

研究报告

西藏拉鲁湿地水体冬季可培养丝状真菌多样性及其与理化因子的关系

郭小芳 德吉* 龙琦炜 白斌锦 王豪杰 曹亚璞

(西藏大学理学院 西藏 拉萨 850000)

摘要:【背景】拉鲁湿地是我国海拔最高、面积最大的城市天然湿地。开展拉鲁湿地微生物群落结构分析,可为青藏高原生物资源的开发利用和保护提供理论依据,并为湿地生态系统的微生物多样性研究奠定基础。【目的】开展拉鲁湿地水体丝状真菌的多样性研究,探究影响该环境丝状真菌群落分布特征的主要理化因子。【方法】从拉鲁湿地 11 个水样中分离丝状真菌,应用 nrDNA ITS 序列分析,并结合经典分类学方法对获得的菌株进行鉴定,运用 SPSS 和 CANOCO 软件分析丝状真菌群落结构及其与环境因子的关系。【结果】从拉鲁湿地水体分离的丝状真菌菌株分属于 6 属 13 种。拉鲁湿地冬季水体丝状真菌优势属为 *Mucor*、*Cladosporium* 和 *Galactomyces*, 优势种为 *M. hiemalis*、*M. racemosus* 和 *G. geotrichum*。总氮与拉鲁湿地水体丝状真菌数量呈显著负相关($P < 0.05$),总氮和总磷对于丝状真菌的分布具有较明显的影响,这 2 种理化因子与 *M. racemosus* 的多度呈正相关性,而与 *M. hiemalis* 呈较强的负相关性。【结论】环境因子是影响高原湿地生态系统微生物群落结构的主要因素之一,探讨西藏典型脆弱生态环境中微生物多样性与环境因子的关系具有重要意义。

关键词: 青藏高原, 湿地, 环境因子, 真菌, 多样性

Diversity of culturable filamentous fungi and its relationship with environmental factors during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

GUO Xiao-Fang DE Ji* LONG Qi-Wei BAI Bin-Jin WANG Hao-Jie CAO Ya-Pu

(School of Science, Tibet University, Lhasa, Tibet 850000, China)

Abstract: [Background] Lhalu Wetland was the highest and largest urban natural wetland in China. Studying on microbial community structure in Lhalu Wetland could provide theoretical basis for exploitation and protection of biological resources in Qinghai-Tibet plateau, and lay foundation for the study of microbial diversity in wetland ecosystem. [Objective] To investigate

Foundation items: National Key Research and Development Program (2016YFC0502000); Natural Science Foundation of Tibet Autonomous Region (2016ZR-15-11); Tibet University Mount Everest Scholars Talent Development Project ([2016]141)

*Corresponding author: Tel: 86-891-6405210; E-mail: dg971103@163.com

Received: October 25, 2017; Accepted: April 24, 2018; Published online (www.cnki.net): May 29, 2018

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0502000); 西藏自治区自然科学基金(2016ZR-15-11); 2016 年度西藏大学珠峰学者人才发展支持计划(藏大[2016]141 号)

*通信作者: Tel: 86-891-6405210; E-mail: dg971103@163.com

收稿日期: 2017-10-25; 接受日期: 2018-04-24; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-05-29

diversity of mycelial fungus and explore the main environmental factors which influenced the community structure of filamentous fungi in Lhalu Wetland. **[Methods]** Fungi were isolated from 11 water samples, and identification of fungi were completed using the sequence analysis of nrDNA ITS, combining with traditional classified method. SPSS and CANOCO were used to examine correlations between filamentous fungi diversity and environmental factors. **[Results]** Mycelial fungi isolated from Lhalu Wetland were belonging to 6 genera and 13 species. *Mucor*, *Cladosporium*, *Galactomyces* were the dominate genera in the wetland. *M. hiemalis*, *M. racemosus* and *G. geotrichum* were the dominate species. Statistical analysis indicated that TN has significantly negative correlation with the counts of filamentous fungi at the Lhalu Wetland ($P < 0.05$), moreover, TN and TP had significant effect on distribution of the fungi, which positively correlated with *M. racemosus* but passively correlated with *M. hiemalis*. **[Conclusion]** Environmental variable has been one of the major factors that influencing wetland microorganism community structure, therefore, it was crucial concerning to study the relationship between environmental factors and diversity of microbe in Tibet.

Keywords: Qinghai-Tibet Plateau, Wetland, Environmental factors, Fungi, Diversity

湿地兼有水体和陆地的双重特征,是地球上生物多样性最丰富、生态服务价值最大的生态系统^[1],它不仅具有丰富的生物多样性,在涵养水源、调节气候、维持区域生态平衡等方面也起着重要的作用^[2]。

微生物是湿地生态系统中重要的生命体,在湿地生态系统物质循环、能量流动和系统稳定性维持等方面具有明显功能^[3]。微生物的群落结构与功能是微生物生态学的研究主题之一,其数量及种群分布与水体类型及理化因子等多种因素密切相关。研究湿地微生物对了解该生态系统微生物多样性及探讨湿地生态系统结构和功能作用突出^[4]。

真菌是微生物中的一大类群,淡水真菌是指全部生命循环或部分生命循环依赖于淡水环境的真菌,其分布广泛、种类多样,大部分生长在动态水或静态水中,是与人类生活息息相关的一类珍贵生物资源^[5-7],在环境指示、污染处理以及生物防治等方面有着广阔的应用前景。国外开展水生真菌研究工作比较早,在应用和工业化生产方面取得了一定突破。我国开展此领域的研究较晚,与陆生生态环境真菌的研究相比较,水生真菌多样性研究方面的成果极少,这与我国丰富的水生真菌生物多样性资

源形成了巨大的反差^[8]。

拉鲁湿地是目前我国城市范围内面积最大的天然湿地,在保持地区生物多样性、维持城市生态平衡、改善城市环境质量等方面起着重要的作用^[9]。然而,由于受地域等条件的限制,拉鲁湿地微生物多样性的研究起步较晚,相关的几篇文章也仅局限于对该区域土壤微生物的研究^[10-12],针对拉鲁湿地水体微生物,尤其是丝状真菌的研究尚未见报道。开展高原湿地水体丝状真菌的多样性分析,能够为青藏高原微生物多样性研究提供理论依据,并为其中重要真菌资源的开发和利用提供有意义的参考。

1 材料与方法

1.1 研究地概况及水样采集

拉鲁湿地(91°03'48.5"-91°06'51.4"E, 29°39'46.3"-29°41'05.5"N)位于拉萨市西北角,海拔 3 645 m,是世界上海拔最高、位于城市内面积最大的天然湿地。拉鲁湿地总面积 620 hm²,占拉萨市总面积的 11.7%^[13],该湿地属于芦苇泥炭沼泽,湿地内野生植物以芦苇群落和中生型莎草科植物为主,土壤类型主要为泥炭沼泽土和泥炭土^[14]。来自夺底、娘热两大沟的河流(流沙河)、大气降水和纳金电站的尾水为拉鲁湿地的主要补给水源^[13]。

2016年冬季根据水体分布情况,结合地理位置和生境差异,在拉鲁湿地选择11个样点采集水样(表1)。用无菌采集器在距水体表面约100 cm处进行水样采集。每个样点共采集约5 L水样,先直接在采样地测定水样pH、温度、总溶解固体量、电导率和盐度,然后将采集的水样分别装入2个无菌塑料桶。一份水样立刻送至拉萨净源科技有限公司测定水体理化因子(总氮、总磷、氨氮、溶解氧、化学需氧量、总悬浮颗粒物),另一份带回实验室立即分离其中的丝状真菌。

