

环境因素对东平湖沉积物细菌群落结构的影响

宋洪宁¹, 杜秉海¹, 张明岩², 付伟章³, 路晓萌¹, 李正华¹, 丁延芹^{1*}

(¹ 山东农业大学生命科学学院, ³山东农业大学资源与环境学院, 泰安 271018)

(² 东平县农业局, 东平 271000)

摘要:【目的】探讨环境因素对东平湖沉积物细菌群落结构的影响。【方法】应用 T-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)技术分析和比较了6个不同位置的东平湖沉积物在丰水期和枯水期的细菌多样性,并结合不同样品环境因子的差异,采用主成分分析(PCA)和典型对应分析(CCA),探讨了环境因子对细菌多样性的影响。【结果】不同沉积物样品的T-RFLP图谱具有较高的相似性。除2号样品外,所有枯水期样品的细菌群落具有较高的丰富度、多样性、均匀度和较低的优势度。CCA结果表明,558 bp T-RF的丰度与总磷、总氮、总有机碳、铵态氮和硝态氮含量呈负相关而与碳氮比和水深呈正相关;64.5、164、509和543 bp T-RFs的丰度与总氮、总有机碳、铵态氮、硝态氮、碳氮比和水深呈正相关;其它14种主要的T-RFs在不同样品间分布较为稳定受环境因子影响不大。90、136.5、138和488 bp等T-RFs可能代表了东平湖沉积物中占优势地位的土著菌群。通过Phylogenetic Assignment Tool在线分析结果推测,东平湖沉积物中的优势菌群可能属于 *Firmicutes* 和 *Proteobacteria* 门。【结论】环境因素对东平湖沉积物的细菌多样性产生显著影响,但对其土著菌群的影响不大。

关键词: T-RFLP; 东平湖沉积物; 细菌多样性

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2010) 08-07-1065

湖泊沉积物是一个各种微生物丰富的、物质交换频繁的、生物活性高的特殊环境^[1]。营养物质的供给不均衡、外界环境条件的改变等因素是造成环境微生物群落变化的主要原因^[2-3]。微生物作为物质循环和能量流动的主要参与者,在湖泊生态系统中起着特别重要的作用。湖泊生源物质通过微生物对有机质的降解得以再生,从而构成了常见的碳循环、硫循环、氮循环等^[4]。微生物的活动可以通过同化、异化作用改变环境条件来影响沉积物中的营养盐及金属元素的分布、转化等^[3],进而影响到环境中其它生物的分布。因此,研究湖泊沉积物中微生物的群落结构对于了解微生物在生态环境中的作用至关重要。

以往对微生物的研究多建立在传统的富集、分

离、培养基础上,而在环境样品中,能用现有技术培养的微生物仅占微生物总种群数的0.01%–10%^[5],难以客观揭示环境中的微生物多样性。分子生物技术的应用克服了传统方法的限制,可以从基因水平上估计种的丰度和均度、查明种的变异情况等,从而可以更客观地认识环境中微生物的群落组成。基于16S rRNA的分子生物学方法进行微生物多样性的快速监测已成为现代微生物生态学研究的重要手段,其中T-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)技术是将RFLP技术和荧光标记技术相结合后发展的一种较先进的分子生态学方法。由于其具有快速简便,分辨率高,重复性好,并且可以给出定量分析结果等优点,目前已广泛应用于各种微生物群落多样性研究中^[6-8]。

* 通信作者。Tel/Fax: +86-538-8247806; E-mail: dingyq6885@163.com

作者简介:宋洪宁(1982-),男,山东泰安人,硕士研究生,主要从事环境微生物的研究。E-mail: stick-874@163.com

收稿日期:2010-01-06;修回日期:2010-03-13

东平湖是中国东部地区典型的浅水湖泊,也是国家南水北调东线工程中的调蓄枢纽。总面积627 km²,总库容近40亿m³^[9]。在东平湖主水源入口附近,有面积为151 km²左右的湿地,对湖区及其周边环境的生态有着重要的影响。大汶河为东平湖的主要水源,属季节性河流,在丰水期和枯水期,其水质和流量有着显著的差异。

