低贤军,杨 红,程 睿,等. 洪泽湖湿地不同植物作用下沉积物细菌群落结构[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(5): 984–991. WU Xian-jun, YANG Hong, CHENG Rui, et al. Bacterial community structures in sediments are affected by different plants in Hongze Lake wetlands[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(5): 984–991.

洪泽湖湿地不同植物作用下沉积物细菌群落结构

伍贤军 1,2,杨 红 1,程 睿 1,盛 怡 1,韩建刚 1.2,李萍萍 1,2*

(1.南京林业大学生物与环境学院,南京 210037; 2.南京林业大学江苏省南方现代林业协同创新中心,南京 210037)

摘 要:为研究植物类型对水体沉积物细菌群落结构的影响,以洪泽湖湿地荷花、茭草和芦苇3种植物区沉积物样品为研究对象, 采用高通量测序技术分析其细菌群落组成。结果显示:3种植物区的沉积物样品分别获得1494、1503、1600个Operational Taxonomic Unit(OTU)。门的水平上,主要有变形菌门(Proteobacteria),绿弯菌门(Chloroflexi),酸杆菌门(Acidobacteria),硝化螺旋菌 门(Nitrospirae),拟杆菌门(Bacteroidetes),厚壁菌门(Firmicutes)。属的水平上,硝化螺旋菌属(Nitrospira),亚硝化单胞菌属 (Nitrosomonadaceae)为优势菌属,它们具有硝化作用。芦苇区和茭草区沉积物细菌群落结构较为相似。荷花区沉积物总有机碳和总 氮的含量明显低于芦苇区和茭草区,细菌群落组成也存在较大的差异,其中具有较强反硝化能力的嗜甲基菌(Methylotenera)、芽孢 杆菌(Bacillus)、假单胞菌(Pseudomonas)、乳球菌(Lactococcus)相对丰度高出芦苇区和茭草区的10倍以上。研究表明,植物类型影 响沉积物有机碳和氮的含量,继而影响沉积物细菌群落结构。与芦苇或茭草相比,荷花区沉积物具有更强的反硝化潜力,有利于降 低水体富营养化风险。

关键词:高通量测序;细菌群落;沉积物;洪泽湖

中图分类号:X524 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2018)05-0984-08 doi:10.11654/jaes.2017-1246

Bacterial community structures in sediments are affected by different plants in Hongze Lake wetlands

WU Xian-jun^{1,2}, YANG Hong¹, CHENG Rui¹, SHENG Yi¹, HAN Jian-gang^{1,2}, LI Ping-ping^{1,2*}

(1.College of biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2.Collaborative Innovation Center of Sustainable Forestry in Southern China of Jiangsu Province, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: To study the effects of plant species on sediment bacterial community structure, we collected samples from three different wetlands dominated by *Nelumbo nucifera, Zizania caduciflora*, and *Phragmites australis* in the Hongze Lake area and analyzed the samples using the high-throughput sequencing technique. The results showed that the number of Operational Taxonomic Units(OTUs) for each sample from the three wetlands were 1494, 1503, and 1600, respectively. At the phylum level, the dominant phyla in the sediments were Proteobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria, Nitrospirae, Bacteroidetes, and Firmicutes. At the genus level, high abundances of *Nitrospira* and *Nitrosomonadaceae*, which are mainly involved in nitrification, were observed in all sediment samples. The results also showed that the bacterial community structure at the *Phragmites australis* site was similar to that at the *Zizania caduciflora* site. The TOC and TN contents at the *Nelumbo nucifera* site were significantly lower than at the *Phragmites australis* and *Zizania caduciflora* sites. Furthermore, significant differences in bacterial community structure were observed between the *Nelumbo nucifera* site and the *Phragmites australis* or *Zizania caduciflora* sites. The relative abundances of *Methylotenera*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Lactococcus*, with their high nitrification capacities, meant that nitrification at the *Nelumbo nucifera* site was over 10 times higher than at the *Phragmites australis* or *Zizania caduciflora* sites. This indicated that the plant species had a significant influence on the C/N contents and bacterial community structure in the wetland sediments. Furthermore, *Nelumbo nucifera* has a greater potential for denitrification compared to *Zizania caduciflora* and *Phragmites australis*, which means that this plant can reduce the risk of eutrophication.

