陈 楠! 屈建航! 李海峰! 刘伟杰! 杨金水! 季 江2 袁红莉!\*

(1. 中国农业大学生物学院 农业生物技术国家重点实验室 北京 100193)

(2. 中国科学院南京地理与湖泊研究所太湖湖泊生态系统研究站 江苏 南京 210008)

摘 要:本研究以藻华爆发期的太湖不同区域沉积物为对象,测定氮、磷和生物量碳等理化性质, 并通过末端限制性酶切片断长度多态性分析(T-RFLP)的分子生态学手段,鉴定不同富营养化湖区 7个标准采样位点沉积物中细菌群落结构差异。结果表明,总氮、总磷含量以6<sup>#</sup>、16<sup>#</sup>样品最高,且 各形态氮和各形态磷的趋势也与总氮、总磷趋势基本一致;生物量碳为6<sup>#</sup>和16<sup>#</sup>明显高于其他位点, 其余各位点相近。T-RFLP结果显示,各位点细菌多样性间存在差异,其中16<sup>#</sup>样品的多样性指数最 低,6<sup>#</sup>、7<sup>#</sup>和1<sup>#</sup>较高;在种群组成上各个位点无论是组分还是比例均有显著差异。另外,所取7个 沉积物样品中与氮、磷循环相关的α、β和γ-变形菌纲含量非常丰富,且与硫、铁循环相关的δ-变形 菌纲含量也很丰富。

关键词:沉积物, T-RFLP, 细菌多样性

微生物学通报

Microbiology

tongbao@im.ac.cn

研究报告

# Bacterial Diversity of Sediment in Different Regions of Taihu Lake During the Algal Bloom

CHEN Nan<sup>1</sup> QU Jian-Hang<sup>1</sup> LI Hai-Feng<sup>1</sup> LIU Wei-Jie<sup>1</sup> YANG Jin-Shui<sup>1</sup> JI Jiang<sup>2</sup> YUAN Hong-Li<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratories for AgroBiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China) Nanjing Institute of Geography and Limpology, Ching Academy of Science, Nanjing, Jiangsy 210008, Ching

(2. Nanjing Institute of Geography and Limnology, China Academy of Science, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

**Abstract:** In different regions of Taihu Lake, phosphorus, nitrogen and the microbial biomass C of the sediment were determined, and using the terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) technique, bacterial community structures were analyzed. The content of total nitrogen and total phosphorus of sediment No.6 and No.16 were the highest. Trend of various forms of nitrogen and phosphorus with total nitrogen and total phosphorus was basically the same. The result of microbial biomass C showed that No.6 and No.16 were significantly higher than other sites which were similar with each other. Results of T-RFLP showed that there were differences between the bacterial diversity of different regions. Bacterial diversity of No.16 was lowest, but No.1, No.6 and No.7 were higher. Both the composition and the proportion of bacteria from different regions were significantly distinct. In addition, *Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria* which have relationship with cycle of nitrogen and phosphorus are very rich in sediment of all the sites. And *Deltaproteobacteria* which is related to cycle of sulfur and iron is also rich.

\* 通讯作者: Tel: 86-10-62733464; ⊠: hlyuan@cau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30670071); 江苏省太湖水污染治理科技专项项目(No. BK2007741); 中国博士后科学基金资助项 目(No. 20070420432)

Keywords: Sediment, T-RFLP, Bacterial diversity

太湖位于江苏省、长江三角洲南部,是我国第 三大淡水湖,面积约 2338 km<sup>2</sup>,平均水深约 1.9 m, 最大水深 2.6 m,是一个典型的浅水湖泊。从 20 世 纪 80 年代后期,太湖北部的梅梁湾开始频繁暴发蓝 藻水华<sup>[1]</sup>。作为我国最大的存在严重蓝藻水华的湖 泊,太湖是国务院制定重点治理的富营养化水域之 —<sup>[2]</sup>。

