



丰水期长荡湖入湖河流微生物群落结构特征及影响因素

闵嵩傲^{1,2}, 徐志鹏^{3,✉}, 巫丹^{1,✉}, 汪金辉⁴, 支亚², 戴宇斌⁵, 丁伟⁶

1. 江苏省环境科学研究院, 南京 210036; 2. 昆山市巴城镇建设局, 苏州 215300; 3. 昆山市水利设计院有限公司, 苏州 215300; 4. 上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240; 5. 昆山市水事综合管理中心, 苏州 215300; 6. 河海大学设计院, 南京 210098

摘要 为探究长荡湖入湖河流微生物群落结构特征及与环境因子的响应关系, 在综合考虑主要入湖河流和污染源类型等因素的基础上进行分组, 分析入湖河流中溶解氧 (DO)、pH、氮磷比 (TN/TP)、水温 (WT)、总有机碳 (TOC)、总氮 (TN) 和总磷 (TP) 共 7 个理化因子的分布特征。基于 16S rRNA 高通量测序技术并结合 Circos、ANOSIM 和冗余分析 (RDA) 等方法分析微生物群落结构特征的差异以及微生物群落与理化因子的关系。结果表明: 不同污染类型的长荡湖入湖河流中优势菌门、菌属种类相似, 但相对丰度却有所差别。优势菌门包括变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes); 优势菌属包含 hgcI clade、CL500-29 marine group、Acinetobacter、Comamonadaceae-Unclassified 和 Hydrogenophaga。ANOSIM 分析表明长荡湖入湖河流微生物群落结构特征与污染源类型相关。冗余分析 (RDA) 结果显示 pH、TP 与长荡湖入湖河流的优势菌门呈显著相关 ($P < 0.05$); DO、pH 与长荡湖入湖河流的优势菌属呈显著相关 ($P < 0.05$)。入湖河流的微生物群落在门、属分类水平上具有较高多样性且与污染源类型和理化因子相关, 这为长荡湖入湖河流污染防治和生态修复提供了数据支撑。

关键词 丰水期; 长荡湖; 入湖河流; 微生物群落; 影响因素

长荡湖流域地处太湖流域上游, 是太湖重要水系。流域总面积 2 161.46 km², 地势西高东低; 流域内水系发达, 流向复杂, 主要流向为自西向东。由于大规模的农业耕作、淡水养殖以及快速城镇化, 导致长荡湖流域氮、磷污染严重。据报道目前长荡湖流域水质恶化, 水体受富营养化和蓝藻水华暴发的影响, 进而威胁太湖流域生态安全^[1-3]。而研究表明入湖河流是湖泊的主要污染源^[4-5]。如黄明雨^[6] 研究发现洱海入湖河流的氮磷输入是洱海氮磷的重要来源。谢培等^[7] 基于 EFDC 模型模拟不同调水方案下千岛湖上游入流和湖周入流 COD_{Mn} 变化对湖内 COD_{Mn} 的影响, 发现上游入流是影响千岛湖湖内 COD_{Mn} 的主要因素。因此对长荡湖入湖河流的水生态环境现状进行全面调查研究是十分必要的。

微生物在维持水生生态系统的功能和健康中起着至关重要的作用, 它既是全球生物地球化学循环的主要驱动者, 也是水生生态系统中污染物的主要分解者^[8]。由于微生物的存在, 水中复杂且难降解的有机污染物才得以分解^[9], 水生生态系统才能良性循环。早期微生物检测技术主要是分离培养法, 但此种方法存在培养难度大、周期长等缺陷。为弥补传统培养方法的不足, 现代分子生物学技术应运而生, 常见的分子生物学方法有高通量测序技术、实时荧光定量 PCR 和宏基因组测序技术等^[10-12]。相比第一代 DNA 测序技术, 高通量测序技术在读取样本数量、测序范围和准确性等方面有绝对优势^[13], 因此被广泛应用于环境样品的 16S rRNA、真菌的 ITS 区和功能基因的分析中^[14]。作为水生生态系统重要组成部分, 微生物的群落结构与多样性受水体理化性质和外部环境因素的共同影响。张烨以南太湖流域长兴港和西苕溪为研究对象, 发现季节变化是引起微生物群落多样性差异的主要因素, 且微生物群落特征受水体理化因子影响, 如入湖河流中水杆菌属

收稿日期: 2023-10-23; 录用日期: 2023-11-17

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20210953)

第一作者: 闵嵩傲 (1998—), 男, 硕士, 助理工程师, 1043223837@qq.com; ✉通信作者: 徐志鹏 (1997—), 男, 硕士, 工程师, 207995655@qq.com; 巫丹 (1985—), 女, 博士, 高级工程师, wd853@163.com

(Aquabacterium)、不动杆菌属 (Acinetobacter)、脱氯单胞菌属 (Dechloromonas)、噬氢菌属 (Hydrogenophaga) 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈正相关、DO 呈负相关^[15]。刘峰等^[16]利用高通量测序技术和典范对应分析 (CCA) 发现汾河与黄河微生物群落组成具有一定的差异, 不同环境因子对不同微生物的影响程度不同, pH 和溶解氧是汾河入黄口微生物群落结构的主要影响因子。SHANG 等^[17]基于 16S rRNA 高通量测序技术发现温度、pH 和 DO 的快速变化可能是影响呼伦湖季节性细菌多样性变化趋势的主要因素。因此研究水体中微生物群落与环境因子的响应关系, 对保护水体、维护水生生态系统平衡具有重要意义。

