

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.12

第40卷 第12期

目次(卷终)

研究报告

- 京津冀秋冬季 PM_{2.5} 污染概况和预报结果评估 朱媛媛, 高愈霄, 刘冰, 王晓彦, 朱莉莉, 许荣, 汪巍, 丁俊男, 李健军, 段小丽 (5191)
- 2016 ~ 2017 年采暖期华北平原东部 PM_{2.5} 组分特征及来源解析 张逸琴, 王杰, 高健, 徐仲均, 车飞, 马彤, 杨艳, 刘素, 闫璐璐 (5202)
- 霾不同发展阶段下污染气体和水溶性离子变化特征分析 王振彬, 刘安康, 卢文, 杨晓旻, 王红磊, 陈魁, 夏丽 (5213)
- 上海郊区家庭妇女 PM_{2.5} 重金属组分暴露水平、来源与健康风险 罗燃燃, 戴海夏, 张蕴晖, 乔利平, 马英歌, 周敏, 夏斌, 朱清扬, 赵迎亚, 黄成 (5224)
- 固定污染源可凝结颗粒物测量方法 蒋靖坤, 邓建国, 王刚, 张莹, 李妍菁, 段雷, 郝吉明 (5234)
- 家具企业挥发性有机物排放特征及其环境影响 张嘉妮, 曾春玲, 刘锐源, 姚懿娟, 柯云婷, 范丽雅, 叶代启 (5240)
- 抗生素企业 VOCs 排放清单及影响范围模拟 竹涛, 吕怡蓉, 边文璟, 牛文凤, 袁前程, 段二红, 于洋, 林军 (5250)
- 新乡市机动车排放对道路灰尘中重金属与多环芳烃污染的影响 李琦路, 吴锦涛, 张颖, 孙玉静, 乔泓钦, 张子伟, 裴梦园, 张孟琼, 任明浩 (5258)
- 成都市道路积尘中全氟化合物的污染特征及暴露风险评估 方淑红, 朱和祥, 叶芝祥, 印红玲, 孙静 (5265)
- 祁连山北坡中段降水稳定同位素特征及水汽来源分析 张百娟, 李宗省, 王昱, 李永格, 吕越敏, 袁瑞丰, 桂娟 (5272)
- 长江南京段水源水中抗生素的赋存特征与风险评估 封梦娟, 张芹, 宋宁慧, 卜元卿, 杨正标, 刘艳华, 郭瑞昕, 陈建秋, 张圣虎 (5286)
- 夏秋季混凝剂对复合锰氧化膜去除地表水中氨氮和锰的影响 程丽杰, 黄廷林, 程亚, 张莎莎, 阮昭意, 卢磊 (5294)
- 浙江省 H 市供水系统消毒副产物及其健康风险评价 刘俊萍, 于建全, 李青松, 马晓雁, 杨玉龙, 贾佳 (5302)
- 三峡库区城镇化背景下河流 DOM 的吸收及荧光光谱特征 陈昭宇, 李思悦 (5309)
- 川西高原河流水体 CDOM 的光化学降解特性 刘堰杨, 孙辉, 刘琛, 王小沁 (5318)
- 三峡库区典型紫色土小流域径流及氮磷流失特征 曹瑞霞, 刘京, 邓开开, 先宇, 王伟, 方芳, 欧阳文娟, 郭劲松 (5330)
- 九龙江流域河流磷输出对土地利用模式及水文状况的响应 黄亚玲, 唐莉, 黄金良, 肖才荣 (5340)
- 不同尺度土地利用方式对鄱阳湖湿地水质的影响 方娜, 刘玲玲, 游清徽, 田娜, 吴燕平, 阳文静 (5348)
- 太湖草藻型湖区磷赋存特征及其环境意义 耿雪, 文帅龙, 孙培荣, 徐楚天, 李大鹏, 黄勇 (5358)
- 太湖竺山湾沉积物碳氮磷分布特征与污染评价 方家琪, 祁闯, 张新厚, 韩睿明, 黄和笑, 王卓森, 王国祥 (5367)
- 降雨强度对洱海流域凤羽河氮磷排放的影响 李晓虹, 雷秋良, 周脚根, 张亦涛, 李影, 胡万里, 武淑霞, 翟丽梅, 王洪媛, 刘宏斌 (5375)
- 外源 Ca²⁺ 和 K⁺ 作用下河口区碱蓬水质净化效果和耐盐碱提高机制 吴丹, 孙萍, 陈广琳, 陈友媛, 彭昌盛 (5384)
- 泽泻 (*Alisma orientale*) 对全氟化合物的吸收和传输特征-浓度的影响 王团团, 李贝贝, 王赛, 华佩, 陈军, 应光国 (5394)
- 复合人工湿地中反硝化除磷作用的发生及其稳定性 刘冰, 郑煜铭, 李清飞, 赵承美, 魏巍, 张凯 (5401)
- 铅、镉和铜改性沸石添加控制底泥磷释放的对比 刘婷, 赵钰颖, 林建伟, 詹艳慧, 秦琴 (5411)
- 生物炭结构性对氨氮的吸附特性影响 陈梅, 王芳, 张德俐, 易维明 (5421)
- 溶解氧对悬浮与附着生长系统短程硝化反应的影响机制 王嗣禹, 刘灵婕, 王芬, 季民 (5430)
- 间歇恒定/梯度曝气对 SNAD 工艺启动的影响 李冬, 刘志成, 徐贵达, 李帅, 张杰 (5438)
- 共基质模式下铁盐脱氮反应器的运行性能及微生物学特征 王茹, 刘梦瑜, 刘冰茵, 赵治国, 袁林江 (5446)
- 阶梯曝气对城市污水好氧颗粒污泥系统的影响 李冬, 魏子清, 劳会妹, 李帅, 张杰 (5456)
- 酵母菌降解胞外聚合物提升剩余活性污泥的脱水性能 俞心怡, 向金豪, 刘英, 龚天翼, 张彬辉, 吕文洲 (5465)
- 基于 GEE 的 1998 ~ 2018 年京津冀土地利用变化对生态系统服务价值的影响 娄佩卿, 付波霖, 林星辰, 闭璐, 马瑞雪, 唐廷元 (5473)
- 基于 MDS 与 TOPSIS 模型的滨海滩涂围垦区土壤质量评价 解雪峰, 濮励杰, 朱明, 吴涛, 许艳 (5484)
- 淹水增加对闽江河口淡水潮汐湿地孔隙水地球化学特征及 CO₂ 和 CH₄ 排放通量的影响 李敬, 黄佳芳, 罗敏, 刘育秀, 谭季, 朱爱菊, 王声钰, 仝川 (5493)
- 养殖塘 CH₄ 排放特征及其影响因素 王娇, 肖薇, 张秀芳, 张弥, 张文庆, 刘强, 陈争, 董保华, 李旭辉 (5503)
- 施肥对高梁地土壤呼吸及其温度敏感性的影响 严俊霞, 张媛, 焦晓燕 (5515)
- 高硒高镉区土地安全区划方法 王锐, 侯宛苓, 李雨潼, 余涛, 陈娟 (5524)
- 不同配比复合材料对农田镉污染土壤的修复效果 陈树兰, 许晨阳, 耿增超, 王强, 祝乐, 龚园, 拓卫卫 (5531)
- 水铝钙石对不同镉污染农田重金属的钝化效果及机制 吴秋梅, 刘刚, 王慧峰, 胡文友, 黄标 (5540)
- 狮子山矿区不同土地利用类型对土壤微生物群落多样性的影响 黄健, 朱旭炎, 陆金, 孙雨, 赵兴青 (5550)
- 林地转型耕地对东北丘陵区白浆土 *cbbL* 细菌群落丰度和结构的影响 王蕊, 吴宪, 李刚, 修伟明, 王丽丽, 张贵龙 (5561)
- 粤港澳大湾区场地污染特征、治理修复与环境管理研究专辑
- 粤港澳大湾区污染场地土壤风险管控制度体系建设与思考 常春英, 董敏刚, 邓一荣, 肖荣波, 刘丽丽 (5570)
- 粤港澳大湾区土壤污染问题计量及可视化分析 张宁, 张盛, 杨海超, 张建通 (5581)
- 城市生活垃圾填埋场的物质存量特征及其环境影响: 以粤港澳大湾区为例 马仕君, 周传斌, 杨光, 赵志岚, 刘懿颀 (5593)
- 粤港澳大湾区丘陵区带某电镀场地重金属污染特征与迁移规律分析 侯文隽, 龚星, 詹泽波, 刘锋, 黄子航, 杨立宏, 林晓琛 (5604)
- 粤港澳大湾区典型化工场地苯系物污染特征及迁移规律 邓一荣, 陆海建, 董敏刚, 程洲, 庄长伟, 肖荣波, 钟音, 彭平安 (5615)
- 针铁矿-富里酸复合材料对铅镉污染土壤的钝化修复性能 刘千钧, 李想, 周阳媚, 唐杰鹏, 林亲铁, 姚琨 (5623)
- 广东大宝山矿区土壤植物体系重金属迁移过程及风险评价 陈洁宜, 刘广波, 崔金立, 肖唐付 (5629)
- Hydrus-1D 模型在推导基于保护地下水的土壤风险控制值中的应用 林挺, 罗飞, 朱艳, 杨坤, 郝秀平 (5640)
- 《环境科学》第 40 卷(2019 年) 总目录 (5649)
- 《环境科学》征订启事(5233) 《环境科学》征稿简则(5285) 信息(5357, 5420, 5429)

狮子山矿区不同土地利用类型对土壤微生物群落多样性的影响

黄健, 朱旭炎, 陆金, 孙雨, 赵兴青*

(常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164)

