

打造优质资源共享平台,有效整合思政课平台“大资源”,增强利用红色资源铸魂育人的“大资源”效能。使各种类型、各具特色的红色资源得到科学、合理利用,推动思政课教学立德树人目标的实现。结合区域历史文化背景及城市特色等,充分汇集整合发挥协同教育优势,与各大平台合作资源,各大高校共享资源,各区域联合活动,共同推动优质思政教育资源的流动合作与互相促进,助力更大发展效应与教育作用。

4 结语

“大思政观念”为医学生思政教育提供了一个重要的思路,中医药文化内涵深厚,需要我们赓续其精神,传承其思想精华,也需要不断开拓其与思政结合的新的教育途径。培养什么人才,怎样培养人才,为谁培养人才,是新时代的三大教育之问。医学综合院校应坚持和响应习近平新时代中国特色社会主义思想,不断探索医学生中医思政教育的新路径,结合中医思政教育的人才培养优势,优化医学生思政教育体系,让思政教育“像盐一般”全员、全程、全方位的融入医学生的教育中,助力健康中国战略的实施,为新时代中国特色社会主义的建设和中华民族的伟大复兴培养优秀医学人才。

参考文献

- [1] 任天波,张焜. 关于医学人文素质教育的探究[J]. 中国医学伦理学,2017,30(4):516-520.
- [2] 刘寒,邱天. 医学生思想政治教育困境及策略分析[J]. 西部

素质教育,2017,3(6):46.

- [3] 吴云. 医学人文教育课程与教学现状调查及启示[J]. 中国医学伦理学,2022,35(8):907-911.
- [4] 范澈轩. 新医科背景下医科院校研究生英语课程思政探索与创新——以《医学英语人文阅读与视听说》为例[C]. 课程教学与管理研究论文集(二),2021:602-607.
- [5] 甄雪燕. 思政教育在医史教学中的探索[J]. 中国中医药现代远程教育,2020,18(7):9-11.
- [6] 李楠. “大思政”观视域下提升医学生人文素养的实践探索[J]. 卫生职业教育,2024,42(5):46-49.
- [7] 霍然,张华,傅嫣然,等. 浅谈文化自信视域下医学生人文素质有效培育[J]. 文化产业,2021,4:145-146.
- [8] 敖祖辉,王瑶. 高校“课程思政”的价值内核及其实践路径选择研究[J]. 黑龙江高教研究,2019,37(3):128-132.
- [9] 王景云. 论“思政课程”与“课程思政”的逻辑互构[J]. 马克思主义与现实,2019,6:186-191.
- [10] 董慧,杜君. 课程思政推进的难点及其解决对策[J]. 思想理论教育,2021,5:70-74.
- [11] 胡玉宁,丁明,王群林,等. 社会主义核心价值观视域下医学生医学人文素养培养体系的构建[J]. 学校党建与思想教育,2016,14:23-24,7.
- [12] 韩爽,徐爽,许丹. 高校图书馆培养医学生人文精神的探索——以中国医科大学图书馆讲古籍故事为例[J]. 中国医学人文,2023,9(5):18-21.
- [13] 习近平. 把思想政治工作贯穿教育教学全过程[N]. 人民日报,2016-12-09.

(收稿日期:2023-12-22)

人工林湖泊细菌群落结构动态变化和功能恢复

勾新蕊¹,许士奇^{1,2*},李 坤¹,田春燕¹,葛佳林¹,高思淼¹

(1.承德医学院生物医学工程系,河北承德 067000;2.承德医学院河北省医工结合国际联合研究中心)

关键词: 人工林;高通量测序;湖泊细菌;群落结构

中图分类号: X524

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2024)06-0532-07

湖泊微生物是维持生物多样性的的重要组成部分^[1-5]。传统的分子学技术无法检测“未培养”微生物^[6]。随着生态学的发展,高通量测序技术为深入解析微生物群落提

供了高分辨率的途径^[7-8]。

过去的塞罕坝森林受气候变化和人类活动影响成为荒漠化土地。然而,随着人类保护意识的提高,展开了对

*通讯作者

塞罕坝大规模的植树造林计划^[9]。月亮湖、七星湖和神龙湖是塞罕坝中具有代表性的湖泊。这些湖泊提供了宝贵的淡水资源,并在每年7月到9月吸引大量游客前来观赏。

人工林中的土壤微生物已经得到了研究^[10-11],但关于湖泊微生物的研究很少。本研究旨在评估人为干扰(植树造林)对塞罕坝中的湖泊微生物群落组成的影响,为湖泊生态系统的可持续管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

