

DOI: 10.5846/stxb202006041445

李金业, 陈庆锋, 李青, 赵长盛, 冯优, 李磊. 黄河三角洲滨海湿地微生物多样性及其驱动因子. 生态学报, 2021, 41(15): 6103-6114.

Li J Y, Chen Q F, Li Q, Zhao C S, Feng Y, Li L. Analysis of microbial diversity and driving factors in coastal wetlands of the Yellow River Delta. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(15): 6103-6114.

黄河三角洲滨海湿地微生物多样性及其驱动因子

李金业¹, 陈庆锋^{1,2,*}, 李青¹, 赵长盛¹, 冯优¹, 李磊¹

¹ 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省分析测试中心, 济南 250014

² 山东师范大学地理与环境学院, 济南 250014

摘要:微生物在湿地的生物地球化学循环和生态功能调节中发挥着重要作用,对全球气候变化具有重大影响,对维持全球生态系统的健康至关重要。以黄河三角洲滨海湿地为研究对象,通过采集代表性植被群落的土壤表层和部分植物根系,探究土壤微生物群落组成、根际微生物、环境因子及其内在的关联性和影响机制。研究表明不同植被覆盖地区微生物多样性存在差异,芦苇区和柽柳区微生物丰度高于泥滩区、碱蓬区和棉田,海漫滩微生物丰度高于河漫滩地和泥滩。土壤微生物菌群结构和多样性显著高于根际;土壤细菌的香农指数约为 4—5.5,根际微生物的香农指数约为 0—4。土壤细菌主要为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门,占样品总数的 90%以上;而根际细菌主要是蓝藻门、变形菌门和放线菌门,二者在属水平上的菌群结构差异更加明显。环境因子的含量与生境类型有关,SO₄²⁻和 NO₃⁻的相关性最高,植被覆盖区土壤中 Mn⁴⁺、Fe³⁺和水解氮的含量低于滩涂裸地。冗余分析(RDA)表明,pH 值在小空间尺度上对湿地土壤中细菌群落的影响较小,环境因子在门和属水平的解释率分别为 89.7%和 86.8%,其中 K(23.4%)、NO₂⁻(11.8%)、Mn⁴⁺(9.8%)和 Na(8.0%)是解释门水平微生物区系结构变化和组成的主要因子。研究为理解湿地微生物多样性与湿地生态系统功能之间的影响机制提供了一个生态学视角,有助于了解黄河三角洲滨海湿地土壤和植物根际的细菌分布特征,对黄河三角洲退化滨海湿地的生物修复具有重要的指导意义。

关键词:滨海湿地;土壤微生物;根际微生物;驱动因子;菌群结构

Analysis of microbial diversity and driving factors in coastal wetlands of the Yellow River Delta

LI Jinye¹, CHEN Qingfeng^{1,2,*}, LI Qing¹, ZHAO Changsheng¹, FENG You¹, LI Lei¹

¹ Shandong Analysis and Test Center, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Science), Jinan 250014, China

² College of Geography and Environment, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

Abstract: Microorganisms play an important role in the biogeochemical cycle and ecological function regulation of wetlands. They have a major impact on global climate change and are critical for maintaining the health of the global ecosystem. Taking the coastal wetland of the Yellow River delta as the research object, this study explored the composition of the soil microbial community, rhizosphere microorganisms, environmental factors and their internal correlations and influencing mechanisms by collecting the soil surface layer of representative vegetation communities and part of plant roots. Research results showed that there were differences in microbial diversity among areas with different vegetation covers. The microbial abundance in *Phragmites australis* and *Tamarix chinensis* areas was higher than that in mudflat, *Suaeda glauca* and cotton field. Moreover, the microbial abundance in mudflat was significantly higher than that in washland and floodplain. The structure and diversity of soil flora were significantly higher than those of rhizosphere microorganism; the Shannon index of soil bacteria was about 4—5.5, while that of rhizosphere microorganism was about 0—4. The soil bacteria were mainly

基金项目:国家自然科学基金项目(41877041,42077051);山东省泰山学者青年专家经费(tsqn201812086)

收稿日期:2020-06-04; **网络出版日期:**2021-05-20

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

Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria, accounting for more than 90% in all samples, while rhizosphere bacteria were mainly Cyanobacteria, Proteobacteria and Actinomycetes, and the differences of flora structure at the genus level were more obvious. The species composition of bacteria in different habitat types and the microbial composition of different sampling sites in the same habitat type were different. The content of environmental factors was related to the habitat type, SO_4^{2-} and NO_3^- had the highest significance. The content of Mn^{4+} , Fe^{3+} and hydrolyzed nitrogen in vegetation-covered areas in wetland soil was lower than that in bare mudflats. Redundancy analysis (RDA) showed that pH value had little influence on the bacterial community in wetland soil on a small spatial scale. The explanatory rates of environmental factors at the phylum and genus levels were 89.7% and 86.8%, respectively. K (23.4%), NO_2^- (11.8%), Mn^{4+} (9.8%) and Na (8.0%) were the main factors explaining the structural changes and composition of microbial flora at the phylum level. This study provides an ecological perspective for understanding the influence mechanism between wetland microbial diversity and wetland ecosystem function, and help us to understand the distribution and structure of bacteria in the soil and plant rhizosphere of coastal wetlands in the Yellow River delta, which has important guiding significance for the bioremediation of the degraded coastal wetlands in the Yellow River delta.

Key Words: coastal wetlands; soil microorganisms; rhizosphere microorganism; driving factors; flora structure

滨海湿地是陆地和海洋生态系统之间的过渡带,具有生物多样性高、生态敏感性强等特点^[1]。微生物是湿地环境和有机物分解的重要组成部分,它可以改变湿地土壤的理化特性,在土壤有机质动态、能量传递和元素生化循环等方面起着重要作用^[2]。同时,湿地微生物多样性高对于土壤生态系统的稳定和服务功能的提高具有不容忽视的作用,将有助于提高微生物种群的遗传多样性^[3],并对提高物质的营养循环和重要生态系统过程的效率有积极的影响^[4]。近年来,湿地土壤微生物群落结构和功能的重要性越来越受到关注^[5]。

黄河三角洲滨海湿地不仅是我国暖温带地区最年轻、最完整、面积最大的湿地之一^[6],也是世界上陆地-海洋相互作用最活跃的区域之一,在湿地生物多样性保护和水质净化中发挥着重要作用^[7]。由于围垦、海岸侵蚀和石油污染等人为干扰,滨海湿地正经历着持续而严重的退化,面积不断减小^[8]。微生物对环境变化非常敏感,这些破坏效应会影响湿地土壤微生物的群落组成。反过来,湿地土壤微生物的变化又会导致湿地生态系统的整体结构和功能发生变化^[9]。湿地植物与土壤环境因子相互作用,对土壤微生物群落及功能多样性产生影响^[10]。滨海湿地土壤养分含量低、透气性差,植物、土壤微生物多样性均不高,尤其是原生盐碱土壤中的微生物群落多样性更低^[11]。目前已有研究揭示了黄河三角洲湿地的植被格局分布,以及不同类型植被恢复对土壤性质和植被多样性的影响^[12-13]。湿地植物可以通过提供凋落物中的营养物质直接影响土壤微生物的功能^[14],根际分泌物会改变氧化还原电位、pH 值等根际环境,间接决定根际微生物种类和数量^[15],植物根际铁锰氧化膜与细菌群落结构也存在某种关联。有关黄河三角洲滨海湿地微生物群落多样性与植被关系的研究直到 20 世纪 90 年代才逐步开展^[16-17],植物群落和环境因子对湿地土壤微生物影响的研究越来越得到关注。

