

两种高效溶藻液中微生物组成及多样性分析^{*}

刘 佳¹, 熊青山¹, 李 治¹, 党晓群¹, 周泽扬^{1,2}, 王林玲¹

(1. 重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331; 2. 西南大学 家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400716)

摘要:【目的】研究两种高效溶藻液中微生物组成及多样性。【方法】采集重庆蓝藻(Cyanophyta)爆发地区的环境水样,与铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)共培养,构建出高效稳定的两种溶藻液 cq-a 和 cq-b。通过采用 454 焦磷酸测序技术对两种高效溶藻液菌群 16S rRNA 基因序列进行测序,并通过操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)聚类、多样性指数分析,对溶藻液菌群的组成及多样性进行分析。【结果】溶藻液 cq-a 和 cq-b 中菌群的总体结构相似:在门分类水平上,变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、蓝藻菌门(Cyanophyta)、放线菌门(Actinobacteria)和绿菌门(Chlorobi)在溶藻液中占优势;在属分类水平上,索氏菌属(*Thauera*)、红细菌属(*Rhodobacter*)、噬几丁质菌属(*Chitinophaga*)和微囊藻属(*Microcystis*)在两种溶藻液中均占优势,在 cq-a 中丰度为 49.8%, 15.4%, 2.7% 和 8.4%, 在 cq-b 中丰度为 50.3%, 9.2%, 10.4% 和 9.1%。【结论】所构建的重庆地区高效溶藻液中菌群种类丰富、功能菌集中,它们通过抑藻杀藻,分解有机高分子化合物,降低水体营养元素含量,共同抑制藻类生长,表现出溶藻活性。

关键词:微生物菌群;溶藻液;焦磷酸测序;溶藻活性

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2018)06-0097-08

蓝藻(Cyanophyta)水华是表层水体的富营养化导致淡水湖泊和咸水水域出现有害藻类爆发的现象^[1]。有害藻类的过度生长,致使水体缺氧、毒素增加,从而威胁到饮用水安全^[2]。例如作为中国有名的淡水湖之一的太湖,由于水质逐渐变差,因而富营养化程度愈来愈严重,水华现象频现^[3]。目前,人们普遍采用物理、化学和生物学的方法等去除水体营养化。其中,常见的物理方法主要有打捞清淤、过滤、活性炭吸附等,工作密度大且费时费力;化学方法主要采用投入杀藻剂、营养盐螯合剂等化学试剂来抑制藻类正常代谢,从而达到杀藻的目的,但这一过程所带来的重金属和有机物的残留易导致二次污染。近些年来,部分学者利用水生植物、水生动物和微生物群落治理水体营养化、控制蓝藻爆发,已初见成效,表现出较好的除藻效果^[4]。聂秋月等人^[5]在太湖采集蓝藻爆发水域的水样,用生物裂藻剂使蓝藻细胞死亡沉淀,再采用特殊微生物菌剂分解死亡的蓝藻和淤泥中的污染物——特殊微生物菌剂不仅可以治理蓝藻水华,还可以改善水体环境;范荣亮等人^[6]应用本源微生物群,添加湖泊底泥提取物混合培养,筛选抑藻优势菌种,添加酶制剂消除微囊藻毒素,结果表明该方法抑制藻类生长效果明显;吕乐等人^[7]在纳水湖围隔实验水体中,通过投加 EM 菌剂,从而抑制了蓝藻水华的发生和发展;吴定心等人通过直接投放芽孢杆菌(*Bacillus*)和光合细菌(Photosynthetic bacteria)治理武汉市重度富营养化湖泊,30 d 后藻类水华现象彻底消失,湖水透明度提高、气味消除^[8]。这些外加组合微生物菌剂成分相对稳定,功能明确,因而可达到良好的抑藻效果。但是,在环境水样中,起到抑藻效果的微生物菌群还不明确。

笔者所在研究团队成员熊青山等人^[9-10]采集了重庆两个不同区域蓝藻爆发水域的环境水样,置于实验室环境下,借助与铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)数次反复共培养,创建出高效溶藻液 cq-a 和 cq-b。他们对溶藻液进行多步骤处理后发现,其中细菌发挥着关键的溶藻作用;进而开展筛选单菌落实验,结果显示溶藻活性并非由单一菌群作用而产生,而是受诸多类型的微生物菌群的共同影响^[9-10]。本研究采用 454 焦磷酸测序技术,对培养获得的上述两种溶藻液中菌群 16S rRNA 基因的序列进行测序,并通过操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)聚类、多样性指数分析,对溶藻液中的菌群结构进行了考察,以便深入了解两种高效溶藻液中

^{*} 收稿日期:2018-04-24 修回日期:2018-09-11 网络出版时间:2018-10-25 10:42

资助项目:“十二五”农村领域国家科技计划项目(No. 2012AA101301);重庆市社会民生科技创新专项(No. cstc2015shmszx80031)

第一作者简介:刘佳,女,研究方向为微生物学,E-mail:1539740959@qq.com;通信作者:王林玲,女,教授,博士,E-mail:wanglinling2005@163.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20181025.1041.020.html>

菌群的多样性。

1 材料与方法

1.1 微生物总 DNA 的抽提

利用 Z. E. N. A DNA Kit 提取高效溶藻液 cq-a 和 cq-b 中微生物的总 DNA,对提取所得的总 DNA 的纯度、浓度进行检测,最终调节质量分数至 $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 。

