

DOI: 10.5846/stxb202005291391

侯磊, 薛会英. 公路源重金属对青藏高原高寒草甸土壤线虫群落的影响. 生态学报, 2021, 41(9): 3564-3571.

Hou L., Xue H. Y. Effects of traffic-source heavy metals on soil nematode community in alpine meadow of the Tibet Plateau. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(9): 3564-3571.

# 公路源重金属对青藏高原高寒草甸土壤线虫群落的影响

侯 磊<sup>1,2,3</sup>, 薛会英<sup>1,\*</sup>

1 西藏农牧学院资源与环境学院, 林芝 860000

2 西藏高原森林生态教育部重点实验室, 林芝 860000

3 东北林业大学生态研究中心, 哈尔滨 150040

**摘要:** 为了解重金属对青藏高原高寒草甸土壤线虫群落的影响, 在邦杰塘草原利用公路源重金属含量差异, 采用高通量测序技术, 分析重金属对高寒草甸土壤线虫群落多样性及群落组成的影响。结果表明: 在重金属含量较低样本中, 土壤线虫群落 Shannon 指数、Ace 指数、Chao 指数比重金属含量较高样本均要小, 且整体上 Shannon 指数、Ace 指数、Chao 指数与重金属含量较高样本差异显著 ( $P < 0.05$ )。重金属含量升高改变了高寒草甸土壤线虫纲水平和目水平的群落结构, 使近自然状况下的色矛纲 (Chromadorea)、小杆目 (Rhabdida) 优势土壤线虫群落转变为一类未分类线虫纲 (unclassified\_p\_Nematoda)、一类未分类线虫目 (unclassified\_p\_Nematoda) 的优势土壤线虫群落。重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 与线虫门 (Nematoda) 和刺嘴纲 (Enoplea) 正相关, 但与色矛纲 (Chromadorea) 负相关, 且对土壤线虫 Chao 指数的变异解释比例依次减小。研究表明土壤重金属含量对青藏高原高寒草甸土壤线虫群落多样性及组成产生很大影响, 但仍需对高寒草甸区域进行系统的土壤线虫调查, 并丰富土壤线虫生物信息数据库。

**关键词:** 土壤线虫; 生物多样性; 高寒草甸; 重金属; 高通量测序; 青藏高原

## Effects of traffic-source heavy metals on soil nematode community in alpine meadow of the Tibet Plateau

HOU Lei<sup>1,2,3</sup>, XUE Huiying<sup>1,\*</sup>

1 Resources & Environment College, Tibet Agriculture & Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China

2 Tibet Key Laboratory of Forest Ecology in Plateau Area, Ministry of Education, Nyingchi 860000, China

3 Center for Ecological Research, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** Soil nematode is a sensitive soil organism. In order to understand the effects of heavy metals on the alpine meadow soil nematode community in the Tibet Plateau, this study based on the differences in heavy metals content from highway sources in the Bangjietang grassland used the high-throughput sequencing technology to analyze the influence of heavy metals on the diversity and community structure of the alpine meadow soil nematode community. In August 2019, we collected soil samples at 0, 5, 15, 30, 50 and 75 m away from the highway in Bangjietang grassland. Cu, Pb, Zn, Cd were determined by flame atomic absorption spectrophotometry, and the community composition and structure of soil nematode were determined by high-throughput sequencing technology. The influence of heavy metals on soil nematode community was discussed by redundancy analysis. The results showed that the Shannon index, Ace index and Chao index of the soil

**基金项目:** 西藏农牧学院林学学科创新团队建设项目; 西藏高原森林生态教育部重点实验室开放课题 (XZA-JYBSYS-2020-07); 西藏自治区自然科学基金项目 (XZ2019ZRG-49(Z)); 国家自然科学基金项目 (31660155)

**收稿日期:** 2020-05-29; **网络出版日期:** 2021-03-09

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 472425717@qq.com

nematode community in the samples with lower heavy metal content were smaller than the samples with higher heavy metal content ( $P < 0.05$ ). The increase of heavy metal content changed the community structure of soil nematode in alpine meadow, and the dominant soil nematode communities of Chromadorea and Rhabditiida under the natural conditions were transformed into the dominant soil nematode communities of unclassified\_p\_Nematoda and unclassified\_p\_Nematoda. Cu, Pb, Zn and Cd were positively correlated with Nematoda and Enopleia, but negatively correlated with Chromadorea. The proportion of Cu, Pb, Zn, Cd to the variation explanation of Chao index decreased successively. The study shows that soil heavy metal content has a great influence on the diversity and structure of soil nematode community in alpine meadow of the Tibet Plateau, but it is still necessary to conduct a systematic investigation of soil nematode in alpine meadow and enrich the database of biological information of soil nematode.