目前长荡湖流域的研究主要聚焦于长荡湖湖体的水质变化、浮游动物和底栖动物的群落结构特征以及沉积物污染风险等^[3, 18-21]。如王礼权等^[18]采用非度量多维尺度变换 (NMDS) 和冗余分析等方法探讨了长荡湖浮游植物群落结构组成特征及其与环境因子的关系。巫丹等^[19]则利用正定矩阵因子 (PMF) 模型和主成分分析多元线性回归 (PCA-MLR) 模型对湖泊重金属污染来源进行解析, 并评估了长荡湖沉积物重金属的风险等级。但鲜有研究关注长荡湖入湖河流的微生物群落结构特征及与环境因子的关系。鉴于丰水期中微生物多样性较高且雨量充沛; 同时渔业养殖、农业生产活动强, 对入湖河流水质造成较大冲击, 且较其他季节的污染更为严重^[22-23]。因此本研究基于 2021 年 6 月长荡湖入湖河流的采样数据, 分析入湖河流的微生物群落结构特征以及与环境因子的关系, 以期长荡湖及其入湖河流污染防治和生态修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 采样点设置与采样时间

在综合考虑长荡湖的主要入湖河流和污染源类型等因素的基础上, 在入湖河流中布设 11 个采样点。于 2021 年 6 月 (丰水期) 进行水样采集。采样点根据沿岸污染源类型, 分为农村生活污染、农业面源污染和渔业养殖污染 3 种类型。采样点的具体位置信息见表 1 和图 1。

1.2 水样采集与测定方法

使用有机玻璃采水器采集距水面 0.5 m 的水样, 每个采样点采集 1 L 水样, 保存于已消毒灭菌并用样本底水充分清洗的聚乙烯取样瓶中, 并在 4 °C 条件下运回实验室。其中 500 mL 水样用于理化因子测定, 500 mL 在实验室无菌环境下使用 0.45 μm 滤膜过滤后放入冻封管并置于 -20 °C 冰箱冷冻保存, 之后送至公司进行微生物基因测序。

测定的理化因子包括总有机碳 (TOC)、总氮 (TN)、总磷 (TP)、水温 (WT)、pH 值及溶解氧 (DO)。总有机碳 (TOC) 采用燃烧氧化-非分散红外吸收法; 总氮 (TN) 采用碱性过硫酸钾-紫外分光光度法; 总磷 (TP) 采用钼酸铵分光光度法; 采用 YSI 多参数水质分析仪 (YSI PRO1020 美国) 现场测定水温 (WT)、pH 值和 DO。

1.3 微生物群落测序分析方法

使用 PowerWater DNA 试剂盒 (MOBIO, USA) 提取基因组 DNA。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测提取的基因组 DNA。使用正向引物 341F(5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和反向引物 806R(5'-GGACTACNN GGGTATCTAAT-3') 对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增。扩增程序: 95 °C 预变性 3 min, 27 个循环 (95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s), 最后 72 °C 延伸 10 min (PCR 仪: GeneAmp® 9700, Applied Biosystems, USA)。

使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测。测序采用 Illumina MiSeq PE300 高通量测序平台进行测序。利用 Uparse 软件 (7.0.1001 版) 进行序列分析, 将相似性不低于 97% 的序列分配到同一

表 1 长荡湖入湖河流采样点位置信息

Table 1 Sampling locations in rivers entering Changdang Lake

污染类型	采样点编号	经度	纬度
农村生活污染	W152	119°29'28.67"E	31°37'13.51"N
	W153	119°29'25.54"E	31°35'1.75"N
	W154	119°29'9.86"E	31°34'32.47"N
	W155	119°29'36.09"E	31°32'45.49"N
	W162	119°35'39.21"E	31°40'28.72"N
农业面源污染	W150	119°31'15.62"E	31°39'31.88"N
	W151	119°30'30.00"E	31°38'18.13"N
渔业养殖污染	W157	119°33'27.30"E	31°34'43.09"N
	W159	119°36'34.12"E	31°36'52.48"N
	W161	119°36'30.18"E	31°39'23.19"N
	W164	119°32'57.24"E	31°40'17.43"N



图 1 长荡湖入湖河流采样点位分布

Fig. 1 Distribution of sampling sites in rivers entering Changdang Lake

个 OTU 进行物种注释。PCR 及测序均由上海凌恩生物科技公司完成。

1.4 数据处理与分析

基于 Microsoft Excel 处理的原始实验数据；使用 Origin 2018 软件绘制物种丰度柱状图，微生物多样性指数使用 QIIME 软件 (1.7.0 版) 计算。利用 R.v3.3.4 软件进行 ANOSIM 分析 (相似性分析)，用于确定不同分组下微生物相对丰度的差异。依托微生信在线平台绘制 Circos 图分析不同污染类型的入湖河流中微生物群落结构组成。在 Canoco for Windows 5.0 软件中使用冗余分析确定微生物群落与理化因子的响应关系。

2 结果与讨论

2.1 入湖河流的理化指标

长荡湖入湖河流中污染物浓度与污染类型存在一定关联。如表 2 所示，农业面源污染的入湖河流中总氮

表 2 长荡湖入湖河流水体理化指标

Table 2 Physical-chemical indicators of rivers entering Changdang Lake

污染类型	点位	TOC/(mg·L ⁻¹)	TN/(mg·L ⁻¹)	TP/(mg·L ⁻¹)	WT/(℃)	pH	DO/(mg·L ⁻¹)	TN/TP
农村生活污染	W152	2.70	1.98	0.10	24.7	7.9	6.34	19.80
	W153	5.90	1.94	0.10	26.9	8.02	6.77	19.40
	W154	6.10	1.88	0.10	26.6	7.97	5.63	18.80
	W155	6.30	1.83	0.11	27.4	8.02	6.56	16.64
	W162	4.10	0.69	0.03	27.1	8.09	7.49	23.00
农业面源污染	W150	3.20	2.71	0.12	24.9	7.72	4.55	22.58
	W151	3.00	2.83	0.10	24.5	7.83	5.71	28.30
渔业养殖污染	W157	4.20	0.70	0.04	27.2	8.14	7.28	17.50
	W159	4.00	0.72	0.04	27.6	8.02	6.43	18.00
	W161	4.00	0.64	0.04	28	8.01	7.89	16.00
	W164	3.10	1.79	0.05	26.2	8.03	6.57	35.80

