

羊卓雍错细菌培养及其水体理化影响因子研究

王艳红, 郝 兆, 郭小芳, 德 吉

(西藏大学理学院, 西藏 拉萨 850000)

摘要:开展羊卓雍错水体可培养细菌多样性研究,探究影响水体细菌群落的主要理化因子,可为湖泊生态环境健康状况监测、湖泊微环境平衡人工调控以及极端环境下细菌资源的开发与利用提供理论依据。2019年夏季,按照地理位置不同,分别在羊卓雍错沿岸区、空母错沿岸区、沉错沿岸区、羊卓雍错湖心区选择10个样点进行水样采集。采用平板涂布法从羊卓雍错10个水体样品中分离细菌,结合16S rDNA区域序列分析和经典分类法对细菌菌株进行鉴定,运用R 3.6.1和SPSS 20.0软件分析细菌多样性及其与理化因子之间的关系。结果显示,从羊卓雍错水体中共分离得到322株细菌,分属于12属、15种,优势种为杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)、土生拉乌尔菌(*Raoultella terrigena*)以及大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*),分别占总菌株数的23.9%、22.4%和11.8%。细菌多样性指数表明,羊卓雍错沿岸区水体中分离的细菌属数和种数均最多,为12属、15种,空母错沿岸区水体最少,仅8属、9种;空母错沿岸区水体细菌总丰度最高,羊卓雍错湖心区最低,但4个区域总丰度无显著差异。Shannon-Wiener多样性指数和Simpson丰富度指数具有相同的变化趋势,沉错沿岸区均最高,空母错沿岸区均最低;羊卓雍错湖心区的Pielou均匀度指数最高,羊卓雍错沿岸区最低。相关分析表明,羊卓雍错可培养细菌总丰度与水体化学需氧量呈极显著正相关($P<0.01$),与水体浊度、总氮呈显著正相关($P<0.05$)。研究表明,羊卓雍错细菌资源比较丰富,水体可培养细菌多样性受理化因子与人为活动共同影响。

关键词:高原湖泊;羊卓雍错;可培养细菌;多样性;理化因子

中图分类号:Q178.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2022)03-0086-10

我国湖泊数量大、分布广、类型多,是世界上湖泊生态类型最为丰富的国家之一,其中有2 693个自然湖泊的面积大于1.0 km²,湖泊总面积约占国土总面积的0.9%,为81 414.6 km²(王苏民和窦鸿身,1998;Wetzel,2001)。湖泊作为陆地水圈的重要组成部分,在自然界水循环和物质循环过程中起着重要作用,不仅在维持区域生态平衡以及繁衍生物多样性方面具有重要的作用,在社会经济发展中也占有举足轻重的地位(李世杰,2007;Wang et al,2016)。

微生物广泛存在于湖泊等水生生态系统中,其数量巨大且种类丰富,是湖泊水体中最为活跃的组分之一,具有驱动水体营养元素循环以及生态系统运行的重要作用。大量研究表明,微生物群落组成及多样性的变化,不仅是对环境变化的响应,也是影响水生态

系统功能的重要因子(Ward et al,1990;Allison & Martiny,2008;Pernthaler,2013;Wang et al,2016;邹沈娟,2019)。近年来,国内外学者陆续开展了许多对湖泊水体细菌群落结构及其影响因素研究,但因所处地理位置不同,得到的研究结果也不尽相同。刘乐冕等(2012)研究发现,后溪浮游细菌受到城市化的强烈影响,浮游细菌多样性可以用于检测和评价河流生态系统健康状况;曹新益等(2016)通过典范对应分析(CCA)发现,pH和水温是显著影响莫愁湖和紫霞湖水体细菌的理化因子;薛银刚等(2017)研究发现,pH与太湖竺山湾水体细菌均匀度呈显著负相关;邹沈娟(2019)对湖北省大冶湖水体细菌群落结构的研究显示,全氮和盐度显著影响大冶湖水体细菌群落分布;Yannarell & Triplett(2005)研究认为,pH是影响微生物群落结构的主要因素之一。

青藏高原素有“世界屋脊”和“亚洲水塔”之称,具有独特的地理生态环境以及丰富的自然生物资源,且分布着世界上海拔最高、数量最多、面积最大的高原湖泊群,基本保持生态原貌,是进行科学研究的天然场所(时玉等,2014;周宁一,2014)。羊卓雍错作为西藏三大圣湖之一(除多等,2012a),其流域生物资源的研究长期以来主要集中在鸟类方面(张国钢等,2016;闫瑞强等,2018);对流域微生物的研

收稿日期:2020-10-18 修回日期:2022-03-18

基金项目:国家自然科学基金(31960024);2019年中央支持地方高校改革发展基金(藏财预指[2019]01号);西藏大学科研培育基金(ZDCZJH18-06)。

作者简介:王艳红,1994年生,女,硕士研究生,研究方向为微生物生态学。E-mail:1107057585@qq.com

通信作者:德吉,1972年生,女,高级实验师,主要从事微生物生态学教科研工作。E-mail:dg971103@163.com

究仅局限于湖边土壤以及部分湖区沉积物微生物(时玉等,2014;郑有坤,2015)。关于羊卓雍错水体可培养细菌的研究尚未见报道。通过较系统研究羊卓雍错水体可培养细菌多样性及其与理化因子的相关性,可为湖泊生态环境健康状况监测、湖泊微环境平衡的人工调控等提供理论依据,并为极端环境下细菌资源开发与利用提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 区域概况

羊卓雍错简称“羊湖”,位于西藏山南市浪卡子县境内,湖面海拔4 400 m以上,属山地灌丛草原半干旱气候,湖岸线总长250 km,总面积638 km²,湖水储量约160亿m³,是雅鲁藏布江南岸和喜马拉雅山北麓最大的内陆湖泊,也是国家生态环境保护的重点区域,其形状很不规则,与附近的空母错、沉错等湖泊相连(除多等,2012b;保宏运等,2020)。

1.2 水样采集

2019年夏,根据湖泊分布情况并结合生境实际,在羊卓雍错、空母错及沉错选择10个样点进行水样采集(图1,表1)。为了更深入地了解羊卓雍错水体细菌多样性及其影响因素,将10个样点按照地理位置不同划分为4个区域,分别为羊卓雍错沿岸区(样点1~4)、空母错沿岸区(样点5~6)、沉错沿岸区(样点7~8)、羊卓雍错湖心区(样点9~10)。

