

刘丹, 陈学群, 田婵娟, 等. 岩溶地下水环境微生物信息技术应用研究进展[J]. 中国岩溶, 2023, 42(2): 185-192.  
DOI: 10.11932/karst20230201

## 岩溶地下水环境微生物信息技术应用研究进展

刘丹<sup>1,2</sup>, 陈学群<sup>1,2</sup>, 田婵娟<sup>1,2</sup>, 张文静<sup>3</sup>, 管清花<sup>1,2</sup>

(1. 山东省水利科学研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东省水资源与水环境重点实验室, 山东 济南 250014; 3. 吉林大学, 吉林 长春 130000)

**摘 要:** 岩溶含水层特有的非均质性使其微生物群落具有多样性, 微生物信息技术研究对岩溶地下水资源开发利用和保护具有重要意义。在总结国内外微生物信息技术应用研究现状基础上, 分析岩溶地下水环境中微生物来源, 重点讨论微生物示踪技术、微生物监测技术在岩溶地下水环境中的应用。认为, 由于岩溶含水层的复杂性和微生物的易变性, 微生物信息技术应用过程中对岩溶地下水环境造成的污染风险还需进一步探讨, 提出推进微生物信息技术在岩溶地下水资源合理开发利用中的研究展望。

**关键词:** 岩溶地下水; 微生物示踪技术; 微生物监测技术; 微生物信息技术; 指示作用

**中图分类号:** X172; P642.25 **文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-4810(2023)02-0185-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



### 0 引 言

全球范围内, 岩溶区覆盖了近 25% 的陆地面积<sup>[1-2]</sup>。在岩溶发育地区, 人类对岩溶水依赖程度较高<sup>[3]</sup>。我国岩溶地下水资源丰富, 开发利用潜力较大<sup>[4-5]</sup>。岩溶含水层的非均质各向异性使其具有高渗透性<sup>[6]</sup>, 因此岩溶地下水环境极易受到降雨或人为活动的影响, 同时岩溶含水介质表面附着大量的菌落或生物膜, 易发生化学污染及微生物污染, 该问题已引起众多学者的关注<sup>[7-10]</sup>。

随着经济社会的发展, 人类活动的影响使岩溶地下水环境问题日益突出。微生物来源是影响地下水环境的重要因素<sup>[11-13]</sup>, 不同岩溶含水层中微生物多样性存在差异<sup>[14]</sup>, 其中玄武岩含水层中以拟杆菌、厚壁菌、放线菌和多种变形菌为主<sup>[15]</sup>, 白云岩和石灰岩

含水层中以硝化螺菌和拟杆菌为主<sup>[16]</sup>。在岩溶含水层中, 微生物信息技术的应用主要是指通过微生物群落特征、变化规律、宏基因组分析等揭示岩溶地下水环境的微生态演化特征<sup>[17]</sup>。已有研究表明微生物可作为示踪剂, 与水化学示踪相结合, 获取岩溶地下水的相关水文、水环境信息<sup>[18]</sup>。类似研究还表明, 岩溶地下水中微生物群落的高变性反映了水环境的高波动性, 微生物群落变化表明人类活动造成的污染或其他干扰, 即利用微生物群落特征可综合反应岩溶地下水环境变化特征<sup>[19]</sup>。同时, 采用微生物学方法, 结合水文和物理化学参数在岩溶地下水环境的应用研究成为当下研究热点, 为岩溶地下水微生态环境问题研究及微生物信息技术的应用提供科学依据。

随着研究的不断深入, 国内外学者在实验设计、

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2021QD031); 山东省水利科学研究院自选课题资助项目(SDSKYZX202121-1); 水生态文明建设关键技术研究与示范(201401003); 国家自然科学基金资助项目(41572242)

第一作者简介: 刘丹(1991—), 女, 工程师, 博士, 主要从事岩溶地下水与泉水保护、海水入侵等方面的研究工作。E-mail: liudan9192@126.com。

通信作者: 陈学群(1979—), 男, 高级工程师, 地下水资源研究与保护。E-mail: cxq1115@126.com。

收稿日期: 2022-11-03

研究内容、技术方法等方面都有较新进展。然而,针对微生物信息技术应用现状的系统性总结和潜力分析仍然缺乏。基于此,本文综述了岩溶地下水中的微生物来源,同时对微生物示踪技术和监测技术的应用研究进展进行了总结和讨论。此外,本文对微生物信息技术亟待开展的研究方向进行了探讨,并对其与新技术的结合做出展望,旨在为微生物信息技术的发展及岩溶地下水资源开发利用和保护提供参考。

