

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第3期

Vol.38 No.3

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国人为源挥发性有机物反应性排放清单	梁小明, 张嘉妮, 陈小方, 石田立, 孙西勃, 范丽雅, 叶代启 (845)
上海城郊地区冬季霾污染事件反应性 VOCs 物种特征	高爽, 张坤, 高松, 修光利, 程娜, 潘研 (855)
京津冀地区主要排放源减排对 PM _{2.5} 污染改善贡献评估	吴文景, 常兴, 邢佳, 王书肖, 郝吉明 (867)
北京冬季 PM _{2.5} 中金属元素浓度特征和来源分析	乔宝文, 刘子锐, 胡波, 刘景云, 逢妮妮, 吴方堃, 徐仲均, 王跃思 (876)
2015 年石家庄市采暖期一次重污染过程细颗粒物在线来源解析	路娜, 李治国, 周静博, 赵鑫, 杨丽丽, 冯媛, 靳伟 (884)
利用 SPAMS 研究南宁市四季细颗粒物的化学成分及污染来源	刘慧琳, 陈志明, 毛敬英, 梁桂云, 黄炯丽, 李宏姣, 杨俊超, 莫招育 (894)
南半球海洋大气气溶胶单颗粒的理化特性分析	迟建伟, 李传金, 孙俊英, 张剑, 王辉, 王瀚韬, 李卫军 (903)
喷泉产生的细菌气溶胶空间分布特性	张崇森, 袁琳, 许鹏程, 刘可欣 (911)
生物滴滤塔净化含硫混合废气	叶杰旭, 缪孝平, 诸葛蕾, 赵翔宇, 江宁馨, 章晶晓, 陈东之, 陈建孟 (918)
西安城市不同功能区街道灰尘磁学特征及环境污染分析	房妮, 张俊辉, 王瑾, 姜珊, 夏敦胜 (924)
城乡交错带典型溪流沟渠沉积物氮污染特征及硝化-反硝化潜力	秦如彬, 李如忠, 高苏蒂, 张瑞钢 (936)
三峡库区小江支流沉积物硝化反硝化速率在蓄水期和泄水期的特征	王静, 刘洪杰, 雷禹, 徐晶, 宋立岩, 李勇 (946)
隔河岩水库二氧化碳通量时空变化及影响因素	赵登忠, 谭德宝, 李翀, 申邵洪 (954)
白洋淀多环芳烃与有机氯农药季节性污染特征及来源分析	王乙震, 张俊, 周绪申, 孔凡青, 徐铭霞 (964)
唐山陡河水库沉积物汞的分布、来源及污染评价	吴婷婷, 王明猛, 陈旭锋, 刘文利, 李太山, 闫海鱼, 何天容, 李仲根 (979)
三峡库区消落带优势草本植物淹水后汞的释放特征	邓晗, 张翔, 张成, 王永敏, 王定勇 (987)
电镀厂周边地表水中重金属分布特征及健康风险评估	余葱葱, 赵委托, 高小峰, 程胜高, 黄庭, 尹伊梦, 赵珍丽 (993)
九龙江表层沉积物重金属赋存形态及生态风险	林承奇, 胡恭任, 于瑞莲, 韩璐 (1002)
厦门筼筮湖表层沉积物金属元素赋存形态及污染评价	杨秋丽, 于瑞莲, 胡恭任, 林承奇, 韩璐 (1010)
龙口市污水灌溉区农田重金属来源、空间分布及污染评价	李春芳, 王菲, 曹文涛, 潘健, 吕建树, 吴泉源 (1018)
碳化稻壳-铁锰氧化菌耦合净化严寒村高铁锰地下水效能与机制	孙楠, 湛燕丽, 张颖, 鲁岩, 宋秋霞, 李春艳, 姜昭 (1028)
高藻水臭氧预氧化过程有机物转化及消毒副产物生成势	张赛, 胡学斌, 古励, 李莉, 郭显强 (1038)
预处理对短流程超滤工艺不可逆膜污染影响的中试试验	杨海燕, 邢加建, 王灿, 孙国胜, 赵焱, 梁恒, 徐叶琴, 李圭白 (1046)
Cu-Al ₂ O ₃ 中骨架铜类芬顿催化去除水中有机污染物	徐丹, 张丽丽, 柳丽芬 (1054)
过硫酸钾氧化去除 Cu(CN) ₂ 中的氰污染物	王云飞, 李一兵, 王彦斌, 齐璠静, 赵凯, 田世超, 郭涛, 关伟, 赵旭 (1061)
微生物燃料电池强化去除农药 2,4-二氯苯氧乙酸及同步产电性能	全向春, 全燕苹, 肖竹天 (1067)
桉树遗态结构 HAP/C 复合材料对水中 Cu(II) 的吸附特征	李超, 朱宗强, 曹爽, 朱义年, 谭笑, 丁慧 (1074)
基于 A ² /O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价	张秋亚, 马晓妍, 王晓昌, 游猛 (1084)
污水氮浓度对粉绿狐尾藻去氮能力的影响	马永飞, 杨小珍, 赵小虎, 胡承孝, 谭碧玲, 孙学成, 吴金水 (1093)
全海水盐度抑制下厌氧氨氧化工艺的恢复特性	齐泮晴, 于德爽, 李津, 管勇杰, 魏思佳 (1102)
饥饿对硫自养反硝化反应器生物群落结构的影响	李芳芳, 施春红, 李海波, 袁蓉芳, 马方曙 (1109)
快速启动厌氧氨氧化工艺	闫刚, 徐乐中, 沈耀良, 吴鹏, 张婷, 程朝阳 (1116)
一种 CANON 工艺处理低氨氮废水的新模式	完颜德卿, 袁怡, 李祥, 毕贞 (1122)
侧流磷回收对低溶解氧 EBPR 系统性能的影响	马娟, 宋璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟 (1130)
厌氧氨氧化污泥群体感应信号分子检测及影响研究	陈舒涵, 李安婕, 王越兴, 吴玲娟 (1137)
有机负荷对醋糟厌氧消化系统启动的影响	戴晓虎, 于春晓, 李宁, 董滨, 戴翎翎 (1144)
过氧化钙预处理对活性污泥脱水性能的影响机制	白润英, 陈湛, 张伟军, 王东升 (1151)
不同工况蚯蚓人工湿地表层污泥处理效果	董梦珂, 李怀正, 徐一啸 (1159)
全氟辛酸对大肠杆菌的氧化胁迫和膜损伤	杨蒙, 李伟, 叶锦韶, 龙焰, 秦华明 (1167)
纳米银在环境水样和实验介质中的理化性质和毒性效应	衣俊, 程金平 (1173)
血吸虫病疫区鱼体器官中氯苯化合物的污染特征	李昆, 赵高峰, 周怀东, 张盼伟, 刘巧娜, 赵晓辉, 李东佼, 任敏, 赵丹丹 (1182)
纳米沸石对大白菜生长、抗氧化酶活性及镉形态、含量的影响	秦余丽, 熊仕娟, 徐卫红, 赵婉伊, 王卫中, 陈永勤, 迟苏琳, 陈序根, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (1189)
利用 <i>in vitro</i> 方法研究不同铁矿对土壤砷生物给性的影响	钟松雄, 尹光彩, 黄润林, 何宏飞, 陈志良, 林亲铁, 王文科 (1201)
不锈钢电极对重金属污染土壤的强化电动修复及电极腐蚀结晶现象与机制	温东东, 付融冰, 张卫, 顾莹莹 (1209)
施用无害化污泥影响土壤碳库组分和碳库管理指数的演变	刘晓, 黄林, 郭康莉, 张雪凌, 杨俊诚, 姜慧敏, 张建峰 (1218)
施氮和水分管理对光合碳在土壤-水稻系统间分配的量化研究	王婷婷, 祝贞科, 朱捍华, 汤珍珠, 庞静, 李宝珍, 苏以荣, 葛体达, 吴金水 (1227)
模拟酸雨对次生林土壤呼吸及异养呼吸的影响	陈书涛, 孙鹭, 桑琳, 胡正华 (1235)
土壤硝化和反硝化微生物群落及活性对大气 CO ₂ 浓度和温度升高的响应	刘远, 王光利, 李恋卿, 潘根兴 (1245)
岩性对喀斯特灌丛土壤固氮菌与丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧 (1253)
板栗产区有机堆肥产物磷形态特征及其对叶片磷含量的影响	宋影, 郭素娟, 张丽, 孙慧娟, 谢明明, 武燕奇, 王静 (1262)
酸性物质对猪粪秸秆堆肥过程中氮素转化的影响	姜继超, 尧倩 (1272)
《环境科学》征稿简则 (1092)	
《环境科学》征订启事 (1158)	
信息 (1166, 1261, 1271)	

