

DOI: 10.13476/j.cnki.nsbdtk.2019.0064

李军, 蓝芙宁, 邹胜章, 等. 琉璃河地区地下水化学特征对微生物群落结构影响[J]. 南水北调与水利科技, 2019, 17(3): 97-104.
LI J, LAN F N, ZOU S Z, et al. Effects of chemical characteristics of groundwater on microbial community structures in the Liuli River[J]. South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology, 2019, 17(3): 97-104. (in Chinese)

琉璃河地区地下水化学特征对微生物群落结构影响

李 军¹, 蓝芙宁¹, 邹胜章¹, 林永生¹, 张翠云²

(1. 中国地质科学院 岩溶地质研究所 自然资源部/广西岩溶动力学重点实验室, 广西 桂林 541004;
2. 中国地质科学院 水文地质环境地质研究所, 石家庄 050061)

摘要:为查明区域地下水化学特征对微生物群落结构影响,在北京琉璃河镇及周边地区采集9组地下水样。在调查地下水化学特征基础上,利用高通量测序技术,对地下水样进行16S rRNA基因V4-V5区测序,用于分析地下水化学特征与微生物群落结构间相关性。水化学结果表明,研究区地下水共有HCO₃-Ca·Mg、HCO₃·Cl-Ca、HCO₃·Cl·SO₄-Ca和HCO₃-Ca水4种水型,主要水型为HCO₃-Ca·Mg水,部分地下水受NO₃⁻、SO₄²⁻污染。微生物结果表明,研究区地下水优势菌门为Proteobacteria,但无明显优势菌属。不同水型中微生物多样性呈地下水化学类型越简单,微生物群落多样性水平越低趋势。HCO₃-Ca·Mg、HCO₃·Cl-Ca、HCO₃·Cl·SO₄-Ca和HCO₃-Ca水4种水型中共有菌属数量为113个,特有菌属数量分别为186、32、33和2个。影响因子对微生物群落结构影响程度为浊度>EC(电导率)>DO(溶解氧)>pH,较高的EC和DO值有利于Pseudomonas、Vogesella、Hydrogenophaga菌属生长,pH适度增加有利于Gallionella、Nitrospira菌属生长。综上可知,区域地下水化学特征对微生物群落结构具有显著影响。

关键词:地下水;高通量测序;微生物群落;影响因子

中图分类号:X172;P641.69

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effects of chemical characteristics of groundwater on microbial community structures in the Liuli River

LI Jun¹, LAN Funing¹, ZOU Shengzhang¹, LIN Yongsheng¹, ZHANG Cuiyun²

(1. Key Laboratory of Karst Dynamics, Ministry of Natural Resources & Guangxi, Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geological Science, Guilin 541004, China; 2. Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, Chinese Academy of Geological Science, Shijiazhuang 050061, China)

Abstract: Nine groundwater samples in the Liuli River and its surrounding areas in Beijing were taken to investigate the effects of characteristics of regional groundwater chemistry on microbial community. Characteristics of groundwater chemistry were examined, and the V4-V5 region of 16S rRNA was scanned by the high-throughput sequencing. The correlation between groundwater chemical characteristics and microbial community structure were then explored. The results of hydrochemistry showed that HCO₃-Ca·Mg, HCO₃·Cl-Ca, HCO₃·Cl·SO₄-Ca and HCO₃-Ca were found and the main type is HCO₃-Ca·Mg in the study area. Microbial analysis results showed that Proteobacteria was the predominant phylum and predominant gene was not found in the study area. The microbial diversity from different types of groundwater showed that the level of microbial diversity increased with complexity of groundwater chemical types. A total of 113 genera were found in the four chemical types of ground-

收稿日期:2018-12-07 修回日期:2019-03-04 网络出版时间:2019-03-21

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/13.1334.TV.20190319.1524.004.html>

基金项目:国家重点研发计划(2016YFC0502502);中国地质调查局基本科研业务费(JYYWF20182001);国家自然科学基金(41471447)

作者简介:李 军(1990—),男,河北张家口人,实习研究员,主要从事地下水污染及微生物修复方面研究。E-mail: lipsgeology@karst.ac.cn

通信作者:张翠云(1962—),女,广东兴宁人,研究员,博士,主要从事地质微生物技术及其应用方面研究。E-mail: zcygeology@163.com

water, and the numbers of microorganisms in $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$, $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\text{-Ca}$, $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ and $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ were 186, 32, 33 and 2, respectively. The order of groundwater impact on microbial community was turbidity>EC>DO>pH. The turbidity, *Pseudomonas*, *Vogesella* and *Hydrogenophaga* were benefited from Higher EC and DO values, and the *Gallionella* and *Nitrospira* were stimulated by moderate increase of pH. In summary, the characteristics of regional groundwater chemistry had significant effects on microbial community.

