王卓群,陈扣平,吴吉春,等.太湖周边地下水中高硝酸盐负荷促进反硝化功能菌群富集 [J]. 中国环境科学, 2025,45(1):477-486.
Wang Z Q, Chen K P, Wu J C, et al. High nitrate load in lakeside groundwater around Lake Taihu promotes the enrichment of denitrifying functional bacteria community [J]. China Environmental Science, 2025,45(1):477-486.

太湖周边地下水中高硝酸盐负荷促进反硝化功能菌群富集

王卓群[1],陈扣平[1*],吴吉春[1],王保战[2],柳 旭[2] (1.南京大学地球科学与工程学院,江苏 南京 210023；2.南京农业大学生命科学学院,江苏 南京 210095)

摘要：反硝化功能菌群在降解硝态氮污染中发挥着重要作用,目前对其内部种间关系与硝酸盐负荷的联系仍了解有限.太湖周边地区地下水资源是重要的储备水源,但部分区域的地下水硝酸盐负荷超出了范围.本文以太湖周边地区 14 个不同硝酸盐浓度的地下水样品作为研究对象,运用微生物测序技术探究了地下水细菌群落多样性并识别出反硝化功能菌群,通过共现网络分析探究了反硝化功能菌群内部种间关系对硝酸盐负荷的响应.结果表明:高硝态氮组与低硝态氮组间细菌群落组成存在显著差异;细菌群落 α 多样性、β 多样性受到硝酸盐负荷的显著影响;高硝态氮组地下水反硝化功能菌群内部种间关系较低硝态氮组更为密切.本研究表明地下水硝酸盐负荷对反硝化功能菌群内部种间关系具有显著影响,为太湖周边地区地下水反硝化功能菌群与硝态氮的互作机制研究提供了新的见解.

关键词：太湖；地下水；微生物多样性；硝态氮；共现网络
中图分类号：X172,X523 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)01-0477-10

High nitrate load in lakeside groundwater around Lake Taihu promotes the enrichment of denitrifying functional bacteria community. WANG Zhuo-qun[1], CHEN Kou-ping[1*], WU Ji-chun[1], WANG Bao-zhan[2], LIU Xu[2] (1.School of Earth Sciences and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China；2.College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). *China Environmental Science*, 2025,45(1)：

Abstract：The denitrifying functional bacteria community plays a crucial role in the degradation of nitrate pollution. However, the understanding of the relationships between its interspecies links and nitrate load is still limited. Groundwater resources in the vicinity of Lake Taihu serve as vital reserves, yet in some areas, nitrate load in groundwater exceeds health thresholds. This paper focused on 14 groundwater samples with varying nitrate concentrations from the Lake Taihu area. With microbial sequencing techniques, the diversity of bacterial communities in groundwater was explored, and the denitrifying functional bacteria community was identified. The response of interspecies links within the denitrifying functional bacteria community to nitrate load was investigated by co-occurrence network analysis. The results indicate: Significant differences were found in bacterial community composition between high and low nitrate samples; The α-diversity and β-diversity were highly influenced by nitrate load; Interspecies links within the denitrifying functional bacteria community in the high nitrate samples were denser than those in the low nitrate samples. This study demonstrates that nitrate load in groundwater significantly influences the interspecies links within the denitrifying functional bacteria community, providing new insights into the interplay between groundwater denitrifying functional bacteria community and nitrate load in the Lake Taihu area.

Key words：Lake Taihu；groundwater；microbial diversity；nitrate；co-occurrence network

太湖周边地区地下水资源丰富,是当地居民生活用水的重要来源,在资源储备、生态功能维持、水质平衡等方面起到不可忽略的作用[1].然而,受到生活污水、人畜粪便及化肥施用的影响[2],外源硝酸盐通过淋滤、径流等方式入侵地下水[3],导致太湖周边地区地下水硝酸盐负荷在一定程度上超出了健康范围.太湖西苕溪流域部分地区地下水中硝酸盐浓度(以氮记)超过了 10mg/L,最大值达到 15.31mg/L[4].太湖西南侧长兴县浅层地下水中,硝酸盐浓度超标率为 13.95%,浓度最高可达 22mg/L,达到了我国《地下水质量标准》GB/T 14848-2017 中所规定的地下水质量Ⅳ类标准[5].地下水中过高的硝酸盐负荷不仅对人体健康存在各类潜在不良影响,而且会通过水力联系引发地表水体的同步恶化[6].

反硝化功能菌群能够将硝酸盐还原,最终以含

收稿日期：2024-06-14
基金项目：国家自然科学基金资助项目(42177043)
* 责任作者, 副教授, kpchen@nju.edu.cn

氮气体的形式排放到大气中.这一过程是地下水中硝酸盐负荷降解的主要途径,因此反硝化功能菌群在降低地下水硝酸盐负荷方面发挥着至关重要的作用[7,8].已有研究表明,硝酸盐作为反硝化功能菌群生命活动的重要氮源,对反硝化功能菌群存在一定程度的影响,如过高的硝酸盐负荷会对脱氮硫杆菌产生抑制作用[9-11].然而,这些研究往往针对某一特定物种展开,而忽略了反硝化功能菌群作为一个功能整体,其内部种间关系对硝酸盐负荷的响应.

为了对上述问题进行探讨,本文在查明太湖周边地区地下水硝态氮负荷情况的基础上,选取地下水中的反硝化功能菌群为研究对象,探究其群落组成、结构及群落内种间关系对硝酸盐负荷的响应.将目光聚焦于地下水反硝化功能菌群并探究其对硝酸盐负荷的响应能够帮助人们更好地理解地下水微生物与硝态氮负荷之间的关系,进而更好地指导地下水硝态氮污染风险的治理.

1 材料与方法

1.1 研究区概况与样品采集

选取太湖湖岸周边 3km 内地区(30°26′~31°56′N,119°53′~120°32′E)为研究区,研究区普遍覆盖着复杂第四系松散沉积物,孔隙水发育丰富,仅西南少部地区出露变质岩、岩浆岩,故导水性较差,常发育有裂隙水.研究区地下水水力坡度极小,且地下径流十分缓慢.属亚热带季风气候区,降水集中在4~10 月(丰水期).区域地下水以大气降水入渗补给为主,以侧向补给、地下径流、蒸发等方式排泄.当地稠密的人口、发达的农业,为地下水环境造成了一定的生态压力.

