

DOI :10.3876/j.issn.1000-1980.2011.04.002

# 夏季湖泊表层沉积物的理化性质与微生物多样性

高慧琴,刘 凌,方泽建

(河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室,江苏 南京 210098)

**摘要:**为揭示夏季湖泊表层沉积物理化性质和微生物多样性及二者之间的关系,运用化学方法和 PCR-DGGE 技术测定里下河地区湖群夏季表层沉积物理化性质(pH 值、Eh 以及 TOC、TP、TN、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$  的质量分数( $w$ ))和微生物多样性,并用 Statistica 和 Canoco 软件分析它们之间的关系.结果表明:表层沉积物 pH 值呈中性偏弱酸性或弱碱性,除少数采样点外,Eh 均处于轻度还原状态; $u(\text{TOC})$ 、 $u(\text{TP})$ 、 $u(\text{TN})$ 、 $u(\text{NH}_3\text{-N})$ 和  $u(\text{NO}_3\text{-N})$  的分布呈现一定的空间差异性;各湖泊微生物多样性也有差异,形成了自己特定生态位的群落结构.Spearman 相关分析表明, $u(\text{TOC})$ 和  $u(\text{TN})$ 显著正相关,但微生物群落多样性指标与各理化指标之间均不存在显著相关性;CCA 分析结果显示,TOC 和 TP 是影响微生物群落结构的主要环境因子.

**关键词:**湖泊;表层沉积物;微生物多样性;PCR-DGGE 技术;理化性质

**中图分类号:** X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1980(2011)04-0361-06

湖泊沉积物是氮磷等营养元素的附着场所,也是各种微生物的栖息地.沉积物中的碳循环、氮循环、磷循环和硫循环等地球化学过程影响或者决定着微生物群落的种类及其多样性,而微生物对水生生态系统中物质的降解、转化以及能量流动起着关键的控制作用<sup>[1-3]</sup>,积极参与营养元素循环及湖泊进化演替过程.但是,湖底沉积物和表层沉积物中的微生物在数量和种类上均有差别.据报道,沉积物中微生物总数和活性细菌数目通常在表层最高,并在垂向分布上随深度的增加而逐渐降低<sup>[4-5]</sup>.表层沉积物是湖泊生态系统中微生物聚居和生源物质赋存的主要介质,因此研究湖泊表层沉积物微生物多样性并揭示其与各理化性质之间的关系,对了解水生生态系统中生源物质循环及能量流动有重要意义.

大量研究<sup>[6-7]</sup>表明,自然界 85%~99% 的微生物不可被培养,采用传统的纯培养分离方法难以获得微生物群落多样性的全部信息.而 PCR-DGGE(poly-merase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis)技术从基因水平揭示微生物群落的遗传多样性,克服了传统培养技术的局限性.自 Muzyer 等<sup>[8]</sup>将 PCR-DGGE 技术应用于微生物生态学研究以来,该技术已被广泛应用于活性污泥、土壤和海洋等环境中微生物多样性的研究<sup>[9-11]</sup>,且其在湖泊水体及沉积物微生物研究方面的报道也日渐增多<sup>[12-13]</sup>.本文分析了夏季湖泊表层沉积物的理化性质和微生物多样性的空间分布特征以及二者的相互作用和影响.

## 1 样品的采集与预处理

本研究以江苏省淮河中下游的里下河地区湖群为对象,为全面揭示研究区的理化性质和微生物多样性,选择里下河地区较典型的九龙口、大纵湖、乌巾荡、蜈蚣湖和得胜湖 5 个大小各异的湖泊作为重点研究区域进行采样.样品采集于 2009 年 7 月 29—30 日进行,各采样点位于北纬 119°35′44″~119°56′30″,东经 32°57′01″~33°23′54″范围内,分别布设于各湖泊的入湖口、湖心区、沿岸带和湖荡区等不同位置.现场用中国科学院南京地理与湖泊研究所的沉积物-上覆水柱状样品采样器(采样管长 1 m,内径 62 mm,材料为有机玻璃)在每个采样点各采集一根柱状样,取 0~5 cm 的沉积物作为表层沉积物样品,采集到的样品立即置于冰箱中(温度

收稿日期:2010-08-10

基金项目:国家自然科学基金(50879018);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07101-006-07);水文水资源与水利工程科学国家重点实验室专项(1069-50987112);江苏省青蓝工程(2008 年度)

作者简介:高慧琴(1987—),女,江西兴国人,硕士研究生,主要从事水环境演变规律与保护研究.E-mail:ghuiqin87@163.com

设置为-20℃)保存,之后运回河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室进行理化指标的测定和微生物实验分析.

