



长江三峡上游水域细菌群落结构与功能预测

杨艳, 王浩, 李凯航, 李贝贝, 张琦, 王子权, 金一, 何晓青*

北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083

杨艳, 王浩, 李凯航, 李贝贝, 张琦, 王子权, 金一, 何晓青. 长江三峡上游水域细菌群落结构与功能预测. 微生物学报, 2022, 62(4): 1401–1415.

Yang Yan, Wang Hao, Li Kaihang, Li Beibei, Zhang Qi, Wang Ziquan, Jin Yi, He Xiaoqing. Community structure and function prediction of bacterial communities in the upper reaches of the Three Gorges of the Yangtze River. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(4): 1401–1415.

摘要:【目的】揭示三峡附近支流和长江干流细菌群落组成, 共现网络特征和对网络有重要作用的中心节点微生物, 进一步研究三峡上游水域细菌群落的代谢功能。【方法】本研究于长江北岸四条一级支流和附近干流(香溪河、大宁河、朱衣河、梅溪河、长江干流)采集水样, 基于 16S rRNA 基因 Pacbio 测序技术和生物信息学方法分析细菌群落结构, Tax4Fun 功能预测分析细菌群落的代谢功能。【结果】(1) 长江三峡上游水域主要优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 66.4%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 13.2%)和蓝细菌门(*Cyanobacteria*, 6.2%)。变形菌门中, γ -变形菌最为丰富, 其次是 α -变形菌。多样性指数和丰富度指数表明研究区域微生物种类较为丰富。(2) 共现网络分析结果表明, 长江三峡上游附近水域网络具有“小世界”特征, 鞘脂单胞菌科(*Sphingomonadaceae*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、出芽菌科(*Gemmataceae*)、弯曲杆菌(*Flectobacillus*)和蟑螂杆状体科(*Cryomorphaceae*)是对共现网络结构有重要作用的中心节点微生物, 在群落结构和多样组成中扮演着重要角色。(3) Tax4Fun 功能预测共发现 6 个一级功能和 42 个二级功能, 长江三峡上游水域细菌群落代谢比较活跃。【结论】长江三峡上游水域细菌群落多样性高, 中心节点微生物多为稀有微生物, 稀有微生物在维持群落结构中发挥重要作用。细菌群落代谢功能分析表明, 长江三峡上游水域细菌群落代谢途径丰富, 有益于水域的水体健康。了解微生物群落的分布和相互作用特

基金项目: 国家自然科学基金(31971398, 31700633); 中国科学院科技服务网络计划(KFJ-STZ-ZDTP-036); 北京林业大学大学生创新计划(x202010022065, S202110022045)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31971398, 31700633), by the Science and Technology Service Network Initiative (KFJ-STZ-ZDTP-036) and by the Innovation Program for Under-Graduate Students in Beijing Forestry University (x202010022065, S202110022045)

*Corresponding author. Tel: +86-10-62338830; E-mail: lenahe@bjfu.edu.cn

Received: 15 July 2021; Revised: 5 September 2021; Published online: 9 October 2021

征, 将为长江生态系统的健康发展、水资源的利用和水环境的改善提供基础数据和科学依据。

关键词: 三峡上游水域; 细菌群落结构; 共现网络; Tax4Fun 功能预测

Community structure and function predication of bacterial communities in the upper reaches of the Three Gorges of the Yangtze River

YANG Yan, WANG Hao, LI Kaihang, LI Beibei, ZHANG Qi, WANG Ziquan, JIN Yi, HE Xiaoqing*

School of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: [Objective] This paper aims to reveal the bacterial community structure in the Three Gorges of the Yangtze River, the topological properties of co-occurrence network and its hub microorganisms, and the metabolic functions of the bacterial community. [Methods] Water samples were collected from the mainstream and four tributaries (Xiangxi River, Daning River, Zhuyi River, and Meixi River) of the Yangtze River. PacBio 16S rRNA high-throughput sequencing and bioinformatics analysis were performed to elucidate the bacterial community structure and Tax4Fun was employed to predict the metabolic functions of the community. [Results] (1) The dominant phyla in the upper reaches of the Three Gorges of the Yangtze River were *Proteobacteria* (66.4%), *Bacteroidetes* (13.2%), and *Cyanobacteria* (6.2%). In *Proteobacteria*, *Gammaproteobacteria* was most abundant and followed by *Alphaproteobacteria*. The diversity index and richness index implied the rich microbial species in the study area. (2) Co-occurrence network formed a “small world” topology, and *Sphingomonadaceae*, *Chloroflexi*, *Gemmataceae*, *Flectobacillus*, and *Cryomorphaceae* were the central microorganisms which played a crucial part in maintaining the community structure and diversity. (3) A total of 6 functions in level 1 and 42 functions in level 2, which mainly involved in metabolism and genetic information processing, were found in Tax4Fun function prediction, suggesting the active metabolism of the bacterial community. [Conclusion] Bacterial community in the upper reaches of the Three Gorges was of high diversity, and the hub microorganisms were mainly rare microorganisms which played an important role in maintaining the community structure. The bacterial community in the upper reaches of the Three Gorges featured abundant metabolic pathways, which was beneficial to the health of the water body. Clarifying the distribution and interaction characteristics of microbial community could lay a scientific basis for the healthy ecosystem development, water resource utilization, and water environment improvement of the Yangtze River.

Keywords: upper reaches of the Three Gorges; bacterial community structure; co-occurrence network; Tax4Fun function prediction

微生物群落是水生生态系统的基本组成成分, 在能量流动和生物地球化学循环中起关键作用^[1]。微生物会影响碳、氮、磷和硫等元素

的循环, 同时可以促进有机物的降解、污染物转化以维持生态系统平衡^[2], 并且微生物具有多样性高和生物量大等特征, 对环境变化敏感,

因此微生物群落可以作为环境状态的标志^[3]。例如, 密云水库中对家河和潮河受氮磷污染较为严重造成反硝化细菌群落结构相似^[4]; 嘉陵江微生物群落结构和功能组成在经过发电站后改变^[5]; 九龙江的微生物群落结构在平水期、枯水期和丰水期存在显著差异^[6], 因此分析微生物的群落组成和结构可以帮助了解环境状况。

河流在大气、陆地和海洋的生物地球化学循环中发挥重要作用, 可以调节营养物质的运输^[7]。长江是我国第一大河流, 由于经济的高速发展和人为影响, 例如工农业废水、生活废水和雨水的排放, 长江沿岸支流和干流都受到不同程度的污染, 破坏了长江沿岸生态环境^[8]。已有研究分析青海湖及其支流的细菌群落结构和功能, 发现湖泊微生物群落表现出大量的代谢途径, 河流底泥中的微生物群落在异源物质的生物降解和代谢以及脂类代谢中更为丰富^[9]。三峡附近支流的主要影响因素为 pH、溶解氧, 并且几条支流间存在显著的空间差异, 水体呈富营养化^[10]。对南京长江支流分析群落组成发现相比于平水期, 丰水期的富营养化程度较低^[11]。研究三峡中游水体的群落结构和影响因素, 发现影响群落结构的主要环境因子是溶解氧、水位和总氮^[12], 并且长江干流的微生物群落结构存在显著季节差异^[13]。在水生生态系统中, 微生物有较高的遗传多样性并且在生物地球化学循环中发挥关键作用, 细菌在水生生境中占微生物总数的 90%以上^[1], 因此了解细菌群落的组成结构和功能可以了解长江地区生态过程和环境状况提供理论依据。但是目前长江流域水体微生物的研究主要集中在环境因素(物理和化学因素)上, 对长江附近支流细菌群落之间的共现网络特征、中心微生物的重要作用以及细菌群落的功能还知之甚少。

