贵州毕节市三类瓦斯浓度煤矿矿石矿水细菌多样性特征及非靶向代谢产物分析研究

洪 铸[1,2]，夏 倩[3]，周 洁[1]，张 松[4,5]，严芝强[6]，王 晨[1]

（1.毕节医学高等专科学校临床检验教研室，贵州毕节 551700；2.毕节市健康产业重点实验室，贵州毕节 551700；3.毕节市妇幼保健院检验科，贵州毕节 551700；4.毕节市产业科技创新发展中心，贵州毕节 551700；5.中国煤炭学会第三届土地复垦与生态修复专业委员会，北京 100013；6.贵州医科大学附属医院，贵阳 550025）

摘 要：目的 调查贵州毕节市喀斯特地貌下煤矿矿石、矿水细菌的分布、各类代谢产物等信息，为相关领域研究提供细菌学参考数据。**方法** 采集毕节市内距离相近的三类不同瓦斯浓度煤矿在三个不同深度的矿石、矿水作为样本，对它们进行细菌培养并使用16S rDNA方法全面了解其细菌微生态情况，对样本进行细菌多样性分析、生物功能预测和差异对比，并对矿石样本进行非靶向代谢产物分析。**结果** 采集到18类合计54个煤矿周边样本，鉴定培养出27种、通过16S rDNA分析1 065种细菌，注释出369种代谢化合物。样本显示矿区内形成了以变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteriota）等为优势菌群的细菌多样性特征。三组矿区样本间存在多种差异物种，门水平上28种（H=6.03~24.64，均$P<0.05$），其中矿石间2种，矿水间26种；属水平上336种（H=6.03~24.64，均$P<0.05$），其中矿石间10种，矿水间326种；11类物种显示出与所在矿区瓦斯浓度有相关性：髌骨菌门（Patescibacteria）和浮霉菌门（Planctomycetota）相关细菌在突出瓦斯组中的分布高于其他组别（H=8.97，$P<0.05$；H=6.47，$P<0.05$），芽单胞菌门（Gemmatimonadota）等8类物种在瓦斯浓度越低的组别含量越高（H=6.27~8.21，均$P<0.05$），热原体门（Thermoplasmatota）在瓦斯浓度越高的矿中含量越低（H=7.26，$P<0.05$）。各组矿石形成了以环磷酰胺、哌啶类化合物等为各自特征的分布特点。**结论** 该研究较为系统地展现了贵州毕节市煤矿矿石、矿水的细菌多样性特征和矿石非靶向代谢产物特征，找到11类可能与瓦斯浓度相关的物种，为云贵高原喀斯特地貌下煤矿相关细菌学研究提供了一定的参考信息。

关键词：细菌多样性；煤矿；云贵高原；喀斯特地貌；瓦斯

中图分类号：P57；R446.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1671-7414(2026)05-122-08

doi:10.3969/**j.issn.**1671-7414.2026.05.021

Research on the Bacterial Diversity Characteristics and Non-Targeted Metabolite Analysis of Ores and Mine Water from Coal Mines with Three Gas Concentration Levels in Bijie City, Guizhou Province

HONG Zhu[1,2], XIA Qian[3], ZHOU Jie[1], ZHANG Song[4,5], YAN Zhiqiang[6], WANG Chen[1] (1.*Clinical Laboratory Teaching and Research Section, Bijie Medical College, Guizhou Bijie* 551700, *China*; 2.*Key Laboratory of Health Industry in Bijie City, Guizhou Bijie* 551700, *China*; 3.*Department of Clinical Laboratory, Bijie City Maternal and Child Health Care Hospital, Guizhou Bijie* 551700, *China*; 4.*Bijie City Industrial Technology Innovation and Development Center, Guizhou Bijie* 551700, *China*; 5.*the Third Land Reclamation and Ecological Restoration Professional Committee of China Coal Society, Beijing* 100013, *China*; 6.*Guizhou Medical University Affiliated Hospital, Guiyang* 550001, *China*)

Abstract: Objective This study investigated the bacterial distribution and metabolite profiles in coal mine ores and mine water under the karst landform of Bijie City, Guizhou Province, aiming to provide bacteriological reference data for related research fields. **Method** Ores and mine water samples were collected from three different depths of three types of coal mines with similar distances and varying gas concentrations in Bijie City. Bacterial cultures were performed, and 16S rDNA sequencing was used to comprehensively characterize the bacterial microecology. Bacterial diversity analysis, biological function prediction, and differential comparison were conducted on all samples, and non-targeted metabolomic analysis was performed on ore samples. **Result** A total of 54 samples from the vicinity of 18 coal mines were collected, and 27 bacterial species were identified through cultivation. 16S rDNA analysis revealed 1 065 bacterial species, and annotated 369 metabolites. The samples revealed bacterial diversity

基金项目：毕节市科技项目（毕科联合字yz〔2019〕9号、毕科联合〔2025〕88号）；毕节市科技创新平台及人才团队项目“毕节市健康产业重点实验室”（毕科合[2023]66号）。

作者简介：洪铸（1990-），男，硕士研究生，讲师，研究方向：临床检验学及微生物学，E-mail：casthong@vip.qq.com。

通讯作者：王晨（1990-），女，本科，讲师，研究方向：微生物学，E-mail：782033143@qq.com。

characteristics dominated by Proteobacteria and Actinobacteriota within the mining area. There were various species differences among the three groups of mining area samples at the phylum level, with 28 species showing differences (H=6.03~24.64, all P<0.05), including 2 species between ore samples and 26 species between mine water samples; at the genus level, 336 species differed (H=6.03~24.64, all P< 0.05), including 10 species between ores and 326 species between water samples. Eleven species showed correlation with gas concentration in the mining area: bacteria related to Patescibacteria and Planctomycetota were more abundant in the outburst gas group than in other groups (H=8.97, P<0.05; H=6.47, P< 0.05), while eight species, including Gemmatimonadota, were more abundant in groups with lower gas concentrations (H=6.27~8.21, all P< 0.05). The Thermoplasmatota phylum was less abundant in mines with higher gas concentrations (H=7.26, P< 0.05). The ore samples from different groups exhibited distinct metabolite profiles characterized by compounds such as cyclophosphamide and piperidine derivatives. **Conclusions** This study systematically presents the bacterial diversity of coal mine ores and mine water, as well as the non-targeted metabolite profiles of ores in Bijie City, Guizhou Province. Eleven species potentially associated with gas concentration were identified, providing useful reference information for coal mine-related bacteriological research in the karst landform of the Yunnan-Guizhou Plateau.