1.2 PCR 扩增

PCR 扩增采用 TransGen AP221-02;TransStart Fastpfu DNA Polymerase。20 μL 反应体系:Template DNA 10 ng,5 $\times$ FastPfu Buffer 4 μL ,2.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的 dNTPs 2 μL ,5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Forward Primer 0.8 μL ,5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Reverse Primer 0.8 μL ,FastPfu Polymerase 0.4 μL ,BSA 0.2 μL ,最后补 ddH₂O 至 20 μL 。PCR 仪:ABI GeneAmp[®] 9700 型。PCR 反应参数:1) 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;2) 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 s,共 27 个循环;3) 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min,10 $^{\circ}\text{C}$ 储存。纯化的扩增产物定量后调节质量分数至 $25 \text{ ng} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 。

1.3 序列测定及数据分析

对 PCR 扩增产物展开 454 焦磷酸测序。按照 index 序列对所有样本产物数据进行划分,同时在贮存的时候保持 fastq 格式。运用 Trimmomatic,FLASH 等软件,按照序列初始端及终结端的 barcode 与引物序列分辨样品从而获取有效序列。借助对 Usearch (vsession 7.1)软件的合理运用,把数据归成一个 OTU。在对 97%接近水平的 OTU 序列展开分类学剖析的时候选择运用 RDP classifier 贝叶斯算法,以获取所有 OTU 对应的物种分类资料数据,同时在各分类水平上对全部样品的群落构成进行统计。用稀释性曲线图表示物种丰富度。利用 Shannon-the Shannon index 菌群多样性指数来评价细菌类群的丰富度。用 Shannon-Wiener 指数来反映样本中微生物多样性。有效序列数据筛选参数为:1) read 长度应大于或等于 50 bp;2) 成对 reads 拼接成 1 条序列,overlap 大于或等于 10 bp;3) 拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2;4) 调整序列方向,barcode 允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2。

2 结果与分析

2.1 细菌类群测序总体概况

借助 454 焦磷酸测序技术,每个溶藻液样品设立 3 组重复,获得溶藻液 cq-a 及 cq-b 中细菌的 16S rRNA 基因的扩增序列,通过 Rank-Abundance 和 Shanon-Wiener 多样性指数分析生成的稀释曲线显示:各样品的稀释曲线已接近平坦,说明样品的测序深度合理(图 1a);cq-a 和 cq-b 中细菌类群多样性指数相似,但相比而言,cq-a 中的这一指数要略微低一些(图 1b)。

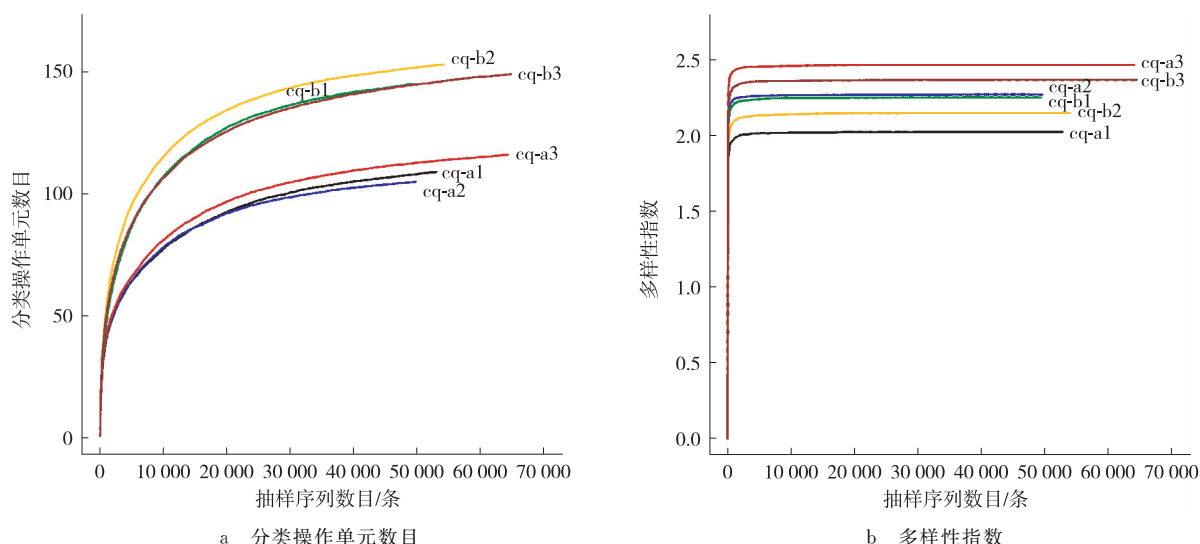


图 1 溶藻液细菌多样性分析

Fig. 1 Bacterial diversity in the algae-lysing solutions

从获得的 cq-a 的 3 组数据中得到 55 452 个有效的 read,从获得的 cq-b 的 3 组数据中则得到 55 930 个有效的 read。在分类操作单元归入接近度为 97% 的序列之后,依次得出了 116 及 153 种 OTU。以核糖体数据库为参照,对象征 OTU 的序列进行具体的归类,具体如表 1 所示。

