微生物学报 Acta Microbiologica Sinica 2021, 61(6): 1650–1665 http://journals.im.ac.cn/actamicrocn DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20210226



Environmental Microbial Ecology 环境微生物生态

河南卢氏和江西宜春两处锂矿山地表微生物群落分布特征差异 及成因分析

赵婷¹,陆现彩²,殷哲²,崔向杰²,刘欢²,李玉妹³,冯抗抗¹,李娟²,张冬梅^{1*}

1医药生物技术国家重点实验室,南京大学生命科学学院,江苏南京 210023

²表生地球化学教育部重点实验室,南京大学地球科学与工程学院,江苏 南京 210023

3介观化学教育部重点实验室,江苏省先进有机材料重点实验室,南京大学化学化工学院,江苏南京 210023

摘要:【目的】揭示地表锂矿石表面和风化产物中细菌群落多样性特征。【方法】针对细菌16S rRNA 片段扩增进行高通量测序,分析不同锂矿石表面及其风化产物中细菌群落组成、多样性及功能属性等 信息。【结果】河南卢氏南阳山伟晶岩型锂矿石和江西宜春花岗岩型锂矿石表面及其风化产物的细菌 群落多样性有差异。南阳山伟晶岩矿石与其风化产物、宜春花岗岩矿石表面和风化产物(NK-1、 NK-1F、YK-1、YK-1F、YK-2、YK-2F、YK-3)的OTUs分别是1010、540、835、828、1117、974 和604, 其差异与不同的矿物组成显著关联。两矿山均有其优势微生物, 在门水平上, 两矿山均以 放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)为优势菌门。同时两矿区微生物群落组成具有 显著差异性(P<0.05),不同地理位置风化产物样本之间差异尤为显著(P<0.001);在属水平上,NK-1 中相对丰度大于5%的属为鞘氨醇单胞菌属(Sphingomonas)、马赛菌属(Massilia); NK-1F为类芽孢 杆菌属(Paenibacillus)、杆状细菌属(Bacillus)、马赛菌属(Massilia);YK-1F为芽球菌属(Blastococcus)、 念珠菌固体杆菌属 (Candidatus-Solibacter)、 Noviherbaspirillum 属、伯克霍尔德氏菌属 (Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia), YK-2为unidentified-Chloroplast属, YK-2F为北里孢菌 属(Kitasatospora), YK-3为1174-901-12属、甲基杆菌属(Methylobacterium)。不同地理位置的矿石及其 风化物样本的功能注释均涉及代谢、遗传信息处理、环境信息处理等6个代谢通路。【结论】16S rRNA 高通量测序揭示不同地区锂矿石及其风化产物的细菌多样性存在差异,各具优势类群,样本间菌落组 成、多样性及功能属性的差异与锂矿石化学组成、风化程度和地理分布密切相关。这项研究揭示了优

基金项目: 国家自然科学基金(92062213)

^{*}通信作者。Tel: +86-25-89681373; E-mail: zdm@nju.edu.cn

收稿日期: 2021-04-12; 修回日期: 2021-05-09; 网络出版日期: 2021-05-13

势微生物类群的元素地球化学功能与含锂矿物地表风化的潜在联系,可为微生物生态分布研究及相关 微生物资源开发提供新数据。

关键词: 锂矿山, 高通量测序, 细菌多样性, 细菌群落结构, 功能预测

微生物对地表元素的赋存状态、迁移和富集 过程的调控作用不可忽视[1],因此探究微生物多 样性及其功能对认识地表矿化和环境演变具有 重要意义。微生物生长可从矿物、环境有机质或 流体中获取能量,同时也会改变环境中矿物的稳 定性和元素的活动性,微生物还能通过吸附、吸 收作用选择性富集某种或多种元素而聚集成 矿^[2]:因此地质微生物研究成为地球科学的重要 前沿领域之一^[3]。矿物和岩石的风化作用是影响 土壤形成、地表矿化和生态环境质量的重要过 程。出露地表的矿石或岩石在风化过程中会释放 出一种或多种元素,锂元素是近年来备受关注的 经风化作用释放的重要元素之一,其示踪地表 风化的功能不可替代,并作为低碳能源金属而极 具研究价值^[4-6]。含锂矿物的地表风化研究已多有 开展^[6-7],发现微生物能显著改变锂矿物风化的动 力学、锂的释出速率和同位素组成^[8-9],但对与锂 矿物风化有关的微生物类型仍缺乏足够的认识, 制约了锂矿物微生物风化机制的进一步研究。

微生物对锂矿物的分解作用已有报道^[10-11], 其机制涉及细胞吸附和代谢产物分泌等^[12-13]。 Rezza 等从含锂辉石、斜长石、钠长石等的矿石 中分离出黑曲霉(Aspergillus niger)、紫色曲霉 (Penicillium purpurogenum)、深红酵母(Rhodotorula rubra), 3 种微生物分别通过菌丝渗透矿物表层、 代谢产物柠檬酸分泌、增强细胞代谢活性等促进 锂辉石的生物浸出^[12-13]。目前对锂矿石的微生物 浸出作用仅限于上述报道,尚未见锂矿石微生物 群落多样性研究及其锂浸出机制的研究。利用 16S rRNA 高通量测序技术可以快速、准确地获 得环境样本中微生物群落组成的结构信息,经生 物信息学分析发现不同环境的微生物群落多样 性、进化的规律,旨在揭示微生物群落及功能微 生物在生物浸矿中的作用和机制^[14]。