本研究以黄河三角洲滨海湿地表层土壤和植物根际为研究对象,通过高通量测序技术对土壤和植物根际中的微生物进行了初步研究,旨在揭示植被根际微生物与土壤微生物的结构和丰度特征,分析微生物群落与土壤环境因子之间的内在关系,将为认识黄河三角洲滨海湿地的生物地球化学循环提供微生物生态学视角。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

本研究以黄河三角洲滨海湿地为研究对象,研究地点位于黄河三角洲的中心区域(117°31'—119°18'E, 36°55'—38°16'N)。该地区位于渤海湾南岸和莱州湾西岸,属于温带半湿润大陆性季风气候。研究区内主要为盐渍型土壤,受潮汐海水入侵影响,土壤盐渍化严重(高达 70%),主要湿地植物为芦苇、碱蓬和柽柳。

1.2 样品采集

通过野外实地调研,2018年5月选取区域内代表性的翅碱蓬群落、芦苇与柽柳灌木混合植被群落、滩涂裸地、油田等13个采样点为调查对象进行采样(图1)。土壤样品采样时,首先去除土壤表层有机物和细根等杂质,然后按照5点取样法用铁锹采集20 cm × 20 cm样方中表层(约0—25 cm)土样,每个采样点重复3次,共39个样品。为了研究植物对土壤微生物种群的影响,选择了4个优势种,即芦苇、柽柳、碱蓬和蒿,用铁锹挖出植物,收集根际土壤,共采集9个根际土壤样品(表1)。所有样品储存在采样袋后,放在液氮中冷却,然后送到实验室。每个样品分成两部分:一部分样品风干研磨后,分别过不同孔径的筛子用于土壤理化性质测定;另一部分在-80℃的环境中冷冻保存,送到北京博奥晶典生物技术有限公司测序。

表1 土壤采样点及生态系统状况

样品 Sample	生境类型 Habitat type	经纬度 Longitude and latitude	生态状况描述 Description of ecosystem situation
HW1-1	泥滩	119°10'27.54"E 37°43'13.22"N	土地利用类型主要为滩涂,上面有芦苇、杨柳等零星植被,高0.5—1 m
HW2-1	芦苇碱蓬	119°8'48.87"E 37°45'46.69"N	植被类型以芦苇和碱蓬为主,株高0.5—1.8 m,覆盖度约为60%
HW3-1	芦苇罗布麻	119°7'37.10"E 37°44'56.05"N	植被类型以芦苇和罗布麻为主,株高0.5—1.2 m,覆盖度约为80%
HW4-1	柽柳区	119°9'21.57"E 37°46'6.62"N	植被类型主要为灌木柽柳,株高0.5—1.5 m,覆盖度约60%
HW4-2	芦苇柽柳	119°9'15.7"E 37°46'6.04"N	植被类型为芦苇柽柳混合区,株高0.5—1.8 m,覆盖度65%左右
HW5-1	棉花田	118°57'3.81"E 37°46'41.7"N	农田生态系统,植被类型以棉花为主
HW6-1	碱蓬区	119°11'3.82"E 37°45'18.36"N	植被类型以盐地碱蓬为主,株高0.5—1.0 m,覆盖度45%左右
YWS1	油田附近 蒿	118°56'42.93"E 37°46'19.14"N	植被类型以蒿为主,周围有油田管线和车辆等人类活动
YWS2	海漫滩	119°0'32.53"E 37°39'23.15"N	土地利用为滩涂,有芦苇等零星植被
YWS3	翅碱蓬	118°57'44.49"E 37°36'55.54"N	植被类型以翅碱蓬为主,株高0.5—1.0 m,覆盖度50%左右
YWS4	柽柳	118°53'44.87"E 37°31'36.52"N	植被类型为柽柳,株高0.5—1.5 m,覆盖度70%左右
YWS5	油田附近滩涂	119°11'12.67"E 37°45'24.84"N	滩涂裸地,周围有油田管线和车辆等人类活动
YWS6	河漫滩	118°32'14.3"E 37°36'21.71"N	植被类型以碱蓬为主,株高0.2—0.6 m,覆盖度约10%

1.3 土壤理化性质测定

土壤pH用pH计测定经去离子水(土水比1:2.5)浸提15 min后的土样;土壤全盐量采用电导率计测定;总氮(TN)用浓硫酸消解-凯氏定氮法测定; Fe^{3+} 和 Mn^{4+} 含量采用火焰原子吸收法测定; SO_4^{2-} 和 NO_3^- 含量采用离子色谱法测定;土壤 NO_2^- 采用氯化钾浸出液-分光光度计法进行测定;水解氮用碱解扩散法测定;全钾和全钠用火焰光度法测量;全磷用分光光度法定量测定。

1.4 土壤总DNA提取、PCR扩增及测序

选用Fast DNA SPIN Kit for Soil试剂盒提取土壤微生物基因总DNA,将提取得到的土壤DNA溶解于70 μL 无菌TE缓冲液中,具体提取过程按照试剂盒说明书进行操作。电泳检测后,对16S rRNA V3+V4(细菌)区域进行扩增,细菌引物^[18]序列为:338F 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'及806R 5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3',使用Illumina Hiseq测序平台,利用双末端测序(Paired-End)的方法,构建小片段文库进行



图1 黄河三角洲湿地监测点

Fig.1 The monitoring site in the Yellow River delta wetland

16S rRNA测序。

1.5 数据分析

通过对 Reads 拼接过滤, OTUs (Operational Taxonomic Units) 聚类(97%), 并进行物种注释及丰度分析, 揭示样品的物种组成。通过 α 多样性的五个指数, 包括 Coverage, Simpson, Chao1, ACE 和 Shannon 指数分析样本内的物种多样性, 进一步对 β 多样性分析 (Beta Diversity) 和显著物种差异进行分析, 挖掘样品之间的差异。本研究选择 UPGMA (Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Mean) 分析物种组成相似度。

使用 Microsoft Excel 和 Adobe Illustrator 16.0 (Adobe Systems Inc., San Jose, USA) 进行数据统计和绘制图形。通过 Alpha 多样性分析, 统计了各样品的覆盖度、Ace 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数。使用 QIIME 软件进行 β 多样性分析来评估样品在物种复杂性方面的差异。利用 SPSS19.0 (International Business Machines Corporation, Armonk, USA) 软件, 采用主成分分析 (PCA) 和相关分析 (CA) 分析土壤理化性质间的关系, 显著性差异定义为 $P < 0.05$ 。采用 Canoco 5.0 (Microcomputer Power, New York, USA) 软件分析土壤理化性质与土壤细菌群落多样性之间的关系, 识别影响湿地群落结构的主导因子。