微生物作为自然界物质循环的主要推动力,沉 积物中的微生物组成及其演变过程对水体中的物质 循环如磷平衡具有很大的影响,进而影响水体营养 化情况;同时,沉积物中营养物质的含量变化反过 来对微生物的种群结构也产生着影响。目前,太湖 水污染问题受到了越来越多的关注,开展了各种各 样的科研工作,主要集中在水体中氮、磷含量的变 化,沉积物中磷在不同营养水平湖区和不同时间的 分布特征,以及沉积物中磷形态的分布特征等理化 性质方面。研究太湖不同营养区域沉积物中的微生 物群落结构,将有助于从微生物层面分析其富营养 化发生机制。

传统的分离培养方法对于环境样品微生物的分 离极为有限,且耗时长。近年来,随着分子生物学方 法的迅速发展,使微生物不需要经长时间的分离培 养,就可以直接从样品中提取DNA来对复杂的微生 物生态系统进行研究。末端限制性酶切片断长度多 态性分析(Terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)是近年发展起来的研究微生物多 态性的分子生物学方法之一,由于其在微生物群落 结构分析方面具有快速、分辨率高、易于实现自动 化及互联网海量数据共享等优势,自1997年被报道 以来就得到了广泛的应用,成为环境微生物群落分 析最强有力的工具之一<sup>[3]</sup>。

本研究以藻华爆发期的太湖为研究对象,通过 末端限制性酶切片断长度多态性分析(T-RFLP)的分 子生态学手段,鉴定该时期表层沉积物中细菌多样 性,并结合其氮、磷的理化参数,以期探讨细菌类群 与藻华爆发的关系。

## 1 材料与方法

1.1 样品采集

于 2008 年 5 月太湖藻华爆发期, 在中科院南京

湖泊与地理研究所太湖生态系统研究站的帮助下, 利用抓土漏斗,采集太湖不同区域水-沉积物界面处 的表层沉积物样品。同时采集柱状上覆水。样品 4°C 带回实验室使用。

样品点选取太湖不同富营养化区域位置的 7 个 位点,即太湖生态系统研究站的标准采样点编号: 1<sup>#</sup>、6<sup>#</sup>、7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup>、16<sup>#</sup>、21<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>。根据太湖流域省 界水体水资源质量状况通报(2008 年 5 月):1<sup>#</sup>为五 里湖,水质 类,中度富营养化;6<sup>#</sup>为梅梁湖,劣于 类,中度富营养化;7<sup>#</sup>为湖心区,劣于 类,中度 富营养化;10<sup>#</sup>为西部沿岸区,劣于 类,中度富营 养化;16<sup>#</sup>为竺山湖,劣于 类,重度富营养化;21<sup>#</sup> 和 24<sup>#</sup>为东太湖区域、 类,轻度富营养化。



图 1 采样点分布

Fig. 1 Sampling sites in Taihu Lake

1.2 理化性质的测定

上覆水、间隙水及沉积物pH值使用玻璃电极法 测定<sup>[4]</sup>, 沉积物测定时土水比为 1:2.5。

氮的测定使用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法<sup>[5]</sup> 测定, 沉积物中的氮使用 0.01 mol/L的CaCl<sub>2</sub>浸提后 测定; 磷的测定使用钼锑抗分光光度法<sup>[5]</sup>, 本文使 用顾益初等提出的石灰性土壤无机磷分级方法<sup>[6]</sup>, 连续浸提沉积物中的Ca<sub>2</sub>-P、Ca<sub>8</sub>-P、Al-P和Fe-P等形 态磷。

沉积物中微生物量碳的测定使用改进的氯仿熏 蒸-K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浸提法<sup>[7]</sup>,浸提液中的微生物量碳采用 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>加热氧化,FeSO<sub>4</sub>滴定法。

