

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第8期

Vol.39 No.8

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国城市 PM _{2.5} 污染的健康风险及经济损失评价	李惠娟, 周德群, 魏永杰 (3467)
冬季电力行业对长江中游城市群空气质量影响	孙晓伟, 郭秀锐, 程水源 (3476)
基于区域传输矩阵和 PM _{2.5} 达标约束的大气容量计算方法	李敏辉, 廖程浩, 杨柳林, 曾武涛, 唐喜斌 (3485)
利用 SPAMS 研究天津市夏季环境空气中细颗粒物化学组成特征	温杰, 史旭荣, 田瑛泽, 徐娇, 史国良, 冯银厂 (3492)
重庆市北碚城区气溶胶中有机碳和元素碳的污染特征	彭小乐, 郝庆菊, 温天雪, 吉东生, 刘子锐, 王跃思, 陈建博, 江长胜 (3502)
杭甬地区大气中含碳气溶胶特征及来源分析	徐宏辉, 徐婧莎, 何俊, 浦静姣, 齐冰, 杜荣光 (3511)
城市生活垃圾露天焚烧 PM _{2.5} 及其组分排放特征	王艳, 郝伟伟, 程珂, 支国瑞, 易鹏, 樊静, 张洋 (3518)
民用燃煤排放分级颗粒物中碳组分排放因子	杨国威, 孔少飞, 郑淑睿, 吴剑, 郑明明, 郑煌, 严沁, 刘海彪, 王伟, 吴方琪, 程溢 (3524)
大连地区夏季非甲烷烃 (NMHC) 特征及其来源解析	纪德钰 (3535)
“十三五”挥发性有机物总量控制情景分析	张嘉妮, 陈小方, 梁小明, 柯云婷, 范丽雅, 叶代启 (3544)
浙江省包装印刷行业挥发性有机物排放特征及排放系数	王家德, 吕建璋, 李文娟, 顾震宇, 缪孝平 (3552)
有机溶剂使用企业挥发性恶臭有机物排放特征及特征物质识别	翟增秀, 孟洁, 王巨, 翟友存, 曹阳, 邹克华 (3557)
基于 MODIS_C006 的乌鲁木齐 10 年气溶胶光学厚度变化特征	胡俊, 亢燕铭, 陈勇航, 刘鑫, 李霞, 刘琼 (3563)
基于路网车流量的北京城市副中心机动车污染控制情景	樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (3571)
北京典型跑步区域空气污染特征及跑步者呼吸暴露	陶双成, 高硕吟, 熊新竹, 姚嘉林, 邓顺熙 (3580)
丹江口水库调水前后表层沉积物营养盐和重金属时空变化	李冰, 王亚, 郑钊, 许信, 辛英督, 黄进, 郭诗君, 毕升阁, 胡兰群, 陈兆进, 李玉英 (3591)
太湖北部湖区春、冬季节天然有机质的荧光特征及环境意义	吕伟伟, 姚昕, 张保华 (3601)
太湖重点水域水环境中邻苯二甲酸酯的污染水平及生态风险评价	朱冰清, 高占啟, 胡冠九, 王骏飞, 于南洋, 韦斯 (3614)
台风强降雨输入水源水库悬浮泥沙的氮磷吸附特性	姚玲爱, 赵学敏, 马千里, 梁荣昌, 夏北成, 卓琼芳 (3622)
珠江三角洲高碑地下水赋存环境特征及成因分析	张昌延, 何江涛, 张小文, 倪泽华 (3631)
有机污染物对杭州湾海域浮游细菌群落的影响	宣丽霞, 戴文芳, 郁维娜, 周素明, 欧昌荣, 熊金波 (3640)
澜沧江流域浮游细菌群落结构特征及驱动因子分析	程豹, 望雪, 徐雅倩, 杨正健, 刘德富, 马骏 (3649)
碧流河水库细菌群落结构特征及其关键驱动因子	王欢, 赵文, 谢在刚, 魏杰, 姜洋 (3660)
浑河底泥反硝化厌氧甲烷氧化菌群落多样性的时空分布特征及其与环境因子关系分析	张亚迪, 宋永会, 彭剑桥, 张剑桥, 张盼月, 刘瑞霞, 石国强 (3670)
人类活动对河流沉积物中反硝化厌氧甲烷氧化菌群落特征的影响	刘洋, 陈永娟, 王晓燕, 许康利 (3677)
外源氮输入对不同土地利用排水沟底泥反硝化和 N ₂ O 排放影响	余冬立, 陈心逸, 高雪梅, 张文娟, 夏永秋 (3689)
雨水管道沉积物沉淀特性及主要污染物含量分布	尚宇, 周毅, 廖安意, 方正 (3696)
水体中 Cr(VI) 对不同混凝剂混凝过程的影响	高倩, 张大为, 徐慧, 徐建坤, 张崇森, 王东升 (3704)
Co ₃ O ₄ /BiVO ₄ 复合阳极活化过一硫酸盐强化光电催化降解双酚 A	李蒋, 王雁, 张秀芳, 赵旭 (3713)
海藻酸钙/生物炭复合材料的制备及其对 Pb(II) 的吸附性能和机制	于长江, 董心雨, 王苗, 林强 (3719)
磁性生物炭对水中 CIP 和 OFL 的吸附行为和机制	赵华轩, 郎印海 (3729)
污水中新精神活性物质的分析方法优化及验证	陈培培, 杜鹏, 周子雷, 徐泽琼, 高婷婷, 李喜青 (3736)
臭氧-CNT 膜改性联用工艺对 PVDF 中空纤维膜污染进程的缓解	关羽琪, 王凯伦, 祝学东, 董丹, 薛小雷, 马艳林, 栾桂荣, 郭瑾 (3744)
阴离子交换树脂生物再生去除硝酸盐氮	叶婷, 张光, 王珂, 双陈冬, 李爱民 (3753)
普鲁士蓝@酵母菌催化剂的合成及其 Fenton 性能	陈思, 白波, 王洪林, 索有瑞 (3759)
PN/A 双菌层系统的构建及其脱氮性能	许静怡, 杜俊, 杨一峰, 吕峰, 夏四清 (3767)
苯酚对 EBPR 系统除磷性能的抑制作用	马娟, 王瑾, 俞小军, 周猛, 李光银, 孙洪伟 (3775)
反硝化-短程硝化-厌氧氨氧化工艺处理晚期垃圾渗滤液的脱氮除碳性能	王凡, 陆明羽, 殷记强, 李祥, 黄勇 (3782)
好/厌氧条件下反硝化细菌脱氮特性与功能基因	康鹏亮, 陈胜男, 黄廷林, 张海涵, 商潘路, 刘珍芳, 王跃, 谭欣林 (3789)
苯并[a]芘厌氧降解的苯酚共基质协同作用与污泥微生物特性	吴海珍, 胡肖怡, 王鸣, 韦景悦, 范一文, 韦朝海, 钟练文, 彭亚环 (3797)
污泥超高温堆肥过程中 DOM 结构的光谱分析	刘晓明, 余震, 周普雄, 罗海林, 王跃强, 廖汉鹏, 周顺桂 (3807)
生物炭对华北农田土壤 N ₂ O 通量及相关功能基因丰度的影响	刘杏认, 赵光昕, 张晴雯, 田秀平 (3816)
设施菜田土壤 N ₂ O 产生对 O ₂ 的响应	陈吉吉, 宋贺, 曹文超, 王乙然, 王敬国 (3826)
利用 μ -XRF 和 XANES 研究铅锌矿区土壤铅形态及其生物有效性	孙晓艳, 柳检, 罗立强 (3835)
南京市铅锌矿采矿场土壤重金属污染评价及优势植物重金属富集特征	李俊凯, 张丹, 周培, 刘群录 (3845)
Fe-Al 改性硅藻土的制备及其对土壤 Cd 污染固定化效果	杨雨中, 朱健, 肖媛媛, 谭蓉, 王平, 陈润华, 徐海音, 杨雄 (3854)
基于稳定碳同位素技术的干旱区绿洲土壤有机碳向无机碳的转移	李杨梅, 贡璐, 安申群, 孙力, 陈新 (3867)
生境过滤驱动庞泉沟华北落叶松林土壤真菌群落的构建过程	赵鹏宇, 李鑫, 柴宝峰 (3876)
转 cry1Ab 和 epsps 基因玉米 C0030.3.5 对土壤固氮细菌丰度和群落结构的影响	王蕊, 朱珂, 李刚, 刘惠芬, 王晶, 修伟明, 赵建宁, 杨殿林 (3885)
脱硫石膏对稻田 CH ₄ 释放及其功能微生物种群的影响	胡翔宇, 向秋洁, 木志坚 (3894)
长期施肥对不同深度稻田土壤碳氮水解酶活性的影响特征	杜林森, 唐美铃, 祝贞科, 魏亮, 魏晓梦, 周萍, 葛体达, 王久荣, 邹冬生, 吴金水 (3901)
黄河口滨岸潮滩湿地泥沙沉积及外源 Cd 输入对碱蓬物质量分配及抗氧化酶活性的影响	宋红丽, 王立志, 郁万妮, 吴希媛 (3910)
黄河下游开封段引黄灌区小麦中重金属污染特征及健康风险评价	康国华, 张鹏岩, 李颜颜, 杨丹, 庞博, 何坚坚, 闫宇航 (3917)
氧化石墨烯对邻苯二甲酸二丁酯藻毒性的影响	涂海峰, 刘成, 王宇擎, 储祺, 侯晓冬, 李锋民 (3927)
有机物对厌氧氨氧化微生物燃料电池脱氮产电性能的影响	祖波, 马兰, 刘波, 卢培利, 许君 (3937)
中国氢燃料电池车燃料生命周期的化石能源消耗和 CO ₂ 排放	林婷, 吴焯, 何晓婧, 张少君, 郝吉明 (3946)
气溶胶水相反应生成二次有机气溶胶研究进展	叶招莲, 瞿珍秀, 马帅帅, 盖鑫磊 (3954)
《环境科学》征订启事 (3543)	
《环境科学》征稿简则 (3570)	
信息 (3600, 3728, 3844)	

