

赣江南昌段丰水期细菌群落特征

王 鹏^{1,2*}, 陈 波^{1,2}, 李传琼^{1,2}, 李 燕^{1,2} (1.江西师范大学鄱阳湖湿地与流域研究教育部重点实验室,江西 南昌 330022; 2.江西师范大学地理与环境学院,江西 南昌 330022)

摘要: 细菌群落是河流生态系统的重要组成部分,本次研究基于高通量测序技术分析了赣江南昌段丰水期(4~8月)细菌群落特征。结果表明,赣江南昌段细菌优势类群为放线菌门(Actinobacteria, 41.18%)和变形菌门(Proteobacteria, 31.79%),其次为厚壁菌门(Firmicutes, 10.04%),拟杆菌门(Bacteroidetes, 7.26%),蓝藻菌门(Cyanobacteria, 4.01%)。在属分类水平上,相对丰度最高的是 *hgcI* clade (16.39%)。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。除变形菌门(Proteobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)外,其它门水平分类细菌相对丰度在不同月份都有显著差异;不同采样点中,只有 Proteobacteria 差异显著(主要是 Betaproteobacteria 差异显著),其它门水平分类细菌相对丰度在不同采样点的差异均不显著。温度和流量是影响河流细菌群落的主要因子,其中温度与细菌可操作分类单元(OTU)相关性更高,流量则与门分类水平细菌相关性更高,暴雨径流中 Firmicutes 取代 Actinobacteria 和 Proteobacteria 成为丰度最高的菌群。温度、流量和电导率(EC)是影响 OTU 的最佳环境因子组合,流量和温度是影响门水平细菌群落的最佳环境因子组合。河水化学指标对细菌群落的影响小于温度、流量等水文气象条件。

关键词: 赣江南昌段; 高通量测序; 细菌群落结构; 环境影响因子

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2016)08-2453-10

Bacterial communities in Nanchang section of the Ganjiang River in wet season. WANG Peng^{1,2*}, CHEN bo^{1,2}, LI Chuang-qiong^{1,2}, LI Yan^{1,2} (1.Key Laboratory of Poyang Lake Wetland and Watershed Research, Ministry of Education, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2.School of Geography and Environment, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China). *China Environmental Science*, 2016,36(8): 2453~2462

Abstract: Bacteria are key players in the ecosystem of rivers. In this study, bacterial communities in Nanchang section of the Ganjiang River in wet season (April to August) were analyzed. The results showed that the dominant phyla were Actinobacteria (41.18%) and Proteobacteria (31.79%), followed by Firmicutes (10.04%), Bacteroidetes (7.26%) and Cyanobacteria (4.01%). The dominant genus was *hgcI* clade (16.39%). There were no significant differences of the bacterial community abundance and diversity in river water between the upstream, the downtown and the downstream of urban area, while there were significant differences between months. Except for Proteobacteria and Verrucomicrobia, there was significant difference of the bacterial phyla abundance between months. Proteobacteria (mainly Betaproteobacteria) was the only phylum whose abundance showed significant difference between sampling sites. Temperature and streamflow were the main environmental factors influencing bacterial communities in river water, while temperature was more correlated with the bacterial Operational Taxonomic Unit (OTU), and streamflow was more correlated with bacterial phyla communities. Firmicutes became the dominant phylum instead of Actinobacteria and Proteobacteria in a stormflow. The optimal subset of environmental variables with the best correlation to OTU abundance included temperature, flow rate and EC, and with the best correlation to phylum abundance included temperature and flow rate. The influence of water chemical parameters on bacterial communities was less than that of hydrometeorological factors including temperature and streamflow.

Key words: Nanchang section of the Ganjiang River; high throughput sequencing; bacterial community structure; environmental factors

收稿日期: 2015-12-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(41201033);鄱阳湖湿地与流域研究教育部重点实验室(江西师范大学)主任开放基金(ZK2013009);江西省自然科学基金(20151BAB213035);江西省重大生态安全问题监控协同创新中心资助项目(JXS-EW-00)

* 责任作者, 副教授, wangpengjlu@outlook.com

河流是人类工农业用水和生活用水的主要来源,同时也是水循环和碳、氮、磷等元素循环的重要环节^[1].细菌群落是河流生态系统的重要组成部分,在河流污染物降解和转化中起着关键作用^[2].掌握细菌群落结构特征及其影响因素,有助于理解河流的生态功能及其与环境因子的关系.近年来分子生物学得到快速发展,尤其是低成本、自动化的高通量测序技术^[3-4],能同时对样品中的优势物种、稀有物种及一些未知的物种进行检测,快速准确获得样品中的微生物群落组成,在河流^[5-8]、湖泊水库^[9-11]和海洋^[12]等水体细菌群落结构研究中得到广泛应用.

赣江是鄱阳湖的第一大支流,长江的重要支流.目前针对赣江水环境的研究主要包括非点源污染负荷^[13],重金属分布^[14],营养盐浓度^[15-16]、悬浮有机质来源^[17]和土地利用对水质的影响^[18],但未有微生物群落的相关研究,尚不清楚赣江水体的微生物群落特征及其与环境因子的关系.赣江南昌段位于赣江下游,是鄱阳湖水体的直接补给来源,也是南昌市的主要饮用水水源.本次研究基于高通量测序技术,在丰水期对赣江南昌段进行连续采样,分析细菌群落特征及其与环境因子的关系,以期对鄱阳湖和赣江流域的环境监测和污染防治提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集与水化学分析

赣江进入南昌城区后逐渐分为三支,分别为南支、中支和北支,然后注入鄱阳湖(图 1).其中赣江南支环绕老城区及高新开发区,北支流经部分新城区和城郊农业区,中支主要流经城郊农业区.本次采样点分别位于赣江进入南昌城区前(G1),城区分支前(G2),流出城区后的赣江南支(G3),赣江中支(G4)和赣江北支(G5).

