

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.2022.05.002

纳木措湖沿岸表层水细菌群落特征及影响因素

孟华旦尚,薛文凯,薛 翌,王艳红,郑艳艳,德 吉,郭小芳*

(西藏大学 理学院,西藏 拉萨 850000)

摘要: 为了探究夏季纳木措湖沿岸表层水体细菌群落特征,为以后纳木措湖细菌的研究打下基础,围绕纳木措湖一周选取采样点19个。现场采集水样,进行理化因子测定,运用高通量测序技术获取上述样点的16S rDNA数据,根据多样性指数和丰富度指数计算比较各样点的细菌群落多样性和丰富度,根据各样点细菌群落在门和属水平的分布来研究纳木措各样点细菌分布差异,基于Spearman相关性系数来衡量理化因子与 α -多样性指数的相关性,采用冗余分析(redundancy analysis, RDA)探究理化因子与细菌群落分布之间的关系。在纳木措水体中共获得细菌4 137个OTU(operational taxonomic units),属于87门204纲498目645科1 185属。门水平优势菌群为变形菌门(Proteobacteria, 39.61%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 13.41%)和厚壁菌门(Firmicutes, 12.61%),其中,变形菌门以 γ -变形菌为优势菌群,其次为 β -变形菌和 α -变形菌。属水平有71.67%的未知细菌菌属。纳木措Shannon多样性指数显示,纳木措细菌种类比较丰富。Spearman相关性系数显示,水体细菌 α -多样性指数与环境因子之间没有相关性。RDA分析表明,影响纳木措水体细菌群落结构的主要理化因子为温度($P=0.002, F=5.7$)。纳木措沿岸表层水体细菌群落分布差异较为明显,细菌群落比较丰富,有许多未知菌种需进一步鉴定,有广阔的研究前景。

关键词: 纳木措湖;高通量测序;细菌群落;环境因子

中图分类号: Q938.8

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2022)05-0432-13

Characteristics and effective factors of bacterial community in surface water along the coast of Namtso lake

MENG Huadanshang, XUE Wenkai, XUE Zhao, WANG Yanhong, ZHENG Yanyan, DE Ji, GUO Xiaofang*

(School of Science, Tibet University, Lhasa 850000, Tibet, China)

Abstract: To explore the characteristics of bacterial community in the coastal surface water of Namtso in summer, and lay a foundation for the study of Namtso bacteria in the future, a total of 19 sampling sites were selected around Namtso lake. Water samples were collected and physicochemical parameters were determined. 16S rDNA data of the sites were obtained by high-throughput sequencing technology. The differences of bacterial distribution in various Namtso sites were studied according to the bacterial community distribution at phylum and genus levels. The correlation between physicochemical parameters and α -diversity index was measured based on Spearman correlation coefficient, and the relationship between physicochemical parameters and bacterial community distribution was investigated by redundancy analysis (RDA). A total of 4 137 OTUs (operational taxonomic units) were obtained from Namtso, belonging to 87 phyla, 204 classes, 498 orders, 645 families and 1 185 genera. Proteobacteria (39.61%), Bacteroidetes (13.41%) and Firmicutes

收稿日期: 2022-05-27 修回日期: 2022-09-01 接受日期: 2022-10-18

作者简介: 孟华旦尚(1995-),男,硕士生,主要从事微生物生态学研究。E-mail: 17393150798@163.com

*通讯联系人: 郭小芳(1982-),女,硕士,教授,主要从事微生物生态学研究。E-mail: gxf005@Hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金(31960024);2019年中央支持地方高校改革发展基金(藏财预指[2019]01号);西藏大学研究生高水平人才培养计划项目(2020-GSP-S045)

引用格式: 孟华旦尚,薛文凯,薛翌,等. 纳木措湖沿岸表层水细菌群落特征及影响因素[J]. 生物资源, 2022, 44(5): 432-444.

Meng H D S, Xue W K, Xue Z, et al. Characteristics and effective factors of bacterial community in surface water along the coast of Namtso lake [J]. Biotic Resources, 2022, 44(5): 432-444.

(12.61%) were the dominant groups at phylum level. Gama-proteobacteria was the dominant group of Proteobacteria, followed by Beta-proteobacteria and Alpha-proteobacteria. There were 71.67% unknown species at the genus level. Shannon diversity index shows that Namtso has rich bacterial species. Spearman correlation coefficient shows that there was no correlation between α -diversity index and environmental factors. RDA analysis shows that temperature ($P=0.002$, $F=5.7$) is the main physicochemical factor affecting bacterial community structure in Namtso waters. There are obvious differences in the distribution of bacterial communities in the surface waters along the Namtso coast, and the bacterial communities are relatively rich. There are still many unknown bacterial species that need to be further identified and have broad research prospects.

Key words: Namtso lake; high-throughput sequencing; bacterial community; environmental factor

0 引言

湖泊是由湖盆、湖水及水中包含的各种物质所构成的天然综合体^[1],是地球表层系统中水、土、气等各个圈层相互作用的联结点^[2]。我国湖泊较多,现有湖泊约24 800余个,总面积约占我国国土面积的0.95%,达到了91 000平方公里,其中咸水湖泊约占2/3^[3,4]。湖泊生态系统内部各种生物群落和生态环境之间相互依存、相互影响,它也对生物及活性元素的地球化学循环过程起一定的推动作用^[5]。微生物在湖泊生态系统的物质循环和能量流动中起着不可替代的作用^[6]。在水体微生物当中,细菌数量众多且种类丰富,是湖泊生态系统中的重要组成之一^[7]。通过深入了解湖泊生态系统中细菌的组成和分布规律,可为了解湖泊生态系统的结构和功能打下基础^[8]。自然界中大约99%的微生物利用传统培养方法无法获得,水体微生物亦是如此,资料显示,淡水微生物可培养率为0.25%,海水微生物可培养率仅为0.001%~0.1%,导致自然界中大多数微生物不能被人们所认识^[8]。随着分子生物学技术的发展,检测快速、准确的高通量测序技术被越来越多的科学研究者接受,高通量测序技术能够获得全面的微生物群落信息以及高效地解析微生物的功能信息。该技术在微生物群落研究中得到了良好应用^[9~11]。

青藏高原是世界海拔最高的高原,被称为“世界屋脊”,总面积约250万 km^2 ^[12,13]。是许多湖泊和大江大河的发源地,青藏高原的大多数湖泊的海拔都在4 000 m以上,面积大于1 km^2 的湖泊有1 400多个,是地球上海拔最高、数量最多的湖群区^[14~16]。青藏高原的湖泊多以内陆封闭湖泊为主,它是整个流域内岩石、土壤、植被、河流及人类活动等信息的聚集地^[17]。纳木措湖位于藏北高原东南部,湖面海拔4 718 m。东西长约70 km,南北宽约30 km,最深处达122 m,总面积2 021.3 km^2 ,是世界上海拔最高的大型湖泊^[18~21]。

已有专家和学者对纳木措细菌群落开展过一些研究,纳木措湖中细菌主要以耐寒和嗜寒细菌为主,还发现细菌丰度与叶绿素浓度呈显著相关^[19,22]。李国强^[19]对青藏高原湖水中微生物多样性研究发现,纳木措微生物群落丰富度最小在4月份,pH对群落多样性影响最大,水温影响最小,纳木措细菌群落与青海湖比较相似。对青藏高原不同海拔咸水湖微生物群落研究得出,青海湖和纳木措物种相似性为37.6%,主要菌群为拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)^[20]。对纳木措细菌群落的季节动态研究发现,不同月份细菌的群落组成和多样性存在差异,温度对纳木措细菌丰度影响较大,放线菌门、蓝细菌门(Cyanobacteria)和 β -变形菌门(Beta-proteobacteria)在细菌库中具有明显的时间生态位,分别在1月、5月和6月占据优势^[23]。对青藏高原湖水可培养微生物进行季节性变化研究,得出纳木措湖水可培养微生物多样性8月份达到最大,光照和温度等环境因子与其多样性显著相关^[24]。综上所述,本团队在以上研究的基础上,主要选取纳木措夏季沿岸表层水来对其中细菌群落多样性进行研究以及对其与理化因子相关性进行分析。较以上研究,本文选取的理化因子数量有一定程度的增加,使其和细菌群落的相关性分析更具深度和说服力。本研究可为以后青藏高原湖泊细菌的研究提供参考,对以后青藏高原湖泊微生物资源的挖掘起借鉴作用。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

纳木措位于藏北高原东南部,是我国第二大咸水湖,其60%的区域位于湖面西部的那曲地区班戈县境内;40%的区域位于拉萨市当雄县境内^[25]。地理方位是东经 $90^{\circ}16' \sim 91^{\circ}03'$,北纬 $30^{\circ}30' \sim 30^{\circ}35'$ 。纳木措湖面海拔较高,平均海拔4 718 m,湖水总面积为2 021.3 km^2 ,最深处达到了122 m,总蓄水量约