碧流河水库细菌群落结构特征及其关键驱动因子

王欢¹, 赵文^{1*}, 谢在刚², 魏杰¹, 姜洋¹

(1. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省水生生物学重点实验室, 大连 116023; 2. 大连市碧流河水库管理局, 大连 116221)

摘要: 为了解碧流河水库细菌群落结构及其多样性变化, 探讨环境因子对其的影响, 于2016~2017年应用16S rDNA高通量测序技术, 分析比较了碧流河水库一年周期内4个季节的细菌群落结构及其多样性差异, 使用冗余分析(redundancy analysis, RDA)探讨水体环境因子与细菌群落结构及其多样性的关系。结果表明, 全年碧流河水库细菌群落多样性指数(Shannon-Wiener指数)平均达6.9, 冬季<夏季<春季<秋季。序列比对结果显示, 除了分类地位不明确的菌群和稀有菌群外, 共发现了细菌44门115纲184目368科865属, 优势菌门为变形菌门 Proteobacteria 34.16%, 蓝菌门 Cyanobacteria 24.35%, 放线菌门 Actinobacteria 13.35%, 拟杆菌门 Bacteroidetes 12.42%。优势菌门变形菌门中优势菌纲为 β -变形菌纲 β -Proteobacteria 18.34%, 优势菌属为 unidentified_Chloroplast 17.73%; RDA结果表明不同菌群受环境因子影响不同, 悬浮物(TSS)、透明度(SD)、酸碱度(pH)、活性磷(ADP)、溶氧(DO)、总磷(TP)、亚硝酸氮(NO_2^- -N)为影响群落分布主要的环境因子, 其中夏季菌群与 NO_2^- -N、ADP、TP和TSS显著正相关。

关键词: 碧流河水库; 细菌; 16S rDNA; 环境因子; RDA

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)08-3660-10 DOI: 10.13227/j.hjxx.201711022

Bacterial Community Structure Characteristics in the Biliuhe Reservoir and Its Key Driving Factors

WANG Huan¹, ZHAO Wen^{1*}, XIE Zai-gang², WEI Jie¹, JIANG Yang¹

(1. Key Laboratory of Hydrobiology of Liaoning Province, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Management Bureau of Biliuhe Reservoir of Dalian City, Dalian 116221, China)

Abstract: In order to understand the bacterial community structure and its diversity in the Biliuhe Reservoir, the impact of environmental factors must be explored. Using 16S rDNA high-throughput sequencing technology, the bacterial community structure and diversity differences in four seasons were analyzed and compared from 2016 to 2017. Redundancy analysis (RDA) was used to investigate the relationship between the environmental factors in water and bacterial diversity. The analysis of bacterial diversity index (Shannon-Wiener index) showed that the bacterial community diversity index reached 6.9 in the whole year, with the following pattern: Winter < summer < spring < autumn. Sequence alignment results show that although the flora status was not clear and rare flora were seen, a total of 44 bacterial phyla, 115 classes, 184 orders, 368 families, and 865 genera were found. The dominant bacteria phyla were: Proteobacteria (34.16%), Cyanobacteria (24.35%), Actinobacteria (13.35%), Bacteroidetes (12.42%). The dominant class of bacteria in the dominant phylum (Proteobacteria) was β -Proteobacteria (18.34%), and the dominant strain was unidentified_Chloroplast (17.73%). The results of RDA showed that different bacterial communities were affected by environmental factors. Total suspended solids (TSS), transparency (SD), pH, active phosphorus (ADP), dissolved oxygen (DO), total phosphorus (TP), and nitrite nitrogen (NO_2^- -N) were the main environmental factors influencing community distribution. The bacterial community during the summer was positively correlated with NO_2^- -N, ADP, TP, and TSS.

Key words: Biliuhe Reservoir; bacteria; 16S rDNA; environmental factors; RDA

淡水资源是人类赖以生存和发展的基础, 水中细菌状况对水体质量起着决定性作用, 并且微生物菌群能够对水体污染物有净化作用^[1]。淡水生态系统中细菌数量庞大且种类丰富, 是水域生态系统中食物链和食物网的重要组成部分, 在物质循环和能量流动中起重要作用^[2]。微生物敏感且易受环境因子影响, 它的代谢产物可以对环境产生指示作用^[3]。传统分离培养方法仅能从环境中获取不到1%的细菌类群, 不能准确认知环境中微生物的状况^[4]。近年来, 利用分子生物学的方法研究环境微

生物越来越普及^[5], 目前研究对象大部分集中在滨海地区、海洋和湖泊, 例如, 我国的南海南沙海域^[6]、青岛近岸海区^[7]及云南高原洱海^[8], 国外一些地区如西北太平洋深海^[9]、巴西里约热内卢州热带沿海泻湖^[10]、南极洲弗里克塞尔湖等^[11], 而对河流和饮用水源水库的研究较少。

收稿日期: 2017-11-02; 修订日期: 2018-02-24

基金项目: 碧流河水库水生生物调查与评价项目(2016-2018)

作者简介: 王欢(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水域生态学, E-mail: 897694663@qq.com

* 通信作者, E-mail: zhaowen_1963@163.com

碧流河水库位于辽宁省庄河市、普兰店区和盖州市三市区交界处, 处于大连市最大河流碧流河的干流上, 是大连市居民生活、工业用水、农业灌溉、水库养鱼等主要水源地。碧流河水库是南北狭长的河川库型, 该区域为温暖带大陆性季风气候, 四季分明, 温差较大, 控制水域流量丰富, 平均降水量多年可达到 780 mm, 降雨多在 7~9 月^[12]。碧流河水库蓄水位正常为 69.0 m, 库区为 70.0 m^[13]。近几年碧流河水库蓄水位降低, 水库周边大量开荒种地引发水土流失日趋严重, 淤积量加大, 种植农作物使用的农药化肥流入库区, 污染了水库水质^[14], 为了保障饮用水和使用水的安全, 改善水体的质量状况十分重要。实现“东水西调”可以有效改善碧流河水库生态环境, 确保其水资源和土地资源的互补, 水中多种微生物共同作用形成微生物链, 在水体修复的过程中把有机污染物转化为简单的化合物, 保证水质正常功能, 从而改善水体环境质量^[15], 本研究采用 16S rDNA 高通量测序技术分析碧流河水库细菌群落结构特征及其关键驱动因子, 旨在为保障水质安全和优化水质提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

在 2016 年 10 月~2017 年 6 月对碧流河水库进行为期一年的水样采集。选取 9 个采样点, 分别是下游的坝前 1、坝前 2 和坝前 3; 中游的刘店 1、刘店 2 和刘店 3; 上游八家河口附近的钟岭, 蛤蜊河口的桂云花和碧流河河口的大堡。冬季大堡样品因河道无水而缺失。使用有机玻璃采水器采集水样, 根据实际水深分表中底 3 层采混合样, 由于河水深度变化较大, 表层采集深度小于 2 m, 中层采集深度在 4~5 m, 底层采集深度 8 m 左右, 表中底三层分别打水 3、4、3 次, 将这 10 次打的水混合, 取 1.5 L 水样经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 过滤后的滤膜加 DNA 保存液置于冻存管中, -80°C 冰箱保存。调查范围及采样点位置如图 1 所示。

1.2 基因组 DNA 的提取及 PCR 扩增

采用 CTAB 法对样本基因组 DNA 进行提取。取出用 DNA 保存液保存的滤膜, 将其剪碎于 2.0 mL EP 管中, 加入 1 000 μL CTAB 裂解液和 20 μL 溶菌酶, 65°C 振荡水浴 2 h, 进行充分裂解。使用离心机 HeraeusPico 17 (ThermoScientific, USA) $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取 950 μL 上清液, 加入与上清等体积的酚 (pH 8.0): 氯仿: 异戊醇 (25:24:1),

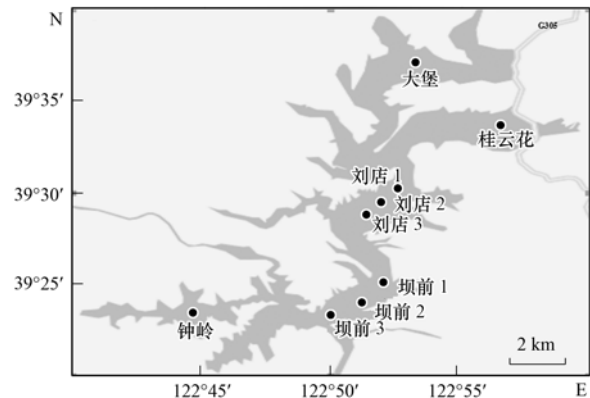


图 1 碧流河水库采样点示意

Fig. 1 Sampling point settings in the Biliuhe Reservoir

颠倒混匀, $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min。取上清液, 加入等体积的氯仿: 异戊醇 (24:1), 颠倒混匀, $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min。吸取上清至 1.5 mL 离心管, 加入上清液 3/4 体积的异丙醇, 上下摇晃, -20°C 沉淀。 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 倒出液体。用 75% 乙醇 1 mL 洗涤 2 次, 沉淀经超净工作台吹干后加入 51 μL ddH₂O 溶解 DNA 样品, 于 $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ 下孵育 10 min 助溶。加 RNase A 1 μL 消化 RNA, 37°C 放置 15 min。

