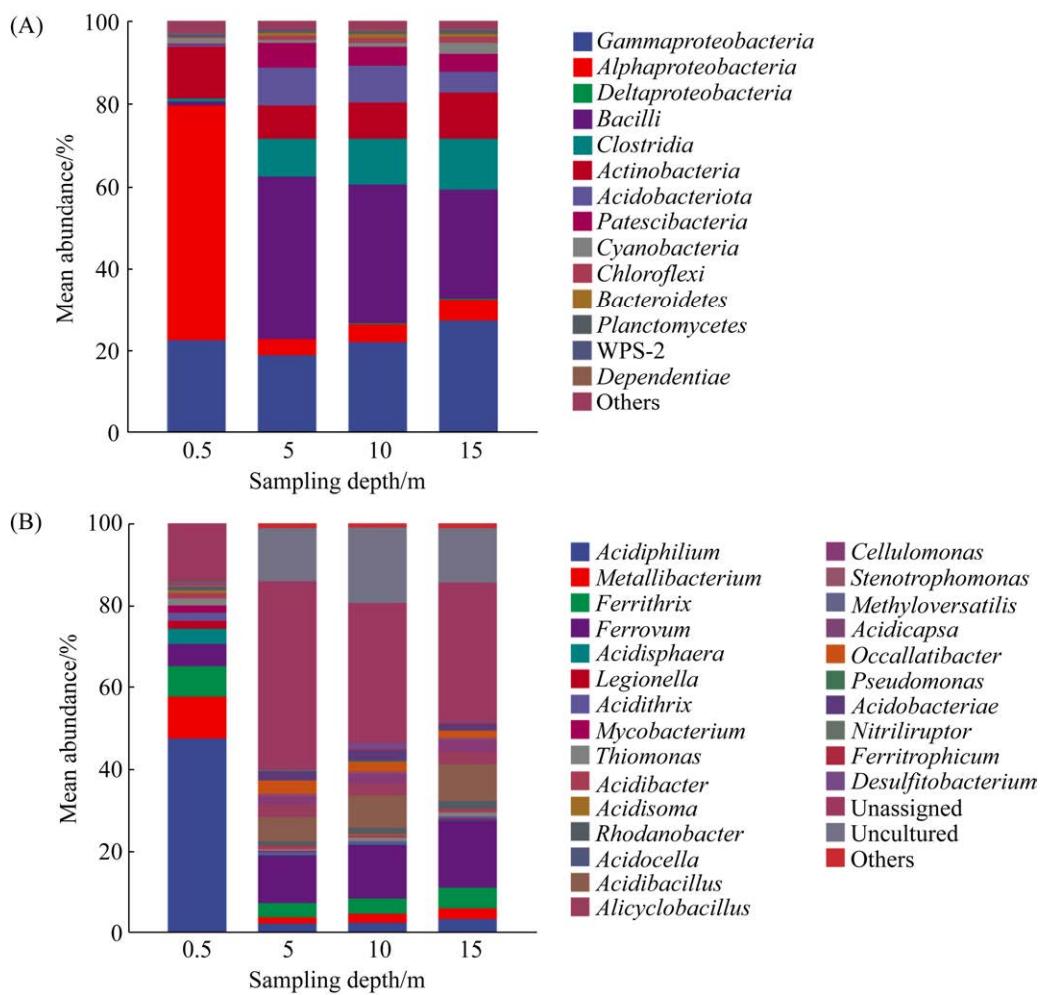


图 3 AMD 坑湖中不同水深细菌门(A)和属(B)组成

Figure 3 Bacterial taxa composition (phylum level and genus level) in different water depths of AMD pit lake.

9.07%–12.31%)。其余如 *Gammaproteobacteria* (18.98%–27.3%)、*Acidobacteria* (4.87%–9.10%)、*Patescibacteria* (4.44%–6.14%)、*Cyanobacteria* (0.71%–2.69%)等丰度也有所改变。整体而言,坑湖中 *Gammaproteobacteria* 垂向分布均匀,其他物种表现出明显分层特征,表层水体以 *Alphaproteobacteria* 占主导,中下层则以 *Bacilli* 和 *Clostridia* 占主导。

在属水平(图 3B),表层水中大多为异养型铁氧化和/或还原菌属,丰度最高者为 *Acidiphilium* (47.38%),依次为 *Metallibacterium* (10.41%)、*Ferrithrix* (7.37%)、*Ferrovum* (5.43%)

和 *Acidisphaera* (3.62%)。在中下层水体中,微生物群落多样性更高,分布更为均匀,但 uncultured 和 unassigned 的菌属占据了较高的丰度(>45%),这部分微生物大多归属于 *Clostridia*,一类对低氧环境适应性更强的类群。在已知菌属中,*Ferrovum* (11.69%–16.29%)、*Acidibacillus* (5.90%–9.00%)、*Ferrithrix* (3.50%–5.13%)、*Occallatibacter* (1.69%–3.30%)、*Alicyclobacillus* (2.87%–3.02%)、*Acidobacterium* (1.45%–2.60%)、*Cellulomonas* (2.20%–3.15%)等占据较高丰度。

