谢钰环,李海明,张翠霞,等.北大港水库微生物群落的空间分布特征[J].南水北调与水利科技(中英文),2023,21(5):972-984. XIE Y H, LI H M, ZHANG C X, et al. Spatial distribution characteristics of microbial communities in Beidagang Reservoir[J]. South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology, 2023, 21(5): 972-984. (in Chinese)

# 北大港水库微生物群落的空间分布特征

谢钰环<sup>1,2</sup>,李海明<sup>1,2</sup>,张翠霞<sup>1,2</sup>,李梦娣<sup>1,2</sup>,苏思慧<sup>1,2</sup>

(1. 天津科技大学滨海地下水利用与保护实验室, 天津 300457; 2. 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要:天津北大港水库水质存在咸化问题,水质咸化可能会导致微生物群落组成和多样性发生显著变化。为探究 水质咸化条件下水库微生物群落组成的空间分布特征,于2021年12月在北大港水库采集表层、中层和底层的水样,利用高通量测序技术,对北大港水库不同深度及上下游的微生物群落组成及多样性进行分析,并探究溶解性 总固体与微生物群落的关系。结果表明:北大港水库的溶解性总固体(total dissolved solids, TDS)质量浓度在表层、中层和底层存在差异,下游高于上游。微生物的主要优势菌门为变形菌门、拟杆菌门和放线菌门,变形菌门的相 对丰度均超过 50%。优势菌属是 Clade\_III 未定属(相对丰度 1.10% ~ 72.72%)和黄杆菌属(*Flavobacterium* 相对丰度 0.32% ~ 20.09%), Clade\_III 未定属的相对丰度上游高于下游,黄杆菌属的相对丰度表层高于中层和底层。上 游水体表层的微生物群落组成与中层、底层的微生物群落组成存在显著差异,下游在不同深度微生物群落组成差 异不显著,中层和底层的微生物群落组成存在相似性。Chao1和 Shannon 指数表现出表层<中层<底层,下游略高于上游,微生物 Alpha 多样性指数随 TDS 质量浓度的增大而减小。在科水平上, Clade\_III 能够耐受较高的盐度,但 当 TDS 质量浓度>3 000 mg/L 时其丰度降低。

关键词:北大港水库;溶解性总固体;微生物群落组成;多样性;空间分布

中图分类号: TU991 文献标志码: A DOI: 10.13476/j.cnki.nsbdqk.2023.0093

目前,天津市滨海地区的北大港水库存在水质 咸化问题<sup>[1]</sup>,针对其已有的研究主要集中在咸化规 律及机理等方面<sup>[2]</sup>,对于微生物群落结构的研究较 少。微生物是水生生态系统中的重要组成部分,微 生物的群落结构与水质状况密切相关<sup>[3]</sup>。水环境因 子影响微生物生长代谢,微生物反过来也会影响水 体环境<sup>[4]</sup>,研究微生物在咸化水库的群落分布具有 重要意义,不仅能够认识微生物群落的结构组成以 及与盐度的关系,还能为高盐水体治理提供生物修 复方面的理论依据<sup>[5]</sup>。

水库微生物群落组成受环境因素的影响较大, 过去对于水库微生物的研究也主要集中在环境因 素和群落多样性,主要关注水环境变化后微生物群 落的特征。例如:赵文等<sup>[6]</sup>对我国饮用水源水库微 生物的丰度和多样性等研究表明水质的优劣与水 体中微生物密切相关;文新宇等<sup>[7]</sup>研究表明水体营 养程度对水库微生态有重要影响,微生物群落丰度 和多样性是水体重要生态学指标;孙寓姣等<sup>[8]</sup>发现 官厅水库环境因子与微生物群落有较强的联系;彭 青等<sup>[9]</sup>研究表明青沙草水库蓄水期间水质变化会影 响微生物群落结构;Yan等<sup>[10]</sup>研究表明饮用水源水 库真核生物群落组成与浮游植物的动态受到环境 的显著影响;陈宇琛等<sup>[11]</sup>的研究表明环境因素是影 响微生物群落的主要因素。然而对水库水质咸化 这一环境条件影响下微生物群落组成仍不清楚,水 库不同水深不同微生物间比较也需要进一步探究<sup>[12]</sup>。 因此要了解水库水质咸化条件下微生物群落结构 的空间分布特征,还需要从不同盐度影响下水库水 平及垂直方向上微生物群落组成的角度进一步 探究。

目前研究微生物群落的对象主要是湖泊、滨海 地区和海洋,而对饮用水源水库的研究<sup>[13]</sup>较少,而

<sup>收稿日期: 2023-04-19 修回日期: 2023-09-12 网络出版时间: 2023-09-27
网络出版地址: https://link.cnki.net/urlid/13.1430.TV.20230926.0907.004
基金项目: 国家自然科学基金项目(42072288)
作者简介: 谢钰环(1997—), 女, 山西晋城人, 主要从事地下水污染机理与控制研究。E-mail: 1394479408@qq.com</sup> 

通信作者:李海明(1971—),男,山西吕梁人,教授,主要从事水文地球化学、地下水资源利用与保护研究。E-mail: lhm@tust.edu.cn

北大港水库不同于其他水库,其存在水质咸化问题, 微生物对盐度有着敏感的指示作用,有研究<sup>[14]</sup> 指出 细菌群落结构受溶解性总固体(TDS)的影响较大, 研究滨海水库中微生物群落的分布与盐度的关系 具有重要意义。

北大港水库是天津市重要的蓄水水库,目前尚 不清楚水库水质咸化下微生物群落多样性及组成 的特征。基于此,以北大港水库为研究对象,结合 北大港水库 TDS 的空间分布,利用高通量测序技术 对微生物群落进行分析,了解北大港水库微生物群 落组成结构的空间分布特征,探究水库微生物群落 组成与 TDS 的关系,探究水库咸化水体对微生物群 落结构的影响,可为水库水质的生物修复及生态功 能的研究和北大港水库供水和水资源利用功能的 发挥提供科学支持。

