

# 不同森林土壤微生物群落对 Biolog-GN 板碳源的利用

郑华<sup>1</sup>, 陈法霖<sup>2</sup>, 欧阳志云<sup>1\*</sup>, 方治国<sup>1</sup>, 王效科<sup>1</sup>, 苗鸿<sup>1</sup>

(1. 中国科学院生态环境研究中心系统生态重点实验室, 北京 100085; 2. 湖南农业大学, 长沙 410128)

**摘要:**应用 Biolog 方法研究了不同森林恢复类型(人工恢复的湿地松林、杉木林、油茶林和自然恢复的天然次生林)土壤微生物群落对 Biolog-GN 板不同类型碳源的利用情况, 结果表明, 自然恢复的天然次生林土壤微生物群落的碳源代谢能力比 3 种人工林强, 其次是油茶林. 4 种森林类型土壤微生物群落比较偏好、利用率较高的 3 类碳源是糖类、羧酸类和氨基酸类. 对 4 类森林恢复类型土壤微生物群落具有分异作用的主要碳源类型亦为糖类、羧酸类和氨基酸类, 这 3 类碳源是研究森林恢复后导致土壤微生物群落变化的敏感碳源.

**关键词:**土壤微生物群落; Biolog; 单一碳源利用; 培养基

中图分类号: S714.6; Q938.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)05-1126-05

## Utilization of Different Carbon Sources Types in Biolog-GN Microplates by Soil Microbial Communities from Four Forest Types

ZHENG Hua<sup>1</sup>, CHEN Fa-lin<sup>2</sup>, OUYANG Zhi-yun<sup>1</sup>, FANG Zhi-guo<sup>1</sup>, WANG Xiao-ke<sup>1</sup>, MIAO Hong<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Systems Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Utilization of different carbon source type in Biolog-GN microplates by soil microbial communities under different forest restoration types was studied. The results shows that metabolic capacity of soil microbial community under natural secondary forest are higher than those of three plantations. Carbohydrates, carboxylic acids and amino acids are the main carbon sources possessing higher utilization efficiency or utilization intensity. At the same time, the three carbon source types contributed to the differentiation of soil microbial communities from four forest restoration types. And the three types of carbon sources were sensitive to change of soil microbial communities. These results possessed important referenced significance for substrate selection during the study on soil microbial communities and their functional diversity with incubating methods.

**Key words:** soil microbial community; Biolog; sole carbon source utilization; substrate

Biolog 作为研究土壤微生物群落功能多样性的一种简单、快速方法<sup>[1~7]</sup>, 广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性; 不同土壤类型<sup>[8]</sup>、不同植物物种下的土壤<sup>[9]</sup>、不同管理策略下的农业土壤<sup>[10, 11]</sup>和不同植被的根际土壤<sup>[12]</sup>. 国内的许多研究者也相继利用这一方法对不同环境条件下的土壤微生物功能多样性开展了大量研究<sup>[13~16]</sup>. Biolog 板最初就是根据其中具体类型的代谢指纹来鉴定已分离纯化的微生物物种. 而应用这一方法研究土壤微生物群落功能多样性存在选择培养问题, 只有能够利用 Biolog 微孔板上碳源的微生物才能反映出来, 这种代谢多样性类型也就不一定反映整个土壤微生物群落的功能多样性<sup>[17~20]</sup>. 可见, 培养基的选择对于反映和区分土壤微生物群落功能多样性至关重要, 如果 Biolog-GN 板上的部分碳源不能被土壤微生物群落利用, 则无法反映真实情况而达不到应有的效果. 但是土壤微生物具体对哪一类碳源的利用强度较大? 哪一类碳源具有较强的区分土壤微生物群落功能多

样性的能力? 这一方面报道甚少. 本研究应用 Biolog 方法研究不同森林恢复类型下土壤微生物群落多样性地变化, 区分不同森林恢复类型土壤微生物群落的主要碳源类型, 明确不同森林恢复类型下土壤微生物对不同碳源类型利用强度. 一方面比较土壤微生物群落对不同森林恢复类型的响应, 明确影响土壤微生物群落分异的主要碳源类型; 另一方面为明确土壤微生物利用碳源主要类型和土壤微生物群落研究中培养基的选择提供基础数据.

