

洪泽湖 3 种沉水植物附着细菌群落结构及多样性*

马杰¹, 范娟¹, 王国祥^{1**}, 韩睿明¹, 董彬^{1,2}, 冀峰¹, 彭云¹

(1: 南京师范大学地理科学学院; 江苏省环境演变与生态建设重点实验室; 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023)

(2: 临沂大学资源环境学院, 临沂 276000)

摘要: 沉水植物茎叶表面附着的藻、菌及其他物质, 不仅影响沉水植物自身生长, 而且影响水体物质循环过程, 附着藻类的研究已经有不少报道, 但附着细菌的报道相对较少。采用末端限制性片段长度多态性 (T-RFLP) 技术, 研究洪泽湖典型沉水植物——菹草 (*Potamogeton crispus*)、篦齿眼子菜 (*Potamogeton pectinatus*)、金鱼藻 (*Ceratophyllum demersum*) 在生长旺盛期叶表面附着细菌的群落结构及多样性特征, 并采用冗余分析法探讨环境因子对附着细菌丰度的影响。结果表明, (1) 3 种沉水植物附着细菌群落结构有明显的差异性。143 bp T-RF 在菹草和篦齿眼子菜中的相对丰度平均达到了 20% 和 11%, 而在金鱼藻中的相对丰度小于 1%; 89 bp T-RF 在金鱼藻中的相对丰度平均约为 13%, 而在菹草和篦齿眼子菜中相对丰度小于 5%。94 bp T-RF 在菹草样品中相对丰度超过 15%, 而在其他样品中未被检测出。(2) 从多样性角度分析, 3 种沉水植物附着细菌多样性大小依次为篦齿眼子菜>菹草>金鱼藻。(3) 部分限制性片段的丰度受环境因子的影响较大, 如 89、94、143 和 227 bp T-RFs。而如 167 bp T-RFs 在 3 种沉水植物中的相对丰度分布较为稳定, 受上述环境因子的限制较小。根据细菌比对结果, 洪泽湖附着细菌的优势菌群可能属于拟杆菌门 (Bacteroides)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria) 3 个门类。

关键词: 附着细菌; T-RFLP 技术; 沉水植物; 群落结构; 群落多样性; 洪泽湖

Diversity and community structure of epiphytic bacteria on different submerged macrophytes in Lake Hongze

MA Jie¹, FAN Zhou¹, WANG Guoxiang^{1**}, HAN Ruiming¹, DONG Bin^{1,2}, JI Feng¹ & PENG Yun¹

(1: College of Geographical Science, Nanjing Normal University; Jiangsu Key Laboratory of Environmental Change and Ecological Construction Nanjing; Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application, Nanjing 210023, P.R. China)

(2: College of Resource and Environment, Linyi University, Linyi 276000, P.R. China)

Abstract: Algae, epiphytic bacteria and other substances attached to the surface of submerged macrophytes affected not only the growth of submerged macrophytes but also the mass cycling in aquatic ecosystems. Previously, many reports were focus on the influence from algae, far few were related to epiphytic bacteria. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) method was used to investigate the epiphytic bacteria communities attached to three common submerged macrophytes (*Potamogeton pectinatus*, *Potamogeton crispus* and *Ceratophyllum demersum*) in Lake Hongze. The relationship between environmental factors and the abundance of epiphytic bacteria were analyzed by means of redundancy analysis (RDA). The results showed that: (1) Epiphytic bacteria varied greatly in community structure among the three macrophytes. The relative abundance of 143 bp T-RF in *P. crispus* and *P. pectinatus* reached 20% and 11% in average respectively, while less than 1% in *C. demersum*; the relative abundance of 89 bp T-RF in *C. demersum* has an average of 13% while less than 5% in *P. crispus* and *P. pectinatus*. The relative abundance of 94 bp T-RF in *P. crispus* was more than 15%, but it was even not detected in other two macrophytes. (2) The diversity of epiphytic bac-

* 国家自然科学基金项目 (41173078, 41403064)、国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2012ZX07101-008-02) 和江苏省科技厅高校自然科学研究面上项目 (14KJB610007) 联合资助。2015-02-15 收稿; 2015-10-26 收修改稿。
马杰 (1990~), 男, 硕士研究生; E-mail: jsycmj1990@126.com。

** 通信作者; E-mail: wangguoxiang@njnu.edu.cn。

teria were in the order *P. pectinatus* > *P. crispus* > *C. demersum*. (3) Results of RDA illustrated that some T-RFs, such as 89, 94, 143 and 227 bp T-RFs, were under the influence of the environmental factors. The relative abundance of 167 bp T-RFs in three kinds of submerged macrophytes was stably distributed, which indicated limited influence from the above environmental factors. In addition, the dominant epiphytic bacteria in Lake Hongze were *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Proteobacteria*.

