

doi: 10.7541/2025.2024.0260

CSTR: 32229.14.SSSWXB.2024.0260

峡山水库水体和沉积物中微生物群落结构组成研究

刘振军¹ 张倩倩^{2*} 郭瑞莲¹ 张艳¹ 杨继成³ 吴振兵⁴ 李爱华^{2*}

(1. 潍坊市峡山水库管理服务中心, 潍坊 261325; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 3. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330031; 4. 华中科技大学环境科学与工程学院, 武汉 430074)

摘要: 为探讨峡山水库水体与沉积物中微生物组成, 以深入理解其生态系统功能, 并为制定有效管理策略提供科学依据, 于2023年5月通过细菌16S rRNA编码基因的高通量测序, 获得了该水库水体和沉积物中的微生物组成特征。结果显示, 沉积物中的微生物Sobs、Chao1、Ace和Shannon指数都显著高于水体中的相应 α 多样性指数, 说明沉积物中微生物的丰富度和多样性比水体中的更高。 β 多样性分析也显示水体和沉积物中的微生物组成存在显著差异。峡山水库水体中丰度最高的3个菌门依次为放线菌门(57.65%)、变形菌门(34.9%)和拟杆菌门(6.22%); 属水平丰度最高的4个类群依次是hgcl_clade (29.98%)、Limnohabitans (17.06%)、CL500-29_marine_group (11.97%)和unclassified_f_Sporichthyaceae (7.12%)。沉积物中丰度最高的优势菌门分别是变形菌门(39.63%)、拟杆菌门(12.70%)、Desulfobacterota (9.88%)、绿弯菌门(6.79%)、硝化螺旋菌门(5.56%)和酸杆菌门(Acidobacteriota, 3.52%)等; 属水平上丰度最高的是Steroidobacteraceae (6.98%)、Thermodesulfobionia (4.97%)、Thiobacillus (4.33%)、Sutterellaceae (4.07%)和SC-I-84 (3.48%)等中的某些属。峡山水库优势细菌类群的种类与国内有些水库类似, 同时也具有盐碱地区域水库的特征。此外, 黄杆菌属和气单胞菌属等潜在鱼类致病菌在峡山水库中也存在一定的丰度, 这与水库中经常发生相关疾病的事实相吻合。微生物功能预测显示, 峡山水体和沉积物中微生物的功能类似, 在level 3预测的功能无论是水体还是沉积物中最主要的代谢通路为Metabolic pathways、biosynthesis of secondary metabolites、microbial metabolism in diverse environments、biosynthesis of amino acids及carbon metabolism等, 唯有immune diseases这个功能在水体中的丰度明显高于沉积物中。研究结果有利于认识该水库的生态学功能, 也为后续水库生态治理的效果评估提供必要的背景资料。

关键词: 峡山水库; 微生物多样性; 高通量测序; 细菌功能

中图分类号: Q145⁺.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2024)12-2081-11



峡山水库, 位于中国山东省潍坊市东南25 km处, 坐落于昌邑、高密、安丘三县交界的潍河河道上, 地理位置独特, 坐标为东经119°24'、北纬36°30'。自1960年10月竣工以来, 它已成为山东省最大的水库, 并被赋予胶东地区及“蓝黄”两区战略水源地的重要角色。水库流域面积4210 km², 总库容14.05×10⁹ m³, 兴利库容5.03×10⁸ m³, 死库容4.03×10⁷ m³, 其生态和经济价值不可估量。峡山水

库以上的河道干流长度达151 km, 支流众多, 包括扶淇河、渠河、百尺河、浯河、燕河、许孟河等, 其中渠河是最大的支流, 全长100 km, 年平均流量为4.9 m³/s。峡山水库主要接收上游的农业面源污染及污水处理厂排出的中水。尽管渔业生产也是峡山水库的功能之一, 但其更重要的功能是作为饮用水水源地, 因此严格禁止任何水产投入品在库区的使用。据不完全调查, 水库中至少有32种鱼类,

收稿日期: 2024-06-26; **修订日期:** 2024-09-05

基金项目: 山东省潍坊市峡山水库管理局招标项目(SDZTXS-20211115); 国家自然科学基金(32073023)资助 [Supported by the Bidding project of Shandong Weifang Xiashan Reservoir Authority(SDZTXS-20211115); the National Natural Science Foundation of China (32073023)]

作者简介: 刘振军 (1975—), 男, 学士; 主要从事水库渔业资源管理。E-mail: 13476257860@163.com

通信作者: 张倩倩(1989—), 女, 硕士研究生; 主要从事鱼类病害及微生物生态学研究。E-mail: zqq@ihb.ac.cn 李爱华(1963—), 男, 博士; 主要从事鱼类病害及微生物生态学研究。E-mail: liaihua@ihb.ac.cn *共同通信作者

其中鲢、鳙、鲫、似鲮、鲤、鳖和达氏鲃等最为常见(未发布的数据)。每年,水库都会实施以鲢、鳙为主的轮捕轮放。在浮游植物方面,峡山水库四季均以蓝藻为优势种,其中项圈假鱼腥藻(*Pseudanabaena moniliformis*)、赖氏泽丝藻(*Limnothrix redekei*)和阿氏浮丝藻(*Planktothrix agardhii*)全年均为优势种^[1]。以上这些因素,对塑造库区水体中细菌群落构成起到了决定性的作用。

在生态保护与自然资源管理的背景下,水体生态系统的健康状态是评估其生态服务功能的关键指标。峡山水库,作为重要的水资源工程,其生态功能不仅涵盖了饮用水供应、农业灌溉、水力发电,还承担着生态保护的重要职责。然而,随着人类活动的加剧和环境压力的增大,峡山水库面临着生态环境的严峻挑战。因此,对水库水体和沉积物中微生物群落的结构与组成进行深入研究,对于理解其生态系统功能、评估健康状态及制定有效的管理策略至关重要^[2]。

微生物在水库和其他水体生态系统中扮演着核心角色,它们参与有机物的分解、营养物质的循环及污染物的净化等关键生态过程^[3]。作为生态系统的基础组成部分,微生物群落的多样性和结构对于维持水体的生物多样性和生态平衡具有不可替代的作用^[4]。此外,微生物群落的时空变化还能作为水质变化的敏感指示器,为水质评估提供重要依据。在全球气候变化和人类活动日益频繁的背景下,水库和河流生态系统正面临前所未有的环境压力。这些压力不仅改变了水体的物理和化学特性,也对微生物群落产生了深远影响^[5,6]。尽管已有研究关注水体微生物多样性,但针对特定水库如峡山水库的微生物群落研究仍显不足。这限制了我们对该水库生态系统响应环境变化能力的理解,也影响了管理策略的制定^[7]。此外,峡山水库作为水源库,如果发生大规模鱼类死亡事件,不仅会影响水质,甚至还会在社会上造成恐慌。因此,对于水库中鱼病的防控是水库管理和治理的一项重要内容。鉴于此,本研究将运用高通量测序技术(HTS)、生态信息学分析和微生态功能分析等现代生物技术手段,对峡山水库水体和沉积物中的微生物群落进行全面深入的调查。这些技术将提供微生物群落的详细组成信息,并揭示其与环境因子之间的相互作用关系,有助于我们深入理解微生物群落对环境变化的响应机制。通过深入研究水体和沉积物中微生物群落的结构与功能,为库区经常性鱼病发生的原因探寻寻找线索,为水环境保护和生态系统管理提供科学依据和有效的策略。

