

# 环境科学

# ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社

2020
Vol.41 No.5
第41卷 第5期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第5期
2020年5月15日

# 目 次

上海大气 $PM_{2.5}$ 来源解析对比:基于在线数据运用3种受体模型 …… 周敏(1997)
不同浓度臭氧对单颗粒气溶胶化学组成的影响 …… 吴梦曦,成春雷,黄渤,李梅,陈多宏(2006)
二次有机气溶胶壳对氯化钠核吸湿性的影响:基于单颗粒微观尺度 …… 张淑佳,徐亮,郭新梅,黄道,李卫军(2017)
城区与县区不同空气质量下碳组分污染特征对比分析 …… 李欣悦,张凯山,邓林俐,向锌鹏,武文琪,殷子渊(2026)
临沂市 $PM_{2.5}$ 和 $PM_{10}$ 中元素分布特征及来源解析 …… 陆平,赵雪艳,殷宝辉,张楠,王歆华,余浩,杨文,王晓丽(2036)
西安市秋冬季市区与山区微生物气溶胶组成特征及来源 …… 谢雯文,路瑞,慕飞飞,戚玉珍,白文艳,李彦鹏(2044)
北京市典型餐饮企业大气污染物排放特征 …… 何万清,王天意,邵霞,聂磊,石爱军(2050)
基于随机森林模型的中国 $PM_{2.5}$ 浓度影响因素分析 …… 夏晓圣,陈菁菁,王佳佳,程先富(2057)
大气污染联合治理分区视角下的中国 $PM_{2.5}$ 关联关系时空变异特征分析 …… 杨文涛,黄慧坤,魏东升,赵斌,彭焕华(2066)
基于地-空观测数据的粤港澳大湾区大气污染调查及时空演变特征 …… 王耀庭,梁加成,郑祚芳,李青春,李威,窦有俊(2075)
龙子祠泉域岩溶地下水水化学特征及成因 …… 唐春雷,郑秀清,梁永平(2087)
三峡水库总磷时空变化特征及滞留效应分析 …… 唐小娅,童思陈,黄国鲜,许光祥,李丹(2096)
三峡水库汛后蓄水期典型支流溶解氧与叶绿素a垂向分布特征 …… 杨凡,纪道斌,王丽婧,李虹,李莹杰(2107)
汉丰湖正式运行年水体营养盐分布特征 …… 付适,倪九派,何丙辉,李天阳,唐毅,钱田,向可翠(2116)
白洋淀水体富营养化和沉积物污染时空变化特征 …… 刘鑫,史斌,孟晶,周云桥,可欣,王铁宇(2127)
新安江水库悬浮颗粒物时空分布、沉降通量及其营养盐效应 …… 史鹏程,朱广伟,杨文斌,许海,朱梦圆,刘明亮,虞左明,吴志旭,郑文婷,王裕成,笪文怡,胡林娜(2137)
不同水文情景下高邮湖、南四湖和东平湖有色可溶性有机物的生物可利用性特征 …… 张柳青,石玉,李元鹏,郭燕妮,周蕾,周永强,张运林,杨艳(2149)
水源水库藻类功能群落演替特征及水质评价 …… 李衍庆,黄廷林,张海涵,温成成,杨尚业,林子深,高欣(2158)
人工强制混合对金盆水库水体藻类群落结构时空演替的影响 …… 王晨旭,黄廷林,李楠,齐允之,徐金兰,司凡,张晗,路林超(2166)
雄安新区-白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群落空间分布特征及驱动因素 …… 周石磊,孙悦,岳哿丞,张航,王周强,刘世崇,彭瑞哲,苑世超,李再兴,崔建升(2177)
分层型水库水体好氧不产氧光合细菌时空演替特征 …… 张海涵,王燕,黄廷林,王晨旭,路林超,司凡,李楠,刘凯文,闫苗苗,苗雨甜(2188)
大型通江湖泊有色可溶性有机物对不同水文情景的响应 …… 郭燕妮,李元鹏,石玉,张柳青,周蕾,周永强,张运林,韩龙飞(2198)
秦岭北麓河流夏季有色溶解有机物分布特征及影响因素 …… 林子深,黄廷林,杨尚业,温成成,李衍庆,周石磊,宋选社(2210)
长江下游支流水体中多环芳烃的分布及生态风险评估 …… 贾天琪,雷荣荣,武小琳,倪涛涛,孙树睿,郭伟,刘文彬(2221)
太湖水体中 NSAIDs 的时空分布规律和生态风险评价 …… 廉杰,李祎飞,王晓暄,叶彬,邹华,史红星(2229)
8种典型 PhACs 在水中的赋存、生态风险及其对大型溞的影响 …… 徐鑫磊,刘建超,陆光华(2239)
我国南方桉树人工林区水库沉积物污染物的分布特征及迁移规律 …… 朱雅,李一平,罗凡,李荣辉,黄列,程一鑫,蒋裕丰(2247)
基于连续监测的城市内河返黑返臭机制初探:以南宁市二坑溪为例 …… 李永新,王威,何妹,申泰铭(2257)
城郊流域源汇景观格局与水体抗生素的关系 …… 李敏,唐剑锋,陈利顶,赵方凯,冯青郁,杨磊(2264)
城市雨水径流中溶解性有机物的分子化学多样性 …… 聂云汉,陈浩,李磊,朱弈,赵昕,贾其隆,徐慧婷,叶建锋(2272)
方解石/氯磷灰石混合物添加对水体内源磷迁移转化的调控效应和机制 …… 柏晓云,林建伟,詹艳慧,常明玥,吴俊麟,辛慧敏,黄良君(2281)
不同环境条件下水铁矿和针铁矿纳米颗粒稳定性 …… 王智巧,马杰,陈雅丽,翁莉萍,顾亚陶,李永涛(2292)
向日葵秸秆生物炭强化Fe(Ⅲ)/$S_2O_8^{2-}$ 体系降解苯甲酸 …… 孙鹏,张凯凯,张玉,张延荣(2301)
非活化单过硫酸盐降解柳氮磺胺吡啶:动力学及机制 …… 丁曦,张学维,周润生,宋哲,严佳颖,周磊,修光利(2310)
贵州某规模化养猪场废水中抗生素的污染特征及去除效果 …… 杨钊,李江,向福亮,李彦澄,马凯,谢锋(2320)
新型填料 A/O 生物滤池处理低碳氮比农村污水脱氮 …… 赵远哲,杨永哲,王海燕,储昭升,常洋,董伟羊,闫国凯,王欢,李丛宇(2329)
贫营养好氧反硝化菌株的脱氮特性及氮/碳平衡分析 …… 文刚,王彤,黄廷林,万琪琪,曹瑞华,寇莉青,杨尚业(2339)
连续流 SNAD 工艺处理猪场沼液启动过程中微生物种群演变及脱氮性能 …… 秦嘉伟,信欣,鲁航,张萍萍,王露蓉,邹长武,郭俊元(2349)
不同培养条件厌氧氨氧化颗粒污泥性质及微生物群落结构差异 …… 姜滢,郭萌蕾,谢军祥,常尧枫,谢嘉玮,陈重军,沈耀良(2358)
反硝化除磷耦合部分亚硝化-厌氧氨氧化一体式工艺的启动 …… 陈亚,印雯,张星星,张钰,宋吟玲,吴鹏,徐乐中(2367)
土壤环境承载力评价体系构建与应用 …… 李笑诺,丁寿康,陈卫平,王夏晖,吕斯丹,刘睿(2373)
磁性生物炭的合成及对土壤重金属污染的钝化效果 …… 王俊楠,程珊珊,展文豪,任强,马晓宇,王洋洋(2381)
还原增溶强化 EGTA 淋洗修复重金属污染土壤 …… 张金永,朱玉婷,王明新,韩莹,葛嘉琦(2390)
不同价态铬和土壤理化性质对大麦根系毒性阈值的影响 …… 付平南,贡晓飞,罗丽韵,王琪,李花粉(2398)
生物炭施用对紫色土旱坡地土壤氮流失形态及通量的影响 …… 王舒,王子芳,龙翼,严冬春,慈恩,徐国鑫,李娇,高明(2406)
长期撂荒恢复土壤团聚体组成与有机碳分布关系 …… 王兴,钟泽坤,张欣怡,吴少君,卢绪巧,杨改河,任成杰,韩新辉(2416)
施用生物炭对塿土土壤微生物代谢养分限制和碳利用效率的影响 …… 王强,耿增超,许晨阳,郭靖宇,李倩倩,刘莉丽,赵汉红,杜旭光(2425)
间种高粱及施用大颗粒尿素对茶园 $N_2O$ 排放的影响 …… 张珂彬,刘新亮,康曼,王毅,沈健林,李勇(2434)
缙云山森林植被类型对土壤产 $N_2O$ 相关功能微生物的影响 …… 王蓥燕,王富华,罗东海,吕盛,王子芳,高明(2445)
咸水滴灌对棉田土壤 $N_2O$ 排放和反硝化细菌群落结构的影响 …… 郭慧楠,马丽娟,黄志杰,李美琪,侯振安,闵伟(2455)
有机质提升对酸性红壤氮循环功能基因及功能微生物的影响 …… 储成,吴赵越,黄欠如,韩成,钟文辉(2468)
模拟酸雨对毛竹阔叶林过渡带土壤真菌结构及其多样性的影响 …… 王楠,潘小承,王传宽,白尚斌(2476)
海洋沉积物中细菌 DNA 和 RNA 水平群落差异 …… 李明月,杨雨虹,米铁柱,贺惠,甄毓(2485)
2003~2013年中国湿地变化的空间格局与关联性 …… 周婷,马姣娇,徐颂军(2496)
《环境科学》征订启事(2086) 《环境科学》征稿简则(2187) 信息(2209,2263,2309)

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第41卷第5期 2020年5月
Vol.41, No.5 May, 2020

# 海洋沉积物中细菌 DNA 和 RNA 水平群落差异

李明月[1,2,3], 杨雨虹[1,2,3], 米铁柱[1,2,3], 贺惠[4], 甄毓[1,2,3]*
(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. 青岛海洋科学技术国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266071; 3. 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100; 4. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003)

**摘要**: 海洋沉积物中的微生物在生物地球化学循环中具有重要作用. 目前,细菌群落的研究多基于 16S rRNA 基因(DNA)展开,但 DNA 不仅包括活性微生物 DNA 也包括非活性微生物 DNA,而 RNA 水平则可表征环境中具有活性的微生物种群. 本研究采用荧光定量 PCR 和 Illumina 高通量测序技术,在 DNA 和 RNA 水平上研究了渤海和南黄海表层沉积物中细菌群落结构. 结果表明,细菌 DNA 基因丰度比 RNA 基因丰度高 1 ~ 2 个数量级,DNA 水平群落多样性高于 RNA 水平,二者群落结构差异显著. 沉积物中的细菌具有活跃的化能异养、硫酸盐还原和硝化作用. 基于 16S rRNA 基因的测序在探索微生物群落功能时可能会误判重要的功能微生物,总细菌群落中的"稀有生物圈"可能包含转录活跃者,发挥着重要的生物地球化学作用. 总体而言,在分析来自稳定沉积环境的细菌群落结构时,基于 16S rRNA 的研究更能反映真实的生态状况.

