



浙闽沿海生态牧场技术示范区浮游细菌群落和功能的时空变化

郑施展^{1,2}, 周绶珩^{1,2}, 杨文^{1,2}, 朱津永^{1,2}, 郑忠明^{1,2*}

1 宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211

2 浙江省海洋生物工程重点实验室, 浙江 宁波 315211

郑施展, 周绶珩, 杨文, 朱津永, 郑忠明. 浙闽沿海生态牧场技术示范区浮游细菌群落和功能的时空变化. 微生物学报, 2022, 62(8): 3024–3038.

Zheng Shizhan, Zhou Shouheng, Yang Wen, Zhu Jinyong, Zheng Zhongming. Spatial and temporal changes of bacterioplankton community and function in Zhejiang and Fujian coastal ecological pasture technology demonstration areas. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 3024–3038.

摘要:【目的】本文通过不同季节的4个航次调查研究了2个浙闽沿海生态牧场技术示范区的浮游细菌群落的变化, 揭示了示范区菌群结构的时空变化, 探究其对于海洋生态系统的潜在影响。【方法】使用16S rRNA基因扩增子测序技术, 对2个示范区4个季节航次共128个样点中浮游细菌的16S rRNA基因V4区序列进行测序, 并通过分析其组成和多样性, 借助FAPROTAX功能预测, 分析不同季节和示范区浮游细菌的差异。【结果】128个样品量化后共获得2 510 976条优质序列, 2个示范区的主要优势浮游细菌类群均为 α 变形菌纲、 γ 变形菌纲、 β 变形菌纲、放线菌纲、黄杆菌纲等, 2个示范区浮游细菌的 α 多样性指数随季节演替而产生波动, 且大多数环境因子都与其具有显著相关性; 浙闽沿海浮游细菌的群落构建过程随时空变化而产生差异, 扩散限制是2个示范区浮游细菌群落构建过程中占比最大的生态过程(除台山岛示范区秋季), 2个示范区多数季节的浮游细菌群落相似性基于Bray-Curtis的地理距离衰减印证了

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1406300); 浙江省自然科学基金(LQ20C190003); 浙江省教育厅科研项目(Y201839309); 宁波市自然科学基金(2019A610421, 2019A610443); 宁波大学黄国昌麦格纳基金

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1406300), by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ20C190003), by the Department of Education Scientific Research Project of Zhejiang Province (Y201839309), by the Natural Science Foundation of Ningbo (2019A610421, 2019A610443) and by the K.C. Wong Magna Fund in Ningbo University

*Corresponding author. E-mail: zhengzhongming@nbu.edu.cn

Received: 25 November 2021; Revised: 16 January 2022; Published online: 25 March 2022

这一点; 基于 FAPROTAX 功能预测得到的 2 个示范区浮游细菌的功能以化能异养和氮硫循环为主, 从一定程度上与当地的环境因子变化相关联。【结论】浙闽沿海生态牧场技术示范区的浮游细菌群落结构受地理距离、理化因子和季节影响存在显著时空变化, 且以化能异养为主的浮游细菌的潜在生态功能在不同季节具有显著变化, 掌握浮游细菌群落变化规律有助于在微生物层面为我国海洋牧场建设提供理论支持。

关键词: 生态牧场; 浮游细菌; 16S rRNA 基因; 群落构建; 功能预测

Spatial and temporal changes of bacterioplankton community and function in Zhejiang and Fujian coastal ecological pasture technology demonstration areas

ZHENG Shizhan^{1,2}, ZHOU Shouheng^{1,2}, YANG Wen^{1,2}, ZHU Jinyong^{1,2}, ZHENG Zhongming^{1,2*}

1 School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang, China

2 Key Laboratory of Marine Bioengineering of Zhejiang Province, Ningbo 315211, Zhejiang, China

Abstract: [Objective] This study investigated the temporal and spatial changes of bacterioplankton community in Zhejiang and Fujian coastal ecological pasture technology demonstration areas through four voyages in different seasons, aiming to explore their potential impact on the marine ecosystem. **[Methods]** The 16S rRNA gene V4 region of bacterioplankton was sequenced for 128 samples from four seasonal voyages in two demonstration areas. The composition, diversity and functions of bacterioplankton were compared among different seasons and between different demonstration areas. **[Results]** A total of 2 510 976 high-quality bacterioplankton sequences were obtained from 128 samples after quantization. The main dominant bacterioplankton groups in the two demonstration areas were *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Flavobacteria*, etc. The α -diversity index of the bacterioplankton in the two demonstration areas fluctuated with seasonal succession and had significant correlations with most of the environmental factors. The bacterioplankton community assembly in Zhejiang and Fujian coastal areas varied over time, and diffusion restriction was the most important ecological process in the two demonstration areas (except the Taishan island demonstration area in autumn). This finding was confirmed by the distance decay of Bray-Curtis similarity in the two demonstration areas. The prediction with functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX) demonstrated that the bacterioplankton in the two demonstration areas were mainly involved in chemoheterotrophy and nitrogen/sulfur cycle, which were associated with the changes of local environmental factors to a certain extent. **[Conclusion]** The structure of the bacterioplankton community in Zhejiang and Fujian coastal ecological pasture technology demonstration areas was affected by geographical distance, physicochemical factors, and seasons. The potential ecological functions of bacterioplankton dominated by chemoheterotrophs varied among

different seasons. Revealing the changes of potential ecological functions and community assembly of bacterioplankton provides theoretical support for the future development of marine pasture at the microbial level.

Keywords: ecological pasture; bacterioplankton; 16S rRNA gene; community assembly; function prediction

随着人们日益增长的海产品需求,海洋生态系统中的多层次矛盾在近年来逐渐体现^[1]。为了应对这一全球性的挑战,海洋牧场这一新兴走向成为了我国渔业资源可持续发展的未来走向^[2],但在技术层面其仍然存在许多探讨空间。

浙江和福建作为我国东海重要的沿海省份,其曲折漫长的海岸线以及得天独厚的水文气候条件^[3]为众多海洋生物提供了优质的繁育场所,也因此逐渐形成了许多我国重要的渔场。其中,位于浙江南部的温台渔场一方面受到东海中部沿岸水流的影响,另一方面受到黑潮等海流水团的影响,从而拥有丰富的饵料生物,为众多海洋生物提供了产卵和索饵场所,成为了东海中南部重要的良好渔场^[4]。位于福建北部的闽东渔场,北邻温台渔场,南接台湾海峡,亚热带气候带来了丰富的渔业资源,也是我国东海南部重要的渔场之一^[5]。作为恢复海洋生态系统健康的重要一环,我国在位于温台渔场的洞头海域以及位于闽东渔场的台山岛海域,都建立了生态牧场技术示范区。

浮游细菌是环境微生物中的重要组成部分,生物和非生物因素都会对它的群落时空动态产生影响^[6-7]。与此同时,不同类群的浮游细菌也会通过水体以及食物链传递反作用于海洋环境以及海洋生物^[8-9]。浮游细菌物种的多样性使得其在生态系统中有着丰富多样的生态功能^[10],为此,探究示范区内浮游细菌的

群落与功能演替规律及其与环境因子的关联特征很有必要。

本文选取浙江洞头和福建台山岛 2 个海洋生态牧场技术示范区作为研究区域,通过研究和分析其浮游细菌群落的组成及时空变化,从以下几个方面进行探究:(1) 浙闽沿海示范区浮游细菌群落的时空变化;(2) 浙闽沿海示范区浮游细菌群落结构的构建过程;(3) 浙闽沿海示范区浮游细菌生态功能的时空变化,以期解释示范区的环境微生物的地理分布格局以及季节演替规律,并试图解析不同时空条件下浮游细菌的生态功能分布,研究结果将有助于为海洋牧场未来建设与运行提供微生物方面的理论支持。