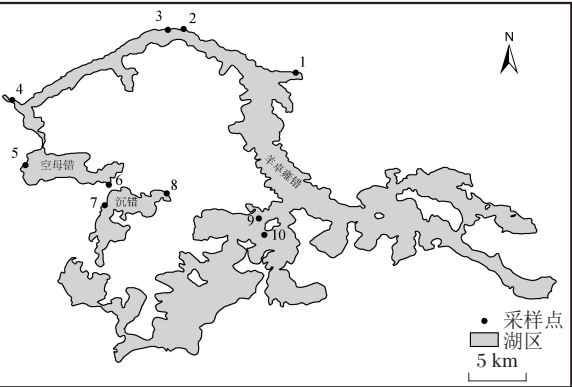


图1 羊卓雍错采样点分布

Fig.1 Location of sampling sites in Yamzhog Yumco Lake and connected lakes

采用无菌水样采集器采集距离水面约50 cm的湖水,并利用多功能参数仪进行水温、pH、总溶解固体量、电导率以及盐度的测定,每个参数测定3次,每个样点采集5 L水样。将采集的水样分为两份,分别装入2个无菌塑料桶中避光保存,一份立即送往拉萨景博环境监测科技有限公司测定总氮、总磷、氨氮、化学需氧量、

浊度;另一份带回实验室立即进行细菌分离。

表1 羊卓雍错水体采集样点信息
Tab.1 Information on sampling sites

样点	海拔/m	经度	纬度	水样采集
1	4 443	90°44'E	29°07'N	秀琼村旁表层水
2	4 442	90°35'E	29°11'N	羊卓雍错蓄能电站旁表层水
3	4 443	90°34'E	29°11'N	羊卓雍错观景台旁表层水
4	4 439	90°22'E	29°05'N	羊卓雍错西端畜牧草地旁表层水
5	4 441	90°23'E	29°00'N	空母错西侧旅游中心旁表层水
6	4 447	90°30'E	28°59'N	空母错东侧表层水
7	4 431	90°29'E	28°57'N	沉错西侧表层水
8	4 432	90°34'E	28°58'N	沉错东侧表层水
9	4 438	90°41'E	28°56'N	羊卓雍错南部湖心水
10	4 442	90°42'E	28°55'N	羊卓雍错雍布朵寺旁湖心水

1.3 水体可培养细菌的分离和纯化

采用平板涂布法分离水体细菌。取200 μL湖水涂布于牛肉膏蛋白胨培养基平板上,每个样点设3个重复,培养3~5 d后对细菌进行菌落观察计数,并挑取菌落于牛肉膏蛋白胨斜面保存。细菌菌株的纯化采用平板划线法在牛肉膏蛋白胨培养基上进行。

1.4 可培养细菌的分子鉴定

采用16S rDNA序列分析进行细菌鉴定。
1.4.1 DNA提取及扩增 DNA的提取采用CTAB法(孙立夫等,2009),引物27F(5'-AGTTTGATCMTG-GCTCAG-3'), 1492 R (5'-GGTTACCTTGTTAC-GACTT-3')。PCR扩增反应程序为98℃、3 min,98℃、10 s,退火温度10 s,72℃、10 s,36个循环;72℃、5 min。1%琼脂糖凝胶检测扩增目标产物后,送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.4.2 序列分析 供试菌株16S rDNA测序结果经人工校对后,在GenBank核酸序列数据库中进行同源搜索,与已知细菌序列相似度99%以上的确定为同一种。

1.5 水体理化指标测定

pH、水温(WT)、电导率(EC)、总溶解固体量(TDS)以及盐度(Salt)采用多功能参数仪(Multi-Parameter PCSTestrTM35)测定。总氮(TN)、总磷(TP)等5个理化指标由拉萨景博环境监测科技有限公司进行测定,其中氨氮(NH₄⁺-N)、总氮、总磷使用UV5800紫外可见分光光度计进行测量,方法分别为纳氏试剂分光光度法、碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法和钼酸铵分光光度法;化学需氧量(COD)采用重铬酸盐法进行测定,浊度(Tur)采用目视比色法-福尔马肼标准进行测定。

1.6 数据处理与分析

采用Excel 2019、R 3.6.1、SPSS 20.0等软件进行数据处理与分析;出现频率和相对丰度使用Excel 2019计算。出现频率为某种细菌分布的样点数占样点总数的比例,相对丰度为某种细菌分离菌株数占有所有细菌分离菌株数的比例。Shannon–Wiener多样性指数、Simpson丰富度指数以及Pielou均匀度指数均采用R 3.6.1进行计算。差异性分析和相关性分析分别使用SPSS 20.0软

件中的Duncan检验法和Pearson相关系数法进行。

2 结果与分析

2.1 各采样点水体细菌群落组成

2.1.1 细菌分布 从羊卓雍错水体中共分离得到322株细菌,分属于12属、15种(表2)。其中,气单胞菌属、葡萄球菌属以及Chimaeribacter属各分离到2种,其余属均只分离到1种。

表2 羊卓雍错各样点水体可培养细菌种分布

Tab.2 Species distribution of culturable bacteria among the sampling sites in Yamzhog Yumco Lake													
细菌	样点										出现频率/ %	相对丰度/ %	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
琼氏不动杆菌 <i>Acinetobacter junii</i>	1		1				1		1		40.0	1.2	
沙玛娜气单胞菌 <i>Aeromonas sharmana</i>	2	1	1	1	1		1	1		2	80.0	3.1	
杀鲑气单胞菌 <i>Aeromonas salmonicida</i>	12	7	9	6	6	5	15	10	1	6	100.0	23.9	
<i>Chimaeribacter arupi</i>	1	1			1		10	2	2		60.0	5.3	
<i>Chimaeribacter coloradensis</i>	2						2	4			30.0	2.5	
弗氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	3	1	3	1	2	2	6		2	3	90.0	7.1	
<i>Enterobacter roggenkampii</i>	3	3		1		3	2	3		3	70.0	5.6	
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	5	4	9	2	3	1	5	1		8	90.0	11.8	
<i>Exiguobacterium undae</i>		1									10.0	0.3	
产酸克雷伯氏菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>	2		2		1				1		40.0	1.9	
水生拉恩菌 <i>Rahnella aquatilis</i>	5	1		4			6	3	2		60.0	6.5	
土生拉乌尔菌 <i>Raoultella terrigena</i>	3	2	36		2	5	5	1	5	13	90.0	22.4	
鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium mizutaii</i>				1		1	1	1		1	50.0	1.6	
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	3		1	1					1		40.0	1.9	
人葡萄球菌 <i>Staphylococcus hominis</i>		3	3	3			3		1	3	60.0	5.0	