**关键词**: 沉积物; 细菌群落; 活性; DNA; RNA
**中图分类号**: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)05-2485-11 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201911071

# Differences Between DNA- and RNA-Based Bacterial Communities in Marine Sediments

LI Ming-yue[1,2,3], YANG Yu-hong[1,2,3], MI Tie-zhu[1,2,3], HE Hui[4], ZHEN Yu[1,2,3]*
(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China; 3. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Qingdao 266100, China; 4. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract**: Microorganisms in marine sediments play crucial roles in biogeochemical processes. Currently, 16S rRNA gene-based sequencing is popular for studying bacterial communities; however, the DNA used in analysis can include not only that from active microorganisms but also that from inactive microorganisms, while the RNA can represent active microorganisms and more recent activity in the environment; therefore, a study of the difference between the total bacterial community based on the 16S rRNA gene and the active bacterial community based on 16S rRNA will support a better understanding of bacterial community structure and function in marine sediments. In this study, the total and active bacterial community structures in surface sediments from the Bohai Sea and South Yellow Sea were investigated at DNA and RNA level using quantitative real-time polymerase chain reaction and Illumina high-throughput sequencing, respectively. The results show that the 16S rRNA gene abundances of bacterial communities are 1-2 orders of magnitude higher than the transcript abundances. The total bacterial community is more diverse compared to the active bacterial community, and there are distinct differences between them. The bacteria in the sediments take part in active chemoheterotrophy, sulfate reduction, and nitrification. Moreover, 16S rRNA gene-based sequencing misestimates some important functional microbiota when exploring bacterial community functions. The 'rare biosphere' in the total bacterial communities consists of actively transcriptional players, which could play key roles in biogeochemistry cycles. Overall, in the analysis of bacterial communities in marine sediments from a stable sedimentary environment, it is beneficial to use the 16S rRNA sequencing to reflect the true ecological status.

**Key words**: sediment; bacterial community; active; DNA; RNA

海洋沉积物覆盖面积占地球表面的 70%,是世界上最大的有机碳储存库,微生物细胞丰度超过其他任何环境[1]. 海洋沉积物中的微生物驱动许多过程,如碳、氮和硫的生物地球化学循环[2]. 一般来说,沉积物中细菌生物量和丰富度高于对应水体[3],在底栖-浮游界面耦合过程和元素循环中起着至关重要的作用[4]. 因此,细菌群落的研究有助于在微生态层面全面了解海洋沉积物中生物地球化学循环过程.

分子生态学技术对微生物群落的研究具有重要意义,已广泛应用于海洋沉积物中细菌群落研究[5~10]. 其中,现代测序技术的应用有可能彻底改变传统的生物监测技术,并通过生物指标扩展生态系统健康诊断能力[11,12]. 大多数基于序列的沉积物微生物群落研究通过扩增从样品中提取的 DNA 构

**收稿日期**: 2019-11-08; **修订日期**: 2019-11-29
**基金项目**: 国家重点研发计划项目(2017YFC1404402, 2017YFC1404404); 国家自然科学基金项目(41806131); 中国博士后科学基金项目(2018M632722); 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划项目(2016ASKJ02)
**作者简介**: 李明月(1990 ~ ), 女, 博士研究生, 主要研究方向为海洋微生物生态学, E-mail: myligoahead@163.com
* 通信作者, E-mail: zhenyu@ouc.edu.cn

建文库来实现,但是,由于 DNA 的稳定性使其来源包括活细胞、休眠细胞以及死亡细胞[13],因此,这些提取的 DNA 可能来自活性细胞、无活性但存活的细胞、已分解或死亡的细胞以及裂解或降解细胞的细胞外 DNA,特别是最后一种 DNA 可能在沉积物中普遍存在,因为矿物颗粒可以有效结合并保留 DNA[14]. 因此,基于 DNA 的群落结构分析很可能会获得大量冗余信息,而这对分析沉积物中微生物正在参与的生物地化过程尤为不利,因为人们更关注于仅占总微生物群落的一小部分直接参与底物利用和生化转化的活性微生物[15];此外,这一方法在探索微生物群落时可能会遗漏一些重要的功能微生物[16]. 为解决这一问题,研究者把目光投向了细胞中活性较高、不易保存的 RNA. 人们发现基于核糖体 RNA 的分析更能代表活细胞,可以更好地揭示微生物群落对环境变化的响应[17]. 有研究发现在特定环境中休眠细菌所占比例高达 40%,休眠体引起的活性和总微生物组成的差异,促使研究者思考可否使用基于 rRNA 的方法来连接微生物群落结构与功能[18]. 虽然,基于 16S rRNA 测序来研究活性微生物群落有许多限制,如 RNA 提取和纯化过程中 RNA 的降解、cDNA 合成效率等问题,但是,基于 rRNA 的 Illumina 测序仍然为活性微生物的群落结构分析提供了一种高通量且无需培养的方法,并已经应用于评价总微生物群落和活性微生物群落[16~17,19~22]. 目前,这一研究主要集中于土壤等生态系统[17,22],而对海洋沉积物的研究较少. 海洋沉积物环境与其他环境,甚至与海水环境之间具有显著差异,栖息于其中的微生物具有独特的群落特征[10]. 因此,有必要针对海洋沉积物进行相关研究.

渤海是我国半封闭内海,是重要的资源矿场、自然渔场和水上航线,海床浅、受人为影响大. 黄海是太平洋西部最大的一个边缘海,南黄海由于黄河的汇入、冷水团现象等,备受研究人员关注. 本研究选取两个海域的代表性采样点,以 16S rRNA 基因和 16S rRNA 为对象,采用实时荧光定量 PCR 和高通量测序技术,结合环境因子的测定,在 DNA 和 RNA 水平上分析比较海洋沉积物中细菌群落丰度、多样性、结构和功能,通过明确海洋沉积物总细菌群落和活性细菌群落的差异,以期为更准确地了解海洋沉积物中细菌群落结构和功能提供依据. 本研究系统地比较了沉积物中总细菌群落和活性细菌群落的差异,以期为细菌群落的深入研究提供基础信息,并为细菌群落与生态功能的结合指出新的可能.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

依托科学考察船,于 2018 年 8 月 22 日采集渤海 M7(120.47°E, 39.54°N)站位表层沉积物和底层水样品, 2018 年 9 月 2 日采集南黄海 3300-06 (123.80°E, 33.00°N)站位表层沉积物和底层水样品,两站位水深分别为 28 m 和 45 m(图 1). 表层沉积物(1~3 cm)用箱式采泥器采集并充分混合后置于无菌封口袋内,立即储存于 -20℃ 冰箱,带回实验室后于 -80℃ 冰箱保存. 底层水样品经 0.7 μm 玻璃纤维滤膜过滤后,滤膜储存于 -20℃ 冰箱以测定叶绿素 a(Chla),经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤后,水样分为两份,一份储存于 -20℃ 冰箱以测定氨盐($NH_4^+$)、亚硝酸盐($NO_2^-$)、硝酸盐($NO_3^-$)与磷酸盐($PO_4^{3-}$),另一份加入氯仿后常温保存以测定硅酸盐($SiO_3^{2-}$).

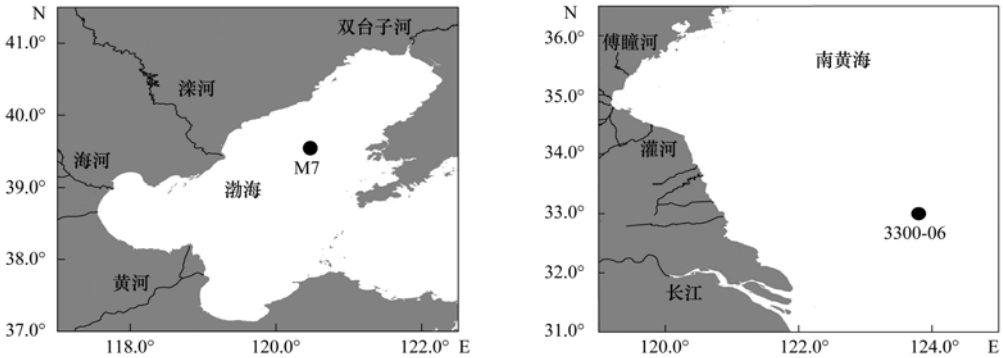



**图 1 渤海和南黄海海域采样站位示意**

Fig. 1 Sampling sites in the Bohai Sea and South Yellow Sea

### 1.2 环境因子测定

站位底层水温度($T$)、溶解氧浓度(DO)和盐度(Sal)等理化参数通过船载 CTD 多参数温盐深仪进行现场测定. 底层水样带回实验室用 Quaatro 营养盐自动分析仪测定 $NH_4^+$、$NO_2^-$、$NO_3^-$、$PO_4^{3-}$ 和 $SiO_3^{2-}$ 等营养盐参数. 并采用 Trilogy 荧光分析仪测定 Chla

浓度.

