DOI:10.15928/j.1674-3075.2020.01.009

填海工程对海洋沉积物微生物群落的影响

黄 备,邵君波

(浙江省舟山海洋生态环境监测站,浙江 舟山 316021)

摘要:为了解海域微生物的群落结构和空间差异,探究其与环境的潜在联系,选择大型石化基地浙江舟山市鱼山岛海域,以期为我国海洋工程建设的环境管理提供技术支撑。在基地建设围填海时期,设置10个海域生态监测站,按《海洋监测规范》和《海洋调查规范》对海域沉积物进行取样调查。结果显示,海域环境明显受到长江、钱塘江等入海河流的影响,有机碳(TOC)、石油类(Oil)、砷(As)、镉(Cd)、铜(Cu)和铅(Pb)均在海域西北形成高值区,并逐步向东部海域递减。应用Illumina MiSeq宏基因组高通量测序技术,在海域沉积物中鉴定得到古菌和细菌共39门、260科、431属。从门水平上看,变形菌门(Proteobacteria)在各站位均表现出明显优势,其相对丰度占总数的39%;其它较为丰富的门类包括放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和泉古菌(Crenarchaeota)。从属水平上看,Gamma变形菌是最主要的优势菌,其它主要种类还有Deltar变形菌、拟杆菌、放线菌、酸杆菌、浮霉菌(*Planctomyces*)、Beta变形菌和黏球菌(*Myxococcus*),Delta变形菌成为微生物群落的主要种类之一,显示海域环境一定程度地受到了沿岸人类活动的影响。微生物与环境因子的相关性分析表明,有机碳、砷和底栖生物对微生物门水平的群落分布具有显著性影响,奇古菌、黏胶球形菌和P-SR1与石油类、砷、铅、镉等重金属呈显著负相关。

关键词:填海工程;海洋环境;微生物群落;高通量测序

中图分类号:X171.4 **文献标志码**:A **文章编号**:1674-3075(2020)01-0060-11

围海造地是一个有效制造平地作为城市发展的方法,也是沿海地区缓解土地供求矛盾、扩大发展空间的有效手段,具有巨大的社会效益和经济效益,世界上大部分沿海国家和地区都有填海造地的历史(胡小颖等,2009)。伴随着我国城市化、工业化和人口向沿海地区集聚趋势的进一步加快,土地资源不足导致的用地矛盾突出,已成为制约沿海地区社会经济可持续发展的重要因素。在这一背景下,沿海各地纷纷把发展的空间推向海洋,兴起了围填海造地热潮(张明慧,2012)。频繁的填海活动导致了严重的后果,如生态系统破坏、地质灾害以及海洋环境质量恶化等(Duan et al,2016)。大规模工程建设和围填海活动改变了海岸、海湾和河口的自然形态,从而引发水动力环境、冲淤环境等变化,进而引起重大的生态问题(张翠萍等,2013)。已有国内学者研究了围垦前后浮游生物和底栖生物群落结构的变化,证实围填海改变了海洋物理化学环境,导致生态系统结构和功能的变化(袁兴中等,2001;李强等,2008;黄备等,2015)。舟山绿色石化基地位于浙江省舟山市岱山县鱼山岛,按照规划要求,该项目将逐步建成世界一流绿色石化产业基地,成为我国长三角地区石化产业新的增长极。因基地建设用地的需要,规划在鱼山岛西侧开展围填海,围垦后形成深水岸线长约4 000 m,陆域面积约41 km^2。围填海工程于2015年启动,计划于2018年完成,目前处于工程建设期。

海洋沉积物是地球上面积最大的覆盖层,约为$3.5\times10^8 km^2$,占覆盖地球面积的48.6%,是海洋生态系统的重要组成部分,也是地球上最复杂的微生物栖息地。据估计,海底沉积物中原核生物的生物量占全球原核生物生物量的1/2~5/6,占全球生物总生物量的1/10~1/3(李涛等,2008);海洋环境中绝大多数微生物处于未可培养的状态,影响了对环境微生物的深入研究(Arakaki, et al,2010);在众多的微生物中,只有不到1%的微生物能够通过人工培养方法分离出来(Gans et al,2005)。随着近几年分子生物学技术的普及,从DNA水平探究微生物的多样性已成为当前研究最主要的技术手段,并推动了海洋微生物学的快速发展(Venter et al,2004)。

收稿日期:2018-02-25

基金项目:国家重点研发计划(2016YFC1401603);国家自然科学基金面上项目(51678003);浙江省环保厅科研项目(2016A012,2013A020,2018A022)。

作者简介:黄备,1969年生,男,高级工程师,主要从事海洋生态环境及海洋生态质量评价研究。E-mail:bighb@163.com

近年来，关于近海沉积物微生物的研究成为新的热点领域，很多学者都对不同区域的海洋沉积物，分别采用不同的分子生物学技术手段开展研究（张东声，2011；杜萍等，2012；王健鑫等，2012；有小娟等，2013；刘明华等，2015）。然而，应用现代分子生物学技术手段对围填海工程附近沉积物微生物群落组成进行深入调查，并结合沉积物环境因子分析其群落变化的相关报道还未曾见到。本文基于 Illumina 成熟的 TruSeq 边合成边测序技术的 MiSeq 高通量测序平台，对围填海工程附近环境微生物多样性进行调查，并应用多种统计分析工具，对海域微生物群落与环境因子的潜在联系进行了研究，旨在分析微生物群落的结构和空间差异，探究其与环境的潜在联系，以期为我国海洋工程建设及沿海地区经济发展与环境管理提供技术支撑。

1　研究方法

1.1　样品采集

围绕舟山绿色石化基地建设施工现场（大、小鱼山岛）及其周边海域，设置了 10 个海域生态监测站位（图 1）。2016 年 5 月，利用专业海洋调查船“浙海环监”号，用静力式采泥器采集各站位沉积物，取表层（5 cm）泥样于灭菌的 10 mL 冻存管中，-80℃冷冻保存并带回实验室。