#### 1 材料和方法

#### 1.1 研究区概况

北大港水库是"引黄济津"工程的唯一蓄水水 库<sup>[15]</sup>,是位于天津市东南部滨海大港区的一座大型 平原水库,于1980年建成,东临渤海湾,北与独流减 河共堤毗邻,集水面积150 km<sup>2</sup>,多年平均降水量 533.3 mm,多年平均蒸发量1159.9 mm<sup>[16-17]</sup>。它具 有防洪、蓄水和供水等多种功能,是天津市重要水 源之一,为天津的发展提供了较大的社会效益。水 库蒸发量大、水深浅、底泥含盐量高<sup>[18]</sup>,引黄水进入 水库蓄存一段时间后水质存在咸化问题,咸化的主 要原因包括盐碱土向水中的传质作用、蒸发浓缩作 用、风对水体的扰动等<sup>[19]</sup>,水质咸化问题极大影响 了北大港水库的饮用水源水库功能的发挥。

#### 1.2 样品采集

样品于 2021 年 12 月在北大港水库采集,为了 使所取水样代表北大港水库水质状况,选取环北大 港水库的 9 个闸口:排咸闸(PXZ)、三号泄水闸 (SHXS)、十号调节闸(SHTJ)、南岸进水闸(NAJS)、 赵连庄闸(ZLZ)、马圈进水闸(MJ)、大港农场闸 (DGNC)、刘岗庄闸(LGZ)和沙井子闸(SJZ),涵盖 了水库四周。根据水流流向将采样点位划分为上 游和下游,其中上游包括南岸进水闸、赵连庄闸、马 圈进水闸、大港农场闸、刘岗庄闸和沙井子闸 6 个 闸口;下游包括排咸闸、三号泄水闸和十号调节闸 3 个闸口。采样点分布见图 1,在水库水面以下使用 灭菌的聚乙烯塑料桶采集水样,在每个闸口对3个 位置表层(水面50 cm以下)、底层(沉积物50 cm以 上)及中层(介于表层和底层水之间,中层深度不同 点位有所不同)的水样进行采集,样品编号中1表示 表层水样,2表示中层水样,3表示底层水样,样品 编号为 PXZ-1(PXZ 点表层水样)、PXZ-2(PXZ 点中 层水样)、PXZ-3(PXZ 点底层水样)、SHXS-1、 SHXS-2和 SHXS-3等。为了探究水库 TDS 与微生 物群落的空间分布及两者的关系,进行了 TDS 和微 生物的测定。





#### 1.3 水样理化指标的测定

对所有水样的 TDS 质量浓度进行测定,测定方法依据《地下水质分析方法》。

#### 1.4 微生物样品的测定

进行微生物分析的水样需要用 0.22 µm 的滤膜 过滤,将滤膜放置于无菌的离心管在-80 ℃ 的冰箱 保存,将离心管放到干冰中送检。

采用 DNA 抽提试剂盒对样本的基因组 DNA 进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的 纯度和浓度,以样本的基因组 DNA 为模板,根据测 序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物,Takara 公司的 Takara Ex Taq 高保真酶进行 PCR,确保扩增 效率和准确性。细菌多样性鉴定对应区域为 16S V3-V4 区,引物 343F(TACGGRAGGCAGCAG)和 798R(AGGGTATCTAATCCT)。

PCR 扩增产物使用琼脂糖凝胶电泳检测。然 后使用 AMPure XP beads 磁珠纯化, 纯化后作为二 轮 PCR 模板, 并进行二轮 PCR 扩增。再次使用磁 珠纯化, 取纯化过的二轮产物进行 Qubit 定量, 然后 调整浓度进行测序。使用 Illumina NovaSeq 6000 测 序平台进行测序, 测序由上海欧易生物技术有限公 司完成。

#### 1.5 数据分析

应用欧易生物云平台根据测序数据绘制水体不同深度的扩增子序列变异(amplicon sequence variant, ASV)(由 DADA2 方法去噪,拼接等质控操作后产生的每个去重的特征序列)分布的韦恩图、细菌门水平和属水平的柱状图,优势菌属的聚类热图,以及不同 TDS 质量浓度下纲水平和科水平微生物组成。利用 SPSS 软件对 TDS 与 Alpha 多样性指数、TDS 与纲水平和科水平优势菌属进行Spearman 相关性分析,利用 GraphPad Prism9 软件对 Alpha 多样性指数差异显著性进行分析。

#### 2 结果与分析

2.1 北大港水库 TDS 的空间分布特征

北大港水库水体的 TDS 质量浓度值(简称 TDS 值)范围为1075~6231 mg/L,依据 TDS 值对 水库水质分类,属于微咸水(1g/L<TDS 值<10 g/L)。 在垂直方向上,TDS 值在表层、中层和底层存在明 显差异,SHXS 和 SHTJ 底层的 TDS 值明显高于表 层,也高于其他点位,可能是由于水库下游承接独 流减河下游,且距离渤海湾近。其他采样点 TDS 值 在垂直方向上变化较小,但表现出底层略高于表层 的特征;在水平方向上,下游 TDS 值高于上游,下 游 SHXS 和 SHTJ 的 TDS 值明显高于上游,而 PXZ 在表、中、底层的 TDS 值均较低,上游 NAJS 和 SJZ 的 TDS 值较高。不同深度的 TDS 值分布见表1。



#### 表1 北大港水库不同深度的 TDS 值分布

Tab. 1 Statistics of TDS mass concentration at different depths of Beidagang Reservoir

样品编号		TDS质量浓度/(mg•L <sup>-1</sup> )			
		表层	中层	底层	
	DGNC	1 662	1 575	1 616	
	MJ	1 684	1 697	1 699	
上游	LGZ	2 006	1 915	1 932	
上册	ZLZ	2 452	2 407	2 416	
	NAJS	2 863	2 826	2 893	
	SJZ	2 878	2 907	2 923	
	PXZ	1 177	1 075	1 099	
下游	SHXS	1 135	1 166	4 004	
-	SHTJ	1 144	3 923	6 231	

