吴兆星,田照辉,陈 燕,等.草鱼养殖池塘底泥硫还原-氧化功能微生物及其垂直分布特征 [J]. 中国环境科学, 2026,46(3):1522-1532.
Wu Z X, Tian Z H, Chen Y, et al. Sulfur reduction-oxidation functional microorganisms and vertical distribution characteristics in grass carp aquaculture pond sediments [J]. China Environmental Science, 2026,46(3):1522-1532.

草鱼养殖池塘底泥硫还原-氧化功能微生物及其垂直分布特征

吴兆星[1,2],田照辉[2],陈 燕[2*],潘 哲[1*] (1.河北农业大学海洋学院,河北 秦皇岛 066003；2.北京市农林科学院水产科学研究所,北京 100097)

摘要：以北方地区典型的草鱼养殖池塘为研究对象,通过原位测定、理化分析和宏基因组学测序技术系统研究草鱼养殖池塘底泥环境因子,硫还原-氧化功能基因和微生物群落的垂直分布特征.结果表明,与对照池塘相比,硫还原相关基因(*sat*、*aprA*、*asrA*、*phsA*)和功能微生物(*g_NA*_c_Deltaproteobacteria)在草鱼池塘底泥显著富集,但硫氧化相关基因(*fccB*、*sqr*)及功能微生物(*g_Thiobacillus*、*g_Thioalkalivibrio* 和 *g_NA*_o_Hydrogenophilales)丰度显著降低.草鱼池塘和对照池塘硫还原-氧化基因(*dsrA*、*asrA*、*fccB*、*phsA*、*soxX/Z*)及其优势菌属丰度均随深度增加而显著降低(P<0.05).网络分析表明,与对照池塘相比,草鱼池塘硫还原-氧化功能菌群间的互作减少.Mantel 检验发现 TN、ORP、NH_4^+ 和 TOC 与硫还原-氧化功能基因及微生物群落呈显著正相关(P<0.05).本实验结果表明,通过去除底泥有机质和改善底泥氧化还原条件,可能是降低草鱼养殖池塘硫化物积累和水质恶化潜在风险的有效途径.

关键词：底泥；垂直分布；硫还原-氧化；功能微生物；宏基因组；草鱼养殖池塘
中图分类号：X172 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)03-1522-11

Sulfur reduction-oxidation functional microorganisms and vertical distribution characteristics in grass carp aquaculture pond sediments. WU Zhao-xing[1,2], TIAN Zhao-hui[2], CHEN Yan[2*], PAN Zhe[1*] (1.Ocean College, Hebei Agricultural University, Qinhuangdao 066003, China；2.Fisheries Science Institute, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097, China). *China Environmental Science*. 2026,46(3)：1522~1532

Abstract：The present study was conducted in typical grass carp aquaculture ponds in northern China. The characteristics of the vertical distribution of environmental factors, key sulfur reduction-oxidation functional genes, and microbial communities were analyzed through in-situ measurement, physicochemical analysis, and metagenomic sequencing. The results showed that the sulfur-reducing functional genes (*sat*, *aprA*, *asrA*, *phsA*) and microorganisms (*g_NA*_c_Deltaproteobacteria) were enriched, whereas sulfur-oxidizing functional genes (*fccB*, *sqr*) and microorganisms (*g_Thiobacillus*, *g_Thioalkalivibrio*, *g_NA*_o_Hydrogenophilales) were reduced in grass carp pond sediments compared with control pond. As for the vertical distribution, the abundances of sulfur reduction-oxidation genes (*dsrA*, *asrA*, *fccB*, *phsA*, *soxX/Z*) and their dominant genera significantly decreased along sediment depth in both grass carp and control ponds (P < 0.05). The network analysis indicated that the interactions of sulfur reduction-oxidation functional microflora were decreased in grass carp ponds compared with control ponds. Mantel tests revealed that TN, ORP, NH_4^+, and TOC were significantly positively correlated with genes and microbial communities involved in sulfur reduction-oxidation (P < 0.05). The removal of organic matter, as well as the improvement of redox conditions in sediment might be effective ways to mitigate the risks of sulfide accumulation and water quality deterioration in grass carp aquaculture ponds.

Key words：sediment；vertical distribution；sulfur reduction-oxidation；functional microorganisms；metagenome；freshwater aquaculture ponds

微生物驱动的硫还原-氧化在维持水生生态系统平衡中起到重要作用[1-2].硫还原主要分为硫酸盐还原和硫代硫酸盐还原[2-3].硫酸盐还原途径是在严格厌氧条件下,由硫酸盐还原菌(SRB)驱动将硫酸盐(SO_4^{2-})通过一系列反应还原为硫化物(HS^-/S^{2-}),分为异化硫酸盐还原和同化硫酸盐还原两种类型[3].其中,异化硫酸盐还原以 SO_4^{2-} 为电子受体,在多种酶催化下生成无机硫化物.具体而言,SO_4^{2-} 在 *sat* 编码的 ATP 硫酸化酶催化下,消耗 ATP 生成腺嘌呤磷酰硫酸盐(APS);APS 在 APS 还原酶(Apr)催化下生成亚硫酸盐(SO_3^{2-});SO_3^{2-} 在异化型亚硫酸盐还原酶(Dsr)催化下生成硫化物[3];同化硫酸盐还原中 APS 首先

收稿日期：2025-08-15
基金项目：国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-45);国家自然科学基金资助项目(32403025);河北省自然科学基金优秀青年基金资助项目(C2023204161);北京市农林科学院青年科学基金资助项目(QNJJ202332)
* 责任作者：陈燕，副研究员，cheny0312@126.com; 潘哲，副教授，lfpanzhe@163.com

被活化为 3′−磷酸腺苷−5′−磷酸硫酸(PAPS),PAPS 被还原为硫化物并与丝氨酸合成半胱氨酸[4].目前,已鉴定到的多数 SRB 隶属于 δ 变性菌纲(Deltaproteobacteria),其次是梭菌纲(Clostridia)[5].硫代硫酸盐还原途径是指厌氧条件下,硫代硫酸盐由 *phsABC* 编码的硫代硫酸盐还原酶(Thiosulfate reductase)催化生成硫化物(HS^-/S^{2-})和亚硫酸盐(SO_3^{2-}).目前,已鉴定到的硫代硫酸盐还原功能菌主要隶属于拟杆菌目(Bacteroidales)、黄杆菌目(Flavobacterriales)和脱硫杆菌目(Desulfobacterales)[6].

硫氧化是指无机硫在硫氧化菌(SOB)驱动下氧化生成硫酸盐[3],主要有硫化物氧化和硫代硫酸盐氧化两种途径.硫化物氧化是在 *sqr* 编码的硫化物醌还原酶(SQR)和 *fccA*/*fccB* 编码的黄素细胞色素 c 硫化氢脱氢酶(FSDH)的催化下,将硫化物(HS^-/S^{2-})催化为单质硫(S^0)[7].硫代硫酸盐氧化由 Sox 多酶复合体催化,将硫代硫酸盐($S_2O_3^{2-}$)氧化为 SO_4^{2-}且不产生中间产物 SO_3^{2-}[8].研究表明,SOB 主要为变形菌门(Proteobacteria)、绿菌门(Chlorobi)和绿弯菌门(Chloroflexi)[2].目前,微生物介导的硫还原−氧化的研究在海洋[9-10]、红树林[11]、湖泊[3]和稻田[12]等生境已形成较完善的理论体系,然而,针对淡水养殖池塘底泥硫还原−氧化关键功能基因及其功能微生物的垂直分布特征与调控机制,仍缺乏系统研究.