之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度, 取适量的样品于离心管中, 使用无菌水稀释样品至 $1\ \text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 。以稀释后的基因组 DNA 为模板, 使用带 Barcode 的特异引物 515F: 5'-GTGCC AGCMGCCGCGGTAA-3' 和 806R: 5'-GGACTACHVG GGTWTCTAAT-3' 扩增宏基因组 16S rDNA, 使用 New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer, 和高效高保真酶进行 PCR 扩增, 扩增条件: 98°C 预变性 1 min; 30 个循环包括: 98°C , 10 s; 50°C , 30 s; 72°C , 30 s; 72°C , 5 min。得到 PCR 产物。

根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 对目的条带使用 qiagen 公司提供的胶回收试剂盒纯化回收产物。

使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 文库试剂盒进行文库构建, 构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量, 文库合格后, 使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序。

1.3 水体理化指标测定

测定的水体理化指标有 pH、水温 (T)、总溶解固体 (TSS)、溶解氧 (DO)、透明度 (SD)、总氮 (TN)、总磷 (TP)、氨氮 (NH_4^+-N)、硝酸盐

(NO_3^- -N)、亚硝酸盐(NO_2^- -N)、活性磷(ADP)、化学耗氧量(COD)、叶绿素 a(Chla)等十几项指标,其中现场使用 pH 计、温度计、透明度盘测定水样 pH、温度和透明度,其余理化指标在大连海洋大学水生生物学实验室测定,测定方法按照文献[16]中规定的方法进行。

1.4 测序数据处理

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样品数据,截去 Barcode 和引物序列后使用 FLASH^[17],对每个样品的 reads 进行拼接,得到的拼接序列为原始 Tags 数据(Raw Tags);拼接得到的 Raw Tags,需要经过严格的过滤处理^[18]得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)。参照 Qiime^[19]的 Tags 质量控制流程,进行 Tags 截取,Tags 长度过滤,将处理得到的 Tags 去除嵌合体序列^[20,21]。

利用 Uparse 软件^[22],对所有样品的全部 Effective Tags 进行聚类,默认以 97% 的一致性(Identity)将序列聚类成为 OTUs (operational taxonomic units)。同时会选取 OTUs 的代表性序列,依据其算法原则,筛选的是 OTUs 中出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列。对 OTUs 代表序列进行物种注释,用 Mothur 软件与 SILVA^[23]的 SSUrRNA 数据库^[24]进行物种注释分析(设定阈值为 0.8 ~ 1.0),获得分类学信息并分别在各个分类水平:kingdom(界)、phylum(门)、class(纲)、order(目)、family(科)、genus(属)、species(种)统计各样本的群落组成。使用 MUSCLE^[25]软件进行快速多序列比对,得到所有 OTUs 代表序列的系统发生关系。最后对各样品的数据进行均一化处理,以样品中数据量最少的为标准进行均一化处理,后续的 α 多样性分析和 β 多样性分析都是基于均一化处理后的数据。

根据所有样品在属水平的物种注释及丰度信息,选取丰度排名前 35 的属,根据其在每个样品中的丰度信息,从物种和样品两个层面进行聚类,绘制成热图,便于发现哪些物种在哪些样品中聚集较多或含量较低。利用 OTUs 数值和注释种类到属水平上计算各采样点的香农-威纳指数(Shannon-Wiener index),分析比较细菌群落多样性。

1.5 统计分析

利用 Excel 分析计算水体指标参数。使用 Qiime 软件(Version 1.9.1)计算 Shannon 指数,对 OTUs 进行丰度分析;使用 CANOCOforwindow4.5 进行 RDA 分析,挖掘样品间的物种组成差异,并结合环

境因素进行关联分析。

2 结果与分析

2.1 碧流河水库细菌多样性分析

35 个样品总共得到平均有效数据 70 045 个,构建 OTUs 并且获得注释信息的 Tags 数目平均为 67 583 个,OTUs 平均有 1 255 个。利用香农-维纳指数比较分析 9 个样点的细菌多样性(表 1)。表 1 显示,碧流河水库全年细菌群落多样性指数平均达 6.921,从季节分布上看,冬季 < 夏季 < 春季 < 秋季。碧流河水库细菌多样性水平分布上存在季节差异,在秋季,中游采样点的细菌多样性 < 下游采样点 < 上游采样点,在冬季,上游采样点的细菌多样性 < 中游采样点 < 下游采样点,在春季和夏季,下游采样点的细菌多样性 < 上游采样点 < 中游采样点。根据物种注释结果,选取每个样品分组(分别为秋季下游 FADb、秋季中游 FAML、秋季上游 FAU、冬季下游 WIDb、冬季中游 WIML、冬季上游 WIU、春季下游 SPDb、春季中游 SPML、春季上游 SPU、夏季下游 SUDb、夏季中游 SUML、夏季上游 SUU)在各分类水平上最大丰度前 10 的门水平物种相对丰度柱状图(图 2),同时分析各个水平上的菌群结构。结果显示,11 个主要门类分别是变形菌门 Proteobacteria 34.16%、蓝菌门 Cyanobacteria 24.35%、放线菌门 Actinobacteria 13.35%、拟杆菌门 Bacteroidetes 12.42%、浮霉菌门 Planctomycetes 6.04%、疣微菌门 Verrucomicrobia 3.42%、厚壁菌门 Firmicutes 2.51%、酸杆菌门 Acidobacteria

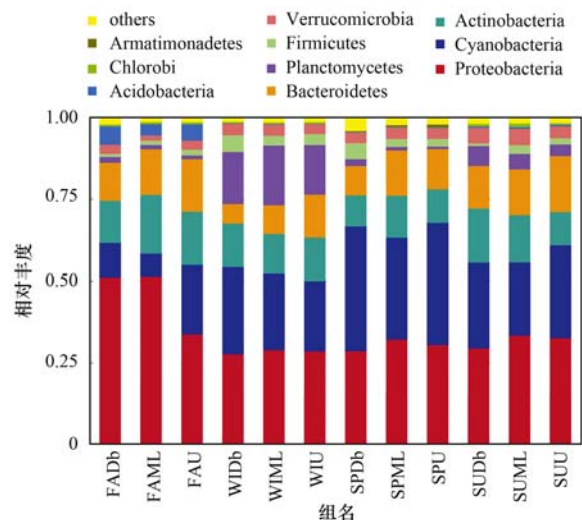


图 2 碧流河水库微生物门水平上的物种相对丰度
Fig. 2 Relative abundance of microbial species in the Biliuhe Reservoir at the phylum level

1.37%、绿菌门 Chlorobi 0.39%、装甲菌门 Armatimonadetes 0.17% 以及还有一些分类地位不明确的细菌类群和稀有类群 Others 1.82%。优势菌门变形菌门包含： β -变形菌纲 β -Proteobacteria 18.34%、 α -变形菌纲 α -Proteobacteria 9.14%、 γ -变形菌纲 γ -Proteobacteria 5.3%。 β -变形菌纲菌群主要集中于伯克氏菌目 Burkholderiales 15.75%，碧流水库 9 个采样点菌群变化主要集中在蓝菌门、放

线菌门和拟杆菌门上，共发现细菌 44 门 115 纲 184 目 368 科 865 属，其中，优势菌属为 unidentified_Chloroplast 17.73%，伦黑墨氏菌属 *Rheinheimera* 1.74%，CL500-3 4.64%，*hgcI_clade* 5.95%，黄杆菌属 *Flavobacterium* 2.59%，CL500-29_marine_group 2.67%，鞘脂单胞菌属 *Sphingomonas* 1.32%，聚球藻属 *Synechococcus* 1.08%， β -变形菌属 *Limnohabitans* 2.45%。

表 1 碧流水库细菌多样性 (Shannon) 统计

地点	季节				
	春 (SP)	夏 (SU)	秋 (FA)	冬 (WI)	平均
上游 (U)	6.831	6.815	7.696	6.585	6.982
中游 (ML)	6.885	7.031	7.27	6.622	6.952
下游 (Db)	6.787	6.277	7.48	6.770	6.829
全库 (WR)	6.834	6.708	7.482	6.659	6.921

根据所有样品在属水平的物种注释和丰度信息，选取丰度排名前 35 的属，从物种注释信息 (横向) 和样品信息 (纵向) 两个层面进行聚类，绘制热图 (图 3)，根据 Z 值便于发现哪些物种在哪些样品中聚集较多或含量较低。图 3 显示，样点在菌群组成上冬春

季和夏秋季有显著差异，其中冬季和春季各个点群落组成相似，秋季和夏季上中下游采样点群落组成有差异。比较各个采样点菌群结构在一年内的变化，上游采样点菌群组成在不同季节差异最大，不同季节主要菌群结构差异明显。秋季 CL500-29_marine_