本文以东平湖表层沉积物为研究对象分析了沉积物中主要理化性质,研究了东平湖不同位置沉积物的微生物在丰水期和枯水期的多样性变化,并对沉积物中的微生物群落结构多样性与理化性质的相关性进行了探讨,试图阐明各种营养物质的变化对微生物群落结构的影响,为湖泊生态学和富营养化机理的研究提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

E. Z. N. A. Soil DNA Kit 购自美国 OMEGA 公司;PCR 产物纯化试剂盒购自上海申能博彩生物科技有限公司;*Taq* DNA 聚合酶、*Msp* I 限制性内切酶、dNTP 及相关试剂购自大连宝生物工程公司;引物合成与基因扫描由上海基康生物技术有限公司完成。

沉积物采样器 K-B Corer Sampler, 美国 Wildlife Supply 公司;T-Gradient PCR 仪, 德国 Biometra 公司;GelDoc-It 凝胶成像系统, 美国 UVPC 公司;UV-2000 型紫外-可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司;5810R 型离心机(冷冻型), 德国 eppendorf 公司。

1.2 沉积物样品及其理化指标的测定

本次实验在东平湖共设 6 个采样点,1 号点位于淀粉厂排污口附近(36°02'43.4"N, 116°13'07.3"E)、2 号点位于水库泄洪闸附近(36°06'31.8"N, 116°12'28.6"E)、3 号点靠近网箱养殖区(36°02'02.0"N, 116°11'33.1"E)、4 号点位于湖心(35°59'12.1"N, 116°11'59.6"E)、5 号点位于大汶河入口处(35°56'00.9"N, 116°14'14.5"E)、6 号点属于东平湖湿地(35°58'38.9"N, 116°15'01.0"E)(图 1)。分别于 2008 年 7 月份(大汶河丰水期, 样品标记为 A) 和 10 月份(大汶河枯水期, 样品标记为 B)两次采集样品。使用 K-B Corer Sampler 在同一取样点 2 m² 范围, 0~15 cm 深度内重复采样 3 次, 沉积物样品混匀后暂存于 0°C。采样时对采样点水体进行水温、pH 值、水深、地理位置等相关指标测定。

所有样品采集完成后, 将每个采样点样品分成

两份, 一份冷冻干燥后用于测定理化指标, 一份立即放于 -80°C 冰箱保存, 用于微生物多样性分析。样品的总氮(TN)含量用凯氏消化蒸馏定氮法测定, 总磷(TP)用硫酸-高氯酸消化钼蓝比色法, 总有机碳(TOC)用重铬酸钾氧化滴定法, 铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)含量分别采用纳氏试剂比色法和酚二磺酸比色法进行测定^[10]。

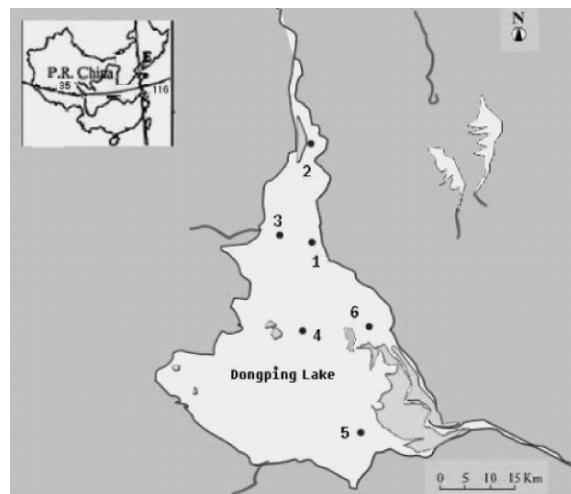


图 1 采样点的分布

Fig. 1 Distribution of sampling stations.

