

## 用 FISH 技术检测太湖梅梁湾水体中细菌优势种群在冬夏两季的变化\*

沈 燕<sup>1,3</sup>, 高 光<sup>1\*\*</sup>, 汤祥明<sup>1,2</sup>, 晁建颖<sup>1,2</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: 中国科学院研究生院, 北京 100049)

(3: 南京农业大学, 南京 210095)

**摘 要:** 采用 FISH 技术对 2008 年冬、夏两季太湖梅梁湾水体中细菌优势种群的丰度进行了对比分析. 实验中, 选取荧光素标记的特异寡核苷酸探针, 与太湖梅梁湾水体中的四类细菌优势种群  $\alpha$ -变形菌 ( *$\alpha$ -proteobacteria*),  $\beta$ -变形菌 ( *$\beta$ -proteobacteria*),  $\gamma$ -变形菌 ( *$\gamma$ -proteobacteria*) 和拟杆菌 (*Bacteroidetes*) 进行原位杂交. 结果表明: ①所测定的四类细菌优势种群占总细菌的比例在冬季均显著高于夏季 ( $P < 0.01$ ); ②水体中  *$\alpha$ -proteobacteria* 的丰度随 TP 浓度的增加而显著增加 ( $R^2 = 0.860, P < 0.01$ ); ③随着 Chl. a 浓度的增加, 水体中细菌的丰度呈上升的趋势, 尤其是其中的  *$\gamma$ -proteobacteria*, 其增大趋势更加显著 ( $R^2 = 0.857, P < 0.01$ ); ④细菌种群的丰度受水体中  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度的影响, 尤其是对 *Bacteroidetes* 的影响更加显著 ( $R^2 = 0.733, P < 0.05$ ).

**关键词:** 太湖; 荧光原位杂交; 优势细菌; 丰度

## Variation of bacterial dominated population abundance in Meiliang Bay, Lake Taihu, detected by FISH during summer and winter

SHEN Yan<sup>1,3</sup>, GAO Guang<sup>1</sup>, TANG Xiangming<sup>1,2</sup> & CAO Jianying<sup>1,2</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: *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China*)

(3: *Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, P. R. China*)

**Abstract:** FISH was used to analyze the abundance of dominated bacteria population in Meiliang Bay of Lake Taihu in winter and summer in 2008. The four dominated bacteria population ( *$\alpha$ -proteobacteria*,  *$\beta$ -proteobacteria*,  *$\gamma$ -proteobacteria*, *Bacteroidetes*) were analyzed by *in situ* hybridization with specific fluorescently (FITC) labeled rRNA-targeted oligonucleotide probes in the test. The results indicated: ① The proportion of each of the four dominated species in the total number of bacteria was all significantly higher in winter than that in summer ( $P < 0.01$ ); ② the abundance of  *$\alpha$ -proteobacteria* rose notably with the increase of TP concentration ( $R^2 = 0.860, P < 0.01$ ); ③ there was ascending trend in the abundance of bacteria along with the increase of Chl. a concentration, especially that of  *$\gamma$ -proteobacteria* was more remarkable than the others ( $R^2 = 0.857, P < 0.01$ ); ④ the abundance of bacteria population, especially for *Bacteroidetes*, was also influenced by  $\text{PO}_4^{3-}$  concentration ( $R^2 = 0.733, P < 0.05$ ).

**Keywords:** Lake Taihu; FISH; dominated bacterial; abundance

作为水生生态系统生物群落的一个重要组成部分, 水体中种类繁多、数量巨大、功能各异的浮游细菌, 不仅作为有机物质的分解者, 在湖泊的物质循环和能量流动过程中起着极其重要的作用, 而且它们通过与水

\* 中国科学院知识创新工程重要方向性项目 (KZCX2-YW-419)、国家重点基础研究发展计划项目 (2008CB418103) 和国家自然科学基金项目 (40730529) 联合资助. 2009-05-07 收稿; 2009-05-21 收修改稿. 沈燕, 女, 1983 年生, 硕士研究生; E-mail: binlun2001.cn@163.com.

