

玄武湖微囊藻水华暴发及衰退期细菌群落变化分析

郑小红, 肖琳*, 任晶, 杨柳燕

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 为探索微囊藻水华期间细菌群落的变化及了解水华的动态变化提供线索, 采集玄武湖水华暴发及衰退期 3 个湖区内的水样, 采用微生物传统方法, 对水体中可培养细菌进行了分离鉴定, 并通过变性梯度凝胶电泳技术(DGGE), 对水体中细菌 16S rDNA V3 可变区的 PCR 扩增片段进行分离, 分析了所得到的细菌群落特征 DNA 指纹图谱, 并对其中的优势细菌进行 16S rDNA 序列系统发育分析. 结果表明, 玄武湖微囊藻水华期间水体中细菌主要属于 3 大类群, 包括 Proteobacteria、Firmicutes 和 Bacteroides; 水华暴发期, Firmicutes、Bacteroides、 α -、 β -、 γ -Proteobacteria 分别占总数的 31.25%、25%、18.75%、12.5%、12.5%, 优势菌为 16 种, 生物多样性高; 水华衰退期 γ -Proteobacteria 菌群比例上升至 50%, 其次为 Firmicutes 和 α -Proteobacteria, 分别占总数的 33.3% 和 16.7%, 水体中原有的 *Hydrogenophaga*、*Vogesella*、*Sphingomonas*、*Exiguobacterium* 等菌属消亡, 优势菌种数减少至 6 种, 但细菌数量增大; *Pseudomonas* 与 *Bacillus* 在水华暴发和衰退期一直处于优势, 但优势菌的种类发生改变; 同一时期内, 藻华相对密集的湖区优势菌种数相对较少, 生物多样性相对较低. 微囊藻水华暴发与衰退期水体中细菌群落的变化, 可能与藻体聚集与消散而引起的水体中有机物浓度及形态等环境因子的变化有关, 此外, 藻体密集程度也可能对细菌群落生物多样性有一定影响.

关键词: 微囊藻; 水华; 细菌群落; 微生物传统分析; PCR-DGGE

中图分类号: X172; X524 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)10-2956-07

Variation of Bacterial Community Composition in the Outbreak and Decline of *Microcystis* spp. Bloom in Lake Xuanwu

ZHENG Xiao-hong, XIAO Lin, REN Jing, YANG Liu-yan

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Water samples were collected in the outbreak and decline of *Microcystis* spp. bloom in three different lake areas of Lake Xuanwu for studying the bacterial community composition during the bloom to provide clew for understanding the dynamics of water bloom. Traditional microbiological methods were used for culturable bacterial analysis, while the amplified products of variable V3 region of bacterial 16S rDNA were used for bacterial community DNA finger print by using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), and the 16S rDNA sequences of predominant bacteria in the community were used for phylogenetic analysis. Results showed three groups of bacteria were detected during *Microcystis* spp. bloom, including Proteobacteria, Firmicutes and Bacteroides. In the outbreak of the boom, the propotion of Firmicutes, Bacteroides and α -, β -, γ -Proteobacteria in total bacteria account for 31.25%, 25%, 18.75%, 12.5% and 12.5% respectively, and sixteen genera of bacteria are predominant in the bacterial community. While in the decline of the bloom, the proportion of γ -Proteobacteria increases up to 50%, followed by Firmicutes and α -Proteobacteria, with the proportion of 33.3% and 16.7% respectively. Some species including *Hydrogenophaga*, *Vogesella*, *Sphingomonas*, and *Exiguobacterium* disappear when the bloom declining, but the abundance of total bacterial goes up. *Pseudomonas* and *Bacillus* are always the leading genera but with changing in species. During the same stage of the bloom, bacterial diversity in the lake area with more *Microcystis* spp. aggregates is lower. The variation in bacterial community composition may be correlated with changes of organic matters and other environmental factors that affected directly by wax and wane of *Microcystis* spp. aggregates, and the density of the aggregates may have effect on bacterial diversity.

Key words: *Microcystis* spp.; water bloom; bacterial community; traditional microbiological analysis; PCR-DGGE

近年来由于人类活动的影响, 水体富营养化程度日趋严重, 水华暴发成为水体环境中的普遍问题, 有关水华的生消过程及其动态变化机制的研究也成为当今热点^[1,2]. 在众多影响水华动态变化的因素中, 生物因素包括细菌的作用引起人们的关注^[3,4].

