庙湖水华过程中浮游细菌丰度与多样性的变化

白云钦^{1,2}, 陈 玺^{1,2}, 宋春雷¹, 曹秀云¹, 周易勇¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:藻类的过度繁盛(水华)将产生大量有机质,并由此造成严重危害,而浮游细菌在有机质分解过程中的作用尚未得到充分研究。描述了2010年4-8月武汉庙湖叶绿素与不同形态氮和磷的浓度,分析了不同形态细菌的丰度和多样性(以DNA的DGGE图谱为表征)及其与胞外水解酶活性的关系。结果表明,庙湖叶绿素a与总磷浓度显著正相关($P < 0.05$),4月与7月的叶绿素浓度均超过120 $\mu\text{g/L}$ 。在水华间隔期内,自由生活菌的数量大幅度升高($1.39 \times 10^6 \sim 2.72 \times 10^7$ 个/mL),而附着细菌的数量则大体相近($7.77 \times 10^5 \sim 4.49 \times 10^6$ 个/mL)。水华衰亡初期,二者的群落结构基本相似,并随时间逐渐分化至显著不同的程度;附着细菌的数量直接或间接地明显正比于胞外水解酶活性,在水华有机碎屑分解过程中的作用更为重要。

关键词:庙湖;水华;浮游细菌;群落多样性

中图分类号:Q142 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2012)03-0053-07

湖泊富营养化是世界性的水环境问题之一,其基本过程是植物营养元素的激增,导致藻类的过量增长,同时引起有机质的富集,由此产生一系列严重的不利环境效应。浮游细菌在有机质的分解过程中具有关键作用,根据存在状态,可将浮游细菌大体分为自由生活菌和附着细菌(Crump et al, 1998; Simon et al, 2002);然而,这2种细菌对于有机质富集的反应方式与作用机制仍有待深入研究。例如,在响应有机质富集的过程中,自由生活菌和附着细菌在数量与组成上的异同并无明确一致的结果。香港维多利亚港与河口以及相邻海岸,以变性梯度凝胶电泳(DGGE)条带数目表征的自由生活菌和附着细菌种类丰富度具有明显差异(Zhang et al, 2007);另一方面,源于DNA操作性分类单元的分析结果表明,在地中海富营养化区域,超过50%的自由生活菌和附着细菌具有同质性(Ghiglione et al, 2009);再者,夏季附着细菌的生长速率和酶活性逐渐超过自由生活菌,但增加的生产力并未见诸其数量,因此相当部分的附着细菌进入水中成为自由生活菌(Worm & Sondergaard, 1998)。模拟试验证明,附着细菌在颗粒物上的保持时间约为3 h,故自由生活菌与附着细

菌之间将发生迅速的交换(Kiorboe et al, 2002)。武汉东湖是长江中下游典型的富营养化湖泊,其中庙湖湖区的富营养化程度尤为严重(林悦涓等, 2005),且常有藻类的过度繁盛(水华)。本文描述了2010年4-8月庙湖叶绿素与不同形态氮和磷浓度的关系,同时系统分析了不同形态细菌的丰度和多样性(以DNA的DGGE图谱为表征)及其与胞外水解酶活性的关系,旨在阐明水华衰亡与再度繁盛过程中自由生活菌与附着细菌的变化特征,并以新近产生的藻类碎屑为对象,进一步揭示浮游细菌在富营养化湖泊有机质分解过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 样品采集

东湖位于湖北省武汉市东北部;2010年4-8月在庙湖湖心(30.53455°N, 114.37631°E)定点采样(图1);每15 d采样1次,时间为上午10时,采集水深约0.5 m。用于荧光记数的水样注入经酸浸泡、清洗干净、预先灭菌的玻璃瓶中,加入无颗粒甲醛(浓度4%),带回实验室4°C保存。采集1 L用于基因组DNA提取的水样,放入带有冰块的保温箱中运回实验室后,用孔径为0.8 μm 的聚碳酸酯滤膜过滤,将滤膜-20°C保存至分析,用于附着细菌DNA提取;过滤后水样再次经过0.2 μm 聚碳酸酯滤膜,将滤膜-20°C保存,用于自由生活细菌DNA提取;另外用预先洗干净的塑料瓶采集相当体积水样,放入带有冰块的保温箱,运回实验室后立即测定理化参数。

