

宋昂, 彭文杰, 何若雪, 等. 好氧不产氧光合细菌反馈作用下的五里峡水库坝前水体化学特征研究[J]. 岩矿测试, 2017, 36(2): 171 - 179.

SONG Ang, PENG Wen-jie, HE Ruo-xue, et al. Hydrochemistry Characteristics in front of the Wulixia Reservoir Dam Associated with Feedback from Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria[J]. Rock and Mineral Analysis, 2017, 36(2): 171 - 179.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.2017.02.011】

好氧不产氧光合细菌反馈作用下的五里峡水库坝前水体化学特征研究

宋昂^{1,2}, 彭文杰^{2,3}, 何若雪^{2,4}, 靳振江³, 卢晓漩^{2,4}, 房君佳^{2,4}, 黄炳慧^{2,3}, 李强^{2*}

(1. 中国地质大学(北京), 北京 100083; 2. 中国地质科学院岩溶地质研究所, 广西 桂林 541004;

3. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西 桂林 541006; 4. 西南大学地理科学学院, 重庆 400715)

摘要: 微生物是水体生物地球化学循环的主要驱动者,也是能量代谢的主要参与者,在水体生态系统多样性与稳定性方面发挥着举足轻重的作用。好氧不产氧光合细菌(AAPB)是水体中一类分布广泛的重要功能类群,它们可利用光能补充自身能量代谢,并影响水体化学组分,其重要性被人们广泛认可并深入研究。为探讨岩溶区 AAPB 反馈作用下的五里峡水库坝前水体化学特征,本文对坝前不同层位水体进行实地监测,在获得不同层位水体溶解有机碳和颗粒有机碳稳定碳同位素特征的基础上,采用荧光定量 PCR 技术检测、研究了坝前水体不同层位 AAPB 分布规律。结果表明:取样期五里峡水库坝前水体为 $\text{HCO}_3^- - \text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ 贫-中营养型;通过水体溶解氧、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ 、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ 和碳氮比综合分析得出,坝前水体有机碳主要由微型生物产生; AAPB 占总浮游细菌的相对丰度范围在 1.33% ~ 1.60%,且 AAPB 在不同层位的丰度变化强度要高于总浮游细菌的丰度变化强度,表明相较于总浮游细菌, AAPB 对水化学特征的反馈作用更加敏感;使用典范对应分析可揭示水体理化性质与 AAPB 的内在联系,结果显示 AAPB 和总浮游细菌均受浊度的影响较大,故基于颗粒沉降的海洋微生物泵作用也适用于陆地岩溶水库。因而, AAPB 反馈作用下的水化学特征对揭示 CO_2 -水-碳酸盐岩-微生物代谢体系具有重要的启示意义。

关键词: 好氧不产氧光合细菌; 荧光定量 PCR; 岩溶水化学; 五里峡水库; 贫-中营养型水库

中图分类号: P641

文献标识码: A

好氧不产氧光合细菌(AAPB)是一类具有好氧异养生存通性,并能利用光能进行光合作用来补充自身能量需求特性的异养微生物^[1-4]。AAPB 具有光捕集系统,能将光能转化为腺嘌呤核苷三磷酸作为其异养代谢的能量补充,并可有效减少因细胞代谢消耗的有机碳量^[5-6],在寡营养海域中 AAPB 相对丰度为 2% ~ 4%,但其生产率却占到总细菌生产率的 4% ~ 50%^[7],展现了 AAPB 在物质循环中扮演的独特角色。为此,焦念志等^[7-8]指出 AAPB 因

具有较大的细胞尺寸,更容易将物质传递到上一营养级,并因其胞外有黏性较强的分泌物,能使细菌集群较大或与其他颗粒物形成较大的“聚合物”并有利于有机碳沉降^[9],从而使环境中保存更多的有机碳。此外,温度可通过改变细菌群落结构影响 AAPB 的生长^[10-11],水体营养状态、电导率、pH 值和硝酸盐浓度等环境因子可能改变原生和植食浮游动物的组成,影响 AAPB 的摄食压力,进而影响 AAPB 丰度^[12-14]。然而, AAPB 与上述环境因子之

收稿日期: 2016-12-16; 修回日期: 2017-03-01; 接受日期: 2017-03-25

基金项目: 广西自然科学基金杰出青年基金项目(2015GXNSFGA139010); 广西自然科学基金回国基金项目(2014GXNSFCA118012); 中国地质科学院基本业务费项目(YYWF201505)

作者简介: 宋昂, 硕士研究生, 研究方向为岩溶生物地球化学。E-mail: 2001140311@cugb.edu.cn。

通讯作者: 李强, 研究员, 主要从事岩溶生物地球化学研究。E-mail: glqiangli@163.com。

间的关系机理还不清楚^[15]。

目前,研究发现 AAPB 广泛存在于各种环境中,占总浮游细菌的相对丰度在不同环境中为 0.68%~50%^[1,5-6]。Lew 等^[16]对泥炭沼泽水体研究得出,AAPB 相对丰度与水体 pH 值呈极显著正相关,并与电导率呈正相关。pH 值可影响水化学特征进而影响 AAPB 相对丰度,同时,AAPB 会反馈电导率的变化。Jonsson 等^[17]在贫营养型湖泊中发现,细菌作用和光化学碳矿化过程产生的 CO₂,可占总产量的 70%。近几十年来,我国西南岩溶区修建了大量水库用于开发、利用岩溶水资源,“蓄水河流”景观格局的存在不但改变了水库环境,还影响了全球河流碳循环^[18-19],造成碳酸盐型淡水水域溶解无机碳滞留率为 100 gC/(m²·a)并远高于非碳酸盐型淡水水域 5 gC/(m²·a)的滞留率^[20]。然而,在呈“湖泊化”的岩溶水库中,AAPB 生态分布特征及其与水环境因子之间的相互关系至今尚未见报道。为此,本文选取五里峡坝前水体作为研究对象,对水体化学特征、有机碳来源进行综合分析。运用典范对应分析的方法探讨水化学特征与 AAPB 之间的耦合关系,以期揭示微生物在 CO₂-水-碳酸盐岩代谢体系中的作用提供科学依据。