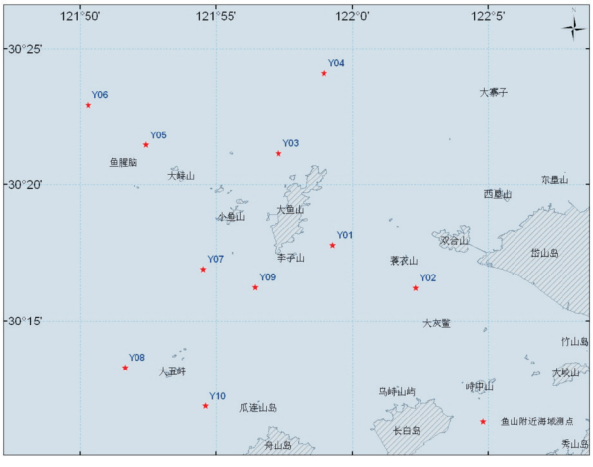


图 1　海域采样站位

Fig.1　Location of sampling sites in the study area

1.2　总 DNA 提取

各站位样品总 DNA 采用 TIANGEN TIANamp Soil DNA Kit 试剂盒提取，按标准流程操作，具体步骤如下：

（1）取 750 μL SA 缓冲液和 0.25 g 玻璃珠至 2 mL离心管；

（2）在上述 2 mL 离心管中加入沉积物样品 0.5 g，涡旋混匀 15 s；

（3）向上述 2 mL 离心管中加入 60 μL SC 缓冲液，涡旋振荡 10 min 至样本混匀；

（4）12 000 r/min 离心 1.5 min，转移上清至新的 2 mL 离心管；

（5）加入 5 μL Proteinase K 溶液，混匀离心，56℃ 孵育 10 min；

（6）加入 250 μL HA 缓冲液，涡旋 5 s，4℃放置 5 min；

（7）12 000 r/min 离心 1 min，转移上清至新的 2 mL 离心管，加入 200 μL HB 缓冲液，混匀，4℃放置 5 min；

（8）12 000 r/min 离心 1 min，转移上清至新的 2 mL 离心管，加入 1200 μL GF 缓冲液，颠倒数次混匀；

（9）取上述溶液于 CB 3 吸附柱中（吸附柱放入收集管），12 000 r/min 离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管；

（10）向吸附柱中加入 500 μL PWS 漂洗液，12 000 r/min离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管；

（11）向吸附柱中加入 500 μL 70% 乙醇，12 000 r/min离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管；

（12）12 000 r/min 离心 2 min，弃废液；

（13）将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液，放入新的 1.5 mL 离心管中，向吸附膜的中央悬空滴加 100 μL TE 洗脱缓冲液，室温放置 5 min；

（14）12 000 r/min 离心 2 min，收集 DNA 溶液于离心管中，-20℃储存待用。

1.3　测序文库构建与测序

测序样品交由杭州晶佰生物科技有限公司，按照 16S 宏基因组测序标准流程构建环境微生物 16S rRNA 基因 V3 - V4 可变区，引物序列：341F-CCTACGGGNGGCWGCAG；805R-GACTACHVGGGTATCTAATCC，测序文库并进行相应的质量控制，应用 Illumina MiSeq 双末端（250 bp×2）测序平台完成序列测定。

1.4　数据分析

1.4.1　质量控制　原始测序数据首先应用 perl 脚本进行质量过滤，切除 3′端质量值低于 Q15 的碱基；再用 Flash 软件对序列切除低质量的序列进行拼

接，保留拼接后的长序列，即去除未拼接的序列；然后用 cutadapt 软件，从长序列去除引物序列（最多两个错配）；最后保留序列长度≥350 bp，没有模糊碱基 N 的序列。

1.4.2 生物信息 通过预处理获得的高质量序列中，使用 DESeq 软件包随机抽取 40000 条高质量序列以平衡取样和测序深度差异，应用 mothur 软件，按 97%序列相似度划分 OTU（Operational Taxonomic Unit），计算 α、β 多样性指数，绘制稀释曲线，通过比对 Silva v123 数据库进行物种划分和后续统计分析，并绘制进化树热图。

1.4.3 数据统计 对获取的 OTU 及种类组成数据，结合环境因子，应用 SPSS 软件计算 Pearson 相关系数并绘制热图；应用 R 语言 Vegan 程序包进行主成分（PCA）分析，展示微生物群落的结构和空间差异；应用 Past 软件进行典型关联（CCA）分析，探究其与环境的潜在联系。

1.5 海域底质生态环境监测

海域底质生态环境监测内容包括粒度、石油类、汞、砷、铜、镉、铅、锌、铬、有机碳、底栖生物等。监测采样和分析方法按《海洋监测规范》（GB17378－2007）和《海洋调查规范》（GB12763－2007）进行，并全程实施质量控制。

2 结果与分析

2.1 海域环境因子

按 1.5 描述的方法开展研究海域底质环境调查，其中几项主要因子监测结果如表 1。

表 1 主要环境因子监测结果

Tab.1 Primary environmental factors during the investigation

项目	最大值	最小值	均值	标准偏差
粒径/Φ	6.24	2.42	5.55	0.97
有机碳/%	0.42	0.07	0.30	0.10
石油类/mg·kg^{-1}	3.40	0.50	1.89	1.01
铜/mg·kg^{-1}	32.70	4.00	26.04	7.55
镉/μg·kg^{-1}	52.40	17.60	44.14	9.12
汞/mg·kg^{-1}	0.12	0.02	0.07	0.03
铅/mg·kg^{-1}	28.90	8.10	22.89	5.59
砷/mg·kg^{-1}	14.30	6.93	11.70	1.90
底栖生物量/g·m^{-2}	1.80	0.00	0.35	0.50

研究海域沉积物主要生态环境因子的平面分布如图 2 所示。海域底质环境明显受到其西北侧的杭州湾和长江口径流的影响，多种环境因子如有机碳、石油类以及重金属砷、镉、铜和铅均在研究海域西北形成高值区，并逐步向东部海域递减。沉积物总汞在研究海域西南角形成一个明显的高值区，这一海域正是甬江的入海口，总汞的平面分布可能与此相关。与这些环境因子分布相反，底栖生物生物量在东部海域形成高值区，在西北海域形成了一个生物量接近于零的低值区，底栖生物沙漠化趋势明显。微生物群落 OTU 数量分布与底栖生物类似，形成明显的从东部高值区向西部海域递减的分布趋势。

