



研究报告

典型高原湖滨带底泥细菌群落结构及多样性特征

赵立君¹ 刘云根² 王妍^{*2} 赵蓉² 任伟² 徐鸣洲²

1 西南林业大学湿地学院 云南 昆明 650224

2 西南林业大学生态与环境学院 云南 昆明 650224

摘要:【背景】高原湖泊的富营养化日趋严重,而湖滨带作为湖泊的保护屏障对外源污染物具有拦截净化等作用,水环境变化则会对底泥细菌产生深刻影响。【目的】探究高原湖滨带底泥细菌群落结构特征及与水体富营养化之间的联系。【方法】基于 16S rRNA 基因高通量测序技术分析阳宗海南岸湖滨带 8 个不同样点的底泥细菌群落结构及多样性,并结合样品水体环境因子,采用主成分分析(PCA)和冗余分析(redundancy analysis, RDA)探讨了水体富营养化对底泥细菌群落结构及丰富度的影响。【结果】湖滨带底泥细菌与水体富营养化程度存在响应关系,在水体富营养化程度高的区域(S3)细菌丰富度较高,操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)高达 1 473。反之,在富营养化程度低的区域(S1)细菌丰富度较低,OTU 为 730。阳宗海南岸湖滨带底泥中主要优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*),含有少量的放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*);绿弯菌门(*Chloroflexi*)与水体富营养化程度具有相关性,在中度富营养化区域,绿弯菌门(*Chloroflexi*)的比重高达 44.1%,而在轻度富营养化区域绿弯菌门(*Chloroflexi*)的比重仅为 15.6%。通过环境因子分析发现,阳宗海湖滨底泥细菌受总磷(TP)、叶绿素 a (Chla)和总氮(TN)影响较强。【结论】研究结果明确了高原湖泊湖滨带底泥细菌种群的结构、变化特征及其对于水体富营养化的响应,加深了高原湖泊底泥细菌的了解,为高原湖泊水体富营养化的防治提供理论基础。

关键词: 高原湖滨带, 底泥细菌, 水体富营养化, 细菌群落结构

Bacterial community structure and diversity of sediments in a typical plateau lakeshore

ZHAO Li-Jun¹ LIU Yun-Gen² WANG Yan^{*2} ZHAO Rong² REN Wei²
XU Ming-Zhou²

1 Wetland College, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China

2 College of Ecology and Environment, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China

Abstract: [Background] Eutrophication of plateau lakes is becoming increasingly serious. Lakeshore zone is the protective barrier for the lake and has effects on intercepting and purifying the external pollutants. Changes of water environment affect the sediment bacteria. [Objective] The aim of the present

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31560147, 21767027); Yunnan Province Agricultural Joint Special (2018FG001-049)

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

Received: 31-03-2019; **Accepted:** 24-09-2019; **Published online:** 17-10-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31560147, 21767027); 云南省农业联合专项(2018FG001-049)

***通信作者:** E-mail: wycaf@126.com

收稿日期: 2019-03-31; **接受日期:** 2019-09-24; **网络首发日期:** 2019-10-17

work was to explore the relationship between lakeshore sediment bacterial community structural characteristics and water bodies eutrophication. **[Methods]** Bacterial community structure and the diversity of eight sediments in the south bank of Yangzonghai Lake was analyzed by 16S rRNA gene high-throughput sequencing technology. Principal component analysis and redundant analysis were analyzed by comparing the differences in environmental factors of different waters, and the effects of eutrophic water on bacterial community structure and abundance in sediments. **[Results]** Lakeshore sediments had a certain response to water eutrophication. In high eutrophication areas (S3), the bacterial richness was high with a high OTU at 1 473. Conversely, in areas with low levels of eutrophication (S1), the bacterial richness was low and the OTU was 730. The dominant bacteria in Yangzonghai Lake lakeshore were *Proteobacteria* and *Chloroflexi* with a small group of *Actinobacteria*, *Actidobacteria* and *Firmicutes*. *Chloroflexi* was closely related to eutrophication degree in water. In moderately eutrophic areas, the proportion of *Chloroflexi* was as high as 44.1%, while in the light eutrophication area *Chloroflexi* was only 15.6%. Basing on environmental factor analysis, it was found that the bacterial community of Yangzonghai Lakeshore sediment was strongly affected by total phosphorus, chlorophyll a and total nitrogen. **[Conclusion]** The results clarified the structure and variation characteristics of bacterial populations in plateau lakes lakeshore and their responses to water eutrophication, helps to better the understanding of sediment bacteria in plateau lakes and provide a theoretical basis for prevention and control eutrophication in plateau lakes.

Keywords: Plateau lakeshore, Sediment bacteria, Water eutrophication, Bacterial community structure

近年来,随着环境资源不断开发利用,含氮、磷等污染物大量排入湖泊、河流等,使湖泊水体的营养负荷持续增加,导致一些国家和地区的湖泊面临着水体富营养化的威胁^[1],如非洲的 Victoria^[2]、加拿大的 Erie^[3]等湖泊。2007–2010 年,杨桂山等^[4]研究了中国的 138 个湖泊的营养盐状况,发现有 85.4%的湖泊处于富营养状态,其中面临着重度富营养化危险的湖泊有 40.1%,严重影响了附近区域的湖泊生态健康。富营养化水体的有效防治成为亟需解决的环境问题。