\*\* 通讯作者; E-mail: guanggao@niglas.ac.cn.

体中藻类之间密切的代谢耦联,影响着藻类水华的生消过程<sup>[1-2]</sup>,因此,了解水体中异养细菌种群组成、多样性及功能将有助于人们对湖泊生态系统的特性,尤其是对湖泊的微食物网(Microbial food web)结构、功能的深入了解<sup>[3]</sup>.

传统上,对于水体中的浮游细菌种群组成及功能的测定,主要依赖于非原位的纯培养技术,即采用适当培养基,分离、培养样品中的细菌,并通过形态观察和生理生化反应来确定细菌的种类.事实上,由于对微生物生长的环境条件缺乏深入的了解,加之培养基质的适应性问题,使得天然水体中绝大多数的微生物难以在实验室条件下进行培养.一些研究显示:在天然水环境中仅有不到总量1%的细菌可被分离培养<sup>[4-5]</sup>.因而,这种传统的分离培养方法,其所获得的结果很难反映天然水体中微生物种群的组成及群落的动态变化.近年来,伴随着分子生物学技术的飞速发展,一些不依赖于培养的分子生物学方法,例如PCR-DGGE、T-RFLP、RAPD、磷脂脂肪酸(PLFA)、荧光原位杂交(FISH)等已被大量应用于分析、鉴定天然水环境样品中细菌的种属、细菌群落结构<sup>[6-8]</sup>.新方法的应用,使得在种的水平上研究浮游细菌和浮游藻类群落动态之间的相互关系成为可能.尤其是其中的FISH方法,由于仅需用适当的介质固定样品,通过将荧光标记的寡核苷酸探针与其杂交后,在荧光显微镜下直接观察和计数,即可获得能反映天然环境下微生物特征的结果.该技术实验周期短、灵敏度高、无需对微生物进行分离即可实现对复杂环境样品中微生物群落结构的分析和定量评估,目前已被广泛应用于水体和沉积物中微生物的丰度、空间分布、动态多样性和功能特征的研究<sup>[9]</sup>.

本研究选择大型浅水富营养化的太湖为研究对象,利用荧光原位杂交的方法分析评估水体中有水华的夏季和没有水华的冬季期间,水体中优势细菌种群组成的差异,探讨了水体中营养盐水平、Chl. a浓度等环境因素对细菌种群的影响,为大型浅水富营养化湖泊水体中细菌与藻类水华之间关系研究提供一些新的视角及基础数据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品的采集

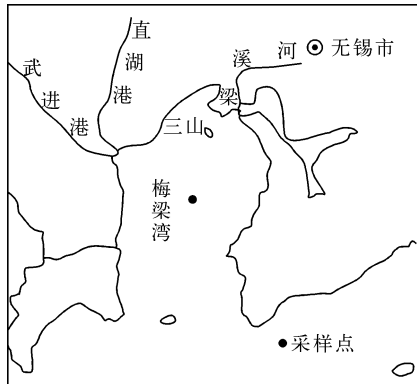


图1 太湖采样点位置图

Fig. 1 The sampling site of Lake Taihu

太湖位于 $30^{\circ}56' - 31^{\circ}34' N$ ,  $119^{\circ}54' - 120^{\circ}36' E$ , 面积 $2338\text{km}^2$ ,最大水深 $3.3\text{m}$ ,平均水深 $2.1\text{m}$ ,是一典型的浅水湖泊<sup>[10]</sup>.梅梁湾系太湖北部的大湖湾,地处无锡市郊,面积约 $120\text{km}^2$ ,平均水深 $1.5\text{m}$ ,是无锡市的主要旅游区及水源地.由于受入湖河道及沿岸污染源的影响,目前梅梁湾内水质较差,夏、秋季节整个湾内滋生大量的蓝藻水华,是一个典型的富营养化湖区.