Keywords: bacterial diversity; coal mine; the Yunnan-Guizhou Plateau; karst landform; gas

在含煤的特殊环境中，细菌群落的组成及其生态功能近年来逐渐成为研究焦点，这类探索对于优化采矿与冶金工艺、开展环境监控以及防控病原微生物等均具有重要价值[1]。煤矿中存在大量瓦斯气体，其主要成分是甲烷，它们与其内的矿石矿水共同成为了细菌在此生存的重要环境条件和影响因素：一方面，煤矿内的细菌受到矿物本身的影响，分解其中的重金属、矿物质等以适应其内部环境而生存[2]；另一方面，不同细菌可以通过产生或消耗瓦斯达到共生[3-4]，从而影响矿内瓦斯浓度，故细菌与煤矿之间存在值得深入探究的互作关系，其在群落特征、生物功能等方面可能会随瓦斯浓度、地形条件等不同而产生变化。为此，本研究选择地处云贵高原重要产煤区的毕节市[5]作为研究对象，一是其煤炭资源丰富，二是其喀斯特地貌特征突出，三是该地煤矿细菌学研究较少，通过对该市三类瓦斯浓度不同煤矿区样本的细菌多样性、非靶向代谢产物等情况展开调查，揭示和分析该地煤矿中细菌群落特征和代谢化合物特征，为相关基础学科如环境保护、瓦斯治理、土地资源再利用、感染防治等提供细菌学的参考数据，助力落实国家对“富矿精开”“守住发展和生态两条底线”的战略要求[6]。

1 材料与方法

1.1 *研究对象* 采集毕节市距离相近的三类不同瓦斯浓度煤矿矿石、矿水作为研究对象。采样地点：低瓦斯枫乡林煤矿（经纬度：106.11°E，27.32°N）、高瓦斯安能煤矿（经纬度：106.22°E，27.38°N）、突出瓦斯贵源煤矿（经纬度：106.17°E，27.38°N）。

1.2 *仪器与试剂* MH培养基、血平板等（广州市迪景微生物科技有限公司）；灭菌镊子、采集袋等（比克曼生物科技公司）；Illumina NovaSeq 6000平台（Illumina，美国）；Waters UPLC I-ClassPlus（Waters，美国）；Q Exactive高分辨质谱仪（ThermoFisher Scientific，美国）；Ezup柱式细菌基因组DNA抽提试剂盒、SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒、引物（上海生工生物工程股份有限公司）；GeneRuler DNA Ladder Mix（ThermoFisher Scientific，美国）。

1.3 *方法*

1.3.1 标本采集：每个煤矿均从表层（50m）、中层（200m）、底层（500m）进行矿石、矿水采样，采样过程参照GBT32725-2016标准进行，每类样本在采样点附近作3次平行采样，样本采集和标记信息如下：A组（低瓦斯组）：A_O（矿石）：表层A_{O1}、中层A_{O2}、底层A_{O3}，A_W（矿水）：表层A_{W1}、中层A_{W2}、底层A_{W3}；B组（高瓦斯组）：B_O（矿石）：表层B_{O1}、中层B_{O2}、底层B_{O3}，B_W（矿水）：表层B_{W1}、中层B_{W2}、底层B_{W3}；C组（突出瓦斯组）：C_O（矿石）：表层C_{O1}、中层C_{O2}、底层C_{O3}，C_W（矿水）：表层C_{W1}、中层C_{W2}、底层C_{W3}。

1.3.2 细菌培养与鉴定：非苛养条件下使用血平板和普通营养琼脂在（37±2）℃下共同培养及分离标本中的细菌，培养时间为24h，低生长样本延长至72h，超时不生长的视为阴性，液体样品混匀后接种，固体样品接种方法参考ZHU等[7]的研究，并对纯化后的细菌按照《伯杰氏细菌鉴定手册》进行细菌试验鉴定。

1.3.3 样本16S rDNA测定和数据分析：提取各样本总DNA，并对其进行完整度、纯度和浓度验证，取经质控后合格DNA样本对16S rDNA V3-V4区域进行扩增并纯化，并用Illumina NovaSeq 6000平台测序，所得数据用fastp软件进行质控、拼接和优化后使用Uparse（vsesion7.1）软件在97%相似性水平下进行OTU聚类，采用RDP Classifier贝叶斯算法对OTU结果分类分析，并对比Silva数据库进行物种注释。基于所得的OTU和丰度的相关数据，将不同组矿中所有矿石、矿水分别合并进行α多样性和β多样性分析比较，并用Picrust软件基于16S rDNA测序结果在PathwayL2水平对矿石样本进行功能预测独立分析。

1.3.4 矿石样本非靶向代谢产物测定和数据分析：检测所有矿石样品，利用甲醇-乙腈法提取代谢产物，随后采用UPLC-MS分析。色谱分离使用BEH C18柱，正离子模式流动相为含甲酸的水-甲醇，负离子模式为含甲酸铵的水-甲醇，流速0.35ml/min，柱温45 ℃。质谱扫描范围70~1 050m/z，一级分辨率70 000，AGC:3×10^6dB，最大注入时间100ms；选母离子强度Top3碎裂，二级分辨率17 500，AGC:1×10^6dB，注入时间50ms，碎裂能量20/40/60 eV。ESI源参数：鞘气流速40L/min，辅助气流速10L/min，喷雾电压正离子3.80m/V、负离子3.20 m/V，温度320℃，辅助气加热350℃。数据采集后用metaX处理，结合KEGG数据库注释并绘制相关代谢通路图。