草鱼(*Ctenopharyngodon Idella*)是我国传统的大宗淡水鱼类,2023 年产量已达到 594 多万 t,约占淡水养殖产量的 17.4%[13].草鱼养殖池塘产量和经济效益的提升主要依赖于高密度放养和持续饵料输入,来源于残饵、粪便及碎屑等有机物质通过沉降和吸附作用在表层底泥大量积累[14],导致养殖池塘底泥呈现较高的有机负荷,氧化还原条件改变,进而影响相关功能微生物的代谢特征,并形成显著差异的垂直分布特征[15].研究表明,草鱼养殖池塘 0~5cm 表层底泥呈现较高的有机碳含量和较低的氧化还原电位(ORP),表层底泥有机质的积累会消耗大量溶解氧[15],这种持续的耗氧过程导致底泥 ORP 通常降至 −200mV 以下[16].由此形成的富含有机质的厌氧环境,为表层底泥硫酸盐还原菌(SRB)的大量繁殖提供了有利条件[17].研究表明,在缺氧条件下,SRB 催化的异化硫酸盐还原过程是含硫有机物(含硫蛋白质等)矿化的关键[1,3].据 Jørgensen[18]报道,异化硫酸盐还原过程完成了海洋沉积物 50%的含硫有机质矿化.尽管 SRB 在促进含硫有机物矿化过程发挥重要作用,但其代谢产物含有过量的溶解性硫化物(如 S^{2-}、H_2S 和 HS^-),容易造成水质恶化[2].研究发现[19-20],养殖池塘系统水体和底泥普遍存在硫化物污染问题,严重制约了我国水产养殖业的健康发展.另一方面,硫氧化菌 SOB 可以通过直接氧化或间接沉降等过程减少或去除有毒硫化物[21].因此,研究养殖池塘硫还原−氧化功能微生物(特别是 SOB 和 SRB)的垂直分布及其调控机制,有助于为维持硫氧化和还原的动态平衡提供基础数据.

本研究以北方地区典型的草鱼养殖池塘为研究对象,选取无人工养殖干预的自然演替池塘作为对照,通过理化分析和宏基因组学测序技术,分析淡水草鱼养殖池塘参与硫还原−氧化的关键功能基因和微生物群落的垂直分布特征及其环境驱动因素.旨在了解淡水养殖池塘底泥微生物介导的硫还原−氧化,为养殖系统硫化物去除和草鱼池塘养殖的科学管理提供参考.

1　材料与方法

1.1　研究区域与样品采集

于 2023 年在北京市顺义区某养殖场(40°11'N, 116°37'E),选择 3 个草鱼标准池塘(F,平均面积 0.67hm^2;深度 1.6m),草鱼的平均放养密度为 22522kg/hm^2.养殖期间每天按照草鱼体重的 3%进行饲料投喂.饲料来源于通威饲料有限公司(中国,天津),其主要组分为面粉、豆粕、菜粕、棉粕、鱼粉、维生素、矿物元素与氨基酸等(粗蛋白质≥29.0%;粗灰分≤15.0%;粗纤维≤12.0%;水分≤11.0%;粗脂肪≥1.0%;赖氨酸≥0.4%;总磷≥0.3%).选取无人工养殖干预的垂钓池塘(NF, 平均面积 0.60hm^2; 深度 1.6m)作为对照池塘.对照池塘主要放养以浮游生物等天然饵料为食的滤食性和杂食性鱼类,如鲢、鳙和鲤.

在养殖活动高峰期且还原性硫积累问题较为显著的 7 月,沿距池塘中心约 10m 的外周[2],每个草鱼养殖池塘随机选取 2 个采样点,对照池塘随机选取 6 个采样点.采用定制推芯柱状采泥器(直径 5cm)采集 15cm 深的柱状底泥样品.现场严格按照每 5cm 对底泥切割分层,得到 0~5cm、5~10cm 和 10~15cm 分层样品.随后,使用氧化还原电位计(YHBJ−262,

Leimci, China)现场测定底泥分层样品温度和 ORP.各分层样品立即装入自封袋,置于冰盒中运送回实验室.一部分保存于−20°C 冰箱,用于理化因子检测,一部分保存于−80°C 冰箱,用于宏基因组学分析.

1.2 底泥理化性质测定

选取 7 月份取样的底泥样品,60°C 下烘干至恒重,研磨后通过 100 目土壤筛,一部分使用 1mol/L 氯化钾溶液浸提后,参照 Liu 等[15]的方法测定底泥氨氮(NH_4^+)、硝酸盐(NO_3^-)、亚硝酸盐(NO_2^-)和总氮(TN)含量.另一部分在酸化处理后烘干,使用总有机碳 TOC 分析仪(Vario TOC cube, Elementar 公司)测定总有机碳(TOC)含量.

1.3 文库构建与宏基因组测序

通过 Illumina NovaSeq/HiSeq 高通量测序平台,选取 7 月份底泥样品采用鸟枪法(WGS)策略,将总 DNA 随机打断后,进行文库构建和双端测序.采用 fastp 软件对 reads 进行筛查和过滤,以保证后续分析结果的可靠性;质控后的数据采用 Kaiju 方法选取 NCBI kaiju 库对 reads 序列物种分类学注释,将物种注释信息以及注释到该物种的 reads 序列数目进行统计,便可获得各样本在各个分类等级上的物种丰度表.Reads 序列采用 BBCMS(https://sourceforge.net/projects/bbmap/)校正和 MEGAHIT 拼接,完成拼接后,默认保留长度不小于 500bp 的 contigs.基因预测由 Prodigel 软件(https://github.com/hyattpd/Prodigal/)进行,它可以识别拼接后的 Contigs 序列中的开放阅读框(ORF),预测其中的编码区域;采用 CD−HIT 软件以 identity 95%,coverage 90%进行聚类,并选取最长的序列为代表性序列为标准对 ORF 预测结果去冗余;采用 METABOLIC 软件(阈值 e ⩽ 10^{-5})对 contigs 在 KEGG 参考数据库(http://www.genome.jp/kegg/pathway)中检索预测的基因片段进行功能注释.

1.4 网络特性

基于 R 软件的 Hmisc 和 psych 包构建对照池塘和养殖池塘底泥硫还原−氧化功能微生物互作网络.1)筛选相对丰度大于 0.1%、样品检出率大于 4 的物种;2)采用 Spearman 相关系数和 Benjamini & Hochberg 法分别计算相关性 r 值和显著性 P 值;3)选取$|r|>0.8$ 和 $P<0.05$ 的物种生成网络文件;4)基于 Gephi 0.10.1 对微生物互作网络可视化;5)计算拓扑指数以确定硫还原−氧化功能微生物之间的相关性;6)根据节点的模块内连通性(Zi)和模块间连通性(Pi),识别节点的连通性,Zi 和 Pi 阈值分别为 2.5 和 0.62,以确定网络中的基石物种.

1.5 统计分析

统计分析采用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件进行.双因素方差分析(Two−way ANOVA)研究池塘类型和底泥深度及其交互作用对底泥理化性质、基因丰度和 alpha 多样性指数的影响.采用 Duncan 检验和独立样本 T 检验进行多重比较.$P<0.05$ 被认为具有统计学显著性.曼特尔(Mantel)检验确定环境因素与硫还原−氧化基因和物种家族之间的联系.方差分解分析(VPA)确定单一环境因子对硫还原−氧化基因家族特定途径的贡献率.Spearman 分析确定底泥环境因子与硫还原−氧化关键功能基因和微生物多样性的相关性.利用 R 软件(4.3.2 版)的 ggplot2、pheatmap 和 igraph 等软件包、Adobe Illustrator 2023、GraphPad Prism 9.0 和 Gephi 0.10.1 实现统计分析的可视化.