本实验的采样点选择位于太湖梅梁湾湖区中心,位置如图1所示.2008年在没有水华的冬季(1-3月)和水华盛行的夏季(6-8月),每月中旬采集1次水样.采样时,用采水器直接采取水面下约 $0.5\text{m}$ 处的水样,注入事先灭菌的玻璃瓶中,样品采集完毕后,立即送入实验室进行预处理及分析.

### 1.2 样品的分析

1.2.1 水样中总氮、总磷等理化指标的测定 水样中悬浮颗粒物含量、总氮、总磷、溶解性总磷、溶解性总氮、磷酸根、叶绿素浓度等水质参数在实验室内测定<sup>[11]</sup>.

1.2.2 荧光原位杂交 ①样品的预处理:取一定体积水样,经振荡稀释至合适的浓度后,抽滤到孔径为 $0.22\mu\text{m}$ 的黑背景聚碳酸酯膜(Poretics<sup>TM</sup>, USA)上.将其置于4%多聚甲醛的PBS缓冲液中,固定30min后取出,室温下自然干燥后,  $-20^{\circ}\text{C}$ 保存直至开始进行杂交<sup>[8,12]</sup>. ②寡核苷酸探针的选择:根据预实验的结果以及太湖水体中的优势细菌种群,本实验中选用6种用FITC标记的寡核苷酸探针,作为杂交探针.6种寡核苷酸探针分别为: Eub-338:  $5' - \text{GCTGCCTCCCTAGGAGT} - 3'$ ; Non338:  $5' - \text{ACTCTACGGGAGGCAGC} - 3'$ ;

ALF968: 5'-GGTAAGGTTCTGCGCGTT-3'; BET42a: 5'-GCCTTCCCCTTCGTTT-3'; GAM42a: 5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3'; CF319a: 5'-TGCTCCGTGTCTCAGTAC-3'. Eub-338 为细菌通用引物, Non338 为阴性对照, 其余 4 种探针分别检测  $\alpha$ -proteobacteria,  $\beta$ -proteobacteria,  $\gamma$ -proteobacteria 和 Bacteroidetes. ③杂交过程<sup>[9,12]</sup>: 将上述步骤①中已固定好的聚碳酸酯滤膜, 按对角的方式剪成小块(0.5 - 1cm<sup>2</sup>). 随机选取 1 块滤膜, 放在载玻片上, 然后在滤膜上滴加 14 $\mu$ l 杂交缓冲液(0.9M NaCl, 20mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.01% SDS, 35% 甲酰胺)和 2 $\mu$ l 探针(50ng/ $\mu$ l), 放入杂交炉中, 46 $^{\circ}$ C, 反应 3h. 将滤膜取出, 浸入预热的杂交洗脱液(20mM Tris-HCl (pH 7.4), 5mM EDTA, 0.01% SDS, 80mM NaCl), 48 $^{\circ}$ C 反应 15min. 最后用无菌水冲洗干净, 室温下自然晾干后, 保存在 4 $^{\circ}$ C 的冰箱中直至用显微镜观测. ④样品的测定: 在上述已制备好的样本上, 滴加 1 滴无荧光接物镜油(Cargille A, USA), 用荧光显微镜(Zeiss, 100W HBO)直接计数. 每个样品随机选取至少 20 个视野, 计数 400 个以上细菌.

1.2.3 样品中细菌总数的测定 随机选取上述步骤③中已剪裁好的一小块滤膜, 放置在载玻片上, 滴加少量 DAPI, 染色 10min<sup>[13-14]</sup>. 室温下自然晾干后, 在样本上, 滴加 1 滴无荧光接物镜油(Cargille A, USA), 用荧光显微镜(Zeiss, 100W HBO)直接计数. 每个样品随机选取至少 20 个视野, 计数 400 个以上细菌.

1.2.4 样品中细菌数量的计算 样品中细菌总数、寡核苷酸探针标记细菌数量, 按下述公式计算<sup>[15]</sup>:

$$\text{细菌数量 (cells/ml)} = NS_1/S_2V$$

其中:  $N$  为计数视野中细菌的平均数;  $S_1$  为滤膜的有效过滤面积( $\mu\text{m}^2$ );  $S_2$  为显微镜中计数视野的面积( $\mu\text{m}^2$ );  $V$  为实际过滤水样的体积(ml).

