DOI: 10.20103/j.stxb.202208032206

廖能健,赵华显,杨恕,李晓丽,黄炯清,覃欣怡,姜宫凌侠,黄亮亮,李楠.广西北部湾茅尾海夏冬季浮游细菌群落结构及其影响因子.生态学报,2023,43(19):8109-8121.

Liao N J, Zhao H X, Yang S, Li X L, Huang J Q, Qin X Y, Jiang G L X , Huang L L, Li N.Community structure and influencing factors of planktonic bacteria across summer and winter in the Maowei Sea of Beibu Gulf, Guangxi.Acta Ecologica Sinica,2023,43(19):8109-8121.

广西北部湾茅尾海夏冬季浮游细菌群落结构及其影响因子

廖能健[1],赵华显[2],杨 恕[2],李晓丽[3],黄炯清[2],覃欣怡[2],姜宫凌侠[2],黄亮亮[1,4],李 楠[2,*]

1 桂林理工大学环境科学与工程学院,桂林 541004

2 南宁师范大学北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室,地理与海洋研究院,南宁 530001

3 鲁东大学农学院,烟台 264025

4 广西岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心,桂林 541004

摘要:海洋浮游细菌在生物地球化学循环过程中具有不可替代的作用。为解析广西北部湾茅尾海夏冬季浮游细菌群落结构及其关键环境影响因子,于 2017 年 6 月(夏季)和 2017 年 12 月(冬季)在该海域设置 7 个站点,采集 0.5m 处表层海水样品,利用 16S 核糖体 RNA (16S rRNA)基因高通量测序技术,分析茅尾海浮游细菌群落结构与多样性。结果表明:茅尾海海域浮游细菌隶属于 11 个门、36 个纲、86 个目、188 个科和 506 个属;主要浮游细菌类群为变形菌门(Proteobacteria, 52.47%)、厚壁菌门(Firmicutes, 17.34%)、放线菌门(Actinobacteria, 16.39%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 7.54%)和蓝细菌门(Cyanobacteria, 5.38%),共占浮游细菌总丰度的 99.12%。北部湾茅尾海夏季浮游细菌群落 Chao 1 指数和 Richness 指数均显著($P<0.05$)高于冬季。主坐标分析(PCoA)和相似性分析(ANOSIM)结果表明,不同季节浮游细菌群落结构存在极显著差异($R=0.586$, $P<0.001$)。在目分类水平上进行组间差异分析(Welch's t-test),具有季节性丰度显著差异的类群共有 15 个($P<0.05$),其中尤泽比氏菌目(Euzebyales)、红杆菌目(Rhodobacterales)、马尾藻海演化枝 11(SAR11)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、乳杆菌目(Lactobacillales)、芽孢杆菌目(Bacillales)、假单胞菌目(Pseudomonadales)在夏季样品中显著增高;海洋螺菌目(Oceanospirillales)、丙酸杆菌目(Propionibacteriales)、涅瓦菌目(Nevskiales)、弧菌目(Vibrionales)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、分枝杆菌目(Mycobacteriales)、红螺菌目(Rhodospirillales)、亚硝化单胞菌目(Nitrosomonadales)在冬季样品中显著增高。夏季浮游细菌属的共发生网络表现出更复杂的网络拓扑结构。物种间的相互作用主要以正相关为主,且夏季(70.3%)高于冬季(68.9%)。Partial Mantel 检验相关分析表明,浮游细菌群落与温度、盐度、溶解氧、总溶解氮和总溶解磷呈显著正相关($P<0.05$)。其中,温度($R=0.326$, $P<0.001$)和总溶解磷($R=0.512$, $P<0.001$)与群落结构的相关程度较高,是显著影响浮游细菌群落结构的关键环境因子。综上,本研究成果,为进一步揭示北部湾海洋浮游细菌多样性,以及为茅尾海海域生态修复与资源利用提供科学参考依据。

关键词:北部湾;茅尾海;浮游细菌;群落结构;季节变化;共发生网络;16S rRNA 基因

Community structure and influencing factors of planktonic bacteria across summer and winter in the Maowei Sea of Beibu Gulf, Guangxi

LIAO Nengjian[1], ZHAO Huaxian[2], YANG Shu[2], LI Xiaoli[3], HUANG Jiongqing[2], QIN Xinyi[2], JIANG Gonglingxia[2], HUANG Liangliang[1,4], LI Nan[2,*]

基金项目:广西高校引进海外高层次人才"百人计划"(6020303891251);国家自然科学基金(41966005);国家自然科学基金(U20A2087)

收稿日期:2022-08-03; **网络出版日期**:2023-05-19

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: nli0417@163.com

1 *College of Environmental Science and Engineering*, *Guilin University of Technology*, *Guilin* 541004, *China*

2 *Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf*, *Ministry of Education*, *Nanning Normal University*, *Nanning* 530001, *China*

3 *School of Agriculture*, *Ludong University*, *Yantai* 264025, *China*

4 *Guangxi Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Areas*, *Guilin* 541004, *China*

Abstract: Planktonic bacteria play a key role in biogeochemical cycling in marine environment. To investigate the community structure of planktonic bacteria across summer and winter and their key environmental drivers, the surface seawater samples at 0.5m depth from seven stations were collected in June and December, 2017, respectivly, in the Maowei Sea, Beibu Gulf, Guangxi. We then analyzed the community structure and diversity of planktonic bacteria using 16S rRNA gene high-throughput sequencing. Our results showed that the planktonic bacteria community in the Maowei Sea belonged to 11 phyla, 36 classes, 86 orders, 188 families, and 506 genera. Proteobacteria (52.47%), Firmicutes (17.34%), Actinobacteria (16.39%), Bacteroidetes (7.54%), and Cyanobacteria (5.38%) were the major phyla, which accounting for 99.12% of the total abundance of the planktonic bacteria. The Chao 1 Index and Richness Index of the planktonic bacterial community in summer samples were significantly higher than that in winter in the Maowei Sea of Beibu Gulf ($P<0.05$). Additionally, the results of PCoA analysis based on Bray-Curtis distance and ANOSIM ($R=0.586$, $P<0.001$) indicated that there were significant differences in the planktonic bacterial community structure between the two seasonal groups. The Welch′s t-test indicated that the abundance of 15 orders significantly varied between summer and winter ($P<0.05$). Among them, Euzebyales, Rhodobacterales, SAR11, Flavobacteriales, Lactobacillales, Bacillales, and Pseudomonadales were significantly increased in summer group, Oceanospirillales, Propionibacteriales, Nevskiales, Vibrionales, Burkholderiales, Mycobacteriales, Rhodospirillales, and Nitrosomonadales were significantly increased in winter group. The co-occurrence network analysis based on SparCC indicated that a more complex topological feature of the bacterial co-occurrence network was found in summer than that in winter. Furthermore, the inter-species interactions of the co-occurrence network were mainly positive relationships, which were greater in summer than that in winter. And the proportion of positive correlation inter-species is 70.3% in summer group, and that is 68.9% in winter group. The partial Mantel test demonstrated that the planktonic bacterial community was significantly positively ($P<0.05$) correlated with temperature, salinity, dissolved oxygen, total dissolved nitrogen, and total dissolved phosphorus. Among these factors, temperature ($R=0.326$, $P<0.001$) and total dissolved phosphorus ($R=0.512$, $P<0.001$) with the highest correlation degree with the community structure of the planktonic bacteria in the Maowei Sea, Beibu Gulf, which were identified as the key factors that affecting the community structure of planktonic bacteria. Overall, this work provides a scientific basis for revealing marine planktonic bacteria diversity in Beibu Gulf, as well as solid evidences for ecological restoration and resource utilization in the Maowei Sea.