Key words: groundwater; high-throughput sequencing; microbial community; impact factor

微生物是地下水生态系统的重要组成部分,对地下水中物质循环、能量转化和信息传递至关重要。微生物群落不仅能反映地下水环境变化特征,而且通过自生代谢可促进地下水污染物自然衰减^[1-3],从而实现地下水生态系统自身均衡。另一方面,地下水化学组分对微生物群落具有重要影响,水体中的氮素、碳素和有机物为微生物提供营养物质,氧气、硝酸盐等为微生物群落提供电子受体^[4],温度、絮状物等为微生物群落提供适宜的生存条件,地下水化学组分改变直接影响微生物群落结构。

相对土壤和地表水,地下水环境具有低温、无光、低氧和寡营养等特点,近似极端环境^[5-6]。针对特殊的地下水环境,微生物群落研究多集中在室内模拟和控制变量实验^[7-9]、场地生物自然衰减和生物刺激修复方面^[10-14],从而实现地下水环境生物监测和微生物修复目标。但以往的研究中,区域性揭示地下水微生物群落结构和不同地下水化学类型中微生物群落组成差异较少,然而这是了解自然状态下地下水微生物群落结构的重要一步,可为区域地下水污染生物监测、生物自然衰减评价和生物修复提供依据。本研究选取北京琉璃河镇地区,分别采集地下水化学样品和微生物样品。在水化学检测基础上,利用高通量测序技术对微生物样品进行 16S rRNA 基因 V4-V5 区测序,揭示研究区地下水微生物群落结构和不同水化学类型微生物群落组成差异,以期为研究区后期地下水污染微生物监测与修复提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区与取样

研究区位于北京西南部和保定北部,是非首都功能疏解区的组成部分。西北部工业相对发达,南部以农业种植为主。生产生活用水主要来源于地下水,地下水主要取水层段为第四系含水层,取水深度介于 3~200 m。含水层多为中细砂,西北部含水层偶见粗砂和卵砾石。

为了较全面揭示地下水基本概况,采用对角线

布点原则,由西北至东南布置一条采样剖面线,并在污染易发处增加样点(图 1)。9 组采样点均采集地下水化学样品和微生物样品,样品用于水化学和微生物群落分析。水化学样品使用 1.5 L 和 500 mL 聚乙烯塑料瓶分装。采样结束,进行现场测试;微生物样品使用 1.5 L 无菌聚乙烯瓶采集,每样分装两瓶,一瓶排尽空气,一瓶留有空气,尽可能确保好氧、厌氧、兼性厌氧微生物存活^[15]。微生物样品全程冰块保存,并当天送往实验室进行过滤。

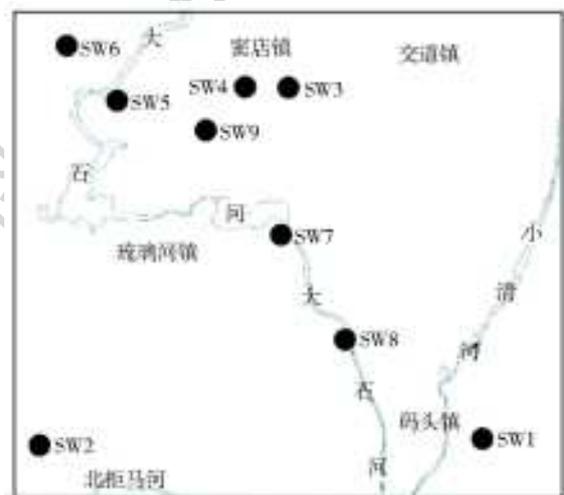


图 1 采样点分布

Fig. 1 Locations of the sampling points

1.2 化学检测与高通量测序

地下水现场测试项目包括水温、pH、DO、EC、ORP(氧化还原电位)、浊度、TDS(总溶解固体),全分析和微量元素检测项目由国土资源部地下水矿泉水及环境监测中心完成测试,测试项目包括常规阴离子、阳离子和重金属等水化学指标。微生物样品送达实验室,当天完成过滤,滤膜至 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,并及时送往上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。样品 DNA 提取采用美国 MP 公司 FastDNA SPINTM kit for soil 试剂盒,采用琼脂糖凝胶电泳法和分光光度计(NanoDrop2000)完成 DNA 完整性、纯度与浓度检测,PCR 引物为 515F(GTGC-CAGCMGCCGCGG-3')和 907R(CCGTCAATTC-MTTTRAGTTT-3')。完成 V4-V5 区片段扩增^[16],

回收扩增产物, Miseq 建库测序。

1.3 数据分析

地下水化学样品, 基于 Excel 2013 对地下水化学离子进行统计分析, 运用舒卡列夫分类法对地下水化学类型进行分类。地下水微生物样品, 基于 I-Sanger 平台, 对测序所获得的双端序列进行数据质控, 依据相似度 97 % 水平划分 OTU, 按最小样本序列数抽平。为获得分类学信息, 采用 RDP classifier 贝叶斯算法进行分类学划分, 比对数据库为 silval28/16S^[17]。在 OTU 水平上分析不同水化学类型微生物群落 α 多样性。利用 R 语言绘制柱状图, 用于揭示研究区地下水微生物群落组成和丰度。绘制 Venn 图和饼状图, 用于分析不同地下水化学类型微生物群落组成差异。利用 VIF(方差膨胀因子) 筛选关键影响因子^[18], 基于 R 语言 vegan 包绘制 CCA(典范对应分析)图, 用于分析影响因子与微生物群落之间相关性。

2 结果与分析

2.1 地下水化学分析

地下水化学类型可反映地下水化学成因环境、基本特征和水文地球化学作用。据水化学检测结果, 9 组地下水样品舒卡列夫分类结果见表 1。研究区地下水化学类型为 $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水 (SW1、SW2、SW7、SW8)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$ 水 (SW3、SW4)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ 水 (SW5、SW6) 和 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$

