

DOI: 10.12264/JFSC2021-0419

夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌多样性及其与环境因子的相关性

赵旺^{1,2,3}, 黄星美^{1,2,3}, 邓正华^{1,2,3}, 温为庚^{1,2,3}, 陈明强^{1,2,3}, 王雨^{1,2,3},
沈铭辉⁴, 夏光远⁴, 张钰伟^{1,2,3}, 于刚^{1,2,3}

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心, 海南 三亚 572018;
3. 三亚热带水产研究院, 海南 三亚 572018;
4. 海南省海洋与渔业科学院 海南 海口 571199

摘要: 美济礁地貌独特、生物资源丰富, 其海域微生物与渔业资源正被开发利用。为了解夏季美济礁潟湖海水养殖区细菌多样性及其与环境因子的相关性, 试验通过高通量测序技术分析了该海区海水细菌的群落结构组成, 探索了主要环境影响因子, 并采用 PICRUSt 对菌群功能进行了预测分析。美济礁潟湖海水细菌群落组成丰富, 分属于 29 个门、57 个纲、152 个目、256 个科、439 个属, 优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)。各个站点的 3 个水层之间的 alpha 多样性指数均存在差异, 但均未达到显著水平。通过冗余分析发现, 主要环境影响因子为盐度、COD/NO₃-N、活性硅酸盐、COD。通过 PICRUSt 功能预测, 微生物功能以新陈代谢(氨基酸代谢、碳水化合物代谢、能量产生与转换)、遗传信息处理(蛋白质翻译与修饰、DNA 复制重组和修复)及信息处理(信号转导机制、辅酶运输、无机离子运输)为主。该研究分析夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌群落结构及其与环境因子的关系, 为认识南海微生物多样性与合理开发利用、海域渔业的发展、生态系统的保护修复提供基础数据。

关键词: 美济礁; 微生物多样性; 功能预测; 环境因子

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)05-0720-12

微生物是海洋生态系统的重要组成部分, 在物质循环、能量流动、信息传递等方面发挥重要作用, 是海洋生物地球化学循环的关键驱动要素^[1-4]。海洋微生物研究已成为研究热点, 包括: 不同时空尺度^[5-10]的微生物多样性、生态学功能^[11-12]、微生物活性物质^[13-15]、油气资源开发^[16]等。了解海水微生物的群落结构与多样性, 进一步明确微生物在该生态系统中的功能^[17], 对海洋生态系统修复及微生物资源合理开发利用等方面具有重要的意义^[18]。此外, 微生物是渔业的重要支撑部分^[19-20], 明确其多

样性对相关海区渔业的发展提供基础资料。

海水中的微生物物种多样性极其丰富, 以传统培养方法分离得到的海洋微生物十分有限, 基于 16S rRNA 基因的克隆、定量 PCR、原位杂交等传统的核酸检测方法对微生物多样性与功能等方面研究存在低通量, 低分辨率、不能定量等局限性^[21-22]; 高通量测序具有通量高、准确性高、灵敏度高等特点, 近年来, 国内外众多研究者将其应用至海水、肠道、沉积物等微生物多样性研究中^[23-27], 使其能够更加精确的检测微生物菌群

收稿日期: 2021-09-13; **修订日期:** 2021-10-03.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0900905); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2021XT02, 2020TD55); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系; 三亚市农业科技创新项目(2019NK13); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2020CY01); 农业农村部财政专项(NHYYSWZZZYKZX2020).

作者简介: 赵旺(1987-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事贝类养殖与水域微生态研究. E-mail: zhaowang522@163.com

通信作者: 于刚, 博士, 研究员, 研究方向为水产品加工与渔业资源开发与利用. E-mail: gyu0928@163.com

的组成、数量等,随着技术的发展与成熟,运行成本进一步降低,该技术已成为微生物研究的利器。

美济礁位于中国南海的南沙群岛中东部海域,地处北纬 9° ,东经 115° 附近。美济礁为椭圆形环礁,东西长约9 km,南北宽约6 km,环礁围绕形成一个水深20余米面积约 30 km^2 以上的潟湖^[28];环礁南部和西南部有3个礁门可供船只通过;西北礁坪已形成陆地,而东南礁坪较浅,退潮时部分礁体露出水面^[29]。美济礁的独特地貌使其成为天然避风良港,也为该海域渔业的发展创造了条件。近年来,中国水产科学研究院南海水产研究所、三沙美济渔业开发有限公司等单位在美济礁潟湖养殖区开展军曹鱼(*Rochycentron canadum*)^[30]、美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[30]、红鳍笛鲷(*Lutjanus erythropterus*)^[30]、鲑点石斑鱼(*Epinephelus fario*)^[30]、尖吻鲈(*Lates calcarifer*)^[31]、合浦珠母贝(*Pteria martensii*)^[32]等种类养殖试验并获得成功,为后续南海渔业的发展奠定坚实的基础。本研究对美济礁潟湖东南部养殖区不同水层的水质进行了调查,利用高通量测序技术分析细菌16S rRNA基因的V3-V4区,通过生物信息学技术分析了细菌的群落组成、多样性及功能,探究夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌多样性及其与环境因子的相关性;以期在美济礁水域的微生态环境提供基础数据,也为南沙微生物资源的合理开发利用、生态系统的保护修复与渔业的发展奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品的采集与处理

在美济礁潟湖养殖区设置了3个样点S1、S2、S3(如图1),采样时间为2019年6月10日。每个

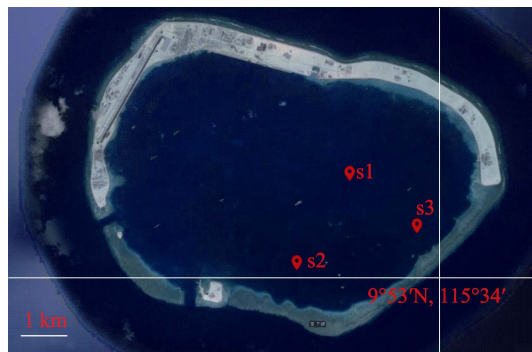


图1 美济礁潟湖采样点示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sampling sites of Mischief Reef lagoon

样点分别采集表层(up, 2 m)、中层(middle, 10 m)和下层(down, 20 m)3个水层水样,分别采集细菌样品、叶绿素测定样品、水质分析样品各3个平行,各样品的采集、处理和保存等均按照《海洋调查规范第6部分:海洋生物调查》(GB/T 12763.6-2007)^[33]规定的方法进行。水温、pH、溶氧、盐度使用550A YSI便携式溶氧仪现场测定。

1.2 细菌基因组DNA的提取

采用试剂盒法(Omega E.Z.N.A.[®] Water DNA Kit)进行水体细菌基因组DNA提取。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测提取的基因组DNA质量, -80°C 保存。

1.3 PCR扩增

委托上海美吉生物医药科技有限公司对水样细菌基因组DNA进行后续实验:PCR扩增区域为细菌16S rDNA V3—V4区,引物为V3—V4区通用引物(338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-G-3', 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),引物两端带有特异的barcode序列,以区别不同样本的PCR扩增产物;随后经PCR产物纯化、定量与均一化、Miseq文库构建,采用Miseq PE300测序平台对PCR产物测序。