1.3 样品总 DNA 的提取

样品基因组总 DNA 的提取、纯化使用 E. Z. N. A. Soil DNA Kit 进行。

1.4 T-RFLP 分析

1.4.1 PCR 扩增: 采用上游引物 27F-FAM (5'-FAM-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和下游引物 1492R (5'-GGTTACCTTGTACG ACTT-3') 扩增 16S rDNA。PCR 反应条件为: 95°C 5 min; 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 90 s, 30 个循环; 72°C 10 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 PCR 产物纯化试剂盒纯化, -20°C 保存备用。

1.4.2 T-RFLP: 用限制性内切酶 *Msp* I 对上述 PCR 产物进行酶切。反应体系为 *Msp* I 15 U, 10 × T Buffer 2 μL, 0.1% BSA 2 μL, DNA ≤ 1 μg, ddH₂O 补足 20 μL。混匀后 37 °C 酶切 6 h, 65 °C 作用 15 min 停止反应。酶切产物由 ABI 3730 测序仪扫描, 扫描结果采用 Peak Scanner Softwear v1.0 分析。

1.5 统计分析

1.5.1 细菌群落多样性分析: 单个 T-RF (Terminal Restriction Fragment) 的相对峰面积 (A_p) 通过公式 $A_p = n_i/N \times 100$ 进行计算, 其中, n_i 为单个 T-RF 的峰面积, N 为图谱中所有峰的面积的总和^[6]。本文

A_p 值仅采用了片段长度在 50–600 bp 区间的 T-RF 数值进行计算,且仅采用 A_p 值大于 1% 的 T-RF 进行统计分析。

以图谱中每一个可统计的 T-RF 视为一个 OTU (operational taxonomic unit),以 T-RF 的相对峰面积作为对应的 OTU 的丰度。根据图谱中 OTU 的种类及其丰度通过 BIO-DAP 程序 (<http://nhsbig.inhs.uiuc.edu/wes/populations.html>) 进行多样性指数计算。细菌群落物种的丰富度、多样性、优势度和均匀度分别用 Margalef 指数、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 指数表示。根据 T-RFs 在不同样品图谱中的分布及丰度,采用 SPSS 软件对 12 个样品进行主成分分析 (PCA)。通过 Phylogenetic Assignment Tool (<https://secure.limnology.wisc.edu/trflp/>) 对主要 T-RFs 所代表的物种进行推测。

1.5.2 去趋势对应分析 (DCA) 和典型对应分析 (CCA):对于在超过 50% 的样品中出现过的 19 种 T-RFs 进行去趋势对应分析,将不同的 T-RFs 进行分组和排序,以计算其第一排序轴的梯度范围 (Lengths of gradient)。样品的环境数据使用 SPSS 软件进行 z 转换标准化处理后,进行典型对应分析。

DCA 和 CCA 均采用 CANOCO for Windows 4.5 软件进行。

2 结果

2.1 东平湖环境特征

东平湖水温和水体 pH 值在不同取样点间差异不大。两次采样时,湖水的 pH 值范围均在 6.7–7.0 之间,而水温范围在丰水期和枯水期分别为 25–28 °C 和 17–19 °C。其余的沉积物的主要理化性质参见表 1。

由表 1 数据可以看出,不同沉积物样品间的理化指标差异显著 ($P \leq 0.05$),而从丰水期到枯水期,相同采样点的不同样品的许多理化指标则呈现出较一致的变化。例如,丰水期样品中的硝态氮含量 (NO_3^- -N)、总有机碳含量 (TOC) 和碳氮比 (TOC/TN) 大多高于同采样点的枯水期样品,而铵态氮含量 (NH_4^+ -N) 大多低于枯水期样品。与其它样品明显不同的是,2B 样品中的总磷 ($0.312 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和总有机碳 ($20.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 含量均远低于其它样品,其总氮 ($0.962 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 含量也远低于除 5A ($0.940 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 以外的样品。