2.2 高效溶藻液细菌菌群多样性分析

基于 OTU 的分类结果,对各样品重复的数据进行统计分析。结果显示:1) 在门分类水平上,溶藻液 cq-a 和 cq-b 中的菌群主要含有变形菌门(Proteobacteria)(所占比例分别为 78.8%,74.8%)、拟杆菌门(Bacteroidetes)(所占比例分别为 10.0%,15.2%)、蓝藻门(所占比例分别为 6.7%,6.5%)、放线菌门(Actinobacteria)(所占比例分别为 2.5%,1.5%)和绿菌门(Chlorobi)(所占比例分别为 1.5%,1.3%),两者种类大体相同,且各细菌门所占比例总体一致。2) 在纲分类水平上,2 种溶藻液中的菌群均主要以 β 变形菌纲(Betaproteobacteria)、 α 变形菌纲(Alphaproteobacteria)、噬纤维菌纲(Cytophagia)、色球藻纲(Chroococcophyceae)和鞘脂杆菌纲(Sphingobacteria)为主。3) 在目分类水平上,溶藻液 cq-a 和 cq-b 除共同含有的红环菌目(Rhodocyclales)、红杆菌目(Rhodobacterales)、色球藻目(Chroococcales)、鞘脂杆菌目(Sphingobacteriales)外,在 cq-a 中还大量存在噬纤维菌目(Cytophagales)、红螺菌目(Rhodospirillales)、根瘤菌目(Rhizobiales),cq-b 中存在有伯克氏菌目(Burkholderiales)、黄杆菌目(Flavobacteriales);4) 在科分类水平上,两个溶藻液的菌群共同包含红环菌科(Rhodocyclaceae)、红杆菌科(Rhodobacteraceae)、醋酸杆菌科(Acetobacteraceae)、色球藻科(Chroococcaceae),另外在 cq-a 中检测出圆杆菌科(Cyclobacteriaceae)、噬纤维菌科(Cytophagaceae)和 FukuN57,cq-b 中检测出丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)、噬几丁质菌科(Chitinophagaceae)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae);5) 在属分类水平上,溶藻液 cq-a 和 cq-b 菌群的多样性差异较大(图 2),在相对丰度比例占前 30 位的属中,两者只有 10 属相同,分别为索氏菌属(*Thauera*)、红细菌属(*Rhodobacter*)、微囊藻属(*Microcystis*)、噬几丁质菌属(*Chitinophaga*)、SM1A07 未命名属、OPB56-未命名属、Leadbetter 氏菌属(*Leadbetterella*)、微杆菌科(Microbacteriaceae)不可培养属、微丝菌属(*Microthrix*)和微杆菌科未分类属。

2.3 两种高效溶藻液菌群结构分析

通过图 3 可对比 2 个溶藻液菌群属分类水平上的相对丰度。结果发现:两者菌群属的组成总体相似,但也可明显可见 cq-a 中蓝菌门下 1 个未分类属以及 cq-b 中黄杆菌属、*Reyranella* 属的相对丰度差异明显。

为进一步分析溶藻液中菌群的关系,选择 cq-a 和 cq-b 的属分类水平上相对丰度前 100 名的优势菌属,作菌属关系 hotmap。结果显示,两种溶藻液中的优势菌属可归属为 I,II,III 和 IV 类(图 4),且每一类又都可再分为两个亚类。由图 4 可知,cq-b 的菌群多样性较 cq-a 的更丰富,尤其表现在 I 类中;II,III 和 IV 类的菌落组成两者大致相似。I 类菌群在两种溶藻液均以较低的相对丰度存在,其中大部分菌属相对丰度均在 2% 以下,两种溶藻液所存在的差异在 *Reyranella* 属、Candidate_division_TM7 未命名属、假黄杆菌属(*Pseudoxanthobacter*)和芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)中表现明显。微丝菌属、SM1A07 未命名属、醋酸杆菌科未分类属、红杆菌属(*Erythrobacillus*)和微囊藻属在溶藻液 I 类菌群中所占比例最高,在 cq-a 中相对丰度分别为 0.56%,0.53%,0.13%,0.37%和 0.41%,在 cq-b 中相对丰度分别为 0.77%,0.80%,2.14%,0.38%和 0.48%。II 类菌群是溶藻液的主要含有成分,归属于变形菌门和蓝藻门。在 II 类菌群所含有的 6 群中,索氏菌属、红细菌属、噬几丁质菌属和微囊藻属在两种溶藻液中相对丰度较高,在 cq-a 中分别为 49.8%,15.4%,2.7%和 8.4%,在 cq-b 中分别为 50.3%,9.2%,10.4%和 9.1%。II 类菌群中黄杆菌属和噬氢菌属在两种溶藻液中的相对丰度差异较大,在 cq-b 中分别为 8.2%和 13.9%,而在 cq-a 中这两个属的相对丰度接近于 0。两种溶藻液中的 III 类菌群相对丰度均总体偏低,不超过 1%。其中,浮霉菌门(Planctomycetes)、装甲菌门(Armatimonadetes)和绿弯菌门(Chloroflexi)下的 *Pleomorphomonas* 属、噬几丁质菌科未分类属、假黄色单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*)、F0723 未命名属、NS11-12-marine-group 未命名属和 *Elioraea* 属在 cq-a 中有微量存在在 cq-b 中则基本不存在。IV 类菌群作为

