

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
55 (9) :1177 - 1189; 4 September 2015  
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q  
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn  
doi:10.13343/j.cnki.wsxb.20140594

## 福州左海湖细菌群落与环境的关系

刘兰英<sup>1,2#</sup>, 吕新<sup>1,2#</sup>, 李巍<sup>1,2</sup>, 陈丽华<sup>1,2</sup>, 李玥仁<sup>1,2\*</sup>, 林碧娇<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福建省农业科学院中心实验室, 福建 福州 350003

<sup>2</sup>精密仪器农业测试重点公共实验室, 福建 福州 350003

**摘要:** 【目的】揭示福州左海湖水体细菌群落时空动态变化与其相应环境因子的关系。【方法】通过 DAPI 荧光染色法、变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 和构建 16S rRNA 基因克隆文库分析相结合的分子生物学技术, 系统研究了福州左海湖在 2011 - 2013 为期两年的水体细菌丰度与群落结构的时空变化情况, 并结合多元统计分析的方法, 探讨了细菌群落组成与相关环境因子的对应关系。【结果】左海湖全年总细菌介于  $4.91 \times 10^6$  -  $18.71 \times 10^6$  cells/mL 之间, 细菌丰度具有显著的季节性变化特征; DGGE 和克隆文库分析结果表明, 左海湖细菌群落结构空间差异不明显, 季节变化对菌群结构的影响更为显著; 系统进化分析表明, 左海湖细菌群落归属于 11 个门类, 其中最优势菌群为  *$\beta$ -Proteobacteria* 和 *Cyanobacteria*, 较优势菌群为  *$\alpha$ -Proteobacteria*、*Actinobacteria* 和 *Bacteroidetes*。冗余分析 (RDA) 结果显示, pH、水温 (WT)、总氮 (TN)、总磷 (TP) 和叶绿素 a (Chla) 是影响左海湖细菌群落组成的主要环境因子。【结论】左海湖中存在较丰富的细菌多样性, 水体环境的季节间差异对其细菌群落组成的影响要大于不同采样点间的差异, 但在优势菌群组成方面比较稳定, 均为  *$\beta$ -Proteobacteria* 和 *Cyanobacteria*。

**关键词:** 细菌多样性, 时空演替, 环境因子, 分子生物学技术, 左海湖

**中图分类号:** Q938      **文章编号:** 0001-6209 (2015) 09-1177-13

左海湖位于福州的西北部, 东与西湖公园相邻, 西依二环路, 南靠象山, 北临铜盘路, 是一个典型的半封闭式浅水性湖泊。全园面积 33.77 公顷, 其中湖面面积 18.14 公顷, 由几个大小不同的子湖组成, 是福州市民主要的休闲和娱乐场所之一。近年来, 随着我省经济的发展和人类活动的加剧, 左海湖水质状况有逐年下降的趋势。2008 年 6 月初, 左海湖水中出现了一些近半米长, 外表半透明, 果胶状, 形

似水母, 被称为“左海水怪”的不明生物体, 引起了市民的极大恐慌。“水怪”的出现可能与左海湖泊生态系统中环境因子的改变有关, 而在水生生态系统中, 微生物是特别敏感并极易受环境因子影响的生物群体, 且湖泊中细菌的数量占有了湖泊中生物量的绝大部分, 同时细菌也是湖泊中生物代谢活动的最主要参与者<sup>[1]</sup>。湖泊中细菌群落结构组成及其动态变化对于湖泊水环境的质量状况具有明显的

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2011J01118)

\* 通信作者。Tel: +86-591-87303167; Fax: +86-591-87869422; E-mail: yuerenli@yeah.net

作者简介: #对本文有同等贡献。刘兰英 (1987 -), 女, 福建平潭人, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究, E-mail: lly87119@126.com;

吕新 (1980 -), 男, 陕西汉中, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究, E-mail: lux\_ing@126.com

收稿日期: 2014-12-15; 修回日期: 2015-01-18

指示作用,因此加强对湖泊环境中细菌多样性研究显得非常必要<sup>[2]</sup>。

目前对湖泊细菌群落的组成已经有了大量的研究,包括湖泊水体、湖泊沉积物和极地生境等,不同湖泊生境中的细菌多样性也各不相同。淡水生态系统中的典型细菌类群主要由  $\alpha$ -变形菌纲 ( $\alpha$ -*Proteobacteria*)、 $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -*Proteobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 及蓝细菌门 (*Cyanobacteria*) 组成,其中  $\beta$ -*Proteobacteria* 为最优势的菌群<sup>[3]</sup>。Gergely Krett 等<sup>[4]</sup>通过研究欧洲 Hévíz 湖表层沉积物细菌群落多样性,发现该湖泊沉积物中存在的主要细菌类群有 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes* 和 *Firmicutes* (厚壁菌门),其中 *Firmicutes* 为最优势菌群。Murray 等<sup>[5]</sup>通过研究南极地区 Vida 湖中微生物多样性,发现 Vida 湖表层冰芯中存在着大量微生物,并且多样性非常高。在湖泊细菌群落结构组成和多样性研究基础上,细菌群落多样性的时空演替规律也备受关注。Sabrina 等<sup>[6]</sup>研究了 Michigan 湖中细菌群落结构的时空变化规律,发现该湖泊细菌群落组成存在明显的时空差异。这些研究大多基于分子生物学技术,而 DGGE 和构建克隆文库相结合是目前研究不同环境中微生物多样性常用的分子生物学方法,研究表明 DGGE 和构建克隆文库能够有效的评价水生生态系统中原生生物群落的基因多样性<sup>[7-10]</sup>。

迄今为止,对于左海湖水体中的细菌多样性尚未从分子水平上进行系统的研究。因而,本文以福州左海湖为研究对象,采用 DAPI 荧光染色法探讨了左海湖水体细菌丰度的周期变化状况,基于 PCR-DGGE 和构建克隆文库相结合的分子手段,系统研究了左海湖不同湖区中细菌群落组成、系统发育及时空分布规律,并探讨了水体环境因子与细菌群落多样性间的相互关系。对该环境的细菌多样性进行调查不仅能反映水体本身的地球化学特点,而且可以为深入了解细菌在湖泊生态系统中的功能提供一定的理论基础。同时,本研究结果对于评价左海湖水质状况、为湖泊环境污染治理提供参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品采集:**实验样品于 2011 年 10 月至 2013 年 8 月采集于左海湖 4 个不同湖区的水层,具体采样位置的经纬度信息见表 1。每隔 2 个月采集 1 次样品,每个采样站位设置 3 个重复,使用经酸浸泡并清洗干净的矿泉水瓶采集水深 20 cm 左右处水样约 800 mL,所有样品采集完成后立即置于带有冰块保温箱中运回实验室。

**1.1.2 主要试剂和仪器:**PCR 扩增仪 (Bio-Rad, 美国)、PCR 纯化试剂盒 (生工,上海)、凝胶成像仪 (柯达)、电泳仪 (北京六一)、pMD19-T vector (TaKaRa, 大连)、*Hinf* I 限制性内切酶 (TaKaRa, 大连)、*Csp6* I 限制性内切酶 (TaKaRa, 大连) 等。

**1.2 水体环境因子的测定:**pH 值用酸度计测定;透明度 (SD) 用透明度盘测定;叶绿素用 90% 丙酮萃取荧光分光光度法测定<sup>[11]</sup>;总磷 (TP) 按 GB 11893-1989 测定;总氮 (TN)、高锰酸钾指数 ( $COD_{Mn}$ ) 参照《水和废水监测分析方法》(第 4 版)<sup>[12]</sup> 进行测定。

### 1.3 水体细菌的收集及细菌丰度的测定

将部分水样先用 8  $\mu$ m 孔径的定性滤纸过滤以去除颗粒杂质以及真核生物,随后通过聚碳酸酯膜 (0.2  $\mu$ m, 47 mm, Whatman) 真空抽滤,然后用无菌水冲洗 2 次,将滤膜取出剪成碎片,装入 1.5 mL 的离心管中, -70  $^{\circ}$ C 保存备用。另取部分水样参照文献 [13] 报道的方法,采用 DAPI 荧光染色法对水体细菌丰度进行测定。