1.2 主要试剂和仪器

PCR试剂盒、DNA凝胶回收试剂盒,四川生工科技有限公司;DNA marker,北京艾德莱生物科技有限公司。超净工作台,苏州净化设备有限公司;台式循环水真空泵,上海远怀科技有限公司;PCR仪,德国耶拿分析仪器股份公司;电泳仪、凝胶成像仪,北京君意东方电泳设备有限公司。

1.3 水体丝状真菌的分离及纯化

将0.45 μm醋酸纤维素滤膜放置于抽滤瓶上,取30 mL水样进行抽滤,然后将滤膜正置于培养基(酸性PDA培养基、RBCH培养基)表面进行培养。培养基组分见文献[15]。每个处理3个重复。

表1 拉鲁湿地水体采样点位置

Table 1 Situation of water samples in Lhalu Wetland, Tibet

样点 Sites	经度 Longitude	纬度 Latitude
1	91°06'02.87"	29°40'02.40"
2	91°06'21.03"	29°40'02.93"
3	91°06'21.07"	29°40'04.95"
4	91°06'14.80"	29°40'12.16"
5	91°06'15.36"	29°40'22.55"
6	91°06'05.81"	29°40'35.00"
7	91°05'59.58"	29°40'33.62"
8	91°05'36.73"	29°40'02.02"
9	91°05'01.99"	29°40'08.85"
10	91°04'51.71"	29°40'01.64"
11	91°05'12.86"	29°39'57.99"

1.4 丝状真菌形态观察

观察并记录丝状真菌在PDA培养基上的菌落颜色、形状、质地等,并用光学显微镜观察丝状真菌的形态。

1.5 丝状真菌的分子鉴定

采用CTAB法^[16]提取菌株的基因组DNA,用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')扩增目的片段nrDNA ITS全序列。PCR反应体系(50 μL):T5 Super PCR mix 25 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各1 μL,DNA模板1 μL,dH₂O 22 μL。PCR反应条件:94 °C 5 min;98 °C 10 s,55 °C 15 s,72 °C 15 s,30个循环;72 °C 5 min。PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后送北京博迈德生物技术有限公司进行测序。

供试菌株rDNA ITS序列测序结果人工校对后在GenBank数据库中进行比对。与已知丝状真菌菌株序列相似度为99%以上的确定为同一种,相似度为97%–99%则确定为同一属,从而确定丝状真菌的分类地位。

1.6 拉鲁湿地水体理化因子测定

用多参数测试笔测定样品温度、pH、盐度、总溶解固体量(TDS)和电导率(EC)。总氮、总磷、氨氮、总悬浮物颗粒物、化学需氧量和溶解氧6个环境指标的测定由拉萨净源科技有限公司进行。总磷(TP)、总氮(TN)和氨氮(NH₄⁺-N)均使用TU-1901紫外可见分光光度计进行测定,方法分别为钼酸铵分光光度法(GB11893-89)、碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(HJ636-2012)和纳氏试剂分光光度法(HJ535-2009);化学需氧量(COD)的测定采用重铬酸盐法(GB11914-89);溶解氧(DO)的测定采用电化学探头法(HJ506-2009)。

1.7 数据处理与分析

多样性指数(Simpson、Shannon-Wiener多样性指数和Pielou均匀度指数)的计算采用Excel软件,具体公式如文献[17]所示;优势种或优势属为优势度(出现频率与相对丰度乘积)不小于2%者;差异性

分析采用 SPSS 19.0 Duncan 检验法, 该软件的 Pearson 系数法则被用于相关性分析; 主成分分析 (Principal components analysis, PCA) 所用软件为 CANACO 4.5。

2 结果与分析

2.1 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌的多样性分析

2.1.1 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌的群落组成特征

拉鲁湿地冬季水体中分离的丝状真菌归属为 6 个属 (*Cladosporium*、*Fusarium*、*Galactomyces*、*Mucor*、*Penicillium* 和 *Phoma*) 13 个种 (表 2)。丝状真菌种群结构为: *Cladosporium* 分离到 5 个种, *Mucor* 分离到 3 个种, *Penicillium* 分离到 2 个种, 其他 3 个属均分离到 1 个种。

分析不同真菌出现频率可知 (表 2), *M. hiemalis* 出现频率最高 (100%), 其次为 *M. racemosus*, 出现频率超过 50%; *G. geotrichum* 和 *C. cladosporioides* 分布也较广泛, 分布样点数分别为 5 个和 4 个, 出现频率均超过 30%; *C. macrocarpum* 等 5 种真菌仅在一个样点被分离到。相对丰度数据显示 (表 2), *M. hiemalis* 数量最多, 丰度为 48.90%; *M.*

racemosus 相对丰度也较高, 超过 20%; *C. macrocarpum* 等 4 种丝状真菌仅分离到 1 株。相对丰度与出现频率综合表明, 拉鲁湿地水体丝状真菌的优势种为 *M. hiemalis*、*M. racemosus* 和 *G. geotrichum*, 这 3 种真菌的优势度分别为 48.90%、12.45% 和 4.27%; 优势属为 *Mucor* (优势度为 71.53%)、*Cladosporium* (优势度为 4.31%) 和 *Galactomyces* (优势度为 4.27%)。

2.1.2 拉鲁湿地冬季各水样丝状真菌组成相似性分析

为了了解拉鲁湿地冬季霉菌群落组成的相似性, 计算了各水样丝状真菌 Jaccard 相似度系数, 结果如表 3 所示。从表 3 可知, 拉鲁湿地各水样丝状真菌相似度系数范围为 0.11–1.00; 3、6 和 11 号水样间相似度系数为 1.00, 属极度相似; 10 组水样两两间为中等相似 (0.50–0.75), 比例为 18%; 16 组水样两两间为中等不相似, 比例为 29%; 其他水样间相似度系数 < 0.25, 为极度不相似, 比例为 47%。总体而言, 拉鲁湿地冬季 11 个水样间丝状真菌种类不相似比例高达 76%, 可以看出该环境丝状真菌分布存在明显的空间异质性。

表 2 拉鲁湿地水体冬季丝状真菌的分布状况

Table 2 Distribution of filamentous fungi isolated from water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

物种 Species	样点 Sites											出现频率 Occurrence frequency (%)	相对丰度 Relative abundance (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
<i>Cladosporium asperulatum</i>							1				1	18.18	1.46
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2				2		1		2			36.36	5.11
<i>Cladosporium macrocarpum</i>											1	9.09	0.73
<i>Cladosporium oryzae</i>					2							9.09	1.46
<i>Cladosporium uredinicola</i>					1							9.09	0.73
<i>Fusarium avenaceum</i>	2						2		1			27.27	3.65
<i>Galactomyces geotrichum</i>			2			1		2	2		6	45.45	9.49
<i>Mucor circinelloides</i>					1						2	18.18	2.19
<i>Mucor hiemalis</i>	3	5	15	10	1	3	6	10	8	2	4	100.00	48.90
<i>Mucor racemosus</i>		3	1	8		7				6	6	54.55	22.63
<i>Penicillium commune</i>		1										9.09	0.73
<i>Penicillium expansum</i>	1	1								1		27.27	2.19
<i>Phoma</i> sp.								1				9.09	0.73