湖滨带是湖泊天然的保护屏障,对于氮、磷等污染物具有拦截、净化等作用,是健康湖泊生态系统的重要组成部分和评价指标^[5]。湖泊底泥是湖滨生态系统中最活跃和最影响的组成部分,与水体富营养化密切相关。在湖泊水体-底泥系统中,底泥作为水体的养分库和污染物迁移转化的载体,成为物质的蓄积库^[6],与水体不断进行物质和能量交换。细菌是受环境影响最为敏感的生物类群之一,也是湖滨生态系统中的重要组成部分,影响整个湖滨生态系统的物质循环和营养传递过程^[7]。底泥细菌群落通过驱动水体和底泥的物质能量循环来调

控营养物质的储存、分布,对水体营养水平的调节有重要作用^[8]。

目前,对不同区域湖泊的富营养演化过程已有大量研究^[9-10],但针对高原湖泊湖滨带底泥细菌群落及与水体富营养化程度的响应关系鲜有研究。阳宗海 4 个湖滨带中东岸、西岸、北岸湖滨带退化严重,仅南岸湖滨带保存较为完整,具有研究价值^[11]。本研究以阳宗海南岸湖滨带为研究对象,利用 16S rRNA 基因高通量测序技术,对阳宗海南岸不同区域底泥细菌群落结构及多样性进行分析,旨在揭示阳宗海湖滨带底泥细菌群落特征与水体富营养化之间的联系,为高原湖泊的富营养化防治提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

采样点位置如图 1 所示,2017 年 7 月下旬,于阳宗海南岸选取 4 组区域湖滨带采样,分别为: S1 样带,周边无外源河流汇入,有少量村落; S2 样带,入湖河流经过阳宗海湿地公园汇入,该区域表层底泥较软,颜色呈黄褐色; S3 样带为阳宗大河入湖

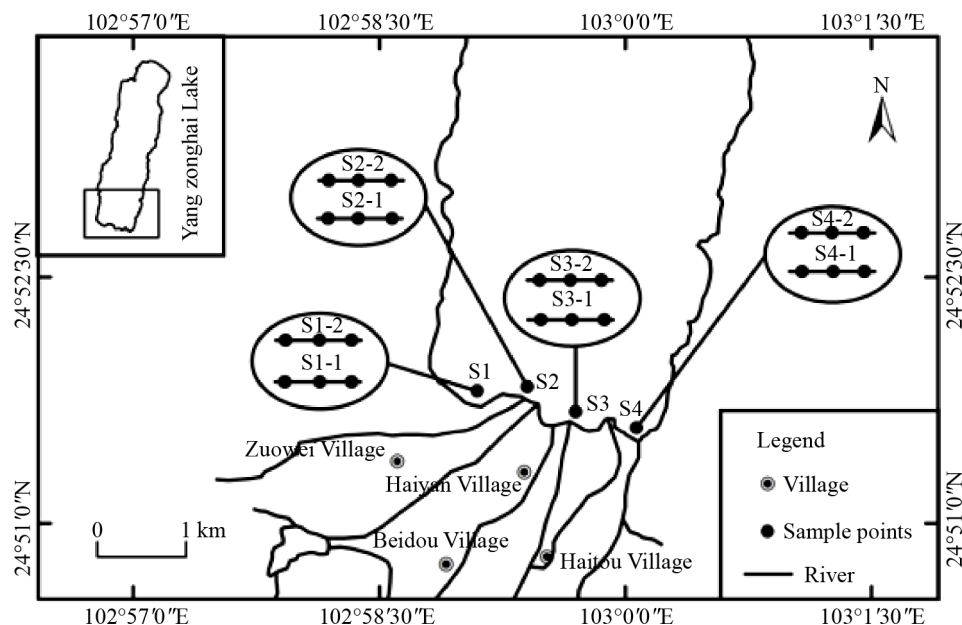


图 1 采样点分布

Figure 1 Sketch of the sampling positions

附近, 伴随大量的生活污水汇入阳宗海, 底泥表层为颜色青灰色的淤泥; S4 样带周边为高速公路无人人口聚集, 底泥表层为黄棕色沙质土壤。每条样带另设距湖岸 5 m 的近岸点(S-1)和距湖岸约 15 m 的远岸点(S-2)。使用全球定位系统 GPS (佳明 GPS72) 定位。使用有机玻璃采水器采集 1 L 水样于样品瓶中, 用柱状底泥采样器同步采集湖泊表层(1–10 cm)底泥样品, 每个样点采集 3 个平行水样与底泥样品, 水样存放在有冰袋的泡沫箱, 回实验室后立即检测, 底泥样品用无菌的聚乙烯薄膜自封袋包装, 存放在有干冰的泡沫箱后放入 -80°C 冰箱保存, 待测。

1.2 理化指标测试及分析方法

水样测定指标: 化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)、总磷(total phosphorus, TP)、总氮(total nitrogen, TN)、叶绿素 a (chlorophylla, Chla)。COD 采用重铬酸盐法测定(HJ 828-2017); TP 采用钼酸铵分光光度法测定(GB 11893-1989); TN 采用过硫酸钾消解紫外分光光度法测定(HJ 636-2012); Chla 采用分光光度法测定(HJ 897-2017)。

采用综合营养状态指数法评价阳宗海湖滨带富营养化程度。

综合营养状态指数计算公式:

$$TLI(\Sigma) = \sum W_j \cdot TLI(j)$$

式中: $TLI(\Sigma)$ 为综合营养状态指数; W_j 为第 j 种参数的营养状态指数的相关权重。 $TLI(j)$ 为代表第 j 种参数的营养状态指数。

采用 0–100 的一系列连续数字对湖泊(水库)营养状态进行分级:

$TLI(\Sigma) < 30$ 贫营养(oligotropher);

