

龙凤湿地与瑯奈湿地底泥细菌古菌多样性及其对环境因子的响应

田润敏^{#1,2}, 赵铎^{#1,2}, 洪艳华³, 张洪奇⁴, 申贵男^{1,2}, 晏磊^{1,2}, 邱化蛟^{*5}, 王伟东^{*1,2,3,5}

- 1 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江省寒区环境微生物与农业废弃物资源化利用重点实验室, 黑龙江 大庆 163319
- 2 粮食副产物加工与利用教育部工程研究中心, 黑龙江 大庆 163319
- 3 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319
- 4 江苏进化树生物科技有限公司, 江苏 徐州 221300
- 5 中国农业科学院麻类研究所, 湖南 长沙 410205

田润敏, 赵铎, 洪艳华, 张洪奇, 申贵男, 晏磊, 邱化蛟, 王伟东. 龙凤湿地与瑯奈湿地底泥细菌古菌多样性及其对环境因子的响应[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2500-2514

Tian Runmin, Zhao Duo, Hong Yanhua, Zhang Hongqi, Shen Guinan, Yan Lei, Qiu Huajiao, Wang Weidong. Diversity of bacteria and archaea in sediments of Longfeng wetland and Dangnai wetland and its response to environmental factors[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2500-2514

摘要: 【背景】城市湿地和天然湿地受到人为扰动影响的程度显著不同。【目的】研究 2 种不同类型湿地底泥微生物多样性及种类的差异。【方法】采集冬夏两季城市湿地(龙凤湿地)和天然湿地(瑯奈湿地)的底泥样品, 使用 16S rRNA 基因测序技术测定底泥中细菌和古菌群落结构, 分析 2 种湿地底泥的细菌、古菌差异及环境因素与微生物的相关性。【结果】龙凤湿地底泥中的硫杆菌属(*Thiobacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)丰度显著高于瑯奈湿地($P<0.05$); *Methanoregula* 在瑯奈湿地底泥中的丰度高于龙凤湿地; 冬季厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)

基金项目: 国家自然科学基金(32170132); 中国科学院战略性先导科技专项(XDA28030203-2); 国家重点研发计划(2018YFD0800906-03); 黑龙江八一农垦大学“三纵”科研支持计划(ZDZX202105); 黑龙江八一农垦大学科技创新团队项目(TDJH201809); 黑龙江八一农垦大学研究生创新项目(YJSCX2019-Y62)

[#]对本文贡献相同

Supported by: National Natural Science Foundation of China (32170132); Special Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA28030203-2); National Key Research and Development Program of China (2018YFD0800906-03); “Three Longitudinal” Scientific Research Support Program of Heilongjiang Bayi Agricultural University (ZDZX202105); Support Program of Scientific Research Team and Platform of Heilongjiang Bayi Agricultural University (TDJH201809); Research Innovation Program for Graduates of Heilongjiang Bayi Agricultural University (YJSCX2019-Y62)

[#]These authors equally contributed to this work

*Corresponding authors: E-mail: QIU Huajiao: qiuhuajiao@caas.cn; WANG Weidong: wwdcyy@126.com

Received: 2021-10-24; Accepted: 2021-12-28; Published online: 2022-01-28

和甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)在瑯奈湿地底泥中的丰度显著高于龙凤湿地($P<0.05$)。【结论】龙凤湿地与瑯奈湿地的差异主要影响湿地底泥中参与元素循环的细菌和产甲烷古菌的丰度,人为干扰和低温会降低湿地中微生物的多样性, pH、盐分和碱性磷酸酶是显著影响微生物多样性的环境因素。

关键词: 龙凤湿地; 瑯奈湿地; 细菌多样性; 古菌多样性

Diversity of bacteria and archaea in sediments of Longfeng wetland and Dangnai wetland and its response to environmental factors

TIAN Runmin^{#1,2}, ZHAO Duo^{#1,2}, HONG Yanhua³, ZHANG Hongqi⁴, SHEN Guinan^{1,2}, YAN Lei^{1,2}, QIU Huajiao^{*5}, WANG Weidong^{*1,2,3,5}

1 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Environmental Microbiology and Recycling of Argo-Waste in Cold Region, College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China

2 Engineering Research Center of Processing and Utilization of Grain By-Products, Ministry of Education, Daqing 163319, Heilongjiang, China

3 College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China

4 Jiangsu Evolutionary Tree Biotechnology Limited Company, Xuzhou 221300, Jiangsu, China

5 Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, Hunan, China

Abstract: [Background] Anthropogenic disturbance affects urban wetlands and natural wetlands to different degrees. [Objective] To study the differences of microbial diversity in sediments of two different types of wetlands. [Methods] The sediment samples of Longfeng wetland and Dangnai wetland were collected in winter and summer. The bacterial and archaeal community structures were determined via high-throughput sequencing of 16S rRNA genes. The differences of bacteria and archaea between the two wetlands and the correlations between environmental factors and microorganisms were analyzed. [Results] The abundance of *Thiobacillus*, *Bacillus*, and *Sphingomonas* in the sediment of Longfeng wetland was higher than that of Dangnai wetland ($P<0.05$). The abundance of *Methanoregula* in Dangnai wetland was higher than that in Longfeng wetland. *Anaerolinea* and *Methanosarcina* had higher abundance in the sediment of Dangnai wetland than in Longfeng wetland in winter ($P<0.05$). [Conclusion] The differences between Longfeng wetland and Dangnai wetland mainly affect the abundance of methanogenic archaea and bacteria involved in element cycling in the sediment. Human disturbance and low temperature can reduce the diversity of microorganisms in the wetlands, and pH, salinity, and alkaline phosphatase are the main environmental factors that significantly affect the microbial diversity.

Keywords: Longfeng wetland; Dangnai wetland; bacterial diversity; archaeal diversity

大庆位于寒区黑龙江西南部,地处松嫩平原,龙凤湿地位于大庆城区边缘,接纳城市污水处理厂排水和城市自然降雨排水,湿地上方横跨龙凤湿地大桥和铁路,所以龙凤湿地受到城市中人类生活等人为因素的干扰。瑯奈湿地位于扎龙自然保护区,是扎龙湿地的核心地区,而扎龙湿地是我国北方同纬度地区保留最完善、最原始、最开阔的湿地生态系统,所以瑯奈湿地至今还保持着比较原始的生态环境。

城市化的推进导致城区的湿地受到如建筑、工业活动、道路交通、液体和固体废物的处置及城市农业实践等人为活动的严重影响^[1-2],使湿地环境的 pH、排水和养分循环等发生显著变化^[3]。湿地微生物能够敏感地察觉环境因子的改变,从而调整微生物群落结构,改变湿地的生态功能,对维持湿地生态功能具有重要作用^[4-5]。与湖泊、河流相比,湿地微生物中与降解相关的基因丰度高,原因可能是湿地中具有较高的有机碳和溶解氧^[6]。扎龙湿地微生物群落代谢活性和功能与底泥有机质、速效氮和总磷均呈显著正相关,而且夏季的微生物代谢水平显著高于春、秋、冬季^[7];对天然滨海湿地红树林湿地的研究发现,潮汐周期对微生物产生严重影响,从低潮滩到高潮滩变形菌门丰度明显增加^[8];在海洋沉积物底泥中有机质浓度增加时,反硝化细菌的丰度显著增加^[9];对流经不同污染程度的城市湿地微生物的研究结果显示,湿地间的微生物群落组成具有较高的相似性^[10];张晶等对湖泊湿地的研究发现湿地优势类群为 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)^[11];何昌飞等发现滨海湿地的主要细菌类群为变形菌门(*Proteobacteria*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)^[12]。因为不同类型的湿地受到周围环境扰动的类型和程

度不同,湿地的环境因子大不相同,导致微生物种类、活性显著不同,所以微生物的群落变化可以作为生态环境是否受到外来影响的重要指标。目前,关于同一类型湿地或同一湿地在外部条件改变时微生物和理化因子变化情况的报道较多,但对同纬度的城市湿地与天然湿地间的比较研究较少。