2022 年 7 月沿太湖湖岸周边 3km 内地区采集 14 个地下水样品,取样点位置图如图 1 所示.抽取地下水样品一段时间后,取水样进行后续处理,以确保采集的样品来自含水层而非井中滞留水.经 0.45μm 孔径滤膜过滤后,收集水样于预冲洗过的聚乙烯瓶中,使用 H_2SO_4(ρ=1.84g/mL)酸化至 pH<2,封口胶封存好后于 4℃保温箱中保存,用于实验室内测定地下水中溶解氮.使用0.22μm孔径滤膜真空抽滤4L左右水样,取下滤膜后立即放入−80℃冰箱保存,用于后续 16sRNA 分析.

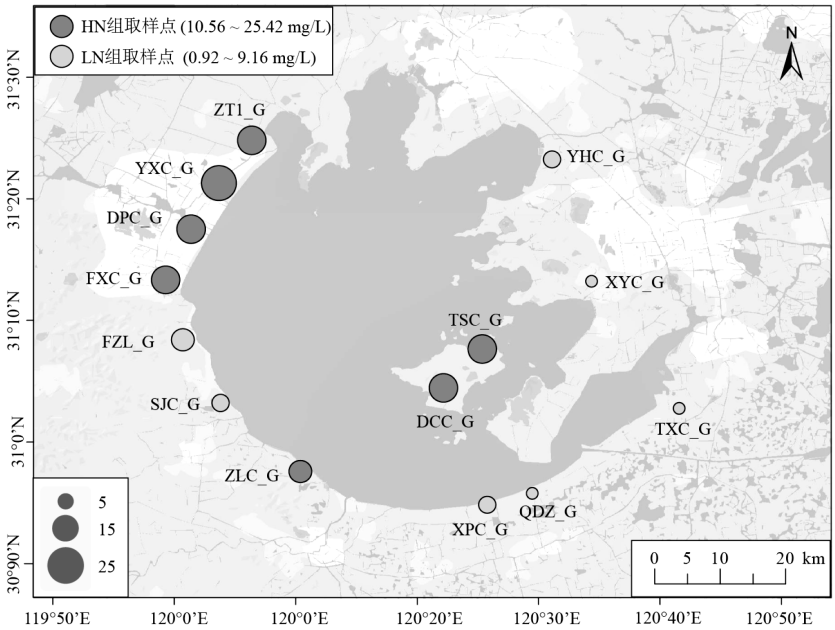

图 1 研究区地下水采样点

Fig.1 Groundwater sampling sites in the studied area

1.2 地下水理化分析

抽取地下水样品一段时间,排空井中滞留水后,使用便携智能多参水质分析仪(HANNA HI9828,意大利)原位测量地下水的水温(WT)、酸碱度(pH 值)、总溶解固体(TDS)、氧化还原电位(ORP)、溶解氧(DO)等指标.使用碱度试剂盒(MERCK 1.11109.0001,德国)对地下水中重碳酸根进行原位滴定,滴定精度为 0.1mol/L.地下水中溶解氮组分,包括 NO_3^--N、

TN−N,由荷兰 SKALAR 公司生产的连续流动分析仪(SKALAR SAN++,荷兰)测定,检出限分别为0.002mg/L 及 0.01mg/L.

1.3　DNA 抽提与测序

利用 FastDNA SPIN Kit(MP Biomedicals,Santa Ana,CA, USA)从滤膜上提取 DNA 后,采用 NanoDrop 2000 测定(Thermo Fisher Scientific, USA)DNA 浓度.基于上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina MiSeq system(PE300),利用 338F(ACTCCTACGG−GAGGCAGCAG)、806R(GGACTACHVGGGTWT−CTAAT) 2 个引物,对 16s rRNA 基因的高变 V3~V4 区进行扩增.使用 QIME2 对原始数据进行质控、拼接等处理,利用 USEARCH 去除嵌合体,最终按照相似性97%的有效序列聚类成OTU.比对 Silva 16S RNA 数据库(v.138),得到每个 OTU 所对应的物种信息.

1.4　统计分析

使用R语言计算样品的Alpha多样性指数,并基于 Bray−Curtis 距离进行主坐标分析(PCoA).使用 STAMP 软件通过 Wilcoxon 秩和检验分析组间优势物种的丰度差异.基于 Spearman 相关系数绘制共现网络,选取相关系数大于 0.6,且具有统计学意义(P<0.05)的样点,采用 R 语言进行网络分析,并导入 Cytoscape(v.3.10.1)与 Gephi(v.0.10.1)进行可视化.

2　结果与讨论

2.1　太湖周边地区地下水理化性质

研究区地下水的温度平均为 24.14℃,整体呈现中性,所有样品均为淡水.地下水溶解氧 DO 介于 0.23 与 7.93mg/L 之间,氧化还原电位 ORP 的范围是−5.4~123.1mV.研究区地下水整体呈现氧化性,只有一个样点(TXC−G)ORP 为负,呈现还原性.地下水碱度的范围是 1.5~9.3mmol/L,平均值为 4.75mmol/L.

表 1　太湖周边地区地下水理化性质

Table 1　Physicochemical properties of groundwater around the Lake Taihu area

样品分组		T (℃)	pH 值	TDS (mg/L)	DO (mg/L)	ORP (mV)	碱度 (mmol/L)
HN (n=7)	AVG	22.48	6.90	301.71	2.56	60.36	4.33
	MIN	19.51	6.60	230.00	0.23	22.60	1.80
	MAX	25.70	7.18	407.00	7.33	123.10	9.30
LN (n=7)	AVG	25.80	7.11	341.29	5.51	41.64	5.17
	MIN	20.48	6.66	151.00	2.83	−5.40	1.50
	MAX	29.95	7.67	661.00	7.93	58.80	9.30

以 NO_3^-−N 浓度 10mg/L 为界限,将地下水样品分为高硝态氮组(HN)和低硝态氮组(LN)两组.由表 1 可以得知,HN 组的 ORP 整体明显高于 LN 组,HN 组地下水温度、pH 值、DO 整体低于 LN 组.高硝酸盐污染往往在氧化环境中出现,常伴有较高的地下水氧化还原电位.此外,硝酸盐倾向于稳定存在于酸性环境中,因此高硝酸盐可能与低 pH 值同时出现.硝酸盐污染带来的丰富氮源,促进了地下水微生物的生命活动,从而导致了较低的溶解氧.在碱度上,两组之间没有显著差异.