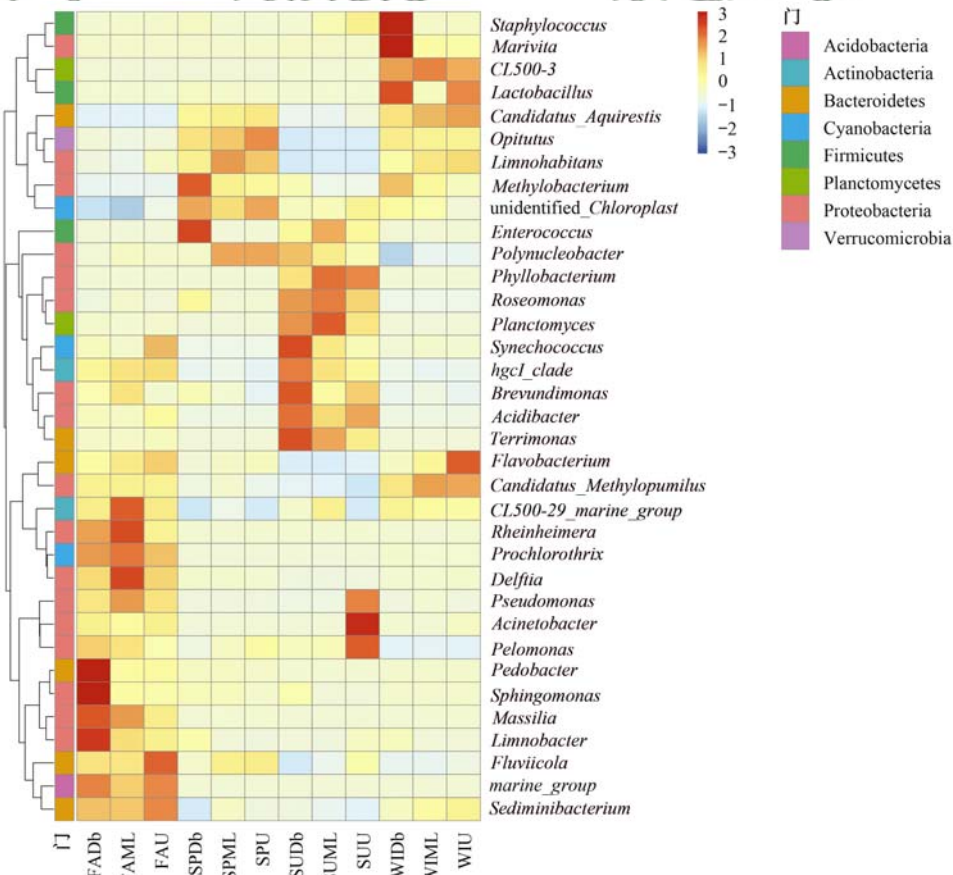


图 3 碧流水库细菌物种丰度聚类

Fig. 3 Cluster analysis of bacterial species abundance in the Biliuhe Reservoir

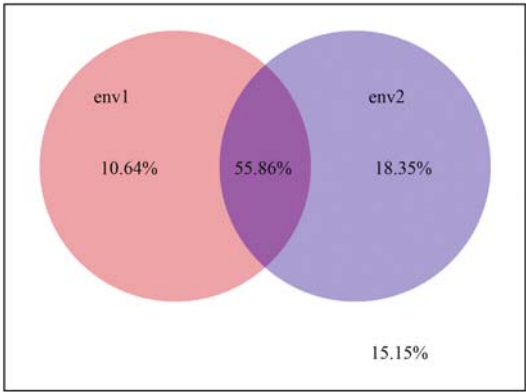
group、*Rheinheimera*、*Prochlorothrix*、*Pedobacter*、*Sphingomonas*、*Massilia*、*Limnobacter* 聚集较多,春季 *Methylobacterium*、unidentified - *Chloroplast*、*Enterococcus* 聚集多,夏季 *Phyllobacterium*、*Roseomonas*、*Planctomyces*、*Synechococcus*、*hgcI_clade*、*Brevundimonas*、*Acidibacter*、*Terrimonas*、*Acinetobacter* 聚集多,冬季 *Staphylococcus*、*Marivita*、*CL500-3*、*Lactobacillus*、*Candidatus_Aquirestis*、*Flavobacterium*、*Candidatus_Methylopumilus* 聚集多.

2.2 细菌群落与环境因子之间的关系

VPA 分析结果表明(图4), TSS、TP、COD、*T*、pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、Chla 这些环境因子的单独解释量为 10.64%, TN、ADP、DO、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、SD、经度、纬度、海拔这些环境因子的单独解释量为 18.35%, 这两组环境变量的共同解释量为 55.86%, 这 16 个环境因子的总解释量为 84.85%, 可以看出, 这些环境因子对碧流河水库细菌种类分布影响很大, 其中第二组环境因子对细菌群落分布的影响高于第一组. 说明地理、化学因子均对微生物群落分布差异作出贡献.

反映菌群与水体环境因子之间关系的 RDA 分析结果见图 5. 从中可知, 菌群分布与环境因子之间的关系较复杂, 总之与微生物菌群相关的环境因子很多, 这些环境因子大多是自相关, 经过 VIF 分析, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、TP、SD、ADP、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、*T*、pH、Chla、TSS 和 DO 这 10 个环境因子均能影响碧流河水库 9 个点位的微生物群落分布. 其中根据箭头长度可以看出, SD、TSS、pH、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 与微生物种类分布相关性较大, 秋季样品与 SD 显著正相关, 夏季样品与 TSS、TP、ADP 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 显著正相关, 与 pH、DO、Chla 和 *T* 呈显著负相关. 春季和冬季样品与 SD、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 呈显著负相关. 采用 envfit 函数检验每个环境因子的显著性, 如表 2, 其中 r^2 越小, 表示

该环境因子对物种分布影响越小, 环境因子对物种分布的影响大小依次为 TSS、SD、pH、ADP、DO、TP($P=0.0005$)



env1 为 TSS、TP、COD、*T*、pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、Chla 这些环境因子的解释量, env2 为 TN、ADP、DO、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、SD、经度、纬度、海拔这些环境因子的解释量, 圆圈外为不能的解释量

图 4 碧流河水库细菌 VPA 结果

Fig. 4 VPA results of bacteria in the Biliuhe Reservoir

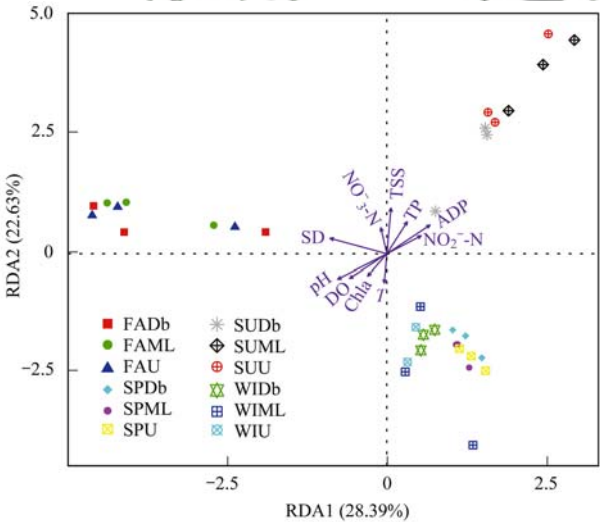


图 5 碧流河水库细菌菌群与水体理化因子的 RDA 分析

Fig. 5 RDA analysis for the correlation between bacteria flora and ecological factors in the Biliuhe Reservoir

表 2 碧流河水库细菌与环境因子的 RDA envfit 分析¹⁾

Table 2 RDA envfit analysis for the correlation of bacteria and ecological factors in the Biliuhe Reservoir

