



# 硫酸盐对淡水养殖池塘表层底泥微生物的影响

代梨梨<sup>1\*</sup>, 彭亮<sup>1</sup>, 陶玲<sup>1</sup>, 郝柳柳<sup>1,2</sup>, 张辉<sup>1</sup>, 李谷<sup>1\*</sup>

1 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223

2 湖州师范学院生命科学学院, 浙江 湖州 313000

代梨梨, 彭亮, 陶玲, 郝柳柳, 张辉, 李谷. 硫酸盐对淡水养殖池塘表层底泥微生物的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(10): 3811-3824.

DAI Lili, PENG Liang, TAO Ling, HAO Liuliu, ZHANG Hui, LI Gu. Effect of sulfate on surface sediment microorganisms in freshwater aquaculture ponds[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(10): 3811-3824.

**摘要:** 硫酸盐引起的生态学效应已得到了越来越多的关注,但目前关于硫酸盐对养殖池塘底泥微生物的影响还知之甚少。【目的】探究不同浓度硫酸盐对养殖池塘底泥微生物的影响规律及可能的机制。【方法】本研究利用采集自养殖池塘的底泥和表层水构建了试验系统,研究了加入约0 mg/L (对照组)、30 mg/L (T1处理组)、150 mg/L (T2处理组)、500 mg/L (T3处理组) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>后表层底泥微生物的丰度、多样性、组成和共生网络的变化规律,并分析了环境影响因素。【结果】孵育第30天前,各实验组底泥微生物变化不大;但到第50天时,T2和T3处理组微生物丰度和多样性相比对照组均明显下降。相比其他实验组,T1处理组酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)相对丰度出现显著升高( $P<0.05$ ),T3处理组变形菌门(*Proteobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteriota*)相对丰度出现显著升高( $P<0.05$ )。与对照组相比,T1处理组增加了较多差异类群(62种),而T3处理组差异类群大量减少(45种)。共生网络图分析显示硫酸盐浓度的增加引起了底泥微生物网络复杂性的增加,说明微生物群落可能通过自身的调节来响应硫酸盐引起的环境改变。冗余分析(redundant analysis, RDA)和相关性分析揭示底泥总有机碳、总氮和氧化还原电位是影响底泥微生物的主要环境因素,提示底泥微生物可能受到硫酸盐和有机质作用的影响。【结论】较长时间的高浓度硫酸盐会对池塘底泥微生物群落造成重要影响,微生物群落自身的转变和硫酸盐引起的有机质分解改变可能是造成微生物群落变化的关键因素。

**关键词:** 池塘养殖; 微生物群落; 差异类群; 共生网络; 硫酸盐; 有机物

资助项目: 国家自然科学基金(31902378, U20A2010); 国家大宗淡水鱼产业技术体系(CARS-45-22)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31902378, U20A2010) and the National Conventional Freshwater Fish Industry Technology System (CARS-45-22).

\*Corresponding authors. DAI Lili, Tel: +86-27-81780122, E-mail: daili@yfi.ac.cn;

LI Gu, E-mail: ligu@yfi.ac.cn

Received: 2023-02-13; Accepted: 2023-03-20; Published online: 2023-03-23

# Effect of sulfate on surface sediment microorganisms in freshwater aquaculture ponds

DAI Lili<sup>1\*</sup>, PENG Liang<sup>1</sup>, TAO Ling<sup>1</sup>, HAO Liuliu<sup>1,2</sup>, ZHANG Hui<sup>1</sup>, LI Gu<sup>1\*</sup>

1 Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, Hubei, China  
2 College of Life Sciences, Huzhou University, Huzhou 313000, Zhejiang, China

**Abstract:** The ecological effect of sulfate has attracted increasing attention, while little is known about the impact of sulfate on sediment microorganisms in aquaculture ponds. **[Objective]** To explore the influence rule and possible mechanism of different concentrations of sulfate on sediment microorganisms in aquaculture ponds. **[Methods]** The experimental systems were constructed with the sediment and surface water collected from an aquaculture pond. After the addition of 0 mg/L (control group), 30 mg/L (T1 group), 150 mg/L (T2 group), and 500 mg/L (T3 group) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, the changes of the abundance, diversity, composition, and co-occurrence network of microbial community in the surface sediment were determined, and the environmental factors influencing the sediment microorganisms were analyzed. **[Results]** The sediment microbial communities showed little differences among groups within 30 days of incubation. On day 50, the microbial abundance and diversity in T2 and T3 groups decreased significantly compared with that of the control group. Compared with that in other groups, the relative abundance of *Acidobacteriota* and *Bacteroidota* in T1 group and that of *Proteobacteria* and *Actinobacteriota* in T3 group increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with those in the control group, differential taxa increased in T1 group (62 taxa) and decreased in T3 group (45 taxa). The complexity of the microbial co-occurrence network was increased by high-concentration sulfate, which suggested that the microbial community might respond to the environmental changes caused by sulfate via self-regulation. The redundant analysis and correlation analysis revealed that the total organic carbon, total nitrogen, and oxidation-reduction potential of the sediment were the main environmental factors influencing the sediment microorganisms, suggesting that the sediment microorganisms might be affected by the interaction between sulfate and organic matter. **[Conclusion]** The long-time exposure to high concentrations of sulfate significantly affects the sediment microbial communities in aquaculture ponds, in which the transitions of microbial communities and changes in organic matter decomposition caused by sulfate may play a role.

**Keywords:** pond aquaculture; microbial community; differential taxa; co-occurrence network; sulfate; organic matter

近年来,淡水水体中硫酸盐(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)浓度的升高引起了越来越多的关注。根据 Zak 等<sup>[1]</sup>的总结,在淡水水体中,河流 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度范围通常为 0–630 mg/L,湖泊中为 0–250 mg/L,而地下

水中为 0–230 mg/L。在我国淡水水体中也检测到较高浓度的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>,例如,太湖水体中 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度达到 96 mg/L,并呈持续上升趋势<sup>[2-3]</sup>,宁夏鹤泉湖 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度为 164 mg/L<sup>[4]</sup>,贵阳阿哈湖

$\text{SO}_4^{2-}$  浓度达到 196.88 mg/L<sup>[5]</sup>, 而淄博孝妇河和天津团泊洼水库  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度高达 1 000 mg/L<sup>[6-7]</sup>。淡水水体  $\text{SO}_4^{2-}$  主要来源于天然含硫岩石的风化和陆源硫物质的沉降, 包括酸沉降等<sup>[8]</sup>, 以及人为含硫物质输入, 如有机物质和硫酸铝、硫酸铁等物质的大量投入也会最终引起水体中  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度的升高<sup>[9]</sup>。

在水体中,  $\text{SO}_4^{2-}$  一般较稳定, 但在缺氧和还原条件下,  $\text{SO}_4^{2-}$  可被微生物还原为低价态硫, 如  $\text{HS}^-$  或  $\text{S}^{2-}$ , 后者不稳定, 在富氧和氧化条件下, 易被氧化为  $\text{SO}_4^{2-}$ <sup>[10]</sup>。还原态硫(如  $\text{HS}^-$  或  $\text{S}^{2-}$  等)已得到较多关注, 其对水生动物<sup>[11]</sup>、水生植物<sup>[12]</sup>、鱼类<sup>[13]</sup>和底栖生物<sup>[14]</sup>等均具有重大毒性。 $\text{SO}_4^{2-}$  一般认为不会对水体生物造成重要毒性影响, 且认为其毒性效应主要与水体渗透压变化相关<sup>[15-16]</sup>。然而, 近年来越来越多的研究发现硫的氧化还原过程与碳、氮、磷等物质的地球化学循环均存在偶联, 并可能对水体生物产生影响<sup>[1]</sup>。例如, 淡水系统  $\text{SO}_4^{2-}$  影响水体中有机碳、氮、磷的生物利用, 进而对藻类、植物的生长造成影响<sup>[17-18]</sup>。另外, 硫的氧化还原过程对碳、氮、磷、硫循环相关微生物也会产生影响<sup>[19-20]</sup>。然而, 目前有关  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度升高对微生物群落结构影响的研究还很少, 其影响微生物群落的过程和机理仍不清楚。