对中国塞罕坝人工林中的月亮湖、七星湖和神龙湖重复采样3次。秋季采样时的温度为25℃,冬季采样时的温度为-40℃(干球测温法测得)。地表水样品采自湖面20 cm处,使用无菌塑料桶采集并保存在4℃下保存。在提取DNA之前,使用0.22 μm的滤膜将样品过滤并将滤膜保存在无菌试管中。

1.2 DNA提取与PCR扩增

DNA提取:按照CTAB法提取DNA^[12]。使用1%浓度的琼脂糖凝胶电泳监测DNA的浓度和纯度。

PCR扩增:选取适量的DNA样品于离心试管中,使用无菌水稀释样品至1 ng/μL。用(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')引物对V4区进行扩增。每个PCR反应使用约10 ng模板DNA,以及15 L的Phusion® High Fidelity PCR Master Mix(New England Biolabs)和2 M的正向和反向引物。使用Bio-rad T100 梯度PCR 仪进行变性裂解。将1xTAE 2%浓度的琼脂糖凝胶电泳纯化PCR产物,查看目标条带是否满足要求。之后使用Universal DNA(TianGen, China)回收试剂盒对目标条带进行回收。

1.3 Illumina 测序结果

使用TruSeq® DNA PCR-Free 样品制备试剂盒(Illumina, USA)生成测序文库,并使用Thermo Scientific 的电子荧光计评估文库质量。最后,在 Illumina NovaSeq 仪

器上对文库进行测序,生成250bp的成对端读数。Illumina NovaSeq 下机后的原始序列已存入NCBI的序列读取档案(SRA),编号为PRJNA895964。

1.4 生物信息学分析

使用QIIME2对每个样品的扩增序列进行质量控制后得到有效序列,使用DATA2插件生成ASV特征表^[13]。之后使用q2-feature-classifier 插件以99%相似度将GREENGENES数据库与ASV序列表进行比较,使用朴素贝叶斯分类器对ASV代表序列进行分类注释^[14]。使用q2-feature-table插件剔除了所有污染性的序列。PICRUST2 v2.3.0软件用于评估细菌和古细菌共同祖先的基因功能特征。

2 结果

2.1 评估细菌多样性

使用Sklearn算法基于70%分类可信度阈值将序列进行分类,共得到7414个OTUs。古菌和细菌共获得7220个OTUs。

稀疏曲线表明,所有样品的测序深度足够(图1A)。细菌群落的α多样性如表1。

表1 使用月亮湖、七星湖和神龙湖样品的归一化序列计算α多样性

α多样性	月亮湖		七星湖		神龙湖	
	秋季	冬季	秋季	冬季	秋季	冬季
OTUs	1 110	1 591	1 693	1 647	1 736	1 871
Shannon	5.56	6.04	7.03	6.06	7.17	6.93
Simpson	0.91	0.95	0.97	0.93	0.98	0.98

β多样性是基于Bray-Curtis距离算法实现。由NMDS分析(图1B)可知,湖泊微生物在相同季节下不同样品间的聚集性很好。在冬季三个湖泊的样品的聚集性高于秋季样品。PCoA三维图像分析(图1C)可知,月亮湖的样品在秋季和冬季间的摆位最远。图中每个点所代表的样品是基于样品间的距离而进行的空间摆位,点与点之间距离越远,表示关联性越小。

