

我国南北不同地域自备水源水质指标及微生物群落结构特征比较

林凯宗¹, 白淼^{1,2}, 王玥¹, 江海溶¹, 张灿^{3*}, 张传福², 张明露^{1*}

(1. 北京工商大学生态环境学院, 北京 100048; 2. 中国人民解放军疾病预防控制中心, 北京 100071;
3. 北京建筑大学环境与能源工程学院, 北京 102616)

摘要: **目的** 比较我国南北不同地域自备水源的水质指标及微生物群落结构特征, 评价其安全性。**方法** 本研究对我国南北 5 省边远散地域(北京郊区、黑龙江边境地域、内蒙古偏远地域、广西边境地域和云南边境地域)的 317 个自备水源进行采样, 对浑浊度、总硬度和 pH 等水质指标进行分析, 以高通量测序法对水样的微生物群落结构进行解析。**结果** 不同地域自备水源的水质和微生物群落结构存在较大的差异性, 内蒙古偏远地域的阴离子指标最大值超标严重, 在内蒙古-东和内蒙古-西两组水样中 SO_4^{2-} 最大浓度值分别为 543.12 和 666.33 mg/L, Cl^- 与 NO_3^- 也存在超标情况。变形菌门(Proteobacteria)是 5 省自备水源水样的第一优势菌门, 其相对丰度为 56.87%~99.38%。具有一定致病性的短波单胞菌(*Brevundimonas*)在各个样品中广泛分布(1.50%~27.27%)。反硝化过程的典型菌株假单胞菌(*Pseudomonas*)存在于北京、黑龙江和内蒙古水样中(2.96%~38.41%), 广西和云南并未检出。北京、黑龙江和内蒙古水样中各种功能表达基因的数量远高于广西和云南水样。**结论** 我国南北 5 省自备水源在水质和微生物群落特征方面均存在差异; 较之南方自备水源, 北方自备水源普遍受到了人类活动的影响。

关键词: 自备水源; 高通量测序; 环境因子; 微生物群落; 功能基因

Comparison of water quality indexes and microbial community structure characteristics of self-contained water sources in different regions of north and south China

LIN Kai-Zong¹, BAI Miao^{1,2}, WANG Yue¹, JIANG Hai-Rong¹, ZHANG Can^{3*},
ZHANG Chuan-Fu², ZHANG Ming-Lu^{1*}

(1. School of Ecology and Environment, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;
2. Center for Disease Control and Prevention of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100071, China; 3. School of Environment and Energy Engineering, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 102616, China)

基金项目: 国家自然科学基金项目(52070193)、北京市自然科学基金项目(8192053)、应用基础研究项目(20BJZ17)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (52070193), the Natural Science Foundation of Beijing Province (8192053), and the Applied Basic Research Programs (20BJZ17)

*通信作者: 张 灿, 副研究员, 主要研究方向为饮用水水质安全、水处理技术。E-mail: zhangcancqu@163.com

张明露, 博士, 教授, 主要研究方向为环境微生物、饮用水消毒和安全保障。E-mail: zhangminglu@th.btbu.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Can, Associate Professor, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, No.15, Yongyuan Road, Daxing District, Beijing 102616, China. E-mail: zhangcancqu@163.com

ZHANG Ming-Lu, Ph.D, Professor, Beijing Technology and Business University, No.11, Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. E-mail: zhangminglu@th.btbu.edu.cn

ABSTRACT: Objective To compare the water quality indexes and microbial community structure characteristics of self-contained water sources in different regions of north and south China and evaluate their safety. **Methods** This study sampled 317 self-contained water sources in remote areas (Beijing suburbs, Heilongjiang border areas, Inner Mongolia remote areas, Guangxi border areas and Yunnan border areas) of 5 provinces in north and south China, and analyzed water quality indicators such as turbidity, total hardness and pH. The microbial community structure of water samples was analyzed by high-throughput sequencing method. **Results** There were great differences in water quality and microbial community structure of self-contained water sources in different regions. The maximum value of anion index in remote areas of Inner Mongolia exceeded the standard seriously. The maximum concentration of SO_4^{2-} in water samples from Inner Mongolia-east and Inner Mongolia-west were 543.12 and 666.33 mg/L, respectively, the concentration of Cl^- and NO_3^- also exceeded the standard. Proteobacteria was the first dominant phylum in the water samples of self-contained water sources in the 5 provinces, and the relative abundance was 56.87%–99.38%. *Brevundimonas* with certain pathogenicity was widely distributed in various samples (1.50%–27.27%). *Pseudomonas*, a typical denitrifying bacterium, existed in water samples from Beijing, Heilongjiang and Inner Mongolia (2.96%–38.41%), but was not detected in Guangxi and Yunnan. The numbers of functional expression genes in water samples from Beijing, Heilongjiang and Inner Mongolia were much higher than that in Guangxi and Yunnan. **Conclusion** There are differences in water quality and microbial community characteristics of self-contained water sources in the 5 provinces of north and south China, compared with the southern self-contained water sources, the self-contained water sources in the north are generally affected by human activities.