# 2.2 水质咸化环境下微生物群落的空间分布特征

根据测序数据绘制北大港水库水体 ASV 分布 的韦恩图,见图 2。北大港水库水体中微生物群落 共有 5 175 个 ASV 序列。上游表层有 872 个微生 物序列,独有的微生物序列有 425 个;中层有 2 173 个微生物序列,独有的微生物序列有 883 个;底层 有 2 430 个微生物序列,独有的微生物序列有 1 136 个;上游表层、中层、底层共有的微生物序列有 351 个。下游表层有 764 个微生物序列,独有的微 生物序列有 331 个;中层有 1 333 个微生物序列,独 有的微生物序列有 438 个;底层有 1 680 个微生物 序列,独有的微生物序列有 811 个;下游表层、中层、 底层共有的微生物序列有 265 个。





Fig. 2 Venn plot of ASV distribution at different depths upstream and downstream of the Beidagang Reservoir

对水库微生物群落门水平相对丰度前 10 的物种进行分析,结果见图 3。水库水样中共检测到 35个门,各采样点位相对丰度最高的前 3 种优势菌门

为变形菌门 (Proteobacteria, 相对丰度 50%~84%)、 拟杆菌门 (Bacteroidetes, 相对丰度 4.7%~35%) 和 放线菌门 (Actinobacteria, 相对丰度 0.51%~26.8%), 这3种菌门的相对丰度之和占85%以上。这3种 菌门在表层的相对丰度之和高于中层和底层。中 层和底层的优势门类的多样性高于表层,厚壁菌门 (Firmicutes,相对丰度0.12%~2.31%)、蛭弧菌门 (Bdellovibrionota,相对丰度0.02%~1.70%)、 Myxococcota(相对丰度0~3.23%)和Gemmatimonadota (相对丰度0~1.77%)等在中层和底层的个别采样 点也有较大优势, Firmicutes 在 LGZ-3 相对丰度最高, Bdellovibrionota在 ZLZ-3 相对丰度最高。变形 菌门在 SJZ-1、SHTJ-2、SHTJ-3 和 SHXS-3 点位的 相对丰度随着盐度的增加有升高的趋势。疣微菌 门(Verrucomicrobiota)在 SJZ-2、SHTJ-2、SHTJ-3 和 SHXS-3 点位的相对丰度升高,这几个点位的 TDS 值较高,表明疣微菌门能够耐受较高的盐度。





Fig. 3 Changes of the relative abundance of phylum-level microbial communities(TDS value increases from left to right at the same depth)

北大港水库水体属水平微生物群落组成见图 4, 水体中共检测到 648 个属。第一优势菌属为 Clade\_III 未定属(相对丰度 1.10% ~ 72.72%),在空间上的分 布差异较大, Clade\_III 未定属在上游的相对丰度高于 下游。第二优势菌属是拟杆菌门的黄杆菌属(*Flavobacterium*,相对丰度 0.32% ~ 20.09%),整体上黄杆菌 属的相对丰度表层高于中层和底层。Sporichthyaceae 科未定属的相对丰度(0~10.37%)在表层高于中层 和底层。*Aquabacterium*的相对丰度(0~17.45%)表 层明显低于中层和底层,在下游个别站位 *Aquabacterium* 的相对丰度高于 Clade\_III未定属,成为最优势菌属。 *Perlucidibaca* 的相对丰度(0~12.16%)在下游表层 点位明显高于其他点位,这些点位的 TDS 值均较低, *Perlucidibaca* 能在低盐度的环境中生长良好。

选取所有水样相对丰度排名前 30 的属,从纵向 (样品信息)和横向(物种注释信息)两个层面进行聚 类,根据 Z 值可以判断细菌在样品中聚集含量的多 少,即红色表示物种相对丰度较高,蓝色表示物种 相对丰度较低。如图 5 所示,水样在菌群组成上 上游和下游存在显著差异,Clade\_III、CL500-29\_marine\_group、NS3a\_marine\_group 在盐度较高 的点位相对丰度较高, Aquabacterium、Arenimonas、 Algoriphagus 和 Pedobacter 在盐度较低的点位相对 丰度较高, Candidatus\_Nitrotoga 在盐度最高的点位 (SHXS-3)相对丰度最高,除了上述菌属,其他菌属 均表现出在盐度较低的点位相对丰度较高而在盐 度较高的点位相对丰度较低。

基于 Bray-Curtis 距离矩阵对北大港水库水体 上游和下游微生物属水平进行 PCoA 分析,探究微 生物群落结构组成的差异性,图中采样点距离越近 微生物组成越相似。由图 6 可知,上游 PCoA 两个 轴的总解释量为 65.81%,下游 PCoA 两个轴的总解 释量为 75.77%。上游表层微生物群落分布在第二、 三象限,中层和底层主要分布在第一、二和四象限, 并且聚在一起,微生物群落结果呈现相似性;下游 表层的采样点主要分布在三、四象限,中层和底层 主要分布在一、二象限,中层和底层的微生物群落 组成存在相似性。通过 PERMANOVA 组间差异检 验进一步表明,上游不同深度的微生物群落存在显 著的差异性(p<0.001),有不同的空间分布格局,而 下游不同深度的微生物群落没有显著的差异 (p>0.05)。PCoA 分析显示水库水体样品按照不同 TDS 值聚集,水样聚集具有盐度趋势,下游的 SHXS-2和 SHXS-3群落差异较大,可能与该点位中层和底

层 TDS 值差异较大有关。



图 4 属水平微生物群落组成相对丰度变化(同一深度 TDS 值从左到右增加)

Fig. 4 Changes of relative abundance of genus-level microbial communities(TDS value increases from left to right at the same depth)



#### 图 5 水库所有水样属水平细菌相对丰度聚类(样品从左到右 TDS 值增加)

Fig. 5 Bacterial relative abundance clusters at the genus level of all water samples in Beidagang Reservoir (TDS value increased from left to right)

表 2 为北大港水库所有采样点 Alpha 多样性指

数。Coverage 值都在 0.999 以上, 表明水库微生物 样品的测序深度覆盖了所有微生物物种。Observed species 在 226.5~1 098.9, 中层和底层的 Observed

