

## 浅水湖泊湖泛(黑水团)中的微生物生态学研究进展\*

邢鹏<sup>1</sup>, 胡万婷<sup>1,2</sup>, 吴瑜凡<sup>3,4</sup>, 吴庆龙<sup>1</sup>

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008)

(2: 南京师范大学生命科学学院, 南京 210023)

(3: 中国科学院微生物研究所, 北京 100101)

(4: 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:**“湖泛”是指湖泊水体中(包括沉积物)富含大量藻源性(或草源性)的生物质,在微生物的分解作用下,大量消耗氧气,出现厌氧分解,微生物在还原条件下,促进许多“黑臭”物质的形成,进而影响水质和湖泊生态系统结构与功能乃至造成环境灾难.与湖泛发生时的环境特征(如低溶解氧,低pH,高有机质,高总磷、总氮)相对应的是其简化的食物网结构和特殊的微生物类群.本文将主要针对湖泛中的微生物群落及其在物质循环中的作用展开综述.研究显示湖泛水体中主要微生物类群,如真菌、细菌厚壁菌门的梭菌以及产甲烷古菌等,在有机质的快速分解和厌氧矿化过程中发挥着重要作用;沉积物中主要的微生物功能群,如硫酸盐还原细菌、铁还原细菌、甲烷厌氧氧化菌和反硝化细菌等,是湖泛致黑物质形成的关键.缺氧及厌氧条件下碳、硫和铁等元素生物地球化学过程的相互关联以及多种微生物之间形成的互营共生可能是湖泛过程中功能微生物的重要特征.湖泛中微生物功能的进一步研究,亟需借鉴海洋低氧区及深海沉积物的经验,引用先进研究手段,提出可靠的生物地球化学证据.浅水湖泊湖泛(黑水团)中的微生物生态学探索将有助于从机理上揭示湖泛黑臭的成因.

**关键词:** 湖泛;微生物;功能;物质循环;硫;碳;互养共栖

## Major progress in microbial ecology of hypoxia in the shallow eutrophic lakes

XING Peng<sup>1</sup>, HU Wanting<sup>1,2</sup>, WU Yufan<sup>3,4</sup> & WU Qinglong<sup>1</sup>

(1: *State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China*)

(2: *School of Biological Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, P. R. China*)

(3: *Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, P. R. China*)

(4: *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China*)

**Abstract:** “Algae derived hypoxia” was caused by the rapid decomposition of massive algae biomass in the water column and the surface sediments, which consuming a large amount of dissolved oxygen. The oxygen depletion condition promotes the formation of substantial “black and odor” compounds, which then destroy the water quality and the structure and function of the lake ecosystem. Thus, “algae derived hypoxia” becomes one of the severe environmental secondary disasters caused by the frequent algae (mainly cyanobacteria) blooms, especially under high temperature. Corresponding to the environment characteristics of algae derived hypoxia, such as low dissolved oxygen, low pH, high organic matter, high total phosphorus, and high total nitrogen, is the simplified food web and the distinctive microbial communities in the lake ecosystem. This paper will focus on microbial communities and their diverse functions in the material circulation in the lake hypoxia. Based on the accumulative studies, the main microbial groups participating in the rapid breakdown of organic matters in the lake water are Clostridiales of Firmicute, Actinomycetales of Actinobacteria, methanogenic archaea etc., while in the anoxic sediments the main functional groups are sulfate reducing bacteria, iron reducing bacteria, anaerobic oxidation of methane bacteria, denitrifying bacteria, etc. The interconnected biogeochemical

\* 国家自然科学基金项目(31370508)、中国科学院南京地理与湖泊研究所“一三五”战略发展规划项目(NIGLAS2012135011)和湖泊与环境国家重点实验室开放基金项目(2012SKL005)联合资助. 2015-01-14 收稿; 2015-03-09 收修改稿. 邢鹏(1979~),女,博士,副研究员; E-mail: pxing@niglas.ac.cn.

process of carbon, sulfur and iron elements as well as the syntrophy of various microorganisms is one important characteristics of these microbial functional groups. To compare with the researches in marine and the deep-sea hypoxia, there still needs a large amount of biogeochemical evidence for the microbial functions in the algae derived hypoxia, which relying on the introduction of new research methods. The exploration of microbial process will be helpful to reveal the mechanisms of the hypoxia formed in the shallow eutrophic lakes.

**Keywords:** Hypoxia; microorganism; function; material recycling; sulfur; carbon; syntrophy

水体缺氧区 (hypoxia, dead zone, oxygen minimum zone) 广泛存在于大洋<sup>[1]</sup>、海岸带<sup>[2-3]</sup>、河口<sup>[4]</sup>、深水湖泊<sup>[5]</sup>、水库<sup>[6]</sup>以及浅水湖泊<sup>[7]</sup>, 在不同的水体被赋予不同的名称. 尽管浅水湖泊理论上不存在溶解氧扩散的限制, 但特定时空条件下有机质的好氧分解以及复氧的限制极易导致局部水体处于缺氧甚至完全厌氧状态. 与海洋和深水湖泊不同的是, 通常浅水湖泊水体缺氧区极易发生在春末夏初富营养化湖泊的靠岸水区, 维持时间较短 (一般持续 24 小时至 2 周)<sup>[8]</sup>. 我国长江中下游的大型富营养化浅水湖泊太湖<sup>[9]</sup>近年来不断有湖泛发生的相关报道.

