文章编号：1004—5589（2017）02—0632—11

长白山小天池和长白瀑布水体典型样本的细菌多样性比较

张修源[1]，苗雨雁[2,3]，顾政权[4]，刘风香[5]

1. 南京理工大学 机械工程学院，南京 210094；
2. 中国地质大学 生物地质与环境地质国家重点实验室，武汉 430074；
3. 北京自然博物馆，北京 100050；
4. 中国科学院青藏高原研究所，北京 100101；
5. 中国地质博物馆，北京 100034

摘要：水体中微生物对环境的改变有着敏感的响应。16S rRNA 基因克隆文库可以同时反映标本中的细菌种类和各种细菌的相对比例。本研究构建环境样品 16S rRNA 基因的克隆文库，解析长白山小天池入水口和长白瀑布下水潭两个典型水体样本中的细菌种属多样性特征，并探讨其与水体性质的关系。小天池文库共获得 89 条 16S rRNA 基因序列，分别属于 10 个类群，其中 *Betaproteobacteria* 是主要类群（占总数的 23.6%）。长白瀑布文库共获得 88 条序列，分别属于 8 个类群，以 *Betaproteobacteria* 为主要类群（占总数的 35.2%）。*Bacteroidetes*、*Betaproteobacteria*、*Alphaproteobacteria* 和 *Gammaproteobacteria* 是两个样本共有的优势类群，而 *Deltaproteobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Armatimonadetes* 只在小天池入水口处检出。长白瀑布水潭中的细菌群落多样性明显偏低，种群均匀度指数也较低，但两样本的地理距离极短，认为人类活动可能是导致这种差异的原因。

关键词：克隆文库；多样性；细菌群落结构；长白山

中图分类号：Q938 **文献标识码**：A **doi**：10.3969/j.issn.1004-5589.2017.02.031

Comparison of bacterial diversity based on typical water samples from Xiaotianchi lake and Changbai waterfall in Changbai Mountain

ZHANG Xiu-yuan[1], MIAO Yu-yan[2,3], GU Zheng-quan[4], LIU Feng-xiang[5]

1. *College of Mechanical Engingering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China*;
2. *State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China*;
3. *Beijing Museum of Natural History, Beijing 100050, China*;
4. *Institute of Tibetan Plateau Research Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*;
5. *The Geological Museum of China, Beijing 100034, China*

Abstract: Microorganisms in water can indicate changes in the environment with sensitive response. Through 16S rRNA clong library method, the authors can analyze the species of bacterial in samples, and know the relative proportion among all kinds of bacteria and etc. Therefore, this method has been widely applied to the environmental microbiology research. Through 16S rRNA clong library method, bacterial diversity characteristics and its relationship with the nature of waters from Xiaotianchi lake (water inletentry point) and Changbai waterfall (plunge pool)

收稿日期：2017-03-06；**改回日期**：2017-04-17
基金项目：中国地质大学生物地质与环境地质国家重点实验室开放基金项目（GBL21302）.
通信作者：苗雨雁（1969-），女，高级工程师，主要从事地层古生物学研究. E-mail：myyzzh@126.com

were analyzed. 89 gene sequences of 16S rRNA from Xiaotianchi lake were obtained, belonging to 10 groups. Among them, *Betaproteobacteria* is the major group dominating by 23.6%. 88 gene sequences of 16S rRNA from Changbai waterfall were obtained, belonging to 8 groups. Among them, *Betaproteobacteria* is the major group dominating by 35.2%. *Bacteroidetes*, *Betaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria* were the main bacteria groups in both of the two environments, while *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteria* and *Armatimonadetes* were only detected from the water entry point of Xiaotianchi lake. Both the bacterial community diversity and species evenness index from the plunge pool of Changbai waterfall are lower than those from the water inlet of Xiaotianchi lake. The two sampling sites are not far apart with similar natural environment, but quite different on the level of human activities. The authors argue that human activities may be the cause of differences between both bacteria community diversity.

Key words: clone library; diversity; bacterial community structure; Changbai Mountain

0　引言

水生生态系统中的微生物最为敏感并极易受环境影响，可以指示环境的变化。微生物不仅是水生生态系统中生物量的重要组成部分，而且影响物质循环和营养传递的过程。浮游细菌的活动能决定水体中食物链基本环节的发展，还影响着水体的营养状况[1]。同时，微生物在过去或现代正在进行的地质过程中也起到重要作用，如微生物在各种水体（包括地下水）中的沉积作用以及在地壳表层的风化作用等。研究表明，微生物影响和改变地质环境的方式是多种多样的。

对水体中细菌群落结构的研究，是全面认识微生物作用过程的先决条件，也为研究水体性质的变化和差异提供重要证据。借助有机地球化学和现代分子生物学手段，研究微生物本身或地质体中来源于微生物的有机组分的组成和结构特征，可以帮助揭示微生物的群落结构和地球化学过程，为寻求环境演变、生命起源等重大科学问题的答案提供线索。

然而，传统的分离培养方法仅能获取环境中不到1%的细菌类群，导致对环境中细菌分布认识的失真[2]。利用 16S rRNA 基因克隆文库为代表的分子生物学方法进行微生物生态学研究，可以检测出实验室条件下不能培养的细菌，从而大大提高对水体、土壤等环境中微生物多样性认识的全面性[3,4]。微生物群落结构与环境因子作用关系复杂，水体中微生物的多样性及其与环境的关系日益受到关注[6]。