水 (SW9), 主要水型为 $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水。pH 值介于 6.96~8.54, 总体为弱碱性水。ORP 是地下水氧化还原环境的重要参数^[19], 已检测的 4 组样品中, 除 SW4 外, 其它均小于 100 mv, 说明部分水体中多数微生物群落进行无氧呼吸。DO 值在一定程度上可反映水体污染程度, 好氧微生物的代谢活动消耗水体中氧气, 导致 DO 偏低。SW2 点 DO 值最低, 为 2.28 mg/L, 该点位于胡良河旁, 在一定程度上受胡良河污染影响。浊度可直接反映地下水中悬浮物含量, 适合饮用的 III 类水浊度应 ≤ 3 NTU, 同时地下水中悬浮物为微生物提供附着点, 在一定程度上, 浊度越大越有利于微生物生存。

由表 1 知, 地下水样品中检测出的污染物主要为 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 。 NO_3^- 质量浓度介于 3.85~159.20 mg/L, 平均质量浓度为 75.42 mg/L, 该质量浓度已超过世界卫生组织 (WHO) 设定饮用水 NO_3^- -N 限定值 10 mg/L^[20]。点 SW3、SW9、SW6 和 SW4 水的 NO_3^- 质量浓度分别为 159.20、155.30、114.10 和 90.45 mg/L, 均超过我国地下水质量标准 (GB/T 14848—2017) III 类水 NO_3^- -N 限定值 20 mg/L^[21], 不再适合人类饮用。 SO_4^{2-} 质量浓度介于 22.44~321.00 mg/L, 平均质量浓度为 138.00 mg/L, 点 SW6 和 SW5 水的 SO_4^{2-} 质量浓度分别为 321.00 mg/L 和 278.80 mg/L, 超过我国地下水质量标准 (GB/T 14848—2017) III 类水设定值 250 mg/L, 已不再适合人类饮用。

表 1 地下水化学统计

Tab. 1 Characteristics of hydrochemistry

样品编号	地下水化学类型	pH	DO/ (mg·L ⁻¹)	浊度/ NTU	TDS/ (mg·L ⁻¹)	EC/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	ORP/ mv	NO_3^- / (mg·L ⁻¹)	SO_4^{2-} / (mg·L ⁻¹)
SW1	$\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$	7.69	5.44	1.10	549.3	786	75	6.61	53.20
SW2	$\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$	7.31	2.28	0	805.5	1 137	47	3.85	60.70
SW3	$\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$	6.96	4.97	7.90	985.7	1 340	92	159.20	139.80
SW4	$\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$	7.15	4.96	0	895.4	1 321	107	90.45	149.20
SW5	$\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$	7.61	5.62	16.40	1 184.0	1 683	—	80.96	278.80
SW6	$\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$	7.77	6.14	6.50	1 286.0	1 751	—	114.10	321.00
SW7	$\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$	7.98	4.87	2.50	573.3	853	—	47.60	81.15
SW8	$\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$	8.54	6.33	0.52	392.2	602	—	20.73	22.44
SW9	$\text{HCO}_3\text{-Ca}$	7.80	7.94	4.30	857.2	1 222	—	155.30	135.70

2.2 微生物群落多样性

本次测序, 共获取优化序列 319 244 条, SW1、SW2、SW3、SW4、SW5、SW6、SW7、SW8 和 SW9 分别获得 52 699、33 354、38 683、32 435、34 744、31 721、58 885 和 36 723 条序列。所以样品序列条数均超过 31 000 条, 序列平均长度介于为 395.4~

396.3 bp。测序结果按 97 % 相似度进行聚类, 共获得 4 836 个 OTU。选取 Chao 指数和 Shannon 指数绘制稀释曲线, 见图 2, 所有样品稀释曲线均趋于平缓, 说明测序数据可靠, 揭示物种全面^[22]。

由表 2 知, 反映测序覆盖程度的 Coverage 指数介于 0.982~0.997, 均在 98 % 水平以上, 说明本次测

试结果可靠。聚类共获 OTU 数目为 SW9(288) < SW5(973) < SW3(1 065) < SW4(1 243) < SW1(1 379) < SW2(1 668) < SW8(1 672) < SW6(1 676) < SW7(2 132)。由不同水型内样品 OTU 平均值知, 不同地下水化学类型中 OTU 数目呈 HCO₃-Ca·Mg 水(1 713) > HCO₃·Cl·SO₄-Ca 水(1 325) > HCO₃·Cl-Ca 水(1 154) > HCO₃-Ca 水(288)。

表 2 表示地下水样品中微生物群落 α 多样性指数, 其中, Sobs、Chao、Ace 用于分析地下水样微生物群落丰富度, 值越大表示物种越丰富; Shannon、

Simpson 指数反映微生物群落多样性, Shannon 指数越大则微生物群落多样性越高, Simpson 指数与 Shannon 指数表示意义相反。从采样点看, SW7 微生物群落多样性水平最高, 其次为 SW6、SW1、SW2, 样品 SW3、SW5、SW9 微生物群落多样性水平最低。从不同地下水化学类型看, 微生物多样性水平呈 HCO₃-Ca·Mg > HCO₃·Cl·SO₄-Ca > HCO₃·Cl-Ca > HCO₃-Ca, 即地下水化学类型越简单, 微生物群落多样性水平越低, 且 HCO₃·Cl·SO₄-Ca 和 HCO₃·Cl-Ca 水 α 多样性指数较为接近。