1 材料与方法

1.1 采样点的设置,样品采集与处理

如图1所示采样点从入库口至库尾依次设置W1、W2、W3、W4、W5和W6共6个采样点。这些采样点主要分布于水库后半段的深水区。从这些采样点获得的沉积物样品编号依次为:N_6_1、N_6_2、N_6_3、N_6_4、N_6_5和N_6_6;对应的水体样品编号以此为W_6_1、W_6_2、W_6_3、W_6_4、W_6_5和W_6_6。采用2.0 L直立式有机玻璃取样器,采集的水样装入聚乙烯瓶中运回实验室,运回实验室进行水样的分析保存。在实验室无菌的环境下经过0.22 μm孔径的滤膜抽滤,滤膜放入塑封袋中于-80℃保存,用于微生物测定。

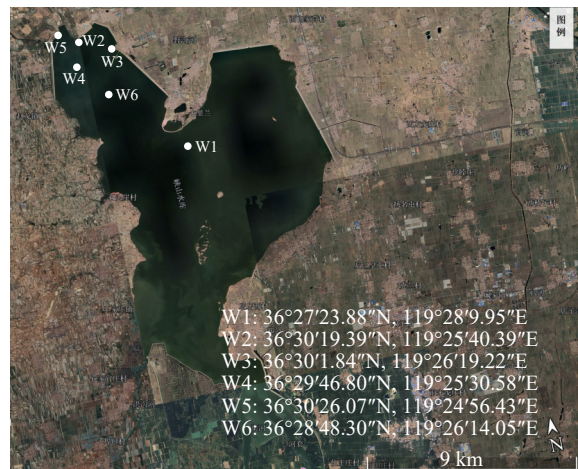


图1 本研究于峡山水库设置的6个采样点分布图及其坐标
Fig. 1 Distribution map and coordinates of the six sampling points set in Xiashan Reservoir for this study

1.2 DNA提取、PCR扩增和Illumina MiSeq测序

按照说明使用E.Z.N.A.[®] water DNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA)从水样中提取微生物群落基因组DNA。通过NanoDrop 2000 UV-vis分光光度计(Thermo Scientific, Wilmington, NC, USA)测定最终DNA浓度和纯度,并通过1%琼脂糖凝胶电泳检查DNA质量。细菌16S rRNA基因的V3-V4高变区通过热循环PCR系统(GeneAmp 9700, ABI, Waltham, MA, USA)用引物338 f (5'-actctactcgggagcagcag-3')和806 r (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAA T-3')扩增。使用以下程序进行PCR反应: 95℃变性3min, 95℃30s循环27次, 55℃退火30s, 72℃延伸45s, 72℃最终延伸10min。使用含有4 μL的5×Fast Pfu缓冲液、2 μL的2.5 mmol/L dNTPs、各0.8 μL的引物(5 μmol/L)、0.4 μL的FastPfu聚合酶和10 ng模板DNA的20 μL混合物进行PCR反应,设置3个重

复。从2%琼脂糖凝胶中提取所得PCR产物,使用AxyPrep DNA凝胶提取试剂盒(Axygen Biosciences, Union City, CA, USA)进一步纯化,并根据使用说明利用Quantifluor™-ST (Promega, Madison, WI, USA)进行定量。

根据Majorbio Bio-Pharm Technology Co., Ltd (中国上海)提供的标准方案,在Illumina MiSeq平台(Illumina, San Diego, CA, USA)上等摩尔收集纯化的扩增子并进行配对末端测序(2×300)。对原始fastq文件进行解复用,通过trimmomatic进行质量过滤,并通过FLASH按照以下标准进行合并:(1)在50 bp滑动窗口内平均质量得分<20的任何位点截断300 bp的读数,并丢弃短于50 bp的截断读数;包含不明确字符的读取也被丢弃;(2)只有长于10 bp的重叠序列才根据它们的重叠序列进行组装。重叠区域的最大失配率为0.2。无法汇编的读取被丢弃;(3)根据条形码和引物区分样品,并调整序列方向和精确的条形码匹配,在引物匹配中有2个核苷酸错配。使用UPARSE (version 7.1)对相似性截止值为97%的操作分类单元(OTUs)进行聚类,并识别和移除嵌合序列。通过RDP分类器2.2版对照16S rRNA数据库(SILVA SSU 138)使用0.7的置信阈值分析了每个OTU代表性序列的分类^[8]。

1.3 数据分析

标准化是转换数据以消除不同样本大小的混杂影响的过程。基于有效序列的最小数量,将每个样品的序列号归一化为19380个读数,以确保在比较多样性指数时初始相似的测序深度。在 α 多样性分析中,群落丰富度(Chao 1和ACE)和多样性(Shannon和Simpson)指数是使用Mothur从97%相似性水平的OTUs数量中估算的。Sobs、Chao1和Ace值反映的是群落丰富度(Community richness); Shannon和Simpson指数反映的是群落的多样性(Community diversity); Coverage值反映了群落的覆盖度(Community coverage)。Beta多样性分析、微生物功能及代谢通路预测采用文献^[9]方法。采用主坐标分析(PCoA)、层次聚类树和基于Bray-Curtis度量的相似性分析(ANOSIM)来分析Beta多样性。利用基于UniFrac加权的主坐标分析(Weighted UniFrac principal coordinate analysis, PCoA)和热图分析来显示水库水体和沉积物菌群之间的关系。PCoA分析是一种对数据进行简化分析的技术,不同形状的点代表不同分组的样本,两样本点越接近,表明两样本物种组成越相似。线性判别分析效应大小(LEfSe)用于确定不同采样位点的主要生物标志物,效应大小阈值为2.5 (以 \log_{10} 为标度)。R中的冗余判

别分析(RDA)函数用于比较物种-环境相关性,这些相关性通过“envfit”函数进行评估,以确定环境因素的显著性。由于每个水体的环境都不一致,而环境条件又严重影响微生物组成结构和次生代谢^[10,11]。PICRUSt是一种从16S群落序列预测代谢功能的技术。PICRUSt在这项研究中用于推断所观察到的细菌群落的代谢和潜在功能能力。

2 结果

2.1 峡山水库微生物群落 α 多样性指数

使用Mothur (v 1.34.3)软件过滤掉低质量的序列,过长的poly序列,两端引物和标签,以及所有被分类为Cyanobacteria/Chloroplast的序列之后,纳入本研究的12个样品共产生673145条高质量16S rRNA序列,每个样品平均产生49988—64058条有效序列。在16S rRNA序列聚类分析中,通常把97%的序列相似性定义为是种(Species)的分类水平,因此本文用97%的相似性阈值用来进行操作分类单元划分(Operational taxonomic units, OTUs)。全部样品共注释到了28008个OTU,每个样品的OTU数为348—4363个。图2显示峡山水库2023年6月份6个采样点位上水体和沉积物中微生物的 α 多样性指数。Shannon指数越大, Simpson指数越接近于0,则表示该样品中的物种越丰富。各个采样点位上无论是水体样品还是沉积物样品中上述6个指数基本上是一致的,各点位之间的差异不大。就水样和沉积物样品之间的比较而已,无论是微生物的丰富度还是群落的多样性,沉积物样品都要显著高于水体样品。整体库容的 Good's coverage的范围基本都在98%以上(97.92%—99.88%),说明文库库容足够大,能够代表菌群中的绝大多数细菌。

经统计学分析显示(图3),反映微生物组成丰富度的Ace指数,在水体样品和沉积物样品中存在显著差异($P<0.001$)。水样和底泥中微生物其他 α 多样性指数同样存在显著差异($P<0.001$; 数据未显示)。