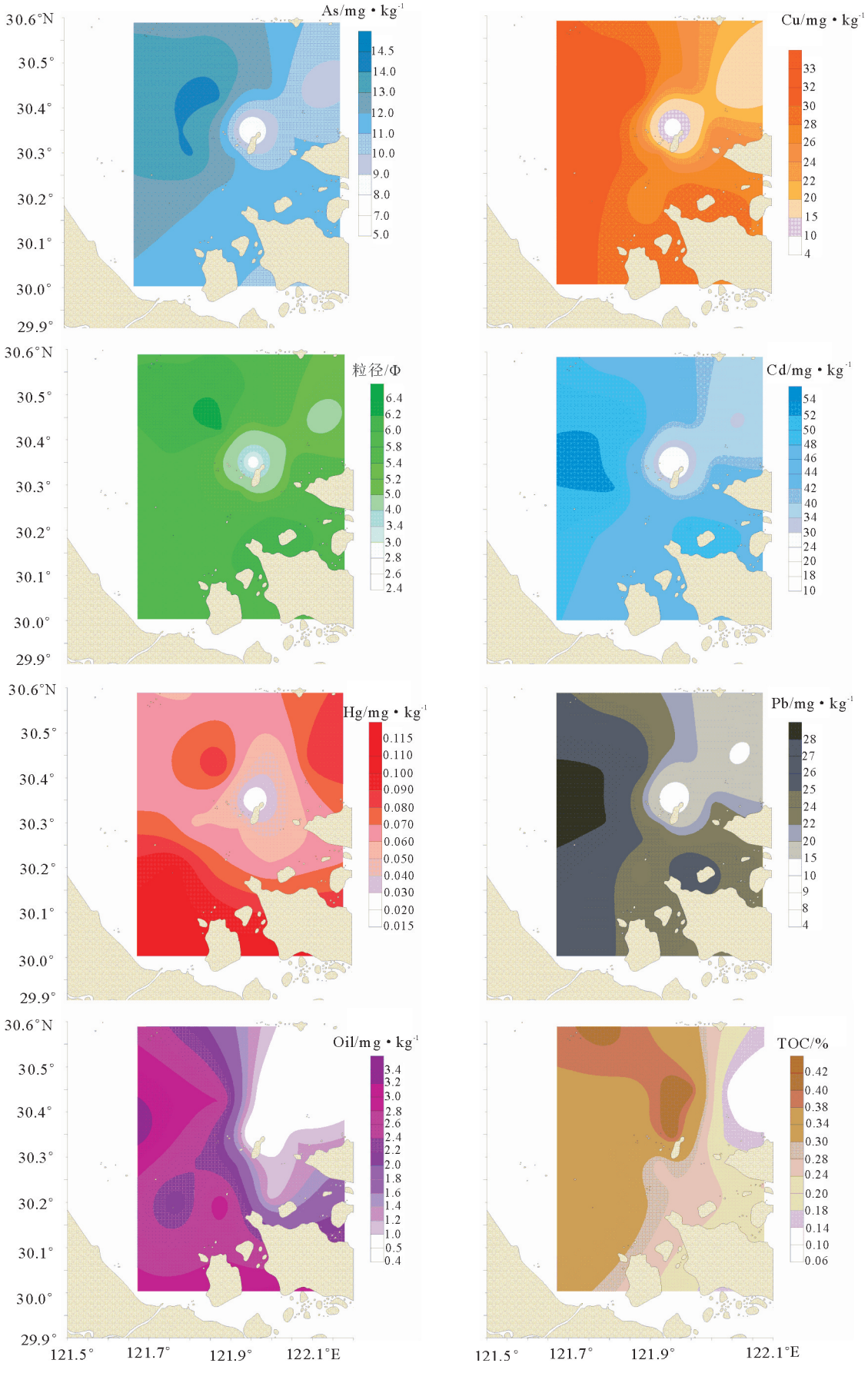
2.2 海域沉积物微生物群落

2.2.1 序列统计 本研究共获石化基地附近海域 10 个站位沉积物的微生物原始序列 365706 对（pair-end reads），站位间序列数为 32170～39044 条，序列平均长度为 418 bp。经质量控制和序列优化，筛选出高质量序列 309341 条。考虑到各站位测序数据差异较大，本研究进一步随机抽样，将数据标准化，以平衡采样误差对后续分析的影响。原始序列通过预处理，按 97%序列相似度进行划分，详见表 2。

应用 Mothur 软件对优化序列进行随机抽样，以抽到的序列数与其 Chao1 指数构建稀释曲线如图 3 所示。结果显示，各站位曲线均趋向平坦，说明本实验测序数量合理，OTU 取样已达到或接近饱和，实验结果基本反映了样品的物种多样性。

2.2.2 微生物种类组成 在研究海域沉积物中鉴定得到古菌和细菌共 39 门、260 科、431 属。从门水平上看，变形菌门（Proteobacteria）在各站位均表现出明显优势，其相对丰度占总数的 39%。其它较为丰富的门类包括放线菌门（Actinobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、绿弯菌（Chloroflexi）、拟杆菌门（Bacteroidetes）和泉古菌（Crenarchaeota）；各站位门类组成见图 4。从属水平上看，Gammar 变形菌是最主要的优势菌，其它主要种类还有 Deltar 变形菌、拟杆菌、放线菌、酸杆菌、浮霉菌（*Planctomyces*）、Bate 变形菌和黏球菌（*Myxococcus*）；各站位主要种属组成见图 5。

通过分类树热图来反映研究海域微生物群落组成和物种丰度，图内层是物种分类树（图 6）。在分类树的末端，采用热图的方法，表示样品丰度的大小，颜色越深，丰度越大。Gamma 变形菌门、Delta 变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和浮霉菌等组成了研究海域绝大多数的微生物群落。丰度热图显示各测点中高丰度微生物组成基本一致，但也有个别例外，如放线菌纲和螺杆菌科的（Sulfurovum）在 Y9 测站明显高于其它各测站，古菌和拟杆菌门在 Y5 测站明显高于其它各测站，厌氧绳菌科（Anaerolineaceae）在 Y7 测站明显高于其它各测站。


As/mg • kg-1
14.5
14.0
13.0
12.0
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
5.0
Cu/mg • kg-1
33
32
30
28
26
24
22
20
15
10
4
粒径/Φ
6.4
6.2
6.0
5.8
5.4
5.2
5.0
4.0
3.4
3.0
2.8
2.6
2.4
Cd/mg • kg-1
54
52
50
48
46
44
42
40
34
30
24
20
18
10
Hg/mg • kg-1
0.115
0.110
0.100
0.090
0.080
0.070
0.060
0.050
0.040
0.030
0.020
0.015
Pb/mg • kg-1
28
27
26
25
24
22
20
15
10
9
8
4
Oil/mg • kg-1
3.4
3.2
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.5
0.4
TOC/%
0.42
0.40
0.38
0.34
0.30
0.28
0.24
0.20
0.18
0.14
0.10
0.06
30.6°N
30.5°
30.4°
30.3°
30.2°
30.1°
30.0°
29.9°
121.5°
121.7°
121.9°
122.1°E