<sup>2.3</sup> 水质咸化环境下微生物群落的多样性空间变化

species 高于表层。Chao1 指数和 ACE 指数是丰富 度指数, Chao1 指数在 230.86~1 111.04, ACE 指数 在 234.12~1 105.94; 在垂直方向上, 中层和底层的 Chao1 指数和 ACE 指数高于表层, 表明中层和底层 水体微生物丰富度高于表层; 丰富度指数 Chao1 和 ACE 指数在空间上的变化趋势是一样的, 均在 SJZ-1 最低, 在 ZLZ-3 最高。水体微生物丰富度 Chao1 指数在中层显著高于表层(p<0.01),底层显著高于 表层(p<0.001),可能是因为冬季中层和底层温度高 于表层,适宜微生物生存,从而使得中层和底层的 微生物丰富度较高,中层和底层的微生物丰富度无 显著性差异;在水平方向上,下游的 Chaol 指数高 于上游,但无显著性差异(p>0.05)。见图 7。



图 6 水库上游和下游 PCoA 分析 Fig. 6 Analysis of PCoA upstream and downstream of the Beidagang Reservoir

Shannon 和 Simpson 指数是反应微生物群落多 样性的指数,指数的数值越大,表明微生物群落的 多样性越高。Shannon 指数在 2.80~7.54, Simpson 指数在 0.56~0.98, PXZ 的 Shannon 和 Simpson 指 数最高, SJZ-1 的 Shannon 和 Simpson 指数最低。在 垂直方向上,中层的 Shannon 指数高于表层的,底层 的 Shannon 指数高于中层的,但没有显著性差异 (*p*>0.05),微生物群落受环境影响十分复杂;在水平 方向上,下游的 Shannon 指数高于上游,但无显著性 差异(*p*>0.05)。见图 7。

表 3 为 Alpha 多样性指数与 TDS 值的斯皮尔 曼(Spearman)相关性分析结果, Observed species、 Chao1、ACE 指数与 TDS 值无显著相关性, Shannon 和 Simpson 指数与 TDS 值呈极显著(p<0.01)负相关。

2.4 水质咸化对纲水平和科水平的微生物 群落的影响

北大港水库水体属于微咸水的环境,水中不同 TDS 值对微生物群落组成存在较大差异,见图 8。 在纲水平, Alphaproteobacteria、Gammaproteobacteria 和 Bacteroidia 是所有样品中 3 个相对丰度最高的纲, 随着 TDS 值的增加, Alphaproteobacteria 的相对丰 度不断增大:当 TDS 值为 1 075 mg/L 时,相对丰度 仅有 17.51%;当 TDS 值>3 000 mg/L 时相对丰度达 到 60.92%;当 TDS 值>2 000 mg/L, Alphaproteobacteria 相对丰度的波动变大。Gammaproteobacteria 的相对丰度在 TDS 值最低和最高的点位均较高,说 明 Gammaproteobacteria 能够耐受较大范围的盐度 变化。随着 TDS 值的增加, Bacteroidia 的相对丰度 没有明显差异,波动范围小于 10%。Spearman 相关 性分析(表 4)表明, Alphaproteobacteria 的相对丰度 与水库 TDS 值呈极显著(p<0.01)正相关, Gammaproteobacteria 的相对丰度与 TDS 值呈极显著(p<0.01)负 相关, Bacteroidia 的相对丰度与 TDS 值呈显著 (p<0.05)负相关, Verrucomicrobiae 的相对丰度与 TDS 值呈极显著(p<0.01)正相关。

在科水平, Clade\_III 的相对丰度明显高于其他 科, Clade\_III 能够在 TDS 值较高的环境中生存良好。 随着 TDS 值的增加, Clade\_III 的相对丰度不断增大: 当 TDS 值为 2 826 mg/L 时, Clade\_III 相对丰度最大 (54.5%); 当 TDS 值为 1 075 mg/L 时, Clade\_III 相对 丰度仅为 10.52%; 当 TDS 值为 6 231 mg/L 时, Clade\_III 相对丰度明显降低。当 TDS 值>3 000 mg/L 时, Comamonadaceae和 Sporichthyaceae 的相 对丰度较低,即它们能够在 TDS 值较低的环境中生 长良好,在 TDS 值较高的环境中可能会抑制它们生 长。Spearman 相关性分析(表 4)表明, Clade\_III 的 相对丰度与水库 TDS 值呈极显著(p < 0.01)正相关, Comamonadaceae 的相对丰度与水库 TDS 值呈极显 著(p < 0.01)负相关。

ab. 2 Alpha diversity index of microbial community in Beldagang Reservoir						
样品	Goods_ coverage	Observed_ species	Chao1	ACE	Simpson	Shannon
DGNC-1	0.999 7	377	381.61	385.42	0.97	6.43
MJ-1	0.999 7	365	368.78	372.52	0.92	5.62
LGZ-1	0.999 6	353	358.54	363.44	0.84	4.87
ZLZ-1	0.999 8	304	306.79	312.57	0.84	4.73
NAJS-1	0.999 8	249	252.44	250.65	0.67	3.59
SJZ-1	0.999 7	227	230.86	234.12	0.56	2.80
MJ-2	0.999 5	545	550.27	551.10	0.84	4.94
DGNC-2	0.999 3	705	714.61	713.16	0.95	6.71
LGZ-2	0.999 1	924	935.03	930.20	0.91	6.56
ZLZ-2	0.999 3	745	755.60	755.14	0.87	5.85
NAJS-2	0.999 8	339	341.95	342.44	0.75	4.19
SJZ-2	0.999 5	769	774.49	774.14	0.87	6.02
MJ-3	0.999 3	817	826.39	818.52	0.95	6.69
DGNC-3	0.999 3	566	577.97	580.66	0.86	5.30
LGZ-3	0.999 7	539	543.41	545.41	0.86	5.33
ZLZ-3	0.999 2	1 099	1 111.04	1 105.94	0.94	7.54
NAJS-3	0.999 5	542	548.18	546.57	0.75	4.47
SJZ-3	0.999 2	518	527.01	530.27	0.84	5.08
SHXS-1	0.999 6	449	454.60	458.74	0.95	6.12
SHTJ-1	0.999 6	440	448.56	447.01	0.92	5.61
PXZ-1	0.999 7	462	467.17	465.35	0.98	6.86
PXZ-2	0.999 3	758	768.03	772.48	0.97	7.08
SHXS-2	0.999 6	501	505.27	504.36	0.95	6.00
SHTJ-2	0.999 6	508	512.29	516.78	0.81	5.07
PXZ-3	0.999 4	763	769.9	770.64	0.98	7.52
SHTJ-3	0.999 6	589	593.35	593.90	0.79	5.05
SHXS-3	0.999 3	768	777.07	783.86	0.94	6.62