## 1 岩溶地下水微生物来源

岩溶地下水环境污染问题日趋严重,因此对地下水微生物来源的研究具有重要意义<sup>[5, 19-22]</sup>。岩溶地下水中微生物来源多样,主要包括原生微生物和外来微生物<sup>[21, 23]</sup>。原生微生物是指在含水层中永久繁衍的,外来微生物起源于其他环境(土壤和地表水等),通过降雨、人工回补和人类活动等过程进入到含水层<sup>[24]</sup>。外来微生物适应含水层环境后,成为原生生物群落的一部分<sup>[7, 25]</sup>。

岩溶含水层结构的不均一性和微生物补给的二元特征(内源水和外源水),导致岩溶地下水环境具有敏感性和复杂性<sup>[22, 26-27]</sup>。地表水和土壤环境中的微生物群落是岩溶地下水中微生物的主要来源<sup>[22, 28]</sup>,并且地下水人工回补过程进一步促进了含水层微生物和外来微生物进入到岩溶地下水<sup>[13, 29-30]</sup>。在地下水回补过程中,流速的高变异性引起水流剪切应力的显著变化,进而使沉积物中相关微生物的再悬浮,从而对区域微生物群落特征产生更为复杂的影响<sup>[13, 31]</sup>。此外,人类活动对地下水中微生物特征也会产生显著影响,地下水自然温度状态下难以繁殖的粪大肠菌和粪链球菌在人类活动的岩溶区地下水中被检测出来<sup>[32]</sup>,表明地下水中微生物的来源主要是外界的输入<sup>[20]</sup>。

## 2 微生物示踪技术在岩溶地下水环境中的应用

微生物示踪技术是一种利用微生物作为示踪指示物,识别岩溶含水层中地下水流动路径及水环境中污染物来源的生物技术<sup>[33-34]</sup>。该技术在研究岩溶地下水污染及污染物环境行为特征等方面较传统指示剂更具有优势,成为岩溶地下水资源管理的重要

方法<sup>[35]</sup>。迄今为止,大肠杆菌、噬菌体等多种微生物已作为示踪剂用于示踪试验(表1)。尽管如此,岩溶地下水微生物示踪技术尚不成熟,需要筛选出更多适用的微生物指标。

### 2.1 细菌示踪技术

早期,微生物示踪技术主要采用细菌作为示踪剂<sup>[18]</sup>。20世纪30年代,肠道细菌用于指示粪源污染物的存在,大肠杆菌及其噬菌体被作为示踪剂来确定地下水中病原体的迁移特征<sup>[36]</sup>。Goldsheider等以嗜热大肠杆菌作为示踪剂在Tam Duong岩溶地区开展示踪试验,但大肠杆菌为自然界广泛存在的菌群,没有宿主特异性,因此该方法仅能反映水体的污染程度,不能示踪具体的污染来源<sup>[13, 21, 37]</sup>。与之相比,拟杆菌具有良好的宿主特异性,在人畜肠道中具有较大差异,通过相似性加权等方法分析不同样品中拟杆菌群落间的相似性,确定污染物来源及其贡献率<sup>[20]</sup>,在面源污染水域中得到广泛应用<sup>[38-39]</sup>。尽管大肠杆菌等致病性肠道细菌可与原生细菌分开,但对地下水环境会造成一定影响,其作为地下水示踪剂具有一定局限性<sup>[40]</sup>。

贺秋芳等<sup>[41-43]</sup>在青木关地下河岩溶系统以硝化细菌、反硝化细菌作为指示因子,研究发现平水期地下河受上游来水影响时间约70h,远小于其繁殖时间10天,且硝化细菌适宜生长温度在25~30℃。硝化细菌、反硝化细菌具有繁殖周期长、适宜生长温度高于地下水温度等特点,可作为微生物示踪剂确定地下水的运移路径,在氨氮治理方面得到应用。但氨化细菌对水环境变化适应能力较强,在含水层中繁殖较快,不宜作为示踪剂。此外,选择标记原生细菌作为示踪剂进行示踪试验不会对水环境构成威胁,但不损害微生物在含水层中生存能力的微生物标记方法有待进一步开发。

### 2.2 噬菌体示踪技术

噬菌体具有对其他生物体无毒且不致病,具有迁移能力较强、对水力条件变化敏感等特点,在岩溶、裂隙含水层中作为示踪剂用于地下水的定量运移分析、水流路径划定等<sup>[18, 44]</sup>。噬菌体在地下水中仅穿透一个特定的细菌宿主,特定的噬菌体对其细菌宿主具有特定的亲和力,因此可选择多种噬菌体作为示踪剂注入到目标含水层中,无干扰条件下对不同噬菌体进行定量分析<sup>[45]</sup>。Auckenthaler等<sup>[7]</sup>以噬菌体

表 1 岩溶地下水中使用微生物示踪研究汇总表

Table 1 Summary of studies on the application of microbial tracers to karst groundwater