**Key Words:** soil nematode; biological diversity; alpine meadow; heavy metal; high-throughput sequencing; Tibet Plateau

土壤线虫是土壤生物中的一类数量庞大、种类丰富,并且广泛分布于地球上所有土壤中的土壤动物<sup>[1-2]</sup>,占据碎屑食物网的多个营养级<sup>[3]</sup>,在土壤有机质分解及土壤养分循环方面有着重要作用<sup>[4]</sup>,是土壤指示生物的典型代表<sup>[5]</sup>。高寒草甸是青藏高原最为主要的生态系统类型之一,极为脆弱,对人为干扰十分敏感<sup>[6]</sup>。西藏公路迅速发展<sup>[7-8]</sup>,穿越各类脆弱生态系统,其所产生的重金属粉尘等<sup>[9-10]</sup>对距公路一定范围内的土壤产生影响<sup>[11]</sup>,成为影响公路两侧高寒草甸的潜在环境因子,主要公路源重金属污染物包括铜(Cu)、锌(Zn)、铅(Pb)、镉(Cd)等<sup>[12]</sup>。

目前在重金属对土壤线虫的影响方面做了一些研究工作,如王赢利等<sup>[13]</sup>的研究认为重金属污染会降低稻田线虫数量,同时改变土壤线虫群落中的 r 对策和 K 对策线虫的比例;李钰飞等<sup>[14]</sup>通过设置重金属胁迫梯度研究林地和农田土壤线虫群落特征,发现不同生态类型土壤线虫多样性特征随重金属铜、锌浓度的变化规律不一致,较复杂的生态类型中线虫群落对重金属的抵抗力较强。此类研究一般采取的是人为控制试验来探讨土壤线虫群落变化特征,且多使用显微镜对线虫进行形态学分离鉴定,耗时费力<sup>[15]</sup>。高通量测序技术的发展为环境微生物群落研究提供了便利工具<sup>[16]</sup>,被认为有较好的结果一致性<sup>[17]</sup>,也在不同地区土壤线虫多样性研究方面<sup>[18-20]</sup>得到了一些应用,但在青藏高原土壤线虫研究方面应用还较少<sup>[21-22]</sup>。

本文利用 Illumina Miseq 测序技术,在 97% 相似水平下对所得序列进行生物信息分析,研究青藏高原高寒草甸公路旁的土壤线虫群落特征,为掌握高寒草甸土壤线虫群落对重金属的响应,进一步了解人为干扰下的高寒草甸土壤线虫群落特征提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

邦杰塘草原属西藏林芝市工布江达县,远离城市,人口极少。位于尼洋河上游,米拉山东侧,海拔平均约 4450 m,为高寒草甸。年降水量 550 mm,年均气温  $-3.8^{\circ}\text{C}$ ,年均风速 3 m/s。主要植物有高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)、紫花针茅(*Stipa purpurea*)、高山点地梅(*Androsace gmelinii*)、鹅绒委陵菜(*Potentilla ansrina*)、马先蒿(*Pedicularis reaupinanta*)、独一味(*Lamiophlomis rotata*)、肉果草(*Lancea tibetica*)等<sup>[23]</sup>。邦杰塘草原海拔落差小,人为干扰少,主要受自由放牧影响,拉林高等级公路贯穿其中,采样点选择在公路旁的地势平坦区域,海拔 4339 m,坐标  $92^{\circ}26'19.9''\text{E}$ ,  $29^{\circ}54'28.27''\text{N}$ 。

### 1.2 土样采集和土壤重金属测定

于 2019 年 8 月,在离路基 0、5、15、30、50、75 m 处布设与公路平行的采样线,每条采样线每隔 15 m 左右布设 1 个采样单元,共设 3 个。各样线分别编号为 P1、P2、P3、P4、P5、P6,表示在距路基不同距离上的样本。使用土钻取土样,装入塑封袋后储存在冷藏箱中尽快带回实验室。自然风干土样,去除碎石、根系和各种残渣。一部分碾碎,过 1 mm 筛。将粒径 1 mm 的土壤充分混合,多点取样 5 g 左右,用研钵研细,过孔径为

-0.15 mm筛,采用“硝酸-氢氟酸-高氯酸”消解体系进行消解,采用火焰原子吸收分光光度法(F-AAS)测定全量 Cu、Zn、Pb、Cd。另一部分土样用以测定土壤线虫群落特征。

### 1.3 土壤线虫群落的高通量测序

#### 1.3.1 DNA 抽提和 PCR 扩增

根据 E.Z.N.A.® soil 试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)说明书进行总 DNA 抽提, DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 抽取质量。采用 NF15'-GGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTT-3'和 18Sr2bR 5'-TACAAAGGGCAGGGACGTAAT-3'引物进行 PCR 扩增<sup>[16,24]</sup>。

