

## 梁子湖与后官湖浮游细菌的群落结构特征

邹沈娟<sup>1,2</sup>, 尹立强<sup>3</sup>, 赵博礼<sup>1</sup>, 陈培培<sup>1</sup>, 魏蒲生<sup>3</sup>, 马徐发<sup>1,4</sup>

(1.华中农业大学水产学院,湖北 武汉 430070;  
2.威远县农业农村局,四川 内江 642450;  
3.大冶湖生态文化旅游开发有限公司,湖北 黄石 435100;  
4.长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心,湖北 武汉 430070)

**摘要:**探究浮游细菌群落结构以及微生物与环境因子的相关性,可为湖泊环境评价和生态治理提供理论依据。选取湖北境内的梁子湖和后官湖,于2018年4月分别设置10个和5个采样点,进行浮游细菌与水体理化指标采样调查;通过16S rRNA基因高通量测序,分析比较浮游细菌群落结构及其多样性的差异,并通过冗余分析(RDA)探讨环境因子与浮游细菌群落结构的关系。结果表明,梁子湖和后官湖均有较高的浮游细菌群落多样性,其Shannon指数分别为3.974~4.743和3.924~4.500;梁子湖与后官湖的浮游细菌群落结构有所差异,梁子湖菌群隶属于放线菌门(Actinomycetes)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroides)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿菌门(Chlorobi)、绿弯菌门(Chloroflexi)、装甲菌门(Armatimonadetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae);后官湖菌群隶属于放线菌门、蓝细菌门、变形菌门、拟杆菌门、疣微菌门、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门、绿菌门、浮霉菌门(Planctomycetes)、装甲菌门和螺旋体菌门(Saccharibacteria);其中,梁子湖的优势菌群为放线菌门(20.09%~43.23%)和变形菌门(21.35%~35.28%),而后官湖的优势菌群为放线菌门(20.70%~42.69%)和蓝细菌门(14.40%~45.77%)。RDA分析表明,总氮(TN)、pH、总磷(TP)是影响微生物群落结构的主要环境因子。

**关键词:**浮游细菌;群落结构;环境因子;梁子湖;后官湖

**中图分类号:**Q938   **文献标志码:**A   **文章编号:**1674-3075(2021)02-0033-09

微生物是淡水生态系统的重要组成部分,负责营养物质的生物地球化学循环和有机物的生物转化(Martins et al, 2011; Liu et al, 2015)。微生物群落对环境变化很敏感,可用于指示水生态环境(Marshall et al, 2008; Wu et al, 2009)。迄今,分子生物学技术已被广泛用于淡水湖泊的浮游细菌群落研究。通过16S rDNA克隆和第二代高通量测序可以阐明河流的微生物特征,该技术还可用于评估细菌群落结构和多样性(Kerstens et al, 2009)。测序也成为检测各种基质中细菌群落的有效工具(Staley et al, 2013),包括土壤、海水和淡水环境(Ligi et al, 2014),第二代高通量测序技术是用于

研究真核生物中RNA群的高分辨率技术(Ged-alanga et al, 2013)。目前,大部分研究都利用16S rRNA基因序列分析以解释微生物的多样性,浮游细菌多样性和群落结构与水体环境密切相关(Buttigieg & Ramette, 2014);影响浮游细菌群落分布的环境因子主要有光照、温度、溶解氧、pH、水深、营养盐(Yannarell & Triplett, 2003; 严瑶仙等,2014; 薛银刚等,2018; Lau et al, 2019; 刘金波等,2019; Gomes et al, 2019)。研究浮游细菌与环境因子之间的关系,可为微生物评价体系提供基础理论依据。

目前,对湖泊水环境的研究主要集中于浮游生物、水生植物和重金属方面(吴卫菊等,2014; 王丹等,2016; 苗琳琳,2017; 孙沿等,2018);而对于微生物方面的报道较少(彭磊,2015; Yin et al, 2018)。本研究选择梁子湖和后官湖两个富营养型湖泊为研究对象,通过16S rRNA基因序列高通量测序,分析浮游细菌的群落结构特征及其多样性,探究其环境主要影响因子,以期为后续的湖泊生态治理及环境评价提供理论依据。

收稿日期:2019-05-18

基金项目:公益性行业科研专项“湖泊水库养殖容量及生态增养殖技术研究与示范”(201303056)。

作者简介:邹沈娟,1993年生,女,硕士研究生,研究方向为水环境生态监测研究。E-mail:zoushenjuan@webmail.hzau.edu.cn

通信作者:马徐发。E-mail:xufama@mail.hzau.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 湖泊概况

梁子湖( $114^{\circ}32' \sim 114^{\circ}42'E$ ,  $30^{\circ}04' \sim 30^{\circ}20'N$ )位于湖北省东南部,长江中游南岸,经长港流入长江,为外流湖;流域面积为 $3260 km^2$ ,东西长82 km,南北长22 km,常年平均水深3 m,是湖北省容水量最大的淡水湖之一,湖面面积位居全省第二;梁子湖是典型的草型湖泊,水生植被丰富,生态系统完整,生物多样性高,作为生态旅游区,一直在进行生态修复,受人类影响渐渐变小,但根据2017年湖北省水资源公报,其水质整体状况为Ⅳ类。

后官湖( $113^{\circ}58' \sim 114^{\circ}05'E$ ,  $30^{\circ}30' \sim 30^{\circ}34'N$ )位于湖北省武汉市蔡甸区,是典型性北温带浅水型淡水湖泊,由高湖、白莲湖、知音湖和天鹅湖4个子湖组成,水域总面积约为 $34 km^2$ ,岸线约178 km,为蔡甸区境内第二大湖泊;后官湖本是蔡甸南湖水系的一部分,但随着城市化的进程,其成为独立的内陆湖。由于周边居民区的兴建,后官湖一直受生活污水、交通污染等人类活动的影响,根据2017年湖北省水资源公报,其水质整体状况为Ⅳ类水,呈富营养化状态。