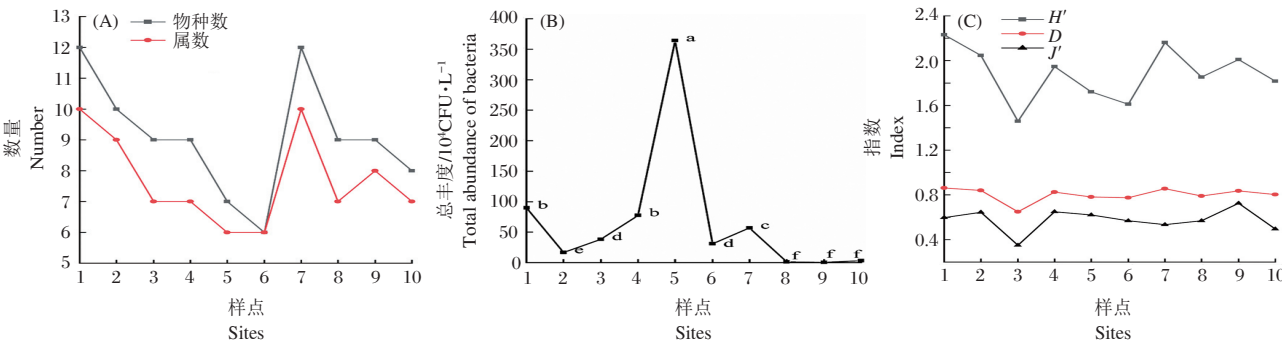
从各个种的出现频率看,杀鲑气单胞菌出现频率最高,在所有样点均被分离到,其次为弗氏柠檬酸杆菌、大肠埃希氏菌和土生拉乌尔菌,出现频率均为90.0%,Chimaeribacter coloradensis出现频率最低,仅30.0%。分析各种细菌的相对丰度,杀鲑气单胞菌相对丰度最高,为23.9%,其次为土生拉乌尔菌,为22.4%,Exiguobacterium undae的相对丰度最低,仅在2号样点中分离出1株。结合出现频率和相对丰度,可见杀鲑气单胞菌、土生拉乌尔菌和大肠埃希氏菌为羊卓雍错各样点水体细菌的优势种。

2.1.2 细菌种水平组成相似性 为了解羊卓雍错各样点水体细菌物种组成相似性,计算了不同样点间细菌种类的Jaccard相似度系数(表3)。从表3可知,羊卓雍错不同样点间水体细菌种类的相似度系数为0.25~1.00;其中,14组为中度不相似、占比31.1%,29组为中度相似、占比64.4%,仅有2组达到极相似水平,占比4.4%。总体而言,相似比例为68.8%,羊卓雍错各样点水体细菌物种组成差异不大。

表3 羊卓雍错各样点间水体可培养细菌Jaccard相似性系数

Tab.3 Jaccard coefficient of culturable bacteria among sampling sites in Yamzhog Yumco Lake										
样点	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.00									
2	0.57	1.00								
3	0.62	0.46	1.00							
4	0.50	0.58	0.50	1.00						
5	0.58	0.55	0.60	0.33	1.00					
6	0.38	0.45	0.36	0.50	0.44	1.00				
7	0.71	0.69	0.50	0.62	0.46	0.50	1.00			
8	0.62	0.58	0.29	0.50	0.45	0.50	0.75	1.00		
9	0.62	0.46	0.64	0.38	0.45	0.25	0.50	0.29	1.00	
10	0.43	0.64	0.55	0.70	0.50	0.75	0.67	0.55	0.31	1.00

2.1.3 细菌多样性指数 调查分析表明,1号和7号样点分离得到的细菌属数和种数均较多,为10属、12种,6号样点较少,仅6属、6种(图2-A)。各样点



A: 细菌物种数和属数, B: 细菌总丰度, C: 细菌多样性指数。H': Shannon-Wiener 多样性指数, D: Simpson 丰富度指数, J': Pielou 均匀度指数。不同字母表明不同样点间差异显著($P<0.05$)。

图2 羊卓雍错各样点水体可培养细菌数量与多样性指数

A: Number of bacteria species and genera, B: Total abundance of bacteria, C: Bacteria diversity indices, H': Shannon-Wiener diversity index, D: Simpson diversity index, J': Pielou evenness index. Different letters indicate significant differences among sites ($P<0.05$).

Fig.2 Species number and diversity indices of culturable bacteria for each sampling site in Yamzhog Yumco Lake

细菌总丰度差异性分析显示,5号样点水体细菌总丰度显著高于其余样点,8、9、10号样点水体细菌总丰度显著低于其余样点(图2-B)。Shannon-Wiener多样性指数和Simpson丰富度指数表明,1号样点的Shannon-Wiener多样性指数最高,3号样点最低;1号和7号样点的Simpson丰富度指数较高,3号样点较低(图2-C)。结合两种指数可知,1号和7号样点细菌丰富度和多样性较高,3号样点相对较低;就Pielou均匀度指数而言,9号样点最高,3号样点最低,表明9号样点水体细菌分布最均匀,3号样点相对最不均匀。

2.2 各区域水体细菌群落组成

2.2.1 细菌分布 为进一步分析羊卓雍错水体细菌群落结构,将羊卓雍错10个采样点依照预设的地理位置进行分区统计,4个区域水体细菌种水平分布见表4。从细菌出现频率看,沙玛娜气单胞菌、杀鲑气单胞菌和Chimaeribacter arupi等8个种出现频率较高,各区域均被分离到;Exiguobacterium undae出现频率较低,仅在一个区域被分离到;分析相对丰度可知,杀鲑气单胞菌最高,为23.9%,其次为土生拉乌尔菌,Exiguobacterium undae最低,仅被分离到1株。

2.2.2 细菌种水平组成相似性 分析羊卓雍错各区域间水体可培养细菌种类的Jaccard相似度,其相似度系数在0.60~0.87。羊卓雍错沿岸区与羊卓雍错湖心区相似度最高,为0.87;羊卓雍错沿岸区与空母错沿岸区相似度最低,为0.60;各区域之间均达到相似水平(0.50~1.00)。总体而言,羊卓雍错各区域间水体细菌组成无明显差异。

