

近岸海水中玫瑰杆菌类群多样性的年周期变化

赵孝良^{1#}, 张钰琳^{1#}, 刘振刚¹, 张晓华^{1,2,3}, 张蕴慧^{1,2,3*}

1 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛

2 青岛海洋科学技术中心, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛

3 中国海洋大学, 海洋生物多样性与进化研究所, 山东 青岛

赵孝良, 张钰琳, 刘振刚, 张晓华, 张蕴慧. 近岸海水中玫瑰杆菌类群多样性的年周期变化[J]. 微生物学报, 2025, 65(6): 2545-2559.

ZHAO Xiaoliang, ZHANG Yulin, LIU Zhengang, ZHANG Xiaohua, ZHANG Yunhui. Annual cycle variations in the diversity of coastal *Roseobacter*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(6): 2545-2559.

摘要:【目的】玫瑰杆菌类群在海洋生态系统的物质循环和能量流动过程中发挥着重要的生态功能,但其环境响应及其群落构建机制随时间尺度的动态变化尚不明确。本文基于青岛近岸海域连续采集的60周海水样品,对玫瑰杆菌自由生活和颗粒附着类群的全年动态变化及其环境响应与群落构建机制进行了研究。【方法】基于青岛近岸表层海水时间序列样品的16S rRNA基因扩增子测序,分析近岸海水中不同生活方式玫瑰杆菌类群的多样性年周期变化,并探究其与多种环境因子的相关性和群落构建机制。【结果】在近岸表层海水中,玫瑰杆菌类群在总细菌古菌中的相对丰度呈现明显的季节性波动(2.64%–34.10%),在冬、春季节显著高于夏、秋季节。根据其时间分布规律,可将玫瑰杆菌类群划分为夏秋型、冬春型以及暴发增长型。自由生活玫瑰杆菌类群的季节性规律更强,而颗粒附着类群表现出更高的多样性。温度、无机氮、无机磷等是影响玫瑰杆菌多样性的主要环境因素,且对颗粒附着类群变化的解释度(16.82%)高于自由生活类群(9.06%)。在群落构建方面,确定性过程对颗粒附着玫瑰杆菌类群的影响更大,说明环境变化对颗粒附着玫瑰杆菌类群的影响更明显。【结论】本文从精细时间尺度探讨了玫瑰杆菌类群的动态变化及其环境驱动机制,揭示了其季节性分布规律,为深入理解这一重要海洋细菌类群的时空动态及其生态功能提供了重要的科学依据。

关键词: 玫瑰杆菌; 近岸海域; 环境响应; 时间动态

资助项目: 中央高校基本科研业务费专项(862201013167); 国家自然科学基金(41906099, 42376101)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (862201013167) and the National Natural Science Foundation of China (41906099, 42376101).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. Tel: +86-532-82032721, E-mail: zhangyunhui@ouc.edu.cn

Received: 2025-01-17; Accepted: 2025-02-22; Published online: 2025-04-21

Annual cycle variations in the diversity of coastal *Roseobacter*

ZHAO Xiaoliang^{1#}, ZHANG Yulin^{1#}, LIU Zhengang¹, ZHANG Xiaohua^{1,2,3}, ZHANG Yunhui^{1,2,3*}

1 College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, China

2 Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao, Shandong, China

3 Institute of Evolution and Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, China

Abstract: [Objective] *Roseobacter* play a significant ecological role in the material cycling and energy flow of marine ecosystems. However, their environmental responses on long time scales and community assembly mechanisms remain unclear. We collected samples over 60 consecutive weeks from the coastal waters near Qingdao to investigate the annual dynamics, environmental responses, and community assembly mechanisms of free-living and particle-associated *Roseobacter*. **[Methods]** The 16S rRNA gene amplicon sequencing was performed for the surface seawater samples to reveal the seasonal diversity variations of *Roseobacter* groups with different lifestyles. Furthermore, the correlations of *Roseobacter* with various environmental factors and the community assembly mechanisms were explored. **[Results]** In the surface seawater of the coastal zone, the relative abundance of *Roseobacter* in total bacteria and archaea exhibited significant seasonal fluctuations (2.64%–34.10%), with being markedly higher in winter and spring than in summer and autumn. Based on the temporal distribution patterns, *Roseobacter* groups can be classified into summer-autumn, winter-spring, and outbreak growth types. The free-living *Roseobacter* groups showed more pronounced seasonal patterns, while the particle-associated groups showed higher diversity. Temperature, inorganic nitrogen, and inorganic phosphorus were the main environmental factors influencing *Roseobacter* diversity, with their explanatory power on particle-associated groups (16.82%) being higher than that on free-living groups (9.06%). In terms of community assembly, deterministic processes had a greater impact on particle-associated *Roseobacter* groups, indicating that environmental changes had more significant effects on these groups. **[Conclusion]** This study, by examining the dynamic changes and environmental driving mechanisms of *Roseobacter* at a fine time scale, reveals their seasonal distribution patterns and provides scientific insights for understanding the spatiotemporal dynamics and ecological functions of this crucial marine bacterial group.

Keywords: *Roseobacter*; nearshore waters; environmental response; temporal dynamics

玫瑰杆菌类群是 α -变形菌纲的一个重要分支^[1], 广泛分布于全球各类海洋生态系统中, 包括近岸、开阔海域和深海等多种环境, 是海洋生态系统中具有重要生态功能的海洋微生物类

群之一^[2]。玫瑰杆菌类群的丰度在开阔大洋区域约占细菌总数的 8%^[3], 然而在生产力更高的沿海水域, 玫瑰杆菌类群的丰度显著增加, 特别是在浮游植物大量繁殖的时期^[4], 其丰度可占所

有细菌的 25%^[5-6]。

作为海洋微生物群落的重要组成部分, 玫瑰杆菌类群因其多样的生态功能和广泛的环境适应性而受到关注。该类群具有多种代谢活性, 能够参与多种重要的生物地球化学循环^[7]。例如, 它们在二甲基巯基丙酸内盐(dimethylsulfoniopropionate, DMSP)的降解中发挥关键作用, 通过产生二甲基硫(dimethylsulfide, DMS)对全球气候调节产生影响, 对海洋硫循环具有重要意义^[8]。此外, 玫瑰杆菌类群还参与碳、氮和磷等元素的循环, 能够通过光合作用、化能自养和有机物分解等途径为海洋生态系统提供能源和营养^[9]。从生态学角度来看, 玫瑰杆菌类群不仅是海洋初级生产者的重要合作伙伴, 还能通过共生、竞争等机制影响其他微生物的群落结构^[10]。此外, 玫瑰杆菌类群与浮游植物之间存在紧密的生态联系, 在浮游植物衍生的溶解有机物(dissolved organic matter, DOM)转化过程中发挥关键作用^[11]。

近岸海域作为陆地与海洋之间的过渡区域, 是人类活动与海洋资源相互作用最为显著的区域, 也是地球上生产力最高的生态系统之一, 在调节气候和维护生态平衡方面发挥着不可替代的作用。近岸海域不仅支持了多样化的微生物群落, 还参与多种生物地球化学循环的核心环节, 对全球碳、氮、硫和磷等重要元素的循环和转化具有重要作用^[12]。然而, 近岸海域的生态系统也面临着巨大的环境压力。海水污染导致的富营养化、浒苔暴发等显著生态问题也在持续威胁近岸生态系统的稳定性^[13]。面对这些挑战, 研究近岸海域生态系统的结构、功能及其对环境变化的响应机制显得尤为重要。

近年来, 随着高通量测序和多组学技术的发展, 人们对玫瑰杆菌类群的生物多样性、生态功能及其对环境变化的响应有了更深入的理解。目前, 人们已对玫瑰杆菌类群的全球分布及其功能作用进行了大量研究, 特别是对其在碳、硫和氮循环中的作用进行了深入探讨^[14]。

此外, 通过基因组分析对玫瑰杆菌类群的代谢功能、进化机制及其与浮游生物的协同作用的研究也是广泛关注的焦点^[15]。还有许多研究揭示了玫瑰杆菌类群在不同海洋环境(如沿岸水域、深海环境等)中的多样性及其对环境变化(如温度和营养盐浓度变化)的敏感性^[16]。然而, 目前的大部分研究仍主要集中在空间分布及玫瑰杆菌类群在不同环境中的代谢功能研究上, 对其群落动态及时间序列变化的理解仍然不足。

