

文章编号:1672-3961(2024)03-0160-11

DOI:10.6040/j.issn.1672-3961.0.2024.052

河流水质对浮游细菌和致病菌群落的影响

郝婕^{1,2}, 张梦汝¹, 张子璇¹, 王洵³, 刘胜¹, 周维芝^{1*}

(1.山东大学土建与水利学院, 山东 济南 250061; 2.山东大学环境科学与工程学院, 山东 青岛 266237; 3.河海大学环境学院, 江苏 南京 210098)

摘要:针对浮游细菌和致病菌对河流水质的差异化响应问题,以人类干扰较少的怒江干流河段为研究对象,利用16S rRNA高通量测序技术分析了对河流主要水质因子对水体中浮游细菌、致病菌群落结构及功能的影响。研究表明,怒江干流河段水质整体较好,其中氨氮浓度与总磷浓度分别达到地表水Ⅲ类、Ⅱ类的水质标准。黄杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属是怒江浮游细菌的优势菌属,其中不动杆菌和假单胞菌作为潜在致病菌具有较高的相对丰度。冗余分析表明,pH对浮游细菌和致病菌群落结构和功能的影响显著。结合氮代谢功能基因预测表明,较高浓度的氮和硅酸盐显著提升了致病菌的丰度,控制氮和硅酸盐的排放可降低水体致病菌富集。本研究揭示了河流中浮游细菌和致病菌对水质的差异化响应,对掌握河流浮游细菌群落变化特征及致病菌风险具有重要意义。

关键词:水质;浮游细菌;致病菌;怒江;高通量测序**中图分类号:**X522 **文献标志码:**A**引用格式:**郝婕,张梦汝,张子璇,等.河流水质对浮游细菌和致病菌群落的影响[J].山东大学学报(工学版),2024,54(3):160-170.

HAO Jie, ZHANG Mengru, ZHANG Zixuan, et al. Effects of river water quality on bacterioplankton and pathogens communities[J]. Journal of Shandong University (Engineering Science), 2024, 54(3):160-170.

Effects of river water quality on bacterioplankton and pathogens communities

HAO Jie^{1,2}, ZHANG Mengru¹, ZHANG Zixuan¹, WANG Xun³, LIU Sheng¹, ZHOU Weizhi^{1*}

(1. School of Civil Engineering, Shandong University, Jinan 250061, Shandong, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Shandong University, Qingdao 266237, Shandong, China; 3. College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, Jiangsu, China)

Abstract: Aiming at the differential response of bacterioplankton and pathogens to river water quality, the reach of the main stream of the Nujiang River with less human interference was selected as the research area. 16S rRNA high-throughput sequencing technology was used to analyze the effects of main water quality factors on the community structure and function of bacterioplankton and pathogens. The results showed that the water quality of the main stream of the Nujiang River was generally good, and the concentration of ammonia nitrogen and total phosphorus reached the standard of Class III and Class II respectively. *Flavobacterium*, *Acinetobacter* and *Pseudomonas* were the dominant bacterial genera in the Nujiang River. The potential pathogens *Acinetobacter* and *Pseudomonas* were relatively abundant. Redundancy analysis (RDA) showed that pH had a significant effect on the community structure and function of bacterioplankton and pathogens. Combined with the gene prediction of nitrogen metabolism function, the abundance of pathogens was increased by higher concentrations of nitrogen and silicate, so controlling the emission of nitrogen and silicate could reduce the enrichment of pathogens in water. This study revealed the differential response of bacterioplankton and pathogens to water quality in rivers, which was of great significance for understanding the characteristics of plankton community changes and the risk of pathogens in rivers.

Keywords: water quality; bacterioplankton; pathogens; Nujiang River; high throughput sequencing

收稿日期:2024-03-11

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2022YFC2807503);山东省自然科学基金资助项目(ZR2023QD028,ZR2023QE180)

第一作者简介:郝婕(1998—),女,河北石家庄人,硕士研究生,主要研究方向为流域水环境保护。E-mail:nyjie@163.com

*通信作者简介:周维芝(1970—),女,山东济南人,教授,博士生导师,博士,主要研究方向为污水处理。E-mail:wzzhou@sdu.edu.cn

0 引言

由浮游细菌构成的浮游细菌群落是水生态系统的重要组成部分,参与水生食物网并促进生物地球化学过程^[1],由于其结构多样性和功能复杂性,在维持河流生态健康与稳定方面扮演着至关重要的角色。浮游细菌群落具有种类丰富、功能多样和环境响应迅速等特点^[2],影响着河流生态系统的稳定性。在污染物降解、营养物的循环和能量流动方面,浮游细菌能够通过硝化、反硝化、氮同化等代谢过程去除氮污染物^[3]、溶解无机磷^[4]、介导可溶性有机碳转化、甲醇氧化^[5]等,对促进营养物质循环利用、水质净化具有重要作用。致病菌作为浮游细菌群落的重要组成部分,对人类健康构成威胁。据报道,仅水传性的人类致病菌就有一百多种^[6],不同种类的致病菌可以通过皮肤接触、气溶胶吸入等多种方式感染人体,引发腹泻、肺炎、伤口化脓等疾病^[7]。因此研究河流中的浮游细菌群落结构并识别其中的致病菌,对河流生态环境调控和保护人类健康具有重要意义。

水质变化能够对浮游细菌的组成和结构产生影响。例如,高锰酸盐指数、化学需氧量和溶解氧是显著影响赤水河浮游细菌分布的水质因子,水温、溶解氧、氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)浓度、硝氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)浓度、pH等显著影响了南昌城市湖泊的浮游细菌群落结构^[8]。目前,对于河流浮游细菌结构特征的研究发现,土地利用^[9]、城市河流中营养物质浓度变化^[10]和新型有机污染物排放^[11]等人类活动显著影响浮游细菌群落的结构。致病菌的结构同样受到水质因子的影响,文献^[12]在对河流氮污染溯源的过程中发现,致病菌结核分枝杆菌丰度与河流氮污染程度高度匹配。怒江是我国西南地区的重要河流,随着三江并流区域成功申报世界自然遗产,怒江流域成为世人瞩目的生态旅游目的地,对生态环境的有效保护紧密关联着当地居民和游客的健康。目前研究尚未掌握浮游细菌和致病菌的群落特征以及二者对水质因子的差异化响应,因此仍需进一步研究影响河流浮游细菌和致病菌的关键因子。本研究基于16S核糖体RNA(16S rRNA)基因高通量测序技术及生物信息学研究方法,对怒江由上游至下游不同区域的浮游细菌和致病菌的群落组成及其关键影响因子进行了研究,研究结果对怒江流域河流生态环境的调控具有重要参考意义;同时致病菌的研究为怒江开展水上活动,保障人类健康和

生态安全提供微生物方面的数据支持。

1 材料与方法

1.1 研究区概况和采样点分布

怒江是我国西南地区重要的河流,本研究在怒江沿线设置了W1~W7共7个具有代表性的采样点,位于云南省,具体位置信息如表1所示。采样点W1和W2为自然区域;W3是乡镇居民区,周围有加油站、小学和农家乐,为受居民影响区域;W4为受村镇影响地区;W5上方为腊玛登景区,为受景区影响区域;W6旁有畜牧公司,为受畜牧影响区域;W7周围存在沙石加工厂,为受沙石加工厂影响区域。