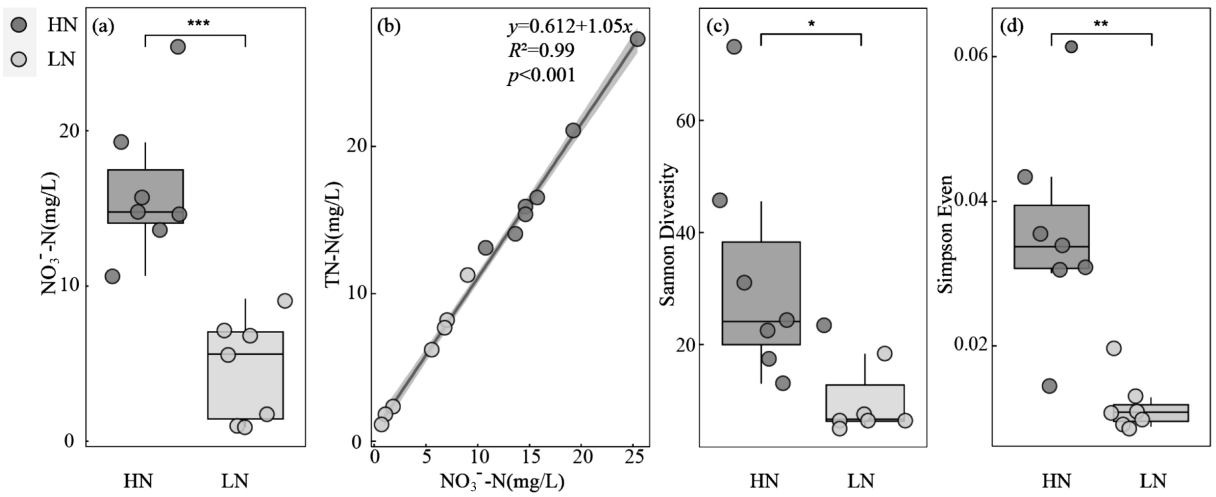

图 2　研究区地下水硝态氮浓度、硝态氮浓度与总氮浓度的关系及微生物群落 Alpha 多样性

Fig.2　Nitrate concentration and the relationship between nitrate concentration and total nitrogen concentration, as well as the alpha diversity of microbial communities in groundwater in the studied area

图 2(a)展示了研究区地下水硝态氮负荷在 HN、LN 两组内的分布.总体而言,地下水 NO_3^-N 的浓度范围是 0.92~25.42mg/L.对比而言,HN 组的 NO_3^-N 浓度显著高于 LN 组(p<0.001),浓度范围分别为 10.65~25.42mg/L 和 0.92~9.16mg/L,两组地下水的硝态氮浓度差异显著(p<0.001).图 2(b)展示了硝态氮浓度与总氮浓度的关系,可以得知太湖周边地区地下水中硝态氮浓度与总氮浓度之间呈现较好的线性关系(R^2=0.9969,p<0.001).意味着硝态氮浓度的变化能够很大程度上解释地下水中总体氮含量的变化.地下水中的溶解氮以各种形式存在,如硝态氮、亚硝态氮、氨氮等[12].HN 组和 LN 组的硝态氮浓度与总氮浓度比值的平均值分别为 92.2%和 80.4%,说明研究区地下水中硝态氮在总氮中的占比极高.此外,研究区地下水以微酸性氧化环境为主,为硝酸盐的稳定存在提供了有利条件[13-14].综上所述,研究区地下水中的氮主要以硝态氮的形式存在.我国渭河流域关中地段地下水中,地下水氮污染也同样主要以硝酸盐形式存在[15].

2.2 硝酸盐负荷对地下水微生物群落组成的影响

群落 Alpha 多样性直观体现了微生物群落的丰富度与均匀度,可通过香农多样性指数,辛普森均匀度指数进行衡量.图 2(c)、2(d)分别展示了研究区地下水微生物群落的香农多样性指数(Shannon Diversity Index)和辛普森均匀度指数(Simpson Even Index).HN 组的香农多样性指数、辛普森均匀度指数显著高于 LN 组(p<0.05),说明 HN 组的微生物群落 Alpha 多样性显著高于 LN 组,这可能是由 HN 组较高的硝酸盐负荷所导致.因为较高的硝酸盐负荷为微生物提供额外氮源,使群落内部竞争压力减小,并刺激某些嗜氮菌群的繁殖[16-17],从而导致微生物群落的丰富度和均匀度在一定程度上有所提高.此外,LN 组较低的群落 Alpha 多样性说明一种或几种微生物在群落中具有极大的优势.HN 组地下水微生物群落 Alpha 多样性显著高于 LN 组,表明太湖周边地区硝酸盐负荷较高的地下水环境中,微生物群落 Alpha 多样性更高.中国湖北省的一项研究表明,喀斯特洞穴内沉积物中细菌群落 Alpha 多样性的提升与地下水硝酸盐负荷的升高具有密切联系[18].在澳大利亚污染场地进行的一项研究表明,硝酸盐浓度在 0~150mg/L 范围内时,地下水微生物群落 Alpha 多样性随硝酸盐浓度的提高有所上升[19].然而,一项针对华北平原地下水的研究发现,硝酸盐负荷的差异与微生物群落 Alpha 多样性之间没有显著的相关关系[20].尽管两者都涉及到地下水中硝酸盐浓度微生物群落 Alpha 多样性的关系,但是却出现了不同的现象.两者的研究区域相差甚远,不同的地理位置、地质条件、营养物质类型等因素都可能导致硝酸盐浓度与 Alpha 多样性的不同.同时,不同的硝酸盐浓度范围,以及不同的时间跨度、样本数量,也会导致硝酸盐浓度与微生物群落 Alpha 多样性之间的关系得到不同程度的呈现.此外,不同地区的差异化微生物群落组成对硝酸盐的适应性和抵抗力存在不同,从而导致其对硝酸盐污染的敏感程度及响应程度各不相同.