1.4 生物信息分析

经Miseq测序获得PE reads,以overlap关系进行拼接,同时对序列进行质控、过滤,得到优化序列。按相似性达97%的非重复序列进行OUT(operational taxonomic units)聚类,采用RDP classifier 贝叶斯算法^[34]对OTU代表序列进行分类学分析,并在细菌分类学水平统计每个样品的群落组成。基于OTU的分析结果,采用对样本序列进行随机抽样的方法,进行丰富度(Chao/Ace)、覆盖率(coverage)和群落多样性(Simpson/Shannon)等指数分析。基于分类学信息进行细菌群落结构的统计分析^[35]。在此基础上对群落组成和系统发育信息进行多元分析和差异显著性检验等统计学和可视化分析。

1.5 水质因子、叶绿素a及活性硅酸盐的测定

使用陆恒LH-T725高精度水质分析仪对采集的海水进行水质分析,参数包括: $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、COD、总磷等,具体操作按仪器相关说明进行。活性硅酸盐-硅含量的测定方法为硅钼黄

分光光度法,海水中微藻叶绿素 a 的含量采用分光光度法测量,具体操作方法参照海洋调查规范 GB12763 进行。

2 结果与分析

2.1 美济礁潟湖海水主要水质参数

为探讨夏季美济礁潟湖主要环境因子与细菌多样性的关系,测定了水质因子结果如表 1 所示。表层水温最高,其次为中层,最低为底层,但总体相差不大,各水层水温均维持在 28℃ 以上;受

洋流及藻类光合作用等因素影响,水体溶氧维持在 6 mg/L 以上;水体 pH 呈弱碱性(8.14~8.19),各水层 pH 差异不显著;各水层盐度保持在 35 左右;NH₃-N 含量较低,为 0.052~0.078 mg/L;NO₂-N 变化范围为 0.0051~0.0069 mg/L;NO₃-N 含量为 1.70~2.10 mg/L;水体总磷为 0.33~0.52 mg/L;SiO₃-Si 为 0.057~0.099 mg/L;水体 COD 为 2.10~2.53 mg/L;叶绿素 a 含量总体较低,为 0.96~2.15 mg/m³,但各水层仍存在显著差异,其中中层水体叶绿素 a 含量最高,其次为表层水,最低为底层水。

表 1 夏季美济礁潟湖海水主要水质因子检测结果

Tab.1 The water quality parameters of Mischief Reef lagoon in summer

温度/℃ temperature	DO/ (mg/L)	pH	盐度 salinity	NH ₃ -N/ (mg/L)	NO ₂ -N/ (mg/L)	NO ₃ -N/ (mg/L)	总磷/(mg/L) total phosphorus	SiO ₃ -Si/ (mg/L)	叶绿素 a/ (mg/m ³) chlorophylla	COD/ (mg/L)
S1_U 28.82±0.03 ^a	6.95±0.08 ^a	8.18±0.03	35.05±0.03 ^{ab}	0.059±0.007 ^{ab}	0.0062±0.0005 ^{abc}	1.77±0.11 ^{ab}	0.33±0.02 ^a	0.057±0.006 ^a	1.52±0.09 ^d	2.10±0.10 ^a
S1_M 28.63±0.04 ^b	6.99±0.13 ^a	8.18±0.03	35.07±0.03 ^a	0.064±0.007 ^b	0.0066±0.0003 ^{bc}	1.76±0.18 ^{ab}	0.37±0.05 ^{ab}	0.069±0.006 ^{ab}	1.88±0.09 ^e	2.12±0.10 ^a
S1_D 28.41±0.03 ^c	6.50±0.13 ^b	8.16±0.03	35.07±0.02 ^a	0.069±0.010 ^{bc}	0.0057±0.0006 ^{abc}	2.10±0.13 ^c	0.40±0.06 ^{bc}	0.074±0.004 ^{bc}	1.31±0.06 ^{bc}	2.28±0.09 ^{abc}
S2_U 28.79±0.04 ^a	6.84±0.18 ^a	8.15±0.03	35.01±0.03 ^{bc}	0.070±0.008 ^{bc}	0.0055±0.0010 ^{ab}	1.88±0.10 ^{abc}	0.45±0.03 ^{cd}	0.090±0.007 ^{de}	1.44±0.09 ^{cd}	2.37±0.05 ^{bcd}
S2_M 28.62±0.05 ^b	6.80±0.06 ^a	8.19±0.02	34.99±0.03 ^c	0.078±0.004 ^c	0.0068±0.0007 ^{bc}	1.70±0.16 ^a	0.50±0.05 ^d	0.081±0.006 ^{bcd}	2.15±0.14 ^f	2.19±0.07 ^{ab}
S2_D 28.38±0.03 ^c	6.46±0.12 ^b	8.15±0.03	35.01±0.02 ^{bc}	0.061±0.005 ^{ab}	0.0069±0.0006 ^c	2.02±0.17 ^{bc}	0.52±0.03 ^d	0.077±0.010 ^{bcd}	1.15±0.06 ^b	2.23±0.11 ^{ab}
S3_U 28.85±0.02 ^a	6.92±0.09 ^a	8.14±0.03	35.02±0.01 ^{bc}	0.052±0.006 ^a	0.0051±0.0004 ^a	1.77±0.11 ^{ab}	0.41±0.04 ^{bc}	0.099±0.006 ^c	1.22±0.16 ^b	2.22±0.11 ^{ab}
S3_M 28.65±0.03 ^b	6.83±0.07 ^a	8.14±0.04	35.00±0.03 ^c	0.064±0.002 ^{ab}	0.0064±0.0006 ^{bc}	1.74±0.17 ^a	0.39±0.02 ^{abc}	0.099±0.011 ^c	1.76±0.08 ^e	2.47±0.20 ^{cd}
S3_D 28.40±0.04 ^c	6.52±0.16 ^b	8.15±0.04	34.98±0.03 ^c	0.060±0.003 ^{ab}	0.0066±0.0010 ^{bc}	1.86±0.16 ^{abc}	0.41±0.02 ^{bc}	0.087±0.010 ^{cde}	0.96±0.08 ^a	2.53±0.11 ^d

注:不同字母表示差异显著(P<0.05)。

Note: Different letters indicate significant differences (P<0.05).

2.2 OTU 分析

从 27 个美济岛潟湖海区海水样品中共获得 1052189 条高质量 reads, 拼接后共获得 1243 个 OTU, 分属于 29 个门、57 个纲、152 个目、256 个科、439 个属; S1 站点表层、中层、底层水体样品 OTU 数分别为: 732、667 和 785 个, S2 站点分别为: 637、712 和 711 个, S3 分别为: 721、655 和 728 个。16S rRNA 的原始序列上传至 GenBank, 登录号为 PRJNA742824。为探究不同站位不同水层微生物多样性, 对 OTU 进行 Venn 图分析(图 2)。结果显示, 所有样本共有的 OTU 为 333 个; 特有 OTU 个数最高为 S1_D (67 个), 其次为 S1_M (34 个), 最低为 S2_U。此外, S1、S2、S3 站点不同水层间共有 OTU 数量分别为: 464、462、489 个, 而表层水、中层水、底层水的不同站点间共有 OTU 数量分别为: 451、422、471 个。