表1 采样点位置

Table 1 The location of the sampling point			
序号	采样点	经度	纬度
1	W1	98°21'34.66"	28°38'39.1"
2	W2	98°28'37.23"	28°12'46.71"
3	W3	98°40'31.76"	27°53'23.99"
4	W4	98°52'26.76"	27°8'27.43"
5	W5	98°52'5.31"	26°17'28.93"
6	W6	98°53'25.52"	25°31'49.33"
7	W7	98°54'16.14"	24°10'43.68"

1.2 样品采集

2021年3月进行样品采集,使用Ruttner采样器(Hydro-Bios, Altenholz, 德国)在水深约30 cm处采集水样,每个采样点采集3个2 L水样,以采样点W1为例,水样编号为W1-1、W1-2、W1-3。现场使用多参数水质分析仪(HQ40d, Hach, Loveland, CO, USA)测量电导率、pH、水温、溶解氧和氧化还原电位。将样品低温保存运至实验室进行后续分析。

1.3 测定水质理化指标

参照《水和废水监测分析方法(第四版)》测定水样氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、亚硝氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)、总氮、磷酸盐(PO_4^{3-})、总磷等指标的质量浓度。参照标准《化学试剂硅酸盐测定通用方法(GB/T9742—2008)》硅钼蓝分光光度法测定硅酸盐(SiO_4^{2-})浓度。

1.4 浮游细菌总DNA提取和16S rRNA基因PCR扩增

将1.5 L水样经0.22 μm 孔径聚碳酸酯过滤器(直径47 mm, Millipore, Burlington, MA, USA)进行真空过滤,过滤后滤膜使用PowerWater DNA提取试剂盒(MO Bio, Carlsbad, CA, USA)提取浮游细菌总DNA。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性和纯度,并利用Nano Drop分光光度计(Termo Scientific, DE, USA),采用分光光度法测定DNA的纯度和浓度。采用通用引物515F(5'-

GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增浮游细菌 16S rRNA 基因的 V4 可变区。利用聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 对每份 DNA 样品进行一式三份扩增, 其扩增条件为: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 72 °C 终延伸 10 min。在测序之前, 使用 E.Z. N.A. 凝胶提取试剂盒 (Omega, USA) 纯化扩增子。

1.5 高通量测序和生物信息学分析

将合格的 PCR 产物送至广东美格基因科技有限公司使用 Illumina Hiseq 2000 平台完成高通量测序。高质量的 reads 被裂解成 245~260 bp 长度的片段, 然后聚类成识别率 97% 的操作分类单位

(operational taxonomic unit, OTU)。使用核糖体数据库项目分类器对 OTU 进行分类分配^[13]。基于美格云分析平台分析浮游细菌群落和致病菌种群的物种组成, 采用非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析浮游细菌群落和致病菌种群的 β 多样性。通过冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 方法分析水质特征对浮游细菌群落和致病菌种群的影响。

2 结果与分析

2.1 怒江水质因子分布特征

怒江的水质因子分布特征如图 1 所示。

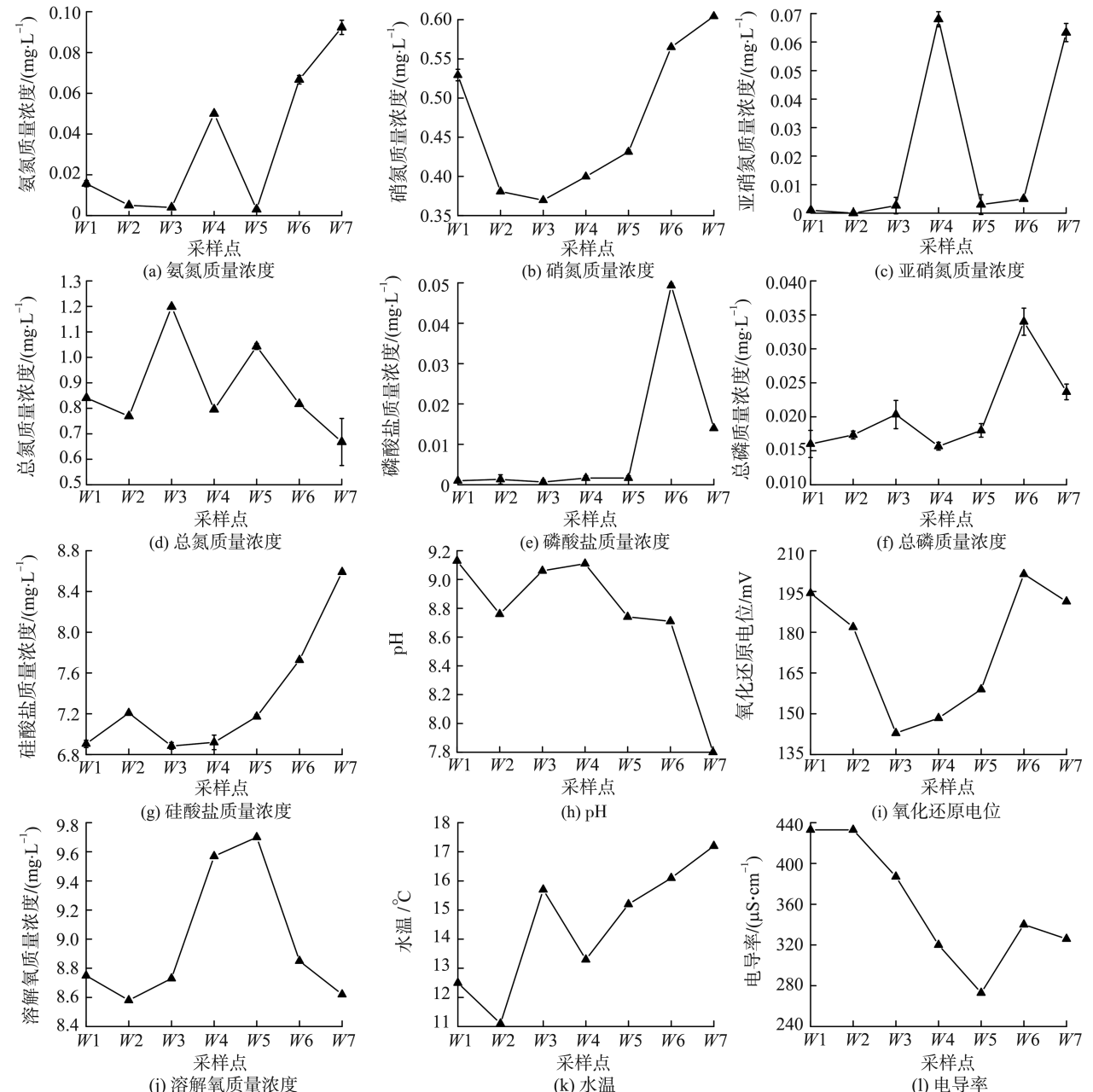


图 1 怒江水体水质因子沿程分布特征

Fig.1 Distribution characteristics of water quality factors along the Nujiang River