时间序列研究的空缺限制了人们对玫瑰杆菌类群在生态系统长期动态中的作用及其对环境响应的深入认识, 缺乏高精度的时间序列数据来揭示其种群细节性的动态变化过程。环境因子如温度、营养盐浓度的周间变化相较于月份、年份维度能够更精确地展现玫瑰杆菌类群对环境变化的响应模式, 但目前尚缺乏在周间尺度上的系统研究。为弥补这一空缺, 本研究采用高精度时间序列采样方法, 通过周间采样策略捕捉玫瑰杆菌类群在短时间尺度上的动态变化, 结合多种数据分析方法, 详细分析了玫瑰杆菌类群在特定生态环境中的群落多样性、种群动态及其与环境因子的相互作用。这种方法不仅能够揭示玫瑰杆菌类群在生态系统中潜在的短期响应机制, 还能为深入理解其长期的动态变化提供重要线索。

1 材料与方法

1.1 样品来源与环境因子测定

本研究的海水样品于 2020 年 7 月 24 日至 2021 年 9 月 10 日期间(60 周)采集自青岛近岸海域 3 个不同站位, 具体采样地点为第二浴场(36° 04' 34"N, 120° 36' 57"E)、五四广场(36° 05' 41"N, 120° 31' 63"E)和栈桥(36° 04' 48"N, 120° 34' 56"E), 采样地点距离海岸约 500 m, 具体采样方法参见 Zhang 等^[17]。将采集的 500 mL 表层海水样品先后通过 3 μm、0.22 μm 孔径的聚碳酸酯膜进行过滤, 分离自由

生活类群 (free living, FL) 和颗粒附着类群 (particle associated, PA) 2 种生活方式的微生物。水温、盐度、电导率、溶解氧 (dissolved oxygen, DO)、pH 值、溶解有机碳 (dissolved organic carbon, DOC)、悬浮颗粒物 (suspended particulate matter, SPM)、溶解性无机营养盐 (NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 和 SiO_3^{2-}) 等参数的测定方法参见 Zhang 等^[17]。

1.2 海水样品 DNA 的提取与高通量测序

分别取 3 μm 与 0.22 μm 滤膜, 用于提取颗粒附着和自由生活微生物的 DNA。样品 DNA 的提取使用 DNeasy[®] PowerSoil[®] Kit (Qiagen 公司), 具体提取步骤按照试剂盒说明进行, 详见 Zhang 等^[17]。使用细菌、古菌的通用引物^[18] 515FmodF (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806RmodR (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') 扩增 16S rRNA 基因的 V4 可变区。PCR 扩增体系 (20 μL): *FastPfu* 聚合酶 0.4 μL , 上、下游引物 (5 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.8 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL , 5 \times *FastPfu* 缓冲液 4 μL , BSA 0.2 μL , DNA 模板 10 ng, ddH₂O 补足至 20 μL 。PCR 反应条件: 95 $^\circ\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^\circ\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^\circ\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 45 s, 29 个循环; 72 $^\circ\text{C}$ 终延伸 10 min。经过纯化后的扩增子通过上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina MiSeq PE300 平台进行双端测序^[19]。本研究中的原始数据可在 NODE (<http://www.biosino.org/node>) 获取 (OEP003832)^[17]。

1.3 原始数据处理

原始测序数据通过 QIIME 2 平台^[20] 进行处理, 利用 DADA2 进行质控, 去除嵌合体和进行质量过滤后, 使用 RDP 分类器^[21] 将获得的扩增序列变体 (amplicon sequence variant, ASV) 与 SILVA 数据库^[22] 进行比对以确认物种注释信息 (相似性阈值为 70%), 随后删除鉴定为叶绿体和线粒体的 ASV。为了统一不同样品的测序深度, 便于样品间的数据比较, 本研究根据所有样品中最

小的序列数 (11 667 reads) 对每个样品进行了抽平处理。最后, 根据以往研究中汇总的玫瑰杆菌类群典型属种作为筛选依据^[23], 从总计 35 905 个 ASV 中提取了玫瑰杆菌类群的序列和物种分类信息用于进一步分析。

1.4 数据分析

对不同时间和不同粒径样品的 ASV 进行统计分析, 通过 R 语言软件包 “vegan” 计算 Chao1 指数^[24] 和 Shannon 指数, 对玫瑰杆菌类群进行 α 多样性分析。

使用 R 语言软件包 “vegan”, 基于 Bray-Curtis 距离度量对微生物群落进行非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS), 以探究组间群落组成的差异性。为了评估环境因子对玫瑰杆菌类群结构的影响, 对类群进行了典型相关分析 (canonical correlation analysis, CCA), 并结合 Envfit 检验 (999 次置换) 量化环境因子对群落动态变化的影响。利用 R 软件包 “linkET” 分别计算了 2 种生活方式的玫瑰杆菌属水平类群相对丰度与温度、溶解氧、Chl a、 SiO_3^{2-} 、溶解无机氮 (DIN, $\text{DIN}=\text{NH}_4^++\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-$)、溶解无机磷 (DIP, $\text{DIP}=\text{PO}_4^{3-}$) 等环境参数的斯皮尔曼相关系数。

采用基于整体群落零模型的方法^[25] 进行群落构建过程的分析。使用 “Picante” R 包计算平均最近分类距离值 (mean nearest taxon distance, $\beta\text{MNTD}_{\text{null}}$), 以量化 ASV 间的系统发育距离。为了推断出对特定群落构建过程起主要作用的生态因素, 使用了 β 最邻近分类指数 (β nearest taxon index, βNTI), 通过将整个系统发育过程中的 ASV 随机化并重新计算 βMNTD 999 次, 以得到零模型的 $\beta\text{MNTD}_{\text{null}}$ 值。根据 βNTI 值的分布区间可以推断出群落的生态过程, 包括同质选择 (homogeneous selection)、异质选择 (heterogeneous selection)、扩散限制 (dispersal limitation)、非主导过程 (undominated process)、均质扩散 (homogenizing dispersal)。

2 结果与分析

2.1 玫瑰杆菌类群的 α 多样性

基于 16S rRNA 基因扩增子测序结果, 在 358 个海水样品(第 4 周 2020 年 8 月 12 日五四广场站位的样品因特殊原因未能采集)的 35 905 个 ASV 中共注释筛选到 896 个玫瑰杆菌类群 ASV。与自由生活的玫瑰杆菌类群相比, 颗粒附着类群在 3 个站点中共有 ASV 的比例更低, 表明颗粒附着类群的空间差异性更强。自由生活与颗粒附着类群间的共有 ASV, 约占自由生活 ASV 的 60%, 而仅占颗粒附着 ASV 的 20%。玫瑰杆菌类群的 FL 类群和 PA 类群的香农(Shannon)指数和物种丰富度(Chao1)指数(图 1)结果表明, 整体上, 玫瑰杆菌 PA 类群的 Shannon 指数和 Chao1 指数显著高于 FL 类群, 且月内波动更为明显, 尤其是在 2-7 月期间。在时间序列上, 两类群的物种多样性均呈现季节性规律, 即冬季多样性普遍高于春夏季, 这一规律在 PA 类群中更为明显, 且具有更强的周间波动。此外, FL 类群的 2 种指数均在 7 月份出现较高的异常峰值, 这可能与当地 7 月份出现的浒苔暴发事件密切相关, 表明 FL 类群对短期高营养暴发事件具有更快速的响应能力。

2.2 玫瑰杆菌类群的 β 多样性

非度量多维尺度分析(NMDS)结果显示, FL 与 PA 玫瑰杆菌类群被分为明显的两簇(ANOSIM, $R^2=0.651$, $P=0.001$) (图 2)。此外, FL 类群分布相对集中(ANOSIM, $R^2=0.478$, $P=0.001$), 而 PA 类群分布更加分散(ANOSIM, $R^2=0.335$, $P=0.001$), 表明在时间尺度上玫瑰杆菌 PA 类群多样性的变化比 FL 类群更加明显。FL 类群呈现出更为规律的周期性变化, 仅有个别周次类群结构出现不规律波动; 而 PA 类群在周期性分布的基础上, 相邻周样品间分布较为分散, 说明 PA 类群结构在相邻周次间的差异更大。这种差异可能反映了它们在生态功能和对环境适应策略上的差异性, 即 FL 类群在短期内更为稳定且