2 结果与分析

2.1 土壤和根际微生物样品测序结果

通过双末端测序 (Paired-End) 并优化后, 13 个土样共获得 853672 条有效序列 (Effective Tags), Effective Tags 平均长度集中在 411—421 bp 之间, 占 PE Reads 序列的 86.28%, 质量值 ≥ 30 的碱基约占总碱基数的 95.5%—96.08%。序列的长度和数量是将序列匹配到数据库从而产生基因注释的关键, 保证了微生物物种多样性分析的科学性、真实性。13 个土样中的微生物归属于 27 门、54 纲、143 目、282 科、627 属和 705 种, 微生物多样性指数和覆盖率见表 2。从表 2 可以看出, 芦苇柽柳区 (HW4-2) 的 OTU 数最多, 高于其他地区。微生物丰富度指数 (Chao 1 指数和 ACE 指数) 表明芦苇柽柳生长区的微生物丰度高于滩涂裸地 (HW1-1、YWS2 和 YWS6)、碱蓬区 (HW6-1、YWS3) 和棉田区 (HW5-1), 海漫滩 (YWS2) 中微生物丰度明显高于河漫滩 (YWS6) 和泥滩 (HW1-1)。

香农指数 (Shannon index) 是反映样本微生物多样性的另一种表现形式, 从图 2 和表 2 可以看出土壤样品中细菌的香农指数大约在 4—5.5 之间, 而根际细菌香农指数范围约为 0—4, 说明土壤细菌群落结构和多样性均明显大于植物根际细菌。根际中 OTU 丰富度的下降归因于根际过程的均质化作用, 从而减少了生态位。

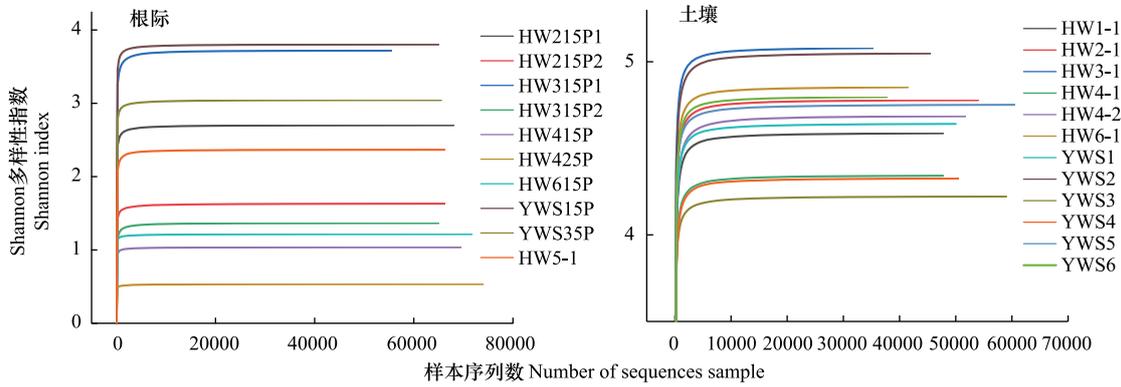


图 2 样品香农指数曲线

Fig.2 Shannon index curves of sample

表 2 微生物的多样性指数及覆盖率

Table 2 Microbial diversity index and coverage of different samples

样本 Sample	操作分类单元 OTU	多样性指数 Diversity index				覆盖率 Coverage
		ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannon 指数 Shannon index	
HW1-1	497	518.54	517.3	0.036	4.587	0.9994
HW2-1	541	557.77	631	0.022	4.778	0.9993
HW3-1	513	534.96	543.27	0.018	5.079	0.999
HW4-1	446	525.88	540.23	0.046	4.341	0.9989
HW4-2	621	629.25	636.79	0.039	4.685	0.9995
HW5-1	299	317.25	353	0.322	2.366	0.9996
HW6-1	483	517.41	531.75	0.026	4.853	0.999
YWS1	477	496.01	552.6	0.034	4.641	0.9994
YWS2	585	607.29	642	0.019	5.048	0.9991
YWS3	410	419.52	425.33	0.033	4.222	0.9996
YWS4	443	527.96	488.05	0.065	4.325	0.9991
YWS5	526	539.11	550.47	0.019	4.751	0.9995
YWS6	460	488.36	502.272	0.028	4.796	0.9992
HW215P1	374	386.37	390.73	0.211	2.701	0.9996
HW215P2	339	356.47	360.79	0.518	1.631	0.9994
HW315P1	510	525.71	558.46	0.081	3.719	0.9994
HW315P2	296	320.57	327.89	0.607	1.367	0.9994
HW415P	208	289.06	275.08	0.591	1.037	0.9990
HW425P	165	225.96	224.00	0.740	0.535	0.9992
HW615P	197	404.34	309.45	0.421	1.216	0.9989
YWS15P	364	385.96	410.87	0.070	3.802	0.9994
YWS35P	443	548.43	546.47	0.139	3.044	0.9983

OTU:操作分类单位 Operational taxonomic units

2.2 微生物群落结构组成分析

在所有湿地土壤样本中,土壤微生物表现出较高的多样性(图 3)。样本的门水平分类中丰度前十的物种组成基本一致,主要包括变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝藻菌门(Cyanobacteri)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、软壁菌门(Tenericutes),其中,细菌分布以厚壁菌门、变形菌门、拟

杆菌门和放线菌门为主,这四种细菌门在各样本中合计占比高于 90%,这可能表明了它们在湿地中的稳定性,这与之前变形杆菌门在黄河口数量最多的研究结果^[19-20]不同。与土壤微生物相比,根际微生物的优势菌群发生了变化(图 3),以蓝藻门细菌为主,丰度较高的菌群还有变形菌门、放线菌门和厚壁菌门,和占比约为总菌群的 90%,特有的细菌为 Patescibacteria。

