

砷污染湖滨湿地底泥微生物群落结构及多样性

赵立君¹, 刘云根², 王妍^{2*}, 赵蓉², 李波¹, 郑毅¹ (1.西南林业大学湿地学院, 云南昆明 650224; 2.西南林业大学生态与环境学院, 云南昆明 650224)

摘要: 为研究高原砷污染湖滨湿地底泥微生物群落结构及多样性特征, 探寻底泥砷含量及砷形态与微生物之间的联系, 采集云南省阳宗海东、西、南、北岸湖滨湿地底泥样品, 利用 16S rRNA 高通量测序技术, 研究了砷污染湖滨湿地底泥微生物丰富度特征, 探讨了不同砷形态差异对微生物群落的影响。结果显示, 底泥砷含量对微生物丰富度影响显著, 砷含量高的南岸区域微生物的丰富度较高, OTU 为 1286~1473。而砷含量较低的西岸区域微生物丰富度也随之较低, OTU 为 693~1339。阳宗海湖滨湿地底泥微生物群落结构稳定, 主要优势类群为 Proteobacteria(变形菌门, 15.6%~59.6%)、Chloroflexi(绿弯菌门, 10.1%~44.9%)及少量的 Actinobacteria(放线菌门)和 Acidobacteria(酸杆菌门)。底泥中砷形态主要以残渣态砷(F5)和无定型氧化物结合态砷(F3)为主, 无定型氧化物结合态砷(F3)对底泥微生物类群影响最为显著。同时, 底泥中生物有效态砷(非专性吸附态砷+专性吸附态砷+无定型氧化物结合态砷)占到 19.3%~58.6%, 存在环境释放风险。研究结果加深了对砷污染高原湖泊底泥中微生物群落的认识, 为湖泊砷污染防治提供微生物治理的理论基础和科学依据。

关键词: 砷污染; 湖滨湿地; 底泥; 砷形态; 微生物群落

中图分类号: X172, X53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2019)09-3933-08

Microbial community structure and diversity of arsenic-contaminated lakeshore wetland sediments ZHAO Li-jun¹, LIU Yun-gen², WANG Yan^{2*}, ZHAO Rong², LI Bo¹, ZHENG Yi¹ (1. Wetland College, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. College of Ecology and Environment, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China). *China Environmental Science*, 2019, 39(9): 3933~3940

Abstract: The purpose of the present work was to explore the microbial community structure and diversity characteristics of arsenic-contaminated lakeshore wetland in the Plateau lakes, and to explore the relationship between the content & forms of arsenic and microbial community characteristics in the sediment. This paper collected samples of lakeshore wetland sediments from the east, west, south and north lakeshore of Yangzonghai Lake in Yunnan Province, not only the characteristics of microbial richness in sediments of arsenic-contaminated lakeshore wetlands were analyzed by 16S rRNA high-throughput sequencing technique, but also the effects of arsenic forms on microbial communities were discussed. The results showed: (1) the arsenic content of the sediment has a significant effect on the microbial richness, and the microbial richness is higher with high arsenic content in the South Bank region, which the Operational Taxonomic Units is 1286~1473, In the West Bank region the microbial richness is low with low arsenic content which the Operational Taxonomic Units is 693~1339; (2) The microbial community structure of sediments in Yangzonghai Lake Lakeshore wetland is stable, the dominant populations are Proteobacteria (15.6%~59.6%), Chloroflexi (10.1%~44.9%), with few Actinobacteria and Acidobacteria; (3) The arsenic form in the sediment is mainly composed of residual arsenic (F5) and amorphous oxide-bound arsenic (F3), and F3 has the most significant effect on the microbial community. Meanwhile, the bioavailable arsenic (non-specific adsorbed arsenic + specific adsorbed arsenic + amorphous oxide bound arsenic) in the sediment accounts for 19.3%~58.6%, the risk of arsenic release is high. The research results deepened the understanding of microbial community in sediments of arsenic-contaminated plateau lakes, and provide theoretical and scientific basis for microbial treatment of lake arsenic pollution prevention.

Key words: arsenic pollution; lakeshore wetland; sediment; arsenic form; microbial community

高原湖泊流域具有面积小、补给水源有限、换水周期长、水环境容量低等特点, 面临极高的污染风险^[1-3], 逐渐成为研究热点。湖滨湿地是拦截外源污染物的有效屏障, 也是污染物的重要储库, 该关键区域中微生物转化、底泥吸附与解吸、湿地植物吸收等

与污染物生物地球化学过程相关的作用直接决定

收稿日期: 2019-02-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31560147, 21767027); 云南省农业联合专项(2018FG001-049)项目资助

* 责任作者, 副教授, wycaf@126.com

污染物的水环境风险^[4-5].云南省九大高原湖泊之一的阳宗海曾遭受严重的水体砷污染,整个湖泊水体中砷含量达 0.13~0.19mg/L,超过地表水环境质量标准 V 类水标准值(0.1mg/L).水体加入絮凝剂治理后,水体砷浓度显著降低,湖泊底泥成为砷的蓄积体,浓度为 10.28~81.54mg/kg^[6-7].