### 1.3 实验数据的统计分析

本实验中数据的统计、分析采用 SPSS 统计软件包(SPSS 公司, 版本 15.0)进行.

## 2 结果与讨论

### 2.1 实验期间水体中理化特性的差异

在水华盛行的夏季以及没有水华的冬季, 采样区域水体中氮、磷营养盐形态、含量、叶绿素含量及其它的理化因子均有较大的差异(表 1). 其中 TP、Chl. a、SS 在夏季均显著高于冬季( $P < 0.05$ , 配对  $t$ -检验), TN、TDN 则相反( $P < 0.05$ , 配对  $t$ -检验). 而 TDP、 $\text{PO}_4^{3-}$  在不同季节间的差异则不显著( $P > 0.05$ , 配对  $t$ -检验). 水体中营养盐形态、含量及其它理化性状的这种变化趋势, 除受到天气、风浪、潮流等各种动力因素及外源输入的影响外, 还与梅梁湾水域中的藻类水华有着密切的关系.

表 1 实验期间水体中理化特性的差异

Tab. 1 The variations of water physical and chemical parameters during the experiment

时间	TP (mg/L)	TN (mg/L)	TDP (mg/L)	TDN (mg/L)	Chl. a ( $\mu\text{g/L}$ )	$\text{PO}_4^{3-}$ (mg/L)	SS (mg/L)	
冬季	1 月	0.103	3.387	0.042	2.960	11.05	0.008	56.24
	2 月	0.145	5.288	0.090	4.690	51.34	0.005	19.68
	3 月	0.108	5.847	0.076	5.630	13.28	0.020	14.08
	均值 $\pm$ SE	0.119 $\pm$ 0.013	4.841 $\pm$ 0.744	0.069 $\pm$ 0.014	4.427 $\pm$ 0.782	25.22 $\pm$ 13.07	0.011 $\pm$ 0.005	30.00 $\pm$ 13.22
夏季	7 月	0.176	2.878	0.033	0.780	113.83	0.005	42.20
	8 月	0.260	2.625	0.048	0.650	102.30	0.005	83.20
	9 月	0.183	2.451	0.061	0.950	42.41	0.032	58.56
	均值 $\pm$ SE	0.206 $\pm$ 0.027	2.651 $\pm$ 0.124	0.047 $\pm$ 0.008	0.793 $\pm$ 0.087	86.18 $\pm$ 22.13	0.014 $\pm$ 0.009	61.32 $\pm$ 11.92

### 2.2 水体中优势细菌种群丰度的差异

在藻类水华频繁出现的夏季及没有水华的冬季实验期间, 采样区域水体中 Chl. a 的浓度变动较大, 其峰值(113.8 $\mu\text{g/L}$ )与最低值(11.1 $\mu\text{g/L}$ )相差一个数量级(图 2). 水体中的各类细菌种群丰度也呈现出明显的波动性, 其中  $\alpha$ -变形菌门和  $\gamma$ -变形菌门细菌的丰度变化趋势与水体中 Chl. a 浓度的变化趋势一致, 而  $\beta$ -变形菌门和拟杆菌门细菌丰度的变化则相反(图 2). 虽然对于这 4 类细菌而言, 在实验期间, 其最大值和最小值的差

异可达 1 倍以上,但其夏季(7-9 月)及冬季(1-3 月)的均值的差异均不显著( $P > 0.05$ , 配对  $t$ -检验).

