

DOI: 10.5846/stxb201404210791

马栋山, 郭羿宏, 张琼琼, 郭道宇. 再生水补水对河道底泥细菌群落结构影响研究. 生态学报, 2015, 35(20): - .

Ma D S, Guo Y H, Zhang Q Q, Guo X Y. Influence of reclaimed water on the bacterial community structure of sediment from an urban river. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(20): - .

再生水补水对河道底泥细菌群落结构影响研究

马栋山^{1,2}, 郭羿宏^{1,2}, 张琼琼^{1,2}, 郭道宇^{1,2,*}

1 首都师范大学资源环境与旅游学院, 北京 100048

2 北京市城市环境过程与数字模拟重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 北京 100048

摘要:以北京市永定河麻峪湿地再生水补水口附近河道底泥为研究对象,应用末端限制性片段长度多态性(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)技术探究再生水补水口附近底泥细菌群落结构的差异特征以及环境因子所产生的影响,并借助典范对应分析(Canonical Correspondence Analysis, CCA)方法分析麻峪湿地底泥细菌群落结构空间差异特征的形成原因。分析结果表明:河道底泥微生物群落对再生水的净化主要发生在距补水口 1200m 的范围内,随着再生水与上游来水径向混合净化渐变过程,在补水口 2000m 处河道底泥微生物群落结构与河道再生水补水口上游趋于相似。基于样点聚类结果的群落结构多样性分析表明随着再生水净化过程的实现微生物综合多样性指数呈现下降的趋势,从均匀度指数的变化趋势看,再生水补水口具有最高均匀度指数,补水口下游 1200 米处由于非优势菌群所占相对丰度最低以及偶见菌群缺失,导致群落结构比较单一、群落多样性和均匀度指数都最低。CCA 方面分析结果表明再生水补水口上游细菌群落与因累积效应形成的重金属有密切关系,补水口出口底泥细菌群落则主要受到总磷和总有机碳的影响较大,而再生水补水与上游来水汇水径向渐变过程可能与氨氮净化具密切关系。研究区的主要优势菌种为假单胞菌属、贪食菌属和芽孢杆菌属,是与再生水中有有机碳、氮降解具有密切关系的菌属。

关键词:再生水; 细菌群落多样性; 末端限制性片段长度多态性分析; 典范对应分析

Influence of reclaimed water on the bacterial community structure of sediment from an urban river

MA Dongshan^{1,2}, GUO YiHong^{1,2}, ZHANG Qiongqiong^{1,2}, GUO Xiaoyu^{1,2,*}

1 College of Resources Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048, China

2 Beijing Municipal Key Laboratory of Resources Environment and GIS, Beijing 100048, China

Abstract: We investigated changes in bacterial community structure and diversity in urban river sediment in a Mayu wetland upon addition of reclaimed water. We employed a range of analytic procedures, including terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), hierarchical clustering, the diversity index, and canonical correspondence analysis (CCA), to provide a general framework for the estimation and statistical testing of effects on local biological communities. As expected, our results showed that water purification occurred over the 1200 m range downstream of the reclaimed water outfall. The bacterial community structure found in sediment beyond 2000 m downstream of the outfall was similar to that of sediment found upstream. Shannon-Wiener index values declined from the outfall to 1200 m downstream, along the area of reclaimed water purification. This was consistent with the observed decline in the evenness index, which was at a maximum at the outfall and reached its minimum value at the 1200 m point, a section characterized by the lowest

基金项目:国家自然科学基金(40901281);北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201310028012); the International S&T Cooperation Program of China (2014DFA21620)

收稿日期:2014-04-21; 网络出版日期:2014-12-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiaoyucnu@126.com

proportions of non-dominant bacteria and a lack of rare bacteria. In contrast, CCA results revealed a close relationship between the bacterial community in the upstream sample and the accumulation of heavy metals. The bacterial community at the outfall was mainly influenced by total phosphorus and organic carbon, suggesting a crucial role for the biological purification of ammonia during mixing of reclaimed water and upstream river water. In addition, we found that the major genera occurring in the studied areas (*Pseudomonas*, *Variovorax*, *Streptomyces*, and *Bacillus*) were implicated in the biodegradation of organic carbon and nitrogen in reclaimed water.