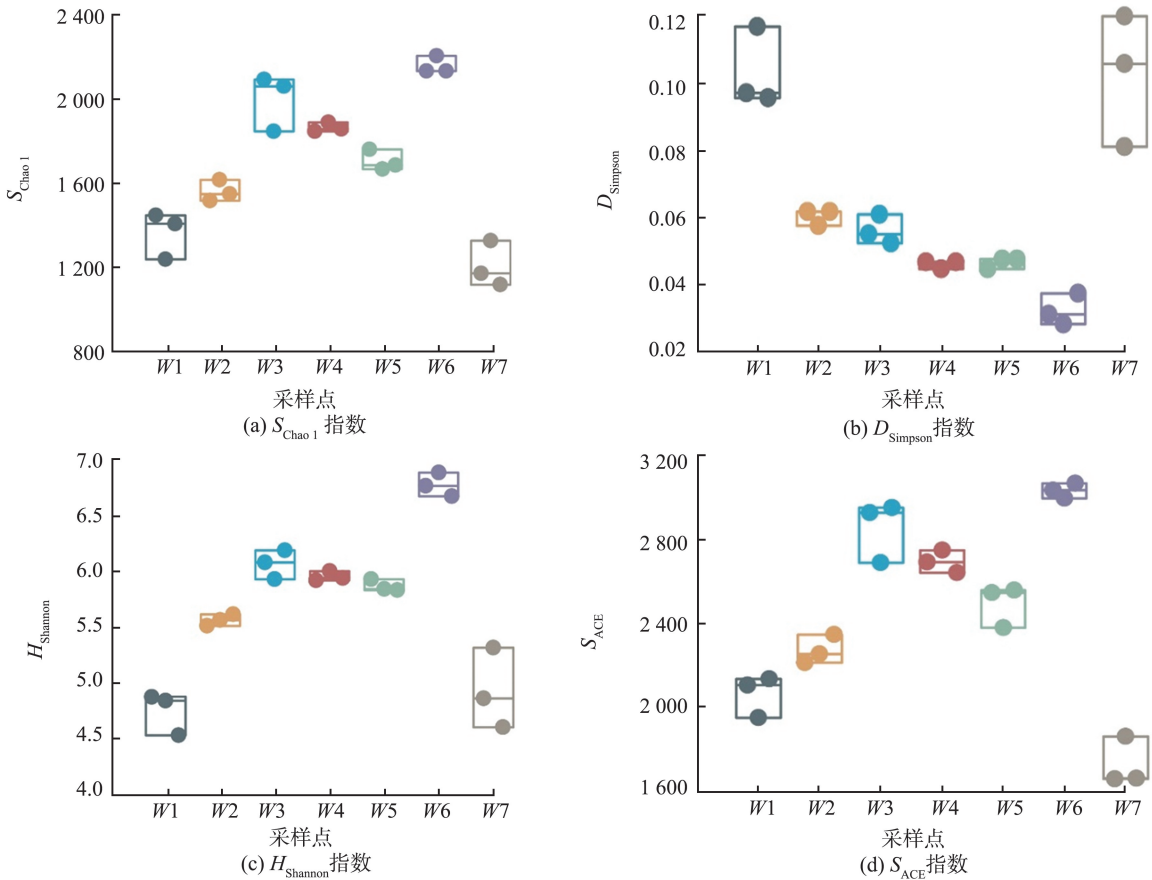
氨氮、硝氮、总氮的平均质量浓度分别为 0.004~0.092、0.367~0.604、0.668~1.199 mg/L,其中氨氮质量浓度在 W7 最高,在 W6 和 W4 点次之,且 W4 点氨氮均高于上下游点,这 3 点受到矿石加工、养殖行业和村镇等人为活动影响较大。硝氮质量浓度在 W7 和 W6 点最高,亚硝氮质量浓度在 W4 和 W7 点最高。通常,亚硝氮作为氨氮通过硝化途径氧化为硝氮的中间产物,在自然水体中不稳定且生物毒性高于氨氮和硝氮。对于水体总氮来说,W3 和 W5 点的总氮质量浓度反而高于 W7 和 W6,这可能意味这两个点水体有机氮质量浓度较高。在水体磷含量方面,河流中平均磷酸盐质量浓度和总磷质量浓度值分别在 0.007~0.049 和 0.016~0.034 mg/L,在 W6 点的浓度明显高于其他点位。

W7 点的硅酸盐质量浓度明显高于其他点,为

8.591 mg/L。怒江沿程水体 pH 在 7.8~9.13 波动,整体呈下降趋势,尤其是在 W7 点低至 7.8,这可能与 W7 点周边矿石加工产业产生的矿物质悬浮颗粒物或者硫化物排放有关。由于从 W1~W7 是从怒江上游至下游沿河设定,取样点海拔逐渐降低,导致水温整体随河流沿程从 11.1 °C 升高至 17.2 °C。氧化还原电位在 W3 点最低,在 W6 点最高,电导率在 W1 和 W2 点最高,在 W5 点最低。

2.2 怒江水体浮游细菌群落 α 多样性和 β 多样性

利用 S_{Chao1} 指数、 $D_{Simpson}$ 指数、 $H_{Shannon}$ 指数和 S_{ACE} 指数对各采样点浮游细菌群落的 α 多样性进行计算, S_{Chao1} 指数、 $H_{Shannon}$ 指数反映浮游细菌群落多样性, $D_{Simpson}$ 指数反映群落均匀度, S_{ACE} 指数用于评价群落丰富度,分析结果如图 2 所示,观察到各采样点 α 多样性均不相同,存在明显的空间异质性。



注:箱体的上中下线分别为 75、50(中位数)、25 分位数,实心点为样本数据。

图 2 怒江水体浮游细菌的 α 多样性指数分析

Fig.2 Analysis of α-diversity index of bacterioplankton in Nujiang River

S_{Chao1} 指数、 $H_{Shannon}$ 指数和 S_{ACE} 指数在 W3、W6 点较大,W1、W7 点较小, $D_{Simpson}$ 指数在 W1 和 W7 点较大,表明 W3 和 W6 点的 α 多样性比较高,这可能与居民区和畜牧区的人为活动有关,人类活动排放可能直接输入细菌,而排放引起的流域氮磷等营养

物质升高支持更多浮游细菌生长,从而增加了细菌群落多样性^[14]。由图 2(a)(b) 可以观察到,W1、W7 点的浮游细菌群落多样性较低。W1 点为河流源头,代表了更清洁的水质,因此群落多样性较低,而下流的 W7 点可能是由于致病菌的存在降低了浮

游细菌的多样性^[15]。

β 多样性指数用于估算群落的多样性沿环境梯度变化的速率,基于怒江的浮游细菌群落和致病菌属开展 NMDS 分析以探究其空间异质性情况,结果如图 3 所示。

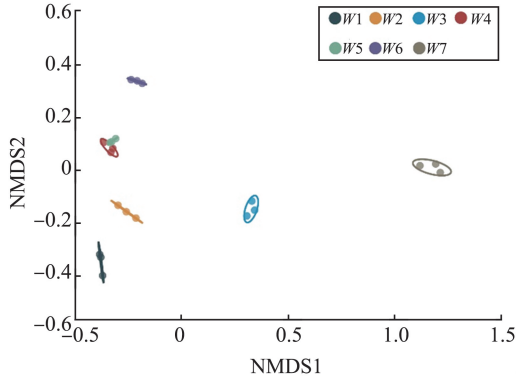


图 3 怒江水体浮游细菌基于布雷柯蒂斯距离的 NMDS 分析
Fig.3 NMDS analysis of bacterioplankton in Nujiang River based on Bray Curtis distance

NMDS 结果表明,各个点位距离相差较远,微生物群落结构差异显著,这种差异一方面受到流域自上

而下的海拔、气候、水温等自然因素影响^[16-17],另一方面与取样点周边村落、畜禽养殖、沙石加工等人类活动引起的细菌、营养物质、污染物的输入有关^[18-19]。

2.3 怒江浮游细菌与致病菌的群落组成

对样品中的非重复序列按照相似性 97% 进行 OTU 聚类,所有样品的 OTU 值为 983~1 820。浮游细菌 16S rRNA 基因高通量测序在不同分类水平下共测得 48 门,110 纲,253 目,369 科,785 属。怒江水体浮游细菌群落的相对丰度如图 4 所示。