## 2 实验仪器和方法

实验过程中用到的仪器主要有:DHZ-DA 型恒温调速振荡器(太仓实验仪器公司),涡旋仪,TGL-16B 台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂),KT-30S 高压灭菌锅(日本),水浴锅,DW-HL388 超低温冰箱(中科美菱低温科技有限责任公司),Rotor Gene 6000 PCR 扩增仪(美国),琼脂糖凝胶电泳设备(电泳槽及核酸电泳仪),变性凝胶梯度电泳仪(美国 Bio-rad),Chemi Doc XRS TOTAL 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad).

### 2.1 理化指标的测定

Eh 和 pH 值采用美国哈希公司生产的 HACH-sension156 便携式多参数测定仪进行测量, $u(\text{TP})$ 、 $u(\text{TN})$ 、 $u(\text{NH}_3\text{-N})$ 、 $u(\text{NO}_3\text{-N})$ 和  $u(\text{TOC})$ 采用文献[14]中的方法进行测量分析.

### 2.2 DNA 的提取

DNA 的提取方法参考文献[15],提取的沉积物样品的基因组 DNA 粗提液立即采用上海生工的玻璃珠 DNA 胶回收试剂盒(产品号 SK1131)进行纯化.

### 2.3 DNA 的 PCR 扩增

a. 以纯化后的基因组 DNA 作为聚合酶链式反应的模板,使用 PCR 扩增仪对 16S rDNA 基因 V3 区进行扩增.引物设计参考文献[8],上游引物为 F341(5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3'),下游引物为 R534(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3'),GC 发卡结构(5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GAC CGG GGG -3'),目的条带长度约为 230 bp.

b. PCR 反应采用 50  $\mu\text{L}$  体系,反应条件采用 touchdown 降落 PCR 策略,具体设置参考文献[16],PCR 反应的产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测.

### 2.4 PCR 产物的变性梯度凝胶电泳

制备变性剂梯度从 35%到 65%的聚丙烯酰胺凝胶<sup>[17]</sup>,将纯化的 PCR 产物与上样缓冲液按照 4:1 混合,加入到凝胶的加样孔中,在 60V 的恒定电压、60℃恒温条件下电泳 16h.电泳完毕后,使用 SYBR Green I 将凝胶染色 30 min,使用 Bio-Rad 公司 Chemi Doc XRS TOTAL 的凝胶成像系统进行观察、拍照.

## 3 结果与讨论

### 3.1 理化性质

实验测得的各采样点表层沉积物的理化指标如表 1 所示.pH 值是研究湖泊环境的一个重要指标,它影响沉积物中化合物的形成或分解的化学平衡,影响氮磷等营养元素的迁移和富集.表 1 显示,各采样点 pH 呈中性偏弱酸性或弱碱性,反映出夏季湖区表层沉积物中有机质含量高,微生物活动分解有机质,释放出的  $\text{CO}_2$  和有机酸使 pH 显弱酸性.其中大纵湖、得胜湖和乌巾荡 3 个湖泊的 pH 显弱碱性,这主要是因为大纵湖采样点区域与大纵湖主体水域有较强的水力联系,有机质降解所产生的酸受到稀释,而得胜湖水生植物稀少,湖水偏碱性,乌巾荡的 pH 值则更多受周围生活污水排入的影响.

Eh 反映了湖泊沉积物的氧化还原状态,对化合物的形成或分解能发挥重要作用.其影响因素主要有湖水中溶解氧对沉积物的复氧作用、pH 值、有机质含量及其分解过程中微生物的耗氧量<sup>[18]</sup>.除 WG2 和 DS2 采样