目前针对浅水湖泊湖泛的研究涉及湖泊水文<sup>[10]</sup>、气象<sup>[11]</sup>、物理<sup>[12]</sup>、化学<sup>[13-14]</sup>、生物<sup>[15]</sup>等多个领域, 大量交叉研究的结果显示: 蓝藻和某些快速繁殖水生植物的堆积与污染有机质的输入是湖泛发生的物质基础, 适宜的气象水文条件 (强光照、高温、低风速、水体垂直热分层等) 是湖泛的触发因素, 而以厌氧条件下快速分解有机质的梭菌、硫酸盐还原菌、产甲烷菌 (古菌) 以及甲烷氧化菌为标志的微生物是湖泛形成的生物机制. 溶解氧作为联系湖泊水文、理化和生物过程的关键因子, 成为诱导湖泛形成和消散的核心因素<sup>[16]</sup>. 随着水体中氧气的耗尽, 氧化还原电位也随之降低, 厌氧或者兼性厌氧微生物分解复杂有机物, 产生的小分子有机物质可以作为电子受体, 参与硫酸盐和铁 (锰) 等氧化物的还原反应; 此时沉积物中的铁、锰等物质与还原态的硫结合, 在挥发性有机物等作用下上浮进入上覆水中, 形成大量黑臭物质, 最终生成黑水团; 黑水团在水流和风的作用下, 可进行一定程度的迁移, 这种极端的现象严重影响原始湖泊生态系统, 引发各种生态灾害和供水危机.

湖泊中的微生物在水生生态系统的生物地球化学循环和能量流动过程中具有重要作用. 大量研究显示, 微生物在藻源性 (或者草源性) 有机质的快速分解、异味物质的产生、碳硫元素的转化, 甚至湖泛后期的生态系统恢复等方面都具有关键作用. 因此, 开展湖泛过程中微生物的群落和其在物质循环中作用的研究, 成为揭示湖泛致黑致臭机制的核心问题之一. 浅水湖泊的湖泛过程具有持续时间短、发生地点多变等特征, 在野外实时跟踪调查的基础上, 开展原位控制实验以及室内模拟研究成为认识湖泛过程中微生物结构和功能的主要方法. 与湖泛过程相关的细菌等微生物较难在实验室被分离培养, 而且自身缺少比较明确的形态特征用于种类鉴定, 因此不断创新的分子生物学技术成为推动湖泛微生物研究不断深入的基础. 本文将参考海洋及深水湖泊缺氧区的相关研究结果, 重点归纳和分析富营养化浅水湖泊湖泛发生过程中, 关键微生物类群及其在 C、S、N 等元素循环中的作用.

## 1 湖泛形成中的关键微生物类群

### 1.1 主要真菌

水生真菌是水生态系统中极为重要的一个生态类群, 是重要的分解者, 同时也为水体中的多种动物提供食物, 是食物链中的重要一环<sup>[17]</sup>. 2012 年 5 月 16 日, 贡湖湾沙渚港近岸水域的“湖泛”发生现场, 仅有大量沉水植物死亡, 无蓝藻水华或聚集现象发生, 表现为草源性“湖泛”. 与单细胞的浮游藻类相比, 水生植物富含木质素、纤维素和半纤维素等“较难”分解的成分, 难解有机质的快速转化是如何在缺氧甚至厌氧的条件下发生的呢? 具有较强分解纤维素能力且适应无氧条件的腐生真菌可能参与了草源性有机质的前期分解. 郑九文等<sup>[18]</sup>通过在沉积物和上覆水的完整体系中添加植物残体, 分析水体中和表层沉积物中真菌群落结构. 结果证实了上述推测, 水体中优势真菌主要是担子菌 (Basidiomycota), 而表层沉积物中主要是壶菌 (Chytridiomycota). 不仅如此, Chen 等研究蓝藻水华原位分解围隔中微型真核生物群落的动态变化, 发现其中占优势的微型真核生物仍主要是真菌<sup>[19]</sup>. 系统发育分析显示, 担子菌的 *Bannoa hahajimensis* 是主要优势种. 因此水生真菌在草源性及藻源性有机物质的前期分解以及促进其他腐生微生物的分解中可能发挥着重

要作用.

## 1.2 细菌群落

1.2.1 梭菌 梭菌属(*Clostridium*),归于厚壁菌门(Firmicutes)梭菌纲(Clostridia),是一类能产生内生孢子的厌氧革兰氏阳性菌,广泛存在于缺氧富含有机质的环境中,具有丰富的有机质代谢功能.在对藻源性湖泛的现场监测以及模拟蓝藻水华分解过程的原位实验中,水体中检测到了大量的梭菌序列. Li 等针对太湖微囊藻水华诱发的湖泛区分析了水柱中的细菌(包括浮游细菌和颗粒附着细菌)群落结构<sup>[15,20]</sup>,结果显示梭菌是低氧区主要的优势种群.不仅如此,模拟研究显示厌氧条件下藻源性有机质的分解转化中,梭菌不仅在丰度上占绝对优势(~75%克隆序列),而且存在多个全新的系统发育类群(Cluster CLOS. 1~CLOS. 8)<sup>[21]</sup>,各梭菌类群在蓝藻的分解过程中呈现出交互占优势的动态变化.不仅如此,沉积物中的梭菌对蓝藻水华添加也产生强烈的响应. Wu Yufan 等通过高通量测序发现,添加藻粉的沉积物中厚壁菌门比例大幅上升,从空白对照的2%提高到处理组的49%,其中主要的细菌类群也是梭菌(未发表的研究结果).水体和沉积物中微生物群落研究的结果无疑都强烈地指示梭菌在湖泛有机质分解过程中的作用.

