

青海湖 3 种类型高寒湿地甲烷氧化菌群落特征

王霞^{1,2,3,4}, 陈克龙^{*2,3,4,5}, 王恒生⁶, 章妮^{2,3}, 车子涵^{1,2,3,4}, 祁闻^{2,3,7}, 暴涵^{1,2,3,4}

1 青海师范大学生命科学学院, 青海 西宁 810008

2 青海省自然地理与环境过程重点实验室, 青海 西宁 810008

3 青海师范大学 青藏高原地表过程与生态保育教育部重点实验室, 青海 西宁 810008

4 青海青海湖湿地生态系统国家定位观测研究站, 青海 西宁 810008

5 高原科学与可持续发展研究院, 青海 西宁 810008

6 合肥师范学院生命科学学院, 安徽 合肥 230000

7 青海师范大学地理科学学院, 青海 西宁 810008

王霞, 陈克龙, 王恒生, 章妮, 车子涵, 祁闻, 暴涵. 青海湖 3 种类型高寒湿地甲烷氧化菌群落特征[J]. 微生物学通报, 2023, 50(10): 4357-4371.

WANG Xia, CHEN Kelong, WANG Hengsheng, ZHANG Ni, CHE Zihan, QI Wen, BAO Han. Community characteristics of methane-oxidizing bacteria in three types of alpine wetlands around Qinghai Lake[J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4357-4371.

摘要:【背景】甲烷氧化菌在维持湿地生态系统碳平衡方面发挥着重要作用, 青海湖高寒湿地具有十分重要的生态地位, 但目前有关该地区甲烷氧化菌的研究相对较少。【目的】探究不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌的群落特征与驱动因素。【方法】以青海湖流域内的小泊湖沼泽湿地、鸟岛湖滨湿地、瓦颜山河源湿地为研究对象, 通过高通量测序技术对土壤甲烷氧化菌进行检测。【结果】3 种不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌的优势菌门均为变形菌门(*Proteobacteria*)。鸟岛湖滨湿地与瓦颜山河源湿地的甲烷氧化菌 α 多样性存在显著差异($P < 0.05$), 而小泊湖沼泽湿地与二者的甲烷氧化菌 α 多样性的差异不显著($P > 0.05$)。LEfSe 分析表明, 不同类型高寒湿地共存在 40 个差异菌群, 尤以瓦颜山河源湿地差异菌群数量最多, 从门到属水平均存在显著差异。冗余分析(redundancy analysis, RDA)表明, 甲烷氧化菌菌群变化的主要驱动因子为土壤温度、土壤水分、电导率。【结论】整体而言, 青海湖 3 种类型高寒湿地土壤理化性质及甲烷氧化菌群落多样性均存在差异, 且部分菌群的相对丰度具有显著性差异($P < 0.05$)。

关键词: 高寒湿地; 甲烷氧化菌; 微生物群落

资助项目: 第二次青藏高原综合科学考察研究项目(2019QZKK0405); 青海省科技计划项目(2022-QY-204)

This work was supported by the Second Comprehensive Scientific Expedition to the Qinghai-Xizang Plateau (2019QZKK0405) and the Qinghai Provincial Science and Technology Planning Project (2022-QY-204).

*Corresponding author. E-mail: ckl7813@163.com

Received: 2023-02-07; Accepted: 2023-03-01; Published online: 2023-04-17

Community characteristics of methane-oxidizing bacteria in three types of alpine wetlands around Qinghai Lake

WANG Xia^{1,2,3,4}, CHEN Kelong^{*2,3,4,5}, WANG Hengsheng⁶, ZHANG Ni^{2,3}, CHE Zihan^{1,2,3,4}, QI Wen^{2,3,7}, BAO Han^{1,2,3,4}

1 College of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810008, Qinghai, China

2 Key Laboratory of Physical Geography and Environmental Processes of Qinghai Province, Xining 810008, Qinghai, China

3 Key Laboratory of Surface Processes and Ecological Conservation of the Qinghai-Xizang Plateau, Qinghai Normal University, Xining 810008, Qinghai, China