1.4 统计学分析 本研究使用R语言软件(Stats包、Python的scipy包、Vegan包)作统计分析和作图，多个独立样本间的数据比较采用秩和检验。α多样性相关参数：使用Shannon、Simpson、反应群落的多样性(Diversity)，二者值越高表示群落多样性越高，Chao和ACE可反应群落丰富度，二者数值越高，表示物种丰富度越高；附覆盖值，该值越接近1，代表检测覆盖率越高；结果采用中位数(四分位间距)[M(P_{25}，P_{75})]表示，使用Wilcoxon秩和检验进行组间两两比较。β多样性用于显示样本间物种构成差异情况，本次分析采用Unifrac距离算法在OTU水平上对所有矿石、矿水测序结果按照分组作采用NMDS分析并绘图，样本标记距离越近，表示两样本细菌多样性组成越相似。显著性水平 $\alpha=0.05$，$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细菌培养结果 见表1，本次实验共18类(合计54个)标本，其中17类标本培养出细菌(A_{W1}培养出的2种细菌无法鉴定，C_{O2}多次阴性)，培养阳性率为95%。共分离出菌落外观特征不同的56个细菌，其中45个能鉴定，成功鉴定率为80%，革兰染色阳性细菌27个，革兰染色阴性细菌26个，无法着色3个，去掉重复细菌和不能鉴定的细菌，实际从环境中培养出27种细菌(培养率2.5%，即27/1 065，人工培养出27种，分子鉴定1 065种)。

表1 各组样本可培养细菌鉴定结果

分组			可培养细菌
A组	A_O	A_{O1}	普利斯特氏菌(*Priestia*)、溶血葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*)、沼泽微杆菌(*Microbacterium paludicola*)
		A_{O2}	藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)、微球菌属(*Micrococcus*)、多黏类芽胞杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)
		A_{O3}	地下节杆菌(*Arthrobacter subterraneus*)、地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)
	A_W	A_{W1}	/
		A_{W2}	液化沙雷氏菌（*Serratia liquefaciens*）
		A_{W3}	气单胞菌属（*Aeromonas*）、不动杆菌属（*Acinetobacter*）、嗜水气单胞菌（*Aeromonas hydrophila*）、微小杆菌属（*Exiguobacterium*）
B组	B_O	B_{O1}	地衣芽胞杆菌（*Bacillus licheniformis*）、醋酸钙不动杆菌（*Acinetobacter calcoaceticus*）
		B_{O2}	嗜冷链球菌（*Peribacillus*）、芽孢杆菌属（*Bacillus*）
		B_{O3}	地衣芽胞杆菌（*Bacillus licheniformis*）、琥珀葡萄球菌（*Staphylococcus succinus*）
	B_W	B_{W1}	琼氏不动杆菌（*Acinetobacter junii*）、假单胞菌属（*Pseudomonas*）
		B_{W2}	芳香产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*)、腐败假单胞菌(*Pseudomonas putrefaciens*)、透明藉伏氏菌(*Vogesella perlucida*)
		B_{W3}	脱硝金氏菌（*Kingella denitrificans*）、不动杆菌属（*Acinetobacter*）、施氏假单胞菌（*Pseudomonas stutzeri*）
C组	C_O	C_{O1}	芽孢杆菌属（*Bacillus*）、科氏葡萄球菌（*Staphylococcus cohnii*）、金黄微杆菌属（*Chryseomicrobium*）、谷氨酸杆菌属（*Glutamicibacter*）
		C_{O2}	/
		C_{O3}	谷氨酸杆菌属（*Glutamicibacter*）、伪产碱假单胞菌（*Pseudomonas pseudoalcaligenes*）
	C_W	C_{W1}	腐败假单胞菌（*Pseudomonas putrefaciens*）、微小杆菌属（*Exiguobacterium*）
		C_{W2}	施氏假单胞菌（*Pseudomonas stutzeri*）、粪产碱杆菌（*Alcaligenes faecalis*）
		C_{W3}	粘质沙雷氏菌（*Serratia marcescens*）、芳香产碱杆菌（*Alcaligens odorans*）

2.2 样本16S rDNA测定结果

2.2.1 总体情况：本研究在共18类样本中共检出细菌35门、89纲、219目、357科、625属、1 065种，聚类得到OTU共3 258个。

2.2.2 门水平物种组成：在门水平上绘制主要物种细菌群落热力图，见图1，相对丰度占比较高的主要物

种对比见表2，可见三组样本主要优势物种相对稳定，变形菌门在矿石和矿水中占绝对优势，但其余主要物种有变化，如B组矿水中髌骨菌门占比较大、放线菌门在瓦斯浓度越低的组别占比越高等。

表2 三组样本相对丰度靠前的门、属水平上物种对比

类别		A组	B组	C组
门水平	矿石	变形菌门（*Proteobacteria*）87.3%	变形菌门（*Proteobacteria*）93.6%	变形菌门（*Proteobacteria*）91.5%
		放线菌门（*Actinobacteriota*）9.2%	放线菌门（*Actinobacteriota*）5.4%	拟杆菌门（*Bacteroidota*）3.7%
		厚壁菌门（*Firmicutes*）1.8%	厚壁菌门（*Firmicutes*）0.8%	放线菌门（*Actinobacteriota*）2.0%
	矿水	变形菌门（*Proteobacteria*）66.0%	变形菌门（*Proteobacteria*）43.0%	变形菌门（*Proteobacteria*）74.4%
		放线菌门（*Actinobacteriota*）7.6%	髌骨菌门（*Patescibacteria*）20.7%	弯曲菌门（*Campylobacterota*）10.9%
		厚壁菌门（*Firmicutes*）6.2%	疣微菌门（*Verrucomicrobiota*）11.1%	拟杆菌门（*Bacteroidota*）6.3%
属水平	矿石	罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）56.3%	罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）83.6%	罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）61.4%
		假单胞菌属（*Pseudomonas*）13.5%	代尔夫特菌属（*Delftia*）6.2%	代尔夫特菌属（*Delftia*）14.0%
		代尔夫特菌属（*Delftia*）9.0%	假单胞菌属（*Pseudomonas*）2.5%	根瘤菌属（*ANPR*）3.6%
	矿水	铁卵形菌属（*Ferrovum*）16.7%	罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）22.4%	罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）33.6%
		不动杆菌属（*Acinetobacter*）16.4%	*Parcubacteria* 菌属 8.2%	硫卵菌属（*Sulfurovum*）10.2%
		罗尔斯通菌属（*Ralstonia*）8.1%	*Terrimicrobium* 菌属 6.3%	*Inhella* 菌属 8.9%