类别	示踪剂名称	地点	示踪剂来源	参考文献
细菌	细菌总数	汝拉山脉、阿尔卑斯山脉(瑞士)	原生细菌	[28]
	E. coli	老龙洞地下水流域	污染物渗滤	[13]
		佛罗里达州(美国)	污染物渗滤	[45]
	Enterococci	桂林罗锦响水岩溶区	农家肥储存点污水溢流	[46]
	Fecal coliform			
	Enterococci	汝拉山脉、阿尔卑斯山脉(瑞士)	原生细菌	[28]
	Bacteroides	重庆南山老龙洞地下河	污染物渗滤	[20]
	Pseudomonas syringae	田纳西州东部(美国)	人工投放	[47]
	Nitrobacteria	青木关岩溶槽谷区	土壤渗透水	[34]
	Denitrobacteria			
Bacteriophages T4	密苏里州南部(美国)	人工投放	[18]	
Bacteriophages H40	瑞士	人工投放		
病毒	Bacteriophages H4	瑞士	人工投放	[7]
	Bacteriophages H40		人工投放	
	Bacteriophages H6	阿勒斯峡泉(瑞士)	人工投放	
	Bacteriophages H40		人工投放	[44]
真菌	Saccharomyces	阿勒斯峡泉(瑞士)	人工投放	

(H4、H40)作为示踪剂,降雨过程中噬菌体与原生细菌(大肠杆菌和肠球菌)的穿透曲线相似,其浓度、峰值时间和到达泉水的时间延迟一致,可用于确定微生物污染来源。此外,噬菌体易于吸附在悬浮液中的细颗粒表面,与荧光示踪剂相比受浊度影响较小,可应用于有大量悬浮物的地下水中。

### 2.3 多元示踪技术

多元示踪技术是指同时应用多种示踪剂的示踪技术。目前,微生物示踪剂常与传统示踪剂结合注入含水层中开展多元示踪试验,具有精准、可操作性强等优点。噬菌体与荧光示踪剂结合开展多元示踪试验,比较噬菌体与传统示踪剂的迁移行为。Rossi等<sup>[44]</sup>多次在阿勒斯峡泉域岩溶区以噬菌体(H6、H40)和荧光示踪剂开展多元示踪试验,结果显示:与荧光示踪剂相比,噬菌体首次检出时间受检测仪器灵敏度差异和检出限的影响早于荧光示踪剂;噬菌体H6的回收率明显低于H40,一方面是由于物理条件的变化,导致病毒粒子失活,另一方面是受含水层介质吸附作用影响。低流速条件下,噬菌体与矿物颗粒的相互作用使噬菌体峰值浓度低于传统示踪剂峰值浓度<sup>[43]</sup>。Goldsheider等<sup>[21]</sup>将嗜热大肠杆菌引入多元地下水示踪试验。为了确定微生物污染的来源和风险,多元示踪技术的应用应结合试验所在区域的水文地质条件,在岩溶水文

领域的各方面进行研究<sup>[42]</sup>。

## 3 微生物监测技术在岩溶地下水环境中的应用

地下水系统为微生物群落的演替过程提供必要场所,微生物对岩溶环境变化敏感,与地下水中污染物的形成、转化、降解等过程密切相关,导致其群落结构及多样性特征存在差异,可有效指示岩溶地下水环境变化<sup>[48-49]</sup>。微生物监测技术是利用某种微生物、大型生物或整个生物群落的指示作用对岩溶地下水环境进行监测。

### 3.1 微生物指示作用

大肠杆菌、粪大肠菌和粪链球菌作为粪便污染指示菌可反映地下水污染程度,在岩溶地下水环境中应用较为广泛<sup>[37, 50-52]</sup>。最常用的粪大肠杆菌多存在于人类体内,岩溶地下水含量越高受人类活动影响程度越大<sup>[53]</sup>。粪链球菌多存在于温血动物体内,因此粪大肠杆菌与粪链球菌比值法可以用来判断微生物污染的生物来源,粪大肠杆菌/粪链球菌 $<0.7$ 表明主要发生动物粪便污染,粪大肠杆菌/粪链球菌 $>4.1$ 表明来自人类粪便污染<sup>[31]</sup>。除粪便污染指示菌外,脱硫芽胞弯曲菌属中的厌氧细菌利用硫酸盐作为电子受体降解芳香族化合物,因此可作为砷—石油烃复合污染环境中的指示菌属<sup>[54]</sup>。通过细菌数与硝态



氮含量的相关性判断岩溶地下水动态特征,旱季时微生物与硝态氮相关性较高,表现出土壤性质,因此该方法更适用于旱季<sup>[42]</sup>。金属氧化物对微生物具有一定的吸附能力,贾亚男研究表明细菌易于吸附在铁氧化物表面,因此微生物数量可指示岩溶地下水中的矿物含量<sup>[9]</sup>。此外,细菌的新陈代谢高度灵活,可以迅速适应变化的环境条件,因此可利用微生物群落整体作为评价地下水质量的指标<sup>[21]</sup>。