4 National Positioning Observation and Research Station of Qinghai Lake Wetland Ecosystem, Xining 810008, Qinghai, China

5 Academy of Plateau Science and Sustainability, Xining 810008, Qinghai, China

6 School of Life Sciences, Hefei Normal University, Hefei 230000, Anhui, China

7 School of Geographical Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810008, Qinghai, China

Abstract: [Background] Methane-oxidizing bacteria play a role in maintaining the carbon balance of wetland ecosystems. Qinghai Lake alpine wetland has an important ecological status, while the methane-oxidizing bacteria in this area remain to be studied. [Objective] To explore the community characteristics and driving factors of methane-oxidizing bacteria in different types of alpine wetlands. [Methods] The methane-oxidizing bacteria in Xiaobo Lake swamp wetland, Bird Island lakeside wetland, and Wayanshan river source wetland were detected by high-throughput sequencing. [Results] The dominant phylum of methane-oxidizing bacteria in the three alpine wetlands was *Proteobacteria*. The alpha diversity of methane-oxidizing bacteria was different between Bird Island lakeside wetland and Wayanshan river source wetland ($P < 0.05$), while it was similar between Xiaobo Lake swamp wetland and other two wetlands ($P > 0.05$). The linear discriminant analysis effect size (LEfSe) revealed 40 differential microbial taxa between different types of alpine wetlands, and Wayanshan river source wetland had the most differential microbial taxa from the phylum to genus level. The redundant analysis showed that the main factors influencing the community structure of methane-oxidizing bacteria were soil temperature, soil moisture, and electrical conductivity. [Conclusion] The soil physical and chemical properties, methane-oxidizing bacterial diversity, and the relative abundance of several bacterial taxa ($P < 0.05$) have differences among the three alpine wetlands around Qinghai Lake.

Keywords: alpine wetland; methane-oxidizing bacteria; microbial community

甲烷(CH₄)是第二大温室气体,虽然在大气中的浓度低于CO₂,但在20年时间尺度内的增温潜势是CO₂的86倍^[1],对全球气候变暖的贡献约为30%^[2]。由于人类活动的加剧,自2007年以来,大气中的CH₄浓度一直呈增加趋

势,到2021年,全球大气CH₄平均浓度达到了1.895 mg/L,是工业化前水平的3倍左右^[3]。研究发现,全球气候变暖可能正在形成一种正反馈机制,这将促使更多的CH₄释放,导致气温的升高更加难以控制,生态系统的稳定性遭到

破坏, 从而更进一步推动全球气候变化^[4-5]。因此, 削减 CH₄ 排放量的研究成为科学研究界的难点与热点。

大气中 CH₄ 的排放源主要包括人为源与自然源, 其中湿地是 CH₄ 最大的自然排放源, 贡献了所有自然 CH₄ 排放源的 70%^[6]。有研究发现, 由于高海拔或者高纬度地区长期处于低温环境, 微生物活动受限, 植物枯落物不易分解, 生态系统同化的有机碳可以长期储存于地下根系和土壤中, 所以高海拔或者高纬度的生态系统可能是重要的碳汇^[7]。Chen 等^[8]的研究同样发现, 青藏高原自然生态系统总体上从 2000 年以来一直发挥着净碳汇和 CH₄ 源的作用, 其中湿地和水体的 CH₄ 排放贡献了整个高原的 90% 以上。高寒湿地是青藏高原的典型自然生态系统, 对气候变化的响应尤为敏感^[9]。在未来气温持续升高的情况下, 高寒湿地生态系统的氮限制、植物生长的温度限制、土壤微生物的碳限制和土壤水分限制得以缓解, 但随之而来的冰川和冻土的融化又会导致生态系统碳氮的损失, 这些变化的相互作用可能会造成高寒湿地生态系统源与汇的转化^[8]。

土壤中的甲烷氧化菌是大气 CH₄ 的最大生物汇, 能够利用 CH₄ 作为唯一的碳源和能源生存, 在调节大气 CH₄ 浓度平衡方面发挥着重要作用^[10]。研究表明, 甲烷氧化菌对湿地 CH₄ 的清除贡献高达 10%–60%^[2], 而在厌氧区域产生的内源高浓度 CH₄ 更是有 80% 在排放至大气前被甲烷氧化菌所消耗^[11]。因此, 甲烷氧化菌对于维持生态系统碳平衡及减缓温室效应有着重要的意义。青海湖位于青藏高原东北部, 是许多珍稀动物栖息、迁徙、越冬的场所, 也是我国高寒湿地的典型代表, 在阻止西部荒漠化向东蔓延、维护生态安全等方面发挥着关键作用^[12]。青海湖高寒湿地具有极其重要的生态地位, 但