1.2.2 硫酸盐还原菌 在厌氧条件下硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)还原硫酸盐产生硫化氢和硫离子. Li 等在湖泛现场获得的样品中,还发现了大量的脱硫弧菌(*Desulfovibrio*)序列,其在整个湖泛的维持和水质恢复过程中均是主要优势种<sup>[15]</sup>. Feng 等在太湖湖泛发生区的沉积物中也发现大量的 SRB 序列,系统发育分析显示,这些序列主要可以归于脱硫球菌属(*Desulfococcus*)、脱硫杆菌属(*Desulfomonile*)和脱硫念珠菌属(*Desulfonema*)<sup>[22]</sup>.硫酸盐还原过程是一种专性厌氧过程,SRB 以硫酸盐中的结合性氧作为电子受体,氧化各种有机碳化合物,将  $S^{6+}$  还原为  $S^{2-}$ .这一反应可能是导致湖泛水体发黑的关键过程,具体反应机制和功能微生物的作用将在微生物与硫循环部分做详细的介绍.

1.2.3 湖泛中其他常见的细菌类群 不论水体还是沉积物中,变形菌门的 alpha 变形菌(Alphaproteobacteria)、beta 变形菌(Betaproteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和放线菌门(Actinobacteria)等都是常见的湖泛微生物类群. Li 等发现微囊藻水华的分解过程中存在大量的 alpha 变形菌的根瘤菌目(Rhizobiales)和 red 细菌目(Rhodobacterales)、beta-变形菌的伯克氏菌(Burkholderiales)、放线菌门的微球菌亚目(Micrococccineae)<sup>[20]</sup>.湖泛水体中还发现大量的 LD12 cluster(freshwater SAR11)和 beta 变形菌丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)的序列<sup>[15]</sup>.在 Wu Yufan 等的研究中,藻粉的添加促进沉积物中拟杆菌门和梭杆菌门(Fusobacteria)细菌丰度的提高,分别从2%提高至17%和不足1%提高到5%(未发表的研究结果). Xing 等在蓝藻厌氧分解过程的研究中发现,除了占绝对优势的梭菌外,还存在一些来自 beta 变形菌和拟杆菌门的序列<sup>[21]</sup>.通过对相关系统发育类群纯培养菌株的文献查阅,上述常见的湖泛细菌类群都具有较强的有机物分解能力,而且适应缺氧甚至完全厌氧的环境条件.另外,湖泛过程中微生物群落结构的研究还发现了不少与数据库中已知序列相似度较低的新序列.随着测序技术的不断发展,我们有理由相信在未来的湖泛微生物研究中可能会获得更多的湖泛特征微生物信息.

细菌群落结构与典型环境因子的多元统计分析结果都指示,重要细菌类群对于湖泛区低溶解氧、低 pH、高有机质等典型环境特征的适应性.蓝藻水华分解过程中的叶绿素 a(Chl. a)、溶解性有机碳(DOC)、溶解氧和 pH 的变化与浮游和附着细菌群落结构的动态变化具有显著相关性<sup>[20]</sup>.与湖泊水体或者沉积物本底的微生物群落相比,湖泛发生过程中细菌群落的多样性明显下降,反映了这一“扰动”过程对生态系统结构的显著影响.不过,在添加大量蓝藻水华的围隔实验中,12 d 后浮游细菌群落可以基本恢复到未添加前的状态,体现了水体生态系统对于水华分解引起的有机质脉冲以及黑水团过程仍具有较强的恢复力<sup>[23]</sup>.

## 1.3 古菌群落

1.3.1 产甲烷古菌 湖泊生态系统中,厌氧条件下有机碳的矿化作用对整个湖泊有机碳无机化的贡献率为20%~60%,其中生成甲烷的矿化作用占厌氧有机碳矿化作用的30%~80%.前期的研究显示,水华容易被湖滨岸带的挺水植物丛捕获,而且很难再被释放出来,可能更加剧了岸带浅水区甲烷的释放量<sup>[24]</sup>.自然界中的产甲烷过程主要由产甲烷古菌完成. Xing 等研究显示,蓝藻水华的厌氧分解能够产生甲烷,产甲烷古菌中主要的优势类群是甲烷微菌(Methanomicrobiales)和甲烷杆菌(Methanobacteriaceae),而且甲烷杆菌在较高温度下的优势度更为明显<sup>[25]</sup>. Fan 等通过室内模拟实验探讨沉积物中的古菌群落对蓝藻水华沉降的响应,

结果显示产甲烷菌主要属于甲烷杆菌目,而且太湖沉积物还存在着大量的与产甲烷无关的古菌类群,例如 Miscellaneous Crenarchaeotal Group (MCG, 原 crenarchaeotal Group I.3), 据此推测甲烷杆菌和 MCG 可能直接存在竞争关系,而这种关系同时也受到温度的影响<sup>[26]</sup>.

