

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发	张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟	彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)
鄂东典型工业城市大气 PM ₁₀ 中元素浓度特征和来源分析	占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)
常州夏秋季 PM _{2.5} 中碳质气溶胶特征及来源	叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析	范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源	刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布	李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征	唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价	张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究	李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素	张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征	杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估	张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响	何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值	张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响	肖丽微, 朱波 (4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系	滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析	李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律	蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响	王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V)	周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除	蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响	于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 渭思思, 冯云堂 (4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响	孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响	刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力	马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试	李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)
SBR 加载不同粒径磁性活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制	信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复	黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化	高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析	张玉, 万方, 周集体 (4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响	耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落	杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析	杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响	王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响	刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性	牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素	杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO ₂ 、CH ₄ 排放通量的短期影响	李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放的影响	石将来, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价	周燕, 卢新卫 (4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征	代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响	蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 郭磊, 胡荣桂 (4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果	段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)
反复冻融与高温老化对神污染土壤固化稳定化效果的影响	杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征	叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性	王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险	印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁凌刚, 唐铭 (4868)
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响	陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响	李标, 孔晓英, 李连华, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)
环境模型中敏感性分析方法评述	陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)
《环境科学》征稿简则 (4462) 《环境科学》征订启事 (4672) 信息 (4647, 4705, 4789)	

典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析

杨浩^{1,2}, 张国珍^{1*}, 杨晓妮³, 武福平¹, 赵伟¹, 张洪伟¹, 张翔¹

(1. 兰州交通大学环境与市政工程学院, 兰州 730070; 2. 城市雨水系统与与水环境省部共建教育部重点实验室, 北京 100044; 3. 甘肃农业大学资源与环境学院, 兰州 730070)

摘要: 为阐释我国典型集雨饮水地区窖水水质自然变化机制,应用 16S rRNA 基因-Illumina MiSeq 高通量测序技术,对以庭院为组织单元、不同类型集流面和水窖组合模式构建的集雨水源地水体中微生物群落及功能多样性差异进行了研究,表明窖水微生物群落结构及其功能存在显著的差异,造成这种差异的主要因素是窖水内部环境因子、外部环境因子等的异质性。窖水微生物群落结构多样性差异呈现大量的稀有种和少数常见优势种的分布模式,不同类型集流面和水窖组合模式构建的集雨水源地水体中含有不同的显著差异性微生物类群;微生物群落功能多样性差异体现在:编码新陈代谢功能的基因序列与其他功能基因序列相比具有显著的优势性,氨基酸、碳水化合物、能量、脂类、辅助因子和维生素、萜类和酮类化合物、核苷酸、多糖的合成与代谢、外来物质的降解与代谢是构成新陈代谢功能的主要基因序列类群,表明窖水中存在大量、具有相对特定生态功能的微生物进行着诸多活跃的与新陈代谢相关活动。研究认为混凝土集流面与混凝土水窖组合模式用于收集和贮存雨水,水质更好、更安全。研究结果加深了对窖水微生物群落结构和多样性的认识,为开展集雨窖水水源地优选及改善窖水水质提供了借鉴。

关键词: 典型集雨饮水地区; 集雨窖水; Illumina MiSeq 高通量测序; 群落复杂度; LEfSe 组间差异; 群落; 基因功能

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2017)11-4733-14 **DOI:** 10.13227/j.hjxx.201702128

Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area

YANG Hao^{1,2}, ZHANG Guo-zhen^{1*}, YANG Xiao-mi³, WU Fu-ping¹, ZHAO Wei¹, ZHANG Hong-wei¹, ZHANG Xiang¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China; 2. Key Laboratory of Urban Stormwater System and Water Environment, Ministry of Education, Beijing 100044, China; 3. College of Natural Resources and Environment, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to explore the natural change mechanisms for cellar water quality for typical rainwater harvesting and drinking water surfaces in China, the MiSeq high-throughput sequencing method was used to study the differences between characteristics of microbial communities and functional diversity regarding collecting and making use of rainwater. This is achieved through constructing combined modes of different types of catchment areas and water-storing cellars. The results of this study show that there is significant differences in microbial community structure and function. The main factors causing this difference are heterogeneity of internal and external environmental factors regarding cellar water. The diversity of microbial community structures in cellar water show patterns of a large number of rare species and few common species. There are different significant microbial communities at different water points. The differences in the functional diversity of microbial communities shows that gene sequences that encode metabolic functions have significant advantages over other functional gene sequences, and amino acid, carbohydrate, lipid, energy, vitamin, terpenoid and polyketide, nucleotide, and glycan metabolism, as well as the biosynthesis of other secondary metabolites, are the main functional groups that compose metabolic function. This shows that there are a large number of microorganisms with relatively specific ecological functions in cellar water and many active metabolic activities are involved. Cellar water quality can be improved through combined modes of concrete collecting surfaces and water-storing cellars for collection and storage of rainwater. The results of the study aim to deepen the understanding of cellar water microbial community structures and diversity to be used as a reference for improving water quality and selecting the water surfaces for rainwater harvesting.

Key words: typical rainwater harvesting area; cellar water; MiSeq high-throughput sequencing; community complexity; linear discriminant analysis of effect size; microbial community; functional gene groups

我国西北地区水资源极度匮乏,是典型的集雨 饮水地区。随着我国水资源短缺形势日趋严峻,集

收稿日期: 2017-02-21; 修订日期: 2017-05-31

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT_14R25);教育部城市雨水系统与与水环境教育部重点实验室开放课题项目

作者简介: 杨浩(1980~),男,博士研究生,讲师,主要研究方向为水源水体水质修复, E-mail: haoyang7614236@163.com

* 通信作者, E-mail: guozhenzhang126@126.com

雨窖水在保障地区人畜饮水安全领域日益发挥着重要的作用,具有不可替代性。目前,由于受地形、社会经济发展状况等的限制,典型集雨饮水地区的雨水集流面主要有屋面(机瓦、混凝土)、水泥地面和土地面这3种,水窖类型有水泥窖和红黏土水窖两种,以农户庭院为组织单元的不同类型的集流面和水窖共同组成了集雨水源地。然而,农户庭院集流面同时也是农户生产生活的主要场所,不可避免地存在着雨水洗滤大气粉尘、禽畜粪便、生活与生产垃圾无序处置等所造成的污染问题,致使入窖雨水受到大量的有机污染物、微生物、氮、磷等的污染。其次,集流雨水从雨季首次降水形成汇流入窖至蓄满水窖的时间段内,经历了雨季雨水冲刷集流面形成汇流并间歇汇流入窖、旱季集流面污染物日日累积与每日取用窖水的较为复杂过程。窖水与湖泊、河流、水库等地表水不同,是一种相对封闭的水体,集雨环境中大量的污染物被冲刷流入水窖,造成污染物的累积。

目前,对窖水水质评价主要以理化指标、细菌总数及总大肠菌群数为主,并以此探讨了饮用窖水对健康的影响,甚少考虑病原微生物指标^[1-12]。微生物对外界环境变化敏感,因此常被作为指示生物用于监测和反映水质情况,同时微生物还能通过同化、异化作用来对污染物进行降解,有助于减少污染物的积累,对维持水生态系统的稳定性具有重要作用^[13,14]。因此,全面、系统地探讨窖水中微生物群落结构特征和功能特征,是揭示窖水水质变化机制、评价以水为媒介的微生物病原体污染状况、开展集雨窖水水源地优选、改善集雨水源地集雨环境及窖水水质的有效切入点。

近年来,16S rRNA 基因-Illumina MiSeq 高通量测序技术在海洋、湖泊、水库、污水处理系统等水体微生物多样性、群落结构及功能研究领域应用日益广泛,并体现出其独特的优势性^[15,16]。本文应用16S rRNA 基因-Illumina MiSeq 高通量测序技术,分析研究了不同类型的集雨水源地水体中微生物群落结构与功能特征之间的差异,以期揭示窖水水质变化的机制、开展集雨窖水水源地优选及改善窖水水质提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 水样采集

根据我国干旱半干旱典型集雨地区集雨现状,针对不同集流面和水窖类型组合现场取样,并以数

字编号。1、2、3 号为黄土地集流面 + 红黏土水窖组(A),4、5、6 号为黄土地集流面 + 混凝土水窖组(B),7、8、9 号为混凝土集流面 + 混凝土水窖组(C),10、11、12 号为混凝土集流面 + 红黏土水窖组(D)。4 组水样取自同一个自然村的4户农村庭院,各庭院集流面与汇流水窖一一对应,集流雨水不存在交叉汇流入窖现象。

4 种水窖的构造及取样点位置如图1所示。取400 mL 的窖水经0.22 μm 聚碳酸酯膜负压过滤,收集滤膜,用事先灭菌且经过75%的酒精消毒的医用剪刀剪碎后,置于2 mL 的无菌离心管中,于-80℃的超低温冰箱中保存至DNA提取。