目前有关该地区甲烷氧化菌的研究相对较少。因此, 本研究采用高通量测序技术来探究青海湖不同类型高寒湿地甲烷氧化菌群的群落特征, 以期为更深入地认识高寒湿地甲烷氧化机制及其在碳循环中发挥的作用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

在青藏高原东北部的青海湖流域内进行研究, 所选区域为不同类型的高寒湿地。研究区 1 是位于青海湖东部的小泊湖沼泽湿地 (36°42'N, 100°46'E), 海拔 3 212–3 221 m, 气候类型为高原大陆性气候, 年平均气温–4.6–1.0 °C, 年降水量 291–575 mm, 主要集中在 5–9 月份, 远低于年蒸发量; 该区土壤为水成性隐域性土壤, 以沼泽土和草甸土为主; 植被优势种为华扁穗 (*Blysmus sinocompressus*)、小嵩草 (*Kobresia parva*) 等^[13]。研究区 2 是位于青海湖西北部的鸟岛湖滨湿地 (37°04'N, 99°54'E), 海拔 3 194–3 226 m, 气候类型为高原半干旱高寒气候^[14], 年平均气温–0.7 °C, 极端气温最高为 28 °C, 最低为–31 °C; 年均降水量 322.7 mm, 主要集中在 6–8 月份, 低于年蒸发量^[15]; 该区的土壤类型为干润砂质新成土, 植被优势种为青甘韭 (*Allium przewalskianum*)、披针叶黄华 (*Thermopsis lanceolata*)、赖草 (*Leymus secalinus*)、藏龙蒿 (*Artemisia waltonii*)、早熟禾 (*Poa annua*) 等^[16]。研究区 3 是位于青海湖北部的瓦颜山河源湿地 (37°43'N, 100°08'E), 海拔 3 720–3 850 m, 气候类型为高原大陆性气候, 年平均气温为–3.3 °C, 年均降水量为 420.4 mm, 主要集中在 5–9 月份; 该区的土壤类型为泥炭沼泽土, 植被优势种为小嵩草 (*Kobresia parva*)^[17]。

1.2 主要试剂和仪器

PowerSoil DNA Isolation Kit, MoBio 公司;

AxyPrep PCR 纯化试剂盒, Axygen 公司。PCR 仪, ABI 公司; 测序仪, Illumina 公司; NanoDrop 2000 分光光度计, Thermo Scientific 公司; 土壤温度计, 河北省武强县立诚仪器仪表厂; 土壤水分仪, 兴化市优科仪器仪表有限公司; 元素分析仪, WELL GROUP 公司; pH 计, 上海越平科学仪器(苏州)制造有限公司; 电导率仪, 上海越平科学仪器(苏州)制造有限公司。

1.3 样品采集

选择在 2020 年 6 月上旬进行土壤样品的采集与处理。分别选取小泊湖沼泽湿地(Bck)、鸟岛湖滨湿地(Nck)、瓦颜山河源湿地(Wck)的 5 个样方(5 个重复), 利用直径 4.5 cm 的土钻在每个样方内按照五点取样法采集 0–10 cm 的土壤样品。采集的土壤样品经过人工挑出石块、植物残体后, 混匀过 2 mm 筛。一部分筛分后的土壤样品装入 10 mL 的 EP 管保存, 标记后置于液氮罐中, 用于土壤甲烷氧化菌的高通量测序, 另一部分用于土壤理化性质的测定。

1.4 土壤 DNA 提取与高通量测序

称取 0.5 g 土壤样品, 将样品稀释到 1 ng/ μ L 后按照 Powersoil DNA Isolation Kit 的使用说明进行土壤样品 DNA 的提取。利用 NanoDrop 2000 分光光度计来评估提取 DNA 的浓度和纯度, 使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 质检合格的 DNA 存于 -20°C 待用^[18]。使用 *pmoA* 基因的特异引物 A189F (5'-GGNGACTGGGACTTCTGG-3') 和 mb661R (5'-CCGGMGC AACGTCYTACC-3') 进行 PCR 扩增^[19]。PCR 反应体系(20 μ L): 5 \times FastPfu buffer 4 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ L, 上、下游引物(5 μ mol/L)各 0.8 μ L, FastPfu polymerase 0.4 μ L, 牛血清白蛋白溶液 (bovine serum albumin solution, BSA) 0.2 μ L, 模板 DNA 10 ng, ddH₂O 补足 20 μ L^[20]。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,