表 1 高效溶藻液细菌类群的构成

Tab.1 The composition of the bacteria in the algae-lysing solutions						
溶藻液	有效 read 数目/条	不同分类阶元归类数目/个				
		门	纲	目	科	属
cq-a	55 452	15	28	46	70	123
cq-b	55 930	15	31	50	86	147

次优势类存在,主要由绿菌门和放线菌门组成,在 cq-a 和 cq-b 中的相对丰度均很相近,但微酸菌科未分类属、噬纤维菌科不可培养属和 FukuN57 未命名属在 cq-a 中的相对丰度分别为 2.2%,1.9%和 4.2%,而在 cq-b 中它们的相对丰度则接近于 0。

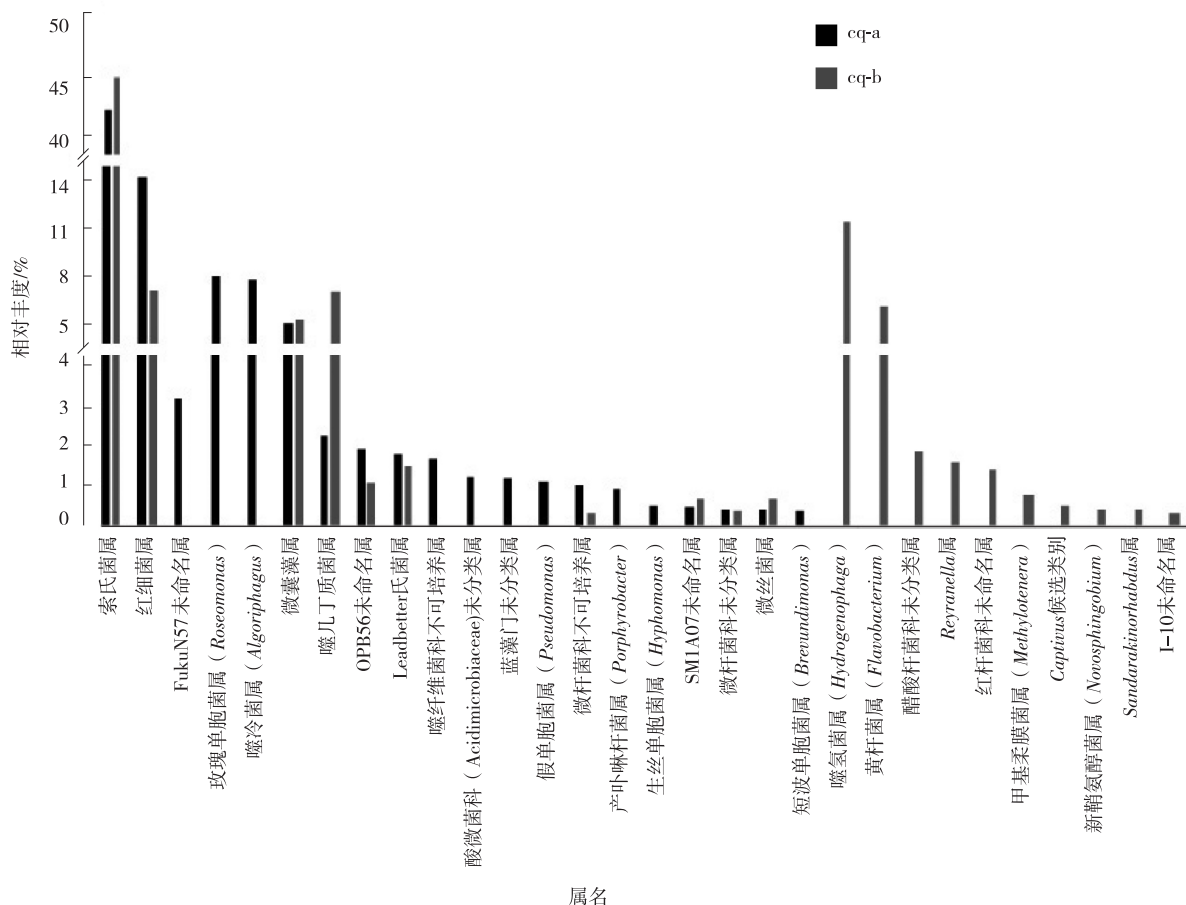


图 2 溶藻液在属水平上对比

Fig. 2 The comparison of the algae-lysing solutions at the genus level

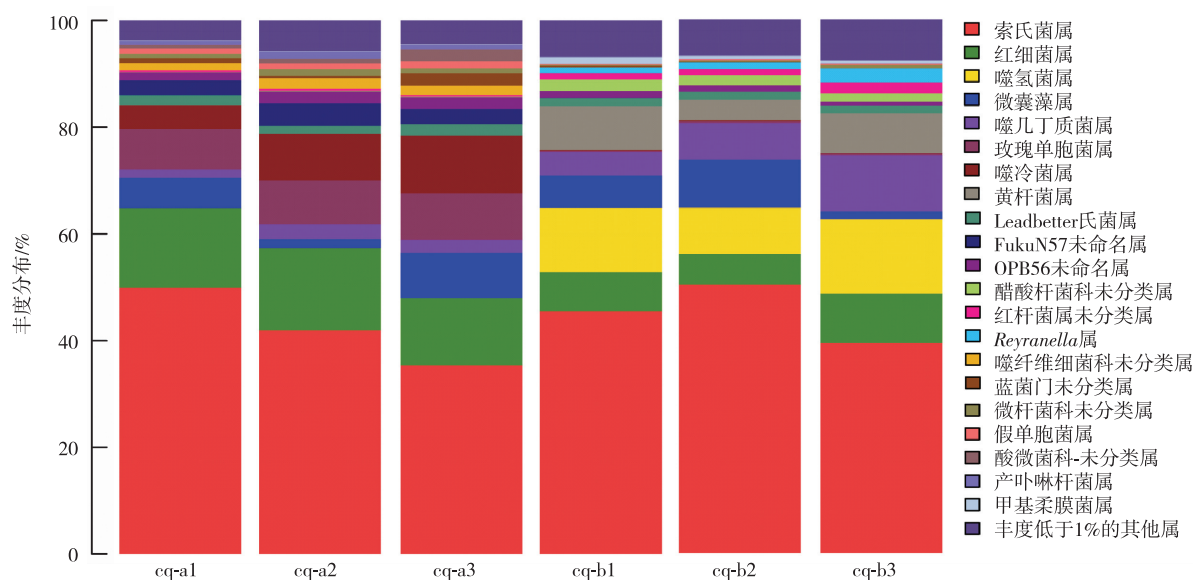


图 3 溶藻液优势菌属分布

Fig. 3 Analysis of dominant genus of the algae-lysing solutions

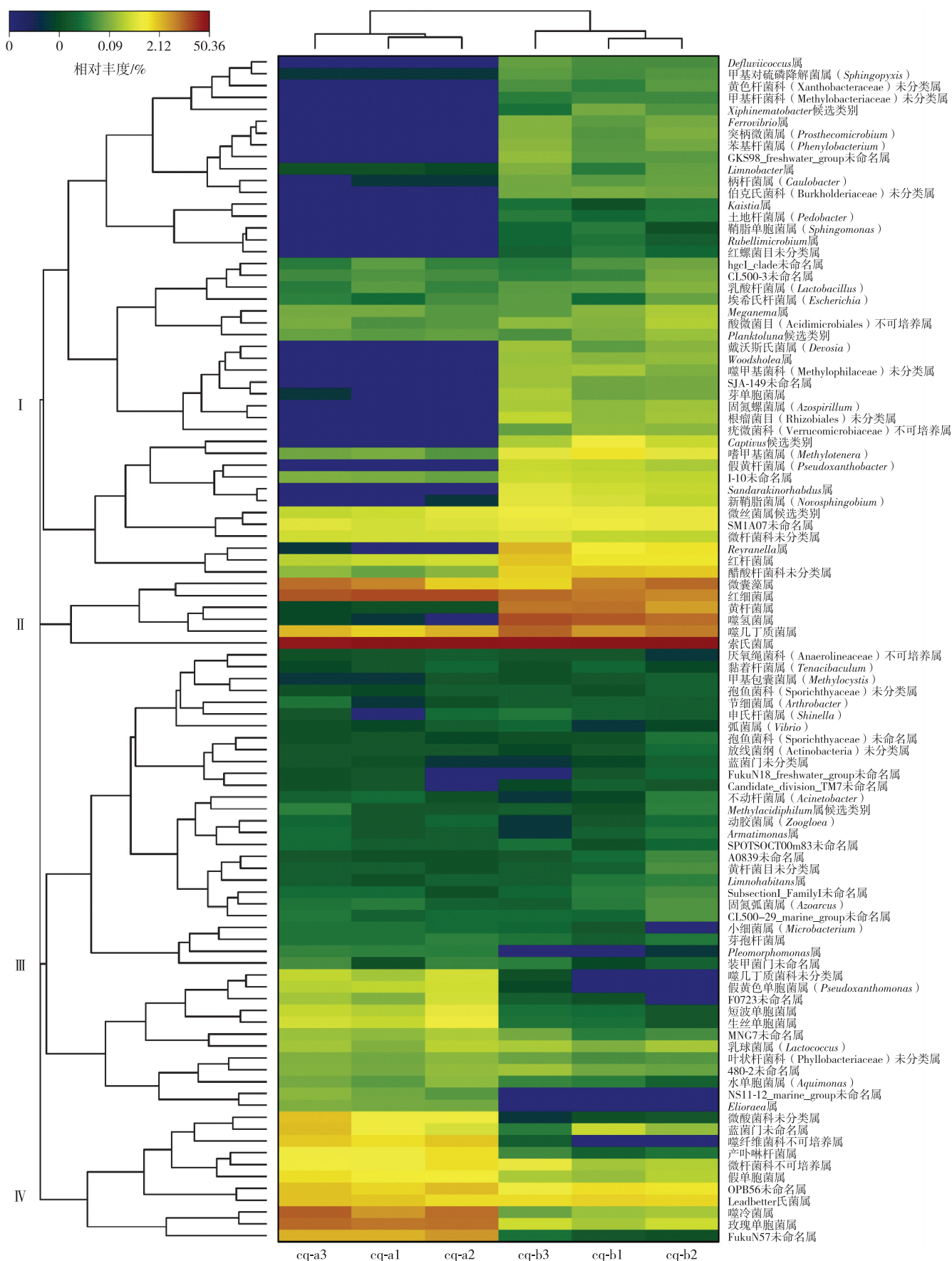


图 4 优势菌属 hotmap

Fig. 4 Dominant genus hotmap

3 讨论

笔者所在研究团队成员熊青山等人^[9]通过添加氮、磷等营养元素,模拟蓝藻爆发水体生长环境,用溶藻液 cq-a 和 cq-b 与铜绿微囊藻共培养 7 d 后,和对照相比溶藻效率达到了 90% 以上,铜绿微囊藻的数量回到正常范围,同时水体中的氮、磷元素含量降低。随着时间延长,铜绿微囊藻数量也没有再次回升。研究结果说明溶藻液 cq-a 和 cq-b 的菌群结构对消除水华具有明显效果。本研究对上述两种溶藻液中总细菌 16S rRNA 基因的宏测序结果显示,经过经富集筛选后,两种溶藻液中细菌群落结构具有较高相似性,尤其是在门分类水平上。