2.2.3 细菌多样性指数 从羊卓雍错沿岸区水体中

分离得到的细菌属数和种数均最多,为12属、15种;空母错沿岸区水体中的细菌属数和种数均最少,为8属、9种(图3-A)。各区域细菌总丰度差异性分析结果表明,空母错沿岸区水体细菌总丰度最高,羊卓雍错湖心区水体细菌总丰度最低,但4个区域总丰度无显著差异(图3-B)。Shannon-Wiener多样性指数和Simpson丰富度指数表明,两者具有相同的变化趋势,沉错沿岸区均最高,空母错沿岸区均最低,可见在沉错沿岸区的细菌丰富度和多样性较高,空母错沿岸区相对较低;就Pielou均匀度指数而言,羊卓雍错湖心区最高,羊卓雍错沿岸区最低,表明羊卓雍错湖心区水体细菌分布相较更均匀,沿岸区相较更不均匀(图3-C)。

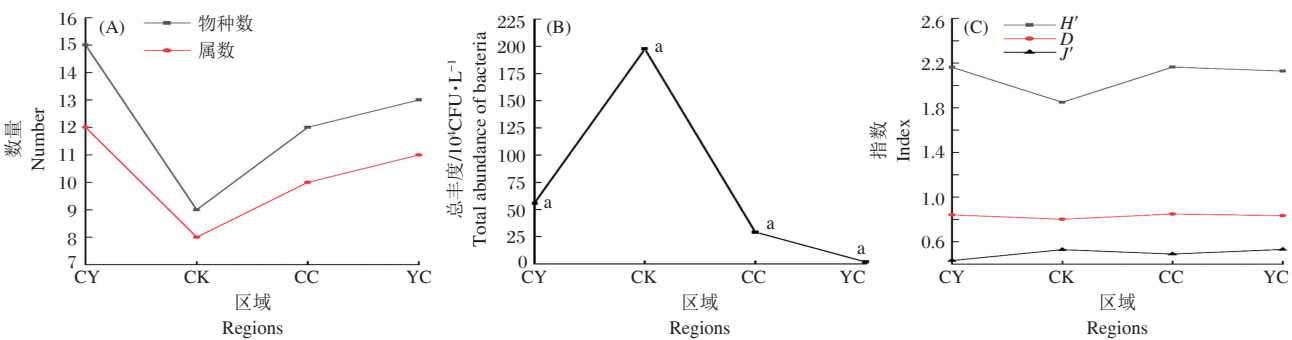
2.3 水体理化因子

2.3.1 各样点理化因子变化 为探究羊卓雍错水体细菌多样性与水体理化因子之间的关系,对羊卓雍错水体10个理化因子进行测定(图4)。由图4可知,各样点间理化因子存在不同程度的差异。就水温而言,各样点水温在10.7~25.2℃,其中8号样点显著高于其余样点,9号样点显著低于其余样点。pH数据显示,各样点水体整体偏碱性(pH 8.37~9.08),其中3号样点显著高于除2号及4号外的其余样点,8号及5号显著低于其余样点。各样点电导率、总溶解固体量以及盐度变化趋势一致,电导率为523.67~2 346.67 μS/cm,总溶解固体量为371.67~1 666.6 mg/L,盐度为0.25~1.18,其中10号样点最高,5号最低。浊度为3~15 NTU,其中5号样点显著高于其余样点,6号样点和9号样点较小,显著低于除2、3、10号样点外的其余样点。化学需氧量为6.72~185.81 mg/L,其中5号样点显著高于其余样点,9号显著低于其余样点。

表 4 羊卓雍错各区域水体可培养细菌种分布

Tab.4 Species distribution of culturable bacteria in the four areas of Yamzhog Yumco Lake

细菌	羊卓雍错 沿岸区	空母错 沿岸区	沉错 沿岸区	羊卓雍错 湖心区	出现 频率/%	相对 丰度/%
琼氏不动杆菌 <i>Acinetobacter junii</i>	2		1	1	75.0	1.2
沙玛娜气单胞菌 <i>Aeromonas sharmana</i>	5	1	2	2	100.0	3.1
杀鲑气单胞菌 <i>Aeromonas salmonicida</i>	34	11	25	7	100.0	23.9
<i>Chimaeribacter arupi</i>	2	1	12	2	100.0	5.3
<i>Chimaeribacter coloradensis</i>	2		6		50.0	2.5
弗氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	8	4	6	5	100.0	7.1
<i>Enterobacter roggenkampii</i>	7	3	5	3	100.0	5.6
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	20	4	6	8	100.0	11.8
<i>Exiguobacterium undae</i>	1				25.0	0.3
产酸克雷伯氏菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>	4	1		1	75.0	1.9
水生拉恩菌 <i>Rahnella aquatilis</i>	10		9	2	75.0	6.5
土生拉乌尔菌 <i>Raoultella terrigena</i>	41	7	6	18	100.0	22.4
鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium mizutaii</i>	1	1	2	1	100.0	1.6
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	5			1	50.0	1.9
人葡萄球菌 <i>Staphylococcus hominis</i>	9		3	4	75.0	5.0



A: 细菌物种数和属数, B: 细菌总丰度, C: 细菌多样性指数。CY: 羊卓雍错沿岸区, CK: 空母错沿岸区, CC: 沉错沿岸区, YC: 羊卓雍错湖心区。H': Shannon-Wiener 多样性指数, D: Simpson 丰富度指数, J': Pielou 均匀度指数。不同字母表明不同区域间差异显著(P<0.05)。

图 3 羊卓雍错各区域水体细菌多样性指数

A: Number of bacteria species and genera, B: Total abundance of bacteria, C: Bacteria diversity indices, CY: Coastal area of Yamzhog Yumco Lake, CK: Coastal area of Kongmo Co Lake, CC: Coastal area of Chen Co Lake, YC: Yamzhog Yumco Lake center. H': Shannon index, D: Simpson index, J': Pielou evenness index. Different letters indicate significant differences among sites (P<0.05).