KEY WORDS: self-contained water source; high-throughput sequencing; environmental factor; microbial community; functional gene

0 引言

我国的边远散地域,自备水源仍在广泛应用,其种类主要包括自备井和自备地表水源。各地域自备水源来源广泛,且未经过城市给水系统的处理,存在较多隐患,使得边远散地域居民饮水安全受到了极大威胁。据报道,北京自备井水源的细菌内毒素含量与溶解性有机碳、浑浊度等水质参数存在一定程度的正相关性^[1]。内蒙古自治区自备井水源的微生物指标超标,且部分地区存在氟化物超标的情况^[2]。黑龙江省东部边境地区自备水源合格率低,菌落总数和总大肠菌群超标严重^[3]。云南东南部喀斯特地区自备水的硅、锰超标,微生物污染较重^[4]。我国西北自备水的优势菌属大多为具有脱氮除磷功能的反硝化菌和异养硝化-好氧反硝化菌,且微生物群落结构受不同环境因子的影响较大^[5]。现阶段对自备水源的研究多集中在某一地域的水质参数和微生物量是否超标,对地域之间的水质差异以及水质指标与微生物群落之间的关系研究较少。微生物是水环境的重要组成部分,水质的差异会影响水中微生物群落的分布,因此微生物可以被用作指示生物,用以监测和反应水质情况^[6-7]。微生物群落还能通过自身代谢促进水环境污染物的降解,在维持水环境稳定性的同时,对水环境的破坏性很小^[8]。此外,我国

南北不同地域地下水水质及微生物群落结构存在一定差异^[2,4,9-10]。因此,研究不同地域自备水源水质与微生物群落结构之间的关系可以更好地解释各地自备水源水质存在的问题。

现代技术的发展为DNA测序提供了坚实的基础,微生物群落的研究也因此从生理生化等传统分析方法转向快速简单的高通量测序技术,高通量测序法发展至今,已经成为一种常规的实验技术,是微生物群落分析的通用方法^[11]。本研究选取我国南北5省边远散地域(北京郊区、黑龙江边境地域、内蒙古偏远地域、广西边境地域、云南边境地域)的317个自备水源进行采样,进行水质指标测定以及微生物群落结构特征分析,揭示地域环境因子与饮用水微生物群落、功能基因表达的关系,旨在为保障我国边远散地域自备水源的饮水安全提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样点与水样采集

于2017年采集我国南北5省边远散地域(北京郊区、黑龙江边境地域、内蒙古偏远地域、广西边境地域和云南边境地域)的自备水源水样。由于黑龙江和内蒙古的采样地域沿线较长,所以分为东西两组。黑龙江-东是抚远及其以南边境地域;黑龙江-西是漠河及其以西边境地域;内蒙古

-东是呼伦贝尔的偏远地域;内蒙古-西是包头及巴彦淖尔的偏远地域。广西和云南采样地域均为其边境地域。北京采样地域为北京郊区。

共采集 317 份自备水源(包括地表水和浅层地下水)进行研究,其中北京 46 份、黑龙江-东 60 份、黑龙江-西 61 份、内蒙古-东 21 份、内蒙古-西 18 份、广西 20 份、云南 91 份。水样的采集、保存、运输以及检验按照 GB/T 5750—2006《生活饮用水标准检验方法》进行。

1.2 试剂与仪器

氯化钠、硫酸钾、硝酸钾、乙二胺四乙酸二钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

Hach2100Q 便携式浊度仪(哈希水质分析仪器有限公司);STARTER 3100 实验室 pH 计(美国 OHAUS 公司);ICS-2100 离子色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Agilent7900 电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 水质指标测定

水质检测指标共 11 项,其中包括 1 项感官性状指标:浑浊度;9 项一般化学指标:钙离子(Ca^{2+})、钾离子(K^+)、镁离子(Mg^{2+})、钠离子(Na^+)、pH、溶解性总固体(total dissolved solids, TDS)、总硬度、硫酸盐(SO_4^{2-})、氯化物(Cl^-);1 项毒理学指标:硝酸盐(NO_3^-),各指标测定方法参考相关文献^[2-3,10]。

1.3.2 样品 DNA 提取及高通量测序

样品 DNA 提取采用 DP328 DNA 提取试剂盒提取,操作按照试剂盒说明书进行。对 16S rRNA 基因的 V3~V4 区片段进行 PCR 扩增,引物序列为:正向引物 B341F-CCTACGGGNGGCWGCAG 和反向引物 B785R-ACTACHVGGGTATCTAATCC。反应条件为预变性 95 °C 3 min,变性 95 °C 30 s,循环 25 次,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,72 °C 最终延伸 5 min。使用 Qubit Fluorometer 检测文库 DNA 质量浓度,大于 1.0 ng/ μL 为合格;使用 Qseq100 DNA Analyzer 检测文库 DNA 长度分布,符合目的片段长度、单一峰、无接头峰和大片段峰则认为合格;用 KAPA Library Quantification Kit 对文库 DNA 的摩尔浓度进行定量,以此作为文库混合的标准。将文库混合、变性后,加入到 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量并行测序。

1.3.3 数据分析

使用 vsearch 软件对原始下机数据进行质控和过滤,以 97% 的相似性对序列进行聚类,相似度大于 97% 的序列将聚为同一个操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs),同时使用 denovo 模式去除嵌合体序列,最终产生的 OTUs 代表序列将用于后续物种注释。使用 mothur 软件找出与 OTUs 序列相似度最高且可信度达

80% 以上的物种信息用于 OTUs 的分类学注释。使用 mothur 计算各样本多样性指数,Chao、ACE 指数常用来估计物种总数,二者的数值越大表明微生物群落的丰富度越高,香农(Shannon)和辛普森(Simpson)指数可用来表示微生物群落的多样性,Shannon 指数越高,表明群落的多样性越高,Simpson 指数则与之相反。基于 unifracc 距离算法进行主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)分析。通过 CANOCO 软件绘制 RDA 图,并分析微生物群落结构与环境因子的关系。基于细菌相对丰度数据,利用 Excel 绘制柱状图,揭示微生物群落组成。根据 KEGG 数据库中微生物代谢功能的分类,对各水样微生物群落进行功能基因预测。