两种溶藻液功能的相似与两者所含菌种的相似性具有一定的关联,且两者的生物组成与已报道的治理后蓝藻水域中微生物群落组成结构具有一致性^[11],进而说明这种细菌群落结构与溶藻微生物液的溶藻能力有一定相关性。基于对 16S rRNA 序列构建的 hotmap 和均属关系图进一步显示,两种溶藻液中占比最丰富的几个优势微生物菌群相同,而这些微生物类群在整个水体环境中的物质代谢、循环方面发挥着基础性的作用^[12-13]。

索氏菌属在两种溶藻液中同为相对丰度最高的细菌种属,在 cq-a 和 cq-b 中分别为 49.8% 和 50.3%,数值极为接近。索氏菌属是一类硝酸盐降解菌,具有代谢氮和芳香族化合物的能力^[14-15]。索氏菌属的生存表现出较高的氮依赖性,最初就是在含氮量较高的城市下水道内的生活污水中被发现^[16]。索氏菌属的氮代谢能力对于整个微生物群体的氮循环过程起到了重要的作用,它如此高比例地出现在上述两种高效稳定溶藻液中,显然与水体环境中含氮量过高有关。

红杆菌属在两种溶藻液中的相对丰度也很相似,分别达到 15.4% 和 9.2%。红杆菌属为革兰氏阴性菌,属于光合细菌中的红螺菌科(Rhodospirillaceae),多数以硫化物为营养源^[17-19],红杆菌具有较强的磷耐受能力和降解高浓度有机物的能力,水体中碳、磷、硫的含量直接影响红杆菌的磷代谢能力,当碳源充足情况下,无论水体中含氧量如何,红杆菌都会大量降低水体中含磷量,而由此产生的代谢物又可作为重要的资源加以利用^[20]。Redfield 等人^[21-22]证实,总氮磷比的变化是导致水华的主要原因。蓝藻水样中高含量的碳、氮、磷等为红杆菌属的生活提供了有利条件,而後者的存在也有助于降低水样中碳、磷的含量,从而改善水体环境。

此外,如红螺菌属(*Rhodospirillum*)、红微菌属(*Rhodomicrobium*)等光合细菌,具有较强的适应性,可将光作为基本能源,而硫化物、有机物、氨等则是它们光合作用得以完成的必备条件。它们可以将水中的有害物譬如亚硝酸盐等彻底分解消除。在水产领域中,关于细菌及特异光的运用已经具有较高的普遍性。