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究区域与样地概况

研究场地选在湘南红壤丘陵区国家长江防护林

收稿日期: 2006-08-24; 修订日期: 2007-01-27  
基金项目: 国家自然科学基金项目(30600474, 30230090); 国家自然科学基金委员会创新群体计划项目(40321101)  
作者简介: 郑华(1974~), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为森林恢复的环境效应, E-mail: zhenghua@rcees.ac.cn  
\* 通讯联系人

生态效益监测站,位于湖南省衡阳县栏栳乡长冲村小流域,地处 27°05'N, 112°18'E,属亚热带季风湿润性气候,海拔 86~147m,属典型的红壤低丘岗地,母岩为砂页岩,土壤为红壤,pH 值 4~5,该流域年平均气温 17.9℃,平均年降雨量为 1 237mm,主要集中在

在 5~8 月。  
湿地松人工林、杉木人工林、天然次生林样方于 1989 年建立,样方建立前植被均被当地农民砍作薪材,油茶林于 1980 年种植.具体概况见表 1.  
在每一处理的种植地上设置临时标准地,标准

表 1 不同生态恢复类型的自然特征

| Table 1 Natural characters of different ecological restoration patterns |                       |        |                   |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------|-------------------|
| 生态恢复类型                                                                  | 恢复方式与年限               | 坡度/(°) | 主要物种              |
| 湿地松人工林                                                                  | 人工恢复,间期(3~4a)人工抚育,13a | 25     | 湿地松、盐肤木、三月泡、芒等    |
| 杉木人工林                                                                   | 人工恢复,间期(3~4a)人工抚育,13a | 25     | 杉树、盐肤木、樟树、铁芒萁等    |
| 油茶人工林                                                                   | 人工恢复,但干扰极少,22a        | 18     | 油茶、珙木、铁芒萁等        |
| 天然次生林                                                                   | 自然恢复,13a              | 25     | 马尾松、青冈栎、合欢、槲栎、白栎等 |

地面积 10m×20m,每一处理标准地 3 块作为 3 次重复.在各标准地中以“S”形布点采取 0~20cm 混合土样以及 20~40cm 混合土样.将取好的土壤样品迅速装入塑料袋并置于冰块上运至实验室.土壤样品均在实验室 4℃ 的冰箱内保存, Biolog 实验在取样后 48h 内进行.取样时间为 2003-07.

1.2 Biolog 实验

代谢多样性类型应用 Biolog 方法.10g 土壤外加 95mL 无菌的 0.145 mol/L NaCl 溶液在摇床上振荡 15min<sup>[21]</sup>,然后将土壤样品稀释至 10<sup>-3</sup>,再从中取 125μL 该悬浮液接种到革兰氏阴性板的每一个孔中,最后将接种好的板放至 25℃ 的恒温培养箱中培养,每隔 4h 于波长为 595nm 处的 Biolog 读数器上读数,培养时间共 240h.

1.3 计算方法

孔的平均颜色变化率(AWCD)计算方法<sup>[22]</sup>如下:AWCD=Σ(C-R)/n,式中 C 为每个有培养基孔的光密度值,R 为对照孔的光密度值,n 为培养基数据,GN 板 n 值为 95.对于不同类型培养基 n 值不同,根据每一类型碳源培养基种类的数量,糖类、羧酸类、氨基酸类、胺/氨类、聚合物类、其他类的 n 取值分别为 30、24、20、6、5、10.