与传统指示因子相比,微生物指示因子对地下水污染更敏感,特定的地下水细菌可反映地下水的水质指标<sup>[55]</sup>。Pronk等<sup>[22]</sup>、贺秋芳等<sup>[56]</sup>对降雨过程中的多种微生物指标进行监测,结果表明微生物指标对降雨过程的响应早于TOC等水化学指标。在宏观生态学中,高生物多样性被认为是环境质量良好的标志,而地下水环境污染可能会降低物种丰富度,地下水污染还会减少无脊椎动物的生物多样性<sup>[57]</sup>。但由于岩溶含水层中缺乏有机碳,有机污染物作为生物降解作用的碳源,有时会表现出相反的特点,因此表观微生物多样性可能会增加<sup>[58]</sup>。

### 3.2 微生物监测技术

微生物监测技术是利用微生物群落具有数量丰度、易在受污染或缺氧含水层等栖息地富集的特点,通过长期监测岩溶地下水微生物群落特征评估总体水质和长期低污染或气候因素导致水生态系统功能潜在变化的重要方法<sup>[19,21]</sup>。与水化学指标监测不同,微生物监测技术可以指示未知组分,提供更多的地下水环境综合信息,在岩溶地下水监测中的潜在应用已被广泛认可<sup>[58]</sup>。

目前,微生物监测技术可利用微生物在生物力或电荷作用下可吸附污染物的特点,通过监测微生物在地下水中的运移过程分析被吸附污染物的运移响应情况。此外,有机污染物作为外源养分影响微生物群落结构,可有效反映地下水有机污染特征。Feris等<sup>[59]</sup>研究发现,一般条件下,仅有1%的微生物可以降解石油烃,在石油污染地区有利于降解有机污染物的微生物群落富集超过10%。通过监测地下水、含水介质中降解石油烃的细菌占总降解菌的比例,以1%为界限判断是否发生石油类污染<sup>[14]</sup>。尽管应用分子学方法的生物监测技术尚未达到监测目的所需的分辨率和通量,不同环境参数与微生物群落变化特征的相关性有待进一步查明,但该项技术正在不断发展。

## 4 结论与展望

随着微生物信息技术的不断发展,其在岩溶地下水环境中的应用前景更为广阔。纵观国内外微生物信息技术在岩溶地下水环境中的应用研究现状,微生物在岩溶地下水环境中的作用不容忽视。

(1)微生物来源多样性及参与地下水循环过程是影响岩溶地下水环境的重要因素。因此,查明岩溶地下水中微生物来源及其分布特征是微生物信息技术应用的前提。

(2)微生物示踪技术的应用取决于含水层的水文地质条件,尤其在研究岩溶含水层流动通道方面具有优势。但不同岩溶水环境参数与微生物群落组成、多样性和活性的相关性有待进一步研究,不损害微生物在含水层中生存能力的微生物标记方式有待被开发。

(3)微生物群落及其活动的监测将成为地下水环境监测的重要组成部分。未来在岩溶水文地质方面,建立以微生物为指标的岩溶地下水生态评价体系的监测技术有待进一步被开发。

(4)今后的研究应多关注微生物的趋化特性,设计主动寻找污染物的智慧微生物,开发智慧环境微生物技术。同时,建立我国岩溶地下水微生物特征数据库,以促进岩溶地下水勘查、监测以及污染防治新技术、新方法的发展。

### 参考文献

- [1] 袁道先. 论岩溶环境系统[J]. 中国岩溶, 1988, 7(3): 9-16.  
YUAN Diaoxian. On the karst environment system[J]. *Carso-logica Sinica*, 1988, 7(3): 9-16.
- [2] Ford Derek, Williams Paul. *Karst Hydrogeology and Geomorphology*[M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 2007.
- [3] C Butscher, A Auckenthaler, S Scheidler, P Huggenberger. Validation of a numerical indicator of microbial contamination for karst springs[J]. *Groundwater*, 2011, 49(1): 66-76.
- [4] 王帅伟. 石漠化区耕作污染的地下水微生物-毒理联合响应机制及模拟[D]. 北京: 中国地质科学院, 2019.  
WANG Shuaiwei. Microbial-toxicological combined response mechanism and simulation of groundwater polluted by farming in desertification areas[D]. Beijing: China Academy of Geological Sciences, 2019.
- [5] 杨再旺. 会仙岩溶地下水微生物群落结构及硝化和反硝化功能基因的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.  
YANG Zaiwang. Microbial community structure and abundance

