

# 海州湾细菌群落结构多样性及环境因子分析

顾颖<sup>1</sup>, 伏光辉<sup>1</sup>, 姚永琪<sup>2</sup>, 梁宝贵<sup>2</sup>, 叶仁智<sup>1</sup>, 王超<sup>1</sup>, 卢璐<sup>1</sup>, 孙苗苗<sup>1\*</sup>

(1. 连云港市海洋与渔业发展促进中心, 中国江苏 连云港 222000; 2. 上海海洋大学 海洋科学学院, 中国上海 201306)

**摘要:** 为探究海州湾浅海域的细菌群落结构多样性及其影响因素, 选取海州湾6个点位的表层水和底层水样品, 基于高通量测序技术, 对海州湾浅海域细菌群落结构多样性及其分布特征与环境因子的关系进行了分析。实验结果表明, 底层水样的细菌群落丰度和多样性优于表层水样, 二者细菌群落间的进化方向具有一定的差异, 但二者的细菌群落间差异不显著; 海州湾水域共发现2491个操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU), 分别属于32个门、74个纲、116个目、200个科和364个属; 在门水平上, 海州湾水域的主要优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和蓝细菌门(Cyanobacteria)等; 铵盐(ammonium, NH<sub>4</sub>-N)和叶绿素(chlorophyll, Chl)是影响海州湾细菌群落结构的主要环境因子。本研究证实海州湾浅海域细菌群落结构多样性分布与环境因子有一定的关联性, 为海州湾浅海域生态系统的可持续发展提供了理论依据。

**关键词:** 海州湾; 高通量测序; 细菌多样性; 环境因子

中图分类号: Q938.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)06-0512-09

## Diversity of Bacterial Community Structure and Environmental Factors in Haizhou Bay

GU Ying<sup>1</sup>, FU Guanghui<sup>1</sup>, YAO Yongqi<sup>2</sup>, LIANG Baogui<sup>2</sup>, YE Renzhi<sup>1</sup>,  
WANG Chao<sup>1</sup>, LU Lu<sup>1</sup>, SUN Miaomiao<sup>1\*</sup>

(1. Marine and Fisheries Development Promotion Center of Lianyungang City, Lianyungang 222000, Jiangsu, China; 2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In order to explore the diversity of bacterial community structure and its influencing factors in the shallow sea area of the Haizhou Bay, both surface and bottom water samples from six sites in the bay were selected and analyzed based on high-throughput sequencing technology. The results showed that the abundance and diversity of bacterial communities in the bottom water samples were better than those in the surface water samples. There was difference in the evolutionary direction of bacterial communities between the bottom and surface water samples, but the difference was not significant between the two bacterial communities. A total of 2491 operational taxonomic units (OTUs) were detected in the Haizhou Bay, belonging to 32 phyla, 74 classes, 116 orders, 200 families and 364 genera. At the phylum level, the dominant bacteria in the bay were Proteobacteria, Bacteroidetes and Cyanobacteria. Ammonium (NH<sub>4</sub>-N) and chlorophyll (Chl) were found to be the main environmental factors affecting bacterial community structure. The study demonstrated that the diversity and distribution of bacterial community structure in the shallow sea area of the Haizhou Bay had a certain correlation with environmental factors, which provided a theoretical basis for the sustainable development of the shallow sea ecosystem in this area.

**Key words:** Haizhou Bay; high-throughput sequencing; bacterial diversity; environmental factor

(*Life Science Research*, 2023, 27(6): 512-520)

收稿日期: 2022-12-27; 修回日期: 2023-06-08; 网络首发日期: 2023-10-19

基金项目: 国家虾蟹产业技术体系专项资金项目(CARS-48); 江苏省农业公共服务补助专项(2021)

作者简介: 顾颖(1997—), 女, 江苏连云港人, 硕士研究生; \* 通信作者: 孙苗苗(1983—), 男, 江苏连云港人, 博士, 高级工程师, 主要从事水产养殖与水生生物病害防控等方面的研究, E-mail: miaosun2007@163.com。

海州湾位于江苏省连云港市沿岸,北至山东省日照市,东连黄海,全长 86.81 km,宽 42 km,是一个典型开放型浅海海湾<sup>[1]</sup>。海州湾底质类型丰富、入海河流众多、水质肥沃、生物饵料丰富,是众多经济鱼类的产卵场、育幼场和索饵场,也是我国重要的渔场之一<sup>[2-3]</sup>。然而,近年来由于资源保护不当、填海造地、过度捕捞、环境污染等因素的影响,海州湾资源衰退严重,水域生态系统的可持续健康发展遭到破坏<sup>[4]</sup>。海洋微生物主要包括细菌、古菌、真菌和病毒等,是海洋生态系统最重要的组成成分之一<sup>[5]</sup>。海洋微生物参与了海洋生物地球化学循环过程,同时是水生食物网的重要流通环节,在海洋生态系统的功能中具有重要作用<sup>[6]</sup>。海水中植物种类、化学需氧量、营养盐浓度等多种环境因子能够影响微生物群落的丰度和多样性以及微生物的能量流动和物质循环过程,进而对海洋生态系统产生不同的影响<sup>[7]</sup>。因此,对海洋微生物多样性的研究有助于了解海洋微生物群落的分布特征,维持海洋生态资源的可持续发展。目前,对于海州湾的研究主要集中在浮游植物多样性、浮游动物多样性、鱼类多样性和海洋环境等方面<sup>[8-12]</sup>,针对海州湾水域微生物的研究较少。鉴于此,本研究以海州湾表层水域和底层水域水样为研究对象,利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,分析了海州湾水域细菌群落结构多样性及其分布特征与环境因子的关联,以为海州湾水域生态系统的可持续发展提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

水样采集于 2022 年 11 月 3 日,位于连云港市海州湾。采样点位置如图 1 所示,分别为 CA3 (34°53′24″N, 119°20′36″E)、RA6 (34°52′48″N, 119°26′48″E)、RA8 (34°53′06″N, 119°28′48″E)、RA16 (34°53′24″N, 119°30′42″E)、RA9 (34°52′48″N, 119°33′42″E)、CA1 (34°53′24″N, 119°39′42″E)。每个点位各采集 2 L 的表层水(B)和底层水(D)。

### 1.2 理化参数的测定

参照 GB/T 12763.4—2007《海洋调查规范 第 4 部分:海水化学要素调查》测定海州湾水样化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)、叶绿素(chlorophyll, Chl)、总悬浮物(total suspended solids, TSS)、铵盐(ammonium, NH<sub>4</sub>-N)、亚硝酸盐(nitrite, NO<sub>2</sub>-N)、硝酸盐(nitrate, NO<sub>3</sub>-N)、硅酸盐(silicate, SiO<sub>3</sub>-Si)、磷酸盐(phosphate, PO<sub>4</sub>-P)等水质指标<sup>[13]</sup>。

### 1.3 DNA 提取及高通量测序

取 1 L 水样经 0.22 μm 无菌纤维膜过滤后收集滤膜,采用磁珠式土壤基因组 DNA 提取试剂盒(Omega 公司,美国)提取样品总群落基因组 DNA,利用 Qubit 4.0 (ThermoFisher Scientific 公司,美国)检测 DNA 浓度后,对细菌 16S *rRNA* 基因的 V3~V4 区进行 PCR 扩增。PCR 正向引物为 5′-CC-TACGGGNGGCWGCAG-3′,反向引物为 5′-GAC-TACHVGGGTATCTAATCC-3′。PCR 反应条件为:

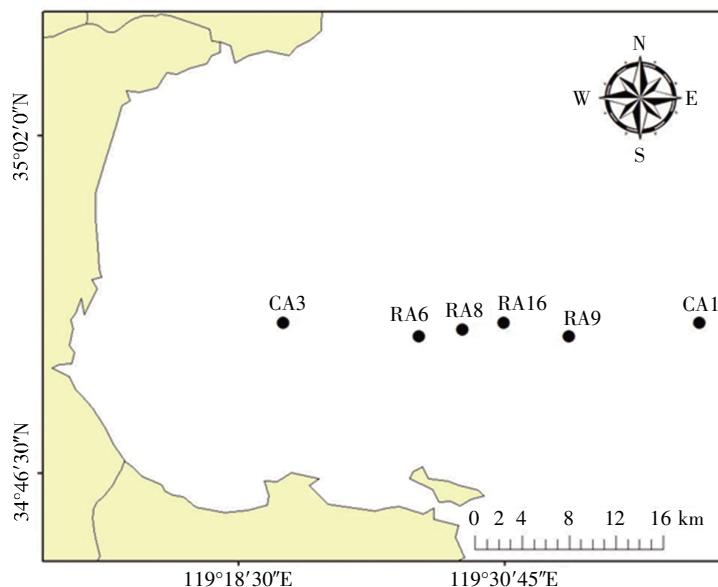


图 1 海州湾采样点布设

Fig.1 Sampling sites in the Haizhou Bay

95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 45 °C 30 s, 72 °C 30 s, 5 个循环; 95 °C 30 s, 72 °C 30 s, 20 个循环; 72 °C 5 min; 10 °C 保温。扩增后的 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测后, 送至生工生物工程(上海)股份有限公司, 利用 Illumina MiSeq 系统(Illumina 公司, 美国)进行双端测序。

#### 1.4 数据分析与处理

实验数据以平均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 利用 SPSS 19.0 软件, 采用 Duncan's 法对数据进行统计学分析,  $P<0.05$  表示差异显著,  $P<0.01$  表示差异极显著。

对高通量测序得到的样本数据进行质控过滤, 得到各样本有效数据<sup>[14-16]</sup>。利用 Usearch 11.0.667 软件将相似性>97%的序列聚类为一个操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)<sup>[17-18]</sup>。通过 Mothur 1.43.0 软件计算序列的  $\alpha$  多样性指数<sup>[19]</sup>, 其中, Sobs 指数、赵氏指数(Chao index)和艾斯指数(ACE index)用于评估群落分布丰度, 香农指数(Shannon index)和辛普森指数(Simpson index)用于评估群落分布多样性, Shannoneven 指数用于评估群落分布均匀度, 覆盖率(coverage)反映测序结果是否代表样本的真实情况。使用 R 语言的 gplots 包进行样本间距离热图绘制。使用 R 语言的 vegan 包进行非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析、组间相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)和冗余分析(redundancy analysis, RDA)。利用 R 软件绘制优势物种相对丰度图。

## 2 结果

### 2.1 水体理化性质

水样水体的理化参数如表 1 所示, 各采样点 COD 含量较低, 介于 1.40~2.67 mg/L; Chl 含量较低, 在 0.33~0.70  $\mu\text{g/L}$  范围波动; 表层水样 TSS 含量较低, 均<0.02 g/L, 但底层水样 TSS 含量较高; 各营养盐含量均较高且波动范围较大。

### 2.2 细菌 $\alpha$ -多样性

对采集样品进行  $\alpha$ -多样性分析, 统计结果如表 2 所示。底层水样的 Sobs 指数、Chao 指数和 ACE 指数均极显著高于表层水样( $P<0.01$ ), 表明底层水样的细菌群落丰度显著优于表层水样; 底层水样的 Shannon 指数极显著高于表层水样( $P<0.01$ ), Simpson 指数低于表层水样( $P>0.05$ ), 表明底层水样的细菌群落多样性优于表层水样; 各样品的覆盖率均 $\geq 0.99$ , 表明样本测序结果能够代表样本细菌的真实情况。总的来讲, 采样点上述结果表明海州湾表层水和底层水的物种丰度与多样性存在一定的差异。

### 2.3 细菌 $\beta$ -多样性

#### 2.3.1 样本间距离分析

基于系统发生进化树和 unweighted UniFrac 距离算法, 在 OTU 水平上对物种进行样本间距离分析。海州湾水域样本的距离热图如图 2 所示, 距离数值越小, 表明样本进化距离越近, 群落差异越小。除底层水样 RA8D 外, 海州湾水样组内细菌距离小于组间距离, 表明海州湾表层水域和

表 1 海州湾水质理化指标

Table 1 Physical and chemical properties of seawater samples collected in the Haizhou Bay