采用曲线整合方法估计颜色扩展<sup>[23]</sup>,梯形面积 S = ∑<sup>n</sup><sub>i=1</sub> (v<sub>i</sub> + v<sub>i-1</sub>) / 2 × (t<sub>i</sub> - t<sub>i-1</sub>), v<sub>i</sub> 为 i 时刻的光密度.  
统计分析采用 SPSS10.0 版在计算机上进行.

2 结果与讨论

2.1 Biolog-GN 板的碳源类型

Biolog-GN 平板含有 95 种碳源(表 2),根据碳源官能团将这 95 种碳源分为 6 大类:糖类

(carbohydrates) 30 种、羧酸类(carboxylic acids)24 种、氨基酸类(amino acids)20 种、胺/氨类(amines/amides) 6 种、聚合物类(polymers)5 种、其他(miscellaneous) 10 种<sup>[1]</sup>,以研究不同处理土壤微生物群落的差异.根据光密度值来判断微生物对碳源的利用程度.

2.2 碳源平均颜色变化率(AWCD)

平均颜色变化率(AWCD)是反映土壤微生物活性,即利用单一碳源能力的一个重要指标<sup>[24]</sup>.或者说,是反映土壤微生物对单一碳源利用强度的一个指标.由图 1 可知,微生物活性随培养时间的延长而提高,不同生态系统土壤微生物利用单一碳源能力的大小顺序为:天然此生林>油茶林>杉木林>湿地松林>CK,天然次生林土壤微生物群落具有最强的代谢能力.0~20cm 与 20~40cm 土壤比较时,天然次生林与杉木林上下层次之间的差异较大,但油茶林和湿地松林土壤上下层次的差异不明显.

2.3 各森林恢复类型对不同类型碳源的利用

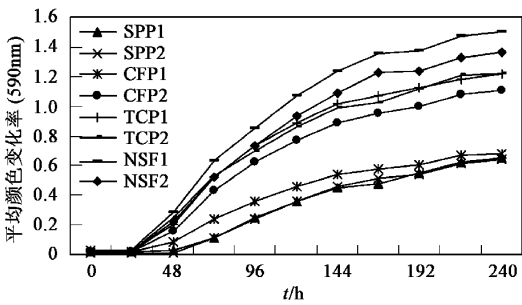
土壤微生物群落多样性反映了群落总体的动态变化,而研究土壤微生物对不同碳源利用能力的差异,可深入了解微生物群落的结构组成<sup>[25]</sup>.同一森林类型下土壤微生物对不同类型碳源的利用程度差异非常显著(图 2),在 Biolog 微平板整个培养期内,除杉木林土壤微生物群落变异比较大以外<sup>[26]</sup>,其他森林类型下土壤微生物对糖类、羧酸类和氨基酸类培养基的利用强度较大,并且这 3 类碳源的利用强度与其他 3 类碳源的利用强度相比,其差异达到显著水平.这一点在 20~40cm 土壤中表现得更加明显.由此可见:土壤微生物比较偏好、利用率较高的碳源类型为糖类、羧酸类和氨基酸类.