伟晶岩型和花岗岩型锂矿是两类最常见的锂 矿床类型, 也是我国勘探储量最大的两类矿床。 河南南阳山位于河南省卢氏县官坡镇,是东秦岭 地区具有代表性的伟晶岩型稀有金属矿床, 锂矿 石中以锂辉石、锂云母和锂电气石为主要含锂矿 物^[15],脉石矿物包括石英、白云母、钾长石和钠 长石等。江西宜春花岗岩型锂矿具有储量大、分 布广的特点^[16],根据主岩类型分为风化壳型、钠 化花岗岩型和细晶岩脉型 3 种^[17],其中锂云母、 铁锂云母为主要锂载体矿物,石英、钠长石、白 云母和少量钾长石为主要造岩矿物[18];目前对南 阳山伟晶岩型锂矿和江西花岗岩型锂矿的研究仅 停留在矿石资源分布、矿床类型及矿石组成阶段, 未见矿区微生物群落分布及多样性、基因功能预 测等方面的相关报道。本文选择河南省卢氏县南 阳山伟晶岩型锂多金属矿床和江西宜春花岗岩型 锂钽矿床为研究对象,分别采取地表弱风化矿石 和强风化产物样本,基于 16S rRNA 高通量测序技 术^[19],研究矿石表面和风化产物中微生物群落组 成及其多样性特征,揭示不同地区锂矿石出露区 细菌群落结构及其功能构成,为进一步研究微生 物在矿石形成过程中的作用提供有力证据。

1 材料和方法

1.1 样本采集

本次研究分别采集了河南南阳山含锂辉石 粗晶的伟晶岩矿石(NK-1)及其风化产物(NK-1F)、 江西宜春钠化花岗岩型矿石(YK-1、YK-2、YK-3) 及其风化产物(YK-1F、YK-2F)共7件样本。

NK-1和NK-1F于2019年10月5日在河南 省卢氏县官坡镇南阳山采集(GPS定位信息: 33°52′23.55″N,110°42′49.12″E;33°51′59.03″N, 110°44′17.31″E);YK-1、YK-2、YK-3、YK-1F、 YK-2F于2020年9月5日在江西省宜春市宜丰 县杨柳窝(GPS定位信息:28°36′38″N,114°57′48″ E)、花桥乡(GPS定位信息:28°60′56.28″N, 114°99′16.54″E)采集。风化产物样本采集地点随 机选择3个样方(样方间距约0.5m),按照"五点 混合法"和"抖落法"进行采集。采集到的全部样本 迅速带回实验室 4 °C 保存(图 1)。

1.2 样本矿物成分构成分析

将研磨至200目以下的样本粉末装入槽压片, 用 DMAX 多功能衍射仪(RAPID II, 日本)进行 X 射线衍射分析。工作电压与电流分别为 50 kV 和 40 mA, 仪器测试为 Cu Kα 辐射靶, 2θ 角的测试 范围为 5°-70°, 测试步长为 0.02 °/s, 测试时长为 30 min, 使用 JADE 9.5.1 进行矿物物相分析。

1.3 测序样本预处理

用经灭菌处理的刷子和 50 mL 纯水在超净台 刷取矿石样本表面,其中 YK-3 样本主要刷取黑 色锰质薄膜部分的表面,刷洗液作为矿石样本。 风化样本各称取 10 g,加入 90 mL 无菌水,置于 30 °C、120 r/min 振摇 24 h,混悬液经真空抽滤(双 层 0.22 μm 滤膜)去除滤液后置于一次性送样袋, 平均分成 3 等份,4 °C 备用。



图 1. 锂矿石和风化产物照片

Figure 1. Photos of the Li ores and corresponding weathering products. A: NK-1; B: NK-1F; C: YK-1; D: YK-1F; E: YK-2; F: YK-2F; G: YK-3.

1652

1.4 DNA 提取和 16S rRNA 扩增和测序

样本基因组 DNA 提取、16S rRNA 基因扩 增和测序由北京诺禾致源科技股份有限公司 完成。CTAB (溴代十六烷基三甲胺)法提取样 本基因组 DNA,主要步骤如下:1.5 g 样本经 液氮研磨成粉末,加入 800 μL CTAB 提取缓冲 液混悬,12000 r/min 离心 15 min 获得上清液, 加入氯仿、酚各 400 μL 重悬变性蛋白质,重复 上述步骤 2–3 次。在上清中加入 2 倍体积的 95% 乙醇,-20 °C 沉淀 1 h,12000 r/min 离心 10 min 弃去上清液,70%乙醇洗涤沉淀 2 次,室温干燥 5–15 min,沉淀溶于 30–50 μL DEPC 去离子水 中,琼脂糖凝胶电泳检测抽提的 DNA 纯度及 浓度。

以 1 ng/µL 提取 DNA 为模板, 细菌扩增引物 为 515F-806R, 区域为 16SV4, 含酶缓冲液为 Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer (New England Biolabs); PCR 反应程序为 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min; PCR 产物经 2%琼脂 糖凝胶电泳, 试剂盒(MinElute Gel Extraction Kit br) (QIAGEN)回收目的条带; TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒构 建文库,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定 量, 待文库合格后, 使用 NovaSeq6000 进行上 机测序。

1.5 测序数据处理

依据 Barcode 序列、PCR 扩增引物序列,拆 分得到各样本数据,同时截去 Barcode 及引物序 列;经 FLASH (V1.2.7)对 Reads 进行拼接得到原 始 Tags 数据(raw tags)^[20];Raw Tags 经过滤处理 得到高质量的分析 Tags 数据(clean tags), Tags 质 量控制流程参照 Qiime (V1.9.1)。Clean Tags 数据与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列,并最终去除其序列,得到最终有效数据 (effective tags)^[21]。

1.6 OTU 聚类和物种注释

Uparse 软件(Uparse v7.0.1001)对 Effective Tags 进行聚类,默认以 97%的一致性将序列聚类 成为 OTUs (operational taxonomic units),OTUs 中 出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列^[22]。 Mothur 方法结合 SILVA138 的 SSU rRNA 数据库 对 OTUs 序列进行物种注释分析(设定阈值为 0.8–1.0),分别在门和属水平统计各样本群落组成 以及测序深度检测;最后对各样本的数据进行均 一化处理,以样本中数据量最少的为标准进行均 一化处理^[23]。