Keywords: Epiphytic bacteria; T-RFLP; submerged macrophytes; community structure; diversity of community; Lake Hongze

附着细菌是指生长在植物表面并与植物形成复杂共生关系的一类细菌^[1]. 在湖泊生态系统中,附着细菌不仅数量众多,而且种类十分丰富. 附着细菌作为湖泊生态系统中重要组成部分,对有机物的降解以及营养物质循环过程都起着重要作用^[2-3]. 沉水植物附着细菌的数量通常可以达到 $10^5 \sim 10^7$ cells/cm²^[6]. 相比浮游细菌,附着细菌具有更高的初级生产力^[7]. 在附着细菌及其宿主沉水植物的共同作用下,湖泊水体的水质情况能够得到显著改善. 因此研究附着细菌对于解决湖泊生态系统的各种问题有重要意义^[8-9].

沉水植物附着细菌主要包括拟杆菌(*Bacteroidetes*)、放线菌(*Actinobacteria*)、变形菌(*Proteobacteria*)、蓝藻细菌(*Cyanobacteria*)和疣微菌(*Verrucomicrobia*)等门类^[1]. 优势菌群在附着细菌生物膜形成过程中发挥着重要作用,生境条件和植物本身都会对附着细菌的群落结构造成影响^[10]. 早期对附着藻类宿主专一性的研究较多,而对沉水植物附着细菌的研究相对比较匮乏^[11]. 何聘等^[12]对苦草(*Vallisneria spiralis*)和轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)附着细菌多样性进行研究,认为宿主植物对附着细菌有很大影响. Cai^[10]对太湖不同地点马来眼子菜附着细菌群落结构特征进行研究,发现不同取样点马来眼子菜附着细菌组成具有高度的相似性,并推断其也具有一定的宿主选择. Hempel 等^[6]对轮藻(*Chara aspera*)和狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum*)附着细菌的研究认为,植物体分泌出不同的多酚类物质对表面附着细菌有抑制作用,其中拟杆菌门的细菌丰度受这类物质含量的影响非常明显. 本研究采集洪泽湖3种典型沉水植物各自生长旺盛期的植株,利用 T-RFLP 技术对其叶表面附着细菌的群落多样性进行研究,目的是为了探讨不同植物附着细菌群落结构差异及环境因子对附着细菌群落结构的影响,为深入研究富营养化湖泊植物-微生物结构功能关系提供支撑.

1 研究区概况及研究方法

1.1 研究区概况

洪泽湖(33°6'~33°40'N, 118°10'~118°52'E)水域面积约 1597 km²,平均水深 1.9 m,是我国第4大淡水湖泊,湖区水生植物比较丰富,水质较好^[13-14]. 但受人类活动的影响,近年来部分湖区水生植被出现退化趋势^[15]. 选择洪泽湖西部溧河洼湖湾为研究区域,该湖区水生植物种类丰富、盖度较高,但受围网围垦等因素影响,水生植物分布及水质的空间差异较大. 本研究选取洪泽湖3种典型的沉水植物,菹草(*Potamogeton crispus*)、篳齿眼子菜(*Potamogeton pectinatus*)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*)作为研究对象.