浓度范围为 $2.71\sim 2.83\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 平均浓度为 $2.77\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。总磷浓度范围为 $0.10\sim 0.12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 平均浓度为 $0.11\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而农村生活污染和渔业养殖污染的入湖河流中总氮、总磷的平均浓度分别约为 1.66 、 $0.96\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.09 、 $0.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由此可见, 相比农村生活污染和渔业养殖污染, 农业面源污染贡献了更多的有机污染物, 特别是含氮污染物。农业面源污染的入湖河流中 W150 和 W151 的总氮浓度超过地表水 V 类水质标准 ($\leq 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。其总氮浓度高的原因是该区为我国重要的商品粮基地, 而农业生产需要施加化肥且丰水期是农业生产的关键时期, 因此, 富氮的农业尾水排入河流, 致使周边河流总氮浓度维持在较高的浓度范围。农村生活污染的入湖河流中 W153、W154、W155 的 TOC 和 TN 浓度普遍较高, 这是其周边生活着农村居民, 大量生活污水被直接排入河中, 造成河流有机物及氮素的积累。除 W164 外, 渔业养殖污染的入湖河流中其余点位的总氮、总磷浓度均维持在较低的浓度水平。3 种污染类型的入湖河流中 WT 总体范围为 $(26.25\pm 1.75)\text{ }^{\circ}\text{C}$; pH 维持在 7.93 ± 0.21 , 呈弱碱性; DO 浓度范围处于 $(6.22\pm 1.67)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 入湖河流微生物群落分布

1) 门分类水平微生物群落结构。长荡湖入湖河流的微生物群落在门分类水平上具有较高的多样性。11 个采样点中共检测出 46 种已知微生物菌门, 入湖河流微生物在门分类水平上组成如图 2 所示, 其中相对丰度排在 10 名之后的菌门和其他未知物种归为 others。

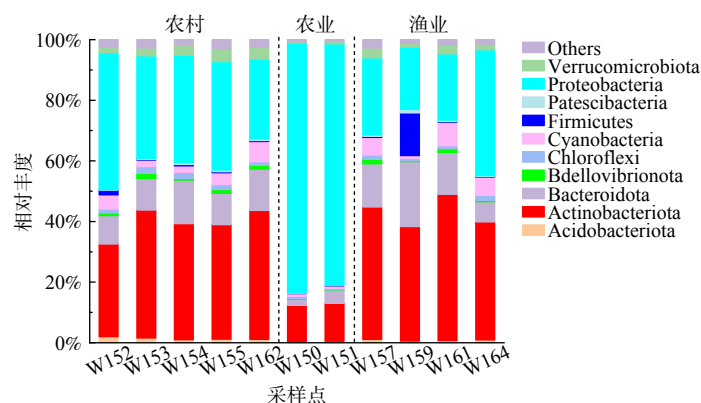


图 2 长荡湖入湖河流门分类水平微生物群落相对丰度图

Fig. 2 Relative abundance of microbial communities of rivers entering Changdang Lake at the phylum level

3 种污染类型的入湖河流中优势菌门种类相同, 主要包括变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes)。但不同污染类型的入湖河流中优势菌门相对丰度却有所差别。如农业面源污染入湖河流中变形菌门 (Proteobacteria) 相对丰度为 $81.09\%\pm 1.37\%$, 远高于农村生活污染 ($31.05\%\pm 4.68\%$) 和渔业养殖污染 ($24.49\%\pm 5.98\%$)。这是因为变形菌门 (Proteobacteria) 与氮循环有关^[24-25], 与氮循环密切相关的硝化细菌主要分散在变形菌门 (Proteobacteria) 的亚群中^[26-27]。而农业面源污染的入湖河流中总氮浓度远高于其余污染类型, 可见总氮对变形菌门 (Proteobacteria) 的生长有促进作用。农村生活污染和渔业养殖污染的入湖河流中放线菌门 (Actinobacteria) 相对丰度范围分别为 $40.19\%\pm 2.37\%$ 和 $38.43\%\pm 4.58\%$, 高于农业面源污染 ($12.26\%\pm 0.25\%$)。因为农业面源污染的入湖河流 DO 平均浓度为 $5.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 低于农村生活污染 ($6.56\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和渔业养殖污染 ($7.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。表明低 DO 浓度不利于放线菌门 (Actinobacteria) 生长。这与李明等^[28]的研究结论相似, 即厌氧环境能抑制放线菌门 (Actinobacteria) 的生长。农村生活污染、农业面源污染和渔业养殖污染的入湖河流中拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度依次为 $11.89\%\pm 2.48\%$ 、 $3.19\%\pm 1.13\%$ 、 $8.83\%\pm 4.89\%$ 。据报道总氮和碱解氮对拟杆菌门菌群丰度起抑制作用^[28], 而农业面源污染的入湖河流中总氮浓度偏高。这与人研究结论一致^[29]。

Circos 图可以更直观地展现不同污染类型的入湖河流中门分类水平微生物群落组成情况。如图 3 所示, 变形菌门 (Proteobacteria) 作为长荡湖入湖河流中第一大优势菌门, 其在农业面源污染的入湖河流中平均占比最高; 而放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和蓝细菌门 (Cyanobacteria) 在农业面源污染的入湖河流中平均占比最低。再次证明入湖河流中菌门的相对丰度与污染源类型相关。