表 3 拉鲁湿地冬季各水样丝状真菌的 Jaccard 相似度系数

Table 3 Jaccard coefficient of filamentous fungi among different sites during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

样点 Sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1.00										
2	0.16	1.00									
3	0.16	0.40	1.00								
4	0.20	0.50	0.67	1.00							
5	0.29	0.13	0.14	0.17	1.00						
6	0.16	0.40	1.00	0.67	0.14	1.00					
7	0.60	0.14	0.17	0.20	0.29	0.17	1.00				
8	0.16	0.20	0.67	0.25	0.14	0.50	0.17	1.00			
9	0.60	0.14	0.40	0.20	0.29	0.40	0.60	0.40	1.00		
10	0.11	0.38	0.29	0.33	0.22	0.29	0.25	0.14	0.11	1.00	
11	0.16	0.40	1.00	0.67	0.14	1.00	0.17	0.50	0.40	0.29	1.00

2.1.3 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌多样性指数

从表 4 可知, 拉鲁湿地 10 号水样丝状真菌种类最多, 4 号最少, 1 号和 9 号丝状真菌属较多。总丰度显示, 8 号样点丝状真菌数量最多($P<0.05$), 其次为 3 号水样, 1 号水样丝状真菌数量最少, 与 3、7、8 和 9 号水样间差异显著($P<0.05$)。Simpson 多样性指数(D)、Shannon-Wiener 多样性指数(H')和 Pielou 均匀度指数(J')显示(表 4), 1、5 和 10 号水样

D 值较高, 3 号该值最低, 仅为 0.29; 5 号和 10 号 2 个水样 H' 值最高, 3 号水样 H' 值最低。可以看出, Simpson 多样性指数和 Shannon-Wiener 多样性指数基本一致, 这 2 个指数综合表明, 5 号和 10 号 2 个水样丝状真菌多样性较丰富。5 号水样丝状真菌分布最均匀, 其次为 1 号水样, 相对而言 3 号水样分布最不均匀。总体来看, 5 号水样丝状真菌多样性最丰富且分布均匀。

表 4 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌的多样性指数

Table 4 Diversity indices of filamentous fungi from water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

样点 Sites	物种数 Species number	属数 Genera number	真菌数量 Filamentous fungi counts (CFU/L)	辛普森指数 Simpson index (D)	香农指数 Shannon index (H')	均匀度指数 Pielou evenness index (J')
1	4	4	99d	0.72	1.32	0.64
2	4	2	231cd	0.64	1.17	0.51
3	3	2	1 353b	0.29	0.57	0.19
4	2	1	957bcd	0.49	0.69	0.24
5	5	2	429cd	0.78	1.55	0.80
6	3	2	396cd	0.51	0.86	0.36
7	4	3	1 056bc	0.58	1.09	0.47
8	3	3	3 861a	0.38	0.69	0.28
9	4	4	990bc	0.57	1.07	0.42
10	6	3	594bcd	0.72	1.52	0.59
11	3	2	297cd	0.66	1.08	0.39

注: 同列标注不同字母的数据间呈显著相关性($P<0.05$)。

Note: The data marked with different alphabets indicated that difference were significant ($P<0.05$).

2.2 拉鲁湿地冬季水体理化因子与丝状真菌多样性相关性分析

2.2.1 拉鲁湿地冬季水体理化因子差异性分析

拉鲁湿地水体理化指标(表 5)数据表明,拉鲁湿地 11 个水样间理化指标存在不同程度的差异。就 pH 而言,数据显示采集的水样均偏碱性(pH 7.42–9.12),1 号水样 pH 值最高,7 号水样 pH 值最低,11 个水样间 pH 值基本都存在显著差异($P<0.05$);分析 EC、TDC 和盐度可见,11 个水样变化趋势一致,11 号和 10 号水样明显高于其他水样,6 号水样数值最小(EC 为 213–362 $\mu\text{s}/\text{cm}$, TDS 为 151–257 mg/L, 盐度为 98–168 mg/L);总氮和氨氮测定结果显示,拉鲁湿地冬季水体总氮范围为 2.30–6.70 mg/L,氨氮范围为 1.57–19.40 mg/L,其中 6 号水样这 2 个值最高($P<0.05$),8 号水样总氮值最低,10 号水样氨氮值最低;总磷值 11 号水样最高,3、7、8、9 号水样则最低,总体范围为 0–0.23 mg/L;悬浮物分析表明,7 号水样悬浮物浓度最高,其次为 4 号水样,其他水样间没有明显差异;拉鲁湿地水体溶解氧范围为

4.45–7.75 mg/L,8 号水样溶解氧最高,7 号最低;化学需氧量测定范围为 76.75–95.28 mg/L,4 号水样该值最高,10 号水样最低。

2.2.2 拉鲁湿地冬季水体理化因子间相关性分析

表 6 数据表明,拉鲁湿地冬季水体 EC、TDS 和盐度 3 个理化因子两两间呈极显著正相关($P<0.01$);TN 与 TP 间呈显著正相关($P<0.05$);TSP 与 DO 间呈极显著负相关($P<0.01$);COD 与 EC、TDS 和盐度 3 个理化因子间呈显著负相关($P<0.05$),而与水体氨氮间呈显著正相关($P<0.05$);pH 与温度间呈显著正相关($P<0.05$);其他理化因子两两间相关性不显著。

2.2.3 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌多样性指数间相关性分析

如表 7 所示,拉鲁湿地水体丝状真菌种数与 H' 以及 J' 间呈极显著正相关($P<0.01$),与 D 间呈显著正相关($P<0.05$),丝状真菌数量与 D 间呈显著负相关($P<0.05$); D 、 H' 以及 J' 两两间呈极显著正相关($P<0.01$)。

表 5 拉鲁湿地各水样理化因子差异性分析

Table 5 Difference analysis of environmental factors among water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

样点 Sites	酸碱度 pH	电导率 EC ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	总溶解 固体量 TDS (mg/L)	盐度 Salt (mg/L)	温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	总氮 TN (mg/L)	氨氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/L)	总磷 TP (mg/L)	总悬浮 颗粒物 TSP (mg/L)	溶解氧 DO (mg/L)	化学需 氧量 COD (mg/L)
1	9.12a	272.00cd	193.33cd	125.67cd	11.20c	4.60d	3.50def	0.20b	4.67c	6.97c	85.24g
2	8.65b	246.00de	174.67de	113.33cde	11.33c	4.00f	2.70g	0.10cd	4.33c	7.09c	82.38i
3	8.27e	236.33ef	168.00ef	109.33ef	11.60b	4.00f	3.40ef	0.00e	2.67c	7.02c	88.10e
4	8.20e	241.00def	171.33def	111.67def	11.83a	4.60d	8.50b	0.20b	19.33b	5.91g	95.28a
5	8.45d	231.00ef	164.33ef	107.17ef	11.67ab	3.80g	4.93c	0.07d	4.67c	6.53f	88.73c
6	8.56c	213.67f	151.67f	98.53f	11.00d	6.70a	19.40a	0.13c	3.00c	7.42b	93.37b
7	7.42j	289.33c	205.67c	132.67c	10.07g	4.10e	4.00d	0.00e	103.67a	4.45h	85.75f
8	7.69i	271.33cd	193.33cd	125.00cd	9.70h	2.30i	3.70de	0.00e	2.00c	7.75a	82.73h
9	7.78h	258.33cde	183.33de	118.33cde	10.37f	3.33h	3.03fg	0.00e	6.00c	6.82e	76.84k
10	8.06f	323.00b	229.33b	148.67b	10.57e	5.80b	1.57h	0.23b	10.33c	7.45b	78.41j
11	7.96g	362.33a	257.00a	168.00a	10.97d	5.30c	3.50def	0.30a	5.00c	7.03c	76.75k

注:同列标注不同字母的数据间呈显著相关性($P<0.05$)。

Note: The data marked with different alphabets indicated that difference were significant ($P<0.05$).