Keywords: high-throughput sequencing; bacterial community; sediment; Hongze Lake

收稿日期:2017-09-12 录用日期:2017-12-19

作者简介:伍贤军(1981—),男,湖南新宁人,讲师,从事环境生物学及环境生物技术研究。E-mail:xianjunwu2006@163.com

^{*}通信作者:李萍萍 E-mail:ppli@njfu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41375149,0901112);江苏省博士后科研资助计划项目(1501020A);江苏省高校优势学科建设工程项目(PAPD) Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41375149,0901112); Jiangsu Planned Projects for Postdoctoral Research Funds (1501020A); Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions(PAPD)

自然湿地是具有独特结构与复杂功能的生态系 统,在维持地球生态平衡,保护生物多样性,促进元素 生物地球化学循环等方面发挥着重要作用。江苏淮安 洪泽湖湿地是我国第四大淡水湖泊,自然环境条件独 特,湿地生物资源十分丰富。主要的植物种类有芦苇、 荷花、水花生、茭草、浮萍、金鱼藻、菹草等四,尤以挺水 植物芦苇、荷花和茭草分布较广,植物群落结构比较 简单。研究表明,植物对湖泊沉积物有机质的含量有 显著影响,水生植物的沉积是湖泊沉积物有机碳和氮 的主要来源四。同时,沉积物中的有机碳和氮显著影响 微生物生物量、群落结构及多样性^[3-5]。不同植物类型 由于生物量、生长发育期和凋落物性质等不同,对沉 积物有机质的贡献存在差异,对自然界的碳氮循环也 造成不同的影响。在不同植物的影响下,沉积物有机 质含量的差异也会带来微生物群落结构的差异,这种 差异展现出来的某些功能菌(比如反硝化细菌)则加 速了碳氮循环的进程。目前虽然对植物和有机质,微 生物和环境因子,植物和微生物之间的相互关系有较 多的研究[6-7],但是对植物-有机质-微生物三者之间 的相互关联缺乏认识,对不同植物影响沉积物微生物 群落结构的机制尚不明确。另外,微生物在湿地沉积 物微环境中扮演着极为重要的角色,如植物残体的分 解、污染物的去除、营养元素的物质循环等。对微生物 群落结构的解析将为揭开湿地生物反应器这个"黑匣 子"的运行机制提供数据基础,为了解湿地环境中微 生物与植物,微生物与环境因子,以及微生物之间的 相互关系提供依据。

解析湿地沉积物微生物群落结构的方法多种多 样¹⁸,如末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)技术¹⁹, 基于 16s rRNA 和功能基因的 RT-qPCR 方法^[10],磷脂 脂肪酸(PLFA)技术^[11]以及 PCR-DGGE 的方法^[12]等, 这些方法存在检测到的微生物种类不多,微生物分类 水平较低等缺陷。近年来,高通量测序技术得到了快 速发展,已经逐步应用到生物、医学、农业、食品、环境 等各个研究领域[13-17]。基于生物化学手段的 PLFA 技 术以及传统的 Q-PCR、TGGE、DGGE 等分子生物学 方法尽管在环境微生物群落结构研究方面仍然十分 有效,但利用高通量测序技术对湿地微生物群落结构 进行更为精细的分析十分必要。

本论文研究目的是利用高通量测序技术对洪泽 湖湿地西南部河湖交汇区芦苇、茭草和荷花3种不同 植物分区沉积物细菌群落结构进行分析,揭示其细菌 群落组成和丰度,探讨沉积物细菌群落特征、植物种

类、有机质含量三者之间的相互关联,为理解洪泽湖 湿地碳氮的生物地球化学循环,挖掘湿地微生物功能 奠定基础,为污染物的植物、微生物修复技术提供参 考。

1 材料和方法

1.1 样品的采集

洪泽湖湿地处于淮河中下游(33°6′~33°40′N, 118°10′~118°52′E),主要分布在环湖地区。其西南部 老子山镇是淮河与洪泽湖的交汇地区,具有较为复杂 的地理环境因素、特殊的生物资源以及微生物种类。 本文以洪泽湖西南部的河湖交汇区(33°12′N,118° 33'E)为研究区域。如图1所示,该研究区分布着芦 苇、茭草和荷花3种植物群落。3种植物区间隔明显, 没有其他的植物类型,面积较大,植物长势较为一致, 水流较慢。利用5点取样法[18],于2015年5月在荷花 区、茭草区和芦苇区分别采取沉积物样品,采样深度 为沉积物表层 0~5 cm,将每个区的 5 个样品混合成 一个样品。混合样品置于无菌的 50 mL 离心管中,并 被命名为 S1、S2 和 S3。3 份沉积物样品当天带回实验 室,-20℃保存。

1.2 理化性质的测定

沉积物样品在4℃下解冻。采用鲁如坤^{□9}描述的 方法对样品进行预处理。总有机碳(Total organic carbon,TOC)采用重铬酸钾容量法-外加热法(F-HZ-





DZ-TR-0046); 总氮(Total nitrogen,TN)采用凯氏定 氮法(GB 7848—1987); 硝酸盐氮(Nitrate nitrogen, NO₃-N)采用 HACH 分光光度计法 8507(HACH DR/ 2400); 氨氮(Ammonia nitrogen,NH₃-N)采用 HACH 分光光度计法 8038 (HACH DR/2400); 总磷(Total phosphorus,TP) 采用碱熔-钼锑抗分光光度法(HJ 632—2011)测定。样品的理化性质指标进行 2 次重复 测定(取 2 次测定结果平均值)。运用 SPSS Statistics 17.0 统计软件进行数据分析。

