

# 宁波沿海陆源排污口放线菌 (*Actinomycetales* sp.)的分布特点\*

司开学<sup>1</sup> 夏长革<sup>2</sup> 王朝阳<sup>1</sup> 张迪骏<sup>1</sup> 何 珊<sup>1</sup> 周 君<sup>1</sup> 张红燕<sup>1</sup>  
韩姣姣<sup>1</sup> 崔晨茜<sup>1</sup> 董丽莎<sup>1</sup> 苏秀榕<sup>1</sup>

(1. 宁波大学海洋学院 宁波 315211; 2. 吉林省长春市新立城水库管理局 长春 130119)

**摘要** 利用 454 高通量测序技术对宁波沿海 10 个陆源排污口 20 个站位的放线菌的时空分布及 5 个工业排污口的放线菌的种类作了整体分析。成功鉴定出了 83 个属, 84 个种。研究结果显示: 放线菌在陆源排污口的分布呈现季节性分布, 从 3 月份到 10 月份, 放线菌数量呈现先升高后下降的变化, 5 月份和 8 月份数量居高, 在 3 月份和 10 月份偏低; 在综合排污口(S4, S6, S8 和 S9)检测频次较高, 在工业排污口(S1, S3, S5, S7 和 S10)检测频次居中, 在市政排污口(S2)检出频次最低。不同类型的排污口, 氨氮浓度的排出量不同, 放线菌的种类和数量也不同。在 5 个工业排污口中, S7 和 S10 检出的共同菌最多; 在 S7 独自检出短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)、长双歧杆菌(*B. longum*)和两歧双歧杆菌(*B. bifidum*), 表明存在粪源污染物; 在 S5 检出皱孢链霉菌(*Streptomyces scabrisporus*)和硫藤黄链霉菌(*S. thioluteus*), 显示有石油降解物和重金属的污染。总体上看, 放线菌数量在距排污口外 50m 处略高于排污口处。排放指标越相似, 菌的种类越接近。

**关键词** 放线菌; 排污口; 454 高通量测序; 16S rRNA

中图分类号 X511 doi: 10.11693/hyhz20141200338

放线菌是一类具有分枝状菌丝体的革兰阳性菌, 是生理活性物质尤其是天然药物的重要来源(刘睿等, 2006; 林亲雄等, 2006; 王海雁等, 2010)。过去的几十年里抗生素及药物筛选一直来源于土壤微生物, 其数量及抑菌活性已达到瓶颈。而海洋微生物在极端环境下, 可能会通过调整其次生代谢途径产生具有抑菌作用的生物活性物质。如放线菌产生卤化酶催化的生物活性物质能显著提高其抑菌活性。当今临床和农业上使用的抗生素 75%由放线菌产生(Bérdy, 2005)。由于陆地放线菌已经被长期研究和筛选, 近十多年来, 日本、美国、德国、英国等一些国家和国内的研究机构及制药厂逐步把研究方向转向海洋放线菌。它广泛分布于浅滩、近岸、海洋动植

物体内、深海沉积物、海水以及结核矿区、海底冷泉区等。随着海洋经济的推进, 陆源污染物包括工业废水、城镇生活污水、农药和化肥等, 主要通过河川径流入海和沿岸的排污口直排入海, 大气污染还可以通过气体干湿沉降进入海洋。85%以上的海洋污染物都来自于陆源污染, 其成分很复杂, 主要为重金属、难降解有机物和微生物代谢物等, 这也使陆源排污口变成了一个独特的生态圈, 这里生存的大量微生物也就非常具有研究价值。因此, 研究陆源排污口的放线菌多样性意义重大。本文利用 454 测序技术研究陆源排污口的放线菌的时空分布, 以期为进一步开发利用放线菌、预防和治疗放线菌引起的病害奠定基础。

\* 海洋公益性行业专项经费资助项目, 201105007 号; 2014 年海洋经济创新发展区域示范项目, 2014324 号。司开学, E-mail: 1282190611@qq.com

通讯作者: 苏秀榕, 教授, 博士生导师, E-mail: suxiurong@nbu.edu.cn

收稿日期: 2014-12-05, 收修改稿日期: 2015-11-28

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选取宁波沿海 2 个重点陆源排污口和 8 个一般排污口作为采样点(表 1)。其中 S4、S6、S8 和 S9 为综