1 实验部分

1.1 样品采集与分析

1.1.1 样品采集

本研究点处于五里峡水库主坝前直线距离 460 m 处,于 2015 年 12 月 16 日对水样进行采集。使用定深采样器(德国 HYDRO-BIOS 公司 Ruttner 标准水样采集器)采集表层(0 m)、2 m、4 m、6 m 和 8 m 处水样。采样前,用水样清洗采样瓶 3~4 次,存储于 596 mL 聚乙烯采样瓶中,用于测试阴阳离子、总有机碳(TOC)、溶解有机碳(DOC)、溶解无机碳(DIC)等。现场用玻璃抽滤器和 47 mm 的 GF/F 玻璃纤维滤膜(孔径 0.65 μm)过滤 4 L 水样,滤膜低温保存用于 δ¹³C_{POC} 测试,过滤水样加入 HgCl₂ 保存用于 δ¹³C_{DOC} 测试。

实验室中将用于微生物分析的水样约 3 L 混合均匀,用 0.22 μm 聚碳酸酯膜过滤水样,获取总浮游细菌样品。最后将滤膜装入已灭菌的冷冻保存管里,迅速放入 -80℃ 低温冰箱保存直至提取微生物 DNA。

1.1.2 数据采集

现场对水体主要环境参数进行采集。使用多参数水质检测仪 YSI EXO(美国 YSI 公司)测试水体溶

解氧(DO)、水温(T)、pH 值、浊度(Turbidity)、电导率(Spc)、叶绿素 a(chla),其中 Spc 为温度补偿至 25℃ 的值,以上各项测试指标精度分别为 0.01 mg/L、0.001℃、0.001 pH 单位、0.01 mg/L、0.1 μS/cm 和 0.01 μg/L。水样的 HCO₃⁻ 含量使用碱度试剂盒(德国 Merck 公司)进行滴定,精度为 0.1 mmol/L。

1.1.3 样品分析

阳离子(K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺)用戴安 ICS1500 离子色谱仪分析,阴离子(SO₄²⁻、NO₃⁻、Cl⁻)用万通 MIC 离子色谱仪分析。DOC、TOC 和总氮(TN)使用 Multi N/C 3100 总有机碳/氮分析仪(德国耶拿公司)测定,DIC 使用 TOC-V 分析仪(日本岛津公司)测定。GF/F 玻璃纤维滤膜去除无机碳处理后,通过稳定性同位素质谱仪 MAT-253 测定同位素比值,获得 δ¹³C_{POC} 值,总精度高于 0.2‰;δ¹³C_{DOC} 使用连续流稳定同位素质谱仪 GasBench-IRMS 测试。

微生物样品均在实验室无菌超净台内进行操作,使用 DNA 提取试剂盒“FastDNA™ SPIN Kit for Soil”(MP Biomedicals 公司)提取水体浮游细菌的总 DNA,DNA 的浓度和纯度采用微量紫外分光光度计(美国 Quawell 5000)测定。16S rRNA 和 *pufM* 基因拷贝数由荧光定量 PCR 仪(美国 CFX96™ Real-Time System)对其进行 qPCR 扩增获得。

16S rRNA 用 25 μL 扩增体系:1 μL 稀释后模板 DNA;浓度为 10 μmol/μL 的正、反向引物各 1 μL;12.5 μL Green-2-Go qPCR Mastermix(生工生物工程上海股份有限公司);9.5 μL 无菌去离子水。扩增引物采用 Muyzer 等^[21]选择的特异性引物对:正向引物为 F338(5'-CCTACG GGA GGC AGC AG-3'),反向引物为 R518(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3',生工生物工程上海股份有限公司)。扩增程序:预变性温度 95℃,3 min;变性温度 95℃,1 min;退火温度 56℃,1 min;延伸温度 72℃,1 min;循环数为 39 个,最后 72℃ 延伸 5 min。标准曲线由含有 V3 区片段的已知拷贝数的质粒随样品制作,扩增效率为 90%~105%,R²>0.99。

pufM 基因同样使用 25 μL 扩增体系,选用 *pufM* 引物对:正向引物为 *pufM*-557f(5'-CGC ACC TGG ACT GGA C-3'),反向引物为 *pufM*-750r(5'-CCC ATG GTC CAG CGC CAG AA-3',生工生物工程上海股份有限公司)。扩增程序:预变性温度 94℃,5 min;变性温度 94℃,1 min;退火温度 53℃,1 min;延伸温度 72℃,1 min;循环数为 30 个,最后 72℃ 延伸 10 min^[22]。标准曲线由含有 *pufM* 片

段的已知拷贝数的质粒随样品制作,扩增效率为90%~105%, $R^2 > 0.99$ 。通过 Delta Ct 法获得 *pufM* 基因和 16S rRNA 拷贝数比值 p 。AAPB 相对丰度: $p(\text{AAPB}) = p \times 100\%$ 。

1.2 数据处理与统计

采用 Jin 等^[23]的荧光定量 PCR 数据归一化方法,把不同深度条件下的 16S rRNA 和 *pufM* 基因拷贝数加和后分别进行归一化,计算公式为:

$$x_i' = x_i / \sum_{i=1}^5 x_i (i = 1, 2, 3, \dots, 5)$$

式中: x_i 为不同深度下的基因拷贝数。

利用 SPSS 软件对数据进行相关性分析。使用 Canoco 5 软件,把 16S rRNA 归一化拷贝数、*pufM* 基因归一化拷贝数和 AAPB 占总浮游细菌的相对丰度数据作为环境变量,水体理化性质数据作为典范函数变量,进行典范对应分析,探究微生物丰度与水体理化性质之间的动态关系。