摘要: 土壤微生物在生态系统功能中起着至关重要的作用, 土壤微生物群落结构可由与采矿活动相关的矿山不同功能区域来反馈土壤中重金属污染现状。为研究铜陵狮子山矿区重金属污染对微生物群落结构的胁迫影响, 在中国安徽狮子山矿区收集了4种不同土地利用类型(菜园、尾矿库、堆矿区和选矿区)的土壤。通过测量这4种不同土地利用类型的土壤理化性质和重金属含量, 并利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术, 对本地土壤微生物群落丰度以及结构多样性进行了分析。结果表明, 各区域理化性质差异显著, 内梅罗综合污染指数依次为堆矿区(7.28) > 选矿区(6.99) > 尾矿库(6.55) > 菜园(5.92)。微生物群落丰度及结构多样性分布表现为尾矿库 > 选矿区 > 菜园 > 堆矿区。此外, PCoA、CCA 和相关性分析表明, 土地利用类型、土壤 pH 和重金属含量等相关参数对微生物群落有显著影响。优势土壤微生物群落在门(0.01)水平上分别为 Proteobacteria、Bacteroidetes、Acidobacteria 和 Actinobacteria, 在纲水平上分别为 β -Proteobacteria、 α -Proteobacteria 和 γ -Proteobacteria, 在属水平上分别为 *Flavobacterium*、*Kaistobacter* 和 *Ramlibacter*。并得到对重金属较为耐受的菌群如 Proteobacteria、Firmicutes、 β -Proteobacteria 和 *Kaistobacter* 等。这些结果加深了对重金属污染矿区土壤中微生物变化和聚集模式的认知, 可为重金属矿区的生物修复提供菌种和理论依据。

关键词: 重金属污染; 微生物群落结构; 不同土地利用类型; 高通量测序; 狮子山矿区

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)12-5550-11 DOI: 10.13227/j.hjxx.201905050

Effects of Different Land Use Types on Microbial Community Diversity in the Shizishan Mining Area

HUANG Jian, ZHU Xu-yan, LU Jin, SUN Yu, ZHAO Xing-qing*

(School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

Abstract: Soil microorganisms play an important role in ecosystem function. Soil microbial community structure can be used to feed back the status of heavy metal pollution in soil at different functional areas of mines related to mining activities. Samples of four different land use types (vegetable garden, tailings reservoir, heap mining area, and dressing area) were collected in the Shizishan mining area, Tongling, Anhui Province, to determine the effect of heavy metal pollution on microbial community structure. Soil physical and chemical properties and heavy metal contents of the four different land use types were measured, and soil microbial community abundance and structure diversity were analyzed by Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology. The results show that there are significant differences in physical and chemical properties between different regions. The comprehensive pollution index of Nemerow is heap mining area (7.28) > dressing area (6.99) > tailings reservoir (6.55) > vegetable garden (5.92). The distribution of microbial community abundance and structure diversity was tailings reservoir > dressing area > vegetable garden > heap mining area. In addition, principal coordinates analysis (PCoA), canonical correspondence analysis (CCA), and correlation analysis showed that land use type, soil pH and heavy metal content had significant effects on the microbial community. The dominant soil microbial communities at the phylum level were Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, and Actinobacteria, at the class level were β -Proteobacteria, α -Proteobacteria, and γ -Proteobacteria, and at the genus level were *Flavobacterium*, *Kaistobacter*, and *Ramlibacter*. The bacteria that are more tolerant to heavy metals are Proteobacteria, Firmicutes, β -Proteobacteria, and *Kaistobacter*. These results have deepened our understanding of microbial changes and aggregation patterns in soils of heavy-metal-contaminated mining areas. This study can provide bacterial species and theoretical basis for bioremediation of heavy metal mining areas.

Key words: heavy metal pollution; microbial community structure; different land use types; high-throughput sequencing; Shizishan mining area

采矿对周围环境造成严重的重金属污染。重金属是一种持久性的有毒污染物, 具有潜在的、长期的、累积的和不可逆的特征。重金属污染不仅改变土壤质量, 影响作物生长, 还通过食物链进入人体, 危害人体健康和生命^[1~3]。由于人类活动所导致的环境变化可以从根本上改变土壤质量和养分循环(如 C、N 和 P), 从而构建新的土壤微生物群落^[4],

而微生物比土壤理化性质更具有动态性和敏感性, 因此土壤微生物群落的多样性能够表征土壤质量^[5,6]。

收稿日期: 2019-05-07; 修订日期: 2019-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(41302025, 41541016)

作者简介: 黄健(1992~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物和环境修复, E-mail: 981841077@qq.com

* 通信作者, E-mail: zhaoxq@cczu.edu.cn

近年来,高通量测序技术已经被广泛应用在深入了解环境中微生物群落组成和多样性的认识^[7~10]。由于微生物群落的结构和多样性能有效地提供关于环境变化的综合信息,其受到人们越来越多的关注,并且许多研究也试图阐明影响微生物的各种因素。一般来说,重金属对微生物群落的影响是显著的^[11],它使敏感菌群骤减甚至灭绝,而使抗性菌群成为优势菌^[12],由这引起的群落结构变化严重影响了土壤微生物原有的功能^[13],使得物质循环能力及营养分解等土壤肥力严重下降^[14],同时,可以从污染土壤中分离筛选出耐受重金属的菌株,有助于研究其抗性基因^[15],为将来应用与重金属修复提供菌株。此外,其他环境因子(pH 与营养物质等)也与具体微生物而关联。Jiang 等^[16]研究了铜矿区的耐铜植物根际土壤细菌群落,也发现影响细菌群落的最重要的环境因素是土壤 pH 而不是 Cu 浓度。相比之下,Stefanowicz 等^[17]在铅锌矿区草地进行的研究结果表明,高营养物质和植物物种丰富度可明显抵消金属污染的毒性作用,这后来被证明有益于土壤微生物生存^[13]。这些研究发现影响微生物的环境因素具有多样性,表明土壤微生物群落可以适应不同的生态环境。且有助于人们探索重金属等环境因子与土壤微生物群落之间的相互作用,从而阐明重金属污染改变微生物群落结构的机制。

铜陵市是我国著名的有色多金属矿区,其中狮子山金属矿开采等一系列工况所造成的土壤重金属污染问题对当地环境造成了很大影响^[18],研究这一矿山问题具有显著代表性。据调查,矿山不同的土地利用类型是由于不同的矿业活动造成的,从而导致重金属污染及理化性质在不同区域差异显著^[19],且不同土壤利用类型下的土壤理化性质[SOM、含水率(MC)、pH 和 AK 等]也会影响重金属毒性,所以重金属污染下微生物群落结构的变化不仅取决于重金属浓度,还需结合土壤中的理化性质等参数^[20~22]。并且关于铜陵狮子山矿区不同土地利用类型的重金属污染对土壤微生物群落影响的研究并不多。张雪晴等^[23]和 Yang 等^[24]分别对铜陵矿区的不同污染程度的土壤和废弃尾矿池的酸矿水进行微生物群落分析,得到了部分细菌和真菌及分布情况。而本研究使用的高通量测序方法能够较为准确全面地反映土壤微生物群落结构^[25],且能较全面地对于矿山不同土地利用类型中土壤微生物群落多样性进行研究。

因此,本文选择安徽铜陵狮子山矿区 4 种不同土地利用类型(菜园、尾矿库、堆矿区和选矿区)的土壤为研究对象,利用高通量测序的方法,对不同片

区土壤中的微生物群落结构及其与环境因子的相关性进行了研究。具体来说,本研究使用高通量测序描述微生物群落与土壤理化性质之间的联系,从而掌握矿山不同土壤环境及环境胁迫带来的微生物多样性的差异。更重要的是这些方法的应用,可以将环境变量以及地域差异对群落多样性的影响量化以及可视化。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究采样点设在狮子山杨山冲尾矿库及周边,采样地点属于亚热带气候,年均温度 16.2℃、平均年降水量 1 340 mm^[26]。根据矿山总平面布置图,针对不同土地利用类型,选取菜园 V. G. (矿山脚下的菜地)、尾矿库 T. R. (已经复垦的尾矿区)、堆矿区 H. M. A. (临时堆土区、排土场)和选矿区 D. A. (选矿厂)进行采样(图 1)。每个采样区域样品收集 5 份土样,同一区域样品彻底混合装入无菌密封袋冷藏运输回实验室。将所有的土壤样品过 2 mm 尼龙筛均质化去除结石和植物根部并分成 2 份。将一部分新鲜土壤于室内风干、研磨、过筛后装入无菌的自封样品袋中于 4℃ 冰箱保存,用于土壤理化性质测定;另一部分新鲜土壤,装入无菌塑料袋,置于 -80℃ 的冰箱中存储,用于土壤微生物的 DNA 提取和测序。

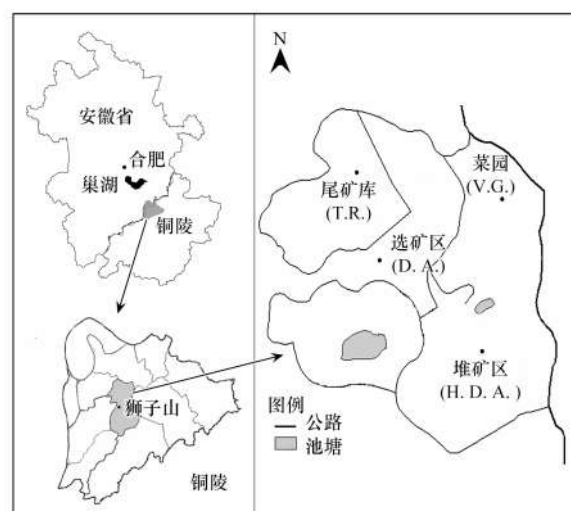


图 1 采样分布示意

Fig. 1 Sampling location map

1.2 土壤样品测定

土壤 pH 采用电极电位法测定^[27]。养分指标选择有机质、速效氮、全氮、有效磷和速效钾,其中,有机质采用重铬酸钾容量法^[27];全氮和速效氮采用纳氏比色分光光度法^[26];有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法^[27];速效钾采用醋

