

DOI: 10.5846/stxb201801240192

李森森, 马大龙, 臧淑英, 王璐璐, 孙弘哲. 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落结构和功能特征. 生态学报, 2018, 38(22): - .
Li S S, Ma D L, Zang S Y, Wang L L, Sun H Z. Structural and functional characteristics of soil microbial community in the Songjiang wetland under different interferences. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(22): - .

不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落结构和功能特征

李森森, 马大龙*, 臧淑英, 王璐璐, 孙弘哲

哈尔滨师范大学地理科学学院, 哈尔滨 150025

摘要:以松江湿地为研究对象, 采用磷脂脂肪酸 (PLFA) 和 BIOLOG 微平板法, 系统分析 4 种干扰方式 (农业、工业、旅游和保护) 对湿地土壤微生物群落结构和功能的影响。结果表明, 微生物对碳源利用能力由强到弱依次为: 滨江湿地 (保护) > 金河湾湿地 (旅游) > 白鱼泡湿地 (旅游) > 太阳岛湿地 (旅游) > 呼兰河口湿地 (农业) > 阿什河湿地 (工业)。松江湿地土壤微生物对羧酸类、糖类和氨基酸类碳源利用率较高, 而对多聚物类、酚类和胺类的利用率较低, 其中羧酸类和糖类是影响微生物群落代谢功能的敏感碳源。松江湿地土壤微生物以细菌为主, 占总 PLFA 的 69.72%—80.97%, 真菌次之 (9.20%—23.51%), 放线菌最少 (6.77%—9.82%); Shannon 多样性指数以滨江湿地最高 (2.994), 阿什河湿地最低 (2.881)。RDA 分析表明, 受工业、农业干扰的阿什河湿地和呼兰河口湿地微生物群落结构与 TN、NO₃-N 和 NH₄⁺-N 呈显著正相关 ($P < 0.05$); 受旅游干扰的太阳岛湿地微生物群落结构与 pH 呈显著正相关; 而同样受旅游干扰的白鱼泡和金河湾湿地微生物群落结构与 pH 呈显著负相关; 受保护的滨江湿地微生物群落结构主要受 TC/TN 影响。

关键词: 松江湿地; 微生物群落; PLFA; BIOLOG

Structural and functional characteristics of soil microbial community in the Songjiang wetland under different interferences

LI Sensen, MA Dalong*, ZANG Shuying, WANG Lulu, SUN Hongzhe

College of Geographical Sciences, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: In this study, we systematically analyzed the effect of four kinds of disturbances (agriculture, industry, tourism, and protection) on the structure and function of soil microbial communities in the Songjiang wetland using phospholipid fatty acid (PLFA) and BIOLOG micro plate methods. The results showed that the order of the from high to low microbial utilization of carbon sources was as follows: Binjiang wetland (protection) > Jinhe Bay wetland (tourism) > Baiyupao wetland (tourism) > Sun Island wetland (tourism) > Hulan Estuary wetland (agriculture) > Ashi River wetland (industry). The soil microbes utilized carboxylic acids, carbohydrates, and amino acids at a higher rate than polymers, phenols, and amines in the Songjiang wetland. Carboxylic acids and carbohydrates were sensitive carbon sources that affected the metabolic function of microbial communities. The dominant microorganisms in the Songjiang wetland were bacteria accounting for 69.72%—80.97% of the total microbial PLFA, followed by fungi (9.20%—23.51%), and Actinomyces (6.77%—9.82%). The highest bacterial Shannon diversity index occurred in the Binjiang wetland (2.994), whereas the lowest was observed in the Ashi River wetland (2.881). An RDA analysis showed that the microbial community structure in the Ashi River (industrial

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41501065, 41571199); 黑龙江省自然科学基金项目 (D2015002); 中国博士后科学基金项目 (2017M611381); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目 (UNPYSCT-2017177)

收稿日期: 2018-01-24; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: madalong728@163.com

interference) and Hulan Estuary (agricultural interference) wetlands had a significantly positive correlation with TN, NO_3^- -N, and NH_4^+ -N ($P < 0.05$); the microbial community structure in the Sun Island wetland (tourism interference) was significantly positively correlated with pH, whereas it showed a significant negative correlation with pH in Baiyupao and Jinhe Bay wetlands, which were also influenced by tourism disturbance; the microbial community structure was mainly influenced by TC/TN in the Binjiang wetland, which was protected.

Key Words: Songjiang wetland; microbial community; PLFA; BIOLOG

湿地作为陆地和水体的过渡区域,是具有丰富生物多样性和较高生态服务价值的特殊生态系统^[1]。微生物参与湿地生态系统的物质循环和能量流动,对维持湿地生态过程和功能具有重要作用^[2-4]。微生物对其生存的微环境变化十分敏感,其群落结构和功能都会随着环境条件的变化而发生迅速改变,是指示湿地生态系统健康状况的重要生物指标。城市湿地是现代城市生态系统的重要组成部分,具有调节区域小气候、保障水源水质、缓解城市环境污染等重要生态服务功能。然而,在快速城市化过程中人类干扰活动已经成为城市湿地生态健康水平下降的主要驱动因素。国内外许多研究表明,农业开垦、旅游开发对湿地土壤养分、土壤物理性状、植物群落多样性和生态景观等方面都产生严重影响,而对比和辨识不同人为干扰对城市湿地土壤微生物的影响,将有助于深入理解湿地生态系统退化的关键驱动因素及其退化机制^[5-8]。

土壤微生物群落结构组成极为复杂,而传统的培养方法仅能分离鉴定 1% 的微生物,很难全面解析自然状况下土壤微生物群落结构和多样性^[9-10]。近年来,随着研究方法的不断创新和改进,使土壤微生物的研究得到长足的发展。磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 图谱分析技术是一种快速、可定性和定量分析土壤微生物群落的方法,能够反映不同生境中微生物群落结构组成和多样性变化规律^[11]。BIOLOG 微平板分析法通过土壤微生物对不同碳源利用能力和代谢的差异来表征其功能多样性,在微生物群落功能的研究中得到广泛应用^[12]。已有的研究表明,微生物群落结构和多样性与多种土壤环境因子(如 pH 值、有机质、含水量及可利用性的碳、氮等)密切相关^[13-16]。因此,通过分析微生物群落结构及功能特征能够较为快速地反映或预警城市湿地生态环境质量及其变化趋势。

松江湿地依托松花江主航道,介于哈尔滨市南、北两城区之间,全长约 123 km,总面积约为 410 km²,是我国面积最大的天然城市湿地^[17]。近年来,随着城市化的加速发展,工农业污水排放增多,旅游活动日趋频繁,对松江湿地生态环境造成不同程度的破坏,使其功能和效益受到严重影响,研究人为干扰对微生物群落功能和结构的影响规律,是准确估算城市湿地环境承载力的前提。目前对松江湿地的研究多集中在旅游开发与生态修复等领域,尚缺乏对湿地土壤微生物群落结构、功能特征及与环境因子关系的研究。因此,本研究以松江湿地为典型研究区域,采用 BIOLOG 微平板法和磷脂脂肪酸 (PLFA) 技术,系统分析 4 种(农业、工业、旅游和保护)不同干扰方式下土壤微生物代谢功能和群落结构多样性,探明微生物与土壤环境因子间的响应关系,旨在为揭示人为干扰对湿地生态系统的影响机制和科学评价松江湿地生态服务功能提供理论和科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