### 1.2 样品采集和水化学测量

2018年4月,在梁子湖设置10个采样点(图1-a,L1~L10),在后官湖设置5个采样点(图1-b,H1~H5)。每个采样点用有机玻璃采水器采集表层(离水面0.5 m)水样3 L,进行编号后冰浴运回实验室。使用 $0.2 \mu m$ 有机滤膜过滤2 L(每张过滤300 mL)水样转移至10 mL离心管,保存于 $-80^{\circ}C$ 冰箱;剩余1 L水样保存于 $4^{\circ}C$ 冰箱,用于测定理化指标。

现场实时使用Pro 2030多参数水质分析仪(YSI公司,美国)测量每个采样点的pH、水温(WT)、溶解氧(DO)、电导率(COND)、总溶解固体(TDS)、盐度(SAL)和氧化还原电位(ORP)等水体理化指标,其他理化指标参照《中华人民共和国国家水质标准》。总氮(TN)采用碱性过硫酸钾联合消解紫外分光光度法测量,总磷(TP)采用钼酸铵分光光度法测定,硝酸盐( $NO_3^-$ -N)、亚硝酸盐( $NO_2^-$ -N)、氨氮( $NH_4^+$ -N)、正磷酸盐( $PO_4^{3-}$ -P)则使用Cleverchem 380全自动间断化学分析仪(De Chem-Tech公司,德国)测量;总碳(TC)和总有机碳(TOC)使用Vario TOC总有机碳分析仪(Elementar公司,德国)测定。

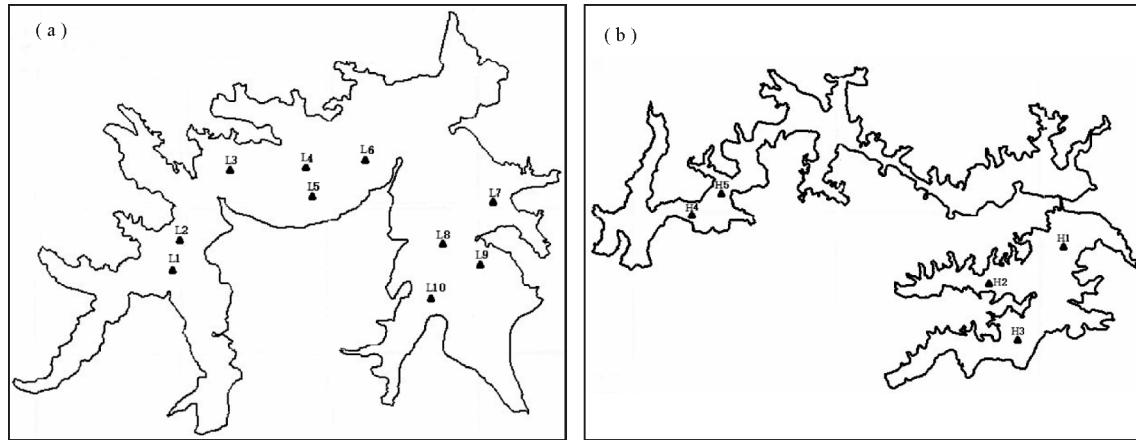


图1 梁子湖(a)和后官湖(b)采样点设置

Fig.1 Location of the sampling sites in Liangzi Lake (a) and Houguan Lake (b)

### 1.3 样本 DNA 提取及 16S rRNA 基因扩增

使用Water DNA Kit试剂盒(OMEGA,美国)提取梁子湖与后官湖样品L1~L10和H1~H5的DNA。针对细菌16S rRNA基因V3+V4区设计含barcode的特异引物338F/806R,引物序列为:338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'),806R(5'-GGACTACHVG GGTWTCTAAT-3')。PCR扩增采用TransGen AP221-02;Trans-Start FastPfu DNA Polymerase, 20 μL反应体系:

$5 \times$  FastPfu Buffer 4 μL, 2.5 mM dNTPs 2 μL, Forward Primer (5 μM) 0.8 μL, Reverse Primer (5 μM) 0.8 μL, FastPfu Polymerase 0.4 μL, BSA 0.2 μL, Template DNA 10 ng, 补 ddH<sub>2</sub>O至20 μL。PCR条件:95℃预变性3 min;95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸45 s,27个循环;最后72℃、10 min终延伸。

PCR产物经过2%琼脂糖凝胶电泳检测,条带清晰,片段大小合适,使用AxyPrepDNA凝胶回收

试剂盒(AXYGEN公司,美国)切胶回收PCR产物,以Tris-HCl洗脱后连接“Y”接头,使用磁珠筛选去除接头自连片段,按照每个样品测定10 000条序列加入1 ng PCR产物的标准富集PCR产物,然后用0.1 mol/L的NaOH溶液变性,获得单链DNA片段,构建测序文库后在16S-338F-806RMiseq平台进行高通量测序(美吉生物,上海)。

#### 1.4 数据分析

将本研究的原始数据上传至NCBI数据库(Sequence Read Archive,SRA)中(<https://submit.ncbi.nlm.nih.gov/subs/sra/>,分别为SRR9218216、SRR9218218、SRR9218220、SRR9218222、SRR9218257、SRR9218251、SRR9218224、SRR9218253)。对获得的测序数据,使用Uparse对原始序列进行OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类(序列相似性设为97%),在聚类过程中去

除嵌合体,得到OTU的代表序列;将其与SILVA数据库(<http://www.arb-silva.de/>)序列比对后,进行门到属水平的物种分类。根据归一化的OTU丰度,计算Ace指数、Chao指数和Shannon指数等Alpha多样性指数。基于数据表,利用R 3.2.5软件包进行统计分析和绘图。使用Vegan进行环境因子与细菌群落的冗余分析(RDA)。使用SPSS 24.0进行环境因子的重复测量单因素方差分析和细菌群落与环境因子的Pearson相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 理化指标

梁子湖和后官湖的理化指标见表1。单因素方差分析检验得知,后官湖与梁子湖之间的水温(WT)( $F=8.913, P<0.05$ )、电导率(COND)( $F=881.817, P<0.001$ )、盐度(SAL)( $F=877.5, P<0.001$ )差异显著。

