

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第5期

Vol.37 No.5

**2016**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

2015年12月北京市空气重污染过程分析及污染源排放变化 ..... 薛亦峰,周震,聂滕,潘涛,齐璐,聂磊,王占山,李云婷,李雪峰,田贺忠(1593)

北京 APEC 期间大气颗粒物中类腐殖酸的污染特征及来源 ..... 周雪明,亓雪娇,项萍,谭吉华,段菁春,何晓明,贺克斌,马永亮(1602)

利用 SPAMS 分析北京市硫酸盐、硝酸盐和铵盐季节变化特征及潜在源区分布 ..... 刘浪,张文杰,杜世勇,侯鲁健,韩斌,杨文,陈敏东,白志鹏(1609)

兰州城区大气 PM<sub>2.5</sub> 污染特征及来源解析 ..... 王新,聂燕,陈红,王博,黄韬,夏敦胜(1619)

成都市西南郊区春季大气 PM<sub>2.5</sub> 的污染水平及来源解析 ..... 林瑜,叶芝祥,杨怀金,张菊,殷蔚雯,李晓芬(1629)

中亚热带背景区重庆四面山大气气态总汞含量变化特征 ..... 刘伟明,马明,王定勇,孙涛,魏世强(1639)

固定源排放污染物健康风险评价方法的建立 ..... 陈强,吴焕波(1646)

北京市典型燃烧源颗粒物排放水平与特征测试 ..... 胡月琪,邬晓东,王琛,梁云平,马召辉(1653)

南京公园降尘中重金属污染水平及风险评价 ..... 王呈,钱新,李慧明,孙一轩,王金花(1662)

CoCuMnO<sub>2</sub> 光催化氧化多组分 VOCs 特性及其动力学 ..... 孟海龙,卜龙利,刘嘉栋,高波,冯奇奇,谭娜,谢帅(1670)

大辽河感潮河段及近岸河口氮、磷的分布及潜在性富营养化 ..... 张雷,曹伟,马迎群,韩超南,秦延文,赵艳民,刘志超,杨晨晨(1677)

典型温冰川区湖泊的稳定同位素空间分布特征 ..... 史晓宜,蒲焘,何元庆,陆浩,牛贺文,夏敦胜(1685)

利用 $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  和  $\delta^{18}\text{O}-\text{NO}_3^-$  示踪北京城区河流硝酸盐来源 ..... 赵庆良,马慧雅,任玉芬,王效科,彭剑锋,贺成武,武俊良,刘梦贞,闫苗苗(1692)

柳江盆地浅层地下水硝酸盐分布特征及影响因素分析 ..... 王贺,谷洪彪,迟宝明,李海君,姜海宁(1699)

三峡库区小流域不同土地利用类型对氮素流失影响 ..... 陈成龙,高明,倪九派,谢德体,邓华(1707)

亚热带农区生态沟渠对农业径流中氮素迁移拦截效应研究 ..... 王迪,李红芳,刘锋,王毅,钟元春,何洋,肖润林,吴金水(1717)

平原河网典型污染物生物降解系数的研究 ..... 冯帅,李叙勇,邓建才(1724)

沉水植物对沉积物微生物群落结构影响:以洪泽湖湿地为例 ..... 张丁予,章婷曦,董丹萍,李德芳,王国祥(1734)

苏南水库硅藻群落结构特征及其控制因素 ..... 任杰,周涛,朱广伟,金颖薇,崔扬,许海,朱梦圆,夏明芳,陈伟民(1742)

河北衡水湖湿地汞污染现状及生态风险评价 ..... 王乃姗,张曼胤,崔丽娟,马牧源,颜亮,穆泳林,秦鹏(1754)

顺德水道土壤及沉积物中重金属分布及潜在生态风险评价 ..... 蔡怡敏,陈卫平,彭驰,王铁宇,肖荣波(1763)

台州电子垃圾拆解区水和沉积物中多溴联苯醚污染特征与生态风险 ..... 陈香平,彭宝琦,吕素平,陈强,张勇,黄长江,董巧香(1771)

乌江中上游段河水主要离子化学特征及控制因素 ..... 黄奇波,覃小群,刘朋雨,蓝芙宁,张连凯,苏春田(1779)

岩溶流域地下水 TOC 输出及影响因素分析:以重庆丰都雪玉洞地下河流域为例 ..... 王巧莲,蒋勇军,陈宇(1788)

广东英德宝晶宫洞穴滴水元素季节变化与影响因素 ..... 黄嘉仪,陈琳,陈琼,刘淑华,杨亮,童晓宁,贺海波,米小建,邓肖敏,彭小桃,李汉杰,杨琰,周厚云(1798)

基于 PCR-DGGE 和拟杆菌(*Bacteroides*) 16S rRNA 的岩溶地下水粪便污染源示踪研究:以重庆南山老龙洞地下河系统为例 ..... 张弘,蒋勇军,张远瞩,段逸凡,吕现福,贺秋芳(1805)

典型岩溶区地下河中溶解态脂类生物标志物来源解析及其变化特征 ..... 梁作兵,孙玉川,李建鸿,王尊波,谢正兰,张媚,廖昱,江泽利(1814)

钴活化过一硫酸盐氧化过程中卤代副产物的生成 ..... 刘阔,金浩,董为,季跃飞,陆隽鹤(1823)

天冬氨酸在氯化过程中生成消毒副产物二氯乙腈的研究 ..... 丁春生,李乃军,张涛,章梦青(1831)

臭氧氧化饮用水过程中可同化有机碳生成的影响因素 ..... 董秉直,张佳丽,何畅(1837)

污水管网典型混流制区域水量水质波动特征解析 ..... 程珣,张明凯,刘艳臣,施汉昌(1845)

HDTMA 改性沸石的制备及吸附废水中对硝基苯酚的性能和动力学 ..... 郭俊元,王彬(1852)

放射性废水处理中吸附剂的优势藻种筛选 ..... 李鑫,胡洪营,余骏一,赵文玉(1858)

微米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁粉调理-压力电场污泥脱水工艺过程研究 ..... 钱旭,王毅力,赵丽(1864)

间歇曝气 SBR 处理养猪沼液的短程脱氮性能 ..... 宋小燕,刘锐,税勇,川岸朋树,占新民,陈吕军(1873)

不同灌溉方式对华北平原冬小麦土壤 CO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub>O 排放通量的影响 ..... 郭树芳,齐玉春,尹飞虎,彭琴,董云社,贺云龙,闫钟清(1880)

卫河新乡市区段春季溶解 CH<sub>4</sub> 与 N<sub>2</sub>O 浓度特征 ..... 侯翠翠,张芳,李英臣,王奇博,刘赛(1891)

模拟气沉降对内蒙古克氏针茅草原 N<sub>2</sub>O 排放的影响 ..... 杨涵越,张婷,黄永梅,段雷(1900)

土壤呼吸与土壤有机碳对不同秸秆还田的响应及其机制 ..... 曹湛波,王磊,李凡,付小花,乐毅全,吴纪华,陆兵,徐殿胜(1908)

黑土丘陵区小流域土壤有机质空间变异及分布格局 ..... 高凤杰,马泉来,韩文文,单培明,周军,张少良,张志民,王宏燕(1915)

耕作方式对紫色水稻土团聚体中有机质及重金属的分布特征影响 ..... 史琼彬,赵秀兰,常同举,卢吉文(1923)

北京东南郊典型地层重金属分布特征与潜在生态风险 ..... 赵倩,马琳,刘翼飞,何江涛,李广贺(1931)

准东煤田露天矿区土壤重金属污染现状评价及来源分析 ..... 刘巍,杨建军,汪君,王果,曹月娥(1938)

纳米 TiO<sub>2</sub> 对土壤重金属释放及形态变化的影响 ..... 张金洋,王定勇,梁丽,李楚娟,张成,周雄,刘娟(1946)

纳米零价铁铜双金属对铬污染土壤中 Cr(VI) 的还原动力学 ..... 马少云,祝方,商执峰(1953)

低分子有机酸对硫杆菌活性的抑制作用及对土壤重金属脱除的影响 ..... 宋永伟,王鹤茹,曹艳晓,李飞,崔春红,周立祥(1960)

粒径和包裹物对纳米银在海洋微藻中的毒性影响 ..... 黄俊,衣俊,强丽媛,程金平(1968)

萱草修复石油烃污染土壤的根际机制和根系代谢组学分析 ..... 王亚男,程立娟,周启星(1978)

高温堆肥过程对猪粪来源抗生素抗性基因的影响 ..... 郑宁国,黄南,王卫卫,喻曼,陈晓暘,姚燕来,王卫平,洪春来(1986)

磺胺抗性消长与堆肥进程的交互特征 ..... 林辉,汪建妹,孙万春,符建荣,陈红金,马军伟(1993)

《环境科学》征订启事(1830) 《环境科学》征稿简则(1977) 信息(1698,1851,1992)