季节性明显, 而 PA 类群则表现出更高的周间波动和多样性。

2.3 玫瑰杆菌类群的结构变化

在近岸表层海水中, 玫瑰杆菌 FL 类群和 PA 类群在总细菌古菌中的相对丰度存在差异, 且二者均呈现季节性变化。FL 类群中, 玫瑰杆菌类群的相对丰度更高, 平均约为 12%; 而 PA 类群中平均仅占约 6%。在 FL 类群中, 玫瑰杆菌类群的相对丰度在冬、春季(12 月至次年 4 月)较高, 最高可达整体微生物类群的约 30% (图 3)。在 7-9 月期间, 其相对丰度下降至约 5%。在 7 月到 8 月中旬, 玫瑰杆菌类群出现短暂且显著的高峰, 推测可能与青岛近岸海域的浒苔暴发相关, 导致特定玫瑰杆菌类群[如 ASV3607、ASV28818 和海生杆菌属(*Marivita*)等]出现暴发现象。在 PA 颗粒附着类群中, 玫瑰杆菌类群的相对丰度全年变化与 FL 类群相似, 但年周期变化不明显, 整体类群结构较为稳定。与自由生活类群相比, PA 类群的多样性更高, 主要包括海洋浮游菌属(*Planktomarina*)、淀粉杆菌属(*Amylibacter*)、亚硫酸盐杆菌属(*Sulfitobacter*)等类群。在 7-8 月期间, PA 类群中的玫瑰杆菌类群同样出现暴发现象, 主要暴发类群与 FL 类群一致, 其相对丰度可达 31.5%。这可能与浒苔暴发提供的藻源营养物质及颗粒物的增加相关。

通过进一步的聚类分析, 对玫瑰杆菌类群的自由生活和颗粒附着类群进行时间分布模式探究。根据内部不同属细菌的聚类结果, 将整体玫瑰杆菌类群分为 4 种时间分布模式: 秋冬季优势型(FL-Cluster I 和 PA-Cluster I), 包括海洋浮游菌属、淀粉杆菌属、副球菌属(*Paracoccus*)以及亚硫酸盐杆菌属等; 夏秋季优势型(FL-Cluster II 和 PA-Cluster IV), 包括 ASV22543、HIMB11 以及淤泥棒菌属(*Limibaculum*)等; 全年低丰度型(FL-Cluster IV 和 PA-Cluster II); 以及以 ASV3607、ASV28818、海生杆菌属、近沈氏菌属

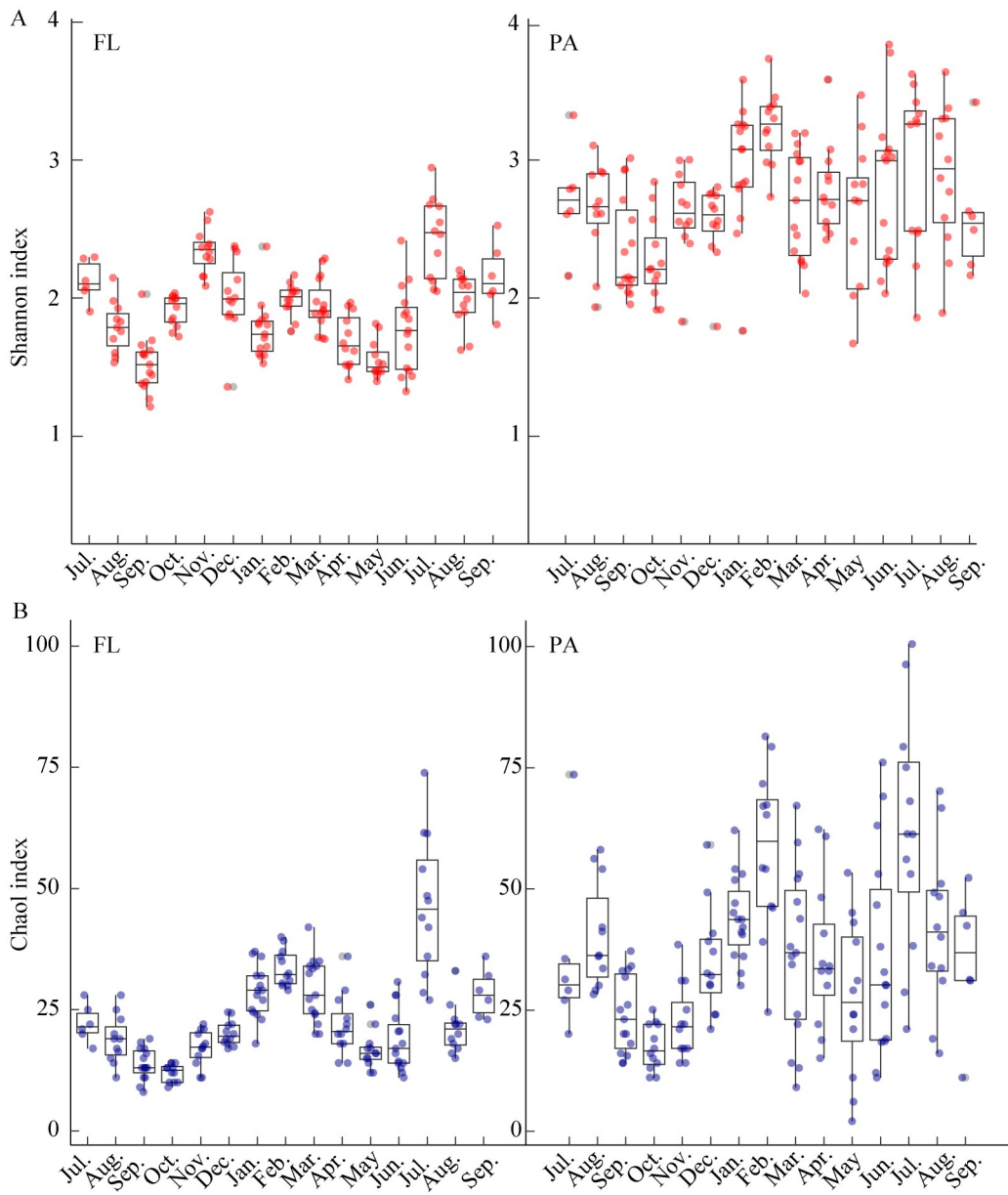


图1 玫瑰杆菌 α 多样性指数的时间动态变化。A: 香农指数; B: Chao1指数。FL: 自由生活类群; PA: 颗粒附着类群。

Figure 1 The temporal variation in the alpha diversity index of the *Roseobacter* clade. A: Shannon index; B: Chao1 index. FL: Free-living communities; PA: Particle-associated communities.

(*Cognatishimia*)、简纳西氏菌属(*Jannaschia*)等为代表的暴发式增长型(FL-Cluster III 和 PA-Cluster III)(图 4)。

2.4 驱动玫瑰杆菌类群变化的环境因子

本研究进一步分析了玫瑰杆菌类群对温度、

盐度、pH、DOC、无机营养盐(NO_3^- 、 NO_2^- 、 PO_4^{3-} 、 NH_4^+ 、 SiO_3^{2-})等多种环境因子的响应,各项环境参数详情参见 Zhang 等^[17]。典型相关分析(canonical correlation analysis, CCA)结果表明,所测定的环境因子对 PA 类群的解释度