2.3 菌群组成分析

分别从门水平和目水平对美济岛潟湖海水不同水层微生物进行物种群落结构分析, 发现各样品在门水平(图 3)群落结构相似, 优势菌门为: 变形菌门(Proteobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria), 这 4 个门在所有样品中所占比例为 89.68%~91.51%。

而菌群结构在目水平上主要由: 聚球菌目(Synechococcales)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、Puniceispirillales、红螺菌目(Rhodospirillales)、放线假丝菌目(Actinomarinales)、Chloroplast、纤维弧菌目(Cellvibrionales)、红细菌目(Rhodobacterales)等组成(图 2)。

2.4 菌群 Alpha 多样性分析

夏季美济岛潟湖海区海水细菌多样性指数结果见表 2, 所有样品测序深度值都在 0.995 以上,

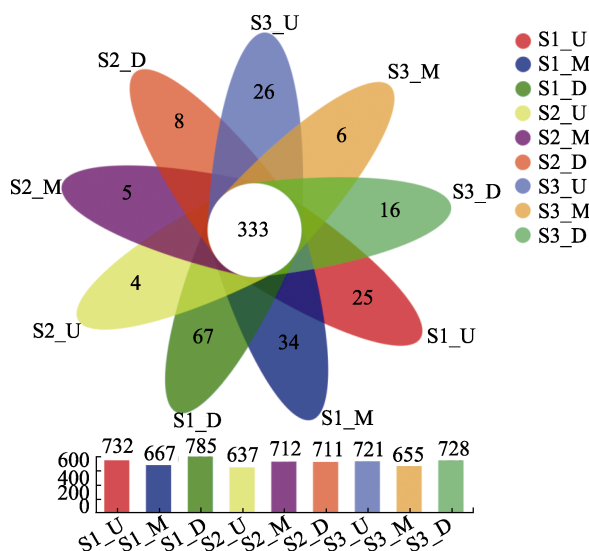


图 2 Venn 图

S1、S2、S3 分别代表 3 个站点, U、M、D 分别表示表层水、中层水和底层水。

Fig. 2 Venn diagram of groups

S1, S2 and S3 respectively represent 3 stations; U, M and D respectively mean surface water, middle water and bottom water, the same below.

说明测序结果很好的覆盖了各样品文库, 未被测出的概率低。菌群 Alpha 多样性指数结果显示: 各个站点的 3 个水层之间的 Ace 指数、Chao 指数、

Shannon 指数、Simpson 指数均存在差异, 但均未达到显著水平。而不同站点的不同水层之间比较发现, 在丰富度指数方面: 除 S1_M 与 S3_U、S3_D 存在显著差异($P<0.05$)外, Ace 指数在其他各样品间无显著差异; Chao 指数分析得出相似结果, 除 S1_M 与 S2_M、S3_U、S3_D 存在显著差异($P<0.05$)外, 其他各样品间无显著差异。群落多样性指数方面, 除 S3_M 与 S1_U、S2_M 差异显著($P<0.05$)外, 各样点不同水层之间 Shannon 指数差异不显著; 而各样点不同水层之间 Simpson 指数差异不显著, 仅在 S2_M 与 S3_M 间存在显著差异($P<0.05$)。

2.5 美济岛潟湖海水细菌群落比较

为比较不同站点不同水层样本的细菌群落相似性, 进行了主成分分析(principal component analysis, PCA, 图 4), 样本间距离越近说明样本间的细菌群落结构越相似^[36]。二维主成分图表示不同站点不同水层样本在第一及第二主成分上的投影, 样本投影距离越远说明样本微生物群落差异越大^[37]。各样本前 2 个主成分 PC1、PC2 所占比例为 81.86%、4.83%, 说明这二者是影响微生物群落差异的主要因素, 其中 PC1 最为主要。各

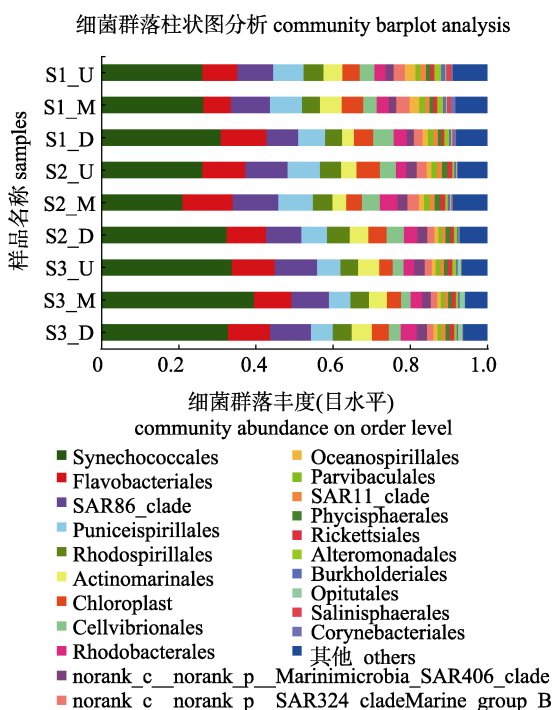
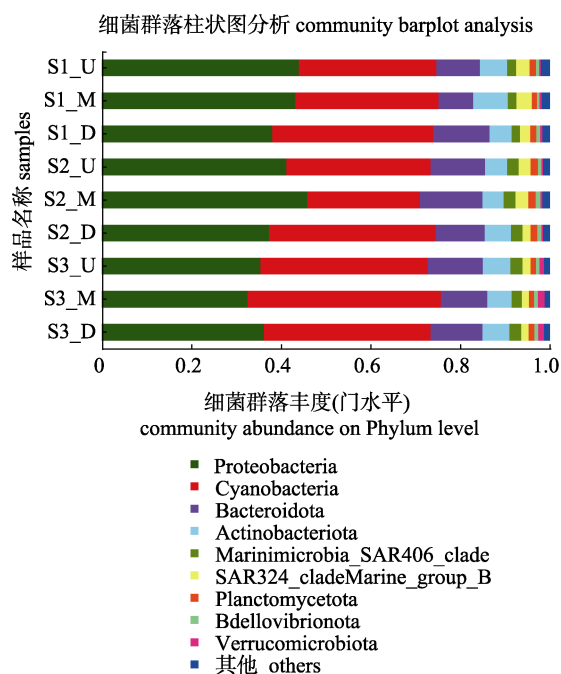


图 3 菌群组成柱状图——门水平和目水平

Fig. 3 Relative abundance at phylum level and orders level of bacterial communities of samples

表 2 菌群 α 多样性指数
Tab. 2 α-diversity indices of each sample

组别 group	测序深度 coverage	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
S1_U	0.997±0	662.00±109.40 ^{ab}	613.19±67.58 ^{ab}	3.92±0.16 ^b	0.069±0.013 ^{ab}
S1_M	0.998±0.001	500.79±67.77 ^a	502.71±63.66 ^a	3.85±0.27 ^{ab}	0.077±0.044 ^{ab}
S1_D	0.997±0.001	627.86±76.46 ^{ab}	622.66±67.47 ^{ab}	3.78±0.46 ^{ab}	0.101±0.071 ^{ab}
S2_U	0.997±0.001	667.23±129.30 ^{ab}	639.96±83.92 ^{ab}	3.81±0.13 ^{ab}	0.07±0.019 ^{ab}
S2_M	0.997±0.001	689.32±81.90 ^{ab}	655.32±34.70 ^b	3.96±0.29 ^b	0.058±0.025 ^a
S2_D	0.997±0.001	651.14±97.75 ^{ab}	631.72±97.46 ^{ab}	3.60±0.42 ^{ab}	0.105±0.057 ^{ab}
S3_U	0.996±0	757.49±58.85 ^b	680.39±42.09 ^b	3.53±0.15 ^{ab}	0.112±0.018 ^{ab}
S3_M	0.996±0	655.83±87.72 ^{ab}	632.11±41.74 ^{ab}	3.33±0.32 ^a	0.15±0.053 ^b
S3_D	0.996±0.001	781.98±161.83 ^b	734.34±123.49 ^b	3.67±0.09 ^{ab}	0.089±0.007 ^{ab}

注：同一列中，上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Different superscript letters mean significant difference ($P<0.05$).