本文于长江北岸三峡附近 4 条一级支流(香

溪河、大宁河、梅溪河、朱衣河)以及长江干流采集水样, 利用 Pacbio 三代扩增子测序技术, 研究 4 条支流和干流的细菌群落组成, 揭示三峡附近支流和长江干流细菌群落的共现特征和对网络有重要作用的中心节点微生物, 进一步研究三峡上游水域细菌群落的代谢功能, 为三峡水域附近支流和长江干流环境治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 采样点的描述和样品的采集

香溪河、大宁河、梅溪河和朱衣河是三峡水库上游的一级支流, 采样时间为 2020 年 10 月。香溪河(XX)全长 97.3 km, 于香溪镇东侧注入长江, 上游为城镇, 人口密度大, 中游为山谷; 大宁河(DN)全长 202 km, 从巫山县城注入长江, 大宁河水质达到《地表水环境质量标准》(GB3838-2002)中的 II 类标准, 大宁河所处位置高山居多, 农村人口分散居住^[14]; 梅溪河(MX)全长 161 km, 从永安镇注入长江; 朱衣河(ZY)全长 31.4 km, 从朱衣镇注入长江, 水质为《地表水环境质量标准》(GB3838—2002) III 类标准^[15]。本研究在 4 条支流和邻近干流共设置 14 个采样点, 分别为香溪河上游、中游和下游(XX1、XX2、XX3), 大宁河上游、中上游和中游(DN1、DN2、DN3), 梅溪河上游、中游和下游(MX1、MX2、MX3), 朱衣河上游、中游和下游(ZY1、ZY2、ZY3)及长江干流(CJ1、CJ2)(图 1)。将采样器放在水面下 0.5 m 处采集水样并置于含有足够冰块的保温箱中, 样品运输过程中温度保持在 4 °C 以下。

1.2 DNA 提取

到达实验室后, 取 500 mL 水样品通过 0.22 μm 滤膜, 富集有微生物的滤膜用剪刀剪碎, 并用土壤基因组抽提试剂盒(MP, 美国)提取基因组 DNA。1%的琼脂糖凝胶电泳检验

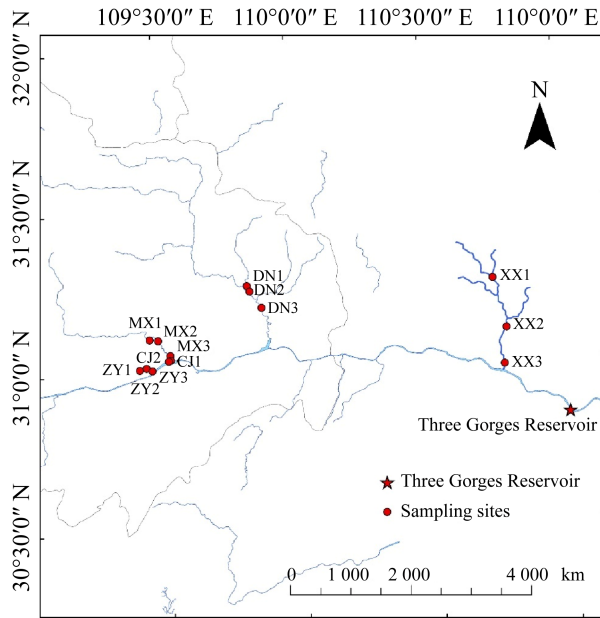


图 1 长江采样点位置

Figure 1 Location of sampling sites in Yangtze River.

DNA 质量, Nanodrop 1000 分光光度计检测 DNA 浓度, 质量合格的 DNA 放在 -20°C 保存用于下一步分析。

1.3 16S rRNA 基因 Pacbio 测序

16S rRNA 基因三代全长扩增子测序分析微生物群落组成, 在 PacBioRSII_SMRT 平台上对 16S rRNA 基因的 9 个可变区进行全长扩增子测序。使用 lima 软件根据 barcode 序列区分各样本的数据, 随后进行 SSR 过滤并使用 cutadapt 去除掉引物, 利用 Uparse 软件对所有样品的全部序列以 97% 的一致性聚类成 OTUs, 筛选 OTUs 中出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列, 用 Mothur 方法与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库对 OTUs 代表序列进行物种注释分析(设定阈值为 0.8–1.0), 为让各个样品序列数一致, 按最小样本序列数进行抽平以降低 PCR 扩增所带来的误差, 最终得到的 OTU 表用于后续分析。本研究共获得 614 个细菌 OTUs,

16 个细菌门和 128 个细菌属。

1.4 统计分析

所有的统计分析都在 QIIME 或 R 语言中执行, 用 QIIME 自带的脚本计算 α 多样性指数, 基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析样本微生物群落结构, 用 ADONIS 分析检验不同支流之间的微生物群落是否存在显著差异。LEfSe 分析识别不同支流中的生物标记物种(biomarker)。在 R 语言中用“ggplot2”包可视化不同分类水平(门、属)微生物群落组成。为了研究长江三峡附近流域微生物之间的共现模式, 用 R 包“picante”计算 Spearman 相关系数 r , 选择相关性较强的 OTUs ($|r|>0.7$, $P<0.05$) 在门的水平上构建共现网络, 并在 Gephi0.9.2 上进行网络的可视化^[16]。用 R 包“igraph”计算度(节点的连接数)、平均路径长度(网络中任意两个节点之间的距离的平均值, 其反映网络中各个节点间的分离程度)、聚集系数(反映网络中节点的紧密关系)、介数中心性(通过某个节点最短路径的数量)、紧密中心性(反映某个节点到其他所有节点的难易程度)、模块性(反映网络划分为模块的程度)、网络直径(网络中两个节点间的最远距离)等网络特征值。在 R 中生成和样品网络相同边数和节点数的随机网络, 比较样品共现网络和随机网络的网络复杂程度^[17]。度和紧密中心性值高的节点视为共现网络中的中心节点微生物^[18]。基于 16S rRNA 扩增子序列在凌波微课云平台上预测细菌群落微生物的代谢功能 (<http://www.biomicroclass.com/>), 并在 R 中用“ggplot2”包可视化。

2 结果与分析

2.1 细菌群落的多样性和丰富度分析

在本研究中, 通过 Pacbio 高通量测序研究长江三峡附近支流和干流的微生物群落, 经过

过滤、引物和单向重复序列的切除共获得 139 603 条有效的 16S rRNA 序列, 以 97% 的一致性将所有序列聚类生成 OTUs, 并计算样品的微生物多样性和丰富度指数。Richness 指数 (XX=136, DN=151, MX=146, ZY=137, CJ=121) 表明大宁河的微生物丰富度最高(图 2A), Shannon 指数 (XX=3.896, DN=4.15, MX=3.489, ZY=3.925, CJ=2.558) 表明大宁河的微生物多样性最高, 干流的微生物多样性最低(图 2B)。通过 Wilcoxon 秩和检验大宁河和长江干流的 Shannon 指数之间存在显著差异 ($P=0.0402$), 其他支流和干流之间微生物多样性和丰富度没有显著差异, 总体上微生物比较丰富。样品的覆盖率超过 0.98, 说明测序深度足够并且一些稀有种也包含在内。

2.2 细菌群落组成和结构

基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析说明各

采样点微生物的群落结构(图 3A)。一般情况下, 空间上距离较近的样品在图中分布较为紧密, 梅溪河、朱衣河和长江干流与上述特征一致。通过 ADONIS 分析发现不同支流和干流的细菌群落结构存在显著差异 ($P=0.003$, $R^2=0.5368$)。ADONIS 分析不同支流间 Bray-Curtis 距离的显著差异, 发现朱衣河和香溪河、大宁河和梅溪河之间的微生物群落结构存在显著差异(表 1), 其他支流间微生物群落结构没有显著差异。通过 LEfSe 分析确定组间显著差异物种, 发现 *Ramlibacter*, 球形红杆菌属 (*Candidatus_Aquirestis*), 古字状菌属 (*Runella*), 新鞘脂菌属 (*Novosphingobium*) 和浮霉菌目 (*Planctomycetales*) 在朱衣河中特异性富集(图 3E)。 *Runella_sp_NBRC_154* 是香溪河的生物标记物种 (biomarker)。斜生四链藻 (*Tetrademus_obliquus*) 和绿弯菌门是大宁河的生物标记物种。

