



环境科学  
*Environmental Science*  
ISSN 0250-3301, CN 11-1895/X

## 《环境科学》网络首发论文

题目：丹江口水库浮游细菌和氮磷循环基因垂直分布特征及其驱动因素  
作者：张玮玮，高姗姗，李梦璐，陈彦，Nicola Fohrer，Robert Costanza，李玉英，陈兆进  
DOI：10.13227/j.hjkk.202307255  
收稿日期：2023-07-30  
网络首发日期：2023-12-29  
引用格式：张玮玮，高姗姗，李梦璐，陈彦，Nicola Fohrer，Robert Costanza，李玉英，陈兆进. 丹江口水库浮游细菌和氮磷循环基因垂直分布特征及其驱动因素[J/OL]. 环境科学. <https://doi.org/10.13227/j.hjkk.202307255>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 丹江口水库浮游细菌和氮磷循环基因垂直分布特征及其驱动因素

张玮玮<sup>1</sup>, 高姗姗<sup>1</sup>, 李梦璐<sup>1</sup>, 陈彦<sup>2</sup>, Nicola Fohrer<sup>2</sup>, Robert Costanza<sup>2</sup>, 李玉英<sup>2\*</sup>, 陈兆进<sup>1\*</sup>

(1. 南阳师范学院水资源与环境工程学院, 南阳 473061; 2. 南水北调中线水源区流域生态安全高等学校学科创新引智基地, 南阳 473061)

**摘要:** 丹江口水库作为南水北调中线工程水源地, 不同深度浮游细菌群落组成、氮磷循环功能及其驱动因素尚未清晰。选取丹江口水库 5 个生态点位, 采用宏基因组学研究表层、中层和底层垂直分布浮游细菌群落组成, 分析预测氮磷循环功能及其驱动因素。结果表明丹江口水库主要由变形杆菌门、放线杆菌门和浮霉菌门等优势种群组成, 不同深度来源的浮游细菌群落结构具有显著差异, 水温 ( $T$ )、氧化还原电位 (ORP)、溶解氧 (DO) 和 Chla 是影响浮游细菌群落组成的主要因素。氮循环功能基因分析表明主要涉及生物固氮过程、硝化作用、反硝化作用和异化硝酸盐还原作用等 7 个主要途径的 *gltB*、*glnA*、*gltD*、*gdhA* 和 *NRT* 等 39 个氮循环功能基因。磷循环功能基因分析表明主要涉及有机磷矿化、无机磷溶解、调节等 6 个主要途径的 *pstS*、*ppx-gppA*、*glpQ* 和 *ppk1* 等 54 个磷循环功能基因。聚类分析表明不同深度是影响氮磷循环功能基因组成和丰度的主要因素, 表层和底层氮磷循环功能基因丰度高于中层样品。奇异球菌属、嗜氢菌属、*Limnohabitans* 和棍状杆菌属等是氮磷循环的关键物种。DO、pH、 $T$ 、总溶解性固体 (TDS)、电导率 (EC) 和 Chla 与氮磷循环功能基因显著相关, 以上环境因子随丹江口水库深度增加浓度降低或升高, 导致浮游细菌氮磷循环功能基因呈现明显的垂直分布特征。通过揭示丹江口水库不同深度浮游细菌群落组成、氮磷循环功能及其影响因素, 可为丹江口浮游细菌生态功能和多样性保护发挥潜在的作用。

**关键词:** 丹江口水库; 分层; 宏基因组; 氮循环; 磷循环

DOI:10.13227/j.hjx.202307255

## Vertical Distribution Characteristics and Driving Factors of Bacterioplankton and Nitrogen Phosphorus Cycle Genes in Danjiangkou Reservoir

ZHANG Wei-wei<sup>1</sup>, GAO Shan-shan<sup>1</sup>, LI Meng-lu<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, Nicola Fohrer<sup>2</sup>, Robert Costanza<sup>2</sup>, LI Yu-ying<sup>2\*</sup>, CHEN Zhao-jin<sup>1\*</sup>

(1. School of Water Resource and Environmental Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 2. Overseas Expertise Introduction Center for Discipline Innovation of Watershed Ecological Security in the Water Source Area of the Middle Route of South-to-North Water Diversion, Nanyang 473061, China)

**Abstract:** Danjiangkou Reservoir is a critical water source for the South-to-North Water Diversion Project, harbors a diverse bacterioplankton community with varying depths, and the understanding of its nitrogen and phosphorus cycle and associated driving factors remains limited. In this study, we selected five ecological sites within Danjiangkou Reservoir and conducted metagenomics analysis to investigate the vertical distribution of bacterioplankton communities in surface, middle, and bottom layers. Furthermore, we analyzed and predicted the function of nitrogen and phosphorus cycles, along with their driving factors. Our findings revealed the dominance of Proteobacteria, Actinobacteria, and Planctomycetes in the Danjiangkou Reservoir. Significant differences were observed in the structure of bacterioplankton communities across different depths, with temperature ( $T$ ), oxidation-reduction potential (ORP), dissolved oxygen (DO), and Chla identified as primary factor influencing the

收稿日期: 2023-07-30; 修订日期: 2023-10-16

基金项目: 河南省高校科技创新人才项目(23HASTIT018); 国家自然科学基金项目(51879130); 河南省重点研发专项(221111520600, 231111113000)

作者简介: 张玮玮 (1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水体微生物组成和功能, E-mail: 695541369@qq.com

\*通信作者, E-mail: lyying200508@163.com; Zhaojin\_chen@163.com

bacterioplankton composition. Analysis of nitrogen cycle functional genes identified 39 genes, including *gltB*, *glnA*, *gltD*, *gdhA*, and *NRT*, etc. which were involved in seven main pathways, encompassing nitrogen fixation, nitrification, denitrification, and dissimilatory nitrate reduction. Phosphorus cycle function gene analysis identified 54 genes, including *pstS*, *ppx-gppA*, *glpQ*, and *ppk1*, etc. primarily participating in six main pathways, including Organic P mineralization, Inorganic P solubilization, Regulatory. Cluster analysis indicated that different depths were significant factors influencing the composition and abundance of nitrogen and phosphorus cycle functional genes. The composition and abundance of nitrogen and phosphorus cycle functional genes in the surface and bottom layers differed and were generally higher than those in the middle layer. *Deinococcus*, *Hydrogenophaga*, *Limnohabitans*, *Clavibacter*, and others were identified as key species involved in the nitrogen and phosphorus cycle. Additionally, we found significant correlations between nitrogen and phosphorus cycle functional genes and environmental factors such as DO, pH, *T*, total dissolved solids (TDS), electrical conductivity (EC), and Chla. Furthermore, the content of these environmental factors exhibited depth-related changes in the Danjiangkou Reservoir, resulting in a distinct vertical distribution pattern of bacterioplankton nitrogen and phosphorus cycle functional genes. Overall, this study sheds light on the composition, function, and influencing factors of bacterioplankton communities across different layers of Danjiangkou Reservoir, offering valuable insights for the ecological function and diversity protection of bacterioplankton in this crucial reservoir ecosystem.

**key words:** Danjiangkou Reservoir; stratification; metagenomics; nitrogen cycle; phosphorus cycle

丹江口水库作为南水北调中线工程水源地,截至 2023 年 3 月 30 日,已累计向受水区调水 550 亿  $m^3$ ,直接受益人口超 8500 万,取得了显著地生态和经济效应。丹江口水库水质状况直接关系到南水北调中线工程安全运行,水库水质持续稳定在 II 类标准及以上。但其面临着较大的氮、磷负荷,其中总氮浓度相对较高,是影响水质的最为主要因素<sup>[1,2]</sup>。

浮游细菌作为水生生态系统的重要组成,通过固氮作用、硝化作用、反硝化作用、氮同化还原及异化还原作用等以及磷活化、磷吸收等驱动水体中氮、磷生物化学循环<sup>[3-5]</sup>。针对丹江口水库浮游细菌群落组成及其驱动的氮磷元素循环,本课题组基于扩增子测序的 PICRUSt 功能预测进行了研究,发现主要涉及 K02588 *nifH*、K10535 *hao*、K00368 *nirK* 等氮循环功能基因和 K00655 *plsC*、K01507 *ppa*、K02036 *pstB* 等磷循环功能基因<sup>[6-9]</sup>。基于扩增子测序的功能预算成本较小,但它在准确预测微生物组功能方面存在着较大的局限性。宏基因组学能从基因组的水平和微生物群落的层面上分析微生物的组成和功能,在水库、湖泊、海洋和河流等不同水体生境得到广泛的应用,为揭示浮游细菌驱动的水体氮、磷元素循环提供了有效方法<sup>[10-15]</sup>。