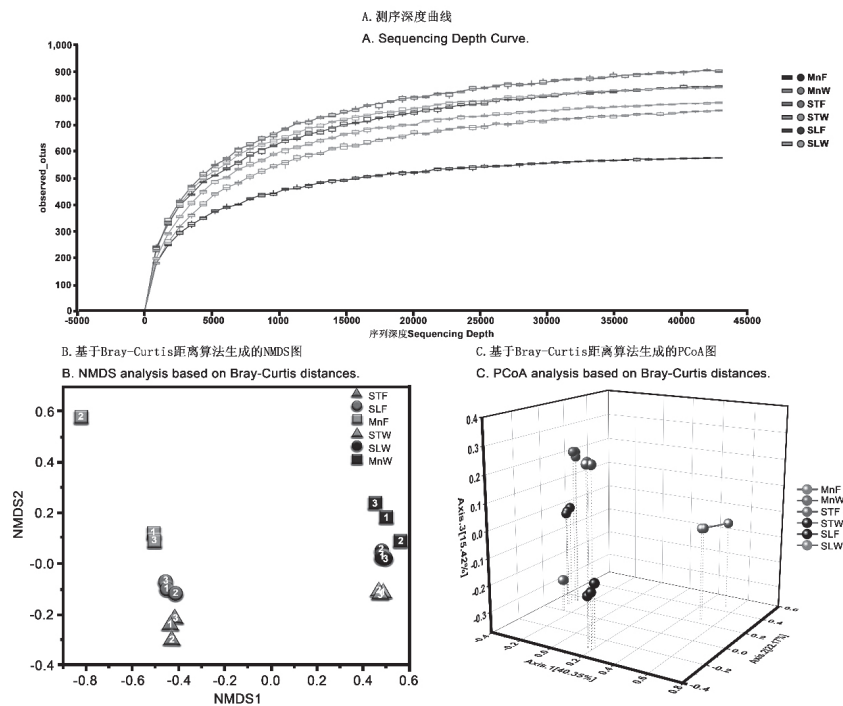


图1 测序深度曲线、NMDS图及P CoA图

A. 基于月亮湖、神龙湖和七星湖样品的随机个体数与物种数来构建稀疏曲线; B. NMDS图; C. PCoA图; MnF:秋季月亮湖; MnW:冬季月亮湖; STF:秋季七星湖; STW:冬季七星湖; SLF:秋季神龙湖; SLW:冬季神龙湖