合排污口, S1、S3、S5、S7 和 S10 为工业排污口, S2 为市政排污口(陈丽萍等, 2013)。

分别于 2011 年 3 月、5 月、8 月、10 月在排污口处与排污口 50m 处采集水样 5L, 用 0.2 $\mu$ m 微滤膜过滤后提取 DNA(王中华等, 2014)。

表 1 宁波沿海 10 个陆源排污口相关信息

Tab.1 Information of ten land-based sewage outlets in Ningbo

编号	排污口名称	所属地区	近岸海域功能区类型	排污口企业类型
S1	象山爵溪东塘排污口	象山	港口区	工业排污口
S2	象山水桶岱垃圾场排污口	象山	养殖区	市政排污口
S3	象山石浦水产加工园区排污口	象山	港口区	工业排污口
S4	象山西周工业园区排污口	象山	养殖区	综合排污口
S5	象山墙头综合排污口	象山	养殖区	工业排污口
S6	北仑三山排污口	北仑	养殖区	综合排污口
S7	宁海西店崔家综合排污口	宁海	养殖区	工业排污口
S8	奉化下陈排污口	奉化	养殖区	综合排污口
S9	宁海颜公河入海排污口	宁海	养殖区	综合排污口
S10	余姚黄家埠排污口	余姚	保留区	工业排污口

### 1.2 方法

**1.2.1 DNA 提取** 取约 2 L 的海水, 以 0.22 $\mu$ m 的微孔滤膜富集微生物, 利用试剂盒提取基因组 DNA(美国 Omega 生物技术公司)(Wang *et al*, 2014a, b)。

**1.2.2 PCR 扩增** 根据细菌 16S rRNA 的保守序列, 利用 Primer Premier 5.0 设计扩增引物: 16S F (5'-CCA TCT CAT CCC TGC GTG TCT CCG ACT CAG-3')和 16S R (5'-CCT ATC CCC TGT GTG CCT TGG CAG TCT CAG-3')。

20 $\mu$ L 扩增反应体系: 10 $\times$ buffer 2 $\mu$ L, 2  $\mu$ L MgCl<sub>2</sub>, 2  $\mu$ L dNTP, 上游引物和下游引物各 25 $\mu$ L, 0.2  $\mu$ L Taq DNA 聚合酶和 1  $\mu$ L DNA 模版。PCR 扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火温度从 65 $^{\circ}$ C 到 55 $^{\circ}$ C, 退火 30s, 20 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 35 个循环; 最终 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min(刘兵等, 2009)。

**1.2.3 测序与分析** 将纯化后的 PCR 产物进行 454 焦磷酸测序(Margulies *et al*, 2005), 结果用罗氏软件 2.5.3 进行信号处理分析。根据放线菌在文库中出现的频次数量, 进一步用 R For Window 2.15.2、SPSS 等进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 排污口放线菌种类

利用 454 高通量测序技术, 从宁波沿海 10 个陆

源排污口 20 个站点 4 个检测月份 80 个海水样品, 共成功鉴定出了放线菌目 5158 个, 酸微菌目 481 个, 红蜡杆菌目 232 个, 双栖杆菌目 62 个, Euzebiales 9 个, 红色杆菌目 9 个, 土壤红杆菌目 8 个。也鉴定出 39 个科, 83 个属和 84 个种, 有些种是首次发现。

### 2.2 排污口放线菌的整体分布

由图 1 可知, 象山石浦水产加工园区排污口(S4)、北仑三山排污口(S6)和宁海颜公河入海排污口(S9)排污口放线菌门检测频次较高, 分别为 1480、1243 和 1275 次, S9 站点 50m 处检测到放线菌门频次高达 831 次; 象山石浦水产加工园区排污口(S3)、象山墙头综合排污口(S5)、宁海西店崔家综合排污口(S7)、奉化市下陈排污口(S8)和余姚黄家埠排污口(S10)放线菌门被检频次分别为 522、846、601、536 和 404 次; 象山爵溪西塘排污口(S1)和象山水桶岙垃圾场渗透液排污口(S2 站)点检测频次较低, 分别为 326 次和 137 次, 其中 S2 站点排污口处取样检测结果显示被测频次仅为 3 次, 说明放线菌在该条件下生长受到了一定的抑制作用, 不适合其繁殖生长。总体上看, 距排污口 50m 以外处检出频次要高于排污口处。