Key Words: Beibu Gulf; Maowei Sea; planktonic bacteria; community structure; seasonal variation; co-occurrence network; 16S rRNA gene

海洋约占地球总表面积的71%,是地球上最庞大的水生生态系统[1]。海洋中的浮游细菌是地球上最大、最活跃的微生物群落之一[2]。浮游细菌作为海洋生态系统中重要的生产者和分解者,广泛参与海洋中的物质循环和能量流动[3],还对海洋生态系统稳定性具有重要作用,与环境密切相关。如放线菌门(Actinobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)的物种丰度与氨氮和硝酸盐浓度具有极显著正相关性[4],可作为指示海洋水体无机氮含量变化,反映海洋环境状况。因此,研究海洋环境中浮游细菌群落结构与多样性,对预测海洋环境变化具有重要意义。

基于微生物分离纯化和高通量测序技术,国内外研究人员对海洋浮游细菌的群落结构和多样性进行了大量研究。研究发现温度、盐度、溶解氧、氮磷营养物质、总有机碳、化学需氧量等环境因子能够影响海洋浮游细

菌群落结构[5—9]。例如,German 等[10]研究了越南金兰湾(Cam Ranh Bay)和文丰湾(Van Phong Bay)的浮游细菌群落结构,发现 *Rubripirellula*、细小杆菌属(*Leptobacterium*)、*Hypnocyclicus* 和叶杆菌属(*Porphyrobacter*)等可以用来指示磷酸盐变化,反映出浮游细菌对海洋富营养化的指示作用。胡常巨等[11]研究了象山港不同的富营养区域的浮游细菌分布模式,结果发现化学需氧量是影响象山港海域浮游细菌群落结构和多样性的主要环境因子($P<0.05$)。

北部湾茅尾海是典型的亚热带半封闭浅海海湾,面积约 135km^2,平均水深 0.1—5m[12]。茅尾海渔业资源非常丰富,区位优势突出,是香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)在我国最重要的养殖地区[13—14]。近年来,北部湾海洋微生物多样性成为了国内生态学领域的研究热点之一,李楠等[15]研究了北部湾浮游细菌群落分布特征,结果发现温度、叶绿素 a、总溶解氮和硝酸盐是影响浮游细菌群落结构的主要环境驱动因子。倪健斌等[16]研究北部湾夏、冬两季浮游细菌的分布特征及其驱动因子,发现夏季异养细菌平均丰度高于冬季,而叶绿素 a 是影响异养细菌群落分布的关键控制因子。截止目前,茅尾海浮游细菌群落组成及其主要驱动因子尚不清晰。本文基于 16S 核糖体 RNA(16S rRNA)基因高通量测序技术及生物信息学研究方法,研究了茅尾海夏、冬两季的浮游细菌群落多样性及其关键控制因子。研究结果将有助于揭示海洋生态系统中浮游细菌群落多样性变化规律,以期为北部湾茅尾海海域的生态预警和环境治理提供参考。

1　材料与方法

1.1　站点分布和样品采集

于 2017 年 6 月(夏季)和 2017 年 12 月(冬季)期间在北部湾茅尾海对表层水下 0.5m 处采集样品。根据茅尾海的水文特征以及地理特征,设置了 L1—L7 共 7 个站点(图 1)。使用 Niskin 采水器采集表层海水样品,每个站点采集五个 1L 重复样品,共获得 70 个表层海水样品。现场使用便携式仪器 YSI (Yellow Springs Instrument Company, Yellow Springs, OH, USA)测定海水温度、pH、溶解氧(Dissolved Oxygen, DO)和盐度。将海水样品低温保存在冰盒中,运送至实验室进行后续相关分析。

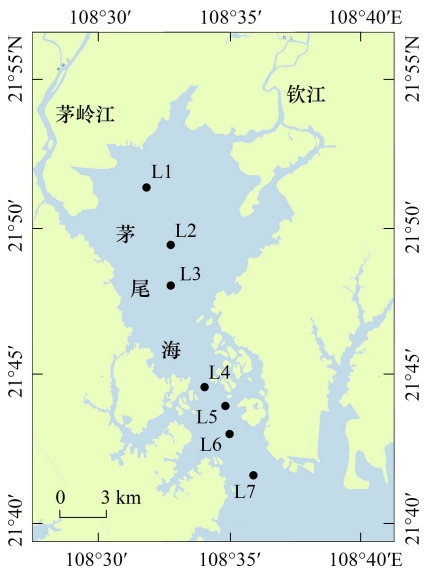

图 1　北部湾茅尾海采样站位分布图

Fig.1　The sampling station in the Maowei Sea, Beibu Gulf

L1—L7 表示站点名

1.2　环境因子分析

将每份海水样品(1L)通过 20μm 的滤膜(Nalgene, Rochester, NY, USA)预过滤,以去除海水样品中较大的杂质。取 500mL 预过滤的水样,用 0.45μm 滤膜(Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)过滤,滤膜储存于-20℃供叶绿素 a(Chlorophyll-a, Chl-a)分析使用。剩余的预过滤水样,用 0.22μm 滤膜(Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)过滤,将菌膜储存于-80℃备用,以便后续细菌基因组 DNA 提取。环境因子参照《海洋监测规范》(GB 17378.4—2007)[17]进行测定。如亚硝酸盐(Nitrite, NO_2^-)使用萘乙二胺分光光度法、硝酸盐(Nitrate, NO_3^-)使用镉柱还原法、氨氮(Ammonium, NH_4^+)使用靛酚蓝分光光度法、化学需氧量(Chemical Oxygen Demand, COD)使用碱性高锰酸钾法、总有机碳(Total Organic Carbon, TOC)使用总有机碳仪器法。采用丙酮法,在黑暗处萃取 24h,并通过荧光分析仪测定 Chl-a 浓度。使用 Lachat Quickchem8500 流动注射分析仪(Hach, USA)测定总溶解氮(Total Dissolved Nitrogen, TDN)和总溶解磷(Total Dissolved Phosphorus, TDP)浓度。

1.3　DNA 提取和 16S rRNA 基因 PCR 扩增

参照试剂盒(DNeasy Power Water Kit, QIAGEN, USA)说明书,提取菌膜细菌基因组 DNA,使用 NanoDrop

分光光度计(Delaware, USA)测定 DNA 浓度和纯度。用引物 341F(CCTACGGGNGGCWGCAG)和 805R(GACTACHVGGGTATCTAATCC)扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区[18]。聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)条件为:95℃预变性 60s,95℃变性 30s,52℃退火 30s,72℃延伸 60s,35 次循环,72℃终延伸 10min。PCR 产物通过 1%琼脂糖凝胶电泳检验质量。

1.4 高通量测序和生物信息学分析

将合格的 PCR 产物送至联川生物科技有限公司完成高通量测序(250PE MiSeq 系统)。测序完成后,使用 QIIME2 对测序数据进行分析[19],利用 VSEARCH 算法检测并剔除嵌合序列[20]。可操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)以 97%相似性聚类[21]。去除低质量序列(分数低于 20)以便最大限度地减少随机测序错误的影响。对剔除条形码和引物后的剩余序列进行修剪,使所有序列的接头和末端位置在与 SILVA 数据库比对时相似,并通过 UCHIME 进行嵌合体筛选[22]。剔除属于叶绿体和线粒体的嵌合体和序列后,采用 RDP Classifier 贝叶斯算法对 97%相似性水平的有效序列进行分类(最低置信度为 50%)。

使用 Origin 2019b 64Bit 绘制北部湾茅尾海环境因子分布特征和变化趋势。使用 Autools 平台(https://www.cloudtutu.com),在门(Phylum)水平上做相对丰度图,反映北部湾茅尾海浮游细菌优势种的分布情况。基于该网站平台,使用 Richness(丰富度)、Chao1 指数、Shannon 和 Simpson 指数表示浮游细菌 α 多样性[23],使用相似性分析(Analysis of Similarities, ANOSIM),检验夏、冬两季浮游细菌群落间是否存在显著差异[24],使用基于布雷柯蒂斯距离(Bray-Curtis distance)的主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA)展示浮游细菌群落 β 多样性[25]。基于 STAMP 软件(v.2.1.3)在目(order)水平上,对夏、冬两季的浮游细菌丰度进行组间差异分析(Welch's t-test)[26]。使用 R 语言(v.4.1.2)"vegan"包,进行曼特尔(Mantel)和偏曼特尔(partial Mantel)检验,用于分析浮游细菌群落结构与环境因子之间的相关性[27]。基于 SparCC 方法,使用"igraph"包和 Gephi(V 0.9.7)交互式软件,对浮游细菌在属水平($|R|>0.7$, $P<0.01$)的共发生网络进行可视化[28]。本研究使用的测序数据全部保存在 NCBI SRA 数据库(登录号: PRJNA601843)。

注:本研究所使用的环境因子和浮游细菌序列数据均采用五个重复样品的平均值计算。

2 结果与分析

2.1 北部湾茅尾海环境因子分布特征

北部湾茅尾海夏、冬两季环境因子的理化参数如图 2 所示,夏、冬两季水温较为恒定,夏季各站点的平均水温为(27.8±0.4) ℃,而冬季的平均水温为(14.9±0.2) ℃。冬季的海水盐度比夏季高,pH 则相反。无论是盐度还是 pH,都沿着 L1 至 L7 站位整体呈上升趋势。夏季水体中 DIN (NO_2^-、NO_3^-、NH_4^+)等营养物质浓度比冬季高,不同的是 NO_2^- 和 NO_3^- 无论是夏季还是冬季都呈下降的趋势,而 NH_4^+ 只在夏季呈上升趋势,且在 L5 站点达到最大值(0.16mg/L)。在夏季,TDN 浓度呈先下降后上升,在 L7 站点又急剧下降,并达到最小值(0.42mg/L);在冬季,TDN 浓度变化较为复杂,具有先降后升、再降后升的特点。Chl-a、COD 和 TOC 等环境参数浓度呈夏季高、冬季低的分布趋势,且 COD 和 TOC 无论是夏季还是冬季,整体上都呈下降趋势。另外发现,在 L7 站点,冬季的 TDN 和 Chl-a 浓度高于夏季。