# **1.3** 总 DNA 的提取及 PCR 扩增 样品总 DNA 使用淤泥基因组 DNA 快速提取试

剂盒(百泰克生物公司,北京)进行提取,产物使用 0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测。采用细菌通用引物对 总 DNA 进行 16S rDNA PCR 扩增,引物序列为:P0: 5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',P6:5'-C TACGGCTACCTTGTTACGA-3'。反应体系为: 10×Buffer 2.5  $\mu$ L; dNTP mixture 0.5  $\mu$ L (2.5 mmol/L); P0 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L); P6 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L); 模板 DNA 1.0  $\mu$ L (约 20 ng); *Taq* 酶 1.5 U;无菌水 19.8  $\mu$ L。 16S rDNA PCR 扩增运行条件如下:预变性 95°C 5 min, 前 6 个循环为:95°C 30 s, 60°C 30 s, 72°C 2 min; 中 间 6 个循环为:95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 2 min; 后 22 个循环为:95°C 30 s, 50°C 30 s, 72°C 2 min, 最后 72°C 延伸 10 min。扩增产物使用 1.0%的琼脂糖凝 胶电泳检测。

#### 1.4 T-RFLP 分析

取 2.5 μL的 16S rDNA PCR产物为模板、使用与 16S rDNA PCR扩增相同的反应体系(P0 引物携带有 FAM荧光标记)进行Reconditioning PCR扩增<sup>[8]</sup>、运 行条件为:95°C 5 min,95°C 30 s, 60°C 30 s, 72°C 2 min, 95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 2 min, 95°C 30 s, 50°C 30 s, 72°C 2 min, 72°C 10 min, 60°C 10 min。使 用普通琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒(北京天根生物 公司)纯化PCR扩增产物。分别使用Hha 酶、Msp 和 Hae 三种酶对纯化产物进行酶切、酶切产物经纯 化后,使用核酸测序仪ABI3730进行基因扫描。扫 描结果选择片段大小为 50 bp~500 bp、峰高大于 25 的片段进行分析。T-RFLP图谱采用 5 步法<sup>[9]</sup>进行分 析;同时将T-RFLP数据分别提交到http://inismor. ucd.ie/~talign/<sup>[10]</sup>和http://trflp.limnology.wisc.edu/index. isp<sup>[11]</sup>进行比对分析、前者结果使用Ntsvs软件进行 聚类分析、后者用于分析各个样品的细菌种群组成。

使用多样性指数(*H*)、丰度(*S*)和均匀度(*E*<sub>H</sub>)<sup>[12,13]</sup> 作为指标来表示各个样品的细菌多样性。计算公式 如下:

$$H = -\sum p_i \ln p_i = -\sum (N_i/N) \ln(N_i/N)$$
$$E_H = H/H_{max} = H/\ln S$$

其中, *p*<sub>i</sub>表示某个峰的峰面积占总峰面积的比例, *S* 表示某个样品中显著峰的总峰数。*N*<sub>i</sub>表示某个峰的峰面积, *N*表示总峰面积, *H*是表示多样性的一种指数, 即Shannon-Weiner指数。

# 2 结果与讨论

2.1 理化性质 各个位点上覆水、间隙水和沉积物颗粒的 pH 值结果见表 1。太湖各位点均处于偏碱性环境, 且上 覆水pH值高于沉积物和间隙水pH值。16<sup>#</sup>位点的沉 积物pH值微偏酸性, 与其它位点差异较大。

表 1 太湖不同位点上覆水、间隙水及 沉积物颗粒的 pH 值 Table 1 The pH of overlying water, interstitial water and sediment in different sites of Taihu Lake												
样品 Samples	1#	6#	7#	10#	16#	21#	24#					
上覆水 Overlying water	8.9	7.6	8.7	8.8	8.6	7.7	8.0					
间隙水 Interstitial water	7.6	7.3	7.3	7.4	7.3	7.4	7.1					
沉积物 Sediment	7.4	7.5	7.6	7.5	6.9	7.4	7.4					