1.7 生物信息学分析

生物信息学分析包括矿区样本序列数据分析、OTUs分布韦恩图、Alpha多样性分析、微生物群落组成分析、微生物群落空间分布、样本物种丰度聚类热图及细菌功能预测分析。

2 结果和分析

2.1 样本矿物成分构成

XRD 矿物组分分析发现,NK-1F 含有石英(quartz)、伊利石(illite)、绿泥石(chlorite)和锂辉石(spodumene);除了石英,YK-1、YK-1F、YK-2、YK-2F 还含有钠长石(albite)、锂云母(lepidolite)和白云母(muscovite),YK-2F中还含有一定量的蒙脱石(montmorillonite)(图 2)。NK-1、YK-3样本 XRD 矿物组分分析不能真实反映矿石表面成分信息,因此肉眼观察(图 1),NK-1 可见紫色



图 2. 矿石和风化产物的 XRD 图谱

Figure 2. XRD patterns of ores and weathered products. A: NK-1F; B: YK-1; C: YK-1F; D: YK-2; E: YK-2F.

锂电气石、灰白色长石、浅灰色石英和浅绿色锂 辉石粗晶以及浅紫色锂云母细晶、少量锂电气石 柱状晶体;YK-3 矿石表面见有树枝状锰矿物微 晶集合体"假化石"。整体来说NK-1矿石较新鲜, 风化作用极弱,其风化产物(NK-1F)风化类型较 少;YK-1、YK-2已发生弱风化作用,YK-1的风 化更为显著,钠长石的泥化现象明显;YK-1、 YK-2 对应的风化产物(YK-1F)和(YK-2F)均为强 烈的风化产物,呈土状。

2.2 矿区微生物多样性

2.2.1 序列数据分析:稀释曲线表明本次实验测 序量合理,测序质量良好,具有一定的深度、代 表性(图 3)。

所有样本经聚类分析共得到 5908 个 OTUs,

有效序列条数分布在 48577-64420, 其中 YK-3、 YK-1 和 YK-2F 样本的有效序列数明显高于其他 样本(表 1)。平均序列长度分别为 414、427、409、 412、408、411、406 bp, 与 16S rRNA V4 区序列 长度大致吻合。两矿区矿石及其对应的风化产物 样本 OTUs 数量之间存在差异变化, NK-1 的 OTU 数目高于 NK-1F 约 2 倍, YK-1 的 OTU 数目略大 于 YK-1F, YK-2 的 OTU 数目比 YK-2F 多 143, YK-3 富锰样本的 OTU 数目较低, 仅为 604。由



图 3. 矿石和风化产物的稀释曲线图

Figure 3. Dilution curve of ores and weathered product samples.

表 1. 矿区细菌 16S rRNA 测序分析数据

Table 1.Bacteria 16S rRNA sequencing analysisdata in the mining area

Sample	Number of filtered tags	Average sequence length/bp	Proportion of effective sequences/%	Number of OTUs
NK-1	49961	414	58.9	1010
NK-1F	49265	427	60.5	540
YK-1	56495	409	66.7	835
YK-1F	48577	412	55.9	828
YK-2	51512	408	62.8	1117
YK-2F	55776	411	64.76	974
YK-3	64420	406	77.54	604

此可知,3个矿石样本的OTU数目均高于所对应风化产物。同时,南阳山伟晶岩矿石(NK-1)的OTU数目高于宜春的钠化花岗岩矿石(YK-1、YK-3),略低于YK-2;两矿区风化产物样本中, 宜春矿石风化产物(YK-1F、YK-2F)的OTU数目均高于南阳山风化产物(NK-1F)。

2.2.2 OTUs 分布韦恩图: 分析不同样本 OTUs 组成的相互关系,构建韦恩图(图 4)。7 个样本 中共有 OTUs 数量为 65 个,分别占 NK-1、 NK-1F、YK-1、YK-1F、YK-2、YK-2F、YK-3 各自 OTUs 数量的 7.2%、26.0%、22.4%、21.8%、 6.4%、8.9%、4.6%。

2.2.3 Alpha 多样性分析: Alpha 多样性用来分析样本内微生物群落的多样性,多样性指数是反映丰富度和均匀度的综合指标^[24]。Shannon 指数 是用来估算样本中微生物多样性的指数之一,Shannon 指数越大,说明群落多样性越高,Coverage 指数是各样本文库的覆盖率,数值越高,表明样本中没有被测出的概率越低。如表 2 所示,



图 4. 不同样本 OTUs 分布 Venn 图

Figure 4. Venn diagram of OTUs distribution of different samples.

http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Table 2. α -diversity index of lithium ores and weathered products in different regions								
Samples	Number of species	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	ACE index	Coverage index		
NK-1F	536	5.08	0.94	676	731	0.994		
NK-1	1028	5.83	0.89	1487	1219	0.990		
YK-1F	803	6.48	0.97	963	998	0.993		
YK-1	823	3.13	0.54	1148	1307	0.988		
YK-2F	1123	6.87	0.97	1156	1454	0.986		
YK-2	1139	7.04	0.98	1447	1507	0.992		
YK-3	506	3.50	0.68	611	662	0.994		

	表 2.	不同地区矿石和风化产物的 α-多样性指数	
ble 2.	α-diversity ind	lex of lithium ores and weathered products in different r	egi

7 个样本的 Coverage 值均在 98.5% 以上,反映 所测结果与样本中真实菌群高度一致,统计学上 具有较高的可信度^[25]。相对其他样本,YK-2、 YK-2F 的 Shannon 指数较大;江西矿区矿石风化 产物(YK-1F、YK-2F) Shannon 指数大于南阳山矿 石风化产物(NK-1F); NK-1 的 Shannon 指数大于 YK-1、YK-3。