图 3 展示了研究区地下水细菌群落 PCoA 主坐标分析结果,横纵两个坐标轴分别代表着地下水细菌群落的最大变异方向.PCo1 轴解释了群落结构变化的 31.22%,PCo2 轴解释了群落结构变化的 15.98%,两轴累积解释了群落结构变化的 47.2%.样本在 PCo1 与 PCo2 上的投影代表了他们在该方向的主要差异.因此,HN 组和 LN 组样点分别聚成了两个不同的集合,说明 HN 组与 LN 组在物种组成上存在显著差异.人为氮源输入能够显著改变微生物群落的 Beta 多样性[21],地下水理化性质的差异也能使得微生物群落组成发生巨大变化[22].HN 组、LN 组之间环境差异主要集中在硝酸盐浓度的高低,因此可以推测 PCo1 可能代表地下水中硝酸盐的浓度,PCo2 可能代表地下水理化性质的线性组合.HN 组内样点间距离更大,LN 组内间距离更小,说明 HN 组内各个样品间的群落结构差异更大,LN 组内各个样品间的群落结构更为相似.

图 4 展示了 HN 组和 LN 组样品门水平上的微生物群落组成及相对丰度.总体而言,两组内最具优势的门是变形菌门(Proteobacteria),拟杆菌门(Bacteroidota)次之.HN、LN 两组对比而言,变形菌门(Proteobacteria)在 HN 组内的优势显著低于 LN 组,两组内的平均相对丰度分别为 67.13%和 82.62%.拟杆菌门(Bacteroidota)在 HN 组内的优势大于 LN 组(p<0.05),两组内的平均相对丰度分别为 12.57%和 2.28%. 变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)是地下水体中十分常见的门,在我国

莱州湾南部、哈尔滨河岸、华北平原沿海地区地下水微生物群落中均有大量的分布[20].变形菌门(Proteobacteria)在地下水氮循环中起着重要作用,其门内的多种属参与并控制着氨氧化过程、硝化和反硝化过程.变形菌门(Proteobacteria)内含多种氨氧化细菌,参与并控制水体的氨氧化过程,能够将氨转化为亚硝酸盐和硝酸盐[23-24].在这一过程中,变形菌门(Proteobacteria)内的细菌往往对硝酸盐负荷的亲和力较低,因此在高硝酸盐负荷的环境中很难占据优势[25],而在硝酸盐负荷较低的环境中相对丰度较高,即其相对丰度在LN组显著更高.并没有研究明确指出拟杆菌门(Bacteroidota)是否具有氮循环功能,但一项在俄罗斯东乌拉尔地区进行的调查表明,其对硝酸盐污染具有较高的耐受能力,并能够在受硝酸盐污染的地下水中发挥其生物修复作用[26].这表明拟杆菌门(Bacteroidota)对硝酸盐负荷具有一定程度的耐受性,能够适应高硝酸盐负荷的地下水环境,因此在HN组内的更具优势.

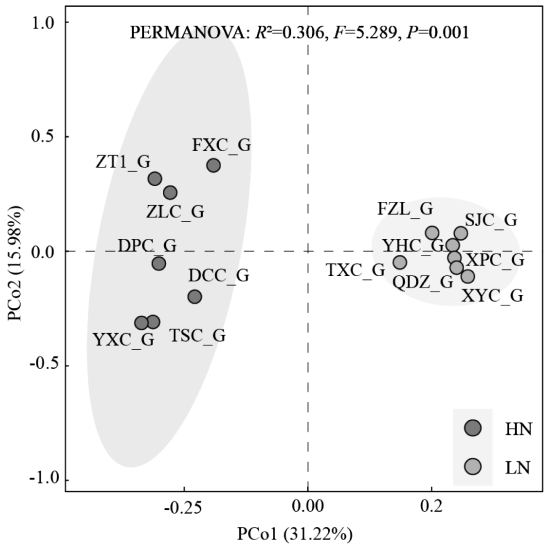

图 3　研究区地下水微生物群落主坐标分析结果

Fig.3　PCoA analysis results of groundwater microbial communities in the studied area

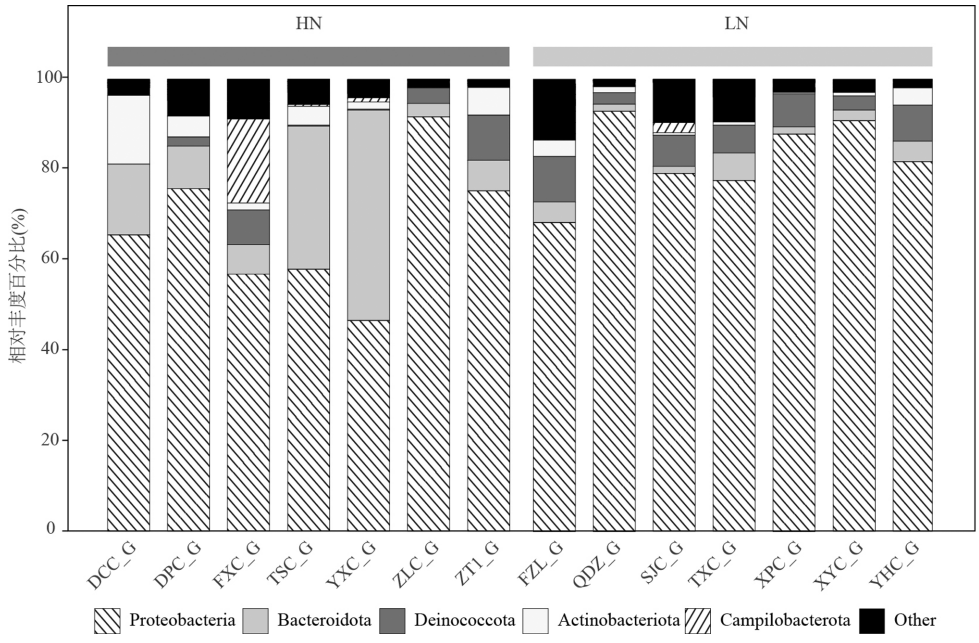

图 4　门水平上的研究区地下水微生物群落组成及相对丰度

Fig.4　Microbial community composition and relative abundance of groundwater in the studied area at the phylum level

图 5 展示了研究区地下水微生物群落在属水平上的 Wilcoxon 秩和检验结果,查明了 HN、LN 两组间属水平上的显著差异物种.不动杆菌属(*Acinetobacter*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)(P<0.001)以及弯曲杆菌属(*Curvibacter*)(P<0.05)在 HN、LN 两组间具有显著差异.前 2 者在 LN 组具有显著优势,后 3 者在 HN 组具有显著优势.不动杆菌属(*Acinetobacter*)在 LN 组具有极大优势,LN 组内平均相对丰度占比高达 54.2%,在两组间平均相对丰度差值高达近 50%,是 LN 组的标志性物种.变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)在两组间平均相