受东亚季风气候影响,4月、5月和6月降水量占全年降水量的45%,7月和8月受台风影响赣江流域降水也较多.选择降水较多,温度也较高的4~8月作为研究月份;良好的水热条件有助于细菌的生长.分别在2015年4月、5月、6月、7月和8月中旬在河中心取50cm深度水样,利用便

携式电导率仪(哈纳 HI98360)现场测量水体电导率(EC).用于水化学分析的水样采集250ml,用于高通量测序的水样采集3L.水样采集后冷藏运回实验室进一步分析.氨态氮(NH_4^+-N),硝态氮(NO_3^--N)和总磷(TP)利用全自动间断化学分析仪(SmartChem 200)测定,其中用于 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 测定的水样通过 $0.45\mu\text{m}$ 孔径滤膜过滤.用于高通量测序的水样先通过 $5\mu\text{m}$ 孔径滤膜过滤去除颗粒杂质,再通过 $0.22\mu\text{m}$ 孔径滤膜过滤.将过滤后的 $0.22\mu\text{m}$ 孔径滤膜放入 -80°C 冰箱保存,进行后续DNA提取.

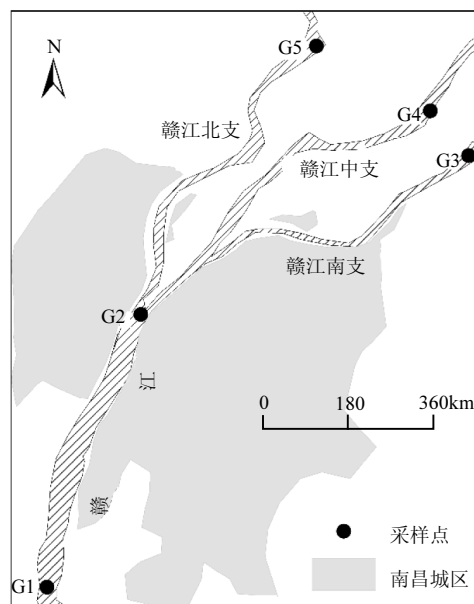


图1 赣江南昌段采样点位置示意

Fig.1 Sampling sites in Nanchang section of the Ganjiang River

1.2 DNA提取与高通量测序

采用E.Z.N.A.® Soil DNA Kit(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)提取基因组DNA,采用1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的DNA.对16S rRNA基因的V3-V4高变区片段进行PCR扩增,引物序列^[19]为338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3').扩增条件为:95℃预变性2min,接着进行25个循环,包括95℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸30s;循环结束后72℃最终延伸5min.每个样本3

个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后用 2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, Tris_HCl 洗脱;2%琼脂糖电泳检测.参照电泳初步定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluorTM-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量,按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合.测序在上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina Miseq PE300 平台进行.

1.3 统计分析

利用 Mothur(V.1.36.1)对原始 DNA 序列进行过滤处理,去除嵌合体,得到优化序列;按照 97% 相似性将优化序列划分可操作分类单元(OTU, Operational Taxonomic Units);基于 OTU 进行稀释性曲线分析,并计算覆盖度(Coverage)、Chao1 丰度指数和 Simpson 多样性指数,利用方差分析对比不同月份、不同采样点的细菌群落丰度与多样性.利用 Mothur(V.1.36.1)计算采样点细菌群落的 Bray-Curtis 距离矩阵,R 语言 vegan 软件包做非度量多维尺度(NMDS)分析和作图.对比 Silva

(Release119, <http://www.arb-silva.de>)16S rRNA 数据库,采用 RDP Classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>)贝叶斯算法对 OTU 代表序列进行分类学分析,并在各个分类水平上统计每个样品的群落组成;利用方差分析对比不同月份、不同采样点门分类和属分类细菌丰度差异.基于 R 语言 vegan 软件包 BioEnv 程序判断不同环境因子组合对微生物群落(OTU 组成和门分类群落)的影响,通过冗余分析(RDA)研究环境因子与细菌门分类群落的关系.

2 结果

2.1 细菌群落丰度与多样性

25 个水样的高通量测序共得到 618 245 条高质量基因序列,以 97%相似度划分,得到 811 条 OTUs,单个水样的 OTU 数量为 343~562,平均值为 472.表 1 为样品中的 OTU 数量、多样性指数以及相应环境因子.各样本文库的覆盖率 (Coverage)范围均在 99.3%以上,能够代表赣江水体细菌群落的真实情况.