1.2 样品采集及水质测定

于2014年4、5和7月分别采集菹草、篳齿眼子菜和金鱼藻各自生长旺盛期的植物样品^[16]. 为了使取样更具代表性,每种沉水植物在不超过5 m 范围内随机采集3个样品,编号分别为1、2、3. 小心剪取长势比较一致的沉水植物枝叶500 g左右,立即放入无菌的聚乙烯袋中,用冰袋保温带回实验室测定附着细菌. 使用 HACH HQ30D 便携式检测仪现场测定水体 pH 值、溶解氧(DO)浓度、水温(WT)等水质指标,并且按照规范采集水样^[17],运回实验室测定相关水质指标. 用 AutoAnalyzer 3 全自动水质连续流动分析仪(德国 SEAL 公司)测定水体总氮(TN)、总磷(TP)、氨氮(NH₃-N)浓度等. 叶绿素 a 浓度(Chl. a)用 90% 的丙酮溶液提取,然后由比色法进行测定.

1.3 附着细菌样品处理

在无菌室取出沉水植物样品,分别选取形态一致的茎叶组织鲜重 40 g,使用震荡-超声波法洗脱表面附着物^[1]. 洗脱液通过 1.2 μm 醋酸纤维混合膜将大颗粒物除去,滤液再通过 0.22 μm 醋酸纤维混合膜,滤膜保存在-20℃下.

1.4 样品总DNA提取

按照 E.Z.N.A. Water DNA 试剂盒步骤提取样品基因组总 DNA. 使用 NanoDrop 2000 超微量紫外分光光

表 1 3 种沉水植物样品周围水体的主要理化特征
Tab.1 Chemical and physical characteristics of water surrounding submerged macrophytes

沉水植物	TP/ (mg/L)	TN/ (mg/L)	NH ₃ -N/ (mg/L)	Chl.a/ (mg/m ³)	DO/ (mg/L)	WT/ ℃	pH 值	水深/ cm
菹草群丛	0.08	1.09	0.07	20.98	10.68	17.90	8.88	105.67
篳齿眼子菜群丛	0.05	1.05	0.08	16.18	15.87	22.07	9.35	93.33
金鱼藻群丛	0.16	2.19	0.12	44.48	8.05	25.70	8.58	55.67

度计检测 DNA 浓度和纯度. DNA 样本于-20℃冻存.

1.5 T-RFLP 分析

使用通用引物对 27F/1492R 扩增 16S rDNA 部分片段^[18-20]. 其中上游引物 27F 的 5'末端使用 FAM 荧光标记. PCR 扩增体系:模板 DNA 2 μl,上下游引物各 1 μl,2×EasyTaq® PCR Super Mix 25 μl(TransGenic Biotech),ddH₂O 补足 50 μl. PCR 扩增条件为:94℃ 5 min;94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 1 min,35 个循环;72℃ 10 min. PCR 产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳检测后用 DNA 纯化试剂盒纯化.

用限制性内切酶 *Msp* I 对上述 PCR 产物进行酶切,反应体系为 *Msp* I 0.5 μl,10×RE buffer 2 μl,BSA 0.2 μl,PCR 产物 20 μl,用 ddH₂O 将反应体系补足到 40 μl. 混匀后在 37℃酶切 4 h,80℃作用 20 min 后停止反应,酶切产物交由上海生物工程有限公司进行限制性片段的基因扫描,由 Peak Scanner Software v1.0 软件分析处理获得附着细菌的 T-RFLP 图谱.

1.6 数据处理

T-RFLP 图谱采用 Genemarker V2.4 软件进行处理. 单个 T-RF (Terminal Restriction Fragment) 的相对峰面积(P_i)可通过公式 $P_i = n_i / N \times 100\%$ 进行计算,其中, n_i 为单个 T-RF 的实际峰面积, N 为图谱中所有峰的面积之和. 本实验中 P_i 值仅采用片段长度在 50~650 bp 区间的 T-RF 数值进行统计计算作为各 T-RF 的相对丰度,相对丰度小于 1%的 T-RF 不予考虑. 计算 Shannon-Wiener 多样性指数和 Simpson 多样性指数. 通过 Phylogenetic Assignment Tool 数据库(<https://secure.limnology.wisc.edu/trflp/>)对主要 T-RFs 所代表的物种进行推测.