1 材料与方法

1.1 采样点设置及水样采集

使用浙洞渔 10109 和浙乐渔休 00109 (吃水深度约 6 m,总吨位约 500 t)作为浙江温台渔场及其毗邻海域调查船舶,闽福鼎渔运 01368 (吃水深度约 3 m,总吨位约 188 t)作为福建闽东渔场及其毗邻海域调查船舶,分别于 2019 年 1、4、7、10 月在洞头生态牧场技术示范区(浙江温台渔场)、台山岛生态牧场技术示范区(福建闽东渔场),对表层 0.5 m 的海水进行水样的收集。每个季节航次均采集洞头示范区和台山岛示范区各 16 个样点,共 32 个站点的样品(图 1),4 个季节航次共计采集到 128 个样品。

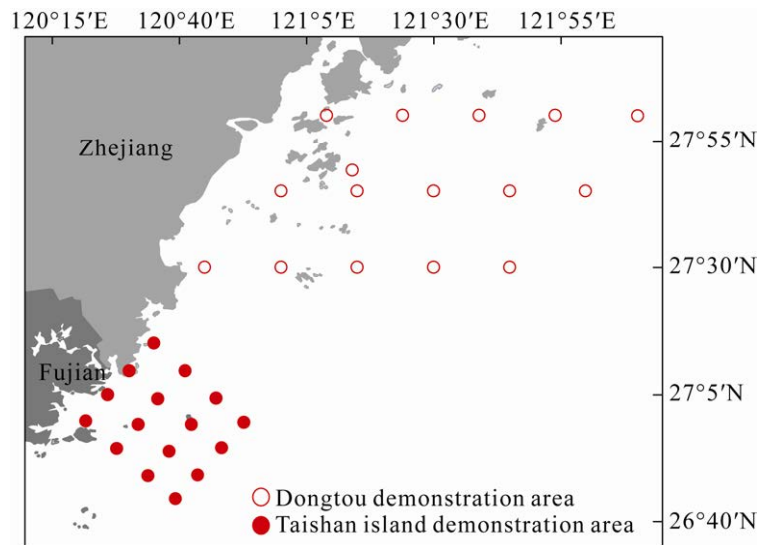


图 1 浙闽生态牧场技术示范区采样站点图

Figure 1 Sampling site map of Zhejiang-Fujian ecological pasture technology demonstration areas.

1.2 浮游细菌收集及理化因子测定

在取样当天, 将 1 500 mL 采得的各位点水样预先通过 100 μm 孔径的纱绢过滤, 然后依次将浮游细菌过滤到 3 个 0.22 μm 孔径的聚碳酸酯膜(直径 47 mm, Millipore)上, 其中 1 张膜用于后续分析, 2 张膜用于备份。为了尽可能收集足量的浮游细菌, 每张膜都过滤尽可能多的水, 并立即在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中冷冻, 以备后续分析。

使用多功能水质参数仪(XRX-620, RBR 公司)在采样时测量每个站位的表层水温, 使用国产 868 型 pH 计测定 pH 值, 使用滴定法测定溶解氧。水中硝酸盐(NO_3^-)、亚硝酸盐(NO_2^-)、活性磷酸盐(PO_4^{3-})、氨氮(NH_4^+)、总氮(TN)、总磷(TP)使用全自动化学分析仪(Smart-Chem 200 Discrete Analyzer, Westco Scientific Instruments)进行测定, 其中, 测定硝酸盐(NO_3^-)、亚硝酸盐(NO_2^-)、活性磷酸盐(PO_4^{3-})、氨氮(NH_4^+)含量的水样需先经 0.45 μm 孔径的玻璃纤维滤膜(GF/F, 50 mm)过滤。总氮(TN)和硝酸盐(NO_3^-)

含量使用镉铜还原法测定, 亚硝酸盐(NO_2^-)含量使用重氮-偶氮法测定, 氨氮(NH_4^+)使用水杨酸分光光度法测定, 总磷(TP)和活性磷酸盐(PO_4^{3-})含量采用抗坏血酸还原磷钼蓝法测定。以上所有指标均在 1 周内完成。

1.3 DNA 提取及测序

使用 DNA 提取试剂盒(minkgene Water DNA kit)提取浮游细菌 DNA, 用 NanoDrop One 分光光度计(Thermo Fisher Scientific)测定 DNA 浓度和纯度。浮游细菌群落由代表细菌 16S rRNA 基因的 V4 区通用引物 515f (5'-GTGCCA GCMGCCGCGGTAA-3')和 806r (5'-GGACTA CNNGGTTATCTAAT-3')进行扩增^[11], 并使用 Illumina 公司 HiSeq 2500 平台生成 250 bp 的双端配对序列(广东美格基因生物技术有限公司)。

1.4 生物信息学分析

原始的双端序列已保存在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中, Bioproject 编号为 PRJNA776657, 接受号为 SRP344822。

测序数据的生物信息学处理通过 USEARCH (v11.0.667_i8) 进行。使用 UNOISE3 算法对合并序列进行去噪(unoise_alpha=2, minsize=4, 按默认设置), 纠正错误并去除嵌合体后生成零半径操作分类单元(zero-radius operation taxon unit, ZOTU)^[12], 并量化生成 ZOTU 表。使用 SILVA 数据库(v 138)使用 RDP 分类器为每个 ZOTU 分配 99%相似度的代表性序列。

1.5 数据统计分析

本研究的数据预处理均在 EXCEL 中完成, 除浙闽生态牧场技术示范区周年采样点图由 ArcGIS 10.6 完成外, 进一步分析及可视化均在 R 4.0.3 中借助 ggplot2 包完成。

使用 corrplot 包中的 corr.test() 函数计算 α 多样性与环境因子之间的相关性, 并使用 corrplot() 函数进行可视化。使用 vegan 包中的函数 adonis() 进行置换多变量方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)。聚类分析采用软件包 vegan 中的 hclust() 函数。利用 ape 包中的函数 cmdscale() 和 plyr 包中的函数 ddply() 进行主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA), 可视化浮游细菌群落的整体结构^[13]。采用 Partial Mantel 检验计算环境变量与浮游细菌 α 多样性之间的显著相关性, 并使用 vegan 包中的函数 mantel.partial() 进行校正。

生态过程的贡献(确定过程和随机过程)由 β 最近分类单元指数(β -nearest taxon index, β NTI) 计算得到, β NTI 使用 picante 和 ape 包计算 β 平均最小分类距离(β -mean nearest taxon distance, β MNTD) 与以标准差为单位的零值 β MNTD 之间的差异得到^[14-15]。如果观察到的 β MNTD 显著大于或小于无效的预期系统发育转换(β NTI > +2 或 < -2), 则可以推断异质选择或

同质选择(在异质或同质环境条件下)分别控制群落之间的系统发育差异或相似性。对于具有非显著 β NTI 值($|\beta$ NTI| < 2) 的所有群落对, 进一步使用基于 Bray-Curtis 相似性距离的修正 Raup-Crick 度量(RC_{bray})^[16], 评估观察到的 ZOTUs 成分周转率与零预期的标准化偏差^[14]。当 $|\beta$ NTI| < 2 时, 如果 RC_{bray} > +0.95 或 < -0.95, 可以推断扩散限制或均质化扩散分别控制群落之间的组成差异或相似性; 当 RC_{bray} 值介于 -0.95 和 +0.95 时, 则控制群落组成的过程是任何单一过程非主导的^[15]。

细菌群落距离衰减模型由 geosphere 包进行, 细菌群落多样性及回归分析由 vegan 包进行, 主坐标分析由 ape 和 plyr 包进行, 差异分析由 edgeR 和 indicspecies 包进行, 并均由 ggplot2 包进行可视化。

浮游细菌功能预测使用原核生物分类群的功能注释(functional annotation of prokaryotic taxa, FAPROTAX) 进行^[17], 版本为 FAPROTAX 1.2.4。