1.3 基因组 DNA 的提取

采用天根生化科技(北京)有限公司的土壤微生物基因组 DNA 提取试剂盒(DP336)的方法,称量 0.5g 沉积物样品,按试剂盒的实验步骤提取沉积物微生物的总 DNA。获得的总 DNA 样品纯度和质量通过 0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测。DNA 浓度通过 Nano Drop ND-1000 微型分光光度计测定。

1.4 PCR 扩增及高通量测序

为了构建细菌群落的基因文库进行高通量测序, 选择细菌 16S rRNA 的 V4-V5 可变区作为测序的目标 序列。利用通用引物 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和 907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'),以 提取到的总 DNA 样品为模板 PCR 扩增。PCR 反应体 系为 50 μL,包含有 0.2 μmol·L⁻¹ 的引物,10 ng 的 DNA 模板,0.25 mmol·L⁻¹ dNTPs,1×PCR 反应缓冲液, 2U的快速 PfuDNA 聚合酶(天根公司,北京)。PCR 扩 增使用的仪器为 ABI GeneAmp 9700(USA)。使用的 反应条件为:95 ℃预变性 2 min;95 ℃变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃延伸 45 s,30 个循环;72 ℃延伸 10 min。PCR产物通过2%的琼脂糖凝胶电泳检测,EB 染色后,通过琼脂糖凝胶回收试剂盒(天根公司,北 京)对目标条带进行纯化。对纯化的 PCR 产物进行浓 度的测定,以达到高通量测序的要求。将 PCR 产物样 品送至上海美吉生物医药科技有限公司,在Ilumina-Miseq 平台上进行高通量测序。

1.5 测序数据处理

测序得到的序列通过以下方法利用 Trimmomatic 软件进行质控过滤:(1)过滤 read 尾部质量值 20 以 下的碱基,设置 50 bp 的窗口,如果窗口内的平均质 量值低于 20,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后 50 bp 以下的 read;(2)根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对 reads 拼接(merge)成一条序列,最小 overlap 长度为 10 bp;(3)拼接序列的 overlap 区允许 的最大错配比率为 0.2,筛选不符合序列。根据序列首

农业环境科学学报 第 37 卷第 5 期

尾两端的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序 列,并校正序列方向。利用 Usearch(vsesion 7.1)软件 按照 97%相似性对非重复序列进行 OTU 聚类,在聚 类过程中去除嵌合体,得到 OTU 的代表序列,将所有 优化序列 map 至 OTU 代表序列,选出与 OTU 代表序 列相似性在 97%以上的序列。采用 RDP classifier 贝 叶斯算法对 97%相似水平的 OTU 代表序列进行分类 学分析,并在门和属的水平上统计每个样品的群落组 成。选用相似水平为 97%的 OTU 样本,统计多个样本 中所共有和独有的 OTU 数目表,绘制 OTU 分布韦恩 图^[20]。对复杂数据降维,运用方差分解,将多组数据的 差异反映在二维坐标图上,绘制 PCA 图^[21]。用颜色变 化来反映二维矩阵中的数据信息,并将数据进行物种 或样本间丰度相似性聚类,绘制群落的结构热图^[22]。

2 结果分析

2.1 样品理化指标

为了解研究区沉积物的生理生化条件,我们分 析了沉积物样品 S1、S2 和 S3 的某些理化指标。如表 1 所示,S1 的总有机碳(TOC,0.66 g·kg⁻¹)、总氮 (TN,0.08 g·kg⁻¹)、氨氮(NH₃–N,5.53 mg·kg⁻¹)和硝酸 盐氮(NO₃–N,1.47 mg·kg⁻¹)含量都明显低于 S2 及S3, 特别是总氮(TN)含量只有 S2(0.44 g·kg⁻¹)的 1/5 左 右。结合 ANVOA 方差分析,如表 2 所示,S1、S2 和 S3 的碳氮含量差异显著(P<0.05),其中 S1 和 S2 的差异 最大,S2 和 S3 的差异次之,S2 和 S3 的差异最小。3 个 样品总磷(TP)含量无显著性差异(P>0.05)。表明在同 一片水域受外来影响相同的情况下,植物种类可能影 响到沉积物有机质的含量,这些有机质是植物本身凋 落或死亡的残体,对沉积物中的氮碳含量有着重要的 影响。

2.2 测序结果的质量分析

沉积物样品 S1、S2 和 S3 分别得到 19 522、17 697 和 14 785 条有效序列,获得 1494、1503、1600 个OTU。 通过输入序列数目(小于总的样本序列条数)与 OTU 个数产出间的相互关系,绘制稀疏曲线。根据各样本 的测序量在不同测序深度 OTU 个数不再有升高的趋 势来表明测序数据是否完全覆盖微生物群落全部的 多样性。由图 2 可知,所有样品曲线均趋于平缓,这表 明实际测序量完全覆盖了群落物种的组成,可以真实 反映群落各物种间的相对比例关系。