丹江口水库作为人工加高的深水型水库,平均水深 30 m,水库垂直方向上水温、光照、溶解氧、氮、磷营养盐浓度以及其流速、流量等具有显著差异,对浮游细菌群落组成和功能可能产生显著影响。目前,丹江口水库表层浮游细菌群落组成和功能已经开展相关研究<sup>[7,12,16]</sup>,但垂向环境因子变化对细菌群落结构以及氮和磷元素循环功能基因的影响过程尚不明确,有必要开展进一步研究加以阐明。

本研究选取丹江口库区库心和渠首等 5 个生态点位,采用宏基因组学研究表层、中层和底层垂直分布浮游细菌群落组成,分析预测浮游细菌氮和磷循环相关基因表达情况,通过揭示丹江口水库浮游细菌垂直分布状况及其驱动的氮磷元素循环,以为丹江口水库水环境保护提供参考依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 样品采集

根据丹江口水库所处的地理位置、人类活动和调水工程影响,共选取 5 个生态位点:丹库库区的库心(KX)、南水北调中线工程的取水口上游 100m 处的渠首(QS)、丹江支流和灌河支流在丹库交汇处的黑鸡嘴(HJZ)、轮渡及渔船停靠的码头宋岗(SG)及丹江口水库丹库和汉库的交界处台子山(TZS),具体位置信息见图 1<sup>[7,9,16]</sup>。库心、渠首、黑鸡嘴、宋岗和台子山实际水深分别为 53、19、43、27 和 26 m,将不同采样点划分为表层(B)、中层(Z)和底层(D)这 3 层。于 2022 年 3 月进行样品采集,采用柱状采水器采集水样。

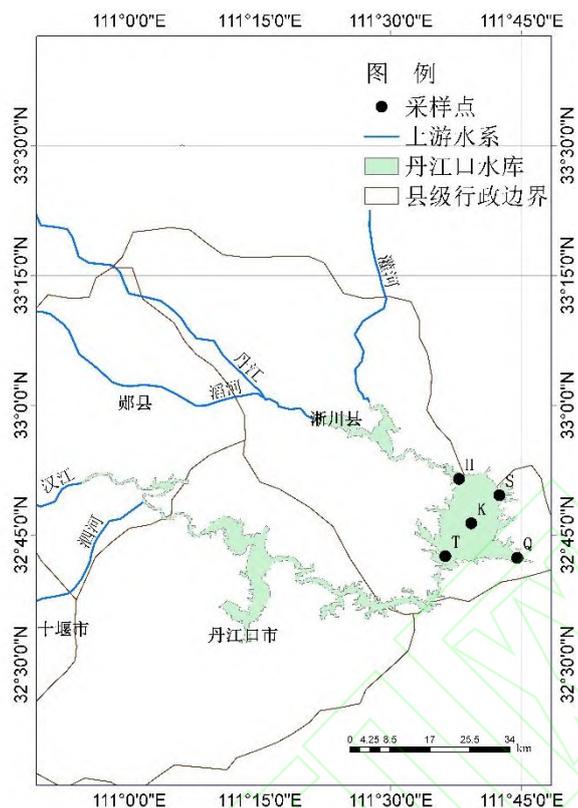


图 1 采样点分布示意

Fig.1 Location map of the sample sites of Danjiangkou Reservoir

## 1.2 水质理化指标测定

参照《水和废水监测分析方法》(第四版)<sup>[17]</sup>测定水样 pH 值、水温 ( $T$ )、总氮 (TN)、铵氮 ( $\text{NH}_4^+$ -N)、总磷 (TP)、电导率 (EC)、溶解氧 (DO)、高锰酸盐指数以及叶绿素 a 含量 (Chla) 等理化指标。

## 1.3 浮游细菌总 DNA 提取

1.5 L 表层、中层和底层水样经  $0.22 \mu\text{m}$  无菌微孔滤膜过滤, 放置于无菌离心管中, 采用 Omega Water DNA Kit (Omega, USA) 提取浮游细菌总 DNA。将提取得到的浮游细菌总 DNA 通过微量紫外分光光度计测定 DNA 浓度和纯度。

## 1.4 宏基因组测序分析

采用 HiSeq2000 测序平台对水样进行宏基因组学测序。将测序平台上得到的原始序列用 Fastp (v0.20.0) 软件对其进行质控, 剪切掉数据中的低质量 reads, 获得高质量序列, 采用 MEGAHIT v1.1.2 软件进行序列组装。对拼接结果进行 ORF 基因预测, 对预测结果进行聚类, 建立非冗余基因集。使用 DIAMOND (<https://github.com/bbuchfink/diamond>) 将非冗余基因集序列与 egg NOG 数据库进行比对 (参数: blastp;  $E\text{-value} \leq 1e^{-5}$ ), 获得基因对应的直系同源蛋白簇 (clusters of orthologous groups of proteins, COG), 使用 COG 对应的基因丰度总和计算其丰度。将非冗余基因集与 KEGG 基因 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, <http://www.genome.jp/kegg/>) 数据库进行比对, 得出各处理组在各层级中相对丰度的分析结果。使用 Diamond 软件将非冗余基因集的氨基酸序列与 NR 数据库进行比对后获得对应物种注释, 最后将每一物种所对应的基因丰度总和用于计算该物种的丰度。使用 CAZy 数据库的对应工具 hmmscan 将非冗余基因集与 CAZy 数据库进行比对, 比对参数设置期望值为  $1e^{-5}$ , 获得基因对应的碳水化合物活性酶注释信息, 然后使用碳水化合物活性酶对应的基因丰度总和计算该碳水化合物活性酶的丰度。宏基因组高通量测序数据基于 KEGG 数据库功能注释结果中的氮、磷标记基因 (KEGG Ontology, KO) 信息提取氮循环和磷循环标记基因集, 基于 RPKM 丰度计算方法, 进行功能组成分析, 差异分析和相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 水体理化因子垂直分布特征

丹江口水库不同分层水体理化性质指标测定结果如表 1 所示,  $T$ 、ORP、DO、EC、总溶解性固体 (TDS) 和 Chla 等指标表现出明显的垂直分布特征。 $T$  在不同样点间的范围为 10.5~18.3℃,  $\rho$  (DO) 和  $\rho$  (Chla) 在不同样点间的范围分别为 8.9~12.4 mg·L<sup>-1</sup> 和 0.89~8.58 mg·m<sup>-3</sup>, 以上指标随着水深的增加而降低。ORP 在不同样点间的范围为 212~281 mV, EC 在不同样点间的范围为 251~271  $\mu$ S cm<sup>-1</sup>,  $\rho$  (TDS) 在不同样点间的范围为 169~176 mg·L<sup>-1</sup>, 以上指标随着水深的增加而增加。丹江口水库  $\rho$  (TN) 相对较高, 在不同样点间的范围为 0.81~2.82 mg·L<sup>-1</sup>,  $\rho$  (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、 $\rho$  (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)、 $\rho$  (TP) 和  $\rho$  (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P) 范围分别为 0.06~1.46、0.65~1.64、0.01~0.06 和 0.01~0.02 mg·L<sup>-1</sup>。