细菌能通过菌-藻之间的相互作用对水华造成影响. 细菌能为藻体提供生理必须物质如铁和维生素 B12^[5], 抑制藻体胞囊的形成^[6], 对藻体的生长产生促进与抑制作用^[7], 甚至分泌溶藻物质对藻体进

行溶解^[4,8]. 此外, 作为生态系统中不可缺少的组成部分, 细菌在水环境中有机物的降解与转化过程中发挥重要作用. 水华过程中经常观察到细菌的生长率及酶活性的变化, 并且这种变化往往伴随着细菌

收稿日期: 2007-09-26; 修订日期: 2007-11-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(40371102, 30770414); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB412307)

作者简介: 郑小红(1982~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物学, E-mail: tr. sptrans3@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: xiaolin@nju.edu.cn

群落结构的改变^[9,10]。水华的发生造成水体中物理、化学、生物因素的一系列变化:大量藻体聚集形成群体,造成水体光照、透明度下降,藻体的生长代谢引起水体溶解氧、pH 及氧化还原电位的变化^[11,12];聚集藻体为细菌提供附生环境以避免其被捕食,并增强细菌吸收营养物质的能力^[13],藻类产生的生物毒素对某些细菌的生存造成抑制^[5];水华过程中藻体通过光合作用合成以及藻体分解产生大量不同粒径和浓度的颗粒状、胶状及溶解性有机物^[14];水体中浮游动物、病毒等的数量及种类^[9,15]不断变化,从而影响微生物食物网中的捕食作用,造成细菌种属之间的数量差异而改变细菌群落结构。因此,分析水华过程中细菌群落的变化对于研究水华动态变化机制具有重要意义。

蓝藻是一类全球性分布的水华藻,在我国大部分富营养化水体中,微囊藻(*Microcystis* spp.)水华的数量和发生频率均占优势^[16]。目前已有研究表明微囊藻与细菌之间存在代谢偶联^[17],某些细菌对微囊藻具有溶解能力^[8],对水华暴发产生一定影响,然而其仅限于实验室研究,有关野外研究尤其是微囊藻水华期间细菌群落变化分析的数据很少。

传统的培养方法由于受细菌自身的营养需求及培养条件限制,所分离得到的细菌有限。变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)技术通过不依赖分离培养的核酸信息来探索微生物群落的复杂性,并且通过分析分离出的图谱中条带的数目、位置及荧光强度揭示样品中细菌群落的组成以及群落中各种属所占的丰度变化,已被广泛地用作分子工具比较微生物群落的多样性和监视种群动态^[9,10]。本研究结合传统培养方法与 DGGE 技术分析了微囊藻水华暴发期及衰退期细菌群落的变化,以期了解微囊藻水华的动态变化提供线索。

1 材料与方法

1.1 水样的采集及性质测定

南京市玄武湖为城市浅水湖泊,湖内水质严重富营养化,夏季暴发以微囊藻为主要优势种群的蓝藻水华。全湖水域面积约 3.68 km²,平均水深 1.14 m,由东南湖、西南湖、北湖 3 个湖区组成。

本研究共采样 6 个,分别于 2006-08-26 ~ 2006-09-26 采集 3 个湖区内水面下 20 cm 水样,编号分别为 8 月水样 A1(东南湖)、B1(西南湖)、C1(北湖),9 月水样依次为 A2(东南湖)、B2(西南湖)、C2(北湖),并对所采水样进行总磷、总氮、COD 测定。

1.2 细菌的分离培养和菌种鉴定

玄武湖 3 个湖区水华水样经稀释,采用 1/10 LB 培养基进行平板涂布,30℃ 培养 48 h 后进行菌落计数,并根据菌落的大小、形状、隆起形状、边缘和表面状况、颜色、透明度等不同形态特征挑取单菌落进行划线分离,以得到纯培养菌株。参照文献^[18]中的方法分别对各纯培养菌株进行革兰氏染色及芽孢染色镜检,并进行生理生化指标测定,包括氧化酶、过氧化氢酶、淀粉水解、葡萄糖氧化发酵、柠檬酸盐利用、V-P、M-R、吡啶试验,并根据测定结果查阅《伯杰细菌鉴定手册》进行鉴定。

1.3 细菌群落变化的 PCR-DGGE 分析

1.3.1 细菌基因组总 DNA 的提取与纯化

400 mL 水样经 0.3 μm 滤膜过滤,收集滤膜并剪碎,加 TE(10 mmol/L Tris 1 mmol/L EDTA; pH 8.0)漩涡以释放所吸附的菌体。采用 Mayali 等^[3]的方法进行细菌基因组 DNA 提取。所得 DNA 初提液采用 Takara 公司的胶回收试剂盒进行纯化。

1.3.2 PCR 扩增及变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析

以纯化后的细菌基因组总 DNA 为模版,采用细菌通用引物 27F 与 1492R 扩增以得到全长 16S rDNA;再以该扩增产物为模版,采用对大多数细菌和古生菌的 16S rDNA 基因 V3 区具有特异性的引物对 GC-341F 和 534R^[19]进行扩增。

