

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第4期

Vol.39 No.4

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

京津冀地区钢铁行业污染物排放清单及对PM_{2.5}影响 段文娇, 郎建全, 程水源, 贾佳, 王晓琦 (1445)

京津冀内陆平原地区PM_{2.5}浓度时空变化定量模拟 郝静, 孙成, 郭兴宇, 王卫, 刘方田, 党海燕 (1455)

成都市冬季相对湿度对颗粒物浓度和大气能见度的影响 刘凡, 谭钦文, 江霞, 蒋文举, 宋丹林 (1466)

华山地区PM_{2.5}中无机离子垂直分布特征 曹聪, 王格慧, 吴灿, 李建军, 刘浪, 李瑾, 余兴 (1473)

烟花爆竹集中燃放的大气细颗粒物(PM_{2.5})成分图谱 谢瑞加, 侯红霞, 陈永山 (1484)

长三角地区中小燃煤锅炉PM_{2.5}成分谱特征 徐健, 黄成, 李莉, 陈勇航, 楼晟荣, 乔利平, 王鸿宇 (1493)

民用燃煤排放分级颗粒物中重金属排放因子 严沁, 孔少飞, 刘海彪, 王伟, 吴剑, 郑明明, 郑淑容, 杨国威, 吴方琪 (1502)

冬、春季青岛大气气溶胶中乙二酸的分布特征及影响因素 张帅, 石金辉, 姚小红, 高会旺 (1512)

青岛大气降水中微量元素的浓度及溶解度 李茜, 石金辉, 李鹏志, 姚小红, 高会旺 (1520)

辽东湾大气中多环芳烃的含量组成及气粒分配 张玉凤, 宋永刚, 田金, 赵海勃, 杨爽, 吴金浩 (1527)

典型地区大气新型卤代阻燃剂污染特征、来源分析及人体暴露 李琦路, 杨孔, 李军, 张干 (1537)

苏州工业园区室内外颗粒物中多溴联苯醚污染特征及人体暴露水平 王俊霞, 顾海东, 张占恩, 钱飞跃 (1544)

上海市大气污染对感冒疾病相对危险度的影响 杨丝絮, 马玉霞, 周建丁, 周骥 (1552)

城镇化河流溶解性有机质的荧光特性与水质相关性:以宁波市北仑区芦江为例 曹昌丽, 梁梦琦, 何桂英, 纵亚男, 唐剑锋 (1560)

艾比湖区域景观格局与河流水质关系探讨 曹灿, 张飞, 阿依尼格·亚力坤, 朱世丹, 郭苗, 阿丽米热·塔力甫江, Kung Hsiangte (1568)

三峡澎溪河水华期间水体CH₄浓度及其通量变化特征初探 秦宇, 张渝阳, 李哲, 马健荣 (1578)

漓江段地表水体旱季硝酸盐动态变化特征及其来源 苗迎, 章程, 肖琼, 赵海娟, 李成习 (1589)

柳江流域饮用水源地重金属污染与健康风险评价 张清华, 韦永著, 曹建华, 于爽 (1598)

黄柏河流域梯级水库沉积物磷形态特征及磷释放通量分析 刘佳, 雷丹, 李琼, 王亮, 张平, 肖尚斌 (1608)

白洋淀典型持久性有机污染物污染特征与风险评估 高秋生, 焦立新, 杨柳, 田自强, 杨苏文, 安月霞, 贾海斌, 崔志丹 (1616)

典型有机氯农药在珠三角地区多介质环境中的归趋模拟 高梓闻, 徐月, 亦如瀚 (1628)

河道水旁路处理中试工艺中PPCPs的去除效果及机制 李力, 朱楦, 白瑶, 赵健, 曹之淇, 郭泓利, 李凌云, 左剑勇 (1637)

茶普生在氯消毒过程中的去除、转化与风险评价 樊鑫鑫, 杜尔登, 李佳琦, 赵顺利, 王聿琳, 彭明国 (1645)

真空紫外/氯处理饮用水典型致嗅物质 孙昕, 张焱, 史路肖, 陈笑涵, 唐晓 (1654)

热活化过硫酸盐降解三氯生 蒋梦迪, 张清越, 季跃飞, 陆隽鹤 (1661)

水体模拟颗粒物对四环素的吸附特性及基本规律 徐龙凤, 魏群山, 吕强, 唐立朋, 刘亚男, 柳建设 (1668)

海水优化ANAMMOX包埋固定化及其处理含海水污水的脱氮性能 单晓静, 于德爽, 李津, 陈光辉, 冯莉, 吕廷廷, 邵青 (1677)

外源甜菜碱投加增强高盐废水厌氧氨氧化脱氮性能 于德爽, 吴国栋, 李津, 周同, 王晓静 (1688)

硝化污泥富集及其强化高氨氮冲击的中试研究 盛晓琳, 崔灿灿, 王家德, 刘锐, 徐峰, 陈吕军 (1697)

分段进水对改良A²/O-BAF双污泥系统反硝化除磷脱氮的影响 南彦斌, 彭永臻, 曾立云, 赵智超, 刘宏, 李慧, 陈永志 (1704)

不同温度下应用比值控制实现连续流好氧颗粒污泥短程硝化 梁东博, 卞伟, 阚睿哲, 王文啸, 赵青, 孙艺齐, 李军 (1713)

智能化曝气控制A/O工艺活性污泥特性演化对内源反硝化脱氮的作用机制 徐旻昉, 胡湛波, 张穗生, 李昊航 (1720)

温度对一体式厌氧流化床膜生物反应器运行效能及微生物群落结构的影响 李玥, 胡奇, 高大文 (1731)

污泥臭氧原位减量工艺中抗生素的去除 汪鲁, 黄伟伟, 李彦刚, 强志民 (1739)

零价铁对污泥厌氧消化过程中四环素抗性基因水平转移的作用影响 杨帆, 徐雯丽, 钱雅洁, 刘振鸿, 薛昱, 高品 (1748)

环境因子对全自养脱氮颗粒污泥功能菌协同效应的影响 陈希, 钱飞跃, 王建芳, 高军军, 沈耀良, 贾珣 (1756)

后置固相反硝化滤池工艺沿程微生物特性 张千, 吉芳英, 徐璇 (1763)

复合菌株YH01+YH02强化SBR好氧反硝化脱氮及菌群结构分析 陈海升, 曹刚, 张迪, 黄郑郑, 莫测辉 (1773)

氮磷失衡下膨胀污泥性能及膨胀菌群落结构变化 贺雪濛, 丁丽丽, 张璐璐, 顾卓江, 任洪强 (1782)

1株铜绿假单胞菌对苊的降解特性及代谢途径 李想, 张雪英, 周俊, 宋军, 王建刚, 雍晓雨, 贾红华 (1794)

铜尾矿库坝面土壤微生物群落动态的驱动因子 李磊, 景炬辉, 刘晋仙, 柴宝峰 (1804)

垦殖对桂林会仙喀斯特湿地土壤养分与微生物活性的影响 黄科朝, 沈育伊, 徐广平, 黄玉清, 张德楠, 孙英杰, 李艳琼, 何文, 周龙武 (1813)

黄土丘陵区退耕还林还草对土壤细菌群落结构的影响 陈孟立, 曾全超, 黄懿梅, 倪银霞 (1824)

河岸带表层土壤的铁氨氧化(Feammox)脱氮机制的探究 丁帮环, 李正魁, 朱鸿杰, 陈湜, 覃云斌, 杨建华, 胡优优 (1833)

藏猪扰动作用下的高寒草甸土壤退化特征及微生物群落结构变化 展鹏飞, 肖德荣, 闫鹏飞, 刘振亚, 马金成, 陈志明, 格茸, 田伟, 王行 (1840)

深圳湾典型红树植物根表铁膜及其重金属富集特征 沈小雪, 李瑞利, 柴民伟, 邱国玉 (1851)

香港周边海域野生鱼体内DDTs和PCBs的含量分布和食用风险评估 苏杨, 鲍恋君, 曾永平 (1861)

偏远高山湿地土壤中PAHs污染特征:以神农架大九湖为例 胡天鹏, 邢新丽, 柯艳萍, 毛瑶, 黎荧, 郑煌, 喻月, 张家泉, 祁士华 (1872)

西南地区典型森林水库土壤和沉积物汞的迁移转化特征 孙涛, 马明, 王永敏, 安思危, 王定勇 (1880)

广西西江流域土壤镉含量特征及风险评估 宋波, 杨子杰, 张云霞, 王佛鹏, 周浪, 李黎, 钟雪梅 (1888)

长期施肥对旱地红壤及作物中砷累积的影响 张蓉, 余光辉, 李亚青 (1901)

三元土壤调理剂对田间水稻镉累积转运的影响 辜娇峰, 周航, 贾润语, 王倩倩, 李虹呈, 张平, 彭佩钦, 廖柏寒 (1910)

稻田土壤性质与水稻镉含量的定量关系 王梦梦, 何梦媛, 苏德纯 (1918)

钙基膨润土辅助对堆肥及土壤Cu、Zn形态转化和白菜吸收的影响 赵军超, 王权, 任秀娜, 李荣华, Mukesh Kumar Awasthi, Altaf Hussain Lahori, 张增强 (1926)

外源碳和氮输入对降水变化下土壤呼吸的短期影响 贺玉龙, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 闫钟清, 李兆林, 王丽芹 (1934)

模拟降水量减少对大豆-冬小麦轮作农田土壤呼吸的影响 王朝辉, 陈书涛, 孙鹭, 胡正华 (1943)

紫色土丘陵区农田源头沟渠一氧化氮排放的季节差异及影响因素 田琳琳, 任光前, 朱波 (1952)

季节非对称升温对喀斯特土壤CO₂释放的影响 唐国勇, 张春华, 刘方炎, 李昆, 马艳 (1962)

《环境科学》征订启事 (1472) 《环境科学》征稿简则 (1511) 信息 (1755, 1839, 1925)

藏猪扰动作用下的高寒草甸土壤退化特征及微生物群落结构变化

展鹏飞¹, 肖德荣¹, 闫鹏飞¹, 刘振亚¹, 马金成², 陈志明², 格茸², 田伟², 王行^{1,3*}

(1. 西南林业大学国家高原湿地研究中心/湿地学院, 昆明 650224; 2. 云南香格里拉市纳帕海湿地管理局, 迪庆 674400; 3. 浙江大学环境与资源学院环境科学研究所, 杭州 310058)