2.2 不同季节浮游细菌的群落组成与 α 多样性

本研究中海洋浮游细菌 16S rRNA 基因高通量测序共获得 11 个门、36 个纲、86 个目、188 个科和 506 个属。Good's 覆盖度达到了 98.83%,表明测序结果基本上覆盖了全部物种。在门的分类水平上绘制相对丰度图(图 3),优势浮游细菌类群为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和蓝细菌门(Cyanobacteria),其平均相对丰度分别为 52.47%、17.34%、16.39%、7.54%和 5.38%;优势类群占浮游细菌总丰度的 99.12%,而未注释到的浮游细菌类群仅占 0.14%。此外,夏季和冬季样品中,变形菌门的平均相对丰度都是最大的,分别占 40.19%和 68.99%。值得注意的是,L2 站点夏季样品中,厚壁菌门所占比例最大,达到 90.18%;L3 站点冬季样品中,变形菌门所占浮游细菌总丰度的比例高达

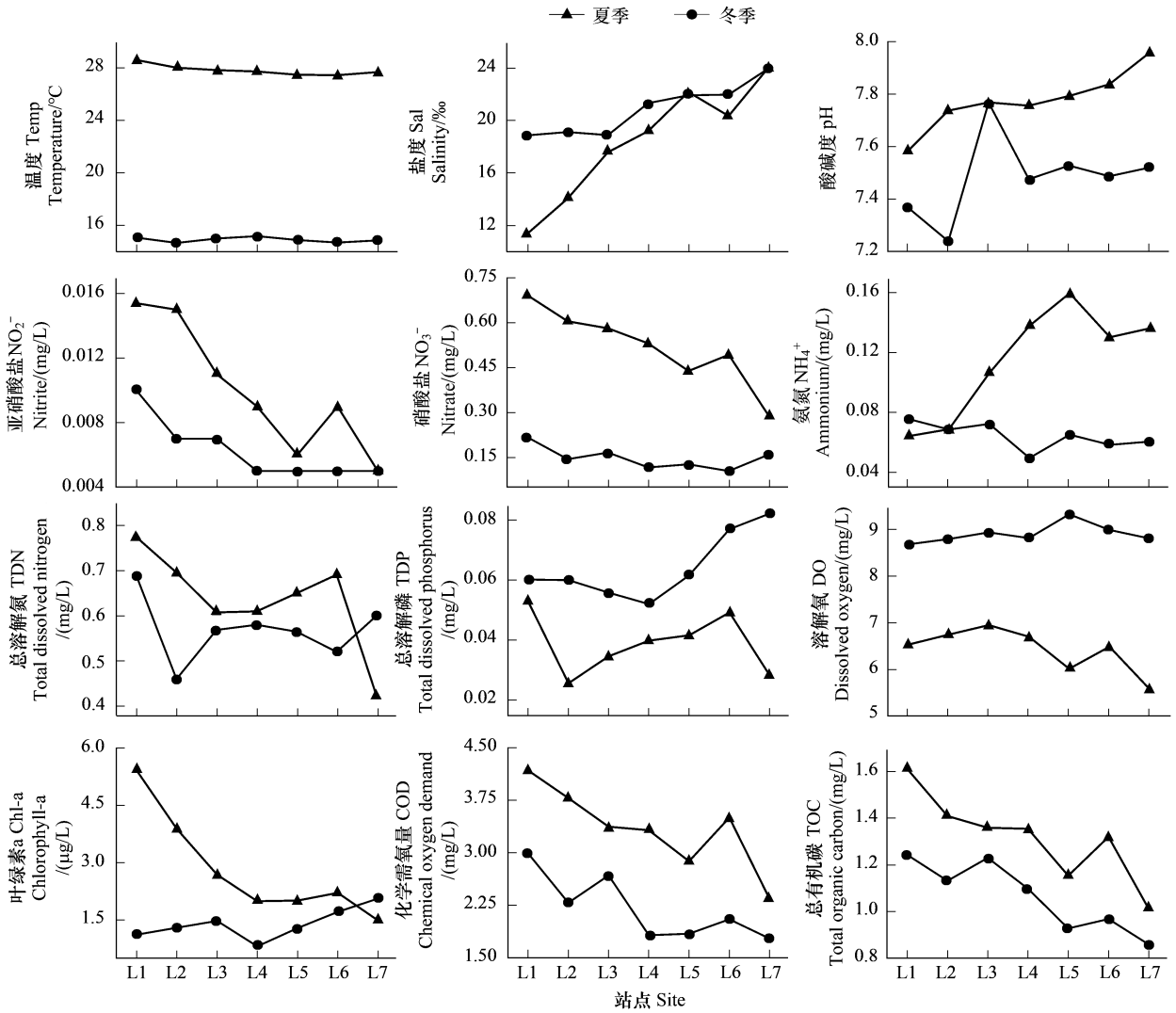

图 2　北部湾茅尾海夏、冬两季环境因子分布

Fig.2　Distribution of environmental factors in summer and winter in the Maowei Sea, Beibu Gulf

95.33%。另外,夏季样品中拟杆菌门占浮游细菌总丰度的 12.1%,而冬季仅占 1.41%。总体而言,北部湾茅尾海样品中浮游细菌的 α 多样性夏、冬两季存在显著差异(图 4)。其中,Chao 1 指数可以用来反映浮游细菌类群的多样性,夏、冬两季的 Chao 1 指数($P=0.033$)和 Richness 指数($P=0.014$)都存在显著差异,并且夏季的 Chao 1 指数和 Richness 指数均大于冬季,表明北部湾茅尾海夏季浮游细菌的 α 多样性比冬季高。

2.3　不同季节浮游细菌群落差异性分析

基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析结果表明,浮游细菌群落结构存在季节性差异(图 5)。两条 PCoA 轴分别解释了总变异的 22.44%和 12.23%。通过 ANOSIM 检验进一步证实,夏、冬两个季节的浮游细菌群落结构差异显著($R=0.586$, $P<0.001$)。

北部湾茅尾海夏、冬两季在属水平上的共发生网络表明,参与网络联系的浮游细菌类群主要为变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、蓝细菌门和厚壁菌门,其他细菌门类和未注释到的物种在网络构建过程中占比较低(图 6)。夏季和冬季的浮游细菌属共发生网络差异明显,表现出不同的网络拓扑结构(表 1)。其中,夏季的网络节点数、边数量、平均度、网络密度和平均聚类系数均大于冬季,表明夏季的浮游细菌种间联系更加紧密。此外,夏季网络的节点之间正相关占比为 70.3%,冬季网络的节点之间正相关占比为 68.9%。

