



黄河小浪底库区旱季上游和下游原核生物群落与固碳功能微生物群的环境驱动因素

桂泽威^{1,2,3}, 吴壮惠^{1,2,3}, 赵博^{1,2,3}, 杨国坤^{1,2,3}, 常绪路^{1,2,3}, 高肖飞^{1,2,3},
孟晓林^{1,2,3*}, 张艳敏^{1,2,3*}

- 1 河南师范大学 水产学院, 河南 新乡 453007
- 2 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南 新乡 453007
- 3 河南省丹江口水库水域生态系统野外科学观测研究站, 河南 南阳 474450

桂泽威, 吴壮惠, 赵博, 杨国坤, 常绪路, 高肖飞, 孟晓林, 张艳敏. 黄河小浪底库区旱季上游和下游原核生物群落与固碳功能微生物群的环境驱动因素[J]. 微生物学报, 2024, 64(12): 4607-4623.

GUI Zewei, WU Zhuanghui, ZHAO Bo, YANG Guokun, CHANG Xulu, GAO Xiaofei, MENG Xiaolin, ZHANG Yanmin. Environmental drivers of prokaryotic microbial communities and carbon-fixing microbial groups in the upper and lower reaches of the Xiaolangdi Reservoir of the Yellow River during the dry season[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(12): 4607-4623.

摘要: 【目的】探究旱季黄河小浪底库区及下游原核生物及其固碳功能群的环境驱动因素。【方法】采集旱季(2020年11月)黄河小浪底库区及下游水体和表层沉积物样品进行理化因子测定; 通过细菌、古菌 16S rRNA 基因高通量测序和 PICRUSt2 预测探究原核生物群落组成及其固碳功能, 同时通过固碳基因 *cbbL* 和 *cbbM* 高通量测序分析固碳微生物群落组成。【结果】变形菌门(*Proteobacteria*, 24.74%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 17.55%)和厚壁菌门(*Firmicutes*, 11.43%)为优势细菌; 泉古菌门(*Crenarchaeota*, 63.26%)、热原体门(*Thermoplasmatota*, 18.29%)和盐杆菌门(*Halobacterota*, 11.31%)为主要优势古菌。此外, 变形菌门(*Proteobacteria*, 13.14%)、蓝藻门(*Cyanobacteria*, 1.70%)和放线菌门(*Actinobacteria*, 0.76%)是 *cbbL* 型固碳微生物的优势门; 变形菌门(*Proteobacteria*, 3.52%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 0.03%)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*, 0.02%)是 *cbbM* 型固碳微生物的优势门。其中, 细菌群落结构的主要驱动因素是温度(temperature, *T*)、浊度(turbidity, *Turb*)、化学需氧量(chemical oxygen demand, *COD*)和总氨氮(total ammonia nitrogen, *TAN*), 但环境因子对古菌及固碳微生物的影响较弱。在细菌固碳途径中, 还原柠檬酸循环(rTCA)、

资助项目: 国家自然科学基金(42402310); 河南省自然科学基金(242300421657); 河南省高等学校重点科研项目(23B240001)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42402310), the Natural Science Foundation of Henan Province (242300421657), and the Key Scientific Research Project of Universities in Henan Province (23B240001).

*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Yanmin, zhang_yanmin2019@163.com; MENG Xiaolin, mengxiaolinqdio@126.com

Received: 2024-11-02; Accepted: 2024-11-22

二羧酸/4-羟基丁酸循环(DC/4HB)、3-羟基丙酸双循环(3HP)和卡尔文循环(CBB)的丰度较高,且小浪底上游3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(3HP/4HB)丰度显著高于下游。在古菌群落固碳途径中,rTCA、DC/4HB和不完全还原柠檬酸循环(incomplete rTCA)的丰度较高,且小浪底下游还原乙酰辅酶A途径(WL)丰度显著高于库区。浊度是影响细菌3HP和incomplete rTCA途径丰度的关键因素;温度、溶解氧(dissolved oxygen, DO)、浊度、COD和总磷(total phosphorus, TP)则是影响古菌固碳途径丰度的主要因素。【结论】本研究揭示了旱季小浪底库区上、下游原核生物及其固碳功能群的环境驱动因素,结果有助于加深理解旱季黄河微生物驱动的碳固定过程及其环境驱动机制。

关键词: 黄河; 小浪底水库; 旱季; 微生物群落; 碳固定

Environmental drivers of prokaryotic microbial communities and carbon-fixing microbial groups in the upper and lower reaches of the Xiaolangdi Reservoir of the Yellow River during the dry season

GUI Zewei^{1,2,3}, WU Zhuanghui^{1,2,3}, ZHAO Bo^{1,2,3}, YANG Guokun^{1,2,3}, CHANG Xulu^{1,2,3}, GAO Xiaofei^{1,2,3}, MENG Xiaolin^{1,2,3*}, ZHANG Yanmin^{1,2,3*}

1 College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, Henan, China

2 Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Xinxiang 453007, Henan, China

3 Observation and Research Station on Water Ecosystem in Danjiangkou Reservoir of Henan Province, Nanyang 474450, Henan, China

Abstract: [Objective] To explore the environmental drivers of prokaryotic microbial communities and carbon-fixing microbial groups in the upper and lower reaches of the Xiaolangdi Reservoir of the Yellow River during the dry season. **[Methods]** Water and surface sediment samples were collected from the upper and lower reaches of Xiaolangdi Reservoir during the dry season (November, 2020), and the physiochemical factors were measured. The composition of prokaryotic microbial communities and their carbon fixation functions were investigated by high-throughput sequencing of bacterial and archaeal 16S rRNA genes and PICRUSt2 prediction. The composition of carbon-fixing microbial groups was analyzed by high-throughput sequencing of *cbbL* and *cbbM*. **[Results]** *Proteobacteria* (24.74%), *Actinobacteria* (17.55%), and *Firmicutes* (11.43%) were the dominant bacterial phyla. *Crenarchaeota* (63.26%), *Thermoplasmata* (18.29%), and *Halobacterota* (11.31%) were the dominant archaea. *Proteobacteria* (13.14%), *Cyanobacteria* (1.70%), and *Actinobacteria* (0.76%) were the dominant phyla of *cbbL*-carrying carbon-fixing microorganisms. *Proteobacteria* (3.52%), *Actinobacteria* (0.03%), and *Gemmatimonadota* (0.02%) were the dominant phyla of *cbbM*-carrying carbon-fixing microorganisms. The main environmental drivers of the bacterial community structure were temperature (*T*), turbidity, chemical oxygen

demand (COD), and total ammonia nitrogen, which, however, had mild influences on archaea and carbon-fixing microbial groups. In bacteria, the relative abundance of the reductive tricarboxylic acid cycle (rTCA), the dicarboxylate-hydroxybutyrate cycle (DC/4HB), the 3-hydroxypropionate bi-cycle (3HP), and the Calvin-Benson-Bassham (CBB) were higher than that of other detected carbon fixation pathways. Notably, the relative abundance of the hydroxypropionate-hydroxybutylate cycle (3HP/4HB) in the upper reaches was significantly higher than that in the lower reaches. In archaea, the relative abundance of carbon fixation pathways such as rTCA, DC/4HB, and incomplete rTCA was higher, and the abundance of the Wood-Ljungdahl pathway (WL) in the lower reaches was markedly higher than that in the upper reaches of the Xiaolangdi Reservoir. Turbidity was a key factor affecting the abundance of the bacterial 3HP and incomplete rTCA, while temperature, dissolved oxygen, turbidity, COD, and total phosphorus were the main factors affecting the abundance of carbon fixation pathways in archaea. **[Conclusion]** This study revealed the environmental drivers of prokaryotic microbial communities and carbon-fixing microbial groups in the upper and lower reaches of the Xiaolangdi Reservoir during the dry season. The results contribute to a deeper understanding of the microbial carbon fixation process and the environmental driving mechanisms in the Yellow River during the dry season.