### 1.3　DNA 和 RNA 提取

沉积物样品自然解冻后，用 Power Soil DNA Isolation Kit（MOBIO，USA）提取沉积物微生物总 DNA，DNA 提取方法参照试剂盒说明书进行；DNA 提取后使用 NanoDrop（Thermo Scientific，USA）进行质量和浓度检测，琼脂糖凝胶电泳进行完整性检验，合格后于 -80℃ 保存备用. 用 Power Soil Total RNA Isolation Kit（MOBIO，USA）提取沉积物微生物总 RNA，RNA 提取方法参照试剂盒说明书进行. 所得 RNA 用 DNase Max Kit（MOBIO，USA）进行纯化去除 DNA；纯化后 RNA 同样使用 NanoDrop（Thermo Scientific，USA）进行质量和浓度检测，琼脂糖凝胶电泳进行完整性检验，并使用引物 338F/806R（表 1）扩增验证 DNA 是否去除成功；检测合格后通过 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kit（Roche，Germany）反转录为互补 DNA（complementary DNA，cDNA），所得 cDNA 经引物 338F/806R（表 1）扩增验证反转录成功后于 -80℃ 保存备用.

### 1.4　16S rRNA 基因丰度和表达丰度测定

使用引物（表 1）扩增细菌 16S rRNA 基因，PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳分离后，切胶回收目的条带. 目的条带纯化后连接到 pMD 18-T 载体上，并转化到感受态细胞中，选取阳性克隆并使用快速质粒小提试剂盒（康为，北京）提取质粒. 质粒 PCR 扩增并电泳确认阳性克隆后送样测序（华大基因，北京）. 用 Picodrop 超微量紫外分光光度计（Picodrop，UK）测得重组质粒的浓度，计算细菌 16S rRNA 基因重组质粒的拷贝浓度. 以梯度稀释质粒标准品作为模板，采用 Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System（Life Technologies，USA）进行 qPCR. 反应体系为：10 μL FastStart Universal SYBR Green Master（ROX）（Roche，Germany），0.6 μL 正向引物，0.6 μL 反向引物（表 1），2 μL 模板 DNA，6.6 μL 去离子水和 0.2 μL mg·mL$^{-1}$ 牛血清蛋白. 反应条件为：50℃ 2 min；95℃ 10 min；40 个循环，95℃ 15 s，58℃ 2 min. 扩增完毕后分析熔解曲线，确保模板 DNA 的特异性扩增. 以质粒拷贝数对数值为横坐标，平均 Ct 值为纵坐标，绘制细菌 16S rRNA 基因质粒标准曲线.

**表 1　细菌 16S rRNA 基因引物**

Table 1　Primers for bacterial 16S rRNA genes

| 项目 | 引物名称 | 引物序列（5′-3′） | 文献 |
|---|---|---|---|
| 细菌 | 338F | ACTCCTACGGGAGGCAGCAG | [23] |
| | 806R | GGACTACHVGGGTWTCTAAT | |

以沉积物中所得 DNA（总微生物群落）和 cDNA（活性微生物群落）为模板，qPCR 测定细菌 16S rRNA基因丰度和表达量丰度，步骤与上述步骤相同，每个样品设置 3 个平行，并添加阴性对照和阳性对照.

### 1.5　16S rRNA 基因扩增和测序

以提取所得 DNA（DNA 水平，总细菌群落）和合成所得 cDNA（RNA 水平，活性细菌群落）为模板，使用引物对 338F/806R（表 1），添加样本特异性 Barcode 序列，对细菌 16S rRNA 基因 V3 ~ V4 区进行 PCR 扩增. PCR 扩增产物经电泳检测合格后，进行目的片段切胶回收并纯化. 根据回收产物荧光定量结果，按照每个样品的测序需求量，对各个样本相应比例进行混合. 利用所得扩增产物构建测序文库，测序文库质检合格后上机测序，测序采用 Illumina MiSeq PE250 平台进行 2 × 300 bp 双端测序（派森诺，上海）.

得到高通量测序原始下机数据后，首先，通过控制碱基质量、序列长度和模糊碱基等对原始双端测序数据进行初步筛查. 然后，使用 FLASH 软件（v1.2.7）[24] 对双端序列进行配对连接，并按照引物和 Barcode 接头信息将序列识别分配入对应样本，从而获得每个样本的有效序列. 最后，运用 QIIME 软件（v1.8.0）[25] 识别疑问序列，并调用 USEARCH（v5.2.236）检查并剔除嵌合体序列，从而获得用于后续分析的高质量序列.

使用 QIIME 软件，调用 UCLUST[26] 对上述序列以 97% 相似度进行 OTU 划分，并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列. 采用 Silva 数据库比对代表序列[27]，得到每个 OTU 对应的分类学信息. 此外，为确保分析结果准确，将丰度值低于所有样品测序总量 0.001% 的 OTU 去除[28]. OTU 精简后，对所有样本进行均一化处理[29]，均一化后的 OTU 丰度矩阵用于后续分析. 根据 16S 序列的分类注释结果，使用原核生物功能注释（functional annotation of prokaryotic taxa，FAPROTAX）数据库预测细菌群落的生态功能[30].

### 1.6　数据分析

使用 SPSS 17.0 软件进行 Mann-Whitney 检验，分析 DNA 水平和 RNA 水平上 OTU 的注释比例的差异. 韦恩图、α-多样性指数和丰度热图分别采用 R v3.5.1 软件中的 VennDiagram、Picante 和 Pheatmap 包进行分析，主坐标分析（principal coordinates analysis，PCoA）和基于加权 UniFrac 距离的非加权组平均法（unweighted pair-group method with arithmetic means，UPGMA）聚类则使用 Vegan 包进行分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 环境因子分析

底层水环境因子如表 2 所示. M7 站位和 3300-06 站位 Sal 没有明显差异,M7 站位 $T$ 高于 3300-06 站位,而 DO 则低于 3300-06 站位. 3300-06 站位 $NH_4^+$ 远低于 M7 站位,而其他营养盐参数和 Chla 都远高于 M7 站位.

**表 2 渤海和南黄海海域采样站位底层水理化参数**

Table 2 Physicochemical parameters of bottom water at the sampling sites in the Bohai Sea and South Yellow Sea

| 站位 | $T$/℃ | Sal/PSU | DO /mg·L$^{-1}$ | $NH_4^+$ /μmol·L$^{-1}$ | $NO_2^-$ /μmol·L$^{-1}$ | $NO_3^-$ /μmol·L$^{-1}$ | $PO_4^{3-}$ /μmol·L$^{-1}$ | $SiO_3^{2-}$ /μmol·L$^{-1}$ | Chla /μg·L$^{-1}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M7 | 19.89 | 32.18 | 2.93 | 1.64 | 0.12 | 5.01 | 0.45 | 8.61 | 0.30 |
| 3300-06 | 17.42 | 32.68 | 3.20 | 0.54 | 0.31 | 9.78 | 0.69 | 13.99 | 0.82 |

### 2.2 细菌 16S rRNA 基因丰度和表达丰度

以 DNA 和 cDNA 为模板,通过 qPCR 测定细菌 16S rRNA 基因丰度(DNA 水平)和表达丰度(RNA 水平). 渤海 M7 站位和南黄海 3300-06 站位细菌 16S rRNA 基因丰度平均值分别为 $1.17\times10^9$ copies·g$^{-1}$和 $7.09\times10^8$copies·g$^{-1}$,基因表达丰度平均值分别为 $9.35\times10^8$ copies·g$^{-1}$ 和 $7.56\times10^6$ copies·g$^{-1}$(图 2). M7 站位细菌 16S rRNA 基因丰度比 3300-06 站位高出 1 个数量级,表达丰度高 2 个数量级. 总体来看,细菌 16S rRNA 基因表达丰度比 16S rRNA 基因丰度低 1 ~ 2 个数量级,占 16S rRNA 基因丰度的 80.01% 和 1.07%. 这表明地域不同,活性微生物数量与总微生物数量的比例可能具有明显差异.

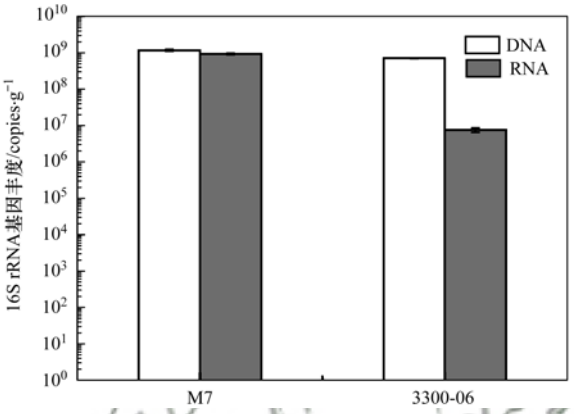



**图 2 细菌 16S rRNA 基因丰度和表达丰度**

Fig. 2 Bacterial 16S rRNA gene abundance and transcript abundance

### 2.3 总细菌和活性细菌群落 OTUs 及 α 多样性

渤海 M7 和南黄海 3300-06 站位沉积物 DNA 和 cDNA 样品经高通量双端测序后,对下机数据进行拼接、质控、剔除疑问序列和去嵌合体后,共得到 130 622条高质量序列, 4 个样品所得序列条数范围为30 179 ~ 34 548条. 以 97% 的相似性水平聚类后,共得到54 173 个 OTU, 对 OTU 进行精简后,得到 11 966个 OTU. 根据 OTU 精简后每个样本的序列条数,以样本最少序列条数的 90% 进行抽平[29], 4 个样本最后共得到 9178 个 OTU,以最后得到的 OTU 丰度矩阵进行后续分析(表 3).

**表 3 不同处理阶段 OTU 个数**

Table 3 Number of OTU in different processing stages

| 样品名 | 高质量序列 | OTUs(97% 聚类) | OTUs(精简后) | OTUs(抽平后) |
|---|---|---|---|---|
| M7_DNA | 34 548 | 16 503 | 6 276 | 3 555 |
| M7_RNA | 33 588 | 18 136 | 6 165 | 3 398 |
| 3300-06_DNA | 32 307 | 15 823 | 6 130 | 3 370 |
| 3300-06_RNA | 30 179 | 15 704 | 5 390 | 2 918 |

M7_DNA、M7_RNA、3300-06_DNA 和 3300-06_RNA 的 OTU 数分别为3 555、3 398、3 370和2 918 个(图 3). M7 和 3300-06 站位 RNA 水平上的 OTU 数均小于 DNA 水平,说明活性细菌种类少于总细菌种类. M7 站位 DNA 水平和 RNA 水平共有 OTU 数为 1237 个,分别占 DNA 和 RNA 水平的 34.80% 和 36.40%; 3300-06 站位 DNA 水平和 RNA 水平共有 OTU 数为 927 个,分别占 DNA 和 RNA 水平的 27.51% 和 31.77%. M7 和 3300-06 站位 DNA 水平上共有 OTU 数为 1196 个,RNA 水平上共有 OTU 数为 889 个.