2.3 不同植物作用下沉积物微生物多样性

对单样品的 α 多样性分析可以反映微生物的丰

2018年5月

	表 1 洪泽湖湿地沉积物的理化特征	
Table 1	Physicochemical properties of sediments from Hongze Lake w	etland

		5 1	1	0		
植物类型	编号	$TOC/g \cdot kg^{-1}$	$TN/g \cdot kg^{-1}$	$TP/g \cdot kg^{-1}$	$NO_3^N/mg \cdot kg^{-1}$	$\mathrm{NH_4^+}\mathrm{-N/mg}\cdot\mathrm{kg}^{-1}$
荷花区	S1	0.71±0.11	0.08 ± 0.02	0.12±0.04	1.50±0.01	5.18 ± 0.01
茭草区	S2	2.84±0.13	0.44 ± 0.09	0.11±0.02	2.00±0.01	12.60±0.01
芦苇区	S3	2.07±0.08	0.30±0.04	0.12±0.03	2.00±0.01	22.05±0.01

表 2 沉积物理化特征差异显著性比较

Table 2 Comparison of difference significant of physicochemical properties of sediments

植物类型	编号	<i>P</i> value(TOC)	P value(TN)	<i>P</i> value(TP)	P value(NO ₃ -N)	P value(NH ₄ ⁺ -N)
荷花区茭草区	S1-S2	0.002	0.066	1	0	0
荷花区-芦苇区	S1-S3	0.009	0.225	1	0	0
茭草区-芦苇区	S2-S3	0.046	0.560	1	1	0
荷花区茭草区芦苇区	S1-S2-S3	0.002	0.048	1	0	0

注:均值差的显著性水平为0.05。

Note: The mean difference is significant at the 0.05 level.

度及多样性,包括利用 Chao 值、Ace 值、Shannon 值和 Simpson 值等一系列统计学分析指数对微生物多样性 的大小进行估算。Chao 值、Ace 值和 Shannon 值越大, Simpson 值越小,说明样品中物种越丰富。如表 3 所 示,Chao 值和 Ace 值芦苇区 S3 最高,茭草区 S2 其 次,荷花区 S1 最低,从 Shannon 指数和 Simpson 指数 来看,微生物物种丰度也表现为 S1<S2<S3。这表明不 同植物类型的沉积物微生物多样性具有一定的差异。

2.4 不同植物作用下沉积物微生物群落组成

将3种沉积物样品S1、S2和S3获得的OTU进行注释,统计在门类别上的物种组成,如图3所示。共有14个门的物种占所在样品的比例在1%以上。3种沉积物样品都以变形菌门(Proteobacteria)为优势菌群,占所在样品的比例均接近50%。其他的主要菌群为绿弯菌门(Chloroflexi,占7.2%~14.7%)、酸杆菌门(Acidobacteria,占9.47%~12.18%)、硝化螺旋菌门





(Nitrospirae, 占 6.14%~7.15%), 拟杆菌门(Bacteroidetes,占4.14%~4.34%),不同的植物类型之间以 上菌群占所在样品的比例均表现出一定的差异。而更 大的差异来自厚壁菌门(Firmicutes)。荷花区沉积物 样品 S1 的厚壁菌门(Firmicutes)占所在样品的比例 高达 10.48%, 而茭草区 S2、芦苇区 S3 的厚壁菌门 (Firmicutes)非常少(占1%左右)。这表明荷花区沉积 物的微生物群落组成与芦苇区、茭草区比较具有明显 的差异,而厚壁菌门(Firmicutes)丰度高是其主要的 特征。3种沉积物样品中还含有一定比例的绿菌门 (Chorobi, 占 2.38%~2.87%)、浮霉菌门(Planctomycetes,占1.79%~2.31%)、放线菌门(Actinobacteria, 占 1.15%~2.18%),各样品所占比例相差不大。另外, 沉积物中也有 Latescibacteria、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、螺旋菌门(Spirochaetae)、Aminicenadetes 的细菌,但丰度很低,有些占所在样品的比例不到 1%.

3种沉积物样品中微生物群落在属分类水平上的分布情况如图 4 所示。其中硝化螺旋菌属(Nitro-spira)在 3 种沉积物样品中都占有较大优势(6.14%~7.14%)。其在沉积物环境中起主要的硝化作用,可把亚硝酸盐转化为硝酸盐^[23],最近发现某些硝化螺旋菌也能展现完全的硝化能力,直接把氨盐氧化成硝酸盐^[24]。亚硝酸单胞菌(Nitrosomonadaceae)也占有较高的比例(2.36%~3.45%),负责把氨盐氧化成亚硝酸盐^[25]。这些细菌在 3 种沉积物样品中的丰度未表现出明显的差异,植物类型对其丰度影响不大。S2 和 S3 还含有相当比例的 Nitrospinaceae,分别占 2.25%和2.36%,而

表 3 洪泽湖湿地沉积物细菌多样性指数

Table 3 The bacterial diversity index from sediment samples of the Hongze Lake wetland