由图 4(a)可知,排名前 15 位的门类占比达到 99.86%,优势细菌类群为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、疣微菌门和厚壁菌门,其平均相对丰度分别为 51.86%、29.32%、13.61%、2.06%和 1.71%。从上游到下游,变形菌门占比呈上升趋势,在 W6、W7 点的占比较高,平均相对丰度分别为 63.72%、72.45%。而拟杆菌门在 W1 点是丰度最高的门,相对丰度为 46.41%,沿河流自上而下呈下降趋势,显著下降到 W7 点的 4.54%。值得注意的是,放线菌门在 W3 和 W7 点超过拟杆菌门成为丰度第二的门。

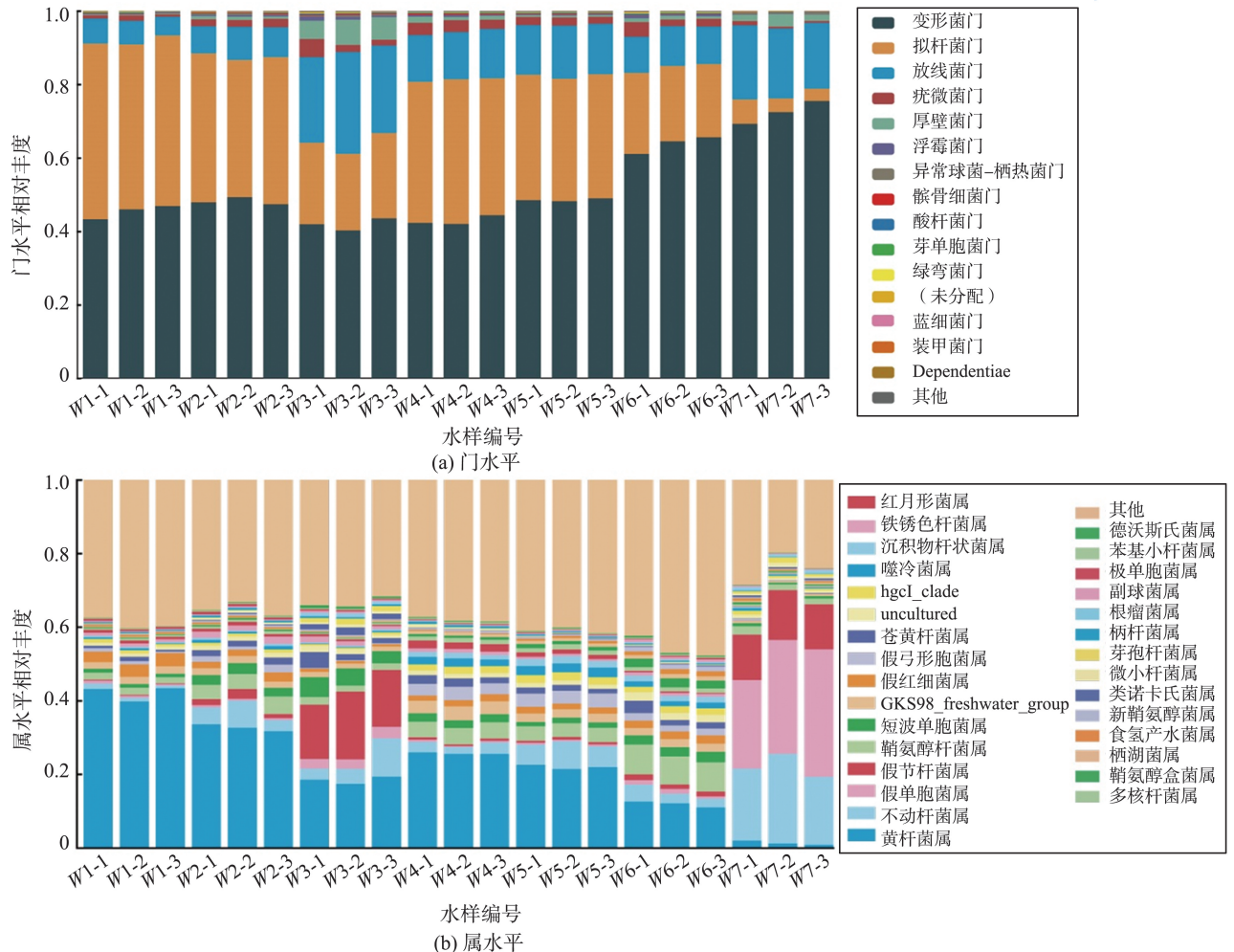


图 4 怒江水体浮游细菌群落的相对丰度

Fig.4 The relative abundance of bacterioplankton communities in the Nujiang River

在属水平上,分析了怒江浮游细菌的构成,结果如图4(b)所示。怒江水体浮游细菌的优势属为黄杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、假节杆菌属和鞘氨醇杆菌属,其相对丰度分别为22.04%、6.37%、5.14%、4.78%和3.70%。各细菌属丰度在点位间存在显著差异,其中,黄杆菌属由W1点的42.14%沿程下降至W7点的1.36%。假节杆菌属在W3和W7点丰度较高,可能与采样点周围的人类活动相关。由图4(b)可知,W7点的群落构成显著不同于其他点,其优势属依次为假单胞菌属、不动杆菌属、假节

杆菌属。W3点的假节杆菌属丰度明显高于其他点。W7点的不动杆菌和假单胞杆菌丰度显著高于其他点,值得关注的是,这两类菌是较常见的潜在致病菌属,因此本研究对致病菌的组成结构进行了进一步分析。

致病菌的识别参照了包含145个属的人类致病菌属数据库^[20],对浮游细菌群落组成相对丰度前100的细菌属进行比对,共筛选出13类潜在致病菌属,如图5所示。

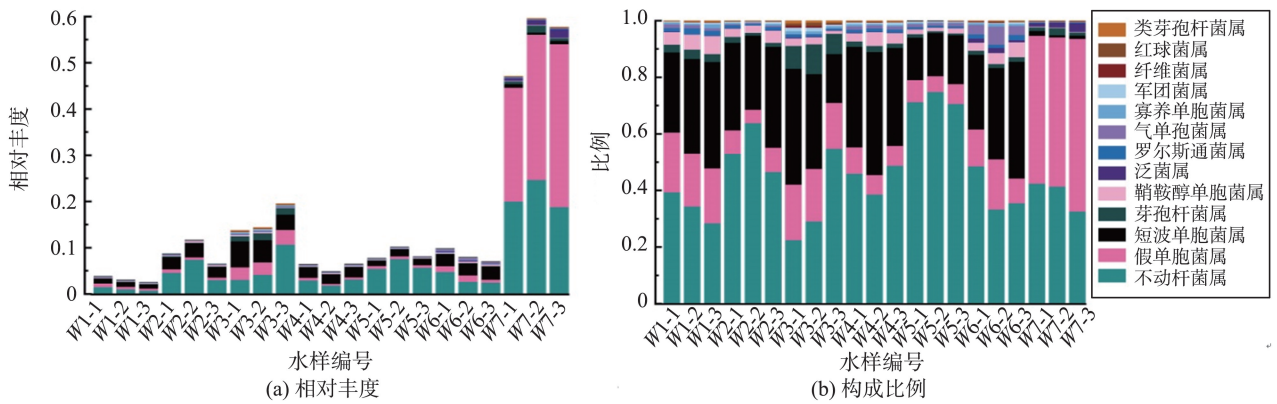


图5 怒江水体致病菌结构
Fig.5 Structure of pathogens in Nujiang River

由图5可知,不动杆菌属和假单胞菌属是致病菌中的优势菌属,其相对丰度范围分别为1.07%~20.82%和0.45%~30.02%。这与浮游细菌属的丰度分析结果一致。对于致病菌,W7点的总致病菌占比显著高于其他点,其次是W3点,在W1点占比最低。如图5(b)所示,W5点的不动杆菌属占比最高,W7点的假单胞菌属占比高于不动杆菌属。

