

# 山东半岛北岸不同生境潮间带浮游细菌多样性研究

王恩辉<sup>1,2</sup>, 张晓黎<sup>1</sup>, 张莹<sup>1,2</sup>, 龚骏<sup>1</sup>, 刘东艳<sup>1</sup>, 王玉珏<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 烟台海岸带研究所 海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 山东 烟台 264003; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 通过提取山东半岛北岸不同类型潮间带海水样品的总 DNA, 构建 16S rDNA 文库, 利用群落相似性分析(ANOSIM)和非度量多维尺度转换排序(NMDS), 探究潮间带类型对浮游细菌群落结构的影响, 并对比了与近海浮游细菌群落结构的差异。分析结果显示, 浮游细菌的丰度及多样性受到潮间带类型的影响, 烟台养马岛泥滩、石滩、辛安河沙滩、黄河三角洲碱蓬区和天鹅湖海草区以变形菌门占优势, 而黄河三角洲米草区以拟杆菌门为优势菌, 其中, 天鹅湖海草区浮游细菌的丰富度和多样性最高。潮间带海水中浮游细菌的组成与近海存在显著差异, 潮间带浮游细菌的丰度及多样性均显著高于近海。推测季节因素、植被类型、有机质来源可能是造成潮间带不同生境与近海浮游细菌多样性差异的重要因素。

**关键词:** 潮间带; 浮游细菌; 多样性; 核糖体 DNA

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)06-0008-09

doi: 10.11759/hyxx20150911001

潮间带生境复杂, 生物多样性高, 包括泥滩、沙滩、岩石滩、石沼、红树林、海草床等不同类型生态系统。海洋细菌在生态系统的物质循环与能量流动中发挥重要作用<sup>[1-3]</sup>。已有的一些研究发现, 潮间带细菌群落结构与环境中溶解氧、粒度、pH、温度、营养盐浓度密切相关<sup>[4-6]</sup>; 且潮间带的植被类型与生长状况亦影响到细菌群落结构<sup>[7-8]</sup>。比较而言, 植被群落对潮间带浮游细菌群落结构影响的研究相对较少, 且浮游细菌群落组成与潮间带生境类型的关系还不甚清楚。因此, 本研究选择山东半岛北岸的泥滩、沙滩、岩石滩、盐碱植被覆盖区、海草床等多种潮间带类型, 利用细菌 16S rDNA 克隆文库及测序等方法, 开展了潮间带不同生境浮游细菌多样性特征及群落结构的比较研究, 探究植被覆盖是否能对潮间带浮游细菌群落结构产生显著影响。研究结果对进一步了解植被群落对海岸带细菌分布的影响规律及潮间带生态系统功能多样性提供基础数据。

## 1 材料方法

### 1.1 研究地点概况与样品采集

山东半岛潮间带生境类型多样, 包括泥滩、沙滩、岩石滩、碱蓬区、米草区、海草区、礁石区等。本次样品采集于 2014 年 7 月山东半岛北岸潮间带及烟台近海区域, 具体样点见图 1, 分别位于养马岛石

滩区(HI-R)、泥滩区(HI-M)、辛安河沙滩区(XR-S)、黄河三角洲碱蓬区(YRD-SU)、米草区(YDU-SM); 天鹅湖海草区(SL)以及月亮湾近海(MBO)七个位点。养马岛石滩区(HI-R)位于烟台养马岛东南部, 生境内多礁石, 分布有小型排污口并紧临酒店及生活区, 海水受污水排放影响; 泥滩区(HI-M)位于养马岛西南部, 底质为泥质, 水体较洁净; 辛安河沙滩(XR-S)位于辛安河河口, 底质为细砂, 附近虽然分布有扇贝加工厂及污水处理厂, 但排污口向近海方向延伸较长; 黄河三角洲碱蓬区(YRD-SU)和米草区(YDU-SM)受人类活动影响较少, 植被覆盖度较高; 海草区(SL)位于天鹅湖自然保护区, 海水洁净, 生物多样性较高; 月亮湾近海区(MBO)为旅游区, 受人类活动影响频繁。于各生境大潮时前后 2 天内到采样区域进行样品采集, 在低潮时利用灭菌采集瓶

收稿日期: 2015-09-11; 修回日期: 2016-01-11

基金项目: 中国科学院战略先导研究项目(XDA11020405); 国家自然科学基金面上项目(41376121); 山东省自然科学基金(JQ201414)

[Foundation: Strategic priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences, No.XDA11020405; National Natural Science Foundation of China, No.41376121; the Natural Science Foundation of Shandong Province No.JQ201414]

作者简介: 王恩辉(1991-), 男, 山东烟台人, 硕士研究生, 主要从事海洋生态学研究, E-mail: weh1991@126.com; 王玉珏, 通信作者: 助理研究员, 博士, E-mail: yjwang@yic.ac.cn

随机采集 3 份表层海水样品各 1 L, 所采集的海水样品受下层悬浮物影响较小, 并乘船至月亮湾近海用相同方法采集 3 份表层海水样品。将 3 份重复样品

经 200  $\mu\text{m}$  孔径筛绢去除大型藻类和其它杂质, 分别过滤到 0.22  $\mu\text{m}$  孔径的醋酸纤维脂膜上, 膜样液氮保存, 用于后续的分子生物学实验。