### 1.4 PCR-DGGE 分析

参照文献 [14] 报道的方法,提取水体细菌样品的总基因组 DNA。采用细菌特异性引物 GC-clamp 338f (5'-CGCCCGCCGCGCCCCCGCCCCGGCCCCGCCGCCCGCCCACTCCTACGGGAGGCAGC-3') 和 530R (5'-GTATTACCGCGGCTGCTG-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因 V3 区序列。PCR 扩增体系参照文献 [15] 的方法进行。反应条件:95  $^{\circ}$ C 2 min; 95  $^{\circ}$ C 1 min, 60  $^{\circ}$ C 1 min, 72  $^{\circ}$ C 90 s, 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 30 min。反应结束后,扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶

电泳进行检测,目的条带在 250 bp 左右。

使用 INGENY 公司的 phorU-2 system (Ingeny International BV) 电泳系统进行变性梯度凝胶电泳。胶浓度为 10%, 变性梯度为 35%–60%。DGGE 程序参照文献 [16] 进行。电泳结束后,将胶置于含 SYBR Gold 核酸染料的缓冲溶液(1:10000)中染色,紫外凝胶成像仪下摄像。

### 1.5 克隆文库构建

采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGAT CCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGCTACCTT GTTACGACTT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因全长序列,做 3 个平行实验,PCR 扩增体系参照文献 [15] 的方法进行。反应条件:95 °C 2 min;95 °C 1 min, 60 °C 1 min,72 °C 90 s,35 个循环;72 °C 30 min。反应结束后,扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,目的条带在 1.5 kb 左右。将扩增的 3 个平行的 PCR 产物混合在一起,经凝胶回收纯化试剂盒(上海生工)纯化后连接至 pMD19-T 载体 (TaKaRa 公司)上,转化 *E. coli* JM109 感受态细胞。以氨苄青霉素 (100 µg/mL) 抗性筛选阳性转化子,筛选出的阳性克隆子用 T 载体通用引物 M13F 和 M13R 对插入的片段进行菌液 PCR,PCR 体系和条件同上。

将鉴定为阳性 PCR 产物的质粒 DNA 进行扩增性 rDNA 限制性酶切片段分析 (Amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA),用 *Hinf* I 和 *Csp6* I 限制性内切酶消化 (37 °C) 质粒 DNA,酶切产物于 2.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,据酶切图谱信息,将酶切图谱完全一致的菌落划分为 1 个操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) [15],统计操作分类单位的种类和各操作分类单位所含阳性克隆的数量,将每一个 OTU 类型送 1 个克隆子到上海生工生物公司进行测序。

### 1.6 数据统计分析

采用非加权配对算数平均法 (Unweighted pair group method with arithmetic averages, UPGMA) 对各样品得到的 DGGE 结果进行聚类分析 [17],以研究不同样品间细菌群落的相似性关系。通过生物统计学软件 Canoco for Windows 4.5 对物种数据和环境数据进行典型对应分析 (CCA),探讨左海湖水体细菌群落组成与环境因子之间的相关性。分析过程除了

pH 值,其余数据均进行  $\log(x + 1)$  转换 [18]。运用 Origin Pro 9.0 软件对实验数据进行作图。

### 1.7 系统发育分析和核酸序列收录号

测序获得的 16S rRNA 基因序列与 BLAST 比对 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),在 GenBank 数据库中获得与每条序列相似性最高的序列。使用 Clustal X 1.81 工具进行多序列排列比对,应用 MEGA 4.0 [19] 软件的邻位相接法建立系统进化树,进化树的支持率是进行 1000 次重复运算得到的结果。

所得细菌 16S rRNA 基因序列均已提交 GenBank 数据库,序列登录号为: KJ778815 – KJ778837。

## 2 结果

### 2.1 左海湖环境因子分析

表 1 和表 2 分别显示了左海湖在 2011 – 2013 年度各采样站位的 pH、水温 (WT)、透明度 (SD)、化学需氧量 (COD<sub>Mn</sub>)、总氮 (TN)、总磷 (TP) 及叶绿素 a (Chla) 的时空变化情况。总体上多数环境因子在 2 个年度试验中的变化规律基本一致。湖水的 pH 值总体波动范围在 7.02 – 8.34 之间,各季节的湖水皆为弱碱性的,且在冬季的 12 月较高,在夏季的 6 月和 8 月较低;针对水温 (WT) 而言,相同季节的不同采样站位之间,WT 基本相近,但同一站位的不同季节中,WT 变化显著;湖水的透明度 (SD) 在各季节各站位的变化规律不明显,波动范围介于 0.20 – 0.50 之间;化学需氧量 (COD<sub>Mn</sub>) 在不同季节里的变化幅度较小,从空间角度看,COD<sub>Mn</sub> 浓度一般在 S2 站位较高,在 S4 站位较低,总体波动范围介于 7.608 – 11.008 mg/L 之间;总氮 (TN) 浓度的变化范围在 0.386 – 1.276 mg/L 之间,在同季节的 4 个站位,TN 浓度的变化幅度均较小,而就季节差异来看,其浓度的变化幅度较大;总磷 (TP) 浓度的波动范围在 0.023 – 0.054 mg/L 之间,在不同季节各站位的变化幅度皆很小;Chla 浓度的变化范围介于 0.012 – 0.062 mg/L 之间,就空间而言,S4 站位的 Chla 浓度在各季节普遍为最低,就季节上来看,2 月和 8 月的 Chla 浓度相对较低,其余季节变化规律不显著。

表 1. 2011 – 2012 年度左海湖各采样站位的经纬度信息及本实验研究的水样理化值  
Table 1. Longitude and latitude of the sampling stations in Lake Zuohai and physico-chemical  
characterization of the water samples in this study from 2011 to 2012