氮、磷的测定结果见图 2。结果显示、无论是上 覆水还是沉积物中。6#和16#的总氮及总磷含量均明 显高于其它位点、而这两个位点也是本研究所取位 点中藻华爆发较为严重的区域; 1<sup>#</sup>和 10<sup>#</sup>沉积物中总 磷和总氮含量虽明显小于 6<sup>#</sup>和 16<sup>#</sup>, 但高于 7<sup>#</sup>、21<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup> (图 2 中b和d)。图中显示,上覆水中微生物可以 直接利用的水溶性磷的含量均不超过 0.040 mg/L; 沉 积物中相对稳定的钙结合态磷含量很少, 而Fe-P的 含量则较高,并且与总磷的趋势基本一致。有研究 表明, Fe-P可以用来表征沉积物中磷的潜在释  $\dot{\mathbf{h}}^{[14]}$ . 所以 6<sup>#</sup>和 16<sup>#</sup>具有较丰富的内在磷源。上覆水 中可溶性氮的含量除 16<sup>#</sup>位点明显高于其它位点外, 各位点均比较相近, 硝态氮含量明显高于氨态氮; 而沉积物中则是氨态氮含量明显高于硝态氮含量. 不同样品中硝态氮含量差异不大、样品间的差异主 要体现在氨态氮含量。氨氮可以强烈刺激藻类的生 长、采样时期正为藻华爆发期、藻类大量繁殖、吸 收利用上覆水中的氨氮,使上覆水中氨氮含量大幅 下降; 藻类死亡后释放的有机氮沉积下来, 沉积物 中的微生物以此进行强烈的氨化作用。可能产生大 量的氨氮、使沉积物中氨氮含量大幅上升。

太湖不同采样点沉积物中微生物量碳的测定结 果见图 3。可以看出, 16<sup>#</sup>沉积物样品的生物量碳最高, 6<sup>#</sup>其次, 21<sup>#</sup>最少, 其余 5 个样品居中且数值相近。这 说明 16<sup>#</sup>样品中含有的微生物最多, 6<sup>#</sup>次之, 此两处 位点如之前所说是本研究所取位点中藻华爆发较为 严重的区域, 这 2 个位点沉积物中所含有的氮、磷



图 2 太湖不同位点上覆水及沉积物中氮、磷分布 Fig. 2 The distribution of nitrogen and phosphorus in different sites of Taihu Lake



图 3 太湖不同位点沉积物中的微生物量碳



含量最高,其余位点的氮、磷含量则比较相似(图 2)。 因此,大量的氮、磷可能刺激了沉积物中某些微生 物的生长,使其大量增殖而导致该结果。

#### 2.2 T-RFLP 结果

T-RFLP分析的多样性结果如表 2 所示。各样品的多样性指数存在明显差异,其中,无论是*Hha*, *Msp* 还是*Hae* 进行的酶切处理,6<sup>#</sup>、7<sup>#</sup>和 1<sup>#</sup>的多样性指数均较高,16<sup>#</sup>最小,10<sup>#</sup>、21<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>居中;从均匀 度来看,其分布趋势与多样性指数基本一致;而丰 度上,7<sup>#</sup>和 16<sup>#</sup>较低,21<sup>#</sup>居中,6<sup>#</sup>、10<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>较高。 Shannon-Weiner指数受到两方面的影响,即均度和 丰富度,由此推测1<sup>#</sup>、6<sup>#</sup>、10<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>沉积物样品细菌 多样性较高,16<sup>#</sup>的多样性最少。但之前显示16<sup>#</sup>微生 物量碳最高(图 3),这可能是沉积物中某些细菌的生 长对氮、磷含量比较敏感,大量的氮、磷抑制其生 长甚至使其死亡,但同时另一些细菌则由于氮、磷 的丰富存在而生长旺盛,从而导致此结果;而 6<sup>#</sup>样 品的多样性较高,微生物量碳的数值也较高,说明 该处的氮、磷含量较适于细菌生长,使其数量和种 类维持在一个较高的水平。

为进一步分析各个样品间细菌群落组成上的相 似性,对其 16S rDNA的T-RFLP图谱使用Ntsys软件 进行聚类分析,图 4 为*Hha* 酶切处理后得到的 T-RFLP片段的细菌种群聚类结果。总体来看,藻华 爆发期太湖各个位点的种群组成相似性较低,其中, 6<sup>#</sup>位点与其它位点的相似性最低,约为 45%,其次 7<sup>#</sup>为 50%,10<sup>#</sup>、21<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>三个样品的相似性则相对较 高,有 59%左右,1<sup>#</sup>与 16<sup>#</sup>的相似性最高,为 66%,