表1 梁子湖和后官湖不同采样点的理化指标

Tab.1 Physicochemical parameters for each sampling site on Liangzi Lake and Houguan Lake

| 采样点 | WT/<br>℃   | pH   | DO/<br>mg·L <sup>-1</sup>                              | COND/<br>mS·cm <sup>-1</sup>                            | TDS/<br>mg·L <sup>-1</sup> | ORP/<br>mV                 | TN/<br>mg·L <sup>-1</sup> | TP/<br>mg·L <sup>-1</sup> |
|-----|--|--|--|---|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| H1  | 27.4   | 8.13   | 8.3  | 362.2   | 224.90                     | 0.16                       | -174.8                    | 0.760                     |
| H2  | 24.7   | 8.08   | 7.8  | 343.5   | 224.25                     | 0.16                       | -195.5                    | 1.299                     |
| H3  | 24.2   | 7.96   | 7.6  | 337.2   | 222.95                     | 0.16                       | -198.7                    | 1.416                     |
| H4  | 25.5   | 7.79   | 8.9  | 341.3   | 219.70                     | 0.16                       | -185.0                    | 0.499                     |
| H5  | 25.9   | 7.85   | 8.2  | 353.2   | 225.55                     | 0.16                       | -184.7                    | 1.387                     |
| L1  | 22.1   | 8.12   | 7.9  | 146.1   | 100.75                     | 0.07                       | -209.7                    | 0.546                     |
| L2  | 22.9   | 7.69   | 8.0  | 150.7   | 102.05                     | 0.07                       | -230.9                    | 0.417                     |
| L3  | 24.3   | 7.89   | 7.5  | 139.5   | 91.65                      | 0.07                       | -180.1                    | 0.390                     |
| L4  | 25.0   | 7.93   | 8.3  | 137.0   | 89.05                      | 0.06                       | -187.3                    | 0.417                     |
| L5  | 23.1   | 7.76   | 8.5  | 140.4   | 94.25                      | 0.07                       | -197.8                    | 0.132                     |
| L6  | 24.5   | 8.23   | 9.2  | 139.6   | 91.65                      | 0.07                       | -197.3                    | 0.288                     |
| L7  | 22.4   | 8.54   | 10.8   | 144.3   | 98.80                      | 0.07                       | -203.8                    | 0.042                     |
| L8  | 25.1   | 8.43   | 10.1   | 172.7   | 112.4                      | 0.08                       | -230.7                    | 0.863                     |
| L9  | 23.5   | 8.83   | 9.1  | 130.8   | 87.10                      | 0.06                       | -212.5                    | 0.426                     |
| L10 | 24.2   | 8.03   | 7.4  | 166.3   | 109.85                     | 0.08                       | -243.4                    | 0.884                     |
| 采样点 | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/<br>mg·L <sup>-1</sup> | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/<br>mg·L <sup>-1</sup> | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/<br>mg·L <sup>-1</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P/<br>mg·L <sup>-1</sup> | TC/<br>mg·L <sup>-1</sup>  | TOC/<br>mg·L <sup>-1</sup> | C:N                       | N:P                       |
| H1  | 0.084  | 0.012  | 0.042  | 0.009   | 19.338                     | 5.972                      | 7.859                     | 4.770                     |
| H2  | 0.101  | 0.014  | 0.042  | 0.003   | 23.016                     | 9.427                      | 7.255                     | 10.446                    |
| H3  | 0.104  | 0.008  | 0.027  | 0.005   | 22.806                     | 9.894                      | 6.988                     | 7.980                     |
| H4  | 0.034  | 0.003  | 0.036  | 0.005   | 19.991                     | 6.616                      | 13.269                    | 3.796                     |
| H5  | 0.040  | 0.002  | 0.040  | 0.006   | 20.131                     | 6.996                      | 5.043                     | 8.140                     |
| L1  | 0.369  | 0.007  | 0.006  | 0.009   | 12.885                     | 6.307                      | 255.689                   | 1.589                     |
| L2  | 0.260  | 0.006  | 0.053  | 0.010   | 11.863                     | 5.566                      | 177.638                   | 1.116                     |
| L3  | 0.256  | 0.006  | 0.027  | 0.010   | 8.149                      | 3.355                      | 170.593                   | 0.777                     |
| L4  | 0.309  | 0.007  | 0.104  | 0.010   | 8.844                      | 3.725                      | 106.429                   | 0.925                     |
| L5  | 0.373  | 0.007  | 0.016  | 0.008   | 8.467                      | 3.144                      | 174.667                   | 0.641                     |
| L6  | 0.209  | 0.007  | 0.213  | 0.010   | 10.361                     | 3.800                      | 117.526                   | 1.047                     |
| L7  | 0.063  | 0.006  | 0.041  | 0.013   | 9.747                      | 3.697                      | 326.206                   | 0.337                     |
| L8  | 0.417  | 0.024  | 0.121  | 0.006   | 13.236                     | 4.067                      | 123.242                   | 0.736                     |
| L9  | 0.049  | 0.003  | 0.024  | 0.006   | 10.071                     | 4.341                      | 112.267                   | 0.674                     |
| L10 | 0.456  | 0.024  | 0.149  | 0.018   | 14.278                     | 4.494                      | 59.132                    | 1.596                     |

$P < 0.001$ )、氧化-还原电位(ORP)( $F = 4.929, P < 0.05$ )、正磷酸盐( $\text{PO}_4^{3-}$ -P)( $F = 6.493, P < 0.05$ )和总碳(TC)( $F = 85.397, P < 0.001$ )差异显著;对其他理化因子进行非参数检验发现,两个湖泊之间的总溶解固体(TDS)、总氮(TN)、总磷(TP)、硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-$ -N)、总有机碳(TOC)和碳氮比(C/N)差异显著( $P < 0.05$ );后官湖的温度、电导率、总溶解固体、盐度、总氮、总磷、总碳和总有机碳显著高于梁子湖。