2 结果与分析

2.1 水质指标

自备水源水样的理化指标统计结果如表 1 所示,pH 介于 4.85~8.77,从中位数来看,各地域水样 pH 中位数为 6.90~8.04,呈中性偏弱碱性。从感官性状方面来看,各地域水样浑浊度大都未超过 GB 5749—2006 中的浑浊度限值 1(水源与净水技术条件限制时为 3),其中,内蒙古-东、黑龙江-东和广西水样浑浊度中位数大于 1 但未超过 3。浑浊度是居民评价饮用水总体质量好坏的最直接根据,有机物、无机物、浮游生物、微生物、泥土等均有可能引起饮用水浑浊度增高^[12-13],对于浑浊度超标的水样,可采用石英砂滤或者保安滤芯等净化工艺^[10],以保证饮用水安全,浑浊度低则有利于饮用水的杀菌消毒。综上,从感官性状方面来讲,各地自备水源具有作为饮用水的基础条件。

水样中的常规阳离子主要包括 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Na^+ ,其质量浓度介于 0.30~942.82 mg/L,阳离子的变化主要影响水样的 TDS 和总硬度。通过分析中位数可得,内蒙古水样中阳离子浓度普遍高于其他地域,内蒙古-西水样中 Ca^{2+} (36.61 mg/L)、 K^+ (3.24 mg/L)、 Mg^{2+} (37.86 mg/L) 和 Na^+ (193.35 mg/L) 的质量浓度为所有水样中的最高值,内蒙古-东水样的 TDS (455.00 mg/L) 最大。此外,内蒙古地区水样的总硬度、 Na^+ 浓度及 TDS 最大值超标。广西水样中阳离子的水平整体偏低, K^+ (0.94 mg/L)、 Mg^{2+} (3.23 mg/L) 的浓度中位数是所有水样中最低值。黑龙江水样的阳离子浓度相近,黑龙江-东的 Ca^{2+} 浓度(13.84 mg/L)为所有水样的最低 Ca^{2+} 浓度。云南水样的 Na^+ 浓度(1.14 mg/L)最低。水的硬度主要是由溶解于水的多价金属离子形成,从总体看北方自备水源的硬度高于南方自备水源,北京水样的总硬度(259.50 mg/L)最高,长期饮用高硬度水会影响心血管系统、消化系统和泌尿系统^[14],因此,需采取一定的措施降低水源水硬度。

表1 水样理化指标统计表(最小值~最大值;中位数)
Table 1 Statistical table of physical and chemical indexes of water samples (Min-Max; Mean)

不同地区水样	北京	黑龙江-东	黑龙江-西	内蒙古-东	内蒙古-西	广西	云南
pH	6.28~7.99; 6.90	6.09~8.11; 7.14	6.73~8.77; 7.27	6.80~8.32; 7.14	7.00~8.29; 7.68	5.07~8.40; 8.04	4.85~8.50; 6.98
TDS/(mg/L)	15.00~517.00; 324.50	1.00~357.00; 115.00	19.00~415.00; 172.00	88.00~1637.00; 455.00	4.00~1996.00; 43.00	16.00~239.00; 94.00	4.00~303.00; 107.00
浑浊度/NTU	0.15~4.10; 0.45	0.22~46.80; 1.13	0.12~8.90; 0.63	0.30~77.30; 1.83	0.14~7.87; 0.32	1.50~60.70; 3.00	0.10~10.00; 1.00
总硬度/(mg/L)	0.50~382.00; 259.50	0.25~328.00; 102.00	14~294.00; 84.00	30.00~1008.00; 244.00	0.25~506.00; 29.00	14.00~252.00; 84.00	7.00~406.00; 107.00
Ca ²⁺ /(mg/L)	4.16~34.22; 20.61	1.50~51.58; 13.84	1.02~51.95; 16.48	3.47~104.49; 16.47	7.78~207.36; 36.61	2.37~39.88; 14.45	1.08~65.12; 16.83
K ⁺ /(mg/L)	1.02~1.98; 1.36	0.80~3.69; 1.04	0.98~13.36; 1.26	1.02~4.72; 2.33	1.25~14.42; 3.24	0.30~6.83; 0.94	0.39~6.42; 0.95
Mg ²⁺ /(mg/L)	1.26~44.90; 22.17	1.13~37.81; 6.78	1.85~27.49; 7.96	4.57~120.00; 25.47	8.62~83.59; 37.86	1.84~11.91; 3.23	1.10~37.16; 4.35
Na ⁺ /(mg/L)	2.62~91.48; 36.23	1.74~53.98; 11.43	2.96~134.66; 15.93	2.50~631.99; 80.79	33.19~942.82; 193.35	1.60~44.96; 2.87	0.45~13.65; 1.14
NO ₃ ⁻ /(mg/L)	0.01~12.64; 3.47	0.01~17.60; 0.80	0.01~26.00; 1.30	0.26~114.96; 3.67	0.01~13.22; 0.86	0.07~1.70; 0.63	0.01~23.20; 0.70
Cl ⁻ /(mg/L)	0.35~73.50; 36.82	0.50~52.53; 7.13	0.89~64.38; 15.00	2.23~492.54; 31.16	0.68~783.49; 13.75	0.58~32.63; 1.64	0.37~25.73; 1.09
SO ₄ ²⁻ /(mg/L)	0.32~139.17; 66.08	0.50~55.76; 14.09	1.43~70.62; 21.10	2.57~543.12; 71.40	0.47~666.33; 4.07	0.67~8.54; 5.35	0.24~43.54; 4.94