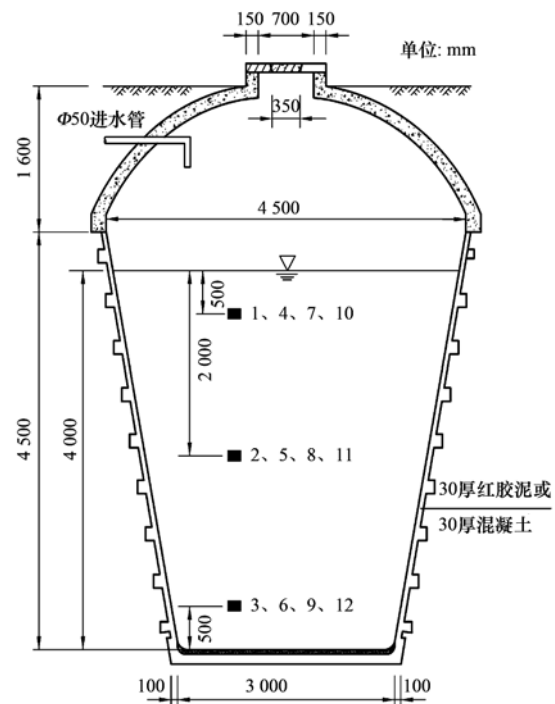


图1 水窖结构示意图

Fig. 1 Schematic of cellar water structure

1.2 细菌基因组 DNA 的提取及质量检测

窖水水样的细菌基因组 DNA 采用 Water DNA Isolation Kit 试剂盒提取。待 DNA 完全溶解后,将 TE 缓冲液设为空白对照,移取 2 μL ,使用超微量紫外可见分光光度计(美国 Quawell Q5000)检测其浓度,并根据 D_{260}/D_{280} 的值检测其纯度。移取 3 μL DNA,采用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测,在凝胶成像系统上拍照观察分析 DNA 样品的完整性,电压为 120 V,电泳时间约为 20 min。

1.3 高通量测序及数据分析

1.3.1 MiSeq 高通量测序

以 12 个 DNA 原液作为 PCR 模板,利用细菌 16S rDNA 通用引物进行 V4 区扩增。引物序列为 F:

520F: (5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3'), R: 802R: (5'-TACNVGGGTATCTAATCC-3'). PCR 反应条件为: 98℃ 预变性 3 min; 98℃ 变性 30 s; 50℃ 退火 30 s; 72℃ 延伸 30 s; 27 个循环; 72℃ 后保温 5 min, 于 4℃ 保存. 反应结束后配制 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物.

PCR 扩增图谱条带清晰明显, 且条带位置一致, 背景干净, 符合后续分析要求. 委托上海派森诺生物科技有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序.

1.3.2 测序数据优化处理

运用 Qiime 进行序列过滤, 去除 5' 端引物错配碱基数 > 1 的序列; 去除含有模糊碱基的序列; 去除含有连续相同碱基数 > 8 的序列; 去除长度 ≤ 150 bp 的序列; 运用 Mothur 软件中 Uchime 的方法去除嵌合体序列, 得到优质序列.

1.3.3 OTU 聚类分析及注释

在 Qiime 中调用 Uclust 的方法对优质序列按序列相似度 0.97 进行聚类, 选取每个类中最长的序列为代表序列. 在 Qiime 中调用 Blast 的方法用序列数

据库进行比对, 获得每个 OTU 代表序列的分类学信息. 注释数据库为: Greengene. 之后对 OTU 进行精简处理, 去掉丰度值小于总序列条数 0.001% 的 OTU, 得到精简后的 OTU 列表.

1.3.4 多样性及群落结构分析

根据水样物种丰度情况, 应用软件 Mothur 中的 summary. single 命令, 计算菌群 Chao、ACE、Shannon、Simpson 多样性指数. 12 个样品数据批量导入 Qiime 软件, 进行组间差异性分析, 生成不同分类水平上的物种丰度表和多样品物种分布, 通过 Galaxy 在线平台进行 LEfSe 分析, 并使用 PICRUST 软件, 根据 KEGG 数据库中微生物代谢功能的类别对群落样本进行功能基因预测.

2 结果与分析

2.1 窖水水体理化性质

不同类型水窖各取样点水质指标略有不同, 窖水水质总体上呈弱碱性, 浊度明显超标, 尤其是 TN、TP 指标超标严重(表 1).

表 1 不同类型水窖水体物理化学指标

Table 1 Physiochemical parameters of cellar water												
项目	温度 /℃	pH	浊度 /NTU	高锰酸盐指数 /mg·L ⁻¹	BOD ₅ /mg·L ⁻¹	NH ₄ ⁺ -N /mg·L ⁻¹	NO ₂ ⁻ -N /mg·L ⁻¹	NO ₃ ⁻ -N /mg·L ⁻¹	TN /mg·L ⁻¹	TP /mg·L ⁻¹	UV ₂₅₄	
A	1	10.0	7.85	5.10	3.360	0.000	0.140	0.000	0.060	1.140	0.100	0.061
	2	10.0	7.74	5.00	3.342	0.587	0.145	0.009	0.058	1.150	0.105	0.057
	3	10.0	7.62	4.90	3.375	0.782	0.142	0.002	0.061	1.143	0.107	0.065
B	4	8.00	7.85	5.60	3.890	1.300	0.150	0.010	0.340	1.620	0.120	0.094
	5	8.00	7.76	5.50	3.725	1.280	0.158	0.015	0.309	1.618	0.115	0.091
	6	8.00	7.71	5.70	3.857	1.340	0.146	0.012	0.354	1.634	0.131	0.102
C	7	10.0	7.84	3.10	2.390	1.600	0.350	0.040	0.350	1.980	0.180	0.036
	8	10.0	7.82	3.54	2.380	1.650	0.340	0.041	0.340	1.970	0.182	0.035
	9	10.0	7.86	3.02	2.391	1.589	0.350	0.042	0.335	1.950	0.175	0.037
D	10	10.0	7.79	13.6	4.260	2.800	0.290	0.010	0.000	0.850	0.120	0.075
	11	10.0	7.75	12.8	4.240	2.740	0.310	0.014	0.001	0.840	0.124	0.074
	12	10.0	7.62	13.4	4.280	2.910	0.280	0.009	0.000	0.860	0.118	0.073

2.2 微生物群落多样性分析

2.2.1 α 多样性分析

12 个窖水样品的 OTU 聚类与物种分类、丰富度与多样性在组间和组内都具有差异性(表 2). 这种差异性, 可进一步通过 OTU 稀释曲线、OTU 分布维恩图、OTU 等级丰度分布曲线得到阐释.

OTU 稀释性曲线(图 2), 趋于平坦, 但仍未达到饱和. 但香农指数稀释曲线(图 3)平坦, 各样品覆盖率较高(表 2), 说明测序获取了绝大多数样本信息, 能够反映窖水的微生物群落组成. 除此之外, 从 OTU 稀释曲线可以直观地看出样品间微生物群落

组成存在的差异, OTU 丰富度从大到小的排序为 8 号 > 7 号 > 10 号 > 11 号 > 4 号 > 5 号 > 9 号 > 6 号 > 12 号 > 3 号 > 1 号 > 2 号.

OTU 分布维恩图反映了窖水样品间及组间微生物群落结构的差异状况. 分析样品间 OTU 分布的聚类注释可知[图 4(a)~4(c)]: 1、2、3 号样品有共同的 OTU 数目为 153 条, 4、5、6 号样品共有的 OTU 数目为 463 条, 7、9 号样品共同的 OTU 数目为 420 条, 10、12 号样品共同的 OTU 数目为 424 条, 1~12 号样品共有的 OTU 数目为 65 条, 特有 OTU 数目各不相同. OTU 分布的组间聚类注释分析见图 4

(d), 4 组样品共有的 OTU 数目为 245 个, A、B、C、D 特有的 OTU 数目分别为 109、91、175、111 条, 其余 OTU 为样本两两共有, 其中样本 C 中特有的 OTU 数目最多, 预示着较多的特有微生物种类. B 与 D

共有的 OTU 数目较多, 为 564 条. 可以看出, 无论是组内各平行样的 OTU 进行聚类分析结果, 还是组间 OTU 聚类注释分析结果, 都显示了 D 组具有较高的微生物多样性.

表 2 窖水水体细菌 16S rRNA 序列、丰富度及多样性

Table 2 Pearson's correlation coefficient of biodiversity and physiochemical parameters of cellar water

样品	OTU 聚类与物种分类								多样性指数				覆盖率
	优质序列数	OTU 数量	门	纲	目	科	属	ACE	Chao	Simpson	Shannon		
A	1	14088	495	13	27	45	59	79	723.74	710.91	0.89	4.62	0.980
	2	19487	479	12	27	42	56	71	728.35	717.73	0.92	4.85	0.975
	3	20217	599	14	33	49	66	84	872.15	881.88	0.95	5.78	0.972
B	4	16695	633	16	27	44	60	77	801.06	859.25	0.97	6.03	0.970
	5	20910	608	14	26	45	62	75	918.96	936.77	0.95	5.86	0.966
	6	19755	629	14	27	45	61	77	814.28	833.99	0.97	5.92	0.957
C	7	19601	670	18	33	56	75	97	962.91	968.30	0.97	6.22	0.948
	8	15835	682	17	27	48	65	83	891.04	965.19	0.97	6.32	0.970
	9	15054	548	12	22	40	55	73	780.76	840.27	0.97	6.39	0.966
D	10	18368	629	16	32	51	71	93	956.63	968.71	0.96	6.07	0.978
	11	18373	641	17	29	48	68	85	949.00	973.36	0.96	6.00	0.971
	12	16945	600	14	28	44	63	82	824.08	826.71	0.97	6.17	0.963

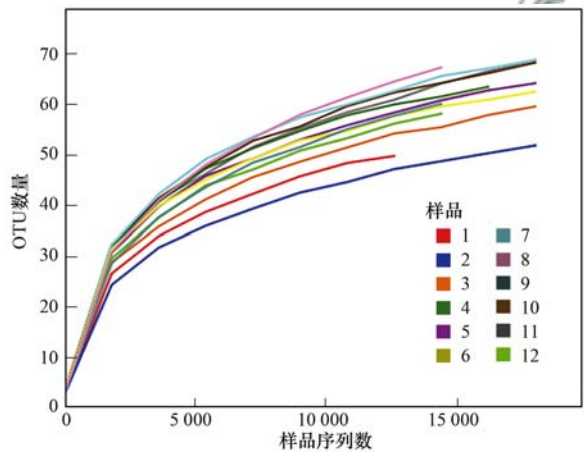


图 2 OTU 稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curve of OTUs

Rank-Abundance 曲线, 可直观反映样品中包含的物种分类丰富度和均匀度 (图 5). 各样品曲线斜率较大, 表明有优势菌. 从水平方向上看, 12 个样品在横轴上跨度即丰富度从大到小的排序为 8 号 > 7 号 > 10 号 > 11 号 > 4 号 > 5 号 > 9 号 > 6 号 > 12 号 > 3 号 > 1 号 > 2 号, 这与 12 个样品 OTUs 统计结果相吻合.