表 6 拉鲁湿地冬季各水样理化因子间的 Pearson 相关性系数

Table 6 Pearson correlation coefficient of environmental factors during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

理化因子 Environmental factors	酸碱度 pH	电导率 EC	总溶解固 体量 TDS	盐度 Salt	温度 Temperature	总氮 TN	氨氮 NH ₄ ⁺ -N	总磷 TP	总悬浮颗 粒物 TSP	溶解氧 DO	化学需 氧量 COD
酸碱度 pH	1.000										
电导率 EC	-0.386	1.000									
总溶解盐 TDS	-0.388	1.000**	1.000								
盐度 Salt	-0.373	1.000**	1.000**	1.000							
温度 Temperature	0.674*	-0.391	-0.394	-0.371	1.000						
总氮 TN	0.341	0.139	0.134	0.145	0.301	1.000					
氨氮 NH ₄ ⁺ -N	0.237	-0.512	-0.514	-0.508	0.187	0.567	1.000				
总磷 TP	0.366	0.527	0.525	0.541	0.337	0.678*	0.086	1.000			
总悬浮颗粒物 TSP	-0.536	0.172	0.174	0.159	-0.360	-0.052	-0.081	-0.269	1.000		
溶解氧 DO	0.372	-0.005	-0.006	0.001	-0.005	0.096	0.070	0.212	-0.893**	1.000	
化学需氧量 COD	0.333	-0.721*	-0.720*	-0.711*	0.522	0.207	0.676*	-0.095	0.094	-0.269	1.000

注: *: 在 0.05 水平(双侧)显著相关; **: 在 0.01 水平(双侧)显著相关.

Note: *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

表 7 拉鲁湿地水体丝状真菌多样性指数间的 Pearson 相关性系数

Table 7 Pearson correlation coefficient of diversity indices of filamentous fungi among different water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

项目 Items	物种数 Species number	属数 Genera number	真菌数量 Filamentous fungi counts	辛普森指数 Simpson index (<i>D</i>)	香农指数 Shannon index (<i>H'</i>)	均匀度指数 Pielou evenness index (<i>J'</i>)
物种数 Species number	1.000					
属数 Genera number	0.450	1.000				
真菌数量 Filamentous fungi counts	-0.294	0.116	1.000			
辛普森指数 Simpson index (<i>D</i>)	0.680*	0.222	-0.653*	1.000		
香农指数 Shannon index (<i>H'</i>)	0.873**	0.343	-0.548	0.948**	1.000	
均匀度指数 Pielou evenness index (<i>J'</i>)	0.799**	0.323	-0.494	0.907**	0.956**	1.000

注: *: 在 0.05 水平(双侧)显著相关; **: 在 0.01 水平(双侧)显著相关.

Note: *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

2.2.4 拉鲁湿地冬季水体理化因子与丝状真菌多样性指数间相关性分析

表 8 数据显示, 拉鲁湿地冬季水体总氮与丝状真菌数量间呈显著负相关($P<0.05$), 温度与属数目间呈显著负相关($P<0.05$), 其他参数间没有明显相关性。

2.2.5 拉鲁湿地冬季水体理化因子与不同丝状真菌间相关性分析

从表 9 可知, 拉鲁湿地冬季水体 TN、TP 与 *M. racemosus* 呈显著正相关($P<0.05$), TSP 与 *C. asperulatum* 和 *F. avenaceum* 呈显著正相关($P<0.05$), 其他理化因子与丝状真菌间无明显相关性。

C. asperulatum 和 *C. macrocarpum*、*C. cladoporioides* 和 *F. avenaceum* 呈显著正相关($P<0.05$) (表 10), *C. macrocarpum* 和 *M. circinelloides*、

C. oryzae 和 *C. uredinicola* 呈极显著正相关性($P<0.01$), *C. cladoporioides* 和 *M. racemosus* 则呈显著负相关性($P<0.05$), 其他丝状真菌间相关性不明显。

2.2.6 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌群落排序

为直观反映丝状真菌与理化因子间的关系, 采用 CANOCO 软件对二者进行了排序。为确定合理的排序模型, 先进行去趋势对应分析(Detrended correspondence analysis, DCA)。去趋势对应分析结果显示第 1 排序轴的梯度长度值为 2.839, 因此选择线性模型中的主成分分析进行排序。主成分分析(Principal components analysis, PCA)结果表明, 第 1 排序轴对响应变量的解释比例为 54%, 第 2 排序轴为 32%, 二者总和达到 86%, 表明该排序图能有效反映拉鲁湿地水体环境因子与丝状真菌间的关系。

表 8 拉鲁湿地冬季水体理化因子与丝状真菌多样性指数的 Pearson 相关性系数

Table 8 Pearson correlation coefficient between environmental factors and diversity indices of filamentous fungi of water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

项目 Items	物种数 Species number	属数目 Genera number	真菌数量 Filamentous fungi counts	辛普森指数 Simpson index (<i>D</i>)	香农指数 Shannon index (<i>H'</i>)	均匀度指数 Pielou evenness index (<i>J</i>)
酸碱度 pH	0.052	-0.090	-0.545	0.311	0.247	0.356
电导率 EC	0.237	0.239	-0.045	0.334	0.301	0.093
总溶解固体量 TDS	0.237	0.240	-0.040	0.332	0.300	0.093
盐度 Salt	0.228	0.222	-0.051	0.336	0.299	0.093
温度 Temperature	-0.172	-0.618*	-0.589	0.130	0.027	0.096
总氮 TN	0.086	-0.268	-0.656*	0.288	0.201	0.084
氨氮 NH ₄ ⁺ -N	-0.418	-0.384	-0.140	-0.204	-0.318	-0.238
总磷 TP	0.030	-0.236	-0.532	0.496	0.318	0.175
总悬浮颗粒物 TSP	0.058	0.099	0.009	0.025	0.030	0.025
溶解氧 DO	0.069	0.084	0.173	-0.089	-0.026	-0.063
化学需氧量 COD	-0.455	-0.574	-0.042	-0.302	-0.380	-0.202

注: *: 在 0.05 水平(双侧)显著相关; **: 在 0.01 水平(双侧)显著相关。

Note: *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

表 9 拉鲁湿地冬季水体理化因子与不同丝状真菌间 Pearson 相关性系数

Table 9 Pearson correlation coefficient between environmental factors and different filamentous fungi of water samples during water time in Lhalu Wetland, Tibet