表 1 各样品主要理化参数

Table 1 Main physical and chemical properties of different samples

样品	$T/^\circ\text{C}$	ORP/mV	pH	$\text{EC}/\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	$\rho(\text{DO})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{TDS})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{COD})$ /mg·L <sup>-1</sup>	高锰酸盐 指数 /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{TP})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{TN})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho\text{NO}_3^-\text{-N}$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{PO}_4^{3-}\text{-P})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{TOC})$ /mg·L <sup>-1</sup>	$\rho(\text{Chla})$ /mg·m <sup>-3</sup>
QS-B	14.9	232	8.66	260	12.4	169	2.33	3.05	0.03	2.20	0.06	1.31	0.02	0.18	5.86
QS-Z	11.4	271	8.64	265	10.7	171	2.67	3.38	0.04	1.10	0.05	0.83	0.01	0.25	3.71
QS-D	10.6	281	8.46	272	8.9	176	2.33	2.89	0.02	0.81	0.11	0.65	0.02	0.18	2.98
SG-B	17.0	246	8.10	260	11.7	169	3.33	3.05	0.01	2.65	1.46	1.46	0.01	0.20	4.04
SG-Z	11.0	252	8.02	267	10.5	174	5.33	2.56	0.05	2.22	0.16	1.41	0.03	0.19	2.17
SG-D	10.7	255	7.97	272	9.2	177	6.00	2.56	0.03	2.82	0.08	1.64	0.02	0.18	1.83
TZS-B	17.4	212	8.77	251	11.7	163	3.00	4.37	0.06	2.03	0.07	1.17	0.02	0.23	8.58
TZS-Z	11.4	246	8.62	265	10.0	171	1.67	2.72	0.02	2.88	0.13	1.41	0.02	0.19	1.73
TZS-D	10.7	254	8.47	270	9.6	176	4.00	2.23	0.03	1.62	0.12	0.96	0.02	0.17	0.45
KX-B	18.2	238	8.70	265	11.6	171	1.67	2.72	0.05	1.61	0.19	1.08	0.03	0.18	2.82
KX-Z	11.6	247	8.41	271	9.6	175	3.67	2.47	0.06	0.89	0.01	0.79	0.02	0.18	1.14
KX-D	10.7	263	8.15	271	8.9	176	3.00	2.39	0.06	2.70	0.12	1.49	0.02	0.19	0.89
HJZ-B	18.3	236	8.31	261	12.0	169	5.00	2.89	0.01	1.82	0.27	1.11	0.01	0.23	7.6
HJZ-Z	11.1	239	7.62	269	10.6	174	4.00	2.64	0.02	2.35	0.11	1.38	0.01	0.17	2.39
HJZ-D	10.5	241	7.74	270	9.1	175	4.33	3.71	0.01	2.54	0.07	1.47	0.01	0.20	1.03

## 2.2 群落组成及其影响因素分析

宏基因组分析表明，丹江口水库不同分层样品细菌门水平上变形杆菌门（Proteobacteria，31.28%~55.25%，相对丰度，下同）、放线杆菌门（Actinobacteriota，14.93%~20.19%）、浮霉菌门（Planctomycetes，2.43%~7.05%）、拟杆菌门（Bacteroidetes，3.03%~7.00%）、疣微菌门（Verrucomicrobia，1.72%~7.75%）和绿弯菌门（Chloroflexi，1.16%~11.40%），以上优势种群的序列总和占全部序列的75.35%~84.58%（图2）。

属水平上主要由 *Limnohabitans*（1.00%~8.95%）、奇异球菌属（*Deinococcus*，0.02%~12.22%）、*Candidatus\_Fonsibacter*（0.94%~2.35%）、棍状杆菌属（*Clavibacter*，0.56%~1.94%）、莱茵海默氏菌属（*Rheinheimera*，0.07%~1.39%）、不动杆菌属（*Acinetobacter*，0.03%~4.88%）、疣微菌属（*Pedosphaera*，0.18%~1.00%）、*Nitrospira*（0.24%~1.74%）和多核杆菌属（*Polynucleobacter*，0.29%~1.90%）等优势属组成（图3）。

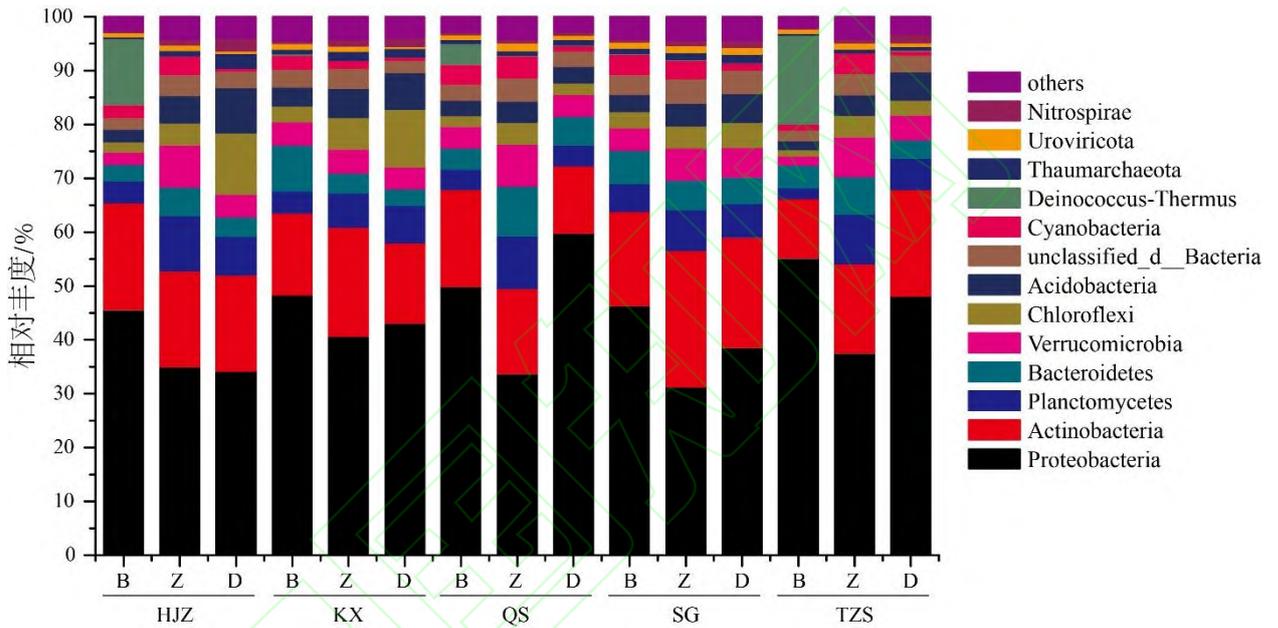


图2 不同样品浮游细菌门水平上物种相对丰度分布

Fig.2 Relative read abundance of bacterioplankton community structures at phylum level in different samples

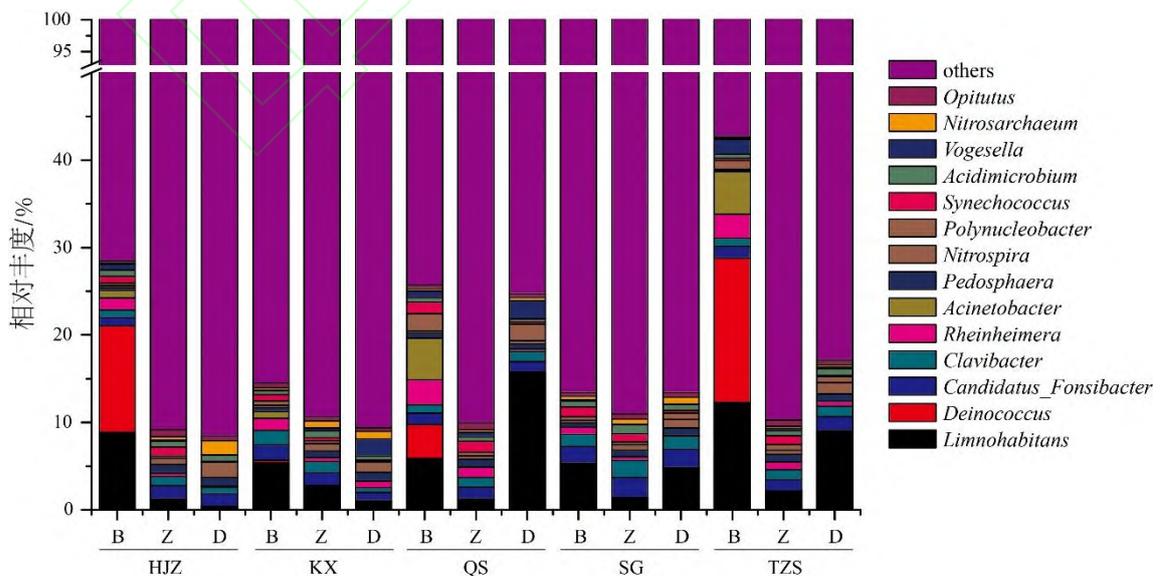


图3 不同样品浮游细菌属水平上物种相对丰度分布

Fig.3 Relative read abundance of bacterioplankton community structures at genus level in different samples