#### 1.3.2 Illumina Miseq 测序

利用上海美吉生物医药科技有限公司的 Miseq PE300 平台进行测序。

### 1.4 数据分析

利用上海美吉生物医药科技有限公司云平台(www.i-sanger.com)分析土壤线虫群落及其与土壤重金属之间的关系。使用云平台 mothur 软件, 基于 OTU 水平进行多样性指数分析, 包括 Shannon 指数、Ace 指数和 Chao 指数。为保证分析在同一水平上进行, 分析前进行抽平操作。采用 one-way ANOVA 进行线虫数据的统计学检验。测序数据比对数据库是 NCBI (NT)。RDA 分析利用 R 语言 vegan 包, 用于探讨土壤线虫群落与重金属的相关性。采用环境因子排序线性回归分析重金属因子对土壤线虫群落多样性变异的解释比例。利用 SPSS 20.0 软件分析土壤化学性质数据差异性。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤化学性质

各样本土壤化学性质如表 1。可见 Cu、Pb、Zn、Cd 四种重金属最小值均出现在最远的 P6, 且 P6 的 Cu、Pb、Cd 与 P1—P5 差异显著( $P<0.05$ ), Zn 与 P1、P2 差异显著( $P<0.05$ ), 但与 P3、P4、P5 差异不显著。磷、pH、氮、有效磷在 P6 也呈现出与其他样本的差异。

表 1 土壤化学性质  
Table 1 The soil chemical properties

| 样本<br>Sample | 铜 Cu/<br>(mg/kg) | 锌 Zn/<br>(mg/kg) | 铅 Pb/<br>(mg/kg) | 镉 Cd/<br>(mg/kg) | 磷 P/%       | pH         | 氮 N/<br>(mg/kg) | 有效磷<br>Available P /<br>(mg/kg) |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|------------|-----------------|---------------------------------|
| P1           | 134.96±2.13c     | 13.45±0.77c      | 28.33±0.55d      | 0.57±0.00bc      | 0.20±0.01bc | 5.06±0.07b | 0.38±0.01c      | 45.40±2.98a                     |
| P2           | 137.52±1.61c     | 12.25±0.50bc     | 24.60±1.59bc     | 0.54±0.05bc      | 0.22±0.02cd | 5.03±0.09b | 0.45±0.00e      | 42.67±5.86a                     |
| P3           | 134.79±3.75c     | 11.00±1.38ab     | 25.37±0.91c      | 0.52±0.02b       | 0.24±0.01d  | 4.72±0.05a | 0.42±0.01d      | 62.25±1.38ab                    |
| P4           | 122.51±3.45b     | 11.42±0.63ab     | 23.59±0.07bc     | 0.54±0.04bc      | 0.19±0.01b  | 5.07±0.16b | 0.33±0.01b      | 37.45±1.33a                     |
| P5           | 123.30±2.62b     | 11.96±0.26abc    | 22.95±1.13b      | 0.58±0.00c       | 0.19±0.00b  | 5.05±0.28b | 0.36±0.02c      | 29.29±2.58a                     |
| P6           | 42.72±0.56a      | 10.41±0.39a      | 12.53±1.23a      | 0.44±0.02a       | 0.13±0.01a  | 6.07±0.21c | 0.03±0.01a      | 99.69±65.93b                    |

P1—P6 分别指离公路 0、5、15、30、50、75 m 土样; P1—P6 refers to soil samples 0, 5, 15, 30, 50, and 75m away from the highway, respectively; 同列字母不同表示取样位点之间差异显著( $P<0.05$ )

### 2.2 OTU 组成

利用物种丰富度指数 sobs 制作稀释曲线。如图 1 所示, 各样本的 sobs 稀释曲线趋于平缓, 数据量增加后对 OTU 无影响, 说明所得序列基本可以反映实际环境的土壤线虫群落结构。

不同样本土壤线虫群落共同拥有的 OTU 有 10 个, 如图 2, P1 独有 11 个 OTU, P2 独有 2 个 OTU, P3 独有 4 个 OTU, P4 独有 3 个 OTU, P5 独有 2 个 OTU, P6 独有 9 个 OTU。

### 2.3 $\alpha$ 多样性

各样本的  $\alpha$  多样性指标如表 2。不同样本土壤线虫群落多样性各指数略有不同, 但最小值均出现在 P6。其中 P6 的 Shannon 指数与 P1、P2、P3、P4 差异均显著( $P<0.05$ ), 与 P5 差异不显著; P6 的 Ace 指数与 P1、P2、

