

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

**2017**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发 ..... 张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)  
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟 ..... 彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)  
鄂东典型工业城市大气 PM<sub>10</sub> 中元素浓度特征和来源分析 ..... 占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)  
常州夏秋季 PM<sub>2.5</sub> 中碳质气溶胶特征及来源 ..... 叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)  
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析 ..... 范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)  
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源 ..... 刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)  
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布 ..... 李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)  
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征 ..... 唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)  
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价 ..... 张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)  
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究 ..... 李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)  
尼洋河流域水化学特征及其控制因素 ..... 张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)  
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征 ..... 杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)  
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估 ..... 张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)  
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响 ..... 何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)  
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值 ..... 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)  
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响 ..... 肖丽微, 朱波 (4580)  
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系 ..... 滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)  
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析 ..... 李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)  
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律 ..... 蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)  
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响 ..... 王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)  
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V) ..... 周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)  
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除 ..... 蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)  
流态对生物添加强化硝化效果的影响 ..... 于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 滑思思, 冯云堂 (4641)  
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响 ..... 孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)  
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响 ..... 刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)  
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力 ..... 马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)  
污水处理厂 CANON 工艺小试 ..... 李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)  
SBR 加载不同粒径活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制 ..... 信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)  
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复 ..... 黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)  
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化 ..... 高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)  
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析 ..... 张玉, 万方, 周集体 (4706)  
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响 ..... 耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)  
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落 ..... 杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)  
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析 ..... 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)  
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响 ..... 王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)  
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响 ..... 刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)  
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性 ..... 牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)  
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素 ..... 杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)  
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub> 排放通量的短期影响 ..... 李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)  
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH<sub>4</sub> 和 N<sub>2</sub>O 排放的影响 ..... 石将求, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)  
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价 ..... 周燕, 卢新卫 (4800)  
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征 ..... 代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)  
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响 ..... 蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 鄧磊, 胡荣桂 (4819)  
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子 ..... 梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)  
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果 ..... 段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)  
反复冻融与高温老化对砷污染土壤固化稳定化效果的影响 ..... 杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)  
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征 ..... 叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)  
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性 ..... 王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)  
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险 ..... 印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁浚刚, 唐铭 (4868)  
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响 ..... 陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)  
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响 ..... 李标, 孔晓英, 李连华, 李颖, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)  
环境模型中敏感性分析方法评述 ..... 陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)  
《环境科学》征稿简则(4462) 《环境科学》征订启事(4672) 信息(4647, 4705, 4789)

## 安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落

杜泽瑞<sup>1,2</sup>, 郝春博<sup>1\*</sup>, 裴理鑫<sup>1</sup>, 卫朋飞<sup>1</sup>, 张壹<sup>1</sup>, 鲁艳春<sup>1</sup>

(1. 中国地质大学(北京), 水资源与环境学院, 北京 100083; 2. 北京市环境保护监测中心, 北京 100048)

**摘要:** 安徽某铁矿排土场是该铁矿主要的废矿石堆放地。这些露天堆放的废矿石经过长期的氧化, 于 20 世纪 70 年代在排土场中央形成了一个大型酸水库。此外, 在该酸水库周边还存在一些近年形成的小范围酸性矿山废水 (acid mine drainage, AMD)。为研究该区域废矿石的产酸潜力及产酸微生物群落, 采集了酸水库周边长期堆放的废矿石以及两处新形成 AMD 周边的废矿石样品共 6 个, 分别为酸水库边 1 号位裸露 1LL, 新形成的 AMD 5 号位旁 5J、5Y, 6 号位旁 6-1、6-2 和 6-3。物化分析表明 6 个样品酸性均很强, 样品 1LL 的 pH 最高, 也仅为 2.77, 而其他 5 个样品的 pH 均在 2.60 以下。1LL 的电导率为  $0.32 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 5 号和 6 号位样品的电导率则高达  $2.25 \sim 7.08 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 证明其中含有更高浓度的阴阳离子。1LL 中  $\text{Fe}^{2+}$  的含量为  $0.80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 而其它几个样品的含量则为  $2.91 \sim 33.40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 证明 1 号的样品经过长期的风化,  $\text{Fe}^{2+}$  基本上已被氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ 。16S rRNA 基因高通量测序表明, 5 号位和 6 号位样品中的嗜酸菌主要属于  $\gamma$ -Proteobacteria、Firmicutes、Nitrospira。1 号位样品中的嗜酸菌主要属于 Actinobacteria、Acidobacteria、Chloroflexi。5 号位和 6 号位样品含有大量的铁硫氧化菌, 如 *Sulfobacillus*、*Leptospirillum*、*Acidithiobacillus*, 证明其中发生着旺盛的产酸过程; 而 1 号位样品 1LL 微生物群落相对复杂, 但基本不存在铁硫氧化菌, 原因可能是酸水库周边长期堆放样品中的铁和硫都已经氧化殆尽, 基本上不再产酸。统计学分析结果表明, 1 号位样品 1LL 与另外 5 个样品微生物组成存在明显差异, 说明不同物化条件对微生物群落结构有决定性影响。

**关键词:** 酸性矿山废水; 废矿石; 嗜酸菌; 产酸群落; 高通量测序

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)11-4725-08 DOI: 10.13227/j.hjcx.201704047

## Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province

DU Ze-rui<sup>1,2</sup>, HAO Chun-bo<sup>1\*</sup>, PEI Li-xin<sup>1</sup>, WEI Peng-fei<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>1</sup>, LU Yan-chun<sup>1</sup>

(1. School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences, Beijing 100083, China; 2. Beijing Municipal Environmental Monitoring Centre, Beijing 100048, China)