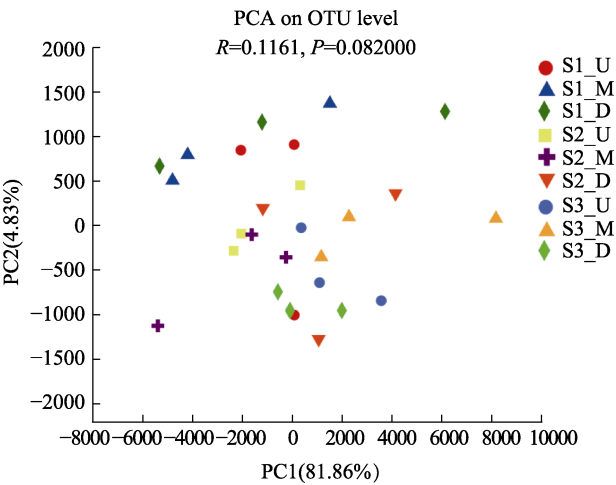


图 4 PCA 分析
Fig. 4 Principal component analysis (PCA)

样本在 PC1 轴上的投影结果显示，样点 S1 和 S2 的表层水投影范围约为-2000~0，中层水为-6000~1000，而 S3 样点与 S1 和 S2 存在差异，其表层水为 0~4000，中层水为 1000~8000；样点 S2 和 S3 底层水在 PC1 上投影分别为-2000~4000、-1000~2000，S1 样点投影范围更广，为-6000~ 6000。从整体上看，PC1 和 PC2 均不能很好的将各样点与各水层的样本区分开来，说明美济岛潟湖海水微生物群落结构较为相近。

2.6 环境因子关联分析

影响夏季美济礁潟湖海水细菌多样性的因素很多，通过冗余分析(redundancy analysis, RDA)反映主要环境因子(温度、盐度、pH、溶氧、氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮、活性硅酸盐、总磷、总

叶绿素、压强、COD、水深等)与样点菌群间的相关性(图 5a)。通过连线箭头的长短表明，对美济礁潟湖海水细菌群落影响最大的水质因子为盐度，其次为 COD/NO₃-N、活性硅酸盐、COD，而溶氧、NO₂-N、温度、压强、水深等水质因子的影响相对较小。此外，第一轴 RDA1 可解释 68.26%细菌群落变异性，第二轴 RDA2 可解释 4.00%。与第一轴呈明显正相关环境因子是 COD、活性硅酸盐、COD/NO₃-N，说明细菌丰富度与这 3 个环境因子呈正相关；而盐度、NH₃-N、总叶绿素与第一轴呈明显负相关，即细菌丰富度随这 3 个环境因子值的增加而降低。与第二轴呈明显正相关的环境因子为盐度、pH、NO₃-N、总叶绿素，而总磷、COD/NO₃-N、活性硅酸盐、COD 与第二轴呈明显的负相关。科水平总丰度前 20 的细菌与水质因子的相关性以热图结果呈现(图 5b)，烷烃降解菌科与盐度、pH 呈显著正相关，与活性硅酸盐、COD 呈显著负相关；外硫红螺旋菌科与 COD 呈显著负相关；Actinomarinaceae 与 NO₃-N 呈显著负相关；Phycisphaeraceae 与盐度呈显著负相关；黄杆菌科与活性硅酸盐呈显著正相关，与盐度呈显著负相关；Cyanobiaceae 与 COD 呈显著正相关，与 NH₃-N 呈显著负相关；Puniceicoccaceae 与活性硅酸盐、COD 呈显著正相关，与盐度呈显著负相关；Halieaceae 与 NH₃-N 呈显著正相关，与活性硅酸盐呈显著负相关；Cryomorphaceae 与 NO₃-N、水深、压强呈显著正相关，与温度、溶氧呈显著