表 1 采样点沉积物理化性质

| Table 1 Physicochemical properties of deposit at sampling points |      |       |                                                |                                               |                                               |                                                          |                                                          |
|------------------------------------------------------------------|------|-------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 采样点                                                              | pH 值 | Eh/mV | $u(\text{TOC})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ | $u(\text{TP})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ | $u(\text{TN})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ | $u(\text{NH}_3\text{-N})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ | $u(\text{NO}_3\text{-N})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ |
| JLK1                                                             | 7.17 | -65   | 62 890                                         | 0.47                                          | 2 066.47                                      | 47.33                                                    | 141.66                                                   |
| JLK2                                                             | 6.99 | -18   | 87 570                                         | 0.65                                          | 3 735.81                                      | 88.85                                                    | 427.22                                                   |
| JLK3                                                             | 6.92 | -106  | 97 140                                         | 0.31                                          | 2 364.51                                      | 46.07                                                    | 389.67                                                   |
| JLK4                                                             | 6.95 | -94   | 29 830                                         | 0.66                                          | 1 481.76                                      | 76.98                                                    | 16.27                                                    |
| DZ1                                                              | 7.34 | -68   | 31 340                                         | 0.44                                          | 1 304.08                                      | 50.58                                                    | 93.34                                                    |
| DZ2                                                              | 7.17 | -81   | 55 730                                         | 0.54                                          | 1 711.60                                      | 47.47                                                    | 10.61                                                    |
| WG1                                                              | 6.96 | -97   | 57 140                                         | 1.08                                          | 1 728.72                                      | 92.61                                                    | 114.75                                                   |
| WG2                                                              | 7.58 | 56    | 24 230                                         | 0.80                                          | 872.12                                        | 73.02                                                    | 62.04                                                    |
| DS1                                                              | 7.16 | -63   | 17 250                                         | 0.82                                          | 653.80                                        | 70.27                                                    | 160.10                                                   |
| DS2                                                              | 7.98 | 98    | 6 070                                          | 0.47                                          | 357.56                                        | 35.35                                                    | 41.73                                                    |
| WJ1                                                              | 7.35 | -63   | 8 420                                          | 0.53                                          | 454.51                                        | 50.08                                                    | 31.98                                                    |
| WJ2                                                              | 7.43 | -80   | 18 640                                         | 0.70                                          | 895.69                                        | 61.60                                                    | 193.42                                                   |

点外,所有采样点均处于轻度还原状态.其原因主要是这几个湖区除得胜湖外均有鱼或者螃蟹养殖区,湖泊表层沉积物有机质丰富,它们分解需要消耗大量的氧.虽然上覆水体对沉积物有复氧作用,但是在浅层池塘和湖泊中,厌氧光合自养细菌和进行厌氧呼吸的细菌是表层沉积物中的主要微生物,夏季微生物活性高,因此该层有着活性极高的缺氧降解和反硝化等微生物作用,使  $E_h$  显示还原状态.

TOC( total organic carbon )以碳的数量表示沉积物中有机物的总量,能较全面地反映湖泊受有机物污染的程度<sup>[19]</sup>,其来源主要有水体自养生物的合成和陆源的输入.总体看来,不同湖泊的  $u(\text{TOC})$  有差异,同一湖区不同采样点的  $u(\text{TOC})$  也不相同.九龙口的  $u(\text{TOC})$  比其他几个湖泊高,这是因为九龙口是原始湖荡型湿地,淡水水生动植物资源丰富,表层沉积物含有大量水生植物残体、动物粪便以及其他外源输入的有机质.有机物被厌氧分解将导致氧化还原电位的降低,因此  $u(\text{TOC})$  最高( 97 140 mg/kg )的 JLK3 采样点所对应的  $E_h$  也最小( - 106 mV ).

磷是湖泊污染的主要限制性营养元素,沉积物是水体中磷的主要贮存场所.影响沉积物磷含量及其释放的因素很多,其中 pH 值对磷的释放呈 U 形影响<sup>[20]</sup>, $E_h$  在氧化状态抑制磷的释放,还原状态促进磷的释放;微生物对磷的影响主要表现在通过微生物活动改变沉积物环境的 pH 值和  $E_h$ ,结合各种物化因素综合作用使沉积物中的磷经过分解、吸附、解吸、扩散和沉淀等过程发生迁移转化并在表层富集<sup>[21]</sup>.由表 1 可以看出,不同采样点  $u(\text{TP})$  各异,蜈蚣湖的  $u(\text{TP})$  最高,达到 1.08 mg/kg,而大纵湖的  $u(\text{TP})$  相对而言低于其他湖泊,这种空间差异源于各湖泊对 TP 起主要影响的因素不同.蜈蚣湖护坡植被较少,周围农业用地所施的磷肥易随护坡土壤被雨水冲刷入湖,加之生活污水和周围工业企业的生产废水通过管道直排入湖,使得蜈蚣湖的外源磷输入量比较高.而大纵湖虽然外源输入情况与蜈蚣湖类似,但由于其与外界有较强的水力联系,加快了污染物质的迁移和稀释,且湖内水生植物丰富,维管束植物多,夏季水生植物生长需要大量吸收沉积物中的磷.