2 结果与分析

2.1 底泥理化性质的垂直分布差异

表 1 不同池塘类型和底泥深度下底泥 NH_4^+、NO_2^-、NO_3^-、TN、TOC 和 ORP 的双因素方差分析(7 月)

Table 1 Two−way ANOVA of sediment NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, TN, TOC and ORP under different pond types and sediment depths (July)

因变量	因素	自由度	均方	显著性
NH_4^+	底泥深度	2	0.298	0.744
	池塘类型	1	194.116	0.000
	底泥深度×池塘	2	0.344	0.711
NO_2^-	底泥深度	2	0.845	0.439
	池塘类型	1	6.689	0.015
	底泥深度×池塘	2	0.027	0.973
NO_3^-	底泥深度	2	5.020	0.013
	池塘类型	1	5.493	0.026
	底泥深度×池塘	2	2.562	0.094
TN	底泥深度	2	25.976	0.000
	池塘类型	1	301.978	0.000
	底泥深度×池塘	2	5.493	0.009
TOC	底泥深度	2	118.663	0.000
	池塘类型	1	952.136	0.000
	底泥深度×池塘	2	2.180	0.131
ORP	底泥深度	2	1.494	0.241
	池塘类型	1	58.107	0.000
	底泥深度×池塘	2	1.478	0.244

底泥 NH_4^+、NO_2^-、NO_3^-、TN、TOC 浓度和 ORP 值的双因素方差分析如表 1 所示.结果表明,底泥 NH_4^+、NO_2^-、NO_3^-、TOC 含量和 ORP 值均不受池塘类型与底泥深度的交互影响(P>0.05).主效应分析显示,草鱼池塘底泥 NH_4^+、TN 和 TOC 含量显著高于对照池塘(P<0.05),而 ORP 值显著低于对照池塘(P<0.05) (表 2).草鱼池塘和对照池塘底泥 TN 和 TOC 含量均随深度的增加而显著降低(P<0.05).对于底泥 NO_3^-浓度,草鱼池塘未观察到显著的垂直变化(P>0.05),而对照池塘底泥 0~5cm 和 10~15cm 分层 NO_3^-浓度显著高于 5~10cm 分层(P<0.05).底泥 NH_4^+、NO_2^-含量和 ORP 值在草鱼池塘和对照池塘均未呈现显著的垂直变化(P>0.5).

表 2　7 月份对照池塘(NF)和草鱼池塘(F)底泥理化性质的多重比较

Table 2　Comparisons of sediment physicochemical properties of control (NF) and the grass carp (F) ponds in July

理化指标	池塘类型	深度(m)		
		0~5	5~10	10~15
NH_4^+(mg/g)	NF	0.55 ± 0.16^{Ba}	0.48 ± 0.09^{Ba}	0.41 ± 0.16^{Ba}
	F	1.50 ± 0.27^{Aa}	1.55 ± 0.32^{Aa}	1.50 ± 0.25^{Aa}
NO_2^-(μg/g)	NF	3.00 ± 1.00^{Aa}	3.00 ± 1.00^{Aa}	3.00 ± 1.00^{Aa}
	F	3.00 ± 0.41^{Aa}	3.00 ± 0.20^{Aa}	3.00 ± 0.32^{Aa}
NO_3^-(mg/g)	NF	0.12 ± 0.04^{Aa}	0.07 ± 0.05^{Ab}	0.19 ± 0.12^{Aa}
	F	0.11 ± 0.04^{Aa}	0.05 ± 0.03^{Aa}	0.08 ± 0.02^{Ba}
TN(mg/g)	NF	1.37 ± 0.19^{Ba}	1.17 ± 0.35^{Ba}	0.42 ± 0.16^{Bb}
	F	3.36 ± 0.49^{Aa}	2.48 ± 0.27^{Ab}	2.50 ± 0.28^{Ab}
TOC(mg/g)	NF	8.01 ± 1.25^{Ba}	2.61 ± 0.26^{Bb}	2.69 ± 0.35^{Bb}
	F	20.15 ± 1.08^{Aa}	14.13 ± 1.34^{Ab}	12.98 ± 1.60^{Ab}
ORP(mV)	NF	-161.2 ± 33.1^{Aa}	-165.0 ± 31.0^{Aa}	-168.1 ± 33.6^{Aa}
	F	-210.5 ± 12.2^{Ba}	-230.2 ± 10.0^{Ba}	-222.3 ± 25.5^{Ba}

注: 结果以平均值±标准差表示;大写字母代表草鱼池塘和对照池塘相同深度的T检验结果;小写字母表示通过Duncan检验对不同底泥深度的草鱼池塘或对照池塘进行多重比较的结果;不同字母表示组间显著性差异在95%的水平上有统计学意义.

2.2　底泥硫还原-氧化功能基因与微生物的垂直分布特征

通过宏基因组测序得到约 7500 万条高质量 reads 和 110 亿有效序列碱基.各样本碱基质量值达到 Q30 以上的比例在 95.7%~97.4%之间.样本组装质量(contigs>500bp)结果表明 N50 值介于 842~1461bp.从预测的宏基因组基因中聚类得到约 714 万个非冗余基因.

宏基因组测序结果显示,草鱼池塘底泥硫还原相关基因中异化硫酸盐还原基因(*sat*、*aprA*、*asrA*)和硫代硫酸盐还原(*phsA*)基因丰度显著高于对照池塘;硫氧化相关基因中硫化物氧化基因(*fccB*、*sqr*)显著低于对照池塘(P<0.05) (图 1),而硫代硫酸盐氧化基因(*soxX*、*soxZ*)在草鱼池塘和对照池塘未观察到显著差异(P>0.05).就垂直分布特征,异化硫酸盐还原(*dsrA* 和 *asrA*)、硫代硫酸盐还原(*phsA*)、硫化物氧化(*fccB*)和硫代硫酸盐氧化(*soxX* 和 *soxZ*)的基因丰度在草鱼池塘和对照池塘均随底泥深度增加而显著降低(P<0.05) (图 1);硫化物氧化基因 *sqr* 丰度在草鱼池塘随深度增加而显著降低(P<0.05),但在对照池塘未观察到显著变化趋势(图 1).而异化硫酸盐还原基因 *sat* 和 *aprA* 丰度在草鱼池塘未观察到显著变化趋势(P>0.05),在对照池塘随深度增加而显著降低(P<0.05)(图 1).在草鱼池塘和对照池塘中,异化硫酸盐还原(*dsrA* 和 *asrA*)菌属主要为 α 变形菌纲(Deltaproteobacteria)的 g_*NA*_c_Deltaproteobacteria 和 β 变形菌纲(Betaproteobacteria)的 g_*NA*_c_Betaproteobacteria,硫代硫酸盐还原(*phsA*)菌属主要为 β 变形菌纲的 g_*Calidifontimicrobium*;硫化物氧化(*fccB*,*sqr*)菌属主要为 β 变形菌纲的 g_*Thiobacillus* 和 γ 变形菌纲(Gammaproteobacteria)的 g_*NA*_c_Gammaproteobacteria 和 g_*Sulfurivermis* 以及 Hydrogenophilalia 纲的 g_*NA*_o_Hydrogenophilales,硫代硫酸盐氧化(*soxX*/*Z*)菌属主要为 γ 变形菌纲的 g_*Thioalkalivibrio* 和 Hydrogenophilalia 纲的 g_*NA*_o_Hydrogenophilales (图 2).其中,草鱼池塘异化硫酸盐还原(*asrA*)优势菌属 g_*NA*_c_Deltaproteobacteria 丰度显著高于对照池塘,硫代硫酸盐还原(*phsA*)优势菌属丰度在草鱼池塘和对照池塘之间未观察到显著差异(P>0.05) (图 2);草鱼池塘底泥硫化物氧化(*fccB*)和硫代硫酸盐氧化(*soxX*/*Z*)优势菌属 g_*Thiobacillus*、g_*Thioalkalivibrio* 和 g_*NA*_o_Hydrogenophilales 丰度显著低于对照池塘(P<0.05).异化硫酸盐还原途径(*dsrA*, *asrA*)的优势菌属 g_*NA*_c_Betaproteobacteria 和 g_*NA*_c_Deltaproteobacteria,硫化物氧化途径(*fccB*, *sqr*)的优势菌属 g_*Thiobacillus* 和 g_*NA*_c_Gammaproteobacteria,硫代硫酸盐氧化途径(*soxX*,*soxZ*)的优势菌属 g_*Thioalkalivibrio* 和 g_*NA*_o_Hydrogenophilales 与硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)的优势菌属 g_

Calidifontimicrobium 丰度在草鱼池塘和对照池塘均呈现随深度增加而显著降低的趋势(P<0.05)(图 2).