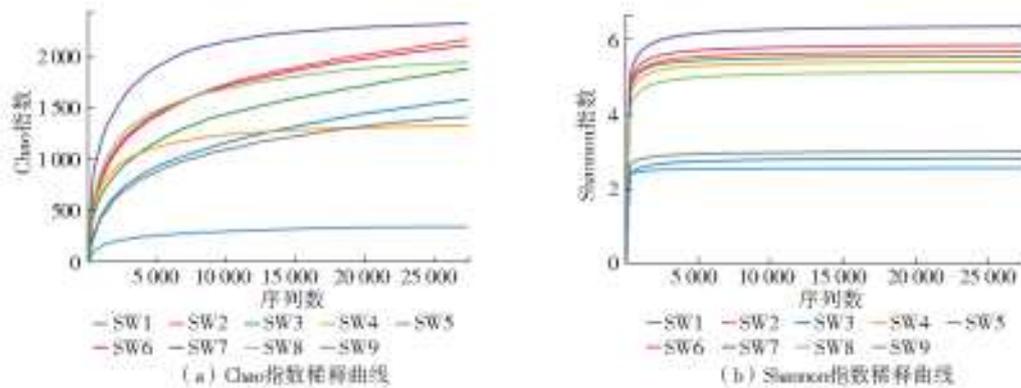


图 2 Chao 指数和 Shannon 指数稀释曲线

Fig. 2 Curves of Chao and Shannon indices

表 2 不同地下水化学类型 α 多样性指数

Tab. 2 Microbial α-diversity from different groundwater chemical types

水化学类型	样品编号	Sobs	Shannon	Simpson	Ace	Chao	Coverage
HCO ₃ -Ca·Mg	SW1	1 379	5.509	0.015	1 809.1	1 874.6	0.985
	SW2	1 668	5.629	0.011	2 122.6	2 159.0	0.982
	SW7	2 132	6.300	0.008	2 326.7	2 313.4	0.987
	SW8	1 672	5.093	0.057	1 925.3	1 933.2	0.986
	平均值	1 713	5.633	0.023	2 045.9	2 070.0	0.985
HCO ₃ ·Cl-Ca	SW3	1 065	2.798	0.288	1 836.2	1 576.4	0.984
	SW4	1 243	5.364	0.021	1 316.8	1 321.5	0.994
	平均值	1 154	4.081	0.155	1 576.5	1 449.0	0.989
HCO ₃ ·Cl·SO ₄ -Ca	SW5	973	2.981	0.162	1 464.0	1 407.8	0.985
	SW6	1 676	5.806	0.013	2 059.6	2 098.0	0.984
	平均值	1 325	4.394	0.088	1 761.8	1 752.9	0.985
HCO ₃ -Ca	SW9	288	2.535	0.129	338.7	335.4	0.997

2.3 微生物群落组成

合并丰度小于 1% 物种, other 表示合并物种相对总丰度。地下水样品门水平物种组成与丰度见图 3(a)。研究区地下水优势菌门为 Proteobacteria, Proteobacteria 在点 SW1、SW2、SW3、SW5、SW6、SW9 中丰度均超过 50%, 在 SW9 中丰度达 95.2%, 在 SW8 中丰度最小, 为 26.4%。

合并丰度小于 2% 物种, 地下水样品属水平物

种组成与丰度见图 3(b)。不同样品微生物群落组成与丰度差异较大, 整个研究区无明显优势菌属, SW5 优势菌属是 Pseudomonas 和 Acidovorax, 丰度分别为 32.4% 和 24.6%, SW9 优势菌属是 Hydrogenophaga 和 Pseudomonas, 丰度分别为 33.8% 和 31.3%, SW3 优势菌属为 Malikia, 相对丰度达 51.2%。SW7 无明显优势均属, 群落丰富度和均匀度明显好于其它样品。