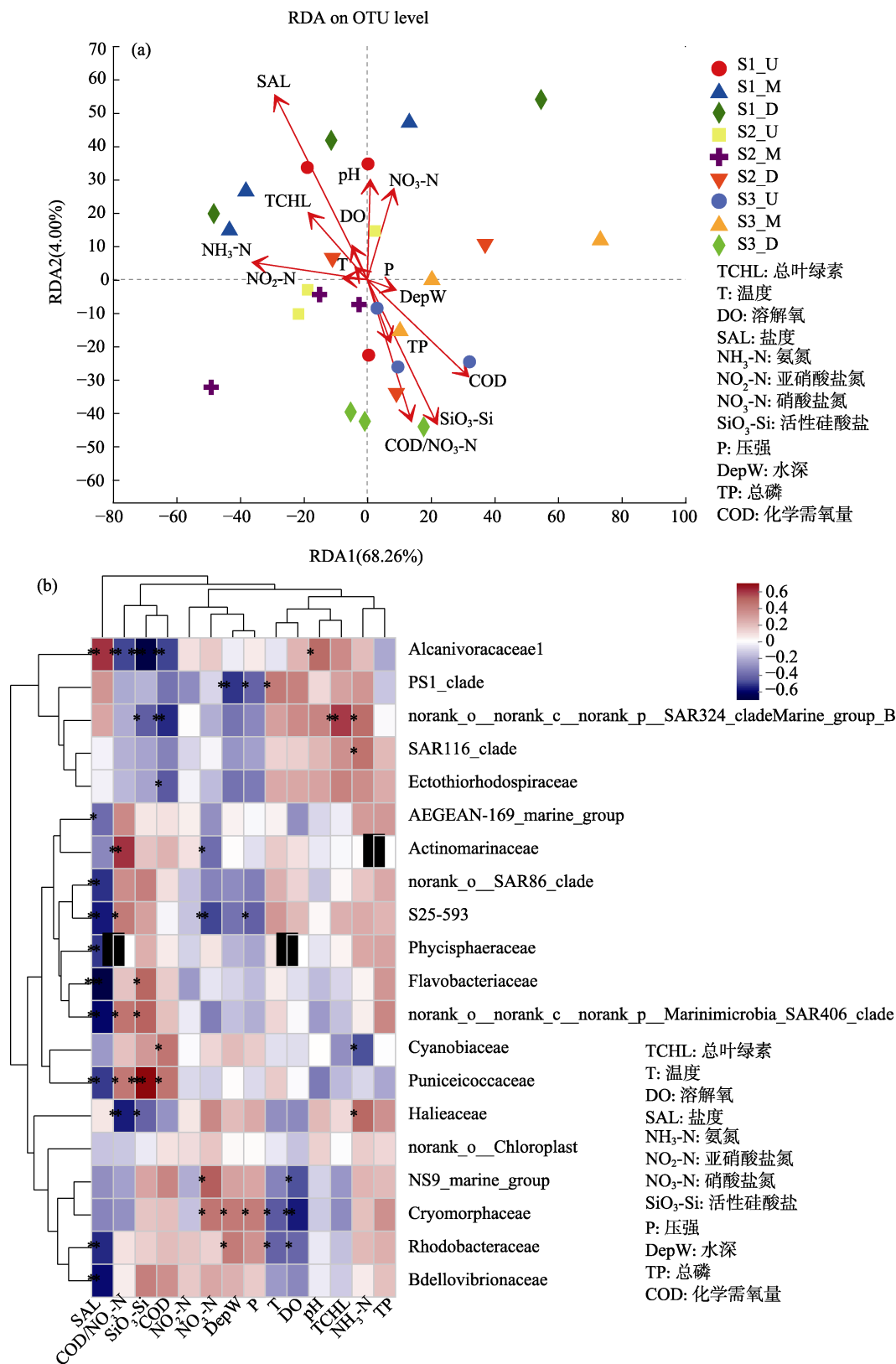


图 5 水质因子与菌群的关系

(a) 环境因子与菌群相关性; (b) 细菌与水质因子关系热图.

Fig. 5 Relationship between water quality factors and microbial community

(a) relationship between bacteria and environmental factors; (b) hot map of the relationship between bacteria and water factors.

负相关;红细菌科与水深呈显著正相关,与温度、溶氧呈显著负相关;蛭弧菌科与盐度呈显著负相关。

2.7 菌群功能预测

通过 PICRUSt 对 OTU 丰度表进行标准化,去除 16S marker gene 在物种基因组中的 copy 数目的影响,然后通过每个 OTU 对应的 greengene id,对 OTU 进行 COG 功能注释,获得 OTU 在 COG

各功能水平的注释信息及各功能在不同样本中的丰度信息^[38],结果见图 6。各样点细菌功能无显著差异,主要功能相对丰度相近,说明各样点微生物在水体中发挥主要的功能相似。相对丰度在 5% 以上的主要功能有:能量产生与转换、(氨基酸、碳水化合物、辅酶、无机离子等)运输和代谢、蛋白质翻译与修饰、DNA 复制重组和修复、信号转导机制等。

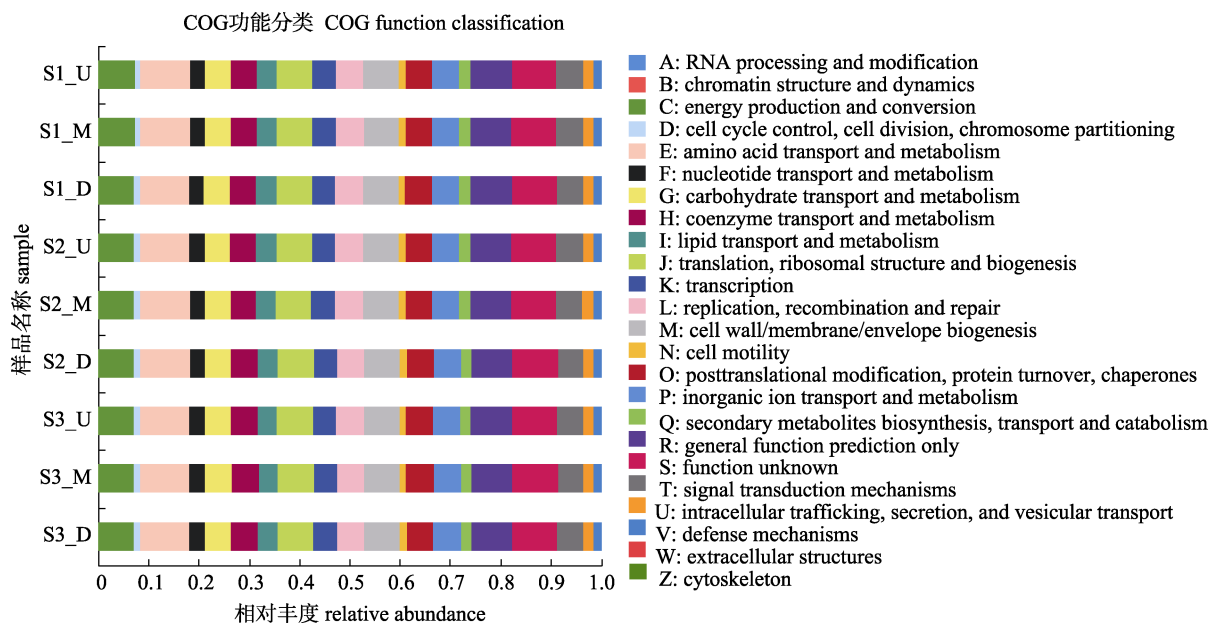


图 6 菌群功能预测

Fig. 6 PICRUSt function prediction of microbial community

3 讨论

群落结构是微生物自身及外部因子相互作用形成的,是其发挥其生态学功能的基础^[17]。多样性指数是利用数学统计方法测度特定区域或生态系统中群落的物种数、个体数量及各物种均匀程度等方面的常用参数^[21],如反映群落丰度的 Chao 指数、ACE 指数,反映群落均匀度的 Simpson 指数,反映群落多样性的 Shannon 指数等。本研究发现,夏季美济礁潟湖海水不同水层微生物中变形菌门(平均比例为 39.2%)、蓝细菌门(34.4%)占绝对优势,其次为拟杆菌门(11.3%)、放线菌门(5.8%)。相关近岸海水菌群结构研究发现,海南后水湾网箱养殖区海水微生物以变形菌门(52.30%)、厚壁菌门(32.29%)、拟杆菌门(5.50%)、放线菌门

(4.88%)、蓝细菌门(3.35%)^[19]为主;渤海湾变形菌门的平均丰度为 39.8%,辽东湾为 37.8%,莱州湾为 59%,各湾断面优势物种的类别均为变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、放线菌门及浮霉菌门^[39];长岛海区以变形细菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、浮霉菌门、放线菌门为主^[40]。但本研究结果与养殖海水微生物群落结构存在较大差异,张健龙等^[41]发现凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)养殖过程中挂膜式生物滤器内微生物主要为变形菌门(约 40%)、拟杆菌门(约 25%)、厚壁菌门(8%)、硝化螺旋菌门(5%)、浮霉菌门(5%);而在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼养殖水体中变形菌门比例高达 70%,其次为拟杆菌门(约 18%)^[26]。此外,本研究发现,美济礁潟湖海水微生物 Shannon 指数为 3.33~3.96,与外海区相当^[40],但低于近岸海水及

养殖海水^[40-42]。美济礁潟湖海水微生物组成与近岸海水相似,在比例的上存在差异,这可能与地球化学循环有关,且自然海区较大,其菌群结构主要受所处环境因子影响,因而近、远海差异相对较小;而美济礁潟湖海水与受人类影响较大的养殖海水相比,在菌群结构及多样性指数方面差异较大,说明海水菌群结构还受人为因素的影响,尤其是人类养殖活动中的饵料、环境调控、养殖生物等可显著影响菌群结构。