Good_coverage 指数(92.92% ~ 100.00%,表 4)和稀释曲线(图 4),表明测序深度能够基本覆盖全部物种. Chao1 和 ACE 指数表明 DNA 水平丰富度高于 RNA 水平;Pielou 指数表明 M7 站位 DNA 水平均匀度低于 RNA 水平, 3300-06 站位 DNA 水平均匀度高于 RNA 水平(表 4). Shannon 和 Simpson 指数表明 M7 站位 DNA 水平和 RNA 水平多样性差异不大,而 3300-06 站位 DNA 水平多样性高于 RNA 水平多样性.

**表 4　基于 16S rRNA 基因和 16S rRNA 的细菌群落 α-多样性指数**

Table 4　16S rRNA gene- and 16S rRNA-based α-diversity indices of bacterial communities

| 样品名 | Shannon 指数 | Simpson 指数 | Pielou 指数 | Chao1 指数 | ACE 指数 | Goods_coverage 指数/% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| M7_DNA | 10.33 | 0.996 5 | 0.875 8 | 4 057 | 4 463 | 92.92 |
| M7_RNA | 10.50 | 0.996 8 | 0.895 2 | 3 398 | 3 399 | 99.98 |
| 3300-06_DNA | 10.62 | 0.998 1 | 0.905 9 | 3 375 | 3 429 | 99.10 |
| 3300-06_RNA | 10.18 | 0.994 7 | 0.884 1 | 2 918 | 2 918 | 100.00 |

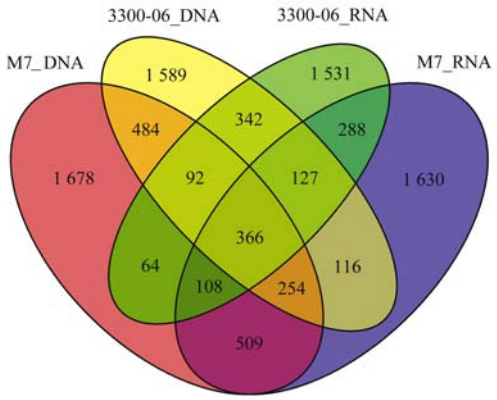



**图 3　细菌群落 OTUs 韦恩图**

Fig. 3　Veen OTUs of bacterial communities

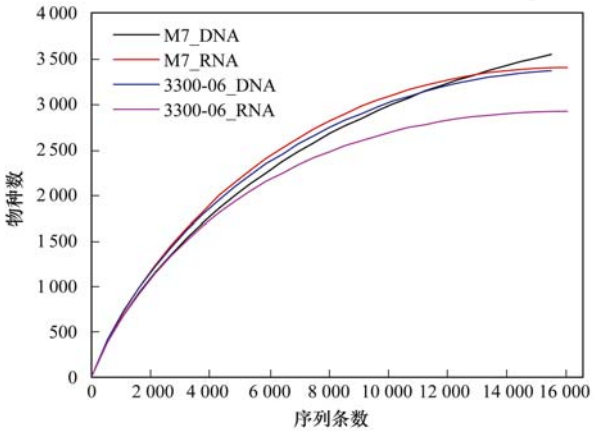



**图 4　基于 16S rRNA 基因和 16S rRNA 的细菌群落物种数稀释曲线**

Fig. 4　16S rRNA gene- and 16S rRNA-based rarefaction curves of bacterial communities

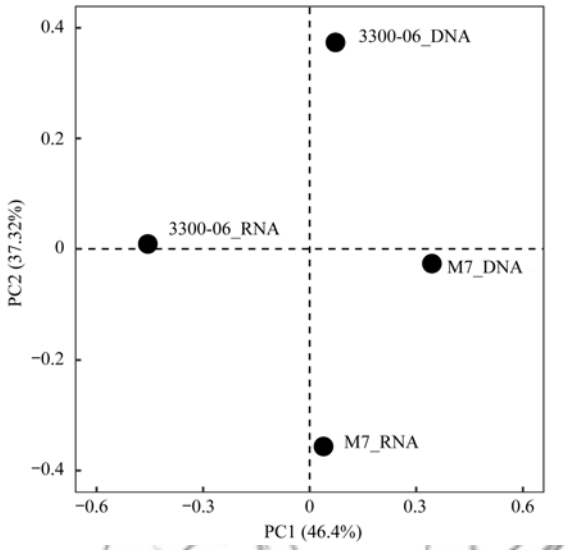



**图 5　基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析**

Fig. 5　PCoA plot based on the Bray-Curtis distance

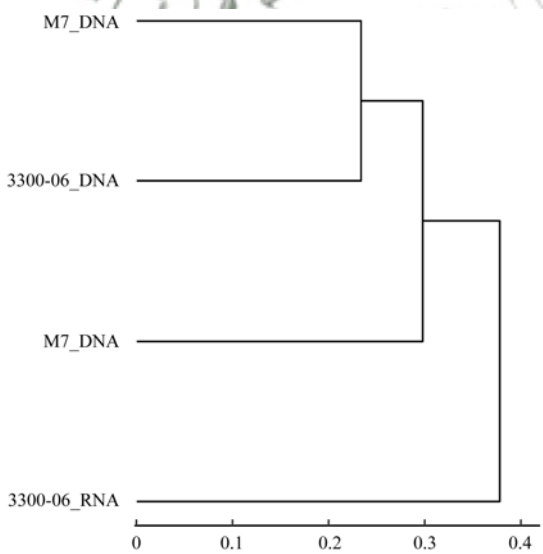



**图 6　基于加权 UniFrac 距离的 UPGMA 聚类分析**

Fig. 6　UPGMA cluster analysis based on the weighted UniFrac distance

## 2.4　总细菌和活性细菌群落结构和组成

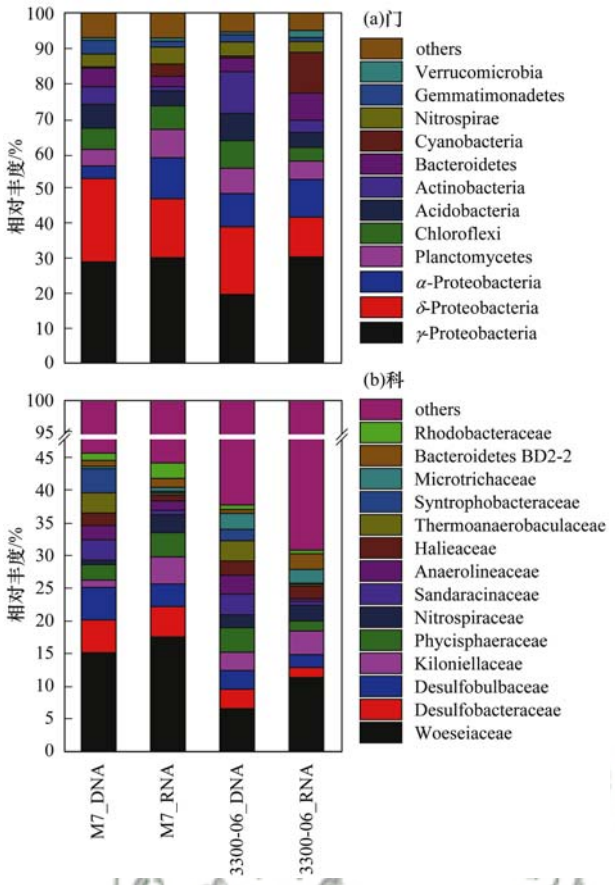
对 OTU 水平的细菌群落组成和相对丰度进行 PCoA 分析和 UPGMA 聚类分析发现，细菌群落在 DNA 水平和 RNA 水平具有明显差异（图 5 和图 6）. 基于加权 UniFrac 距离的 UPGMA 聚类分析表明，DNA 水平上的 M7 站位和 3300-06 站位细菌群落结构最为相近，M7 站位 DNA 和 RNA 水平的细菌群落结构相似程度高于 3300-06 站位（图 6）.

通过代表序列与 Silva 数据库进行对比，OTU 物种注释和分类结果显示，注释到门、纲、目、科、属和种的 OTU 平均比例分别为 99.90%、95.50%、77.72%、60.24%、33.81% 和 1.91%，其中，DNA 水平和 RNA 水平上 OTU 的注释比例不存在明显差异（Mann-Whitney 检验，$P > 0.05$），海洋沉积物蕴含着大量的未知生物资源. 对门水平和科水平相对丰度 >1% 的优势细菌类群[31] 做相对丰度图（图 7）. 在门分类水平上［图 7（a）］，变形菌（Proteobacteria）占绝对优势，所占比例为 48.66% ~ 58.93%，随后为浮霉菌（Planctomycetes）、绿弯菌（Chloroflexi）、酸杆菌（Acidobacteria）、放线菌（Actinobacteria）、拟杆菌（Bacteroidetes）、蓝细菌（Cyanobacteria）和硝化螺旋

菌(Nitrospirae)、芽单胞菌(Gemmatimonadetes)和疣微菌(Verrucomicrobia). 其中,变形菌主要包括 γ-变形菌(γ-Proteobacteria)、δ-变形菌(δ-Proteobacteria)和 α-变形菌纲(α-Proteobacteria). DNA 水平和 RNA 水平相比,变形菌在 RNA 水平上的相对丰度高于 DNA 水平,主要体现在 γ-变形菌和 α-变形菌上,蓝细菌等也表现出相同的趋势,而 δ-变形菌、酸杆菌和放线菌等则表现出相反的规律. 特别地,蓝细菌在 RNA 水平上相对丰度显著高于 DNA 水平,分别为 3.52% 和 11.61% 以及 0.38% 和 0.54%. 属于蓝细菌的产氧光细菌(Oxyphotobacteria)在 RNA 水平的相对丰度显著高于 DNA 水平,特别是在 3300-06 站位,RNA 水平相对丰度是 DNA 水平的 20 多倍,环境因子分析表明, 3300-06 站位 Chla 远高于 M7 站位. 此外,放线菌在 DNA 水平上相对丰度显著高于 RNA 水平,分别为 5.02% 和 11.93% 以及 1.24% 和 3.47%. M7 站位和 3300-06 站位相比,M7 站位变形菌相对丰度显著高于 3300-06 站位,而放线菌门则显著低于 3300-06 站位;此外,有些细菌类群在 DNA 水平上,M7 站位相对丰度低于 3300-06 站位,但是 RNA 水平上却较高,例如,浮霉菌和绿弯菌等. 拟杆菌则表现出相反的规律,M7 站位 DNA 水平相对丰度较高, 3300-06 站位 RNA 水平相对丰度较高.