### 2.3 不同季节放线菌的分布特点

从图 2 可知, 3 月份检出频次为 1212/ 16.44%, 5 月份检出频次为 3197/ 43.37%, 8 月份检出频次为 1631/ 22.13%, 10 月份检出频次为 1330/ 18.04%。从各月份排污口放线菌门频次变化情况来看, 5 月份放线菌被检频次最高, 8 月份次之, 是放线菌门繁殖最

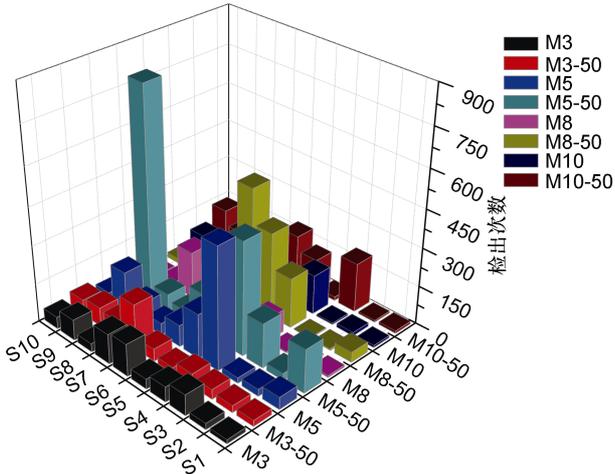


图1 不同月份不同站点放线菌总体分布

Fig.1 The distribution of *Actinomycetales* in different sewage outlets and months

M3、M5、M8、M10: 3、5、8、10月份排污口站点; M3-50、M5-50、M8-50、M10-50: 3、5、8、10月份距排污口50m以外的站点

佳的季节; 而3月份和10月份检出频次最低, 故推测放线菌的繁殖数量与季节的变化存在一定的相关性。Allgaier等(2006)在调查德国东北部四大湖泊中放线菌多样性和数量的动态变化时, 发现放线菌数量呈现出有规律的季节性变化, 春季和秋季两个季节达

到最大值; Glöckner等(2000)在研究Gossenkollesee湖泊的放线菌分布时也得出相近的结论: Gossenkollesee湖泊中放线菌数量在4月份和8月份达到顶峰, 这与本研究得出的推论极为相近。然而, 也有研究认为冬季是放线菌数量达到最大值的季节(Burkert *et al*, 2003), 这是由于地理位置的差异和气候的不同造成的。宁波2011年3月份平均气温为15°C, 5月份、8月份和10月份平均气温分别为26°C、34°C和23°C。5月份和8月份放线菌较多, 该气温是大多数放线菌生长的最佳气温。尹洪祥(1981)在研究培养温度对某些微生物的生长与培养特性的影响时发现, 大多数放线菌, 原放线菌, 分支杆菌等非嗜热性菌株的最适生长温度为24—37°C(占98%—100%), 温度升高, 菌株的存活率将逐渐降低。这是由于温度升高会引起微生物呼吸指数的上升, 加速有机碳的矿化, 增加了它的有效性, 使微生物活性增强, 生长加快(Hu *et al*, 1999)。5月份S4和S9放线菌数量较多, 而其它8个站点放线菌数量较少; 8月份S4、S5、S6和S8放线菌数量较多, 而S1、S2、S3等6个站点菌数量较少, 表明影响放线菌生长的因素除了温度以外还有其它因素(Zhang *et al*, 2004)。