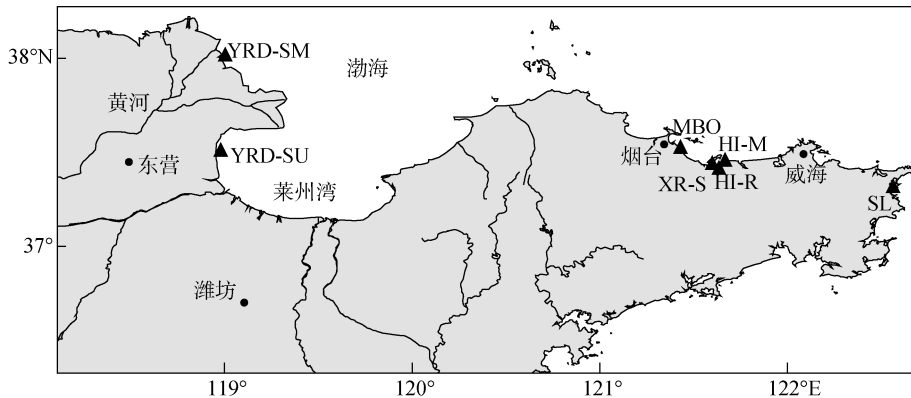


图 1 采样站位分布图

Fig. 1 Map showing the sampling stations

## 1.2 基因组 DNA 的提取与 PCR 扩增

利用 FastDNA® Spin Kit 核酸提取试剂盒(MP Bio, USA)提取膜样总 DNA, 利用微量紫外分光光度计 Nanodrop 2000C(Thermo, USA)检测 DNA 的浓度和纯度。采用细菌 16SrDNA 通用引物 341F (5'-CCTACGGGAGGCAGC-3')和 907R(5'-CCGTCA ATTCCTTTG-3')进行 PCR 扩增。25  $\mu\text{L}$  扩增体系为: 5 $\times$ Buffer 5  $\mu\text{L}$ , dNTPs 0.5  $\mu\text{L}$ , Primer 341F 1  $\mu\text{L}$ , Primer 907R 1  $\mu\text{L}$ , 水 16.15  $\mu\text{L}$ , Taq 酶 0.25  $\mu\text{L}$ , 模板 DNA 1  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 53 $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s, 循环 30 次; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 8 min。

## 1.3 细菌克隆文库构建及基因序列分析

将每个位点 3 个重复的 PCR 扩增产物合并, 经琼脂糖凝胶电泳检测, 利用胶纯化试剂盒(天根, 中国)纯化后, 连接到 PTZ57R/T1 克隆载体(Ins Taclone PCR Cloning kit, USA)上, 然后转化到大肠杆菌 (*Escherichia coli*)DH5 $\alpha$  感受态细胞中。将菌液均匀涂布平板, 通过蓝白斑筛选, 每个位点样品挑取约 100 个克隆子, 利用通用引物 M13F/M13R 进行 PCR 扩增, 电泳检测剔除假阳性, 阳性克隆被送至上海生工测序公司测序。

测序获得的序列利用 BioEdit 软件去除载体序列后, 选取长度为 500~600 bp 的序列上传至 DECIPHER (Database Enabled Code for Ideal Probe Employing R)网站, 利用在线检测工具 Find Chimera 检测嵌合体<sup>[9]</sup>。去除嵌合体序列后, 将剩余序列上传至 RDP

(Ribosomal Database Project II)网站, 利用 RDP Pipeline 在线 Aligner 功能对序列进行 Alignment, 其结果直接利用在线 Clust 功能确定分类单位(Operation Taxonomic Unit, OTU), OTU 序列差异水平为 0.03。Clust 结果经 RDP Analyse Tools 计算 Chao1 及 Shannon 指数, 并计算各样品的 Rarefaction 数据<sup>[10]</sup>, 数据结果利用 Original 8.0 绘图软件绘制各样品的稀疏曲线。同时利用公式  $C=[1-(n/N)]*100\%$  计算克隆文库覆盖率, 其中  $n$  为只出现一次的克隆子数目,  $N$  是文库中筛选出来的总的阳性序列数目。

将所获的 16SrDNA 序列上传至 NCBI GenBank 数据库, 登录号为:

KR077181-KR077236; KR077242-KR077247;  
KR077249-KR077311; KR077313-KR077322;  
KR077324-KR077326; KR077330-KR077334;  
KR077337-KR077379; KR077382-KR077385;  
KR077390-KR077415; KR077417-KR077461;  
KR077464-KR077469; KR077471-KR077474;  
KR077476-KR077563; KR077565-KR077704;  
KR077715-KR077726; KR077736-KR077738;  
KR077741-KR077756; KR077759-KR077762。

## 1.4 微生物群落结构分析

将去除嵌合体后的序列利用 RDP Pipeline 在线 Classified 功能, 确定不同生境中微生物的系统发育地位, 计算每条序列在不同分类水平上分配到此 rank 中的概率值, 大于 0.8 说明到该分类水平的结果可信<sup>[11]</sup>。同时利用 RDP Pipeline 的 Formats For Common Progress 功能将 Clust 分类结果转化, 导出

各样品中 OTU 分类单元的分布情况,同时将统计数据导入 PRIMER 6.0 软件中,通过对数据进行  $\log(X+1)$  转化,并利用 Bray-Curtis 群落相似系数对样品进行两两比较将数据转换成矩阵形式,通过非计量多维尺度转换排序(NMDS)工具对所有位点浮游细菌群落结构进行排序,同时利用软件包中的 ANOSIM 检验分析植被覆盖对潮间带浮游细菌群落结构的影响。NMDS 分析的可信性通过 Kruskal 应力系数来计算。应力系数介于 0~0.025 之间说明拟合度非常好,介于 0.025~0.05 之间说明拟合度好,介于 0.05~0.1 之间说明拟合度较好。当应力系数大于 0.2 说明拟合结果较差。