#### 2.4 细菌群落与环境因子的相关性分析

如图 4 所示,表层和中下层水体中的优势类

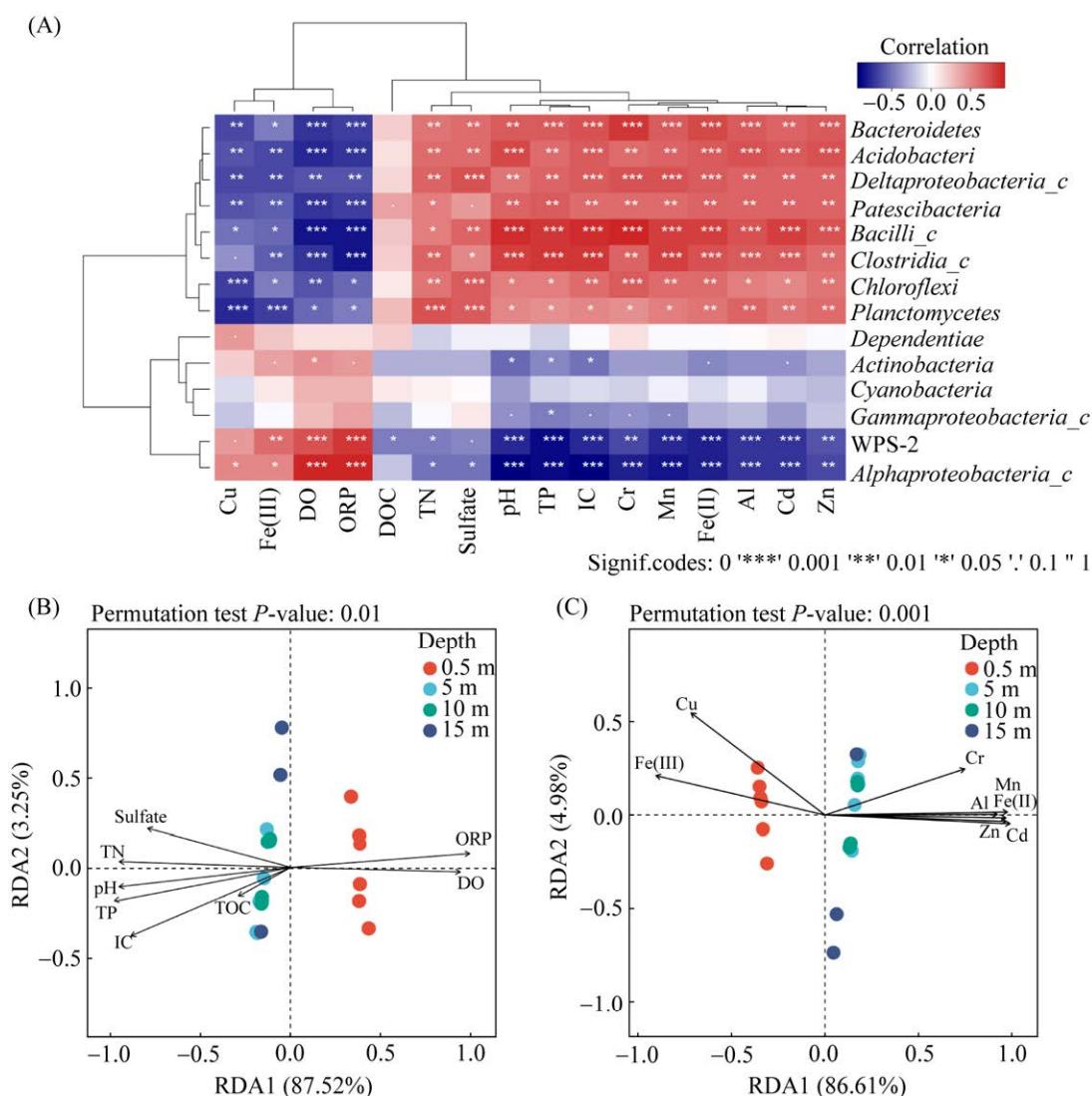


图 4 环境因子与细菌群落 Spearman 相关性分析(A)、金属因子(B)与非金属因子(C)同细菌群落的 RDA 分析  
Figure 4 Spearman correlation analysis between environmental factors and bacterial community (A), redundancy analysis (RDA) of metal factor (B) and non-metal factor (C) with bacterial community.