岩性对喀斯特灌丛土壤固氮菌与丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响

梁月明^{1,2}, 苏以荣^{1*}, 何寻阳¹, 陈香碧¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 2. 中国地质科学院岩溶地质研究所, 国土资源部、广西壮族自治区岩溶动力学重点实验室, 桂林 541004)

摘要: 运用末端限制性片段长度多态性 (terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP) 和荧光定量 PCR (real-time PCR) 法, 检测喀斯特灌丛生态系统中不同岩性条件下土壤固氮菌与丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌群落结构与丰度的变化, 揭示岩性对灌丛生态系统土壤中固氮菌与 AM 真菌群落结构与丰度的影响。结果表明不同岩性条件下, 土壤固氮菌与 AM 真菌丰度存在显著差异, 其中, 固氮菌与 AM 真菌丰度在石灰岩土壤中最大, 白云岩土壤中最小, 石灰岩-白云岩夹层土壤介于两者之间; 同样, 不同岩性土壤中固氮菌与 AM 真菌群落结构存在显著性差异。土壤 Olsen-P、有机碳、黏粒含量与固氮菌丰度存在显著正相关关系, 而土壤全氮、黏粒含量与 AM 真菌丰度存在显著正相关。RDA 分析表明, 植物均匀度影响固氮菌群落组成结构, 而植物均匀度、香农多样性指数及丰富度指数影响 AM 真菌群落组成结构。以上的研究结果表明: 岩性主要是通过影响植物与土壤养分来影响土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成结构及丰度。

关键词: 喀斯特; 灌丛生态系统; 岩性; 固氮菌; 丛枝菌根真菌; 群落结构

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)03-1253-09 DOI: 10.13227/j.hjks.201606215

Effects of Lithology on the Abundance and Composition of Soil Nitrogen-fixing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Karst Shrub Ecosystem

LIANG Yue-ming^{1,2}, SU Yi-rong^{1*}, HE Xun-yang¹, CHEN Xiang-bi¹

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. Key Laboratory of Karst Dynamics, Ministry of Land and Resources & Guangxi Zhuangzu Autonomy Region, Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Guilin 541004, China)

Abstract: Lithology is a key factor when used to restore vegetation in karst degraded ecosystems, and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and nitrogen-fixing bacteria play an important role in improving plant growth. However, little information is available regarding the effects of lithology on these two groups of microorganisms. To test whether these microbial communities are impacted by lithology, the abundance and composition of soil AM fungal and nitrogen-fixing bacteria communities were determined through terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and real-time fluorescence-based quantitative PCR (real-time PCR). Three types of lithology (dolomite, limestone and dolomite-limestone) were selected in this study. The diversity, richness, and evenness of plant species were evaluated through field surveys and soil properties were measured. The results showed that the abundances of soil nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungal communities were significantly influenced by lithology. The abundances of these two groups of microorganisms were the lowest in dolomite soil, inferior to dolomite-limestone soil, while highest in limestone soil. Similarly, the composition of soil nitrogen-fixing bacteria and AM fungi communities varied among lithology. A significant linear correlation was observed among soil organic carbon, available phosphorus, clay content and nitrogen-fixing bacterial abundance ($P < 0.05$), and a significant linear correlation among total nitrogen, clay content and AM fungal abundance ($P < 0.05$). Redundancy analysis showed that the composition of nitrogen-fixing bacterial community was closely linked to plant evenness, and the AM fungal community composition was closely linked to plant diversity (plant evenness, Shannon-wiener and richness). These results indicated that lithology influenced the abundances and compositions of soil nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal (AM) fungal communities mainly through plant and soil properties.

Key words: karst; shrub ecosystem; lithology; nitrogen-fixing bacteria; arbuscular mycorrhizal fungi; community structure

收稿日期: 2016-06-30; 修订日期: 2016-10-12

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0502404); 广西自然科学基金项目(2016GXNSFBA380179); 国家自然科学基金项目(41301273, 31270551); 岩溶地质研究所基本科研业务费项目(2016004); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目; 中国地质大调查项目(121201237000160002)

作者简介: 梁月明(1983~), 女, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为土壤环境生态和微生物分子生态学, E-mail: yueming0919@163.com

* 通信作者, E-mail: yrsu@isa.ac.cn

喀斯特地区占地球陆地表面积的 15%^[1]. 中国西南喀斯特地区面积约 550 000 km², 是世界上最大的喀斯特地区^[2]. 喀斯特特殊的地形地貌, 加上人口剧增后对资源的过度开发, 导致该地区生态环境脆弱, 石漠化严重^[3,4]. 植被恢复是石漠化治理最有效措施之一, 灌丛植物在喀斯特地区具有分布广、旱生、岩生、适钙等特点^[5], 在喀斯特地区植被恢复中起重要的作用. 因此, 如何促进灌丛植被恢复是西南喀斯特地区石漠化治理和生态系统恢复重建的关键.

土壤养分有效性是喀斯特地区植被恢复的关键因子. 尽管喀斯特土壤中总养分(氮磷)含量较同纬度地带性土壤高, 然而受土壤浅薄、高钙镁和 pH 等条件的制约, 植物可利用的有效养分较低^[6]. AM 真菌与固氮菌是土壤-植物系统的主要组成部分^[7], 均能促进植物吸收养分^[8], 从而缓解植物生长受土壤养分贫瘠的胁迫^[9]. 因此, AM 真菌与固氮菌在植被重建与恢复中起重要的作用^[10].

有研究表明, 土壤性质和植被覆盖是影响固氮菌与 AM 真菌多样性和群落结构的重要因素^[11~13]. 在喀斯特灌丛生态系统中, 不同岩性条件下, 土壤性质与植被群落组成结构差异显著^[14]. 目前, 虽然有些学者对喀斯特地区 AM 真菌与固氮菌种质资源进行了一些探索^[15,16], 但关于不同岩性条件下固氮菌与 AM 真菌群落组成结构与丰度变化规律的研究报道极少. 因此, 本研究运用 T-RFLP 与 Q-PCR 的方法研究喀斯特灌丛生态系统不同岩性条件下土壤固氮菌与 AM 真菌群落结构与丰度, 探讨土壤性质、植物群落组成与固氮菌和 AM 真菌群落结构、丰度之间的关系, 从微生物学的角度, 以期为喀斯特地区植被恢复提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 研究样区

研究样区位于广西壮族自治区环江县(24°50' N, 105°55' E). 该地区属于亚热带季风气候, 年均气温 18.5℃, 年均降雨量 1 389 mm, 雨季主要集中在 4~8 月^[17].

1.2 植被调查与土壤样品采集

植被调查: 2012 年 6 月选取典型的灌木样地, 每种岩性布设 3 个重复样方(10 m × 10 m), 一共 9 个样方(9 为 3 种岩性 × 3 个重复). 将每块灌木样方分成面积相等的 4 个小样方调查植被组成, 每个小样方分成 2 层(灌木层、草本层)进行调查. 2.5

cm < 胸围 < 3.14 cm 为灌木, 胸围 < 2.5 cm 为草本. 同时, 记录每种植物的坐标、高度、冠幅、株数. 其中, 石灰岩样地主要优势植物种: 青冈栎(*Cyclobalanopsis glauca*)、红背山麻杆(*Alchornea trewioides*)、毛果巴豆(*Croton lachnocarpus* Benth); 白云岩样地主要优势植物种: 子凌蒲桃(*Syzygium championii*)、欒木(*Loropetalum chinese*)、火棘(*Pyracantha fortuneana*); 石灰岩-白云岩夹层样地主要优势植物种: 红背山麻杆(*Alchornea trewioides*)、老虎刺(*Pterolobium punctatum* Hemsl)、豹皮樟(*Litsea coreana*).