在科分类水平上[图 7(b)],相对丰度最高的 Woeseiaceae 在 RNA 水平的相对丰度高于 DNA 水平,在 M7 站位的相对丰度高于 3300-06 站位. Kiloniellaceae 和硝化螺旋菌(Nitrospiraceae)同样在 RNA 水平上表现出较高的相对丰度,虽然硝化螺旋菌在 DNA 水平相对丰度在 3300-06 站位较高,但 RNA 水平相对丰度则在 M7 站位较高,这可能与 M7 站位较高的 $NH_4^+$-N 浓度有关. 脱硫杆菌目(Desulfobacterales)中的脱硫杆菌(Desulfobacteraceae)和脱硫球茎菌(Desulfobulbaceae)在 RNA 水平的相对丰度低于 DNA 水平,在 M7 站位相对丰度高于 3300-06 站位. 厌氧绳菌(Anaerolineaceae)和互营杆菌(Syntrophobacteraceae)等也表现出在 RNA 水平的相对丰度低于 DNA 水平,其中厌氧绳菌虽然 DNA 水平相对丰度在 3300-06 站位较高,但是 RNA 水平相对丰度却在 M7 站位较高,这可能与 M7 站位较低的 DO 值有关.

在属分类水平上相对丰度最高的是沃斯菌(*Woeseia*),随后是 *Sva0081 sediment group*、*Urania-1B-19 marine sediment group* 和硝化螺菌(*Nitrospira*)等. 挑选细菌群落相对丰度最高的前 50 个属做属水平丰度热图(图 8). 样品聚类结果显示,DNA 水平




门包括变形菌门中的纲

**图 7 门和科水平细菌群落组成相对丰度**

Fig. 7 Relative abundances of phylum and family levels of bacterial communities

和 RNA 水平属的相对丰度具有明显差异,M7_DNA 和 3300-06_DNA 聚为一类,M7_RNA 和 3300-06_RNA 聚为一类. 不同属根据相对丰度的差异可聚为 4 组,其中 Group Ⅰ主要包括 RNA 水平上的相对丰度高于 DNA 水平,且在 3300-06 站位相对丰度高于 M7 站位的种类,例如 *Draconibacterium* 和嗜冷单胞菌(*Psychromonas*);Group Ⅱ主要包括 RNA 水平上的相对丰度高于 DNA 水平,但在 M7 站位的相对丰度高于 3300-06 站位的种类,例如沃斯菌和 *Desulfatiglans*;Group Ⅲ主要包括 DNA 水平的相对丰度高于 RNA 水平,在 3300-06 站位的相对丰度高于 M7 站位的种类,例如 *Halioglobus* 和 *Methyloceanibacter*;Group Ⅳ则是在 DNA 水平的相对丰度高于 RNA 水平,在 M7 站位的相对丰度高于 3300-06 站位的种类,例如 *Sva0081 sediment group* 和特吕珀菌属(*Truepera*). 此外,变形菌门的种类多聚集在 Group Ⅰ和 Ⅱ中,拟杆菌门则多聚集在 Group Ⅲ和 Group Ⅳ中,与门水平相对丰度组成图结果一致.

## 2.5 细菌群落生态功能预测

DNA 水平和 RNA 水平 FAPROTAX 生态功能预测结果显示(图 9,相对丰度较高的生态功能分组),

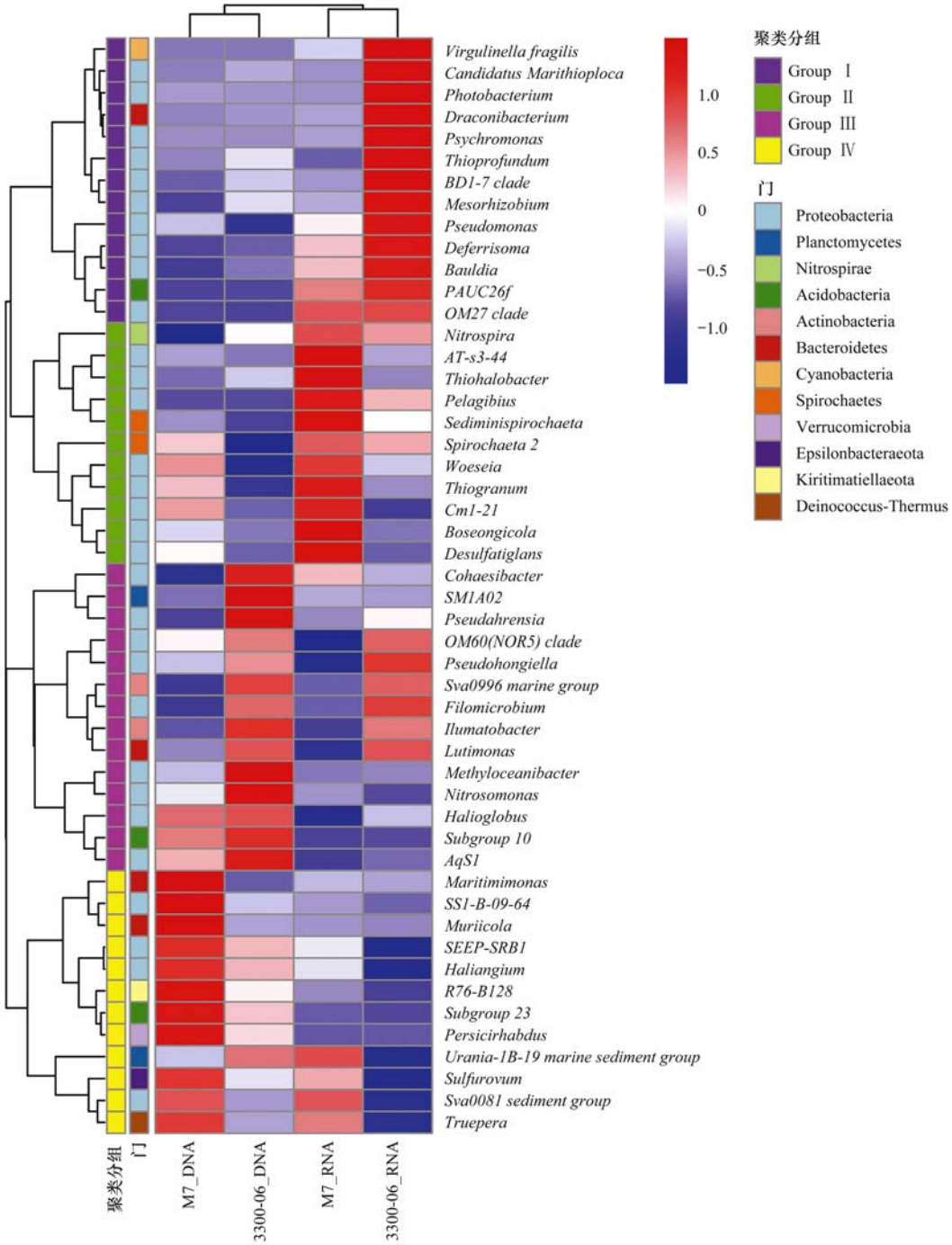



**图 8　细菌群落属水平丰度热图**

Fig. 8　Genus abundance heatmap of bacterial communities

目标站位沉积物中蕴含着活跃的硫循环过程，例如含硫化合物呼吸作用（respiration of sulfur compounds）和硫酸盐呼吸作用（sulfate respiration）. 此外，化能异养（包括 chemoheterotrophy 和 aerobic chemoheterotrophy）、光合作用（chloroplasts）、硝化作用（nitrification）和好氧亚硝酸盐氧化作用（aerobic nitrite oxidation）功能类细菌也具有相对较高的丰度. 总细菌群落和活性细菌群落反应的生态功能具有一定的差异，例如，在 3300-06 站位沉积物中，16S rRNA基因测序结果显示硫循环过程是最主要的生态功能，但是 16S rRNA 测序结果则显示化能异养和光合作用占绝对优势（图 9）；在 M7 和 3300-06 站位沉积物中，DNA 水平反映的光合作用生态功能相对比例仅为 1.32% 和 2.01%，但是 RNA 水平反映的相对比例则为 10.80% 和 25.57%.