植物类型	编号	有效序列数	OTU 值	Chao 值	Ace 值	Shannon 值	Simpson 值
荷花区	S1	19 522	1494	1724	1704	6.05	0.008 5
茭草区	S2	17 697	1503	1758	1737	6.19	0.006 5
芦苇区	S3	14 785	1600	1841	1836	6.43	0.003 9









荷花区 S1 丰度较低,占 1.24%,它们在环境中也具有 一定的硝化作用。3 种沉积物样品含有丰富的厌氧绳 菌科(Anaerolineaceae),它们在 S2 和 S3 中的比例高

达 8.85%和 9.1%, 而在 S1 中也偏低, 占4.86%。 厌氧 绳菌科(Anaerolineaceae)是严格的厌氧菌,属于绿弯 菌门(Chloroflexi),在产甲烷烷烃降解中扮演重要的 角色^[26]。比较而言,与甲醇代谢有关的嗜甲基菌 (Methylotenera)含量在S1中的丰度较高,所占比例 达到 5.77%, 而在 S2 和 S3 中仅占 0.5%和 0.3%。同样 的情况出现在厚壁菌门(Firmicutes)的芽孢杆菌 (Bacillus)和乳球菌(Lactococcus)上,它们在 S1 中含 量为 4.47% 和 3.61%, 而在 S2 和 S3 中仅为 0.1% 和 0.3%,这与厚壁菌门(Firmicutes)在S1中的含量远高 于 S2 和 S3 的结果一致。除此之外, S1 含有相当比例 的假单胞菌(Pseudomonas, 1.87%), 而 S2 和 S3 几乎 没有。另外,沉积物样品 S1、S2 和 S3 中还含有 3.88%、5.74%和 7.63%的黄色单胞菌目(Xanthomonadale)的细菌。其他的微生物主要还有丛毛单胞菌科 (Comamonadaceae)、嗜氢菌科(Hydrogenophilaceae)、 未分类的 Latescibacteria、福格斯氏菌(Vogesella)、噬 纤维菌科(Cytophagaceae)等,它们在某些样品中占的 比例也在1%以上。以上结果表明,荷花区沉积物S1 与芦苇或茭草区沉积物 S2 或 S3 在细菌群落组成上 存在较大差异,其嗜甲基菌(Methylotenera)、芽孢杆 菌(Bacillus)、乳球菌(Lactococcus)和假单胞菌(Pseudomonas)丰度高出芦苇区或茭草区的10倍以上。

2.5 不同植物作用下沉积物微生物群落相似性分析

维恩图是用封闭曲线直观地表示集合及其关系的图形,通过维恩图可以展示 3 个沉积物样品之间 OTU 的相似性及分布情况。如图 5 所示,S1 和 S2 共 有 OTU 为 890,S2 和 S3 共有 OTU 为 952,S1 和 S3 共有 OTU 为 959,3 个样品共有的 OTU 数目则为 836,主要是硝化细菌。S1 独有的 OTU 为 73,S2 独有 的 OTU 为 23,S3 独有的 OTU 为 16,表明 S1 具有较 多独特的微生物种类,主要是嗜甲基菌(*Methylotenera*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)以及厚壁菌门(Firmi cutes)的细菌。基于 OTU 的主成分分析表明样品菌落 之间的差异,如图 6 所示,在横坐标方向,物种累计方 差贡献率达到 76.59%,沉积物样品 S2、S3 相距较近,



S1:荷花区 S2:茭草区 S3:芦苇区

图 5 洪泽湖湿地沉积物中微生物 OTU 分布 Venn 图

Figure 5 Venn diagram of bacteria from sediments of the Hongze Lake wetland





而与 S1 相距较远,表明 S1 与 S2、S3 都具有较大差 异,即荷花区沉积物与芦苇区和茭草区比较,细菌群 落结构具有较大差异。

微生物结构热图可以反映样品之间的物种组成 和差异,也可以对物种和样本进行聚类分析。如图 7 所示,在属的分类水平上,对总丰度前 25 的物种进行 热图分析表明,S1 和 S2、S3 在物种组成上具有较大 差异,这种差异主要表现在 S1 含有较多的嗜甲基菌 (Methylotenera)以及厚壁菌门的芽孢杆菌(Bacillus) 和乳球菌(Lactococcus),而 S2 和 S3 这些菌群则很 少。样品聚类分析也显示 S2 和 S3 群落结构具有比较 高的相似性,它们与 S1 存在一定的差异。物种聚类分 析表明:芽孢杆菌(Bacillus)和乳球菌(Lactococcus)、 厌氧绳菌科(Anaerolineaceae)和硝化螺旋菌属(Nitrospira)、未分类的 Latescibacteria 和 Acidobacteria 群落 分布较为类似,它们在沉积物中的功能可能具有一定 的相关性。