Site	Water quality objective							
	COD/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Chl/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TSS/( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\text{NH}_4\text{-N}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{NO}_2\text{-N}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{NO}_3\text{-N}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{SiO}_3\text{-Si}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{PO}_4\text{-P}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
CA3B	1.45±0.05 <sup>g</sup>	0.47±0.03 <sup>kd</sup>	0.008±0 <sup>f</sup>	69.31±0.38 <sup>a</sup>	3.41±0.27 <sup>b</sup>	73.55±3.33 <sup>ab</sup>	73.06±2.94 <sup>d</sup>	7.87±0.50 <sup>ab</sup>
RA6B	1.42±0 <sup>g</sup>	0.54±0.06 <sup>abc</sup>	0.006±0 <sup>g</sup>	22.19±2.14 <sup>c</sup>	10.42±0.19 <sup>b</sup>	58.73±1.12 <sup>bc</sup>	71.90±2.90 <sup>d</sup>	18.94±1.00 <sup>a</sup>
RA8B	1.90±0.06 <sup>c</sup>	0.48±0.01 <sup>kd</sup>	0.007±0 <sup>g</sup>	56.96±5.47 <sup>b</sup>	1.92±0.04 <sup>i</sup>	110.73±9.09 <sup>b</sup>	43.31±2.27 <sup>f</sup>	4.19±2.39 <sup>f</sup>
RA16B	1.59±0.02 <sup>f</sup>	0.38±0.02 <sup>cd</sup>	0.006±0 <sup>g</sup>	45.44±5.43 <sup>cd</sup>	6.43±0.07 <sup>e</sup>	87.58±0.97 <sup>c</sup>	98.44±1.85 <sup>b</sup>	9.37±1.99 <sup>d</sup>
RA9B	1.40±0.01 <sup>g</sup>	0.70±0.04 <sup>a</sup>	0.017±0 <sup>c</sup>	47.47±4.02 <sup>c</sup>	9.77±0.55 <sup>c</sup>	82.24±7.85 <sup>cd</sup>	133.88±0.87 <sup>a</sup>	19.14±0.80 <sup>a</sup>
CA1B	2.67±0 <sup>a</sup>	0.36±0 <sup>d</sup>	0.008±0 <sup>f</sup>	50.38±1.11 <sup>c</sup>	5.51±0.33 <sup>f</sup>	54.61±0.42 <sup>e</sup>	76.42±1.08 <sup>d</sup>	9.77±0 <sup>d</sup>
CA3D	2.44±0.04 <sup>b</sup>	0.40±0.17 <sup>cd</sup>	0.074±0 <sup>b</sup>	53.51±3.25 <sup>b</sup>	5.54±0.52 <sup>f</sup>	77.30±1.42 <sup>d</sup>	92.17±3.46 <sup>c</sup>	14.35±0.80 <sup>c</sup>
RA6D	2.07±0.01 <sup>d</sup>	0.49±0.06 <sup>kd</sup>	1.053±0 <sup>a</sup>	61.55±5.32 <sup>b</sup>	12.66±0.49 <sup>a</sup>	50.39±0.76 <sup>e</sup>	54.69±3.35 <sup>c</sup>	18.64±1.30 <sup>ab</sup>
RA8D	1.65±0.01 <sup>f</sup>	0.39±0.17 <sup>cd</sup>	0.040±0 <sup>c</sup>	49.99±3.25 <sup>c</sup>	2.07±0.16 <sup>j</sup>	48.82±5.06 <sup>e</sup>	30.19±2.19 <sup>e</sup>	16.75±0.80 <sup>b</sup>
RA16D	2.21±0.23 <sup>c</sup>	0.33±0.03 <sup>d</sup>	0.074±0 <sup>b</sup>	40.85±0.77 <sup>d</sup>	4.04±0.08 <sup>g</sup>	66.39±3.00 <sup>f</sup>	74.23±2.48 <sup>d</sup>	6.58±1.20 <sup>e</sup>
RA9D	1.81±0.06 <sup>c</sup>	0.62±0.18 <sup>ab</sup>	0.021±0 <sup>d</sup>	39.17±2.50 <sup>d</sup>	7.07±0.49 <sup>d</sup>	156.82±12.33 <sup>a</sup>	32.81±4.52 <sup>e</sup>	13.66±0.50 <sup>c</sup>
CA1D	1.64±0.04 <sup>f</sup>	0.36±0 <sup>d</sup>	0.021±0 <sup>d</sup>	40.89±2.56 <sup>d</sup>	5.04±0.18 <sup>f</sup>	55.61±4.39 <sup>e</sup>	28.73±0.35 <sup>e</sup>	9.77±0.22 <sup>d</sup>

注: 同列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 同列相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ )。

Notes: Different letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ), and the same letter in the same column indicates no significant difference ( $P>0.05$ ).

表 2 海州湾水域细菌群落  $\alpha$ -多样性指数  
Table 2  $\alpha$ -Diversity indices of bacterial communities in seawater samples of the Haizhou Bay

Sample	Sobs	Chao	ACE	Shannon	Simpson	Shannoneven	Coverage
CA3B	232 <sup>l</sup>	433.28 <sup>l</sup>	571.98 <sup>l</sup>	1.96 <sup>c</sup>	0.248 <sup>a</sup>	0.360 <sup>h</sup>	1.00
RA6B	512 <sup>h</sup>	706.64 <sup>i</sup>	698.75 <sup>j</sup>	3.11 <sup>abc</sup>	0.155 <sup>e</sup>	0.498 <sup>g</sup>	1.00
RA8B	392 <sup>k</sup>	581.02 <sup>k</sup>	680.00 <sup>k</sup>	3.42 <sup>abc</sup>	0.071 <sup>d</sup>	0.572 <sup>e</sup>	1.00
RA16B	433 <sup>j</sup>	671.36 <sup>j</sup>	787.85 <sup>i</sup>	3.54 <sup>abc</sup>	0.072 <sup>d</sup>	0.583 <sup>de</sup>	1.00
RA9B	448 <sup>i</sup>	930.71 <sup>h</sup>	1 199.73 <sup>g</sup>	2.25 <sup>bc</sup>	0.256 <sup>a</sup>	0.368 <sup>h</sup>	1.00
CA1B	573 <sup>e</sup>	947.00 <sup>f</sup>	1 115.20 <sup>h</sup>	3.78 <sup>abc</sup>	0.058 <sup>db</sup>	0.596 <sup>bcd</sup>	1.00
CA3D	1 841 <sup>a</sup>	2 352.75 <sup>a</sup>	2 412.08 <sup>a</sup>	4.72 <sup>a</sup>	0.070 <sup>d</sup>	0.627 <sup>a</sup>	0.99
RA6D	1 454 <sup>b</sup>	2 015.44 <sup>b</sup>	2 026.77 <sup>c</sup>	3.78 <sup>abc</sup>	0.182 <sup>b</sup>	0.519 <sup>f</sup>	0.99
RA8D	601 <sup>f</sup>	994.56 <sup>f</sup>	1 391.55 <sup>f</sup>	3.84 <sup>abc</sup>	0.048 <sup>ef</sup>	0.601 <sup>bcd</sup>	1.00
RA16D	1 128 <sup>d</sup>	1 689.88 <sup>d</sup>	2 071.65 <sup>b</sup>	4.16 <sup>ab</sup>	0.044 <sup>ef</sup>	0.592 <sup>cd</sup>	0.99
RA9D	1 266 <sup>c</sup>	1 811.62 <sup>c</sup>	1 842.35 <sup>e</sup>	4.33 <sup>a</sup>	0.035 <sup>f</sup>	0.606 <sup>bc</sup>	0.99
CA1D	1 020 <sup>e</sup>	1 506.01 <sup>e</sup>	1 872.20 <sup>d</sup>	4.24 <sup>a</sup>	0.030 <sup>f</sup>	0.612 <sup>ab</sup>	0.99

注: 同列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 同列相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ )。

Notes: Different letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ), and the same letter in the same column indicates no significant difference ( $P>0.05$ ).

底层水域的细菌群落向不同方向进化。需要指出的是, RA8D 样本与表层水样之间的 unweighted UniFrac 距离小, 群落相似度高。总体来看, 表层水域和底层水域的细菌群落间具有一定的差异, 但差异不显著。

2.3.2 非度量多维尺度分析

基于 unweighted UniFrac 距离算法, 在 OTU

水平上对物种进行 NMDS 分析。海州湾水域样本的 NMDS 分析结果如图 3 所示, 两样本点越接近, 表明两样本物种组成越相似。从图中可知, 表层水样 RA16B 和 CA3B 距离其他水样较远, 表明表层水样 RA16B 和 CA3B 与其他水样的细菌群落组成差异较大。此外, NMDS 分析的 stress 值为 0.009 8, 表明数据的可靠性高。