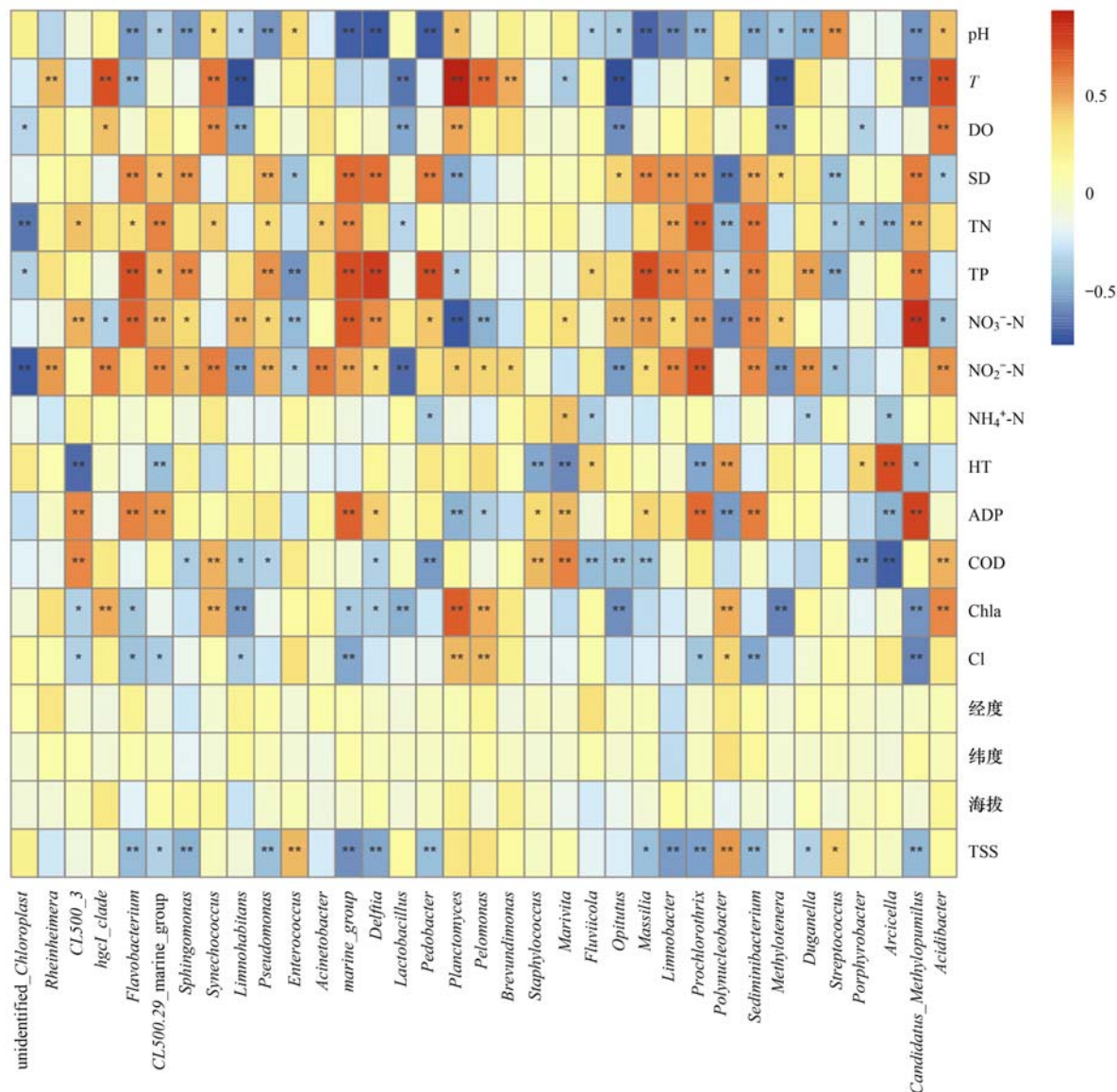
环境因子	RDA1	RDA2	r^2	Pr(>r)
ADP	0.745 1	0.666 9	0.785 3	0.000 5
TSS	0.084 9	0.996 4	0.878 7	0.000 5
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	-0.151 7	0.988 4	0.2894	0.007 0
DO	-0.751 8	-0.659 4	0.573 9	0.000 5
pH	-0.822 0	-0.569 5	0.831 9	0.000 5
<i>T</i>	-0.085 9	-0.996 3	0.348 89	0.002 5
SD	-0.944 5	0.328 6	0.833 49	0.000 5
Chla	-0.552 5	-0.833 5	0.2908 9	0.006 0
TP	0.439 3	0.898 3	0.531 2	0.000 5
$\text{NO}_2^-\text{-N}$	0.814 3	0.580 4	0.412 2	0.001 0

1) RDA1 和 RDA2 所对应的值是环境因子箭头与排序轴夹角的余弦值, 表示环境因子与排序轴的相关性; r^2 表示环境因子对物种分布的决定系数, Pr 表示相关性的显著性检验

2.3 环境因子与微生物种丰富度之间的关系

用 Spearman 秩相关来研究碧流河水库环境因子与微生物种丰富度(α -多样性)之间关系, 及环境因子与物种之间的相互变化关系, 得到两两之间的相关性和显著性 P 值, 相互变化关系总结于图 6. 优势菌属受水体环境因子的影响大于受到地形因子的影响, 其中 *Acidibacter*、*Brevundimonas*、*Pelomonas*、*Planctomyces*、*Synechococcus*、*hgcI_clade*、*Rheinheimera*

与温度、DO、 NO_2^- -N、COD 显著正相关, *Candidatus_Methylopusillus*、*Sediminibacterium*、*Prochlorothrix*、*Limnobacter*、*Massilia*、*Opitutus*、*Pedobacter*、*Delftia*、*marine_group*、*Pseudomonas*、*Sphingomonas*、*CL500-29_marine_group*、*Flavobacterium*、*CL500-3*、*Rheinheimera* 与 SD、TN、TP、 NO_3^- -N、ADP 显著正相关, 与 TSS、Chla 显著负相关. 各菌群与经度、纬度和深度无显著性差异.



纵向为环境因子信息, 横向为物种信息, 中间热图对应的值为 Spearman 相关系数 r , 介于 $-1 \sim 1$ 之间, $r < 0$ 为负相关, $r > 0$ 为正相关, * 表示显著性检验 P 值 < 0.05 有显著性差异, ** 表示有极显著差异

图 6 碧流河水库细菌 Spearman 相关性分析

Fig. 6 Spearman correlation analysis of bacteria in the Biliuhe Reservoir

3 讨论

众所周知, 多样性指数(如 Shannon)是反映生态系统群落结构特征的重要指标, 本文通过 16S

rDNA 高通量测序技术阐明了碧流河水库浮游细菌群落季节性变化, Shannon 多样性指数分析表明, 不同季节碧流河水库浮游细菌群落的多样性是不同的, 其多样性指数平均为 6.9, 与其它地方水体相

比较,处于中间水平,而应用 16S rDNA 高通量测序技术分析得到的细菌多样性指数与应用 PCR-DGGE 和 T-RFLP 技术分析得到的多样性指数相比,数值更高,因此能够更好说明碧流河水库细菌的群落结构.细菌门的相对丰度与他们的多样性有关,Møller 等^[26]进一步验证了 Cohan^[27]提出的假说,一个细菌谱系在生境中的生态成功不是因为其中少数竞争力非常强的物种,而是取决于它的多样性,在细菌“种”内存在着不同的生态型,造成生态型不同的原因则是环境的变化,不同生态型之间的基因交换使物种的竞争力得到增强.这个假说可以解释能否发现更多环境中的优势物种,多样性指数的大小尤为重要.高通量测序 16S rDNA V4 区研究能较好地研究分析水体细菌群落多样性.碧流河水库 9 个采样点的浮游细菌多样性指数存在季节性变化,冬季最低,秋季最高,每个样在菌群组成上冬春季与夏秋季差异显著.这与张雅洁等^[28]和沈烽等^[29]的研究结果类似.这可能是因为冬春季水体温度低,细菌的新陈代谢能力与生长速率减慢,夏秋季水体温度高,细菌新陈代谢旺盛生长速率加快.碧流河水库上中下游细菌多样性空间差异不明显,这与唐婧等^[30]对南明河城区河段、李玉华等^[31]对松花江水体、白洁等^[32]对南海南部海域、王鹏等^[33]对赣江南昌段、白洁等^[34]对北黄海海域浮游细菌群落多样性的研究结果均存在空间差异,不同程度的人类活动对于河流细菌群落结构具有不同的影响,流经城区的河流环境因子变化显著,细菌丰度和多样性空间差异显著,碧流河水库远离闹市,远离现代工业区,地域差异不明显,受人类活动影响较小,因此碧流河水库浮游细菌群落的空间差异不明显.

本研究通过碧流河水库水体中细菌 16S rDNA V4 区高通量测序发现,库水中细菌除了部分分类地位不明确的菌群和稀有菌群外,共发现了细菌 44 门 115 纲 184 目 368 科 865 属,表现出丰富的菌群结构.目前研究报道的不同水域水体中^[28~37],出现过 23 个门类细菌,有蓝藻门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、疣微菌门、浮霉菌门、绿弯菌门、黏胶球形菌门、候选门 OP10、酸杆菌门、绿菌门、泉古菌门、芽单胞菌门、纤维杆菌门(Fibrobacteres)、梭杆菌门(Fusobacteria)、螺旋体门(Spirochaetes)、脱铁杆菌门(Deferribacteres) BRC1、OD1、OP10、SR1 和 TM7 等.变形菌门,蓝菌门,放线菌门,拟杆菌门是碧流河水库水体中的主要菌门,这与大量研究水体细菌群落结构相似.

微生物群落的功能特征是其生境环境因子与环境理化性质紧密相关并相互限制影响^[38~41].本研究 RDA 分析发现, TSS、SD、pH、ADP、DO、TP、 NO_2^- -N 与微生物菌群多样性具有相关性,是其主要的影响因子.近年来,对于部分研究水库、河流、湖泊、海洋的浮游细菌群落结构及其与环境因子的关系总结如表 3.环境影响因子有温度、pH、溶解氧、氨氮、透明度、总氮、总磷、水深、DOC、磷酸盐等^[28~34,42].自然界氮素循环是各种元素循环的中心,而微生物参与的氮循环是生态系统中氮循环的主要初级生产力.在各种水生态环境中,溶解无机氮是异养细菌重要的 N 源,但是过量的氮可能导致水体富营养化,造成水质恶化. Haukka 等^[43]报道在淡水生态系统中添加总氮和磷酸盐后,浮游细菌的群落结构发生变化.刘婷婷^[44]在水源水库微生物种群结构和功能分析中得出亚硝酸盐氮对硫酸盐还原菌种群垂直分布影响显著.有研究表明,河流水体细菌群落不同时期的关键环境驱动因子不同,其中悬浮颗粒物(TSS)浓度在不同水文时期是主要影响因子^[45].曹新益等^[46]的研究表明,不同梯度的 pH 值会不同程度地影响各类细菌的生长.光照、溶氧和温度随着水深的增加而下降,微生物群落的分布也会随之变化^[2].因此,水库功能微生物结构特征受到不同水质指标的综合调控.