2.2 峡山水库微生物群落物种组成

通过对峡山水库6个采样点位上12个水样和沉积物样品中的细菌多样性进行采样和测序共得到49988条序列。通过将筛选后的高质量序列采用RPD II数据库比对分析后发现,所有这些OTU分属于61个门,180个纲,405个目,606个科,977个属。如图3所示,峡山水库水样中排名前10的优势菌门:放线菌门(Actinobacteriota, 57.65%)、变形菌门(Proteobacteria, 34.9%)、拟杆菌门(Bacteroidota, 6.22%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 0.40%)、疣微菌门(Verrucomicrobiota, 0.17%)、鬍骨菌门(Patescibac-

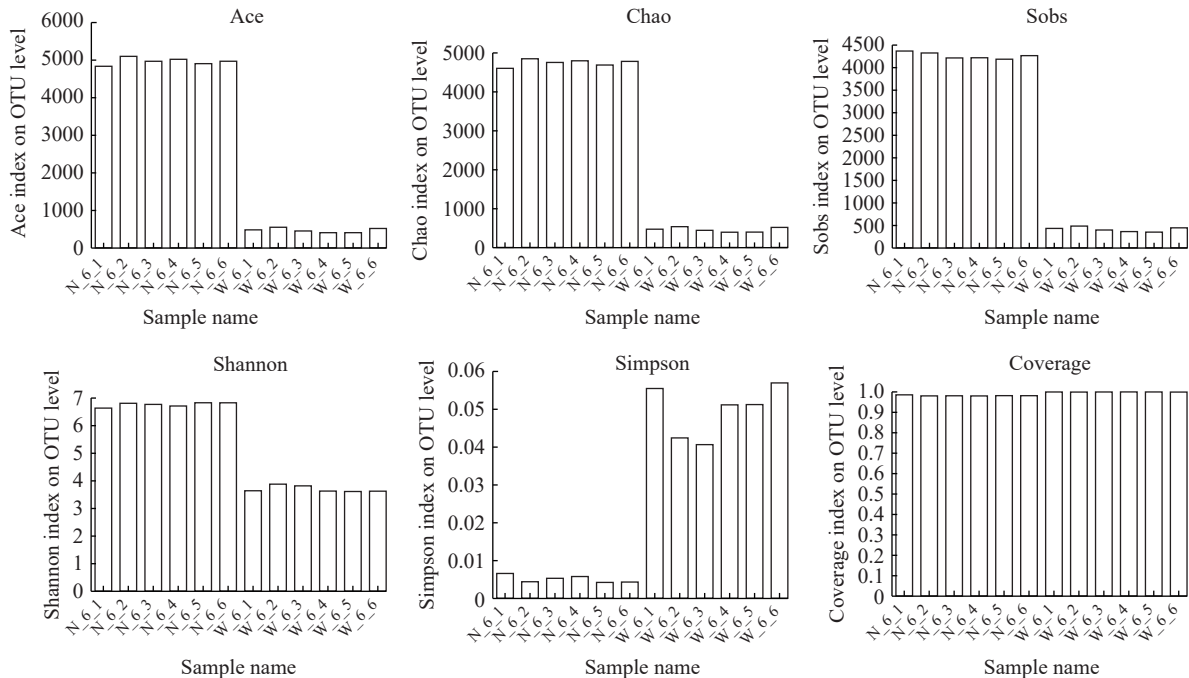


图2 2023年5月峡山水库6个采样点位水体和沉积物中微生物的 α 多样性指数

Fig. 2 Alpha diversity index of microorganisms in water body and sediments at 6 sampling sites in Xiashan Reservoir in May, 2023

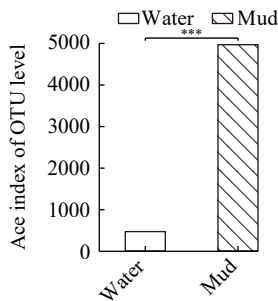


图3 峡山水库水体和沉积物中微生物ace指数的 Student's *t*-test 分析结果

Fig. 3 Student's *t*-test analysis for the ACE index of microorganisms in the water body and sediments of Xiashan Reservoir

teria, 0.14%)、蛭弧菌门(Bdellovibrionota, 0.08%)、SAR324_cladeMarine_group_B (0.07%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota, 0.07%)和Dependentiae (0.07%); 图4)。水体样品中丰度最高排名前10的优势菌属: hgcI_clade(29.98%)、Limnohabitans(17.06%)、CL500-29_marine_group(11.97%)、unclassified_f_Sporichthyaceae(7.12%)、Sphingorhabdus(3.56%)、Candidatus_Limnoluna(3.12%)、Candidatus_Planktophila(3.10%)、unclassified_f_Clade_III(2.39%)、unclassified_f_Rhodobacteraceae(2.58%)和 Sediminibacterium(1.51%); 图5)。沉积物中丰度最高排名前10的优势菌门为变形菌门(Proteobacteria, 39.63%)、拟杆菌门(Bacteroidota, 12.70%)、脱硫杆菌门(Desu-

lfobacterota, 9.88%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 6.79%)、硝化螺旋菌门(Nitrospirota, 5.56%)、酸杆菌门(Acidobacteriota, 3.52%)、放线菌门(Actinobacteriota, 3.20%)、骸骨菌门(Patescibacteria, 3.02%)、黏球菌门(Myxococcota, 1.92%)和Sva0485 (1.90%)。不能被分类成任何已知门类的序列被指定为“unclassified bacteria”(图4)。底泥中丰度最高排名前10的优势菌属: Steroidobacteraceae(6.98%)、Thermodesulfobivibrionia(4.97%)、Thiobacillus(4.33%)、Suttrellaceae(4.07%)、SC-I-84(3.48%)、Bacteroidetes_vadinHA17(2.56%)、SJA-15(2.06%)、Desulfatiglans (2.02%)和Sva0081_sediment_group(2.01%)中的某个属(图5)。图4和图5显示的是丰度最高的前30个类群, 剩余其他类群合并为“others”。

水库中鱼病发生最密切的气单胞菌属细菌的相对丰度占比仅为0.00667%, 黄杆菌为0.439%。分枝杆菌(*Mycobacterium* spp.)的占比高达0.257%。气单胞菌属细菌(*Aeromonas* spp.)主要分布于水体中, 而黄杆菌属细菌(*Flavobacterium* spp.)在水体和底泥中均有很高的丰度, 但不同种类的生态位并不一致。虽然检测到丰度为0.005%的诺卡氏菌科的细菌, 但未检测到诺卡氏菌属的细菌。此外, 没有检测到任何链球菌、弧菌、沙门氏菌和爱德华氏菌等常见潜在鱼类致病菌的OTU。

2.3 微生物群落 β 多样性指数

图6中的PCoA和热图分析显示了水库水体和

沉积物菌群之间的关系。根据图 6 分析可知, 6 个沉积物样品的物种组成高度相似, 水体样品除个别之外, 微生物物种组成相似度也很高。PCA 分析发现, 水质及底泥样本微生物组成有明显差异, PC1 轴和 PC2 轴对结果的解释度分别为 86.64% 和 3.45% (图 6)。