对丰度差值约为 5%,是 HN 组的标志性物种.变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)能够通过反硝化作用和氨化作用代谢环境中的硝酸盐负荷,并具有一定的生物环境修复功能[27].因此,HN 组更高的硝酸盐负荷可能为微生物提供了更为丰富的氮源,进而导致变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)在 HN 组地下水样品中的富集.不动杆菌属(*Acinetobacter*)内的多种菌株能够代谢水体中的硝酸盐负荷,进行异养硝化-好氧反硝化过程,即在有氧条件下同时进行硝化和反硝化作用[28-29].在这一过程过程中,硝酸盐作为中间产物,累积量很少[30],因此不动杆菌属(*Acinetobacter*)对硝酸盐的耐受性可能较差,从而更适宜在低硝酸盐环境中生存.此外,LN 组地下水中溶解氧整体高于 HN 组,能够为异养硝化-好氧反硝化过程提供适宜的条件,因此不动杆菌属(*Acinetobacter*)在 LN 组内的相对丰度显著更高.

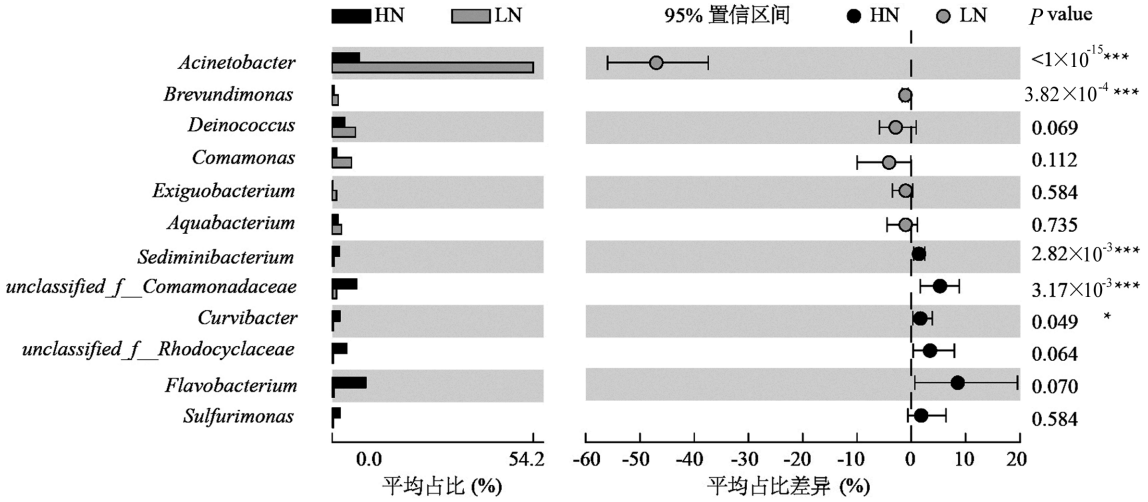

图 5 属水平上研究区地下水微生物群落的 Wilcoxon 秩和检验条形图

Fig.5 Wilcoxon rank-sum test bar chart of groundwater microbial communities in the studied area at the genus level

***为 $P<0.001$,*为 $P<0.05$

2.3 地下水反硝化功能菌群对硝酸盐负荷的响应

图 6(a)展示了研究区属水平上微生物共现网络分析结果,并揭示出地下水微生物群落中可能存在的功能菌群.图 6(a)中每一个节点代表一个属,涉及相对丰度前 15 的优势属.共生网络中 66.67%的节点属于变形菌门(Proteobacteria),20%的节点属于拟杆菌门(Bacteroidota),6.67%的节点属于弯曲杆菌门(Campilobacterota),6.67%的节点属于异常球菌门(Deinococcota).节点之间的连线代表相关关系,共有 11 个正相关关系和 8 个负相关关系.连线粗细表示相关关系的强弱.根据 15 个优势属之间的相互关系划分出 3 个模块,每个模块代表一个可能存在的地下水功能菌群.模块 1 内含 7 个属,模块 2 和模块 3 各含 4 个属.模块 1、模块 3 内部节点之间均呈正相关关系,且与模块 2 之间呈现负相关关系.

尽管模块 1 中的成员分别属于不同门,但它们均具有参与反硝化过程的潜力.变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)内有众多反硝化细菌成员,例如 Comamonas denitrificans sp.等[33-34].黄杆菌属(*Flavobacterium*)具有多种反硝化基因,包括硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、一氧化氮还原酶和一氧化二氮还原酶等,能够利用硝酸盐作为电子受体厌氧生长[33-34].未分类红环菌科(*unclassified_f__Rhodocyclaceae*)、硫单胞菌属(*sulfurimonas*)在各类污水处理厂水体中十分常见,他们的反硝化基因表达量较高,往往通过反硝化作用降解水体中的过量的硝酸盐[35-37].沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)能够间接参与反硝化过程,在反硝化生物过滤器中起到重要作用[38-39].水杆菌属(*Aquabacterium*)、弯曲杆菌属(*Curvibacter*)虽也不能直接参与反硝化过程,但它们参与的铁氧化过程能够间接地降解硝酸盐,减少水体硝酸盐负荷[28,40-41].综上所述,模块 1 中的所有属都能够直接或间接地参与反硝化过程,并降低水体中的硝酸盐负荷.因此,

模块 1 可能代表着研究区地下水微生物群落的反硝化功能菌群.