收稿日期:2012-03-26

基金项目:国家自然科学基金面上项目(40903030;41073066;41173081);淡水生态与生物技术国家重点实验室项目(2011FBZ15)。

作者简介:白云钦,1986年生,男,硕士研究生,主要从事水生态保护与修复研究。E-mail: mars2008@163.com

图1 庙湖采样点

Fig. 1 The sampling sites in Lake Miaohu

1.2 样品分析

1.2.1 样品浓缩和 DNA 提取 取出收集的滤膜, 在无氧条件下剪碎装入 5 mL 灭菌离心管中。使用土壤 DNA 试剂盒, 按照操作说明提取基因组 DNA, 然后置于 -20°C 保存。

1.2.2 样品中细菌 16S rDNA 的 PCR 扩增 采用针对细菌的 16S rDNA 特异性引物 341F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG) 和 907R (5'-CCGTCATTCMTTGTAGTTT) 对样品基因组 DNA 进行扩增, 根据变性梯度凝胶电泳的需要, 引物 341F 的 5' 端需连接 GC 夹 (5'-CGCCCGCCGCGCCCGCGCCCGTC-CCGCCGCCCCGCCCCG)。PCR 反应体系为 95°C 变性 5 min, 94°C 变性 1 min, 60°C 退火 1 min, 72°C 延伸 1 min, 采用 60°C 退火循环 25 次, 最后 72°C 延伸 5 min。PCR 反应产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色检测 PCR 反应扩增效果。

1.2.3 扩增片段的变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 采用美国 BIO 公司生产的 DC-code 电泳仪进行变性梯度凝胶电泳 (DGGE), 用梯度混合仪制作浓度 6%、厚度为 1mm 的聚丙烯酰胺变性胶, 选用变性剂梯度为 40% ~ 60% [100% 变性剂含有 7 mol/L 尿素和 40% (V/V) 去离子甲酰胺]。电泳缓冲液为 $1 \times$ TAE (20 mmol/L Tris, 10 mmol/L Acetate, 0.5 mmol/L EDTA, pH 8.0)。 60°C , 恒压 100 V, 电泳 12 h。电泳结束后, DGGE 胶用 SYBR-Green I (1: 10 000 稀释) 染色 15 ~ 30 min, BIO 公司全自动多功能凝胶成像分析系统拍照 (Muyzer et al, 1993)。采用针对细菌的 16S rDNA 特异性引物对提取的自由生活菌和附着细菌基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 目的片段长度约为 500 bp (含 GC 夹)。PCR 产物通过变性梯度凝胶电泳进行分离, 每个样品都得到了不同数量和

位置的条带。

1.2.4 细菌数量 细菌计数采用 DAPI (0.1%, W/V) 染色, 荧光显微镜直接计数, 每个样品计数不少于 20 个视野 (Hobbie, 1977)。水样经 $0.8 \mu\text{m}$ 的聚碳酸酯滤膜过滤, 膜上截留的细菌即为附着细菌, 自由生活菌由总细菌数减去附着细菌得到。

1.2.5 其他理化参数测定 其他理化指标包括水温 (T)、溶解氧 (DO)、总磷 (TP)、溶解性总磷 (DTP)、溶解反应性磷 (SRP)、总氮 (TN)、硝态氮 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、氨态氮 ($\text{NH}_4\text{-N}$)、亚硝态氮 ($\text{NO}_2\text{-N}$)、碱性磷酸酶 (APA) 分级、葡糖苷酶 (GLU) 分级、氨肽酶 (MCA) 活性和叶绿素 a; 其中水温为现场测定, 其它指标带回实验室分析测定。

