J. Lake Sci.(湖泊科学),2027,39(5):000-000
DOI: 10.18307/2027.0514
©2027 by Journal of Lake Sciences

# 拉氏尖头藻水华促进亚热带水库产甲烷菌和甲烷氧化菌代谢潜力*

于佳立[1,2#]，薛媛媛[1#]，陈辉煌[1,2]，林靖翔[1]，赵思川[1,2]，罗安琪[1,2]，杨　军[1**]
（1：中国科学院城市环境研究所，区域与城市生态安全全国重点实验室，福建省流域生态重点实验室，水生态健康研究组，厦门 361021）
（2：中国科学院大学，北京 100049）

**摘　要**：蓝藻水华显著影响湖库生态系统的碳循环与甲烷排放。拉氏尖头藻（*Raphidiopsis raciborskii*）是我国东南地区 2010 年以来湖库常见的丝状蓝藻，可在贫、中营养水库爆发性生长形成弥散性水华，但有关尖头藻水华对水体甲烷循环的影响过程与机制尚未见报道。本研究以亚热带典型分层水库——东圳水库为研究区域，通过为期一周年的时间序列分层采样，覆盖完整的拉氏尖头藻水华生消过程，结合水体理化参数、溶解甲烷浓度、甲烷代谢功能基因与宏基因组分析，探究了拉氏尖头藻水华对水体甲烷浓度与通量、不同生活方式甲烷功能菌群落组成与代谢途径的影响。结果表明，表层水体甲烷通量在拉氏尖头藻水华发生期（水库上游、中游点位 8 月，下游点位 7 月）达到最大值，并与表层水体拉氏尖头藻生物量显著正相关；而底层水体溶解甲烷浓度最大值则出现在水华消退期（10 月），与底层厌氧区的分布密切相关。产甲烷菌的生活方式呈现动态转换，在水华发生期由颗粒附着态向自由态状态转换，并在水华消退期向颗粒附着态恢复；表层水体甲烷氧化菌在水华发生期偏向颗粒附着态，在水华消退期偏向自由态，而底层水体甲烷氧化菌在水华发生后从颗粒附着态持续向自由态转换。宏基因组分析结果显示，在甲烷代谢过程方面，乙酸型产甲烷途径功能基因相对丰度始终占优势，且在不同水层和水华时期表现最为稳定；进一步分析发现，拉氏尖头藻水华抑制表层水体甲基型产甲烷，增加底层水体氢型产甲烷与甲烷氧化潜能，这可能是源于甲基竞争、氧化胁迫和藻源有机物在底层水体发酵产氢过程增强。此外，拉氏尖头藻水华发生期，底层水体甲烷氧化功能基因与类群相对丰度同步上升，*Methanoregula*（5.0%）为优势产甲烷菌，*Methylopumilus*（4.4%）、*Methylocystis*（1.3%）、*Methylomonas*（0.9%）为优势甲烷氧化菌。路径分析表明，拉氏尖头藻生物量通过改变溶解氧和总有机碳间接调控甲烷功能菌的多样性和丰度，进而影响水体溶解甲烷浓度。总之，拉氏尖头藻水华通过提供藻源有机质和塑造微厌氧环境，驱动了甲烷功能菌群落与甲烷代谢功能的时空差异，研究结果为精准评估和深刻理解蓝藻水华驱动分层水库甲烷代谢过程提供了新见解。
**关键词**：拉氏尖头藻水华；分层水库；产甲烷菌；甲烷氧化菌；生活方式

## *Raphidiopsis raciborskii* bloom promotes the metabolic potential of methanogens and methanotrophs in a subtropical reservoir*

Yu Jiali[1,2#], Xue Yuanyuan[1#], Chen Huihuang[1,2], Lin Jingxiang[1], Zhao Sichuan[1,2], Luo Anqi[1,2] & Yang Jun[1**]
(1: *Aquatic EcoHealth Group, Fujian Key Laboratory of Watershed Ecology, State Key Laboratory of Regional and Urban Ecology, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen* 361021, *P.R.China*)
(2: *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *P.R.China*)

Abstract: Cyanobacterial blooms have a substantial influence on carbon cycling and methane emissions in lake and reservoir ecosystems. *Raphidiopsis raciborskii*, a filamentous cyanobacterium commonly found in lakes and reservoirs across southeastern China since 2010, can proliferate explosively, forming diffuse blooms in oligo-mesotrophic reservoirs. However, the processes

* 2026-03-05 收稿；2026-10-09 收修改稿；2026-10-09 录用。
国家自然科学基金项目(32471633)、国家自然科学基金联合基金重点支持项目(U25A20638)和厦门市自然科学基金项目(3502Z202473082)联合资助。
# 并列第一作者。
** 通信作者; E-mail: jyang@iue.ac.cn.

and mechanisms by which *Raphidiopsis raciborskii* blooms influence the methane cycle remain largely unknown. This study chose Dongzhen Reservoir as the study area, a typical stratified reservoir in a subtropical region. A one-year monthly stratified sampling was conducted to cover a complete *Raphidiopsis raciborskii* bloom event. By integrating physicochemical parameters, dissolved methane concentration, methane-metabolizing functional genes, and metagenomic analysis, we systematically investigated the effects of *Raphidiopsis raciborskii* blooms on water methane concentrations and fluxes, as well as the composition and metabolic pathways of different lifestyle methane-cycling microbial communities. Results indicated that methane flux in the surface water peaked during the *Raphidiopsis raciborskii* bloom formation period (at the upstream and midstream stations in August and the downstream station in July) and was significantly and positively correlated with surface *Raphidiopsis raciborskii* biomass. Conversely, dissolved methane concentrations in the bottom water reached their maximum during the bloom decline period (in October), closely associated with the distribution of anaerobic zones. Methanogens exhibited dynamic shifts in lifestyles, transitioning from particle-attached to free-living states during the bloom formation period and recovering during the bloom decline period. Surface methanotrophs favored a particulate-attached lifestyle during the formation period and a free-living lifestyle during the bloom decline period, while bottom methanotrophs continuously transitioned toward free-living throughout the bloom process. Metagenomic analysis revealed that the relative abundance of functional genes associated with the acetoclastic methanogenesis consistently dominated and exhibited the highest stability across different water layers and bloom periods. Further analyses revealed that the formation of *Raphidiopsis raciborskii* bloom suppressed methylotrophic methanogenesis in the surface water while promoting hydrogenotrophic methanogenesis and methane oxidation in the bottom water. This may result from methyl competition, oxidative stress, and enhanced hydrogen production through the fermentation of algal organic matter in the bottom water. Furthermore, during the *Raphidiopsis raciborskii* bloom formation period, the relative abundance of methanotrophic genes and taxa in the bottom water increased synchronously. *Methanoregula* (5.0%) was the dominant methanogenic genus, while *Methylopumilus* (4.4%), *Methylocystis* (1.3%), and *Methylomonas* (0.9%) were the dominant methanotrophic genera. PLS-PM result indicates that the biomass of *Raphidiopsis raciborskii* indirectly regulates the diversity and abundance of methane-cycling microbes by altering their relationships with dissolved oxygen and total organic carbon, thereby influencing the concentration of dissolved methane in the water. In summary, blooms of *Raphidiopsis raciborskii* drove spatiotemporal variations in methane-cycling microbial communities and methane metabolism by supplying organic matter and creating a microaerophilic environment. These findings provide novel insights for accurately assessing and comprehensively understanding how cyanobacterial blooms drive methane emissions in stratified reservoirs.
Keywords: *Raphidiopsis raciborskii* bloom; stratified reservoir; methanogens; methanotrophs; lifestyle

在全球气候变化和人类活动双重压力下，水库作为全球重要的人工水体，其数量持续增加[1-2]，而藻类水华的频繁暴发已经成为全球湖库生态系统面临的严峻挑战[3]。研究表明，初级生产力越高的水体，甲烷和二氧化碳排放量通常越大[4]；此外，“甲烷悖论”揭示了富氧水体中藻类代谢可直接或间接驱动产甲烷[5]。全球湖库常见的藻类水华有以微囊藻为代表的蓝藻水华，常见于浅水湖库，也有以尖头藻为代表的丝状蓝藻水华，常见于热带和亚热带湖库[3]。气候变暖背景下，近年来我国东南地区水库型饮用水水源地存在拉氏尖头藻（*Raphidiopsis raciborskii*）大面积入侵、有毒株系持续扩张、水华灾害风险增加等问题[6]。拉氏尖头藻及其拟柱胞藻毒素（Cylindrospermopsin）已成为我国亚热带水库中新污染物和最主要的威胁之一[7]。目前，国际上对拉氏尖头藻的研究侧重其时空分布、产毒特性、系统进化、生理生态、水华治理等问题，而对拉氏尖头藻入侵驱动的水库生态系统元素循环机制尚不清楚[6]。

蓝藻水华发生通过改变湖库水体理化性质[8]，提供藻源颗粒有机碳[9]或分泌藻毒素[10]等，进而影响水体甲烷产生、消耗和排放过程。一方面，部分蓝藻可与产甲烷菌共生[11-12]，并在富氧水体中通过乙酸型产甲烷途径[13]或细菌叶绿素和甲基膦酸盐代谢[14]等机制产生甲烷。另一方面，蓝藻水华在衰亡或消退过程中可释放大量的藻源有机质驱动厌氧降解，进而促进甲烷排放[8]。藻类水华对甲烷代谢的影响过程可能因藻种类与环条件变化而异，如藻源有机物相较于大型植物有机物，能够通过促进甲基型产甲烷途径推动甲烷生成[15]；无毒微囊藻通过提供优质碳源促进产甲烷菌增殖，而有毒微囊藻释放的微囊藻毒素抑制产甲烷菌

丰度，从而降低甲烷生成潜力[10]。同时，微囊藻在水体表层通过光合作用导致水体碱化和氧气过饱和，而底层缺氧环境促进氢型和乙酸型产甲烷途径[16]。此外，温度也是关键调控因子，低温更利于氢型产甲烷途径占主导[17]。尽管已有研究探讨了蓝藻水华对甲烷排放的影响，但多集中于微囊藻为代表的水华蓝藻物种，对于拉氏尖头藻这种具有独特生理特性、高效磷利用能力和较强环境适应性的丝状蓝藻，其水华事件如何影响湖库甲烷功能菌群落和甲烷动态，目前尚未见报道。考虑到尖头藻最适生长温度较高、可产生拟柱胞藻毒素、易形成高密度藻丝[6,7]，且部分固氮丝状蓝藻异形胞周围能够形成低氧环境[18]，这些特性可能对甲烷循环产生独特的调控作用，亟待开展深入研究。

亚热带深水水库表层水体受到强烈的太阳辐射，但是热量不能快速传到底部，夏秋季易产生热分层现象，阻碍水体垂直混合，导致表层和底层水体在光照、温度、溶解氧等生态条件具有极大差异[19]。水库水体热分层不仅能够促进蓝藻大量繁殖[20]，导致底层水体形成缺氧环境，沉积物向上覆水体释放氨氮、磷等营养物质[21]，还会阻碍底层水体与表层水体的营养物质交换[22]，有利于底层水体中产甲烷菌利用有机质产甲烷，导致甲烷积累，并储存在水体中，而在热分层打破期间这种储存的甲烷将通过扩散快速释放到大气中[23-24]。根据浮游细菌与水体中颗粒物的关系，细菌可分为自由态（Free-living，FL）和颗粒附着态（Particle-attached，PA）两种生活方式，其在群落组成、代谢活性和有机物分解效率上存在差异[25]。研究表明不同生活方式的细菌在微囊藻水华期间表现出特定的生活方式演替[26]，而在分层水库中拉氏尖头藻水华如何驱动不同生活方式甲烷功能菌群落结构、代谢途径以及甲烷浓度与通量的时空动态尚未见报道。