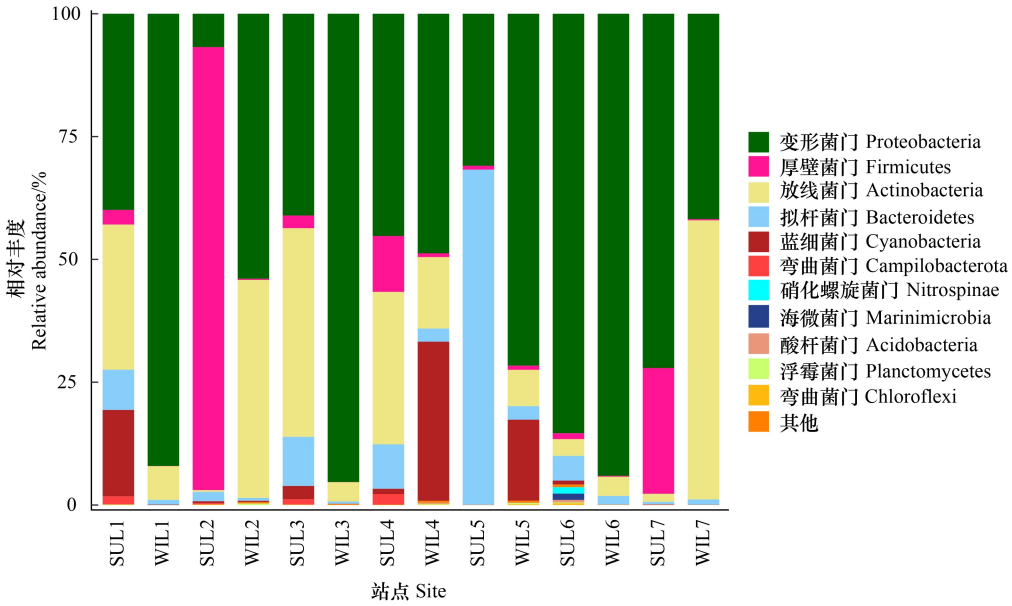

图 3 夏、冬两季各站点优势菌门的平均相对丰度图

Fig.3 Relative abundance of dominant bacteria phylum in summer and winter

SU:夏季 Summer;WI:冬季 Winter;L1—L7:站点名

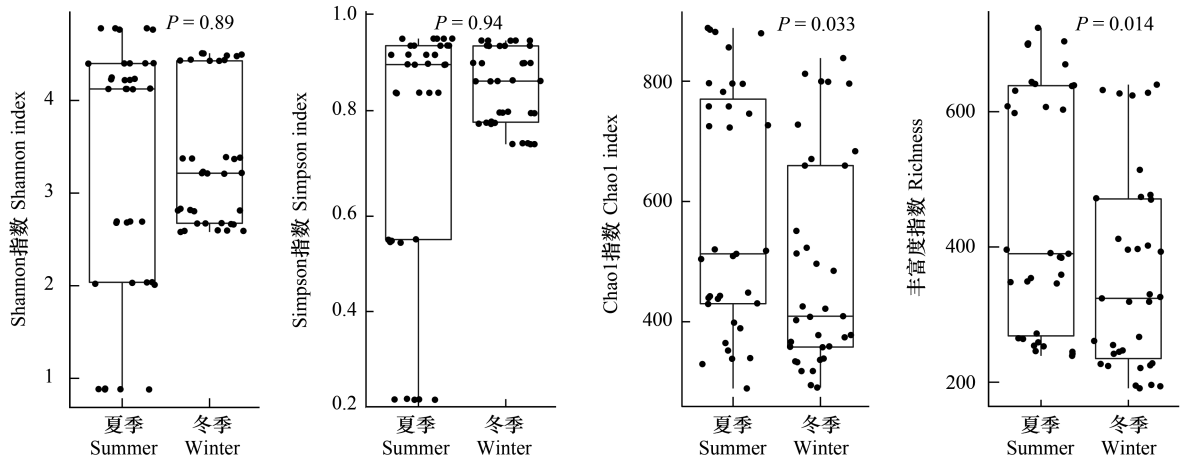

图 4 夏、冬两季浮游细菌的 α 多样性指数

Fig.4 The α-diversity indices (Shannon, Simpson, Chao 1, and Richness) **in summer and winter**

在目分类水平上,对夏、冬两季浮游细菌群落结构进行组间差异分析(图 7)。结果发现,具有组间差异的类群共有 15 个。其中,在夏季样品中显著增加的类群有尤泽比氏菌目(Euzebyales)、红杆菌目(Rhodobacterales)、马尾藻海演化枝 11(SAR11)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、乳杆菌目(Lactobacillales)、芽孢杆菌目(Bacillales)、假单胞菌目(Pseudomonadales)。在冬季样品中显著增加的类群有海洋螺菌目(Oceanospirillales)、丙酸杆菌目(Propionibacteriales)、涅瓦菌目(Nevskiales)、弧菌目(Vibrionales)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、分枝杆菌目(Mycobacteriales)、红螺菌目(Rhodospirillales)、亚硝化单胞菌目(Nitrosomonadales)。

2.4 不同季节样品与环境因子相关性分析

基于 Bray-Curtis distance,对夏、冬两季浮游细菌群落结构与环境因子之间进行 Mantel 检验和 partial Mantel 检验(表 2)。Mantel 检验结果表明,在夏季样品中,浮游细菌群落结构与盐度、DO、NO_3^-、NH_4^+、Chl-a、TDN、TDP、TOC 和 COD 呈极显著正相关(P<0.001),而与温度和 pH 无显著相关。在冬季样品中,浮游细菌群

落结构与 pH 呈显著正相关($P<0.05$),与 DO 无显著相关关系,其他的环境因子相关性与夏季样品一致。

Partial Mantel 检验结果表明,在夏季样品中,浮游细菌群落结构与 DO ($R=0.238$, $P<0.01$)、NO_3^- ($R=0.427$, $P<0.001$)、TDN ($R=0.292$, $P<0.001$)、TDP ($R=0.334$, $P<0.001$) 和 COD ($R=0.250$, $P<0.01$) 呈极显著正相关,与 NO_2^- ($R=0.177$, $P<0.05$) 呈显著正相关。在冬季样品中,浮游细菌群落结构与 Chl-a ($R=0.249$, $P<0.01$)、NO_3^- ($R=0.380$, $P<0.001$) 和 TDP ($R=0.374$, $P<0.001$) 呈极显著正相关,与 NH_4^+ ($R=0.194$, $P<0.05$) 和 COD ($R=0.169$, $P<0.05$) 呈显著正相关。表明 NO_3^-、TDP 和 COD 是影响夏、冬两季浮游细菌群落结构的关键控制因子。对于所有季节样品(总样品)而言,浮游细菌群落结构与温度($R=0.326$, $P<0.001$)、DO ($R=0.153$, $P<0.001$) 和 TDP ($R=0.512$, $P<0.001$) 都呈极显著正相关,与盐度($R=0.094$, $P<0.05$) 和 TDN ($R=0.092$, $P<0.05$) 呈显著正相关。另外,本研究还发现浮游细菌群落结构与 TDP 和温度都呈现出较高的相关性,表明 TDP 和温度对于构造浮游细菌群落结构和多样性具有重要作用。

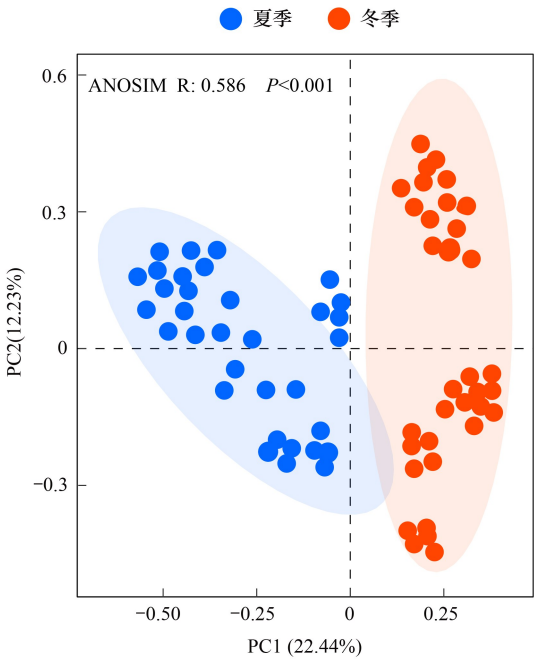

图 5　夏、冬两季浮游细菌群落结构差异(PCoA)

Fig.5　Differences of bacterioplankton community structures in summer and winter (PCoA)