水样依次使用 $3.0 \mu\text{m}$ 和 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤膜过滤, 根据钼蓝比色法测定 SRP; 过滤后的水样加入 1.6 mL 过硫酸钾溶液, 121°C 下反应 30 min, 再用钼蓝比色法测定反应后液体中的溶解态反应性磷, 此测出值为水体中的 DTP。原水经相同步骤测得的结果为 TP。

采集的水样过 $0.45 \mu\text{m}$ 孔径滤膜后, 进行 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度的测定, TN 浓度测定选用原水, 叶绿素和溶解氧浓度也均参照《水和废水监测分析方法》测定 (国家环境保护总局, 2002)。

原水经过 $0.45 \mu\text{m}$ 和 $3.0 \mu\text{m}$ 滤膜的水样各 2.7 mL, 加入 Tris-HCl 缓冲液 150 μL , 4-methylumbelliferone-phosphate 60 μL , 常温下反应 2 h, 445 nm 荧光测定。不同颗粒磷酸酶活性计算方法如下:

$$A = U - F_{3.0}$$

$$B = F_{3.0} - F_{0.45}$$

式中: A 为大颗粒磷酸酶活性 ($> 3.0 \mu\text{m}$), B 为小颗粒磷酸酶活性 ($0.45 \sim 3.0 \mu\text{m}$), U 为总磷酸酶活性, $F_{3.0}$ 为过 $3.0 \mu\text{m}$ 滤膜的水样磷酸酶活性, $F_{0.45}$ 为过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜的水样磷酸酶活性, 即溶解态磷酸酶活性。

葡糖苷酶活性测定方法和分级方法与碱性磷酸酶一致, 底物为 4-methylcoumarinyl-glucopyranoside, 氨肽酶同为荧光法测定, 不分级, 底物为 Leucine-4-methylcoumarinyl-7-amide (周纯等, 2012)。

1.3 统计分析

本文所有数据均使用 SPSS 18.0 进行统计分析, 并使用 Canoco 4.5 进行细菌与环境因子的主成分分析 (PCA)。

2 结果

2.1 湖泊营养水平与叶绿素浓度的变化趋势

2010年4-8月, 庙湖营养水平与藻类生物量均明显较高, 总磷(TP)浓度均值为0.17 mg/L, 总氮(TN)浓度均值为7.53 mg/L。叶绿素a浓度均值为

图2 庙湖叶绿素浓度与各形态氮磷浓度随时间的变化

Fig. 2 Chlorophyll-a, different forms of nitrogen and phosphorus distribution in Lake Miaohu during sampling time

图3 庙湖总磷(TP)和颗粒态磷(PP)浓度与叶绿素a浓度的关系

Fig. 3 Relationships between total phosphorus, particulate phosphorus and chlorophyll-a of Lake Miaohu

2.2 附着细菌与自由生活菌数量随时间的变化

浮游细菌数量也有明显变动, 其变幅为 $5.0 \times 10^6 \sim 3.0 \times 10^7$ 个/mL, 且整体表现出与叶绿素相同的波动趋势。在介于2个峰值之间的叶绿素低谷期, 附着细菌数量相对较为稳定, 其数量处于 $7.77 \times 10^5 \sim 4.49 \times 10^6$ 个/mL, 而自由生活菌数量逐渐升高, 即可从 1.39×10^6 个/mL 至 2.72×10^7 个/mL (图4), 且在其末端即7月叶绿素峰值的起始点显著下降。

2.3 附着细菌与自由生活菌的多样性与活性变化
DGGE 图谱显示, 在泳道不同位置出现的浮游

86.24 $\mu\text{g/L}$, 其最小值和最大值分别为 54.12 $\mu\text{g/L}$ 和 142.98 $\mu\text{g/L}$, 变幅较大, 且于4月和7月出现峰值。庙湖不同形态氮和磷的浓度均明显较高, 且随时间变化的趋势明显(图2); 其中, 总磷(TP)和颗粒态磷(PP)浓度与叶绿素浓度均显著正相关(图3)。