## 3　讨论

本研究中 M7 和 3300-06 站位细菌群落丰度低于 Liu 等[7]对中国北部边缘海沉积物研究中的细菌群落丰度（$3.90 \times 10^9 \sim 1.10 \times 10^{11}$ copies·$g^{-1}$）；M7

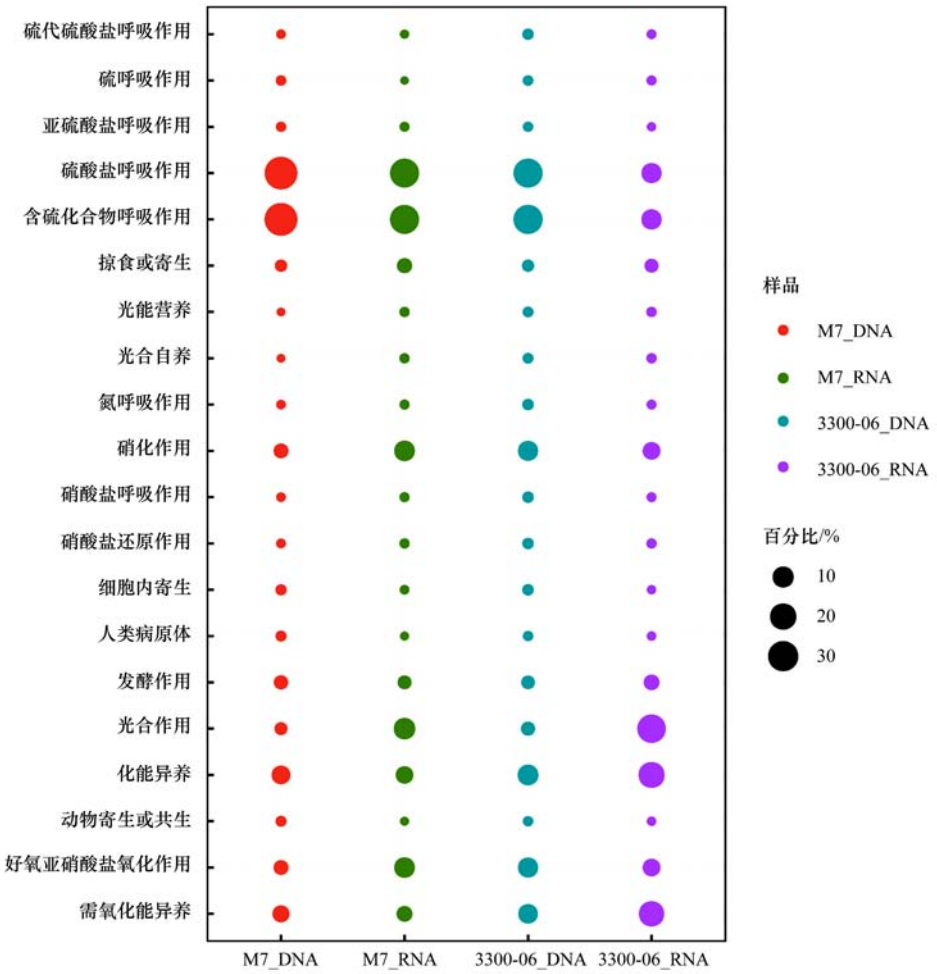



**图 9 总细菌和活性细菌群落生态功能预测**

Fig. 9 Predicted ecological functions of total and active bacterial communities

站位高于乳山湾近海沉积物中细菌群落丰度，3300-06 站位则与之相当($4.90 \times 10^8 \sim 1.12 \times 10^9$ copies·$g^{-1}$)[10]. 通常认为，微生物群落主要受地理距离和环境变量的影响，除地理距离外，$T$ 和$NH_4^+$-N 等环境参数很可能是影响 M7 和 3300-06 微生物群落丰度差异的重要原因. 渤海海域受陆源影响大且自净和交换能力差，营养盐水平往往高于黄海海域，南黄海海域底层每年夏季则是冷水团的鼎盛期[32]. 渤海 M7 站位和南黄海 3300-06 站位表层沉积物细菌丰富度高于乳山湾近海沉积物[10]和南海沉积物[33]，低于渤海、北黄海、南黄海和东海北部其他站位表层沉积物[7]，但是多样性则高于其他海域表层沉积物[7,10,33]. 细菌群落 16S rRNA 基因和16S rRNA 序列表明，与总细菌群落相比，活性细菌群落表现出较低的 $\alpha$ 多样性，结果与先前研究一致[22].

M7 和 3300-06 站位表层沉积物中优势门与其他研究一致，变形菌门占有绝对优势. 研究表明好氧表层海洋沉积物主要的细菌类群为 $\gamma$-变形菌纲和 $\delta$-变形菌纲[3,5,7,10,21]，本研究中这两种菌群在 DNA 和 RNA 水平上均占主要优势. 从我国渤海、北黄海、南黄海至东海北部，表层沉积物中 $\delta$-变形菌纲相对丰度逐渐升高、$\gamma$-变形菌纲相对丰度逐渐降低(DNA 水平)[7]，但是，本研究没有呈现出同样的规律，渤海的 M7 站位 $\gamma$-变形菌纲和 $\delta$-变形菌纲相对丰度均高于南黄海的 3300-06 站位. 目标站位表层沉积物中 $\delta$-变形菌纲的大部分细菌类群为硫酸盐还原菌，而且，与硫酸盐还原息息相关的 Thermodesulfovibrionia 是硝化螺旋菌门相对丰度最高的类群，以上结果表明研究位点具有较强的硫酸盐还原能力. 本研究中硫酸杆菌目是 $\delta$-变形菌纲中相对丰度最高的目，*Sva0081 sediment group*(硫酸杆菌目)是相对丰度第二高的属，所有硫酸杆菌目都属于硫酸盐还原菌，由于能够进行碳水化合物的厌氧代谢，其丰度的高低往往与污染程度有很大的关系[34]. 因此，硫酸杆菌目相对丰度的差异表明 M7 站位的污染程度高于 3300-06 站位. 此外，化学异养海洋沃斯菌是本研究相对丰度最高的属，其所属 Woeseiaceae 科($\gamma$-变形菌纲)是相对丰度最高的科. 研究表明 Woeseiaceae 在海洋沉积物中丰度高且普遍存在，执行着多种但未知的生态功能[35]. 硝化螺

菌属是相对丰度第 4 高的属，其可以将亚硝酸盐氧化成硝酸盐. 最近研究发现硝化螺菌属可以进行完全硝化作用，即同时完成氨氧化及亚硝酸氧化过程[36]，表明目标站位活跃的硝化过程. FAPROTAX 生态功能预测结果也证实了硫循环过程、化能异养过程和硝化过程是 M7 站位和 3300-06 站位沉积物中主要的生态功能.

基于 16S rRNA 基因和 16S rRNA 的测序结果显示，总细菌群落和活性细菌群落组成具有显著差异. 虽然丰度较高的细菌类群在 DNA 和 RNA 水平具有一致性，但是其相对丰度具有明显的差异，因此，基于 16S rRNA 基因的测序可能导致误判重要的功能微生物. 例如，虽然 DNA 水平上 γ-变形菌纲在 M7 站位远高于 3300-06 站位，但是其在 RNA 水平上 3300-06 站位却略高于 M7 站位，这很可能导致对 3300-06 和 M7 站位实际生态功能的误判. γ-变形菌纲在 RNA 上的相对丰度远低于 DNA 水平，DNA 水平的研究会使人们高估了硫循环生物地球过程，生态功能预测结果也证实了这一点（图 9）. 在 DNA 水平上，3300-06 沉积物中硝化螺菌属相对丰度远高于 M7 站位，但是在 RNA 水平上，硝化螺菌属相对丰度却低于 M7 站位，这说明，实际上 M7 站位的硝化活性高于 3300-06 站位，生态功能预测也证明了这一推测（图 9）. Kiler 等[21]在研究波罗的海表层沉积物中发现，虽然相对丰度较高的 OTUs 种类在所有样品中具有一致性，但是，其在 DNA 水平和 RNA 水平的相对丰度具有明显差异，因此选择以 rRNA 作为后续研究的基础. 垃圾填埋实验表明，甲烷氧化菌占活性微生物群落的 80%，但是仅占总微生物群落的 29%，如果仅仅基于 DNA 进行研究，会对了解活性微生物实际功能产生重大误判[16].

此外，总细菌群落中的稀有物种，如蓝细菌门和产氧光细菌纲在总细菌群落中的相对丰度小于 0.45%，但是在活性细菌群落中相对丰度显著升高（3.52%～11.61%），表明总细菌群落中罕见的“稀有生物圈（rare biosphere）”可能包括关键的转录活跃者[37]. Li 等[22]的研究表明，环境因素通过影响稀有生物类群来影响细菌群落. 稀有生物类群种类多样，当环境条件改变时，可能会变成丰富类群. 因此，环境变化对总微生物群落的影响主要体现在稀有物种而不是丰富物种. 本研究中，稀有物种蓝细菌等在 RNA 水平上的大量占比体现了它们在地化循环中的潜在功能以及对环境条件的适应. 作为光合微生物，蓝细菌在夏季 M7 和 3300-06 站位表层沉积物的高活性体现了它们的高固氮能力. 在先前的研究中也发现，在所有的实验组中（营养强化或酸化），水中的丰富物种总是具有较高的相对丰度[38]；长时间的氮沉降实验对微生物群落没有影响[39]. 然而，在特定环境下，一些稀有微生物在活性微生物群落中则变成丰富微生物，以应对环境变化[38,39]. 因此，稀有物种在元素循环过程中可能发挥着重要的作用[40].

本研究表明海洋表层沉积物中总细菌群落（16S rRNA 基因）和活性细菌群落（16S rRNA）结构具有明显差异. 对稻田土壤根围微生物研究表明，活性微生物和总微生物群落也具有明显差异，活性细菌群落在不同根围部位表现出明显差异，这表明活性微生物对于根际环境变化更为敏感，基于 16S rRNA的微生物群落更为精确[22]. 森林土壤中微生物 RNA 数据显示微生物活性具有明显的季节差异，但是 DNA 水平显示的变化则较小[17]. 对中国南海的海水样品研究发现，总细菌群落和活性细菌群落之间的多样性和生物地理模式差异很大，地理距离对总细菌群落影响较小，对活性细菌群落影响较大[20]. 对于珊瑚礁沉积物的研究同样发现了总细菌群落和活性细菌群落的差异[19]. 因此，在 16S rRNA 基因测序得到了大量冗余信息的情况下，基于 16S rRNA的测序能为了解微生物群落，特别是某些重要的功能微生物提供更加精确的信息.

细菌丰度、OTU 数、α-多样性、结构、组成及功能预测均表明南黄海站位在 DNA 和 RNA 水平的差异大于渤海站位. 渤海水深较浅，受陆源环境影响较大，其沉积环境易于发生频繁变动，采样时获得微生物很可能就是具有高度活性的微生物；而南黄海站位水深较深，离海岸较远，受人为扰动小，由于环境较稳定，微生物不必频繁变动（对环境变化比较敏感的活性微生物[38,39]可能不会大量增殖以适应环境变化），因此可能会存在大量不活跃的微生物. 因此，当分析来自稳定沉积环境的微生物样品时，基于 RNA 水平的研究可能更能反映真实的生态状况.