2.2.3 属水平物种组成比较：在属水平上绘制主要物种热力图，见图2，相对丰度占比较高的主要物种对比见表2，可见罗尔斯通菌在所有样本中都是优势物种，矿石中代尔夫特菌属、假单胞菌属为优势物种，但矿水中优势物种及占比有所变化。

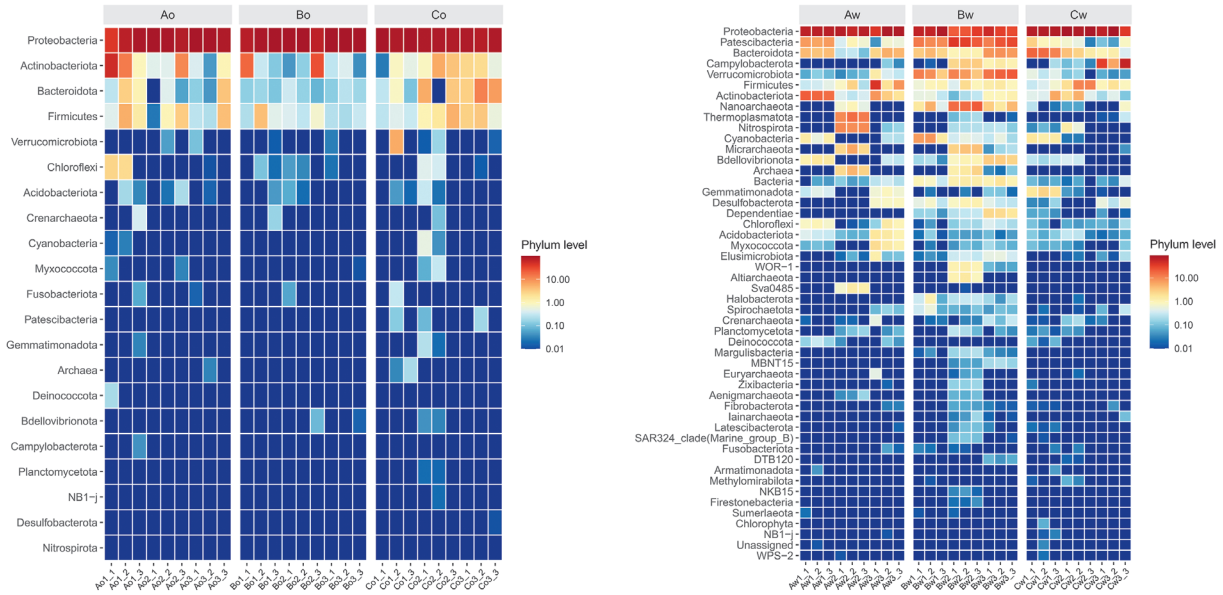
2.2.4 α多样性比较：见表3，不同瓦斯浓度煤矿周边三组矿石间α多样性相关参数比较差异均无统计学意义（U值顺序依次为A组vs B组、A组vs C组、B组vs C组，Shannon：$U_{矿石}$=58.00、37.00、22.00，Simpson：$U_{矿石}$=60.00、36.00、22.00，Chao：$U_{矿石}$=59.00、55.00、44.00，ACE：$U_{矿石}$=58.00、56.00、44.00，均$P>0.05$）。矿水间α多样性相关参数部分有差异（U值顺序依次为A组vs B组、A组vs C组、B组vs C组，Shannon：$U_{矿水}$=19.00、65.00、72.00，Simpson：$U_{矿水}$=24.00、64.00、68.00，Chao：$U_{矿水}$=19.00、65.00、72.00，ACE：$U_{矿水}$=17.00、64.00、74.00，其中B组矿水对比C组矿水时，Shannon、Simpson、Chao、ACE均$P<0.05$，其余对比均$P>0.05$）。

2.2.5 β多样性比较：不同瓦斯浓度煤矿周边β多样性对比显示：三组矿石多样性差异无统计学意义（R=0.06，$P>0.05$），三组矿水β多样性差异有统计学意义（R=0.5，$P<0.01$），见图3。

2.2.6 物种差异统计分析：先将来自于相近深度、不同瓦斯浓度区域的矿石、矿水样本分别进行对比，找到它们在门、属水平上的差异物种。结果显示，在门水平上：不同矿区表层、中层、底层矿石间无差异物种（H=0.11~4.62，均$P>0.05$）；表层矿水间有差异物种18种（H=6.16~7.62，均$P<0.05$），中层矿水间有差异物种30种（H=6.49~8.00，均$P<0.05$），其中热原体门（Thermoplasmatota）在瓦斯浓度越高的矿中含量越低（H=7.26，$P<0.05$），底层矿水间有差异物种16种（H=6.00~7.62，均$P<0.05$），其中芽单胞菌门（Gemmatimonadota）、放线菌门（Actinobacteriota）在瓦斯浓度越低的组别含量越高（H=7.26，$P<0.05$；H=7.20，$P<0.05$）。在属水平上：表层矿石间有差异物种7种（H=6.72~7.62，均$P<0.05$），*norank_f__Comamonadaceae*、副球菌属（*Paracoccus*）在瓦斯浓度越低的矿区含量越高（H=7.62，$P<0.05$；H=6.72，$P<0.05$），中层矿石物种无差异（H=0.09~5.64，均$P>0.05$），底层矿石有2种物种存在差异（H=6.72、7.62，均$P<0.05$）。表层矿水间有差异物种275种（H=6.00~7.62，均$P<0.05$），中层矿水间有差异物种225种（H=6.16~7.62，均$P<0.05$），底层矿水间有差异物种210种（H=6.00~7.62，均$P<0.05$）。