Keywords: Yellow River; Xiaolangdi Reservoir; dry season; microbial community; carbon fixation

微生物作为河流生态系统的重要组成部分, 是调节河流碳循环的关键驱动者, 其中微生物固碳过程是河流碳循环的关键步骤, 且敏感响应全球气候变化^[1-2]。因此, 了解固碳微生物及其对环境因子的响应规律, 对全面了解河流碳循环过程至关重要。固碳微生物可通过各种固碳途径将无机碳(CO_2 、 H_2CO_3 、 HCO_3^- 和 CO_3^{2-})转化为自身生物量, 进而将无机碳转化为有机碳并进入生物圈^[3]。研究表明, 除光合细菌、蓝细菌、真核藻类等光能自养微生物外, 多种细菌、古菌也能够无光条件下进行固碳^[4-6]。卡尔文循环是自养微生物固定二氧化碳的最主要途径, 其中核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(RubisCO)是限制其循环速率的关键酶^[7], 其中I型和II型 RubisCO 酶的编码基因 *cbbL* 和 *cbbM* 因具有高度保守性, 常被作为固碳微生物标记物来研究不同环境中固碳微生物的群落特征^[8-9]。

黄河水体浊度(turbidity, Turb)与溶解性无机碳(dissolved inorganic carbon, DIC)含量位居世界河流首列^[10], 该特殊生境中微生物的固碳功能是维持其食物网稳定和驱动黄河流域碳循环的关键因素^[11]。此外, 黄河中下游小浪底库区每年实施的调水调沙方案(6-7月)^[12], 会对黄河中下游环境因子进行剧烈的周期性扰动, 进而引起原核生物群落结构的变化^[13-14]。因此, 旱季(11月至次年4月)黄河中下游环境因子扰动趋于平稳, 该时期样品能较好地反映原核生物群落和功能对环境因子的响应。黄河中下游优势微生物为变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)等^[10,15-16]。卡尔文循环功能基因 *cbbL* 和 *cbbM* 群落以变形菌门(*Proteobacteria*)中的 α 变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、 β 变形菌纲(*Betaproteobacteria*)和 γ 变形菌纲

(*Gammaproteobacteria*)为主^[9,17]。此外, 温度(temperature, T)、酸碱度(pondus hydrogenii, pH)、浊度和营养盐等是影响黄河中下游原核生物群落结构的重要环境因子^[18-19]。我们前期研究也初步显示, 黄河中下游原核生物群落主要受营养盐(NH_4^+ 、TN 和 TP)、空间因子和叶绿素 a (chlorophyll a, Chla)浓度的影响^[20], 但这些环境因素是否会进一步影响固碳微生物的群落和功能仍有待解析。

本研究选取旱季(11 月份)对小浪底库区及下游进行样品采集, 结合环境因子监测、高通量测序、PICRUSt2 功能预测和统计分析等方法, 探究原核生物及其固碳功能群的环境驱动因子, 旨在揭示黄河中下游细菌、古菌和固碳微生物的群落特征和环境驱动因子, 加深人们对黄河生境碳循环微生物功能群的认识。

1 材料与方法

1.1 研究区域、野外采样和理化分析

本研究于 2020 年 11 月在黄河中下游小浪底库区和下游各选取 3 个位点(图 1), 进行原位环境因子监测和样品采集。使用多参数水质分析仪(HACH 公司)现场测量各样点水温、pH、溶解氧(dissolved oxygen, DO)、电导率

(conductivity, COND)、浊度(turbidity)、透明度(transparency)、化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)和总氨氮(total ammonia nitrogen, TAN)等。采水器采集 2 L 表层水体(0.5 m), 4 °C 黑暗运送至实验室后, 按照文献描述的方法进行叶绿素 a (chlorophyll a, Chla)、5 日生化需氧量(5-day biochemical oxygen demand, BOD₅)、总磷(total phosphorus, TP)和总氮(total nitrogen, TN)含量检测^[20]。采泥器采集沉积物约 30 g, 于 50 mL 无菌离心管干冰保存, 运回实验室 -80 °C 保存。

1.2 DNA 提取和高通量测序

无菌环境下取 0.5 g 沉积物样品, 采用 FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals 公司)按照操作说明进行总 DNA 提取。选用细菌引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3')^[21], 古菌引物 Arch524F (5'-TGYCAGCCGCCGCGGTAA-3')和 Arch958R (5'-YCCGCGCTTGAVTCCAATT-3')^[22]对 16S rRNA 基因进行扩增; 选用固碳基因引物 *cbb*LF (5'-ACCAAYCAAGCCSAAGCTSGG-3')和 *cbb*LR (5'-GCCTTCSAGCTTGCCSACCRC-3')^[23], *cbb*MF (5'-GGCACATCATCAAGCCCAAG-3')和 *cbb*MR (5'-TCT

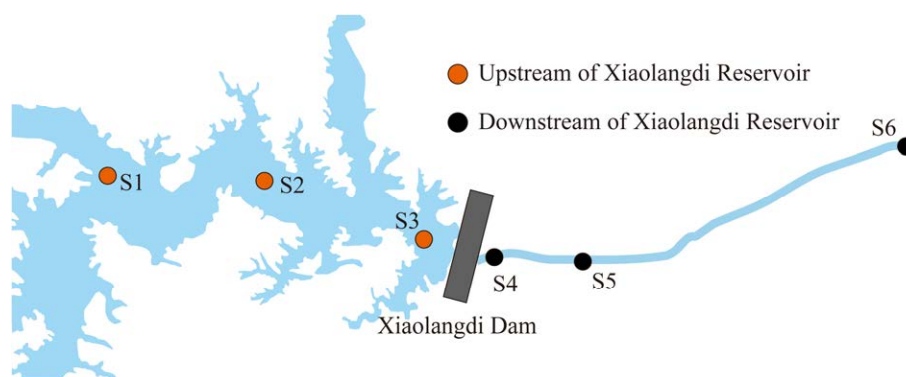


图 1 黄河小浪底库区上游及其下游采样位点示意图

Figure 1 Schematic diagram of sampling sites in the upstream and downstream of the Xiaolangdi Reservoir area of the Yellow River.

TGCCGTAGCCCATGGTGC-3')^[24]对固碳微生物进行扩增, 每个样品设置3个重复, PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳检测、切胶回收、纯化, 之后将纯化后的样品送至Illumina MiSeq (PE250)平台进行高通量测序。

1.3 数据处理

使用Flash^[25]软件(v.1.2.11)对原始序列进行拼接并去除低质量序列。通过USEARCH^[26-27](<http://www.drive5.com/usearch/>)将获得的高质量序列聚为具有97%相似性的操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)并去除嵌合体。通过SILVA^[28]数据库(v.138)对每个OTU的代表性序列进行鉴定, 使用mothur^[29]软件(v.1.30.2)计算 α 多样性指数(Sobs、Chao1、ACE、Shannon和Simpson), 使用PICRUST2^[30](v.1.1.0)对细菌和古菌的16S rRNA基因序列进行功能预测, 利用KEGG^[31]数据库预测碳固定途径。

1.4 数据统计及分析

使用R (v.4.3.1)中的“reshape2”和“patchwork”分析门和科水平上的原核生物群落组成; 使用“Vegan”“dplyr”和“ggcor”包进行原核生物群落结构与环境因子的Mantel相关性分析。使用STAMP^[32](v.2.1.3)比较上下游固碳途径丰度差异, 采用SPSS (v.22.0)进行优势微生物及碳固定途径与环境因子之间的Spearman相关性分析。

2 结果与分析

2.1 环境因子监测

环境因子监测结果如表1所示, 各采样位点温度为15.0–18.2 °C; pH为7.40–8.22; DO含量为7.92–9.27 mg/L; 电导率为730–973 $\mu\text{s}/\text{cm}$; 浊度为3.0–641.0 NTU; 透明度为0.06–6.60 cm; COD和BOD₅含量分别为10–17 mg/L和0.5–0.7 mg/L; TAN和TN含量分别为0.28–0.50 mg/L和2.60–3.06 mg/L; TP含量为0.02–0.04 mg/L; Chla含量为1–2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。小浪底库区温度、DO和transparency均高于下游, 而其他环境因子在下游则高于上游库区, 但上、下游环境因子间无显著差异($P>0.05$)。

2.2 沉积物微生物群落结构特征

本研究获得细菌、古菌、*cbbL*和*cbbM*型固碳微生物的高质量序列分别为322 761、232 757、137 198和135 241条, 分别注释为1 314、390、6 184和5 356个OTUs。 α 多样性分析表明(表2), 6个采样位点细菌群落的Sobs、Chao1、ACE、Shannon和Simpson指数均高于古菌群落, 表明原核生物群落中的细菌较古菌更为丰富, 且多样性更高。与库区相比, 旱季黄河小浪底下游的细菌群落多样性升高, 但丰富度降低。相比之下, 古菌群落则是下游有更高的丰富度和多样性。此外, α 多样性分析结果表明, *cbbL*型和*cbbM*型固碳群落多样性无明显差异($P>0.05$)。

表1 小浪底库区及下游各采样点理化指标

Table 1 Physiochemical parameters of the sampling sites in the study

Sites	$T/^\circ\text{C}$	pH	DO (mg/L)	COND ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Turb (NTU)	Tran (cm)	COD (mg/L)	BOD ₅ (mg/L)	TAN (mg/L)	TP (mg/L)	TN (mg/L)	Chla ($\mu\text{g}/\text{L}$)
S1	17.5	7.70	9.05	733	4.1	4.20	12	0.6	0.38	0.02	2.72	2
S2	18.2	7.40	8.65	738	5.1	4.20	14	0.6	0.35	0.02	2.60	1
S3	17.2	7.50	8.99	731	3.6	4.10	10	0.5	0.28	0.02	2.69	1
S4	17.1	7.60	8.96	730	3.0	6.60	10	0.5	0.32	0.02	2.69	1
S5	16.8	7.50	9.27	973	3.7	0.90	10	0.7	0.34	0.03	3.06	1
S6	15.0	8.22	7.92	844	641.0	0.06	17	0.6	0.50	0.04	2.88	2

Turb: Turbidity; Tran: Transparency.

