

研究报告



黄海海域海洋沉积物细菌多样性分析

张庆芳^{1,2} 杨超^{1,2} 于爽^{1,2} 刘春莹^{1,2} 迟乃玉^{*1,2}

1 大连大学生命科学与技术学院 辽宁 大连 116622

2 辽宁省海洋微生物工程技术研究中心 辽宁 大连 116622

摘要:【背景】海洋独特的环境造就了海洋生物的多样性,海洋沉积物中细菌对海洋环境具有至关重要的作用。【目的】研究陆地土壤和海洋沉积物间细菌群落相似性和差异性,以便更好地认识海洋细菌多样性,深入了解沉积物细菌在海洋环境中的潜在作用。【方法】从中国黄海海域及大连市大黑山脚下分别采集样品,以陆地土壤为对照,采用 16S rRNA 基因高通量测序技术分析海洋沉积物的细菌群落结构。【结果】海洋沉积物样品中芽孢杆菌纲(*Bacilli*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)丰度高于陆地土壤样品;海洋沉积物中亚硝化单胞菌(*uncultured bacterium f. Nitrosomonadaceae*)和厌氧绳菌(*uncultured bacterium f. Anaerolineaceae*)丰度虽低于陆地土壤,但丰度值也均高于 1%;样品分类学统计显示酸杆菌门(*Acidobacteria*)在海洋沉积物和陆地土壤样品中的序列丰度比例都较大,鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)在海洋沉积物样品中的序列丰度大于陆地土壤样品。【结论】海洋沉积物细菌多样性可作为海洋环境恢复情况的重要指标,研究为合理开发和利用海洋资源提供理论依据。

关键词: 海洋沉积物, 陆地土壤, 细菌多样性

Bacterial diversity of marine sediments in the Yellow Sea

ZHANG Qing-Fang^{1,2} YANG Chao^{1,2} YU Shuang^{1,2} LIU Chun-Ying^{1,2} CHI Nai-Yu^{*1,2}

1 School of Life Science and Biotechnology, Dalian University, Dalian, Liaoning 116622, China

2 Liaoning Technology of Marine Microbiological Engineering Research Center, Dalian, Liaoning 116622, China

Abstract: [Background] The unique environment of the ocean creates a diversity of marine life, and bacteria in marine sediments play a vital role in the marine environment. [Objective] To study the similarities and differences of bacterial communities between terrestrial soil and marine sediments, so as to better understand the diversity of marine bacteria and the potential role of sediment bacteria in the marine environment. [Methods] Marine sediment samples and terrestrial soil samples were collected from the Yellow Sea waters of China and the Dahei Mountain in Dalian by 16S rRNA gene high-throughput sequencing technology. The bacterial community structure of marine sediments was analyzed by using terrestrial soil as a control. [Results] The abundance of *Bacilli*, *Sphingomonas* and *Bacillus* in marine sediment samples was higher than that in terrestrial soil samples. The abundance of *uncultured bacterium f. Nitrosomonadaceae*, and *uncultured bacterium f. Anaerolineaceae* in marine sediments is lower than that

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2018YFC0311100)

*Corresponding author: E-mail: cny7566@126.com

Received: 13-04-2019; Accepted: 17-05-2019; Published online: 10-06-2019

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0311100)

*通信作者: E-mail: cny7566@126.com

收稿日期: 2019-04-13; 接受日期: 2019-05-17; 网络首发日期: 2019-06-10

in terrestrial soil, but the abundance values are also higher than 1%. Sample taxonomic statistics show that the sequence abundance ratio of *Acidobacteria* in marine sediments and terrestrial soil samples is large, and the sequence abundance of *Sphingomonas* in marine sediment samples is greater than that of terrestrial soil samples. **[Conclusion]** Marine sediment bacteria diversity can be used as an important index of marine environment recovery, the study provides theoretical basis for rational development and utilization of marine resources.

Keywords: Marine sediments, Terrestrial soil, Bacterial diversity

地球由海洋和陆地组成, 海洋约占地球表面积的 71%。海洋具有高盐、高压、低温、低营养和光强变化大等独特的生态环境特征, 因此造就了海洋生物的多样性。生活在这种复杂环境中的海洋微生物已经适应了环境, 具有丰富的物种类型、代谢类型、功能基因组成和生态功能^[1-2]。海洋沉积物中的微生物具有复杂的多样性, 主要是因为海洋沉积物有机质含量较高, 约为海水的 10^4 – 10^5 倍, 是微生物的能量来源^[3]。虽然海洋沉积物中的微生物只占整个微生物群落的小部分, 但是海洋沉积物中的细菌占其微生物总数的一半以上, 在沉积物中占主导地位^[4]。海洋沉积物中的细菌能产生多种分解代谢酶, 能够有效分解各种底物, 也是海洋食物链中的重要成员, 并且对元素循环具有深远的影响^[5]。由于多种因素的影响, 认为不同环境下的海洋沉积物具有共有和特有的微生物群落^[6]。海洋沉积物微生物是海洋生态系统的重要组成部分, 其多样性的研究有助于我们深入了解海洋沉积物微生物的分布特征及其在整个海洋生态系统中的功能。