2 结果与分析

2.1 浮游细菌 α 多样性的时空变化规律

对浙闽沿海浮游细菌 α 多样性中的 Shannon、Chao1、richness 以及 Simpson 指数进行分析, 其中 Shannon 指数代表群落多样性, Chao1 和 richness 指数代表物种丰富度, Simpson 指数代表物种优势度, 上述指数在同一季节的 2 个示范区之间均没有显著差异, 但在同一示范区中存在季节的变化(图 2)。除代表物种优势度的 Simpson 指数在冬季达到最大平均值, 在秋季达到最小平均值外, 洞头示范区代表生物群落多样性的 Shannon 指数、代表物种丰富度的 Chao1 指数和 Richness 指数都在秋季达到最大平均值, 在夏季达到最小平均值;

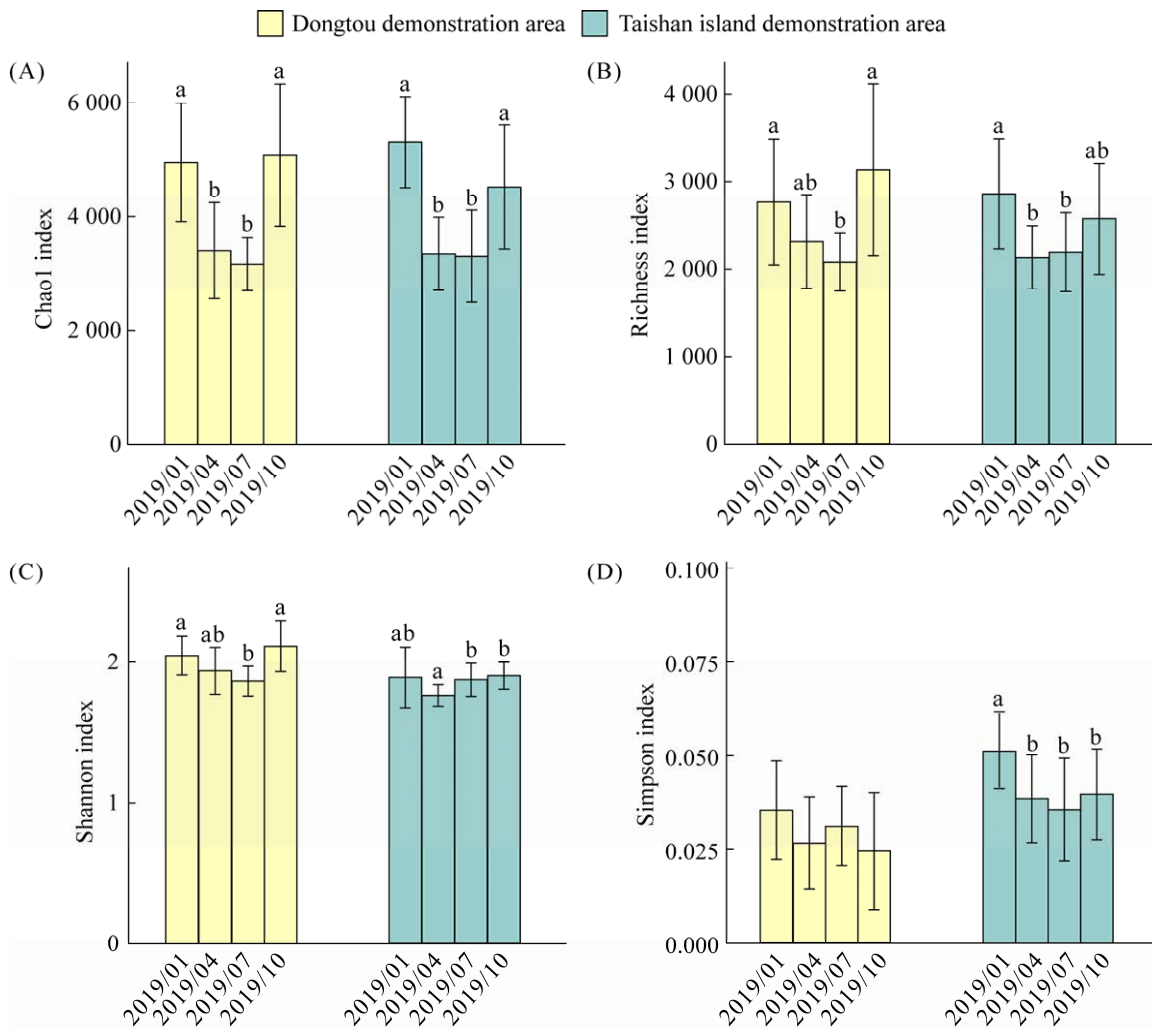


图 2 示范区 α 多样性的时空变化

Figure 2 Spatio-temporal variation of alpha diversity in demonstration areas. A: variance of Chao1 index among different seasons in demonstration areas; B: variance of richness index among different seasons in demonstration areas; C: variance of Shannon index among different seasons in demonstration areas; D: variance of Simpson index among different seasons in demonstration areas. Different lowercase letters on the error line indicate significant difference between the two groups based on one-way analysis of variance (one-way ANOVA, $P < 0.05$).

台山岛示范区的 Shannon、Chao1、Richness 以及 Simpson 指数的平均值都在冬季达到最大值, 而最小平均值则出现在夏季或秋季。

将浮游细菌 α 多样性中的 4 个指数与主要环境因子进行 Spearman 相关性分析(图 3), 2 个海区中的 α 多样性指数与大多数环境因子

都存在着显著的相关性。其中, 大多数营养盐(如 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+ 等)与 α 多样性呈正相关, 而水温(T)和经度则呈负相关。其中 Richness 指数和 Chao1 指数在 2 个示范区受环境因子的影响较显著, 且在台山岛示范区呈现出纬度多样性变化。

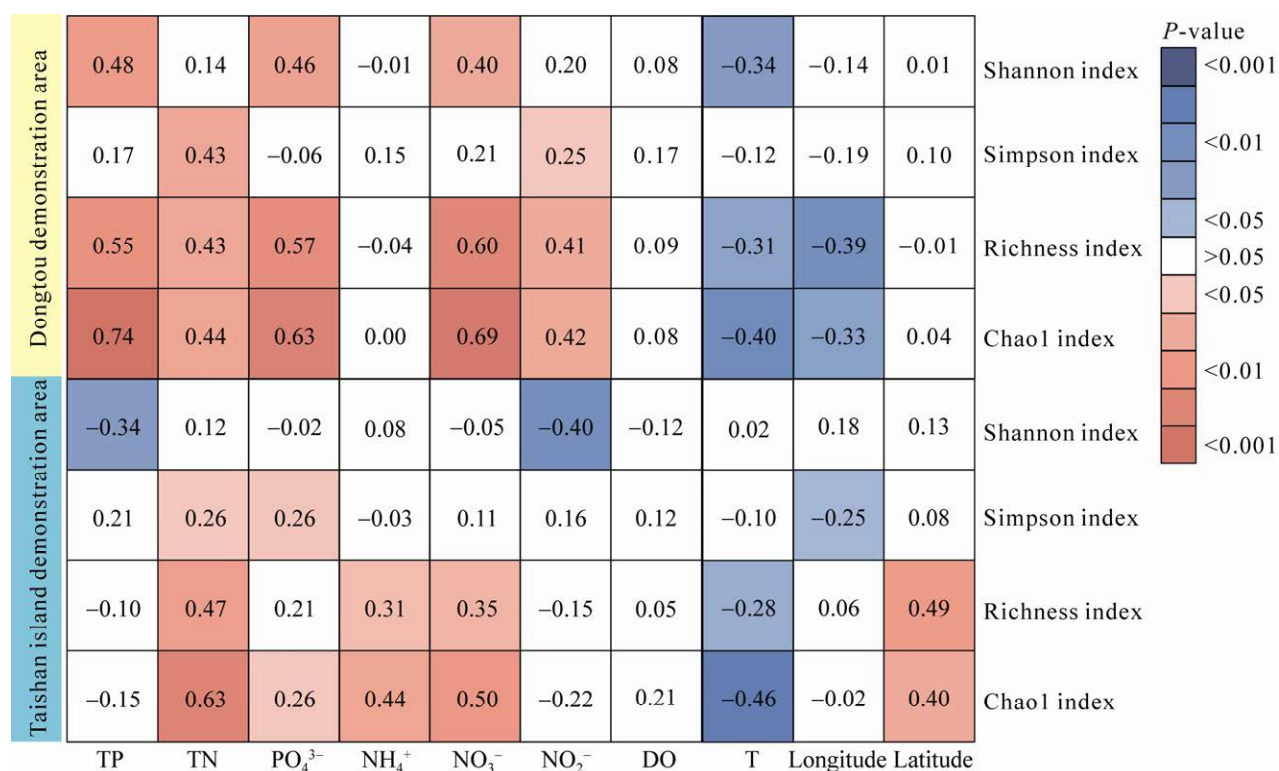


图3 示范区 α 多样性与主要环境因子的 Spearman 相关性

Figure 3 Spearman correlation between alpha diversity and main environmental factors in demonstration areas. The numbers in the grid represent the Spearman correlation index between the alpha diversity index and the corresponding environmental factors. The blue square represents a significant negative correlation, the red square represents a significant positive correlation, the darker the color, the more significant the correlation. The white squares represent insignificant correlations. T: water temperature; DO: dissolved oxygen; TN: total nitrogen; TP: total phosphorus.