2.2.2 β 多样性分析

根据样品之间微生物的进化信息以及微生物丰度信息进行 Unifrac 分析, 得到样品差异的距离矩阵, 并对 4 组 12 个样品之间的距离矩阵信息进行 PCoA 分析. 通过对数据的第 1 (PC1) 与第 2 (PC2) 主成分分析绘制基于 Unifrac 加权主坐标分

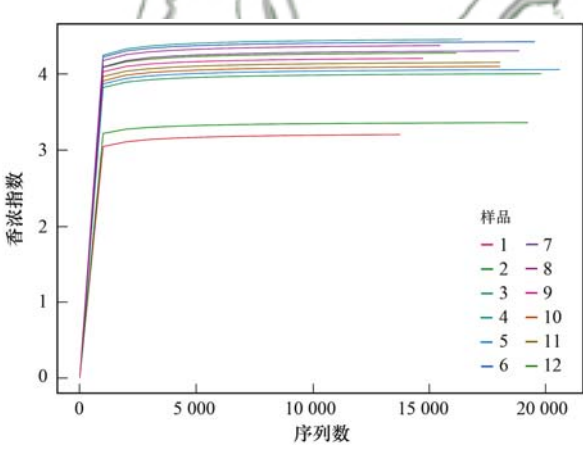


图 3 香农指数稀释曲线

Fig. 3 Rarefaction curve of Shannon-Wiener index

析图 (图 6) 与基于 Unifrac 非加权主坐标分析图 (图 7).

基于 Unifrac 加权主坐标分析其第一主成分、第二主成分的贡献率分别为 63.98%、15.00%. 在以 PC1 和 PC2 为坐标作图时, 除了 B 组和 C 组区分度不太理想, 4、6、9 号样品存在交叠现象外, 其余样品之间均得到较好的区分, 各样品距离较远, 不存在交叠现象, 显示 4 组样品在群落构成上存在明显的差异. 基于 Unifrac 非加权主坐标分析其第一主成分、第二主成分的贡献率分别为 26.41%、20.91%. 在以 PC1 和 PC2 为坐标作图时, 4 组样品之间的距离较远, 不存在交叠现象, 显示 4 组样品在群落构成上存在显著的差异.

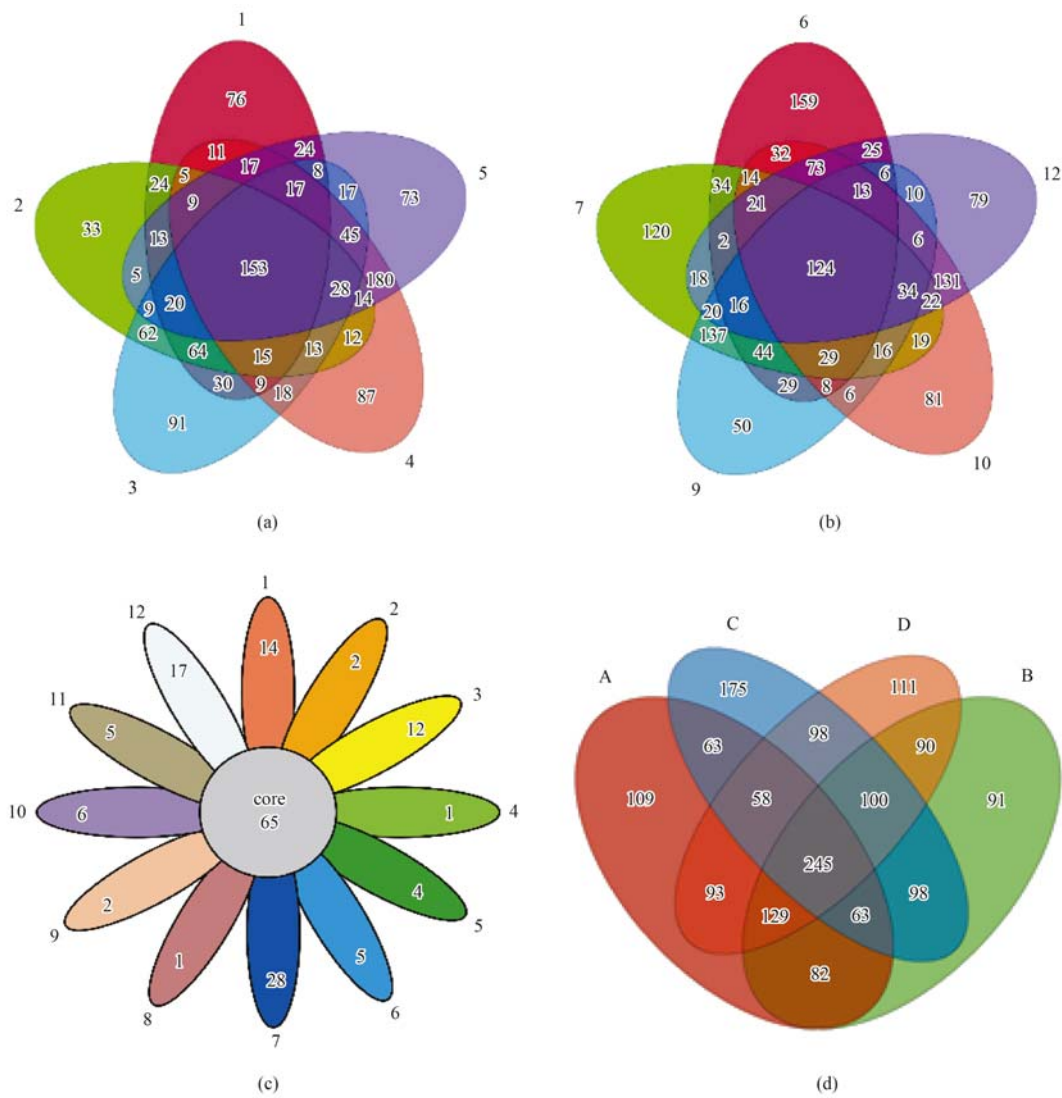


图 4 OTU 分布维恩图

Fig. 4 Venn diagrams showing the distribution of OTUs

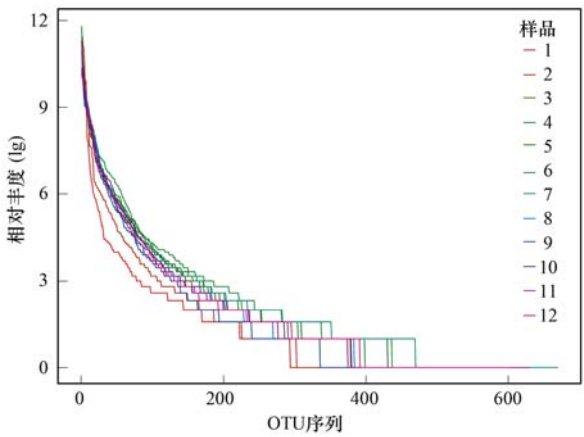


图 5 样品的 OTU 等级丰度分布曲线

Fig. 5 OTU Rank-Abundance distribution curves of samples diagrams showing the distribution of OTUs

2.3 窖水微生物群落组成分析

2.3.1 门水平的微生物群落分布特征

窖水水样细菌群落在门分类水平上多样性丰富,达到 25 个门(图 8). 主要微生物类群包括拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线细菌门(Actinobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、OD1、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes)、TM7.

分析窖水水样中微生物在门水平上的群落结构差异主要有如下特征:拟杆菌门、变形菌门、放线细菌门、疣微菌门、OD1、浮霉菌门、芽单胞菌门是占总菌群的比例较大的优势菌属,平均相对丰度分

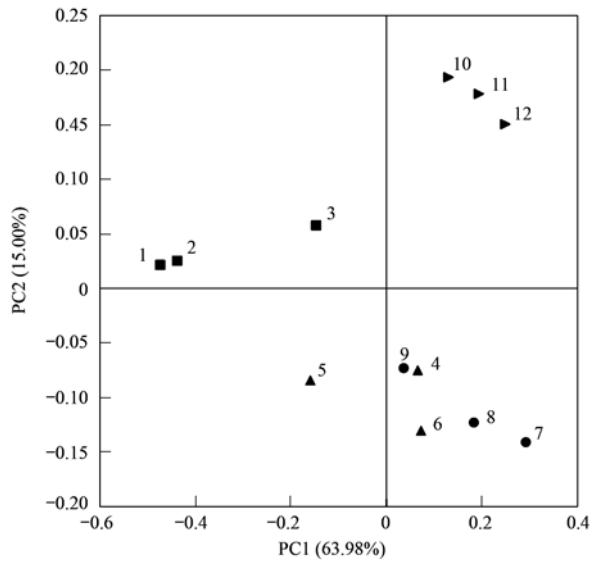


图6 样品细菌群落结构 Unifrac 加权主坐标分析
Fig. 6 Weighted Unifrac analysis of the samples

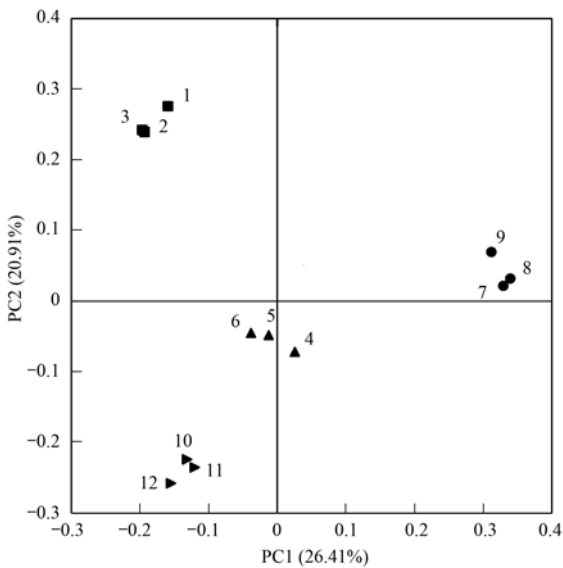


图7 样品细菌群落结构 Unifrac 非加权主坐标分析
Fig. 7 Unweighted Unifrac analysis of the samples

别为 39.10%、29.20%、15.30%、7.00%、4.70%、1.00%、1.00%，它们构成了窖水在门层次上的基本群落结构；4 组 12 个样品中微生物群落在组间和组内存在差异，即少数绝对优势菌拟杆菌门、变形菌门、放线细菌门、疣微菌门、OD1 的相对丰度有显著的差异，各绝对优势菌的优势地位有所变化：A 组、B 组、9 号样品中相对比例最多的拟杆菌门在 D 组、7、8 号样品中被变形菌门代替。