Station		S1	S2	S3	S4
Longitude (E)		26°5.907'N	26°5.885'N	26°5.830'N	26°5.876'N
Latitude (N)		119°17.175'E	119°17.014'E	119°16.951'E	119°16.908'E
October 2011	pH	7.39 ± 0.01	7.34 ± 0.00	7.36 ± 0.01	7.27 ± 0.01
	WT/°C	21.90 ± 0.26	21.40 ± 0.40	21.10 ± 0.32	21.20 ± 0.30
	SD/m	0.22 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.595 ± 0.164	10.248 ± 0.183	8.595 ± 0.441	7.934 ± 0.376
	TN / (mg/L)	0.528 ± 0.043	0.452 ± 0.015	0.470 ± 0.011	0.764 ± 0.053
	TP / (mg/L)	0.034 ± 0.002	0.036 ± 0.000	0.033 ± 0.001	0.041 ± 0.003
	Chla / (mg/L)	0.035 ± 0.005	0.039 ± 0.002	0.047 ± 0.001	0.018 ± 0.000
December 2011	pH	7.76 ± 0.01	8.03 ± 0.01	8.34 ± 0.01	7.67 ± 0.01
	WT/°C	13.90 ± 0.23	14.00 ± 0.10	14.00 ± 0.14	14.70 ± 0.10
	SD/m	0.34 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.799 ± 0.177	10.491 ± 0.209	8.799 ± 0.145	8.122 ± 0.355
	TN / (mg/L)	0.607 ± 0.068	0.655 ± 0.030	0.730 ± 0.046	0.850 ± 0.054
	TP / (mg/L)	0.052 ± 0.003	0.049 ± 0.005	0.045 ± 0.002	0.054 ± 0.006
	Chla / (mg/L)	0.062 ± 0.004	0.059 ± 0.007	0.061 ± 0.004	0.043 ± 0.002
February 2012	pH	7.85 ± 0.02	7.64 ± 0.01	7.65 ± 0.04	7.59 ± 0.01
	WT/°C	12.80 ± 0.15	13.00 ± 0.15	13.00 ± 0.10	13.10 ± 0.15
	SD/m	0.34 ± 0.01	0.39 ± 0.02	0.42 ± 0.01	0.39 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.694 ± 0.158	10.366 ± 0.231	8.557 ± 0.419	8.025 ± 0.317
	TN / (mg/L)	0.419 ± 0.041	0.535 ± 0.048	0.420 ± 0.083	0.633 ± 0.023
	TP / (mg/L)	0.023 ± 0.001	0.028 ± 0.005	0.024 ± 0.002	0.038 ± 0.002
	Chla / (mg/L)	0.029 ± 0.001	0.024 ± 0.006	0.031 ± 0.008	0.012 ± 0.000
April 2012	pH	7.62 ± 0.02	7.45 ± 0.09	7.65 ± 0.01	7.55 ± 0.01
	WT/°C	25.00 ± 0.31	25.10 ± 0.10	25.00 ± 0.21	25.10 ± 0.10
	SD/m	0.40 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.40 ± 0.02	0.32 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.814 ± 0.174	10.508 ± 0.438	8.673 ± 0.148	8.136 ± 0.145
	TN / (mg/L)	0.411 ± 0.033	0.451 ± 0.018	0.546 ± 0.018	0.386 ± 0.055
	TP / (mg/L)	0.037 ± 0.004	0.036 ± 0.001	0.043 ± 0.005	0.034 ± 0.001
	Chla / (mg/L)	0.041 ± 0.002	0.041 ± 0.008	0.037 ± 0.002	0.028 ± 0.000
June 2012	pH	7.21 ± 0.01	7.08 ± 0.01	7.06 ± 0.01	7.26 ± 0.02
	WT/°C	29.60 ± 0.42	29.60 ± 0.36	29.50 ± 0.32	28.40 ± 0.38
	SD/m	0.35 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.29 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.567 ± 0.141	10.214 ± 0.189	8.51 ± 0.115	7.908 ± 0.182
	TN / (mg/L)	0.529 ± 0.035	0.627 ± 0.023	0.534 ± 0.067	0.421 ± 0.050
	TP / (mg/L)	0.042 ± 0.002	0.047 ± 0.003	0.041 ± 0.002	0.053 ± 0.004
	Chla / (mg/L)	0.050 ± 0.005	0.050 ± 0.009	0.045 ± 0.006	0.021 ± 0.002
August 2012	pH	7.35 ± 0.01	7.17 ± 0.01	7.12 ± 0.06	7.05 ± 0.05
	WT/°C	32.10 ± 0.45	32.20 ± 0.49	31.90 ± 0.10	32.00 ± 0.50
	SD/m	0.48 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.37 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.754 ± 0.167	10.438 ± 0.142	8.754 ± 0.105	8.081 ± 0.133
	TN / (mg/L)	1.004 ± 0.028	0.914 ± 0.038	1.276 ± 0.068	0.977 ± 0.039
	TP / (mg/L)	0.052 ± 0.001	0.039 ± 0.000	0.049 ± 0.005	0.036 ± 0.004
	Chla / (mg/L)	0.031 ± 0.008	0.030 ± 0.002	0.035 ± 0.003	0.012 ± 0.001

表 2. 2012 - 2013 年度左海湖各采样站位的经纬度信息及本实验所研究的水样理化值

Table 2. Longitude and latitude of the sampling stations in Lake Zuohai and physico-chemical characterization of the water samples in this study from 2012 to 2013

Station		S1	S2	S3	S4
Longitude (E)		26°5.907'N	26°5.885'N	26°5.830'N	26°5.876'N
Latitude (N)		119°17.175'E	119°17.014'E	119°16.951'E	119°16.908'E
October 2012	pH	7.20 ± 0.06	7.17 ± 0.06	7.13 ± 0.05	7.18 ± 0.06
	WT/°C	23.10 ± 0.06	24.00 ± 0.10	23.70 ± 0.10	23.90 ± 0.06
	SD/m	0.20 ± 0.03	0.25 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.25 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.095 ± 0.145	9.548 ± 0.013	8.095 ± 0.129	7.634 ± 0.090
	TN / (mg/L)	0.868 ± 0.072	1.059 ± 0.065	0.921 ± 0.031	0.548 ± 0.084
	TP / (mg/L)	0.036 ± 0.004	0.031 ± 0.007	0.027 ± 0.002	0.036 ± 0.003
	Chla / (mg/L)	0.037 ± 0.005	0.042 ± 0.008	0.048 ± 0.000	0.017 ± 0.004
December 2012	pH	7.55 ± 0.06	7.53 ± 0.03	7.52 ± 0.02	7.55 ± 0.04
	WT/°C	17.50 ± 0.06	17.50 ± 0.06	17.70 ± 0.06	17.20 ± 0.06
	SD/m	0.30 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.02
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.299 ± 0.172	10.591 ± 0.178	8.459 ± 0.227	7.922 ± 0.345
	TN / (mg/L)	0.577 ± 0.053	0.555 ± 0.076	0.630 ± 0.032	0.740 ± 0.036
	TP / (mg/L)	0.042 ± 0.002	0.039 ± 0.005	0.035 ± 0.002	0.041 ± 0.003
	Chla / (mg/L)	0.042 ± 0.008	0.049 ± 0.002	0.041 ± 0.001	0.023 ± 0.000
February 2013	pH	7.40 ± 0.02	7.33 ± 0.02	7.55 ± 0.03	7.50 ± 0.02
	WT/°C	16.60 ± 0.06	16.70 ± 0.12	16.80 ± 0.15	16.10 ± 0.10
	SD/m	0.30 ± 0.04	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.24 ± 0.02
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.394 ± 0.113	10.766 ± 0.371	8.057 ± 0.119	7.954 ± 0.228
	TN / (mg/L)	0.429 ± 0.041	0.505 ± 0.057	0.404 ± 0.055	0.556 ± 0.038
	TP / (mg/L)	0.024 ± 0.001	0.028 ± 0.002	0.026 ± 0.002	0.033 ± 0.004
	Chla / (mg/L)	0.031 ± 0.002	0.028 ± 0.005	0.031 ± 0.002	0.014 ± 0.001
April 2013	pH	7.32 ± 0.07	7.30 ± 0.03	7.28 ± 0.02	7.33 ± 0.03
	WT/°C	25.60 ± 0.20	26.00 ± 0.15	26.10 ± 0.15	25.70 ± 0.21
	SD/m	0.32 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.35 ± 0.02	0.31 ± 0.01
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	9.014 ± 0.445	11.008 ± 0.823	8.783 ± 0.163	8.354 ± 0.142
	TN / (mg/L)	0.443 ± 0.033	0.461 ± 0.044	0.526 ± 0.019	0.406 ± 0.051
	TP / (mg/L)	0.035 ± 0.005	0.034 ± 0.004	0.040 ± 0.004	0.033 ± 0.006
	Chla / (mg/L)	0.043 ± 0.006	0.042 ± 0.009	0.038 ± 0.002	0.030 ± 0.000
June 2013	pH	7.18 ± 0.03	7.04 ± 0.04	7.08 ± 0.03	7.14 ± 0.05
	WT/°C	29.10 ± 0.15	29.40 ± 0.15	29.20 ± 0.15	29.30 ± 0.20
	SD/m	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.02
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.367 ± 0.564	9.814 ± 0.433	8.310 ± 0.115	7.608 ± 0.323
	TN / (mg/L)	0.559 ± 0.052	0.647 ± 0.037	0.544 ± 0.062	0.431 ± 0.047
	TP / (mg/L)	0.040 ± 0.000	0.046 ± 0.006	0.042 ± 0.002	0.051 ± 0.004
	Chla / (mg/L)	0.052 ± 0.005	0.049 ± 0.003	0.046 ± 0.007	0.023 ± 0.001
August 2013	pH	7.02 ± 0.05	7.03 ± 0.04	7.11 ± 0.03	7.08 ± 0.03
	WT/°C	29.90 ± 0.15	30.00 ± 0.21	30.60 ± 0.06	29.80 ± 0.06
	SD/m	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.32 ± 0.02
	COD <sub>Mn</sub> / (mg/L)	8.054 ± 0.116	10.038 ± 0.578	8.154 ± 0.605	7.981 ± 0.175
	TN / (mg/L)	1.104 ± 0.022	0.934 ± 0.066	1.176 ± 0.091	0.985 ± 0.076
	TP / (mg/L)	0.048 ± 0.004	0.041 ± 0.002	0.047 ± 0.004	0.039 ± 0.005
	Chla / (mg/L)	0.034 ± 0.002	0.029 ± 0.001	0.032 ± 0.003	0.014 ± 0.001

N = 3 for all analyses. Numbers in parentheses are standard errors.