酸铵浸提-火焰光度计法^[28]。水分指标选择土壤含水率(MC),采用烘箱干燥法在(105±2)℃条件下,烘干至恒重,然后称量计算^[29]。样品采用过氧化氢-硝酸-氢氟酸消解法消解。配置重金属标准曲线溶液,使用火焰原子分光光度计(AAS),测定样品Cu、Pb、Zn、Cd、Ni和Mn等元素含量^[30]。采用内梅罗综合污染指数法评价矿山土壤重金属综合污染状况^[31]。

$$P_N = \sqrt{\frac{\left(\frac{C_i}{S_i}\right)_{\max}^2 + \left(\frac{C_i}{S_i}\right)_{\text{ave}}^2}{2}}$$

式中, P_N 为内梅罗综合污染指数; C_i 为污染物*i*含量的实测值, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; S_i 为污染物*i*的当地背景值, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.3 DNA提取与PCR扩增

样品按照MOBIO PowerSoil® DNA Isolation Kit试剂盒操作方法提取样品基因组DNA^[32]。以提取的样品基因组DNA为模板针对微生物16S rRNA基因V4区(515F与806R)进行PCR扩增^[28]。PCR扩增条件:94℃变性5 min,然后30个循环(94℃ 30 s, 52℃ 30 s, 72℃ 45 s),最后在72℃延伸10 min。将同一样品的PCR产物利用2%的琼脂糖凝胶电泳进行检测,并根据PCR产物的浓度,将各样品进行等浓度混样,最后使用EZNA Gel Extraction Kit (Omega, USA)凝胶试剂盒回收混合产物。PCR扩增产物经建库检测,将合格的文库在Illumina MiSeq平台进行高通量测序。

1.4 统计分析

数据采用Microsoft Excel 2013进行统计。通过QIIME平台去除原始序列中的低质量序列^[33],根据标签序列分开来自不同样品的序列。利用Uchime软件去除在PCR过程中形成的嵌合体^[34],获得的

高质量序列用Usearch方法进行聚类^[35],以16S rRNA基因序列97%相似度作为分类操作单元(operational taxonomic units, OTUs)的划分标准。Chao1和Shannon多样性指数的计算利用QIIME平台完成,通过RDP分类鉴定OTU代表性序列的微生物分类相对丰度。方差分析(ANOVA)、Pearson相关性分析用SPSS Statistics 19.0完成。用R软件(版本2.15.3)中的各种数据包可以完成VPA、Heatmap等图进行分析检验^[35]。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质及重金属含量

4种不同土地利用类型土壤样品MC和营养物质含量如表1所示,可以看出,4个区域的pH的顺序为尾矿库(7.14)>菜园(5.64)>选矿区(5.17)>堆矿区(3.75)。菜园中的有机质、全氮、速效氮、有效磷、有效钾相对于其他3个采样区域样品要高,分别为16.16 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、2.91 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、334.53 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、119.80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和118.10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。而在MC方面,尾矿库最低为0.53%;最高出现在堆矿区,为4.27%,高于菜园(1.53%)。

土壤重金属含量及污染指数如表2所示。重金属Cu、Pb、Zn、Cd、Ni和Mn含量分别在297.48~601.37、94.45~406.40、362.62~593.67、5.43~6.63、37.31~65.07和425.56~1 425.44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。与铜陵当地的土壤背景值(Cu: 79.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Pb: 67 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Zn: 139 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Cd: 0.71 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Ni: 33 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Mn: 846 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)相比,6种元素均超出背景值。根据内梅罗综合污染指数发现矿山4种不同土地利用类型均为重污染土壤($P_N > 3$),依次为堆矿区(7.28)>选矿区(6.99)>尾矿库(6.55)>菜园(5.92)。

表1 土壤含水率和营养物质含量

Table 1 Soil moisture and nutrient content

采样区域	pH	有机质 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全氮 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效氮 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效磷 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效钾 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	MC /%
菜园(V. G.)	5.64±0.19	16.16±1.35	2.91±0.48	334.53±6.84	119.80±6.47	118.10±5.41	1.53±0.14
尾矿库(T. R.)	7.14±0.16	4.50±1.07	1.52±0.60	129.99±6.46	2.41±0.86	57.95±6.13	0.53±0.12
堆矿区(H. M. A.)	3.75±0.20	8.21±0.73	1.95±1.52	169.27±11.00	8.52±0.99	69.39±3.33	4.27±0.18
选矿区(D. A.)	5.17±0.19	3.17±1.41	1.90±1.33	127.94±5.48	8.32±0.95	36.56±5.31	0.62±0.12

表2 土壤重金属含量及污染指数

Table 2 Heavy metal content in soil and pollution index

采样区域	Cu / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Pb / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Zn / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cd / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Ni / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Mn / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	内梅罗综合污染 指数(P_N)
菜园(V. G.)	341.98±4.57	147.46±5.63	471.02±7.07	5.43±0.84	58.55±5.89	929.71±8.78	5.92
尾矿库(T. R.)	392.78±3.93	94.45±0.31	366.62±1.47	6.09±5.15	58.90±3.34	1 425.44±8.51	6.55
堆矿区(H. M. A.)	297.48±5.19	406.40±4.65	593.67±3.45	6.63±1.17	65.07±4.88	425.56±5.08	7.28
选矿区(D. A.)	601.37±9.78	115.29±6.27	362.62±7.08	6.46±0.27	37.31±5.05	866.46±9.47	6.99

2.2 微生物群落的组成及多样性

Observed species 指数对应的稀释曲线表明(图 2),随着测序数量的增加,曲线趋于平缓但并未达到饱和,这说明此次试验取样基本合理,现有的测序量对于获得新的 OTUs 已经足够.

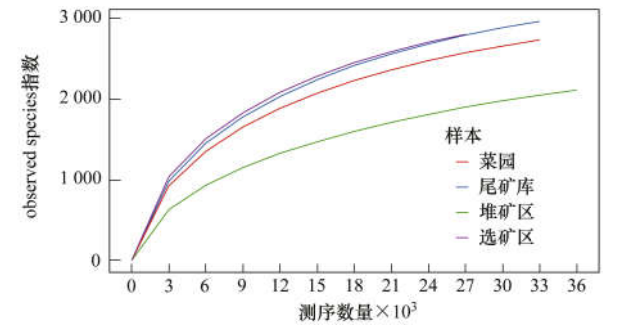


图 2 物种稀释曲线
Fig. 2 Species dilution curve

而通过 Venn 图可以直观地表现环境样本的 OTUs 数目组成相似性及重叠情况^[36]. 图 3 显示,4 个区域共有的 OTUs 数目为 670 个,并且各区域都有不同于其他区域的 OTUs 数目. 另外,4 个区域的 OTUs 数量为尾矿区(3028) > 选矿区(2814) > 菜园

(2755) > 堆矿区(2172). 同时,表 3 中的 Shannon 指数、Chao1 指数和 Observed species 指数验证上述物种丰富度排名情况. Shannon 指数表征物种多样性和均匀性. 由 Shannon 指数得出,选矿区(9.45)具有最大多样性和均匀性,而堆矿区(7.39)则最小. 在物种的丰富度上,由 Chao1 指数和 Observed species 指数可以得出,这两种指数最大值均在选矿区,分别为3 329和2 814,最小值均在堆矿区,分别为 2 677和1 907.

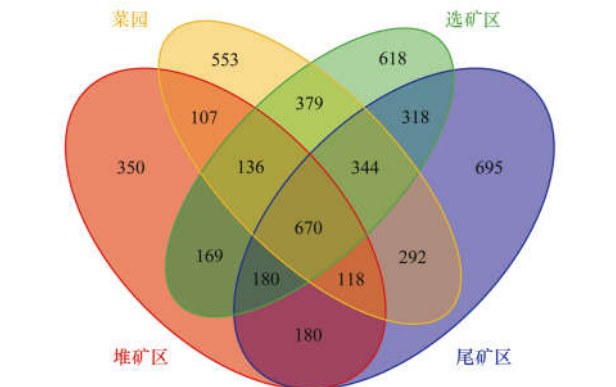


图 3 OTU 韦恩图
Fig. 3 OTU Venn diagram

表 3 微生物多样性信息

Table 3 Sequencing information in this study					
采样区域	序列数	OTUs	Shannon 指数	Chao1 指数	Observed species 指数
菜园(Y. G.)	33820	2755	8.98	3233	2584
尾矿区(T. R.)	35681	3028	9.25	3491	2804
堆矿区(H. M. A.)	38959	2172	7.39	2677	1907
选矿区(D. A.)	27291	2814	9.45	3329	2814

基于 Weighted Unifrac 距离的主坐标分析(PCoA)显示了土地利用类型和土壤理化性质对微生物群落 β -多样性的综合影响(图 4). PCoA 结果显示,约有 83.16% 的微生物群落组成变异得到解释(第一和第二维分别是 52.81% 和 30.35%),表明土地利用类型及土壤理化性质等相关参数对微生物群落有较为显著地影响. 此外,菜园和选矿区距离相近,说明这两个采样区域的微生物群落相似性很高. 而尾矿区与堆矿区各自分散,较为独立,说明不同土地利用类型下微生物群落组成差异很大.