表 1 十二个样品的主要理化性状

Table 1 Geochemical and physical characteristics of twelve samples

No.	NH_4^+ -N/ (mg/kg)	NO_3^- -N/ (mg/kg)	TN/ (g/kg)	TP/ (g/kg)	TOC/ (g/kg)	TOC/TN	Water depth/ m
1A	41.41 ^a	8.51 ^a	2.601 ^a	0.635 ^a	45.22 ^a	17.39	1.70 ^a
1B	64.10 ^b	3.15 ^b	2.442 ^a	0.722 ^b	29.14 ^{ab}	11.93	1.30 ^b
2A	38.40 ^c	9.71 ^b	1.768 ^b	0.610 ^{bc}	45.20 ^{bc}	25.57	1.62 ^b
2B	35.21 ^c	3.26 ^c	0.962 ^{bc}	0.312 ^c	20.52 ^c	21.33	3.62 ^c
3A	40.22 ^{cd}	9.51 ^c	3.184 ^{cd}	0.607 ^c	58.03 ^d	18.23	3.11 ^c
3B	44.31 ^{de}	4.37 ^c	3.091 ^d	0.512 ^d	51.57 ^d	16.68	3.15 ^d
4A	37.08 ^{de}	12.40 ^d	2.376 ^e	0.526 ^e	59.54 ^e	25.06	3.72 ^d
4B	48.54 ^{ef}	4.51 ^d	2.722 ^f	0.519 ^e	55.01 ^{ef}	20.21	3.63 ^e
5A	17.53 ^{fg}	8.52 ^d	0.940 ^f	0.451 ^e	25.19 ^{ef}	26.80	2.74 ^e
5B	40.32 ^g	4.29 ^d	1.776 ^g	0.466 ^f	25.45 ^f	14.33	2.77 ^f
6A	17.49 ^h	7.99 ^e	1.305 ^h	0.605 ^f	32.76 ^f	25.10	0.88 ^g
6B	44.14 ^h	4.12 ^e	1.961 ^h	0.568 ^g	28.83 ^g	14.70	1.40 ^h

All parameters (except for TOC/TN) presented as means of three replicates. Statistic analysis was preformed using ANOVA in the package of SPSS program. Values with different letters are statistically significant ($P \leq 0.05$).

2.2 基于 T-RFLP 图谱的微生物多样性分析

2.2.1 多样性指数分析:根据 T-RFLP 图谱(图 2)中 OTU 的数量、种类及丰度,分别计算了 12 个沉积物样品的细菌多样性指数(表 2)。样品 2B 的各项指数与其它样品差别明显,具有最低的丰富度 (Margalef 指数)、多样性 (Shannon 指数)、均匀度指数 (Pielou 指数) 和最高的优势度指数 (Simpson 指数)。不同时期的样品中,除 2 号点样品 (2-A 和 2-B) 外,丰水期样品的丰富度、多样性及均匀度指数

均低于(或等于)枯水期样品,优势度指数则相反。

2.2.2 样品的 T-RFLP 图谱分析:T-RFLP 图谱中,片段长度为 558 bp (62.5%) 和 567 bp (20.2%) 的 T-RFs 占绝对优势。除 2B 外的样品中,4A 与其余 10 个样品差异略大,其图谱中丰度最高的 T-RFs 分别为 164 bp (7.8%) 和 465 bp (9.2%)。剩余 10 个样品则没有明显差异,其图谱中的优势 T-RFs 主要为 64.5 bp、136.5 bp、138 bp、148 bp、162.5 bp、485 bp 和 488 bp(图 2)。