2.4 微生物群落组成与水质因子的关系

为了研究怒江浮游细菌对水质因子的响应特征,在属水平对浮游细菌丰度与水质因子的相关性进行分析,如图6所示。*GKS98_freshwater_group*、假弓形胞菌属、*hgcI_clade*、噬冷菌属、沉积物杆状菌属、多核杆菌属、栖湖菌属、鞘氨醇盒菌属与溶解氧浓度呈显著正相关,有研究发现 *GKS98_freshwater_group*、多核杆菌属更适宜生存在高浓度氧的环境^[21],假弓形胞菌属、沉积物杆状菌属^[22]、鞘氨醇盒菌属^[23]是主要存在于淡水、海洋中的需氧细菌^[24]。食氢产水菌属丰度与硝氮浓度呈显著正相关,而柄杆菌属、短波单胞菌属丰度与硝氮浓度呈显著负相关,有研究报道食氢产水菌属能够通过同化硝酸盐还原过程将碳氮吸收并储存以用于细胞代谢^[25]。

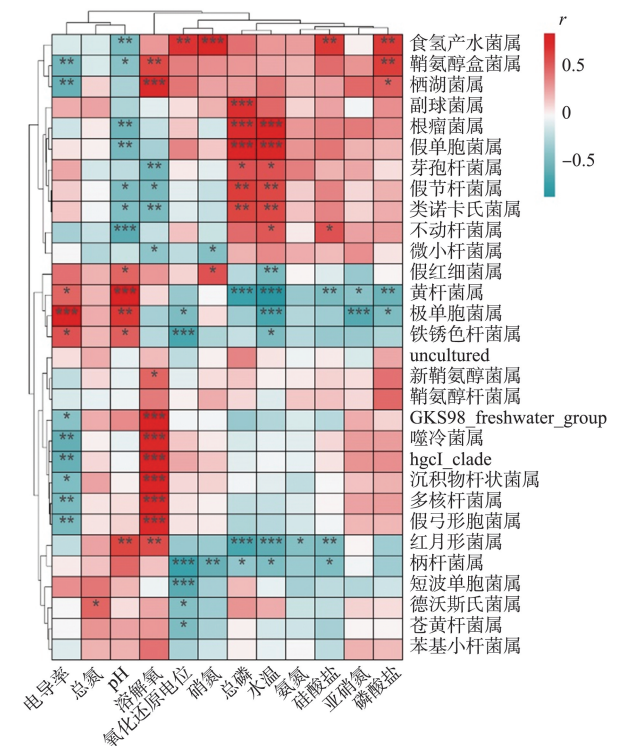


图6 水质因子与浮游细菌属的相关性
Fig.6 Correlation between water quality factors and bacterioplankton

本研究进一步用RDA分析解释了不同采样点浮游细菌和致病菌与水质因子之间的关系,如图7

所示,箭头长短代表水质因子与点位细菌群落的相关程度,箭头越长相关性越强,箭头越短相关性越弱。

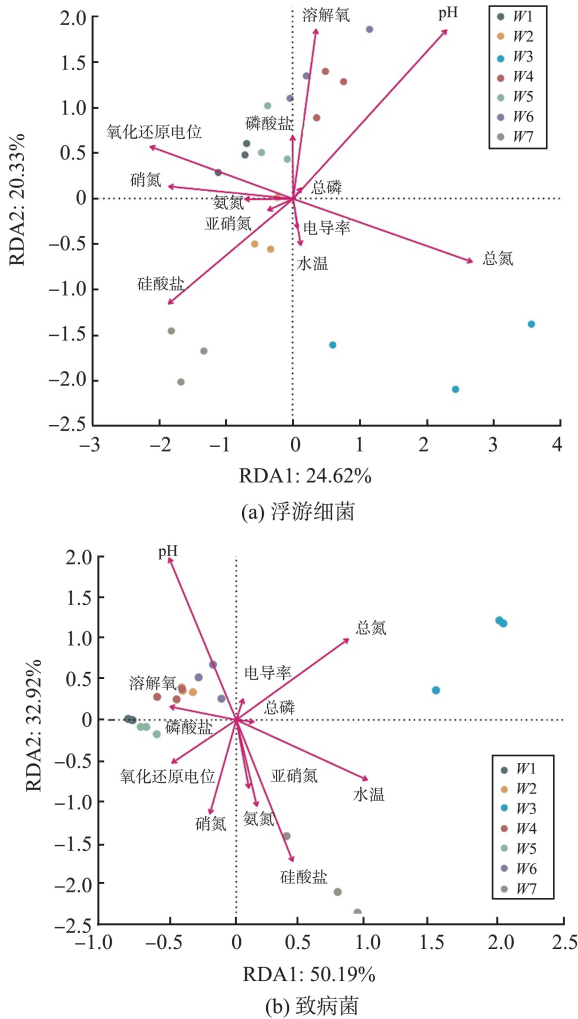


图7 水质因子对采样点浮游细菌和致病菌的影响
Fig.7 Effects of water quality factors on bacterioplankton and pathogens at sampling sites

由图7可知:对浮游细菌和致病菌影响最大的水质因子均为pH,总氮质量浓度、氧化还原电位是影响浮游细菌的次要水质因子;而对于致病菌,硅酸盐质量浓度、总氮质量浓度是次要影响因子,此外,水温、水体硝氮和氨氮质量浓度对致病菌丰度的影响也较大(显著性 $p < 0.01$)。水质因子对整个浮游细菌群落以及致病菌群落的影响分析中均表明,硅酸盐质量浓度与W7点的相关性最大,总氮质量浓度与W3点的相关性最大,这与水质因子的特征分析结果一致。

2.5 浮游细菌和致病菌的氮代谢过程

为探究浮游细菌群落在水体氮代谢过程中的作用,使用京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据

库,采用PICRUSt2预测了浮游细菌群落中氮代谢途径相关基因的相对丰度,如图8所示。浮游细菌群落中与硝化和反硝化代谢途径相关的功能基因丰度极低,而与同化型硝酸盐还原途径(*nasA*)、异化型硝酸盐还原途径(*nirB*、*nirD*)和氮同化途径(*gdhA*)相关的氮代谢功能基因丰度相对较高。

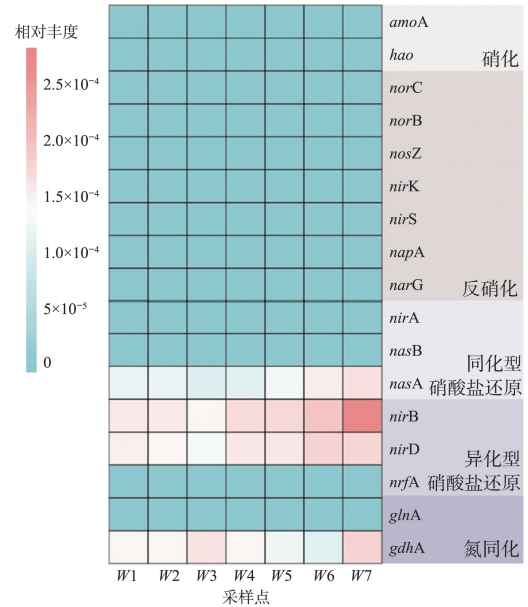


图8 浮游细菌氮代谢功能基因相对丰度
Fig.8 The relative abundances of nitrogen metabolism functional genes in bacterioplankton