松江湿地西起双城区与道里区交界处,东至大顶子山航电枢纽(126°10'—127°23'E),南北以松花江沿岸堤坝外延 2—5 km 为界(45°40'—46°03'N),属典型沼泽化低湿平原地貌的河流湿地,也是我国面积最大的原生态城市湿地,主要包括金河湾湿地、呼兰河口湿地、太阳岛湿地、阿什河湿地、白鱼泡湿地、滨江湿地、民主湿地、长岭湖湿地和阳明滩湿地等,对调节区域气候、防洪蓄洪、净化水质环境以及生物多样性保护起着至关重要作用^[18]。该区域属典型半湿润大陆性季风气候,冬季寒冷漫长,夏季炎热短暂,春、秋季气温升降变化较快,年平均气温 4.3℃,最冷月(1 月份)平均气温 -18.3℃,最热月(7 月份)平均气温 23℃;年均降水量 400—

600 mm,降水多集中在夏季。



图1 研究区及采样点分布

Fig.1 The distribution of Research area and sampling points

1.2 样品采集

2015年7月,根据松江湿地的地域分布特征兼顾采样可行性和代表性原则,选择土壤类型相同、地形地貌一致的天然湿地,按照不同人为干扰方式分别设置农业干扰类型(呼兰河口湿地 HLH,周围有农耕活动,主要干扰源为化肥和农药污染物),工业干扰类型(阿什河湿地 ASH,靠近工业污染源,工业废水和固体废弃物等外源污染物输入较多),旅游干扰类型(金河湾湿地 JHW、白鱼泡湿地 BYP 和太阳岛湿地 TYD,建设有湿地公园,旅游干扰强度较高,主要干扰源为旅游垃圾)和保护类型(滨江湿地 BJC,属沿江生态湿地保护区,人类活动干扰较弱),共6个研究样地(图1)。每个样地中设置5块10 m×10 m的标准样方,样方内以“品”字形设置3个采样点,用柱状采样器采集0—10 cm土壤样品并立即用聚乙烯无菌袋密封置于冰盒中带回实验室,充分混匀后分为3份,一份置于4℃冰箱保存,用于测定土壤微生物代谢活性;一份置于-80℃低温冰箱冷冻保存,在一周内用于土壤微生物磷脂脂肪酸的提取和分析,另一部分自然风干后研磨用于土壤各理化指标的测定。

1.3 研究方法

1.3.1 土壤理化性质测定

土壤理化因子包括pH值、总碳(TC)、总磷(TP)、总氮(TN)、硝态氮(NO_3^- -N)、铵态氮(NH_4^+ -N)和碳氮比(TC/TN)。pH值采用台式pH仪测定;总碳含量采用总有机碳分析仪测定(德国耶拿2100S);总磷含量采用钼锑抗比色法测定;总氮含量采用重铬酸钾-硫酸消化法测定;铵态氮含量采用靛酚蓝比色法测定;硝态氮含量采用紫外分光光度法测定^[19]。不同干扰方式下松江湿地土壤理化性质具有明显差异(表1)。

1.3.2 土壤微生物群落功能多样性测定

采用BIOLOG-ECO微平板法测定土壤微生物群落功能多样性。每个板有96个孔,分为3组重复,每组32个孔,包括1个对照孔和31个单一碳源孔。根据碳源的化学官能团及微生物代谢途径的不同,可将31种碳源分为6类:其中碳水化合物类10种、羧酸类7种、氨基酸类6种、多聚物类4种、胺类2种和酚类2种。称取10 g新鲜土壤置于25℃条件下活化24 h后,放入盛有90 mL无菌NaCl溶液(0.85%)的三角瓶中,在4℃摇床上震荡30 min(170 r/min),静置30 min后,将悬浮液稀释1000倍,用排枪取150 μL的样品悬液接种于ECO板的每个孔中,对照孔加入150 μL的无菌水,将接种好的ECO板置于25℃恒温避光培养,分别于0、24、48、72、96、120、144、168、192、216 h和240 h后用Biolog Reader分析仪读取590 nm的光密度值。

表 1 不同干扰方式下松江湿地土壤主要理化性质分析

Table 1 Analysis of main physical and chemical properties of wetland soil under different interference patterns

样地 Sample sites	pH	总碳 TC/ (g/kg)	总氮 TN/ (g/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	总磷 TP/ (g/kg)	碳氮比 TC/TN ratio
呼兰河口湿地 Hulan Estuary wetland	6.69±0.32a	16.32±2.35b	2.51±0.32c	8.56±1.21c	45.31±6.93d	0.18±0.01ab	6.57±0.52a
阿什河湿地 Ashi River wetland	8.17±0.31c	23.39±3.61c	2.36±0.21c	8.03±0.62c	46.85±2.14d	0.39±0.03c	9.96±1.03b
金海湾湿地 Jinhe Bay wetland	6.52±0.25a	9.96±2.17a	0.82±0.03a	4.33±0.21a	24.52±3.27b	0.12±0.02a	12.15±2.31c
白鱼泡湿地 Baiyupao wetland	7.53±0.69b	9.82±2.06a	1.26±0.11a	6.27±0.52b	33.09±2.78c	0.27±0.07b	7.79±2.18ab
太阳岛湿地 Sun Island wetland	8.28±0.14c	14.49±1.74b	1.61±0.06b	5.02±0.31a	15.37±1.52a	0.15±0.04ab	6.02±1.36a
滨江湿地 Binjiang wetland	6.76±0.21a	9.32±1.02a	0.79±0.03a	4.26±0.56a	19.25±5.47a	0.16±0.02ab	11.77±2.08c

数值为平均值±标准差;同一列中不同字母表示经多重比较检验在 $\alpha = 0.05$ 水平上达到显著水平;TC: total carbon; TN: total nitrogen; TP: total phosphorus; TC/TN: the ratio of total carbon to total nitrogen