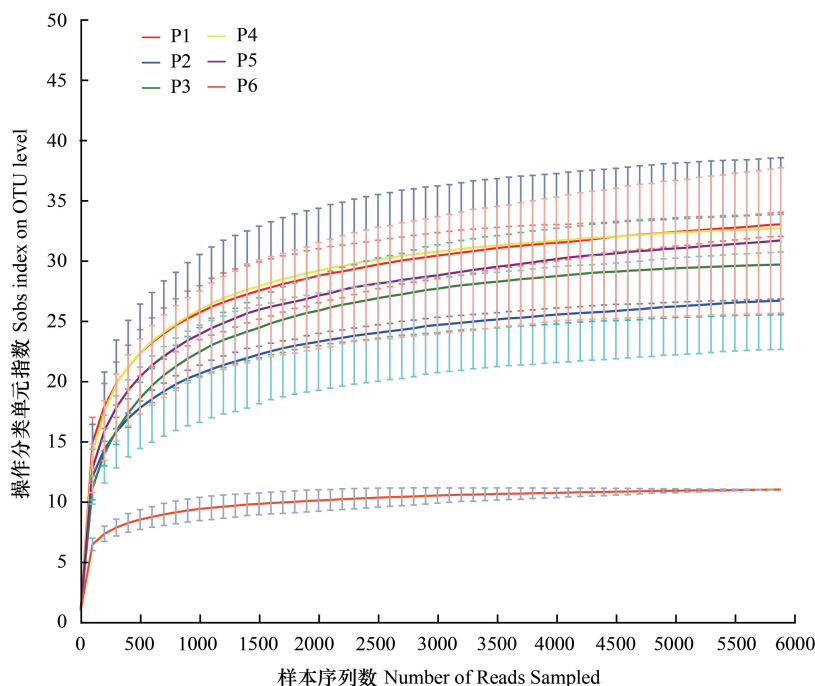


图1 土壤线虫测序的稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves of soil nematodes communities

P1—P6 分别指离公路 0、5、15、30、50、75 m 处土样

P3、P4、P5 差异均显著 ( $P < 0.05$ ); P6 的 Chao 指数与 P1、P2、P3、P4、P5 差异均显著 ( $P < 0.05$ )。以上表明距离公路最远的 P6 土壤线虫群落具有与 P1、P2、P3、P4、P5 不同的线虫多样性特点。

## 2.4 土壤线虫群落组成

### 2.4.1 纲水平土壤线虫群落组成

纲水平土壤线虫群落分布如图 3。在 P1、P2、P3、P4、P5 中,一类未分类线虫纲 (unclassified \_ p \_ Nematoda) 是土壤线虫优势群落,分别占各样本土壤线虫群落的 75.31%、68.90%、70.30%、68.58%、72.54%;其次为刺嘴纲 (Enoplea),分别占各样本土壤线虫群落的 13.30%、18.59%、15.64%、22.41%、22.94%;再次为色矛纲 (Chromadorea),分别占各样本土壤线虫群落的 11.39%、12.51%、14.06%、9.01%、4.52%。但在距公路最远的 P6,土壤线虫群落分布状况与 P1、P2、P3、P4、P5 均有较大不同,色矛纲线虫 (Chromadorea) 成为优势线虫群落,占 68.20%;其次为一类未分类线虫纲 (unclassified \_ p \_ Nematoda),占 31.40%;刺嘴纲 (Enoplea) 最少,仅占 0.40%。综上,P6 的优势线虫群落与 P1、P2、P3、P4、P5 有很大不同。这可能与土壤状况有关。

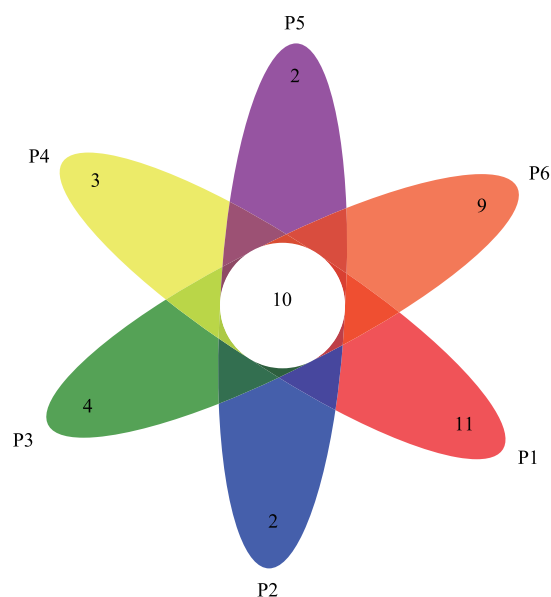


图2 土壤线虫群落 OTU 维恩图

Fig.2 OTU Venn diagram of soil nematodes communities

OTU:操作分类单元 Operational taxonomic unit

表 2 土壤线虫群落 α 多样性  
Table 2 Alpha diversity of nematode community

| 样本<br>Sample | Shannon 指数<br>Shannon index | Ace 指数<br>Ace index | Chao 指数<br>Chao index |
|--------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------|
| P1           | 2.02±0.41a                  | 38.50±5.40a         | 36.75±3.36a           |
| P2           | 1.90±0.11a                  | 28.58±4.20a         | 28.25±5.06a           |
| P3           | 1.80±0.16a                  | 30.40±4.33a         | 29.80±4.28a           |
| P4           | 1.86±0.09a                  | 34.15±6.70a         | 33.78±6.77a           |
| P5           | 1.65±0.50ab                 | 37.15±12.80a        | 33.57±7.81a           |
| P6           | 1.16±0.27b                  | 12.84±3.18b         | 11.17±0.29b           |