摘要: 微生物作为土壤生态系统的重要组成部分, 对环境干扰异常敏感, 可以反映土壤的健康状况. 人类活动导致高寒泥炭土壤面临退化风险, 生产力下降、碳汇功能丧失, 进而影响土壤微生物的群落结构及多样性. 藏猪放牧是我国高海拔藏区一种特有的放牧方式, 是导致高寒草甸土壤退化的重要干扰因素之一. 应用 16S rRNA 高通量测序技术对比分析了藏猪放牧干扰和对照(无藏猪放牧)条件下的滇西北高寒草甸泥炭土壤微生物群落结构变化及其对干扰的响应特征. 结果表明, 藏猪放牧导致土壤微生物 α 多样性显著降低, 且群落结构发生明显变化. 高寒草甸泥炭土壤的主要优势菌为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi). 与门水平相比, 干扰前后土壤微生物在属水平上的差异更明显, 其中鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和薄层菌属(*Hymenobacter*)的相对丰度在干扰后的土壤中显著增加, 而硝化螺菌属(*Nitrospira*)和红游动菌属(*Rhodoplanes*)则显著降低. Venn 图分析进一步发现, 干扰与对照土壤样品中分别有 71 和 136 个核心 OTU. 干扰条件下的土壤特有微生物主要包括伯克霍德氏菌(Burkholderiales)、假单胞菌(Pseudomonadales)、鞘脂单胞菌(Sphingomonadales)等, 这些微生物主要聚集在目水平, 可以作为干扰条件下的指示微生物. CCA 排序表明, 硝化螺菌属和红游动菌属的微生物对含水率、速效磷、有机质等土壤环境变量的响应较为敏感. 该研究结果为揭示高寒草甸泥炭土壤退化与微生物群落结构及多样性之间的关系提供了理论借鉴.

关键词: 高寒草甸; 泥炭地; 16S rRNA; 藏猪; 放牧; 土壤微生物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)04-1840-11 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201708225

Soil Degradation-Associated Microbial Community Structure Changes in an Alpine Meadow Under Tibetan Pig Herding

ZHAN Peng-fei¹, XIAO De-rong¹, YAN Peng-fei¹, LIU Zhen-ya¹, MA Jin-cheng², CHEN Zhi-ming², GE Rong², TIAN Wei², WANG Hang^{1,3*}

(1. National Plateau Wetlands Research Center/College of Wetlands, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Napa Lake Wetland Management Bureau in Shangrila City, Diqing 674400, China; 3. Institute for Environment Science, College of Environment & Resource Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Anthropogenic activities lead to a high risk of peatland degradation in the alpine regions. Along with the declined plant productivity and the impaired functioning of the soil carbon sink, the diversity and structure of soil microbial communities are also affected in a degraded peatland ecosystem. Tibetan pig herding is a unique peatland management strategy, which can significantly affect the peatland ecosystem, but it has been rarely studied. The changes in the microbial community structure and its responses to disturbances were studied using a 16S rRNA high throughput sequencing technique in an alpine meadow peatland under Tibetan pig herding disturbance and under control (without Tibetan pig herding) in the Northwestern Yunnan province. The results showed that Tibetan pig herding significantly reduced the α diversity of soil microbes, and the soil microbial community structures were significantly changed by pig herding. The soil microbial communities in the peatland soils were dominated by Proteobacteria, Acidobacteria, and Chloroflexi. Compared with those at the phylum level, the changes at the genus level under pig disturbance were more obvious. It was seen that the relative abundances of *Sphingomonas* and *Hymenobacter* significantly increased, while the abundances of *Nitrospira* and *Rhodoplanes* significantly decreased under pig herding. Venn diagram analysis revealed that there were 71 and 136 core OTUs in the soil under pig herding and in the control group soil, respectively. Burkholderiales, Pseudomonadales, and Sphingomonadales were the main taxa exclusively found under Tibetan pig herding, and could serve as indicators of soil disturbance. CCA ordination further showed that the distribution of *Nitrospira* and *Rhodoplanes* were mainly controlled by soil moisture, available phosphorus, and organic matter contents. Our findings provide an insight into the linkages between the soil microbial communities and the degradation of peatlands in

收稿日期: 2017-08-27; 修订日期: 2017-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31500409, 31370497); 云南省应用基础研究计划项目(2015FD026); 云南省高原湿地科学省创新团队项目(2012HC007)

作者简介: 展鹏飞(1992~)男, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤学以及微生物生态, E-mail: zhanpengfei@163.com

* 通信作者, E-mail: hwang17@163.com

alpine regions.

Key words: alpine meadow; peatland; 16S rRNA; Tibetan pig; herding; soil microorganism

土壤微生物是草地生态系统的重要组成部分,推动着整个环境中物质和能量的流动和转移,它对维持高寒草甸生态系统稳定具有深远影响^[1].由于土壤微生物对土壤环境条件的变化异常敏感,因此微生物群落结构不仅可以作为衡量草地生态环境功能的指标,也能够较好地指示草地生态系统的健康变化^[2].高寒草甸中分布有大量的泥炭地,是重要的碳“汇”,微生物群落代谢直接关系到泥炭土壤中有机碳的降解和转化,以及泥炭的沉积速率^[3].然而,受不同土地管理制度、人为开采以及放牧等干扰的影响,泥炭地功能逐渐丧失,进而导致泥炭地土壤微生物的数量、结构、组成和功能发生变化.大量研究显示,外界干扰会改变土壤理化结构进而影响土壤微生物群落结构,对土壤健康构成威胁^[4].

放牧是草地的主要利用方式之一,主要通过牲畜的采食、践踏、卧息和排泄粪便等方式对地表植被、土壤养分以及土壤微生物产生影响^[5].藏猪扰动型放牧是目前仅存在于我国海拔3 000~4 000 m 西藏自治区的一种特有放牧方式,是当地藏民生产、生活的一部分.藏猪放牧主要采取散养模式,在白天散养状态下不进行人工投食,藏猪主要依靠取食高寒草甸植物茎叶以及地下草根层生活,晚上关入猪圈后会进食一部分牧草和水分.在散养状态下,藏猪对原位土壤进行剧烈翻拱,一方面破坏地表植物造成亚表层土壤裸露,另一方面破坏地下草根层造成土壤结构发生改变^[6].藏猪放牧干扰增加了土壤有机质矿化和养分流失,造成土壤板结,进而可能影响微生物的组成、结构及多样性,增加土地退化风险^[7].土壤微生物的数量和群落功能多样性能够在一定程度上指示土壤质量及其可持续利用性,作为土壤退化的指示生物之一,能够指示草地生态环境和生态系统功能的变化^[8].因此,研究掌握土壤微生物与藏猪放牧的关系对增强草原生态系统保护、恢复及重建工作具有重要的理论和实践意义.

近年来,对草地生态系统土壤微生物多样性的研究主要集中在牛羊放牧方式下的土壤环境因子、微生物数量及时空分布变化分析^[9].与牛羊放牧相比,其他生物或人为直接作用的强干扰过程将加速土壤肥力衰退,导致生产力下降,引起更加严重的

生态问题.在以往研究中对强生物干扰下的土壤微生物多样性和群落结构变化的报道相对较少,尤其以藏猪扰动型放牧为代表的土壤微生物群落变化和土壤退化特征研究尚未见诸报道.本文以滇西北高寒草甸为研究对象,通过对猪拱强干扰下的土壤理化指标进行分析,探讨了土壤微生物的多样性变化特征和强生物扰动型放牧下土壤微生物群落结构组成特征,进一步对核心群落进行比较,鉴定出强扰动下的指示微生物,并将它们与土壤退化因子进行耦合分析,揭示出对环境变化较为敏感的微生物,以期高寒草甸生态系统的保护、恢复及重建提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

纳帕海位于青藏高原东南缘、横断山脉中段的香格里拉市境内(27°49'~27°55'N, 99°37'~99°41'E),平均海拔3 260 m,面积3 100 hm²(图1).区域气候属寒温带高原季风气候区,冬季受青藏高原冷空气的影响,年均温仅为5.4℃,水量补给主要靠降雨.纳帕海四面环山,生态系统相对独立,从北向南依次为湖泊、沼泽、沼泽化草甸、陆生草甸等景观类型^[10].区域生境寒冷,植物凋落物分解缓慢,有机质在土壤中大量积累,土壤坡面下发生潜育化和泥炭化过程,形成典型的季节性淹水沼泽化草甸等类型.

1.2 样地设置与采样

根据统计年鉴,2008年以前纳帕海藏猪放牧规模较小,且多以圈养为主,2008年以来随着市场对藏猪需求增加,散养藏猪数量剧增,在综合管控下,纳帕海藏猪的载畜量平衡在115头·km⁻²,超出当地实际承载力(40头·km⁻²),放牧面积约占整个纳帕海面积的5%左右^[11].此次调查区域位于布伦草原,该区域属于沼泽化草甸,土壤类型为泥炭土(泥炭深度1.0~1.5 m),季节性淹水,土壤母质为高度发育的泥炭层,区域均靠近居民点附近,白天散养状态下的放牧时长为每天5.5 h.依据姚茜等^[7]的研究结果,于2016年5月生长盛期在每个区域内调查藏猪扰动较为明显、扰动深度在5~8 cm的猪拱景观斑块(平均扰动次数达2~3次,属典型猪拱斑块),随机设置0.5 m×0.5 m的样方.