长白山是中国 AAAA 级旅游风景区和自然保护区，绝大多数地区仍保持原始状态。长白山天池为源头的水流经 1 250 m 后，成为落差 68 m 的长白瀑布，下方为一水潭[7]。长白瀑布是著名的旅游景点，旅游旺季游人众多。小天池距长白瀑布约 3 km，位于二道白河西岸的密林深处，池水主要来自长白山天池和天然降水，入水口附近长期禁止游客进入，水体自然状态保护良好[8]。

随着近年来旅游业的迅速发展，长白山已经出现局部地区旅游设施密集、污染物任意排放等生态环境问题[9]，关于长白山土壤微生物群落结构等方面已有较多研究[10]，但是关于长白山自然水体中细菌群落结构特征及其受人类活动影响的研究报道尚鲜公布。本文试图通过构建环境样品 16S rRNA 基因的克隆文库，分析长白山小天池入水口和长白瀑布下水潭两个典型水体样本中的细菌种属多样性特征，并结合水体性质的差异，讨论人类活动对细菌多样性的影响。

本研究为长白山地区水体微生物群落多样性和生态研究等提供了新资料，为进一步认识长白山自然保护区的生物多样性面貌增加了新内容，为监控和评估自然环境变化提供了新数据，也为合理规划旅游资源和加强环境保护提供了重要的参考依据。

1　材料与方法

1.1　水体样品的采集

2013 年 7 月 12 日，在长白山小天池入水口处（42°03′35″N，128°03′47″E）和长白瀑布下方水潭（42°02′30″N，128°03′42″E）用灭菌过的无菌样瓶

采集表层水样各1 L用于提取DNA构建16S rRNA基因克隆文库。用高温灼烧过的无菌棕色玻璃瓶采集表层水样30 mL用于检测水的离子浓度，每个取样点取3个平行样品。全部样品置于样品箱内，冷冻储存运至实验室-80 ℃贮存直至实验。

样品解冻后，用0.22 μm无菌微孔滤膜过滤，将膜装入2 mL无菌冻存管中，-80 ℃贮存。

1.2 DNA的提取和扩增

微生物DNA使用UltraClean Soil DNA kit（Mo-Bio, San Diego, CA, USA）提取。使用细菌通用引物27f（5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′）和1492r（5′-ACGGGCGGTGTGTRC-3′）扩增提取出的DNA。PCR反应体系（50 μL）含：1 μL DNA模板，5 μL缓冲液，1 μL dNTPs，正反向引物各0.5 μL和0.5 μL rTaq DNA聚合酶（宝生物工程大连有限公司）。PCR扩增条件是：94 ℃预变性10 min，94 ℃变性30 s，55 ℃复性45 s，72 ℃延伸90 s，30个循环后72 ℃延伸10 min。

1.3 16S rRNA基因克隆文库的构建及筛选

PCR产物经DNA纯化试剂盒（宝生物工程大连有限公司）纯化后，连接克隆到pMD18-T载体（宝生物工程大连有限公司），并转入*E. coli* DH5á中，建立16S rRNA基因文库。每个基因文库中随机挑取100个克隆以M13正反向引物进行PCR扩增，扩增产物在1.5%的琼脂糖胶中电泳，确定阳性克隆。所有测序在上海美吉生物医药科技有限公司ABI3730测序仪上完成。

1.4 多样性分析

覆盖率计算公式为Coverage=［1-（带型仅出现一次的克隆子数/总克隆数）］×100%。多样性指数采用香农指数（Shannon-wiener index）评估文库所代表的环境微生物多样性，采用$H=-\sum P_i \cdot \log_2 P_i$公式计算，其中，$H$为香农指数；$P_i$为第$i$个OTU（operational taxonomic unit）在克隆文库中所占的比例。采用Evenness指数和优势度指数来评估文库的种群分布的文库的均一度和概率集中性。这4个指数均通过统计软件PAST计算得到。

1.5 16S rRNA基因序列的比较和系统发育树的构建

使用ClustalX2进行序列的多重比对，结果用Phylip 3.69软件包的DNADIST程序进行Kimura 2.0校正并计算进化距离，使用Dotur软件处理，把相似性大于97%的标准定义为一个OTU。将序列在GenBank数据库中与已知细菌的16S rRNA基因序列比较，选取最同源的序列。在MEGA6.06中，通过Ribosomal Database Project（RDP）Classifier（Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy.）对相似性大于97%的序列及其同源序列分类，选取各个类群中OTU的代表序列和最同源序列进行序列归属分析。用MEGA软件包中的Neighbor-joining法构建系统发育树。

1.6 阴离子浓度的测定

用高效液相色谱（HPLC）检测水样中的F^-、Cl^-、Br^-、NO_3^-、HPO_4^{2-}及SO_4^{2-}浓度。

2 结果

2.1 16S rRNA基因克隆文库

分别构建了长白山小天池入水口和长白瀑布下方水潭的16S rRNA的克隆文库。小天池和长白瀑布克隆文库分别检测得到89和88个有效克隆子，覆盖率为55.68%~67.42%（表1）。Rosenberg等认为，不完全采样并不影响对微生物群落结构的系统发育分析[11]。小天池克隆文库的香农指数和均匀度指数均略高于长白瀑布（表1），说明小天池细菌群落的物种多样性更高。将通过测序得到16S rRNA基因序列按照97%的相似性标准分成109个OTU，77.2%的OTU仅在小天池克隆文库中出现，1.9%的OTU仅在长白瀑布克隆文库中出现，9.4%的OTU在2个克隆文库中出现（表2）。