GB 5749—2006 规定, 饮用水中 SO₄²⁻和 Cl⁻的限值为 250 mg/L, NO₃⁻的限值为 10 mg/L(地下水源限值时为 20 mg/L), 各地域水样中 3 种阴离子指标中位数皆未超过限值。从整体来看, 水样中含量最大的阴离子为 SO₄²⁻, 其质量浓度介于 0.24~666.33 mg/L, 其次为 Cl⁻, 浓度范围为 0.35~783.49 mg/L, 浓度最低的为 NO₃⁻, 介于 0.01~114.96 mg/L。以上 3 种阴离子的最高质量浓度中位数皆出现在北京和内蒙古-东水样中, 例如 SO₄²⁻在北京和内蒙古-东水样中的质量浓度中位数分别为 66.08 和 71.40 mg/L, 远高于其他水样的 SO₄²⁻浓度中位数值。在内蒙古-东和内蒙古-西两组水样中 SO₄²⁻最大浓度值分别为 543.12 和 666.33 mg/L, Cl⁻与 NO₃⁻也存在超标情况, 由此可见, 内蒙古偏远地域的阴离子指标最大值超标严重。云南和广西水样中, Cl⁻和 NO₃⁻的含量相差很小, 且浓度中位数值低于其他水样, SO₄²⁻的最低质量浓度中位数值(4.07 mg/L)出现在内蒙古-西水样中, 但云南和广西水样中的 SO₄²⁻浓度中位数也很低, 分别为 4.94 和 5.35 mg/L。以上结果表明北京和内蒙古-东部自备水源受 SO₄²⁻、NO₃⁻和 Cl⁻的污染较严重, 一方面可能是某些地域的地球化学污染引起, 另一方面则可能是自备水源已经受到工业生产和人类活动的污染^[15]。长期饮用 SO₄²⁻超标的水, 会使胃液酸度下降, 并引起腹泻及消化不良等症状。水中 Cl⁻超标会加重肾脏负担, 并对胃黏膜造成直接损伤。可采用离子交换树脂、电去离子或反渗透膜工艺处理 SO₄²⁻和 Cl⁻超标的水源水^[10]。NO₃⁻在自然界水体环境中一般不会超过 3 mg/L, 人类活动极易引起

NO₃⁻污染, 如氮肥的使用以及生活污水的排放等。内蒙古-东、黑龙江-西和云南水样均有 NO₃⁻值超过 20 mg/L 的情况, 说明某些自备水源已经收到污染, 需要更换水源或者进行治理。

2.2 自备水源微生物群落结构分析

2.2.1 微生物群落 Alpha 多样性分析

自备水源水样的微生物群落 Alpha 多样性指数如表 2 所示, 反应测序深度的覆盖度指数均在 99%以上, 表明测序结果可靠, 可以较为真实、准确地描述样本微生物群落信息^[16]。Shannon 值越大, 群落多样性越高, Simpson 则与之相反^[17-18]。北京和云南水样的 Shannon 较大, Simpson 较小, 说明这两个地域的微生物群落多样性较高, 黑龙江-东水样的 Shannon 最小且 Simpson 最大, 说明该地域的微生物群落多样性最低。ACE、Chao 通常用于估计样本中微生物群落丰富度, 两者值越大代表物种越多^[19], 因此可以看出黑龙江-西水样中的微生物群落组成最丰富, 广西水样的微生物群落丰富度最小。

2.2.2 微生物群落组成分析

从自备水源水样共获得 725 个 OTUs, 包括 14 个门, 28 个纲, 56 个目, 110 个科以及 208 个属。门水平微生物群落组成结构如图 1 所示。变形菌门(Proteobacteria)在 5 省水样中的丰度值均为最高, 是各地域水样的优势菌门, 其相对丰度为 56.87%~99.38%。但不同地域中其他主要菌门不同, 除云南外, 拟杆菌门(Bacteroidetes)和放线菌门(Actinobacteria)均为 Proteobacteria 之后的优势菌门, 而疣

微菌门(Verrucomicrobia)为云南水样的第二优势菌门,其相对丰度为 30.21%, Bacteroidetes 的丰度位于 Verrucomicrobia 之后,其值为 10.27%。各地域水样在门水平上的微生物群落结构组成差异不大。李军等^[15]报道 Proteobacteria 是不同深度地下水中的优势菌门。秦宇等^[20]报道 Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes 是三峡库区中段水体中的优势菌门。Bacteroidetes 能够参与降解溶解有机物^[21],说明北京、黑龙江、内蒙古和云南四省的水样中存在一定的有机污染,能够为 Bacteroidetes 提供有利的生长环境。

属水平上,各水样中相对丰度大于 1%的菌属共有 38 个,水样菌群组成如图 2 所示。短波单胞菌(*Brevundimonas*)在北京水样丰度最高,达到 27.27%,其次为丛毛单胞菌(*Comamonadaceae*) (12.87%)和鞘脂菌(*Sphingobium*) (9.16%),其中,*Brevundimonas* 在黑龙江-东、黑龙江-西、内蒙古-东和内蒙古-西水样中也作为优势菌属,丰度分别为 10.12%、21.38%、17.34%和 14.80%,在广西、云南两地的水样中丰

度低于 10%。黑龙江-东水样中丰度最高的菌属为黄海鞘氨醇杆菌(*Sphingorhabdus*),其丰度达到 54.38%,远高于其他菌属,其次为假单胞菌(*Pseudomonas*) (18.09%)和 *Brevundimonas* (10.12%)。黑龙江-西水样中,*Pseudomonas* 丰度最高,为 38.41%,其次为 *Brevundimonas* 和成对杆菌(*Dyadobacter*),丰度分别为 21.38%和 9.52%。值得注意的是,*Pseudomonas* 存在于北京、黑龙江和内蒙古水样中(2.96%~38.41%),广西和云南并未检出。内蒙古-东和内蒙古-西水样中丰度最高的菌属分别是 *Comamonadaceae* (35.20%)和紫色杆菌(*Janthinobacterium*) (37.02%),其次为 *Brevundimonas*。广西水样中 *Sphingorhabdus* 的丰度最高,为 21.29%,同时,鞘脂单胞菌(*Sphingopyxis*)和鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonadaceae*)的丰度也分别达到了 19.58%和 16.63%,可见广西水样中优势菌属的分布较为均匀。云南水样中,突柄杆菌(*Prosthecoacter*)为第一优势菌,但其丰度值(20.39%)低于其他水样中的第一优势菌,其次为新鞘脂菌(*Novosphingobium*) (13.78%)和 *Sphingorhabdus* (11.65%)。