PCR 反应在 MyCycler (Bio-Rad)上进行,反应体系组成包括:50 ng 的模板、20 pmol 正反向引物、200 μmol/L dNTP、5 μL 的 10 × PCR buffer (不含 MgCl₂)、1.5 mmol/L 的 MgCl₂、1 U 的 Ex Taq DNA 聚合酶和适量的双蒸水补足 50 μL。反应程序包括:94℃ 4 min;94℃ 45 s,55℃ 1 min,72℃ 45 s,30 次循环;72℃ 10 min;4℃ 保存。

采用 Bio-Rad 公司 Dcode™ 基因突变检测系统对 PCR 反应产物进行变性梯度凝胶电泳分离。采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶,变性剂范围为 35% ~ 55% (7 mol/L 尿素和 40% 去离子甲酰胺为 100% 变性)在 1 × TAE 中,60℃,130 V 条件下电泳 5 h,取出用 EB 染液染色,Bio-Rad 凝胶成像分析系统。分析染色后的凝胶并拍照。

采用 QuantityOne 软件对 DGGE 图谱进行分析,对各泳道分离出的条带数目、位置及强度进行比较,通过 Dice 系数计算不同样品间细菌群落相似度后生成相似度矩阵。

1.3.3 切胶测序及系统发育分析

对 DGGE 图谱上的优势条带进行切胶回收,以

V3 区引物(不带 GC 夹)采用相同程序进行 PCR 扩增后送交上海生物工程技术公司测序.将测序结果提交 NCBI 数据库并登记获得登陆号, Blast 搜索出相似性高的序列.利用 Clustal 软件进行多序列比对,通过 Mega 3.1 构建系统发育树.

2 结果与分析

2.1 湖区水华情况及水质分析

3 个湖区水华情况不同:2006 年 8 月水华暴发期,北湖藻华最多且伴有恶臭,西南湖其次,东南湖藻华较少;2006 年 9 月水华衰退期,除西南湖中还有少量藻外,东南湖与北湖无肉眼可见藻.由表 1 可看出,3 个湖区水质以北湖最差,西南湖与东南湖其次.8 月西南湖(B1)与北湖(C1)的总氮浓度均超过 2 mg/L,北湖总磷浓度高达 0.605 mg/L,并且 COD 高达 131.04 mg/L.由于水华暴发时,藻体大量增殖使得水体中光合作用加强,改变了水体的 pH 值,进而引发沉积物中磷释放的大幅增加^[20],这反过来又促进水华藻的大量生长,水体内有机物含量上升,COD 值增大.9 月 3 个湖区的总氮、总磷浓度及 COD 均有所下降,东南湖(A2)总氮含量最低,而北湖(C2)总磷含量最低,仅 0.057 mg/L.这主要是由于藻体增殖消耗,水体中的营养盐浓度逐渐降低至藻体生长所需水平,藻体开始衰亡并被分解,部分藻体沉降于沉积物中^[21],从而引起水体中总氮、总磷含量以及 COD 值的改变.

表 1 不同水样的性质/mg·L ⁻¹						
Table 1 Character of different water samples/mg·L ⁻¹						
项目	A1	A2	B1	B2	C1	C2
总氮	1.595	1.528	2.059	1.558	2.388	1.635
总磷	0.150	0.126	0.131	0.074	0.605	0.057
COD	22.23	16.58	46.85	40.23	131.04	56.25

2.2 细菌群落变化分析

2.2.1 可培养细菌群落变化

采用传统方法分离培养出 6 属 11 种细菌,包括芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)、葡萄球菌(*Staphylococcus* sp.)、不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)和金黄杆菌(*Chryseobacterium* sp.).图 1 和图 2 分别反映了各湖区内可培养细菌丰度及群落组成在水华期间的变化情况.

8 月水华暴发期,3 个湖区水样中芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)的数量占明显优势,所占比例约 45%~90%;假单胞菌(*Pseudomona* sp.)、黄杆菌

