

# 读书报告

汇报人：程利娇

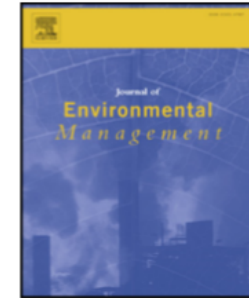
时间：2019.11.03



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

# Journal of Environmental Management

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jenvman](http://www.elsevier.com/locate/jenvman)



Research article

## Spatial variation of sediment bacterial community in an acid mine drainage contaminated area and surrounding river basin



Dongmei Hou<sup>a,b</sup>, Pan Zhang<sup>a,b</sup>, Jiachao Zhang<sup>a,b</sup>, Yaoyu Zhou<sup>a,b,c,\*\*</sup>, Yuan Yang<sup>a,b</sup>,  
Qiming Mao<sup>a,b</sup>, Daniel C.W. Tsang<sup>c</sup>, Avelino Núñez-Delgado<sup>d</sup>, Lin Luo<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128, China

<sup>b</sup> Hunan International Scientific and Technological Cooperation Base of Agricultural Typical Pollution Remediation and Wetland Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, 410028, China

<sup>c</sup> Department of Civil and Environmental Engineering, The Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong, China

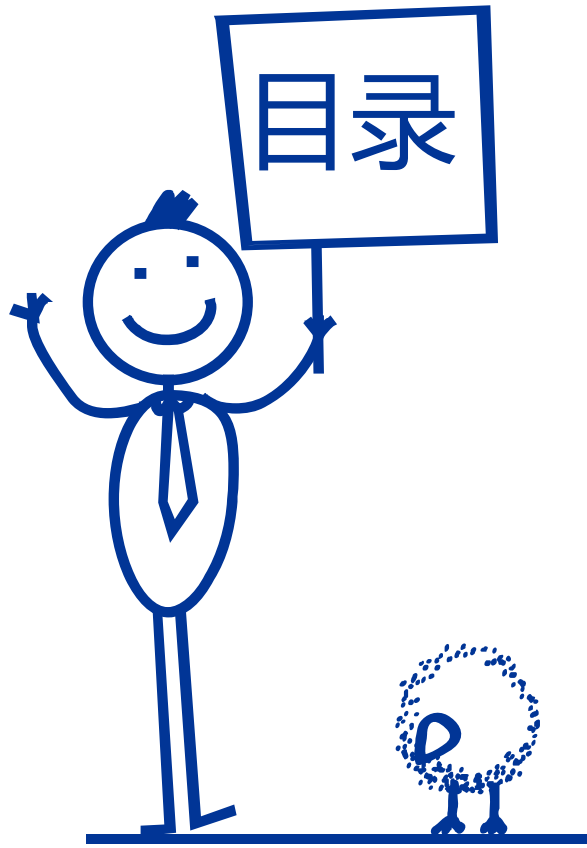
<sup>d</sup> Department of Soil Science and Agricultural Chemistry, Engineering Polytechnic School, Campus Univ. Lugo, Universidade de Santiago de Compostela, Galicia, Spain



环境科学：2区

IF：4.28





## 1. Introduction



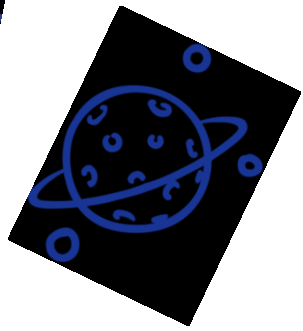
## 2. Materials and methods



## 3. Results



## 4. Discussion



---

# PART 01

## Introduction

---



# Introduction

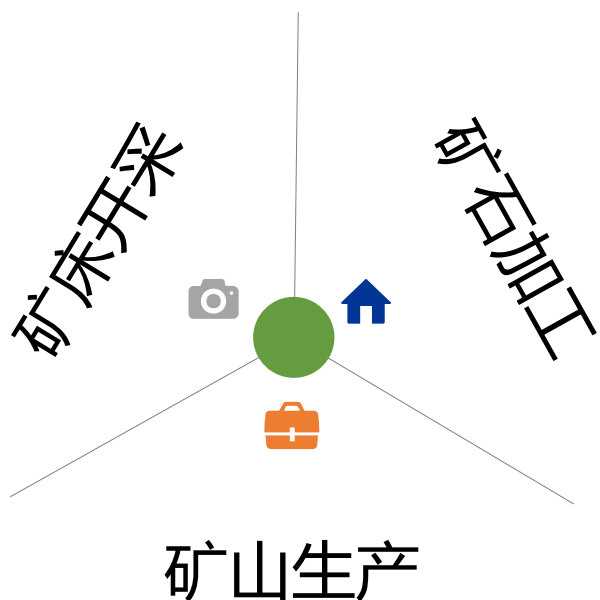


# AMD

## Acid mine drainage

随着人类活动日益加剧，资源开发过程中产生的污染物及负面影响也随之恶化。其中，产生的**酸性矿山废水**是最为典型的污染物。据统计，我国各类矿山废水的排放量约占全国工业废水的10%左右。