用微平板孔中溶液吸光值平均颜色变化率(AWCD)来代表土壤微生物的总体代谢活性,计算公式如下:

$$AWCD = \sum \frac{(C_i - R)}{31}$$

式中, C_i 为所测定的第 i 个碳源孔的光密度值; R 为对照孔的光密度值。

1.3.3 土壤微生物群落结构多样性测定

采用磷脂脂肪酸(PLFA)法测定土壤微生物群落结构,PLFA 的分析和提取采用修正的 Bligh-Dyer 法^[20]。称取 8 g 冻干土样,加入 35 mL 氯仿:甲醇:磷酸(1:2:0.8)缓冲液,避光震荡后离心,上清液加入 12 mL 氯仿和磷酸缓冲液静置分液,收集氯仿层, N₂ 吹干后转入硅胶柱,过氯仿、丙酮和甲醇洗脱,弃氯仿(含中性脂)和丙酮(含糖脂),收集甲醇(含磷脂)洗提液。经碱性甲醇溶液水解和皂化, N₂ 吹干后得到磷脂脂肪酸甲酯,加入 200 μ L 甲酯化的 C19:0,溶解后作为内标物,使用气相色谱仪(7890B GC, Agilent Technologies Co., USA)进行土壤微生物磷脂脂肪酸测定。不同类群微生物具有独特的 PLFA 特征谱图,可根据内标 C19:0 计算土壤微生物 PLFA 总量和单个 PLFA 的含量(nmol/g)。本研究中,细菌用 14:0、15:0、16:0、17:0、18:0、20:4 ω 6c、20:0、22:0 表征;革兰氏阳性菌(G⁺)用 i14:0、i15:0、a15:0、i16:0、a16:0、i17:1 ω 9c、i17:0、a17:0、i18:0 表征;革兰氏阴性菌(G⁻)用 16:1 ω 9c、16:1 ω 7c、16:1 ω 5c、17:1 ω 8c、cy17:0 ω 7c、18:1 ω 7c、18:1 ω 5c、cy19:0 ω 7c 表征;放线菌用 10Me16:0、10Me17:0、10Me18:0、10Me20:0 表征;真菌用 18:2 ω 6c、18:1 ω 9c、20:1 ω 9c 表征^[21-25]。

1.4 数据分析

土壤微生物群落多样性采用 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数表征,运用 BIO-DAP 程序进行计算。采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析(显著性水平为 $\alpha = 0.05$)。主成分分析(Principal components analysis, PCA)和冗余分析(Redundancy analysis, RDA)在多元统计分析软件 Canoco 5.0 中进行。

2 结果与分析

2.1 松江湿地土壤微生物群落功能多样性

2.1.1 平均颜色变化率(AWCD)分析

平均颜色变化率(Average well color development, AWCD)能够表征土壤微生物的碳源利用能力,也是指示土壤微生物代谢活性的重要指标。如图 2 所示,不同干扰方式下松江湿地土壤微生物 AWCD 值随培养时间的增加逐渐上升,表明土壤微生物群落活性不断提高且对碳源的利用能力均呈增加趋势。在 0—24 h 培养期

内,除保护类型(BJG)外其他干扰方式的湿地土壤微生物群落 AWCD 值均变化不明显,说明在 24 h 内微生物对碳源的利用程度较低。培养 24 h 后各干扰方式下湿地土壤微生物群落 AWCD 值呈现指数型增长趋势,表明微生物群落活性增强,碳源被大幅度利用,其中,受保护的湿地(BJG)土壤微生物群落 AWCD 值增长最快,而受工业干扰的湿地(ASH)增长最慢;培养 144 h 后各干扰方式下湿地土壤微生物群落 AWCD 值增速减缓并趋于稳定。测定结果表明,不同干扰方式下松江湿地土壤微生物对碳源的利用能力存在显著差异,由强到弱依次为:滨江湿地(BJG)>金河湾湿地(JHW)>白鱼泡湿地(BYP)>太阳岛湿地(TYD)>呼兰河口湿地(HLH)>阿什河湿地(ASH)。

2.1.2 土壤微生物对碳源利用水平分析

不同干扰方式下松江湿地土壤微生物对 6 类碳源的利用程度存在显著差异,其中羧酸类、糖类和氨基酸类为主要利用碳源,而对多聚物类、酚类和胺类的利用程度相对较低(图 3)。

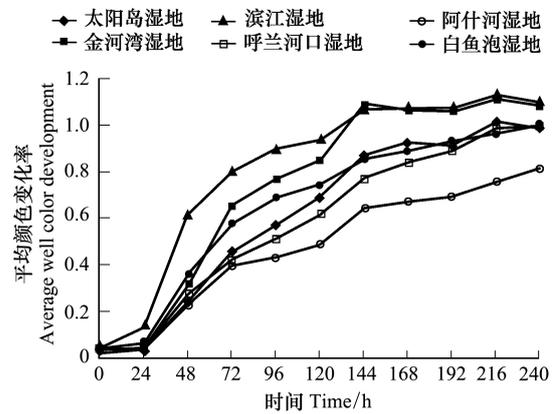


图 2 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落平均颜色变化率
Fig.2 AWCD of soil microbial community in Songjiang wetland under different interference patterns

TYD: 太阳岛湿地, Sun Island wetland; JHW: 金河湾湿地, Jinhe Bay wetland; BJG: 滨江湿地, Binjiang wetland; HLH: 呼兰河口湿地, Hulan Estuary wetland; ASH: 阿什河湿地, Ashi River wetland; BYP: 白鱼泡湿地, Baiyupao wetland

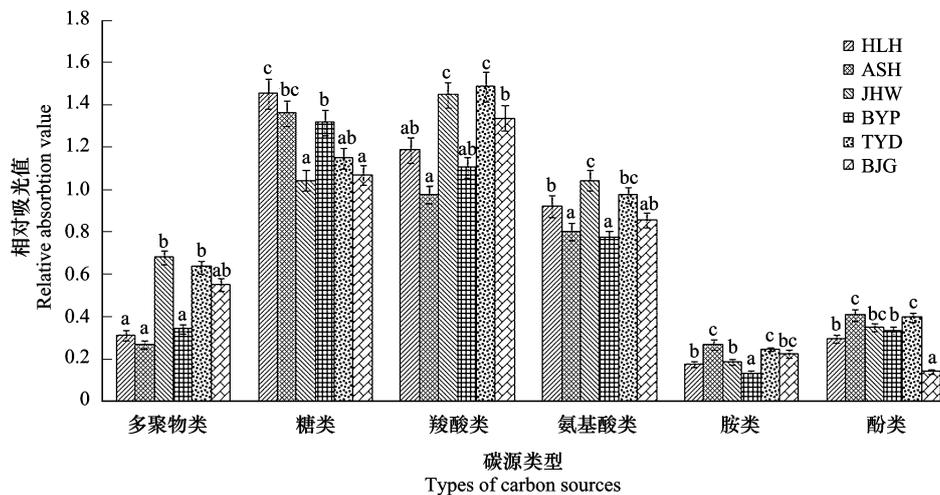


图 3 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物对不同碳源的利用水平

Fig.3 The level of different carbon utilization by soil microbial in Songjiang wetland under different interference patterns