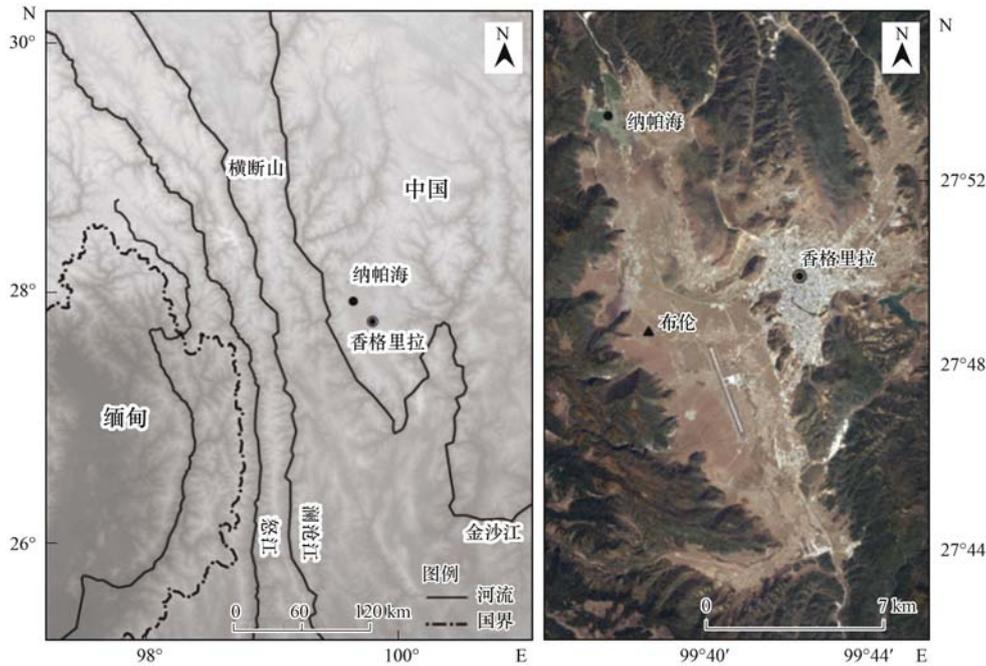


图 1 纳帕海区位图与采样区域示意

Fig. 1 Geographic locations of Napahai and the sampling sites

通过严格筛选典型猪拱斑块, 确保干扰强度的一致性. 在猪拱斑块内随机设置 12 个样方, 每个样方间隔 3~4 m. 在每个样方内, 利用对角线多点(共 5 点)混合取样的方法对 0~10 cm 表层土壤进行采样. 在猪拱斑块内设置样方的同时, 选取临近位置分别设置 12 个对照样方(无藏猪翻拱区). 结合现场调查、高分卫星遥感影像数据判读以及草根层发育状况分析, 确保所选取的对照样方在历史上没有被藏猪干扰过, 能够反映该区域的长期放牧效应(共 8 a). 另外, 对照样方与藏猪扰动样方区位临近, 具有相对一致的气候、水文与地貌特征.

1.3 土壤样品理化生指标分析

在每个调查样方中分别齐地刈割 25 cm × 25 cm 植株, 同时挖取地下部分带回实验室放置于 65℃ 的烘箱中烘干至恒重, 用电子天平分别进行称重. 土壤理化性质测定参照鲍士旦^[12] 的土壤农化分析方法, 其中, 有机质采用重铬酸钾容量法; 全氮采用半微量凯氏定氮法; 速效磷采用碳酸氢钠浸提钼锑抗比色法; pH 值采用酸度计法. 利用环刀法一次性连续测量土壤容重、总孔隙度、土壤含水率等基本理化指标. 参照文献^[13], 土壤微生物量碳利用氯仿熏蒸法进行测定.

1.4 土壤细菌 DNA 提取与 PCR 扩增

土壤样品总 DNA 采用 Power soil DNA Isolation Kit(MOBIO 公司, 美国)试剂盒进行提取, 每个样

方中采集 1 个土壤样品的混合样, 12 个样方分别对应 12 个 DNA 样品. 利用 Nanodrop 2000c 检测 DNA 的质量, 之后进行细菌 16S rRNA 基因的 PCR 扩增. 扩增引物为 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGC AG) 和 806R (GACTACHVGGGTWTCTAAT). PCR 反应条件为: 98℃ 预变性 3 min; 98℃ 变性 30 s; 50℃ 退火 30 s; 72℃ 延伸 30 s; 27 个循环; 72℃ 后保温 5 min, 于 4℃ 保存. 电泳 PCR 产物使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 进行切胶回收纯化, 之后根据电泳初步定量结果, 将回收纯化的 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega, 美国) 进行检测定量. 根据定量结果和测序量要求, 取 PCR 产物构建测序文库. 构建好的文库在 Illumina PE300 测序平台上进行测序操作.

1.5 数据处理和统计分析

细菌 16S rRNA 基因序列利用 Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) 平台进行分析. 首先对双向序列进行拼接, 检查其中存在测配错误的序列, 去除嵌合体序列, 得到高质量的序列进行下一步分析. 根据 UCLUST 按照 97% 相似性将全部基因序列聚类, 去除 singleton 的 OTU, 得到代表性 OTU 序列. 应用软件 Mothur 中的 summary.single 命令, 计算种群丰富度 Chao1 指数、PD whole tree 指数、Shannon 和 Simpson 多样性指数, 利用 Weighted Unifrac PCoA 对物种 β 多样性进行分析.

将代表性 OTU 序列与 RDP 参考数据库对比, 得到物种信息, 然后分别在门、属水平进行分析得到物种分布图. 在此基础上, 通过 Venn 图找到核心群落, 并对核心群落的功能进行比较. 运用 Canoco 4.5 生态学多元统计分析模型分析样本的空间差异特征, 利用蒙特卡洛置换检验分析环境因子对微生物群落影响的显著性水平, 用典型对应分析 (CCA) 找出对环境变化敏感的微生物. 使用 SPSS 软件进行统计分析, 研究土壤生化指标与多样性指数、物种丰度在 $P = 0.05$ 水平上的统计差异性.

2 结果与分析

2.1 藏猪扰动下的植物生物量与土壤理化指标

由表 1 可知, 与对照相比, 藏猪干扰明显降低了植物地下生物量和土壤含水率 ($P < 0.05$), 提高了土壤容重. 藏猪干扰过后的土壤地上生物量、容重、有机质、活性有机碳、速效磷指标的变化与对照相比边际显著 ($P < 0.1$). 受猪拱扰动后的土壤 pH、总氮、以及土壤微生物生物量碳等指标呈现降低趋势, 但处理间无显著差异 ($P > 0.05$).

表 1 植物生物量指标与土壤理化指标

Table 1 Plant biomass and the basic physico-chemical indicators of soils

| 项目 | 参数 | 处理 | | P |
|---------|-----------------------------|---------------|---------------|-------|
| | | 干扰组 | 对照组 | |
| 植物生物量指标 | 地上生物量/g | 56.6 ± 61.2 | 67.7 ± 54.8 | 0.084 |
| | 地下生物量/g | 0.55 ± 1.44 | 364 ± 464 | 0.020 |
| 土壤理化指标 | pH | 7.37 ± 0.300 | 7.12 ± 0.428 | 0.114 |
| | 含水率 | 0.591 ± 0.096 | 0.673 ± 0.052 | 0.014 |
| | 容重/g·cm ⁻³ | 1.00 ± 0.224 | 0.845 ± 0.203 | 0.081 |
| | 有机质/g·kg ⁻¹ | 370 ± 25.3 | 414 ± 69.9 | 0.059 |
| | 活性有机碳/g·kg ⁻¹ | 12.2 ± 3.39 | 15.0 ± 3.67 | 0.060 |
| | 总氮/g·kg ⁻¹ | 1.34 ± 0.77 | 1.42 ± 0.63 | 0.762 |
| | 速效磷/mg·kg ⁻¹ | 17.9 ± 12.5 | 38.6 ± 34.3 | 0.063 |
| | 微生物生物量碳/mg·kg ⁻¹ | 30.8 ± 20.4 | 46.8 ± 27.1 | 0.118 |

2.2 藏猪扰动下土壤微生物群落多样性分析

2.2.1 α 多样性

由表 2 可知, 对照中检测到 OTU 数目为 3 064 个, 藏猪干扰下的物种数减少到 2 152 个. 与对照相比, 藏猪干扰下的土壤微生物 Chao1 与 PD whole tree 指数分别显著 ($P < 0.001$) 降低了 29.4% 和 23.6%. Shannon 与 Simpson 指数也表现出相似的规律, 可见藏猪放牧导致土壤微生物多样性显著下降.

稀释曲线反映了样品的取样深度, 可以用来评

价测序量是否足以覆盖所有类群. 从图 2(a) 可以得知, 随着测序深度增加, 不同处理下的土壤样品稀释曲线基本趋于平缓, 能够较为真实地反映出样本中的微生物群落结构. 总体上, 平均每个样本的测序深度达 45 000 条序列, 对照中曲线平台期出现时间较为滞后, 表明土壤微生物种类更为丰富. Rank-Abundance 曲线 [图 2(b)] 进一步揭示了物种的丰度和均匀度. 在水平方向上, 对照中的土壤样品物种丰度大于干扰下的土壤, 且对照中的曲线更为平滑, 微生物物种分布更为均匀.

表 2 干扰土壤与非干扰土壤微生物 α 多样性指数分析

Table 2 The α diversities of the microbial communities in pig disturbed and undisturbed soils

| 处理 | 检测到的 OTU 数目 | | Chao1 指数 | | Shannon 指数 | | Simpson 指数 | | PD whole tree | |
|-----|-------------|--------|----------|--------|------------|-------|------------|-------|---------------|--------|
| | 平均值 | P | 平均值 | P | 平均值 | P | 平均值 | P | 平均值 | P |
| 干扰组 | 2 152.41 | <0.001 | 3 233.95 | <0.001 | 8.00 | 0.007 | 0.964 | 0.094 | 129.14 | <0.001 |
| 对照组 | 3 064.25 | | 4 577.05 | | 9.36 | | 0.994 | | 169.64 | |

2.2.2 β 多样性

Weighted Unifrac PCoA 分析表明 (图 3), 干扰与对照区分明显, 组间 (between-subject) 样本空间距离达 0.197, 干扰和对照样品之间的微生物群落组成具有较大差异. 排序结果较好地反映了土壤微生物群落在干扰和对照中的整体状况, 且区分度

较高.

