



广西北部湾茅尾海浮游真菌群落结构及其影响因子

杨恕¹, 廖能健³, 黄海锋¹, 覃欣怡¹, 黄炯清⁴, 赵华显¹, 姜官凌侠^{1,2}, 李楠^{1,2*}

1 南宁师范大学 北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室, 广西 南宁 530001

2 广东海洋大学海洋与气象学院, 广东 湛江 524088

3 桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西 桂林 541004

4 鲁东大学农学院, 山东 烟台 264025

杨恕, 廖能健, 黄海锋, 覃欣怡, 黄炯清, 赵华显, 姜官凌侠, 李楠. 广西北部湾茅尾海浮游真菌群落结构及其影响因子[J]. 微生物学报, 2023, 63(11): 4399-4413.

YANG Shu, LIAO Nengjian, HUANG Haifeng, QIN Xinyi, HUANG Jiongqing, ZHAO Huaxian, JIANG Gonglingxia, LI Nan. Mycoplankton community structure and its influencing factors in the Maowei Sea of the Beibu Gulf, Guangxi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(11): 4399-4413.

摘要: 浮游真菌在海洋食物网和生物地球化学循环中发挥着关键作用。【目的】为解析广西北部湾茅尾海不同季节浮游真菌群落结构及其关键环境影响因子,于2017年7月(夏季)、9月(秋季)、12月(冬季)和2018年3月(春季)期间在该海域设置7个站点,采集表层海水样品。【方法】利用内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因高通量测序技术,分析茅尾海浮游真菌群落结构与多样性。【结果】茅尾海海域浮游真菌隶属6个门、26个纲、71个目、167个科、282个属和374个种。主要浮游真菌类群为子囊菌门(*Ascomycota*, 82.14%)和担子菌门(*Basidiomycota*, 10.74%),共占浮游真菌总丰度的92.88%。茅尾海浮游真菌群落 Shannon 指数和 Simpson 指数在春季最高,Chao1 指数和丰富度(richness)指数在冬季最高。主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)和相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)结果显示,不同季节浮游真菌群落的 β 多样性具有极显著差异($R=0.5912$, $P<0.001$)。通过随机森林模型分析(random forest modeling analysis, RF),发现黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、二色胶孔菌(*Gloeoporus dichrous*)、杂色曲霉(*Aspergillus subversicolor*)和微扁沃利雅炭皮菌(*Whalleya microplaca*)、翘鳞香菇(*Lentinus squarrosulus*)等20种海洋浮游真菌对环境变化敏感,可用于评估茅尾海富营养化状况。Spearman 相关性分析表明,浮

资助项目: 国家自然科学基金(41966005); 广西壮族自治区自然科学基金(2022GXNSFBA035591); 南宁师范大学北部湾环境变化与资源利用教育部重点实验室开放基金(NNNU-KLOP-X1914)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (41966005), the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region (2022GXNSFBA035591), and the Opening Foundation of Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf, Ministry of Education, Nanning Normal University (NNNU-KLOP-X1914).

*Corresponding author. E-mail: nli0417@163.com

Received: 2023-04-08; Accepted: 2023-08-15; Published online: 2023-08-22

游真菌 α 多样性与海水 pH、盐度和溶解氧(dissolved oxygen, DO)呈显著正相关关系($P<0.05$), 与温度、叶绿素-a (chlorophyll a, Chl-a)以及总有机碳(total organic carbon, TOC)呈显著负相关关系($P<0.05$)。方差分解分析(variance partitioning analysis, VPA)发现营养因子是浮游真菌群落结构的主要驱动因子。【结论】本研究可为揭示北部湾海洋浮游真菌多样性提供理论参考, 并为茅尾海生态环境监测与资源利用提供科学依据。

关键词: 北部湾; 茅尾海; 浮游真菌; 群落结构; 多样性; 随机森林模型; ITS 基因

Mycoplankton community structure and its influencing factors in the Maowei Sea of the Beibu Gulf, Guangxi

YANG Shu¹, LIAO Nengjian³, HUANG Haifeng¹, QIN Xinyi¹, HUANG Jiongqing⁴, ZHAO Huaxian¹, JIANG Gonglingxia^{1,2}, LI Nan^{1,2*}

1 Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf, Ministry of Education, Nanning Normal University, Nanning 530001, Guangxi, China

2 College of Ocean and Meteorology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China

3 College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, Guangxi, China

4 School of Agriculture, Ludong University, Yantai 264025, Shandong, China

Abstract: Mycoplankton play a key role in the marine food web and biogeochemical cycling.

[Objective] To reveal the community structures of mycoplankton across different seasons and their key environmental drivers, we collected the surface water samples from seven stations in July (summer), September (autumn), and December (winter) 2017 and March (spring) 2018 in the Maowei Sea, Beibu Gulf, Guangxi Zhuang Autonomous Region. **[Methods]** We employed high-throughput sequencing of the internal transcribed spacer (ITS) gene to analyze the community structure and diversity of mycoplankton. **[Results]** The mycoplankton in the Maowei Sea belonged to 374 species, 282 genera, 167 families, 71 orders, 26 classes of 6 phyla. *Ascomycota* (82.14%) and *Basidiomycota* (10.74%) were the dominant phyla, with the total relative abundance of 92.88%. The Shannon and Simpson indices of the mycoplankton were the highest in spring, while the Chao1 and Richness indices were the highest in winter. Furthermore, the results of principal coordinate analysis (PCoA) and analysis of similarities (ANOSIM) showed that there was a significant difference in the beta diversity of mycoplankton community among different seasons ($R=0.5912$, $P<0.001$). The random forest modeling analysis (RF) revealed that 20 species of mycoplankton including *Aspergillus flavus*, *Gloeoporus dichrous*, *Aspergillus subversicolor*, *Whalleya microplaca*, and *Lentinus squarrosulus* were sensitive to environmental changes and could be used to assess the eutrophication status of the Maowei Sea. The Spearman correlation analysis showed that the alpha diversity of mycoplankton was positively correlated with seawater pH, salinity, and dissolved oxygen ($P<0.05$) and negatively correlated with temperature, chlorophyll-a (Chl-a), and total organic carbon ($P<0.05$). The variance partitioning analysis (VPA) indicated that nutrients were the key

factors affecting the community structure of mycoplankton. **[Conclusion]** This study provides a theoretical reference for revealing the diversity of marine mycoplankton in Beibu Gulf and a scientific basis for eco-environment monitoring and resource utilization in the Maowei Sea.

Keywords: Beibu Gulf; Maowei Sea; mycoplankton; community structure; diversity; random forest model; internal transcribed spacer (ITS) gene

真核生物在海洋生态系统中分布广泛、数量众多,对生物地球化学循环具有重要作用^[1]。其中,浮游真菌作为海洋生态系统中必不可少的分解者和共生体,在海洋碳循环和养分流动方面发挥着关键作用^[2-6]。人类活动,例如沿海海水养殖、污水排放以及快速城市化等,增加了对沿海生态系统的养分输入,从而导致富营养化等海洋生态环境问题频繁发生^[7]。浮游真菌群落对生态环境变化高度敏感^[3-8],因此,探究海洋环境中浮游真菌群落结构及其影响因子,对于预测海洋生态系统响应环境变化具有重要意义。