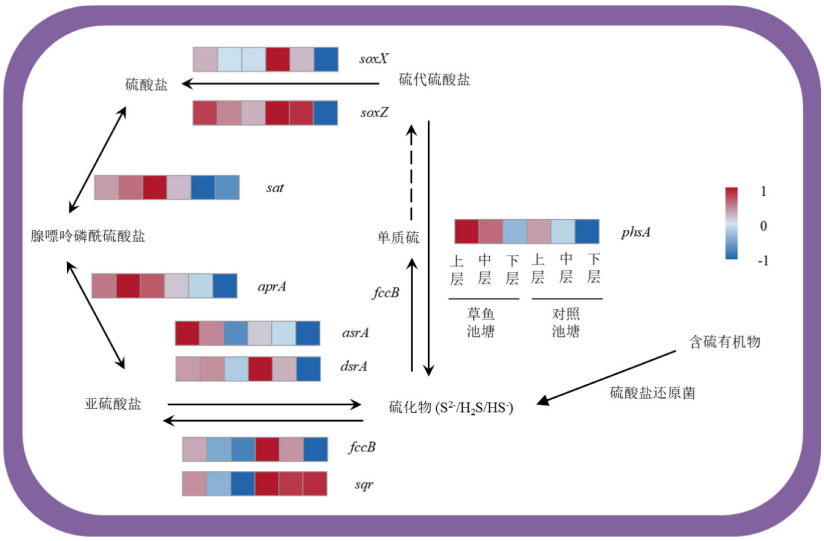


图 1 草鱼池塘和对照池塘底泥硫还原-氧化示意图和涉及的关键基因垂直分布特征

Fig.1 Schematic view of sulfur reduction-oxidation and vertical distribution characteristics of the essential genes involved in the grass carp and control ponds sediments

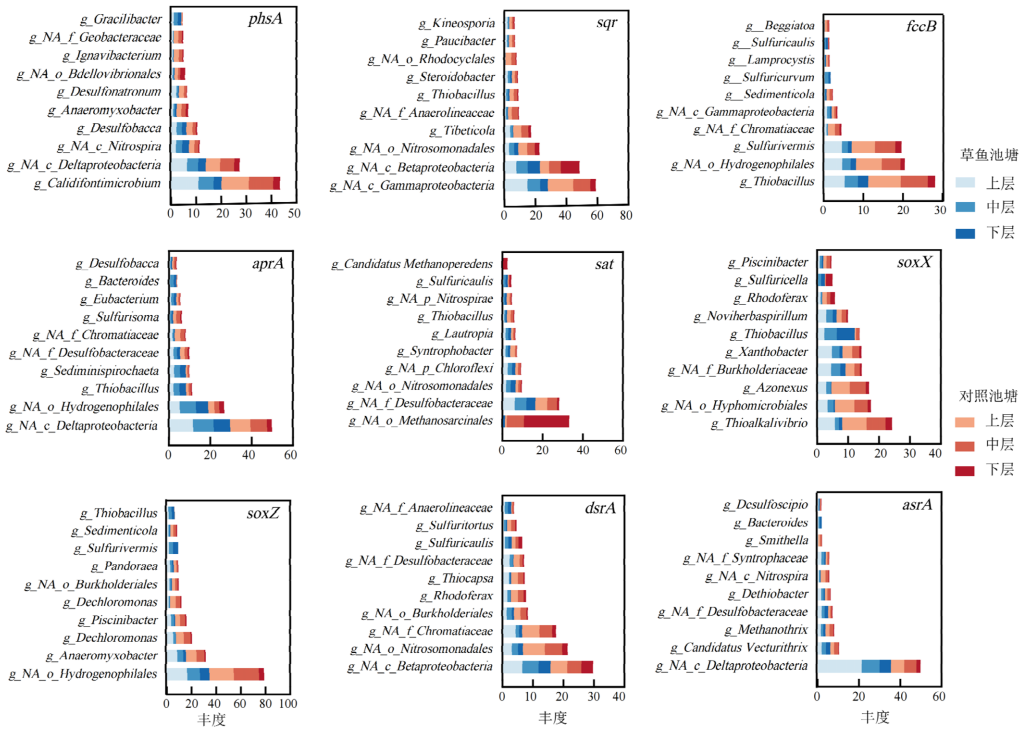


图 2 草鱼池塘和对照池塘硫还原-氧化关键基因家族优势菌属丰度(top10)

Fig.2 The abundances for the dominant genera (top10) of the grass carp and control ponds involved in sulfur reduction-oxidation key gene families

2.3 硫还原-氧化功能微生物组成、多样性和共现网络分析

硫还原-氧化功能微生物在门水平上群落组成结果显示,草鱼池塘和对照池塘占比最高的前 3 个菌门均为变形菌门(Proteobacteria;F,68.94%;NF,68.29%)、绿弯菌门(Chloroflexi;F,9.84%;NF,10.14%)和酸杆菌门(Acidobacteria;F,3.70%;NF,3.52%).

表 3　不同池塘类型和底泥深度下底泥硫还原-氧化物种水平丰度的 α-多样性指数的双因素方差分析

Table 3　Two-way ANOVA of sediment species-level α-diversity indices of sulfur reduction-oxidation under different pond types and sediment depths

因变量	因素	自由度	均方	显著性
Shannon	底泥深度	2	0.344	0.712
	池塘类型	1	0.198	0.659
	底泥深度×池塘	2	6.438	0.005
Richness	底泥深度	2	2.267	0.121
	池塘类型	1	0.050	0.824
	底泥深度×池塘	2	6.979	0.003
Chao1	底泥深度	2	10.322	0.000
	池塘类型	1	2.607	0.117
	底泥深度×池塘	2	5.438	0.010

如表 3 所示,底泥硫还原-氧化物种水平丰度的 Shannon、Richness 和 Chao1 指数均受池塘类型和底泥深度的交互影响(P<0.05).主效应分析显示,草鱼池塘底泥 10~15cm 层 Shannon、Richness 和 Chao1 指数显著低于对照池塘.在垂直剖面上,草鱼池塘未观察到 Shannon、Richness 和 Chao1 指数的显著变化;而在对照池塘,Shannon、Richness 和 Chao1 指数随底泥深度的增加而显著增加(表 4).

表 4　草鱼池塘 (F) 和对照 (NF) 池塘硫还原-氧化物种水平的 α-多样性指数比较

Table 4　The comparisons of species-level α-diversity indices of the sulfur reduction-oxidation in the grass carp (F) and control (NF) ponds

指数	池塘	深度(cm)		
		0~5	5~10	10~15
Shannon	NF	4.76 ± 0.08^{Ab}	4.78 ± 0.05^{Bb}	4.95 ± 0.05^{Aa}
	F	4.82 ± 0.05^{Aa}	4.92 ± 0.08^{Aa}	4.80 ± 0.09^{Ba}
Richness	NF	440.0 ± 40.3^{Ab}	445.8 ± 16.5^{Bb}	488.5 ± 22.5^{Aa}
	F	453.5 ± 23.2^{Aa}	479.2 ± 18.6^{Aa}	447.3 ± 23.4^{Ba}
Chao1	NF	958.9 ± 146.2^{Ac}	1264.6 ± 236.5^{Ab}	1628.6 ± 323.9^{Aa}
	F	1096.3 ± 117.2^{Aa}	1208.3 ± 146.2^{Aa}	1207.5 ± 221.2^{Ba}

注:结果以平均值±标准差表示;大写字母代表草鱼池塘和对照池塘相同深度的T检验结果;小写字母表示通过Duncan检验对不同底泥深度的草鱼池塘或对照池塘进行多重比较的结果;不同字母表示组间显著性差异在95%的水平上有统计学意义.