2.2 浙闽沿海示范区浮游细菌群落结构的时空变化

对浙闽沿海示范区的浮游细菌分析共得到 2 510 976 条高质量序列, 所有样本进一步划分为 13 914 条 ZOTUs。浮游细菌组成存在显著时空变化(图 4), 洞头示范区的浮游细菌主要由 α 变形菌纲(平均相对丰度为 27.41%)、 γ 变形菌纲(平均相对丰度为 22.09%)、黄杆菌纲(平均相对丰度为 8.82%)以及 β 变形菌纲(平均相对丰度为 6.55%)组成, 且这些浮游细菌的相对丰度在不同季节具有基于相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)的极显著差异($P<0.001$)。台山岛示范

区的主要浮游细菌类群与洞头示范区相似, 其相对丰度在不同季节之间差异极显著(ANOSIM, $P<0.001$), 在同一季节的 2 个示范区之间同样有显著差异。如台山岛示范区在冬季观测到了相对丰度较洞头示范区显著较高($P<0.001$)的 ϵ 变形菌纲(平均相对丰度为 7.71%)。

基于 Bray-Curtis 相似性距离矩阵的主坐标分析显示, 洞头示范区($R^2=0.458\ 9$, $P<0.001$)和台山岛示范区($R^2=0.544\ 7$, $P<0.001$)的浮游细菌群落不同季节之间都具有基于 PERMANOVA 的显著差异(图 5B、5C)。两个示范区不同季节之间浮游细菌群落的构成都具有基于 PERMANOVA

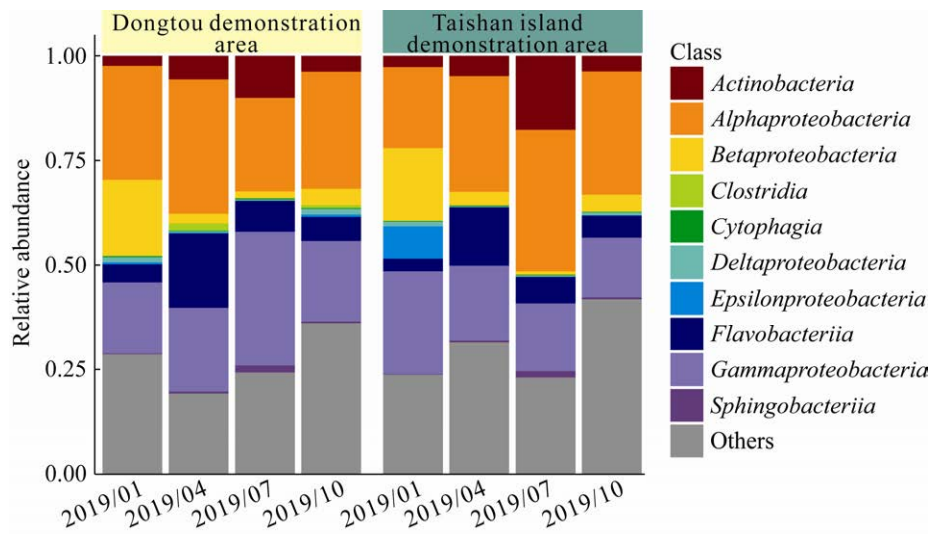


图 4 示范区主要浮游细菌在纲水平的周年变化

Figure 4 The main changes of bacterioplankton in the demonstration areas at class level.

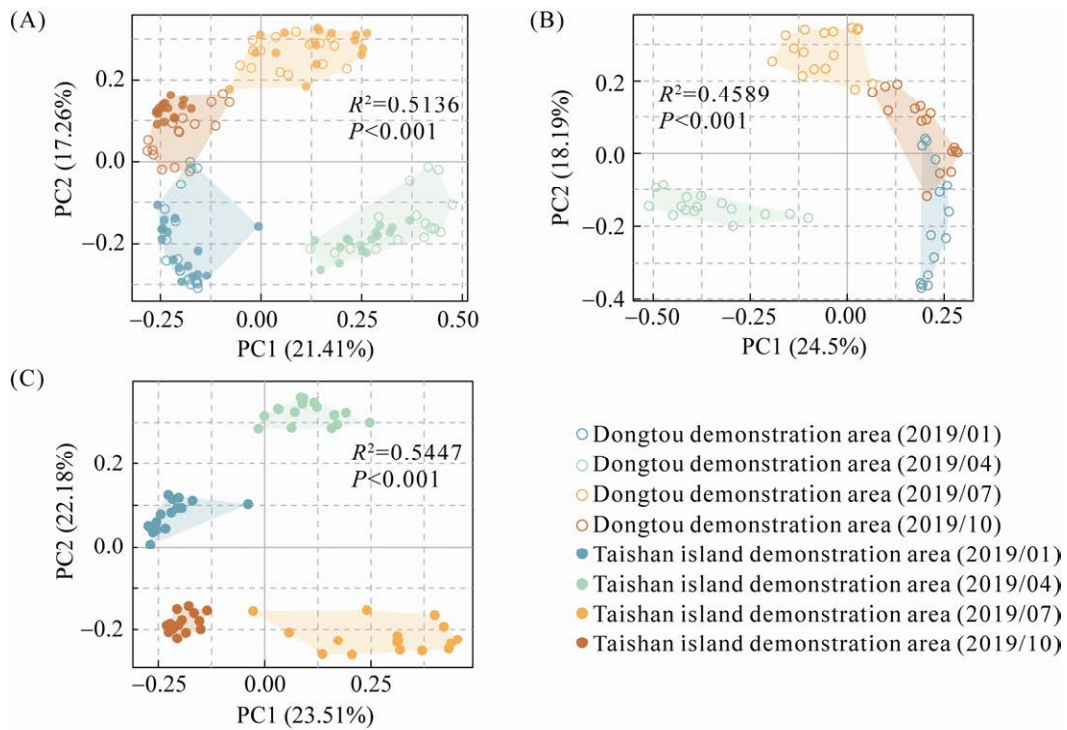


图 5 示范区浮游细菌群落结构 β 多样性的变化

Figure 5 Changes in beta diversity of bacterioplankton community structure in demonstration areas. A: PCoA (principal coordinate analysis) based on Bray-Curtis dissimilarity of bacterioplankton in Dongtou and Taishan island demonstration areas; B: PCoA of bacterioplankton in Dongtou demonstration area based on Bray-Curtis dissimilarity; C: PCoA of bacterioplankton in Taishan island demonstration area based on Bray-Curtis dissimilarity. The R^2 and P -values in the figures are based on PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance).