2.3 微生物群落组成

根据物种注释结果,门分类水平总丰度排名前 10 物种的相对丰度在样本 NK-1、NK-1F、 YK-1、YK-1F、YK-2、YK-2F、YK-3 中占所有 菌门的比例依次为 91.9%、98.7%、96.5%、83.9%、 91.8%、91.0%和 98.8% (图 5)。NK-1 包括 8 个细 菌门,其中优势菌门(相对丰度>1%)为放线菌门 (Actinobacteria, 40.7%)、变形菌门(Proteobacteria, 35.8%)、拟杆菌门(Bacteroidota, 4.8%)、厚壁菌 门(Firmicutes, 4.3%)和酸杆菌门(Acidobacteriota, 1.5%); NK-1F包括 7 个细菌门,优势菌门为 厚壁菌门(Firmicutes, 66.7%)、变形菌门 (Proteobacteria, 27%)、放线菌门(Actinobacteria, 3.2%)。宜春钠化花岗岩型锂矿石 YK-1包括 9 个 细菌门,优势菌门为放线菌门(Actinobacteria, (Acidobacteriota, 2.7%); YK-1F包括9个细菌门, 优势菌门为变形菌门(Proteobacteria, 37.6%)、放 线 菌 门 (Actinobacteria , 20.5%) 、 酸 杆 菌 门 (Acidobacteriota, 13.4%)、厚壁菌门(Firmicutes, 3.0%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 2.3%)、WPS-2 门 (1.5%); YK-2 包括 10 个细菌门, 优势菌门为蓝 菌门 (Cyanobacteria, 32.1%)、 变形 菌门 (Proteobacteria, 23.3%)、放线菌门(Actinobacteria, 20.3%)、酸杆菌门(Acidobacteriota, 5.4%)等; YK-2F 包括 10 个细菌门,优势菌门为放线菌门 (Actinobacteria, 16.1%)、变形菌门(Proteobacteria, 32.5%)、酸杆菌门(Acidobacteriota, 14.3%)、 绿 弯 菌 门 (Chloroflexi, 9.6%)、 泉 古 菌 门 (Crenarchaeota, 3.2%); YK-3 相对丰度最高的优 势菌门为蓝菌门(Cyanobacteria, 63.3%)、变形菌 门(Proteobacteria, 22.4%)。统计学分析显示,各 样品微生物群落组成在门水平上具有显著差异 (P<0.05), 其中 NK-1F 与 YK-1F 在酸杆菌门、厚 壁菌门、放线菌门存在极其显著差异(P<0.001); 同时 NK-1F 与 YK-2F、YK-2 与 YK-2F 在厚壁菌 门存在极其显著差异(P<0.001)。

73.2%)、厚壁菌门(Firmicutes, 11.3%)、变形菌

门 (Proteobacteria, 6.6%)、酸杆菌门



图 5. 群落结构的优势菌门组成 Figure 5. Composition of dominant phyla community.

2.4 微生物群落空间分布

微生物聚类树状图显示,南阳山伟晶岩型锂矿 NK-1和江西宜春花岗岩型锂矿YK-1、YK-2、YK-3 微生物群落组成差异较大;同一地点风化物之间如 YK-1F和YK-2F、同一地点矿石之间如YK-2和 YK-3聚类较近,微生物的群结构相似。值得注意 的是,矿石及其风化物之间,如YK-2与YK-2F、 NK-1与NK-1F,微生物群落出现较大差异(图6)。



图 6. UPGMA 聚类树状图

Figure 6. UPGMA clustering dendrogram.

2.5 锂矿物种丰度聚类热图

选取各样本丰度排名较高的 35 个属构建聚 类关系树热图(图 7)。NK-1 的优势属(相对丰 度>1%)为芽孢杆菌属(Bacillus, 1.1%)、鞘氨醇单 胞菌属 (Sphingomonas, 8.7%)、马赛菌属 (Massilia, 9.0%)、芽球菌属(Blastococcus, 2.5%)、 Rubellimicrobium 属(1.8%)、Ellin6055 属(1.4%)、 微枝形杆菌属(Microvirga, 2.4%)、Roseisolibacte 属(1.3%)、土生芽孢杆菌属(Tumebacillus, 1.7%)、 膜杆菌属(Hymenobacter, 3.0%); NK-1F 优势属 为马赛菌属(Massilia, 21.3%)、类芽孢杆菌属 (Paenibacillus, 25.3%)、杆状细菌属(Bacillus, 40.2%)、鞘氨醇单胞菌属(Sphingomonas, 1.2%); YK-1 优势属为大芬戈尔德菌属(Finegoldia, 4.3%); YK-1F 优势属为马赛菌属(Massilia, 4.0%)、1174-901-12 属(1.7%)、鞘氨醇单胞菌属 (Sphingomonas, 1.7%)、芽球菌属(Blastococcus, 8.4%)、念珠菌固体杆菌属(Candidatus-Solibacter, 7.2%)、Noviherbaspirillum 属(6.1%)、布氏菌属 (Bryocella, 1.5%)、不确定丛毛单胞菌属 (unidentified-Comamonadaceae, 1.1%)、克雷白氏





杆菌属(Klebsiella, 2.1%)、慢生根瘤菌属 (Bradyrhizobium, 1.1%)、嗜酸菌属(Acidiphilium, 2.3%)、伯克霍尔德氏菌属(Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, 11.49%)、单胞菌 属(Sinomonas, 4.4%); YK-2 优势属为布氏菌属 (Bryocella, 2.0%)、1174-901-12 属(4.6%)、鞘氨 醇单胞菌属(Sphingomonas, 1.4%)、甲基杆菌属 (Methylobacterium, 4.6%)、嗜酸菌属(Acidiphilium, 1.4%)、棒状杆菌属(Corynebacterium, 1.5%)、链 球菌属(Streptococcus, 1.0%)、罗氏菌属(Rothia, 1.2%)、青枯菌属(Ralstonia, 1.3%)、Jatrophihabitans 属(3.5%)、unidentified-Chloroplast 属(19.1%);
YK-2F 的优势属为马赛菌属(Massilia, 11.3%)、 伯克霍尔德氏菌属(Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, 3.1%)、芽球菌属(Blastococcus, 1.3%)、北里孢菌属(Kitasatospora, 5.7%)、鞘氨 醇单胞菌属(Sphingomonas, 1.1%)、白念球菌属 (Candidatus-Nitrosopumilus, 3.0%)、念珠菌固 体杆菌属(Candidatus-Solibacter, 1.4%)、 Noviherbaspirillum属(1.4%)、青枯菌属(Ralstonia,