# 酸性矿山废水如何产生？



## 矿床开采



大量地下水渗流到采矿工作面，成为酸性废水的主要来源。

## 矿山生产



排放大量含有硫化矿物的废石和尾矿，露天堆放不断与空气和水蒸气接触，生产金属离子和硫酸根离子，遇雨水或河流附近，形成酸性水大面积扩散。

## 矿石加工



若采用添加酸性药剂的选矿作业流程，将排放大量的酸性废水和有害物质。

# 酸性矿山废水的危害

微生物群落在沉积物-水界面的各种污染物去除和转化过程中起重要作用。采矿场中的微生物群落已经进化出独特的机制来适应极端条件，从而有利于稳定生态系统的结构。

1

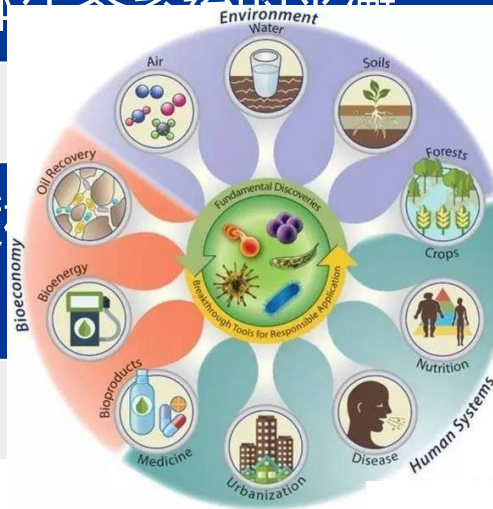
含铜、铅、锌、镉等重金属离子，大多有毒，若不处理直接排入河流、湖泊等水体，将对淡水生物和植物生长产生不良影响。

2

排入矿山附近河流，湖泊等水体，导致水体PH值发生极大变化，破坏水体生态系统的平衡。

3

与水中的矿物质相互作用，对淡水生物和植物生长产生不良影响。



# Introduction

先前的研究主要研究了受一种或两种金属影响的微生物群落，并且大多数结果仅通过高通量测序获得。高通量测序方法：结合物种分类和其相对丰度信息，对微生物生态学研究具有显著的促进作用。

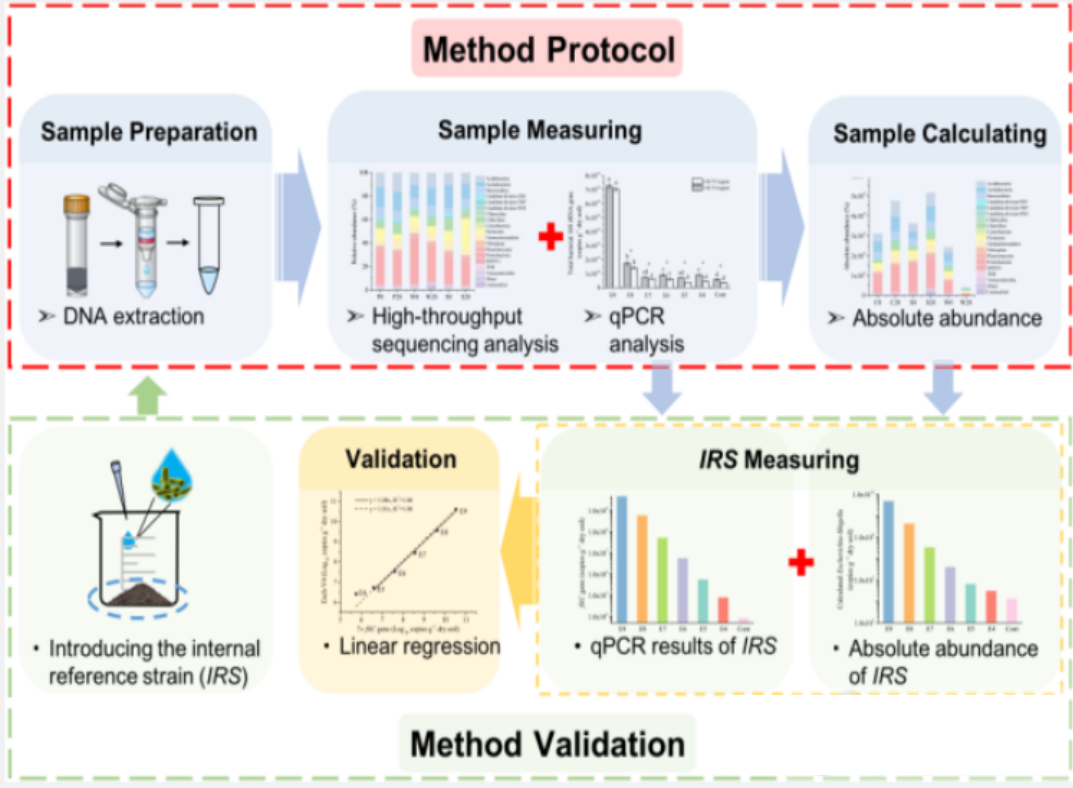
现实情况是，大多数矿区都被多金属污染，但**相对丰度并不能反映微生物群落的真实数量和类群间的样本差异。**

