

滇池水葫芦根际微生物群落的组成和分布及功能研究

尹建友, 朱佳静, 石娟, 浦雪娇, 李梦洁, 夏云, 孔云虹*

(昆明学院 生命科学与技术系, 云南 昆明 650214)

摘要:采用荧光原位杂交技术对昆明滇池水葫芦根际微生物群落的组成、分布和功能进行研究. 约占水葫芦根系微生物总细胞数的 30% 与采用的 FISH 基因探针杂化, 其中变形菌门 (*Proteobacteria*) 细菌占 14.0% ~ 18.2%, 拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 细菌占 1.3% ~ 1.4%, 绿屈绕菌门 (*Chloroflexi*) 细菌占 1.1% ~ 1.3%, 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 细菌占 0.5% ~ 1.0%, 浮霉菌门 (*Planctomycetes*) 细菌占 0.7% ~ 1.1%, 古生菌占 0.7% ~ 1.0%. FISH 检出的细菌包括氨氧化细菌、反硝化细菌、硫酸盐还原细菌和甲烷产生菌, 说明水葫芦根际微生物群落参与滇池水体的碳、氮和硫循环, 但其作用的大小及其对滇池生态系统的影响还有待于进一步研究.

关键词:滇池; 水葫芦; 根际微生物群落; 荧光原位杂交

中图分类号: Q938.1 文献标识码: A 文章编号: 1674-5639(2015)06-0063-06

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2015.06.015

Study on Composition, Distribution and Function of Microbial Communities Associated with the Roots of *Eichhornia crassipes* in Dianchi Lake

YIN Jian-you, ZHU Jia-jing, SHI Juan, PU Xue-jiao, LI Meng-jie, XIA Yun, KONG Yun-hong*

(Department of Life Science and Technology, Kunming University, Yunnan Kunming 650214, China)

Abstract: Fluorescence in situ hybridization (FISH) probing was used to investigate the composition, distribution and function of microbial communities associated with roots of *Eichhornia crassipes* in Dianchi lake, Kunming, China. About thirty percent of the total microbial cells attached to the roots of *Eichhornia crassipes* hybridized to FISH probes used in this study and among which bacterial phyla *Proteobacteria* (14.0%—18.2%), *Bacteroidetes* (1.3%—1.4%), *Chloroflexi* (1.1%—1.3%), *Firmicutes* (0.5%—1.0%), *Planctomycetes* (0.7%—1.1%) and *Archaea* (0.7%—1.0%). Ammonia-oxidizing bacteria were dormant and denitrifying bacteria and sulfate-reducing bacteria were also present. All these indicate that microbial communities associated with roots of *Eichhornia crassipes* involved in nitrogen removal, carbon and sulfur cycles in Dianchi Lake. However, the detail mechanisms and the impact on ecosystem of Dianchi Lake have to be further investigated.

Key words: Dianchi; *Eichhornia crassipes*; rhizosphere microbiome; fluorescence in situ hybridization (FISH)

凤眼莲 (*Eichhornia crassipes*), 俗名水葫芦, 是世界上最具入侵性的水生植物之一^[1]. 水葫芦根系粗壮, 须根发达, 长达 70 cm 以上, 吸收能力强, 可通过有性和无性繁殖快速繁殖, 在整个水面形成水葫芦垫. 近年来, 以水葫芦为典型代表的水生植物修复技术由于效果好、投资少、运行成本低, 已成为国内外水体污染治理的重点研究

方向之一^[2-7]. 目前, 水葫芦及其根际微生物群落已被广泛用于去除富营养化水体中的氮、磷及工业废水中的重金属^[8-13].

科学界普遍认为, 水葫芦具有发达的根系, 为多种多样的微生物提供了生长和繁殖的场所, 水葫芦和根系微生物之间形成了根际微生态系统, 根系的降解产物和分泌物为微生物的生长和繁殖提供有机

收稿日期: 2015-09-09

基金项目: 云南省教育厅大学生创新创业项目.