Key Words: reclaimed water; bacterial community diversity; T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism); CCA(Canonical Correspondence Analysis)

再生水作为一种稳定的再生水源,在缓解北京市水资源供需矛盾、减轻水环境污染方面发挥重要作用。然而再生水水质特性决定了其必然会改变河道生态水文过程和污染物迁移运转,进而通过河道垂向渗漏过程影响周边地下水水质特性和污染物迁移运转。城市河道具有良好的环境污染修复能力,能有效消除水体氮、磷、各种有机物质^[1-2]。河道水质特别是营养物和污染物的变化将显著影响湿地生态系统微生物群落结构与功能^[3]。外源污染物稀释、迁移、转化和降解过程伴随着适应性微生物激活及非适应性微生物抑制的过程^[4],尤其是水域生态系统的硝化和反硝化空间耦合关系通常发生在河道中能提供不同氧浓度梯度的底水-饱水沉积物中好氧和厌氧界面^[5],因而在河道水质净化及其河道-地下水渗漏系统中污染物修复方面发挥重要作用。基于此分析再生水接纳河道中底泥细菌群落结构的变异,解析导致微生物群落结构空间变异的主要环境要素,揭示对关键环境要素起降解作用的优势菌属,为北京市河道再生水补水的利用提供科学合理的依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

麻峪湿地净化系统地处北京市西部,属于门头沟永定河段,于2011年建成。该地段位于五里坨和广宁村之间,研究全长2600m。麻峪湿地设有门城污水处理厂,位于北京市门头沟区永定河门城镇段西侧,占地10500m²。该污水处理厂日处理能力为40000m³。污水处理工艺主要包括预处理、生物处理、污泥处理和除臭工艺四部分,确保处理后的水质达到国家二级排放标准。除臭工艺是在北京市污水处理领域中首次采取,较好地解决了厂区附近区域内大气受到污染的问题,其出水排入麻峪湿地。

1.2 样品采集及理化指标分析

本研究于2012年10月采集麻峪湿地河道河岸带底泥样品,依据《永定河生态功能区划》,采样点分别布设在中门寺沟和高井排洪渠补水口附近湿地、补水口上游湿地以及补水口下游湿地。具体采样点包括:取补水口上游300m处点位MK、MK1、MK2,补水断面有中门寺沟补水口MB、MP1,高井沟排洪渠补水口MP2, MH为距离补水口下游1200m处混合断面, MJ为距补水口下游2000m处净化断面。具体位置见图1。每一个采

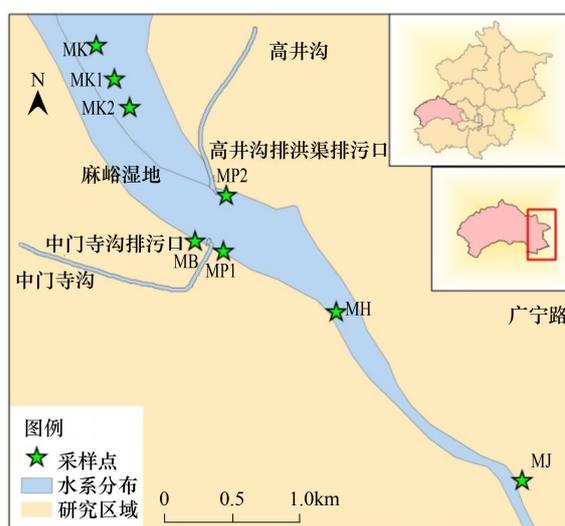


图1 北京市麻峪湿地采样点分布图

Fig. 1 The distribution map of sample sites in Beijing Ma Yu wetland

式中 MB、MP1、MP2 为再生水补水口, MK、MK1 和 MK2 为再生水补水口上游 300m 样点, MH 为补水口下游 800m 处样点, MJ 为再生水补水口下游 2000m 采样点

样点沿河道横断面从中间到两岸均匀采集 5 个平行样,采样深度距离河底 20cm 处,每个样点采集约 500g 底泥,置于干净密封的聚四氟乙烯塑料袋中,低温储藏带回实验室进行分析处理,并对样品进行编号。每个样点 5 个平行样共计 2500g 土壤搅拌混匀提取约 500g 作为一个样方并重新编号。编号后的样品分两部分,其中一部分进行常规理化指标分析,总氮(TN)的测定采用凯氏定氮法(GB/T11894-1989),总磷(TP)的测定采用碱熔—钼锑抗分光光度法(HJ632-2011)、总有机碳(TOC)采用重铬酸钾氧化—分光光度法(HJ615/2011)测定,铵态氮采用 2mol/L KCl 浸提—靛酚蓝比色法测,ORP(Oxidation-Reduction Potential)采用 ORP 仪直接测量,重金属采用原子吸收光谱法来测定,具体测定结果见表 1。剩余底泥样品于-4℃下保存,用于微生物群落结构分析。