根据不同样品中 T-RF 的丰度大小,将物种数据进行标准化处理后,通过 Canoco4.5 软件进行主成分分析(PCA). 为了研究群落结构与环境因子的关系,首先对物种数据进行去趋势对应分析(DCA),结果表明第一排序轴长度为 1.603(小于 2),因此选用基于线性模型的冗余分析(RDA). 采用手动选择,找出对群落结构变化有显著影响($P < 0.05$)的环境因子,利用 Monte Carlo permutation test 检验 RDA 排序轴特征值的显著性. 利用 PRIMER 软件对 3 种沉水植物的片段信息做一元 ANOSIM 统计分析,检测它们之间的相似性.

2 结果与讨论

2.1 3 种沉水植物附着细菌群落结构分析

不同沉水植物附着细菌群落结构之间有一定差异(图 1),结果表明,长度为 91 bp 的 T-RF 在全部样品中都被检测出,并且在其中 7 个样品中相对丰度超过了 20%,尤其在金鱼藻样品中,该片段的平均相对丰度达到 27%. 长度为 167 bp 的 T-RF 也广泛存在于所有样品中,且在各样品中相对丰度均大于 10%,并在 1 个金鱼藻样品中相对丰度达到 30%. 长度为 143 bp 的 T-RF 在篳齿眼子菜和菹草样品中平均相对丰度分别达到 11%和 20%,而在金鱼藻样品中相对丰度却小于 1%;89 bp 的 T-RF 在金鱼藻样品中相对丰度平均约为 13%,而在菹草和篳齿眼子菜样品中相对丰度低于 5%;94 bp 的 T-RF 在菹草样品中相对丰度超过 15%,而在其他样品中未被检测出;91 bp 和 167 bp 所代表的细菌在 3 种沉水植物附着细菌中所占比例较高且含量相对稳定. 基于样品 T-RFLP 数据进行主成分分析(图 2),图中点的距离越近代表样品相似性程度越高,结果表明所有样品大致可以分为 2 个独立的群,金鱼藻可以单独聚为一类,而篳齿眼子菜和菹草可以聚为一类,说明菹草和篳齿眼子菜的附着细菌群落组成具有一定的相似性. 为进一步了解不同沉水植物附着细菌群落结构的相似性情况,利用 PRIMER 软件对 3 种植物做一元 ANOSIM 统计分析, R 值越接近 1,表明样本

之间的差异越大,越倾向于分类到不同的组群内. 结果显示篦齿眼子菜和金鱼藻群落组间差异最大($R=0.815,P=0.1$),其次是菹草和金鱼藻群落($R=0.407,P=0.1$),菹草和篦齿眼子菜群落结构差异最小($R=0.185,P=0.3$).

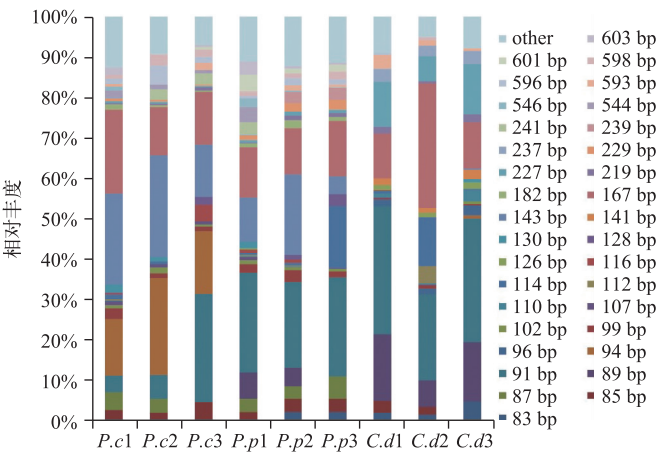


图 1 洪泽湖不同沉水植物附着细菌群落结构(*P.c*、*P.p* 和 *C.d* 分别代表菹草、篦齿眼子菜和金鱼藻样品)
Fig.1 Community structure of epiphytic bacteria on different submerged macrophytes in Lake Hongze(*P.c*, *P.p*, *C.d* represent *Potamogeton crispus*, *Potamogeton pectinatus* and *Ceratophyllum demersum* samples, respectively)