同列字母不同表示差异显著 ( $P<0.05$ )

2.4.2 目水平土壤线虫群落组成

目水平土壤线虫群落分布如图 4。在 P1、P2、P3、P4、P5 中,一类未分类线虫目(unclassified\_p\_Nematoda)是优势土壤线虫群落,分别占各样本土壤线虫群落的 75.31%、68.90%、70.30%、68.58%、72.54%;其次为矛线目(Dorylaimida)和垫刃目(Tylenchida),但在 P3 略有不同,P3 的小杆目(Rhabdtida)相对较多。与 P1—P5 比较,在距公路最远的 P6,小杆目(Rhabdtida)为优势土壤线虫群落,占 59.68%;其次为一类未分类线虫目(unclassified\_p\_Nematoda),占 31.40%;垫刃目(Tylenchida)最少,仅占 8.52%。从各样本可知,目水平 P6 的优势土壤线虫群落与 P1、P2、P3、P4、P5 有很大不同。这可能与土壤状况有关。

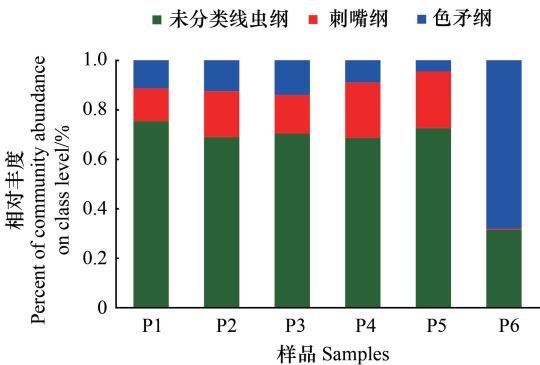


图 3 纲水平土壤线虫的分布  
Fig.3 Frequency of class level of soil nematode communities

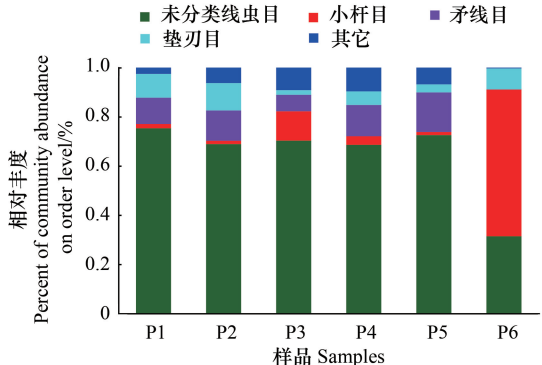


图 4 目水平土壤线虫群落的分布  
Fig.4 Frequency of order level of soil nematode communities

2.5 土壤线虫群落与重金属的关系

线虫门群落与土壤重金属的关系如图 5。第一和第二主轴共解释了门水平土壤线虫群落相对丰度 39.22% 的方差变化,其中第一主轴解释了 24.84% 的方差变化,第二主轴解释了 14.38% 的方差变化。Cu、Pb、Zn、Cd 四种重金属均与线虫门(Nematoda)正相关。

土壤重金属与纲水平土壤线虫群落的关系如图 6。第一主轴和第二主轴共解释了纲水平土壤线虫群落相对丰度 72.65% 的方差变化,其中第一主轴解释了 69.16%,第二主轴解释了 17.18%。Cu、Pb、Zn、Cd 四种重金属互相均呈正相关。第一主轴上的 Cu 和 Pb 是最主要的重金属影响因子,相关系数分别为-0.9933 和 -0.9979;第二主轴上 Cd 是最主要的重金属影响因子,相关系数为-0.5553。四种重金属均与刺嘴纲(Enopleia)和一类未分类线虫纲(unclassified\_p\_Nematoda)群落正相关,与色矛纲(Chromadorea)群落负相关。

土壤线虫 Chao 指数与土壤重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 的线性回归结果如图 7,  $R^2$  依次为 0.648365、0.63319、0.55778、0.17770,说明 Cu 对不同位点线虫 Chao 指数差异的解释度最大,Cd 的解释度最小,Cu、Pb、Zn 对土壤线虫多样性的影响相对较强。