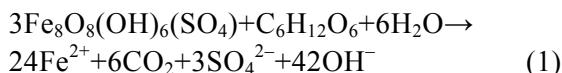
群与环境因子的 Spearman 相关性存在差异, Cu、Fe(III)、DO、ORP 与表层优势类群 *Alphaproteobacteria* 呈显著正相关( $P<0.05$ ), 而硫酸盐、pH、TN、TP、DIC 和金属离子[除 Cu, Fe(III)外]同中下层包括 *Bacilli*、*Clostridia*、*Acidobacteri*、*Bacteroidetes* 在内的优势微生物呈显著正相关( $P<0.05$ ), 与 *Alphaproteobacteria* 和 WPS-2 呈显著负相关( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 AMD 水质分层特征及其成因

该坑湖的水质特征在垂向空间上可明显分为高含氧的表层水体及低含氧的中下层水体, 在表层水体中金属离子、硫酸盐及碳氮磷等物质含量均显著低于中下层水体。坑湖中的 Fe 含量与种类在不同水层的分布主要取决于水体中

的氧化还原条件和受铁氧化和/或还原细菌所控制<sup>[26–27]</sup>。表层水体高 DO 含量决定了以好氧的 *Alphaproteobacteria* 为主导(其中大部分成员为异养的铁硫氧化菌属), 大气及生物氧化作用导致铁在表层以 Fe(III)形式存在<sup>[28]</sup>。在低 pH 高硫酸盐环境中, Fe(III)水解及铁硫酸盐次生矿物的形成过程会产生 H<sup>+</sup>同时消耗 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 故表层水体中 pH 和硫酸盐较低<sup>[29]</sup>。同时, 次生矿物形成过程中, 吸附在矿物表面或发生类质同象置换进入矿物结构, Fe<sup>3+</sup>容易被 Cu<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Al<sup>3+</sup>等取代, 金属阳离子通过该过程从水体中析出进入矿物相中; 另一方面, Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Cr<sup>2+</sup>等金属可通过吸附、吸收等物化过程被去除<sup>[29]</sup>。中下层水体中多种金属富集现象主要归因于表层沉降的次生铁氧化矿物的还原性溶解, 该区域含有较多异养铁还原菌, 铁次生矿物在沉降过程中受微生物驱动发生了还原性溶解, 固定在矿物表面或内部的重金属和硫酸盐重新以离子形态释放到水体中, 故在该区域发现了高浓度的硫酸盐、Fe(II)、Mn、Al 等。该还原过程同时会产生 OH<sup>-</sup>使得中下层水体 pH 上升(公式 1)<sup>[30]</sup>。



营养物质的分层更依赖于不同营养类型(异养和自养)微生物的代谢过程。本研究中表层水体含有大量的异养细菌如 *Acidiphilium*、*Metallibacterium*, 是有机碳的主要消费者, 且有机碳在好氧环境的消耗速率远高于受限制的中下层水体<sup>[31]</sup>。Cueva de la Mora 坑湖的研究也证明, 相比于无机电子供体(Fe 和无机硫化合物), 有机碳化合物是其中嗜酸异养细菌的主要电子供体<sup>[32]</sup>。此外, 以往研究表明坑湖中存在部分难降解有机物, 而中下层中 *Cellulomonas*、*Occillatibacter* 等细菌能通过分解木质素、纤维素等物质从而向水体中输入少量有机碳<sup>[33]</sup>。故

深层的 DOC 含量高于表层。中下层检测到的大量 DIC 主要来源于铁氧化矿物还原过程中有机碳的代谢, 有机碳能作为电子供体耦合铁还原过程, 产生的 CO<sub>2</sub>会积聚在中下层水体, 而 CO<sub>2</sub>积聚有助于稳定湖泊分层<sup>[34]</sup>。湖泊中磷主要以磷酸盐形式存在, 高浓度磷酸盐可能来源于废弃尾矿中的含磷酸盐矿物的溶解, 磷酸盐在表层容易与三价铁结合形成磷酸铁络合物, 一种高度不溶物( $K_{sp}=1.3\times 10^{-22}$ ), 在沉降过程再经铁还原细菌作用重新溶解释放出来, 表层磷含量同中下层相比低 10 倍<sup>[29,35]</sup>。

### 3.2 AMD 细菌群落组成及多样性垂向空间分层特征

该 AMD 坑湖的细菌群落在不同水深梯度的分布既有相似之处, 也存在着显著差异。*Actinobacteria* 和 *Gammaproteobacteria* 是所有深度群落中共有的优势细菌, 在表层及中下层水体均占据较高的丰度; 差异主要表现为 *Alphaproteobacteria* 和 *Firmicutes* 类群的物种及丰度变化。AMD 系统中 *Proteobacteria* 是最常见的优势细菌类群, 在 AMD 污染的水体、土壤、沉积物中均有研究<sup>[3–4,36]</sup>, *Firmicutes* 尽管也是常见类群之一, 但在该坑湖中占有如此高的丰度是很罕见的。*Santofimia* 等在因黄铁矿氧化形成的酸性坑湖 Concepcion 中发现了不同的分布特征, 在水深 2 m 处检测到了 *Firmicutes* 的成员(*Bacilli*, 7.5% 和 *Clostridia*, 2.5%), 但在水深 7.0–13.5 m 处未能发现, 相反发现了大量的 *Actinobacteria* 和 *Proteobacteria*<sup>[26]</sup>。而在 La unión 矿山(以黄铁矿、闪锌矿和方铅矿为主)的 Brunita 酸性坑湖中, Sánchez-España 等在水深 12 m 处发现了较高丰度的 *Acidibacillus*, 且少量的 SRB 菌属 *Desulfurispora* (*Clostridia*) 出现在了 17 m 处<sup>[7]</sup>。He 等在受 AMD 影响的南溪河群落研究中发现, 同 *Proteobacteria* 相比,