作者简介: 尹建友 (1990—), 男, 云南玉溪人, 昆明学院生命科学与技术系 2011 级本科生, 主要从事微生物学研究.

* 通信作者: 孔云虹 (1962—), 男, 云南宣威人, 教授, 博士, 主要从事环境微生物学研究, E-mail: Kongyunhong@ hot-mail. com.

营养和无机元素,根系微生物则降解和代谢根际有机物和污水中有机和无机化合物获得生长所需要的能源和碳源,同时微生物的代谢产物(如 N、P、K 等无机盐)则给水葫芦的生长提供必要养分.因此,水葫芦根际微生物的作用不仅是降解有机物,还加强了植物对污染环境的适应能力^[14-15]. 纯培养研究^[16-17]表明,水葫芦根系生长着大量的细菌,其中包括假单胞菌、肠杆菌、芽孢杆菌和弧菌等.水葫芦根系细菌总数与水质净化程度相关,根系不同部位细菌的丰度不同^[18],而且水葫芦及其根系微生物群落落在有机物和重金属降解中存在着协同净化作用,水葫芦及其根系微生物群落降解的有机物(35%)高于水葫芦(13%)或微生物群落(15%)分别降解的有机物^[16]. 这些研究说明,水葫芦根系是微生物良好的生长环境,根系的微生物群落与水葫芦在水葫芦营养、水体有机物降解及重金属吸收中起重要作用.但目前还缺乏高分辨率的有关水葫芦根系微生物群落结构和功能的信息,特别是群落中的优势种群组成及其原位(in situ)功能的信息,了解这些信息不仅是微生物生态学研究的重要课题,而且对于揭示水葫芦根际微生物生态系统的运作机理,指导水葫芦的水体生态修复实践具有实际意义.

本研究选用以水生微生物菌群为靶标的基因探针通过荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术研究了滇池围养的水葫芦根际微生物群落的组成和分布,讨论其中的功能菌群在水葫芦营养和滇池水体营养物循环过程中的作用.

1 材料与方法

1.1 水葫芦根系样品的采集和固定

水葫芦根系样品采自滇池远离草海进水口的水葫芦围养区.于 2014 年 5 月在同一方形水葫芦围养区四周随机选择(每边 2 株)大小相同的 8 株水葫芦植株,用灭菌塑料袋加滇池水封装,并在 1 h 内送到实验室进行处理.8 株水葫芦根部平均长度 7 cm,从上端到下端依次量取 2 cm 左右并标记为上、中、下 3 段.每 1 段称取 10 g,把 8 株水葫芦同样部位 10 g 样品混合(总计为 80 g),与 200 mL 滇池水在搅拌器(美的 BL25c33)中搅拌(弱档)3 min,然后用灭菌 8 层纱布过滤.取 9 mL 滤液转入 10 mL Eppendorf 离心管中,离心 8 min(12 800 g).离心沉淀物采用乙醇(最终体积分数 50%)和多聚甲醛(最终体积

分数 4%) 在 4 ℃ 固定 3 h,以分别固定其中的革兰氏阴性^[19]和革兰氏阳性^[20]微生物细胞.乙醇固定后的微生物样品直接保存在 -20 ℃ 作为 FISH 样品,多聚甲醛固定的样品在固定后采用 1 × PBS 溶液洗脱 3 次,然后悬浮于 50% 的乙醇中保存在 -20 ℃ 作为 FISH 样品.

1.2 FISH

FISH 按照 Amman (1995) 描述的方法进行. FISH 探针购自生工生物工程(上海)股份有限公司.所有的 FISH 探针(见下表 1)均在 5' 末端采用 Cy3 染料标记. FISH 步骤简述如下:将一定量(约 40 μL)乙醇或多聚甲醛固定的微生物细胞样品置于明胶涂层的载玻片上,在此载玻片上盖上另一片相同的载玻片,然后前后拉动 10~15 次将微生物细胞均匀涂布在载玻片上,风干^[21];风干后的载玻片依次置于 50%、80%、98% 乙醇溶液中各 3 min 进行脱水,风干;将杂化液和基因探针加到载玻片上,在 46 ℃ 杂化 3 h;然后把载玻片在 48 ℃ 的洗脱液中洗脱 15 min;最后把载玻片在蒸馏水中浸洗后风干备检.