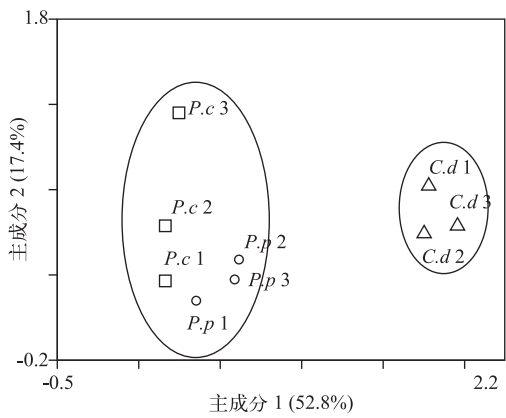


图 2 基于 T-RFLP 的主成分分析(*P.c*、*P.p*、*C.d* 分别代表菹草、篦齿眼子菜和金鱼藻样品)
Fig.2 PCA for T-RFs of three submerged macrophytes. Ellipses show similar groups(*P.c*, *P.p*, *C.d* represent *Potamogeton crispus*, *Potamogeton pectinatus* and *Ceratophyllum demersum* samples, respectively)

通过细菌数据库进行比对,对一些优势 T-RFs 代表的物种进行推测. 分别为 Firmicutes (89 bp)、Bacteroidetes (91 bp)、 γ -Proteobacteria/Actinobacteria (143 bp)、Actinobacteria/ α -Proteobacteria (167 bp) 等门类. Bacteroidetes 在淡水湖泊生态系统中起着非常重要的作用,可以协助部分有机大分子物质分解^[21]. Vander 等^[22]的研究表明,在以浮游藻类为主要初级生产者的浊水态湖泊中以 Cyanobacteria 为主,而在以高等水生植物为初级生产者的清水态湖泊中则以 Bacteroidetes 居多,这与洪泽湖实际情况相符. 而 Proteobacteria 广泛分布于全球不同类型的湖泊中,数量极为丰富,这类细菌往往有显著的固氮作用.

对 3 种沉水植物附着细菌群落结构差异的原因进行探究. 首先,菹草和篦齿眼子菜均属于眼子菜科,而金鱼藻属于金鱼藻科. 3 种沉水植物的叶片形态差异极大,篦齿眼子菜的叶片为线形;菹草的叶片为线状披

针形,边缘呈浅波状,有细小锯齿;金鱼藻叶片为轮生,边缘有散生的刺状细齿^[16].不同的叶形为细菌提供了不同的附着基质.水体中的浮游细菌经过一段时间选择与适应,最终在植物体表形成了稳定的菌落^[23].其次,在其生长过程中,植物内生细菌也有可能通过组织缝隙、表面裂口等物理通道或随植物的代谢产物一并迁移到植物叶表,并且最终各自形成独特的细菌群落结构^[1].此外,附着细菌的生长繁殖与周围水体环境密切相关,营养盐负荷和特殊的生境条件等都会影响附着细菌的种类和丰度.菹草群丛和篳齿眼子菜群丛的营养盐比较接近(表1),很可能是引起2种植物附着细菌群落结构更为接近的主要原因.

表2 3种沉水植物附着细菌多样性指数
Tab.2 Diversity index of epiphytic bacteria on three submerged macrophytes

附着细菌	Shannon-Wiener 指数	Simpson 指数	Pilou 指数
<i>P. crispus</i> 1	2.539	0.837	0.6760
<i>P. crispus</i> 2	2.507	0.854	0.6629
<i>P. crispus</i> 3	2.526	0.863	0.6669
<i>P. pectinatus</i> 1	2.878	0.895	0.6929
<i>P. pectinatus</i> 2	2.876	0.892	0.7142
<i>P. pectinatus</i> 3	2.750	0.885	0.7365
<i>C. demersum</i> 1	2.329	0.833	0.6722
<i>C. demersum</i> 2	2.283	0.831	0.6563
<i>C. demersum</i> 3	2.378	0.846	0.6792

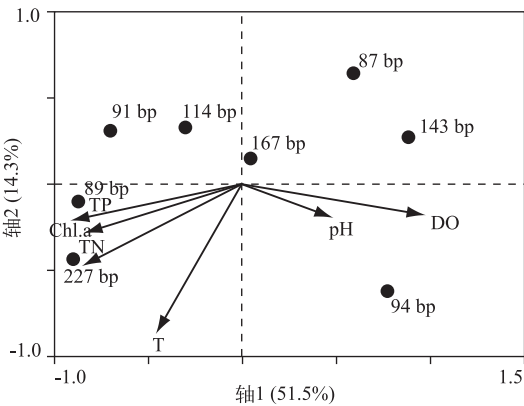


图3 样品 T-RFs 与环境因子的 RDA 分析
Fig.3 RDA showing different T-RFs in relation to the main environmental factors