砷是自然界广泛存在元素,在底泥中的赋存形态决定其毒性效应和生态风险^[8-9].研究显示^[10-11],污染物在底泥中的迁移转化过程与微生物活动密切相关,重金属进入底泥环境后,会对微生物多样性及群落结构产生影响.同时微生物介导的砷和磷形态转化速率和程度均显著强于化学过程^[12-14],是湖滨湿地污染物环境行为和风险研究不可忽视的重要过程.关于微生物与砷形态转化关系的研究对象大多集中于矿区、地下含水层和农田等与人体健康关系密切的土壤/底泥环境^[15-16],相关研究发现砷污染对微生物群落分布的多样性、优势度和均匀度均有显著影响,然而目前有关砷污染湖滨湿地微生物研究报道尚少.本研究旨在研究砷污染湖滨湿地底泥微生物群落结构及多样性特征,探讨砷含量及砷形态对微生物的影响,找寻高效抗砷菌种,以期为高原湖泊砷污染防治提供微生物治理理论基础和科学依据.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

阳宗海(24°51'~24°58'N,102°58'~103°01'E)地处云南省昆明市境内,属于高原断陷淡水湖泊.湖面呈纺锤形,东西宽 2.5km,南北长 12.7km,湖面面积 31.9km².2008 年阳宗海发生了砷污染事件而备受关注.经治理以来,阳宗海水体砷污染已得到有效控制,一部分砷随絮凝剂进入底泥环境中,对其中微生物产生深刻影响.

1.2 样品采集与处理

采样点位置如图 1 所示,2017 年 7 月下旬,选取阳宗海湖滨湿地东、西、南、北岸湖滨区域采集样品,共布设 4 条样带,每条样带设距湖岸 5m 的近岸点和距湖岸 15m 的远岸点.分别为:阳宗大河汇入的南岸区域(S),近岸点为 S1,远岸点为 S2;村落聚集的西岸区域(W),近岸点为 W1,远岸点为 W2;捕鱼活动较多的沙质岸滩北岸区域(N),近岸点为 N1,远岸点为

N2;地处山崖附近环境相对稳定的东岸区域(E),近岸点为 E1,远岸点为 E2.

所有采样点均用全球定位系统 GPS(佳明 GPS72)定位.用有机玻璃柱状底泥分层采样器采集湖滨湿地表层底泥(1~10cm).每个样点采集 3 个平行底泥样品.样品存放在-80℃冰箱保存,一部分送往上海美吉生物公司进行高通量测序工作.另一部分经真空冷冻干燥,研磨、过筛(100 目)备用.

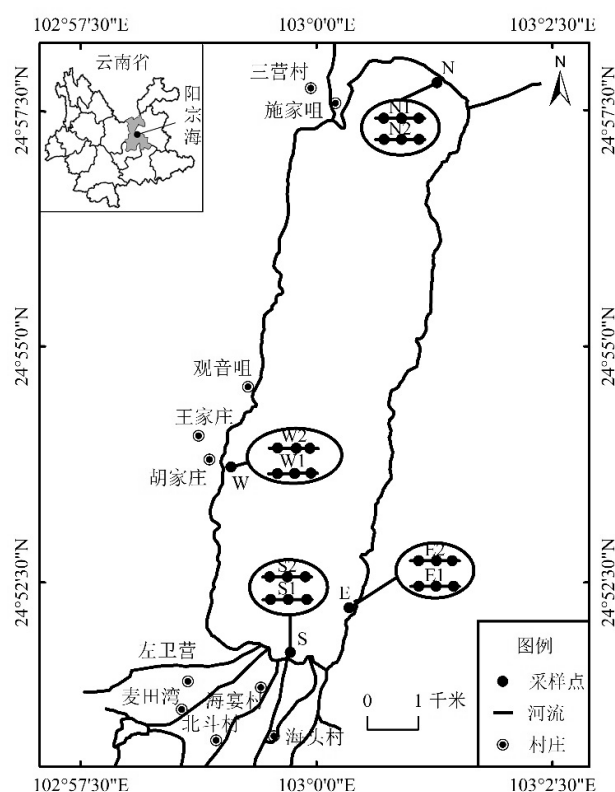


图 1 采样点分布

Fig.1 Sketch of the sampling positions

1.3 理化指标测试及分析方法

测定的理化指标包括:底泥总磷(TP)采用钼锑抗分光光度法^[17].底泥总砷(TAs)采用(3:1)王水消解提取^[18]测定,砷形态采用 Wenzel 等^[19]的连续五步提取法提取(见表 1).其中,非专性吸附态(F1)、专性吸附态(F2)和无定型氧化物结合态(F3)在底泥中具有较高的活性,为生物有效态砷;后两种结合态砷生物可利用性较低,在底泥中较为稳定,为非生物有效态砷.总砷及各形态砷的含量均使用 AFS-810 双道氢化物发生原子荧光分光光度计(北京吉天)测定;所有样品处理测定过程均同时带试剂空白、平行样.