本研究以福建东圳水库为研究区，通过一周年的分层水体时间序列采样，整合水体理化参数、溶解甲烷浓度、功能基因测序以及宏基因组数据，从多维度解析水库甲烷与甲烷功能菌群落的时间动态及其对拉氏尖头藻水华的响应。本研究聚焦三个科学问题：（1）拉氏尖头藻水华不同时期，分层水库溶解甲烷浓度以及甲烷通量如何变化？（2）拉氏尖头藻水华不同时期，分层水库的甲烷功能群落的多样性和生活方式如何变化？（3）甲烷功能菌响应拉氏尖头藻水华的甲烷代谢途径和优势物种有何差异？相应的，本研究提出三个假设：（1）拉氏尖头藻水华的发生增加表层水体甲烷的产生和释放潜能；（2）产甲烷菌的多样性和生活方式随拉氏尖头藻水华生消过程发生动态转换并具有强恢复力，而甲烷氧化菌多样性和生活方式则保持稳定；（3）乙酸型产甲烷是最主要产甲烷途径且较为稳定，拉氏尖头藻水华发生降低表层水体甲基型产甲烷潜能，增加底层水体氢型产甲烷和甲烷氧化潜能。

## 1 材料方法

### 1.1 研究区概况与样品收集

东圳水库（25°26′~25°31′N, 118°53′~118°59′E）位于我国东南部亚热带季风气候区的福建省，1960 年建成运行，流域面积 321.23 $km^2$，总库容 4.35 亿 $m^3$，正常水位状态水库面积 17.8 $km^2$ ，是一座集灌溉、防洪、发电、航运、水产养殖、浏览等功能于一体的大型综合性水库[27]。水库最大水深为 32 米（坝前），结合实时水雨情数据，制定调蓄与放水方案。本研究于 2022 年 1 月至 12 月采集了东圳水库上游（平均水深（15.06±2.61）m）、中游（平均水深（21.05±2.31）m）、下游（平均水深（29.92±2.22）m）三个站位，除 3 月外共 11 个月的表层（0.5 m）与底层（沉积物上层 1~2 m）水样 66 份（图 1A）。水样立即被运送到实验室，首先通过 200 μm 筛网过滤以去除较大颗粒，然后通过孔径为 3 μm 的聚碳酸酯膜（直径 47-mm, Millipore, Billerica, MA, USA），收集颗粒附着态细菌，过滤后的水样立刻通过孔径为 0.22 μm 的聚碳酸酯膜（直径 47-mm, Millipore, Billerica, MA, USA）收集自由态细菌。将过滤所得的滤膜保存在−80 ℃直至 DNA 提取。

现场采样时，使用 120 mL 血清瓶与硅胶管采集三个站位垂直剖面水样（0.5、3、5、8、10、13、15、18、20、23、25、28、30 m，具体采样深度根据采样站位水深而定）。为避免气泡残留，采样时控制水样缓慢溢流 2−3 倍采样瓶的体积，溢流状态下迅速用橡胶塞密封，并使用压盖器将铝盖压紧密封。随即向密封好的水样中注射 1 mL 饱和氯化锌溶液以终止微生物活性，注射时用一个空针头平衡气压。每层水体采集 2 份平行样品，处理后的样品倒置、避光保存待测，本研究中采集了三个站位水体剖面的溶解甲烷样品共 582 份。

采集 2.5 L 表层水作为浮游植物样品，现场使用 1.5%鲁哥试剂进行固定，带回实验室静置 48 h 后进行浓缩，并对浓缩样品进行显微镜形态学鉴定和计数，浮游植物丰度和生物量的估算分别参考先前的研究[28,29]，体积估算基于标准的几何学公式[30]，并按照密度为 1 g/cm$^3$ 进行生物量估算。

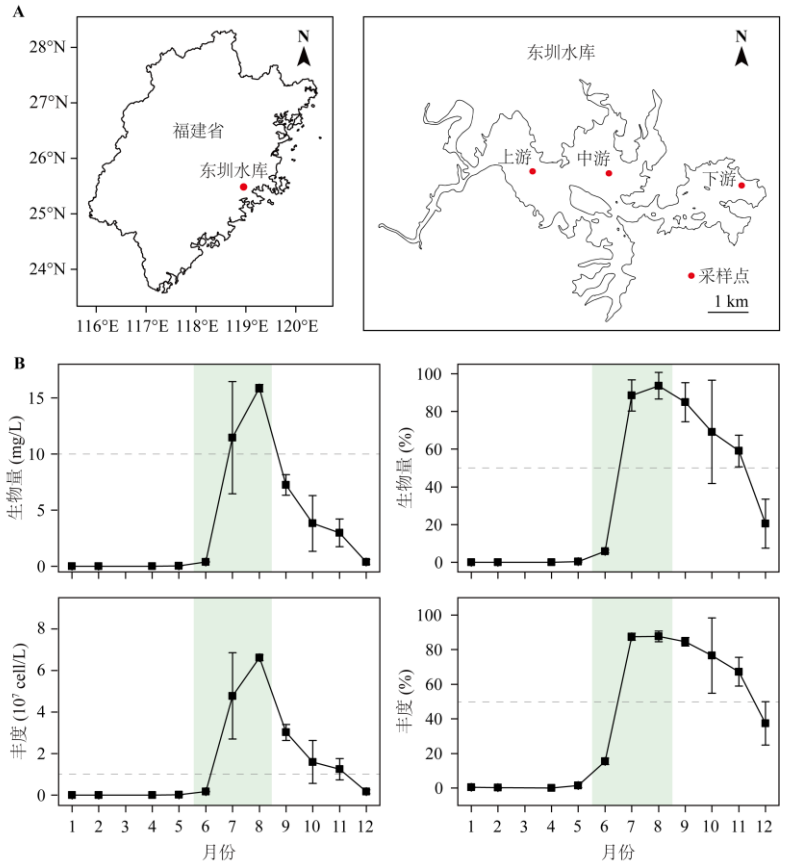


图 1 东圳水库采样站位的拉氏尖头藻时间变化。（A）东圳水库及其三个采样站位位置；（B）拉氏尖头藻生物量与丰度。绿色阴影表示拉氏尖头藻水华发生期

Fig.1 Changes in *Raphidiopsis raciborskii* at sampling sites in Dongzhen Reservoir. (A) Location and three sampling sites of Dongzhen Reservoir. (B) *Raphidiopsis raciborskii* biomass and abundance. Green shading indicates the *Raphidiopsis raciborskii* bloom formation period

### 1.2 环境参数测定以及热分层与拉氏尖头藻水华时期的界定

本研究使用多参数水质分析仪（Hydrolab DS5，Hach Company，Loveland，CO，USA）现场测定水温（WT，℃）、溶解氧（DO，mg/L）、pH 值。利用直径为 30 cm 的标准塞氏盘估测透明度，使用 Speedtech SM-5 Depthmate 便携式测深仪（Speedtech instruments, Great Falls, VS, USA）测量采样站位水深。

水库水体热分层判定参考相关文献标准：以每米平均温差大于 0.2 ℃[31]且相对热阻混合（Relative thermal resistance to mixing，RTRM）大于 100 作为分层依据[19]。据此确定东圳水库上游站位与中游站位的分层期为 4−9 月，下游站位为 4−11 月（表 1）。此外，结合拉氏尖头藻的生物量及细胞丰度等数据，将拉氏尖头藻水华事件划分为非水华期（1−5 月）、水华发生期（6−8 月）以及水华消退期（9−12 月）（图 1B）。

### 1.3 水体甲烷浓度测定和通量计算

本研究使用顶空平衡法测定水体中溶解甲烷浓度[32]。测定前，使用注射器向装有水样的 120 mL 顶空瓶中注入 30 mL 高纯度氮气（＞ 99.999%），并用另一根针头排出置换的等量水样，形成 30 mL 的顶空体

积。随后将样品倒置，置于摇床上振荡处理 12 小时，使瓶内水气达到平衡，使用 50 mL 针管尽可能抽取顶空瓶上部平衡气体，通过配备火焰离子检测器的气相色谱仪（Agilent-7890B, Agilent Technologies, USA）测定甲烷浓度。分析过程中，使用 4 个以上浓度梯度的 $CH_4$ 标准气体绘制标准曲线，从低浓度向高浓度依次进样测定，每个浓度的标准气体测量三次平行，标曲 $R^2$ 高于 0.9999。最后，依据标准曲线计算样品甲烷分压，结合理想气体状态方程计算溶解甲烷浓度，并估算表层水体甲烷通量[33-36]。估算通量所需的风速数据来源于福建省汛情发布系统（http://27.156.118.74:18800/summary/Projects/FJ_FloodPublish/home.html），观测频率为每小时，本研究计算时选择采样当日的日平均风速。采用蒙特卡洛模拟（n＝1000 次）评估通量不确定性，k 值和甲烷浓度的标准差分别设为 20%和 10%[36]。

表 1 基于相对热阻混合指数（RTRM）与平均温差（TD）划分的东圳水库热分层时期。

Tab.1 Thermal stratification periods in Dongzhen Reservoir based on relative thermal resistance mixing index (RTRM) and average temperature difference (TD).

| 月份 | 上游 | | 中游 | | 下游 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | RTRM | TD（° C/m） | RTRM | TD（°C/m） | RTRM | TD（°C/m） |
| 1 | -37.62 | 0.16 | -37.62 | 0.13 | -19.62 | 0.03 |
| 2 | -34.62 | 0.10 | 0.00 | 0.03 | 0.00 | 0.02 |
| **4** | **225.37** | **0.73** | **243.37** | **0.53** | **213.12** | **0.32** |
| **5** | **237.12** | **0.63** | **256.75** | **0.52** | **307.37** | **0.43** |
| **6** | **357.62** | **0.61** | **450.00** | **0.64** | **469.62** | **0.52** |
| **7** | **452.37** | **0.72** | **503.87** | **0.63** | **509.00** | **0.56** |
| **8** | **411.00** | **0.67** | **437.37** | **0.58** | **489.37** | **0.51** |
| **9** | **199.00** | **0.46** | **219.75** | **0.39** | **338.50** | **0.41** |
| 10 | 30.25 | 0.05 | 56.75 | 0.11 | **175.50** | **0.22** |
| 11 | 56.75 | 0.14 | 56.75 | 0.11 | **146.50** | **0.21** |
| 12 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 92.37 | 0.12 |

粗体代表热分层。

### 1.4 微生物实验与生物信息学分析

利用 FastDNA SPIN Kit（MP Biomedicals，Santa Ana，CA，USA）分别对东圳水库表层与底层水体两个不同粒径（0.22~3 μm 代表自由态细菌、3~200 μm 代表颗粒附着态细菌）的 132 份微生物样品进行 DNA 提取。采用 PCR 引物 mcraF 和 mcraR 扩增产甲烷菌的 *mcrA* 基因[37-38]，使用 Illumina NovaSeq 平台对 *mcrA* 基因进行 2×250 bp 策略测序；采用引物 189F 和 650R 扩增甲烷氧化菌的 *pmoA* 基因[39]，使用 Illumina NextSeq 平台对 *pmoA* 基因进行 2×300 bp 策略测序。