2 结果与讨论

2.1 水体化学特征

五里峡水库坝前水体各层位的主要理化特征如表 1 所示。坝前水体水温变化范围在 13.34 ~ 13.39℃ 之间,表层和 2 m 水温最低,从 2 m 开始随着深度增加水温逐渐升高,8 m 处水温达到最高(13.39℃)。平均水温 13.37℃,低于研究区年均气温 19.0℃,高于研究区 12 月份的平均气温 8.79℃,说明表层水体的温度受气温影响较大。这一温度变化与五里峡水库的夏季“热分层”现象正好相反^[24]。在冬季,坝前水体的表层水温主要受气温控制,水温会随深度增加而升高,从而表现出“逆分层”现象^[25]。此外,水体的 pH 值、DO 值也呈现出上层较高,而随着深度增加 pH 值、DO 含量逐渐降低的趋势。因而,坝前水体的“逆分层”将会对水体的物理、化学性质、营养物质分布产生直接影响。

根据研究区水化学 Piper 三线图(图 1)可知,五里峡水库坝前水体离子以 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 为主,其他离子相对较少。其中 HCO_3^- 占阴离子总含量的 91%, Cl^- 和 SO_4^{2-} 含量总和占阴离子总含量的 9%; Ca^{2+} 占阳离子总含量的 75%~80%, Mg^{2+} 占阳离子总含量的 14%~17%。 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 主要来源于中泥盆统东岗岭组(D_2d)灰质白云岩和灰岩。因此,根据舒卡列夫分类法得出:坝前水体 $\text{Na}^+ / (\text{Na}^+ + \text{Ca}^{2+})$ 、 $\text{Cl}^- / (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$ 和总溶解固体量(TDS)分别为 0.03 mg/L、0.026 mg/L 和 36.64 mg/L,进而证明了坝前水体的水化学特征主要受

控于水岩相互作用^[26]。 CO_2 的吸收和排放为 DIC 在水-气界面交换的主要形式,当大气的 $p\text{CO}_2$ 值高于水体值时,大气中的 CO_2 便向水中扩散;当大气 $p\text{CO}_2$ 值低于水体值时,水体 CO_2 便溢出到大气中。坝前水体 0~8 m 各层水样的 $p\text{CO}_2$ 值为 3.17~3.29 Pa(表 1),均小于当地大气 $p\text{CO}_2$ 值(32.324 Pa)^[27]。加之方解石饱和指数(SIc)和白云石饱和指数(SId)小于零,所以坝前水体对周围碳酸盐岩的侵蚀潜力巨大且水体无机碳以 HCO_3^- 为主。

表 1 五里峡水库坝前水体的物理化学特征

Table 1 The physicochemical characteristics of water sample in front of Wulixia Reservoir dam

环境因子	层位(m)				
	0	2	4	6	8
水温(°C)	13.36	13.34	13.38	13.39	13.39
Chla($\mu\text{g/L}$)	0.87	3.02	2.66	3.20	4.59
pH	7.97	7.88	7.83	7.82	7.79
电导率($\mu\text{S/cm}$)	90.70	90.70	90.70	90.65	90.68
DO(mg/L)	9.45	9.36	9.34	9.31	9.28
浊度(FNU)	4.58	4.34	4.65	4.30	6.23
ORP(mV)	139.40	141.75	150.03	160.55	166.76
TSI	23.08	36.64	35.29	37.29	41.22
TDS(mg/L)	36.64	36.64	36.64	36.64	36.64
硬度(mg/L)	35.29	35.29	35.29	35.29	35.29
DOC(mg/L)	1.22	1.13	1.16	0.98	0.98
TOC(mg/L)	1.40	1.08	1.24	1.05	1.05
TN(mg/L)	1.21	1.11	1.03	0.98	0.93
K^+ (mg/L)	0.63	0.65	0.62	0.67	0.65
Na^+ (mg/L)	0.45	0.46	0.49	0.46	0.44
Ca^{2+} (mg/L)	14.78	15.80	14.60	12.89	12.58
Mg^{2+} (mg/L)	2.74	2.73	2.75	2.77	2.76
Cl^- (mg/L)	1.31	1.31	1.34	1.30	1.31
SO_4^{2-} (mg/L)	3.01	2.99	3.00	2.98	2.97
HCO_3^- (mg/L)	51.55	51.55	51.55	44.68	44.68
SIc	-0.70	-0.73	-0.82	-0.93	-0.98
SId	-1.97	-2.07	-2.20	-2.38	-2.46
$p\text{CO}_2$ ($\times 10^{-6}$ Pa)	3.29	3.22	3.17	3.22	3.19

注:pH、TSI、SIc 和 SId 均为无量纲指标。

2.2 水体有机碳来源

2.2.1 水体营养状况

水库中碳的转化与分布受控于生物代谢过程的强度及方向。五里峡水库坝前水体的 DOC 浓度表现为“下层低、上层高”的趋势,这与分层期湖泊(Suprior 湖和枫湖)水体的研究结果一致^[28]。湖泊中 Chla 通常可以反映水生光合生物的数量变化^[29],通过相关性分析可以看出,坝前水体中 Chla 与 TOC 和 TN 呈现显著负相关关系(Pearson 相关系数 r 分别为 -0.9070 和 -0.9020)。在冬季,低温