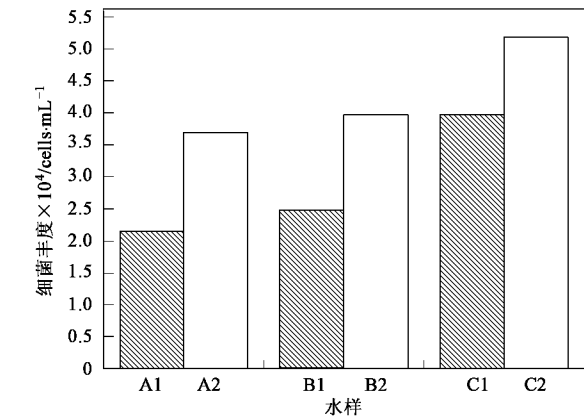


图 1 可培养细菌丰度变化
Fig.1 Change of culturable bacterial abundance

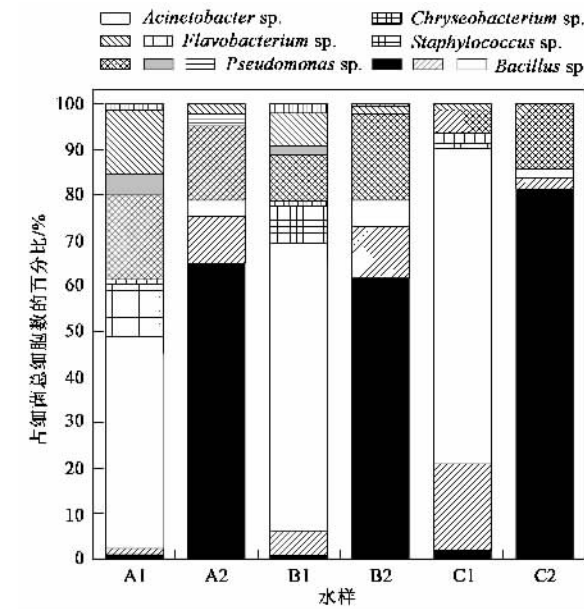


图 2 可培养细菌群落组成变化
Fig.2 Change of culturable bacterial community composition

(*Flavobacterium* sp.)、葡萄球菌(*Staphylococcus* sp.)在 3 湖区水样中均可检测到,北湖和西南湖还检测到了金黄杆菌(*Chryseobacterium* sp.),不动杆菌(*Acinetobacter* sp.).9 月水华衰退期,3 个湖区水样中可培养细菌数增加,芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)的数量仍占优势,所占总菌数比例均高于 70%,成为优势种;细菌种数相对 8 月有所下降,除西南湖与东南湖还有黄杆菌检出外,3 个湖区中仅有芽孢杆菌与假单胞菌,原有葡萄球菌、金黄杆菌、不动杆菌均未检出,并且占优势地位的芽孢杆菌与假单胞菌种类发生了改变.

2.2.2 PCR-DGGE 分析细菌群落变化

各湖区不同时期水样中细菌群落 16S rDNA 的

PCR 反应产物的 DGGE 图谱如图 3 所示,每个样品经过电泳分离出的条带数目不等,且各个条带的强度和迁移率各不相同.采用 Quantity One 软件对电泳所得图谱进行条带比较与相似度分析,所得结果如表 2 所示.

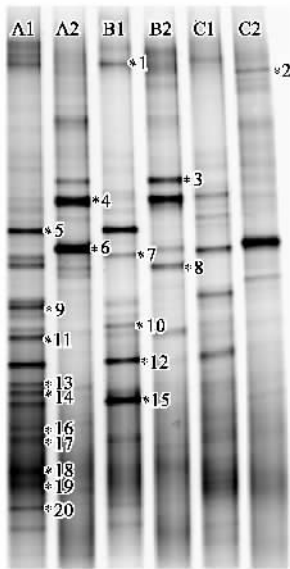


图 3 不同水样细菌群落组成变性梯度凝胶电泳(DGGE)分离图谱
Fig.3 DGGE profiles of bacterial community composition in different water sample

表 2 不同水样 DGGE 图谱相似度						
Table 2 Similarity of DGGE profiles of different water samples						
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
A1	100.0					
A2	13.6	100.0				
B1	56.8	9.6	100.0			
B2	20.5	54.9	7.6	100.0		
C1	39.0	31.3	36.6	18.0	15.0	100.0
C2	10.6	14.5	11.3	18.4	15.0	100.0

根据图 3 及表 2 可以看出:①同一湖区不同时期图谱相比较,8 月水华暴发期水样图谱中条带数高于 9 月水华衰退期,9 月图谱中原有的大部分条带消失但出现了某些新的条带(如条带 3,条带 6),不同时期图谱中处于同一位置的条带数少,并且图谱相似度仅在 10%左右,表明细菌群落在水华期间发生了较大变化,水华暴发期生物多样性相对较高,并且不同时期优势菌群种类不同.9 月图谱中条带颜色深,具有很高的荧光强度,表明细菌数量增大;②同一时期内 3 个湖区水样图谱中拥有较多相同位置条带,如 8 月水样中的条带 1,条带 7 和条带 12,以及 9 月水样中的条带 4 和条带 6,表明 3 个湖区在同一时期内有某些相同的细菌种群.8 月水华暴发