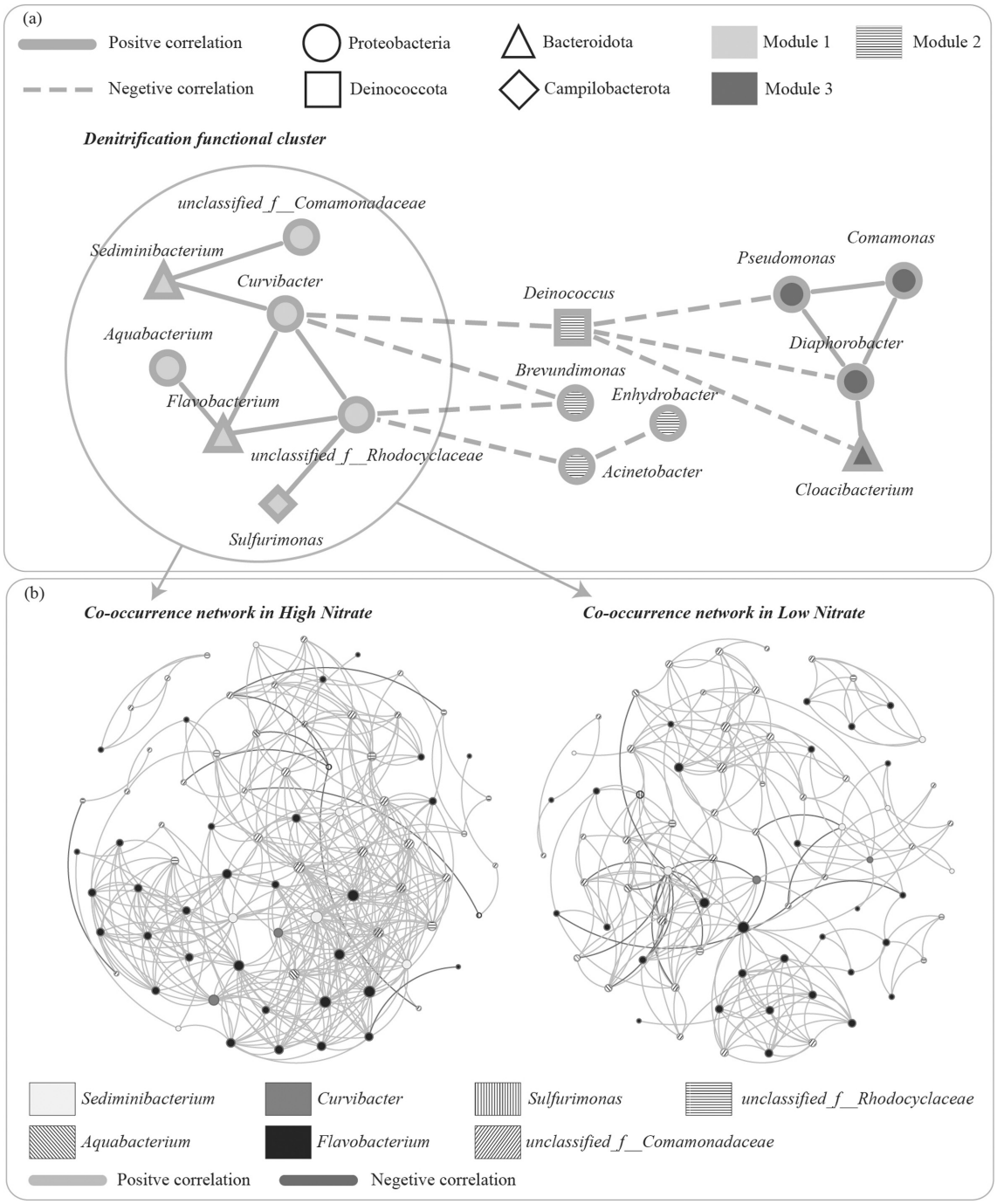

图 6　属水平上的地下水微生物群落共现网络(a)和 OTU 水平上的反硝化功能菌群共现网络(b)

Fig.6　The co-occurrence network of groundwater microbial communities at the genus level (a) and the co-occurrence network of denitrifying functional microbial communities at the OTU level (b)

此外,结合图 5 的 Wilconxon 秩和检验结果可知,模块 1 中除水杆菌属(*Aquabacterium*)外,沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、弯曲杆菌属(*Curvibacter*)、变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)均是 HN 组的优势属,在 HN 组的相对丰度高于 LN 组.因此,模块 1 在一定程度上能够反映 HN 组优势微生物的属性.该现象在一定程度上说明,高硝态氮负荷可能会导致地下水反硝化功能菌群的富集.LN 组的优势微生物不动杆菌属(*Acinetobacter*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)均位

于模块 2 中,且与模块 1 之间存在负相关关系.

为进一步探究高硝态氮负荷导致反硝化功能菌群富集的机制,在 OTU 水平上进行细菌群落共现网络分析,并计算了网络拓扑特征.图 6(b)展示了图 6(a)中模块 1,即地下水反硝化功能菌群,在 HN 组和 LN 组的共现网络差异,每个节点代表一个 OTU,节点间的连线(边)代表 OTU 之间的相关关系.在 HN、LN 两组的反硝化功能菌群共现网络中,网络节点数均为 78 个,HN 组内节点间的边数明显高于 LN 组,分别为 400 和 240.HN 组内的节点加权平均度显著高于 LN 组,分别为 8.68 和 5.33.HN 组和 LN 组相同数目的节点数说明硝酸盐负荷的提升并没有筛选掉反硝化功能菌群内的物种.与 LN 组相比,HN 组内更多的边数、更高的加权平均度说明,较高的硝酸盐负荷会促进反硝化功能菌群内各物种间的联系.此外,网络分析中,正相关的连接往往反映物种之间的合作关系,负相关关系反映物种间的竞争关系.对比两组可以得知,HN 组正相关边的比例略高于 LN 组,分别为 98.0%和 93.3%,说明硝酸盐负荷的提高一定程度上提升了反硝化功能菌群物种间的协作关系.

3 结论与展望

3.1 结论

3.1.1 太湖周边地区部分地下水硝酸盐污染达到了我国《地下水质量标准》GB/T 14848 -2017 中的Ⅲ类水标准,极少部分达到了Ⅳ类水标准.研究区地下水中的氮主要以硝酸盐形式存在.此外,高硝酸浓度地下水具有氧化还原电位较高,地下水温度、pH 值及溶解氧较低的特点.

3.1.2 高浓度硝酸盐地下水中的群落 Alpha 多样性显著高于低浓度硝酸盐地下水,且两者在群落组成上具有显著差异.变形菌门下未分类的丛毛单胞菌科(*unclassified_f__Comamonadaceae*)、沉积物杆状菌属(*Sediminibacterium*)、弯曲杆菌属(*Curvibacter*)在高硝酸盐浓度地下水中占有优势,而不动杆菌属(*Acinetobacter*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)在低硝酸盐浓度地下水中具有优势.

3.1.3 地下水反硝化功能菌群倾向于在高硝态氮负荷的水体环境中富集.较高的硝酸盐负荷没有筛选掉反硝化功能菌群内的物种,而是使得反硝化功能菌群内各物种间的联系更为紧密,一定程度上提升了反硝化功能菌群物种间的协作关系.硝酸盐负荷是塑造地下水反硝化功能菌群的主要因素.