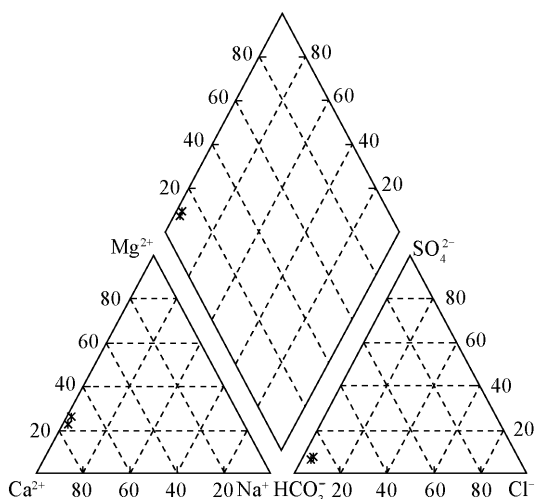


图1 五里峡水库坝前水体水化学 Piper 图

Fig.1 Piper diagram of major ions from water sample in front of the Wulixia Reservoir dam

导致坝前水体中能进行光合作用的藻类生长缓慢或进入休眠期,不再是水体有机碳的主要生产者。依据卡尔森营养状态指数(TSI)标准:水体 TSI > 50 为富营养,水体 TSI 在 40 ~ 50 范围内为中营养,水体 TSI 在 30 ~ 40 范围内为贫 - 中营养,水体 TSI < 30 为贫营养^[30-32]。本研究坝前水体 TSI 变化范围为 23.08 ~ 41.22(平均值为 34.17),故坝前水体为贫 - 中营养型。DO 可以侧面表达水体生物光合作用的强弱,坝前水体 DO 的含量范围是 9.28 ~ 9.45 mg/L,平均值为 9.35 mg/L。当水温环境为 13 ~ 14℃下饱和溶解氧值为 10.30 ~ 10.53 mg/L^[33],所以各层位水体 DO 均未达到饱和。表层 DO 含量最高,随着深度增加而逐渐减小,水体 DO 主要来源于大气扩散。因此,研究结果表明:研究区较低的水温造成藻类的光合作用过程减弱。

2.2.2 水体碳稳定同位素

五里峡水库坝前水体 $\delta^{13}C_{DOC}$ 值变化范围为 -25.48‰ ~ -24.08‰,最小值出现在 6 m 处,最大值出现在 2 m 处; $\delta^{13}C_{POC}$ 值的变化范围为 -29.79‰ ~ -27.77‰,最小值出现在 8 m 处,最大值出现在 2 m 处。 $\delta^{13}C_{DOC}$ 和 $\delta^{13}C_{POC}$ 从 2 m 到 8 m 的变化过程中,均表现出偏轻趋势,并在 0 m 处较低(表 2),且 $\delta^{13}C_{POC}$ 值始终低于 $\delta^{13}C_{DOC}$ 值。由于 DOC 易光降解,优先使有机质中的 ^{12}C 发生矿化,从而导致残留的有机质富集 ^{13}C ^[34]。由于 ^{13}C 比 ^{12}C 难被利用,这样在生物新陈代谢过程中会产生碳同位素分馏。有机物在不同环境下,因为产生的代谢过程不相同,致使 ^{13}C 特征值也不同。因此,有机物碳同位素的不

同特征值可作为示踪水体有机碳分布和来源的理论依据^[35-36]。根据光合作用类型不同,可以将陆地植物划分为 C_3 植物、 C_4 植物和 CAM 植物。其中, C_3 植物的 $\delta^{13}C_{org}$ 值为 -37‰ ~ -24‰; C_4 植物的 $\delta^{13}C_{org}$ 值变化范围是 -19‰ ~ -9‰; CAM 植物的 $\delta^{13}C_{org}$ 值为 -30‰ ~ -10‰^[37]; 水生生物的 $\delta^{13}C_{org}$ 值变化范围较广,为 -50‰ ~ -11‰^[38-40]。由于坝前水体有机物碳同位素普遍偏负(表 2),所以有机碳主要来源于水生生物。

表 2 五里峡水库坝前水体碳同位素和 C/N 值

Table 2 Carbon isotope and C/N values of water sample in front of the Wulixia Reservoir dam

层位(m)	$\delta^{13}C_{POC}$ (‰)	$\delta^{13}C_{DOC}$ (‰)	C/N
0	-29.65	-25.41	1.16
2	-27.77	-24.08	0.97
4	-29.09	-24.41	1.21
6	-29.19	-25.48	1.08
8	-29.79	-25.20	1.14

2.2.3 水体碳氮比

因不同物源的碳同位素特征值会有交叉部分,若要判断有机物来源还需借助于有机物的碳氮比(C/N)。前人研究成果表明,有机物因来源不同会有不同的 C/N 值:一般陆地植物的 C/N > 20; 湖泊浮游植物的 C/N 值为 5 ~ 10; 大多数细菌等微生物的 C/N < 5^[41]。五里峡水库坝前水体 C/N 值的变化范围为 0.97 ~ 1.16,因此可以认为坝前水体的有机碳主要来自于微生物作用。

2.3 水体不同层位的 16S rRNA 与 pufM 基因丰度

2.3.1 16S rRNA 与 pufM 基因丰度分析

运用荧光定量 PCR,对五里峡水库坝前水体各层位微生物 pufM 基因与 16S rRNA 基因进行相对定量分析。五个层位中,细菌 16S rRNA 总拷贝数在 4 m 处最低,为 4.76×10^{10} 拷贝/mL; 在 8 m 处最高,为 7.69×10^7 拷贝/mL(表 3)。同样, AAPB 基于 pufM 基因总拷贝数也在 6 m 处最低,为 6.32×10^8 拷贝/mL, 8 m 处最高,为 1.15×10^9 拷贝/mL(表 3)。各层位 pufM 基因与 16S rRNA 基因拷贝数变化范围较小,最大值与最小值比值分别为 1.6 与 1.8,且各层位 AAPB 相对丰度变化范围也较小,约为 1.33% ~ 1.60%。该结果与印度洋 ($3.79\% \pm 1.72\%$)、大西洋 ($1.57\% \pm 0.68\%$)、太平洋 ($1.08\% \pm 0.74\%$) 的 AAPB 相对丰度结果几乎一