OTUs 序列条数可以分成不同的类别(从属到门),土壤微生物群落在门(0.01)水平上的相对丰度共有 13 门(图 5),主要有细菌(98.07%)和古菌(1.93%)组成. 由图 6 得,其中的优势菌群有 Proteobacteria(37.21%)、Bacteroidetes(17.53%)、Acidobacteria(12.27%)、Actinobacteria(5.53%)和 Gemmatimonadetes(5.35%),丰富度 > 5%,优势菌占总菌数的 77.89%. 此外,笔者还在样品中观察到

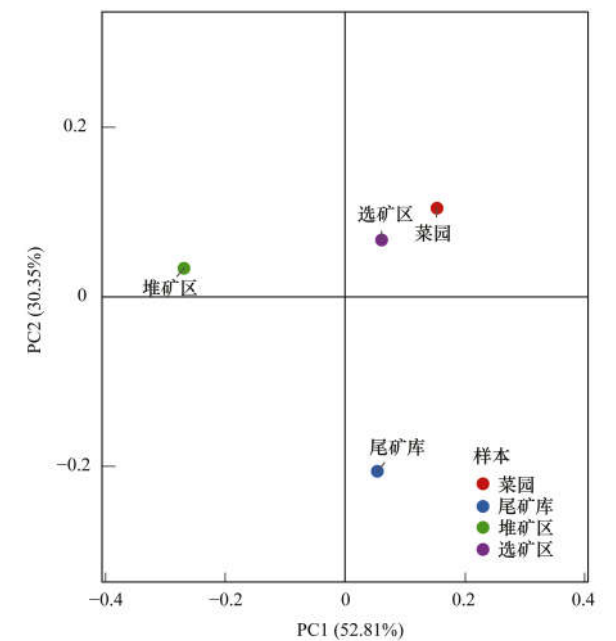


图 4 细菌群落相似性 PCoA 分析
Fig. 4 PCoA analysis of the similarity of bacteria communities

有许多丰富度小但能引起人们注意的菌种,如 Verrucomicrobia (4. 90%)、Firmicutes (4. 24%)、Chloroflexi (3. 55%)、Planctomycetes (3. 10%)、Crenarchaeota (1. 93%)、OD1 (0. 93%)、Cyanobacteria(0. 74%)和 Nitrospirae(0. 60%)。

13 门菌在 4 个区域中的占比情况如图 5。Proteobacteria 为最优势菌群,分别占堆矿区的 43. 67%,占选矿区的 41. 63%,占菜园的 32. 62% 和尾矿库的 30. 93%。Bacteroidetes 在菜园、尾矿库以及选矿区较多,分别占 27. 65%、16. 69% 和 17. 90%。Firmicutes 在堆矿区占比最多为 15. 19%,而在其他 3 个区域中几乎可以忽略。Cyanobacteria 和 Nitrospirae 在 4 个区域分布都很少。

从纲的丰度图(图 7)可以看出,4 个区域的微生物群落在纲水平上分布具有较大差异。在纲的水平上,Proteobacteria 主要包括 4 个纲目,分别为 β -Proteobacteria(13. 16%)、 α -Proteobacteria(10. 52%)、 γ -Proteobacteria (9. 54%) 和 δ -Proteobacteria (3. 81%),见图 8。其中 β -Proteobacteria 和 α -Proteobacteria 都在选矿区具有最大的占比,分别为 16. 12% 和 17. 48%,而其他区域差异不大。而 γ -Proteobacteria 在选矿区只占 3. 85%,最大丰度在尾矿库为 20. 92%。从属的丰度图(图 9)可以看出,

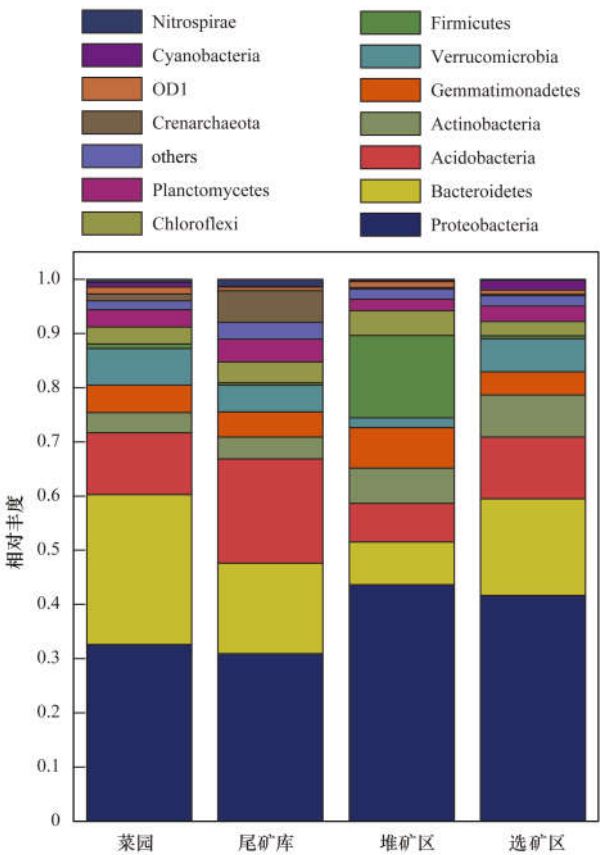


图 5 不同土地利用类型中微生物群落(门水平)分布
Fig. 5 Distribution of microbial community (phylum level) in different land use types

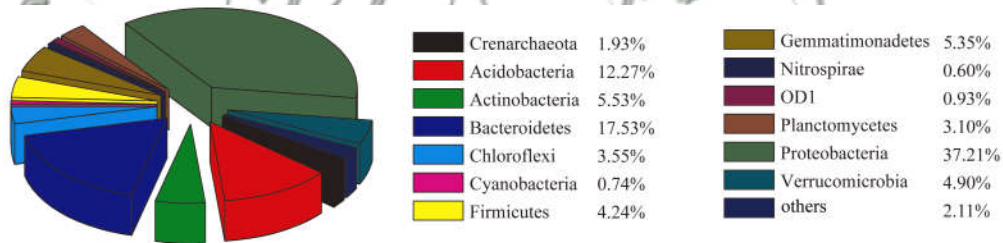


图 6 各门类微生物总体占比情况
Fig. 6 Overall proportion of each phylum of microorganisms

较丰富的物种是 *Flavobacterium* (3. 37%)、*Kaistobacter* (2. 04%)、*Ramlibacter* (2. 01%) 和 *Acinetobacter*(2. 00%),见图 10。其中 *Flavobacterium* 在菜园丰度最大,为 7. 68%。 *Kaistobacter* 除了在菜园和尾矿库丰度很小,在堆矿区和选矿区丰度较高,菜园占 0. 09%,尾矿库占 0. 09%,堆矿区占 3. 01%,选矿区占 3. 37%。 *Ramlibacter* 在堆矿区丰度最小,为 0. 09%,在选矿区丰度最大,为 3. 78%。 *Acinetobacter* 在堆矿区丰度最高,为 7. 22%,而在其他 3 个区域丰度几乎可以忽略不计。

2.3 环境因子与微生物群落结构及多样性之间的相关性

本研究对土壤微生物群落结构及多样性与环境因子进行了典型对应分析和相关性分析(见图 11

和表 4)。由 CCA 结果显示(图 11),微生物群落结构与该生境中的重金属浓度、土壤营养物质等 14 个环境因子之间存在明显的关联。得出 MC、Pb 和 Cd 是本研究中对微生物群落影响最大的环境因子,其次是 pH、Mn 和 P_N 等。图 11 中 *Firmicutes* 与 MC、Pb 和 Zn 呈极显著正相关,*Crenarchaeota* 和 *Nitrospirae* 与 Cd 呈正相关,与 pH、Mn 和 Ni 呈显著正相关, *Cyanobacteria* 与 Cu、AP、AN 等营养物质呈极显著正相关。 P_N 与 *Firmicutes* 呈显著正相关,与 *Chloroflexi*、*Gemmatimonadetes*、*Proteobacteria*、*Actinobacteria* 和 *OD1* 呈较弱正相关,与 *Cyanobacteria*、*Crenarchaeota* 等其他微生物呈负相关。

由相关性分析(表 4)来看,pH 和 OTUs 数目呈显著正相关,和 Shannon 指数、Chao1 指数以及

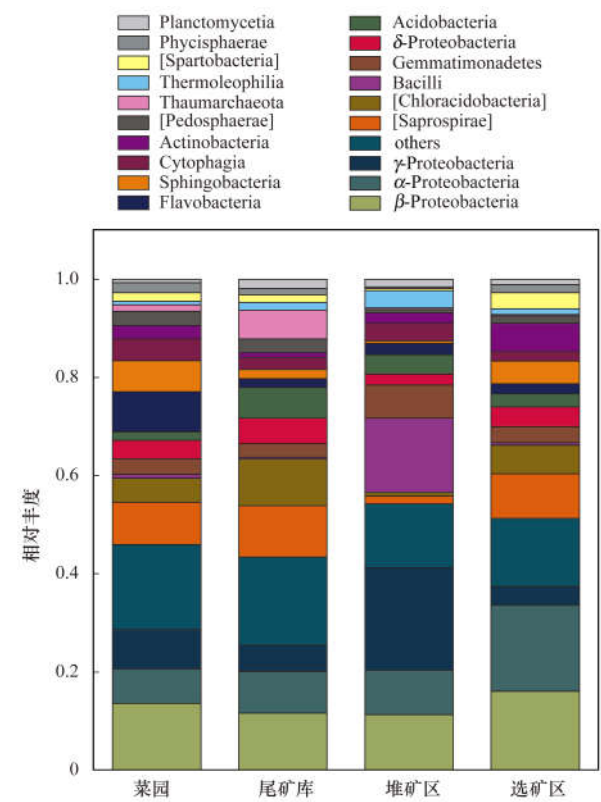


图7 各纲目在不同土地利用类型中的分布
Fig. 7 Distribution of each class in different land use types

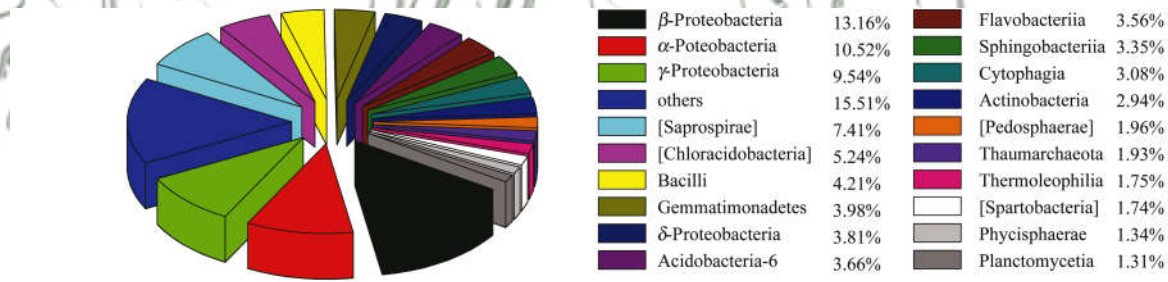


图8 各纲目总体占比情况
Fig. 8 Overall proportions of each class

表4 土壤细菌生态多样性与土壤理化性质相关性分析¹⁾

Table 4 Correlation analysis between soil bacterial ecological diversity and soil physical and chemical properties				
项目	OTUs	Shannon 指数	Chao1 指数	Observed species 指数
pH	0.953 *	0.828	0.945	0.878
有机质	-0.063	0.187	-0.008	0.160
全氮	-0.257	0.065	-0.205	-0.009
速效氮	0.045	0.316	0.101	0.278
有效磷	0.179	0.452	0.234	0.411
有效钾	-0.009	0.200	0.043	0.190
Cu	0.393	0.382	0.370	0.338
Pb	-0.964 *	-0.949	-0.962 *	-0.948
Zn	-0.888	-0.797	-0.869	-0.803
Cd	0.987 *	0.985 *	0.994 **	0.996 **
Ni	-0.289	-0.318	-0.271	-0.261
Mn	0.943	0.794	0.930	0.847