在以往的研究中, 微生物群落分析仅使用传统培养的方法, 无法检测环境中大多数微生物群落, 特别是无法培养的微生物群落, 这些群落往往可能具有重要的生态功能^[7]。下一代测序(next generation sequencing, NGS)使得对海洋沉积物中微生物多样性研究获得突破性进展, 为深入研究未培养的细菌提供了可能性^[8-9]。最近研究显示, 海洋沉积物在海洋领域内具有最高的微生物丰度和多样性^[10]。Lin 等^[6]采用 454 焦磷酸测序法研究了北冰洋沉积物的细菌群落结构, 发现 15 002 种细菌, 相对丰富的菌群为 *Proteobacteria*

和 *Firmicutes*, *Proteobacteria* 中 *Gammaproteobacteria* 和 *Gammaproteobacteria* 相对丰度最高; Zeng 等^[11]采用 454 焦磷酸测序对白令海峡东北部沉积物样品进行了微生物群落组成研究, 发现沉积物细菌群落以 *Alphaproteobacteria*、*Epsilonproteobacteri*、*Deltaproteobacteria* 和 *Gammaproteobacteria* 为主, 在海洋沉积物样品中还观察到多种参与元素循环的古菌和细菌; Nunoura 等^[12]对马里亚纳海沟底部沉积物的微生物群落结构进行了研究, 发现主要细菌群落由 *Chloroflexi*、*Bacteroidetes* 和 *Planctomycetes* 等组成, 结合元素分析和硝化细菌定量 PCR 技术, 揭示了硝化与反硝化的协同作用; Soliman 等^[13]利用高通量测序技术研究冲绳海槽中沉积物中细菌多样性发现, *Actinobacteria*、*Chloroflexi*、*Firmicutes* 和 *Proteobacteria* 在所有样本中占主导地位, 堤道环境改变了海洋沉积物中的微生物群落组成和代谢物特征。

黄海的西北以辽东半岛南端老铁山角与山东半岛北岸蓬莱角连线为界, 与渤海相接; 南以中国长江口北岸启东嘴与济州岛西南角连线为界, 与东海相连。对于黄海海域的细菌群落组成和变化已有一些研究, 本实验室(辽宁省海洋微生物工程技术研究中心)目前已筛选到几十余种产海洋低温酶的功能细菌, 初步意识到黄海海域细菌多样性, 但对其认识仍不全面。众所周知土壤是微生物的资源库, 然而陆地微生物的开发已日益枯竭, 海洋同样具有丰富的微生物资源, 因此, 海洋微生物多样性的研究成为热点。目前, 对海洋微生物的研究程度明显低于陆地微生物, 涉及海洋沉积物微生物的研究更

是少之又少,且对海洋沉积物与陆地土壤细菌多样性对比研究几乎没有。本研究利用 16S rRNA 基因高通量测序技术,以陆地土壤为对照,旨在研究样品间细菌群落的相似性和差异性,以便更好地认识海洋细菌多样性,为深入了解沉积物细菌在海洋环境中的潜在作用,以及为由陆地微生物研究转向海洋沉积物微生物资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

1.1.1 实验组样品

海洋沉积物样品: 采自中国辽宁省大连市黄海域(N38°52', E121°40'), 采集深度 50 m 左右, 采集月份 10 月, 编号为 B1。采集后放入-20 °C 备用。

1.1.2 对照组样品

陆地土壤样品: 采自中国辽宁省大连市大黑山脚下(N39°06', E121°48'), 采集海拔 100 m 左右, 采集月份 10 月, 编号为 A1。采集后放入-20 °C 备用。

1.2 基因组 DNA 提取

通过 SDS 结合蛋白酶 K 法提取样品基因组 DNA, 样品 DNA 提取方法参见文献[14]。

1.3 PCR 扩增及文库构建

采用 16S rRNA 基因(V3-V4) PCR 扩增引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')进行扩增。PCR 扩增详细步骤参见文献[15]。对产物进行纯化、定量和均一化, 构建测序文库, 通过文库质检及 Illumina HiSeq 2500 双端测序, 得到测序序列相关信息。测序由北京百迈客生物科技有限公司完成。

1.4 生物信息分析方法

应用 FLASH V1.2.7 软件拼接各样品得到 Raw Tags; 应用 Trimmomatic V0.33 软件过滤 Raw Tags, 得到 Clean Tags。对 Tags 相似性为 97%的序列应用 QIIME V1.8.0 软件^[16]聚类, 得到操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU)。通过 α 多样性指数统计分析研究样品物种丰度和多样性。通过物种注释及多样性分析研究样品物种构成。应用