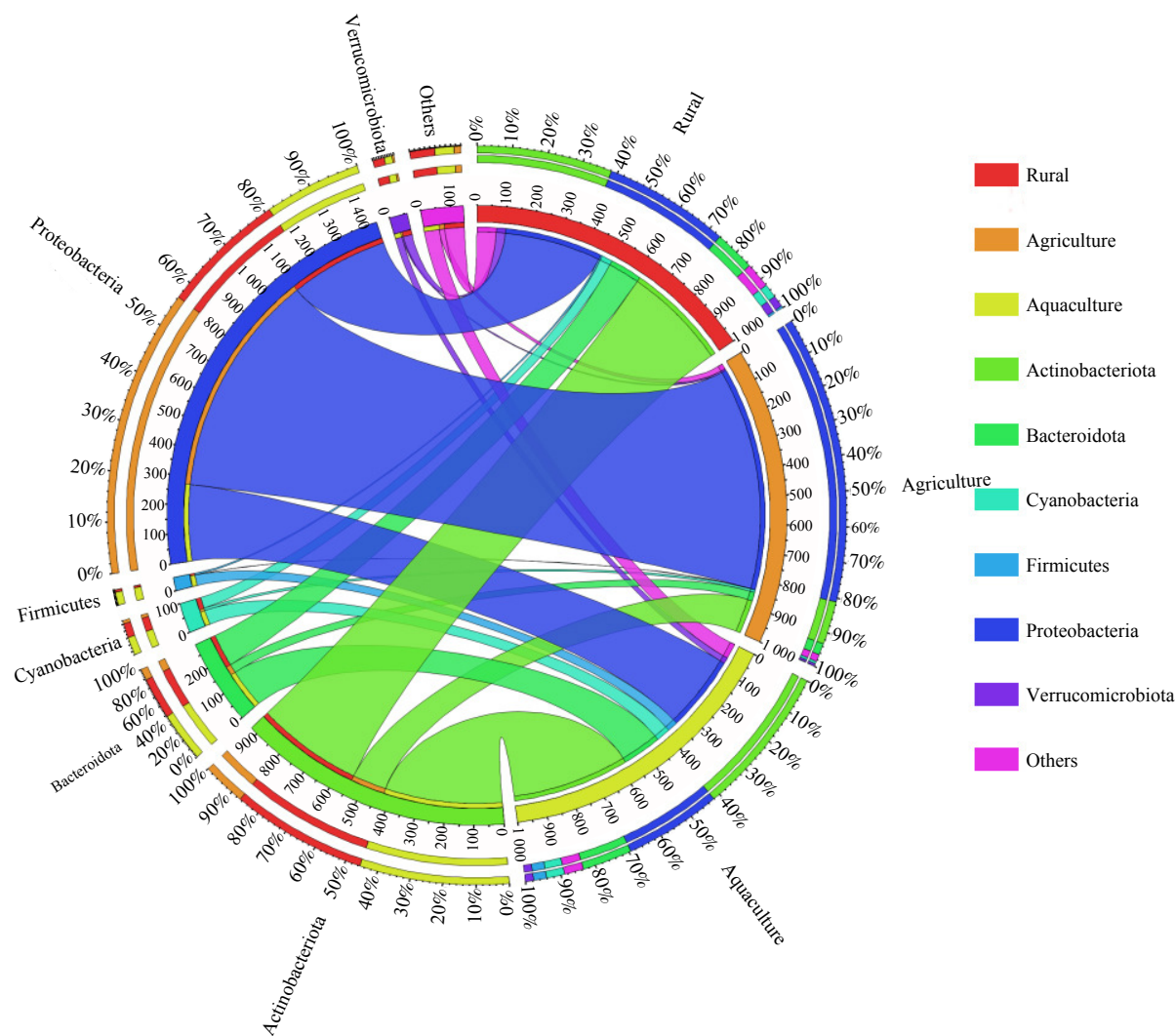


图 3 长荡湖入湖河流门分类水平微生物群落结构圈图

Fig. 3 Circos map of the microbial community in rivers entering Changdang Lake at the phylum level

2) 属分类水平微生物群落结构。长荡湖入湖河流属分类水平微生物群落结构组成如图 4 所示，其中相对丰度排在 15 名之后的菌属和其他未知物种归为 others。11 个采样点共检测出 617 种微生物菌属；但所有采

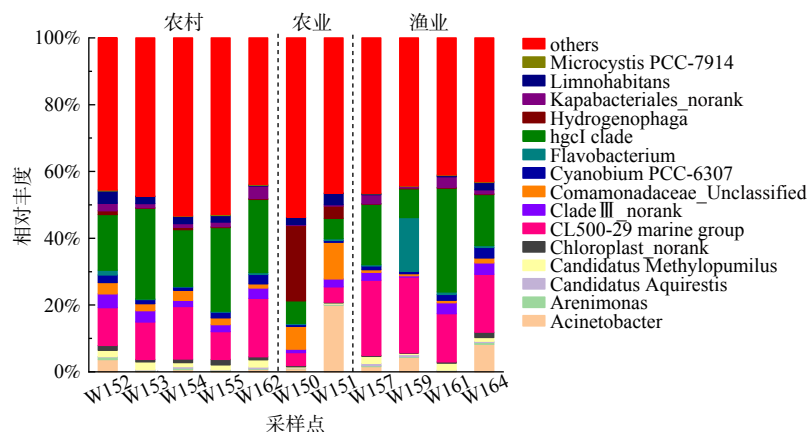


图 4 长荡湖入湖河流属分类水平微生物群落相对丰度图

Fig. 4 Relative abundance of microbial communities in rivers entering Changdang Lake at the genus taxonomic level

样点均有未能确定其分类学地位的菌属。入湖河流中相对丰度前 5 的菌属依次为: hgcI clade (6.10%~31.11%)、CL500-29marinegroup(3.89%~22.64%)、Acinetobacter(0.15%~19.99%)、Comamonadaceae-Unclassified(0.66%~10.94%) 和 Hydrogenophaga(0.07%~22.60%)。

不同污染类型的入湖河流中优势菌属种类相似,但相对丰度不同。hgcI clade 在农村生活污染和渔业养殖污染的入湖河流中平均占比分别为 21.55%、18.28%,高于农业面源污染 (6.43%);相同地,CL500-29 marine group 在农村生活污染、渔业养殖污染和农业面源污染的入湖河流中占比依次为 12.80%、19.25%、4.23%,说明农村生活污染和渔业养殖污染的入湖河流更适合 hgcI clade、CL500-29 marine group 的生长。反之,hgcI clade、CL500-29 marine group 能利用营养物质促进自身生长繁殖,进而改善水质^[30]。研究表明 hgcI clade 相对丰度随温度升高而明显增大,且与水质变好有关^[31-32];CL500-29 marine group 能够利用含碳有机物改善水质^[33]。因此农业面源污染的入湖河流 TOC 平均浓度 ($3.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 低于农村生活污染 ($5.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和渔业养殖污染 ($3.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。农业面源污染的入湖河流中 Hydrogenophaga 的相对丰度显著高于农村生活污染和渔业养殖污染。XING 等^[34]研究发现 Hydrogenophaga 是一种兼性自养菌,能在没有或有残留可生物降解有机物的污水中保持优势地位。所以在农业面源污染的入湖河流中,Hydrogenophaga 相对丰度反而更高。