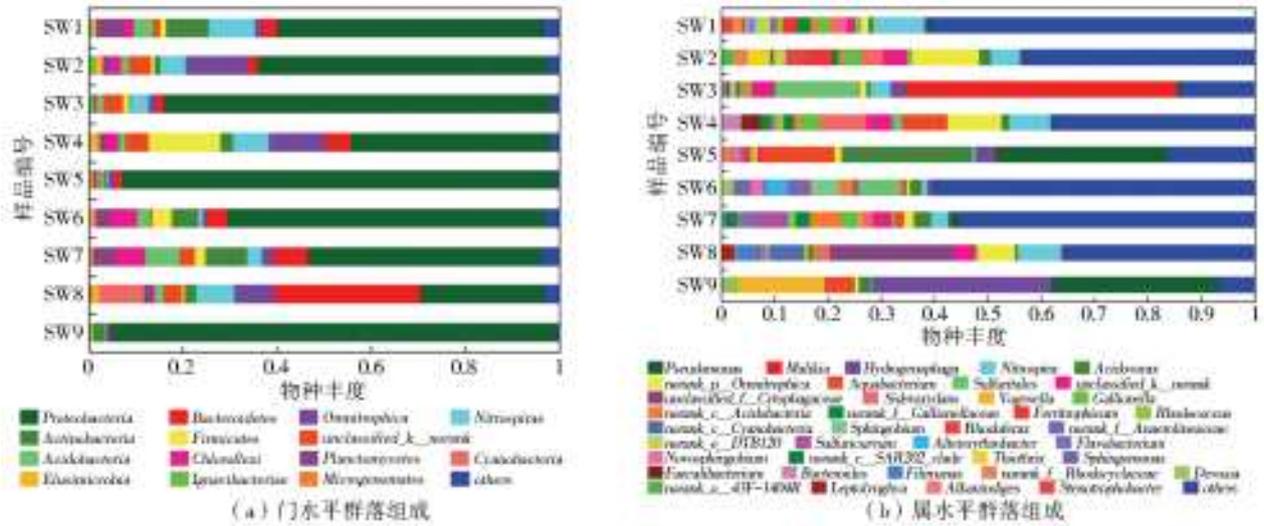


图3 门水平与属水平微生物群落组成

Fig. 3 Microbial community composition on phylum and genus level

2.4 地下水化学类型对微生物群落影响

为了分析不同地下水化学类型对微生物群落组成总体影响,据地下水化学类型可分 $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水 (SW1、SW2、SW7、SW8)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$ 水 (SW3、SW4)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ 水 (SW5、SW6) 和 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ 水 (SW9) 4 组。依据不同地下水化学类型中微生物菌属数量绘制韦恩图 (图 4)。由图 4 知,四种地下水化学类型中共有菌属数目为 113 个, $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水 (HCM)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$ 水 (HCIC)、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ 水 (HCISC) 和 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ (HC) 水特有菌属数目分别为 186、32、33 和 2 个。 $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水特有菌属数目远大于共有数目,其余 3 种水型特有菌属数目均小于共有数目,特别是 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ 水,仅为 2 个特有菌属。这表明, $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水微生物群落组成与 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$ 水和 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ 水差异较大,与 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ 水中微生物群落组成差异较小。因此,研究区水化学类型差异越大,微生物群落组成差异相对也越大。

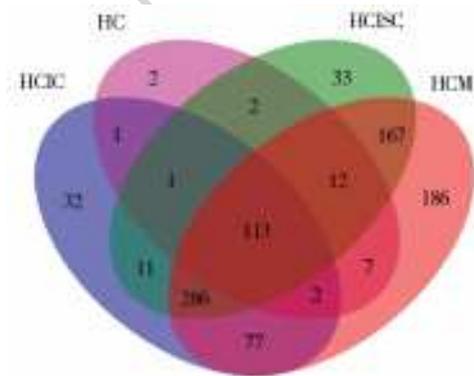


图4 样品属水平分布韦恩图

Fig. 4 Venn of genus levels

图 5 表示 4 种地下水化学类型共有菌属组成与

丰度情况,other 表示相对丰度小于 1.5% 菌属所占总丰度。共有菌属相对丰度超过 5% 有 *Pseudomonas* (11.96%)、*Hydrogenophaga* (7.60%)、*Nitrospira* (7.03%)、*Acidovorax* (6.71%)、*Omnitrophica* (6.57%) 和 *Aquabacterium* (5.46%)。总体看,这 6 种共有菌属相对丰度均低于 12%,是 4 种地下水化学类型中的优势菌属。值得注意的是, *Pseudomonas* 和 *Hydrogenophaga* 同属 *Proteobacteria* 门,均具有反硝化功能,且 *Pseudomonas* 是典型的反硝化作用菌株^[23],在地下水脱氮过程中具有重要意义^[24-25]。 *Pseudomonas* 在 SW5 和 SW9 丰度分别达 32.4%、31.3%,而 SW5 和 SW9 地下水样中 NO_3^- 质量浓度分别为 80.96 mg/L 和 155.3 mg/L,均超过世界卫生组织和美国分别公布饮用水 $\text{NO}_3^- < 44.3$ mg/L ($\text{NO}_3^- \text{-N} \leq 10$ mg/L) 和 $\text{NO}_3^- < 50.04$ mg/L ($\text{NO}_3^- \text{-N} \leq 11.3$ mg/L)^[20,26],较高丰度 *Pseudomonas* 表明 SW5 和 SW9 含水层具有一定反硝化能力^[27],在一定程度上抑制 SW5 和 SW9 点地下水 NO_3^- 污染加剧。

2.5 影响因子对微生物群落结构影响

影响因子之间可能存在一定自相关性,关系越密切相互干扰则越大,较高的自相关性不利于分析影响因子对微生物群落结构影响。通过计算方差膨胀因子 (VIF)^[18],可有效剔除影响因子间相互干扰。VIF 值越大,影响因子自相关性越强,当 VIF 大于 1 时,影响因子存在相互干扰,VIF 大于 5 时,需要对影响因子进行多重共现检查,通常 VIF 值超过 10,该影响因子意义不大^[28]。对 pH、DO、浊度、TDS 和 EC 进行筛选,最优筛选结果见表 3。筛选前 TDS 和 EC 参数 VIF 值均超过 150,剔除 TDS 后,

其它参数 VIF 值均小于 3, 整体优于筛选前各项 VIF 值, 自相关性明显降低。

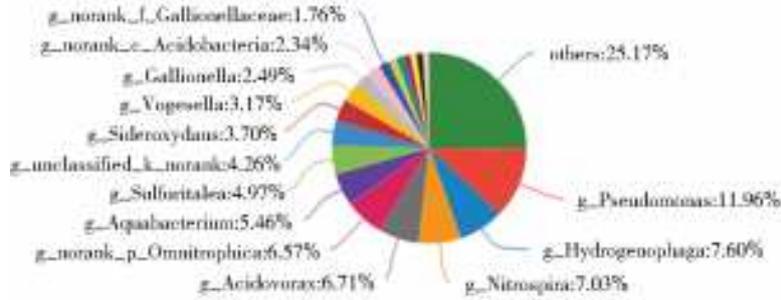


图 5 属水平共有微生物群落

Fig. 5 Pie-plot of microbial community at genus level

表 3 地下水化学因子筛选结果

Tab. 3 Screening results of groundwater chemicals

水化学因子	筛选前				
	DO	EC	pH	浊度	TDS
VIF 值	1.54	151.60	2.12	2.14	152.21
水化学因子	筛选后				
	DO	EC	pH	浊度	
VIF 值	1.54	2.88	2.11	2.13	