期,3 个湖区的 DGGE 图谱相似度超过 35%,9 月水华衰退期,西南湖与东南湖细菌群落也有 54.9%的高相似度.由于玄武湖 3 个湖区之间由桥洞相连,湖内秋季以北风、东风为主,水流方向为由北向南、由东向西,而西南湖无出口,因此北湖、东南湖的水华藻类易向西南湖漂移,造成滞留.3 个湖区细菌群落在水华暴发期具有较高的相似度,并且 9 月东南湖与北湖已无肉眼可见藻,而西南湖还有少量残藻存在,这可能与湖内风向和水流方向存在一定关联.比较 3 个湖区水样分离出的条带数发现,东南湖最多,西南湖其次,北湖最少,即同一时期内藻华相对密集的湖区优势菌群种数少,生物多样性低,由此推测,水华暴发对细菌群落生物多样性的影响还可能与藻体密集程度有关.

2.2.3 细菌系统发育分析

对 DGGE 图谱中较亮的 20 条优势条带进行回收测序,获得的序列提交 GenBank 注册并获得登陆号(EU026406~EU026425),使用 GenBank 中 Blast 程序得到数据库中与该 20 条序列相似度高的序列,通过软件进行多序列比对并构建系统发育树,结果如表 3、图 4 所示.

根据序列比较的结果,除条带 16 外,大部分条带所含的 DNA 序列与 GenBank 中已知序列拥有较高的相似度(>97%),某些条带(条带 1、条带 15、条带 17、条带 18)与已知序列相似度达 100%.由系统发育分析(图 4)可知,玄武湖微囊藻水华时期水体中细菌主要属于 3 大类,包括 Proteobacteria 中的 α 、 β -、 γ - Proteobacteria、Firmicutes 以及 Bacteroides.这些类群在淡水^[22]、海洋^[23]水体中普遍存在,水华环境中也检测到这些优势类群^[24],微囊藻上也分离出属于这些类群的细菌,包括 *Pseudomonas*、*Bacillus* 以及 *Flavobacterium*^[25-26].

变形菌纲 Proteobacteria 中共有 5 个属,包括 α -Proteobacteria 中的紫杆菌属 *Porphyrobacter* 和鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*, β -Proteobacteria 中的噬氢菌属 *Hydrogenophaga* 和 *Vogesella*, 以及 γ -Proteobacteria 中的假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.); Firmicutes 中主要为芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)和微小杆菌属(*Exiguobacterium* sp.); Bacteroides 中主要为黄杆菌属(*Flavobacterium* sp.).

比较 2 组水样中细菌类群组成发现,水华暴发期 Firmicutes 最多,占总数的 31.25%,其次为 Bacteroides,占总数的 25%, α -Proteobacteria 占总数的 18.75%, β -、 γ -Proteobacteria 分别占总数的 12.5%.

表 3 20 条序列的 Blast 结果

Table 3 Results of BLAST of 20 sequences

编号	登陆号	GenBank 中亲缘关系最近序列细菌(登陆号)	相似度/%
1	EU026406	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (DQ459316.1)	100
2	EU026407	<i>Pseudomonas</i> sp. I45(DQ831969.1)	98
3	EU026408	<i>Pseudomonas</i> sp. Oy-Go5(DQ357702.1)	100
4	EU026409	<i>Bacillus</i> sp. ge05(EF503614.1)	98
5	EU026410	<i>Bacillus</i> sp. ge06(EF503615.1)	99
6	EU026411	<i>Bacillus thuringiensis</i> (AM269452.1)	99
7	EU026413	<i>Bacillus cereus</i> (EF582416.1)	99
8	EU026412	<i>Porphyrobacter</i> sp. SNRW6-5(AB299761.1)	97
9	EU026414	<i>Exiguobacterium</i> sp. RD3(EF541141.1)	99
10	EU026415	<i>Exiguobacterium</i> sp. LZXC10(DQ659057.1)	99
11	EU026416	Uncultured bacterium(AY537859.1)	97
12	EU026417	<i>Flavobacterium</i> sp. CC-UTSB42218(DQ072106.1)	99
13	EU026418	<i>Flavobacterium</i> sp. PAA-2(DQ267938.1)	99
14	EU026419	<i>Vogesella</i> sp. SK-2(AM689950.1)	97
15	EU026420	Uncultured bacterium(EF429584.1)	100
16	EU026421	Uncultured bacterium(AM232770.1)	89
17	EU026422	Uncultured bacterium(EF429584.1)	100
18	EU026423	<i>Sphingomonas</i> sp. 4_4K(EF540475.1)	100
19	EU026424	<i>Hydrogenophaga</i> sp. D11_24b2(AM403226.1)	98
20	EU026425	<i>Vogesella</i> sp. SK-2(AM689950.1)	97