丝状真菌 Filamentous fungi	酸碱度 pH	电导率 EC	总溶解盐 TDS	盐度 Salt	温度 Temperature	总氮 TN	氨氮 NH ₄ ⁺ -N	总磷 TP	总悬浮颗粒 TSP	溶解氧 DO	化学需氧量 COD
<i>Cladosporium asperulatum</i>	-0.464	0.436	0.437	0.421	-0.443	0.221	-0.249	0.020	0.696*	-0.444	-0.221
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0.166	-0.153	-0.153	-0.158	-0.002	-0.299	-0.219	-0.249	0.105	-0.271	-0.117
<i>Cladosporium macrocarpum</i>	-0.093	0.421	0.420	0.414	-0.177	0.383	-0.248	0.369	-0.053	0.249	-0.343
<i>Cladosporium oryzae</i>	0.173	-0.279	-0.278	-0.268	0.353	-0.169	-0.024	-0.138	-0.116	-0.086	0.205
<i>Cladosporium uredinicola</i>	0.173	-0.279	-0.278	-0.268	0.353	-0.169	-0.024	-0.138	-0.116	-0.086	0.205
<i>Fusarium avenaceum</i>	-0.031	0.119	0.120	0.106	-0.315	-0.135	-0.206	-0.180	0.603*	-0.559	-0.108
<i>Galactomyces geotrichum</i>	-0.308	0.550	0.548	0.558	-0.160	0.018	-0.089	0.239	-0.259	0.288	-0.473
<i>Mucor circinelloides</i>	-0.006	0.262	0.263	0.261	0.000	0.278	-0.242	0.280	-0.103	0.191	-0.224
<i>Mucor hiemalis</i>	-0.326	-0.242	-0.240	-0.243	-0.006	-0.486	-0.137	-0.493	0.003	-0.054	0.169
<i>Mucor racemosus</i>	0.111	0.148	0.145	0.158	0.328	0.749**	0.498	0.716*	-0.188	0.154	0.249
<i>Penicillium commune</i>	0.309	-0.165	-0.167	-0.167	0.189	-0.114	-0.172	-0.037	-0.119	0.117	-0.132
<i>Penicillium expansum</i>	0.546	0.186	0.186	0.183	0.090	0.207	-0.348	0.387	-0.186	0.284	-0.294
<i>Phoma</i> sp.	-0.345	0.028	0.034	0.025	-0.596	-0.582	-0.106	-0.342	-0.145	0.358	-0.114

注: *: 在 0.05 水平(双侧)显著相关; **: 在 0.01 水平(双侧)显著相关。

Note: *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

样点分布状况显示(图 1), 11 个水样基本不成簇排列, 没有形成明显聚类, 这与 Jaccard 相似性系数的结果基本一致, 说明拉鲁湿地水体丝状真菌的分布空间异质性较明显。

TN 和 TP 对拉鲁湿地冬季水体丝状真菌分布的影响较明显。这 2 种理化因子与 *M. racemosus* 间正相关性最显著, 与 *M. hiemalis* 呈较强的负相关性。COD 与 *M. hiemalis* 呈较强的正相关性, TSP 与 *C. cladosporioides* 和 *F. avenaceum* 间相关性也较强。上述结果与 Pearson 相关性分析结果基本吻合。

排序图能够较直观地反映该生境优势微生物种类以及不同微生物间的相关性。从图 1 可以看出,

第 1 排序轴显示 *M. hiemalis* 和 *G. geotrichum* 为拉鲁湿地冬季水体丝状真菌优势种, 第 2 排序轴则表明 *M. racemosus* 也是该生境优势种类, 这与实际数据相一致。拉鲁湿地水体优势丝状真菌在 11 个水样的分布状况从排序图中也得到了准确体现。从图 1 可以看出, *M. hiemalis* 在 3 号水样分布最多, 其次为 4 号和 8 号水样, 在 5 号水样分布最少, *M. racemosus* 在 4 号水样分布最多, 其次为 6、10、11 号水样, 这与表 2 结果相吻合。

除上述基本要素以外, 环境因子间相关性在排序图中也得到一定程度的呈现。图 1 表明 TN 和 TP 呈显著正相关, DO 与 TSP 呈显著负相关, 这与表 6 结果相一致。

表 10 拉鲁湿地水体不同丝状真菌间的 Pearson 相关性系数
 Table 10 Pearson correlation coefficient of different filamentous fungi from water samples during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

Filamentous fungi	C. asperuatum	C. cladosporioiodes	C. macrocarpum	C. oryzae	C. uredinicola	F. avenaceum	G. geotrichum	M. circinelloides	M. hiemalis	M. racemosus	P. commune	P. expansum	Phoma sp.
<i>C. asperulatum</i>	1.000												
<i>C. cladosporioiodes</i>	-0.073	1.000											
<i>C. macrocarpum</i>	0.671*	-0.228	1.000										
<i>C. oryzae</i>	-0.149	0.489	-0.100	1.000									
<i>C. uredinicola</i>	-0.149	0.489	-0.100	1.000**	1.000								
<i>F. avenaceum</i>	0.329	0.635*	-0.184	-0.184	-0.184	1.000							
<i>G. geotrichum</i>	-0.319	-0.252	-0.214	-0.214	-0.214	-0.260	1.000						
<i>M. circinelloides</i>	0.556	0.015	0.886**	0.373	0.373	-0.257	-0.299	1.000					
<i>M. hiemalis</i>	-0.243	-0.321	-0.319	-0.397	-0.397	-0.128	0.177	-0.483	1.000				
<i>M. racemosus</i>	0.027	-0.650*	0.322	-0.285	-0.285	-0.524	0.139	0.167	-0.156	1.000			
<i>P. commune</i>	-0.149	-0.228	-0.100	-0.100	-0.100	-0.184	-0.214	-0.140	-0.085	0.018	1.000		
<i>P. expansum</i>	0.241	0.021	0.516	-0.194	-0.194	0.166	-0.414	0.391	-0.416	0.036	0.516	1.000	
<i>Phoma sp.</i>	-0.149	-0.228	-0.100	-0.100	-0.100	-0.184	0.148	-0.140	0.305	-0.285	-0.100	-0.194	1.000

注: * : 在 0.05 水平(双侧)显著相关; ** : 在 0.01 水平(双侧)显著相关。

Note: * : There was a significant correlation at the 0.05 level; ** : There was a significant correlation at the 0.01 level.

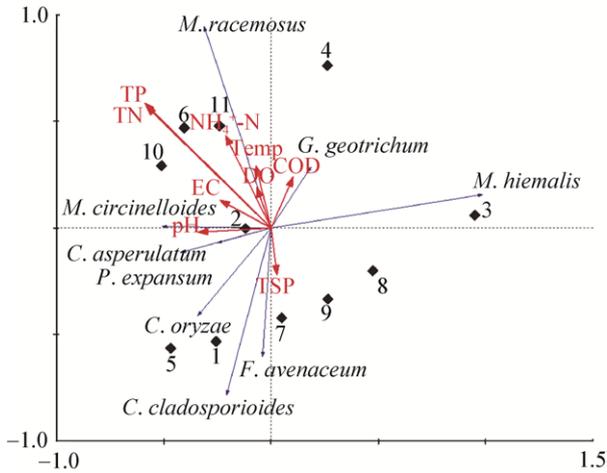


图 1 拉鲁湿地冬季水体丝状真菌群落与理化因子 PCA 分析排序图

Figure 1 PCA ordination diagram of filamentous fungi community associated with environmental during winter time in Lhalu Wetland, Tibet

注: EC: 电导率; Temp: 温度; TN: 总氮; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: 氨氮; TP: 总磷; TSP: 总悬浮颗粒物; DO: 溶解氧; COD: 化学需氧量。

Note: EC: Electric conductivity; Temp: Temperature; TN: Total nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: Ammonia nitrogen; TP: Total phosphorus; TSP: Total suspended particulates; DO: Dissolved oxygen; COD: Chemical oxygen demand.