## 2.2 左海湖细菌丰度的时空分布变化

左海湖 2011 - 2013 年度水体细菌丰度的变化情况 (图 1) 2 年的实验结果基本一致。2011 - 2012

年度细菌丰度的波动范围在  $4.91 \times 10^6 - 18.71 \times 10^6$  cells/mL 之间, 年平均达到  $11.19 \times 10^6$  cells/mL; 2012 - 2013 年度细菌丰度的波动范围在

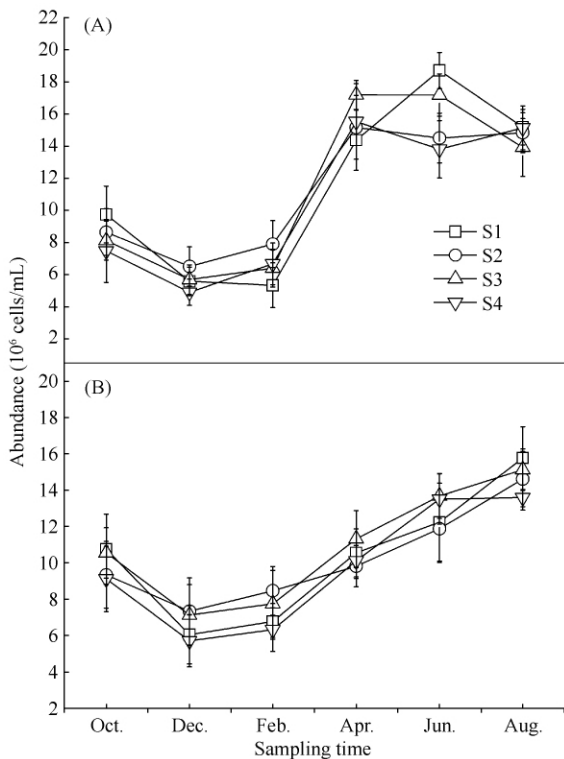


图 1. 左海湖水体细菌丰度的变化情况

Figure 1. Changes in abundance of the bacteria in Lake Zuohai.  
A: samples collected from 2011 to 2012; B: samples collected from 2012 to 2013.

$5.72 \times 10^6 - 15.77 \times 10^6$  cells/mL 之间, 年平均达到  $10.32 \times 10^6$  cells/mL。

从空间来看, 不同站点水体在相同时期的细菌丰度变化不明显。从季节上看, 左海湖细菌丰度的年周期变化趋势表现为反 S 型曲线, 细菌丰度在 10

月至 12 月显著降低, 随后进入缓慢增长期。从图 1 可以看出, 左海湖水体细菌丰度以 4 月、6 月和 8 月较高, 12 月和 2 月较低, 并且 2 个年度细菌丰度的最低值均出现在 12 月份。此外, 2011 - 2012 年度, 细菌丰度从 6 月到 8 月有明显的下降趋势, 而 2012 - 2013 年度未出现此现象。这些结果表明, 左海湖水体细菌丰度没有明显的空间异质性, 季节变化对细菌丰度的影响更大。

### 2.3 DGGE 指纹图谱分析

在不同时期 4 个站点收集的 48 个样品中, 共获得 23 条不同位置的 DGGE 条带, 通过 UPGMA 算法基于各样品的 DGGE 电泳图谱进行聚类分析 (图 2), 可以看出在不同时期 4 个站位的菌群之间相似性情况, 从而获得菌群结构在不同时空中的变化情况。从 UPGMA 图看出, 两个年度样品的聚类结果基本一致。

空间上: 由图 2 可以看出, S2 和 S3 站位的菌群分枝距离上普遍最近, 这 2 类分枝聚成一枝后再与 S1 站点菌群分枝聚为一起, 而 S4 站位的菌群与相同时期的其他菌群距离相对较远。因此, 同样可以将左海湖 4 个不同采样站点分成 2 种类型: 第一类, S1, S2 和 S3 站点的水体样品在各个季节里均聚为一起, 说明此 3 个站位的菌群结构相似性较高; 第二类为距离较远的 S4 站点, 表明 S4 站位的菌群结构与其他 3 个站点菌群结构相似性较低。

时间上: 由聚类分析图 2 可以看出, 相同季节的 4 个站点菌群分枝往往聚在一起, 2 年各 6 个不同时期均将所有的菌群分成 6 个主枝。这说明左海湖水

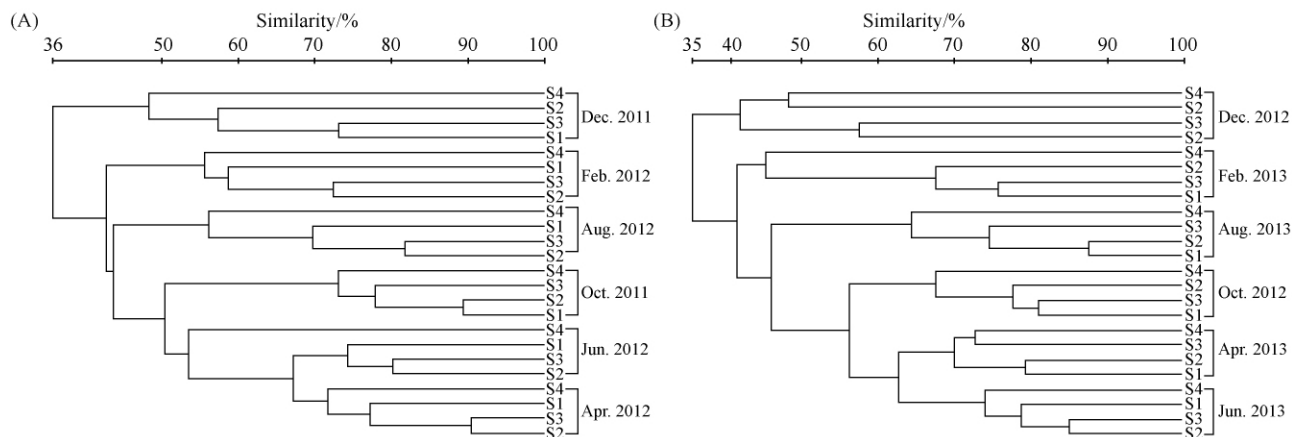


图 2. DGGE 图谱的 UPGMA 聚类分析

Figure 2. The UPGMA cluster analysis of DGGE profiles.