本研究所获得的测序数据均已上传至 NCBI 数据库（登录号为 PRJNA1230760）和 NODE 数据库（登录号为 OEP00006020）。通过 Mothur v.1.39.5 对原始序列数据进行质量检查与处理[40]；用 VSEARCH v2.26.1 过滤原始序列[41]，生成唯一序列。通过 Unoise3 算法从唯一序列中剔除嵌合体，并在 USEARCH v11 中以 97%的序列相似性生成 OTU[42]。然后，通过 NCBI 数据库对 *mcrA* 基因、*pmoA* 基因每个 OTU 的代表性序列进行分类注释，删除所有未知序列。最后，将每份样品 *mcrA* 和 *pmoA* 的 OTU 序列均一化。最终，每个样品分别获得 66399 条 *mcrA* 基因序列和 18814 条 *pmoA* 基因序列；本研究中 *mcrA* 基因和 *pmoA* 基因的 OTU 总数分别为 25245 和 2711 个。

### 1.5 宏基因组数据分析

根据拉氏尖头藻水华事件过程，本研究选取东圳水库中游和下游非水华期（2、4、5 月）、水华发生期（7、8 月）、水华消退期（9、10、11、12 月），表层与底层水体两种不同粒径共 72 份样品进行宏基因

组测序分析。基于 Illumina Novaseq X Plus 平台，构建二代宏基因组测序文库，然后上机测序，每个样品的原始下机数据不少于 20 G。本研究所获得的宏基因组数据均已上传至 NCBI 数据库（登录号为 PRJNA1256612）和 NODE 数据库（登录号为 OEP00006353）。利用 FastQC v0.12.1 进行原始序列数据质量评估，然后通过 Trimmomatic 0.39 对序列进行质控。最后，使用 DIAMOND v2.1.10.164 将质控后的序列与甲烷数据库（MCycDB）中甲烷循环功能基因比对，并进行甲烷循环物种注释，得到甲烷循环功能基因相对丰度和物种序列丰度信息[43]；并根据 KEGG 数据库中甲烷循环的相关基因通路，筛选出与乙酸型、氢型和甲基型产甲烷途径直接相关的基因，同时获得产甲烷菌与甲烷氧化菌在属水平上的分类学组成与相对丰度。

### 1.6 统计分析

本研究所有统计分析均在 R 软件（v4.3.1）中进行，将三个站点作为空间样品重复进行分析，以水华时期（非水华期、水华发生期、水华消退期）而非连续月份作为分组。对于≥ 3 组的组间差异检验采用 Kruskal-Wallis 检验与事后多重比较，对于 2 组的组间差异检验采用 Wilcoxon 秩和检验。

使用“vegan”软件包计算产甲烷菌和甲烷氧化菌群落 α 多样性在不同水华时期的显著性差异。使用“adespatial”软件包中的 beta.div 函数计算对 β 多样性的局部贡献（Local contributions to beta diversity, LCBD），以评估各样品的生态独特性[44]。为了考察甲烷功能菌群落在不同水华时期的组成差异，我们使用“vegan”软件包中的 betadisper 函数，根据 Bray-Curtis 距离计算样品间群落中心点的距离。本研究使用颗粒附着生态位指数（particle-association niche index，PAN）鉴定功能菌的生活方式偏好性[45]。PAN 值的取值范围为 0−1，当 PAN ＜ 0.5 时，功能菌偏好自由态，当 PAN ＞ 0.5 时，功能菌偏好颗粒附着态，当 PAN = 0.5 时，功能菌在自由态和颗粒附着态两种生活方式中均匀分布。

为深入探讨拉氏尖头藻水华对水体甲烷功能菌群落以及水体甲烷浓度的直接和间接影响，本研究使用“plspm”软件包构建了偏最小二乘法路径模型（PLS-PM）[46]。模型以水温和藻类生物量为外生变量，DO、pH、TOC 为中介变量，甲烷功能菌的多样性和丰度为微生物响应变量，甲烷浓度为最终响应变量。

## 2 结果

### 2.1 水体环境因子及甲烷浓度和通量的时间变化特征

东圳水库水温和溶解氧具有明显的季节变化特征，夏季 7 月表层水温最高，垂直剖面温差最大，为强分层期；冬季 2 月温度最低，1−2 月以及 12 月为水体混合期（RTRM ＜ 100），4−7 月为分层发展期（RTRM 从 100 增加到最大值），8−9 月为上游和中游分层减弱期，8−11 月为下游分层减弱期（RTPM 从最高值减小到 100）（表 1）。三个采样断面底层水体均有夏秋季低氧特征，其中下游站位水最深，其缺氧区呈现持续时间更长、范围更大的特征（图 2）。甲烷浓度的空间分布与底层厌氧区高度吻合，但其最大值出现时间相较于厌氧区出现时间表现出明显的滞后效应，尤其是下游底层水体甲烷浓度于 10 月 28 日达到最大值（122.3 μmol/L）。

水库表层水体甲烷通量的时间动态与拉氏尖头藻水华发生过程密切相关。甲烷通量最大值（上游站位 8 月为 1.56 mmol/($m^2$·d）、中游站位 8 月为 0.94 mmol/($m^2$·d）、下游站位 7 月为 1.17 mmol/($m^2$·d））均出现在拉氏尖头藻水华的发生期，并伴随水华消退而逐渐降低（图 3A）。值得注意的是，中游和下游站位在 12 月观察到甲烷通量再次反弹，略升高，可能与水体垂直混合以及底层水体甲烷释放有关（图 2，图 3A）。统计分析表明，水库下游甲烷浓度与水温显著负相关，三个站位甲烷浓度均与溶解氧呈现显著负相关。上游和中游表层水体甲烷浓度与拉氏尖头藻生物量呈现显著正相关（图 3B）。拉氏尖头藻生物量与水体 pH 值呈显著正相关，与溶解氧呈显著负相关，与总有机碳呈显著正相关（图 3C）。

### 2.2 拉氏尖头藻水华不同时期水体甲烷功能菌多样性和生活方式变化

总体而言，Adonis 和 ANOSIM 分析均表明，甲烷功能菌群落差异最显著的因素为水华时期（表 2）。颗粒附着态功能菌的 α 多样性普遍高于自由态功能菌（图 4）。表层水体甲烷功能菌群落 α 多样性普遍低于底层水体。表层水体产甲烷菌 α 多样性相较于底层水体对水华事件更敏感，α 多样性在水华发生期显著降低，而表层水体甲烷氧化菌 α 多样性没有显著变化（图 4）。在底层水体，产甲烷菌 α 多样性在水华消

退期降低，而甲烷氧化菌 α 多样性则普遍在水华消退期升高。

表层水体甲烷功能菌群落 β 多样性普遍高于底层水体（图 4）。表层水体产甲烷菌 β 多样性在水华发生期最高，体现出群落特化，而底层无显著变化。表层水体甲烷氧化菌 β 多样性在水华不同时期没有显著差异，而底层水体的颗粒附着态甲烷氧化菌 β 多样性在水华发生和消退期均显著降低。

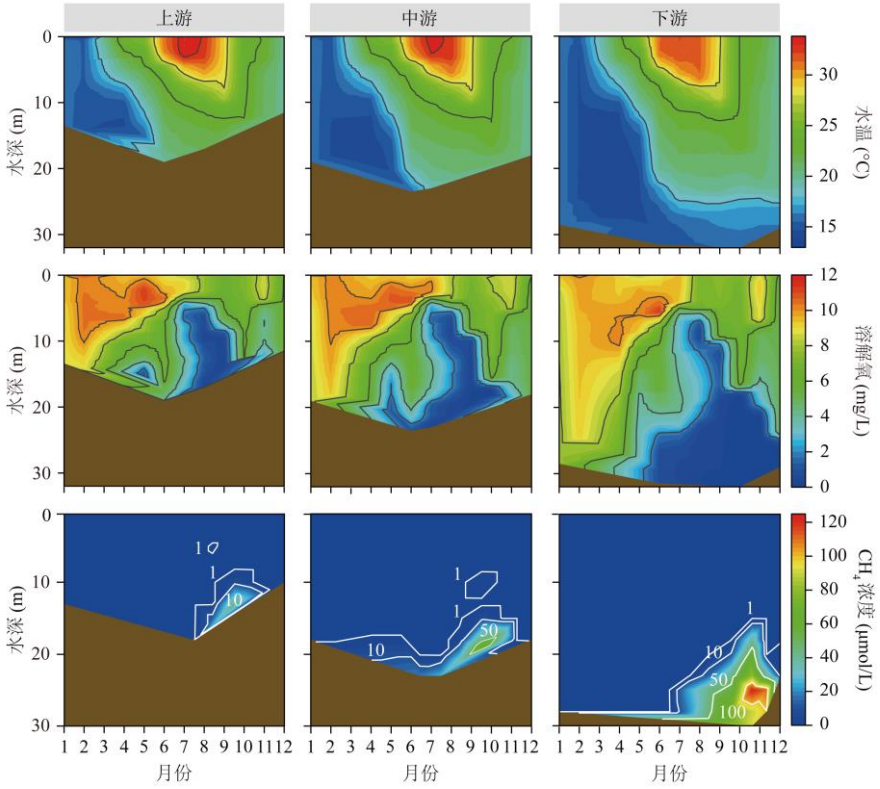


图 2 东圳水库水温、溶解氧及甲烷浓度时空剖面图

Fig. 2 Spatiotemporal profile of water temperature, dissolved oxygen, and $CH_4$ concentration in Dongzhen Reservoir

表 2 东圳水库不同水华时期、不同水层、不同生活方式甲烷功能菌群落的比较

Tab. 2 Comparison of methane-cycling microbial communities in Donzhen Reservoir across *Raphidiopsis raciborskii* bloom period, water layer and lifestyle

| 分组 | | 产甲烷菌 | | 甲烷氧化菌 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Adonis $R^2$ | ANOSIM R | Adonis $R^2$ | ANOSIM R |
| 水华时期 | 非水华期 *vs* 水华发生期 | 0.089*** | 0.435** | 0.149*** | 0.478** |
| | 非水华期 *vs* 水华消退期 | 0.077*** | 0.326** | 0.205*** | 0.617** |
| | 水华发生期 *vs* 水华消退期 | 0.041*** | 0.197** | 0.114*** | 0.381** |
| 水层 | 表层水体 *vs* 底层水体 | 0.060*** | 0.278** | 0.047*** | 0.138** |
| 生活方式 | 自由态 *vs* 颗粒附着态 | 0.050*** | 0.249** | 0.061*** | 0.178** |

***$P < 0.001$, **$P < 0.01$.

底层水体群落相似性高于表层水体（图 5A、B）。对于产甲烷菌群落而言，在表层水体，相似性在非水华期和水华消退期之间最高（自由态群落为 17.9%，颗粒附着态群落为 21.6%）。结合 PAN 指数在水

华消退期的回升（图 5C），表明表层产甲烷菌群落在水华消退后具有一定程度的恢复力。而在底层水体中，产甲烷菌群落在水华发生期和水华消退期最相似（自由态群落为 36.0%，颗粒附着态群落为 30.8%），意味着水华促进了底层水体产甲烷菌的同质化（图 5A）。然而，对于甲烷氧化菌群落而言，在表层水体中群落相似性在水华发生期和消退期之间最高（自由态群落为 43.3%，颗粒附着态群落为 33.9%），在非水华期和水华发生期之间最低（自由态群落为 31.9%，颗粒附着态群落为 25.0%），表明水华过程中群落同质化增强，并没能在消退期恢复至非水华期状态；在底层水体中，群落同质化结果在水华消退之后仍未改变（图 5B）。对比同时期的自由态和颗粒附着态群落相似性，表层水体产甲烷菌群落相似性在水华发生期显著降低，而同时底层水体产甲烷菌群落相似性显著增加，两者均在消退期恢复至非水华期水平；甲烷氧化菌在表层和底层水体中均表现出群落同质化，且底层同质化发生强于表层（图 5A、B）。