高通量测序技术的发展为全面研究复杂的微生物群落结构提供了新的研究手段。大量研究表明,温度、盐度、pH和营养物质会改变海洋浮游真菌群落结构与多样性^[2,8-10]。例如,2016年,Tisthammer等^[11]调查了赫尔戈兰湾(Helgoland Roads)表层海水中浮游真菌群落结构,发现温度和叶绿素a(chlorophyll a, Chl-a)是影响该区域浮游真菌多样性的重要环境因子。Gilbert等^[12]研究英吉利海峡(English Channel)不同季节浮游真菌群落分布模式,发现温度、硝酸盐和硅酸盐浓度是影响英吉利海峡浮游真菌群落结构的主要环境因子。还有研究指出,水体富营养化可以显著影响浮游真菌群落结构与多样性^[13-14]。例如,Sen等^[15]研究了深圳湾、大亚湾以及中国南海的浮游真菌群落结构,发现随着富营养化程度的加深,担子菌门(*Basidiomycota*)的相对丰度会逐渐减少,还发现pH和温度显著影响浮游真菌群落多样性。Li等^[16]提出营养富集增加了夏威夷水域中真菌类

群的生物多样性,并且浮游真菌分布模式与水体中硝酸盐浓度显著相关($P < 0.05$)。Bai等^[17]发现河流中有机碳和氮浓度的增高导致分裂酵母属(*Schizosaccharomyces*)的相对丰度增加,可作为反映污染物和营养物质排放的生物标志物。上述研究结果表明,浮游真菌群落组成和多样性与富营养化水平密切相关,可以作为环境变化的标志性生物(biomarker),用于指示水生生态系统的健康状况^[18-21]。因此,研究亚热带沿海海域浮游真菌群落结构及其对富营养化扰动的响应机制,对于揭示海洋浮游真菌生物多样性维持机制和生态效应具有重要的研究意义。

茅尾海是典型的亚热带半封闭海湾,其渔业资源丰富,水产养殖活动强度高^[22-24]。城市化和工业化改变了沿海海域自然生态系统结构,降低了海洋环境质量^[25-26]。近期研究表明,茅尾海中磷、溶解性硅酸盐、总有机碳和化学需氧量的浓度从湾口至内湾呈现上升趋势,富营养化程度不断增加^[25]。因此,茅尾海是探究海洋富营养化对浮游真菌群落组成及其响应机制的理想研究区域。本研究旨在利用内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)高通量测序技术和生物信息学研究方法,探究:(1)不同季节茅尾海海洋浮游真菌群落组成及其多样性变化特征;(2)茅尾海富营养化状况的指示物种;(3)影响茅尾海海洋浮游真菌群落结构的关键环境因素。本研究结果将有助于揭示亚热带海洋浮游真菌群落多样性季节变化规律及其对富营养化扰动的响应机制,以期为茅尾海海域环境保护和可持续发展决策提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 站点分布和样品采集

于 2017 年 7 月(夏季)、9 月(秋季)、12 月(冬季)和 2018 年 3 月(春季)期间,在北部湾茅尾海表层水下 0.5 m 处采用海水样品。依据茅尾海海湾地理与环境特征,选取了 7 个生态位点,分别为 L1 (108°32'37.85"E, 21°50'8.35"N)、L2 (108°32'32.57"E, 21°49'20.07"N)、L3 (108°32'29.56"E, 21°48'6.93"N)、L4 (108°33'33.04"E, 21°44'34.00"N)、L5 (108°34'27.27"E, 21°44'11.25"N)、L6 (108°34'32.17"E, 21°43'10.63"N)、L7 (108°35'2.75"E, 21°42'36.55"N)。每个站点采集 5 个 2 L 重复样品,其中,夏季 L5 站点未采集,共获得 135 个表层海水样品。采集时现场使用便携式仪器 YSI (Yellow Springs Instrument Company)测定海水样品的温度(temperature)、pH、溶解氧(dissolved oxygen, DO)以及盐度(salinity)。所有样品均保存在 4 °C 条件下运送至实验室,以便进行后续分析。

1.2 环境因子分析

每份表层海水样品(2 L)通过 3 μm 聚碳酸酯滤膜(Millipore Corporation 公司)进行预过滤,除去样品中的较大杂质。然后用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤预处理过的水样用于收集浮游真菌,滤膜保存于-80 °C 冰箱供后续分析。环境因子依据《海洋调查规范》(GB17378.4—2007)^[27]进行测定。亚硝态氮(nitrite-nitrogen, NO₂⁻-N)、硝态氮(nitrate-nitrogen, NO₃⁻-N)、铵态氮(ammonium-nitrogen, NH₄⁺-N)分别采用萘乙二胺分光光度法、镉柱还原法、靛酚蓝分光光度法进行测定;化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)使用碱性高锰酸钾法进行测定;总有机碳(total organic carbon, TOC)使用总有机碳仪器法进行

测定;Chl-a 采用丙酮法,在黑暗处萃取 24 h,并通过 F-4500 荧光分光光度计(日立公司)测定。溶解性无机氮(dissolved inorganic nitrogen, DIN)为 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 与 NH₄⁺-N 之和;溶解性无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)为 PO₄³⁻-P^[28]。总溶解氮(total dissolved nitrogen, TDN)和总溶解磷(total dissolved phosphorus, TDP)分别用铜-镉柱还原法和磷钼蓝分光光度法测定。

1.3 DNA 提取、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增和高通量测序

使用试剂盒(DNeasy Power Water Kit, QIAGEN)对表层海水样品的总基因组 DNA 进行提取。利用 NanoDrop 分光光度计(Delaware)对 DNA 进行浓度和纯度的检测。利用引物 ITS1F (5'-CTGGTCATTTAGAGAAGTAA-3')^[29]和 ITS2 (5'-GTGCGTTCTTCATCGATGC-3')^[30]扩增真菌内部转录间隔区 1 DNA 区域(ITS1), 20 μL PCR 反应体系包括:DNA 模板 2 μL, 2×Taq PCR Master Mix [天根生化科技(北京)有限公司] 10 μL, ddH₂O 6 μL, 正反引物各 1 μL。PCR 的条件为:95 °C 初始变性 1 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 35 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。扩增完成后,利用 2%浓度的琼脂糖凝胶电泳检验扩增质量,并将合格的 PCR 产物送至杭州联川生物技术股份有限公司并在 Illumina MiSeq 平台(PE250, 2×250 bp)进行高通量测序。测序完成后,使用 QIIME2 进行序列优化,将引物不匹配或长度<275 bp、低质量的读数(质量分数<20)、条形码序列以及非真菌序列去除^[31]。用 UCHIME 检测并将嵌合序列剔除并将可操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)以 97%相似性聚类^[32]。利用 SILVA 数据库对 OTU 进行物种注释^[33]。剔除属于叶绿体和线粒体的嵌合体和序列后,采用 RDP Classifier 贝叶斯算法对 OTU 进行分类(最低置信度为 50%)。

1.4 统计学分析

使用 R 软件(v.4.1.2)中“vegan”包计算海洋浮游真菌群落 α 多样性指数, 包括香农指数(Shannon index)、丰富度指数(Richness index)、辛普森指数(Simpson index)和 Chao1 指数(Chao1 index), 使用单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)检验不同季节环境因子是否存在显著差异, 应用主坐标分析方法(principal coordinates analysis, PCoA)分析浮游真菌群落 β 多样性, 采用方差分解分析(variation partitioning analysis, VPA)水质条件和养分水平对浮游真菌群落的影响。使用‘psych’包进行斯皮尔曼等级相关法(Spearman’s rank method)分析浮游真菌群落 α 多样性指数与环境因子之间的相关性。使用“randomForest”包进行随机森林(random forest analysis)建模, 用于分析重要物种分类标志种^[34]。本研究使用的所有原始数据全部上传至美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,