表 1 水样细菌群落的丰度、多样性以及环境因子
Table 1 Bacterial community abundance, diversity and environmental factors in the Ganjiang River

采样编号 ^a	OTU	Chao1	Coverage	Shannon	EC (μS/cm)	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	TP (mg/L)	DOC (mg/L)	流量 ^b (m ³ /s)	气温 ^c (℃)
G1_4	399	502	0.9951	4.19	82.1	0.53	0.021	3.29	1060	21.5
G2_4	402	498	0.9951	4.39	83.5	0.65	0.058	6.19		
G3_4	386	434	0.9967	4.06	117.1	1.23	0.086	4.99		
G4_4	392	438	0.9976	4.16	86.0	0.27	0.033	3.19		
G5_4	373	448	0.9973	3.99	86.2	0.55	0.004	3.23		
G1_5	405	460	0.9957	3.01	52.5	0.10	0.086	3.34	8260	24
G2_5	564	657	0.9959	4.02	58.7	0.11	0.058	5.51		
G3_5	545	625	0.9968	4.39	70.6	0.16	0.099	4.72		
G4_5	542	651	0.9965	3.90	64.5	0.11	0.058	7.36		
G5_5	479	517	0.9982	3.51	65.7	0.11	0.082	7.88		
G1_6	466	525	0.9957	4.40	70.4	0.26	0.037	4.33	3110	32.5
G2_6	465	557	0.9957	4.49	72.5	0.26	0.041	2.95		
G3_6	507	591	0.9941	4.70	84.5	0.34	0.025	5.47		
G4_6	505	579	0.9949	4.31	69.9	0.29	0.017	6.39		
G5_6	517	653	0.9936	4.59	73.5	0.30	0.029	2.96		
G1_7	522	602	0.9966	4.56	65.3	0.10	0.037	6.13	2150	30.5
G2_7	549	634	0.9953	4.61	57.0	0.14	0.033	7.35		
G3_7	543	636	0.9971	4.54	69.3	0.17	0.021	4.82		
G4_7	513	619	0.9943	4.50	62.0	0.15	0.001	7.02		

续表 1

采样编号 ^a	OTU	Chao1	Coverage	Shannon	EC (μS/cm)	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	TP (mg/L)	DOC (mg/L)	流量 ^b (m ³ /s)	气温 ^c (°C)
G5_7	553	622	0.9961	4.69	64.5	0.29	0.012	3.42		
G1_8	470	560	0.9960	4.38	71.5	0.32	0.045	1.65		
G2_8	465	528	0.9971	4.36	71.3	0.30	0.029	2.22		
G3_8	471	557	0.9964	4.52	98.7	0.62	0.119	3.51	1360	28.5
G4_8	343	439	0.9963	3.40	77.1	0.28	0.037	3.22		
G5_8	433	526	0.9948	4.09	73.9	0.38	0.045	2.87		

注:^a 采样点 G_i_j , G_i 为采样点位置 ($i=1,2,3,4,5$), j 为采样月份 ($j=4,5,6,7,8$);^b 采样当日赣江外洲站早 8:00 流量, 数据来源: <http://www.jxncsw.com/list.jsp?classid=19>; ^c 采样当日的日平均气温.

Chao1 指数的平均值为 554,最大值出现在 5 月的 G2 采样点(657),最小值出现在 4 月的 G3 采样点(434);Shannon 指数的平均值为 4.23,最大值出现在 6 月的 G3 采样点(4.70),最小值出现在 5 月的 G1 采样点(3.01).单因素方差分析表明不同采样点 Chao1 指数和 Shannon 指数不存在显著差异(p 值分别为 0.899 和 0.548);不同月份的 Chao1 指数和 Shannon 指数差异性显著(p 值分别为 0.001 和 0.006),Chao1 指数的大小顺序为:7 月>5 月>6 月>8 月>4 月,Shannon 指数的大小顺序为 7 月>6 月>4 月>8 月>5 月.

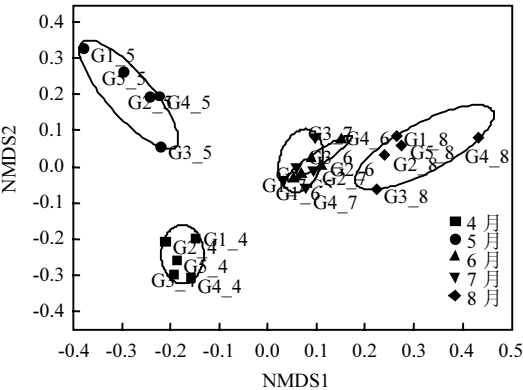


图2 基于 Bray-Curtis 距离的采样点非度量多维尺度 (NMDS)分析图

Fig.2 Nonmetric Multidimensional Scaling (NMDS) plots derived from Bray-Curtis dissimilarity between water samples

NMDS 分析(图2)表明,相同月份的采样点具有类似的细菌群落结构,不同采样点细菌群落没有明显的差异;不同月份之间,6 月和 7 月细菌种群结构较为类似,而 4 月、5 月和 8 月差异较大.

2.2 细菌群落结构

25 个赣江水样高通量分析得到的 811 条 OTUs 中,在门、纲、目、科、属和种分类水平上未能进行分类的 OTU 比例分别为 0.74%,1.73%,4.44%,8.26%,13.81%和 44.88%,表明在种分类水平上赣江水体存在大量未知类型细菌.各分类水平上符合分类要求的 OTU 分属于 26 个门,49 个纲,75 个目,123 个科,166 个属,149 个种.图 3 为门水平上的细菌分类.相对丰度最高的是放线菌门 (Actinobacteria,41.18%),其次为变形菌门 (Proteobacteria,31.79%),两者占总基因序列的比例达到了 72.97%.Actinobacteria 中丰度最高的是放线菌纲(Actinobacteria,31.19%),其次为酸微菌纲(Acidimicrobiia,9.49%),另外还含有少量的嗜热油菌纲(Thermoleophila,0.50%).Proteobacteria 中丰度最高的是 β -变形菌纲 (Betaproteobacteria,23.07%),其次为 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria,5.19%), γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria,2.08%), δ -变形菌纲 (Deltaproteobacteria,1.01%) 和 ϵ -变形菌纲 (Epsilonproteobacteria,0.21%).厚壁菌门 (Firmicutes,10.04%)是平均丰度第三高的类群,但 *Firmicutes* 只在 5 月份的相对丰度很高 (18.26%~66.57%),其它月份的 *Firmicutes* 相对丰度都在 5%以下.此外,相对丰度较高的依次为拟杆菌门 (Bacteroidetes,7.26%),蓝藻菌门 (Cyanobacteria,4.01%),疣微菌门 (Verrucomicrobia,1.01%),浮霉菌门 (Planctomycetes,0.93%),绿弯菌门 (Chloroflexi,0.88%),绿菌门 (Chlorobi,0.84%),芽