林坤霞等人^[23]向污水、湖水及蓝藻水华水体中投放特异光合细菌,将水体中的污染物碳、氮、硫化物等,通过降解、转化消耗,为浮游生物生长繁殖提供了养分,继而为更加高等的水生生物提供饵料——最终通过食物链,达到了净水目的。本研究中,笔者也在两种溶藻液中大量检测到此类菌群。

当前认为,Cytophaga-flexibacter-bacteroides(CFB)类群能将部分高级分子有机化合物如果胶、纤维素等分解消除,且与海洋浮游植物的爆发、海洋沉积物相关,被认为是微生物循环的重要成分^[23]。这一类群的最主要代表是噬细胞菌属(*Cytophaga*)、黄杆菌属,具有一定的溶藻活性、并且对其他微生物生长具有一定得调节功能,从而被认为对抑制有害藻类繁殖具有重要作用^[25-26]。从分类数据得出,在目分类水平上,噬纤维菌目在构建的两种溶藻微生物液种大量存在,且 cq-a 中存在大量噬纤维菌科,黄杆菌科在 cq-b 种普遍存在,而同一门类得噬几丁质属在 2 种溶藻液中也均有发现。

总之,溶藻液中的微生物菌群在不同方面起到改善水质的作用。部分亲缘菌^[27-28]具有较强的杀藻抑藻能力,并且可以较为稳定地存活于溶藻液当中,如杆菌等;此类细菌在蓝藻生物量平衡的保持过程中非常关键^[29]。溶藻液中的 CFB 类群与光合细菌如红细菌属、芽单胞菌属等,借助对一些水体生物生长的调节,使得食物链营养级的数目得到科学合理地改变,从而达到对铜绿微囊藻的抑制作用。这些菌属通过改善营养结构,维持微生物数量在正常范围内,共同作用,改善水体环境。而检测到的索氏菌属、红细菌属、噬纤维菌科属类、新鞘脂杆菌属(*Novosphingobium*)等一些菌属,在调节水体中氮磷等营养元素含量方面起到关键作用^[1],它们通过降低水样中氮、磷等元素的含量^[30],改善水体环境,减少微囊藻类的能量来源,使原有的水体环境不再适于微囊藻类的生长,从而达到抑制它们繁殖扩增的目的。此外,在自然水环境中,微生物种类广泛多样,除了一些人们已经知道的微生物外,还有大量还不明确功能的菌属。这些微生物群对有害藻类的调节起到重要作用,它们的共同作用可达到改善水质的目的。