actamicro@im.ac.cn

3.6%)、慢生根瘤菌属(Bradyrhizobium, 2.1%)、 单胞菌属(Sinomonas, 1.23%)、不确定丛毛单胞 菌属(unidentified-Comamonadaceae, 2.9%)、布氏 菌属(Bryocella, 4.0%); YK-3 的优势属为甲基杆 菌属(Methylobacterium, 5.2%)、1174-901-12 属 (12.6%)、布氏杆菌属(Bryobacter, 1.17%)。统计 学分析显示,各样品微生物群落组成在属水平上 具有显著差异(P<0.05),其中 NK-1F 与 YK-1F 在 单胞菌属、慢生根瘤菌属、念珠菌固体杆菌属、 嗜酸菌属存在极其显著差异(P<0.001);同时 NK-1 与 YK-2 在 1174-901-12 属、NK-1 与 YK-3 在嗜酸 菌属、甲基杆菌属存在极其显著差异(P<0.001)。

微生物群落组成聚类如图 7 所示,南阳山矿 石及其风化产物聚为一类,江西锂矿及其风化产 物聚为一类。同一地点不同矿石 YK-2、YK-3 微 生物群落组成相似,YK-1F 居于样本 YK-1 与 YK-2F 之间,群落组成更趋近于 YK-2F。

2.6 细菌功能预测分析

经 PICRUSt 功能预测和 KEGG 分析,选择 每个样品中最丰富的 5 个共 11 个子功能注释制 作热图(图 8),11 个子功能分别对应光能自养、 芳香化合物降解、光合营养、木质素分解、好氧 氨氧化、尿素分解、化能异养、有氧化能异氧、 硝酸盐还原、发酵、动物寄生虫或共生体。结果 表明,化能异养过程、有氧化能异养、尿素分解 作用、发酵作用、硝酸盐还原作用在 7 个样品中 占主导地位,不同地理位置和矿石样品的功能注



图 8. 不同锂矿山微生物功能预测 Figure 8. Microbial function prediction of different lithium mines.

http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

释类似,均涉及代谢、遗传信息处理、环境信息 处理等代谢通路。值得关注的是,不同样品间子 功能丰度有明显差异,例如,化能异养作用存在 于每个样本中,但样本间子功能各有特征,例如 NK-1、YK-1F、YK-2F 具有尿素分解作用,YK-2 和YK-3 具有光能自养,样品YK-2F 具有好氧氨 氧化、木质素分解过程。同时,YK-2和YK-3、 YK-1和YK-1F、YK-1F和YK-2F 功能聚类相似 程度高。

3 讨论

本文基于 16S rRNA 高通量测序技术分析对 比了两个锂矿区矿石及风化产物的微生物群落 结构特征,发现不同矿石表面、矿石与其对应风 化物的 OTU 数目、群落组成和多样性存在差异, 不同样品还表现出群落生物学功能的丰富性。

3.1 锂矿物组成与微生物多样性

两锂矿矿石及其风化产物的细菌群落结构 特点表明样本的矿物组成与微生物多样性密切 相关。对比两个矿区矿石及风化产物的 OTU 数 目和菌群多样性特征,可以发现以下几个特点: (1)不同矿石表面的微生物种类存在明显差异。 新鲜的钠化花岗岩型矿石 YK-2 和伟晶岩型矿石 NK-1 表面的细菌多样性最显著,与其风化弱、 矿物种类多有关,YK-3 表面细菌多样性低与采 样处主要为锰矿物有关。(2) 矿石表面 OTU 数目 大于其对应风化产物 OTU 数目。新鲜矿石表面 的 OTU 数目比风化产物的更多,这和新鲜矿石 的矿物种类多、颗粒间差异大有关,如 NK-1 矿 石较新鲜,风化作用极弱,可见紫色锂电气石、 灰白色长石、浅灰色石英和浅绿色锂辉石粗晶以 及浅紫色锂云母细晶、少量锂电气石柱状晶体, YK-1、YK-2 均为灰白色含锂钠长石化花岗岩, 肉眼可见石英、钠长石、白云母和锂云母;矿石 风化产物的组成多以黏土矿物、石英、长石为主, 即使存在原生锂矿物,如NK-1F肉眼可见云母、 石英砂粒和风化残留的紫色粉状锂辉石,这些矿 物表面也往往覆盖有多种风化成因矿物,导致矿 物组成趋同,从而使微生物种类不高于新鲜矿 石。(3)同一种矿石风化形成的不同产物中细菌 多样性可能存在较大的差异,可能与后期过程的 影响有关,本研究取得的YK-1F和YK-2F处于 不同的风化状态,YK-2F 表面的植物生长强于 YK-1F,可能导致了更高的微生物多样性。