## 2 结果

### 2.1 潮间带不同生境及近海浮游细菌丰富度和多样性比较

测序所得序列经嵌合体去除,共获得 534 条高质量序列,每个样品获得 59~91 条序列。在 0.03 的阈值设定下,共获得 134 个 OTU,每个样品获得 18~45 个 OTU(表 1)。从图 2 上看,大部分样品的稀疏曲线已经趋于平缓,虽然有些样品的稀疏曲线还在上升,但各克隆文库覆盖率均大于 70%(表 1),说

明克隆文库的筛选与测序已涵盖了大部分细菌类群。近海样品的 Chao1 与 Shannon 指数均低于潮间带样品;在不同生境的潮间带样品中,天鹅湖海草区的多样性指数最高(Chao1=111.4; Shannon=3.48),而新安河沙滩区细菌丰富度最低,但其多样性指数相对较高(Chao1=52.55; Shannon=3.21),养马岛岩石区细菌多样性指数最低,但其丰富度较高(Chao1=62.3; Shannon=2.07)(表 1)。

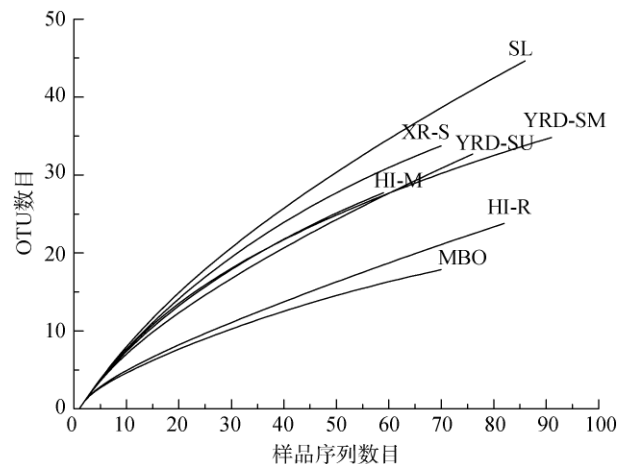


图 2 各样品浮游细菌群落组成稀疏曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of seven bacterioplankton communities

表 1 潮间带不同生境及近海样品浮游细菌克隆文库及多样性指数汇总

Tab. 1 Summary of sampling sites, clone libraries, and diversity indices of bacterioplankton communities

站位	纬度	经度	序列数目	OTU 数目	丰富度指数	多样性指数	文库覆盖率(%)
HI-M	37.44°	121.61°	59	28	43.0	2.99	72.9
HI-R	37.47°	121.64°	82	24	62.3	2.07	78.1
XR-S	37.44°	121.55°	70	34	49.3	3.21	74.3
YRD-SU	37.54°	118.93°	76	33	83.6	2.96	71.2
YRD-SM	38.02°	118.90°	91	35	52.0	3.19	80.2
SL	37.36°	122.31°	86	45	111.4	3.48	70.6
MBO	37.54°	121.43°	70	18	25.5	1.86	86.7

### 2.2 潮间带不同生境及近海浮游细菌的群落组成

根据 RDP 数据库的分类结果,计算不同细菌类群(门、纲)在群落中的相对比例,无法明确分类的序列统一归类到 Unclassified 类别(图 3)。与近海相比,潮间带样品有其特殊的优势菌群,且不同生境之间的优势类群也存在很大差异(图 3A)。在 HI-M、HI-R、XR-S、YRD-SU 和 SL 样品中,变形菌门(Proteobacteria)为优势菌门,分别占各克隆文库序列数的 62.7%、65.9%、66.7%、53.2%与 54.7%。在 YRD-SM 中,拟

杆菌门(Bacteroidetes)占绝对优势(相对丰度 45.1%),而该门细菌在 HI-M、MBO 样品中所占比例均不到 10%。在 MBO 近海样品中,蓝细菌门(Cyanobacteria)占优势(52.9%);而蓝细菌门在 HI-R、XR-S 潮间带样品中所占比例却很低(<10%)。

$\alpha$ -变形菌(Alphaproteobacteria)在 HI-M(45.8%),XR-S(40.0%)、YRD-SU(35.5%)的样品中相对比例较高,为优势菌纲;然而,在 HI-R 样品中, $\alpha$ -变形菌所占比例仅为 9.76%, $\gamma$ 变形菌则为主要类群(54.9%)(图 3B)。虽然,SL 样品中  $\gamma$ -变形菌数目所占比例最高,

为 26.7%, 但  $\alpha$ -变形菌、黄杆菌纲(Flavobacteriia)细菌所占比例与其相差不大, 分别为 25.6%, 23.3%。在 YRD-SM 的样品中, 黄杆菌所占比例最高(33.0%), 但在 MBO 近海样品中比例很少, 只占 4.29%。

不同生境样品中浮游细菌在科、属级别的分类结果总结在表 2 中, 为更加清晰地显示可分类浮游细菌主要类群(>2%)的相对比例, 在统计时去除不能明确分类的个体。将表 2 与图 3 结合分析可以发现,