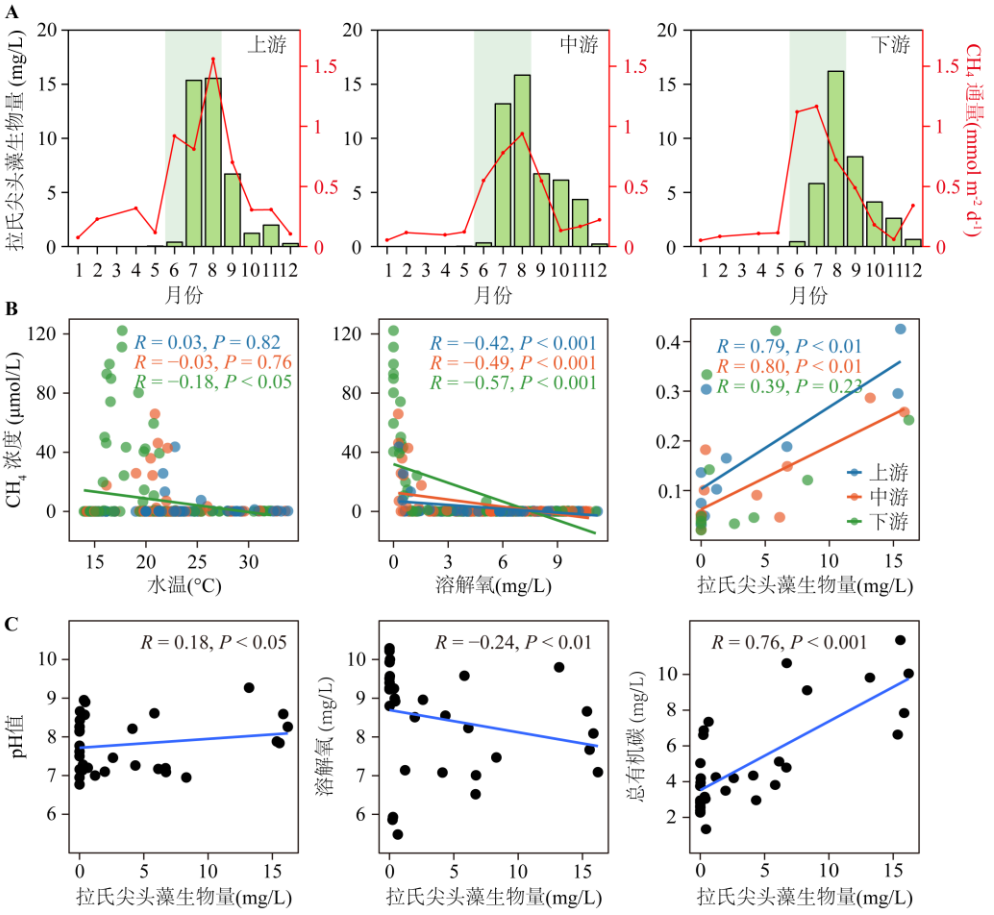


图 3 东圳水库三个采样站位拉氏尖头藻生物量与甲烷动态。（A）拉氏尖头藻生物量和甲烷通量变化。绿色阴影表示拉氏尖头藻水华发生期。（B）甲烷浓度与水温、溶解氧和拉氏尖头藻生物量相关性。仅展示显著相关的趋势线。（C）表层水体 pH 值、溶解氧浓度、总有机碳浓度与拉氏尖头藻生物量相关性

Fig. 3. *Raphidiopsis raciborskii* biomass and methane dynamics at three sampling sites in Donzhen Reservoir. (A) Changes in *Raphidiopsis raciborskii* biomass and methane flux. Green shading indicates the *Raphidiopsis raciborskii* bloom formation period; (B) Correlation between methane concentration and water temperature, dissolved oxygen, and *Raphidiopsis raciborskii* biomass, respectively. Note that only significant trend lines are displayed. (C) Correlation between surface water pH, dissolved oxygen concentration, total organic carbon concentration, and *Raphidiopsis raciborskii* biomass

在细菌生活方式方面，表层和底层水体产甲烷菌整体 PAN 均值都大于 0.5，并且非水华期 PAN 均值最大（表层水体为 0.648，底层水体为 0.772），水华发生期 PAN 均值最小（表层水体为 0.555，底层水体为 0.608），水华消退期 PAN 均值在两者之间（表层水体为 0.616，底层水体为 0.651），表明产甲烷菌群落在水华发生期向自由态变化，而在水华消退期部分恢复颗粒附着态。甲烷氧化菌 PAN 整体居中稍大于 0.5，表层水体中甲烷氧化菌 PAN 值随水华发生过程呈现先增后降规律，在底层水体中 PAN 值持续降低（图 5C），表明甲烷氧化菌对水华的生活方式响应存在水层特异性，且其变化幅度小于产甲烷菌。

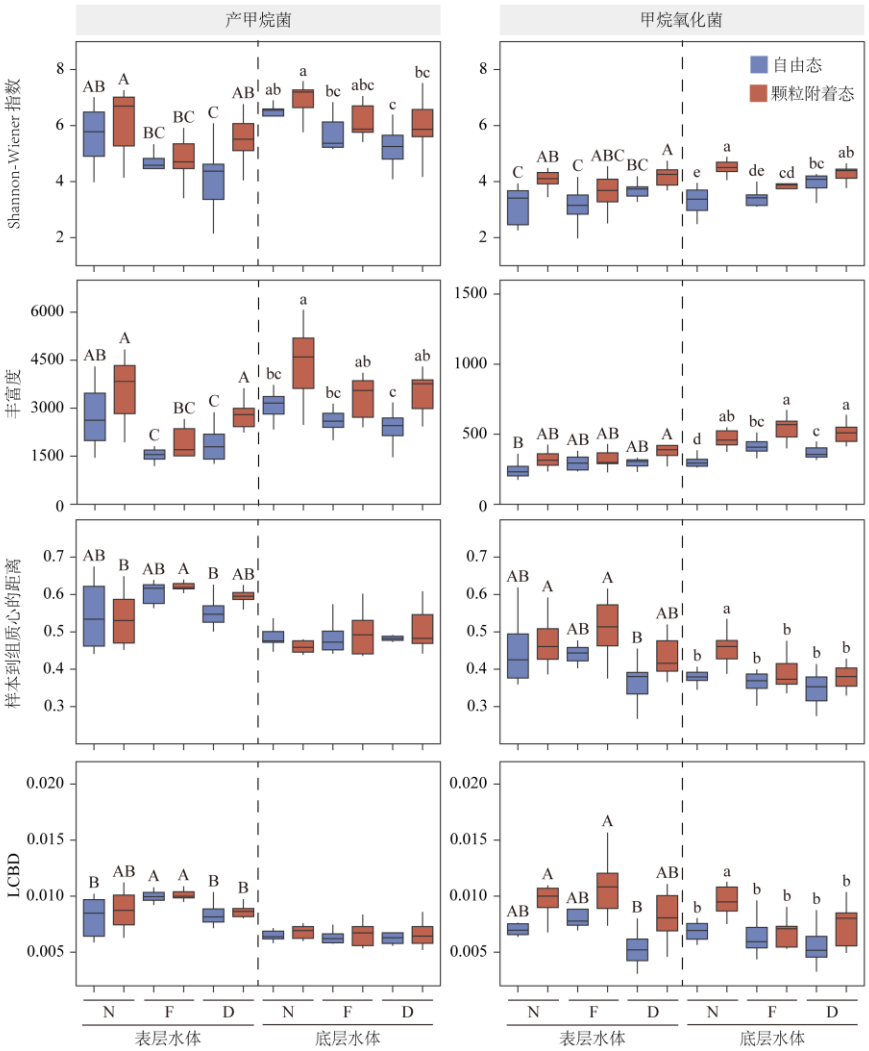


图 4 东圳水库不同水华期产甲烷菌和甲烷氧化菌群落 α 和 β 多样性的差异。N：非水华期，F：水华发生期，D：水华消退期。组间显著差异（$P < 0.05$）以不同字母标注：大写字母表示表层水体不同生活方式甲烷功能菌间差异，小写字母表示底层水体不同生活方式甲烷功能菌间差异

Fig. 4 Differences in α and β diversity of methanogenic and methanotrophic communities in Dongzhen Reservoir during different bloom periods. N: non-bloom period; F: bloom formation period; D: bloom decline period. Significant differences ($P < 0.05$) between groups are indicated with different letters; uppercase letters indicate differences between methane-cycling microbes with different lifestyles in surface water, while lowercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in bottom water

### 2.3 拉氏尖头藻水华不同时期不同水层甲烷功能菌甲烷循环途径以及优势物种

基于宏基因组数据识别出四条产甲烷途径（即乙酸型、氢型和甲基型途径及其共同的中心产甲烷途径）与两条甲烷氧化途径（即甲烷至甲醛的氧化和甲醛的有氧氧化所涉及的功能基因），在此基础上比较了拉氏尖头藻不同水华时期表层与底层水体中，自由态和颗粒附着态甲烷功能菌的甲烷代谢基因相对丰度（图 6）。

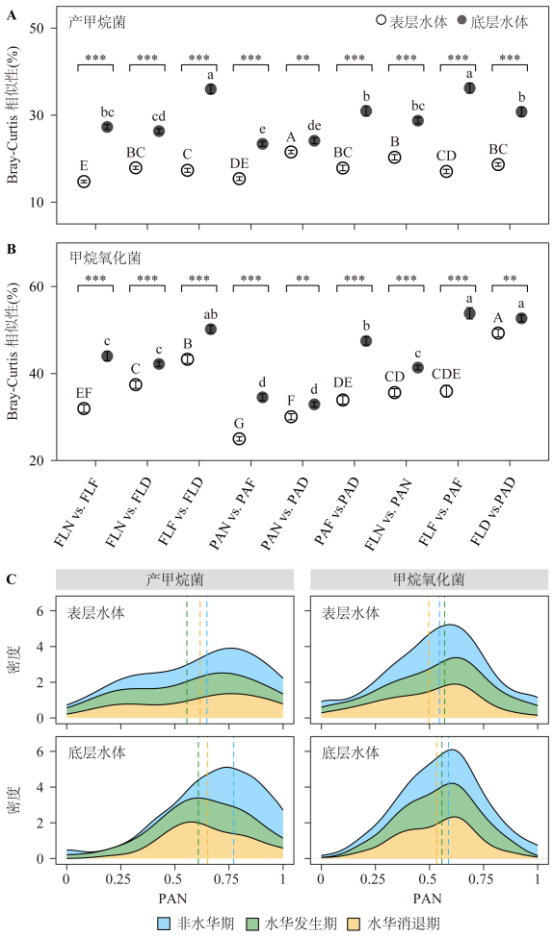


图 5 拉氏尖头藻水华不同时期甲烷功能菌群落相似性和生活方式变化。（A）产甲烷菌和（B）甲烷氧化菌群落相似性变化。数据表示为均值±标准误（s.e.）。FL：自由态，PA：颗粒附着态；N：非水华期，F：水华发生期，D：水华消退期。组间显著差异（$P < 0.05$）以不同字母（大写字母表示表层水体甲烷功能菌间差异，小写字母表示底层水体甲烷功能菌间差异）或星号标注（*$P < 0.05$，**$P < 0.01$，***$P < 0.001$）。（C）产甲烷菌和甲烷氧化菌群落的颗粒附着生态位指数（PAN）分布。虚线对应平均值