PCoA: 主坐标分析 Principal co-ordinates analysis

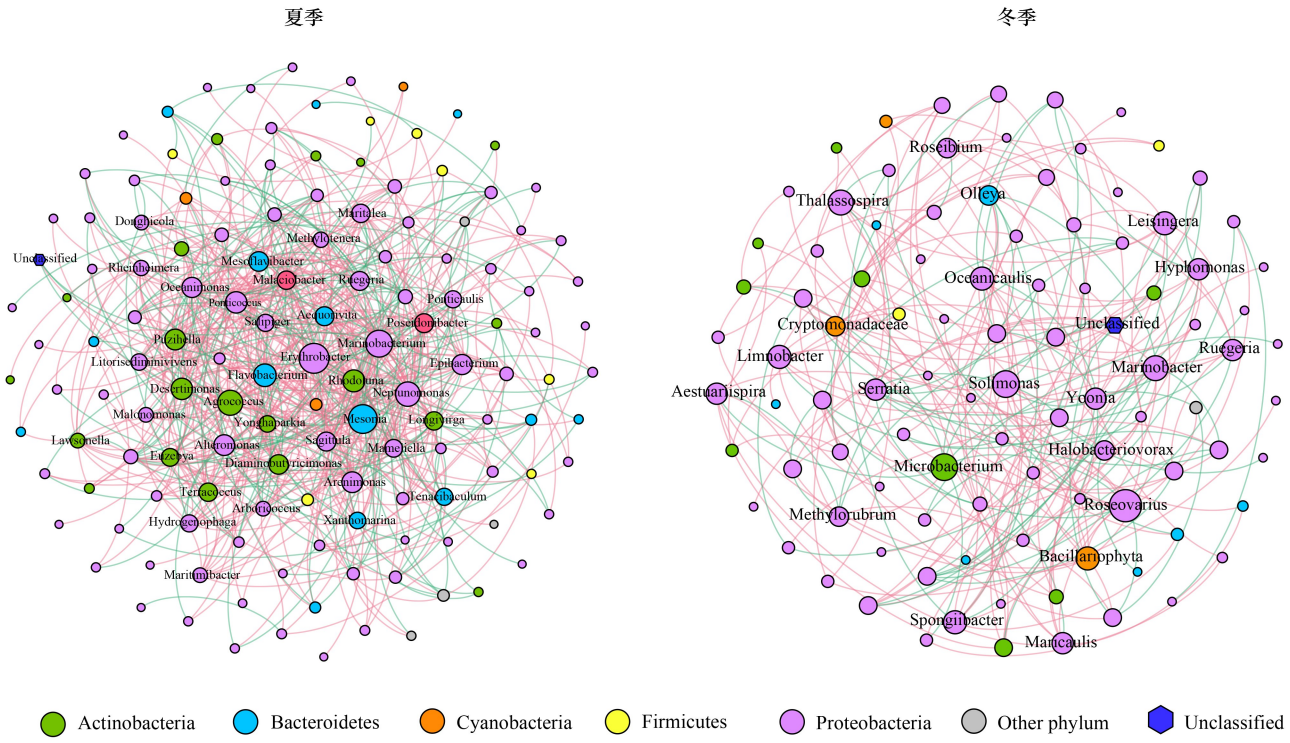

图 6　夏、冬两季在属分类水平上的共发生网络

Fig.6　The co-occurrence network in summer and winter at the level of taxonomic genus

网络图中每个节点代表一个属,节点的大小表示"度"的大小;节点之间的连线代表相关联系,红色连线代表正相关,绿色连线代表负相关($|R|>0.7$, $P<0.01$);相对丰度低于 1%的定义为"Other phylum";Actinobacteria:放线菌门;Bacteroidetes:拟杆菌门;Cyanobacteria:蓝细菌门;Firmicutes:厚壁菌门;Proteobacteria:变形菌门;Other phylum:其他菌门;Unclassified:未注释类群

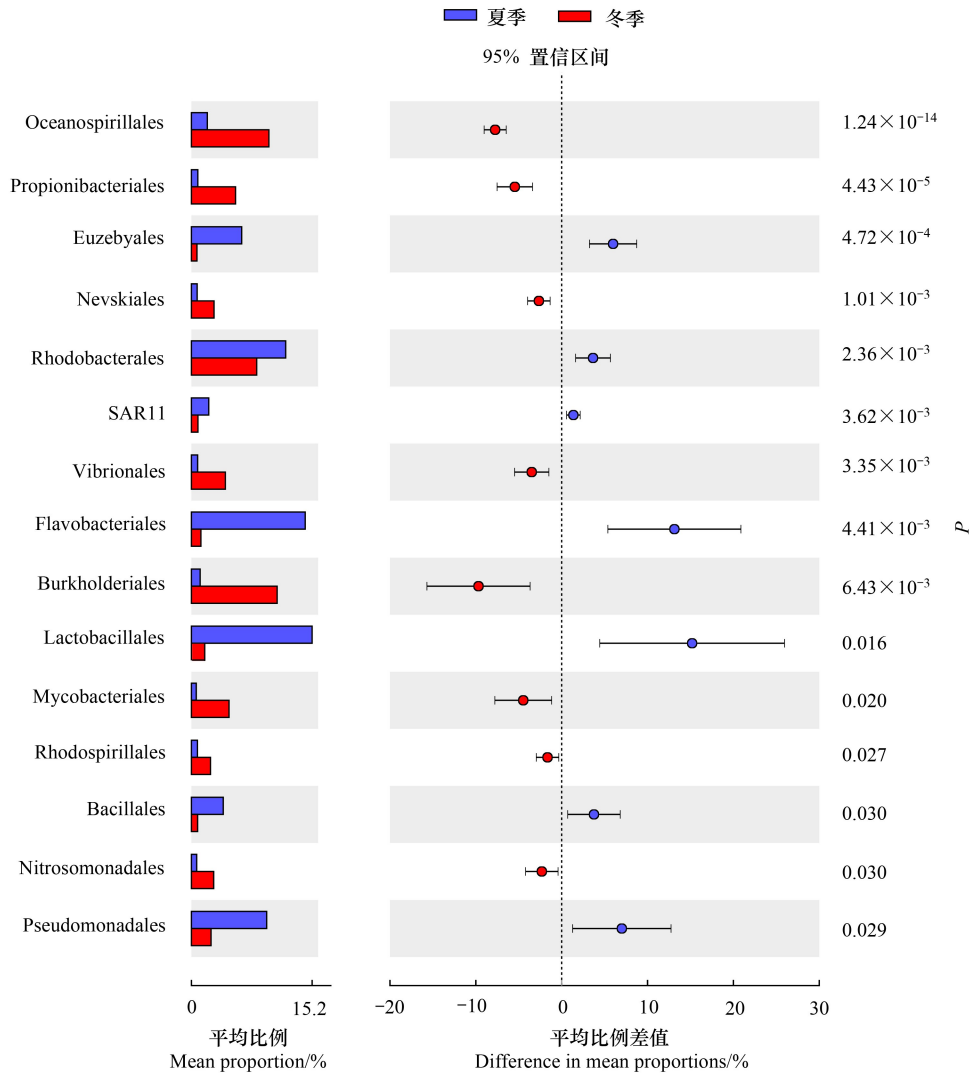

图 7 在目分类水平上(Welch′s t-test),使用 STAMP 软件分析夏、冬两季浮游细菌群落组间差异

Fig.7 The difference analysis of planktonic bacterial community at the level of taxonomic order (Welch′s t-test) between summer and winter using STAMP

Oceanospirillales:海洋螺菌目;Propionibacteriales:丙酸杆菌目;Euzebyales:尤泽比氏菌目;Nevskiales:涅瓦菌目;Rhodobacterales:红杆菌目;SAR11:马尾藻海演化枝 11 Sargasso Sea 11 clade;Vibrionales:弧菌目;Flavobacteriales:黄杆菌目;Burkholderiales:伯克氏菌目;Lactobacillales:乳杆菌目;Mycobacteriales:分枝杆菌目;Rhodospirillales:红螺菌目;Bacillales:芽孢杆菌目;Nitrosomonadales:亚硝化单胞菌目;Pseudomonadales:假单胞菌目

表 1 夏、冬两季浮游细菌共发生网络拓扑结构参数

Table 1 Topological parameters of the planktonic bacterial co-occurrence network in summer and winter

参数 Parameters	夏季 Summer	冬季 Winter	参数 Parameters	夏季 Summer	冬季 Winter
节点数 Nodes number	139	99	网络直径 Graph diameter	8	9
边数 Edges number	592	212	网络密度 Graph density	0.062	0.044
平均度 Average degree	8.518	4.283	平均聚类系数 Average clustering coefficient	0.575	0.44
平均路径长度 Average path length	3.274	4.02	模块化 Modularity	0.518	0.655

表 2　浮游细菌群落的 Bray-Curtis 距离与环境因子之间 Mantel 检验和 partial Mantel 检验 *R* 值

Table 2　*R* values of Mantel test and partial Mantel test between Bray-Curtis distance of planktonic bacterial community and environmental factors

环境因子 Environmental factor	所有样品 All samples		夏季 Summer		冬季 Winter	
	曼特尔 Mantel	偏曼特尔 Partial Mantel	曼特尔 Mantel	偏曼特尔 Partial Mantel	曼特尔 Mantel	偏曼特尔 Partial Mantel
温度	0.417***	0.326***	−0.015	−0.045	−0.004	0.038
pH	0.098***	0.059	0.007	−0.011	0.077*	0.076
盐度	0.260***	0.094*	0.396***	−0.016	0.359***	0.083
DO	0.431***	0.153***	0.379***	0.238**	−0.005	−0.143
NO_2^-	0.298***	−0.120	0.44***	0.177*	0.311***	−0.123
NO_3^-	0.438***	0.045	0.476***	0.427***	0.440***	0.380***
NH_4^+	0.282***	0.009	0.312***	−0.121	0.374***	0.194*
Chl-a	0.208***	−0.035	0.226***	−0.01	0.442***	0.249**
TDN	0.293***	0.092*	0.376***	0.292***	0.342***	0.123
TDP	0.456***	0.512***	0.446***	0.334***	0.439***	0.374***
TOC	0.306***	−0.104	0.383***	0.123	0.396***	0.097
COD	0.357***	−0.133	0.417***	0.250**	0.406***	0.169*