表1 小天池和长白瀑布细菌RFLP多样性指数

Table 1 RFLP diversity index of biacterial community in Xiaotianchi lake and Chanbai waterfall

多样性指数	小天池	长白瀑布
克隆数	89	88
覆盖率	67.42%	55.68%
Shannon-Wiener指数	3.385 00	3.252 00
Evenness指数	0.842 30	0.827 30
优势度指数	0.055 17	0.059 59

表 2　长白瀑布及小天池克隆文库 OTU 划分，最相似 GenBank 登录号及最相似度

Table 2　Affiliation of bacterial 16S rRNA gene sequences in the water of Xiaotianchi lake and Changbai waterfall and GenBank accession numbers of their nearest neighbors

类 群	Betaproteobacteria	Gammaproteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingobacteria	Flavobacteria	Actinobacteria
OTU	C65-27F, C81-27F, C27-27F, C32, C59, C62, C92-27F, C11-27F, C12, C36-27F, C97-27F, C2-27F, C25, C94, C3, C52, C41, X-45, X-1, 0, X-29, X-13, X-66, X-4, X-12, X-3	C39, C6, 0, C1-27F, C16-27F, C23, X-28, X-62, X-85, X-77, X-2	C1, 03-27F, C5, 0, C28, C7, C9, C63, C45-27F, C6-27F, C87, C54, C3, 0, C58-27F, X-39, X-22, X-33, X-67, X-6, X-49, X-24, X-212, X-56	C86, X-43, X-82, X-86	C75, C17-27F, C24, C38-27F, X-26, X-19, X-31, X-16	C98, C15, C19, X-87, X-64
最相似细菌 gi 号	FR691430, JF733395, JF697518, KC172250, JQ684472, AY177774, JQ678582, JQ923588, FJ602432, JQ923805, KC541300, GQ396985, FN668028, KC541174, GU305827, KC683059, KF481602, GQ396816, KF771457, KF771452, KC633531, FN429657, AB245357, AB649026, KF494548	JQ675385, KF003202, AB240508, KF481606, FJ801219, EU978832, KC255356, AB630471, AY662002, JF176560	GU441680, GQ396845, KC683034, KF481583, JQ396619, JQ088378, JX317576, JQ923706, JQ088322, AB750594, KF827039, KC886781, JF177852, GU472571, GQ002488, JQ088378, AB630739, KC478082, KF827150, HM2705221	EU133689, EU043542, EU978767, FJ849102	KF648280, AM230494, AM934653, GU291856, AM934678, AM934652, GU305854, KF648281	AB648978, KC683257, JN052368, HQ622737, KC554274
相似度	0.98, 0.99, 0.98, 0.99, 1, 0.97, 0.98, 0.99, 0.99, 1, 0.98, 0.99, 0.97, 0.96, 0.99, 1, 0.99, 0.99, 0.99, 1, 0.99, 0.98, 0.97, 0.99, 0.97	1, 0.99, 1, 1, 0.99, 0.99, 1, 1, 1, 0.96	0.99, 0.99, 0.99, 0.99, 0.98, 0.99, 1, 0.96, 0.83, 0.99, 0.98, 0.99, 0.97, 0.98, 0.97, 0.99, 0.99, 0.99, 0.99, 1	0.86, 0.99, 0.96, 0.99	0.99, 0.98, 0.96, 0.99, 0.99, 1, 0.98, 0.99	1, 0.99, 0.98, 0.99, 0.98
类 群	Firmicutes Bacilli	Planctomycetes	Verrucomicrobia	OD1	Deltaproteobacteria	TM7
OTU	C101, X-42, X-61, X-5, X-74, X-25, X-78, X-37, X-631, X-48	C68, C88, X-73, X-8, 0, X-11, X-8, X-47	C79, C102, C57-27F, C78, X-1, X-32, X-72, X-55, X-52, X-35, X-36, X-84	X-34	X-9, X-59, X-69, X-58, X-15	X-88
最相似细菌 gi 号	AF418960, FJ232643, KC620616, DQ404750, JX564358, KC255360, KC620693, HQ860703, AB510984, JX133639	FJ543033, EU374001, AB179532, AB179539, JQ624306, FJ849121, GQ093323	AY752115, AY922120, HM269018, HQ119723, HM921127, EU869784, GQ402612, FJ612191, JN868997, KC172198, DQ450779, EU869764	KC432136	FM200967, HQ597192, JQ278817, AB286607, JQ825018	JX105733
相似度	0.99, 0.98, 0.92, 0.99, 1, 0.95, 0.99, 0.94, 0.99, 0.99	0.99, 0.95, 0.99, 0.98, 0.98, 1, 0.99	0.99, 0.98, 0.99, 0.98, 0.99, 0.87, 0.99, 0.99, 0.98, 0.97, 0.97, 0.99	0.99	0.97, 0.99, 1, 0.97, 0.98	0.97

2.2 微生物群落的多样性

小天池入水口处样品中共获得 89 条有效序列，分属于 *Alphaproteobacteria*，*Betaproteobacteria*，*Gammaproteobacteria*，*Bacteroidetes*，*Actinobacteria*，*Planctomycetes*，*Verrucomicrobia*，*Firmicutes*，*Acidobacteria* 和 *Deltaproteobacteria* 等 10 个类群，其中主要类群为 *Betaproteobacteria*（21 条序列，占总量的 23.6%），*Alphaproteobacteria*（12 条序列，占总数的 13.5%），*Bacteroidetes*（12 条序列，占总数的 13.5%）及 *Planctomycetes*（9 条序列，占总数的 10.1%）。小天池的细菌系统发育树见图 1。