1.3.2 甲烷厌氧氧化古菌 水体和沉积物中甲烷的消耗通常有好氧和厌氧 2 个过程. 湖泛发生时,甲烷厌氧氧化古菌 (Anaerobic methanotrophic archaea, ANME) 利用甲烷作为电子供体,在适合电子受体 (如  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Mn}^{4+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ ) 存在时,可以将  $\text{CH}_4$  氧化为  $\text{CO}_2$ . 通过对各种生境中甲烷厌氧氧化古菌的系统发育分析,通常将其分为 3 类: ANME-1 (与产甲烷微菌目 (Methanomicrobiales) 和产甲烷八叠球菌目 (Methanosarcinales) 有较远的亲缘关系)、ANME-2 (属于产甲烷八叠球菌目) 和 ANME-3 (与拟甲烷球菌属 (*Methanococoides*) 亲缘关系较近)<sup>[27]</sup>. 目前针对湖泛过程中甲烷厌氧氧化古菌的研究较少. Xing 等曾在蓝藻水华的厌氧分解研究中,获得了部分来自甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina*) 的序列,而且在 35°C 条件下该类群的比例明显增加<sup>[25]</sup>. 系统发育分析表明,甲烷八叠球菌属于甲烷厌氧氧化古菌的 ANME-2.

## 2 湖泛微生物与生物地球化学循环

黑水团的种种表现特征以及变黑发臭过程,实际涉及 C、S 等关键元素的地球化学循环的转化,而这些过程和转化都与微生物的作用有着直接或者间接关系. 本文将在上述群落结构研究的基础上,结合相关微生物功能的研究进展开展综述.

### 2.1 黑水团微生物与碳循环

2.1.1 梭菌等类群在复杂有机质分解中的作用 藻源性或者草源性有机质分解伴随的碳素转换过程是湖泛物质转化的核心. 以有机质分解过程密度上占优势的梭菌为例,其广泛存在于厌氧生物发酵过程和动物消化系统,以及土壤、海洋、内陆水体、病原菌、食品工业等环境中. 通过对纯培养菌株的生理生化分析显示,梭菌发酵的物质不仅包括大量简单和复杂的碳水化合物,而且包括蛋白质、氨基酸和部分其他的简单和复杂有机分子<sup>[28]</sup>. 甚至有些种类具备多种营养方式,既可以利用  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  或  $\text{CO}$  完成专性自养碳固定,也可以利用复杂有机物完成进行化能有机营养<sup>[29]</sup>. 不仅如此,梭菌还通过产生各类胞外酶将环境中的生物大分子 (例如纤维素、木聚糖、蛋白质和脂类等) 降解为其他细菌可以发酵的成分<sup>[30]</sup>. 某些梭菌降解的底物和产生的化合物都具有毒性.

在湖泛微生物的研究中, Wu 等<sup>[31]</sup> 采用多种培养基,针对藻源性有机质分解过程中的微生物开展分离培养,获得的菌株主要归为放线菌门、变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门、拟杆菌门. 其中 4 株细菌 (R28、G22、M1、MB9-7) 的 16S rRNA 基因序列与已知模式菌 (type strain) 相似性低于 97%, 其中 MB9-7 经鉴定为 *Clostridium algifaecis* sp. nov.<sup>[31]</sup>. 生理生化特征分析显示, G22、R28、M1 都具有较强的兼性厌氧生活能力. 有研究表明<sup>[32]</sup> 在有机营养丰富、环境恶劣的情况下,细菌具有较强的厌氧耐受能力从而具有较强的环境适应性. G22 具有较强的纤维素酶和果胶酶活性,蓝藻细胞壁主要由纤维素和果胶组成,因此 G22 具有潜在的消化蓝藻细胞壁的功能 (后续的研究还在进行中). 另外, G22、R28、M1 和 MB9-7 菌可以利用有机硫化物产生  $\text{H}_2\text{S}$ , 从侧面为蓝藻水华后期产生异味性硫化物提供了证据.

#### 2.1.2 沉积物中的产甲烷与甲烷消耗过程 (1) 产甲烷过程.

自然界中的产甲烷过程主要由两类产甲烷古菌完成: 利用乙酸的乙酸型产甲烷菌 (表 1, 反应 (1)) 和利用  $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$  的氢型产甲烷菌 (反应 (3)). 通过对蓝藻水华分解过程中产甲烷功能基因甲基-辅酶 M 还原酶 (methyl coenzyme M reductase A, *mcrA*) 多态性分析,甲烷微菌和甲烷杆菌是主要的产甲烷类群<sup>[33]</sup>. 这一方面印证该反应过程中产甲烷菌 16S rRNA 系统发育分析的结果<sup>[25]</sup>, 另一方面,也从功能基因的角度证实了湖泛过程中氢营养型 (hydrogenotrophic) 是甲烷生成的主要途径. Fan 等通过室内模拟实验探讨沉积物中的产甲烷古菌群落对蓝藻水华沉降的响应,结果显示: 沉积物中的微囊藻生物质可以被微生物快速地转化成甲烷,在 30°C 微囊藻添加对甲烷产生的促进作用最大; 沉积物中微囊藻生物质转化为甲烷的过程主要是通过  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  途径,由嗜氢类产甲烷菌来驱动完成的<sup>[26]</sup>.