表 1 样品砷形态的提取方法
Table 1 Method for extracting arsenic morphology of samples

形态	提取剂	提取条件	水土质量比	清洗步骤
非专性吸附态(F1)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (0.05mol/L)	震荡 4h,20℃	1:25	—
专性吸附态(F2)	(NH ₄) ₂ H ₂ PO ₄ (0.05mol/L)	震荡 16h,20℃	1:25	—
无定型氧化物结合态(F3)	草酸铵缓冲液(0.2mol/L),pH=3.25	震荡 4h,20℃,避光	1:25	草酸铵缓冲液
晶型铁氧化物结合态(F4)	草酸铵缓冲液(0.2mol/L)+抗坏血酸 (0.2mol/L),pH=3.25	在 96±3℃,水浴 30min	1:25	(0.2mol/L)1:12.5,pH=3.25,震 荡 10min,20℃,避光
残渣态(F5)	HNO ₃ 和 HCL	消解	—	—

1.4 样品 16Sr RNA 基因测序

底泥 16S rRNA 的测序工作由上海美吉生物信息科技有限公司完成,以 FastDNA Spin Kit for soil DNA(美国 Mpbio 公司)提取试剂盒对样本的基因组 DNA 进行提取.选择 V3~V4 可变区,以稀释的基因组 DNA 为模板,使用 338F(5'-ACTCCTACGGG-AGGCAGCAG-3')-806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[20]引物和高效高保真酶进行 PCR,确保扩增效率和准确性.使用 TruSeq™ DNA Sample Prep Kit(美国 Illumina 公司)建库试剂盒进行文库构建,构建好的文库经过 QuantiFluor™-ST(美国 Promega 公司)定量,文库合格后使用 MiSeq PE300(美国 Illumina 公司)进行上机测序.然后对所以样品的全部序列进行聚类,以 97%的相似度将序列聚类成 OTU,然后对 OTU 的代表序列进行物种注释,确定 16S rRNA 序列对应的微生物名称.

1.5 生物信息处理

首先对测序得到的原始数据进行拼接、过滤,

得到有效数据^[21],然后基于有效数据进行 OTU 聚类和物种分类分析,并将 OTU 和物种注释结合,从而得到每个样品的 OTU 和分类谱系的基本分析结果.再对 OTU 进行丰度、多样性指数等分析,同时对物种注释在门分类水平上进行群落结构的统计分析.在以上分析的基础上,进行基于 OUT 的主成分分析(PCA)并结合环境因素进行冗余分析(RAD)等比较分析,揭示微生物在砷污染环境中的响应特征.

2 结果与分析

2.1 砷污染底泥分析

阳宗海湖滨湿地底泥总砷及各砷形态含量如表 2 所示:阳宗海 4 组岸带底泥中的砷含量均较高,在 15.90~34.09mg/kg 之间,超全国水系沉积物背景值^[22]2 倍以上.其中南岸最高,底泥中总砷含量达到了 34.09~34.56mg/kg,其次为西岸和东岸,北岸底泥砷含量最低,为 15.90~22.17mg/kg.

表 2 样品总砷、总磷及砷形态统计
Table 2 Statistics of total arsenic, total phosphorus and arsenic forms in samples

样点	TAs (mg/kg)	TP (mg/kg)	F1 (mg/kg)	F2 (mg/kg)	F3 (mg/kg)	F4 (mg/kg)	F5 (mg/kg)
S1	34.56±4.18	933.26±36.04	1.32±0.33	1.61±0.20	3.73±0.25	8.56±0.44	18.50±0.23
S2	34.09±3.43	998.26±74.77	3.54±0.31	1.33±0.13	3.44±0.27	4.38±0.09	20.59±3.11
N1	22.17±0.24	739.80±17.05	1.21±0.17	7.09±0.04	4.70±0.24	3.37±0.23	7.47±0.49
N2	15.90±0.08	574.19±35.49	2.41±0.53	2.52±0.43	3.34±0.23	0.96±0.03	7.00±0.62
W1	25.76±3.56	290.09±20.25	1.75±0.25	6.83±0.20	3.91±0.06	4.58±0.04	8.90±0.02
W2	32.58±0.86	415.78±11.61	2.77±0.09	5.49±0.16	8.30±0.33	3.20±0.01	12.19±1.31
E1	30.51±2.01	292.31±10.79	1.80±0.06	8.54±0.24	5.35±0.53	5.52±0.54	10.53±0.28
E2	24.44±0.39	472.14±17.28	3.49±0.01	4.36±0.16	3.44±0.44	5.26±0.25	8.59±0.15

注:F1:非专性吸附态砷 F2:专性吸附态砷 F3:无定型氧化物结合态砷 F4:晶型铁氧化物结合态砷 F5:残渣态砷.

底泥砷形态含量规律较为相似,以残渣态砷(F5)含量最多,其次为无定型氧化物结合态砷(F3)、晶型铁氧化物结合态砷(F4)和专性吸附态砷

(F2)而非专性吸附态砷(F1)含量最少.组成上看,生物有效态砷(F1+F2+F3)和非生物有效态砷(F4+F5)均占底泥总砷的 1/2 左右,底泥环境存在砷释放的

风险.非专性吸附态砷易被植物吸收利用,占总砷比例较小.专性吸附态砷和无定型氧化物结合态砷在土壤条件发生变化时容易发生改变,进而转化成为有效态砷释放出来.晶型铁氧化物结合态砷和残渣态砷不易被生物吸收利用,对环境的危害和风险较小.阳宗海曾使用絮凝剂沉淀湖泊中的砷,部分砷随絮凝剂进入底泥富集,造成底泥中残渣态砷的含量较高.

阳宗海 4 条样底泥中总磷含量差异明显,南岸底泥中总磷含量最高,为 933.26~998.26mg/kg,其次为北岸和东岸,西岸底泥中总磷含量相对较少,底泥总磷含量为 290.09~415.78mg/kg.