进一步采用 ANOSIM 分析探究不同污染类型的入湖河流中各采样点微生物的相对丰度差异。结果表明,组间差异大于组内差异,且不同污染类型的入湖河流点位的微生物群落结构存在显著差异 ($p = 0.002$, $R = 0.579$),证明微生物群落结构与污染源类型相关。

3) 微生物群落 Alpha 多样性分析。长荡湖入湖河流中微生物群落 Alpha 多样性分析结果见表 3。

长荡湖入湖河流采集的水体样本中,Coverage 指数均在 0.97 以上,说明本次测序深度基本覆盖样品中的物种。3 种污染类型入湖河流中 Ace 指数最高的是农村生活污染 ($5\,590.5 \pm 1\,147.5$),最低的是农业面源污染 ($3\,969.5 \pm 164.5$);农村生活污染的入湖河流中 Chao1 指数最高 ($5\,329.0 \pm 1\,086.0$),Chao1 指数最低的是农业面源污染 ($3\,906.0 \pm 219.0$)。说明丰水期农村生活污染的入湖河流中微生物群落的丰富度最高,而农业面源污染的入湖河流中微生物群落丰富度最低。这与 ZHANG 等^[35]研究结论一致。即不同的外部污染输入与细菌群落呈显著相关,如农业污染会导致 norank_p_Aminicenantes 相对丰度升高。农村生活污染的入湖河流中 Shannon 指数平均值最高,约为 8.464,其次为渔业养殖污染 (7.756),农业面源污染 (6.704)。Simpson 指数与 Shannon 指数反映的结论一致。整体上,丰水期长荡湖入湖河流的微生物群落丰富度与多样性呈现农村生活污染>渔业养殖污染>农业面源污染的规律。

表 3 长荡湖入湖河流微生物 Alpha 多样性指数

Table 3 Alpha diversity index of microorganisms in rivers entering Changdang Lake

污染类型	点位名称	Ace	Chao1	Shannon	Simpson	Coverage
农村生活污染	W152	5897	5619	8.5312	0.0114	0.974
	W153	5733	5537	8.3473	0.0129	0.978
	W154	6051	5856	8.6283	0.0101	0.977
	W155	6738	6415	8.7358	0.0118	0.970
	W162	4443	4243	8.0785	0.0166	0.973
农业面源污染	W150	4134	4125	6.5501	0.0572	0.977
	W151	3805	3687	6.8585	0.0376	0.983
渔业养殖污染	W157	3698	3619	7.9462	0.0133	0.973
	W159	3733	3606	7.4672	0.0249	0.975
	W161	3763	3632	7.3288	0.0339	0.978
	W164	4997	4849	8.2801	0.0135	0.973

2.3 入湖河流微生物群落与理化因子相关性分析

1) 入湖河流优势门分类水平微生物群落与理化因子响应分析。长荡湖入湖河流中相对丰度前10的优势菌门与7个理化因子(DO、pH、WT、TOC、TN、TP和TN/TP)的冗余分析结果如图5所示。pH、TP与长荡湖入湖河流的优势菌门呈显著相关($p < 0.05$), DO、WT、TOC、TN及TN/TP与长荡湖入湖河流优势菌门的相关性不显著($p > 0.05$)。

长荡湖入湖河流中 DO 与 Actinobacteria、Cyanobacteria、Verrucomicrobiota 等菌门呈正相关, 说明 DO 能促进 Actinobacteria、Cyanobacteria、Verrucomicrobiota 等菌门的生长^[36-37]。同样地, Cyanobacteria 也可通过光合作用产生氧气, 增加水中溶解氧^[38]。而 DO 与 Proteobacteria 呈显著负相关, 表明随着 DO 浓度升高, Proteobacteria 丰度反而降低, 这与李亚莉等^[39]研究结论一致。入湖河流中 pH 与 Actinobacteria 呈显著正相关, 与 Proteobacteria 呈显著负相关。入湖河流中 WT、TOC 与 Proteobacteria 呈显著负相关, 但与其它菌门呈一定程度的正相关。这与邹沈娟等^[40]研究结论一致, 即变形菌门与 WT、TOC 显著负相关。但刘泽岸和孙琳^[41]却有不同观点, 其以沪灞河生态区为研究对象, 发现 Proteobacteria 与 WT 呈正相关。原因是本文和邹沈娟等^[40]研究文章中水样属于同一时间采集, 而刘泽岸和孙琳^[41]的研究文章中水样分别在夏、冬两季各采集一次。夏、冬两季水样的 WT 差距较大; 同时微生物有适宜的生长温度范围, 过高或过低均会降低微生物的丰度^[42]。因此造成了不同研究人员研究发现 Proteobacteria 与 WT 呈现出相关性不一致的现象。微生物的生长除了 WT、pH 等影响因素外, 营养因素 N、P 至关重要, 许多研究也发现营养因素与微生物群落结构有较大的相关性。如张雅洁等^[43]以北海湖为研究对象, 发现在 TN 浓度为 $0.83 \sim 1.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, TP 浓度为 $0.04 \sim 0.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 营养盐浓度增加, 能显著增加蓝细菌的丰度。薛银刚等^[44]研究发现营养盐在微囊藻属的有害增殖过程中起着重要的作用, 是推动微囊藻水华暴发的主要因素。但在本研究中, 入湖河流中 TN、TP 和 TN/TP 除与 Proteobacteria 呈显著正相关, 与其它菌门均呈一定程度的负相关。李先会等^[45]研究发现在满足微生物生长需要的条件下, 增加微生物生长所需底物(如 TN、TP)浓度反而会抑制微生物生长。对比发现, 长荡湖入湖河流中 TN 浓度为 $0.64 \sim 2.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, TP 浓度为 $0.03 \sim 0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 高于北海湖 TN、TP 浓度水平。所以在较高 TN、TP 浓度的环境下, 微生物生长反而受到抑制。而入湖河流中 TN、TP 和 TN/TP 与 Proteobacteria 呈显著正相关, 说明 Proteobacteria 对 TN、TP 的耐受性较强。