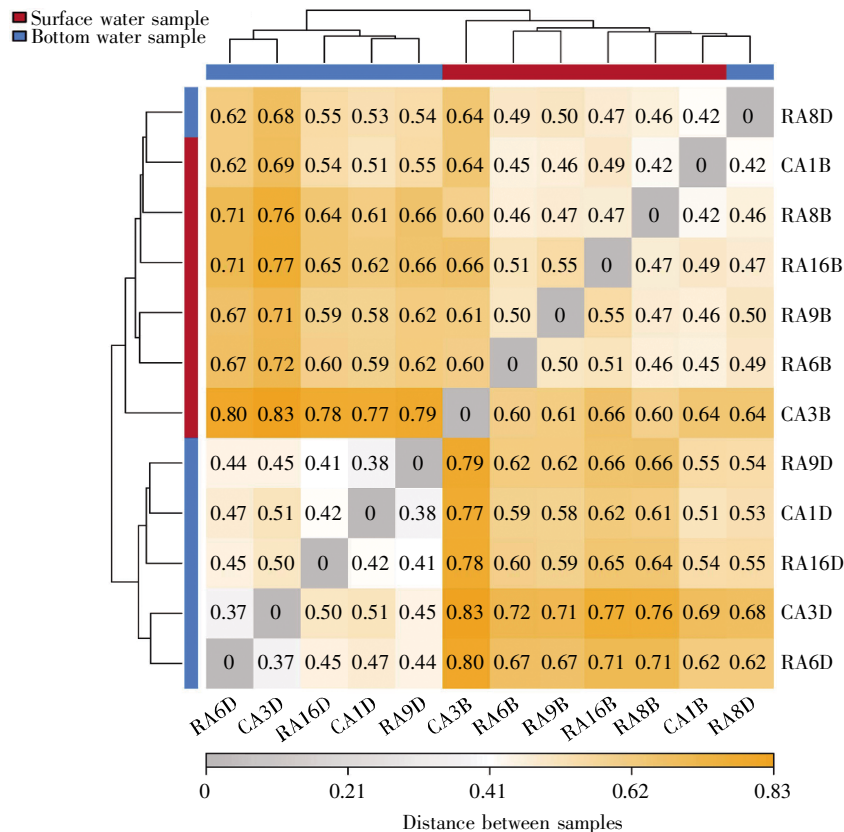


图 2 海州湾样本距离热图

Fig.2 Distance matrix heatmap of seawater samples of the Haizhou Bay

## 2.4 组间相似性

基于 Bray-Curtis 距离算法, 海州湾表层水样和底层水样的组间相似性分析结果如图 4 所示, 其中  $R$  值接近 0 且  $P>0.05$ , 表明海州湾水域表层水样和底层水样差异不显著。

## 2.5 海州湾细菌群落组成

通过 BLASTN 将序列与 RDP、GTDB、Silva 和 UNITE 等数据库进行比对, 进行物种注释, 结果

显示: 海州湾水域共有 2 491 个 OTU, 分别属于 32 个门、74 个纲、116 个目、200 个科和 364 个属。依次从门、纲、目、科和属水平对优势物种进行丰度统计(图 5)。在门水平上(图 5A), 海州湾水域的主要优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)等, 各采样点的第一优势门

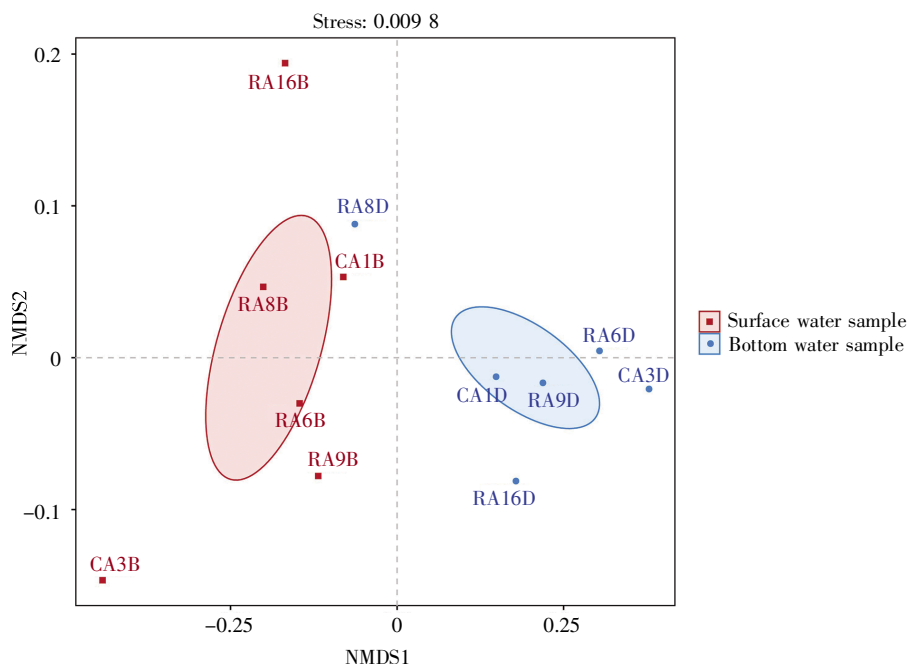


图 3 非度量多维尺度分析图

Fig.3 NMDS analysis graph

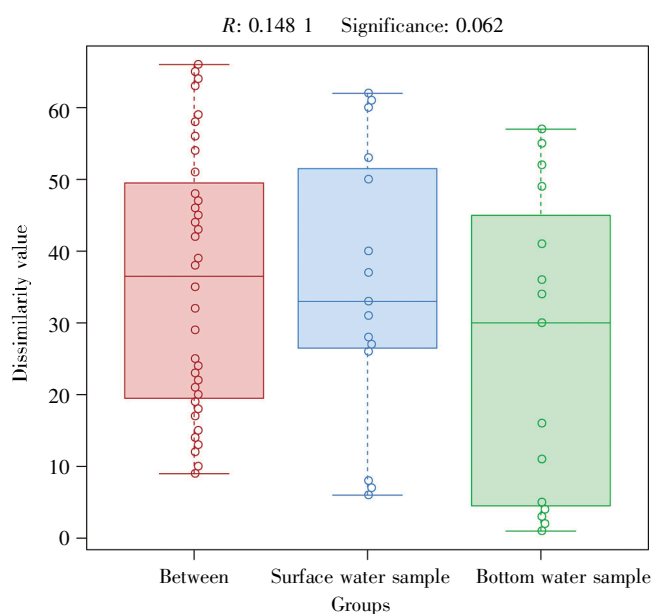


图 4 组间相似性分析箱型图

Fig.4 Box diagram of ANOSIM between groups

类均为变形菌门,分别占各样品细菌群落丰度的67.88% (RA6B)、59.12% (RA8B)、84.91% (RA9B)、57.95% (RA16B)、58.33% (CA1B)、98.96% (CA3B)、72.69% (RA6D)、53.74% (RA8D)、62.08% (RA9D)、49.21% (RA16D)、52.28% (CA1D)和66.72% (CA3D)。其中,CA3B的变形菌门的群落丰度显著高于其他样品( $P<0.01$ )。

在纲水平上(图5B),海州湾水域的主要优势菌群为 $\gamma$ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、 $\alpha$ -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、黄杆菌纲(Flavobacteriia)、Chloroplast、 $\delta$ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)、放线菌纲(Actinobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲(Betaproteobacteria)和丰祐菌纲(Ophitidae)等。其中,表层水样的第一优势纲类为 $\gamma$ -变形菌纲,占比41.84% ( $P<0.01$ );底层水样的第一优势纲类为 $\alpha$ -变形菌纲,占比30.92% ( $P<0.05$ )。