农业干扰(HLH)、工业干扰(ASH)和旅游干扰(BYP)的湿地土壤微生物对糖类利用水平皆为最高,分别占总碳源的 33.46%、33.38%和 32.98%;其次为羧酸类,分别为 27.33%、23.9%和 27.63%;胺类最低,分别为 4.01%、6.54%和 3.23%。旅游干扰的 JHW 和 TYD 土壤微生物对羧酸类的利用水平最高,分别占总碳源的 30.48%和 30.41%;其次为糖类,分别为 21.97%和 23.48%;胺类最低,为 3.9%和 5.06%。保护类型的 BJG 土壤微生物对羧酸类的利用水平最高,占总碳源的 31.96%;其次为糖类,25.55%;酚类最低,为 3.4%。总体而言,旅游干扰的 TYD 和 JHW 土壤微生物对羧酸类碳源的利用水平显著高于工业干扰的 ASH($P < 0.05$);对糖类碳源的利用水平在农业干扰的 HLH 显著高于保护类型的 BJG 和旅游干扰的 JHW,但 BJG 和 JHW 间差异不显著($P > 0.05$);对氨基酸类碳源的利用水平在旅游干扰的 JHW 显著高于工业干扰的 ASH 和旅游干扰的 BYP($P < 0.05$)。

2.1.3 土壤微生物碳源利用的主成分分析

研究土壤微生物对不同碳源利用能力的差异,将有助于更全面地了解湿地微生物群落代谢功能特征^[26]。对不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落代谢功能多样性进行主成分分析,其中第1主成分(PC1)和第2主成分(PC2)分别解释方差变量的74.9%和14.1%,两个主成分的累计方差贡献率达到89%,能够较好的反映微生物对碳源利用效率的变化特征(图4)。结果表明,不同干扰方式下6个湿地的微生物群落代谢功能分异明显。农业干扰的HLH、工业干扰的ASH和旅游干扰的TYD位于PC1的正端,空间距离较近,说明湿地间土壤微生物群落代谢功能差异不显著,但与旅游干扰的JHW、BYP和保护类型的BJG分异明显;旅游干扰的JHW和BYP集中分布于PC1和PC2的负端,说明两湿地间土壤微生物群落代谢功能较为相似,但与其他湿地差异较为明显;保护类型的BJG位于PC1的负端和PC2的正端,与其他湿地存在显著差异;其中羧酸类和糖类是影响松江湿地微生物群落代谢功能的敏感碳源。

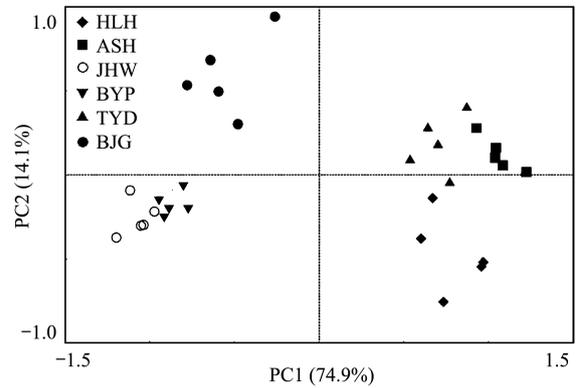


图4 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物碳源利用的主成分分析

Fig.4 PCA of carbon utilization by soil microbial in Songjiang wetland under different interference patterns

2.2 松江湿地土壤微生物群落结构多样性

2.2.1 土壤微生物磷脂脂肪酸类型及含量

不同干扰方式下松江湿地土壤样品中共检测出47种PLFA,选取大于0.01 nmol/g的32种PLFA进行分析,其中代表细菌的PLFA 8种、革兰氏阳性菌9种、革兰氏阴性菌8种、放线菌4种、真菌3种(表2)。松江湿地中含量较高的PLFA主要有18:1 ω 7c、16:0、18:1 ω 9c、i17:1 ω 9c、cy19:0 ω 7c和16:1 ω 7c,各湿地的优势PLFA种类基本相同,但不同类型的PLFA含量存在显著差异。旅游干扰的TYD F/B最高为0.34,旅游干扰的JHW最低为0.11;旅游干扰的BYP G⁺/G⁻最高为0.98,旅游干扰的TYD最低为0.54;旅游干扰的BYP一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸(Sat/Mon)最高为0.52且显著高于其他湿地($P < 0.05$)。

表2 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物磷脂脂肪酸类型及含量

Table 2 The type and content of soil microbial PLFA in Songjiang wetland under different interference patterns

PLFA 生物标记 PLFA biomarkers		HLH	ASH	JHW	BYP	TYD	BJG
细菌 Bacteria	14:0	0.37±0.01b	0.58±0.05c	0.28±0.08a	0.23±0.04a	0.70±0.11d	0.72±0.02d
	15:0	0.30±0.02b	0.45±0.03c	0.19±0.04a	0.19±0.02a	0.53±0.08d	0.55±0.12d
	16:0	5.00±0.24b	7.01±0.49bc	3.42±0.17a	3.09±0.25a	7.78±0.22c	8.18±0.27c
	17:0	0.29±0.02c	0.30±0.08c	0.17±0.04b	0.11±0.01a	0.37±0.08d	0.27±0.04c
	18:0	0.81±0.03b	1.13±0.06c	0.72±0.06b	0.50±0.04a	1.05±0.12bc	1.19±0.09c
	20:4 ω 6c	0.37±0.02b	0.25±0.03a	0.23±0.01a	0.29±0.04ab	0.40±0.05b	0.29±0.03ab
	20:0	0.52±0.07b	0.62±0.05c	0.44±0.02a	0.47±0.03a	0.63±0.05c	0.63±0.02c
	22:0	0.47±0.04ab	0.53±0.03b	0.41±0.02a	0.37±0.02a	0.97±0.07c	0.90±0.05c
革兰氏阳性菌 G ⁺ bacteria	i14:0	0.19±0.04b	0.33±0.06c	0.17±0.02b	0.11±0.01a	0.24±0.03bc	0.34±0.05c
	i15:0	2.79±0.18b	5.28±0.34d	2.45±0.14ab	2.04±0.13a	4.27±0.11c	5.36±0.24d
	a15:0	1.77±0.09b	2.75±0.16c	2.33±0.11bc	1.09±0.04a	1.51±0.05b	2.37±0.12bc
	i16:0	0.99±0.06b	2.01±0.11d	1.10±0.05b	0.74±0.04a	1.30±0.07bc	1.57±0.05c
	a16:0	0.12±0.03b	0.23±0.05c	0.11±0.02a	0.10±0.01a	0.16±0.03b	0.16±0.04b