表 2 北大港水库水体微生物群落 Alpha 多样性指数 2 Alpha diversity index of microbial community in Beidagang Reservoi

### 3 讨论

北大港水库不同点位的细菌群落的主要优势菌 门差异不大,主要优势菌门均为变形菌门、拟杆菌 门和放线菌门,这与翟一帆等<sup>[20]</sup>、朱庆威等<sup>[21]</sup>的研 究结果一致。这3个菌门对水体元素的生物地球化 学循环具有重要作用。变形菌门在水库水体中占 据绝对优势,变形菌门中的菌群在碳氮代谢过程中 发挥着重要作用<sup>[22]</sup>,拟杆菌门主要与硝化过程有关<sup>[23]</sup>, 放线菌门能够吸收水中的营养物,从而净化水质<sup>[24]</sup>。 本研究中 SHTJ-2、SHTJ-3 和 SHXS-3 点位的 TDS 值明显高于其他点位,变形菌门在 SHTJ-2、SHTJ-3 和 SHXS-3 这 3 个点位相对丰度升高,张磊<sup>[25]</sup>等研 究表明变形菌门和拟杆菌门能够耐受较高的盐度。 王文静等<sup>[26]</sup>研究表明疣微菌门具有较高的耐盐性, 这与本研究疣微菌纲与 TDS 值呈显著正相关的结 果一致。在属水平上对水体微生物群落结构研究 发现,变形菌门的 Clade\_III 未定属是水库的第一优 势菌属,与宋家梁等<sup>[27]</sup> 对河水和湖水中的优势菌属 一致,该菌属能够在微咸水中生活良好。第二优势 菌属为拟杆菌门的黄杆菌属,而且表层的黄杆菌属 的相对丰度高于中层和底层,黄杆菌属属于好氧反 硝化菌<sup>[28-30]</sup>,能够在较高 DO 质量浓度下具有反硝 可以快速繁殖,生长速度远大于自养菌,是水体 DO 的潜在指示菌群<sup>[31]</sup>。放线菌门的 hgcI\_clade 可以利 用低温水体中的低质量浓度的溶解有机碳<sup>[32]</sup>,具有 很强的吸收碳水化合物和富氮化合物的遗传能力, 并可以耐受较低的 DO 质量浓度<sup>[33]</sup>,水库的水样是 在冬季取的,温度较低,hgcI\_clade 可以适应低温而 且能利用碳水化合物这可能是该菌属为水库第三 大优势菌属的原因。其他菌属在表层和中层、底层 的相对丰度差异较大,而且 PCoA 分析表明表层微 生物结构与中层和底层的存在较大的差异,有研 究<sup>[34]</sup>表明,水深会显著改变水体的环境异质性,而 环境异质性与微生物群落变化具有显著相关性,因 而水深会驱动微生物的群落结构变化。



图 7 Chao1 和 Shannon 指数在不同深度和上下游的差异

Fig. 7 Differences between Chao1 and Shannon indices at different depths and upstream and downstream

表 3 Alpha 多样性指数与 TDS 值之间的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between alpha diversity index and TDS mass concentration

项目	Chao1	observed_species	ACE	Shannon	Simpson
相关系数r	-0.024	-0.026	-0.024	-0.501**	-0.711***
<i>p</i> 值	0.906	0.897	0.904	0.008	< 0.001

注:\*\*表示在p<0.01水平呈极显著相关。

本研究中水体的 Chao 1 和 Shannon 指数表现 出表层低于中层,中层低于底层,下游略高于上游 的特点,这一研究结果与李玉华等<sup>[35]</sup> 对松花湖水体 的研究一致。有研究<sup>[36]</sup> 指出湖泊的深度会影响细 菌的微生物多样性,而且下层水样(缺氧环境)的细 菌的微生物多样性比上层水样(有氧环境)更加丰富。 盐度是影响细菌群落的主要因素,相关性分析证明 水库样品细菌 Alpha 多样性指数随 TDS 值的增大 而减小, Alpha 多样性指数是反应微生物群落丰富 度和多样性的重要指标,一般来说,微生物群落的 多样性会随着盐度的增加而降低<sup>[37]</sup>,本研究的结果 符合一般的认识规律,因为盐度会影响微生物代谢 功能<sup>[38]</sup>。另外,本研究还发现盐度还会影响水库样 品微生物群落的组成,属水平主要细菌在样品中的 聚类热图(图 5)、PCoA 分析(图 6)都证实了这一点。 其中下游 SHXS 点位中层和底层群落组成差异较大, 该点位中层和底层 TDS 值差异较大,由此推测可能 是盐度影响了该点位细菌群落的组成。本研究中 在盐度最高的点位 Candidatus\_Nitrotoga 聚集最多, 有研究<sup>[39]</sup>指出 Candidatus\_Nitrotoga 是一类能够耐 受较高盐度的氮氧化菌。

表 4 纲水平和科水平优势菌群的相对丰度与 TDS 值的相关性

 Tab. 4
 Correlation analysis of dominant flora at class level and family level with TDS mass concentration

纲水平	相关系数	科水平	相关系数
Alphaproteobacteria	0.646**	Clade_III	0.572**
Gammaproteobacteria	-0.492**	Sporichthyaceae	-0.266
Bacteroidia	-0.414*	Comamonadaceae	-0.706**
Actinobacteria	-0.295	Flavobacteriaceae	-0.197
Acidimicrobiia	0.228	Moraxellaceae	-0.301
Clostridia	-0.001	Burkholderiaceae	-0.209
Gemmatimonadetes	-0.166	Rhodobacteraceae	0.177
Bdellovibrionia	-0.227	Ilumatobacteraceae	0.145
Polyangia	0.131	NS11-12_marine_group	0.038
Verrucomicrobiae	0.566**	Saprospiraceae	0.125