# 基于 PCR-DGGE 和拟杆菌 (*Bacteroides*) 16S rRNA 的岩溶地下水粪便污染来源示踪研究:以重庆南山老龙洞地下河系统为例

张弘<sup>1</sup>, 蒋勇军<sup>1</sup>, 张远瞩<sup>2</sup>, 段逸凡<sup>1</sup>, 吕现福<sup>1</sup>, 贺秋芳<sup>1\*</sup>

(1. 西南大学地理科学学院, 重庆 400715; 2. 中国地质科学院岩溶地质研究所/国土资源部、广西岩溶动力学重点实验室, 桂林 541004)

**摘要:** 岩溶地下水的微生物污染日益严重, 其来源的研究得到国际学术界的广泛关注. 本研究以重庆南山老龙洞岩溶地下河系统为对象, 采用滤膜法监测地下水中的总细菌、大肠杆菌、粪大肠菌及粪链球菌等微生物指标, 以拟杆菌 (*Bacteroides*) 为指示细菌, 采用 PCR-DGGE 示踪地下水中大肠杆菌/粪大肠杆菌的来源. 结果表明, 老龙洞地下河流域各类细菌含量严重超标, 总细菌数为  $10 \sim 2.9 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 大肠菌群总数达  $4.3 \sim 4.0 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 其中粪大肠菌群 (FC) 和粪链球菌 (FS) 分别最高达到  $1.1 \times 10^6$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>、 $1.1 \times 10^5$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>; FC/FS 多数为 2 以上, 暗示流域地下水受人类粪便影响为主. 地下水样和粪便样品的拟杆菌群落的 PCR-DGGE 比对分析表明地下水与人粪之间相似性为 7.1% ~ 69.1%, 其中地下河出口处达到 69.1%. 地下水与猪粪之间相似性为 1.1% ~ 53.4%, 地下河出口处仅为 1.5%. 因此, 人类粪便为地下河污染的主要来源, 猪粪污染为动物粪便污染的一部分, 还存在其他动物粪便污染来源. 此外, PCR-DGGE 产物切胶测序发现大部分 *Bacteroides* 为人类肠道或粪便来源的细菌.

**关键词:** 岩溶地下水; 粪便污染; 大肠菌群; 拟杆菌; PCR-DGGE

中图分类号: X523 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)05-1805-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.2016.05.026

## Tracing the Fecal Contamination Sources Based on *Bacteroides* 16S rRNA PCR-DGGE in Karst Groundwater: Taking Laolongdong Underground River System, Nanshan, Chongqing as an Example

ZHANG Hong<sup>1</sup>, JIANG Yong-jun<sup>1</sup>, ZHANG Yuan-zhu<sup>2</sup>, DUAN Yi-fan<sup>1</sup>, LÜ Xian-fu<sup>1</sup>, HE Qiu-fang<sup>1\*</sup>

(1. Geography Science Academy, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Key Laboratory of Karst Dynamics, Ministry of Land and Resource & Guangxi, Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Guilin 541004, China)

**Abstract:** Microbial contamination in karst groundwater continually increases and tracing the source researches has become a hot topic for international researchers. In this study, Laolongdong underground river at Nanshan, Chongqing was chosen as an example to adopt filter membrane methods to monitor the fecal microbial contaminations including the total bacterial concentration (TB), the total *E. coli* concentration (TE), the total fecal coliform (FC) and the total fecal *Streptococci* (FS). *Bacteroides* was used as an indicator and PCR-DGGE analysis was used to trace fecal contamination sources in karst groundwater. The results suggested that groundwater in this area was seriously polluted by microbes from feces. The concentrations of microbial parameters exceeded limited levels greatly and the total bacterial amounts ranged  $10 \sim 2.9 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>, the concentrations of *E. coli* were between  $4.3 \sim 4.0 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>, the max concentration of FC was  $1.1 \times 10^6$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup> and the max concentration of FS was  $1.1 \times 10^5$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>. The FC/FS ratios were mostly over 2 which suggested that the main fecal source in groundwater was human feces. In addition, PCR-DGGE contrastive analysis of *Bacteroides* communities showed that the similarities between groundwater samples and human feces were in range of 7.1% - 69.1%, and the similarity of the groundwater sample from Laolongdong underground river outlet was 69.1%. *Bacteroides* community similarities between groundwater samples and swine feces were in range of 1.1% - 53.4%, and the similarity of Laolongdong underground river outlet was merely 1.5%. The similarity data implied that groundwater contamination resulted mainly from human feces, swine feces contamination composed part of animals' fecal contamination, and other animals' feces participated too. Furthermore, sequencing results of PCR-DGGE products revealed that most *Bacteroides* in groundwater originated from human intestinal tract and human feces.

**Key words:** karst underground water; fecal contamination; coliform; *Bacteroides*; PCR-DGGE

收稿日期: 2015-10-23; 修订日期: 2015-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(41301541, 41301541, 41472321); 中国地质科学院岩溶地质研究所项目(KDL201303)

作者简介: 张弘(1990~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为岩溶微生物学与水文地球化学, E-mail: 393018993@qq.com

\* 通讯联系人, E-mail: yuanyang2002@163.com

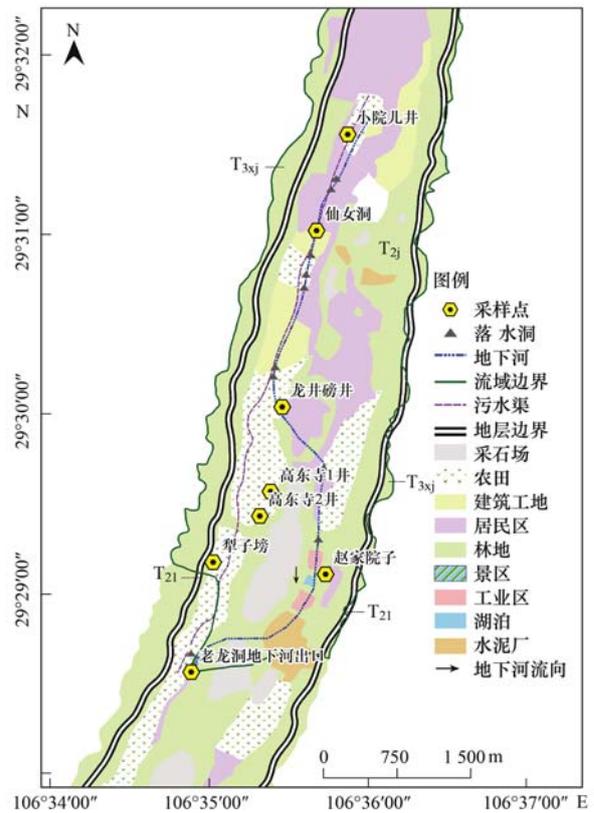
中国西南分布着面积广泛的岩溶区,大部分岩溶区土层很薄,加之岩溶地区管道、裂隙大量发育,地表水和地下水交换迅速,自净能力较弱<sup>[1~3]</sup>. 杀虫剂、化肥、生活污水和动物粪便等污染物由降水经含水层带或直接从落水洞进入地下河,在地下河系统中造成化学和微生物(细菌)污染<sup>[4,5]</sup>. 微生物来源具有多样性,包括露天的公厕和下水道的人类排泄物以及圈养或散养的牲畜和天然粪肥等<sup>[6~8]</sup>,其中最危险的病原微生物大多来自人和动物肠道(即人畜粪便污染). 传统方法上,对于水体粪便污染情况的鉴定主要是利用粪便指示菌(fecal indicator bacteria, FIB)培养(如大肠杆菌)的计数法,但是大肠杆菌为自然界广泛存在的一大类菌群,没有宿主特异性,因此该方法不能示踪具体的微生物污染来源,只能反映水体的污染程度<sup>[9,10]</sup>. 拟杆菌(*Bacteroides*)于1985年被Fiksdal证实具有很好的宿主特异性,常在面源污染水域中作为粪便污染源示踪的指示细菌而被广泛使用<sup>[11,12]</sup>. 拟杆菌属在人类肠道内的数量占细菌总量的一半以上,远高于肠杆菌属和肠球菌属微生物,更易被提取和识别. 且检测中的一些特异性的分子标记比大肠杆菌的检测更为灵敏,尤其在复杂的自然环境中拟杆菌更适合作为粪便污染指示菌<sup>[13~15]</sup>.

南山老龙洞地下河系统位于重庆市南岸区城乡结合部,流域内城市化扩张迅速,同时也存在大量散居居民点和未开发农田. 因此,流域内地下水水质受人类活动影响强烈,前期研究结果表明该系统地下水水质恶化,其中地下水中的总细菌(total bacteria, TB)、总大肠菌群(total *E. coli*, TE)、粪大肠菌群(total fecal coliform, FC)和粪链球菌群(total fecal *Streptococci*, FS)分别最高达  $2.9 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>、 $4.0 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>、 $1.1 \times 10^6$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>、 $1.1 \times 10^5$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>. 因此本文在此基础上,尝试利用粪大肠菌与粪链球菌的比值(FC/FS)和拟杆菌16S rRNA的PCR-DGGE方法来研究岩溶地下水中(粪便)微生物污染来源.