表 2 太湖不同位点沉积物样品细菌多样性分析结果 Table 2 Bacterial diversity of sediment in different sites of Taihu Lake												
	Hha			Msp			Hae					
样品 Samples	丰度 Richness (S)	均匀度 Evenness (E <sub>H</sub> )	多样性指数 Shannon-Weiner (H)	丰度 Richness (S)	均匀度 Evenness (E <sub>H</sub> )	多样性指数 Shannon-Weiner (H)	丰度 Richness (S)	均匀度 Evenness (E <sub>H</sub> )	多样性指数 Shannon-Weiner (H)			
1#	43	0.8613	3.2397±0.0042	37	0.8480	$3.0619 \pm 0.0109$	39	0.8144	$2.9838 \pm 0.0308$			
6#	41	0.8573	$3.1835 \pm 0.0661$	58	0.8724	$3.5422 \pm 0.0194$	59	0.8532	$3.4791 \pm 0.0135$			
7#	34	0.8837	3.1161±0.0641	36	0.8778	3.1456±0.0116	47	0.8464	$3.2589 {\pm} 0.0007$			
$10^{\#}$	43	0.8290	3.1180±0.0020	46	0.8183	$3.1044 \pm 0.0303$	46	0.7741	$2.9637 {\pm} 0.0851$			
16#	37	0.7807	2.8191±0.0113	46	0.7986	$3.0575 {\pm} 0.0522$	39	0.7530	$2.7588 {\pm} 0.0315$			
21#	40	0.8394	3.0965±0.0536	39	0.8189	3.0000±0.0114	44	0.7625	$2.8854 {\pm} 0.0083$			
24#	47	0.7975	3.0706±0.0555	47	0.8229	3.1685±0.0227	34	0.7888	2.7818±0.0386			



图 4 太湖不同位点 Hha I 酶切图谱聚类树状图

Fig. 4 Dendrogram based on restriction enzyme map of *Hha* I in different sites of Taihu Lake

Msp 和 Hae 两种酶切的聚类分析显示的结果与 Hha 的结果基本一致(图未列出)。

从之前理化性质的结果可以看出,6<sup>#</sup>和 16<sup>#</sup>的 氮、磷含量和微生物量碳均为最高,但聚类分析发 现二者细菌组成的相似性很低,且 6<sup>#</sup>与其它位点的 相似性也很低,可能是由于 6<sup>#</sup>位点靠近湖岸,受到 人为影响较大,从而导致了其细菌组成的特异性。 而 7<sup>#</sup>位点位于湖心区,湖面比较广阔且受人为因素 的影响较小,故细菌类别也具有一定特异性。

选择在各样品中所占比例达到 1%以上的组份, T-RFLP图谱分析的细菌种群组成如图 5 所示。结果 显示,在 7 个样品中均含有较多的未鉴定菌;变形 菌门在除 10<sup>#</sup>的所有样品中所占的比例最大,其中, 在各样品中均不含有ε-变形菌纲,  $\alpha$ 、  $\beta$ 、  $\gamma$ 和 $\delta$  4 个纲 在 7 个位点中的组成也不尽相同;同时,每个样品 的细菌组成及含量也各不相同:1<sup>#</sup>包括 $\alpha$ 、  $\beta$ 、  $\gamma$ 和 $\delta$  4 个变形菌纲及芽孢杆菌纲、梭菌纲, 6<sup>#</sup>样品则包括 $\alpha$ 、  $\beta$ 、  $\gamma$ 和 $\delta$  4 个变形菌纲及鞘脂杆菌纲、放线菌纲、柔 膜菌纲、异常球菌纲, 7<sup>#</sup>含有 $\alpha$ 、  $\beta$  2 个变形菌纲及拟 杆菌纲、热微菌纲, 10<sup>#</sup>包含 $\alpha$ 、  $\gamma$ 和 $\delta$  3 个变形菌纲及 芽孢杆菌纲、鞘脂杆菌纲、产水菌纲、放线菌纲、 异常球菌纲、黄杆菌纲,16<sup>#</sup>样品就包括α、β和δ3个 变形菌纲及拟杆菌纲,21<sup>#</sup>则有α和δ2个变形菌及芽 孢杆菌纲、鞘脂杆菌纲、拟杆菌纲、产水菌纲、梭 菌纲、放线菌纲,24<sup>#</sup>包含有α、β、γ和δ4个变形菌 纲及拟杆菌纲、产水菌纲、梭菌纲,种群分析结果 与多样性结果基本一致。以上结果说明,细菌的组 成与其生活环境具有一定相关性,所采集的7个位 点都同处于太湖这个大环境中,故各位点中含有一 些相似的细菌群落,但同时他们的富营养化程度各 不相同,因此又具有自己特有的菌群,并且在群落 的组成比例上也有所差别。