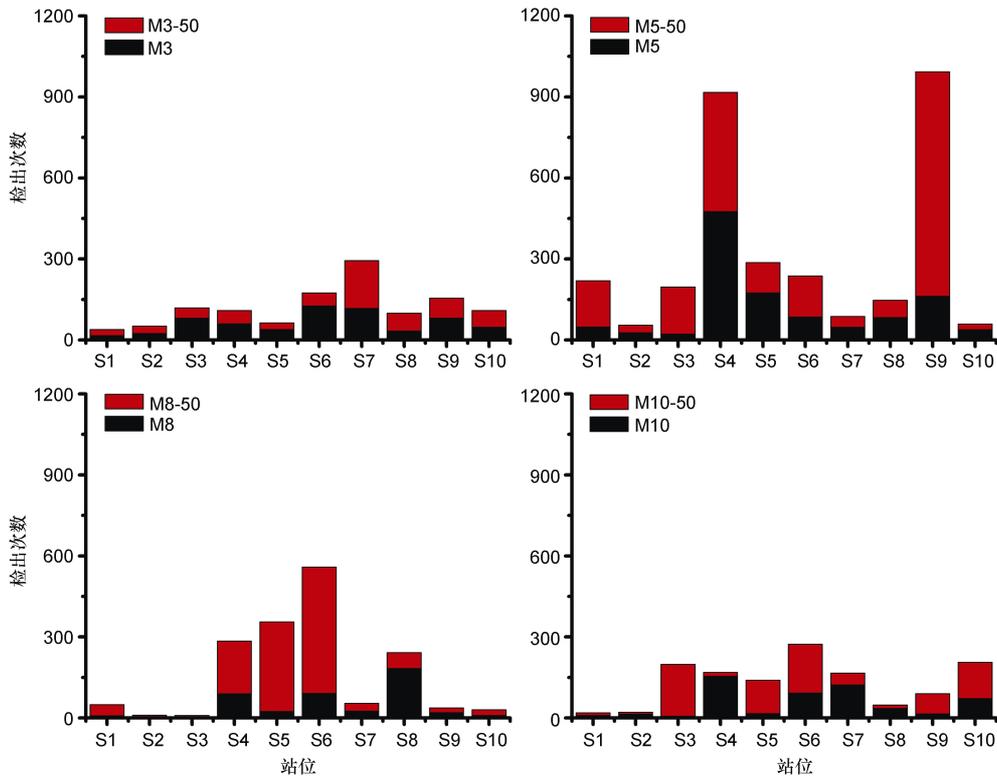


图2 10个排污口处与距排污口50m处四月份检出放线菌频次情况

Fig.2 The distribution of *Actinomycetales* at 0 and 50 m away from sewage outlets in the four sampling months  
M3、M5、M8、M10: 3、5、8、10月份排污口站点; M3-50、M5-50、M8-50、M10-50: 3、5、8、10月份距排污口50m以外的站点

## 2.4 放线菌不同站点的分布特点

从图 3 可知, 综合排污口(S4, S6, S8 和 S9)放线菌被检测频次最高, 为 4534 次, 工业排污口(S1, S3, S5, S7 和 S10)检测到放线菌的频次次之, 为 2699 次; S2 为市政排污口, 放线菌被检测频次最低, 仅为 137 次。排污口类型的不同, 放线菌数量呈现出较为显著的差异。综合排污口与市政排污口的放线菌数量差异最为显著, 故推测放线菌被检频次与排污口类型有关。

放线菌大部分属于异养型细菌(Methé *et al.*, 1998)。从变化趋势来看, 3 月份到 10 月份大部分排污口放线菌数量呈现出先增长后下降的变化, 尤其是综合排污口表现的更为明显。这表明放线菌的生长环境由适中逐渐转向恶劣, 分析其原因很可能由于 3 月份工厂大量开工, 排放出大量无机氮, 活性磷酸盐等污染物, 加之气温回升, 为放线菌的生长提供了良好条件。5 月份到 8 月份气温大幅升高, 工厂运行较少, 排放废弃物较少, 放线菌营养物质来源受限制, 生长

受到抑制。S8、S9 属于水产品养殖区, 5 月份是这两个站点放线菌暴发期, 而 4 月份到 6 月份属于鱼类疾病高发期, 需注意由放线菌所引起的疾病(Gauthier *et al.*, 2009), 建议相关企业做好疾病防范措施。S7 与 S10 的放线菌数量呈现出的变化与其它站点相反, 主要是由于水体磷和氨氮的含量超标, 导致水体富营养化, 藻类疯狂生长, 水中溶氧量下降, 加之高浓度的氨氮对微生物的生长有一定的抑制作用(赵庆良等, 1998), 从而导致放线菌的数量呈现先下降后增长的变化。S2 是市政排污口, 排出的主要是象山垃圾场渗透液。这些排污口含有较多的有机物, 氨氮及铬、镍、铝和锰等含量较高(魏云梅等, 2007)。从 3 月份到 10 月份, 放线菌数量呈现先下降后升高的变化。这主要是由于随着温度的升高, 氨氮化合物氧化分解加快, 耗氧量增加(胡蝶等, 2011), 这使得放线菌的数量大量下降。8 月份后, 随着温度的下降, 氨氮物质氧化分解速率降低, 耗氧量减少, 放线菌的繁殖量增加。