YRD-SU 的样品中  $\alpha$ -变形菌主要为 SAR11 类群, 其中主要为远洋杆菌属(*Pelagibacter*); 而 HI-M、XR-S 的样品中  $\alpha$ -变形菌主要为 SAR11 类群和红杆菌科(Rhodobacteraceae)。HI-R 样品中的  $\gamma$  变形菌主要为交替单胞菌科(Alteromonadaceae); 而在 YRD-SM 采集的样品中黄杆菌纲主要为黄杆菌科(Flavobacteriaceae); 此外, 在 MBO 近海采集的样品中蓝细菌门(Cyanobacteria)主要为 GpIIa 类群。

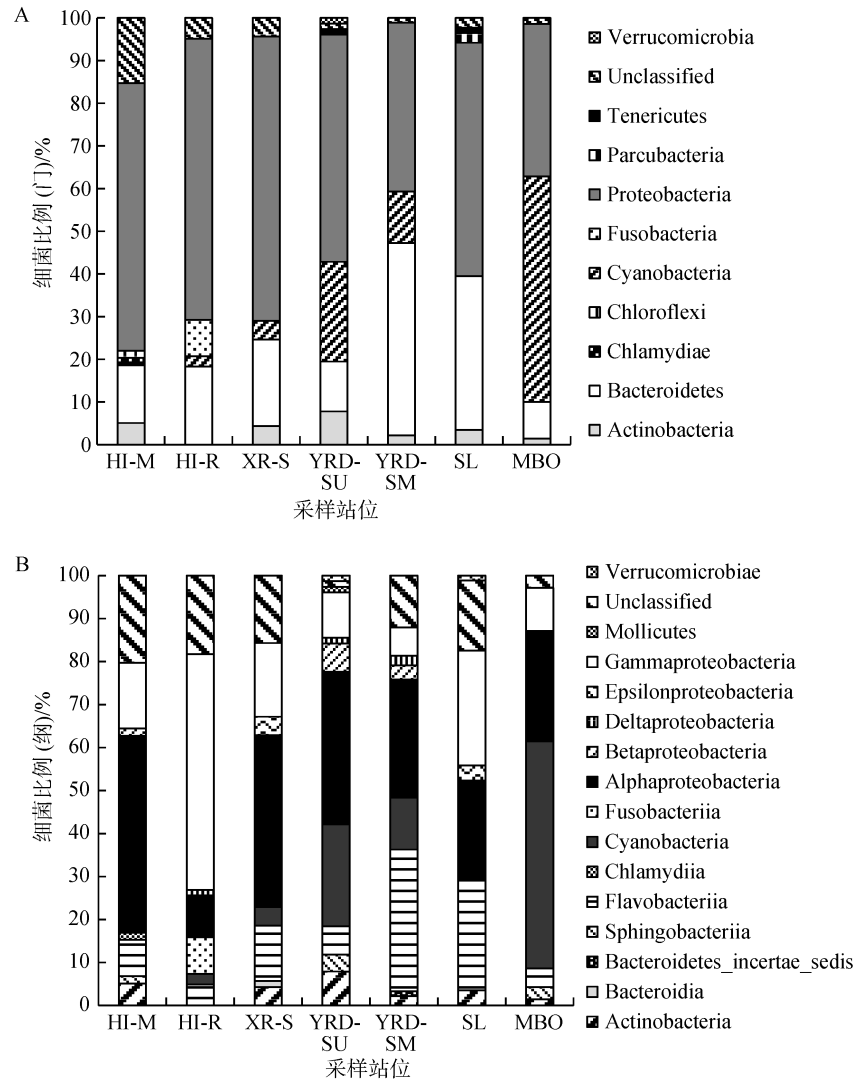


图 3 不同生境及近海样品浮游细菌物种丰度比例图

(A) 门级别比例图; (B) 纲级别比例图

Fig. 3 Proportions of bacterioplankton abundance at the phylum (A) and class (B) levels

### 2.3 潮间带不同生境及近海浮游细菌群落差异性

对潮间带不同生境及近海样品浮游细菌群落进行 NMDS 排序分析, 比较了各样品间浮游细菌群落

的相似性及差异。图 4 显示, 潮间带浮游细菌样品基本分为两大组群, 其中 HI-R、XR-S 与 HI-M 的浮游细菌群落聚在一起, 样品 YRD-SM、YRD-SU 及 SL 聚在一起, 且 NMDS 分析的应力系数为 0.1, 说明拟合

表 2 不同生境及近海样品浮游细菌优势(>2%)科和属

Tab. 2 The dominant (>2%) taxa of bacterioplankton at the family and genus levels