* 表示显著相关, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, ***: $P<0.001$; pH: 酸碱度; DO: 溶解氧 Dissolved oxygen; NO_2^-: 亚硝酸盐 Nitrite; NO_3^-: 硝酸盐 Nitrate; NH_4^+: 氨氮 Ammonium; Chl-a: 叶绿素 a Chlorophyll-a; TDN: 总溶解氮 Total dissolved nitrogen; TDP: 总溶解磷 Total dissolved phosphorus; TOC: 总有机碳 Total organic carbon; COD: 化学需氧量 Chemical oxygen demand

3　讨论

目前,关于茅尾海浮游细菌群落在分子水平上的研究还较少。研究微生物群落结构的传统手段主要有分离纯化培养[29]、16S rDNA 变性梯度凝胶电泳法(DGGE)和 16S rDNA 克隆文库法等[30—31]。这些传统分析方法费时费力,分析通量有限,而海洋浮游细菌多样性极其丰富,所处生境复杂多变。使用传统方法所获取的信息存在局限性,对于分析结果可能产生较大误差,不利于揭示细菌群落结构[32]。

高通量测序技术无需经过培养或分离纯化过程,直接对 PCR 产物进行测序便可获得丰富的物种信息,具有通量大、测序快等特点,被广泛应用于生物多样性研究[33—35]。因此,本文基于非培养的 16S rRNA 基因高通量测序技术,研究了茅尾海不同季节浮游细菌群落组成与多样性,并进一步阐明了影响茅尾海浮游细菌群落的关键环境因子。

3.1　茅尾海浮游细菌群落结构与多样性

北部湾属于典型的亚热带河口海域,渔业资源丰富,生物多样性高[12]。近年来,大量研究者围绕北部湾海域微生物多样性展开研究[36—38],但是针对茅尾海海域的浮游细菌多样性的研究报道仍不多见。本研究利用 16S rRNA 基因高通量测序技术,发现茅尾海优势浮游细菌门类为变形菌门、厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门和蓝细菌门,优势类群占比高达 99.12%。虞嘉玥等[39]研究象山港海区的浮游细菌群落组成也发现,变形菌门(Proteobacteria, 50.74%)、蓝细菌门(Cyanobacteria, 13.80%)、放线菌门(Actinobacteria, 13.51%)、厚壁菌门(Firmicutes, 10.02%)和拟杆菌门(Bacteroidetes, 9.63%)为优势类群,与本研究结果一致。在法国的土伦湾(Toulon Bay)和洛里昂湾(Lorient Bay)[40]、香港牛尾海(Port Shelter)[41]和胶州湾[42]等众多海域,也发现变形菌门、蓝细菌门、放线菌门、拟杆菌门在海洋浮游细菌中占据优势,与本研究结果类似。这些优势类群具有多种参与碳固定、甲烷代谢、氮代谢、氧化磷酸化、光合作用和硫代谢的基因,可通过形成生物膜产生胞外聚合物,促进物质转化[43—44]。如变形菌门、放线菌门和厚壁菌门对 CO_2 的吸收能力较强,厚壁菌门和拟杆菌门可同时完成发酵和硫酸盐的还原[43—44]。以上研究说明,这些优势类群,拥有较好的环境适应能力以及物质利用能力,使它们能够在复杂的海洋环境中占据优势地位。例如,Beatriz Fernández-Gómez 等[45]研究发现,拟杆菌门在海洋环境中适应性强,可附着在颗粒、细胞表面或依附藻类生长,可以高效降解高分子(High Molecular Weight, HMW)化合物,促进海洋碳循环,加速生物地球化学循环过程。董旭日等[46]研究了中国汕头、泉州等

近岸养殖海域的细菌群落结构,发现附着于微塑料表面的变形菌门细菌(弧菌和假单胞菌)远高于周围海水环境,表明此类细菌具有分解微塑料的功能,有利于改善海洋生境。茅尾海浮游细菌的群落结构与海洋生态系统的稳定性息息相关,变形菌门和拟杆菌门等优势类群对海洋环境变化敏感,可用于预测或评价茅尾海生态系统的功能以及由海水养殖活动产生的生态效应。

3.2 浮游细菌群落结构的时空变化

此前研究表明,海洋浮游细菌在不同的时间和空间尺度上,群落结构和优势类群呈现出明显的时空异质性[47—48]。这种异质性往往与其所处的特定海洋生境密切相关。例如,胡常巨等[11]发现象山港的浮游细菌群落结构在养殖区与非养殖区存在显著差异,养殖区拟杆菌门和放线菌门显著高于非养殖区。高权新等[49]发现养殖水域的浮游细菌多样性明显高于非养殖区,厚壁菌门和变形菌门是养殖区最为丰富的类群。本研究中也发现了类似的结果,在茅尾海牡蛎养殖区(L2 和 L3 站点) 变形菌门和厚壁菌门的总丰度共占 80%以上。这种差异可能是养殖活动改变该海域有机质和营养盐(N、P)等营养水平[50],物竞天择,适应环境变化的细菌物种(变形菌门和厚壁菌门)丰度增加,进而影响浮游细菌群落结构[51]。此外,本研究还发现,冬季 L1 和 L2 站点以及夏季和冬季 L6 站点,变形菌门占比都超过了 90%,在总样品中占浮游细菌总丰度的 52.47%。茅尾海海域港口泊运等活动频繁,输入了大量污染物质(如石油烃、芳香烃等),超过了环境自净能力,对海洋生态系统造成严重的破坏[52]。变形菌降解石油烃、芳香烃类物质的能力,有助于其适应茅尾海生态环境,成为优势物种[53]。麦永湛等[54]研究了亚热带珠江河口海域浮游细菌群落结构,发现群落组成存在显著的季节变化($P<0.05$),并且群落的 Shannon 和 Chao 1 指数在夏季均显著高于冬季($P<0.05$)。与该研究结果类似,茅尾海浮游细菌的 α 多样性分析也表明了夏季浮游细菌多样性显著高于冬季(图 4)。广西北部湾茅尾海海域夏季多为雨季,冬季少雨则为旱季[55]。浮游细菌群落存在明显的季节性行为,呈现出独特的时间生态位划分[56]。这种差异可能是受到茅尾海特殊生境变化的影响而产生的,不同物种会随着时间的推移,在不同的季节成为优势类群,从而主导了浮游细菌群落结构的季节性变化[57—58]。本研究中,组间差异分析结果也显示了茅尾海夏季和冬季优势菌目的显著差异(图 7)。共发生网络是揭示微生物群落潜在的生态相互作用及其季节动态的有力工具,群落的季节性演替使得共发生网络存在季节性差异[27, 59]。本研究构建了北部湾茅尾海浮游细菌属(genus)水平的共发生网络,发现夏季和冬季浮游细菌群落的网络拓扑结构存在较大差异(图 6, 表 1)。夏季的共发生网络节点数、边数量、平均度、网络密度和平均聚类系数均大于冬季,说明夏季浮游细菌群落具有更加复杂的网络联系,存在更广泛的生态位重叠[60]。在夏季和冬季,浮游细菌之间主要以正相关(合作关系)为主,表明在该海域中,浮游细菌之间互惠互利的共生关系大于竞争、拮抗和捕食等负面关系[60]。此外,夏季样品的种间合作关系强于冬季,说明了夏季浮游细菌之间的的互惠互利作用更强。

3.3 环境因子对茅尾海浮游细菌群落结构的影响

经济高速发展的同时,伴随着氮、磷和有机污染等陆源污染物质经陆地径流进入海洋,造成污染物大量累积,改变了海水理化性质,对海洋生态系统造成了破坏,进而改变海洋微生物多样性[61]。海洋浮游细菌广泛参与物质代谢和能量流动过程,与环境因子之间有着密切的关联,可以对海洋中环境因子变化迅速作出反应[3—4,62]。主要的环境影响因子包括:水温、盐度、氮、磷、DO、COD 和 TOC 等[63—65]。在本研究中,根据 partial Mantel 检验结果,浮游细菌群落结构与温度、DO 和 TDP 呈极显著正相关,与盐度和 TDN 呈显著正相关。温度可能会影响微生物的分解代谢过程,控制物质和能量在生态系统中转移的路径与速率[66]。茅尾海夏季浮游细菌 α 多样性高于冬季,表明了夏季的海水水温可能有助于浮游细菌的生长繁殖,适宜的水温为浮游细菌丰富度的增加创造了有利条件[67]。盐度是影响海洋生态系统微生物生存、生长和分布的重要环境因子,如弧菌和希瓦氏菌(*Shewanlla*)等变形菌类群在高盐度下丰度更高[68]。Albert Barberán 等[69]研究系统发育结构与表层海水浮游细菌 β 多样性模式发现,拟杆菌门的 β 多样性模式主要受盐度控制。此外,TDN 是影响低富营养化海域弧菌等变形菌群落组装的关键因子[70]。Jarone Pinhassi 等[71]研究了地中海浮游细菌群落结构的影响因子,发现浮游细菌的生长主要受到磷的限制,而磷的有效性有可能直接影响浮游细菌的群落组成。夏季