土壤样品采集: 考虑到喀斯特地区土壤异质性高, 为了得到具有代表性的土壤样品, 每个样方沿“S”形采集 15 点表层 0~15 cm 的土壤样品, 将这 15 点采集到的土壤充分混匀成一个混合样(代表整个样方), 一共 9 个样品(9 为 3 种岩性 × 3 个重复样地). 其中, 母质为石灰岩的样点土层厚度约 50~60 cm; 母质为白云岩的样点土层厚度约 80~90 cm; 母质为石灰岩-白云岩夹层的样点土层厚度约 60~75 cm. 将采集到的土壤样品, 用四分法将其分成 2 部分, 一部分(约 50 g)快速置于液氮中运回实验室 -70℃ 保存, 用于分子生物学分析; 另一部分风干保存, 用于土壤基本理化性质分析.

1.3 土壤基本理化性质的测定

土壤基本理化性质检测方法具体如下: 土壤 pH 值用电位法(土水比为 1:2.5)测定; 有机碳用重铬酸钾-硫酸氧化法测定^[18]; Olsen-P 用 0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 浸提、钼锑抗比色法测定^[19]; 含水量用烘干法测定; 全 N 用半微量凯氏法测定^[18].

土壤颗粒组成用激光粒度仪 Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Malvern, England) 测定, 实验方法参考 Wang 等^[20]的方法进行, 并根据美国农业部制定进行分级^[21].

1.4 土壤 DNA 提取、目的片段 PCR 扩增

采用改进的十二烷基硫酸钠-异硫氰酸胍-聚乙二醇法(sodium dodecyl sulfate-glucopyranosyl isothiocyanate-polyethylene glycol, SDS-GITC-PEG)提取土壤微生物总 DNA^[22]. 提取获得的 DNA 样品经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测大小约为 20 kb; 然后用紫外分光光度计(Nanodrop, PeqLab, Germany)测定总 DNA 提取量为 104.10~225.10 ng·μL⁻¹, A_{260 nm}/A_{280 nm} 比值为 1.8~1.9, A_{260 nm}/A_{230 nm} 比值为 1.1~1.9, 说明所提取的 DNA 产量与纯度较高, 可用于下一步的分子生物学分析. 每个土壤样品分别提取 3

管 DNA,然后混成一个 DNA 样品,进行目的条带 PCR 的扩增.

采用巢式 PCR 扩增 AM 真菌 18S rRNA,其中,第一次 PCR 扩增引物对为 Geo11F/GeoA2R,第二次 PCR 扩增引物对为 NS31/AM1 (表 1). 固氮菌 *nifH* 基因 PCR 扩增引物为 PolF/PolR (表 1). 用于 T-RFLP 分析的正向引物 5'添加 FAM,所有引物由上海英俊生物技术公司合成.

PCR 扩增体系(50 μ L): 2 $\times$ PCR Premix(0.1 U PrimeSTAR HS DNA Polymerase, 0.5 mmol $\cdot$ L⁻¹ dNTPs,天根,中国) 25 μ L,上游和下游引物各 10 pmol $\cdot$ L⁻¹,DNA 模板 20 ng,ddH₂O 补至 50 μ L.

PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 2 min; 35 个循环为 95 $^{\circ}$ C 60 s,62 $^{\circ}$ C 60 s(AM 真菌 Geo11F/GeoA2R)、64 $^{\circ}$ C 60 s(AM 真菌 NS31/AM1)或 55 $^{\circ}$ C 60 s(固氮菌 *nifH* 基因),72 $^{\circ}$ C 60 s; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min.

PCR 扩增仪: Eppendorf Mastercycler (Germany).

表 1 引物序列及来源¹⁾

Table 1 Primer sequences and references

引物	引物序列(5'-3')	文献
NS31	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC	[23]
AM1	CTTTCCCGTAAGGCGCGAA	[23]
AMV4.5NF	AAGCTCGTAGTTGAATTTCG	[24]
AMDGR	CCCAACTATCCCT ATTAATCAT	[24]
PolF	TGCGAYCCSAARGCBGACTC	[11]
PolR	ATSGCCATCATYTCCCGGA	[11]

1) 正向与逆向引物分别用 F 与 R 来表示; Y = C 或 T; S = C 或 G; R = A 或 G; B = C, G 或 T

1.5 荧光定量 PCR 扩增

采用荧光定量 PCR 测定固氮菌与 AM 真菌基因拷贝数. 固氮菌的引物为 PolF/PolR,AM 真菌的引物为 AMV4.5NF/AMDGR. 反应体系(10 μ L)与程序按(TaKaRa)试剂盒操作说明书进行,PCR 扩增所用仪器为 ABI 7900(USA)荧光定量 PCR 仪.

标准曲线制作: 将测序获得的已知种属的阳性克隆子扩增培养后提取质粒 DNA,经紫外分光光度计检测浓度后,将其进行 10¹ ~ 10⁸ 倍梯度稀释,作为目标基因荧光定量的标准样品. 以初始模板 DNA 量的对数为横坐标,以 PCR 反应过程中每个稀释样品的 Ct 值为纵坐标,绘制标准曲线($R^2 = 0.99$),扩增效率为 90% ~ 110%. 所有样品均做 4 次技术重复,为了消除不同批次扩增的误差将每个基因的标准曲线样品,阴性对照,样品扩增同时在 384 孔板上进行.

微生物丰度(即核酸拷贝数)计算公式:

拷贝数 (copies $\cdot$ mL⁻¹) = $\frac{6.02 \times 10^{23} \times \text{DNA 浓度}}{\text{DNA 长度} \times 660}$

1.6 限制性片段长度多态技术(terminal restriction fragment length polymorphism,T-RFLP)检测

在参考相关研究常用的限制性内切酶的基础上结合 Gentle 软件分析本研究用到的引物片段,最终选择了 *Hinf* I 酶(AM 真菌)与 *Hea* III 酶(固氮菌)用于 T-RFLP 分析.

PCR 产物采用试剂盒“Wizard SV Gel and PCR clean-up Systems”(Promega, Madison, US)进行凝胶回收纯化. 操作步骤见试剂盒说明书. PCR 产物纯化用限制性内切酶,酶切体系 50 μ L,其中 DNA 约为 200 ng,其它试剂加入量及酶切反应温度均按照说明书操作. 酶切条件: 水浴反应 12 h,热变性(65 $^{\circ}$ C, 20 min)使酶失活从而终止酶切反应. 取 10 μ L 酶切产物,用 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳检查是否酶切完全. T-RFLP 检测由上海桑尼生物科技有限公司完成(Sunny Biotechnology Co., Shanghai),所用仪器为 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer.

1.7 数据分析

(1) T-RFLP 数据分析

利用 PeakScan1.0 软件显示末端片段大小和相对丰度. 每个末端片断(T-RFs)的荧光值除以所有片断荧光值的总和为该末端片段的相对百分比,去掉 1% 以下的末端片断. 将相差 2 bp 的 T-RFs 合并为同一个. 去掉末端片断长度小于 50 bp T-RFs. 将相对丰度 $\geq 5\%$ T-RFs 定义为优势种.

群落结构分析主要利用 CANOCO 4.54 软件,对 T-RFLP 的结果进行排序统计. CANOCO 是生态学应用中用于约束和非约束排序的最流行的工具. 本研究首先利用去趋势对应分析法(detrended correspondence analysis,DCA)对数据进行去势分析,轴长梯度小于 3,该数据进一步分析应该采用基于线性模型的排序方法,因此,本研究利用冗余分析(redundancy analysis,RDA)环境因子与群落组成的相关性.

(2) 植物多样性计算方法

植物多样性采用 Shannon-Winer 指数(H' ,香农多样性指数)表示. 植物物种多样性指数计算公式:

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \log_2 P_i$$
$$E = H'/H_{\max} = H'/\ln S$$
$$P_i = (\text{相对高度} + \text{相对丰度} + \text{相对盖度})/3$$

式中, P_i 为物种 i 的个体数, S 为群落中所有物种个体数之和, E 为植物均匀度指数^[25].