### 1 研究区概况

老龙洞地下河流域位于重庆市南岸区与巴南区境内,北纬29°32'30",东经106°37'30". 区域整体地貌类型为背斜低山. 背斜北段西翼陡峻,东翼平缓,呈现“一山二岭一槽”的岩溶景观;自仙女洞往南,背斜南段则呈现“一山三岭两槽”的岩溶景观. 背斜轴部地层为三叠系下统嘉陵江组碳酸盐岩;背斜两

翼为三叠系中统雷口坡组碳酸盐岩和三叠系上统须家河组砂岩(如图1).



T<sub>3sj</sub>:上三叠统须家河组砂岩; T<sub>2j</sub>:中三叠统雷口坡组碳酸盐岩; T<sub>2j</sub>:下三叠统嘉陵江组碳酸盐岩

图1 老龙洞流域水文地质、土地利用方式及采样点分布  
Fig. 1 Hydrogeology, land use and distribution of water sampling points of Laolongdong underground river system

老龙洞地下河流域内分布着大量的落水洞、岩溶洼地、岩溶裂隙等岩溶形态,流域沿构造线大致呈北东-南西走向,出口处为南山老龙洞风景区. 总长度近13 km,流域面积约20 km<sup>2</sup>,常年径流量约为50~80 L·s<sup>-1</sup>. 研究区的土地利用方式包括:上游以建筑用地、餐饮、学校为主,大部分污水并入城市污水管网;下游以城乡结合部居民点、农业用地、工业用地、养殖业为主,污水以零星散排为主. 区内人口密集,约为50 000人左右. 经实地调查,流域内分布有多处禽畜养殖场、露天公厕,流域内地下河面临着严重的粪便污染. 目前该流域水质的研究进展仅限于水化学指标的分析,而对于微生物及细菌污染特别是人畜粪便污染的调查研究还较为缺乏. 经调查,造成老龙洞地下河流域的粪便污染主要来源于人类及猪. 其中随着研究区居住用地的增加,人类粪便污染比例可能会有所增加.

## 2 材料与方法

### 2.1 样品采集

在 2014 年 1 ~ 12 月每月采集小院儿井, 仙女洞地下河、龙井磅井、高东寺 1 井、高东寺 2 井、犁子磅井、赵家院子井和老龙洞地下河出口 8 个点的地下水(如图 2), 水样微生物计数样品使用微生物采样袋(LABPLAS, 加拿大)采集水

下 10 cm 以内的地下水水样, 冰袋保存带回实验室, 4℃ 保藏, 24 h 内检测; 水样总微生物 DNA 样品采集使用无菌过滤器和 0.45 μm 无菌滤膜(Millipore, 美国)过滤水样 1 ~ 2 L(根据水样洁净程度), 收集滤膜保存于 50 mL 无菌离心管, 冰袋保存带回实验室 - 20℃ 冻存至 DNA 提取; 另外用无菌 50 mL 离心管采集人粪和猪粪各 5 个样品, 加入无水乙醇保存至 DNA 提取。

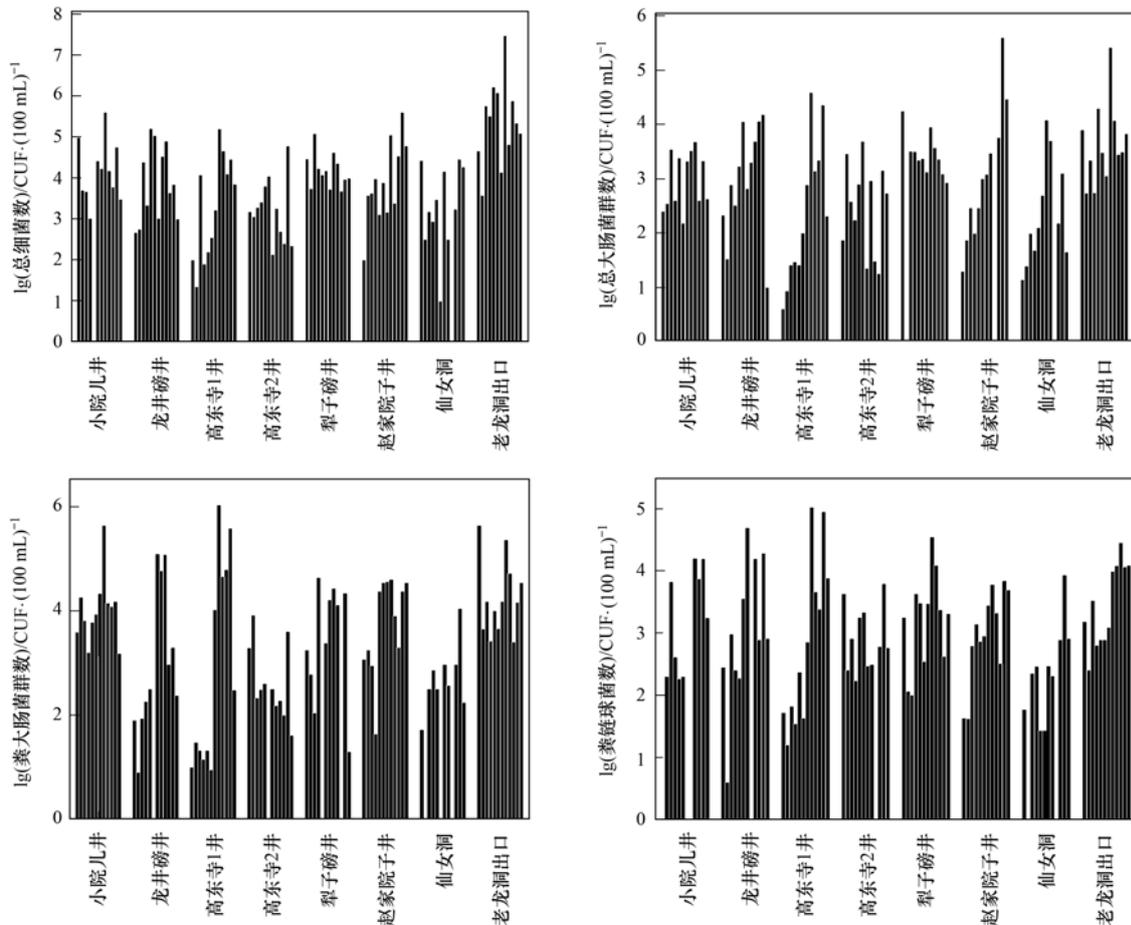


图 2 2014 年 1 ~ 12 月滤膜法微生物检测结果(对数值)

Fig. 2 Results of microbial detection by filter membrane method in 2014 ( $\lg K_{oc}$ )

### 2.2 微生物计数

地下水样品的粪便指示菌(总细菌、大肠杆菌、粪大肠菌和粪链球菌)使用滤膜法检测<sup>[16~19]</sup>得到。总细菌、大肠杆菌、粪大肠菌、粪链球菌分别使用 R2A 琼脂培养基、Endos<sup>®</sup>(品红亚硫酸钠)培养基、MFC 培养基和 KF 培养基(青岛日水, 中国)梯度培养计数。

### 2.3 *Bacteroides* (拟杆菌属) 16S rRNA 基因的 PCR-DGGE 分析

水样总微生物和人畜粪便样品分别采用水样基

因组 DNA 快速提取试剂盒和粪便基因组 DNA 快速提取试剂盒(Omega, 美国)提取总 DNA 样品。粪便样品提取前将人粪和猪粪各 5 个样品分别混合作为研究区的人粪和猪粪样品代表。而后, 应用特异性引物扩增 *Bacteroides*<sup>[20~22]</sup> 的 16S rRNA 基因。水样使用通用 *Bacteroides* 引物(Bac32F、Bac708R), 人类粪便使用 HF183F、Bac708R, 猪粪使用 PF163F、Bac708R。PCR 扩增条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 退火 30 s(53℃ 和 59℃), 72℃ 延伸 60 s, 重复 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。

凝胶的变性梯度范围为 35% ~ 60%, 电泳温度 60℃. 电泳过程: 120 V 预跑 10 min, 而后 90 V 电泳 540 min; 电泳完成后 60℃ 保温并采用银染法对凝胶染色; 最后采用 Quantity One 软件包分析凝胶电泳图谱. 切胶回收 DGGE 凝胶上的优势条带, 交由生物公司进行克隆测序, 测序结果输入 NCBI 数据库中进行比对.