Fig. 5 Similarity and lifestyle changes in methane-cycling microbial communities during different periods of *Raphidiopsis raciborskii* blooms. Changes in the similarity of (A) methanogenic and (B) methanotrophic communities. Data are mean ± standard error (s.e.). FL: free-living; PA: particle-attached; N: non-bloom period; F: bloom formation period; D: bloom decline period. Significant differences ($P < 0.05$) between groups are indicated with different letters (uppercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in surface water, while lowercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in bottom water) or asterisks (*$P < 0.05$，**$P < 0.01$，***$P < 0.001$). (C) Distribution of particle-attached niche index (PAN) for methanogenic and methanotrophic communities during different periods of *Raphidiopsis raciborskii* blooms

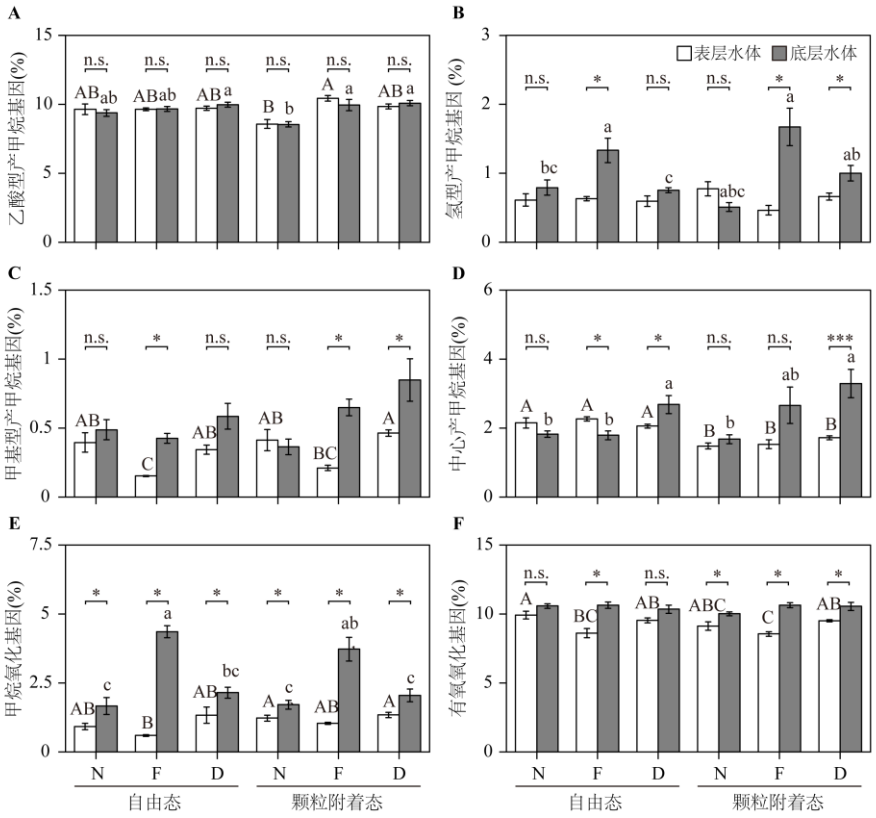


图 6 东圳水库拉氏尖头藻水华不同时期表层与底层甲烷功能菌群落主要代谢途径相关基因的相对丰度。N：非水华期，F：水华发生期，D：水华消退期。组间显著差异（$P < 0.05$）以不同字母（大写字母表示表层水体甲烷功能菌间差异，小写字母表示底层水体甲烷功能菌间差异）或星号标注（*$P < 0.05$，**$P < 0.01$，***$P < 0.001$，n.s.表示 $P \geq 0.05$）。甲烷氧化：甲烷至甲醛的氧化过程；有氧氧化：甲醛至二氧化碳的氧化过程

Fig.6 Relative abundance of key metabolic pathway genes in methane-cycling microbial communities at surface and bottom layers in Dongzhen Reservoir during different periods of *Raphidiopsis raciborskii* blooms. N: non-bloom period; F: bloom formation period; D: bloom decline period. Significant differences ($P < 0.05$) between groups are indicated with different letters (uppercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in surface water, while lowercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in bottom water) or asterisks (*$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$, n.s. indicates $P \geq 0.05$). Methane oxidation: the oxidation process converting methane to formaldehyde; Aerobic oxidation: the oxidation process converting formaldehyde to carbon dioxide

可以看出，除乙酸型产甲烷途径外，其他途径产甲烷相关基因丰度在底层水体普遍高于表层水体（图 6）。乙酸型产甲烷基因的相对丰度在所有产甲烷途径中最高（8.5%−10.4%）且无显著的分层差异，在不同水华时期相对丰度稳定（图 6A）。在水华发生期，底层水体氢型产甲烷基因的相对丰度显著增加（图 6B），而表层水体甲基型产甲烷基因相对丰度则显著降低（图 6C）。表层水体中心产甲烷基因在自由态功能菌群落中丰度更高，而底层水体自由态和颗粒附着态中心产甲烷基因在水华消退期均显著增加（图 6D）。对于甲烷氧化途径而言，将甲烷氧化为甲醛的相关基因相对丰度在表层水体水华发生期降低，而在底层水体水华发生期显著增加（图 6E）。甲醛有氧氧化基因的相对丰度，在表层水体水华发生期降低，在

底层水体无显著变化（图 6F）。值得注意的是，底层水体氢型、表层水体甲基型产甲烷途径和甲烷氧化、表层水体有氧氧化基因的相对丰度变化均在水华消退期恢复至非水华期相同水平。

基于宏基因组数据计算的产甲烷菌的相对丰度在不同水华时期、不同水层与不同生活方式之间多数情况下无显著差异（图 7A），甲烷氧化菌相对丰度在底层水体显著更高，且水华发生期间甲烷氧化菌的相对丰度在表层水体中降低，而在底层水体中显著增加（图 7B）。本研究分别筛选出相对丰度前十的产甲烷菌和甲烷氧化菌，在属水平上 *Methanoregula*（5.0%）、*Methanosarcina*（0.8%）等为优势产甲烷菌，*Methylopumilus*（4.4%）、*Methylocystis*（1.3%）、*Methylomonas*（0.9%）、*Methylobacterium*（0.6%）等为优势甲烷氧化菌。水华发生期，*Methanoregula*、*Methylocystis* 和 *Methylomonas* 相对丰度在底层水体水华发生期增加（图 7C，D）*Methylopumilus* 相对丰度在表层水体中显著降低，在底层水体中增加（图 7D）。

### 2.4 拉氏尖头藻水华不同时期甲烷浓度路径分析

PLS-PM 结果表明，拉氏尖头藻水华对水体甲烷功能菌群落的影响在不同生活方式、不同水层中存在显著差异（图 8）。

对于产甲烷菌而言，表层水体中拉氏尖头藻生物量通过影响自由态产甲烷菌的 β 多样性和颗粒附着态产甲菌的丰度间接影响水体溶解甲烷浓度，水体溶解甲烷浓度与自由态和颗粒附着态产甲烷菌的 β 多样性和丰度相关，并且自由态产甲烷菌对水体溶解甲烷浓度具有正向效应。TOC 对产甲烷菌的 β 多样性和丰度，以及颗粒附着态产甲烷菌的丰度均有影响，表明有机质是表层产甲烷菌群落变化的重要因素。而在底层水体中，拉氏尖头藻生物量通过分解降低溶解氧间接影响自由态产甲烷菌 β 多样性，而拉氏尖头藻生物量直接影响颗粒附着态产甲烷菌 α 多样性，TOC 与两类生活方式的产甲烷菌均无显著相关关系。对于两种生活方式，底层水体溶解甲烷浓度均受产甲烷菌 α 多样性和 β 多样性的直接影响（图 8A）。

对于甲烷氧化菌而言，表层水体中甲烷氧化菌与拉氏尖头藻生物量及其相关环境因子（DO、pH、TOC）的显著相关，而自由态甲烷氧化菌 α 多样性和丰度直接影响水体溶解甲烷浓度。底层水体中水温和拉氏尖头藻生物量均通过影响自由态甲烷氧化菌的 α 多样性间接影响了水体溶解甲烷浓度，而拉氏尖头藻生物量通过分解降低溶解氧间接影响颗粒附着态甲烷氧化菌 α 多样性，进而影响水体溶解甲烷浓度（图 8B）。

## 3 讨论

### 3.1 拉氏尖头藻水华发生增强表层水体甲烷产生与释放潜能，水华消退期底层水体厌氧加剧导致甲烷富集

与 Liang 等人[47]发现的溪流河流丝状藻、Ouyang 等人[48]实验室培养的浮游植物在衰退过程中甲烷浓度和通量达到最大值不同，本研究发现表层水体甲烷通量最大值出现在拉氏尖头藻水华发生期（7−8 月），与拉氏尖头藻生物量具有高度同步性（图 3A）。丝状蓝藻在较高温度条件下容易占优势[49]，因此拉氏尖头藻易在夏季发生水华，与硅藻不同，蓝藻的有机质易于分解转化，能够快速释放易降解的碳源，促进甲烷产生[50]；同时，水温升高会降低甲烷在表层水体中的溶解度[51]，促进甲烷释放。表层水体甲烷氧化相关基因的相对丰度在水华发生期均表现出明显的下降，而表层水体仅有丰度较低的甲基型产甲烷途径基因丰度降低（图 6），可能因此造成净甲烷累积，从而解释表层水体甲烷通量在拉氏尖头藻水华发生期（7−8 月）达到最大值。

东圳水库底层水体在拉氏尖头藻水华消退时表现出甲烷浓度和通量最大值。水体甲烷含量受到水库热分层和溶解氧影响，低氧促进甲烷产生，降低甲烷氧化，因此缺氧区往往是甲烷产生和排放的热区[52]。而东圳水库底层水体在热分层期间（3−11 月）长期处于厌氧状态，在厌氧条件下，水体中发生甲烷富集[53]，并在热分层打破时释放到大气中。微囊藻水华消退时，水体溶解氧由于藻细胞分解作用快速耗尽，并伴随大量甲基硫化物产生[54]；同时，由于大量藻细胞的屏蔽作用阻碍了水-空气的氧交换，加速藻细胞衰亡耗氧[17]，并刺激产甲烷菌的生长[16]。由此推测拉氏尖头藻水华消退时，藻细胞沉降和分解作用快速消耗底层水体的溶解氧并释放产甲烷底物，有利于产甲烷菌生长。因此，热分层累积与藻类沉降分解叠加作用促进了水华消退期底层水体甲烷的富集。