除此之外，拟杆菌门与变形菌门、放线细菌门、疣微菌门相对丰度之间存在一定的相关性，分别对拟杆菌门与变形菌门、放线细菌门、疣微菌门相对丰度进行曲线拟合（图 9），它们之间的相对丰度存

在较好的指数函数关系（ R^2 为 0.902、0.800、0.6272）。而相对丰度 $\leq 1.00\%$ 的微生物群落浮霉菌门、芽单胞菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门、TM7 相对丰度在各样品中差别不大；个别微生物群落出现在特定的窖水样品中，如古生菌门（Euryarchaeota）、Armatimonadetes、纤维杆菌门（Fibrobacteres）、衣原体门（Chlamydiae）、绿菌门（Chlorobi）、GN02、TM6、螺旋体门（Spirochaetes）、[Thermi]。

2.3.2 属水平的微生物群落分布特征

12 个水样中属水平的细菌共 184 个，其中黄杆菌属（*Flavobacterium*，5.80%）、沉积物杆状菌属

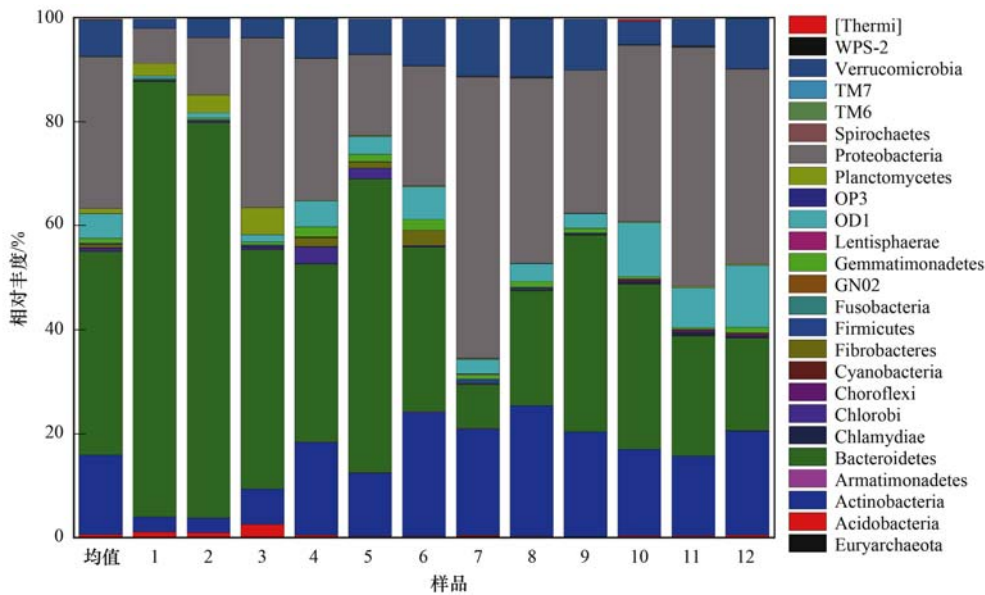


图8 样品中门水平细菌群落结构及分布
Fig. 8 Bacterial communities and distribution of the samples at the phylum level

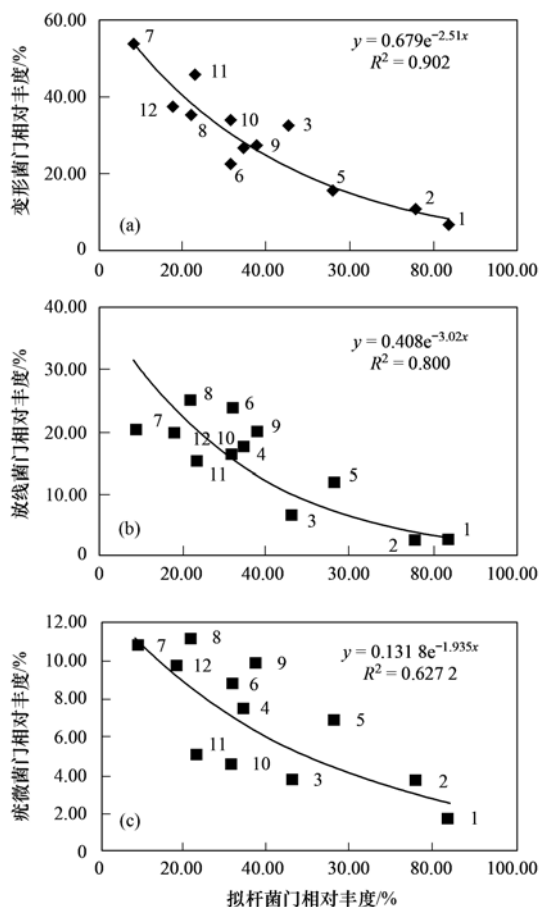


图9 窖水中拟杆菌门与变形菌门、放线菌门、疣微菌门相对丰度的相关性分析

Fig. 9 Correlation between Bacteroidetes and Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia based analyses of relative abundance in cellar water

(*Sediminibacterium*, 5.40%)、噬酸菌属(*Acidovorax*, 3.80%)、多核杆菌属(*Polynucleobacter*, 3.80%)等相对丰度大于1.00%菌群达21属,构成了窖水在属层次上的基本群落结构。

各水样39种共有细菌菌属的差异主要体现在优势菌群(相对丰度 $\geq 1.00\%$)地位及其相对丰度的变化(图10):1、2、3号水样中显著差异菌属为黄杆菌属(*Flavobacterium*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、噬酸菌属(*Acidovorax*)及隶属于下列分类水平的未知属:噬纤维菌科(*Cytophagaceae*)、鞘脂杆菌科(*Sphingobacteriaceae*);4、5、6号水样中相对丰度占优势的菌群有13种,其中显著差异的菌属为噬酸菌属(*Acidovorax*)、多核杆菌属(*Polynucleobacter*)、铁细菌属(*Crenothrix*)、丰收神菌属(*Opitut*)及隶属于下列分类水平的未知属:C111、放线菌目(*Actinomycetales*)、ACK-M1、噬纤维菌科

(*Cytophagaceae*)、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*)、鞘脂杆菌科(*Sphingobacteriaceae*)、ZB2;7、8、9号水样中相对丰度占优势的菌群有16种,其中显著差异菌属为黄杆菌属(*Flavobacterium*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、弓形菌属(*Arcobacter*)及隶属于下列分类水平的未知属:放线菌目(*Actinomycetales*)、ACK-M1、噬纤维菌科(*Cytophagaceae*)、鞘脂杆菌科(*Sphingobacteriaceae*)、丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)、R4-41B;10、11、12号水样中相对丰度占优势的菌群有17种,其中显著差异的菌属为*Aquiestis*、红细菌属(*Rhodobacter*)、噬酸菌属(*Acidovorax*)、多核杆菌属(*Polynucleobacter*)及隶属于下列分类水平的未知属:ACK-M1、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*)、ZB2。

窖水各水样属水平的细菌群落分布特征及差异,更多地体现在139种非共有菌属的组成及相对丰度(图11);其中非共有优势菌属(相对丰度 $\geq 1.00\%$)有伊金氏菌属(*Elizabethkingia*)、菌保所杆菌属(*Emticicia*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、嗜氢菌属(*Hydrogenophaga*)、突柄杆菌属(*Prostheobacter*)及隶属于下列分类水平的未知属:*Saprospiraceae*、[*Pedosphaerales*]、OPB56、258ds10、[*Cerasicoccaceae*]、*Pelagibacteraceae*;而相对丰度 $< 1.00\%$ 的非优势菌属数量众多,在各水样中的分布差异较大,其相对丰度介于0.10%~0.70%。

进一步综合分析窖水各水样属水平的细菌群落分布特征可知,C、D组样品细菌群落分布较A、B组样品均匀,多样性较高。

2.4 组间显著性差异及微生物群落标志物

为进一步确定菌群的丰富度差异,采用基于LEfSe的分析方法,来确定窖水12个样品在4个分组水平上的差异微生物群落状况,筛选关键的生物标记物(图12)。分类等级树展示了由从内圈到外圈依次排列的样本群落中从门到属的所有分类单元的等级关系,节点大小对应于该分类单元的平均相对丰度,黄色节点代表未体现出显著的组间差异的分类单元,而其它色(如绿色和红色)则表明这些分类单元体现出显著的组间差异,且在该色所代表分组样本中丰度较高。