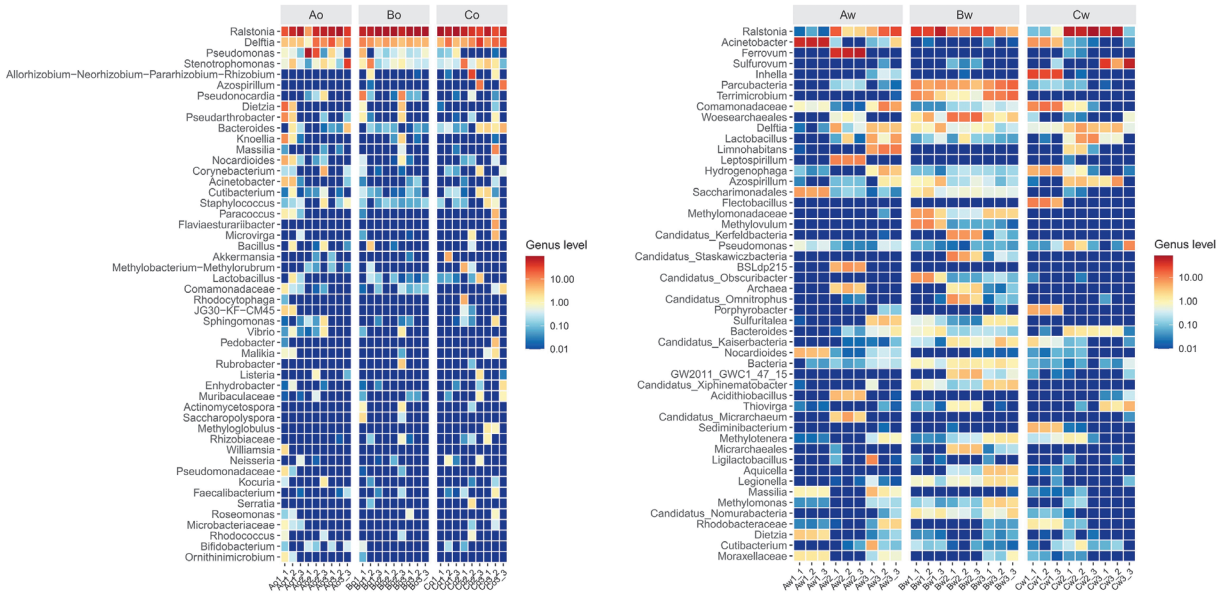
对比三类不同瓦斯浓度下所有矿石、矿水的结果发现，三组不同瓦斯浓度区域中矿石在门水平上差异物种2个，为髌骨菌门（Patescibacteria）和浮霉菌门（Planctomycetota），二者在突出瓦斯组中的分布高于其他组别（H=8.97，$P<0.05$；H=6.47，$P<0.05$）。属水平上发现差异物种10个（H=6.05~12.00，均$P<0.05$），为普雷沃菌属（*Prevotella*）、别尔纳普氏菌属（*Belnapia*）、弧菌属（*Vibrio*）、假单胞菌属（*Pseudomonas*）、湖水杆状菌（*Aquabacterium*）、*Aquabacterium*、大肠埃希菌属（*Colidextribacter*）、*Fenollaria*、罗姆布茨菌（*Romboutsia*）、*Marmoricola*，其中弧菌属、假单胞菌属、湖水杆状菌、*Marmoricola*在瓦斯浓度越低的组别含量越高（H=8.21，$P<0.05$；H=6.47，$P<0.05$；H=6.47，$P<0.05$；H=6.27，$P<0.05$）。三组不同瓦斯浓度区域中矿水差异物种在

门水平上有26种(H=6.04~24.64，均$P<0.05$)，属水平上有326种(H=6.03~24.64，均$P<0.05$)。



注：热力图横坐标为样本名，纵坐标为物种名，以物种丰度的lg值显示颜色，颜色越接近红色，丰度越高，越接近蓝色，丰度越低。

图 1 所有样本门水平上细菌群落热力图



注：热力图横坐标为样本名，纵坐标为物种名，以物种丰度的lg值显示颜色，颜色越接近红色，丰度越高，越接近蓝色，丰度越低。

图 2 所有样本属水平上的细菌群落热力图

表 3 不同矿区矿石和矿水细菌 α 多样性参数比较 [M(IQR)，n=9]

类别	矿石			矿水		
	A 组	B 组	C 组	A 组	B 组	C 组
Shannon	1.20(0.73)	0.39(0.20)	1.52(0.75)	3.34(0.91)	5.26(2.10)*	2.30(1.32)
Simpson	0.50(0.37)	0.15(0.11)	0.58(0.29)	0.90(0.11)	0.94(0.08)*	0.68(0.17)
Chao	54.85(20.38)	47.00(20.04)	49.50(29.13)	827.22 (541.41)	2 000.41(2 072.07)*	432.78 (364.03)
ACE	50.63(21.47)	41.61(19.71)	49.26(30.52)	818.94 (570.16)	2 001.44(2 075.82)*	427.82 (355.83)
Coverage	0.99(0.00)	0.99(0.00)	0.99(0.00)	0.99(0.00)	0.99(0.00)	0.99(0.00)

注：* 表示 B 组与 C 组矿水比较，P<0.05。

2.2.7 生物功能预测：各类样本功能预测结果中相关性较高的是氨基酸代谢(Amino acid metabolism)、碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolism)、辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)、细菌感染(Infectious disease:bacterial)等方面。三组样本间差异情况见图4，矿石间差异集中在寄生虫传染病(Infectious disease: parasitic)等6个方面(依次为$U_{Ao\text{-}Bo}$=65、64、17、46，$U_{Ao\text{-}Co}$=17、64，均$P<0.05$)，矿水间差异集中在神经系统疾病(Neurodegenerative disease)等20个方面(H=6.22~18.12，均$P<0.05$)。