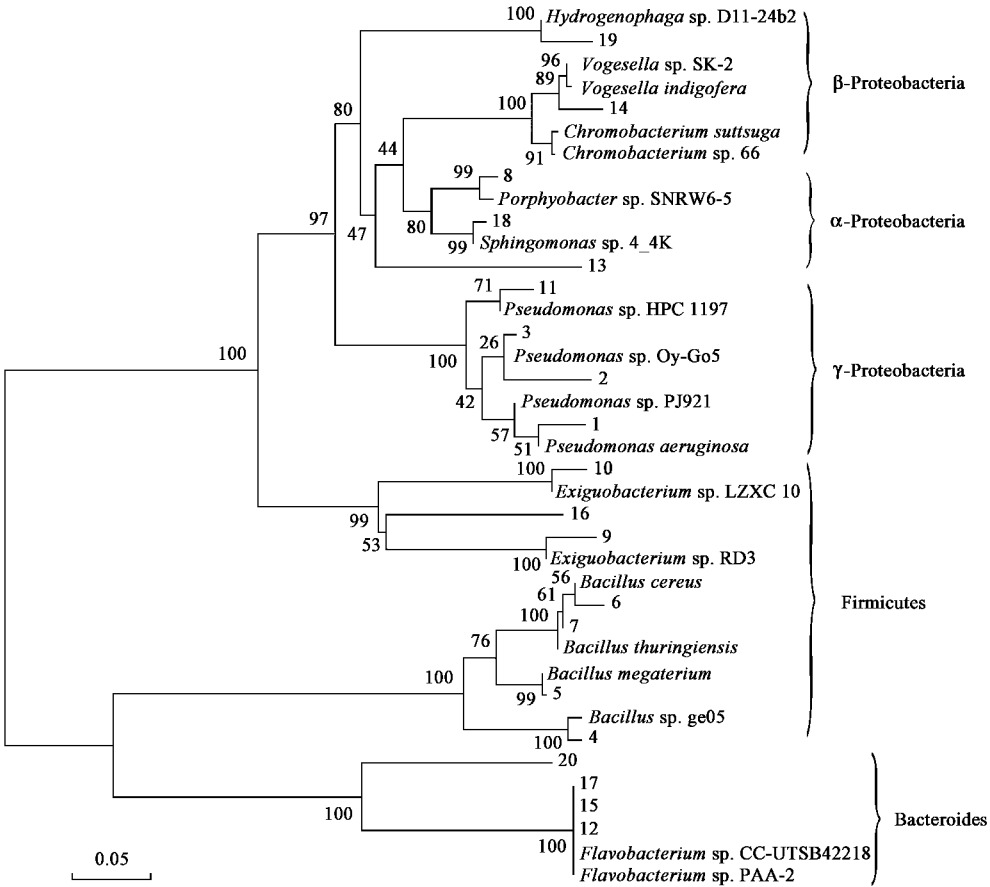


图 4 基于 DGGE 条带 16S rDNA 序列的不同水样细菌系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of bacteria in different water samples based on the 16S rDNA sequences of DGGE bands

水华衰退期, γ -Proteobacteria 类群细菌比例上升至 50%, Firmicutes 占总数的 33.3%, α -Proteobacteria 占总数的 16.7%. 水华不同时期细菌群落组成是不同细菌生理特征适应环境的反映, 细菌群落的变化是环境因子变化的结果. Bacteroides 与 Firmicutes 类群中的微生物广泛分布于厌氧环境中, 并具有降解一系列复杂有机高分子的能力, 包括碳水化合物及蛋白质^[27]. 研究发现湖泊中形成的有机聚合物上某些 α -以及 β -Proteobacteria 细菌附生, 并通过连续的群落演替分解并释放聚合物中的氨基酸^[28], 此外, 水华暴发过程中也发现 α -Proteobacteria 中的某些菌种附着于颗粒物上, 并具有很高的生长速率及酶活性^[11]. γ -Proteobacteria 偏好于高营养盐环境, 并且易于吸收低分子量的溶解性有机物^[29,30]. 本研究中水华暴发期 Firmicutes 与 Bacteroides 共占总数的 56.25%, α -, β -Proteobacteria 共占总数的 31.25%, 这可能与藻类代谢造成水体氧化还原电位降低所形成的厌氧环境、聚集藻体提供的附生场所、以及水体中颗粒性有机物的存在有关, 水华衰退期 γ -Proteobacteria 类群细菌比例上升至 50%, 这可能与藻体大量衰亡, 水体中溶解性有机物含量上升有关.