表 2 细菌、古菌及固碳微生物(*cbbL*、*cbbM*)群落的 α 多样性Table 2 Alpha diversity of bacteria, archaea, *cbbL* and *cbbM* genes related carbon-fixing microorganisms

Sample	Sobs index	Chao1 index	ACE index	Shannon index	Simpson index	Coverage
Bacteria						
S1	2 145	2 575.08	2 486.29	6.49	1.00	0.99
S2	1 602	1 766.71	1 757.95	6.06	0.99	0.99
S3	1 326	1 638.31	1 606.61	5.02	0.96	0.99
S4	1 693	2 141.44	2 169.86	4.65	0.94	0.98
S5	2 308	2 750.17	2 789.21	6.27	0.99	0.98
S6	2 188	2 498.47	2 519.95	6.31	1.00	0.99
Archaea						
S1	159	184.59	181.74	2.61	0.83	1.00
S2	92	103.67	104.76	2.78	0.91	1.00
S3	125	128.00	127.68	3.14	0.91	1.00
S4	212	215.39	216.90	3.10	0.89	1.00
S5	298	303.83	303.18	3.96	0.96	1.00
S6	245	265.65	258.76	3.50	0.94	1.00
<i>cbbL</i>						
S1	1 468	1 497.45	1 557.74	6.06	0.99	0.98
S2	1 265	1 280.63	1 318.21	5.94	0.99	0.99
S3	1 067	1 335.04	1 457.11	5.11	0.98	0.96
S4	1 725	2 175.47	2 468.71	5.44	0.95	0.93
S5	1 763	1 889.53	2 020.49	6.25	0.99	0.96
S6	1 212	1 269.43	1 337.02	5.58	0.98	0.98
<i>cbbM</i>						
S1	1 296	1 322.15	1 384.31	5.87	0.99	0.98
S2	629	667.33	722.97	4.46	0.96	0.98
S3	1 125	1 429.78	1 626.87	5.38	0.98	0.94
S4	1 266	1 596.65	1 849.11	5.13	0.96	0.93
S5	1 648	1 732.64	1 843.90	6.33	0.99	0.96
S6	858	863.40	883.72	5.15	0.97	0.99

通过对细菌 OTUs 进行门(phylum)水平聚类,共有 47 个门,其中优势门(相对丰度>1.00%)包括变形菌门(*Proteobacteria*, 24.74%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 17.55%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 11.43%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*, 10.78%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 10.19%)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*, 4.61%)、拟杆菌门(*Bacteroidota*, 4.20%)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*, 2.48%)和 GAL15 (2.23%)等(图 2A)。

科水平则共鉴定为 539 个科,其中优势科主要包括微杆菌科(*Exiguobacteraceae*, 5.31%)、

微球菌科(*Micrococcaceae*, 4.99%)、芽孢杆菌科(*Bacillaceae*, 3.12%)、亚硝化单胞菌科(*Nitrosomonadaceae*, 2.37%)、芽单胞菌科(*Gemmatimonadaceae*, 2.15%)、丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*, 2.03%)、酸杆菌门未分类科(*Vicinamibacteraceae*, 1.85%)、厌氧绳菌科(*Anaerolineaceae*, 1.53%)、黄杆菌科(*Flavobacteriaceae*, 1.43%)和盖亚女神菌科(*Gaiellaceae*, 1.40%)等。其中,上游的 S1 和 S2 的优势类群为芽孢杆菌科(*Bacillaceae*), S3 的优势类群为微球菌科(*Micrococcaceae*);下游的 S4 和 S5 的优势类群为微杆菌科

(*Exiguobacteraceae*), S6 的优势类群为亚硝化单胞菌科(*Nitrosomonadaceae*) (图 2B)。

古菌 OTUs 鉴定为 12 个门, 其中有 6 个门类的丰度大于 1.00%, 分别为泉古菌门(*Crenarchaeota*, 63.26%)、热原体门(*Thermoplasmata*, 18.29%)、盐杆菌门(*Halobacterota*, 11.31%)、海洋底栖生物 E 组(*Hydrothermarchaeota*, 1.91%)、广古菌门(*Euryarchaeota*, 1.55%) 和迷古菌门(*Aenigmarchaeota*, 1.17%) (图 2C)。科水平上的优势古菌类群主要为亚硝化球菌科(*Nitrososphaeraceae*, 37.43%)、亚硝化侏儒菌科(*Nitrosopumilaceae*, 11.96%)、瘤胃甲烷菌第七目未分类科 (*unclassified_o_*

Methanomassiliicoccales, 8.79%)、*Methanoperedenaceae* (7.71%)、深古菌纲未分类科(*unclassified_c_Bathyarchaeia*, 7.01%)、亚硝化菌科(*Nitrosotaleaceae*, 4.82%)和热原体纲未分类科(*unclassified_c_Thermoplasmata*, 4.69%) (图 2D)。

门水平丰度分析发现, *cbbL* 型固碳微生物主要隶属于变形菌门(*Proteobacteria*, 13.14%)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*, 1.70%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 0.76%)、NC10 (0.18%)、浮霉状菌门(*Planctomycetota*, 0.18%)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*, 0.02%) 和厚壁菌门(*Firmicutes*, 0.02%) (图 3A)。在科水平上, *cbbL* 型固碳微生物主要隶属于丛毛单胞菌科

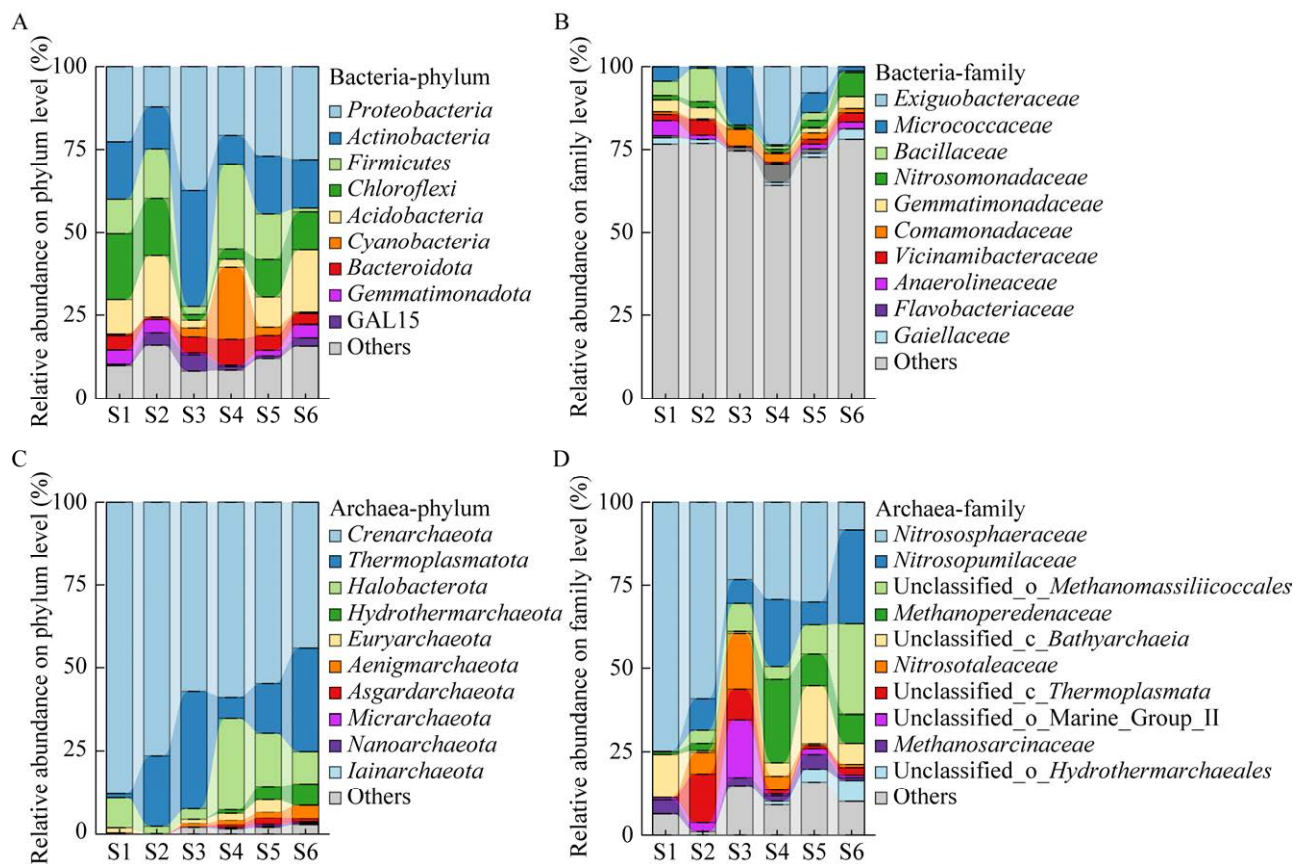


图 2 小浪底库区及下游细菌(A、B)和古菌(C、D)群落组成

Figure 2 Community composition of bacteria (A, B) and archaea (C, D) in the Xiaolangdi Reservoir area and its downstream.