72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min^[20]。PCR 扩增结束后对产物进行纯化回收、检测定量, 完成文库构建。质检合格的序列在 Illumina PE 150 平台进行测序。

测序数据上传至 NCBI 数据库, 登录号为 SRR23337720–SRR23337734。

1.5 土壤理化性质测定

使用精度为 0.1 $^{\circ}\text{C}$ 的土壤温度计测定土壤温度(soil temperature, ST), 使用精度为 0.1% 的土壤水分仪测定土壤含水量(soil moisture content, SMC), 使用凯氏定氮法测定全氮含量(total nitrogen, TN), 使用元素分析仪测定全碳含量(total carbon, TC), 采用 pH 计测定土壤酸碱度(pH), 采用电导率仪测定电导率(electrical conductivity, EC)。

1.6 数据处理与分析

使用 UCLUST 方法将高质量测序序列按 97% 的相似度聚类得到操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)数目及韦恩图^[21]。在不同分类水平上对 OTU 序列进行物种注释, 得到相应的物种丰度表。运用 Mothur 软件^[22]进行 α 多样性指数的计算分析, 利用 QIIME 软件进行 β 多样性分析, 绘图在 R 4.2.1 中完成。采用 SPSS 21.0 进行 ANOVA 方差分析, 对数据进行显著性检验。采用 Canoco 5 软件对土壤理化因子与微生物群落结构进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)。

2 结果与分析

2.1 高寒湿地土壤的理化性质

青海湖 3 种类型高寒湿地的土壤温度(ST)、土壤含水量(SMC)、全碳含量(TC)、全氮含量(TN)、电导率(EC)、酸碱度(pH 值)分别为 8.00–11.28 $^{\circ}\text{C}$ 、23.71%–52.09%、26.26–165.18 g/kg、2.22–13.43 g/kg、159.10–305.20 $\mu\text{S}/\text{m}$ 、6.74–9.00。

如图 1 所示,除了鸟岛湖滨湿地(Nck)与瓦颜山河源湿地(Wck)的电导率之间差异不显著($P>0.05$),其余理化因子在 3 种类型高寒湿地土壤之间均有显著差异($P<0.05$)。具体表现为:土壤含水量、全碳含量、全氮含量的变化趋势均为 $Wck>Bck>Nck$;土壤温度的变化趋势为 $Wck>Nck>Bck$;酸碱度的变化趋势为 $Nck>Bck>Wck$;电导率的变化趋势为 $Bck>Nck>Wck$ 。

2.2 高寒湿地土壤甲烷氧化菌 OTU 分布特征

利用高通量测序技术对小泊湖沼泽湿地(Bck)、鸟岛湖滨湿地(Nck)、瓦颜山河源湿地(Wck)的土壤甲烷氧化菌群落进行检测,将高质量测序序列基于 97%的相似度进行聚类操作^[23],共得到 10 939 个 OTU。如图 2 所示,不同类型高寒湿地土壤样品的 OTU 数目存在差异,Bck、Nck 和 Wck 分别含有 5 247、4 805 和 2 778 个 OTU。3 组样本共有的 OTU 数仅占

总 OTU 数目的 3.9%,而 Bck、Nck 和 Wck 特有 OTU 数分别占总 OTU 数目的 37.7%、31.8%和 17.2%。

2.3 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落 α 多样性

基于 OTU 聚类结果对高寒湿地土壤样品进行随机抽样,用抽取的序列数与物种多样性来构建稀释性曲线,从而反映各样本在不同测序深度时的甲烷氧化菌群落 α 多样性,也可以说明样品测序量的准确性与合理性。如图 3A 显示,当测序序列数超过 150 000 条时,稀释性曲线变得平坦,表明大部分样品都达到了饱和状态,持续抽样也不会明显改变样本的 α 多样性指标,可以进行后续数据分析。

α 多样性聚焦于单个样本的多样性分析,可以反映微生物群落的丰富度与多样性。本研究采用 Observe 指数、Chao1 指数和 ACE 指数反映土壤样品中甲烷氧化菌的丰富度,Shannon