**Abstract:** The waste dump of an iron mine in Anhui Province has been abandoned for several decades. Pyrite in the exposed waste ores is oxidized by acidophiles and large amounts of metal ions and  $\text{H}_2\text{SO}_4$  are released, resulting in the formation of an acid mine drainage (AMD) lake since 1970s. Besides the lake, there are also some small-scale AMD adjacent to the newly deposited waste ore. In order to study the acid generation potential of the waste ore and the related microbial communities, soil samples were taken from beside the AMD lake (1LL) and small-scale AMD (5J, 5Y, 6-1, 6-2, 6-3) and the physicochemical properties and microbial community of these samples were analyzed. The results reveal that all of samples were highly acidic and the pH of the 1LL sample was 2.77, while the other samples were even more acidic, at less than 2.6. The electrical conductivity (EC) ( $0.32 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) of the 1LL sample was obviously lower than the other samples ( $2.25\text{--}7.08 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), which indicates that the newly deposited waste ore contains higher ion concentrations. The  $\text{Fe}^{2+}$  concentration of the 1LL sample was only  $0.80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  but the other five samples were as high as  $2.91\text{--}33.40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . This suggests that most of the  $\text{Fe}^{2+}$  in the 1LL sample has been converted to  $\text{Fe}^{3+}$  after long-term oxidization. High-throughput sequencing results showed that most acidophiles in 1LL sample were Actinobacteria, Acidobacteria and Chloroflexi but the microbes in the remaining five samples were  $\gamma$ -Proteobacteria, Firmicutes and Nitrospira. The iron-sulfur oxidizing bacteria, such as *Sulfobacillus*, *Leptospirillum*, *Acidithiobacillus*, were scarce in the 1LL sample, while they highly abundant in the other five samples, which proves that the acid-generation process of the newly deposited waste ore is strong. However, the reduced iron and sulfur in the 1LL sample has nearly been depleted. Statistical analysis shows that the microbial composition of the 1LL sample is significantly different to that of the five newly deposited samples, illustrating that microbial community composition is remarkably influenced by physicochemical conditions.

**Key words:** acid mine drainage; waste ore; acidophilic bacteria; acid-generating microbial communities; high-throughput sequencing

酸性矿山废水 (acid mine drainage, AMD) 是硫化矿物暴露于地表, 与水、大气、微生物相互作用, 发生氧化性溶解形成的, pH 通常小于 3, 且含有高浓度重金属如 Fe、Al、Cu 等和  $\text{SO}_4^{2-}$ , 危害十分严重<sup>[1]</sup>。在自然界, 酸性矿山废水主要由黄铁矿

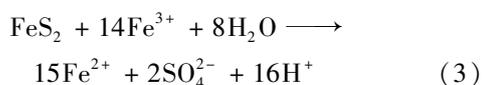
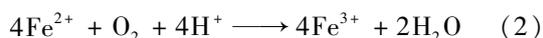
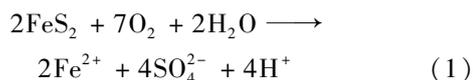
( $\text{FeS}_2$ ) 氧化形成<sup>[2]</sup>。黄铁矿的氧化过程为:

收稿日期: 2017-04-06; 修订日期: 2017-05-18

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目 (2652015114)

作者简介: 杜泽瑞 (1990~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: hdcq1989@163.com

\* 通信作者, E-mail: chunbohao@cugb.edu.cn



可以看出,在黄铁矿的氧化过程中,Fe<sup>3+</sup>是主要的氧化剂<sup>[2]</sup>. Fe<sup>3+</sup>氧化 FeS<sub>2</sub> 产生 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>可以被氧化产生 Fe<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>又可以氧化 FeS<sub>2</sub>,从而形成了一个循环.但在酸性条件下 Fe<sup>2+</sup>的氧化速度非常缓慢,是黄铁矿氧化的限速步骤.而化能自养的嗜酸微生物可以氧化 Fe<sup>2+</sup>而获得能量,促进 Fe<sup>2+</sup>向 Fe<sup>3+</sup>转化,在反应中起到高效催化剂的作用<sup>[3]</sup>.由此可见,研究酸性环境中嗜酸菌的群落组成和分布规律对理解酸性矿山废水的形成机制、修复矿山环境污染有重要意义.

酸性矿山废水在世界上广泛分布.在我国,酸性矿山废水问题也相当严重,我国绝大部分金属矿山为原生硫化物矿床.采矿过程中遗弃的大量硫化物废石,经过风化、淋溶,极易形成酸性矿山废水<sup>[4]</sup>.安徽某铁矿排土场是一个典型的酸性矿山废水污染环境,排土场是该铁矿的主要废矿石堆放地,每年都要接纳 700~800 万 t 废矿石,现已堆放废矿石约 1 亿 t.这些废矿石在嗜酸菌催化下发生氧化分解,含硫酸根和重金属的酸性废水汇集到排土场中央,并于 20 世纪 70 年代形成一个酸水库.目前,该酸水库东西宽约 300 m,南北长约 700 m,库容量约 300 万 m<sup>3</sup>,pH 常年在 3.5 以下.此外,在该酸水库周边还存在一些形成于近年的小范围酸性矿山废水,其酸性更强,金属离子含量更高,危害十分严重.

为研究该区域废矿石的产酸潜力及产酸微生物群落,采集了该酸水库周边长期堆放的废矿石以及附近另外两处新形成的酸性矿山废水周边的废矿石,利用分子生物学方法研究样品中嗜酸微生物群落组成和变化规律.本研究结果有助于人们更好地了解极端酸性环境中产酸微生物群落组成,真正认识微生物在废矿石不同产酸阶段所扮演的角色,以期为修复和控制重金属污染的矿山排土场环境提供一定技术支持.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

为研究该区域废矿石的产酸潜力及产酸微生物群落,于 2014 年 5 月在安徽某铁矿排土场采集废矿

石样品 6 个,分别为大型酸水库边 1 号位裸露 1LL,新形成的小型酸水坑 AMD 5 号位旁 5 号位近 5J、5 号位远 5Y,围绕 6 号位酸水坑边周围距离酸水 0.5 m 采集 6-1、6-2 和 6-3.所有样品均为 0~20 cm 表层废矿石.样品采集后装于无菌封口袋中尽快返回实验室操作.