体中的细菌群落主要是根据季节的差异而分为不同的大类,可见与空间差异相比,季节变化对于左海湖水体中细菌群落结构的影响更显著。从聚类图中还可以看出:左海湖不同时期的菌群分为4种类型:第一类为10月(秋季);第二类包括12月和2月(冬季);第三类包括4月(春季)和6月(夏初);第四类为8月(夏末)。其中,4月与6月水体菌群的聚类分枝距离最近,聚为一大类群,说明这2个季节中的细菌群落结构组成最为相似,它们聚为一枝后再分别与10月、8月和2月的菌群聚在一起,最后再与12月的菌群相聚。这些都进一步说明了冬季水体细菌群落结构最为特殊,与其它3个季节样品的群落结构间的差异最大。

## 2.4 16S rRNA 基因序列及系统发育分析

在两个年度不同季节的 DGGE 凝胶中共切下 23 条不同位置的条带,编号为 WB1-WB23,将条带进行克隆测序,所得序列大小介于 174 - 199 bp 范围内。23 条相似性序列大多来自于太湖、鄱阳湖、湿地等淡水水体环境中的未培养细菌类型。根据 BLAST 结果,将获得的 23 条目标序列与数据库中的参考序列一起构建了系统发育树(图 3)。结果表明,23 条序列主要归属于 4 个细菌类群:变形细菌门(*Proteobacteria*)包括  $\alpha$ - $\beta$ -和  $\gamma$ -*Proteobacteria* 3 个亚群、放线菌门(*Actinobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和蓝细菌门(*Cyanobacteria*)。23 条序列中有 11 条分别与变形细菌门中  $\alpha$ -*Proteobacteria* (包含 3 条序列), $\beta$ -*Proteobacteria* (包含 7 条序列)和  $\gamma$ -*Proteobacteria* (包含 1 条序列)相似,5 条与蓝细菌门(*Cyanobacteria*)相似,5 条与拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相似,其余 2 条与放线菌门(*Actinobacteria*)相似。

## 2.5 克隆文库构建及 ARDRA 分型分析

根据前面水体细菌群落的 DGGE 分析可知,2 年实验结果的重复性较好,12 月与 2 月,4 月与 6 月的水体细菌菌群结构均较为相似,且 2 月(冬季),4 月(春季),8 月(夏季)和 10 月(秋季)是一年四季中最具典型的 4 个时期。因此选择 2012 年度的此 4 个季节进行水体细菌 16S rRNA 基因全长文库的构建,共计 4 个 16S rRNA 基因克隆文库。在每个文库中随机挑选 120 个克隆子进行菌落 PCR 验证,共获得了 412 个正确插入 16S rRNA 基因片段的阳性克隆(冬季 91 个,春季 115 个,夏季 105 个,秋季

101 个),说明文库构建较理想。分别把 4 个文库中得到的阳性克隆子做 ARDRA 分析,采用限制性内切酶 *Csp6 I* 和 *Hinf I* 进行酶切分型,实际获得 298 个酶切结果。

## 2.6 克隆文库的群落组成分析

所构建的 4 个克隆文库包含了 298 种不同的 ARDRA 分型,16S rRNA 基因片段进行双向测序,通过 Invitrogen 软件将上游和下游序列进行拼接。依据 97% 的序列相似性,4 个文库共得到 157 个 OTUs。通过 BLAST 比对分析,结果发现大多数 OTUs 的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中已知序列具有很高的相似度(97% - 100%)。

所获得的 157 个 OTUs 分别属于 11 个细菌类群: $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -和  $\delta$ -*Proteobacteria* (变形菌门)、*Actinobacteria* (放线菌门)、*Bacteroidetes* (拟杆菌门)、*Cyanobacteria* (蓝细菌门)、*Chloroflexi* (绿弯菌门)、*Verrucomicrobia* (疣微菌门)、*Firmicutes* (厚壁菌门)和 *Acidobacteria* (酸杆菌门)。其中优势菌群为  $\beta$ -*Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes* 和 *Cyanobacteria*。 $\beta$ -*Proteobacteria* 最丰富(共 52 条序列,占总数的 33.1%),该类群在所有文库中均广泛分布;其次是 *Cyanobacteria* (共 41 条序列,占总数的 26.1%),该类群在所有文库中也大量分布。

图 4 显示了不同细菌类群在 4 个克隆文库中的分布情况。在各文库中都存在的主要菌群包括: $\alpha$ -*Proteobacteria*、 $\beta$ -*Proteobacteria*、*Bacteroidete*、*Actinobacteria* 和 *Cyanobacteria*,这些细菌类群在各时期具有较为明显的季节变化,其中  $\beta$ -*Proteobacteria* 和 *Cyanobacteria* 类细菌在 4 个克隆文库中均大量分布。

不同季节文库中的优势菌群也各不相同。 $\beta$ -*Proteobacteria* 在 10 月份所占的比例最高(38.6%),为 10 月份文库的最优势细菌类群;其次是 *Cyanobacteria*,其在 10 月份文库中所占的比例为 36.6%,为该月份文库的次优势菌群。在 4 月份, $\beta$ -*Proteobacteria* 所占的比例大大降低,仅为 13.9%,而此时 *Cyanobacteria* 占了绝对的优势地位,该菌群占 4 月份总细菌类群的 62.6%。 $\beta$ -*Proteobacteria* 和 *Cyanobacteria* 在 8 月份的丰度也相当高,克隆数分别占该月总克隆数的 32.4% 和 43.8%,其中最优势菌群为 *Cyanobacteria*,次优势菌群为  $\beta$ -*Proteobacteria*。在 2 月份, $\beta$ -*Proteobacteria* 为最优