MEGAN 软件^[17]将测序物种信息回归至数据库的分类学系统关系树中, 研究两样品在不同分类学分支上序列丰度的差异以及样品中所有细菌间的进化关系^[18]。

2 结果与分析

2.1 生物信息分析

陆地土壤和海洋沉积物样品经拼接、质控和嵌合体过滤后分别得到 27 318 和 19 495 条 Tags。将 Tags 相似性为 97%的序列聚类为 1 个 OTU, 样品总 OTU 数目为 463, 陆地土壤样品的 OTU 数目为 430, 海洋沉积物样品的 OTU 数目为 404。

2.2 海洋沉积物和陆地土壤的 Venn 图分析

由图 1 可知, 陆地土壤样品独有 OTU 数目为 59, 海洋沉积物样品独有 OTU 数目为 33; 样品共有 OTU 数目为 371。陆地土壤和海洋沉积物样品中细菌种类大部分相似; 陆地土壤样品中的细菌种类略高于海洋沉积物样品中的细菌种类; 陆地土壤和海洋沉积物样品中细菌种类在所有样品细菌种类占比分别约为 92.87%和 87.25%。

2.3 海洋沉积物和陆地土壤的 α 多样性分析

由表 1 可知, 本次各样本测序结果覆盖率大于 0.998。海洋沉积物的物种丰度和物种多样性都略低于陆地土壤。

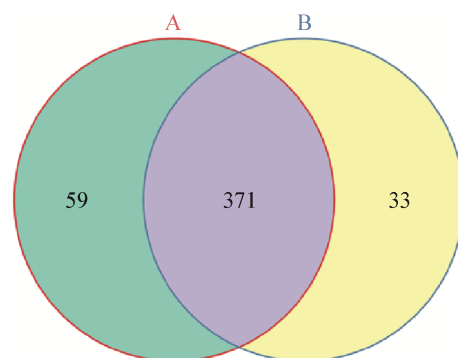


图 1 细菌群落组成的 Venn 图

Figure 1 Venn diagram of bacterial community composition

注: A: 陆地土壤样品 A1; B: 海洋沉积物样品 B1.

Note: A: Terrestrial soil sample A1; B: Marine sediment sample B1.

表 1 样品 α 多样性指数

Table 1 Sample alpha diversity index					
Sample	ACE index	Chao1 index	Simpson index	Shannon index	Coverage
A1	438.1	439.5	0.007 4	5.436 2	0.998 6
B1	408.3	410.5	0.016 5	5.043 8	0.998 9

2.4 海洋沉积物和陆地土壤的物种组成分析

由表 2 可知, 在门、纲、目、科、属 5 个细菌分类学水平上, 海洋沉积物和陆地土壤的物种很接近, 表明它们在物种组成相似性较高。

2.4.1 门水平样品物种分布

对海洋沉积物和陆地土壤在门水平上进行细菌分布比较, 见图 2。

由图 2 可知, 陆地土壤在门水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: 变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)。海洋沉积物在门水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: 变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、厚

表 2 样品各分类水平上物种数

Table 2 The numbers of species at each classification level of the sample					
Sample	Phylum	Class	Order	Family	Genus
A1	17	47	68	111	146
B1	15	44	68	113	147

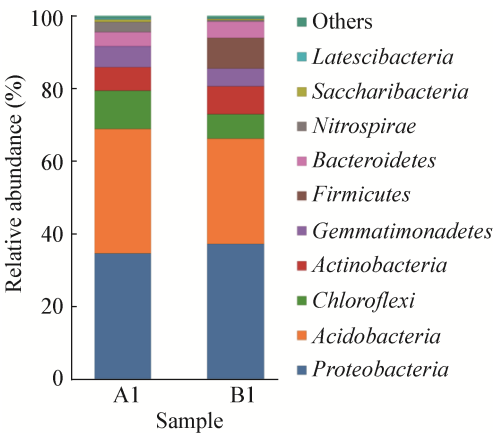


图 2 门水平物种分布图
Figure 2 Phylum horizontal species distribution map

壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)。海洋沉积物中厚壁菌门(*Firmicutes*)丰度为 8.5%, 远高于陆地土壤(0.07%), 约为其 120 倍。

2.4.2 纲水平样品物种分布

对海洋沉积物和陆地土壤在纲水平上进行细菌分布比较, 见图 3。

由图 3 可知, 陆地土壤在纲水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: Subgroup 6、 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、*Blastocatellia*、 β -变形菌纲(*Betaproteobacteria*)。海洋沉积物在纲水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、Subgroup 6、芽孢杆菌纲(*Bacilli*)、*Blastocatellia*、 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)。海洋沉积物中芽孢杆菌纲(*Bacilli*)丰度为 8.5%, 远高于陆地土壤(0.07%), 约为其 120 倍。

2.4.3 属水平样品物种分布

对海洋沉积物和陆地土壤在属水平上进行细菌分布比较, 见图 4。

由图 4 可知, 陆地土壤在属水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: 未培养细菌 c. 6 亚群(uncultured bacterium c. Subgroup 6)、未培养的亚硝化单胞菌属(uncultured bacterium f. *Nitrosomonadaceae*)、RB41。海洋沉积物在属水平上的物种丰度大于 5% 由高至低类别如下: 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、