- of functional genes of nitrification and denitrification in Huixian karst groundwater[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.
- [6] 袁道先. 中国岩溶学[M]. 北京: 地质出版社, 1994.  
YUAN Daoxian. Chinese karstology[M]. Beijing: Geology Press, Beijing, 1994. .
- [7] Auckenthaler A, Raso G, Huggenberger P. Particle transport in a karst aquifer: Natural and artificial tracer experiments with bacteria, bacteriophages and microspheres[J]. *Water Science & Technology*, 2015, 46(3): 131-138.
- [8] Cherry G S. Simulation of flow in the upper North coast limestone aquifer, Manati-Vega Baja area, Puerto Rico[J]. *Water-Resources Investigations Report*, 2001.
- [9] 贾亚男. 农业土地利用对岩溶地下水影响研究综述[J]. *中国岩溶*, 2003(4): 57-63, 68.  
JIA Ya'nan. Advance of the influence to karst groundwater by agricultural land use[J]. *Carsologica Sinica*, 2003(4): 57-63, 68.
- [10] 卢丽, 王喆, 裴建国, 邹胜章, 林永生, 樊连杰. 西南地区典型岩溶地下水系统污染模式[J]. *南水北调与水利科技*, 2018, 16(6): 89-96.  
LU Li, WANG Zhe, PEI Jianguo, ZOU Shengzhang, LIN Yongsheng, FAN Lianjie. Pollution model of typical karst groundwater system in Southwest China[J]. *South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology*, 2018, 16(6): 89-96.
- [11] Nataša R, Nico G. Proposed methodology of vulnerability and contamination risk mapping for the protection of karst aquifers in Slovenia[J]. *Acta Carsologica*, 2007, 36(3).
- [12] 曹敏. 城市化影响下岩溶地下水水文地球化学与同位素特征: 以重庆南山老龙洞地下河流域为例[D]. 重庆: 西南大学, 2012.  
CAO Min. Effects of urbanization on hydrogeochemical and stable isotopes characteristics of karst groundwater: A case from the Laolongdong watershed of Chongqing[D]. Chongqing: Southwest University, 2012.
- [13] 段逸凡, 贺秋芳, 刘子琦, 张远瞩, 张弘, 赵瑞一. 岩溶区地下水微生物污染特征及来源: 以重庆南山老龙洞流域为例[J]. *中国岩溶*, 2014, 33(4): 504-511.  
DUAN Yifan, HE Qiufang, LIU Ziqi, ZHANG Yuanzhu, ZHANG Hong, ZHAO Ruiyi. Characteristics and source of microbial contamination of groundwater in Laolongdong basin[J]. *Carsologica Sinica*, 2014, 33(4): 504-511.
- [14] 初慧, 朱恒华, 杨丽芝, 林国庆, 唐晓梦, 孙静, 周思凡. 深层灰岩裂隙含水层的微生物种群特征及多样性分析[J]. *地球与环境*, 2020, 48(1): 105-111.  
CHU Hui, ZHU Henghua, YANG Lizhi, LIN Guoqing, TANG Xiaomeng, SUN Jing, ZHOU Sifan. Characteristics and diversity analysis of microbial population in the deep limestone fissure aquifer[J]. *Earth and Environment*, 2020, 48(1): 105-111.
- [15] Lehman R M, O'Connell S P, Banta A, Fredrickson J K, Reysenbach A L, Kieft T L, Colwell F S. Microbiological comparison of core and groundwater samples collected from a fractured basalt aquifer with that of dialysis chambers incubated in situ[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2004, 21(3): 169-182.
- [16] Farnleitner A H, Wilhartitz I, Ryzinska G, Kirschner A K, Stadler H, Burtscher M M, Hornek R, Szewzyk U, Herndl G, Mach R L. Bacterial dynamics in spring water of alpine karst aquifers indicates the presence of stable autochthonous microbial endokarst communities[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(8): 1248-1259.
- [17] 吴清平, 魏磊, 张菊梅. 地下水中可培养微生物多样性研究进展[J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(16): 2830-2832.  
WU Qingping, WEI Lei, ZHANG Jumei. Advances in culturable microbial diversity in groundwater[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory*, 2015, 25(16): 2830-2832.
- [18] Harvey R W, Hurst C J, Knudsen G R, Mcinerney M J, Stetzenbach L D, Walter M V. In situ and laboratory methods to study subsurface microbial transport[M]. Washington DC: American Society for Microbiology, 1996.
- [19] Pronk M, Goldscheider N, Zopfi J. Microbial communities in karst groundwater and their potential use for biomonitoring[J]. *Hydrogeology Journal*, 2009, 17(1): 37-48.
- [20] 张弘, 蒋勇军, 张远瞩, 段逸凡, 吕现福, 贺秋芳. 基于PCR-DGGE和拟杆菌(Bacteroides)16S rRNA的岩溶地下水粪便污染源追踪研究: 以重庆南山老龙洞地下河系统为例[J]. *环境科学*, 2016, 37(5): 1805-1813.  
ZHANG Hong, JIANG Yongjun, ZHANG Yuanzhu, DUAN Yifan, LV Xianfu, HE Qiufang. Tracing the fecal contamination sources based on bacteroides 16S rRNA PCR-DGGE in karst groundwater: Taking Laolongdong Underground River system, Nanshan, Chongqing as an example[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(5): 1805-1813.
- [21] Goldscheider N, Hunkeler D, Rossi P. Review: Microbial biocenoses in pristine aquifers and an assessment of investigative methods[J]. *Hydrogeology Journal*, 2006, 14(6): 926-941.
- [22] 贺秋芳, 邱述兰, 张兴波. 降雨过程中岩溶地下河微生物污染及其指示意义[J]. *三峡环境与生态*, 2012, 34(6): 9-13.  
HE Qiufang, QIU Shulan, ZHANG Xingbo. The microbial contamination and its source tracing during a storm event in a karst underground stream[J]. *Environment and Ecology in the Three Gorges*, 2012, 34(6): 9-13.
- [23] Murphy S, Jordan P, Mellander P E, O' Flaherty V. Quantifying faecal indicator organism hydrological transfer pathways and phases in agricultural catchments[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 520: 286-299.
- [24] 袁文昊, 贺秋芳, 杨平恒, 旷颖仑, 蒲俊兵, 刘仙. 典型岩溶槽谷地下水化学时空变化特征及影响因素初探: 以重庆青木关地下河系统为例[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2009, 31(6): 160-164.  
YUAN Wenhao, HE Qiufang, YANG Pingheng, KUANG Yinglun, PU Junbing, LIU Xian. Temporal and spatial distribution of underground water hydrochemistry and its influencing factors in typical karst valleys: A case study of Qingmuguan