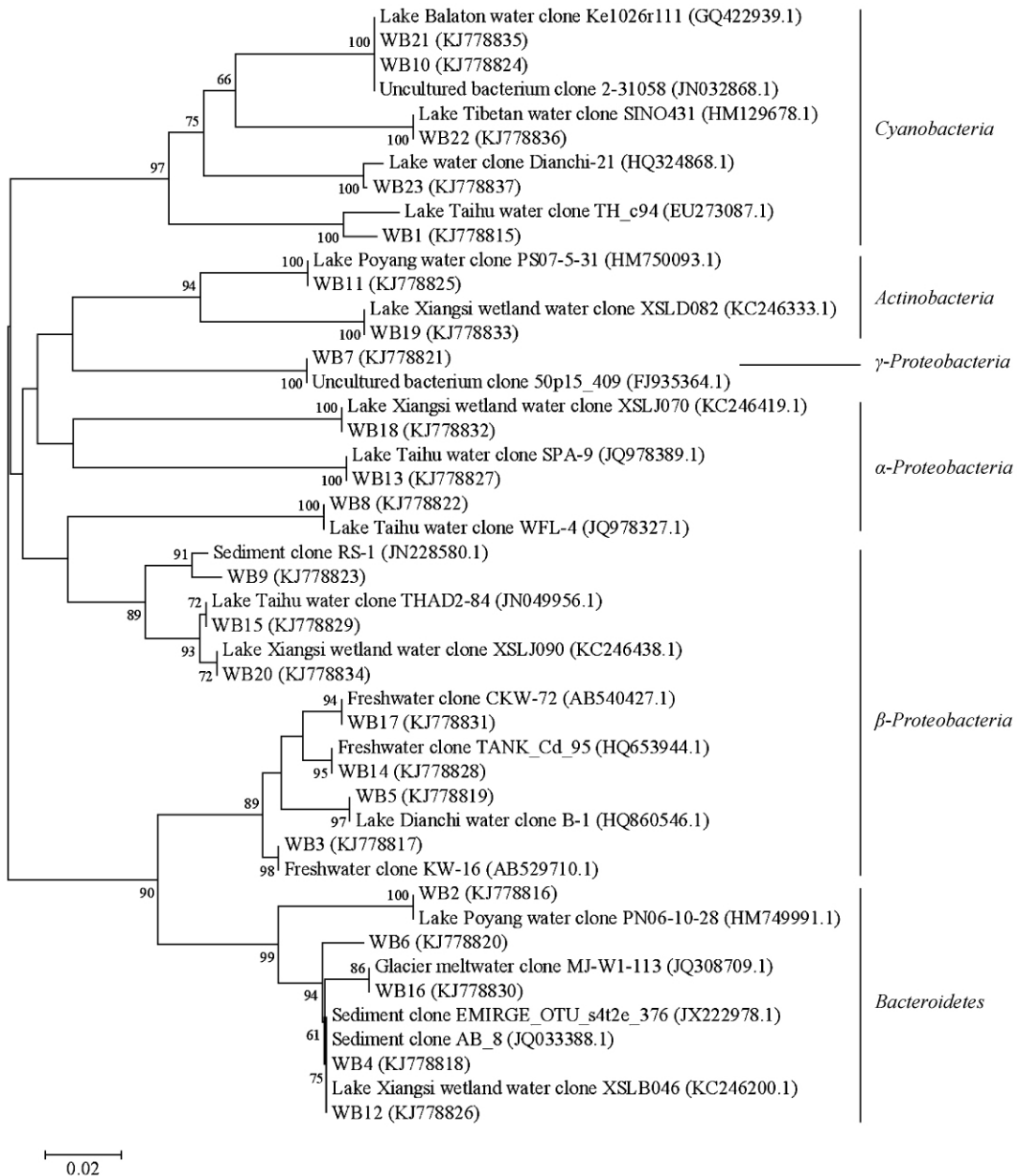


图 3. 基于左海环境水体细菌 16S rRNA 基因的系统发育树

Figure 3. Phylogenetic tree of bacterial 16S rRNA gene sequences in Lake Zuohai. The tree was constructed using the neighbor-joining method in MEGA. Data in parentheses are the GenBank accession numbers. Bootstrap values were calculated from 1000 replications of Kimura 2-parameter, and bootstrap values above 50 were shown on the branches. The scale bar represents 2% changes per sequence position.

势的细菌类群, 克隆数占该季节总克隆数的 35.2%, 次优势菌群为 *Cyanobacteria*、*Actinobacteria* 和 *Bacteroidete*, 克隆数所占的比例分别为 18.7%、15.4% 和 12.1%。而 *Actinobacteria* 和 *Bacteroidete* 在其它 3 个季节的分布明显较少, 例如在 10 月份, *Actinobacteria* 和 *Bacteroidete* 所占的比例仅分别为 3.0% 和 4.9%。除了上述几大主要的细菌类群, 其

余菌群并未在 4 个克隆文库中都有出现, 而且所占比例也相对较少。

## 2.7 细菌群落结构与环境因子的相关性分析

依据除趋势对应分析 (DCA), 物种分布的最大梯度长度为 2.040 (< 3.0), 具有明显的线性模型特征, 因此选择冗余分析 (RDA) 探讨菌群组成与环境因子之间的相关性。



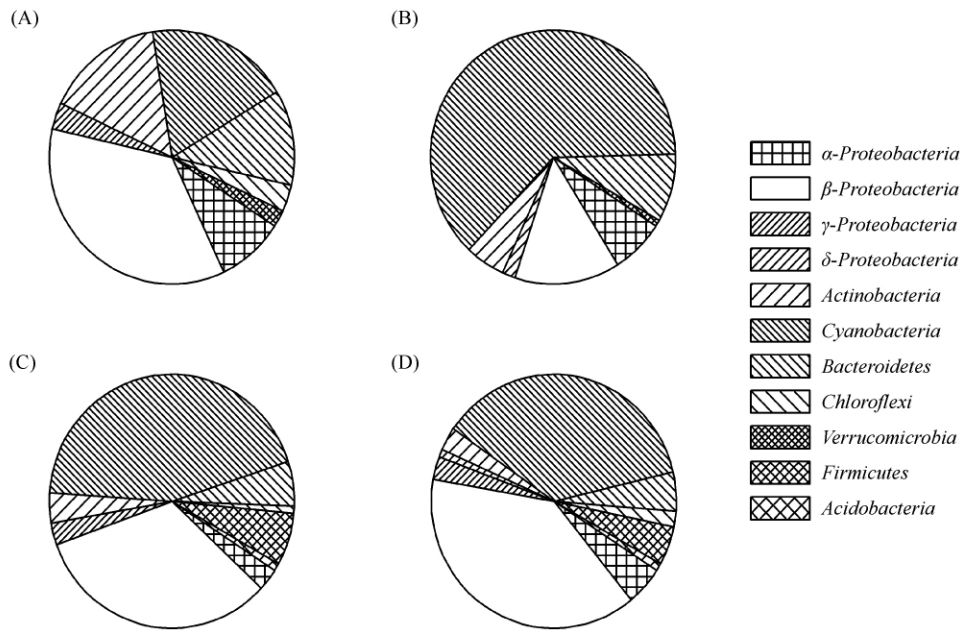


图 4. 不同克隆文库中各细菌类群的分布情况

Figure 4. Pie charts of the relative abundance of bacterial clusters in clone libraries. A: samples collected from February; B: samples collected from April; C: samples collected from August; D: samples collected from October.

从 RDA 分析图(图 5)中可以看出,24 个样品大致可以分成 6 组,同时期不同采样站位的菌群大致聚集在一起,且 S4 站点样品普遍与其它 3 个站位的样品距离较远。12 月的样品主要聚在第一、二象限,与其它季节样品较远,说明 12 月菌群结构最特殊,并且该季节细菌的分布主要受 pH、TP 和 Chla 的影响,进一步证实了前面 DGGE 图谱的聚类分析结果。4 月和 6 月的样品主要集中在第四象限,说明这 2 个季节细菌的分布主要受 WT 的影响,并且与 WT 呈正相关;2 月和 8 月的样品分布在第二、三象限,说明这 2 个季节细菌的分布主要受 TN、SD 和  $COD_{Mn}$  的影响,并且与 TN 呈正相关,与 SD 和  $COD_{Mn}$  呈负相关。10 月的样品在 RDA 图中较分散,在第一、二和四象限均有分布,说明该季节细菌的分布受多个环境因子的影响。这些结果都再一次说明了左海湖水体细菌群落组成的季节性变化较显著。

### 3 讨论

本研究以福州左海湖为研究对象,利用 DAPI 荧光染色法和分子生物学技术系统分析了 2011 - 2013 为期两年的水体细菌丰度,群落结构的时空变异情况,并通过多元统计方法探讨了细菌群落结构

与环境因子间的相关性。研究结果表明,左海湖水体具有较高的细菌多样性和明显的菌群时空分布规律,同时细菌群落的分布受环境因子影响很大。

两年的实验结果显示,左海湖水体中的细菌丰度呈现较一致的变化趋势。4 个采样站位的细菌丰度在同季节里差异不大,但在不同季节中均呈现较大波动,且具有明显的规律性,总体上表现为春夏季较高,秋冬季较低。分析认为,春夏季水温高,是比较适合细菌生长的季节,合适的温度促进了细菌的新陈代谢;而秋冬季水温较低,低温抑制了细菌的新陈代谢,从而抑制了细菌的生长<sup>[20]</sup>。该结果与 Jiang 等<sup>[13]</sup>对深圳大鹏湾海域细菌丰度的时空分布规律的研究一致。另外,本研究发现在 2011 - 2012 年度,左海湖细菌丰度从 6 月到 8 月有略微下降的趋势,但在 2012 - 2013 年度未出现此现象。这可能是因为在一定的水温范围内,细菌丰度受到水温的影响最大,而从 6 月过渡到 8 月,水温不断的升高,甚至达到了 30 °C 以上,当水温上升到一定程度后,细菌丰度还受到除水温以外的其它因素的影响,这些因素可能涉及到水体的营养物质以及降水量等。