池塘养殖作为我国最重要的淡水水产养殖方式, 占我国淡水养殖总面积的一半以上<sup>[21]</sup>, 在保障我国水产品供应的同时, 池塘养殖也面临着池塘自身和周边水体环境污染的压力。在高密度池塘养殖中, 大量投饵和鱼类代谢物沉积导致池塘有机物不断积累, 造成了池塘底泥营养物质富集和缺氧环境<sup>[22]</sup>。同时, 由于鱼类饵料普遍具有高蛋白质含量, 进入水体后, 很容易在底泥处富集硫化物, 造成池塘水体硫含量升高。另外, 池塘水体不同形态硫之间的活跃转化也使得很

难从水体中移除多余的硫, 引起池塘底泥硫的积累。调查发现, 我国养殖池塘水体和底泥普遍存在硫污染, 制约着我国水产养殖业的进一步发展<sup>[20,23]</sup>。微生物作为养殖水体生态系统的重要组成部分和营养物质分解转化的主要参与者, 对维系池塘水体健康发挥着不可替代的作用。本团队前期研究中发现, 硫浓度可能对于氮循环重要功能微生物——氨氧化微生物具有重要影响<sup>[24]</sup>。因此, 研究  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度升高对于池塘底泥微生物的影响及其作用过程, 对于评价  $\text{SO}_4^{2-}$  的环境生态效应和水产养殖的健康发展都具有十分重要的意义。

本研究利用淡水养殖池塘底泥和表层水构建了试验系统, 研究了加入不同浓度  $\text{SO}_4^{2-}$  后表层底泥微生物群落的动态变化规律, 并分析了不同浓度  $\text{SO}_4^{2-}$  对微生物群落结构的影响及可能的环境影响因素。具体而言, 选择了较低浓度(30 mg/L)和较高浓度(150 mg/L)来比较不同  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度下的微生物特征。另外, 还设置了高  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度组(500 mg/L)以分析池塘  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度进一步升高可能带来的影响。本研究结果可能为淡水养殖池塘硫的管理和调控提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

在 2020 年 10 月 21 日采集淡水养殖池塘表层底泥进行实验。该养殖池塘位于湖北荆州长江水产研究所试验基地内, 池塘主养草鱼, 套养花白鲢, 面积约为 0.5 hm<sup>2</sup>, 草鱼幼鱼放养规格约为 0.5 kg/尾, 年平均产量约为 24 000 kg/hm<sup>2</sup>。该养殖池塘近 5 年未进行清淤。采集的底泥经过筛去除杂物后混合均匀, 转移至有机玻璃管( $\Phi$  90 mm, 长 500 mm)中, 使底泥厚度保持为约 20 cm。同时采集池塘上层水, 去除杂质后缓慢注入有机玻璃管中, 保持水深为约 25 cm。平行

制作若干试验系统,置于室温下预孵育约 6 周的时间。待系统稳定后,随机将这些试验系统分成 4 组,分别向每组中加入预定浓度的  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  溶液,使得向系统水柱中加入的  $\text{SO}_4^{2-}$  终浓度分别为约 0 mg/L (对照组)、30 mg/L (T1 处理组)、150 mg/L (T2 处理组)、500 mg/L (T3 处理组)。随后,将试验系统置于避光环境中,在 30 °C 培养箱中进行孵育。

## 1.2 底泥样品采集与分析

分别在实验开始前(加入硫酸盐前, D0)、孵育 10 d 后(D10)、孵育 30 d 后(D30)、孵育 50 d 后(D50),采集表层底泥样品。采样时,随机从每组取出一个有机玻璃管,小心移除水柱后,取表层底泥(约 0–4 cm)进行分析。每次采样时,每个实验组分别选取 3 个有机玻璃管进行分析。

表层底泥氧化还原电位(Eh)利用氧化还原电极(Mettler Toledo)测定。底泥  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  浓度利用 2 mol/L KCl 溶液浸提后,根据标准方法进行测定<sup>[25]</sup>。底泥 pH 采用 1:5 风干土/水(质量体积比)混合测定。底泥总有机碳(total organic carbon, TOC)和全氮(total nitrogen, TN)

分别采用重铬酸钾氧化-分光光度法和凯氏法测定。底泥碳氮比(C/N)计算为 TOC/TN 比值。底泥酸可挥发硫化物(acid volatile sulfide, AVS)浓度根据 Chen 等的方法测定<sup>[26]</sup>,该指标包括表层底泥中的溶解性硫化物和 FeS 等物质。水柱硫酸盐( $\text{SO}_4^{2-}$ )浓度采用明胶-氯化钡方法测定<sup>[27]</sup>。不同时间各组样品理化指标如表 1 所示。

## 1.3 微生物样品采集与分析

在采集表层底泥同时采集部分底泥样品保存于-80 °C 冰箱,以用于微生物分析。利用 DNeasy PowerSoil 试剂盒(QIAGEN),根据操作说明书提取底泥总 DNA。样品经检验合格后,基于 16S rDNA V3–V4 区序列,利用 Illumina NovaSeq 测序平台进行双末端测序(PE250)。测序由北京百迈客生物科技有限公司完成。获得的序列经质控滤除低质量序列,将剩余的高质量序列进行去噪处理,得到特征序列(ASVs)用于进一步的分析。