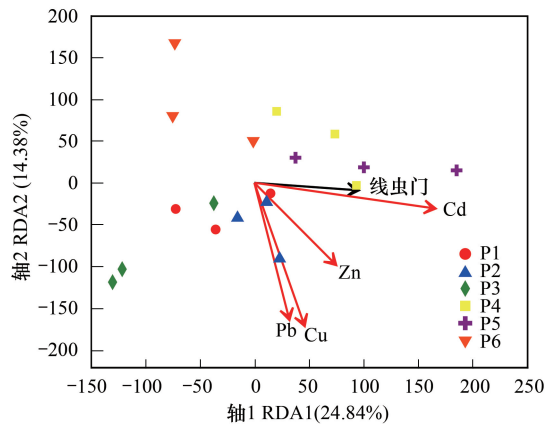


图 5 线虫门与重金属的冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis of Nematoda and heavy metal

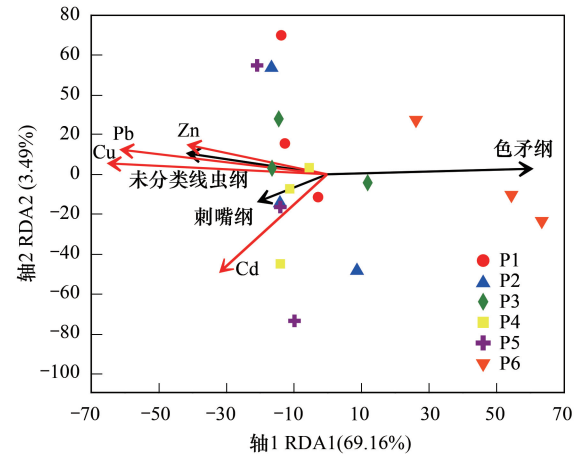


图 6 纲水平土壤线虫群落与重金属的冗余分析

Fig.6 Redundancy analysis of class level of soil nematode communities and heavy metal

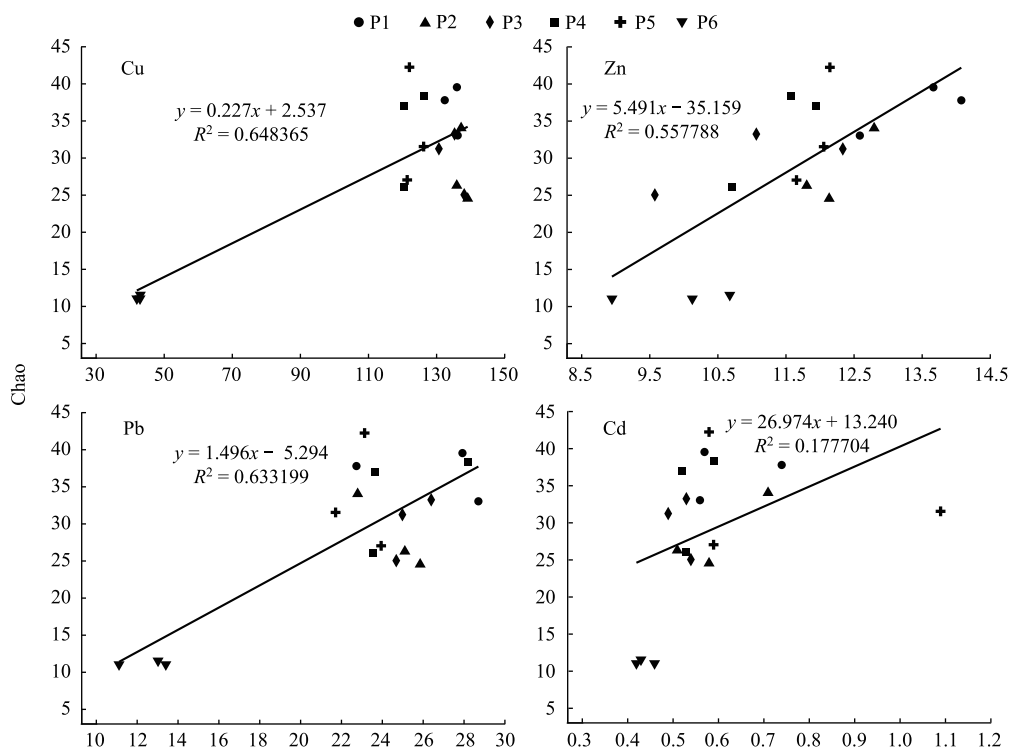


图 7 土壤线虫多样性与重金属的回归分析

Fig.7 Regression analysis of soil nematode diversity and heavy metals

### 3 讨论与结论

土壤线虫是对环境因子响应敏锐的一类土壤生物<sup>[25]</sup>。土壤线虫群落的分布特征受不同生态类型的影响<sup>[14]</sup>。试验区各位点土壤重金属与西藏土壤环境背景值<sup>[26]</sup>相比,Cu 和 Cd 均超过背景值,Zn 和 Pb 均未超过。对于试验区土壤环境背景值的调查尚未报道,但从距公路不同距离土壤重金属含量来看,较远的位点土壤重金属相对较低,理论上更靠近土壤环境背景值。一般在重金属浓度较高的土壤中,土壤线虫数量呈下降