为(768×108) m^{3[26]}。湖的东边是冈底斯山脉,南边是念青唐古拉山脉,西边是昂曲和侧曲两条入湖河流,北边则是藏北高原丘陵,平均海拔达到5 000 m^[27]。纳木措主要的水源补给来自地表径流、冰川融水和降水,年降水量为400 mm,雨季主要在5—10月。气候主要为高原亚寒带季风半干旱气候,气候寒冷干燥,空气稀薄,昼夜温差大,干湿分明。纳木措整个区域处于封闭较好的内流区域,属于青藏高原中的典型高原内流湖泊^[19, 25~29]。

1.2 实验设计与方法

1.2.1 样品采集与处理

2020年8月绕纳木措湖进行采样,在湖沿岸每隔15 km选取一个样点,总共选取19个样点进行水样采集,对19个样点数据进行分析处理,19个样点位置如表1所示。在距离岸边15 m处进行采样,每个样点用无菌水样采集器采集表层(深度约50 cm)水样,每个样点采集2份水样,将水样装在经消毒的无菌塑料桶内避光保存。水样采集后运回实验室进一步分析,一份用于高通量测序使用;一份用于测定理化因子。用于高通量测序的水样利用砂芯过滤器进行抽滤,滤膜孔径为0.22 μm。将过滤后的0.22 μm孔径滤膜放入-80 °C冰箱保存,用于后续的DNA提取。

表1 纳木措湖水体采集样点概况

Table 1 Information of sampling sites in Namtso lake

样点	经度	纬度
S1	91.036 5°	30.780 7°
S2	90.937 3°	30.768 5°
S3	90.864 2°	30.772 1°
S4	90.878 1°	30.696 0°
S5	90.812 1°	30.657 5°
S6	90.692 4°	30.603 3°
S7	90.576 8°	30.575 6°
S8	90.478 5°	30.542 3°
S9	90.373 1°	30.501 2°
S10	90.293 0°	30.774 8°
S11	90.260 2°	30.889 3°
S12	90.372 6°	30.883 1°
S13	90.475 2°	30.859 1°
S14	90.575 9°	30.806 9°
S15	90.664 3°	30.853 9°
S16	90.721 4°	30.903 2°
S17	90.812 1°	30.906 2°
S18	90.888 4°	30.907 7°
S19	91.033 7°	30.887 2°

1.2.2 理化因子的测定

利用多功能参数仪现场测定水温(T)、电导率(EC)、总溶解固体量(TDS)、盐度和pH值;总磷(TP)、总氮(TN)、氨态氮(NH₄⁺-N)和化学需氧量(COD)送往西藏博源环境检测有限责任公司进行测量。其中TP用钼酸铵分光光度法进行测定;TN用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法进行测定;氨态氮用纳氏试剂分光光度法进行测定;COD采用重铬酸钾法进行测定^[30]。

1.2.3 DNA提取和高通量测序

采用SDS法提取基因组DNA^[31],用1%琼脂糖凝胶检测DNA浓度和纯度。对16S rDNA基因的V4高突变区片段进行PCR扩增^[32]。引物序列为:F:515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和R:806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[33,34]。PCR反应均使用15 μL Phusion high fidelity PCR Master Mix(New England Biolabs)进行,反应条件:98 °C预变性1 min,98 °C变性10 s,50 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,总共30个循环。最后72 °C保温5 min。PCR扩增产物利用2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用Qiagen公司的凝胶回收试剂盒回收PCR产物。使用TruSeqTMDNA PCR-Free Sample Preparation Kit生成文库,构建好的文库经过Qubit和Q-PCR定量,文库合格后,委托北京诺禾致源科技股份有限公司在NovaSeq 6000平台上进行测序。

1.2.4 OTU列表统计

双端序列的拼接利用FLASHV1.2.7进行,基于Barcode从reads中拆分各样品序列。然后对得到的原始数据进行质控,去除嵌合体,得到有效数据Clean Reads。在97%的一致性水平上进行可操作分类单元(OUT, operational taxonomic units)聚类,将每个OTUs中出现频率最高的序列作为代表序列,然后用Qiime软件(Version 1.9.1)中的blast方法与Silva(v138.1)数据库进行物种注释分析,使用MUSCLE(Version 3.8.31)软件进行快速多序列比对,得到所有OTUs代表序列的系统发生关系。对各个样本进行均一化处理,以样本中数据量最少的为标准进行均一化处理,得到后续用于分析使用的精简后的OTUs列表。

1.2.5 多样性及群落结构分析

样点图用ArcGIS(Version 10.6)完成,根据得到的OTU列表中各样品的物种丰度,使用QIIME软件(Version 1.9.1)计算群落Shannon指数和Simpson指数以及种群丰富度指数Chao1指数、ACE指数,使用Excel 2010整理环境因子。使用R

语言“ggplot2”包和“reshape2”包进行物种门和属水平细菌丰度的绘制,使用R语言“rio”包和“plotrix”包进行花瓣图绘制,使用R语言“corrplot”包和“pheatmap”包进行相关性分析。RDA分析采用R语言中的“ggrepel”包、“ggplot”包和“vegan”包作图。

2 结果与分析

2.1 纳木措湖沿岸表层水体理化性质

纳木措湖水理化参数如表2所示。就pH而言,各样点介于8.72~9.66,其中10号样点显著高于其他样点($P < 0.05$);EC、TDS以及盐度具有相似的变化趋势,各样点EC范围为290.67~1901.67 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、TDS范围为206.67~1346.67 mg/L 、盐度范围为132.67~950.00 psu,其中14号样点最高,5号样点最低。T和COD变化趋势一致,T范围为9.70~20.57 $^{\circ}\text{C}$ 、COD范围2.00~15.00 mg/L ,19号样点显著高于其他样点($P < 0.05$),6号样点显著低于其他样点($P < 0.05$)。各样点 NH_4^+-N 存在较大差异,其中19号样点显著高于其他样点($P < 0.05$),其值为0.71 mg/L ,2号样点最低,其值为0.06 mg/L ;就TP和TN而言,19号样点最高,3号、

4号和5号的TP值显著低于其他样点($P < 0.05$),各样点TP范围为0.01~0.05 mg/L ,2号和7号样点TN显著低于其他样点($P < 0.05$),各样点TN范围为0.15~0.97 mg/L 。

2.2 纳木措湖沿岸表层水体细菌群落多样性分析

表3显示,纳木措湖19个样点总共得到OTU数目为4137个。各样点的文库覆盖率范围均在98%以上,可以代表纳木措夏季水体细菌群落的真实情况。Shannon多样性指数和Simpson多样性指数均用来表示群落的多样性,Shannon多样性指数和群落多样性成正比关系,Simpson多样性指数和群落中物种数、个体的均匀程度以及多样性相关。从表中可以看到,Shannon多样性指数的变化范围为5.66~8.68,平均值为7.61,Simpson多样性指数变化范围为0.83~0.99,平均值为0.97。分析表3 Shannon多样性指数可知,纳木措1号和19号样点的Shannon多样性指数最大,表明这两个样点细菌多样性最高,18号样点细菌多样性最低。Chao1指数和ACE指数均用来表示群落丰富度,纳木措细菌的Chao1指数的变化范围为1475.35~3452.76,平