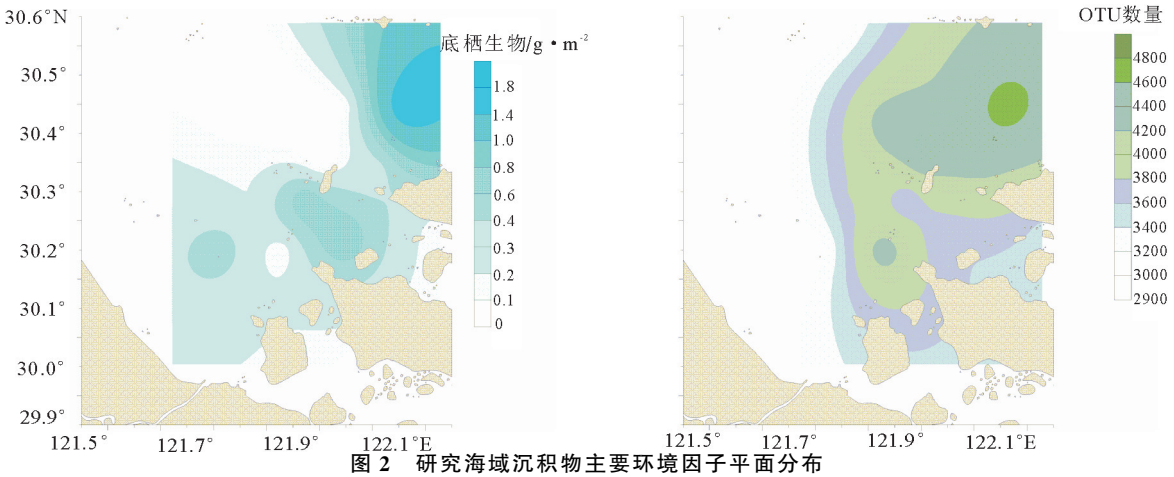


图2 研究海域沉积物主要环境因子平面分布

Fig.2 Spatial distribution of primary environmental factors in the study area

表2 海域沉积物微生物序列信息统计

Tab.2 Sequence information of the microbial community in sediment samples

站位	原始序列	有效序列	优化序列	可操作分类单位(OTUs)
Y1	36502	35433	31691	4302
Y2	36038	35157	30401	3563
Y3	36663	35271	31127	4429
Y4	36124	35030	31178	4271
Y5	37334	36080	30936	3811
Y6	38438	37340	32436	4358
Y7	35226	33903	29636	3600
Y8	38167	37073	31924	4425
Y9	39044	37682	32753	3138
Y10	32170	31441	27259	3598

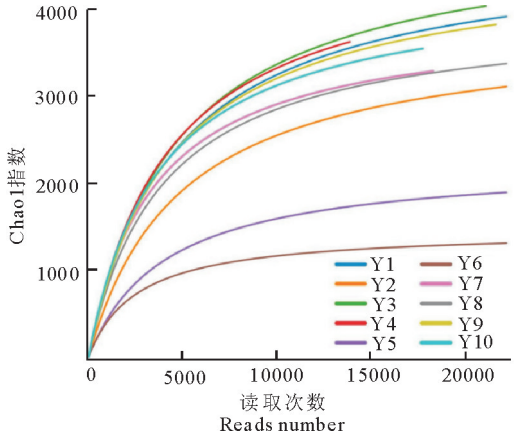


图3 海域沉积物微生物稀释曲线

Fig.3 Rarefaction curve of the microbial community in sediment samples

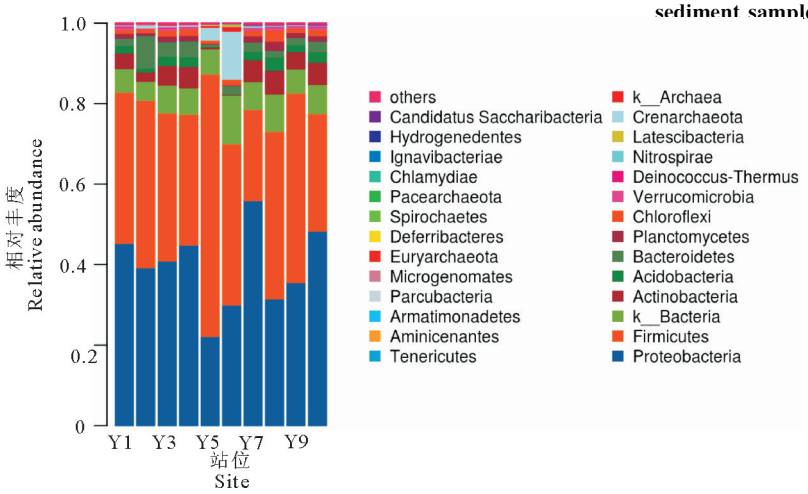


图4 海域沉积物微生物种类组成(门水平)

Fig.4 Microbial community composition of marine sediment at the phylum level

2.2.3 微生物多样性 本研究采用Mothur软件，按97%序列相似水平计算Chao1、Shannon和Simpson多样性指数，并根据Coverage计算结果评估测序深度(表3)。结果发现，各站位总体菌群丰度指数Chao1指数较高，均值为5 729，站位有一定的差异。Shannon指数平均为9.65，Simpson指数平均接近1，显示出各站微生物多样性非常高，且站位间差异较大。各站位测序深度指数Coverage平均为0.9，说明各样品文库的覆盖率较高，没有被测出的概率极低，进一步证实了稀释曲线的结论。