本研究结果表明,与菌群的空间差异相比,季节变化对左海湖细菌群落结构的影响更为显著。研究人员对世界其他水体中细菌多样性的研究也得出类

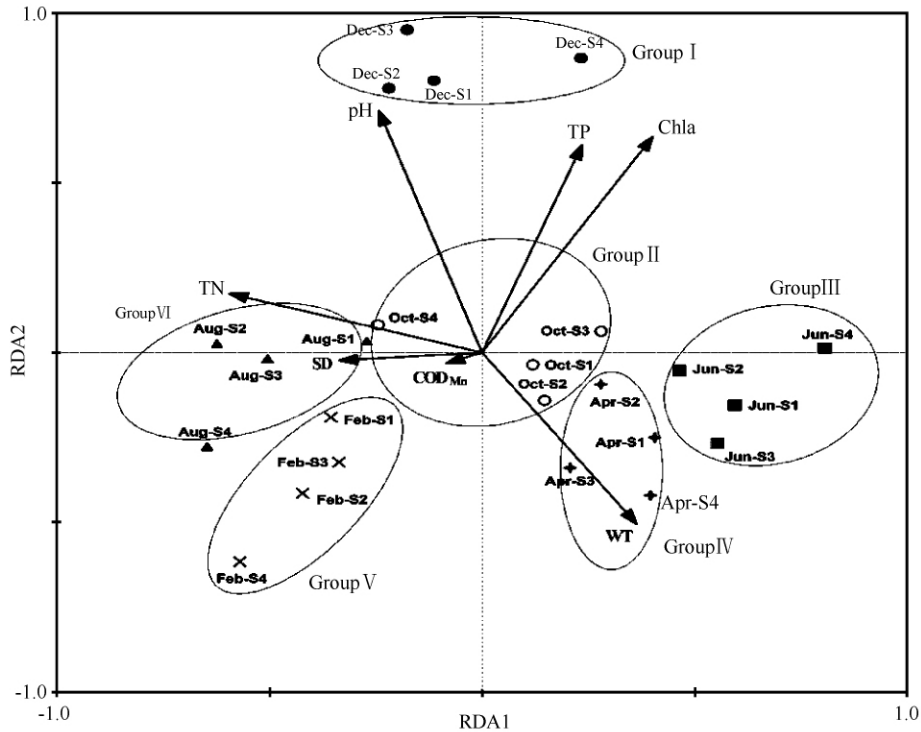


图 5. 左海湖水体细菌群落与环境因子的 RDA 分析

Figure 5. RDA analyses between bacterial communities and environmental parameters. (○), samples collected from October; (●), samples collected from December; (×), samples collected from February; (+), samples collected from April; (■), samples collected from June; (▲), samples collected from August; (WT), water temperature; (TN), total nitrogen; (TP), total phosphorus; (SD), water transparency; (Chla), chlorophyll a; (COD<sub>Mn</sub>), Chemical oxygen demand.

似的结果。例如, Wang 等<sup>[21]</sup>对太湖表层沉积物中放线菌群落多样性研究表明,相对于空间差异,季节变异对太湖放线菌群落组成的影响更大。Andersson 等<sup>[22]</sup>通过焦磷酸测序法对波罗的海域细菌群落多样性研究表明,该生境中的菌群分布具有显著的、可重复的季节性变化特征。

系统进化分析表明,左海湖水体中主要的细菌类群包括  $\alpha$ -Proteobacteria、 $\beta$ -Proteobacteria、Cyanobacteria、Actinobacteria 和 Bacteroidetes。这与其它水生生态系统中典型细菌类群相一致<sup>[23-25]</sup>。但本研究中得到的最优势菌群为  $\beta$ -Proteobacteria 和 Cyanobacteria。左海湖水体中丰富的  $\beta$ -Proteobacteria 存在与东江流域<sup>[25]</sup>以及鄱阳湖<sup>[15]</sup>等水体细菌群落组成的相似特点,说明  $\beta$ -Proteobacteria 是淡水生态系统中广泛分布的一大细菌类群。Cyanobacteria 普遍存在于水生生态系统中,尤其在富营养化水体里广泛分布<sup>[24]</sup>,本实验中也检测到较多的 Cyanobacteria 菌群,这一结果预示着左海湖水水质发生了某种程度的变化。另外,本研究还检测到了一

些非优势的菌群,包括 *Chloroflexi*、*Verrucomicrobia*、*Firmicutes*、*Acidobacteria* 及  $\gamma$ -和  $\delta$ -Proteobacteria,它们在细菌类群中的总比例为 14.6%,这些菌群的存在也构成了左海湖水体细菌群落结构的特殊性。

多元统计分析表明,左海湖细菌群落组成的变化主要受 WT、pH、TN、TP 和 Chla 的影响,而且这些环境因子对不同季节里菌群结构的影响程度明显不同,说明水体的温度和营养状况是控制左海湖细菌群落结构的两大重要因素。该结果与 Wu 等<sup>[15]</sup>通过 16S rRNA 基因克隆文库技术对鄱阳湖细菌群落多样性研究报道相似。大量研究也表明微生物群落组成与湖泊中的环境因子密切相关<sup>[26-28]</sup>。Chen 等<sup>[24]</sup>运用 PCR-DGGE 技术,对三峡水库细菌群落多样性研究结果表明,该环境中的细菌群落组成主要与水体的温度,透明度以及  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度显著相关;Liu 等<sup>[25]</sup>对东江流域水体细菌多样性研究表明,细菌群落组成与水体的环境因子存在显著的相关性,且总氮浓度是主要的影响因子。RDA 分析结果也说明了相同季节的菌群在图中基本聚集在一

起,进一步表明季节的变化对细菌群落结构的影响更大,而空间的影响较小。

值得一提的是,本研究在克隆文库实验中检测到的某些细菌菌群,例如 *Chloroflexi*、*Verrucomicrobia*、*Firmicutes*、*Acidobacteria* 及 *δ-Proteobacteria*,它们在 DGGE 分析中均未能得以检测。可见,克隆文库方法得到的细菌多样性总体上较 DGGE 丰富。此外,两种方法检测到的某些细菌类群在组成比例上也存在一定的差异,例如 *Bacteroidetes* 在 DGGE 分析中所占的比例较大,而在克隆文库的结果中比例较小。这一研究结果产生差异的主要原因可能有:①两种方法 PCR 扩增所使用引物的不同,不同引物的扩增效率和偏好性存在差异,从而导致二者在扩增后所获得的细菌类群和丰度各不同;②两种方法各自的局限性,DGGE 技术对于小片段 (<500 bp) 的 DNA 分离效果较好,较大的片段难以分离,限制了完整的细菌多样性和菌群结构信息的获取;构建克隆文库采用随机挑取克隆子的方法,虽然能够覆盖更丰富的细菌类群,但可能会过高估计目标环境中优势菌群的多样性,而那些丰度较低的细菌类群常被遗漏,这样在一定程度上就限制了细菌多样性以及细菌丰度计算的准确性。由此可见,通过结合不同的分子生物学技术对环境中的微生物多样性进行研究,可以得到更为详尽的互为补充的群落结构信息。尽管 DGGE 和构建克隆文库相结合在研究群落动态和多样性方面存在很多优势,但是近年来流行的第二代高通量测序如 454 焦磷酸测序、Hiseq 及 Miseq 等技术可以更为精确的研究环境微生物多样性,因此在今后的研究中可以加以考虑,以获得更为完整的微生物群落结构信息。