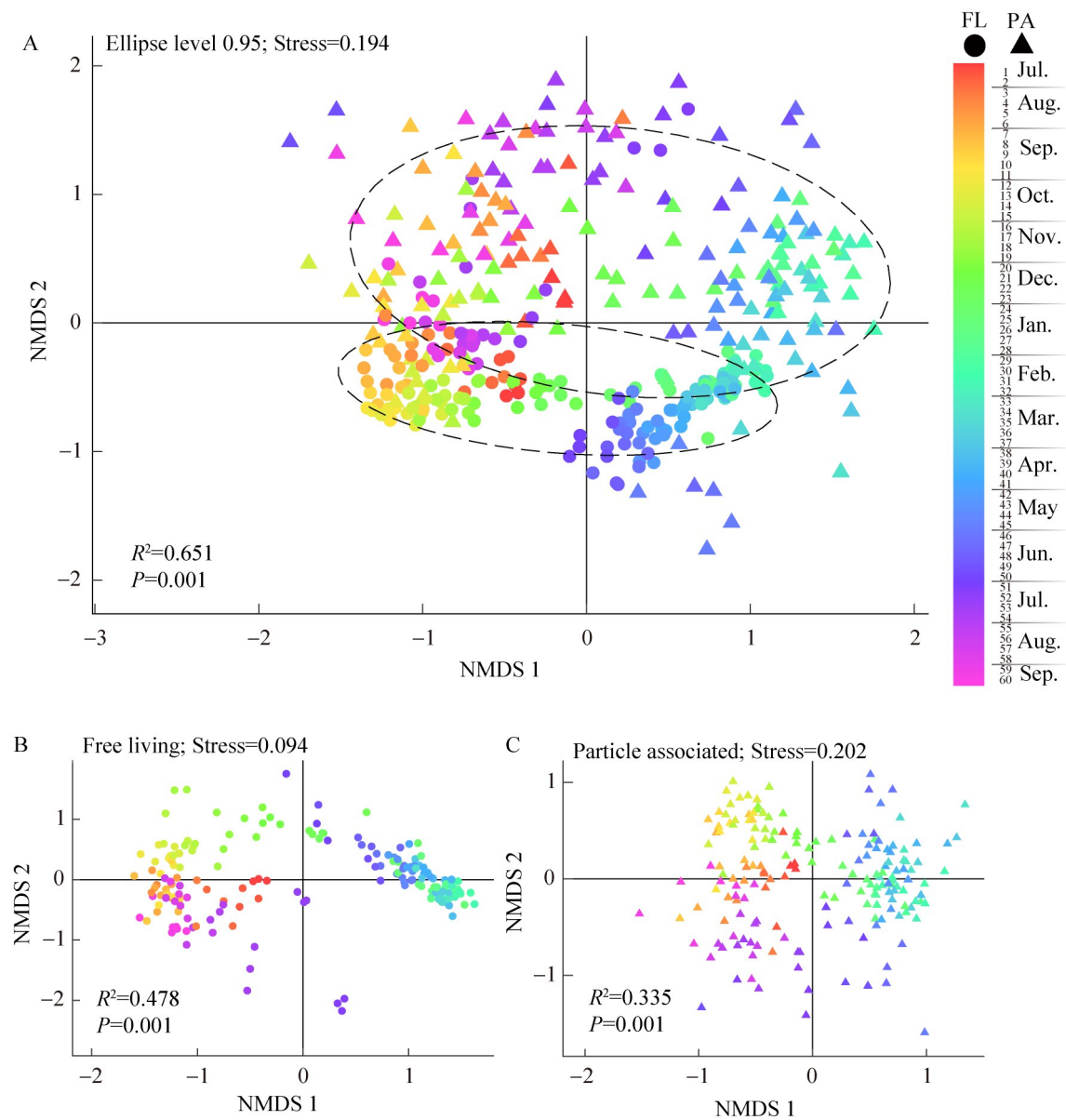


图2 玫瑰杆菌类群的 β 多样性分析(ASV水平)。A: 全部玫瑰杆菌类群; B: FL类群; C: PA类群。虚线椭圆表示中心点周围95%的置信区间; 三角形和圆圈分别代表PA类群和FL类群的ASV。

Figure 2 NMDS analysis of *Roseobacter* communities. A: Overall sample; B: FL sample; C: PA sample. The dashed ellipse represents the 95% confidence interval around the center point; Triangles and circles denote ASV from the PA and FL communities, respectively, with colors indicating samples from different collection months.

(16.82%)高于FL类群(9.06%),解释度的差异表明PA类群对环境因子的响应可能更强,而FL类群的变化可能受到更多因素的复杂影响。 NO_3^- 、 NO_2^- 和 PO_4^{3-} 对玫瑰杆菌类群变化具有显

著影响,而pH和DOC的影响较小(图5A、5B)。结合envfit检验,进一步比较了各环境因子对群落结构差异的贡献度。结果表明,影响FL与PA类群的主要环境因子一致,其中 NO_3^-

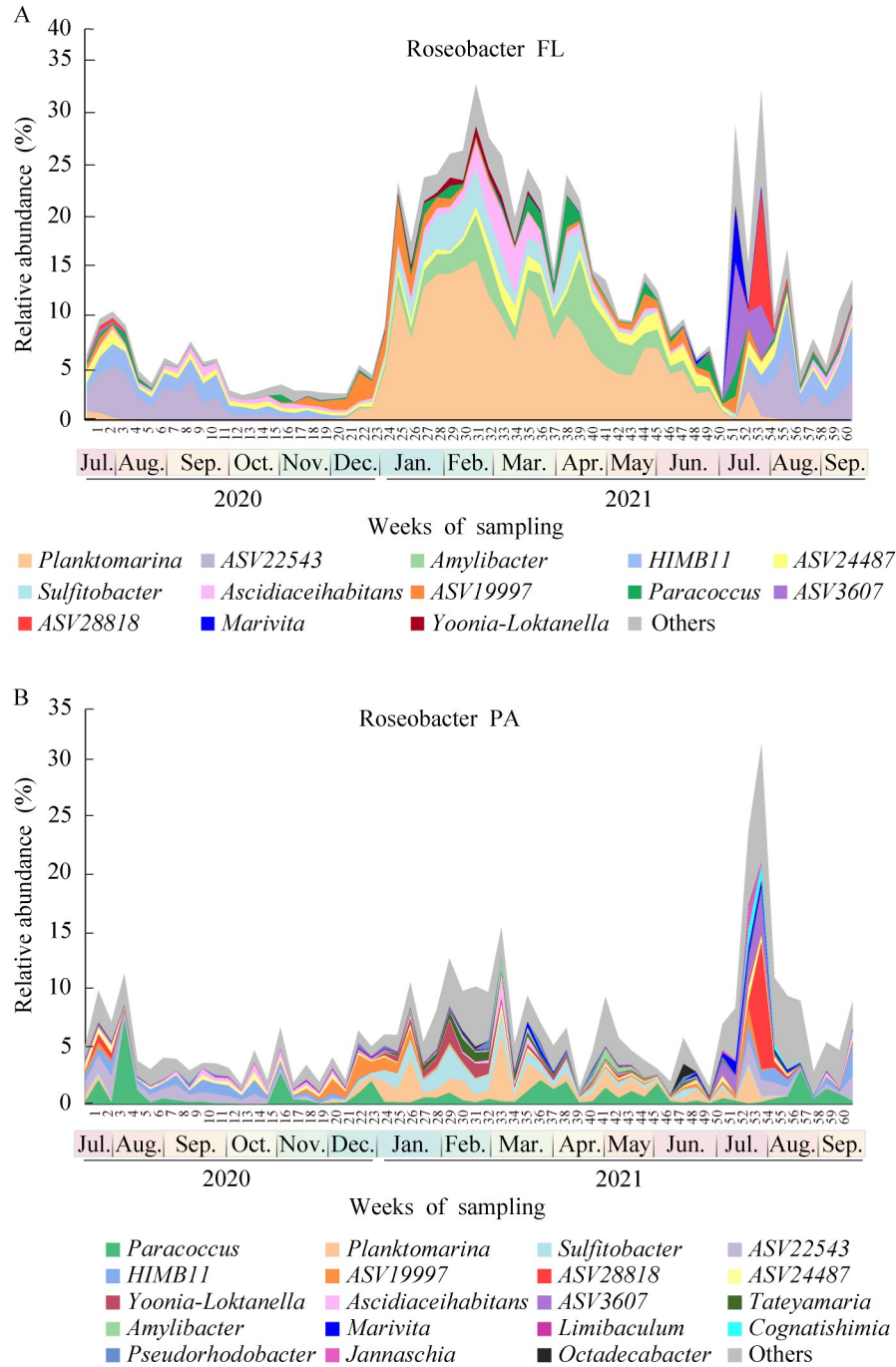


图3 玫瑰杆菌类群结构和相对丰度变化。A: 玫瑰杆菌自由生活类群; B: 玫瑰杆菌颗粒附着类群。

Figure 3 Changes in community structure and abundance of *Roseobacter*. A: *Roseobacter* FL communities; B: *Roseobacter* PA communities.