在长白瀑布水潭样品中共获得 88 条有效序列，分属于 *Alphaproteobacteria*，*Betaproteobacteria*，*Gammaproteobacteria*，*Bacteroidetes*，*Actinobacteria*，*Planctomycetes*，*Verrucomicrobia* 和 *Firmicutes* 等 8 个类群，其中主要类群为 *Betaproteobacteria*（31 条序列，占总数的 35.2%），*Alphaproteobacteria*（24 条序列，占总数的 27.2%），*Gammaproteobacteria*（11 条序列，占总数的 12.5%）及 *Bacteroidetes*（10 条序列，占总数的 10.2%），而其余四个类群共占 14.8%。长白瀑布细菌系统发育树见图 2。

Alphaproteobacteria 和 *Betaproteobacteria* 是这两个环境的共有的主要类群。在这两个主要类群中，细菌主要种属也发生了变化。*Alphaproteobacteria* 类群中，细菌主要分布在 *Sphingomonadales*，*Rhizobiales*，*Rhobobacterales* 和 *Caulobacterales* 等 4 个目；在 *Sphingomonadales* 目中检测到的 6 个 OTU 中，有 5 个来自长白瀑布，只有 1 个来自小天池。在 *Rhizobiales* 目中有 1 个 OTU 来自长白瀑布，3 个来自小天池；在 *Rhodobacterales* 目中有 3 个 OTU 来自长白瀑布，1 个来自小天池；在 *Caulobacterales* 目中 3 个 OTU 来自长白瀑布，3 个来自小天池，其中来自长白瀑布的 C 63 和来自小天池的 X－67 在同一进化分支上（长白山小天池和长白瀑布细菌中 *Alphaproteobacteria* 类群 16S rRNA 基因序列的系统发育树见图 3）。

比较两个文库中的 *Betaproteobacteria* 系统发育发现（图 4），此类群中的细菌主要分布在 *Burkholderiales* 和 *Methylophilales* 两个目中；以 *Burkholderiales* 目为主，共包含 18 个 OTU，其中 14 个 OTU 来自长白瀑布，4 个来自小天池；在 *Methylophilales* 目中，2 个 OTU 来自长白瀑布，3 个 OTU 来自小天池。

2.3 阴离子浓度

水体主要离子浓度受人类活动、岩石性质和大气干湿沉降等因素的综合影响，其中，水体阴离子浓度受岩石性质和大气降水等的影响较弱，因此成为研究人类活动对水体水化学成分影响的可靠手段[12, 13]。本研究中，长白瀑布下水潭的 Cl^-、NO_3^-、HPO_4^{2-} 及 SO_4^{2-} 的浓度均明显高于小天池入水口，两水体 F^- 和 Br^- 的浓度差异不大（表 3），说明长白瀑布水潭中氮、磷和硫等营养元素含量明显高于小天池。

表 3 长白山小天池和长白瀑布的阴离子浓度

Table 3 Chemical parameters of water sample of Xiaotianchi lake and Chanbai waterfall

/mg · L^{-1}

阴离子浓度	小天池	长白瀑布
F^-	19.85	19.92
Cl^-	8.18	66.01
Br^-	2.19	2.49
NO_3^-	2.35	3.46
HPO_4^{2-}	80.85	109.84
SO_4^{2-}	2.67	11.12

3 讨论

Zwart 等通过对世界各地 11 个湖泊和 2 条河流的细菌 16S rRNA 基因序列研究认定，水中细菌主要由 *Alphaproteobacteria*，*Betaproteobacteria*，CFB（*Cytophaga－Flexibacter－Bacteroides*），*Actinobacteria* 和 *Verrucomicrobia* 等类群组成[14]。*Alphaproteobacteria* 和 *Betaproteobacteria* 是美国 Adirondack 山[15]和德国 Alfreider 山[16]等地高山湖泊或较小面积寡营养湖泊中的优势种群。本研究构建的两个 16S rRNA 基因文库中，*Alphaproteobacteria* 及 *Betaproteobacteria* 在小天池和长白瀑布中也是主要类群（图 5），说明两水体具有与其他高山湖泊相似的主要细菌类群，这也与长白山属于高山水体寡营养的环境一致。