参考文献:

- [1] 马健荣,邓建明,秦伯强,等.湖泊蓝藻水华发生机理研究进展[J].生态学报,2013,33(10):3020-3030.
MA J R,DENG J M,QIN B Q,et al. Studies on the mechanism ofCyanobacteria bloom in lakes[J]. Acta Ecologica Sinica,2013,33(10):3020-3030.
- [2] 刘永定,范晓,胡征宇.中国藻类学研究[M].武汉:武汉出版社,2001.
LIU Y D,FAN X,HU Z Y. Chinese algae research [M]. Wuhan:Wuhan Publishing House,2001.
- [3] 罗梦森,何浪,彭华青.太湖蓝藻生长发育与水环境的关系分析[J].江苏农业科学,2011,39(4):483-486.
LUO M S,HE L,PENG H Q. Effects of growth and development of Cyanobacteria in Taihu lake on water environment[J]. Journal of Jiangsu Agricultural Sciences,2011,39(4):483-486.
- [4] 向伦宏,范荣桂,龚心雨,等.蓝藻治理技术研究进展[J].辽宁化工,2015(8):1031-1034.
XIANG L H,FAN R G,GONG X Y,et al. Advances in research on Cyanobacteria treatment technology[J]. Liaoning Chemical Industry,2015(8):1031-1034.
- [5] 聂秋月,谢悦波,庄景,等.高效微生物治理蓝藻实验[J].世界科技研究与发展,2008(4):430-432.
NIE Q Y,XIE Y B,ZHUANG J,et al. Efficient microbial control of Cyanobacteria[J]. World Science and Technology Research and Development,2008(4):430-432.
- [6] 范荣亮,谢悦波,宋雅静,等.复合微生物菌剂及酶制剂治理湖泊蓝藻的研究[J].水电能源科学,2010(2):35-37.
FAN R L,XIE Y B,SONG Y J,et al. Study on the treatment of lake Cyanobacteria by compound microbial agents and enzyme preparation[J]. Hydropower Engineering,2010(2):35-37.
- [7] 吕乐,尹春华,许倩倩,等.环境有效微生物菌剂治理蓝藻水华研究[J].环境科学与技术,2010(8):1-5.
LÜ Y,YIN C H,XU Q Q,et al. Study on the control of Cyanobacterial bloom by environmental effective microorganism [J]. Environmental Science and Technology,2010(8):1-5.
- [8] 吴定心,杨文静,柯雪佳,等.利用复合微生物菌剂控制水华的治理工程试验[J].环境科学与技术,2010(7):150-154.
WU D X,YANG W J,KE X J,et al. Control experiment of control of bloom with compound microbial agents[J]. Environmental Science and Technology,2010(7):150-154.
- [9] 熊青山,潘秋玲,王琴,等.溶藻微生物菌群的富集及其溶藻因素[J].应用与环境生物学报,2016,22(6):1140-1144.
XIONG Q S,PAN Q L,WANG Q,et al. Enrichment of algae-rich microbial flora and its algicidal factors[J]. Journal of Applied and Environmental Biology,2016,22(6):1140-1144.
- [10] 熊青山.对铜绿微囊藻具有溶藻作用的一组细菌群落研究[D].重庆:重庆师范大学,2016.
XIONG Q S. Study on the bacteria communities of algae-lysing with *Microcystis aeruginosa* [D]. Chongqing:Chongqing Normal University,2016.
- [11] 李建松.淡水池塘蓝藻水体细菌群落结构的研究[D].上海:上海海洋大学,2016.
LI J S. Study on bacterial community structure of freshwater pond cyanobacteria[D]. Shanghai:Shanghai Ocean University,2016.
- [12] BURDIGE D J,KOMADA TOMOKO,MAGEN C,et al. Modeling studies of dissolved organic matter cycling in Santa Barbara basin (CA,USA) sediments[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta,2016,195:100-119.
- [13] AZAM F,FENCHEL T,FIELD J G,et al. The ecological role of water-column microbes in the sea[J]. Marine Ecology Progress Series,1983,10(3):257-263.
- [14] GAO P,TIAN H,LI G,et al. Microbial diversity and abundance in the Xinjiang Luliang long-term water-flooding petroleum reservoir[J]. Microbiology Open,2015,4(2):332-342.
- [15] TIAN M,ZHAO F,SHEN X,et al. The first metagenome of activated sludge from full-scale anaerobic/anoxic/oxic (A2O) nitrogen and phosphorus removal reactor using Illumina sequencing[J]. Journal of Environmental Sciences,2015,35(9):181-190.
- [16] 毛跃建.废水处理系统中重要功能类群 *Thauera* 属种群结构与功能的研究[D].上海:上海交通大学,2009.
MAO J Y. Study on population structure and function of *Thauera* population in important functional groups of wastewater treatment system[D]. Shanghai:Shanghai Jiao-tong University,2009.
- [17] 张丽珊,于殿臣,刘海玲,等.慢速渗滤土地处理系统对沈阳西部城市污水有机污染物净化效果的研究[J].应用生态学报,1992,3(4):355-363.
ZHANG L S,YU D C,LIU H L,et al. Study on the effect of slow percolation land treatment system on the purification of organic pollutants from urban sewage in western Shenyang[J]. Journal of Applied Ecology,1992,3(4):355-363.
- [18] CHRIS B,MARC V H,DIRK I. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology,1992,43(1):83-87.
- [19] SCANOACIONS J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. Plant Physiology,1993,101(1):7-12.
- [20] 李广科,赵由才,桑楠.球形红杆菌耐受能力和除磷特性的研究[J].农业环境保护,2002(5):403-405.