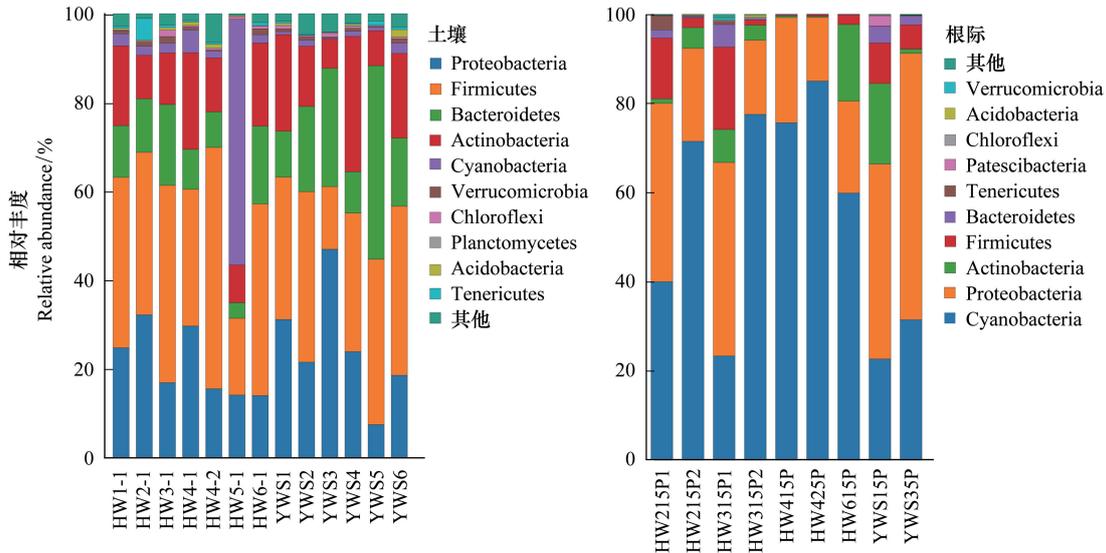


图 3 样品中细菌群落门水平上的相对丰度

Fig.3 The relative abundances of bacterial communities at phylum level in samples

图 4 为基于 Beta 多样性分析得到的 UPGMA 聚类树与属水平上细菌丰度的结合图。在聚类树中,样品越靠近,枝长越短,表示两个样品的物种组成越相似。在土壤细菌群落结构中,YWS3 和 HW5-1 与其他采样点细菌结构差异性最大,YWS3 中的细菌丰度排名前 10 的物种较少,HW5-1 以 *Coffea_arabica_coffee* 为主。HW1-1 与 YWS2 物种组成相似,但与 YWS6 物种组成相似性较远。油井附近采样点微生物结构也不同,YWS1 细菌分布均匀,而 *Uncultured_bacterium_f_muribaculaceae* 在 YWS5 中丰度较高。丰度检测前 10 的属包括 *Lactobacillus* (乳酸菌属)、*Uncultured_bacterium_f_muribaculaceae*、*Rhodococcus* (红球菌属)、*Bifidobacterium* (双歧杆菌属)、*Coffea_arabica* (咖啡属)、*Thauera* (索氏菌属)、*Ruminococcus* (瘤胃球菌属)、*Ochrobactrum* (苍白杆菌属)、*Flavobacterium* (黄杆菌属)、*Escherichia_Shigella* (埃希氏杆菌属),主要是属于厚壁菌门和酸杆菌门。植物根际细菌中,HW3-15P1 与 HW2-15P1 的种群结构相似,以 *Lolium_perenne* 为主,而其他根际细菌结构以 *Coffea_arabica_coffee* 为主。丰度检测前 10 的属主要包括 *Coffea_arabica_coffee*、*Lolium_perenne*、*Pseudoalteromonas* (假交替单胞菌属)、*Oryza_meyeriana*、*Vibrio* (弧菌属)、*Streptomyces* (链霉菌属)、*Photobacterium* (发光杆菌属)、*Pseudomonas* (假单胞菌属)、*Marinomonas* (海单胞菌属),主要是属于蓝藻门、变形菌门和放线菌门。

黄河三角洲湿地微生物丰度和结构的差异性主要表现在同一生境类型不同采样点间微生物物种差异、不同生境类型下微生物物种差异及同一采样点植物根系与土壤中微生物的差异。HW1-1、YWS2、YWS6 为漫滩地,有少数植被覆盖,细菌门水平上的丰度大小顺序依次为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、蓝藻门,YWS5 为油田附近滩涂,其细菌丰度依次为拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、厚壁菌门和蓝藻门。怪柳区(HW4-1、YWS4)与植被混合区(HW2-1、HW3-1、HW4-2)菌门丰度相近,依次为厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和蓝藻门;翅碱蓬覆盖区的优势菌群丰度差异较大,翅碱蓬(YWS3)中变形菌门和拟杆菌门的丰度高于 HW6-1,厚壁菌门、放线菌门和蓝藻门的丰度则低于 HW6-1;棉田(HW5-1)以蓝藻菌门的产氧光细菌纲为主,次优势类群为厚壁菌门、变形菌门和放线菌门,这一现象与植物根系的菌群结构极其相似。