表2 纳木措湖沿岸表层水体理化参数

Table 2 Physical and chemical parameters of coastal surface water of Namtso lake

样点	pH	电导率(EC)/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	总溶解固体量 (TDS)/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	盐度/psu	温度/ $^{\circ}\text{C}$	化学需氧量 (COD)/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{NH}_4^+-\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总磷(TP)/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总氮(TN)/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
S1	9.56 ^{bc}	1759.33 ^f	1253.33 ^e	877.33 ^e	16.33 ^b	8.00 ^{cd}	0.18 ^{ef}	0.02 ^{cd}	0.29 ^{fg}
S2	9.40 ^g	1857.00 ^c	1320.00 ^{cd}	923.67 ^c	12.13 ^j	4.00 ^e	0.06 ⁱ	0.02 ^{cd}	0.15 ^k
S3	9.48 ^{de}	1690.00 ^b	1196.67 ⁱ	831.67 ⁱ	13.30 ^{ef}	5.00 ^{de}	0.07 ⁱ	0.01 ^d	0.22 ^{ij}
S4	9.59 ^b	1810.00 ^c	1283.33 ^f	891.67 ^f	11.60 ^k	8.00 ^{cd}	0.19 ^e	0.01 ^d	0.54 ^b
S5	8.72 ^h	290.67 ⁿ	206.67 ^o	132.67 ^o	9.70 ⁱ	4.00 ^e	0.17 ^{efg}	0.01 ^d	0.40 ^{cd}
S6	9.57 ^{bc}	1655.00 ⁱ	1176.67 ^j	817.33 ^j	12.80 ^{ghi}	6.00 ^{de}	0.16 ^{fg}	0.02 ^{cd}	0.32 ^{ef}
S7	9.56 ^{bc}	1711.33 ^g	1213.33 ^h	845.00 ^h	13.07 ^{efg}	7.00 ^{ede}	0.08 ⁱ	0.02 ^{cd}	0.15 ^k
S8	9.54 ^{bc}	1445.33 ^k	1023.33 ^l	708.67 ^l	13.43 ^e	8.00 ^{cd}	0.27 ^c	0.02 ^{cd}	0.36 ^{de}
S9	9.53 ^{cd}	1767.00 ^f	1256.67 ^e	874.33 ^e	13.40 ^e	7.00 ^{ede}	0.24 ^d	0.35 ^{cd}	0.30 ^f
S10	9.66 ^a	1334.00 ^l	947.00 ^m	650.00 ^m	12.57 ⁱ	10.00 ^{bc}	0.35 ^b	0.03 ^{bc}	0.42 ^c
S11	9.59 ^b	1830.33 ^d	1296.67 ^e	903.67 ^e	12.53 ⁱ	7.00 ^{ede}	0.15 ^g	0.03 ^{bc}	0.39 ^{cd}
S12	9.57 ^{bc}	1884.00 ^b	1336.67 ^{ab}	932.67 ^b	12.67 ⁱ	7.00 ^{ede}	0.07 ⁱ	0.02 ^{cd}	0.24 ^{ghi}
S13	9.58 ^{bc}	1872.00 ^{bc}	1330.00 ^{bc}	926.67 ^{bc}	12.53 ⁱ	5.00 ^{de}	0.08 ⁱ	0.02 ^{cd}	0.29 ^{fg}
S14	9.58 ^{bc}	1901.67 ^a	1346.67 ^a	950.00 ^a	16.37 ^b	13.00 ^{ab}	0.27 ^c	0.04 ^{ab}	0.39 ^{cd}
S15	9.53 ^{cd}	1862.33 ^c	1323.33 ^{cd}	926.00 ^{bc}	12.97 ^{gh}	4.00 ^e	0.11 ^h	0.03 ^{bc}	0.18 ^{jk}
S16	9.46 ^{ef}	1839.00 ^d	1310.00 ^d	913.00 ^d	13.00 ^{gh}	8.00 ^{cd}	0.11 ^h	0.02 ^{cd}	0.24 ⁱ
S17	9.44 ^{fg}	1858.67 ^c	1320.00 ^{cd}	922.33 ^c	13.87 ^d	7.00 ^{ede}	0.11 ^h	0.03 ^{bc}	0.41 ^c
S18	9.42 ^{fg}	1615.00 ^j	1150.00 ^k	799.33 ^k	14.83 ^c	6.00 ^{de}	0.17 ^{efg}	0.03 ^{bc}	0.24 ^{hi}
S19	9.56 ^{bc}	706.67 ^m	501.67 ⁿ	343.00 ⁿ	20.57 ^a	15.00 ^a	0.71 ^a	0.05 ^a	0.97 ^a

注:不同小写字母标注的数据表明存在显著差异($P < 0.05$)

Note: data marked with different lower case letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

均值为 2 255.98; ACE 指数变化范围为 1 480.77~3 473.60, 平均值为 2 293.94。另外可以看出, 4 号样点的 Chao1 指数和 ACE 指数最大, 表明此样点水体细菌丰富度最高, 7 号样点这两个指数最小, 表明此样点水体细菌丰富度最低。

2.3 纳木措沿岸表层水体细菌群落组成

分析显示, 纳木措夏季水体细菌共有 4 137 个 OTU, 属于 87 门 204 纲 498 目 645 科 1 185 属。19 个样品的稀释曲线在 0.97 的相似水平上趋于平坦, 说明了本次测序的深度已经达到了较高水平, 测序数据量将近合理, 19 个样品获取了纳木措夏季水体中的绝大多数细菌的样本信息, 数据可靠性较好, 可以代表纳木措夏季沿岸表层水体中的细菌真实的分布情况。

图 1 为夏季纳木措沿岸表层水体门水平细菌组成状况, 选取丰度排名前 15 的门进行分析, 从图中可以看出, 门水平丰度较高的细菌为变形菌门 (39.61%)、拟杆菌门 (13.41%)、厚壁菌门 (Firmicutes, 12.61%)、放线菌门 (7.84%)、疣微菌门 (7.59%)、Unidentified-Bacteria (5.75%)、蓝细菌门 (1.74%)、浮霉菌门 (Planctomycetes, 1.13%)、酸杆菌门 (Acidobacteriota, 1.03%) 和脱硫杆菌门 (Desulfobacterota, 0.88%), 其余门水平细菌的丰度均小于 0.5%, 在变形菌门中, γ -变形菌纲 (Gamma-

proteobacteria, 27.13%) 丰度最高, 其次是 β -变形菌纲 (13.17%) 和 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria, 12.45%)。以上十个门的细菌比例达到了 91.59%, 为纳木措表层水体中主要的类群。其中丰度最高的变形菌门在 2 号和 18 号丰度较高, 分别为 72.26% 和 55.96%。拟杆菌门在 3 号、5 号、14 号、16 号和 17 号样点的占比均在 15% 以上。厚壁菌门在 6 号、10 号和 13 号样点的占比较高, 分别为 28.75%、32.34% 以及 45.12%。放线菌门在 7 号、8 号和 19 号相对丰度较高, 占比分别为 12.69%、15.55% 以及 15.89%。疣微菌门在 11 号样点相对丰度最高, 占比为 12.77%。Unidentified-Bacteria 为未知的细菌种群, 在 1 号样点相对丰度最高, 占比为 17.54%。蓝细菌门在 12 号样点相对丰度最高, 占比为 12.40%。浮霉菌门、酸杆菌门以及脱硫杆菌门 (Desulfobacterota) 在各样分布则较为均匀。4 号、9 号、15 号样点中相对丰度较高的门为变形菌门, 其值分别为 44.79%、32.56% 以及 24.69%。

图 2 为属水平细菌分类, 我们选取丰度排名前 15 的属进行分析。从图中可以看出纳木措沿岸表层水体中细菌当中的未知种含量很高, 各样点的相对丰度占比均在 50% 以上。其中还发现了劳尔氏菌属 (*Ralstonia*), 其占比为 9.19%, 它在 18 号样点的相对丰度最高, 占比为 40.64%。1 种细菌在属分

表 3 纳木措湖沿岸表层水体细菌 α -多样性指数
Table 3 α -diversity indexes of coastal surface water bacteria of Namtso lake

样点	OTU 数目	Coverage 指数	Shannon 多样性指数	Simpson 多样性指数	Chao1 指数	ACE 指数
S1	2 202	0.98	8.68	0.99	2 752.72	2 844.16
S2	2 085	0.98	7.99	0.98	2 734.86	2 769.86
S3	2 717	0.98	8.33	0.98	3 163.82	3 252.94
S4	2 700	0.98	8.09	0.96	3 452.76	3 473.60
S5	2 363	0.99	8.63	0.99	2 587.07	2 609.90
S6	1 462	0.99	7.87	0.97	1 612.78	1 596.94
S7	1 336	0.99	7.18	0.97	1 475.35	1 480.77
S8	1 340	0.99	6.95	0.98	1 817.18	1 933.84
S9	2 684	0.99	8.61	0.99	2 894.50	3 033.71
S10	2 092	0.99	7.95	0.98	2 368.89	2 371.38
S11	1 613	0.99	6.83	0.96	2 053.59	2 167.50
S12	1 654	0.99	6.81	0.95	2 017.58	1 957.21
S13	2 041	0.99	7.47	0.97	2 344.81	2 288.24
S14	1 975	1.00	8.31	0.97	2 001.84	2 047.38
S15	1 732	0.99	7.61	0.98	2 241.29	2 253.13
S16	1 302	0.99	6.84	0.97	1 602.03	1 627.58
S17	1 073	0.99	6.07	0.96	1 500.61	1 566.99
S18	1 466	0.99	5.66	0.83	1 574.07	1 612.24
S19	2 085	0.98	8.68	0.99	2 667.93	2 697.55