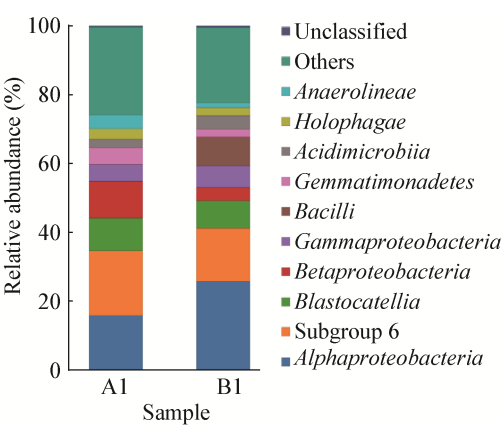


图 3 纲水平物种分布图
Figure 3 Class horizontal species distribution map

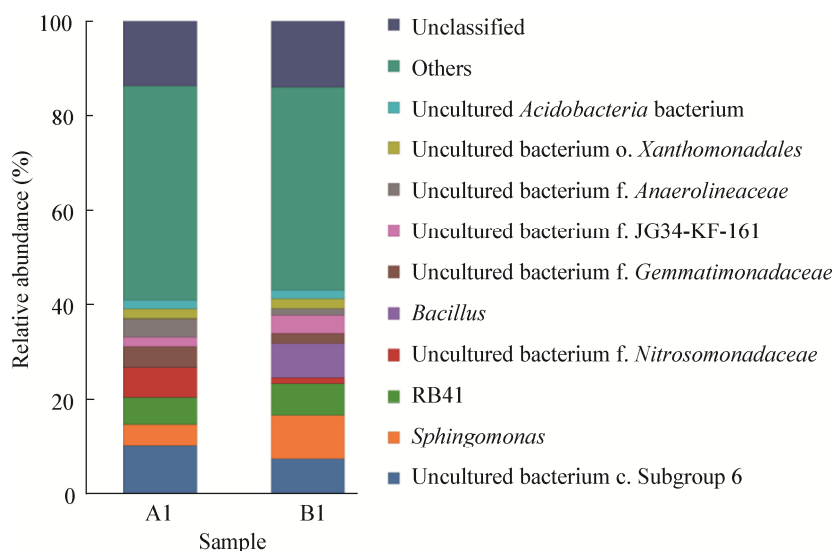


图4 属水平物种分布图

Figure 4 Genus horizontal species distribution map

未培养细菌 c. 6 亚群(uncultured bacterium c. Subgroup 6)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、RB41。海洋沉积物中鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)丰度为 9.36%约为陆地土壤丰度的 2 倍(4.48%);海洋沉积物中芽孢杆菌属(*Bacillus*, A1: 0.04%, B1: 7.17%)丰度为 7.17%, 远高于陆地土壤(0.04%), 约为其 180 倍。

2.5 海洋沉积物和陆地土壤的分类学统计结果

对海洋沉积物与陆地土壤样品进行分类学统计, 见图 5。

由图 5 可知, 海洋沉积物与陆地土壤样品的系统发育网络的总体组成较为相似, 在不同发育分支上具有差异性。*Acidobacteria* 序列丰度最大, *Acidobacteria* 在陆地土壤样品和海洋沉积物样品中的序列丰度比例都较大。*Sphingomonas* 序列丰度较大, 且其在海洋沉积物中的序列丰度大于陆地土壤。

3 讨论

微生物是地球上生命的基础, 通过生物化学反应驱动全球的元素循环并与其他生物群落提供营养, 从而为生态系统提供服务。海洋沉积物中的微生物具有至关重要的作用, 可以防止化学污染、富营养化、过度开发和物种入侵等重大人为威胁^[19]。

海洋沉积物细菌群落结构受海洋环境变化的潜在影响, 因此可以利用细菌多样性作为海洋生态环境的检测指标^[20]。探索细菌群落多样性同样是微生态研究的重要内容^[21]。

海洋沉积物和陆地土壤的各分类水平中物种组成基本相似, 但在物种丰度上有所差异。海洋沉积物中 *Bacilli*、*Sphingomonas* 和 *Bacillus* 丰度高于陆地土壤; *Uncultured bacterium f. Nitrosomonadaceae* 和 *Uncultured bacterium f. Anaerolineaceae* 在海洋沉积物中的丰度虽低于陆地土壤, 但丰度值也均高于 1%。*Bacilli* 属于 *Firmicutes* 中的一类, 为好氧异养型, 容易在营养丰富的表层沉积物中繁殖而占优势^[22], 陆地降水和泥流为黄渤海海域输送了丰富的营养盐^[23], 沿海地区经济快速发展的同时, 大量的氮磷等营养物和有机碳等化学耗氧物质入海^[24], 不仅造成海洋污染, 还导致黄海富营养化, 这可能是 *Bacilli* 丰度较高的原因。*Sphingomonas* 对氮工业废水、生活污水的短程硝化-反硝化脱氮以及在受污染水源水中的处理均发挥着重要作用^[25]; *Bacillus* 为主要的反硝化细菌, 具有良好的反硝化性能^[26]; *Uncultured bacterium f. Nitrosomonadaceae* 是主要的硝化功能菌, 能将氨氧化为 NO_2^- , 在生物脱氮过