(3) 统计分析

数据统计分析采用 SPSS 19.0 for Windows (SPSS Inc., 芝加哥, 美国) 和 Microsoft Excel 2010 软件进行. 差异显著性用 One-way ANOVA (一维方差分析) 分析, 多重比较采用 LSD 法. 数据不服从正态分布将进行 $\lg(x+1)$ 的转化. 相关性采用皮尔森指数 (Pearson) 分析.

2 结果与分析

2.1 不同岩性条件下土壤理化性质及植物多样性的变化

单因素方差分析表明, 不同岩性条件下, 土壤有

机碳、全氮和黏粒含量差异显著, 具体表现为白云岩 $\approx$ 石灰岩-白云岩夹层 $<$ 石灰岩; 粉粒含量则表现为白云岩 $>$ 石灰岩-白云岩夹层 $>$ 石灰岩, 而 pH 则不存在显著差异 (表 2).

单因素方差分析表明, 不同岩性条件下, 植物丰富度指数差异显著, 具体表现为石灰岩-白云岩夹层 $>$ 白云岩 $\approx$ 石灰岩, 而植物均匀度与香农多样性指数则差异不显著 (表 2). 不同岩性条件下, 植物群落组成结构差异显著 (数据没有列举出来).

2.2 不同岩性条件下土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成结构

由 T-RFLP 图谱可见, 不同岩性下土壤固氮菌群落组成结构差异显著 [图 1(a)].

本研究一共获得 33 个 T-RFs, 石灰岩、白云岩

表 2 不同岩性下土壤理化性质及植物多样性指数¹⁾

Table 2 Soil properties and plant diversity under different lithology conditions

项目	石灰岩	白云岩	石灰岩-白云岩夹层	<i>F</i>	<i>P</i>
Olsen-P/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	5.75 $\pm$ 0.50a	4.71 $\pm$ 0.61a	4.74 $\pm$ 0.41a	1.93	0.23
pH	7.43 $\pm$ 0.09a	7.46 $\pm$ 0.19a	7.71 $\pm$ 0.19a	0.82	0.49
全氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	9.61 $\pm$ 1.50a	4.60 $\pm$ 0.38b	5.07 $\pm$ 0.86b	7.31	0.03
有机碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	99.45 $\pm$ 10.65a	61.38 $\pm$ 2.81b	64.83 $\pm$ 6.7b	8.00	0.02
黏粒含量/%	44.66 $\pm$ 0.88a	29.67 $\pm$ 1.20c	35.00 $\pm$ 0.57b	67.87	0.001
粉粒含量/%	42.77 $\pm$ 1.10c	58.54 $\pm$ 0.77a	51.46 $\pm$ 1.49b	46.30	0.001
沙粒含量/%	12.56 $\pm$ 0.36a	11.79 $\pm$ 0.67a	13.54 $\pm$ 0.92a	1.61	0.28
植物丰富度指数	49.00 $\pm$ 4.06b	40.00 $\pm$ 6.49b	63.00 $\pm$ 2.33a	6.13	0.04
植物均匀度指数	0.96 $\pm$ 0.004a	0.96 $\pm$ 0.003a	0.98 $\pm$ 0.004a	5.02	0.52
植物香农多样性指数	4.85 $\pm$ 0.08ab	4.54 $\pm$ 0.26b	5.39 $\pm$ 0.098a	6.65	0.30

1) LSD $\leq$ 0.05; $n=3$; $M \pm \text{SE}$; 同一行不同字母代表在 $P < 0.05$ 的水平下差异显著

和石灰岩-白云岩土壤中分别获得 25、14 和 21. 其中, 30 个 T-RFs 固氮菌在不同岩性土壤中存在显著性差异. 优势种群 T-RFs 为 64、80、157 和 180 bp, 占总的种群的 40%, 且石灰岩土壤中固氮菌稀少种群远远高于白云岩土壤.

同样, T-RFLP 数据显示, AM 真菌一共获得 26 个 T-RFs [图 1(b)], 石灰岩、白云岩和石灰岩-白云岩土壤中分别获得 21、19 和 18. 其中, 23 个 T-RFs AM 真菌在不同岩性土壤中存在显著性差异. 3 个优势种群 T-RFs 为 138、189 和 300 bp, 占总的种群的 40%; 某些稀少种仅在特定的土壤中出现, 例如, T-RFs 为 125、284、365 和 385 bp 仅在石灰岩土壤中出现, 而 T-RFs 为 217 bp 和 308 bp 仅在白云岩土壤中出现.

2.3 不同岩性条件下土壤固氮菌与 AM 真菌丰度

单因素方差分析表明, 固氮菌与 AM 真菌丰度在不同岩性条件下存在显著性差异 (图 2), 其中, 石灰岩土壤中最大, 白云岩土壤中最小, 石灰岩-白云

岩夹层土壤介于两者之间.

2.4 不同岩性条件下土壤理化性质及植物多样性对固氮菌与丛枝菌根真菌丰度及群落结构的影响

相关性分析表明 (表 3), 土壤 Olsen-P、有机碳、

表 3 土壤理化性质及植物多样性指数与固氮菌与 AM 真菌丰度 Pearson 相关分析¹⁾

Table 3 Pearson correlations among soil properties, plant diversity, nitrogen-fixing bacterial abundance and AM fungal abundance

项目	固氮菌丰度	AM 真菌丰度
Olsen-P	0.748 *	—
pH	—	—
全氮	—	0.617 *
土壤有机碳	0.764 *	—
黏粒含量	0.734 *	0.791 *
粉粒含量	-0.688 *	-0.846 *
沙粒含量	—	—
植物丰富度指数	—	—
植物均匀度指数	—	—
植物香农多样性指数	—	—

1) 显著水平: * 表示 $P < 0.05$; “—”表示不存在显著相关

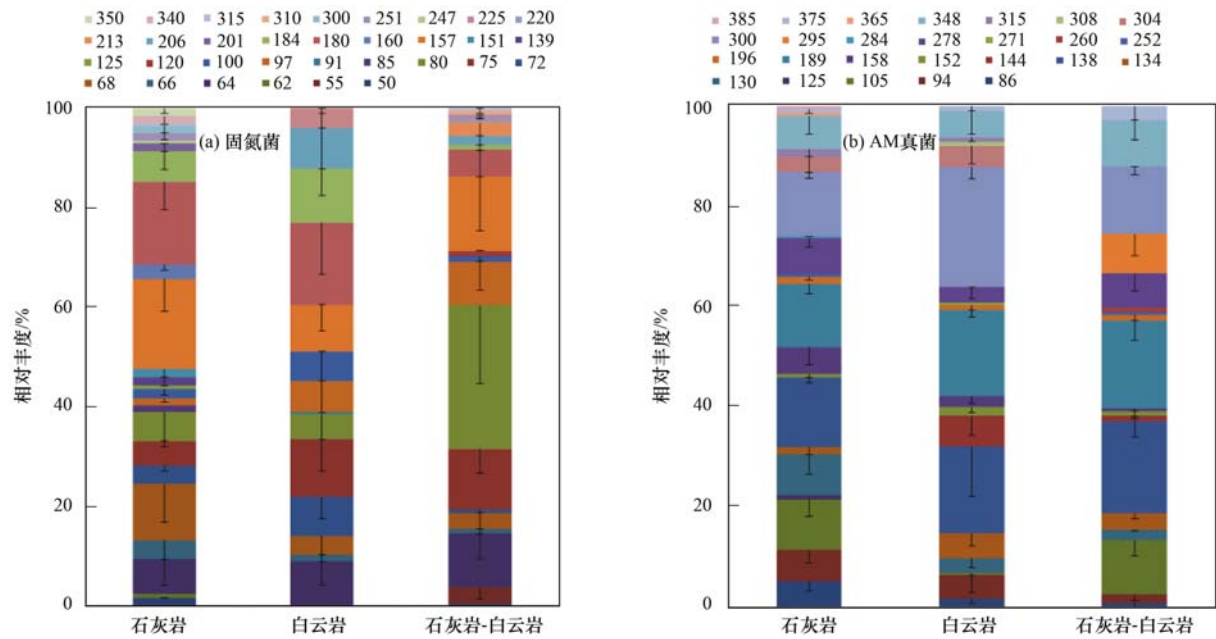


图 1 不同岩性中固氮菌 (*Hea* III 酶) 与 AM 真菌 (*Hinf* I 酶) 群落组成分析

Fig. 1 Average relative abundances of nitrogen-fixing bacterial and AM fungal T-RFs as determined by endonuclease digestion with *Hea* III and *Hinf* I, respectively in the soil samples from different lithology conditions