本研究选择多金属矿场（七宝矿山），并通过iHAAQ分析了细菌群落的信息，可更好的对细菌群落进行表征。



# integrated high-throughput absolute abundance quantification (iHAAQ)

**高通量绝对丰度定量方法 (iHAAQ) :** 这种方法将相对丰度 (高通量测序) 和细菌总数 (定量PCR) 结合在一起从而对细菌群落进行定量分析。



# Introduction

本研究从湖南省浏阳市七宝矿山和宝山河收集了不同的沉积物样本。

## 研究的目

- (i) 比较采矿场和流域中细菌群落的结构和组成;
- (ii) 预测细菌群落功能;
- (iii) 在受污染的环境中获得微生物对地球化学循环过程的新见解。





---

# PART 02

## **Materials and methods**

---



# Field description

研究地点：湖南省浏阳市七宝山矿。五个样点采集20个沉积物样本。

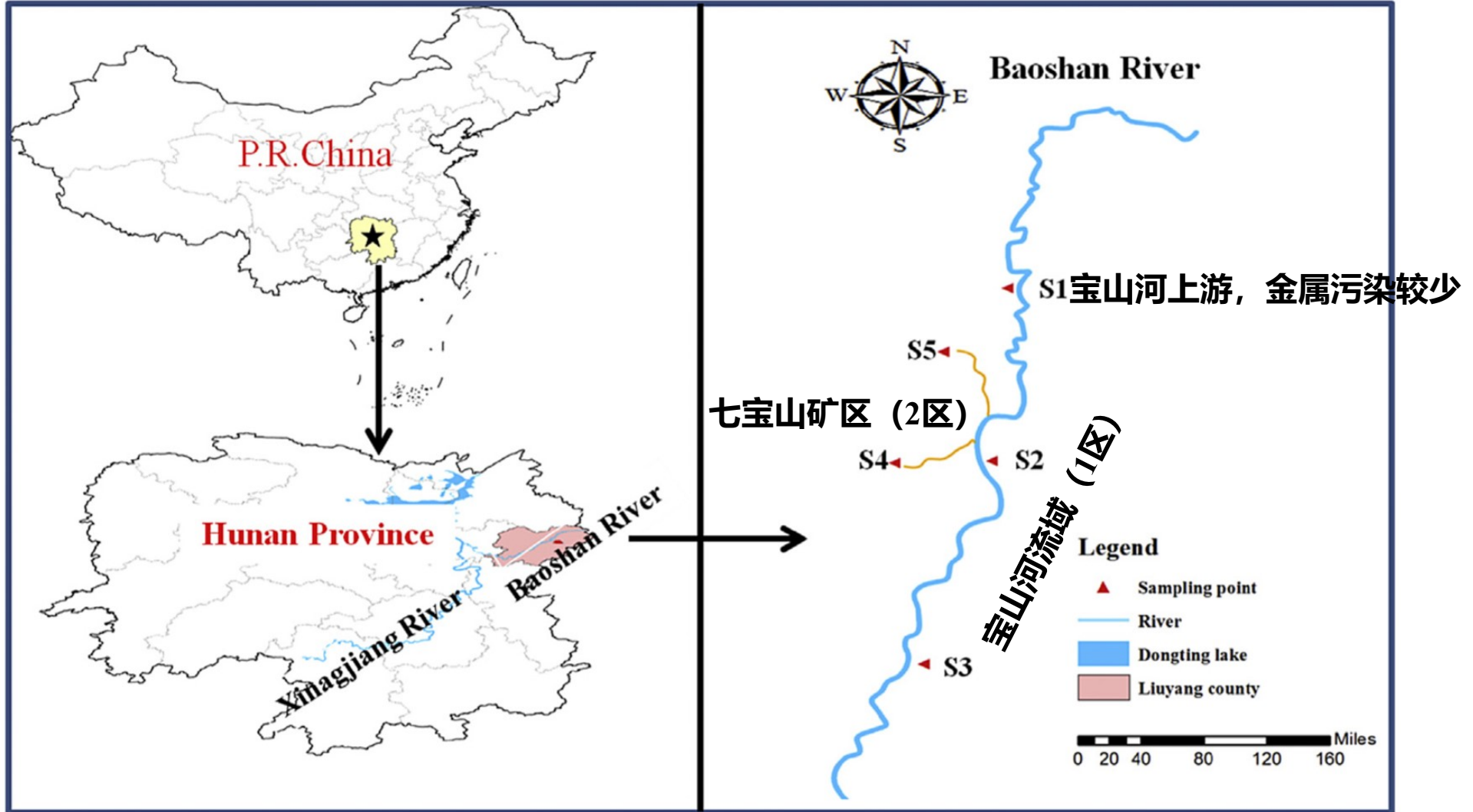


Fig. 1. Location of all sampling sites contaminated with acid mine drainage.