$30 \leq TLI(\Sigma) \leq 50$ 中营养(mesotropher);

$TLI(\Sigma) > 50$ 富营养(eutropher);

$50 < TLI(\Sigma) \leq 60$ 轻度富营养(light eutropher);

$60 < TLI(\Sigma) \leq 70$ 中度富营养(middle eutropher);

$TLI(\Sigma) > 70$ 重度富营养(hyper eutropher)。

1.3 主要试剂和仪器

FastDNA Spin Kit for Soil DNA 提取试剂盒, MPbio 公司; 建库试剂盒 TruSeq™ DNA Sample Prep Kit, Illumina 公司。PCR 仪, Promega 公司; MiSeq PE300 测序平台, Illumina 公司。

1.4 样品 16S rRNA 基因测序

底泥 16S rRNA 基因测序委托上海美吉生物信息科技有限公司完成, 以 FastDNA Spin Kit for Soil

DNA 提取试剂盒对样本的基因组 DNA 进行提取。选择 V3-V4 可变区, 使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')/806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物和高效高保真酶进行 PCR^[12], 确保扩增效率和准确性。使用 TruSeq™ DNA Sample Prep Kit 进行文库构建, 构建好的文库经过 QuantiFluor™-ST 定量, 文库合格后使用 MiSeq PE300 进行上机测序。然后对所有样品的全部序列进行聚类, 以 97% 的相似度将序列聚类成 OTU, 然后对 OTU 的代表序列利用 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释, 确定 16S rRNA^[13] 基因序列对应的细菌名称。

1.5 生物信息处理

在测序得到的原始数据的基础上, 进行拼接、过滤, 排除干扰数据^[14]。基于有效数据进行 OTU 聚类 and 物种分类分析, 并将 OTU 和物种注释结合, 从而得到每个样品的 OTU 和分类谱系的基本分析结果。利用 EXCEL、SPSS 和 CANOCO 软件对 OTU 进行物种的丰富及多样性指数等分析, 然后对不同样品之间的细菌群落组成和组间差异进行统计分析, 并结合水体的富营养指标探寻湖滨底泥细菌与水体富营养化之间的联系。

2 结果与分析

2.1 水体理化指标分析

阳宗海南岸湖滨带由于物质输入条件及距湖岸距离不同, 造成阳宗海南岸水质状况存在差异

(表 1)。结果显示: 阳宗海南岸湖滨带 8 个样点的水体均存在不同程度的富营养化状况, 其中 S1-1、S1-2、S2-2 和 S4-2 为轻度富营养化, S2-1、S3-1、S3-2 和 S4-1 为中度富营养化。S1-1 样点水质条件最好, 富营养化指数为 55.16, 其中 Chla 和 COD 分别为 2.626 mg/m³ 和 24.0 mg/L, 均低于其他 7 个样点, 属于轻度富营养化区域; S3-1 样点水质条件最差, 富营养化指数为 69.12, 其中 TP 和 COD 分别为 0.141 mg/L 和 57.6 mg/L, 为 8 个样点中最高, 属于中度富营养化区域。远岸区域水质状况优于近岸区域, S1 样带水质状况优于其他 3 条样带。

2.2 富营养化湖滨带细菌多样性特征

利用 16S rRNA 基因高通量测序技术对阳宗海南岸湖滨带底泥细菌进行基因测序, 共得到有效序列 187 056 条(表 2)。利用 UPARSE 软件^[15]对测序样品的有效条带按照 97% 的一致性进行聚类为 OTU。虽然 16S rRNA 基因高通量测序技术已被广泛用于微生物生态学研究, 但鉴于 16S rRNA 基因内部基因组存在异质性, 会导致过高估计微生物多样性的情况, 很少有研究考虑了基因组内异质性的影响^[16]。该研究选择 V3-V4 区间, 作为细菌目标靶向, 而 V4 区域作为基因组内异质性最小的区域, 被认为是细菌理想的靶标, 从而确保微生物数据的准确性, 进而对阳宗海南岸底泥微生物多样性进行正确的计算。

表 1 样点水体理化性质

Table 1 Water samples physicochemical properties

样点 Sample	叶绿素 a Chla (mg/m ³)	总磷 TP (mg/L)	总氮 TN (mg/L)	透明度 SD (m)	化学需氧量 COD (mg/L)	富营养化指数 Eutrophication index (E)	富营养化等级 Eutrophication level
S1-1	2.626	0.090	1.170 9	1.0	24.0	55.16	轻度 Light
S1-2	5.383	0.077	1.213 4	0.6	27.0	59.27	轻度 Light
S2-1	12.042	0.073	1.200 6	0.3	54.6	67.29	中度 Middle
S2-2	5.427	0.075	1.193 1	0.5	25.6	59.56	轻度 Light
S3-1	10.437	0.141	1.188 4	0.3	57.6	69.12	中度 Middle
S3-2	8.470	0.092	1.183 0	0.5	54.3	65.09	中度 Middle
S4-1	10.789	0.077	1.187 3	0.4	54.3	66.04	中度 Middle
S4-2	6.009	0.055	1.186 0	0.9	48.3	59.86	轻度 Light

表 2 样品 OTU 及多样性指数
Table 2 Microorganism OTU and diversity index of samples

样点 Sample	有效序列 Effective reads	操作分类单元 OTU	Chaol index	Shannon index	Simpson index	Coverage index
S1-1	21 182	730	937.28	4.79	0.027 5	0.992
S1-2	22 271	1 376	1 525.50	6.37	0.003 4	0.991
S2-1	28 490	1 107	1 383.79	5.27	0.023 5	0.991
S2-2	28 736	1 037	1 276.19	5.18	0.030 5	0.992
S3-1	19 338	1 473	1 654.13	6.30	0.004 2	0.986
S3-2	22 655	1 286	1 415.79	5.73	0.014 6	0.990
S4-1	22 391	1 392	1 570.88	5.88	0.015 5	0.989
S4-2	21 993	1 227	1 445.93	6.13	0.004 2	0.989