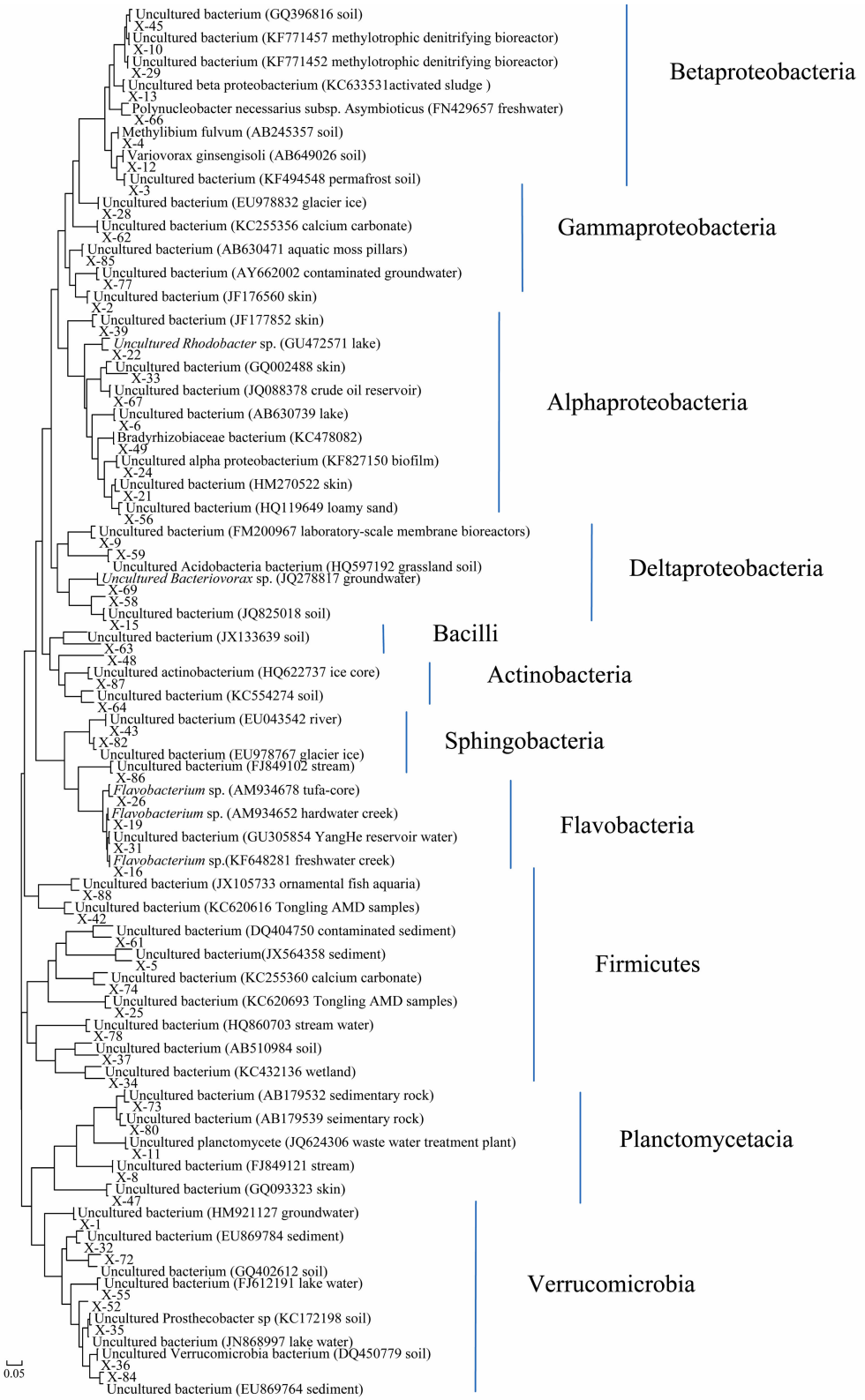
总体来看，小天池和长白瀑布的细菌具有不同的群落结构特征。从两个采样地的自然地理情况看，二者相距约3 km，自然环境相似，水样均源



（邻接法（neighbor-joining）构建，初始步长值 1000，遗传标度 0.05，X－＊＊代表来自小天池的序列）

图 1　长白山小天池细菌 16S rRNA 基因序列的系统发育树

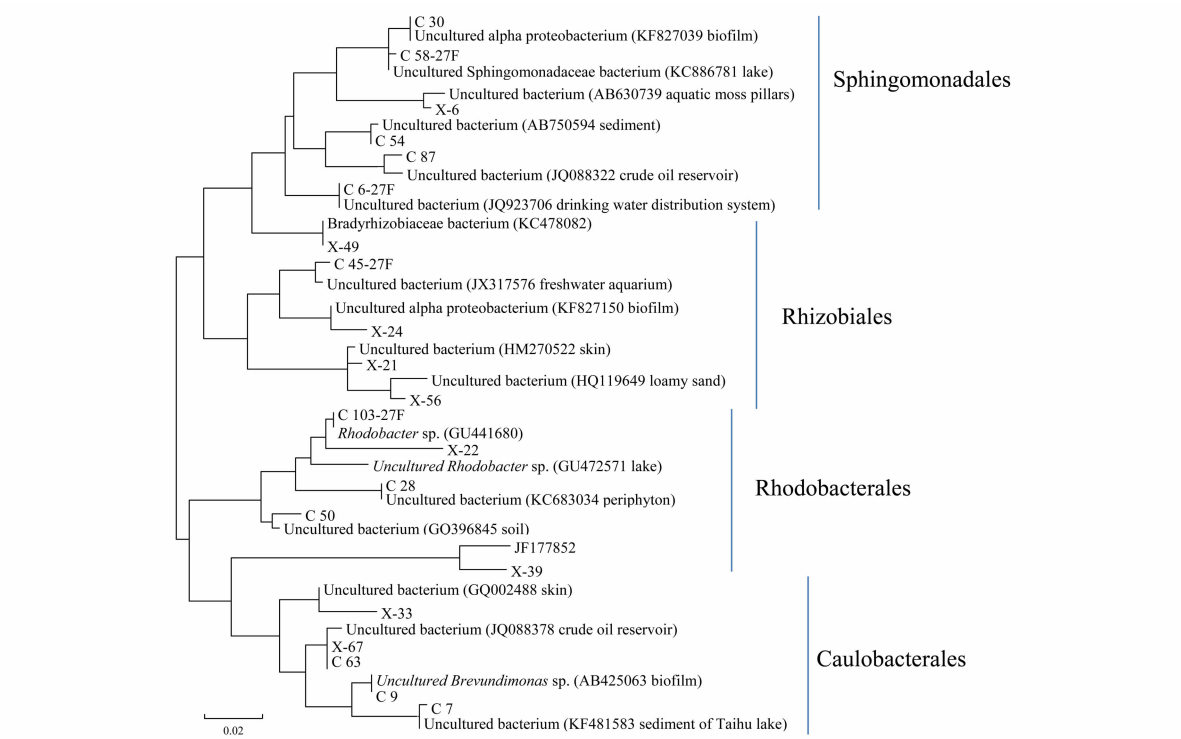
Fig. 1　Phylogenetic dendrogram for biacterial community in Xiaotianchi lake