表 1 麻峪湿地底泥的理化性质

Table 1 Sediment physicochemical properties at sampling in Ma Yu wetland

参数(Parameter)	MK1	MK2	MK	MP1	MP2	MH	MJ	MB
总氮 TN Total Nitrogen/(g/kg)	29.38	15.45	9.91	11.57	13.58	11.73	12.07	17.48
总磷 TP Total Phosphorus/(mg/kg)	19.34	11.91	13.41	17.17	26.47	11.79	11.21	42.11
氧化还原电位 ORP Oxidation-Reduction Potential/mV	-47.10	61.90	-29.50	-80.90	-71.40	32.40	11.40	-90.30
总有机碳 TOC Total Organic Carbon/(mg/kg)	0.61	4.57	2.62	0.99	5.01	1.63	0.48	5.55
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N Ammoniacal Nitrogen/(mg/kg)	3.70	8.25	17.00	5.75	19.61	24.66	0.69	2.94
Ti/(μg/kg)	7.03	7.48	8.18	0.17	8.26	6.98	8.69	5.11
Cr/(μg/kg)	0.18	0.14	0.20	0.08	0.19	0.12	0.19	0.20
Mn/(μg/kg)	1.39	1.25	1.15	0.02	0.89	0.79	1.15	1.83
Fe/(μg/kg)	50.84	48.31	60.10	1.43	58.51	48.11	60.86	52.92
Ni/(μg/kg)	0.06	0.07	0.08	0.00	0.08	0.04	0.08	0.05
Cu/(μg/kg)	0.04	0.04	0.04	0.01	0.10	0.02	0.04	0.05
Zn(μg/kg)	1.69	0.26	0.20	0.00	0.61	0.73	1.53	0.32
Cd/(μg/kg)	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
Pb/(μg/kg)	0.07	0.02	0.02	0.01	0.05	0.01	0.05	0.03
V/(μg/kg)	0.16	0.15	0.18	0.00	0.17	0.15	0.19	0.16

1.3 基于 T-RFLP 的微生物群落结构分析

1.3.1 DNA 提取

采用土壤样品提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司)提取底泥样品总 DNA,操作步骤按照使用说明书进行。提取总 DNA 经 0.8%(m/V)琼脂糖凝胶电泳检测鉴定,提取的 DNA 放置于-20℃条件下保存备用。

1.3.2 PCR 扩增

PCR 技术依据史青应用 T-RFLP 技术分析滇池污染水体的细菌群落技术^[6]进行扩增。

1.3.3 末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)分析

分别采用 *Msp* I、*Afa* I、*Hae* III 对荧光 PCR 产物进行酶切。在 37℃ 下放置 3—5 h。然后在 65℃ 条件下温浴 15 min 使酶失活。随后将酶切产物送至天根生物技术有限公司进行基因扫描(GeneScan),得到 T-RFLP 图谱。

1.3.4 数据处理与分析

T-RFLP 谱图用 Peak Scanner 进行分析。舍去小于 50 bp 和大于 500 bp 的片段。对于细菌,由于相对数量过小的限制性末端片段(T-RFs)不会对群落的特性产生明显的影响^[7-9]。故在本分析中舍去了相对数量<1%的 T-RFs,然后分别计算图谱中每一个峰的峰面积与所有峰总面积的比值,将每个 T-RF 所占的百分比作为权重导入 Primer 软件,聚类方法选择组间平均距离法,距离选择平方欧氏距离,做出聚类分析图。借助

PRIMER 和 Excel2007 软件,以麻峪湿地的 8 个底泥样品的 111 个 T-RFs 类型的相对峰面积为原始矩阵,借助 PRIMER 软件实现样点的聚类,同时计算细菌群落物种的综合多样性指数(Shannon-weaver index)、物种丰富度指数(Margale index)和均匀度指数(evenness index),分析底泥细菌群落多样性的空间差异。借助 CanoDraw for Windows 和 Excel2007 软件对环境因子和样方进行排序分析。以 8 个样本中细菌菌群的相对丰度组成的物种矩阵和 15 种环境参数组成的环境变量矩阵为基础数据,进行 DCA(Detrended correspondence analysis)排序,在 DCA 分析环境梯度轴长大于 4.0 的前提下,进而运用非线性的单峰排序方法 CCA(Canonical correspondence analysis),得到样方、物种、环境因子相互关系的二维排序图^[10]。Mica 对比是将 *Hae* III、*Msp* I、*Afa* I 3 种内切酶消化的 T-RFLP 图谱属性数据上传到 Phylogenetic Assignment Tool(PAT, <https://secure.limnology.wisc.edu/trflp/newuser.jsp>) 网站,并结合 Mica(<http://mica.ibest.uidaho.edu/pat.php>) 网站通过 Virtual Digest(ISPaR)模块产生的基础数据库对起主要作用 T-RFs 类型的系统发育分类进行推测,最终得出可能对应的种属。

2 结果与讨论

2.1 不同内切酶消化多样性比较

图 2 是对 8 个样品细菌 16S r DNA 的荧光引物 PCR 扩增产物经限制性内切酶 *Msp* I、

Hae III 和 *Afa* I 消化后的扫描图谱,该图谱总体呈现了降噪后不同 T-RFs 类型在不同酶切作用下细菌群落整体分布情况。同一个样品经 *Msp* I、*Hae* III 及 *Afa* I 三个不同的内切酶消化后,反映出的总 T-RFs 数和总峰面积具一定的差异,即 *Msp* I 和 *Hae* III 消化结果的多样性明显优于 *Afa* I,即利用内切酶 *Msp* I 和 *Hae* III 能够揭示更高的丰富度,但 *Afa* I 酶切扫描图谱多样性较低。基于此,后续的多元统计分析均以经内切酶 *Msp* I 和 *Hae* III 消化的 T-RFLP 图谱文件进行分析。