S1-1 样点包含 21 182 条有效序列(730 个 OTU), S1-2 样点包含 22 271 条(1 376 个 OTU); S2-1 样点包含 28 490 条(1 107 个 OTU), S2-2 样点包含 28 736 条(1 037 个 OTU); S3-1 样点包含 19 338 条(1 473 个 OTU), S3-2 样点包含 22 655 条(1 286 个 OTU); S4-1 样点包含 22 391 条(1 392 个 OTU), S4-2 样点包含 21 993 条(1 227 个 OTU)。OTU 分属 44 门、99 纲、192 目、311 科、479 属。

阳宗海南岸底泥细菌的丰富度由于外源营养输入条件及距湖岸距离的不同,使得不同样点间细菌丰富度存在差异。其中, S3 样带底泥细菌丰富度较高, S2 样带底泥细菌丰富度相对较低;在近岸样点中,样点 S3-1 底泥细菌丰富度最高, OTU 数为 1 473, 样点 S1-1 底泥细菌丰富度最低, OTU 数为 730, 两者 OTU 相差 743, 差异幅度高达 50.4%。在同一条样带的近远岸底泥中细菌的丰富度也存在差异, 近岸点 S1-1 OTU 数为 730, 远岸点 S1-2 OTU 数为 1 376, 两者 OTU 数相差 646, 相差 47%。

本研究采用 Chaol 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数(表 2)用以表征细菌丰富度和群落多样性。结果显示: 阳宗海南岸湖滨带底泥细菌丰富度最高的是样点 S3-1, Chaol 指数为 1 654.13, 丰富度最低的是样点 S1-1, Chaol 指数为 937.28; Shannon 指数表明底泥细菌群落多样性最高的是样点 S1-2 和 S3-1, 底泥细菌群落多样性最低的是样点 S1-1。外源河流汇入为 S3 湖滨带带来大量营养物质, 致使底泥中细菌大量繁殖, 细菌丰富度较

高; 而无外源河流的 S1 湖滨带细菌丰富度水平较低, 同时周边村落的人为活动也会影响湖滨带底泥细菌的丰富度。8 组样品的 Coverage 指数均在 0.989 以上, 表明本次测序的结果具有代表性, 反映了底泥样本中细菌的真实情况。

Venn 图可以表现出多样本中的特有及共有的物种数(图 2)。结果表明: 4 条样带中, S3 样带细菌丰富度最高, 含 1 651 个 OTU。丰富度最低的是 S2 样带, OTU 数为 1 283。S2 和 S3 样带虽都有外源河流汇入, 但 S2 样带河流汇入前会流经阳宗海湿地公园, 人工湿地拦截了大量的营养物质, 导致样带 S2 底泥细菌的 OTU 水平相对较低。4 条样带相同 OTU 为 870, 占各条样带 OTU 数的

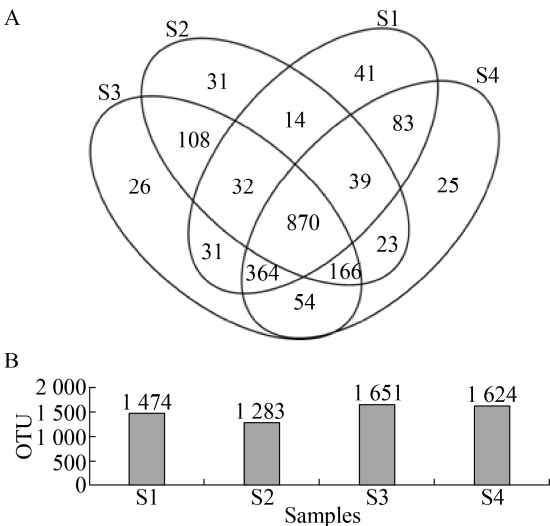


图 2 样品 OTU 分布韦恩图
Figure 2 Venn of samples on OTU level

一半以上,表明 4 条样带中细菌组成基本相似。S1 的特有 OTU 为 41; S2 的特有 OTU 为 31; S3 的特有 OTU 为 26; S4 的特有 OTU 为 25。阳宗海南岸湖滨带底泥细菌特有 OTU 较少。

2.3 富营养化湖滨带细菌群落组成特征

对 OTU 代表序列进行物种注释,用 Mothur 方法^[17]与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析(设定阈值为 0.8–1.0),得到门(phylum)水平上分类学信息统计和各样本的群落组成。

在 4 条样带中,底泥细菌的群落差异明显。在门水平上(图 3),S2 样带中变形菌门(*Proteobacteria*)占比较大,近岸为 41.8%,远岸为 49.4%,占比接近 1/2,其次为绿弯菌门(*Chloroflexi*),近岸为 29.9%,远岸为 27.1%。由于人工湿地对外来营养物质的拦截作用,致使 S2 样带的近、远岸点的营养输入条件相似,导致 S2 样带的群落结构相似度较高。S3 样带中,近岸绿弯菌门(*Chloroflexi*)占比较大,比重为 44.1%,变形菌门(*Proteobacteria*)为 25.1%。远岸绿弯菌门(*Chloroflexi*)比重降低,为 26.2%,变形菌门(*Proteobacteria*)比重增加为 39.2%。表明在河流汇入的活跃环境中,伴随着河流带来的大量营养物