# Materials and methods

- 1、样品采集：**每个样点，收集四个平行样品，200g沉积物（深度为0-3cm），在现场干冰保存运回实验室，4°C的冰箱中进行理化分析，-80°C的冰箱中进行DNA提取。
- 2、理化分析：**沉积物pH用pH计（沉淀物与水的比例为1：5）；  
K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>比色法分析沉积物有机质（SOM）；  
参照《土壤农业化学分析方法》测定总氮(TN)、总磷(TP)、总钾(TK)等理化指标；  
电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)分析所有金属及类金属浓度。
- 3、DNA提取和高通量测序：** Illumina Miseq平台
- 4、定量PCR分析：**使用引物341F和806R检测细菌的16S rRNA基因
- 5、生物信息学及统计分析**



---

# PART 03

## Results

---

# 1、Geochemical parameters in the sediments

The sediments characteristics and metal/metalloid contents were presented [Tables S2 and S3](#). As the results showed organic matter, total phosphorus, total nitrogen, and total potassium content were significantly higher in Zone 1 (watershed) than those in Zone 2 (mining area). Overall the pH values changes little, range from 4.71 to 5.53, except for site S3 which the value of pH was 2.91. ([Table S2](#)). The metal/metalloid concentrations were higher in Zone 2 than Zone 1 ([Table S3](#)). Compared with control standards, the metal/metalloid concentrations in all sites were unacceptable and beyond the regulatory limits, especially in site S4 (Cu: 6 times; Zn: 3.8 times; As: 9 times; Cd: 1.8 times; Pb: 9 times) ([Chen et al., 2007](#)).

Furthermore, the Nemerow composite indexes ([Wang et al., 2012](#)) were calculated to assess environmental pollution in sediments. The value of index greater than 1 means pollution, greater value means heavily pollution. Our results showed that the sediment from S1 had the lowest index values ([Table S3](#)), which indicated that this point was less polluted. Along with the river flow, the indexes were increased sharply, especially in S3 region, where the index was higher and similar to S4, which was considered as heavily polluted area (index: 27.78).

1. 在1区中的有机物，总磷、氮、钾含量显著高于2区。
2. pH值变化很小：4.71-5.53 (**S3pH值2.91**)。
3. 2区的金属/类金属浓度高于1区。
4. Nemerow指数（内梅罗环境污染）：  
**值大于1表示污染。**  
S1的沉积物的指标值最低。  
S3指数值较高与S4相似，为严重污染区（27.78）。

## 2、 Differentiation in the bacterial abundance and diversity

**Table 1**

Summary of Illumina Miseq high-throughput sequencing of 16S rRNA genes.

		Sample	Clean reads	Mean length (nt)	Shannon	ACE	Chao1	Coverage
宝山河流域	Zone 1	S2	79166	419	7.86	2064	2006	0.988
		S3	79342	420	5.76	1150	1205	0.994
		Ave.	79254	420	6.81	1607	1606	0.991
七宝山矿区	Zone 2	S4	80154	414	5.90	813	836	0.996
		S5	79788	415	7.54	1325	1362	0.994
		Ave.	79971	415	6.72	1069	1099	0.995
宝山河上游	Control	S1	77092	421	8.05	1819	1765	0.989