研究进一步分析了致病菌丰度与水质氮质量浓度和氮代谢功能基因丰度之间的相关性,如图9所示。

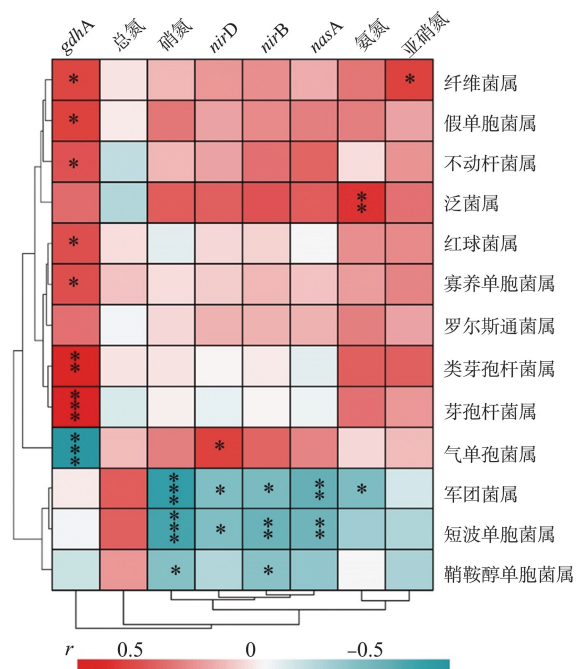


图9 致病菌与氮代谢因子相关性
Fig.9 Correlation between pathogens and nitrogen metabolic factors

大部分致病菌丰度与氮同化基因(*gdhA*)丰度呈显著正相关,这可能是由于致病菌多为异养细菌,具有活跃的氨氮同化利用能力。泛菌属丰度与水体氨氮质量浓度呈显著正相关($p < 0.01$),而军团菌属、短波单胞菌属和鞘鞍醇单胞菌属与水体硝氮质量浓度呈显著负相关。致病菌与氮代谢基因丰度的相关关系,表明了不同致病菌对氮源的偏好性,较高的氨氮质量浓度和活跃的氮同化代谢过程,可能更有利于致病菌的富集。

3 讨论

3.1 怒江的水质特征

通过对怒江上下游布设采样点河水的理化性质检测表明,与《地表水环境质量标准(GB3838—2002)》相比,怒江最大氨氮质量浓度、总氮质量浓度以及总磷质量浓度分别属于各参数标准限值规定的Ⅲ类水(1 mg/L)、Ⅳ类水(1.5 mg/L)和Ⅱ类水(0.1 mg/L),均未触及Ⅴ类水标准。小清河^[26]、长江^[27]、辽河^[28]等河流氮磷浓度远超过了Ⅴ类水标准,相比于以上受到人类活动严重影响的河流,怒江的水质状况总体较好,属于典型的自然状态的河流。河流水质变化可能受周围环境影响。本研究显示,W3点的无机氮和无机磷质量浓度较低而总氮和总磷质量浓度较高,可能是W3点附近乡镇的居民和农家乐排放的生活污水,汇入了大量有机氮和有机磷^[29]。W6和W7点的氨氮和硝氮质量浓度较高,可能受到两个点周边的沙石加工和畜牧养殖的影响,富含高氮磷的畜禽粪便、养殖废水下渗或排放可能引起河流中氮的增加^[30]。溶解性硅酸盐是重要的生源物质,W7点高浓度的硅酸盐可能与W7点附近的沙石加工厂产生的悬浮颗粒物有关^[31]。此外,怒江整体pH为7.8~9.13,相较于我国松花江(2004年pH为6.60±0.16)、长江(2014年pH为6.54±0.19)等流域pH偏高,出现水体酸化风险较低^[32]。

3.2 浮游细菌群落和致病菌的结构

水体中的浮游细菌在水生态环境中扮演分解者角色,对地球物质循环和水质净化具有重要作用。怒江水体中浮游细菌的优势种群为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、疣微菌门和厚壁菌门,这些优势种群是淡水河流中典型的浮游细菌^[33]。在对长江流域河流^[34]、流沙河^[15]、喀斯特地区河流^[35]等的研究中也发现变形菌门是相对丰度最大的门。在属水平上,优势属包括黄杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属等。在渭河流域的相关研究中,也发现同

样的优势种群^[36]。由于变形菌门可以高效利用营养盐,在氮循环代谢中发挥重要作用,具有较强的适应性,广泛存在于河流、湖泊等水生环境^[37],而作为优势菌门拟杆菌门的重要属黄杆菌属,多样化的适应能力和高蛋白酶活性有助于其在浮游细菌中占据主导地位^[38],促使变形菌门与黄杆菌属成为浮游细菌的优势种群。

拟杆菌门丰度在W1点最高,随河流沿程下降至W7点丰度最低,这可能与采样点的水质特征有关。拟杆菌门可以溶解有机质参与碳循环^[39],而W7点的有机氮较低、可利用营养物质较少,可能是W7点拟杆菌门丰度较低的原因。值得注意的是,放线菌成为W3点的第二大优势细菌。W3点的无机氮和无机磷质量浓度较低,同时有机氮相对较高,均适宜放线菌门生长^[40-41]。文献^[42]在研究水库中放线菌的时空动态中发现水温、溶解氧和营养是影响放线菌丰度和群落的主导因素,且放线菌与氮、磷浓度呈正相关。浮游细菌丰度的分布与氮存在密不可分的联系,后续分析中讨论了氮与浮游细菌的相关性。

浮游细菌群落中氮功能基因丰度预测结果展现了微生物在自然水体氮转化中的重要作用。浮游细菌通过氮同化、同化型硝酸盐还原和异化型硝酸盐还原等途径,有效去除了水体中的氨氮和硝氮。特别是W7点,水体中质量浓度相对较高的氨氮与硝氮可作为浮游细菌的氮源,微生物通过氮代谢合成生命基础物质,并实现了对水体氮的有效去除。浮游细菌中的潜在病原体可能会污染水体,影响人体健康。本研究在浮游细菌属水平的研究发现,优势属不动杆菌属、假单胞菌属被认为是潜在致病菌^[43]。不动杆菌属广泛分布于水体、土壤等区域,在对长江流域河流的浮游细菌属水平的研究发现了不动杆菌这一优势属^[34]。不动杆菌可以在人体局部皮肤尤其是腋窝等潮湿部位形成菌群,该菌具有多重耐药性,带菌患者可能在医院引起相关疾病流行,应当引起重视^[44]。另外,假单胞菌有溶解硅酸盐作用^[45],可能由于W7点附近沙石加工过程产生的粉尘进入水体,有利于假单胞菌的生存,硅酸盐在假单胞菌的溶解作用下产生硅酸盐,使得该点硅酸盐浓度也有所升高,因此W7点的假单胞菌的丰度超过不动杆菌,成为丰度最大的致病菌属。