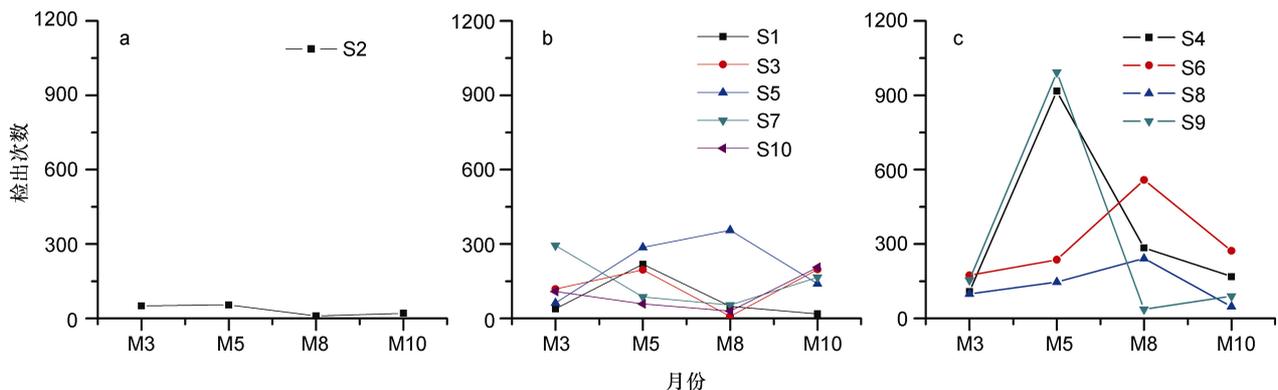


图 3 不同类型排污口放线菌的分布情况

Fig.3 The distribution of *Actinomycetales* in different types of sewage outlets

a. 市政排污口; b. 工业排污口; c. 综合排污口

## 2.5 5 个工业排污口放线菌的分布特点

陆源排污口污染物入海是造成我国近岸海域环境污染和生态损害的主要原因(Swartz *et al.*, 1985)。S1、S3、S5、S7、S10 是宁波市 5 个工业排污口。工业废弃物(主要含有无机氮, 有机磷, 甚至重金属等污染物)通过陆源排污口排入大海, 对近岸海域生态环境造成严重影响。3 月、5 月、8 月和 10 月四月份, 对 S1、S3、S5、S7 和 S10 工业排污口放线菌种类检测出 16 种、17 种、21 种、38 种和 24 种放线菌。

图 4 显示, S1 与 S3、S5、S7、S10 有 6、9、8 和 9 种共同菌; S3 与 S5、S7 和 S10 分别检测出共同菌为 5、10、8 种; S5 与 S7 和 S10 检出共同菌分别为

13 和 12 种; S7 和 S10 的共同菌为 15 种。S7 与 S10 检出共同菌种类最多, 推测其适合放线菌生长的营养成分最为接近; 相对于 S3 和 S7 站点, S1 与 S5 和 S10 测出共同菌较多, 推测成分更为接近; 同样可以分析出 S3 与 S7 污水成分相近, S5 与 S7 污水的成分相近。结合表 2 可知, 5 个工业排污口的共同菌为: 藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*), 厌盐假诺卡氏菌(*Pseudonocardia halophobica*), *Microbacterium aurum*, *Candidatus Aquiluna rubra*。C. *Aquiluna rubra* 广泛分布于淡水, 部分能在海水中检测到, 属于异养需氧型细菌, 分布于营养丰富的水域(Hahn, 2009; Jung *et al.*, 2010), 是宁波陆源排污口优势菌; 在 10 个排污口检

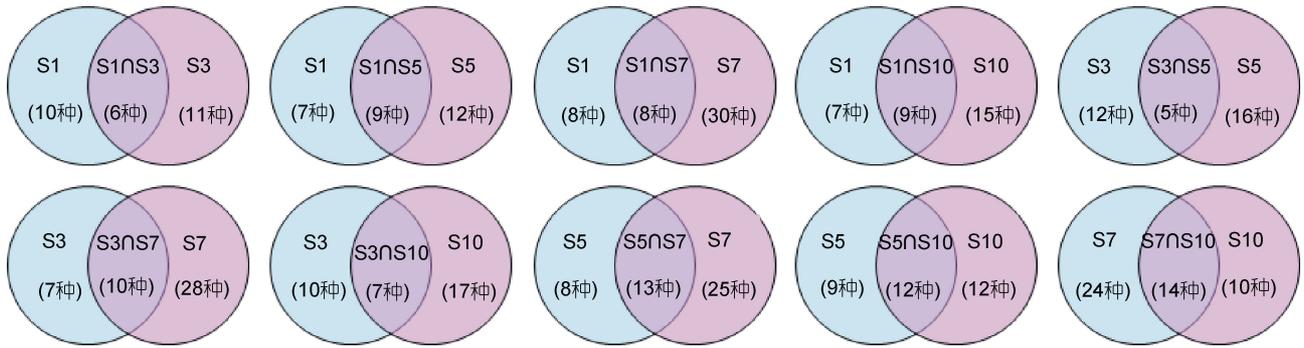


图 4 工业排污口放线菌分布情况的文氏图

Fig.4 The Venn diagram of distribution of *Actinomycetales* in the industrial sewage outlets