属水平的群落热图 (Community heatmap) 显示 (图 7), 水体和沉积物中微生物群落的组成差异显著。6 个水体样品和 6 个沉积物样品分别聚为一支。各组成成份的丰度差异明显。Acinetobacter、hgcl_clade、CL500-29_marine_group、Limnohabitans、Sporichthyaceae、Clade III、Azohydromonas、Paracoccus、Rhodobacteracea、Sphingorhabdus、Candidatus_Limnoluna、Candidatus_Planktophila、Dinghuibacter、Arenimonas、Candidatus_Methylopusillus、Sediminibacterium、Algoriphagus、Poly-

nucleobacter、GKS98_freshwater_group 和 Rhodoluna 在水体样品中丰度更高; Vicinamibacterales、Anaerolineaceae、P9X2b3D02、Steroidobacteraceae、SC-1-84、Sutterellaceae、Thiobacillus、Thermodesulfovibrionia、Sulfurifustis、MBNT15、KD4-96、Subgroup_17、Aminicenantales、Ellin6067、Gemmatimonadaceae、Anaerolineae、Bacteroidetes_vadinHA17、pSva0485、Sva0081_sediment_group、SJA-15、Bacteria、Desulfatiglans、Comamonadaceae、Desulfohalobium、BSV26、Rhodocyclaceae 和 Denitratissoma 在沉积物中比水体中丰度更高; 而 *Flavobacterium*、Rhizobiales_Incertae_Sedis、Comamonadaceae 和 Gaiellales 在水体和沉积物中都有很高的丰度。

基于 OTU 级别构建的层次聚类树是通过计算

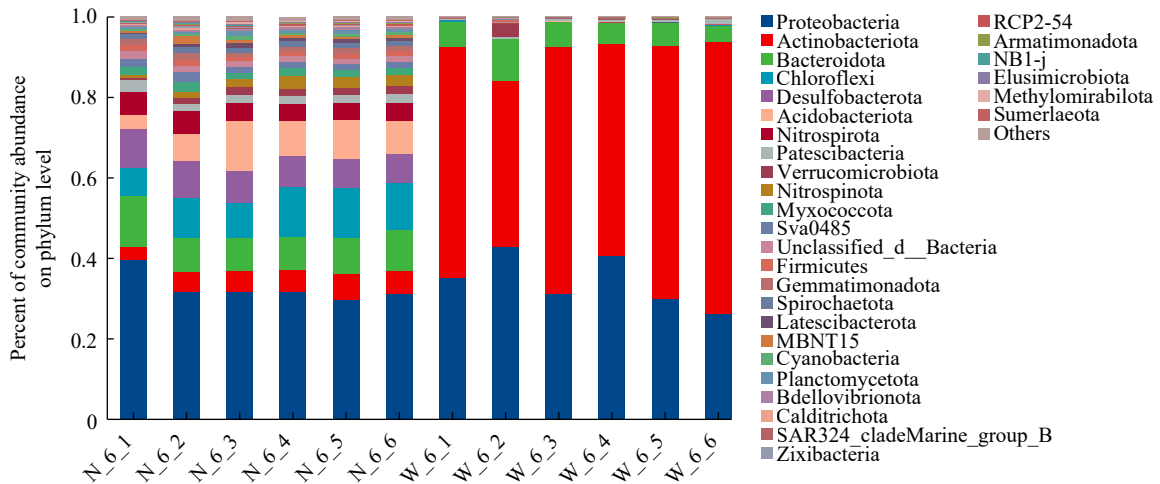


图 4 峡山水库 6 个采样点水样和沉积物样品中微生物在门水平上的组成分析图

Fig. 4 Composition analysis diagram of microorganisms at the phylum level in water samples and sediment samples from 6 sampling points in Xiashan Reservoir

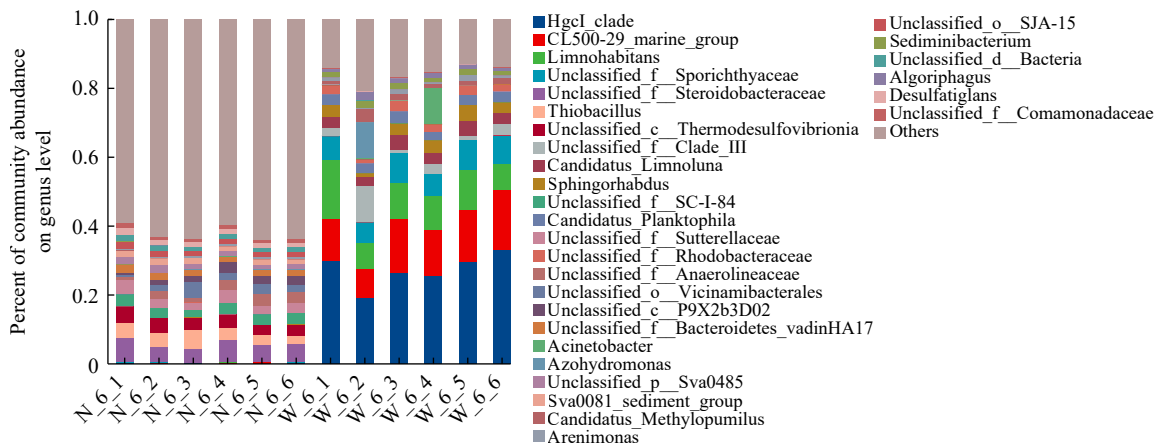


图 5 峡山水库 6 个采样点水样和沉积物样品中微生物在属水平上的组成分析

Fig. 5 Composition analysis of microorganisms at the genus level in water and sediment samples from the six sampling points in Xiashan Reservoir

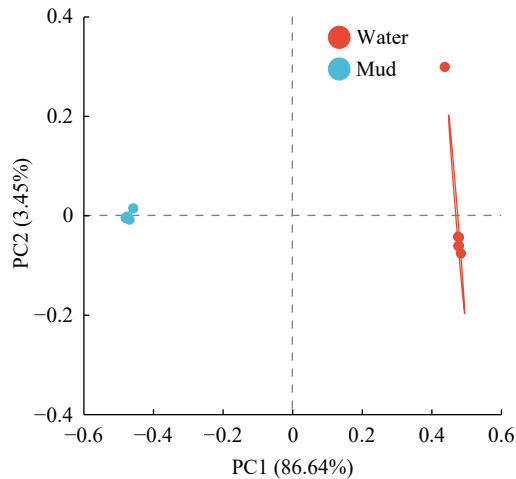


图6 峡山水库中属水平的微生物组成基于UniFrac的加权的主坐标分析(β分析)

Fig. 6 Weighted principal coordinate analysis (β-diversity analysis) based on UniFrac for the microbial composition at the genus level in Xiashan Reservoir

所有样本中丰度最高的25个OTU之间的相似性(包括序列相似性和丰度),并将它们组织成一个树状结构,以便更好地理解可视化这些OTU之间的关系和差异。层次聚类分析再次显示,各个采样点之间的微生物结构高度相似,同时沉积物和水体中优势微生物的组成差异非常显著(图8),以及具体的差异OTUs。

2.4 微生物群落的功能预测

利用 PICRUS2 对样本中微生物群落的功能组成进行了预测。PICRUS2 功能预测在 PICRUS1 功能预测方法的基础上进行了优化改进,水体样本细菌群落 KEGG pathway level1 水平的功能预测发现,水体的细菌功能主要与 Metabolism、Genetic Information Processing、Environmental Information Processing、Cellular Processes、Human Diseases 和 Organismal Systems 有关。Level2 的预测功能主要有 Global and overview maps、Carbohydrate metabolism、Amino acid metabolism、Energy metabolism、Metabolism of cofactors and vitamins、Translation、Membrane transport、Replication and repair、Nucleotide metabolism、Signal transduction、Cellular community-prokaryotes、Lipid metabolism、Xenobiotics biodegradation and metabolism、Biosynthesis of other secondary metabolites、Folding、sorting and degradation、Metabolism of other amino acids、Glycan biosynthesis and metabolism、Metabolism of terpenoids and polyketides 等(图9)。而且,水体和沉积物中微生物的功能类似,唯有 immune diseases 这