2.2 QIIME2 对细菌群落分类进行分析

利用QIIME2工具共鉴定出 3 个古细菌门和 48 个细菌门,进一步将细菌分为151纲、239目、28科43属。

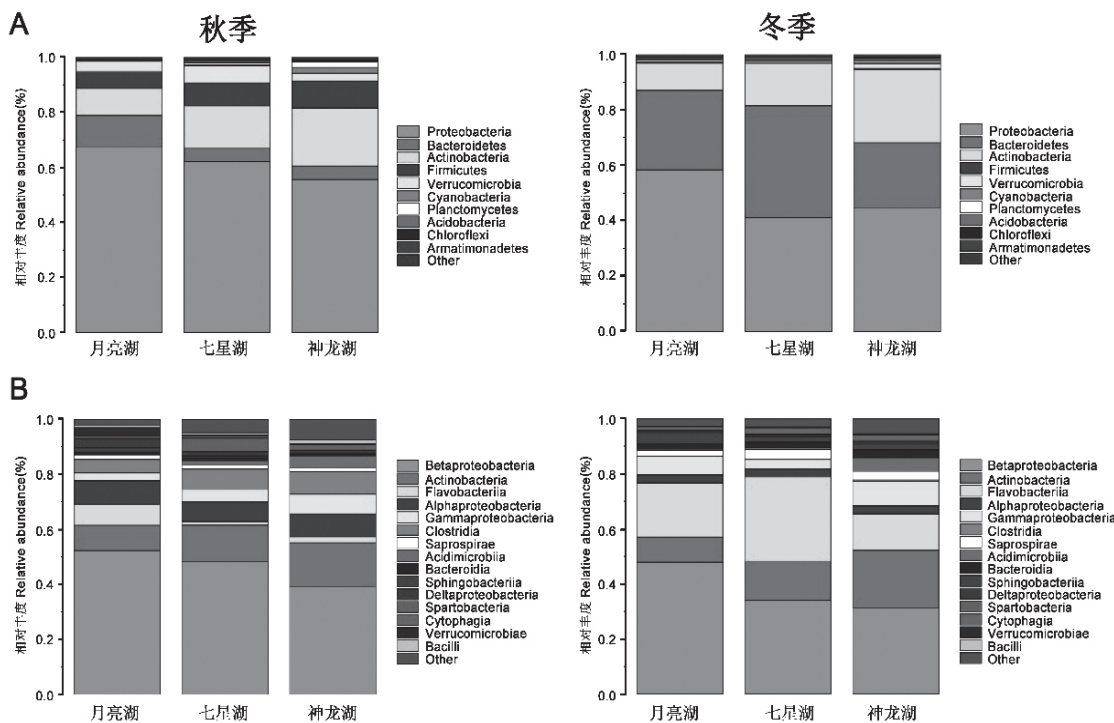


图2 基于16S rRNA技术对细菌进行分类

A. 门分类水平上的细菌群落结构; B. 纲分类水平上的细菌群落结构

变形菌Proteobacteria、放线菌Actinobacteria、拟杆菌Bacteroidetes、厚壁菌Firmicutes和疣微菌Verrucomicrobia构成了细菌中最丰富的门类(图2A)。变形菌中, α -变形菌Alphaproteobacteria、 β -变形菌Betaproteobacteria、 γ -变形菌Gammaproteobacteria和 δ -变形菌Deltaproteobacteria是四个主要的纲(图2B)。 δ -变形菌的相对丰度最低($<2\%$)。 β -变形菌的相对丰度在31%~52%不等, α -变形菌的平均相对丰度在6%,与 γ -变形菌相对丰度相近。

拟杆菌的相对丰度在秋季介于4%~11%之间,但在12月份降温之后,拟杆菌门的相对丰度达到31%。通过火山图(图4B-D)分析发现,七星湖和神龙湖样品中的拟杆菌门在秋冬季表现出显著性差异($P<0.05$)。与之相反的,厚壁菌秋季的相对丰度介于5%~9%之间,而冬季降温后的相对丰度小于1%。疣微菌的相对丰度也表现出类似趋势,秋季的相对丰度介于2%~6%之间,而冬季降温后的相对丰度小于1%。因此,在降温的过程中,拟杆菌的相对丰度有所增加,其余细菌的相对丰度降低。

在所有样品中,分类学上丰度较高的属属于拟杆菌、变形菌和放线菌等(图3)。其中属于变形菌的七个属(相对丰度高于1%的属),多核杆菌属Polynucleobacter、红育菌属Rhodoferrax、氢噬菌属Hydrogenophaga、泉发菌属Crenothrix较为丰富。红育菌属在冬季样品中的相对丰度介于9%~19%之间,而秋季样品中的相对丰度介于1%~4%之间,其中最高丰度和最低丰度均出现在月亮

湖样品中(图4A)。氢噬菌属在秋季的月亮湖样品中占比为12%,其余样品的占比均小于1%。泉发菌属则不同,在秋季样品中的相对丰度均小于1%,但冬季样品介于1%~8%之间,其中最高丰度出现在了神龙湖样品中(图4A)。在拟杆菌中,高丰度属为黄杆菌属Flavobacterium和一个低丰度属为Fluviicola。黄杆菌属在冬季样品中的相对丰度介于11%~29%之间,而秋季最高相对丰度仅为3%。