氢型产甲烷过程 (表 1, 反应 (3)) 的吉布斯自由能最低,是自然条件下优先发生的反应,但是  $\text{H}_2$  分压的下降会导致反应由于缺少底物而无法进行. 此时,如果存在乙酸,利用乙酸生成  $\text{CH}_4$  的反应 (1) 由于少量放

能( $\Delta G^0 = -31.0 \text{ kJ/mol}$ ), 仍可进行. 但是, 如前所述, 在蓝藻水华生物物质矿化过程中古菌群中未发现乙酸型产甲烷菌<sup>[25,27]</sup>, 则势必存在其他的反应可以为氢型产甲烷过程源源不断地提供电子受体  $\text{H}_2$ . 随着研究的深入, 生态学上一种称为“互营共生(syntrophy)”的关系被发现: 产酸过程生成的  $\text{H}_2$  被氢型产甲烷菌消耗用于合成甲烷, 从而造成乙酸的积累, 乙酸的积累可以诱导乙酸氧化细菌作用, 将积累的乙酸重新转化成  $\text{H}_2$ , 继续供给氢型产甲烷反应. 而且从能量的角度分析, 在乙酸氧化细菌和氢型产甲烷菌之间的互养共栖的关系, 使得该反应由吸热反应变成放热而能自发进行(反应(2) + (3))<sup>[34]</sup>. 除乙酸外, 环境中还存在与其他小分子有机酸(如丙酸、丁酸)氧化有关的互养细菌. 因此, 推测互营共生的氢型产甲烷途径是主导藻源性生物物质矿化的重要机制.

表1 产甲烷相关过程反应和能量

Tab. 1 The relative reactions and energy in methane production

过程	反应式	$\Delta G^0 / (\text{kJ/mol})$
(1) 乙酸型产甲烷	$^* \text{CH}_3 \text{COO}^- + \text{H}_2 \text{O} \rightarrow ^* \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0
(2) 互养乙酸氧化	$^* \text{CH}_3 \text{COO}^- + 4\text{H}_2 \text{O} \rightarrow \text{H}^* \text{CO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	+104.6
(3) 氢型产甲烷	$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2 \text{O}$	-135.6
(4) 综合(2) + (3)	$^* \text{CH}_3 \text{COO}^- + \text{H}_2 \text{O} \rightarrow \text{H}^* \text{CO}_3^- + \text{CH}_4$	-31.0

\* 指示乙酸中的甲基基团的归趋;  $\Delta G^0$  为 pH=7.0 时的吉布斯自由能.

### (2) 甲烷的厌氧氧化.

甲烷的厌氧氧化(anaerobic oxidation of methane, AOM)过程需要电子受体的参与, 对海洋的研究中发现了以  $\text{SO}_4^{2-}$ <sup>[35]</sup> 和  $\text{NO}_2^-$ <sup>[36-37]</sup>, 甚至  $\text{Mn}^{4+}$  (水钠锰矿) 和  $\text{Fe}^{3+}$  (水铁矿)<sup>[38]</sup> 为电子受体的甲烷厌氧氧化过程. Hu 等最近在湿地中发现了以  $\text{NO}_2^-$  为电子受体的甲烷厌氧氧化<sup>[39]</sup>. 这一厌氧的甲烷消耗过程对于海洋以及湿地温室气体排放的估算可能产生潜在的重要影响. 而在湖泛过程中, 以甲烷为电子供体的硫酸盐还原过程联结两类重要的反应, 即含碳有机质分解和硫酸盐还原. 一方面有机质厌氧分解产生的大量甲烷为硫酸盐还原提供电子, 另一方面还原产物  $\text{HS}^-$  为  $\text{FeS}$  等发黑物质的产生提供条件, 因此这一耦合过程可能成为整个湖泛微生物作用的核心. 如前所述, 针对 SRB 的研究已有报道, 而针对甲烷厌氧氧化古菌的研究开展较少. 特别是针对湖泛过程中参与甲烷厌氧氧化与  $\text{NO}_3^-$  (或者  $\text{NO}_2^-$ ) 还原耦合反应的微生物类群尚无报道.

Boetius 等<sup>[40]</sup> 借助以 16S rRNA 为靶序列的荧光探针技术, 首先在海洋沉积物中观察到甲烷氧化古菌和 SRB 所组成的互营聚集体. 它们是由古菌中的甲烷八叠球菌属(*Methanosarcinaceae*) 和属于  $\delta$ -*proteobacteria* 的脱硫叠球菌属-脱硫球菌属(*Desulfosarcina-Desulfococcus*) 组成的一种共生结构. 进一步研究发现, 以  $\text{NO}_2^-$  (或者  $\text{NO}_3^-$ ) 为电子受体的甲烷厌氧氧化更具有实际意义: 以甲烷作为反硝化的电子供体, 有助于沉积物中营养盐负荷的削减(表2中的反应(2)和(3)). 而且沉积物中的微生物在缺乏  $\text{SO}_4^{2-}$  的条件下, 能利用  $\text{Mn}^{4+}$  (水钠锰矿) 和  $\text{Fe}^{3+}$  (水铁矿) 来氧化甲烷, 其具体反应机理见表2中的公式(4)和(5)<sup>[38]</sup>. 综上, 甲烷的厌氧氧化与沉积物中的多种电子受体的还原反应相关, 可能是驱动沉积物中多种反应和化学平衡的关键过程. 随着对古菌研究的不断深入, 人们越来越意识到其在生物地球化学循环中可能发挥着更为重要的作用<sup>[33]</sup>. 相对于细菌的研究, 目前对湖泛过程中的古菌, 特别是与 C、N、S 等关键元素循环有关的古菌研究亟待进一步深入.