沉积物中氮含量反映了湖泊的营养状况和污染程度,实验测得的各采样点沉积物中  $u(\text{TN})$ ,  $u(\text{NH}_3\text{-N})$  和  $u(\text{NO}_3\text{-N})$  的空间分布态势相似,且沉积物中氮含量从大到小的湖泊顺序依次为九龙口、蜈蚣湖、大纵湖、得胜湖和乌巾荡.厌氧条件下,微生物作用会使氮发生反硝化和厌氧氨氧化过程而转化为气态形式释放出水体<sup>[22]</sup>.乌巾荡属于养殖区,水体完全封闭, $E_h$  处于还原状态,微生物以反硝化细菌和氨氧化细菌为主,使氮的反硝化和厌氧氨氧化作用较强,从而沉积物中氮含量最低.而九龙口采样点区域与主体水域有较强的水力联系,氮不易发生反硝化和厌氧氨氧化作用,从而沉积物中氮含量较高.

3.2 沉积物中微生物群落的 16S rDNA 的 DGGE 结果

对沉积物样品进行 DNA 提取、纯化,经 PCR 进行扩增后得到长约 230 bp 的 DNA 片段,对扩增产物进行变性梯度凝胶电泳,分离出数目不等、位置各异电泳条带,从而鉴别不同湖区样品中微生物群落结构的差异和生物多样性.DGGE 结果如图 1 所示(从左到右依次为 JLK4, JLK3, JLK2, JLK1, WJ2, WJ1, WG2, WG1, DS2, DS1, DZ2 和 DZ1 采样点).

DGGE 能分离长度相同而序列不同的 DNA,每一个条带大致与群落中的一个优势菌群或操作分类单位( operational taxonomic unit, OTU )相对应,条带数目表示生物多样性,条带的荧光强度则反映某一细菌群落的丰富度.条带越多,表示微生物多样性越丰富;条带信号灰度越强,表示该种属的数量越多<sup>[23-25]</sup>.从图 1 可以看出,九龙口湖区各采样点的条带数目最多,有 20 多种优势菌群,特征条带的灰度较强,而乌巾荡和蜈蚣湖的条带比较少,只有 10 多种优势菌群.不同湖泊之间既有共同条带,也有各自的特征条带,条带位置和数量差异均比较大,而同一湖泊不同采样点之间条带的相似度较高,说明各湖泊形成了自己特定生态位的微生物群落结构.应用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱进行相似性分析,得到如表 2 所示的相似矩阵.用 Dice coefficient(  $C_s$  )量化表征 DGGE 图谱中不同样品之间相似程度,  $C_s$  值越大表明相似性越高<sup>[26]</sup>.总体看来,同一湖泊不同采样点间  $C_s$  较大,如 WJ1 和 WJ2 的  $C_s$  值达到 76.7%, WG1 和 WG2 的  $C_s$  值达到 72.1%.但不同湖泊有的采样点间相似性也较高,如 JLK1 和 DZ1 的  $C_s$  值甚至达到 79.2%,在所有采样点中相似程度最高,这可能是因为这 2 个采样点处对微生物群落影响较大的理化性质相似,导致它们的微生物群落结构很相似.