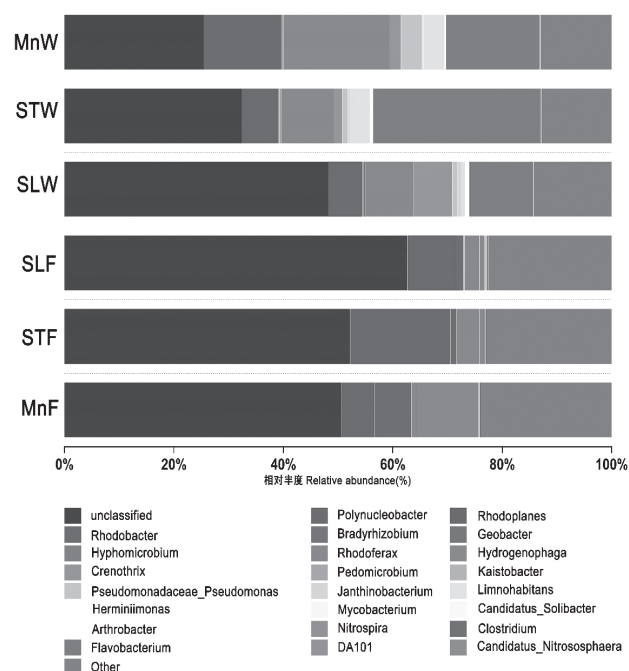


图3 属分类水平上细菌群落相对丰度图

深蓝色代表未分类菌群;红色代表属于变形菌相关属分类;
棕色代表属于拟杆菌的相关属分类

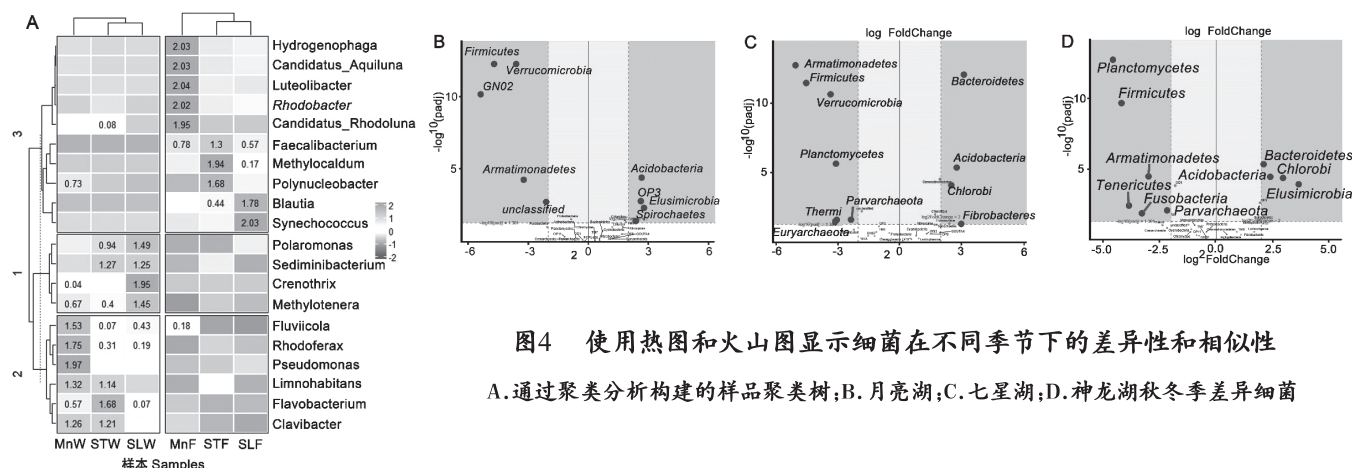


图4 使用热图和火山图显示细菌在不同季节下的差异性和相似性

A.通过聚类分析构建的样品聚类树;B.月亮湖;C.七星湖;D.神龙湖秋冬季差异细菌

2.3 PICRUS2分析细菌群落功能

16S rRNA测序后,选择具有代表性的序列与PICRUS2的数据库进行序列比对,比对阈值设置为0.8,比对成功的序列和对应的OTU参与功能预测。

2.3.1 KEGG 路径分类 在PICRUS2功能预测中,“新陈代谢”的基因序列比例最高。同一湖泊的代谢功能在不同季节表现出差异性,3个湖泊的冬季样品的代谢功能明显高于秋季($P<0.05$,图5)。

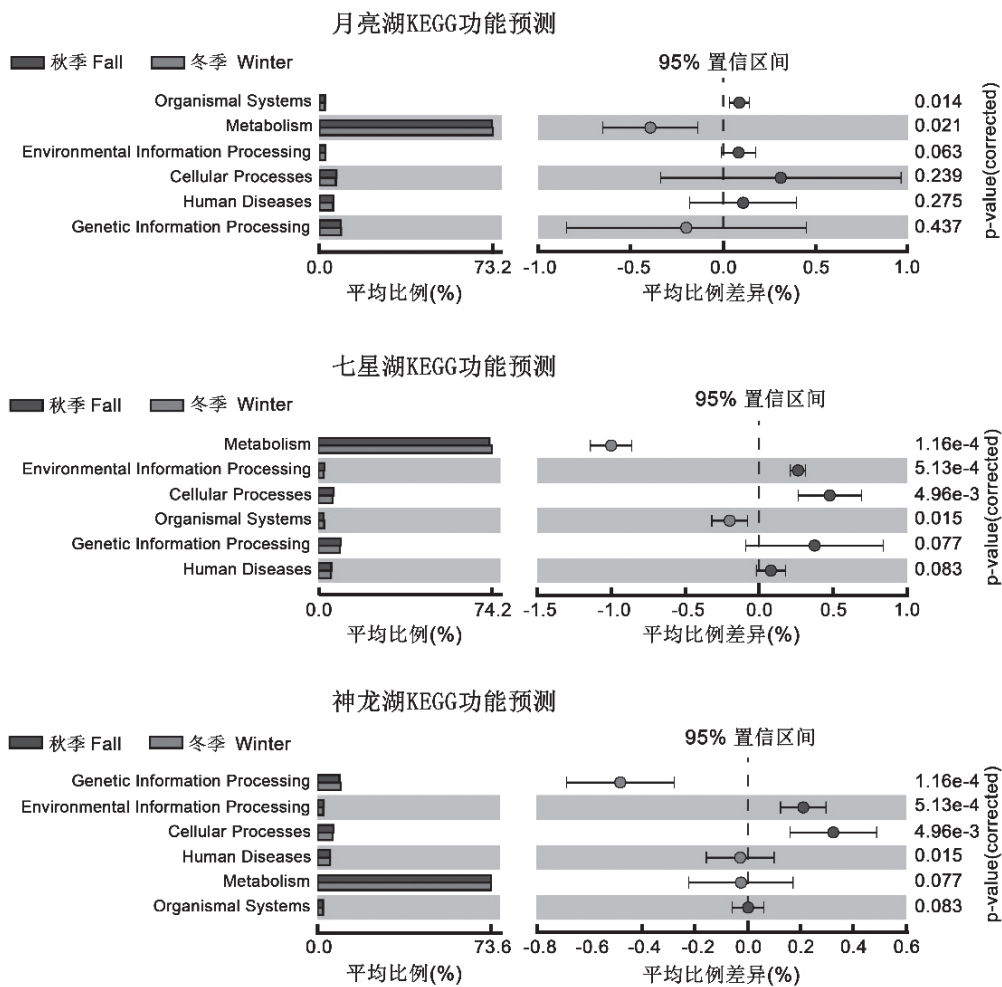


图5 使用PICRUS2工具预测KEGG通路

3 讨论

人工林对生态系统产生了广泛的影响,包括土壤、湖泊等不同生境下的动植物及微生物群落分布。在过去的研究中发现人工林中土壤微生物群落可能受到植树造林等人干扰的影响^[15-16]。然而,我们尚未全面了解湖泊微生物是否也受到潜在影响。研究旨在通过比较人工林中的湖泊与具有相似的生态特征的已研究过的自然湖泊的微生物群落结构和功能特征,揭示人为活动对湖泊微生物的可能影响。