Figure 7 Heat map showing bacterial composition from sediments on genus level

3 讨论

湿地植物对湖泊沉积物中有机碳和氮的含量有 重要的影响。研究表明,湿地植物的存在显著地增加 了沉积物中碳氮的含量,湖泊内部水生植物的残体沉 积是沉积物有机质的主要来源,不同的植物类型与沉 积物有机质的含量密切相关[27-28]。在同一片区域,可以 认为外源有机碳和氮影响一致, 仅植物种类影响沉 积物的碳氮含量。在本研究中,荷花区沉积物的总有 机碳、全氮、氨氮和硝酸盐氮比芦苇区、茭草区要低 得多,存在极显著的差异。这可能与它们不同的生物 量有关。在洪泽湖湿地,芦苇的生物量大于荷花的生 物量[29], 芦苇凋落物和残体沉积的量应大于荷花的 量,其凋落物的性质也可能具有一定的差异,而凋落 物和残体沉积是有机质的主要来源^[30]。茭草和芦苇的 碳氮含量没有显著差异,推测它们具有相近的生物 量,但还需要更多的实验证实。环境因子与沉积物微 生物群落结构密切相关,这些因子包括有机质、重金 属、酸碱度、含水率以及氧化还原电位(ORP)等,碳氮 含量是影响微生物群落结构主要的环境因子[31]。在 本研究中,碳氮含量较低的荷花区沉积物细菌群落结 构与碳氮含量较高的芦苇区或茭草区具有明显差异, 这表明水生植物通过改变沉积物有机质的含量影响 其微生物群落结构,而不同的植物产生有机质含量的

差异是造成沉积物微生物群落结构差异的重要原因。 具体来看,碳氮含量较低的荷花区沉积物含有丰富的 厚壁菌门(Firmicutes),碳氮含量较高的芦苇区和茭 草区则都很少。这种极为显著的差异也表明沉积物有 机质和厚壁菌门(Firmicutes)的细菌具有更为密切的 关联。从分类学水平更高的属上看,厚壁菌门(Firmicutes)的芽孢杆菌和乳球菌在荷花区沉积物中具有 相对高的丰度。对于湿地沉积物中有机质和这类细菌 关系的机制尚不清楚。荷花区沉积物也还含有较高的 假单胞菌(Pseudomonas)、嗜甲基菌(Methylotenera), 这些菌株在芦苇区、茭草区沉积物中含量则极少。有 机质对微生物结构多样性的影响必然引起微生物功 能多样性的变化。研究表明,芽孢杆菌(Bacillus)具有 较强的好氧反硝化能力,在反硝化细菌群体中占据 了较大的比重^[32]。假单胞菌(Pseudomonas)也是常见 的反硝化细菌,很多的反硝化菌被鉴定为荧光假单胞 菌、施氏假单胞菌、恶臭假单胞菌、硝基还原假单胞菌 和嗜麦芽假单胞菌等^[33]。嗜甲基菌(Methylotenera)是 一种最新发现的与甲醇代谢有关的变形菌,同时具有 反硝化能力^[34]。因此,可以推测,荷花区沉积物存在较 强的好氧反硝化过程,具有更强的反硝化潜力,有利 于富营养化湖泊中氮素的去除,加速氮元素的生物地 球化学循环,但仍需更多的实验证实。

相对于荷花, 芦苇和茭草沉积物相对丰富的有机 质含量必然会引起好氧环境的减弱和厌氧环境的增 强, 这可能是好氧反硝化在荷花区较强的原因。这种 好氧环境和厌氧环境的此消彼长也能很好地解释为 何芦苇和茭草沉积物均含有相当高比例的厌氧蝇菌 科(Anaerolineaceae)的细菌, 而荷花区比例较低。

4 结论

(1)在3种植物芦苇、茭草和荷花区的沉积物中, 均以变形菌门(Proteobacteria)为优势菌群,相对丰度 比例相似,都接近50%;硝化螺旋菌属(Nitrospira)和 亚硝化单胞菌属(Nitrosomonadaceae)也占有较大的 比例,且相对丰度相当。沉积物硝化过程活跃,植物类 型对其没有影响。

(2)在相同的湿地环境中,荷花比芦苇或茭草具 有更低的碳氮水平,更低的细菌丰度及多样性。与芦 苇和茭草相比,荷花沉积物细菌群落组成呈现出较大 差异,出现丰富的厚壁菌门(Firmicutes)的细菌,如芽 孢杆菌(*Bacillus*)和乳球菌(*Lactococcus*)等。植物通过 改变沉积物碳氮含量影响其细菌群落结构,而不同的 农业环境科学学报 第 37 卷第 5 期

植物作用下沉积物碳氮含量的差异是造成其细菌群 落结构差异的重要原因。

(3)与芦苇和茭草相比,荷花区沉积物不仅有相 对丰富的芽孢杆菌(Bacillus)和乳球菌(Lactococcus), 还有高比例的假单胞菌(Pseudomonas)和嗜甲基菌 (Methylotenera)等,它们都具有较强的好氧反硝化功 能,这暗示荷花区沉积物有更强的反硝化潜力,可为 湖泊富营养化的植物修复提供借鉴和参考。

参考文献:

[1] 潘宝宝, 张金池, 冯开宇, 等. 洪泽湖典型水生植物群落碳储量[J]. 湿 地科学, 2014, 12(4):471-476.