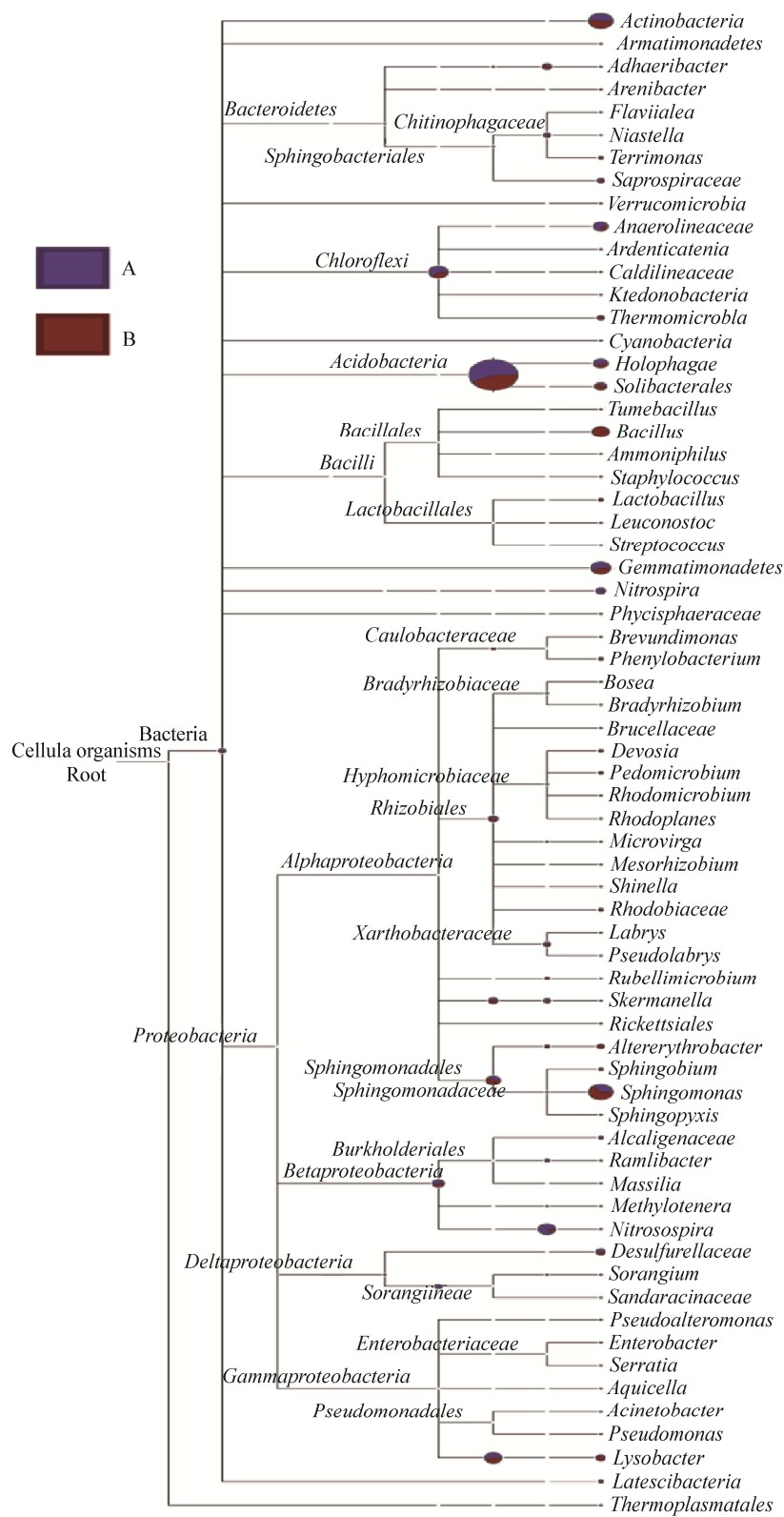


图 5 样品分类学树状图
Figure 5 Sample taxonomy tree

程中控制着硝化作用的速度和进程,可以提高生物脱氮效率^[27]; Uncultured bacterium f. *Anaerolineaceae* 具有降解 NO_2^- 的能力^[28], 上述证据表明, 海洋沉积物中有多种在氮循环中发挥着重要作用的功能菌, 本研究将有助于对氮循环功能菌的发现及其在环境保护等领域的潜在应用价值。