（邻接法（neighbor-joining）构建，初始步长值 1 000，遗传标度 0.05，C－＊＊代表来自长白瀑布的序列）

图 2 长白瀑布细菌 16S rRNA 基因序列的系统发育树

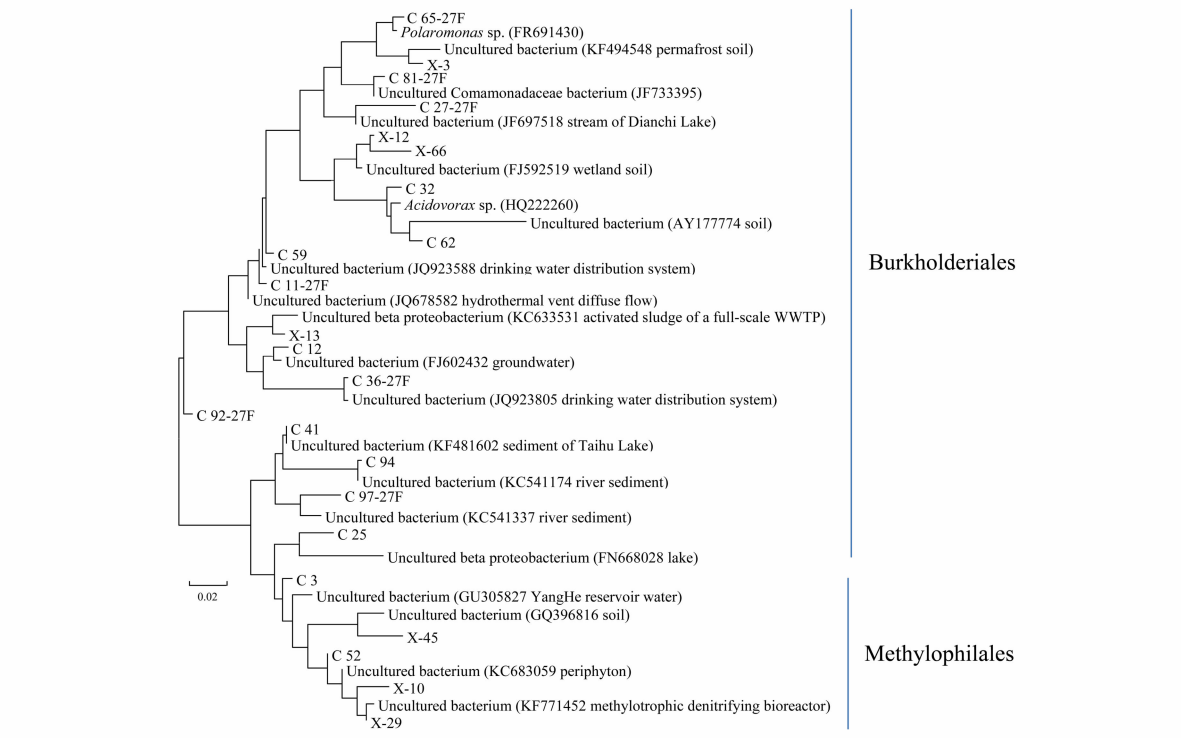
Fig. 2 Phylogenetic dendrogram for biacterial community in Changbai waterfall



（邻接法（neighbor-joining）构建，初始步长值 1 000，遗传标度 0.02，C－＊＊代表来自长白瀑布的序列；X－＊＊代表来自小天池的序列）

图 3　长白山小天池和长白瀑布细菌中 *Alphaproteobacteria* 类群 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Fig. 3　Phylogenetic dendrogram for *Alphaproteobacteria* in Xiaotianchi lake and Changbai waterfall



（邻接法（neighbor-joining）构建，初始步长值 1 000，遗传标度 0.02，C－＊＊代表来自长白瀑布的序列；X－＊＊代表来自小天池的序列）

图 4　长白山小天池和长白瀑布细菌中 *Betaproteobacteria* 类群 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Fig. 4　Phylogenetic dendrogram for *Betaproteobacteria* in Xiaotianchi lake and Changbai waterfall