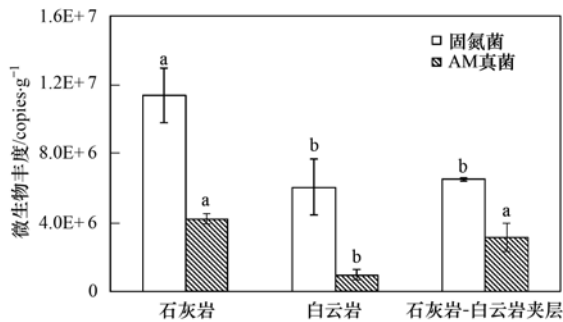


图 2 不同岩性土壤中固氮菌与 AM 真菌丰度

Fig. 2 Abundances of nitrogen-fixing bacteria and AM fungi under different lithology conditions

黏粒含量与固氮菌丰度存在显著正相关,而粉粒含量与固氮菌丰度存在显著负相关($P < 0.05$);土壤全氮、黏粒含量与 AM 真菌丰度存在显著正相关,而粉粒含量与 AM 真菌丰度存在显著负相关($P < 0.05$).

RDA 分析表明(图 3),植物均匀度($F = 2.6, P = 0.049$)显著影响土壤固氮菌群落组成;植物香农多样性指数($F = 2.1, P = 0.003$)、植物均匀度($F = 1.9, P = 0.017$)、植物丰富度($F = 1.8, P = 0.028$)与 pH($F = 1.7, P = 0.022$)显著影响土壤 AM 真菌群落组成.

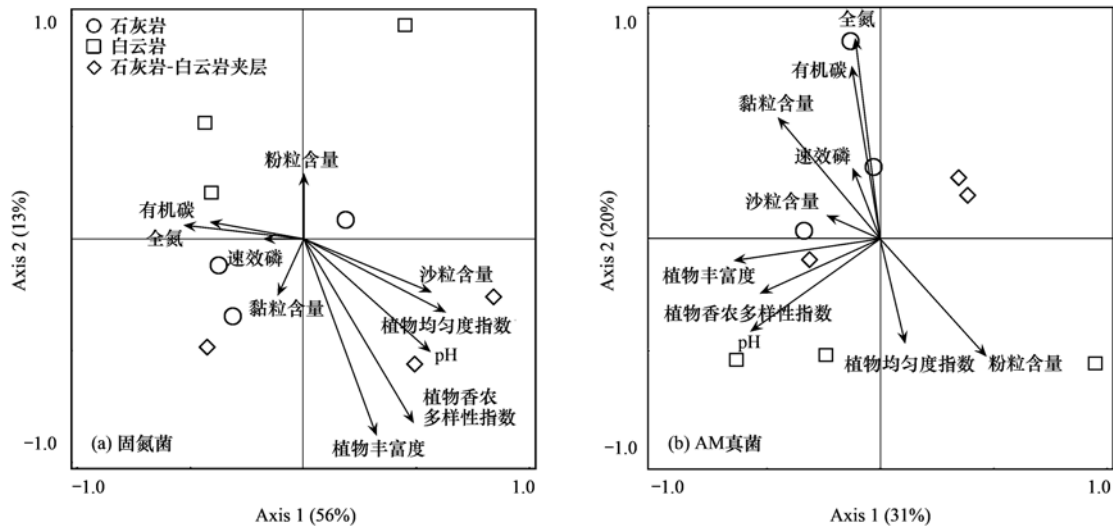


图 3 土壤理化性质及植物多样性对固氮菌与 AM 真菌群落结构的影响

Fig. 3 Relationships among soil properties, plant diversity and community composition of nitrogen-fixing bacteria and AM fungi

3 讨论

3.1 岩性对土壤固氮菌与 AM 真菌丰度的影响

本研究结果显示,不同岩性土壤中固氮菌与 AM 真菌丰度存在显著性差异(图 2),表明岩性主要是通过影响土壤养分有效性进而影响土壤微生物丰度^[26]。不同岩性风化速度不一样,风化速度快的岩性有利于提高土壤矿物养分的有效性^[27],进而显著提高土壤速效磷、有机碳、全氮含量。这种良好的养分条件有助于维持微生物生长和促进微生物多样性、结构与功能的发展^[28, 29]。

不同的土壤理化性质,例如:速效磷、有机碳、全氮、黏土含量,显著影响微生物丰度^[26, 30],并直接或者间接影响微生物的形成及功能^[31]。本研究发现,石灰岩土壤中的固氮菌与 AM 真菌丰度均比白云岩土壤中的高。主要原因为:石灰岩风化的速度比白云岩的快^[32],容易形成较高的有机碳、全氮、速效磷。因此,石灰岩土壤比白云岩土壤更有利于促进固氮菌与 AM 真菌的生长,从而解释了石灰岩土壤中这两种微生物丰度高的现象。此外,石灰岩区的岩石裸露率比白云岩区高,且土被分布非常不规则,容易形成石沟、石缝、石槽等多样化的微生境^[33],为固氮菌与 AM 真菌提供多样化的栖息地与资源,从而有利于提高这两种微生物的丰度。

3.2 岩性对土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成结构的影响

本研究结果显示,不同岩性显著改变土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成结构(图 1),但固氮菌与 AM 真菌优势种各占其总种群的 40% 以上,表明不同岩性土壤中固氮菌与 AM 真菌群落组成结构差异主要是由稀少种不同导致的。T-RFLP 研究结果显示,某些稀少固氮菌与 AM 真菌只在某种岩性土壤中出现,一定程度上解释了上面的推测。

已有研究表明,岩性主要是通过影响植被组成来影响土壤微生物群落组成结构^[34, 35]。同样,植物影响 AM 真菌群落组成结构也已被很多研究所证实^[36~38]。植物主要是通过根际分泌物影响土壤微生物群落组成^[39]。因此,不同植物特性,包括生理状态^[40]及其影响土壤理化性质的能力^[41],均会影响 AM 真菌的群落组成结构。此外,AM 真菌存在宿主植物偏好特性,植物多样性越高,对应的 AM 真菌多样性也高^[42]。同时,植物多样性高能够为 AM 真菌提供多样化的栖息地与资源^[43],从而提高 AM 真菌多样性。

同样,植物也影响固氮菌群落组成结构^[44, 45]。本研究发现,植物均匀度显著影响固氮菌群落组成结构[图 3(a)]。植物均匀度是指一个群落或者生境中全部种的个体数目,反映了种属组成的均匀程度^[46]。在一个特定的生态系统中,植物均匀度指数越高,其群落组成结构越稳定^[47],从而为土壤固氮菌提供一个稳定的生存环境,这种环境有利于促进固氮菌群落结构的稳定及发展。

3.3 岩性对植物群落组成结构及多样性的影响

不同岩性下,植物群落组成结构及植物多样性存在显著性差异,这种现象与岩性基质具有重要的关系。由于岩性的不同,岩石风化后形成的土壤其钙镁元素含量存在显著性差异^[48],因而对植物生长产生了显著性影响。此外,不同岩性区域,土层厚度及岩石裸露率使植物与岩石有更为直接的元素营养关系^[49, 50]。因此,喀斯特地区特殊的地形地貌及元素地球化学特征,引起的局部小生境分异从而对植物群落特征产生显著影响^[51]。此外, RDA 分析结果显示,不同岩性条件下,植物均匀度影响固氮菌群落组成结构,而植物均匀度、香农多样性指数及丰富度指数影响 AM 真菌群落组成结构。以上结果表明,岩性主要是通过影响植物群落组成继而影响土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成,是一种复合的作用。