利用荧光定量 PCR (qPCR)测定了底泥样品微生物丰度。引物序列和反应条件如表 2 所示。定量用的标准品为利用相同引物从底泥样品

表 1 不同采样时间各样品理化指标\*

Table 1 Physicochemical characters of samples from different sampling times\*

Day	Group	$\text{SO}_4^{2-}$ (mg/L)	$\text{NO}_3^-$ (mg/kg)	$\text{NO}_2^-$ (mg/kg)	$\text{NH}_4^+$ (g/kg)	TN (g/kg)	TOC (g/kg)	C/N	pH	Eh (mV)	AVS ( $\mu\text{g/g}$ )
D0		30.14±18.88	10.16±2.11	0.53±0.05	0.40±0.19	–	75.57±6.42	–	6.09±0.07	–	–
D10	C	126.63±6.12	9.36±5.67	0.53±0.01	1.30±0.55	6.41±0.07	72.09±0.24	11.24±0.08	6.04±0.08	182.50±103.94	–
	T1	130.19±2.39	7.45±2.85	0.75±0.29	1.08±0.04	6.20±0.29	74.52±4.60	12.04±1.30	6.03±0.13	-217.50±54.45	–
	T2	227.98±7.13	8.40±0.72	0.72±0.10	1.16±0.24	6.31±0.46	74.20±2.73	11.81±1.29	6.05±0.02	-258.00±12.73	–
	T3	467.17±30.97	8.31±2.50	0.50±0.06	1.09±0.12	6.21±0.19	74.53±0.27	12.01±0.32	6.14±0.08	-267.50±19.09	–
D30	C	145.18±1.97	19.54±10.40	0.97±0.19	1.04±0.17	6.10±0.66	69.10±5.91	11.33±0.26	6.09±0.24	-204.00±21.21	–
	T1	160.86±5.83	36.58±25.62	1.84±0.87	1.68±0.47	6.37±0.35	76.37±1.24	12.00±0.46	5.91±0.01	-200.00±29.70	–
	T2	279.26±40.37	17.16±1.54	0.69±0.04	1.02±0.27	6.49±0.10	79.00±4.23	12.19±0.84	6.04±0.05	-240.50±16.26	–
	T3	518.44±22.48	15.40±0.16	1.05±0.47	1.10±0.02	5.86±0.48	72.74±3.90	12.43±0.35	5.86±0.32	-249.00±19.80	–
D50	C	159.81±4.67	37.81±39.46	0.87±0.27	1.27±0.01	5.84±0.17	70.03±0.30	11.99±0.29	5.87±0.40	-239.50±47.38	113.60±23.63
	T1	164.20±13.45	34.49±45.68	0.58±0.11	1.39±0.11	6.08±0.14	71.11±0.77	11.70±0.14	6.18±0.04	-255.00±48.08	227.83±139.00
	T2	298.16±16.62	12.91±7.60	0.85±0.23	1.14±0.05	5.66±0.40	68.43±0.51	12.11±0.76	6.00±0.00	-282.00±38.18	154.06±48.99
	T3	509.29±28.60	19.11±16.40	0.74±0.40	1.06±0.13	5.69±0.09	69.58±1.79	12.23±0.52	6.11±0.21	-298.50±23.33	150.25±44.43

\*: Data are presented as mean±standard deviation. –: No available data.

表 2 底泥微生物 qPCR 分析引物及反应条件

Table 2 Primers and amplification conditions used for qPCR analyses of sediment samples

Primer	Sequence (5'→3')	Reaction system	Amplification condition
16SV4-F	GTGYCAGCMGCCGCGGTAA	2× qPCRMix; Forward primer 10 pmol/μL;	95 °C 30 s;
16SV4-R	GGACTACNVGGGTWTCTAAT	Reverse primer 10 pmol/μL; DNA template 20–200 ng; ddH <sub>2</sub> O	40 cycles of 95 °C 10s, 55 °C 30 s, and 72 °C 30 s

构建的单克隆序列。标准品经梯度稀释后,用于 16S rDNA V4 区序列的定量。各样品标准曲线线性关系  $R^2 > 0.995$ , 且扩增效率在 85%–105% 之间,说明 PCR 产物未出现非特异性扩增,可以较好地用于底泥样品微生物的定量。

#### 1.4 生物信息学与统计分析

利用 SILVA 为参考数据库对特征序列进行分类学注释,并统计各分类水平上的微生物组成。使用 QIIME2 计算各样品  $\alpha$  多样性指数。主坐标分析(primary coordinate analysis, PCoA)利用 ape 程序包进行。线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)采用在线工具包(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>)进行,将 factorial Kruskal-Wallis 检验  $\alpha < 0.05$  且 LDA 值  $> 2.0$  的类群确定为差异类型。共生网络图利用 Gephi 0.9.1 基于 Spearman 相关性系数绘制。冗余分析(redundant analysis, RDA)利用 vegan 程序包进行。Pearson 相关性分析利用

psych 程序包进行。上述程序包均基于 R 4.2.1 运行,并利用 ggplot 程序包绘制图形。不同样品数据的统计学比较利用 IBM SPSS Statistics 26 进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 硫酸盐对表层底泥微生物丰度的影响

各实验组表层底泥微生物 16S rRNA 基因在  $9.84 \times 10^9$  拷贝数/g– $72.0 \times 10^9$  拷贝数/g 之间变化,且随孵育时间均表现出逐渐下降的趋势。在第 10 天时,各实验组微生物丰度差异不大。到第 30 天, T3 处理组微生物丰度相比对照组明显下降(图 1A),且到第 50 天,各实验组微生物丰度相比对照均出现明显降低(图 1B),但不同实验组间的差异不显著。

### 2.2 硫酸盐对表层底泥微生物多样性的影响

各实验组微生物多样性随孵育时间也表现出逐渐下降的趋势。从第 0 天到第 30 天,各实验组间微生物多样性差异不明显。但到第 50 天

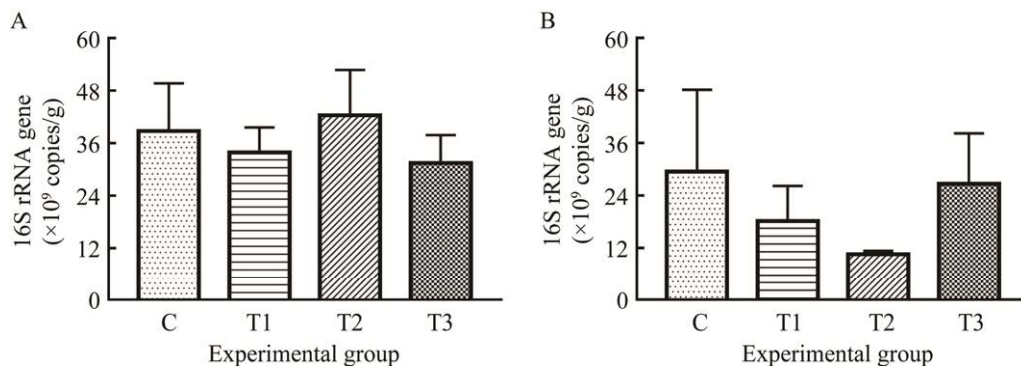


图 1 第 30 天(A)和第 50 天(B)各实验组微生物丰度

Figure 1 Abundances of microorganisms for each group on day 30 (A) and day 50 (B). The error bars indicate standard deviations.  $n=3$ .

时, T2 和 T3 处理组 Chao1 和 Shannon 多样性指数相比对照组出现了明显下降, 其中 T3 处理组相比 T1 处理组出现显著差异(图 2,  $P<0.05$ )。

### 2.3 硫酸盐对表层底泥微生物分类群的影响

对微生物类群的分析发现, 表层底泥微生物

以变形菌门 (*Proteobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)和脱硫菌门(*Desulfobacterota*)为主, 分别占到微生物总量的约 36.39%、12.52%和 11.02%。在第 30 天之前, 各实验组微生物各类群组成差异不明显, 但在第 50 天, 各类群比例发生了明显变化(图 3A)。其中, T1 处理组酸杆

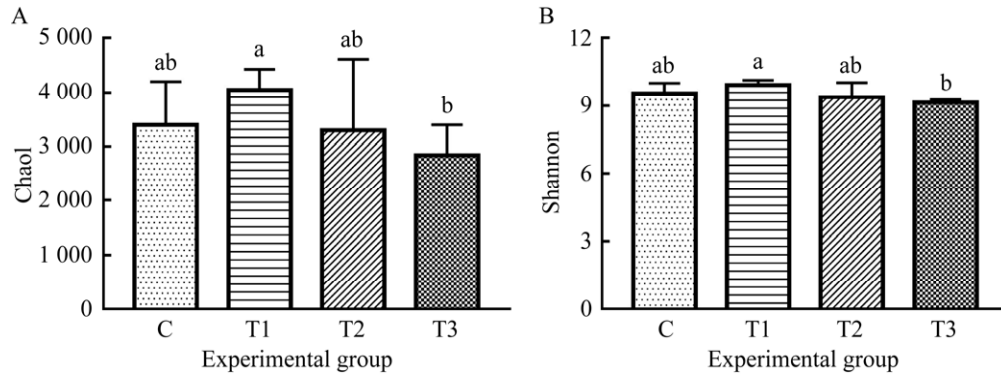


图 2 第 50 天时各实验组 Chao1 (A)和 Shannon (B)多样性指数

Figure 2 Chao1 (A) and Shannon (B) indexes for each group on day 50. The error bars indicate standard deviations. Different lower-case letters above the bars indicate significant difference.  $n=3$ .