致^[1,42],但低于咸水湖泊(1.57%~5.35%)、湖光岩玛珥湖(0.24%~39.25%)以及加拿大北方湖泊(37%)的AAPB相对丰度^[22,43-44]。这是因为五里峡水库为贫-中营养型水库,以至于供微生物生长所需的有机物较少而导致AAPB相对丰度较低。

在0~2 m内,水体DOC和TOC含量随深度增加而降低,16S rRNA与基因丰度也呈现降低趋势。2~4 m开始随着深度增加,与16S rRNA基因拷贝数呈现上升趋势,且有机物和水温也呈现略微上升趋势,这与有机物可以提供微生物生命活动所需的能量有关。4~6 m内,理化指标在此层位降至最低,因为光照达到最大深度,水体发生复杂且相互关联的反应,致使各项指标产生连锁性降低,因而AAPB在此层位受水化学性质的综合影响,出现降低的反馈结果^[45]。层位为8 m时到达底层,细菌等生物伴随颗粒物不断从表层向深水层转移,导致底层水体基因与16S rRNA基因拷贝数最大,这与陈晓洁等^[22,43]在玛珥湖的研究结果一致。

表3 五里峡水库坝前水体16S rRNA与基因归一化拷贝数

Table 3 The CNV of 16S rRNA and *pufM* genefrom water sample in front of the Wulixia Reservoir dam

层位 (m)	16S rRNA		<i>pufM</i> 基因		p (AAPB) (%)
	总拷贝数 $\times 10^{10}$ (拷贝/mL)	16S rRNA 归一化拷贝数	总拷贝数 $\times 10^8$ (拷贝/mL)	<i>pufM</i> 基因 归一化拷贝数	
0	6.50	0.20	10.40	0.22	1.60
2	4.76	0.15	6.32	0.13	1.33
4	7.55	0.24	11.30	0.24	1.50
6	5.28	0.17	8.16	0.17	1.54
8	7.69	0.24	11.50	0.24	1.49

注:16S rRNA 归一化拷贝数、*pufM* 基因归一化拷贝数均为无量纲指标。

2.3.2 基因丰度与水化学特征的关系

16S rRNA与基因归一化拷贝数变化趋势相同,AAPB相对丰度除在6 m层位升高外,其他层位均呈现出与前两者变化趋势相同,且AAPB在不同环境下丰度变化强度要高于总浮游细菌的丰度变化强度(表3)。这是因为AAPB的光合系统不发达,在缺乏有机碳作为电子受体时,光合作用会提高AAPB的存活几率,光照能提供约20%的能量^[46-47],这一部分能量的补给可以使消耗有机碳的呼吸作用减弱,使得AAPB在真光层碳源缺乏的条件下存活^[48]。因此

AAPB在寡营养水域的竞争优势明显,相对丰度较高^[49]。当光照条件减弱时,AAPB相对于其他微生物的竞争优势减弱,其他水化学特性发生变化时,AAPB的反馈作用更加敏感。

为揭示水体理化性质与AAPB的内在联系,使用一种非线性多元直接梯度分析方法(典范对应分析),直观地将研究对象排序和环境因子排序表示在一张图中,并反映出各变量之间的关系。依据箭头连线长度和两箭头连线夹角来判断影响状况和相关性^[50]。结合典范对应分析结果(图2),可知AAPB和总浮游细菌的基因拷贝数会受到水温(T)和DOC的影响。由于五里峡水库坝前水体温度(T)和DOC含量较低,AAPB在不利于生长繁殖的温度环境下可利用碳源较少,使AAPB相对丰度在12月份较低。与焦念志等^[50-51]在三大洋的研究中得出的AAPB在寡营养大洋环境中丰度和相对丰度要远小于近岸富营养环境丰度的结论相一致。由于AAPB自身体积较大,有较高的摄食压力,当AAPB丰度较大时,会对其所摄食的DOC产生负反馈影响,合成自身有机碳并固定在环境中^[52]。进一步结合典范对应分析结果(图2)可以得出,C/N对AAPB相对丰度有促进作用,这是因为可利用碳源发生变化,诱导AAPB相对丰度发生相应的变化,造成AAPB在冬季对水化学性质保持较高的反馈活性^[49,53]。AAPB相对丰度与浊度(Turbidity)呈现正相关关系,这是因为某些AAPB胞外有黏性较强的分泌物,使细菌集群较大或与其他颗粒物形成的“聚合物”也较大,并有利于形成基于颗粒沉降的生物泵作用^[9-10]。

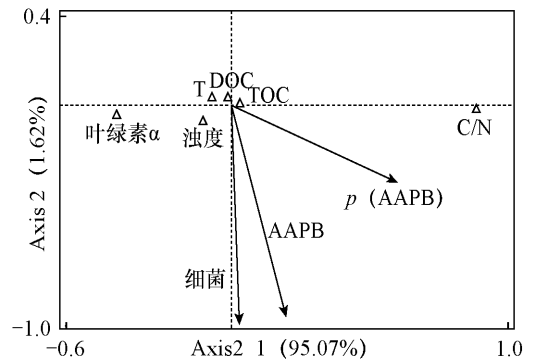


图2 五里峡水库坝前水体环境指标与微生物丰度的典范对应分析

Fig. 2 CCA of physicochemical properties and gene abundance in front of the Wulixia Reservoir dam