在多项海洋沉积物细菌多样性的研究中发现 *Proteobacteria* 是优势菌门^[29], 其中 *Alphaproteobacteria*、*Gammaproteobacteria* 和 *Deltaproteobacteria* 是大多数烃类污染的海洋沉积物中的主要优势菌, 其次是 *Bacteroidetes*^[30]。本研究中, *Proteobacteria* 在黄海海洋沉积物中也为优势菌门。*Alphaproteobacteria*、*Betaproteobacteria* 和 *Gammaproteobacteria* 通常具有降解石油、石油烃、芳烃等碳氢化合物的功能^[31], 近几年来, 7·16 大连输油管道爆炸事故和 6·30 大连中石油新大一线原油泄漏事故给大连黄海海域造成了重大原油污染, 此外, 石油开采、船舶泄露、渔船作业、运油船舶突发事件等导致的石油污染等, 使黄海环境也不断恶化, 氮磷、石油类、重金属超标, 富营养化导致赤潮、水母暴发灾害频发, 产卵环境恶化, 饵料质量下降, 海洋生态退化^[32], 因此 *Bacteroidetes* 有可能被用于海洋生态环境的生物修复, 其丰度变化同时可作为原油污染程度的检测指标之一。在本研究中未检测到 *Deltaproteobacteria*, 可能与当时采集样品时的温度有关, 曾有研究报道 *Deltaproteobacteria* 在温度较低环境下存在^[33]。在已经报道的黄海沉积物多样性的研究中 *Bacteroidetes* 为优势菌门^[34-36], 与上述研究不同的是在本研究中虽然检测到了 *Bacteroidetes*, 但其丰度较低。

黄海海洋沉积物中其他优势菌门还包括 *Acidobacteria* 和 *Actinobacteria*。*Acidobacteria* 具有降解植物多聚体的功能^[37], 可在其他纤维素降解菌无法生存的极端条件下降解纤维素^[38]; 还具有异化铁还原的能力, 参与生态环境中的铁循环, 异化铁还原对重金属污染场地进行修复具有广阔的应用前景^[39]。目前对于海洋中 *Acidobacteria* 的研究尚且

较少, 海洋中 *Acidobacteria* 资源丰富, 开发水平低, 开发潜力巨大。*Actinobacteria* 在有机质分解和矿化作用的过程起重要作用, 已被普遍认为是生物活性物质和海洋药物开发的重要微生物来源, 可以产生大量的活性次级代谢产物, 具有产生代谢产物多样性的能力, 海洋中 50% 的生物生长依赖放线菌所具有的抗菌活性^[40]。

通过样品分类学统计结果显示, *Acidobacteria* 在陆地土壤样品和海洋沉积物样品中的序列丰度比例都较大, *Sphingomonas* 在海洋沉积物中的序列丰度大于陆地土壤中。*Sphingomonas* 所特有的辅酶 Q 主要包含鞘脂, 鞘脂在污染物代谢方面具有重要意义^[41], 并已证明 *Sphingomonas* 具有生物降解的能力, 可在 3 个月内降解 40% 的聚乙烯塑料袋, 在生物合成、生物降解领域具有广阔的应用前景。

通过上述生物信息学分析(α 多样性分析、物种组成及丰度、分类学统计), 本研究采集的陆地土壤 (N39°06', E121°48') 与海洋沉积物 (N38°52', E121°40') 两组样品间的细菌多样性具有较高相似性。影响微生物多样性的诸多因素中环境营养水平是重要因素^[42], 陆地土壤与海洋沉积物处于开放性系统中, 陆地土壤与海洋沉积物间持续进行物质循环与能量循环, 可能导致陆地土壤与海洋沉积物间的生态环境及生态因子具有一定相似性及稳定性, 从而导致细菌群落的稳定性^[43], 使得陆地土壤与海洋沉积物中细菌的物种组成及丰度也具有相似性。

4 结论

通过高通量测序技术, 对海洋进行细菌多样性研究, 可作为海洋生态环境的检测指标。海洋细菌的开发潜力巨大, 目前对海洋中细菌的研究程度远不如陆地土壤细菌, 海洋细菌资源库的开发与利用是未来重要方向。海洋沉积物和陆地土壤样品的物种组成与分布多数为未培养的菌属, 现有的培养方法和技术尚不能对其进行分离培养, 对此类未培养微生物的分离培养以及对其性质功能的研究是未来微生物研究的主要方向。