3.3 水质因子对浮游细菌和致病菌群落结构和功能的影响

浮游细菌群落会对环境情况做出迅速响应,可作为河流恶化的潜在生物指标监测水质。本研究

发现 pH 是影响浮游细菌群落结构的关键水质因子,这与文献[46-47]研究结论一致。pH 通常与微生物群落的多样性呈正相关,酸性环境会增大环境过滤效应;pH 较小会阻碍浮游细菌群落的生长发育,降低群落的丰富度和均匀度^[35]。因此在 pH 最小的 W7 点的浮游细菌群落的微生物丰度低。文献[48]发现,pH 与变形菌门丰度呈负相关,pH 沿程降低而变形菌门的丰度沿程升高,与本研究结果一致。河流水体为微生物生长代谢提供载体和养分,水质因子也显著影响了致病菌的丰度。在 RDA 分析中表明,硅酸盐浓度是除 pH 外影响致病菌丰度较为重要的因素,硅酸盐浓度与 W7 点的致病菌群落正相关性最强。同时,W7 点的假单胞菌的相对丰度最大,可能是受 W7 点附近的沙石加工厂影响,导致水体中含有不溶性硅酸岩石粉尘,有利于能够溶解硅酸岩石的假单胞菌在悬浮颗粒物上附着生存,导致假单胞菌相对丰度显著高于其他点。悬浮颗粒物可能为致病菌的富集和传播提供了载体,同时悬浮颗粒松散内部的微环境相对稳定,可以保护细菌免受环境冲击。

在本研究中,采样点变形菌门的相对丰度的变化趋势与氮质量浓度的变化趋势有关。相关性分析显示,变形菌门与氨氮质量浓度(相关性系数 $r=0.821$)、硝氮质量浓度($r=0.827$)呈显著正相关($p<0.01$),而与总氮质量浓度呈显著负相关($r=-0.558$, $p<0.01$),解释了 W7 点变形菌门丰度最低的现象。水质因子对浮游细菌的氮代谢过程产生影响,浮游细菌氮代谢功能基因丰度与水体中氮浓度的相关性分析结果表明,硝氮浓度与同化型硝酸盐还原基因 *nasA* ($r=0.873$) 以及异化型硝酸盐还原基因 *nirB* ($r=0.864$)、*nirD* ($r=0.670$) 均呈现显著正相关($p<0.01$),这说明水体中相对浓度较高的硝氮,为一些具有硝酸盐还原能力的浮游细菌提供了代谢底物,有利于此类浮游细菌的生存。氮代谢功能基因丰度预测结果发现,W7 点的各氮代谢路径功能基因丰度较其他点均较高,说明该点的微生物氮代谢功能较为活跃。而致病菌与水体氮浓度和微生物氮代谢功能的相关关系表明,较高的氨氮浓度可为致病菌提供生存和繁殖必需的营养,而一些耐受性强、适应力高的致病菌与非致病菌相比可能更适于在高氨氮的环境下生存。泛菌属被证明是强大的环境竞争者,能够产生各种抗生素活性的产物,且具有耐重金属的能力^[49],在本研究中,泛菌属的富集与氨氮呈显著正相关,说明氨氮等丰富的氮源导致致病菌的富集。

本研究结果表明,水体氮组分(特别是氨氮)和

硅酸盐,分别是致病菌繁殖、富集、传播的重要养分和载体,为降低致病菌风险,在自然河流保护和治理过程中,需要严格控制氮和悬浮颗粒物的排放。水体流动过程中河流沉积物的再悬浮作用和时间影响下水质因子的变化,均可能是影响致病菌的重要因素,因此,需要对垂直空间尺度和时间尺度的浮游细菌、致病菌群落结构和相关驱动因素进行深入研究。

4 结论

本研究通过研究水质因子对怒江水体中浮游细菌和致病菌群落结构及功能的影响,得出以下结论:怒江水体浮游细菌的优势种群为变形菌门、拟杆菌门以及放线菌门。值得注意的是,在浮游细菌的优势属中,仍然发现了一定丰度的致病菌,其中不动杆菌属的平均丰度最高,其次是假单胞菌。受到水质因子和人为活动的影响,浮游细菌和致病菌群落结构在不同采样点间存在显著差异,研究发现影响怒江浮游细菌和致病菌群落结构最显著的水质因子是 pH,生物多样性随 pH 降低而降低。除 pH 外,总氮质量浓度是影响浮游细菌结构的第二关键因子,而硅酸盐质量浓度是影响致病菌结构的第二关键因子。致病菌丰度与氮同化基因丰度呈现正相关,水体中相对浓度较高的氨氮和硅酸盐有利于致病菌的富集。因此在受人为活动影响的河流中,例如工业废水、生活污水的受纳水体,应着重控制氮和悬浮颗粒物排放,从而有效降低致病菌危害。

参考文献:

- [1] COTNER J, BIDDANDA B. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems [J]. *Ecosystems*, 2002, 5: 105-121.
- [2] HAHN M W. The microbial diversity of inland waters[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17 (3): 256-261.
- [3] 李先会, 朱建坤, 施练东, 等. 富营养化水体细菌去除氮磷能力研究[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(4): 28-32.
LI Xianhui, ZHU Jiankun, SHI Liandong, et al. Elimination capacity of nitrogen and phosphorus of bacteria in eutrophication water [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 32(4): 28-32.
- [4] 史玉娇, 李文宝, 张博尧, 等. 河套平原灌溉间隙期乌梁素海水体细菌群落结构特征[J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1424-1433.
SHI Yujiao, LI Wenbao, ZHANG Boyao, et al. Characteristics of bacterial community structure in Wuliangsu Lake during an irrigation interval in Hetao