为了分析地下水样品、影响因子和微生物菌群之间的相关性, CCA 结果见图 6。从影响因子看, EC、浊度、DO 与 pH 夹角为钝角, 说明 EC、浊度、DO 与 pH 具有负相关性。从样品与影响因子关系看, 影响因子对地下水样品中微生物群落结构影响程度由大到小为浊度 > EC > DO > pH。浊度向量最长, 且与 CCA1 轴近乎平行, 是对地下水微生物群落结构影响最大的水化学因子。浊度越大, 表明含水层中包括泥沙、胶体、絮状物等在内的混浊物越多, 可为微生物提供良好的附着环境。SW4、SW6、SW7 与 pH 呈正相关, 相关性由强到弱依次为 SW7 > SW6 > SW4。点 SW3、SW5 和 SW9 与浊度、EC 和 DO 正相关性较强, SW3、SW5 和 W9 的 Shannon 值分别为 2.798、2.981 和 2.535, 是多样性最低的三组样品, 这三组样品浊度、EC 和 DO 平均值分别为 9.53 NTU、1 415 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 和 6.18 mg/L, 明显高于所有样品浊度、EC 和 DO 的平均值 4.36 NTU、1 188 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 和 5.39 mg/L, 这说明研究区地下水浊度、EC 和 DO 值较高可能是造成微生物群落多样性较低的一个原因。

从菌属与影响因子关系看, 菌属在影响因子向量上投影点至原点间距离大小, 表示该菌属与影响因子间相关性强弱。由图 5 可知, *Malikia*、*Pseudomonas*、*Vogesella*、*Hydrogenophaga* 分别与浊度和 EC 呈正相关关系, *Pseudomonas*、*Vogesella*、*Hydrogenophaga* 与 DO 呈正相关关系, 表明浊度、EC 和 DO 值在一定范围内增加有利于 *Pseudo-*

monas、*Vogesella*、*Hydrogenophaga* 菌属生长。以往报道中, *Hydrogenophaga* 常附着营养丰富的粉粘粒上, 促进 N_2O 和 CO_2 释放^[29], 这也反映出该菌属与浊度之间的正相关性。*Gallionella*、*Nitrospira* 与 pH 呈正相关关系, 但相关性相对较低, 说明 pH 在一定范围内增加有利于 *Gallionella*、*Nitrospira* 菌属生长。*Nitrospira* 是地下水较常见的硝化细菌, 通过氢氧化和亚硝酸氧化获得电子^[30-31], 而高浓度亚硝酸盐会抑制其代谢活动^[32], 最适生长的 pH 值介于 7.6~8.0^[33]。研究区地下水样中除 SW3 外均为弱碱性环境, 且 NO_2^- 积累量不超过 0.05 mg/L (SW5 样 NO_2^- 质量浓度最大为 0.004 4 mg/L), 有利于 *Nitrospira* 将 NO_2^- 转化为 NO_3^- , 这对地下水环境是不利的。

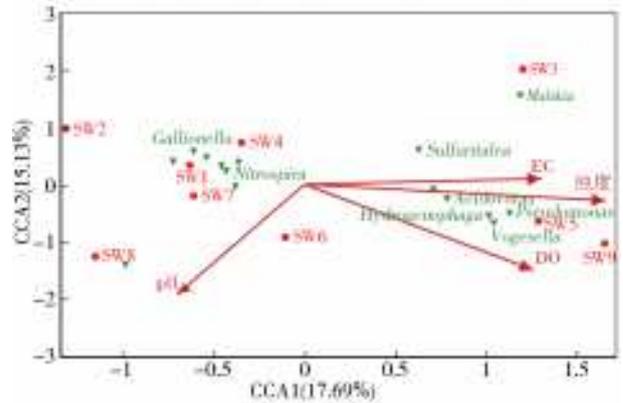


图 6 样品、水化学因子与微生物菌群关系 CCA 分析

Fig. 6 Canonical correlations among samples, hydrochemical indices and microbial community

3 结论

以琉璃河镇区域地下水微生物为研究对象, 通过分析地下水化学和微生物群落结构, 得出以下结论。

(1) 研究区地下水共有 $\text{HCO}_3-\text{Ca} \cdot \text{Mg}$ 、 $\text{HCO}_3 \cdot \text{Cl}-\text{Ca}$ 、 $\text{HCO}_3 \cdot \text{Cl} \cdot \text{SO}_4-\text{Ca}$ 和 HCO_3-Ca 水 4 种水型, 主要水型为 $\text{HCO}_3-\text{Ca} \cdot \text{Mg}$ 水。SW3、SW9、SW6 和 SW4 水的 NO_3^- 质量浓度分别为 159.20、

155.30、114.10 和 90.45 mg/L, SW6 和 SW5 的 SO_4^{2-} 质量浓度分别为 321.00 mg/L 和 278.80 mg/L, 已不再适合人类饮用。

(2) 不同地下水化学类型微生物多样性水平呈 $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg} > \text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca} > \text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca} > \text{HCO}_3\text{-Ca}$, 即呈地下水化学类型越简单, 微生物群落多样性水平越低趋势。

(3) 研究区地下水优势菌门是 *Proteobacteria*, 但无明显优势菌属, SW5 优势菌属是 *Pseudomonas* 和 *Acidovorax*, SW9 优势菌属是 *Hydrogenophaga* 和 *Pseudomonas*, SW3 优势菌属是 *Malikia*。