2.3 *矿石非靶向代谢产物检测结果*　本实验中，阴、阳离子模式下共注释到化合物369种，在所有检测到的化合物中，分别对类固醇类、多肽类、有机酸等部分丰度靠前的重要化合物注释结果进行统计并绘制热力图，见图5，三类矿石样本因化合物丰度的差异性形成了自身占领的“长方形”高热力区域，低瓦斯组(A_O)以环磷酰胺(Cyclophosphamide)等形成高热力区、高瓦斯组(B_O)以4-哌啶酮(4-Piperidinone)等形成高热力区、突出瓦斯组(C_O)以1-哌啶(1-Piperideine)等形成高热力区。

3　讨论

为了解本区域内不同瓦斯浓度下煤矿环境细菌分布特征，本研究先对样本进行了人工细菌培养，过程中发现水中可能更容易分离出革兰阴性菌，而固体样本中可能更容易分离出革兰阳性菌，总体培养率约为2.5%，与其他研究评估结果相近[8]。之后再结合分子技术分析，在门水平上：不同瓦斯浓度的煤矿环境中，优势菌群占比有所不同但总体相对稳定，其中变形菌门是绝对优势菌群，该门细菌中涵盖了大量的甲烷氧化菌，这类细菌可吸附于煤的表面亦或是通过自身运动嵌入煤的孔隙结构中，利用体内的酶使用空气里游离的甲烷和镶嵌在煤内的甲烷，从而消耗瓦斯气体，因而成为该类环境中最重要的碳循环菌[9]，变形菌门细菌在矿石矿水中的大量存在，