### 3 结果与讨论

#### 3.1 地下水微生物检测结果

流域地下水总细菌数达  $10 \sim 2.9 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 总体来看, 各地下水的总细菌数量在夏秋季节明显高于冬春季节, 其中小院儿井、龙井磅井、高东寺 1 井、高东寺 2 井表现明显, 而梨子磅井、仙女洞井、赵家院子井和老龙洞地下河出口地下水的总细菌数量全年均处于较高水平. 大肠杆菌数量总含量为  $4.3 \sim 4.0 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 其季节变化趋势与总细菌数量类似, 夏秋季节高于冬春季节. 总细菌和大肠菌群的含量受温度影响较大, 这种变化趋势可能与夏秋季节温度较高适于细菌繁殖相关.

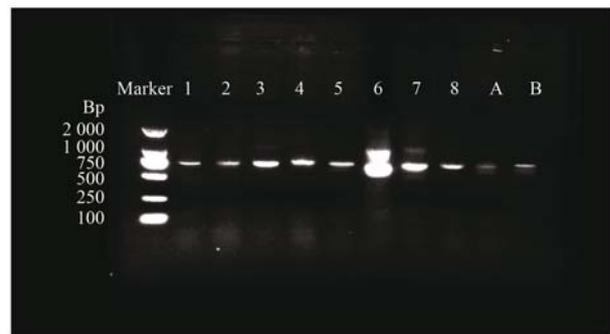
粪大肠菌含量达到  $1.0 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^6$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>, 远高于国家水质标准(100 mL 中不得检出), 小院儿井、高东寺 2 井、梨子磅井、仙女洞井、老龙洞井水中粪大肠菌含量全年变化不大, 龙井磅井水的粪大肠菌夏秋季节高于冬春季节, 而高东寺 1 井、赵家院子井水的粪大肠菌秋冬高于春夏. 大部分采样水点的粪链球菌含量较低, 含量为  $1.0 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^5$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>, 小院儿井、高东寺 1 井、老龙洞出口水的粪链球菌秋冬季节高而春夏季节低, 高东寺 2 井、赵家院子井和仙女洞水的粪链球菌全年变化不大. 粪大肠菌群和粪链球菌群主要来自温血动物肠道, 由于自然界温度低于动物体内温度, 在自然状态下难以繁殖, 并较少受温度影响, 因此其来源主要是输入的差异.

从空间分布来看, 地下河中游仙女洞微生物量最低, 老龙洞出口地下水中微生物含量最高, 其他岩溶地下水的微生物含量居中. 其中仙女洞地下水总细菌年度平均含量为  $8.8 \times 10^3$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 老龙洞出口为  $2.85 \times 10^6$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 其他地井水含量为  $7.8 \times 10^3 \sim 5.8 \times 10^4$  CFU·mL<sup>-1</sup>. 地下河下游老龙洞出口和东槽水井赵家院子井水的大肠菌群数量最多, 年均值分别为  $2.7 \times 10^4$  CFU·mL<sup>-1</sup> 和  $4.0 \times 10^4$  CFU·mL<sup>-1</sup>, 地下河中游仙女洞以及西槽其他地下水的大肠菌群含量均值较低, 为  $1.8 \times 10^3$

CFU·mL<sup>-1</sup> 和  $1.0 \times 10^3 \sim 5.6 \times 10^3$  CFU·mL<sup>-1</sup>. 地下河中游仙女洞和西槽高东寺 2 井水的粪大肠菌群年均值含量最低, 约为  $1.5 \times 10^2$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>, 西槽高东寺 1 井水含量最高为  $1.1 \times 10^6$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>, 地下河下游和其他地下水含量为  $1.3 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^2$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>. 西槽高东寺 1 井水中粪链球菌含量最高为  $1.1 \times 10^5$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup>, 地下河河水和其他井水中粪链球菌的含量均值均较低, 为  $2.1 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^3$  CFU·(100 mL)<sup>-1</sup> (如图 2).

#### 3.2 PCR-DGGE 实验结果

水样与粪便中的总 DNA 提取后使用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 样品 DNA 都只有一条明亮清晰的条带, 说明提取的 DNA 比较完整, 可以用于 PCR 扩增实验. 接下来以得到的水样和粪便样品基因组总 DNA 为模板, 选取相应引物, 分别进行 PCR 扩增. PCR 产物电泳结果如图 3, 目的指纹条带 (750bp) 清晰, 无非特异性杂带的产生<sup>[23]</sup>.



样品编号: 1 小院儿井, 2 仙女洞地下河, 3 龙井磅井, 4 高东寺 1 井, 5 高东寺 2 井, 6 梨子磅井, 7 老龙洞出口, 8 赵家院子井, A 人类粪便, B 猪粪

图 3 2014-05 水样和粪便样品 PCR 产物凝胶电泳图

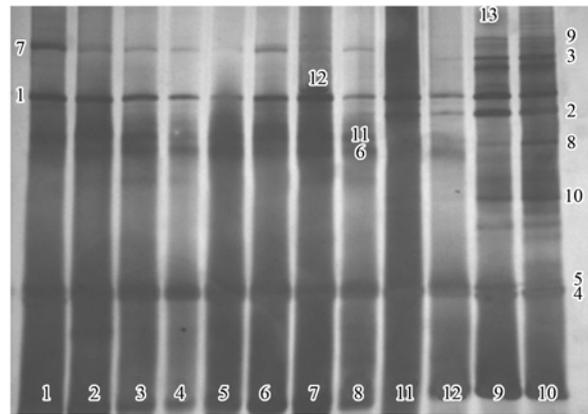
Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR product of groundwater samples and fecal samples in May, 2014

将 PCR 产物 25  $\mu$ L 进行垂直凝胶梯度电泳 (DGGE) (如图 4), 条带的数目在 20 左右, 不同水样之间、水样和粪便之间、人粪与猪粪之间的 DGGE 图谱的条带位置、数量和亮度等都存在差异性, 且不同样品中的优势种群具有一定相似性<sup>[24-27]</sup>. 采用 Quantity One 对图谱进行优化处理, 得到泳道间的对比分析结果, 相似性矩阵表 (similarity matrix, 如表 1) 和系统进化树 (phylogenetic tree, 如图 5).

根据相似性矩阵, 井水样品与人类粪便样品之间的相似性为 7.1% ~ 64.2%, 其中小院儿井、赵家院子井水样的相似性较高, 达到 60% 左右, 龙井磅

井、高东寺 1 井、高东寺 2 井、犁子磅井水样的相似性较低, 均为 20% 左右或低于 20%; 两个地下河样品中, 仙女洞水样与人类粪便相似性较低(不到 40%), 老龙洞出口水样与人类粪便相似性较高(60% 以上). 井水样品与猪粪之间的相似性为 1.1% ~ 53.4%, 其中小院儿井、赵家院子井水样与猪粪之间的相似性不到 10%, 犁子磅井水样与猪粪之间相似性高于 50%, 其它井水样与猪粪之间相似性在 20% ~ 40% 之间. 两个地下河水样(仙女洞和老龙洞出口)与猪粪之间的相似性都很低(不到 5%).

根据系统进化树图 5 可知, 所有样品分为人类粪便和猪粪更为相似的两类, 其中龙井磅井、高东寺 1 井、高洞寺 2 井、犁子磅井水样中 *Bacteroides* (拟杆菌属) 的种群特征与猪粪样品具有相对更高的相似性, 小院儿井、赵家院子井、仙女洞和老龙洞出口水样与人粪样品具有更高的相似性.



样品编号: 1 小院儿井, 2 仙女洞地下河, 3 龙井磅井, 4 高东寺 1 井, 5 高东寺 2 井, 6 犁子磅井, 7 老龙洞出口, 8 赵家院子井, 9、10 人类粪便, 11、12 猪粪

图 4 2014-05 水样和粪便样品 DGGE 电泳图

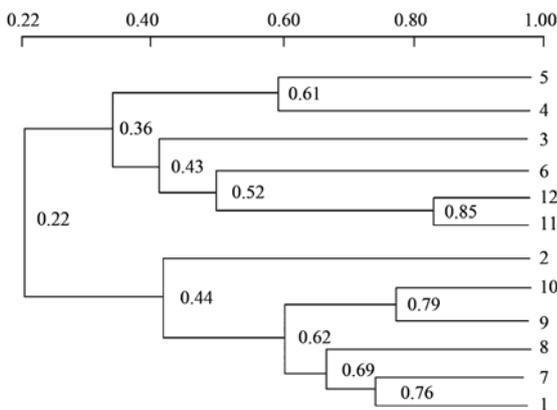
Fig. 4 DGGE electrophoretogram of groundwater samples and fecal samples in May, 2014

表 1 2014-05 水样和粪便样品基于非加权算术平均法(UPGMA)的相似性矩阵<sup>1)</sup>

Table 1 UPGMA-based similarity matrix of groundwater samples and fecal samples in May, 2014