浮游细菌群落的 NMDS 分析结果如图 4 所示，丹江口水库表层样品分布于 NMDS 图左侧，中层样品分布 NMDS 图中部，底层样品分布 NMDS 图中右侧。以上分析表明样品不同深度来源的浮游细菌群落结构具有差异，后续 ANOSIM 分析结果表明表层与中层和底层，中层和底层的差异  $P$  值分别为 0.004、0.016 和 0.011，以上差异达到显著水平。LEfSe 分析表明，在  $LDA > 3.5$  的水平上，变形杆菌门和异常球菌-栖热菌门 (*Deinococcus-Thermus*) 在表层，浮霉菌门、疣微菌门和蓝细菌门 (*Cyanobacteria*) 在中层，绿弯菌门、酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和 *Nitrospirae* 在底层样品中存在显著差异。不动杆菌属、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、奇异球菌属和莱茵海默氏菌属在表层，聚球藻属 (*Synechococcus*) 在中层，*Nitrospira* 在底层样品中存在显著差异 (图 5)。将方差膨胀因子 (variance inflation factor, VIF)  $> 10$  的变量剔除后与属水平上浮游细菌群落进行 RDA 分析，结果表明  $T$  ( $P=0.028$ )、 $ORP$  ( $P=0.006$ )、 $DO$  ( $P=0.035$ ) 和  $Chla$  ( $P=0.001$ ) 是影响浮游细菌群落组成的主要因素。

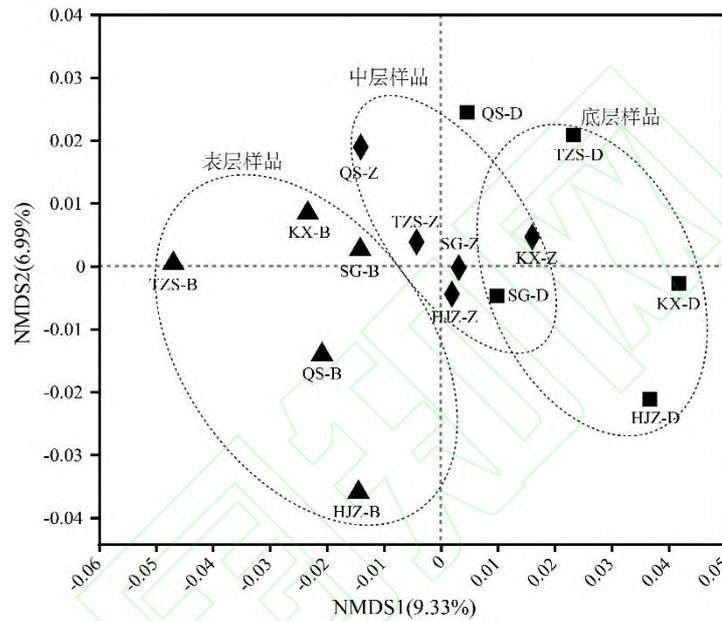


图 4 浮游细菌群落的 NMDS 分析

Fig.4 NMDS analysis of bacterioplankton community

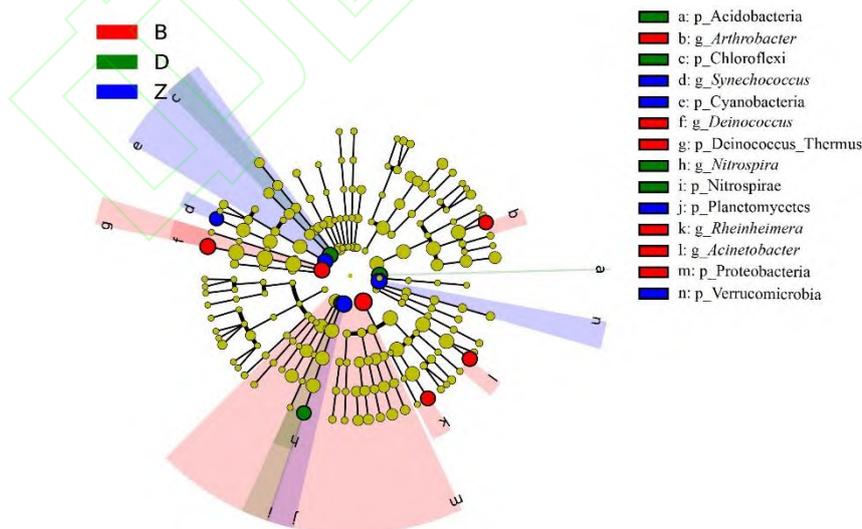


图 5 不同样品差异细菌分布

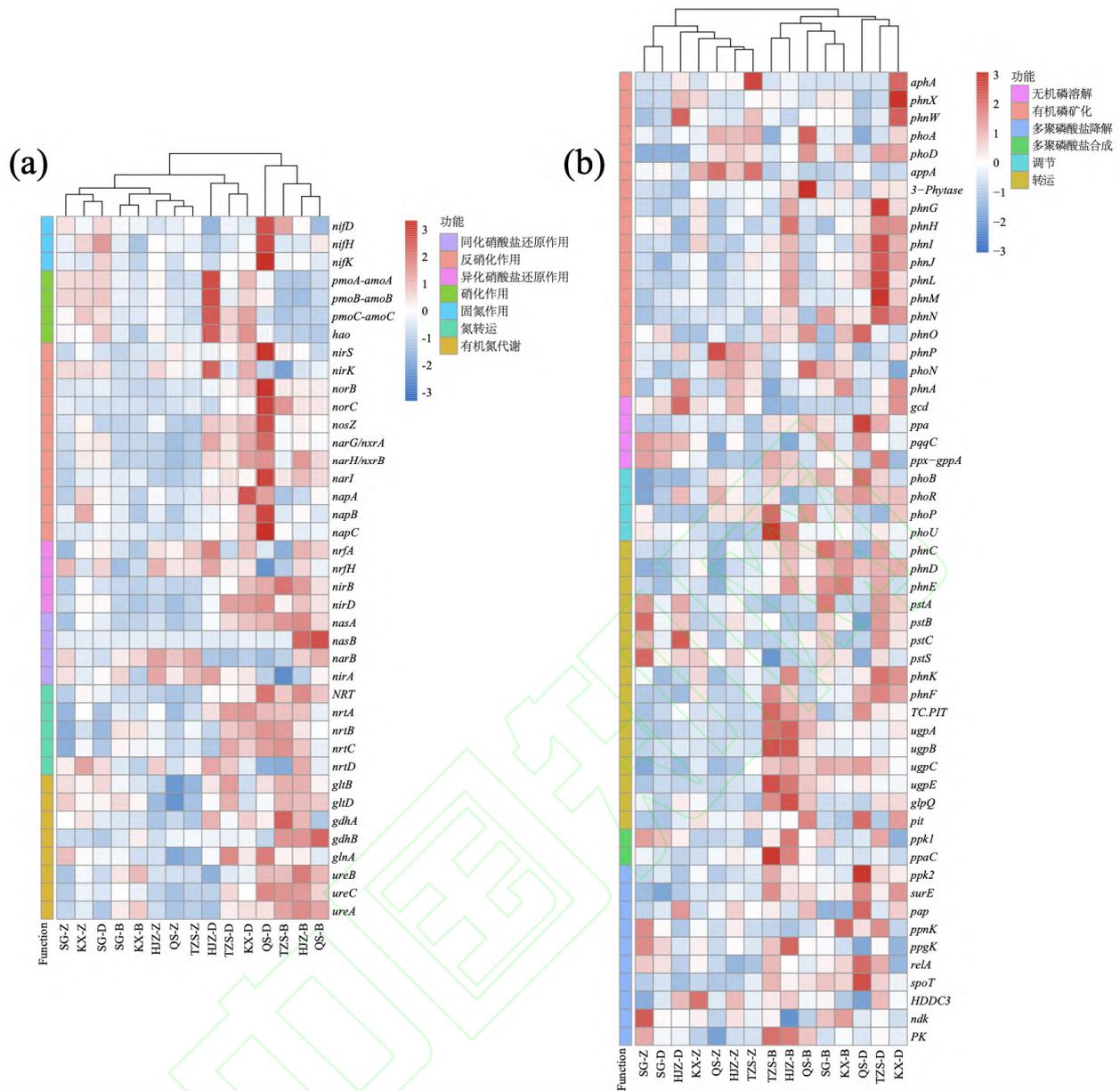
Fig.5 Taxon with statistical differences between different bacterial communities