- underground water system in Chongqing[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2009, 31(6): 160-164.
- [25] Auckenthaler A, Huggenberger P. Pathogene Mikroorganismen im Grund-und Trinkwasser: Transport-Nachweismethoden-Wassermanagement[M]. Basel: Birkhäuser Basel, 2003.
- [26] 杨平恒. 重庆青木关地下河系统的水文地球化学特征及悬浮颗粒物运移规律[D]. 重庆: 西南大学, 2010.  
YANG Pingheng. The hydrogeochemical characteristics and transportation of suspended particle matters in Qingmuguan underground river system, Chongqing, China[D]. Chongqing: Southwest University, 2010.
- [27] 张祥祥. 贵阳市乌当区地下水空间分布特征及其开发利用研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2018.  
ZHANG Xiangxiang. Study on the spatial distribution characteristics of groundwater and its exploitation and utilization in Wudang district, Guiyang[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2018.
- [28] Sinreich M, Pronk M, Kozel R. Microbiological monitoring and classification of karst springs[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2014, 71(2): 563-572.
- [29] Balkwill D L, Leach F R, Wilson J T, McNabb J F, White D C. Equivalence of microbial biomass measures based on membrane lipid and cell wall components, adenosine triphosphate, and direct counts in subsurface aquifer sediments[J]. *Microbial Ecology*, 1988, 16(1): 73-84.
- [30] Simon K S, Gibert J, Petitot P, Laurent R. Spatial and temporal patterns of bacterial density and metabolic activity in a karst aquifer[J]. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 2001, 151(1): 67-82.
- [31] Wellings F M, Lewis A L, Mountain C W, Pierce L V. Demonstration of virus in groundwater after effluent discharge onto soil[J]. *Applied Microbiology*, 1975, 29(6): 751.
- [32] Reed T M, Mcfarland J T, Fryar A E, Fogle A W, Taraba J L. Sediment discharges during storm flow from proximal urban and rural karst springs, central Kentucky, USA[J]. *Journal of Hydrology*, 2009, 383(3): 280-290.
- [33] Wwjmd V, Dinkla I, Muyzer G, Rietveld L C, Loosdrecht M V. Molecular characterization of microbial populations in groundwater sources and sand filters for drinking water production[J]. *Water Research*, 2008, 43(1): 182-194.
- [34] 贺秋芳, 杨平恒, 袁文昊, 蒋勇军, 袁道先. 微生物与化学示踪岩溶地下水补给源和途径[J]. *水文地质工程地质*, 2009(3): 39-44.  
HE Qiufang, YANG Pingheng, YUAN Wenhao, JIANG Yongjun, YUAN Daoxian. Using chemical and microbiological indicators to track the recharge of underground rivers in a karst valley[J]. *Hydrogeology & Engineering Geology*, 2009(3): 39-44.
- [35] Simpson J M, Santo J W, Reasoner D J. Microbial source tracking: State of the science[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(24): 5279-5288.
- [36] Harvey R W. Microorganisms as tracers in groundwater injection and recovery experiments: A review[J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2010(3-4): 461-472.
- [37] Wicki M, Auckenthaler A, Felleisen R, Karabulut F, Niederhauser I, Tannrer M, Baumgartner A. Assessment of source tracking methods for application in spring water[J]. *Journal of Water and Health*, 2015, 13(2): 473-488.
- [38] Fiksdal L, Maki J S, Lacroix S J, Staley J T. Survival and detection of *Bacteroides* spp. prospective indicator bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, 49(1): 148-150.
- [39] Tran N H, Gin K Y, Ngo H H. Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 538: 38-57.
- [40] Gerba C P. Microorganisms as groundwater tracers[J]. *Poluio De Guas Subterrneas*, 1984, 225-33.
- [41] Joe Lewis. *Methods in applied soil microbiology*[M]. Edinburgh: Tritech Digital Media, 2018.
- [42] 贺秋芳. 青木关地下河岩溶系统中的氮循环及其相关微生物作用与示踪研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009.  
HE Qiufang. Nitrogen cycling and correlative microorganism tracing and impacting in karst groundwater system, Qingmu Guan, Chongqing[D]. Chongqing: Southwest University, 2009.
- [43] Rossi P, Carvalho A D, Müller I, Aragno M. Comparative tracing experiments in a porous aquifer using bacteriophages and fluorescent dye on a test field located at Wilerwald (Switzerland) and simultaneously surveyed in detail on a local scale by radiomagnetotellury (12 -240 kHz)[J]. *Environmental Geology*, 1994, 23(3): 192-200.
- [44] Rossi P, Dörfli N, Kennedy K, Müller I, Arango M. Bacteriophages as surface and ground water tracers[J]. *Hydrology & Earth System Sciences*, 1998, 2(1): 101-110.
- [45] Katz B G, Griffin D W. Using chemical and microbiological indicators to track the impacts from the land application of treated municipal wastewater and other sources on groundwater quality in a karstic springs basin[J]. *Environmental Geology*, 2008, 55(4): 801-821.
- [46] 邹胜章, 邓振平, 梁彬, 夏日元, 唐建生. 岩溶水系统中微生物迁移机制[J]. *环境污染与防治*, 2010, 32(10): 1-4.  
ZOU Shengzhang, DENG Zhenping, LIANG Bin, XIA Riyuan, TANG Jiansheng. The mechanism of microbe transport in karst aquifer systems[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2010, 32(10): 1-4.
- [47] Janet S G, Anthony P. Laboratory studies identify a colloidal groundwater tracer: Implications for bioremediation[J]. *Fems Microbiology Letters*, 1997, 148: 131-135.
- [48] 张胜, 张翠云, 张云, 李政红, 张明. 地质微生物地球化学作用的意义与展望[J]. *地质通报*, 2005, 24(Z1): 1027-1031.  
ZHANG Sheng, ZHANG Cuiyun, ZHANG Yun, LI Zhenghong,