1.3 定量 FISH

与特定的基因探针杂化的微生物菌群的相对丰度通过定量 FISH(quantitative FISH, qFISH)技术确定.微生物的相对丰度表示为同一显微镜视野中与基因探针杂化的细胞数占总微生物细胞数[即被 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)染色的细胞数]的百分比. qFISH 过程中首先要进行 FISH 杂化,再把风干后的载玻片放在质量浓度为 0.005 mg/mL 的 DAPI 溶液中室温下遮光染色 10 min,然后用蒸馏水浸洗后风干备检^[21].

1.4 显微镜观察及计数

通过荧光正置显微镜(BX60,日本奥林帕斯公司)观察 FISH 和 DAPI 染色样品. Cy3 和 DAPI 的信号分别通过对应的荧光激发块进行观察.所有数码照片均通过 100 × 的物镜拍摄.在测定与特定基因探针杂化的微生物菌群的相对丰度时,每个 FISH 探针每个微生物样品至少制备 3 张基因探针杂化载玻片,在每张载玻片上随机拍摄 15 套同一视野下的 FISH 和 DAPI 数码照片,共拍 45 套.每套照片中与基因探针杂化的细胞数通过 ImageJ^[22]中的提供的手动计数功能计数,而被 DAPI 染亮的微生物总细胞数则通过 ImageJ 中的提供的荧光阈值计数法计数.

1.5 统计方法

统计分析均采用 T 检验进行, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 滇池水葫芦根际微生物群落的组成和分布

本研究选择基因探针(见下表 1)通过 qFISH 对滇池水葫芦根系上、中、下 3 个部位的微生物群落的组成和分布进行研究,所用基因探针均选自 Probe-base^[23]。探针 ARCH915 以古生菌为靶标,探针 BAC303 以拟杆菌门细菌为靶标,探针 GNSB941 和 CFX1223 以绿屈绕菌门细菌为靶标,探针 LGC354a,

LGC354b 和 LGC354c 以厚壁菌门细菌为靶标,探针 CF319b 和 CF319a 以拟杆菌门细菌为靶标,探针 PLA46 以浮霉菌门细菌为靶标,探针 ALF968 以变形菌门 α -变形菌纲细菌为靶标,探针 SRB385 和 SRB385DB 以变形菌门 δ -变形菌纲的硫酸盐还原细菌为靶标,探针 Azo644 以变形菌门 β -变形菌纲固氮弧菌属反硝化细菌为靶标,探针 GB_G1 和 GB_G2 以变形菌门 β -变形菌纲中的聚糖菌为靶标,探针 PAO462, PAO651 和 PAO846 以变形菌门 β -变形菌纲硝酸盐或亚硝酸盐还原细菌为靶标,探针 Nmo218, Nso190, Nse1472, Nsv443 和 NSO1225 以变形菌门 β -变形菌纲的氨氧化细菌为靶标。