Fig.3 Diversity indices of bacterial community in the four areas of Yamzhog Yumco Lake

总磷为0.02~0.06 mg/L,5号样点和7号样点较高,1号样点较低。就总氮和氨氮而言,总氮为0.25~0.61 mg/L,氨氮为0.01~0.05 mg/L,9号样点这两个值均最低,5号样点总氮值最高,7号样点氨氮值最高。

2.3.2 各样点理化因子差异性 Duncan 检验结果显示(图5),羊卓雍错沿岸区和湖心区 pH 显著高于沉错沿岸区和空母错沿岸区(P<0.05);电导率、总溶解固体量、盐度具有相同的变化趋势,均表现为羊卓雍错沿岸区和湖心区显著高于沉错沿岸区(P<0.05),沉错沿岸区显著高于空母错沿岸区(P<0.05);羊卓雍错沿岸区总磷则显著低于沉错沿岸区和空母错沿岸区(P<0.05)。其他理化因子在4个区域间均无显著差异。

2.4 细菌多样性指数与理化因子相关性

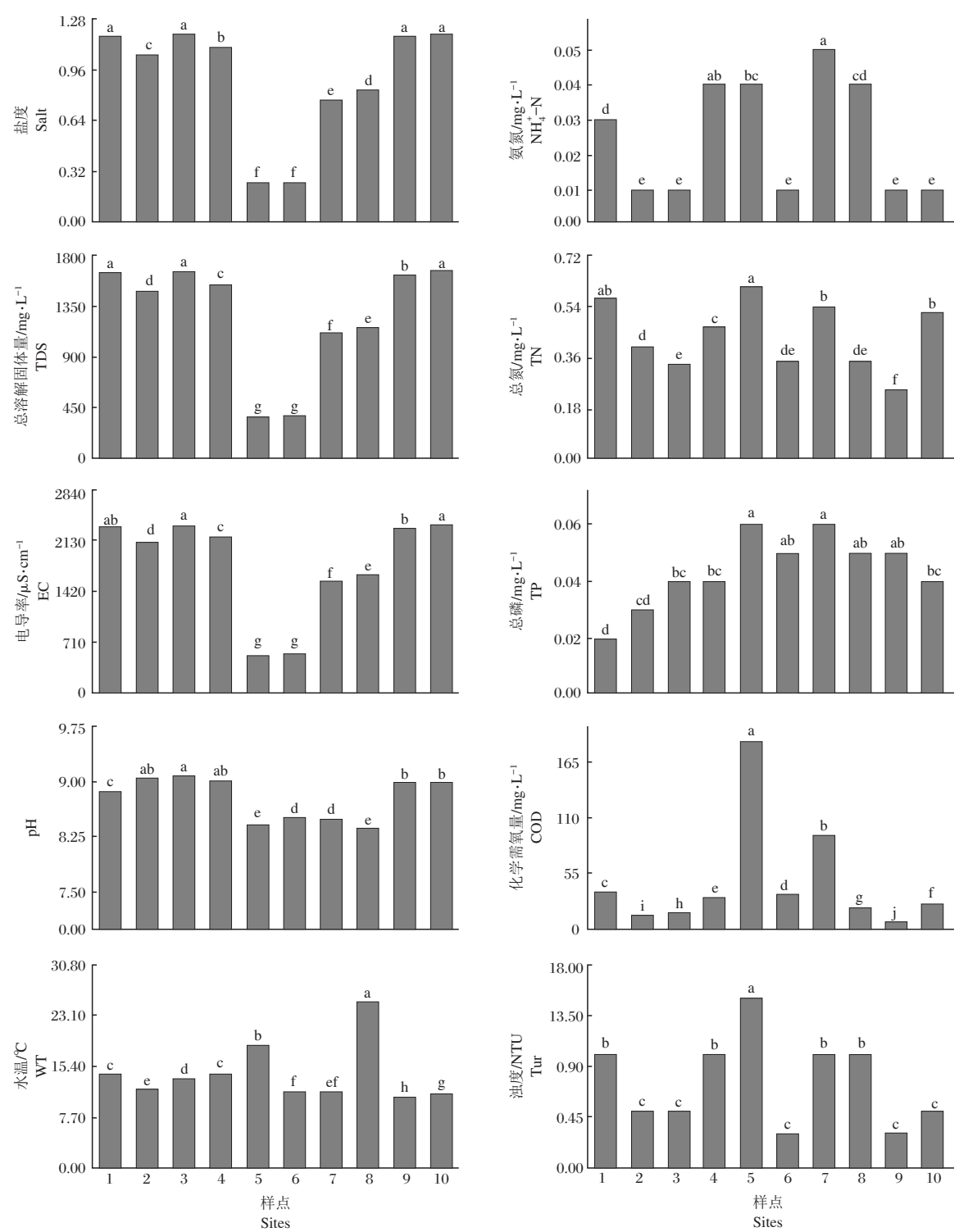
从图6可以看出,羊卓雍错各样点水体细菌物种数、属数以及Shannon–Wiener 多样性指数两两之间呈极显著正相关(P<0.01),Simpson 丰富度指数与Shannon–Wiener 多样性指数之间呈极显著正相关(P<0.01),与Pielou 均匀度指数之间呈显著正相关(P<0.05)。

羊卓雍错各样点水体理化因子间相关性显示,pH、电导率、总溶解固体量以及盐度两两之间呈极显著正相关(P<0.01);化学需氧量与电导率、总溶解固体量以及盐度之间呈显著负相关(P<0.05);总磷与pH、电导率、总溶解固体量、盐度之间呈显著负相关;浊度与化学需氧量以及氨氮呈极显著正相关(P<0.01),与总

氮呈显著正相关($P<0.05$);化学需氧量与总氮之间呈显著正相关($P<0.05$)。

羊卓雍错各样点水体细菌多样性指数与理化因子相关性分析表明,细菌总丰度与化学需氧量呈

极显著正相关($P<0.01$),与浊度和总氮显著正相关($P<0.05$)。Pearson相关性分析表明,化学需氧量、浊度、总氮是影响羊卓雍错各样点可培养细菌多样性的主要理化因子。