续表

PLFA 生物标记 PLFA biomarkers		HLH	ASH	JHW	BYP	TYD	BJG
	i17:1 ω 9c	4.44 \pm 0.25b	4.58 \pm 0.14c	4.17 \pm 0.08a	4.27 \pm 0.14ab	4.26 \pm 0.13ab	4.65 \pm 0.17c
	i17:0	0.57 \pm 0.12b	1.04 \pm 0.04d	0.60 \pm 0.03b	0.37 \pm 0.01a	0.82 \pm 0.04c	0.86 \pm 0.05c
	a17:0	0.78 \pm 0.08b	1.00 \pm 0.05c	0.74 \pm 0.05b	0.36 \pm 0.01a	0.71 \pm 0.07b	0.87 \pm 0.03bc
	i18:0	0.27 \pm 0.03a	0.62 \pm 0.04b	0.21 \pm 0.03a	0.23 \pm 0.01a	0.69 \pm 0.12b	0.75 \pm 0.09b
革兰氏阴性菌 G ⁻ bacteria	16:1 ω 9c	0.71 \pm 0.04c	0.95 \pm 0.07d	0.53 \pm 0.02b	0.37 \pm 0.01a	0.81 \pm 0.07c	0.98 \pm 0.03d
	16:1 ω 7c	3.30 \pm 0.22b	5.11 \pm 0.14c	2.53 \pm 0.12a	2.26 \pm 0.09a	5.03 \pm 0.25c	6.06 \pm 0.35d
	16:1 ω 5c	1.69 \pm 0.05c	1.88 \pm 0.13d	1.11 \pm 0.04b	0.79 \pm 0.07a	1.19 \pm 0.04b	1.94 \pm 0.09d
	17:1 ω 8c	0.28 \pm 0.03ab	0.40 \pm 0.02b	0.25 \pm 0.03a	0.21 \pm 0.01a	0.51 \pm 0.05c	0.49 \pm 0.03c
	cy17:0 ω 7c	1.36 \pm 0.08b	2.95 \pm 0.18d	1.35 \pm 0.14b	0.64 \pm 0.04a	3.07 \pm 0.11d	2.49 \pm 0.19c
	18:1 ω 7c	5.60 \pm 0.21b	7.19 \pm 0.64bc	5.21 \pm 0.32b	2.37 \pm 0.13a	8.52 \pm 0.27c	7.81 \pm 0.35c
	18:1 ω 5c	0.90 \pm 0.12c	0.92 \pm 0.08c	0.32 \pm 0.01a	0.34 \pm 0.02a	0.73 \pm 0.05b	0.92 \pm 0.09c
	cy19:0 ω 7c	3.16 \pm 0.23b	3.35 \pm 0.17b	2.76 \pm 0.11a	2.58 \pm 0.13a	6.22 \pm 0.44c	7.52 \pm 0.37c
放线菌 Actinomycete	10Me16:0	2.30 \pm 0.19b	4.59 \pm 0.14d	2.42 \pm 0.08b	1.72 \pm 0.15a	3.93 \pm 0.22c	3.77 \pm 0.31c
	10Me17:0	0.25 \pm 0.03a	0.61 \pm 0.11c	0.36 \pm 0.08b	0.21 \pm 0.01a	0.46 \pm 0.02bc	0.33 \pm 0.03b
	10Me18:0	0.73 \pm 0.09b	0.99 \pm 0.14c	0.78 \pm 0.05bc	0.35 \pm 0.01a	0.42 \pm 0.03a	0.86 \pm 0.06bc
	10Me20:0	0.41 \pm 0.04b	0.35 \pm 0.06ab	0.32 \pm 0.01a	0.35 \pm 0.02ab	0.33 \pm 0.04a	0.33 \pm 0.03a
真菌 Fungi	18:2 ω 6c	2.38 \pm 0.12b	5.25 \pm 0.28c	0.85 \pm 0.12a	2.56 \pm 0.14b	8.04 \pm 0.23d	4.23 \pm 0.18c
	18:1 ω 9c	4.57 \pm 0.20b	6.75 \pm 0.32c	2.57 \pm 0.14a	3.00 \pm 0.15ab	9.30 \pm 0.31d	8.20 \pm 0.25cd
	20:1 ω 9c	0.15 \pm 0.02b	0.18 \pm 0.03b	0.07 \pm 0.01a	0.16 \pm 0.01b	0.24 \pm 0.04c	0.23 \pm 0.03c
真菌/细菌 F/B		0.19 \pm 0.01b	0.24 \pm 0.04b	0.11 \pm 0.01a	0.24 \pm 0.03b	0.34 \pm 0.05c	0.22 \pm 0.03b
革兰氏阳性菌/革兰氏 阴性菌 G ⁺ /G ⁻		0.70 \pm 0.06b	0.78 \pm 0.04b	0.85 \pm 0.09bc	0.98 \pm 0.12c	0.54 \pm 0.02a	0.60 \pm 0.04ab
一般饱和脂肪酸/单烯 不饱和脂肪酸 Sat/Mon		0.45 \pm 0.03a	0.45 \pm 0.02a	0.45 \pm 0.03a	0.52 \pm 0.05b	0.46 \pm 0.01a	0.47 \pm 0.07a

数值为平均值 \pm 标准差;同一行中不同字母表示经多重比较检验在 $\alpha = 0.05$ 水平上达到显著水平;i:异丙基, isopropyl; a:反异丙基, anti isopropyl; Me:甲基分支脂肪酸, methyl branched fatty acids; cy:环丙基, cyclopropyl; ω :脂肪酸端, fatty acid side; c:顺式空间构型, cis space configuration; t:反式空间构型, Trans space configuration; TYD:太阳岛湿地, Sun Island wetland; JHW:金海湾湿地, Jinhe Bay wetland; BJG:滨江湿地, Binjiang wetland; HLH:呼兰河口湿地, Hulan Estuary wetland; ASH:阿什河湿地, Ashi River wetland; BYP:白鱼泡湿地, Baiyupao wetland

不同干扰方式下松江湿地不同类群土壤微生物磷脂脂肪酸含量具有明显差异,各湿地土壤细菌(含 G⁻和 G⁺)含量最高,占总 PLFA 的 69.72%—80.97%,显著高于真菌(9.20%—23.51%)和放线菌(6.77%—9.82%),这说明细菌是松江湿地土壤微生物的主要类群(图 5)。保护类型的 BJG 总 PLFA、BPLFA 和 G⁻PLFA 含量最高,分别为 65.48、58.77 nmol/g 和 28.44 nmol/g,而旅游干扰的 BYP 含量最低,分别为 28.26、24.30 nmol/g 和 9.59 nmol/g;工业干扰的 ASH G⁺PLFA 含量最高为 19.36 nmol/g,旅游干扰的 BYP 含量最低为 9.95 nmol/g;旅游干扰的 TYD FPLFA 最高为 17.89 nmol/g,显著高于其他湿地($P < 0.05$);工业干扰的 ASH APLFA 最高为 6.54 nmol/g,与其他湿地存在显著差异($P < 0.05$)。

2.2.2 多样性指数分析

Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数是评价微生物群落多样性的常用指标,能够表征湿地土壤中微生物群落结构的多样性、优势度和均匀度。结果表明,保护类型的 BJG 土壤微生物群落具有最高的多样性指数(2.994)、均匀度指数(19.464)和最低的优势度指数(0.037);工业干扰的 ASH 多样性指数最低(2.881),而优势度指数最高(0.069)且与其他湿地间差异显著($P < 0.05$)。农业干扰的 HLH 均匀度指数最低,为 9.068(表 3)。