(*Comamonadaceae*, 4.62%)、硝化菌科(*Nitrobacteraceae*, 2.91%)、未分类的伯克氏菌目(*unclassified_o_Burkholderiales*, 1.86%)、聚球藻科(*Synechococcaceae*, 0.72%)、细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*, 0.67%)、红杆菌科(*Rhodobacteraceae*, 0.47%)和免疫菌科(*Immundisolibacteraceae*, 0.35%) (图 3B)。

cbbM 型固碳微生物鉴定为变形菌门(*Proteobacteria*, 3.52%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 0.03%)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*, 0.02%),其中 *Proteobacteria* 为所有样点的优势门(0.88%–7.33%) (图 3C)。科水平的 *cbbM* 型固碳微生物主要有嘉利翁氏菌科(*Gallionellaceae*, 1.32%)、未分类 β 变形菌纲(*unclassified_c_Betaproteobacteria*, 0.60%)、

丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*, 0.24%)、固氮结肠样菌科(*Azonexaceae*, 0.22%)、甲基球菌科(*Methylococcaceae*, 0.19%)、未分类 α 变形菌纲(*unclassified_c_Alphaproteobacteria*, 0.19%)和硫磺菌科(*Sulfuricellaceae*, 0.13%) (图 3D)。

2.3 微生物群落对环境因子的响应

采用 Mantel test 相关性分析揭示细菌、古菌和固碳微生物群落对环境因素的响应程度。结果表明, 旱季小浪底细菌群落与温度 ($P<0.05$)、turbidity ($P<0.05$)、COD ($P<0.05$)和 TAN ($P<0.01$)显著相关; 而古菌、*cbbL* 型和 *cbbM* 型固碳微生物群落与环境因子间无显著相关关系, 表明在旱季, 相较于古菌和固碳微生物, 细菌群落结构更易受环境因素影响 (图 4)。

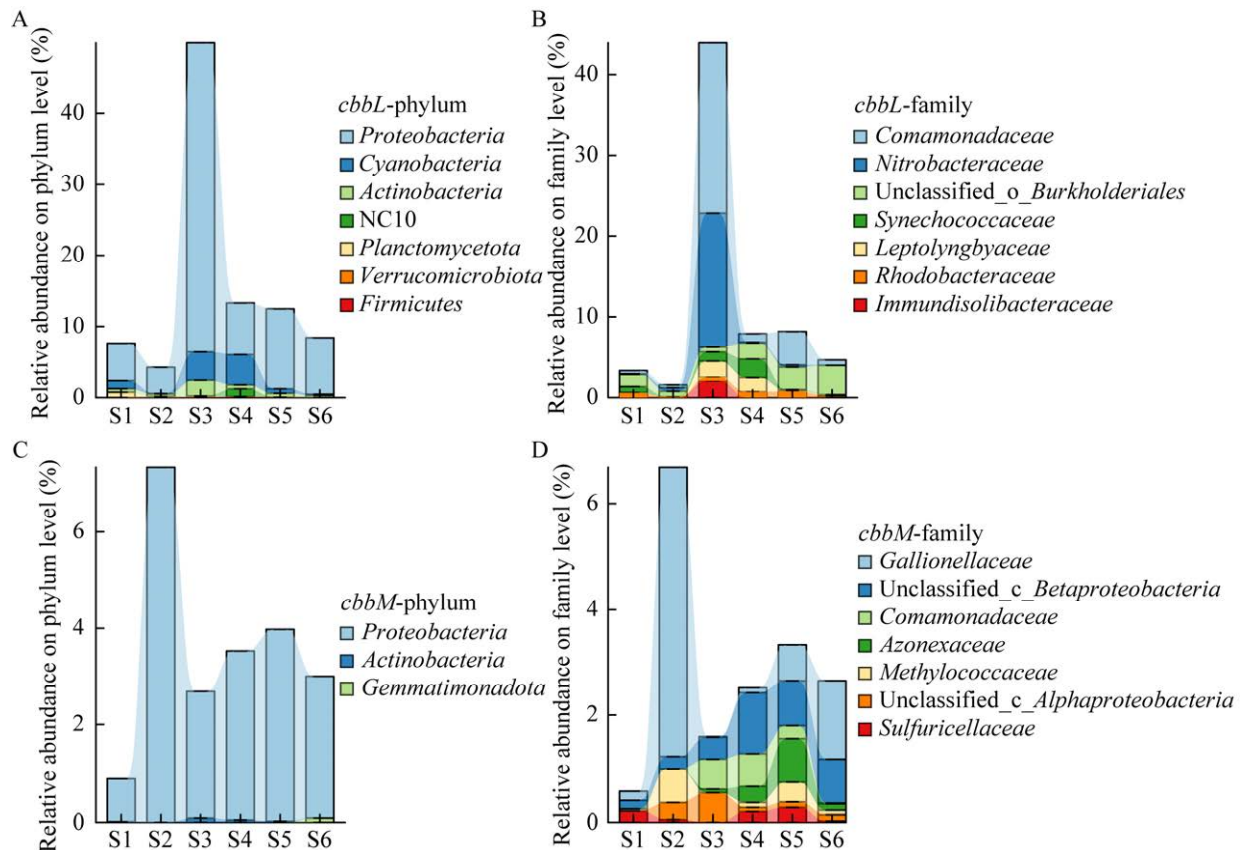


图 3 小浪底库区及下游 *cbbL* 型(A、B)和 *cbbM* 型(C、D)固碳微生物群落组成

Figure 3 Community composition of carbon-fixing microorganisms of *cbbL* (A, B) and *cbbM* (C, D) in the Xiaolangdi Reservoir area and its downstream.

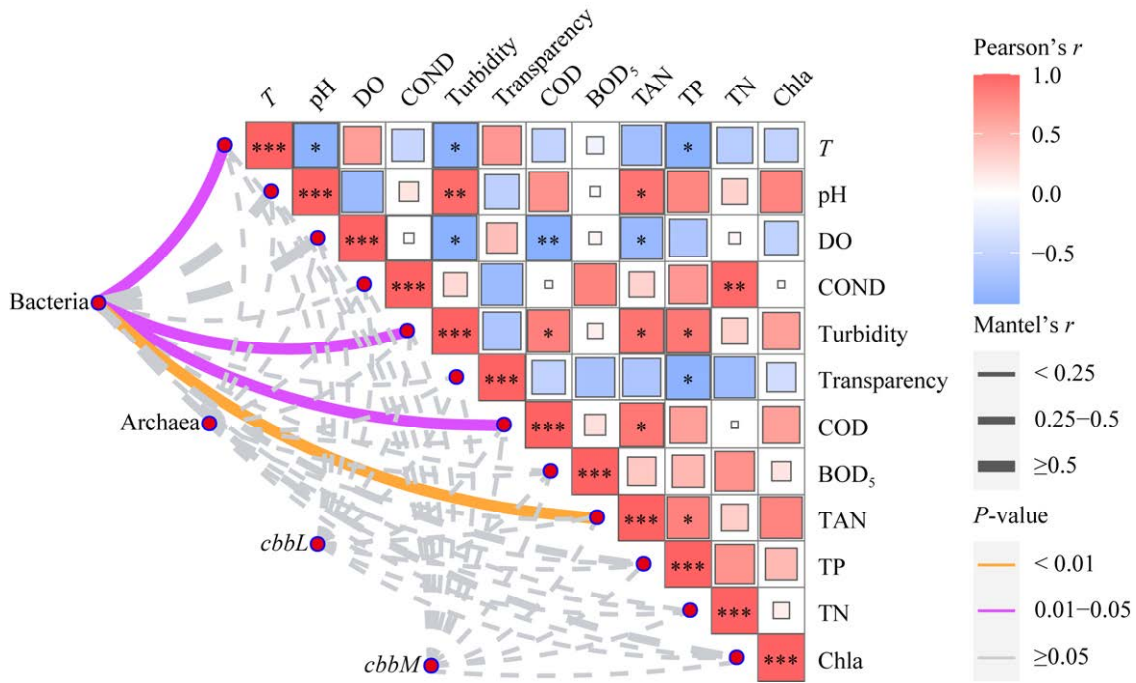


图 4 细菌、古菌、固碳微生物(*cbbL*、*cbbM*)群落结构与环境因子的 Mantel test 分析

Figure 4 Mantel test analysis of community structure and environmental factors of bacteria, archaea and carbon-fixing microorganisms (*cbbL*, *cbbM*). *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

Spearman 相关性分析进一步证实旱季小浪底细菌群落与环境因子之间的显著相关关系(图 5A)。其中, *Acidobacteria* 门、*Gemmatimonadaceae* 科、*Vicinamibacteraceae* 科和 *Gaiellaceae* 科与浊度和 COD 呈显著正相关($P < 0.05$), 而 *Cyanobacteria* 门、*Bacteroidota* 门、*Exiguobacteraceae* 科和 *Flavobacteriaceae* 科分别与浊度、COD 呈显著负相关($P < 0.05$); *Chloroflexi* 门、*Acidobacteria* 门、*Gemmatimonadota* 门及属于这些门的 *Gemmatimonadaceae* 科、*Vicinamibacteraceae* 科、*Anaerolineaceae* 科和 *Gaiellaceae* 科等与 TAN 之间存在显著正相关($P < 0.05$)。此外, *Nitrosomonadaceae* 科与 COND、TP 呈显著正相关($P < 0.05$), 而 Chla 与 *Gemmatimonadota* 门、*Gemmatimonadaceae* 科、*Anaerolineaceae* 科和 *Gaiellaceae* 科呈显著正相关关系($P < 0.05$)。