NCBI)的 SRA (sequence read archive)数据库(登录号: PRJNA838382)。

2 结果与分析

2.1 北部湾茅尾海理化性质及浮游真菌群落组成

北部湾茅尾海不同季节海水样品的环境参数如表 1 所示。不同季节的环境变量均存在显著差异($P < 0.01$)。海水温度是变化幅度最剧烈的环境因子, 秋季的海水温度最高(31.500 ± 0.300) °C, 冬季最低(14.900 ± 0.200) °C。与海水温度变化类似, NO_2^- -N、Chl-a、TDN 浓度均呈现秋季高, 冬季低的趋势。水体中 pH、盐度和 DO 的浓度从春季到秋季呈现下降趋势并达到最小值, 在冬季又上升。而 TOC 浓度则相反, 从春季到秋季呈现上升趋势并达到最大值(1.470 ± 0.292) mg/L, 到冬季又下降。 NO_3^- -N、DIN 和 COD 等环境参数的浓度仅在春季到夏季呈上升趋势, 并在夏季达到最大值, 而后一直到冬季呈下降趋势,

表 1 不同季节水化学参数变化的单因素方差分析

Table 1 One-way ANOVA test on variation of each water chemical parameter in different seasons

Index	P	All	Spring	Summer	Fall	Winter
T/°C	<0.001	24.500±6.400	24.100±0.200	27.900±0.400	31.500±0.300	14.900±0.200
pH	<0.001	7.623±0.204	7.784±0.086	7.773±0.123	7.474±0.181	7.483±0.162
Sal (‰)	<0.001	18.045±5.22	21.222±1.898	17.768±4.543	12.281±5.784	20.871±1.97
DO (mg/L)	<0.001	7.701±1.362	8.992±0.202	6.500±0.481	6.232±0.389	8.910±0.210
NO_2^- -N (mg/L)	<0.001	0.024±0.026	0.015±0.005	0.011±0.004	0.062±0.023	0.006±0.002
NO_3^- -N (mg/L)	<0.001	0.336±0.161	0.376±0.046	0.532±0.137	0.314±0.108	0.149±0.038
NH_4^+ -N (mg/L)	<0.010	0.109±0.047	0.143±0.029	0.107±0.034	0.122±0.062	0.064±0.009
Chl-a (µg/L)	<0.010	2.235±1.141	1.607±0.442	2.943±1.461	3.100±0.910	1.390±0.408
TDN (mg/L)	<0.010	0.691±0.148	0.765±0.059	0.633±0.121	0.790±0.190	0.569±0.070
DIN (mg/L)	<0.001	0.469±0.185	0.535±0.078	0.650±0.117	0.498±0.133	0.219±0.047
DIP (mg/L)	<0.001	0.029±0.014	0.044±0.012	0.015±0.004	0.038±0.006	0.018±0.006
TDP (mg/L)	<0.001	0.062±0.019	0.084±0.004	0.038±0.011	0.058±0.012	0.064±0.011
TOC (mg/L)	<0.001	1.199±0.293	0.938±0.157	1.344±0.194	1.470±0.292	1.065±0.150
COD (mg/L)	<0.001	2.816±0.710	2.508±0.446	3.417±0.615	3.218±0.595	2.205±0.472
EI	<0.001	9.542±7.045	13.632±6.573	7.452±2.242	14.543±7.045	2.242±1.676

Temp: Temperature; pH: pH value; EI: Eutrophication index.

并达到最低值。水体中 P (DIP、TDP)浓度呈春季高、夏季低的变化。另外发现, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度从春季到冬季变化较为复杂, 表现出先降再升, 再迅速下降的变化趋势, 并在冬季达到最低值 (0.064 ± 0.009) mg/L。

测序数据经过质量控制后, 共计获得 4 520 613 条有效序列, 以 97%的序列一致性将所获得的序列进行聚类, 一共获取 843 个 OTUs, 这些 OTUs 隶属 6 个门、26 个纲、71 个目、167 个科、282 个属、374 个种。Good's 覆盖度为 99.94%, 证明测序结果基本覆盖了全部物种, 样品的测序深度已经足够满足分析要求。在门水平上分析了北部湾茅尾海不同季节浮游真菌群落的分布规律(图 1)。茅尾海表层海水中浮游真菌优势类群为子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*), 丰度占比分别为 82.14%和 10.74%, 优势类群占比为 92.88%。此

外, 子囊菌门在秋季的相对丰度最低(24.21%); 而担子菌门在秋季的相对丰度最高(44.96%)。值得注意的是, 在春季样品中, 子囊菌门从 L1-L7 站点所占比例逐渐降低, 而在夏季和冬季样品中, 则表现出相反的趋势。球囊菌门(*Glomeromycota*)和壶菌门(*Chytridiomycota*)主要存在于春夏两季样品中, 接合菌门(*Zygomycota*)在冬季样品中所占浮游真菌群落的比例最小(12.90%)。

2.2 浮游真菌群落多样性季节性差异

茅尾海不同季节浮游真菌群落 α 多样性存在显著差异(图 2)。Shannon、Simpson 和 Richness 指数从春季到秋季逐渐减小, 而到冬季又呈现增高趋势。不同的是, Shannon 指数和 Simpson 指数在春季最高, 而 Richness 指数在冬季最高。Chao1 指数从春季到夏季降低, 而从夏季到冬季不断增高, 并在冬季达到最高值。PCoA 分析

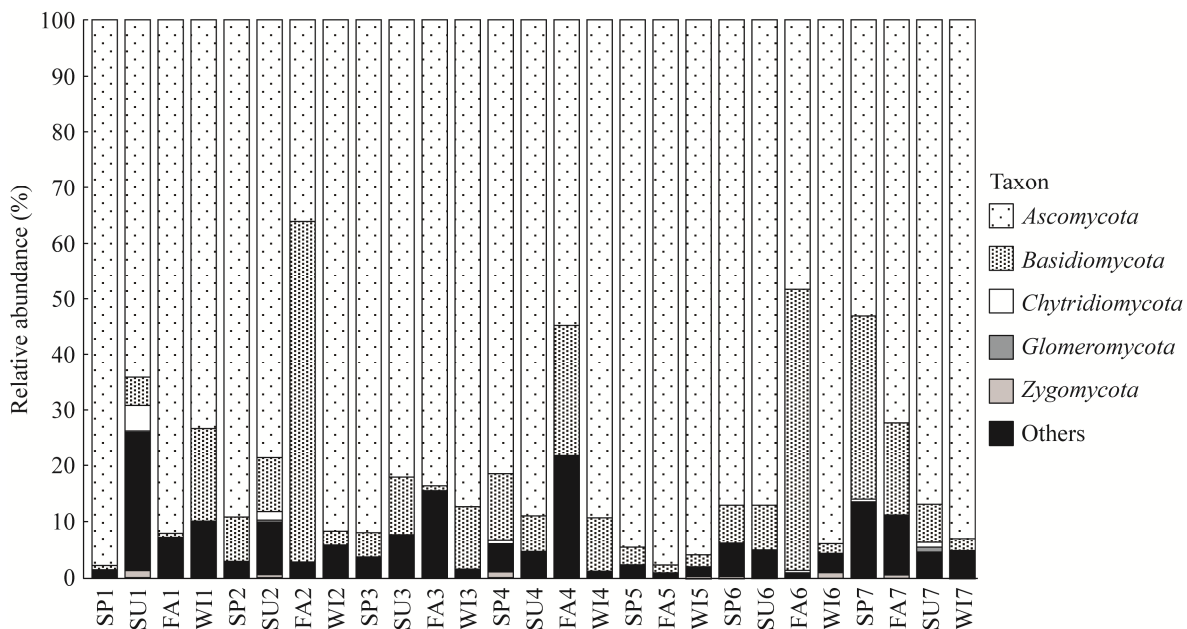


图 1 不同季节各站点浮游真菌门的相对丰度图

Figure 1 Relative abundance of mycoplankton phylum in different seasons. SP: Spring; SU: Summer; FA: Fall; WI: Winter; 1-7: Site name.