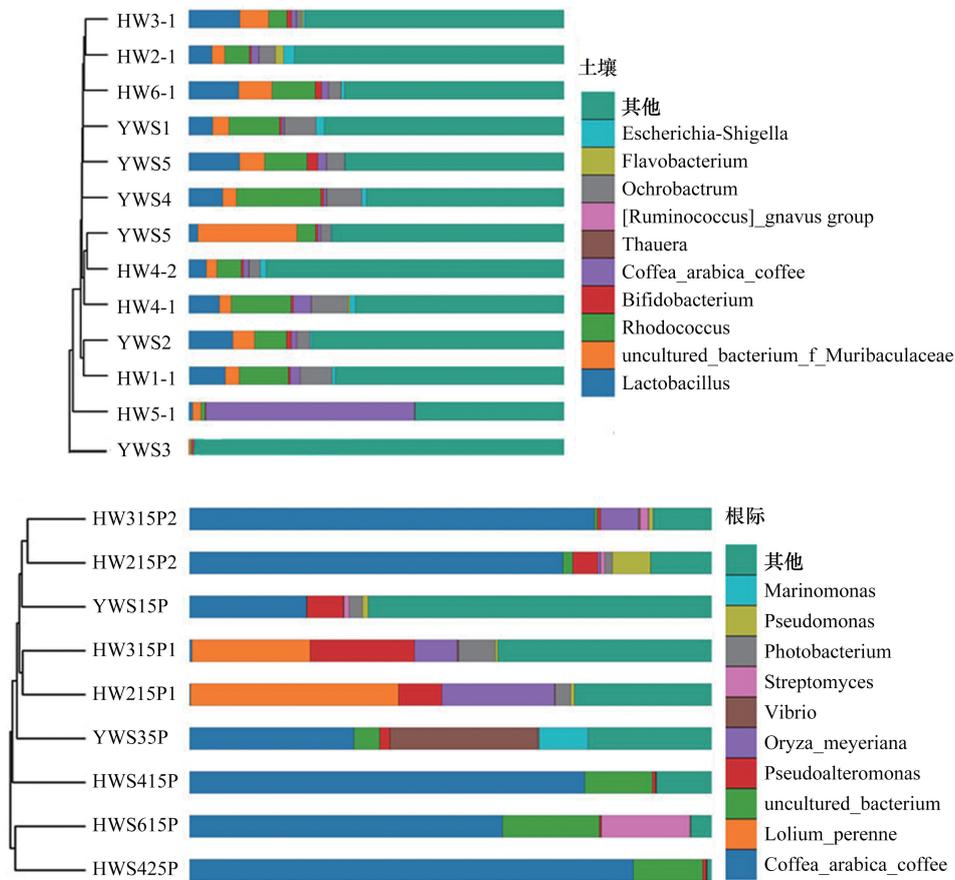


图 4 属水平上 UPGMA 聚类树与柱状图组合图

Fig.4 UPGMA cluster tree combined with histogram at genus level

UPGMA:非加权组平均法 Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Mean

2.3 土壤环境因子与土壤微生物群落结构的相关性分析

2.3.1 土壤环境影响因子及其相关性分析

不同滨海湿地采样点土壤的主要环境因子见表 3。土壤 pH 值范围为 7.7—9.0,表明研究区湿地土壤环境呈弱碱性。电导率与 P 和 K 外的环境因子呈正相关,环境因子中 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 的相关性最高(表 4, $P < 0.01$)。水解氮含量变化较大(从 6.9 mg/kg 到 52.7 mg/kg),但与其他因子浓度无显著相关性,其中,水解氮含量在芦苇区普遍较高,河漫滩区最低,这可能与植物和微生物的氮素转化有关。所有样品中铁锰离子的含量比例约维持在 40:1—50:1 之间,两者浓度与 SO_4^{2-} 浓度显著相关(表 4, $P < 0.05$),无植被覆盖的漫滩区铁锰含量较高。阴离子中各样本的 NO_3^- 含量变化相对稳定,但芦苇柽柳地区的 SO_4^{2-} 和 NO_2^- 含量高于油田附近地区,已有研究表明原油污染会改变土壤的理化性质^[21-22],土壤微生物作为分解者修复油污地土壤时, SO_4^{2-} 和 NO_2^- 均可作为最终的电子受体,在生物降解中起到积极的作用。

2.3.2 土壤环境因子与微生物群落多样性的相关性分析

通过主成分分析(PCA),揭示了土壤环境因子之间的相关关系。这些变量用特征值>1 分成五个主成分,解释总方差的 87.64%(表 5)。PC1 占总方差的 30.76%,与部分阴离子(SO_4^{2-} 、 NO_3^-)和金属阳离子(Fe^{3+} 、 Mn^{4+})呈强正相关,相关分析(CA)也呈显著相关(表 4, $P < 0.05$)。PC2 占总方差的 21.26%,与水解氮密切相关,与其他营养物质相比表现出明显的差异。占总方差 13.68%的 PC3 对 pH 的因子负荷呈高度正相关,PC4 占总方差的 11.92%,与电导率和 NO_2^- 相关性较高,但二者间的关系并不显著(表 4)。PC5 占总方差的 10.27%,高度相关的因子载荷主要是营养元素 P、K 和 Na。

表 3 不同土壤的主要环境参数

Table 3 The main environmental parameters of different soils

样品 Sample	pH	EC/ (ms/cm)	Fe ³⁺ / (mg/g)	Mn ⁴⁺ / (mg/kg)	SO ₄ ²⁻ / (mg/g)	NO ₃ ⁻ / (mg/g)	NO ₂ ⁻ / (mg/g)	HN/ (mg/kg)	P/ (mg/kg)	K/ (mg/kg)	Na/ (mg/kg)
HW11	8.10	5.80	29.97	476.47	2.07	1.27	1.03	24.46	613.2	17690	14935
HW21	7.95	0.64	28.03	689.92	2.17	1.41	3.20	24.60	631.8	16580	14450
HW31	7.71	2.80	39.55	597.96	2.44	1.43	2.53	35.19	654.8	18085	10270
HW41	7.84	7.37	26.78	887.28	2.54	1.28	0.75	24.49	664.7	16280	18340
HW42	8.11	0.38	28.16	573.83	2.10	0.64	0.63	24.23	690.3	14420	17955
HW51	8.21	6.29	23.27	604.8	2.12	0.86	6.00	44.75	701.6	13310	12000
HW61	7.85	0.22	20.44	465.19	0.88	0.06	2.77	38.27	704.25	17425	11975
YWS1	7.92	3.86	26.14	524.61	2.32	0.90	3.98	52.75	816.5	15920	15280
YWS2	8.11	1.18	34.79	870.71	2.50	1.34	1.53	24.74	735.6	18525	16270
YWS3	8.20	2.54	35.40	838.66	2.28	1.00	2.22	6.89	809.6	19460	18480
YWS4	8.44	0.28	22.17	501.56	2.09	1.04	1.38	20.98	753.6	17300	15115
YWS5	8.03	3.92	22.4	468.58	1.81	0.42	1.15	17.38	751.2	16680	19410
YWS6	8.95	0.46	22.62	529.65	2.16	0.93	4.41	17.58	705.9	16450	16000

EC:电导率 Electrical conductivity;HN:水解氮 Hydrolysis nitrogen

表 4 土壤环境因素的相关系数矩阵

Table 4 Correlation coefficient matrix of soil environmental factors

	pH	EC	Fe ³⁺	Mn ⁴⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	HN	P	K	Na
pH	1.000										
EC	-0.314	1.000									
Fe ³⁺	-0.350	0.049	1.000								
Mn ⁴⁺	-0.169	0.184	0.538	1.000							
SO ₄ ²⁻	0.059	0.320	0.590 *	0.594 *	1.000						
NO ₃ ⁻	-0.043	0.221	0.647 *	0.530	0.834 **	1.000					
NO ₂ ⁻	0.270	0.039	-0.235	-0.163	-0.062	-0.067	1.000				
HN	-0.410	0.238	-0.169	-0.302	-0.136	-0.137	0.519	1.000			
P	0.189	-0.162	-0.102	-0.348	0.056	0.013	0.123	0	1.000		
K	-0.091	-0.249	0.528	0.261	0.277	0.039	-0.405	-0.482	0.155	1.000	
Na	0.223	0.075	-0.084	-0.086	0.317	0.238	-0.533	-0.636 *	0.353	0.079	1.000

* P < 0.05; ** P < 0.01

表 5 土样的主成分分析和因子载荷

Table 5 Principle component analysis and factor loadings of soil samples

组成 Composition	总方差解释 Total variance interpretation			成分矩阵 Component matrix					
	初始特征值 Initial eigenvalue		累积/% Cumulative	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	
1	30.758		30.758	pH	-0.149	-0.487	0.591	0.489	-0.301
2	21.256		52.014	EC	0.173	0.491	0.301	-0.631	-0.004
3	13.681		65.695	Fe ³⁺	0.794	0.278	-0.274	0.224	0.187
4	11.919		77.614	Mn ⁴⁺	0.772	0.066	0.190	-0.063	0.224
5	10.026		87.640	SO ₄ ²⁻	0.766	0.283	0.496	0.064	0.012
6	4.492		92.132	NO ₃ ⁻	0.775	0.429	0.155	0.262	-0.230
7	4.206		96.338	NO ₂ ⁻	-0.475	0.444	0.448	0.467	0.197
8	2.036		98.375	HN	-0.510	0.734	-0.009	-0.063	0.327
9	0.958		99.333	P	-0.085	-0.434	0.301	0.061	0.820
10	0.555		99.889	K	0.541	-0.331	-0.525	0.311	0.225
11	0.111		100.000	Na	0.363	-0.692	0.344	-0.474	0.025