在目水平上(图5C),海州湾水域的主要优势菌群为红细菌目(Rhodobacterales)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、交替单胞菌目(Alteromonadales)和弧菌目(Vibrionales)等。样品RA16B、CA1B、RA9D和RA16D的第一优势目类为红细菌目,占比分别为36.22%、34.84%、26.05%和25.73%,其中,样品RA16B和CA1B的红细菌目群落丰度显著高于样品RA9D和RA16D ( $P<0.01$ );样品RA8B、RA8D和CA1D的第一优势目类为黄杆菌目,占比分别为31.33%、29.72%和23.42%,其中,样品CA1D的黄杆菌目群落丰度显著低于样品RA8B和RA8D ( $P<0.01$ );样品RA6B、CA3B、RA6D和CA3D的第一优势目类为交替单胞菌目,占比分别为37.71%、45.84%、42.57%和26.39%,其中,样品CA3B的交替单胞菌目群落丰度显著高于样品RA6B、RA6D和CA3D ( $P<0.01$ );样品RA9B的第一优势目类为弧菌目,占比为64.19%。

在科水平上(图5D),海州湾表层水域的主要优势菌群为红细菌科(Rhodobacteraceae)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、弧菌科(Vibrionaceae)、假交替单胞菌科(Pseudoalteromonadaceae)和交替单胞菌科(Alteromonadaceae)等。采样点RA6的第一优势科类为假交替单胞菌科,表层和底层占比分别为36.68%和42.13%,其中底层水样的假交替单胞菌科群落丰度显著高于表层水样( $P<0.01$ );采样点RA8、RA16和CA1的第一优势科类为红细菌科,表层和底层占比分别为30.10%、36.22%、34.84%以及28.01%、25.73%、18.27%,其中各采

样点表层水样的红细菌科群落丰度均显著高于底层水样( $P<0.05$ );采样点RA9表层水样的第一优势科类为弧菌科,占比64.19%,而红细菌科为底层水样的最主要科类,占比26.05%;采样点CA3表层水样的第一优势科类为交替单胞菌科,占比44.56%,而假交替单胞菌科为底层水样的最主要科类,占比25.26%。

在属水平上(图5E),海州湾表层水域的主要优势菌群为占比15.10%的弧菌属(*Vibrio*)和占比11.00%的假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*),底层水域的主要优势菌群为占比10.41%的假交替单胞菌属。

## 2.6 生物环境相关性

通过冗余分析评估环境因子对细菌群落的影响,在门水平上海州湾水域细菌群落与环境因子之间的关系如图6所示,RDA1轴和RDA2轴对环境因子影响的解释度分别为77.89%和1.08%。从图中可知,铵盐( $\text{NH}_4\text{-N}$ )和叶绿素(Chl)对细菌群落结构分布影响较大,铵盐与RDA1轴和RDA2轴的相关性分别为0.66和-0.75,对表层水样CA3B和底层水样RA6D的影响较大,与之呈正相关,对各采样点样品的影响程度依次为CA3B>RA6D>CA3D>RA9B>RA16D>CA1D>RA8D>RA9D>RA16B>CA1B>RA8B>RA6B;叶绿素与RDA1轴和RDA2轴的相关性分别为0.82和0.57,对表层水样RA9B和CA3B的影响较大,与之呈正相关,对各采样点样品的影响程度依次为RA9B>CA3B>RA6B>RA9D>CA1B>RA8B>RA16B>CA3D>RA6D>CA1D>RA8D>RA16D。

## 3 讨论

$\alpha$ -多样性指数包括Sobs、Chao、ACE、Shannon、Simpson、Shannoneven等,是反映微生物多样性的综合性指标,被广泛应用于微生物多样性评价<sup>[6]</sup>。有研究报道,南海近海底层水样的细菌丰度和多样性高于表层水样,表现为层化现象<sup>[20]</sup>。本研究发现,海州湾表层水样的细菌丰度和多样性要低于底层水样(表2),这与上述研究的发现<sup>[20]</sup>一致。此外,采样点CA3表层水样的细菌丰度和多样性明显低于其他采样点的表层水样和同一采样点的底层水样,可能与地理位置和人类活动有关,采样点CA3离海岸较近,表层水样群落结构受到的人为影响较大,这与刘岩等<sup>[21]</sup>的研究结果一致。

目前,关于海洋水域细菌多样性的研究已取

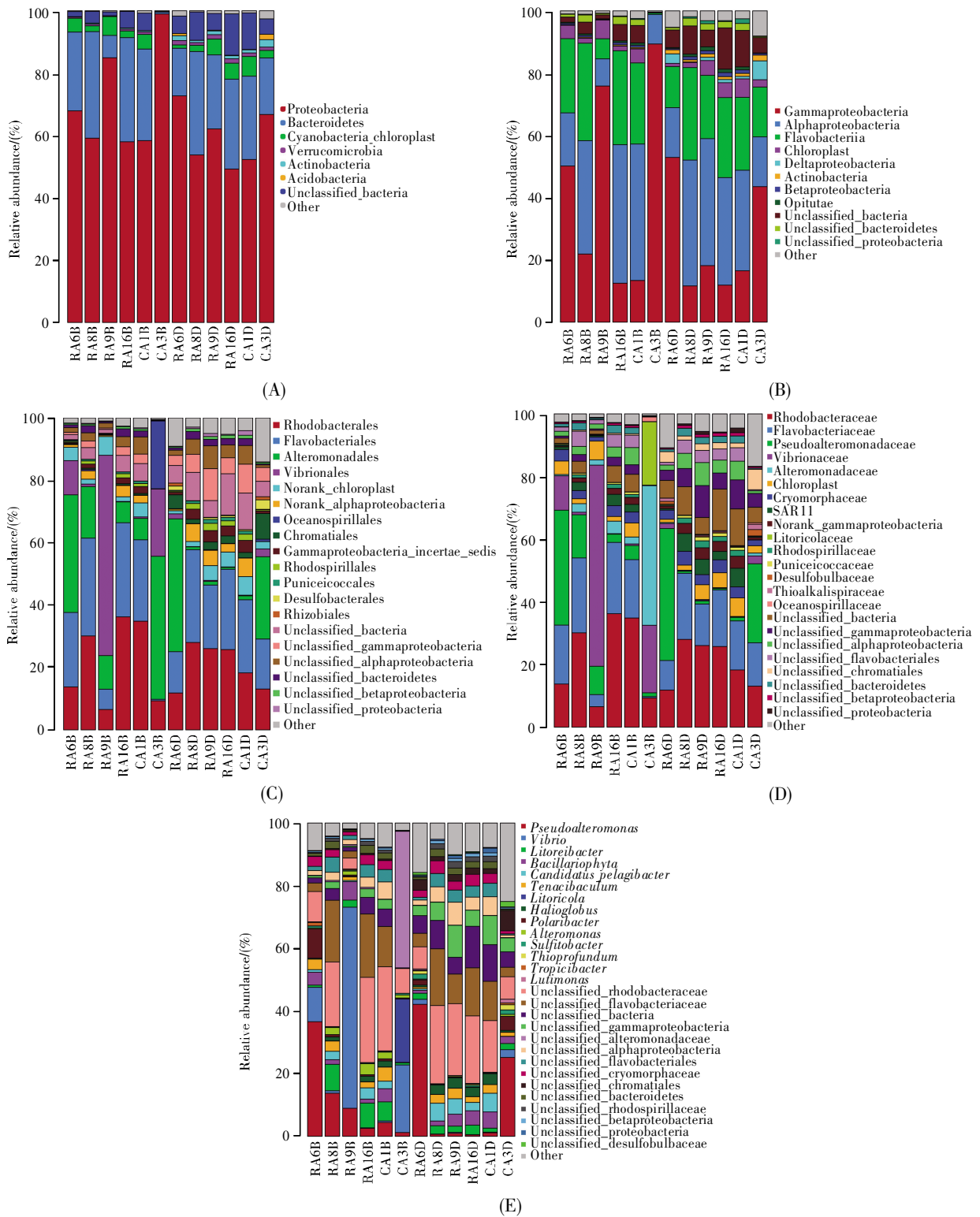


图5 优势物种相对丰度柱状图  
(A) 门水平; (B) 纲水平; (C) 目水平; (D) 科水平; (E) 属水平。

Fig.5 Relative abundance histogram of dominant species  
(A) At the phylum level; (B) At the class level; (C) At the order level; (D) At the family level; (E) At the genus level.