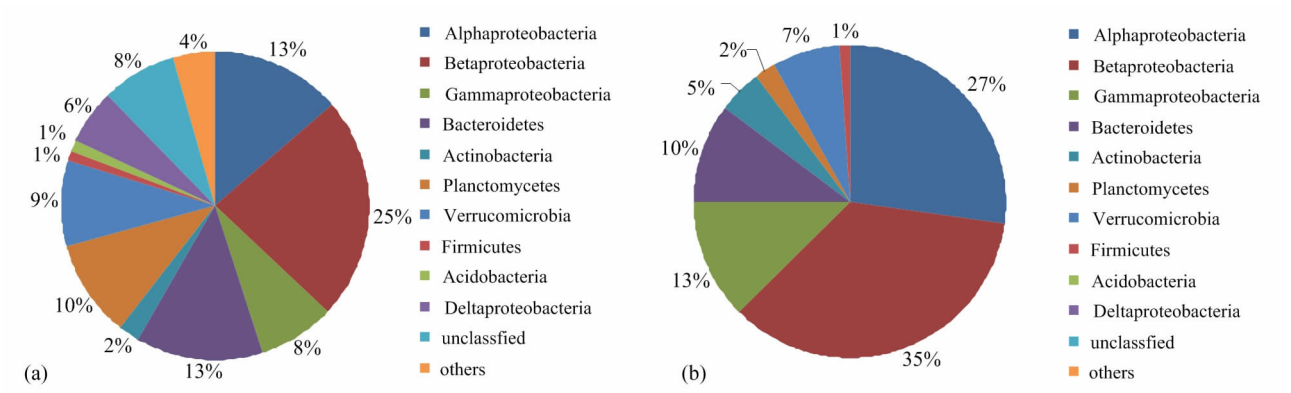


图 5 长白山小天池（a）及长白瀑布（b）细菌群落结构

Fig. 5 Proportion of bacteria phyla in the samples of Xiaotianchi lake (a) and Changbai waterfall (b)

自长白山天池。但是两地对游人开放程度截然不同：小天池入水口处一直禁止游人入内，受人类活动干扰很少；长白瀑布则是著名旅游景点，旅游旺季游客众多，水潭边建有延至水面上的游览栈道，游人伸手就能触到潭水。从细菌群落结构特征分析结果来看，小天池的微生物群落丰富度相对较高且比例适中，较好地保持了当地微生物生态系统的多样性，细菌种类与自然环境的相关性也比较强。例如，*Alphaproteobacteria* 纲 *Rhizobiales* 目中主要是和植物根系共生的细菌，该目在小天池中的 OTU 要多于长白瀑布。长白瀑布的微生物群落结构则呈现出明显的不均衡状态，多样性较低，均匀度指数也较低，优势种群数量过高，与人类活动相关的细菌比较多。例如，*Betaproteobacteria* 纲 *Burkholderiales* 目包含多种与人类关系密切的致病性病原菌，该目在长白瀑布中的 OTU 是小天池中的 3.5 倍。

无机营养盐（NO_3^-、HPO_4^{2-}、SO_4^{2-} 等）和有机营养盐既可直接影响水体细菌群落的组成和分布[17, 18]，也可通过影响水体中细菌的捕食者（异养鞭毛虫和纤毛虫）的组成和丰度间接影响水体细菌群落结构和多样性[19]。本研究中，长白瀑布水体中氮、磷及硫等营养元素的含量明显高于小天池（表 2），说明两水体中细菌群落多样性的差异可能是环境中营养状况的变化引起的，而水中 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 浓度的变化直接受到人类活动的影响。因此，阴离子浓度也指示了人类活动可能是导致两环境微生物群落结构不同的原因。两种环境中微生物群落结构的不同也反映了微生物对水体离子浓度变化的适应性调节过程，这种调节反应了微生物在适应环境变化的同时也在通过自身的群落结构变化改变水体环境。正如微生物在海洋、湖泊、土壤、冰川和洞穴等诸多生态系统的地质过程中发挥着重要作用，在小天池和长白瀑布中微生物的不同群落结构也反应出了微生物在两种环境的地质过程中可能发挥着重要作用。笔者认为小天池和长白瀑布微生物种群特征和多样性的不同很可能是人类活动影响差异造成。

4 结论

（1）长白山小天池水体中的细菌分别属于 *Alphaproteobacteria*，*Betaproteobacteria*，*Gammaproteobacteria*，*Bacteroidetes*，*Actinobacteria*，*Planctomycetes*，*Verrucomicrobia*，*Firmicutes*，*Acidobacteria* 和 *Deltaproteobacteria* 等 10 个类群，*Betaproteobacteria* 是最主要类群，占总量的 23.6%。长白瀑布水潭中的细菌分别属于 *Alphaproteobacteria*，*Betaproteobacteria*，*Gammaproteobacteria*，*Bacteroidetes*，*Actinobacteria*，*Planctomycetes*，*Verrucomicrobia* 和 *Firmicutes* 等 8 个类群，*Betaproteobacteria* 为最主要类群，占总数的 35.2%。

（2）长白山小天池和长白瀑布细菌群落的优势种群都包含 *Alphaproteobacteria* 和 *Betaproteobacteria*，但小天池的细菌多样性明显高于长白瀑布。

（3）通过对最相近序列的来源环境及两个环境的阴离子浓度分析，推断小天池和长白瀑布的细菌多样性特征可能与两个环境的营养盐浓度有关，人类活动的影响可能导致长白瀑布水潭的微生物群落多样性降低、优势种群偏高和群落结构不平衡，

说明旅游及相关人类活动已经对长白瀑布水潭的环境造成一定的影响。旅游等人类活动的日益加剧可能继续导致长白瀑布水潭等水体微生物群落多样性降低和优势种群升高，群落结构不平衡等现象也可能更为严重。

致谢：感谢中国科学院青藏高原研究所刘勇勤研究员在实验和数据分析工作中的热心帮助。

参考文献：

[1] Azam F T, Fenchel J G, Field F S, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea [J]. Marine Ecology, 1983, 10: 257-263.

[2] Amann R I, Ludwing W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situdetection of individual microbial-cells without cultivation [J]. Microbiology Reviews, 1995, 59: 143-169.

[3] Pace N R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere [J]. Science, 1997, 276: 734-740

[4] 张守印，郭学青，李振军，等. 16S rRNA 基因克隆文库用于菌群分析的效能研究和评价 [J]. 第三军医大学学报，2008，30（16）：1549-1552.
ZHANG Shou-yin, GUO Xue-qing, LI Zhen-jun, et al. Evaluation of 16S rRNA gene clone library in analyzing bacterial flora by mixed bacterial suspension [J]. Journal of Third Military Medical University, 2008, 30 (16): 1549-1552.