每个沉积物样品平均获得7,9090条高质量序列，平均序列长度为418 bp。

1区Shannon指数，均匀度（ACE）指数和丰富度（Chao1）指数显着高于2区。

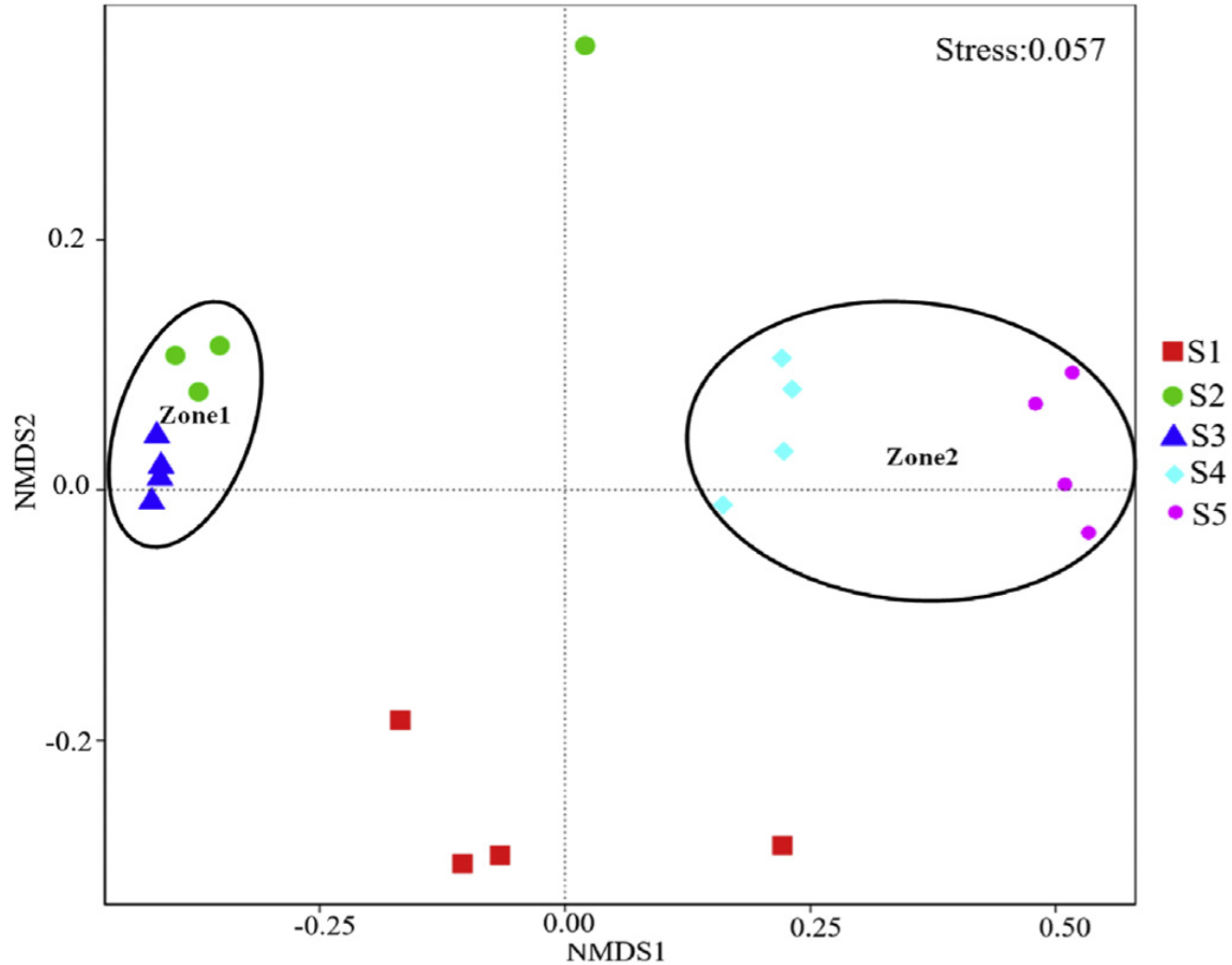
Shannon指数在S1样点最高（8.05）。





## 4、Differences of bacterial community structures

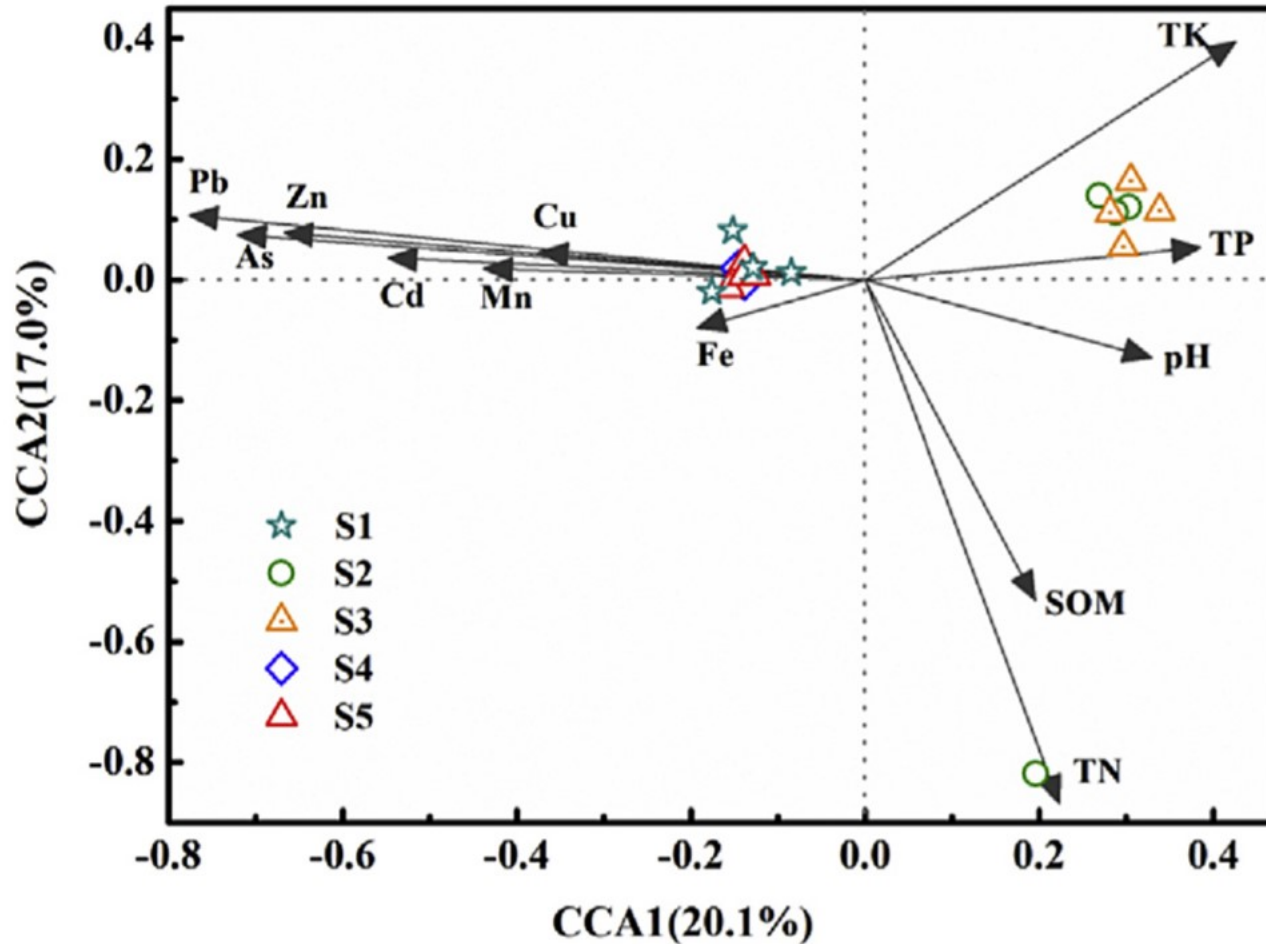
非度量多维标度(NMDS)