本研究以龙凤湿地和瑯奈湿地 2 种典型湿地为研究对象,比较冬夏两季 2 种湿地底泥的环境因子和微生物群落组成差异,探究城市中的人为扰动因素对湿地底泥细菌和古菌的影响及其对环境因子的响应,以期从微生物角度找出人为扰动和天然湿地的差异微生物类型,进而探讨利用微生物指标衡量湿地受扰动程度的可能性。

1 材料与方法

1.1 湿地选择与样品采集

研究于冬季(2019 年 11 月 24 日)、夏季(2020 年 8 月 16 日)采集龙凤湿地与瑯奈湿地底泥样品,每个湿地分别选取 5 个位点进行采样,冬夏两次采集同一湿地相同的 5 个位点。龙凤湿地 5 个采样地点的经纬度分别为(E125°18.40, N46°53.49)、(E125°14.83, N46°52.54)、(E125°17.83, N46°50.41)、(E125°17.88, N46°54.19)和(E125°19.42, N46°46.80),瑯奈湿地 5 个采样位点的经纬度分别为(E124°19.43, N47°4.44)、(E124°19.44, N47°4.45)、(E124°19.44, N47°4.45)、(E124°18.58, N47°2.19)和(E124°18.16, N47°1.43)。冬季取样当日温度为-8 °C,夏季取样当日温度为 26 °C。使用污泥取样器取样,采集距离水泥交界面深度约 0-20 cm 深的沉积物样品,每个位点采用五点取样法,采集样品量相同。将采集后的样品装入灭菌的封口聚乙烯袋中迅速带回实验室,将同一湿地 5 个位点的样品进行混合,分成 2 份,一份风干用于样品环境因子的测定,另一部分装入

50 mL 离心管保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用于后续样品 DNA 的提取和高通量测序。

1.2 主要试剂和仪器

氢氧化钠、硼酸,天津市科密欧化学试剂有限公司;甲基红,天津市福晨化学试剂厂;溴甲酚绿,天津市光复精细化工研究所;三氯化六氨合钴、茛三酮、磷酸苯二钠、苯酚,上海麦克林生化科技有限公司;甲苯,上海凌峰化学试剂有限公司;硫酸钠,沈阳市华东试剂厂。

污泥采样器,江苏金坛市康华电子仪器制造厂;数显折射仪,杭州陆恒生物科技有限公司;元素分析仪,Analytik 公司;凯氏定氮仪,济南海能股份有限公司;分光光度计,北京普析通用仪器有限公司。

1.3 湿地底泥环境因子测定

pH 采用土壤水浸提液的方法使用便携式 pH 计测定^[13];盐分(salinity, SAL)采用数显折射仪测定,使用 25 mL 无 CO_2 的蒸馏水浸提 5 g 湿地底泥样品,充分振荡后静置,取上清测定样品的盐分;总碳(total carbon, TC)使用元素分析仪的 NC2100 固体模块测定;总氮(total nitrogen, TN)按照 GB/T 33862—2017 方法使用凯氏定氮仪测定^[14];总磷(total phosphorus, TP)采用碱熔-钼锑钨分光光度法(HJ 632—2011)测定^[15];有机质(total organic matters, TOM)采用灼烧减重法(HJ 761—2015)测定^[16];阳离子交换量(cation exchange capacity, CEC)采用三氯化六氨合钴浸提-分光光度法(HJ 889—2017)测定^[17];蛋白酶(protease, PRO)使用茛三酮比色法测定^[18];碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)使用磷酸苯二钠比色法测定^[19]。

1.4 湿地底泥微生物组成多样性测序

提取 20 个位点的湿地底泥样品微生物基因组 DNA,样品总 DNA 提取后,采用 PCR 扩增基因组 DNA 细菌、古菌 16S rRNA 基因 V3-V4

区域。细菌引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAG GCAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3')。PCR 反应体系(10 μL):上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.3 μL , KOD FX Neo Buffer 5 μL , dNTPs (2 mmol/L) 2 μL , KOD FX Neo 0.2 μL , ddH₂O 补至 10 μL 。PCR 反应条件:98 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 98 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 30 次循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。古菌引物为 Arch349F (5'-GYGCASCAGKCGMGA AW-3')和 Arch806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3')。PCR 反应体系与细菌相同。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 35 次循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。DNA 提取、PCR 扩增、高通量测序均由北京百迈客生物科技有限公司在 Illumina HiSeq 2500 平台上进行测序完成。本研究的 16S rRNA 基因序列已在国家微生物科学数据中心提交测序数据,获得的正式编号为 NMDC40014032。使用 Excel 和 SPSS 19.0 软件进行结果数据的统计分析,使用百迈客云平台、派森诺云平台和 Origin 2021 软件进行结果图片绘制。

2 结果与分析

2.1 龙凤湿地与瑯奈湿地底泥环境因子分析

如表 1 所示,龙凤湿地底泥 pH 7.69—7.98,盐分为 0.12%—0.13%,处于轻盐碱化状态;瑯奈湿地底泥, pH 值在 7.89—8.12 之间,盐分含量为 0.16%—0.17%,盐碱化程度高于龙凤湿地。龙凤湿地底泥冬夏 2 个季节的总碳、总氮和总磷均高于瑯奈湿地,但不显著,原因可能是城市中的扰动因素增加了湿地中碳、氮、磷元素含量。瑯奈湿地底泥的有机质含量、阳离子交换量高于龙凤湿地且夏季差异显著。土壤的有机质含量和阳离子交换量与土壤自身的属性和利用方式有关,阳离子交换量的大小代表着土壤生产力和保肥能力^[20],说明瑯奈湿地底泥的状况保持良好,可

利用性高。

龙凤湿地底泥的蛋白酶含量在冬夏两季也均高于瑯奈湿地,而且夏季两湿地间蛋白酶含量具有显著性差异($P<0.05$),蛋白酶参与湿地中的氮循环途径,因此蛋白酶的活力与湿地中氮的含量趋势一致。瑯奈湿地底泥的碱性磷酸酶含量在 2 个季节均高于龙凤湿地,有研究表明碱性磷酸酶的含量与环境中的磷的含量呈显著正相关^[21],但本研究中碱性磷酸酶的含量与磷的含量呈负相关。

两个湿地的冬季底泥样品的总碳、有机质、总氮、总磷、蛋白酶和碱性磷酸酶含量均高于夏季。

2.2 湿地底泥细菌多样性分析

2.2.1 湿地底泥细菌 α 多样性

龙凤湿地和瑯奈湿地底泥样品冬夏两季的

细菌 α 多样性指数如表 2 所示,对 4 个分组共 20 个样品中细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区测序获得 2 402 499 对 reads,冬季龙凤湿地、冬季瑯奈湿地、夏季龙凤湿地和夏季瑯奈湿地底泥样品中发现的细菌 OTU 数分别为 1 711、1 614、2 624 和 2 782 个,4 个样品的 coverage 均超过 99%,说明当前测序量下可以较好地反映样品细菌的 α 多样性。龙凤湿地冬季的 Shannon 指数、ACE 指数和 Chao1 指数均低于瑯奈湿地,夏季相反。说明龙凤湿地底泥夏季的细菌多样性和丰度高,而瑯奈湿地冬季高。Shannon 指数、Simpson 指数、ACE 指数和 Chao1 指数在季节间呈显著性差异,夏季样品的细菌多样性和丰度显著高于冬季($P<0.05$)。

表 1 龙凤湿地与瑯奈湿地底泥样品环境因子分析

Table 1 Physicochemical properties of sediment samples from Longfeng wetland and Dangnai wetland