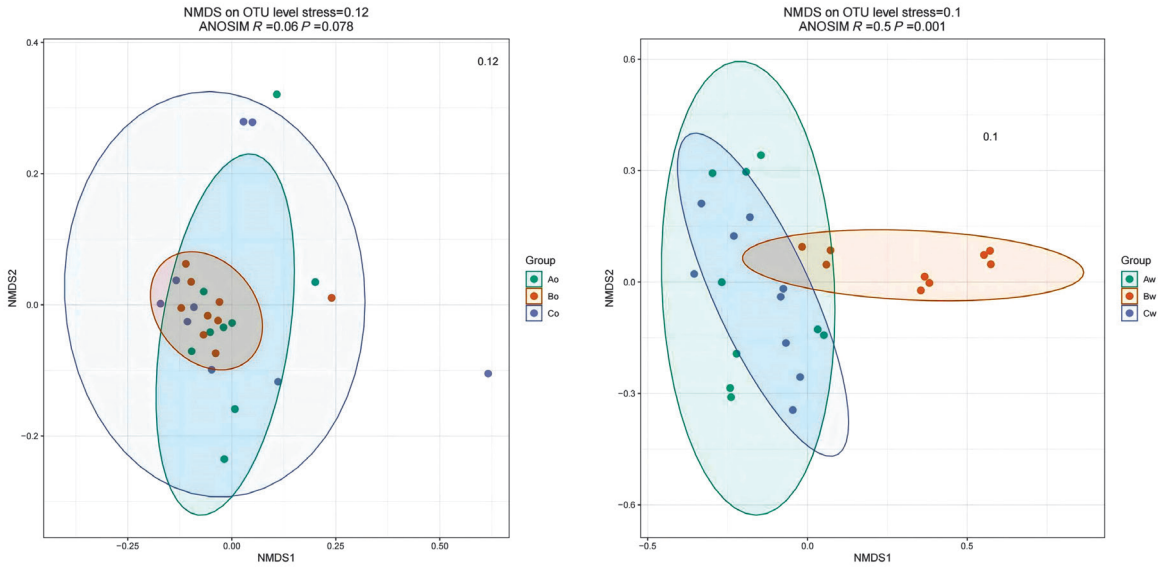


图 3　三类不同瓦斯浓度煤矿周边样本 β 多样性对比

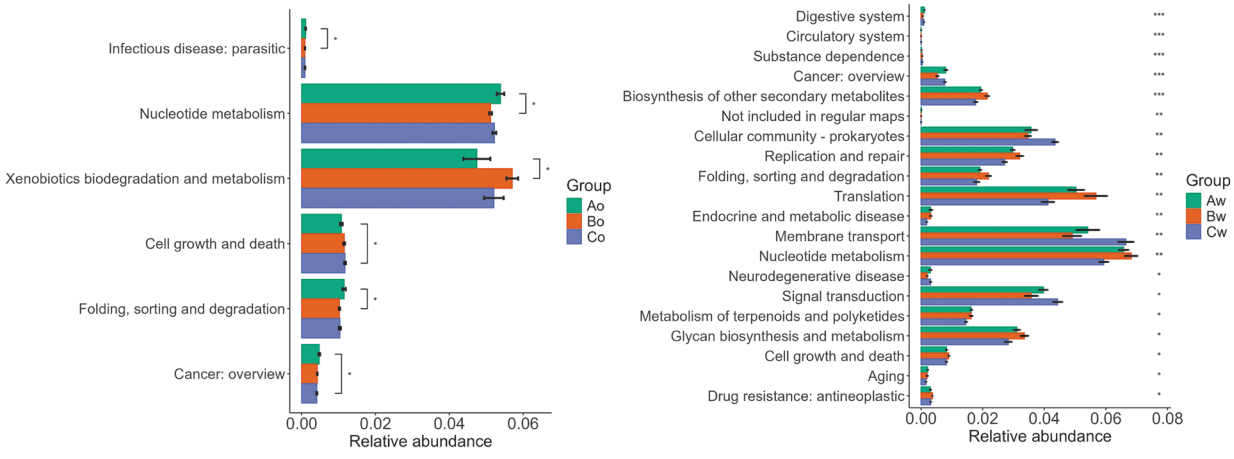


图 4　三类不同瓦斯浓度区域中矿石、矿水生物功能预测差异（$^{*}P<0.05$；$^{**}P<0.01$；$^{***}P<0.001$）

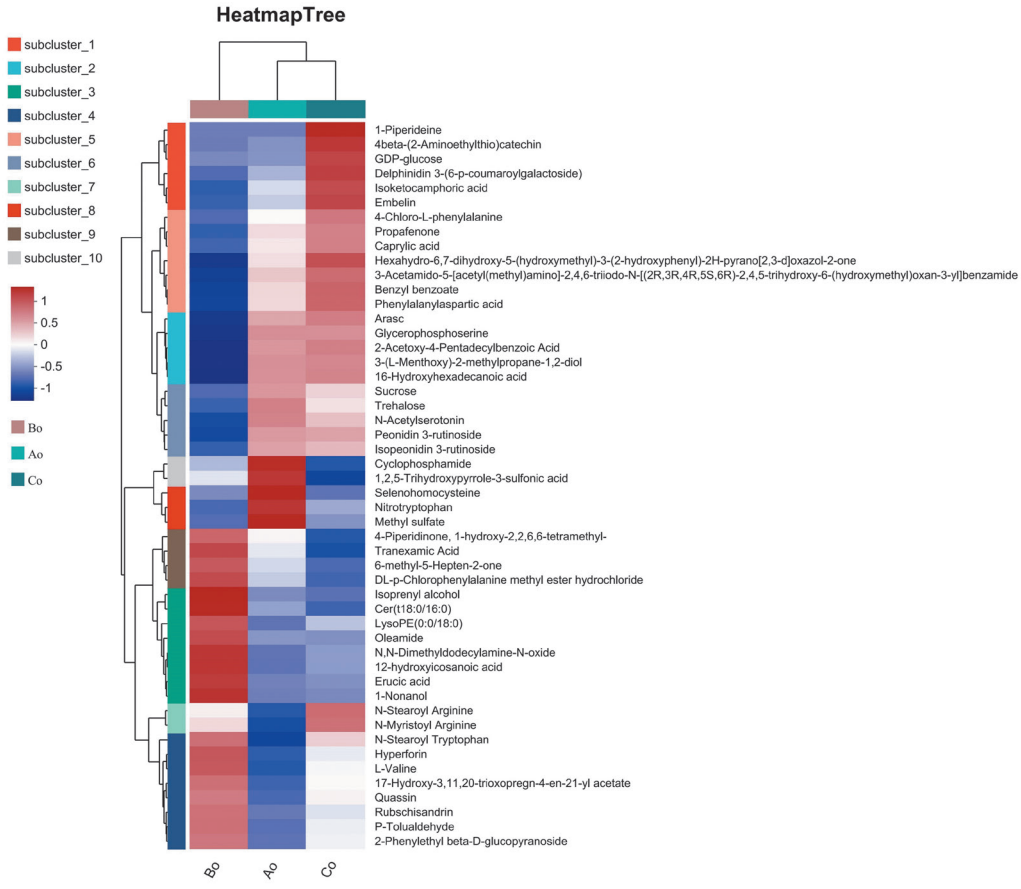


图 5 三组矿石非靶向代谢产物分布热力图

恰好说明其对煤矿和瓦斯的环境适应性较强，是该环境下的特征性菌群，但从本次数据来看，它们并未显示出对煤矿瓦斯浓度变化的分布规律性，说明瓦斯浓度变化并非唯一影响因素。此外，三个矿区都存在相对丰度靠前的放线菌门细菌，它们可以利用和分解煤矿中的多环芳香烃类物质，该类物质主要在采煤工作面由被打碎并粉尘化的煤经空气缓慢氧化产生，能为放线菌门细菌提供一定营养[10]。在属水平上：进一步证实变形菌门下的罗尔斯通菌属是特征性优势菌群，除同前述的甲烷利用功能外，它们还可以分解煤矿中的重金属类物质而在矿环境中大量生存[11]；代尔夫特菌属丰度亦靠前，其特性与罗尔斯通菌属细菌相似[12]，可见这些菌群由于对环境的适应性较高从而成为了常驻优势菌群。

进一步分析三组矿区结果的差异，我们发现了一些如弧菌属等在三类煤矿中呈现规律分布的物种，它们的分布变化似乎展现出对瓦斯浓度这一变量的喜好或厌恶，这些细菌与瓦斯浓度之间的具体关系，是否可以用于瓦斯浓度变化预测等生产领域，仍需要更具规模的观察和进行针对性的机能实验。通过对细菌多样性的相关统计分析，三组矿石间在细菌物种的多样性和丰富度相近，但矿水样本中细菌的分布差异物种较多且细菌多样性和丰富度有所不同，这间接展现了喀斯特地貌中地下水非均质性、多管道流动的水文特征[13]，虽然优势菌群在大环境中仍基本与矿石保持一致，但其中仍有自身独特的优势菌群，如硫卵菌属、铁卵形菌属等，作为硫和铁的喜好菌[14-15]，它们却更愿意选择滞留在硫、铁含量低于矿石的矿水中，这可能是菌群竞争后的结果。上述差异细菌的分布特征，带来的结果是群体生物功能的不同，体现在：一是各组矿石的生物功能预测较为接近，仅在细胞生长与死亡、外源物质的生物降解和代谢等方面具有差别；二是各组矿水生物功能预测有较多的不同，包括以核苷酸代谢为代表的细菌自身生存功能不同，以及以影响人类消化系统为代表的细菌环境影响能力不同。

考虑喀斯特地质条件下矿水区域流动范围非常大，后续我们选择只对环境中更具有稳定性的矿石样本进行了代谢产物检测。有趣的是，三组矿区矿石各自产生了不同的“长方形”高热力区域，显示了它们代谢产物各自具有的分布特点，这些产物可大致分为：一是细菌特有代谢产物如各类抗生素、脂多糖等，该类化合物测得种类不多、丰度不高；二是非细菌特有的生命代谢相关物质如异戊烯醇、蔗糖、L-缬氨酸等，这些物质在各类动植物、微生物间广泛存在，这类化合物测得种类多、丰度高；三是自然界少

有物质如哌啶酮类物质，该类物质正常情况下多由人工合成，其中部分丰度较高[16-18]。这些结果提示了微生态视野下丰富复杂的生命活动迹象，说明即使在深埋环境内细菌也并非唯一生物，随着煤矿的开采，人类活动影响了矿内的生物代谢。

本研究较为系统地展现了贵州毕节市煤矿矿石矿水的细菌多样性特征，详细对比了地缘相近的三类不同瓦斯浓度煤矿矿石矿水细菌的分布差异和生物功能预测差异，从同类样本的差异对比中发现11类可能与瓦斯浓度相关的物种：髌骨菌门和浮霉菌门相关细菌在突出瓦斯组中的分布高于其他组别，芽单胞菌门、放线菌门、弧菌属、副球菌属、假单胞菌属、湖水杆状菌属、*Marmoricola*菌属、*norank_f__Comamonadaceae*菌属相关细菌在瓦斯浓度越低的组别含量越高，热原体门相关细菌在瓦斯浓度越高的矿中含量越低，这些规律分布的物种可能用于瓦斯治理或瓦斯浓度变化预测；并对矿石非靶向代谢产物进行了检测和分析；综上，本文为云贵高原喀斯特地貌下煤矿相关细菌学研究提供了一定的参考信息。

参考文献：

[1] XU C C, LIU Y, LI J J, et al. Soil biodiversity and network complexity jointly drive soil multifunctionality in an open cast coal mine[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1668494.