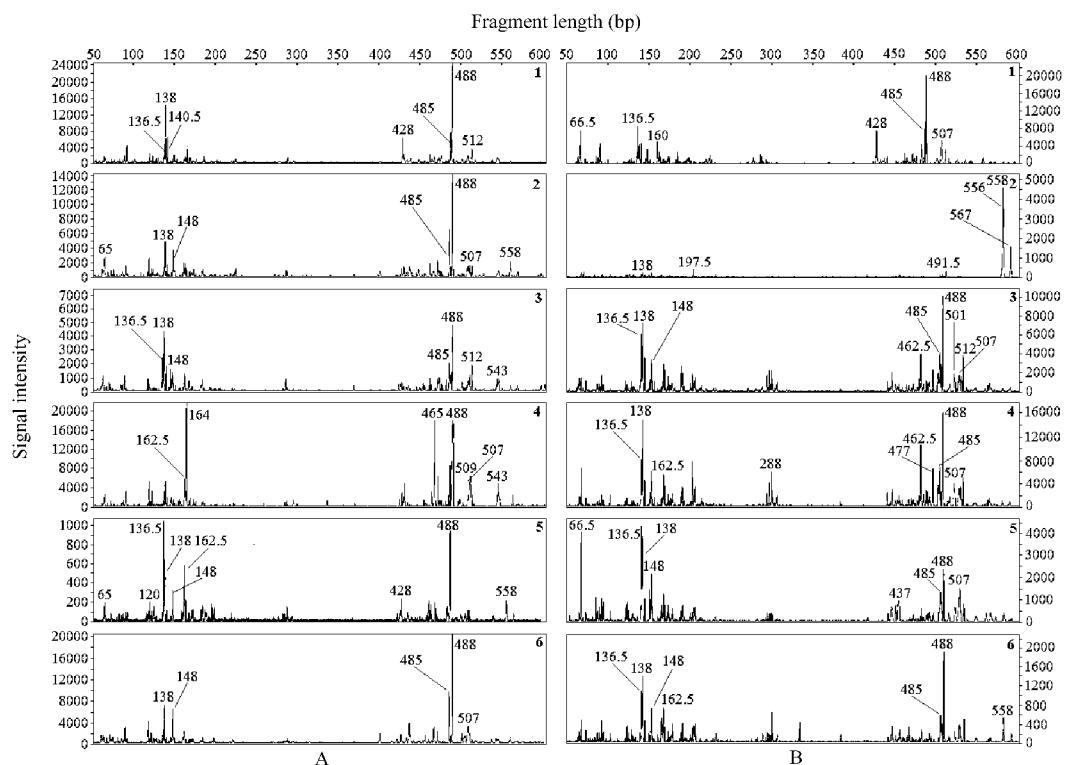


图 2 东平湖沉积物样品的 T-RFLP 图谱

Fig. 2 T-RFLP profiles of sediment samples in Lake Dongping. Selected characteristic T-RFs mentioned in the text are indicated by their base pair lengths.

表 2 细菌多样性分析

Table 2 Species diversity of the 12 samples

Sampling No.	Margalef index	Shannon index	Pielou index	Simpson index
1A	3.510	2.14	0.79	0.191
1B	4.426	2.69	0.91	0.074
2A	4.583	2.62	0.89	0.088
2B	1.781	1.24	0.57	0.431
3A	5.166	2.90	0.95	0.044
3B	6.401	3.13	0.95	0.036
4A	3.498	2.49	0.92	0.082
4B	5.926	3.05	0.95	0.040
5A	3.373	2.52	0.91	0.088
5B	4.991	2.85	0.92	0.055
6A	4.424	2.51	0.85	0.113
6B	7.649	3.34	0.94	0.033

2.2.3 T-RFLP 中主要片段的定性分析:将 T-RFs 数据输入 Phylogenetic Assignment Tool 数据库进行比对,对图谱中的一些优势峰可能代表的物种进行了推测。结果表明,2B 中的绝对优势 T-RFs 558 bp 和 567 bp,都属于 Firmicutes;其它图谱中的一些优势峰可能代表的物种分别为: Firmicutes (64.5 bp)、Firmicutes/ γ -Proteobacteria (136.5 bp)、Firmicutes/ γ -Proteobacteria/Actinobacteria (138 bp)、Firmicutes (148 bp)、 δ -Proteobacteria/Actinobacteria (162.5 bp)、Firmicutes/ γ -Proteobacteria (164 bp)、Firmicutes/