Item	冬季 Winter		夏季 Summer	
	龙凤 LF	瑯奈 DN	龙凤 lf	瑯奈 dn
pH	7.69±0.08b	7.89±0.35ab	7.98±0.10ab	8.12±0.32a
盐分 SAL	0.13±0.03a	0.17±0.06a	0.12±0.02a	0.16±0.06a
总碳 TC (%)	8.66±0.99a	8.17±0.49ab	7.86±0.91ab	7.29±0.51b
有机质 TOM (%)	7.32±1.80a	9.47±1.95a	7.05±2.24a	7.50±0.57a
总氮 TN (%)	0.10±0.06a	0.07±0.04a	0.06±0.03a	0.06±0.02a
阳离子交换量 CEC (cmol+/kg)	9.92±4.00ab	13.21±1.9ab	8.03±2.27b	14.39±5.26a
总磷 TP (mg/kg)	18.77±2.65a	17.48±0.49a	17.63±1.97a	17.21±1.64a
蛋白酶 PRO (mg/g)	0.04±0.00a	0.03±0.00a	0.03±0.00b	0.02±0.00c
碱性磷酸酶 AKP (mg/g)	0.06±0.02ab	0.09±0.04a	0.05±0.02b	0.05±0.01ab

注:同一行不同小写字母表示不同类型湿地间差异显著性($P<0.05$)。下同

Note: Different lowercase letters on the same line indicate the significant difference between different types of wetlands ($P<0.05$). The same below.

表 2 两种湿地细菌 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of bacteria in two wetlands

Item	冬季 Winter		夏季 Summer	
	龙凤 LF	瑯奈 DN	龙凤 lf	瑯奈 dn
Coverage (%)	99.45±0.22ab	99.31±0.18b	99.54±0.17a	99.52±0.20a
Shannon index	5.69±0.11b	5.82±0.12b	8.93±0.17a	8.76±0.21a
Simpson index	0.02±0.01b	0.01±0.00b	0.99±0.00a	0.99±0.00a
ACE index	1 271.00±64.00b	1 287.00±22.00b	1 800.00±73.00a	1 788.00±83.00a
Chao1 index	1 131.00±22.00b	1 317.00±22.00b	1 860.00±68.00a	1 796.00±97.00a

2.2.2 湿地底泥样品细菌门水平多样性

选择湿地底泥样品中丰度超过 1% 的门水平的细菌, 根据注释结果生成相对的丰度柱状图, 如图 1 所示。湿地底泥样品主要由 11 个细菌门组成: 变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、蓝藻菌门(*Cyanobacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、己科河菌门(*Rokubacteria*)和硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)。冬季龙凤湿地丰度排名前三的细菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 26%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 14%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 11%); 冬季瑯奈湿地排名前三的细菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 34%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*, 20%)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*, 11%);

夏季龙凤湿地丰度排名前三的细菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 36%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*, 16%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 13%); 夏季瑯奈湿地丰度排名前三的细菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 30%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 15%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*, 14%)。龙凤湿地底泥的厚壁菌门(*Firmicutes*)和蓝藻菌门(*Cyanobacteria*)丰度在 2 个季节均高于瑯奈湿地, 且冬季呈显著性差异($P < 0.05$)。

2.2.3 湿地底泥样品细菌属水平多样性

选择湿地底泥样品中丰度超过 1% 的属水平的细菌, 绘制相对的丰度柱状图(图 2)。两个湿地主要由硫杆菌属(*Thiobacillus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和部分未分类到属水平的细菌组成。厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*)在各组丰度均超过 2%, 在冬季瑯

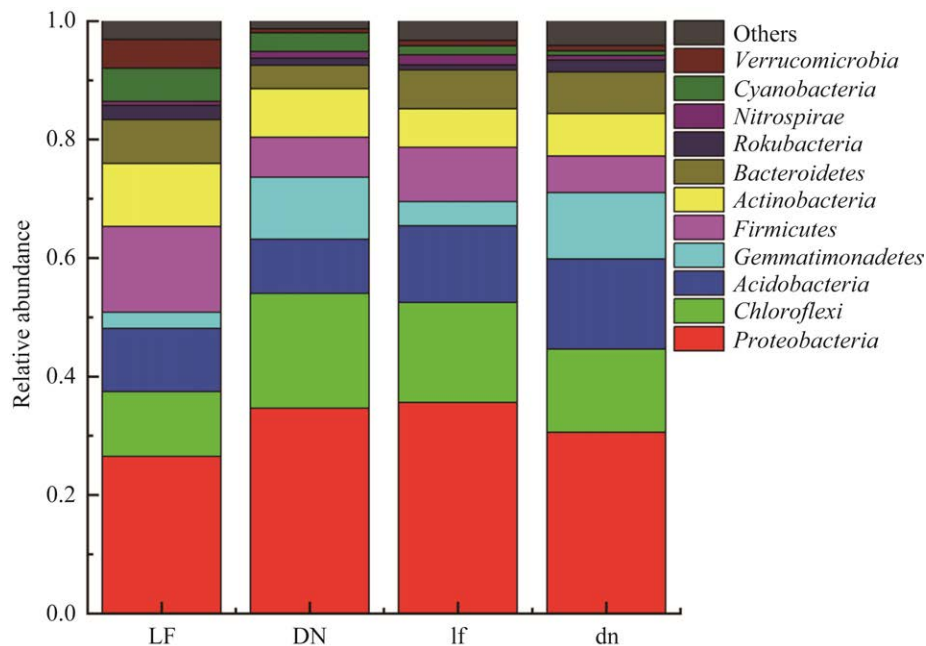


图 1 两种湿地底泥细菌门水平相对丰度 LF: 冬季龙凤湿地底泥样品; DN: 冬季瑯奈湿地底泥样品; lf: 夏季龙凤湿地底泥样品; dn: 夏季瑯奈湿地底泥样品。下同

Figure 1 Relative abundances of bacteria phylum levels in two wetland sediments. LF: Sediment samples from Longfeng wetland in winter; DN: Sediment samples of Dangnai wetland in winter; lf: Sediment samples from Longfeng Wetland in summer; dn: Sediment samples of Dangnai wetland in summer. The same as below.

奈样品中的丰度最高为 10.17%。龙凤湿地底泥中的硫杆菌属(*Thiobacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)等微生物丰度在冬夏两季均显著高于瑯奈湿地($P<0.05$)。在冬季和夏季两湿地间大部分细菌的丰度趋势相反,厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)在冬季瑯奈湿地底泥中的丰度显著高于龙凤湿地,夏季相反($P<0.05$)。

2.3 湿地底泥古菌多样性分析

2.3.1 古菌 α 多样性

对 4 个分组共 20 个样品中古菌 16S rRNA

基因 V3-V4 区测序获得 2 399 091 对 reads, 冬季龙凤湿地、冬季瑯奈湿地、夏季龙凤湿地和夏季瑯奈湿地底泥样品中发现的古菌 OTU 数分别为 1 493、1 646、1 697 和 1 915 个, 4 个样品的覆盖度(coverage)均超过 99%, 说明当前测序量下可以较好地反映样品古菌的 α 多样性。龙凤湿地冬季底泥样品的 Simpson、ACE、Chao1 指数及夏季底泥样品的 Shannon、Simpson、Chao1 指数均小于瑯奈湿地, 因此古菌的丰度和多样性在冬夏两季趋势一致, 均为瑯奈湿地底泥样品更高(表 3)。Simpson