表 2 5 个工业排污口检测出的共同放线菌种类

Tab.2 The common *Actinomycetales* species in five industrial sewage outlets

共同菌种类	站点									
	S1 & S3	S1 & S5	S1 & S7	S1 & S10	S3 & S5	S3 & S7	S3 & S10	S5 & S7	S5 & S10	S7 & S10
<i>Candidatus Aquiluna rubra</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
<i>Microbacterium aurum</i>	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
藤黄微球菌( <i>Micrococcus luteus</i> )	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
厌盐假诺卡氏菌( <i>Pseudonocardia halophobica</i> )	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
与可变棒状杆菌( <i>Corynebacterium variabile</i> )	√	-	√	-	-	√	-	-	-	-
土地戈登氏菌( <i>Gordonia terrae</i> )	√	-	-	√	-	-	√	-	-	-
<i>Agreia bicolorata</i>	-	√	√	√	-	-	-	√	√	√
乳酸杆菌( <i>Microbacterium lacticum</i> )	-	√	-	√	-	-	-	-	-	√
<i>Microcella putealis</i>	-	√	-	√	-	-	-	-	√	-
<i>Tetrasphaera australiensis</i>	-	√	√	√	-	-	-	-	√	√
<i>Zimmermannella bifida</i>	-	√	-	-	-	-	-	-	-	-
产气柯林斯菌( <i>Collinsella aerofaciens</i> )	-	-	√	-	-	-	-	-	-	-
费氏丙酸杆菌( <i>Propionibacterium freudenreichii</i> )	-	-	-	-	√	√	√	√	√	√
龋齿放线菌( <i>Actinomyces odontolyticus</i> )	-	-	-	-	-	√	-	-	-	-
<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i>	-	-	-	-	-	√	√	-	-	√
阴道加德纳菌( <i>Gardnerella vaginalis</i> )	-	-	-	-	-	√	-	-	-	-
<i>Clavibacter michiganensis</i>	-	-	-	-	-	√	√	-	-	√
青春双歧杆菌( <i>Bifidobacterium adolescentis</i> )	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
柠檬色短小杆菌( <i>Curtobacterium citreum</i> )	-	-	-	-	-	-	-	√	-	-
萎蔫短小杆菌( <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> )	-	-	-	-	-	-	-	√	-	-
<i>Gordonia sputi</i>	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
玫瑰色库克菌( <i>Kocuria rosea</i> )	-	-	-	-	-	-	-	√	-	-
<i>Mycobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
戈登(氏)分枝杆菌( <i>Mycobacterium gordonae</i> )	-	-	-	-	-	-	-	√	-	-
<i>Curtobacterium ammoniigenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	√	-
<i>Microbacterium maritipicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√
<i>Tsukamurella pulmonis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√