Cyanobacteria (465 bp)、Firmicutes/ γ -Proteobacteria (485 bp)、 γ -Proteobacteria/ β -Proteobacteria/Firmicutes (488 bp)。

2.2.4 基于 T-RFLP 的主成分分析:PCA 结果(图 3)显示,所有样品可以分为两个相对独立的群。2B 样品具有较低的第一主成分得分和较高的第二主成分得分,其细菌群落结构与其它样品有明显的差异,成为 1 个独立的群;其它的样品构成 1 个独立的群。

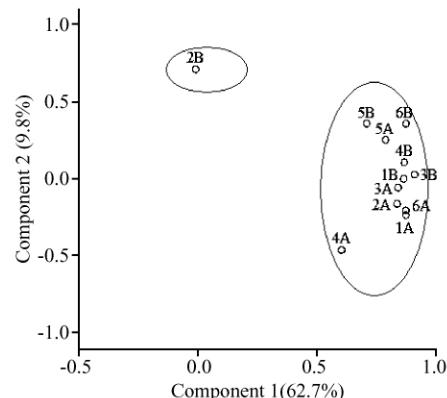


图 3 基于 12 个沉积物样品 T-RFLP 图谱的主成分分析

Fig. 3 PCA for T-RFs of the 12 samples. Ellipses show high similar groups.

2.3 东平湖沉积物细菌群落结构与环境因子之间的关系

通过去趋势对应分析(DCA)可知,第一排序轴的梯度范围大于1.5 (lengths of gradient = 2.924)^[11],则环境因子对细菌群落分布的影响较适合用CCA进行评估。

CCA结果显示,前3个排序轴的特征值分别为0.511、0.121和0.062,T-RFs种类排序轴与环境因子排序轴相关系数为0.854、0.940和0.900,说明排序轴很好地反映了T-RFs种类与环境因子的关系。

CCA结果(图4)将19个T-RFs分为3组。组I位于第一象限,仅包括558 bp T-RF,其丰度与环境中总磷、总氮、总有机碳、铵态氮和硝态氮含量呈负相关而与碳氮比和水深呈正相关,且在2B中远高于其它样品;组II位于第二象限,包括64.5、164、509和543 bp T-RFs,其丰度与总氮、总有机碳、铵态氮、硝态氮、碳氮比和水深呈正相关而与总磷关联性不大,通常在丰水期样品中丰度高于枯水期样品;组III位于原点附近,包括90、136.5、138、140.5、148、162.5、185、428、462.5、485、488、501、507和512 bp T-RFs,其丰度与所有环境因子的关联性都较小,分布缺乏规律性。

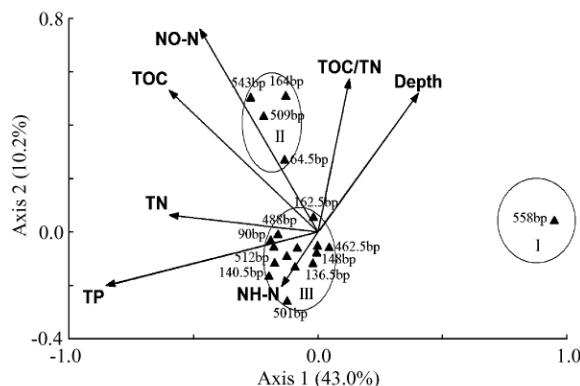


图4 东平湖沉积物样品T-RFs与环境因子的CCA分析

Fig. 4 The result of CCA between T-RFs and environmental factors of Lake Dongping sediment. 138, 185, 428, 485, and 507 bp T-RFs were all belong to group III and not mentioned in the figure.