**Fig. 3.** Non-metric multidimensional scaling analysis of bacterial community structure in different samples.

## 4、Differences of bacterial community structures

典型关联分析(Canonical Correlation Analysis)

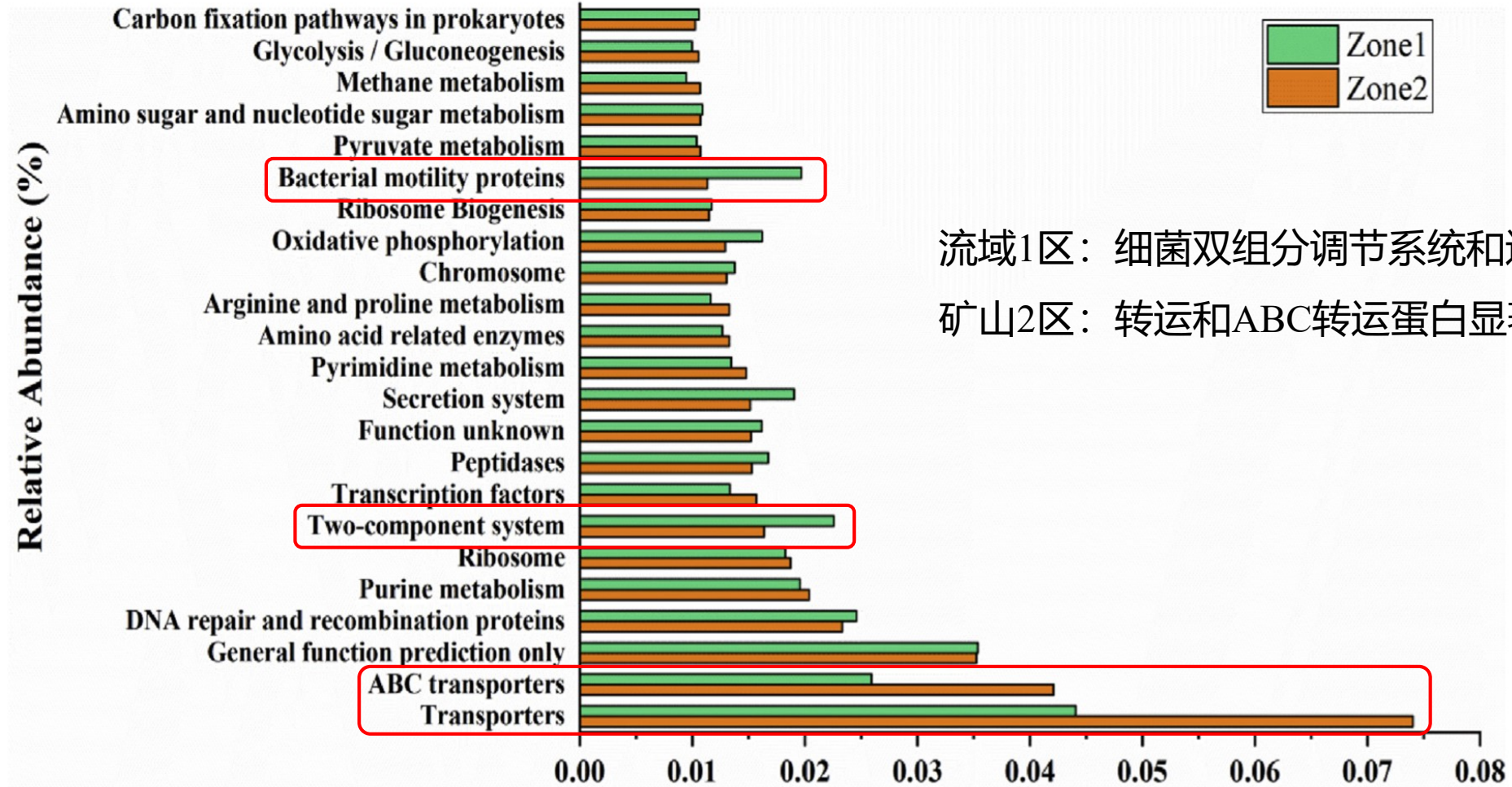


金属/类金属含量 (Zn, As, Cd, Pb等: 负相关), pH, TN, TK, TP, SOM (正相关) 与微生物群落结构密切相关, S3受pH (2.91) 影响更大。

流域1区 (S2和S3) 受理化化学性质的影响更大。  
矿山2区 (S4和S5) 对铅和砷更敏感, 呈负相关。

Fig. 4. CCA ordination plot showing the relationship between the bacteria community structure and the environmental factors.