“-”表示未检出;“√”表示检出

出总频次为 1367/18.67%, 在 S1 检出频次为 164/2.24%, 在 S3、S5、S7 和 S10 检出频次分别为 15/0.21%、38/0.52%、30/0.41%和 48/0.66%, 表明相对于 S3、S5、S7 和 S10 来说, S1 的环境更适合 *C. Aquiluna. rubra* 的生长。产气柯林斯菌(*Collinsella aerofaciens*)是人体肠道中数量最高, 也是肠道微生物致病率最高的的厌氧革兰氏阳性菌, 主要在粪源污染物中分离得到(Kageyama *et al*, 2000)。S1 和 S7 两个站点检出 26/0.36%产气柯林斯菌(*C. aerofaciens*), 推测 S1 和 S7 附近有粪源污染物。5 个工业排污口中, S7 独自检出了短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*), 长双歧杆菌(*B. longum*), 两歧双歧杆菌(*B. bifidum*)。双歧杆菌属于严格厌氧微生物, 存在于人体肠道中, 其中短双歧杆菌只存在于婴儿肠道中, 这进一步证明了 S7 存在人类粪源污染物。皱孢链霉菌(*Streptomyces scabrissporus*)和硫藤黄链霉菌(*S. thioluteus*)隶属于放线菌门, 放线菌纲, 放线菌目, 链霉菌科, 链霉菌属, 在 S5 处独自检出。该排污口评价近岸海域综合环境质量为差, 生物质量类别为第二类海洋生物, 其主要污染物为铅, 石油烃等, 生物质量综合等级为严重污染。有研究表明, 链霉菌属有促进对石油烃的降解作用(刘海军等, 2014)。放线菌在含重金属的环境中生存表现了一定的优势。研究发现培养初期的放线菌对镉的耐受性很强, 高浓度的镉可能刺激了放线菌的大量繁殖(陈文清, 2009), 而链霉菌是其中的优势菌群(Amoroso *et al*, 1998)。这是因为放线菌可以通过改变重金属的价态来影响金属的生态毒性, 它产生的具有絮凝活性的代谢物, 分泌到细胞外能使水中的胶体悬浮物互相凝聚沉淀, 从而达到去除重金属离子的目的(Nies, 1999)。

### 3 结论

利用 454 高通量测序平台, 从宁波 10 个陆源排污口 20 个取样站点 4 个月份, 鉴定出了放线菌的 83 个属, 84 个种。*Candidatus Aquiluna rubra* 在 5 个工业排污口广泛分布和大量繁殖, S1 和 S7 有难培养的厌氧产气柯林斯菌(*Collinsella aerofaciens*)的检出, 尤其是 S7 还检出了双歧杆菌。对此, 相关企业应及时排查人类粪源污染物源头。S5 处独自检出皱孢链霉菌(*Streptomyces scabrissporus*)和硫藤黄链霉菌(*S. thioluteus*), 反映了石油降解物和重金属带来的环境压力, 应加强监测和防治。

### 参 考 文 献

- 王中华, 徐茂琴, 谢利等, 2014. 宁波沿海陆源排污口拟杆菌(*Bacteroidetes*)分布的特点. 海洋与湖沼, 45(5): 1030—1036
- 王海雁, 刘健, 赵淑江, 2010. 海洋放线菌多样性及其代谢产物研究进展. 中国海洋药物杂志, 29(1): 67—74
- 尹洪祥, 1981. 培养温度对某些微生物的生长与培养特性的影响. 国外药学(抗生素分册), (1): 128
- 刘兵, 李太武, 苏秀榕等, 2009. 宁波北仑港冬季浮游细菌多样性研究. 台湾海峡, 28(2): 217—222
- 刘睿, 朱天骄, 朱伟明等, 2006. 海洋放线菌 S1001 中抗肿瘤活性成分的研究. 中国抗生素杂志, 31(1): 36—38
- 刘海军, 原志敏, 韩俊等, 2014. 石油污染土壤非培养放线菌多样性分析. 环境科学与技术, 37(11): 121—127
- 陈文清, 侯伶龙, 刘琛等, 2009. 根际微生物促进下鱼腥草对镉的富集作用. 四川大学学报(工程科学版), 41(2): 120—124
- 陈丽萍, 侯付景, 张迪骏等, 2013. 宁波沿海陆源排污口假单胞菌属(*Pseudomonas*)分布特点. 海洋与湖沼, 44(4): 926—930
- 林亲雄, 刘纯慧, 奚涛等, 2006. 海洋放线菌 M313 菌株的鉴定及其抗肿瘤活性代谢产物的初步研究. 海洋科学, 30(11): 53—57
- 胡蝶, 陈文清, 张奎等, 2011. 垃圾渗滤液处理工艺实例分析. 水处理技术, 37(3): 132—135
- 赵庆良, 李湘中, 1998. 垃圾渗滤液中的氨氮对微生物活性的抑制作用. 环境污染与防治, 20(6): 1—4
- 魏云梅, 赵由才, 2007. 垃圾渗滤液处理技术研究进展. 有色冶金设计与研究, 28(2—3): 176—181
- Allgaier M, Grossart H P, 2006. Diversity and seasonal dynamics of *Actinobacteria* populations in four lakes in northeastern Germany. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5): 3489—3497
- Amoroso M J, Castro G R, Carlino F J *et al*. 1998. Screening of heavy metal-tolerant actinomycetes isolated from the Salí River. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 44(2): 129—132
- Bérdy J, 2005. Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1): 1—26
- Burkert U, Warnecke F, Babenzien D *et al*, 2003. Members of a readily enriched  $\beta$ -proteobacterial clade are common in surface waters of a humic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11): 6550—6559
- Gauthier D T, Rhodes M W, 2009. Mycobacteriosis in fishes: a review. *The Veterinary Journal*, 180(1): 33—47
- Glöckner F O, Zaichikov E, Belkova N *et al*, 2000. Comparative 16S rRNA analysis of lake bacterioplankton reveals globally distributed phylogenetic clusters including an abundant group of actinobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11): 5053—5065
- Hahn M W, 2009. Description of seven candidate species affiliated with the phylum *Actinobacteria*, representing planktonic freshwater bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(1): 112—117