### 1.2 物化参数测定

用烘干法测定含水率<sup>[5]</sup>.用 KCl 溶液测定 pH 值.按 1:5 水土比测定土壤浸提液的电导率<sup>[6]</sup>.使用 M3 浸提液浸提阳离子和金属元素<sup>[7]</sup>,Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 浸提剂浸提硫酸根.阴离子浓度用美国 Thermo 公司 ICS-600 离子色谱仪测定,金属元素用 ICP(iCAP 6000,Thermo)测定. Fe<sup>2+</sup> 参照文献<sup>[8]</sup>的方法测定. M3 浸提液离心后,用钼锑抗分光光度法测定有效磷.总有机碳(total organic carbon,TOC)用总有机碳分析仪(Multi N/C 2100)测定.硫元素用元素分析仪(EA3000 意大利,EuroVector 公司)测定.

### 1.3 基因组 DNA 提取

取 0.5 g 样品,用基因组 DNA 提取试剂盒提取样品中的基因组 DNA,参照 MPbio 试剂盒生产商建议的步骤.提取的 DNA 用 Nanodrop 2000 Spectrophotometer(Thermo Scientific,美国)测定 DNA 浓度后置于 -80℃ 超低温冰箱保存.

### 1.4 16S rRNA 基因片段的扩增

以基因组 DNA 为模板,使用高通量测序引物 F515 (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 R806 (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V4 区进行扩增<sup>[9]</sup>.在反向引物 806R 的 5'端添加一段 12bp 的碱基序列作为 barcode,用于区分不同的样品. PCR 反应条件为:预变性 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 50℃ 60 s, 72℃ 90 s,共 35 个循环,最后在 72℃ 下延伸 10 min.

将各样品 PCR 产物等摩尔比混匀,用 Life Technologies 公司的 PGM 测序系统进行高通量测序.测序工作在中国农业科学院作物研究所完成.

### 1.5 微生物组成与统计学分析

用 Mothur 软件将反向序列反转,去除低质序列和嵌合体,统一测序深度至 1 万条序列.将目的片段与 Silva. bacteria-archaea 数据库对齐,构建距离矩阵.以 97% 的序列相似性进行 OTU 划分.用 R 语言做 PCoA 分析,加载 gplots 程序包用 heatmap.2 函数绘制热图,选用 Bray-Curtis 距离聚类,采用 Canoco for Windows 4.5 软件对微生物群落和环境因子做典范对应分析(CCA).

## 2 结果与分析

### 2.1 物理化学参数

样品物理化学参数见表 1. 可以看出 6 个样品酸性均很强, 样品 pH 均在 3.0 以下, 其中新堆放样品的 pH 均在 2.60 以下, 5J 最低仅为 2.37. 1LL 最高, 也仅为 2.77. 5 号和 6 号位样品的电导率高达 2.25 ~ 7.08  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 1LL 样品电导率明显低于其

他样品仅为 0.32  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . 新堆放样品  $\text{Fe}^{2+}$  含量明显高于 1LL, 新堆放样品  $\text{Fe}^{2+}$  含量达 2.91 ~ 33.40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . 1LL 中  $\text{Fe}^{2+}$  含量仅为 0.80  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . TFe 含量也呈同样规律, 新堆放样品高于 1LL. 6 个样品  $\text{SO}_4^{2-}$  含量均很高, 5J 样品最高为 20.16  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 其中 1LL 样品最低也达到 1.07  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . 所有样品有机碳含量明显低于我国平均水平的 17.8  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [10].

表 1 样品物理化学参数

Table 1 Physicochemical parameters of the samples

项目	1LL	5J	5Y	6-1	6-2	6-3
pH	2.77	2.37	2.6	2.47	2.46	2.55
EC/ $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$	0.32	7.08	2.25	5.14	3.1	4.48
含水率%	14.51	13.29	8.24	14.13	7.86	16.45
$\text{Fe}^{2+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.8	33.4	3.06	4.07	5.12	2.91
TFe/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.85	2.36	1.38	1.04	1.1	1.14
$\text{Al}^{3+}/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.89	1.61	0.15	0.97	0.23	0.42
$\text{Mn}^{2+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	17.89	137.16	9.86	38.01	12.55	45.75
$\text{Cu}^{2+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	9.26	50.25	1.88	14.81	4.15	4.49
$\text{Na}^{+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	594.6	311.4	368.1	247.8	357.9	498.9
$\text{Mg}^{2+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	107.94	1714.2	141.99	634.2	200.64	392.1
$\text{Ca}^{2+}/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.55	6.37	4.63	8.03	2.03	6.23
$\text{F}^{-}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	139.91	111.29	20.46	53.85	21.51	26.17
有效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	8.14	80.31	9.18	16.39	3.69	8.66
$\text{SO}_4^{2-}/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1.07	20.16	8.94	12.71	4.29	11.32
H/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	7.5	8.1	4.3	8.5	4.1	5.1
S/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	3.8	18	5.6	17	10.5	2.6
TOC/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	2.5	3.3	2.6	1.6	1.9	1.7

### 2.2 微生物群落分析

#### 2.2.1 嗜酸菌群落聚类分析

将 6 个样品统一以 0.03 差异分型后得到 3812 个 OTU. 用 R 软件, 取丰度最高的 50 个 OTU 以 Bray-Curtis 距离做微生物群落聚类分析. 图 1 为 PCoA 分析主坐标分析结果, 1LL 与 5、6 号位样品完全分开, 证明其微生物组成较为特殊, 与 5、6 号位样品存在较大差异.