2) 入湖河流优势属分类水平微生物与环境因子响应分析。长荡湖入湖河流中相对丰度前15的优势菌属与7个理化因子(DO、pH、WT、TOC、TN、TP和TN/TP)的冗余分析结果如图6所示。DO、pH与长荡湖入湖河流的优势菌属呈显著相关($P < 0.05$), WT、TOC、TN、TP和TN/TP与长荡湖入湖河流的优势菌属相关性不显著($P > 0.05$)。

长荡湖入湖河流中 DO、pH 与 Hydrogenophaga、Acinetobacter、Limnohabitans 等菌属呈一定程度的负相关。Acinetobacter 属于专性需氧型

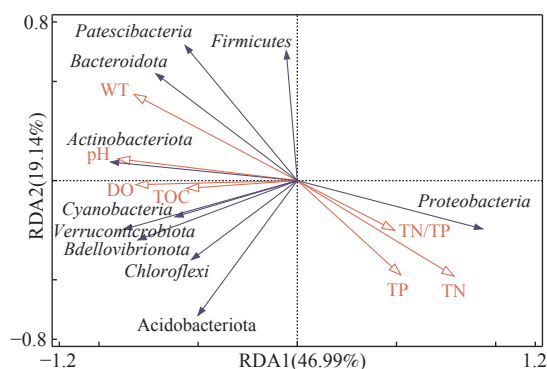


图5 长荡湖入湖河流优势菌门与理化因子间的冗余分析

Fig. 5 RDA between dominant bacterial phylum and physicochemical factors in rivers entering Changdang Lake

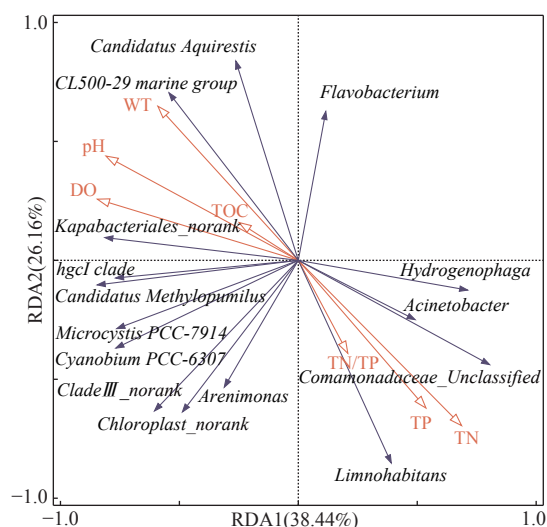


图6 长荡湖入湖河流优势菌属与理化因子间的冗余分析

Fig. 6 RDA between dominant bacterial genera and physicochemical factors in rivers entering Changdang Lake

细菌,能在有氧条件下将氨转化为硝酸^[37]。但本研究显示随着 DO 浓度升高, *Acinetobacter* 生长反而受到抑制。分析可能是受其它环境因子影响或其它优势菌属争夺 DO, 抑制了 *Acinetobacter* 生长。 *Limnohabitans* 喜欢非酸性的环境, 在溶解氧浓度较低的环境下, 生长速率快, 生存能力强^[46]; 而长荡湖入湖河流中较多的氮磷等营养物质为 *Limnohabitans* 提供了良好的生存条件且水体偏碱性, 因此 DO 升高反而抑制 *Limnohabitans* 繁殖。长荡湖入湖河流中 WT、TOC 与 *Hydrogenophaga*、*Acinetobacter*、*Comamonadaceae*_Unclassified、*Limnohabitans* 及 *Arenimonas* 呈一定程度的负相关, 与 CL500-29 marine group、*Candidatus Aquirestis*、*hgcI* clade 等菌属呈正相关。研究表明温度能影响微生物的活性且不同微生物的生长适宜温度并不相同^[47-48], 所以当 WT 处于 24.5~28 °C 内, WT 偏低有利于 *Hydrogenophaga*、*Acinetobacter*、*Comamonadaceae*_Unclassified、*Limnohabitans* 及 *Arenimonas* 的繁殖, WT 偏高则适宜 CL500-29 marine group、*Candidatus Aquirestis*、*hgcI* clade 等菌属生长。长荡湖入湖河流中 TN、TP 及 TN/TP 与 *Hydrogenophaga*、*Acinetobacter*、*Comamonadaceae*_Unclassified 及 *Limnohabitans* 等菌属呈一定程度的正相关, 与 CL500-29 marine group、*Candidatus Aquirestis*、*hgcI* clade 等菌属呈负相关。说明长荡湖入湖河流中 TN、TP 浓度早已超出 CL500-29 marine group、*Candidatus Aquirestis* 及 *hgcI* clade 等菌属生长所需浓度, 因此随着入湖河流中氮磷浓度升高, 这些菌属的生长反而受到抑制^[45]。

3 结论

1) 高通量测序结果表明, 丰水期长荡湖入湖河流 11 个采样点共检测出微生物群落 46 门, 617 属。在门、属分类水平上, 入湖河流各采样点的微生物群落中优势菌门、菌属种类相似, 但相对丰度却有所差别。进一步采用 ANOSIM 分析, 结果表明长荡湖入湖河流微生物群落与污染源类型相关。

2) 据微生物群落 Alpha 多样性分析结果显示, 3 种污染类型的长荡湖入湖河流中微生物群落多样性和丰富度呈现农村生活污染>渔业养殖污染>农业面源污染的规律。