同样, Spearman 相关性分析结果显示, 古菌及固碳微生物群落中的某些优势类群与环境因子间存在显著相关关系(图 5B)。例如, 古菌中的

Crenarchaeota 门与温度之间具有显著的正相关关系($P < 0.05$), 而 *Aenigmarchaeota* 门与温度之间具有显著的负相关关系($P < 0.01$)。 *Nitrosopumulaceae* 科与 DO 呈显著负相关关系 ($P < 0.05$), 同时 *Methanosarcinaceae* 科与 DO 显著正相关($P < 0.01$); *Crenarchaeota* 门与 TP 显著负相关($P < 0.05$), 而 *Hydrothermarchaeota* 门、*Aenigmarchaeota* 门、*unclassified_o_Methanomassiliicoccales* 和 *unclassified_o_Hydrothermarchaeales* 与 TP 呈显著正相关关系 ($P < 0.05$)。对于固碳功能群, *Cyanobacteria* 门、*Actinobacteria* 门、*Synechococcaceae* 科和 *Comamonadaceae* 科与浊度呈显著负相关关系($P < 0.05$), 而 *Gallionellaceae* 科与浊度显著正相关($P < 0.05$), 同时 *Actinobacteria* 门和 *Comamonadaceae* 科与 COD 具有显著负相关关系 ($P < 0.05$)。此外, *Actinobacteria* 门和 *Verrucomicrobiota* 门与 TAN 之间, 以及 pH 和 Chla 与 *Nitrobacteraceae* 科之间均具有显著负相关关系 ($P < 0.05$)。

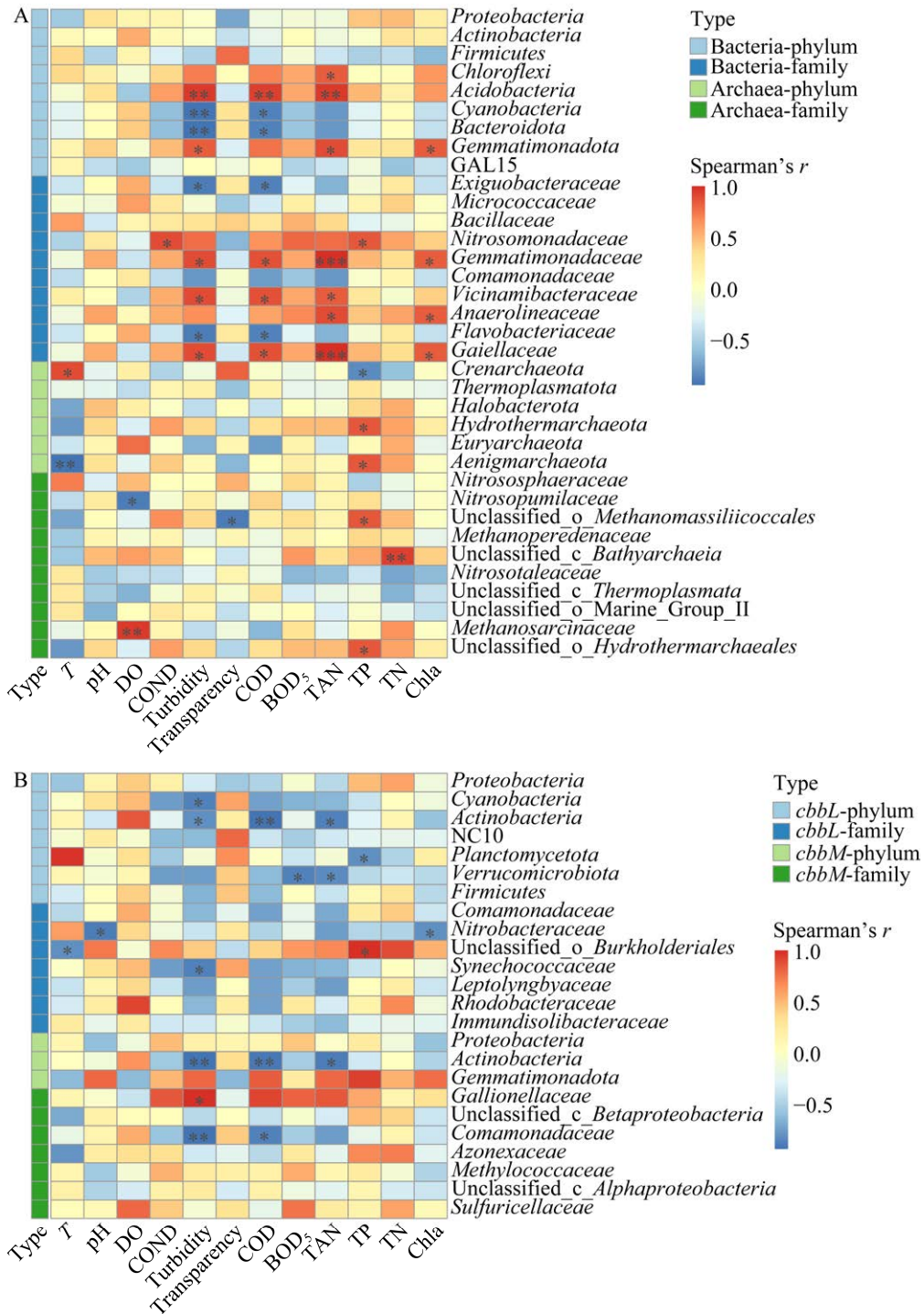


图 5 环境因子与优势细菌、古菌(A)和固碳微生物(B)之间的 Spearman 相关性分析

Figure 5 Spearman correlation analysis between environmental factors and dominant bacteria, archaea (A) and carbon-fixing microorganisms (B). *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

2.4 固碳功能特性及其对环境因子的响应 利用 PICRUSt 2 (KEGG)对旱季小浪底细

菌和古菌群落的碳固定功能进行预测, 结果显示, 在细菌固碳途径方面, 小浪底上游 3-羟基

丙酸/4-羟基丁酸循环(3HP/4HB)、二羧酸/4-羟基丁酸循环(DC/4HB)和不完全还原柠檬酸循环(incomplete rTCA)功能基因相对丰度较高。下游与 3-羟基丙酸循环(3HP)、卡尔文循环

(CBB)、磷酸乙酰转移酶-乙酸激酶途径(Pta-Ack)、还原乙酰辅酶 A 途径(WL)和还原柠檬酸循环(rTCA)相关功能基因相对丰度较高。其中 3HP/4HB 循环丰度差异显著(图 6A)。Spearman