#### 2.2.2 嗜酸菌群落组成分析

用 Mothur 软件将 6 个样品序列与 Silva 数据库中标准序列比对, 得到各分类单元的分类学信息. 将在 6 个样品中所占比例之和低于 4% 的门类统一归为其他门, 得到门水平的微生物类群比例如图 2 所示,  $\gamma$  变形菌门 ( $\gamma$ -Proteobacteria) 在 6 个样品中均有分布, 其中在 5、6 号位样品中均占 10% 以上, 在 6-2 中分布最多达 41.48%. 在 1LL 中分布最少仅占 5%. 放线菌门 (Actinobacteria) 在 6 个样品均有分布, 该类群在 6-3 中是第一细菌类群占到 21.90%, 在 5Y 占 16.78%、6-2 中占到 25.11%, 是

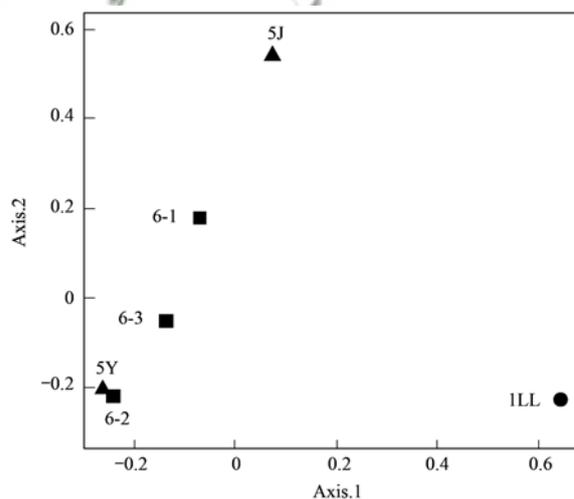


图 1 微生物组成主坐标分析

Fig. 1 Principal co-ordinate analysis of the samples based on the OTU abundance

这两个样品中第二大细菌类群, 它在 1LL 占 19.10%, 是该样品中的优势类群. 5Y、6-1 和 6-3 中占主导地位的是广古菌门 (Euryarchaeota) 古菌, 分别占 32.51%、45.65% 和 28.78%, 同时它也是

1LL 样品中第二大类群。值得注意的是酸杆菌门 (Acidobacteria), 该类群在 5、6 号位样品中的 5J 中分布最多, 也仅为 2.1%, 然而它在 1LL 中占 11.73%, 是该样品第三大细菌类群。奇古菌门 (Thaumarchaeota) 在 5、6 号位样品中分布极少, 在 6-3 中占 0.1%, 5Y 中仅占 0.03%, 其余 5、6 号位样品中则没有检出, 但在 1LL 中有较多分布, 达到 11.12%。可以看出 5、6 号位新废矿石样品与 1 号位裸露 1LL 微生物组成存在较大差异。1LL 样品没有明显占优势地位的类群, 其微生物类群组成相对复杂, 分布比较均匀。

以属作为分类单元考察微生物群落的组成, 可以得到如图 3 所示的结果。将 6 个样品序列与 Silva. nr\_v119. align 数据库中标准序列比对, 选取丰度最高的前 22 个属来观察微生物类群分布。左侧聚类基于样品属水平的分布, 使用 Bray-Curtis 距离。5、6 号样品主要属包括 *Thermoplasma*、钩端螺菌属 (*Leptospirillum*)、*Acidiferrobacter*、硫化杆菌属 (*Sulfobacillus*)、铁微菌属 (*Ferrimicrobium*)、*Ferritrix*、*Aciditerrimonas*、*Acidimicrobium*、*Acidiphilium*。1LL 主要的属有 *Telmatobacter*、*Acidobacterium*、*Granulicella* 和 *Acidothermus*。从图 3 中可以观察到大多数 5、6 号位样品与 1LL 微生物组成存在明显差异。在 5、6 号位丰度较高的属, 在 1LL 中分布较少, 而在 1LL 中分布较多的属, 在多数 5、6 号位样品中分布较少。上图左侧属水平的聚类也显示, 与氧化铁硫相关的属聚在一个分支上。长期堆放样品中占较高比例的属聚在一个分支上。下