2.4 不同类型碳源对区分不同森林恢复类型土壤微生物群落的贡献

表 2 Biolog GN 微孔板碳源类型

Table 2 Carbon source types of Biolog GN microplates

| 碳源类型                                                     | 碳源类型                                                      |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 糖类(Carbohydrates)(30 种)                                  | 羧酸类(Carboxylic acids)(24 种)                               |
| <i>N</i> -乙酰基-D-氨基半乳糖( <i>N</i> -Acetyl-D-galactosamine) | 醋酸(Acetic acid)                                           |
| <i>N</i> -乙酰-D-葡萄糖胺( <i>N</i> -Acetyl-D-glucosamine)     | 顺乌头酸( <i>cis</i> -Aconitic acid)                          |
| 核糖醇(Adonitol)                                            | 柠檬酸(Citric acid)                                          |
| L-阿拉伯糖(L-Arabinose)                                      | 蚁酸(Formic acid)                                           |
| D-阿拉伯糖醇(D-Arabitol)                                      | 葡萄糖醛酸(D-Galactonic acid lactone)                          |
| 纤维二糖(Cellobiose)                                         | D-半乳糖醛酸(D-Galacturonic acid)                              |
| <i>i</i> -赤藻糖醇( <i>i</i> -Erythritol)                    | D-葡萄糖酸(D-Gluconic acid)                                   |
| D-果糖(D-Fructose)                                         | D-氨基葡萄糖酸(D-Glucosaminic acid)                             |
| L-岩藻糖(L-Fucose)                                          | D-葡萄糖醛酸(D-Glucuronic acid)                                |
| D-半乳糖(D-Galactose)                                       | $\alpha$ -羟基奶油酸( $\alpha$ -Hydroxybutyric acid)           |
| 龙胆二糖(Gentiobiose)                                        | $\beta$ -羟基奶油酸( $\beta$ -Hydroxybutyric acid)             |
| $\alpha$ -D-葡萄糖( $\alpha$ -D-Glucose)                    | $\gamma$ -羟基奶油酸( $\gamma$ -Hydroxybutyric acid)           |
| <i>m</i> -肌糖( <i>m</i> -Inositol)                        | <i>P</i> -羟基苯乙酸( <i>P</i> -Hydroxyphenylacetic acid)      |
| $\alpha$ -D-乳糖( $\alpha$ -D-Lactose)                     | 衣康酸(Itaconic acid)                                        |
| 乳果糖(Lactulose)                                           | $\alpha$ -酮基奶油酸( $\alpha$ -Ketobutyric acid)              |
| 麦芽糖(Maltose)                                             | $\alpha$ -酮戊二酸( $\alpha$ -Ketoglutaric acid)              |
| D-甘露醇(D-Mannitol)                                        | $\alpha$ -酮基缬草酸( $\alpha$ -Ketovaleric acid)              |
| D-甘露糖(D-Mannose)                                         | D, L-乳酸(D, L-Lactic acid)                                 |
| D-蜜二糖(D-Melibiose)                                       | 丙二酸(Malonic acid)                                         |
| $\beta$ -甲基 D-葡萄糖苷( $\beta$ -Methyl D-glucoside)         | 丙尿酸(Propionic acid)                                       |
| D-阿洛酮糖(D-Psicose)                                        | 奎宁酸(Quinic acid)                                          |
| D-蜜三糖(D-Raffinose)                                       | D-糖二酸(D-Saccharic acid)                                   |
| L-鼠李糖(L-Rhamnose)                                        | 癸二酸(Sebacic acid)                                         |
| D-山梨糖(D-Sorbitol)                                        | 丁二酸(Succinic acid)                                        |
| 蔗糖(Sucrose)                                              | 聚合物类(Polymers)(5 种)                                       |
| D-海藻糖(D-Trehalose)                                       | $\alpha$ -环糊精( $\alpha$ -Cyclodextrin)                    |
| 松二糖(Turanose)                                            | 糊精(Dextrin)                                               |
| 木糖醇(Xylitol)                                             | 糖原(Glycogen)                                              |
| 甲基丙酮酸酯(Methyl pyruvate)                                  | 吐温 40(Tween 40)                                           |
| 甲基琥珀酸酯(Mono-methyl succinate)                            | 吐温 80(Tween 80)                                           |
| 氨基酸类(Amino acids)(20 种)                                  | 胺/氨类(Amines/amides)(6 种)                                  |
| D-丙氨酸(D-Alanine)                                         | 琥珀酰氨酸(Succinamic acid)                                    |
| L-丙氨酸(L-Alanine)                                         | 葡萄糖醛酰胺(Glucuronamide)                                     |
| L-丙氨酰甘氨酸(L-Alanyl-glycine)                               | 丙氨酸(Alaninamide)                                          |
| L-天冬酰胺酸(L-Asparagine)                                    | 苯基乙胺(Phenylethylamine)                                    |
| L-天门冬氨酸(L-Aspartic acid)                                 | 腐胺(Putrescine)                                            |
| L-谷氨酸(L-Glutamic acid)                                   | 2-胺基乙醇(2-Aminoethanol)                                    |
| 甘氨酸-L-天冬酰胺酸(Glycyl-L-aspartic acid)                      | 其它类(Miscellaneous)(10 种)                                  |
| 甘氨酸-L-谷氨酸(Glycyl-L-glutamic acid)                        | 溴代丁二酸(Bromosuccinic acid)                                 |
| L-组氨酸(L-Histidine)                                       | 咪唑丙烯酸(Urocanic acid)                                      |
| 羟基-L-脯氨酸(Hydroxy-L-proline)                              | 次黄嘌呤核甙(Inosine)                                           |
| L-亮氨酸(L-Leucine)                                         | 嘧啶核苷(Uridine)                                             |
| L-鸟氨酸(L-Ornithine)                                       | 胸腺嘧啶核苷(Thymidine)                                         |
| L-氨基联苯(L-Phenylalanine)                                  | 2, 3-丁二醇(2, 3-Butanediol)                                 |
| L-脯氨酸(L-Proline)                                         | 甘油(Glycerol)                                              |
| L-焦谷氨酸(L-Pyroglutamic acid)                              | D, L- $\alpha$ -磷酸甘油酯(D, L- $\alpha$ -Glycerol phosphate) |
| D-丝氨酸(D-Serine)                                          | 1-磷酸葡萄糖(Glucose-1-phosphate)                              |
| L-丝氨酸(L-Serine)                                          | 6-磷酸葡萄糖(Glucose-6-phosphate)                              |
| L-苏氨酸(L-Threonine)                                       |                                                           |
| D, L-肉碱(D, L-Carnitine)                                  |                                                           |
| $\gamma$ -氨基奶油酸( $\gamma$ -Aminobutyric acid)            |                                                           |