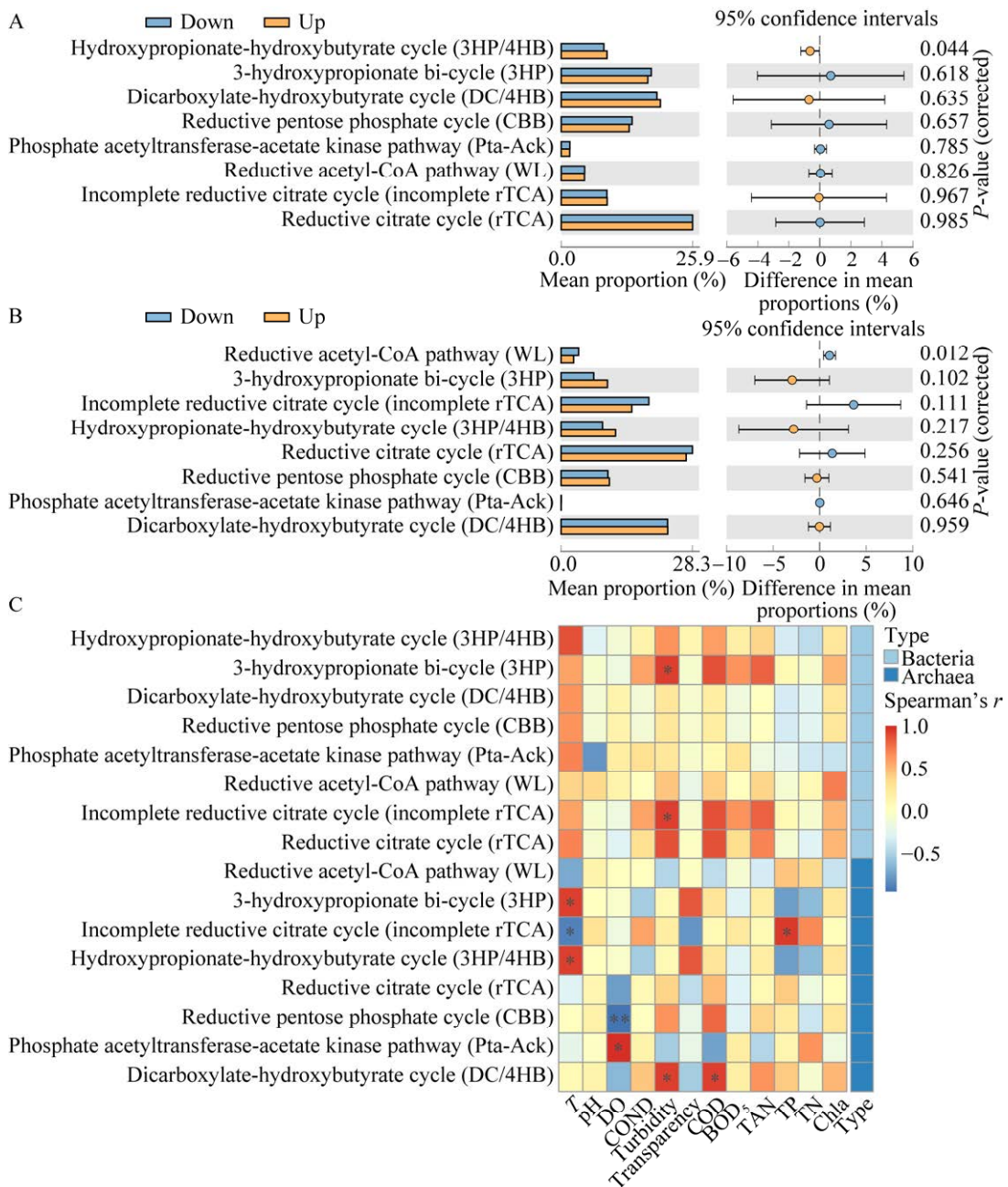


图 6 细菌(A)和古菌(B)碳固定途径的相对丰度及其与环境因子间的 Spearman 相关性分析(C)
 Figure 6 Relative abundance of carbon fixation pathways in bacteria (A) and archaea (B) and Spearman correlation analysis with environmental factors (C). *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

相关性分析显示, 3HP 循环和 incomplete rTCA 循环与浊度之间存在显著正相关关系($P < 0.05$) (图 6C)。

在古菌固碳功能方面, 小浪底上游 3HP 循环、3HP/4HB 循环、CBB 循环和 DC/4HB 循环相对丰度较高; 下游 WL 途径、incomplete rTCA 循环、rTCA 循环和 Pta-Ack 途径的相对丰度较高; 其中小浪底下游 WL 途径丰度显著高于库区($P < 0.05$) (图 6B)。Spearman 相关性分析结果显示, 3HP 循环和 3HP/4HB 循环与温度显著正相关($P < 0.05$), incomplete rTCA 循环与温度显著负相关($P < 0.05$), 与 TP 显著正相关($P < 0.05$), DO 与 CBB 循环极显著负相关($P < 0.01$), 与 Pta-Ack 途径显著正相关($P < 0.05$), DC/4HB 循环与 turbidity 和 COD 呈显著正相关关系($P < 0.05$) (图 6C)。

3 讨论

3.1 细菌、古菌群落结构及其环境驱动因子

本次研究发现黄河小浪底库区及下游的旱季细菌群落主要由 *Proteobacteria* 门(24.74%)、*Actinobacteria* 门(17.55%)、*Firmicutes* 门(11.43%)、*Chloroflexi* 门(10.78%) 和 *Acidobacteria* 门(10.19%)组成, 占总序列的 74.69%。古菌群落主要由 *Crenarchaeota* 门(63.26%)、*Thermoplasmatota* 门(18.29%)和 *Halobacterota* 门(11.31%)组成, 3 个优势菌门占总序列的 92.86%, 这些门曾被报道是河流微生物的优势类群, 并在元素循环、有机物降解等方面发挥重要作用^[33]。其中, *Proteobacteria* 门为所有样品中丰度最高的类群(12.30%–37.49%), 这一结果与在黄河干流^[34]、黄河宁夏段^[35]、黄河内蒙古段^[36]和黄河中上游^[10]等区域研究结果相似。*Proteobacteria* 门具有广泛的生态位和良好的环境适应性, 其代谢过程与沉积物碳氮循环密切

相关, 本研究中 *Proteobacteria* 门的丰度较高, 表明其广泛参与了小浪底库区及下游的碳氮循环^[37]。此外, 不同样点的优势细菌科的丰度出现明显变化。例如小浪底上游 S1 和 S2 的优势类群为 *Bacillaceae* 科, 属于 *Firmicutes* 门; S3 的优势类群为 *Micrococcaceae* 科, 属于 *Actinobacteria* 门; 而下游的优势类群变化为 *Proteobacteria* 门中的 *Exiguobacteraceae* 科和 *Nitrosomonadaceae* 科。这一变化模式揭示了不同样品细菌群落结构的时空异质性, 同时暗示了环境因子对原核生物群落组成及分布的重要影响。

古菌是河流微生物的重要组成部分, 在碳氮循环中同样发挥着重要作用。*Crenarchaeota* 门被认为是氮和碳循环的重要贡献者, 是主要的氨氧化古菌^[38]。相比之下, *Thermoplasmatota* 门和 *Halobacterota* 门主要为产甲烷古菌^[39]。科水平上的优势古菌类群主要为 *Nitrososphaeraceae* (37.43%)、*Nitrosopumilaceae* (11.96%) 和 *Nitrosotaleaceae* 科(4.82%)等氨氧化古菌, 以及 unclassified_o_Methanomassiliicoccales (8.79%) 和 *Methanoperedenaceae* 科(7.71%)等厌氧产甲烷古菌。氨氧化古菌为自养型生物, 可以利用硝化过程产生的化学能固定 CO_2 , 固碳途径为 3HP/4HB 循环^[40-41]。产甲烷古菌为厌氧微生物, 河流沉积物环境为其提供理想的厌氧环境, 且在一定程度上可抑制甲烷氧化菌活性, WL 途径在产甲烷古菌的碳固定和甲烷合成等方面发挥重要作用^[42-43]。

原核生物群落结构对环境因子的响应敏感, 旱季河流可能通过微生物中环境因子的变化影响原核生物群落的分布和结构。本研究结果显示温度($P < 0.05$)、turbidity ($P < 0.05$)、COD ($P < 0.05$)和 TAN ($P < 0.01$)对旱季小浪底库区及其下游细菌群落结构具有显著影响, 且 TAN 的

相关性更显著。之前研究发现, 由于气候、降水等原因, 水库水温、浊度存在季节性的变化, 温度和浊度与原核生物群落之间存在显著正相关关系^[44-45], 该结果与本研究结果一致。此外, 细菌类群中的 *Acidobacteria* 门和固碳功能群中的 *Actinobacteria* 门与 turbidity、COD 和 TAN 显著相关。前人研究发现, *Acidobacteria* 门广泛分布于黄河上中下游区域, 具有分解难降解化合物, 参与碳氮磷元素循环等功能^[34]。不稳定有机碳和氨氮含量对 *Acidobacteria* 门具有正向的显著影响^[46], 这与本研究结果相似。相比之下, *Actinobacteria* 门是广泛存在的一类具有自养固碳功能的微生物, 常见于寡营养水体, 其在水体原核生物群落中的占比通常与水体中营养盐含量呈负相关关系^[47-48], 表明过多的碳氮营养输入可能对小浪底区域 *Actinobacteria* 门的生长具有抑制作用。此外, Spearman 相关性分析显示, pH、DO、TP、TN 和 Chla 等与部分优势类群显著相关, 这一结果与我们前期在黄河中下游的研究结果类似(8-9月)^[20]。综上所述, 本研究发现旱季黄河小浪底库区及下游的优势细菌和古菌分别为 *Proteobacteria* 门和 *Crenarchaeota* 门; 与古菌相比, 细菌群落结构更易受环境因素的影响, 其主要环境驱动因子为温度、turbidity、COD 和 TAN。

3.2 固碳微生物、固碳途径及其关键环境影响因素

本研究中 *cbbL* 型和 *cbbM* 型固碳微生物的优势门均鉴定为 *Proteobacteria* 门, 丰度分别为 13.14% 和 3.52%, 且主要为 *Betaproteobacteria* 纲和 *Alphaproteobacteria* 纲的细菌。*Proteobacteria* 门主要通过 CBB 循环、WL 途径和 rTCA 循环实现 CO₂ 的固定, 是固碳微生物的主要类群^[49]。*cbbL* 型和 *cbbM* 型固碳微生物群落组成均以 *Proteobacteria* 门为主, 它们同样也是农田^[50]、

咸水湖泊(青海湖、托素湖)^[17]和渤海^[51]中的关键固碳微生物类群, 但其丰度、组成因生境差异而不同。在固碳微生物群落组成方面, 农田主要为 *Alphaproteobacteria* 纲, 咸水湖泊(青海湖、托素湖)主要为 *Betaproteobacteria* 纲, 而渤海海域主要为 *Gammaproteobacteria* 纲。反硝化作用细菌主要分布于 *Alphaproteobacteria* 纲和 *Betaproteobacteria* 纲, 而 *Gammaproteobacteria* 纲主要是兼性异养细菌^[52]。黄河中下游高 turbidity 和 DIC 的理化特性, 可能是其 *Alphaproteobacteria* 和 *Betaproteobacteria* 丰度高于 *Gammaproteobacteria* 的原因之一。