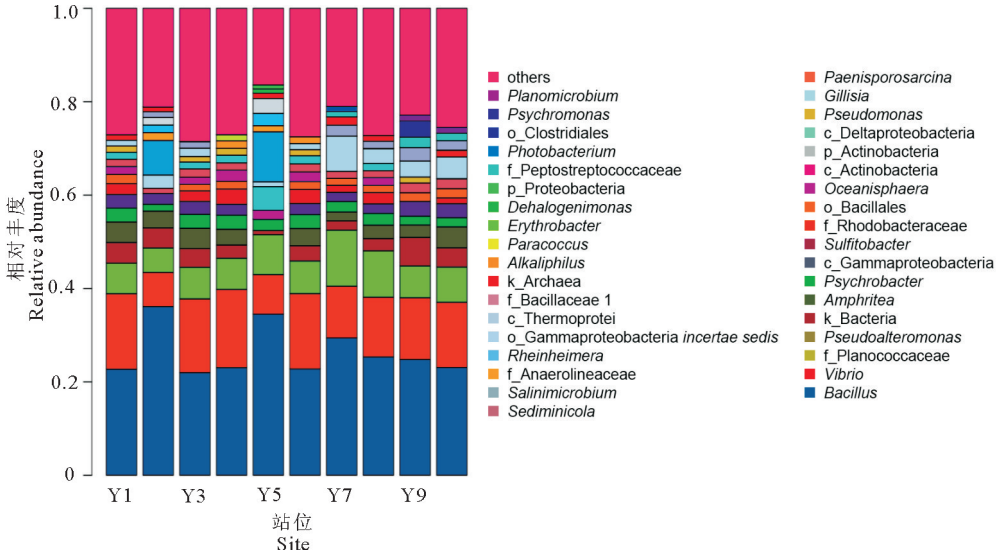


图 5　海域沉积物微生物种类组成(属水平)

Fig.5　Microbial community composition of marine sediment at the genera level

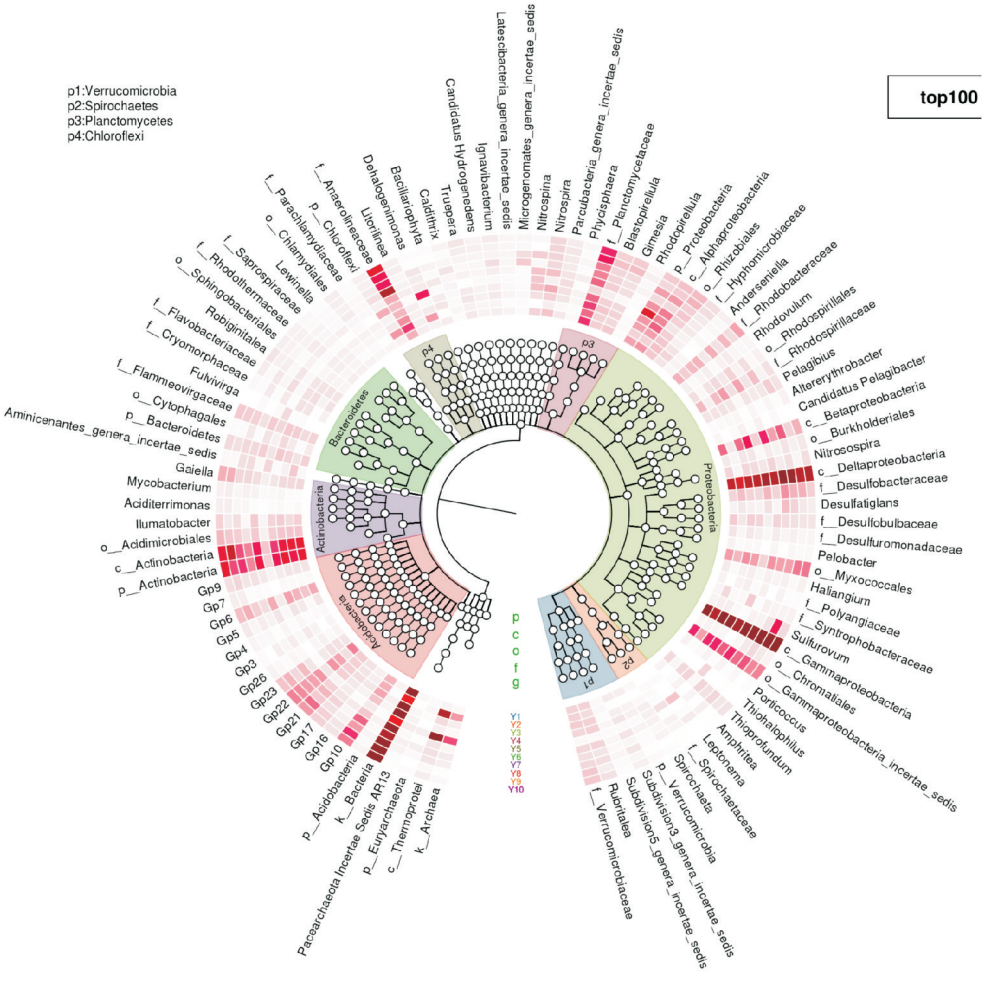


图 6　微生物群落分类树热图

Fig.6　Abundance heat map of the microbial community representing quantitative taxon traits

表3 海域沉积物微生物多样性指数

Tab.3 Biodiversity of the microbial community in marine sediment

站位	Chao1 指数	Coverage 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
Y1	6483	0.88	9.98	1.00
Y2	4984	0.90	9.33	0.99
Y3	6649	0.87	10.00	1.00
Y4	6246	0.88	10.10	1.00
Y5	4688	0.90	9.60	0.99
Y6	6384	0.88	10.10	1.00
Y7	5188	0.90	9.15	0.99
Y8	6556	0.88	10.00	1.00
Y9	4634	0.91	8.96	0.99
Y10	5479	0.90	9.33	0.99

主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)表明,通过分析不同样品OTU(97%相似性)组成,可以反映样品间的差异和距离。从图7可知,相对而言,10个测点中,Y7和Y9与其它测点距离较远,这两个测点的微生物群落与其余测点差异较大,且Y7与Y9之间差异也非常大;而其余各测点没有发现明显的规律。

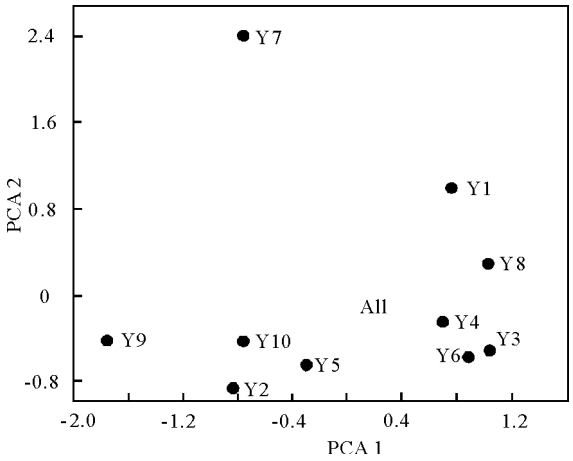


图7 海域沉积物微生物群落PCA图

Fig.7 Principal component analysis of the microbial community for each sampling site