很多研究表明环境因子对附着细菌群落结构有一定的影响^[26].RDA 分析结果表明部分附着细菌受到环境因子影响比较小,如 167 bp T-RFs,它们稳定存在并成为优势菌群.另外一些菌群,如 89、91、94、143 和 227 bp T-RFs,这类细菌根据环境变化而被检测出.而通过它们丰度变化可以了解一些湖泊生态系统健康状况,如 γ -Proteobacteria 数量增加代表水质变好,而 Bacteroidetes 的数量往往与藻类释放的有机物质降解过程密切联系^[4].

3 结论

1) 3 种沉水植物附着细菌群落结构具有一定差异,主要表现在其片段种类及相对丰度不同.菹草样品

2.2 3 种沉水植物附着细菌多样性分析

菹草、篳齿眼子菜和金鱼藻附着细菌的 T-RFs 平均数目分别约为 44、49 和 35 个.3 种沉水植物附着细菌多样性指数变化与 T-RFs 数量变化基本一致.篳齿眼子菜附着细菌拥有较高的物种多样性,其次是菹草,金鱼藻附着细菌的多样性指数最低. Shannon-Wiener 指数和 Simpson 指数的趋势呈现一致性,均匀度指数则基本保持不变(表 2).

国外报道过沉水植物与附着细菌发生相互作用时会分泌出一些有机化合物,主要是植物次生代谢物(如酚类),能够对其他光养生物或微生物产生影响^[24].肖溪等^[25]也对几种沉水植物的化感作用进行类似的研究,对于化感活性强的植物,大量胞外分泌物可能有针对性地抑制一种或者几种细菌的生长,使得部分细菌的种类和数量减少.3 种沉水植物中,金鱼藻有较强的化感活性,篳齿眼子菜和菹草具有较弱的化感活性^[25],这可能是导致金鱼藻附着细菌多样性低于另外 2 种沉水植物的原因.

2.3 沉水植物附着细菌群落结构与环境因子相关性分析

采样点总体水质情况较好(表 1),植物对水体营养盐的净化作用非常明显.菹草群丛和篳齿眼子菜群丛周围水体水化指标相差不大,均低于金鱼藻群丛.选取相对丰度超过 5% 的优势 T-RFs 进行 RDA 分析.89、227 和 91 bp T-RFs 的丰度与 TP、TN 和叶绿素 a 浓度等呈正相关,与溶解氧浓度呈负相关;87、94 和 143 bp T-RF 的丰度与溶解氧浓度呈正相关,而与 TN、TP 和叶绿素 a 浓度呈负相关;而 167 和 114 bp T-RFs 所代表细菌的丰度与以上 4 个环境因子之间的相关性比较小.此外 87 bp T-RF 与水温呈负相关(图 3).

和篦齿眼子菜样品的水化指标比较接近,但仍然存在部分 T-RFs 的相对丰度有较大差异,因此可以推测沉水植物自身在一定程度上对附着细菌的种类和丰度产生了影响,使其表现出一定的宿主选择性。

2)部分限制性片段的丰度变化较大,如 89、94、143 和 227 bp T-RFs,这些差异在一定程度上反映了不同样品的环境差异性。然而究竟是宿主植物还是水体营养盐等对它们的影响更大,仍然需要做深入研究。而如 167 bp T-RFs 在 3 种沉水植物中的相对丰度较为稳定,受上述环境因子的限制较小。这部分菌群普遍存在于不同植物叶表,它们能够适应生存环境并且成为优势种,很有可能对附着细菌的群落结构和功能有着重要的作用。

基于 16S rRNA 的分子生物学方法可弥补传统分离培养方法的不足,从而更全面地了解环境中微生物的群落结构。但由于 T-RFLP 技术定性分析具有不确定性,任意一种 T-RF 可能会代表一种或者多种细菌,因此需通过构建克隆文库或高通量测序来获得更多细菌物种的信息^[23,27],从而进一步解释附着微生物对于外界环境变动的响应机制。此外,附着细菌和宿主沉水植物之间的潜在关系,附着细菌是否对宿主沉水植物的衰亡过程起到作用也需要进一步调查研究^[12]。