## 参考文献

- [1] Burns CW, Galbraith LM. Relating planktonic microbial food web structure in lentic freshwater ecosystems to water quality and land use. *Journal of Plankton Research*, 2007, 29(2): 127-139.
- [2] Tamaki H, Sekiguchi Y, Hanada S, Nakamura K, Nomura N, Matsumura M, Kamagata Y. Comparative analysis of bacteria diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 2162-2169.
- [3] Newton RJ, Jones SE, Eiler A, McMahon KD, Bertilsson S. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75(1): 14-49.
- [4] Krett G, Vágány V, Makk J, Jáger K, Reskóné MN, Márialiget K, Borsodi AK. Phylogenetic diversity of bacterial communities inhabiting the sediment of Lake Hévíz - a comparison of cultivation and cloning. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2013, 60(2): 211-235.
- [5] Murray AE, Kenig F, Fritsen CH, McKay CP, Cawley KM, Edwards R, Kuhn E, McKnight DM, Ostrom NE, Peng V, Ponce A, Priscu JC, Samarkin V, Townsend AT, Wagh P, Young SA, Yung PT, Doran PT. Microbial life at -13 °C in the brine of an ice-sealed Antarctic lake. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(50): 20626-20631.
- [6] Mueller-Spitz SR, Goetz GW, McLellan SL. Temporal and spatial variability in nearshore bacterioplankton communities of Lake Michigan. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(3): 511-522.
- [7] Chen MJ, Kong FX, Chen FZ, Xing P. Genetic diversity of eukaryotic microplankton in different areas of Lake Taihu. *Environmental Science*, 2008, 29(3): 760-775. (in Chinese)  
陈美军, 孔繁翔, 陈非洲, 邢鹏. 太湖不同湖区真核微型浮游生物基因多样性的研究. *环境科学*, 2008, 29(3): 760-775.
- [8] Ren L, He D, Zeng J, Wu QL. Bacterioplankton communities turn unstable and become small under increased temperature and nutrient-enriched conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 84(3): 614-624.
- [9] Viggor S, Juhanson J, Joesaar M, Mitt M, Truu J, Vedler E, Heinaru A. Dynamic changes in the structure of microbial communities in Baltic Sea coastal seawater microcosms modified by crude oil, shale oil or diesel fuel. *Microbiological Research*, 2013, 168(7): 415-427.
- [10] Zeng J, Bian Y, Xing P, Wu QL. Macrophyte species drive the variation of bacterioplankton community composition in a shallow freshwater lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(1): 177-184.
- [11] Yang CG, Song XH, Sun BY. Comparison of simple methods for extraction and measurement of phytoplanktonic chlorophyll-a. *Marine Sciences*, 2007, 31(1): 6-9. (in Chinese)  
杨彩根, 宋学宏, 孙丙耀. 浮游植物叶绿素 a 含量简易测定方法的比较. *海洋科学*, 2007, 31(1): 6-9.

- [12] 王心芳, 魏复盛, 齐文启. 水和废水监测分析方法. 第4版. 北京: 中国环境出版社, 2002: 216-219.
- [13] Jing FJ, Hu ZL, Hu CQ. Correlation between spatial-temporal distribution of bacterioplankton and environmental factors in the Dapeng Bay. *Journal of Tropical Oceanography*, 2011, 30 (1): 96-100. (in Chinese)  
姜发军, 胡章立, 胡超群. 大鹏湾浮游细菌时空分布与环境因子的关系. *热带海洋学报*, 2011, 30 (1): 96-100.
- [14] Wu QL, Zwart G, Schauer M, Kamst-van Agterveld MP, Hahn MW. Bacterioplankton community composition along a salinity gradient of sixteen high-mountain lakes located on the Tibetan Plateau, China. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72 (8): 5478-5485.
- [15] Wu L, Ge G, Zhu GF, Gong SJ, Li SG, Wan JB. Diversity and composition of the bacterial community of Poyang Lake (China) as determined by 16S rRNA gene sequence analysis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28 (1): 233-244.
- [16] Gao CY, Zhao YG, Wang AJ, Ren NQ, Bai J, Tian WJ, Zhang J, Li HY. Effect of tillage and fertilization on bacterial community structure in different depth of black soil. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50 (1): 67-75. (in Chinese)  
高崇洋, 赵阳国, 王爱杰, 任南琪, 白洁, 田伟君, 张健, 李海艳. 耕作和施肥对不同深度黑土中细菌群落结构的影响. *微生物学报*, 2010, 50 (1): 67-75.
- [17] Yan QY, Yu YH, Feng WS. Relationships between metagenome of plankton community and heavy metals in Lake Donghu, Wuhan. *China Environmental Science*, 2010, 30: 52-56. (in Chinese)  
颜庆云, 余育和, 冯伟松. 武汉东湖浮游生物宏基因组与环境重金属的关系. *中国环境科学*, 2010, 30: 52-56.
- [18] Liu X, Lu X, Chen Y. The effects of temperature and nutrient ratios on *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China: an 11-year investigation. *Harmful Algae*, 2011, 10 (3): 337-343.
- [19] Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K. MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 2008, 9 (4): 299-306.
- [20] Adams HE, Crump BC, Kling GW. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. *Environmental Microbiology*, 2010, 12 (5): 1319-1333.
- [21] Wang JJ, Zhang YZ, Li ZK, Shen J. Higher seasonal variation of actinobacterial communities than spatial heterogeneity in the surface sediments of Taihu Lake, China. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, 59 (5): 353-358.
- [22] Andersson AF, Riemann L, Bertilsson S. Pyrosequencing reveals contrasting seasonal dynamics of taxa within Baltic Sea bacterioplankton communities. *The ISME Journal*, 2009, 4 (2): 171-181.
- [23] Niu Y, Shen H, Chen J, Xie P, Yang X, Tao M, Ma ZM, Qi M. Phytoplankton community succession shaping bacterioplankton community composition in Lake Taihu, China. *Water Research*, 2011, 45 (14): 4169-4182.
- [24] Chen Z, Zhou Z, Peng X, Xiang H, Xiang S, Jiang Z. Effects of wet and dry seasons on the aquatic bacterial community structure of the Three Gorges Reservoir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29 (5): 841-853.
- [25] Liu ZH, Huang SB, Sun GP, Xu ZC, Xu MY. Phylogenetic diversity, composition and distribution of bacterioplankton community in the Dongjiang River, China. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80 (1): 30-44.
- [26] Du J, Xiao K, Li L, Ding X, Liu H, Lu Y, Zhou S. Temporal and spatial diversity of bacterial communities in coastal waters of the South China Sea. *PLoS One*, 2013, 8 (6): e66968.
- [27] Xiong J, Liu Y, Lin X. Geographic distance and pH drive bacterial distribution in alkaline lake sediments across Tibetan Plateau. *Environmental Microbiology*, 2012, 14 (9): 2457-2466.
- [28] Song H, Li Z, Du B, Wang G, Ding Y. Bacterial communities in sediments of the shallow Lake Dongping in China. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 112 (1): 79-89.

# Relationship between bacterial community and its environmental in Zuohai Lake, China

Lanying Liu<sup>1,2#</sup>, Xin Lv<sup>1,2#</sup>, Wei Li<sup>1,2</sup>, Lihua Chen<sup>1,2</sup>, Yueren Li<sup>1,2\*</sup>, Bijiao Lin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Central Laboratory, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

<sup>2</sup> Key Laboratory for Precision Instrument Tests in Agricultural Fields, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

**Abstract:** [Objective] To reveal the relationship between bacterial community and the environmental in Zuohai lake, Fuzhou City. [Methods] The abundance of total bacteria was studied using DAPI staining; the composition, distribution and the dynamics of bacterial community were examined using both the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and the 16S rRNA gene clone library analyses over a 2-year periods from October 2011 to August 2013. Moreover, multivariate statistical analysis was used to analyze the relationship between bacterial community and environmental factors. [Results] The total numbers of bacteria ranging from  $4.91 \times 10^6$  cells/mL to  $18.71 \times 10^6$  cells/mL, and the seasonal variation of bacterial abundance was obviously stronger than the spatial heterogeneity. DGGE and clone library analysis revealed that bacterial communities were mainly affected by temporal changes. Phylogenetic analysis showed that bacteria belonging to 11 phyla were identified. Members of  *$\beta$ -Proteobacteria* and *Cyanobacteria* group were the predominated lineage, followed by  *$\alpha$ -Proteobacteria*, *Actinobacteria* and *Bacteroidetes*. Redundancy analysis (RDA) suggested that water temperature, pH, total nitrogen, total phosphorus and chlorophyll a content contributed significantly to the bacteria-environment relationship. [Conclusion] There is rich bacterial diversity in Zuohai lake, the patterns of change in bacterial communities showed that the seasonal difference might have a significant impact on structuring the bacterial communities in the lake.

**Keywords:** bacterial diversity, temporal and spatial variation, environmental factor, molecular techniques, Lake Zuohai

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province of China (2011J01118)

\* Corresponding author. Tel: +86-591-87303167; E-mail: yuerenli@yeah.net

#These authors contributed equally to this work.

Received: 15 December 2014/Revised: 18 January 2015