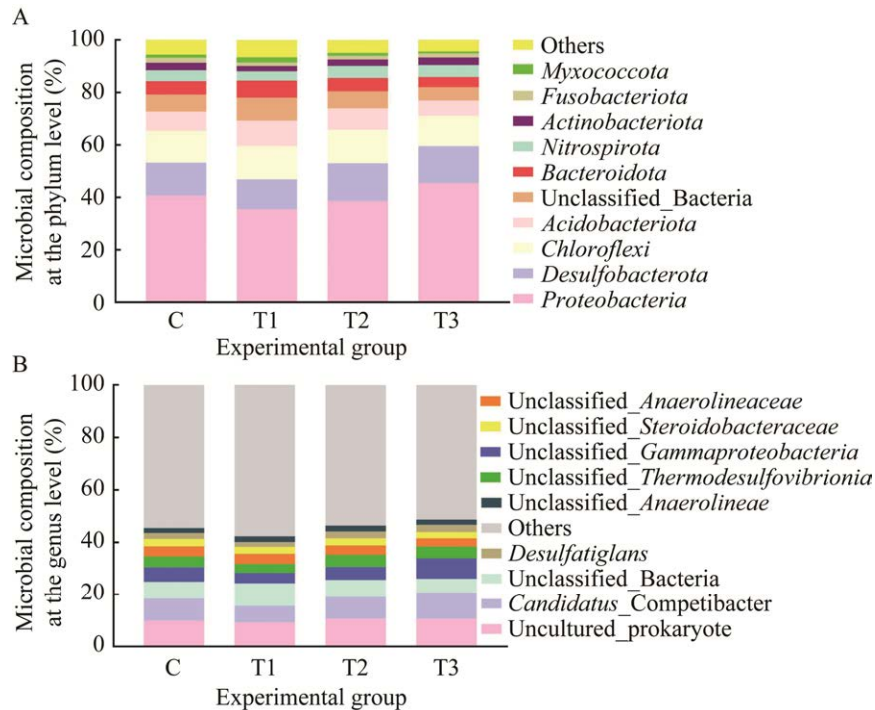


图 3 第 50 天各实验组门水平(A)和属水平(B)微生物组成

Figure 3 Microbial composition at phylum (A) and genus (B) levels on day 50 (only the main taxa are presented).

菌门(*Acidobacteriota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)相对丰度相比其他实验组出现了显著升高( $P<0.05$ ), 而放线菌门(*Actinobacteriota*)相对丰度则出现显著降低( $P<0.01$ )。T3 处理组变形菌门和放线菌门相对丰度相比其他实验组出现显著升高( $P<0.05$ ), 但酸杆菌门相对丰度则出现显著降低( $P<0.05$ )。

与门水平类似, 第 30 天前各属相对丰度在不同实验组间差异不大, 但在第 50 天时, 各属相对丰度出现明显差异(图 3B), 其中 T3 处理组 *Candidatus\_Cometibacter* 和 *unclassified\_Gammaproteobacteria* 相对丰度相比 T1 处理组出现显著升高 ( $P<0.05$ ), 并且 T1 处理组 *unclassified\_Bacteria* 相对丰度相比其他实验组显著上升( $P<0.01$ )。

#### 2.4 硫酸盐对表层底泥微生物群落结构的影响及差异类群分析

对表层底泥微生物群落组成的 PCoA 分析发现, 第 30 天前, 不同实验组微生物群落差异较小, 但第 50 天微生物群落相比其他时间出现明显差异, 并且到第 50 天时, T1 处理组和 T3 处理组微生物群落与其他实验组可以明显分离(图 4A), 提示到第 50 天时, 硫酸盐对表层底泥微生物群落结构造成了明显影响。

LEfSe 分析发现, 第 50 天时, T1 和 T3 处理组与对照组存在较多差异类群(图 4B、4C)。T1 组与对照组间共检测到显著差异类群 62 种 ( $P<0.05$ ), 其中 T1 组中有差异类群 38 种, 包括暖丝菌门(*Caldisericota*)、*Oligoflexia*、*Kryptonia*、拟杆菌纲 (*Bacteroidia*)、*Actinomarinales*、*Vicinamibacteria*、*Thermoanaerobaculia*、全噬菌纲(*Holophagae*)、*Aminicenantia*、*Omnitrophia*、脱氯单胞菌属 (*Dechloromonas*)、嗜氢菌科 (*Hydrogenophilaceae*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*)等类群。T3 组与对照组差异类群则主要集中在对照组中, 其中对照组有显著差异类群 45 种( $P<0.05$ ), 而 T3 组有显著差异类群

9 种( $P<0.05$ ), 提示高浓度硫酸盐引起了微生物类群的明显减少。与对照组相比, T3 组减少的类群主要包括厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)、*Caldisericia*、*Kryptonia*、*Ignavibacteria*、拟杆菌纲、*Vicinamibacteria*、全噬菌纲、*Aminicenantia*、立克次氏体目 (*Diplorickettsiales*)、丛毛单胞菌科 (*Comamonadaceae*)、*Myxococcia*、芽单胞菌门等类群, 而互营杆菌属(*Syntrophobacteria*)、甲基杆菌目(*Methylococcales*)、着色菌目(*Chromatiales*)则出现显著升高( $P<0.05$ )。

#### 2.5 硫酸盐对表层底泥微生物共生网络的影响

利用主要类群 ASV (平均相对比例 $>0.1\%$ ) 构建了各实验组共生网络图(图 5)。各实验组 ASV 之间均存在密切关联, 每组共建立节点 138 个, 其主要为变形菌门类群, 占总 ASV 的 46.38%, 其次为脱硫菌门、酸杆菌门和绿弯菌门, 分别占总 ASV 的 14.49%、9.42%、9.42%。另外, 拟杆菌门、梭杆菌门(*Fusobacteriota*)、硝化菌门(*Nitrospirota*)也占有较大比例, 分别为 5.8%、2.9%、2.9%。相比对照, 各处理组网络更为复杂, 其边数、平均度、平均聚类系数相比对照均明显增加, 特别是 T2 和 T3 处理组增加最为明显。与对照相比, T2 组边数和平均度增加了 106.44%, 平均聚类系数增加了 17.58%, 而 T3 组边数和平均度增加了 57.70%, 平均聚类系数则增加了 6.66%。表明硫酸盐的加入增加了表层底泥微生物网络的复杂性, 且在 150 mg/L 浓度下, 微生物网络复杂性增加最大。另外, 通过对不同实验组正、负相关共生关系的分析发现, T1 和 T2 组正相关百分比相比对照明显增加(分别增加 41.14%、27.48%), 提示硫酸盐可能主要通过增加微生物类群间的互利性来影响共生网络。