- Zhang Ming. Geomicrobial geochemical process: Significance and prospects[J]. Geological Bulletin of China, 2005, 24(Z1): 1027-1031.
- [49] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 胡跃高. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. *生态学杂志*, 2005(1): 48-52.  
ZHANG Wei, WEI Hailei, GAO Hongwen, HU Yuegao. Advances of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005(1): 48-52.
- [50] 林海, 蔡宏道. 粪大肠菌群及粪链球菌群在水体污染监测中的意义[J]. *武汉医学院学报*, 1982(3): 66-69.  
LIN Hai, CAI Hongdao. Singnificance of fecal coliform and fecal streptococcus in water pollution monitoring[J]. *Journal of Wuhan Medical College*, 1982(3): 66-69.
- [51] Ender A, Goepfert N, Goldscheider N. Hydrogeological controls of variable microbial water quality in a complex subtropical karst system in Northern Vietnam[J]. *Hydrogeology Journal*, 2018, 26(7): 1-18.
- [52] 唐思偲, 王琴, 辛明秀. 用水体中大肠菌群的含量检测水质污染程度[J]. *生物学通报*, 2011(8): 15-17.  
TANG Sisi, WANG Qin, XIN Mingxiu. Use coliform group content in water to detect water pollution degree[J]. *Bulletin of Biology*, 2011(8): 15-17.
- [53] 李冬梅. 近岸大肠杆菌多样性及其溯源研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2012.
- LI Dongmei. Research on the escherichia coli diversity and microbial source tracking of the offshore[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2012. .
- [54] Obi L U, Atagana H I, Adeleke R A. Isolation and characterisation of crude oil sludge degrading bacteria[J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1946.
- [55] Laroche E, Petit F, Fournier M, Pawlak B. Transport of antibiotic-resistant Escherichia coli in a public rural karst water supply[J]. *Journal of Hydrology*, 2010, 392(1): 12-21.
- [56] Pronk M, Goldscheider N, Zopfi J. Dynamics and interaction of organic carbon, turbidity and bacteria in a karst aquifer system[J]. *Hydrogeology Journal*, 2006, 14(4): 473-484.
- [57] Cocich A P, Austen M C, Brlocher F, Chaubet E, Cardinale B J, Biles C L, Inchausti P, Dangles O, Solan M, Gessner M O, Statzner B, Moss B. The role of biodiversity in the functioning of freshwater and marine benthic ecosystems[J]. *Bioscience*, 2004, 54(8): 767-775.
- [58] F Mösslacher, C Griebler, J Notenboom. Biomonitoring of groundwater systems: Methods, applications and possible indicators among the groundwater biota[M]. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- [59] Feris K P, Hristova K, Gebreyesus B, Mackay D, Scow K M. A shallow BTEX and MTBE contaminated aquifer supports a diverse microbial community[J]. *Microbial Ecology*, 2004, 48(4): 589-600.