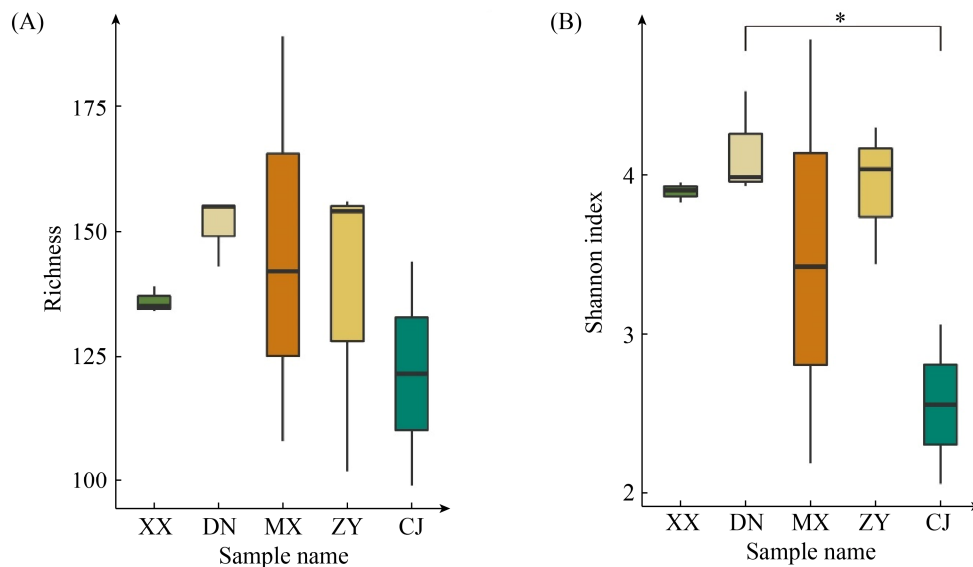


图 2 支流和干流样品的 α 多样性指数

Figure 2 Alpha diversity of samples of mainstream and tributaries. Richness index (A) and Shannon index (B) of mainstream and tributaries. XX: Xiangxi River (香溪河); DN: Daning River (大宁河); ZY: Zhuyi River (朱衣河); MX: Meixi River (梅溪河); CJ: mainstream of the Yangtze River (长江干流).

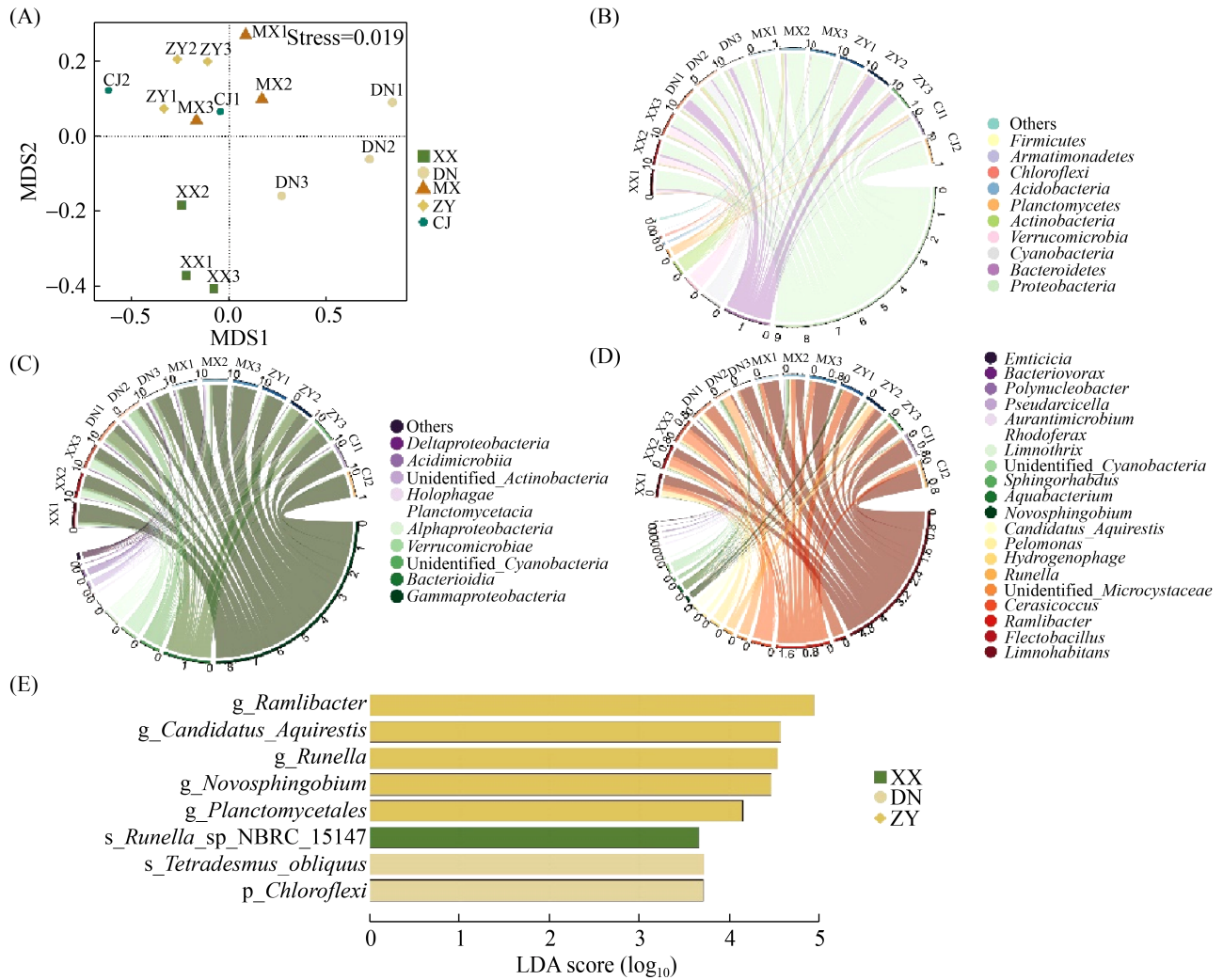


图 3 干流和支流的微生物群落结构及微生物群落的指示物种

Figure 3 Microbial community structure and microbial indicators of the mainstream and tributaries. The differences in microbial community structure were analyzed by NMDS (A), community composition of bacteria in the phylum level (B), the family level (C), the genus level (D) and LEfSe analyses the differences of four tributaries (E).