2.3 对环境因子的响应

为了直观反映沉积物微生物与环境因子之间的相关关系,本研究应用Past软件,采用CCA分析法进行排序。通过分析微生物门类多样性与环境因子的相关性发现,在CCA排序图中,第一轴和第二轴分别解释了总变异的71.7%和14.7%(图8),这表明本研究开展的环境因子在较大程度上能够解释沉积物微生物群落的变异。图中圆点代表微生物门类,射线代表环境因子。环境因子的射线越长,表明该因子对研究对象的影响程度越大;而微生物到环境因子垂直距离的长短决定了两者之间的相关性大小,距离越短相关性越大,距离越长相关性越小。从图8可知,有机碳、砷和底栖生物的密度和生物量对微生物门水平的群落分布具有显著性影响。

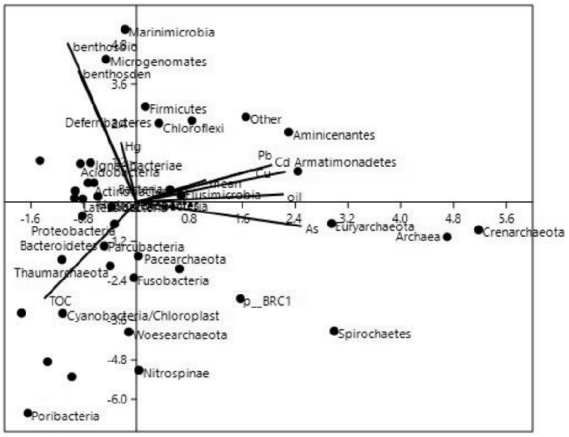


图8 沉积物微生物组成与环境因子CCA排序

Fig.8 CCA ordination showing the relationship of microbe composition with environmental factors

通过计算微生物门类组成与环境因子间Pearson相关系数并绘制热图,发现一些微生物门类的组成和分布与主要环境因子具有较明显的相关关系(图9)。奇古菌(*Thaumarchaeota*)、黏胶球形菌(*Lentisphaerae*)和P-SR1与石油类、砷、铅、镉等重金属呈显著负相关;而Microgenomates和Marinimicrobia与粒径、砷、汞、镉等重金属呈显著正相关。反映出这些类群微生物对特征污染物的指示意义,也反映了其对典型污染物的潜在降解或吸附能力。

3 讨论

3.1 变形菌是我国近海沉积物的优势类群

海洋沉积物微生物群落是其生态系统的重要组成部分,在海洋碳、氮、磷和硫等生源要素的矿化和循环中具有关键作用(Kinghorn et al, 2009)。在高压、高盐的特殊生境下,沉积物中更可能富集功能特异的微生物类群。有研究表明,海洋微生物可能高达1000万种(Sogin et al,2006)。众多学者对我国近海沉积物微生物群落进行了研究,孙静等(2014)同样利用Illumina Miseq高通量测序技术,对我国黄东海近海海域沉积物样品原核微生物群落结构及多样性进行研究,共获得74个门类,其中变形菌门、浮霉菌门和泉生古菌门的占比相对较高,分别占总数的44%、11.2%和9%。众多学者利用PRC-DGGE等相关技术对我国近海海域进行了表层沉积物多样性研究,发现变形菌门在黄海、东海、椒江

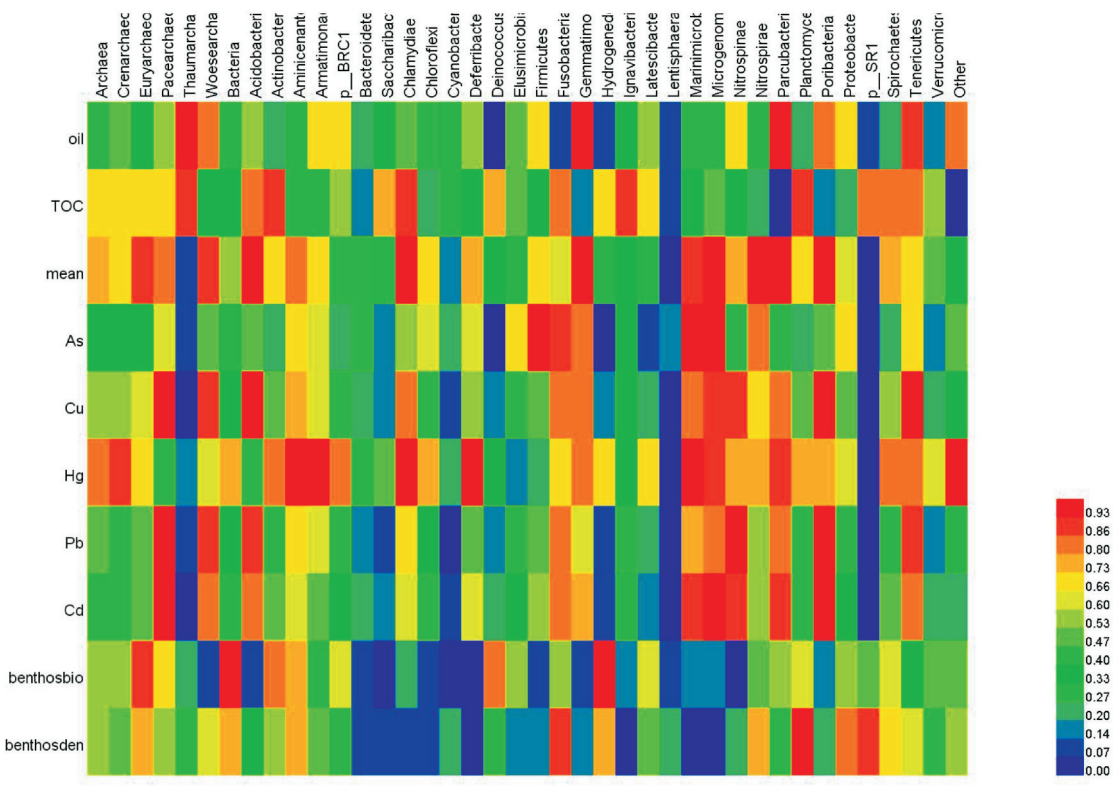


图 9　沉积物微生物组成与环境因子 Pearson 相关系数热图

Fig.9　Pearson correlation coefficients between microbe composition and environmental factors by heat map

口和胶州湾海域沉积物样品中均是最大的优势类群（宋志刚等，2006；刘欣等，2010；张健等，2010；黄备等，2017）。相对而言，对舟山海域的海洋沉积物细菌群落研究就较少，何建瑜等（2013）对舟山沿岸海底沉积物样品进行了可培养菌及非培养细菌群落的研究，发现厚壁菌门和变形杆菌门是两大优势类群；尹冰玉等（2011）对舟山枸杞岛海藻场沉积物样品进行细菌多样性分析，认为变形细菌门、厚壁菌门、放线菌门、绿屈挠菌门和酸杆菌是其主要类群。