得较大进展。刘岩等<sup>[21]</sup>的研究表明, 象山港水域的主要优势细菌类群在门水平上包括变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、厚壁菌门(Firmicutes)和蓝细菌

门等, 在属水平上为大西洋女神菌属(*Amphritea*)、弧菌属和假交替单胞菌属等; 孙涛等<sup>[20]</sup>的研究表明, 南海近海的主要优势细菌类群在门水平

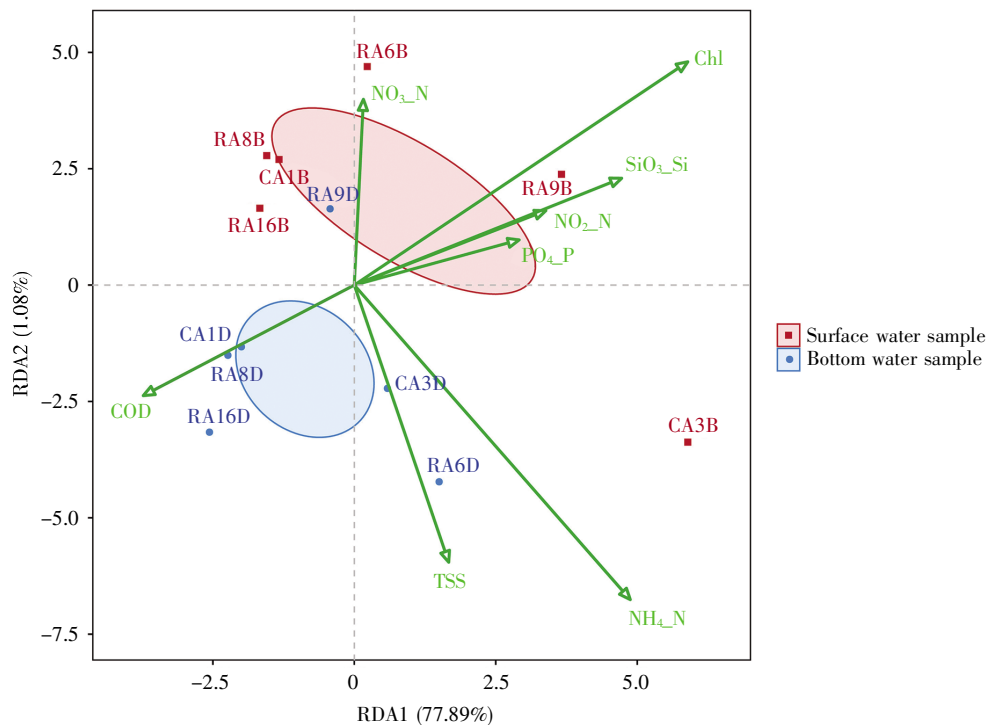


图 6 门水平上海州湾细菌与环境因子的 RDA 分析

Fig.6 RDA of bacteria and environmental factors in the Haizhou Bay at the phylum level

上为蓝细菌门、放线菌门和拟杆菌门等,在属水平上为聚球藻属(*Synechococcus*)、原绿球藻属(*Prochlorococcus*)、*Candidatus Actinomarina* 和蓝细菌属(*Cyanobium*)等;付新华等<sup>[22]</sup>的研究发现,渤海海洋保护区的主要优势菌群在门水平上包括变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、放线菌门、泉古菌门(*Crenarchaeota*)和疣微菌门等,在属水平为 *Candidatus portiera*、*Sediminicola*、弓(形)杆菌属(*Arcobacter*)、亚硝化侏儒菌属(*Nitrosopumilus*)和海洋生菌属(*Octadecabacter*)等。然而,关于海州湾水域的细菌多样性鲜有研究报道,本研究发现海州湾水域鉴定出的主要优势细菌类群在门水平上为变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、疣微菌门、放线菌门和酸杆菌门等(图 5A),在属水平上为假交替单胞菌属、弧菌属和 *Litoreaibacter* 等(图 5E)。本研究 and 上述报道<sup>[20-22]</sup>在门水平上相似,在属水平上差别较大,可能是因为不同海域的细菌进化方向有所不同。

细菌群落结构与其所处生境条件的关联是当前研究热点<sup>[23-25]</sup>。水体的叶绿素、溶解氧、各种营养盐等是影响细菌群落结构的重要环境因子,相关研究表明,细菌群落多样性会响应环境因子的变化<sup>[26-27]</sup>。王彩霞等<sup>[5]</sup>的研究发现,莱州湾、渤海湾和辽东湾水域的细菌群落组成与多样性随溶解氧、盐度和纬度的增加而降低,随温度、磷酸盐、硝酸

盐和铵盐的增加而增加;刘强等<sup>[27]</sup>的研究发现,在舟山群岛海域放线菌门和蓝细菌门的群落结构随硝酸盐浓度的增加而增加,变形菌门的群落结构随温度的增加而增加;Dong 等<sup>[28]</sup>的研究发现,东海深海区细菌群落结构与  $PO_4^{3-}$  和  $SiO_3^{2-}$  有显著的正相关性;罗同阳等<sup>[6]</sup>的研究表明,溶解氧和酸碱值是影响白洋淀水域细菌群落结构的主要环境因素,蓝细菌门、拟杆菌门和疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的群落结构随溶解氧的增加而降低,变形菌门的群落结构随酸碱值的增加而降低,疣微菌门的群落结构随酸碱值的增加而增加。本研究发现,在门水平上,铵盐和叶绿素浓度对海州湾水域细菌群落结构分布影响较大,其中,采样点 CA3 的表层水样和采样点 RA6 的底层水样的细菌群落结构随铵盐浓度的增加而增加,采样点 RA9 和 CA3 表层水样的细菌群落结构随叶绿素浓度的增加而增加(图 6)。在王文静等<sup>[29]</sup>的研究中,盐度是影响鱼鸟河上覆水中变形菌门丰度的主要环境因子;薛璐等<sup>[30]</sup>的研究发现,叶绿素等因素是保安湖水体变形菌门群落结构变化的重要驱动因子。在本研究中,样品 CA3B、RA6D 和 RA9B 的变形菌门群落丰度显著高于其他样品(图 5A),表明铵盐和叶绿素浓度能显著影响变形菌门群落丰度。此外,RA8 点位的底层水样与 CA1 点位的表层水样