的极显著差异($P<0.001$),但是台山岛示范区不同季节之间的 R^2 绝对值均大于洞头示范区(表 1)。

双因子交叉相似性分析(two-way crossed ANOSIM)显示,海区($R=0.376$, $P=0.01$)和采样季节($R=0.929$, $P=0.001$)均显著影响浮游细菌群落结构,而且采样季节对细菌群落结构变异的影响更大。

2.3 浮游细菌群落结构的构建过程

洞头示范区和台山岛示范区浮游细菌群落结构的构建主要以随机性过程为主(图 6),确定性过程中的同质性选择对 2 个海区的浮游细菌几乎没有影响,而异质性选择的影响也十分有限,且占比在不同海区和季节中变化较小(图 6A、6B)。与此同时,随机性过程中的均质化传播所占比例也较小,且在 2 个海区都主要在冬季和秋季产生影响;而扩散限制和非主导

表 1 示范区浮游细菌群落结构在不同季节间的差异

Table 1 The difference of bacterioplankton community structure in different seasons in the demonstration areas

Seasons	Dongtou demonstration area	Taishan island demonstration area
Winter vs spring	0.397***	0.453***
Winter vs summer	0.367***	0.404***
Winter vs autumn	0.259***	0.451***
Spring vs summer	0.359***	0.405***
Spring vs autumn	0.438***	0.587***
Summer vs autumn	0.309***	0.400***

PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance) was used to analyze differences between groups. The value in the table was R^2 , and *** represented $P<0.001$.

在不同海区和季节之间占比差异较大(图 6A、6B),如台山岛示范区夏季的浮游细菌群落主要受扩散限制影响(72.21%),而该海区秋季受该过程影响的占比仅为 1.64%。

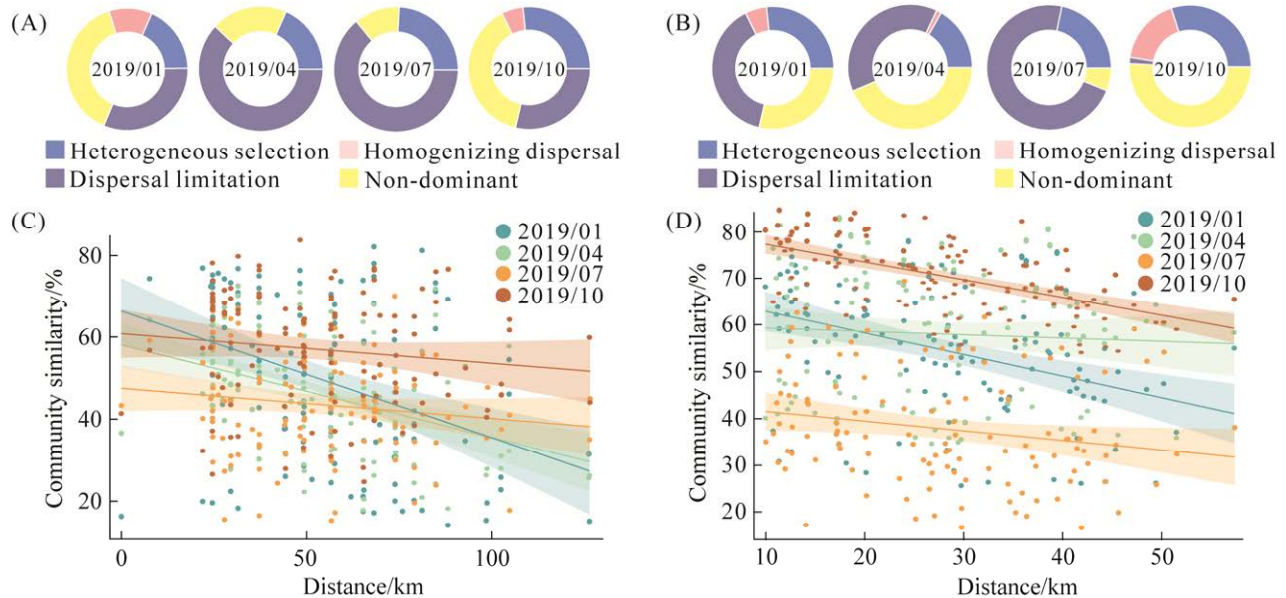


图 6 示范区浮游细菌的构建过程和群落相似性地理格局

Figure 6 The mechanism and geographic pattern of bacterioplankton community similarity in demonstration areas. A: the mechanism of bacterioplankton in Dongtou demonstration area; B: the mechanism of bacterioplankton in Taishan island demonstration area; C: geographic pattern of bacterioplankton community similarity in Dongtou demonstration area; D: geographic pattern of bacterioplankton community similarity in Taishan island demonstration area.

基于地理距离的进一步分析结果表明, 2 个示范区中除春季的台山岛示范区外, 大多数季节的浮游细菌群落都呈现出了显著的距离衰减模式(图 6C、6D)。就洞头示范区而言, 冬季($R^2_{\text{adj}}=0.1366$, $P<0.001$)和春季($R^2_{\text{adj}}=0.1565$, $P<0.001$)的浮游细菌群落相似性随地理距离增加而降低的程度最显著, 而夏季($R^2_{\text{adj}}=0.0121$, $P=0.119$)和秋季($R^2_{\text{adj}}=0.0088$, $P=0.1539$)没有呈现出显著的衰减趋势, 且夏季浮游细菌群落的相似性整体处于较低水平(图 6C); 台山岛示范区除春季外($R^2_{\text{adj}}=-0.0051$, $P=0.532$), 其余 3 个季节的浮游细菌群落相似性都具有显著的地理距离衰减, 但总体相似性也呈现出夏季最低($R^2_{\text{adj}}=0.0292$, $P<0.05$)、冬季其次($R^2_{\text{adj}}=0.1431$, $P<0.001$)、秋季最高($R^2_{\text{adj}}=0.3334$, $P<0.001$)的状态(图 6D)。

对 2 个示范区不同季节的浮游细菌群落与主要环境因子之间的冗余分析结果表明, 大多数环境因子都与浮游细菌的群落结构存在显著相关性(图 7), 且两地不同季节的浮游细菌群落与不同环境因子之间存在不同的相关性。其中, 2 个示范区春季的浮游细菌群落主要与 NO_2^- 和 NO_3^- 浓度呈正相关, 冬季则与它们呈负相关并与 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 呈正相关; 夏季两地的浮游细菌受经纬度影响较为显著, 秋季则与水温 and 溶解氧相关。

2.4 浙闽沿海示范区浮游细菌群落的功能构成

通过 FAPROTAX 功能预测, 共鉴定到属于 68 类生态功能的浮游细菌, 2 个示范区浮游细菌的生态功能随季节变化具有基于 PERMANOVA 的显著差异($P<0.001$), 且不同季节之间也具有显著差异(图 8A、8B)。洞头示范区和台山岛示

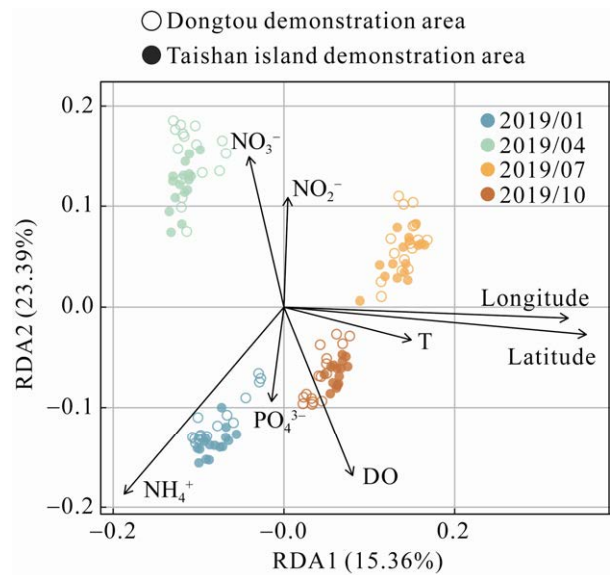


图 7 示范区浮游细菌与主要环境因子之间的关系
Figure 7 Relationship between bacterioplankton and main environmental factors in demonstration areas. Before redundancy analysis (RDA), we use variance inflation factors (VIFs) to test whether collinearity exists between environment/space factors, and remove variables with inflation factors greater than 20. At the same time, the forward selection method was used to select explanatory variables with significant influence ($P<0.05$) for further analysis. T: water temperature; DO: dissolved oxygen.