- Plain [J]. *Environmental Science*, 2022, 43 (3): 1424-1433.
- [5] 黄时豪. 淡水湖泊浮游细菌群落对外源可溶性有机碳输入的响应研究[D]. 南昌:南昌大学, 2022.
HUANG Shihao. Response of bacterioplankton communities to allochthonous dissolved organic carbon input in freshwater lakes [D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.
- [6] WOOLHOUSE M E J, GOWTAGE-SEQUERIA S. Host range and emerging and reemerging pathogens[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11(12): 1842-1847.
- [7] MAZUZE H, ALMENDRA R, SANTANA P. A systematic literature review on factors of socio-environmental vulnerability associated with water-borne diseases[J]. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2023, 17(12): 1658-1666.
- [8] 吕锡斌, 吴云成, 陈良强, 等. 赤水河流域浮游细菌群落特征及其与水质的关系[J]. *环境科学学报*, 2021, 41(11): 4596-4605.
LÜ Xibin, WU Yuncheng, CHEN Liangqiang, et al. Characteristics of the bacterioplankton community and their relationships with water quality in Chishui River Basin[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, 41(11): 4596-4605.
- [9] ZHOU L, CHEN W, SUN J, et al. Spatial variation in bacterioplankton communities in the Pearl River, south China; impacts of land use and physicochemical factors [J]. *Microorganisms*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2020, 8(6): 814-829.
- [10] LIU L, WANG S, CHEN J. Anthropogenic activities destabilized riverine bacterial communities by increasing synchrony between taxa [J]. *Aquatic Sciences*, 2021, 83(3): 60-71.
- [11] LIU S, WANG P, WANG C, et al. Ecological insights into the disturbances in bacterioplankton communities due to emerging organic pollutants from different anthropogenic activities along an urban river[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 796: 148973.
- [12] ZHU Z, DING J, DU R, et al. Systematic tracking of nitrogen sources in complex river catchments: machine learning approach based on microbial metagenomics[J]. *Water Research*, 2024, 253: 121255.
- [13] COLE J R, WANG Q, CARDENAS E, et al. Theribosomal database project: improved alignments and new tools for rRNA analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(Suppl.1): 141-145.
- [14] WU B, WANG P, DEVLIN A T, et al. Anthropogenic intensity-determined assembly and network stability of bacterioplankton communities in the Le'an River [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 806036.
- [15] LIU S, WANG C, WANG P, et al. Variation of bacterioplankton community along an urban river impacted by touristic city: with a focus on pathogen[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 165: 573-581.
- [16] TANG M, LI L, WANG X, et al. Elevational is the main factor controlling the soil microbial community structure in alpine tundra of the Changbai Mountain[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 12442.
- [17] FANG W, FAN T, WANG S, et al. Seasonal changes drivingshifts in microbial community assembly and species coexistence in an urban river[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 905: 167027.
- [18] LI W, LEI Q, YEN H, et al. The overlooked role of diffuse household livestock production in nitrogen pollution at the watershed scale[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 272: 122758.
- [19] MAO Y, ZHANG H, CHENG Y, et al. The characteristics of nitrogen and phosphorus output in China's highly urbanized Pearl River Delta region [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 325: 116543.
- [20] FANG W L, ZHAO D Q, WANG F, et al. Neurotrophin[©] alleviates hippocampal neuron damage through a HIF-1 α /MAPK pathway[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2017, 23(5): 428-437.
- [21] ZHANG H, CAI W, GUO F, et al. Microbial community composition and environmental response characteristics of typical brackish groundwater in the North China Plain [J]. *China Geology*, 2023, 6(3): 383-394.
- [22] KANG H, KIM H, LEE B I, et al. *Sediminibacterium goheungense* sp. nov., isolated from a freshwater reservoir [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64: 1328-1333.
- [23] BAIK K S, CHOE H N, PARK S C, et al. *Sphingopyxis rigui* sp. nov. and *Sphingopyxis wooonensis* sp. nov., isolated from wetland freshwater, and emended description of the genus *Sphingopyxis* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63: 1297-1303.
- [24] WU Y, LIN H, YIN W, et al. Water quality and microbial community changes in an urban river after micro-nano bubble technology in situ treatment [J]. *Water*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2019, 11(1): 66-79.
- [25] ZHANG J, GUO F, LIANG H, et al. Unraveling metabolic fate of a veterinary antibiotic thiamphenicol via the multi-omic approach [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 484: 149592.
- [26] PAN W, WANG F, JIAO Z. Temporal variation and water quality assessment of Xiaoqing River catchment [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 791(1): 012172.
- [27] YING L, JIAO M, YONG L. Analysis of eutrophication of Yangtze River Yibin section [J]. *Energy Procedia*,

- 2012, 16: 203-210.
- [28] BU H, WAN J, ZHANG Y, et al. Spatial characteristics of surface water quality in the Haicheng River (Liao River basin) in Northeast China [J]. *Environmental Earth Sciences*, 2013, 70(6): 2865-2872.
- [29] WILLIAMS-SUBIZA E A, ASSEF Y A, BRAND C. Point source pollution influences water quality of Patagonian streams more than land cover [J]. *River Research and Applications*, 2022, 38(1): 69-79.
- [30] ELAHI E, LI G, HAN X, et al. Decoupling livestock and poultry pollution emissions from industrial development: a step towards reducing environmental emissions [J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 350: 119654.
- [31] HAYES L H. Sustainability and toxicity of building materials [M]. Wellington: Woodhead Publishing, 2024: 247-262.
- [32] QIAO Y, FENG J, LIU X, et al. Surface water pH variations and trends in China from 2004 to 2014 [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2016, 188(7): 443-455.
- [33] LEMKE M J, LIENAU E K, ROTHE J, et al. Description of freshwater bacterial assemblages from the upper Paraná River floodpulse system, Brazil [J]. *Microbial Ecology*, 2009, 57(1): 94-103.
- [34] 胡愈忻, 张静, 黄杰, 等. 长江流域河流和湖库的浮游细菌群落差异 [J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1414-1423. HU Yuxin, ZHANG Jing, HUANG Jie, et al. Characteristics of bacterioplankton community between river and lake reservoir in the Yangtze River basin [J]. *Environmental Science*, 2022, 43(3): 1414-1423.
- [35] REN L, JEPPESEN E, HE D, et al. pH influences the importance of niche-related and neutral processes in lacustrine bacterioplankton assembly [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, American Society for Microbiology, 2015, 81(9): 3104-3114.
- [36] HE H, PAN B, YU K, et al. Determinants of bacterioplankton structures in the typically turbid Weihe River and its clear tributaries from the northern foot of the Qinling Mountains [J]. *Ecological Indicators*, 2021, 121: 107168.
- [37] ZHANG Q Q, JIAN S L, LI K M, et al. Community structure of bacterioplankton and its relationship with environmental factors in the upper reaches of the Heihe River in Qinghai Plateau [J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(2): 1210-1221.
- [38] DWORKIN M, FALKOW S, ROSENBERG E, et al. *The prokaryotes* [M]. New York: Springer, 2006: 481-531.
- [39] EILER A, BERTILSSON S. Flavobacteria blooms in four eutrophic lakes: linking population dynamics of freshwater bacterioplankton to resource availability [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(11): 3511-3518.
- [40] ZHANG N, LIU J, ZHANG T, et al. Sources and composition of sediment dissolved organic matter determine the ecological strategies of bacteria in rivers: evidence, mechanism, and implications [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23(6): 2613-2627.
- [41] HAUKKA K, KOLMONEN E, HYDER R, et al. Effect of nutrient loading on bacterioplankton community composition in Lake Mesocosms [J]. *Microbial Ecology*, 2006, 51(2): 137-146.
- [42] ZHANG H, MA M, HUANG T, et al. Spatial and temporal dynamics of actinobacteria in drinking water reservoirs: novel insights into abundance, community structure, and co-existence model [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 814: 152804.
- [43] SMITHERS G W. *Encyclopedia of food safety* [M]. 2nd ed. Oxford: Academic Press, 2024: 236-251.
- [44] 杨淑霞, 范晓华, 钟晓莉, 等. 不动杆菌属的研究进展 [J]. *中国医学创新*, 2010, 7(28): 192-194. YANG Shuxia, FAN Xiaohua, ZHONG Xiaoli, et al. Research progress of *Acinetobacter* [J]. *Medical Innovation of China*, 2010, 7(28): 192-194.
- [45] WU Y, KAMESHWAR A K S, ZHANG B, et al. Genome and transcriptome analysis of rock-dissolving *Pseudomonas* sp. NLX-4 strain [J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2022, 9(1): 63-78.
- [46] 王松鸽, 赖子尼, 麦永湛, 等. 珠江河网冬季浮游细菌群落结构及其影响因素 [J]. *中国水产科学*, 2019, 26(3): 522-533. WANG Songge, LAI Zini, MAI Yongzhan, et al. Bacterioplanktonic community's composition and their environmental impact factors of the Pear River Delta in winter [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(3): 522-533.
- [47] 李洁, 孙寓姣, 尹萌, 等. 永定河山峡与城市段微生物群落结构季节变化 [J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 56(2): 257-264. LI Jie, SUN Yujiao, YIN Meng, et al. Seasonal changes of microbial community structure in nountain gorge and urban section of Yongding River [J]. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science)*, 2020, 56(2): 257-264.
- [48] OUYANG L, CHEN H, LIU X, et al. Characteristics of spatial and seasonal bacterial community structures in a river under anthropogenic disturbances [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 264: 114818.
- [49] WALTERSON A M, STAVRINIDES J. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the *Enterobacteriaceae* [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015, 39(6): 968-984.