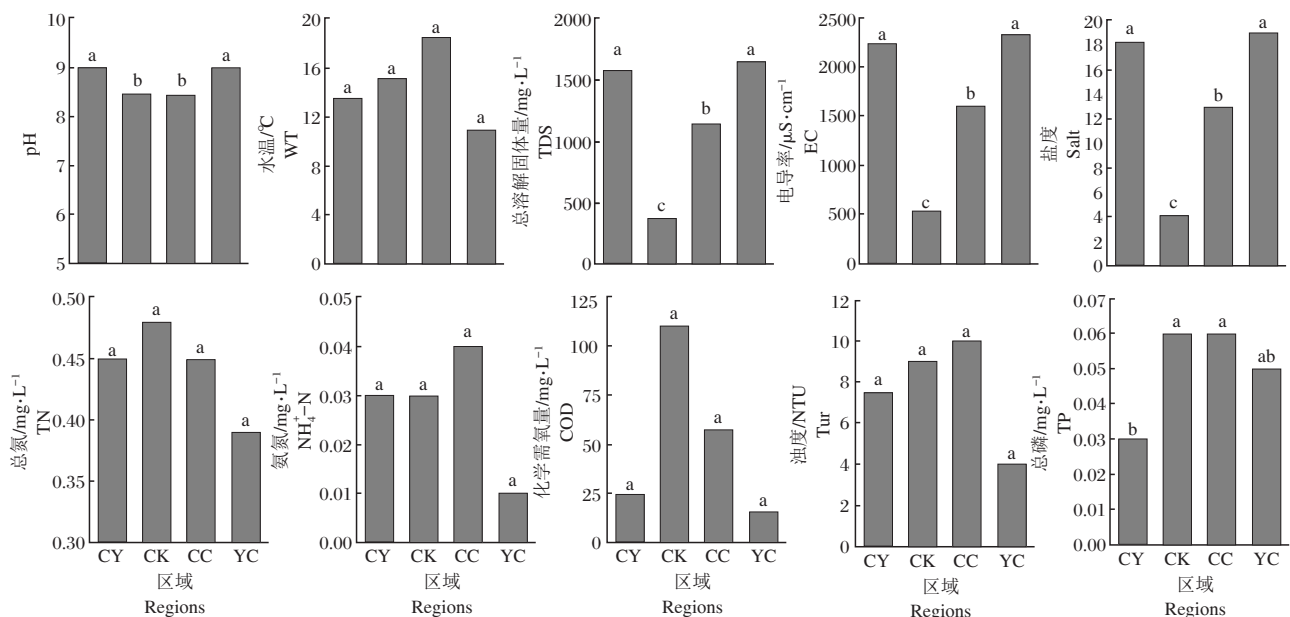


不同字母标记表明不同样点间差异显著($P<0.05$)。

图4 羊卓雍错各样点水体理化因子差异性分析

The data marked with different alphabets indicate that difference was significant($P<0.05$)

Fig.4 Aquatic environmental factors for each sampling site in Yamzhog Yumco Lake



CY:羊卓雍错沿岸区,CK:空母错沿岸区,CC:沉错沿岸区,YC:羊卓雍错湖心区。不同字母标记表明不同区域间差异显著($P<0.05$)。

图5 羊卓雍错各区域水体理化因子差异性分析

CY: Coastal area of Yamzhog Yumco Lake, CK: Coastal area of Kongmo Co Lake, CC: Coastal area of Chen Co Lake, YC: Yamzhog Yumco Lake center. Different letters indicate significant differences among sites ($P<0.05$).

Fig.5 Difference analysis of aquatic environmental factors between different regions in Yamzhog Yumco Lake

3 讨论

3.1 羊卓雍错水体细菌物种组成特征

本研究结果显示,从羊卓雍错水体中共分离出322株细菌,分属于12属、15种,杀鲑气单胞菌为优势种之一。田会芹等(2015)研究表明,该菌在酸性环境中生长受到抑制,而中性偏碱性环境生长速率达到最高。羊卓雍错湖水的平均pH为8.78,中性偏碱的湖水环境可能是该菌在羊卓雍错水体中占据优势的原因之一。

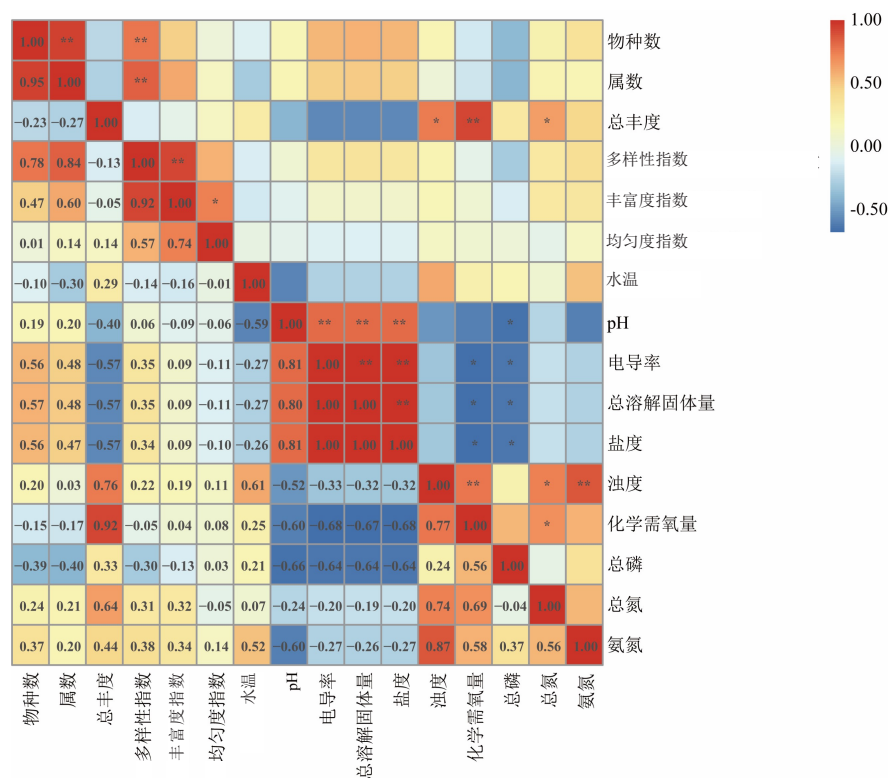
Jaccard相似性系数表明,羊卓雍错各样点及各区域间水体细菌组成差异较小;其中,羊卓雍错沿岸区与羊卓雍错湖心区水体细菌组成相似性最高,与空母错相似性最低。可以看出,细菌在同一湖区沿岸区与湖心区间的差异小于不同湖区间的差异。

3.2 羊卓雍错水体细菌多样性分布特征

各样点细菌多样性指数表明,5号样点水体细菌总丰度显著高于其余样点,1号样点水体细菌种数、属数及多样性指数均最高。从地理位置看,5号样点位于空母错西侧哈西旅游接待中心,较强的人为活动可能是导致5号样点细菌总丰度较高的原因;1号样点位于村庄旁,当地村民的生产生活行为可能是导致1号样点细菌种数、属数及多样性指数均较高的原因。各区域水体细菌多样性指数显示,羊卓雍错沿岸区的种

数、属数及多样性指数均相对较高,究其原因,羊卓雍错沿岸区涉及的4个采样点水体pH、总溶解固体量、电导率和盐度显著高于空母错沿岸区及沉错沿岸区,且相较羊卓雍错湖心区而言,沿岸区采样点位于人为活动更为频繁的区域,较高的理化因子及较强的人为活动可能是导致羊卓雍错沿岸区细菌种数、属数及多样性指数均较高的原因。