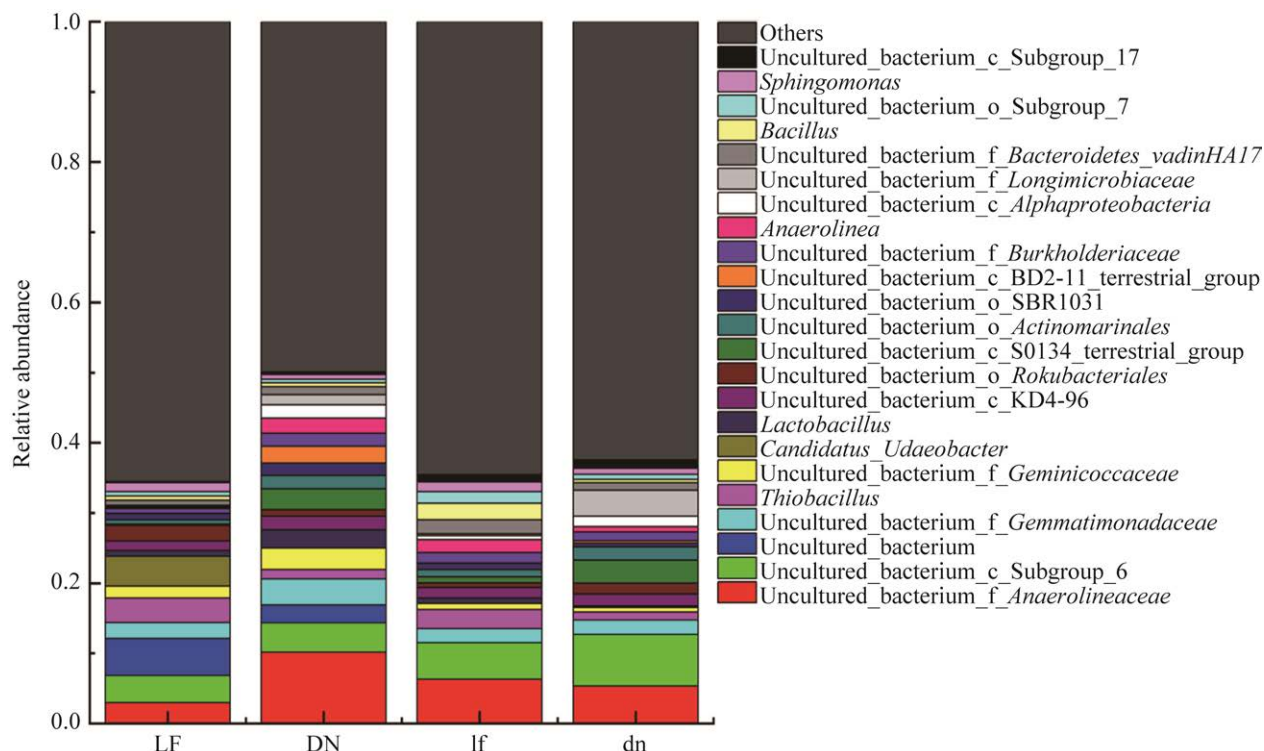


图 2 两种湿地底泥细菌属水平相对丰度

Figure 2 Relative abundance of bacteria genus level in two wetland sediments.

表 3 两种湿地古菌 α 多样性指数

Table 3 Alpha diversity index of archaea in two wetlands

Item	冬季 Winter		夏季 Summer	
	龙凤 LF	瑯奈 DN	龙凤 lf	瑯奈 dn
Coverage (%)	99.74±0.04ab	99.72±0.04b	99.74±0.10ab	99.77±0.05a
Shannon index	5.06±0.07b	4.90±0.13b	5.95±0.46ab	7.00±0.30a
Simpson index	0.02±0.00b	0.05±0.01b	0.92±0.02a	0.96±0.01a
ACE index	899.00±28.00c	1 167.00±18.00a	1 111.00±57.00ab	990.00±56.00bc
Chao1 index	911.00±29.00a	1 187.00±18.00a	979.00±87.00a	992.00±69.00a

指数在季节间呈显著性差异, 夏季湿地底泥样品的 Simpson 指数显著高于冬季($P<0.05$)。

2.3.2 湿地底泥样品古菌门水平多样性

所有样品中共发现 1 946 个 OTU 序列, 可分为 38 门 96 纲 212 目 319 科 483 属 517 种。选择湿地底泥样品中丰度超过 1% 的门水平的古菌, 根据注释结果生成相对的丰度柱状图, 如图 3 所示。龙凤和瑯奈湿地底泥样品中丰度超 1% 的古菌有广古菌门(*Euryarchaeota*)、深古菌门(*Bathyarchaeota*)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、纳古菌门(*Nanoarchaeaeota*)。其中优势古菌门是广古菌门(*Euryarchaeota*), 在各组的占比均超过 9%, 在冬季瑯奈湿地的样品中占比最高 24.74%。龙凤湿地的奇古菌门(*Thaumarchaeota*)和纳古菌门(*Nanoarchaeaeota*)在冬夏两季的丰度均低于瑯奈湿地但均不显著。

2.3.3 两种湿地底泥样品古菌属水平多样性

选择湿地底泥样品中丰度超过 1% 的属水平的古菌, 绘制相对的丰度柱状图(图 4)。丰度

超过 1% 的古菌属有甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷丝菌属(*Methanosaeta*)、嗜盐碱单孢菌属(*Natronomonas*)、*Methanoregula* 和部分未分类或未培养的古菌属组成。*Methanoregula* 在冬夏两季的趋势一致, 瑯奈湿地底泥中的丰度高于龙凤湿地但不显著。甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)在冬季和夏季两湿地间的趋势相反, 在冬季瑯奈湿地底泥中的丰度显著高于龙凤湿地($P<0.05$), 夏季相反但不显著。

2.4 湿地底泥微生物 β 多样性

根据 Bray_Curtis 算法, 对 2 个季节龙凤湿地底泥与瑯奈湿地底泥样品的细菌和古菌进行非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析。结果表明, 龙凤湿地与瑯奈湿地在冬季湿地底泥样品细菌和古菌类群可以很好地分开(图 5), 其中古菌类群距离最远, 说明两湿地冬季理化参数的不同使 2 种湿地微生物组成差异性较强。夏季龙凤湿地与瑯奈湿地的底泥样品在细菌和古菌类群中距离近,

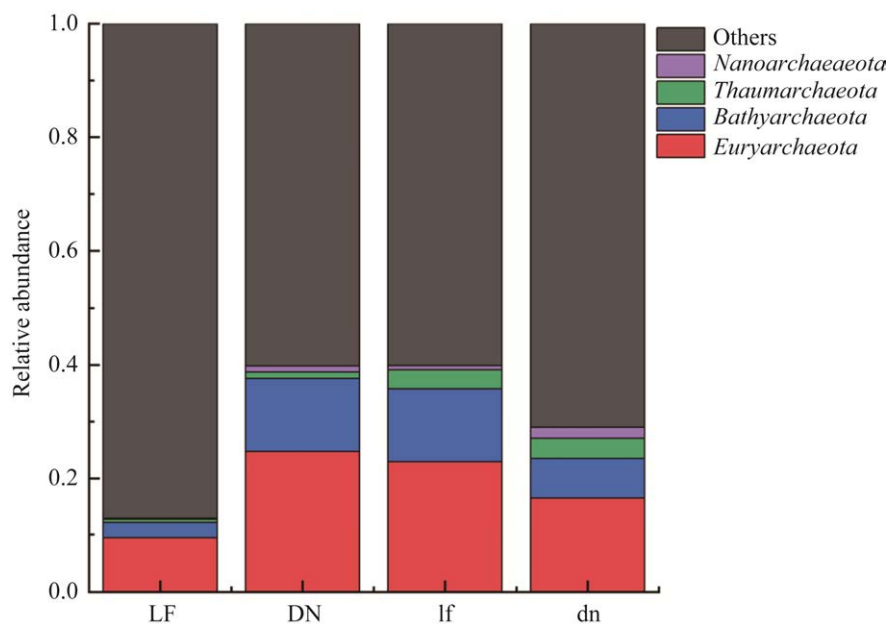


图 3 两种湿地底泥古菌在门水平的相对丰度

Figure 3 Relative abundance of archaea phylum levels in two wetland sediments.