SPP 为湿地松林;CFP 为杉木林;TCP 为油茶林;NSF 为天然次生林,下同.1 和 2 分别代表 0~20cm 和 20~40cm 土壤

图 1 不同森林类型上下层土壤碳源平均颜色变化率  
Fig.1 Average well colour development (AWCD) in upper and lower layer soil for four sites

应用主成分分析方法研究 4 种森林恢复类型的土壤微生物群落代谢多样性类型表明,0~20cm 和 20~40cm 土壤微生物群落的代谢多样性类型分异明显.在 0~20cm 土壤微生物代谢多样性类型的主成分分析中,第一主成分得分系数的差异达到显著水平( $F_{3,8} = 5.727, p < 0.05$ ),20~40cm 土壤微生物群落代谢多样性类型的主成分分析中,第一主成分和第二主成分得分系数的差异均达到显著水平( $F_{3,8} = 4.496, p < 0.05$ ;  $F_{3,8} = 4.355, p < 0.05$ )(图 3).

每一主成分得分系数与 95 种碳源吸光度值的相关分析结果表明,对 0~20cm 土壤微生物群落主成分 1 和主成分 2 起分异作用的主要碳源分别是羧酸类、糖类和氨基酸类物质;而对 20~40cm 土壤微

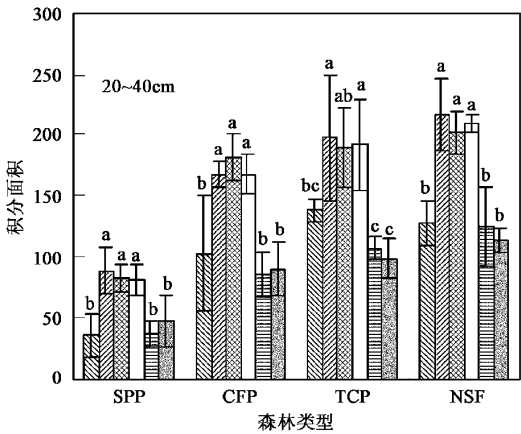
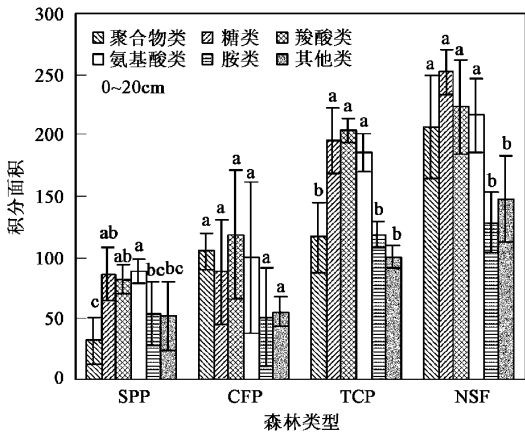