PC:主成分 Principle component

通过 RDA 分析,探讨了微生物群落结构与土壤环境因子之间的相关性。土壤样品的环境因子包括电导率、水解氮、pH、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 Fe^{3+} 、 Mn^{4+} 、P、K 和 Na。分析结果表明,门和属水平上土壤环境因子的解释率分别为 89.7% 和 86.8% (图 5), K(23.4%)、 NO_2^- (11.8%)、 Mn^{4+} (9.8%) 和 Na(8.0%) 是解释门水平群落结构变化和微生物组成的重要因素, 四者之间的相关性较高 ($P < 0.05$); 属水平上的关键影响因素为 Fe^{3+} (14.5%)、 NO_2^- (11.9%)、Na(9.9%) 和 NO_3^- (9.2%), ($P < 0.05$)。因此, 主要影响湿地土壤细菌群落结构的环境因子有 NO_3^- 、 NO_2^- 、 Fe^{3+} 、 Mn^{4+} 、K 和 Na。

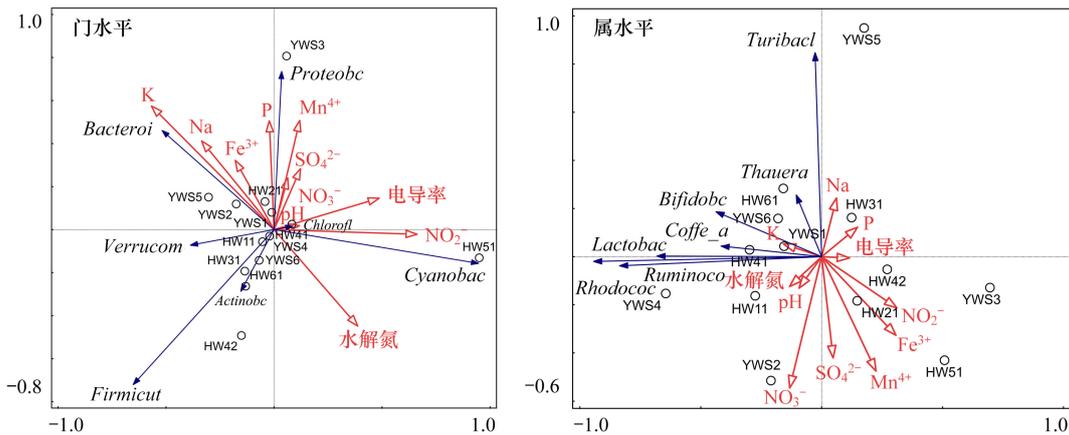


图 5 门和属水平细菌群落结构与环境变量的 RDA 排序图

Fig.5 Ordination diagrams from RDA of bacterial community structure and environmental variables

样本用圆圈表示;环境因素用带箭头的红线表示;微生物群落结构用带箭头的蓝线表示;RDA:冗余分析 Redundancy analysis

3 讨论

3.1 土壤和根际微生物群落结构特征

湿地土壤具有较厚的有机质层,其温度和氧含量比其他类型的土壤更稳定,使得湿地细菌群落具有相对稳定的组成以保证其生态功能,这就解释了不同类型的湿地土壤中菌群结构的相似性^[23]。在门和属水平上,微生物群落存在差异,土壤中细菌以变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门为主,但在不同类群中仍存在明显的类群丰度差异,如 HW5-1 中蓝藻菌门的丰度较高,YWS3 中变形菌门的丰度较高,YWS5 中拟杆菌门的丰度较高。同时,细菌的丰度和结构还受到植被的影响,植物多样性可以用来预测土壤微生物群落的多样性。黄河三角洲典型的芦苇区、柽柳区、碱蓬区及漫滩裸地中菌群丰度表现出明显的差异。根际中丰度较高的细菌包括蓝藻门、变形菌门和放线菌门,其中蓝藻门的平均丰度达到 50% 以上。

湿地是碳氮循环的重要发生场所。土壤样品优势菌群中的厚壁菌门常参与有机质的分解和微生物固氮过程^[24],据报道,厚壁菌门受土壤 pH、粘土含量、C/N 比和海拔的影响^[25],厚壁菌门内的芽胞杆菌和梭状芽胞杆菌在碳水化合物代谢中起着重要作用^[26];变形菌门是翅碱蓬区的主要类群,在其他植被区也普遍分布,这是由于其成员的快速生长速度和代谢多样性。本研究中检测到的变形菌主要是 γ -变形菌、 α -变形菌和 δ -变形菌纲, β -变形菌纲在湿地中的相对丰度均低于 1%,这与之前的研究报道,从淡水沉积物到高盐沉积物,土壤中 β -变形菌纲的相对丰度很高^[27]不同。 β -变形菌主要与海水及沉积物的 NH_4^+ 氧化相关。 γ -变形菌纲由大量的化能无机自养和光能无机自养的硫氧化型细菌组成,纲中的假交替单胞菌属于海洋细菌,能够在盐水平条件下降解烃类,去除铵态氮和硝酸盐,在海水和沉积物中广泛分布^[28]。 δ -变形菌作为门中最大的类群,已经在咸水环境和淡水生态位中被发现,并参与了硫的循环^[29]。 δ -变形菌纲中的脱硫叠菌属 (*Desulfosarcina*)、脱硫叶菌属 (*Desulfobulbus*)、脱硫球菌属 (*Desulfococcus*) 等以及具有其它生理特征的厌氧细菌,如还原三价铁的地杆菌属 (*Geobacter*)、反硝化作用的 *Rhodococcus* (红球菌属)^[30] 是湿地甲烷厌氧氧化过程

的重要参与者,对湿地硫和碳循环有很大的影响^[31-33]。拟杆菌门的细菌与有机物的吸收和利用关系密切,它能够降解聚合物,是环境中碳循环的重要参与者^[34]。放线菌门^[35]和厚壁菌门的细菌也是有机物的主要降解者,能够降解复杂有机物,在湿地净化方面起到重要作用。根际微生物多样性与植被的生长密切相关,植被能够提高微生物多样性和土壤肥力^[36],通过培养这些有利于植物存活和生长的微生物,对黄河三角洲退化湿地的生物修复具有指导意义。