表 1 FISH 探针信息表

探针名称	核苷酸序列(5'-3')	探针靶标	甲胺/%
ARCH915	GTGCTCCCCGCCAATTCCT	古生菌	20
BAC303	CCAATGTGGGGGACCTT	拟杆菌门拟杆菌纲细菌	0
GNSB941	AAACCACACGCTCCGCT	绿屈绕菌门细菌	35
CFX1223	CCATTGTAGCGTGTGTGTMG	绿屈绕菌门细菌	35
CF319b	TGGTCCGTATCTCAGTAC	拟杆菌门噬纤维菌-黄杆菌菌群细菌	35
CF319a	TGGTCCGTGTCTCAGTAC	拟杆菌门噬纤维菌-黄杆菌菌群细菌	35
LGC354A	TGGAAGATTCCCTACTGC	厚壁菌门细菌	35
LGC354B	CGGAAGATTCCCTACTGC	厚壁菌门细菌	35
LGC354C	CCGAAGATTCCCTACTGC	厚壁菌门细菌	35
PAL46	GACTTGCATGCCTAATCC	浮霉菌门细菌	30
SRB385	CGGCGTCGCTGCGTCAGG	变形菌门 δ -变形菌纲硫酸盐还原细菌	35
SRB385DB	CGGCGTTGCTGCGTCAGG	变形菌门 δ -变形菌纲硫酸盐还原细菌	30
ALF968	GGTAAGGTTCTGCGCGTT	变形菌门 α -变形菌纲细菌	20
Azo644	GCCGTACTCTAGCCGTGC	变形菌门 β -变形菌纲固氮弧菌属反硝化菌	0 ~ 70
GB_G1	TTCCCCGGATGTCAAGGC	变形菌门 β -变形菌纲聚糖菌	35 ~ 55
GB_G2	TTCCCCAGATGTCAAGGC	变形菌门 β -变形菌纲聚糖菌	35 ~ 55
PAO462	CCGTCATCTACWCAGGTTATTAAC	β -变形菌纲硝酸盐、亚硝酸盐还原细菌	35
PAO651	CCCTCTGCCAAACTCCAG	β -变形菌纲硝酸盐、亚硝酸盐还原细菌	35
PAO846	GTTAGCTACGGCACTAAAGG	β -变形菌纲硝酸盐、亚硝酸盐还原细菌	35
Nmo218	CGGCCGCTCCAAAAGCAT	β -变形菌纲 <i>Nitrosomonas oligotropha</i>	35
Nso190	CGATCCCGTGCTTTTCTCC	β -变形菌纲氨氧化细菌	55
NSO1225	CGCCATTGTATTACGTGTGA	β -变形菌纲 <i>Nitrosomonas europaea</i>	35
Nmv	CCTCAGAGACTACGCGG	β -变形菌纲 <i>Nitrosococcus mobilis</i>	0 ~ 70
Nsv443	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	β -变形菌纲 <i>Nitrospira</i> spp.	30

FISH 结果表明,滇池水葫芦根际上、中、下 3 个部位微生物群落中均有微生物细胞被采用的 FISH 探针杂化,除与探针 GNSB941 和 CFX1223 杂化的绿屈绕菌门细菌为丝状细菌(下图 1A)外,与其他探针杂化的细菌或古生菌均为不同大