3.2　填海工程改变微生物群落结构和生物多样性

从门水平上看，变形菌门在各站位均表现出明显优势，而其它主要门类如放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌、拟杆菌门和泉古菌在我国近海沉积物微生物群落中均有报道。从属水平上看，Gammar 变形菌在各站位中均是最主要的优势菌，这与 Liu 等（2015）对我国北部边缘海沉积物细菌和古菌群落的研究结果一致；Kawahara 等（2009）在 Sagami 湾研究有机物富集梯度对海洋养殖场沉积物细菌群落影响时发现，相对污染严重的测点，Gammar 变形菌在未受污染影响的测点检出频率更高；相反，Deltar 变形菌在受污染测点的相对丰度最高。本研究海域位于正在建设中的大型石化工程鱼山岛周边海域，且受到附近长江、钱塘江和甬江入海径流影响，从图 2 可知，有机碳以及多种重金属在上述入海口附近区域均形成了高值区，底栖生物和微生物的 OTU 数量在此形成了低值区。本次研究显示，调查海域由于项目建设及周边入海河流影响，海域环境质量受人类活动对海域微生物群落组成的影响较大、污染相对较严重，一定程度上造成了调查海域 Deltar 变形菌成为微生物群落主要种类之一。从海域微生物群落 PCA 图（图 7）可见，各测点中，Y7 和 Y9 明显远离其它测点，显示这两个测点的细菌群落组成与其它测点存在较大差异。结合分类树热图（图 8），在 Y7 和 Y9 中存在的一些细菌类群如放线菌纲、厌氧绳菌科和螺杆菌科明显高于其它各测站，由此也证实了 Y7 和 Y9 测点的细菌群落较为特殊。从采样示意图中可以发现，Y7 和 Y9 测点紧临鱼山岛，直接面对围填海工地。海洋微生物的组成及其多样性与环境温度、季节、深度等环境条件相关（付新华等，2017）。围填海工程可以改变海洋的理化环境，引起海洋生态系统的结构和功能变化。围填海造成河口、海湾的潮流动力减弱，导致附近海区浮游植物、浮游动物、鱼类多样性普遍降低，引起优势种和群落结构的变化（Hickey & Healy，2002）。已有众多学者就围填海工程对海域浮游植物、浮游动物和底栖生物的生态影响进行了调查研究（袁兴中等，

2001;黄备等,2015;崔磊等,2017);但研究围填工程对微生物群落影响的非常少,Hua 等(2017)使用Illumina测序技术,采集不同年代的江苏省围垦区潮间带土壤样品,研究其细菌群落组成,发现所有样品中优势菌均为变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、绿弯菌和浮霉菌,但随着时间推移,开垦活动极大地改变了潮间带细菌群落结构,特别是一些典型的海洋细菌(如 *gaetulibacter*, *Alcanivorax*)消失,而其他细菌(*Niabella*,*Flavisolibacter*)逐渐增加。

3.3 底泥重金属对微生物群落结构影响显著

吴玲等(2017)和钱玮等(2017)采用荧光定量PCR 及 PCR-DGGE 等方法对太湖细菌群落结构进行研究,发现环境中的总氮、总磷和 TOC 含量是影响水体和沉积物微生物群落丰度的重要因素。与此类似,本研究通过 CCA 排序分析微生物门类多样性与环境因子的相关性(图 8),发现有机碳、砷和底栖生物对微生物门水平的群落分布具有显著性影响。结合图 2 可以发现,由于入海河流的影响,有机碳和砷在调查海域的东北部浓度影响高于其它海域;受此影响,细菌 OTU 数量在海域的东北部形成了一个低值区。综合以上文献可以认为,无论是海洋沉积物还是淡水湖的底泥,以 TOC 为代表的有机营养盐是影响其微生物群落组成的重要因素。汪玉梅等(2016)同样利用Illumina平台高通量测序技术,分析了鄱阳湖四大河流河口底泥微生物群落结构和多样性对底泥重金属污染的响应,发现重金属Cu、Zn、Cd、Pb、Cr、Mn 和 138 个主要 OTU 显著相关,其中 Cu、Cd 和微生物显著相关的 OTU 数量最多。这些正相关的菌群是土壤重金属污染修复的重要微生物种质资源。本研究基于门水平的微生物群落与环境因子间 Pearson 相关系数的热图分析结果表明(图 9),研究海域的酸奇古菌、黏胶球形菌和 P-SR1 与石油类、砷、铅、镉等重金属呈显著负相关。二者研究结果均显示,铜、镉、铅等重金属与多种微生物存在着显著相关性,这种特征对土壤重金属污染指示和污染修复有重要意义。

参考文献

崔磊,吕颂辉,董悦镭,等,2017. 围填海工程对淇澳岛附近水域环境因子与生物群落的影响[J]. 热带海洋学报,36(2):96-105.

杜萍,刘晶晶,沈李东,等,2012. Biolog 和 PCR-DGGE 技术解析椒江口沉积物微生物多样性[J]. 环境科学学报,32(6):1436-1444.

付新华,刘国宁,何健龙,等,2017. 山东省渤海海洋保护区典型海域表层海水微生物群落多样性分析[J]. 海洋科学,41(1):39-47.

何建瑜,刘雪珠,赵荣涛,等,2013. 东海表层沉积物纯培养与非培养细菌多样性[J]. 生物多样性,21(1):28-37.

胡小颖,周兴华,刘峰,等,2009. 关于围填海造地引发环境问题的研究及其管理对策的探讨[J]. 海洋开发与管理,26(10):80-86.

黄备,邵君波,周斌,等,2015. 椒江口围填海工程对浮游动物的影响[J]. 生态科学,(4):86-92.

黄备,邵君波,周斌,等,2017. 椒江口海域沉积物微生物群落及其对环境因子的响应[J]. 中国环境监测,33(6):87-94.

江玉梅,张晨,黄小兰,等,2016. 重金属污染对鄱阳湖底泥微生物群落结构的影响[J]. 中国环境科学,36(11):3475-3486.

李强,马长安,吕巍巍,等,2008. 围垦对崇明东滩潮沟大中型浮游动物群落结构的影响[J]. 复旦大学学报(自然科学版),51(4):515-522.