*Firmicutes* 对高浓度金属离子和硫酸盐有着更显著的响应, 推测 *Firmicutes* 的生物量可作为评估 AMD 河流自然衰减的生物学指标<sup>[37]</sup>。在酸性坑湖中 *Firmicutes* 的具体功能和作用存在着极大的研究价值, 有待进一步开发探索。

在属水平, 表层群落与其余 AMD 位点类似, 以铁硫代谢微生物为主, 丰度最高的为异养嗜酸性铁还原菌 *Acidiphilium* (47.38%), 而同常见的 *Shewanella*、*Geobacter* 等厌氧铁还原菌不同, 该菌属在严格的厌氧环境中生长缓慢, 能在好氧条件下迅速生长代谢, 但铁还原效率要低于微氧及厌氧条件<sup>[15,38]</sup>。*Acidiphilium* 常在环境中与自养型铁氧化菌形成共生体系, 在 AMD 中能将  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ (作为铁氧化细菌的底物), 以及消耗可能抑制自养生物生长的有机化合物来促进自养型铁氧化细菌的生长, 该菌属在含氧表层的大量存在表明其在好氧条件下更依赖于异养代谢途径进行生长而非铁还原过程<sup>[30,38]</sup>。此外, *Acidibacter* (1.25%)、*Acidicapsa* (0.11%) 等嗜酸性铁还原菌也有检测到, 尽管占比很低。铁氧化菌属以 *Metallibacterium* (10.41%)、*Ferrovum* (5.43%)、*Ferrithrix* (7.37%)、*Acidithrix* (1.94%) 占据主导地位。而其他 AMD 中常见的 *Acidithiobacillus*、*Sulfobacillus*、*Leptospirillum* 等铁氧化菌属在该坑湖中丰度极低, 均小于 0.1%, 属于稀有物种<sup>[12-13]</sup>。这些物种的缺失可能归因于表层的 pH 条件和较低的 Fe(II) 浓度。其中 *Metallibacterium* 具有多种代谢功能, 不仅能利用有机化合物, 而且通过氧化 Fe(II)、氧化还原性无机硫化合物(reducing inorganic sulfur compounds, RISCs) 和还原 Fe(III) 来生长, 还能在代谢过程中释放铵从而提高细胞周围的 pH 值以适应酸性条件<sup>[15,31,39]</sup>。*Ferrovum* 为 AMD 环境中常见的化能自养型铁氧化菌, 只能在 Fe(II) 存在的情况下生长, 铁氧化速率高, 能利用多种无

机物进行自养生长, 还能通过 Calvin-Benson-Bassham 循环固定大气中的  $\text{CO}_2$ , 部分成员甚至能进行固氮作用, 该菌属常作为 *Acidiphilium* 的伴生对象存在, 对于改善 AMD 寡营养环境, 供给碳源和氮源具有积极作用<sup>[40-41]</sup>。*Ferrithrix* 和 *Acidithrix* 均为兼性铁氧化还原菌, 能在好氧条件下氧化铁, 在厌氧及缺氧条件下参与  $\text{Fe}^{3+}$  及铁次生矿物的异化还原过程<sup>[12]</sup>。

在中下层, 由于 DO 降低、营养元素含量和重金属压力增加, 细菌种类和丰度也发生显著变化, 除原有的 *Gammaproteobacteria* 外, *Firmicutes* 和 *Acidobacteria* 成为新的优势类群, 同时该区域具有更高的物种多样性(图 2A), 代谢功能上以异养型生物和铁还原生物为主, 包含多种其他功能类群。金属离子含量对大部分微生物存在胁迫作用, 能抑制细胞活性甚至杀死细胞, 而 *Firmicutes* 对金属浓度具有更强的耐受性, 能应对高金属胁迫条件从而在 AMD 生境中更具竞争优势<sup>[26]</sup>。中下层水体中存在着较高丰度的好氧菌属, 且多数具备铁硫氧化功能, 如 *Ferrovum* (11.7%–16.3%)、*Acidibacillus* (5.9%–9.0%) 和 *Alicyclobacillus* (2.8%–3.0%)。*Acidibacillus* 和 *Alicyclobacillus* 均为 *Bacillus* 成员, 在分类学上具有一定的同源性, 两者代谢功能也高度重合, 均为兼性化能异养菌, 能通过氧化  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{S}^0$  提供所需的能量。铁氧化菌属的存在与该区域高浓度的  $\text{Fe}^{2+}$  密切相关, Fe(II) 作为重要电子供体与铁氧化菌的生长代谢息息相关, Sheng 等研究表明在高 Fe(II) 浓度(>230 mg/L) 环境中常发现 *Ferrovum* 菌属<sup>[42]</sup>。除铁硫代谢生物外, 中下层水体还含有多种其余功能的菌属, 如能降解纤维素和还原硝酸盐的兼性厌氧菌 *Cellulomonas* (2.2%–3.1%), 对重金属具有高耐受性的反硝化细菌 *Rhodanobacter* (1.1%–1.8%), 硫酸盐还原菌 *Desulfotobacterium* (0.27%–1.30%),