促进微生物生长的环境因子各不相同,本研究实验结果详细展示了各个环境因子与各微生物群落丰富度之间的关系. *Acidibacter* 等随着温度、DO、 NO_2^- -N、COD 等的升高而其丰富度增加; *Candidatus _ Methylopusillus* 等与 SD、TN、TP、 NO_3^- -N、ADP 正相关,随着营养物质的增多而丰富度增加;与 TSS、Chla 显著负相关,随着悬浮颗粒的增加透明度降低,叶绿素 a 增加水体富营养化加剧,导致其丰富度降低.陈梦齐等^[47]在象山港电厂温排水对浮游细菌的影响的研究中发现,部分 γ -变形菌分支的丰富度随水温升高而升高.陈兆进等^[42]在丹江口水库的研究表明 T、pH、 NH_4^+ -N、SD 等环境因子丹江口浮游细菌群落有较大影响,不同环境因子对不同菌群具有不同影响.微生物种丰富度与环境因子紧密相关,其中温度、TSS、SD、pH、ADP、DO、TP 等为影响微生物群落主要环境因子.

本研究解释了碧流河水库细菌群落构成与环境因子的相关性,为饮用水源水库水质管理提供了重要数据,但如何将这信息有效用于监控水质有待进一步研究.

表 3 不同水体微生物群落结构特征与关键驱动因子的比较

Table 3 Comparison of the features of the microbial community structure and its key driving factors in different water bodies					
水体	微生物群落组成	关键驱动因子	时空多样性变化	方法	文献
丹江口水库	放线菌门、变形菌门、蓝藻门、拟杆菌门、疣微菌门、壁厚菌门、酸杆菌门等	T 、 pH 、 NH_4^+-N 、 SD	多样性指数平均达 4.4 黑鸡嘴 > 台子山 > 库心 > 宋岗 > 渠首	16S rDNA	[42]
南明河城区河段	变形菌门、浮霉菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、放线菌门、绿菌门、绿弯菌门、泉古菌门、厚壁菌门、芽单胞菌门、疣微菌门等	总氮、总磷	多样性指数平均达 7.5 乌当桥采样点的细菌多样性 > 水口寺采样点 > 五眼桥采样 > 花溪大桥采样点 > 冠洲桥采样点	16S rDNA	[30]
松花湖水体		水深 (SH)、 pH 、温度和溶解氧 (DO) 等	水平方向分布多样性差异, 松花湖下游位点的细菌多样性要高于上游	PCR-DGGE	[31]
南海南部海域	蓝藻门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、疣微菌门、浮霉菌门、绿弯菌门、黏胶球形菌门、候选门 OP10、酸杆菌门、绿菌门 优势类群为变形菌门、蓝藻门和拟杆菌门	DOC 和磷酸盐	多样性指数 (H') 为 4.44 ~ 7.00	16S rDNA	[32]
北黄海海域	优势菌群为变形菌门、厚壁菌门、 α -变形杆菌亚门	水深、溶解氧等	2 个站位分离距离高于 28%, 存在地域差异	16S rRNA 和 DGGE	[34]
赣江南昌段	细菌优势类群为放线菌门、变形菌门, 其次为厚壁菌门、拟杆菌门、蓝藻菌门	温度和流量	赣江南昌段细菌丰度和多样性在城区上游、城区中心和城区下游采样点间没有显著差别, 在不同月份有显著差别	16S rRNA	[33]
北海湖	优势类群: 蓝细菌门、变形菌门、放线菌门和拟杆菌门	水温	优势菌门存在季节性变化, 夏季和秋季微生物的多样性高	16S rDNA	[28]
碧流河水库	变形菌门、蓝菌门、放线菌门和拟杆菌门	TSS 、 SD 、 pH 、 ADP 、 DO 、 TP 、 $NO_2^- -N$	多样性指数为 6.9, 冬季时最低, 秋季最高	16S rDNA	本研究
南京玄武湖		温度、 pH	多样性指数 3.0 ~ 3.8, 季节性变化, 玄武湖的浮游细菌夏季多样性最高, 而春季最低	T-RFLP 技术	[29]

4 结论

(1) 碧流河水库浮游细菌群落结构存在季节性变化, 细菌的群落多样性在冬季时最低, 秋季最高, 菌群组成上冬春季与夏秋季存在差异。

(2) 碧流河水库细菌主要菌门为变形菌门 (Proteobacteria 34.16%)、蓝菌门 (Cyanobacteria 24.35%)、放线菌门 (Actinobacteria 13.35%) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes 12.42%)。优势菌属为 unidentified_Chloroplast 17.73%、hgcI_clade 5.95% 和 CL500-3 4.64%。

(3) 悬浮物 (TSS)、透明度 (SD)、酸碱度 (pH)、活性磷 (ADP)、溶氧 (DO)、总磷 (TP)、亚硝酸氮 ($NO_2^- -N$) 是影响碧流河水库细菌群落结构的主要环境因子。

参考文献:

[1] 冯泽晖. 浅谈微生物技术在城市污水处理中的应用[J]. 科技创新与应用, 2017, (12): 174.

[2] 任丽娟, 何聃, 邢鹏, 等. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 421-432.
Ren L J, He D, Xing P, et al. Bacterial diversity and ecological function in lake water bodies[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 421-432.

[3] 郭非, 耿绪云, 李翔, 等. 天津近海可培养细菌多样性的初步调查[J]. 海洋科学, 2009, 33(6): 35-40.
Guo F, Geng X Y, Li X, et al. Preliminary investigation of the culturable bacteria diversity in Tianjin coastal waters[J]. Marine Sciences, 2009, 33(6): 35-40.

[4] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiological Reviews, 1995, 59(1): 143-169.

[5] Spring S, Schulze R, Overmann J, et al. Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes: molecular and cultivation studies[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2000, 24(5): 573-590.

[6] 戴欣, 周惠, 陈月琴, 等. 中国南海南沙海区沉积物中细菌 16S rDNA 多样性的初步研究[J]. 自然科学进展, 2002, 12(5): 479-484.
Dai X, Zhou H, Chen Y Q, et al. A preliminary study on 16S rDNA diversity of bacteria in the Nansha marine sediment, the

- South China Sea[J]. *Progress in Nature Science*, 2002, **12**(5): 479-484.
- [7] 李筠, 周宏霞, 刘佳琳, 等. 青岛近岸特征环境中海洋异养细菌的分布规律及其分子鉴定[J]. *中国海洋大学学报*, 2006, **36**(6): 965-970.
- Li J, Zhou H X, Liu J L, *et al.* Distribution and identification of marine heterotrophic bacteria in different sea areas close to the shore of Qingdao[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2006, **36**(6): 965-970.
- [8] Yang Y Y, Dai Y, Wu Z, *et al.* Temporal and spatial dynamics of archaeal communities in two freshwater lakes at different trophic status[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, **7**: 451.
- [9] 穆春华, 包振民, 陈刚, 等. 西北太平洋沉积物中细菌多样性的研究[J]. *海洋学报*, 2006, **28**(4): 121-128.
- Mu C H, Bao Z M, Chen G, *et al.* Bacterial diversity in the sediments collected from the Northwest Pacific [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2006, **28**(4): 121-128.
- [10] Laque T, Farjalla V F, Rodado A S, *et al.* Spatiotemporal variation of bacterial community composition and possible controlling factors in tropical shallow lagoons [J]. *Microbial Ecology*, 2010, **59**(4): 819-829.
- [11] Brambilla E, Hippe H, Hagelstein A, *et al.* 16S rDNA Diversity of cultured and uncultured prokaryotes of a mat sample from Lake Fryxell, McMurdo Dry Valleys, Antarctica [J]. *Extremophiles*, 2001, **5**(1): 23-33.
- [12] 谢在刚. 碧流河水库水体富营养化控制对策探讨[J]. *吉林水利*, 2009, (1): 38-40.
- Xie Z G. Discussion on the eutrophication control Countermeasures in Biliuhe reservoir[J]. *Jilin Water Resources*, 2009, (1): 38-40.
- [13] 大连市碧流河水库管理局. 碧流河水库志[M]. 大连: 大连出版社, 1996.
- [14] 王广森. 大连市碧流河水库水源涵养林工程设计浅析[J]. *水资源开发与管理*, 2016, **7**(6): 78-80.
- Wang G S. On design of water source conservation forest project in Dalian Biliuhe Reservoir[J]. *Water Resources Development and Management*, 2016, **7**(6): 78-80.
- [15] 郑焕春, 周青. 微生物在富营养化水体生物修复中的作用[J]. *中国生态农业学报*, 2009, **17**(1): 197-202.
- Zheng H C, Zhou Q. Function of microorganism in bioremediation of eutrophic water[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, **17**(1): 197-202.
- [16] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [17] Anderson M J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance[J]. *Austral Ecology*, 2001, **26**(1): 32-46.
- [18] McArdle B H, Anderson M J. Fitting multivariate models to community data: A comment on distance-based redundancy analysis[J]. *Ecology*, 2001, **82**(1): 290-297.
- [19] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature methods*, 2010, **7**(5): 335-336.
- [20] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, *et al.* UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. *Bioinformatics*, 2011, **27**(16): 2194-2200.
- [21] Haas B J, Gevers D, Earl A M, *et al.* Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. *Genome Research*, 2011, **21**(3): 494-504.
- [22] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, **10**(10): 996-998.
- [23] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Na? ve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(16): 5261-5267.
- [24] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, **41**(D1): 590-596.
- [25] Edgar R C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, **32**(5): 1792-1797.
- [26] Møller A K, Søborg D A, Al-Soud W A, *et al.* Bacterial community structure in High-Arctic snow and freshwater as revealed by pyrosequencing of 16S rRNA genes and cultivation [J]. *Polar Research*, 2013, **32**(1): 17390.
- [27] Cohan F M. What are bacterial species? [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2002, **56**: 457-487.
- [28] 张雅洁, 李珂, 朱浩然, 等. 北海湖微生物群落结构随季节变化特征[J]. *环境科学*, 2017, **38**(8): 3319-3329.
- Zhang Y J, Li K, Zhu H R, *et al.* Community structure of microorganisms and its seasonal variation in Beihai lake [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(8): 3319-3329.
- [29] 沈烽, 赵大勇, 黄睿, 等. 南京玄武湖浮游细菌群落结构的季节变化及其与环境因子的关系[J]. *湖泊科学*, 2017, **29**(3): 662-669.
- Shen F, Zhao D Y, Huang R, *et al.* Seasonal variation of bacterioplankton community structure in Xuanwu Lake (Nanjing) and its relationship with environmental factors [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2017, **29**(3): 662-669.
- [30] 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 X R, Shang C Y, *et al.* Association of bacterial diversity in city area of Nanming river with environmental factors [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, **55**(8): 1050-1059.
- [31] 李玉华, 许其功, 赵越, 等. 松花湖水体中不同空间分布的细菌群落结构分析[J]. *农业环境科学学报*, 2013, **32**(4): 764-770.
- Li Y H, Xu Q G, Zhao Y, *et al.* Bacterial community structure in different spatial distribution of Songhua lake [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, **32**(4): 764-770.
- [32] 白洁, 刘小沙, 侯瑞, 等. 南海南部海域浮游细菌群落特征及影响因素研究[J]. *中国环境科学*, 2014, **34**(11): 2950-2957.
- Bai J, Liu X S, Hou R, *et al.* Community structure and influencing factors of bacterioplankton in the southern South China Sea [J]. *China Environmental Science*, 2014, **34**(11): 2950-2957.
- [33] 王鹏, 陈波, 李传琼, 等. 赣江南昌段丰水期细菌群落特征[J]. *中国环境科学*, 2016, **36**(8): 2453-2462.
- Wang P, Chen B, Li C Q, *et al.* Bacterial communities in Nanchang section of the Ganjiang River in wet season [J]. *China*