## 2.2 浮游细菌群落丰富度和多样性

本研究获得浮游细菌各样本有效序列读数在21 840~44 033,标准化为21 840,以比较细菌群落丰富度和多样性。高Coverage指数(>99%)表明,

此次测序结果能很好地代表样本细菌的真实情况。梁子湖样品有349~574个OTU,Chao估算值为398~643;后官湖的样品有411~481个OUT,Chao估算值为484~567,观察到两个湖泊浮游细菌OTU数和Chao指数均有一定的空间变化。Shannon指数表明,两个湖泊的浮游细菌群落多样性均较高,但差异不明显,梁子湖和后官湖的Shannon指数分别为3.974~4.743和3.924~4.500;而从Simpson指数可看出,两个湖泊的细菌群落多样性存在明显的空间差异,梁子湖9号采样点的多样性最低,6号点多样性最高;后官湖5号显著高于其他几个样点,多样性最低(图2)。

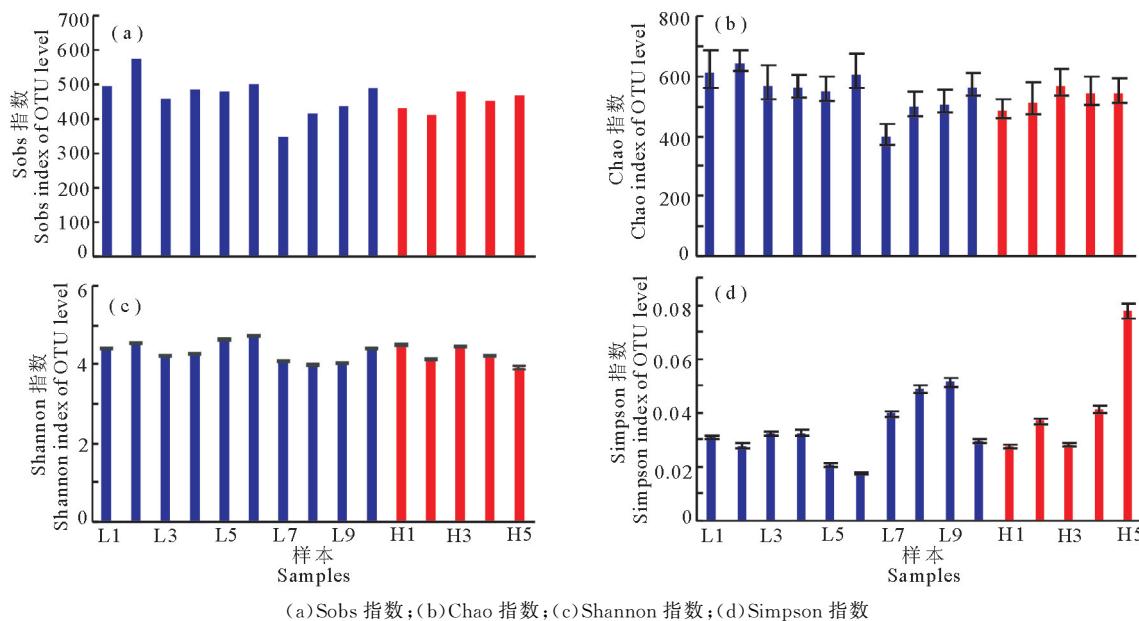


图2 梁子湖和后官湖不同采样点细菌群落的多样性指数比较

(a) Sobs index; (b) Chao index; (c) Shannon index; (d) Simpson index

Fig.2 Comparison of bacterial community diversity indices among sampling sites on Liangzi Lake and Houguan Lake

## 2.3 细菌群落 UPGMA 聚类

UPGMA聚类结果表明(图3),两个湖泊的样本远距离分离,表明浮游细菌群落结构有湖泊特异性。梁子湖样本进一步分为了两个不同的组,说明该区域之间浮游细菌群落差异较大;而后官湖5号采样点与其他采样点的样品距离较远,说明该采样点的浮游细菌群落与其他几个采样点的差异较大。

## 2.4 浮游细菌群落组成

梁子湖和后官湖共发现13个常见菌门(占比大于1%),包括放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)、绿菌门(Chlorobi)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、装甲菌门(Armatimono-

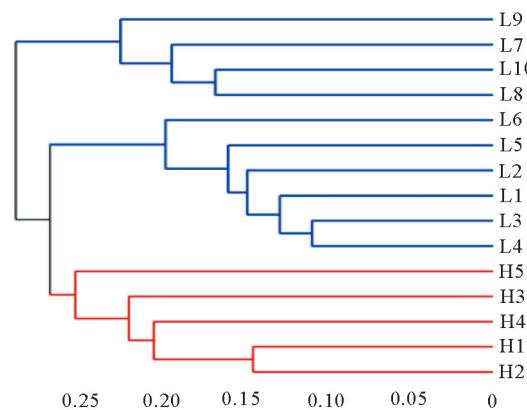


图3 梁子湖(L1~L10)和后官湖(H1~H5)水体样本细菌群落UPGMA聚类

Fig.3 UPGMA clustering of water samples from Liangzi Lake and Houguan Lake

nadetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)和螺旋体菌门(Saccharibacteria)。放线菌门(20.09%~43.23%)在两湖中占比最大,变形菌门(21.35%~35.28%)是梁子湖第二大的菌门,主要由 $\alpha$ -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲(Betaproteobacteria)和 $\gamma$ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)组成, $\alpha$ 和 $\beta$ -变形菌纲是主要优势菌群;蓝细菌门(14.40%~45.77%)是后官湖第二大菌门,5号采样点占比最高;另外,拟杆菌门(11.60%~31.73%)和蓝细菌门(3.74%~17.18%)是梁子湖的主要组成部分,变形菌门(15.32%~22.55%)、拟杆菌门(7.64%~21.87%)和疣微菌门(1.61%~11.62%)是后官湖的主要组成部分,但均为次要菌门(图4)。

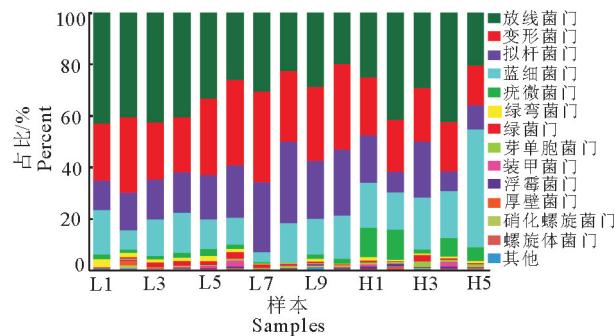


图4 梁子湖和后官湖不同样品浮游细菌门类组成

Fig.4 Phylum composition of planktonic bacterial community at different sampling sites in Liangzi Lake and Houguan Lake