表 1 ADONIS 分析微生物群落结构差异

Table 1 ADONIS analyses the differences of community structure

Groups	Df	Sums of Sqs	Mean Sqs	F.Model	R ²	Pr (>F)
ZY-XX	1 (4)	0.231 68 (0.284 91)	0.231 682 (0.071 227)	3.252 8	0.448 49 (0.551 51)	0.001 389
ZY-DN	1 (4)	0.482 86 (0.775 62)	0.482 86 (0.193 90)	2.490 2	0.383 69 (0.616 31)	0.001 389
ZY-MX	1 (4)	0.185 61 (0.317 60)	0.185 609 (0.079 401)	2.337 6	0.368 85 (0.631 15)	0.001 389
XX-DN	1 (4)	0.508 83 (0.725 65)	0.508 83 (0.181 41)	2.804 9	0.412 18 (0.587 82)	0.1
XX-MX	1 (4)	0.229 61 (0.267 63)	0.229 609 (0.066 908)	3.431 7	0.461 77 (0.538 23)	0.1
DN-MX	1 (4)	0.379 23 (0.758 34)	0.379 23 (0.189 59)	2.000 3	0.333 37 (0.666 63)	0.2

在不同地点的样品中共发现 10 个主要菌门, 所有样品中的优势菌门为: 变形菌门(*Proteobacteria*, 66.4%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 13.2%)和蓝细菌门(*Cyanobacteria*, 6.2%), 共占所有样品的 85.8%。疣微菌门(*Verrucomicrobia*, 5.1%)和放线菌门(*Actinobacteria*, 4.3%)相对丰度也较高(图 3B)。在香溪河上游到下游中, 疣微菌门和放线菌门呈递增趋势。在大宁河中, 大宁河上游, 拟杆菌门(43.2%)相对丰度最高; 大宁河中上游, 蓝细菌门(38.1%)是优势菌门并且拟杆菌门大幅度降低; 大宁河中游, 变形菌门(63.0%)相对丰度最高。梅溪河中, 梅溪河下游放线菌门降低。朱衣河中, 朱衣河中游和下游的蓝细菌门升高。长江干流 2 相比较于长江干流 1 蓝细菌门和放线菌门丰度降低。

在纲水平分析细菌群落组成, γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*, 61.2%)是最丰富的优势菌纲, 其他依次是拟杆菌纲(*Bacteroidia*, 13.1%)、疣微菌纲(*Verrucomicrobiae*, 5.1%)和 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*, 4.9%) (图 3C)。

筛选出属水平相对丰度排名前 30 的物种进行分析, 其中优势菌属为 *Limnohabitans* (36.6%), 樱桃球菌属(*Cerasicoccus*, 4.8%)、弯杆菌属(*Flectobacillus*, 2.8%)和古字状菌属(*Runella*, 2.4%)。一些种属在一些样品中是优势属, 而在其他样品中含量很少或者不存在。弯杆菌属在大宁河上游是优势属, 樱桃球菌属在香溪河中游和下游是优势属, 而在其他样品中含量很少(图 3D)。

2.3 共现网络分析

由于各支流微生物群落存在明显的非随机共存模式, 通过共现网络可以更好地展示微生物共生模式的拓扑和分类学特征。分析结果表明, 80 个节点间有 198 条表示种间强相互作用的连接($r>0.7$, $P<0.05$)。通过计算网络特征值

以更好确定微生物之间相互作用的复杂模式, 平均路径长度(APL)是 3.746, 网络直径(ND)是 10, 平均聚集系数(CC)为 0.362, 模块化值(MD)为 0.576, $MD>0.4$, 说明该共发生网络有模块结构。随机网络的 APL 为 2.919, CC 为 0.051, MD 为 0.395, 可知长江各支流微生物群落的共现网络的结构性大于随机网络(表 2), 长江支流和干流的微生物共现网络有“小世界特征”(即真实的微生物共现网络比随机网络更聚集)^[19]。

网络中的节点主要属于 3 个菌门, 变形菌门、蓝细菌门和拟杆菌门, 占有节点的 87.5%, 也是细菌群落的优势菌门, 当把网络中的所有节点模块化时, 所有节点可以分为 5 个模块(图 4A)。相同模块中节点间的相互作用要强于和其他模块节点的相互作用。模块 I 的节点主要包括变形菌门和拟杆菌门。模块 II 的节点主要包括疣微菌门、变形菌门和蓝细菌门。模块 III 的节点主要为放线菌门、拟杆菌门和浮霉菌门(*Planctomycetes*)。模块 IV 的节点为变形菌门、拟杆菌门和放线菌门。模块 V 的节点主要为变形菌门、蓝细菌门和酸杆菌门。基于网络中节点的度和紧密中心性共有 5 个 OTUs 确定为中心节点微生物, 根据 Nyirabuhoro 等以微生物在样本中的相对丰度将其划分为 6 个类群^[20], 其中条件稀有物种(CRT)和总是稀有物种(ART)为稀有物种(RT), 条件丰富物种(CAT)和总是丰富物种(AAT)为丰富物种(AT), 还包括中间物种(MT)和条件稀有和丰富物种(CRAT), 以确定中心节点微生物所属类群。其中存在 2 个稀有物种(表 3), 共现网络的中心节点微生物为: 鞘脂单胞菌科(*Sphingomonadaceae*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、出芽菌科(*Gemmataceae*)、弯杆菌属(*Flectobacillus*)、蟑螂杆状体科(*Cryomorphaceae*) (图 4B)。

表 2 长江样品共现网络和随机网络的网络特征值

Table 2 Topological properties of the co-occurrence network and random network of the Yangtze River

Network	Modularity	Clustering coefficient	Average path length	Diameter	Graph density	Average degree
Real network	0.576	0.362	3.746	10	0.053	4.175
Random network	0.395	0.051	2.919	6	0.053	4.175

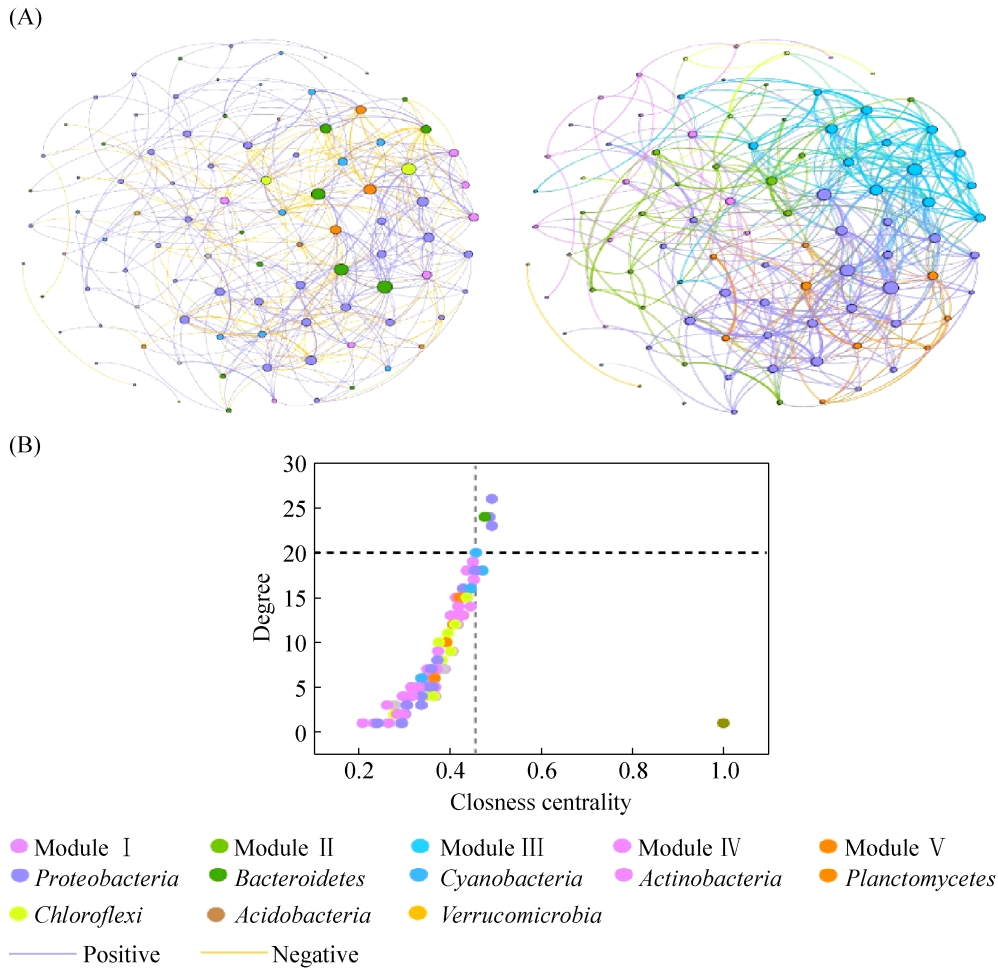


图 4 长江三峡上游水域的共现网络

Figure 4 Co-occurrence network in the upper reaches of the Three Gorges. (A) The nodes in network (right) are colored by phylum, (left) are colored by modularity class. (B) Distribution patterns of the “hub nodes”.