4 参考文献

- [1] He Dan, Ren Lijuan, Xing Peng *et al.* Research progress of diversity and community structure of epiphytic bacteria on submerged macrophytes. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2014, **26**(2): 161-168 (in Chinese with English abstract). DOI 10.13376/j.cbbs/2014025. [何聃, 任丽娟, 邢鹏等. 沉水植物附着细菌群落结构及其多样性研究进展. 生命科学, 2014, **26**(2): 161-168.]
- [2] Bohn TJ, Lettenmaier DP, Sathulur K *et al.* Methane emissions from western Siberian wetlands: heterogeneity and sensitivity to climate change. *Environmental Research Letters*, 2007, **2**(4): DOI 10.1088/1748-9326/2/4/045015.
- [3] Zhao DY, Liu P, Fang C *et al.* Submerged macrophytes modify bacterial community composition in sediments in a large, shallow, freshwater lake. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, **59**(4): 237-244.
- [4] Li Linlin, Tang Xiangming, Gao Guang *et al.* Influence of submerged vegetation restoration on bacterial diversity and community composition in West Lake. *J Lake Sci*, 2013, **25**(2): 188-198 (in Chinese with English abstract). DOI 10.18307/2013.0203. [李琳琳, 汤祥明, 高光等. 沉水植物生态修复对西湖细菌多样性及群落结构的影响. 湖泊科学, 2013, **25**(2): 188-198.]
- [5] Wu Qinglong, Xing Peng, Li Huabing *et al.* Impacts of regime shift between phytoplankton and macrophyte on the microbial community structure and its carbon cycling in lakes. *Microbiology China*, 2013, **40**(1): 87-97 (in Chinese with English abstract). [吴庆龙, 邢鹏, 李化炳等. 草藻型稳态转换对湖泊微生物结构及其碳循环功能的影响. 微生物学通报, 2013, **40**(01): 87-97.]
- [6] Hempel M, Blume M, Blindow I *et al.* Epiphytic bacterial community composition on two common submerged macrophytes in brackish water and freshwater. *BMC Microbiology*, 2008, **8**: 58.
- [7] Theil-Nielsen J, Sondergaard M. Production of epiphytic bacteria and bacterioplankton in three shallow lakes. *Oikos*, 1999, **86**(2): 283-292.
- [8] Cai H, Jiang H, Krumholz LR *et al.* Bacterial community composition of size-fractionated aggregates within the phycosphere of cyanobacterial blooms in a eutrophic freshwater lake. *Plos ONE*, 2014, **9**(8): 1-10.
- [9] Gordon-Bradley N, Lymperopoulou DS, Williams HN. Differences in bacterial community structure on *Hydrilla verticillata* and *Vallisneria spiralis* in a freshwater spring. *Microbes and Environments*, 2014, **29**(1): 67-73.
- [10] Cai X, Gao G, Tang X *et al.* The response of epiphytic microbes to habitat and growth status of *Potamogeton malaianus* Miq. in Lake Taihu. *Journal of Basic Microbiology*, 2013, **53**(10): 828-837.
- [11] Kahlert M, Pettersson K. The impact of substrate and lake trophy on the biomass and nutrient status of benthic algae. *Hydrobiologia*, 2002, **489**(1/2/3): 161-169.
- [12] He D, Ren LJ, Wu QL. Epiphytic bacterial communities on two common submerged macrophytes in Taihu Lake: diversity and host-specificity. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2012, **30**(2): 237-247.
- [13] Gao Fangshu, Qian Yi, Wang Guoxiang *et al.* Characteristics and problems of the ecosystem in the Lake Hongze. *Environmental Science & Technology*, 2010, **33**(5): 1-5 (in Chinese with English abstract). [高方述, 钱谊, 王国祥. 洪泽湖湿地生态系统特征及存在问题. 环境科学与技术, 2010, **33**(5): 1-5.]