表2 水体环境因子与优势微生物群落相关性分析

Tab.2 Correlation of water physicochemical factors with dominant microorganism phyla

| 微生物群落 | WT                              | pH                              | DO              | COND                             | TDS            | SAL             | TN              | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N |
|-------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|----------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|
| 放线菌门  | -0.350                          | -0.336                          | -0.200          | -0.250                           | -0.263         | -0.237          | -0.331          | -0.043                          |
| 变形菌门  | <b>-0.527*</b>                  | 0.364                           | 0.356           | -0.482                           | -0.513         | <b>-0.516*</b>  | <b>-0.626*</b>  | 0.389                           |
| 拟杆菌门  | -0.214                          | <b>0.632*</b>                   | 0.350           | -0.289                           | -0.282         | -0.260          | -0.136          | 0.325                           |
| 蓝细菌门  | <b>0.554*</b>                   | -0.196                          | -0.388          | <b>0.618*</b>                    | <b>0.638*</b>  | <b>0.654*</b>   | <b>0.785***</b> | -0.196                          |
| 绿菌门   | -0.107                          | 0.089                           | 0.318           | <b>-0.554*</b>                   | <b>-0.533*</b> | -0.418          | -0.509          | 0.057                           |
| 芽单胞菌门 | <b>0.688**</b>                  | 0.086                           | 0.066           | <b>0.689**</b>                   | <b>0.697**</b> | <b>0.774***</b> | <b>0.615*</b>   | -0.296                          |
| 浮霉菌门  | <b>0.588*</b>                   | 0.129                           | -0.063          | <b>0.554*</b>                    | 0.508          | <b>0.639*</b>   | <b>0.547*</b>   | -0.321                          |
| 厚壁菌门  | 0.167                           | <b>-0.564*</b>                  | 0.147           | 0.050                            | 0.055          | 0.058           | -0.034          | 0.063                           |
| 微生物群落 | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | TP              | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P | TC             | TOC             | C:N             | N:P                             |
| 放线菌门  | -0.216                          | -0.492                          | -0.493          | -0.114                           | -0.243         | -0.025          | <b>0.514*</b>   | 0.071                           |
| 变形菌门  | 0.143                           | 0.297                           | -0.502          | <b>0.694**</b>                   | <b>-0.564*</b> | <b>-0.668**</b> | 0.436           | -0.046                          |
| 拟杆菌门  | 0.341                           | 0.293                           | -0.002          | 0.368                            | -0.268         | -0.425          | -0.132          | -0.011                          |
| 蓝细菌门  | 0.122                           | -0.163                          | <b>0.647**</b>  | -0.464                           | <b>0.664**</b> | <b>0.682**</b>  | <b>-0.621*</b>  | 0.068                           |
| 绿菌门   | -0.186                          | 0.043                           | -0.220          | 0.234                            | -0.550         | <b>-0.536*</b>  | 0.250           | -0.193                          |
| 芽单胞菌门 | 0.188                           | 0.317                           | <b>0.845***</b> | -0.380                           | <b>0.679**</b> | 0.468           | <b>-0.589*</b>  | -0.289                          |
| 浮霉菌门  | 0.295                           | 0.225                           | <b>0.702**</b>  | <b>-0.554*</b>                   | <b>0.711**</b> | <b>0.586*</b>   | -0.368          | -0.236                          |
| 厚壁菌门  | -0.218                          | 0.190                           | 0.095           | -0.157                           | 0.045          | 0.023           | 0.100           | -0.127                          |

注:黑体显示与环境因子相关的优势微生物群落。<sup>\*</sup> 0.01< P < 0.05; <sup>\*\*</sup> 0.001< P < 0.01; <sup>\*\*\*</sup> P < 0.001。

Note: Values in bold indicate that the dominant microbial phyla were significantly related to the environmental factor: \* 0.01< P < 0.05;

<sup>\*\*</sup> 0.001< P < 0.01; <sup>\*\*\*</sup> P < 0.001.

## 2.5 微生物群落的影响因素

Spearman 等级相关分析表明,浮游细菌与水体环境因子关系密切,变形菌门与 WT、SAL、TN、TC 和 TOC 显著负相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),与 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 显著正相关( $P < 0.01$ )。拟杆菌门与 pH 显著正相关( $P < 0.05$ )。蓝细菌门与 WT、COND、TDS、SAL、TN、TP、TC 和 TOC 显著正相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),与 C/N 负相关( $P < 0.01$ )。芽单胞菌门与 WT、COND、TDS、SAL、TN、TP 和 TC 显著正相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ),与 C/N 负相关( $P < 0.05$ )。绿菌门与 COND、TDS 和 TOC 呈负相关( $P < 0.05$ )。浮霉菌门与 WT、COND、SAL、TN、TC 和 TOC 显著正相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ),与 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 负相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。厚壁菌门与 pH 负相关( $P < 0.05$ )(表 2)。优势细菌门与 DO、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 N/P 没有显著相关性。经过 VIF 分析,筛选出相互作用较小的环境因子为 WT、pH、TN、TP、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P、TOC 和 C/N。在 OTU 水平上,分析各样点与环境因子的相关性,RDA 排序如图 5 所示。第一轴 RDA1 和第二轴 RDA2 的解释度分别为 29.17% 和 19.65%;通过 Envfit 函数检验每个环境因子的显著性,在所检测的理化因子中,TN、pH、TP 与样品的分布之间均有显著相关性( $P < 0.05$ ),而其他所检测的环境因子对水体微生物群落分布影响均不显著( $P > 0.05$ )。

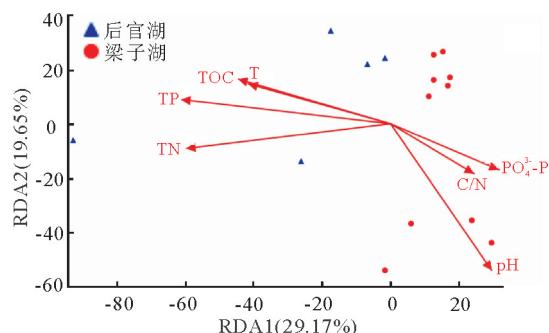


图5 浮游细菌OTU组成与湖泊主要参数关系的RDA排序

Fig.5 Redundancy analysis (RDA) ordination plot of the relationships between planktonic bacteria OTU composition and lake water environmental parameters