3) 冗余分析表明, pH、TP 与长荡湖入湖河流的优势菌门呈显著相关 ($P<0.05$); DO、pH 与长荡湖入湖河流的优势菌属呈显著相关 ($P<0.05$), 且同一种理化因子与不同菌门、菌属的相关性不同。

参考文献

- [1] 刘维淦, 林琪, 张科, 等. 太湖流域长荡湖近百年生态环境演变过程[J]. 湖泊科学, 2022, 34(2): 675-683.
- [2] 赵苇航, 朱戎, 朱亮, 等. 长荡湖水环境变化趋势及其主要影响因素[J]. 水资源保护, 2014, 30(6): 48-53.
- [3] 王菲菲, 李小平, 陈小华, 等. 长荡湖近 15 年营养状态评价及限制因子研究[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(S1): 353-357.
- [4] 胡晓燕, 朱元荣, 孙福红, 等. 河流氮磷和水量输入对太湖富营养化的影响机理研究[J]. 环境科学研究, 2022, 35(6): 1407-1418.
- [5] 高可伟, 朱元荣, 孙福红, 等. 我国典型湖泊及其入湖河流氮磷水质协同控制探讨[J]. 湖泊科学, 2021, 33(5): 1400-1414.
- [6] 黄明雨. 环洱海主要入湖河流水质特征及入湖污染负荷估算[J]. 人民长江, 2022, 53(1): 61-66.
- [7] 谢培, 高峰, 王书航, 等. 入湖河流对千岛湖水质影响研究—以 COD_{Mn} 为例[J]. 环境工程技术学报, 2019, 9(6): 692-700.
- [8] 胡佳欣, 陈瑜, 袁伟皓. 太湖入湖河口表层沉积物细菌群落结构和功能演变规律研究[J]. 环境科学学报, 2023, 43(10): 371-381.
- [9] YIN Y R, W H, JIANG Z H, et al. Degradation of triclosan in the water environment by microorganisms: A review[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(9): 1713.
- [10] YE L, SHAO M F, ZHANG T, et al. Analysis of the bacterial community in a laboratory-scale nitrification reactor and a wastewater treatment plant by 454-pyrosequencing[J]. *Water Research*, 2011, 45: 4390-4398.
- [11] LI S, XIAO X, YIN X, et al. Bacterial community along a historic lake sediment core of Ardley Island, west Antarctica[J]. *Extremophiles*, 2006, 10: 461-467.
- [12] LEE D H, ZO Y G, KIM S J. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62: 3112-3120.
- [13] NILSSON R H, RYBERG M, ABARENKOV K, et al. The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2009, 296: 97-101.
- [14] KIM S J, PARK S J, CHA I T, et al. Metabolic versatility of toluene-degrading, iron-reducing bacteria in tidal flat sediment, characterized by stable isotope probing-based metagenomic analysis[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16: 189-204.
- [15] 张焯. 南太湖流域典型入湖河流水质与微生物菌群时空分布研究[D]. 浙江大学, 2020.
- [16] 刘峰, 冯民权, 王毅博. 汾河入黄口夏季微生物群落结构分析[J]. 微生物学通报, 2019, 46(1): 54-64.
- [17] SHANG Y Q, WU X Y, WANG X B, et al. Factors affecting seasonal variation of microbial community structure in Hulun Lake, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 805: 150294.
- [18] 王礼权, 刘钰, 张毅敏, 等. 长荡湖、溧湖、竺山湾藻类功能群结构组成与环境因子的关系[J]. 水资源保护, 2023, 39(2): 224-232.
- [19] 巫丹, 凌虹, 姜明月, 等. 长荡湖沉积物重金属污染特征及生态风险评价[J]. 环境污染与防治, 2023, 45(3): 370-375+399.
- [20] 郭刘超, 韩庚宝, 邓俊辰, 等. 长荡湖浮游动物群落结构特征及影响因素分析[J]. 江苏水利, 2019(2): 1-5+10.