质,刺激了底泥中 *Chloroflexi* 的生长。

阳宗海南岸 8 个样点细菌群落组成主要以变形菌门(*Proteobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)为主,含有少量的放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)。阳宗海南岸 4 条样带,由近岸到远岸区域,变形菌门(*Proteobacteria*)的比重均有不同程度的增加。变形菌门(*Proteobacteria*)对近远岸造成营养输入条件的变化较为敏感。4 条样带中均存在大量的绿弯菌门(*Chloroflexi*),在中度富营养化区域(S3-1)绿弯菌门(*Chloroflexi*)占比接近 1/2。

利用 PCA 分析结果见图 4。结果显示,PC1 贡献率为 72.07%,PC2 贡献率为 19.56%,总贡献率为 91.63%。在 4 条样带中,S1 样带的近远岸和 S2 样带的近远岸底泥中细菌群落组成相似度高,S3 样带的近远岸和 S4 样带的近远岸底泥细菌群落组成相似度较低。S1 样带与 S2 样带由于外部环境相对封闭,稳定,而 S3 样带位处河流湖泊交汇处,物质交换活跃,致使近岸与远岸底泥中细菌丰富度和群落差异较大。表明湖滨带底泥细菌对外部环境干扰较为敏感。

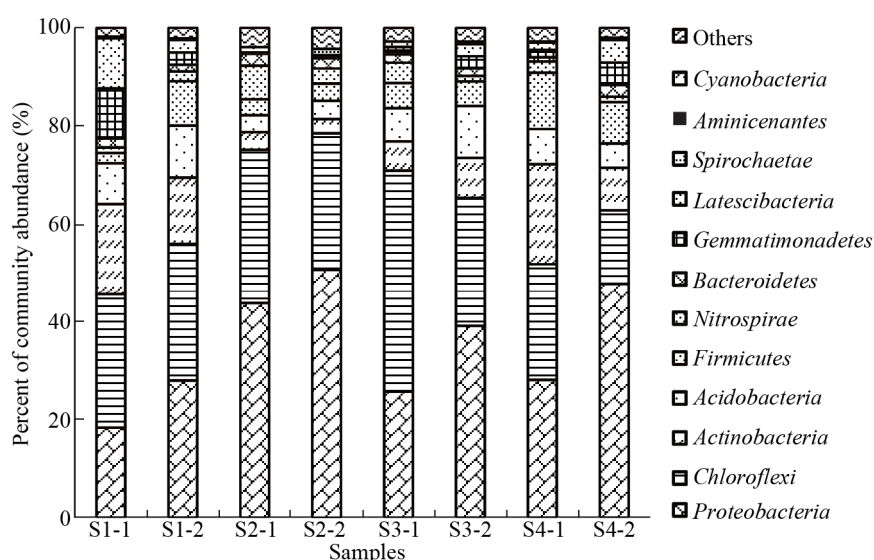


图 3 门水平微生物群落组成

Figure 3 Microbial community composition on phylum level

2.4 环境因子关联分析

基于采样点水体理化性质数据(表 1)和底泥细菌的丰度数据,对细菌群落与水体富营养化指标进行冗余分析(图 5)。结果表明,水体总磷(TP)对阳宗海南岸湖滨带底泥中细菌群落影响最大,其次是总氮(TN)和叶绿素 a (Chla),化学需氧量(COD)对底泥中细菌群落的影响较小。其中总氮(TN)、叶绿素 a (Chla)和化学需氧量(COD)呈正相关。总磷(TP)与总氮(TN)、叶绿素 a (Chla)和化学需氧量(COD)呈负相关。绿弯菌门(*Chloroflexi*)与总磷(TP)呈正相关,而变形菌门(*Proteobacteria*)与总氮(TN)、叶绿素 a (Chla)和化学需氧量(COD)呈正相关。