($R^2=0.52/0.59$, $P<0.001$), NO_2^- ($R^2=0.50/0.57$, $P<0.001$), PO_4^{3-} ($R^2=0.38/0.41$, $P<0.001$), SiO_3^{2-} ($R^2=0.31/0.35$, $P<0.001$)是驱动两类群变

化的主要环境因子(图 5C、5D)。此外, SPM、盐度、叶绿素 a、 NH_4^+ 等因子的解释度较低,但与类群的变化也有一定的相关性。

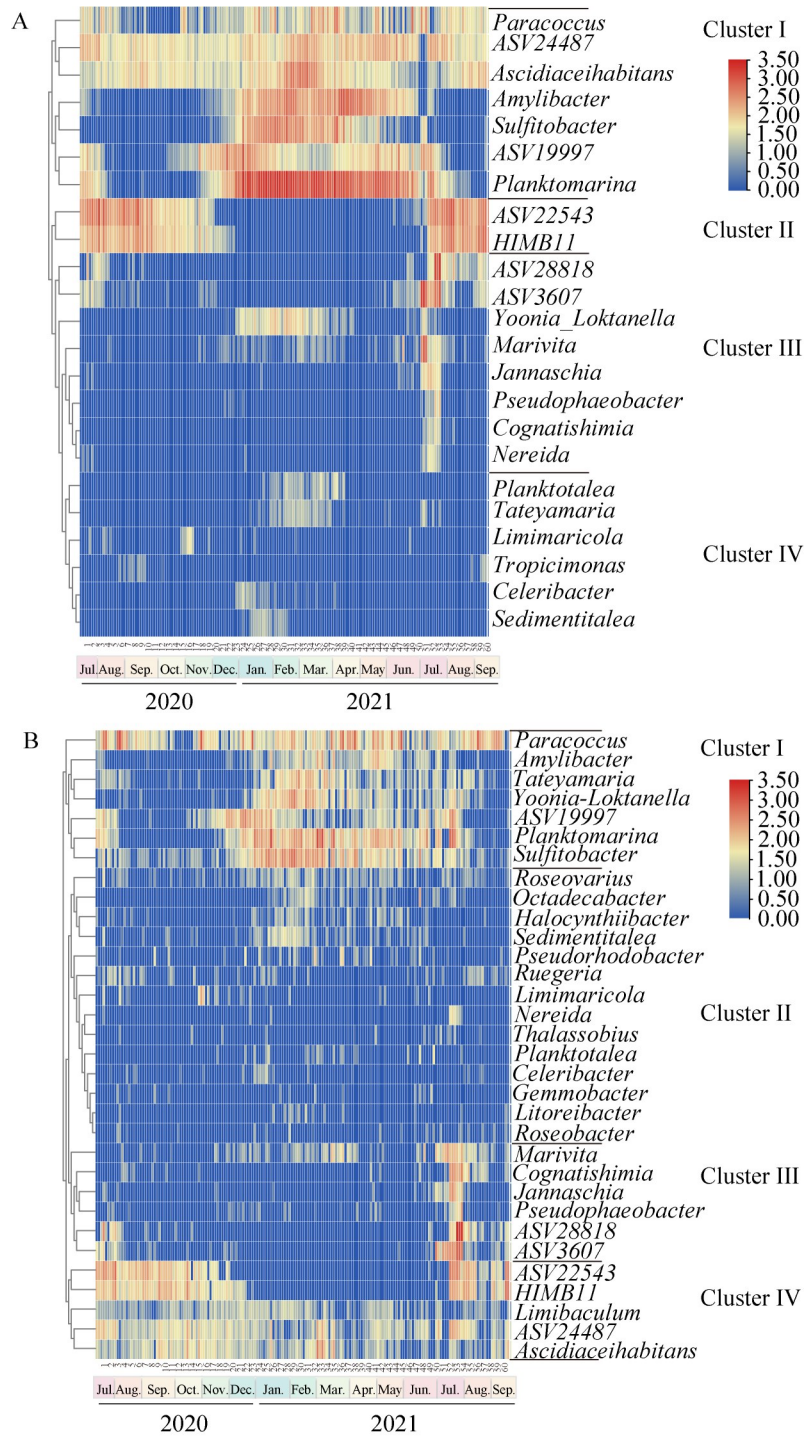


图4 玫瑰杆菌自由生活类群(A)和颗粒附着类群(B)的时间分布模式的聚类分析。FL和PA类群聚类成4簇，丰度随时间模式变化。

Figure 4 Hierarchical cluster analysis of temporal distribution patterns of *Roseobacter* FL community (A) and PA community (B). FL and PA groups were clustered into four clusters, and the microbial community abundance changed with time patterns.

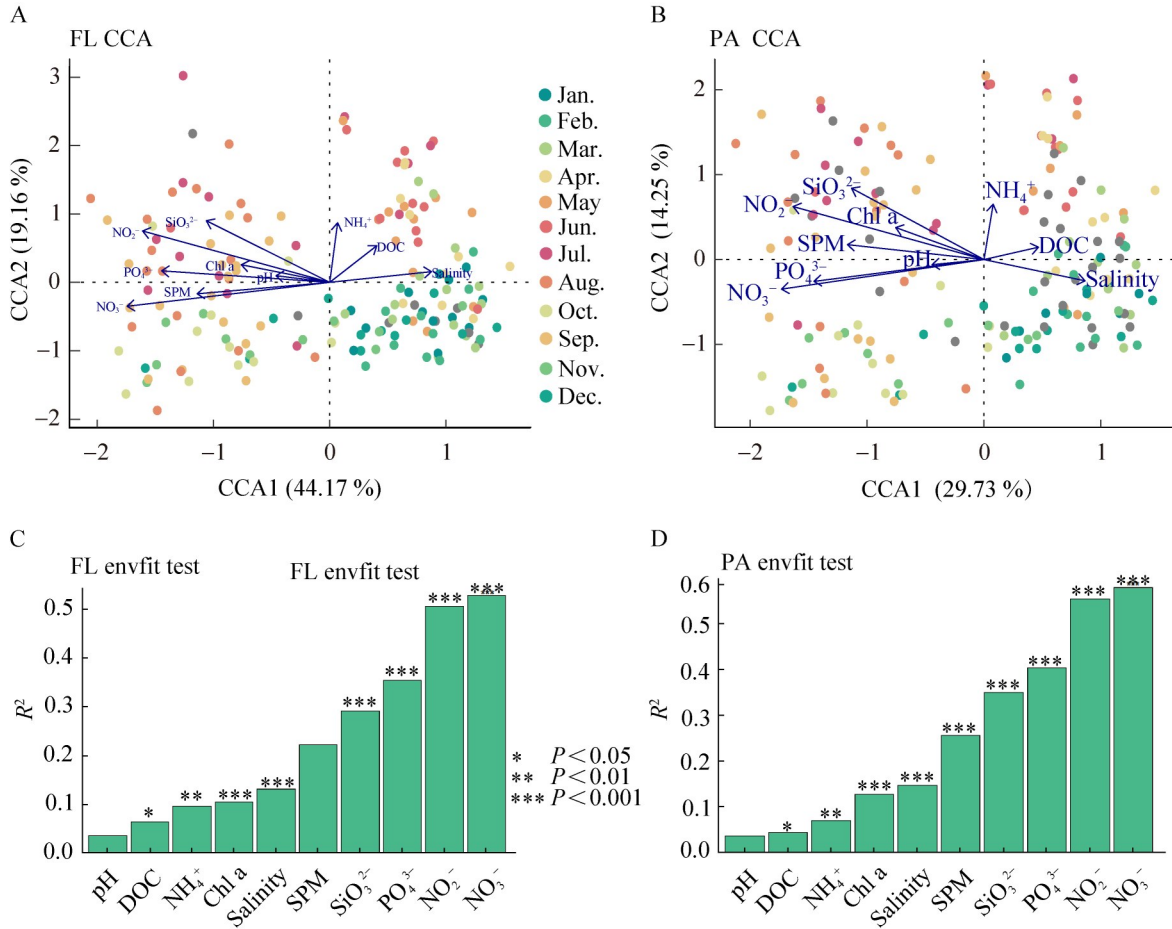


图5 环境因子相关性分析与检验。A: 时间模式下FL类群的CCA分析; B: 时间模式下PA类群的CCA分析; C: 环境因子对FL类群的影响程度; D: 环境因子对PA类群的影响程度。

Figure 5 Correlation analysis and testing of environmental factors. A: CCA analysis of FL communities; B: CCA analysis of PA communities; C: The influence of environmental factors on FL communities; D: The influence of environmental factors on PA communities.