个功能在水体中的丰度明显高于沉积物中。

在 level 3 预测的功能无论是水体还是沉积物中最主要的代谢通路为 Metabolic pathways、biosynthesis of secondary metabolites、Microbial metabolism in diverse environments、Biosynthesis of amino acids 及 Carbon metabolism 等。其中,水体中的 Microbial metabolism in diverse environments、Biosynthesis of amino acids 和 ABC transporters 三种代谢通路略高于沉积物中的丰度。

3 讨论

3.1 峡山水库的微生物组成特征分析

2023年在高温季节选择6个具有代表性的位置,我们采集峡山水库的水体样品和沉积物样品,首次分析了其中的微生物组成。结果显示,峡山水库水样中的优势菌门主要是放线菌门、变形菌门和拟杆菌门等,优势菌属主要是 hgcI_clade、Limnhabitans、CL500-29_marine_group 以及 Sporichthyaceae、Sphingorhabdus、Candidatus_Limnoluna、Candidatus_Planktophila、Clade_III、Rhodobacteraceae 和 Sediminibacterium 等。而沉积物中的优势菌门分主要是变形菌门、拟杆菌门和脱硫杆菌门等,优势菌属主要是 Steroidobacteraceae、Thermodesulfobionia 和 Thiobacillus 等。可以看出,水体和沉积物中的优势微生物组成是有显著区别的。而且,其组成特征与南水北调中流动性水体中的细菌组成存在明显区别^[12]。峡山水库水体中的前三大优势菌门与附近的青岛棘洪滩水库中的组成是一样,都是放线菌门、变形菌门和拟杆菌门^[13]。此外, hgcI_clade、CL500-29_marine_group 也是该水库的丰度最高的菌属^[13]。这说明这些细菌类群的分布具有一定的地域特征。然而, hgcI_clade 在西藏湖泊巴松错中也是优势类群之一,所以它的生态功能值得更广泛和深入的研究^[14]。此外,峡山水库6个采样点之间的微生物多样性及主要组成类群无显著差异。有研究显示,湖北省保安湖的不同湖区之间情况也是如此^[15]。

3.2 峡山水库主要微生物类群的功能分析

从结果可以看出, SAR324_clade marine_group_B 和 CL500-29_marine_group 两种被报道常见于海洋环境中的细菌之所以会出现在峡山水库这个淡水水库中,可能是由于流域内存在大规模的盐碱地(占潍坊市总面积的17%),甚至是重度盐碱区域的缘故。

从结果中可以看到,水体样品中丰度最高的菌属是属于低GC含量放线菌门的 hgcI_clade (也称为

acI lineage 或 acI cluster), 这在其他水库也有类似情况^[16]。hgcl_clade通常存在于淡水环境, 如水库、河口和湖泊中, 其成员具有很强的利用含碳化合物的能力。基因组测序分析显示 acI 基因组包含 actinorhodopsin 及参与补充碳固定的某些基因。acI 基因组似乎是高度精简的放线菌版本, 包含一些基因, 使其能够利用阳光和富含 N 的有机化合物, 如多胺、二肽和寡肽、支链氨基酸和青色素。表明 acI 有能力补充其已知的异养生活方式。这阐明了

为何该菌种在贫营养水库环境中能够成为最优势菌属。再者, 鉴于这些微生物的兼性好氧特性及其进行光驱动代谢的能力^[17, 18], 我们得以理解为何这类细菌在水体中的丰度显著, 而在底泥中却几乎难觅其踪。放线菌门的 hgcl 类群在广泛的淡水生境中被发现普遍存在, 并且它们可能占据湖泊浮游微生物群落中可能会超过 50% 的比例。这个发现表明放线菌门中的 hgcl 类群在淡水生态系统中具有重要地位, 可能对湖泊等淡水环境的微生物群落结

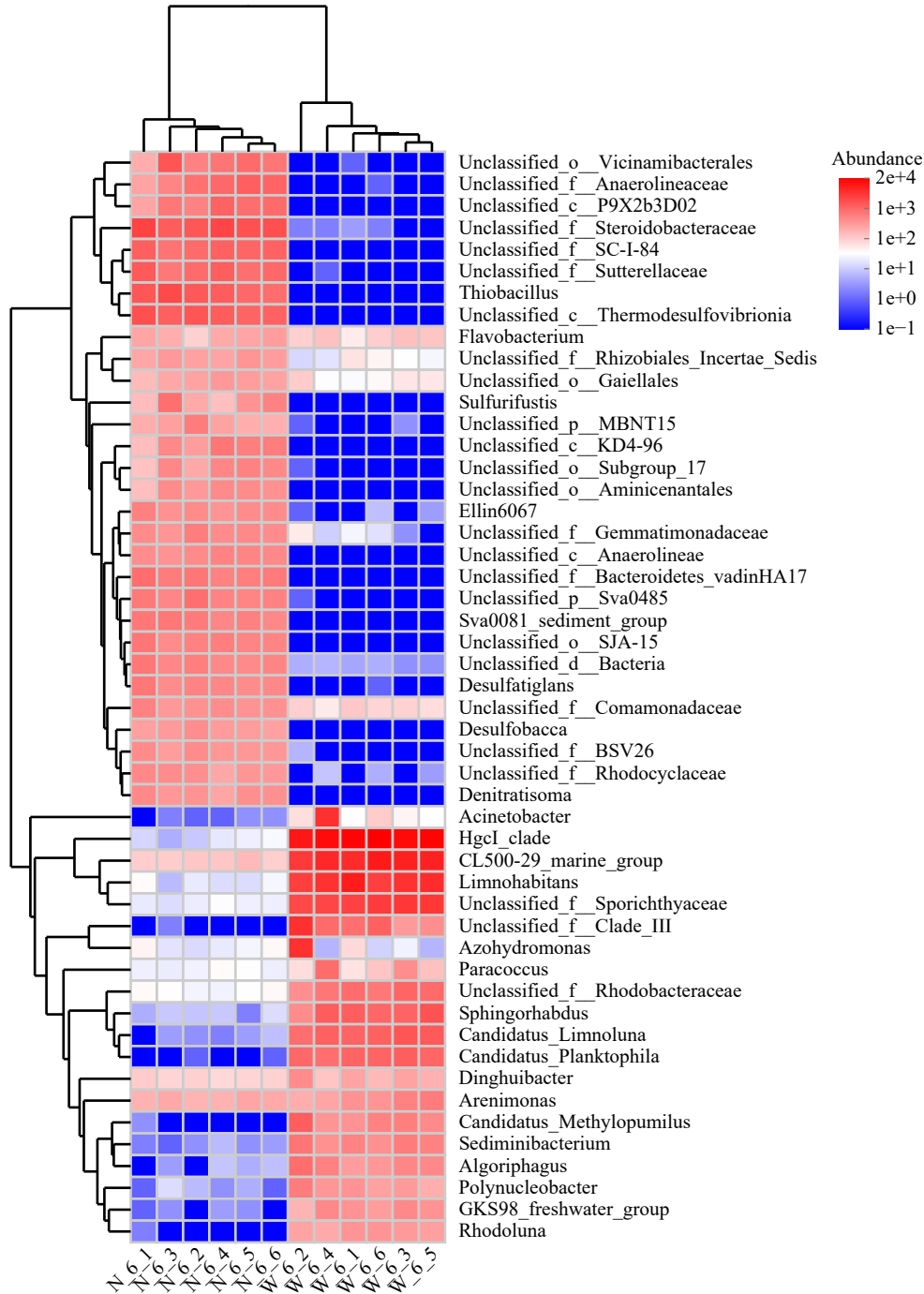


图 7 峡山水库中属水平的微生物组成群落热图分析

Fig. 7 Heatmap analysis of microbial community composition at the genus level in Xiashan Reservoir