本研究发现小浪底库区及其下游地区固碳微生物类群和固碳途径较为丰富, 其中部分固碳途径对环境因子响应敏感。rTCA 循环广泛存在于化能自养微生物中^[53], 需要氧气敏感酶的参与, 一般只能在厌氧或微需氧微生物中检测到^[54]。本研究中, rTCA 循环在细菌和古菌固碳途径中丰度最大, 可能原因为河流表层沉积物提供了有利于这一类厌氧微生物生长的条件, 且在黄河特殊生境下微生物倾向于使用能量需求更低的 rTCA 循环途径^[55]。3HP/4HB 循环和 WL 途径均存在于厌氧环境^[56], 常见于产甲烷菌等不能进行 CBB 循环但能有效利用氢的微生物群体^[57]。小浪底库区与下游之间具有显著的固碳途径丰度差异。细菌类群中 3HP/4HB 循环的丰度在库区显著高于下游河道(9.01% vs. 8.38%), 这一发现暗示了库区沉积物环境可能更有利于参与该循环的细菌种群的生长。前人报道参与该途径的微生物主要分布在 *Proteobacteria*、*Actinobacteria* 和 *Chloroflexi* 门^[58-59]。本研究中 *Proteobacteria* 门(24.17% vs. 25.31%)在小浪底库区的丰度略低于下游, 但 *Actinobacteria* 门(21.59% vs. 13.50%)和 *Chloroflexi* 门(12.94% vs. 8.61%)在库区的丰度

明显高于下游，这可能是小浪底库区细菌 3HP/4HB 循环丰度较高的原因之一。此外，古菌类群 WL 途径的丰度在库区显著低于下游区域，可能与小浪底下游产甲烷古菌(如 *Halobacterota* 门)的高丰度有关。这一差异提示了不同微生物类群及其碳固定途径对环境因子的差异化响应，这些环境因子可能包括本研究中的温度、turbidity、COD、TAN 以及 Chla 等，它们共同塑造了微生物群落的组成与功能，进而影响了特定固碳途径的活性与分布。

4 结论

本研究通过高通量测序技术分析了细菌、古菌、*cbbL* 型和 *cbbM* 型固碳微生物群落组成，通过 PICRUSt2 分析了细菌和古菌群落的碳固定功能途径，并探究了旱季黄河小浪底库区及下游微生物和固碳功能群的环境驱动因素。结果表明，*Proteobacteria* 门在小浪底旱季细菌群落及固碳微生物中均占优势，*Crenarchaeota* 门在古菌群落中的相对丰度最高；温度、turbidity、COD 和 TAN 是影响旱季小浪底库区及其下游细菌群落结构的主要环境因子；细菌和古菌群落中丰度最高的固碳功能途径均为 rTCA 循环。在细菌群落固碳功能途径方面，小浪底上游的 3HP/4HB 循环丰度显著高于下游，且 turbidity 是促进 3HP 循环和 incomplete rTCA 循环的关键因素；在古菌群落固碳功能途径方面，WL 途径丰度在下游显著升高，且温度、DO、turbidity、COD 和 TP 是影响古菌固碳功能途径的主要驱动因素。综上所述，本研究增加了对黄河旱季小浪底上游和下游原核生物群落和固碳功能微生物群的了解，但仍需通过对固碳功能基因的组学分析或同位素示踪方法进一步确定黄河微生物的固碳功能及其对黄河流域碳循环的贡献。

参考文献

- [1] LIU Y, GUO WN, WEI CH, HUANG HJ, NAN FR, LIU XD, LIU Q, LV JP, FENG J, XIE SL. Rainfall-induced changes in aquatic microbial communities and stability of dissolved organic matter: insight from a Fen River analysis[J]. *Environmental Research*, 2024, 246: 118107.
- [2] WANG YQ, HATT JK, TSEMENTZI D, RODRIGUEZ-R LM, RUIZ-PÉREZ CA, WEIGAND MR, KIZER H, MARESCA G, KRISHNAN R, PORETSKY R, SPAIN JC, KONSTANTINIDIS KT. Quantifying the importance of the rare biosphere for microbial community response to organic pollutants in a freshwater ecosystem[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(8): e03321-16.
- [3] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676-1689.
LIU YY, WANG S, LI SZ, DENG Y. Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676-1689 (in Chinese).
- [4] LEWIS W. Global primary production of lakes: 19th baldi memorial lecture[J]. *Inland Waters*, 2011, 1(1): 1-28.
- [5] LLIRÓS M, ALONSO-SÁEZ L, GICH F, PLASENCIA A, AUGUET O, CASAMAYOR EO, BORREGO CM. Active bacteria and archaea cells fixing bicarbonate in the dark along the water column of a stratified eutrophic lagoon[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 77(2): 370-384.
- [6] CASAMAYOR EO, GARCÍA-CANTIZANO J, PEDRÓS-ALIÓ C. Carbon dioxide fixation in the dark by photosynthetic bacteria in sulfide-rich stratified lakes with oxic-anoxic interfaces[J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(4): 1193-1203.
- [7] SPIRIDONOVA EM, BERG IA, KOLGANOVA TV, IVANOVSKIĬ RN, KUZNETSOV BB, TUROVA TP. An oligonucleotide primer system for amplification of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase genes of bacteria of various taxonomic groups[J]. *Mikrobiologiya*, 2004, 73(3): 377-387.
- [8] LI N, WANG BR, HUANG YM, HUANG Q, JIAO F, AN SS. Response of *cbbL*-harboring microorganisms to precipitation changes in a naturally-restored grassland[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156191.

- [9] ZHANG N, CHEN KL, WANG XY, JI W, YANG ZW, WANG X, LI JM. Response mechanism of cbbM carbon sequestration microbial community characteristics in different wetland types in Qinghai Lake[J]. *Biology*, 2024, 13(5): 333.
- [10] XIA N, XIA XH, LIU T, HU LJ, ZHU BT, ZHANG XT, DONG JW. Characteristics of bacterial community in the water and surface sediment of the Yellow River, China, the largest turbid river in the world[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 14(11): 1894-1904.
- [11] 王亮. 黄河干流碳输运及人类活动对其影响[D]. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 2014.
WANG L. Carbon transport in the main stream of the Yellow River and the influence of human activities on it[D]. Qingdao: Doctoral Dissertation of Ocean University of China, 2014 (in Chinese).
- [12] WANG HJ, WU X, BI NS, LI S, YUAN P, WANG AM, SYVITSKI JPM, SAITO Y, YANG ZS, LIU SM, NITTROUER J. Impacts of the dam-orientated water-sediment regulation scheme on the lower reaches and delta of the Yellow River (Huanghe): a review[J]. *Global and Planetary Change*, 2017, 157: 93-113.
- [13] HOU CY, YI YJ, SONG J, ZHOU Y. Effect of water-sediment regulation operation on sediment grain size and nutrient content in the lower Yellow River[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 279: 123533.
- [14] ZHAO QH, HONG ZD, JING YR, LU MW, GENG ZH, QIU PW, WANG P, LU XL, DING SY. Spatial and temporal changes in nutrients associated with dam regulation of the Yellow River[J]. *CATENA*, 2022, 217: 106425.
- [15] 洪铨. 水沙调控对黄河中下游底栖动物和微生物群落结构的影响[D]. 烟台: 烟台大学硕士学位论文, 2024.
HONG Q. Effects of water and sediment regulation on benthos and microbial community structure in the middle and lower reaches of the Yellow River[D]. Yantai: Master's Thesis of Yantai University, 2024 (in Chinese).
- [16] 王焱屹, 王瑞菲, 钟玮, 孔强, 马启龙, 宗可金, 赵聪聪, 王倩. 黄河三角洲湿地土壤中功能微生物群落的结构特征和影响因素研究进展[J]. *湿地科学*, 2022, 20(1): 111-118.
WANG HY, WANG RF, ZHONG W, KONG Q, MA QL, ZONG KJ, ZHAO CC, WANG Q. Advance in structural characteristics and influence factors of functional microbial communities in the soils of the wetlands in the Yellow River Delta[J]. *Wetland Science*, 2022, 20(1): 111-118 (in Chinese).
- [17] 王北辰. 青藏高原北部湖泊沉积物固碳微生物群落结构与固碳功能及其环境影响因素研究[D]. 武汉: 中国地质大学硕士学位论文, 2019.
WANG BC. Study on community structure and carbon sequestration function of carbon sequestration microorganisms in lake sediments in northern Qinghai-Xizang Plateau and their environmental influencing factors[D]. Wuhan: Master's Thesis of China University of Geosciences, 2019 (in Chinese).
- [18] KAN JJ, PECK EK, ZGLESZEWSKI L, PEIPOCH M, INAMDAR S. Mill dams impact microbiome structure and depth distribution in riparian sediments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1161043.
- [19] WANG X, WANG PF, WANG C, CHEN J, HU B, YUAN QS, DU CG, XING XL. Cascade damming impacts on microbial mediated nitrogen cycling in rivers[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 903: 166533.
- [20] ZHANG YM, GUI ZW, GAO XF, ZHANG JX, GAO YN, ZHANG M, YANG GK, ZHANG XD, CHANG XL, GAN ZX, MENG XL, LI XJ, JIANG HC. Microbial communities and their influencing factors in the sediment of upper and mid-lower reaches of the Yellow River[J/OL]. [2024-11-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1788.P.20240116.1142.012.html>.
- [21] KLINDWORTH A, PRUESSE E, SCHWEER T, PEPLIES J, QUAST C, HORN M, GLÖCKNER FO. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(1): e1.
- [22] PIRES ACC, CLEARY DFR, ALMEIDA A, CUNHA A, DEALTRY S, MENDONÇA-HAGLER LCS, SMALLA K, GOMES NCM. Denaturing gradient gel electrophoresis and barcoded pyrosequencing reveal unprecedented archaeal diversity in mangrove sediment and rhizosphere samples[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(16): 5520-5528.
- [23] UCHINO Y, YOKOTA A. "Green-like" and "Red-like" RubisCO *cbbL* genes in *Rhodobacter azotoformans*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(5): 821-830.
- [24] ALFREIDER A, VOGT C, HOFFMANN D, BABEL W. Diversity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes from groundwater and aquifer microorganisms[J]. *Microbial Ecology*, 2003, 45(4): 317-328.
- [25] MAGOČ T, SALZBERG SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.