### 3 讨论

#### 3.1 人类活动影响湖泊微生物的区域分布与生长

本研究中,后官湖与梁子湖的理化指标有显著差异,主要表现在营养物质浓度显著高于梁子湖,可能是由于后官湖为内陆湖,更易受人类活动的干扰,也说明水体环境具有空间差异性。有研究表明,淡水湖泊中浮游细菌群落丰富度和多样性有明显的空间变化(Wei et al, 2008; Wu et al, 2009; Li et al 2015; Zwirglmaier et al 2015)。本研究中,后官湖与梁子湖的水体微生物群落均具有较高的丰富度与多样性,但梁子湖整体微生物群落丰富度与多样性高于后官湖。在湖泊不同区域的微生物丰富度与多样性有明显差异,且近岸的微生物丰富度与多样性明显更高,可能是由于人类活动对水体中微生物的生长有直接或间接的影响(Yergeau et al, 2012; Gibbons et al, 2014; Saxena et al, 2015)。后官湖5号采样点的Simpson指数最高,说明5号点多样性最低;由图4也可看出,5号点浮游细菌种类最少,可能是该样点处于湖中心,受人类活动的影响相对较小。

#### 3.2 水体营养物质的高低决定湖泊优势菌群结构

许多研究表明,淡水湖泊中微生物群落结构存在空间变化,并且多集中分布于变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和蓝细菌门(Wei et al, 2008; Wu et al, 2009; Bashenkhaeva et al, 2015; Li et al, 2019)。本研究中,微生物群落的系统发育分析表明,梁子湖和后官湖的细菌群落结构具有明显的空间异质性,而UPGMA聚类的结果进一步证实了这两个湖泊中不同的微生物群落结构。本次研究发现,梁子湖最丰富的微生物类群是放线菌门,其次是变形菌门( $\beta$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲)、拟杆菌门和蓝细菌门等;后官湖最丰富的微生物类群是放线菌门,其次是蓝细菌门、变形菌门( $\beta$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲)、拟杆菌门、疣微菌门等。在以往的研究中,已证实 $\beta$ -变形菌纲是淡水水体环境中的优势菌群(Zwart et al, 2002; Tamaki et al, 2005; Wang et al, 2012; Zhang et al, 2015);疣微菌门在淡水中普遍存在,在湖泊和河流中呈现出世界性分布,存在于多达90%的湖泊中(Zwart et al, 2003);其丰度通常在总微生物群落的1%~6%(Eiler & Bertilsson, 2004; Newton et al, 2011; Parveen et al, 2013);在腐殖质湖泊中高达19%(Arnds et al, 2010)。本次研究中,疣微菌门在水体微生物的占比(最高为11.62%)显著高于以往的一些研究结果(Perreault et al, 2007; Black et al, 2017),可能是由于后官湖水体中有机质含量较高的原因。芽单胞菌门通常在沉积物中为优势菌群,在水体中极少成为优势菌群(Gupta et al, 2009; Ye et al, 2009; Zhang et al, 2014; Genderjahn et al, 2018);芽单胞菌是一类光合细菌,能利用水体中氮源,在氮循环过程中起重要作用(Zeng et al, 2016);而在本次研究中,芽单胞菌门在后官湖水体中占比很大,这可能是因为后官湖水体中营养物质含量偏高。

纲)、拟杆菌门和蓝细菌门等;后官湖最丰富的微生物类群是放线菌门,其次是蓝细菌门、变形菌门( $\beta$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲)、拟杆菌门、疣微菌门等。在以往的研究中,已证实 $\beta$ -变形菌纲是淡水水体环境中的优势菌群(Zwart et al, 2002; Tamaki et al, 2005; Wang et al, 2012; Zhang et al, 2015);疣微菌门在淡水中普遍存在,在湖泊和河流中呈现出世界性分布,存在于多达90%的湖泊中(Zwart et al, 2003);其丰度通常在总微生物群落的1%~6%(Eiler & Bertilsson, 2004; Newton et al, 2011; Parveen et al, 2013);在腐殖质湖泊中高达19%(Arnds et al, 2010)。本次研究中,疣微菌门在水体微生物的占比(最高为11.62%)显著高于以往的一些研究结果(Perreault et al, 2007; Black et al, 2017),可能是由于后官湖水体中有机质含量较高的原因。芽单胞菌门通常在沉积物中为优势菌群,在水体中极少成为优势菌群(Gupta et al, 2009; Ye et al, 2009; Zhang et al, 2014; Genderjahn et al, 2018);芽单胞菌是一类光合细菌,能利用水体中氮源,在氮循环过程中起重要作用(Zeng et al, 2016);而在本次研究中,芽单胞菌门在后官湖水体中占比很大,这可能是因为后官湖水体中营养物质含量偏高。

#### 3.3 浮游细菌群落结构受多重环境因素的影响

多重因素可能共同影响浮游细菌群落结构(Wei et al, 2008; Wu et al, 2009)。然而,大多数研究认为,水体营养物质是浮游细菌群落结构的关键决定因素(Zhang et al, 2014; Zwirglmaier et al, 2015)。在本研究中,RDA的分析结果表明,TN、pH和TP是影响浮游细菌群落结构的主要影响因子;Spearman等级相关分析还表明,水温与变形菌门、蓝细菌门、芽单胞菌门和浮霉菌门有显著的相关性,pH与拟杆菌门和厚壁菌门有显著的相关性,COND、TDS和SAL与蓝细菌门和芽单胞菌门显著相关,而变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、疣微菌门、绿菌门、芽单胞菌门和浮霉菌门都与营养元素有显著相关性,说明浮游细菌群落结构的形成不是由单一影响因素造成的,而是由多种影响因素共同作用的结果。然而,本研究未考虑浮游植物群落结构等生物因素对于浮游细菌的影响。有研究表明,浮游植物生物量与浮游细菌生物量存在显著的正相关性,二者存在着相互影响的调控关系(郭凯旋等,2012)。因此,后续对于浮游植物与浮游细菌的相互关系,还有待深入研究。