1) * 表示显著相关($P < 0.05$), ** 表示极显著相关($P < 0.01$)

Observed species 指数呈正相关. 对于土壤有机质、全氮、速效氮、有效磷和有效钾来说,其与细菌丰富度之间相关性较低. 在重金属方面,重金属 Cu、Cd、Mn 和 OTUs、Shannon 指数、Chao1 指数、Observed species 指数呈正相关,其中重金属 Cd 和 4 个生态多样性指标呈显著正相关,与 Chao1 指数和 Observed species 指数呈极显著正相关. 与 Cd 不同的是,重金属 Pb、Zn、Ni 和 4 个生态多样性指标均呈负相关,与 OTUs 和 Chao1 指数呈显著负相关.

3 讨论

3.1 土壤理化性质特征

本研究中,土壤 MC、营养物质与重金属含量在不同土地利用类型下表现出显著的变化(表 1). 各采样区域理化性质的不同可能是由于矿石处置时间^[37]、当地空气和水的可用性以及不同取样部位的微生物代谢活动的水平和性质^[38]所导致的. 尾矿库 pH 呈中性偏碱性,可能是由于添加了粉煤灰等表面覆盖物质,导致其土壤呈中性偏碱性^[39],而其他区域可能是受到矿山的酸矿水的流经或者灌溉等影响,从而导致其土壤呈酸性. 菜园中的营养物质明显高于其他3个区域,这可能是菜园经常灌溉

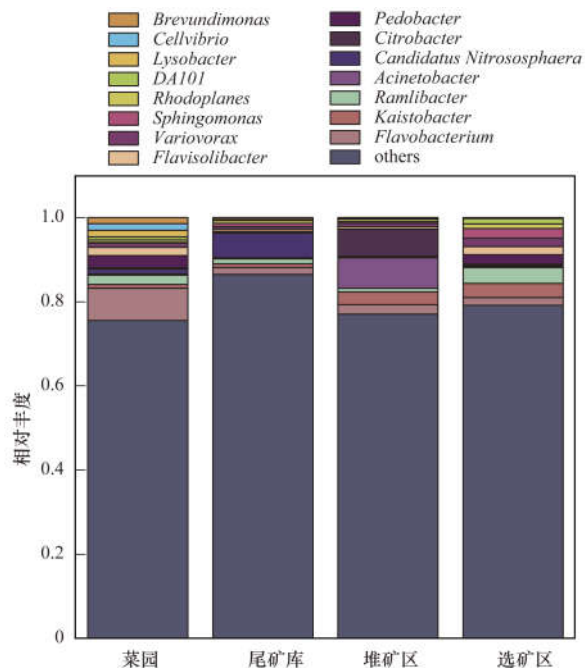


图 9 各属在不同土地利用类型中的分布

Fig. 9 Distribution of genera in different land use types

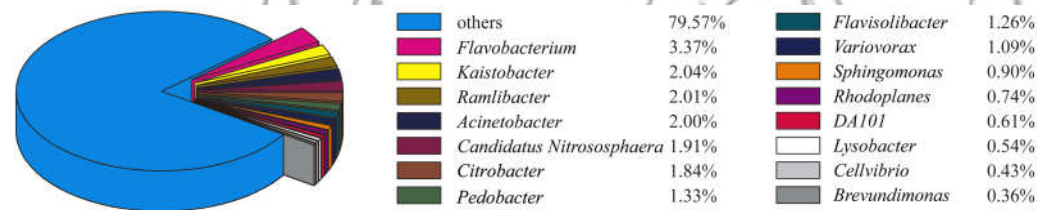


图 10 各属总体占比情况

Fig. 10 Overall proportion of each genera

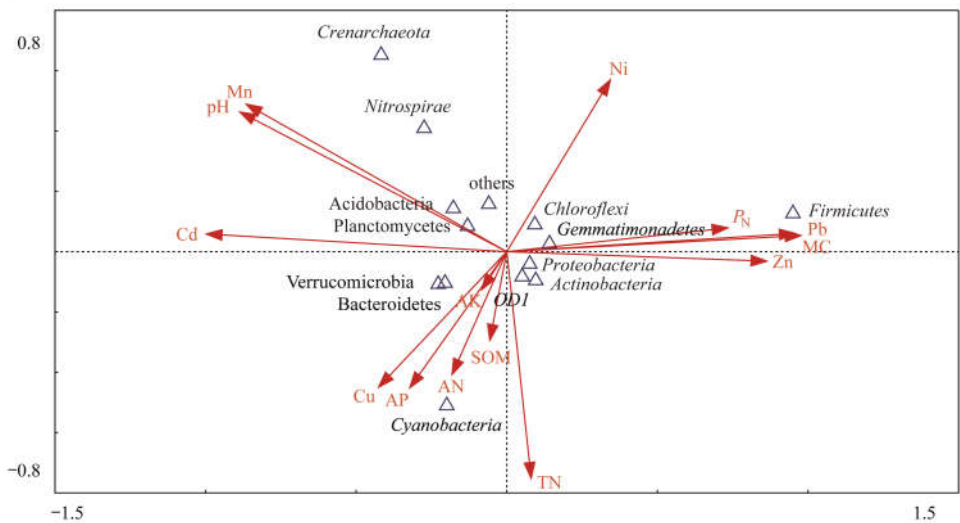


图 11 微生物与环境典型对应分析

Fig. 11 Canonical correspondence analysis (CCA) of microorganisms and environment

多样性均弱于其他 3 个区域,图 5 也验证了该结果,即 Bacteroidetes、Acidobacteria 和 Verrucomicrobia 等菌在堆矿区中的丰度较其他 3 个区域有很明显的锐减趋势,特别是 Crenarchaeota 在堆矿区基本上无分布. 相反的是,Proteobacteria 和 Firmicutes 在堆矿区

施肥,土壤较为肥沃. 表 2 显示,4 个区域均表现出不同重金属污染程度. 其中重金属 Cu 含量较高,在选矿区含量最高,该区域是选矿工艺形成废水的集中地,这也跟狮子山是铜矿产地且在选矿过程主要筛选铜矿有很大关系. 其次严重的是重金属 Cd 污染,菜园重金属 Cd 含量为 $5.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,远高于当地土壤背景值,这可能是由于矿山开采过程中产生的重金属通过多种途径散布至菜园,因此菜园种植的蔬菜可能危害周围居民身体健康,同时菜园也无法成为合格的无公害蔬菜产地. 殷汉琴等^[40]对铜陵市及其周边地区土壤重金属元素污染评价时也发现,铜陵市及周边地区土壤中 Cd 和 Cu 污染较严重.

3.2 微生物群落组成及多样性分析

微生物会通过改变其群落丰度及结构来适应高负荷的重金属污染,因此生态系统中的微生物多样性和均匀性也会受到改变. 表 3 显示,在受重金属污染最严重的堆矿区中,其微生物群落丰度及结构

和选矿区中分布反而增加了. Pereira 等^[41]的研究结果也发现,在长期重金属污染下,微生物群落结构多样性和丰度会降低.

所研究土壤中最丰富的 3 种门之一是 Proteobacteria,其在不同的土壤中如农田^[42]、森林

土壤^[43]和红树林^[44]均属于优势菌^[45]。Ferreira 等^[46]和 Gillan 等^[47]的研究表明, Proteobacteria 对重金属的耐受力最强, 一定浓度下随着重金属污染的加重而增加, 这与本研究的结果一致。而 Yin 等^[48]却发现在重金属高污染沉积物中, Proteobacteria 的丰度相对较低, 这可能是由于微生物群落间相互作用来适应新生境的结果。所以 Proteobacteria 对重金属所表现出的反应可能取决于其复杂的生活方式, 一方面可以通过生物转化作用降低重金属的毒害^[49], 另一方面可以使用多种有机质作为能源与其他菌群共同生存^[50], 这一特性使得 Proteobacteria 能够适应绝大多数环境。

而另一种优势菌 Bacteroidetes 与 Proteobacteria 不同, 其在 4 个采样区域的丰度大小各不相同, 说明不同重金属元素对 Bacteroidetes 的影响不同^[51]。Acidobacteria 和 Verrucomicrobia 在尾矿库丰度最大, 在重金属污染最严重的堆矿区中丰度最小。江玉梅等^[52]也发现在重金属污染下这两种微生物的分布。Firmicutes 与重金属 Pb、Zn 及 P_N 显著相关 (图 11), 有研究表明^[53, 54], Firmicutes 有耐重金属的特性, 可以通过各种方法减轻重金属的毒害, 从而使得 Firmicutes 在堆矿区丰度最多, 但是可能是由于尾矿库复垦时间长, 氮含量增加^[55], 导致 Firmicutes 在尾矿库丰度分布少。