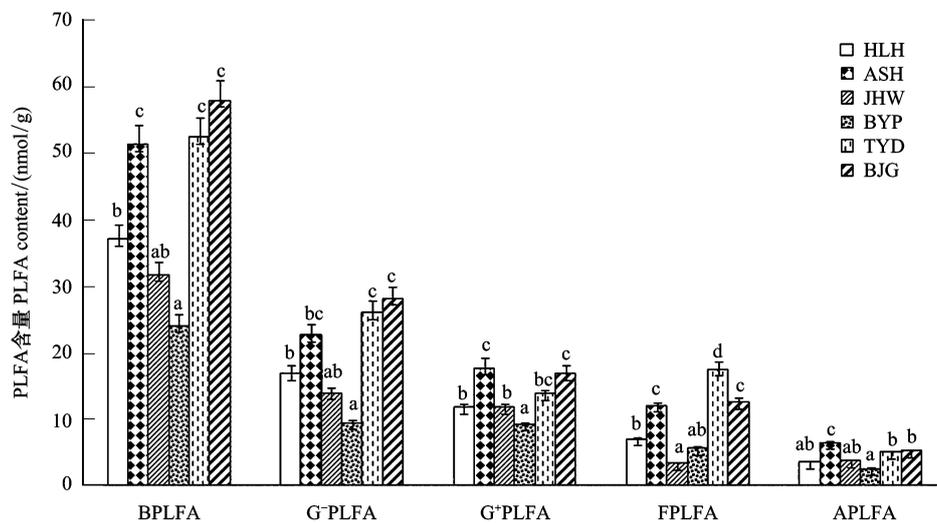


图5 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物磷脂脂肪酸总含量

Fig.5 Total content of soil microbial PLFA in Songjiang wetland under different interference patterns

BPLFA:细菌 PLFA (含 G^- 和 G^+), bacterial PLFA (include G^- and G^+); G^- PLFA:革兰氏阴性菌 PLFA, Gram-negative bacterial PLFA; G^+ PLFA:革兰氏阳性菌 PLFA, Gram-positive bacterial PLFA; FPLFA:真菌 PLFA, fungal PLFA; APLFA:放线菌 PLFA, Actinomycete PLFA

表3 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落多样性指数

Table 3 Soil microbial community diversity index in Songjiang wetland under different interference patterns

多样性指数 Diversity index	HLH	ASH	JHW	BYP	TYD	BJG
多样性指数 Shannon index	2.916±0.015ab	2.881±0.022a	2.978±0.015bc	2.934±0.034b	2.946±0.016b	2.994±0.028c
优势度指数 Simpson index	0.046±0.001ab	0.069±0.002c	0.041±0.001a	0.040±0.003a	0.053±0.001b	0.037±0.001a
均匀度指数 McIntosh index	9.068±0.334a	10.153±0.985a	16.750±0.349bc	17.484±0.328bc	14.008±0.474b	19.464±0.349c

数值为平均值±标准差;同一行中不同字母表示经多重比较检验在 $\alpha=0.05$ 水平上达到显著水平

2.2.3 微生物群落结构与环境因子的相关性分析

对不同干扰方式下松江湿地土壤微生物磷脂脂肪酸进行去趋势对应分析(DCA),得到最大梯度长度小于3.0(lengths of gradient=0.557),线性模型特征较为明显,则松江湿地微生物群落结构与环境因子间的相关性适合用冗余分析(RDA)。RDA分析结果显示,第1轴和第2轴分别解释微生物群落结构变异的85.3%和7.1%(图6)。工业干扰的ASH和农业干扰的HLH微生物群落集中分布于第三象限,与TN、 NO_3^- -N和 NH_4^+ -N呈显著正相关($P<0.05$),说明这些理化因子是影响工业干扰和农业干扰下土壤微生物群落结构的关键环境因子。旅游干扰的TYD微生物群落分布在第四象限,与pH呈显著正相关,旅游干扰的BYP和JHW微生物群落结构较为相似,皆分布于第二象限,与pH呈显著负相关。保护类型的BJG微生物群落结构与其他湿地差异明显,单独分布于第一象限,与TC/TN呈显著正相关,但受其他环境因子的影响较小。

3 讨论

人类在城市湿地中的干扰活动十分频繁,是改变湿地生态系统服务功能最重要的直接驱动力,研究微生物利用不同碳源的能力,可以深入揭示不同干扰方式下湿地土壤微生物群落代谢水平的差异^[27-28]。本研究结果表明,不同干扰方式下松江湿地土壤微生物利用碳源的能力存在差异,其中保护类型的BJG土壤微生物利用单一碳源的能力最强,代谢活性最高,说明较好的湿地生态环境为微生物代谢与繁殖提供了有利条件。而工业干扰的ASH AWCD值最低,土壤微生物群落代谢能力最弱,这可能由于该湿地毗邻城区和工业区,受

工业废水及固体废弃物等外源污染较多,土壤中总碳和总氮含量较高,虽然 ASH 与 BJJ 都具有较高的总 PLFA 含量,但各优势微生物的 PLFA 含量间存在显著差异(表 2),从而使其微生物群落功能出现相应变化。工业干扰破坏原有土壤的稳定性,减小可利用底物的丰度和均匀度,进而降低了微生物的代谢功能。对 6 类碳源利用率分析结果显示,松江湿地土壤微生物群落代谢以羧酸类、糖类和氨基酸类碳源为主,而对多聚物类、酚类和胺类碳源的利用率相对较低,羧酸类和糖类是湿地土壤微生物功能多样性表现出空间异质性的主要碳源类型。

主成分分析(PCA)是一种数学降维的方法,能够更为直观的反映不同干扰方式下松江湿地土壤微生物功能多样性的综合差异和相似状况。分析结果表明,受农业干扰(HLH)、工业干扰(ASH)和旅游干扰(TYD)的土壤微生物代谢功能差异不显著,造成这种现象的原因可能与 3 个湿地皆位于松花江中游河段人为干扰强

度最大,外源污染物输入导致土壤总碳和总氮含量较高,进而形成适应特殊环境的优势菌群。杜萍等^[29]对椒江口沉积物的研究结果也表明,微生物群落代谢特征与有机质含量关系密切。虽然干扰方式不同但土壤微生物代谢功能差异不大,其原因可用“功能冗余”来解释,即同一群落中的某些物种在生态功能上有一定程度的重叠。我们 PLFA 研究结果表明,不同干扰方式能够明显驱动湿地土壤微生物群落结构组成发生较大变化,显著影响微生物群落中优势种群的丰度(表 2)。因此,在同一干扰条件下,湿地微生物群落结构和代谢功能所表现出的响应程度并不一致。这是由于人为干扰导致湿地土壤微生物群落中优势种群发生变化,但由于功能的冗余性,其变化程度反应到代谢功能上可能会被稀释。湿地微生物群落结构对外界干扰条件变化的反应比代谢功能更为敏感,这一结论也与 Berga 等^[30]和王楠楠等^[31]的研究结果相一致。虽然 JHW 和 BYP 同样受旅游干扰但开发时间相对 TYD 较晚,距离市区较远,受人类旅游干扰强度和频率相对较弱,因而表现为两湿地间微生物群落代谢功能相似但与 TYD 差异明显。保护类型的 BJJ 受人为干扰较少,与其他湿地微生物代谢功能表现出较大差异。旅游干扰的 JHW 土壤微生物群落 AWCD 值较高,但其总 PLFA 含量相对较低,土壤理化性质又与保护类型的 BJJ 差异不大。这可能是因为旅游干扰带来大量外源微生物和污染物,显著影响该湿地土壤微生物群落结构,而微生物代谢功能和土壤理化性质对外界环境变化表现出明显的滞后性。本研究结果也进一步证明土壤微生物群落结构可以作为快速预警和早期指示城市湿地生态环境健康状况的敏感生物指标。由于 BIOLOG 微平板技术具有一定局限性,31 种碳源并不能全部反映自然条件下土壤微生物所处的复杂底物环境。因此,本研究通过 BIOLOG 微平板和 PLFA 技术相结合,以期更为全面、深入地阐释不同干扰方式对松江湿地土壤微生物的影响。