图 2 同一森林恢复类型土壤微生物对不同碳源的利用  
Fig.2 Use efficiency of different carbon sources by soil microbes from the same forest type

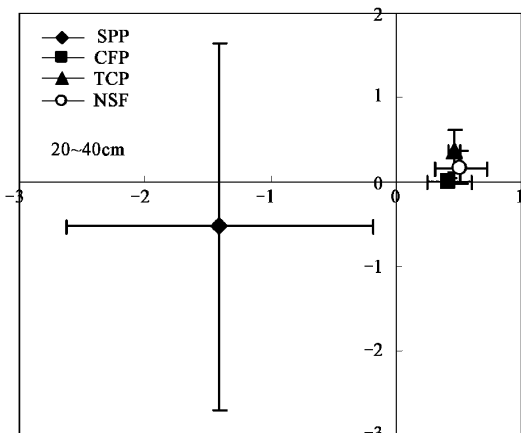
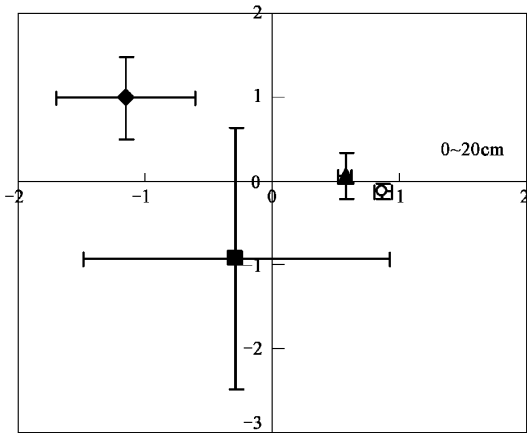


图 3 土壤微生物碳源利用类型的主成分分析

Fig.3 Principal components analysis of carbon utilization profiles by soil microbial

生物群落主成分 1 和主成分 2 起分异作用的主要碳源分别是糖类、羧酸类和氨基酸类物质.由此可见:本研究中糖类、羧酸类和氨基酸类这 3 类碳源是森林恢复后导致土壤微生物群落变化的敏感碳源.

3 结论

(1)自然恢复的天然次生林土壤微生物群落的碳源代谢能力比 3 种人工林强,主要表现为较高的

AWCD 值;其次是油茶林.自然恢复有利于增强土壤微生物群落的代谢功能.

(2)4 种森林恢复类型下土壤微生物群落对糖类、羧酸类和氨基酸类碳源的利用率显著高于聚合物类、胺/氨类和其他类碳源.应用培养法研究土壤微生物群落时,糖类、羧酸类和氨基酸类碳源可优先考虑.

(3)不同森林恢复类型对土壤微生物群落多样性产生显著影响,但区分土壤微生物群落功能多样性的碳源类型的贡献却各不相同,研究表明糖类、羧酸类和氨基酸类是区分土壤微生物群落功能多样性的主要碳源类型,处理间的差异主要是土壤微生物群落对糖类、羧酸类和氨基酸类碳源利用的差异引起的,这 3 类碳源是区分不同土壤微生物群落的最敏感碳源.