环境是影响海洋细菌多样性的关键因素^[43],通常包括:水温、盐度、pH、溶氧、营养盐、水压、光照等。本研究发现,影响夏季美济礁潟湖海水菌群多样性的主要环境因子为盐度、COD/NO₃-N、活性硅酸盐和 COD; 研究中所选的环境因子总影响率为 72.26%, 其余影响作用可能来自未测定的其他环境因子及环境外力,包括动植物的竞争和扰动、微量金属元素和有机污染物的影响等^[44-45]。盐度是决定水域菌群结构的重要环境因子,在不同盐度环境中的菌群结构具有独特性,例如随着盐度的增加,波罗的海的 α -变形杆菌和 γ -变形杆菌有显著增加的趋势,而 β -变形杆菌、放线菌门和疣微菌门显著降低^[46]; 美济礁地处南海,远离大陆,不受地表径流影响,终年盐度维持在 35 左右,在该条件下盐度可通过渗透压^[47-48]、维持海水盐度的金属离子^[48]及其相关转运蛋白^[49]等来影响该水域菌群结构。营养盐与有机物是海水环境中微生物新陈代谢的物质基础, COD 是衡量水体中有机物多少的重要指标^[50], COD/NO₃-N 反映了水体中有机物与 NO₃-N 的相对含量,该值对微生物群落结构的影响作用显著,水体中的有机物为 Cyanobiaceae 科、Puniceicoccaceae 科微生物提供了生存所需物质,同时也限制了烷烃降解菌科、外硫红螺旋菌科微生物的丰度; 此外, NO₃-N 可作为该海区主要细菌类群——蓝细菌的营养盐而影响菌群多样性,也可能与海水中 NO₃-N 具有电子受体功能有关^[43]。硅在海水中主要以溶解态单体正硅酸盐[Si(OH)₄]的形式存在,其与海洋碳循环以及生物泵密切相关^[51]。已有研究发现,活性硅酸盐可影响大西洋西北部河口区浮游微生物群落结构^[52]。美济礁潟湖海水烷烃降解菌科、

Phycisphaeraceae、Puniceicoccaceae、Haliaceae 等微生物受活性硅酸盐含量的影响显著,其影响机制可能与硅藻有关。硅藻是海洋中最重要的初级生产者之一,占海水初级生产力的 40%左右^[53],在美济礁潟湖海水中硅藻也是主要的优势浮游藻类^[28],活性硅酸盐作为重要营养盐控制硅藻的生物量,进而决定藻际细菌的结构,成为影响美济礁潟湖海水微生物的重要环境因子。其他研究结果证实菌群结构与水深有关^[54],而本研究发现美济礁潟湖海水菌群组成相近,这可能与美济礁潟湖水深较浅,在海流的影响下表层、中层、底层水之间相互交换有关。

利用高通量测序技术主要对海水微生物结构及多样性进行分析,关于其功能研究相对较少。PICRUSt 功能预测分析结合 16S rRNA 基因的高通量测序解答微生物群落组成是什么、种群有什么功能等问题^[55-56]。本研究通过 PICRUSt 对夏季美济礁潟湖海水微生物功能进行,结果表明不同水层之间菌群结构存在一定差异,但是生态功能相似,均以新陈代谢(氨基酸代谢、碳水化合物代谢、能量产生与转换)、遗传信息处理(蛋白质翻译与修饰、DNA 复制重组和修复)及信息处理(信号转导机制、辅酶运输、无机离子运输)为主,这一结果与附着类细菌相似^[57],各功能涵盖了细菌的基本生命活动,也证明夏季美济礁潟湖海水微生物具有参与生态系统物质循环的能力。

4 小结

本研究使用高通量测序技术分析了夏季美济礁潟湖海水细菌的群落结构组成,并进行了功能预测分析。结果显示:美济礁潟湖海水细菌群落组成丰富,其主要环境影响因子为盐度、COD/NO₃-N、活性硅酸盐、COD。微生物功能以新陈代谢、遗传信息处理及信息处理为主。该研究为认识南海海洋微生物多样性与合理开发利用、海域渔业的发展、生态系统的保护修复提供基础数据和理论支撑。

参考文献:

- [1] Galand P E, Salter I, Kalenitchenko D. Ecosystem productivity is associated with bacterial phylogenetic distance in

- surface marine waters[J]. *Molecular Ecology*, 2015, 24(23): 5785-5795.
- [2] Biller S J, Berube P M, Dooley K, et al. Marine microbial metagenomes sampled across space and time[J]. *Scientific Data*, 2018, 5: 180176.
- [3] Zhang X X, Xu W, Liu Y, et al. Metagenomics reveals microbial diversity and metabolic potentials of seawater and surface sediment from a hadal biosphere at the Yap trench[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2402.
- [4] Grzymski J J, Dussaq A M. The significance of nitrogen cost minimization in proteomes of marine microorganisms[J]. *Journal of the International Society for Microbial Ecology*, 2012, 6(1): 71-80.
- [5] Hugoni M, Taib N, Debroas D, et al. Structure of the rare archaeal biosphere and seasonal dynamics of active ecotypes in surface coastal waters[J]. *PNAS*, 2013, 110(15): 6004-6009.
- [6] Auladell A, Barberán A, Logares R, et al. Seasonal niche differentiation among closely related marine bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(1): 178-189.
- [7] DeLong E F, Preston C M, Mincer T, et al. Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean & apos; s interior[J]. *Science*, 2006, 311(5760): 496-503.
- [8] Schauer R, Bienhold C, Ramette A, et al. Bacterial diversity and biogeography in deep-sea surface sediments of the South Atlantic Ocean[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(2): 159-170.
- [9] Wang M M, Ma Y Y, Feng C H, et al. Diversity of pelagic and benthic bacterial assemblages in the western Pacific Ocean[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1730.
- [10] Ladau J, Sharpton T J, Finucane M M, et al. Global marine bacterial diversity peaks at highlatitudes in winter[J]. *Journal of the International Society for Microbial Ecology*, 2013, 7(9): 1669-1677.
- [11] Shilova I N, Robidart J C, Tripp H J, et al. A microarray for assessing transcription from pelagic marine microbial taxa[J]. *Journal of the International Society for Microbial Ecology*, 2014, 8(7): 1476-1491.
- [12] Fuhrman J A, Cram J A, Needham D M. Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(3): 133-146.
- [13] Yu Y. Chemical constituents of *Enpenicillium* sp. from deep-sea derived extremophile[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2012. [余玥. 深海极端微生物正青霉 *Enpenicillium* sp. 化学成分研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2012.]
- [14] Zhang Y P, Zhu W M, Gu Q Q, et al. Advances in studies of antitumor compounds from marine fungi[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2006, 25(1): 54-58. [张亚鹏, 朱伟明, 顾谦群, 等. 源于海洋真菌抗肿瘤活性物质的研究进展[J]. *中国海洋药物*, 2006, 25(1): 54-58.]
- [15] Zhang Q L, Gu Q Q, Cui C B, et al. Secondary metabolites of marine-derived actinomycete microbes and their bioactivities[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2004, 23(5): 49-54. [张清丽, 顾谦群, 崔承彬, 等. 海洋来源的放线菌次级代谢产物及其生物活性[J]. *中国海洋药物*, 2004, 23(5): 49-54.]
- [16] Wang J S, Wang Y B, Li Q. Potential relationship between extremophiles and hydrocarbon resources in marine extreme environment[J]. *Earth Science*, 2007, 32(6): 781-788. [王家生, 王永标, 李清. 海洋极端环境微生物活动与油气资源关系[J]. *地球科学*, 2007, 32(6): 781-788.]
- [17] Loreau M, Naeem S, Inchausti P, et al. Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges[J]. *Science*, 2001, 294(5543): 804-808.
- [18] Fu X H, Liu G N, He J L, et al. Analysis of microbial community diversity in the Bohai Sea marine protected areas of the Shandong Province[J]. *Marine Sciences*, 2017, 41(1): 39-47. [付新华, 刘国宁, 何健龙, 等. 山东省渤海海洋保护区典型海域表层海水微生物群落多样性分析[J]. *海洋科学*, 2017, 41(1): 39-47.]
- [19] Tu Z G. Studies on microbial diversity and rot body disease of *Trachinotus ovatus* in deep-sea cage aquaculture area in Houshui Bay, Hainan[D]. Haikou: Hainan University, 2017. [涂志刚. 海南后水湾深水网箱养殖区微生物多样性及其养殖卵形鲳鲹“烂身病”研究[D]. 海口: 海南大学, 2017.]
- [20] Zheng X F. The role and mechanisms of microbial product and exogenous carbon in affecting the environment for aquaculture[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017. [郑侠飞. 微生物制剂和碳源对水产养殖环境的影响及作用机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.]
- [21] Zhao W, Jiang J Z, Wang J Y, et al. Analysis of the bacterial community in the phycosphere of the attachment substances of larval abalone(*Haliotis diversicolor* Reeve) by PCR-DGGE[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(6): 1225-1233. [赵旺, 姜敬哲, 王江勇, 等. 杂色鲍幼体附着基藻际细菌群落的 PCR-DGGE 分析[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(6): 1225-1233.]
- [22] Lan L, Liu G F, Wang J Y, et al. DGGE fingerprinting of bacterial community in aquaculture water of *Crassostrea ariakensis* from Guandu district, Zhanjiang City[J]. *South China Fisheries Science*, 2012, 8(5): 31-38. [兰兰, 刘广锋, 王江勇, 等. 湛江官渡近江牡蛎养殖水细菌群落的 DGGE 指纹分析[J]. *南方水产科学*, 2012, 8(5): 31-38.]