#### 2.6 表层底泥微生物影响因素

RDA 分析结果显示, 表层底泥微生物群落与底泥环境因子间存在着显著相关性(图 6A,



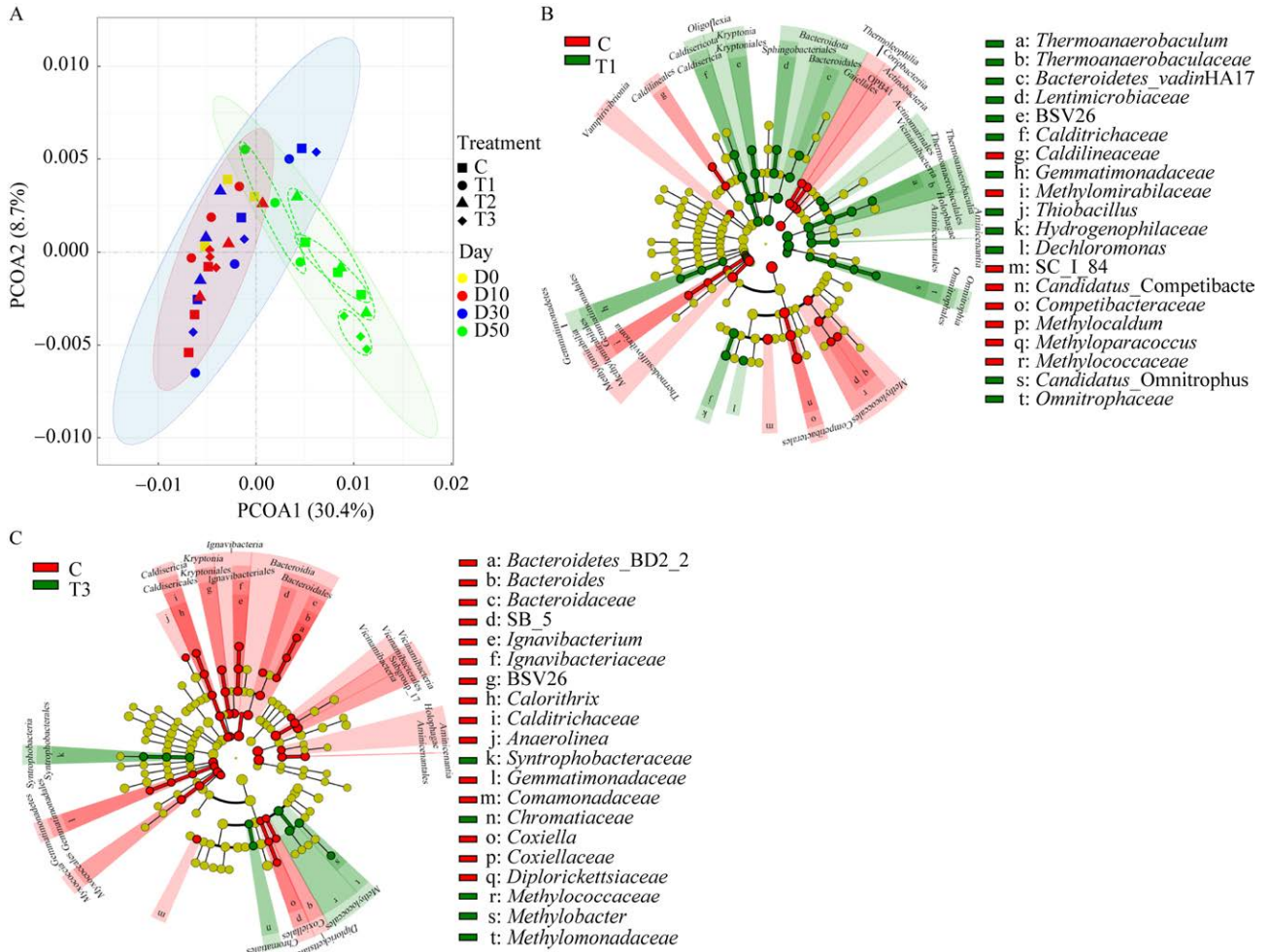


图 4 不同样品的 PCoA 分析(A)及差异类群 LefSe 分析(B-C)  
 Figure 4 PCoA (A) and LefSe (B and C) results of different samples. B: Different taxa between the control and T3 group. C: Different taxa between the control and T1 group. The different taxa are indicated in different colors.

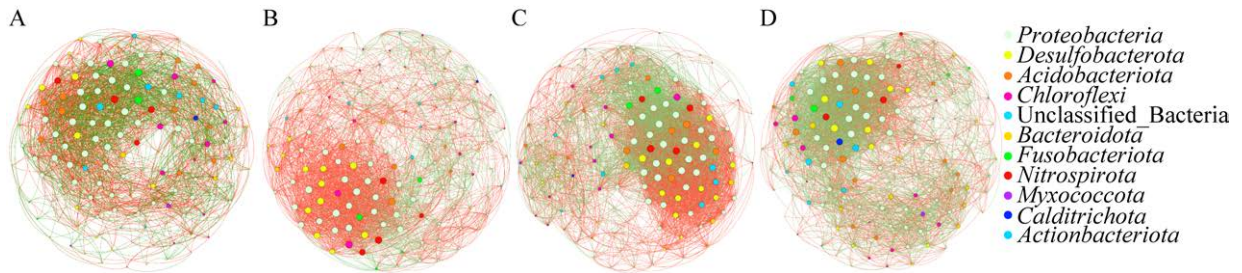


图 5 对照组(A)和各处理组(B-D)共生网络图  
 Figure 5 Co-occurrence networks of different groups. A: Control. B: T1. C: T2. D: T3. The red lines indicate positive correlations, and the green lines indicate negative correlations.