3 讨论与结论

采用滤膜浓缩法分离了采自拉鲁湿地 11 份水样的丝状真菌, 并对其进行了分类。结果显示, 拉鲁湿地水体丝状真菌归为 6 个属 13 个种; 优势度表明, *M. hiemalis*、*M. racemosus* 和 *G. geotrichum* 3 种真菌为拉鲁湿地冬季水体丝状真菌优势种, *Mucor*、*Cladosporium* 和 *Galactomyces* 为该环境丝状真菌优势属; 拉鲁湿地冬季水体总氮与丝状真菌总丰度间呈显著负相关($P < 0.05$)。

理化因子差异性分析结果表明, 拉鲁湿地冬季不同水样理化因子差异比较明显, 如 pH、DO 及 COD 等。造成差异的原因一方面可能由于湿地生态系统水体几乎不流动, 另一方面由于水体在该生态系统的分布呈现不规则的区域分隔状态, 而且湿地不同区域植被和土壤类型的差异也可能很大程度上影响了该区域水体的理化因子, 并进一步导致该

环境丝状真菌群落组成的差异。

地表水环境质量标准基本项目标准限值显示, I-V 类水质化学需氧量标准限值为 15–40 mg/L, 氨氮和总氮标准限值分别为 0.15–2.00 mg/L 和 0.2–2.0 mg/L。本实验测得的这 3 种理化因子数据均超过限值, 而溶解氧、总磷等却显示拉鲁湿地水质为较清洁或清洁的程度。分析数据矛盾的原因, 可能由于冬季拉鲁湿地某些样点水体缺乏补给, 水位偏低, 用采样器进行取样时无法仅采集到表层水, 往往将底泥混入水体, 所以导致一些理化因子数据受到影响而不符合地表水环境质量标准限值, 因此本实验理化因子数据无法真实反映拉鲁湿地水体清洁程度, 但作为真菌多样性的影响指标而言, 这些数据具有评价和分析意义。

关于我国湿地水体真菌多样性的研究文献较少, 因而查阅了包括湿地、河流、湖泊等在内的淡水真菌相关资料, 与本实验结果进行比较。从表 11 可以看出, 拉鲁湿地丝状真菌数量高于程海湖、南沙河、克孜勒河、盖孜河、东湖以及南湖而低于吐曼河和贾鲁河。比较淡水真菌属数目可知, 程海湖、阿什河及乌伊岭湿地水体真菌属数目多于拉鲁湿地水体。分析乌伊河湿地与拉鲁湿地水体真菌属数目间的差异, 一方面可能因为采样季节不同, 文献[8]表明, 乌伊岭湿地水体夏季真菌属数目最多(15), 其次为秋季(12), 春季最少(11), 可以看出湿地水体真菌丰富度与季节存在一定关系, 由于该文献未进行冬季乌伊岭湿地水体真菌种类的研究, 因此无法对拉鲁湿地水体与乌伊岭湿地水体丝状真菌种类进行比较, 但值得肯定的是, 2 个湿地水体真菌属数目间的差异与采样季节具有一定关系。另外, 地理位置和水质差异可能是导致 2 个湿地水体真菌种类和优势属不同的原因。拉鲁湿地水体可能比乌伊岭湿地水体有机质含量低, 因而在此环境中未能检出主要存在于土壤、腐烂木材和杂草的世界性分布真菌木霉。分析表 11 另外几个淡水环境真菌优势属可以看出, 毛霉是拉鲁湿地和阿什河共有优势

表 11 我国淡水真菌研究现状

Table 11 Introduction to research on freshwater fungi in China

区域 Region	数量 Count (CFU/L)	属数 Genera number	优势属 Dominated genera	分离方法 Method	分离培养基 Medium	年度及季节 Time	文献 References
贾鲁河 Jialu River	5 000	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2009	[18]
乌伊岭湿地 Wuyiling Wetland	—	11	<i>Trichoderma</i> , <i>Hypocrea</i> , <i>Aspergillus</i>	Filter paper method	Martin medium	In the spring of 2010	[8]
阿什河 Ashihe	—	13	<i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i>	Filter paper method	Martin medium; PDA medium	In the autumn of 2010	[5]
南沙河 Nansha River	94	—	—	Diluted plate method	Martin medium	2010–2012	[19]
程海湖 Chenghai Lake	212	28	<i>Cladosporium</i>	<i>In situ</i> cultivation	PDA medium with penicillin; Martin medium; Acidified YM medium; oatmeal agar with penicillin	In the winter of 2013	[7]
克孜勒河 Kizil River	680	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2015	[20]
盖孜河 Gaizi River	330	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2015	[20]
吐曼河 Tuman River	1 300	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2015	[20]
东湖 East Lake	740	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2015	[20]
南湖 South Lake	700	—	—	Diluted plate method	Martin medium	In the winter of 2015	[20]
拉鲁湿地 Lhalu Wetland	933	6	<i>Mucor</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Galactomyces</i>	Concentration method	Acidified PDA medium; Martin medium	In the winter of 2016	This article

注：—：文章中无相关内容。

Note: —: This kind of data was not showed in the article.

属，枝孢属为拉鲁湿地和程海湖共有优势真菌。总之，水体中真菌数量和种类等受诸多因素的影响，如水体类型、采样季节、分离方法、地理位置及环境因素等。另外，拉鲁湿地由于特殊的地理位置和环境条件，使得其中丝状真菌的分布与其他水体间存在明显差异。

除了比较拉鲁湿地与我国其他淡水环境中丝状真菌数量及种类差异，期望就其与青藏高原水体或土壤丝状真菌群落组成状况进行比较，然而青藏高原水体或土壤丝状真菌多样性研究资料相对很少，仅查到几篇相关文章。谢占玲等^[21]用常规的分离培养方法对青海湖中的耐盐真菌多样性进行了研究，分离到 18 个属 45 个种耐盐真菌。比较可知，

一些种类真菌共同存在于青海湖与拉鲁湿地水体中，如 *C. cladosporioides*、*M. racemosus* 和 *M. hiemalis*；另外，*Phoma* sp.、*Penicillium* sp. 和 *Fusarium* sp. 等存在于拉鲁湿地水体的丝状真菌在青海湖中也被分离到。分析可以看出，尽管分离培养基、水体理化因子存在差异，青海湖与拉鲁湿地水体丝状真菌种类仍具有一定相似性。相对而言，热井沉积物^[22]、冻土^[23]中的丝状真菌种类则与拉鲁湿地水体存在明显差异，导致该差异的主要原因可能与生境类型有关，但研究方法的不同也是造成差异的主要因素之一。

本研究表明拉鲁湿地冬季水体总氮与真菌数量间呈显著负相关，Pearson 相关性系数为-0.656，

这与曹萍麟等^[24]对纳帕海高原湿地土壤真菌的研究结果相一致。甘卓亭等^[25]对渭北塬区不同龄苹果园土壤微生物空间分布特征的研究也显示, 5 龄和 15 龄果园土壤真菌与总氮呈显著负相关。而董康等^[26]的研究则表明, 青藏公路沿线土壤真菌数量与总氮、有机碳和含水量呈极显著正相关, 松花江底泥^[27]以及中亚热带地区森林^[28]土壤真菌数量与总氮也呈显著正相关。文献^[19]表明, 南沙河水体真菌与水体中的污染物总氮含量呈显著正相关。尽管不同研究区域真菌数量与总氮正负相关性有所不同, 但是可以看出总氮是影响土壤或水体真菌数量的主要因素之一。