- [14] Yu Hui, Zhang Wenbin, Lu Shaoyong *et al.* Spatial distribution characteristics of surface sediments nutrients in Lake Hongze and their pollution status evaluation. *Environmental Science*, 2010, **31**(4): 961-968 (in Chinese with English abstract). [余辉, 张文斌, 卢少勇等. 洪泽湖表层底质营养盐的形态分布特征与评价. 环境科学, 2010, **31**(4): 961-968.]
- [15] Ren Y, Pei H, Hu W *et al.* Spatiotemporal distribution pattern of cyanobacteria community and its relationship with the environmental factors in Lake Hongze, China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014, **186**(10): 6919-6933.
- [16] Boyce Thompson Institute in Jiangsu Province ed. Jiangsu Flora. Nanjing: Jiangsu Science Press, 1975: 126-162 (in Chinese). [江苏省植物研究所. 江苏植物志. 南京: 江苏科学出版社, 1975: 126-162.]
- [17] Jin Xiangcan, Tu Qingying eds. Investigation handbook of lake eutrophication (2nd ed.). Nanjing: China Environmental Science Press, 1990: 138-208 (in Chinese). [金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范(第二版). 南京: 中国环境科学出版社, 1990: 138-208.]
- [18] Sipila TP, Keskinen AK, Akerman ML *et al.* High aromatic ring-cleavage diversity in birch rhizosphere: PAH treatment-specific changes of IE3 group extradiol dioxygenases and 16S rRNA bacterial communities in soil. *Isme Journal*, 2008, **2**(9): 968-981.
- [19] Swan BK, Ehrhardt CJ, Reifel KM *et al.* Archaeal and bacterial communities respond differently to environmental gradients in anoxic sediments of a California Hypersaline Lake, the Salton Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(3): 757-768.
- [20] Wells GF, Park HD, Eggleston B *et al.* Fine-scale bacterial community dynamics and the taxa-time relationship within a full-scale activated sludge bioreactor. *Water Research*, 2011, **45**(17): 5476-5488.
- [21] Kirchman DL. The ecology of Cytophaga-Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **39**(2): 91-100.
- [22] Vander GK, Vande Kerckhove T, Vloemans N *et al.* Characterization of bacterial communities in four freshwater lakes differing in nutrient load and food web structure. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **53**(2): 205-220.
- [23] Ren Lijuan, He Dan, Xing Peng *et al.* Bacterial diversity and ecological function in lake water bodies. *Biodiversity Science*, 2013, **21**(4): 421-432 (in Chinese with English abstract). [任丽娟, 何聃, 邢鹏等. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展. 生物多样性, 2013, **21**(4): 421-432.]
- [24] Bian Guiguo, Zhao Weidong, Da Lai. The research and application of the allelopathic effects of submerged plants inhibit the growth of algae. *Northern Environment*, 2012, **24**(1): 59-64 (in Chinese with English abstract). [边归国, 赵卫东, 达来. 沉水植物化感作用抑制藻类生长的研究与应用. 北方环境, 2012, **24**(1): 59-64.]
- [25] Xiao Xi, Lou Liping, Li Hua *et al.* Algal control ability of allelopathically active submerged macrophytes: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, **20**(3): 705-712 (in Chinese with English abstract). [肖溪, 楼莉萍, 李华等. 沉水植物化感作用控藻能力评述. 应用生态学报, 2009, **20**(3): 705-712.]
- [26] Ji Haiting, Xie Dong, Zhou Hengjie *et al.* Advances in ecological research on epiphytic community of submerged macrophytes. *J Lake Sci*, 2013, **25**(2): 163-170 (in Chinese with English abstract). DOI 10.18307/2013.0201. [纪海婷, 谢冬, 周恒杰等. 沉水植物附植生物群落生态学研究进展. 湖泊科学, 2013, **25**(2): 163-170.]
- [27] Song Hongning, Du Binghai, Zhang Mingyan *et al.* Effect of environmental factors on bacterial community in Lake Dong-ping sediment. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, **50**(8): 1065-1071 (in Chinese with English abstract). [宋洪宁, 杜秉海, 张明岩等. 环境因素对东平湖沉积物细菌群落结构的影响. 微生物学报, 2010, **50**(8): 1065-1071.]