表2 利用不同电子受体进行甲烷氧化时所能提供的吉布斯自由能

Tab. 2 The theoretical energy in methane oxidation by using different electron acceptors

电子受体	反应式	$\Delta G^0 / (\text{kJ/mol})$
(1) $\text{SO}_4^{2-}$	$\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2 \text{O}$	-14
(2) $\text{NO}_3^-$	$5\text{CH}_4 + 8\text{NO}_3^- + 8\text{H}^+ \rightarrow 5\text{CO}_2 + 4\text{N}_2 + 14\text{H}_2 \text{O}$	-765
(3) $\text{NO}_2^-$	$3\text{CH}_4 + 8\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ \rightarrow 3\text{CO}_2 + 4\text{N}_2 + 10\text{H}_2 \text{O}$	-928
(4) $\text{Fe}^{3+}$	$\text{CH}_4 + 8\text{Fe}(\text{OH})_3 + 15\text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^- + 8\text{Fe}^{2+} + 21\text{H}_2 \text{O}$	-270.3
(5) $\text{Mn}^{4+}$	$\text{CH}_4 + 4\text{MnO}_2 + 7\text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^- + 4\text{Mn}^{2+} + 5\text{H}_2 \text{O}$	-556

## 2.2 黑水团微生物与硫循环

硫酸盐还原是控制河口海岸带沉积物中硫、碳和铁等元素生物地球化学循环的关键过程. 诸多研究证实, 在沉积物早期成岩过程中, 硫酸盐还原作用主要是通过 2 种途径来完成, 即有机质还原硫酸盐途径和厌氧条件下甲烷还原硫酸盐途径, 即甲烷厌氧氧化作用.

硫还原反应是最常见的氧化有机质的反应, 也是沉积物中硫矿化作用的主要方法. SRB 是硫酸盐还原的驱动者, 可以耦合氧化有机化合物或分子氢和硫酸盐还原, 将电子供给高价金属离子 ( $\text{Fe}^{3+}$ ),  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ , 铁还原细菌也可以将  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ . 高价硫被还原成多种含硫有机物和无机硫化物 ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ),  $\text{S}^{2-}$  会与  $\text{Fe}^{2+}$  发生化学反应生成  $\text{FeS}$ . 沉积物中 SRB 群落的多样性显然高于上覆水, 沉积物 SRB 和有机质的反应导致黑水团的形成. 不仅在沉积物中, 硫酸盐为电子受体的甲烷氧化反应同样也可以发生在一些缺氧水体中<sup>[41]</sup>. 硫酸盐还原菌类群多样的系统发育和生理生态特征使其可以利用不同类型的有机物质<sup>[42]</sup>. 由于有机质浓度随着深度的增加而逐渐降低, 可能导致表层沉积物 SRB 种群密度较高, 且随着深度的增加而降低.

如 2.1 节所述, 硫酸盐还原与甲烷厌氧氧化之间存在耦合关系. 因此, 硫酸盐的还原过程可能受到有机碳氧化和 AOM 双重作用的控制, 各部分的贡献率需要通过各种模型和方法推算. 研究人员推测, 有机质的活性可能成为调控 2 种过程的直接或者间接的因素. 当有机质为一些活性较大的物质时, 硫酸盐通过氧化有机质被消耗, 当有机质活性较低无法被硫酸盐还原菌直接利用时, 产甲烷菌却能够利用这些有机质, 生产甲烷后, 为 AOM 过程提供充足的甲烷来源<sup>[43]</sup>. 后者则强烈地体现了硫酸盐还原与甲烷厌氧氧化的耦联. 湖泛过程中, 藻体大量死亡, 降落到缺氧的沉积物表面, 黑水团中硫酸盐还原过程被大大加强, 可能成为沉积物有机质转化的主要途径. 与海洋相比, 湖泊黑水团中硫酸盐还原作用的发生还缺少地球化学方面的证据.

## 3 结论与展望

综上所述, 通过对湖泛过程中微生物结构和功能的研究, 取得的进展主要体现在: 首先, 通过各种原位监测和实验室模拟, 对湖泛发生过程起关键作用的微生物类群的认识不断完善, 如发现厚壁菌门的梭菌、硫酸盐还原菌、产甲烷古菌以及甲烷厌氧氧化古菌在藻源性有机质的分解和发黑物质产生过程中具有重要作用. 其次, 依据微生物的结构变化和相關功能基因的研究, 逐渐梳理出湖泛发生过程中一些关键的反应过程, 如厌氧水体和沉积物中存在活跃的产甲烷和甲烷氧化过程, 不仅如此, 甲烷作为电子供体可以参与多种物质的还原过程; 复杂或者简单有机质 (如甲烷) 触发的硫酸盐还原过程是水体发黑的主要机制. 湖泛作为一种极端的生态过程, 通过对其中微生物的研究, 也进一步证实简化的食物网结构和还原条件下的物质快速转化成为富营养化湖泊中生态系统的主要特征.