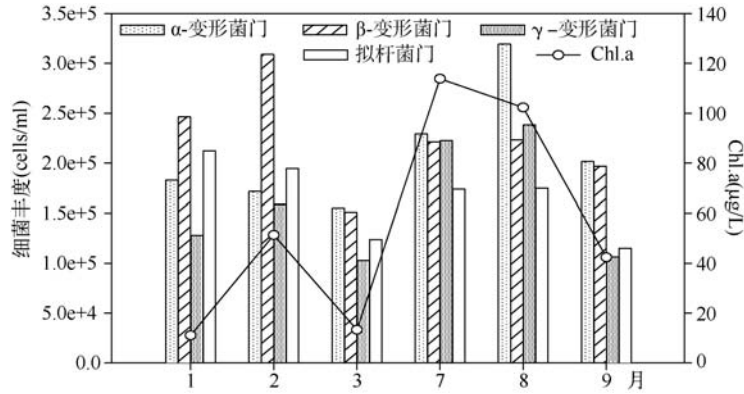


图 2 实验期间水体中 Chl. a 浓度及优势细菌种群丰度的变动情况

Fig. 2 The variation of Chl. a concentration and dominated bacterial abundance during the period of experiments

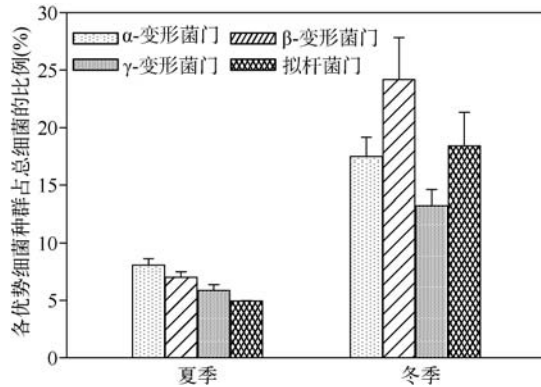


图 3 实验期间水体中各优势细菌种群占总细菌的比例的变动情况

Fig. 3 The ratio of the dominated bacterial abundance vs total bacterial abundance during the period of experiments

### 2.3 冬、夏季节水体中不同细菌种群优势度的差异

伴随着实验期间水体中细菌数量的变化,水体中的各类细菌种群的优势度也呈现出明显的波动(图 3). 虽然对于这 4 类细菌而言,在夏季(7-9 月)其数量均值与在冬季(1-3 月)的均值差异均不显著( $P > 0.05$ , 配对  $t$ -检验),但伴随着夏季水体中细菌数量的剧增, $\alpha$ -变形菌门、 $\beta$ -变形菌门、 $\gamma$ -变形菌门及拟杆菌门等占水体中总细菌数量的比例均显著降低( $P < 0.05$ , 配对  $t$ -检验),其均值分别从冬季的 17.5%、24.2%、13.2%、18.4% 下降为 8.1%、7.0%、5.9%、4.9%.

近年来采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)和限制性片段长度多态性技术(T-RFLP)对太湖梅梁湾水体中浮游细菌多样性的研究结果显示:太湖水体中浮游细菌的种群具有丰富的基因多样性,浮游细菌的丰度、DGGE 条带数、

种群的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数等均呈现出显著的季节变化规律. 其中夏季及秋季,水体中浮游细菌的丰度、基因多样性及种群的均匀度等均较高,而冬季和春季则相对较低<sup>[16-18]</sup>. 这与本实验结果是一致的. 在本实验中,冬季水体中所研究的 4 类细菌占水体中总细菌数量的比例均相对较高,主要是因为冬季水体中细菌的丰度相对较低,而所研究的 4 类细菌的数量相对较为稳定,丰度相对集中在几类优势种群上;而在夏季,伴随着水体中温度、营养盐水平、Chl. a 浓度的增加,水体中更多类型的细菌迅速繁殖、增长,一方面使得水体中细菌的总数量急剧增加,另一方面导致水体中细菌种群多样性显著增多,从而使得在冬季具有较高丰度百分比的细菌的种群优势明显降低了.