3 结论

通过对五里峡水库坝前水体化学组分、溶解氧、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ 、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ 和碳氮比综合分析,可以得出冬季研究区水体为 $\text{HCO}_3^- - \text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ 贫-中营养型,且有机碳主要由微型生物产生。荧光定量PCR结果表明,AAPB的相对丰度为1.33%~1.60%,与海洋研究结果一致,明显低于陆地富营养水域。受光照影响,AAPB丰度在真光层变化强度要高于总浮游细菌。而典范对应分析结果进一步证明,AAPB在冬季坝前水体仍保持较高活性,并可以灵敏反馈出水体有机碳变化信息。AAPB和总浮游细菌受浊度影响较大,从而使得基于颗粒沉降的海洋生物泵作用也适用于陆地岩溶水库。因此AAPB在 CO_2 -水-碳酸盐岩-微生物代谢体系中扮演着重要的角色。由于本文仅探讨AAPB这一类细菌,若完善微型生物在 CO_2 -水-碳酸盐岩-微生物代谢体系中的作用,今后还需对其他微生物类群进行定量分析。

4 参考文献

- [1] Fei Z, Hua L J, Qiang L I, et al. The research of typical microbial functional group reveals a new oceanic carbon sequestration mechanism—A case of innovative method promoting scientific discovery [J]. *Science China-Earth Sciences*, 2016, 59(3): 456–463.
- [2] Hall K, Arocena J M, Boelhouwers J, et al. The influence of aspect on the biological weathering of granites: Observations from the Kunlun mountains, China [J]. *Geomorphology*, 2005, 67(1–2): 171–188.
- [3] Kolber Z S, Falkowski P G. Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean [J]. *Science*, 2001, 292(5526): 2492–2495.
- [4] Rawat M, Moroney J V. The regulation of carbonic anhydrase and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase by light and CO_2 in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiology*, 1995, 109(3): 937–944.
- [5] Shi L M, Cai Y F, Chen Z T, et al. Diversity and abundance of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in two cyanobacterial bloom-forming lakes in China [J]. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 2010, 46(4): 233–239.
- [6] Yurkov V, Csotonyi J T. New light on aerobic anoxygenic phototrophs [J]. *Advances in Photosynthesis and Respiration*, 2009, 28: 31–55.
- [7] Jiao N Z, Zhang F, Hong N. Significant roles of bacteriochlorophylla supplemental to chlorophylla in the ocean [J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(4): 595–597.
- [8] 焦念志. 海洋微型生物生态学 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 580.
- [9] Jiao N Z. *Marine Microbial Ecology* [M]. Beijing: Science Press, 2006: 580.
- [9] Sieracki M E, Gilg I C, Thier E C, et al. Distribution of planktonic aerobic anoxygenic photoheterotrophic bacteria in the Northwest Atlantic [J]. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51(1): 38–46.
- [10] Koblížek M. Ecology of aerobic anoxygenic phototrophs in aquatic environments [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015, 39(6): 854–870.
- [11] Lew S, Koblížek M, Lew M, et al. Seasonal changes of microbial communities in two shallow peat bog lakes [J]. *Folia Microbiologica*, 2015, 60(2): 165–175.
- [12] Hojerová E, Mašín M, Brunet C, et al. Distribution and growth of aerobic anoxygenic phototrophs in the mediterranean sea [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(10): 2717–2725.
- [13] Mašín M, Čuperová Z, Hojerová E, et al. Distribution of aerobic anoxygenic phototrophs in glacial lakes of Northern Europe [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2012, 66(1): 77–86.
- [14] Caliz J, Casamayor E O. Environmental controls and composition of anoxygenic photoheterotrophs in ultraoligotrophic high-altitude lakes (Central Pyrenees) [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2014, 6(2): 145–151.
- [15] Fauteux L, Cottrell M T, Kirchman D L, et al. Patterns in abundance, cell size and pigment content of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria along environmental gradients in Northern Lakes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124035.
- [16] Lew S, Lew M, Koblížek M. Influence of selected environmental factors on the abundance of aerobic anoxygenic phototrophs in peat-bog lakes [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(14): 13853–13863.
- [17] Jonsson A, Meili M, Bergström A K, et al. Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Örträsket N, Sweden) [J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(7): 1691–1700.
- [18] 曹建华, 袁道先, 潘根兴, 等. 岩溶动力系统中的生物作用机理初探 [J]. *地学前缘*, 2001, 8(1): 203–209.
- [18] Cao J H, Yuan D X, Pan G X, et al. Preliminary study on biological action in karst dynamic system [J]. *Earth Science Frontier*, 2001, 8(1): 203–209.
- [19] 周玉婵, 曹建华, 李小方. 水化学对水体着生微型生