PAN Bao-bao, ZHANG Jin-chi, FENG Kai-yu, et al. Carbon storage of typical aquatic plant communities in Hungtse Lake[J]. *Wetland Science*, 2014, 12(4):471-476.

- [2] 倪兆奎,李跃进,王圣瑞,等.太湖沉积物有机碳与氮的来源[J]. 生态 学报, 2011, 31(16): 4661–4670.
 NI Zhao-kui, LI Yue-jin, WANG Sheng-rui, et al. The sources of organic carbon and nitrogen in sediment of Taihu Lake[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(16): 4661–4670.
- [3] 杜瑞芳,李靖宇,赵 吉. 乌梁素海湖滨湿地细菌群落结构多样性
 [J]. 微生物学报, 2014, 54(10):1116-1128.
 DU Rui-fang, LI Jing-yu, ZHAO Ji. Bacterial diversity in littoral wetland of Wuliangsuhai Lake[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, 54 (10):1116-1128.
- [4] 冯 峰, 王 辉, 方 涛, 等. 东湖沉积物中微生物量与碳、氮、磷的相关性[J]. 中国环境科学, 2006, 26(3); 342-345.
 FENG Feng, WANG Hui, FANG Tao, et al. The correlation between microbial biomass and carbon, nitrogen, phosphorus in the sediments of Lake Donghu[J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(3); 342-345.
- [5] 王 娜, 徐德琳, 郭 璇, 等. 太湖沉积物微生物生物量及其与碳、 氮、磷的相关性[J]. 应用生态学报, 2012, 23(7):1921-1926.
 WANG Na, XU De-lin, GUO Xuan, et al. Microbial biomass and its correlations with carbon, nitrogen, and phosphorus in the sediments of Taihu Lake[J]. *Chin J Appl Ecol*, 2012, 23(7):1921-1926.
- [6] 陆开宏, 胡智勇, 梁晶晶, 等. 富营养水体中 2 种水生植物的根际微 生物群落特征[J]. 中国环境科学, 2010, 30(11):1508–1515. LU Kai-hong, HU Zhi-yong, LIANG Jing-jing, et al. Characteristics of rhizosphere microbial community structure of two aquatic plants in eutrophic waters[J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(11):1508– 1515.
- [7] 张亚朋,章婷曦,王国祥.苦草(Vallisneria natans)对沉积物微生物 群落结构的影响[J].湖泊科学,2015(3):445-450.
 ZHANG Ya-peng, ZHANG Ting-xi, WANG Guo-xiang. Influence of Vallisneria natans on microbial community in sediments[J]. Journal of Lake Sciences, 2015, 27(3):445-450.
- [8] 李甜甜, 胡 泓, 王金爽, 等. 湿地土壤微生物群落结构与多样性分析方法研究进展[J]. 土壤通报, 2016(3):758-762.
 LI Tian-tian, HU Hong, WANG Jin-shuang, et al. Progress in research methods of soil microbial structure and diversity in wetlands[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2016(3):758-762.

2018 年 5 月

伍贤军,等:洪泽湖湿地不同植物作用下沉积物细菌群落结构

- [9] Peralta A L, Matthews J W, Kent A D. Microbial community structure and denitrification in a wetland mitigation bank[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2010, 76(13):4207–4215.
- [10] Stoeva M K, Aris-Brosou S, Chételat J, et al. Microbial community structure in lake and wetland sediments from a high Arctic polar desert revealed by targeted transcriptomics[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e89531-e89531.
- [11] 张丁予,章婷曦,董丹萍,等. 沉水植物对沉积物微生物群落结构 影响:以洪泽湖湿地为例[J]. 环境科学, 2016, 37(5):1734-1741. ZHANG Ding-yu, ZHANG Ting-xi, DONG Dan-ping, et al. Influence of submerged plants on microbial community structure in sediment of Hongze Lake[J]. Environmental Science, 2016, 37(5):1734-1741.
- [12] 刘绍雄, 王明月, 王 娟, 等. 基于 PCR-DGGE 技术的剑湖湿地湖 滨区土壤微生物群落结构多样性分析[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(7):1405-1412.

LIU Shao-xiong, WANG Ming-yue, WANG Juan, et al. Analyzing soil microbial community structure diversity from Jianhu wetland lakeside zone using PCR-DGGE technique[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(7):1405–1412.