在湿地生态系统中,土壤微生物群落结构和多样性受湿地生物、水文和土壤等多种因素的交互影响^[32]。本研究发现松江湿地中好氧微生物真菌和放线菌 PLFA 量显著低于细菌,说明湿地水淹环境减少了土壤中溶解氧的含量,导致放线菌和真菌的生长受到抑制,从而降低其在微生物总量中的比例。一般饱和和脂肪酸(Sat)和单烯不饱和脂肪酸(Mon)是 PLFA 的重要组成部分^[33],Carrasco 等^[34]认为 Sat/Mon 值小于 1,则表明该区域有较高的有机质含量和有机碳输入,这也印证了我们对人为干扰引起营养物质的输入量较大导致土壤有机质含量增高,造成松江湿地 Sat/Mon 值较小的结论。 G^+ 细菌对环境胁迫的适应和生存能力强于 G^- 细菌^[35],其比值可以表征细菌群落受营养胁迫的程度,松江湿地 G^+/G^- 值均小于 1,表明湿地生态系统稳定性较差,受到一定的 营养环境胁迫。

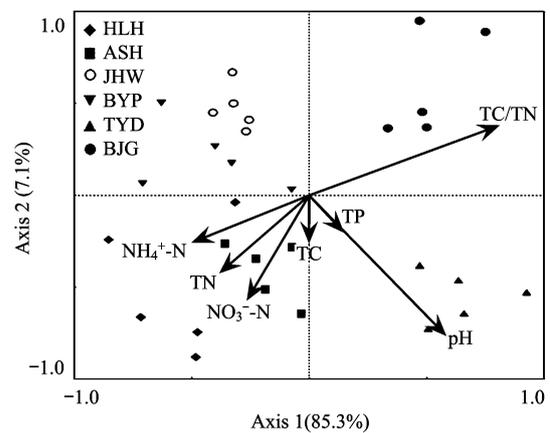


图 6 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落结构与环境因子的 RDA 分析

Fig. 6 RDA analysis of soil bacterial community structure and environmental factors in Songjiang wetland under different interference patterns

RDA 分析结果显示,工业干扰的 ASH 和农业干扰的 HLH 土壤微生物群落结构与 TN 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量呈显著正相关,表明氮素是引起湿地土壤微生物群落结构变异的关键环境因子。由于 ASH 靠近城区且附近有工业用地,工业废水等污染物排放相对较多,而 HLH 附近农田耕种产生的灌溉污水排放和农药化肥污染较多,各类外源物质的输入导致 2 个湿地土壤中氮素含量较高(表 1),这也是造成湿地土壤理化性质变化的主要因素。施瑶等^[36]和刘振香等^[37]的研究也表明,微生物的生长常常受氮有效性的限制,环境中氮有效性越高,微生物的活性越强,繁殖也越快。土壤 pH 值与土壤母质、气候环境和人为干扰等多种因素有关,局部微环境条件和外源物质输入都会引起 pH 值变化^[38]。已有研究表明,随着人类旅游干扰强度的增加,土壤 pH 值呈增长趋势^[39-41],本研究中 TYD 受旅游活动干扰强度最大,6 个湿地中 TYD 的 pH 值最高为 8.28,土壤微生物群落结构与 pH 呈显著正相关。TYD 建成时间较长,大量游客踩踏致使湿地植被遭到破坏,凋落物归还量减少以及土壤孔隙度降低、紧实度增加,同时景点亭台、楼阁的建设过程中石灰和水泥等碱性建筑材料散落都会引起湿地土壤 pH 值增高,最终导致微生物群落结构的显著改变^[42-43]。而 JHW 和 BYP 同样受旅游活动干扰,但土壤 pH 值相对较低,微生物群落结构相似且与 pH 呈显著负相关,与 Feng 等^[44]和 Jiang 等^[45]的研究结果相一致。这可能是由于 2 个湿地开发时间较晚,人为旅游干扰程度相对较低,多作为聚餐休闲的公园性场所,大量游客饮用的酸性饮料倾倒、溅洒以及游客垃圾等外源物质输入引起 pH 值下降。土壤 pH 变化的不确定性反映了人为干扰导致湿地环境演变的复杂性^[46],今后将进一步开展多因子综合实验以期全面理解人为干扰对松江湿地生态环境的影响效应与机制。

4 结论

不同干扰方式下松江湿地土壤理化性质、微生物代谢功能及微生物 PLFA 均存在显著差异。土壤微生物碳源利用能力表现为:滨江湿地(保护)>金河湾湿地(旅游)>白鱼泡湿地(旅游)>太阳岛湿地(旅游)>呼兰河口湿地(农业)>阿什河湿地(工业)。微生物利用率最高的碳源是羧酸类,其次是糖类和氨基酸类,其中羧酸类和糖类也是不同干扰方式下松江湿地微生物功能多样性表现出异质性的主要碳源。保护类型的 BJJ 总 PLFA、BPLFA 和 G⁻PLFA 含量显著高于其他湿地,农业、工业和旅游干扰改变了土壤微生物群落组成和结构,显著降低了微生物生物量和多样性,导致湿地生态系统稳定性较差。RDA 分析初步揭示了不同干扰方式下松江湿地微生物群落对土壤理化性质变化的响应情况,其中氮素和 pH 是影响湿地土壤微生物群落组成的关键环境因子。

参考文献(References):