3 讨论

由于覆盖的水层较浅,东平湖表层沉积物极易受到水面的风浪扰动,同时又受到渔业及航运等人为活动的影响,具有与水体物质交换频繁的特点,并受到多种因子的影响。因此,在东平湖的不同区域

的环境因子差异显著(表1)。此外,丰水期与枯水期沉积物样品的碳氮比差异(表1)表明,作为东平湖主要的水源,大汶河在其丰水期将更多来自于其流域的陆源有机质带入到东平湖中^[12],这可能会对东平湖沉积物细菌群落组成带来影响。

水体环境的变化和外来生物都会影响沉积物中的细菌群落结构。随着深度变化,沉积物的化学性质和含氧量等均有变化,其细菌群落组成也会不同,但表层沉积物更容易受到环境的影响,本文只针对0~15cm的表层沉积物进行分析。基于T-RFLP图谱的多样性指数分析说明,枯水期样品大多比丰水期样品具有更丰富的细菌多样性。其主要原因可能是,在丰水期有更多的来自于大汶河流域的工农业污水和营养物质随大汶河进入东平湖沉积物,可以富集某些菌群,从而降低了沉积物的细菌多样性。CCA的分析结果(图3)显示,大部分T-RFs(组III)的分布受环境因子变化影响不大,说明东平湖沉积物中已经形成了稳定的土著细菌群落,这些群落能够适应东平湖的环境变化并成为环境中的优势群落,这部分菌群对沉积物细菌群落结构和功能有着重要的作用;而少部分T-RFs(组II)的分布受到总氮和总有机碳等营养物质含量的影响,并且在丰水期样品中的相对丰度大于在枯水期样品,说明有外来细菌种群可以进入东平湖沉积物环境。值得注意的是,由于2号采样点位于东平湖泄洪闸附近,在枯水期采样前3天曾经泄洪,2B样品显然是生成时间较短的沉积物,其营养物质含量也远低于其它样品(表1)。与之相对应的是,其细菌丰富度、多样性及均匀度指数均远低于其它样品,而优势度指数远高于其它样品。这表明该细菌群落的功能和结构都处于相对不稳定的状态。

通过Phylogenetic Assignment Tool程序分析,东平湖沉积物中的主要的细菌群落可能为Firmicutes和Proteobacteria,而目前报道的淡水湖泊沉积物中的优势菌群则通常为Proteobacteria(主要为β和δ亚门)^[13~14]。造成这种差别的原因可能有以下几点:一是部分沉积物样品特殊的环境条件(如营养物质缺乏)使Firmicutes成为临时性的优势菌群并被检测到,在本文中,Firmicutes代表性的T-RF(558 bp)显示出与营养物质含量之间的负相关性(图3);二是一些未知微生物序列尚未被提交到数据库中,使我们对一些T-RFs的定性分析结果具有片面性;此外,我们对于很多T-RFs的定性分析本身也是不确定的,有一些T-RFs有不止一种分类的可

能,如图谱中的488 bp T-RF可能属于 γ -Proteobacteria、 β -Proteobacteria和Firmicutes中的一种或多种。为了弥补这种T-RFLP技术的缺陷,可以采用T-RFLP技术和构建16S rDNA文库相结合的方法分析样品的细菌多样性。

综上所述,东平湖沉积物细菌群落主要由90、136.5、138和488 bp等T-RFs所代表的土著菌群构成,它们在环境中分布广泛且数量相对稳定。而558、64.5、164、509和543 bp T-RFs代表的菌群的分布则受到环境因子的影响,在不同样品间丰度差异较大,它们在一定程度上反映了不同样品的环境差异性。本文结果为东平湖微生态研究提供了重要信息,为进一步从微生物角度评价水质提供科学依据。