阳宗海湖滨湿地底泥总磷含量与各样带地理位置有关,南岸湖滨湿地为阳宗大河汇入区,伴随着大量的营养物质,促使南岸底泥中的总磷含量明显高于其他 3 个岸.砷和磷属于同主族元素,化学性质和化学行为相似,均可以通过专性吸附的方式被土壤胶体和土壤中铁铝氧化吸附固定,因此砷和磷的竞争关系是影响砷吸附的重要原因之一^[23].

2.2 砷污染湖滨湿地底泥微生物多样性特征

利用多样性指数对阳宗海底泥 4 组样带底泥中微生物多样性进行分析,结果如表 3 所示:得到有效序列总计 213039 条.S1 样品包含 19338 条(1473 个 OTU),S2 样品包含 22655 条(1286 个 OTU),N1 样品包含 26597 条(1136 个 OTU),N2 样品包含 30722 条(1188 个 OTU),W1 样品包含 27672 条(693 个 OTU),W2 样品包含 28439 条(1339 个 OTU),E1 样品包含 24699 条(1136 个 OTU),E2 样品包含 34046 条(1353 个 OTU).分属 41 门、97 纲、192 目、336 科、564 属、996 种.

为分析底泥微生物多样性差异,本研究采用 Chaol 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数(表 3)表征微生物的丰富度和群落多样性.结果表明:南岸底泥微生物 OTU 为 1286~1473,丰富度最高.西岸底泥微生物 OTU 为 693~1339,丰富度最低,近远岸点之间的微生物 OTU 相差 93%,微生物丰富度差异较大.Chaol 指数反映样本中微生物丰富度、Shannon 指数和 Simpson 指数反映样本中微生物的多样性,Shannon 值越大,说明群落多样性越高,Simpson 指数值越大,说明群落多样性越低.多样性指数结果表明,S1 样点的微生物丰富度和多样性均为最

高.W1 样点最低.北岸和东岸底泥微生物丰富度从近岸至远岸均有小幅增加.Coverage 指数是指各样本文库的覆盖率,其数值越高,则样本中序列被测出的概率越高.所有样品的 Coverage 指数均在 0.989 以上.反映本次测序结果代表了样本中微生物的真实情况.

表 3 样品 OTU 及多样性指数
Table 3 Microorganism OTU and diversity index of samples

样本 Sample	有效序列 Effective Reads	OUT 数	Chaol 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Coverage 指数
S1	19338	1473	1654.13	6.30	0.004	0.98
S2	22655	1286	1415.79	5.73	0.015	0.99
N1	26597	1136	1370.96	5.42	0.013	0.99
N2	30722	1188	1370.30	5.29	0.030	0.99
W1	27672	693	866.58	3.86	0.129	0.99
W2	28439	1339	1490.94	6.04	0.007	0.99
E1	24699	1136	1324.70	5.72	0.011	0.99
E2	34046	1353	1507.50	6.00	0.007	0.99

利用韦恩图可以比较直观的表现环境样本的物种数目组成相似性及重叠情况(见图 2).结果表明:阳宗海的 4 条样带底泥微生物 OUT 为 1498~1605,而共有 OTU 高达 852,占各条样带 OTU 的一半以上,表明阳宗海底泥中微生物群落组成基本相似.南岸样带的特有 OTU 为 40;东岸样带的特有 OTU 为 85;西岸样带的特有 OTU 为 31;北岸样带的特有 OTU 为 157.由于北岸湖滨底泥中砷含量为 4 个岸中最低,致使底泥中的特有微生物受影响较小,特有 OTU 较高.而在砷含量较高的区域,耐砷优势微生物占据群落主导,特有微生物相对较少.

湖泊底泥是一个由多种生物和非生物参与的、物质频繁交换的有机、无机混合体.外界营养物质的输入及环境条件的改变等因素都会影响微生物群落^[24].微生物对重金属污染的响应存在差异,有研究表明^[25]高浓度的重金属会对微生物产生胁迫效应,使其生物量降低.是由于高浓度的重金属会破坏细胞结构和功能,加快细胞的死亡,抑制微生物的活性或竞争能力从而降低生物量;同时,在重金属胁迫条件下,微生物需要消耗大量能量以抵御环境胁迫.韩永和等^[26]研究发现,砷胁迫会降低 16S rRNA 基因丰度、减少微生物数量.但也有研究^[27-28]指出低浓度的重金属污染能够促进微生物的生长繁殖,提高细胞活性和增加生物量.国外学者 Giller 等^[29]认为重金