2.3 藏猪扰动下土壤微生物群落结构分析

2.3.1 土壤样品在门、属分类水平上各群落结构分析

在门分类水平上 [图 4(a)], 两种处理方式下微生物群落具有显著差异, 对照样品中, 优势群落

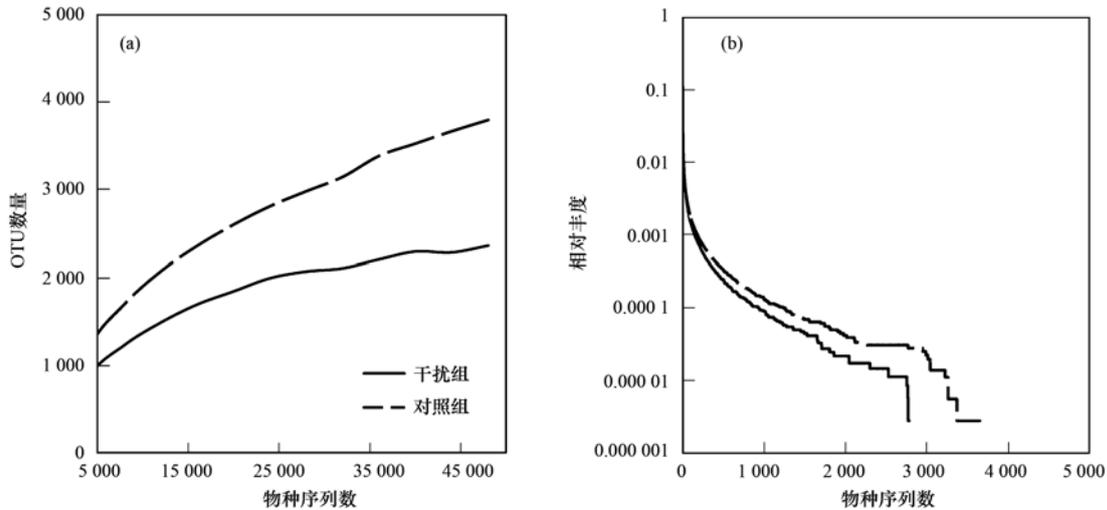
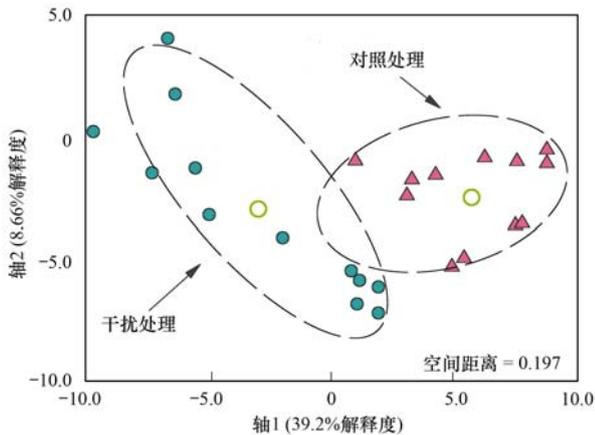


图2 物种相对丰度稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of species relative abundances

图3 干扰与非干扰土壤微生物群落结构 β 多样性分析Fig. 3 The β diversities of the microbial communities in pig disturbed and undisturbed soils

为变形菌 (Proteobacteria, 32.6%)、酸杆菌 (Acidobacteria, 22.9%) 和绿弯菌 (Chloroflexi, 19.6%)。而在干扰下土壤微生物优势群分别为变形菌 (45.33%)、拟杆菌 (Bacteroidetes, 18.2%)、酸杆菌 (13.5%)。与对照相比, 变形菌和拟杆菌在干扰土壤中显著增多, 分别增加了约 35.0% 和 84.7%。在属分类水平 [图 4(b)], 干扰和对照中的土壤微生物群落结构差异性更为显著。与对照比较, 藏猪干扰下的土壤微生物中拥有更多的鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*, 22.7%) 和薄层菌 (*Hymenobacter*, 18.6%), 而在对照下硝化螺菌 (*Nitrospira*, 38.0%)、红游动菌 (*Rhodoplanes*, 33.3%) 占优势。

2.3.2 OTU 分布特征分析

利用 Venn 图可以展示出样本 OTU 数目组成的

相似性及重叠状况, 从而找到对照和干扰下的核心微生物群落。对照中共发现 136 个 OTU, 约占总数的 13.5% [图 5(b)], 而在干扰下 [图 5(a)], 共发现 71 个 OTU, 约占总数的 6.90%, 放牧干扰导致核心微生物数量降低了 47.8%。进一步对核心群落进行 Venn 分析, 得出 OTU 在两种处理下的重叠状况 [图 5(c)]。研究发现, 仅在对照中发现的特有微生物 OTU 数目为 120 个, 仅在干扰中发现的特有微生物 OTU 数目为 55 个。

2.3.3 关键指示微生物分析及相关功能列表

进一步对对照与干扰中特有 OTU 进行分析, 揭示各处理下的关键指示微生物物种信息。分析发现, 在对照中存在大量“unclassified”微生物, 其他优势菌包括酸微菌目 (Acidimicrobiales, 5.40%)、红螺菌目 (Rhodospirillales, 5.33%) 以及粘球菌目 (Myxococcales, 4.92%) 等 [图 6(b)]。通过文献对比, 进一步对它们的功能进行解析 (表 3), 酸微菌参与土壤生物降解; 红螺菌作为一类反硝化菌, 起着降解环境或土壤中污染物的功能; 粘球菌可以同化利用根际植物源碳, 它是一类抵御植物病害和具有生物防治功能的微生物。

在干扰中存在的特有微生物主要包括伯克霍德氏菌目 (Burkholderiales, 23.4%)、假单胞菌目 (Pseudomonadales, 16.6%)、鞘脂单胞菌目 (Sphingomonadales, 10.0%)、放线菌目 (Actinomycetales, 5.74%)、柄杆菌目 (Caulobacteriales, 5.60%) 以及鞘脂杆菌目 (Sphingobacteriales, 4.90%) [图 6(a)]。其中伯克霍德氏菌具有固氮和生物病害防治功能, 它产生的

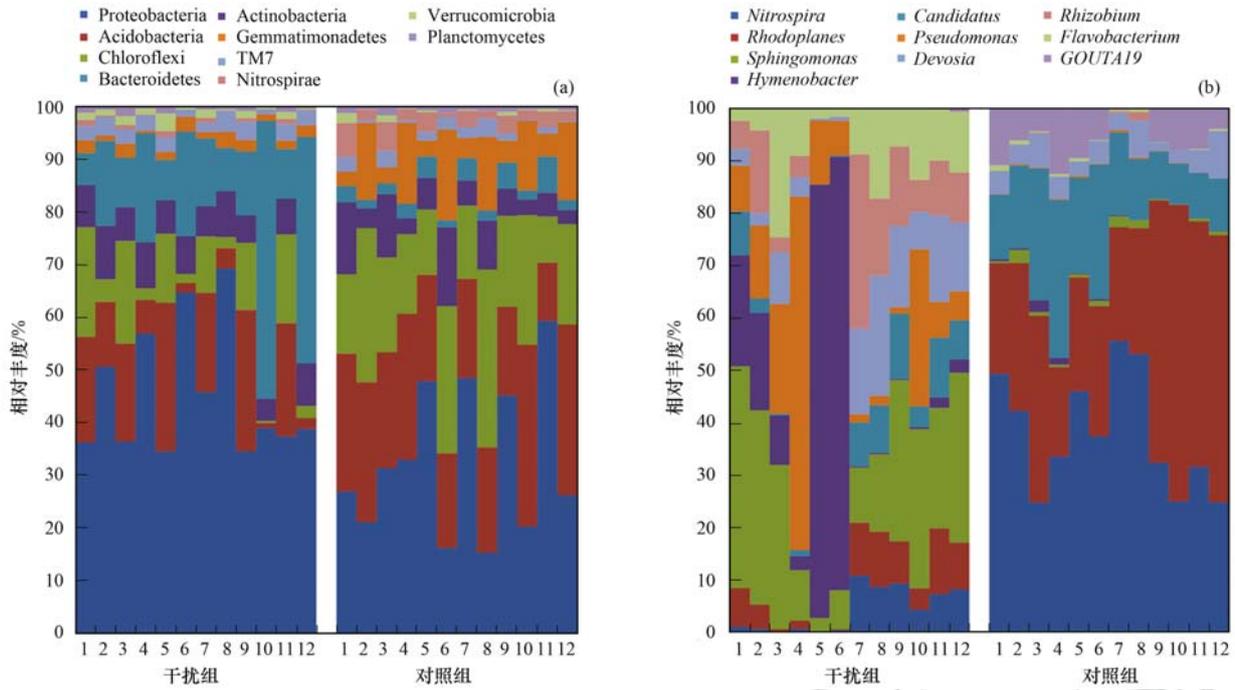


图 4 土壤微生物在门和属分类水平上的群落结构特征

Fig. 4 Soil microbial community compositions at the phylum and genus levels

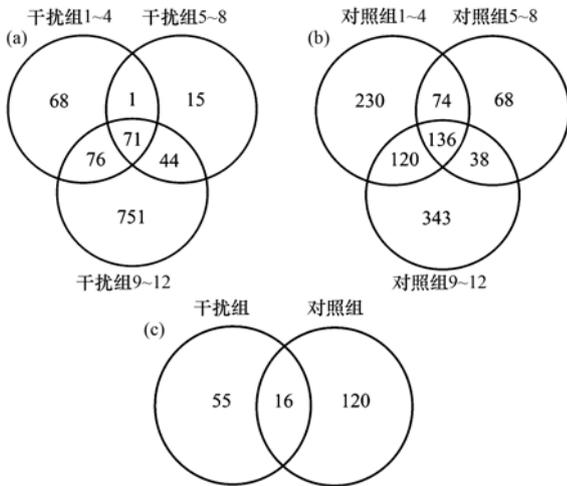


图 5 微生物 OTU 分布 Venn 图

Fig. 5 Venn chart of microbial OTU distributions

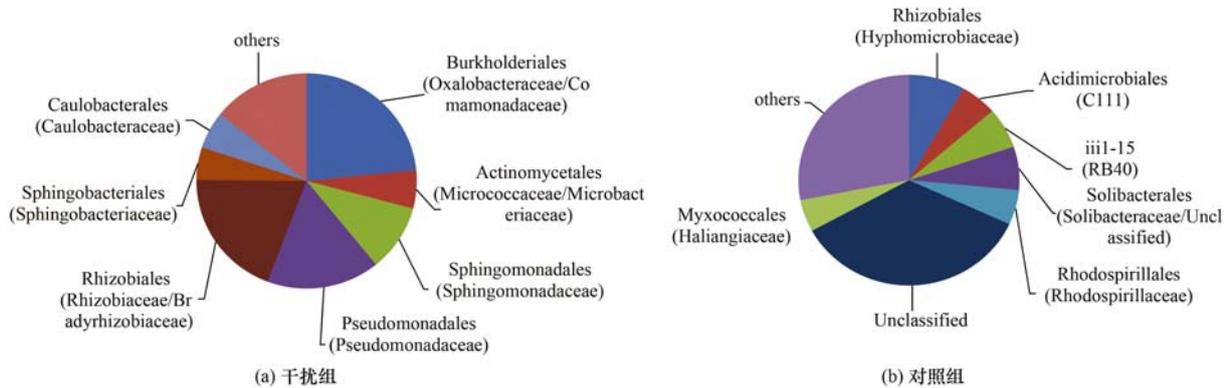


图 6 干扰与非干扰土壤核心微生物群落结构特征

Fig. 6 Core microbial community structures exclusively-found in pig disturbed and undisturbed soils