(4) 不同地下水化学类型对微生物群落结构具有一定影响, 不同地下水化学类型中共有菌属数目为 113 个, $\text{HCO}_3\text{-Ca}\cdot\text{Mg}$ 水、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl-Ca}$ 水、 $\text{HCO}_3\cdot\text{Cl}\cdot\text{SO}_4\text{-Ca}$ 水和 $\text{HCO}_3\text{-Ca}$ 水特有菌属数目分别为 186、32、33 和 2 个, 且水化学类型差异越大, 微生物群落组成差异相对也越大。共有菌属中优势菌属是 *Pseudomonas* (11.96%)、*Hydrogenophaga* (7.60%)、*Nitrospira* (7.03%)、*Acidovorax* (6.71%)、*Omnitrophica* (6.57%) 和 *Aquabacterium* (5.46%)。

(5) 影响因子对地下水样品微生物群落影响程度为 浊度 $>$ EC $>$ DO $>$ pH, 研究区地下水浊度、EC 和 DO 值较高可能是造成微生物群落多样性水平较低的一个原因, EC 和 DO 值在一定范围内增加有利于 *Pseudomonas*、*Vogesella*、*Hydrogenophaga* 菌属生长, pH 适度增加有利于 *Gallionella*、*Nitrospira* 菌属生长。

参考文献(References):

- [1] DAVIS J W, KLIER N J, CARPENTER C L. Natural biological attenuation of benzene in ground water beneath a manufacturing facility[J]. *Groundwater*, 1994, 32(2): 215-226. DOI: 10.1111/j.1745-6584.1994.tb00636.x.
- [2] NOBRE R C, NOBRE M M. Natural attenuation of chlorinated organics in a shallow sand aquifer[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2004, 110(1-3): 129-137. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2004.02.046.
- [3] CORSEUIL H X, MONIER A L, GPMES A P N, et al. Biodegradation of soybean and castor oil biodiesel: implications on the natural attenuation of monoaromatic hydrocarbons in groundwater[J]. *Ground Water Monitoring & Remediation*, 2011, 31(3): 111-118. DOI: 10.1111/j.1745-6592.2011.01333.x.
- [4] 蔡婧怡, 陈宗宇, 蔡五田, 等. 某石化污染场地含水层自然降解 BTEX 能力评估[J]. *现代地质*, 2015, 29(2): 383-389. (CAI J Y, CHEN Z Y, CAI W T, et al. The assessment of aquifer natural attenuation (BTEX) capacity in a petrochemical contaminated site[J]. *Geoscience*, 2015 29(2): 383-389 (in Chinese)) DOI: 10.3969/j.issn.1000-8527.2015.02.023.
- [5] DANIELOPOL D L, POSPISIL P, ROUCH R. Biodiversity in groundwater: a large-scale view[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2000, 15(6): 223-224. DOI: 10.1016/s0169-5347(00)01868-1.
- [6] GRIEBLER C, LUEDERS T, GIBERT J, et al. Microbial biodiversity in groundwater ecosystems[J]. *Freshwater Biology*, 2010, 54(4): 649-677. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2008.02013.x.
- [7] MA J, RIXEY W G, ALVAREZ P J J. Increased fermentation activity and persistent methanogenesis in a model aquifer system following source removal of an ethanol blend release[J]. *Water Research*, 2015, 68: 479-486. DOI: 10.1016/j.watres.2014.10.023.
- [8] MA J, NOSSA C W, ALVAREZ P J J. Groundwater ecosystem resilience to organic contaminations: microbial and geochemical dynamics throughout the 5-year life cycle of a surrogate ethanol blend fuel plume[J]. *Water Research*, 2015, 80: 119-129. DOI: 10.1016/j.watres.2015.05.003.
- [9] 刘雅慈. 包气带中洛克沙肿降解的微生物作用机理研究[D]. 北京: 中国地质科学院, 2017. 20-76. (LIU Y C. Microbial mechanism of roxarsone degradation in vadose zone[D]. Chinese Academy of Geological Science(Beijing), 2017. 20-76. (in Chinese))
- [10] CHOI H M, LEE J Y. Groundwater contamination and natural attenuation capacity at a petroleum spilled facility in Korea[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(10): 1650-1659. DOI: 10.1016/s1001-0742(10)60568-2.
- [11] LI M, ORGEN E T V, DEVRIES D J, et al. Bench-scale biodegradation tests to assess natural attenuation potential of 1,4-dioxane at three sites in California[J]. *Biodegradation*, 2015, 26(1): 39-50. DOI: 10.1007/s10532-014-9714-1.
- [12] ZHANG P, VAN NOSTAND J D, HE Z, et al. A slow-release substrate stimulates groundwater microbial communities for long-term in-situ Cr(VI) reduction[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(21): 12922-12931. DOI: 10.1021/acs.est.5b00024.
- [13] ZHANG P, WU W M, VAN NOSTAND J D, et al. Dynamic Succession of Groundwater Functional Microbial Communities in Response to Emulsified Vegetable Oil Amendment during Sustained In Situ U(VI) Reduction[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2015, 81(12): 4164-4172. DOI: 10.1128/aem.00043-15.
- [14] LIEN P J, YANG Z H, CHANG Y M, et al. Enhanced bioremediation of TCE-contaminated groundwater with coexistence of fuel oil: Effectiveness and mechanism study[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016,