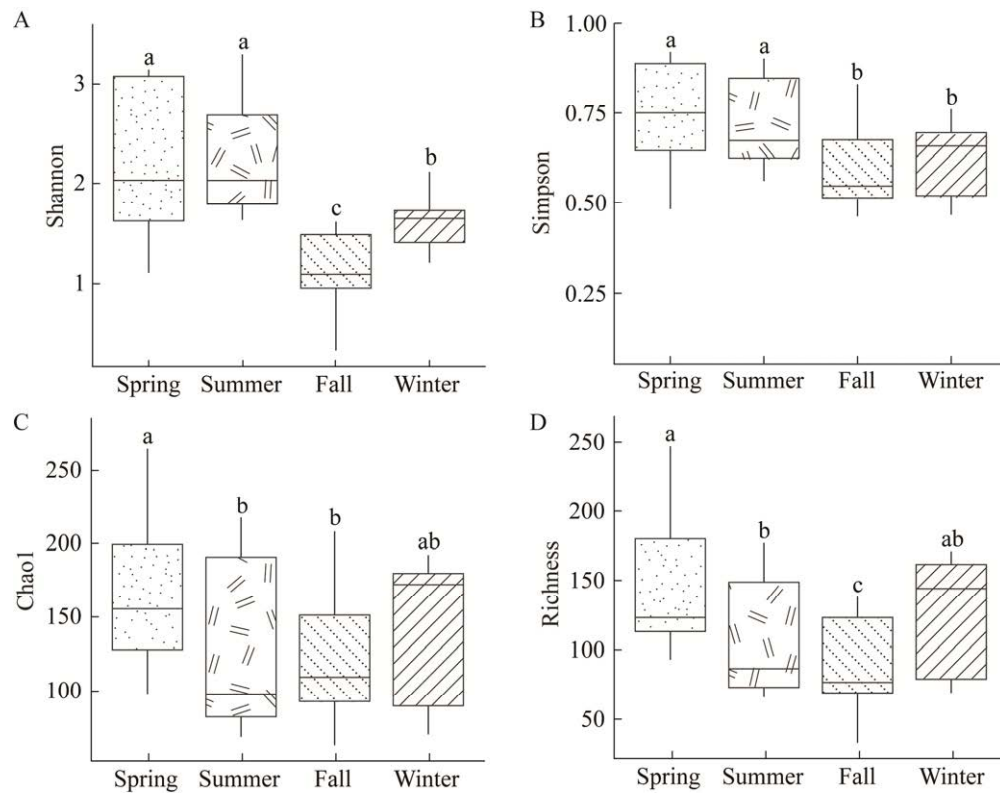


图 2 不同季节浮游真菌 α 多样性

Figure 2 The alpha diversity indices (Shannon (A), Simpson (B), Chao1 (C), and Richness (D)) in different seasons. In the box plots, the upper whisker represents the maximum value; The upper line of the box represents upper quartile; The center line inside the box represents the median; The lower line of the box represents lower quartile; And the lower whisker represents the minimum value. Different lowercase letters represent significant differences ($P < 0.05$), and the same lowercase letters represent no significant differences ($P \geq 0.05$).

结果显示, 茅尾海浮游真菌结构存在季节性差异(图 3)。第一排序轴(PCo1)与第二排序轴(PCo2)分别解释了 29.58%和 28.75%的群落变异。利用 ANOSIM 检验证实不同季节浮游真菌群落结构存在显著差异($R=0.5912, P < 0.001$)。

2.3 北部湾茅尾海环境变化的主要指示真菌

利用随机森林法分析了可用于指示北部湾茅尾海环境变化的 20 个指示真菌。结果表明, 黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、二色胶孔菌(*Gloeoporus dichrous*)、杂色曲霉(*Aspergillus subversicolor*)、*Whalleya microplaca* 和 *Lentinus squarrosulus* 有较高的基尼系数(Gini), 是最重要的 5 个种, 且它们的丰度在不同季节存在差异(图 4)。Spearman

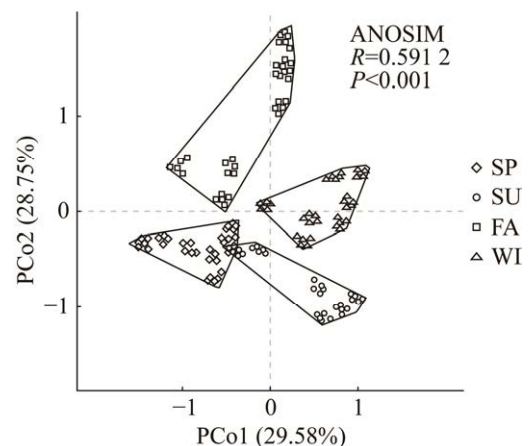


图 3 不同季节浮游真菌群落结构差异(PCoA)

Figure 3 Differences of mycoplankton community structures in different seasons (PCoA). SP: Spring; SU: Summer; FA: Fall; WI: Winter.