单胞菌门(*Gemmatimonadetes*,0.79%)和酸杆菌门(*Acidobacteria*,0.55%),其它门类别的平均相对丰度均小于 0.5%.

图 4 为细菌群落的属水平分类,将平均丰度低于 1%的部分合并为 *others* 在图中显示,剩余 17 种属水平分类中有 2 种属于分类学数据库分类学谱系的中间等级,没有科学名称,以 *norank* 作为标记;1 种细菌属于未培养细菌,以 *uncultured*

表示.根据置信度阈值的筛选,2 种细菌在属分类级别分值较低,在统计时以 *Unclassified* 标记.相对丰度最高的是 *Actinobacteria* 中的 *hgcI_clade*(16.39%),其次为 *Actinobacteria* 中的 *CL500-29_marine_group*(8.48%),*Firmicutes* 中的乳球菌属(*Lactococcu*,7.89%)排在第 3 位,但 *Lactococcu* 丰度只是在 5 月较高(14.90%~52.36%),其它月份的丰度均在 4%以下.

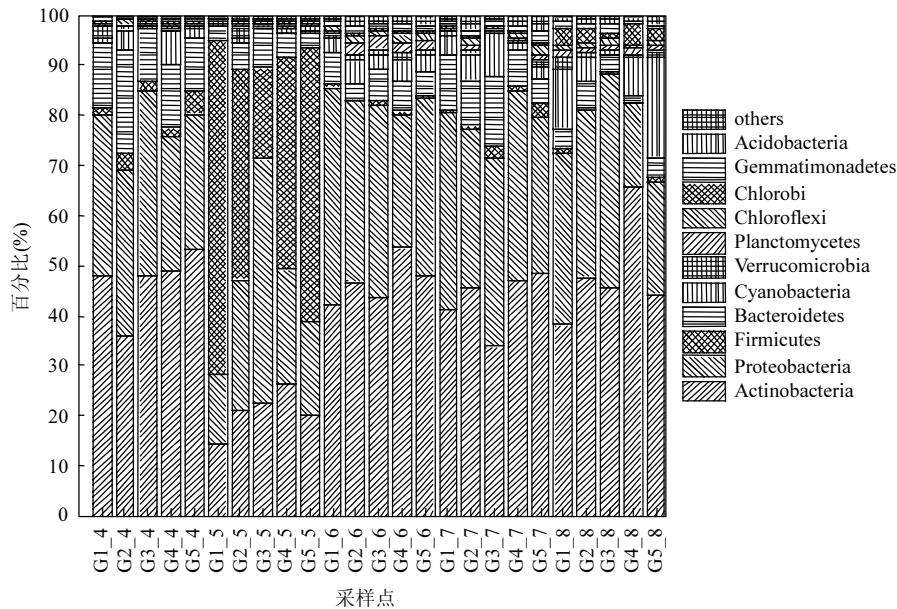


图 3 赣江水体细菌门水平分类细菌

Fig.3 Bacterial phyla in the Ganjiang River water

表 2 为 25 个水样中门水平分类细菌相对丰度统计量.根据变差系数判断,*Firmicutes*,*Chlorobi* 和 *Cyanobacteria* 的动态变化最大,*Proteobacteria*,*Actinobacteria* 和 *Verrucomicrobia* 的动态变化最小.单因素方差分析表明,多数门水平分类细菌相对丰度在不同月份有显著差异($P<0.05$),只有 *Proteobacteria*($P=0.337$) 和 *Verrucomicrobia* ($P=0.795$) 差异不显著;*Proteobacteria* 中在不同月份差异不显著的为 *Betaproteobacteria*($P=0.533$)和 *Epsilonproteobacteria* ($P=0.680$).在 G1-G5 不同采样点中,只有 *Proteobacteria*($P=0.037$)差异显著,其它门水平分类细菌相对丰度在不同采样点的差异均不显著

($P>0.05$).*Proteobacteria*在 5 个采样点的大小顺序为:G3>G1>G2>G5>G4.在 *Proteobacteria* 中只有 *Betaproteobacteria*($P=0.024$)在不同采样点差异显著,在 5 个采样点的大小顺序同样为:G3>G1>G2>G5>G4.

在属水平分类上,对平均丰度大于 1%的属分类细菌进行单因素方差分析(文中未给出数据列表),结果表明多数属分类细菌相对丰度在不同月份有显著差异($P<0.05$),只有 *Comamonadaceae_unclassified*($P=0.083$)、*Polynucleobacter*($P=0.199$)、*12up*($P=0.230$)和 *Fluviicola*($P=0.217$)差异不显著;绝大多数细菌相对丰度在不同地点没有显著差异($P>0.05$),只有 *12up*($P=0.006$)有显著差异.