能代谢有机酸和部分复杂蛋白质的 *Occallatibacter* (1.7%–3.3%)。在中下层水域，环境因子波动幅度较小，对细菌组成的影响低，部分菌群的相对含量呈现缓慢增加趋势(图 5)。

### 3.3 环境选择是推动微生物分层的主要推动力

沿着环境梯度探索微生物群落的系统发育

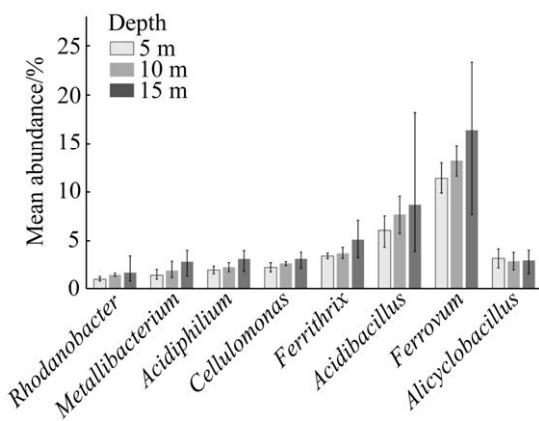


图 5 中下层水体中优势物种平均丰度变化趋势  
Figure 5 Trends of average abundance of dominant genera in lower and middle water. Values are means±standard deviation (SD) of all samples in the same water depth.

变化，发现微生物能对环境变量改变做出迅速响应，如 pH、DO、硫酸盐、重金属离子等环境因子发生改变会增加或抑制微生物多样性。该 AMD 坑湖理化性质在不同采样深度存在显著差异，面临的环境压力也具有较高的空间异质性。RDA 分析(图 4)和随机森林分析(图 6)均显示决定微生物群落结构分层特征的主要变量为非金属因子 ORP、DO、pH、TN 以及多种金属因子。水体不同水深 ORP 及 DO 的剧烈波动是导致坑湖群落分层最重要的因素，表明表层水体为好氧状态，以 *Alphaproteobacteria* 为代表的好氧异养菌群占据了绝对优势，而随着中下层水体 DO 骤减( $\text{DO} < 4 \text{ mg/L}$ )抑制了多数好氧细菌的丰度和多样性，兼性厌氧细菌随之占据竞争中的主动性。除 ORP 及 DO 外，pH 也是塑造群落结构的重要变量，以往的研究表明，在大尺度空间范围内 pH 是影响 AMD 中微生物多样性演替的决定因素<sup>[19,23]</sup>。一方面 pH 是 AMD 的重要指标，调控其他地球化学参数的变化，如有机质和其他营养物质的利用率以及金属离子的溶解度，从而间接影响参与地球化学循环

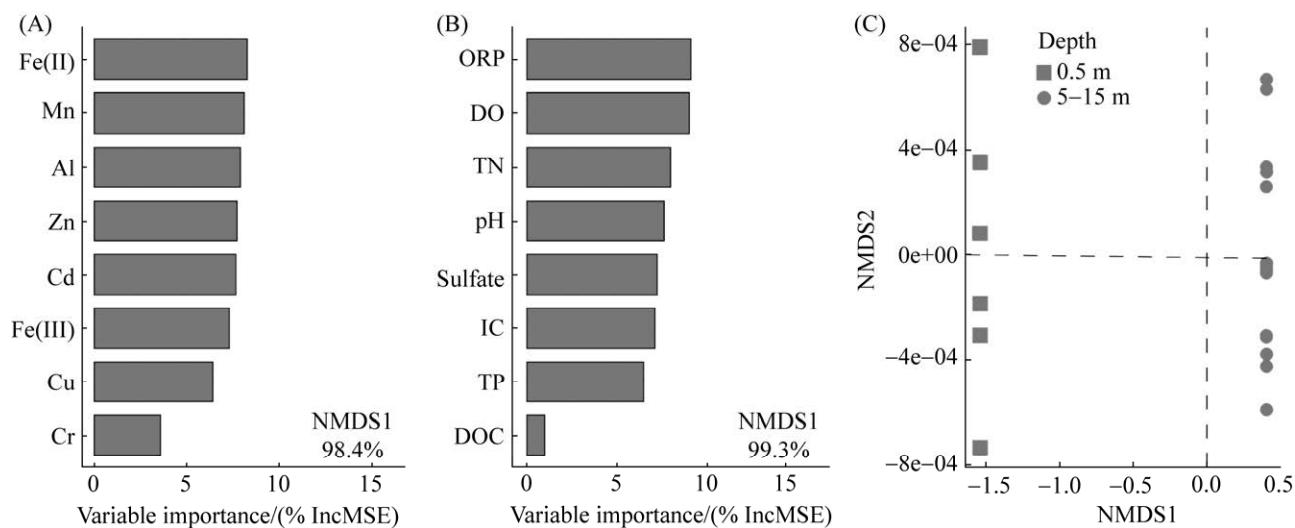


图 6 金属因子(A)与非金属因子(B)基于 NMDS 指数(C)的随机森林分析

Figure 6 Random forest analysis of metal factor (A) and non-metal factor (B) based on NMDS index (C).