李涛,王鹏,江品先,2008. 南海南部陆坡表层沉积物细菌和古菌多样性[J]. 微生物学报,(3):323-329.

刘明华,王健鑫,俞凯成,等,2015. 东海陆架表层沉积物细菌群落结构及地理分布研究[J]. 海洋与湖沼,46(5):1119-1131.

刘欣,肖天,张文燕,等,2010. 胶州湾海域表层沉积物细菌多样性[J]. 海洋科学,34(10):1-6.

钱玮,朱艳霞,邱业先,2017. 环境因子对太湖底泥细菌群落结构的影响[J]. 苏州科技大学学报(自然科学版),34(3):50-54.

宋志刚,许强芝,鲁心安,等,2006. 中国东海海洋微生物种群多样性初步研究[J]. 微生物通报,33(1):63-67.

孙静,2014. 黄东海细菌多样性分析及其抗菌活性的初步评价[D]. 天津:天津商业大学.

王健鑫,许贤恩,周链链,等,2012. 东海陆架表层沉积物微生物多样性初步研究[J]. 海洋与湖沼,43(4):805-813.

吴玲,秦红益,朱梦圆,等,2017. 太湖富营养化湖区秋季水体和沉积物中硝化微生物分布特征及控制因素[J]. 湖泊科学,29(6):1312-1323.

尹冰玉,章守宇,2011. 枸杞岛海藻场沉积物细菌群落组成的初步研究[J]. 上海海洋大学学报,20(1):126-130.

有小娟,李秋芬,张艳,等,2013. 象山港内西沪港海域沉积环境细菌群落结构的时空变化及其主要环境影响因子[J]. 应用与环境生物学报,19(5):742-749.

袁兴中,陆健健,2001. 围垦对长江口南岸底栖动物群落结构及多样性的影响[J].生态学报,21(10):1642-1647.

张翠萍,谢健,娄全胜,等,2013. 广东省填海造地的发展经验

及对策研究[J]. 海洋环境科学，32(2)：311－315.

张东声，2011. 长江口及其邻近海域微生物的多样性和生态分布特征研究[D]. 杭州：浙江大学.

张健，赵阳国，李海艳，等，2010.黄海西北近岸沉积物中细菌群落空间分布特征[J]. 海洋学报，32(2)：118－127.

张明慧，陈昌平，索安宁，等，2012.围填海的海洋环境影响国内外研究进展[J]. 生态环境学报，21(8)：1509－1513.

Arakaki A, Shibusawa M, Hosokawa M, et al, 2010. Preparation of genomic DNA from a single species of uncultured magnetotactic bacterium by multiple-displacement amplification[J]. Applied and Environmental Microbiology, 76(5): 1480－1485.

Duan H B, Zhang H, Huang Q F, et al, 2016. Characterization and environmental impact analysis of sea land reclamation activities in China[J]. Ocean & Coastal Managemen, 130: 128－137.

Gans J, Wolinsky M, Dunbar J, 2005. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil[J]. Science, 309: 1378－1390.

Hickey K, Healy M R, 2002. Historic land reclamation in the intertidal wetlands of the Shannon estuary, western Ireland[J]. Journal of Coastal Research, 36: 365－373.

Hua J F, Feng Y Z, Jiang Q, et al, 2017. Shift of bacterial community structure along diferent coastal reclamation histories in Jiangsu, Eastern China[J]. Scientific Reports, 70: 105－117.

Kawahara N, Shigematsu K, Miyadai T, et al, 2009. Comparison of bacterial communities in fish farm sediments along an organic enrichment gradient[J]. Aquaculture, 287: 107－113.

Kinghorn A D, Chin, Y W, Swanson S M, 2009. Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms[J]. Current Opinion in Drug Discovery & Development, 12(2): 189－196.

Liu J W, Liu X S, Wang M, et al, 2015. Bacterial and Archaeal Communities in Sediments of the North Chinese Marginal Seas[J]. Microb Ecol, 70: 105－117.

Sogin M L, Morrison H G, Huber J A, 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored rare biosphere[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(32): 12115－12120.

Tian B, Wu W T, Yang Z Q, et al, 2016. Drivers, trends, and potential impacts of long-term coastal reclamation in China from 1985 to 2010[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 170: 83－90.

Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al, 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso sea[J]. Science, 304: 66－74.

（责任编辑　万月华）

Effects of Reclaiming Land from the Sea on the Microbial Communities of Marine Sediments

HUANG Bei, SHAO Jun-bo

(Zhejiang Provincial Zhoushan Marine Ecological Environmental Monitoring Station, Zhoushan 316021, P.R.China)

Abstract: Engineering construction and land reclamation have changed the natural forms of coastlines, coastal bays and estuaries, affected the hydrodynamic environment and altered seabed erosion and deposition, resulting in serious ecological problems. A petrochemical complex was planned for construction on Yushan Island of Zhoushan City and reclamation of land from the sea was carried out to create the industrial base. In this study, we analyzed the microbial community structure and spatial divergence in sediments of the marine area around the land reclamation project and identified potential links of the microbial community to environmental factors. The objective was to provide technical support for marine construction projects, coastal economic development and environmental management. In May 2016, the environmental factors and microbial communities were investigated at 10 monitoring sites, according to specifications for marine monitoring and oceanographic surveys. The marine environment was impacted by river influxes, including inputs from the Yangtze and Qiantang Rivers. Total organic carbon (TOC), petroleum, arsenic (As), cadmium (Cd), copper (Cu), and lead (Pb) were at higher levels in the northwestern area and decreased toward the east. Metagenomic analysis, using Illumina Miseq high throughput sequencing technology, identified a total of 39 phyla, 260 families and 431 genera of archaea and bacteria in the sediment samples. At the phylum level, Proteobacteria was the dominant taxa at all sampling sites, comprising 39% of the total abundance. Other abundant taxa included Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes, and Crenarchaeota. At the genus level, Gammaproteobacteria was the dominant group and other major genera included Deltaproteobacteria, *Actinomyces*, *Planctomyceteschus* and *Myxococcus*. Further, Deltaproteobacteria became one of the major components of the microbial community, indicating that the study area was affected by human activities. Correlation analysis between the microbial community and environmental factors revealed that TOC, arsenic and marine benthic animals significantly affected microbial community distribution at the phylum level. The abundance of Thaumarchaeota, Lentisphaerae, and P-SR1 presented significantly negative correlations with petroleum, As, Pb and Cd.

Key words: land reclamation; marine environment; microbial community; high throughput sequencing