分析结果表明:A组样品中的酸杆菌门(*Acidobacteria*)、浮霉状菌(从门到属)、韦荣氏球

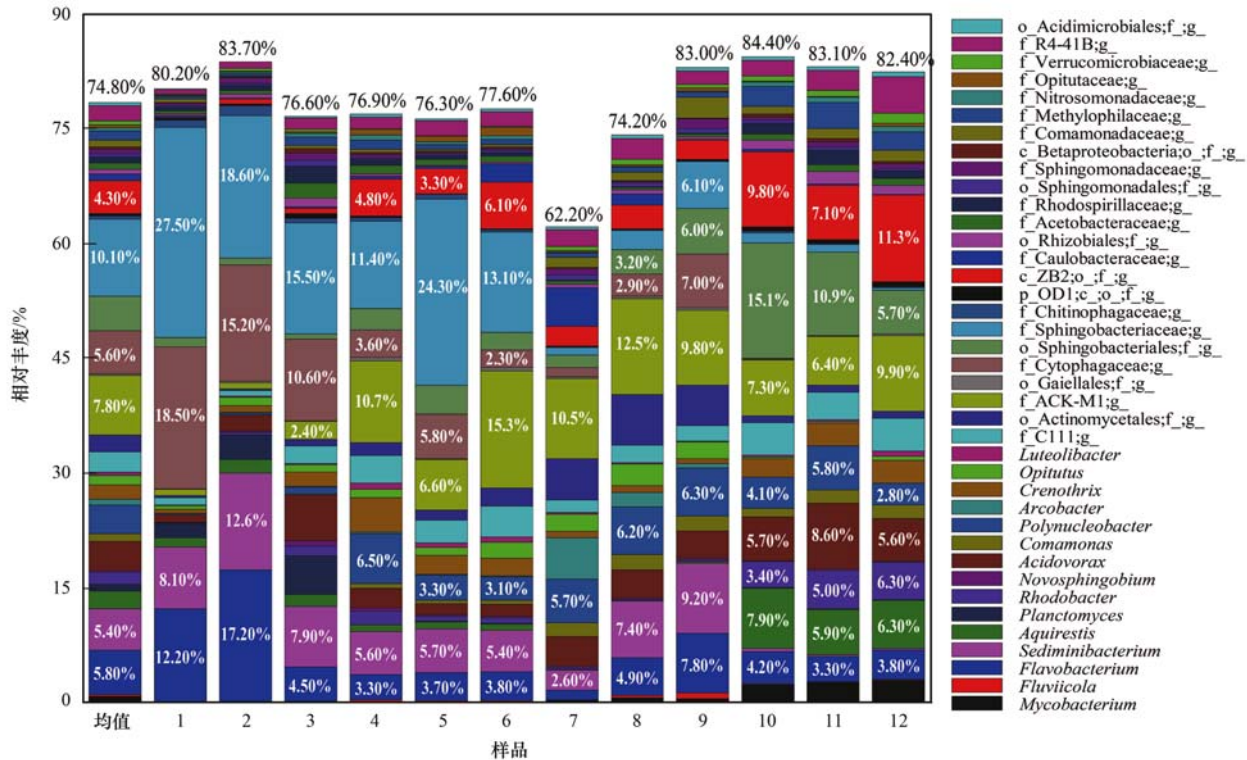


Fig. 10 Bacterial communities and distribution (common bacteria) of the samples at the genus level

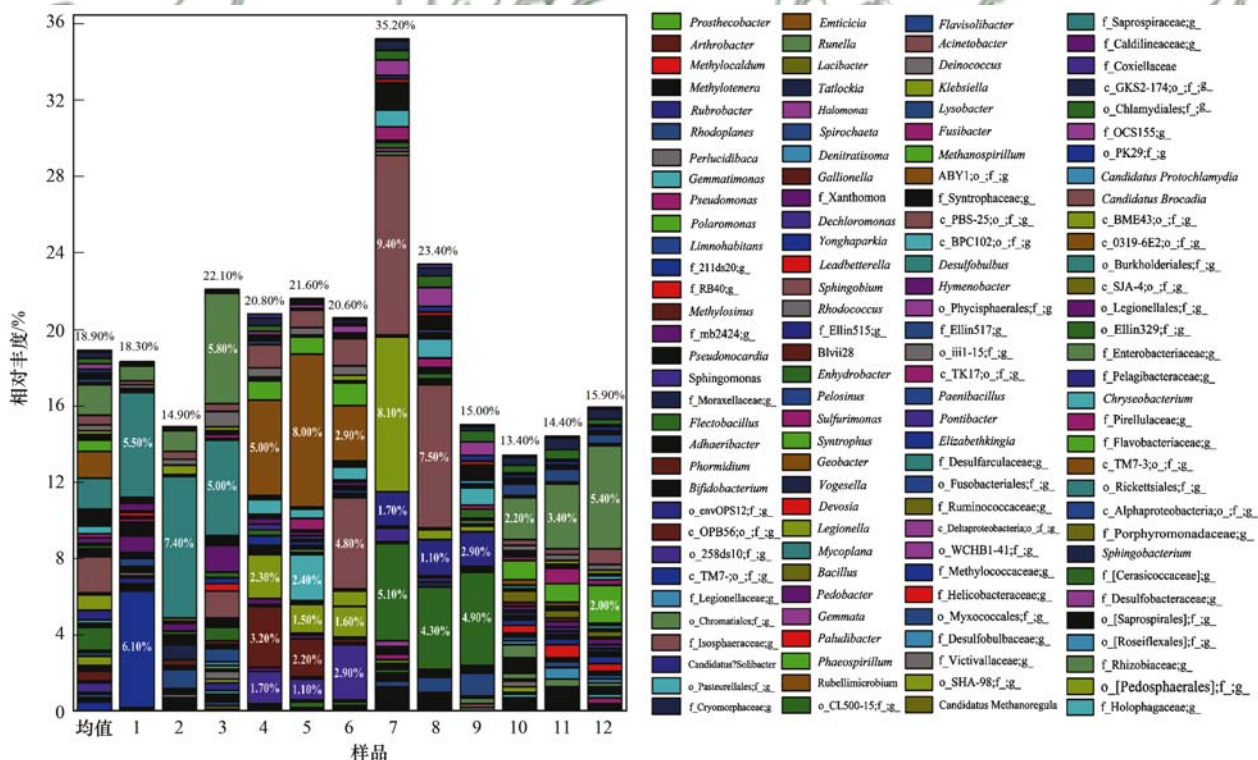


Fig. 11 Bacterial communities and distribution (non-common bacteria) of the samples at the genus level

菌科 (Veillonellaceae)、束 缚 杆 菌 属 (Chitinophagaceae)、沉 积 物 杆 状 菌 属 (Haliscomenobacter)、噬 几 丁 质 菌 科 (Sediminibacterium)、薄 层 菌 属 (Hymenobacter)、