的微生物群落；另一方面，pH 会直接影响(促进/抑制)微生物的生长代谢<sup>[19,23,43]</sup>。尽管在小尺度下 pH 变化幅度小但对群落结构仍有着较高的影响，在该坑湖中 pH 随深度增加缓慢提升，水体细菌多样性也随之提高，群落分布更为均匀。AMD 含量较低的营养组分导致微生物对生物可利用的有机/无机氮磷进行竞争，从而影响了群落的多样性及驱动湖泊微生物分层现象<sup>[7,23]</sup>。

推动中下层水体群落演变的压力还来自 Fe、Mn、Al、Zn 等重金属离子的富集。重金属由于其普遍性和不可生物降解性，是环境中最常见的压力之一，也是进一步筛选微生物的推动力<sup>[44]</sup>。AMD 中高浓度的重金属对微生物存在胁迫作用，会抑制大多数微生物的活性，但微量的金属元素也是物种生长发育的必需元素。Spearman 分析表明在门水平，重金属含量同微生物群落密切相关(图 4A)，几乎所有金属离子与 WPS-2 及  $\alpha$ -、 $\gamma$ -Proteobacteria 呈显著负相关( $P<0.05$ )，表明重金属对表层优势群落的抑制作用。而随机森林分析显示，以 Fe(II)为代表的 Mn、Al、Zn 等金属离子均对细菌分布有显著影响(图 6A)，其中 Cu、Fe(III)主要决定了表层水体细菌群落的构建(图 4B)。总而言之，多种金属的共同作用决定了 AMD 坑湖中不同垂向分层水体中的优势物种。

## 4 结论

AMD 坑湖的水质特征和细菌群落在垂向空间分布上存在显著差异，主要分为表层水体的好氧区域和中下层水体的微氧区域，中下层水体具有更高的生物多样性；表层水体优势群落主要为  $\alpha$ -、 $\gamma$ -Proteobacteria 和 Actinobacteria，而随着水质特征改变中下层群落以 Firmicutes (Bacilli 和 Clostridia 为代表)、 $\gamma$ -Proteobacteria 和 Acidobacteria 为主导；从属水平看，表层水体中主要为异养的铁硫代谢菌属，铁还原菌丰度最

高，中下层水体菌属功能更加多样，同时铁氧化菌属丰度高于铁还原菌，且由于水质波动较小，部分优势细菌丰度逐渐增加。相关性分析结果显示，AMD 坑湖中群落的分层特征由多种环境变量共同决定，主要的变量有非金属因子 ORP、DO、TN、pH 和金属因子 Fe、Mn、Al、Zn 等。

## 参考文献

- Naidu G, Ryu S, Thiruvenkatachari R, Choi Y, Jeong S, Vigneswaran S. A critical review on remediation, reuse, and resource recovery from acid mine drainage. *Environmental Pollution*, 2019, 247: 1110–1124.
- Park I, Tabelin CB, Jeon S, Li XL, Seno K, Ito M, Hiroyoshi N. A review of recent strategies for acid mine drainage prevention and mine tailings recycling. *Chemosphere*, 2019, 219: 588–606.
- Hao CB, Wei PF, Pei LX, Du ZR, Zhang Y, Lu YC, Dong HL. Significant seasonal variations of microbial community in an acid mine drainage lake in Anhui Province, China. *Environmental Pollution*, 2017, 223: 507–516.
- 彭均萍, 曾伟民. 紫金山铜矿酸性矿山废水微生物群落多样性. *微生物学通报*, 2020, 47(9): 2887–2896. Peng YP, Zeng WM. Diversity of microbial community in acid mine drainage from Zijinshan copper mine. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2887–2896. (in Chinese)
- Amaral-Zettler LA, Zettler ER, Theroux SM, Palacios C, Aguilera A, Amils R. Microbial community structure across the tree of life in the extreme Río Tinto. *The ISME Journal*, 2011, 5(1): 42–50.
- Wang J, Zhang SY, He C, She ZX, Pan X, Li YY, Shao R, Shi Q, Yue ZB. Source identification and component characterization of dissolved organic matter in an acid mine drainage reservoir. *Science of the Total Environment*, 2020, 739: 139732.
- Sánchez-España J, Yusta I, Ilin A, Graaf C, Sánchez-Andrea I. Microbial geochemistry of the acidic saline pit lake of brunita mine (La unión, SE Spain). *Mine Water and the Environment*, 2020, 39(3): 535–555.
- Bao YP, Guo CL, Wang H, Lu GN, Yang CF, Chen MQ, Dang Z. Fe- and S-metabolizing microbial communities dominate an AMD-contaminated river ecosystem and play important roles in Fe and S cycling. *Geomicrobiology Journal*, 2017, 34(8): 695–705.
- She ZX, Wang J, He C, Pan X, Li YY, Zhang SY, Shi Q, Yue ZB. The stratified distribution of dissolved organic