[5] Wu X, Xi W Y, Ye W J, et al. Bacterial community composition of a shallow hypertrophic freshwater lake in China, revealed by 16S rRNA gene sequences [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 61 (8): 85-96.

[6] Vieira R P, Gonzalez A M, Cardoso A M, et al. Relationships between bacterial diversity and environmental variables in a tropical marine environment [J]. Environmental Microbiology, 2008, 10 (7): 189-199.

[7] 张连伟，童琪. 长白山生态文化探析 [J]. 中国人口·资源与环境，2015，25（11）：240-243.
ZHANG Lian-wei, TONG Qi. Study on ecological culture of Changbai Mountain [J]. China Population, Resources and Environment, 2015, 25 (11): 240-243

[8] 张顺，李国柱，杨荣臻. 长白山旅游资源综合开发研究 [J]. 吉林师范大学学报：自然科学版，2011（3）：104-107.
ZHANG Shun, LI Guo-zhu, YANG Rong-zhen. Integrated development of tourism resources in Changbai Mountain [J]. Journal of Jilin Normal University: Natural Science Edition, 2011 (3): 104-107

[9] 孙道玮，陈田，姜野. 长白山自然保护区的旅游资源综合开发与生态环境保护措施 [J]. 东北林业大学学报，2005，33（5）：97-99.
SUN Dao-wei, CHEN Tian, JIANG Ye. The integrated development of tourism resources and eco-environment protection in Changbai mountain natural reserve [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2005, 33 (5): 97-99.

[10] 王学娟，周玉梅，王秀秀，等. 长白山苔原生态系统土壤酶活性及微生物生物量对增温的响应 [J]. 土壤学报，2014，51（1）：166-175
WANG Xue-juan, ZHOU Yu-mei, WANG Xiu-xiu, et al. Responses of soil enzymes in activity and soil microbes in biomass to warming in tundra ecosystem on Changbai mountains [J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 32 (3): 626-631

[11] Rosenberg M S, Kumar S. Incomplete taxon sampling is not a problem for phylogenetic inference [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98: 10751-10756.

[12] 朱国锋，何元庆，蒲焘，等. 夏季玉龙雪山地区不同水体常规阴离子特征及其来源分析 [J]. 环境科学，2011，32（3）：626-631.
ZHU Guo-feng, HE Yuan-qing, PU Tao, et al. Character and sources of conventional anion in different water bodies on the summer in Yulong snow mountain area [J]. Environmental Science, 2011, 32 (3): 626-631.

[13] 秦建华，冉敬，杜谷. 岷江流域河水主要离子地球化学特征及人类活动影响研究 [J]. 沉积与特提斯地质，2007，27（2）：14-19.
QIN Jian-hua, RAN Jing, DU Gu. Major ion geochemistry and anthropogenic impacts on the Minjiang River, Sichuan [J]. Sedimentary Geology and Tethyan Geology , 2007, 27 (2): 14-19.

[14] Zwart G, Crump B C, Kamst-Van Agterveld M P, et al. Typical freshwater bacteria: an analys is of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes an drivers [J]. Aquatic Microbial Ecology, 2002, 28 (2): 141-155.

[15] Hiorns W, Methe B, Nierzeicki-bauer S A, et al. Bac-

terial diversity in Adirondack mountain lakes as revealed by 16S rRNA gene sequences [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63 (7): 2957-2960.

[16] Dolan J R. Biogeography of aquatic microbes [J]. Aquatic Microbial Ecology, 2005, 41 (7): 39-48.

[17] Crump B C, Kling G W, Bahr M, et al. Bacterio-plankton community shifts in an arctic lake correlate with seasonal changes in organic matter source [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69 (5): 2253-2268.

[18] Bouvy M, Bettarel Y, Bouvier C, et al. Trophic interactions between viruses, bacteria and nanoflagellates under various nutrient conditions and simulated climate change [J]. Environmental Microbiology, 2011 (13): 1842-1857.

[19] Nakano S I, Ishii N, Manage P M, et al. Trophic roles of heterotrophic nanoflagellates and ciliates among planktonic organisms in a hypereutrophic pond [J]. Aquatic Microbial Ecology, 1998 (16): 153-161.

(上接623页)

[24] 熊竹, 丁世敏, 肖红艳, 等. 水体中叶绿素a浓度遥感反演的算法研究进展 [J]. 中国西部科技, 2015, 14 (10): 16-20.
XIONG Zhu, DING Shi-min, XIAO Hong-yan, et al. Progress of algorithms research on remote sensing retrieval of Chlorophyll-a concentration in water body [J]. Science and Technology of West China, 2015, 14 (10): 16-20.

[25] 王颖. 海南岛海岸环境特征 [J]. 海洋地质动态, 2002, 18 (3): 1-9.
WANG Ying. Features of Hainan island coastal environment [J]. Marine Geology Frontiers, 2002, 18 (3): 1-9.

[26] 王雨, 林茂, 陈兴群, 等. 海南西部近岸浮游植物的周年变化及主要关联因素 [J]. 水生生物学报, 2012, 36 (4): 724-734.
WANG Yu, LIN Mao, CHEN Xing-qun, et al. Annual variation on phytoplankton in coastal waters of western Hainan Island and related affecting factors [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36 (4): 724-734.