3.2 矿区微生物群落组成特征分析

两锂矿矿石及其风化产物群落空间分布表 明采样位置差异对矿区微生物群落组成有一定 的影响,两矿山既有几类共同的优势微生物, 同时也存在差异。在门水平上,变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝菌 门(Cyanobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)在两地 矿石及其风化产物中均为优势群类。但在属水平 上,各样品优势属中相对丰度大于 5%的属有所 不同,南阳山伟晶岩型锂矿石 NK-1 表面为鞘氨 醇单胞菌属(Sphingomonas)、马赛菌属(Massilia), 风化物 NK-1F 为类芽孢杆菌属(Paenibacillus)、 杆状细菌属(Bacillus)和马赛菌属(Massilia); 宜春 钠化花岗岩型锂矿石 YK-2F 为北里孢菌属 (Kitasatospora)、马赛菌属(Massilia), YK-1F 为芽 球菌属(Blastococcus)、念珠菌固体杆菌属 (Candidatus-Solibacter)、Noviherbaspirillum 属、 伯克霍尔德氏菌属(Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia), YK-2 为 unidentified-Chloroplast 属, YK-3 为 1174-901-12 属、甲基杆菌属 (Methylobacterium), 另外 YK-1 相对丰度大于 5% 的优势属不明显。变形菌门(Proteobacteria)、放 线菌门(Actinobacteria)、蓝菌门(Cyanobacteria)、 厚壁菌门(Firmicutes)可耐受较高重金属水平,并 适应相对酸性的环境^[26-27]。变形菌门 (Proteobacteria)的生长速率与土壤养分呈正相关 性^[28],或为厌氧异养型或能进行光合作用^[29];具 有多种氮代谢能力,既能在厌氧条件下或在富硝 酸盐环境中进行反硝化脱氮^[30],又能在氮匮乏环 境中呈现固氮能力,因此能适应水体、底泥、土 壤等环境,并耐受高碱高盐环境^[31]。放线菌门 (Actinobacteria)能产生并分泌次级代谢产物影响 其他微生物的碳循环^[32]。蓝菌门(Cyanobacteria) 经固氮作用、产氧光合作用和细胞间通讯等方式 抵抗不良环境^[33]。厚壁菌门(Firmicutes)能产生孢 子抵抗适应各种环境^[34]。鞘氨醇单胞菌属 (Sphingomonas)有特殊的细胞膜成分鞘糖脂,可 耐受贫养而获得极强的生命力,同时其能够降解 高分子有机污染物,在环境污染治理与生物技术 领域具有广阔的应用前景[35]。在这些样本中还存 在几种特殊菌门,例如,宜春钠化花岗岩型矿石 表面特有的绿弯菌门(Chloroflexi)是一个确立较 晚的深度分支的细菌类群,形态多样,广泛分布 于普通环境和极端环境中^[36],风化产物特有的泉 古菌门(Crenarchaeota)是位于系统发育树根部最 原始的古菌类群,主要为嗜热菌,被冠以生存于 "极端环境"的特征[37],这2个菌门均是极端环境 典型微生物,其代谢属性可能与锂元素的地球化 学行为有关,值得深入探讨。

3.3 PICRUSt 功能预测分析

不同样品表现出群落生物学功能的丰富性,

除"氨基酸转运与代谢"、"碳水化合物运输与代 谢"和"翻译、核糖体结构与生物发生"等与代谢功 能有关的功能基因丰度较高外,化能异养代谢是 7 个样品中微生物偏好的能量代谢方式。功能预 测聚类和微生物物种丰度聚类比对揭示锂矿微 生物群落同源性较为复杂,其进化可能具有地理 位置特异性,如江西宜春矿石样本YK-2和YK-3、 YK-1 和YK-1F 在功能与微生物群落结构方面均 高度同源,而南阳山矿石与其风化物 NK-1 和 NK-1F 在物种丰富度上高度同源,而功能聚类显 示同源性较低,这些差异化结果提示,多因素包 括矿物化学组成、地理位置及菌落结构共同影响 锂矿微生物的代谢功能。

4 结论

基于两地不同锂矿石及其风化产物的微生 物类群分析,发现矿物组成是影响群落结构的 关键因素。伟晶岩型锂矿石和钠化花岗岩型锂 矿石表面的细菌种类均比其风化产物更为丰富, 与矿石的矿物组成复杂有关。确认变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝菌 门(Cvanobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)是两矿 区的特征优势菌门,经功能基因预测分析,优 势菌门可能依赖有机物分解代谢、次级代谢产 物分泌、光能自养等机制适应并影响地质生境, 主要功能基因均为代谢功能相关,如次生产物 代谢、能量代谢、氨基酸代谢等。同时,发现 并关注到了绿弯菌门、泉古菌门等具有适应极 端环境能力的非优势菌株,为认识和理解锂的 地球化学行为与微生物群落结构变化之间的关 系提供了新的线索。

参 考 文 献

67-74.

- [1] Feng WN, Peng PH, Xie CS, Luo W. Microbial effects on elements migration in rock-soil-Paeonia szechuanica system. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2020, 40(4): 67–74. (in Chinese)
 冯玮娜,彭培好,谢成晟,罗雯. 岩石-土壤-四川牡丹元 素迁移体系中的微生物效应.水土保持通报, 2020, 40(4):
- [2] Min MZ, Xu HF, Chen J, Fayek M. Evidence of uranium biomineralization in sandstone-hosted roll-front uranium deposits, northwestern China. *Ore Geology Reviews*, 2005, 26(3/4): 198–206.
- [3] Ranchou-Peyruse M, Auguet JC, Mazière C, Restrepo-Ortiz CX, Guignard M, Dequidt D, Chiquet P, Cézac P, Ranchou-Peyruse A. Geological gas-storage shapes deep life. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(10): 3953–3964.
- [4] Weynell M, Wiechert U, Schuessler JA. Lithium isotopes and implications on chemical weathering in the catchment of Lake Donggi Cona, northeastern Tibetan Plateau. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 213: 155–177.
- [5] Pogge von Strandmann PAE, Frings PJ, Murphy MJ. Lithium isotope behaviour during weathering in the Ganges Alluvial Plain. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 198: 17–31.
- [6] Garcia MG, Borda LG, Godfrey LV, López Steinmetz RL, Losada-Calderon A. Characterization of lithium cycling in the Salar De Olaroz, Central Andes, using a geochemical and isotopic approach. *Chemical Geology*, 2020, 531: 119340.
- [7] Zhang HL, Bloom PR, Nater EA, Susan Erich M. Rates and stoichiometry of hornblende dissolution over 115 days of laboratory weathering at pH 3.6–4.0 and 25 °C in 0.01 M lithium acetate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1996, 60(6): 941–950.
- [8] Tsuruta T. Removal and recovery of lithium using various microorganisms. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(5): 562–566.
- [9] Sethurajan M, Gaydardzhiev S. Bioprocessing of spent lithium ion batteries for critical metals recovery - A review. Resources, *Conservation and Recycling*, 2021, 165: 105225.