茅尾海水体的 TDP 浓度低于冬季(图 2),这可能也是夏季浮游细菌 α 多样性高于冬季的原因之一。

总而言之,环境因子可以显著影响海洋浮游细菌群落结构,已有大量的研究证实这一点。本研究不足之处在于,没有对垂直分层以及年际变化等更大尺度上的浮游细菌群落结构展开进一步探讨。此外,还需深入研究北部湾海洋微生物的生态功能、食物网循环以及群落构建机制等相关领域,以期揭示北部湾海洋微生物群落结构与生态功能多样性,为北部湾海洋生态系统的环境治理与资源利用提供科学依据。

4　结论

北部湾茅尾海浮游细菌多样性丰富,群落结构存在季节性差异,多样性表现为夏高冬低的特点。此外,茅尾海浮游细菌丰富类群也存在环境异质性,不同站点及不同季节均出现了物种丰度差异,如变形菌门和厚壁菌门。夏季浮游细菌的共发生网络具有更复杂的网络拓扑结构,节点之间的相互作用主要以正相关(合作关系)为主,且夏季高于冬季。浮游细菌群落结构主要受温度、盐度、DO、TDP 和 TDN 等环境因子影响。其中,温度和 TDP 与浮游细菌群落结构相关程度更高,是最关键的环境驱动因子。

参考文献(References):

[1] 夏呈强, 李毅, 党延茹, 察倩倩, 贺晓艳, 秦启龙. 中印度洋与南海西部表层海水细菌多样性. 生物多样性, 2022, 30(1): 91-100.

[2] Milici M, Tomasch J, Wos-Oxley M L, Wang H, Jáuregui R, Camarinha-Silva A, Deng Z L, Plumeier I, Giebel H A, Wurst M, Pieper D H, Simon M, Wagner-Döbler I. Low diversity of planktonic bacteria in the tropical ocean. Scientific Reports, 2016, 6(1): 1-9.

[3] 贺成, 徐沙, 宋书群, 李才文. 北部湾北部海域水体异养细菌的时空分布特征研究. 海洋学报, 2019, 41(4): 94-108.

[4] 刘强, 赵本宣, 李汝伟, 吴冬梅, 徐大鹏, 程传东, 赵淑江. 舟山群岛不同功能区划海域细菌群落结构分析. 微生物学报, 2018, 58(2): 247-263.

[5] Burns B P, Goh F, Allen M, Neilan B A. Microbial diversity of extant stromatolites in the hypersaline marine environment of Shark Bay, Australia. Environmental Microbiology, 2004, 6(10): 1096-1101.

[6] Arrigo K R. Marine microorganisms and global nutrient cycles. Nature, 2005, 437(7057): 349-355.

[7] 温崇庆, 何瑶瑶, 薛明, 梁华芳, 董俊德. 高通量测序分析 DNA 提取引起的对虾肠道菌群结构偏差. 微生物学报, 2016, 56(1): 130-142.

[8] 杨铭玉, 刘强, 孟庆超, 赵淑江. 东海舟山渔场近岸海域细菌群落结构分析. 中国水运(下半月), 2020, 20(1): 132-134.

[9] 周凯, 章洁香, 张瑜斌, 卢东伟, 丁玉静, 孙省利. 深圳湾浮游细菌生物量的时空分布及其影响因素. 热带海洋学报, 2013, 32(3): 65-71.

[10] Kopprio G A, Cuong L H, Luyen N D, Duc T M, Ha T H, Huong L M, Gärdes A. Carrageenophyte-attached and planktonic bacterial communities in two distinct bays of Vietnam: Eutrophication indicators and insights on ice-ice disease. Ecological Indicators, 2021, 121: 107067.

[11] 胡常巨, 熊金波, 陈和平, 王凯, 叶然, 崔永平, 朱建林, 张德民. 象山港网箱养殖区与非养殖区的细菌群落分布. 生态学报, 2015, 35(24): 8053-8061.

[12] Xu C, Yang B, Dan S F, Zhang D, Liao R Q, Lu D L, Li R H, Ning Z M, Peng S Q. Spatiotemporal variations of biogenic elements and sources of sedimentary organic matter in the largest oyster mariculture bay (Maowei Sea), Southwest China. Science of the Total Environment, 2020, 730: 139056.

[13] Wu Z Q, Zou Q, Chang T, Zhang D, Huang L L. Seasonal dynamics of the juvenile fish community structure in the Maowei Sea mangroves. PLoS One, 2018, 13(2): e0192426.

[14] 吴文成, 任露陆, 蔡信德, 汪涛. 茅尾海沉积物重金属空间分布特征与生态风险. 环境科学研究, 2014, 27(2): 147-156.

[15] Li N, Chen X, Zhao H X, Tang J L, Jiang G, Li Z T, Li X L, Chen S, Zou S Q, Dong K, Xu Q S. Spatial distribution and functional profile of the bacterial community in response to eutrophication in the subtropical Beibu Gulf, China. Marine Pollution Bulletin, 2020, 161: 111742.

[16] 倪健斌, 张朝霞, 柯才焕, 陈楠, 徐小伟, 廖怀苑. 北部湾夏、冬两季异养细菌的水平分布特征及其影响因子. 厦门大学学报: 自然科学版, 2012, 51(3): 434-440.

[17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB17378—2007 海洋监测规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[18] Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner F O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene *PCR* primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. Nucleic Acids Research, 2013, 41(1): e1.

[19] Cole J R, Wang Q, Fish J A, Chai B, McGarrell D M, Sun Y N, Brown C T, Porras-Alfaro A, Kuske C R, Tiedje J M. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. Nucleic Acids Research, 2014, 42(D1): D633-D642.

[20] Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. PeerJ, 2016, 4: e2584.

[21] Schloss P D, Westcott S L. Assessing and improving methods used in operational taxonomic unit-based approaches for 16S rRNA gene sequence