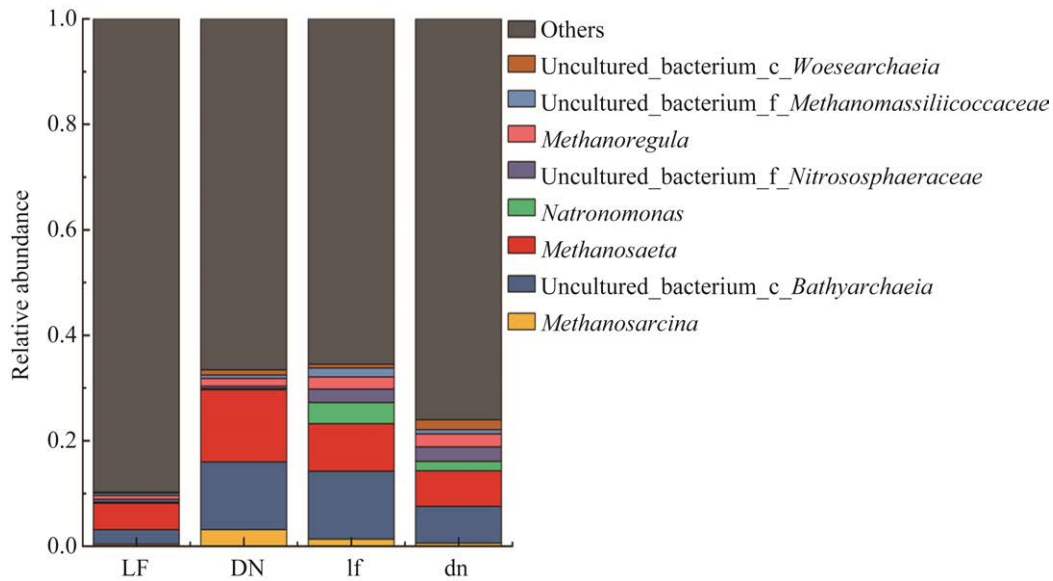


图 4 两种湿地底泥古菌在属水平的相对丰度

Figure 4 Relative abundance of archaea genus level in two wetland sediments.

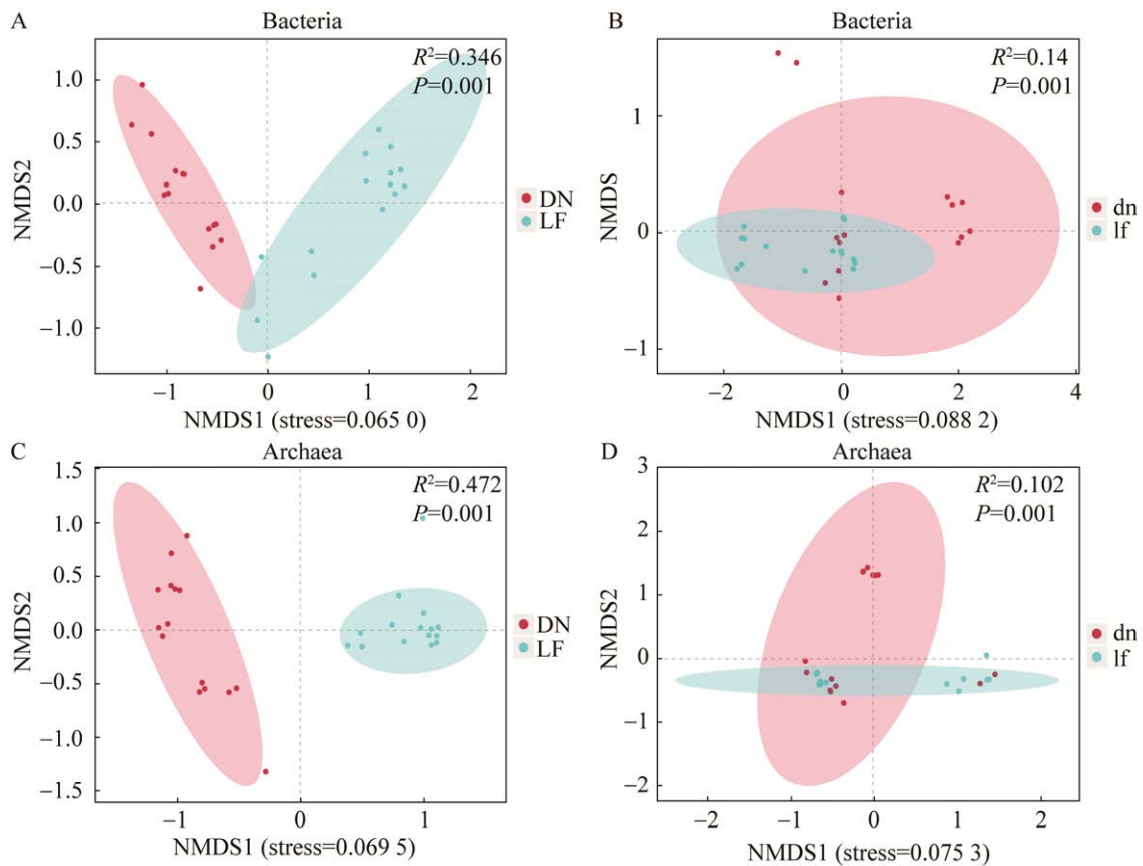


图 5 冬季、夏季龙凤湿地与瑯奈湿地底泥样品微生物的 β 多样性分析 A: 冬季细菌; B: 夏季细菌; C: 冬季古菌; D: 夏季古菌

Figure 5 Beta diversity analysis of microorganisms in sediment samples from Longfeng wetland and Dangnai wetland in winter and summer. A: Winter bacteria; B: Summer bacteria; C: Winter Archaea; D: Summer archaea.

说明夏季 2 种湿地微生物组成具有相似性。结合龙凤湿地与瑯奈湿地底泥样品理化性质差异(表 1), pH、总碳、碱性磷酸酶在冬季两湿地间具有差异, 这 3 种理化参数是造成冬季龙凤湿地与瑯奈湿地间 β 多样性差异的主要理化参数。

2.5 湿地底泥微生物与环境因子的相关性分析

为讨论环境因子对微生物群落结构的影响, 将两湿地底泥的环境理化因子与样品中丰度超过 1% 的细菌、古菌属通过 Spearman 计算进行相关性热图分析, 如图 6 所示。结果发现 pH