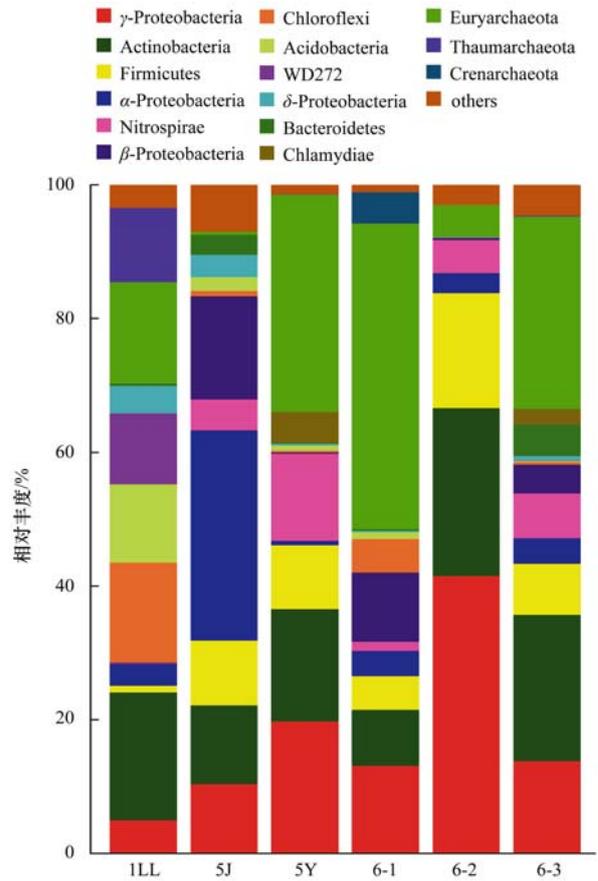


图 2 样品中细菌和古菌在门水平所占比例

Fig. 2 Relative abundance of bacteria and archaea phyla in the samples

面分四类讨论样品属水平的微生物组成。

(1) Cluster 1 氧化铁硫产酸的嗜酸菌

氧化铁硫产酸的化能自养微生物归为 Cluster1,

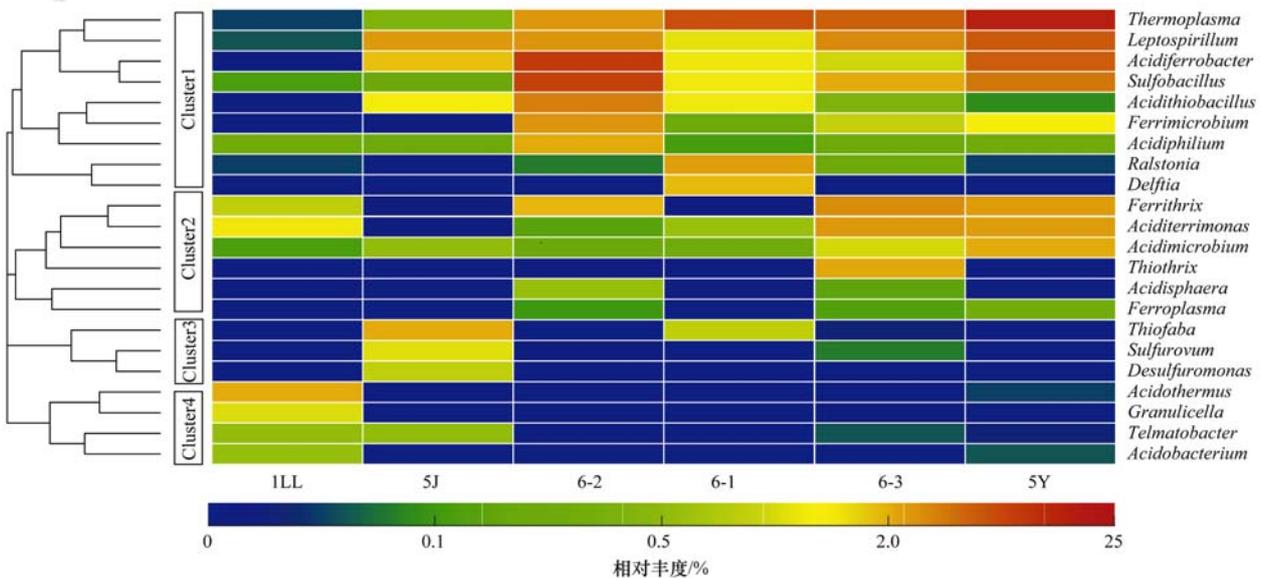


图 3 样品中细菌和古菌主要属相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of bacteria and archaea genus in the samples

它们主要分布在 5、6 号位样品中, 主要是铁氧化化能自养菌. 热原体属 (*Thermoplasma*) 在 5Y 和 6-3 中丰度较高, 在 1LL 中分布极少. 热原体属 (*Thermoplasma*) 为广古菌门古菌, 专性嗜热嗜酸. 生长 pH 范围为 0.5 ~ 4.0, 最适 pH = 2.0. 专性异养, 可以生长在酵母提取物中. 兼性好氧. 厌氧条件下可将单质硫还原为  $H_2S$ . *Thermoplasma* 的菌种分离自煤矸石堆和酸性硫质喷气孔. 模式种是 *Thermoplasma acidophilum*<sup>[11]</sup>.

钩端螺菌属 (*Leptospirillum*) 可氧化亚铁自养生长, 在 5、6 号位样品中丰度较高 (1.34% ~ 12.99%), 在 1LL 中极少, 仅占 0.06%. *Leptospirillum* 嗜酸, 可在 pH = 1.3 ~ 4.0 范围内氧化亚铁自养生长, 不能利用硫磺和硫代硫酸盐, 能利用黄铁矿和硫铁矿生长, 模式种是 *Leptospirillum ferrooxidans*<sup>[12]</sup>.

酸微菌属 (*Acidiferrobacter*) 在 5、6 号位样品中有较多分布, 均多于 1%, 在 5Y 和 6-2 中占 12.22% 和 18.57%. 然而它在 1LL 中仅有 0.01%. 该属嗜酸最适 pH 值约为 2, 氧化  $Fe^{2+}$  自养生长. 分离自酸性, 铁硫矿物或硫化物大量存在的环境<sup>[13]</sup>.

硫化杆菌属 (*Sulfobacillus*) 除在 5J 中占 0.27% 外, 在大多数 5、6 号位样品中硫化杆菌属 (*Sulfobacillus*) 均有较高丰度 (2.1% ~ 16.97%), 在 1LL 中最低, 仅占 0.13%. 该属模式种 *Sulfobacillus thermotolerans* sp. 嗜酸, 混合营养型, 可以氧化单质硫、亚铁、硫化矿. 生长 pH 范围为 1.2 ~ 2.4, 最适 pH = 2.0<sup>[13]</sup>.

嗜酸硫杆菌属 (*Acidithiobacillus*) 在其 5、6 号位样品中均有一定分布, 在 6-2 中占 7.67%, 在 1LL 中未检出. *Acidithiobacillus* 专性嗜酸, 最适 pH 小于 4. 可以利用还原态硫化物自养生长. 某些种可氧化亚铁, 利用金属硫化物产生能量. 模式种是 *Acidithiobacillus thiooxidans*<sup>[14]</sup>.

#### (2) Cluster 2 可氧化铁的化能异养嗜酸菌

Cluster 2 中包括具有氧化铁性质的嗜酸菌, 也含有一些分离自极端酸性环境的嗜酸菌. *Ferrithrix* 属在 6 个样品中均有分布, 在 5Y 中占 3.59%、在 6-3 中占 6.23%, 在 1LL 样品中占 1.04%. 该属细菌嗜酸专性异养, 能氧化和还原铁. 模式种是 *Ferrithrix thermotolerans*, 该菌株 Y005<sup>T</sup> 分离自温泉<sup>[15]</sup>.

*Aciditerrimonas* 属在 5Y 中占 3.45%、6-3 中占 4.54%, 1LL 样品中占 1.41%. 该属细菌嗜酸, 最适 pH = 3.0. 自养兼性厌氧, 模式种是 *Aciditerrimonas*

*ferrireducens*, 可以在含有  $Fe^{3+}$  的条件下厌氧生长. 可以利用酵母提取物, 葡萄糖, 乳糖, 甘露糖和木糖作为碳源和能源异养生长, 也可以在厌氧存在条件下利用氢还原  $Fe^{3+}$  生长. 不能氧化  $Fe^{2+}$ . 该菌种 IC-180<sup>T</sup> 分离自日本箱根涌泉火山喷气孔土壤<sup>[16]</sup>.

*Thiothrix* 仅在 6 号位样品中有少量分布, 在 6-3 中占 2.33%. 该细菌是硫氧化菌, 通常存在于含硫的自然水体中, 生长在 pH 中性环境, 生长需要的硫化物浓度至少  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[17]</sup>.