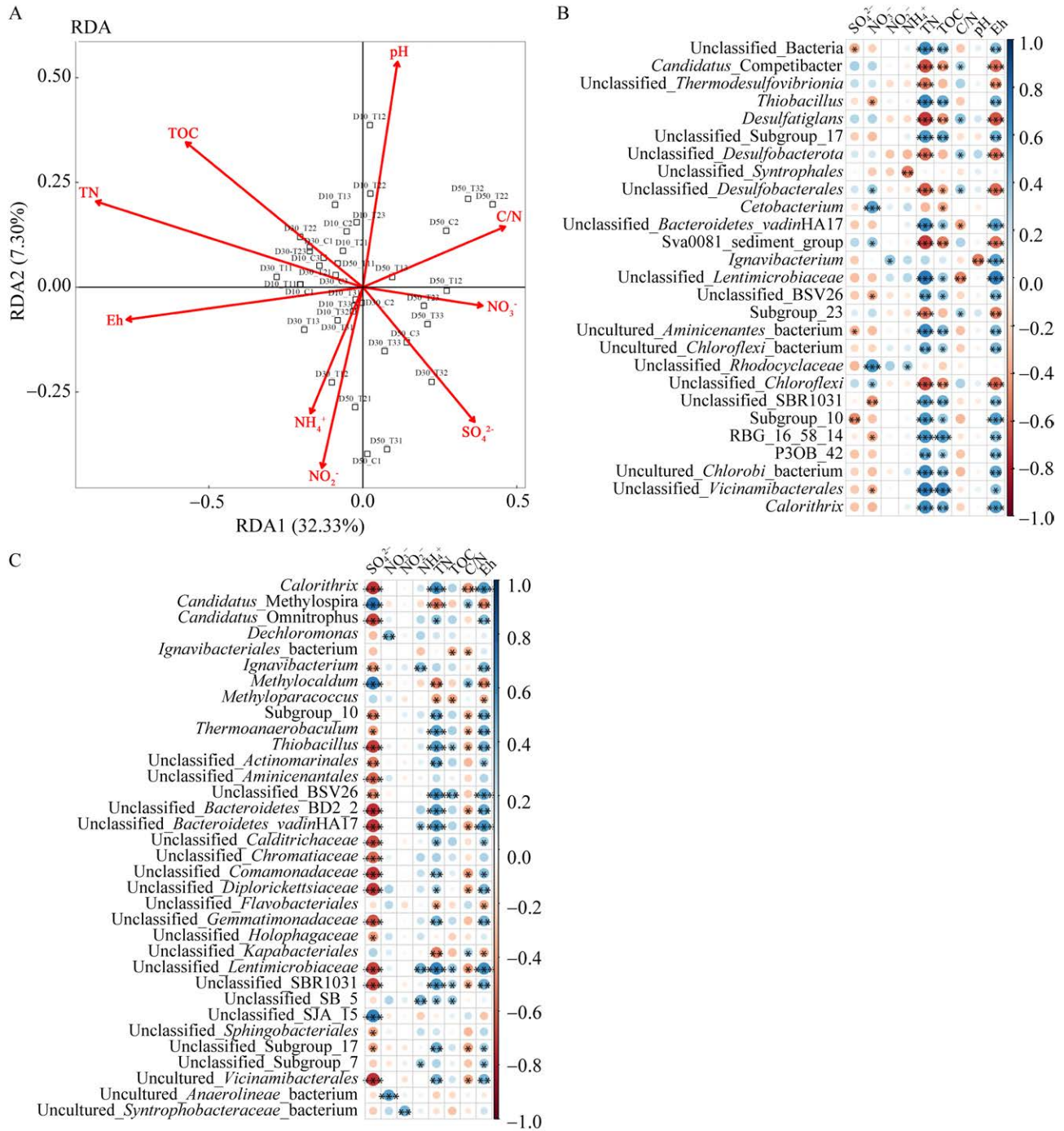


图 6 底泥微生物与环境因子的 RDA 分析(A)和 Pearson 相关性热图(B-C)

Figure 6 RDA plot (A) and Pearson correlation heatmaps indicating relationship between sediment microorganisms and physicochemical factors (B: The main taxa. C: Different taxa found between different groups). \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ .

$P < 0.01$ )。前两轴的总解释率为 39.63%, 其中 Eh、TN 和  $\text{NO}_3^-$  是表层底泥微生物群落的主要影响

因素。对属水平主要微生物类群与环境因子的 Pearson 相关性分析发现(图 6B), 其主要受到

TN、TOC 和 Eh 的影响, 而  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  等离子浓度对其影响相对较小。对不同处理间差异类群的分析也发现, 其主要与  $\text{SO}_4^{2-}$ 、TN、CN 和 Eh 呈显著相关(图 6C), 进一步说明  $\text{SO}_4^{2-}$  及其引起的有机质分解和氧化还原电位改变是造成底泥微生物变化的主要原因。

### 3 讨论与结论

近年来, 随着对环境保护的重视和测序技术的不断进步, 养殖水体微生物得到了越来越多的研究。先前的研究已经发现, 变形菌门、绿弯菌门等是淡水养殖环境中的主要微生物类群, 这可能与养殖水体中丰富的有机质有关<sup>[28-29]</sup>。同时, 越来越多的研究发现, 脱硫菌也构成了淡水养殖环境的重要微生物类群<sup>[20,30]</sup>。本研究在包括对照组在内的各样品中, 均检测到较高比例的脱硫菌门类群。脱硫菌能够将电子从硫化氢运输到硝酸盐或亚硝酸盐<sup>[31]</sup>, 并且一些类群已被证明能够将硫酸盐还原为硫化物<sup>[32]</sup>。这些结果提示硫的氧化还原过程在淡水养殖水体生态系统功能中发挥着重要的作用。因此, 研究不同浓度硫酸盐对池塘微生物的影响对于解析这一系统生态功能和过程将具有重要的意义。

先前对池塘底泥氨氧化微生物的分析发现, 底泥中氨氧化微生物群落较稳定, 受外界环境因素影响较小<sup>[22]</sup>。类似地, 章海鑫等<sup>[33]</sup>对草鱼池塘的研究也发现, 池塘底泥微生物群落的结构相对稳定, 随季节波动较小, 而 Hou 等<sup>[34]</sup>发现, 池塘工程化循环水养殖系统沉积物微生物不受沉积碎屑的影响, 且主要由随机过程驱动。在本研究中, 在孵育第 30 天前, 虽然底泥理化因素发生了明显变化(表 1), 但微生物丰度和组成变化都较小。由于试验系统是利用实际养殖池塘的底泥和上层水构建的, 在构建试验系统时并未对底泥和水柱微生物构成明显破坏, 且系统经过较

长时间的平衡, 这可能使得池塘底泥微生物得到了较好的保留, 并因此仍然表现出对环境变化较好的稳定性。有趣的是, 孵育后第 30 天, 不同处理组底泥微生物丰度和多样性出现了明显变化, 特别是到第 50 天时, T2 和 T3 处理组微生物丰度和多样性相比对照组明显下降, 说明较长时间的高浓度硫酸盐环境会对池塘底泥微生物造成明显影响。鉴于池塘系统的复杂性和底泥微生物群落自身可能的稳定特性, 目前还很少有研究报道硫酸盐对池塘底泥微生物的影响规律, 本研究结果可能为研究这一系统的微生物特征带来新的视角。

在整个实验期间, 底泥微生物丰度一直维持在较高水平( $9.84 \times 10^9/\text{g}$ – $72.0 \times 10^9/\text{g}$ ), 并且高于在实际池塘底泥中检测到的水平(例如  $< 8 \times 10^9/\text{g}$ )<sup>[20,30]</sup>, 底泥微生物多样性相比实际池塘也处于较高水平<sup>[29,33]</sup>, 进一步说明试验系统微生物活性较高。另一方面, 研究发现底泥微生物丰度和多样性随孵育时间都呈逐渐下降的趋势, 特别是到第 50 天时, 底泥微生物丰度出现了明显下降(图 1)。底泥微生物丰度和多样性的降低可能意味着微生物群落稳定性的下降, 并可能更容易受到环境改变的影响。有趣的是, 先前也有研究发现硫酸盐对水体环境的影响与特定环境条件和微生物类群有关。例如, Chen 等<sup>[26]</sup>在长达一年的孵育实验期间未观察到硫酸盐浓度增加对元素循环的影响, 但引入蓝藻生物量后, 硫还原菌数量增加。Delgado Vela 等<sup>[35]</sup>则发现硫化物对微生物的影响与群落类群有关。在本试验系统中, 底泥微生物群落自身的改变加上硫酸盐引起的环境变化, 可能是高浓度硫酸盐引起底泥微生物丰度下降和组成变化的原因。

虽然在本试验系统底泥微生物中检测到较高比例的脱硫菌, 但底泥脱硫菌的相对比例并未随硫酸盐浓度的增加而发生明显变化, 这可能与

池塘底泥中微生物对硫的适应性有关。确实,相关性分析发现,底泥中较少微生物类群与  $\text{SO}_4^{2-}$  显著相关(图 6),这进一步说明了池塘底泥微生物对硫酸盐环境的适应性。然而,到第 50 天时,不同实验组微生物组成出现了明显差异,并且不同浓度硫酸盐引起的微生物效应存在差异。较低浓度的加入(T1 组)引起了特定类群相对比例的增加,使得微生物多样性升高,但高浓度硫酸盐的加入(T3 组)使得主要类群的占比进一步增加,降低了微生物多样性(图 2)。差异类群分析进一步发现,相比于对照, T1 组特异性类群增加,而对照组中存在的微生物类群在 T3 组中大量减少。这些类群包括大量重要的生态物种,例如拟杆菌纲的一些类群在有机质转化中具有重要作用<sup>[36]</sup>,而芽单胞菌门细菌则被认为是一种重要的土壤微生物类群<sup>[37]</sup>。另外,微生物类群的大量变化会对群落冗余性造成影响<sup>[38]</sup>,并最终影响微生物群落结构稳定性。这说明不同浓度硫酸盐可能对池塘底泥微生物生态功能造成重要影响。目前有关不同浓度硫酸盐影响池塘底泥微生物的研究还很少,需要进一步的研究来分析造成其影响差异的原因。