挥发性有机化合物可以抑制植物病原真菌菌丝的生长，并把有毒代谢物质作为碳源、氮源利用从而将其降解；假单胞菌适于在寒冷的极端环境中生存，具有解磷，联合固氮的作用；鞘脂单胞菌参与产氢、固氮、分解有机物等土壤物质循环过程，在修复土壤污染、降解大分子物质并在生物防治功能等方面发挥着积极作用；而放线菌作为一种寄生菌，可以对土壤污染物进行降解，它同时具有物种多样性和代谢多样性的属性，在自然界物质循环和提高土壤肥力等方面有着重要的作用。除此之外，在干扰土壤中发现的特有微生物还包括具有同化利用根际植物源碳的鞘脂杆菌；耐寒、嗜冷且黏附于细菌、藻类、吸收其营养的柄杆菌。由此表明，在干扰胁迫下优势微生物的群落结构及功能发生转变，

表 3 核心微生物相关功能

Table 3 Core microbes and their related functions

| 处理 | 菌种 | 主要功能 | 所占比例/% |
|-----|--------------------------|--|--------|
| 干扰组 | Burkholderiales 伯克霍德氏菌目 | 对植物的发育既有促进作用也有抑制病害的作用, 具有生物防治、促进植物生长和生物修复等功能 ^[14] 把有毒代谢物质作为碳、氮源利用从而将其降解, 并有固氮潜力 ^[15] 产生挥发性有机化合物抑制植物病原真菌菌丝的生长 ^[16] | 23.4 |
| | Rhizobiales 根瘤菌目 | 共生固氮, 驱动碳氮循环的功能微生物 ^[17] | 19.3 |
| | Pseudomonadales 假单胞菌目 | 解磷, 联合固氮 ^[17] . 更利于在寒冷的极端环境中生存 ^[18] | 16.6 |
| | Sphingomonadales 鞘脂单胞菌目 | 参与产氢、固氮、分解有机物等土壤物质循环过程. 修复土壤污染, 具有固氮功能、降解大分子物质并兼有生物防害功能的菌 ^[19,20] . 对植物碳源, 土壤固氮均加以利用 ^[16] | 10.0 |
| | Actinomycetales 放线菌目 | 寄生菌, 对土壤污染进行降解, 具有物种多样性和代谢多样性 ^[21] 能产生众多的抗生素和具有生物活性的次生代谢产物, 分解能力强, 在自然界物质循环和提高土壤肥力等方面有着重要作用 ^[22] . | 5.74 |
| | Caulobacterales 柄杆菌目 | 粘附于细菌, 藻类, 吸收其营养, 耐寒嗜冷 ^[18] | 5.60 |
| | Sphingobacteriales 鞘脂杆菌目 | 反硝化菌 ^[23] , 同化利用根际植物源碳 ^[16] | 4.90 |
| | Rhizobiales 根瘤菌目 | 共生固氮, 驱动碳氮循环的功能微生物 ^[17] | 8.26 |
| | Acidimicrobiales 酸微菌目 | 具有降解功能的细菌 ^[24] | 5.40 |
| | Rhodospirillales 红螺菌目 | 反硝化菌, 降解环境或土壤中的污染物 ^[25] | 5.33 |
| 对照组 | Myxococcales 粘球菌目 | 抵御植物病害和生物防治, 同化利用根际植物源碳 ^[16,26] | 4.92 |

以更好地适应外界环境条件改变, 并发挥积极作用.

2.4 藏猪干扰下微生物群落结构与环境因子的相关性分析

CCA 排序统计结果(图 7)反映了在属分类水平上不同丰度的土壤微生物对土壤条件的相似适应性以及土壤微生物与土壤理化因子在梯度上的分布

格局. 第一轴特征值为 54.1%, 包含了大部分的土壤环境信息和微生物群落信息, 可以较好地解释各环境因子以及样本之间的关系. 其中, 地上生物量对微生物群落结构的影响最为显著 ($P < 0.05$), 除此之外, pH 值和土壤有机质的影响达到边际显著水平 ($P < 0.1$). 按物种来分, 红游动菌属 (*Rhodoplanes*)、硝化螺菌属 (*Nitrospira*) 等分布较为

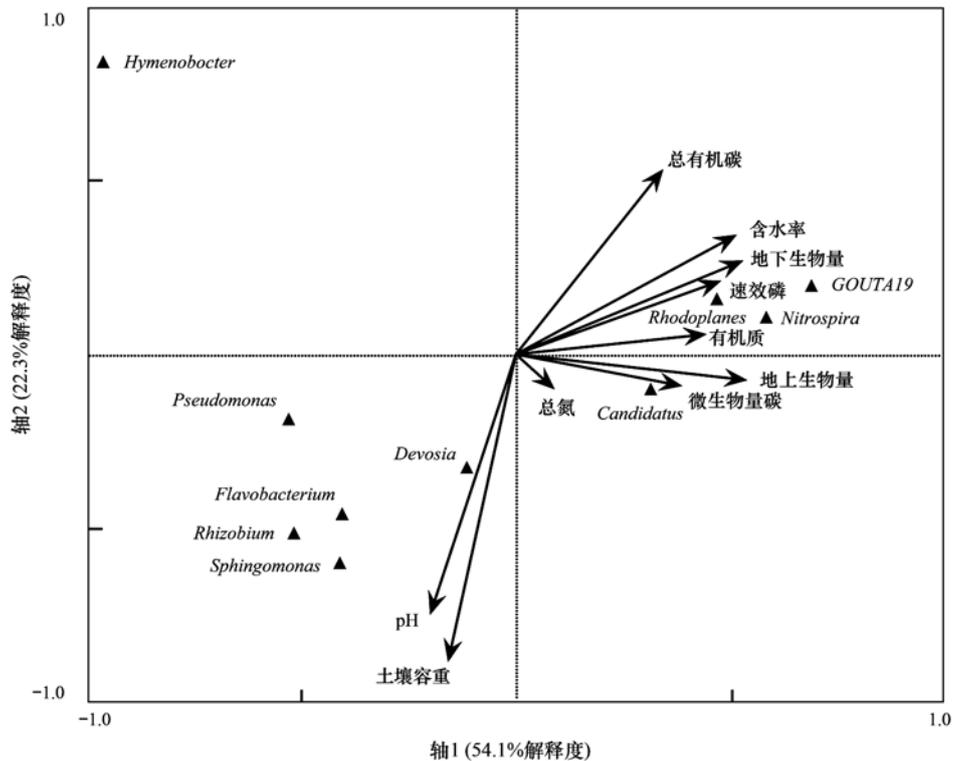


图 7 微生物属水平群落结构与环境因子的 CCA 分析

Fig. 7 CCA analyses linking the environmental factors and microbial community structures at the genus level

集中且与含水率、速效磷、有机质以及地上、地下生物量等环境因子所形成的夹角较小,由此表明土壤中这些微生物对土壤环境因子的响应较为敏感。

3 讨论

3.1 泥炭地土壤微生物群落结构典型特征

土壤微生物分布及其变化在不同土壤类型中存在显著差异。有研究发现,若尔盖泥炭沼泽退化湿地 4 种不同土壤类型中的微生物总数变化趋势表现为泥炭土 > 草甸土 > 沼泽 > 风沙土^[27]。此次采样点为典型高寒草甸泥炭沼泽土,对照中(藏猪未干扰)检测到的微生物物种数较多,且物种分布更为均匀,这与前人的研究结果一致。Kraigher 等^[28]对泥炭沼泽中的微生物进行研究发现,土壤有机碳与土壤微生物生物量成正比。在本研究中,对照泥炭土壤样品中的总有机碳含量较高,进而微生物生物量碳的含量也较高。靳亮等^[29]对尕斯库勒湖湿地泥炭微生物多样性分析后发现,样品中 Chao1 和 Shannon 指数分别为 605 和 5.62,而本研究发现对照泥炭土壤样品的 Chao1 和 Shannon 指数分别为 4577 和 9.36,可见高寒草甸泥炭土壤微生物物种总数更为丰富且群落多样性更高。

在相同的土壤类型中,发现不同地区的泥炭土壤微生物群落结构具有一致性。唐杰等^[30]对若尔盖高原泥炭湿地不同退化阶段的土壤微生物群落多样性研究发现,变形菌纲和拟杆菌门为土壤微生物中的优势类群。而本研究发现在门水平上,对照土壤中的优势菌群为变形菌(32.6%)、酸杆菌(22.9%)、绿弯菌(19.6%)。对比前人研究结果,在不同地区的泥炭地中都发现变形菌为土壤的优势菌。同时,陈伟等^[31]发现纳帕海泥炭地土壤样本中的优势菌群为变形菌门、绿弯菌门和放线菌门,这也与本研究结果十分接近。其中,绿弯菌是一类具有绿色的色素,通过光合作用产生能量的细菌。纳帕海高原湿地是我国境内高海拔低纬度的地区,常年光照时间长,特殊的地理区域为绿弯菌等微生物的繁殖和生长创造了有利条件。

滞水性是高寒草甸生态系统的主要特征,土壤水分增加导致泥炭土壤通气性变差,减缓有机质分解速率,使有机质及其他一些营养元素更易于累积^[32]。本研究发现,无干扰的对照土壤中水分含量较高,相应的有机质含量也较高。同时,田应兵等^[33]对若尔盖湿地进行研究时发现,土壤水分含量与土壤有机碳、全氮等含量成正相关性,这也与

本研究中水分较高的对照土壤具有相同的规律。土壤 pH 是微生物群落结构的影响因素之一,能够对细菌群落多样性产生显著影响^[34]。笔者发现,pH 偏中性的泥炭地对照土壤中的硝化螺菌属、红游动菌属占有较高的比例,而这两种细菌分别具有硝化与反硝化的功能。它们的生存需要一个较为稳定的土壤酸碱环境,pH 偏酸或偏碱都不利于这两种菌的生长,这可能是导致其成为优势菌落的原因之一。除此之外,在高原高寒泥炭土壤中依然存在大量人类未知的微生物物种,这些微生物在目前已有的测序手段下还不太清楚,它们在推动土壤发生、发育等方面可能扮演着重要的角色,仍需要人们进一步探索。