站位	科	比例(%)	属	百分比(%)
HI-M	SAR11	25.4	<i>Pelagibacter</i>	25.4
	Rhodobacteraceae	18.6	<i>Roseovarius</i>	11.9
	Flavobacteriaceae	8.47		
HI-R	Alteromonadaceae	50.0	<i>Propionigenium</i>	8.54
	Fusobacteriaceae	8.54	<i>Pelagibacter</i>	2.44
	Rhodobacteraceae	4.88	GpIIa	2.44
	Flavobacteriaceae	4.88	<i>Litorimonas</i>	2.44
	SAR11	2.44		
	Hyphomonadaceae	2.44		
	Family II	2.44		
XR-S	SAR11	21.4	<i>Pelagibacter</i>	21.4
	Rhodobacteraceae	17.1	GpIIa	4.29
	Flavobacteriaceae	12.9	<i>Arcobacter</i>	2.86
	Alteromonadaceae	7.14		
	Family II	4.29		
	Microbacteriaceae	2.86		
	Campylobacteraceae	2.86		
YRD-SU	SAR11	27.6	<i>Pelagibacter</i>	27.6
	Family II	22.4	GpIIa	22.4
	Rhodobacteraceae	7.89	<i>Ilumatobacter</i>	5.26
	Acidimicrobiaceae	5.26		
	Flavobacteriaceae	5.26		
YRD-SM	Flavobacteriaceae	30.8	<i>Roseovarius</i>	13.2
	Rhodobacteraceae	19.8	GpIIa	12.1
	Family II	12.1	<i>Pelagibacter</i>	7.69
	SAR11	7.69	<i>Salinimonas</i>	2.20
	Alteromonadaceae	2.20	<i>Crocinitomix</i>	2.20
	Bacteriovoracaceae	2.20		
	Cryomorphaceae	2.20		
	Microbacteriaceae	2.20		
SL	Flavobacteriaceae	24.4	<i>Pelagibacter</i>	8.14
	Rhodobacteraceae	12.8	<i>Roseovarius</i>	6.98
	SAR11	8.14	<i>Arcobacter</i>	3.49
	Piscirickettsiaceae	3.49	<i>Thiomicrospira</i>	3.49
	Campylobacteraceae	3.49		
	Microbacteriaceae	2.33		
	Alteromonadaceae	2.33		
MBO	Family II	52.9	GpIIa	52.9
	SAR11	14.3	<i>Pelagibacter</i>	14.3
	Rhodobacteraceae	10.0		

较好, 结果具有可信性。ANOSIM 检验发现, 植被覆盖区的样品与未覆盖区样品间浮游细菌群落结构在统计学上无显著性差异( $R=0.36$ ,  $P=0.10$ )。

### 3 讨论

海洋细菌作为海洋生态系统能量流动过程中的

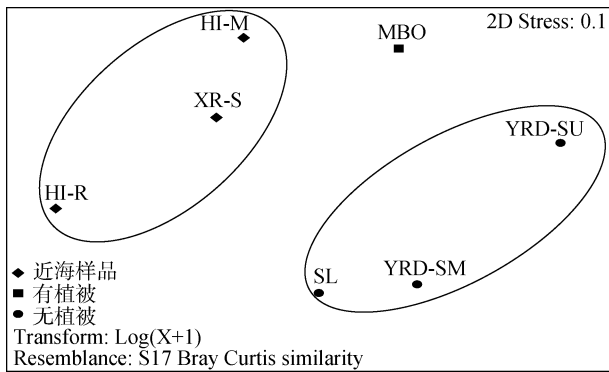


图4 不同生境及近海样品浮游细菌群落 NMDS 分析

Fig. 4 Non-metric multidimensional scaling analysis of bacterioplankton communities among the seven habitats

关键因子,对海洋生态系统的稳定和发展起到重要的作用<sup>[12-14]</sup>。NMDS 排序结果显示,潮间带浮游细菌样品基本分为两大组群,碱蓬区、米草区及海草区的浮游细菌组成相近,石滩、沙滩区与泥潭区的浮游细菌组成相近。已有研究表明细菌群落结构及多样性与有机质的生物可利用性有关<sup>[15-17]</sup>,且微生物量受有机质含量及来源的影响<sup>[18-19]</sup>。而不同种类细菌由于生理生态位具有差异,对各有有机基质的偏好性不同<sup>[20-21]</sup>,因此有机质的含量、来源及类型对细菌多样性及丰富度有重要影响。

### 3.1 植被覆盖区潮间带浮游细菌类群组成分析

已有研究指出黄河三角洲沉积物中正构烷烃以高数烷烃为主,且奇碳优势明显,结合碳稳定同位素含量等指标说明黄河三角洲有机质的成熟度较低,有较强的陆源有机质输入优势,且主要来自于碱蓬等草本植物<sup>[22]</sup>,而米草作为黄河三角洲的入侵植物使黄河三角洲浮游动植物、滩涂昆虫种类明显减少<sup>[23]</sup>,使黄河三角洲有机质来源更加单一。比较而言,天鹅湖中维管类植物、绿藻门等底栖多细胞大型海藻及单细胞浮游藻类的种类与数量较多<sup>[24]</sup>,且海藻、海草床能够为多种海洋动物及附生生物提供食物来源与栖息场所<sup>[25]</sup>,使天鹅湖海草区有机质来源较为多样化。因此相比于碱蓬区与米草区,海草区能够为浮游细菌提供更多的生理生态位,促使更多种类的细菌利用不同类型的有机质;且海草叶分解初始阶段溶出的部分有机物会被细菌吸收利用,从而使得海草叶周围以及附生在叶表面的细菌量增加<sup>[25]</sup>,进而使海草区浮游细菌多样性和丰富度高于碱蓬和米草

区。此外,已有研究发现黄杆菌、 $\gamma$ -变形菌、 $\alpha$ -变形菌能专门对藻类分泌的含碳有机物质进行连续降解<sup>[26]</sup>,而 $\gamma$ -变形菌、黄杆菌、 $\alpha$ -变形菌在天鹅湖海草区比例较高且相差不大,因此,海草区各类型藻类分泌的有机质可能对天鹅湖海草区微生物群落结构组成具有一定影响。