范区浮游细菌的主要生态功能都是化合物降解以及氮循环相关的, 相关 ZOTUs 丰度位于前 10 位的功能主要由化能异养、硝酸盐还原、化合物降解、氮呼吸以及动物寄生虫等构成(图 8C、8D)。聚类分析结果显示, 浙闽沿海示范区的浮游细菌功能主要呈现出以季节差异为簇的聚类, 其中台山岛示范区相对于洞头示范区季节区分更为显著, 但两地都呈现出了冬、春季化能异养与需氧化能异养功能相对丰度更高, 其余主要功能在夏、秋季占比更高的现象(图 8C、8D)。

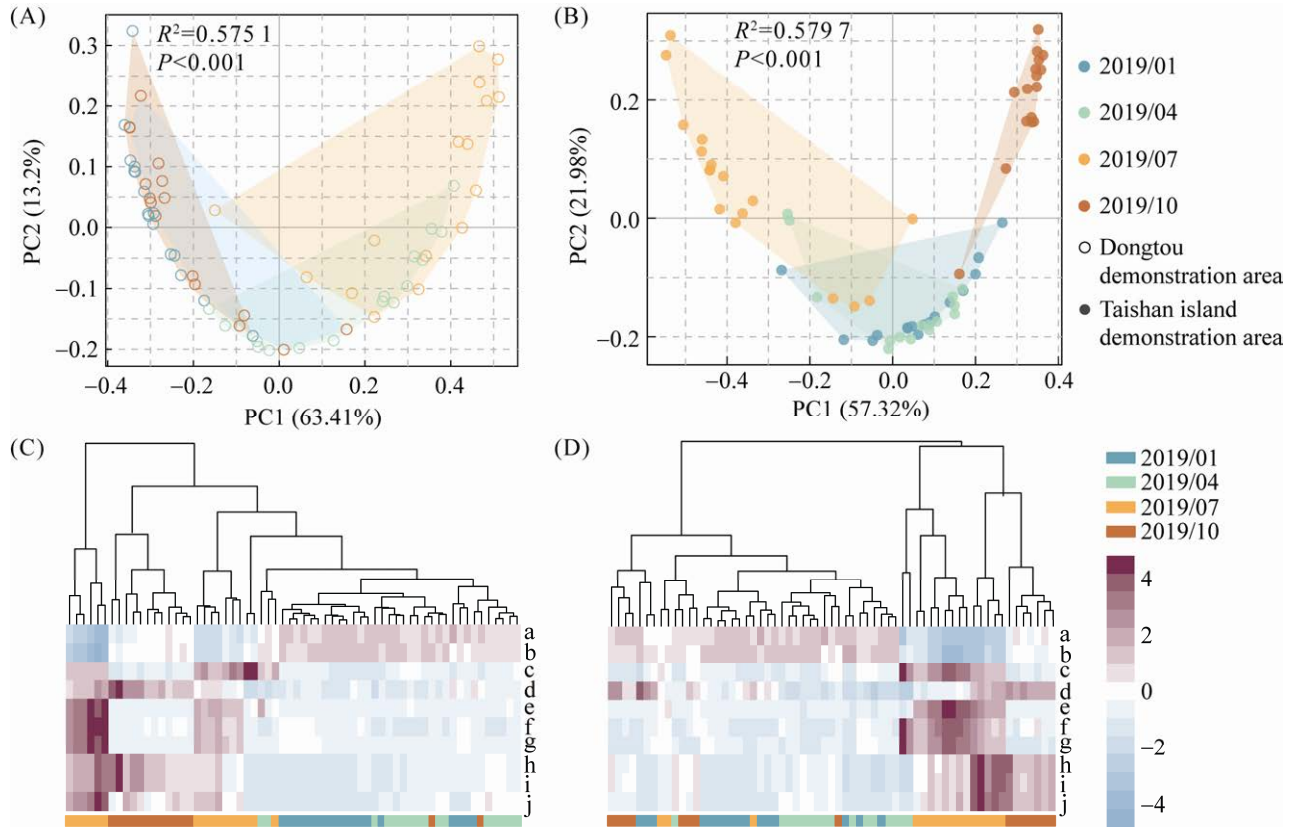


图 8 示范区浮游细菌生态功能的时空变化

Figure 8 Annual changes of bacterioplankton ecological function in demonstration areas. A: PCoA (principal coordinate analysis) of the ecological function of bacterioplankton in Dongtou demonstration area based on Bray-Curtis dissimilarity; B: PCoA of the ecological function of bacterioplankton in Taishan island demonstration area based on Bray-Curtis dissimilarity; C: seasonal variation of the main ecological functions of bacterioplankton in Dongtou demonstration area; D: seasonal variation of main ecological functions of bacterioplankton Taishan island demonstration area. The R^2 and P -values in the PCoA figures are based on PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance). The colorful blocks below the heat map represents different seasons. a: chemoheterotrophy; b: aerobic_chemoheterotrophy; c: hydrocarbon_degradation; d: nitrate_reduction; e: aliphatic_non_methane_hydrocarbon_degradation; f: aromatic_compound_degradation; g: aromatic_hydrocarbon_degradation; h: nitrogen_respiration; i: nitrate_respiration; j: animal_parasites_or_symbionts.

3 讨论

3.1 示范区浮游细菌群落的演替规律

汕头示范区和台山岛示范区都位于亚热带沿海，它们的浮游细菌群落组成主要受到季节影响而发生演替。尽管存在着地理位置和环境参数的差异，2个示范区之间浮游细菌的 α 多

样性并没有呈现出显著的差异，这与以往对于亚热带海域浮游细菌研究中空间异质性较弱的结果相吻合^[18]，且它们的 α 多样性主要受季节演替导致的环境变化影响(图 2、图 3)。尽管在本研究中 2 个示范区浮游细菌 α 多样性的差异更多受温度影响，但相关研究发现，在不同温度或营养盐条件下，不同环境因子对于细菌物

种多样性的影响程度也不同。2 个示范区在同一季节的浮游细菌群落的 α 多样性在本研究中呈现出的无显著性差异, 可能与浙闽沿海多重环境梯度复合影响下产生的水床效应有关^[19]。

与众多在其他海洋生态系统中观察到的结果相似^[20-21], 本研究中的浮游细菌主要由变形菌门、拟杆菌门、放线菌门以及黄杆菌门组成(图 4)。2 个示范区 α 变形菌纲中的浮游细菌多为红细菌目(*Rhodobacterales*), 而 γ 变形杆菌纲则主要由交替单胞菌目(*Alteromonas*)和海洋螺菌目(*Oceanospirillales*)组成, 它们往往承载着与化合物降解有关的生态功能^[22-24]。值得注意的是, 伯克氏菌目(*Burkholderiales*)中的多种细菌在 2 个示范区都具有较高的相对丰度, 而广泛的研究表明伯克氏菌目包含多种致病菌^[25]; ϵ 变形菌纲也在多项研究中被证实与硫化物循环有关^[26], 而该纲中包含的弧菌属(*Vibrio*)也被证实拥有许多致病性细菌^[27-28]。与此同时, 黄杆菌纲(*Flavobacteriia*)在 2 个示范区都于春季出现显著较高的相对丰度, 而显著丰富的放线菌纲(*Actinobacteria*)则于夏季出现, 这 2 个纲中包含的大多数浮游细菌种类都与化能异养有关^[29-30]。

由此可见, 2 个示范区都存在浮游细菌的季节演替, 且四季中相对丰度都较高的化能异养细菌和潜在益生菌为当地的鱼类生长繁殖提供了保障, 但冬季 2 个示范区中的浮游细菌对于鱼类的正面影响有限, 尤其是台山岛示范区冬季显著较多的潜在致病菌会对当地的鱼类产生负面影响。

3.2 示范区浮游细菌群落的构建过程

自然海域中浮游细菌群落的构建是一个复杂的过程, 确定性和随机性是海洋中微生物群落构建的两大过程, 它们都会影响物种在群落中的装配^[14,33]。在确定性过程中, 微生物存在