表 3 共现网络的中心节点微生物

Table 3 Lists of central species of co-occurrence network

ID	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Category
OTU_18	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Sphingomonadaceae</i>		CRAT
OTU_22	<i>Chloroflexi</i>					CRAT
OTU_102	<i>Planctomycetes</i>	<i>Planctomycetacia</i>	Unidentified	<i>Gemmataceae</i>		CRT
OTU_6	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Cytophagales</i>	<i>Spirosomaceae</i>	<i>Flectobacillus</i>	CRAT
OTU_74	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Cryomorphaceae</i>		CRAT

2.4 Tax4Fun 功能预测细菌群落代谢功能

Tax4Fun 分析预测细菌群落的代谢功能, 所有样本细菌 KEGG pathway 丰度基本相似(图 5)。结果表明, 主要功能基因家族与细胞进程(cellular processes)、代谢(metabolism)、人类疾病(human diseases)、环境信息处理(environmental information processing)、遗传信息处理(genetic information processing)和有机体系统(organismal systems)有关。在长江三峡

干流和支流中, 和代谢、遗传信息处理有关的基因相对丰度最高, 与先前有关河流的研究结果一致^[13]。

为了研究更多的功能信息, 在 KEGG 第二层级上研究代谢功能, 主要的代谢功能有碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、能量代谢(energy metabolism)和氨基酸代谢(amino acid metabolism)。同时, 还存在核苷酸代谢(nucleotide metabolism)、脂代谢(lipid metabolism)、异源生

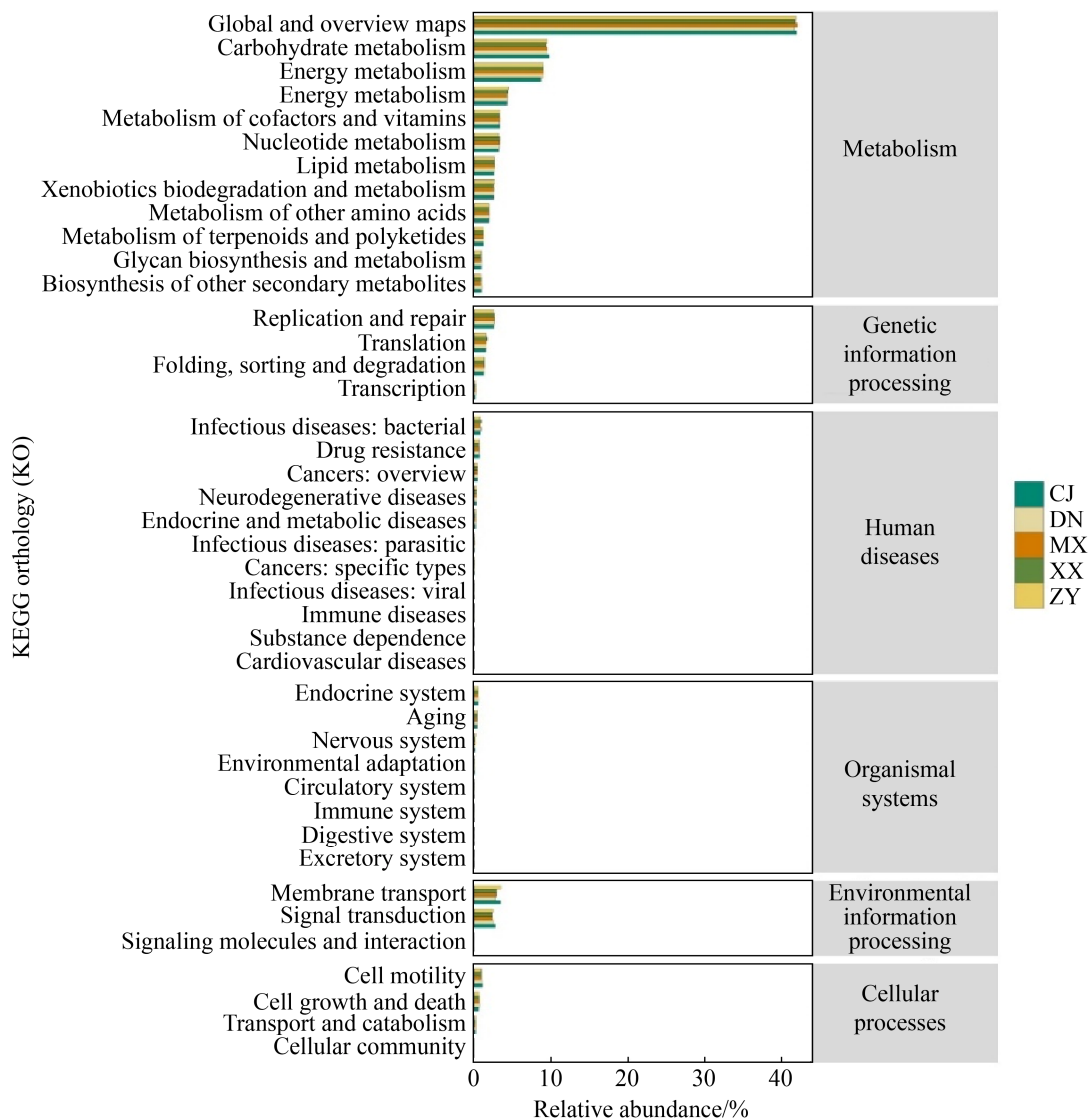


图 5 Tax4Fun 预测细菌群落的功能(level 2)

Figure 5 Bacterial community functions predicted by Tax4Fun (level 2).

物降解和代谢(xenobiotics biodegradation and metabolism)、萜类和聚酮类代谢(metabolism of terpenoids and polyketides)、聚糖生物合成与代谢(glycan biosynthesis and metabolism)、其他次生代谢产物的合成(biosynthesis of other secondary metabolites)、复制和修复(replication and repair)、翻译(translation)、折叠,分类和降解(folding, sorting and degradation)、膜运输(membrane transport)、信号转导(signal transduction)等。

3 讨论

3.1 长江三峡上游水域细菌群落组成与结构

微生物多样性在维持河流生态系统的环境和生态过程中非常重要^[21]。在门水平上,变形菌门和拟杆菌门广泛参与河流的生物地球化学循环过程,符合国内外许多河流的优势菌门分布的一般规律^[21-24]。大多数变形菌门在有机物分解和循环中有重要作用^[25],本研究中,变形菌门中最为丰富的是 γ -变形菌纲,其次是 α -变形菌纲, α -变形菌纲在富营养化的水体中含量较高,其中鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)最为丰富,能够利用有机物、固定氮和去除污染物^[26-27]。拟杆菌门的数量仅低于变形菌门,拟杆菌可以分解分子聚合物组成的溶解性有机物。

香溪河、梅溪河、朱衣河和长江干流上中下游微生物群落组成相似,说明采样位置对微生物群落组成的影响较小,和但言等^[23]发现嘉陵江上下游对微生物群落组成影响较小的结果相似。但是大宁河上下中游物种组成差异较大,大宁河中游蓝细菌门急剧升高成为优势菌门,说明中游水域富营养化严重,甚至出现蓝藻、水华现象^[28],同时,绿弯菌门可以进行光合作用,在富营养化的水域中含量较高^[29],斜生四链藻含量丰富,说明相比其他支流,大宁河富