水华暴发期共检测到 16 种细菌, 其中以 *Pseudomonas* sp.、*Bacillus* sp.、*Flavobacterium* sp. 居多, 这与培养方法所得结果一致, 此外还包括 *Hydrogenophaga* sp.、*Sphingomonas* sp.、*Exiguobacterium* sp.、*Porphyrobacter* sp.、*Chromobacterium* sp. 及 *Vogesella* sp.. 水华衰退期共检测到 6 种细菌, 分别属于 *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Porphyrobacter* sp.. 传统方法与 DGGE 2 种方法分别检测到的细菌种类不尽相同, 但所反映的细菌群落组成变化趋势一致, 即水华暴发期, 细菌群落中优势菌群种数多, 生物多样性高, 水华衰退期优势菌群种数减少, 原有的某些菌属消亡, 如 *Hydrogenophaga*、*Vogesella*、*Sphingomonas* 以及 *Exiguobacterium*, 并且 *Pseudomonas* 与 *Bacillus* 虽然在水华暴发及衰退期一直处于优势, 但其优势菌的种类发生了变化. 与此类似, Biovin 等^[31]发现涝原沉积物中细菌群落的遗传学及生理学结构与藻类群落的种属组成有关, 并推测藻菌之间可能存在特定的种属关联, Bell 等^[32]研究发现特定藻体合成的有机碳只对特定细菌有利. 此外, 研究表明 *Pseudomonas* 与 *Bacillus* 具有溶解微囊藻的特性^[4,8], *Sphingomonas* 对于微囊藻毒素 (microcystin, MC) 具有很强的降解能力^[33], 这可能表明某些菌属的存在也与铜绿微囊藻自身有一定关联.

3 结论

(1) 本研究结合传统培养方法与 PCR-DGGE 技术对水华湖泊中的细菌群落结构进行了分析, 根据分析结果, 玄武湖微囊藻水华时期水体中细菌主要属于 3 大类群, 包括 Proteobacteria、Firmicutes 以及 Bacteroides. 水华暴发期主要为 Firmicutes, 其次为 Bacteroides 以及 α -, β -, γ -Proteobacteria, 水体中优势菌群种数多, 生物多样性高; 水华衰退期 γ -Proteobacteria 菌群所占比例上升, 其次为 Firmicutes 与 α -Proteobacteria, 群落中原有的某些菌属消亡, 优势菌群种数减少, 但细菌数量增大; *Pseudomonas* 与 *Bacillus* 在水华暴发及衰退期一直处于优势, 但其优势菌的种类发生了变化; 并且同一时期内, 藻华相对密集的湖区其细菌群落优势菌群种类数相对较少, 生物多样性相对较低.

(2) 水体中细菌群落的变化可能与水华过程中有机物的浓度及形态、微囊藻的聚集与消散所造成的光照、溶解氧以及为细菌所提供的附生场所等环境因子有关, 此外, 藻体密集程度也可能对细菌群落生物多样性有一定影响.

参考文献:

- [1] Freund J A, Mieruch S, Scholze B, et al. Bloom dynamics in a seasonally forced phytoplankton-zooplankton model: Trigger mechanisms and timing effects[J]. Ecological Complexity, 2006, 3 (2): 129-139.
- [2] Stoderegger K E, Herndl G J. Dynamics in bacterial surface properties of a natural bacterial community in the coastal North Sea during a spring phytoplankton bloom [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 53(2): 285-294.
- [3] Mayali X, Doucette G J. Microbial community interactions and population dynamics of an algicidal bacterium active against *Karenia brevis* (Dinophyceae)[J]. Harmful Algae, 2002, 1: 277-293.
- [4] Wang X, Gong L, Liang S, et al. Algicidal activity of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Harmful Algae, 2005, 4: 433-443.
- [5] 连玉武, 王艳丽, 郑天凌, 等. 赤潮科学中藻菌关系研究的若干进展[J]. 海洋科学, 1999, 1: 35-38.
- [6] Adachi M, Matsubara T, Okamoto R, et al. Inhibition of cyst formation in the toxic dinoflagellate *Alexandrium* (Dinophyceae) by bacteria from Hiroshima Bay, Japan[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2002, 26: 223-233.
- [7] Salomon P S, Janson S, Granéli E. Molecular identification of bacteria associated with filaments of *Nodularia spumigena* and their effect on the cyanobacterial growth[J]. Harmful Algae, 2003, 2: 261-272.
- [8] Shi S, Liu Y, Shen Y, Li G, et al. Lysis of *Aphanizomenon xoshaquae* (Cyanobacterium) by a bacterium *Bacillus cereus* [J].