REFERENCES

- [1] Jiao BH. Research and development of marine bio-active substances and drugs[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2006, 27(1): 5-7 (in Chinese)
焦炳华. 海洋生命活性物质和海洋药物的研究与开发[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(1): 5-7
- [2] Yang XQ, Lian YL, Yan QY, et al. Microbially-driven nitrogen cycling in coastal wetland ecosystems[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(4): 633-648 (in Chinese)
杨雪琴, 连英丽, 颜庆云, 等. 滨海湿地生态系统微生物驱动的氮循环研究进展[J]. 微生物学报, 2018, 58(4): 633-648
- [3] King GM, Kostka JE, Hazen TC, et al. Microbial responses to the *Deepwater horizon* oil spill: from coastal wetlands to the deep sea[J]. Annual Review of Marine Science, 2015, 7(1): 377-401
- [4] Parkes RJ, Cragg B, Roussel E, et al. A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere: geosphere interactions[J]. Marine Geology, 2014, 352: 409-425
- [5] Louis BP, Maron PA, Menasseri-Aubry S, et al. Microbial diversity indexes can explain soil carbon dynamics as a function of carbon source[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161251
- [6] Lin XZ, Zhang L, Liu YG, et al. Bacterial and archaeal community structure of pan-Arctic Ocean sediments revealed by pyrosequencing[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2017, 36(8): 146-152
- [7] Han D, Ha HK, Hwang CY, et al. Bacterial communities along stratified water columns at the Chukchi Borderland in the western Arctic Ocean[J]. Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2015, 120: 52-60
- [8] Hu AY, Wang HJ, Li JW, et al. Archaeal community in a human-disturbed watershed in southeast China: diversity, distribution, and responses to environmental changes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(10): 4685-4698
- [9] Frisvad JC, Larsen TO. Chemodiversity in the genus *Aspergillus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(19): 7859-7877
- [10] Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR, et al. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(40): 16213-16216
- [11] Zeng YX, Yu Y, Li HR, et al. Prokaryotic community composition in arctic Kongsfjorden and sub-arctic northern Bering Sea sediments as revealed by 454 pyrosequencing[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2498
- [12] Nunoura T, Nishizawa M, Hirai M, et al. Microbial diversity in sediments from the bottom of the Challenger Deep, the Mariana Trench[J]. Microbes and Environments, 2018, 33(2): 186-194
- [13] Soliman T, Reimer JD, Yang SY, et al. Diversity of microbial communities and quantitative chemodiversity in layers of marine sediment cores from a causeway (Kaichu-Doro) in Okinawa Island, Japan[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2451
- [14] Wang XH, Huangli SX, Bai FW, et al. Comparative study of methods for extraction and purification of environmental DNA from marine sediment samples[J]. Journal of Dalian University of Technology, 2014, 54(3): 272-277 (in Chinese)
王晓辉, 黄李淑馨, 白凤武, 等. 海洋底泥环境 DNA 提取与纯化方法比较研究[J]. 大连理工大学学报, 2014, 54(3): 272-277
- [15] Zeng B, Han SS, Wang P. The bacterial communities associated with fecal types and body weight of rex rabbits[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 9342
- [16] Lawley B, Tannock GW. Analysis of 16S rRNA gene amplicon sequences using the QIIME software package[A]//Seymour G, Cullinan M, Heng N. Oral Biology. Methods in Molecular Biology[M]. New York: Humana Press, 2017: 153-163
- [17] Huson DH, Auch AF, Qi J, et al. MEGAN analysis of metagenomic data[J]. Genome Research, 2007, 17(3): 377-386
- [18] Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, et al. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles[J]. Bioinformatics, 2014, 30(21): 3123-3124
- [19] la Manna G, Donno Y, Sarà G, et al. The detrimental consequences for seagrass of ineffective marine park management related to boat anchoring[J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, 90(1/2): 160-166
- [20] Catania V, Santisi S, Signa G, et al. Intrinsic bioremediation potential of a chronically polluted marine coastal area[J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, 99(1/2): 138-149
- [21] Krause S, le Roux X, Niklaus PA, et al. Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 251
- [22] Yu QW, Hu LQ, Li F, et al. Diversity and biotoxicity of cultivable marine bacteria isolated from deep-sea sediments of the South China Sea[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(12): 2203-2208 (in Chinese)
于清武, 胡丽琴, 李菲, 等. 南海深海沉积物可培养细菌多样性及其生物毒性分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(12): 2203-2208
- [23] Wang YZ, Sun DR, Lin ZJ, et al. Analysis on responses of hairtail catches to fishing and climate factors in the Yellow Sea and Bohai Sea, China[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(6): 1043-1050 (in Chinese)
王跃中, 孙典荣, 林昭进, 等. 捕捞压力和气候因素对黄渤海带鱼渔获量变化的影响[J]. 中国水产科学, 2012, 19(6): 1043-1050
- [24] Wu J, Guo F. Risk assessment of rivers into the sea and seashores in Liaoning Province[J]. Journal of Environmental