### 2.3 氮磷循环功能基因组组成与差异

丹江口水库不同深度浮游细菌主要参与氮循环生物固氮过程 (nitrogen fixation)，以及生物脱氮过

程中的硝化作用 (nitrification)、反硝化作用 (denitrification)、异化硝酸盐还原作用 (dissimilatory nitrogen reduction, DNRA)、同化硝酸盐还原作用 (assimilatory nitrogen reduction, ANRA)、氮转运 (nitrogen transport) 和有机氮代谢 (organic N metabolism) 这 7 个主要途径, 涉及 *gltB*、*glnA*、*gltD*、*gdhA*、*NRT*、*ureC*、*narG/nxrA*、*nirB*、*nasA nrtA*、*nrtC* 和 *nrtB* 等 39 个氮循环功能基因[图 6 (a)]。宏基因组数据中筛选到的氮循环标记基因集, 基于绝对丰度数据使用 z-score 进行丰度标准化处理[图 6 (a)]。通过聚类可以发现[图 6 (a)], 主要分为 3 大类, 表层样品的 QS-B、HJZ-B、TZS-B 和底层样品的 QS-D 聚集为一类, 底层样品的 HJZ-D、TZS-D 和 KX-D 聚集为一类, 其余样品聚为一类。从热图 6 (a) 可知, 表层样品 QS-B、HJZ-B、TZS-B 和底层样品 QS-D、HJZ-D、TZS-D、KX-D 基因丰度高于另外一大组, 整体趋势为表层和底层氮循环功能基因丰度高于中层样品。其中表层样品 QS-B、HJZ-B 和 TZS-B 在有机氮代谢中 *gltB*、*gltD*、*gdhA*、*gdhB*、*glnA*、*ureB*、*ureC* 和 *ureA*, 同化硝酸盐还原作用中 *nasA* 和 *nasB*, 异化硝酸盐还原作用 *nirB* 和 *nirD* 基因丰度高于其他样品, 硝化作用 *pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC* 和 *hao* 基因丰度低于其他样品。底层样品 QS-D、HJZ-D、TZS-D 和 KX-D 在硝化作用中 *pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC* 和 *hao*, 反硝化作用中 *nirS*、*nirK*、*norB*、*norC*、*nosZ* 和 *narG/nxrA* 等, 氮转运中 *NRT*、*nrtA*、*nrtB*、*nrtC* 和 *nrtD* 基因丰度高于中层样品, 其中 QS-D 样品生物固氮过程中 *nifD*、*nifH* 和 *nifK*, 反硝化作用 *nirS*、*norB*、*norC*、*nosZ*、*narG/nxrA*、*narH/nxrB*、*narI*、*napB* 和 *napC* 基因丰度为所有样品中最高; TZS-D 样品硝化作用 *pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC* 和 *hao*, 反硝化作用 *nirK* 基因丰度为所有样品中最高。以上结果表明不同深度是影响氮循环功能基因组成和丰度的主要因素, 表层和底层氮循环功能基因组成有所差异, 整体丰度高于中层样品。

丹江口水库不同深度浮游细菌主要参与磷循环有机磷矿化 (organic P mineralization)、无机磷溶解 (inorganic P solubilization)、调节 (regulatory)、转运 (transporters)、多聚磷酸盐合成 (polyphosphate synthesis) 和多聚磷酸盐降解 (polyphosphate degradation) 等 6 个主要途径, 涉及 *pstS*、*ppx-gppA*、*glpQ*、*ppk1*、*ppnK*、*relA*、*PK*、*pstA*、*pstC*、*pstB* 和 *phoU* 等 54 个磷循环功能基因[图 6 (b)]。聚类分析结果与氮循环结果类似, 聚集为 3 大类, 底层样品 QS-D、TZS-D、KX-D 聚集为一类, 表层样品 QS-B、TZS-B、HJZ-B、KX-B 和 SG-B 聚集为一类, 其余样品聚为一类。从热图 6 (b) 可知, 表层所有样品和底层样品 QS-D、TZS-D 和 KX-D 基因丰度高于另外一大组, 整体趋势为表层和底层磷循环功能基因丰度高于中层样品。其中底层样品 QS-D、TZS-D 和 KX-D 在有机磷矿化中 *phnG*、*phnH*、*phnI*、*phnJ*、*phnL*、*phnM* 和 *phnN*, 转运中 *phnK* 和 *phnF*, 多聚磷酸盐降解中 *ppk2*、*surE* 和 *pap* 基因丰度高于其他样品。表层样品在有机磷矿化中 *phnG*、*phnH*、*phnI*、*phnJ*、*phnL*、*phnM*、*phnN* 和 *phnO*, 转运中 *phnC*、*phnD*、*phnE*、*phnF*、*TC.PIT*、*ugpA*、*ugpB*、*ugpC*、*ugpE* 和 *glpQ*, 调节中 *phoB*, 多聚磷酸盐降解中 *ppk2*、*surErelA* 和 *spoT* 基因丰度高于中层样品。以上结果表明不同深度是影响磷循环功能基因组成和丰度的主要因素, 表层和底层磷循环功能基因组成有所差异, 整体丰度高于中层样品。



(a) 氮, (b) 磷

图 6 氮、磷循环功能基因 Heatmap 图

Fig.6 Heatmap showing the predicted functional genes related to the nitrogen and phosphorus cycles

### 2.4 与氮、磷循环相关的关键细菌物种组成

物种与氮、磷循环功能贡献度分析结果如图 7 所示。在属水平上共筛选出奇异球菌属 (*Deinococcus*)、嗜氢菌属 (*Hydrogenophaga*)、*Limnohabitans*、*Nitrosarchaeum* 和亚硝化侏儒菌属 (*Nitrosopumilus*) 等 10 种主要功能菌群在氮循环过程中贡献比例高[图 7 (a)]。其中 *Nitrosarchaeum*、亚硝化侏儒菌属参与硝化作用;*Nitrosarchaeum* 和红树林杆菌属 (*Mangrovibacterium*) 参与固氮过程,嗜氢菌属 (*Hydrogenophaga*)、*Limnohabitans* 参与除黑鸡嘴样点外的固氮过程;*Nitrosarchaeum* 参与反硝化作用;*Limnohabitans*、嗜氢菌属和奇异球菌属参与部分样点的固氮过程、异化硝酸盐还原作用、同化硝酸盐还原作用、氮转运和有有机氮代谢。

在属水平上共筛选出 *Limnohabitans*、奇异球菌属 (*Deinococcus*) 和棍状杆菌属 (*Clavibacter*) 等 10 种主要功能菌群在磷循环过程中贡献比例高[图 7 (b)]。其中棍状杆菌属参与无机磷溶解、多聚磷酸盐降解和转运等磷代谢过程, *Limnohabitans* 参与除黑鸡嘴位点外的有机磷矿化和无机磷溶解等磷代谢过