进一步地分类学表明, 纲水平的微生物组成存在相当大的差异。β-Proteobacteria 是 Proteobacteria 中丰度最高的一个纲菌, 在 4 个采样区域均有大量出现, Liao 等^[56]和 Wang 等^[57]的研究结果也表明在受重金属污染的土壤中, β-Proteobacteria 是变形杆菌中最丰富的纲。在属水平的微生物中, *Flavobacterium* 在菜园大量出现, 而在其他 3 个区域存在极少, 这说明重金属会导致该属丰度降低, 易艳梅等^[58]也发现在重金属污染区 *Flavobacterium* 含量也极少。Kaistobacter 在堆矿区和选矿区丰度较高, 在其他 2 个区域丰度较低, 这表明 Kaistobacter 可能对重金属有一定的耐受性, 且 Wu 等^[59]也发现, Cu 等重金属与 Kaistobacter 具有显著正相关性, Kaistobacter 和 *Sphingomonas* 与 Cu 呈正相关, 并在重金属污染土壤中被广泛检测到^[60]。Candidatus Nitrososphaera 以氨氧化著称^[61], 在污染环境中氨氧化细菌具有绝对优势^[62], 这表明氮循环与矿山重金属污染土壤中的微生物之间存在密切的相互作用^[63]。

3.3 环境因子对微生物群落结构多样性的影响

微生物群落组成不仅受重金属污染的影响, 还受到土壤水分、理化性质等因素影响, 尤其是受到

MC、Pb、Cd、pH、Mn 和内梅罗综合污染指数 P_N 的影响 (图 11)。多种微生物与 MC 呈正相关, 如 Firmicutes、Chloroflexi 和 Proteobacteria 等, 尤其是 Firmicutes 与 MC 呈极显著正相关。这与 Wu 等^[64]在土壤理化性质与重金属浓度对不同土地利用类型微生物群落组成的研究中认为土壤水分是影响微生物群落的第二大重要因素相似。景炬辉等^[37]的研究也发现, 重金属 Cu、Pb、Zn 和 Mn 主要影响细菌相对丰度变化。

表 4 显示, 本研究中 pH 与多样性指数均为正相关, 表明 pH 对微生物群落结构有较大影响^[65]。这与 Pennanen^[66]研究北方森林下的土壤所得结论相似, 即 pH 的增加改变了微生物群落的结构, 导致革兰氏阴性菌的数量增加。而对于土壤有机质、全氮和速效氮等营养物质来说, 其与微生物丰度之间的相关性较弱, 这表明营养物质的水平对微生物种类的影响较小。但是戴雅婷等^[67]的研究结果表明, 土壤有机质等营养物质含量与土壤细菌群落多样性间均有极显著正相关关系。与本研究结果不同的原因可能是采样区域处于矿区, 植被覆盖率低, 导致土壤营养物质含量较低。

相较于 pH 与土壤有机质、全氮和速效氮等营养物质, 本研究发现重金属污染对微生物群落结构多样性的影响更大。堆矿区物种丰度最小的原因可能就是由于大量废弃矿石堆积该区域, 重金属不断堆积至土壤中^[68], 导致物种丰富度下降。而谢学辉等^[69]和金笑等^[70]的研究发现, 重金属 Cu 和 Cd 对微生物群落结构多样性的影响并不显著, 相反, 张雪晴等^[23]对铜陵附近铜矿的研究结果则表明随着重金属浓度的加大, 引起细菌物种数量的下降, 导致细菌群落多样性降低, 与本研究结果相似。另外, Kelly 等^[71]的研究发现 Zn 会影响土壤微生物的群落结构和功能多样性。Moffett 等^[72]应用扩增核糖体 DNA 限制分析也发现, 高浓度的 Zn 含量降低了可耕地细菌群落的多样性, 本研究也得出了与上述研究相似结果。各研究结果的差异可能是由于不同区域所处的环境不同, 导致差异出现, 同时这也从另一方面说明了影响微生物群落结构多样性不是简单地由单个因素造成的, 而是与多种复杂的环境因子有关。

总的来说, 本研究对矿区中 4 种不同土地利用类型进行了分析, 可以大致看出, 整个矿区的微生物群落结构变化呈现区域性, 并不是一个整体, 对不同土地利用类型划分研究, 让人们对于矿区微生物群落结构的系统变化有了更加全面地了解。

4 结论

(1) 不同土地利用类型的土壤理化性质不同。4

个区域 pH 顺序为尾矿库(7.14) > 菜园(5.64) > 选矿区(5.17) > 堆矿区(3.75); 菜园中的有机质、全氮、速效氮、有效磷、有效钾为 4 个区域样品中最高。4 个区域的内梅罗综合污染指数依次为堆矿区(7.28) > 选矿区(6.99) > 尾矿库(6.55) > 菜园(5.92)。

(2) 微生物群落结构多样性存在区域性变化, 即在不同土地利用类型中, 其变化均不同。通过 PCoA、CCA 和相关性分析可知, pH 和重金属污染对微生物群落结构多样性影响较大。在不同土地利用类型土壤受到长期重金属污染的情况下, Proteobacteria、Firmicutes 和 Bacteroidetes 对重金属污染有耐受能力, 能够在污染较强的区域仍有较大的丰度, 在纲和属水平的微生物中, β -Proteobacteria 和 Kaistobacter 也具有较重的重金属耐受性。

参考文献:

- [1] Xu P, Wu C. Analysis of soil heavy metals pollution and its present situation around lead-zinc mining areas in China [J]. *Advances in Environmental Protection*, 2014, **4**(5): 187-194.
- [2] Jiang Q W, Nie L X. Research progress on heavy metal contamination in agriculture in China [J]. *Advances in Environmental Protection*, 2015, **5**(5): 103-112.
- [3] Mahar A, Wang P, Ali A, *et al.* Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, **126**: 111-121.
- [4] Mganga K Z, Razavi B S, Kuzyakov Y. Land use affects soil biochemical properties in Mt. Kilimanjaro region [J]. *Catena*, 2016, **141**: 22-29.
- [5] Khan S, Hesham A E L, Qiao M, *et al.* Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2010, **17**(2): 288-296.
- [6] Zhang J, Qin J, Zhao C C, *et al.* Response of bacteria and fungi in soil microcosm under the presence of pesticide endosulfan [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2015, **226**: 109.
- [7] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16S rRNA 高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(4): 1704-1716.
- [8] 祁燕云, 吴蔓莉, 祝长成, 等. 基于高通量测序分析的生物修复石油污染土壤菌群结构变化 [J]. *环境科学*, 2019, **40**(2): 869-875.
- [9] Qi Y Y, Wu M L, Zhu C C, *et al.* Microbial community structure shift during bioremediation of petroleum contaminated soil using high throughput sequencing [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(2): 869-875.
- [10] 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.
- [11] Stewart F J, Ulloa O, DeLong E F. Microbial met transcriptomics in a permanent marine oxygen minimum zone [J]. *Environmental Microbiology*, 2012, **14**(1): 23-40.
- [12] Zhang C, Nie S, Liang J, *et al.* Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **557-558**: 785-790.
- [13] Wang F, Yao J, Si Y, *et al.* Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, **173**(1-3): 510-516.
- [14] Chodak M, Gołbiewski M, Morawska-Płoskonka J, *et al.* Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals [J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, **64**: 7-14.
- [15] Oka M, Uchida Y. Heavy metals in slag affect inorganic N dynamics and soil bacterial community structure and function [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **243**: 713-722.
- [16] Kou W B, Zhang J, Lu X X, *et al.* Identification of bacterial communities in sediments of Poyang Lake, the largest freshwater lake in China [J]. *SpringerPlus*, 2016, **5**: 401.
- [17] Jiang L F, Song M K, Yang L, *et al.* Exploring the influence of environmental factors on bacterial communities within the rhizosphere of the Cu-tolerant plant, *Elsholtzia splendens* [J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 36302.
- [18] Stefanowicz A M, Kapusta P, Szarek-Lukaszewska G, *et al.* Soil fertility and plant diversity enhance microbial performance in metal-polluted soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, **439**: 211-219.
- [19] Wang C, Shen Z, Li X, *et al.* Heavy metal contamination of agricultural soils and stream sediments near a copper mine in Tongling, People's Republic of China [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2004, **73**(5): 862-869.
- [20] Zhao X Q, Huang J, Lu J, *et al.* Study on the influence of soil microbial community on the long-term heavy metal pollution of different land use types and depth layers in mine [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, **170**: 218-226.
- [21] Boivin M E Y, Greve G D, Kools S A E, *et al.* Discriminating between effects of metals and natural variables in terrestrial bacterial communities [J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, **34**(2-3): 103-113.
- [22] Kenarova A, Radeva G, Traykov I, *et al.* Community level physiological profiles of bacterial communities inhabiting uranium mining impacted sites [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, **100**: 226-232.
- [23] Stemmer M, Watzinger A, Blohberger K, *et al.* Linking dynamics of soil microbial phospholipid fatty acids to carbon mineralization in a ^{13}C natural abundance experiment: Impact of heavy metals and acid rain [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, **39**(12): 3177-3186.
- [24] 张雪晴, 张琴, 程园园, 等. 铜矿重金属污染对土壤微生物群落多样性和酶活性的影响 [J]. *生态环境学报*, 2016, **25**(3): 517-522.
- [25] Zhang X Q, Zhang Q, Cheng Y Y, *et al.* The impact of heavy metal contamination on soil microbial diversity and enzyme activities in a copper mine [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, **25**(3): 517-522.
- [26] Yang Y, Li Y, Sun Q Y. Archaeal and bacterial communities in acid mine drainage from metal-rich abandoned tailing ponds, Tongling, China [J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2014, **24**(10): 3332-3342.
- [27] 夏围围, 贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价 [J]. *微生物学报*, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- [28] Xia W W, Jia Z J. Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE [J]. *Acta*