趋势<sup>[27-28]</sup>。由于本研究没有采用传统鉴定法,因此未能确定土壤线虫数量。在青藏高原高寒草甸,先前的研究认为 Zn 与线虫门(Nematoda)有较强的负相关性<sup>[22]</sup>,Zn、Cu 与纲水平线虫群落相关性较大<sup>[21]</sup>。在门水平,本研究认为 Zn、Cu 等重金属与线虫门(Nematoda)有较强的正相关,与纲水平线虫群落有较大相关,这与先前的门水平研究结果正好相反。此外,在纲、目水平上的线虫丰度组成与此前的研究差异很大,侯磊等<sup>[21]</sup>的研究结果表明在一般高寒草甸刺嘴纲(Enoplea)、矛线目(Dorylaimida)线虫占相对优势地位。Clarke 等<sup>[29]</sup>认为一定浓度的 Cu 和 Zn 刺激线虫卵孵化过程继而增加线虫丰度,因此初步估计在青藏高原高寒草甸内部存在区域之间的土壤线虫群落结构上的差异,这种差异可能与不同区域土壤重金属含量有关。当然这种差异还需要在高寒草甸进行系统的土壤线虫群落调查才可较为深入地分析。

在青藏高原高寒草甸土壤重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 含量较低的样本中,土壤线虫群落结构与重金属含量 Cu、Pb、Zn、Cd 较高样本差异明显。重金属含量较低样本以色矛纲(Chromadorea)和小杆目(Rhabdida)土壤线虫为主要群落类型;重金属含量较高样本以一类未分类线虫纲(unclassified\_p\_Nematoda)和一类未分类线虫目(unclassified\_p\_Nematoda)为主要群落类型。说明重金属含量升高改变了高寒草甸土壤线虫纲水平和目水平的群落结构,使近自然状况下的色矛纲(Chromadorea)、小杆目(Rhabdida)优势土壤线虫群落转变为一类未分类线虫纲(unclassified\_p\_Nematoda)、一类未分类线虫目(unclassified\_p\_Nematoda)优势土壤线虫群落。重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 含量对土壤线虫群落  $\alpha$  多样性产生影响。在重金属含量较低样本中,Shannon 指数、Ace 指数、Chao 指数比重金属含量较高样本均要小,且整体上 Shannon 指数、Ace 指数、Chao 指数与重金属含量较高样本差异显著( $P < 0.05$ )。重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 与线虫门(Nematoda)和刺嘴纲(Enoplea)正相关,但与色矛纲(Chromadorea)负相关。比较而言,在所讨论的四种重金属中,Cu 对土壤线虫群落多样性变异具有最高的解释比例,Pb、Zn、Cd 对变异的解释依次减小。本研究未能确定未分类线虫的纲、目具体名称,应当丰富对比生物文库基础数据,以利于今后土壤线虫群落的研究。此外,本文未结合线虫形态学鉴定,因此物种组成分析是基于相对丰度而言的,无法进行定量分析<sup>[15,30]</sup>。

#### 参考文献(References):

- [1] Yeates G W. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 37(4): 199-210.
- [2] Bongers T, Bongers M. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, 1998, 10(3): 239-251.
- [3] 宋敏, 刘银占, 井水水. 土壤线虫对气候变化的响应研究进展. *生态学报*, 2015, 35(20): 6857-6867.
- [4] Freckman D W, Caswell E P. The ecology of nematodes in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, 1985, 23(1): 275-296.
- [5] Bongers T, Ferris H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 1999, 14(6): 224-228.
- [6] 徐满厚, 薛炯. 青藏高原高寒草甸夏季植被特征及对模拟增温的短期响应. *生态学报*, 2013, 33(7): 2071-2083.
- [7] 多吉战都, 武建华. 西藏统计年鉴-2018. 北京: 中国统计出版社, 2018.
- [8] 肖怡然, 闫紫月. 改革开放 40 年来西藏旅游业的发展历程、经验及展望. *西藏研究*, 2018, (5): 141-147.
- [9] Trenouth W R, Gharabaghi B, Farghaly H. Enhanced roadside drainage system for environmentally sensitive areas. *Science of the Total Environment*, 2018, 610-611: 613-622.
- [10] Huber M, Welker A, Helmreich B. Critical review of heavy metal pollution of traffic area runoff: Occurrence, influencing factors, and partitioning. *Science of the Total Environment*, 2016, 541: 895-919.
- [11] Zheng Y J, Chen Y P, Maltby L, Jin X L. Highway increases concentrations of toxic metals in giant panda habitat. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(21): 21262-21272.
- [12] Yan X D, Gao D, Zhang F, Zeng C, Xiang W, Zhang M. Relationships between heavy metal concentrations in roadside topsoil and distance to road edge based on field observations in the Qinghai-Tibet Plateau, China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2013, 10(3): 762-775.
- [13] 王赢利, 王宏洪, 廖金铃, 解启来. 电子垃圾拆解地重金属污染对稻田土壤线虫群落结构的影响. *农业环境科学学报*, 2015, 34(5): 874-881.
- [14] 李钰飞, 李吉进, 许俊香, 刘本生, 乔玉辉, 孙钦平. 铜、锌污染梯度对自然林地和农田土壤线虫群落的影响. *土壤学报*. [2020-05-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20191227.1646.004.html>.