过去的研究揭示了自然湖泊在不同生境下的微生物

群落组成分布特征。闫琦等人^[17]发现了西藏湖泊中核心物种和卫星物种的分布及共现关系,其中变形菌、拟杆菌和放线菌为核心亚群落和卫星亚群落的优势门。同样的,E. Tóth等人^[18]研究了中欧最大的湖泊巴拉顿湖隐藏的微生物多样性,细菌以变形菌、拟杆菌和放线菌为主。

塞罕坝人工林中的主要植被类型为针叶林、阔叶林、灌丛、草丛等^[19]。研究结果表明虽然植被的年龄和种类相对单一,但在湖泊中仍发现与以上等人数据集中描述的生物多样性模式一致的浮游细菌。变形菌的一些成员

参与氮循环,如氨氧化细菌和反硝化细菌等^[20],如 β -变形菌。Bukowska等人^[21]发现 β -变形菌在生态系统中担任一些关键角色,如有益的生物降解、氮循环等。

第二个丰富的群体是拟杆菌。在寒冷时相对丰度较高,这可能与某些成员更适应低温或湿度条件有关。Deng等人^[22]发现拟杆菌对有机质的分解和利用具有高度适应性。属于拟杆菌的黄杆菌属在七星湖的冬季样品中相对丰度达到36%。Kappelmann等人^[23]发现属于黄杆菌属一类的细菌能够降解藻类、植物残渣和其他的有机物等。它们产生一些酶,如 β -葡聚糖酶和纤维素酶,可以将复杂的多糖分解成较小的可利用的单糖或低分子量的有机物,降解过程对碳循环和有机质分解起到了重要作用。在冬季的湖泊中发现大量的黄杆菌属,进一步表明耐冷菌在极端环境中能表现出较强的酶活力。