#### (3) Cluster 3 硫氧化还原嗜酸菌

Cluster 3 中的嗜酸菌和硫的氧化还原有关. *Thiofaba* 在 5J、6-1 中分布大于 1%, 在 1LL 中没有分布. 该属是需氧专性化能自养硫氧化细菌. 通过固定  $CO_2$  和氧化还原态硫化物生长. 属于  $\gamma$ -Proteobacteria, 模式种是 *Thiofaba tepidiphila*<sup>[18]</sup>.

*Sulfurovum* 同样仅在 5、6 号位样品 5J 和 6-2、6-3 中有一定分布, 在 1LL 中未检出. 它属于  $\epsilon$ -Proteobacteria, 具有氧化硫的能力. 属于化能自养兼性厌氧菌, 生长需要元素硫或硫代硫酸盐作为电子供体, 氧和硝酸盐作为电子受体, 利用  $CO_2$  作为碳源, 模式种 *Sulfurovum lithotropicum*<sup>[19]</sup>.

*Desulfuromonas* 仅在 5J 中有一定分布. 该属的某些种具有还原铁硫的性质. 如 *Desulfuromonas svalbardensis*、*Desulfuromusa ferrireducens*. *Desulfuromusa ferrireducens* 可以还原  $Fe^{3+}$  为  $Fe^{2+}$ , 严格厌氧, 化能异养, 氧化多种有机酸或氢来还原  $Fe^{3+}$ , 单质硫、锰的氧化物作为电子受体. 生长 pH 范围 6.9 ~ 7.9, 最适 pH 值是 7.0 ~ 7.3. 分离自海湾沉积物<sup>[20]</sup>.

#### (4) Cluster 4 不能氧化铁的化能异养嗜酸菌

Cluster 4 中嗜酸菌全部属于酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 的 GP1 类, 主要分布在 1LL 中, 属于化能异养型微嗜酸菌, 分离自酸性湿地、泥炭沼泽等较温和的环境.

*Acidothermus* 在 1LL 中占 2.15%, 在 5、6 号位样品中分布极少或未检出. 专性需氧菌, 原养型. 嗜酸, 生长 pH 值范围 3.5 ~ 7.0. 分离自黄石国家公园的酸性温泉. 模式种是 *A. cellulolyticus*<sup>[21]</sup>.

*Granulicella* 属于酸杆菌门, 同样仅在 1LL 中有一定分布 1.28%, 在 5、6 号样品中几乎没有分布. 该属细菌严格好氧化能异养, 嗜酸. 不能利用硫代硫酸盐产生硫化氢. 模式种是 *Granulicella paludicola*, 其能利用多种碳源, 生长 pH 范围 3.0 ~ 7.5, 最适 pH = 4.2. 菌株分离自酸性湿地、泥炭藓、

泥炭沼泽<sup>[22]</sup>.

### 2.3 环境因子对微生物群落结构的影响

根据表 1 所示环境因子,将其与微生物操作分类单元(OTU)做典范对应分析(CCA),

以求得所选环境因子对细菌类群变化的解释程

度以及影响细菌群落结构的主要环境因子,所得典范对应分析结果如图 4 所示,CCA1 轴和 CCA2 轴分别可以解释群落变化的 31.6% 和 24.8%. pH 与第一排序轴的相关系数最高为 0.7851,是影响群落结构最主要的因素.

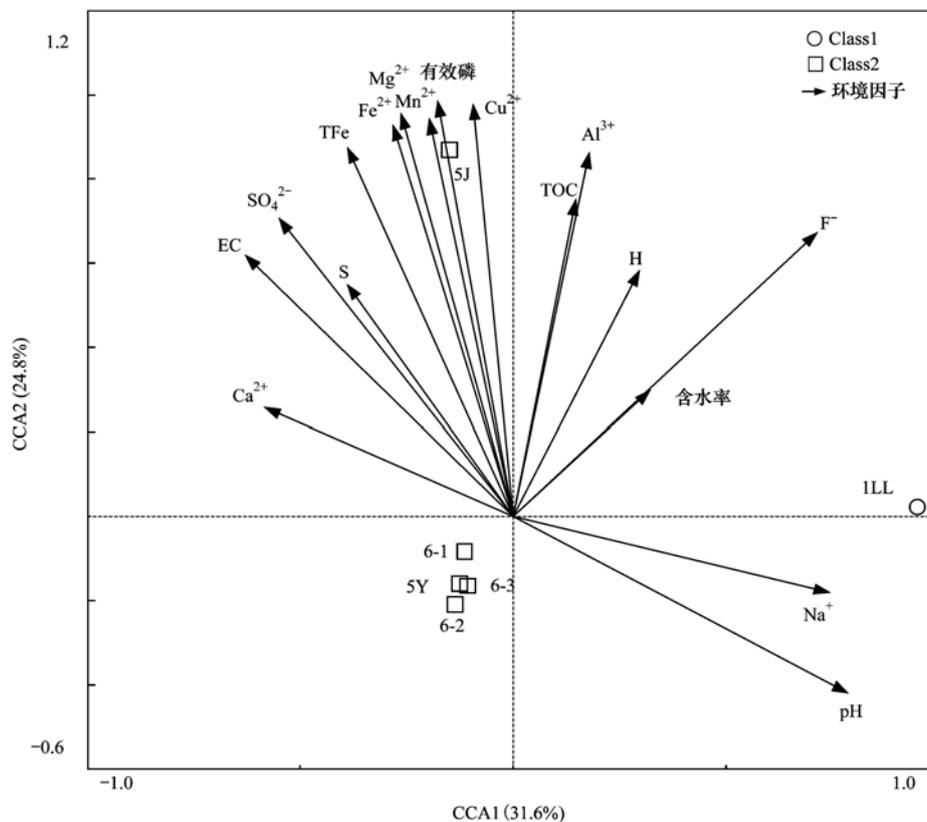


图 4 样品物种和物化参数的 CCA 分析

Fig. 4 Canonical correspondence analysis between acidophiles and the environmental variables

### 3 讨论

虽然本研究采集的 6 个样品都是酸性矿山废水旁的裸露废矿石样品,但因为堆放时间不同,氧化程度各异,所以物理化学参数有着明显的区别. 5、6 号位样品堆放时间较短,还在进行着旺盛的产酸作用,所以 pH 较低、 $\text{Fe}^{2+}$  含量较高、电导率较高;而排土场中央的酸水库因为形成于 20 世纪 70 年代,所以采集于其旁边的 1 号位样品 1LL 氧化也较为彻底, pH 比其它样品要高,  $\text{Fe}^{2+}$  含量和电导率则较低.