3.4 末端限制性片段长度多态技术研究土壤微生物遗传多样性的局限性

T-RFLP 是一种高灵敏、重复性好的分子技术,可以对大批量样品间的群落结构进行比较^[52],在微生物生态学研究一直受到较高的评价,并已在 AM 真菌与固氮菌群落研究中得到广泛的应用^[53, 54]。但是, T-RFLP 技术是根据 T-RF 片段与已知菌株末端片断的比对来确定未知菌株的分类,不能准确地确定菌株的种属。而最新出现的高通量测序技术,是以序列相似性来定义分子分类群(operational taxonomic unit, OTU),具有准确性高的特点,完全克服了 T-RFLP 技术的局限性。此外,高通量测序技术还具有信息量大,成本较低等优点,从而成为目前最为流行的研究土壤微生物遗传多样性的分子手段之一^[55, 56]。

4 结论

(1)不同岩性条件下,土壤固氮菌、AM 真菌与植物群落组成结构存在显著差异,表明岩性主要是通过影响植物群落组成继而影响土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成。

(2) 岩性显著改变土壤固氮菌与 AM 真菌丰度, 石灰岩土壤中固氮菌与 AM 真菌丰度高于白云岩土壤, 与石灰岩风化速度快, 形成较高有效养分密切相关。

(3) 在喀斯特灌丛生态系统中, 不同岩性条件下, 影响土壤固氮菌与 AM 真菌群落组成结构与丰度的因子存在差异。因此, 在喀斯特地区植被恢复过程中, 需要根据具体目标与岩性条件采用相应的策略, 才能高效地促进该地区的植被恢复。

参考文献:

- [1] 袁道先. 中国岩溶学[M]. 北京: 地质出版社, 1994.
Yuan D X. Karstology of China [M]. Beijing: Geological Publishing House, 1994.
- [2] Yuan D X. Geology and geohydrology of karst and its relevance to society[M]. Paris: UNESCO, 2002. 15-18.
- [3] Parise M, De Waele J, Gutierrez F. Current perspectives on the environmental impacts and hazards in karst[J]. Environmental Geology, 2009, **58**(2): 235-237.
- [4] Querejeta J I, Estrada-Medina H, Allen M F, et al. Water source partitioning among trees growing on shallow karst soils in a seasonally dry tropical climate[J]. Oecologia, 2007, **152**(1): 26-36.
- [5] 屠玉麟. 贵州喀斯特灌丛区系与生态特征分析[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 1995, **13**(3): 1-8.
Tu Y L. A analysis of flora and ecological characteristics of karst scrubs in Guizhou province [J]. Journal of Guizhou Normal University (Natural Science), 1995, **13**(3): 1-8.
- [6] 杨慧, 曹建华, 孙蕾, 等. 岩溶区不同土地利用类型土壤无机磷形态分布特征[J]. 水土保持学报, 2010, **24**(2): 135-140.
Yang H, Cao J H, Sun L, et al. Fractions and distribution of inorganic phosphorus in different land use types of karst area[J]. Journal of Water and Soil Conservation, 2010, **24**(2): 135-140.
- [7] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis (3rd ed.) [M]. New York: Academic Press, 2008. 815.
- [8] Ruíz-Sánchez M, Armada E, Muñoz Y, et al. Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions [J]. Journal of Plant Physiology, 2011, **168**(10): 1031-1037.
- [9] Johnson N C, Wilson G W T, Bowker M A, et al. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, **107**(5): 2093-2098.
- [10] Mortimer P E, Le Roux M R, Pérez-Fernández M A, et al. The dual symbiosis between arbuscular mycorrhiza and nitrogen fixing bacteria benefits the growth and nutrition of the woody invasive legume *Acacia cyclops* under nutrient limiting conditions [J]. Plant and Soil, 2013, **366**(1-2): 229-241.
- [11] Poly F, Ranjard L, Nazaret S, et al. Comparison of *nifH* gene pools in soils and soil microenvironments with contrasting properties[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(5): 2255-2262.
- [12] Hsu S F, Buckley D H. Evidence for the functional significance of diazotroph community structure in soil[J]. The ISME Journal, 2009, **3**(1): 124-136.
- [13] Li L F, Li T, Zhang Y, et al. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their distribution patterns related to host-plants and habitats in a hot and arid ecosystem, southwest China [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, **71**(3): 418-427.
- [14] 张伟, 陈洪松, 王克林, 等. 桂西北喀斯特洼地土壤有机碳和速效磷的空间变异[J]. 生态学报, 2007, **27**(12): 5168-5175.
Zhang W, Chen H S, Wang K L, et al. Spatial variability of soil organic carbon and available phosphorus in a typical karst depression, northwest of Guangxi [J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, **27**(12): 5168-5175.
- [15] Liang Y M, Pan F J, He X Y, et al. Effect of vegetation types on soil arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacterial communities in a karst region [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, **23**(18): 18482-18491.
- [16] Liu L, He X Y, Wang K L, et al. The *Bradyrhizobium*-legume symbiosis is dominant in the shrubby ecosystem of the Karst region, Southwest China [J]. European Journal of Soil Biology, 2015, **68**: 1-8.
- [17] He X Y, Wang K L, Zhang W, et al. Positive correlation between soil bacterial metabolic and plant species diversity and bacterial and fungal diversity in a vegetation succession on Karst [J]. Plant and Soil, 2008, **307**(1-2): 123-134.
- [18] Bremner J M. Total nitrogen [A]. In: Black C A (Ed.). Methods of Soil Analysis [M]. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1965. 1149-1178.
- [19] Colwell J D. The estimation of the phosphorus fertilizer requirements of wheat in southern New South Wales by soil analysis [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, 1963, **3**(10): 190-197.
- [20] Wang Y Q, Shao M A, Gao L. Spatial variability of soil particle size distribution and fractal features in water-wind erosion crisscross region on the loess plateau of China [J]. Soil Science, 2010, **175**(12): 579-585.
- [21] 黄昌勇. 土壤学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [22] 陈香碧, 苏以荣, 何寻阳, 等. 不同干扰方式对喀斯特生态系统土壤细菌优势类群——变形菌群落的影响 [J]. 土壤学报, 2012, **49**(2): 354-363.
Chen X B, Su Y R, He X Y, et al. Effect of human disturbance on composition of the dominant bacterial group——*Proteobacteria* in Karst soil ecosystems [J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, **49**(2): 354-363.
- [23] Santos-González J C, Finlay R D, Tehler A. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, **73**(17): 5613-5623.
- [24] Sato K, Suyama Y, Saito M, et al. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis [J]. Grassland Science, 2005, **51**(2): 179-181.
- [25] 马克平, 黄建辉, 于顺利, 等. 北京东灵山地区植物群落多样性的研究 II 丰富度、均匀度和物种多样性指数 [J]. 生态学报, 1995, **15**(3): 268-277.
Ma K P, Huang J H, Yu S L, et al. Plant community diversity in Dongling mountain, Beijing, China: II, species richness,