目前针对湖泛微生物的研究主要通过原位监测和实验室模拟的方法, 由于缺少分离纯培养的微生物, 因此无法开展针对性的生理生化特征研究. 通过微生物群落结构的研究, 对于强还原条件下水体和沉积物中的反应过程和阈值存在较多的推测, 尚缺少功能微生物类群与关键代谢过程的直接证据. 现代分子生物学方法和技术的不断发展、高通量微生物分离与纯培养技术的持续提升以及稳定同位素技术和高精度化学分析技术的突破等为研究自然状态下湖泊微生物的结构和环境生态功能提供了可能. Diaz 等在 *Science* 上撰文, 综述了海洋沿岸带低氧区严峻的发展形势和对生态系统的影响<sup>[2]</sup>. 同样, 富营养化湖泊面对持续的外源输入以及全球变化引起的升温, 湖泛发生的频率和强度都有可能超过以往的记录, 有关湖泛的预测预警和治理方案需要依赖更深层次和针对性更强的研究成果. 在现有基础上, 湖泛过程的微生物生态学研究需要注重: (1) 加强对湖泛过程中关键微生物功能群的分离培养; (2) 应用稳定同位素示踪辨析湖泛过程中关键微生物反应过程; (3) 通过基因组和后基因组学研究方法分析湖泛过程中微生物功能群; (4) 针对关键的微生物类群, 开发快速微生物检测方法, 对湖泛的预测预警提供微生物依据.

## 4 参考文献

- [1] Beman JM, Carolan MT. Deoxygenation alters bacterial diversity and community composition in the ocean's largest oxygen minimum zone. *Nature Communications*, 2013, 4: 2705.

- [ 2 ] Diaz RJ, Rosenberg R. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 2008, **321**(5891): 926-929.
- [ 3 ] Sinkko H, Lukkari K, Sihvonen LM *et al.* Bacteria contribute to sediment nutrient release and reflect progressed eutrophication-driven hypoxia in an organic-rich continental sea. *PLoS One*, 2013, **8**(6): e67061.
- [ 4 ] Abell GCJ, Banks J, Ross DJ *et al.* Effects of estuarine sediment hypoxia on nitrogen fluxes and ammonia oxidizer gene transcription. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, **75**(1): 111-122.
- [ 5 ] 万国江, 万恩源, 陈敬安等. 深水人工湖环境生物地球化学过程研究: 以贵州红枫湖-百花湖为例. *地球与环境*, 2010, **38**(3): 262-270.
- [ 6 ] Bouzat JL, Hoostal MJ, Looft T. Spatial patterns of bacterial community composition within Lake Erie sediments. *Journal of Great Lakes Research*, 2013, **39**(2): 344-351.
- [ 7 ] Bouffard D, Ackerman JD, Boegman L. Factors affecting the development and dynamics of hypoxia in a large shallow stratified lake: Hourly to seasonal patterns. *Water Resource Research*, 2013, **49**: 2380-2394.
- [ 8 ] Shen Q, Zhou Q, Shang J *et al.* Beyond hypoxia: occurrence and characteristics of black blooms due to the decomposition of the submerged plant *Potamogeton crispus* in a shallow lake. *Journal of Environmental Sciences*, 2014, **26**: 281-288.
- [ 9 ] 陆桂华, 马 倩. 太湖水域“湖泛”及其成因研究. *水科学进展*, 2009, **20**(3): 438-442.
- [ 10 ] 申秋实, 邵世光, 王兆德等. 风浪条件下太湖藻源性湖泛的消退及其水体恢复进程. *科学通报*, 2012, **57**(12): 1060-1066.
- [ 11 ] 王成林, 张 咏, 张宁红等. 太湖藻源性“湖泛”形成机制的气象因素分析. *环境科学*, 2011, **32**(2): 401-408.
- [ 12 ] 易梅森, 段洪涛, 张玉超等. 浮游植物降解过程中的水体光学吸收特性变化研究. *中国环境科学*, 2014, **34**(5): 1258-1267.
- [ 13 ] 申秋实, 周麒麟, 邵世光等. 太湖草源性“湖泛”水域沉积物营养盐释放估算. *湖泊科学*, 2014, **26**(2): 177-184.
- [ 14 ] 刘国锋, 申秋实, 张 雷等. 藻源性黑水团环境效应: 对水-沉积物界面氮磷变化的驱动作用. *中国环境科学*, 2010, **31**(12): 2917-2924.
- [ 15 ] Li H, Xing P, Wu QL. Characterization of the bacterial community composition in a hypoxic zone induced by *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, **79**(3): 773-784.
- [ 16 ] Bodamer BL, Bridgeman TB. Experimental dead zones: two designs for creating oxygen gradients in aquatic ecological studies. *Limnology and Oceanography-Methods*, 2014, **12**: 441-454.
- [ 17 ] Wurzbacher CM, Bärlocher F, Grossart HP. Fungi in lake ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 2010, **59**: 125-149.
- [ 18 ] 郑九文, 邢 鹏, 余多慰等. 不同水生植物残体分解过程中真菌群落结构. *生态学杂志*, 2013, **32**(2): 368-374.
- [ 19 ] Chen M, Chen F, Xing P *et al.* Microbial eukaryotic community in response to *Microcystis* spp. bloom, as assessed by an enclosure experiment in Lake Taihu, China. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, **74**(1): 19-31.
- [ 20 ] Li H, Xing P, Chen M *et al.* Short-term bacterial community composition dynamics in response to accumulation and breakdown of *Microcystis* blooms. *Water Research*, 2011, **45**: 1702-1710.
- [ 21 ] Xing P, Guo L, Tian W *et al.* Novel *Clostridium* populations involved in the anaerobic degradation of *Microcystis* blooms. *ISME Journal*, 2011, **5**: 792-800.
- [ 22 ] Feng Z, Fan C, Huang W *et al.* Microorganisms and typical organic matter responsible for lacustrine “black bloom”. *Science of the Total Environment*, 2014, **470/471**: 1-8.
- [ 23 ] Li H, Xing P, Wu QL. The high resilience of the bacterioplankton community in the face of a catastrophic disturbance by a heavy *Microcystis* bloom. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, **82**: 192-201.
- [ 24 ] Wang H, Lu J, Wang W *et al.* Methane fluxes from the littoral zone of hypereutrophic Taihu Lake, China. *Journal of Geophysical Research*, 2006, **111**: D17109.
- [ 25 ] Xing P, Li H, Liu Q *et al.* Composition of the archaeal community involved in methane production during the decomposition of *Microcystis* blooms in the laboratory. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, **58**(10): 1153-1158.
- [ 26 ] Fan X, Wu QL. Intra-habitat differences in the composition of the methanogenic archaeal community between the *Microcystis*-dominated and the macrophyte-dominated bays in Taihu Lake. *Geomicrobiology Journal*, 2014, **31**(10): 907-916.
- [ 29 ] Offre P, Spang A, Schleper C. Archaea in biogeochemical cycles. *Annual Review of Microbiology*, 2013, **67**(1): 437-457.
- [ 28 ] Paredes CJ, Alsaker KV, Papoutsakis ET. A comparative genomic view of clostridial sporulation and physiology. *Nature*