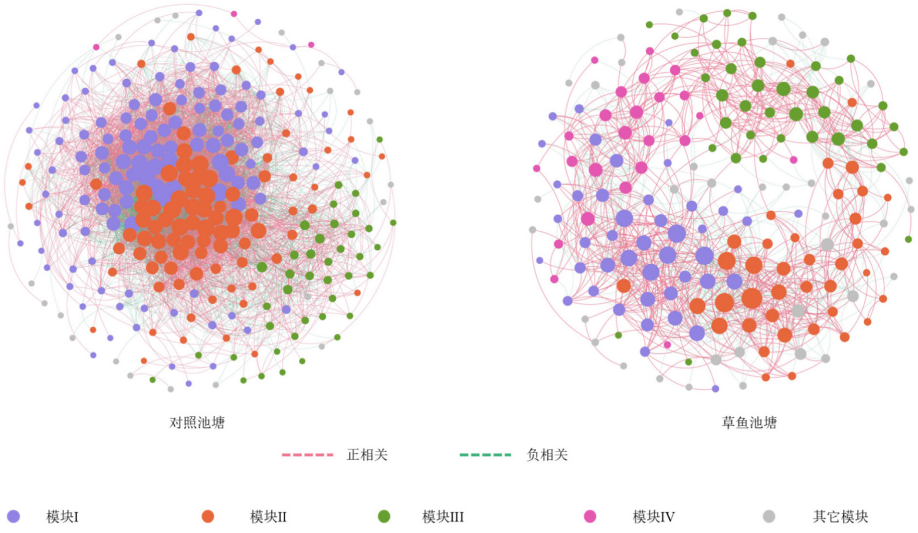


图 3　草鱼池塘(F)和对照池塘(NF)底泥硫还原-氧化微生物网络分析

Fig.3　Network analysis of the microbes related to the sulfur reduction-oxidation in the grass carp (F) and control (NF) pond sediments

点的颜色表示不同的模块,点的大小表示网络的连通性;边的颜色表示节点之间的相关性,粉色表示正相关和绿色表示负相关

如图 3 和表 5 所示,与对照池塘网络相比,草鱼池塘网络的连接数更少,节点平均度和平均聚类系数更低以及模块化程度更高.草鱼池塘中正连接和负连接分别占 64.6%和 35.4%;而对照池塘中正连接和负连接分别占 57.7%和 42.3%.*Zi-Pi* 分析结果显示(图 4),在草鱼池塘发现了 1 个 connector(s_*NA*_p_Nitrospirae)和 3 个 module hubs(s_ *Solirubrobacterales bacterium 70-9*、s_*NA*_f_*Burkholderiaceae* 和 s_*NA*_g_*Pandoraea*).而在对照池塘发现了 68 个 connectors (*Proteobacteria*,97.1%): s_*Desulfatirhabdium butyrativorans* 、 s_*Desulfobulbus* sp. *Tol-SR* 、 s_*Sulfuricaulis limicola*、s_*Sulfurifustis variabilis*、

s_*Sulfurivermis fontis*、s_*Thioalkalivibrio paradoxus*、s_*Thiobacillus sp. 65-1402*、s_*Azonexus hydrophilus* 和 s_*Syntrophobacter fumaroxidans* 等.草鱼池塘硫还原-氧化关键功能基因优势菌属下的物种以及核心物种之间未观察到的协同或竞争关系,而对照池塘硫还原-氧化关键功能基因优势菌属下的物种以及核心物种中,s_*Thiobacillus sp. 65-1402* 与 s_*Desulfatirhabdium butyrativorans*、s_*Desulfobulbus sp. Tol-SR*、s_*Sulfuricaulis limicola*、s_*Sulfurifustis variabilis*、s_*Sulfurivermis fontis*、s_*Thioalkalivibrio paradoxus* 和 s_*Azonexus hydrophilus* 之间呈现正相关,与 s_*Syntrophobacter fumaroxidans* 呈现负相关.

表 5 草鱼池塘 (F) 和对照池塘 (NF) 底泥硫还原-氧化微生物互作网络的拓扑指数

Table 5 Topological index of microbial interactions network between sulfur reduction-oxidation in the grass carp (F) and control (NF) pond sediments

拓扑指数	F	NF
总连接数	1138	5676
正连接(%)	64.6	57.7
负连接(%)	35.4	42.3
总节点数	182	278
模块化	0.69	0.52
平均度	12.5	40.8
平均聚类系数	0.54	0.58
平均路径长度	3.32	2.29

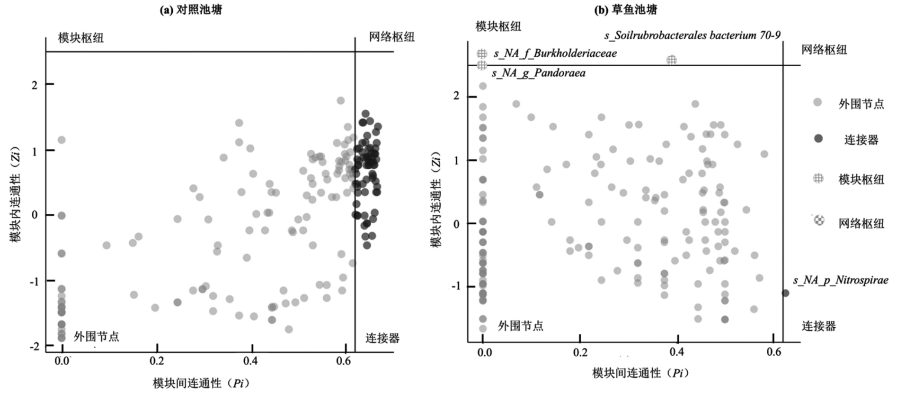


图 4 *Zi-Pi* 分析

Fig.4 *Zi-Pi* analysis

2.4 环境因子与硫还原-氧化功能基因、物种家族、微生物多样性相关性

表 6 对照池塘(NF)和草鱼池塘(F)中底泥环境因子与硫还原-氧化基因和微生物家族之间的相关性

Table 6 Correlations between sediment environmental factors and sulfur reduction-oxidation genes and microbial families in control (NF) and the grass carp (F) ponds

家族	环境因素	基因家族	物种家族
硫	NH_4^+	P	P
	NO_2^-	P	P
	NO_3^-	P	P
	TN	P	P
	TOC	P	P
	ORP	P	P
	深度	N	N

注:P,正相关;N,负相关.

基于硫还原-氧化基因和物种家族分别对环境因子进行 Mantel 检验,并通过 VPA 计算各环境因子对硫还原-氧化特定途径基因丰度的贡献率.结果显示,TN 是影响硫还原-氧化基因以及微生物群落的主导因素(图 5(a,b)),其次是 ORP、底泥深度、NH_4^+ 和 TOC.除深度外,以上理化因子与硫还原-氧化相关功能基因和物种家族丰度均呈正相关(表 6).异化硫酸盐还原受深度(22.5%)和 ORP(19.8%)的影响最大,硫代硫酸盐氧化过程受深度(27.2%)和 TN(20.9%)的影响最大,深度对硫化物氧化(34.7%)和硫代硫酸盐还原(42.3%)途径的贡献最大(图 5(c)).