通过选取丰度较高的属与环境因子进行斯皮尔曼相关性分析,发现不同玫瑰杆菌类群与环境因子的相关性存在明显差异(图6)。其中,海洋浮游菌属、亚硫酸盐杆菌属和洛克菌属(*Yoonia-Loktanella*)与溶解无机氮(DIN)、溶解无机磷(DIP)以及 SiO_3^{2-} 呈显著的负相关($P < 0.001$),而HIMB11、ASV22543等类群与DIN、DIP以及 SiO_3^{2-} 则呈现显著正相关($P < 0.001$)。

2.5 玫瑰杆菌的群落构建机制

进一步结合ASV间的系统发育关系,计算

了不同样品间的 β NTI值(图7)。结果表明,FL与PA类群的 β NTI值分布较为相似($P < 0.001$),二者大部分 β NTI值均小于2,这一结果表明两类群构建过程整体受随机过程控制。然而,与FL类群相比,PA类群中部分 β NTI值超过2,表明PA类群在群落演替过程中受到更多确定性过程的控制。这一结果暗示,玫瑰杆菌的PA类群更易受到环境变化的影响,可能与附着颗粒物表面的微环境条件有关,这种差异进一步揭示了PA类群在环境影响下具有更复杂的生态机制。

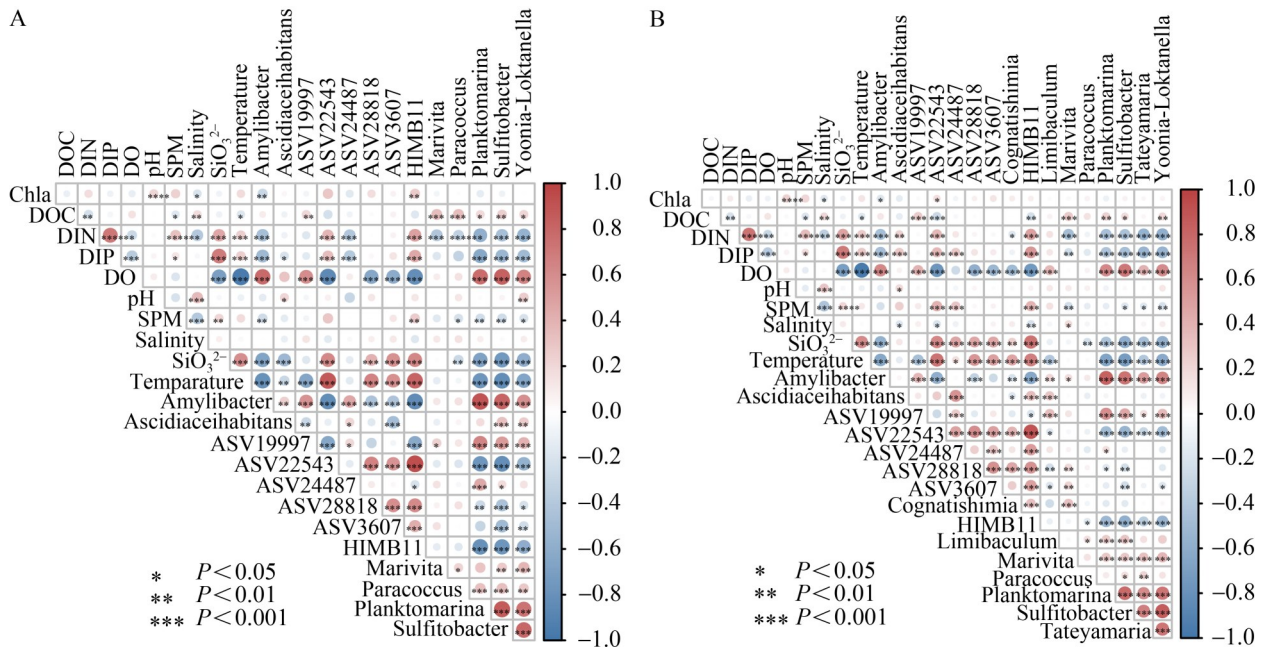


图6 玫瑰杆菌主要类群与环境因子相关性分析

Figure 6 Spearman correlation analysis of major groups of *Roseobacter* and environmental factors. A: FL; B: PA. The correlation between FL and PA communities at the genus level and environmental factors was calculated.

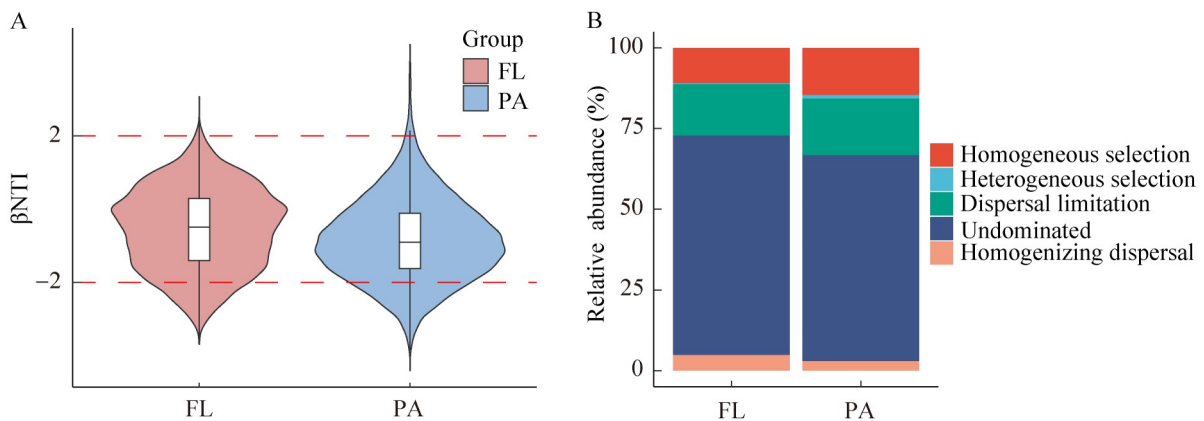


图7 玫瑰杆菌FL类群和PA类群的群落构建分析。A: FL与PA类群的 β NTI值; B: FL和PA类群的聚集过程。

Figure 7 Analysis of community construction of FL and PA taxa of *Roseobacter*. A: The patterns of β NTI for the FL and PA; B: The assembly processes of bacterial community in FL and PA.

3 讨论

3.1 玫瑰杆菌类群的季节性变化

目前已有一些研究对近岸微生物群落的时

间序列变化进行了探讨, 揭示了总细菌古菌 FL 和 PA 群落在时间尺度上的差异性和环境驱动因素。Zhang 等^[17]针对青岛近岸时间序列样品的研究表明, 总细菌古菌群落的 FL 与 PA 均呈现年

周期变化, 并且 PA 群落的多样性大于 FL 群落。本研究聚焦于 α 变形菌纲中的玫瑰杆菌类群, 作为近岸的重要主导类群, 其 FL 和 PA 类群同样具有年周期变化的特征, 且 PA 类群的多样性大于 FL 类群。然而较整体微生物群落而言, 玫瑰杆菌类群的 FL 类群的短期波动程度较为显著(周间、月间), 且类群多样性的短期变化幅度也相对更大。除此之外, 我们发现玫瑰杆菌 ASV 分布模式除了分为夏秋偏好和冬春偏好型之外, 还展现出暴发式增长的特征。这意味着玫瑰杆菌对于突发环境变化的响应能力较强, 当环境中出现富营养化现象时能够迅速繁衍并占据竞争优势, 与整体微生物群落相比, 玫瑰杆菌的这种特性可能反映出其在近岸生态系统中更为灵活的生态适应机制。

另一项研究发现, 玫瑰杆菌类群的丰度倾向于在冬季和春季达到峰值, 此时海水环境中的各类营养盐的浓度较低, 但初级生产力较高, 藻类浮游植物处于快速生长的阶段。相比之下, 在浮游植物快速繁殖期间, 玫瑰杆菌具有更高的代谢活性, 这与单菌株水平的研究一致^[15]。Alonso-Gutiérrez 等^[26]在对西班牙北部海岸的微生物群落动态变化的研究中也表明, 玫瑰杆菌类群很好地适应了营养更丰富的地区, 即主要在温带至极地地区的中营养区, 并且更容易对浮游植物水华动态做出反应。

青岛近岸的时间序列样品也印证了这一点, 玫瑰杆菌 2 种不同生活方式的类群都呈现出显著的季节性模式, 即在冬季的 1 月初至春季 5 月末期有着较高的相对丰度, 而在除夏季暴发期(7-8 月)以外的其他时期保持相对较低的丰度。玫瑰杆菌类群的 FL 类群具有更高的相对丰度, 其在 2 月中旬和藻类暴发时期的 7 月下旬最高占据整个 FL 类群的 33%, 而 PA 类群在春季丰富时期最高占到总 PA 类群的 14%。