构和功能产生重要影响。放线菌门是一类革兰氏阳性细菌,广泛存在于各种环境中,包括土壤、水体和极端环境等。hgcI类群则是放线菌门中的一个特定类群,具有独特的生理和生态特性。这个发现对于理解淡水生态系统的微生物多样性和功能具有重要意义,同时也提供了一个值得研究的水生态学课题。

水体中另一种高丰度的菌属是CL500-29_marine_group, 别名HTG5。它属于放线菌门, 酸微菌亚纲(Acidimicrobiia), 微毛菌目(Microtrichales), 鲁马托杆菌科(Illumatobacteraceae)。放线菌门的Illumatobacteraceae是丹江口水库浮游细菌的优势类群^[19], 也是另一个城市水源地的优势细菌类群^[20]。该组成员具有通用性, 可以在有氧条件下利用几种不同的碳源(乙酸盐、丙酮酸盐、氨基酸、葡萄糖和乙醇酸)。hgcI_clade和CL500-29_marine_group是昆明阳宗湖风景区水体中丰度最高的两个菌属^[21]。Limnohabitans是由Hahn等^[22]建立的一个细菌属, 属于主要生活在淡水湖泊、水库和溪流水中的浮游细菌, 在淡水细菌浮游生物群落中占据重要地位。Limnohabitans是一种代谢多样、生长迅速、形态各异的细菌浮游生物属, 它在全球几乎每个湖泊系统中都以高丰度存在, 并在将碳从初级生产者输送到更高营养级方面发挥重要作用。鉴于它们的生物地球化学重要性, 了解为什么Limnohabitans类群在不同环境中既丰富又普遍存在是很重要的。反过来, 这一知识可以被用来更好地预测它们的丰度和功能贡献将如何响应持续的环境变化。丹江口水库中微生物的碳代谢功能也占有优势地位^[23]。

Sporichthyaceae与水体中总有机碳(TOC)水平呈正相关^[24]。Sporichthyaceae是“Frankiales”目下的一个科, 这个科的成员是兼性厌氧菌, 其细胞壁含有大量的LL-二氨基庚二酸。Sporichthya的气生菌丝通过附着物在培养基表面垂直生长, 但不会形成基内菌丝。Sporichthyaceae被报道是四川岷江中的优势类群^[25]。此外, 还被报道是珠海地区海鲈养殖池塘中的科水平上丰度最高的细菌类群^[26], 且与鲈鱼疾病的发生显示出相关性。

沉积物中丰度最高的Steroidobacteraceae在许多文献中被报道是水体底泥中的优势菌属^[27]。尽管Steroidobacteraceae菌属的具体生态功能尚未有详尽的研究报道, 但考虑到其作为优势菌属之一, 可能在底泥和污泥的生态系统中扮演着重要的角色。在污泥悬浮液中, 它可能参与有机物的降解和转化过程, 有助于污水处理的效能。沉积物中另一种高丰度是菌属Thermodesulfovibrionia (高温脱硫弧菌纲)是一个在细菌域下Nitrospirota门中提出的微生物纲, 其命名基于典型的高温脱硫弧菌目, 并且与高温环境下微生物的多样性和功能研究密切相关。同时, 鉴于Thermodesulfovibrionia在低氧、低硝酸盐且富含铵的地水环境群落中占主导地位, 这表明它们在缺氧环境中的养分(特别是氮)周转方面具有很大的潜力^[28]。Thiobacillus (硫杆菌属)主要属于硫杆菌科, 包含多种能进行硫代谢的细菌。Thiobacillus是自养型细菌, 它们能够利用还原态的硫化物(如硫化氢、亚硫酸盐等)或元素硫作为能源, 进行氧化反应生成硫酸, 同时获得能量进行生长。这些细菌广泛分布于土壤、水体、沉积物以

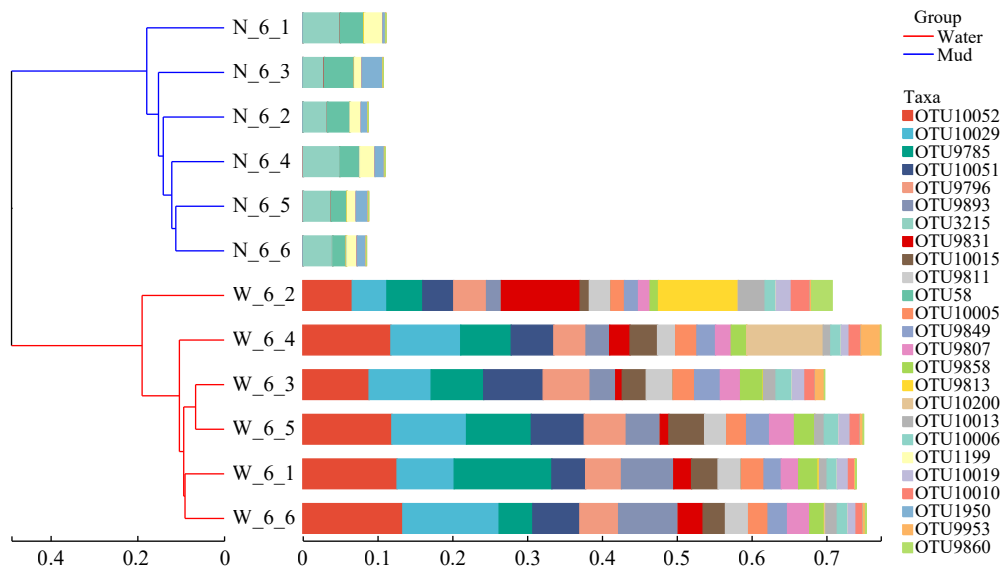


图8 峡山水库中的微生物组成基于OTU级别构建的层次聚类树

Fig. 8 Hierarchical clustering tree constructed based on OTU level for microbial composition in Xiashan Reservoir

及酸性矿山排水等环境中^[29]。Sutterellaceae是肠道微生物群中的一个重要科,其成员包括华德萨特菌和粪链球菌等。这些细菌在健康成人的肠道中含量丰富,并与人类健康和疾病密切相关。对Sutterellaceae科的研究有助于我们更好地理解肠道微生物群的功能和作用,以及其与健康和疾病之间的关系。此外,有研究显示,Sutterellaceae被认为是水质差的指标,并且它们与微囊藻之间具有强关联性。