图4 庙湖细菌丰度和叶绿素a浓度随时间的变化
Fig. 4 Bacterial abundance and chlorophyll-a concentration of Lake Miaohu

细菌条带共30条。附着细菌中可检测到其中的27条, 条带数峰值出现在5月, 为16条, 7月检测到的条带数最少仅11条; 从自由生活菌中可检测到30种条带中的25条, 条带数峰值出现在6月, 为20条, 7月检测到的条带数最少仅9条(图5)。简言之, 在介于2个峰值之间的叶绿素a低谷期, 附着细菌与自由生活菌的多样性均逐渐增加, 且在其末端即7月叶绿素a峰值的起始点, 降至最低水平。2种细菌多样性最大值出现的时间不尽相同, 自由生活菌多样性达到峰值的时间略为滞后。

根据自由生活菌和附着细菌的DGGE电泳图谱, 可计算各个条带灰度占总灰度的百分比, 经标准

化处理之后可得数据矩阵;另据主成分分析法(PCA),可描述2种细菌在二维空间中的分布状况,如图6所示。不同时间附着细菌的群落结构相似性较高,而自由生活菌群落结构随时间的变化明显;此外,附着细菌群落结构的差异亦与时间有关,5月叶绿素a峰值消失时,二者较为相似,此后彼此的差异愈见明显。

附着细菌数量与总氨肽酶和小颗粒(0.45~3.0 μm)葡糖苷酶活性显著正相关($P < 0.05$);此外,后二者分别与大颗粒(>3.0 μm)和溶解态(<0.45 μm)碱性磷酸酶活性显著正相关($P < 0.05$)。

3种酶活性与附着细菌总量的关系见图7。

图5 自由生活菌与附着细菌的物种多样性(以DGGE图谱条带数表征)

Fig. 5 Free-living bacteria and attached bacteria species richness (defined as the number of bands on the DGGE gel)

P - 附着细菌; F - 自由生活菌; 1 - 2010年5月7日; 2 - 2010年5月17日; 3 - 2010年6月21日; 4 - 2010年7月19日

图6 主成分分析排序

P - attached bacteria; F - free-living bacteria; 1 - May 7th, 2010; 2 - May 17th, 2010; 3 - June 21st, 2010; 4 - July 19th, 2010

Fig. 6 Principal coordinate analysis (PCA) ordination diagram

3 讨论

3.1 水华状况及其与磷营养的关系

藻类水华是湖泊富营养化最为严重的后果之一,庙湖应为典型的富营养化湖泊,在试验涉及的时间范围内,其总磷浓度的平均值高达0.17 mg/L,总氮浓度平均值高达7.53 mg/L,且于4月和7月初出现叶绿素a的峰值,浓度均超过120 μg/L。这种藻类生物量突发性大量增加的现象一般可称为水华。水华是指由于水体富营养化所导致的藻类暴发性增长,藻类快速繁殖并积聚在水体表面,从而使水体颜色呈绿色、蓝色或暗褐色的现象。水华是水体富营养化最为恶劣的表征之一(Yabunaka et al, 1997)。磷元素常为长江中下游湖泊初级生产力的主要限制性营养元素(Wang et al, 2008; Lv et al, 2011);故在庙湖水华过程中亦有重要的调控作用,即叶绿素a浓度与总磷和颗粒态磷浓度呈显著正相关(图3, $P < 0.05$)。值得注意的是,叶绿素a浓度与浮游细菌数量在季节尺度上均表现出大体相近的变化模式(图4)。因此,自由生活菌和附着细菌与藻类之间应存在营养代谢上的耦联,而作为分解者,浮游细菌的功能将在水华消亡之后或2次水华的间歇期表现得更为明显。