### 2.4 水体中营养盐及 Chl. a、温度等因素对优势细菌种群的影响

在天然水体中,细菌的生长常受到水体中营养盐形态、浓度以及 Chl. a 浓度和温度等环境因素的影响,但不同类群的细菌,对水体中不同环境因素变化的敏感性是不同的. 数据显示:实验期间,水体中  $\alpha$ -变形菌门的细菌与 TP 之间存在着极显著的相关,而  $\gamma$ -变形菌门的细菌则极显著地受水体中 Chl. a 浓度的影响,拟杆菌门的细菌则与水体中的  $PO_4^{3-}$  浓度显著相关(表 2). 但在实验期间,水体中的 TN 浓度及水温与所测定

的 4 类细菌之间均未显示出显著的相关, 虽然它们与水体中不同种类细菌之间的相关性是不同的(表 2)。

表 2 水体中营养盐及 Chl. a、温度等因素与细菌优势类群的相关性

Tab. 2 The relationship between dominant bacteria and the concentration of nutrient and Chl. a

细菌种类	环境影响因素				
	TN	TP	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Chl. a	温度
<i>α-proteobacteria</i>	0.459	0.860 **	0.121	0.599	0.544
<i>β-proteobacteria</i>	0.001	0.001	0.346	0.028	0.152
<i>γ-proteobacteria</i>	0.183	0.527	0.530	0.857 **	0.347
<i>Bacteroidetes</i>	0.002	0.009	0.733 *	0.019	0.169

\* 显著性水平为 0.05; \*\* 显著性水平为 0.01; 数字为相关系数( $R^2$ )。

天然水体中细菌种群结构的调控机制极为复杂, 水体中细菌的数量及种群组成除受水体中营养盐浓度、pH、温度等环境因子的调控外, 还与水体中藻类的动态密切相关<sup>[19-20]</sup>。一些研究显示: 对湖泊水体中的微生物群落而言, 系统中的生产力(叶绿素含量)和溶解性有机碳含量是影响其种群组成的两个主要因素<sup>[21]</sup>。随着湖泊营养水平的改变及浮游植物生物量的增加, 水体中细菌的种群结构会发生明显的改变<sup>[22-23]</sup>。本实验的数据也显示: 太湖水体中不同种类的优势细菌, 其影响因素也是不同的(表 2)。其中的一些因素如 TN、水温的影响却不显著。一方面, 对于类似太湖这样的大型浅水富营养化湖泊而言, 由于水动力扰动强烈, 加之水体中的营养盐水平、Chl. a 浓度均较高, 使得水体中细菌的丰度及种群组成的变化要远较其它湖泊复杂; 另一方面, 虽然本实验中所采用的基于 16S rDNA 的荧光原位杂交技术, 作为一种比较理想的方法已被广泛应用于直接定量不同生态系统中特定微生物种群的丰度、分布及组成, 但此方法在应用过程中会受到环境样品中微生物的生理状态、样品的理化性质等的影响, 使得对微生物群落中部分种属丰度的测定产生一些误差。

### 3 结论

(1) 在藻类水华频繁出现的夏季及没有水华的冬季实验期间, 水体中细菌的丰度随着 Chl. a 的浓度增加而呈现出极显著性增加的趋势( $P < 0.01$ ), 其中  $\alpha$ -变形菌门和  $\gamma$ -变形菌门细菌的丰度变化趋势与水体中 Chl. a 的变化趋势一致, 而  $\beta$ -变形菌门和拟杆菌门细菌丰度的变化则相反。

(2) 太湖梅梁湾水体中优势细菌种群的优势度存在明显的季节变化, 冬季水体中各优势细菌占总细菌数量的比例极显著地高于夏季( $P < 0.01$ )。

(3) 太湖梅梁湾水体中不同类群的细菌, 对水体中环境因素变化的敏感性不同。其中  $\alpha$ -变形菌门的细菌与水体中的 TP 之间存在着极显著的相关, 而  $\gamma$ -变形菌门的细菌则极显著地受水体中 Chl. a 浓度的影响, 拟杆菌门的细菌则与水体中的 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 浓度显著相关。