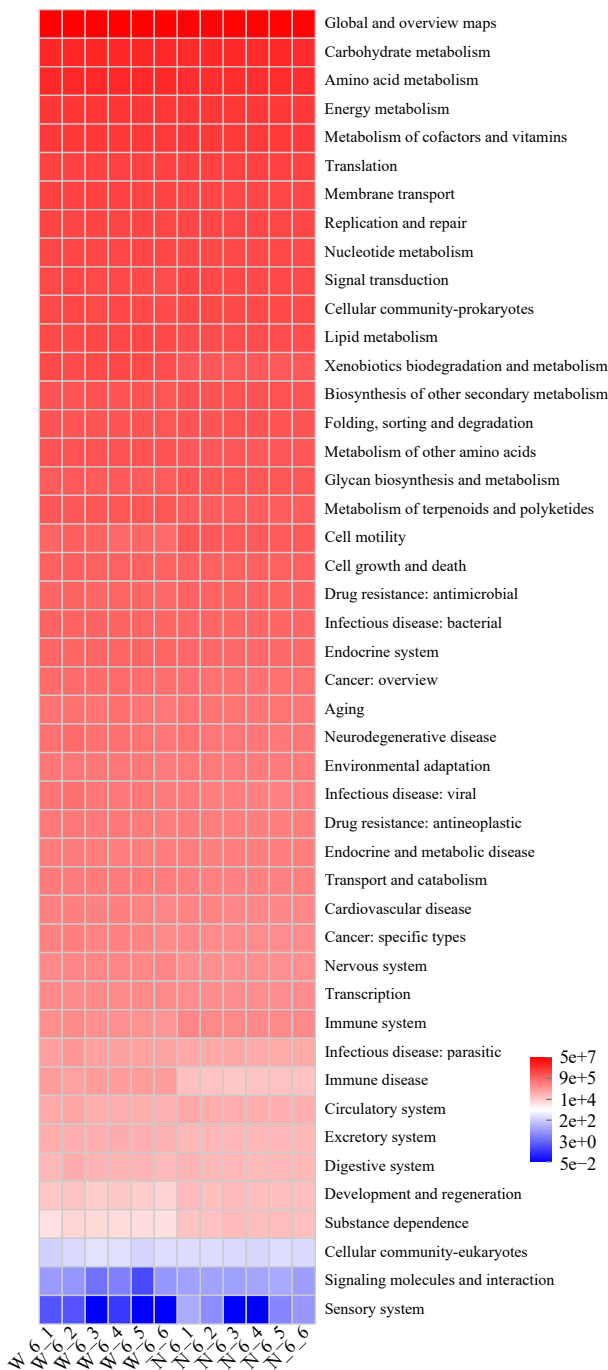


图9 峡山水库中的微生物level 2代谢通路预测及热图分析

Fig. 9 Level 2 metabolic pathway prediction and heatmap analysis of microorganisms in Xiashan Reservoir

当然,这个观点还需要更多的研究加以证实^[30]。

3.3 峡山水库中潜在鱼类病原细菌的分布情况

水库中疾病发生最密切的气单胞菌属的细菌的相对丰度占比仅为0.00667%,处于比较低的水平,这与当年未发生往年那样由该菌引起的爆发性出血病的情形是吻合的。此次测得的黄杆菌的相对丰度为0.439%,属于比较高的水平,虽然采样时的2023年6月份没有发生大规模的感染事件,但存在较大的发病风险,而且次年4月份发生了多种鱼类的黄杆菌引起的鳃病,这种情形又是相吻合的。特别应引起重视的是,分枝杆菌(*Mycobacterium*)的占比高达0.257%。庆幸的是,没有检测到任何链球菌、弧菌、沙门氏菌和爱德华氏菌的OTU,这些菌都是常见的鱼类潜在致病菌,说明该水库不会发生由这些细菌引起的鱼病。我们注意到,参与氮循环的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)相对丰度为0.0615%,亚硝化螺菌属(*Nitrospira*)为占0.00233%;硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)占0.0922%;*Nocardioide*s为0.011%。这些细菌对于降低水体中氨氮和亚硝酸盐水平,维持水质稳定起到了重要作用。据报道,氨氧化细菌与湖泊环境变量之间不存在相关性^[31]。

4 结论

总之,本研究通过细菌16S rRNA基因的高通量测序技术,获得了山东峡山水库水体和沉积物中的微生物组成。结果显示,沉积物中微生物丰富度、多样性及细菌组成特征都存在差异;水体中丰度最高的3个菌门依次为放线菌门、变形菌门和拟杆菌门,属水平丰度最高的3个类群依次是hgcI_clade、Limnohabitans和CL500-29_marine_group。水库沉积物中脱硫杆菌门比水体中具有更显著的丰度,但放线菌门的丰度显著降低。峡山水库优势细菌类群的种类与国内某些水库类似^[8, 12, 3]。特别是,峡山水库与附近的青岛棘洪滩水库中的细菌组成极为相似,说明这些水库中细菌组成具有一定的地域特征。峡山水库中黄杆菌属和气单胞菌属等潜在鱼类致病菌也存在一定的丰度,这与该水库经常发生由这两类细菌引起的疾病的现象是相吻合的。无论是水库的水体还是沉积物中,细菌最主要的代谢通路组成是相似的,而考虑到两种生态位中细菌组成存在显著差异,说明水库中与环境稳定相关的微生物类群占主导作用。

鉴于气单胞菌与黄杆菌是峡山水库发现的两种主要鱼类病原细菌,而且他们在水库中的分布特征存在差异,建议该水库在未来实施鱼病监测时,只需集中监测这两种细菌即可,而且对这两种细菌