表 2 Alpha 多样性指数统计表
Table 2 Statistical table of Alpha diversity index

采样地域	Chao	ACE	Shannon	Simpson	覆盖度指数
北京	287.68	290.95	3.57	0.053	0.996
黑龙江-东	232.00	282.08	2.25	0.300	0.997
黑龙江-西	425.40	476.37	2.97	0.129	0.994
内蒙古-东	425.93	425.72	3.28	0.126	0.994
内蒙古-西	288.79	282.62	3.18	0.143	0.997
广西	243.61	226.52	2.95	0.096	0.997
云南	275.62	284.63	3.55	0.067	0.997

在属水平上,5省自备水源水样的群落组成存在差异,具体表现为各水样中最大优势菌以及物种数量的不同,但 *Brevundimonas* 在各地域水样中广泛分布,丰度介于 1.50%~27.27%,可知 *Brevundimonas* 为 5 省自备水源中的优势菌属,其物种丰度在不同地域表现为:北京>黑龙江-西>内蒙古-东>内蒙古-西>黑龙江-东>云南>广西。值得注意的是,*Brevundimonas* 属于潜在致病菌^[22],需注意饮用水安全。文献调研发现,*Comamonadaceae* 常见于地下水及饮用水中,是地下水中普遍存在的原位微生物,与是否污染无关^[23-25]。*Sphingobium* 仅存在于北京及广西水样,*Sphingobium* 可利用的营养物质非常广泛,从简单无机物到石油等有机物都能利用^[26-27],有研究表明 *Sphingobium* 的存在可降低总氮、总磷含量^[28]。*Sphingorhabdus* 存在于除内蒙古外的其他四省地区,该属微生物可将高聚物作为碳源进行生长繁殖^[29],可见北京、黑龙江、广西和云南四省自备水源皆受到了一定程度的有机物污染。*Pseudomonas* 为

反硝化过程的典型菌株^[30-31],本研究中,*Pseudomonas* 广泛存在于北京、黑龙江和内蒙古水样,而广西及云南水样未检出,广西及云南两地的 NO_3^- 含量低于所有水样,表明以上两地的水源受人类活动及工业污染较小。

2.2.3 微生物群落主成分分析

PCoA 分析中,unifrac 距离会综合物种进化关系,基于 unifrac 的加权主坐标分析如图 3 所示。两种主要成分 PC1 和 PC2 的贡献率分别为 47.80%和 23.06%,各地域样本较集中,且与其他地域样本差距明显,不存在交叠现象,说明各地域微生物群落结构特征之间差异较大。云南水样与其他地域水样之间的差距尤为明显,可能是云南水样的优势菌不同,*Prosthecoacter* 作为云南水样的第一优势菌属,在其他水样中的丰度值最大仅为 1.33%,而且云南水样还具有较高的微生物群落多样性。

2.2.4 功能基因 KEGG 通路分析

通过 KEGG 对水样基因序列进行微生物代谢功能分

析, 通过差异表达功能基因进行 KEGG 富集分析, KEGG 富集程度以基因数量来衡量。如图 4 所示, 在 KO Level1 层次上, 新陈代谢功能模块中编码相应功能的基因呈现出在功能上的多样性和数量上的显著的优势, 其次是遗传信息加工、环境信息加工和细胞过程模块编码相应功能的基因数量较高, 生物体系统、人类疾病和未分类模块编码相应功能的基因数量较低。

在 KO Level 2 层次上, 碳水化合物代谢、氨基酸代谢是基因组中最大的类群, 第二和第三大类群是能量代谢、辅助因子和辅酶代谢、膜运转、外来物质的降解与代谢、信号传导、脂类代谢, 此外, 复制和修复、核苷酸代谢、萜类和酮类化合物代谢、其他氨基酸代谢以及细胞运动也具有一定的丰度。此外, 在同一功能基因下, 广西和云南水样的基因表达数量远低于其他北方三省水样, 可能是由于广西和云南水样中 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 等离子含量很低, 导致微生物没有足够的氮源等营养物质进行大量繁殖, 因此具有相对特定生态功能的微生物数量少, 新陈代谢等相关活动不活跃^[7]。

2.2.5 微生物群落与环境因子相关性分析

图 5 运用 RDA 分析了水样中环境因子与门水平细菌之间的关系。结果显示, 对水样中门水平细菌群落结构影响最大的环境因子是 Cl^- , 其次为 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 Mg^{2+} 、TDS 以及 K^+ 。门水平上, Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes、Candidatus-Saccharibacteria、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、衣原体门(Chlamydiae)、酸杆菌门(Acidobacteria)、异常球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)、厚壁菌门(Firmicutes)与以上环境因子呈正相关关系, Parcubacteria、Verrucomicrobia、装甲菌门(Armatimonadetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、Bacteria-unclassified 与这些环境因子呈负相关关系。除云南水样外, Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes 均为所在水样排名前 3 的优势菌门, 且 Proteobacteria 丰度皆在 80% 以上, 表明与环境因子的正相关关系有助于细菌群落结构的强化。

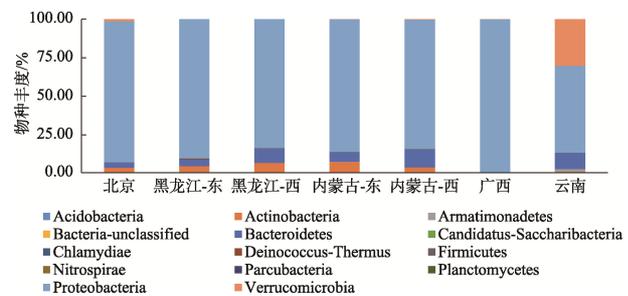


图 1 自备水源水样的门水平细菌群落组成
Fig.1 Phylum level bacterial community composition of water samples of self-contained water sources