程，奇异球菌属参与黑鸡嘴样点多聚磷酸盐合成、多聚磷酸盐降解和转运等磷代谢过程。

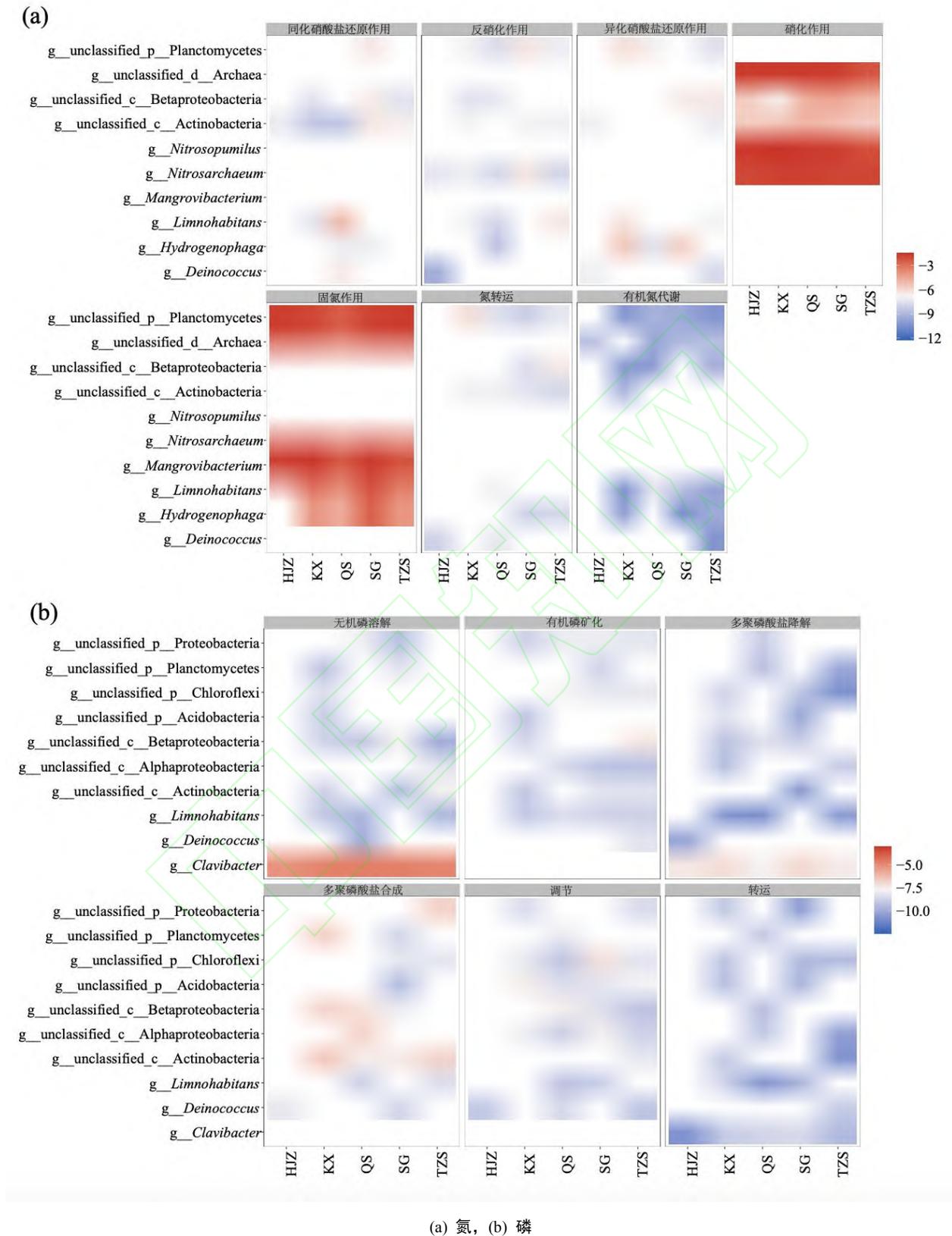


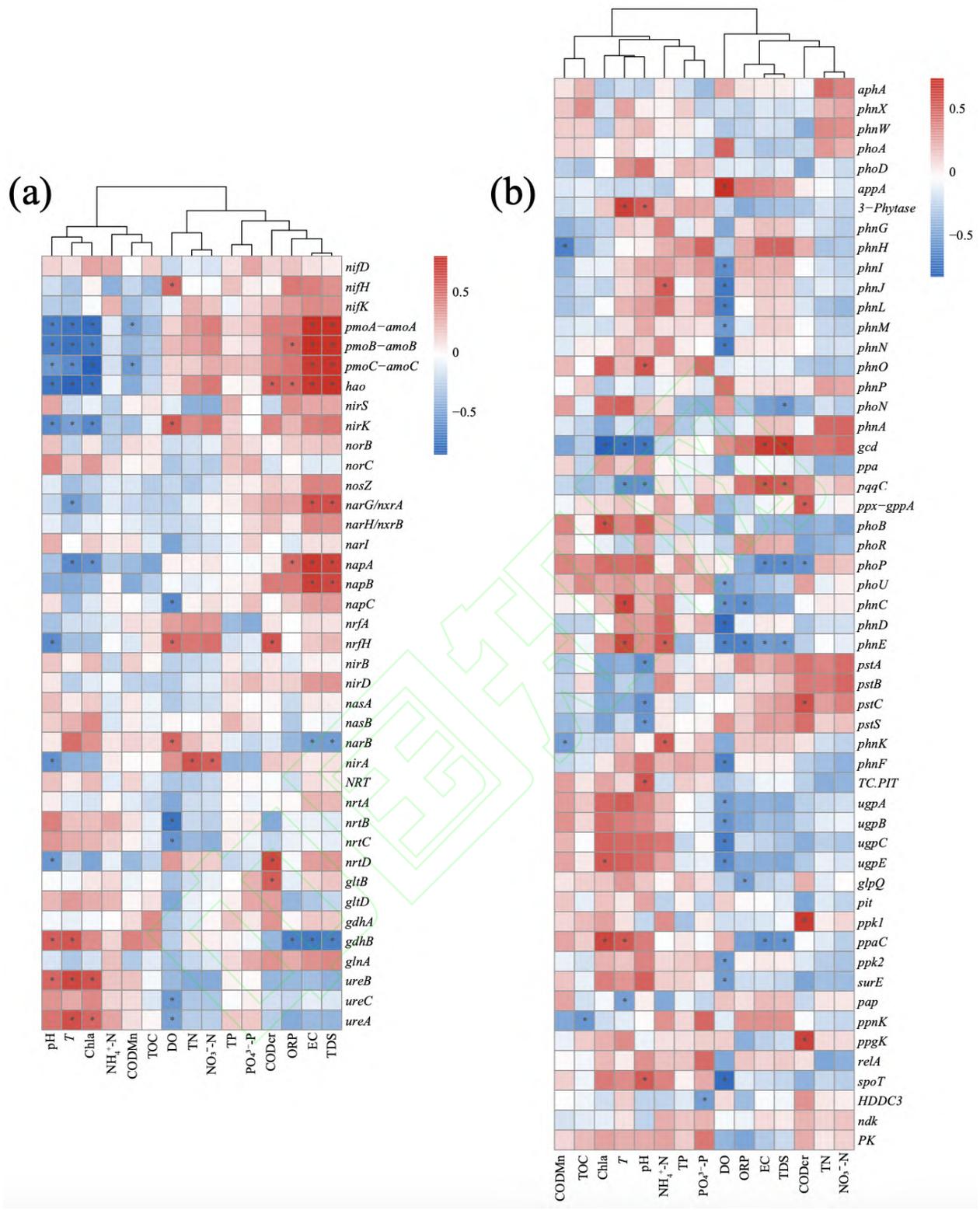
图 7 物种与氮、磷循环功能贡献度分析

Fig.7 Contribution of core functional microbes to the nitrogen and phosphorus cycle

## 2.5 氮磷循环功能基因驱动因素分析

将氮循环功能基因与水质理化指标进行相关性分析,结果如图 8(a)所示。硝化作用 *pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC* 和 *hao* 主要与 TDS、EC 呈显著正相关,与 pH、*T* 和 Chla 呈显著负相关。反硝化作用 *narG/nxrA*、*narH/nxrB*、*napA* 和 *napB* 与 TDS、EC 呈显著正相关。*T* 和 Chla 与 *ureB* 和 *ureA* 显著正相关,与 *napA* 显著负相关。DO 与 *nifH*、*nirK* 和 *nrfH* 呈显著正相关,与 *nap*、*nrtB*、*nrtC*、*ureC* 和 *ureA* 呈显著负相关。TN 和  $\text{NO}_3^-$ -N 与 *nirA* 显著正相关, $\text{NH}_4^+$ -N 与 *pmoA-amoA* 和 *pmoC-amoC* 显著负相关。

磷循环功能基因与水质理化指标相关性分析结果如图 8(b)所示,有机磷矿化中 *3-Phytase* 与 pH 和 *T* 显著正相关,*phnH* 与  $\text{COD}_{\text{Mn}}$  显著负相关,*phnJ* 与  $\text{NH}_4^+$ -N,*phnO* 与 pH 均显著正相关,DO 与 *phnI*、*hnJ*、*phnL*、*phnM* 和 *phnN* 显著负相关的同时,与 *appA* 显著正相关。无机磷溶解中 *gcd* 和 *pqqC* 与 pH、*T* 显著负相关的同时,与 TDS、EC 显著正相关。调节循环中 *phoR* 与 TDS、EC 和 COD 显著负相关。Chla、*T*、pH、 $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{COD}_{\text{Cr}}$  与转运循环中 *phnC*、*phnE*、*pstC*、*phnK*、*TC.PIT* 和 *ugpE* 等呈显著正相关,DO 与 *phoU*、*phnC*、*phnD*、*phnE*、*phnF*、*ugpA*、*ugpB*、*ugpC* 和 *ugpE* 均显著负相关。多聚磷酸盐合成中 *ppaC* 与 Chla 和 *T* 显著正相关,与 TDS、EC 显著负相关。多聚磷酸盐降解中 *ppgK* 和 *spoT* 与  $\text{COD}_{\text{Cr}}$  和 pH 显著正相关,*ppk2*、*surE*、*pap*、*ppnK*、*spoT* 和 *HDDC3* 与 TOC、*T*、 $\text{PO}_4^{3-}$ -P、DO、EC 和 TDS 显著负相关。