致谢: 本实验在野外采样及分析过程中得到中国科学院太湖湖泊生态系统研究站的大力协助, 并提供了部分水质数据, 特此致谢。

### 4 参考文献

- [1] 郑天凌, 苏建强. 海洋微生物在赤潮生消过程中的作用. 水生生物学报, 2003, 27(3): 291-295.
- [2] Jakob W, Morten S. Dynamics of heterotrophic bacteria attached to *Microcystis* spp. (Cyanobacteria). *Aquat Microb Ecol*, 1998, 14(1): 19-28.
- [3] Sommaruga R. Microbial and classical food web: A visit to a hypertrophic lake. *FEMS Microbiol Ecol*, 1995, 17(4): 257-270.
- [4] Nübel U, Garcia-Pichel F, Clavero E *et al.* Matching molecular diversity and ecophysiology of benthic cyanobacteria and diatoms in communities along a salinity gradient. *Environ Microbiol*, 2000, 2(2): 217-226.
- [5] Kuske C, Barns S, Busch J. Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid southwestern United States that are present in many geographic regions. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(9): 3614-3621.

- [ 6 ] Wobus A, Bleul C, Maassen S *et al.* Microbial diversity and functional characterization of sediments from reservoirs of different trophic state. *FEMS Microbiol Ecol*, 2003, **46**(3): 331-347.
- [ 7 ] Ward DM, Weller R, Bateson MM. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 1990, **345**: 3673-3682.
- [ 8 ] Albin A, Jakob P, Rudolf A *et al.* Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by in Situ hybridization. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**(6): 2138-2144.
- [ 9 ] Frank OG, Bernhard MF. Bacterioplankton compositions of lakes and oceans; a first comparison based on fluorescence In Situ hybridization. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**(8): 3721-3726.
- [ 10 ] 孙顺才, 黄漪平主编. 太湖. 北京: 海洋出版社, 1993: 3-6.
- [ 11 ] 金相灿, 屠清瑛等. 湖泊富营养化调查规范(第二版). 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
- [ 12 ] Amann RI, Krumholz L, Stahl DA. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *J Bacteriol*, 1990, **172**(2): 762-770.
- [ 13 ] Amann R, Zarda B, Stahl DA *et al.* Identification of individual prokaryotic cells by using enzyme-labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**(9): 3007-3011.
- [ 14 ] Port KG, Feig YS. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr*, 1980, **25**(5): 943-948.
- [ 15 ] 肖林, 杨柳燕主编. 环境微生物实验技术. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 103-107.
- [ 16 ] 刑鹏, 孔繁翔, 高光. 太湖浮游细菌种群基因多样性及其季节变化规律. *湖泊科学*, 2007, **19**(4): 373-381.
- [ 17 ] 吴鑫, 奚万艳, 杨虹. 太湖梅梁湾冬季浮游细菌的多样性. *生态学杂志*, 2006, **25**(10): 1196-1200.
- [ 18 ] Tang XM, Gao G, Qin BQ. Organic aggregate-attached bacterial community composition and dynamics of the dynamics of the shallow hypertrophic freshwater Lake Taihu, revealed by T-RFLP analysis. *生态科学*, 2008, **27**(5): 341-345.
- [ 19 ] Lindström ES. Bacterioplankton community composition in five lakes different in trophic status and humic content. *Microbial Ecology*, 2000, **40**(2): 104-113.
- [ 20 ] Bird DF, Kalff J. Empirical relationship between bacterial abundance and chlorophyll concentrations in fresh and marine waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1984, **41**(7): 1015-1023.
- [ 21 ] Yannarell AC, Triplett EW. Within- and between-lake variability in the composition of bacterioplankton communities: investigations using multiple spatial scales. *Appl Environ Microbiol*, 2004, **70**(1): 214-223.
- [ 22 ] Katleen VG, Tom V, Nele V. Characterization of bacterial communities in four freshwater lakes differing in nutrient load and food web structure. *FEMS Microbiol Ecol*, 2005, **53**(2): 205-220.
- [ 23 ] Aaibe DW, Koenraad M, Katleen VG. Bacterial community composition in lake tanganyika: Vertical and horizontal heterogeneity. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**(9): 5029-5037.