- [10] Karavaĭko GI, Krutsko VS, Mel'nikova EO, Avakian ZA, Ostroushko IuI. Rol' mikroorganizmov v razrushenii spodumena [Role of microorganisms in the destruction of spodumene]. *Mikrobiologiia*, 1980, 49(3): 547–551.
- [11] Karavaĭko GI, Avakian ZA, Krutsko VS, Mel'nikova EO, Zhdanov AV. Mikrobiologicheskie issledovaniia na spodumenovom mestorozhdenii [Microbiologic studies of a spodumene deposit]. *Mikrobiologiia*, 1979, 48(3): 502–508.
- [12] Rezza I, Salinas E, Calvente V, Benuzzi D, Tosetti MISD. Extraction of lithium from spodumene by bioleaching. Letters in Applied Microbiology, 1997, 25(3): 172–176.
- [13] Rezza I, Salinas E, Elorza M, Sanz de Tosetti M, Donati E. Mechanisms involved in bioleaching of an aluminosilicate by heterotrophic microorganisms. *Process Biochemistry*, 2001, 36(6): 495–500.
- [14] Lundberg DS, Yourstone S, Mieczkowski P, Jones CD, Dangl JL. Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 999–1002.
- [15] Zhou QF, Qin KZ, Tang DM, Wang CL, Ma LS. Mineralogical characteristics and significance of beryl from the rare-element pegmatites in the Lushi County, East Qinling, China. Acta Petrologica Sinica, 2019, 35(7): 1999–2012. (in Chinese)
 周起凤,秦克章,唐冬梅,王春龙,马留锁.东秦岭卢氏 稀有金属伟晶岩的绿柱石矿物学特征及其指示意义. 岩 石学报, 2019, 35(7): 1999–2012.
- [16] Liu S, Wang SL, Xing XL, Wang LF, Zhang Y. Distribution, types and prospecting potential of lithium deposits in Jiangxi Province. *Resources Environment & Engineering*, 2019, 33(2): 195–198, 207. (in Chinese) 刘爽, 王水龙, 邢新龙, 汪龙飞, 张也. 江西省锂矿资源 分布、矿床类型及找矿前景. 资源环境与工程, 2019, 33(2): 195–198, 207.
- [17] Zhang GW, Dong YP, Yao AP. The crustal compositions, structures and tectonic evolution of the Qinling orogenic belt. *Geology of Shaanxi*, 1997, 15(2): 1–14. (in Chinese) 张国伟,董云鹏,姚安平. 秦岭造山带基本组成与结构及 其构造演化. 陕西地质, 1997, 15(2): 1–14.

- [18] He MS, Huang X, Zou GS. Characteristics, utilization status and suggestions of lithium containing porcelain stone (soil) mineral resources in Jiangxi Province. *China Non-Metallic Minerals Industry*, 2014(6): 41–43. (in Chinese) 贺明生,黄迅,邹赣生. 江西含锂瓷石(土)矿资源特征、开 发利用现状及对策建议. 中国非金属矿工业导刊, 2014(6): 41–43.
- [19] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy* of Sciences of the United States of America, 2011, 108(Suppl 1): 4516–4522.
- [20] Bokulich NA, Subramanian S, Faith JJ, Gevers D, Gordon JI, Knight R, Mills DA, Gregory Caporaso J. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 2013, 10(1): 57–59.
- [21] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261–5267.
- [22] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [23] Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS, Bahram M, Bates ST, Bruns TD, Bengtsson-Palme J, Callaghan TM, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith GW, Hartmann M, Kirk PM, Kohout P, Larsson E, Lindahl BD, Lücking R, Martín MP, Matheny PB, Nguyen NH, Niskanen T, Oja J, Peay KG, Peintner U, Peterson M, Põldmaa K, Saag L, Saar I, Schüßler A, Scott JA, Senés C, Smith ME, Suija A, Taylor DL, Telleria MT, Weiss M, Larsson KH. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 2013, 22(21): 5271–5277.
- [24] Li B, Zhang XX, Guo F, Wu WM, Zhang T. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis. *Water Research*, 2013, 47(13): 4207–4216.

- [25] Zhang M, Liu YL, Wei QQ, Gou JL. Effects of short-term application of Moutai-flavor vinasse biochar on nitrogen availability and bacterial community structure diversity in yellow soil of Guizhou Province. Huan Jing Ke Xue, 2020, 41(10): 4690–4700. (in Chinese) 张萌, 刘彦伶,魏全全, 芶久兰. 酒糟生物炭短期施用对 贵州黄壤氮素有效性及细菌群落结构多样性的影响. 环 境科学, 2020, 41(10): 4690–4700.
- [26] Chao YQ, Liu WS, Chen YM, Chen WH, Zhao LH, Ding QB, Wang SZ, Tang YT, Zhang T, Qiu RL. Structure, variation, and Co-occurrence of soil microbial communities in abandoned sites of a rare earth elements mine. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(21): 11481–11490.
- [27] Liu JJ, Liu W, Zhang YB, Chen CJ, Wu WX, Zhang TC. Microbial communities in rare earth mining soil after in situ leaching mining. *Science of the Total Environment*, 2021, 755: 142521.
- [28] Deng JJ, Bai XJ, Zhou YB, Zhu WX, Yin Y. Variations of soil microbial communities accompanied by different vegetation restoration in an open-cut iron mining area. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135243.
- [29] Li JK, Li S, Wei YL, Lin LB, Zhang Q, Ji XL. A preliminary study on bacterial diversity from Wenshan bauxite area in Yunnan. *Chinese Journal of Microecology*, 2015, 27(11): 1258–1261, 1265. (in Chinese)
 李建凯,李珊,魏云林,林连兵,张琦,季秀玲. 云南文山铝土矿区微生物多样性初步研究. 中国微生态学杂志, 2015, 27(11): 1258–1261, 1265.
- [30] Valášková V, de Boer W, Klein Gunnewiek PJA, Pospíšek M, Baldrian P. Phylogenetic composition and properties of bacteria coexisting with the fungus Hypholoma fasciculare in decaying wood. *The ISME Journal*, 2009, 3(10): 1218–1221.
- [31] 韩玉姣. 凡口铅锌尾矿酸性废水微生物宏基因组及宏转 录组研究. 中山大学博士学位论文, 2013.
- [32] Jose PA, Maharshi A, Jha B. Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. Microbiological Research, 2021, 246: 126708.