- [23] Lin G R, Wang C Z, Sun F L, et al. Microbial community diversity in seawater polyculture pond of shrimp and clam[J]. Microbiology China, 2018, 45(9): 1989-1999. [林国荣, 王春忠, 孙富林, 等. 海水混养池塘虾蛤肠道与养殖环境的微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2018, 45(9): 1989-1999.]
- [24] Yi J. Study of microbial communities in the intertidal sediments and their responses to pollutants[D]. Shanghai: East China Normal University, 2019. [衣俊. 潮滩沉积物微生物群落表征及其对污染物的响应研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2019.]
- [25] Chen H Q, Li X C, Yu X F, et al. A review on technique progresses of microbial diversity in soil ecosystem[J]. Earth and Environment, 2018, 46(2): 204-209. [陈慧清, 李晓晨, 于学峰, 等. 土壤生态系统微生物多样性技术研究进展[J]. 地球与环境, 2018, 46(2): 204-209.]
- [26] Wu H H, Wang W J, Lü D, et al. Turbot (*Scophthalmus maximus*) biodiversity assessment using high-throughput illumina sequencing to analyze juvenile turbot intestines and their bacterial cultures[J]. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(4): 84-94. [吴欢欢, 王伟继, 吕丁, 等. 应用高通量测序技术分析大菱鲂幼鱼肠道及其养殖环境的微生物群落结构[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(4): 84-94.]
- [27] Chen M Q, Li Y N, Deng Z H, et al. Intestinal microbial diversity and dominant bacteria change analysis of *Pteria penguin* under enrofloxacin exposure[J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(4): 851-859. [陈明强, 李有宁, 邓正华, 等. 恩诺沙星暴露下企鹅珍珠贝肠道微生物多样性及优势菌变化规律[J]. 南方农业学报, 2019, 50(4): 851-859.]
- [28] Li Y J, Wang X M, Cheng X S, et al. The characteristics of summer phytoplankton community in Meiji Reef, Nansha Islands, South China Sea[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(3): 615-621. [李亚军, 王先明, 程贤松, 等. 美济礁近岸海域夏季浮游植物群落结构特征及其与环境因子的关系[J]. 热带作物学报, 2020, 41(3): 615-621.]
- [29] Shen J W, Wang Y. Microbial carbonate deposition in Meiji Atoll, Nansha, China and its environmental significance [J]. Science in China (Series D: Earth Sciences), 2008, 38(3): 284-293. [沈建伟, 王月. 中国南沙美济环礁中微生物碳酸盐沉积及其环境意义[J]. 中国科学(D 辑: 地球科学), 2008, 38(3): 284-293.]
- [30] Li C H, Jia X P, Liu G J, et al. A preliminary study on cage culture in Meiji Reef lagoon of Nansha Islands [J]. Fisheries Science & Technology, 2001(3): 12-14. [李纯厚, 贾小平, 刘国钧, 等. 南沙群岛美济礁潟湖网箱养殖初步研究[J]. 水产科技, 2001(3): 12-14.]
- [31] Zhao W, Jiang M, Chen M Q, et al. Correlation analysis of morphological attributes with body weight of *Lates calcarifer* cultured in offshore sea cage and indoor[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2018, 40(8): 53-62. [赵旺, 江森, 陈明强, 等. 离岸养殖与陆基养殖尖吻鲈形态性状与体质量的相关性研究[J]. 海洋学报, 2018, 40(8): 53-62.]
- [32] Chen M Q, Chen X, Li Y N, et al. Cage culture of pearl oyster *Pinctada martensii* in Meiji reef[J]. Fisheries Science, 2018, 37(3): 379-383. [陈明强, 陈旭, 李有宁, 等. 美济礁合浦珠母贝吊笼养殖试验[J]. 水产科学, 2018, 37(3): 379-383.]
- [33] GB/T 12763.6-2007, Specifications for oceanographic survey — Part 6: Marine biological survey[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008. [GB/T 12763.6-2007, 海洋调查规范 第6部分: 海洋生物调查[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.]
- [34] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [35] Oberauner L, Zachow C, Lackner S, et al. The ignored diversity: complex bacterial communities in intensive care units revealed by 16S pyrosequencing[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1413.
- [36] Zhao F, Li X Y, Zhang X P, et al. Bacterial community succession analysis of fermented sturgeon at different stages[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(3): 67-75. [赵凤, 李小义, 张效平, 等. 鲟鱼发酵过程中微生物的演替变化分析[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(3): 67-75.]
- [37] Xia X L, Zhang Q W, Zhang B, et al. Insights into the biogenic amine metabolic landscape during industrial semidry Chinese rice wine fermentation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(39): 7385-7393.
- [38] Avila-Jaime B, Kawas J R, Garcia-Mazcorro J F. Prediction of functional metagenomic composition using archived 16S rDNA sequence data from the gut microbiota of livestock[J]. Livestock Science, 2018, 213: 28-34.
- [39] Wang C X. Spatial and temporal variation of microbial community structure in the Bohai Sea and its response to environmental pressure[D]. Yantai: Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, 2018. [王彩霞. 渤海海域微生物群落结构的时空变化及其对环境压力的响应[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所), 2018.]
- [40] Sun T Q, Wang W J, Liang Z R, et al. Effect of *Pyropia* farming on bacterial communities and marine environmental factors[J]. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(2): 115-121. [孙藤芹, 汪文俊, 梁洲瑞, 等. 紫菜养殖对养殖水体中细菌多样性分布及环境因子的影响[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(2): 115-121.]