## 4　结论

本文主要结论包括：总细菌 16S rRNA 基因丰度比活性细菌高 1～2 个数量级；研究站位具有较强的硫酸盐还原能力和硝化作用，M7 站位污染程度高于 3300-06 站位；基于 16S rRNA 基因的测序在探索微生物群落时可能会误判重要的功能微生物；微生物群落中的“稀有生物圈”可能是转录活跃者，发挥着重要的生态功能；活性微生物对环境变化更为敏感、更能体现环境的实际生态状况；对于来自稳定沉积环境的样品，更应该以 RNA 为基础关注其活性微生物群落特征.

致谢:本研究样品采集及 CTD 数据取自青岛海洋科学与技术试点国家实验室深远海科学考察船队共享航次,该航次由中国科学院烟台海岸带研究所“创新一号”和中国科学院海洋研究所“科学三号”科考船实施,在此一并致谢. 感谢中国科学院海洋研究所工程技术部陈磊老师、中国科学院烟台海岸带研究所牟平海岸带环境综合试验站孙西艳老师和中国海洋大学化学化工学院李丹丹同学在环境因子分析中给予的帮助.

**参考文献:**

[1] Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: the unseen majority[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, **95**(12): 6578-6583.

[2] Falkowski P G, Fenchel T, Delong E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles[J]. Science, 2008, **320**(5879): 1034-1039.

[3] Zinger L, Amaral-Zettler L A, Fuhrman J A, *et al*. Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems[J]. PLoS One, 2011, **6**(9): e24570.

[4] Findlay R H, Watling L. Seasonal variation in the structure of a marine benthic microbial community[J]. Microbial Ecology, 1998, **36**(1): 23-30.

[5] 钱鹏, 王思鹏, 梁春玲, 等. 宁波象山海域表层沉积物细菌群落季节性分布特征研究[J]. 宁波大学学报(理工版), 2017, **30**(6): 28-35.
Qian P, Wang S P, Liang C L, *et al*. Seasonal distribution characteristics of bacterial communities of coastal surface sediments of Xiangshan, Ningbo[J]. Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition), 2017, **30**(6): 28-35.

[6] 付璐璐, 甄毓, 贺惠, 等. 长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌分布特征研究[J]. 环境科学, 2016, **37**(10): 3914-3922.
Fu L L, Zhen Y, He H, *et al*. Distribution characteristics of anaerobic ammonia oxidation bacteria in sediments from the adjacent seas of Yangtze estuary[J]. Environmental Science, 2016, **37**(10): 3914-3922.

[7] Liu J W, Liu X S, Wang M, *et al*. Bacterial and archaeal communities in sediments of the north Chinese marginal seas[J]. Microbial Ecology, 2015, **70**(1): 105-117.

[8] Catania V, Sara G, Settanni L, *et al*. Bacterial communities in sediment of a Mediterranean marine protected area[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2016, **63**(4): 303-311.

[9] Rubio-Portillo E, Villamor A, Fernandez-Gonzalez V, *et al*. Exploring changes in bacterial communities to assess the influence of fish farming on marine sediments[J]. Aquaculture, 2019, **506**: 459-464.

[10] He H, Li M Y, Zhen Y, *et al*. Bacterial and archaeal communities in sediments from the adjacent waters of Rushan Bay (China) revealed by Illumina sequencing[J]. Geomicrobiology Journal, 2019: 1-15. DOI: 10.1080/01490451.2019.1666193.

[11] Baird D J, Hajibabaei M. Biomonitoring 2.0: a new paradigm in ecosystem assessment made possible by next-generation DNA sequencing[J]. Molecular Ecology, 2012, **21**(8): 2039-2044.

[12] Aylagas E, Borja Á, Tangherlini M, *et al*. A bacterial community-based index to assess the ecological status of estuarine and coastal environments[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, **114**(2): 679-688.

[13] Pochon X, Zaiko A, Fletcher L M, *et al*. Wanted dead or alive? Using metabarcoding of environmental DNA and RNA to distinguish living assemblages for biosecurity applications[J]. PLoS One, 2017, **12**(11): e0187636.

[14] Corinaldesi C, Danovaro R, Dell'Anno A. Simultaneous recovery of extracellular and intracellular DNA suitable for molecular studies from marine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(1): 46-50.

[15] Blazewicz S J, Barnard R L, Daly R A, *et al*. Evaluating rRNA as an indicator of microbial activity in environmental communities: limitations and uses[J]. The ISME Journal, 2013, **7**(11): 2061-2068.

[16] Kim T G, Moon K E, Yun J, *et al*. Comparison of RNA-and DNA-based bacterial communities in a lab-scale methane-degrading biocover[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, **97**(7): 3171-3181.

[17] Žifčáková L, Větrovsky T, Howe A, *et al*. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter[J]. Environmental Microbiology, 2016, **18**(1): 288-301.

[18] Jones S E, Lennon J T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, **107**(13): 5881-5886.

[19] Gaidos E, Rusch A, Ilardo M. Ribosomal tag pyrosequencing of DNA and RNA from benthic coral reef microbiota: community spatial structure, rare members and nitrogen-cycling guilds[J]. Environmental Microbiology, 2011, **13**(5): 1138-1152.

[20] Zhang Y, Zhao Z H, Dai M H, *et al*. Drivers shaping the diversity and biogeography of total and active bacterial communities in the South China Sea[J]. Molecular Ecology, 2014, **23**(9): 2260-2274.

[21] Klier J, Dellwig O, Leipe T, *et al*. Benthic bacterial community composition in the oligohaline-marine transition of surface sediments in the baltic sea based on rRNA analysis[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, **9**: 236.

[22] Li H, Su J Q, Yang X R, *et al*. Distinct rhizosphere effect on active and total bacterial communities in paddy soils[J]. Science of the Total Environment, 2019, **649**: 422-430.

[23] Peiffer J A, Spor A, Koren O, *et al*. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, **110**(16): 6548-6553.

[24] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, **27**(21): 2957-2963.

[25] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al*. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, **7**(5): 335-336.

[26] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics, 2010, **26**(19): 2460-2461.

[27] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, *et al*. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2012, **41**(D1): D590-D596.

[28] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, *et al*. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing[J]. Nature Methods, 2013, **10**(1): 57-59.

[29] Buffington S A, Di Prisco G V, Auchtung T A, *et al*. Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring[J]. Cell, 2016, **165**(7): 1762-1775.

[30] Louca S, Parfrey L W, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. Science, 2016, **353**(6305): 1272-1277.

[31] Galand P E, Casamayor E O, Kirchman D L, *et al*. Ecology of the rare microbial biosphere of the Arctic Ocean[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, **106**(52): 22427-22432.

[32] 唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 等. 黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征[J]. 环境科学, 2017, **38**(11): 4501-4512.
Tang Y, Sun Y Y, Shi X Y, *et al*. Distribution characteristics of chromophoric dissolved organic matter and nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in autumn [J]. Environmental Science, 2017, **38**(11): 4501-4512.

[33] Zhu D C, Tanabe S H, Yang C, *et al*. Bacterial community composition of South China Sea sediments through pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes[J]. PLoS One, 2013, **8**(10): e78501.

[34] Taketani R G, Franco N O, Rosado A S, *et al*. Microbial community response to a simulated hydrocarbon spill in mangrove sediments[J]. Journal of Microbiology, 2010, **48**(1): 7-15.

[35] Mußmann M, Pjevac P, Krüger K, *et al*. Genomic repertoire of the *Woeseiaceae*/JTB255, cosmopolitan and abundant core members of microbial communities in marine sediments[J]. The ISME Journal, 2017, **11**(5): 1276-1281.

[36] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, *et al*. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria[J]. Nature, 2015, **528**(7583): 504-509.

[37] Baldrian P, Kolařík M, Štursová M, *et al*. Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition[J]. The ISME Journal, 2012, **6**(2): 248-258.

[38] Baltar F, Palovaara J, Vila-Costa M, *et al*. Response of rare, common and abundant bacterioplankton to anthropogenic perturbations in a Mediterranean coastal site [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2015, **91**(6): fiv058.

[39] Fuentes S, Barra B, Caporaso J G, *et al*. From rare to dominant: a fine-tuned soil bacterial bloom during petroleum hydrocarbon bioremediation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, **82**(3): 888-896.

[40] Moyes A B, Bowling D R. Plant community composition and phenological stage drive soil carbon cycling along a tree-meadow ecotone[J]. Plant and Soil, 2016, **401**(1-2): 231-242.