目前报道的具有解磷能力的细菌有芽孢杆菌属 (Bacillus)、假单胞菌属(Psendomonas)、埃希氏菌属 (Escherichia)、欧文氏菌属(Erwinia)、土壤杆菌属 (Agrobacterium)、沙雷氏菌属(Serratia)、黄杆菌属 (Flavobacterium)、肠杆菌属(Enterobacter)、微球菌 属(Micrococcus)、固氮菌属(Azotobacter)、色杆菌属 (Chromobacterium)、产碱菌属(Alcaligenes)、节杆菌 属(Arthrobacter)、硫氧化硫杆菌属(Thiobacillus thiooxidans)和多硫杆菌属(Thiobacillus)等<sup>[15]</sup>。以上 这些细菌分别属于芽孢杆菌纲、黄杆菌纲、放线菌 纲、 $\alpha$ -变形菌纲、β-变形菌纲以及 $\gamma$ -变形菌纲;  $\gamma$ -变 形菌纲还含有Dechlorimonas组的聚磷菌。与氮循环 相关的菌群主要是硝化细菌,亚硝化细菌,反硝化 细菌以及氨化细菌、其中、氨化细菌分布比较广泛、 硝化细菌与反硝化细菌往往分布于富氧环境中、大 多属于α、β和γ3个变形菌纲, 而反硝化细菌则通常 分布于厌氧还原环境中, 且种类较少。另外, δ-变形 菌纲包括许多具有生理特征的厌氧细菌,如硫酸





盐还原菌, 硫还原菌和还原三价铁的菌属。本实验 结果显示, 处于藻华爆发期的太湖不同区域的氮、 磷含量均较丰富, 其沉积物中与氮、磷循环相关的 细菌种类所占比例较大, 但是根据氮、磷含量的不 同, 其组成上存在有较大差异。如 16<sup>#</sup>位点的氮、磷 含量最高, 其细菌组成相对比较集中, 认为这些纲 中的菌属对氮、磷的耐受能力较高, 并且 16<sup>#</sup>位点沉 积物中的δ-变形菌纲的含量很高, 其环境比较适于 厌氧细菌的生长。6<sup>#</sup>位点的氮、磷含量仅次于 16<sup>#</sup> 位点,但其细菌组成比较分散,种类较多。另外,整体来看,δ-变形菌纲在7个位点中的含量除7<sup>#</sup>位点外均较高,说明太湖的硫、铁等元素的污染也较为 严重。

### 3 结论

选取 2008 年 5 月太湖不同区域水-沉积物界面 处的表层沉积物样品,对其 N、P 含量及细菌多样性 进行研究,结果表明:  1)藻华爆发较为严重的 6<sup>#</sup>和 16<sup>#</sup>位点,氮、磷 含量最高。并且不同位点之间各形态磷和各形态氮
 含量的变化趋势与总氮、总磷的趋势基本一致;