## Research review on the application of microbial information technology to karst groundwater environment

LIU Dan<sup>1,2</sup>, CHEN Xuequn<sup>1,2</sup>, TIAN Chanjuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Wenjing<sup>3</sup>, GUAN Qinghua<sup>1,2</sup>

(1. *Water Resources Research Institute of Shandong Province, Jinan, Shandong 250014, China*; 2. *Shandong Provincial Key Laboratory of Water Resources and Environment, Jinan, Shandong 250014, China*; 3. *Jilin University, Changchun, Jilin 130000, China*)

**Abstract** With the development of society and economy, the environmental problems of karst groundwater are increasingly prominent due to the influence of human activities. The unique heterogeneity of karst aquifer leads to the diversity of microbial community. With the continuous development of microbial information technology, its application to karst groundwater environment will be increasingly extensive. Therefore, the study of microbial information technology is of great significance to the development, utilization and protection of karst groundwater resources.

In this study, the research on application of microbial information technology to karst groundwater environment is reviewed from the aspects of microbial sources, microbial tracing and monitoring technology in karst groundwater, and the application prospect in this regard is also offered. The heterogeneity of karst aquifer and the dual characteristics of microbial source recharge, including endogenous water and exogenous water, lead to the sensitivity and complexity of karst groundwater environment. The sources of microorganisms in karst groundwater are diverse, mainly including native and exotic microorganisms. The input of external microbial communities such as surface water and soil environment is the main source of microorganisms in karst groundwater. In addition, groundwater recharge and other human activities have a significant impact on microbial community characteristics. Because microbial tracer technology, in which the microorganism is used as a tracer indicator, has more advantages than the traditional indicator

in the study on pollution and characteristics of pollutant environment in karst groundwater, this technology has become an important method of karst groundwater resource management. So far, many microorganisms, such as *Escherichia coli* and Bacteriophage, have been used as tracers in tracing tests. *Escherichia coli* can be used as a tracer to reflect the pollution degree of karst groundwater. Bacteroidetes are used to determine the pollution source and its contribution rate because of their host specificity. Having strong migration ability and being sensitive to changes in hydraulic conditions, Bacteriophages are non-toxic and non-pathogenic to other organisms. They are used as tracers in karst and fractured aquifers for the quantitative migration analysis of groundwater, the delineation of water flow path, etc. In addition, combined with microbial tracers and traditional tracers, the multi-tracking technology has the advantages of accuracy and operability. Because microorganisms are sensitive to the change of karst environment, their community structure and diversity are different, which can effectively indicate the change of karst groundwater environment. Different from hydrochemical index monitoring, microbial monitoring technology can indicate unknown components and provide more comprehensive information of groundwater environment. Its potential application to karst groundwater monitoring has been widely recognized.

With the development of microbial information technology, the sources and distribution characteristics of microorganisms need to be further identified due to the complexity of karst aquifer and the variability of microorganisms. The pollution risk caused by the application of microbial information technology to karst groundwater environment needs to be further discussed. The microbial tracer technique in karst groundwater is still immature and more suitable microbial indicators need to be screened out. Biomonitoring techniques with molecular methods have not yet achieved the resolution and flux required for monitoring purposes, and the correlation between different environmental parameters and the characteristics of microbial community change needs to be further identified. However, the technology is being developed to provide reference for the development of microbial information technology and the development and protection of karst groundwater resources.

**Key words** karst groundwater, microbial tracer technique, microbial monitoring technology, microbial information technology, indicative function

(编辑 杨杨 张玲)