- Microbiologica Sinica, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- [26] Li J T, Li S P, Chen Y J, *et al.* Phylogenetic structures of soil nematode communities along a successional gradient in an unreclaimed copper mine tailings site [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, **77**: 179-186.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [28] Fu S F, He S, Shi X S, *et al.* The chemical properties and microbial community characterization of the thermophilic microaerobic pretreatment process [J]. Bioresource Technology, 2015, **198**: 497-502.
- [29] Rodríguez L, Ruiz E, Alonso-azcárate J, *et al.* Heavy metal distribution and chemical speciation in tailings and soils around a Pb-Zn mine in Spain [J]. Journal of Environmental Management, 2009, **90**(2): 1106-1116.
- [30] Tyson G W, Chapman J, Hugenholtz P, *et al.* Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment [J]. Nature, 2004, **428**(6978): 37-43.
- [31] Guan Y, Shao C F, Gu Q B, *et al.* Study of a comprehensive assessment method of the environmental quality of soil in industrial and mining gathering areas [J]. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment, 2016, **30**(1): 91-102.
- [32] Tan G L, Shu W S, Hallberg K B, *et al.* Culturable and molecular phylogenetic diversity of microorganisms in an open-dumped, extremely acidic Pb/Zn mine tailings [J]. Extremophiles, 2008, **12**(5): 657-664.
- [33] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, **7**(5): 335-336.
- [34] Fierer N, Hamady M, Lauber C L, *et al.* The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, **105**(46): 17994-17999.
- [35] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. Bioinformatics, 2010, **26**(19): 2460-2461.
- [36] 张振龙. 胶和木聚糖对中华绒螯蟹和黄颡鱼生长、消化和肠道菌群的影响[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [37] 景炬辉, 刘晋仙, 李鑫, 等. 中条山铜尾矿坝面土壤细菌群落的结构特征[J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23**(3): 527-534.
- Jing J H, Liu J X, Li C, *et al.* The structural characteristics of a soil bacterial community in a dam of copper mine tailings in Zhongtiaoshan mountains, Shanxi [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2017, **23**(3): 527-534.
- [38] 郭静. 原始红松林土壤微生物多样性与土壤理化性质、酶活性的关系[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
- [39] 赵庆圆, 李小明, 杨麒, 等. 磷酸盐、腐殖酸与粉煤灰联合钝化处理模拟铅镉污染土壤[J]. 环境科学, 2018, **39**(1): 389-398.
- Zhao Q Y, Li X M, Yang Q, *et al.* Passivation of simulated Pb- and Cd-contaminated soil by applying combined treatment of phosphate, humic acid, and fly ash [J]. Environmental Science, 2018, **39**(1): 389-398.
- [40] 殷汉琴, 陈富荣, 陈兴仁, 等. 铜陵市及其周边地区土壤重金属元素污染评价[J]. 安全与环境学报, 2010, **10**(3): 98-102.
- Yin H Q, Chen F R, Chen X R, *et al.* Assessment of heavy metal pollutions to the soils in Tongling city, Anhui [J]. Journal of Safety and Environment, 2010, **10**(3): 98-102.
- [41] Pereira L B, Vicentini R, Ottoboni L M M. Changes in the bacterial community of soil from a neutral mine drainage channel [J]. PLoS One, 2014, **9**(5): e96605.
- [42] 刘晶鑫. 黑土长期定位试验原状土搬迁对土壤微生物的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
- [43] 柳春林, 左伟英, 赵增阳, 等. 鼎湖山不同演替阶段森林土壤细菌多样性[J]. 微生物学报, 2012, **52**(12): 1489-1496.
- Liu C L, Zuo W Y, Zhao Z Y, *et al.* Bacterial diversity of different successional stage forest soils in Dinghushan [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, **52**(12): 1489-1496.
- [44] 丁苏丽, 张祁灵, 董俊, 等. 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.
- Ding S L, Zhang Q J, Dong J, *et al.* 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.
- [45] Spain A M, Krumholz L R, Elshahed M S. Abundance composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria [J]. The ISME Journal, 2009, **3**(8): 992-1000.
- [46] Feris K, Ramsey P, Frazar C, *et al.* Differences in hyporheic-zone microbial community structure along a heavy-metal contamination gradient [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(9): 5563-5573.
- [47] Gillan D C, Danis B, Pernet P, *et al.* Structure of sediment-associated microbial communities along a heavy-metal contamination gradient in the marine environment [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(2): 679-690.
- [48] Yin H Q, Niu J J, Ren Y H, *et al.* An integrated insight into the response of sedimentary microbial communities to heavy metal contamination [J]. Scientific Reports, 2015, **5**: 14266.
- [49] 滕应, 黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及其修复研究进展[J]. 土壤与环境, 2002, **11**(1): 85-89.
- Teng Y, Huang C Y. Ecological effect of heavy metals on soil microbes and research advances on the mechanisms of bioremediation [J]. Soil and Environmental Sciences, 2002, **11**(1): 85-89.
- [50] Bouskill N J, Barker-Finkel J, Galloway T S, *et al.* Temporal bacterial diversity associated with metal-contaminated river sediments [J]. Ecotoxicology, 2010, **19**(2): 317-328.
- [51] 焦慧. 两种铜矿废弃地土壤微生物的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2016.
- [52] 江玉梅, 张晨, 黄小兰, 等. 重金属污染对鄱阳湖底泥微生物群落结构的影响[J]. 中国环境科学, 2016, **36**(11): 3475-3486.
- Jiang Y M, Zhang C, Huang X L, *et al.* Effect of heavy metals in the sediment of Poyang Lake estuary on microbial communities structure base on Mi-seq sequencing [J]. China Environmental Science, 2016, **36**(11): 3475-3486.
- [53] Mounaouer B, Nesrine A, Abdennaceur H. Identification and characterization of heavy metal-resistant bacteria selected from different polluted sources [J]. Desalination and Water Treatment, 2014, **52**(37-39): 7037-7052.
- [54] Brück W K, 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.
- [55] Li J J, Liu F, Chen J W. The effects of various land reclamation scenarios on the succession of soil bacteria, archaea, and fungi over the short and long term [J]. Frontiers in Ecology and Evolution, 2016, **4**: 32.

- [56] Liao M, Xie X M. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **66**(2): 217-223.
- [57] Wang Y P, Shi J Y, Lin Q, *et al.* Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, **19**(7): 848-853.
- [58] 易艳梅, 黄为一. 不同生态区土壤溶磷微生物的分布特征及影响因子[J]. *生态与农村环境学报*, 2010, **26**(5): 448-453.
- Yi Y M, Huang T Y. Distribution of phosphate-solubilizing microbes in soils of different ecological zones and its affecting factors[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2010, **26**(5): 448-453.
- [59] Wu Z N, Gao G H, Wang Y Y. Effects of soil properties, heavy metals, and PBDEs on microbial community of e-waste contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, **180**: 705-714.
- [60] Xiao E Z, Krumins V, Dong Y R, *et al.* Microbial diversity and community structure in an antimony-rich tailings dump[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, **100**(17): 7751-7763.
- [61] Spang A, Poehlein A, Offre P, *et al.* The genome of the ammonia-oxidizing *Candidatus Nitrosphaera gargensis*: insights into metabolic versatility and environmental adaptations[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, **14**(12): 3122-3145.
- [62] Wang L Q, Li Y, Niu L H, *et al.* Response of ammonia oxidizing archaea and bacteria to decabromodiphenyl ether and copper contamination in river sediments[J]. *Chemosphere*, 2018, **191**: 858-867.
- [63] Jiang L F, Cheng Z N, Zhang D Y, *et al.* The influence of e-waste recycling on the molecular ecological network of soil microbial communities in Pakistan and China[J]. *Environmental Pollution*, 2017, **231**: 173-181.
- [64] Wu W C, Dong C X, Wu J H, *et al.* Ecological effects of soil properties and metal concentrations on the composition and diversity of microbial communities associated with land use patterns in an electronic waste recycling region[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **601-602**: 57-65.
- [65] 陈熙, 刘以珍, 李金前, 等. 稀土尾矿土壤细菌群落结构对植被修复的响应[J]. *生态学报*, 2016, **36**(13): 3943-3950.
- Chen X, Liu Y Z, Li J Q, *et al.* Response of a rare earth tailing soil bacterial community structure to vegetation restoration[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(13): 3943-3950.
- [66] Pennanen T. Microbial communities in boreal coniferous forest humus exposed to heavy metals and changes in soil pH—a summary of the use of phospholipid fatty acids, Biolog® and ³H-thymidine incorporation methods in field studies[J]. *Geoderma*, 2001, **100**(1-2): 91-126.
- [67] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 等. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. *土壤学报*, 2017, **54**(3): 735-748.
- Dai Y T, Yan Z J, Xie J H, *et al.* Soil bacteria diversity in rhizosphere under two types of vegetation restoration based on high throughput sequencing[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, **54**(3): 735-748.
- [68] 李楠, 迟杰. 港口矿石堆场矿石中重金属形态及模拟酸雨淋溶释放行为研究[J]. *安全与环境学报*, 2013, **13**(5): 99-102.
- Li N, Chi J. Speciation of heavy metals in the ore scattering in the harbor yard and their simulated acid rain leaching behaviors[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2013, **13**(5): 99-102.
- [69] 谢学辉, 范凤霞, 袁学武, 等. 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.
- Xie X H, Fan F X, Yuan X W, *et al.* Impact on microbial diversity of heavy metal pollution in soils near Dexing copper mine tailings[J]. *Microbiology China*, 2012, **39**(5): 624-637.
- [70] 金笑, 寇文伯, 于昊天, 等. 鄱阳湖不同区域沉积物细菌群落结构、功能变化及其与环境因子的关系[J]. *环境科学研究*, 2017, **30**(4): 529-536.
- Jin X, Kou W B, Yu H T, *et al.* Environmental factors influencing the spatial distribution of sediment bacterial community structure and function in Poyang Lake[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, **30**(4): 529-536.
- [71] Kelly J J, Tate III R L. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, **27**(3): 609-617.
- [72] Moffett B F, Nicholson F A, Uwakwe N C, *et al.* Zinc contamination decreases the bacterial diversity of agricultural soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **43**(1): 13-19.