- 物群落组成与丰度的影响——以桂林毛村表层岩溶泉、砂页岩裂隙泉为例[J]. 中国岩溶, 2008, 27(3): 261–265.
- Zhou Y C, Cao J H, Li X F. Comparison of periphyton community composition and abundance under different hydro-chemical influences between epikarst spring and sand-shale fissure spring in Maocun, Guilin [J]. *Carsologica Sinica*, 2008, 27(3): 261–265.
- [20] 李强, 靳振江. 岩溶生物地球化学研究的进展与问题[J]. 中国岩溶, 2016, 35(4): 349–356.
- Li Q, Jin Z J. Perspectives on karst biogeochemistry[J]. *Carsologica Sinica*, 2016, 35(4): 349–356.
- [21] Muyzer G, Waal E C D, 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]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 695–700.
- [22] 陈晓洁, 曾永辉, 简纪常, 等. 玛珥湖好氧不产氧光合细菌 *pufM* 基因 DNA 和 mRNA 的定量及多样性分析[J]. 微生物学通报, 2012, 39: 1560–1572.
- Chen X J, Zeng Y H, Jian J C, et al. Genetic diversity and quantification of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in Hugangyan Maar lake based on *pufM* DNA and mRNA analysis[J]. *Microbiology China*, 2012, 39: 1560–1572.
- [23] Jin Z, Tai J, Pan G, et al. Comparison of soil organic carbon, microbial diversity and enzyme activity of wetlands and rice paddies in Jingjiang area of Hubei, China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45: 3773–3781.
- [24] William M, Lewis J. A revised classification of lakes based on mixing[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1983, 40(10): 1779–1787.
- [25] Ruhl N, Deangelis H, Crosby A M, et al. Applying a reservoir functional-zone paradigm to littoral bluegills: Differences in length and catch frequency? [J]. *PeerJ*, 2014, 2: e528.
- [26] 陈静生, 王飞越, 何大伟, 等. 黄河水质地球化学[J]. 地学前缘, 2006, 13(1): 58–73.
- Chen J S, Wang F Y, He D W, et al. Geochemistry of water quality of the Yellow River basin [J]. *Earth Science Frontiers*, 2006, 13(1): 58–73.
- [27] 刘文. 亚热带不同地质背景水库碳转移过程的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- Liu W. A Study on Carbon Migration Processes in Reservoir with Different Geological Setting in Subtropical Areas, SW China[D]. Chongqing: Southwest University, 2015.
- [28] Zigah P K, Minor E C, Werne J P. Radiocarbon and stable-isotope geochemistry of organic and inorganic carbon in lake superior [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2012, 26(1): 1346.
- [29] Li W, Wu F, Liu C, et al. Temporal and spatial distributions of dissolved organic carbon and nitrogen in two small lakes on the Southwestern China plateau[J]. *Limnology*, 2008, 9(2): 163–171.
- [30] 蔡庆华, 刘建康. 评价湖泊富营养化的一个综合模型[J]. 应用生态学报, 2002, 13(12): 1674–1678.
- Cai Q H, Liu J K. A comprehensive model for assessing lake eutrophication [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(12): 1674–1678.
- [31] 蔡庆华. 湖泊富营养化综合评价方法[J]. 湖泊科学, 1997, 9(1): 89–94.
- Cai Q H. Method for assessing lake eutrophication[J]. *Journal of Lake Science*, 1997, 9(1): 89–94.
- [32] 高坤乾, 顾继光, 韩博平. 三座不同营养类型水库春季细菌生理群分布特征[J]. 生态环境, 2006, 15(3): 469–474.
- Gao K Q, Gu J G, Han B P. Spatial distribution of heterotrophic bacteria, phosphobacteria and nitrogen-cycle bacteria among different types of reservoirs in spring [J]. *Geology and Environment*, 2006, 15(3): 469–474.
- [33] 张朝能. 水体中饱和和溶解氧的求算方法探讨[J]. 环境科学研究, 1999, 12(2): 54–55.
- Zhang C N. Study on calculation method of saturation values of dissolved oxygen in waters [J]. *Research of Environmental Science*, 1999, 12(2): 54–55.
- [34] Vähätalo A V, Wetzel R G. Long-term photochemical and microbial decomposition of wetland-derived dissolved organic matter with alteration of $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ mass ratio[J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(4): 1387.
- [35] Raymond P A, Bauer J E. Use of ^{14}C and ^{13}C natural abundances for evaluating riverine, estuarine, and coastal DOC and POC sources and cycling: A review and synthesis [J]. *Organic Geochemistry*, 2001, 32(4): 469–485.
- [36] Zigah P K, Minor E C, Werne J P, et al. Radiocarbon and stable carbon isotopic insights into provenance and cycling of carbon in lake superior [J]. *Limnology and Oceanography*, 2011, 56(3): 867–886.
- [37] Smith B N, Epstein S. Two categories of $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ ratios for higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1971, 47(3): 380–384.
- [38] 吴莹, 张经, 曹建平, 等. 长江流域有机碳同位素地球化学特征[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, 30(2): 309–314.