采取差异化的采样, 以确保监测工作的可靠性。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Tan H C, Wang Y Y, Chen Y L, *et al.* Dynamic analysis of niche and interspecific association of dominant phytoplankton species in Xiashan Reservoir [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2023, **35**(3): 844-853. [谭好臣, 王瑗媛, 陈阳亮, 等. 多水源水库浮游植物优势种生态位及种间联结性动态分析: 以山东峡山水库为例 [J]. *湖泊科学*, 2023, **35**(3): 844-853.]
- [2] Cheng B. Impact of cascade hydropower development on river ecosystem health in Lancang River [D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2019. [程豹. 澜沧江流域梯级水电开发对河流水生生态系统健康的影响评价 [D]. 武汉: 湖北工业大学, 2019.]
- [3] Yu X, Li Y, Wu Y, *et al.* Seasonal changes of prokaryotic microbial community structure in Zhangjiayan Reservoir and its response to environmental factors [J]. *Scientific Reports*, 2024, **14**(1): 5513.
- [4] Atashgahi S, Aydin R, Dimitrov M R, *et al.* Impact of a wastewater treatment plant on microbial community composition and function in a hyporheic zone of a eutrophic river [J]. *Scientific Reports*, 2015(5): 17284.
- [5] Chang N N, Zhang Z, Mamuti A, *et al.* Diversity of the bacterial community in reservoirs in the north part of Tianshan Mountain [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, **42**(7): 2843-2852. [常娜娜, 张政, 阿木提喀日·马木提, 等. 天山北麓典型水库细菌多样性分析 [J]. *生态学报*, 2022, **42**(7): 2843-2852.]
- [6] Feng J, Zhou L, Zhao X, *et al.* Evaluation of environmental factors and microbial community structure in an important drinking-water reservoir across seasons [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023(14): 1091818.
- [7] Galizia Tundisi J. Reservoirs: New challenges for ecosystem studies and environmental management [J]. *Water Security*, 2018(4): 1-7.
- [8] Yang J C, Zhang Q Q, Zhang T L, *et al.* Comparative analysis of the symbiotic microbiota in the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*): Microbial structure, co-occurrence patterns, and predictive functions [J]. *Microorganisms*, 2023, **11**(3): 544.
- [9] Wu Z, Zhang Q, Zhang T, *et al.* Association of the microbiota dysbiosis in the hepatopancreas of farmed crayfish (*Procambarus clarkii*) with disease outbreaks [J]. *Aquaculture*, 2021(536): 736492.
- [10] Junkins E N, McWhirter J B, McCall L I, *et al.* Environmental structure impacts microbial composition and secondary metabolism [J]. *ISME Communications*, 2022, **2**(1): 15.
- [11] Wang H, Yan B, Wu Y, *et al.* Microbial community diversity and potential functionality in response to dam construction along the Three Gorge Reservoir, China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023(14): 1218806.
- [12] Qu J, Jia C, Liu Q, *et al.* Dynamics of bacterial community diversity and structure in the terminal reservoir of the south-to-north water diversion project in China [J]. *Water*, 2018, **10**(6): 709.
- [13] Ding N. Seasonal variation and influencing factors of bacterial community in Jihongtan Reservoir, Qingdao [D]. Qingdao: Qingdao University of Technology, 2022. [丁宁. 青岛棘洪滩水库微生物群落季节变化特征及影响因素 [D]. 青岛: 青岛理工大学, 2022.]
- [14] Zhou D, Wand D X, Ou M X, *et al.* Bacterial community composition and characterization of molecular ecological networks in the water column of the basomtsolake [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, **11**: 28: 39. [周迪, 王东旭, 欧美香, 等. 巴松错水体细菌群落组成及其分子生态网络特征 [J]. *水生生物学报*, 2024, **11**: 28: 39.]
- [15] Xue L, Xiang D F, Xian B, *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. [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*, 2023, **47**(3): 450-461.]
- [16] Cui D, Song J P, Zheng G C, *et al.* Study on water quality characteristics and microbial diversity of Chalson Reservoir [J]. *Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition)*, 2021, **37**(3): 282-289. [崔迪, 宋金萍, 郑国臣, 等. 察尔森水库水质特征及其微生物多样性分析 [J]. *哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*, 2021, **37**(3): 282-289.]
- [17] Ghylin T W, Garcia S L, Moya F, *et al.* Comparative single-cell genomics reveals potential ecological niches for the freshwater actinobacteria lineage [J]. *The ISME Journal*, 2014, **8**(12): 2503-2516.
- [18] Garcia S L, McMahon K D, Martinez-Garcia M, *et al.* Metabolic potential of a single cell belonging to one of the most abundant lineages in freshwater bacterioplankton [J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(1): 137-147.
- [19] Chen Z J, Liu Y Q, Li Y Y, *et al.* The seasonal patterns, ecological function and assembly processes of bacterioplankton communities in the Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Frontier in Microbiology*, 2022, **13**: 884765.
- [20] Wu Z, Li M, Qu L, *et al.* Metagenomic insights into microbial adaptation to the salinity gradient of a typical short residence-time estuary [J]. *Microbiome*, 2024, **12**(1): 115.
- [21] Huang K, Li L K, Li J, *et al.* The structure and diversity of the bacterial community in the overlying water of the Yangzong Lake in Yunnan [J]. *bioRxiv preprint*, 2024, doi: <https://doi.org/10.1101/2024.03.28.587311>.
- [22] Hahn M W, Kasalický V, Jezbera J, *et al.* *Limnohabitans curvus* gen. nov., sp. nov., a planktonic bacterium isolated from a freshwater lake [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, **60**(6): 1358-1365.
- [23] Yang Q, Li D, Chen W, *et al.* Dynamics of bacterioplankton communities during wet and dry seasons in the Danjiangkou Reservoir in Hubei, China [J]. *Life*, 2023, **13**(5): 1206.
- [24] Meng L J, Zhang Y, Li X X, *et al.* Comparative analysis of bacterial communities of water and intestines of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*H. nobilis*) reared in aquaculture pond systems [J]. *Aquaculture*, 2021(534): 736334.
- [25] Huang Y L, Wang F P, Li Y, *et al.* Influence of anthro-

- pogenic disturbances on antibiotic resistance gene distributions along the Minjiang River in Southeast China [J]. *Journal of Environmental Management*, 2022(323): 116154.
- [26] Deng Y Q, Mao C, Chen H X, *et al.* Shifts in pond water bacterial communities are associated with the health status of sea bass (*Lateolabrax maculatus*) [J]. *Ecological Indicators*, 2021(127): 107775.
- [27] Cheng W, Zhang J X, Wang Z, *et al.* Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir [J]. *Annals of Microbiology*, 2014, **64**(2): 875-878.
- [28] Tian H M, Gao P K, Chen Z H, *et al.* Compositions and abundances of sulfate-reducing and sulfur-oxidizing microorganisms in water-flooded petroleum reservoirs with different temperatures in China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017(8): 143.
- [29] Yan L J, Herrmann M, Kampe B, *et al.* Environmental selection shapes the formation of near-surface groundwater microbiomes [J]. *Water Research*, 2020(170): 115341.
- [30] Mankiewicz-Boczek J, Font-Nájera A. Temporal and functional interrelationships between bacterioplankton communities and the development of a toxigenic *Microcystis* bloom in a lowland European reservoir [J]. *Scientific Reports*, 2022, **12**(1): 19332.
- [31] Liu B, Li Y M, Zhang J P, *et al.* Abundance and diversity of ammonia-oxidizing microorganisms in the sediments of Jinshan Lake [J]. *Current Microbiology*, 2014, **69**(5): 751-757.

COMPOSITION OF MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE IN WATER AND SEDIMENTS OF XIASHAN RESERVOIR IN SHANDONG PROVINCE

LIU Zhen-Jun¹, ZHANG Qian-Qian², GUO Rui-Lian¹, ZHANG Yan¹, YANG Ji-Cheng³,
WU Zhen-Bing⁴ and LI Ai-Hua²

(1. Weifang Xiaoshan Reservoir Management Service Center, Weifang 261325, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 4. School of Environmental Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: Xiashan Reservoir, the premier reservoir in Shandong Province, serves as a crucial source of drinking water. However, escalating human activities and environmental pressures have posed formidable challenges to its ecological equilibrium. A notable gap in research regarding the microbial composition of its water body and sediments, which hold significant ecological and economic importance, has hindered our comprehension of its ecosystem functions and the development of effective conservation measures. To address this, we conducted a comprehensive analysis of microbial composition in June 2023 using high-throughput sequencing of bacterial 16S rRNA genes. Our findings revealed that the microbial diversity indices, including Sobs, Chao1, Ace, and diversity, were significantly higher in the sediments compared to the water body, underscoring the richer and more diverse microbial communities in the sediments. β -diversity analysis further emphasized distinct microbial compositions between these two environments. In the water body, Actinobacteria (57.65%), Proteobacteria (34.9%), and Bacteroidetes (6.22%) were the dominant bacterial phyla, with the most abundant genera being hgcI_clade (29.98%), Limnohabitans (17.06%), CL500-29_marine_group (11.97%), and Sporichthyaceae (7.12%). Conversely, the sediments were predominantly inhabited by Proteobacteria (39.63%), Bacteroidota (12.70%), Desulfobacterota (9.88%), Chloroflexi (6.79%), Nitrospirota (5.56%), and Acidobacteriota (3.52%), with Steroidobacteraceae (6.98%), Thermodesulfobivibrionia (4.97%), Thiobacillus (4.33%), Sutterellaceae (4.07%), and SC-I-84 (3.48%) as the leading genera. Although the dominant bacterial groups in Xiashan Reservoir exhibit similarities to those found in other domestic reservoirs, the presence of potential fish pathogens such as *Flavobacterium* and *Aeromonas* underscores the risk of fish diseases. Functional prediction analysis indicated that microbial functions in both water and sediments were largely congruent, with metabolic pathways, biosynthesis of secondary metabolites, microbial metabolism in diverse environments, biosynthesis of amino acids, and carbon metabolism being the most prominent metabolic pathways at level 3 prediction. Notably, immune diseases-related functions were significantly more abundant in the water body compared to the sediments. This study provides valuable insights into the ecological functions of the reservoir and offers essential background information for evaluating the effectiveness of future ecological management efforts.

Key words: Xiashan Reservoir; Microbial diversity; High-throughput sequencing; Bacterial function