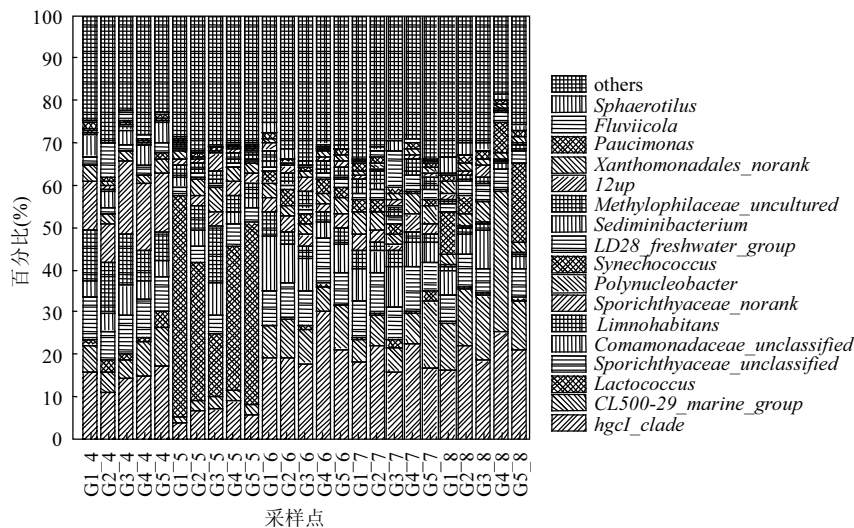


图 4 赣江水体细菌属水平分类细菌

Fig.4 Bacterial genera in the Ganjiang River water

表 2 赣江南昌段主要门水平分类细菌相对丰度统计量及月份、采样点差异显著性

Table 2 Statistics of Relative abundance of main bacterial phyla in Nanchang section of Ganjiang River and the significance of difference between months and sites

细菌	最大值(%)	最小值(%)	平均值(%)	变差系数	月份显著性差异 <i>p</i> 值	采样点显著性差异 <i>p</i> 值
Actinobacteria	65.75	14.25	41.18	0.29	0.000	0.626
Proteobacteria	48.67	14.06	31.79	0.27	0.337	0.037
Alphaproteobacteria	8.17	1.31	5.19	0.34	0.000	0.737
Betaproteobacteria	39.48	10.55	23.07	0.31	0.533	0.024
Deltaproteobacteria	4.84	0.16	1.01	0.94	0.016	0.924
Epsilonproteobacteria	2.21	0.01	0.21	2.13	0.680	0.164
Gammaproteobacteria	4.39	0.94	2.08	0.33	0.004	0.981
Firmicutes	66.57	0.11	10.04	1.92	0.000	0.961
Bacteroidetes	20.79	1.23	7.26	0.62	0.000	0.785
Cyanobacteria	19.84	0.08	4.01	1.11	0.023	0.880
Verrucomicrobia	2.42	0.26	1.01	0.57	0.795	0.133
Planctomycetes	2.71	0.12	0.93	0.77	0.000	0.837
Chloroflexi	2.05	0.07	0.88	0.58	0.003	0.610
Chlorobi	4.45	0.08	0.84	1.35	0.000	0.909
Gemmatimonadetes	2.02	0.02	0.79	0.68	0.000	0.975
Acidobacteria	1.61	0.03	0.55	0.84	0.000	0.734

2.3 细菌群落结构与环境因子关系

表 3 为不同环境因子组合对细菌群落结构的影响.OTU 是细菌分类的最小基本单元,门分类则是细菌分类中最大的分类单元.在不同分类尺度上环境因子对细菌群落结构的影响不同,温度是影响 OTU 的最主要环境因子,相关系数为 0.6159;温度、流量和 EC 是影响 OTU 的最佳环

境因子组合,相关系数为 0.7164.流量是影响门分类水平细菌的最主要环境因子,相关系数为 0.6379;流量和温度是影响门水平细菌群落的最佳环境因子组合,相关系数为 0.6424.因此,温度和流量是影响赣江细菌群落结构的主要因素;在水化学因子中,体现水体可溶性化合物总量的 EC 和 DOC 对 OTU 的影响较大,而 DOC 和 TP

对门分类水平细菌影响较大.化学因子对细菌群落的影响小于温度、流量等水文气象条件.

表 3 细菌群落与不同环境因子组合的相关关系
Table 3 Correlations between different environmental variables combination and bacterial community

OTU 与环境因子关系		门分类水平细菌与环境因子关系	
环境因子组合	相关系数	环境因子组合	相关系数
温度	0.6159	流量	0.6379
温度+流量	0.7072	流量+温度	0.6424
温度+流量+EC	0.7164	流量+温度+ DOC	0.5730
温度+流量+EC+DOC	0.6505	流量+温度+ DOC+TP	0.5231
温度+流量+EC+DOC+ NH ₄ ⁺ -N	0.6043	流量+温度+ DOC+TP+EC	0.4390
温度+流量+EC+DOC+ NH ₄ ⁺ -N +TP	0.5735	流量+温度+ DOC+TP+EC+ NH ₄ ⁺ -N	0.3901

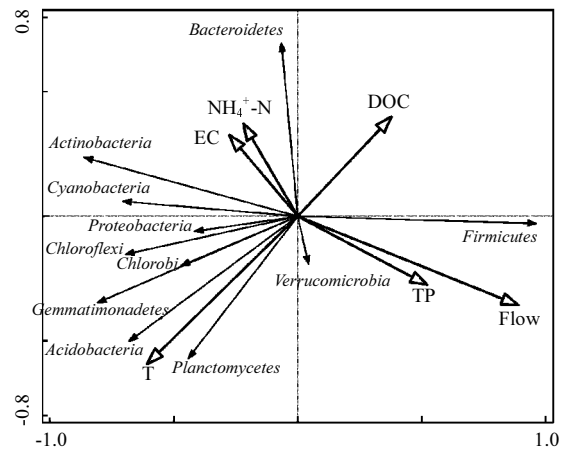


图 5 细菌门分类群落与环境因子的冗余分析
Fig.5 Redundancy analysis of bacterial phyla and environmental parameters