3.2 放牧扰动作用下的土壤微生物群落及多样性变化

高寒草甸区域放牧、土地利用方式改变、矿物开采等干扰过程均对土壤微生物产生深刻影响^[35],而过度放牧则会引起土壤微生物群落结构的显著改变^[36]。有学者在对轻度牛羊放牧下的土壤微生物多样性研究发现,Chao1 和 Shannon 指数下降不明显^[37],可见轻度牛羊干扰不足以使微生物多样性发生变化。猪拱干扰破坏了土壤的物理结构,导致物种群落结构变化显著,土壤微生物群落多样性显著降低,同时也为一些新的微生物生长创造了环境。Wardle 等^[38]认为同一地区植物群落能够维持的微生物生物量差异明显。笔者发现植被覆盖率较低的猪拱土壤中,微生物生物量碳的含量也较低。为此推测,植物群落以及归还给土壤的植物残体数量和质量的差异,是造成土壤微生物生物量变化的重要原因。同时,陈懂懂等^[39]对牛羊放牧条件下高寒草甸土壤微生物研究发现,植物生物量、土壤养分与微生物生物量之间相关性并不显著,这与本实验对猪拱干扰放牧的研究结果有所不同。分析其原因,这可能与生态系统的干扰差异有关,牛羊放牧条件下,植物和土壤微生物之间存在对土壤碳氮元素的竞争。而在藏猪强干扰下,植被凋落物和根残余量不断减少、土壤肥力降低,从而限制了微生物的生长及其对土壤碳氮元素的累积,彼此相关性更为明显。高雪峰等^[40]以内蒙古典型草原为研究对象,发现牛羊践踏为代表的轻度放牧甚至促进了土壤微生物生物量碳的增加,比无放牧活动的区域反而增加了 55.2%。而本研究发现,藏猪放牧限制了土壤养分的分解与转化,与对照相比,藏猪放牧干扰下检测到的土壤微生物物种数目降低了 29.8%,

且微生物生物量碳也明显减少了 34.2%，这与赵吉^[41]对强干扰放牧下微生物数量下降 30.0% 的研究结果一致。随着草地生产力下降、土壤有机质来源减少，显著影响了微生物的生存与繁殖。另外，在猪拱强干扰下，土壤容重增加、通气性变差，也是导致微生物数量减少的原因。

王少昆等^[42]对不同强度放牧后的土壤微生物分布特征研究发现，适度的牛羊放牧有利于微生物的生长繁殖，微生物的活动会分泌一些植物生长所必需的营养物质和生长元素，从而促进退化草场的恢复。根据“中度干扰理论”，适度放牧有利于提高生态系统的生产力^[43]。随着土壤裸露程度增加，周围植物在裸露地表上迅速繁殖，并随机占据新的生态位，裸地为植物生长提供了适宜的生态位，反而有利于植物更新，并加速生态系统养分循环速率。在对遭受干扰土壤中的微生物进一步研究中，学者发现随着放牧强度增加，土壤细菌数量会显著下降，而放线菌的数量将有所升高^[44]，这与本研究发现的干扰土壤放线菌丰度高于对照的结果一致。对核心 OTU 进一步分析，在猪拱干扰中发现存在有大量放线菌目微生物，作为一种寄生菌，它可以产生众多的抗生素和具有生物活性的次生代谢产物，在自然界的物质循环和提高土壤肥力等方面有着重要的作用^[21,22]。由此可以推测猪拱等强干扰活动为一些特殊的微生物创造了生存条件，而干扰过后的土壤微生物群落结构更为简单，且趋于一致。本研究中，藏猪“翻拱”取食行为具有特殊性，高强度的猪拱干扰往往会超过植物的受损阈值和补偿性生长限度，进而影响土壤微生物群落组成，导致生态系统遭受不可逆的破坏。适度的猪拱放牧干扰也可能会促进和维持生态系统的稳定，然而与牛羊放牧相比，藏猪放牧所能维持的生态阈值可能远远低于牛羊放牧。因此需要加强对藏猪放牧生态阈值的研究，并对藏猪放牧的破坏力进行客观评价，分析藏猪放牧的环境容量，并找出能够维持土壤微生物多样性较为合理的藏猪放牧强度，进而为滇西北高原生态环境的保护提供理论依据。

4 结论

(1) 采用 16S rRNA 基因高通量测序技术对藏猪干扰和对照土壤样品中的微生物进行测序分析，发现对照中的 OTU 数目为 3 064 个，干扰后的土壤可检测到的物种数急剧减少到 2 152 个，且干扰下 Chao1 和 PD whole tree 指数均显著降低。Rank-

Abundance 曲线进一步揭示出对照下土壤样品微生物物种分布更为均匀，而 β 多样性分析也表明，对照与干扰之间的微生物群落结构具有显著的差异。

(2) 泥炭土壤在门水平的优势菌主要包括变形菌、酸杆菌和绿弯菌。与门水平相比，干扰下的微生物在属水平上的变化更加显著，其中鞘氨醇单胞菌和薄层菌在干扰后的土壤中显著增加，而硝化螺菌和红游动菌则显著降低。

(3) 在对照中发现 136 个核心 OTU，干扰下发现 71 个核心 OTU。放牧干扰条件下的指示微生物主要包括伯克霍德氏菌、假单胞菌、鞘脂单胞菌以及放线菌等，其功能多与环境胁迫有关，并在环境胁迫下发挥积极作用。

(4) CCA 排序结果表明：在属分类水平下的硝化螺菌、红游动菌等微生物对土壤环境因子的响应较为敏感。

参考文献：

- [1] 张海芳, 李刚, 宋晓龙, 等. 内蒙古贝加尔针茅草原不同利用方式土壤微生物功能多样性[J]. 生态学杂志, 2012, **31**(5): 1143-1149.
Zhang H F, Li G, Song X L, et al. Functional diversity of soil microbial communities in *Stipa baicalensis* steppe in Inner Mongolia as affected by different land use patterns[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, **31**(5): 1143-1149.
- [2] Huang X M, Liu S R, Wang H, et al. Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **73**: 42-48.
- [3] 韩道瑞, 曹广民, 郭小伟, 等. 青藏高原高寒草甸生态系统碳增汇潜力[J]. 生态学报, 2011, **31**(24): 7408-7417.
Han D R, Cao G M, Guo X W, et al. The potential of carbon sink in alpine meadow ecosystem on the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(24): 7408-7417.
- [4] 俎千惠, 房焕, 周虎, 等. X 射线对我国两种典型土壤中微生物活性及群落结构的影响[J]. 微生物学报, 2016, **56**(1): 101-109.
Zu Q H, Fang H, Zhou H, et al. Effect of X-ray micro-computed tomography on the metabolic activity and diversity of soil microbial communities in two Chinese soils [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, **56**(1): 101-109.
- [5] 臧晓琳, 张洪芹, 王鑫朝, 等. 放牧对冷蒿根际土壤微生物数量和群落功能多样性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(1): 86-95.
Zang X L, Zhang H Q, Wang X Z, et al. Effect on functional diversity of *Artemisia frigida* rhizosphere soil microbial community with grazing[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2017, **34**(1): 86-95.
- [6] 陈广磊, 田昆, 王行, 等. 高原湿地纳帕海土壤持水力对不同放牧的响应[J]. 水土保持学报, 2016, **30**(4): 123-129, 141.
Chen G L, Tian K, Wang H, et al. The response of soil water-holding capacity to different livestock patterns in plateau Napahai

- Wetland[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2016, **30**(4): 123-129, 141.
- [7] 姚茜, 田昆, 肖德荣, 等. 纳帕海湿地植物多样性及土壤有机质对猪拱干扰的响应[J]. *生态学杂志*, 2015, **34**(5): 1218-1222.
- Yao X, Tian K, Xiao D R, *et al.* Response of plant diversity and soil organic mater to pig forage disturbance in Napahai wetland [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, **34**(5): 1218-1222.
- [8] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 等. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *生态学报*, 2009, **29**(2): 740-748.
- Luo X Q, Hao X H, Chen T, *et al.* Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, **29**(2): 740-748.
- [9] 顾爱星, 范燕敏, 武红旗, 等. 天山北坡退化草地土壤环境与微生物数量的关系[J]. *草业学报*, 2010, **19**(2): 116-123.
- Gu A X, Fan Y M, Wu H Q, *et al.* Relationship between the number of three main microorganisms and the soil environment of degraded grassland on the north slope of the Tianshan Mountains [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, **19**(2): 116-123.
- [10] 李宁云. 纳帕海湿地生态系统退化评价指标体系研究[D]. 昆明: 西南林学院, 2006.
- Li N Y. Studies on indicator system for Napahai wetland ecosystem degradation degree evaluation [D]. Kunming: Southwest Forestry University, 2006.
- [11] 唐明艳, 杨永兴. 不同人为干扰下纳帕海湖滨湿地植被及土壤退化特征[J]. *生态学报*, 2013, **33**(20): 6681-6693.
- Tang M Y, Yang Y X. Analysis of vegetation and soil degradation characteristics under different human disturbance in lakeside wetland, Napahai[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, **33**(20): 6681-6693.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] 张海燕, 张旭东, 李军, 等. 土壤微生物量测定方法概述[J]. *微生物学杂志*, 2005, **25**(4): 95-99.
- Zhang H Y, Zhang X D, Li J, *et al.* Outline of soil microbial biomass measurement methods [J]. *Journal of Microbiology*, 2005, **25**(4): 95-99.
- [14] 郑雪芳, Hall D G, 刘波, 等. 柑橘植株根系微生物生态学特性的研究[A]. 见: 中国微生物学会第三届全国农业微生物研究及产业化研讨会、第十二届全国杀虫微生物学术研讨会、湖北省暨武汉市微生物学会和新疆微生物学会 2010 年会论文集[C]. 新疆阿拉尔: 中国微生物学会, 湖北省暨武汉市微生物学会, 2010.
- [15] 王菲凤, 吴衍, 高滢, 等. 越南伯克霍尔德菌降解水中微囊藻毒素-LR[J]. *环境工程学报*, 2014, **8**(9): 3837-3842.
- Wang F F, Wu Y, Gao Y, *et al.* Biodegradation of microcystin-LR by *Burkholderia vietnamiensis* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, **8**(9): 3837-3842.
- [16] 艾超, 孙静文, 王秀斌, 等. 植物根际沉积与土壤微生物关系研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, **21**(5): 1343-1351.
- Ai C, Sun J W, Wang X B, *et al.* Advances in the study of the relationship between plant rhizodeposition and soil microorganism [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, **21**(5): 1343-1351.
- [17] 布坎南. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 北京: 科学出版社, 1984.
- [18] 童晓梅, 陈芳, 于军, 等. 卓奥友顶峰(8201m)积雪中细菌菌群结构及多样性分析[J]. *科学通报*, 2008, **53**(18): 2216-2222.
- Tong X M, Chen F, Yu J, *et al.* Phylogenetic identification and microbial diversity in snow of the summit (8201 m) of Cho Oyu Mountain, Tibet[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2008, **53**(21): 3317-3323.
- [19] 殷全玉. 延边烟区土壤微生态与烤烟质量关系研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- Yin Q Y. Research on the relationship between the soil micro-ecological environment and flue-cured tobacco quality in Yanbian region[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2013.
- [20] 冯福应, 刘发来, 李衡, 等. 浑善达克沙漠褐沙蒿根际细菌组成及其季节性变化[J]. *内蒙古农业大学学报*, 2011, **32**(1): 157-161.
- Feng F Y, Liu F L, Li H, *et al.* Community composition and seasonal variation of rhizobacteria of *Artemisia intramongolica* in Desert Hunsaderk [J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 2011, **32**(1): 157-161.
- [21] 秦华, Brookes P C, 冯有智, 等. AM 真菌菌丝对 PCBs 污染土壤的修复机理研究[A]. 见: 第八次全国土壤生物与生物化学学术研讨会暨第三次全国土壤健康学术研讨会论文集[C]. 河源: 中国土壤学会土壤生物, 生物化学专业委员会, 2015.
- [22] 张雪芳, 王海龙, 郑计梅, 等. 西双版纳土壤放线菌分离与活性鉴定[A]. 见: 第四届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会论文集[C]. 成都: 中国微生物学会, 2012.
- [23] Fukami K, Yuzawa A, Nishijima T, *et al.* Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense* [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, **58**(6): 1073-1077.
- [24] 李霞. 土壤磷素耦合的水田碳-氮库动态消长规律及其生态化学计量学调控潜能[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- Li X. Soil phosphorus eco-stoichiometric behaviour integrated with carbon and nitrogen sequestration in paddy field: a mesocosm investigation [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [25] 肖晶晶, 郭萍, 霍炜洁, 等. 反硝化微生物在污水脱氮中的研究及应用进展[J]. *环境科学与技术*, 2009, **32**(12): 97-102.
- Xiao J J, Guo P, Huo W J, *et al.* Application of denitrifying microbes to wastewater denitrification[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, **32**(12): 97-102.
- [26] 代京莎, 李安章, 朱红惠. 粘细菌在植物病害生物防治中的作用[J]. *生物技术进展*, 2016, **6**(4): 229-234.
- Dai J S, Li A Z, Zhu H H. The function of myxobacteria in biological control of plant disease [J]. *Current Biotechnology*, 2016, **6**(4): 229-234.
- [27] 吴俐莎, 唐杰, 罗强, 等. 若尔盖湿地土壤酶活性和理化性质与微生物关系的研究[J]. *土壤通报*, 2012, **43**(1): 52-59.
- Wu L S, Tang J, Luo Q, *et al.* Study on the relationship between soil enzyme activities and soil physico-chemical properties with