注:\*表示在p<0.05水平呈显著相关,\*\*表示在p<0.01水平呈极显著 相关。

盐度是水库水体微生物生存的至关重要的环境 参数,是影响微生物群落变异的主要环境因子<sup>[40-41]</sup>, 整体来看,水库水体中层和底层的 TDS 值高于表层, 而中层和底层的次优势菌门 Firmicutes 和 Bdellovibrionota 的相对丰度要高于表层。Firmicutes 可以产生 芽孢,能够抵抗脱水和其他极端的环境<sup>[42]</sup>, Bdellovibrionota 中的 *betT/betS* 基因可能是通过从海水或猎物 细菌细胞中输入胆碱/甘氨酸/脯氨酸甜菜碱来抵抗 高 TDS 值的关键<sup>[43]</sup>。由此推测这两者的物种能够 在含盐环境下较好地生存。本研究中放线菌纲 (Actinobacteria)与 TDS 值未达到显著负相关,这不 同于 Wu 等<sup>[44]</sup>研究结果中放线菌更适宜高盐度环 境,由于放线菌是一类功能特异性的细菌,能够广 泛地生活在极端环境(如高温、高盐等)中,其细菌 群落多样性随盐度增加而增加<sup>[45]</sup>。这可能是测序方 法的差异造成的,之前的研究都采用传统的克隆文 库技术,本研究是高通量测序,能够达到更高的测 序深度。有研究<sup>[46]</sup>表明主要在高盐度环境中发现 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria, 而只在淡水 湖中发现 Deltaproteobacteria 和 Betaproteobacteria。 这可能是因为 Gammaproteobacteria 能耐受更高的 盐分,而 Deltaproteobacteria 和 Betaproteobacteria 则 更适应生活在淡水环境中。水库中 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 的相对丰度最高, 没有 Deltaproteobacteria 和 Betaproteobacteria,但是 Gammaproteobacteria 与 TDS 值呈显著负相关关系, 这可能是因为 Gammaproteobacteria 偏好更高盐度 的环境。



Fig. 8 Class level and family level microbial community composition at different TDS mass concentration

#### 4 结论

基于 2021 年 12 月北大港水库采集水样得出结 论,阐明了水库上游和下游不同深度 TDS 值以及微 生物群落结构和多样性的分布,探究了水质咸化对 微生物群落的影响,结果如下:

北大港水库水质属于微咸水, TDS 值表层与中 层、底层存在差异,底层略高于表层,在下游点位的 变化范围较大,且下游高于上游。

在门水平上,主要优势菌门为变形菌门、拟杆 菌门和放线菌门,这3种菌门在表层的相对丰度之 和高于中层和底层,随着盐度的增加,变形菌门的 相对丰度有升高的趋势。在属水平上,Clade\_III未 定属是水库的第一优势菌属,上游的相对丰度高于 下游;第二优势菌属为*Flavobacterium*,其表层的相 对丰度高于中层和底层。上游表层的微生物群落 组成与中层、底层的微生物群落组成存在显著差异, 下游表层的微生物群落组成与中层、底层的微生物 群落组成的差异没有显著性;中层和底层的微生物 群落组成存在相似性。

Chao 1 和 Shannon 指数表现出表层<中层<底层,下游略高于上游; Shannon 和 Simpson 指数与 TDS 值呈极显著(p<0.01)负相关,水库样品微生物 Alpha 多样性指数随 TDS 值的增大而减小。

在纲水平上, Alphaproteobacteria 和 Verrucomicrobiae 相对丰度与 TDS 值呈极显著正相关。在科 水平上, Clade\_III 丰度与 TDS 值呈极显著正相关, 能够耐受较高的盐度, Comamonadaceae 科的相对丰 度与 TDS 值呈极显著负相关。在高的 TDS 值(>3 000 mg/L)下, Clade\_III 和 Comamonadaceae 科丰度 降低,可能会抑制它们生长。

#### 参考文献:

- [1] 赵文玉, 王启山, 伍婷, 等. 天津滨海地区水库水质咸 化问题及机理分析[J]. 海河水利, 2006(3): 33-35.
   DOI: 10.3969/j.issn.1004-7328.2006.03.013.
- [2] 西雷,李海明,李梦娣,等.北大港水库水质咸化特征 与沉积物盐分释放[J].南水北调与水利科技(中英 文), 2023, 21(1): 172-180. DOI: 10.13476/j.cnki.nsbdqk.2023.0018.
- [3] 杨浩,张国珍,杨晓妮,等. 16S rRNA高通量测序研究 集雨窖水中微生物群落结构及多样性[J]. 环境科 学, 2017, 38(4): 1704-1716. DOI: 10.13227/j.hjkx. 201608097.