图 5 为环境因子对主要门分类种群(平均丰度大于 0.5%)的冗余分析结果,第一主轴解释了门分类群落 63.35%的方差变化,第一主轴和第二主轴一共解释了 69.88%;其中流量对门分类种群变化的显著性最高($P=0.002$),其次为温度($p=0.004$),TP($P=0.012$)和 DOC($P=0.05$);EC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的影响显著性 P 值大于 0.05,所以流量、温度、TP 和 DOC 是影响主要门分类种群显著环境因子.除 Firmicutes 和 Bacteroidetes 外,其它门分类细菌均与温度呈正相关关系;Firmicutes 与流量呈较强正相关性,在 5 月暴雨径流中, Firmicutes 取代 Actinobacteria 和 Proteobacteria 成为丰度最高的菌群;Bacteroidetes 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DOC 和 EC 有较强正相关性.第一大门分类种群

Actinobacteria 受温度影响较小,与流量呈较强负相关关系;第二大门分类种群 Proteobacteria 受各种环境因子的影响相对较小.

3 讨论

3.1 细菌群落结构

细菌群落在河流生态系统中起着重要作用,是营养物质的转化者和能量流动的承担者^[20].赣江南昌段相对丰度最高的是 Actinobacteria (41.18%),其次为 Proteobacteria(31.79%,其中 Betaproteobacteria 相对丰度为 23.07%), Firmicutes (10.04%)和 Bacteroidetes(7.26%).国内外研究(表 4)表明, Actinobacteria, Proteobacteria 和 Bacteroidetes 是河水中的优势细菌门类;Read 等^[8]在英国泰晤士河的研究表明,河水细菌的最大门类群由上游的 Bacteroidetes 和 Proteobacteria 逐渐转变为下游的 Actinobacteria,并认为这种细菌群落结构的变化是由河流水流特性引起的,即体型更小的 Actinobacteria 细菌不易被捕食,在水体滞留时间更长的河流下游逐渐成为优势类型;Savio 等^[21]在多瑙河和 Kolmakova 等^[22]在叶尼塞河的研究也得到了类似结论.本次研究区位于赣江下游,Actinobacteria 为相对丰度最高的门分类群落,与以上研究成果相符;但 Bacteroidetes 的丰度位于 Firmicutes 之后,这主要是由于 5 月 Firmicutes 的相对丰度较高;如果不考虑 5 月数据,Bacteroidetes 为位于 Actinobacteria 和 Proteobacteria 之后的第三大门分类细菌.Jeon 等^[23]研究发现,沙尘细菌的优势群

落为 Firmicutes (53%)和 Actinobacteria(18%);5 月采样时,受前期全流域暴雨影响,赣江流量明显升高(表 1),细菌群落与其它月份有显著区别,优势群落为 Firmicutes (43.38%) 和 Actinobacteria (21.42%),与 Jeon 等^[23]研究中的沙尘细菌非常类似,可以推测暴雨将大量地表沙尘带入河流,沙尘细菌的加入导致赣江 5 月 Firmicutes 的相对丰度明显偏高.

表 4 国内外河流基于 16S rRNA 方法的细菌群落及影响因子研究结果

Table 4 Bacteria communities and the influencing factors in domestic and oversea rivers based on 16S rRNA

河流	河段/采样点*采样次数	测序方法	门分类优势细菌(按丰度由大到小排列)	主要影响因子
黄河 ^[24]	中下游/6*1	克隆文库法	Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria	pH 值 DOC 含沙量
松花江 ^[25]	下游至下游/5*1	指纹图谱技术	Proteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria	—
东江 ^[26]	下游至下游/9*1	指纹图谱技术	Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes	NH ₄ ⁺ -N NO ₃ ⁻ -N
海河 ^[27]	中下游/14*1	高通量测序	Proteobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria	—
甬江 ^[28]	下游宁波城区/4*1	高通量测序	Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes	—
南明河 ^[6]	贵阳城区/5*1	高通量测序	Proteobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes	总氮 总磷
美国密西西比河 ^[29]	上游/8*3	高通量测序	Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes	温度 降水量 营养盐
欧洲多瑙河 ^[21]	上游至下游/75*1	高通量测序	Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes	水文条件
英语泰晤士河 ^[8]	上游至下游/23*1	高通量测序	Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria	河水滞留时间
巴西西诺斯河 ^[7]	上游至下游/14*2	高通量测序	Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria	河流补给来源
俄罗斯叶尼塞河 ^[22]	上游至下游/10*1	高通量测序	Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes	—

注:——表示文献中未进行细菌群落影响因子的研究.