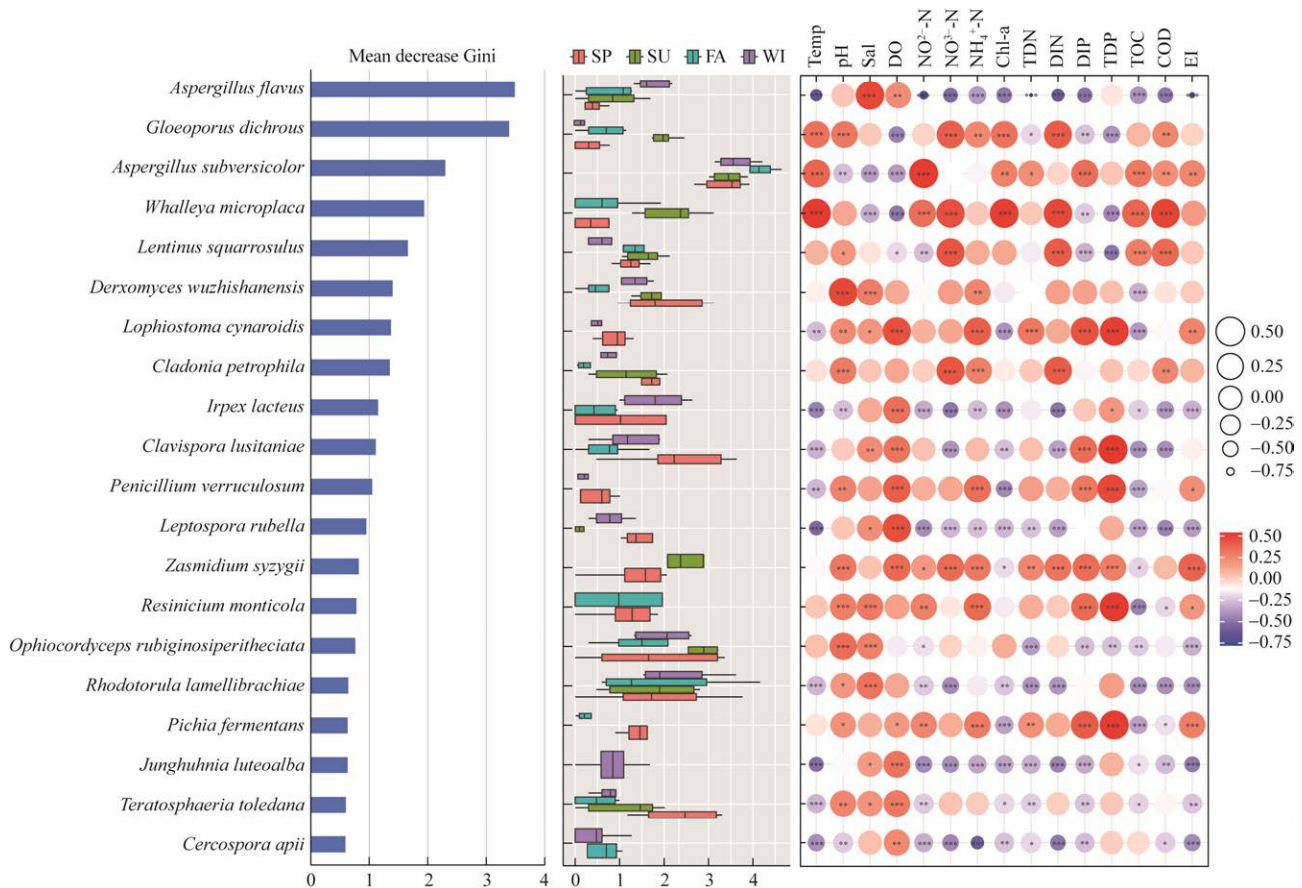


图 4 随机森林分析前 20 个重要种

Figure 4 Random forest analysis of the top 20 important species. Left: The top 20 taxa analyzed using the Gini index, representing the importance of each species in distinguishing different seasons. Middle: Read abundances of the top 20 species. Right: Spearman correlations between the relative abundances of the top 20 species and environmental and nutrient factors. Temp: Temperature; pH: pH value; Sal: Salinity; DO: Dissolved oxygen; NO_2^- -N: Nitrite-nitrogen; NO_3^- -N: Nitrate-nitrogen; NH_4^+ -N: Ammonium-nitrogen; Chl-a: Chlorophyll-a; TDN: Total dissolved nitrogen; DIN: Dissolved inorganic nitrogen; DIP: Dissolved inorganic phosphorus; TDP: Total dissolved phosphorus; TOC: Total organic carbon; COD: Chemical oxygen demand; EI: Eutrophication index. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

相关性分析表明，上述指示真菌与环境因子显著相关($P < 0.05$)。例如，黄曲霉与海水温度、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、Chl-a、TDN、DIN、DIP、TOC、COD 和 EI 呈显著负相关($P < 0.05$)，与盐度和 DO 呈显著正相关($P < 0.05$)。二色胶孔菌与温度、pH、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、Chl-a、DIN 和 COD 呈显著正相关($P < 0.01$)，与 DO、TDN、DIP 和 TDP 呈显著负相关($P < 0.05$)。杂色曲霉

与海水 pH、盐度和 DO 呈显著负相关($P < 0.05$)，与海水温度、 NO_2^- -N、Chl-a、TDN、DIP、TOC、COD 和 EI 呈显著正相关($P < 0.05$)。Whalleya microplaca 与海水温度、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N、Chl-a、DIN、TOC 和 COD 呈显著正相关($P < 0.05$)，与盐度、DO、DIP 和 TDP 呈显著负相关($P < 0.05$)。Lentinus squarrosulus 与 pH、 NO_3^- -N、DIN、TOC 和 COD 呈显著正相关

($P < 0.01$), 与 DO、 NO_2^- -N、DIP 和 TDP 呈显著负相关($P < 0.01$)。这些分析结果表明了海洋浮游真菌物种对温度、盐度、DO、DIP 和 TOC 等环境因子变化极其敏感, 可以作为指示生物来反映北部湾地区的营养变化。

2.4 影响浮游真菌群落结构的环境因子

如图 5 所示, Spearman 相关性分析说明茅尾海浮游真菌群落的 Shannon 指数、Simpson 指数以及 Richness 指数与海水 pH、盐度和 DO 呈显著正相关关系($P < 0.05$), 与海水温度、Chl-a 以及 TOC 呈显著负相关关系($P < 0.05$), 而与 EI 无显著相关关系。采用方差分解分析(variance partitioning analysis, VPA)量化养分参数(NO_2^- -N、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、DIN、TN、DIP、TOC 和 TP)和水质参数(温度、pH、盐度、DO、Chl-a 和 COD)对季节性浮游真菌群落异质性的影响(图 6)。结果表明, 在所有样品中养分参数(18%)对海洋浮游真菌群落结构变化的解释比例高于水质参数(9%), 这两部分环境因子的综合效应共解释了 16%的浮游真菌群落结构变异度, 然而仍有 57%的群落结构变异度无法解释。在单个季节的样

品中, 养分参数对海洋浮游真菌群落结构变化的解释比例都大于水质参数, 且除春季外, 水质参数和养分参数的综合效应解释总群落变异度都高于 90%。综上所述, 在茅尾海表层海水中, 浮游真菌群落的变化主要是由水质参数和养分参数共同驱动, 且养分参数的作用大于水质参数。

3 讨论

利用分离培养技术、变性梯度凝胶电泳法(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)与 Sanger 测序等传统技术研究海洋微生物群落结构, 具有局限性, 难以准确地反映海洋浮游真菌群落多样性^[35-36]。高通量测序技术改变了微生物群落结构的研究方法, 通过对 PCR 产物进行测序即可获取更详细的微生物多样性信息, 已被广泛应用于海洋微生物多样性研究^[37-39]。目前, 在分子水平上研究茅尾海浮游真菌群落的报道相对较少。因此, 本研究采用 ITS 高通量测序技术对茅尾海不同季节浮游真菌群落组成与多样性进行系统研究, 以期揭示影响茅尾海浮游真菌群落的关键环境因子。

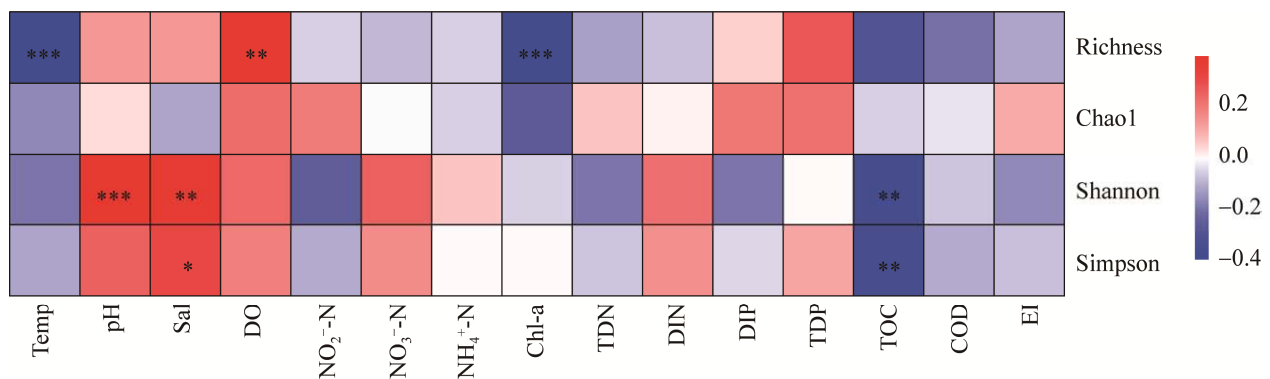


图 5 α 多样性指数与环境因子之间的相关性

Figure 5 Correlation between alpha diversity index and environmental factors. Temp: Temperature; pH: pH value; Sal: Salinity; DO: Dissolved oxygen; NO_2^- -N: Nitrite-nitrogen; NO_3^- -N: Nitrate-nitrogen; NH_4^+ -N: Ammonium-nitrogen; Chl-a: Chlorophyll-a; TDN: Total dissolved nitrogen; DIN: Dissolved inorganic nitrogen; DIP: Dissolved inorganic phosphorus; TDP: Total dissolved phosphorus; TOC: Total organic carbon; COD: Chemical oxygen demand; EI: Eutrophication index. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