与否以及其相对丰度都与生态选择有关, 受到生物和非生物因素影响; 随机过程则包括一些没有办法由环境决定的变化, 如微生物相对丰度的随机变化和扩散等^[16]。一些研究认为, 确定性过程决定了浮游细菌的群落构建^[10,31], 另一些研究则认为随机性过程的影响可能会超过确定性过程^[32-33], 本文的研究结果更支持后一种结论。2 个示范区浮游细菌群落不同季节的随机性构建过程中存在显著差异, 但以扩散限制为主(图 6A、6B), 说明浮游细菌群落存在地理距离上的差异。扩散限制使浮游细菌的移动受限, 从而增加不同微生物社群之间结构的多样性^[33], 即随着地理距离的增加, 浮游细菌群落的相似性会随之降低。2 个示范区扩散限制的比例均在夏季达到最高, 夏季由于表层水温较高而减弱的水体交换是造成这个现象的原因之一, 而台山岛示范区夏季浮游细菌较低的群落相似性以及随地理距离增加的大幅衰减与该区域夏季极高的扩散限制比例相印证(图 6D), 进一步的冗余分析中夏季 2 个示范区中浮游细菌群落与经纬度密切相关的相关性也从另一方面验证了这一点(图 7)。洞头示范区浮游细菌群落相似性随地理距离的变化并没有完全受扩散限制的比例影响, 尽管夏季浮游细菌的群落相似性相较于其他季节显著偏低, 但它随地理距离的衰减幅度也显著小于冬季和春季(图 6C), 由此可见浮游细菌的构建过程是复杂的, 受多因素影响的。

均质化传播对于浮游细菌群落相似性的影响与扩散限制相反, 占比更高的均质化传播反而能够使得地理距离对于浮游细菌群落结构的影响更小^[33]。尽管 2 个示范区浮游细菌群落构建过程中均质化传播占比较高的都是冬季和秋季, 但秋冬季不同示范区浮游细菌群落相似性的距离衰减程度却并不都与之相印证。其中,

洞头和台山岛示范区秋季较高的浮游细菌群落相似性能被该季节较高的均质化传播比例解释,而2个示范区冬季的群落相似性距离衰减程度则相对于该季节的均质化传播比例较大(图6)。

尽管随机性过程解释了一部分浙闽沿海示范区的浮游细菌群落结构的构建过程,但异质性选择在其中起到的作用仍不容忽视(图6A、6B)。2个示范区异质性选择的比例基本都在15%–30%之间浮动,且在夏季和秋季浮游细菌的构建过程中占比显著高于冬季和春季,异质性选择比例的增大也意味着浮游细菌群落的更大差异,且环境因子的变化是造成这种差异的主要原因^[33],这与示范区中拟进行的一系列水产养殖活动有关。与大多数具有养殖功能的近岸海域相似^[34–35],营养盐浓度仍是影响浮游细菌群落结构的主要因素,而周年采样涉及到的水温、溶解氧变化也在一定程度上影响了浮游细菌的群落构建^[36]。

3.3 示范区浮游细菌生态功能预测

目前对于环境中浮游细菌的研究的关注点主要是浮游细菌的群落结构、组成以及分布特征和影响因素等,针对浮游细菌相关生态功能的研究较少。FAPROTAX是目前广泛运用于原核微生物生态功能预测的分析流程^[17],它收录了碳、氮、磷、硫等元素循环及动植物病原、甲烷生成、发酵等80多种功能分类,覆盖了超过4600个不同原核物种,对于环境样本的生物化学循环过程有较好的预测效果,且已有较多通过FAPROTAX开展微生物的功能预测分析的相关研究^[37]。本研究采用FAPROTAX分析预测浙闽沿海示范区浮游细菌的生态功能,对洞头和台山岛示范区不同季节浮游细菌的生物地球化学循环的过程进行了研究。

与其他采用FAPROTAX功能预测的研究

结果相似^[37],本研究浮游细菌群落注释的预测结果中占比较大的都是同化作用、异化作用以及多种化合物的降解作用(图8C、8D)。在2个示范区夏季和秋季中占比较高的是参与氮循环(如硝酸盐还原、氮呼吸、硝酸盐呼吸等)的浮游细菌(图8C、8D),说明在这2个季节中有较多细菌参与了TN、NO₂⁻、NO₃⁻以及NH₄⁺的去除,夏、秋季相对较低的氮营养盐水平或许是这些浮游细菌大量存在的效果。但与此同时,具有化合物降解相关的功能(如碳氢化合物降解、脂肪族化合物降解、芳香烃化合物降解)的浮游细菌都仅在夏季占比较大,这意味着夏季水体垂直交换的减弱使得多种有机化合物在表层水体的滞留时间变长,从而促进了大量具有化合物降解功能的浮游细菌生长繁殖。在丰度位于前10的预测功能中,动物寄生/共生是唯一1个与海洋生物健康相关的功能注释,此功能相关的浮游细菌在夏季相对丰度最高,暗示着夏季2个示范区存在潜在的鱼类健康威胁。

在时间尺度上,春季和冬季浮游细菌的功能结果趋于相似,夏季和秋季的预测结果的聚类也较近,水温以及相关环境因子或许是导致不同季节浮游细菌群落功能注释结果变化的主要原因。由于所处纬度更低,且海域范围较小,台山岛示范区一年四季的气温及水体理化参数的变异相较于洞头示范区较低,这也解释了台山岛示范区不同季节之间更强的功能冗余。

尽管本研究中FAPROTAX功能预测的结果在一定程度上能够与浙闽沿海浮游细菌群落结构以及主要环境参数的变化相印证,但仍存在一定局限性。通过FAPROTAX获得的浙闽沿海示范区的浮游细菌主要功能都集中在化能异养以及氮硫循环方面,并不能全面地反映当地浮游细菌的所有生态功能。