属胁迫对微生物多样性的影响并不是呈线性的,而是呈现拱桥形,低剂量的重金属胁迫抑制优势种群的竞争性排除效应,有利于劣势种群的生存,导致微生物多样性增加。

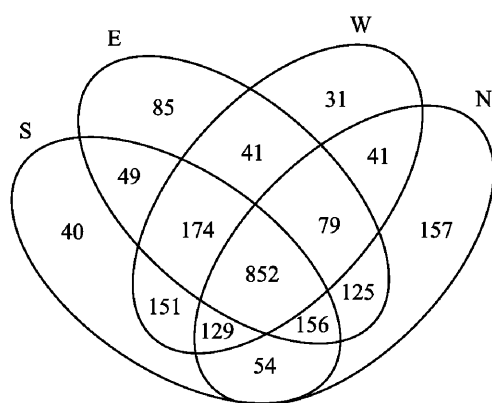


图2 样品 OTU 分布韦恩图
Fig.2 Venn of samples on OTU level

阳宗海湖滨湿地底泥微生物的丰富度特征呈现空间异质性。在底泥砷、磷含量最高的南岸区域,微生物的丰富度最高,而在砷、磷含量均较低西岸,微生物的丰富度最低。表明一定的砷胁迫环境有利于底泥微生物的生长繁殖,微生物更趋向于生活在砷、磷含量较高的底泥环境。微生物的丰富度也受到砷形态的影响,底泥中非生物有效态砷高,其中的微生物丰富度也相对较高。

2.3 砷污染湖滨湿地底泥微生物群落组成特征

利用 Mothur 方法^[30]与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析(设定阈值为 0.8~1),获得门水平上分类学信息,统计各样本的群落组成(见图 3)。研究结果显示:阳宗海底泥微生物群落组成稳定,但近远岸之间存在着差异。在门分类水平上,微生物群落主要以 Proteobacteria(变形菌门)和 Chloroflexi(绿弯菌门)为主,含有少量的 Actinobacteria(放线菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)和 Firmicutes(厚壁菌门)。变形菌门在阳宗海湖滨湿地底泥的比重为 15.6%~59.6%,绿弯菌门比重为 10.1%~44.9%,为阳宗海湖滨湿地底泥中优势菌门。南岸、西岸和东岸从近岸至远岸区域变形菌门比重均有一定程度上升,而北岸地区由近岸至远岸变形菌门比重下降,绿弯菌门比重上升。

本研究利用主成分(PCA)分析。通过分析不同样

本群落组成可以反映样本间的差异和距离(见图 4)。结果显示:轴 1(PC1)贡献值为 57.42%,轴 2(PC2)贡献值为 20.44%,总贡献值为 77.86%。在阳宗海湖滨湿地中,东岸底泥微生物群落相似度最高,其次为南岸样带,北岸样带和西岸样带相似度较低。东岸由于地处断崖,环境较为封闭、稳定,受到的干扰较小,同时底泥中非生物有效态砷的比例较高,促使东岸底泥微生物群落相似度高,群落结构稳定。

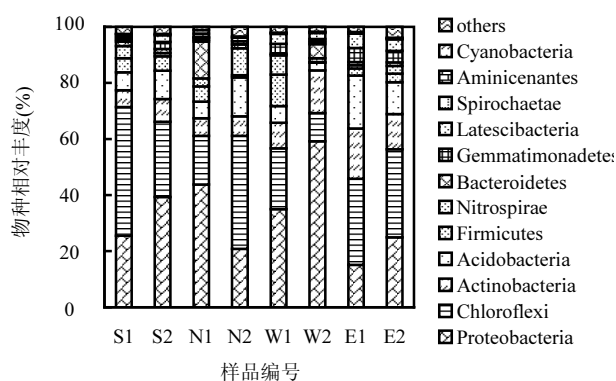


图3 门水平微生物群落组成
Fig.3 Microbial community composition on phylum level

微生物与湖泊底泥环境相互作用,一方面微生物对湖泊底泥中营养物质循环和化合物降解起着重要的作用,另一方面湖泊底泥也为微生物的各种代谢活动提供场所,底泥中各种环境因子的变化^[31]都会影响底泥微生物群落的组成和结构。砷作为一类胁迫因子和选择压力,影响底泥中微生物生理代谢过程、存活、对环境的适应及其所发挥的生态功能。