CONTENTS

Concentration Characteristics and Assessment of Model-Predicted Results of PM _{2.5} in the Beijing-Tianjin-Hebei Region in Autumn and Winter	ZHU Yuan-yuan, GAO Yu-xiao, LIU Bing, <i>et al.</i> (5191)
Chemical Composition Characteristics and Source Apportionment of PM _{2.5} During the Heating Period of 2016-2017 in the Eastern Part of the North China Plain	ZHANG Yi-qin, WANG Jie, GAO Jian, <i>et al.</i> (5202)
Change in Characteristics of Pollution Gas and Water-soluble Ions at Different Development Stages of Haze	WANG Zhen-bin, LIU An-kang, LU Wen, <i>et al.</i> (5213)
Exposure Levels, Sources, and Health Risks of Heavy Metal Components of PM _{2.5} in Housewives in Rural Shanghai	LUO Ran-ran, DAI Hai-xia, ZHANG Yun-hui, <i>et al.</i> (5224)
Measuring the Condensable Particle Matter from a Stationary Source	JIANG Jing-kun, DENG Jian-guo, WANG Gang, <i>et al.</i> (5234)
Volatile Organic Compound Emission Characteristics of Furniture Manufacturing Enterprises and the Influence on the Atmospheric Environment	ZHANG Jia-mi, ZENG Chun-ling, LIU Rui-yuan, <i>et al.</i> (5240)
VOCs Emission Inventory and Impact Range Simulation of Antibiotic Enterprises	ZHU Tao, LÜ Yi-rong, BIAN Wen-jing, <i>et al.</i> (5250)
Effects of Vehicle Emissions on Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Pollution in Road Dust in Xinxiang	LI Qi-lu, WU Jin-tao, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (5258)
Pollution Characteristics and Exposure Risk Assessment of Perfluoroalkyl Substances in Road Dust, Chengdu	FANG Shu-hong, ZHU He-xiang, YE Zhi-xiang, <i>et al.</i> (5265)
Characteristics of Stable Isotopes and Analysis of Water Vapor Sources of Precipitation at the Northern Slope of the Qilian Mountains	ZHANG Bai-juan, LI Zong-xing, WANG Yu, <i>et al.</i> (5272)
Occurrence Characteristics and Risk Assessment of Antibiotics in Source Water of the Nanjing Reach of the Yangtze River	FENG Meng-juan, ZHANG Qin, SONG Ning-hui, <i>et al.</i> (5286)
Effects of Different Coagulants on Co-manganese Oxides Filter Media for Removing Ammonium and Manganese from Surface Water in Summer and Autumn	CHENG Li-jie, HUNAG Ting-lin, CHENG Ya, <i>et al.</i> (5294)
Disinfection By-products and the Relevant Health Risk in the Water Supply System in H City of Zhejiang Province	LIU Jun-ping, YU Jian-quan, LI Qing-song, <i>et al.</i> (5302)
Absorption and Fluorescence Spectra of Dissolved Organic Matter in Rivers of the Three Gorges Reservoir Area Under the Background of Urbanization	CHEN Zhao-yu, LI Si-yue (5309)
Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter (CDOM) in Natural Rivers of Western Sichuan Plateau	LIU Yan-yang, SUN Hui, LIU Chen, <i>et al.</i> (5318)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Losses and Runoff in a Typical Purple Soil Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	CAO Rui-xia, LIU Jing, DENG Kai-kai, <i>et al.</i> (5330)
Responses of Riverine Phosphorus Exports to Land Use and Hydrological Regime in the Jiulong River Watershed	HUANG Ya-ling, TANG Li, HUANG Jin-liang, <i>et al.</i> (5340)
Effects of Land Use Types at Different Spatial Scales on Water Quality in Poyang Lake Wetland	FANG Na, LIU Ling-ling, YOU Qing-hui, <i>et al.</i> (5348)
Environmental Significance of Phosphorus Fractions of Phytoplankton-and Macrophyte-Dominated Zones in Taihu Lake	GENG Xue, WEN Shuai-long, SUN Pei-rong, <i>et al.</i> (5358)
Spatial Distribution and Pollution Evaluation of Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Sediments of Zhushan Bay at Taihu Lake	FANG Jia-qi, QI Chuang, ZHANG Xin-hou, <i>et al.</i> (5367)
Effect of Rainfall Intensity on the Content of Nitrogen and Phosphorus Components in Plateau Areas: A Case Study of the Fengyu River Watershed	LI Xiao-hong, LEI Qiu-liang, ZHOU Jiao-gen, <i>et al.</i> (5375)
Water Purification Effect and Saline-alkali Tolerance Improvement Mechanism of <i>Suaeda salsa</i> in the Estuary Area	WU Dan, SUN Ping, CHEN Guang-lin, <i>et al.</i> (5384)
Concentration-dependent Accumulation and Translocation of PFASs by Wetland Plant <i>Alisma orientale</i>	WANG Tuan-tuan, LI Bei-bei, WANG Sai, <i>et al.</i> (5394)
Occurrence of Denitrifying Dephosphatation in a Hybrid Constructed Wetland System and Its Stability	LIU Bing, ZHENG Yu-ming, LI Qing-fei, <i>et al.</i> (5401)
Comparison of the Control of Sedimentary Phosphorus Release Using Zirconium-, Lanthanum-, and Lanthanum/Zirconium-Modified Zeolites as Sediment Amendments	LIU Ting, ZHAO Yu-ying, LIN Jian-wei, <i>et al.</i> (5411)
Effect of Biochar Structure on Adsorption Characteristics of Ammonia Nitrogen	CHEN Mei, WANG Fang, ZHANG De-li, <i>et al.</i> (5421)
Effect of Dissolved Oxygen on Partial Nitrification of Suspended and Attached Growth Systems	WANG Si-yu, LIU Ling-jie, WANG Fen, <i>et al.</i> (5430)
Effects of Different Intermittent Aeration Strategies on the Start-up of SNAD Process	LI Dong, LIU Zhi-cheng, XU Gui-da, <i>et al.</i> (5438)
Operational Performance and Microbiological Characteristics of an Iron-Salt Denitrification Reactor in Co-substrate Mode	WANG Ru, LIU Meng-yu, LIU Bing-yin, <i>et al.</i> (5446)
Effect of Step Aeration on a Municipal Sewage Aerobic Granular Sludge System	LI Dong, WEI Zi-qing, LAO Hui-mei, <i>et al.</i> (5456)
Improvement of the Dewaterability of Excess Activated Sludge with Mixed Yeasts by Degrading Extracellular Polymeric Substances	YU Xin-yi, XIANG Jin-hao, LIU Ying, <i>et al.</i> (5465)
Influence of Land Use Change on Ecosystem Service Value Based on GEE in the Beijing-Tianjin-Hebei Region from 1998 to 2018	LOU Pei-qing, FU Bo-lin, LIN Xing-chen, <i>et al.</i> (5473)
Assessment of Soil Quality in Coastal Tidal Flat Reclamation Areas Based on MDS-TOPSIS Model	XIE Xue-feng, PU Li-jie, ZHU Ming, <i>et al.</i> (5484)
Effect of Increasing Tidewater Inundation on Porewater Geochemistries and CO ₂ and CH ₄ Effluxes in the Tidal Freshwater Marshes of the Minjiang River Estuary, Southeast China	LI Jing, HUANG Jia-fang, LUO Min, <i>et al.</i> (5493)
Methane Emission Characteristics and Its Influencing Factors over Aquaculture Ponds	WANG Jiao, XIAO Wei, ZHANG Xiu-fang, <i>et al.</i> (5503)
Effect of Fertilization on Soil Respiration and Its Temperature Sensitivity in a Sorghum Field	YAN Jun-xia, ZHANG Yuan, JIAO Xiao-yan (5515)
Land Safety Zoning Method in High-Selenium and High-Cadmium Areas	WANG Rui, HOU Wan-ling, LI Yu-tong, <i>et al.</i> (5524)
Remediation Effects of Different Composite Materials on Cadmium-Contaminated Farmland Soil	CHEN Shu-lan, XU Chen-yang, GENG Zeng-chao, <i>et al.</i> (5531)
Hydrocalumite Passivation Effect and Mechanism on Heavy Metals in Different Cd-Contaminated Farmland Soils	WU Qiu-mei, LIU Gang, WANG Hui-feng, <i>et al.</i> (5540)
Effects of Different Land Use Types on Microbial Community Diversity in the Shizishan Mining Area	HUANG Jian, ZHU Xu-yan, LU Jin, <i>et al.</i> (5550)
Effects of Conversion of Forest to Arable Land on the Abundance and Structure of the <i>cbbL</i> -Harboring Bacterial Community in Albic Soil of the Hilly Region of Northeast China	WANG Rui, WU Xian, LI Gang, <i>et al.</i> (5561)
Thoughts on and Construction of a Risk Management and Control System for Contaminated Sites in the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	CHANG Chun-ying, DONG Min-gang, DENG Yi-rong, <i>et al.</i> (5570)
Visualized Quantitative Research of Soil Pollution in the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	ZHANG Ning, ZHANG Sheng, YANG Hai-chao, <i>et al.</i> (5581)
Characteristics and Environmental Impacts of Materials Stored in Municipal Solid Waste Landfills: A Case Study of the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	MA Shi-jun, ZHOU Chuan-bin, YANG Guang, <i>et al.</i> (5593)
Heavy Metal Contamination and Migration in Correspondence of an Electroplating Site on the Hilly Lands of the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area, China	HOU Wen-juan, GONG Xing, ZHAN Ze-bo, <i>et al.</i> (5604)
Pollution Characteristics and Migration of BTEX at a Chemical Contaminated Site in the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	DENG Yi-rong, LU Hai-jian, DONG Min-gang, <i>et al.</i> (5615)
Immobilization Impact of Goethite-Fulvic Acid Composites on Pb-Cd Contaminated Soil	LIU Qian-jun, LI Xiang, ZHOU Yang-mei, <i>et al.</i> (5623)
Mobilization of Heavy Metals in a Soil-Plant System and Risk Assessment in the Dabaoshan Mine Area, Guangdong Province, China	CHEN Jie-yi, LIU Guang-bo, CUI Jin-li, <i>et al.</i> (5629)
Calculation of the Soil Risk Control Value through a Hydrus-1D Model for Groundwater Protection	LIN Ting, LUO Fei, ZHU Yan, <i>et al.</i> (5640)
INDEX HUANJING KEXUE CONTENTS 2019, Vol. 40	(5659)