### 3.2 非植被覆盖区潮间带浮游细菌类群组成分析

跟海草区相比,辛安河沙滩区与养马岛泥滩区、岩石区有机质来源较为单一,可能使浮游细菌的丰富度和多样性低于海草区。本次实验中发现辛安河沙滩区与养马岛泥滩区的优势菌群为 $\alpha$ -变形菌,其中以 SAR11 类群的远洋杆菌属所占比例较高,而在养马岛石滩区样品中 $\alpha$ -变形菌的比例较少, $\gamma$ -变形菌为优势菌群,且主要为交替单胞菌科细菌,这可能是因为石滩区内采样点周围分布有小型排污口,周围酒店及生活区污水排放直接影响到采样区域,且养马岛南部水域与牟平港海湾相连,水流流速仅为 4~5 cm/s 左右,受四十里湾海水养殖及鱼鸟河污水排放等多种因素影响,极易造成有机污染物沉积及水体富营养化<sup>[27]</sup>,而有机碳与可溶性的无机、有机氮浓度增加造成的水体富营养化会使交替单胞菌科等微生物丰度有增加趋势<sup>[28]</sup>;因此,石滩区受采样区域内排污以及外部海水的综合影响,使 $\gamma$ -变形菌的比例较高,而养马岛泥滩区,由于采样点周围没有排污口,外部海水影响可能不足以使 $\gamma$ -变形菌大量生长。辛安河河口地区虽然分布有污水处理厂,但采用离岸深海排放,对辛安河沙滩区影响较小,且辛安河河水主要来自高陵水库,水质较好,河口区与污水混合区水质以贫营养和中营养为主<sup>[29]</sup>,而远洋杆菌属细菌能通过自身机制使其利用更多物质去同化成富氮有机物来满足自身需求<sup>[30]</sup>,进而使辛安河沙滩区远洋杆菌属细菌比例较高。

James 等<sup>[31]</sup>研究发现海草植被覆盖与否对潮间带细菌群落结构具有影响,推测部分细菌能够与海草发生相互作用,进而使其细菌丰度及多样性产生影响,此外 Ikenaga 等<sup>[32]</sup>研究佛罗里达近岸湿地、红树林及海草区细菌群落结构时发现细菌主要类群及群落结构组成在不同生境存在差异,虽然本次实验中植被覆盖与未覆盖样品组间细菌群落结构在统计学上的差异并不显著,但植被类型、有机质来源及类型的多样化的确能够促进潮间带浮游细菌类群的多

样化。此外,细菌群落结构及丰度还与溶氧、盐度等环境因子有关<sup>[33-34]</sup>,环境因子的差异可能引起群落结构变化,然而,因为本次调查缺乏相应的环境数据,故不作深入讨论。

### 3.3 近岸海水中浮游细菌类群组成分析

与潮间带样品明显不同的是,烟台近岸海水中浮游细菌的物种丰富度及多样性显著低于潮间带地区,很多研究也证实从海岸带到近海,微生物的丰富度和多样性呈下降趋势,且群落结构发生显著变化<sup>[35-36]</sup>。这可能是由于潮间带地区既有陆源有机、无机物质随地表径流输入,也有自身产生的大量海源物质,这有利于更多生态位的形成<sup>[36]</sup>,从而形成较高的微生物多样性。

此外,本研究发现近海海水样品中蓝细菌门的 GpIIa 类群为优势菌群,这与 Jing 等<sup>[37]</sup>在研究热带和亚北极海洋细菌分布的结果相符。该类群中的原绿球菌和聚球菌主要分布在热带海域表面透光层。烟台夏季海水表层温度较高,光照充足,且蓝细菌 GpIIa 类群具有产氧光合色素  $\alpha$ <sup>[38]</sup>,为光合自养细菌<sup>[39]</sup>,因此夏季适宜该类群细菌的生长。

## 4 结论

本次研究中,不同生境潮间带浮游细菌群落组成、丰富度及多样性存在显著差异,且潮间带样品中的优势菌群与近海样品明显不同,群落多样性显著高于近海样品。碱蓬区、沙滩区、泥滩区的优势菌群为  $\alpha$ -变形菌;米草区和石滩区的优势类群分别为黄杆菌、 $\gamma$ -变形菌;海草区的优势菌群为  $\gamma$ -变形菌,但  $\alpha$ -变形菌、黄杆菌与其比例相近。研究结果为进一步了解潮间带微生物多样性在物质循环过程中的作用提供了科学依据。