与位于云贵高原8个不同营养水平的湖泊及水库水生细菌总丰度相比,虽同属高原湖泊,羊卓雍错水体细菌总丰度却明显低于以上8个湖库(胡明明等,2011)。就总氮而言,羊卓雍错总氮含量仅高于阳宗海、月湖、松华坝水库;就总磷而言,羊卓雍错总磷含量仅高于月湖,较低的总氮、总磷含量加之低温、强辐射等极端气候条件可能是羊卓雍错水体细菌总丰度相对较低的原因。与滇池水体细菌多样性指数相比(张艳丽,2012),羊卓雍错水体细菌Shannon-Wiener多样性指数和Simpson丰富度指数均较高,而Pielou均匀度指数则相对较低;分析两湖水水质状况可知,滇池水质为劣V类,羊卓雍错则大部分水质指标能达到Ⅰ~Ⅱ类水质标准(保宏运等,2020)。水质状况差异以及羊卓雍错特殊的地理气候条件是造成其水体细菌多样性更高而均匀度却较低的可能原因。



*,在0.05水平上显著相关,**:在0.01水平上显著相关。
图6 羊卓雍错各样点水体可培养细菌多样性指数及水体理化因子Pearson相关性系数
*: significant correlation ($P<0.05$); ** highly significant correlation ($P<0.01$).

Fig.6 Pearson correlation coefficients between culturable bacteria diversity and environmental factors for each sampling site in Yamzhog Yumco Lake

3.3 环境因子对羊卓雍错水体细菌影响

羊卓雍错各样点水体理化因子差异性分析结果显示,理化因子在各样点间存在较大差异。各区域理化因子差异性分析结果表明,羊卓雍错沿岸区和湖心区水体pH、电导率、总溶解固体量和盐度显著高于空母错沿岸区和沉错沿岸区。调查发现,相较沉错和空母错而言,由于旅游或朝拜等原因,羊卓雍错沿岸区(设置有观景台、水电站等)和湖心区(附近有寺院)人为活动较为频繁。推测水体理化因子差异不仅与所处区域自身地理位置和环境有关,也可能受到人为活动的影响。

羊卓雍错水体细菌多样性与理化因子相关性分析显示,水体细菌总丰度与浊度呈显著正相关。周磊等(2020)通过研究洪潮江水库浮游细菌的时空分布及影响因素发现,浊度显著影响浮游细菌的群落结构,这与本研究的结果一致。本研究显示,水体细菌总丰度与总氮呈显著正相关($P<0.05$)。宋玉芝等(2013)研究发现,太湖水体细菌丰度与总氮呈显著正相关;邹沈娟(2019)研究表明,大冶湖细菌的群落分布与总氮呈显著正相关,与本研究结果相似。相

关研究表明,化学需氧量对英那河及潘阳湖水体细菌的群落结构有一定的影响但并不显著(刘倩纯, 2013;张恒庆等,2020)。比较羊卓雍错与英那河以及鄱阳湖可知,羊卓雍错水体化学需氧量虽然明显高于英那河,但与鄱阳湖差异较小。与以上两个区域的研究结果不同,本研究显示化学需氧量与水体细菌总丰度呈极显著正相关,推测本研究所处地域独特的高原气候是造成这种现象的可能原因。温度可影响水体细菌生长,曹新益等(2016)研究表明,温度显著影响莫愁湖和紫霞湖浮游细菌群落结构;陆婷等(2009)通过研究贵州两处高原湖泊水体细菌分布特征及其影响因素时发现,温度与两湖泊水体细菌丰度呈显著正相关;宋玉芝等(2013)也得到类似的结果。与以上研究区域比较可知,羊卓雍错的水温明显低于以上区域,推测羊卓雍错地区较低的年均温度使得其水体细菌经过长期的自然选择后对温度的响应程度较低,可能是造成本次研究未发现温度对羊卓雍错水体细菌多样性有显著影响的原因。

杀鲑气单胞菌在羊卓雍错水体中的数量和分布都表现出明显优势,而其作为鱼类疾病的病原体,会

致使鲑类体表溃烂发黑,脾脏出血,最终死亡,同时还会引起人类腹泻、脑膜炎等疾病(雷美华,2020)。张晓君等(2006)从石鲮中分离得到的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种对牙鲢、鲤、鲫、泥鳅等均有不同程度的致病作用。高原裸鲤作为西藏主要的经济鱼类,在湖泊生态系统中具有重要的地位,而羊卓雍错作为高原裸鲤分布资源最为丰富的湖区(杨汉运等,2011),杀鲑气单胞菌的广泛分布可能会对羊卓雍错渔业资源及周边群众健康造成安全隐患。因此,今后对该菌在羊卓雍错区域的影响值得更深入研究。