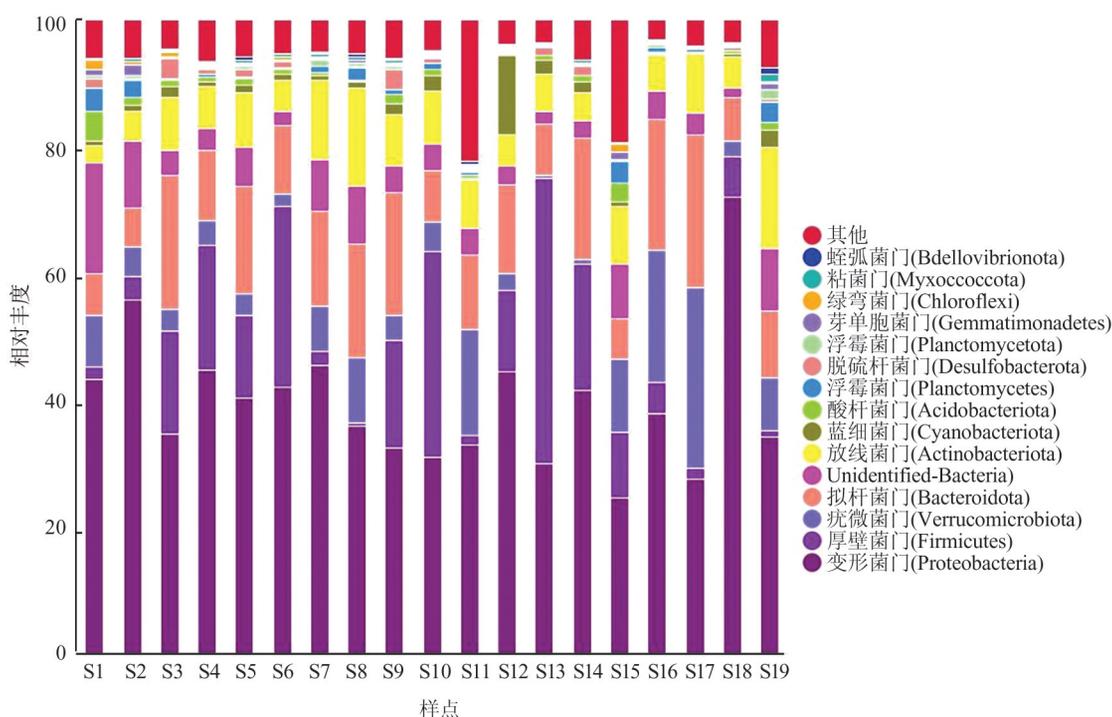


图1 纳木措湖沿岸表层水体门水平细菌分类

Fig. 1 Classification of phylum level bacteria in coastal surface waters of Namtso lake

类级别数值较低,数据库中没有找到相对应的分类信息,统计时以 unidentified 作为标记。Hgc1_clade 为放线菌门中的一类属。

从图3我们可以看出,纳木措19个样点 OTU 数目为 4 137 个,单个水样的 OTU 数目介于 165~573,平均值为 211。纳木措 3 号和 9 号样点的 OTU 较多,分别为 450 和 397,说明在 3 号样点中特有的细菌种类最多。7 号、8 号、16 号和 17 号样点的 OTU

较小,说明在这四个样点中特有细菌种类较少。19 个样点中共有的 OTU 数目为 123 个,占总 OTU 数目的 2.97%。分别占 3 号和 9 号的 OTU 数比例 21.5% 和 23.7%;分别占 7 号、8 号、16 号和 17 号的 OTU 数比例的 62.1%、67.2%、66.1% 和 74.5%。

基于 Bray-Curtis 距离,我们对 19 个样点进行了 NMDS 分析(图 4A)和 UPGMA 聚类分析(图 4B)。从图 4A 中可以看出,19 个样点被分为 4 类,在 4 类

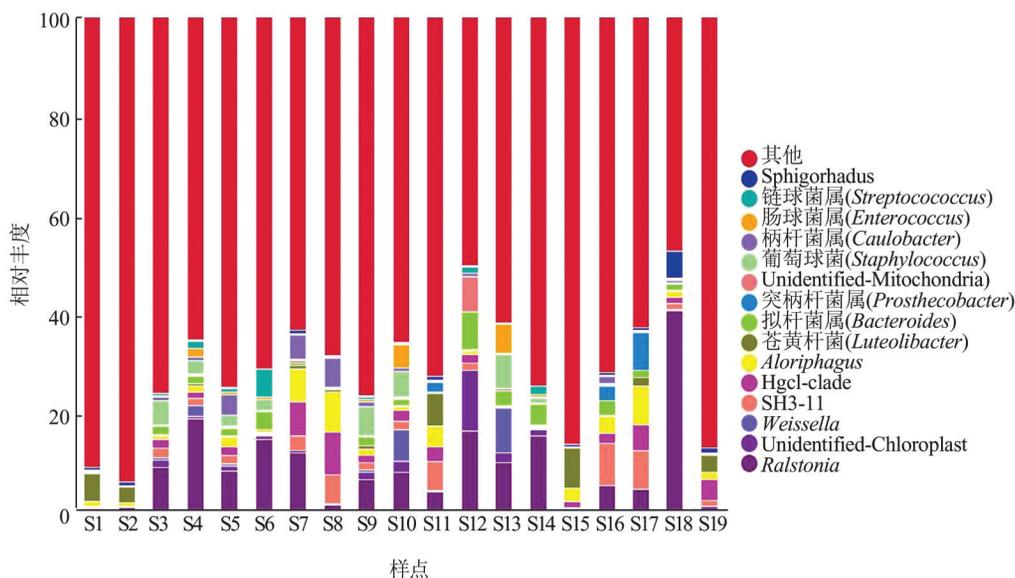


图2 纳木措湖沿岸表层水体属水平细菌分类

Fig. 2 Genus-level taxonomic composition of the coastal surface water bacteria of Namtso lake

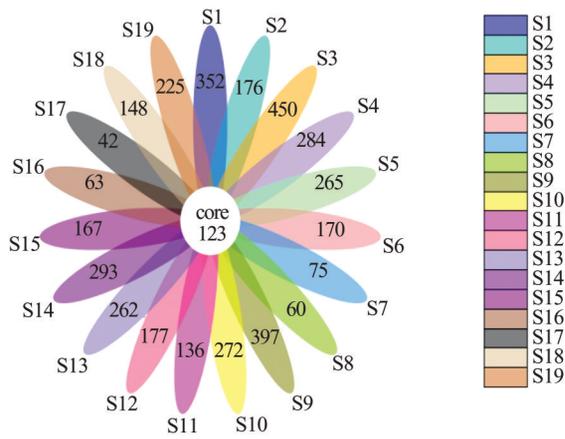


图3 各样点 OTU 水平花瓣图
Fig. 3 Venn diagram of OTU levels in different sampling sites

当中除了地理位置相距近的样点相互聚类以外,样点 2 和 19、6 和 14、10 和 13、3 和 9 以及 12 和 18 两两也聚成了一类。图 4B 中的聚类树刚好印证了图 4A 中得出的结论。综合这两个图可以发现,这几个样

点地理位置距离相差较远,但他们之间的物种差异却很小,造成这种现象的原因有待我们进一步去研究。

基于上面得出的结论,我们利用 Bray-Curtis 距离的回归曲线图进一步研究了各样点的海拔高度对细菌群落分布的影响(图 5A)和各样点的经纬度对细菌群落分布的影响(图 5B)。从图 5A 中可以看出,回归线坡度较小,几乎趋于平行, R^2 为 -0.006 ,由此可以得出,不同样点的物种分布受经纬度影响也较小。从图 5B 中看到,回归线的斜率绝对值较小,几乎趋近于 1,而且 R^2 为 -0.005 ,这说明各样点细菌群落的分布受经纬度不同的影响较小。但我们也可以看出相较于海拔,经纬度对细菌群落的影响较大,但也不是决定性因素。因此,我们猜测造成纳木措表层水体细菌群落分布的原因可能是因为细菌之间的相互作用。