- Environmental Science, 2016, **36**(8): 2453-2462.
- [34] 白洁, 李海燕, 赵阳国. 黄海北部不同站位海洋细菌群落分布特征[J]. 微生物学报, 2009, **49**(3): 343-350.
- Bai J, Li H Y, Zhao Y G. Bacterial distribution at different stations in the Northern Yellow Sea [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, **49**(3): 343-350.
- [35] Dong Y, Zhao Y, Zhang W Y, *et al.* Bacterial diversity and community structure in the East China Sea by 454 sequencing of the 16S rRNA gene [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2014, **32**(3): 527-541.
- [36] Newton R J, Jones S E, Eiler A, *et al.* A guide to the natural history of freshwater lake bacteria [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, **75**(1): 14-49.
- [37] Zwart G, Crump B C, Kamst-van Agterveld M P, *et al.* Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers [J]. Aquatic Microbial Ecology, 2002, **28**(2): 141-155.
- [38] 米亮, 王光华, 金剑, 等. 黑土微生物呼吸及群落功能多样性对温度的响应[J]. 应用生态学报, 2010, **21**(6): 1485-1491.
- Mi L, Wang G H, Jin J, *et al.* Responses of black soil's microbial respiration and community functional diversity to temperature[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, **21**(6): 1485-1491.
- [39] Gomez E, Ferreras L, Toresani S. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application [J]. Bioresource Technology, 2006, **97**(13): 1484-1489.
- [40] 黎宁, 李华兴, 朱凤娇, 等. 菜园土壤微生物生态特征与土壤理化性质的关系[J]. 应用生态学报, 2006, **17**(2): 285-290.
- Li N, Li H X, Zhu F J, *et al.* Relationships between soil microbial ecological characteristics and physical-chemical properties of vegetable garden soil [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, **17**(2): 285-290.
- [41] Manzoni S, Jackson R B, Trofymow J A, *et al.* The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization [J]. Science, 2008, **321**(5889): 684-686.
- [42] 陈兆进, 丁传雨, 朱静亚, 等. 丹江口水库枯水期浮游细菌群落组成及影响因素研究[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(1): 336-344.
- Chen Z J, Ding C Y, Zhu J Y, *et al.* Community structure and influencing factors of bacterioplankton during low water periods in Danjiangkou Reservoir[J]. China Environmental Science, 2017, **37**(1): 336-344.
- [43] Haukka K, Kolmonen E, Hyder R, *et al.* Effect of nutrient loading on bacterioplankton community composition in Lake Mesocosms[J]. Microbial Ecology, 2006, **51**(2): 137-146.
- [44] 刘婷婷. 水源水库微生物种群结构与功能研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2013.
- Liu T T. Microbial community structure and function of drinking water reservoir[D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2013.
- [45] 刘睿, 吴巍, 周孝德, 等. 渭河浮游细菌群落结构特征及其关键驱动因子[J]. 环境科学学报, 2017, **37**(3): 934-944.
- Liu R, Wu W, Zhou X D, *et al.* Bacterioplankton community structure in Weihe river and its relationship with environmental factors[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, **37**(3): 934-944.
- [46] 曹新益, 徐慧敏, 王司辰, 等. 南京莫愁湖与紫霞湖浮游细菌群落结构的季节性变化及其与环境因子的关系[J]. 化学与生物工程, 2016, **33**(12): 19-26, 30.
- Cao X Y, Xu M H, Wang S C, *et al.* Seasonal variation of bacterioplankton community structure and its relationship with environmental factors of Mochou Lake and Zixia Lake in Nanjing [J]. Chemistry & Bioengineering, 2016, **33**(12): 19-26, 30.
- [47] 陈梦齐, 刘紫丹, 戴文芳, 等. 象山港电厂温排水增温对浮游细菌群落空间分布的影响[J]. 生态学报, 2016, **36**(20): 6574-6582.
- Chen M Q, Liu Z D, Dai W F, *et al.* Effects of thermal discharge on the spatial distribution of bacterioplankton community near a power plant in Xiangshan Bay [J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, **36**(20): 6574-6582.