营养化较为严重,推测原因是大宁河位于属于畜禽养殖大县的巫溪县且水电站下泄量不足,水流量减少,削弱河流的自净能力。香溪河下游朱衣河沙壤土杆菌属(19.3%)相对丰度较高的主要原因猜测是周边生活污水及工业废水的排放。梅溪河上游和中游放线菌门含量较高,放线菌易在有机质浓度较高的环境中生存^[30],推测梅溪河上游和中游有机质含量较高。朱衣河上游酸杆菌门含量丰富,推测朱衣河上游受到重金属污染,同时,*Ramlibacter* 易富集在有机物丰富的环境中,并且可以治理重金属污染^[31],浮霉菌目属于厌氧氨氧化菌,能够在缺氧环境下利用亚硝酸盐氧化铵离子生成氮气来获得能量,是污水处理中重要的细菌。新鞘脂菌属可以去除水中的氮磷和有机物^[32],球形红杆菌属也在脱氮过程中发挥重要作用^[33],说明朱衣河受到氮磷和重金属污染较为严重。虽然不同支流中,优势门的组成相同,但是同一支流不同区域优势门相对丰度不尽相同,这与不同支流及其上、中、下游的地理位置和周围环境有关^[34]。

3.2 长江三峡上游水域细菌群落的共现网络

微生物群落之间的相互作用在维持生态系统功能和结构稳定方面起关键作用^[35],在共现网络中,大多数节点属于变形菌门、蓝细菌门和拟杆菌门,占有节点的 87.5%。将节点的度和介数中心性值都高的节点作为中心节点,主要有鞘脂单胞菌目(*Sphingomonadaceae*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、出芽菌科(*Gemmataceae*)、弯曲杆菌属(*Flectobacillus*)和蟑螂杆状体科(*Cryomorphaceae*),这 5 类微生物的代谢物会对其他微生物产生较强影响^[35],与其他微生物相比,这些微生物在维持网络结构和功能中起重要作用。例如,鞘氨醇单胞菌属可以降解环境污染物^[36],绿弯菌门参与 C 循环、N 循环

和 S 循环等生物地球化学循环过程, 出芽菌科可以降解雨水中的氨氮等污染物^[37]。同时, 在之前的研究中, 也发现中心节点微生物在土壤生态功能中的重要作用, 其相对丰度与土壤功能基因的丰度呈显著正相关, 这些基因包括 C 固定、C 降解、C 甲醇、N 循环、P 循环和 S 循环等基因^[38], 同时, 在本研究中, 绿弯菌门 (*Chloroflexi*, 0.78%) 和出芽菌科 (*Gemmataceae*, 0.07%) 在样本中平均相对丰度很低, 表明稀有类群也在网络结构中发挥着重要作用。已经有研究表明, 丰度较高的中心微生物通过数量变化影响微生物群落的结构组成和多样性, 丰度较低的中心微生物通过介体功能、传递功能和联络功能影响微生物群落的结构组成和多样性^[39-40], 杨军组研究调查了 3 个水库的季节、水深和生态过程对 4 个微生物类群(AT, RT, MT, CRAT)的影响, 发现稀有类群在丰度较低时维持丰富度和多样性, 稀有类群的高度多样性和对环境变化的快速适应可以维持群落的稳定, 并研究了条件稀有菌群的时间变化模式, 拓展了细菌群落结构和组成的潜在机制^[20]。因此在以后的研究中, 不应该忽视稀有微生物在微生物群落中的重要作用, 也应该注重中心节点微生物在生态功能中的重要作用, 并且分析缺少这些中心节点微生物生态系统功能会如何变化。

研究微生物群落的共现网络可以更好地认识微生物之间的相互作用, 长江三峡上游水域的微生物共现网络和随机网络比较结果说明长江三峡水域微生物群落具有非随机共现性, 说明确定性过程在微生物群落中起了重要作用^[17]。整个共现网络主要分为 5 个模块, 模块 I 的类群可能参与碳循环、氮循环和磷循环, 如噬氢菌属 (*Hydrogenophaga*) 是具有脱氮除磷作用的反硝化菌^[41]; 水小杆菌属 (*Aquabacterium*) 可以

降解碳氢化合物, 如降解石油污染, 同时具有硝酸盐代谢能力^[42]; 多核杆菌属 (*Polynucleobacter*) 存在于氮浓度高的废水中, 具有脱氮能力^[43]。模块 II 的类群和有机物的降解有关, 如嗜糖假单胞菌属 (*Pelomonas*) 和氮素有机物的去除有关^[44]; 黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 也具有脱氮功能, 降解石油污染^[41]。模块 III 的类群可能主要和富营养化有关, 如新鞘脂菌属 (*Novosphingobium*) 可以降解微藻囊毒素^[45]。模块 IV 的类群也是主要和富营养化的修复有关, 如湖丝藻属 (*Limnothrix*)。模块 V 的类群可能和污染物的降解有关, 如球衣菌属 (*Sphaerotilus*) 降解污水中的有机物和有毒物质^[46]; 湖沉积杆菌属 (*Limnobacter*) 可以氧化硫。所以, 长江三峡上游水域有较为复杂的微生物群落结构和功能。

3.3 Tax4Fun 功能预测细菌群落的代谢功能

通过 Tax4Fun 功能预测分析表明, 样本中存在丰富的新陈代谢相关基因, 碳水化合物代谢、能量代谢和氨基酸代谢 3 种代谢功能丰度最高, 有研究报道营养来源是影响河流微生物群落结构的潜在动力^[47-48], 和先前研究结果一致。土壤和植物凋落物使河流中有机物积累, 异养细菌群落利用碳水化合物代谢途径分解有机物^[49], 如样本含量较高的鞘氨醇单胞菌属、拟杆菌门和变形菌门可以降解有机物, 进一步说明研究区域有机物含量很高; 氨基酸代谢有利于微生物利用氨基酸等^[50], 氨基酸是有机氮的主要形式, 它们的降解益于微生物的繁殖。对于能量代谢途径基因, 样本中微生物群落参与固碳和光合作用的基因丰度较高, 较高的光合作用基因丰度表明样本中的自养固碳细菌较多, 也有研究认为硝酸盐呼吸与光合作用有关^[51], 并且采样时间为蓄水期, 干流水体会倒灌进支流, 导致 NH_4^+ 累积, 表明研究区域含有较高的 NH_4^+ 。有研究发现, 异源生物降解基因的丰度和异源

生物降解率之间存在相关性, 因此降解基因可以作为异源物质及其代谢物存在的指标^[52]。在本研究中, 异源生物降解和代谢和脂代谢途径相对丰富, 推测污染物和生物异源物质排放至沿岸河流中, 微生物通过该种途径降解吸收有机物和污染物, 说明长江三峡上游水域可能受到污染。

4 结论

本研究揭示了长江三峡上游水域 4 条支流和干流的细菌群落组成结构以及共现模式。研究发现 4 条支流和干流的细菌群落组成相似, 但是优势菌门的丰度不同, 主要优势菌门为变形菌门、拟杆菌门和蓝细菌门, 多样性指数和丰富度指数表明长江上游水域微生物资源丰富, 为长江水域健康发展奠定基础。

长江三峡上游水域细菌群落存在共现特征, 鞘脂单胞菌科、绿弯菌门、出芽菌属、弯曲杆菌属、螳螂杆状体科是对共现网络有重要作用的中心节点微生物, 尽管相对丰度很低, 但是在维持细菌群落结构和功能中发挥重要作用。长江三峡水域微生物群落具有非随机共现性, 确定性过程在细菌群落中发挥重要作用。

通过 Tax4Fun 功能预测长江三峡附近水域细菌群落的代谢功能, 主要存在 6 个一级功能和 42 个二级功能, 碳水化合物代谢、能量代谢和氨基酸代谢 3 种代谢功能丰度最高, 长江三峡上游细菌代谢较为活跃。本研究结果有助于了解长江三峡上游水域现状, 为长江三峡上游水域生态健康和可持续发展提供理论依据。