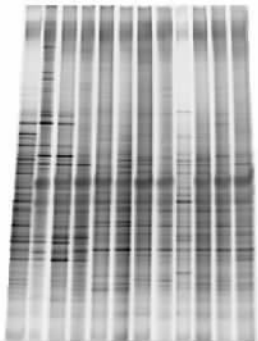


图 1 沉积物样品 DGGE 图谱  
Fig. 1 DGGE fingerprints of deposit samples

表 2 DGGE 图谱的相似性分析结果

| Table 2 Dice coefficient( $C_s$ ) analysis comparing the similarities of DGGE fingerprints |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | %   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| 采样点                                                                                        | JLK4 | JLK3 | JLK2 | JLK1 | WJ2  | WJ1  | WG2  | WG1  | DS2  | DS1  | DZ2  | DZ1 |
| JLK4                                                                                       | 100  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| JLK3                                                                                       | 42.4 | 100  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| JLK2                                                                                       | 67.2 | 58.4 | 100  |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| JLK1                                                                                       | 42.1 | 52.5 | 64.3 | 100  |      |      |      |      |      |      |      |     |
| WJ2                                                                                        | 44.9 | 25.9 | 45.4 | 43.7 | 100  |      |      |      |      |      |      |     |
| WJ1                                                                                        | 49.5 | 28.1 | 47.4 | 40.3 | 76.7 | 100  |      |      |      |      |      |     |
| WG2                                                                                        | 37.5 | 56.1 | 50.2 | 61.1 | 38.5 | 43.7 | 100  |      |      |      |      |     |
| WG1                                                                                        | 32.7 | 48.7 | 48   | 54.9 | 35.3 | 34.6 | 72.1 | 100  |      |      |      |     |
| DS2                                                                                        | 70.4 | 31.2 | 63.6 | 52   | 55.1 | 55.8 | 40.3 | 38.5 | 100  |      |      |     |
| DS1                                                                                        | 39.9 | 49.2 | 55.2 | 63.4 | 38   | 42.9 | 71   | 72.1 | 47   | 100  |      |     |
| DZ2                                                                                        | 48.6 | 51.4 | 62   | 64.1 | 43.1 | 39.3 | 69.9 | 67.7 | 50.7 | 63.3 | 100  |     |
| DZ1                                                                                        | 45   | 55.5 | 62.5 | 79.2 | 40.6 | 40.2 | 65.3 | 68   | 56.8 | 75.7 | 65.6 | 100 |

DGGE 图谱中条带的丰富度虽然能简要表达沉积物微生物群落的多样性,但它不能反映群落相对多度的信息. Shannon-Weiner 指数是表征群落物种数及其个体数和分布均匀程度的综合指标<sup>[27-28]</sup>,其大小取决于条带的数目、灰度强弱以及分布状况. 本研究各采样点沉积物微生物群落的 Shannon-Weiner (S-W) 指数分别为(依次对应 JLK4 ,JLK3 ,JLK2 ,JLK1 ,WJ2 ,WJ1 ,WG2 ,WG1 ,DS2 ,DS1 ,DZ2 ,DZ1 采样点):2.153 ,2.06 ,1.749 ,1.43 ,1.669 ,1.235 ,1.307 ,1.243 ,1.694 ,1.812 ,1.422 和 1.793. 可见 S-W 指数显示出一定的空间差异性,与 DGGE 图谱上条带数目分布基本一致. 九龙口 4 个采样点的 S-W 指数比较接近且较高,反映出这个湖泊微生物群落多样性比较丰富. 蜈蚣湖和得胜湖 2 个采样点的 S-W 指数差别也不大,说明这 2 个湖不同位置的微生物群落多样性接近. 而乌巾荡和大纵湖 2 个采样点的 S-W 指数差别较大,但在前面的相似性分析中乌巾荡 2 个采样点的相似系数  $C_s$  达到 76.7%,这说明虽然这 2 个采样点微生物群落多样性差别较大,但是占据优势生态位的微生物种群较接近,所以相似性仍然较高.

3.3 相关性

为揭示湖泊沉积物理化性质与微生物群落结构之间的相互关系,应用 Statistica 7 软件对各理化指标和 S-W 指数进行 Spearman 相关分析,发现  $u(\text{TOC})$  和  $u(\text{TN})$  相关系数达到 0.92. 此外 pH 值与 Eh ,pH 值与  $u(\text{TOC})$  , $u(\text{TP})$  与  $u(\text{NH}_3\text{-N})$  , $u(\text{TP})$  与  $u(\text{NO}_3\text{-N})$  , $u(\text{TN})$  与  $u(\text{NO}_3\text{-N})$  , $u(\text{TOC})$  与  $u(\text{NO}_3\text{-N})$  也呈显著相关性. 这说明在各湖泊各自形成的生态系统内,各理化性质之间相互影响. 但是,由于不同湖泊生境的空间差异性,S-W 指数与各理化指标之间均不存在显著相关性,这与赵兴青等<sup>[29]</sup>的研究结果一致.