方差分析结果表明,分别位于城区上游,城区中心和城区下游的 5 个采样点细菌群落丰度与多样性不存在显著差别,除 Proteobacteria 以外的其它门分类菌群也不存在显著差别(表 2).这表明南昌城区污水排放没有明显影响赣江河水的细菌群落结构.Vannote 等^[30]提出了河流连续体概念,认为河流生态群落能够改变自己的结构和功能性,使之适应具有连续梯度的非生物环境.本次研究区上、下游河流长度约为 80km,较短的距离使各采样点间的生物多样性及群落结构差异不显著. 5 个采样点中具有显著差别的是 Betaproteobacteria,流经更多城区的 G3 采样点具有最高丰度的 Betaproteobacteria.人类排泄物中 Bacteroidetes 和 Firmicutes 是主要的细菌类型^[31-32],但 Shanks 等^[33]对 13 个城市未处理污水的研究发现污水中的主要细菌类型为 Gammaproteobacteria 和 Betaproteobacteria,并认为城市排水管道不利于 Bacteroidetes 等排泄物细菌的生存,导致城市污水中排泄物细菌丰度并不高.本次对赣江南昌段的研究中,只有 Betaproteobacteria 在不同采样点有显著区别,且在不同月份没有显著区别,说明 Betaproteobacteria 受

上游来水的影响较小,主要受城区污水排放的影响.Betaproteobacteria 是淡水细菌群落的主要菌群,与营养物质关系密切^[34],经常利用有机物分解产生的氨气、甲烷等物质^[35],富含有机物的城区排水系统可能为 Betaproteobacteria 提供了有利的生存条件.

3.2 环境影响因子

河流细菌群落受到气候、水文、营养物质、重金属污染等众多环境因子的影响^[36],不同河流自然地理条件的差异,以及采样方案与测试指标的差异使不同研究得到不同的环境影响因子(表 4).局部河段的单次采样不能反映水文气象条件变化,只能分析 C N P 浓度以及 pH 值等水化学指标对河流细菌群落的影响^[6,24,26];Savio 等^[21]和 Kolmakova 等^[22]对全河段的研究表明,沿河流上游至下游细菌群落结构经常发生规律性的变化,如多样性降低,优势菌群丰度变化等,与河水化学指标并没有显著关系,而是与河流本身的特性,如河水滞留时间、湿周等因素有关;按不同季节进行多次采样的研究^[7,29]则发现温度、降水量、河流补给来源等水文气象因素是河流细菌群落的主要影响因子.本次研究通过赣江南昌段丰水期

4 月-8 月的 5 次采样,发现温度和流量是影响河流细菌群落的主要因子,其中温度与最小的细菌分类单元 OTU 相关性更高,流量则与门分类水平细菌相关性更高.温度影响河流细菌的生长速度^[37]和运动能力^[38],影响河水中各种细菌的丰度;径流量的大小体现了河水补给来源和水文特性的改变,引起河水中优势细菌群落的变化^[7-8,21],如 5 月暴雨径流水样中 Firmicutes 取代 Actinobacteria 和 Proteobacteria 成为丰度最高的菌群.化学污染物一般会减小河流细菌群落多样性,或者导致可利用污染物的某些细菌群落丰度增加^[36],目前赣江水质相对较好,化学污染物不是影响细菌群落的主要影响因素.河水的化学指标,包括 EC, DOC, TP 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对细菌群落的影响小于温度、流量等水文气象条件(表 3 和图 5).

4 结论

4.1 赣江南昌段细菌优势类群为放线菌门(Actinobacteria, 41.18%) 和 变 形 菌 门(Proteobacteria, 31.79%), 其次为厚壁菌门(Firmicutes, 10.04%), 拟杆菌门(Bacteroidetes, 7.26%), 蓝藻菌门(Cyanobacteria, 4.01%). 在属分类水平上, 相对丰度最高的是 *hgcI* clade (16.39%), 其次为 CL500-29_marine_group (8.48%) 和 *Lactococcus* (7.89%). 在种分类水平上, 赣江水体存在大量未知类型细菌.

4.2 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. 绝大多数门水平分类细菌相对丰度在不同月份有显著差异, 只有 Proteobacteria 和 Verrucomicrobia 差异不显著; 不同采样点中, 只有 Proteobacteria 差异显著(主要是 Betaproteobacteria 差异显著), 其它门水平分类细菌相对丰度在不同采样点的差异均不显著.

4.3 温度和流量是河流细菌群落的主要影响因素, 其中温度与 OTU 相关性更高, 流量则与门分类水平细菌群落相关性更高, 暴雨径流中 Firmicutes 取代 Actinobacteria 和 Proteobacteria

成为丰度最高的菌群. 温度、流量和 EC 是影响 OTU 的最佳环境因子组合; 流量和温度是影响门水平细菌群落的最佳环境因子组合. 河水的化学指标对细菌群落的影响小于水文气象条件.

参考文献:

- [1] Cole J J, Prairie Y T, Caraco N F, et al. Plumbing the global carbon cycle: Integrating inland waters into the terrestrial carbon budget [J]. Ecosystems, 2007, 10(1): 172-185.
- [2] Findlay S. Stream microbial ecology [J]. Journal of the North American Benthological Society, 2010, 29(1): 170-181.
- [3] 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.
- [4] Caporaso J G, Lauber C L, Walters W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(Supplement 1): 4516-4522.
- [5] Staley C, Johnson D, Gould T J, et al. Frequencies of heavy metal resistance are associated with land cover type in the Upper Mississippi River [J]. Science of The Total Environment, 2015, 511: 461-468.
- [6] 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.
- [7] de Oliveira L F V, Margis R. The Source of the River as a Nursery for Microbial Diversity [J]. PLoS ONE, 2015, 10(3): e120608.
- [8] Read D S, Gweon H S, Bowes M J, et al. Catchment-scale biogeography of riverine bacterioplankton [J]. The ISME Journal, 2015, 9(2): 516-526.
- [9] Sun Z, Li G, Wang C, et al. Community dynamics of prokaryotic and eukaryotic microbes in an estuary reservoir [J]. Scientific Reports, 2014, 4: 6966.
- [10] 徐 超, 张军毅, 朱冰川, 等. 夏季太湖梅梁湾水体中细菌的群落结构 [J]. 环境监控与预警, 2015, 7(1): 37-40.
- [11] 孙寓姣, 陈 程, 丁爱中, 等. 官厅水库水质特征及水体微生物多样性的响应 [J]. 中国环境科学, 2015, 35(5): 1547-1553.
- [12] 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.
- [13] 徐刘凯, 王全金, 向速林, 等. 赣江下游地区各类非点源污染源的影响研究 [J]. 华东交通大学学报, 2012, 29(1): 48-53.
- [14] 张宝军, 朱蒙曼, 王 鹏, 等. 赣江流域水体中可溶态镉的时空分布特征及水质评价 [J]. 生态与农村环境学报, 2014, 30(4): 495-499.
- [15] 王毛兰, 周文斌, 胡春华. 赣江流域水体无机氮分布特征 [J]. 南昌大学学报(理科版), 2007, 31(3): 271-275.

- [16] 王 鹏,陈多多,陈 波.赣江水体氮磷营养盐分布特征与污染来源 [J]. 江西师范大学学报 (自然科学版), 2015,39(4):435-440.
- [17] 王毛兰,张丁苓,赖建平,等.鄱阳湖水体悬浮有机质碳氮同位素分布特征及来源探讨 [J]. 中国环境科学, 2014,34(9):2342-2350.
- [18] 王 鹏,齐述华,袁瑞强.赣江流域土地利用方式对无机氮的影响 [J]. 环境科学学报, 2015,35(3):826-835.
- [19] Dennis K L, Wang Y, Blatner N R, et al. Adenomatous polyps are driven by microbe-instigated focal inflammation and are controlled by IL-10-producing T cells [J]. Cancer Research, 2013,73(19):5905-5913.
- [20] Madsen E L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2011,22(3):456-464.
- [21] Savio D, Sinclair L, Ijaz U Z, et al. Bacterial diversity along a 2600km river continuum [J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(12):4994-5007.
- [22] Kolmakova O V, Gladyshev M I, Rozanov A S, et al. Spatial biodiversity of bacteria along the largest Arctic river determined by next-generation sequencing [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014,89(2):442-450.
- [23] Jeon E M, Kim H J, Jung K, et al. Impact of Asian dust events on airborne bacterial community assessed by molecular analyses [J]. Atmospheric Environment, 2011,45(25):4313-4321.
- [24] Xia N, Xia X, Liu T, et al. Characteristics of bacterial community in the water and surface sediment of the Yellow River, China, the largest turbid river in the world [J]. Journal of Soils and Sediments, 2014,14(11):1894-1904.
- [25] 丁 程,常玉梅,杨 琦,等.我国东北典型河流冰封期细菌多样性的研究——以松花江为例 [J]. 环境科学学报, 2012,32(6): 1415-1423.
- [26] Liu Z, Huang S, Sun G, et al. Phylogenetic diversity, composition and distribution of bacterioplankton community in the Dongjiang River, China [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012,80(1):30-44.
- [27] Bai Y, Qi W, Liang J, et al. Using high-throughput sequencing to assess the impacts of treated and untreated wastewater discharge on prokaryotic communities in an urban river [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014,98(4):1841-1851.
- [28] 胡安谊,李姜维,杨晓永,等.宁波三江口水域原核生物群落结构分析 [J]. 环境科学, 2015,36(7):2487-2495.
- [29] Staley C, Gould T J, Wang P, et al. Species sorting and seasonal dynamics primarily shape bacterial communities in the Upper Mississippi River [J]. Science of the Total Environment, 2015, 505:435-445.
- [30] Vannote R L, Minshall G W, Cummins K W, et al. The river continuum concept [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1980,37(1):130-137.
- [31] Jeong J, Park H, Lee K, et al. Microbial community analysis and identification of alternative host-specific fecal indicators in fecal and river water samples using pyrosequencing [J]. The Journal of Microbiology, 2011,49(4):585-594.
- [32] Bäckhed F, Ley R E, Sonnenburg J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine [J]. Science, 2005,307(5717): 1915-1920.
- [33] Shanks O C, Newton R J, Kelty C A, et al. Comparison of the Microbial Community Structures of Untreated Wastewaters from Different Geographic Locales [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013,79(9):2906-2913.
- [34] Newton R J, Bootsma M J, Morrison H G, et al. A microbial signature approach to identify fecal pollution in the waters off an urbanized coast of lake Michigan [J]. Microbial Ecology, 2013, 65(4):1011-1023.
- [35] Madigan M T, Martinko J M, Parker J, et al. Biology of microorganisms [M]. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1997.
- [36] Ricciardi F, Bonnineau C, Faggiano L, et al. Is chemical contamination linked to the diversity of biological communities in rivers? [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2009,28(5): 592-602.
- [37] Sieburth J M. Seasonal selection of estuarine bacteria by water temperature [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1967,1(1):98-121.
- [38] Mccaulou D R, Bales R C, Arnold R G. Effect of temperature-controlled motility on transport of bacteria and microspheres through saturated sediment [J]. Water Resources Research, 1995, 31(2):271-280.

作者简介: 王 鹏(1982-),男,山东济宁人,副教授,博士,主要从事鄱阳湖流域水环境研究.发表论文 10 余篇.