小的球菌(如下图 1B ~ 图 1F)。其中有些细菌单独存在,有些紧密聚集成团,每团由几十甚至上百个细胞组成。

qFISH 结果(下表 2)显示,古生菌在水葫芦根际上、中、下 3 个部位的丰度[(平均值 \pm 标准偏差)% ,

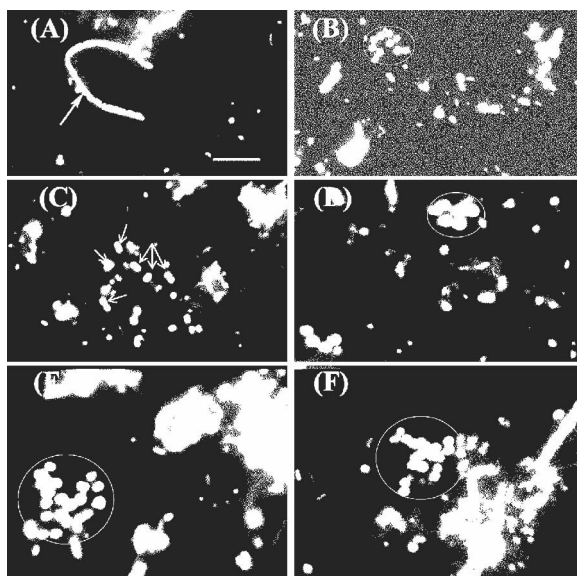
以下同]分别为 $0.49\% \pm 0.15\%$, $0.71\% \pm 0.17\%$ 和 $1.03\% \pm 0.29\%$, 拟杆菌门细菌丰度分别为 $0.98\% \pm 0.21\%$, $0.98\% \pm 0.30\%$ 和 $0.68\% \pm 0.05\%$, 绿屈绕菌门细菌的丰度分别为 $1.12\% \pm 0.08\%$, $1.31\% \pm 0.03\%$ 和 $1.06\% \pm 0.06\%$, 拟杆菌门噬纤维菌 - 黄杆菌菌群细菌的丰度分别为 $1.35\% \pm 0.48\%$, $1.36\% \pm 0.29\%$ 和 $1.28\% \pm 0.23\%$, 厚壁菌门细菌的丰度分别为 $1.00\% \pm 0.32\%$, $0.60\% \pm 0.29\%$ 和 $0.49\% \pm 0.02\%$, 浮霉菌门细菌的丰度分别为 $1.08\% \pm 0.13\%$, $0.97\% \pm 0.08\%$ 和 $0.73\% \pm 0.20\%$, α -变形菌门细菌的丰度分别为 $0.93\% \pm 0.07\%$, $0.75\% \pm 0.04\%$ 和 $0.87\% \pm 0.17\%$, 硫酸盐还原细菌的丰度分别为 $1.04\% \pm 0.14\%$, $0.96\% \pm 0.21\%$ 和 $0.88\% \pm 0.12\%$, β -变形菌门固氮弧菌属反硝化细菌的丰度分别为 $0.88\% \pm 0.29\%$, $0.87\% \pm 0.07\%$ 和 $0.88\% \pm 0.13\%$, 变形菌门 β -变形菌纲聚糖菌的丰度分别为 $1.03\% \pm 0.76\%$, $1.80\% \pm 0.74\%$ 和 $0.78\% \pm 0.30\%$, β -变形菌纲硝酸盐或亚硝酸盐还原细菌聚的丰度分别为 $1.57\% \pm 0.48\%$, $2.55\% \pm 0.56\%$ 和 $1.20\% \pm 0.31\%$, β -变形菌纲氨氧化细菌的丰度分别为 $9.17\% \pm 1.47\%$, $9.11\% \pm 0.97\%$ 和 $7.96\% \pm 0.96\%$.

我们通过 T 试验统计分析了同一探针标记的微生物菌群在水葫芦根系上、中、下 3 个部位

的丰度的显著差异性(下表 2), 以确定溶解氧水平对水葫芦根系微生物群落组成的可能影响. 结果表明, 厚壁菌门细菌的丰度在上中差异均无统计学意义, 但在中下和上下部位差异有统计学意义(P 值分别为 0.01 和 0.05). β -变形菌纲聚糖菌 G2 菌群的丰度在中下部位有显著差异趋向($P=0.06$), 上下部位差异有统计学意义($P=0.03$). β -变形菌纲聚糖菌 G1 菌群在上中、上下部位的丰度差异无统计学意义, 中下部位的丰度差异有统计学意义(P 值分别为 0.10, 0.02, 0.54). 拟杆菌门细菌在中下部位有显著差异的趋向($P=0.06$). β -变形菌纲硝酸盐和亚硝酸盐还原细菌在上中、上下不同部位的丰度差异无统计学意义, 中下部位的丰度差异有统计学意义(P 值分别为 0.08, 0.02, 0.33). β -变形菌纲亚硝化单胞菌属的氨氧化细菌在上中部位的丰度差异无统计学意义, 而在中下和上下部位的丰度差异则有统计学意义(P 值分别为 0.88, 0.04, 0.02). 而古生菌和拟杆菌门、绿屈绕菌门、浮霉菌门的细菌以及变形菌门 α -变形菌纲、变形菌门 β -变形菌纲反硝化细菌(与探针 Azo644 杂化)、 β -变形菌纲氨氧化细菌在水葫芦根际各部位的丰度差异无统计学意义.