许多研究比较了不同水生环境中的颗粒附着和自由生活群落, 发现自由生活的细菌群落通常丰度更高, 但颗粒附着群落的组成更为丰

富^[27]。对于物种多样性而言, 通过计算多样性指数发现, 整体上 PA 类群的 Shannon 和 Chao1 指数显著高于 FL 类群($P < 0.001$), 表明颗粒附着类群的物种丰富度远高于自由生活类群。

除了观察到丰度的季节性变化以外, 玫瑰杆菌类群的群落结构也存在着主导群体的快速交替现象。对于 FL 类群来说, 冬春季的群落由海洋浮游菌属、淀粉杆菌属、亚硫酸盐杆菌属和居海鞘菌属主导, 从 12 月最后一周开始出现急剧上升的趋势, 直至 7 月初期下降到极低水平, 表明这些属可能偏向于通过利用浮游植物生长所产生的多种营养物质来维持较高的丰度, 但随着夏季的到来, 温度升高和浮游植物的生物量降低, FL 类群的丰度迅速下降。在 7-12 月时期, 类群主要由 ASV22543、HIMB11 组成, 表明这类属在夏秋季节时通过利用浮游植物残体和其他有机物质来维持生长, 从而在该时期内占据了较高的丰度。相比之下, PA 类群的组成变化较为复杂, 且其丰度的变化不像 FL 类群那样剧烈。副球菌属在全年度均有分布, 并且其丰度较为稳定, 始终占据较高的相对丰度。PA 类群的其他组成类群, 如 ASV22543、HIMB11、海洋浮游菌属、亚硫酸盐杆菌属等在各自主导时期内与 FL 类群的组成变化较为相似, 但其丰度变化不如 FL 类群剧烈。PA 类群的丰度波动可能与其较为复杂的群落结构和对环境变化的适应性有关, 表明这些类群适应不同营养条件和环境波动的能力更强。值得注意的是, Simon 等^[28]在海洋沿海环境中发现, 在浮游植物水华期间, PA 类群通过附着在颗粒物或悬浮藻类的表面, 利用浮游植物暴发期间大量释放的营养物质和代谢底物(如溶解有机物、磷酸盐、氮源等), 这使得颗粒附着生活的细菌短时间内获得了丰富的生长资源, 因此在藻类暴发时期也出现了和 FL 类群相似的短期峰值。值得注意的是, 2021 年 7 月至 8 月玫瑰杆菌的多样性指数和丰度明显高于 2020 年同期, 但同期环境因子分析表明, 两年度的营养盐参数并

无显著差异。然而, 有关报道显示, 2021年7月至8月采样区域的浒苔暴发规模远超2020年, 同期浒苔覆盖面积是2020年的9倍, 这一现象可能导致了玫瑰杆菌的大规模生长。因此, 我们推测2021年玫瑰杆菌的多样性和丰度显著升高, 可能主要受到了浒苔暴发强度的驱动, 这进一步表明水华事件对近岸微生物群落具有显著的影响。

3.2 环境因素对玫瑰杆菌的影响

已有研究表明, 异养细菌的生长和活动因浮游植物暴发期间有机物和营养物质供应增加而增强^[29], 而细菌的代谢过程, 如有机物的分解, 也因温度升高而增强^[30]。Gregory Caporaso等^[31]在对英吉利海峡的研究中也发现温度是对海洋生态的主要制约因素, 可能是微生物群落组成的主要决定性因素^[32]。在河口、近岸海域等高度动态变化的生态系统中, 物理化学因素(如温度、DOC、营养盐等)对微生物多样性的影响比生物因素更为重要^[33]。在对环境因素相关性的研究中也证实了这一点, 对于2种生活方式的玫瑰杆菌类群而言, 温度是影响二者最主要的环境因素。冬春季优势型的属如海洋浮游菌属、淀粉杆菌属等, 对于温度表现出显著的负相关性; 夏秋季优势型的属如HIMB11对于温度则呈现正相关性。整体而言, 不论是夏秋丰富型的属还是春冬丰富型的类群, 对于温度的响应都很显著($P < 0.001$)。

对于不同优势时期的属来说, 拥有相似丰度变化类型的属对于营养盐的偏好也是相似的。冬春季优势型的属对于DOC呈正相关($P < 0.05$), 对DO呈显著正相关($P < 0.001$), 而对于各类营养盐(DIN、DIP、 SiO_3^{2-})呈显著负相关($P < 0.001$); 夏秋季优势型的属对于DO呈显著负相关($P < 0.001$), 而对于各类营养盐(DIN、DIP、 SiO_3^{2-})都呈显著正相关($P < 0.001$)。这表明相同生活方式的类群除温度以外对于DO、DOC以及各类营养盐的偏好近乎一致, 这印证了物理化学因子是对于近岸海洋玫瑰杆菌类群结构和

丰度季节性交替变化最重要的影响因素。

CCA分析和零模型群落构建结果也表明, 环境因素对于PA类群起到了相对更大的影响, PA类群的物种由于受到了更强烈的生态环境因素变化的影响, 物种适应不同环境的程度更为明显, 但由于与PA类群物种对特定附着颗粒的依赖性较强, 因此空间分布受限较为明显。相比之下, FL类群物种竞争较为均衡且由不同季节时期的优势类群主导, 群落结构趋向均质化使得对环境变化的反应程度更为剧烈。二者都表现出较高的随机性过程, 这可能说明在青岛近岸海域受到季节性变化的多样性和区域环境的一致性, 使得生态选择压力较为均衡, 生态选择压力相对较弱, 群落的组装过程不再由单一的环境选择因素主导, 而更多受到随机过程和生态过程的影响。对于暴发式增长型的类群, 如海生杆菌属、近沈氏菌属等, 温度显然不是制约其生长繁殖的关键因素。Lucas等^[34]在北海细菌浮游生物年际动态的研究中指出, 由温度驱动的核心类群的更替在短期事件(如浮游植物暴发)期间会被其他机会主义物种所打断。因为在暴发期间, 植物的大量生长使得底物供应增加, 这有利于一些在富营养条件下具有生长优势的类群, 从而导致这些类群出现短期的峰值。对于这一类暴发的优势属而言, 其对藻类的依赖性是显而易见的。伴随着藻类的生长, 这一类生活模式细菌的丰度在营养暴发期从0迅速增长至接近总微生物群落的30%, 其变化程度是剧烈的。未来或许可以将这一类细菌作为海水富营养化的指示物种, 尤其是在季节性变化多样且水华现象频繁的近岸海域。

4 总结

本研究表明, 玫瑰杆菌类群在近岸生态系统中具有显著的季节性变化, 其丰度与环境因子(尤其是温度和营养盐浓度)的动态变化密切相关。在冬春季节, 玫瑰杆菌类群的丰度较高, 受益于浮游植物快速生长过程中释放的大量溶

解有机碳，为其提供了充足的营养物质。在夏秋季节，部分物种通过利用浮游植物暴发期间大量释放的营养物质、代谢底物和浮游植物残体，在短时间内出现暴发增长的现象。FL 类群表现出更强的季节性规律，而 PA 类群具有更高的多样性，并且对环境变化的响应程度更为显著。在群落构建方面，PA 类群受到确定性过程的更大影响，说明其对环境变化更为敏感。本研究基于精细时间尺度的动态分析，为深入理解玫瑰杆菌类群的时空分布特征及其环境驱动机制提供了重要的科学依据，也为进一步理解玫瑰杆菌在近岸海洋生态系统中的生态功能及其潜在作用提供了重要的参考。