- [15] Geisen S, Snoek L B, ten Hooven F C, Duyts H, Kostenko O, Bloem J, Martens H, Quist C W, Helder J A, van der Putten W H. Integrating quantitative morphological and qualitative molecular methods to analyse soil nematode community responses to plant range expansion. *Methods in Ecology and Evolution*, 2018, 9(6): 1366-1378.
- [16] 夏围围, 贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价. *微生物学报*, 2014, 54(12): 1489-1499.
- [17] Du X F, Li Y B, Han X, Ahmad W, Li Q. Using high-throughput sequencing quantitatively to investigate soil nematode community composition in a steppe-forest ecotone. *Applied Soil Ecology*, 2020, 152: 103562.
- [18] Porazinska D L, Giblin-Davis R M, Faller L, Farmerie W, Kanzaki N, Morris K, Powers T O, Tucker A E, Sung W, Thomas W K. Evaluating high-throughput sequencing as a method for metagenomic analysis of nematode diversity. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9(6): 1439-1450.
- [19] Kerfahi D, Tripathi B M, Porazinska D L, Park J, Go R, Adams J M. Do tropical rain forest soils have greater nematode diversity than High Arctic tundra? A metagenetic comparison of Malaysia and Svalbard. *Global Ecology and Biogeography*, 2016, 25(6): 716-728.
- [20] Moroenyane I, Dong K, Singh D, Chimphango S B M, Adams J M. Deterministic processes dominate nematode community structure in the Fynbos Mediterranean heathland of South Africa. *Evolutionary Ecology*, 2016, 30(4): 685-701.
- [21] 侯磊, 薛蓓, 薛会英. 利用高通量测序法对模拟增温条件下藏北高寒草甸土壤线虫群落的研究. *草地学报*, 2019, 27(2): 443-451.
- [22] 薛蓓, 侯磊, 薛会英. 基于高通量测序分析西藏北部高寒草甸不同深度土壤线虫群落分布特征. *生态学报*, 2019, 39(11): 4088-4095.
- [23] 王向涛, 高洋, 魏学红, 孙磊, 赵玉红, 陈懂懂, 益西措姆, 苗彦军. 不同放牧强度对西藏邦杰塘高寒草甸土壤种子库的影响. *草地学报*, 2014, 22(4): 750-756.
- [24] 朱珣之, 李强, 李扬苹, 韩洪波, 马克平. 紫茎泽兰入侵对土壤细菌的群落组成和多样性的影响. *生物多样性*, 2015, 23(5): 665-672.
- [25] Fiscus D A, Neher D A. Distinguishing sensitivity of free-living soil nematode genera to physical and chemical disturbances. *Ecological Applications*, 2002, 12(2): 565-575.
- [26] 张晓平. 西藏土壤环境背景值的研究. *地理科学*, 1994, 14(1): 49-55, 100-100.
- [27] Korthals G W, van de Ende A, van Megen H, Lexmond T M, Kammenga J E, Bongers T. Short-term effects of cadmium, copper, nickel and zinc on soil nematodes from different feeding and life-history strategy groups. *Applied Soil Ecology*, 1996, 4(2): 107-117.
- [28] Korthals G W, Popovici I, Iliev I, Lexmond T M. Influence of perennial ryegrass on a copper and zinc affected terrestrial nematode community. *Applied Soil Ecology*, 1998, 10(1/2): 73-85.
- [29] Clarke A J, Shepherd A M. Inorganic ions and the hatching of Heterodera spp. *Annals of Applied Biology*, 1966, 58(3): 497-508.
- [30] Vandeputte D, Kathagen G, D'hoel K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, Wang J, Tito R Y, De Commer L, Darzi Y, Vermeire S, Falony G, Raes J. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature*, 2017, 551(7681): 507-511.