3.2 微生物群落与环境因子的相关性

土壤电导率可以间接地反映土壤含盐量。以往的研究表明,盐度是控制细菌丰度和多样性并驱动细菌群落垂直和水平的主要因素^[37-38],与本研究中层水平结果一致。本研究中盐度对门水平的细菌有一定的影响,但在属水平上影响不明显。细菌丰富度和多样性对盐度的反应显示出不同的模式,随着盐度的增加,细菌的丰富度和多样性没有单调变化^[39]。在滨海湿地,土壤盐分由水文学确定,水文波动会改变微生物群落^[40]。因此,潮汐环境可能是造成黄河三角洲滨海湿地细菌多样性以及群落结构差异的部分原因。RDA 分析结果表明,pH 对细菌群落结构影响较小,但 pH 值对细菌群落的影响尚未达成共识。Meta 分析的结果表明,土壤的 pH 值和其他化学变量对细菌的分布只产生很小的影响^[38],而 Wei 等^[41]确定 pH 值在决定太湖周围森林根际土壤细菌多样性方面起着关键作用。在门水平上,营养盐 K、Na 和 N($\text{NO}_2\text{-N}$ 、水解氮)是影响微生物群落的主要因子,但 P 对微生物群落的影响不显著,营养盐因子之间的相互作用机制和对微生物群落的影响方式还需进一步深入研究。 Mn^{4+} 和 Fe^{3+} 对门和属水平的细菌群落结构也有显著影响。此外,RDA 结果还显示了所有土壤样品之间的关系,样本符号之间的距离表示物种组成的差异度。小空间尺度上,微生物群落多样性受植被根系的影响较大^[42],根系为微生物提供了良好的生存条件,如孔隙空间、低分子量有机物、氧化还原条件和 pH 值等^[8],而大空间尺度上还受到当地环境条件和空间因素的影响^[43-44]。

土壤微生物群落结构的差异主要受土壤、植被理化性质的影响,其中碳氮比、含水量、有机碳、全氮、有效磷、有效钾等对土壤微生物多样性有极显著影响^[45-46]。金属元素 Fe 和 Mn 与植物根系氧化膜的形成密切相关^[47],氧化能力强的根际附近土壤也能发生氧化作用形成氧化膜,可能是造成植物根系与土壤细菌丰度差异的原因之一。与营养相关的环境因子,如 NO_2^- 、 NO_3^- 和水解氮与细菌群落的相关性较高,是解释门和属水平差异的关键因素。因此,营养盐和盐度可能是限制湿地土壤微生物生长的因素,植被对土壤大部分的环境因子都有影响,对细菌群落结构的形成也具有重要作用,其中对油井附近区域的土壤细菌影响最明显,这值得我们进一步去研究。

4 结论

本研究利用高通量测序技术研究了我国黄河三角洲滨海湿地土壤和植物根际细菌群落的丰度和结构,揭示了环境因子与湿地土壤中微生物群落结构组成的内在联系,主要结论如下:

(1) 湿地土壤和植物根际中优势菌群结构存在差异。土壤细菌分布以厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门为主,在各样本中合计占比高于 90%;根际细菌丰度较高的为蓝藻门、变形菌门、放线菌门和厚壁菌门,土壤微生物的丰度和多样性显著大于根际细菌,在属水平上土壤和植物菌群结构的差异更明显。

(2) 裸地、芦苇、柽柳和碱蓬等不同生境类型条件下细菌的物种组成存在差异。微生物丰富度指数表明芦苇柽柳生长区的微生物丰度高于滩涂裸地、碱蓬区和棉田区,海漫滩中微生物丰度明显高于河漫滩和泥滩。

(3) 土壤环境因子含量与生境类型有关,植被覆盖区 Mn^{4+} 和 Fe^{3+} 的含量低于滩涂裸地,芦苇区水解氮含量普遍较高,油田附近地区 SO_4^{2-} 和 NO_2^- 含量较低。RDA 分析表明,土壤 pH 值对细菌群落影响低于其他环境因素,营养盐 K、Na 和 N($\text{NO}_2\text{-N}$ 、水解氮)和金属离子 Mn^{4+} 和 Fe^{3+} 与细菌群落的相关性较高,在门水平上,营养盐 K、Na 和 N($\text{NO}_2\text{-N}$ 、水解氮)是影响微生物群落的主要因子。

本研究有助于了解黄河三角洲滨海湿地土壤和植物根际的细菌分布特征,研究微生物不同功能之间存在的内在联系,维护三角洲湿地生态系统稳定性、生物多样性和遗传多样性。

参考文献 (References):

- [1] Mitsch W J, Gosselink J G. Wetlands. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 2007: 582-582.
- [2] Angeloni N L, Jankowski K J, Tuchman N C, Kelly J J. Effects of an invasive cattail species (*Typha x glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland. FEMS Microbiology Letters, 2006, 263(1): 86-92.
- [3] Loreau M. Microbial diversity, producer-decomposer interactions and ecosystem processes: a theoretical model. Proceedings of the Royal Society B, 2001, 268(1464): 303-309.
- [4] Rogers B F, Tate R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(10): 1389-1401.
- [5] Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. Current Opinion in Microbiology, 2002, 5(3): 240-245.
- [6] Qin Y, Yang Z F, Yang W. A novel index system for assessing ecological risk under water stress in the Yellow river delta wetland. Procedia Environmental Sciences, 2010, 2: 535-541.
- [7] Xu X G, Lin H P, Fu Z Y. Probe into the method of regional ecological risk assessment: a case study of wetland in the Yellow River Delta in China. Journal of Environmental Management, 2004, 70(3): 253-262.
- [8] Wang Z Y, Xin Y Z, Gao D M, Li F M, Morgan J, Xing B S. Microbial community characteristics in a degraded wetland of the Yellow River delta. Pedosphere, 2010, 20(4): 466-478.
- [9] Webster G, O'Sullivan L A, Meng Y Y, Williams A S, Sass A M, Watkins A J, Parkes R J, Weightman A J. Archaeal community diversity and abundance changes along a natural salinity gradient in estuarine sediments. FEMS Microbiology Ecology, 2015, 91(2): 1-18.
- [10] 于少鹏, 史传奇, 胡宝忠, 丁俊男, 孟博, 杨春雪. 古大湖湿地盐碱土壤微生物群落结构及多样性分析. 生态学报, 2020, 40(11): 3764-3775.
- [11] 牛世全, 龙洋, 李海云, 达文燕, 胡山, 李渭娟, 朱学泰, 孔维宝. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2067-2078.
- [12] 王海梅, 李政海, 宋国宝, 高吉喜, 闫军. 黄河三角洲植被分布、土地利用类型与土壤理化性状关系的初步研究. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2006, 37(1): 69-75.
- [13] Zhang G S, Wang R Q, Song B M. Plant community succession in modern Yellow River Delta, China. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 2007, 8(7): 540-548.
- [14] Bardgett R D, Shine A. Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(2): 317-321.
- [15] 张琼琼, 黄兴如, 郭道宇. 基于 T-RFLP 技术的不同水位梯度植物根际细菌群落多样性特征分析. 生态学报, 2016, 36(14): 4518-4530.
- [16] Liu S L, Hou X Y, Yang M, Cheng F Y, Coxix A, Wu X, Zhang Y Q. Factors driving the relationships between vegetation and soil properties in the Yellow River Delta, China. CATENA, 2018, 165: 279-285.
- [17] Sun J K, Chi Y, Fu Z Y, Li T, Dong K K. Spatiotemporal variation of plant diversity under a unique estuarine wetland gradient system in the Yellow River Delta, China. Chinese Geographical Science, 2020, 30(2): 217-232.
- [18] 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析. 生态学报, 2017, 37(5): 1650-1658.
- [19] Li L Z, Liu X L, Peijnenburg W J G M, Zhao J M, Chen X B, Yu J B, Wu H F. Pathways of cadmium fluxes in the root of the halophyte *Suaeda salsa*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 75(1): 1-7.
- [20] Li H, Chi Z F, Li J L, Wu H T, Yan B X. Bacterial community structure and function in soils from tidal freshwater wetlands in a Chinese delta: potential impacts of salinity and nutrient. Science of the Total Environment, 2019, 696: 134029.
- [21] Khamchhiyan M, Charkhabi A H, Tajik M. Effects of crude oil contamination on geotechnical properties of clayey and sandy soils. Engineering Geology, 2007, 89(3/4): 220-229.
- [22] Gao Y C, Wang J N, Guo S H, Hu Y L, Li T T, Mao R, Zeng D H. Effects of salinization and crude oil contamination on soil bacterial community structure in the Yellow River Delta region, China. Applied Soil Ecology, 2015, 86: 165-173.
- [23] An J X, Liu C, Wang Q, Yao M J, Rui J P, Zhang S H, Li X Z. Soil bacterial community structure in Chinese wetlands. Geoderma, 2019, 337: 290-299.
- [24] Ravensschlag K, Sahn K, Pernthaler J, Amann R. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(9): 3982-3989.
- [25] Karimi B, Terrat S, Dequiedt S, Saby N P A, Horrigue W, Lelièvre M, Nowak V, Jolivet C, Arrouays D, Wincker P, Cruaud C, Bispo A, Maron P A, Bouré N C P, Ranjard L. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. Science Advances, 2018, 4(7): eaat1808.