3.2 展望

高硝酸盐浓度与其他水质、微生物指标之间的伴生关系,能够在地下水管理中起到指导作用.一方面,将理化指标与微生物群落多样性指标相结合,建立联合水质指标,可以评估地下水的污染程度以及潜在的健康风险,进一步为饮用水源地保护和优化管理提供依据.同时,这一指标也可以为地下水的长期监测和管理提供依据,从而确保地下水资源的水质稳定性.另一方面,将水质数据与微生物数据共同结合以深度学习方法,有望在污染源识别、预测领域提供新的见解.此外,反硝化功能菌群在地下水硝态氮降解上起着至关重要的作用,在地下水硝酸盐污染治理方面具有广泛的应用前景.探明野外环境中地下水反硝化功能菌群对硝酸盐负荷的响应,能够指导人们利用生物修复技术以解决自然环境中各类氮污染问题.

参考文献:

[1] Li Z, Yang Q, Xie C, et al. Source identification and health risks of nitrate contamination in shallow groundwater: A case study in Subei Lake basin [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023,30(5):13660-13670.

[2] 陈国元.NH_3-N 浓度对太湖竺山湾水体及沉积物中硝化作用的影响 [J]. 水生态学杂志, 2012,33(2):55-60.
Chen G. Effects of Different NH_3-N concentrations on the nitrification process in waters and sediment from Zhushan Bay, Taihu Lake [J]. Journal of Hydroecology, 2012,33(2):55-60.

[3] 邓家逸,余 东,吴 昊,等.广西某铜冶炼场地土壤污染特征及源解析 [J]. 环境科学学报, 2023,43(11):290-299.
Deng J Y, Yu D, Wu H, et al. Soil contamination characteristics and source analysis of a copper smelting site in Guangxi [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2023,43(11):290-299.

[4] 黄剑锋,张依章,张 远,等.太湖西苕溪流域地表水、地下水硝酸盐污染特征及来源 [J]. 环境科学研究, 2012,25(11):1229-1235.
Huang J F, Zhang Y Z, Zhang Y, et al. Characteristics and potential sources of nitrate pollution in surface and ground water in Xitiaoxi River, Taihu Lake Basin [J]. Research of Environmental Sciences, 2012,25(11):1229-1235.

[5] 潘 田,张幼宽.太湖流域长兴县浅层地下水氮污染特征及影响因素研究 [J]. 水文地质工程地质, 2013,40(4):7-12.
Pan T, Zhang Y K. A study of nitrogen pollution in shallow groundwater and its affecting factors in Changxing county in the Taihu Basin [J]. Hydrogeology & Engineering Geology, 2013,40(4):7-12.

[6] Shang X, Huang H, Mei K, et al. Riverine nitrate source apportionment using dual stable isotopes in a drinking water source

watershed of southeast China [J]. Science of the Total Environment, 2020,724:137975.

[7] Henderson S L, Dandie C E, Patten C L, et al. Changes in denitrifier abundance, denitrification gene mRNA levels, nitrous oxide emissions, and denitrification in anoxic soil microcosms amended with glucose and plant residues [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010,76(7):2155−2164.

[8] 徐如超,向　龙,崔广柏,等.太湖地区典型小流域地下水储量动态模拟与分析 [J]. 水资源保护, 2016,32(2):51−56.
Xu R C, Xiang L, Cui G B, et al. Dynamic simulation and analysis of groundwater storage in typical watershed of Taihu Basin [J]. Water Resources Protection, 2016,32(2):51−56.

[9] 余　静,周　艳,颜　椿,等.一株氢自养反硝化菌去除地下水硝酸盐的实验研究 [J]. 工业水处理, 2018,38(10):29−33.
Yu J, Zhou Y, Yan C, et al. Experimental research on the removal of nitrate from groundwater by a strain of hydrogen autotrophic denitrification bacterium [J]. Industrial Water Treatment, 2018,38(10): 29−33.

[10] 王　慎,张思思,许　尤,等.水库沉积物贫营养型好氧反硝化菌(Pseudomonas sp.)分离及其对微污染水体脱氮效率分析 [J]. 环境科学学报, 2020,40(3):915−921.
Wang S, Zhang S S, Xu Y, et al. Isolation of aerobic denitrifying bacteria (*Pseudomonas* sp.) from reservoir sediments and analysis of its denitrification efficiency in micro−polluted water [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020,40(3):915−921.

[11] 牛建敏,李睿华.理化因素对脱氮硫杆菌自养反硝化的影响 [J]. 中国环境科学, 2010,30(1):76−81.
Niu J M, Li R H. Effects of the physicochemical factors on autotrophic denitrification by Thiobacillus denitrificans [J]. China Environmental Science, 2010,30(1):76−81.

[12] 吴海燕,傅世锋,蔡晓琼,等.东山岛地下水“三氮”空间分布特征 [J]. 环境科学, 2015,36(9):3203−3211.
Wu H Y, Fu S F, Cai X Q, et al. Spatial variation of Ammonia−N, Nitrate−N and Nitrite−N in groundwater of Dongshan Island [J]. Environmental Science, 2015,36(9):3203−3211.

[13] 王　刚,高宏斌.硝酸盐同位素耦合多示踪剂溯源地下水硝酸盐污染研究进展 [J]. 应用生态学报, 2024,35(4):970.
Wang G, Gao H B. Research progress on nitrate isotope coupled multi−tracer tracing groundwater nitrate pollution [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2024,35(4):970.

[14] 李政红,李亚松,郝奇琛,等.福建厦门市硝酸型地下水特征、成因及其治理措施建议 [J]. 中国地质, 2021,48(5):1441−1452.
Li Z H, Li Y S, Hao Q C, et al. Characteristics, genesis and treatment measures of NO_3 type groundwater in Xiamen, Fujian Province [J]. Geology in China, 2021,48(5):1441−1452.

[15] 张文芮,张　妍,石雯敏,等.渭河流域关中段地下水硝态氮来源解析 [J]. 中国环境科学, 2022,42(10):4758−4767.
Zhang W R, Zhang Y, Shi W M, et al. The source identification of nitrate in groundwater in Guanzhong section of Weihe river basin [J]. China Environmental Science, 2022,42(10):4758−4767.