**HUANJING K0EXUE** Vol. 41 No. 5
Environmental Science (monthly) May 15, 2020

# CONTENTS

Comparison of Three Receptor Models for Source Apportionment of $PM_{2.5}$ in Shanghai: Using Hourly Resolved $PM_{2.5}$ Chemical Composition Data ····· ZHOU Min (1997)
Impact of Differents in the Concentrations of Ozone on the Chemical Composition of Single Particles ····· WU Meng-xi, CHENG Chun-lei, HUANG Bo, *et al.* (2006)
Influence of Secondary Organic Coating on Hygroscopicity of a Sodium Chloride Core: Based on Mircro-scale Single Particle Analysis ····· ZHANG Shu-jia, XU Liang, GUO Xin-mei, *et al.* (2017)
Comparative Analysis of Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosol Components in the Atmosphere Between Urban and Suburban Areas ····· LI Xin-yue, ZHANG Kai-shan, DENG Lin-li, *et al.* (2026)
Distribution Characteristics and Source Apportionment of Elements Bonded with $PM_{2.5}$ and $PM_{10}$ in Linyi ····· LU Ping, ZHAO Xue-yan, YIN Bao-hui, *et al.* (2036)
Characteristics and Sources of Microbial Aerosols in Urban and Mountainous Areas in Autumn and Winter in Xi'an, China ····· XIE Wen-wen, LU Rui, MU Fei-fei, *et al.* (2044)
Pollution Characteristics of Cooking Fumes, Particulates, and Non-methane Hydrocarbons in the Exhaust of Typical Beijing Restaurants ····· HE Wan-qing, WANG Tian-yi, SHAO Xia, *et al.* (2050)
$PM_{2.5}$ Concentration Influencing Factors in China Based on the Random Forest Model ····· XIA Xiao-sheng, CHEN Jing-jing, WANG Jia-jia, *et al.* (2057)
Spatio-temporal Variation of $PM_{2.5}$ Related Relationships in China from the Perspective of Air Pollution Regional Linkage Control and Prevention ····· YANG Wen-tao, HUANG Hui-kun, WEI Dong-sheng, *et al.* (2066)
Characteristics of Spatial and Temporal Evolution and Investigation of Air Pollution in Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area Based on Ground-Space Observation Data ····· WANG Yao-ting, LIANG Jia-cheng, ZHENG Zuo-fang, *et al.* (2075)
Hydrochemical Characteristics and Formation Causes of Ground Karst Water Systems in the Longzici Spring Catchment ····· TANG Chun-lei, ZHENG Xiu-qing, LIANG Yong-ping (2087)
Tempo-spatial and Retention Analysis of Total Phosphorus in the Three Gorges Reservoir ····· TANG Xiao-ya, TONG Si-chen, HUANG Guo-xian, *et al.* (2096)
Vertical Distribution Characteristics of Dissolved Oxygen and Chlorophyll a in Typical Tributaries During the Impoundment Period of the Three Gorges Reservoir ····· YANG Fan, JI Dao-bin, WANG Li-jing, *et al.* (2107)
Spatial-temporal Distribution of Nutrients in Hanfeng Lake After Official Operation ····· FU Shi, NI Jiu-pai, HE Bing-hui, *et al.* (2116)
Spatio-temporal Variations in the Characteristics of Water Eutrophication and Sediment Pollution in Baiyangdian Lake ····· LIU Xin, SHI Bin, MENG Jing, *et al.* (2127)
Spatial-temporal Distribution of Suspended Solids and Its Sedimentation Flux and Nutrients Effects in Xin'anjiang Reservoir, China ····· SHI Peng-cheng, ZHU Guang-wei, YANG Wen-bin, *et al.* (2137)
Bioavailability Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Lake Gaoyou, Lake Nansi, and Lake Dongping Under Different Hydrological Scenarios ····· ZHANG Liu-qing, SHI Yu, LI Yuan-peng, *et al.* (2149)
Succession Characteristics of Algae Functional Groups and Water Quality Assessment in a Drinking Water Reservoir ····· LI Yan-qing, HUANG Ting-lin, ZHANG Hai-han, *et al.* (2158)
Effect of Artificial Mixing on Temporal and Spatial Succession of Algae Community Structure in Jinpen Reservoir ····· WANG Chen-xu, HUANG Ting-lin, LI Nan, *et al.* (2166)
Spatial Distribution Characteristics and Driving Factors of Aerobic Denitrification Bacterial Community Structure from Baiyangdian Lake in Xiong'an New Area During the Winter Freezing Period ····· ZHOU Shi-lei, SUN Yue, YUE Ge-cheng, *et al.* (2177)
Spatial and Temporal Succession Characteristics of Aerobic Anoxygenic Photosynthesis Bacteria in a Stratified Reservoir ····· ZHANG Hai-han, WANG Yan, HUANG Ting-lin, *et al.* (2188)
Response of Chromophoric Dissolved Organic Matter Dynamics to Different Hydrological Scenarios in the Two Largest Freshwater Lakes Connected to the Yangtze River ····· GUO Yan-ni, LI Yuan-peng, SHI Yu, *et al.* (2198)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Northern-Side River of the Qinling Mountains in Summer ····· LIN Zi-shen, HUANG Ting-lin, YANG Shang-ye, *et al.* (2210)
Distribution, Sources, and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Tributary Waters of the Lower Reaches of the Yangtze River, China ····· JIA Tian-qi, LEI Rong-rong, WU Xiao-lin, *et al.* (2221)
Temporal and Spatial Occurrence of NSAIDs in Taihu Lake and Relevant Risk Assessment ····· LIAN Jie, LI Yi-fei, WANG Xiao-xuan, *et al.* (2229)
Occurrence and Ecological Risk of Eight Typical PhACs in Surface Water and Its Impact on *Daphnia magna* ····· XU Xin-lei, LIU Jian-chao, LU Guang-hua (2239)
Distribution Characteristics and Migration Rules of Pollutants in Sediments of Reservoirs with *Eucalyptus* Plantation, Southern China ····· ZHU Ya, LI Yi-ping, LUO Fan, *et al.* (2247)
Mechanism of Urban Black Odorous Water Based on Continuous Monitoring: A Case Study of the Erkeng Stream in Nanning ····· LI Yong-xin, WANG Wei, HE Mei, *et al.* (2257)
Relationship Between Source-Sink Landscape Pattern and Antibiotics in Surface Water in Peri-urban Watershed ····· LI Min, TANG Jian-feng, CHEN Li-ding, *et al.* (2264)
Molecular Chemo-diversity of the Dissolved Organic Matter Occurring in Urban Stormwater Runoff ····· NIE Yun-han, CHEN Hao, LI Lei, *et al.* (2272)
Regulating Effect and Mechanism of Calcite/Chlorapatite Mixture Addition on Transformation and Transport of Phosphorus in Sediments ····· BAI Xiao-yun, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, *et al.* (2281)
Stability of Ferrihydrite and Goethite Nanoparticles Under Different Environmental Conditions ····· WANG Zhi-qiao, MA Jie, CHEN Ya-li, *et al.* (2292)
Sunflower-Straw-Derived Biochar-Enhanced Fe(Ⅲ)/$S_2O_8^-$ System for Degradation of Benzoic Acid ····· SUN Peng, ZHANG Kai-kai, ZHANG Yu, *et al.* (2301)
Non-activated Peroxymonosulfate-Induced Degradation of Sulfasalazine: Kinetics and Mechanism Investigations ····· DING Xi, ZHANG Xue-wei, ZHOU Run-sheng, *et al.* (2310)
Pollution Characteristics and Removal Effects of Antibiotics in Wastewater from Large-Scale Pig Farms in Guizhou ····· YANG Zhao, LI Jiang, XIANG Fu-liang, *et al.* (2320)
Nitrogen Removal in Low-C/N Rural Sewage Treatment by Anoxic/Oxic Biofilter Packed with New Types of Fillers ····· ZHAO Yuan-zhe, YANG Yong-zhe, WANG Hai-yan, *et al.* (2329)
Nitrogen Removal Performance and Nitrogen/Carbon Balance of Oligotrophic Aerobic Denitrifiers ····· WEN Gang, WANG Tong, HUANG Ting-lin, *et al.* (2339)
Bacterial Community Shifts and Nitrogen Removal Characteristics for a SNAD Process Treating Anaerobic Digester Liquor of Swine Wastewater (ADLSW) in a Continuous-Flow Biofilm Reactor (CFBR) ····· QIN Jia-wei, XIN Xin, LU Hang, *et al.* (2349)
Characteristics of ANAMMOX Granular Sludge and Differences in Microbial Community Structure Under Different Culture Conditions ····· JIANG Ying, GUO Meng-lei, XIE Jun-xiang, *et al.* (2358)
Start-up of an Integrated Process of Denitrifying Phosphorus Removal Coupled with Partial Nitritation and Anaerobic Ammonium Oxidation ····· CHEN Ya, YIN Wen, ZHANG Xing-xing, *et al.* (2367)
Construction and Application of an Evaluation System for Soil Environmental Carrying Capacity ····· LI Xiao-nuo, DING Shou-kang, CHEN Wei-ping, *et al.* (2373)
Synthesis of Magnetic Biochar and Its Application in the Remediation of Heavy-Metal-Contaminated Soils ····· WANG Jun-nan, CHENG Shan-shan, ZHAN Wen-hao, *et al.* (2381)
Remediation of Heavy-Metal-Contaminated Soil by EGTA Washing Enhanced with Reduction Solubilization ····· ZHANG Jin-yong, ZHU Yu-ting, WANG Ming-xin, *et al.* (2390)
Toxicity of Chromium to Root Growth of Barley as Affected by Chromium Speciation and Soil Properties ····· FU Ping-nan, GONG Xiao-fei, LUO Li-yun, *et al.* (2398)
Effect of Fertilizer Reduction and Biochar Application on Soil Nitrogen Loss in Purple Upland ····· WANG Shu, WANG Zi-fang, LONG Yi, *et al.* (2406)
Relationship Between the Composition of Soil Aggregates and the Distribution of Organic Carbon Under Long-Term Abandoned Restoration ····· WANG Xing, ZHONG Ze-kun, ZHANG Xin-yi, *et al.* (2416)
Effects of Biochar Application on Soil Microbial Nutrient Limitations and Carbon Use Efficiency in Lou Soil ····· WANG Qiang, GENG Zeng-chao, XU Chen-yang, *et al.* (2425)
$N_2O$ Emissions from Tea Plantations with Sorghum Intercropping and Application of Big Urea Pills ····· ZHANG Ke-bin, LIU Xin-liang, KANG Man, *et al.* (2434)
Effects of Different Forest Vegetation Types on Soil Nitrogen-Related Microbial Communities and Functions in Jinyun Mountain ····· WANG Ying-yan, WANG Fu-hua, LUO Dong-hai, *et al.* (2445)
Nitrous Oxide Emission and Denitrifying Bacterial Communities as Affected by Drip Irrigation with Saline Water in Cotton Fields ····· GUO Hui-nan, MA Li-juan, HUANG Zhi-jie, *et al.* (2455)
Effect of Organic Matter Promotion on Nitrogen-Cycling Genes and Functional Microorganisms in Acidic Red Soils ····· CHU Cheng, WU Zhao-yue, HUANG Qian-ru, *et al.* (2468)
Effects of Simulated Acid Rain on Soil Fungi Diversity in the Transition Zone of Moso Bamboo and Broadleaf Forest ····· WANG Nan, PAN Xiao-cheng, WANG Chuan-kuan, *et al.* (2476)
Differences Between DNA- and RNA-Based Bacterial Communities in Marine Sediments ····· LI Ming-yue, YANG Yu-hong, MI Tie-zhu, *et al.* (2485)
Spatial Patterns and Spatial Autocorrelations of Wetland Changes in China During 2003-2013 ····· ZHOU Ting, MA Jiao-jiao, XU Song-jun (2496)