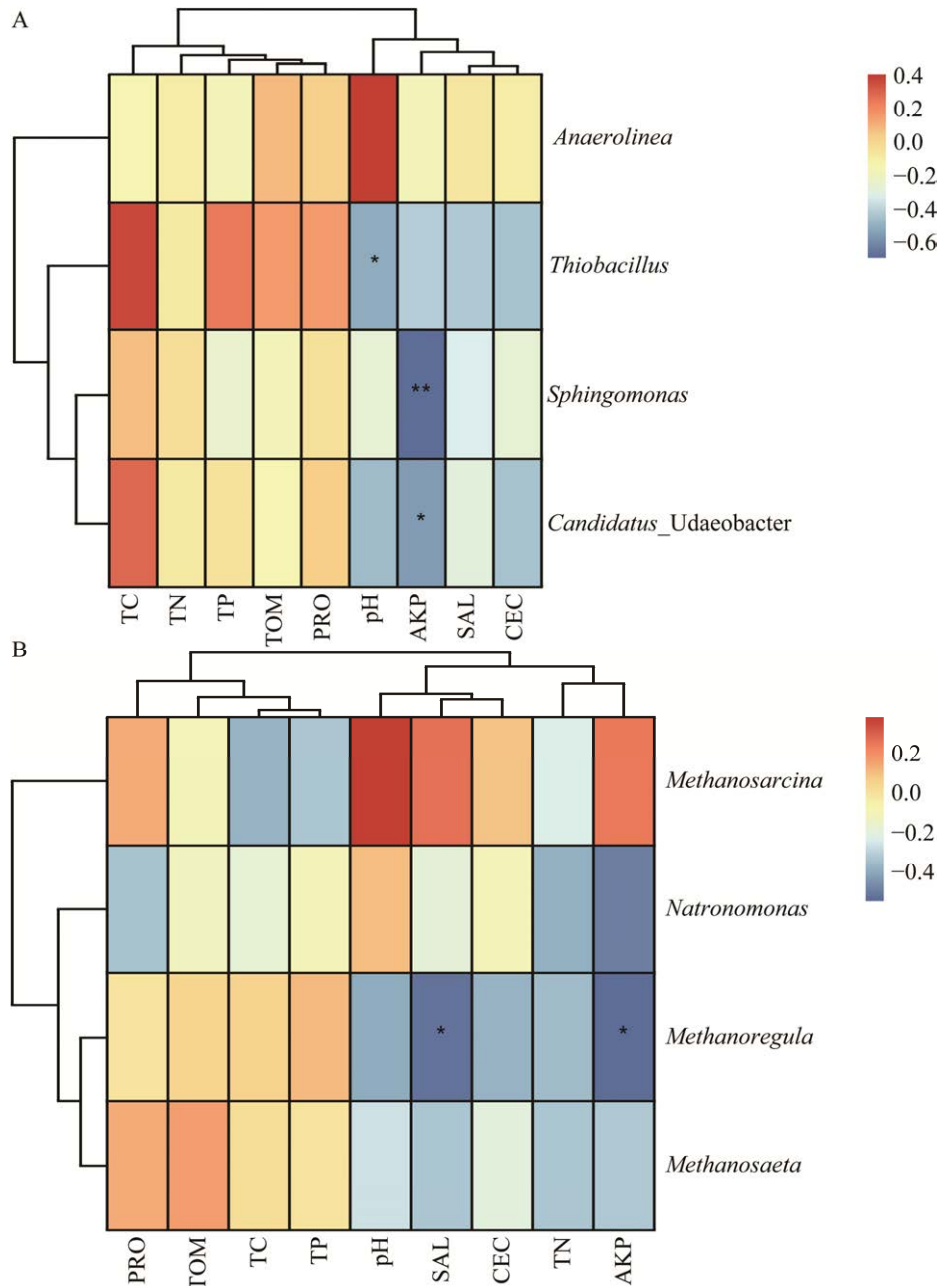


图 6 龙凤湿地(LF)与瑯奈湿地(DN)底泥理化因子与主要微生物相关性热图分析 A: 细菌; B: 古菌

Figure 6 Heat map analysis of correlation between physical and chemical factors and main microorganisms in sediment of Longfeng wetland and Dangnai wetland. A: Bacteria; B: Archaea.

和碱性磷酸酶(AKP)是影响属水平细菌的重要环境理化因子, 硫杆菌属(*Thiobacillus*)与 pH 呈显著负相关, 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和 *Candidatus_Udaeobacter* 与碱性磷酸酶呈显著负相关($P<0.05$)。盐分和碱性磷酸酶是影响湿地底泥古菌重要环境理化因子, *Methanoregula* 与盐分和碱性磷酸酶呈显著负相关($P<0.05$), 其他古菌与环境理化因子无显著相关性。

3 讨论

3.1 两种类型湿地细菌多样性

通过对冬夏两季龙凤湿地和瑯奈湿地底泥样品分析发现, 二者的微生物组成具有较大差异。细菌 α 多样性在冬夏两季对人为干扰的响应不同, 冬季龙凤湿地底泥的细菌多样性和丰度低于瑯奈湿地, 夏季正相反。湿地中的人为干扰情况体现在湿地底泥理化性质的改变, 理化性质调控微生物的活动, 冬季瑯奈湿地底泥的有机质和阳离子交换量高于龙凤湿地。更高的有机质含量可为微生物提供更多的营养来促进微生物的生长发育, 提高微生物参加湿地碳氮循环的效率^[22]; 同时, 湿地的阳离子交换量与有机质趋势一致, 阳离子交换量直接反映了湿地底泥中的养分对于湿地中植物与微生物的有效性^[23]。瑯奈湿地由于未受到城市中人为因素的干扰, 有效的养分含量高于龙凤湿地, 细菌的丰度和多样性也更高, 这一结果与之前的研究结果^[24]一致。夏季龙凤湿地底泥中的总碳、总磷和蛋白酶含量均高于瑯奈湿地, 推测夏季细菌的多样性可能受到这 3 个因素的影响, 这 3 种理化特性可以反映湿地中碳、氮、磷元素的代谢程度。龙凤湿地底泥中硫杆菌属(*Thiobacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)丰度均高于瑯奈湿地。硫杆菌属(*Thiobacillus*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)均为湿地中常见的丰度较高的细菌属,

在养殖废水和退化湿地等环境中更容易被检测到^[25-27], 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)多在海洋沉积物、滨海湿地、深海底泥中发现, 具有耐盐耐碱的特性, 即可以利用各种简单分子, 还可以降解复杂有机物例如芳香类化合物等^[28]。本研究中硫杆菌属(*Thiobacillus*)与 pH 呈显著负相关, 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)与碱性磷酸酶呈显著负相关(图 6)。它们均可参与湿地中氮、磷、硫等元素代谢^[27], 这说明城市中多种因素的扰动可能增加了龙凤湿地有机污染物的含量, 使湿地中的氮、磷、硫含量增加, 进而影响了参与元素循环的微生物的丰度。

3.2 两种类型湿地古菌多样性

对湿地底泥古菌多样性和组成分析发现, 冬季和夏季均为瑯奈湿地底泥的古菌多样性和丰度高。说明古菌 α 多样性对于湿地人为干扰的响应在冬夏两季是一致的, 龙凤湿地的人为干扰降低了古菌的多样性和丰度。受到人为干扰的龙凤湿地底泥的 pH 和盐分相较于瑯奈湿地均降低, 古菌多样性的变化与这一趋势一致, 说明古菌多样性的变化可能受到 pH 和盐分的影响。甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)在冬季瑯奈湿地底泥中的丰度显著高于龙凤湿地($P<0.05$), 夏季差异不显著。*Methanosarcina* 是氢营养型、甲基营养型和乙酸营养型混合产甲烷古菌能够在多种环境下生存^[29], 是低温产甲烷的关键菌属^[30], 适宜在低盐环境中生长。本研究中 *Methanosarcina* 与 pH 和盐分呈正相关也证实了这一观点^[31]。*Methanoregula* 对环境的适应性差, 在环境发生改变时容易受到抑制^[32], 龙凤湿地距离城市近, 受到城市中多重因素的影响, 湿地的环境容易发生改变, 这可能是 *Methanoregula* 在冬夏两季瑯奈湿地底泥中的丰度均高于龙凤湿地的原因。

3.3 季节对 2 种类型湿地微生物群落的影响

采样点夏季前期干热后期降水集中, 最热月

平均气温 23.3 °C, 冬季寒冷漫长风大少雪最冷月平均气温-18.5 °C。因此, 微生物对同一湿地不同季节的响应体现在温度的差异上, 在低温条件下微生物生长代谢缓慢, 湿地中脱氮脱磷的速率变慢^[33]。厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)来自绿弯菌门(*Chloroflexi*)厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*), 是一种专性厌氧菌, 多生长在富营养的水体中, 能够有效去除含有 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 类污染物, 其丰度与 TN 呈负相关^[34-35], 有利于土壤中的元素循环。夏季龙凤湿地水深大于瑯奈湿地, 含氧量更低, 而且龙凤湿地受到更多周围交通或人为因素的影响, 含有更多的有机污染物质, 厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)可以更好地发挥功能, 冬季厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)的变化根据目前的理化特性尚无法解释其趋势, 还需进一步的研究。本研究中同一湿地细菌和古菌的多样性均为夏季高于冬季, 与 pH 呈正相关。有研究表明 pH 是影响土壤中微生物多样性的重要指标, 随着 pH 的升高, 土壤中微生物的多样性受到抑制^[36-37], 但本研究中随着 pH 值的升高, 微生物多样性增大, 原因可能是研究选取的湿地本身就处于轻盐碱化状态, 湿地内的微生物已经适应环境中较高的 pH 值, 人为扰动降低了环境中的 pH 值后微生物多样性反而降低。瑯奈湿地底泥的古菌在冬季的丰度显著高于夏季的原因可能是门水平和属水平丰度最高的古菌均来自广古菌门(*Euryarchaeota*), 广古菌门(*Euryarchaeota*)具有最多的可培养产甲烷古菌, 产甲烷古菌多生活在厌氧环境中^[35], 湿地的含氧量与温度呈负相关^[38], 夏季温度升高, 湿地中含氧量减少, 古菌大量繁殖。