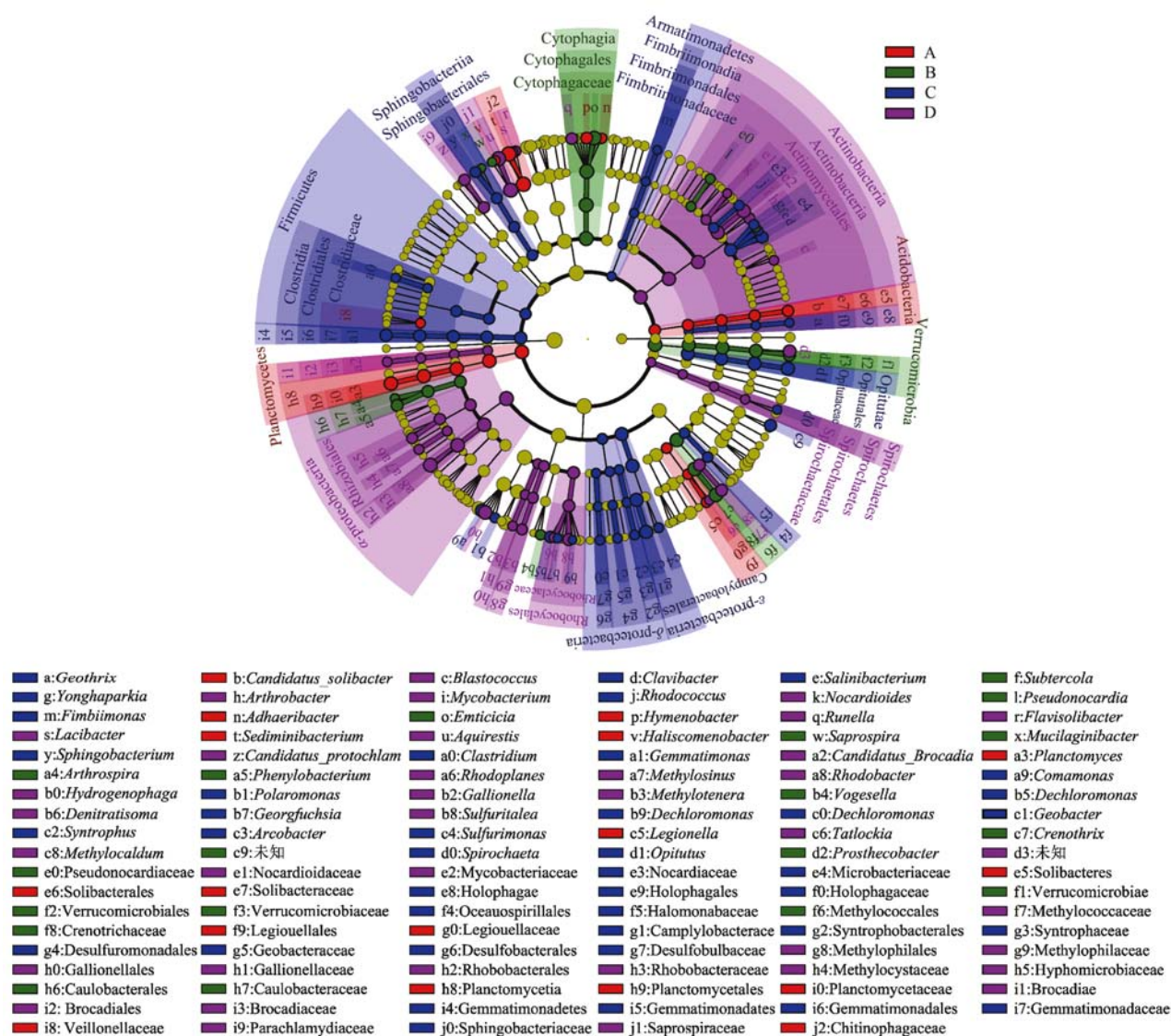


图 12 基于分类等级树的组间差异分析

Fig. 12 Cladogram based LEfSe analyses of microbiomes in cellar water

Adhaeribacter (黏结杆菌属)、军团菌 (从目到属) 等 19 个菌群, 丰富度较高; B 组样品中的噬纤维菌 (从纲到科)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*)、疣微菌 (从门到科)、突柄杆菌属 (*Prostheobacter*)、甲基球菌目 (*Methylococcales*)、铁细菌属 (*Crenothrix*)、节螺藻属 (*Arthrospira*)、苯基杆菌科 (*Phenylobacterium*)、腐败螺旋菌属 (*Saprospira*)、苍黄杆菌属 (*Luteolibacter*) 等 23 个菌群丰富度较高; C 组样品的装甲菌门 (*Armatimonadetes*)、诺卡氏菌科 (*Nocardaceae*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、微杆菌科 (*Microbacteriaceae*)、盐地杆菌属 (*Salinibacterium*)、全噬菌 (从纲到科)、丰收神菌 (从纲到属)、螺旋体属 (*Spirochaeta*)、海洋螺菌目 (*Oceanospirillales*)、 ϵ -变形菌纲 (ϵ -Proteobacteria)、

氧化硫单孢菌属 (*Sulfurimonas*)、弓形菌属 (*Arcobacter*)、 δ -变形菌纲 (δ -Proteobacteria)、共养菌属 (*Syntrophus*)、脱硫杆菌 (从目到属)、脱氯单孢菌属 (*Dechloromonas*)、出芽单孢菌 (从门到属)、梭菌 (从纲到属)、鞘脂杆菌 (从纲到属) 密螺旋体属 (*Treponema*) 等 58 种菌群丰度较高; D 组样品中的古字状菌属 (*Runella*)、类诺卡氏菌属 (*Nocardioideis*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、芽殖球菌属 (*Blastococcus*)、螺旋体 (从门到科)、甲基嗜热菌属 (*Methylocaldum*)、塔特洛克氏菌属 (*Tatlockia*)、脱硝酸弯杆菌属 (*Denitratisoma*)、嗜氢菌属 (*Hydrogenophaga*)、嘉利翁氏菌 (从目到属)、嗜甲基菌科 (*Methylophilaceae*)、 α -变形菌纲 (α -Proteobacteria)、红环菌目

(Rhodocyclales)、红细菌属(*Rhodobacter*)、甲基弯曲菌属(*Methylosinus*)、红游动菌属(*Rhodoplanes*)、腐败螺旋菌科(Saprospiraceae)、黄色土源菌属(*Flavisolibacter*)、放线菌(从门到目)、突柄杆菌属(*Prostheco bacter*)等48个菌群丰度较高.

2.5 功能基因 KEGG 统计与分析

通过 KEGG 对窖水 12 个样品基因序列进行微

生物代谢功能分析(图 13). KO level 1 层次上,12 个样品所有功能基因序列可分为 7 类,其中,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性,其次是遗传信息加工、环境信息加工、未分类的功能、细胞过程编码相应功能的基因丰度较高,生物体系统和人类疾病相关基因编码相应功能的基因丰度较低.

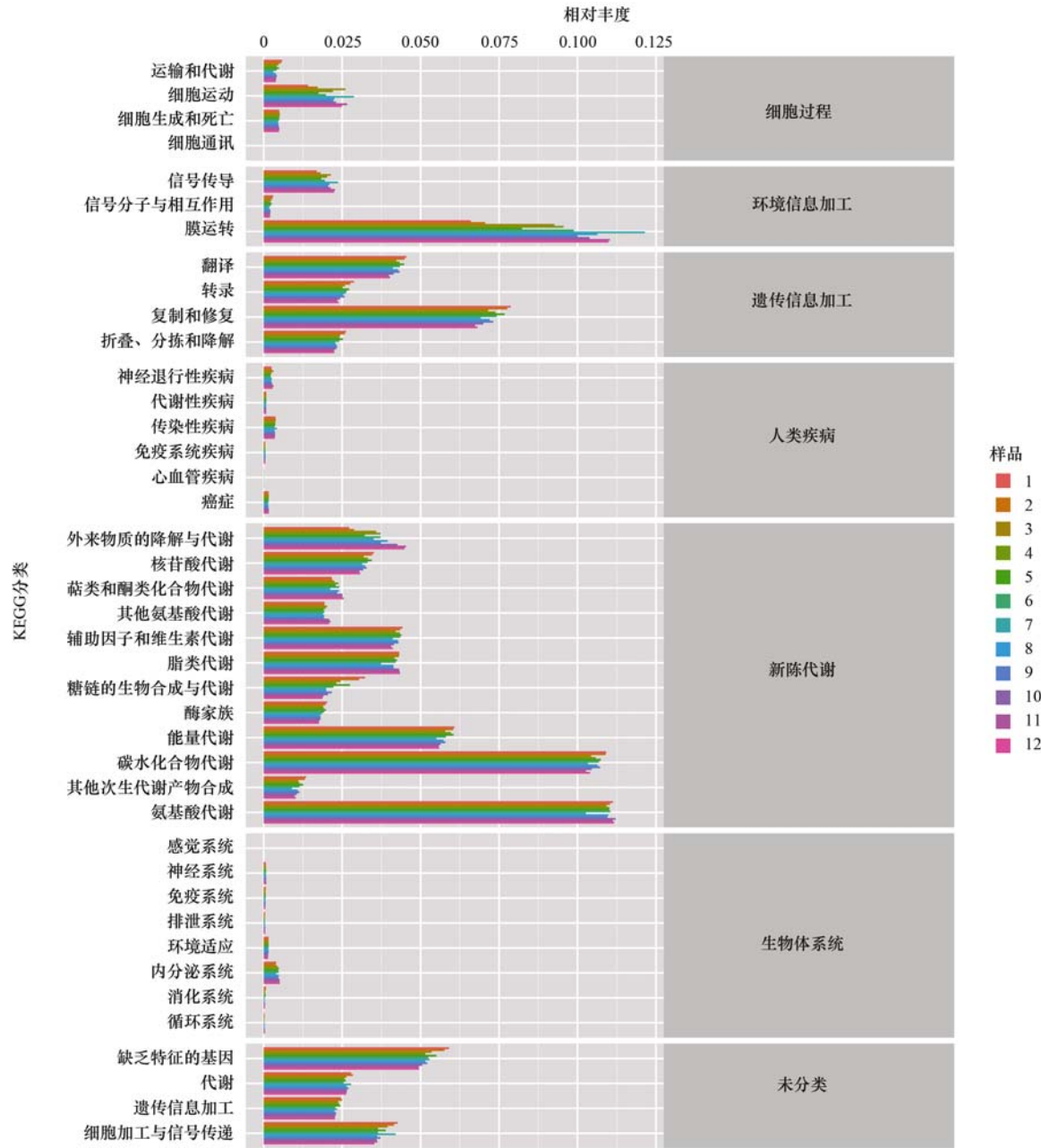


图 13 功能基因 KEGG 统计

Fig. 13 KEGG statistics of functional genes

在 KO level 2 层次上,新陈代谢功能模块中的氨基酸代谢、碳水化合物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和脂类代谢、维生素等辅助因子代谢、核苷酸代谢、外源性化学物

质的生物降解与代谢;随后是萜类化合物与聚酮化合物的代谢、多聚糖的生物合成与代谢、次生代谢产物的生物合成、与酶相关的代谢、以及参与其他次生代谢产物合成的代谢. 遗传信息加工功能模块

中与遗传信息复制和修复机制相关的功能具有显著优势,其次是与遗传信息翻译相关的功能,与转录和折叠、分拣和降解相关的功能是该模块中的第三类群. 环境信息加工模块中参与膜运转的功能有明显优势,其次是参与信号传导的功能. 细胞过程模块中占优势的为与细胞运动相关的功能,其次是与运输和代谢、细胞生长和死亡相关的功能.

通过 KEGG 基因表达统计分析,表明各样品编码相应功能的基因序列多样性与丰度,无论是 KO level 1 层次上的 7 大类,还是细分至 KO level 2 层次上的 41 类都具有显著差异. 这种差异,在编码新陈代谢的基因序列模块上尤为突出,表明在窖水中存在大量的具有相对特定生态功能的微生物,并进行着诸多活跃的与新陈代谢相关活动.

3 讨论

3.1 窖水微生物群落复杂度分析

多样性是衡量群落稳定性的一个重要尺度,常用于反映群落结构的复杂程度和稳定性^[17].