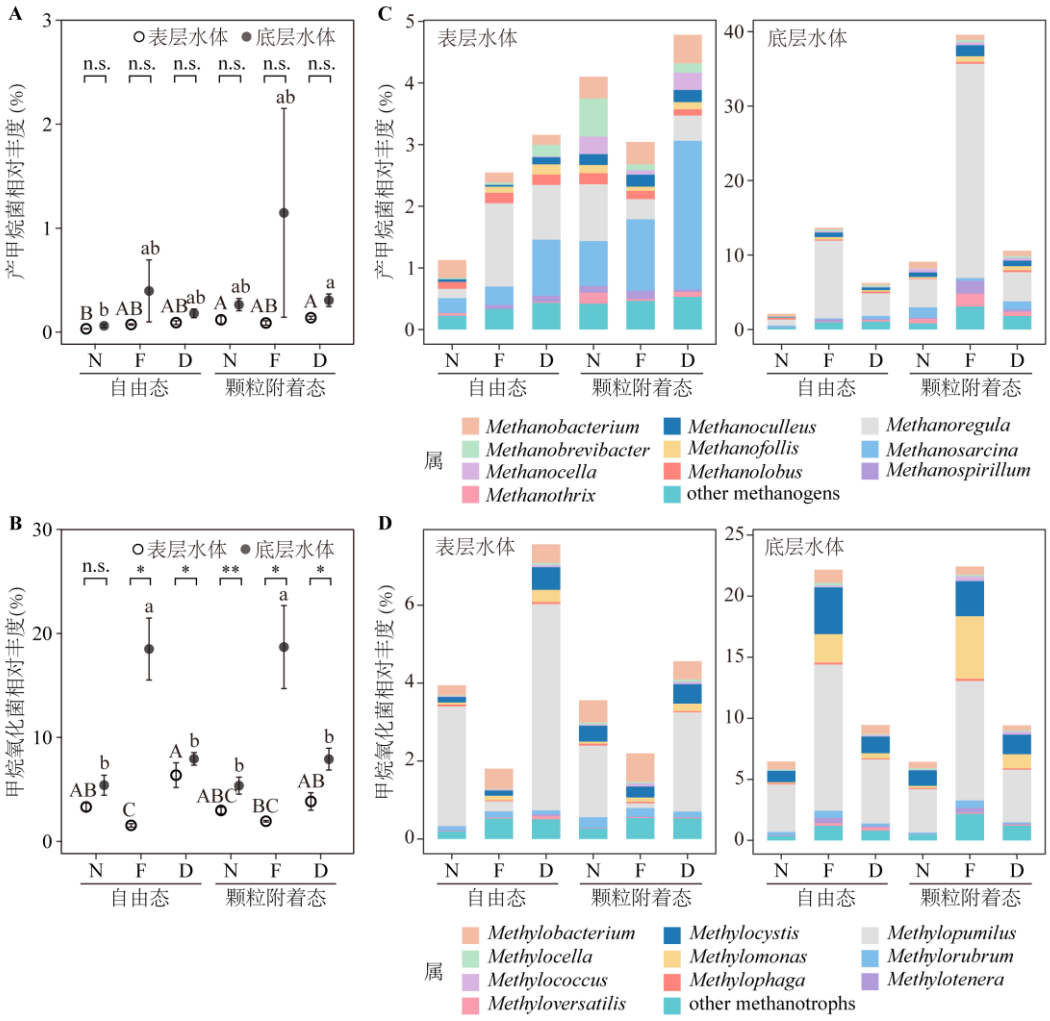


图 7 东圳水库拉氏尖头藻水华不同时期甲烷功能菌群落组成。（A）产甲烷菌和（B）甲烷氧化菌群落的相对丰度。N：非水华期，F：水华发生期，D：水华消退期。组间显著差异（$P < 0.05$）以不同字母（大写字母表示表层水体甲烷功能菌间差异，小写字母表示底层水体甲烷功能菌间差异）或星号标注（*$P <$ 0.05，**$P < 0.01$，***$P < 0.001$，n.s.表示 $P \geq 0.05$）。（C）产甲烷菌和（D）甲烷氧化菌群落中前 10 位优势属的相对丰度。仅展示相对丰度最高的 10 个属，其余物种标注为其他产甲烷菌和其他甲烷氧化菌

Fig.7 Methane-cycling microbial community composition in Dongzhen Reservoir during different periods of *Raphidiopsis raciborskii* blooms. Relative abundance of (A) methanogens and (B) methanotrophs. N: non-bloom period; F: bloom formation period; D: bloom decline period. Significant differences ($P < 0.05$) between groups are indicated with different letters (uppercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in surface water, while lowercase letters indicate differences between methane-cycling microbes in bottom water) or asterisks (*$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$, n.s. indicates $P \geq 0.05$). Relative Abundance of the top 10 dominant genera in (C) methanogenic and (D) methanotrophic communities. Only the top 10 genera with the highest total abundance were labeled, with the remaining genera labeled as other methanogens and other methanotrophs, respectively

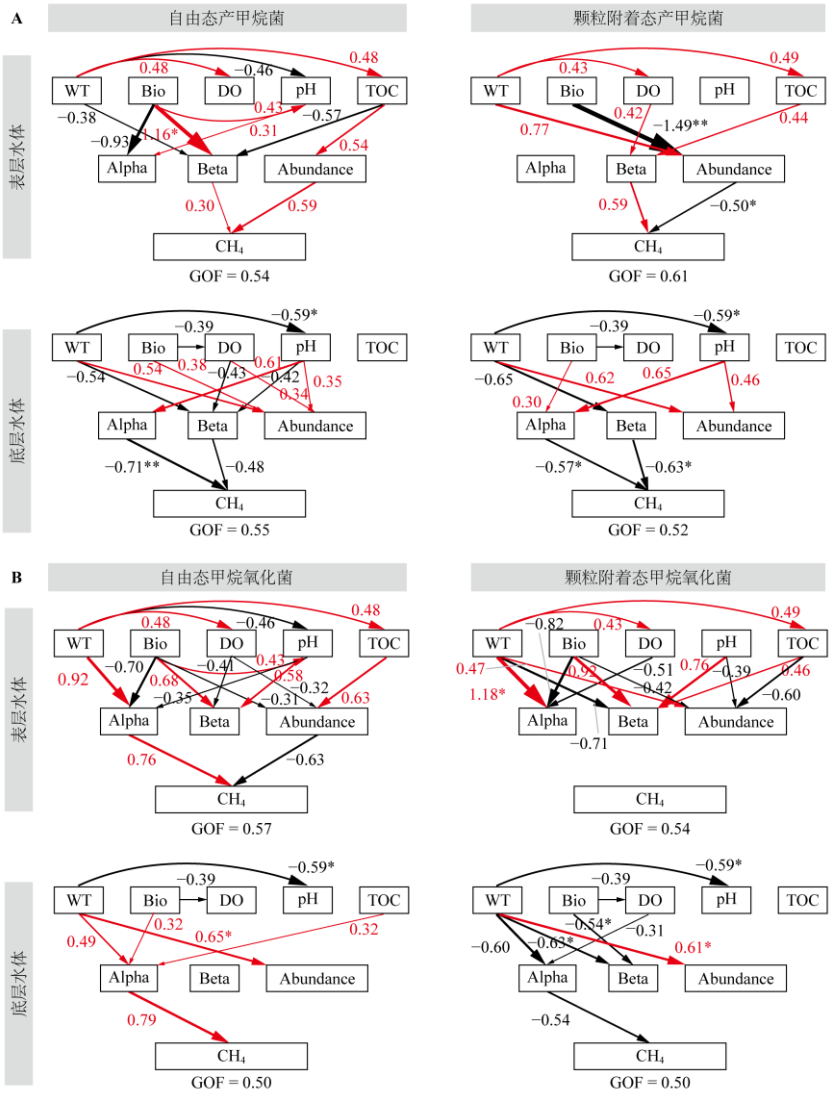


图 8 偏最小二乘路径模型揭示拉氏尖头藻水华中环境因子与甲烷功能菌群落及溶解甲烷浓度间的关系。（A）产甲烷菌和（B）甲烷氧化菌群落的偏最小二乘路径模型。为了简化结果，仅展示系数 ＞ 0.3 的路径。黑色线条：负效应；红色线条：正效应。*$P$ < 0.05，**$P$ < 0.01。WT：水温；Bio：拉氏尖头藻生物量；DO：溶解氧；TOC：总有机碳；Alpha：功能菌 α 多样性；Beta：功能菌 β 多样性；Abundance：功能菌相对丰度；$CH_4$：溶解甲烷浓度

Fig.8 Partial least squares path models (PLS-PM) showing the relationships among environmental factors, methane-cycling microbial communities, and dissolved methane concentrations during *Raphidiopsis raciborskii* blooms. Partial least squares path analysis of (A) methanogenic and (B) methanotrophic microbial communities. To simplify the results, only paths with coefficients > 0.3 are shown. Black lines: negative effects; red lines: positive effects. *$P$ < 0.05, **$P$ < 0.01. WT: Water temperature; Bio: Biomass of *Raphidiopsis raciborskii*; DO: Dissolved oxygen; TOC: Total organic carbon; Alpha: Alpha diversity of methane-cycling microbes; Beta: Beta diversity of methane-cycling microbes; Abundance: Relative abundance of methane-cycling microbes; $CH_4$: Concentration of dissolved methane

### 3.2 拉氏尖头藻水华事件过程中产甲烷菌群落变化大、恢复快，甲烷氧化菌群落同质化、难恢复

甲烷功能菌 α 和 β 多样性、群落相似性以及 PAN 指数的结果一致表明，拉氏尖头藻水华事件中的产甲烷菌群落表现强变化幅度与强恢复力，甲烷氧化菌群落则趋于同质化并难以在水华后恢复。

在表层水体，产甲烷菌群落在拉氏尖头藻水华事件中发生剧烈变化并表现出较强的恢复力（图 4，5A），这一过程与 PAN 指数的变化相类似：高 PAN 指数值代表在非水华期产甲烷菌主要依附于悬浮颗粒和有机聚集体（图 5C），在拉氏尖头藻大量增加的水华发生期，虽然表层水体藻类生物量大量增加给颗粒附着态产甲烷菌提供了更多附着位点，但其颗粒附着态偏好性反而降低（图 5C，8A）。这很可能是因为在动态的水体环境中，拉氏尖头藻细胞不仅释放大量新鲜且易降解的有机质（图 3C），并且可能与固氮丝状蓝藻（*Anabaena* spp.）藻丝异形胞周围氧气浓度低类似[18]，随着藻类生物量增加，水体溶解氧浓度降低，产生厌氧微环境（图 3C），为自由态产甲烷菌提供了理想的底物与环境条件。在这一动态且资源富集的尖头藻水华发生环境中，少数高效代谢的类群迅速占据生态位，使产甲烷菌群落整体 α 多样性降低、群落特化并表现出向自由态生活方式转化的趋势。随着水华消退，大量藻细胞死亡沉降，藻源性有机质减少，此时颗粒附着态类群重新占据优势，推动了产甲烷菌群落恢复。

在底层水体，拉氏尖头藻水华事件进一步强化了甲烷功能菌群落的同质化趋势（图 5A、B）。水华期间，大量藻源性有机质沉降，并在弱水动力条件下累积，加强了底层水体厌氧状态并增加了甲烷的生成[8-9]。在这一相对封闭且稳定的物理环境中，产甲烷菌和甲烷氧化菌都表现出更强的颗粒附着态偏好，PAN 指数普遍略高于表层水体（图 5C），群落在短期内形成稳定的代谢模式，从而降低了群落的 β 多样性。值得注意的是，底层水体群落的同质化早于表层发生，这与底层水体因有机质降解而进入缺氧和厌氧状态的过程相吻合[21]。

相比之下，甲烷氧化菌在表层和底层水体均表现出缓慢的转变和较弱的恢复力，其 α 多样性变化幅度较小，但 β 多样性和群落相似性结果一致显示，水华发生期甲烷氧化菌群落发生显著同质化，并在水华消退后未能恢复至初始状态（图 5B、C）。这种相对稳定而单一的响应模式可能源于甲烷氧化菌对资源获取的独特方式——需要同时接触甲烷和氧气，既能够附着在厌氧-好氧界面的颗粒物上也能够在水中以自由态的方式维持代谢[55]，这种既能够自由态又能够颗粒附着态的生活方式降低了其对颗粒物短期波动的敏感性。但甲烷氧化菌群落结构更依赖于稳定的甲烷来源[56]，因此拉氏尖头藻水华事件后，由于底层水体中溶解甲烷浓度一直相对较高，使得甲烷氧化菌群落在短期内难以恢复。