参考文献

- [1] Hahn MW. The microbial diversity of inland waters. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17(3): 256–261.
- [2] 任丽娟, 何聘, 邢鹏, 王毓菁, 吴庆龙. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展. *生物多样性*, 2013, 21(4): 422–433.
- [3] Ren LJ, He D, Xing P, Wang YJ, Wu QL. Bacterial diversity and ecological function in lake water bodies. *Biodiversity Science*, 2013, 21(4): 422–433. (in Chinese)
- [4] Xue YY, Chen HH, Yang JR, Liu M, Huang BQ, Yang J. Distinct patterns and processes of abundant and rare eukaryotic plankton communities following a reservoir cyanobacterial bloom. *The ISME Journal*, 2018, 12(9): 2263–2277.
- [5] 李垒, 孟庆义, 叶飞, 王雨. 密云水库入库河流水体总细菌和反硝化菌群落组成与结构. *水生态学杂志*, 2018, 39(6): 44–51.
- [6] Li L, Meng QY, Ye F, Wang Y. Microbial community structures of total bacteria and denitrifying bacteria in the tributaries of Miyun Reservoir. *Journal of Hydroecology*, 2018, 39(6): 44–51. (in Chinese)
- [7] Wang L, Zhang J, Li HL, Yang H, Peng C, Peng ZS, Lu L. Shift in the microbial community composition of surface water and sediment along an urban river. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 600–612.
- [8] Hu AY, Ju F, Hou LY, Li JW, Yang XY, Wang HJ, Mulla SI, Sun Q, Bürgmann H, Yu CP. Strong impact of anthropogenic contamination on the co-occurrence patterns of a riverine microbial community. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(12): 4993–5009.
- [9] Aufdenkampe AK, Mayorga E, Raymond PA, Melack JM, Doney SC, Alin SR, Aalto RE, Yoo K. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, 9(1): 53–60.
- [10] 潘保柱, 刘心愿. 长江流域水生态问题与修复述评. *长江科学院院报*, 2021, 38(3): 1–8.
- [11] Pan BZ, Liu XY. A review of water ecology problems and restoration in the Yangtze River basin. *Journal of Yangtze River Scientific Research Institute*, 2021, 38(3): 1–8. (in Chinese)
- [12] Ren Z, Wang F, Qu XD, Elser JJ, Liu Y, Chu LM. Taxonomic and functional differences between microbial communities in Qinghai Lake and its input streams. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2319.
- [13] 吴娅, 王雨春, 胡明明, 刘德富, 黄钰铃, 李敦海, 陈文重, 许涛. 三峡库区典型支流浮游细菌的生态分布及其影响因素. *生态学杂志*, 2015, 34(4): 1060–1065.
- [14] Wu Y, Wang YC, Hu MM, Liu DF, Huang YL, Li DH, Chen WZ, Xu T. Ecological distribution and its

- influencing factors of bacterioplankton in the typical tributaries of Three Gorges Reservoir. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, 34(4): 1060–1065. (in Chinese)
- [11] 曹军, 陈鑫琪, 张文龙. 长江南京段入江支流底质多营养级微生物多样性研究. *环境监控与预警*, 2020, 12(6): 41–46.
Cao J, Chen XQ, Zhang WL. Multi trophic multi trophic microbial diversity in the tributaries sediment of Nanjing section of the Yangtze River. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2020, 12(6): 41–46. (in Chinese)
- [12] 秦宇, 张曦, 王紫薇, 郑望. 三峡水库中段水体微生物群落结构季节变化. *水生态学杂志*, 2021: 1–17.
Qin Y, Zhang X, Wang ZW, Zheng W. Seasonal variation of microbial community structure in the middle section of the Three Gorges Reservoir. *Journal of Hydroecology*, 2021: 1–17. (in Chinese)
- [13] Liu T, Zhang AN, Wang JW, Liu SF, Jiang XT, Dang CY, Ma T, Liu ST, Chen Q, Xie SG, Zhang T, Ni JR. Integrated biogeography of planktonic and sedimentary bacterial communities in the Yangtze River. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1–14.
- [14] 雷星, 郑安宁, 杨牧, 杨永凤. 大宁河流域巫溪段水环境保护现状及对策分析. *科技视界*, 2020(11): 10–11.
Lei X, Zheng AN, Yang M, Yang YF. Analysis on current situation and countermeasures of water environment protection in Wuxi section of Daning River Basin. *Science & Technology Vision*, 2020(11): 10–11. (in Chinese)
- [15] 黄程, 邓春光, 许令, 幸治国, 翟斌. 三峡库区网箱养鱼对周围水质的影响. *中国给水排水*, 2009, 25(12): 105–108.
Huang C, Deng CG, Xu L, Xing ZG, Zhai B. Impact of fish cage culture on environmental water quality in Three Gorges reservoir region. *China Water & Wastewater*, 2009, 25(12): 105–108. (in Chinese)
- [16] Zhang L, Tu DM, Li XC, Lu WX, Li J. Impact of long-term industrial contamination on the bacterial communities in urban river sediments. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 254.
- [17] Bollobas B. The evolution of random graphs. *Transactions of the American Mathematical Society*, 1984, 286(1): 257.
- [18] Xiong C, Zhu YG, Wang JT, Singh B, Han LL, Shen JP, Li PP, Wang GB, Wu CF, Ge AH, Zhang LM, He JZ. Host selection shapes crop microbiome assembly and network complexity. *New Phytologist*, 2021, 229(2): 1091–1104.
- [19] Jiao S, Liu ZS, Lin YB, Yang J, Chen WM, Wei GH. Bacterial communities in oil contaminated soils: biogeography and co-occurrence patterns. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 64–73.
- [20] Nyirabuhoro P, Liu M, Xiao P, Liu LM, Yu Z, Wang LN, Yang J. Seasonal variability of conditionally rare taxa in the water column bacterioplankton community of subtropical reservoirs in China. *Microbial Ecology*, 2020, 80(1): 14–26.
- [21] Araya R, Tani K, Takagi T, Yamaguchi N, Nasu MS. Bacterial activity and community composition in stream water and biofilm from an urban river determined by fluorescent *in situ* hybridization and DGGE analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 43(1): 111–119.
- [22] Betiku OC, Sarjeant KC, Ngatia LW, Aghimien MO, Odewumi CO, Latinwo LM. Evaluation of microbial diversity of three recreational water bodies using 16S rRNA metagenomic approach. *Science of the Total Environment*, 2021, 771: 144773.
- [23] 但言, 沈子伟, 余凤琴, 张闯, 倪朝辉, 黎春. 嘉陵江合川段秋季微生物多样性研究. *淡水渔业*, 2019, 49(1): 3–8.
Dan Y, Shen ZW, Yu FQ, Zhang C, Ni ZH, Li C. The research on microbial diversity of Hechuan reach for Jialing River in autumn. *Freshwater Fisheries*, 2019, 49(1): 3–8. (in Chinese)
- [24] Zhang JY, Ding X, Guan R, Zhu CM, Xu C, Zhu BC, Zhang H, Xiong ZP, Xue YG, Tu J, Lu ZH. Evaluation of different 16S rRNA gene V regions for exploring bacterial diversity in a eutrophic freshwater lake. *Science of the Total Environment*, 2018, 618: 1254–1267.
- [25] Dang HY, Lovell CR. Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(1): 91–138.
- [26] López-Vázquez CM, Hooijmans CM, Brdjanovic D, Gijzen HJ, Van Loosdrecht MCM. Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in the Netherlands. *Water Research*, 2008, 42(10/11): 2349–2360.
- [27] 邸琰茗, 王广焯, 黄兴如, 郭道宇. 再生水补水对河道底泥细菌群落组成与功能的影响. *环境科学*, 2017, 38(2): 743–751.
Di YM, Wang GX, Huang XR, Guo XY. Effect of