拉鲁湿地水体真菌优势种为冻土毛霉 *M. hiemalis*, 有研究表明, 高原湖泊、高原或高纬度湿地、农田或植物根际土壤等是冻土毛霉分布的主要环境。谢占玲等^[21]从青海湖黑马河、耳海和尕海中获得 20 株轻度嗜盐冻土毛霉, 该菌相对丰度为 3.24%。赵肖为等^[29]对乐清湾红树林真菌区系的研究表明, 冻土毛霉为存在于该环境中的一种真菌。官丽娜等^[30]采用稀释平板法和形态学鉴定法, 从辽宁碱蓬根际土壤中分离鉴定出对神有较强抗性的冻土毛霉原变型。曹萍麟等^[24]和梁晨等^[31]研究发现辽宁省农田作物根围和纳帕海高原湿地土壤中也存在冻土毛霉^[24,31]。宋瑞清等^[8]以定点连续采样的方法对乌伊岭湿地自然保护区水体中淡水真菌的多样性进行了初步研究, 并从春季、夏季及秋季水体中均分离到冻土毛霉。我们推测冻土毛霉高丰度、广泛存在于拉鲁湿地冬季水体的原因可能与该菌的低温适应性有密切关系; 另外, 拉鲁湿地水体的偏碱性也可能是该菌较其他丝状真菌数量多的原因之一, 而且由于冬季拉鲁湿地多个采样点水位偏低, 导致水样采集过程中某些样点水体中混入底泥, 从而可能使冻土环境中容易生长的冻土毛霉被大量分离。尽管 Pearson 相关性分析结果显示所测的水体理化因子与冻土毛霉间均无显著相关性, 但 PCA 结果表明 COD 与该菌间呈现一定的正相关性, 而拉鲁湿地 11 个水样中 COD 值均较高, 或许这也

是导致冻土毛霉检出数量较多的原因之一。此外, 分离方法及培养条件等也是导致该菌被大量检出的可能原因。由于所测理化因子与冻土毛霉没有呈现显著相关性, 所以无法对其进行详细分析, 希望今后对分离的冻土毛霉菌株生态学及生理生化特性等进行研究, 以探究影响其生长的主要原因。

拉鲁湿地冬季水体总氮与丝状真菌数量间呈显著负相关($P < 0.05$), 与 *M. racemosus* 呈显著正相关($P < 0.05$), 可能原因在于拉鲁湿地水体中相对丰度最高(48.90%)的 *M. hiemalis* 与水体总氮间呈现较强的负相关性(-0.486), 即使此相关性没有达到显著水平。由于拉鲁湿地为城市湿地, 该环境中真菌种类和分布不可避免地受到人类生活的影响。尽管目前拉鲁湿地管理较以往严格, 然而湿地放牧区域植被覆盖度、水体清洁程度等受人类活动影响较明显。此外, 随补给水进入湿地的一些城市生活垃圾也不免对该高原湿地脆弱生态环境造成危害。对青藏高原生态系统生物多样性进行动态监测, 并依此制定合理的保护和恢复措施至关重要。

REFERENCES

- [1] Costanza R, D'Arge R, de Groot R, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital[J]. *Nature*, 1997, 387(6630): 253-260
- [2] Zheng CY, Wang GH. Research progress on main functional microorganisms in wetland ecosystems[J]. *Wetland Science*, 2012, 10(2): 243-249 (in Chinese)
郑春雨, 王光华. 湿地生态系统中主要功能微生物研究进展[J]. *湿地科学*, 2012, 10(2): 243-249
- [3] Liu YY, Li F, Sun QY, et al. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, 19(3): 547-552 (in Chinese)
刘银银, 李峰, 孙庆业, 等. 湿地生态系统土壤微生物研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(3): 547-552
- [4] Zeng FF, Zhao TQ, Xu HS, et al. Number of microbes and its biodiversity in soil of Riparian Wetland[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 32(10): 13-18 (in Chinese)
曾繁富, 赵同谦, 徐华山, 等. 滨河湿地土壤微生物数量及多样性研究[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(10): 13-18
- [5] Zhou XH, Yang XD, Lin HK. Study on aquatic mycoflora in autumn in Ashihe Valley[J]. *Journal of Changchun University*, 2010, 20(6): 29-30,35 (in Chinese)
周秀华, 杨秀冬, 林海坤. 秋季阿什河水体真菌群落研究[J].