### 3.3 拉氏尖头藻水华发生降低表层水体甲基型产甲烷潜能，增加底层水体氢型产甲烷和甲烷氧化潜能

在淡水生态系统中，氢型与乙酸型产甲烷途径通常被认为是主要的产甲烷途径[57-58]。而甲基型产甲烷途径在淡水中则相对少见，主因是淡水中甲基化合物含量普遍较低，且该途径的分布更多与海洋环境相关[59]。

在四条产甲烷途径中，东圳水库的乙酸型产甲烷途径基因不仅展现出最高的相对丰度，而且在不同水层之间也最为稳定、甚至水层间无显著差异（图 6A）。这种稳定性可能源于底物乙酸盐作为复杂有机质厌氧发酵核心终产物对环境扰动表现出较强的缓冲能力[58]以及较低的温度敏感性[60]。研究表明，丝状绿藻能够通过藻源有机碳增加含氧地表水中乙酸盐的浓度[61]，拉氏尖头藻水华可能通过这一过程提供乙酸盐作为底物，从而使得颗粒附着态乙酸型产甲烷菌随着水华发生而增加。

氢型和甲基型产甲烷途径对拉氏尖头藻水华事件表现出显著的空间分异响应（图 6B、C）。底层水体的氢型产甲烷途径在水华发生期增强，这可能是由于光合自养蓝藻爆发性增殖，大量藻源有机质在底层水体形成了丰富的悬浮聚集体，促进了产甲烷细菌、蓝藻和古菌之间的紧密互作[20]，刺激了以 $H_2/CO_2$ 为底物的甲烷生成[57]。氢型的关键菌属 *Methanoregula*[62]在拉氏尖头藻水华发生期相对丰度增加（图 7B），为氢型代谢途径增强提供了物种层面的支撑。随着水华消退，藻源性有机质逐渐减少，底层水体产甲烷基因的相对丰度回落至水华前水平。已有研究表明，在富营养化湖泊中，微囊藻（*Microcystis*）等蓝藻水华发生时，可以提供大量的甲基化底物（如二甲基硫醚等），从而诱导和增强甲基型产甲烷途径的相对贡献[54,63]。与这些结果不同，本研究中表层水体甲基型产甲烷基因相对丰度在拉氏尖头藻水华发生期显著降低，

可能与拉氏尖头藻快速增殖抑制甲基化合物（如三甲胺）的生成或累积有关[58]。此外，拉氏尖头藻释放的拟柱胞藻毒素可能抑制相关功能菌群生长[64]。而蓝藻水华消退期间，藻细胞降解通常伴随着大量甲基硫化物的产生[15,54]，从而刺激甲基型产甲烷途径基因丰度的恢复。

在表层水体中，中心产甲烷基因在自由态功能菌群落中相对丰度更高，推测尽管颗粒附着态是产甲烷菌的主要生活方式，其代谢依赖于发酵菌群将大分子藻源性有机质先行分解为小分子底物（如乙酸、甲胺类、甲醇及 $CO_2$ 等），随后产甲烷菌通过乙酸型、甲基型或氢型三条途径将这些小分子底物转化为中心产甲烷途径的共同中间产物 $CH_3$-S-CoM，最终在甲基辅酶 M 还原酶的催化下生成甲烷[13]，在这一过程中，颗粒附着态产甲烷菌可能更多参与发酵等前端代谢环节，而自由态产甲烷菌则更多地利用释放至水体中的溶解态小分子底物来完成产甲烷过程的最后一步。而底层水体持续的厌氧环境中，有机颗粒物和死亡的藻细胞在此缓慢沉降或悬浮分解，使得溶解态底物和颗粒态底物分布更均匀[19]，因此中心产甲烷基因在自由态和颗粒附着态功能菌群落之间差异不显著（图 6D）。表层水体中，中心产甲烷途径基因丰度在不同水华时期无显著差异；而底层水体中，水华消退期丰度显著增加，水华发生期虽高于非水华期，但差异不显著（图 6D）。这一现象可能与水华期间大量藻类有机质沉降到底层水体后，在厌氧环境中需要一定时间缓慢降解才能被产甲烷菌利用转化为甲烷[15]，从而导致底层水体中心产甲烷基因相对丰度的在水华消退期升高。

表层水体甲烷氧化基因的相对丰度在拉氏尖头藻水华发生期均有所降低（图 6E、F）。一方面可能与水体溶解氧有关，尽管表层水体通常溶解氧较高，但可能与固氮丝状蓝藻（*Anabaena* spp.）藻丝异形胞周围氧气浓度低，产生厌氧微环境类似[18]，拉氏尖头藻水华也可能通过这一途径直接抑制或不利于某些甲烷氧化的过程（图 8B）。另一方面，其他环境条件如水温也会影响甲烷氧化过程（图 8B），如优势甲烷氧化菌 *Methylopumilus* 具有明显的嗜冷性，在低温下（0−10 ℃）生长效率更高，水华期表层水体温度升高（＞ 20℃）会抑制其生长[65]，本研究中 *Methylopuilus* 的相对丰度在表层水华发生期显著下降可能是受到较高水温的影响（图 7B）。而底层水体长期低温（＜ 20℃）则适宜 *Methylopumilus* 生长，并且甲烷在水华发生期就持续累积，为底层水体甲烷氧化提供了丰富的底物。

## 4 小结

本文系统分析了拉氏尖头藻水华过程对亚热带分层水库甲烷浓度与通量、甲烷功能菌群落多样性、生活方式以及代谢途径的影响。研究发现，表层水体甲烷浓度与拉氏尖头藻生物量显著正相关，表层水体甲烷通量最大值出现在水华发生期（7−8 月）；而底层水体甲烷浓度最大值出现在水华消退期（10 月），且与厌氧区分布密切相关。产甲烷菌群落多样性和生活方式在拉氏尖头藻水华事件中发生强烈变化，并在水华消退期表现出较强恢复力；而甲烷氧化菌群落多样性和生活方式则在水华事件中趋于同质化，并且水华消退期难以恢复，这种变化可能更依赖于甲烷的可用性。在甲烷的关键代谢途径方面，乙酸型产甲烷途径在表层和底层水体均保持稳定主导地位；在水华发生期，表层水体甲基型产甲烷途径受到限制，底层氢型产甲烷与甲烷氧化潜能则被增强。水华发生期，甲烷氧化优势菌 *Methylopumilus* 在表层水体相对丰度急剧减少，在底层水体相对丰度明显增加。本文解析了拉氏尖头藻水华事件过程中亚热带分层水库中甲烷功能菌的响应过程与机制，为精准评估分层水库甲烷的产生和排放提供了新见解，未来研究应结合控制实验和同位素示踪技术，进一步定量验证拉氏尖头藻水华发生驱动的甲烷循环关键路径和贡献。

致谢和声明：感谢中国科学院水生态健康研究组参与东圳水库样品采集和实验分析的所有成员。(1)作者贡献。于佳立：数据整理、数据分析与可视化、论文初稿撰写与修改。薛媛媛：野外采样、样品处理、数据分析、论文修改。陈辉煌：野外采样、样品处理、数据管理。林靖翔：样品处理、数据管理。赵思川：研究方法、论文修改。罗安琪：数据管理。杨军：研究构思与设计、项目负责人、论文修改与定稿。所有作者均已阅读并同意本文最终版本。(2)生成式 AI 使用声明。在本论文的写作与修改过程中，作者使用了 DeepSeek 作为辅助工具，主要用于语言润色、句式调整及参考文献格式校对。所有 AI 工具生成的内容均经署名作者逐一审阅、核实与按需修订，论文的全部研究内容、数据、结果与结论均由署名作者独立完成

并承担完整学术责任。（3）数据可用性。本研究产生的测序数据已上传至 NCBI 数据库（登录号为 PRJNA1230760）和 NODE 数据库（登录号为 OEP00006020），可公开获取。

## 5 参考文献


[1] Zhang HY, Chen F, Wang L *et al*. Reservoir inventory for China in 2016 and 2021. *Scientific Data*, 2023, **10**: 609. DOI: 10.1038/s41597-023-02515-2.

[2] Fan CY, Song CQ, Wang JD *et al*. Emerging global reservoirs in the new millennium: Abundance, hotspots, and total water storage. *Science Bulletin*, 2024, **69**(14): 2179-2182. DOI: 10.1016/j.scib.2024.04.043.

[3] Lakshmikandan M, Li M, Pan BZ. Cyanobacterial blooms in environmental water: Causes and solutions. *Current Pollution Reports*, 2024, **10**(4): 606-627. DOI: 10.1007/s40726-024-00322-w.

[4] Deemer BR, Harrison JA, Li SY *et al*. Greenhouse gas emissions from reservoir water surfaces: A new global synthesis. *Bioscience*, 2016, **66**(11): 949-964. DOI: 10.1093/biosci/biw117.

[5] Hao XD, Wang BY, Liu RB *et al*. Carbon neutrality vs excess methane release from water environments/the methane paradox. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, **41**(5): 1593-1598. DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2021.0146. [郝晓地, 王邦彦, 刘然彬等. 碳中和 VS 水体甲烷超量释放/甲烷悖论. 环境科学学报, 2021, **41**(5): 1593-1598.]

[6] Sha ZS, Chen HH, Jin L *et al*. Evidence of global dispersal of the harmful *Cyanobacterium*, *Raphidiopsis* raciborskii, in lentic freshwaters through migratory waterbirds. *Harmful Algae*, 2025, **142**: 102786. DOI: 10.1016/j.hal.2024.102786.

[7] Tan FJ, Xiao P, Yang JR *et al*. Precision early detection of invasive and toxic cyanobacteria: A case study of *Raphidiopsis* raciborskii. *Harmful Algae*, 2021, **110**: 102125. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102125.

[8] Xu HL, Li H, Tang ZZ *et al*. Underestimated methane production triggered by phytoplankton succession in river-reservoir systems: Evidence from a microcosm study. *Water Research*, 2020, **185**: 116233. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116233.

[9] Zhou CQ, Zhou MC, Jia RY *et al*. Particulate organic carbon potentially increases methane emissions from oxic water of eutrophic lakes. *Science of the Total Environment*, 2023, **889**: 164339. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.164339.

[10] Xu HL, Liu Y, Tang ZZ *et al*. Methane production in harmful algal blooms collapsed water: The contribution of non-toxic *Microcystis aeruginosa* outweighs that of the toxic variety. *Journal of Cleaner Production*, 2020, **276**: 124280. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.124280.

[11] Grossart HP, Frindte K, Dziallas C *et al*. Microbial methane production in oxygenated water column of an oligotrophic lake. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108**(49): 19657-19661. DOI: 10.1073/pnas.1110716108.

[12] Bižić M, Klintzsch T, Ionescu D *et al*. Aquatic and terrestrial cyanobacteria produce methane. *Science Advances*, 2020, **6**(3): eaax5343. DOI: 10.1126/sciadv.aax5343.

[13] Bogard MJ, del Giorgio PA, Boutet L *et al*. Oxic water column methanogenesis as a major component of aquatic $CH_4$ fluxes. *Nature Communications*, 2014, **5**: 5350. DOI: 10.1038/ncomms6350.

[14] Perez-Coronel E, Michael Beman J. Multiple sources of aerobic methane production in aquatic ecosystems include bacterial photosynthesis. *Nature Communications*, 2022, **13**: 6454. DOI: 10.1038/s41467-022-34105-y.

[15] Wang T, Zhumabieke M, Zhang N *et al*. Variable promotion of algae and macrophyte organic matter on methanogenesis in anaerobic lake sediment. *Environmental Research*, 2023, **237**(Pt 1): 116922. DOI: 10.1016/j.envres.2023.116922.