#### 参考文献:

- [1] 肖天. 海洋浮游细菌的生态学研究[J]. 地球科学进展, 2001, 1: 60-64.  
Xiao Tian. The study on marine bacterioplankton ecology[J]. Advanced in Earth Science, 2001, 1: 60-64.
- [2] 肖天, 李洪波, 赵三军, 等. 海洋浮游细菌在碳循环中的作用[J]. 海洋科学, 2004, 28(9): 46-49.  
Xiao Tian, Li Hongbo, Zhao Sanjun, et al. The role of marine bacterioplankton in the carbon cycle[J]. Marine Sciences, 2004, 28(9): 46-49.
- [3] Oevelen D, Moodley L, Soetaert K, et al. The trophic significance of bacterial carbon in a marine intertidal sediment: Results of an in situ stable isotope labeling study[J]. Limnology and Oceanography, 2006, 51(5): 2349-2359.
- [4] Wang L, Liu L, Zheng B, et al. Analysis of the bacterial community in the two typical intertidal sediments of Bohai Bay, China by pyrosequencing[J]. Marine pollution bulletin, 2013, 72(1): 181-187.
- [5] 张蕊, 陈一然, 周克, 等. 青岛潮间带趋磁细菌的垂直分布特征及与环境因子的关系[J]. 海洋科学, 2013, 37(10): 24-31.  
Zhang Rui, Chen Yiran, Zhou Ke, et al. Vertical distribution characteristics of magnetotactic bacteria and the relationship with environmental factors in intertidal zone of Qingdao[J]. Marine Sciences, 2013, 37(10): 24-31.
- [6] 李佳霖, 汪光义, 秦松. 秦皇岛近海养殖对潮间带微生物群落多样性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 05: 920-926.  
Li Jialin, Wang Guangyi, Qin Song. Microbial communities of sediments influenced by mariculture from the coast of Qinhuangdao[J]. Ecology and Environment Science, 2011, 05: 920-926.
- [7] 周虹霞, 刘金娥, 钦佩. 外来种互花米草对盐沼土壤微生物多样性的影响——以江苏滨海为例[J]. 生态学报, 2005, 9: 2304-2311.  
Zhou Hongxia, Liu Jine, Qin Pei. Effects of an alien species (*Spartina alterniflora*) on soil microorganism diversity in salt marshes, Jiangsu coastal intertidal ecosystem[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 9: 2304-2311.
- [8] 陈为峰, 史衍玺. 黄河三角洲新生湿地不同植被类型土壤的微生物分布特征[J]. 草地学报, 2010, 6: 859-864.  
Chen Weifeng, Shi Yanxi. Distribution characteristics of microbes in new-born wetlands of the Yellow River Delta[J]. Acta Agrectir Sinica, 2010, 6: 859-864.
- [9] Wright E S, Yilmaz L S, Noguera D R. DECIPHER, a search-based approach to chimera identification for 16S rRNA sequences[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(3): 717-725.
- [10] Cole J R, Wang Q, Fish J A, et al. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis[J]. Nucleic acids research, 2014, 42(Database issue): 633-642.
- [11] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian Classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [12] Azam F, Fenchel T, Field J G, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea[J]. Marine Ecology Progress Series, 1983, 10(3): 257-263.

- [13] Karl D M. Microbial oceanography: paradigms, processes and promise[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(10): 759-769.
- [14] 李洪波, 肖天, 赵三军, 等. 海洋异养浮游细菌参数的测定和估算[J]. *海洋科学*, 2005, 29(2): 58-63.  
Li Hongbo, Xiao Tian, Zhao Sanjun, et al. Measuring and estimating parameters of the heterotrophic bacterioplankton in marine ecosystem[J]. *Marine Sciences*, 2005, 29(2): 58-63.
- [15] Edlund A, Hardeman F, Jansson J K, et al. Active bacterial community structure along vertical redox gradients in Baltic Sea sediment[J]. *Environmental microbiology*, 2008, 10(8): 2051-2063.
- [16] Wilms R, Sass H, Kopke B, et al. Specific bacterial, archaeal, and eukaryotic communities in tidal-flat sediments along a vertical profile of several meters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(4): 2756-2764.
- [17] Luna G M, Corinaldesi C, Rastelli E, et al. Patterns and drivers of bacterial alpha- and beta-diversity across vertical profiles from surface to subsurface sediments[J]. *Environmental microbiology reports*, 2013, 5(5): 731-739.
- [18] 毛海芳, 何江, 吕昌伟, 等. 沉积物中微生物量与有机碳形态的相关性研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 12: 2406-2412.  
Mao Haifang, He Jiang, Lü Changwei, et al. Correlation between microbial biomass and organic carbon forms in the Sediments[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2010, 12: 2406-2412.
- [19] 冯峰, 王辉, 方涛, 等. 东湖沉积物中微生物量与碳、氮、磷的相关性[J]. *中国环境科学*, 2006, 3: 342-345.  
Feng Feng, Wang Hui, Fang Tao, et al. The correlation between microbial biomass and carbon, nitrogen, phosphorus in the sediments of Lake Donghu[J]. *China Environmental Science*, 2006, 3: 342-345.
- [20] Buck U, Grossart H P, Amann R, et al. Substrate incorporation patterns of bacterioplankton populations in stratified and mixed waters of a humic lake[J]. *Environmental microbiology*, 2009, 11(7): 1854-1865.
- [21] Perez M T, Rofner C, Sommaruga R. Dissolved organic monomer partitioning among bacterial groups in two oligotrophic lakes[J]. *Environmental microbiology reports*, 2015, 7(2): 265-272.
- [22] 姚鹏, 尹红珍, 姚庆祯, 等. 应用多参数示踪方法研究黄河口湿地土壤有机质来源和分布[J]. *地球科学进展*, 2012, (S1): 445-447.  
Yao Peng, Yin Hongzhen, Yao Qinzhen, et al. The application of multi-parameter tracing method to investigate sources and distribution of soil organic matter in the Yellow River estuary [J]. *Advanced in Earth Science*, 2012, (S1): 445-447.
- [23] 朱士文, 潘秀莲, 李秀启, 等. 外来物种米草对黄河三角洲生态环境的影响[J]. *山东农业科学*, 2012, 3: 73-75.  
Zhu Shiwen, Pan Xiulian, Li Xiuqi, et al. Effects of exotic species *spartina anglica* on ecological environment of the Yellow River Delta[J]. *Shandong Agriculture Science*, 2012, 3: 73-75.
- [24] 张绪良, 谷东起, 叶思源, 等. 荣成大天鹅自然保护区泻湖湿地植物区系[J]. *生态学杂志*, 2009, 6: 1073-1080.  
Zhang Xuliang, Gu Dongqi, Ye Siyuan, et al. Lagoonal wetland flora in whooper swan(*Cygnus cygnus*) nature reserve in Rong Cheng of Shandong[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 6: 1073-1080.
- [25] 李文涛, 张秀梅. 海草场的生态功能[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2009, 5: 933-939.  
Li Wentao, Zhang Xiumei. The Ecological Functions of Seagrass Meadows[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2009, 5: 933-939.
- [26] Teeling H, Fuchs B M, Becher D, et al. Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom[J]. *Science*, 2012, 336(6081): 608-611.
- [27] 高昊东, 邓忠伟, 孙万龙, 等. 烟台四十里湾赤潮发生与生态环境污染研究[J]. *中国环境监测*, 2011, 2: 50-55, 101.  
Gao Haodong, Deng Zhongwei, Sun Wanlong, et al. Study on the Relationship between Ecological Environmental Pollution and Red Tide Occurring in Sishili Bay, Yantai[J]. *Environmental Monitoring In China*, 2011, 2: 50-55, 101.
- [28] Fodelianakis S, Papageorgiou N, Pitta P, et al. The Pattern of Change in the abundances of specific bacterioplankton groups is consistent across different nutrient-enriched habitats in Crete[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(13): 3784-3792.
- [29] Smith D P, Thrash J C, Nicora C D, et al. Proteomic and transcriptomic analyses of "Candidatus Pelagibacter ubique" describe the first PII-independent response to nitrogen limitation in a free-living Alphaproteobacterium[J]. *mBio*, 2013, 4(6): e00133-12.
- [30] 马兆虎, 王磊, 王东亮, 等. 烟台市辛安河口邻近海域水质评价及分析[J]. *鲁东大学学报(自然科学版)*, 2012, 4: 364-369.  
Ma ZhaoHu, Wang Lei, Wang Dongliang, et al. Evaluation and analysis on the quality of the sea water Adjacent to the Yantai Xin an River Estuary[J]. *Ludong University Journal (Natural Science Edition)*, 2012, 4: 364-369.
- [31] James J B, Sherman T D, Devereux R. Analysis of bac-