有研究表明细菌的单个基因组内经常有 16S rRNA 基因的异质性, 导致细菌多样性被过高估计的现象出现^[39]。16S rRNA 基因的 V4-V5 区因其能充分显示基因组间变异及最少的基因组异质性, 是细菌 16S rRNA 基因分析的理想区

域。本研究选择 16S rRNA 的 V3-V4 区, 其被高估的程度较高于 V4-V5 区, 可能会导致本研究中的细菌和古菌多样性被高估。

4 结论

(1) 人为扰动影响湿地中营养物质的含量, 进而改变细菌多样性, 龙凤湿地的硫杆菌属(*Thiobacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)等细菌的丰度显著高于瑯奈湿地。

(2) 人为扰动降低龙凤湿地中 pH 值, 使古菌的多样性受到抑制, 甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)的丰度显著低于瑯奈湿地。

(3) pH、盐分和碱性磷酸酶是显著影响龙凤湿地与瑯奈湿地底泥微生物多样性的主要环境因素。

REFERENCES

- [1] Zhang YS, Yu WY, Ji RP, Zhao YJ, Feng R, Jia QY, Wu JW. Dynamic response of *Phragmites australis* and *Suaeda salsa* to climate change in the Liaohe delta wetland[J]. Journal of Meteorological Research, 2021, 35(1): 157-171
- [2] Mou XJ, Liu XT, Sun ZG, Tong C, Huang JF, Wan SA, Wang C, Wen BL. Effects of anthropogenic disturbance on sediment organic carbon mineralization under different water conditions in coastal wetland of a subtropical estuary[J]. Chinese Geographical Science, 2018, 28(3): 400-410
- [3] Zhou NQ, Zhao S, Shen XP. Nitrogen cycle in the hyporheic zone of natural wetlands[J]. Chinese Science Bulletin, 2014, 59(24): 2945-2956
- [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[J]. 生态学报, 2017, 37(21): 7293-7303
Zheng J, Liu JF, Wu ZY, Hong W, He ZS, Lan YQ, Liu SD. Soil microbial community of mangrove forests and its responses to the invasion of *Spartina alterniflora* in the Minjiang River Estuary[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(21): 7293-7303 (in Chinese)
- [5] 王娜, 高婕, 魏静, 刘颖, 庄绪亮, 庄国强. 三江平原

- 湿地开垦对土壤微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2019, 40(5): 2375-2381
- Wang N, Gao J, Wei J, Liu Y, Zhuang XL, Zhuang GQ. Effects of wetland reclamation on soil microbial community structure in the Sanjiang plain[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(5): 2375-2381 (in Chinese)
- [6] Fang JH, Yang RR, Cao QQ, Dong JY, Li CC, Quan Q, Huang MS, Liu J. Differences of the microbial community structures and predicted metabolic potentials in the lake, river, and wetland sediments in Dongping Lake Basin[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2020, 27(16): 19661-19677
- [7] 马大龙, 李森森, 王璐璐, 臧淑英. 扎龙湿地土壤微生物代谢功能的季节性差异[J]. 中国科技论文, 2016, 11(9): 1046-1050
- Ma DL, Li SS, Wang LL, Zang SY. Seasonal discrepancy of metabolic function of soil microbial communities in Zhalong wetland[J]. *China Sciencepaper*, 2016, 11(9): 1046-1050 (in Chinese)
- [8] Zhang XY, Hu BX, Ren HJ, Zhang J. Composition and functional diversity of microbial community across a mangrove-inhabited mudflat as revealed by 16S rDNA gene sequences[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 633: 518-528
- [9] Gao MH, Liu JW, Qiao YL, Zhao MX, Zhang XH. Diversity and abundance of the denitrifying microbiota in the sediment of Eastern China marginal seas and the impact of environmental factors[J]. *Microbial Ecology*, 2017, 73(3): 602-615
- [10] Gilbert N, Fulthorpe R, Kirkwood AE. Microbial diversity, tolerance, and biodegradation potential of urban wetlands with different input regimes[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58(7): 887-897
- [11] 张晶, 陈书明, 王小国. 天鹅湖湿地微生物群落 PCR-DGGE 分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(9): 2423-2428
- Zhang J, Chen SM, Wang XG. Analysis of PCR-DGGE on microbial community in Swan lake wetland[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35(9): 2423-2428 (in Chinese)
- [12] 何昌飞, 郑立, 高伟, 迟雯丹, 李倩, 韩彬, 丁金凤, 徐希媛. 北戴河退化滨海湿地土壤微生物多样性研究[J]. 海洋科学进展, 2019, 37(2): 294-305
- He CF, Zheng L, Gao W, Chi WD, Li Q, Han B, Ding JF, Xu XY. Study on microbial diversity in degradation areas of Beidaihe coastal wetland[J]. *Advances in Marine Science*, 2019, 37(2): 294-305 (in Chinese)
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000
- Bao SD. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*[M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [14] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 全(半)自动凯氏定氮仪: GB/T 33862—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Automatic(semi) Kjeldahl analyzer: GB/T 33862—2017[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese)
- [15] 环境保护部. 土壤总磷的测定碱熔-钼锑抗分光光度法: HJ 632—2011[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2012
- Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Soil-Determination of Total Phosphorus by Alkali Fusion-Mo-Sb Anti Spectrophotometric Method: HJ 632—2011[S]. Beijing: China Environment Science Press, 2012 (in Chinese)
- [16] 中华人民共和国环境保护部. 固体废物有机质的测定灼烧减量法: HJ 761—2015[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2015
- Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Solid Waste-Determination of Organic Matter-Ignition Loss Method: HJ 761—2015[S]. Beijing: China Environment Science Press, 2015 (in Chinese)
- [17] 中华人民共和国环境保护部. 土壤阳离子交换量的测定三氯化六氨合钴浸提-分光光度法: HJ 889—2017[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017
- Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Soil quality—Determination of Cation Exchange Capacity(CEC)—Hexamminecobalt trichloride solution-Spectrophotometric Method: HJ 889—2017[S]. Beijing: China Environment Science Press, 2017 (in Chinese)
- [18] 刘飞飞, 李群, 于岚. 茚三酮比色法定量检测赖氨酸条件的研究[J]. 中国食品添加剂, 2010(5): 223-225, 234
- Liu FF, Li Q, Yu L. Research of determination of lysine by ninhydrin colorimetry[J]. *China Food Additives*, 2010(5): 223-225, 234 (in Chinese)
- [19] Bai YH, Liang JS, Liu RP, Hu CZ, Qu JH. Metagenomic analysis reveals microbial diversity and function in the rhizosphere soil of a constructed wetland[J].