聚类较近,这可能是由于二者间的铵盐和叶绿素浓度差异不显著,进一步说明环境因子的变化能够影响细菌群落多样性。

### 参考文献(References):

- [1] 罗文强, 赵刚, 张彦彦, 等. 海州湾海洋牧场人工鱼礁区建设前后海洋环境变化分析[J]. 海洋湖沼通报(LUO Wenqiang, ZHAO Gang, ZHANG Yanyan, *et al.* A comparative analysis on marine environments of an artificial reef area in marine pasture, Haizhou Bay, before and after construction[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*), 2021(1): 33–40.
- [2] 季相星, 姜毅, 王普力. 2015—2018年海州湾及邻近海域浮游植物群落结构特征[J]. 环境监控与预警(JI Xiangxing, JIANG Yi, WANG Puli. Study on the community structure of phytoplankton in Haizhou Bay and its adjacent waters from 2015 to 2018[J]. *Environmental Monitoring and Forewarning*), 2021, 13(1): 47–51.
- [3] 施金金, 孟祥实, 童金荣, 等. 海州湾近岸海域大型浮游动物时空分布[J]. 水产养殖(SHI Jinjin, MENG Xiangshi, TONG Jinrong, *et al.* Temporal and spatial distribution of macrobenthos in the coastal waters of Haizhou Bay[J]. *Journal of Aquaculture*), 2020, 41(11): 32–37.
- [4] 张涛, 沃佳, 刘逸文, 等. 海州湾偶见鱼类的种类组成及时空分布[J]. 应用生态学报(ZHANG Tao, WO Jia, LIU Yiwen, *et al.* Species composition and spatial and temporal distribution of occasional fishes in Haizhou Bay, Shandong, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*), 2023, 34(3): 787–795.
- [5] 王彩霞, 王毅波, 刘鹏远, 等. 渤海三湾表层水域细菌群落结构多样性及其环境因子分析[J]. 微生物学通报(WANG Caixia, WANG Yibo, LIU Pengyuan, *et al.* Diversity of bacterial community structure and its driving factors in three bays of Bohai Sea[J]. *Microbiology China*), 2018, 45(9): 1956–1971.
- [6] 罗同阳, 高庆华, 董聪, 等. 白洋淀水域夏季细菌群落结构及与环境因子的关系[J]. 淡水渔业(LUO Tongyang, GAO Qinghua, DONG Cong, *et al.* Bacterial community structure in Baiyangdian Lake in summer and its relationship with environmental factors[J]. *Freshwater Fisheries*), 2021, 51(1): 96–102.
- [7] 曹洋, 孙鹤铭, 刘利, 等. 冬季衡水湖沉积物微生物群落结构特征及影响因素[J]. 环境工程技术学报(CAO Yang, SUN Heming, LIU Li, *et al.* Microbial community structure characteristics and influencing factors in sediments of Hengshui Lake in winter[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*), 2023, 13(1): 154–163.
- [8] 李雪童, 徐宾铎, 薛莹, 等. 海州湾秋季鱼类 $\beta$ 多样性组分分析及其与环境因子的关系[J]. 海洋学报(LI Xuetong, XU Binda, XUE Ying, *et al.*  $\beta$  Diversity and its components of the fish community in the Haizhou Bay during autumn and the relationships with environmental factors[J]. *Haiyang Xuebao*), 2022, 44(2): 46–56.
- [9] 郑江鹏, 王长友, 赵永刚, 等. 海州湾渔港经济区及邻近海域沉积物主要污染物分布特征和潜在风险[J]. 海洋环境科学(ZHENG Jiangpeng, WANG Changyou, ZHAO Yonggang, *et al.* Distribution characteristics and potential risks of major pollutants in sediments of fishing port economic zone and adjacent waters of Haizhou Bay[J]. *Marine Environmental Science*), 2022, 41(5): 731–737.
- [10] 张硕, 施斌杰, 谢斌, 等. 连云港海州湾海洋牧场浮游动物群落结构及其与环境因子的关系[J]. 生态环境学报(ZHANG Shuo, SHI Binjie, XIE Bin, *et al.* Zooplankton community structure of the sea farming in Haizhou Bay and its relationships with environment factors[J]. *Ecology and Environmental Sciences*), 2017, 26(8): 1410–1418.
- [11] 谢斌, 张硕, 李莉, 等. 海州湾海洋牧场浮游植物群落结构特征及其与水质参数的关系[J]. 环境科学学报(XIE Bin, ZHANG Shuo, LI Li, *et al.* Community structure of phytoplankton in the sea farming of Haizhou Bay and its relationships with environmental factors[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*), 2017, 37(1): 121–129.
- [12] 杨晓改. 海州湾及其邻近海域浮游生物群落结构及其与环境因子的关系[D]. 青岛: 中国海洋大学(YANG Xiaogai. Community Structure of Plankton in Haizhou Bay and Adjacent Waters and Their Relationships with Environment Factors[D]. Qingdao: Ocean University of China), 2015.
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 海洋调查规范 第4部分: 海水化学要素调查: GB/T 12763.4—2007[S]. 北京: 中国标准出版社(General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Specifications for oceanographic survey: part 4: survey of chemical parameters in sea water: GB/T 12763.4—2007[S]. Beijing: Standards Press of China), 2007: 1–40.
- [14] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. *EMBnet.journal*, 2011, 17(1): 10–12.
- [15] ZHANG J J, KOBERT K, FLOURI T, *et al.* PEAR: a fast and accurate Illumina paired-end read merger[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(5): 614–620.
- [16] SCHMIEDER R, EDWARDS R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(6): 863–864.
- [17] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [18] EDGAR R C. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences[OL]. *bioRxiv*, 2016 (2016-09-09) [2022-11-15]. <https://doi.org/10.1101/074161>.
- [19] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, *et al.* Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537–7541.
- [20] 孙涛, 付婧, 周进. 南海近海浮游细菌群落结构和多样性研究[J]. 海洋渔业(SUN Tao, FU Jing, ZHOU Jin. Diversity of pelagic bacterial community structure in the South China Sea[J]. *Marine Fisheries*), 2021, 43(6): 693–706.
- [21] 刘岩, 李志恩, 袁一鸣, 等. 基于高通量测序的象山港水域细菌多样性的研究[J]. 海洋与湖沼(LIU Yan, LI Zhi'en, YUAN Yiming, *et al.* Study on bacterial diversity in the Xiangshan Harbor using high throughput sequencing[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*), 2022, 53(3): 645–653.
- [22] 付新华, 刘国宁, 何健龙, 等. 山东省渤海海洋保护区典型海域表层海水微生物群落多样性分析[J]. 海洋科学(FU Xinhua, LIU Guoning, HE Jianlong, *et al.* Analysis of microbial community diversity in the Bohai Sea marine protected areas of the Shandong Province[J]. *Marine Sciences*), 2017, 41(1): 39–47.
- [23] 祁峰, 沙吾提·热比古丽, 咸玉兰, 等. 凡纳滨对虾淡化养殖池塘浮游细菌群落时空变化及其对理化因子的响应[J]. 南方水产科学(QI Feng, SHAWUTI Rebiguli, XIAN Yulan, *et al.* Spatio-temporal changes of bacterioplankton communities in *Litopenaeus vannamei* desalinated ponds and their responses to physicochemical factors[J]. *South China Fisheries Science*), 2023, 19(2): 50–61.