- LI G K, ZHAO Y C, SANG N. Studies on phosphorus tolerance and phosphorus removal characteristics of *Rhodospirillum rubrum* [J]. Agricultural Environmental Protection, 2002(5):403-405.
- [21] 许海, 朱广伟, 秦伯强, 等. 氮磷比对水华蓝藻优势形成的影响[J]. 中国环境科学, 2011, 31(10):1676-1683.
- XU H, ZHU G W, QIN B Q, et al. Effect of nitrogen and phosphorus ratio on the formation of aquatic Cyanobacteria[J]. China Environmental Science, 2011, 31(10):1676-1683.
- [22] REDFIELD A C. The biological control of chemical factors in the environment[J]. American Scientist, 1958, 46:205-221.
- [23] 林昆霞, 王晓全, 胡培铎. 特异性功能光和细菌克制蓝藻水华:对光合细菌抑制蓝藻生长的探讨[J]. 环境科学导刊, 2008(1):52-55.
- LIN K X, WANG X Q, HU P D. Specific functional light and bacterial inhibition of Cyanobacteria blooms; inhibition of Cyanobacteria growth by photosynthetic bacteria[J]. Journal of Environmental Science, 2008(1):52-55.
- [24] KIRCHMAN D. The ecology of Cytophaga-Flavobacteria in aquatic environments[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 39(2):91-100.
- [25] PINHASSI J, SALA M M, HAVSKUM H, et al. Changes in bacterioplankton composition under different phytoplankton regimens[J]. Applied Environmental Microbiology, 2004, 70(11):6753-6766.
- [26] JASTI S, SIERACKI M E, POULTON N J, et al. Phylogenetic diversity and specificity of bacteria closely associated with *Alexandrium* spp. and other phytoplankton [J]. Applied Environmental Microbiology, 2005, 71(7):3483-3494.
- [27] Toomingklunderud A. On the evolution of nonribosomal peptide synthetase gene clusters in Cyanobacteria [M]. Oslo: University of Oslo, 2007.
- [28] GADEMANN K, PORTMANN C, BLOM J F, et al. Multiple toxin production in the Cyanobacterium microcystis: isolation of the toxic protease inhibitor Cyanopeptolin 1020 [J]. Journal of Natural Products, 2010, 73(5):980-984.
- [29] 张睿, 王广军. 芽孢杆菌防控水产养殖中蓝藻水华的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(29):27-31.
- ZHANG R, WANG G J. Advances in research on Cyanobacteria bloom in aquaculture [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(29):27-31.
- [30] 刘佳, 刘永立, 叶庆富, 等. 水生植物对水体中氮、磷的吸收与抑藻效应的研究 [J]. 核农学报, 2007, 21(4):393-396.
- LIU J, LIU Y L, YE Q F, et al. Effects of aquatic plants on nitrogen and phosphorus uptake and algae suppression in water [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2007, 21(4):393-396.

Analysis of Microbial Composition and Diversity in Two Efficient Dissolved Alga Solutions

LIU Jia¹, XIONG Qingshan¹, LI Zhi¹, DANG Xiaoqun¹, ZHOU Zeyang^{1,2}, WANG Linling¹

(1. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;

2. State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: [Purposes] To analyze microbial composition and diversity in two efficient algae-lysing solutions. [Methods] Two efficient and stable algae-lysing solutions, cq-a and cq-b, were constructed by using the microcystis aeruginosa co-culture with the water sample collected from the region of the blue-green algae bloom in Chongqing. The 16S rRNA gene sequences of all species contained in these two algae-lysing solutions were sequenced by using 454 pyrophosphate sequencing technique. Additionally, the microbial structure was analyzed using OUT cluster and diversity index analysis. And the structure and function of bacterial community structure were analyzed. [Findings] The cq-a and cq-b had similar community structure. Proteobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Actinomycetes, and Chlorobacteria were the dominant community. The abundance of *Thauera*, *Rhodospirillum rubrum*, *Chitinophaga*, and *Microcystis* in cq-a were 13.8%, 15.4%, 2.7%, and 8.4%, and in cq-b were 50.3%, 9.2%, 10.4%, and 9.1%, respectively. [Conclusions] The two efficient algae-lysing solutions in Chongqing has rich flora and concentrated functional bacteria. They inhibit algae, decompose organic polymer compounds, reduce the nutrient content of water, and jointly inhibit algae growth and exhibit algae-reducing activity.

Keywords: microbial flora; algae-lysing solution; sequencing of pyrophosphate; algae-lysing activity

(责任编辑 方 兴)