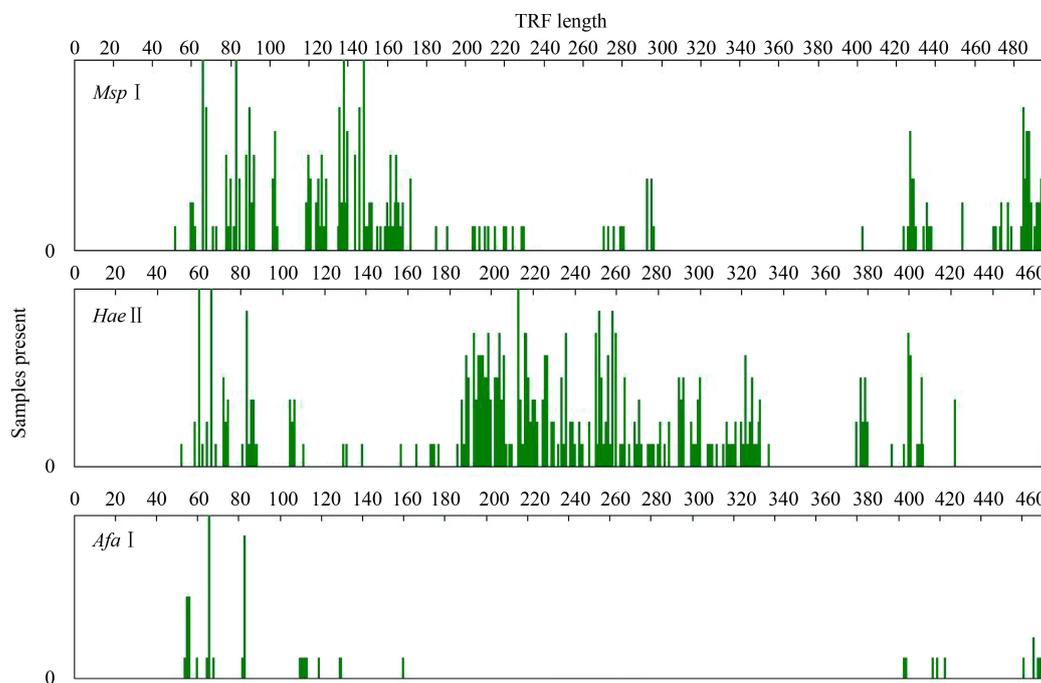


图 2 麻峪湿地底泥细菌经 *Msp* I、*Hae* III 及 *Afa* I 酶切的 T-RFs

Fig.2 T-RFs of Sediment bacteria with *Msp* I、*Hae* III and *Afa* I digestion in Ma Yu wetland

注:图 a、图 b、图 c 分别代表 *Msp* I、*Hae* III 及 *Afa* I 酶切的 T-RFs; 式中横坐标:端粒长度 TRF(Terminal Restriction Fragment) length,纵坐标:检测样品(Samples present)

2.2 基于 T-RFLP 谱图的聚类分析

把采集样品基于 T-RFLP 微生物群落结构分析的谱图进行预处理之后,采用 Primer 进行聚类分析,结果如图 3(a)所示。从图可以看出微生物群落结构在再生水河道补水口和上下游均发生较明显的变化。以相似性 53%为标准,将其划分为四大类,分别是:第 I 类:再生水河道补水口上游 300m 处 MK、MK1、MK2 样点和补水口下游 2000m 处的 MJ 样点;第 II 类:再生水补水口河道底泥 MP1、MP2 两个样点;第 III 类:距离再生水补水口河道底泥 1200m 的混合样点 MH;第 IV 类:再生水补水口底泥 MB 样点。从聚类结果可以看出,在距补水口下游 1200m 的范围内,河道底泥微生物群落组成发生了较大的改变,随着再生水与上游来水径向混合渐变净化过程,在补水口 2000m 处,河道底泥微生物群落结构与河道再生水补水口上游趋于相似。其次,位于再生水补水口底泥微生物群落结构与其他样点间变化存在较大差异,说明补水口附近底泥的生物物理化学过程显著区别于主河道底泥,需进一步结合微生物组成成分解析。为了分析基于 *Msp* I 酶切 T-RFLP 的稳定性,我们将 *Hae* III 酶切分析结果同样进行聚类分析,结果见图 3(b),从分析结果可以看出两个酶切结果具有相似的结论。