- Reviews Microbiology*, 2005, **3**(12): 969-978.
- [29] Liou JSC, Balkwill DL, Drake GR *et al.* *Clostridium carboxidivorans* sp. nov., a solvent-producing clostridium isolated from an agricultural settling lagoon, and reclassification of the acetogen *Clostridium scatologenes* strain SL1 as *Clostridium drakei* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, **55**(5): 2085-2091.
- [30] Nicolaou SA, Gaida SM, Papoutsakis ET. A comparative view of metabolite and substrate stress and tolerance in microbial bioprocessing: From biofuels and chemicals, to biocatalysis and bioremediation. *Metabolic Engineering*, 2010, **12**(4): 307-331.
- [31] Wu YF, Zheng H, Wu QL *et al.* *Clostridium algifaecis* sp. nov., a novel anaerobic bacterial species from decomposing algal scum. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, doi: 10.1099/ijs.0.064345-0.
- [32] Galperin MY. Genome diversity of spore-forming *Firmicutes*. *Microbiology Spectrum*, 2013, **1**(2): TBS-0015-2012.
- [33] Xing P, Zheng J, Li H *et al.* Methanogen genotypes involved in methane formation during anaerobic decomposition of *Microcystis* blooms at different temperatures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, **29**(2): 373-377.
- [34] Sieber JR, McNerney MJ, Gunsalus RP. Genomic insights into syntrophy: the paradigm for anaerobic metabolic cooperation. *Annual Review of Microbiology*, 2012, **66**: 429-452.
- [35] Orphan VJ, House CH, Hinrichs KU *et al.* Methane-consuming Archaea revealed by directly coupled isotopic and phylogenetic analysis. *Science*, **293**: 484-487.
- [36] Ettwig KF, Shima S, van de Pas-Schoonen KT *et al.* Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(11): 3164-3173.
- [37] Ettwig KF, Butler MK, Le Paslier D *et al.* Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*, 2010, **464**:543-548.
- [38] Beal EJ, House CH, Orphan VJ. Manganese- and iron-dependent marine methane oxidation. *Science*, 2009, **325**: 184-187.
- [39] Hu BL, Shen LD, Lian X *et al.* Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial methane sink in wetlands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, **111**(12): 4495-4500.
- [40] Boetius A, Ravenschlag K, Schubert CJ *et al.* A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. *Nature*, 2000, **407**(6804): 623-626.
- [41] Plugge CM, Zhang W, Scholten JC *et al.* Metabolic flexibility of sulfate-reducing bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2011, **2**: 81.
- [42] Leloup J, Fossing H, Kohls K *et al.* Sulfate-reducing bacteria in marine sediment (Aarhus Bay, Denmark): abundance and diversity related to geochemical zonation. *Environmental Microbiology*, 2009, **11**(5): 1278-1291.
- [43] Thauer RK. Anaerobic oxidation of methane with sulfate: on the reversibility of the reactions that are catalyzed by enzymes also involved in methanogenesis from CO<sub>2</sub>. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, **14**: 292-299.