参考文献

- [1] 唐启升, 苏纪兰. 海洋生态系统动力学研究与海洋生物资源可持续利用. 地球科学进展, 2001, 16(1): 5–11.
Tang QS, Su JL. Study on marine ecosystem dynamics and living resources sustainable utilization. *Advance in Earth Sciences*, 2001, 16(1): 5–11. (in Chinese)
- [2] 杨红生. 我国海洋牧场建设回顾与展望. 水产学报, 2016, 40(7): 1133–1140.
Yang HS. Construction of marine ranching in China: reviews and prospects. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(7): 1133–1140. (in Chinese)
- [3] 徐韧. 浙江及福建北部海域环境调查与研究. 第一版. 北京: 科学出版社, 2014.
- [4] 李建生, 严利平, 胡芬, 张辉. 温台渔场日本鲭的繁殖生物学特征. 中国水产科学, 2015, 22(1): 99–105.
Li JS, Yan LP, Hu F, Zhang H. The reproductive biology of chub mackerel (*Scomber japonicus*) in Wen-Tai fishing ground. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(1): 99–105. (in Chinese)
- [5] 卢振彬. 闽东渔场不同生态类群的鱼类资源生产量. 中国水产科学, 2005, 12(6): 731–738.
Lu ZB. Fish stock yield by various eco-groups in eastern Fujian fishing ground. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(6): 731–738. (in Chinese)
- [6] 侯瑞, 白洁, 刘小沙, 高会旺, 赵阳国. 南海南部海域异养浮游细菌生长对外源营养物的响应. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2015, 45(10): 103–108.
Hou R, Bai J, Liu XS, Gao HW, Zhao YG. Response of heterotrophic bacterioplankton growth to exogenous nutrients in southern of South China Sea. *Periodical of Ocean University of China*, 2015, 45(10): 103–108. (in Chinese)
- [7] 胡常巨, 熊金波, 陈和平, 王凯, 叶然, 崔永平, 朱建林, 张德民. 象山港网箱养殖区与非养殖区的细菌群落分布. 生态学报, 2015, 35(24): 8053–8061.
Hu CJ, Xiong JB, Chen HP, Wang K, Ye R, Cui YP, Zhu JL, Zhang DM. Distribution of bacterioplankton communities in cage culture and non-cultured areas of Xiangshan Bay, Ningbo, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(24): 8053–8061. (in Chinese)
- [8] Sherr E, Sherr B. Role of microbes in pelagic food webs: a revised concept. *Limnology and Oceanography*, 1988, 33(5): 1225–1227.
- [9] Fuhrman JA. Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 2009, 459(7244): 193–199.
- [10] Sunagawa S, Coelho LP, Chaffron S, Kultima JR, Labadie K, Salazar G, Djahanschiri B, Zeller G, Mende DR, Alberti A, Cornejo-Castillo FM, Costea PI, Cruaud C, D’Ovidio F, Engelen S, Ferrera I, Gasol JM, Guidi L, Hildebrand F, Kokoszka F, Lepoivre C, Lima-Mendez G, Poulain J, Poulos BT, Royo-Llonch M, Sarmento H, Vieira-Silva S, Dimier C, Picheral M, Searson S, Kandels-Lewis S, Tara Oceans coordinators, Bowler C, De Vargas C, Gorsky G, Grimsley N, Hingamp P, Iudicone D, Jaillon O, Not F, Ogata H, Pesant S, Speich S, Stemmann L, Sullivan MB, Weissenbach J, Wincker P, Karsenti E, Raes J, Acinas SG. Ocean plankton. Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 2015, 348(6237): 1261359.
- [11] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS*, 2011, 108(Suppl 1): 4516–4522.
- [12] Edgar RC. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing. *bioRxiv*, 2016. DOI: 10.1101/081257.
- [13] Zhang J, Liu YX, Zhang N, Hu B, Jin T, Xu H, Qin Y, Yan P, Zhang X, Guo X, Hui J, Cao S, Wang X, Wang C, Wang H, Qu B, Fan G, Yuan L, Garrido-Oter R, Chu C, Bai Y. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(6): 676–684.
- [14] Stegen JC, Lin X, Fredrickson JK, Chen X, Kennedy DW, Murray CJ, Rockhold ML, Konopka A. Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them. *The ISME Journal*, 2013, 7(11): 2069–2079.
- [15] Stegen JC, Lin XJ, Fredrickson JK, Konopka AE. Estimating and mapping ecological processes influencing microbial community assembly. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 370.
- [16] Chase JM, Kraft NJB, Smith KG, Vellend M, Inouye BD. Using null models to disentangle variation in community dissimilarity from variation in α -diversity. *Ecosphere*, 2011, 2(2): 1–11.
- [17] Louca S, Parfrey LW, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science*, 2016, 353(6305): 1272–1277.
- [18] 江晓亮. 大亚湾海域浮游细菌群落结构的时空变化. 暨南大学硕士学位论文, 2013.
- [19] Wang J, Pan F, Soininen J, Heino J, Shen J. Nutrient enrichment modifies temperature-biodiversity relationships in large-scale field experiments. *Nature Communications*, 2016, 7: 13960.

- [20] Alonso-Sáez L, Díaz-Pérez L, Morán XAG. The hidden seasonality of the rare biosphere in coastal marine bacterioplankton. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(10): 3766–3780.
- [21] Chow CET, Sachdeva R, Cram JA, Steele JA, Needham DM, Patel A, Parada AE, Fuhrman JA. Temporal variability and coherence of euphotic zone bacterial communities over a decade in the southern California Bight. *The ISME Journal*, 2013, 7(12): 2259–2273.
- [22] Fu YY, Keats KF, Rivkin RB, Lang AS. Water mass and depth determine the distribution and diversity of *Rhodobacterales* in an Arctic marine system. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 84(3): 564–576.
- [23] Koch H, Dürwald A, Schweder T, Noriega-Ortega B, Vidal-Melgosa S, Hehemann JH, Dittmar T, Freese HM, Becher D, Simon M, Wietz M. Biphasic cellular adaptations and ecological implications of *Alteromonas macleodii* degrading a mixture of algal polysaccharides. *The ISME Journal*, 2019, 13(1): 92–103.
- [24] Moreira APB, Meirelles PM, de O Santos E, Amado-Filho GM, Francini-Filho RB, Thompson CC, Thompson FL. Turbulence-driven shifts in holobionts and planktonic microbial assemblages in St. Peter and St. Paul Archipelago, Mid-Atlantic Ridge, Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1038.
- [25] Yamindago A, Lee NY, Woo S, Yum S. Microbiota changes in diseased *Hydra magnipapillata*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2017, 9(5): 291–299.
- [26] Campbell BJ, Engel AS, Porter ML, Ken TK. The versatile *Epsilon-proteobacteria*: key players in sulphidic habitats. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(6): 458–468.
- [27] 王瑞, 于佳佳, 王鸿霞, 刘保忠. 副溶血弧菌攻毒过程中中文蛤肝胰腺弧菌载量变化的分析. *海洋科学*, 2019, 43(4): 29–35.
Wang R, Yu JJ, Wang HX, Liu BZ. *Vibrio* load variation in the hepatopancreas of clam (*Meretrix petechialis*) under *Vibrio parahaemolyticus* challenge. *Marine Sciences*, 2019, 43(4): 29–35. (in Chinese)
- [28] 李莹, 王波, 张培玉, 刘洪展, 郑风荣, 王宗兴, 徐宗军, 赵超. 哈维氏弧菌引起的条纹海马表皮溃疡综合征的研究. *水产学报*, 2019, 43(5): 1298–1307.
Li Y, Wang B, Zhang PY, Liu HZ, Zheng FR, Wang ZX, Xu ZJ, Zhao C. Research on epidermis ulcer syndrome caused by *Vibrio harveyi* in *Hippocampus erectus*. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(5): 1298–1307. (in Chinese)
- [29] 包明, 何红霞, 马小龙, 王朝辉, 邱炜红. 化学氮肥与绿肥对麦田土壤细菌多样性和功能的影响. *土壤学报*, 2018, 55(3): 734–743.
Bao M, He HX, Ma XL, Wang ZH, Qiu WH. Effects of chemical nitrogen fertilizer and green manure on diversity and functions of soil bacteria in wheat field. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(3): 734–743. (in Chinese)
- [30] 游偲. 海洋异养细菌对溢油污染响应特征的初步研究. 中国海洋大学硕士学位论文, 2012.
- [31] Wang K, Hu HJ, Yan HZ, Hou DD, Wang YT, Dong PS, Zhang DM. Archaeal biogeography and interactions with microbial community across complex subtropical coastal waters. *Molecular Ecology*, 2019, 28(12): 3101–3118.
- [32] Evans S, Martiny JBH, Allison SD. Effects of dispersal and selection on stochastic assembly in microbial communities. *The ISME Journal*, 2017, 11(1): 176–185.
- [33] Zhou JZ, Ning DL. Stochastic community assembly: does it matter in microbial ecology? *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2017, 81(4): e00002–e00017.
- [34] 虞嘉玥, 姜亚洲, 孙鹏, 张辉, 凌建忠. 象山港海域不同生境细菌群落结构与多样性. *生态学杂志*, 2021, 40(9): 2842–2849.
Yu JY, Jiang YZ, Sun P, Zhang H, Ling JZ. Bacterial community structure and diversity in different habitats of Xiangshan Bay. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(9): 2842–2849. (in Chinese)
- [35] 杨铭玉, 刘强, 孟庆超, 赵淑江. 东海舟山渔场近岸海域细菌群落结构分析. *中国水运: 下半月*, 2020, 20(1): 132–134.
Yang MY, Liu Q, Meng QC, Zhao SJ. Analysis of bacterial community structure in coastal waters of Zhoushan fishery in East China Sea. *China Water Transport*, 2020, 20(1): 132–134. (in Chinese)
- [36] 刘晓辉. 长江口及邻近海域海水细菌多样性及时空分布规律研究. 浙江海洋大学硕士学位论文, 2017.
- [37] 黄明荣. 厦门近岸细菌群落的物种多样性研究及其功能预测. 厦门大学硕士学位论文, 2018.

(本文责编 李磊)