该研究构建了纳木措湖泊中表层水体中的细菌群落的分子生态网络(图 6),由图 6 可见:纳木措表

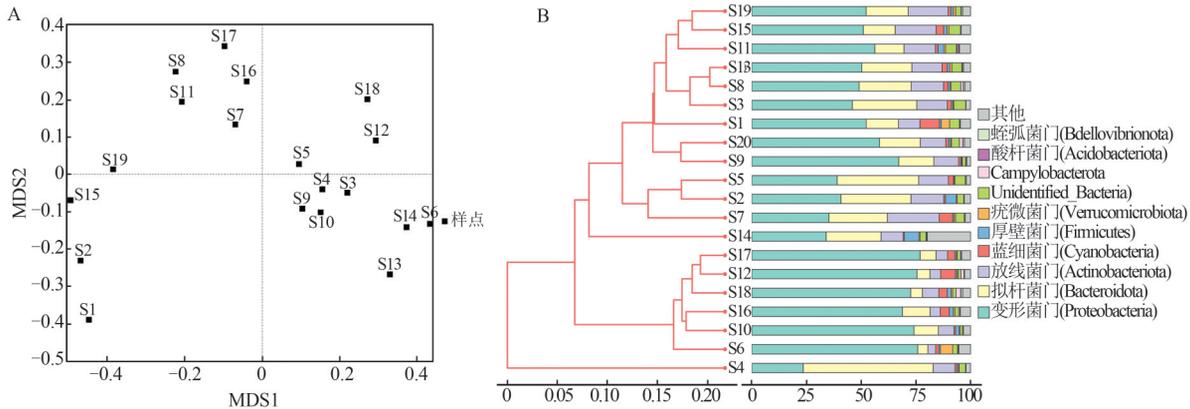


图4 基于 Bray-Curtis 距离的采样点非度量多维尺度(NMDS)(A)和 UPGMA 聚类树(B)
Fig. 4 Nonmetric multidimensional scale (NMDS) (A) and UPGMA clustering tree(B) based on Bray-Curtis dissimilarity between water samples

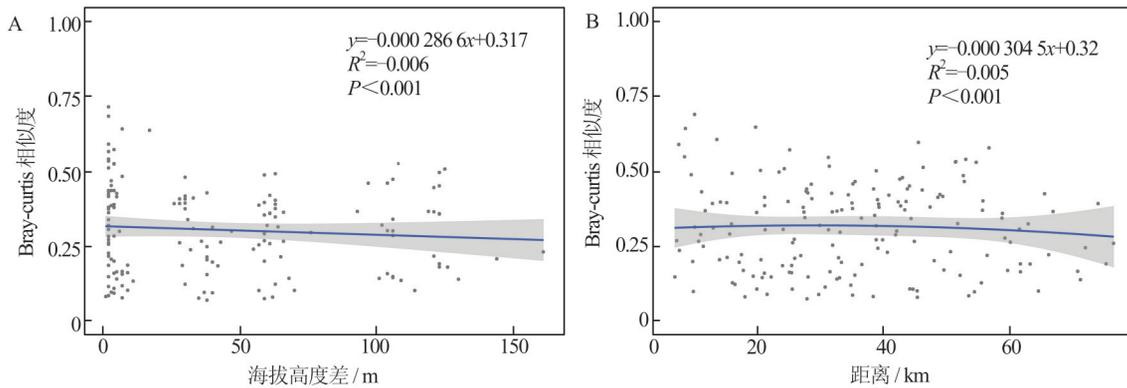


图5 基于 Bray-Curtis 距离的采样点海拔对细菌群落分布的影响(A)和经纬度对细菌群落的影响(B)
Fig. 5 Effects of altitude on bacterial community distribution (A) and effects of latitude and longitude on bacterial community(B) based on Bray-Curtis dissimilarity between water samples

层水体细菌群落生态网络节点和边的数量分别是150和2702。在生态网络中,78.20%的边为正相关关系,说明细菌群落之间的协同作用强于竞争作用。平均路径长度为2.093。其中,平均聚类系数为0.693,图密度为0.242。这说明细菌群落之间的互作用较为复杂。网络的模块化为0.877。根据贪婪算法,纳木措湖泊中浮游细菌网络可被分解为6个模块。作为代表网络紧密关系程度的中心性参数,该网络图的接近中心性为0.4778。

2.4 纳木措夏季细菌多样性和理化因子相关性分析

从图7可以看出,pH与COD呈显著正相关($P < 0.05$)。EC与TDS和Salt呈极显著正相关($P < 0.01$),与 NH_4^+-N 呈显著负相关($P < 0.05$)。TDS和Salt呈极显著正相关($P < 0.01$),它们两个分别与 NH_4^+-N 呈显著负相关($P < 0.05$)。T与COD、和TP呈显著正相关($P < 0.05$)。COD与 NH_4^+-N 呈极显著正相关($P < 0.01$),与TN呈显著正相关($P < 0.05$)。 NH_4^+-N 与TN呈极显著正相关($P < 0.01$)。Shannon-Wiener多样性指数与Simpson多样性指数、Chao1指数和ACE指数呈极显著正相关($P < 0.01$)。Simpson多样性指数与Chao1指数和ACE指数呈显著正相关($P < 0.05$)。Chao1指数和ACE指数呈极显著正相关($P < 0.01$)。图中表明,纳木措夏季表层水体中细菌的 α -多样性指数和理化因子之间不存在相关性。

将夏季纳木措沿岸表层水体细菌群落门水平上物种丰度排名前10的物种进行DCA分析,结果排序轴梯度最大值小于3,故用RDA分析。利用蒙特卡拟合方法对环境因子进行显著性检验,通过筛选,除了温度($P < 0.01$),无显著解释性变量,群落变异解释率第1的环境参数为T($P = 0.002, F = 5.7$),对

群落变异的解释率为47.2%,是影响夏季纳木措沿岸表层水体细菌群落结构的主要环境因子。第一、二排序轴物种-环境累计方差的解释率分别为51.30%和23.15%;物种-环境因子的相关系数分别为0.7329和0.9582;前两轴累计方差为74.45%,表明前两轴能较好地反映夏季纳木措沿岸表层水体细菌群落与各环境因子的关系,且主要由第一排序轴决定。从图8得出,第一排序轴与T呈正相关;第二排序轴与T呈负相关;Verrucomicrobiota, Planctomycetes, unidentified_Bacteria, Acidobacteriota以及Proteobacteria与TN呈正相关;Actinobacteriota, Bacteroidota, Cyanobacteria, Firmicutes和Desulfobacterota与TN呈负相关。

3 讨论

本实验过程主要采用16S rDNA高通量测序技术对纳木措夏季沿岸表层水体细菌多样性进行分析。19个样点的OTU稀释曲线在97%的相似水平上接近平稳,说明本研究数据基本代表纳木措夏季沿岸表层水体细菌群落组成。纳木措夏季各样点细菌在门和属水平上分布特征表明,纳木措沿岸表层水体细菌多样性较丰富,常见细菌类群在各样点相对丰度较高,多数细菌类群在各样点相对丰度差异较明显。

3.1 纳木措沿岸表层水中细菌群落 α -多样性

纳木措3号和9号样点细菌多样性指数和丰富度以及OTU数目都表明这两个样点的细菌菌群较为丰富,可能是因为3号样点位于扎西半岛,此地为游客聚集地,人员的流动导致该样点细菌菌群种类较多;采样时观察到9号样点岸边存在着大量植物和动物粪便。岸边的植物通过其自身代谢能将土壤中的营养物质带到地表^[35]。除此之外,牦牛等牲畜

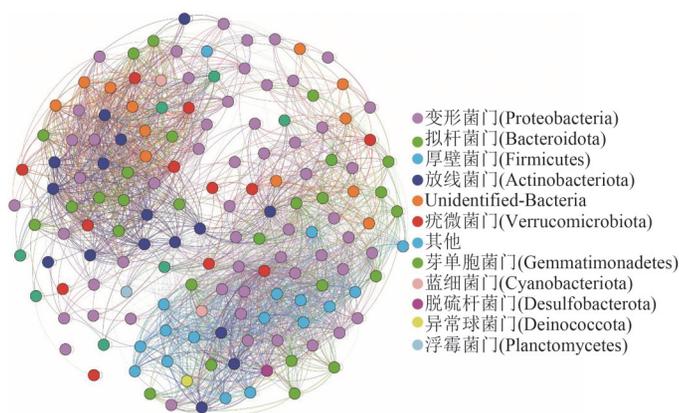


图6 纳木措湖沿岸表层水体中细菌群落分子生态网络

Fig. 6 Molecular ecological network of bacterial community in coastal surface water of Namtso lake

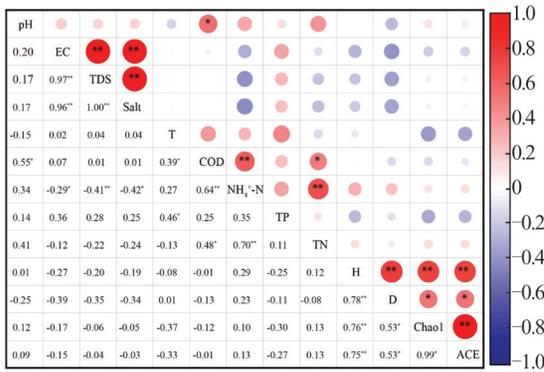


图7 纳木措湖沿岸表层水体细菌的 α -多样性指数与理化因子的相关性

Fig. 7 Correlation between bacterial α -diversity indexes and physical and chemical factors in coastal surface water of Namtso lake