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	100.0											
2	45.4	100.0										
3	33.3	18.7	100.0									
4	19.1	32.6	32.6	100.0								
5	16.8	53.5	53.5	61.3	100.0							
6	18.3	19.3	19.3	49.2	39.5	100.0						
7	75.9	41.8	41.8	11.3	7.1	13.7	100.0					
8	66.0	57.4	57.4	28.5	22.7	25.3	71.5	100.0				
9	64.2	38.3	38.3	15.2	15.0	20.8	69.1	61.1	100.0			
10	57.7	35.8	35.8	7.7	7.1	9.1	66.1	59.5	79.5	100.0		
11	1.1	2.8	2.8	20.6	20.8	50.4	1.5	4.7	28.1	19.8	100.0	
12	1.1	1.6	1.6	31.0	27.2	53.4	1.5	4.0	21.0	13.7	85.3	100.0

1) 样品编号如图 4



纵轴样品编号如图 4

图 5 2014-05 水样和粪便样品聚类分析(进化树)

Fig. 5 Clustering analysis (evolutionary tree) of groundwater samples and fecal samples in May, 2014

### 3.3 DGGE 切胶测序结果

针对 DGGE 图谱中不同位置的条带切胶, 条带共计 13 条(如图 4), 将条带中的 DNA 提取出来克隆测序, 测序结果提交与 GenBank 中的序列进行对比, 所得结果如表 2 所示. 对比结果可知, 13 条条带对比相似性为 93% ~ 100% 之间, 均属于拟杆菌门菌株, 其中 2、3、4、5、7、8、9、11、13 为 *Bacteroides*, 1 为 *Macellibacteroides*, 4、6、12 为 *Prevotella*, 10 为 *Parabacteroides*. 其中, 2、5、8、9 为同一菌株 *Bacteroides dorei* strain 175 的不同片段, 为来自人类粪便的拟杆菌. 此外, 3、6、10、12、13 也均代表来自人类粪便或肠道的拟杆菌菌株. 1、7 分别从屠宰场和牛场废水处理厂分离得来. 4、12 为来自自然环境中的拟杆菌菌株. 11 为市政污水

表 2 PCR-DGGE 条带序列比对结果<sup>1)</sup>

Table 2 Results of sequence comparison of PCR-DGGE bands

条带	登录号	GenBank 中的最大相似菌株	相似度/%	菌株来源
1	NR_117913.1	<i>Macellibacteroides fermentans</i> strain LIND7H 屠宰场废水 <sup>[28]</sup>	100	屠宰场废水
2	NR_041351.1	<i>Bacteroides dorei</i> strain 175 人类粪便 <sup>[29]</sup>	100	人类粪便
3	NR_074515.1	<i>Bacteroides vulgatus</i> strain ATCC 8482 人类肠道 <sup>[30]</sup>	98	人类肠道
4	NR_113122.1	<i>Prevotella paludivivens</i> strain JCM 13650 土壤普氏菌 <sup>[31]</sup>	98	土壤
5	NR_041351.1	<i>Bacteroides dorei</i> strain 175 人类粪便	100	人类粪便
6	NR_113411.1	<i>Prevotella copri</i> strain JCM 13464 人体普氏菌 <sup>[32]</sup>	98	人体普氏菌
7	NR_113069.1	<i>Bacteroides graminisolvens</i> strain JCM 15093 牛场废水	100	牛场废水
	NR_041642.1	<i>Bacteroides graminisolvens</i> strain XDT-1 牛场 <sup>[33]</sup>		
8	NR_041351.1	<i>Bacteroides dorei</i> strain 175 人类粪便	100	人类粪便
9	NR_041351.1	<i>Bacteroides dorei</i> strain 175 人类粪便	100	人类粪便
10	NR_119166.1	<i>Parabacteroides merdae</i> strain ATCC 43184 人类粪便 <sup>[34]</sup>	93	人类粪便
11	NR_125463.1	<i>Bacteroides luti</i> strain UasXn-3 市政污水 <sup>[35]</sup>	99	市政污水
12	NR_113118.1	<i>Prevotella oris</i> strain JCM 12252 人类与环境	95	人类或环境
13	NR_041313.1	<i>Bacteroides fingoldii</i> strain 199 人类粪便 <sup>[36]</sup>	100	人类粪便

1) 条带编号见图 4

处理厂活性污泥中分离得到的菌株。

## 4 讨论

### 4.1 粪源微生物示踪地下水微生物污染来源

根据流域地下水的粪大肠菌群和粪链球菌群的比值(FC/FS)初步判断粪便微生物污染的来源(如表 3):小院儿井水春夏主要是以人类粪便污染为主,秋冬为混合污染,以温血动物粪便为主;高东寺 1 井水冬春季节以动物污染为主,夏秋季节逐步转变为人类污染为主;梨子磅井水春夏秋冬主要为动物粪便污染和人类粪便污染同时存在,但多数时间人类粪便污染为主,冬季以动物粪便污染为主;高东寺 2 井水除 2 月外全年均表现为动物粪便污染为主;龙井磅井水全年表现为人类和动物粪便污染交替出现的混合污染的特征;仙女洞地下水粪大肠菌和粪链球菌含量较少,多数月份无法判断其粪便污染来源,为混合污染型;赵家院子井和老龙洞出口地下水全年都以人类粪便污染为主。

从时间分布来看,人类粪便对地下河的污染全年都存在,而且是地下河水粪便污染的主要来源。动物粪便污染冬季最为严重,其次为春秋季节,夏季动物粪便污染最少,绝大部分采样点夏季人类粪便污染严重。可能受当地养殖生猪数量波动有关,生猪养殖一般半年为周期,冬季开始入夏前出栏或入秋开始春节出栏,避开夏季重庆地区炎热生猪生长缓慢期。因此夏季生猪存栏量少,动物粪便污染较少。此外,散养家禽(鸡、鸭、鹅等)也是动物粪便污染的重要来源,散养家禽多在水池、洼地、落水洞、水渠等环境活动,粪便极易随水直接进入地下水造成

污染,这也是全年粪便污染的重要来源。

结合老龙洞流域的各采样点的分布来看(如图 1),井水的微生物污染来源受水井周边环境和人类活动影响较大,地下河水污染则受到污染补给源的影响较大。流域西槽的水井小院儿井、高东寺 1 井、龙井磅井靠近居民区,因此更可能受人类生活污水的影响而显示出人类粪便影响为主的特征;高东寺 2 井位于菜地中间,主要表现为粪便污染为主,可能原因是受施用动物粪肥的影响。西槽下游的梨子磅井也位于菜地中间,但是附近有左侧山上猪场下来的排污管道,周边菜地也有人粪有机肥的使用,因此梨子磅井水的粪便污染受养猪场排污和人类有机肥施用影响,FC/FS 变化较大。流域东槽的赵家院子井附近则绝大部分为小型工厂和居民区,家禽家畜散养情况较少,因此大多数时间表现为人类粪便影响为主。

仙女洞上游由于大部分地块为城镇用地和新开发现代居民点,生活污水纳入城市管网,因而进入地下河的污染物较少,且在运移进入地下河过程中受到土壤截留、地下河底泥吸附等因素的影响,仙女洞天窗段地下河中粪便微生物含量都很少,远低于其上游的小院儿井。同时,由于 FC、FS 含量极少,因而 FC/FS 比值变化很大,粪便污染来源判断不准确。老龙洞出口处,汇集全流域的污染排放,尤其仙女洞以下基本为散居居民点,旱厕、散养家禽、直排生活污水等广泛存在,因此地下河受人类和动物粪便污染严重,微生物含量为全流域之最。而中下游各个水井,尤其是东槽赵家院子井粪大肠菌群含量极高,人类粪便污染严重,应与老龙洞出口处大量人类粪便污染相关。