综上所述, 我国 5 省自备水源在水质和微生物群落特征方面均存在差异, 各地域自备水源都有超标严重的样品, 但整体来看北方自备水源更需要及时处理, 以确保居民的饮用水水质安全。同时, 全国各地的自备水源水质安全问题需要得到关注, 并严格按照国家标准进行自备水源的净化和消毒工作。

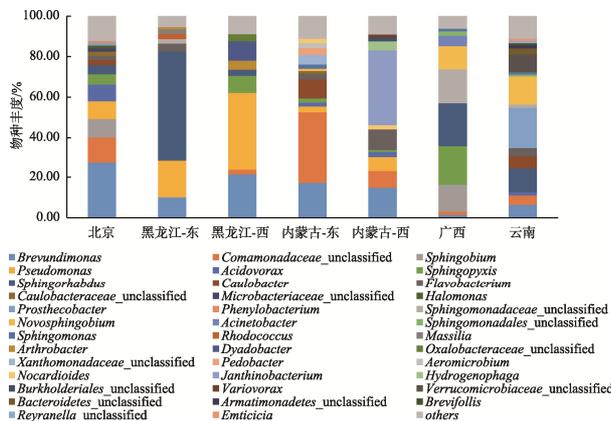


图 2 自备水源水样的属水平细菌群落组成
Fig.2 Genus level bacterial community composition of water samples from self-contained water sources

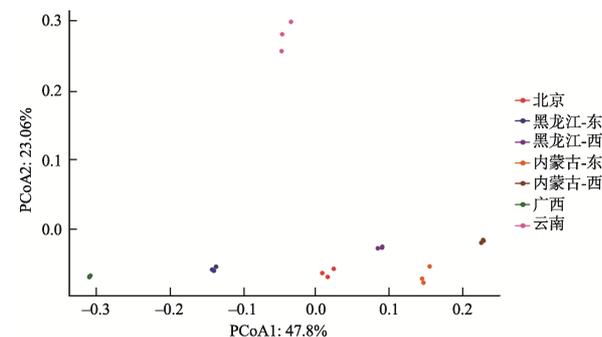


图 3 不同地域自备水源水样 PCoA 分析
Fig.3 PCoA analysis of water samples from self-contained water sources in different regions

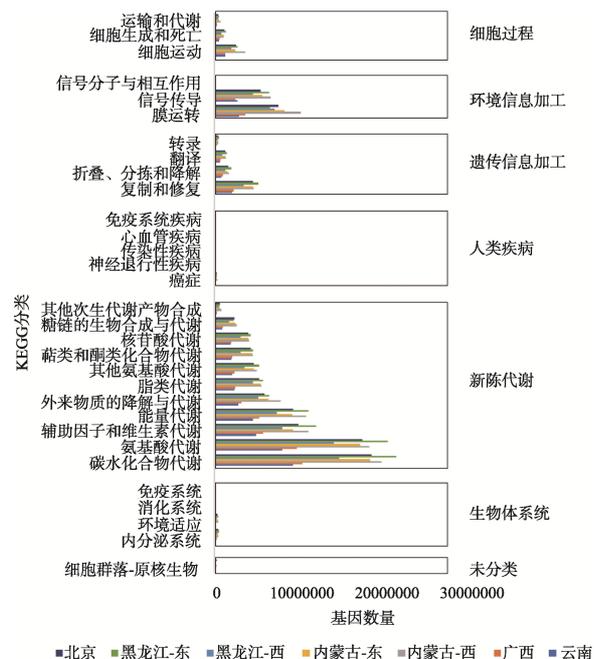


图 4 不同地域自备水源水样 KEGG 统计
Fig.4 KEGG statistics of water samples from self-contained water sources in different regions

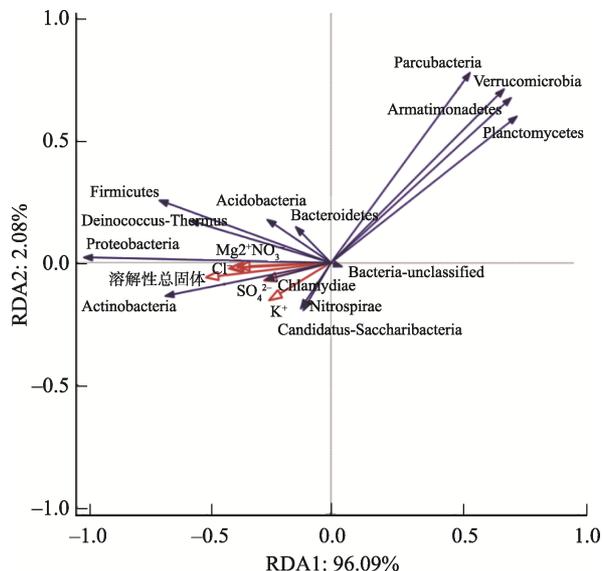


图 5 微生物群落和环境因子的 RDA 分析
Fig.5 RDA analysis of microbial community and environmental factors

3 结论

本研究采集我国南北 5 省边远散地域的自备水源水样进行了水质指标测定以及微生物群落结构特征分析。结果表明, 北方地域的自备水源相比南方地域硬度更大, SO_4^{2-} 、 NO_3^- 和 Cl^- 的污染较为严重, 尤其是内蒙古地区, 应定期对超标水源进行跟踪检测, 并采取相应的改善措施。Proteobacteria 是 5 省自备水源水样的第一优势菌门, *Brevundimonas* 为第一优势菌属。反硝化过程的典型菌株 *Pseudomonas* 只存在于北京、黑龙江和内蒙古水样中, 同时此 3 省水样中各种功能表达基因的数量远高于广西和云南水样, 证明北方自备水源污染相对严重, 微生物有较多的氮源等营养物质进行大量繁殖。