[16] Kallistova AY, Kosyakova AI, Rusanov II *et al*. Methane production in a temperate freshwater lake during an intense cyanobacterial bloom. *Microbiology*, 2023, **92**(5): 638-649. DOI: 10.1134/S0026261723601586.

[17] Xing P, Zheng JW, Li HB *et al*. Methanogen genotypes involved in methane formation during anaerobic decomposition of *Microcystis* blooms at different temperatures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, **29**(2): 373-377. DOI: 10.1007/s11274-012-1191-2.

[18] Lupton FS, Marshall KC. Specific adhesion of bacteria to heterocysts of *Anabaena* spp. and its ecological significance. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, **42**(6): 1085-1092. DOI: 10.1128/aem.42.6.1085-1092.1981.

[19] Boehrer B, Schultze M. Stratification of lakes. *Reviews of Geophysics*, 2008, **46**(2): 2006RG000210. DOI: 10.1029/2006RG000210.

[20] Fazi S, Amalfitano S, Venturi S *et al*. High concentrations of dissolved biogenic methane associated with cyanobacterial blooms in East African lake surface water. *Communications Biology*, 2021, **4**: 845. DOI: 10.1038/s42003-021-02365-x.

[21] Smucker NJ, Beaulieu JJ, Nietch CT *et al*. Increasingly severe cyanobacterial blooms and deep water hypoxia coincide with warming water temperatures

in reservoirs. *Global Change Biology*, 2021, **27**(11): 2507-2519. DOI: 10.1111/gcb.15618.

[22] Xun F, Feng MH, Zhao C *et al*. Epilimnetic oligotrophication increases contribution of oxic methane production to atmospheric methane flux from stratified lakes. *Water Research*, 2025, **268**(Pt A): 122602. DOI: 10.1016/j.watres.2024.122602.

[23] Bastviken D, Cole J, Pace M *et al*. Methane emissions from lakes: Dependence of lake characteristics, two regional assessments, and a global estimate. *Global Biogeochemical Cycles*, 2004, **18**(4): 2004GB002238. DOI: 10.1029/2004GB002238.

[24] Mendoza-Pascual MU, Itoh M, Aguilar JI *et al*. Controlling factors of methane in tropical lakes of different depths. *Journal of Geophysical Research*: *Biogeosciences*, 2021, **126**(4): e2020JG005828. DOI: 10.1029/2020JG005828.

[25] Grossart HP. Ecological consequences of bacterioplankton lifestyles: Changes in concepts are needed. *Environmental Microbiology Reports*, 2010, **2**(6): 706-714. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2010.00179.x.

[26] Liu M, Liu LM, Chen HH *et al*. Community dynamics of free-living and particle-attached bacteria following a reservoir *Microcystis* bloom. *Science of the Total Environment*, 2019, **660**: 501-511. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.414.

[27] Chen JW, Jiang RF. Study on the influence of meteorological factors on nitrogen and phosphorus content in water environment of Dongzhen Reservoir in Putian. *Straits Science*, 2023(11): 9-12. [陈俊伟, 蒋荣复. 气象因子对莆田东圳水库水环境氮磷含量的影响研究. 海峡科学, 2023(11): 9-12.]

[28]章宗涉. 淡水浮游生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1991.

[29] Lv H, Yang J, Liu LM *et al*. Temperature and nutrients are significant drivers of seasonal shift in phytoplankton community from a drinking water reservoir, subtropical China. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, **21**(9): 5917-5928. DOI: 10.1007/s11356-014-2534-3.

[30] Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D *et al*. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 1999, **35**(2): 403-424. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x.

[31] Chen HH, Luo AQ, Mi CX *et al*. Climate-driven decline in water level causes earlier onset of hypoxia in a subtropical reservoir. *Water Research*, 2024, **267**: 122445. DOI: 10.1016/j.watres.2024.122445.

[32] Pu JB, Li JH, Zhang T *et al*. Varying thermal structure controls the dynamics of $CO_2$ emissions from a subtropical reservoir, South China. *Water Research*, 2020, **178**: 115831. DOI: 10.1016/j.watres.2020.115831.

[33] Johnson KM, Hughes JE, Donaghay PL *et al*. Bottle-calibration static head space method for the determination of methane dissolved in seawater. *Analytical Chemistry*, 1990, **62**(21): 2408-2412. DOI: 10.1021/ac00220a030.

[34] Wiesenburg DA, Guinasso NL Jr. Equilibrium solubilities of methane, carbon monoxide, and hydrogen in water and sea water. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 1979, **24**(4): 356-360. DOI: 10.1021/je60083a006.

[35] Wanninkhof R. Relationship between wind speed and gas exchange over the ocean revisited. *Limnology and Oceanography*: *Methods*, 2014, **12**(6): 351-362. DOI: 10.4319/lom.2014.12.351.

[36] Vachon D, Langenegger T, Donis D *et al*. Methane emission offsets carbon dioxide uptake in a small productive lake. *Limnology and Oceanography Letters*, 2020, **5**(6): 384-392. DOI: 10.1002/lol2.10161.

[37] Zhang QW, Yang GB, Song YT *et al*. Magnitude and drivers of potential methane oxidation and production across the Tibetan Alpine permafrost region. *Environmental Science & Technology*, 2019, **53**(24): 14243-14252. DOI: 10.1021/acs.est.9b03490.

[38] Song YT, Chen LY, Kang LY *et al*. Methanogenic community, CH(4) production potential and its determinants in the active layer and permafrost deposits on the Tibetan Plateau. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(16): 11412-11423. DOI: 10.1021/acs.est.0c07267.

[39] Bourne DG, McDonald IR, Murrell JC. Comparison of pmoA PCR primer sets as tools for investigating methanotroph diversity in three Danish soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(9): 3802-3809. DOI: 10.1128/AEM.67.9.3802-3809.2001.

[40] Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T *et al*. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(23): 7537-7541. DOI: 10.1128/AEM.01541-09.

[41] Rognes T, Flouri T, Nichols B *et al*. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 2016, **4**: e2584. DOI: 10.7717/peerj.2584.

[42] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 2010, **26**(19): 2460-2461. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq461.

[43] Qian L, Yu XL, Zhou JY *et al*. MCycDB: A curated database for comprehensively profiling methane cycling processes of environmental microbiomes. *Molecular Ecology Resources*, 2022, **22**(5): 1803-1823. DOI: 10.1111/1755-0998.13589.

[44] Legendre P, De Cáceres M. Beta diversity as the variance of community data: Dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecology Letters*, 2013, **16**(8): 951-963. DOI: 10.1111/ele.12141.

[45] Salazar G, Cornejo-Castillo FM, Borrull E *et al*. Particle-association lifestyle is a phylogenetically conserved trait in bathypelagic prokaryotes. *Molecular Ecology*, 2015, **24**(22): 5692-5706. DOI: 10.1111/mec.13419.

[46] Tenenhaus M, Vinzi VE, Chatelin YM *et al*. PLS path modeling. *Computational Statistics & Data Analysis*, 2005, **48**(1): 159-205. DOI: 10.1016/j.csda.2004.03.005.

[47] Liang X, Zhang XY, Sun Q *et al*. The role of filamentous algae *Spirogyra* spp. in methane production and emissions in streams. *Aquatic Sciences*, 2016, **78**(2): 227-239. DOI: 10.1007/s00027-015-0419-2.

[48] Ouyang CY, Qin Y, Fang P *et al*. Methane flux at the water-gas interface is influenced by complex interactions among phytoplankton, phosphorus inputs and methane-functional bacteria: A microcosm systems study. *Science of the Total Environment*, 2024, **912**: 169373. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.169373.

[49] Napiórkowska-Krzebietke A, Kalinowska K, Bogacka-Kapusta E *et al*. Persistent blooms of filamentous cyanobacteria in a cormorant-affected aquatic ecosystem: Ecological indicators and consequences. *Ecological Indicators*, 2021, **124**: 107421. DOI: 10.1016/j.ecolind.2021.107421.

[50] Hanamachi Y, Hama T, Yanai T. Decomposition process of organic matter derived from freshwater phytoplankton. *Limnology*, 2008, **9**(1): 57-69. DOI: 10.1007/s10201-007-0232-2.

[51] Reeburgh WS. Oceanic methane biogeochemistry. *ChemInform*, 2007, **38**(20): 200720267. DOI: 10.1002/chin.200720267.

[52] Zhang L, Liu C, He K *et al*. Dramatic temporal variations in methane levels in black bloom prone areas of a shallow eutrophic lake. *Science of the Total Environment*, 2021, **767**: 144868. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.144868.

[53] Lomov VA, Frolova NL, Efimov VA *et al*. Variability of methane content and fluxes in the Rybinsk Reservoir based on field observations in different seasons of the year. *Izvestiya*, *Atmospheric and Oceanic Physics*, 2024, **60**(4): 473-489. DOI: 10.1134/S0001433824700415.

[54] Zhou CQ, Peng Y, Yu MT *et al*. Severe cyanobacteria accumulation potentially induces methylotrophic methane producing pathway in eutrophic lakes. *Environmental Pollution*, 2022, **292**(Pt B): 118443. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.118443.

[55] Mayr MJ, Zimmermann M, Guggenheim C *et al*. Niche partitioning of methane-oxidizing bacteria along the oxygen–methane counter gradient of stratified lakes. *The ISME Journal*, 2020, **14**(1): 274-287. DOI: 10.1038/s41396-019-0515-8.

[56] Roland FAE, Darchambeau F, Morana C *et al*. Emission and oxidation of methane in a meromictic, eutrophic and temperate lake (Dendre, Belgium). *Chemosphere*, 2017, **168**: 756-764. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.138.

[57] Thauer RK, Kaster AK, Seedorf H *et al*. Methanogenic Archaea: Ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, **6**(8): 579-591. DOI: 10.1038/nrmicro1931.

[58] Borrel G, Jézéquel D, Biderre-Petit C *et al*. Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems. *Research in Microbiology*, 2011, **162**(9): 832-847. DOI: 10.1016/j.resmic.2011.06.004.

[59] Whalen SC. Biogeochemistry of methane exchange between natural wetlands and the atmosphere. *Environmental Engineering Science*, 2005, **22**(1): 73-94. DOI: 10.1089/ees.2005.22.73.

[60] Lavergne C, Aguilar-Muñoz P, Calle N *et al*. Temperature differently affected methanogenic pathways and microbial communities in sub-Antarctic freshwater ecosystems. *Environment International*, 2021, **154**: 106575. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106575.

[61] Mei D, Ni M, Liang X *et al*. Filamentous green algae *Spirogyra* regulates methane emissions from eutrophic rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, **28**(3): 3660-3671. DOI: 10.1007/s11356-020-10754-8.

[62] Bräuer SL, Cadillo-Quiroz H, Ward RJ *et al*. *Methanoregula boonei* gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, **61**(1): 45-52. DOI: 10.1099/ijs.0.021782-0.

[63] Zhu Y, Chen XL, Yang YY *et al*. Impacts of cyanobacterial biomass and nitrate nitrogen on methanogens in eutrophic lakes. *Science of the Total Environment*, 2022, **848**: 157570. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157570.

[64] Yin SC, Huang RH, Jeppesen E *et al*. The effect of cylindrospermopsin on the bacterioplankton community: A microcosm experiment on water from Dishui Lake, Shanghai, China. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2022, **40**(5): 1829-1839. DOI: 10.1007/s00343-022-2081-6.

[65] Salcher MM, Neuenschwander SM, Posch T *et al*. The ecology of pelagic freshwater methylotrophs assessed by a high-resolution monitoring and isolation campaign. *The ISME Journal*, 2015, **9**(11): 2442-2453. DOI: 10.1038/ismej.2015.55.