- Engineering Technology, 2018, 8(1): 65-70 (in Chinese)
- 武曠, 郭飞. 辽宁省入海河流及近岸海域风险评估[J]. 环境工程技术学报, 2018, 8(1): 65-70
- [25] Sun YJ, Yang Q, Bian RX, et al. Analysis on the bacterial diversity in a bioreactor for aged refuse[J]. Environmental Engineering, 2016, 34(3): 142-146 (in Chinese)
- 孙英杰, 杨强, 卞荣星, 等. 矿化垃圾生物反应器中的细菌多样性分析[J]. 环境工程, 2016, 34(3): 142-146
- [26] Kumar M, Ou YL, Lin JG. Co-composting of green waste and food waste at low C/N ratio[J]. Waste Management, 2010, 30(4): 602-609
- [27] Yao Y, Zhu JR, Tang M, et al. Application of aerobic granular sludge technology on treatment of villages and towns sewage[J]. Research of Environmental Sciences, 2018, 31(2): 379-388 (in Chinese)
- 姚源, 竺建荣, 唐敏, 等. 好氧颗粒污泥技术处理乡镇污水应用[J]. 环境科学研究, 2018, 31(2): 379-388
- [28] Liu WC, Luo GZ, Tan HX, et al. Treatment efficiency of wastewater in pilot test of biofloc reactor in recirculating aquaculture systems[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(8): 184-191 (in Chinese)
- 刘文畅, 罗国芝, 谭洪新, 等. 生物絮团反应器对中式循环水养殖系统中污水的处理效果[J]. 农业工程学报, 2016, 32(8): 184-191
- [29] Franco DC, Signori CN, Duarte RT, et al. High prevalence of gammaproteobacteria in the sediments of Admiralty Bay and North Bransfield Basin, Northwestern Antarctic Peninsula[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 153
- [30] Kappell AD, Wei Y, Newton RJ, et al. The polycyclic aromatic hydrocarbon degradation potential of Gulf of Mexico native coastal microbial communities after the Deepwater Horizon oil spill[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 205
- [31] Chen QC. Investigations to pyrene polluted marine sediments and the microbial community of PAHs degrading bacteria[D]. Ji'nan: Master's Thesis of Qilu University of Technology, 2016 (in Chinese)
- 陈庆彩. 环渤海沉积物多环芳烃胁迫下细菌群落变化的研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学硕士学位论文, 2016
- [32] Li XW, Zhao JM, Liu H, et al. Status, problems and optimized management of spawning, feeding, overwintering grounds and migration route of marine fishery resources in Bohai Sea and Yellow Sea[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2018(5): 147-157 (in Chinese)
- 李晓炜, 赵建民, 刘辉, 等. 渤海渔业资源三场一通道现状、问题及优化管理政策[J]. 海洋湖沼通报, 2018(5): 147-157
- [33] Nielsen ME, Reimers CE, White HK, et al. Sustainable energy from deep ocean cold seeps[J]. Energy & Environmental Science, 2008, 1(5): 584-593
- [34] Cao H, Cao XP, Guan XY, et al. High temporal variability in bacterial community, silicatein and hsp70 expression during the annual life cycle of *Hymeniacidon sinapium* (Demospongiae) in China's Yellow Sea[J]. Aquaculture, 2012, 358/359: 262-273
- [35] Bai J, Li HY, Zhao YG. Bacterial distribution at different stations in the northern Yellow Sea[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 49(3): 343-350 (in Chinese)
- 白洁, 李海艳, 赵阳国. 黄海北部不同站位海洋细菌群落分布特征[J]. 微生物学报, 2009, 49(3): 343-350
- [36] Dong Y. Microbial community structure and its relationship with environmental variations in typical areas of the Yellow Sea and East China Sea[D]. Qingdao: Doctoral Dissertation of the University of Chinese Academy of Sciences (Marine Institute), 2013 (in Chinese)
- 董逸. 我国黄、东海典型海域微生物群落结构及其与环境变化的关系[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士学位论文, 2013
- [37] Wang GH, Liu JJ, Yu ZH, et al. Research progress of *Acidobacteria* ecology in soils[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2): 14-20 (in Chinese)
- 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20
- [38] Pankratov TA, Ivanova AO, Dedysh SN, et al. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic *Sphagnum* peat[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(7): 1800-1814
- [39] Si YB, Wang J. Influence of dissimilatory iron reduction on the speciation and bioavailability of heavy metals in soil[J]. Environmental Science, 2015, 36(9): 3533-3542 (in Chinese)
- 司友斌, 王娟. 异化铁还原对土壤中重金属形态转化及其有效性影响[J]. 环境科学, 2015, 36(9): 3533-3542
- [40] Jiang H, Lin R, Chen LJ, et al. Actinobacterial diversity of marine sediment samples from Chile[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(7): 862-869 (in Chinese)
- 江红, 林如, 陈路劼, 等. 智利海洋沉积物中放线菌多样性[J]. 微生物学报, 2010, 50(7): 862-869
- [41] Minamino M, Sakaguchi I, Naka T, et al. Bacterial ceramides and sphingophospholipids induce apoptosis of human leukaemic cells[J]. Microbiology, 2003, 149(8): 2071-2081
- [42] Wang HJ. The main affecting factors of soil microbial diversity[J]. Beifang Environment, 2011, 23(1/2): 90-91, 118 (in Chinese)
- 汪海静. 土壤微生物多样性的主要影响因素[J]. 北方环境, 2011, 23(1/2): 90-91, 118
- [43] Rivett DW, Bell T. Abundance determines the functional role of bacterial phylotypes in complex communities[J]. Nature Microbiology, 2018, 3(7): 767-772