注:EC, 电导率;TDS, 总溶解固体量;Salt, 盐度;T, 温度;COD, 化学需氧量; NH_4^+-N :氨氮;TP, 总磷;TN, 总氮;H', Shannon-Wiener多样性指数;D, Simpson多样性指数; $P < 0.05$ 表示在0.05水平上显著相关; $P < 0.01$ 表示在0.01水平上显著相关

Note: EC, electric conductivity; TDS, total dissolved salt; T, temperature; COD, chemical oxygen demand; NH_4^+-N , ammonia nitrogen; TP, total phosphorus; TN, total nitrogen; H', Shannon index; D, simpson index; There was a significant correlation at the 0.05 level ($P < 0.05$); There was a significant correlation at the 0.01 level ($P < 0.01$)

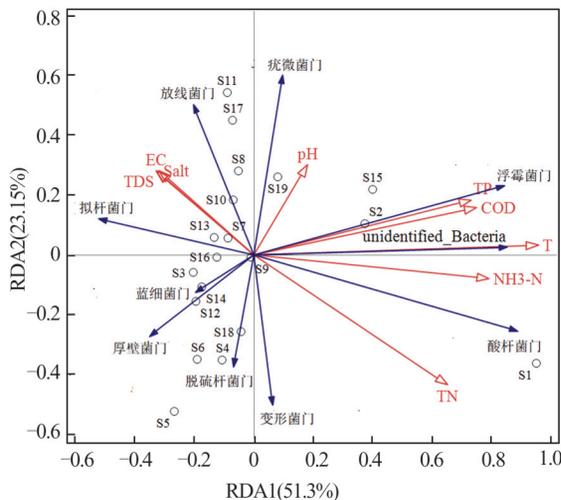


图8 纳木措湖沿岸表层水体细菌门分类群落与环境因子的冗余分析

Fig. 8 Redundancy analysis of bacterial taxonomic community at phylum level and environmental factors in coastal surface water of Namtso lake

好的营养环境,有助于细菌大量繁殖,再经过湖水的冲刷将其带入湖中。推测这可能是导致该样点细菌种类增多的原因。17号样点的细菌多样性指数和OTU数目都表明该样点的细菌多样性与其他样点相比较低。导致该情况的原因可能与17号样点所处生境有一定关系。

3.2 纳木措沿岸表层水中细菌群落结构变化

通过对纳木措夏季沿岸表层水的细菌丰度分析,可以看出:在门水平上,纳木措季沿岸优势菌群主要是变形菌门(39.61%)、拟杆菌门(13.41%)、厚壁菌门(12.61%)。2008年对纳木措湖水进行了细菌群落的研究发现 β -变形菌和放线菌门为纳木措主要的细菌群落,本次研究发现纳木湖中的 γ -变形菌已经取代 β -变形菌成为纳木措湖中的主要优势菌群,放线菌门在纳木措湖中的细菌丰度占比已经不足10%,造成这一现象的原因可能是随着时间的推移纳木措中的细菌群落结构发生了变化,推测可能是由于纳木措所处的环境条件的变化对其中细菌群落的生长和繁殖产生了较大的影响。对巢湖水体细菌和沙湖水体细菌的研究结果表明^[36,37],巢湖和沙湖的优势细菌种群主要是放线菌门、变形菌门和蓝细菌门。对鄱阳湖水体细菌的研究表明^[38-40],鄱阳湖中优势菌群为变形菌门、拟杆菌门和放线菌门。沙湖、巢湖和鄱阳湖中,厚壁菌门占比均低于1%,而纳木措夏季当中厚壁菌门的比例达到了12.61%。查阅资料得知:厚壁菌门可以产生一种特殊的芽胞,使得它可以在极端环境中生存。除纳木措湖外,西藏地区的温泉中也发现了这种细菌的存在^[41]。纳木措中发现这种菌种主要可能和它所处的高海拔、高辐射等极端环境条件有一定关系。由此可以得出,纳木措水体中主要细菌菌群和内地一些湖泊生态系统中的常见菌群有一定的差异。本研究的变形菌门中, γ -变形菌含量为27.13%,查阅文献发现, γ -变形菌多生存于富营养水体当中^[42],推测可能是纳木措水体近几年有向富营养化发展的趋势。 α -变形菌含量为13.16%。文献表明, α -变形菌一般生存在寡营养的环境中^[42],纳木措为寡营养型湖泊,可能更适合这种菌群生存。 β -变形菌丰富度也较高,为12.46%,其丰富度与低分子量的营养物质含量有关^[41],因此推测纳木措营养物质中低分子量物质可能居多。本研究结果也表明,在属水平上,纳木措沿岸表层水中细菌有71.67%的未被注释,分析其中的原因可能是由于纳木措属于高海拔湖泊,水源主要以冰川融水为主,导致一些只有在冰川才能生存的未知种进入纳木措。在纳木措中还存在劳尔

的啃食会将植物“切割”成微生物更易利用的小块,牲畜的粪便不仅含有未完全消化的食物残渣还有许多肠道微生物。这都为细菌的生长和繁殖提供了良

氏菌属(*Ralstonia*),文献显示,该属主要存在于植物中^[43],我们发现纳木措18号样点该属丰度较高,为40.64%,究其原因可能是18号样点主要为高寒草甸生境,湖边植被比较丰富,由于冰川融水将植物中的此类菌冲刷到了湖水中,导致其在纳木措含量较高。

通过查阅文献发现,嗜盐细菌可以产生一种名为依克多因的物质,这种物质在化妆品产业中有重要的研究意义。它主要通过产生一层“保护层”来防止皮肤免受外界刺激因子的刺激,从而降低炎症和损伤反应,具有保湿、修复、抗衰老、抗紫外线等功效^[44]。我们从纳木措夏季沿岸表层水中分离出嗜盐细菌假单胞菌目(*Pseudomonadales*),通过分离,为提取依克多因做出贡献。

3.3 纳木措沿岸表层水中细菌群落及驱动因子

细菌群落与环境因子的RDA分析发现,温度是影响纳木措沿岸表层水细菌群落的主要环境因子,这与前期研究结果相同^[19,23]。尽管纳木措是高原湖泊,但是有研究表明^[36,45],在高原湖泊中,温度对细菌的群落的影响与温度对位于平原的湖泊中的细菌群落影响的研究结果具有一致性。温度主要通过改变细菌体内各种酶的活性来影响细菌的新陈代谢。纳木措湖水温度范围9.7~20.57℃,平均温度为13.56℃,各样点水温差异较大,导致纳木措各样点细菌群落存在一定差异。纳木措沿岸表层湖水的pH值范围为8.72~9.66,整体偏碱性。从RDA图中我们得出pH对于纳木措细菌的影响较小,可能是随着时间的推移,湖中细菌发生了适应性进化,不能适应纳木措水体环境的细菌群落被逐步淘汰,能够生存的细菌群落都是适应该水体环境的细菌,因此pH对其影响不大。

3.4 纳木措沿岸表层水水质分析

研究发现纳木措沿岸表层水体TN含量为0.34 mg/L,TP含量为0.02 mg/L, NH_4^+-N 含量为0.19 mg/L。根据《国家地表水环境质量标准》(GB3838,2002),表明纳木措整体水质良好,基本符合国家地表水Ⅱ类水质标准,但TP含量超过国家地表水Ⅱ类水质标准,达到Ⅲ类水质标准,说明纳木措湖水有营养化趋势。本研究中, γ -变形菌的丰度为27.13%,在变形菌门中含量最高。查阅文献可知, γ -变形菌多存在于富营养型环境中^[42],符合上述纳木措湖水有营养化趋势的结论。除此之外,COD也超过了合理值范围,原因可能是由于在采样时一些样点水位偏低,采样时将底泥混入水样所致,也有可能是由于湖周边畜牧业比较发达,为传统草场放

牧,大量粪便的排入带来有机污染物所致。尽管纳木措水体的清洁程度在本研究中无法用COD得以反映,但该理化因子仍可以作为影响细菌多样性的指标。本研究发现纳木措水体中存在一定量的蓝细菌门,查阅文献发现,此类细菌一般出现在N和P含量较高的湖水当中^[40]。相关研究发现,巢湖和沙湖的蓝细菌门含量均在15%以上,这两个湖泊都是处于中高度富营养化^[36,37]。相较于巢湖和沙湖而言,纳木措水体中蓝细菌门含量只有1.74%,说明纳木措水质仍较好。综上所述,目前纳木措水质符合国家地表水Ⅱ类水质标准,属于贫营养型湖泊,但有向富营养型发展的趋势。