- [4] 郭秋平. 鄱阳湖河湖交错带丰水期微生物群落特征研究[D]. 南昌: 江西师范大学, 2017. DOI: CNKI:CDMD:2.1018.135916.
- [5] 谢红忠, 万艳雷, 周秋红, 等. 干旱地区高盐纳污坑塘水生态修复: 以阿拉尔氧化塘为例[J]. 南水北调与水利科技 (中英文), 2022, 20(3): 516-524. DOI: 10. 13476/j.cnki.nsbdqk.2022.0052.
- [6] 赵文,魏杰.我国饮用水源水库微生物多样性研究述 评[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(4): 1-10. DOI: 10.
  3969/j.issn.1005-7021.2018.04.001.
- [7] 文新宇, 谌书, 杨远坤, 等. 缓丘地带黄河镇水库微生物群落多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(1): 167-174. DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x. 2020.10006.
- [8] 孙寓姣,陈程,丁爱中,等. 官厅水库水质特征及水体 微生物多样性的响应[J]. 中国环境科学, 2015, 35(5): 1547-1553. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6923. 2015.05.035.
- [9] 彭青,谢冰,袁琦,等.青草沙水库蓄水期间细菌群落 结构变化的初步研究[J].环境科学,2012,33(10): 3634-3640. DOI: 10.13227/j.hjkx.2012.10.006.
- [10] YAN M M, CHEN S N, HUANG T L, et al. Community compositions of phytoplankton and eukaryotes during the mixing periods of a drinking water reservoir: dynamics and interactions[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(4): 1128. DOI: 10.3390/ijerph1704 1128.
- [11] 陈宇琛,林育青,陈求稳,等.澜沧江高坝大库物质 迁移转化特征及其机制[J].水科学进展,2022, 33(4):531-541. DOI: 10.14042/j.cnki.32.1309.2022. 04.002.
- [12] 王洵, 廖琴, 王沛芳, 等. 水库水深变化对不同浮游 微生物群落及网络互作关键种的影响[J]. 环境科 学, 2023, 44(7): 3881-3891. DOI: 10.13227/j.hjkx. 202208191.
- [13] 王欢,赵文,谢在刚,等.碧流河水库细菌群落结构
   特征及其关键驱动因子[J].环境科学,2018,39(8):
   3660-3669. DOI: 10.13227/j.hjkx.201711022.
- [14] 宋劼,易雨君,周扬,等.小浪底水库下游浮游生物及细菌群落对水沙调控的响应规律[J].水利学报,2020,51(9):1121-1130. DOI: 10.13243/j.cnki.slxb.20200572.
- [15] 何明霞,张兵,刘小龙,等.天津北大港水库水体的

水化学特征及水质评价[J].水文,2020,40(4):91-96. DOI: 10.19797/j.cnki.1000-0852.20190179.

- [16] 张晨,高学平,朱慧芳,等.以氯离子为例的北大港水库水质调控技术[J].天津大学学报,2012,45(1):
  6-12. DOI: 10.3969/j.issn.0493-2137.2012.01.002.
- [17] 吴长盛.北大港水库堤坝裂缝检测与评定技术研究[J].水利水电技术,2001(5):61-63. DOI: 10.
   13928/j.cnki.wrahe.2001.05.017.
- [18] 果有娜.北大港水库蓄水及洪水实时调度研究[D].
   天津:天津大学,2005.DOI:10.7666/d.y849103.
   DOI: 10.7666/d.y849103
- [19] 赵文玉, 王启山, 赵玉明, 等. "引黄水"在北大港水库 蓄存期水质咸化机理分析及防治措施[J]. 南水北 调与水利科技, 2004(6): 24-26. DOI: 10.13476/j.cnki.nsbdgk.2004.06.015.
- [20] 翟一帆,袁青彬,胡南.养猪废水处理系统微生物群 落结构变化及影响因素研究[J].水资源保护,2018, 34(1): 88-94. DOI: 10.3880/j.issn.1004-6933.2018.
  01.15.
- [21] 朱庆威,潘保柱,孙贺,等.汉江上游干支流沉积物 细菌群落多样性和影响因素[J].水资源保护,2022, 38(6):202-210. DOI: 10.3880/j.issn.10046933.2022. 06.027.
- [22] HOU L F, ZHOU Q, WU Q P, et al. Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant[J]. Science of the Total Environment, 2018, 625: 449-459. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.12.301.
- [23] WU D, ZHANG Z M, YU Z D, et al. Optimization of F/M ratio for stability of aerobic granular process via quantitative sludge discharge[J]. Bioresource Technology, 2018, 252: 150-156. DOI: 10.1016/j.biortech. 2017.12.094.
- [24] 秦宇,郑望,张曦,等. 三峡库区中段水体微生物群 落结构与环境因子相关性研究[J]. 长江流域资源 与环境, 2021, 30(5): 1184-1193. DOI: 10.11870/cjlyzyyhj202105015.
- [25] 张磊. IAMBR处理高盐污水的效能及其微生物群 落结构分析[J]. 膜科学与技术, 2020, 40(5): 101-110. DOI: 10.16159/j.cnki.issn1007-8924.2020.05. 014.
- [26] 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,2022,38(5): 628-635.DOI: 10.19741/j.issn.1673-4831.2021.0262.

- [27] 宋家梁,张汝毅,邹斌,等.基于分级过滤的自然水体原核微生物群落分析[J].微生物学杂志,2020,40(3):8-16.DOI:10.3969/j.issn.1005-7021.2020.03.002.
- [28] CALVO L, VILA X, ABELLA C A, et al. Use of the ammonia-oxidizing bacterial-specific phylogenetic probe Nso1225 as a primer for fingerprint analysis of ammonia-oxidizer communities[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 63(6): 715-721. DOI: 10.1007/s00253-003-1433-1.
- [29] 李小义, 王丽萍, 杜雅萍, 等. 好氧反硝化微生物多 样性及其反硝化功能初步研究[J]. 氨基酸和生物 资源, 2016, 38(2): 37-45. DOI: 10.14188/j.ajsh.2016. 02.008.
- [30] 肖晶晶, 郭萍, 霍炜洁, 等. 反硝化微生物在污水脱 氮中的研究及应用进展[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(12):97-102. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6504.2009. 12.022.
- [31] 程豹,望雪,徐雅倩,等.澜沧江流域浮游细菌群落 结构特征及驱动因子分析[J].环境科学,2018, 39(8):3649-3659. DOI: 10.13227/j.hjkx.201711014.
- [32] LIU J W, FU B B, YANG H M, et al. Phylogenetic shifts of bacterioplankton community composition along the Pearl Estuary: The potential impact of hypoxia and nutrients[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 64. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00064.
- [33] GHYLIN T W, GARCIA S L, MOYA F, et al. Comparative single-cell genomics reveals potential ecological niches for the freshwater acl Actinobacteria lineage[J]. ISME Journal, 2014, 8(12): 2503-2516. DOI: 10.1038/ismej.2014.135.
- [34] 王洵,张佳佳,袁秋生,等.筑坝蓄水对不同水深浮 游微生物群落结构和种间互作模式的影响[J].环 境科学,2022,43(7):3623-3634. DOI: 10.13227/j. hjkx.202109104.
- [35] 李玉华,许其功,赵越,等.松花湖水体中不同空间 分布的细菌群落结构分析[J].农业环境科学学报, 2013, 32(4): 764-770. DOI: 10.11654/jaes.2013.04. 016.
- [36] 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, 195(4): 54-57, 74. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2008.04.010.
- [37] ZHANG Y, CAO Y F, HUO H H, et al. An assessment of the genetic diversity of pear (Pyrus L.)

germplasm resources based on the fruit phenotypic traits[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2022, 21 (8): 2275-2290. DOI: 10.1038/sj/jim/7000176.