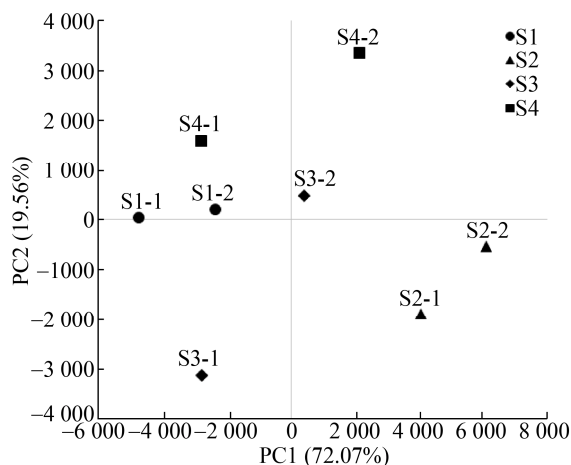


图 4 样品 PCA 分析

Figure 4 Principal coordinate analysis of samples

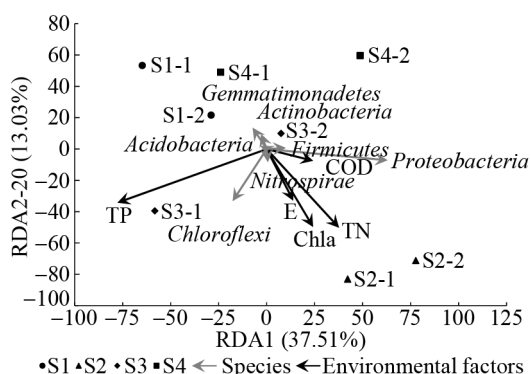


图 5 环境因子关联分析图

Figure 5 Environmental factor correlation analysis diagram

3 讨论

3.1 阳宗海湖滨带底泥细菌多样性与群落特征

不同区域富营养化水平的差异等因素造成阳宗海湖滨带底泥细菌多样性存在差异。阳宗海湖滨带轻度富营养化区域底泥中细菌的丰富度较低,而在中度富营养化区域底泥中细菌丰富度最高。表明阳宗海底泥细菌的丰富度对水体的营养状况存在响应特征。Wan 等^[18]研究发现东湖不同富营养化区域的细菌种类丰富。随着水环境中营养水平的升高,细菌的多样性也会随之增加^[19]。Liu 等^[20]研究发现,底泥中 *Firmicutes*、*Alphaproteobacteria* 菌群的丰度与富营养化程度存在响应关系,会随水体的富营养化程度菌群数发生变化。在阳宗海南岸湖滨带中,细菌丰富度虽存在差异,但各样本的共有 OTU 占各条样带 OTU 的一半以上,说明阳宗海南岸湖滨带底泥细菌的组成相似,造成底泥细菌丰富度差异的原因可能是各样带所处的位置。S3 样带为阳宗大河入湖附近,同时带来了大量的生活、农业污水,水体磷含量高,为底泥中的细菌带来丰富的营养物质,促使底泥中的细菌生长繁殖,丰富度高。而 S2 样带上游的人工湿地对于入湖的外源污染进行了拦截净化,同时也减少了外源营养物质进入湖泊底泥,致使底泥中细菌丰富度相对偏少。赵思颖等^[21]研究了鄱阳湖流域底泥细菌多样性差异,原因主要是由于入河口和湖区底泥中营养成分不同及某些重金属元素胁迫导致。陶怡乐等^[22]对北京大学未名湖研究发现,底泥细菌多样性与水体营养盐含量呈显著正相关关系。

随着农业的发展和人类生产活动的干扰,大量污染物通过污水排放和雨淋等各种方式进入水体,使底泥受到污染。污染物的富集改变了底泥的微环境,影响细菌群落的结构和功能。湖泊底泥细菌的群落结构在湖泊碳、氮、磷、硫的物质循环中具有重要作用,而且能指示湖泊生态系统的环境状况^[23]。Liu 等^[24]利用 DGGE 技术研究了梅梁湖、湖心区、东太湖等水域沉积物的细菌群落结构,结果表明细菌群落结构与营养水平和植被情

况相关, 在营养水平较高的位点发现疣微菌目(*Verrucomicrobiales*)。Zhang 等^[25]研究发现在云南高原湖泊沉积物中细菌丰度最高的门类为变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteria*)的占比也较大。由于水环境条件的改变及营养水平的差异, 不同的区域底泥中细菌群落结构发生了变化, 但菌群种类大体相似。从阳宗海南岸湖滨湿地底泥细菌群落中也可以发现相似的特征。但不同的是本研究中绿弯菌门(*Chloroflexi*) 在阳宗海南岸湖滨带中均占比较大, S3-1 样点中绿弯菌门(*Chloroflexi*)的比重达到了44%。王鹏等^[26]研究鄱阳湖发现绿弯菌门在鄱阳湖湿地泥滩带和藜蒿带中占比较大。可能绿弯菌门(*Chloroflexi*)是光能自养菌, 利用 3-羟基丙酸途径固定 CO₂ 产生能量^[27], 使它能在不同营养程度的环境中生存, 但富营养化程度高的区域绿弯菌门(*Chloroflexi*)更丰富, 表明绿弯菌门(*Chloroflexi*)更倾向生活在营养充足的环境中。阳宗海南岸湖滨带外源河流入湖时带来大量的营养元素有利于绿弯菌门(*Chloroflexi*)生长繁殖, 致使绿弯菌门(*Chloroflexi*)成为优势细菌类群。

3.2 阳宗海湖滨带底泥细菌群落的影响因素

微生物作为地球物质循环的主要推动力, 在水-沉积物界面的碳、氮、磷等营养物质循环过程中也发挥着重要作用, 进而影响水体的富营养化程度^[28]。细菌在沉积物营养物质的积累和释放过程中发挥重要作用, 能够将有机营养物质分解后转换为无机营养, 并释放进入水体以供藻类等生物利用^[29]。细菌对湖滨湿地生态系统的环境具有调控作用, 也受到环境变化的影响并很敏感^[30-31]。底泥中细菌多样性在不同季节和空间上存在差异, 随着水体环境因子的差异形成自己特定生态位的群落结构^[32]。

通过阳宗海湖滨带底泥中细菌群落与环境因子的相关性分析发现, 总磷(TP)、叶绿素 a (Chla) 和总氮(TN)是阳宗海湖滨带底泥中细菌群落主要影响因子, 这与以往对于富营养化湖泊的研究中显