- Hu S J, Firestone M K, Chapin III F S, 1999. Soil microbial feedbacks to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(11): 433—437
- Jung S W, Park J S, Kwon O Y *et al*, 2010. Effects of crude oil on marine microbial communities in short term outdoor microcosms. *The Journal of Microbiology*, 48(5): 594—600
- Kageyama A, Sakamoto M, Benno Y, 2000. Rapid identification and quantification of *Collinsella aerofaciens* using PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 183(1): 43—47
- Margulies M, Egholm M, Altman W E *et al*, 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057): 376—380
- Méthé B A, Hiorns W D, Zehr J P, 1998. Contrasts between marine and freshwater bacterial community composition: analyses of communities in Lake George and six other Adirondack lakes. *Limnology and Oceanography*, 43(2): 368—374
- Nies D H, 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6): 730—750
- Swartz R C, Schults D W, Ditsworth G R *et al*, 1985. Sediment toxicity, contamination, and macrobenthic communities near a large sewage outfall. Special Technical Testing Publication, 865: 152—175
- Wang Z H, Yang J Q, Zhang D J *et al*, 2014a. Composition of microbial communities in industrial drain outlets microbial communities in drain outlets. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(1): 807—815
- Wang Z H, Yang J Q, Zhang D J *et al*, 2014b. Composition and structure of microbial communities associated with different domestic sewage outfalls. *Genetics and Molecular Research*, 13(3): 7542—7552
- Zhang W J, Xu Q, Wang X K *et al*, 2004. Impacts of experimental atmospheric warming on soil microbial community structure in a tallgrass prairie. *Acta Ecologica Sinica*, 24(8): 1742—1747

## DISTRIBUTION OF *ACTINOMYCETALES* IN SEWAGE OUTLETS ALONG COAST IN NINGBO

SI Kai-Xue<sup>1</sup>, XIA Chang-Ge<sup>2</sup>, WANG Zhao-Yang<sup>1</sup>, ZHANG Di-Jun<sup>1</sup>, HE Shan<sup>1</sup>, ZHOU Jun<sup>1</sup>,  
ZHANG Hong-Yan<sup>1</sup>, HAN Jiao-Jiao<sup>1</sup>, CUI Chen-Qian<sup>1</sup>, DONG Li-Sha<sup>1</sup>, SU Xiu-Rong<sup>1</sup>

(1. School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Xinlicheng Reservoir Management Bureau in Changchun, Jilin Province, Changchun 130119, China)

**Abstract** Eighty wastewater samples in 10 sewage outlets along coast in Ningbo, Zhejiang were collected in 20 sites in March, May, August, and October, 2011, and analyzed using high-throughput 454 Pyrophosphate Sequencing. Distributions of microbial and *Actinomycetales* were determined. Results show revealed *Actinomycetales* in 83 genus and 84 species. In overall, the number of *Actinomycetales* increased and then decreased during March to October, i.e., high in May and August and low in March and October. Differences in type and amount of *Actinomycetales* were substantiated by differences in type of outlet and concentrations of ammonia and nitrogen. *Actinomycetales* were abundant in mixed-type sewage outlets S4, S6, S8 and S9, followed by industrial sewage outlets S1, S3, S5, S7 and S10, and sporadic in domestic sewage outlet S2, and different sewage outlet showed different spectra of *Actinomycetales* composition. For examples, at S7, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, and *B. bifidum* were detected, indicating human manure pollution; at S5, *Streptomyces scabrisporus* and *S. thioluteus* were detected, indicating pollution by petroleum derivatives and heavy metals. In addition, the amount of *Actinomycetales* at sewage outlet mouth was generally higher than that in 50 m downstream.

**Key words** *Actinomycetales*; sewage outlet; 454 Pyrophosphate Sequencing; 16S rRNA