 2) 各位点沉积物微生物量碳的测定结果为 16<sup>#</sup> 最高, 6<sup>#</sup>其次, 21<sup>#</sup>最少, 其余样品居中, 与氮、磷测 定结果趋势一致;

3) T-RFLP分析结果表明,6<sup>#</sup>、10<sup>#</sup>、21<sup>#</sup>和 24<sup>#</sup>沉 积物中的细菌多样性较高,16<sup>#</sup>样品最低。各位点沉 积物样品的细菌种属组成相似性较低。除 10<sup>#</sup>位点外, 变形菌门在其余 6 个位点中为优势菌,但各变形菌 纲所占比例差别很大,1<sup>#</sup>、10<sup>#</sup>和 21<sup>#</sup>含有芽孢杆菌纲, 且比例均超过 10%,此外,含量较小的细菌种类在 各样点之间差异也很显著。

**致谢:**感谢中国科学院南京地理与湖泊研究所太 湖湖泊生态系统研究站在本论文样品采集中提供的 帮助。

# 参考文献

- Chen YW, Fan CX, Teubner K, *et al.* Changes of nutrients and phytoplankton chlorophyll-a in a large shallow lake, Taihu, China: an 8-year investigation. *Hydrobiologia*, 2003, **506/509**: 273–279.
- [2] Qin BQ, Xu PZ, Wu QL, et al. Environment issues of Lake Taihu, China. Hydrobiologia, 2007, 581: 3–14.
- [3] 余素林,吴晓磊,钱 易.环境微生物群落分析的 T-RFLP 技术及其优化措施.应用与环境微生物学报, 2006,12(6):861-868.
- [4] 王志刚,赵永存,廖启林,等.近 20 年来江苏省土壤 pH 值时空变化及其驱动力.生态学报,2008,28(2): 0720-0727.
- [5] 国家环境保护总局,《水和废水监测分析方法》编委会.

水和废水监测分析方法. 第四版. 北京: 中国环境科学 出版社, 2002.

- [6] 顾益初,蒋柏藩. 石灰性土壤无机磷分级的测定方法.
  中国农业科学, 1989, 23(3): 58-66.
- [7] 林启美,吴玉光,刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物量碳的改进. 生态学杂志, 1999, 18(2): 63-66.
- [8] Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(22): 4673–4680.
- [9] Dunbar J, Ticknor LO, Kuske CR. Phylogenetic specificity and new method for analysis of terminal restriction fragment profiles of 16S rRNA genes from bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 190–197.
- [10] Smith CJ, Danilowicz BS, Clear AK, et al. T-Align, a web-based tool for comparism of multiple terminal restriction fragment length polymorphism profiles. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 54: 375–380.
- [11] Gil F, De la Iglesia R, Mendoza L, et al. Soil bacteria are differentially affected by the resin of the medicinal plant *Pseudognaphalium vira vira* and its main component kaurenoic acid. *Microbial Ecology*, 2006, **52**: 10–18.
- [12] Molles MC. Ecology: concepts and applications. McGraw-Hill companies, Inc. 影印版. 北京:科学出版社, 2000.
- [13] Hill TCJ, Walsh KA, Harris JA, et al. Using ecological diversity measures with bacterial communities. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43: 1–11.
- [14] 张 路,范成新,王建军,等.长江中下游湖泊沉积物 氮磷形态与释放风险关系.湖泊科学,2008,20(3): 263-270.
- [15] 李 翠. 官厅水库沉积物中解磷细菌的垂直分布特征 及其对磷循环的作用. 中国农业大学硕士学位论文, 2005.

#### 稿件书写规范

#### 论文中统计学符号书写规则

 $\phi$ 

统计学符号一般用斜体。本刊常用统计学符号介绍如下,希望作者参照执行。

样本的算术平均数用英文小写x,不用大写X,也不用Mean。标准差用英文小写s,不用SD。标准误用英文小写 $s_{\overline{x}}$ ,不用SE。t检验用英文小写t。F检验用英文大写F。卡方检验用希文小写 $\chi^2$ 。相关系数用英文小写r。样本数用英文小写n。概率用英文大写P。