如图 6 所示,与对照池塘相比,草鱼池塘底泥硫还原-氧化关键功能基因间的相关性更低.在草鱼池塘中,TN 与硫化物氧化途径(*fccB*)、硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)之间呈显著正相关($P<0.05$).TOC 与硫化物氧化途径(*sqr*)、硫代硫酸盐氧化途径(*soxZ*)和硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)之间呈显著正相关($P<0.05$),与 Chao1 指数之间呈现显著负相关($P<0.05$).NH_4^+ 与 Chao1 指数之间呈现显著负相关.底泥深度与硫化物氧化途径(*sqr* 和 *fccB*)、硫代硫酸盐氧化途径(*soxZ*)和硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)之间呈显著负相关

(P<0.05) (图 6(b)).在对照池塘中,TN 与异化硫酸盐还原途径(*drsA*、*asrA*)、硫化物氧化途径(*fccB*)和硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)之间呈现显著正相关(P<0.05),与 Chao1 和 Richness 指数之间呈现显著负相关(P<0.05).TOC 与 Chao1 指数之间呈现显著负相关(P<0.05).底泥深度与异化硫酸盐还原途径(*aprA*、*dsrA* 和 *asrA*)、硫化物氧化途径(*fccB*)、硫代硫酸盐氧化途径(*soxX*/*Z*)和硫代硫酸盐还原途径(*phsA*)之间呈显著负相关(P<0.05),与 Chao1 和 Richness 指数之间呈现显著正相关(P<0.05) (图 6(a)).

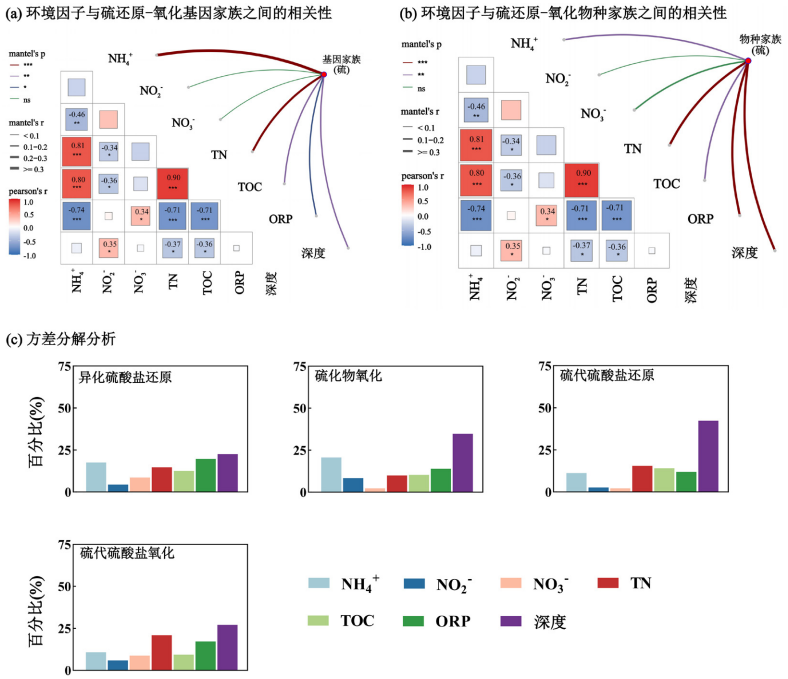


图 5　底泥环境因子与硫还原-氧化基因和微生物家族之间的关系

Fig.5　Relationships between sediment environmental factors and sulfur reduction−oxidation gene and microbial families

Mantel 检验显示环境因子和硫还原-氧化(a)基因或(b)物种家族之间的相关性;(c)采用方差分解分析(VPA)计算单个环境因子对特定硫还原-氧化代谢途径的贡献率

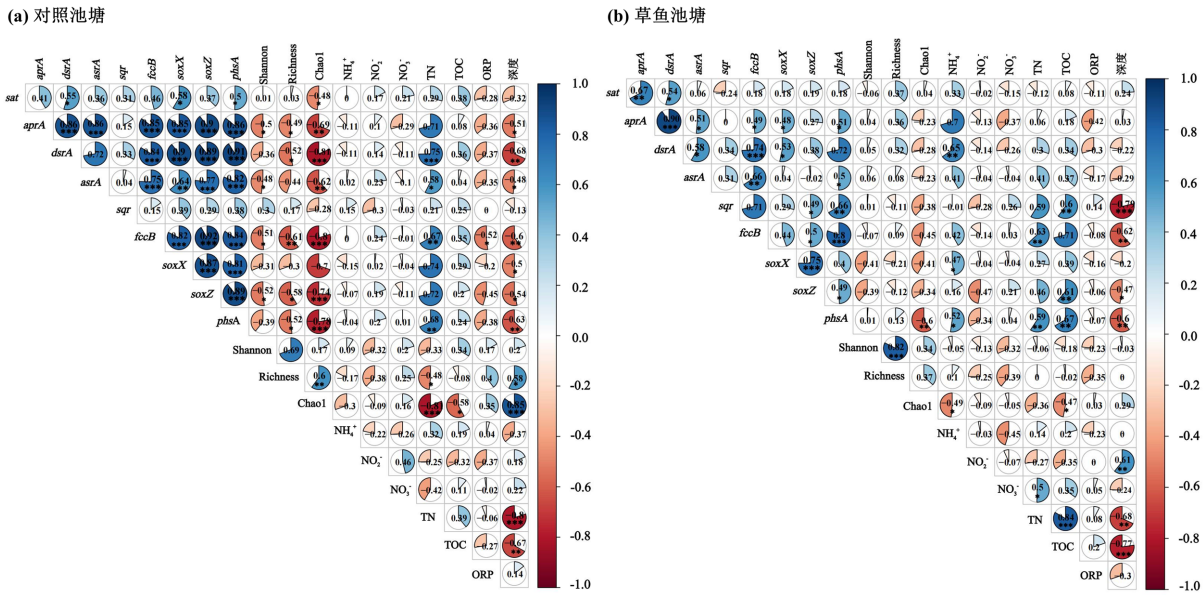


图 6　底泥环境因子与硫还原-氧化关键基因丰度和微生物多样性之间的相关性分析

Fig.6　Correlations between sediment environmental factors and the abundance of key gene and microbial diversity involved in sulfur reduction−oxidation

Spearman 分析揭示了参与硫还原-氧化的关键基因与底泥环境因子之间的相关性;***, P < 0.001; **, 0.001 < P < 0.01; *, 0.01< P < 0.05

3 讨论

本研究结果显示,与对照池塘相比,草鱼池塘底泥硫还原基因(*sat*、*aprA*、*asrA*、*phsA*)丰度显著升高,而硫氧化基因(*fccB*、*sqr*)丰度显著降低(图 1 和图 2).草鱼池塘底泥环境具有更强的硫还原潜力,而硫氧化可能受到抑制[1].草鱼池塘和对照池塘底泥硫还原-氧化相关微生物群落组成均以δ变形菌纲和β变形菌为主, 这与之前高通量测序检测的草鱼养殖池塘底泥研究结果相似[1].以往研究表明,硫还原-氧化功能微生物群落组成主要受底物浓度和氧化还原条件等因素驱动[11-12].与对照池塘相比,草鱼池塘底泥与异化硫酸盐还原相关的优势菌属(携带 *asrA* 基因)丰度显著升高,与硫氧化相关(携带 *fccB*、*soxX*/*Z* 基因)的优势菌属丰度显著降低(图 2).Mantel 和 VPA 分析结果显示,TN、ORP、NH_4^+和 TOC 是影响硫还原-氧化基因以及微生物群落的重要因素.首先,残饵和粪便的积累导致池塘底泥 TN 和 TOC 含量显著增加(表 2).这为硫还原功能基因与功能菌群提供了丰富的碳、氮源,从而促进相关菌群生长和功能基因丰度水平[2,22].其次,养殖池塘底泥 ORP 的降低进一步为硫还原功能菌群富集提供了有利的条件,但不利于携带硫化物氧化功能基因(*fccB* 和 *sqr*)的优势菌属 *Thiobacillus* 的生存和代谢[1,3].第三,与对照池塘相比,草鱼池塘底泥 NH_4^+ 含量显著升高.据报道,硫酸盐还原菌(SRB)可利用 NH_4^+ 合成氨基酸等含氮有机物, NH_4^+ 作为氮营养源通过同化作用支持 SRB 的生长和增殖[23];NH_4^+还可作为电子供体促进底泥硫酸盐还原[24].这不仅为 SRB 生长提供充足的氮营养源,还为硫酸盐还原的发生提供了充足的电子供体[23-24].草鱼池塘底泥呈现出高营养负荷和低溶解氧的特征,不仅为 SRB 提供充足的代谢底物,还通过微生物分解活动持续释放电子和还原性物质,进一步增强了草鱼池塘底泥还原性,促进严格厌氧 SRB 的大量繁殖[15,17],但较低的氧化还原电位(−230.2~−210.5mv)可能会抑制硫化物氧化菌的活性,导致更高浓度毒害物质(H_2S)的积累[2],进而引起溶解性硫化物(S^{2-}、H_2S 和 HS^-)发生迁移扩散,增加水质恶化的风险[9].对照池塘底泥的 SRB 利用有限的底物促进硫化物的产生,但其较低的有机负荷避免了底泥严重氧债的形成,使得硫化物氧化过程在底泥-水界面/表层底泥发生[3,17].