示的总磷是影响底泥细菌群落最主要的环境因子的结果一致^[33-34]。由于阳宗海南岸湖滨带作为河流主要入湖区域, 河流上游村镇主要从事农业生产活动, 使得水体中的磷持续过量的输入, 导致南岸湖滨带长期处于富营养化状态, 同时大量磷进入湖滨带底泥, 对底泥中细菌产生限制作用, 底泥中细菌通过调整群落结构以适应湖泊生态环境的变化。阳宗海南岸湖滨带底泥中的最优势细菌类群为变形菌门, 在检测的 8 个底泥样品中的相对丰度在 20.4%–49.4% 的范围内, 这应与该类细菌具有较为广泛的降解代谢^[35]功能有关。Sinkko 等^[36]在研究波罗的海底泥细菌群落时发现 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)对底泥中营养物质的降解和释放具有重要作用。同时, 还有一些比例较高的细菌类群, 包括绿弯菌门(相对丰度为 15.6%–44%)、放线菌门(相对丰度为 2.8%–20.4%)、酸杆菌门(相对丰度为 3.2%–10.5%)和厚壁菌门(相对丰度为 2.3%–11.5%)等。这些主要的细菌类群中有多种已被证实的底泥或水体中具有降解作用, 如绿弯菌门参与有机质降解过程^[37], 酸杆菌门和厚壁菌门参与多重物质和元素的降解和转化^[38-39]。在阳宗海南岸湖滨带底泥中细菌长期适应大量进入底泥的氮、磷等营养物质, 已形成了一定的对应机制。底泥中细菌影响氧化还原电位, 进而影响到水-沉积物界面间的物质循环, 特别是磷循环^[40]。在土壤淹水后, 厌氧细菌开始成为了土壤微生物的主体。在厌氧铁锰还原菌的作用下, 铁锰氧化物从固体溶解, 变成可溶于水的离子状态。铁锰氧化物的解体直接导致吸附在氧化物表面的磷酸根释放到土壤溶液中^[41]。底泥中的磷会在细菌的作用下重新进入水体, 造成湖泊的持续富营养化。研究发现绿弯菌门与湖泊富营养化的主要因子总磷之间呈正相关, 底泥细菌类群中的绿弯菌门可能具有指示高原湖泊富营养化程度的潜力。

4 结论

(1) 阳宗海南岸湖滨带水体呈富营养化状态,

底泥中细菌对水体富营养化程度存在响应特征,富营养化程度高的 S3 区域, OTU 为 1 473, 底泥细菌丰富度高。在富营养化程度低的 S1 区域, OTU 仅为 730, 细菌丰富度低。阳宗海湖滨带底泥中细菌丰富度存在空间异质性。

(2) 阳宗海南岸湖滨带底泥中细菌群落结构主要以变形菌门(*Proteobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)为主, 含有少量的放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)。绿弯菌门(*Chloroflexi*)倾向于生长在富营养化程度高的区域。

(3) 总磷(TP)、叶绿素 a (Chla)和总氮(TN)对阳宗海南岸湖滨带底泥中细菌群落的影响较强, 变形菌门(*Proteobacteria*)与叶绿素 a (Chla)、总氮(TN)和化学需氧量(COD)呈正相关, 绿弯菌门(*Chloroflexi*)与总磷(TP)呈正相关。

REFERENCES

- [1] Paerl HW, Otten TG. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls[J]. *Microbial Ecology*, 2013, 65(4): 995-1010
- [2] Cózar A, Bruno M, Bergamino N, et al. Basin-Scale control on the phytoplankton biomass in Lake Victoria, Africa[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29962
- [3] Stumpf RP, Wynne TT, Baker DB, et al. Interannual variability of cyanobacterial blooms in Lake Erie[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42444
- [4] Yang GS, Ma RH, Zhang L, et al. Lake status, major problems and protection strategy in China[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2010, 22(6): 799-810 (in Chinese)
杨桂山, 马荣华, 张路, 等. 中国湖泊现状及面临的重大问题与保护策略[J]. *湖泊科学*, 2010, 22(6): 799-810
- [5] Liu HY, Zhao ZC, Lyu XG. A study on wetland resources and protection in China[J]. *Resources Science*, 1999, 21(6): 34-37 (in Chinese)
刘红玉, 赵志春, 吕宪国. 中国湿地资源及其保护研究[J]. *资源科学*, 1999, 21(6): 34-37
- [6] Jin XC. *Sediment Pollution Chemistry*[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1992 (in Chinese)
金相灿. *沉积物污染化学*[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992
- [7] Liu YY, Li F, Sun QY, et al. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, 19(3): 547-552 (in Chinese)
- [8] Qu JH, Li BZ, Yuan HL. Methodology in studies of microbial resource in sediment[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(6): 2636-2641 (in Chinese)
屈建航, 李宝珍, 袁红莉. 沉积物中微生物资源的研究方法及其进展[J]. *生态学报*, 2007, 27(6): 2636-2641
- [9] Perrow MR, Davy AJ. *Handbook of Ecological Restoration*[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2002
- [10] Zhu GW. Eutrophic status and causing factors for a large, shallow and subtropical Lake Taihu, China[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2008, 20(1): 21-26 (in Chinese)
朱广伟. 太湖富营养化现状及原因分析[J]. *湖泊科学*, 2008, 20(1): 21-26
- [11] Li MY, Zheng Y, Liu YG, et al. Effects of arsenic and organic matter on the speciation of phosphorus in the sediments of Yangzonghai lakeside wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(11): 2171-2179 (in Chinese)
李梦莹, 郑毅, 刘云根, 等. 阳宗海湖滨湿地沉积物种和有机质对磷赋存形态的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(11): 2171-2179
- [12] Xu N, Tan GC, Wang HY, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8
- [13] Ward DM, Bateson MM, Weller R, et al. Ribosomal RNA analysis of microorganisms as they occur in nature[A]// Marshall KC. *Advances in Microbial Ecology*[M]. Boston, MA: Springer, 1992: 219-286
- [14] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336
- [15] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998
- [16] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(19): 5962-5969
- [17] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267
- [18] Wan Y, Ruan XH, Zhang YP, et al. Illumina sequencing-based analysis of sediment bacteria community in different trophic status freshwater lakes[J]. *Microbiologyopen*, 2017, 6(4): e00450
- [19] Feng S. Dynamics of microorganisms in eutrophic waters and their roles in phosphorus cycle[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, 2007 (in Chinese)