硫酸盐对池塘底泥微生物的另一影响体现在共生关系上。本研究发现,硫酸盐的加入引起了底泥微生物共生网络复杂性的增加。共生对于生物群落多样性的维持和稳定性具有重要的意义<sup>[39-40]</sup>。本试验系统底泥微生物共生网络复杂性的增加,一方面说明了硫酸盐引起了底泥环境的改变,对底泥微生物的环境压力增加,另一方面说明底泥微生物群落可能能够通过调整共生关系来增加群落稳定性,从而对抗环境压力。值得注意的是,相比于对照, T2 处理组微生物差异类群变化并不大,但其共生网络复杂性增加却最大,这说明共生关系可能是池塘底泥微生物对抗环境改变的一种重要机制,能够使其耐受一定的

环境压力,但当压力进一步增加时,可能引起微生物类群的重大变化(如 T3 组中特定类群的大量减少)。

分析发现,底泥微生物与不同环境因子间存在显著相关性。先前已有较多研究发现,池塘底泥有机质含量和分解是影响底泥微生物的重要因素<sup>[20,24]</sup>,本研究也发现, TOC 和 TN 是底泥微生物群落的主要环境影响因素。另外,基于主要类群的相关性分析发现,主要底泥微生物类群与  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  等离子浓度相关性并不大,这说明外源硫酸盐可能主要通过影响有机质分解来对底泥微生物造成影响。底泥 Eh 与微生物类群的显著相关性进一步说明了硫酸盐与有机质的作用可能引起的底泥还原性增强,并可能对底泥微生物群落造成影响。

## 参考文献

- [1] ZAK D, HUPFER M, CABEZAS A, JURASINSKI G, AUDET J, KLEEBERG A, MCINNES R, KRISTIANSEN SM, PETERSEN RJ, LIU HJ, GOLDHAMMER T. Sulphate in freshwater ecosystems: a review of sources, biogeochemical cycles, ecotoxicological effects and bioremediation[J]. *Earth-Science Reviews*, 2021, 212: 103446.
- [2] YU T, ZHANG Y, WU FC, MENG W. Six-decade change in water chemistry of large freshwater Lake Taihu, China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(16): 9093-9101.
- [3] 赵健, 代丹, 王瑞, 郝晨林, 何成达, 于涛. 太湖流域降雨和湖水酸根阴离子长期变化及其环境意义[J]. *湖泊科学*, 2019, 31(1): 88-98.  
ZHAO J, DAI D, WANG R, HAO CL, HE CD, YU T. Long-term trends of acid anion in the rain water in Lake Taihu watershed and the lake water, and its environmental implications[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2019, 31(1): 88-98 (in Chinese).
- [4] 梁文裕, 王俊, 王志山, 李东, 张丽萍. 宁夏鹤泉湖浮游植物现状及水质评价[J]. *宁夏大学学报(自然科学版)*, 2001, 22(4): 426-429.  
LIANG WY, WANG J, WANG ZS, LI D, ZHANG LP. Studies on phytoplankton in Hequan Lake of Ningxia

- and evaluation of its water quality[J]. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, 2001, 22(4): 426-429 (in Chinese).
- [5] 吴丰昌, 万国江, 黄荣贵, 蔡玉蓉. 湖泊水体中硫酸盐增高的环境效应研究[J]. *环境科学学报*, 1998, 18(1): 28-33.  
WU FC, WAN GJ, HUANG RG, CAI YR. Environmental impact of sulfate concentration increasing of lakes[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1998, 18(1): 28-33 (in Chinese).
- [6] 方榕乐, 朱晓鸣, 张水元, 王骥, 伍焯田, 苗金信, 霍仕琨, 程维桐. 天津团泊洼水库水体生物生产力与渔业开发利用[J]. *湖泊科学*, 1992, 4(2): 38-45.  
FANG RL, ZHU XM, ZHANG SY, WANG J, WU ZT, MIAO JX, HUO SL, CHENG WT. Bioproductivity and utilization of fisheries in Tuanbowa Reservoir[J]. *Journal of Lake Sciences*, 1992, 4(2): 38-45 (in Chinese).
- [7] 吴耀国, 沈照理, 钟佐, 李广贺. 淄博孝妇河流域孔隙水硫酸盐污染特征及其形成[J]. *环境污染与防治*, 2000, 22(6): 36-39.  
WU YG, SHEN ZL, ZHONG Z, LI GH. Characters and formation reasons of sulfate contamination in pore water of Xiao Fu River Basin in Zibo City[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2000, 22(6): 36-39 (in Chinese).
- [8] 徐洁, 王红, 李思言, 阮爱东. 湖泊沉积物中微生物与生物地球化学循环[J]. *环境科技*, 2019, 32(1): 74-78.  
XU J, WANG H, LI SY, RUAN AD. Microbial and biogeochemical cycles in lake sediments[J]. *Environmental Science and Technology*, 2019, 32(1): 74-78 (in Chinese).
- [9] 周川乔, 彭宇, 邓杨, 吕成旭, 朋毛羊藏, 张思远, 许晓光, 王瑜, 张利民, 王国祥. 富营养化湖泊中硫酸盐对蓝藻衰亡产甲烷过程的影响[J]. *湖泊科学*, 2021, 33(6): 1639-1649.  
ZHOU CQ, PENG Y, DENG Y, LV CX, PENG MYZ, ZHANG SY, XU XG, WANG Y, ZHANG LM, WANG GX. Effects of sulfates on methane production during cyanobacteria decay processes in eutrophic lakes[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2021, 33(6): 1639-1649 (in Chinese).
- [10] 陈俊松, 杨渐, 蒋宏忱. 湖泊硫循环微生物研究进展[J]. *微生物学报*, 2020, 60(6): 1177-1191.  
CHEN JS, YANG J, JIANG HC. Research progress on microbes involved in lacustrine sulfur cycling[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(6): 1177-1191 (in Chinese).
- [11] WANG FY, CHAPMAN PM. Biological implications of sulfide in sediment—a review focusing on sediment toxicity[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18(11): 2526-2532.
- [12] LAMERS LPM, GOVERS LL, JANSSEN ICJM, GEURTS JJM, van der WELLE MEW, van KATWIJK MM, van der HEIDE T, ROELOFS JGM, SMOLDERS AJP. Sulfide as a soil phytotoxin—a review[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 268.
- [13] KUMAR V, MUKHERJEE D. Phenol and sulfide induced changes in the ovary and liver of sexually maturing common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Aquatic Toxicology*, 1988, 13(1): 53-59.
- [14] KÜSTER E, DORUSCH F, ALTENBURGER R. Effects of hydrogen sulfide to *Vibrio fischeri*, *Scenedesmus vacuolatus*, and *Daphnia magna*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(10): 2621-2629.
- [15] MOUNT DR, GULLEY DD, HOCKETT JR, GARRISON TD, EVANS JM. Statistical models to predict the toxicity of major ions to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas* (fathead minnows)[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16(10): 2009.
- [16] TIMPANO AJ, SCHOENHOLTZ SH, SOUCEK DJ, ZIPPER CE. Salinity as a limiting factor for biological condition in mining-influenced central Appalachian headwater streams[J]. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 2015, 51(1): 240-250.
- [17] 钟远, 樊娟, 刘春光, 庄源益. 硫酸盐对淡水浮游藻类群落结构的影响研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(8): 2253-2258.  
ZHONG Y, FAN J, LIU CG, ZHUANG YY. Effects of sulfate on the community structure of phytoplankton in freshwater[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(8): 2253-2258 (in Chinese).
- [18] ELPHICK JR, DAVIES M, GILRON G, CANARIA EC, LO B, BAILEY HC. An aquatic toxicological evaluation of sulfate: the case for considering hardness as a modifying factor in setting water quality guidelines[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(1): 247-253.
- [19] 范乐, 华玉妹, 余芬芳, 刘广龙, 朱端卫. 外源硫酸盐介入下沉积物磷释放、解磷微生物及磷酸酶活性的变化[J]. *环境科学学报*, 2014, 34(1): 210-218.  
FAN L, HUA YM, YU FF, LIU GL, ZHU DW. Effect of external sulfate on phosphorus release,