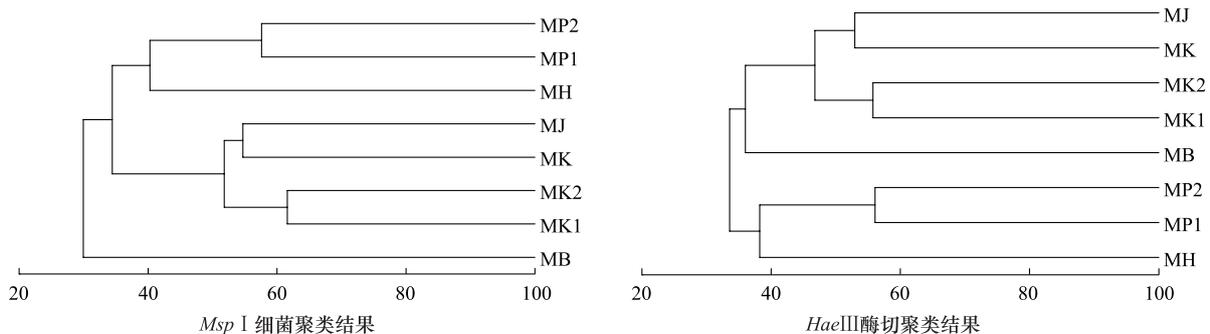


图 3 基于 T-RFLP 图谱的底泥细菌群落结构聚类分析

Fig.3 Dendrogram of hierarchical cluster analysis of Sediment bacteria based on the T-RFLP profiles

MK、MK1、MK2、MB、MP1、MP2、MH、MJ 分别代表经过 *Msp* I、*Hae* III 酶切的第 1—8 号样本,横坐标表示 8 个样品之间的相关系数,式中,a 代表 *Msp* I 细菌聚类结果;b 代表 *Hae* III 酶切聚类结果

2.3 基于聚类群落多样性结果的分析

根据聚类结果,我们计算了以 *Msp* I 为酶切的不同聚类中各片段的丰度,并定义 T-RFs 片段丰度值 >4% 的类型为优势菌群,而片段丰度值 <1% 的类型为偶见菌群,其余为非优势菌群^[11]。从表 2 可以看出,第 IV 类物种丰富度及综合多样性指数显著高于其他类,第 IV 类在群落结构上表现为最高偶见菌群丰度值及最高非优势菌群丰度值,以及优势菌群比其他类稍低的丰度值。究其原因细菌偶见菌群一般是伴随着环境扰动导致新物种的产生或者已存物种的消亡而出现,细菌优势菌群则是由于适应环境变化后在群落中发挥重要净化作用而存在的物种菌群,细菌群落在不断出现新物种和逐步适应新环境这两个过程中交替演变,从而使底泥能够更准确的反应长期富集于再生水补水口附近各类准持久性有机污染物和消毒副产物。除第 IV 类外,其它类综合多样性指数则呈现第 II 类 > 第 III 类 > 第 I 类的变化趋势,综合多样性指数的这种变化趋势表现为,再生水补水和上游来水汇水过程水质净化微生物生态过程相一致,即随着再生水净化过程的实现,微生物综合多样性指数呈现下降趋势。从均匀度指数的变化趋势看,第 II 类具有最高均匀度指数,原因是第 II 类的优势菌群、非优势菌群和偶见菌群的 T-RFs 数和相对丰度分布较为均匀,群落结构较为稳定,在再生水水质净化过程中发挥重要作用。而第 III 类则由于其具最高优势菌群数和最优势菌群相对丰度值,偶见菌群缺失,导致其群落结构比较单一,群落多样性和均匀度指数都最低。

2.4 基于 CCA 排序的群落结构变异的环境解释

运用典范对应分析(CCA)排序法,分析再生水补水对城市河道底泥细菌群落结构特征及其成因。在 CCA 排序图中,各划分因子用箭头表示,箭头连线的长短表示样方与因子相关性的大小,线越长,说明相关性

越大,反之则小。连线与排序轴的角度表明功能群划分因子与该排序轴相关性的大小(Pearson 相关),夹角越小,相关性越大。箭头所在象限表示功能群划分因子与排序轴的正负相关关系^[12],各椭圆形为所划分的各类功能群,圈内的字母为样方。根据各采样点分布特点,以 *Msp* I 酶切的 8 个样点和环境因子进行趋势对应分析(CCA),排序结果表明,CCA 排序图第一轴 AX1 和第二轴 AX2 的特征值累计占总特征值的 65.83%,置信度 $P=0.03$,排序图包含了大部分的信息,排序效果良好,结果见图 4(a)。

表 2 以 *Msp* I 为酶切的不同底泥细菌群落多样性分析

Table 2 Diversity of Bacterial Community in Different Groups Sediment Bacteria with *Msp* I

指数 Index	类别 Class	类别 Class			
		第Ⅳ类 Fourth calss	第Ⅱ类 Secondary class	第Ⅲ类 Third class	第Ⅰ类 First calss
末端限制性片段 T-RFs	优势菌群(Dominantbacteria)	4	7	7	5
Terminal restriction fragments	非优势菌群(Non-dominant bacteria)	21	18	11	18
	偶见菌群(Rare bacteria)	38	24	0	34
相对丰度 relative index (%)	优势菌群(Dominantbacteria)	33.7	48.7	67.8	45.9
	非优势菌群(Non-dominant bacteria)	46.9	36.3	32.2	37.7
	偶见菌群(Rare bacteria)	19.4	15	0	16.4
多样性指数 diversity index	综合多样性指数(Shannon-weaver index)	3.561	3.192	2.586	2.567
	物种丰富度(Margale index)	13.463	7.274	3.692	5.646
	均匀度指数(Evenness index)	0.859	0.903	0.835	0.856