3.5 纳木措沿岸表层水细菌群落的共现网络

不同物种之间的相互作用对群落分布格局至关重要^[46]。在生态系统中,微生物类群之间的相互作用比物种丰度和多样性对生态系统循环过程贡献更大。在共现网络中,两个节点间边的正、负相关性分别代表相连物种之间的互惠和竞争关系^[47]。研究发现,在纳木措湖泊中网络节点之间正相关所占比例为78.20%,表明门级水平上细菌种群之间的共生、共栖和共聚集关系强于它们之间的竞争关系,同类群生物往往由于对资源存在竞争关系而普遍存在拮抗作用,但在极端环境中它们却主要表现为协同作用。这说明,在生态网络中不同细菌种群之间表现为协同作用还是拮抗作用,主要由所处生境来决定^[48],也表明细菌群落之间存在自我维持和组织的特性。网络模块化表明,纳木措湖泊网络具有模块化结构;平均路径长度与已报道的显示“小世界”特性的网络平均路径长度在类似范围,说明所构建的网络均具有“小世界”属性^[49]。网络的拓扑结构特征可以反映细菌种群之间的连通性,若有较高连通性的网络,则说明细菌种群对于环境干扰反应更为迅速和敏感^[47]。纳木措夏季沿岸表层水中的细菌群落网络连通性较为复杂,由此可推断,细菌群落可能对纳木措湖泊环境变化反应更加敏感,这需要我们进一步验证。

4 结 论

本研究探讨了群落多样性以及水体理化因子对其的影响。结果显示,纳木措沿岸表层水体细菌资源丰富,19个样点中共有4137个OTU,属于87门204纲498目645科1185属。优势种为变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门。Sperman相关性分析结果表明,水体细菌 α -多样性指数与环境因子之间没有相关性。共现网络图表明,纳木措细菌群落间相互

作用以协同作用为主导。冗余分析显示,温度($P=0.002, F=5.7$)是影响纳木措细菌群落多样性格局的主导因子。

参考文献

- [1] 吴庆龙,江和龙. 中国湖泊微生物组研究[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(3): 273-279.
Wu Q L, Jiang H L. China Lake microbiome project [J]. Bull Chin Acad Sci, 2017, 32(3): 273-279.
- [2] 吴庆龙,邢鹏,李化炳,等. 草藻型稳态转换对湖泊微生物结构及其碳循环功能的影响[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 87-97.
Wu Q L, Xing P, Li H B, *et al.* Impacts of regime shift between phytoplankton and macrophyte on the microbial community structure and its carbon cycling in lakes [J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 87-97.
- [3] 秦伯强,高光,朱广伟,等. 湖泊富营养化及其生态系统响应[J]. 科学通报, 2013, 58(10): 855-864.
Qin B Q, Gao G, Zhu G W, *et al.* Lake eutrophication and its ecosystem response [J]. Chin Sci Bull, 2013, 58(10): 855-864.
- [4] 吴兰. 鄱阳湖水体细菌物种多样性研究[D]. 南昌:南昌大学, 2009.
Wu L. Studies on the bacterial species diversity in lake Poyang [D]. Nanchang: Nanchang University, 2009.
- [5] 张姜,黄嘉丰,李艳玲,等. 西南地区高山湖泊中可培养细菌多样性及其所产胞外活性物质的特性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2043-2054.
Zhang J, Huang J F, Li Y L, *et al.* Diversity of culturable bacteria and their extracellular active substance properties in alpine lakes of Southwest China [J]. Microbiology China, 2017, 44(9): 2043-2054.
- [6] 龚世杰,吴兰,李思光. 湖泊微生物多样性研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(4): 54-57, 74.
Gong S J, Wu L, Li S G. Studying on lake microbial diversity [J]. Biotechnology Bulletin, 2008(4): 54-57, 74.
- [7] 陈光哲,姜星宇,胡洋. 不同营养程度湖泊中细菌群落组成及其分子生态网络特征[J]. 环境科学研究, 2020, 33(2): 375-384.
Chen G Z, Jiang X Y, Hu Y. Characteristics of bacterial communities and their Co-occurrence networks in lake ecosystem with different trophic states [J]. Research of Environment Sciences, 2020, 33(2): 375-384.
- [8] 任丽娟,何聃,邢鹏,等. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 422-433.
Ren L J, He D, Xing P, *et al.* Bacterial diversity and ecological function in lake water bodies [J]. Biodiv Sci, 2013, 21(4): 422-433.
- [9] 邓茹,陈曦,裘丽萍,等. 基于高通量测序及 Biolog-ECO 方法的雄安新区鲟鳇淀细菌群落结构与功能多样性分析[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(5): 752-759.
Deng R, Chen X, Qiu L P, *et al.* Analysis of bacterial community structure and functional diversity in Shihou Lake in Xiongan Area by high-throughput sequencing and biolog-ECO method [J]. J Dalian Ocean Univ, 2021, 36(5): 752-759.
- [10] Jung A V, Le Cann P, Roig B, *et al.* Microbial contamination detection in water resources: interest of current optical methods, trends and needs in the context of climate change [J]. Int J Environ Res Public Health, 2014, 11(4): 4292-4310.
- [11] Zhang J X, Yang Y Y, Zhao L, *et al.* Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau freshwater lakes [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2014, 99(3): 291-3320.
- [12] Liu C, Zhu L P, Wang J B, *et al.* *In-situ* water quality investigation of the lakes on the Tibetan Plateau [J]. Sci Bull, 2021, 66(17): 1727-1730.
- [13] Immerzeel W W, van Beek L P, Bierkens M F. Climate change will affect the Asian water towers [J]. Science, 2010, 328(5984): 1382-1385.
- [14] Yao T D. Tackling on environmental changes in Tibetan Plateau with focus on water, ecosystem and adaptation [J]. Sci Bull, 2019, 64(7): 417.
- [15] 朱立平,鞠建廷,乔宝晋,等. “亚洲水塔”的近期湖泊变化及气候响应:进展、问题与展望[J]. 科学通报, 2019, 64(27): 2796-2806.
Zhu L P, Ju J T, Qiao B J, *et al.* Recent lake changes of the Asia Water Tower and their climate response: progress, problems and prospects [J]. Chin Sci Bull, 2019, 64(27): 2796-2806.
- [16] Wan W, Long D, Hong Y, *et al.* A lake data set for the Tibetan Plateau from the 1960s, 2005, and 2014 [J]. Sci Data, 2016, 3(1): 1-13.
- [17] 王君波. 纳木措百米岩芯:青藏高原古气候变化的新证据[J]. 科学, 2021, 73(3): 17-22, 2, 4.
Wang J B. The one-hundred-meter sediment core from Nam Co: a new evidence for paleoclimate change on the Tibetan Plateau [J]. Science, 2021, 73(3): 17-22, 2, 4.
- [18] 李国强. 应用高通量测序技术分析青藏高原湖水中微生物多样性[D]. 兰州:兰州交通大学, 2016.
Li G Q. Analysis of the microbial diversity in lake water of Qinghai-Tibet Plateau by using the technology of high-throughput sequencing [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2016.