- evenness and species diversities [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1995, **15**(3): 268-277.
- [26] Herold N, Schöning I, Gutknecht J, *et al.* Soil property and management effects on grassland microbial communities across a latitudinal gradient in Germany [J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, **73**: 41-50.
- [27] Anderson D W. The effect of parent material and soil development on nutrient cycling in temperate ecosystems [J]. *Biogeochemistry*, 1988, **5**(1): 71-97.
- [28] Fierer N, Schimel J P, Holden P A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, **35**(1): 167-176.
- [29] Eilers K G, Debenport S, Anderson S, *et al.* Digging deeper to find unique microbial communities: the strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, **50**: 58-65.
- [30] Wu M N, Qin H L, Chen Z, *et al.* Effect of long-term fertilization on bacterial composition in rice paddy soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, **47**(4): 397-405.
- [31] Wagai R, Kitayama K, Satomura T, *et al.* Interactive influences of climate and parent material on soil microbial community structure in Bornean tropical forest ecosystems [J]. *Ecological Research*, 2011, **26**(3): 627-636.
- [32] 贾申, 喻理飞. 喀斯特石漠化区石灰岩与白云岩土壤理化性质分析——以贵州兴义市为例 [J]. *贵州科学*, 2010, **28**(3): 29-33, 55.
- Jia S, Yu L F. Soil properties and correlation analysis on karst rocky desertification areas of limestone and dolomite——a case study in Xingyi city of Guizhou [J]. *Guizhou Science*, 2010, **28**(3): 29-33, 55.
- [33] 朱守谦, 何纪星, 魏鲁明, 等. 茂兰喀斯特森林小生境特征研究 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003. 38-48.
- [34] Sheng R, Qin H L, O'Donnell A G, *et al.* Bacterial succession in paddy soils derived from different parent materials [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, **15**(4): 982-992.
- [35] Ulrich A, Becker R. Soil parent material is a key determinant of the bacterial community structure in arable soils [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **56**(3): 430-443.
- [36] Liang Y M, He X Y, Chen C Y, *et al.* Influence of plant communities and soil properties during natural vegetation restoration on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a karst region [J]. *Ecological Engineering*, 2015, **82**: 57-65.
- [37] Li X L, Gai J P, Cai X B, *et al.* Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with two co-occurring perennial plant species on a Tibetan altitudinal gradient [J]. *Mycorrhiza*, 2014, **24**(2): 95-107.
- [38] Öpik M, Vanatoa A, Vanatoa E, *et al.* The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) [J]. *New Phytologist*, 2010, **188**(1): 223-241.
- [39] Dilworth M J, James E K, Sprent J I, *et al.* Nitrogen-fixing leguminous symbioses [M]. Netherlands: Springer, 2008.
- [40] Lugo M A, Reinhart K O, Menoyo E, *et al.* Plant functional traits and phylogenetic relatedness explain variation in associations with root fungal endophytes in an extreme arid environment [J]. *Mycorrhiza*, 2014, **25**(2): 85-95.
- [41] Ehrenfeld J G, Ravit B, Elgersma K J. Feedback in the plant-soil system [J]. *Annual Review of Environment and Resources*, 2005, **30**(1): 75-115.
- [42] Landis F C, Gargas A, Givnish T J. Relationships among arbuscular mycorrhizal fungi, vascular plants and environmental conditions in oak savannas [J]. *New Phytologist*, 2004, **164**(3): 493-504.
- [43] Waldrop M P, Zak D R, Blackwood C B, *et al.* Resource availability controls fungal diversity across a plant diversity gradient [J]. *Ecology Letters*, 2006, **9**(10): 1127-1135.
- [44] Mirza B S, Potisap C, Nüsslein K, *et al.* Response of free-living nitrogen-fixing microorganisms to land use change in the Amazon rainforest [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, **80**(1): 281-288.
- [45] Patra A K, Abbadié L, Clays-Josserand A, *et al.* Effects of management regime and plant species on the enzyme activity and genetic structure of N-fixing, denitrifying and nitrifying bacterial communities in grassland soils [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(6): 1005-1016.
- [46] 张金屯. 数量生态学 [M]. 北京: 科学出版社, 2004. 84.
- [47] 叶卫英, 尹林克, 钱翌, 等. 乌鲁木齐市周边荒山植物群落类型及其物种多样性 [J]. *新疆农业大学学报*, 2005, **28**(1): 44-48.
- Ye W Y, Yin L K, Qian Y *et al.* Study on plant community types and species diversity of main barren hill in Urumqi [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2005, **28**(1): 44-48.
- [48] 李为, 刘彦, 吴耿, 等. 桂林毛村不同地质背景主要元素迁移特征及与植物蒸腾作用的相关性 [J]. *土壤*, 2007, **39**(5): 746-752.
- Li W, Liu Y, Wu G, *et al.* Characteristics of main elements migration in soils under different geological backgrounds and their correlation to plant transpiration in Maocun, Guilin [J]. *Soils*, 2007, **39**(5): 746-752.
- [49] 蒋忠诚. 广西弄拉白云岩环境元素的岩溶地球化学迁移 [J]. *中国岩溶*, 1997, **16**(4): 304-312.
- Jiang Z C. Element migration in karst geochemical processes of the dolomite in Nongla, Guangxi [J]. *Carsologica Sinica*, 1997, **16**(4): 304-312.
- [50] 姚长宏, 蒋忠诚, 袁道先. 西南岩溶地区植被喀斯特效应 [J]. *地球学报*, 2001, **22**(2): 159-164.
- Yao C H, Jiang Z C, Yuan D X. Vegetation karst effects on the karst area of Southwest China [J]. *Acta Geoscientia Sinica*, 2001, **22**(2): 159-164.
- [51] 侯满福, 蒋忠诚. 茂兰喀斯特原生林不同地球化学环境的植物物种多样性 [J]. *生态环境*, 2006, **15**(3): 572-576.
- Hou M F, Jiang Z C. Species diversity of karst original forest in different geochemical environments in Maolan [J]. *Ecology and Environment*, 2006, **15**(3): 572-576.
- [52] 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 等. 不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响 [J]. *环境科学*, 2015, **36**(10): 3839-3844.
- Shen B J, Zhu Z K, Yuan H Z, *et al.* Effects of different plantation type on the abundance and diversity of soil microbes in subtropical red soils [J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(10): 3839-3844.
- [53] Aldrich-Wolfe L. Distinct mycorrhizal communities on new and established hosts in a transitional tropical plant community [J].

- Ecology, 2007, **88**(3): 559-566.
- [54] Lekberg Y, Koide R T, Rohr J R, *et al.* Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities[J]. Journal of Ecology, 2007, **95**(1): 95-105.
- [55] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. 环境科学, 2016, **37**(7): 2652-2658.
- Chen C J, Zhang H Q, Wang Y Q, *et al.* Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on high-throughput sequencing[J]. Environmental Science, 2016, **37**(7): 2652-2658.
- [56] 端正花, 潘留明, 陈晓欧, 等. 低温下活性污泥膨胀的微生物群落结构研究[J]. 2016, **37**(3): 1070-1074.
- Duan Z H, Pan L M, Chen X O, *et al.* Changes of microbial community structure in activated sludge bulking at low temperature[J]. Environmental Science, 2016, **37**(3): 1070-1074.

《环境科学》连续 5 次荣获 “中国最具国际影响力学术期刊”称号

2016 年 11 月 22 日, 中国学术期刊(光盘版)电子杂志社(CNKI)等机构发布“2016 中国最具国际影响力学术期刊”评选结果. 《环境科学》再获“2016 中国最具国际影响力学术期刊”称号, 是唯一入选的环境科学与资源科学类中文期刊, 也是自首次评选以来连续 5 次获此殊荣. 评选以期刊国际影响力指数进行排序, 遴选出排名前 5% (Top5%) 的期刊获评“中国最具国际影响力学术期刊”.