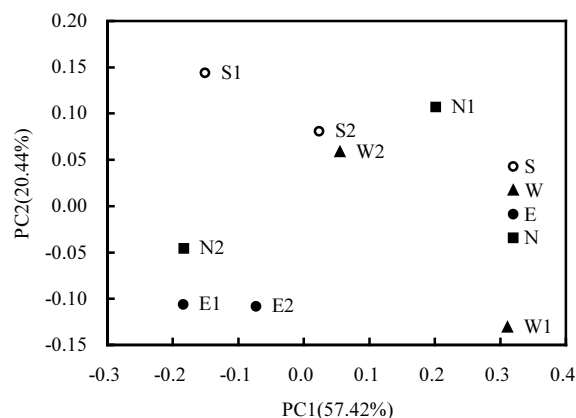


图4 样品 PCA 分析
Fig.4 Principal coordinate analysis of samples

底泥微生物群落作为湖泊生态系统稳定性的重要敏感性指标,稳定多样的微生物种群是适应外界因素和维持湖泊生态的必要因素.砷污染会对微生物固有的群落结构和活性造成不利影响^[32].微生物若长期处在砷污染的环境中,群落结构会发生变化,导致物种多样性减少,大部分敏感的物种逐渐消失,而关键代谢活动(重金属抗性)较强的耐性物种存活下来形成新的群落,数量增多并积累^[33],来抵抗砷污染所造成的不利影响.Loren 等^[34]研究长期受砷和镉污染的土壤中微生物群落结构发现,土壤中细菌的群落与未污染的土壤差异明显,其中变形菌门细菌对砷和镉的耐受能力更强.Sheik 等^[35]研究指出,当土壤长期受到砷和铬污染后,变形菌门细菌成为优势菌,放线菌门和酸杆菌门的比例明显减少.Azarbad 等^[36]发现长期受砷、镉和铅污染的森林土壤中微生物的多样性并没有减少,只是改变了群落组成.变形菌门在污染土壤中占据明显优势,绿弯菌门和芽单胞菌门的丰度增加.还有一些研究^[37-38]指出,变形菌门、放线菌门和厚壁菌门中的部分种属含有三价砷氧化基因(aioA 和 arrA)、五价砷还原基因(ACR3)和将三价砷排出体外的基因(arsB),这些基因使微生物对砷具有较高的耐性,能够在长期砷污染或者高砷污染的土壤或沉积物中形成优势微生物种群.阳宗海湖滨湿地底泥中微生物优势类群与相关研究较为一致,主要以变形菌门与绿弯菌门为主,并含有少量的放线菌门、酸杆菌门和厚壁菌门.底泥中的砷促使部分耐受菌迅速积累成为优势菌群,从而导致底泥中微生物总量有所增加.虽曾经遭受过砷污染,但经过长时间的治理和微生物自我适应使得阳宗海底泥微生物形成了稳定多样的群落.这些微生物种群能够较好地适应砷污染的环境,并在维持湖泊底泥环境生态平衡过程中起重要作用.

2.4 底泥砷形态与微生物之间的关系

基于底泥砷形态测定数据(表 2)和微生物丰度数据构建冗余分析(见图 5).筛选的 5 种砷形态在第一和第二排序轴的解释量分别为 52.96%和 12.99%.结果显示:阳宗海底泥中的砷形态对微生物群落的影响程度不同,对微生物类群影响最强的是无定型氧化物结合态砷(F3)且与变形菌门相关性强,其次为残渣态砷(F5)和晶型铁氧化物结合态砷(F4),非专性吸附态砷(F1)和专性吸附态砷(F2)

对于微生物的影响较小.无定型氧化物结合态砷(F3)在底泥中占 10.1%~25.4%,比重较大.同时,无定型氧化物结合态砷容易受环境变化的影响,进而将砷释放出来,影响底泥微生物群落稳定与微生物多样性.

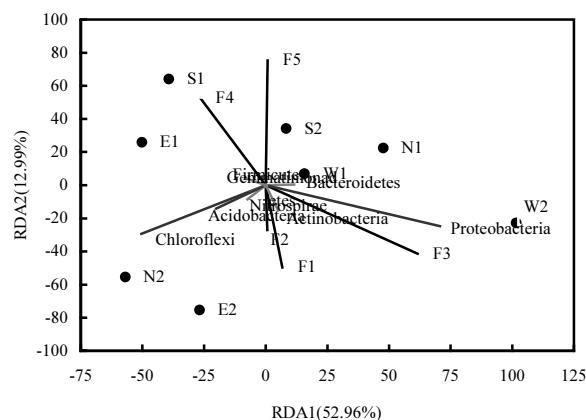


图 5 砷形态与微生物相关性分析

Fig.5 Analysis of the correlation between arsenic forms and microorganism

砷在底泥环境中的形态及其相互转化决定了其有效性.微生物活动在砷的迁移和形态转化的过程中起着关键的作用^[40],微生物对砷的还原作用可引起砷的活化或释放^[41],同时也会对砷在底泥中的结合形态产生影响,进而影响砷的生物有效性、环境行为及其在不同形态间的再分配.外源砷进入底泥后其可浸提性、生物有效性或者毒性随时间延长而逐渐降低^[23].同时,砷进入底泥环境后,也会与底泥微生物发生相互影响.在厌氧微生物作用下底泥中砷的形态转化及分配比例对砷的环境行为与归趋具有重要影响.Tang 等^[42]向 4 种土壤中添加外源加砷溶液并老化一段时间后,发现土壤中的砷主要以专性吸附态砷(F2)和无定型氧化物结合态砷(F3)2 种结合态为主.

阳宗海湖滨湿地底泥中生物有效态砷与非生物有效态砷的比例接近 1:1,同时有效态的无定型氧化物结合态砷(F3)含量较多,对湖滨湿地中的微生物类群影响最大.显示底泥中存在砷释放的环境风险.微生物群落作为湖滨湿地生态系统的重要组成部分之一,维持着水体-沉积物的生态平衡,阳宗海主要以变形菌门为主的微生物群落中,其部分种属存在着三价砷氧化基因^[37],这些基因不但促使变形

菌门成为优势菌门,同时也可以降低底泥中砷的毒性,维持底泥中砷形态的稳定,减少底泥砷释放的环境风险。

3 结论

3.1 阳宗海湖滨湿地底泥微生物数量众多,类群丰富。微生物 OUT 数为 693~1473,其中南岸湖滨区域微生物丰富度最高,OUT 为 1286~1473,其次是东岸与北岸湖滨区域,西岸区域微生物丰富度最低。微生物丰富度与底泥中总砷、总磷含量具有一致性,含量最高的南岸湖滨区域(总砷:34.09~34.56mg/kg,总磷:933.26~988.26mg/kg),微生物丰富度最高。