- microorganism of degraded soil from Zoige wetland[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2012, **43**(1): 52-59.
- [28] Kraigher B, Stres B, Hacin J, *et al.* Microbial activity and community structure in two drained fen soils in the Ljubljana Marsh[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, **38**(9): 2762-2771.
- [29] 靳亮, 高学梅, 杜建华, 等. 尕斯库勒湖湿地泥炭细菌多样性分析[J]. 微生物学通报, 2016, **43**(11): 2396-2404.
Jin L, Gao X M, Du J H, *et al.* Peat bacterial diversity and community structure in Gahai Lake wetland in Gan'nan [J]. Microbiology China, 2016, **43**(11): 2396-2404.
- [30] 唐杰, 徐青锐, 王立明, 等. 若尔盖高原湿地不同退化阶段的土壤细菌群落多样性[J]. 微生物学通报, 2011, **38**(5): 677-686.
Tang J, Xu Q R, Wang L M, *et al.* Soil bacterial community diversity under different stages of degradation in Zoige wetland [J]. Microbiology China, 2011, **38**(5): 677-686.
- [31] 陈伟, 季秀玲, 孙策, 等. 纳帕海高原湿地土壤细菌群落多样性初步研究[J]. 中国微生态学杂志, 2015, **27**(10): 1117-1120, 1123.
Chen W, Ji X L, Sun C, *et al.* Preliminary study on diversity of bacteria community in Napahai plateau wetland [J]. Chinese Journal of Microecology, 2015, **27**(10): 1117-1120, 1123.
- [32] 牛佳, 周小奇, 蒋娜, 等. 若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征[J]. 生态学报, 2011, **31**(2): 474-482.
Niu J, Zhou X Q, Jiang N, *et al.* Characteristics of soil microbial communities under dry and wet condition in Zoige alpine wetland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, **31**(2): 474-482.
- [33] 田应兵, 熊明标, 宋光煜, 等. 若尔盖高原湿地土壤的恢复演替及其水分与养分变化[J]. 生态学杂志, 2005, **24**(1): 21-25.
Tian Y B, Xiong M B, Song G Y, *et al.* Restoration succession of wetland soils and their changes of water and nutrient in Ruergai Plateau [J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, **24**(1): 21-25.
- [34] Clegg C D. Impact of cattle grazing and inorganic fertiliser additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils[J]. Applied Soil Ecology, 2006, **31**(1-2): 73-82.
- [35] Reiss K C, Brown M T, Lane C R. Characteristic community structure of Florida's subtropical wetlands; the Florida wetland condition index for depressional marshes, depressional forested, and flowing water forested wetlands [J]. Wetlands Ecology and Management, 2010, **18**(5): 543-556.
- [36] 谭红妍, 闫瑞瑞, 闫玉春, 等. 不同放牧强度下温性草甸草原土壤微生物群落结构 PLFAs 分析[J]. 草业学报, 2015, **24**(3): 115-121.
Tan H Y, Yan R R, Yan Y C, *et al.* Phospholipid fatty acid analysis of soil microbial communities under different grazing intensities in meadow steppe [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015, **24**(3): 115-121.
- [37] 吾尔恩·阿合别尔迪, 焦子伟, 江波拉提, 等. 高通量测序技术分析新疆新源县过度放牧土壤细菌多样性[J]. 微生物学通报, 2017, **44**(3): 545-553.
Oren A, Jiao Z W, Janbolat, *et al.* Determination of bacteria diversity of degraded grassland in Xinyuan county by high-throughput sequencing technology [J]. Microbiology China, 2017, **44**(3): 545-553.
- [38] Wardle D A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil [J]. Biological Reviews, 1992, **67**(3): 321-358.
- [39] 陈懂懂, 孙大帅, 张世虎, 等. 放牧对青藏高原东缘高寒草甸土壤微生物特征的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2011, **47**(1): 73-77, 81.
Chen D D, Sun D S, Zhang S H, *et al.* Effect of grazing intensity on soil microbial characteristics of an alpine meadow on the Tibetan Plateau [J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 2011, **47**(1): 73-77, 81.
- [40] 高雪峰, 武春燕, 韩国栋. 草原土壤微生物受放牧的影响及其季节变化[J]. 微生物学通报, 2010, **37**(8): 1117-1122.
Gao X F, Wu C Y, Han G D. Steppe soil microorganisms is impacted by the grazing and their seasonal changes [J]. Microbiology China, 2010, **37**(8): 1117-1122.
- [41] 赵吉. 不同放牧率对冷蒿小禾草草原土壤微生物数量和生物量的影响[J]. 草地学报, 1999, **7**(3): 222-227.
Zhao J. Effect of stocking rates on soil microbial number and biomass in steppe [J]. Acta Agrestia Sinica, 1999, **7**(3): 222-227.
- [42] 王少昆, 赵学勇, 赵哈林, 等. 不同强度放牧后沙质草场土壤微生物的分布特征[J]. 干旱区资源与环境, 2008, **22**(12): 164-167.
Wang S K, Zhao X Y, Zhao H L, *et al.* Characteristic of microbe numbers in sandy grassland under different grazing intensities after years of post-grazing restoration [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2008, **22**(12): 164-167.
- [43] 苟燕妮, 南志标. 放牧对草地土壤微生物的影响[J]. 草业学报, 2015, **24**(10): 194-205.
Gou Y N, Nan Z B. The impacts of grazing on the soil microorganism population of grassland [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015, **24**(10): 194-205.
- [44] 闫瑞瑞, 闫玉春, 辛晓平, 等. 不同放牧梯度下草甸草原土壤微生物和酶活性研究[J]. 生态环境学报, 2011, **20**(2): 259-265.
Yan R R, Yan Y C, Xin X P, *et al.* Changes in microorganisms and enzyme activities in soil under different grazing intensities in meadow steppe, Inner Mongolia [J]. Ecology and Environment, 2011, **20**(2): 259-265.