- matter in an AMD lake revealed by multi-sample evaluation procedure. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(12): 8401–8409.
- [10] Hua ZS, Han YJ, Chen LX, Liu J, Hu M, Li SJ, Kuang JL, Chain PS, Huang LN, Shu WS. Ecological roles of dominant and rare prokaryotes in acid mine drainage revealed by metagenomics and metatranscriptomics. *The ISME Journal*, 2015, 9(6): 1280–1294.
- [11] Aliaga Goltzman DS, Comolli LR, Thomas BC, Banfield JF. Community transcriptomics reveals unexpected high microbial diversity in acidophilic biofilm communities. *The ISME Journal*, 2015, 9(4): 1014–1023.
- [12] Baker BJ, Banfield JF. Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(2): 139–152.
- [13] Chen LX, Huang LN, Mendez-Garcia C, Kuang JL, Hua ZS, Liu J, Shu WS. Microbial communities, processes and functions in acid mine drainage ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, 38: 150–158.
- [14] Méndez-García C, Peláez AI, Mesa V, Sánchez J, Golyshina OV, Ferrer M. Microbial diversity and metabolic networks in acid mine drainage habitats. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 475.
- [15] Villegas-Plazas M, Sanabria J, Junca H. A composite taxonomical and functional framework of microbiomes under acid mine drainage bioremediation systems. *Journal of Environmental Management*, 2019, 251: 109581.
- [16] Bernardelli CE, Maza SN, Lecomte KL, Collo G, Astini RA, Donati ER. Acidophilic microorganisms enhancing geochemical dynamics in an acidic drainage system, Amarillo River in La Rioja, Argentina. *Chemosphere*, 2021, 263: 128098.
- [17] Mesa V, Gallego JLR, González-Gil R, Lauga B, Sánchez J, Méndez-García C, Peláez AI. Bacterial, archaeal, and eukaryotic diversity across distinct microhabitats in an acid mine drainage. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1756.
- [18] Johnson DB, Kanao T, Hedrich S. Redox transformations of iron at extremely low pH: fundamental and applied aspects. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 96.
- [19] Liu J, Hua ZS, Chen LX, Kuang JL, Li SJ, Shu WS, Huang LN. Correlating microbial diversity patterns with geochemistry in an extreme and heterogeneous environment of mine tailings. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(12): 3677–3686.
- [20] He HR, Pan BZ, Yu K, Zheng X, Wu Y, Xiao L, Zhao GN, Zhu PH. Determinants of bacterioplankton structures in the typically turbid Weihe River and its clear tributaries from the northern foot of the Qinling Mountains. *Ecological Indicators*, 2021, 121: 107168.
- [21] Zhang QQ, Jian SL, Li KM, Wu ZB, Guan HT, Hao JW, Wang SY, Lin YY, Wang GJ, Li AH. Community structure of bacterioplankton and its relationship with environmental factors in the upper reaches of the Heihe River in Qinghai Plateau. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(2): 1210–1221.
- [22] Santini TC, Raudsepp M, Hamilton J, Nunn J. Extreme geochemical conditions and dispersal limitation retard primary succession of microbial communities in gold tailings. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2785.
- [23] Kuang JL, Huang LN, Chen LX, Hua ZS, Li SJ, Hu M, Li JT, Shu WS. Contemporary environmental variation determines microbial diversity patterns in acid mine drainage. *The ISME Journal*, 2013, 7(5): 1038–1050.
- [24] Zelaya AJ, Parker AE, Bailey KL, Zhang P, Van Nostrand J, Ning DL, Elias DA, Zhou JZ, Hazen TC, Arkin AP, Fields MW. High spatiotemporal variability of bacterial diversity over short time scales with unique hydrochemical associations within a shallow aquifer. *Water Research*, 2019, 164: 114917.
- [25] Zhang KP, Delgado-Baquerizo M, Zhu YG, Chu HY. Space is more important than season when shaping soil microbial communities at a large spatial scale. *mSystems*, 2020, 5(3): e00783-19.
- [26] Santofimia E, González-Toril E, López-Pamo E, Gomariz M, Amils R, Aguilera A. Microbial diversity and its relationship to physicochemical characteristics of the water in two extreme acidic pit lakes from the Iberian pyrite belt (SW Spain). *PLoS One*, 2013, 8(6): e66746.
- [27] Grettenberger CL, McCauley Rench RL, Gruen DS, Mills DB, Carney C, Brainard J, Hamasaki H, Ramirez R, Watanabe Y, Amaral-Zettler LA, Ohmoto H, Macalady JL. Microbial population structure in a stratified, acidic pit lake in the Iberian Pyrite Belt. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(7): 623–634.
- [28] 尹华群, 刘征华, 刘学端. 冶金微生物的铁硫代谢多样性及其与矿物的相互作用. *微生物学报*, 2018, 58(4): 560–572.  
Yin HQ, Liu ZH, Liu XD. Diversity of iron and sulfur metabolism in bioleaching microorganisms and their interaction with minerals. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(4): 560–572. (in Chinese)
- [29] Ying H, Feng XH, Zhu MQ, Lanson B, Liu F, Wang XM. Formation and transformation of schwertmannite through direct  $\text{Fe}^{3+}$  hydrolysis under various geochemical conditions. *Environmental Science: Nano*, 2020, 7(8): 2385–2398.
- [30] Coupland K, Johnson DB. Evidence that the potential for dissimilatory ferric iron reduction is widespread among acidophilic heterotrophic bacteria. *FEMS*