参考文献

- [1] 赵兴青,燕,尹大强,王汝成,陆现彩,秦伯强.不同空间位点沉积物理化性质与微生物多样性垂直分布规律. 环境科学(*Environmental Science*), 2008, 29(12):3537-3545.
- [2] Koizumi Y, Takii S, Fukui M. Depth-related change in archaeal community structure in a freshwater lake sediment as determined with denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S rRNA genes and reversely transcribed rRNA fragments. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48: 285-292.
- [3] 汪福顺,刘丛强,梁小兵. 湖泊沉积物-水界面铁微生物地球化学循环及其与微量元素元素的关系. 地质地球化学(*Geology-geochemistry*), 2003, 31(3):63-69.
- [4] Aller RC, Hall POJ, Rude PD, Aller JY. Biogeochemical heterogeneity and suboxic diagenesis in hemipelagic sediments of the Panama Basin. *Deep-Sea Research*, 1998, 45: 133-165.
- [5] Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 1995, 59:143-169.
- [6] Lukow T, Dunfield PF, Liesack W. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 32:241-247.
- [7] Winderl C, Anneser B, Griebler C, Meckenstock RU, Lueders T. Depth-resolved quantification of anaerobic toluene degraders and aquifer microbial community patterns in distinct redox zones of a tar oil contaminant plume. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74: 792-801.
- [8] Mumme DL, Stahl PD. Spatial and temporal variability of bacterial 16S rDNA-based T-RFLP patterns derived from soil of two Wyoming grassland ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 46: 113-120.
- [9] 姜东胜,刘存功,刘桂珍,王伟,刘俊芳. 东平湖及周围水环境分析. 海洋湖沼通报(*Transactions of Oceanology and Limnology*), 2002, 12(4):12-15.
- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析. 第三版. 北京:中国农业出版社,2005.
- [11] Jongman RHG, ter Braak CJF, van Tongeren OFR. Data analysis in community and landscape ecology. 1st ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1995.
- [12] Meyers PA, Ishiwatari R. Lacustrine organic geochemistry. An overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry* 1993, 20:867-900.
- [13] Spring S, Schulze R, Overmann J, Schleifer KH. Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes: molecular and cultivation studies. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24: 573-590.
- [14] Tamaki H, Sekiguchi Y, Hanada S, Nakamura K, Nomura, N, Matsumura, M, Kamagata, Y. Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 2162-2169.

Effect of environmental factors on bacterial community in Lake Dongping sediment^{*}

Hongning Song¹, Binghai Du¹, Mingyan Zhang², Weizhang Fu³, Xiaomeng Lu¹, Zhenghua Li¹, Yanqin Ding^{1*}

(¹College of life science, ³College of resource and environment, Shandong agricultural university, Tai'an 271018, China)

(²Dongping bureau of agriculture, Dongping 271000, China)

Abstract: [Objective] In order to investigate the effect of environmental factors on the bacterial composition of Lake Dongping sediment. [Methods] We set six sampling points in Lake Dongping and sampled once in July and once October. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) method was used to analyze the bacterial diversity. Ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), nitrate nitrogen (NO_3^- -N), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), total organic carbon (TOC) and water depth were measured. [Results] T-RFLP profiles showed high similarity among samples. However, bacterial diversity indices were significant difference in various samples. The richness, diversity, and evenness in samples which were collected in dry season (October) were generally higher than those in wet season (July), and the bacterial species dominance was higher in wet season than that in dry season. Principal Component Analysis showed that the structure of bacterial communities in sample 2B was marked different from the other samples. The results of Canonical Correspondence Analysis suggested that the abundance of 558 bp T-RF was negatively correlated with NH_4^+ -N, NO_3^- -N, TN, TP and TOC, but positively correlated with TOC/TN and the water depth; the abundance of 64.5, 164, 509, and 543 bp T-RFs were positively correlated with NH_4^+ -N, NO_3^- -N, TN, TOC, TOC/TN and the water depth. The dominant bacteria in Lake Dongping sediments were *Firmicutes* and *Proteobacteria*. [Conclusion] Environmental factors affect bacterial diversity of Lake Dongping sediments, although affect less on indigenous bacteria.

Keywords: Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP); Lake Dongping sediment; bacterial diversity

(本文责编:王晋芳)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-538-8247806; E-mail: dingyq6885@163.com

Received: 6 January 2010/ Revised: 13 March 2010