(a) 氮, (b) 磷

图 8 氮、磷循环功能基因与环境因子相关性分析热图

Fig. 8 Heat map of Spearman correlation analysis of nitrogen and phosphorus cycle genes and physicochemical parameters

### 3 讨论

#### 3.1 丹江口水库浮游细菌垂向分布及其影响因素

我们之前采用 16S rRNA 扩增子测序的方法对丹江口库区不同年份和季节的表层样品浮游细菌进行

了研究,发现其主要由放线杆菌门、变形杆菌门、Bacteroidetes 和 Firmicutes 等优势门, *hgcI\_clade*、*Fluviicola*、*CL500-29\_marine\_group* 和 *Limnohabitans* 等优势属组成<sup>[6,7,16]</sup>。对比宏基因组分析的浮游细菌群落组成,在优势门,特别是优势属的组成上有显著差异,分析原因可能是采样时间上细菌群落的差异,但更大可能的影响因素是测序方法的不同。相较 16S rRNA 扩增子测序,宏基因组测序对微生物基因组随机进行打断,并通过组装的方式,将小片段拼接成较长的序列,在物种鉴定过程中,能更准确的进行注释,可以更深入地表征生物多样性<sup>[18]</sup>。

南水北调中线工程调水系统自 2014 年启动,丹江口水库作为南水北调中线工程的水源区,水库正常蓄水位由 157 m 提升至 170 m,深度的增加会引起环境因子的变化,从而影响浮游细菌的组成。与 Yue 等<sup>[19]</sup>乌江渡水库和洪家渡水库浮游细菌垂向分布特征一致,NMDS 结合 ANOSIM 分析表明丹江口水库浮游细菌组成在垂直方向上表现出显著的差异。差异细菌分析表明主要为不动杆菌属、节杆菌属、奇异球菌属、莱茵海默氏菌属、聚球藻属和 *Nitrospira*。与其他湖泊、水库垂向环境因子的变化结果类似<sup>[19,20]</sup>,丹江口水库随着水深的增加,阳光变弱,*T*、DO 和氧化还原电位降低,浮游植物的生长繁殖受到限制,Chla 也逐渐降低。*T* 是影响浮游细菌生长繁殖的重要环境因子,细菌内部酶的活性决定了其新陈代谢的能力,在一定 *T* 范围内酶的活性与 *T* 成正比<sup>[21]</sup>。Li 等<sup>[22]</sup>研究发现当 *T* 低于 14 °C 时,*T* 对浮游细菌的调控作用超过了其他影响因素,是影响细菌分布的主要因素。丹江口水库表层水样 *T* 高于 14 °C,中层和底层 *T* 均低于 14 °C,浮游细菌组成受 *T* 影响显著。溶解氧是水生物生命活动不可缺少的物质,水库中的溶解氧主要来源于大气中的游离氧以及浮游植物和水生植物的光合作用,蓝细菌和一些光合细菌也起一定作用<sup>[23]</sup>。同时浮游植物光合作用过程中释放的 DOM 是浮游细菌的主要营养源。丹江口水库溶解氧和 Chla 含量变化趋势一致,随深度增加浓度降低,是影响浮游细菌群落垂直分布的主要因素。总之,丹江口水库水深变化引起的理化性质中 *T*、氧化还原电位、DO 和 Chla 垂向差异,导致浮游细菌群落呈明显的垂直分布模式。

### 3.2 丹江口水库氮磷循环基因垂向分布及其驱动因素

微生物可以通过氨化作用、硝化作用、反硝化作用和固氮作用等将 N<sub>2</sub>、无机氮化合物、有机氮化合物在自然界中相互转化,从而驱动地球氮元素的生物地球化学循环<sup>[4,5]</sup>。丹江口库区总氮介于 0.81~2.88 mg·L<sup>-1</sup>,相对浓度较高,是影响水质的主要风险因子。之前的研究者采用荧光定量 PCR 和高通量测序技术表明丹江口水库表层水样和沉积物中具有丰富的氮循环微生物和功能基因的存在<sup>[9,24]</sup>。我们对丹江口水库不同深度氮循环相关功能基因进行分析,发现涉及生物固氮、硝化作用和反硝化作用等 7 个主要途径的 39 个氮循环功能基因,与 Zhu 等<sup>[25]</sup>预测的河流中氮循环功能基因组成类似。丹江口水库水深变化引起的理化性质驱动浮游细菌群落呈明显的垂直分布模式,氮循环功能基因组成和丰度也呈现此趋势。氮循环基因拷贝数聚类分析发现不同深度是影响氮循环功能基因组成和丰度的主要因素,表层和底层氮循环功能基因组成有所差异,整体丰度高于中层样品[图 6 (a)]。分析原因可能为表层为地表径流和大气氮沉降的主要汇入层,底层距离沉积物较近,沉积物中氮相对较高<sup>[7,9,24]</sup>。不同深度样品在氮循环功能基因的丰度上有所差异,表层样品有机氮代谢、异化硝酸盐还原作用中部分基因丰度高于其他样品,底层样品在硝化作用、反硝化作用部分基因丰度高于其他样品。分析表明驱动的因素主要为 DO、pH、*T*、TDS、EC 和 Chla,以上环境因子随深度增加浓度降低或升高,表明丹江口水库水深变化引起的理化性质垂向差异,导致浮游细菌功能呈明显的垂直分布特征。有研究表明 *Nitrosopumilus* 和 *Nitrosarchaeum* 是长江流域中氨氧化古菌(AOA)的主要组成,在氨氧化中起到重要作用<sup>[26]</sup>。红树林杆菌属(*Mangrovibacterium*)是已报道的具有固氮能力的微生物,参与丹江口水库固氮过程<sup>[27]</sup>。嗜氢菌属(*Hydrogenophaga*)是报的除了有脱氮功能外,还对多种有机物具有良好的降解作用<sup>[28]</sup>。*Limnohabitans* 作为淡水生态系统中常见的属,可以存在于各种环境中,可以捕获藻类来源的有机物质和参与氮磷循环<sup>[29]</sup>。分析表明奇异球菌属(*Deinococcus*)、嗜氢菌属(*Hydrogenophaga*)、*Limnohabitans*、*Nitrosarchaeum* 和亚硝化侏儒菌属(*Nitrosopumilus*) 在丹江口水库氮循环过程中贡献比例高,起到主要作用[图 7 (a)]。

磷元素作为我国大部分水库的限制性要素,是水库富营养化控制的关键因子<sup>[30]</sup>。我们对丹江口水库不同深度磷循环功能基因预测表明其涉及有机磷矿化、无机磷溶解等 6 个主要途径的 54 个氮循环功能

基因，表现出磷循环功能基因的多样性<sup>[31]</sup>。与之前的 PICRUST2 预测的 41 个磷功能基因相比，数量更多，更为准确和全面的分析了丹江口水库不同深度磷循环功能基因的组成<sup>[6]</sup>。与氮循环基因随水深变化的趋势一致，表层、中层和底层磷循环功能基因有所差异，这与 Llorens-Marès 等<sup>[15]</sup>研究的高山深湖磷循环基因随深度呈现差异一致。分析表明 DO、pH、T、TDS、EC 和 Chla 与循环功能基因显著相关，以上环境因子随丹江口水库深度增加浓度降低或升高，导致浮游细菌磷循环功能基因呈明显的垂直分布特征。磷循环功能基因整体趋势为表层和底层基因丰度高于中层样品，该趋势与氮循环功能基因的趋势一致。有研究表明 *Limnohabitans*、奇异球菌属 (*Deinococcus*) 和棍状杆菌属 (*Clavibacter*) 是已报道的磷循环微生物，分析表明以上微生物在丹江口水库磷循环过程中贡献比例高，起到主要作用<sup>[6]</sup>。

#### 4 结论

(1) 丹江口水库水深变化引起的理化性质 T、氧化还原电位、DO 和 Chla 垂向差异，导致浮游细菌群落呈明显的垂直分布模式。

(2) 宏基因组分析表明丹江口水库浮游细菌参与生物固氮、硝化作用、反硝化作用和异化硝酸盐还原作用等氮循环过程，涉及 *gltB*、*glnA*、*gltD*、*gdhA*、*NRT* 和 *ureC* 等 39 个氮循环功能基因。