- [26] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [27] STACKEBRANDT E, GOEBEL BM. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1994, 44(4): 846-849.
- [28] 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.
- [29] SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, SAHL JW, STRES B, THALLINGER GG, van HORN DJ, WEBER CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [30] DOUGLAS GM, MAFFEI VJ, ZANEVELD JR, YURGEL SN, BROWN JR, TAYLOR CM, HUTTENHOWER C, LANGILLE MGI. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6): 685-688.
- [31] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [32] PARKS DH, TYSON GW, HUGENHOLTZ P, BEIKO RG. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(21): 3123-3124.
- [33] MARTINS G, TERADA A, RIBEIRO DC, CORRAL AM, BRITO AG, SMETS BF, NOGUEIRA R. Structure and activity of lacustrine sediment bacteria involved in nutrient and iron cycles[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 77(3): 666-679.
- [34] 孙贺. 黄河干流全河段浮游与附着细菌群落的生物地理分布及驱动因素分析[D]. 西安: 西安理工大学硕士学位论文, 2021.
SUN H. Biogeographic distribution and driving factors of planktonic and adherent bacterial communities in the whole reach of the main stream of the Yellow River[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Technology, 2021 (in Chinese).
- [35] 万永鹏. 黄河流域宁夏段浮游细菌群落结构及其影响因子研究[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2023.
WAN YP. Study on community structure of planktonic bacteria and its influencing factors in Ningxia section of the yellow river basin[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2023 (in Chinese).
- [36] 王晓丽, 其勒格尔. 黄河内蒙古段表层沉积物细菌多样性及群落结构类型[J]. *生态学报*, 2020, 40(2): 578-589.
WANG XL, Qilegeer. Bacterial diversity and community structure in surface sediments of Yellow River from Inner Mongolia section[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(2): 578-589 (in Chinese).
- [37] HOU LF, ZHOU Q, WU QP, GU QH, SUN M, ZHANG JM. Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 625: 449-459.
- [38] YAKIMOV MM, CONO VL, SMEDILE F, DeLUCA TH, JUÁREZ S, CIORDIA S, FERNÁNDEZ M, ALBAR JP, FERRER M, GOLYSHIN PN, GIULIANO L. Contribution of crenarchaeal autotrophic ammonia oxidizers to the dark primary production in Tyrrhenian deep waters (Central Mediterranean Sea)[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(6): 945-961.
- [39] KEMNITZ D, KOLB S, CONRAD R. Phenotypic characterization of rice cluster III archaea without prior isolation by applying quantitative polymerase chain reaction to an enrichment culture[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(4): 553-565.
- [40] LEININGER S, URICH T, SCHLOTTER M, SCHWARK L, QI J, NICOL GW, PROSSER JI, SCHUSTER SC, SCHLEPER C. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. *Nature*, 2006, 442(7104): 806-809.
- [41] 王燕, 吴佳鹏, 洪义国. 深海微生物硝化作用驱动的化能自养固碳过程与机制研究进展[J]. *自然杂志*, 2016, 38(2): 109-115.
WANG Y, WU JP, HONG YG. Microbial nitrification coupled to the hemoautotrophic carbon fixation in the deep ocean[J]. *Chinese Journal of Nature*, 2016, 38(2): 109-115 (in Chinese).
- [42] 唐千, 薛校风, 王惠, 邢鹏. 湖泊生态系统产甲烷与甲烷氧化微生物研究进展[J]. *湖泊科学*, 2018, 30(3): 597-610.
TANG Q, XUE XF, WANG H, XING P. New knowledge of methanogens and methanotrophs in lake ecosystems[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, 30(3): 597-610 (in Chinese).

- [43] HÜGLER M, SIEVERT SM. Beyond the Calvin cycle: autotrophic carbon fixation in the ocean[J]. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 261-289.
- [44] 李海云. 水源水库真菌种群结构及其好氧脱氮特性研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2023.
LI HY. Study on fungal population structure and aerobic denitrification characteristics in Shuiyuan Reservoir[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2023 (in Chinese).
- [45] 马曼立. 水源水库放线菌多样性、产嗅特征与灭活机制[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2022.
MA ML. Diversity, olfactory characteristics and inactivation mechanism of actinomycetes in Shuiyuan reservoir[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2022 (in Chinese).
- [46] CHENG ZB, ZHANG FH, GALE WJ, WANG WC, SANG W, YANG HC. Effects of reclamation years on composition and diversity of soil bacterial communities in Northwest China[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2018, 64(1): 28-40.
- [47] ZHANG BL, WU XK, ZHANG W, CHEN XM, ZHANG GS, AI X, SUN LK, ZHANG BG, LIU GX, CHEN T, DYSON P. Diversity and succession of *Actinobacteria* in the forelands of the Tianshan glacier, China[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2016, 33(8): 716-723.
- [48] 周磊, 李育森, 黄仙德, 施军, 陈伟源, 韩耀全, 匡天旭, 何安尤. 洪潮江水库浮游细菌群落空间分布及其与环境因子的关系[J]. *微生物学报*, 2020, 60(10): 2253-2264.
ZHOU L, LI YS, HUANG XD, SHI J, CHEN WY, HAN YQ, KUANG TX, HE AY. Spatial distribution of bacterioplankton community in Hongchaojiang Reservoir and its relationship with environmental factors[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(10): 2253-2264 (in Chinese).
- [49] LONG XE, YAO HY, WANG J, HUANG Y, SINGH BK, ZHU YG. Community structure and soil pH determine chemoautotrophic carbon dioxide fixation in drained paddy soils[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(12): 7152-7160.
- [50] 彭文涛. 典型农田土壤细菌时空演变规律与碳固定细菌剖面分布研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2016.
PENG WT. Temporal and spatial evolution of soil bacteria and profile distribution of carbon-fixing bacteria in typical farmland[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [51] 王文静. 渤海表层沉积物中碳循环关键过程微生物驱动机制[D]. 大连: 大连海洋大学硕士学位论文, 2024.
WANG WJ. Microbial-driven mechanisms of key processes of carbon cycling in surface sediments of the Bohai Sea[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian Ocean University, 2024 (in Chinese).
- [52] HUANG LN, de WEVER H, DIELS L. Diverse and distinct bacterial communities induced biofilm fouling in membrane bioreactors operated under different conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(22): 8360-8366.
- [53] BUCHANAN BB, SIREVÅG R, FUCHS G, IVANOVSKY RN, IGARASHI Y, ISHII M, TABITA FR, BERG IA. The arron-Buchanan cycle: a retrospective, 1966-2016[J]. *Photosynthesis Research*, 2017, 134(2): 117-131.
- [54] JONES S. Five ways to cycle carbon[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(2): 95.
- [55] SUN WM, SUN XX, LI BQ, XU R, YOUNG LY, DONG YR, ZHANG MM, KONG TL, XIAO EZ, WANG Q. Bacterial response to sharp geochemical gradients caused by acid mine drainage intrusion in a terrace: relevance of C, N, and S cycling and metal resistance[J]. *Environment International*, 2020, 138: 105601.
- [56] 宋吉雪, 明红霞, 石婷婷, 苏洁, 陈泉睿, 金媛, 樊景凤. 辽河口沉积物中参与主要生物地化循环的微生物功能基因分析[J]. *海洋与湖沼*, 2021, 52(4): 904-916.
SONG JX, MING HX, SHI TT, SU J, CHEN QR, JIN Y, FAN JF. Analysis of microbial functional genes involved in major biogeochemical cycles in sediments of Liaohe river estuary[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2021, 52(4): 904-916 (in Chinese).
- [57] XAVIER JC, PREINER M, MARTIN WF. Something special about CO₂-dependent CO₂ fixation[J]. *The FEBS Journal*, 2018, 285(22): 4181-4195.
- [58] 康卫华. 会仙岩溶湿地土壤固碳微生物菌群及固碳能力研究[D]. 武汉: 华中科技大学硕士学位论文, 2023.
KANG WH. Study on microbial flora and carbon fixation ability of soil in Huixian Karst wetland[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong University of Science and Technology, 2023 (in Chinese).
- [59] JIANG QY, JING HM, JIANG QL, ZHANG Y. Insights into carbon-fixation pathways through metagenomics in the sediments of deep-sea cold seeps[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 176: 113458.