垂直分布特征,草鱼池塘和对照池塘异化硫酸盐还原基因(*dsrA*、*asrA*)、硫化物氧化基因(*fccB*)、硫代硫酸盐还原(*phsA*)和氧化(*soxX*、*soxZ*)基因及其优势菌属丰度均呈现出随深度增加而显著降低的趋势(图 1 和图 2),异化硫酸盐还原和硫化物氧化以及硫代硫酸盐还原和氧化相关的功能微生物主要富集于表层底泥,这表明养殖池塘表层底泥可能是发生硫还原和氧化的主要界面[2].其中,异化硫酸盐还原、硫代硫酸盐还原和氧化的功能微生物以δ变形菌纲(Deltaproteobacteria)为主,其丰度随深度显著降低(图 2).Deltaproteobacteria 在稻田[12],红树林[11],湖泊[25]和养殖池塘[1]等多种生境的表层沉积物显著富集,并具有硫酸盐还原、硫代硫酸盐还原和氧化能力.硫化物氧化功能微生物主要以δ变形菌纲为主导,β变形菌纲及其主导成员硫杆菌属(*Thiobacillus*)均呈现随深度增加而显著降低的分布趋势(图 2).硫杆菌属隶属于嗜氢科(*Hydrogenophilaceae*),喜好微厌氧环境,是被报道最多的硫化物氧化功能菌属[26-27].高有机负荷条件会促使隶属于δ变形菌纲和β变形菌纲的硫还原-氧化功能菌群富集,且这一现象在硫还原菌中更为显著[28].这类硫还原菌多为化能异养菌[28].本研究中,草鱼池塘与对照池塘底泥 TN 与 TOC 含量均沿深度显著降低(表 2).池塘底泥表层积累的碳、氮源为硫还原-氧化功能菌群提供了充足的代谢底物,促进功能菌群的富集与代谢活动,从而影响硫还原-氧化的发生[1-2,11-12].这与草鱼池塘和对照池塘底泥中 TN 和 TOC 与硫还原-氧化功能基因之间的相关性分析结果一致(图 6).

值得注意的是,草鱼池塘 α-多样性指数在垂直剖面上均未呈现显著变化趋势,而对照池塘则随深度增加而显著增加.并且,草鱼池塘底泥 10~15cm 层 α-多样性指数显著低于对照池塘.对照池塘 Chao1 指数与 TN 和 TOC 之间呈现显著负相关,与深度之间呈现显著正相关;Richness 指数与 TN 之间呈现显著负相关,与深度之间呈现显著正相关(图 6).这些差异可能是由于对照池塘深层底泥的资源限制驱动了硫还原-氧化功能微生物之间的协同互作[25].

相关性分析显示,与对照池塘相比,草鱼池塘底泥参与硫还原-氧化的关键功能基因之间的相关性更弱(图 6).网络分析表明,与对照池塘相比,草鱼池塘

的微生物互作网络的平均度(12.5)、节点(182)和连接(1138)的数量更低,而模块化(0.69)和平均路径长度(3.32)更高(表 5),其中,平均度代表微生物群落的活跃程度,模块化代表网络中不同模块的分离程度,平均路径长度代表各节点的分离程度,反映网络结构连接的紧密性.草鱼池塘更低的平均度和更高的模块化和平均路径长度表明其微生物群落活跃性更低,微生物群落间分离程度更高,即网络复杂性更低[29](图 3).

网络分析表明,草鱼池塘底泥硫还原-氧化功能微生物间网络呈现较低的节点数和连接数,微生物群落间的互作性显著降低.同时,草鱼养殖池塘的微生物互作网络模块化更高.模块化是微生物群落中不同微生物群体之间通过特定的相互作用,形成内部联系紧密的功能模块的现象[30].较高的模块化表明草鱼池塘底泥功能/生态相似的微生物组成的模块形成相对独立的单元[29].*Zi-Pi* 分析进一步表明,在对照池塘核心物种附属的优势菌属中,硫酸盐还原菌 *Desulfobulbus* 与硫氧化细菌 *Thiobacillus*、*Thioalkalivibrio*、*Sulfuricaulis*、*Sulfurifustis* 呈现种间互促关系,但该互作关系在草鱼池塘未观察到.以上微生物间的互作变化可能与池塘底泥的环境压力密切相关[15].草鱼池塘大量残饵和粪便沉积在底泥,促使异养微生物增殖并消耗大量的氧气,形成“氧债”[15].在有机质富集和低 ORP 条件下,硫还原菌占据有利生态位,破坏硫还原菌和硫氧化菌间的平衡关系[31].此外,在低氧环境下,微生物群落通常转向能量产生效率较低的代谢途径,如厌氧呼吸(如硫还原)和发酵作用[1,15,32].池塘底泥环境压力的增加、硫还原菌和硫氧化菌间平衡的破坏以及代谢途径的改变可能是导致硫还原-氧化功能基因和微生物网络互作性降低的重要原因[1,11,15,31-32].

由于与硫相关的理化指标检测存在技术阻碍,本研究缺乏硫酸盐和硫化氢等与硫有关的理化指标的数据.尽管如此,Mantel 检验和 VPA 结果显示,有机物质(TN,TOC)、ORP 和营养盐(NH_4^+)与硫还原-氧化功能基因呈现显著的相关性(图 5),表明这些因素对影响底泥硫还原-氧化功能微生物群落结构具有重要作用.

4　结论

4.1　与对照池塘相比,草鱼池塘底泥硫还原基因(*sat*、*aprA*、*asrA*、*phsA*)丰度显著升高,而硫氧化基因(*fccB*、*sqr*)丰度显著降低(P<0.05).同时,草鱼池塘底泥与异化硫酸盐还原相关的优势菌属(携带 *asrA* 基因)丰度显著升高,与硫氧化相关的优势菌属(携带 *fccB*、*soxX*/*Z* 基因)丰度显著降低(P<0.05).

4.2　草鱼池塘和对照池塘异化硫酸盐还原基因(*dsrA*、*asrA*)、硫化物氧化基因(*fccB*)、硫代硫酸盐还原(*phsA*)和氧化(*soxX*、*soxZ*)基因及其优势菌属丰度均呈现出随深度增加而显著降低的趋势(P<0.05).

4.3　网络分析发现草鱼池塘硫还原-氧化功能菌群间互作减少.

4.4　Mantel 检验发现 TN、ORP、NH_4^+ 和 TOC 与硫还原-氧化基因及其微生物群落呈显著正相关(P<0.05).

4.5　通过去除底泥有机质与改善氧化还原条件,可能是降低草鱼养殖池塘硫化物积累和水质恶化潜在风险的有效途径.