秋季的月亮湖样品中发现的OTU数量为1 110,而冬季则提高到了1 591。由此,我们推断季节性的改变可能影响月亮湖的细菌数量。文新宇等人^[24]发现在湖泊中,水体会在垂直方向上形成温度、养分等的分层。冬季的月亮湖表面已经结成冰,从而存在较深的混合层,使水体中的微生物分布的更均匀。其次,冬季的塞罕坝机械林场处于封闭状态,月亮湖的水体相对稳定,较少的受到外部扰动,这也有助于维持较高的微生物多样性。总之,季节性变化和游客访问可能会导致月亮湖浮游栖息地受到可察觉性的干扰,一旦干扰源消失,这种干扰可能会逆转。

通过细菌基因功能预测,我们发现冬季的细菌代谢更为旺盛,尽管一些细菌可能在寒冷条件下陷入了休眠状态,但仍有一些适应寒冷并表现出活跃代谢的细菌。赵卓丽等人^[25]发现南极冰下存在适应极端环境的微生物,它们通过产生与细胞代谢过程有关的一系列变化来适应环境并抵御低温带来的侵害。比如低温下具有较高活性的低温酶,不但能改善周围淡水湖的群落平衡,还在生物降解、生物材料方面发挥潜在价值。

然而,对生态关联性的清晰评估,需要结合环境因素分析,有助于更好地了解主要功能性的浮游细菌群的特征。此外尽管16S rRNA基因测序方法可以提供环境基因组的详细信息,但我们承认该研究存在一些局限性。例

如,16S测序需要使用PCR来扩增目标序列,一些低丰度的物种可能被低估或遗漏。因此,在后续的研究中我们会加入全长引物扩增,获得更丰富的结论。尽管如此,对塞罕坝机械林场中的湖泊进行细菌群落分布和功能特征的研究有助于评估人为活动(植树造林)对湖泊细菌群落的恢复能力。

参考文献

- [1] 陈进. 长江自然湿地水循环特点及功能[J]. 长江流域资源与环境, 2022, 31(8): 1705-1711.
- [2] Yang YZ, Wu QB, Hou YD, et al. Using stable isotopes to illuminate thermokarst lake hydrology in permafrost regions on the Qinghai-Tibet plateau, China[J]. *Permafrost Periglacial Processes*, 2019, 30(1): 58-71.
- [3] Schippers P, Van De Weerd H, De Klein J, et al. Impacts of agricultural phosphorus use in catchments on shallow lake water quality: About buffers, time delays and equilibria[J]. *Sci Total Environ*, 2006, 369(1-3): 280-294.
- [4] Lévesque D, Pinel-Alloul B, Méthot G, et al. Effects of climate, limnological features and watershed clearcut logging on long-term variation in zooplankton communities of Boreal Shield lakes[J]. *Water*, 2017, 9(10): 377.
- [5] Ma TL, Jiang YM, Elbehery AHA, et al. Resilience of planktonic bacterial community structure in response to short-term weather deterioration during the growing season in an alpine lake[J]. *Hydrobiologia*, 2020, 847(2): 535-548.
- [6] Culligan EP, Sleator RD, Marchesi JR, et al. Metagenomics and novel gene discovery Promise and potential for novel therapeutics[J]. *Virulence*, 2014, 5(3): 399-412.
- [7] Xiao FN, Li YY, Li GF, et al. High throughput sequencing-based analysis of the soil bacterial community structure and functions of Tamarix shrubs in the lower reaches of the Tarim River[J]. *PeerJ*, 2021, 9.
- [8] Nurul ANA, Muhammad DD, Okomoda VT, et al. 16S rRNA-Based metagenomic analysis of microbial communities associated with wild labroides dimidiatus from Karah Island, Terengganu, Malaysia[J]. *Biotechnology Reports*, 2019, 21: e00303.
- [9] 魏士凯, 范顺祥, 张玉珍, 等. 塞罕坝自然保护区主要植被类型动态及其驱动力[J]. 2018, 29(4): 1170-1178.
- [10] Peng SM, Liu W, Xu G, et al. A meta-analysis of soil microbial and physicochemical properties following native forest conversion[J].

- (其他栏目编辑:王松月)

• 538 •