- [26] Zhang B Y, Wu X H, Zhang G X, Li S Y, Zhang W, Chen X M, Sun L K, Zhang B G, Liu G X, Chen T. The diversity and biogeography of the communities of Actinobacteria in the forelands of glaciers at a continental scale. *Environmental Research Letters*, 2016, 11(5): 054012.
- [27] Chen X W, Wei W, Wang J N, Li H B, Sun J, Ma R J, Jiao N Z, Zhang R. Tide driven microbial dynamics through virus-host interactions in the estuarine ecosystem. *Water Research*, 2019, 160: 118-129.
- [28] Liu F M, Wang Y B, Qu C F, Zheng Z, Miao J L, Xu H, Xiao T. The complete genome of hydrocarbon-degrading *Pseudoalteromonas* sp. NJ289 and its phylogenetic relationship. *Acta Oceanologica Sinica*, 2017, 36(2): 88-93.
- [29] Wang Y Z, Lin W, Li J H, Pan Y X. High diversity of magnetotactic *Deltaproteobacteria* in a freshwater niche. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(8): 2813-2817.
- [30] Zheng M S, Tian Y H, Liu T, Tao M, Li L, Li C, Ahmad M, Chen Q, Ni J R. Minimization of nitrous oxide emission in a pilot-scale oxidation ditch: generation, spatial variation and microbial interpretation. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 510-517.
- [31] Zhang X W, Zhang L Z, Zhang L H, Ji Z, Shao Y T, Zhou H, Bao Y M, Qu Y Y, Liu L F. Comparison of rhizosphere bacterial communities of reed and *Suaeda* in Shuangtaizi River Estuary, Northeast China. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 140: 171-178.
- [32] Vigneron A, Cruaud P, Alsop E, de Rezende J R, Head I M, Tsesmetzis N. Beyond the tip of the iceberg; a new view of the diversity of sulfite- and sulfate-reducing microorganisms. *The ISME Journal*, 2018, 12(8): 2096-2099.
- [33] Zhu P, Wang Y P, Shi T T, Zhang X L, Huang G Q, Gong J. Intertidal zonation affects diversity and functional potentials of bacteria in surface sediments: a case study of the Golden Bay mangrove, China. *Applied Soil Ecology*, 2018, 130: 159-168.
- [34] Church M J. Resource control of bacterial dynamics in the Sea//Kirchman D L, Church M J, eds. *Microbial Ecology of the Oceans*. 2nd ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2008: 335-382.
- [35] Bull A T, Stach J E M, Ward A C, Goodfellow M. Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, 87(1): 65-79.
- [36] 杨文航, 任庆水, 李昌晓, 宋虹, 袁中勋, 马文超, 崔云凤, 王朝英. 三峡库区消落带落羽杉与立柳林土壤微生物生物量碳氮磷动态变化. *生态学报*, 2019, 39(5): 1496-1506.
- [37] Canfora L, Salvati L, Benedetti A, Francaviglia R. Is soil microbial diversity affected by soil and groundwater salinity? Evidences from a coastal system in central Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2017, 189(7): 319.
- [38] Canfora L, Bacci G, Pinzari F, Lo Papa G, Dazzi C, Benedetti A. Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? *PLoS One*, 2014, 9(9): e106662.
- [39] Zhao Q Q, Zhao H X, Gao Y C, Zheng L W, Wang J N, Bai J H. Alterations of bacterial and archaeal communities by freshwater input in coastal wetlands of the Yellow River Delta, China. *Applied Soil Ecology*, 2020, 153: 103581.
- [40] Balasooriya W K, Denef K, Peters J, Verhoest N E C, Boeckx P. Vegetation composition and soil microbial community structural changes along a wetland hydrological gradient. *Hydrology and Earth System Sciences*, 2008, 12(1): 277-291.
- [41] Wei Z W, Hu X L, Li X H, Zhang Y Z, Jiang L C, Li J, Guan Z B, Cai Y J, Liao X R. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0174411.
- [42] Frouz J, Prach K, Pižl V, Háněl L, Sary J, Tajovský K, Materna J, Balík V, Kalčík J, Řehouňková K. Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology*, 2008, 44(1): 109-121.
- [43] Horner-Devine M C, Lage M, Hughes J B, Bohannan B J M. A taxa-area relationship for bacteria. *Nature*, 2004, 432(7018): 750-753.
- [44] Yao M J, Rui J P, Niu H S, Heděnc P, Li J B, He Z L, Wang J M, Cao W D, Li X Z. The differentiation of soil bacterial communities along a precipitation and temperature gradient in the eastern Inner Mongolia steppe. *CATENA*, 2017, 152: 47-56.
- [45] Zhang K P, Delgado-Baquerizo M, Zhu Y G, Chu H Y. Space is more important than season when shaping soil microbial communities at a large spatial scale. *mSystems*, 2020, 5(3): e00783-19.
- [46] 李飞, 刘振恒, 贾甜华, 李珊珊, 白彦福, 郭灿灿, 王惟惟, 孔猛, 张涛, Iqbal A, 周华坤, 贾宇, 尚占环. 高寒湿地和草甸退化及恢复对土壤微生物碳代谢功能多样性的影响. *生态学报*, 2018, 38(17): 6006-6015.
- [47] Wang T G, Peverly J H. Iron oxidation states on root surfaces of a wetland plant (*Phragmites australis*). *Soil Science Society of America*, 1999, 63(1): 247-252.