第Ⅳ类、第Ⅱ类、第Ⅲ类和第Ⅰ类按照河道位置排序,其中,第Ⅰ类中包括再生水补水口下游和上游点位

麻峪湿地的八个采样点四大类在 CCA 轴上得到了很好的分化。总的来看与第一排序轴相关性最高的环境因子是 TN(0.9987),基于分类的各类型样点在 x 轴方向上从左到右表现为第Ⅱ类>第Ⅲ类>第Ⅰ类的变化趋势,这种变化趋势与综合多样性指数变化趋势一致,同时与再生水补水上游来水径向汇流过程相一致,环境因子及群落分布趋势联合分析表征再生水与上游来水水质净化过程中微生物净化主要体现在 TN 的变化过程。与第二排序轴相关性高的环境因子是 TP(0.9961)、ORP(0.72888)、TOC(0.6342),而在 y 轴方向上则表现为第Ⅳ类与其他群落类型之间的差异,指示第Ⅳ类底泥微生物净化过程主要以磷微生物地球化学过程为主,其次是 TOC 相关的生物化学过程为主,而氧化还原电位的改变是与磷、TOC 微生物地球化学过程紧密联系的重要环境因子。结合图 4(a)可知第Ⅳ类独立于其他菌群位于图右上方,表明其独特的微生物生态特征。第Ⅰ类与 Pb、Fe、V、Ni、Ti、Zn、Cd 等重金属具有较高相关性的结果则说明上游河流沿岸的生活污水、工业废水点源排放及农田径流非点源排放引发的重金属污染在自然营力作用下从水中沉淀下来^[13],进而对底泥细菌群落结构和种群数量的影响较大。对于第Ⅱ类和第Ⅲ类则与铵态氮有密切关系,说明再生水补水口与上游来水径向渐变过程可能与氨氮降解过程有关。对于第Ⅱ类和第Ⅲ类的细菌群落由于是处在补水口及其混合断面内,按照 Drury 等人的研究理论,铵态氮不会随着水流被冲向下游而逐步降解,反而是缓慢沉积在底泥中通过被吸附和固定的方式在土壤胶体表面和胶体晶格中保存下来^[14],因此在第Ⅱ和Ⅲ底泥样点中的菌群表现为与铵态氮存在着密切的关系。综合以上,再生水补水口出口底泥细菌群落则主要受到总磷的影响较大,相对再生水补水与上游来水汇水过程细菌群落则主要与氨氮的净化具密切关系。以 *Hae* III 酶切的 CCA 聚类图见图 4(b),由图可知,以 *Hae* III 酶切 CCA 聚类图和以 *Msp* I 酶切 CCA 聚类图具有相似的结果,在此不再赘述。

2.5 基于 Mica 对比的群落结构分析

通过 Virtual Digest(ISPARD)模块产生的基础数据库对起主要作用 T-RFs 类型的系统发育分类进行推测,其中有将近 20%暂不能确定,显示为非培养。另外,有个别的 T-RFs 类型在数据中无匹配。之后通过计算其细菌 T-RFs 的比例,以占据整个 T-RF 的 10%以上为优势菌种,筛选后结果见表 3。由表可知,第Ⅰ类中主要优势菌群为贪食菌属、芽孢杆菌属和链霉菌属。第Ⅱ中主要优势菌群为贪食菌属、芽孢杆菌属、葡萄球菌、肠