- [38] OREN A. Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations[J]. Environmental Microbiology, 2010, 13(8): 1908-1923. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2010.02365.x.
- [39] NAVADA S, VADSTEIN O, TVETEN A K, et al. Influence of rate of salinity increase on nitrifying biofilms[J]. Journal of Cleaner Production, 2019, 238: 117835. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.117835.
- [40] ZHOU J, SONG X, ZHANG C Y, et al. Distribution patterns of microbial community structure along a 7000-mile latitudinal transect from the mediterranean sea across the atlantic ocean to the brazilian coastal sea[J]. Microbial Ecology, 2018, 76(3): 592-609. DOI: 10.1007/s00248-018-1150-z.
- [41] YANG J, MA L A, JIANG H C, et al. Salinity shapes microbial diversity and community structure in surface sediments of the Qinghai-Tibetan Lakes[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 25078. DOI: 10.1038/ srep25078.
- [42] DING X W, WEI D, GUO W S, et al. Biological denitrification in an anoxic sequencing batch biofilm

reactor: Performance evaluation, nitrous oxide emission and microbial community[J]. Bioresource Technology, 2019, 285: 121359. DOI: 10.1016/j. biortech. 2019.121359.

- [43] LI Q M, ZHOU Y L, WEI Z F, et al. Phylogenomic insights into distribution and adaptation of bdellovibrionota in marine waters [J]. Microorganisms, 2021, 9(4): 757. DOI: 10.3390/microorganisms9040757.
- [44] WU Q L, ZWART G, SCHAUER M, et al. Bacterioplankton community composition along a salinity gradient of sixteen high-mountain lakes located on the Tibetan Plateau, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(8): 5478-5485. DOI: 10.1128/AEM.00767-06.
- [45] JIANG H C, HUANG Q Y, DENG S C, et al. Planktonic actinobacterial diversity along a salinity gradient of a river and five lakes on the Tibetan Plateau[J]. Extremophiles, 2010(14): 367-376. DOI: 10.1007/s00792-010-0316-5.
- [46] 时玉,孙怀博,刘勇勤,等.青藏高原淡水湖普莫雍 错和盐水湖阿翁错湖底沉积物中细菌群落的垂直 分布[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2379-2387.
   DOI: 10.13344/j.microbiol.china.140109.

## Spatial distribution characteristics of microbial communities in Beidagang Reservoir

XIE Yuhuan<sup>1,2</sup>, LI Haiming<sup>1,2</sup>, ZHANG Cuixia<sup>1,2</sup>, LI Mengdi<sup>1,2</sup>, SU Sihui<sup>1,2</sup>

(1. Laboratory of Coastal Groundwater Utilization and Protection, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
 2. College of Ocean and Environment, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China )

Abstract: Beidagang Reservoir has the function of water supply in the utilization of water resources. The reservoir can provide local residents with drinking water and irrigation water. There is a problem of salting in the water quality in the Beidagang Reservoir. The salting law and mechanism of Beidagang Reservoir were mainly studied, and the microbial community structure was less studied. Salinization of water quality may lead to significant changes in microbial community composition and diversity. The reservoir mainly focuses on the exploration of the diversity of microbial communities. There is a lack of comparative studies of reservoirs between different microorganisms at different water depths. The microbial communities of coastal reservoirs have been poorly studied. Microorganisms are sensitive indicators of salinity. The spatial distribution characteristics of microbial community distribution of water quality in reservoirs. It can not only understand the structural composition of microbial communities and the relationship between salinity, but also provide a theoretical basis for bioremediation of high salt water treatment. It provides basic data and scientific basis for Beidagang Reservoir to play the function of water supply and water resource utilization.

In order to explore the salinization and the spatial distribution characteristics of microbial communities, Beidagang Reservoir was chosen as our research area. The water samples from the surface, middle and bottom layers of Beidagang Reservoir were collected in December 2021. The composition and diversity of microbial communities at different depths and upstream and downstream of Beidagang Reservoir were analyzed by highthroughput sequencing technology to understand the spatial distribution characteristics of the microbial community composition structure of Beidagang Reservoir. The relationship between dissolved total solids and microbial communities was explored. The influence of reservoir salty water on microbial community structure was explored.

The results show that there are differences in the surface, middle and bottom layers of dissolved total solids (TDS) mass concentration in Beidagang Reservoir, and the downstream is higher than that in the upstream. The main dominant phylums of microorganisms are Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria, and the abundance of Proteobacteria is more than 50%. The dominant genera are Clade III undetermined genus (1.10%-72.72%) and Flavobacterium (0.32%-20.09%), the abundance of upstream Clade III undetermined genera is higher than that of the downstream, and the abundance of surface Flavobacterium is higher than that of the middle and bottom layers. There were significant differences between the microbial community composition of the upper surface layer and the middle and bottom microbial community composition, while the downstream microbial community composition at different depths was not significant, and the composition of the middle and bottom microbial communities was similar. The Chao1 and Shannon indices showed that the surface < middle layer < the bottom layer, and the downstream was slightly higher than the upstream, and the microbial Alpha diversity index decreased with the increase of TDS mass concentration. At the class level, the abundance of Alphaproteobacteria and Verrucomicrobiae was positively correlated with TDS mass concentration. At the family level, Clade III abundance was positively correlated with TDS mass concentration. Comamonadaceae abundance was negatively correlated with TDS mass concentration. The abundance of Clade III and Comamonadaceae decreased at high mass concentrations of TDS (>3 000 mg/L), which may inhibit their growth.

This study can provide a theoretical basis for bioremediation of salty water in reservoirs. Therefore, the role of salt-tolerant microorganisms on water purification can be studied in depth.

Key words: Beidagang Reservoir; dissolved total solid; microbial community composition; diversity; spatial distribution