进一步,用 Canoco 软件探求影响湖泊底泥中微生物群落结构组成的主要环境因子. 先对微生物数据进行趋势对应分析(DCA),发现微生物对理化性质的响应是单峰型的,故适合用典范对应分析(CCA)来分析微生物群落与环境变量间的关系. 采用蒙特卡罗置换检验(置换次数为 499)对理化因子进行预选. CCA 分析得到如图 2 所示的双标图. 由图 2 可知: $u(\text{TOC})$  和  $u(\text{TP})$  对微生物群落的影响达到显著性水平( $P < 0.05$ ),pH 值,Eh , $u(\text{TN})$  , $u(\text{NO}_3\text{-N})$  和  $u(\text{NH}_3\text{-N})$  对微生物群落的影响并不显著( $P > 0.05$ ). 即在所考虑的环境因子中,TOC 和 TP 对微生物群落结构影响最大,反映了夏季湖泊表层沉积物中磷的生物有效性高,这与彭杜等<sup>[30]</sup>的玄武湖沉积物生物有效性研究结果类似.

4 结 论

a. 由于各湖泊的利用类型、周边环境情况、水体交换情况等差异,各湖泊理化性质呈现出一定的空间

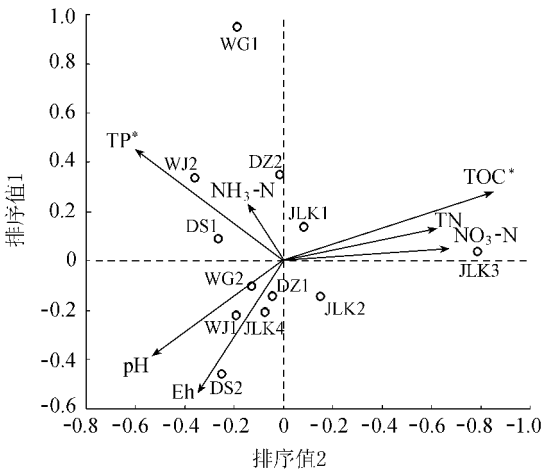


图 2 微生物群落与环境变量 CCA 双标图  
Fig. 2 CCA biplot of microbial community and environmental variables

差异性,同一湖泊各采样点也不尽相同,但是所选湖泊均属于里下河地区湖群,所以理化指标的差异不会太大。总体看来, $u(\text{TOC})$ 和 $u(\text{TN})$ 的空间分布差异性比其他指标大。

b. 表层沉积物微生物群落多样性也显示了明显的空间差异性,同一湖泊不同采样点间的微生物多样性差别也很大,反映了不同湖泊生境的空间差异性,微生物的分布和群落结构组成受环境理化性质的影响。

c. Spearman 相关分析表明, $u(\text{TOC})$ 和 $u(\text{TN})$ 显著正相关,但微生物多样性指数与各理化指标之间相关性不显著。CCA 结果显示,在所考虑的环境因子中,TOC 和 TP 对微生物群落结构影响最大。