analysis. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(10): 3219-3226.
[22] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. Bioinformatics, 2011, 27(16): 2194-2200.
[23] Dixon P. VEGAN, a package of R functions for community ecology. Journal of Vegetation Science, 2003, 14(6): 927-930.
[24] Warton D I, Wright S T, Wang Y. Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. Methods in Ecology and Evolution, 2012, 3(1): 89-101.
[25] Hamady M, Lozupone C, Knight R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. The ISME Journal, 2010, 4(1): 17-27.
[26] Wang J, Qin X, Guo J B, Jia W Q, Wang Q, Zhang M J, Huang Y. Evidence of selective enrichment of bacterial assemblages and antibiotic resistant genes by microplastics in urban rivers. Water Research, 2020, 183: 116113.
[27] Fang G J, Yu H L, Sheng H X, Chen C X, Tang Y L, Liang Z L. Seasonal variations and co-occurrence networks of bacterial communities in the water and sediment of artificial habitat in Laoshan Bay, China. PeerJ, 2022, 9: e12705.
[28] Friedman J, Alm E J. Inferring correlation networks from genomic survey data. PLoS Computational Biology, 2012, 8(9): e1002687.
[29] 龚斌, 黄蕾, 张艳秋, 彭春艳, 熊拯, 方怀义, 庞庭才, 黄鹄. 北部湾近海珊瑚礁区系沉积物抗菌活性放线菌类群. 微生物学杂志, 2013, 33(6): 13-18.
[30] 杨彩霞, 王崇明, 李赟, 梁颜韬, 王娜, 蔡玉勇. 应用 DGGE 技术分析流清河湾扇贝养殖海区细菌群落结构的季节变化. 水产学报, 2012, 36(3): 407-414.
[31] Kelly K M, Chistoserdov A Y. Phylogenetic analysis of the succession of bacterial communities in the Great South Bay (Long Island). FEMS Microbiology Ecology, 2001, 35(1): 85-95.
[32] Nogales B, Lanfranconi M P, Piña-Villalonga J M, Bosch R. Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. FEMS Microbiology Reviews, 2011, 35(2): 275-298.
[33] 林先智, 胡思敏, 刘胜, 黄晖. 传统测序与高通量测序在稚鱼食性分析中的比较. 应用生态学报, 2018, 29(9): 3093-3101.
[34] Wirta H K, Vesterinen E J, Hambäck P A, Weingartner E, Rasmussen C, Reneerkens J, Schmidt N M, Gilg O, Roslin T. Exposing the structure of an Arctic food web. Ecology and Evolution, 2015, 5(17): 3842-3856.
[35] Leal M C, Ferrier-Pagès C. Molecular trophic markers in marine food webs and their potential use for coral ecology. Marine Genomics, 2016, 29: 1-7.
[36] 陈星. 北部湾海洋弧菌多样性及其群落结构研究[D]. 南宁: 广西大学, 2021.
[37] Liu T, Wu S F, Zhang R Z, Wang D X, Chen J, Zhao J. Diversity and antimicrobial potential of Actinobacteria isolated from diverse marine sponges along the Beibu Gulf of the South China Sea. FEMS Microbiology Ecology, 2019, 95(7): fiz089.
[38] Li N, Zhao H X, Jiang G, Xu Q S, Tang J L, Li X L, Wen J M, Liu H M, Tang C W, Dong K, Kang Z J. Phylogenetic responses of marine free-living bacterial community to Phaeocystis globosa bloom in Beibu Gulf, China. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1624.
[39] 虞嘉玥, 姜亚洲, 孙鹏, 张辉, 凌建忠. 象山港海域不同生境细菌群落结构与多样性. 生态学杂志, 2021, 40(9): 2842-2849.
[40] Briand J F, Barani A, Garnier C, Réhel K, Urvois F, LePoupon C, Bouchez A, Debroas D, Bressy C. Spatio-temporal variations of marine biofilm communities colonizing artificial substrata including antifouling coatings in contrasted French coastal environments. Microbial Ecology, 2017, 74(3): 585-598.
[41] Lee O O, Chung H C, Yang J K, Wang Y, Dash S, Wang H, Qian P Y. Molecular techniques revealed highly diverse microbial communities in natural marine biofilms on polystyrene dishes for invertebrate larval settlement. Microbial Ecology, 2014, 68(1): 81-93.
[42] Yang Z B, Wang J, Shang C C, Yang S M, Hao Y, Tang X X, Xiao H. Spatial and temporal changes in bacterial community structure in adjacent waters of Dagu River estuary of Jiaozhou Bay (China) revealed by high-throughput sequencing. Regional Studies in Marine Science, 2022, 52: 102302.
[43] Raiyani N M, Singh S P. Taxonomic and functional profiling of the microbial communities of Arabian Sea: a metagenomics approach. Genomics, 2020, 112(6): 4361-4369.
[44] Dash H R, Mangwani N, Chakraborty J, Kumari S, Das S. Marine bacteria: potential candidates for enhanced bioremediation. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(2): 561-571.
[45] Fernández-Gómez B, Richter M, Schüler M, Pinhassi J, Acinas S G, González J M, Pedrós-Alió C. Ecology of marine Bacteroidetes: a comparative genomics approach. The ISME Journal, 2013, 7(5): 1026-1037.
[46] Dong X R, Zhu L X, Jiang P L, Wang X H, Liu K, Li C J, Li D J. Seasonal biofilm formation on floating microplastics in coastal waters of intensified marinculture area. Marine Pollution Bulletin, 2021, 171: 112914.
[47] Delille D. Abundance and function of bacteria in the Southern Ocean. Cellular and Molecular Biology, 2004, 50(5): 543-551.
[48] 李桂豪. 黄渤海表层水浮游细菌与真核微生物群落组成和时空分布研究[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所), 2018.
[49] 高权新, 李云莉, 齐占会, 岳彦峰, 施兆鸿, 彭士明, 高阳. 基于宏基因组学的中国沿海密集养殖水域秋季底质细菌多样性研究. 海洋渔业, 2019, 41(3): 354-363.
[50] Dang H Y, Ren J, Song L S, Sun S, An L G. Dominant chloramphenicol-resistant bacteria and resistance genes in coastal marine waters of Jiaozhou

Bay, China. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 24(2): 209-217.
[51] 裘琼芬, 张德民, 叶仙森, 郑珍珍. 象山港网箱养殖对近海沉积物细菌群落的影响. 生态学报, 2013, 33(2): 483-491.
[52] 李洋. 钦州茅尾海资源环境承载力研究[D]. 南宁: 广西师范学院, 2016.
[53] 刘晓辉, 王健鑫, 王帅兵, 樊英萍, 俞凯成, 蒋然, 刘明华. 长江口及邻近海域表层海水细菌多样性及群落结构. 海洋与湖沼, 2015, 46(6): 1531-1541.
[54] Mai Y Z, Peng S Y, Lai Z N, Wang X S. Seasonal and inter-annual variability of bacterioplankton communities in the subtropical Pearl River Estuary, China. Environmental Science and Pollution Research, 2022, 29(15): 21981-21997.
[55] 鲁栋梁, 钟复双, 杨斌, 张鹏, 廖能健. 2014-2019 年钦江河口典型污染物的入海通量研究. 海洋环境科学, 2022, 41(2): 245-252.
[56] Auladell A, Sánchez P, Sánchez O, Gasol J M, Ferrera I. Long-term seasonal and interannual variability of marine aerobic anoxygenic photoheterotrophic bacteria. The ISME Journal, 2019, 13(8): 1975-1987.
[57] Wang C X, Zhang H K, Liu P Y, Wang Y B, Sun Y Y, Song Z L, Hu X K. Divergent patterns of bacterial community structure and function in response to estuarine output in the middle of the Bohai Sea. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 630741.
[58] Quero G M, Perini L, Pesole G, Manzari C, Lionetti C, Bastianini M, Marini M, Luna G M. Seasonal rather than spatial variability drives planktonic and benthic bacterial diversity in a microtidal lagoon and the adjacent open sea. Molecular Ecology, 2017, 26(21): 5961-5973.
[59] Barberán A, Bates S T, Casamayor E O, Fierer N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. The ISME Journal, 2012, 6(2): 343-351.
[60] 梅思钰, 余珂, 陈保卫. 盐度影响珠江口浮游细菌形成特殊生态位. 北京大学学报: 自然科学版, 2021, 57(5): 903-915.
[61] Bouwman A F, Bierkens M F P, Griffioen J, Hefting M M, Middelburg J J, Middelkoop H, Slomp C P. Nutrient dynamics, transfer and retention along the aquatic continuum from land to ocean: towards integration of ecological and biogeochemical models. Biogeosciences, 2013, 10(1): 1-22.
[62] Gilbert J A, Steele J A, Caporaso J G, Steinbrück L, Reeder J, Temperton B, Huse S, McHardy A C, Knight R, Joint I, Somerfield P, Fuhrman J A, Field D. Defining seasonal marine microbial community dynamics. The ISME Journal, 2012, 6(2): 298-308.
[63] Shish F K, Ducklow H W. Temperature regulation of heterotrophic bacterioplankton abundance, production, and specific growth rate in Chesapeake Bay. Limnology and Oceanography, 1994, 39(6): 1243-1258.
[64] Leflaive J, Danger M, Lacroix G, Lyautey E, Oumarou C, Ten-Hage L. Nutrient effects on the genetic and functional diversity of aquatic bacterial communities. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 66(2): 379-390.
[65] Andersson A F, Riemann L, Bertilsson S. Pyrosequencing reveals contrasting seasonal dynamics of taxa within Baltic Sea bacterioplankton communities. The ISME Journal, 2010, 4(2): 171-181.
[66] Ward C S, Yung C M, Davis K M, Blinebry S K, Williams T C, Johnson Z I, Hunt D E. Annual community patterns are driven by seasonal switching between closely related marine bacteria. The ISME Journal, 2017, 11(6): 1412-1422.
[67] Walters K E, Martiny J B H. Alpha-, beta-, and gamma-diversity of bacteria varies across habitats. PLoS One, 2020, 15(9): e0233872.
[68] Wang R X, Li B, Zhang L, Hou Y E, Lin H J, Luo B, Yu G, Wang J Y, Zhu H. Antibiotic resistance in bacterial communities of the oyster *Crassostrea rivularis* from different salinity zones in Qinzhou Bay, Beibu Gulf, China. Elementa: Science of the Anthropocene, 2021, 9(1): 00095.
[69] Barberán A, Casamayor E O. Global phylogenetic community structure and β-diversity patterns in surface bacterioplankton metacommunities. Aquatic Microbial Ecology, 2010, 59: 1-10.
[70] Li N, Dong K, Jiang G, Tang J L, Xu Q S, Li X L, Kang Z J, Zou S Q, Chen X, Adams J M, Zhao H X. Stochastic processes dominate marine free-living *Vibrio* community assembly in a subtropical gulf. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(11): fiaa198.
[71] Pinhassi J, Gómez-Consarnau L, Alonso-Sáez L, Sala M M, Vidal M, Pedrós-Alió C, Gasol J M. Seasonal changes in bacterioplankton nutrient limitation and their effects on bacterial community composition in the NW Mediterranean Sea. Aquatic Microbial Ecology, 2006, 44: 241-252.