## 5、KEGG function annotation and analysis



流域1区：细菌双组分调节系统和运动蛋白高；  
矿山2区：转运和ABC转运蛋白显著更高。

Fig. 5. Relative Abundance of dominant KEGG pathways (> 1%) in two groups.

相对丰度大于总检测途径的1%被认为主要途径，共获得23条。



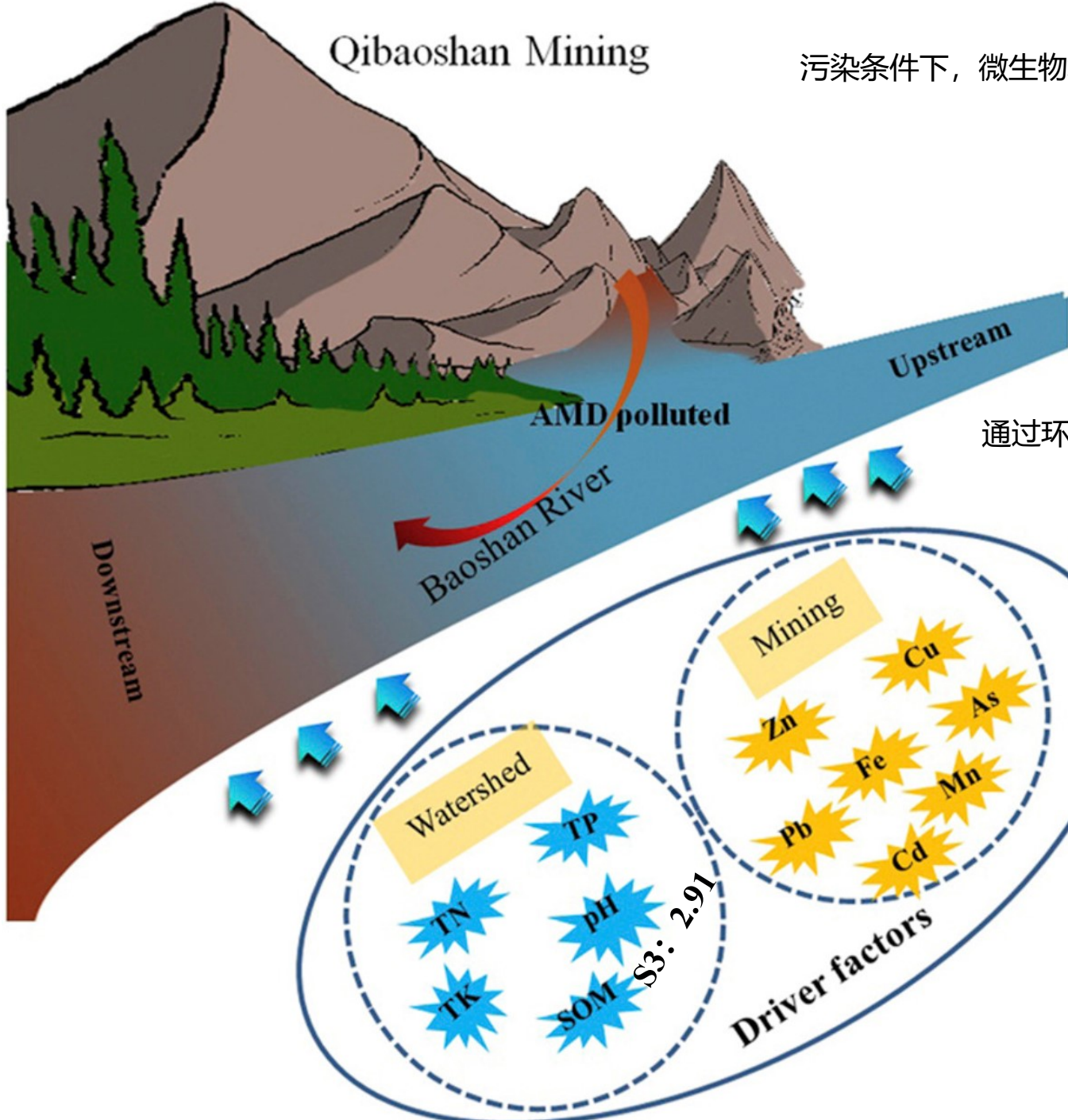
---

# PART 04

## Discussion

---



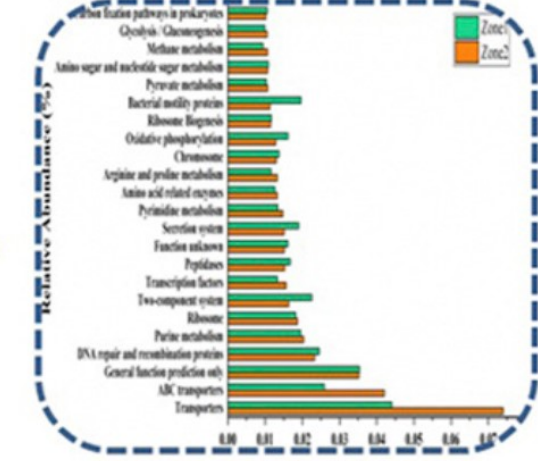
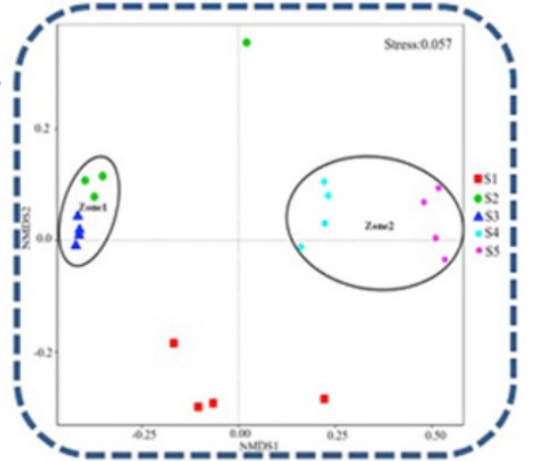
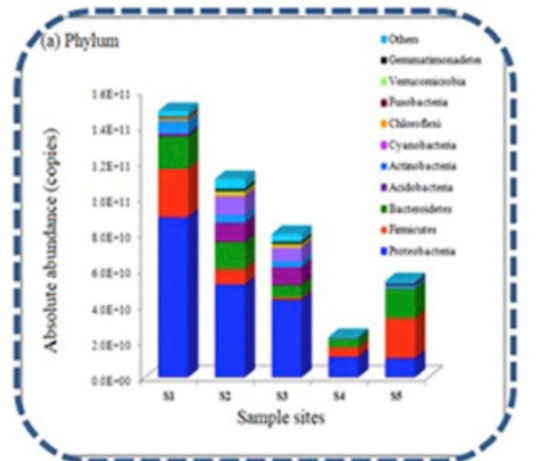


通过环境因素分析细菌群落的动态变化。

$\beta$  diversity

differ

functions



## 矿区和流域地区菌群潜在功能分析

研究表明 *Firmicutes*、*Bacteroidetes* 与金属含量呈正相关，含金属抗性/还原基因 (Hesse *et al.*, 2018)。  
流域1区 *Cyanobacteria* (蓝细菌), *Acidobacteria* (酸杆菌门) 丰度随着金属/类金属浓度的增加而增加，表明是潜在的抗金属细菌。前期研究表明大多数蓝细菌可以通过产生细胞外物质 (例如多糖) 来吸附金属/类金属，酸杆菌门细菌对铜和镍等重金属也具有很强的耐受能力 (Kristiank *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2015a, 2015b; Macdonald *et al.*, 2011)。