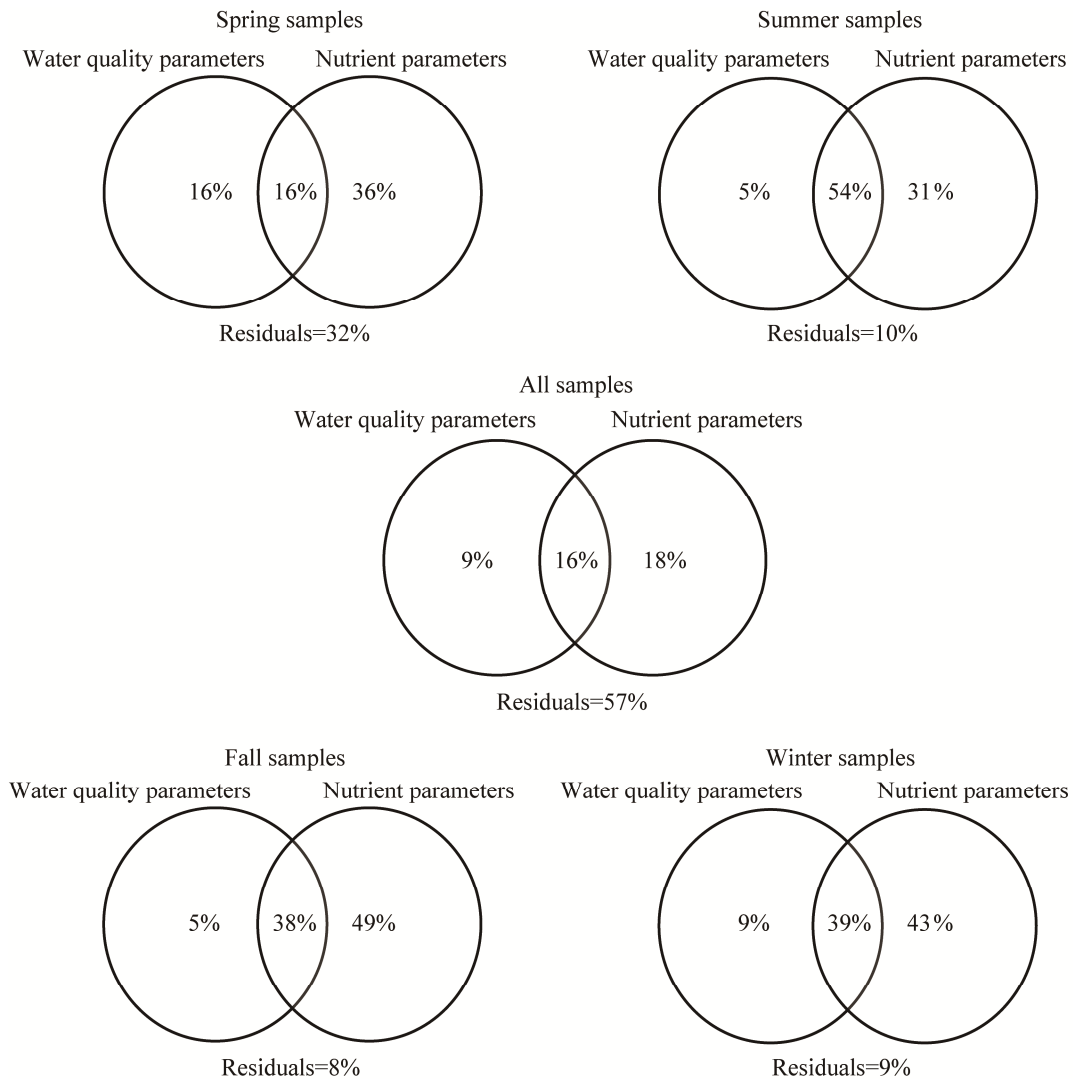


图 6 水质参数(温度、pH、盐度、Chl-a 和 DO)与营养因子(NO_2^- -N、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、DIN、TDN、TDP、TOC、TDP 和 COD)的方差分解分析

Figure 6 Variation partitioning analysis of the effects of water quality parameter (temperature, pH, salinity, Chl-a, and DO) and nutrients (NO_2^- -N, NO_3^- -N, NH_4^+ -N, DIN, TDN, DIP, TOC, TDP, and COD) in seawater.

茅尾海位于北部湾东北部,受到海洋工程建设与水产养殖活动等人为因素的影响,微生物群落结构复杂多变^[40]。Taylor 等^[2]调查了英吉利海峡西部表层海水浮游真菌群落结构,发现子囊菌门和担子菌门是该海域生态系统中最主要的两个真菌门类。Wang 等^[32]研究了渤海沿岸半封闭浅海湾生态系统中浮游真菌群落结

构,发现子囊菌门和担子菌门在海洋浮游真菌中占据优势。与以往研究结果相似,本研究发现茅尾海表层水体中浮游真菌群落主要的优势类群是子囊菌门(82.14%)和担子菌门(10.74%)。茅尾海船舶运输业发达,导致环境中输入了大量的污染物,严重破坏了茅尾海海洋生态系统的稳定性^[41]。子囊菌门和担子菌门具有高度环

境适应性, 它们通常与环境中有有机污染物浓度呈正相关关系, 可作为分解者广泛参与海洋环境中的碳矿化过程^[42-45]。本研究结果与以往海洋浮游真菌多样性相关研究, 证明子囊菌门和担子菌门在海洋环境生态系统中广泛分布, 海洋环境异质性显著影响了浮游真菌群落组成与多样性。

Duan 等^[5]研究了皮弗斯岛海岸观测站 (Pivers Island Coastal Observatory) 沿海地区中浮游真菌群落多样性, 发现浮游真菌丰富度和香农指数呈现显著的季节性变化 ($P < 0.05$)。与该研究结果类似, 不同季节茅尾海浮游真菌 α 多样性存在显著性差异 (图 2)。PCoA 分析和 ANOSIM 分析结果表明茅尾海浮游真菌群落结构具有季节性差异 ($P < 0.001$) (图 3)。本研究发现, 在秋季样品中茅尾海浮游真菌群落的香农指数、辛普森指数和丰富度指数最低。然而, 在埃及红海 (Egyptian Red Sea) 进行的另一项研究表明, 海洋浮游真菌的 α 多样性在秋季较高^[46], 可能是由于不同地区独特的气候条件和人为影响导致海洋真菌群落呈现不同形式的季节异质性。特别是, 季节之间降水量的波动会引起入海河流淡水输入的变化, 进而影响茅尾海浮游真菌生物多样性。

海湾地区是陆海相互作用最强烈的区域。由于工业发展与高密度的牡蛎养殖活动, 大量的牡蛎排泄物与氮、磷等陆源有机污染物随陆地径流进入茅尾海, 从而影响了海洋微生物群落结构和多样性^[47]。海洋浮游真菌是海洋食物网和生态系统中重要的组成部分, 它们广泛参与物质代谢与能量流动过程, 对海洋环境变化响应迅速^[48]。本研究发现, 海洋浮游真菌多样性与海水温度、Chl-a 和 TOC 呈显著负相关, 与 pH、温度和 DO 呈显著正相关。Abdel-Gawad

等^[46]发现海水温度、盐度和 pH 是影响埃及红海浮游真菌多样性最重要的环境因子, 证明温度和盐度可能会影响浮游真菌群落的生长速率和代谢活性。Ahumada-Rudolph 研究表明, 环境中 pH 变化可通过对浮游真菌生长与繁殖施加生理限制, 进而影响浮游真菌群落多样性^[49]。此外, Cathrine 等的研究证实了 DO 可以影响反硝化过程, 进而改变阿拉伯海 (Arabian Sea) 浮游真菌群落多样性^[50]。2022 年, Huang 等^[3]研究了影响大风江河口海域浮游真菌群落结构的环境因子, 发现浮游真菌群落 α 多样性与环境中 TOC 浓度呈负相关关系。沿海陆地中有机物质被冲刷到茅尾海中, 导致秋季茅尾海 TOC 浓度最高^[51], 可能是造成秋季浮游真菌 α 多样性最低的主要原因之一。VPA 结果发现, 与水质参数相比, 浮游真菌群落结构受营养因子的影响更大 (图 6)。这表明, 海洋环境中氮磷等营养物质的变化, 会改变海洋浮游真菌的群落结构和物种组成。同时, 此类营养物质也可能是海洋浮游真菌生长的限制性因素, 影响浮游真菌群落的代谢活动和生理特性, 进而影响海洋浮游真菌的生态功能。