- [41] Zhang J L, Jiang M, Wang C F, et al. Microbial diversity in bio-filter of the recirculating aquaculture system for *Litopenaeus vannamei*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(5): 73-82. [张健龙, 江敏, 王城峰, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)循环水养殖塘挂膜式生物滤器内微生物的多样性[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(5): 73-82.]
- [42] Sun M Q, Lin K B, Ge H, et al. Comparative analysis of bacterial diversity and distribution characteristics in water collected from two *Epinephelus coioides* seedling models with Metagenomics[J]. Journal of Fisheries Research, 2016, 38(3): 181-191. [孙敏秋, 林克冰, 葛辉, 等. 基于宏基因组比较分析石斑鱼育苗两种模式水体中的菌群多样性和分布特点[J]. 渔业研究, 2016, 38(3): 181-191.]
- [43] Lu H P, Yeh Y C, Shiah F K, et al. Evolutionary constraints on species diversity in marine bacterioplankton communities[J]. The ISME Journal, 2019, 13(4): 1032-1041.
- [44] Liu Z F, Fu B J, Zheng X X, et al. Plant biomass, soil water content and soil N: P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: A regional scale study[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(3): 445-450.
- [45] Li J L, Wang G Y, Qin S. Microbial communities of sediments influenced by mariculture from the coast of Qinhuangdao[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2011, 20(5): 920-926. [李佳霖, 汪光义, 秦松. 秦皇岛近海养殖对潮间带微生物群落多样性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(5): 920-926.]
- [46] Herlemann D P, Labrenz M, Jürgens K, et al. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea[J]. The ISME Journal, 2011, 5(10): 1571-1579.
- [47] Madigan M T, Orent A. Thermophilic and halophilic extremophiles[J]. Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(3): 265-269.
- [48] Xi F, Zheng T L, Jiao N Z, et al. A preliminary analysis of mechanism of deep sea microorganisms diversity[J]. Advance in Earth Sciences, 2004, 19(1): 38-46. [席峰, 郑天凌, 焦念志, 等. 深海微生物多样性形成机制浅析[J]. 地球科学进展, 2004, 19(1): 38-46.]
- [49] Brinkhoff T, Giebel H A, Simon M. Diversity, ecology, and genomics of the *Roseobacter* clade: A short overview[J]. Archives of Microbiology, 2008, 189(6): 531-539.
- [50] Wang J P, Cui Z G, Zhou Q, et al. Removal effect of mariculture wastewater and analysis of microbial communities in constructed wetlands[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(6): 1-9. [王加鹏, 崔正国, 周强, 等. 人工湿地净化海水养殖外排水效果与微生物群落分析[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 1-9.]
- [51] Song J M, Li X G, Yuan H M, et al. Biogeochemistry of biogenic elements in the Bohai, Huanghai and East China Seas[M]. Beijing: Science Press, 2019:6-824. [宋金明, 李学刚, 袁华茂, 等. 渤海东海生源要素的生物地球化学[M]. 北京: 科学出版社, 2019:6-824.]
- [52] Bernhard A E, Colbert D, McManus J, et al. Microbial community dynamics based on 16S rRNA gene profiles in a Pacific Northwest Estuary and its tributaries[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 52(1): 115-128.
- [53] Xing J W, Song J M, Yuan H M, et al. Dry deposition characteristics of atmospheric reactive silicate at Jiaozhou Bay and its potential ecological effects on marine ecosystem[J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(9): 3096-3104. [邢建伟, 宋金明, 袁华茂, 等. 胶州湾大气活性硅酸盐干沉降特征及其生态效应[J]. 生态学报, 2020, 40(9): 3096-3104.]
- [54] Zhang W Y. Microbial community structure in seamount and diversity of marine magnetotactic bacteria[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2018. [张文燕. 海山微生物群落结构及海洋趋磁细菌多样性研究[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2018.]
- [55] Mgi L, J Z, Jg C, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA markergene sequences[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(9): 814-821.
- [56] Cleary D F R, de Voogd N J, Polónia A R M, et al. Composition and predictive functional analysis of bacterial communities in seawater, sediment and sponges in the spermonde archipelago, Indonesia[J]. Microbial Ecology, 2015, 70(4): 889-903.
- [57] Deng R, Chen X, Qiu L P, et al. Diversity and PICRUSt function prediction of bacterial community attached to different substrates in Shihou Lake[J]. Freshwater Fisheries, 2021, 51(2): 13-22. [邓茹, 陈曦, 裴丽萍, 等. 鲢(鳊)淀不同基质附着细菌群落结构特征及 PICRUSt 功能预测分析[J]. 淡水渔业, 2021, 51(2): 13-22.]

Analysis of bacterial diversity and correlation with environmental factors in the aquaculture area of Mischief Reef Lagoon in summer

ZHAO Wang^{1,2,3}, HUANG Xingmei^{1,2,3}, DENG Zhenghua^{1,2,3}, WEN Weigeng^{1,2,3}, CHEN Mingqiang^{1,2,3}, WANG Yu^{1,2,3}, SHEN Minghui⁴, XIA Guangyuan⁴, ZHANG Yuwei^{1,2,3}, YU Gang^{1,2,3}

1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization by the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
2. Tropical Fishery R & D Center, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Sanya 572018, China;
3. Sanya Tropical Fisheries Research Institute, Sanya 572018, China;
4. Hainan Academy of Ocean and Fisheries Sciences, Haikou 571199, China

Abstract: Mischief Reef has unique landforms and rich biological resources, and its marine microorganisms and fishery resources are being developed and utilized. To understand the bacterial diversity in the aquaculture area of Mischief Lagoon in summer, as well as its correlation with environmental factors, the community structure of seawater bacteria were analyzed through high-throughput sequencing technology, the main environmental impact factors were explored, and its functions were predicted by PICRUSt. The results showed that the bacteria of Mischief Reef lagoon had rich community composition. A total of 29 phyla, 57 classes, 152 orders, 256 families, and 439 genera were detected. The dominant bacteria include *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria*. There were differences in the alpha diversity index between the three water layers of each site, but none of them reach a significant level. Using redundancy analysis, it was found that the main environmental impact factors are salinity, COD, COD/NO₃-N, and active silicate. The main functions, determined by PICRUSt functional prediction, included metabolism (amino acid metabolism, carbohydrate metabolism, energy production and conversion), genetic information processing (protein translation and modification, DNA replication, recombination and repair), and information processing (signal transduction mechanism, coenzyme transport, inorganic ion transport). This study analyzes the marine community structure of the Mischief Reef Lagoon aquaculture area in summer and its relationship with factors, providing a scientific basis for understanding the microbial diversity and rational development and utilization of the South China Sea, marine fisheries development and protection, and ecosystem protection.

Key words: mischief reef; microbial diversity; functional prediction; environmental factors

Corresponding author: YU Gang. E-mail: gyu0928@163.com