- reclaimed water on bacterial community composition and function in urban river sediment. *Environmental Science*, 2017, 38(2): 743–751. (in Chinese)
- [28] 徐超, 张军毅, 朱冰川, 宋挺, 黄君, 吴蔚. 夏季太湖梅梁湾水体中细菌的群落结构. *环境监控与预警*, 2015, 7(1): 37–40.
Xu C, Zhang JY, Zhu BC, Song T, Huang J, Wu W. Extensive profiling of a bacterial community during summer in Meiliang Bay, Lake Taihu. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2015, 7(1): 37–40. (in Chinese)
- [29] 赵立君, 刘云根, 王妍, 赵蓉, 任伟, 徐鸣洲. 典型高原湖滨带底泥细菌群落结构及多样性特征. *微生物学通报*, 2020, 47(2): 401–410.
Zhao LJ, Liu YG, Wang Y, Zhao R, Ren W, Xu MZ. Bacterial community structure and diversity of sediments in a typical plateau lakeshore. *Microbiology China*, 2020, 47(2): 401–410. (in Chinese)
- [30] Koskinen K, Hultman J, Paulin L, Auvinen P, Kankaanpää H. Spatially differing bacterial communities in water columns of the northern Baltic Sea. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(1): 99–110.
- [31] 丁传雨, 郑远, 任学敏, 陈兆进. 能源植物修复土壤镉污染过程中细菌群落分析. *环境科学学报*, 2016, 36(8): 3009–3016.
Ding CY, Zheng Y, Ren XM, Chen ZJ. Changes in bacterial community composition during the remediation of Cd-contaminated soils of bioenergy crops. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(8): 3009–3016. (in Chinese)
- [32] 戚科美. 人工水草对污染河流中氮磷等污染物的去除效果研究. 山东师范大学硕士学位论文, 2017.
- [33] 周石磊, 黄廷林, 张春华, 白士远, 何秀秀. 基于 Miseq 的好氧反硝化菌源水脱氮的种群演变. *中国环境科学*, 2016, 36(4): 1125–1135.
Zhou SL, Huang TL, Zhang CH, Bai SY, He XX. Bacterial community structures of aerobic denitrification bacteria nitrogen removal process in source water experiment by using Miseq high-throughput sequencing technique. *China Environmental Science*, 2016, 36(4): 1125–1135. (in Chinese)
- [34] Luo X, Xiang XY, Huang GY, Song XR, Wang PJ, Yang YH, Fu KD, Che RX. Bacterial community structure upstream and downstream of cascade dams along the Lancang River in southwestern China. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(34): 42933–42947.
- [35] Chaffron S, Rehrauer H, Pernthaler J, von Mering C. A global network of coexisting microbes from environmental and whole-genome sequence data. *Genome Research*, 2010, 20(7): 947–959.
- [36] Cheng MG, Yan X, He J, Qiu JG, Chen Q. Comparative genome analysis reveals the evolution of chloroacetanilide herbicide mineralization in *Sphingomonas wittichii* DC-6. *Archives of Microbiology*, 2019, 201(7): 907–918.
- [37] 鲜文东, 张潇瞳, 李文均. 绿弯菌的研究现状及展望. *微生物学报*, 2020, 60(9): 1801–1820.
Xian WD, Zhang XT, Li WJ. Research status and prospect on bacterial phylum *Chloroflexi*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(9): 1801–1820. (in Chinese)
- [38] Shi Y, Delgado-Baquerizo M, Li YT, Yang YF, Zhu YG, Peñuelas J, Chu HY. Abundance of kinless hubs within soil microbial networks are associated with high functional potential in agricultural ecosystems. *Environment International*, 2020, 142: 105869.
- [39] Xiong W, Jousset A, Guo S, Karlsson I, Zhao QY, Wu HS, Kowalchuk GA, Shen QR, Li R, Geisen S. Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 634–638.
- [40] Banerjee S, Schlaeppli K, Van Der Heijden MGA. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(9): 567–576.
- [41] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔. 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. *环境科学*, 2017, 38(4): 1704–1716.
Yang H, Zhang GZ, Yang XN, Wu FP, Zhao W, Zhang HW, Zhang X. Microbial community structure and diversity in cellar water by 16S rRNA high-throughput sequencing. *Environmental Science*, 2017, 38(4): 1704–1716. (in Chinese)
- [42] 张晓昕. 细菌 *Aquabacterium parvum* B6 的硝酸盐依赖型铁氧化代谢特性研究. 哈尔滨工业大学硕士学位论文, 2016.
- [43] 常晓, 张菊, 张艳芹, 闫保国, 管越强. 中华鳖暗温室养殖水体理化因子及微生物多样性分析. *河北渔业*, 2020(12): 1–8, 63.
Chang X, Zhang J, Zhang YQ, Yan BG, Guan YQ. Physico-chemical factors and microbial diversity analysis of water body in Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis* dark greenhouse culture. *Hebei Fisheries*, 2020(12): 1–8, 63. (in Chinese)
- [44] Meng FC, Feng LJ, Yin HJ, Chen KQ, Hu GH, Yang

- GF, Zhou JH. Assessment of nutrient removal and microbial population dynamics in a non-aerated vertical baffled flow constructed wetland for contaminated water treatment with composite biochar addition. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 355–361.
- [45] 李瑶, 左平, 周进. 碳、氮、磷源生态因子对新鞘氨醇杆菌降解微囊藻毒素的影响及分子机理. *微生物学通报*, 2021, 48(4): 1206–1214.
- Li Y, Zuo P, Zhou J. Effect of C, N, P elements on *Novosphingobium* sp. ERN07 degradation of microcystins. *Microbiology China*, 2021, 48(4): 1206–1214. (in Chinese)
- [46] 陈接锋, 许旭萍, 李惠珍. 球衣菌属的研究概况. *环境科学与技术*, 2002, 25(6): 43–46, 49.
- Chen JF, Xu XP, Li HZ. General situation in *Sphaerotilus* study. *Environmental Science and Technology*, 2002, 25(6): 43–46, 49. (in Chinese)
- [47] Wilhelm L, Besemer K, Fagner L, Peter H, Weckwerth W, Battin TJ. Altitudinal patterns of diversity and functional traits of metabolically active microorganisms in stream biofilms. *The ISME Journal*, 2015, 9(11): 2454–2464.
- [48] Peter H, Ylla I, Gudas C, Romani AM, Sabater S, Tranvik LJ. Multifunctionality and diversity in bacterial biofilms. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23225.
- [49] Webster JR, Meyer JL. Organic matter budgets for streams: a synthesis. *Journal of the North American Benthological Society*, 1997, 16(1): 141–161.
- [50] 丁钰珮, 杜宇佳, 高广磊, 张英, 曹红雨, 朱宾宾, 杨思远, 张傲醒, 邱业, 刘惠林. 呼伦贝尔沙地樟子松人工林土壤细菌群落结构与功能预测. *生态学报*, 2021, 41(10): 4131–4139.
- Ding YP, Du YJ, Gao GL, Zhang Y, Cao HY, Zhu BB, Yang SY, Zhang JX, Qiu Y, Liu HL. Soil bacterial community structure and functional prediction of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantations in the Hulun Buir Sandy Land. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(10): 4131–4139. (in Chinese)
- [51] Mulholland PJ, Helton AM, Poole GC, Hall RO, Hamilton SK, Peterson BJ, Tank JL, Ashkenas LR, Cooper LW, Dahm CN, Dodds WK, Findlay SEG, Gregory SV, Grimm NB, Johnson SL, McDowell WH, Meyer JL, Valett HM, Webster JR, Arango CP, Beaulieu JJ, Bernot MJ, Burgin AJ, Crenshaw CL, Johnson LT, Niederlehner BR, O'Brien JM, Potter JD, Sheibley RW, Sobota DJ, Thomas SM. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature*, 2008, 452(7184): 202–205.
- [52] Bai YH, Qi WX, Liang JS, Qu JH. Using high-throughput sequencing to assess the impacts of treated and untreated wastewater discharge on prokaryotic communities in an urban river. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(4): 1841–1851.

(本文责编 张晓丽)