此外, 以往研究表明^[52], 海洋微生物群落能够快速响应营养物质的变化, 可以用来监测和评估海洋环境的营养状况^[53]。本研究使用随机森林模型, 分析了茅尾海环境变化的关键指示物种。结果发现, 黄曲霉、二色胶孔菌、杂色曲霉等 20 种浮游真菌可作为评估茅尾海环境变化的生物指示种 (图 4)。例如, 黄曲霉与 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 等环境因子呈显著负相关 ($P < 0.05$), 环境中氮含量的增加对黄曲霉的生长具有抑制作用^[54]。杂色曲霉与茅尾海富营养化指数呈显著正相关 ($P < 0.05$)。杂色曲霉对海洋环境中脂肪族和芳香烃等富营养化污染物的降解

能力逐渐增强^[55], 因此, 富营养化水平的升高, 可能有利于杂色曲霉生长。总之, 此类海洋浮游真菌, 对环境因子和富营养化水平的变化较为敏感, 可作为指示茅尾海环境变化的生物指示种, 为茅尾海生态环境监测提供科学依据。

4 结论

北部湾茅尾海浮游真菌多样性丰富, 群落结构存在季节性差异。茅尾海浮游真菌类群存在环境异质性, 不同站点及不同季节均出现了物种丰度差异, 如子囊菌门和担子菌门。黄曲霉、二色胶孔菌、杂色曲霉、*Whalleya microplaca* 和 *Lentinus squarrosulus* 等 20 种浮游真菌与环境因子显著相关, 可作为预测茅尾海海洋富营养化水平的生物指示种。温度、盐度、pH、Chl-a、DO 和 TOC 是茅尾海浮游真菌群落 α 多样性的主要驱动因子。营养因子是影响浮游真菌群落结构的重要因素。

参考文献

- [1] CARRADEC Q, PELLETIER E, DA SILVA C, ALBERTI A, SEELEUTHNER Y, BLANC-MATHIEU R, LIMA-MENDEZ G, ROCHA F, TIRICHINE L, LABADIE K, KIRILOVSKY A, BERTRAND A, ENGELEN S, MADOUÏ MA, MÉHEUST R, POULAIN J, ROMAC S, RICHTER DJ, YOSHIKAWA G, DIMIER C, et al. A global ocean atlas of eukaryotic genes[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 373.
- [2] TAYLOR JD, CUNLIFFE M. Multi-year assessment of coastal planktonic fungi reveals environmental drivers of diversity and abundance[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2118-2128.
- [3] HUANG JQ, ZHAO HX, YANG S, QIN XY, LIAO NJ, LI XL, WEI QY, LI WJ, JIANG G, LI N, WANG PB. Mycoplanktonic community structure and their roles in monitoring environmental changes in a subtropical estuary in the Beibu Gulf[J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2022, 10(12): 1940.
- [4] WANG GY, WANG X, LIU XH, LI Q. Diversity and biogeochemical function of planktonic fungi in the ocean[M]//*Biology of Marine Fungi*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 71-88.
- [5] DUAN YB, XIE ND, SONG ZQ, WARD CS, YUNG CM, HUNT DE, JOHNSON ZI, WANG GY. A high-resolution time series reveals distinct seasonal patterns of planktonic fungi at a temperate coastal ocean site (Beaufort, north Carolina, USA)[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(21): e00967-18.
- [6] CUDOWSKI A, PIETRYCZUK A. Biodiversity of mycoplankton in the profile of eutrophic lakes with varying water quality[J]. *Fungal Ecology*, 2020, 48: 100978.
- [7] HOWARTH R, CHAN F, CONLEY DJ, GARNIER J, DONEY SC, MARINO R, BILLEN G. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, 9(1): 18-26.
- [8] AHUMADA-RUDOLPH R, CAJAS-MADRIAGA D, RUDOLPH A, REINOSO R, TORRES C, SILVA M, BECERRA J. Variation of sterols and fatty acids as an adaptive response to changes in temperature, salinity and pH of a marine fungus *Epicoccum nigrum* isolated from the Patagonian Fjords[J]. *Revista De Biología Marina y Oceanografía*, 2014, 49(2): 293-305.
- [9] BANOS S, GYSI DM, RICHTER-HEITMANN T, GLÖCKNER FO, BOERSMA M, WILTSHIRE KH, GERDTS G, WICHELS A, REICH M. Seasonal dynamics of pelagic mycoplanktonic communities: interplay of taxon abundance, temporal occurrence, and biotic interactions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1305.
- [10] SUN JY, SONG Y, MA ZP, ZHANG HJ, YANG ZD, CAI ZH, ZHOU J. Fungal community dynamics during a marine dinoflagellate (*Noctiluca scintillans*) bloom[J]. *Marine Environmental Research*, 2017, 131: 183-194.
- [11] TISTHAMMER KH, COBIAN GM, STUART AMEND A. Global biogeography of marine fungi is shaped by the environment[J]. *Fungal Ecology*, 2016, 19: 39-46.
- [12] GILBERT JA, FIELD D, SWIFT P, NEWBOLD L, OLIVER A, SMYTH T, SOMERFIELD PJ, HUSE SE,

- JOINT I. The seasonal structure of microbial communities in the Western English Channel[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(12): 3132-3139.
- [13] CHEN JR, MCILROY SE, ARCHANA A, BAKER DM, PANAGIOTOU G. A pollution gradient contributes to the taxonomic, functional, and resistome diversity of microbial communities in marine sediments[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 1-12.
- [14] JESSEN C, BEDNARZ VN, RIX L, TEICHBERG M, WILD C. Marine eutrophication[M]//*Environmental Indicators*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014: 177-203.
- [15] SEN K, BAI MH, SEN B, WANG GY. Disentangling the structure and function of mycoplankton communities in the context of marine environmental heterogeneity[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 766: 142635.
- [16] LI Q, WANG X, LIU XH, JIAO NZ, WANG GY. Diversity of parasitic fungi associated with phytoplankton in Hawaiian waters[J]. *Marine Biology Research*, 2016, 12(3): 294-303.
- [17] BAI YH, WANG QJ, LIAO K, JIAN ZY, ZHAO C, QU JH. Fungal community as a bioindicator to reflect anthropogenic activities in a river ecosystem[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3152.
- [18] CUDOWSKI A, PIETRYCZUK A, HAUSCHILD T. Aquatic fungi in relation to the physical and chemical parameters of water quality in the Augustów Canal[J]. *Fungal Ecology*, 2015, 13: 193-204.
- [19] KRAUSS G, SCHLOSSER D, KRAUSS G, DESHMUKH S, RAI M. Aquatic fungi in heavy metal and organically polluted habitats[J]. *Biodiversity of Fungi: Their Role in Human Life*, 2005: 221-249.
- [20] HANNULA SE, van VEEN JA. Primer sets developed for functional genes reveal shifts in functionality of fungal community in soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1897.
- [21] LIU Y, WU YY, ZHANG Y, YANG XL, YANG E, XU HN, YANG QL, CHAGAN I, CUI XM, CHEN WM, YAN JP. Lignin degradation potential and draft genome sequence of *Trametes trogii* S0301[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12(1): 1-13.
- [22] DAI ZJ, LIU JT, WEI W, CHEN JY. Detection of the Three Gorges Dam influence on the Changjiang (Yangtze River) submerged delta[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 6600.
- [23] ZHU JM, ZHANG Q, LI YP, TAN SD, KANG ZJ, YU XY, LAN WL, CAI L, WANG JZ, SHI HH. Microplastic pollution in the Maowei Sea, a typical mariculture bay of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 658: 62-68.
- [24] ZHANG RL, KANG YR, ZHANG RJ, HAN MW, ZENG WB, WANG YH, YU KF, YANG Y. Occurrence, source, and the fate of antibiotics in mariculture ponds near the Maowei Sea, south China: storm caused the increase of antibiotics usage[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 752: 141882.
- [25] CHEN XG, LAO YL, WANG JL, DU JZ, LIANG MZ, YANG B. Submarine groundwater-borne nutrients in a tropical bay (Maowei sea, China) and their impacts on the oyster aquaculture[J]. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2018, 19(3): 932-951.
- [26] ZHENG Q, ZHANG RJ, WANG YH, PAN XH, TANG JH, ZHANG G. Occurrence and distribution of antibiotics in the Beibu Gulf, China: impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. *Marine Environmental Research*, 2012, 78: 26-33.
- [27] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB17378—2007 海洋监测规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008. General Administration of Quality Supervision, Inspection, and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB17378—2007 Marine Monitoring Specifications[S]. Beijing: China Standard Press, 2008 (in Chinese).
- [28] LAI JX, JIANG FJ, KE K, XU MB, LEI F, CHEN B. Nutrients distribution and trophic status assessment in the northern Beibu Gulf, China[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2014, 32(5): 1128-1144.
- [29] GARDES M, BRUNS TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts[J]. *Molecular Ecology*, 1993, 2(2): 113-118.
- [30] WHITE TJ, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//*PCR Protocols*. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.
- [31] CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, PEÑA AG, GOODRICH JK, GORDON JI, HUTTLEY GA, KELLEY ST, KNIGHTS D, KOENIG