- [21] 蔡永久, 刘劲松, 戴小琳, 等. 长荡湖大型底栖动物群落结构及水质生物学评价[J]. 生态学杂志, 2014, 33(5): 1224-1232.
- [22] 刘荣坤, 徐锦前, 张颖, 等. 洪泽湖湖滨带丰水期水质空间分异特征及其影响因素[J]. 长江流域资源与环境, 2023, 32(1): 151-161.
- [23] EMBONG D B, ALISA W, PATCHARAPORN K, et al. Spatial and seasonal variability of reef bacterial communities in the upper gulf of Thailand[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2018, 5: 441.
- [24] 高志伟, 刘凡惠, 贾美清, 等. 基于 Illumina 高通量测序的天津北大港湿地沉积物细菌群落特征和多样性分析[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2021, 41(4): 45-52.
- [25] 程豹, 望雪, 徐雅倩, 等. 澜沧江流域浮游细菌群落结构特征及驱动因子分析[J]. 环境科学, 2018, 39(8): 3649-3659.
- [26] 王春香, 刘常敬, 郑林雪, 等. 厌氧氨氧化耦合脱氮系统中反硝化微生物研究[J]. 中国给水排水, 2015, 31(13): 19-22.
- [27] 赵志瑞, 马斌, 张树军, 等. 高氨氮废水与城市生活污水短程硝化系统菌群比较[J]. 环境科学, 2013, 34(4): 1448-1456.
- [28] 李明, 马飞, 陈晓娟, 等. 不同土地利用方式对宁夏盐渍化土壤细菌群落的影响[J]. 西北植物学报, 2021, 41(12): 2153-2162.
- [29] 杨阳, 章妮, 蒋莉莉, 等. 青海湖高寒草地土壤理化性质及微生物群落特征对模拟降水的响应[J]. 草地学报, 2021, 29(5): 1043-1052.
- [30] 王松鸽, 赖子尼, 麦永湛, 等. 珠江河网冬季浮游细菌群落结构及其影响因素[J]. 中国水产科学, 2019, 26(3): 522-533.
- [31] 刘芹, 彭党聪. 城市污水生物脱氮系统中 DNRA 的检测与分析[J]. 中国给水排水, 2019, 35(19): 1-6.
- [32] ELIU J W, EFU B B, EYANG H M, et al. Phylogenetic shifts of bacterioplankton community composition along Pearl Estuary: the potential impact of hypoxia and nutrients[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 64.
- [33] V M L, ROBERT L, RICKARD D, et al. Consequences of increased terrestrial dissolved organic matter and temperature on bacterioplankton community composition during a Baltic Sea mesocosm experiment[J]. *Ambio*, 2015, 44 Suppl 3(3S).
- [34] XING W, LI J, LI P, et al. Effects of residual organics in municipal wastewater on hydrogenotrophic denitrifying microbial communities[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 65(3): 262-270.
- [35] ZHANG L, ZHAO F, LI X, et al. Contribution of influent rivers affected by different types of pollution to the changes of benthic microbial community structure in a large lake[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 198(C): 110657.
- [36] 张燕伟, 程方, 李奕辉, 等. 低碳氮比下 MABR 同步硝化反硝化过程的构建[J]. *工业水处理*, 2020, 40(5): 70-76.
- [37] 姚源, 竺建荣, 唐敏, 等. 好氧颗粒污泥技术处理乡镇污水应用[J]. 环境科学研究, 2018, 31(2): 379-388.
- [38] J A H, M M G. An investigation into the effects of increasing salinity on photosynthesis in freshwater unicellular cyanobacteria during the late Archean[J]. *Geobiology*, 2019, 17(4): 343-359.
- [39] 李亚莉, 杨正健, 许尤, 等. 清江上游利川段浮游细菌群落结构特征及其影响因素[J]. 生态学杂志, 2020, 39(11): 3756-3765.
- [40] 邹沈娟, 尹立强, 赵博礼, 等. 梁子湖与后官湖浮游细菌的群落结构特征[J]. 水生态学杂志, 2021, 42(2): 33-41.
- [41] 刘泽岸, 孙琳. 泸灞河生态区冬夏季微生物群落结构特征研究[J]. 环境污染与防治, 2022, 44(9): 1202-1208.
- [42] SONG Y H, MAO G N, GAO G H, et al. Structural and functional changes of groundwater bacterial community during temperature and pH disturbances[J]. *Microbial ecology*, 2019, 78(2): 428-445.
- [43] 张雅洁, 李珂, 朱浩然, 等. 北海湖微生物群落结构随季节变化特征[J]. 环境科学, 2017, 38(8): 3319-3329.
- [44] 薛银刚, 刘菲, 孙萌, 等. 太湖竺山湾春季浮游细菌群落结构及影响因素[J]. 环境科学, 2018, 39(3): 1151-1158.
- [45] 李先会, 朱建坤, 施练东, 等. 富营养化水体细菌去除氮磷能力研究[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(4): 28-32.
- [46] KASALICKY V, JEZBERA J, HAHN W M, et al. The diversity of the Limnhabitans genus, an important group of freshwater bacterioplankton, by characterization of 35 isolated strains[J]. *PLoS ONE*, 2017, 8(3): e58209.
- [47] SHERIDAN A J, BICKFORD D. Shrinking body size as an ecological response to climate change[J]. *Nature Climate Change*, 2011, 1(8): 401-406.
- [48] 韩秋影, 张泽玉, 刘红霞, 等. 温度胁迫对日本鳢草 (*Zostera japonica*) 叶际可培养细菌的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(9): 2564-2571.

(责任编辑: 金曙光)

Characteristics of microbial community structure and influencing factors in rivers entering Changdang Lake during the wet season

MIN Songao^{1,2}, XU Zhipeng^{3,*}, WU Dan^{1,*}, WANG Jinhui⁴, ZHI Ya², DAI Yubin⁵, DING Wei⁶

1. Jiangsu Provincial Academy of Environmental Science, Nanjing 210036, China; 2. Kunshan Bacheng Construction Bureau, Suzhou 215300, China; 3. Kunshan Water Conservancy Design Institute Limited Company, Suzhou 215300, China; 4. School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 5. Kunshan Integrated Water Management Center, Suzhou 215300, China; 6. Design Institute of Hohai University, Nanjing 210098, China

*Corresponding author, 207995655@qq.com; E-mail: wd853@163.com

Abstract To understand the structural characteristics of microbial communities in rivers entering Changdang Lake and the response relationship with environmental factors, this study classified these communities based on the comprehensive assessment of the primary rivers flowing into Changdang Lake and the types of pollutant sources. The distribution characteristics of seven physicochemical indices were analyzed in rivers entering Changdang Lake, including dissolved oxygen (DO), pH, ratio of total nitrogen to total phosphorus (TN/TP), water temperature (WT), total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP). The differences in the structural characteristics of microbial communities and the relationship between microbial communities and physicochemical factors were analyzed based on 16S rRNA high-throughput sequencing technology with Circos, ANOSIM and redundancy analysis (RDA). The results showed that the dominant phyla and genera of microorganisms in rivers entering Changdang Lake with various pollution types were similar, though the relative abundance differed. The dominant phyla included Proteobacteria, Actinobacteria and Bacteroidetes; the dominant genera included *hgcl* clade, CL500-29 marine group, *Acinetobacter*, *Comamonadaceae*-Unclassified and *Hydrogenophaga*. ANOSIM analyses showed that the microbial community structure characteristics of rivers entering Changdang Lake were related to the type of pollution source. The results of redundancy analysis (RDA) showed that pH and TP were significantly associated with the dominant phylum of bacteria in rivers entering Changdang Lake ($P < 0.05$); DO and pH were extremely associated with the dominant genus of bacteria in rivers entering Changdang Lake ($P < 0.05$). The microbial communities in rivers entering the Changdang Lake were highly diverse at the phylum and genus levels and were correlated with type of pollution sources and physicochemical factors, which provided basis for the pollution prevention and ecological restoration of rivers entering the Changdang Lake.

Keywords wet season; Changdang Lake; rivers entering Changdang Lake; microbial communities; influencing factors