- [19] Liu X B, Yao T D, Kang S C, *et al.* Bacterial community of the largest oligosaline lake, Namco on the Tibetan Plateau [J]. *Geomicrobiol J*, 2010, 27(8): 669-682.
- [20] 王鑫. 青藏高原不同海拔咸水湖微生物多样性及适应性特征[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2014.
- Wang X. The microbial diversity and adaptive characteristics in saline lake at different altitude of Tibet Plateau [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2014.
- [21] 杜娟, 文莉娟, 苏东生. 青藏高原不同深度湖泊无冰期湖气温差及湖表辐射与能量平衡特征模拟分析[J]. *高原气象*, 2020, 39(6): 1181-1194.
- Du J, Wen L J, Su D S. Analysis of simulated temperature difference between lake surface and air and energy balance of three alpine lakes with different depths on the Qinghai-Xizang Plateau during the ice-free period [J]. *Plateau Meteorol*, 39(6): 1181-1194.
- [22] 刘晓波, 康世昌, 刘勇勤, 等. 青藏高原纳木错湖细菌群落特征及其与高山湖泊的对比[J]. *冰川冻土*, 2008, 30(6): 1041-1047.
- Liu X B, Kang S C, Liu Y Q, *et al.* Microbial community structures in the Nam Co lake, Tibetan Plateau, and comparison with other alpine lakes [J]. *J Glaciol Geocryol*, 2008, 30(6): 1041-1047.
- [23] Liu Y Q, Yao T D, Jiao N Z, *et al.* Seasonal dynamics of the bacterial community in lake Namco, the largest Tibetan lake [J]. *Geomicrobiol J*, 2013, 30(1): 17-28.
- [24] 张红光. 青藏高原不同海拔湖水中微生物多样性和蓝藻适应性比较研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学, 2013.
- Zhang H G. Comparative studies on microbial diversity and adaptability of cyanobacteria in the different altitude lake of Qinghai-Tibet Plateau [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2013.
- [25] 德吉央宗, 强巴欧珠, 白玛央宗, 等. 西藏纳木错湖泊面积变化对气候变化的响应 [J]. *河南科技*, 2019(10): 133-136.
- Dejiyangzong, Qiang B, Baimayangzong, *et al.* Response of Namtso lake area change to climate change in Tibet [J]. *Henan Sci Technol*, 2019(10): 133-136.
- [26] 刘金波, 孔维栋, 王君波, 等. 纳木错湖水体固碳微生物数量、群落结构及其驱动因子 [J]. *生态学报*, 2019, 39(8): 2772-2783.
- Liu J B, Kong W D, Wang J B, *et al.* Abundance, community structure, and the driving factors of carbon fixing microorganisms in the Nam Co Lake [J]. *Acta Ecol Sin*, 2019, 39(8): 2772-2783.
- [27] 王勇. 浅析西藏纳木错湖区土地沙化机制与生态恢复措施[J]. *农业工程技术*, 2018, 38(23): 37-39.
- Wang Y. Analysis of land desertification mechanism and ecological restoration measures in Namco lake area, Tibet [J]. *Agric Eng Technol*, 2018, 38(23): 37-39.
- [28] 方楠, 阳坤, 拉珠, 等. WRF湖泊模型对青藏高原纳木错湖的适用性研究 [J]. *高原气象*, 2017, 36(3): 610-618.
- Fang N, Yang K, La Z, *et al.* Research on the application of WRF-lake modeling at Nam Co lake on the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Plateau Meteorol*, 36(3): 610-618.
- [29] 勾鹏, 叶庆华, 魏秋方. 2000-2013年西藏纳木错湖冰变化及其影响因素[J]. *地理科学进展*, 2015, 34(10): 1241-1249.
- Gou P, Ye Q H, Wei Q F. Lake ice change at the Nam Co Lake on the Tibetan Plateau during 2000-2013 and influencing factors [J]. *Prog Geogr*, 2015, 34(10): 1241-1249.
- [30] 王艳红, 郝兆, 郭小芳, 等. 纳木错夏季可培养酵母菌多样性及其与理化因子相关性[J/OL]. *中国环境科学*, 2021:1-14.
- Wang Y H, Hao Z, Guo X F, *et al.* Analysis on culturable yeast diversity and its relationship with environmental factors during summertime in NamCo Lake [J/OL]. *China Environmental Science*, 2021: 1-14.
- [31] 云飞, 梁林, 鲍彦彬, 等. 革兰氏阳性与阴性细菌基因组DNA提取方法的优化[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(10): 98-100.
- Yun F, Liang L, Bao Y B, *et al.* Optimization of methods for genomic DNA extraction from bacteria [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(10): 98-100.
- [32] 肖汉玉, 王鹏, 刘君政, 等. 基于高通量测序的乐安江冬季细菌群落特征分析[J]. *微生物学报*, 2019, 59(1): 181-194.
- Xiao H Y, Wang P, Liu J Z, *et al.* Characteristics of bacterial community in Le'an River in winter based on high-throughput sequencing [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2019, 59(1): 181-194.
- [33] 王新惠, 孙劲松, 丁悦, 等. 基于高通量测序对不同散装宜宾芽菜的细菌群落结构分析[J]. *中国调味品*, 2021, 46(8): 29-32.
- Wang X H, Sun J S, Ding Y, *et al.* Bacterial community structure analysis of different Yibin sprouts in bulk based on high-throughput sequencing [J]. *China Condi-ment*, 2021, 46(8): 29-32.
- [34] Liu C, Yao M J, Stegen J C, *et al.* Long-term nitrogen addition affects the phylogenetic turnover of soil microbial community responding to moisture pulse [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 17492.
- [35] 王永宏, 田黎明, 艾鹭, 等. 短期牦牛放牧强度对川西北高原高寒草甸土壤细菌群落的影响[J]. *生态学报*,

- 2022, 42(4): 1549-1559.
- Wang Y H, Tian L M, Ai Y, *et al.* Effects of short-term yak grazing intensity on soil bacterial communities in an alpine meadow of the Northwest Sichuan Plateau [J]. *Acta Ecol Sin*, 2022, 42(4): 1549-1559.
- [36] 张磊, 沈婷婷, 高光, 等. 巢湖水体细菌群落结构及多样性研究[J]. *水生态学杂志*, 2018, 39(6): 52-57.
- Zhang L, Shen T T, Gao G, *et al.* Study on bacterial community structure and diversity in Chaohu Lake [J]. *Journal of Hydroecology*, 2018, 39(6): 52-57.
- [37] 张燕灵, 李靖宇, 刘建利, 等. 基于高通量测序技术对沙湖水体细菌多样性的分析[J]. *生物学杂志*, 2017, 34(6): 56-59.
- Zhang Y L, Li J Y, Liu J L, *et al.* Bacterial diversity analysis in Shahu Lake based-on high-throughput sequencing [J]. *Journal of Biology*, 2017, 34(6): 56-59.
- [38] 郑国华, 黄虹, 涂祖新, 等. 鄱阳湖细菌群落多样性与水环境相关性分析[J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(3): 549-558.
- Zheng G H, Huang H, Tu Z X, *et al.* An analysis of correlation between bacterial diversity and water environment in Poyang Lake [J]. *Acta Agric Univ Jiangxiensis*, 2017, 39(3): 549-558.
- [39] 寇文伯, 黄正云, 张杰, 等. 鄱阳湖湖泊细菌群落组成及结构:以松门山为例[J]. *生态学报*, 2015, 35(23): 7608-7614.
- Kou W B, Huang Z Y, Zhang J, *et al.* Bacterial community structure and composition in Lake Poyang:a case study in the Songmenshan Region, China [J]. *Acta Ecol Sin*, 2015, 35(23): 7608-7614.
- [40] 刘倩纯. 鄱阳湖表层水体细菌群落结构时空变化[D]. 南昌: 南昌大学, 2013.
- Liu Q C. Temporal-spatial variability of bacterial community structure in the surface water from Poyang Lake, China [D]. Nanchang: Nanchang University, 2013.
- [41] 宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 云南和西藏四处热泉中的厚壁菌门多样性[J]. *生物技术*, 2015, 25(5): 481-486, 436.
- Song Z Q, Wang L, Liu X H, *et al.* Diversities of Firmicutes in four hot springs in Yunnan and Tibet [J]. *Biotechnology*, 2015, 25(5): 481-486, 436.
- [42] 吴兰, 葛刚, 龚世杰, 等. 鄱阳湖水体细菌群落组成及遗传多样性[J]. *环境科学研究*, 2009, 22(10): 1145-1149.
- Wu L, Ge G, Gong S J, *et al.* Genetic diversity and composition of bacterial community in water of Poyang Lake [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2009, 22(10): 1145-1149.
- [43] 黄宁珍. 茄科植物抗青枯病特性研究及其应用展望[J]. *广西植物*, 2002, 22(6): 572-576.
- Huang N Z. Study on the characters of some anti-disease species of Solanaceae and its application prospect [J]. *Guihaia*, 2002, 22(6): 572-576.
- [44] 王凤霞. 来自埃及沙漠盐湖的天然护肤因子依克多因[J]. *中国化妆品*, 2020(5): 88-93.
- Wang F X. Ecto, a natural skin care factor from the salt lakes of the Egyptian desert [J]. *China Cosmetics Review*, 2020(5): 88-93.
- [45] 冯胜, 高光, 秦伯强, 等. 太湖北部湖区水体中浮游细菌的动态变化[J]. *湖泊科学*, 2006, 18(6): 636-642.
- Feng S, Gao G, Qing B Q, *et al.* Variability of bacterioplankton in the north zone of Lake Taihu [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2006, 18(6): 636-642.
- [46] Lupatini M, Suleiman A K A, Jacques R J S, *et al.* Network topology reveals high connectance levels and few key microbial genera within soils [J]. *Front Environ Sci*, 2014, 2: 10.
- [47] Hang B G, Zhang J, Liu Y, *et al.* Co-occurrence patterns of soybean rhizosphere microbiome at a continental scale [J]. *Soil Biol Biochem*, 2018, 118: 178-186.
- [48] Selbmann L, Egidio E, Isola D, *et al.* Biodiversity, evolution and adaptation of fungi in extreme environments [J]. *Plant Biosys Int J Deal Aspects Plant Biol*, 2013, 147(1): 237-246.
- [49] Deng Y, Jiang Y H, Yang Y F, *et al.* Molecular ecological network analyses [J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13: 113.

□

(编辑: 杨晓翠)