表 2 水葫芦根际微生物群落的组成、相对丰度和分布

微生物菌群(探针名称)	丰度/%			P 值		
	上	中	下	上/中	中/下	上/下
古生菌(ARCH915)	0.49 ± 0.15	0.71 ± 0.17	1.03 ± 0.29	0.18	0.18	0.05
拟杆菌门拟杆菌纲细菌(BAC303)	0.98 ± 0.21	0.98 ± 0.30	0.68 ± 0.05	1.00	0.17	0.08
拟杆菌门噬纤维菌 - 黄杆菌菌群细菌(CF319a + b)	1.35 ± 0.48	1.36 ± 0.29	1.28 ± 0.23	0.98	0.75	0.85
绿屈绕菌门细菌(GNSB941 + CFX1223)	1.12 ± 0.08	1.31 ± 0.03	1.06 ± 0.06	0.02	0.00	0.35
厚壁菌门细菌(LGC354a + b + c)	1.00 ± 0.32	0.60 ± 0.29	0.49 ± 0.02	0.10	0.01	0.05
浮霉菌门细菌(PAL46)	1.08 ± 0.13	0.97 ± 0.08	0.73 ± 0.20	0.27	0.13	0.06
变形菌门 α -变形菌纲细菌(ALF968)	0.93 ± 0.07	0.75 ± 0.04	0.87 ± 0.17	0.02	0.29	0.59
变形菌门 β -变形菌纲固氮弧菌属反硝化细菌(Azo644)	0.88 ± 0.29	0.87 ± 0.07	0.88 ± 0.13	0.94	0.88	1.00
变形菌门 β -变形菌纲聚糖菌(G1 群)(GB_G1)	0.84 ± 0.38	1.50 ± 0.37	0.68 ± 0.15	0.10	0.02	0.54
变形菌门 β -变形菌纲聚糖菌(G2 群)(GB_G2)	0.19 ± 0.38	0.30 ± 0.37	0.10 ± 0.15	0.27	0.06	0.03
变形菌门 β -变形菌纲反硝化细菌(PAO462 + PAO652 + PAO846)	1.57 ± 0.48	2.55 ± 0.56	1.20 ± 0.31	0.08	0.02	0.33
变形菌门 β -变形菌纲亚硝化螺菌属细菌(Nsv443)	2.22 ± 0.28	2.58 ± 0.39	2.34 ± 0.26	0.26	0.43	0.61
变形菌门 β -变形菌纲氨氧化细菌(Nso190)	2.27 ± 0.27	2.80 ± 0.70	2.17 ± 0.15	0.20	0.59	0.29
变形菌门 β -变形菌纲亚硝化单胞菌属细菌(NSO1225 + Nmo218)	1.77 ± 0.34	2.01 ± 0.19	1.76 ± 0.08	0.88	0.04	0.02
变形菌门 β -变形菌纲亚硝化螺菌属细菌(Nsv443)	2.48 ± 0.21	3.03 ± 0.85	3.22 ± 1.21	0.26	0.43	0.61
变形菌门 β -变形菌纲亚硝化囊杆菌属细菌(Nmv)	1.10 ± 0.26	1.08 ± 0.17	1.17 ± 0.43	0.91	0.74	0.82
变形菌门 δ -变形菌纲硫酸盐还原细菌(SRB385 + SRB365db)	1.04 ± 0.14	0.96 ± 0.21	0.88 ± 0.12	0.60	0.58	0.19



1.图1A中箭头所指为探针GNSB941+CFX1223杂化的绿屈绕菌门细菌; 2.图1B中椭圆形框标示的细胞为探针BAC303杂化的拟杆菌门拟杆菌纲细菌; 3.图1C中箭头所示的细胞为探PAO462+PAO652+PAO846杂化的变形菌门 β -变形菌纲反硝化细菌; 4.图1D中椭圆形框标示的细胞为探针ALF968杂化的变形菌门 α -变形菌纲细菌; 5.图1E中圆框标示的细胞为探针Nso190杂化的变形菌门 β -变形菌纲氢氧化细菌; 6.图1F中圆框标示的细胞为探针NSO1225+Nmo218杂化的变形菌门 β -变形菌纲亚硝化单胞菌。图1A中的长度指示横条代表10 μm 。