表 3 基于粪大肠菌(FC)和粪链球菌(FS)比值(FC/FS)的样品污染来源分析<sup>1)</sup>

日期(月-日)	小院儿井	龙井磅井	高东寺 1 井	高东寺 2 井	梨子磅井	赵家院子井	仙女洞地下河	老龙洞出口
01-14	/	0.29 <sup>★</sup>	0.06 <sup>★</sup>	0.46 <sup>★</sup>	0.99 <sup>☆</sup>	27.5 <sup>●</sup>	0.67 <sup>★</sup>	289.23 <sup>●</sup>
02-14	89.33 <sup>●</sup>	2.00 <sup>△</sup>	1.88 <sup>△</sup>	47.73 <sup>●</sup>	0.57 <sup>★</sup>	41.9 <sup>●</sup>	/	18.24 <sup>●</sup>
03-14	2.99 <sup>○</sup>	0.99 <sup>☆</sup>	16.67 <sup>●</sup>	0.27 <sup>★</sup>	1.10 <sup>△</sup>	1.40 <sup>△</sup>	4.55 <sup>●</sup>	1.45 <sup>●</sup>
04-14	3.95 <sup>○</sup>	0.73 <sup>☆</sup>	0.40 <sup>★</sup>	1.82 <sup>△</sup>	10.24 <sup>●</sup>	0.03 <sup>★</sup>	2.55 <sup>○</sup>	4.17 <sup>●</sup>
05-14	33.33 <sup>●</sup>	1.68 <sup>△</sup>	0.09 <sup>★</sup>	0.22 <sup>★</sup>	/	31.90 <sup>●</sup>	11.70 <sup>●</sup>	12.82 <sup>●</sup>
06-14	42.50 <sup>●</sup>	—	0.21 <sup>★</sup>	—	6.86 <sup>●</sup>	38.89 <sup>●</sup>	—	5.77 <sup>●</sup>
07-14	—	2.52 <sup>○</sup>	1.06 <sup>△</sup>	1.09 <sup>△</sup>	5.52 <sup>●</sup>	13.05 <sup>●</sup>	1.21 <sup>△</sup>	12.24 <sup>●</sup>
08-14	—	/	10.10 <sup>●</sup>	0.48 <sup>★</sup>	0.78 <sup>☆</sup>	6.63 <sup>●</sup>	1.80 <sup>△</sup>	23.47 <sup>●</sup>
09-14	0.90 <sup>☆</sup>	7.79 <sup>●</sup>	10.00 <sup>●</sup>	—	1.04 <sup>△</sup>	3.80 <sup>○</sup>	×	4.38 <sup>●</sup>
10-14	1.63 <sup>△</sup>	1.21 <sup>△</sup>	25.41 <sup>●</sup>	0.01 <sup>★</sup>	52.14 <sup>●</sup>	6.25 <sup>●</sup>	1.21 <sup>△</sup>	0.09 <sup>★</sup>
11-14	0.96 <sup>☆</sup>	0.11 <sup>★</sup>	4.22 <sup>●</sup>	0.65 <sup>★</sup>	1.04 <sup>△</sup>	68.75 <sup>●</sup>	1.29 <sup>△</sup>	1.24 <sup>△</sup>
12-14	0.87 <sup>☆</sup>	0.29 <sup>★</sup>	0.04 <sup>★</sup>	0.07 <sup>★</sup>	0.01 <sup>★</sup>	49.00 <sup>●</sup>	0.21 <sup>★</sup>	2.78 <sup>○</sup>

1) FC/FS 比值对应的粪便污染来源:  $\geq 4$  (●) 人类粪便为主;  $2 < FC/FS < 4$  (○) 混合污染, 人类粪便为主;  $1 \leq FC/FS \leq 2$  (△) 无法分辨;  $0.7 < FC/FS < 1$  (☆) 混合污染, 温血动物粪便为主;  $\leq 0.7$  (★) 温血动物粪便为主; “—”代表实验设计梯度过高导致无法计数; “/”代表实验设计梯度过低导致未培养出目标细菌; “×”代表由于自然环境因素未采集样品

#### 4.2 *Bacteroides* (拟杆菌属) 示踪地下水微生物污染来源

根据地下水和人畜粪便样品 *Bacteroides* 群落之间的相似性, 可以发现两类粪便同类之内相似性极高, 而两类粪便样品之间, 相似性较差。说明人畜肠道中存在的 *Bacteroides* 具有较大差异, 可以作为区分粪便污染来源的依据<sup>[37-39]</sup>。5 月地下水样品树状分类结果(如图 5)与 4.1 节中应用 FC/FS 比值得出的结论基本一致。表 2 中地下水样品和粪便之间相似性的加权分析得知粪便样品与地下水样品、井水样品与地下河样品中 *Bacteroides* 群落之间的相似性, 反映了粪便污染物对井水和地下河样品粪便微生物来源的贡献。

流域中小院儿井、赵家院子井和地下河下游老龙洞出口水与人类粪便样品相似性最高达到为 64.2%、61.1% 和 69.1%, 而与猪粪之间的相似性低于 5%, 说明这三处水样受人类粪便污染为主, 受猪粪的影响很小。地下河中游仙女洞天窗和龙井磅井水与人类粪便样品的相似性为 30%~40%, 而与猪粪的相似性低于 5%, 这两处人类粪便仍然为重要污染源, 同时其他动物粪便的污染比重增大, 但猪粪的影响很小。高东寺 1 井和高东寺 2 井水中, 与猪粪样品相似性为 20%~30%, 与人类粪便污染的相似性仅为 10% 左右, 因此此处其他动物来源的污染可能更多, 检测的两种粪便污染源中, 猪粪为重要污染源, 人类粪便的污染较少。梨子磅井水则与猪粪相关性达到 53.4%, 与人类粪便的相似性仅有 10% 左右, 说明此处猪粪的影响占主导作用, 人类粪便影响较少, 同时也存在其他动物粪便污染来源。

水力联系上仙女洞为老龙洞上游, 二者均以人类粪便污染为主, 因此地下河水中的主要粪便污染源为人类粪便或散居居民点的未纳入城市污水管网的人类生活污水。老龙洞地下河上游的 6 个井水采样点中, 高东寺 1 井、高东寺 2 井位于中下游洼地中, 以猪粪和其他动物粪便污染为主; 其他 4 个采样点均位于地下河主河道边缘, 除梨子磅外另外 3 个采样点人类粪便占绝对主导地位。因此, 可以推论, 岩溶区虽然土壤较薄, 但土壤依然对粪便微生物的污染具有过滤截留作用, 所以井水中的猪粪污染大部分被截留未能到达地下河。老龙洞地下河流域中, 靠近地下暗河的居民点、旱厕等带来的人类生活污水和未处理的人类粪便为主要污染来源, 污染物直接通过岩溶裂隙、管道和落水洞进入地下河造成污染。

#### 4.3 DGGE 片段测序的指示意义

根据测序结果发现大部分条带测试所得菌株主要都是与人类相关的菌株。地下水水样 DNA 条带中, 主要含有的条带是 1、5、6、7、11、12, 分别代表菌株 *Macellibacteroides fermentans* strain LIND7H、*Bacteroides dorei* strain 175、*Prevotella copri* strain JCM 13464、*Bacteroides graminisolvens* strain XDT-1、*Bacteroides luti* strain UasXn-3、*Prevotella oris* strain JCM 12252。其中 *Bacteroides dorei* strain 175、*Prevotella copri* strain JCM 13464、*Prevotella oris* strain JCM 12252 最早发现与人类粪便或消化道来源相关; *Macellibacteroides fermentans* strain LIND7H 和 *Bacteroides graminisolvens* strain XDT-1 最早发现于屠宰场和牛场废水中, 可能与动物粪便来源相关;

*Bacteroides luti* strain UasXn-3 为最早发现于市政污水的菌株,应与城市生活污水相关. 其中条带较亮的 5、6、12 都是来源于人类粪便的菌株,11 源自于市政污水,说明老龙洞地下河主要受人类粪便污染为主.

## 5 结论

(1)南山老龙洞地下河流域,各类细菌含量很高,远超出国家水质标准,流域受人类粪便污染影响为主,其中部分井水也受到多种动物粪便的影响.从空间上来看,采样点中井水的微生物污染来源受水井周边环境和人类活动影响较大,而地下河水的微生物污染则受到污染补给源的影响较大.

(2)流域中小院儿井、赵家院子井水以及地下河下游老龙洞出口地下水受人类粪便污染为主,其他动物粪便的影响较少,而猪粪的影响很小;地下河中游仙女洞天窗和龙井磅井水尽管人类粪便污染仍为其重要污染源,但其他动物粪便的污染比重增大,猪粪的影响很小;高东寺 1 井和高东寺 2 井水受其他动物粪便来源的污染可能更多,检测的两种粪便污染源中,猪粪为重要污染源,人类粪便的污染较少;梨子磅井水主要受猪粪的影响,人类粪便的影响较小,同时也存在其他动物粪便污染来源.