3.2 阳宗海湖滨湿地底泥微生物优势类群主要为 Proteobacteria(变形菌门,15.6%~59.6%)、Chloroflexi(绿弯菌门,10.1%~44.9%)及少量的 Actinobacteria(放线菌门)和 Acidobacteria(酸杆菌门)。阳宗海湖滨湿地在长期砷污染环境下形成了稳定多样的微生物群落结构。

3.3 阳宗海湖滨湿地底泥中砷形态主要以残渣态砷(F5)和无定型氧化物结合态砷(F3)为主,其中生物有效态砷占底泥结合态砷的 19.3%~58.6%,底泥砷存在环境释放风险。无定型氧化物结合态砷(F3)对底泥中微生物影响最为显著。

参考文献:

- [1] 徐晓梅,吴雪,何佳,等.滇池流域水污染特征(1988~2014年)及防治对策[J].湖泊科学,2016,28(3):476-484.
Xu X M, Wu X, He J, et al. Research on the pollution characteristics of Dianchi watershed (1988~2014) and identification of countermeasures [J]. Journal of Lake Sciences, 2016,28(3):476-484.
- [2] Dai X Y, Zhou Y Q, Ma W C, et al. Influence of spatial variation in land-use patterns and topography on water quality of the rivers inflowing to Fuxian Lake, a large deep lake in the plateau of southwestern China [J]. Ecological Engineering, 2017,99:417-428.
- [3] 王莹,胡维平.太湖湖滨湿地沉积物营养元素分布特征及其环境意义[J].中国环境科学,2015,35(1):204-210.
Wang Y, Hu W P. Nutrients distribution characteristics and their environmental significance of Taihu lakeside wetland sediments [J]. China Environmental Science, 2015,35(1):204-210.
- [4] Zhang L, Xu M, Du Y, et al. Start-up performance of a novel constructed riparian wetland for removing phosphorus from agricultural runoff [J]. Journal of Integrative Environmental Sciences, 2014,11(2):143-154.
- [5] Huang C, Zhang L, Li Y, et al. Carbon and nitrogen burial in a plateau lake during eutrophication and phytoplankton blooms [J]. Science of the Total Environment, 2017,616-617:296.
- [6] Liu R, Yang C, Li S, et al. Arsenic mobility in the arsenic-contaminated Yangzonghai Lake in China [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2014,107:321-327.
- [7] 张慧娟,刘云根,齐丹卉,等.阳宗海湖滨湿地表层沉积物重金属污染特征及生态风险评估[J].云南大学学报:自然科学版,2017,39(3):506-514.
Zhang H J, Liu Y G, Qi D H, et al. Pollution characteristics and ecological risk assessment of heavy metals in the surface layer sediments of Yangzonghai lakeside wetland [J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2017,39(3):506-514.
- [8] 李梦莹,郑毅,刘云根,等.阳宗海湖滨湿地沉积物砷和有机质对磷赋存形态的影响[J].农业环境科学学报,2016,35(11):2171-2179.
Li M Y, Zheng Y, Liu Y G, et al. Effects of arsenic and organic matter on the speciation of phosphorus in the sediments of Yangzonghai lakeside wetland [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(11):2171-2179.
- [9] Li W C, Deng H, Wong M H. Metal solubility and speciation under the influence of waterlogged condition and the presence of wetland plants [J]. Geoderma, 2016,270:98-108.2016,(270):98-108.
- [10] 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.
- [11] Brümmer G W. Heavy metal species, mobility and availability in soils [J]. Journal of Plant Nutrition & Soil Science, 2010,149(4):382-398.
- [12] Zhang Z, Moon H S, Seb M, et al. Phosphate enhanced abiotic and biotic arsenic mobilization in the wetland rhizosphere [J]. Chemosphere, 2017,187:130-139.
- [13] 韩永和,王珊珊.微生物耐砷机理及其在砷地球化学循环中的作用[J].微生物学报,2016,56(6):901-910.
Han Y H, Wang S S. Arsenic resistance mechanisms in microbes and their roles in arsenic geochemical cycling-A review [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016,56(6):901-910.
- [14] 朱永官,段桂兰,陈保冬,等.土壤-微生物-植物系统中矿物风化与元素循环[J].中国科学:地球科学,2014,1(6):1107-1116.
Zhu Y G, Duan G L, Chen B D, et al. Mineral weathering and element cycling in soil-microorganism-plant system [J]. Scientia Sinica (Terrae), 2014,1(6):1107-1116.
- [15] 郑景华,巴楚明,王志宏,等.矿区土壤中砷污染对微生物群落的影响研究[J].地球与环境,2016,44(5):506-512.
Zheng J H, Ba C M, Wang Z H, et al. Influence of arsenic pollution on soil microbial community of mining area [J]. Earth and Environment, 2016,44(5):506-512.
- [16] Li C M, Lei C X, Liang Y T, et al. As contamination alters rhizosphere microbial community composition with soil type dependency during the rice growing season [J]. Paddy & Water Environment, 2016,15(3):1-12.
- [17] NY/T 88-1988 土壤全磷测定法[S].
NY/T 88-1988 Method for determination of soil total phosphorus [S].
- [18] HJ 680-2013 土壤和沉积物汞、砷、硒、铋、锑的测定微波消解/