- [13] 严靖, 闫小玲, 李惠茹, 等. 华东地区归化植物的组成特征、引入时间及时空分布[J]. 生物多样性(YAN Jing, YAN Xiaoling, LI Huiru, *et al.* Composition, time of introduction and spatial-temporal distribution of naturalized plants in East China[J]. Biodiversity Science), 2021, 29(4): 428–438.
- [14] DAI L K, LIANG S Y, ZHANG S R, *et al.* Cyperaceae[M]//WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China: Vol. 23. Beijing: Science Press, 2010: 164–461.
- [15] KIM J, KIM M. A taxonomic study of the genus *Fimbristylis* Vahl (Cyperaceae) in Korea[J]. Korean Journal of Plant Taxonomy, 2018, 48(4): 301–330.
- [16] KOYAMA T. Classification of the Cyperaceae (1)[J]. Journal of the Faculty of Science, University of Tokyo, Sect. 3, Botany, 1961, 8(3): 99–119.
- [17] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 53 卷, 第 2 分册[M]. 北京: 科学出版社(Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 53(2)[M]. Beijing: Science Press), 2000: 32, 67.
- [18] 福建省科学技术委员会, 《福建植物志》编写组. 福建植物志: 第 4 卷[M]. 福州: 福建科学技术出版社(Science and Technology Committee of Fujian Province, Editorial Group of Flora Fujianica. Flora Fujianica: Vol. 4[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press), 1990: 138.
- [19] ZUNZUNEGUI M, MORALES SÁNCHEZ J Á, DÍAZ BARRADAS M C, *et al.* Different tolerance to salinity of two populations of *Oenothera drummondii* with contrasted biogeographical origin[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 162: 336–348.
- [20] CHEN J R, HOCH P C, RAVEN P H, *et al.* Onagraceae[M]//WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China: Vol. 13. Beijing: Science Press, 2007: 400–427.
- [21] JIANG Y D, WANG S Y, YANG S, *et al.* Future trends of climatic belts and seasons in China[J]. International Journal of Climatology, 2008, 28(11): 1483–1491.
- [22] CHEN T, TAYLOR C M. Rubiaceae[M]//WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China: Vol. 19. Beijing: Science Press, 2011: 160.
- [23] 上海科学院. 上海植物志: 上卷[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社(Shanghai Academy of Science & Technology. The Plants of Shanghai: Vol. 1[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technological Literature Press), 1999: 494.
- [24] 刘全儒, 车晋滇, 贯璐生, 等. 北京及河北植物新记录(III)[J]. 北京师范大学学报(自然科学版) (LIU Quanru, CHE Jindian, GUAN Lusheng, *et al.* Some newly recorded plants from Beijing and Hebei[J]. Journal of Beijing Normal University (Natural Science)), 2005, 41(5): 510–512.
- [25] HONG D Y, YANG H B, JIN C L, *et al.* Scrophulariaceae[M]//WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China: Vol. 18. Beijing: Science Press, 1998: 53.
- [26] 孙庆业, 周忠泽, 周波. 安徽省玄参科一新记录属: 水苳草属[J]. 热带亚热带植物学报(SUN Qingye, ZHOU Zhongze, ZHOU Bo. *Limosella* L. (Scrophulariaceae), a newly recorded genus from Anhui[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany), 2009, 17(1): 89–90.
- [27] 彭焱松, 唐忠炳, 谢宜飞. 江西维管植物多样性编目[M]. 北京: 中国林业出版社(PENG Yansong, TANG Zhongbing, XIE Yifei. Inventory of Species Diversity of Jiangxi Vascular Plants[M]. Beijing: China Forestry Publishing House), 2021: 297.
- [28] 陈之端, 路安民, 刘冰, 等. 中国维管植物生命之树[M]. 北京: 科学出版社(CHEN Zhiduan, LU Anmin, LIU Bing, *et al.* Tree of Life for Chinese Vascular Plants[M]. Beijing: Science Press), 2020: 267.
- [29] ITO A, OBATA K, IWATSUKI H, *et al.* New localities of *Limosella aquatica* L. (Scrophulariaceae) collected in Chiba and Ibaraki prefectures, central Honshu, Japan[J]. Bulletin of Ibaraki Nature Museum, 2019, 22: 45–49.
- [30] HORTON K G, LA SORTE F A, SHELDON D, *et al.* Phenology of nocturnal avian migration has shifted at the continental scale[J]. Nature Climate Change, 2020, 10(1): 63–68.

## (上接第 520 页)

- [24] 陈奇, 宋协法, 周广军, 等. 鲟鱼循环水养殖系统中生物滤池的水质变化及微生物群落结构响应[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版) (CHEN Qi, SONG Xiefa, ZHOU Guangjun, *et al.* Response of microbial community structure in biofilter of recirculating aquaculture system of sturgeon to water quality change[J]. Periodical of Ocean University of China), 2022, 52(11): 56–66.
- [25] 赵旺, 黄星美, 邓正华, 等. 夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌多样性及其与环境因子的相关性[J]. 中国水产科学(ZHAO Wang, HUANG Xingmei, DENG Zhenghua, *et al.* Analysis of bacterial diversity and correlation with environmental factors in the aquaculture area of Mischief Reef Lagoon in summer[J]. Journal of Fishery Sciences of China), 2022, 29(5): 720–731.
- [26] 王飞飞. 贝类养殖水域细菌群落动态变化特征及长牡蛎含 CARD 基因免疫功能的初步研究[D]. 大连: 大连海洋大学(WANG Feifei. Dynamic Changes of Bacterial Community in Shellfish Culture and the Immune Function of CARD-Containing Protein in Oyster *Crassostrea gigas*[J]. Dalian: Dalian Ocean University), 2018.
- [27] 刘强, 赵本宣, 李汝伟, 等. 舟山群岛不同功能区划海域细菌群落结构分析[J]. 微生物学报(LIU Qiang, ZHAO Benxuan, LI Ruwei, *et al.* Bacterial community structure in different functional sea areas of Zhoushan archipelago[J]. Acta Microbiologica Sinica), 2018, 58(2): 247–263.
- [28] DONG Y, ZHAO Y, ZHANG W Y, *et al.* Bacterial diversity and community structure in the East China Sea by 454 sequencing of the 16S *rRNA* gene[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2014, 32(3): 527–541.
- [29] 王文静, 盛彦清. 盐度对鱼鸟河上覆水细菌群落结构的影响[J]. 生态与农村环境学报(WANG Wenjing, SHENG Yanqing. Influences of salinity on the bacterial community composition in overlying water of Yuniao River[J]. Journal of Ecology and Rural Environment), 2022, 38(5): 628–635.
- [30] 薛璐, 向冬芳, 鲜博, 等. 保安湖水体细菌群落结构时空变化特征及驱动因子[J]. 水生生物学报(XUE Lu, XIANG Dongfang, XIAN Bo, *et al.* Temporal and spatial variation characteristics and driving factors of bacterial community structure in Bao'an Lake[J]. Acta Hydrobiologica Sinica), 2023, 47(3): 450–461.