CONTENTS

Reactivity-based Anthropogenic VOCs Emission Inventory in China	LIANG Xiao-ming, ZHANG Jia-ni, CHEN Xiao-fang, <i>et al.</i> (845)
Characteristics of Reactive VOCs Species During High Haze-Pollution Events in Suburban Area of Shanghai in Winter	GAO Shuang, ZHANG Kun, GAO Song, <i>et al.</i> (855)
Assessment of PM _{2.5} Pollution Mitigation due to Emission Reduction from Main Emission Sources in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	WU Wen-jing, CHANG Xing, XING Jia, <i>et al.</i> (867)
Concentration Characteristics and Sources of Trace Metals in PM _{2.5} During Wintertime in Beijing	QIAO Bao-wen, LIU Zi-rui, HU Bo, <i>et al.</i> (876)
Online Source Analysis of Particulate Matter (PM _{2.5}) in a Heavy Pollution Process of Shijiazhuang City During Heating Period in 2015	LU Na, LI Zhi-guo, ZHOU Jing-bo, <i>et al.</i> (884)
Analysis of Chemical Composition and Pollution Source of the Fine Particulate Matter by the SPAMS in the Four Seasons in Nanning	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, MAO Jing-ying, <i>et al.</i> (894)
Physico-chemical Characteristics of Individual Aerosol Particles in Marine Atmosphere on South Hemisphere	CHI Jian-wei, LI Chuan-jin, SUN Jun-ying, <i>et al.</i> (903)
Characteristics of Spatial Distribution of Bacterial Aerosols Produced by Fountain	ZHANG Chong-miao, YUAN Lin, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (911)
Removal of Volatile Sulfur Odor by the Biotrickling Filter	YE Jie-xu, MIAO Xiao-ping, ZHUGE Lei, <i>et al.</i> (918)
Magnetic Characteristics and Environmental Pollution Analysis of Street Dust in Different Functional Zones of Xi'an City	FANG Ni, ZHANG Jun-hui, WANG Jin, <i>et al.</i> (924)
Pollution Characteristics and Nitrification and Denitrification Potential of Superficial Sediments from Streams in an Urban-Rural Fringe	QIN Ru-bin, LI Ru-zhong, GAO Su-di, <i>et al.</i> (936)
Nitrification and Denitrification Rates in a Small Tributary, Nanhe River, of Three Gorge Dam Reservoir During Water Collection and Release Events	WANG Jing, LIU Hong-jie, LEI Yu, <i>et al.</i> (946)
Tempo-spatial Variations and Influential Factors of Carbon Dioxide Emissions from the Geheyan Reservoir over the Qingjiang River Basin, China	ZHAO Deng-zhong, TAN De-bao, LI Chong, <i>et al.</i> (954)
Seasonal Pollution Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organochlorine Pesticides in Surface Water of Baiyangdian Lake	WANG Yi-zhen, ZHANG Jun, ZHOU Xu-shen, <i>et al.</i> (964)
Distributions, Sources and Pollution Assessment of Hg in Sediment of Douhe Reservoir in Tangshan City	WU Ting-ting, WANG Ming-meng, CHEN Xu-feng, <i>et al.</i> (979)
Release Characteristics of Mercury from Submersed Typical Herbaceous Plants in the Water-Level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Area	DENG Han, ZHANG Xiang, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (987)
Distribution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Water Around Electroplating Factories	YU Cong-cong, ZHAO Wei-tuo, GAO Xiao-feng, <i>et al.</i> (993)
Speciation and Ecological Risk of Heavy Metals in Surface Sediments from Jiulong River	LIN Cheng-qi, HU Gong-ren, YU Rui-lian, <i>et al.</i> (1002)
Fractionation and Contamination Assessment of Metal Elements in the Surface Sediments of Yundang Lagoon in Xiamen	YANG Qiu-li, YU Rui-lian, HU Gong-ren, <i>et al.</i> (1010)
Source Analysis, Spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in Sewage Irrigation Area Farmland Soils of Longkou City	LI Chun-fang, WANG Fei, CAO Wen-tao, <i>et al.</i> (1018)
Efficiency and Mechanism of Purifying High Iron-Manganese from Ground Water in the Cold Villages and Towns Based on The Coupling of Rice Husk and Iron-Manganese Oxidizing Bacteria	SUN Nan, CHEN Yan-li, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1028)
Peroxidation of High Algae-laden Water by Ozone; Algae Organic Matter Transformation and Disinfection By-products Formation	ZHANG Sai, HU Xue-bin, GU Li, <i>et al.</i> (1038)
Effects of Pretreatment on Hydraulic Irreversible Membrane Fouling During Ultrafiltration Short Process: A Pilot Study	YANG Hai-yan, XING Jia-jian, WANG Can, <i>et al.</i> (1046)
Fenton-like Catalytic Removal of Organic Pollutants in Water by Framework Cu in Cu-Al ₂ O ₃	XU Dan, ZHANG Li-li, LIU Li-fen (1054)
Oxidation Destruction of Cu(CN) ₂ ²⁻ by Persulfate	WANG Yun-fei, LI Yi-bing, WANG Yan-bin, <i>et al.</i> (1061)
Enhanced Removal of Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid and Simultaneous Power Generation in Microbial Fuel Cells	QUAN Xiang-chun, QUAN Yan-ping, XIAO Zhu-tian (1067)
Adsorption Characteristics of Copper in Water by the Porous Biomorph-Genetic Composite of HAP/C with Eucalyptus Wood Template	LI Chao, ZHU Zong-qiang, CAO Shuang, <i>et al.</i> (1074)
Biological Toxicity Evaluation of Domestic Wastewater Based on A ² /O Treatment Processes Using a Battery of Bioassays	ZHANG Qiu-ya, MA Xiao-yan, WANG Xiao-chang, <i>et al.</i> (1084)
Effect of Wastewater Nitrogen Concentrations on Nitrogen Removal Ability of <i>Myriophyllum aquaticum</i>	MA Yong-fei, YANG Xiao-zhen, ZHAO Xiao-hu, <i>et al.</i> (1093)
Recovery Performance of ANAMMOX Process after Inhibition Resulting from Seawater	QI Pan-qing, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (1102)
Impact of Starvation Conditions on Biological Community Structure in Sulfur Autotrophic Denitrification Reactor	LI Fang-fang, SHI Chun-hong, LI Hai-bo, <i>et al.</i> (1109)
Quick Start-up of Anaerobic Ammonium Oxidation Process	LÜ Gang, XU Le-zhong, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (1116)
A New Model for the Treatment of Low Ammonia Nitrogen Wastewater by CANON Process	WANYAN De-qing, YUAN Yi, LI Xiang, <i>et al.</i> (1122)
Effects of Side-stream Phosphorus Recovery on the Performance of EBPR System Under Low Dissolved Oxygen Condition	MA Juan, SONG Lu, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (1130)
Identification and Influence of Quorum Sensing on Anaerobic Ammonium Oxidation Process	CHEN Shu-han, LI An-jie, WANG Yue-xing, <i>et al.</i> (1137)
Effects of Organic Loading Rate on Startup Performance of Anaerobic Digestion with Vinegar Residues	DAI Xiao-hu, YU Chun-xiao, LI Ning, <i>et al.</i> (1144)
Influencing Mechanism of Calcium Peroxide Pre-treatment on Dewatering Performance of Waste Activated Sludge	BAI Run-ying, CHEN Zhan, ZHANG Wei-jun, <i>et al.</i> (1151)
Treatment Effects of Earthworm Constructed Wetlands in Different Working Conditions	DONG Meng-ke, LI Huai-zheng, XU Yi-xiao (1159)
Effect of PFOA on Oxidative Stress and Membrane Damage of <i>Escherichia coli</i>	YANG Meng, LI Yi, YE Jin-shao, <i>et al.</i> (1167)
Physicochemical Properties and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles; A Comparison of Environmental and Laboratorial Conditions	YI Jun, CHENG Jin-ping (1173)
Pollution Characteristics of Chlorobenzenes in Organs of Fish from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1182)
Effect of Nano Zeolite on Growth, Activity of Antioxidant Enzyme, and Chemical Fractions and Concentration of Cd in Chinese Cabbage	QIN Yu-li, XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (1189)
Effect of Different Iron Minerals on Bioaccessibility of Soil Arsenic Using <i>in vitro</i> Methods	ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, HUANG Run-lin, <i>et al.</i> (1201)
Enhanced Electrokinetic Remediation of Heavy Metals Contaminated Soils by Stainless Steel Electrodes as well as the Phenomenon and Mechanism of Electrode Corrosion and Crystallization	WEN Dong-dong, FU Rong-bing, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (1209)
Influence of the Application of Non-Hazardous Sewage Sludge on the Evolution of Soil Carbon Pool and Carbon Pool Management Index	LIU Xiao, HUANG Lin, GUO Kang-li, <i>et al.</i> (1218)
Input and Distribution of Photosynthesized Carbon in Soil-Rice System Affected by Water Management and Nitrogen Fertilization	WANG Ting-ting, ZHU Zhen-ke, ZHU Han-hua, <i>et al.</i> (1227)
Effects of Simulated Acid Rain on Soil Respiration and Heterotrophic Respiration in a Secondary Forest	CHEN Shu-tao, SUN Lu, SANG Lin, <i>et al.</i> (1235)
Response of Soil Nitrifier and Denitrifier Community and Activity to Elevated Atmospheric CO ₂ Concentration and Temperature	LIU Yuan, WANG Guang-li, LI Lian-qing, <i>et al.</i> (1245)
Effects of Lithology on the Abundance and Composition of Soil Nitrogen-fixing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Karst Shrub Ecosystem	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (1253)
Characterization of Phosphorus Forms in Organic Composts and Their Effects on Leaf Phosphorus Content of <i>Castanea mollissima</i> in Chinese Chestnut Producing Area	SONG Ying, GUO Su-juan, ZHANG Li, <i>et al.</i> (1262)
Effects of Acidic Materials on the N Transformations During the Composting of Pig Manure and Wheat Straw	JIANG Ji-shao, YAO Qian (1272)