- 冯胜. 富营养化水域中微生物的动态及其在磷循环中的作用研究[D]. 南京: 中国科学院南京地理与湖泊研究所博士学位论文, 2007
- [20] Liu YQ, Yao TD, Zhu LP, et al. Bacterial diversity of freshwater alpine Lake Puma Yumco on the Tibetan Plateau[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2009, 26(2): 131-145
- [21] Zhao SY, Ni CY, Fu WC, et al. The microbial response to environmental parameters of the sediment in Poyang Lake basin[J]. *Journal of Jiangxi Normal University (Natural Sciences Edition)*, 2016, 40(2): 194-199 (in Chinese)
- 赵思颖, 倪才英, 符文昌, 等. 鄱阳湖流域底泥微生物对环境变量的响应[J]. *江西师范大学学报: 自然科学版*, 2016, 40(2): 194-199
- [22] Tao YL, Zhang CF, Xu L, et al. Temporal and spatial variation of the water quality and the sediment bacterial community in Weiming Lake, Peking University[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2017, 53(6): 1150-1160 (in Chinese)
- 陶怡乐, 张晨枫, 徐琳, 等. 北京大学未名湖水质与底泥菌群结构的时空变化[J]. *北京大学学报: 自然科学版*, 2017, 53(6): 1150-1160
- [23] Graham EB, Knelman JE, Schindlbacher A, et al. Microbes as engines of ecosystem function: when does community structure enhance predictions of ecosystem processes?[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 214
- [24] Liu FH, Lin GH, Gao G, et al. Bacterial and archaeal assemblages in sediments of a large shallow freshwater lake, Lake Taihu, as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(3): 1022-1032
- [25] Zhang JX, Yang YY, Zhao L, et al. Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau freshwater lakes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(7): 3291-3302
- [26] Wang P, Chen B, Zhang H. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in soils of a typical Poyang Lake wetland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(5): 1650-1658 (in Chinese)
- 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析[J]. *生态学报*, 2017, 37(5): 1650-1658
- [27] Klatt CG, Liu ZF, Ludwig M, et al. Temporal metatranscriptomic patterning in phototrophic *Chloroflexi* inhabiting a microbial mat in a geothermal spring[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1775-1789
- [28] Boyle-Yarwood SA, Bottomley PJ, Myrold DD. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils under stands of red alder and Douglas fir in Oregon[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2956-2965
- [29] Wang J, Liang XJ, Meng XL, et al. Analysis on mechanism of transportation and conversion of total phosphorus in Miyun Reservoir[J]. *Global Geology*, 2006, 25(1): 76-80,85 (in Chinese)
- 王静, 梁秀娟, 孟晓路, 等. 密云水库中总磷迁移转化机制的分析[J]. *世界地质*, 2006, 25(1): 76-80,85
- [30] Feng S, Qin BQ, Gao G. Response of bacterial communities to eutrophic water in Lake Taihu[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(11): 1823-1829 (in Chinese)
- 冯胜, 秦伯强, 高光. 细菌群落结构对水体富营养化的响应[J]. *环境科学学报*, 2007, 27(11): 1823-1829
- [31] Zhao YJ, Liu B, Zhang WG, et al. Effects of plant and influent C: N: P ratio on microbial diversity in pilot-scale constructed wetlands[J]. *Ecological Engineering*, 2010, 36(4): 441-449
- [32] Gao HQ, Liu L, Fang ZJ. Physicochemical properties and microbial diversity of superficial deposits of lakes in summer[J]. *Journal of Hohai University (Natural Sciences)*, 2011, 39(4): 361-366 (in Chinese)
- 高慧琴, 刘凌, 方泽建. 夏季湖泊表层沉积物的理化性质与微生物多样性[J]. *河海大学学报: 自然科学版*, 2011, 39(4): 361-366
- [33] Zeng J, Yang LY, Liang Y, et al. Spatial distribution of bacterial communities in sediment of a eutrophic lake revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and multivariate analysis[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2008, 54(12): 1053-1063
- [34] Song H, Li Z, Du B, et al. Bacterial communities in sediments of the shallow Lake Dongping in China[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 112(1): 79-89
- [35] Wilms R, Köpke B, Sass H, et al. Deep biosphere-related bacteria within the subsurface of tidal flat sediments[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(4): 709-719
- [36] Sinkko H, Lukkari K, Sihvonen LM, et al. Bacteria contribute to sediment nutrient release and reflect progressed eutrophication-driven hypoxia in an organic-rich continental sea[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67061
- [37] Daniel LMC, Pozzi E, Foresti E, et al. Removal of ammonium via simultaneous nitrification-denitrification nitrite-shortcut in a single packed-bed batch reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(3): 1100-1107
- [38] Goffredi SK, Orphan VJ. Bacterial community shifts in taxa and diversity in response to localized organic loading in the deep sea[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(2): 344-363
- [39] Ward NL, Challacombe JF, Janssen PH, et al. Three genomes from the phylum *Acidobacteria* provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(7): 2046-2056
- [40] Kelton N, Chow-Fraser P, Jordan I. Relationship between sediment phosphorus release rates and characteristics of the benthic microbial community in a hypereutrophic marsh[J]. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 2004, 7(1): 31-41
- [41] Peretyazhko TS, Zachara JM, Kennedy DW, et al. Ferrous phosphate surface precipitates resulting from the reduction of intragrain 6-line ferrihydrite by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74(13): 3751-3767