参考文献

- [1] 张灿, 刘文君, 敖灏, 等. 北京自备井水源内毒素污染及与其他水质参数的相关分析[J]. 环境科学, 2015, 36(12): 4561–4566.
ZHANG C, LIU WJ, AO L, *et al.* Endotoxin contamination and correlation with other water quality parameters of groundwater from self-contained wells in Beijing [J]. Chin J Environ Sci, 2015, 36(12): 4561–4566.
- [2] 张熙遥, 张灿, 胡晓丰, 等. 内蒙边境沿线生活饮用水水质安全评价[J]. 军事医学, 2018, 42(1): 26–28.
ZHANG XY, ZHANG C, HU XF, *et al.* Safety evaluation of drinking water along the border of Inner Mongolia [J]. Mil Med Sci, 2018, 42(1): 26–28.
- [3] 张灿, 张熙遥, 戚红卷, 等. 黑龙江省东部边境地区自备水源水质卫生状况调查[J]. 中国预防医学杂志, 2018, 19(3): 201–204.
ZHANG C, ZHANG XY, QI HJ, *et al.* Water quality analysis and hygienic evaluation on the self-contained water source in the eastern border area of

- Heilongjiang [J]. Chin Prev Med, 2018, 19(3): 201–204.
- [4] 毛龙富, 刘宏, 陈瑞水, 等. 典型喀斯特山区饮用窖水质量监测及评价[J]. 中国农村水利水电, 2021, (5): 155–159.
MAO LF, LIU H, CHEN RY, *et al.* Monitoring and evaluation of drinking cellar water quality in typical karst mountainous areas [J]. China Rural Water Hydropow, 2021, (5): 155–159.
- [5] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16SrRNA 高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性[J]. 环境科学, 2017, 38(4): 1704–1716.
YANG H, ZHANG GZ, YANG XN, *et al.* Microbial community structure and diversity in cellar water by 16S rRNA high-throughput sequencing [J]. Chin J Environ Sci, 2017, 38(4): 1704–1716.
- [6] 李平, 谭添, 刘韩, 等. 地下水微生物功能群及生物地球化学循环[J]. 微生物学报, 2021, 61(6): 1598–1609.
LI P, TAN T, LIU H, *et al.* Functional microbial communities and the biogeochemical cycles in groundwater [J]. Acta Microbiol Sin, 2021, 61(6): 1598–1609.
- [7] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析[J]. 环境科学, 2017, 38(11): 4733–4746.
YANG H, ZHANG GZ, YANG XN, *et al.* Microbial community diversity and differences in cellar water of typical rainwater harvesting area [J]. Chin J Environ Sci, 2017, 38(11): 4733–4746.
- [8] 左锐, 李桥, 孟利, 等. 地下水波动带中细菌群落结构与水质响应关系[J]. 中国环境科学, 2020, 40(4): 1687–1697.
ZUO R, LI Q, MENG L, *et al.* Response relationship between bacterial community structure and water quality in ground water fluctuating region [J]. China Environ Sci, 2020, 40(4): 1687–1697.
- [9] 郭卉, 虞敏达, 何小松, 等. 南方典型农田区浅层地下水污染特征[J]. 环境科学, 2016, 37(12): 4680–4689.
GUO H, YU MD, HE XS, *et al.* Pollution characteristics analysis in shallow groundwater of typical farmland area, southern china [J]. Chin J Environ Sci, 2016, 37(12): 4680–4689.
- [10] 张熙遥, 张灿, 史云, 等. 我国北方地区四省份自备井水质卫生学调查风险评估[J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(3): 345–350.
ZHANG XY, ZHANG C, SHI Y, *et al.* Investigation and risk assessment for water quality hygiene in self-supply well water in four northern provinces of China [J]. Chin J Dis Control Prev, 2019, 23(3): 345–350.
- [11] 王绍祥, 杨洲祥, 刘燕, 等. 高通量测序技术在水环境微生物群落多样性中的应用[J]. 化学通报, 2014, 77(3): 196–203.
WANG SX, YANG ZX, LIU Y, *et al.* Application of high throughput sequencing in the diversity of water microbial communities [J]. Chem Bull, 2014, 77(3): 196–203.
- [12] 张美云, 赵艳玲, 郭春城, 等. 北京市朝阳区二次供水卫生现状调查研究[J]. 中国预防医学杂志, 2017, 18(3): 189–192.
ZHANG MY, ZHAO YL, GUO CC, *et al.* Investigation on hygienic status of secondary water supply in Chaoyang district of Beijing [J]. Chin Prev Med, 2017, 18(3): 189–192.
- [13] 刘锦钧, 黄木林, 姚彩莲. 苍梧县农村生活饮用水水质监测结果分析[J]. 医学动物防制, 2016, 32(4): 404–406.
LIU JJ, HUANG ML, YAO CL. Analysis on drinking water quality surveillance results in rural areas of Cangwu County [J]. J Med Pest Control, 2016, 32(4): 404–406.
- [14] 张超, 秦进, 马建武, 等. 格尔木高原地区驻训部队饮用水水质调查[J]. 解放军预防医学杂志, 2016, 34(5): 674–677.
ZHANG C, QIN J, MA JW, *et al.* Investigation of quality of drinking