3.2 水华过程中浮游细菌数量的变化

在2次水华的间歇期(5月7日-7月5日),叶绿素a浓度在总体上处于相对较低的水平,自由生活菌在数量上显著高于附着细菌,其变动幅度较大,且与叶绿素a浓度表现出大体相同的变化趋势,而附着细菌数量随时间的变化不甚明显(图4)。因此,自由生活菌数量将随藻类生长和衰亡过程中产生的溶解态有机碳的质与量而发生大幅度的波动。在富营养化海域,源于动物幼体、排泄物和混合聚合物的有机质与细菌生产力和丰度之间的联系均不显著,而当源于硅藻的聚合物形成之后,与之相联系的微生物活性明显增加;简言之,当有机质新近产生且其量较为丰富时,浮游细菌数量将发生大幅度的波动(Alldredge & Gotschalk, 1990)。在富营养海岸,自由生活菌数量相对较高(约占总细菌数的93.2%),且与溶解态营养相关,而附着细菌数量仅占总细菌数的6.8%,其主要影响因素为颗粒态有机质(Unanue et al, 1992)。附着细菌将主要通过分解并利用有机碎屑中的营养来维持相对稳定的生长。以海草为材料的微生物分解模拟试验结果表明,在呼吸强度上,附着细菌比自由生活菌高出3~

4倍, 因此附着细菌在植物碎屑分解过程中有更加重要的作用; 换言之, 在自然分解过程中, 附着细菌与自由生活菌的作用不尽相同且彼此具有密切的联系 (Anesio et al, 2003)。

3.3 水华过程中浮游细菌多样性的变化

自由生活菌和附着细菌的群落结构在2次水华的间歇期均有变化, 即各自所包含的 DGGE 条带数目随时间发生明显的涨落 (图5), 前者尤为明显。由主成分分析排序图可知, 在水华间歇期, 自由生活菌与附着细菌的相似性由强渐弱, 并最终基本分化, 表现为二者在图上的距离由近而远 (图6)。因此, 水华衰亡初期的附着细菌可能基本源于自由生活菌在衰亡藻类碎屑上的聚集。模型预测及其实证结果表明, 具有行动能力的细菌能迅速附着在颗粒物上, 当颗粒物富含有机质时, 形态不规则的细菌表现出更高的附着速率 (Kiorboe et al, 2002)。在庙湖水华的间歇期内, 附着细菌不仅在 DGGE 条带数目上保持大体的稳定 (11~15), 而且在主成分分析排序图上也相互接近。因此, 在水华消亡初期, 附着细菌将部分聚集于藻类衰亡碎屑, 并在2次水华的间歇期维持相对稳定的数量与群落结构。

3.4 水华过程中浮游细菌活性的变化

自由生活菌与附着细菌的活性亦能反映其群落

结构在水华衰亡期的逐渐分化, 附着细菌的生物量与 TN、SRP 显著负相关, 而与颗粒态葡糖苷酶和总氨肽酶活性显著正相关 (图7)。水中营养 (尤其是生物可利用性磷) 的减弱, 促使附着细菌以更高的胞外活性分解藻类碎屑的营养, 从而满足自身稳定生长的需要; 此外, 与之密切相关的氨肽酶和葡糖苷酶活性均显著正比于不同形态的碱性磷酸酶活性, 即附着细菌将作为水华衰亡期水解活性最为重要的直接和间接贡献者。与原始海水相比, 含有新近形成藻类有机碎屑的海水具有更高的酶促水解效率, 即胞外水解酶最大反应速度与幂值常数的比值明显较高 (Azua et al, 2003)。单位体积和单位细胞所表现的附着细菌葡糖苷酶与氨肽酶活性均显著高于自由生活菌的相应值 (Lehman & O'Connell, 2002); 模拟试验中细菌种群鉴定结果显示, 附着细菌具有更高的葡糖苷酶、氨肽酶和脂酶活性 (Riemann et al, 2000)。附着细菌高效的碱性磷酸酶、氨肽酶和葡糖苷酶活性是有机质营养在颗粒聚合物与水溶液中快速转换的主要驱动因素 (Grossart & Simon, 1998)。在丹麦, 湖泊硅藻水华的第一阶段, 附着细菌的生产力在总生产力中约占 12%, 而当水华结束时, 该值升至 26%, 其总体胞外酶水解活性在总活性中的比例亦高达 75%, 这种高活性所产生的可利