α 多样性分析也称为生境内多样性,是单个样本复杂度分析常用的方法. 丰富度指数 Chao 和 ACE 可以估算群落中含 OTU 数目的指数,在生态学中常用来估计物种的总数,值越大代表物种总数越多^[18]. 从这两个指数来看,5、7、8、10、11 号水样微生物多样性较高,1、2 号微生物多样性较低,这与 OTU 聚类与物种分类信息、OTU 稀释曲线、Rank-Abundance 曲线所得结果基本一致;多样性指数 Shannon 和 Simpson 指数反映了群落种类多样性及均匀性,指数越大表明群落的多样性越高、分布越均匀^[19]. 分析可知,C、D 组样品细菌群落分布较 A、B 组样品均匀,多样性高. 此外,Simpson 指数还可反映优势物种生物量占群落生物量的比重,指数越大表明优势菌群生物量占总生物量的比重越大,反之则优势菌群生物量占总生物量比重越小^[20]. 考察各样品在门水平上优势菌数与优势菌所占比重($\geq 1.00\%$),分别为 1 号(6,98.7%)、2 号(9,98.1%)、3 号(7,98.4%)、4 号(8,87.7%)、5 号(8,98.9%)、6 号(7,98.7%)、7 号(5,96.6%)、8 号(5,95.1%)、9 号(5,98.2%)、10 号(5,97.2%)、11 号(5,97.1%)、12 号(6,98.0%),这与各样品间 Simpson 指数、Rank-Abundance 曲线斜率的差别可得到印证. 而 OTU 韦恩图分析很好地反映了组间与组内共有以及特有的 OTU 数目,展示了样品间的相似性及差异性.

β 多样性也称为生境间多样性,可进行样本间复杂度的比较分析,反映了不同样本在物种多样性方面存在的差异大小. 由于微生物极其多样,不同微生物之间具有特定的系统发育关系,在比较不同群落样本间的差异时,需要考虑群落成员之间是否存在系统发育亲缘关系. Unifrac 距离通过比较群落各自独有 OTU 之间系统发育关系的远近,从而更全面反映群落样本之间的相似度^[21]. Unifrac 距离有 Unweighted 和 weighted 之分,前者仅仅考虑 OTU 在样本中存在与否,而不考虑丰富度高低^[21];后者则兼顾群落成员之间的系统发育关系以及它们在各样本中的丰度高低^[22]. 因此,Unweighted Unifrac 距离侧重于描述由群落成员的截然不同导致的样本差异,weighted Unifrac 距离则侧重于描述群落成员丰度梯度的改变导致的样本差异. 通过 Unifrac 非加权及 Unifrac 加权主坐标分析,组内各样品分布较集中,组间 B 组和 C 组区分度不太理想,4、6、9 号样品存在交叠现象外,其余样品之间均得到较好的区分,说明各样品在组间与组内的主成分有显著差异,这在窖水微生物群落组成分析中得到了较好的反映.

3.2 窖水微生物群落结构及功能多样性差异与水质因子相关性分析

水体中微生物是水域生态系统的重要组成部分,按照 meta-群落假说,内部环境因子(由物种遗传基因信息决定的生物间相互作用及物种的随机动态等物种本身之间的影响因子)和外部环境因子(环境温度、主要污染物浓度等外在因素)是影响细菌群落组成的两个因子^[23,24]. 借助于相关研究者基于纯培养菌株的生理学及基因组学研究,对窖水样品的 30 种优势功能菌群的生态功能进行统计分析表明,绝大多数优势菌群具备脱氮、除磷、降解有机物的相对特定生态功能,其中 15 种是具有脱氮、除磷功能的异养硝化-好氧反硝化菌群^[25]. 各样品 KEGG 统计分析中,编码不同新陈代谢功能的基因序列模块的多样性与丰度差异,是窖水各样品中这些具备相应特定生态功能的菌群分布特征在基因层面上的阐释. 这诸多具有特定功能的菌群,根据微生物群落结构和环境因子的 RDA 分析(图 14),可聚类为 3 簇(I、II、III):第 II 簇内的菌群主要与反映窖水有机物含量的指标 UV_{254} 、高锰酸盐指数、 BOD_5 及浊度之间呈显著正相关关系;第 III 簇内的菌群主要与反映窖水氮、磷水平的指标 TN 、 $NO_2^- -N$ 、 $NO_3^- -N$ 、 TP 、 $NH_4^+ -N$ 显著正相关;而第 I

簇内的菌群主要与 pH、TN、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N、TP、 NH_4^+ -N、 BOD_5 、温度、浊度呈负相关；第Ⅱ、Ⅲ簇内的菌属之间呈正相关关系，而第Ⅰ簇内的菌属与

第Ⅱ、Ⅲ簇内的菌属之间呈负相关关系。窖水各样品微生物群落及功能多样性差异正是内部环境因子和外部环境因子共同作用的结果。

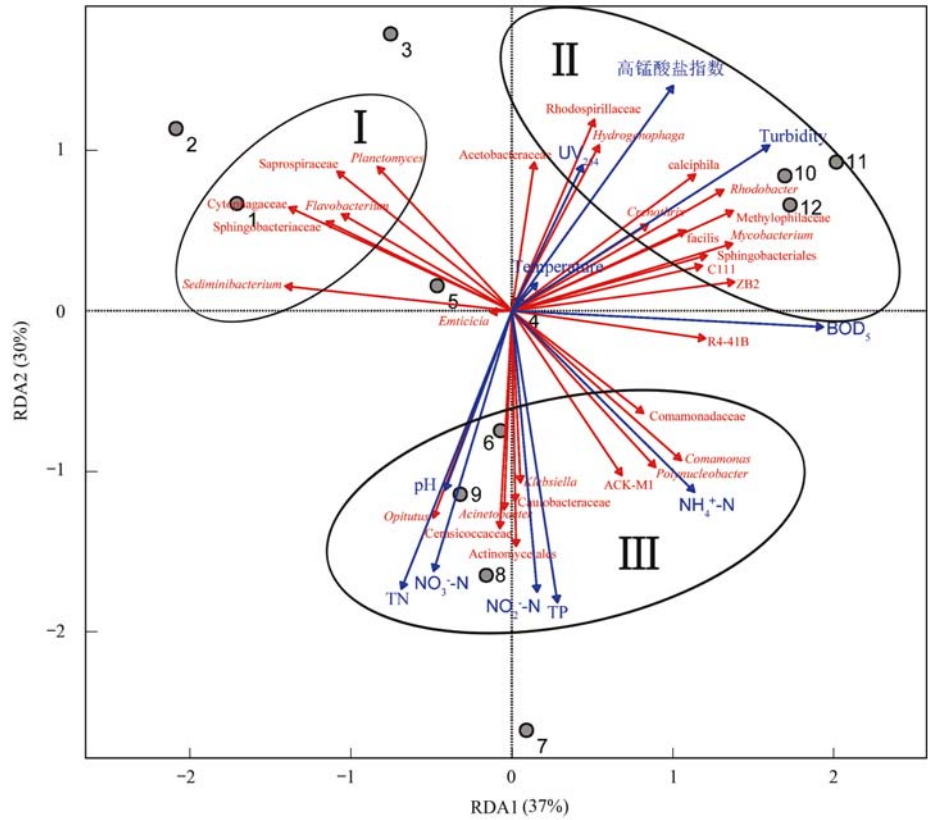


图 14 微生物群落结构和环境因子的 RDA 分析

Fig. 14 RDA analysis of environmental factors and microbial community structure

虽然相关的研究表明细菌及真菌在近地面大气中普遍存在,微生物的浓度、丰度及多样性因时间和地理位置的不同而存在时空差异^[26~30],由于4组样品取自典型集雨人饮地区,同一个自然村的4户农村庭院内的水窖,雨水集流入窖过程对初期10~15 min 雨水进行了弃流,诸多集雨水源地优选研究成果同时表明^[1,5,31,32],经过0~15 min 的初期降水,雨水中的各种污染物浓度譬如 SS、高锰酸盐指数、 BOD_5 、 NH_4^+ -N、TN、TP 及细菌总数与总大肠菌群数变化都趋于稳定,可忽略由于降水洗淋大气所造成的窖水微生物类群差异,造成4组样品微生物群落组间显著性差异的主要为农村庭院集流面环境卫生条件、集流面材质、水窖类型等因素。此外,Shannon 多样性指数作为一种生物监测指标,常用来反应水体受污染的状况,其值越高多样性也越高,稳定性越好,水质越好,其值大于3 为轻或无污染,2~3 为 β -中污染,1~2 为 α -中污染,0~1 为重污染^[33,34]。各样品 Shannon 多样性指数(表2)表明,C、D 组明显高于 A、B 组。据此分析,可认为与其

他模式相比,混凝土集流面与混凝土水窖组合模式用于收集和贮存雨水,窖水水质更好、更安全。

4 结论

(1)应用 16S rRNA 基因-Illumina MiSeq 高通量测序技术,对不同类型的集雨水源地水体中微生物群落结构与功能基因特征进行了研究,表明不同类型的集雨水源地水体中微生物群落结构与功能存在显著的差异,造成这种差异的主要因素是窖水内部环境因子、外部环境因子等的异质性。

(2)研究认为4种以农户庭院为组织单元的、不同类型的集流面和水窖组合模式中,混凝土集流面与混凝土水窖组合模式用于收集和贮存雨水,较其他3种模式而言,窖水水质更好、更安全。

(3)通过改善农村庭院集流面环境卫生条件、积极开展集流面混凝土硬化、改造旧有土质集雨水窖为混凝土水窖、协调并优化集流面与水窖建设位置等可有效提高窖水水质,改善窖水人饮安全现状。

参考文献:

- [1] 张国珍, 杨浩, 武福平, 等. 黄土塬地区村镇集雨雨水的水质特性分析[J]. 中国给水排水, 2009, 25(17): 85-87.
Zhang G Z, Yang H, Wu F P, *et al.* Analysis on quality of rainwater harvested in rural area in Loess Tableland[J]. China Water & Wastewater, 2009, 25(17): 85-87.
- [2] 张国珍, 何春生, 武福平. 西北村镇集雨饮用水源地水质评价体系研究[J]. 干旱区资源与环境, 2009, 23(11): 119-123.
Zhang G Z, He C S, Wu F P. Evaluation system of water quality for source rainwater in villages and towns of Northwestern China [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2009, 23(11): 119-123.
- [3] 赵文君, 高建恩, 许秀泉, 等. 不同材质水窖贮存雨水水质变化特征[J]. 水土保持学报, 2010, 24(1): 20-23, 44.
Zhao W J, Gao J E, Xu X Q, *et al.* Changes characteristics of storing rainwater quality for different materials water cellar[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2010, 24(1): 20-23, 44.
- [4] 张国珍, 贾大伟, 刘玲花, 等. 庆阳地区集雨饮用水水质特性分析[J]. 干旱区资源与环境, 2010, 24(8): 170-174.
Zhang G Z, Jia D W, Liu L H, *et al.* An analysis on the quality of collected rainwater in Qingyang area[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2010, 24(8): 170-174.
- [5] 张国珍, 赵伟娜, 何春生, 等. 黄土塬地区集雨窖水水源优选[J]. 生态学杂志, 2010, 29(4): 749-753.
Zhang G Z, Zhao W N, He C S, *et al.* Optimization of water sources for harvesting rainwater in Loess Plateau [J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(4): 749-753.
- [6] 谢薇, 秦克丽, 丁昆伦, 等. 不同集雨面及水窖形式下的窖水水质分析[J]. 灌溉排水学报, 2011, 30(1): 11-14.
Xie W, Qin K L, Ding K L, *et al.* Analysis of water quality in water cellars under different rainfall collecting systems [J]. Journal of Irrigation and Drainage, 2011, 30(1): 11-14.
- [7] 刘建林, 张国珍, 杨浩, 等. 不同材质水窖储水水质及其变化规律实验研究[J]. 干旱区资源与环境, 2012, 26(3): 101-104.
Liu J L, Zhang G Z, Yang H, *et al.* The variation of rainwater quality storing in water cellars made by different materials [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2012, 26(3): 101-104.
- [8] 武福平, 夏传, 王艳琴, 等. 西北典型村镇集雨窖水水质变化及特性[J]. 环境工程学报, 2014, 8(9): 3541-3545.
Wu F P, Xia C, Wang Y Q, *et al.* Quality and its variation of water in rainwater collection cellar of rural areas of Northwest China [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(9): 3541-3545.
- [9] 张国珍, 乔国亮, 武福平, 等. 主成分分析法在窖水水质变化评价中的应用[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(4): 181-184.
Zhang G Z, Qiao G L, Wu F P, *et al.* Application of principal component analysis to an evaluation of water quality in water cellar [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 37(4): 181-184.
- [10] 易婷, 王力之, 刘海鸿, 等. 甘肃定西市陇西地区饮用窖水与高血压发病关系调查[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2015, 36(4): 82-84.
Yi T, Wang L Z, Liu H H, *et al.* Relationship between drinking cellar water and hypertension incidence in Longxi county of Gansu province [J]. Journal of Northwest University for Nationalities (Natural Science), 2015, 36(4): 82-84.
- [11] 张丹梅, 权少敏, 吴惠忠. 宁夏农村窖水水质现状及水质影响因素分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2015, 37(5): 549-552.
Zhang D M, Quan S M, Wu H Z. Cellars water quality status and affecting factors in rural area of Ningxia [J]. Journal of Ningxia Medical University, 2015, 37(5): 549-552.
- [12] 张晓华, 杨庆, 马岩红. 甘肃部分农村窖水微生物污染状况调查[J]. 干旱区资源与环境, 2016, 30(5): 85-91.
Zhang X H, Yang Q, Ma Y H. The investigation on microbiological pollution in cellar water from some rural areas of Gansu [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2016, 30(5): 85-91.
- [13] Wu M L, Ettwig K F, Jetten M S, *et al.* A new intra-aerobic metabolism in the nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacterium *Candidatus 'Methyloirabilis oxyfera'* [J]. Biochemical Society Transactions, 2011, 39(1): 243-248.
- [14] Shen L D, He Z F, Wu H S, *et al.* Nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria: unique microorganisms with special properties [J]. Current Microbiology, 2015, 70(4): 562-570.
- [15] 王绍祥, 杨洲祥, 孙真, 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 S X, Yang Z X, Sun Z, *et al.* Application of high throughput sequencing in the diversity of water microbial communities [J]. Chemistry, 2014, 77(3): 196-203.
- [16] 刘驰, 李家宝, 芮俊鹏, 等. 16S rRNA 基因在微生物生态学中的应用[J]. 生态学报, 2015, 35(9): 2769-2788.
Liu C, Li J B, Rui J P, *et al.* The applications of the 16S rRNA gene in microbial ecology: current situation and problems [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(9): 2769-2788.
- [17] 高慧琴, 刘凌, 方泽建. 夏季湖泊表层沉积物的理化性质与微生物多样性[J]. 河海大学学报(自然科学版), 2011, 39(4): 361-366.
Gao H Q, Liu L, Fang Z J. Physicochemical properties and microbial diversity of superficial deposits of lakes in summer [J]. Journal of Hohai University (Natural Sciences), 2011, 39(4): 361-366.
- [18] Shu D T, He Y L, 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]. Bioresource Technology, 2015, 196: 621-633.
- [19] 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 Z Y, Zhang J Q, *et al.* The fauna structure of benthic macro-invertebrates for environmental restoration in a eutrophic lake using water hyacinths [J]. China Environmental Science, 2012, 32(1): 142-149.
- [20] 刁晓君, 李一葳, 王曙光. 水华生消过程对巢湖沉积物微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(1): 107-113.
Diao X J, Li Y W, Wang S G. Effects of outbreak and extinction of algal blooms on the microbial community structure in sediments of Chaohu lake [J]. Environmental Science, 2015, 36(1): 107-

- 113.
- [21] Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(12): 8228-8235.
- [22] Lozupone C A, Hamady M, Kelley S T, *et al.* Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(5): 1576-1585.
- [23] Leibold M A, Holyoak M, Mouquet N, *et al.* The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology [J]. *Ecology Letters*, 2004, **7**(7): 601-613.
- [24] Logue J B, Lindstrom E S. Biogeography of bacterioplankton in inland waters [J]. *Freshwater Reviews*, 2008, **1**(1): 99-114.
- [25] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16S rRNA 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 G Z, Yang X N, *et al.* Microbial community structure and diversity in cellar water by 16S rRNA high-throughput sequencing [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(4): 1704-1716.
- [26] Bowers R M, Clements N, Emerson J B, *et al.* Seasonal variability in bacterial and fungal diversity of the near-surface atmosphere [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(21): 12097-12106.
- [27] Jaenicke R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere [J]. *Science*, 2005, **308**(5718): 73.
- [28] 王步英, 郎继东, 张丽娜, 等. 基于 16S rRNA 基因测序法分析北京霾污染过程中 PM_{2.5} 和 PM₁₀ 细菌群落特征 [J]. *环境科学*, 2015, **36**(8): 2727-2734.
- Wang B Y, Lang J D, Zhang L N, *et al.* Characterizing Beijing's airborne bacterial communities in PM_{2.5} and PM₁₀ samples during haze pollution episodes using 16S rRNA gene analysis method [J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(8): 2727-2734.
- [29] 曲浩丽, 赵娟, 肖永良, 等. 南京市春季不同功能区大气微生物群落结构及多样性分析 [J]. *中国农学通报*, 2016, **32**(32): 174-181.
- Qu H L, Zhao J, Xiao Y L, *et al.* Community structure and diversity of airborne microbes: different functional regions in spring of Nanjing [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, **32**(32): 174-181.
- [30] 孟祥斌, 李孟哲, 李鸿涛, 等. 青岛近海冬季大气生物气溶胶中微生物活性研究 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(11): 4147-4155.
- Meng X B, Li M Z, Li H T, *et al.* Microbial activity in bioaerosols in winter at the coastal region of Qingdao [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(11): 4147-4155.
- [31] 孙三祥, 马德娣, 张国珍, 等. 模拟降雨地表径流污染物输移规律试验研究 [J]. *水土保持学报*, 2010, **24**(2): 44-47.
- Sun S X, Ma D D, Zhang G Z, *et al.* Research the law of surface transport by simulated rainfall [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, **24**(2): 44-47.
- [32] 董欣, 杜鹏飞, 李志一, 等. 城市降雨屋面、路面径流水文水质特征研究 [J]. *环境科学*, 2008, **29**(3): 607-612.
- Dong X, Du P F, Li Z Y, *et al.* Hydrology and pollution characteristics of urban runoff: Beijing as a sample [J]. *Environmental Science*, 2008, **29**(3): 607-612.
- [33] 余海霞, 来勇, 赵佳佳, 等. 城市河道浮游植物群落多样性指数对水质的指示作用 [J]. *化学与生物工程*, 2016, **33**(9): 32-36.
- Yu H H, Lai Y, Zhao J J, *et al.* Water quality indication of phytoplankton community diversity index in urban rivers [J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2016, **33**(9): 32-36.
- [34] 朱爱民, 胡菊香, 李嗣新, 等. 三峡水库长江干流及其支流枯水期浮游植物多样性与水质 [J]. *湖泊科学*, 2013, **25**(3): 378-385.
- Zhu A M, Hu J X, Li S X, *et al.* Phytoplankton diversity and water quality in the main stream and tributaries of Three Gorges Reservoir region of Yangtze River during dry season [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2013, **25**(3): 378-385.

CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM ₁₀ Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM _{2.5} Measurements During Summer and Fall in Changzhou	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physiochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR)	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR)	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO ₂ and CH ₄ Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)