- water for some military units in plateau regions of Geermu [J]. *J Prev Med Chin Peopl Liber Army*, 2016, 34(5): 674–677.
- [15] 李军, 张翠云, 蓝芙宁, 等. 区域地下水不同深度微生物群落结构特征[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(6): 2614–2623.
LI J, ZHANG CY, LAN FN, *et al.* Structure characteristics of microbial community at different depths of groundwater [J]. *China Environ Sci*, 2019, 39(6): 2614–2623.
- [16] 葛英亮, 于水利, 时文歆, 等. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术解析 O₃-BAC 饮用水处理过程细菌多样性变化[J]. *食品科学*, 2016, 37(16): 223–228.
GE YL, YU SL, SHI WX, *et al.* Analysis of bacterial diversity in O₃-BAC drinking water treatment process by using Illumina MiSeq high throughput sequencing technology [J]. *Food Sci*, 2016, 37(16): 223–228.
- [17] 王智, 张志勇, 张君倩, 等. 水葫芦修复富营养化湖泊水体区域内外底栖动物群落特征[J]. *中国环境科学*, 2012, 32(1): 142–149.
WANG Z, ZHANG ZY, ZHANG JQ, *et al.* The fauna structure of benthic macro-invertebrates for environmental restoration in a eutrophic lake using water hyacinths [J]. *China Environ Sci*, 2012, 32(1): 142–149.
- [18] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 水窖沉积物中微生物群落及其与环境因子的相关性[J]. *兰州交通大学学报*, 2018, 37(3): 110–115.
YANG H, ZHANG GZ, YANG XN, *et al.* Microbial community of sediment in cellar water and its correlation with environmental factors [J]. *J Lanzhou Jiaotong Univ*, 2018, 37(3): 110–115.
- [19] SHU D, HE Y, YUE H, *et al.* Metagenomic insights into the effects of volatile fatty acids on microbial community structures and functional genes in organotrophic anammox process [J]. *Bioresour Technol*, 2015, 196: 621–633.
- [20] 秦宇, 张曦, 王紫薇, 等. 三峡水库中段水体微生物群落结构季节变化[J]. *水生态学杂志*, 2020, 42(6): 1–17.
QIN Y, ZHANG X, WANG ZW, *et al.* Seasonal variation of microbial community structure in the middle section of three Gorges Reservoir [J]. *J Hydroecol*, 2020, 42(6): 1–17.
- [21] COTTRELL MT, KIRCHMAN DL. Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the *Cytophaga-Flavobacter* cluster consuming low-and high-molecular-weight dissolved organic matter [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(4): 1692–1697.
- [22] 张明露, 刘文君, 李翠萍, 等. 南水北调中线水源水的细菌群落和致病菌分析[J]. *给水排水*, 2015, 51(6): 32–36.
ZHANG ML, LIU WJ, LI CP, *et al.* Analysis of bacterial community and pathogenic bacteria in the middle route of South-to-North Water Transfer Project [J]. *Water Wastew Eng*, 2015, 51(6): 32–36.
- [23] LAUTENSCHLAGER K, HWANG C, LIU WT, *et al.* A microbiology-based multi-parametric approach towards assessing biological stability in drinking water distribution networks [J]. *Water Res*, 2013, 47(9): 3015–3025.
- [24] KIMURA H, SUGIHARA M, YAMAMOTO H, *et al.* Microbial community in a geothermal aquifer associated with the subsurface of the Great Artesian Basin, Australia [J]. *Extremophiles*, 2005, 9(5): 407–414.
- [25] 何泽, 宁卓, 黄冠星, 等. 太行山前平原浅层地下水污染的分子生物学响应特征——以滹沱河流域为例[J]. *中国地质*, 2019, 46(2): 290–301.
HE Z, NING Z, HUANG GX, *et al.* The response characteristics of microbial diversity to shallow groundwater contamination in the piedmont of the Taihang Mountains using molecular biotechnologies: a case study of groundwater of Hutuo River Basin [J]. *Geol China*, 2019, 46(2): 290–301.
- [26] 韦云东, 罗燕春, 郑华, 等. 基于高通量测序的木薯根域土壤微生物群落结构研究[J]. *农业研究与应用*, 2021, 34(1): 1–14.
WEI YD, LUO YC, ZHENG H, *et al.* Study on soil microbial community structure in *Cassava* rhizosphere by high-throughput sequencing techniques [J]. *Agric Res Appl*, 2021, 34(1): 1–14.
- [27] 蔡训辉, 王如意, 胡胜男, 等. 鞘氨醇杆菌的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(5): 2096–2102.
CAI XH, WANG RY, HU SN, *et al.* Research progress of sphingobacterium [J]. *Genom Appl Biol*, 2020, 39(5): 2096–2102.
- [28] 唐婧, 徐小蓉, 商传禹, 等. 南明河城区河段细菌多样性与环境因子的关系[J]. *微生物学报*, 2015, 55(8): 1050–1059.
TANG J, XU XR, SHANG CY, *et al.* Association of bacterial diversity in city area of Nanming river with environmental factors [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2015, 55(8): 1050–1059.
- [29] WOO JH, KIM HS, PARK NH, *et al.* Isolation of a novel strain, *Sphingorhabdus* sp. YGSM121 and characterization of its enantioselective epoxide hydrolase activity [J]. *J Microbiol*, 2021, 59(7): 675–680.
- [30] SPRING S, WAGNER M, SCHUMANN P, *et al.* *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.
- [31] 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 PL, HUANG TL, ZHANG HH, *et al.* Water quality and diversity of denitrifier community structure of typical scenic water bodies in Xi'an [J]. *Chin J Environ Sci*, 2017, 38(12): 5174–5183.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



林凯宗, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物。

E-mail: 1930201049@st.btbu.edu.cn

张 灿, 副研究员, 主要研究方向为饮用水水质安全、水处理技术。

E-mail: zhangcancqu@163.com



张明露, 博士, 教授, 主要研究方向为环境微生物、饮用水消毒和安全保障。

E-mail: zhangminglu@th.btbu.edu.cn