图7 庙湖颗粒态葡糖苷酶 (GLU)、总氨肽酶 (MCA)、颗粒态碱性磷酸酶 (APA) 活性与附着细菌数量的关系

Fig. 7 Relationships between particulate beta-glucosidase (GLU), total aminopeptidase (MCA), particulate alkaline phosphatase activity (APA) and attached bacteria abundance

用碳将大幅度超出附着细菌自身的需求量。因此,附着细菌可通过较强的分解功能为自由生活菌提供直接可利用的营养(Middelboe et al, 1995)。总之,附着细菌在水华的衰亡期间,表现出更强的有机质分解能力,并通过与自由生活菌的共同作用有效促进了有机磷的酶促水解,从而为后续水华提供了生物可利用的磷源。

4 结论

富营养化的庙湖在春季和夏季均有水华发生。在春季水华消亡与夏季水华再度出现的间隔期内,自由生活菌的数量大幅度升高,且明显波动,而附着细菌的数量则维持大体相近的水平。水华衰亡初期,二者的群落结构基本相似,并随时间逐渐分化至显著不同的程度;此外,附着细菌的数量直接或间接地明显正比于胞外水解酶活性,故在水华有机碎屑分解过程中的作用更为重要。

志谢:采样过程得到侯杰、孙爱华的协助,谨此致谢!

参考文献

国家环境保护总局. 2002. 水和废水监测分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社:200-670.

林悦涓,吴峰,邓南圣,等. 2005. 武汉东湖上覆水和沉积物中磷形态的垂直分布特征[J]. 农业环境科学学报, 24(6):1152-1156.

周纯,宋春雷,曹秀云,等. 2012. 太湖不同解有机磷菌株胞外碱性磷酸酶活性对蓝藻碎屑的响应[J]. 水生生物学报, 36(1):119-125.

Allredge A L, Gotschalk C C. 1990. The Relative Contribution of Marine Snow of Different Origins to Biological Processes in Coastal Waters[J]. Continental Shelf Research, 10(1): 41-58.

Anesio A M, Abreu P C, Biddanda B A. 2003. The role of free and attached microorganisms in the decomposition of estuarine macrophyte detritus[J]. Estuarine Coastal and Shelf Science, 56(2): 197-201.

Azua I, Unanue M, Ayo B, et al. 2003. Influence of organic matter quality in the cleavage of polymers by marine bacterial communities[J]. Journal of Plankton Research, 25(12): 1451-1460.

Crump B C, Baross J A, Simenstad C A. 1998. Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA[J]. Aquatic Microbial Ecology, 14(1): 7-18.

Ghiglione J F, Conan P, Pujó-Pay M. 2009. Diversity of total

and active free-living vs. particle-attached bacteria in the euphotic zone of the NW Mediterranean Sea[J]. Fems Microbiology Letters, 299(1): 9-21.

Grossart H P, Simon M. 1998. Bacterial colonization and microbial decomposition of limnetic organic aggregates (lake snow)[J]. Aquatic Microbial Ecology, 15(2): 127-140.

Hobbie J E. 1977. Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 33(5): 1225-1228.

Kiorboe T, Grossart H P, Ploug H, et al. 2002. Mechanisms and rates of bacterial colonization of sinking aggregates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 68(8): 3996-4006.

Lehman R M, O'Connell S P. 2002. Comparison of extracellular enzyme activities and community composition of attached and free-living bacteria in porous medium columns[J]. Applied and Environmental Microbiology, 68(4): 1569-1575.