- [13] Schuster S C. Next-generation sequencing transforms today's biology
 [J]. Nature Methods, 2007, 5(1): 16–18.
- [14] Dorn C, Grunert M, Sperling S R. Application of high-throughput sequencing for studying genomic variations in congenital heart disease[J]. *Briefings in Functional Genomics*, 2014, 13(1):51–65.
- [15] Li X R, Liu X F, Zhang H Y, et al. Microbial community diversity in douchi from Yunnan Province using high-throughput sequencing technology[J]. Modern Food Science & Technology, 2014, 30(12):61–67.
- [16] Shapter F M, Cross M, Ablett G, et al. High-throughput sequencing and mutagenesis to accelerate the domestication of *Microlaena stipoides* as a new food crop[J]. *Plos One*, 2013, 8(12):e82641.
- [17] 庄林杰,夏 超,田 晴,等. 高通量测序技术研究典型湖泊岸边陆 向深层土壤中厌氧氨氧化细菌的群落结构[J]. 环境科学学报, 2017, 37(1):261-271.
 ZHUANG Lin-jie, XIA Chao, TIAN Qing, et al. Community structure

of anaerobic ammonia oxidation bacteria in subsurface soil from riparian zone to land in Baiyangdian Lake using high-throughput sequencing technology[J]. *A cta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37((1):261–271.

[18]张 昕,简桂良,林 玲,等. 土壤中落叶型棉花黄萎病菌的分子检测方法[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(5):990-995.
 ZHANG Xin, JIAN Gui-liang, LIN Ling, et al. Detection of defoliating

pathotype of Verticillium dahliae in soil by nested-PCR[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2011, 27(5):990–995.

[19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000:147-211.

LU Ru-kun. Soil agrochemistry analysis protocoes[M]. Beijing: China Agriculture Science Press, 2000:147–211.

- [20] Fouts D E, Szpakowski S, Purushe J, et al. Next generation sequencing to define prokaryotic and fungal diversity in the bovine rumen[J]. *PLoS* One, 2012, 7(11):e48289.
- [21] Oberauner L, Zachow C, Lackner S, et al. The ignored diversity:complex bacterial communities in intensive care units revealed by 16S pyrosequencing[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3(3):1413.

- [22] Jami E, Israel A, Kotser A, et al. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood[J]. *Isme Journal*, 2013, 7(6):1069.
- [23] Watson S W, Bock E, Valois F W, et al. Nitrospira marina, gen. nov. sp. nov.: A chemolithotrophic nitrite-oxidizing bacterium[J]. Archives of Microbiology, 1986, 144(1):1-7.
- [24] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, et al. Complete nitrification by Nitrospira bacteria[J]. Nature, 2015, 528(7583): 504.
- [25] Lynch A. Bergey's manual of systematic bacteriology:Volume two Proteobacteria (Part C)-The Proteobacteria [M]. Berlin:Springer, 2011:89-100.
- [26] Liang B, Wang L Y, Mbadinga S M, et al. Anaerolineaceae and Methanosaeta, turned to be the dominant microorganisms in alkanesdependent methanogenic culture after long-term of incubation[J]. A mb Express, 2015, 5(1):37.
- [27]余 辉,张文斌,卢少勇,等. 洪泽湖表层底质营养盐的形态分布特征与评价[J]. 环境科学, 2010, 31(4):961–968.
 YU Hui, ZHANG Wen-bin, LU Shao-yong, et al. Spatial distribution

characteristics of surface sediments nutrients in Lake Hongze and their pollution status evaluation[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(4): 961–968.

- [28] 黄玉洁,张 勇,张银龙,等.太湖百渎港湿地植物群落沉积物中碳、氮的空间变化研究[J].环境科学与管理,2015,40(3):140-145. HUANG Yu-jie, ZHANG Yong, ZHANG Ying-Long, et al. Spatial variation of C and N in sediments of wetland plant community in Baidu Port of Taihu Lake[J]. Environmental Science & Management, 2015, 40 (3):140-145.
- [29] 潘宝宝. 洪泽湖湿地水生植物群落碳储量研究[D]. 南京:南京林业 大学, 2013.

PAN Bao-bao. Research on carbon storage of major aquatic plant communities[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2013.

 [30] 葛绪广,王国祥,李振国,等.凤眼莲凋落物及其残体的沉降[J].湖 泊科学,2009,21(5):682-686.
 GE Xu-guang, WANG Guo-xiang, LI Zhen-guo, et al. The litter and

residue of Eichhornia crassipes (Mart.) Solms[J]. Journal of Lake Sciences, 2009, 21(5):682-686.

[31] 金 笑, 寇文伯, 于昊天, 等. 鄱阳湖不同区域沉积物细菌群落结构、功能变化及其与环境因子的关系[J]. 环境科学研究, 2017, 30 (4):529-536.

JING Xiao, KOU Wen-bo, YU Hao-tian, et al. Environmental factors influencing the spatial distribution of sediment bacterial community structure and function in Poyang Lake[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, 30(4):529–536.

- [32] Kim J K, Park K J, Cho K S, et al. Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96 (17):1897–1906.
- [33] Ji B, Yang K, Zhu L, et al. Aerobic denitrification: A review of important advances of the last 30 years[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2015, 20(4):643-651.
- [34] Mustakhimov I, Kalyuzhnaya M G, Lidstrom M E, et al. Insights into denitrification in *Methylotenera mobilis* from denitrification pathway and methanol metabolism mutants[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(10):2207.