- Microbiology Letters*, 2008, 279(1): 30–35.
- [31] Bartsch S, Gensch A, Stephan S, Doetsch A, Gescher J. Metallibacterium scheffleri: genomic data reveal a versatile metabolism. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(3).
- [32] Falagán C, Sánchez-España J, Johnson DB. New insights into the biogeochemistry of extremely acidic environments revealed by a combined cultivation-based and culture-independent study of two stratified pit lakes. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 231–243.
- [33] 张思宇, 岳正波, 余智祥, 潘鑫, 邵锐, 史权, 何晨, 李运运, 王进. 某酸性矿山排水中溶解性有机物的特征分析. 中国环境科学, 2020, 40(8): 3401–3407.  
Zhang SY, Yue ZB, She ZX, Pan X, Shao R, Shi Q, He C, Li YY, Wang J. Characteristics analysis of dissolved organic matter in the acid mine drainage. *China Environmental Science*, 2020, 40(8): 3401–3407. (in Chinese)
- [34] Sánchez-España J, Boehler B, Yusta I. Extreme carbon dioxide concentrations in acidic pit lakes provoked by water/rock interaction. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(8): 4273–4281.
- [35] Spiteri C, Cappellen PV, Regnier P. Surface complexation effects on phosphate adsorption to ferric iron oxyhydroxides along pH and salinity gradients in estuaries and coastal aquifers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72(14): 3431–3445.
- [36] 梁宗林, 秦亚玲, 王沛, 王保军, 刘征华, 尹华群, 刘双江, 姜成英. 云南省蒙自酸性矿山排水微生物群落结构和功能. 生物工程学报, 2019, 35(11): 2035–2049.  
Liang ZL, Qin YL, Wang P, Wang BJ, Liu ZH, Yin HQ, Liu SJ, Jiang CY. Microbial community structure and function in acid mine drainage from Mengzi, Yunnan Province. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(11): 2035–2049. (in Chinese)
- [37] He JW, Li WX, Liu J, Chen S, Frost RL. Investigation of mineralogical and bacteria diversity in Nanxi River affected by acid mine drainage from the closed coal mine: implications for characterizing natural attenuation process. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 217: 263–270.
- [38] Wang XM, Jiang HK, Fang D, Liang JR, Zhou LX. A novel approach to rapidly purify acid mine drainage through chemically forming schwertmannite followed by lime neutralization. *Water Research*, 2019, 151: 515–522.
- [39] Chen HY, Xiao TF, Ning ZP, Li Q, Xiao EZ, Liu YZ, Xiao QX, Lan XL, Ma L, Lu FH. In-situ remediation of acid mine drainage from abandoned coal mine by field pilot-scale passive treatment system: performance and response of microbial communities to low pH and elevated Fe. *Bioresource Technology*, 2020, 317: 123985.
- [40] Johnson DB, Hallberg KB, Hedrich S. Uncovering a microbial Enigma: isolation and characterization of the streamer-generating, iron-oxidizing, acidophilic bacterium “*Ferrovum myxofaciens*”. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(2): 672–680.
- [41] 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. 微生物学报, 2019, 59(6): 1076–1088.  
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. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 1076–1088. (in Chinese)
- [42] Sheng YZ, Bibby K, Grettenberger C, Kaley B, Macalady JL, Wang GC, Burgos WD. Geochemical and temporal influences on the enrichment of acidophilic iron-oxidizing bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(12): 3611–3621.
- [43] Baker-Austin C, Dopson M. Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends in Microbiology*, 2007, 15(4): 165–171.
- [44] Chen XM, Zhao Y, Zhao XY, Wu JQ, Zhu LJ, Zhang X, Wei ZM, Liu Y, He PP. Selective pressures of heavy metals on microbial community determine microbial functional roles during composting: sensitive, resistant and actor. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398: 122858.

(本文责编 张晓丽)

**王进**, 教授, 博士生导师。2007 年获中国科学技术大学博士学位, 2007–2008 年在香港科技大学从事博士后研究, 2009–2010 年在密歇根州立大学任访问学者。主要从事环境科学与技术领域的教学与科研工作。主持国家自然科学基金项目 4 项, 作为科研骨干参加其他省部级以上科研项目 10 余项。获安徽省科技进步一等奖 1 项、教育部科技进步二等奖 1 项, 申请和授权国家发明专利 20 余项, 授权国际专利 1 项。公开发表 SCI/EI 收录论文 100 多篇。