[2] 侯亮辉，郝志鹏，陈保冬，等. 我国煤矿区重金属污染土壤的生物修复技术研究及应用前景[J]. 中国煤炭，2025,51(11): 55-69.
HOU L H, HAO Z P, CHEN B D, et al. Research and application prospects of bioremediation technologies for heavy metal contaminated soil in coal mining areas in China[J]. China Coal, 2025, 51(11): 55-69.

[3] 高龙珍，米申昱，刘英超，等. 低温氧化煤生物降解产甲烷机理研究[J]. 太原理工大学学报，2025, 56(4): 656-664.
GAO L Z, MI S Y, LIU Y C, et al. Mechanism of biodegradation and methane production from low-temperature oxidized coal[J]. Journal of Taiyuan University of Technology, 2025, 56(4): 656-664.

[4] BAI G Y, YIN Y J, ZHANG Z Q, et al. Bioaugmentation strategies for methane production from digestate-alkali pretreated biomass via anaerobic digestion[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2025, 12(1): 148.

[5] 黄文，周泽，张博，等. 毕节试验区新型煤化工产业发展与布局展望[J]. 煤化工，2025，53(1)：100-104.
HUANG W, ZHOU Z, ZHANG B, et al. Outlook on development and layout of new coal chemical industry in Bijie Pilot Zone[J]. Coal Chemical Industry, 2025, 53(1): 100-104.

[6] 王学权，王宇，吴家丽. 毕节市煤炭资源“富矿精开”的基础、问题与对策[J]. 贵阳市委党校学报，2024(6)：8-13.
WANG X Q, WANG Y, WU J L. The foundation,problems,and countermeasures of “rich and refined mining” of coal resources in Bijie City[J]. Journal of Party School of Guiyang Committee of C.P.C, 2024(6): 8-13.

[7] ZHU X B, GONG W H, LI W, et al. Reclamation of waste coal gangue activated by *Stenotrophomonas maltophilia* for mine soil improvement: solubilizing behavior of bacteria on nutrient elements[J]. Journal of Environment Management, 2022, 320: 115865.

[8] 温林冉. 典型环境样本内细菌在物种水平的可培养性评估[D]. 厦门：厦门大学，2021.
WEN L R. Evaluation of bacterial species-level cultivability in typical environmental samples[D]. Xiamen: Xiamen University, 2021.

[9] 王彩萍，张玉宁，段夏丹，等. 煤矿甲烷氧化菌对采空区CH4气体的代谢特性[J]. 西安科技大学学报，2025，45(6)：1055-1066.
WANG C P, ZHANG Y N, DUAN X D, et al. Metabolic characteristics of methane-oxidizing bacteria from coal mine on CH4 in goaf[J]. Journal of Xi’an University of Science and Technology, 2025, 45(6): 1055-1066.

[10] ZHANG M Y, CHEN X, ZHU Y X, et al. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons pollution and the characteristics of microbial diversity in the soil of coal mining areas[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2025, 47(9): 386.

[11] HUANG J Q, LIU C W, PRICE G W, et al. Identification of a novel heavy metal resistant *Ralstonia* strain and its growth response to cadmium exposure[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 125942.

[12] ROY S, ROY M. Characterization of plant growth promoting feature of a neutromesophilic, facultatively chemolithoautotrophic, sulphur oxidizing *bacterium Delftia* sp. strain SR4 isolated from coal mine spoil[J]. International Journal of Phytoremediation, 2019, 21(6): 531-540.

[13] 李焱秋，曹乐，吴邦利，等. 喀斯特土壤水文研究进展——基于CiteSpace的文献可视化分析[J]. 中国水土保持，2025(11)：30-37.
LI Y Q, CAO L, WU B L, et al. Research progress in karst soil hydrology: a bibliometric visualization analysis based on CiteSpace [J]. Soil and Water Conservation in China, 2025(11): 30-37.

[14] SOARES A, RASSNER S M E, EDWARDS A, et al. Hydrogeological and geological partitioning of iron and sulfur cycling bacterial consortia in subsurface coal-based mine waters[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2025, 101(5): fiaf039.

[15] WANG X Y, ZHANG G D, JIAO Y, et al. Ferrous Iron oxidation microflora from rust deposits improve the performance of bioelectrochemical system[J]. Bioresource Technology, 2022, 364: 128048.

[16] 郝海滨，林鸿，杜德仁，等. 细菌荚膜多糖和脂多糖分离及定量方法[J]. 中华医院感染学杂志，2023，33(22)：3428-3432.
HAO H B, LIN H, DU D R, et al. Measures for isolation and quantification of bacterial capsular polysaccharides and lipopolysaccharides and assessment[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2023, 33(22): 3428-3432.

[17] BALI S, MOHAPATRA S, MICHAEL R, et al. Plastidial metabolites and retrograde signaling: a case study of MEP pathway intermediate MEcPP that orchestrates plant growth and stress responses[J]. Plant Physiol Biochem, 2025, 222: 109747.

[18] DONG R H, XU R R, WANG X L, et al. Synthesis, anti-tumour, and antibacterial activities of monocarbonyl curcumin analogues of piperidones [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(24): 12179.

收稿日期：2025-11-15
修回日期：2025-12-31