- [33] Kieninger AK, Maldener I. Cell-cell communication through septal junctions in filamentous *Cyanobacteria*. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, 61: 35–41.
- [34] Govil T, Paste M, Samanta D, David A, Goh KM, Li XK, Salem DR, Sani RK. Metagenomics and culture dependent insights into the distribution of *Firmicutes* across two different sample types located in the black hills region of south Dakota, USA. *Microorganisms*, 2021, 9(1): 113.
- [35] Li QQ, Li JB, Jiang LF, Sun YT, Luo CL, Zhang G. Diversity and structure of phenanthrene degrading bacterial

communities associated with fungal bioremediation in petroleum contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123895.

- [36] Xian WD, Zhang XT, Li WJ. Research status and prospect on bacterial Phylum *Chloroflexi*. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(9): 1801–1820. (in Chinese)
 鲜文东,张潇橦,李文均. 绿弯菌的研究现状及展望. 微 生物学报, 2020, 60(9): 1801–1820.
- [37] Lehtovirta LE, Prosser JI, Nicol GW. Soil pH regulates the abundance and diversity of Group 1.1c Crenarchaeota. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 70(3): 367–376.

Differences and causes of the terrestrial surface distribution of microbial communities in two lithium mines located in Lushi, Henan and Yichun, Jiangxi

Ting Zhao¹, Xiancai Lu², Zhe Yin², Xiangjie Cui², Huan Liu², Yumei Li³, Kangkang Feng¹, Juan Li², Dongmei Zhang^{1*}

¹ State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

² Key Laboratory of Surficial Geochemistry, MOE, School of Earth Sciences and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

³ Key Laboratory of Mesoscopic Chemistry, MOE, Key Laboratory of Advanced Organic Materials of Jiangsu Province, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Abstract: [Objective] To reveal the diversity of bacterial communities on the surface of lithium ores and weathering products on the ground. **[Methods]** We performed high-throughput sequencing for the amplification of bacterial 16S rRNA fragments, and analyzed the composition, diversity and functional properties of bacterial communities on the terrestrial surface of different lithium ores and their weathering products. **[Results]** The bacterial community diversity on the surface of pegmatite-type lithium ores and its weathering products in Nanyangshan, Lushi, Henan Province was different from that on the granite-type lithium ores in Yichun, Jiangxi Province. The OTUs of Nanyangshan pegmatite ores and weathering products, Yichun granite ores surface and

Supported by the National Natural Science Foundation of China (92062213)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-25-89681373; E-mail: zdm@nju.edu.cn

Received: 12 April 2021; Revised: 9 May 2021; Published online: 13 May 2021

1665

weathering products (NK-1, NK-1F, YK-1, YK-1F, YK-2, YK-2F, YK-3) were 1010, 540, 835, 828, 1117, 974 and 604, respectively. The difference was significantly related to the different mineral composition. Both mines had their own dominant microorganisms at the phylum level, and Actinobacteria and Proteobacteria were their dominant phyla. At the same time, there were significant differences in the composition of microbial communities in the two mines (P < 0.05), and the differences in weathering product samples from different mines were particularly significant (P < 0.001). At the genus level, the relative abundance of pegmatite ore NK-1 dominant genera (greater than 5%) was Sphingomonas, Massilia; weathered product NK-1F was Paenibacillus, Bacillus, Massilia. The dominant genera of the weathered ore YK-1F was Blastococcus, Candidatus-Solibacter, Noviherbaspirillum, Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, YK-2 was unidentified-Chloroplast, while the granite ores YK-2F and YK-3 were Kitasatospora, Massilia 1174-901-12 and Methylobacterium, respectively. The functional annotations of ore and weathered material samples from different mines all involved six metabolic pathways, including metabolism, genetic information processing, and environmental information processing. [Conclusion] 16S rRNA high-throughput sequencing revealed that there were differences in bacterial diversity of lithium ores and its weathering products in different mines, each with unique dominant groups. The differences in bacterial composition, diversity and functional properties between samples closely associated with the mineral composition, weathering degree, and the geographical location. The revealed potential relationships between the elemental geochemical functions of the dominant microbial groups and the surface weathering of lithium-containing minerals provides new data for studies on the microbial ecological distribution and development of microbial resources.

Keywords: lithium mine, high-throughput sequencing, bacterial diversity, bacterial community structure, function prediction

(本文责编:张晓丽)

张冬梅,南京大学生命科学学院教授。宝钢优秀教师,江苏省"青蓝工程"优秀教学团队 主持人。科研方向为药用植物次生代谢产物、微生物次生代谢及群体效应研究。曾获教 育部高等学校科学研究优秀成果奖自然科学奖一等奖。主持或参加国家自然科学基金重 点和面上项目、国家重点基础研究发展计划 973 计划、国家重点研发计划江苏省"六大人 才高峰"高层次人才培养计划等科研项目。