相应地,两类样品的微生物群落组成也有着明显的差异. 在 5 号位和 6 号位样品中,存在着大量氧化铁硫的嗜酸菌,如硫化杆菌属 (*Sulfobacillus*)、钩端螺菌属 (*Leptospirillum*)、*Ferroplasma*、*Sulfurovum*、*Desulfuromonas*、*Thiofaba*、*Thiothrix*、罗尔斯通菌属 (*Ralstonia*)、*Delftia*、*Ferrithrix*、*Aciditerrimonas*、嗜酸硫杆菌属 (*Acidithiobacillus*)、

铁微菌属 (*Ferrimicrobium*)、热原体属 (*Thermoplasma*)、*Ferroplasma*, 它们主要属于  $\gamma$  变形菌门 ( $\gamma$ -Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、广古菌门 (Euryarchaeota). 这些微生物在硫化矿物的氧化过程中发挥着至关重要的作用<sup>[23]</sup>. 这些属都在 1LL 样品中占很低比例或未检出. 这些菌属多为化能自养菌,生活在寡营养环境,分离自与本研究相似的重金属浓度较高的极端酸性环境. 这证明 5 号位和 6 号位样品处于旺盛产酸阶段.

1LL 中主要有 *Telmatobacter*、*Acidobacterium*、*Granulicella*、*Acidothermus*, 其中前三者均属于酸杆菌门 (Acidobacteria) 的 GP1 类,他们在 5、6 号位样品中分布极少或者未检出. 这些菌属多为化能异养菌,并且多数不能氧化铁硫,能利用多种有机物,生长在微酸性环境,分离自泥炭沼泽等环境. 该样品中化能异养菌占较高比例也可以证明样品中还还原态

铁硫不足以维持化能自养菌大量生长. 可以推断 1LL 样品中的还原态铁硫大部分已经氧化完全. 值得注意的是, 奇古菌门(Thaumarchaeota) 在 1 号位样品中占相当高比例. 奇古菌门是 2008 年从温泉古菌划分出来的一个新类群<sup>[24]</sup>. 本课题组前期研究发现, 该矿区有植被覆盖的废矿石古菌文库中归类于奇古菌门的古细菌均与氨氧化作用相关<sup>[25]</sup>. 本研究在长期堆放的裸露废矿石样品中检出大量奇古菌门(Thaumarchaeota) 微生物, 表明裸露的废矿石样品中可能同样存在氨氧化古菌驱动的氨氧化作用.

根据微生物的群落组成可以推断 1 号位裸露样品已经处于产酸末期, 经过长期的堆放, 几乎已经不再产酸. 本课题组前期研究结果也证明了这一点, 废水库已形成多年, 废水库和周边废矿石、土壤样品中并未大量检测到铁硫氧化菌的存在<sup>[26]</sup>, 而 5 号位和 6 号位样品是新形成的 AMD 周边的废矿石, 其中含有大量的铁硫氧化菌, 说明样品正处于旺盛产酸阶段. 聚类分析结果也证明了 1 号位裸露样品微生物组成不同于其他 5 个样品. 1 号位样品和 5、6 号位样品虽然都是极端酸性环境, 但是其微生物群落结构不同. 造成这一差别的原因是样品处于不同的产酸阶段, 物理化学性质存在一定差异. 嗜酸微生物不仅在适应着环境, 同时它们也在改变着环境.

#### 4 结论

(1) 新堆放废矿石和长期堆放的废矿石物理化学条件有较大差异, 新堆放的废矿石更为极端.

(2) 新堆放的 5、6 号位废矿石样品处于旺盛产酸阶段, 其中含有大量的氧化铁硫相关的微生物. 长期堆放的 1 号位废矿石样品环境条件比新鲜废矿石相对温和, 几乎不存在氧化铁硫产酸的微生物, 其微生物群落结构也相对复杂, 主要的嗜酸菌为化能异养菌.

(3) 处于旺盛产酸阶段 5、6 号位样品与处于产酸末期的 1 号位裸露 1LL 微生物组成存在明显差异, 表明不同的物化条件对微生物群落结构有决定性影响.