- Environmental Technology, 2014, 35(20): 2521-2527
- [20] 李梦柯, 周丹, 高震, 江星星, 罗仙平. 稻壳生物炭对污染土壤中稀土元素生物有效性的影响[J]. 中国环境科学, 2018, 38(10): 3823-3832
- Li MK, Zhou D, Gao Z, Jiang XX, Luo XP. Effect of rice husk biochar on bioavailability of rare earth elements in polluted soil[J]. China Environmental Science, 2018, 38(10): 3823-3832 (in Chinese)
- [21] 罗琰, 苏德荣, 吕世海, 布和, 贺晶, 谢晶杰. 辉河湿地河岸带土壤养分与酶活性特征及相关性研究[J]. 土壤, 2017, 49(1): 203-207
- Luo Y, Su DR, Lyu SH, Bu H, He J, Xie JJ. Characteristics and correlation analyses of soil nutrients and enzyme activities in the riparian zone of Hui River wetland[J]. Soils, 2017, 49(1): 203-207 (in Chinese)
- [22] 林春英, 李希来, 张玉欣, 孙华方, 李成一, 金立群, 杨鑫光, 刘凯. 黄河源区高寒沼泽湿地土壤微生物群落结构对不同退化的响应[J]. 环境科学, 2021, 42(8): 3971-3984
- Lin CY, Li XL, Zhang YX, Sun HF, Li CY, Jin LQ, Yang XG, Liu K. Responses of different degradation stages of alpine wetland on soil microbial community in the Yellow River source zone[J]. Environmental Science, 2021, 42(8): 3971-3984 (in Chinese)
- [23] 孔令阳, 殷书柏, 刘吉平, 梁晨. 三江平原碟形洼地-岛状林土壤阳离子交换量分布特征[J]. 科学技术与工程, 2021, 21(21): 8828-8833
- Kong LY, Yin SB, Liu JP, Liang C. Distribution characteristics of soil cation exchange capacity of saucer-shaped depressions to island forests in the Sanjiang plain[J]. Science Technology and Engineering, 2021, 21(21): 8828-8833 (in Chinese)
- [24] 靳振江, 曾鸿鹄, 李强, 程亚平, 汤华峰, 李敏, 黄炳富. 起源喀斯特溶洞湿地稻田与旱地土壤的微生物数量、生物量及土壤酶活性比较[J]. 环境科学, 2016, 37(1): 335-341
- Jin ZJ, Zeng HH, Li Q, Cheng YP, Tang HF, Li M, Huang BF. Comparisons of microbial numbers, biomasses and soil enzyme activities between paddy field and dryland origins in Karst cave wetland[J]. Environmental Science, 2016, 37(1): 335-341 (in Chinese)
- [25] 姜磊, 涂月, 侯英卓, 王敦球, 陈文文, 李海翔. 植被恢复的岩溶湿地沉积物细菌群落结构和多样性分析[J]. 环境科学研究, 2020, 33(1): 200-209
- Jiang L, Tu Y, Hou YZ, Wang DQ, Chen WW, Li HX. Bacterial community structure and diversity of sediments in a Karst vegetation restoration wetland[J]. Research of Environmental Sciences, 2020, 33(1): 200-209 (in Chinese)
- [26] 王蕾, 黄栩. 生猪废水处理和磷回收工艺中抗生素和耐药细菌的削减特征[J]. 农业现代化研究, 2021, 42(2): 254-262
- Wang L, Huang X. Attenuation of antibiotics and antibiotic resistant bacteria during swine wastewater treatment and phosphate recovery process[J]. Research of Agricultural Modernization, 2021, 42(2): 254-262 (in Chinese)
- [27] 仇天雷. 循环水养殖废水生物脱氮技术及其影响因素研究[D]. 北京: 北京化工大学博士学位论文, 2016
- Qiu TL. Performance of the biological nitrifying and denitrifying technology and its influencing factors in the recirculating aquaculture system[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Beijing University of Chemical Technology, 2016 (in Chinese)
- [28] 张科, 李臻, 郑瑶, 麻红星, 刘梦含, 丁慧杰, 王瑜, 刘丽, 夏西超. 河南叶县岩盐可培养中度嗜盐菌的多样性[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 3987-3997
- Zhang K, Li Z, Zheng Y, Ma HX, Liu MH, Ding HJ, Wang Y, Liu L, Xia XC. Biodiversity of culturable moderate halophilic bacteria of rock salt in Yexian county, Henan province[J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 3987-3997 (in Chinese)
- [29] Zhi SL, Li Q, Yang FX, Yang ZJ, Zhang KQ. How methane yield, crucial parameters and microbial communities respond to the stimulating effect of antibiotics during high solid anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2019, 283: 286-296
- [30] 王彦伟, 徐凤花, 阮志勇, 宋金龙, 王庆, 赵斌. 用 DGGE 和 Real-Time PCR 对低温沼气池中产甲烷古菌群落的研究[J]. 中国沼气, 2012, 30(1): 8-12
- Wang YW, Xu FH, Ruan ZY, Song JL, Wang Q, Zhao B. Study on the methanogenic Archaea communities in low temperature biogas digester by real-time PCR and DGGE methods[J]. China Biogas, 2012, 30(1): 8-12 (in Chinese)
- [31] 承磊, 郑珍珍, 王聪, 张辉. 产甲烷古菌研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1143-1164
- Cheng L, Zheng ZZ, Wang C, Zhang H. Recent advances in methanogens[J]. Microbiology China, 2016, 43(5): 1143-1164 (in Chinese)
- [32] 于钦, 冯磊, 甄箫斐. 有机负荷和温度波动对厌氧菌群及酶活影响[J]. 环境科学学报, 2020, 40(12): 4358-4367
- Yu Q, Feng L, Zhen XF. Effects of organic load and temperature fluctuation on anaerobic microbial community and enzyme activity[J]. Acta Scientiae

- Circumstantiae, 2020, 40(12): 4358-4367 (in Chinese)
- [33] 黄铭意, 许丹, 李寻, 李朝明, 李泽兵, 邵辉良, 马天仪, 崔文鑫. 人工湿地处理高盐废水研究进展[J]. 工业水处理, 2021, 41(3): 10-16
Huang MY, Xu D, Li X, Li CM, Li ZB, Shao HL, Ma TY, Cui WX. Research progress of treatment high salinity wastewater by constructed wetlands[J]. Industrial Water Treatment, 2021, 41(3): 10-16 (in Chinese)
- [34] Baker BJ, de Anda V, Seitz KW, Dombrowski N, Santoro AE, Lloyd KG. Diversity, ecology and evolution of Archaea[J]. Nature Microbiology, 2020, 5(7): 887-900
- [35] 于文泽, 余昊翔, 张俊慧, 邱斌, 刘永泽, 曲丹, 刘志红, 钱晓辉, 李鹏飞, 郭鹏. “塘+湿地”耦合系统净化再生水补给低 C/N 河湖水体的效能及机制研究[J]. 环境科学学报, 2021, 41(1): 263-272
Yu WZ, Yu HX, Zhang JH, Qiu B, Liu YZ, Qu D, Liu ZH, Qian XH, Li PF, Guo P. Efficiency and mechanism of purification of low C/N rivers and lakes receiving reclaimed water by an integrated pond-wetland system[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(1): 263-272 (in Chinese)
- [36] 周雅心, 王晓彤, 王广磊, 许旭萍, 王维奇. 炉渣与生物炭施加对稻田土壤细菌多样性及群落组成的影响[J]. 中国环境科学, 2020, 40(3): 1213-1223
Zhou YX, Wang XT, Wang GL, Xu XP, Wang WQ. Effect of the slag and biochar application on bacterial diversity and community composition of paddy field[J]. China Environmental Science, 2020, 40(3): 1213-1223 (in Chinese)
- [37] 于妍, 王悦悦, 方杜贤, 任洁, 王颖. 白洋淀表层沉积物细菌多样性及影响因素[J]. 环境工程学报, 2021, 15(3): 1121-1130
Yu Y, Wang YY, Fang DX, Ren J, Wang Y. Bacterial diversity in surface sediments of Baiyangdian Lake and its influencing factors[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(3): 1121-1130 (in Chinese)
- [38] 舒鑫. 长江近岸电厂温排水对水域影响数值模拟研究[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2016
Shu X. Research on the impact of neritic power plant cooling water in Yangtze River through numerical simulation[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University, 2016 (in Chinese)
- [39] Sun DL, Jiang X, Wu QL, Zhou NY. Intra-genomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 5962-5969