参考文献：

[1] Zhang K K, Zheng X F, He Z L, et al. Fish growth enhances microbial sulfur cycling in aquaculture pond sediments [J]. Microbial Biotechnology, 2020,13(5):1597-1610.

[2] 邹松保,高　强,程海华,等.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 S B, Gao Q, Cheng H H, et al. 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.

[3] 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 J S, Yang J, Jiang H C. Research progress on microbes involved in lacustrine sulfur cycling [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020,60(6):1177-1191.

[4] 庞安冉,张晓丹,刘　淼,等.不同pH值条件下硫酸盐还原菌组成及硫酸盐还原机制分析 [J]. 微生物学报, 2024,64(4):1081-1094.
Pang A R, Zhang X D, Liu M, et al. Dominant sulfate-reducing bacteria at different pH and mechanism of sulfate reduction [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024,64(4):1081-1094.

[5] Muyzer G, Stams A J M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008,6(6):441-454.

[6] 周　磊,赵泽龙,关晓燕,等.斑节对虾混养池塘微生物群落生态功能初探 [J]. 水产科学, 2023,42(6):921-932.
Zhou L, Zhao Z L, Guan X Y, et al. Ecological functions of microbial communities in tiger shrimp *Penaeus monodon* polyculture ponds [J]. Fisheries science, 2023,42(6):921-932.

[7] Frigaard N, Dahl C. Sulfur metabolism in phototrophic sulfur bacteria [J]. Advances in Microbial Physiology, 2008,54:103-200.

[8] Ghosh W. *Tetrathiobacter kashmirensis* gen. nov., sp. nov., a novel mesophilic, neutrophilic, tetrathionate-oxidizing, facultatively chemolithotrophic betaprote obacterium isolated from soil from a temperate orchard in Jammu and Kashmir, India [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005,55(5): 1779-1787.

[9] 赵阳国,汤海松,周弋铃,等.海水养殖生境中硫化物污染及控制技术研究进展 [J]. 中国海洋大学学报:自然科学版, 2020,50(3):37-43.
Zhao Y G, Tang H S, Zhou Y L, et al. Research progress of sulfide pollution and control technology in mariculture habitat [J]. Periodical of Ocean University of China (Natural Science Edition), 2020,50(3):37-43.

[10] Yu X, Hu R, Tao M, et al. Microbially driven sulfur cycling in the river–wetland–ocean continuum [J]. Ocean-Land-Atmosphere Research, 2023,2:0027.

[11] Qian L, Yu X L, Gu H, et al. Vertically stratified methane, nitrogen and sulphur cycling and coupling mechanisms in mangrove sediment microbiomes [J]. Microbiome, 2023,11.

[12] 李致同.我国几种主要土壤中微生物硫循环代谢途径特征及硫循环功能微生物群落结构 [D]. 重庆:西南大学, 2023.
Li Z T. Characteristics of sulfur cycle metabolic pathways and microbial community structure of sulfur cycle function in several major soils in China [D]. Chongqing: Southwest University, 2023.

[13] 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 2024 [M]. 北京:中国农业出版社, 2024:24-25.
Fisheries and Fishery Administration Bureau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook 2024 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2024:24-25.

[14] Jasmin M Y, Syukri F, Kamarudin M S, et al. Potential of bioremediation in treating aquaculture sludge: Review article [J]. Aquaculture, 2020,519:734-905.

[15] Liu H D, Pan Z, Bai Y C et al. Methanogens dominate methanotrophs and act as a methane source in aquaculture pond sediments [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2024,288.

[16] Sun J, Yu L, Yang X, et al. Sediment oxygen uptake and hypoxia in coastal oceans, the Pearl River Estuary region [J]. Water Research, 2024,267:122499.

[17] Yu T, Zhang Y, Wu F C, et al. Six-decade change in water chemistry of large freshwater lake Taihu, China [J]. Environmental Science & Technology, 2013,47(16):9093-9101.

[18] Jørgensen B B. Mineralization of organic matter in the sea bed-the role of sulphate reduction [J]. Nature, 1982,296(5858):643–645.

[19] 陈 敏.胶州湾养殖区硫酸盐还原菌的群落结构与功能特征研究 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2013.
Chen M. The community structure and functional characteristics of sulfate-reducing bacteria in Jiaozhou Bay [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.

[20] 王宗兴,孙丕喜,刘彩霞,等.桑沟湾大型底栖动物生物多样性研究 [J]. 中国海洋大学学报:自然科学版, 2011,41(S2):79–84.
Wang Z X, Sun P X, Liu C X, et al. The species diversity of macrobenthic fauna in Sanggou Bay, China [J]. Periodical of Ocean University of China (Natural Science Edition), 2011,41(S2):79–84.

[21] 张 宏,李颖杰,王文颖,等.微生物硫循环网络的研究进展 [J]. 微生物学报, 2021,61(6):1567-1581.
Zhang H, Li Y J, Wang W Y, et al. Research progress of the microbial sulfur-cycling network [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021,61(6): 1567-1581.

[22] 曹佳敏.城市化对环太湖湿地硫循环关键功能基因的影响 [D]. 长沙:中南林业科技大学, 2025.
Cao J M. Effects of urbanization on key functional genes of sulfur cycling in circum-Taihu Lake wetlands [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2025.

[23] Darnajoux R, Inomura K, Zhang X N, et al. A diazotrophy-ammoniotrophy dual growth model for the sulfate reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* var. Hildenborough [J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2023,21:3136-3148.

[24] Liu L Y, Xie G J, Xing D F, et al. Sulfate dependent ammonium oxidation: A microbial process linked nitrogen with sulfur cycle and potential application [J]. Environmental Research, 2021,192:110282.

[25] 叶文瑾.太湖富营养化水体和底泥中微生物群落的分子生态学研究 [D]. 上海:上海交通大学, 2009.
Ye W J. Molecular ecology research on microbial community in the water and sediment of eutrophic lake Taihu [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2009.

[26] Alcántara S, Velasco A, Muñoz A, et al. Hydrogen sulfide oxidation by a microbial consortium in a recirculation reactor system: sulfur formation under oxygen limitation and removal of phenols [J]. Environmental Science & Technology, 2004,38(3):918-923.

[27] Ravichandra P, Ramakrishna M, Gangagni R A. Sulfide oxidation in a batch fluidized bed bioreactor using immobilized cells of isolated thiobacillus sp. (iict-sob-dairy-201) as biocatalyst [J]. Journal of Engineering Science & Technology, 2006,1(1):21-30.

[28] Li J W, Sui Q W, Zuo F M, et al. Insight into nitrogen removal through sulfate reducing anaerobic ammonia oxidation coupled with sulfur cycle: A comparative study on inorganic and organic conditions [J]. Journal of Environmental Management, 2025,373:123566.

[29] 尚耘旭,古雄杰,余 红,等.微塑料对土壤微生物群落结构影响及共生网络分析 [J]. 环境工程技术学报, 2024,14(3):719-731.
Shang Y X, Gu X J, Yu H, et al. Effects of microplastics on soil microbial community structure and symbiotic network analysis [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2024,14(3):719-731.

[30] Peng X, Wang S, Wang M X, et al. Metabolic interdependencies in thermophilic communities are revealed using co-occurrence and complementarity networks [J]. Nature communications, 2024,15:8166.

[31] Zhou L J, Dong N, Fu M, et al. Dissimilatory sulfate reduction in an anaerobic biofilm reactor for tofu processing wastewater treatment: Bacterial community and their functional genes [J]. Science of The Total Environment, 2023,892:164579.

[32] Cheng C, Sun T, Li H, et al. New insights in correlating greenhouse gas emissions and microbial carbon and nitrogen transformations in wetland sediments based on genomic and functional analysis [J]. Journal of Environmental Management, 2021,297:113280.

作者简介：吴兆星(2001-),男,河北邯郸人,河北农业大学硕士研究生,主要从事水产养殖生态学研究.发表论文 5 篇.zhaoxing_wu@163.com.