## 参考文献

- 郭凯旋,张瑜斌,章洁香,等,2012.雷州半岛近海夏季浮游植物和浮游细菌生物量的分布及其影响因素[J].生态学杂志,31(1):8-15.
- 刘金波,孔维栋,王君波,等,2019.纳木错湖水体固碳微生物数量,群落结构及其驱动因子[J].生态学报,39(8):2772-2783.
- 苗琳琳,2017.梁子湖水生植物常见种能量特征及其环境影响因素[D].武汉:武汉大学.
- 彭磊,2015.梁子湖沉水植物根际沉积物脱氮微生物多样性及菌群定量研究[D].武汉:华中农业大学.
- 孙沿,蔡芸,王亚飞,2018.武汉市后官湖浮游植物群落特征分析[J].中国资源综合利用,36(7):5-7.
- 王丹,孟鑫,张洪,等,2016.梁子湖沉积物重金属污染现状分析及风险评价[J].环境科学学报,36(6):1901-1909.
- 吴卫菊,王玲玲,张斌,等,2014.梁子湖水生生物多样性及水质评价研究[J].环境科学与技术,37(10):199-204.
- 薛银刚,刘菲,孙萌,等,2018.太湖竺山湾春季浮游细菌群落结构及影响因素[J].环境科学,39(3):1151-1158.
- 严瑶仙,梁柱源,朱泉剑,等,2014.大亚湾南澳海域浮游细菌丰度对营养盐添加的响应[J].浙江万里学院学报,27(1):1-9.
- Arndt J, Knittel K, Buck U, et al, 2010. Development of a 16S rRNA-targeted probe set for Verrucomicrobia and its application for fluorescence in situ hybridization in a humic lake[J]. Systematic and Applied Microbiology, 33(3): 139-148.
- Bashenkhaeva M V, Zakharova Y R, Petrova D P, et al, 2015. Sub-ice microalgal and bacterial communities in freshwater Lake Baikal, Russia[J]. Microbial Ecology, 70(3): 751-765.
- Black E M, Chimenti M S, Just C L, 2017. Effect of freshwater mussels on the vertical distribution of anaerobic ammonia oxidizers and other nitrogen-transforming microorganisms in upper Mississippi River Sediment[J]. Peer J, 5: e3536.
- Buttigieg P L, Ramette A, 2014. A guide to statistical analysis in microbial ecology: a community-focused, living review of multivariate data analyses[J]. FEMS Microbiology Ecology, 90(3): 543-550.
- Eiler A, Bertilsson S, 2004. Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes[J]. Environmental Microbiology, 6(12): 1228-1243.
- Gedalanga P, Kotay S M, Sales C M, et al, 2013. Novel applications of molecular biological and microscopic tools in environmental engineering[J]. Water Environment Research, 85(10): 917-950.
- Genderjahn S, Alawi M, Wagner D, et al, 2018. Microbial community responses to modern environmental and past climatic conditions in omongwa pan, Western Kalahari: a paired 16S rRNA gene profiling and lipid biomarker approach[J]. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 123(4): 1333-1351.
- Gibbons S M, Jones E, Bearquiver A, et al, 2014. Human and environmental impacts on river sediment microbial communities[J]. PloS One, 9(5): e97435.
- Gomes J, Khandeparker R, Meena R M, et al, 2019. Bacterial Community Composition Markedly Altered by Coastal Hypoxia[J]. Indian Journal of Microbiology, 59(2): 200-208.
- Gupta A K, Rangrez A Y, Verma P, et al, 2009. Phylogenetic profiling of bacterial community from two intimately located sites in Balramgari, North-East coast of India[J]. Indian Journal of Microbiology, 49(2): 169-187.
- Kerstens H H, Crooijmans R P, Veenendaal A, et al, 2009. Large scale single nucleotide polymorphism discovery in unsequenced genomes using second generation high throughput sequencing technology: applied to turkey [J]. BMC Genomics, 10(1): 479. doi: 10.1186/1471-2164-10-479
- Lau N S, Zarkasi K Z, Sah A S R M, et al, 2019. Diversity and Coding Potential of the Microbiota in the Photic and Aphotic Zones of Tropical Man-Made Lake with Intensive Aquaculture Activities: a Case Study on Temengor Lake, Malaysia[J]. Microbial Ecology, 78(1): 20-32.
- Li Q, Zhao Y, Zhang X, et al, 2015. Spatial heterogeneity in a deep artificial lake plankton community revealed by PCR-DGGE fingerprinting[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 33(3): 624-635.
- Li H, Alsanea A, Barber M, et al, 2019. High-throughput DNA sequencing reveals the dominance of pico-and other filamentous cyanobacteria in an urban freshwater Lake[J]. Science of the Total Environment, 661: 465-480.
- Ligi T, Oopkaup K, Truu M, et al, 2014. Characterization of bacterial communities in soil and sediment of a created riverine wetland complex using high-throughput 16S rRNA amplicon sequencing[J]. Ecological Engineering, 72: 56-66.
- Liu L X, Xu M, Qiu S, et al, 2015. Spatial patterns of benthic bacterial communities in a large lake[J]. International Review of Hydrobiology, 100(3/4): 97-105.
- Marshall M M, Amos R N, Henrich V C, et al, 2008. Developing SSU rDNA metagenomic profiles of aquatic