参考文献

- 保宏运,郭建阳,杨海全,等,2021. 羊卓雍错水体 pH 偏高的成因[J]. 环境科学研究,34(3):567-575.
- 曹新益,徐慧敏,王司辰,等,2016. 南京莫愁湖与紫霞湖浮游细菌群落结构的季节性变化及其与环境因子的关系[J]. 化学与生物工程,33(12):19-26,30.
- 除多,普穷,拉巴卓玛,等,2012a. 近 40a 西藏羊卓雍错湖泊面积变化遥感分析[J]. 湖泊科学,24(3):494-502.
- 除多,普穷,旺堆,等,2012b. 1974-2009 年西藏羊卓雍错湖泊水位变化分析[J]. 山地学报,30(2):239-247.
- 胡明明,王英才,李艳晖,等,2011. 云南高原湖库浮游细菌的生态分布及其影响因素[J]. 水生态学杂志,32(3):21-25.
- 雷美华,2020. 杀鲑气单胞菌对鱼类致病性的研究[J]. 海洋与渔业,(3):68-69.
- 李世杰,2007. 中国湖泊的变迁[J]. 森林与人类,27(7):6-25.
- 刘乐冕,杨军,余小青,等,2012. 厦门后流域沿城乡梯度浮游细菌多样性及其与环境因子的关系[J]. 应用与环境生物学报,18(4):591-598.
- 刘倩纯,2013. 鄱阳湖表层水体细菌群落结构时空变化[D]. 南昌:南昌大学.
- 陆婷,梁小兵,曾佳,等,2009. 贵州高原湖泊细菌和病毒分布特征及影响因素[J]. 生态学杂志,28(10):1996-2001.
- 时玉,孙怀博,刘勇勤,等,2014. 青藏高原淡水湖普莫雍错和盐湖水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,41(11):2379-2387.
- 宋玉芝,赵淑颖,黄瑾,等,2013. 太湖水体附着细菌和浮游细菌的丰度与分布特征[J]. 环境工程学报,7(8):2825-2831.
- 孙立夫,张艳华,裴克全,2009. 一种高效提取真菌总 DNA 的方法[J]. 菌物学报,28(2):299-302.
- 田会芹,李贤,傅松哲,等,2015. 温度及 pH 对杀鲑气单胞菌生长的影响研究[J]. 海洋科学,39(7):7-12.
- 王苏民,窦鸿身,1998. 中国湖泊志[M]. 北京:科学出版社.
- 薛银刚,蒋聪,耿金菊,等,2017. 基于 qPCR 和 16S rDNA 高通量测序研究蓝藻暴发期间太湖竺山湾水体浮游细菌群落[J]. 环境监控与预警,9(3):19-23.
- 闫瑞强,沈渭寿,赵卫,等,2018. 雅鲁藏布江中游河谷黑颈鹤生境适宜性及其保护状况动态变化[J]. 生态与农村环境学报,4(2):146-152.
- 杨汉运,黄道明,池仕运,等,2011. 羊卓雍错高原裸鲤(*Gymnocypis waddellii* Regan)繁殖生物学研究[J]. 湖泊科学,23(2):277-280.
- 张国钢,刘冬平,钱法文,等,2016. 西藏南部羊卓雍错水鸟群落及斑头雁活动区域特征[J]. 生态学报,36(4):946-952.
- 张恒庆,刘华健,刘静怡,等,2020. 英那河细菌群落结构及其与环境因子的相关性研究[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版),41(1):105-113.
- 张晓君,房海,陈翠珍,等,2006. 杀鲑气单胞菌一新亚种的生物学特性及系统发育学分析[J]. 中国水产科学,13(6):917-923.
- 张艳丽,2012. 滇池浮游细菌的时空分布及优势菌对铅、镉的吸附效果[D]. 昆明:云南大学.
- 郑有坤,2015. 青藏高原土壤放线菌的多样性及其对三七根腐病的生防潜力[D]. 昆明:云南大学.
- 周磊,李育森,黄仙德,等,2020. 洪潮江水库浮游细菌群落空间分布及其与环境因子的关系[J]. 微生物学报,60(10):2253-2264.
- 周宁一,2014. 青藏高原微生物多样性研究[J]. 微生物学通报,41(11):2378.
- 邹沈娟,2019. 湖北省三座湖泊水体和沉积物微生物群落特征的研究[D]. 武汉:华中农业大学.
- Allison S D, Martiny J B H, 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,105(1): 11512-11519.
- Pernthaler J, 2013. Freshwater Microbial Communities[M]. New York: Springer Berlin Heidelberg: 97-112.
- Wang M D, Liang J, Hou J Z, et al, 2016. Distribution of GDGTs in lake surface sediments on the Tibetan Plateau and its influencing factors[J]. Science China Earth Sciences, 59(5):961-974.
- Ward D M, Weller R, Bateson M M, 1990. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community[J]. Nature, 345:63-65.
- Wetzel R G, 2001. Limnology: lake and river ecosystems[M]. Salt Lake City: Academic Press.
- Yannarell A C, Triplett E W, 2005. Geographic and environmental sources of variation in Lake Bacterial community composition[J]. Applied & Environmental Microbiology, 71(1): 227-239.

(责任编辑 万月华)

Culturable Bacteria and Relationship of the Bacterial Community with Environmental Factors in Yamzhog Yumco Lake, Tibet

WANG Yan-hong, HAO Zhao, GUO Xiao-fang, DE Ji

(School of Science, Tibet University, Lhasa 850000, P.R. China)

Abstract: Yamzhog Yumco Lake is an important national ecological and environmental conservation area. In this study, we investigated the diversity of culturable bacteria in Yamzhog Yumco Lake and analyzed the influence of environmental factors on the culturable bacteria community. In the summer of 2019, water samples for analyzing bacterial community characteristics and water environmental factors were collected in Yamzhog Yumco Lake and the connected lakes of Kongmo Co Lake and Chen Co Lake. Ten sampling sites were set: Sites 1–4 in the coastal area of Yamzhog Yumco Lake; Sites 5–6 in the coastal area of Kongmo Co Lake; Sites 7–8 in the coastal area of Chen Co Lake; Sites 9–10 in the Yamzhog Yumco Lake center. Bacteria were isolated using the streak plate method and species identification was based on sequence analysis of the 16S domains of rDNA gene. R 3.6.1 and SPSS 20.0 were used to examine correlations between culturable bacteria diversity and environmental factors. The study provides theoretical evidence for ecological and environmental health monitoring of lakes and artificial regulation of lake microenvironment balance. A total of 322 bacterial strains were isolated, belonging to 15 species and 12 genera. *Aeromonas salmonicida*, *Raoultella terrigena* and *Escherichia coli* were the dominant species, accounting, respectively, for 23.9%, 22.4% and 11.8% of the total abundance. Analysis of bacterial diversity showed that species richness (15 species) and genera (12 genera) were highest in the Yamzhog Yumco Lake coastal area, and lowest (9 species, 8 genus) in the Kongmo Co Lake coastal area. Total abundance of bacteria was highest in the coastal area of Kongmo Co Lake and lowest in the center of Yamzhog Yumco Lake. There were no significant differences in total abundance among the four areas. Shannon–Wiener and Simpson diversity indices presented similar trends: highest in the coastal area of Chen Co Lake and the lowest in the coastal area of Kongmo Co Lake. Pielou evenness index was highest in the center of Yamzhog Yumco Lake and lowest in the coastal area of Yamzhog Yumco Lake. Pearson correlation analysis showed that chemical oxygen demand, turbidity and total nitrogen were the primary factors influencing culturable bacterial diversity. At all sites, there was an highly significant positive correlation between bacterial abundance and chemical oxygen demand ($P<0.01$), and a significant positive correlation with turbidity and total nitrogen ($P<0.05$). In general, the bacterial community in Yamzhog Yumco Lake was rich, and bacterial diversity was influenced by aquatic environmental factors and anthropogenic activities.

Key words: plateau lake; Yamzhog Yumco Lake; culturable bacteria; bacterial diversity; environmental factors