CONTENTS

An Assessment of PM _{2.5} -Related Health Risks and Associated Economic Losses in Chinese Cities	LI Hui-juan, ZHOU De-qun, WEI Yong-jie (3467)
Impact of the Electric Power Industry on Air Quality in Winter of Urban Agglomerations Along the Middle Reaches of the Yangtze River ...	SUN Xiao-wei, GUO Xiu-rui, CHENG Shui-yuan (3476)
Capacity Simulation Method Based on Regional Transfer Matrix and PM _{2.5} Concentration Target Constraint	LI Min-hui, LIAO Cheng-hao, YANG Liu-lin, <i>et al.</i> (3485)
Analysis of Chemical Composition of the Fine Particulate Matter in Summer in Tianjin City via a Single Particle Aerosol Mass Spectrometer (SPAMS)	WEN Jie, SHI Xu-rong, TIAN Ying-ze, <i>et al.</i> (3492)
Pollution Characteristics of Organic Carbon and Elemental Carbon in Atmospheric Aerosols in Beibei District, Chongqing	PENG Xiao-le, HAO Qing-ju, WEN Tian-xue, <i>et al.</i> (3502)
Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Carbonaceous Aerosols in the Cities of Hangzhou and Ningbo	XU Hong-hui, XU Jing-sha, HE Jun, <i>et al.</i> (3511)
Emission Characteristics and Chemical Components of PM _{2.5} from Open Burning of Municipal Solid Waste	WANG Yan, HAO Wei-wei, CHENG Ke, <i>et al.</i> (3518)
Size-resolved Emission Factors of Carbonaceous Particles from Domestic Coal Combustion in China	YANG Guo-wei, KONG Shao-fei, ZHENG Shu-ni, <i>et al.</i> (3524)
Characteristics and Source Analysis of Non-methane Hydrocarbons (NMHC) in Dalian	Ji De-yu (3535)
Scenario Analyses of the Volatile Organic Compound Emission Allowance and Allocation in the 13th Five-Year Period	ZHANG Jia-ni, CHEN Xiao-fang, LIANG Xiao-ming, <i>et al.</i> (3544)
Pollution Characteristics and Emission Coefficients of Volatile Organic Compounds from the Packaging and Printing Industry in Zhejiang Province	WANG Jia-de, LÜ Jian-zhang, LI Wen-juan, <i>et al.</i> (3552)
Emission Characteristics and Characteristic Substance Identification of Volatile Odorous Organic Compounds in Industries Using Organic Solvents	ZHAI Zeng-xiu, MENG Jie, WANG Gen, <i>et al.</i> (3557)
Analysis of Aerosol Optical Depth Variation Characteristics for 10 years in Urumqi Based on MODIS_C006	HU Jun, KANG Yan-ming, CHEN Yong-hang, <i>et al.</i> (3563)
Motor Vehicle Pollution Control Scenarios of Beijing Subsidiary Administrative Center Based on Road Traffic Flow	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (3571)
Air Pollution Characteristics and Jogger Inhalation Exposure in Typical Running Area of Beijing	TAO Shuang-cheng, GAO Shuo-han, XIONG Xin-zhu, <i>et al.</i> (3580)
Temporal and Spatial Changes in Sediment Nutrients and Heavy Metals of the Danjiangkou Reservoir Before and After Water Division of the Mid-route Project	LI Bing, WANG Ya, ZHENG Zhao, <i>et al.</i> (3591)
Fluorescence Characteristics and Environmental Significance of Organic Matter in the Northern Part of Lake Taihu in Spring and Winter	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua (3601)
Contamination Levels and Ecological Risk Assessment of Phthalate Esters (PAEs) in the Aquatic Environment of Key Areas of Taihu Lake	ZHU Bing-qing, GAO Zhan-qi, HU Guan-jiu, <i>et al.</i> (3614)
Nitrogen and Phosphorous Adsorption Characteristics of Suspended Solids Input into a Drinking Water Reservoir via Typhoon Heavy Rainfall	YAO Ling-ai, ZHAO Xue-min, MA Qian-li, <i>et al.</i> (3622)
Geochemical Characteristics and Genesis Analyses of High-arsenic Groundwater in the Pearl River Delta	ZHANG Chang-yan, HE Jiang-tao, ZHANG Xiao-wen, <i>et al.</i> (3631)
Effects of Organic Pollutants on the Bacterioplankton Community in Hangzhou Bay	XUAN Li-xia, DAI Wen-fang, YU Wei-na, <i>et al.</i> (3640)
Bacterioplankton Community Structure in the Lancang River Basin and the Analysis of Its Driving Environmental Factors	CHENG Bao, WANG Xue, XU Ya-qian, <i>et al.</i> (3649)
Bacterial Community Structure Characteristics in the Biliuhe Reservoir and Its Key Driving Factors	WANG Huan, ZHAO Wen, XIE Zai-gang, <i>et al.</i> (3660)
Analysis of the Temporal and Spatial Distribution of the Diversity of the Denitrifying Anaerobic Methane-Oxidizing Bacterial Community in the Sediments of the Hunhe River and Its Relationship with Environmental Factors	ZHANG Ya-di, SONG Yong-hui, PENG Jian-feng, <i>et al.</i> (3670)
Influences of Anthropogenic Activities on the Community Structure of N-DAMO Bacteria in the North Canal	LIU Yang, CHEN Yong-juan, WANG Xiao-yan, <i>et al.</i> (3677)
Impact of Exogenous Nitrogen Import on Sediment Denitrification and N ₂ O Emissions in Ditches Under Different Land Uses	SHE Dong-li, CHEN Xin-yi, GAO Xue-mei, <i>et al.</i> (3689)
Sedimentation Characteristics and Pollutant Content Distribution of Storm Drainage Sediments	SHANG Yu, ZHOU Yi, LIAO An-yi, <i>et al.</i> (3696)
Effect of Cr(VI) on Coagulation Process of Different Coagulants	GAO Qian, ZHANG Da-wei, XU Hui, <i>et al.</i> (3704)
Enhancement of Photoelectrocatalytic Degradation of Bisphenol A with Peroxymonosulfate Activated by a Co ₃ O ₄ /BiVO ₄ Composite Photoanode	LI Jiang, WANG Yan, ZHANG Xiu-fang, <i>et al.</i> (3713)
Preparation and Characterization of a Calcium Alginate/Biochar Microsphere and Its Adsorption Characteristics and Mechanisms for Pb(II)	YU Chang-jiang, DONG Xin-yu, WANG Miao, <i>et al.</i> (3719)
Behaviors and Mechanisms of CIP and OFL Adsorption by Magnetic Biochar	ZHAO Hua-xuan, LANG Yin-hai (3729)
Optimization and Validation of the Analytical Method to Detect New Psychoactive Substances in Wastewater	CHEN Pei-pei, DU Peng, ZHOU Zi-lei, <i>et al.</i> (3736)
Effect of Hybrid Process of Pre-ozonation and CNT Modification on Hollow Fiber Membrane Fouling Control	GUAN Yu-qi, WANG Kai-lun, ZHU Xue-dong, <i>et al.</i> (3744)
Bioregeneration of Anion Exchange Resin Used in Nitrate Removal	YE Ting, ZHANG Guang, WANG Ke, <i>et al.</i> (3753)
Preparation of Prussian Blue@Yeast Catalyst and Its Heterogeneous Fenton Performance	CHEN Si, BAI Bo, WANG Hong-lun, <i>et al.</i> (3759)
Nitrogen Removal of Double-bacteria-layer System via PN/A Process	XU Jing-yi, DU Jun, YANG Yi-feng, <i>et al.</i> (3767)
Inhibitory Effect of Phenol on Phosphorus Removal Performance of an EBPR System	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (3775)
Treatment of Old Landfill Leachate via a Denitrification-Partial Nitritation-ANAMMOX Process	WANG Fan, LU Ming-yu, YIN Ji-qiang, <i>et al.</i> (3782)
Denitrification Characteristics and Functional Genes of Denitrifying Bacteria Under Aerobic or Anaerobic Conditions	KANG Peng-liang, CHEN Sheng-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (3789)
Characteristic of Benzo[a]pyrene Anaerobic Degradation by Phenol Co-substrate and Microbial Communities from Two Types of Sludge	WU Hai-zhen, HU Xiao-yi, WANG Ming, <i>et al.</i> (3797)
Spectroscopic Characterization of DOM During Hyperthermophilic Composting of Sewage Sludge	LIU Xiao-ming, YU Zhen, ZHOU Pu-xiong, <i>et al.</i> (3807)
Effects of Biochar on Nitrous Oxide Fluxes and the Abundance of Related Functional Genes from Agriculture Soil in the North China Plain	LIU Xing-ren, ZHAO Guang-xin, ZHANG Qing-wen, <i>et al.</i> (3816)
Nitrous Oxide Production in Response to Oxygen in a Solar Greenhouse Vegetable Soil	CHEN Ji-ji, SONG He, CAO Wen-chao, <i>et al.</i> (3826)
Comprehensive Study of Lead Speciation and Its Bioavailability in Soils From a Lead/Zinc Mining Area by Micro X-Ray Fluorescence and X-Ray Absorption Near-Edge Structure	SUN Xiao-yan, LIU Jian, LUO Li-qiang (3835)
Assessment of Heavy Metal Pollution in Soil and Its Bioaccumulation by Dominant Plants in a Lead-Zinc Mining Area, Nanjing	LI Jun-kai, ZHANG Dan, ZHOU Pei, <i>et al.</i> (3845)
Preparation of Iron-Aluminum Modified Diatomite and Its Immobilization in Cadmium-Polluted Soil	YANG Yu-zhong, ZHU Jian, XIAO Yuan-yuan, <i>et al.</i> (3854)
Transfer of Soil Organic Carbon to Inorganic Carbon in Arid Oasis Based on Stable Carbon Isotope Technique	LI Yang-mei, GONG Lu, AN Shen-qun, <i>et al.</i> (3867)
Environmental Filters Drive the Assembly of the Soil Fungal Community in the <i>Larix principis-rupprechtii</i> Forests of the Guandi Mountains	ZHAO Peng-yu, LI Cui, CHAI Bao-feng (3876)
Effects of Transgenic Maize with <i>cry1Ab</i> and <i>Epsps</i> Genes C0030.3.5 on the Abundance and Community Structure of Soil Nitrogen-fixing Bacteria	WANG Rui, ZHU Ke, LI Gang, <i>et al.</i> (3885)
Effects of Gypsum on CH ₄ Emission and Functional Microbial Communities in Paddy Soil	HU Xiang-yu, XIANG Qiu-jie, MU Zhi-jian (3894)
Effects of Long-term Fertilization on Enzyme Activities in Profile of Paddy Soil Profiles	DU Lin-sen, TANG Mei-ling, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3901)
Effects of Sediment Burial and Exogenous Cd Input on Biomass Allocation and Antioxidative Enzyme Activities of <i>Suaeda salsa</i> in the Coastal Wetland of the Yellow River Delta	SONG Hong-li, WANG Li-zhi, YU Wan-ni, <i>et al.</i> (3910)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Wheat Grains Cultivated in Kaifeng Irrigation Area of the Yellow River	KANG Guo-hua, ZHANG Peng-yan, LI Yan-yan, <i>et al.</i> (3917)
Effect of Graphene Oxide on Algal Toxicity of Dibutyl Phthalate	TU Hai-feng, LIU Cheng, WANG Yu-qing, <i>et al.</i> (3927)
Effects of Organic Substrates on ANAMMOX-MFC Denitrification Electrogenesis Performance	ZU Bo, MA Lan, LIU Bo, <i>et al.</i> (3937)
Well-to-Wheels Fossil Energy Consumption and CO ₂ Emissions of Hydrogen Fuel Cell Vehicles in China	LIN Ting, WU Ye, HE Xiao-yi, <i>et al.</i> (3946)
Secondary Organic Aerosols from Aqueous Reaction of Aerosol Water	YE Zhao-lian, QU Zhen-xiu, MA Shuai-shuai, <i>et al.</i> (3954)