- Wu Y, Zhang J, Cao J P, et al. The character of carbon isotope geochemistry of the Changjiang drainage basin [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao (Natural Science)*, 2000, 30(2): 309 - 314.
- [39] 许斐, 杨守业, 展望, 等. 三峡水库建设对长江下游颗粒有机碳通量及碳同位素组成的影响[J]. *地球化学*, 2011, 40(2): 199 - 208.
- Xu F, Yang S Y, Zhan W, et al. Influence of the impoundment of the Three Gorges reservoir on the flux and isotopic composition of particulate organic carbon in the lower Changjiang mainstream [J]. *Geochimica*, 2011, 40(2): 199 - 208.
- [40] 张彦鹏, 周爱国, 周建伟, 等. 石家庄地区地下水中溶解性有机碳同位素特征及其环境指示意义[J]. *水文地质工程地质*, 2013, 40(3): 12 - 18.
- Zhang Y P, Zhou A G, Zhou J W, et al. Characteristics of dissolved organic carbon isotope in groundwater in Shijiazhuang and its environmental implications [J]. *Hydrogeology and Engineering Geology*, 2013, 40(3): 12 - 18.
- [41] 于志同, 王秀君, 赵成义, 等. 基于多指标分析的博斯腾湖表层沉积物有机碳来源[J]. *湖泊科学*, 2015, 27(5): 983 - 990.
- Yu Z T, Wang X J, Zhao C Y, et al. Source characterization of organic carbon using elemental, isotopic and nalkanes proxies in surface sediment from Lake Bosten, Xinjiang [J]. *Journal of Lake Science*, 2015, 27(5): 983 - 990.
- [42] 张飞, 刘纪化, 李强, 等. 从微型生物功能类群研究到海洋储碳机制的新认识——方法创新带动科学发现的一个典型案例[J]. *中国科学(地球科学)*, 2016, 46(1): 9 - 18.
- Zhang F, Liu J H, Li Q, et al. From the microbial function groups research to ocean carbon storage mechanism—A typical case of method innovation in new impetus scientific discovery [J]. *Science China: Earth Sciences*, 2016, 46(1): 9 - 18.
- [43] 陈晓洁. 湖光岩玛珥湖好氧不产氧光合细菌遗传多样性的分析[D]. 广州: 广东海洋大学, 2012.
- Chen X J. Genetic Diversity of Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria in Huguangyan Maar Lake [D]. Guangzhou: Guangdong Ocean University, 2012.
- [44] Fauteux L, Cottrell M T, Kirchman D L, et al. Patterns in abundance, cell size and pigment content of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria along environmental gradients in Northern Lakes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): 1 - 17.
- [45] 焦念志, Michael E S, 张瑶, 等. 好氧不产氧光合异养细菌及其在海洋生态系统中的作用[J]. *科学通报*, 2003, 48(6): 530 - 534.
- Jiao N Z, Michael E S, Zhang Y, et al. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria and the role in ocean ecosystem [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48(6): 530 - 534.
- [46] Hauruseu D, Koblížek M. Influence of light on carbon utilization in aerobic anoxygenic phototrophs [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(20): 7414 - 7419.
- [47] Kirchman D L, Hanson T E. Bioenergetics of photoheterotrophic bacteria in the oceans [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2013, 5(2): 188 - 199.
- [48] 李强. 环境因子对 AAPB 的生长和色素表达的影响 [D]. 厦门: 厦门大学, 2006.
- Li Q. Effects of Carbon Source and Salinity on Population Structure of Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria in Lake Ulansuhai [D]. Xiamen: Xiamen University, 2006.
- [49] 赵吉睿. 碳源和盐度对乌梁素海水体好氧不产氧光合细菌群落结构影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013: 37 - 41.
- Zhao J R. Effects of Carbon Source and Salinity on Population Structure of Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria in Lake Ulansuhai [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2013: 37 - 41.
- [50] Jiao N Z, Zhang Y, Zeng Y, et al. Distinct distribution pattern of abundance and diversity of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the global ocean [J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(12): 3091 - 3099.
- [51] 焦念志, 骆庭伟, 张瑶, 等. 海洋微型生物碳泵——从微型生物生态过程到碳循环机制效应 [J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2011, 50(2): 387 - 401.
- Jiao N Z, Luo T W, Zhang Y, et al. Microbial carbon pump in the ocean from microbial ecological process to carbon cycle mechanism [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2011, 50(2): 387 - 401.
- [52] 赵子豪. 典型中国海好氧不产氧光合异养细菌(AAPB)生长动力学之研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2012.
- Zhao Z H. Research of Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria (AAPB) Growth Dynamic in Typical China Sea [D]. Xiamen: Xiamen University, 2012.
- [53] 赵吉睿, 巩瑞红, 李畅游, 等. 三种碳源对乌梁素海好氧不产氧光合细菌群落结构的影响 [J]. *湖泊科学*, 2014, 26(1): 113 - 120.
- Zhao J R, Gong R H, Li C Y, et al. Influence of three kinds of carbon source on community structure of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in Lake Ulansuhai [J]. *Journal of Lake Science*, 2014, 26(1): 113 - 120.

Hydrochemistry Characteristics in front of the Wulixia Reservoir Dam Associated with Feedback from Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria

SONG Ang^{1,2}, PENG Wen-jie^{2,3}, HE Ruo-xue^{2,4}, JIN Zhen-jiang³, LU Xiao-xuan^{2,4}, FANG Jun-jia^{2,4}, HUANG Bing-hui^{2,3}, LI Qiang^{2*}

(1. China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China;

2. Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Guilin 541004, China;

3. College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China;

4. School of Geographical Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Highlights

- The abundance of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in Wulixia karst reservoir was measured by real-time PCR method.
- The accumulation of total organic carbon in karst aquatic system was relating to aerobic anoxygenic phototrophic bacteria.
- Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria was strongly influenced by turbidity factor, which controlled the microbiological pump in karst aquatic system.

Abstract: Micro-organisms are the main drivers of the water biogeochemical cycle and the major player in energy metabolism, which are pivotal processes for maintaining diversity and stability in ecological water systems. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria (AAPB), the important functional groups widespread in the water, can acquire energy from light and further affect the hydrochemical composition. The importance of AAPB is well recognized and has been studied extensively. In order to study the relationship between the hydrochemical characteristics and the AAPB feedback effect in front of the Wulixia Reservoir dam, water samples from different layers were collected. Based on the stable carbon isotope of dissolved organic carbon and particulate organic carbon isotope composition, the distribution pattern of AAPB was measured by real-time PCR technology. Results show that the hydrochemical type in the front of the reservoir dam water system was HCO_3^- - Ca^{2+} - Mg^{2+} type and had a poor-moderate eutrophication state during the sampling period. The results of dissolved oxygen, stable carbon isotope and the C/N showed that the main source of organic carbon was produced by micro-organisms. The ratio of AAPB to total planktonic bacteria in the Wulixia Reservoir water was 1.33% – 1.60%, and the variation degree of AAPB abundance was greater than that of the total planktonic bacteria abundance, which means that the AAPB feedback is more sensitive to the hydrochemical characteristics compared with that of total planktonic bacteria. The canonical correspondence analysis reveals the relationship between hydrochemical composition and AAPB. Canonical correspondence analysis (CCA) results show that AAPB and total planktonic bacteria are strongly influenced by turbidity, which makes it possible to apply marine microbiological pump theory in karst reservoirs. Hydrochemical characteristic feedback on AAPB will improve understanding of the metabolic system of CO_2 - H_2O -carbonate and micro-organisms.

Key words: aerobic anoxygenic phototrophic bacteria; real-time PCR; Karst hydrochemistry characteristics; Wulixia Reservoir; infertile reservoir