- phosphate-solubilizing microorganisms and phosphatase activity in Lake Donghu, Wuhan[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(1): 210-218 (in Chinese).
- [20] 邹松保, 高强, 程海华, 倪蒙, 胥晴, 刘梅, 周聃, 周志明, 原居林. 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 养殖池塘沉积物中细菌、硫酸盐还原菌和硫氧化菌的垂直分布特征[J]. *微生物学报*, 2022, 62(7): 2719-2734.  
ZOU SB, GAO Q, CHENG HH, NI M, XU Q, LIU M, ZHOU D, ZHOU ZM, YUAN JL. Vertical distribution of bacterial, sulfate-reducing and sulfur-oxidizing bacterial communities in sediment cores from freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) aquaculture pond[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2719-2734 (in Chinese).
- [21] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴-2021[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.  
Bureau of Fisheries, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2021 China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021 (in Chinese).
- [22] DAI LL, YU LQ, PENG L, TAO L, LIU YB, LI G. Stochastic factors drive dynamics of ammonia-oxidizing archaeal and bacterial communities in aquaculture pond sediment[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 950677.
- [23] 祁铭华, 马绍赛, 曲克明, 辛福言. 沉积环境中硫化物的形成及其与贝类养殖的关系[J]. *海洋水产研究*, 2004, 25(1): 85-89.  
QI MH, MA SS, QU KM, XIN FY. The formation of sulfide in the marine sediments and its relationships to cultivation of shellfish[J]. *Marine Fisheries Research*, 2004, 25(1): 85-89 (in Chinese).
- [24] DAI LL, LIU CQ, YU LQ, SONG CF, PENG L, LI XL, TAO L, LI G. Organic matter regulates ammonia-oxidizing bacterial and archaeal communities in the surface sediments of *Ctenopharyngodon idellus* aquaculture ponds[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2290.
- [25] 魏复盛, 国家环境保护总局, 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.  
WEI FS, China Environmental Protection Agency. Methods for Water and Wastewater Determination-the 4<sup>th</sup> Edition[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002 (in Chinese).
- [26] CHEN M, LI XH, HE YH, SONG N, CAI HY, WANG CH, LI YT, CHU HY, KRUMHOLZ LR, JIANG HL. Increasing sulfate concentrations result in higher sulfide production and phosphorous mobilization in a shallow eutrophic freshwater lake[J]. *Water Research*, 2016, 96: 94-104.
- [27] TABATABAI MA. A rapid method for determination of sulfate in water samples[J]. *Environmental Letters*, 1974, 7(3): 237-243.
- [28] 秦伟, 周鑫, 周文全, 胡亚成, 柏爱旭. 精养克氏原螯虾池塘底泥微生物群落特征分析[J]. *南方农业学报*, 2015, 46(12): 2209-2216.  
QIN W, ZHOU X, ZHOU WQ, HU YC, BAI AX. Microflora characteristics of sediment from *Procambarus clarkii* intensive culture pond[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(12): 2209-2216 (in Chinese).
- [29] 王一亭, 李波, 王厚红, 吴法龙, 张磊. 基于 MiSeq 测序技术分析黄颡鱼不同养殖模式下池塘微生物群落结构多样性[J]. *水生生物学报*, 2020, 44(4): 781-789.  
WANG YT, LI B, WANG HH, WU FL, ZHANG L. Bacterial diversity of pond water and sediment in different culture systems of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) revealed by MiSeq sequencing[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(4): 781-789 (in Chinese).
- [30] ZHANG KK, ZHENG XF, HE ZL, YANG T, SHU LF, XIAO FS, WU YJ, WANG BH, LI Z, CHEN PB, YAN QY. Fish growth enhances microbial sulfur cycling in aquaculture pond sediments[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(5): 1597-1610.
- [31] RISGAARD-PETERSEN N, DAMGAARD LR, REVIL A, NIELSEN LP. Mapping electron sources and sinks in a marine biogeobattery[J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2014, 119(8): 1475-1486.
- [32] JIANG LJ, ZHENG YP, PENG XT, ZHOU HY, ZHANG CL, XIAO X, WANG FP. Vertical distribution and diversity of sulfate-reducing prokaryotes in the Pearl River estuarine sediments, southern China[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(2): 249-262.
- [33] 章海鑫, 付辉云, 张燕萍, 张爱芳, 陶志英, 王生, 余智杰. 精养草鱼池塘底泥微生物群落结构分析[J]. *水产科学*, 2020, 39(4): 553-559.  
ZHANG HX, FU HY, ZHANG YP, ZHANG AF, TAO ZY, WANG S, YU ZJ. Microbial community structure in sediments in an intensive grass carp



- Ctenopharyngodon idellus* culture pond[J]. Fisheries Science, 2020, 39(4): 553-559 (in Chinese).
- [34] HOU YR, LI B, XU GC, LI D, ZHANG CF, JIA R, LI QJ, ZHU J. Dynamic and assembly of benthic bacterial community in an industrial-scale in-pond raceway recirculating culture system[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 797817.
- [35] DELGADO VELA J, DICK GJ, LOVE NG. Sulfide inhibition of nitrite oxidation in activated sludge depends on microbial community composition[J]. Water Research, 2018, 138: 241-249.
- [36] WANG F, YI WM, ZHANG DL, LIU Y, SHEN XL, LI YJ. Anaerobic co-digestion of corn stover and wastewater from hydrothermal carbonation[J]. Bioresource Technology, 2020, 315: 123788.
- [37] DEBRUYN JM, NIXON LT, FAWAZ MN, JOHNSON AM, RADOSEVICH M. Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of *Gemmatimonadetes* in soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(17): 6295-6300.
- [38] TANDON K, WAN MT, YANG CC, YANG SH, BAATAR B, CHIU CY, TSAI JW, LIU WC, NG CS, TANG SL. Aquatic microbial community is partially functionally redundant: insights from an *in situ* reciprocal transplant experiment[J]. The Science of the Total Environment, 2021, 786: 147433.
- [39] LANGENHEDER S, SZÉKELY AJ. Species sorting and neutral processes are both important during the initial assembly of bacterial communities[J]. The ISME Journal, 2011, 5(7): 1086-1094.
- [40] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. The ISME Journal, 2012, 6: 343-351.