- 289;525-536. DOI:10.1016/j.cej.2016.01.011.
- [15] 李军.高通量测序技术及其在地下水污染研究中的应用[D].北京:中国地质科学院,2018.40-41.(LI J. High-throughput sequencing technology and its application in contamination of groundwater[D]. Chinese Academy of Geological Science(Beijing),2018.40-41. (in Chinese)).
- [16] YUSOFF M Z M, HU A, FENG C, et al. Influence of pretreated activated sludge for electricity generation in microbial fuel cell application[J]. *Bioresource technology*, 2013, 145: 90-96. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.03.003.
- [17] 徐飞,蔡体久,杨雪,等.三江平原沼泽湿地垦殖及自然恢复对土壤细菌群落多样性的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(22): 7412-7421. (XU F, CAI T J, YANG X, et al. Effect of cultivation and natural restoration on soil bacterial community diversity in marshland in the Sanjiang Plain[J]. *Acta Ecology Sinica*, 2016 36(22): 7412-7421. (in Chinese)) DOI: 10.5846/stxb201601040015.
- [18] GARCIA C B, GARCIA J, MARTIN M M, et al. Collinearity; revisiting the variance inflation factor in ridge regression[J]. *Journal of Applied Statistics*, 2015, 42(3): 648-661. DOI:10.1080/02664763.2014.980789.
- [19] 赵焕,王仕琴,孔晓乐,等.华北低山丘陵区潜龙河流域地下水水质特征及成因分析[J]. *水文地质工程地质*, 2016, 43(2): 17-24. (ZHAO H, WANG S Q, KONG X L, et al. A study of the water quality characteristics and factors in the Zhulong River basin in the hilly region of North China[J]. *Hydrogeology and Engineering Geology*, 2016, 43(2): 17-24. (in Chinese)) DOI: 10.16030/j.cnki.issn.1000-3665.2016.02.03.
- [20] World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Vol. 1, (3rd Ed) [M]. World Health Organization, 2008.
- [21] GB/T 14848-2017. 地下水质量标准[S]. GB/T 14848—2017. Groundwater quality standard[S]. (in Chinese)
- [22] 蔡萍萍,宁卓,何泽,等.采油井场土壤微生物群落结构分布[J]. *环境科学*, 2018, 39(7): 1-14. (CAI P P, NING Z, HE Z, et al. Microbial community distribution in soils of an oil exploitation site[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(7): 1-14. (in Chinese)) DOI:10.13227/j.hjlx.201711233.
- [23] 康鹏亮,黄廷林,张海涵,等.西安市典型景观水体水质及反硝化细菌种群结构[J]. *环境科学*, 2017, 38(12): 5174-5183. (KANG P L, HUANG T L, ZHANG H H, et al. Water quality and diversity of denitrifier community structure of typical scenic water bodies in Xi'an[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(12): 5174-5183. (in Chinese)) DOI:10.13227/j.hjlx.201703179.
- [24] JI B, WANG H, YANG K. Nitrate and COD removal in an upflow biofilter under an aerobic atmosphere[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 158(2): 156-160. DOI:10.1016/j.biortech.2014.02.025.
- [25] ZHOU M, YE H, ZHAO X. Isolation and characterization of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas stutzeri* KTB for bioremediation of wastewater[J]. *Biotechnology & Bioprocess Engineering*, 2014, 19(2): 231-238. DOI: 10.1007/s12257-013-0580-1.
- [26] 郇环,王金生,赖德胜.松花江吉林段沿岸浅层地下水硝酸盐污染特征和影响因素分析[J]. *南水北调与水利科技*, 2014, 12(6): 6-11. (HUAN H, WANG J S, LAI D S. Characteristics and influencing factors of nitrate pollution in shallow groundwater at Jilin section of Songhua River[J]. *South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology*, 2014, 12(6): 6-11. (in Chinese)) DOI:10.13476/j.cnki.nsb-dqk.2014.06.002.
- [27] KAVITHA S, SELVAKUMAR R, SATHISHKUMAR M, et al. Nitrate removal using *Brevundimonas diminuta* MTCC 8486 from ground water. [J]. *Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2009, 60(2): 517-524.
- [28] VU D H, MUTTAQI K M, AGALGAONKAR A P. A variance inflation factor and backward elimination based robust regression model for forecasting monthly electricity demand using climatic variables[J]. *Applied Energy*, 2015, 140: 385-394. DOI:10.1016/j.apenergy.2014.12.011.
- [29] SPRING S, WAGNER H P, KAMPFER P. *Malikia granosa* gen. nov. sp. nov. a novel polyhydroxyalkanoate- and polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sludge, and reclassification of *Pseudomonas spinosa* as *Malikia spinosa* comb. nov. [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, 55(2): 621-629. DOI: 10.1099/ijs.0.63356-0.
- [30] KOCH H, GALUSHKO A, ALBERTSEN M, et al. Growth of nitrite-oxidizing bacteria by aerobic hydrogen oxidation[J]. *Science*, 2014, 345(6200): 1052-1054. DOI:10.1126/science.1256985.
- [31] KOCH H, LUCKE S, ALBERTSEN M, et al. Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(36): 11371-11376. DOI:10.1073/pnas.1506533112.
- [32] FUJITANI H, USHIKI N, TSUNEDA S, et al. Isolation of sublineage I *Nitrospira* by a novel cultivation strategy[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 16(10): 3030-3040. DOI:10.1111/1462-2920.12248.
- [33] EHRICH S, BEHRENS D, LEBEDEVA E, et al. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship [J]. *Archives of Microbiology*, 1995, 164(1): 16-23. DOI:10.1007/s002030050230.