#### 参考文献:

- [ 1 ] Johnson D B, Hallberg K B. Acid mine drainage remediation options; a review[J]. Science of the Total Environment, 2005, **338**(1-2): 3-14.
- [ 2 ] Baker B J, Banfield J F. Microbial communities in acid mine drainage[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, **44**(2): 139-152.
- [ 3 ] Edwards K J, Gihring T M, Banfield J F. Seasonal variations in microbial populations and environmental conditions in an extreme acid mine drainage environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, **65**(8): 3627-3632.
- [ 4 ] 丛志远, 赵峰华. 酸性矿山废水研究的现状及展望[J]. 中国矿业, 2003, **12**(3): 15-18.  
Cong Z Y, Zhao F H. Current situation and prospect of the research on acid mine drainage[J]. China Mining Magazine, 2003, **12**(3): 15-18.
- [ 5 ] HJ 613-2011, 土壤 干物质和水分的测定 重量法[S].  
HJ 613-2011, Soil-determination of dry matter and water content-gravimetric method[S].
- [ 6 ] 刘广明, 杨劲松, 姚荣江. 影响土壤浸提液电导率的盐分化学性质要素及其强度研究[J]. 土壤学报, 2005, **42**(2): 247-252.  
Liu G M, Yang J S, Yao R J. Chemical factors to electrical conductivity of soil extract and their intensity [J]. Acta Pedologica Sinica, 2005, **42**(2): 247-252.
- [ 7 ] Mehlich A. Mehlich 3 soil test extractant; a modification of mehlich 2 extractant[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1984, **15**(12): 1409-1416.
- [ 8 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 82.  
Lu R K. Soil argrochemistry analysis protocols[M]. Beijing: China Agriculture Science Press, 2000. 82.
- [ 9 ] Caporaso J G, Lauber C L, Walters W A, et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms [J]. The ISME Journal, 2012, **6**(8): 1621-1624.
- [ 10 ] 王绍强, 周成虎, 李克让, 等. 中国土壤有机碳库及空间分布特征分析[J]. 地理学报, 2000, **55**(5): 533-544.  
Wang S Q, Zhou C H, Li K R, et al. Analysis on spatial distribution character istics of soil organic carbon reservoir in China[J]. Acta Geographica Sinica, 2000, **55**(5): 533-544.
- [ 11 ] Segerer A, Langworthy T A, Stetter K O. *Thermoplasma acidophilum* and *Thermoplasma volcanium* sp. nov. from Solfatarata fields[J]. Systematic and Applied Microbiology, 1988, **10**(2): 161-171.
- [ 12 ] Hippe H. *Leptospirillum* gen. nov. (ex Markosyan 1972), nom. rev., including *Leptospirillum ferrooxidans* sp. nov. (ex Markosyan 1972), nom. rev. and *Leptospirillum thermoferrooxidans* sp. nov. (Golovacheva et al. 1992) [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, **50**: 501-503.
- [ 13 ] Bogdanova T L, Tsaplina I A, Kondrat'eva T F, et al. *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, **56**(5): 1039-1042.
- [ 14 ] Kelly D P, Wood A P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, **50**(2): 511-516.
- [ 15 ] Johnson D B, Bacelar-Nicolau P, Okibe N, et al. *Ferrimicrobium acidiphilum* gen. nov., sp. nov. and *Ferrithrix*

- thermotolerans gen. nov., sp. nov.: heterotrophic, iron-oxidizing, extremely acidophilic actinobacteria[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, **59** (5): 1082-1089.
- [16] Itoh T, Yamanoi K, Kudo T, et al. *Aciditerrimonas ferrireducens* gen. nov., sp. nov., an iron-reducing thermoacidophilic actinobacterium isolated from a solfataric field[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, **61** (6): 1281-1285.
- [17] Brignon R L, Furlong M, Whitman W B. Identification of *Thiothrix unzii* in two distinct ecosystems[J]. Letters in Applied Microbiology, 2003, **36** (2): 88-91.
- [18] Mori K, Suzuki K I. *Thiofaba tepidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel obligately chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium of the *Gammaproteobacteria* isolated from a hot spring [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, **58** (8): 1885-1891.
- [19] Inagaki F, Takai K, Neelson K H, et al. *Sulfurovum lithotrophicum* gen. nov., sp. nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph within the  $\epsilon$ -*Proteobacteria* isolated from Okinawa Trough hydrothermal sediments [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, **54** (5): 1477-1482.
- [20] Vandieken V, Mußmann M, Niemann H, et al. *Desulfuromonas svalbardensis* sp. nov. and *Desulfuromusa ferrireducens* sp. nov., psychrophilic, Fe(III)-reducing bacteria isolated from Arctic sediments, Svalbard[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, **56** (5): 1133-1139.
- [21] Mohagheghi A, Grohmann K, Himmel M, et al. Isolation and characterization of *Acidotherrmus cellulolyticus* gen. nov., sp. nov., a new genus of thermophilic, acidophilic, cellulolytic bacteria[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1986, **36** (3): 435-443.
- [22] Pankratov T A, Dedysh S N. *Granulicella paludicola* gen. nov., sp. nov., *Granulicella pectinivorans* sp. nov., *Granulicella aggregans* sp. nov. and *Granulicella rosea* sp. nov., acidophilic, polymer-degrading acidobacteria from Sphagnum peat bogs [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, **60** (12): 2951-2959.
- [23] Johnson D B, Hallberg K B. The microbiology of acidic mine waters [J]. Research in Microbiology, 2003, **154** (7): 466-473.
- [24] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, et al. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the thaumarchaeota [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, **6** (3): 245-252.
- [25] 刘莹, 王丽华, 郝春博, 等. 酸性矿山废水水库周边土壤微生物多样性及氨氧化菌群落研究 [J]. 环境科学, 2014, **35** (6): 2305-2313.
- Liu Y, Wang L H, Hao C B, et al. Microbial diversity and ammonia-oxidizing microorganism of a soil sample near an acid mine drainage lake [J]. Environmental Science, 2014, **35** (6): 2305-2313.
- [26] 王丽华, 郝春博, 李思远, 等. 安徽某铁矿排土场废矿石中细菌群落分子生态学研究 [J]. 地学前缘, 2014, **21** (4): 199-209.
- Wang L H, Hao C B, Li S Y, et al. Molecular research of acidophilic bacteria in abandoned ores in waste dump of an iron mine in Anhui Province [J]. Earth Science Frontiers, 2014, **21** (4): 199-209.

## CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin .....	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China .....	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM <sub>10</sub> Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province .....	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM <sub>2.5</sub> Measurements During Summer and Fall in Changzhou .....	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou .....	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physicochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China .....	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China .....	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn .....	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China .....	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics .....	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin .....	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer .....	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China .....	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu .....	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China .....	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region .....	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China .....	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios .....	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances .....	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water .....	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions .....	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites .....	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation .....	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR) .....	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor .....	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns .....	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants .....	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System .....	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature .....	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System .....	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II)/EDTA-NO <sub>3</sub> /Fe(III) EDTA .....	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR) .....	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province .....	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area .....	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment .....	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil .....	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1 .....	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing .....	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO <sub>2</sub> and CH <sub>4</sub> Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary .....	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation .....	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China .....	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert .....	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields .....	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems .....	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock .....	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil .....	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features .....	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex .....	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products .....	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste .....	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste .....	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models .....	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)