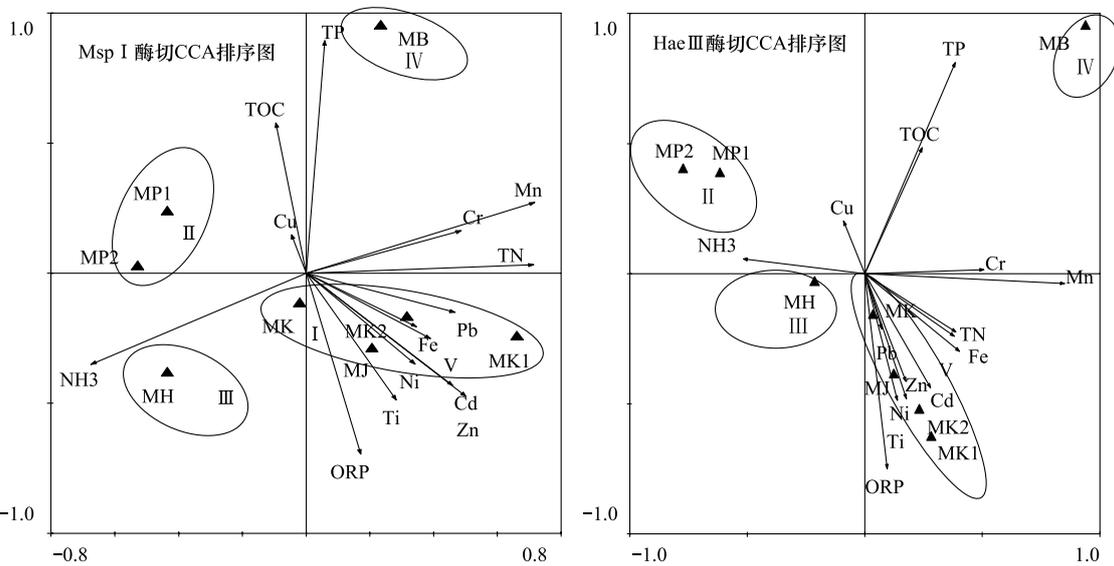


图 4 再生水补水河道地底泥采样点与环境因子的 CCA 排序图

Fig.4 CCA sequence diagram of the sample point and environmental factors on Reclaimed water in river sediment

杆菌、假单胞菌属和 *Geitlerinema* sp.; 第 III 类中主要优势菌群为假单胞菌属和 *Geitlerinema* sp.; 第 IV 类主要优势菌群为芽孢杆菌属和气单胞菌属。而贪食菌属和芽孢杆菌属是第 I 类和第 II 类共有的菌属, 葡萄球菌和肠杆菌是第 II 类特有的菌属, 气单胞菌属为第 IV 类独有的菌属, 假单胞菌属和 *Geitlerinema* sp. 属于第 II 类和第 III 类。

表 3 四大优势类对应的可能种属

Table 3 Four big advantage groups corresponding species

OTU 类型 (bp)			可能属 Possible Genus	类别 Class			
<i>Msp</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Afa</i> I		第 I 类 First calss	第 II 类 Secondary class	第 III 类 Third class	第 IV 类 Fourth calss
66	218	427	<i>Variovorax paradoxus</i>	√	√	—	—
	256	127	<i>Bacillus thuringiensis</i>	√	√	—	√
	226	454	<i>Streptomyces</i> sp.	√	—	—	—
	254	127	<i>Staphylococcus aureus</i>	—	√	—	—
	83	83	<i>Enterobacterium</i>	—	√	—	—
	66	128	<i>Aeromonassp.</i>	—	—	—	√
83	83	83	<i>Geitlerinema</i> sp.	—	√	√	—
488	83	83	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	—	√	√	—

在四大类中有无某种细菌有(√)无(—)

本研究中结合基于 T-RFLP 片段的 MiCA 比对, 结果表明假单胞菌属、贪食菌属、链霉菌属和芽孢杆菌属是与再生水水质净化具有密切关系的菌属。其中可反应再生水典型特征的第 IV 类包含芽孢杆菌属和气单胞菌属两类优势属, 有报道称气单胞菌在湿地系统氮、磷循环过程中起重要作用, 其生长受铵离子、氮、磷浓度影响明显^[15], 具有将 NO_3^- 转化为 NO_2^- 的能力^[16]。芽孢杆菌属可迅速降解包括鱼的排泄物、残余饲料、浮游藻类尸体和池底淤泥在内的有机物, 使之生成硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐等无机盐类, 从而降低水中 COD、BOD 的含量, 维持良好的水域生态环境^[17]。本研究中仅出现在第 IV 类中的气单胞菌属和在各菌群普遍存在的芽孢杆菌属说明再生水补水口附近底泥细菌受到磷浓度及有机物的影响较大, 这与 CCA 分析的与环境因子 TP、TOC 关系密切的结果保持一致。再生水与上游来水混合渐变过程中的第 II 类和第 III 类具共有优势菌属假单胞菌属和 *Geitlerinema* sp. 属。据文献可知假单胞菌属是一种有机污染中普遍存在的菌属, 可以利用包括单碳

在内的许多有机物作为自身的能量和碳源,以有机氮或无机氮为氮源进行化能营养生活^[18],而 *Geitlerinema* sp. 是专性属于底栖生物环境,隶属于蓝菌门 (*Cyanophyta*) 的颤藻目 (*Oscillatoriales*), 与水环境中氮的循环具有密切关系已得到普遍的认同^[19], 这与 CCA 分析中第 II 类和第 III 类与环境因子氮循环具有密切关系的结果保持一致。除假单胞菌属和 *Geitlerinema* sp. 属外, 贪食菌属、芽孢杆菌属、葡萄球菌属、肠杆菌属同样为第 II 类优势菌属, 其中贪食菌属与 *Variovorax paradoxus* 密切的关系, 且仅出现于与再生水干扰强度较高的第 I 类和第 II 类中, 文献表明 *Variovorax paradoxus* 在降低毒性等方面发挥重要作用, 与 CCA 分析中第 I 类与重金属生物循环具密切关系的结果相一致^[20]。