## 参考文献:

- [1] NIXDORF B, JANDER B. Bacterial activities in shallow lakes: a comparison between extremely acidic and alkaline eutrophic hard water lakes[J]. *Hydrobiologia*, 2003, 1/2/3: 697-705.
- [2] DEMING J D, BAROSS J A. The early diagenesis of organic matter: bacterial activity[M]//EENEL M, MACKO S. *Organic Chemistry*. New York: Plenum Press, 1993: 119-144.
- [3] BLACKBURN T H. Microbial food webs in sediments[M]//SLEIGH M A. *Microbes in the sea*. New York: John Wiley & Sons, 1987: 355-359.
- [4] MERMILOD-BLONDIN F, NOGARO G, DALLY T. Do tubificid worms influence the fate of organic matter and pollutants in streamwater sediments[J]. *Environment Pollution*, 2005, 134: 57-69.
- [5] KOIZUMI Y, KOJIMA H, FUKUI M. Characterization of depth-related microbial community structure in lake sediment by denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S rDNA and reversely transcribed 16S rRNA fragments[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 46(2): 125-136.
- [6] 李怀, 关卫省, 欧阳二明, 等. DGGE 技术及其在环境微生物中的应用[J]. *环境科学与管理*, 2008, 33(10): 93-99. (LI Huai, GUAN Wei-sheng, OUYANG Er-ming, et al. DGGE (denatured gradient gel electrophoresis) and its application in the research of environmental microbiology[J]. *Environmental Science and Management*, 2008, 33(10): 93-99. (in Chinese))
- [7] 梁英娟, 罗湘南, 付红霞. PCR-DGGE 技术在微生物生态学中的应用[J]. *生物学杂志*, 2007, 24(6): 58-60. (LIANG Ying-juan, LUO Xiang-nan, FU Hong-xia. Application of PCR-DGGE in microbial ecology[J]. *Journal of Biology*, 2007, 24(6): 58-60. (in Chinese))
- [8] MUYZER G, DE WAAL E C, UITTERLINDEN A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(3): 695-700.
- [9] ROWAN A K, SNAPE J R, FEAMSIDE D, et al. Composition and diversity of ammonia-oxidising bacterial communities in wastewater treatment reactors of different design treating identical wastewater[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2003, 43(2): 195-206.
- [10] WANG Guang-hua, JIN Jian, LIU Jun-jie. Bacterial community structure in a mollisol under long-term natural restoration, cropping, and bare fallow history estimated by PCR-DGGE[J]. *Soil Science Society of China*, 2009, 19(2): 156-165.
- [11] DIEZ B, MARSH T L. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine pieoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(1): 2942-2951.
- [12] 赵兴青, 杨柳燕, 尹大强, 等. 不同空间位点沉积物理化性质与微生物多样性垂向分布规律[J]. *环境科学*, 2008, 29(12): 3537-3545. (ZHAO Xing-qing, YANG Liu-yan, YIN Da-qiang, et al. Vertical distribution of physicochemical characteristics and the microbial diversity in different spatial sediments samples in Lake Taihu[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(12): 3537-3545. (in Chinese))
- [13] 向少能, 陈琳, 何晓丽, 等. 水体微生物多样性 PCR-DGGE 分析方法的比较研究[J]. *重庆工学院学报: 自然科学版*, 2007, 21(7): 74-78, 97. (XIANG Shao-neng, CHEN Lin, HE Xiao-li, et al. Comparative study on PCR-DGGE analyzing methods for water body microbial diversity[J]. *Journal of Chongqing Institute of Technology: Natural Science Edition*, 2007, 21(7): 74-78, 97. (in Chinese))
- [14] 中国土壤学会. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [15] ZHOU J, MARY B, JAMES M T. DNA recovery from soils of diverse composition[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(2): 316-322.
- [16] ERIK J, VAN H, GABRIEL Z, et al. Changes in bacterial and eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with virus[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(2): 795-801.
- [17] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. *Molecular cloning: a laboratory manual*[M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002.
- [18] 齐红艳, 范德江, 徐琳, 等. 长江口及邻近海域表层沉积物 pH、Eh 分布及制约因素[J]. *沉积学报*, 2008, 26(5): 820-827. (QI Hong-yan, FAN De-jiang, XU Lin, et al. The states of pH, Eh in surface sediments of the Yangtze River Estuary and its adjacent areas and their controlling factors[J]. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2008, 26(5): 820-827. (in Chinese))
- [19] 奚旦立, 孙裕生, 刘秀英. 环境监测[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 48-118.