- JE, LEY RE, LOZUPONE CA, MCDONALD D, MUEGGE BD, PIRRUNG M, REEDER J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [32] WANG YQ, SEN B, HE YD, XIE ND, WANG GY. Spatiotemporal distribution and assemblages of planktonic fungi in the coastal waters of the Bohai Sea[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 584.
- [33] WANG Q, GARRITY GM, TIEDJE JM, COLE JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [34] BREIMAN L. Random forests[J]. *Machine Learning*, 2001, 45(1): 5-32.
- [35] WANG Y, XU JB, KONG LC, LIU T, YI LB, WANG HJ, HUANG WE, ZHENG CM. Raman-deuterium isotope probing to study metabolic activities of single bacterial cells in human intestinal microbiota[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(2): 572-583.
- [36] PURKAMO L, BOMBERG M, NYSSÖNEN M, AHONEN L, KUKKONEN I, ITÄVAARA M. Response of deep subsurface microbial community to different carbon sources and electron acceptors during ~2 months incubation in microcosms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 232.
- [37] QIU JJ, LIU Z, ZHAO P, WANG XJ, LI YC, SUI H, OWUSU L, GUO HS, CAI ZX. Gut microbial diversity analysis using Illumina sequencing for functional dyspepsia with liver depression-spleen deficiency syndrome and the interventional Xiaoyaosan in a rat model[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2017, 23(5): 810.
- [38] SUN YT, ZHAO XY, MA Y, MA ZH, HE ZY, ZHAO WT, WANG P, ZHAO S, WANG D. Investigation on the microbial diversity of fresh-cut lettuce during processing and storage using high throughput sequencing and their relationship with quality[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2022, 11(12): 1683.
- [39] HUANG YL. Effect of host, environment and fungal growth on fungal leaf endophyte communities in Taiwan[J]. *Journal of Fungi*, 2020, 6(4): 244.
- [40] GU YG, HUANG HH, LIU Y, GONG XY, LIAO XL. Non-metric multidimensional scaling and human risks of heavy metal concentrations in wild marine organisms from the Maowei Sea, the Beibu Gulf, south China Sea[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2018, 59: 119-124.
- [41] WANG YJ, LIAO RQ, LIU WL, KANNAN K, OHURA T, WU MH, MA J. Chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediment from Maowei Sea, Guangxi, China: occurrence, distribution, and source apportionment[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(19): 16241-16252.
- [42] DANG HL, ZHAO WQ, ZHANG T, CHENG YX, DONG JR, ZHUANG L. Great gerbil burrowing-induced microbial diversity shapes the rhizosphere soil microenvironments of *Haloxylon ammodendron* in temperate deserts[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 960594.
- [43] TRESEDER KK, LENNON JT. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2015, 79(2): 243-262.
- [44] CRAMPON M, SOULIER C, SIDOLI P, HELLAL J, JOULIAN C, CHARRON M, GUILLEMOTO Q, PICOT-COLBEAUX G, PETTENATI M. Dynamics of soil microbial communities during diazepam and oxazepam biodegradation in soil flooded by water from a WWTP[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 742000.
- [45] POLI AN, VIZZINI A, PRIGIONE V, VARESE GC. Basidiomycota isolated from the Mediterranean Sea-phylogeny and putative ecological roles[J]. *Fungal Ecology*, 2018, 36: 51-62.
- [46] ABDEL-GAWAD KM, HIFNEY AF, ISSA AA, GOMAA M. Spatio-temporal, environmental factors, and host identity shape culturable-epibiotic fungi of seaweeds in the Red Sea, Egypt[J]. *Hydrobiologia*, 2014, 740(1): 37-49.
- [47] YANG B, LAN RZ, LU DL, DAN SF, KANG ZJ, JIANG QC, LAN WL, ZHONG QP. Phosphorus biogeochemical cycling in intertidal surface sediments from the Maowei Sea in the northern Beibu Gulf[J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2019, 28: 100624.
- [48] GILBERT JA, STEELE JA, CAPORASO JG, STEINBRÜCK L, REEDER J, TEMPERTON B, HUSE SS, MCHARDY AC, KNIGHT R, JOINT I, SOMERFIELD P, FUHRMAN JA, FIELD D. Defining seasonal marine microbial community dynamics[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 298-308.

- [49] AHUMADA-RUDOLPH R, NOVOA V, BECERRA J. Morphological response to salinity, temperature, and pH changes by marine fungus *Epicoccum nigrum*[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2018, 191(1): 1-13.
- [50] CATHRINE SJ, RAGHUKUMAR C. Anaerobic denitrification in fungi from the coastal marine sediments off Goa, India[J]. Mycological Research, 2009, 113(1): 100-109.
- [51] LU DL, HUANG XR, YANG B, DAN SF, KANG ZJ, ZHOU JD, LAO YL, ZHONG QP, WU H. Composition and distributions of nitrogen and phosphorus and assessment of eutrophication status in the Maowei Sea[J]. Journal of Ocean University of China, 2021, 20(2): 361-371.
- [52] CHEN X, ZHAO HX, JIANG G, TANG JL, XU QS, HUANG LL, CHEN S, ZOU SQ, DONG K, LI N. Responses of free-living *Vibrio* community to seasonal environmental variation in a subtropical inland bay[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 610974.
- [53] SOLÉ M, FETZER I, WENNRICH R, SRIDHAR KR, HARMS H, KRAUSS G. Aquatic hyphomycete communities as potential bioindicators for assessing anthropogenic stress[J]. Science of the Total Environment, 2008, 389(2/3): 557-565.
- [54] WANG B, HAN XY, BAI YH, LIN ZG, QIU MG, NIE XY, WANG S, ZHANG F, ZHUANG ZH, YUAN J, WANG SH. Effects of nitrogen metabolism on growth and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 324: 691-700.
- [55] PHAM TT, DINH KV, NGUYEN VD. Biodiversity and enzyme activity of marine fungi with 28 new records from the tropical coastal ecosystems in Vietnam[J]. Mycobiology, 2021, 49(6): 559-581.