作者贡献声明

赵孝良：数据收集和处理、论文撰写及修改；张钰琳：实验操作、数据收集、论文修改；刘振刚：部分数据处理；张晓华：研究构思和命题；张蕴慧：研究结构设计、论文修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] RAPPÉ MS, VERGIN K, GIOVANNONI SJ. Phylogenetic comparisons of a coastal bacterioplankton community with its counterparts in open ocean and freshwater systems[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 33(3): 219-232.
- [2] LUO HW, MORAN MA. Evolutionary ecology of the marine *Roseobacter* clade[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2014, 78(4): 573-587.
- [3] WIETZ M, GRAM L, JØRGENSEN B, SCHRAMM A. Latitudinal patterns in the abundance of major marine bacterioplankton groups[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2010, 61(2): 179-189.
- [4] GONZÁLEZ JM, SIMÓ R, MASSANA R, COVERT JS, CASAMAYOR EO, PEDRÓS-ALIÓ C, MORAN MA. Bacterial community structure associated with a dimethylsulfoniopropionate-producing North Atlantic algal bloom[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10): 4237-4246.
- [5] VOGET S, WEMHEUER B, BRINKHOFF T, VOLLMERS J, DIETRICH S, GIEBEL HA, BEARDSLEY C, SARDEMANN C, BAKENHUS I, BILLERBECK S, DANIEL R, SIMON M. Adaptation of an abundant *Roseobacter* RCA organism to pelagic systems revealed by genomic and transcriptomic analyses[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(2): 371-384.
- [6] BILLERBECK S, WEMHEUER B, VOGET S, POEHLEIN A, GIEBEL HA, BRINKHOFF T, GRAM L, JEFFREY WH, DANIEL R, SIMON M. Biogeography and environmental genomics of the *Roseobacter*-affiliated pelagic CHAB-I-5 lineage[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1(7): 16063.
- [7] FALKOWSKI PG, FENCHEL T, DELONG EF. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles[J]. *Science*, 2008, 320(5879): 1034-1039.
- [8] TODD JD, CURSON AJ, DUPONT CL, NICHOLSON P, JOHNSTON AB. The *dddP* gene, encoding a novel enzyme that converts dimethylsulfoniopropionate into dimethyl sulfide, is widespread in ocean metagenomes and marine bacteria and also occurs in some *Ascomycete* fungi[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(6): 1376-1385.
- [9] THUME K, GEBSER B, CHEN L, MEYER N, KIEBER DJ, POHNERT G. The metabolite dimethylsulfoxonium propionate extends the marine organosulfur cycle[J]. *Nature*, 2018, 563(7731): 412-415.
- [10] CHEN Y, PATEL NA, CROMBIE A, SCRIVENS JH, COLIN MURRELL J. Bacterial flavin-containing monooxygenase is trimethylamine monooxygenase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(43): 17791-17796.
- [11] BUCHAN A, LeCLEIR GR, GULVIK CA, GONZÁLEZ JM. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(10): 686-698.
- [12] SINGH S, KUMAR V, KAPOOR D, KUMAR S, SINGH S, DHANJAL DS, DATTA S, SAMUEL J, DEY P, WANG SQ, PRASAD R, SINGH J. Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions[J]. *Physiologia Plantarum*, 2020, 168(2): 301-317.
- [13] 蒋雪蕾, 周晓见, 林佳宁, 亢振军, 刘青. 黄海浒苔绿潮生态效应研究进展[J]. *海洋环境科学*, 2021, 40(4): 647-652.
- JIANG XL, ZHOU XJ, LIN JN, KANG ZJ, LIU Q. Research progress in the ecological consequences of *Ulva prolifera* green tides in the Yellow Sea[J]. *Marine Environmental Science*, 2021, 40(4): 647-652 (in Chinese).
- [14] BUCHAN A, GONZÁLEZ JM, MORAN MA. Overview of the marine *Roseobacter* lineage[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(10): 5665-5677.
- [15] GILBERT JA, STEELE JA, GREGORY CAPORASO J, STEINBRÜCK L, REEDER J, TEMPERTON B, HUSE SS, McHARDY AC, KNIGHT R, JOINT I, SOMERFIELD P, FUHRMAN JA, FIELD D. Defining seasonal marine microbial community dynamics[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 298-308.
- [16] NEWTON RJ, GRIFFIN LE, BOWLES KM, MEILE C, GIFFORD S, GIVENS CE, HOWARD EC, KING E,

- OAKLEY CA, REISCH CR, RINTA-KANTO JM, SHARMA S, SUN SL, VARALJAY V, VILA-COSTA M, WESTRICH JR, MORAN MA. Genome characteristics of a generalist marine bacterial lineage[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(6): 784-798.
- [17] ZHANG YL, LIU JW, SONG DR, YAO P, ZHU SD, ZHOU Y, JIN J, ZHANG XH. Stochasticity-driven weekly fluctuations distinguished the temporal pattern of particle-associated microorganisms from its free-living counterparts in temperate coastal seawater[J]. *Water Research*, 2024, 248: 120849.
- [18] WALTERS W, HYDE ER, BERG-LYONS D, ACKERMANN G, HUMPHREY G, PARADA A, GILBERT JA, JANSSON JK, CAPORASO JG, FUHRMAN JA, APPRILL A, KNIGHT R. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys[J]. *mSystems*, 2016, 1(1): e00009-15.
- [19] NAIK T, SHARDA M, LAKSHMINARAYANAN CP, VIRBHADRA K, PANDIT A. High-quality single amplicon sequencing method for illumina MiSeq platform using pool of 'N' (0-10) spacer-linked target specific primers without PhiX spike-in[J]. *BMC Genomics*, 2023, 24(1): 141.
- [20] BOLYEN E, RIDEOUT JR, DILLON MR, BOKULICH NA, ABNET CC, AL-GHALITH GA, ALEXANDER H, ALM EJ, ARUMUGAM M, ASNICAR F, BAI Y, BISANZ JE, BITTINGER K, BREJNROD A, BRISLAWN CJ, TITUS BROWN C, CALLAHAN BJ, CARABALLO-RODRÍGUEZ AM, CHASE J, COPE EK, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 852-857.
- [21] WANG Q, GARRITY GM, TIEDJE JM, COLE JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [22] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNER FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(Database issue): D590-D596.
- [23] 陈正浩, 张永雨, 杨素萍. 海洋玫瑰杆菌类群研究进展[J]. *生态学报*, 2015, 35(5): 1620-1629.
CHEN ZH, ZHANG YY, YANG SP. Research progresses of marine *Roseobacter* lineage[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(5): 1620-1629 (in Chinese).
- [24] CHAO A, BUNGE J. Estimating the number of species in a stochastic abundance model[J]. *Biometrics*, 2002, 58(3): 531-539.
- [25] STEGEN JC, LIN XJ, FREDRICKSON JK, CHEN XY, KENNEDY DW, MURRAY CJ, ROCKHOLD ML, KONOPKA A. Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(11): 2069-2079.
- [26] ALONSO-GUTIÉRREZ J, LEKUNBERRI I, TEIRA E, GASOL JM, FIGUERAS A, NOVOA B. Bacterioplankton composition of the coastal upwelling system of 'Ría de Vigo', NW Spain[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(3): 493-505.
- [27] GHIGLIONE JF, MEVEL G, PUJO-PAY M, MOUSSEAU L, LEBARON P, GOUTX M. Diel and seasonal variations in abundance, activity, and community structure of particle-attached and free-living bacteria in NW Mediterranean Sea[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 54(2): 217-231.
- [28] SIMON M, GROSSART HP, SCHWEITZER B, PLOUG H. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 28: 175-211.
- [29] POMEROY LR, WIEBE WJ. Temperature and substrates as interactive limiting factors for marine heterotrophic bacteria[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2001, 23: 187-204.
- [30] HOPPE HG, BREITHAUP T, WALTHER K, KOPPE R, BLECK S, SOMMER U, JÜRGENS K. Climate warming in winter affects the coupling between phytoplankton and bacteria during the spring bloom: a mesocosm study[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, 51: 105-115.
- [31] GREGORY CAPORASO J, LAUBER CL, WALTERS WA, BERG-LYONS D, LOZUPONE CA, TURNBAUGH PJ, FIERER N, KNIGHT R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(Suppl 1): 4516-4522.
- [32] CHOW CT, SACHDEVA R, CRAM JA, STEELE JA, NEEDHAM DM, PATEL A, PARADA AE, FUHRMAN JA. Temporal variability and coherence of euphotic zone bacterial communities over a decade in the Southern California Bight[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(12): 2259-2273.
- [33] SINTES E, WITTE H, STODDEREGGER K, STEINER P, HERNDL GJ. Temporal dynamics in the free-living bacterial community composition in the coastal North Sea[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(2): 413-424.
- [34] LUCAS J, WICHELS A, TEELING H, CHAFEE M, SCHARFE M, GERDTS G. Annual dynamics of North Sea bacterioplankton: seasonal variability superimposes short-term variation[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(9): fiv099.