图1 FISH探针和DAPI染色数码照片重叠图

2.2 滇池水葫芦根系微生物群落的结构和功能分析

本研究中我们首次采用以自然水体和城市污水处理厂活性污泥微生物群落中的菌群为靶标的基因探针,通过 qFISH 研究了滇池水葫芦根际微生物群落的组成、结构、分布和功能。结果表明,水葫芦根际微生物群落的组成多种多样,微生物群落中近 30% 的微生物细胞与采用的基因探针杂化,其中约半数均为变形菌门的细菌,其余为古生菌以及拟杆菌门、绿屈绕菌门和浮霉菌门的细菌。还有约 70% 的微生物细胞的组成尚不清楚,主要是因为还缺乏更多特异性的 FISH 基因探针。因此,通过高通量测序首先了解水葫芦根际微生物群落的组成,在此基础上设计特异性的基因探针,再采用 qFISH 进行分析可以大大提高对该群落组成的了解。此外,本研究首次采用免培养分子微生物生态学方法研究了水葫芦根系微生物群落的组成、分布和功能,但由于迄今为止未见类似的报道,因此该研究结果无法与其他研究结果相比较。

水葫芦根际微生物群落参与了滇池水体氮循环。qFISH 结果表明,氨氧化细菌占根际微生物细胞总数 10%,而且它们的组成多样,分属于亚硝化单胞菌属、亚硝化螺菌属和亚硝化囊杆菌属,同时在水

葫芦微生物群落中还发现了硝酸盐和亚硝酸盐还原细菌(1.2% ~ 1.5%)和反硝化细菌(0.9%),说明水葫芦根际微生物群落参与了滇池水体的硝化和反硝化作用。在采用水葫芦治理滇池水体污染的过程中,水体的氮平衡一直是争论的焦点。滇池水体氮平衡表明,水葫芦干物质中的 N 少于滇池水体中实际去除的总 N,通过水葫芦吸收的氮不能解释滇池去除的总氮量,推测可能是由于滇池水体中发生了反硝化作用(2011 年滇池水葫芦治理污染试验性工程工作情况简报),但迄今为止还没有具体的数据支撑这种假设。本研究首次提供了具体数据证明了这种假设,并进一步揭示出水葫芦根际微生物可能是滇池水体氮去除的主要参与者。

除参与滇池水体的 N 循环外,水葫芦根际微生物群落也参与了水体的碳循环过程以及硫酸盐还原过程。根际微生物总细胞中含有 0.5% ~ 1.0% 的甲烷产生菌,说明水葫芦根际微生物群落对滇池水体碳循环和温室气体的产生也有贡献。同样水葫芦微生物群落中含有近 1.0% 的硫酸盐还原细菌,水葫芦微生物群落也参与了水体的硫酸盐还原过程。

qFISH 结果也揭示, β -变形菌纲亚硝化单胞菌和 β -变形菌纲硝酸盐和亚硝酸盐还原细菌在水葫芦根际上、中、下 3 个部位差异有统计学意义,而其他功能菌群包括大多数氨氧化细菌和反硝化作用细菌在的丰度部位的丰度差异无统计学意义,说明这些功能菌群对生态位的要求存在差异,而水体溶解氧水平的差异可能是造成这种差异的主要原因,但其影响机制有待于下一步深入研究。

3 小结与讨论

本研究首次采用 FISH 方法研究了滇池水葫芦根际微生物群落的组成、分布、丰度和功能。结果表明,水葫芦根际微生物群落组成复杂,其细胞总数的 30% 由古生菌以及拟杆菌门、绿屈绕菌门、厚壁菌门、浮霉菌门细菌和变形菌门的细菌组成,其中 1/3 是氨氧化细菌,少部分为反硝化细菌、硫酸盐还原细菌和甲烷产生菌。这些功能菌群生活在整个根系表面的生物膜中,参与了滇池水体氮素循环、碳循环和硫酸盐还原过程。但其作用的大小及对滇池水体生态系统的影响还

有待于进一步研究.