[16] 崔荣阳,雷宝坤,张　丹,等.浅层地下水升降对菜地土壤剖面硝化/反硝化微生物丰度的影响 [J]. 环境科学学报, 2019,39(9):3099−3106.
Cui R Y, Lei B K, Zhang D, et al. Effects of shallow groundwater fluctuations on the abundances of nitrification and denitrification microbes in the soil profile of vegetable field [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2019,39(9):3099−3106.

[17] 刘　帆,张晓辉,唐　宋,等.酸性矿山废水对沉积物真核微生物群落的影响 [J]. 中国环境科学, 2019,39(12):5285−5292.
Liu F, Zhang X H, Tang S, et al. Effects of acid mine drainage on eukaryotic community in river sediments [J]. China Environmental Science, 2019,39(12):5285−5292.

[18] Liu X, Wang H, Wang W, et al. Nitrate determines the bacterial habitat specialization and impacts microbial functions in a subsurface karst cave [J]. Frontiers in Microbiology, 2023,14:1115449.

[19] Morrissy J G, Currell M J, Reichman S M, et al. The variation in groundwater microbial communities in an unconfined aquifer contaminated by multiple nitrogen contamination sources [J]. Water, 2022,14(4):613.

[20] Zhang B, Li Z L, Bai C H, et al. Characteristics of groundwater microbial communities' structure under the impact of elevated nitrate concentrations in north China plain [J]. Environmental Research, 2023,218:115003.

[21] Liu W, Liu L, Yang X, et al. Long−term nitrogen input alters plant and soil bacterial, but not fungal beta diversity in a semiarid grassland [J]. Global Change Biology, 2021,27(16):3939–3950.

[22] 王庆兵,陈　麟,支传顺,等.不同海岸带地下水微生物群落结构与多样性差异研究 [J]. 中国地质, 2024,51(3):1008−1019.
Wang Q B, Chen L, Zhi C S, et al. Difference study on microbial community structure and diversity of groundwater in different coastal zones [J]. Geology in China, 2024,51(3):1008−1019.

[23] Zorz J K, Kozlowski J A, Stein L Y, et al. Comparative proteomics of three species of ammonia−oxidizing bacteria [J]. Frontiers in Microbiology, 2018,9:938.

[24] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen−cycling network [J]. Nature Reviews Microbiology, 2018,16(5):263−276.

[25] 徐建宇,毛艳萍.从典型硝化细菌到全程氨氧化微生物:发现及研究进展 [J]. 微生物学通报, 2019,46(4):879−890.
Xu J Y, Mao Y P. From canonical nitrite oxidizing bacteria to complete ammonia oxidizer: discovery and advances [J]. Microbiology China, 2019,46(4):879−890.

[26] Nazina T N, Babich T L, Kostryukova N K, et al. Behavior of radionuclides in the environment I: Function of particles in aquatic system [M]. Singapore: Springer Singapore, 2020:35−66

[27] Biessy A, Ciotola M, Cadieux M, et al. Genome sequences of two soil−dwelling bacteria belonging to the family Comamonadaceae [J]. Microbiology Resource Announcements, 2022,11(9):e00230−22.

[28] Liang Y, Pan Z, Feng H, et al. Biofilm coupled micro−electrolysis of waste iron shavings enhanced iron and hydrogen autotrophic denitrification and phosphate accumulation for wastewater treatment [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2022,10(6): 108959.

[29] Duc H D. Biodegradation of 3−chloroaniline by suspended cells and biofilm of Acinetobacter baumannii GFJ1 [J]. Applied Biological Chemistry, 2016,59(5):703−709.

[30] 刘方剑,杨海龙,周化斌.异养硝化细菌 Acinetobacter junii WZ17 的

脱氮特性及动力学研究 [J]. 环境科学学报, 2020,41(3):951−959.
Liu F J, Yang H L, Zhou H B, et al. Nitrogen removal and kinetics research by heterotrophic nitrification bacterium *Acinetobacter junii* WZ17 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020,41(3):951−959.

[31] Gumaelius L, Magnusson G, Pettersson B, et al. *Comamonas denitrificans* sp. nov., an efficient denitrifying bacterium isolated from activated sludge [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001,51(3):999−1006.

[32] Wen A, Fegan M, Hayward C, et al. Phylogenetic relationships among members of the Comamonadaceae, and description of *Delftia acidovorans* (den Dooren de Jong 1926 and Tamaoka et al. 1987) gen. nov., comb. nov. [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1999,49(2):567−576.

[33] Abdelhamed H, Nho S W, Karsi A, et al. The role of denitrification genes in anaerobic growth and virulence of Flavobacterium columnare [J]. Journal of Applied Microbiology, 2021,130(4):1062−1074.

[34] Choi A, Cha I T, Lee K E, et al. The role of flavobacterium enshiense r6s−5−6in the wetland ecosystem revealed by whole−genome analysis [J]. Current Microbiology, 2023,80(2):83.

[35] Morrissy J G, Reichman S M, Currell M J, et al. Differentiation between impacted and unimpacted microbial communities of a nitrogen contaminated aquifer [J]. Environments, 2022,9(10):128.

[36] Gürtler V, Mayall B C, Seviour R. Can whole genome analysis refine the taxonomy of the genus Rhodococcus [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2004,28(3):377−403.

[37] Sun Q, Xu K, Cao L, et al. Nitrogen and sulfur cycling driven by Campylobacterota in the sediment–water interface of deep−sea cold seep: A case in the South China Sea [J]. mBio, 2023,14(4):e00117−23.

[38] Yang X L, Zang L, Chen J J, et al. Nitrogen removal enhanced by its migration and transformation in a three−chamber microbial electrolysis cell [J]. Journal of Water Process Engineering, 2023,53: 103683.

[39] Zhao X, Xie E. Reclaimed water influences bacterioplankton and bacteriobenthos communities differently in river networks [J]. Water Research, 2023,243:120389.

[40] Gong W, Gao S, Zhu Y, et al. Effect of the aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas furukawaii* ZS1 on microbiota compositions in grass carp culture water [J]. Water, 2021,13(10):1329.

[41] Deng H, Li Q, Li M, et al. Epiphytic microorganisms of submerged macrophytes effectively contribute to nitrogen removal [J]. Environmental Research, 2024,242:117754.

作者简介：王卓群(1999−),女,山东淄博人,硕士研究生,主要从事地下水污染研究.Wangzq_99@163.com.