(3) 宏基因组分析表明丹江口水库浮游细菌参与有机磷矿化、无机磷溶解、调节和多聚磷酸盐合成等磷循环过程，涉及 *pstS*、*ppx-gppA*、*glpQ*、*ppk1* 和 *ppnK* 等 54 个氮循环功能基因。

(4) 垂直分布是影响氮、磷循环功能基因组成和丰度的主要因素，表层和底层氮、磷循环功能基因组成有所差异，整体丰度高于中层样品。

## 参考文献:

- [1] 朱媛媛, 田进军, 李红亮, 等. 丹江口水库水质评价及水污染特征 [J]. 农业环境科学学报, 2016, **35**(11): 139-147.  
Zhu YY, Tian JJ, Li HL, *et al.* Water quality assessment and pollution profile identification of Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, **35**(11): 139-147.
- [2] Wei M, Duan P, Gao P, *et al.* Exploration and application of hydrochemical characteristics method for quantification of pollution sources in the Danjiangkou Reservoir area [J]. *Journal of Hydrology*, 2020, **590**, doi: 10.1016/j.jhydrol.2020.125291.
- [3] 任丽娟, 何聘, 邢鹏, 等. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展 [J]. 生物多样性, 2013, **21**(14): 421-432.  
Ren L, He D, Xing P, *et al.* Bacterial diversity and ecological function in lake water bodies [J]. *Biodiversity Science*, 2013, **21**(14): 421-432.
- [4] Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, **16**: 263-276.
- [5] 杨雪琴, 连英丽, 颜庆云, 等. 滨海湿地生态系统微生物驱动的氮循环研究进展 [J]. 微生物学报, 2018, **58**(14): 633-648.  
Yang X, Lian Y, Yan Q, *et al.* Microbially-driven nitrogen cycling in coastal ecosystems [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, **58**(14): 633-648.
- [6] Chen ZJ, Liu YQ, Li YY, *et al.* The seasonal patterns, ecological function and assembly processes of bacterioplankton communities in the Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, **13**, doi:10.3389/fmicb.2022.884765.
- [7] 张菲, 田伟, 孙峰, 等. 丹江口库区表层浮游细菌群落组成与 PICRUSt 功能预测分析 [J]. 环境科学, 2019, **40**(13): 243-251.  
Zhang F, Tian W, Sun F, *et al.* Community structure and predictive functional analysis of surface water bacterioplankton in the Danjiangkou Reservoir [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(13): 243-251.
- [8] 孙峰, 田伟, 张菲, 等. 丹江口库区库滨带植被土壤细菌群落多样性及 PICRUSt 功能预测分析 [J]. 环境科学, 2019, **40**(1): 421-429.  
Sun F, Tian W, Zhang F, *et al.* Composition and predictive functional analysis of rhizosphere bacterial communities in riparian buffer strips in the Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(1): 421-429.
- [9] 阴星望, 田伟, 丁一, 等. 丹江口库区表层沉积物细菌多样性及功能预测分析 [J]. 湖泊科学, 2018, **30**(4): 1052-1063.  
Yin X, Tian W, Ding Y, *et al.* Composition and predictive functional analysis of bacterial communities in surface sediments of the Danjiangkou Reservoir [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, **30**(4): 1052-1063.
- [10] Ren Z, Ma K, Jia X, *et al.* Metagenomics unveils microbial diversity and their biogeochemical roles in water and sediment of thermokarst lakes in the Yellow River source area [J]. *Microbial Ecology*, 2023, **85**: 904-915.
- [11] Kuang B, Xiao R, Hu Y, *et al.* Metagenomics reveals biogeochemical processes carried out by sediment microbial communities in a shallow eutrophic freshwater lake [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, **13**, doi: 10.3389/fmicb.2022.1112669.
- [12] Dang C, Xia Y, Zheng M, *et al.* Metagenomic insights into the profile of antibiotic resistomes in a large drinking water reservoir [J]. *Environment International*, 2020, **136**, doi:10.1016/j.envint.2019.105449.
- [13] 罗建桦, 陶晔, 邢鹏, 等. 湖泊微生物宏基因组学研究进展 [J]. 湖泊科学, 2020, **32**(1), 271-280.  
Luo J, Tao Y, Xing P, *et al.* Mini-review: Advances of metagenomics research for lake microbiomes [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2020, **32**(1): 271-280.
- [14] 王朱珺, 王尚, 刘洋茨, 等. 宏基因组技术在氮循环功能微生物分子检测研究中的应用 [J]. 生物技术通

- 报, 2018, **34**(11): 1-14.
- Wang ZJ, Wang S, Liu YY, *et al.* The applications of metagenomics in the detection of environmental microbes involving in nitrogen cycle [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, **34**(11): 1-14.
- [15] Llorens-Marès T, Catalan J, Casamayor EO. Taxonomy and functional interactions in upper and bottom waters of an oligotrophic high-mountain deep lake (Redon, Pyrenees) unveiled by microbial metagenomics [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **707**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135929.
- [16] Chen Z-J, Xu G, Ding C-Y, *et al.* Illumina MiSeq sequencing and network analysis the distribution and co-occurrence of bacterioplankton in Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Archives of Microbiology*, 2020, **202**: 859-873.
- [17] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版).北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [18] Durazzi F, Sala C, Castellani G, *et al.* Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota [J]. *Scientific Reports*, 2021, **11**, doi: 10.1038/s41598-021-82726-y.
- [19] Yue Y, Cai L, Tang Y, *et al.* Vertical distribution of bacterial community in water columns of reservoirs with different trophic conditions during thermal stratification [J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2021, **9**, doi: 10.3389/fenvs.2021.632089.
- [20] 杜蕾, 李文宝, 杨旭, 等. 达里诺尔湖夏季水体浮游细菌群落垂向变化特征差异 [J]. *地球科学*, 2020, **45**(5): 1818-1829.
- Du L, Li W, Yang X, *et al.* Vertical Changes of planktonic bacteria community and predictive functional analysis in summer Dali-Nor Lake [J]. *Earth Science*, 2020, **45**(5): 1818-1829.
- [21] Vrede, K. Nutrient and temperature limitation of bacterioplankton growth in temperate lakes [J]. *Microbial Ecology*, 2005, **49**: 245-256.
- [22] Li WKW. Annual average abundance of heterotrophic bacteria and *Synechococcus* in surface ocean waters [J]. *Limnol. Oceanogr*, 1998, **43**: 1746-1753.
- [23] Yang M, Shi J, Wang B, *et al.* Control of hydraulic load on bacterioplankton diversity in cascade hydropower reservoirs, southwest China [J]. *Microbial Ecology*, 2020, **80**: 537-545.
- [24] Dang C, Liu W, Lin Y, *et al.* Dominant role of ammonia-oxidizing bacteria in nitrification due to ammonia accumulation in sediments of Danjiangkou Reservoir, China [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, **102**: 3399-3410.
- [25] Zhu J, Hong Y, Zada S, *et al.* Spatial variability and co-acclimation of phytoplankton and bacterioplankton communities in the Pearl River Estuary, China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, **9**, doi: 10.3389/fmicb.2018.02503.
- [26] Liu S, Wang H, Chen L, *et al.* Coexistence of *Nitrospira* within the Yangtze River continuum: community, biogeography, and ecological drivers [J]. *the ISME Journal*, 2020, **14**: 2488-2504.
- [27] Huang XF, Liu YJ, Dong JD, *et al.* *Mangrovibacterium diazotrophicum* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a mangrove sediment, and proposal of *Prolixibacteraceae* fam. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, **64**: 875-881.
- [28] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16S rRNA 高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(4): 1704-1716.
- Yang H, Zhang G-z, Yang X-n, *et al.* Microbial community structure and diversity in cellar water by 16S rRNA high-throughput sequencing [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(4): 1704-1716.
- [29] Zheng L, Xing Y, Ding A, *et al.* Brownification of freshwater promotes nitrogen-cycling microorganism growth following terrestrial material increase and ultraviolet radiation reduction [J]. *Science of the Total Environment* 2022, **853**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135929.
- [30] Zhang H, Cao X, Huo S, *et al.* Changes in China's river water quality since 1980: management implications from

sustainable development [J]. npj Clean Water, 2023, **6**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158556.

[31] McMahon KD, Read EK. Microbial contributions to phosphorus cycling in eutrophic lakes and wastewater [J]. Annual Review of Microbiology, 2013, **67**: 199-219.