### 参考文献:

- [ 1 ] 袁道先, 薛禹群, 傅家谟, 等. 防止我国西南岩溶地区地下河变成“下水道”的对策与建议[R]. 中国科学院士建议, 2007. 1-17.
- [ 2 ] 杨平恒, 卢丙清, 贺秋芳, 等. 重庆典型岩溶地下水系统水文地球化学特征研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(4): 1290-1296.
- [ 3 ] Ford D C, Williams P. Karst hydrogeology and geomorphology [M]. New York: Wiley, 2007. 22-85.
- [ 4 ] Worthington S R, Smart C C, Ruland W. Effective porosity of a carbonate aquifer with bacterial contamination; Walkerton, Ontario, Canada [J]. Journal of Hydrology, 2012, **464-465**: 517-527.
- [ 5 ] Pu J B, Cao M, Zhang Y Z, et al. Hydrochemical indications of human impact on karst groundwater in a subtropical karst area, Chongqing, China [J]. Environmental Earth Sciences, 2014, **72**(5): 1683-1695.
- [ 6 ] Kelly W R, Panno S V, Hackley K C, et al. Bacteria contamination of groundwater in a mixed land-use karst region [J]. Water Quality, Exposure and Health, 2009, **1**(2): 69-78.
- [ 7 ] He Q F, Yang P H, Yuan W H, et al. The use of nitrate, bacteria and fluorescent tracers to characterize groundwater recharge and contamination in a karst catchment, Chongqing, China [J]. Hydrogeology Journal, 2010, **18**(5): 1281-1289.
- [ 8 ] Murphy S, Jordan P, Mellander P E, et al. Quantifying faecal indicator organism hydrological transfer pathways and phases in agricultural catchments [J]. The Science of the Total Environment, 2015, **520**: 286-299.
- [ 9 ] Wicki M, Auckenthaler A, Felleisen R, et al. Assessment of source tracking methods for application in spring water [J]. Journal of Water and Health, 2015, **13**(2): 473-488.
- [ 10 ] 段逸凡, 贺秋芳, 刘子琦, 等. 岩溶区地下水微生物污染特征及来源——以重庆南山老龙洞流域为例 [J]. 中国岩溶, 2014, **33**(4): 504-511.
- [ 11 ] Fiksdal L, Maki J S, LaCroix S J, et al. Survival and detection of *Bacteroides* spp., prospective indicator bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, **49**(1): 148-150.
- [ 12 ] Tran N H, Gin K Y H, Ngo H H. Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater [J]. Science of the Total Environment, 2015, **538**: 38-57.
- [ 13 ] 刘志恒. 现代微生物学 [M]. (第二版). 北京: 科学出版社, 2008. 296-399.
- [ 14 ] Zhang Y, Kelly W R, Panno, S V, et al. Tracing fecal pollution sources in karst groundwater by *Bacteroidales* genetic biomarkers, bacterial indicators, and environmental variables [J]. Science of the Total Environment, 2014, **490**: 1082-1090.
- [ 15 ] 张曦, 朱昌雄, 朱红惠. 利用拟杆菌分子标记物对粪便污染溯源的研究进展 [J]. 微生物学报, 2011, **51**(7): 863-868.
- [ 16 ] 孙傅, 沙婧, 刘彦华. 南方某城市地表水体中粪源性污染指示微生物的分布特征研究 [J]. 环境科学, 2012, **33**(11): 3778-3786.
- [ 17 ] Ekklesia E, Shanahan P, Chua L H C, et al. Associations of chemical tracers and faecal indicator bacteria in a tropical urban catchment [J]. Water Research, 2015, **75**: 270-281.
- [ 18 ] 蓝家程, 杨平恒, 任坤, 等. 重庆老龙洞地下河流域氮、磷及微生物污染调查研究 [J]. 环境科学, 2014, **35**(4): 1297-1303.
- [ 19 ] American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater (21st ed.) [M]. Washington: American Public Health Association, 2005. 5-6.
- [ 20 ] Ahmed W, Sritharan T, Palmer A, et al. Evaluation of bovine feces-associated microbial source tracking markers and their correlations with fecal indicators and zoonotic pathogens in a Brisbane, Australia, Reservoir [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, **79**(8): 2682-2691.
- [ 21 ] Dick L K, Stelzer E A, Bertke E E, et al. Relative decay of *Bacteroidales* microbial source tracking markers and cultivated *Escherichia coli* in freshwater microcosms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, **76**(10): 3255-3262.
- [ 22 ] Bernhard A E, Field K G. Identification of nonpoint sources of fecal pollution in coastal waters by using host-specific 16S ribosomal DNA genetic markers from fecal anaerobes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(4): 1587-1594.

- [23] Mrázek J, Koppová I, Kopečný J, *et al.* PCR-DGGE-based study of fecal microbial stability during the long-term chitosan supplementation of humans[J]. *Folia Microbiologica*, 2010, **55** (4): 352-358.
- [24] Bernhard A E, Field K G. Identification of non-point sources of fecal pollution in coastal waters by using host - specific 16S ribosomal DNA genetic markers from fecal anaerobes [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66** (4): 1587-1594.
- [25] 张曦, 朱昌雄, 冯广达, 等. 基于拟杆菌特异性 16S rRNA 基因的塘坝型饮用水污染溯源研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, **30** (9): 1880-1887.
- [26] 徐影, 仇天雷, 韩梅琳, 等. PCR-DGGE 技术解析固体碳源表面生物膜的微生物群落结构[J]. *环境科学*, 2013, **34** (8): 3257-3263.
- [27] Ruengsomwong S, Korenori Y, Sakamoto N, *et al.* Senior Thai fecal microbiota comparison between vegetarians and non-vegetarians using PCR-DGGE and Real-Time PCR[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, **24** (8): 1026-1033.
- [28] Jabari L, Gannoun H, Cayol J L, *et al.* *Macellibacteroides fermentans* gen. Nov., sp. nov., a member of the family *Porphyromonadaceae* isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters [ J ]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, **62** (10): 2522-2527.
- [29] Bakir M A, Sakamoto M, Kitahara M, *et al.* *Bacteroides dorei* sp. nov., isolated from human faeces[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, **56** (7): 1639-1643.
- [30] Xu J, Mahowald M A, Ley R E, *et al.* Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine[J]. *PLoS Biology*, 2007, **5** (7): e156.
- [31] Ueki A, Akasaka H, Satoh A, *et al.* *Prevotella paludivivens* sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, hemicellulose-decomposing bacterium isolated from plant residue and rice roots in irrigated rice-field soil[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, **57** (8): 1803-1809.
- [32] Hayashi H, Shibata K, Sakamoto M, *et al.* *Prevotella copri* sp. nov. and *Prevotella stercorea* sp. nov., isolated from human faeces[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, **57** (5): 941-946.
- [33] Nishiyama T, Ueki A, Kaku N, *et al.* *Bacteroides graminisolvens* sp. nov., a xylanolytic anaerobe isolated from a methanogenic reactor treating cattle waste [ J ]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, **59** (8): 1901-1907.
- [34] Song Y L, Liu C X, Lee J, *et al.* "*Bacteroides goldsteinii* sp. nov." isolated from clinical specimens of human intestinal origin [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, **43** (9): 4522-4527.
- [35] Hatamoto M, Kaneshige M, Nakamura A, *et al.* *Bacteroides luti* sp. nov., an anaerobic, cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from methanogenic sludge[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, **64** (5): 1770-1774.
- [36] Bakir M A, Kitahara M, Sakamoto M, *et al.* *Bacteroides finegoldii* sp. nov., isolated from human faeces [ J ]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, **56** (5): 931-935.
- [37] Bernhard A E, Field K G. A PCR assay to discriminate human and ruminant feces on the basis of host differences in *Bacteroides-Prevotella* genes encoding 16S rRNA [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66** (10): 4571-4574.
- [38] Shanks O C, White K, Kelty C A, *et al.* Performance assessment PCR-based assays targeting *Bacteroidales* genetic markers of bovine fecal pollution [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76** (5): 1359-1366.
- [39] Mieszkin S, Caprais M P, Le Menec C, *et al.* Identification of the origin of faecal contamination in estuarine oysters using *Bacteroidales* and F-specific RNA bacteriophage markers [ J ]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, **115** (3): 897-907.