属水平: *Phyllobacterium* (叶杆菌属), *Bacteroides* (拟杆菌属), *Sulfurovum* (硫细菌属) 矿山2区  
丰富度较高。前期研究表明 *Phyllobacterium* 具有金属抗性，可促进伴矿景天 (锌镉超积累植物) 的生长，可修复改善多金属污染土壤植物的生长 (Jiang *et al.*, 2010)。此外, *Bacteroides*, *Sulfurovum* 对金属具有耐受性 (Sayaka *et al.*, 2014; Hesse *et al.*, 2018; Zeng *et al.*, 2018)。



## KEGG分析：矿区与流域之间微生物群落功能不同

**流域1区：细菌双组分调节系统和运动蛋白高；矿山2区：运输和ABC转运蛋白显著更高。**

### **细菌双组分调节系统：**

刺激-响应耦合机制机制，允许生物体感知和响应许多不同环境条件的变化。双组分系统通常包含一个膜上的组氨酸激酶来感知特定的环境刺激，以及一个相应的反应调节子介导细胞应答。两组分调节系统有益于细菌维持，适应和保护自己免受一系列环境压力，如金属抗性。

### **运输和ABC转运蛋白：**

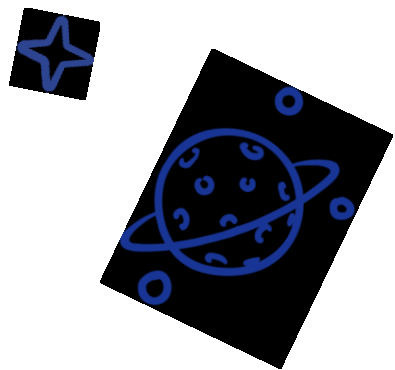
参与许多天然生物学功能，包括养分吸收，渗透稳态，信息素分泌，金属耐受性和金属解毒作用 (Bauer *et al.*, 1999; Beek *et al.*, 2004; Jungwirth and Kuchler, 2006; Lee *et al.*, 2014).





# Harvest

- **样点示意图**
- **图表摘要**
- **高通量绝对丰度定量方法 (iHAAQ)**
- **KEGG功能分析**
- **结果分析 (深入)**



---

# Thank You

---

敬请各位老师同学批评指正

---