- terial communities in seagrass bed sediments by double-gradient denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rRNA genes[J]. *Microbial ecology*, 2006, 52(4): 655-661.
- [32] Ikenaga M, Guevara R, Dean A L, et al. Changes in community structure of sediment bacteria along the Florida coastal everglades marsh-mangrove-seagrass salinity gradient[J]. *Microbial ecology*, 2010, 59(2): 284-295.
- [33] Zheng B, Wang L, Liu L. Bacterial community structure and its regulating factors in the intertidal sediment along the Liaodong Bay of Bohai Sea, China[J]. *Microbiological research*, 2014, 169(7-8): 585-592.
- [34] 卢龙飞, 汪岷, 梁彦韬, 等. 东海、黄海浮游病毒及异养细菌的分布研究[J]. *海洋与湖沼*, 2013, 5: 1339-1346.
- Lu Longfei, Wang Min, Liang Yandao, et al. Distribution of Virioplankton, Heterotrophic Bacteria in, The Yellow Sea And East China Sea[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 5: 1339-1346.
- [35] Pommier T, Neal P R, Gasol J M, et al. Spatial patterns of bacterial richness and evenness in the NW Mediterranean Sea explored by pyrosequencing of the 16S rRNA[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2010, 61(3): 221-233.
- [36] Quero G M, Luna G M. Diversity of rare and abundant bacteria in surface waters of the Southern Adriatic Sea[J]. *Mar Genomics*, 2014, 17: 9-15.
- [37] Jing H M, Xia X M, Suzuki K, et al. Vertical Profiles of Bacteria in the Tropical and Subarctic Oceans Revealed by Pyrosequencing[J]. *PloS one* 2013, 8(11).
- [38] Matyugina E, Belkova N. Phylogenetic Diversity of Microorganisms from Chemocline of the Meromictic Soda Lake Doroninskoe (Zabaikalie, Russia) [J]. *Acta Geologica Sinica-English Edition*, 2014, 88: 153-154.
- [39] Manzari C, Fosso B, Marzano M, et al. The influence of invasive jellyfish blooms on the aquatic microbiome in a coastal lagoon (Varano, SE Italy) detected by an Illumina-based deep sequencing strategy[J]. *Biological Invasions*, 2014, 17(3): 923-940.

## Bacterioplankton diversity in different littoral habitats along the coast of the northern Shandong peninsula

WANG En-hui<sup>1, 2</sup>, ZHANG Xiao-li<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1, 2</sup>, GONG Jun<sup>1</sup>, LIU Dong-yan<sup>1</sup>, WANG Yu-jue<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Received:** Sep. 11, 2015

**Key words:** littoral habitats; bacterioplankton; diversity; rDNA

**Abstract:** The community structure and diversity of bacterioplankton from different littoral habitats around the Shandong Peninsula were investigated by constructing 16S rDNA clone libraries. To visualize the differences in the community structure among habitats, non-metric multidimensional scaling (NMDS) was conducted on the basis of a Bray-Curtis similarity matrix. Analysis of similarity (ANOSIM) was performed to test for statistically significant differences. There was a significant difference between samples from littoral zones and coastal waters. In comparison, bacterioplankton samples in littoral zones displayed higher abundance and diversity, particularly in seagrass areas. Proteobacteria dominated in the muddy flat, rocky, and sandy habitats of Yantai; wetlands inhabited by *Suaeda* in the Yellow River Delta; and wetlands with seagrass in Swan Lake. Bacteroidetes was the most abundant in wetlands inhabited by *Sparina* in the Yellow River Delta. The results suggest that seasonal variation, the type of vegetation, and the source of organic matter may be key factors regulating the bacterioplankton community structure in different littoral and coastal habitats.

(本文编辑: 康亦兼)