- [20] 金相灿,王圣瑞,庞燕.太湖沉积物磷形态及 pH 值对磷释放的影响[J].中国环境科学,2004,24(6):707-711.(JIN Xiang-can,WANG Sheng-rui,PANG Yan.The influence of phosphorus forms and pH on release of phosphorus from sediments in Taihu Lake[J].China Environmental Science,2004,24(6):707-711.(in Chinese))
- [21] 詹忠,杨柳燕,宋伟,等.微生物对太湖沉积物总磷分布影响研究[J].河南科学,2007,25(5):839-841.(ZHAN Zhong,YANG Liu-yan,SONG Wei,et al.The influence of microorganisms on the total phosphorus of sediments from Lake Taihu[J].Henan Science,2007,25(5):839-841.(in Chinese))
- [22] 魏全源.微生物对水库沉积物氮释放的影响研究[D].西安:西安建筑科技大学,2009.
- [23] URAKAWA H,YOSHIDA T,NISHIMURA M,et al.Characterization of depth-related population variation in microbial communities of a coastal marine sediment using 16S rDNA-based approaches and quinone profiling[J].Environ Microbiol,2000,2(5):542-554.
- [24] MAKOTO I,RAFAEL G,AMANDA L,et al.Changes in community structure of sediment bacteria along the Florida Coastal Everglades marsh—mangrove—seagrass salinity gradient[J].Environmental Microbiology,2010,59:284-295.
- [25] 罗海峰,齐鸿雁,薛凯,等.PCR-DGGE 技术在农田土壤微生物多样性研究中的应用[J].生态学报,2003,23(8):1570-1575.(LUO Hai-feng,QI Hong-yan,XUE Kai,et al.A preliminary application of PCR-DGGE to study microbial diversity in soil[J].Acta Ecologica Sinica,2003,23(8):1570-1575.(in Chinese))
- [26] 任艳红,徐向阳,唐全.降解五氯酚厌氧生物反应器微生物种群结构的分子特性研究[J].环境科学学报,2005,25(2):214-219.(REN Yan-hong,XU Xiang-yang,TANG Quan.Molecular characterization of microbial populations in anaerobic PCP-degrading bioreactor[J].Acta Scientiae Circumstantiae,2005,25(2):214-219.(in Chinese))
- [27] 殷峻,陈英旭,刘和,等.应用 PCR-DGGE 技术研究处理含氮废气的生物滤塔中微生物多样性[J].环境科学,2004,25(6):11-15.(YIN Jun,CHEN Ying-xu,LIU He,et al.Preliminary application of PCR-DGGE to analyzing microbial diversity in biofilters treating air loaded with ammonia[J].Environmental Science,2004,25(6):11-15.(in Chinese))
- [28] 潘雪莲,黄晟,方昊,等.黄土高原土壤中细菌群落结构多样性的 PCR-DGGE 分析[J].生态与农村环境学报,2009,25(3):39-43,48.(PAN Xue-lian,HUANG Sheng,FANG Hao,et al.Diversity of bacterial community structure in soils of Loess Plateau[J].Journal of Ecology and Rural Environment,2009,25(3):39-43,48.(in Chinese))
- [29] 赵兴青,杨柳燕,尹大强,等.不同空间位点沉积物理化性质与微生物多样性垂向分布规律[J].环境科学,2008,29(12):3537-3545.(ZHAO Xing-qing,YANG Liu-yan,YIN Da-qiang,et al.Vertical distribution of physicochemical characteristics and the microbial diversity in different spatial sediments samples in Lake Taihu[J].Environmental Science,2008,29(12):3537-3545.(in Chinese))
- [30] 彭杜,刘凌,胡进宝.玄武湖沉积物磷形态的垂向变化和生物有效性[J].水资源保护,2009,25(1):31-35.(PENG Du,LIU Ling,HU Jin-bao.Vertical distribution and bio-availability of various forms of phosphorus in the sediments of Xuanwu Lake[J].Water Resources Protection,2009,25(1):31-35.(in Chinese))

## Physicochemical properties and microbial diversity of superficial deposits of lakes in summer

GAO Hui-qin, LIU Ling, FANG Ze-jian

(State Key Laboratory of Hydrology-Water Resources and Hydraulic Engineering,  
Hohai University, Nanjing 210098, China)

**Abstract:** The physicochemical properties (i.e., pH, Eh, TOC, TP, TN, NH<sub>3</sub>-N, and NO<sub>3</sub>-N) and microbial diversity of superficial deposits of lakes in the Lixia River area in summer were studied using chemical methods and PCR-DGGE technology, and their correlativity was analyzed by statistical and Canoco softwares. The results indicate that the superficial deposit has a weak acid or weak alkaline to neutral character; the Eh value is slightly under an anaerobic condition except for a few sampling points; the distribution of TOC, TP, TN, NH<sub>3</sub>-N, and NO<sub>3</sub>-N contents presents spatial differences; the lakes differ in microbial diversity; and there exists community structure of their own particular ecological niche. Spearman correlation analysis shows that there is a significant positive correlation between TOC and TN, but there is not a significant correlation between the diversity index of the microbial community and the physicochemical index. The results of CCA show that TOC and TP are the main environmental factors influencing the microbial community structure.

**Key words:** lake; superficial deposit; microbial diversity; PCR-DGGE technology; physicochemical properties