- 长春大学学报, 2010, 20(6): 29-30,35
- [6] Jin FY, Li ZY, Dong MH, et al. Antimicrobial activity of freshwater fungi from Chenghai Lake in Yunnan[J]. *Journal of Microbiology*, 2013, 33(3): 23-26 (in Chinese)
晋方佑, 李治滢, 董明华, 等. 云南程海湖淡水真菌抗菌活性筛选[J]. *微生物学杂志*, 2013, 33(3): 23-26
- [7] Jin FY, Li ZY, Wang YX, et al. Diversity of cultivable fungi isolated from the Chenghai Lake in Yunnan province[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, 19(6): 1025-1030 (in Chinese)
晋方佑, 李治滢, 王永霞, 等. 云南程海湖可培养真菌多样性分析[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(6): 1025-1030
- [8] Song RQ, Wu XM. Preliminary studies on diversity of freshwater fungi in Wuyiling wetland nature reserve[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2010, 41(3): 289-293 (in Chinese)
宋瑞清, 吴雪梅. 乌伊岭湿地自然保护区水体淡水真菌多样性研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2010, 41(3): 289-293
- [9] Huang W, Chen XT. Ecological service function and degradation reason analysis of Lhalu Wetland[J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2008, 37(3): 41-45 (in Chinese)
黄薇, 陈叙图. 拉鲁湿地的生态服务功能及其退化原由的分析[J]. *西部林业科学*, 2008, 37(3): 41-45
- [10] He JQ, Zhang GJ, Yue HM. Diversity and bioactivity analysis of actinomycetes isolated from Lhalu Wetland Nature Reserve[J]. *Journal of Microbiology*, 2009, 29(4): 6-10 (in Chinese)
何建清, 张格杰, 岳海梅. 拉鲁湿地自然保护区放线菌组成分析及生物活性测定[J]. *微生物学杂志*, 2009, 29(4): 6-10
- [11] De J, Wu XN, Suolang DQ, et al. Study on diversity of soil bacteria in Lhalu Wetland[J]. *Journal of Tibet University*, 2014, 29(2): 44-50 (in Chinese)
德吉, 吴小妮, 索朗德庆, 等. 拉鲁湿地土壤细菌多样性初探[J]. *西藏大学学报: 自然科学版*, 2014, 29(2): 44-50
- [12] Guo XF, Xiong N, Hao Z, et al. Analysis on the correlations between yeast diversity, extracellular enzyme activity and physicochemical factors of soil in Lhalu Wetland, Lhasa[J]. *Journal of Tibet University*, 2016, 31(2): 1-9 (in Chinese)
郭小芳, 熊宁, 郝兆, 等. 拉鲁湿地土壤理化因子与酵母菌多样性及产胞外酶活性相关性分析[J]. *西藏大学学报: 自然科学版*, 2016, 31(2): 1-9
- [13] Ba S, Huang X, Pu B, et al. Community characteristics of sarcodines and flagellates and water environment evaluation in Lhalu Wetlands[J]. *Wetland Science*, 2014, 12(2): 182-191 (in Chinese)
巴桑, 黄香, 普布, 等. 拉鲁湿地肉鞭虫群落特征及其水环境评价[J]. *湿地科学*, 2014, 12(2): 182-191
- [14] Liu XM, Zhuang DF, Qu R, et al. Change of Lhalu Wetlands from 1989 to 2009 based on remote sensing data[J]. *Wetland Science*, 2013, 11(4): 433-437 (in Chinese)
刘晓曼, 庄大方, 屈冉, 等. 基于遥感数据的 1989~2009 年拉鲁湿地变化研究[J]. *湿地科学*, 2013, 11(4): 433-437
- [15] Yan YP, Li ZY, Dong MH, et al. Yeasts from Yangzonghai Lake in Yunnan (China): diversity and extracellular enzymes[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(11): 1205-1212 (in Chinese)
严亚萍, 李治滢, 董明华, 等. 云南阳宗海酵母菌种群结构及产胞外酶测试[J]. *微生物学报*, 2013, 53(11): 1205-1212
- [16] Sun LF, Zhang YH, Pei KQ. A rapid extraction of genomic DNA from fungi[J]. *Mycosystema*, 2009, 28(2): 299-302 (in Chinese)
孙立夫, 张艳华, 裴克全. 一种高效提取真菌总 DNA 的方法[J]. *菌物学报*, 2009, 28(2): 299-302
- [17] Guo XF, Yao WJ, Sangding CC, et al. Isolation and identification of yeasts from commercial fruits in Chengguan District in Lhasa[J]. *Journal of Tibet University*, 2015, 30(2): 21-27 (in Chinese)
郭小芳, 姚文娟, 桑丁次措, 等. 西藏拉萨市城关区市售水果酵母菌的分离与鉴定[J]. *西藏大学学报: 自然科学版*, 2015, 30(2): 21-27
- [18] Wang FQ, Hou SF, Xie H, et al. Research on seasonal dynamic change of microbial population structure in Jialu River[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2012, 46(4): 438-441 (in Chinese)
王凤芹, 侯淑芬, 谢慧, 等. 贾鲁河水体微生物菌群结构季节动态变迁研究[J]. *河南农业大学学报*, 2012, 46(4): 438-441
- [19] Wang XH, Xiong Y. Environmental characteristics, pollution evaluation and correlation analysis of Nansha River in Taiyuan[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2013, 45(3): 83-87,90 (in Chinese)
王兴华, 熊怡. 太原市南沙河水体的环境特征及其污染评价和相关性研究[J]. *山东农业科学*, 2013, 45(3): 83-87,90
- [20] Liu ZM, Yang X, Shang XG, et al. A preliminary study on microbial ecological distribution of the main rivers in Kashgar[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2016, 22(24): 29-31,68 (in Chinese)
刘振明, 杨行, 尚小国, 等. 喀什市主要河流微生物生态分布研究[J]. *安徽农学通报*, 2016, 22(24): 29-31,68
- [21] Xie ZL, Wang H, Zhao P, et al. Diversity of halotolerant fungi isolated from Qinghai Lake based on culture-dependent investigation[J]. *Mycosystema*, 2012, 31(2): 187-195 (in Chinese)
谢占玲, 王欢, 赵朋, 等. 分离自青海湖可培养耐盐真菌的多样性研究[J]. *菌物学报*, 2012, 31(2): 187-195
- [22] Duan SQ, Gesang QZ, Pu B, et al. Eukaryotic microbes diversity in a disused thermal vent in Yangbajing, Tibet A.R.[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(11): 1987-1995 (in Chinese)
段双全, 格桑曲珍, 普布, 等. 西藏羊八井废弃热井沉积物中的真核微生物多样性[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(11): 1987-1995
- [23] Wang YF, Wei SP, Cui HP, et al. Distribution and diversity of microbial community along a vertical permafrost profile, Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(9): 1902-1917 (in Chinese)
王艳发, 魏士平, 崔鸿鹏, 等. 青藏高原冻土区土壤垂直剖

- 面中微生物的分布与多样性[J]. 微生物学通报, 2016, 43(9): 1902-1917
- [24] Cao PL, Lu M, Tian K, et al. Soil fungi distribution patterns under different levels of disturbance in the wetland of Napahai plateau[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2014, 38(11): 1166-1173 (in Chinese)
曹萍麟, 陆梅, 田昆, 等. 纳帕海高原湿地不同干扰强度下土壤真菌的分布格局[J]. 植物生态学报, 2014, 38(11): 1166-1173
- [25] Gan ZT, Zhang BB, Zhang ZQ, et al. Spatial distribution of soil microorganisms in apple orchards of different ages on the Weibei rainfed tableland of the Loess plateau, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(21): 6965-6973 (in Chinese)
甘卓亭, 张蓓蓓, 张掌权, 等. 渭北塬区不同龄苹果园土壤微生物空间分布特征[J]. 生态学报, 2015, 35(21): 6965-6973
- [26] Dong K, Li SW, Kang WL, et al. Study of the changes in microbe amount and its affect factors in the soils along the Qinghai-Tibet Highway[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2013, 35(2): 457-464 (in Chinese)
董康, 李师翁, 康文龙, 等. 青藏公路沿线土壤微生物数量变化及其影响因素研究[J]. 冰川冻土, 2013, 35(2): 457-464
- [27] Liu J, Ding YL, Feng W, et al. Isolation and molecular identification of fungi from the sediment of Songhua River, China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(2): 354-362 (in Chinese)
刘杰, 丁艳丽, 冯伟, 等. 松花江底泥真菌的分离培养及分子鉴定[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(2): 354-362
- [28] Han SZ, Gao R, Ma HL, et al. Soil fungal biomass characteristics and influencing factors in subtropical forests[J]. Journal of Subtropical Resources and Environment, 2014, 9(3): 45-52 (in Chinese)
韩世忠, 高人, 马红亮, 等. 中亚热带地区森林土壤真菌生物量及影响因子研究[J]. 亚热带资源与环境学报, 2014, 9(3): 45-52
- [29] Zhao XW, Zhou MH. Studies on mangrove mycoflora in Yueqing Bay[J]. Journal of Wenzhou University, 2005, 18(4): 55-57,71 (in Chinese)
赵肖为, 周茂洪. 乐清湾红树林真菌区系研究[J]. 温州大学学报, 2005, 18(4): 55-57,71
- [30] Guan LN, Shao L, Nan J, et al. Toxicity responses of the fungal diversity from rhizosphere soil of *Suaeda liaotungensis* exposed to 4 kinds of heavy metals[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2015(6): 1-5 (in Chinese)
官丽娜, 邵璐, 南晶, 等. 辽宁碱蓬根际土壤真菌多样性对 4 种重金属胁迫的响应[J]. 辽宁农业科学, 2015(6): 1-5
- [31] Liang C, Lv GZ. Fungi in crop rhizospheric soil in Liaoning province (I)[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2002, 33(3): 185-187 (in Chinese)
梁晨, 吕国忠. 辽宁省农田作物根围的真菌(I)[J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(3): 185-187