CONTENTS

| | |
|--|---|
| Air Pollutant Emission Inventory from Iron and Steel Industry in the Beijing-Tianjin-Hebei Region and Its Impact on PM _{2.5} | DUAN Wen-jiao, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (1445) |
| Simulation of the Spatio-temporally Resolved PM _{2.5} Aerosol Mass Concentration over the Inland Plain of the Beijing-Tianjin-Hebei Region | HAO Jing, SUN Cheng, GUO Xing-yu, <i>et al.</i> (1455) |
| Effect of Relative Humidity on Particulate Matter Concentration and Visibility During Winter in Chengdu | LIU Fan, TAN Qin-wen, JIANG Xia, <i>et al.</i> (1466) |
| Vertical Distributional Characteristics of Inorganic Ions of PM _{2.5} at Mt. Huashan, Inland China | CAO Cong, WANG Ge-hui, WU Can, <i>et al.</i> (1473) |
| Analysis of the Composition of Atmospheric Fine Particles (PM _{2.5}) Produced by Burning Fireworks | XIE Rui-jia, HOU Hong-xia, CHEN Yong-shan (1484) |
| Chemical Composition Characteristics of PM _{2.5} Emitted by Medium and Small Capacity Coal-fired Boilers in the Yangtze River Delta Region | XU Jian, HUANG Cheng, LI Li, <i>et al.</i> (1493) |
| Emission Factors of Heavy Metals in Size-resolved Particles Emitted from Residential Coal Combustion | YAN Qin, KONG Shao-fei, LIU Hai-biao, <i>et al.</i> (1502) |
| Distribution of Oxalate in Atmospheric Aerosols and the Related Influencing Factors in Qingdao, During Winter and Spring | ZHANG Shuai, SHI Jin-hui, YAO Xiao-hong, <i>et al.</i> (1512) |
| Concentrations and Solubility of Trace Elements in Atmospheric Precipitation in Qingdao | LI Qian, SHI Jin-hui, LI Peng-zhi, <i>et al.</i> (1520) |
| Occurrence and Gas-particle Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Air of Liaodong Bay | ZHANG Yu-feng, SONG Yong-gang, TIAN Jin, <i>et al.</i> (1527) |
| Analysis of Sources, Pollution Characteristics, and Human Exposure to Atmospheric New Halogenated Flame Retardants in Selected Areas | LI Qi-lu, YANG Kong, LI Jun, <i>et al.</i> (1537) |
| Contamination Characterization and Human Exposure Levels to Polybrominated Diphenyl Ethers in Indoor and Outdoor Air in Industrial Park of Suzhou City | WANG Jun-xia, GU Hai-dong, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (1544) |
| Effect of Air Pollution on the Cold Disease in Shanghai | YANG Si-xu, MA Yu-xia, ZHOU Jian-ding, <i>et al.</i> (1552) |
| Fluorescent Dissolved Organic Matter and Its Correlation with Water Quality in a Urban River; A Case Study of the Lujiang River in Beilun, Ningbo | CAO Chang-li, LIANG Meng-qi, HE Gui-ying, <i>et al.</i> (1560) |
| Relationship Between Landscape Pattern and Water Quality in the Ebinur Lake Region | CAO Can, ZHANG Fei, Ayinigeer·Yalikun, <i>et al.</i> (1568) |
| CH ₄ Fluxes During the Algal Bloom in the Pengxi River | QIN Yu, ZHANG Yu-yang, LI Zhe, <i>et al.</i> (1578) |
| Dynamic Variations and Sources of Nitrate During Dry Season in the Lijiang River | MIAO Ying, ZHANG Cheng, XIAO Qiong, <i>et al.</i> (1589) |
| Heavy Metal Pollution of the Drinking Water Sources in the Lujiang River Basin, and Related Health Risk Assessments | ZHANG Qing-hua, WEI Yong-zhu, CAO Jian-hua, <i>et al.</i> (1598) |
| Characteristics of Phosphorus Fractions and Phosphate Diffusion Fluxes of Sediments in Cascade Reservoirs of the Huangbai River | LIU Jia, LEI Dan, LI Qiong, <i>et al.</i> (1608) |
| Occurrence and Ecological Risk Assessment of Typical Persistent Organic Pollutants in Baiyangdian Lake | GAO Qiu-sheng, JIAO Li-xin, YANG Liu, <i>et al.</i> (1616) |
| Simulating the Fate of Typical Organochlorine Pesticides in the Multimedia Environment of the Pearl River Delta | GAO Zi-wen, XU Yue, YI Ru-han (1628) |
| Mechanisms and Efficiencies of Removal of PPCPs by Pilot River Water Bypass Treatment Process | LI Li, ZHU Bing, BAI Yao, <i>et al.</i> (1637) |
| Chlorination of Naproxen; Removal, Transformation and Risk Assessment | FAN Xin-xin, DU Er-deng, LI Jia-qi, <i>et al.</i> (1645) |
| Removing Typical Odorants in Drinking Water by Vacuum Ultraviolet Combined with Chlorine | SUN Xin, ZHANG Yi, SHI Lu-xiao, <i>et al.</i> (1654) |
| Degradation of Triclosan by Heat Activated Persulfate Oxidation | JIANG Meng-di, ZHANG Qing-yue, JI Yue-fei, <i>et al.</i> (1661) |
| Adsorption of Tetracycline on Simulated Suspended Particles in Water | XU Long-feng, WEI Qun-shan, LÜ Qiang, <i>et al.</i> (1668) |
| Characteristics and Performance of Embedded ANAMMOX Bacteria in Treating Saline Wastewater | SHAN Xiao-jing, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (1677) |
| Enhanced Nitrogen Removal of ANAMMOX Treating Saline Wastewater With Betaine Addition | YU De-shuang, WU Guo-dong, LI Jin, <i>et al.</i> (1688) |
| Pilot-scale Experiment on Enrichment of Nitrifying Activated Sludge and Its Application in Enhancing a Wastewater Biological Treatment System Against Ammonia Shocking Loads | SHENG Xiao-lin, CUI Can-can, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (1697) |
| Effect of Step Feed on Denitrifying Phosphorus and Nitrate Removal in a Modification of the Two Sludge A ² /O-BAF System | NAN Yan-bin, PENG Yong-zhen, ZENG Li-yun, <i>et al.</i> (1704) |
| Achieving Partial Nitrification in a Continuous-flow Aerobic Granular Sludge Reactor at Different Temperatures Through Ratio Control | LIANG Dong-bo, BIAN Wei, KAN Rui-zhe, <i>et al.</i> (1713) |
| Mechanism of Action of Activated Sludge Properties in Nitrogen Removal by Endogenous Denitrification Through an Intelligent Aeration-controlled A/O Process | XU Min-yang, HU Zhan-bo, ZHANG Sui-sheng, <i>et al.</i> (1720) |
| Effect of Temperature on the Performance and Microbial Community Structure in an Integrated Anaerobic Fluidized-bed Membrane Bioreactor Treating Benzothiazole Wastewater | LI Yue, HU Qi, GAO Da-wen (1731) |
| Removal of Antibiotics During In-situ Sludge Ozone-reduction Process | WANG Lu, BEN Wei-wei, LI Yan-gang, <i>et al.</i> (1739) |
| Effect of Zero Valent Iron on the Horizontal Gene Transfer of Tetracycline Resistance Genes During Anaerobic Sludge Digestion Process | YANG Fan, XU Wen-li, QIAN Ya-jie, <i>et al.</i> (1748) |
| Effects of Environmental Factors on the Synergy of Functional Bacteria in Completely Autotrophic Granular Sludge | CHEN Xi, QIAN Fei-yue, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (1756) |
| Microbiological Characteristics of a Post Solid-Phase Denitrification Biofilter Process | ZHANG Qian, JI Fang-ying, XU Xuan (1763) |
| Aerobic Denitrification and Microbial Community Shift in SBR Bioaugmented with Strains YH01 and YH02 | CHEN Hai-sheng, CAO Gang, ZHANG Di, <i>et al.</i> (1773) |
| Performance, Sludge Characteristics, and the Microbial Community Dynamics of Bulking Sludge Under Different Nitrogen and Phosphorus Imbalances | HE Xue-meng, DING Li-li, ZHANG Lu-lu, <i>et al.</i> (1782) |
| Degradation Characteristics and Metabolic Pathway of a Pyrene-Degrading <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Strain | LI Xiang, ZHANG Xue-ying, ZHOU Jun, <i>et al.</i> (1794) |
| Driving Factors of the Dynamics of Microbial Community in a Dam of Copper Mine Tailings | LI Cui, JING Ju-hui, LIU Jin-xian, <i>et al.</i> (1804) |
| Effects of Reclamation on Soil Nutrients and Microbial Activities in the Huixian Karst Wetland in Guilin | HUANG Ke-chao, SHEN Yu-yi, XU Guang-ping, <i>et al.</i> (1813) |
| Effects of the Farmland-to-Forest/Grassland Conversion Program on the Soil Bacterial Community in the Loess Hilly Region | CHEN Meng-li, ZENG Quan-chao, HUANG Yi-mei, <i>et al.</i> (1824) |
| Insight into the Mechanism of Feamox in the Surface Soils of a Riparian Zone | DING Bang-jing, LI Zheng-kui, ZHU Hong-jie, <i>et al.</i> (1833) |
| Soil Degradation-Associated Microbial Community Structure Changes in an Alpine Meadow Under Tibetan Pig Herding | ZHAN Peng-fei, XIAO De-rong, YAN Peng-fei, <i>et al.</i> (1840) |
| Characteristics of Iron Plaque and Its Heavy Metal Enrichment in Typical Mangrove Plants in Shenzhen Bay, China | SHEN Xiao-xue, LI Rui-li, CHAI Min-wei, <i>et al.</i> (1851) |
| Spatial Distribution of DDTs and PCBs in Wild Fish from Hong Kong Coastal Areas and Potential Human Health Risk Assessment | SU Yang, BAO Lian-jun, ZENG Eddy Y (1861) |
| Pollution Characteristics of PAHs in Soil from a Remote Mountain Wetland-Dajuhu Lake, Shengnongjia | HU Tian-peng, XING Xin-li, KE Yan-ping, <i>et al.</i> (1872) |
| Migration and Transformation of Mercury in Unsubmerged Soil and Sediment at One Typical Forest Reservoir in Southwest China | SUN Tao, MA Ming, WANG Yong-min, <i>et al.</i> (1880) |
| Accumulation of Cd and Its Risks in the Soils of the Xijiang River Drainage Basin in Guangxi | SONG Bo, YANG Zi-jie, ZHANG Yun-xia, <i>et al.</i> (1888) |
| Effects of Long-term Fertilization Regimes on As Accumulation in Upland Red Earth and the Crops Growing on It | ZHANG Rong, YU Guang-hui, LI Ya-qing (1901) |
| Effects of a Tribasic Amendment on Cadmium and Arsenic Accumulation and Translocation in Rice in a Field Experiment | GU Jiao-feng, ZHOU Hang, JIA Run-yu, <i>et al.</i> (1910) |
| Quantitative Relationship Between Paddy Soil Properties and Cadmium Content in Rice Grains | WANG Meng-meng, HE Meng-yuan, SU De-chun (1918) |
| Effect of Ca-bentonite on Cu and Zn Forms in Compost and Soil, and Their Absorption by Chinese Cabbage | ZHAO Jun-chao, WANG Quan, REN Xiu-na, <i>et al.</i> (1926) |
| Effects of Short-term Exogenous Nitrogen and Carbon Input on Soil Respiration Under Changing Precipitation Pattern | HE Yun-long, QI Yu-chun, PENG Qin, <i>et al.</i> (1934) |
| Effects of Simulated Precipitation Reduction on Soil Respiration in a Soybean-Winter Wheat Rotation Cropland | WANG Zhao-hui, CHEN Shu-tao, SUN Lu, <i>et al.</i> (1943) |
| Seasonal Variation in Nitric Oxide Emission from an Agricultural Headwater Ditch in the Hilly Purple Soil Area and the Factors Influencing Emission | TIAN Lin-lin, REN Guang-qian, ZHU Bo (1952) |
| Effects of Seasonal Asymmetric Warming on Soil CO ₂ Release in Karst Region | TANG Guo-yong, ZHANG Chun-hua, LIU Fang-yan, <i>et al.</i> (1962) |