- microbial communities for environmental assessments [J]. *Ecological Indicators*, 8(5): 442–453.
- Martins G, Terada A, Ribeiro D C, et al, 2011. Structure and activity of lacustrine sediment bacteria involved in nutrient and iron cycles[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 77(3): 666–679.
- Newton R J, Jones S E, Eiler A, et al, 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 75(1): 14–49.
- Parveen B, Mary I, Velle A, et al, 2013. Temporal dynamics and phylogenetic diversity of free-living and particle-associated Verrucomicrobia communities in relation to environmental variables in a mesotrophic lake [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(1): 189–201.
- Perreault N N, Andersen D T, Pollard W H, et al, 2007. Characterization of the prokaryotic diversity in cold saline perennial springs of the Canadian high Arctic[J]. *Appl Environ Microbiol*, 73(5): 1532–1543.
- Saxena G, Marzinelli E M, Naing N N, et al, 2015. Ecogenomics reveals metals and land-use pressures on microbial communities in the waterways of a megacity[J]. *Environmental Science & Technology*, 49(3): 1462–1471.
- Staley C, Unno T, Gould T, et al, 2013. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 115(5): 1147–1158.
- Tamaki H, Sekiguchi Y, Hanada S, et al, 2005. Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques[J]. *Appl Environ Microbiol*, 71(4): 2162–2169.
- Wang Y, Sheng H F, He Y, et al, 2012. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags[J]. *Appl Environ Microbiol*, 78(23): 8264–8271.
- Wei C, Bao S, Zhu X, et al, 2008. Spatio-temporal variations of the bacterioplankton community composition in Chaohu Lake, China[J]. *Progress in Natural Science*, 18(9): 1115–1122.
- Wu L, Yu Y, Zhang T, et al, 2009. PCR-DGGE Fingerprinting Analysis of Plankton Communities and Its Relationship to Lake Trophic Status[J]. *International Review of Hydrobiology*, 94(5): 528–541.
- Yannarell A, Kent A, Lauster G, et al, 2003. Temporal patterns in bacterial communities in three temperate lakes of different trophic status[J]. *Microbial Ecology*, 46(4): 391–405.
- Ye W, Liu X, Lin S, et al, 2009. The vertical distribution of bacterial and archaeal communities in the water and sediment of Lake Taihu[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 70(2): 263–276.
- Yergeau E, Lawrence J R, Sanschagrin S, et al, 2012. Next-generation sequencing of microbial communities in the Athabasca River and its tributaries in relation to oil sands mining activities[J]. *Appl Environ Microbiol*, 78(21): 7626–7637.
- Yin X, Liu G, Peng L, et al, 2018. Microbial community of nitrogen cycle-related genes in aquatic plant rhizospheres of Lake Liangzi in winter[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 58(11): 998–1006.
- Zeng Y, Baumbach J, Barbosa E G V, et al, 2016. Metagenomic evidence for the presence of phototrophic Gemmatimonadetes bacteria in diverse environments[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 8(1): 139–149.
- Zhang X, Yan Q, Yu Y, et al, 2014. Spatiotemporal pattern of bacterioplankton in Donghu Lake[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32(3): 554–564.
- Zhang H H, Chen S N, Huang T L, et al, 2015. Vertical distribution of bacterial community diversity and water quality during the reservoir thermal stratification[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6): 6933–6945.
- Zwart G, Crump B C, Kamst-van Agterveld M P, et al, 2002. Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 28(2): 141–155.
- Zwart G, Hannen-van E J, Kamst-van Agterveld M P, et al, 2003. Rapid screening for freshwater bacterial groups by using reverse line blot hybridization[J]. *Appl Environ Microbiol*, 69(10): 5875–5883.
- Zwirglmaier K, Keiz K, Engel M, et al, 2015. Seasonal and spatial patterns of microbial diversity along a trophic gradient in the interconnected lakes of the Osterseen Lake District, Bavaria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1168.

(责任编辑 万月华)

## Bacterioplankton Community Structure Characteristics in Liangzi Lake and Houguan Lake, Wuhan

ZOU Sheng-juan<sup>1,2</sup>, YIN Li-qiang<sup>3</sup>, Zhao bo-li<sup>1</sup>, CHEN Pei-pei<sup>1</sup>, WEI Pu-sheng<sup>3</sup>, MA Xu-fa<sup>1,4</sup>

(1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, P.R.China;

2. Agriculture and Rural Bureau of Weiyuan, Neijiang 642450, P.R.China;

3. Daye Lake Ecological Cultural Tourism Development Co., Ltd., Huangshi 435100, P.R.China;

4. Engineering Research Center of Ministry of Education for Green Development of large-scale aquatic biological industry in Changjiang Economic Zone, Wuhan 430070, P.R.China)

**Abstract:** Microorganisms are an important part of freshwater ecosystems, playing a crucial role in the biogeochemical cycling of nutrients and decomposition of organic matter. The microbial community is very sensitive to environmental changes and can be used as an indicator of aquatic ecological conditions. In this paper, we discussed the relationship between planktonic bacterial community structure and environmental factors in two eutrophic lakes in Wuhan, Liangzi Lake and Houguan Lake, aiming to provide theoretical support for lake management and assessment. In April 2018, a survey of the planktonic bacterial community and the physicochemical properties of the lakes were carried out at 15 sampling sites, 10 on Liangzi Lake and 5 on Houguan Lake. High-throughput sequencing of 16S rRNA genes was used to analyze and compare the differences in structure and diversity of the planktonic bacterial communities in the two lakes, and redundancy analysis (RDA) was used to explore the relationship between environmental factors and planktonic bacterial community structure. Both Liangzi Lake and Houguan Lake had highly diverse planktonic bacterial communities, with respective Shannon indices in the ranges of 3.974–4.743 and 3.924–4.500. There were differences in the bacterioplankton community structures of Liangzi Lake and Houguan Lake. The bacterioplankton community composition of Liangzi Lake included Actinomycetes, Proteobacteria, Bacteroides, Cyanobacteria, Verrucomicrobia, Chlorobi, Chloroflexi, Armatimonadetes, Firmicutes and Nitrospirae, with domination by Actinomycetes (20.09%–43.23%) and Proteobacteria (21.35%–35.28%). The bacterioplankton community in Houguan Lake was composed of Actinomycetes, Cyanobacteria, Proteobacteria, Bacteroides, Verrucomicrobia, Gemmatimonadetes, Chloroflexi, Chlorobi, Planctomycetes, Armatimonadetes and Saccharibacteria, with domination by Actinomycetes (20.70%–42.69%) and Cyanobacteria (14.40%–45.77%). RDA indicated that pH, TN and TP were the primary environmental factors affecting microbial community structure.

**Key words:** planktonic bacteria; community structure; environmental factors; Liangzi Lake; Houguan Lake