#### 参考文献:

- [1] Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon source utilization profiles—a critique [J]. *FEMS Microb Ecol*, 2002, **42**: 1 ~ 14.
- [2] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. Biolog 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. *土壤学报*, 2004, **41**(3): 456 ~ 461.
- [3] Choi K, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities [J]. *J Microb Methods*, 1999, **36**: 203 ~ 213.
- [4] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 1997, **24**: 289 ~ 300.
- [5] Garland J L, Mills A L. A community-level physiological approach for studying microbial communities [A]. In: Ritz K, Dighton J, Giller K E (eds). *Beyond the Biomass: Composition and Functional Analysis of Soil Microbial Communities* [C]. London: Wiley-Sayce Publications, 1994. 77 ~ 83.
- [6] Hollibaugh J T. Relationship between thymidine metabolism, bacterioplankton community metabolic capabilities, and sources of organic matter [J]. *Microb Ecol*, 1994, **28**: 117 ~ 131.
- [7] Jellette J F, Li W K W, Dickie P M, *et al.* Metabolic activity of bacterioplankton communities assessed by flow cytometric and single carbon substrate utilization [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1996, **136**: 213 ~ 225.
- [8] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization [J]. *Appl Environ Microb*, 1991, **57**: 2351 ~ 2359.
- [9] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach [J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, **26**: 1101 ~ 1108.
- [10] Bossio D D, Scow K M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils [J]. *Appl Environ Microb*, 1995, **61**: 4043 ~ 4050.
- [11] Buyer J S, Drinkwater L E. Comparison of substrate utilization assay and fatty acid analysis of soil microbial communities [J]. *J Microbiol Methods*, 1997, **30**: 3 ~ 11.
- [12] Grayston S J, Wang S, Campbell C D, *et al.* Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere [J]. *Soil Biol Biochem*, 1998, **30**: 369 ~ 378.
- [13] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *微生物学杂志*, 2000, **20**(2): 23 ~ 25, 47.
- [14] 席幼瑛, 胡洪营, 姜健, 等. 生物过滤塔中微生物群落的代谢特性[J]. *环境科学*, 2005, **26**(4): 165 ~ 170.
- [15] 杨元根, Paterson E, Campbell C. Biolog 方法在区分城市土壤与农村土壤微生物特性上的应用 [J]. *土壤学报*, 2002, **39**(4): 582 ~ 589.
- [16] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. *中国环境科学*, 2003, **23**(3): 295 ~ 299.
- [17] Haack S K, Garchow H, Klug M J, *et al.* Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61**: 1458 ~ 1468.
- [18] Tate R L. *Soil Microbiology* [M]. (2nd ed.). New York: John Wiley, 2000. 167 ~ 169.
- [19] Winding A, Hendriksen N B. Biolog substrate utilization assay for metabolic fingerprints of soil bacteria: incubation effects [A]. In: Insam H, Rangger A (eds). *Microbial Communities: Function Versus Structural Approaches* [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1997. 195 ~ 205.
- [20] Wünsche L, Brüggermann L, Wolfgang B. Determination of substrate utilization patterns of soil microbial communities: An approach to assess population changes after hydrocarbon pollution [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 1995, **17**: 295 ~ 306.
- [21] Schutter M, Dick R. Shift in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates [J]. *Soil Biol Biochem*, 2001, **33**: 1481 ~ 1491.
- [22] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, **57**: 2351 ~ 2359.
- [23] Guckert J B, Carr G J, Johnson T D, *et al.* Community analysis by Biolog: curve integration for statistical analysis of activated sludge microbial habitats [J]. *J Microbiol Meth*, 1996, **27**: 183 ~ 197.
- [24] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities [J]. *Environmental Management*, 1997, **21**(2): 233 ~ 238.
- [25] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils [J]. *Plant Soil*, 1995, **170**: 75 ~ 86.
- [26] 郑华, 欧阳志云, 王效科, 等. 不同森林恢复类型对土壤微生物群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, **15**(11): 2019 ~ 2024.