- 原子荧光法 [S].
HJ 680-2013 Soil and sedimen-Determination of mercury,arsenic, selenium, bismuth, antimony — Microwave dissolution/Atomic Fluorescence Spectrometry [S].
- [19] Wenzel W W, Kirchbaumer N, Prohaska T, et al. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001,436(2):309-323.
- [20] Xu N, Tan G, Wang H, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016,74:1-8.
- [21] Caporaso J.Gregory. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature methods*, 2010:7(5):335-336.
- [22] 史长义,梁 萌,冯 斌.中国水系沉积物 39 种元素系列背景值 [J]. *地球科学*, 2016,41(2):234-251.
Shi C Y, Liang M, Feng B. Average Background Values of 39 Chemical Elements in Stream Sediments of China [J]. Editorial Committee of *Earth Science-Journal of China University of Geosciences*, 2016,41(2): 234-251.
- [23] 王亚男,曾希柏,白玲玉,等.外源砷在土壤中的老化及环境条件的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2018,275(7):29-36.
Wang Y N, Zeng X B, Bai L Y, et al. The exogenous aging process in soil and the influences of environmental factors on aging [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018,275(7):29-36.
- [24] 赵兴青,杨柳燕,尹大强,等.不同空间位点沉积物理化性质与微生物多样性垂直分布规律 [J]. *环境科学*, 2008,29(12):3537-3545.
Zhao X Q, Yang L Y, Yin D Q, et al. Vertical distribution of physicochemical characteristics and the microbial diversity in different spatial sediments samples in Lake Taihu [J]. *Environmental Science*, 2008,29(12):3537-3545.
- [25] 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.
- [26] 韩永和,贾梦茹,傅景威,等.不同浓度砷酸盐胁迫对蜈蚣草根际微生物群落功能多样性特征的影响 [J]. *南京大学学报(自然科学)*, 2017,53(2):275-285.
Han Y H, Jia M R, Fu J W, et al. Impacts of arsenate concentrations on functional diversities of rhizosphere microbial communities of *Pteris vittata* [J]. *Journal of Nanjing University (Natural Science)*, 2017,53(2): 275-285.
- [27] 郑 涵,田昕竹,王学东,等.锌胁迫对土壤中微生物群落变化的影响 [J]. *中国环境科学*, 2017,37(4):1458-1465.
Zheng H, Tian X Z, Wang X D, et al. Effects of Zn pollution on soil microbial community in field soils and its main influence factors [J]. *China Environmental Science*, 2017,37(4):1458-1465.
- [28] 赵立君,任 伟,郑 毅,等.砷污染湿地生境下土壤微生物多样性及群落结构特征 [J]. *环境科学研究*, 2019,32(1):156-164.
Zhao L J, Ren W, Zheng Y, et al. Characteristics of Soil Microbial Diversity and Community Structure in Arsenic-Polluted Wetland Habitats [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019,32(1): 156-164.
- [29] Giller K E, Witter E, Mcgrath S P. Heavy metals and soil microbes [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009,41(10):2031-2037.
- [30] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007,73(16):5261-5267.
- [31] Parkes R J, Webster G, Cragg B A, et al. Deep sub-seafloor prokaryotes stimulated at interfaces over geological time [J]. *Nature*, 2005,436(7049):390.
- [32] Zhang J, Wang L H, Yang J C, et al. Health risk to residents and stimulation to inherent bacteria of various heavy metals in soil [J]. *Science of The Total Environment*, 2015,508:29-36.
- [33] Xie Y, Fan J, Zhu W, et al. Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016,7(245):755-763.
- [34] Lorenz N, Hintemann T, Kramarewa T, et al. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(6):1430-1437.
- [35] Sheik C S, Mitchell T W, Rizvi F Z, et al. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure [J]. *Plos One*, 2012,7(6):e40059.
- [36] Azarbad H, Niklińska M, Laskowski R, et al. Microbial community composition and functions are resilient to metal pollution along two forest soil gradients [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2015,91(1): 1-11.
- [37] Poirel J, Joulain C, Leyval C, et al. Arsenite-induced changes in abundance and expression of arsenite transporter and arsenite oxidase genes of a soil microbial community [J]. *Research in Microbiology*, 2013,164(5):457-465.
- [38] Costa P S, Scholte L L, Reis M P, et al. Bacteria and genes involved in arsenic speciation in sediment impacted by long-term gold mining [J]. *Plos One*, 2014,9(4):e95655.
- [39] Wang P, Sun G, Jia Y, et al. A review on completing arsenic biogeochemical cycle: Microbial volatilization of arsines in environment [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2014,26(2):371-381.
- [40] Huang H, Zhu Y, Chen Z, et al. Arsenic mobilization and speciation during iron plaque decomposition in a paddy soil [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012,12(3):402-410.
- [41] 吴 锡,许丽英,张雪霞,等.缺氧条件下土壤砷的形态转化与环境行为研究 [J]. *环境科学*, 2012,33(1):273-279.
Wu X, Xu L Y, Zhang X X, et al. Speciation Transformation and Behavior of Arsenic in Soils Under Anoxic Conditions [J]. *Environmental Science*, 2012,33(1):273-279.
- [42] Tang X Y, Zhu Y G, Cui Y S, et al. The effect of ageing on the bioaccessibility and fractionation of cadmium in some typical soils of China [J]. *Environment International*, 2006,32(5):682-689.

作者简介: 赵立君(1992-),男,安徽铜陵人,西南林业大学硕士研究生,主要研究方向为湿地微生物.发表论文 1 篇。