- Biological Control, 2006, **39**: 345-351.
- [9] Riemann L, Steward G F, Azam F. Dynamics of Bacterial Community Composition and Activity during a Mesocosm Diatom Bloom[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(2): 578-587.
- [10] Fandino L B, Riemann L, Steward G F, *et al.* Variations in bacterial community structure during a dinoflagellate bloom analyzed by DGGE and 16S rDNA sequencing[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2001, **23**: 119-130.
- [11] 金相灿, 李兆春, 郑朔方, 等. 铜绿微囊藻生长特性研究[J]. 环境科学研究, 2004, **17**(6): 52-54.
- [12] Mozelaar R, Stal L J. Fermentation in the unicellular cyanobacterium *Microcystis* PCC7806[J]. Archiv Fur Hydrobiologie, 1994, **50**: 491-509.
- [13] Worm J, Søndergaard M. Dynamics of heterotrophic bacteria attached to *Microcystis* spp. (Cyanobacteria)[J]. Aquatic Microbial Ecology, 1998, **14**(1): 19-28.
- [14] Alldredge A L, Passow U, Logan B E. The abundance of a class of large, transparent organic particles in the ocean[J]. Deep Sea Research, 1993, **40**: 1131-1140.
- [15] Muylaert K, Zhso L, van der Gucht K, *et al.* Trophic coupling in the microbial food web of a eutrophic shallow lake (Lake Visvijver, Belgium)[J]. Archiv fur Hydrobiologie, 2006, **166**: 307-324.
- [16] 陆源, 文建凡, 吕天雯. 滇池铜绿微囊藻 *M. aeruginosa* Kutz 的分离培养与总 DNA 提取的改进[J]. 湖泊科学, 2001, **13**(3): 285-288.
- [17] Jiang L, Yang L, Xiao L, *et al.* Quantitative studies on phosphorus transference occurring between *Microcystis aeruginosa* and its attached bacterium(*Pseudomonas* sp.)[J]. Hydrobiologia, 2007, **581**: 161-165.
- [18] 肖琳, 杨柳燕, 尹大强, 等. 环境微生物实验技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004. 71-72.
- [19] Muyzer G, Dewaal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, **59**: 695-700.
- [20] 谢平. 浅水湖泊内源磷负荷季节变化的生物驱动机制[J]. 中国科学 D 辑, 2005, **35**(增刊 II): 11-23.
- [21] 孔繁翔, 高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考[J]. 生态学报, 2005, **25**: 589-595.
- [22] Glockner F O, Zaichikov L E, Belkova N, *et al.* Comparative 16S rRNA analysis of lake bacterioplankton reveals globally distributed phylogenetic clusters including an abundant group of actinobacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology 2000, **66**: 5053-5065.
- [23] Bano N, Hollibaugh J T. Phylogenetic composition of bacterioplankton assemblages from the Arctic Ocean[J]. Applied and Environmental Microbiology 2002, **68**: 505-518.
- [24] Riemann L, Winding A. Community dynamics of free-living and particle-associated bacterial assemblages during a freshwater phytoplankton bloom[J]. Microbial Ecology, 2001, **42**: 274-285.
- [25] 周子元, 罗屿, 马文漪, 等. 太湖中 4 种细菌的分离、鉴定及生长曲线的测定[J]. 湖泊科学, 1998, **10**(4): 60-62.
- [26] 王霞, 吕宪国, 张学林. 松花湖铜绿微囊藻无菌株的分离及其生长特征[J]. 中国环境科学, 2004, **24**(5): 579-583.
- [27] Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, *et al.* The Prokaryotes[M]. New York: Spinger, 2006.
- [28] Schweitzer B, Huber I, Amann R, *et al.* α - and β -Proteobacteria control the consumption and release of amino acids on lake snow aggregates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(2): 632-645.
- [29] Naganuma T, Fukai I, Murakami Y, *et al.* Effect of ultraviolet radiation on the bioavailability of marine diatom-derived low-molecular-weight dissolved organic matter[J]. Aquatic Ecosystem Health Manage, 2000, **3**: 163-166.
- [30] Pinhassi J, Hagstr m  . Seasonal succession in marine bacterioplankton[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2000, **21**: 245-256.
- [31] Boivin M E Y, Greve G D, Garcia-Meza J V, *et al.* Algalebacterial interactions in metal contaminated floodplain sediments [J]. Environmental Pollution, 2007, **145**: 884-894.
- [32] Bell R A, Ogden N, Kramer J R. The biotic ligand model and a cellular approach to class B metal aquatic toxicity[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 2002, **133**: 175-188.
- [33] Park H D, Sasaki Y, Maruyama T, *et al.* Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake[J]. Environmental Toxicology, 2001, **16**(4): 337-343.