3 结论

(1) 污水处理厂的再生水直接影响到麻峪湿地微生物群落结构的变化以及微生物群落组成, 再生水补水口下游 1200 米内河道底泥微生物群落对再生水产生净化作用, 在补水口 2000m 处, 河道底泥微生物群落结构与河道再生水补水口上游趋于相似。

(2) 再生水补水口出口底泥细菌群落则主要受到立地生境中总磷浓度的影响较大, 相对再生水补水与上游来水汇水过程中细菌群落则主要与氨氮的净化过程具密切关系。

(3) 假单胞菌属和 *Geitlerinema* 作为河道底泥净化过程中的优势菌属表明再生水补水与上游来水混合的径向渐变过程中菌群主要与有机物和氮的降解具密切关系; 气单胞菌出现在中门寺补水口说明其附近底泥细菌群落结构的变化受到磷浓度的影响较大; *Variovorax paradoxus* 可能在降低环境中的重金属毒性方面发挥重要作用。

参考文献 (References):

- [1] 赵阳国, 任南琪, 王爱杰, 万春黎. 有机污染物对水体真细菌群落结构的影响. 微生物学报, 2007, 47(2):313-318.
- [2] Thurston J A, Foster K E, Karpiscak M M. Fate of indicator microorganisms, giardia and cryptosporidium in subsurface flow constructed wetlands. Water Research, 2001, 35(6):1547-1551.
- [3] Wassen M J, Barendregt A. Topographic position and water chemistry of fens in a Dutch river plain. Journal of Vegetation Science, 1992, 3(4):447-456.
- [4] 王莹. 污染河流中微生物群落结构的空变化解析 [D]. 吉林: 东北师范大学, 2008.
- [5] Seitzinger S, Harrison J A, Böhlke J K, Bouwman A F, Lowrance R, Peterson B, Tobias C, Van Drecht G. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. Ecological Applications, 2006, 16(6):2064-2090.
- [6] 史青, 柏耀辉, 李宗逊, 冯传平, 温东辉. 应用 T-RFLP 技术分析滇池污染水体的细菌群落. 环境科学, 2011, 32(6):1786-1792.
- [7] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, Forney L J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(11):4516-4522.
- [8] Mayrand P E, Corcoran K P, Ziegler J S, Robertson J M, Hoff L B, Kronick M N. The use of fluorescence detection and internal lane standards to size PCR products automatically. Applied and Theoretical Electrophoresis, 1992, 3(1):1-11.
- [9] Ziegler J S, Su Y, Corcoran K P, Nie L, Eric Mayrand P, Hoff L B, McBride L, Kronick M N, Diehl S R. Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. Genomics, 1992, 14(4):1026-1031.
- [10] 熊薇, 郭道宇, 赵霏. 湿地芦苇根结合好气细菌群落时空分布及其与水质因子的关系. 生态学报, 2013, 33(5):1443-1455.
- [11] Zhang R, Thiyagarajan V, Qian P Y. Evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism analysis in contrasting marine environments. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 65(1):169-178.
- [12] 邓福英, 臧润国. 海南岛热带山地雨林天然次生林的功能群划分. 生态学报, 2007, 27(8):3240-3249.
- [13] 陈明, 刘晓端, 魏连伟, 陈鸿汉, 张玲金, 王羽虹, 林剑. 永定河上游水体与底泥中污染物的分布规律. 岩矿测试, 2001, 20(2):131-135, 141-141.
- [14] Beauchamp E G, Drury C F. Ammonium fixation, release, nitrification and immobilization in high- and low-fixing soils. Soil Science Society of America Journal, 1991, 55(1):125-129.
- [15] Miñana-Galbis D, Farfán M C, Fusté M C, Lorén J G. *Aeromonas bivalvium* sp. nov., isolated from bivalve molluscs. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(3):582-587.

- [16] Pianetti A, Bruscolini F, Rocchi M B L, Sabatini L, Citterio B. Influence of different concentrations of nitrogen and phosphorous on *Aeromonas* spp. growth. *Igiene E Sanità Pubblica*, 2006, 62(6):609-622.
- [17] Fu T X, Wei K J, Xu G H. The research and application of bacillus in aquaculture. *Reservoir Fisheries*, 2007, 27(3):102-104. (未找到相关链接)
- [18] Moore E R B, Tindall B J, Martins Dos Santos V A P, Pieper D H, Ramos J L, Palleroni N J. Nonmedical:*Pseudomonas*. *The Prokaryotes* 2006, 6:646-703.
- [19] Andrianasolo E H, Goeger D, Gerwick W H. Mitsoamide: A cytotoxic linear lipopeptide from the Madagascar marine cyanobacterium *Geitlerinema* sp. *Pure and Applied Chemistry*, 2007, 79(4):593-602.
- [20] Abou-Shanab R A I, van Berkum P, Angle J S. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*, 2007, 68(2):360-367.