Lv J, Wu H, Chen M. 2011. Effects of nitrogen and phosphorus on phytoplankton composition and biomass in 15 subtropical, urban shallow lakes in Wuhan, China[J]. Limnological-Ecology and Management of Inland Waters, 41(1): 48-56.

Middelboe M, Sondergaard M, Letarte Y, et al. 1995. Attached and Free-Living Bacteria-Production and Polymer Hydrolysis during a Diatom Bloom[J]. Microbial Ecology, 29(3): 231-248.

Muyzer G, Dewaal E C, Uitterlinden A G. 1993. Profiling of Complex Microbial-Populations by Denaturing Gradient Gel-Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes-Coding for 16s Ribosomal-Rna[J]. Applied and Environmental Microbiology, 59(3): 695-700.

Riemann L, Steward G F, Azam F. 2000. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom[J]. Applied and Environmental Microbiology, 66(2): 578-587.

Simon M, Grossart H P, Schweitzer B, et al. 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems[J]. Aquatic Microbial Ecology, 28(2): 175-211.

Unanue M, Ayo B, Azua I, et al. 1992. Temporal Variability of Attached and Free-Living Bacteria in Coastal Waters[J]. Microbial Ecology, 23(1): 27-39.

Wang H J, Liang X M, Jiang P H, et al. 2008. TN: TP ratio and planktivorous fish do not affect nutrient-chlorophyll relationships in shallow lakes[J]. Freshwater Biology, 53(5): 935-944.

Worm J, Sondergaard M. 1998. Dynamics of heterotrophic bacteria attached to *Microcystis* spp. (Cyanobacteria)[J]. A-

quatic Microbial Ecology, 14(1): 19–28.

Yabunaka K, Hosomi M, Murakami A. 1997. Novel application of a back-propagation artificial neural network model formulated to predict algal bloom[J]. Water Science and Technology, 36(5): 89–97.

Zhang R, Liu B Z, Lau S C K, et al. 2007. Particle-attached and free-living bacterial communities in a contrasting marine environment: Victoria Harbor, Hong Kong[J]. Fems Microbiology Ecology, 61(3): 496–508.

(责任编辑 万月华)

Variations in Abundance and Diversity of Bacterioplankton in the Process of Algal Blooms in Lake Miaohu

BAI Yun-qin^{1,2}, CHEN Xi^{1,2}, SONG Chun-lei¹, CAO Xiu-yun¹, ZHOU Yi-yong¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, P. R. China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: Algae over-prosperous (algal blooms) will produce a lot of organic matter and result serious harm, but the role of bacterioplankton in the process of decomposition of organic matter has not yet been sufficiently studied. In the present study, chlorophyll a, different forms of nitrogen and phosphorus concentration distribution in Lake Miaohu were investigated systematically from April to August in 2010. The different forms of bacterial abundance and diversity (for the characterization of the DGGE profiles of DNA) as well as its relationships with activities of extracellular hydrolytic enzymes were also analyzed. The results showed chlorophyll a and total phosphorus concentrations had a highly significant positive correlation in Lake Miaohu, meanwhile chlorophyll a concentrations exceeded 120 $\mu\text{g/L}$ in April and July. During the interval of algal blooms, the abundance of free-living bacteria significantly increased ($1.39 \times 10^6 - 2.72 \times 10^7$ ind./mL), whereas attached bacteria kept their quantities in a certain level ($7.77 \times 10^5 - 4.49 \times 10^6$ ind./mL). In the early stage of water bloom declines, free-living bacteria and attached bacteria had similar community structure; somehow the differentiation between their community structures gradually came to a significantly varying degree over time. In addition, the abundance of attached bacteria had positive significant correlation directly or indirectly with the activities of extracellular hydrolytic enzymes, therefore, attached bacteria have a more important role in the decomposition of organic detritus from algal blooms.

Key words: Lake Miaohu; algal blooms; bacterioplankton; community variations