[参考文献]

- [1] SOTI P G, VOLIN J C. Does water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) compensates for simulated defoliation? Implications for effective biocontrol[J]. Biological Control, 2010, 54:35–40.
- [2] 周小平, 徐晓峰, 王建国, 等. 3 种植物浮床对冬季富营养化水体氮磷的去除效果研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(4):102–104.
- [3] LONE M I, HE Z L, STOFFEHA P J, et al. Phytoremediation of heavy metal polluted soil and water: progresses and perspectives[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2008, 9:210–220.
- [4] ODJEGBA V J, FASIDI I O. Phytoremediation of heavy metals by *Eichhornia crassipes*[J]. Environmentalist, 2007, 27:349–355.
- [5] PATEL S. Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: an overview[J]. Rev Environ Sci Biotechnol, 2012, 11:249–259.
- [6] SCHRODER P, NVRRO-AVINO J, AZAIZECHHI H, et al. Using Phytoremediation technologies to upgrade waste water treatment in Europe[J]. Environ Sci Pollut Res, 2007, 14(7):490–497.
- [7] WU X, YANG X E, ZED R. Phytoremediation facilitates removal of nitrogen and phosphorus from eutrophicated water and release from sediment[J]. Environ Monit Assess, 2009, 157:277–285.
- [8] 张志勇, 刘海琴, 严少华, 等. 水葫芦去除不同富营养化水体中氮、磷能力的比较[J]. 江苏农业学报, 2009(5):1039–1046.
- [9] CHANG H Q, YANG X E, FANG Y Y, et al. In-situ nitrogen removal from the eutrophic water by microbial-plant integrated system[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2006, 7:521–531.
- [10] FANG Y Y, YANG X E, CHANG H Q, et al. Phytoremediation of nitrogen-polluted water using water hyacinth[J]. J Plant Nutr, 2007, 30:1753–1765.
- [11] FOX L J, STRUIK P C, APPLETON B L, et al. Nitrogen phytoremediation by water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) [J]. Water Air Soil Pollut, 2008, 194:199–207.
- [12] LU Q, HE Z L, GRAETZ D A, et al. Phytoremediation to remove nutrients and improve entrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia trantiotes* L.) [J]. Environ Sci Pollut Res, 2010, 17:84–96.
- [13] RAI P K. Phytoremediation of heavy metals in a tropical impoundment of industrial region [J]. Environ Monit Assess, 2010, 165:529–537.
- [14] 乐毅全, 郑师章, 周纪伦. 风眼莲根际微生物在污水处理中的应用[J]. 城市环境与城市生态, 1988, 1(1):17–19.
- [15] 夏会龙, 吴良欢, 陶勤南. 风眼睛莲植物修复水溶液中甲基对硫磷的效果与机理研究[J]. 环境科学学报, 2002, 22(3):329–332.
- [16] 孙天华, 刘振鸿, 林少宁. 风眼莲净化印染废水过程中根系微生物生态系统的作用[J]. 环境科学, 2010, 11(3):24–27.
- [17] WEI B, YU X, ZHANG S, et al. Comparison of the community structures of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rhizoplanes of floating aquatic macrophytes[J]. Microbiol Res, 2011, 166:468–474.
- [18] 刘灵芝, 陈志刚, 陈玉玲. 污水进化过程中风眼莲根区微生物的变化[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2):510–511.
- [19] AMANN R I. In situ hybridization of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes[M]//Molecular Microbial Ecological Manual. London: Kluwer Academic Publication, 1995:1–15.
- [20] ROLLER C, WAGNER M, AMANN R, et al. In situ probing of gram-positive bacteria with high DNA G + C content using 23S rRNA-targeted oligonucleotides[J]. Microbiology, 1994, 140(10):2849–2858.
- [21] KONG Y H, HE M, MCALLISTER T A, et al. Quantitative fluorescence in situ hybridization of microbial communities in the rumens of cattle fed different diets[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76:6933–6938.
- [22] ABRAMOFF M D, MAGALHASE P J, RAM S J. Image processing with image[J]. Biophotonics Int, 2004, 11(7):36–41.
- [23] LOY A, MAIXNER F, WAGNER M, et al. Probase-an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes: New features[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35:800–804.