- [1] 裴希超,许艳丽,魏巍. 湿地生态系统土壤微生物研究进展. 湿地科学, 2009, 7(2): 181-186.
- [2] 胡婵娟,郭雷,刘国华. 黄土丘陵沟壑区不同植被恢复格局下土壤微生物群落结构. 生态学报, 2014, 34(11): 2986-2995.
- [3] Harris J A, Birch P. Soil microbial activity in opencast coal mine restorations. Soil Use and Management, 1989, 5(4): 155-160.
- [4] 郑洁,刘金福,吴则焰,洪伟,何中声,蓝亦琦,刘思迪. 闽江河口红树林土壤微生物群落对互花米草入侵的响应. 生态学报, 2017, 37(21): 7293-7303.
- [5] 张慧,李智,刘光,祝炜平. 中国城市湿地研究进展. 湿地科学, 2016, 14(1): 103-107.
- [6] 朱芳,白卓灵. 旅游干扰对鄱阳湖国家湿地公园植被及土壤特性的影响. 水土保持研究, 2015, 22(3): 33-39.
- [7] Moon J B, Wardrop D H, Bruns M A V, Miller R M, Naithani K J. Land-use and land-cover effects on soil microbial community abundance and composition in headwater riparian wetlands. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 97: 215-233.
- [8] 曾宏达,杜紫贤,杨玉盛,李熙波,张雅纯,杨志峰. 城市沿江土地覆被变化对土壤有机碳和轻组有机碳的影响. 应用生态学报, 2010, 21(3): 701-706.
- [9] McCarthy C M, Murray L. Viability and metabolic features of bacteria indigenous to a contaminated deep aquifer. Microbial Ecology, 1996, 32(3): 305-321.
- [10] 颜慧,蔡祖聪,钟文辉. 磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多样性研究中的应用. 土壤学报, 2006, 43(5): 851-859.
- [11] Kaur A, Chaudhary A, Kaur A, Choudhary R, Kaushik R. Phospholipid fatty acid-A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. Current Science, 2005, 89(7): 1103-1112.
- [12] 郑华,欧阳志云,方治国,赵同谦. BILOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用. 土壤学报, 2004, 41(3): 456-461.

- [13] 王森, 曲来叶, 马克明, 李桂林, 杨小丹. 罕山土壤微生物群落组成对植被类型的响应. 生态学报, 2014, 34(22): 6640-6654.
- [14] Grayston S J, Prescott C E. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(6): 1157-1167.
- [15] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [16] Drenovsky R E, Vo D, Graham K J, Scow K M. Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition. *Microbial Ecology*, 2004, 48(3): 424-430.
- [17] 蒋本超, 戚秀云. 哈尔滨市松江湿地保护现状及生态修复策略研究. 环境科学与管理, 2016, 41(2): 146-149.
- [18] 赵志强, 杜立柱. 城市湿地保护与利用规划探析——以《万顷松江湿地保护与利用总体规划》为例. 规划师, 2011, 27(7): 35-38.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [20] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities; Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology*, 1998, 35(3/4): 265-278.
- [21] Zogg G P, Zak D R, Ringelberg D B, White D C, MacDonald N W, Pregitzer K S. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 475-481.
- [22] Kulmatiski A, Beard K H. Long-term plant growth legacies overwhelm short-term plant growth effects on soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 823-830.
- [23] McKinley V L, Peacock A D, White D C. Microbial community PLFA and PHB responses to ecosystem restoration in tallgrass prairie soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(10): 1946-1958.
- [24] Liang C, Jesus E D C, Duncan D S, Jackson R D, Tiedje J M, Balser T C. Soil microbial communities under model biofuel cropping systems in southern Wisconsin, USA: Impact of crop species and soil properties. *Applied Soil Ecology*, 2012, 54: 24-31.
- [25] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [26] 林先贵, 胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能. 土壤学报, 2008, 45(5): 892-900.
- [27] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 胡跃高. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展. 生态学杂志, 2005, 24(1): 48-52.
- [28] 席劲瑛, 胡洪营, 钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用. 微生物学报, 2003, 43(1): 138-141.
- [29] 杜萍, 刘晶晶, 沈李东, 胡宝兰, 曾江宁, 陈全震, 寿鹿, 廖一波. Biolog 和 PCR-DGGE 技术解析椒江口沉积物微生物多样性. 环境科学学报, 2012, 32(6): 1436-1444.
- [30] Berga M, Székely A J, Langenheder S. Effects of disturbance intensity and frequency on bacterial community composition and function. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36959.
- [31] 王楠楠, 韩冬雪, 孙雪, 国微, 马宏宇, 冯富娟. 降水变化对红松阔叶林土壤微生物功能多样性的影响. 生态学报, 2017, 37(3): 868-876.
- [32] 张全军, 于秀波, 钱建鑫, 熊挺. 鄱阳湖南矶湿地优势植物群落及土壤有机质和营养元素分布特征. 生态学报, 2012, 32(12): 3656-3669.
- [33] Frostegård Å, Bååth E, Tunlio A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993, 25(6): 723-730.
- [34] Carrasco L, Gattinger A, Fließbach A, Roldán A, Schloter M, Caravaca F. Estimation by PLFA of microbial community structure associated with the rhizosphere of *Lygeum spartum* and *Piptatherum miliaceum* growing in semiarid mine tailings. *Microbial Ecology*, 2010, 60(2): 265-271.
- [35] 林生, 庄家强, 陈婷, 张爱加, 周明明, 林文雄. 不同年限茶树根际土壤微生物群落 PLFA 生物标记多样性分析. 生态学杂志, 2013, 32(1): 64-71.
- [36] 施瑶, 王忠强, 张心昱, 孙晓敏, 刘希玉, 何念鹏, 庾强. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响. 生态学报, 2014, 34(17): 4943-4949.
- [37] 刘振香, 刘鹏, 贾绪存, 程乙, 董树亭, 赵斌, 张吉旺, 杨今胜. 不同水肥处理对夏玉米田土壤微生物特性的影响. 应用生态学报, 2015, 26(1): 113-121.
- [38] Schmidt M W I, Torn M S, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens I A, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning D A, Nannipieri P, Rasse D P, Weiner S, Trumbore S E. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 2011, 478(7367): 49-56.
- [39] 陆林, 巩劼, 晋秀龙. 旅游干扰对黄山风景区土壤的影响. 地理研究, 2011, 30(2): 209-223.
- [40] 管东生, 林卫强, 陈玉娟. 旅游干扰对白云山土壤和植被的影响. 环境科学, 1999, (6): 6-9.
- [41] 巩劼, 陆林, 晋秀龙, 南伟, 刘飞. 黄山风景区旅游干扰对植物群落及其土壤性质的影响. 生态学报, 2009, 29(5): 2239-2251.
- [42] 赵美风, 席建超, 葛全胜. 六盘山生态旅游区水质变化对人类旅游活动干扰的动态响应. 资源科学, 2011, 33(9): 1815-1821.
- [43] Buckley R. Tourism and environment. *Annual Review of Environment and Resources*, 2011, 36: 397-416.
- [44] 冯学钢, 包浩生. 旅游活动对风景区地被植物—土壤环境影响的初步研究. 自然资源学报, 1999, 14(1): 75-78.
- [45] 蒋文举, 朱联锡, 李静, 邓文. 旅游对峨眉山生态环境的影响及保护对策. 环境科学, 1996, 17(3): 48-51.
- [46] 李灵, 张玉, 江慧华, 谢好, 杜洪庆, 周艳, 张洪江. 旅游干扰对武夷山风景区土壤质量的影响. 水土保持研究, 2009, 16(6): 56-62.