## CONTENTS

Exploring the Severe Haze in Beijing During December, 2015; Pollution Process and Emissions Variation .....	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, NIE Teng, <i>et al.</i> (1593)
Pollution Characteristics and Source of HULIS in the Fine Particle During the Beijing APEC .....	ZHOU Xue-ming, QI Xue-jiao, XIANG Ping, <i>et al.</i> (1602)
Seasonal Variation Characteristics and Potential Source Contribution of Sulfate, Nitrate and Ammonium in Beijing by Using Single Particle Aerosol Mass Spectrometry .....	LIU Lang, ZHANG Wen-jie, DU Shi-yong, <i>et al.</i> (1609)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of PM <sub>2.5</sub> in Lanzhou City .....	WANG Xin, NIE Yan, CHEN Hong, <i>et al.</i> (1619)
Pollution Level and Source Apportionment of Atmospheric Particles PM <sub>2.5</sub> in Southwest Suburb of Chengdu in Spring .....	LIN Yu, YE Zhi-xiang, YANG Huai-jin, <i>et al.</i> (1629)
Variation Characteristics of Total Gaseous Mercury at Simian Mountain Background Station in Mid-subtropical Region .....	LIU Wei-ming, MA Ming, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (1639)
Establishment of Method for Health Risk Assessment of Pollutants from Fixed Sources .....	CHEN Qiang, WU Huan-bo (1646)
Testing of Concentration and Characteristics of Particulate Matters Emitted from Stationary Combustion Sources in Beijing .....	HU Yue-qi, WU Xiao-dong, WANG Chen, <i>et al.</i> (1653)
Pollution Evaluation and Risk Assessment of Heavy Metals from Atmospheric Deposition in the Parks of Nanjing .....	WANG Cheng, QIAN Xin, LI Hui-ming, <i>et al.</i> (1662)
CoCuMnO <sub>2</sub> Photocatalyzed Oxidation of Multi-component VOCs and Kinetic Analysis .....	MENG Hai-long, BO Long-li, LIU Jia-dong, <i>et al.</i> (1670)
Distribution of Nitrogen and Phosphorus in the Tidal Reach and Estuary of the Daliao River and Analysis of Potential Eutrophication .....	ZHANG Lei, CAO Wei, MA Ying-qun, <i>et al.</i> (1677)
Spatial Distribution of Stable Isotope from the Lakes in Typical Temperate Glacier Region .....	SHI Xiao-yi, PU Tao, HE Yuan-qing, <i>et al.</i> (1685)
$\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ and $\delta^{18}\text{O}\text{-NO}_3^-$ Tracing of Nitrate Sources in Beijing Urban Rivers .....	ZHAO Qing-liang, MA Hui-ya, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (1692)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Nitrate Pollution in Shallow Groundwater of Liujiang Basin .....	WANG He, GU Hong-biao, CHI Bao-ming, <i>et al.</i> (1699)
Nitrogen Losses Under the Action of Different Land Use Types of Small Catchment in Three Gorges Region .....	CHEN Cheng-long, GAO Ming, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (1707)
Interception Effect of Ecological Ditch on Nitrogen Transport in Agricultural Runoff in Subtropical China .....	WANG Di, LI Hong-fang, LIU Feng, <i>et al.</i> (1717)
Biodegradation Coefficients of Typical Pollutants in the Plain Rivers Network .....	FENG Shuai, LI Xu-yong, DENG Jian-cai (1724)
Influence of Submerged Plants on Microbial Community Structure in Sediment of Hongze Lake .....	ZHANG Ding-yu, ZHANG Ting-xi, DONG Dan-ping, <i>et al.</i> (1734)
Community Structure Characteristics of Diatom in Reservoirs Located in the South of Jiangsu Province, China and Its Control Factors .....	REN Jie, ZHOU Tao, ZHU Guang-wei, <i>et al.</i> (1742)
Contamination and Ecological Risk Assessment of Mercury in Hengshuihu Wetland, Hebei Province .....	WANG Nai-shan, ZHANG Man-yin, CUI Li-juan, <i>et al.</i> (1754)
Spatial Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Soils and Sediments in Shunde Waterway, Southern China .....	CAI Yi-min, CHEN Wei-ping, PENG Chi, <i>et al.</i> (1763)
Pollution Characteristics and Ecological Risk of PBDEs in Water and Sediment from an Electronic Waste Dismantling Area in Taizhou .....	CHEN Xiang-ping, PENG Bao-qi, LÜ Su-ping, <i>et al.</i> (1771)
Major Ionic Features and Their Controlling Factors in the Upper-Middle Reaches of Wujiang River .....	HUANG Qi-bo, QIN Xiao-qun, LIU Peng-yu, <i>et al.</i> (1779)
Export of Total Organic Carbon (TOC) from Karst Watershed and Its Influencing Factors; An Example from Xueyudong Underground River System, Chongqing .....	WANG Qiao-lian, JIANG Yong-jun, CHEN Yu (1788)
Seasonal Variations and Controlling Factors of the Element Contents in Drip Waters Collected from the Baojingong Cave in Guangdong Province .....	HUANG Jia-yi, CHEN Lin, CHEN Qiong, <i>et al.</i> (1798)
Tracing the Fecal Contamination Sources Based on <i>Bacteroides</i> 16S rRNA PCR-DGGE in Karst Groundwater; Taking Laolongdong Underground River System, Nanshan, Chongqing as an Example .....	ZHANG Hong, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (1805)
Sources and Variation Characteristics of Dissolved Lipid Biomarkers in a Typical Karst Underground River .....	LIANG Zuo-bing, SUN Yu-chuan, LI Jian-hong, <i>et al.</i> (1814)
Formation of Halogenated By-products in Co <sup>2+</sup> Activated Peroxymonosulfate Oxidation Process .....	LIU Kuo, JIN Hao, DONG Wei, <i>et al.</i> (1823)
Aspartic Acid Generated in the Process of Chlorination Disinfection By-product Dichloroacetonitrile .....	DING Chun-sheng, LI Nai-jun, ZHANG Tao, <i>et al.</i> (1831)
Influencing Factors of Assimilable Organic Carbon (AOC) Formation in Drinking Water During Ozonation Process .....	DONG Bing-zhi, ZHANG Jia-li, HE Chang (1837)
Wastewater Quantity and Quality Fluctuation Characteristics of Typical Area of Hybrid Sewage System .....	CHENG Xun, ZHANG Ming-kai, LIU Yan-chen, <i>et al.</i> (1845)
Preparation of HDTMA-modified Zeolite and Its Performance in Nitro-phenol Adsorption from Wastewaters .....	GUO Jun-yuan, WANG Bin (1852)
Selection of Suitable Microalgal Species for Sorption of Uranium in Radioactive Wastewater Treatment .....	LI Xin, HU Hong-ying, YU Jun-yi, <i>et al.</i> (1858)
Magnetic Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Microparticles Conditioning-Pressure Electro-osmotic Dewatering (MPEOD) of Sewage Sludge .....	QIAN Xu, WANG Yi-li, ZHAO Li (1864)
Stability of Short-cut Nitrification Nitrogen Removal in Digested Piggery Wastewater with an Intermittently Aerated Sequencing Batch Reactor .....	SONG Xiao-yan, LIU Rui, SHUI Yong, <i>et al.</i> (1873)
Effect of Irrigation Patterns on Soil CO <sub>2</sub> and N <sub>2</sub> O Emissions from Winter Wheat Field in North China Plain .....	GUO Shu-fang, QI Yu-chun, YIN Fei-hu, <i>et al.</i> (1880)
Characteristics of Dissolved CH <sub>4</sub> and N <sub>2</sub> O Concentrations of Weihe River in Xinxiang Section in Spring .....	HOU Cui-cui, ZHANG Fang, LI Ying-chen, <i>et al.</i> (1891)
Effect of Stimulated N Deposition on N <sub>2</sub> O Emission from a <i>Stipa krylovii</i> Steppe in Inner Mongolia, China .....	YANG Han-yue, ZHANG Ting, HUANG Yong-mei, <i>et al.</i> (1900)
Response of Soil Respiration and Organic Carbon to Returning of Different Agricultural Straws and Its Mechanism .....	CAO Zhan-bo, WANG Lei, LI Fan, <i>et al.</i> (1908)
Spatial Variability and Distribution Pattern of Soil Organic Matter in a Mollisol Watershed of China .....	GAO Feng-jie, MA Quan-lai, HAN Wen-wen, <i>et al.</i> (1915)
Effects of Tillage on Distribution of Heavy Metals and Organic Matter Within Purple Paddy Soil Aggregates .....	SHI Qiong-bin, ZHAO Xiu-lan, CHANG Tong-ju, <i>et al.</i> (1923)
Distribution Characteristics and Potential Ecological Hazards Assessment of Soil Heavy Metals in Typical Soil Profiles in Southeast Suburb of Beijing .....	ZHAO Qian, MA Lin, LIU Yi-fei, <i>et al.</i> (1931)
Contamination Assessment and Sources Analysis of Soil Heavy Metals in Opencast Mine of East Junggar Basin in Xinjiang .....	LIU Wei, YANG Jian-jun, WANG Jun, <i>et al.</i> (1938)
Effect of Nano-TiO <sub>2</sub> on Release and Speciation Changes of Heavy Metals in Soil .....	ZHANG Jin-yang, WANG Ding-yong, LIANG Li, <i>et al.</i> (1946)
Reduction Kinetics of Cr(VI) in Chromium Contaminated Soil by Nanoscale Zerovalent Iron-copper Bimetallic .....	MA Shao-yun, ZHU Fang, SHANG Zhi-feng (1953)
Inhibition of Low Molecular Organic Acids on the Activity of <i>Acidithiobacillus</i> Species and Its Effect on the Removal of Heavy Metals from Contaminated Soil .....	SONG Yong-wei, WANG He-ru, CAO Yan-xiao, <i>et al.</i> (1960)
Contribution of Particle Size and Surface Coating of Silver Nanoparticles to Its Toxicity in Marine Diatom <i>Skeletonema costatum</i> .....	HUANG Jun, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (1968)
Rhizospheric Mechanisms of <i>Hemerocallis middendorfii</i> Trautv. et Mey. Remediating Petroleum-contaminated Soil and Metabonomic Analyses of the Root Systems .....	WANG Ya-nan, CHENG Li-juan, ZHOU Qi-xing (1978)
Effects of Thermophilic Composting on Antibiotic Resistance Genes (ARGs) of Swine Manure Source .....	ZHENG Ning-guo, HUANG Nan, WANG Wei-wei, <i>et al.</i> (1986)
Interaction Between Sulfonamide Antibiotics Fates and Chicken Manure Composting .....	LIN Hui, WANG Jian-mei, SUN Wan-chun, <i>et al.</i> (1993)

# 《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军  
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明  
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞  
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2016年5月15日 第37卷 第5期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 5 May 15, 2016

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@reces. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@reces. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301  
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行