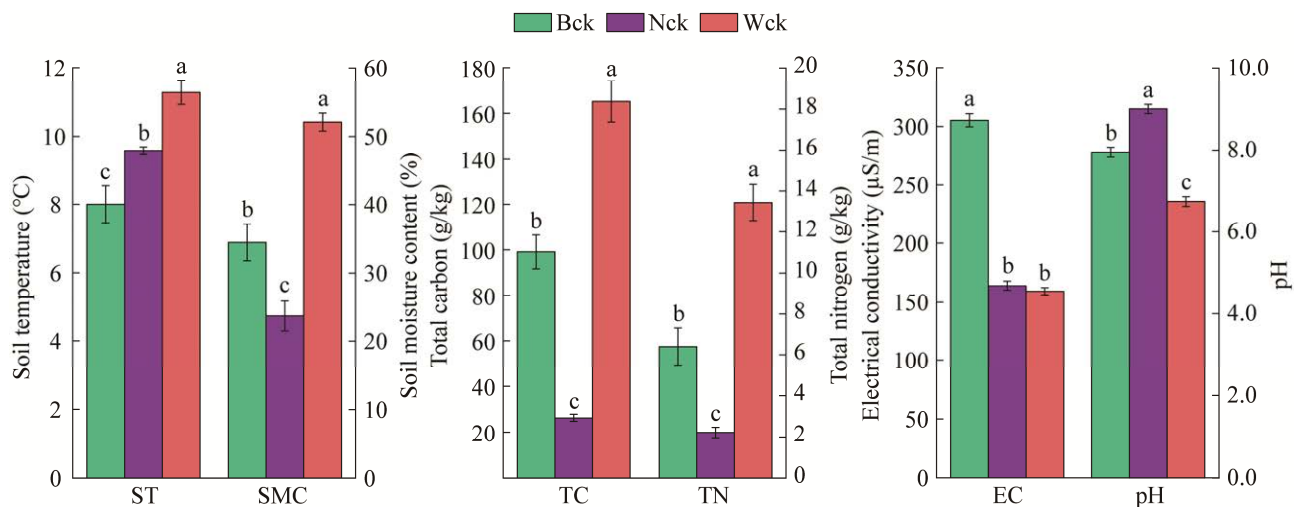


图 1 不同类型高寒湿地土壤的理化性质 不同小写字母表示不同类型高寒湿地土壤的理化性质之间差异显著($P<0.05$)

Figure 1 Physical and chemical properties of different types of alpine wetland soils. Different lowercase letters indicate that there are significant differences in soil physical and chemical properties among different types of alpine wetlands ($P<0.05$).

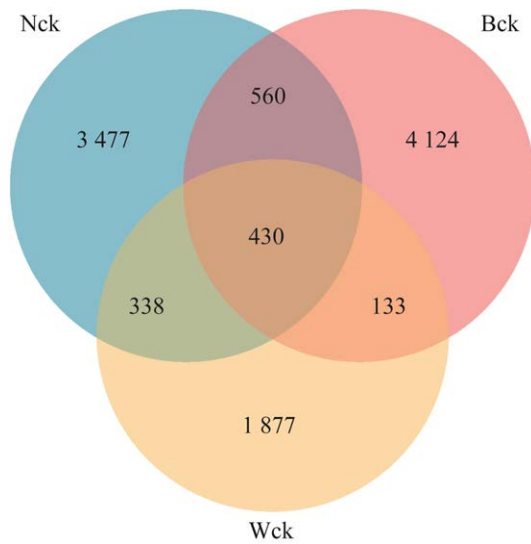


图2 不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落韦恩图

Figure 2 Venn map of methane oxidizing bacteria communities in different types of alpine wetlands.

指数和 Simpson 指数反映甲烷氧化菌的多样性。如图 3B 所示, 在丰富度上, Nck 与 Wck 的 Observe 指数存在极显著差异($P<0.01$), Nck 与 Wck 的 Chao1 指数、ACE 指数存在显著差异($P<0.05$), 且二者的甲烷氧化菌群落丰富度呈现 $Nck>Wck$; 在多样性上, Nck 与 Wck 的 Shannon 指数存在显著差异($P<0.05$), 且二者的甲烷氧化菌群落多样性呈现 $Nck>Wck$ 。整体而言, 鸟岛湖滨湿地与瓦颜山河源湿地的甲烷氧化菌 α 多样性存在差异, 而小泊湖沼泽湿地与二者的甲烷氧化菌 α 多样性未达到显著性差异水平($P>0.05$)。

2.4 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落 β 多样性

β 多样性聚焦于多个样本的多样性分析, 可以反映微生物群落之间的差异。以检测到的

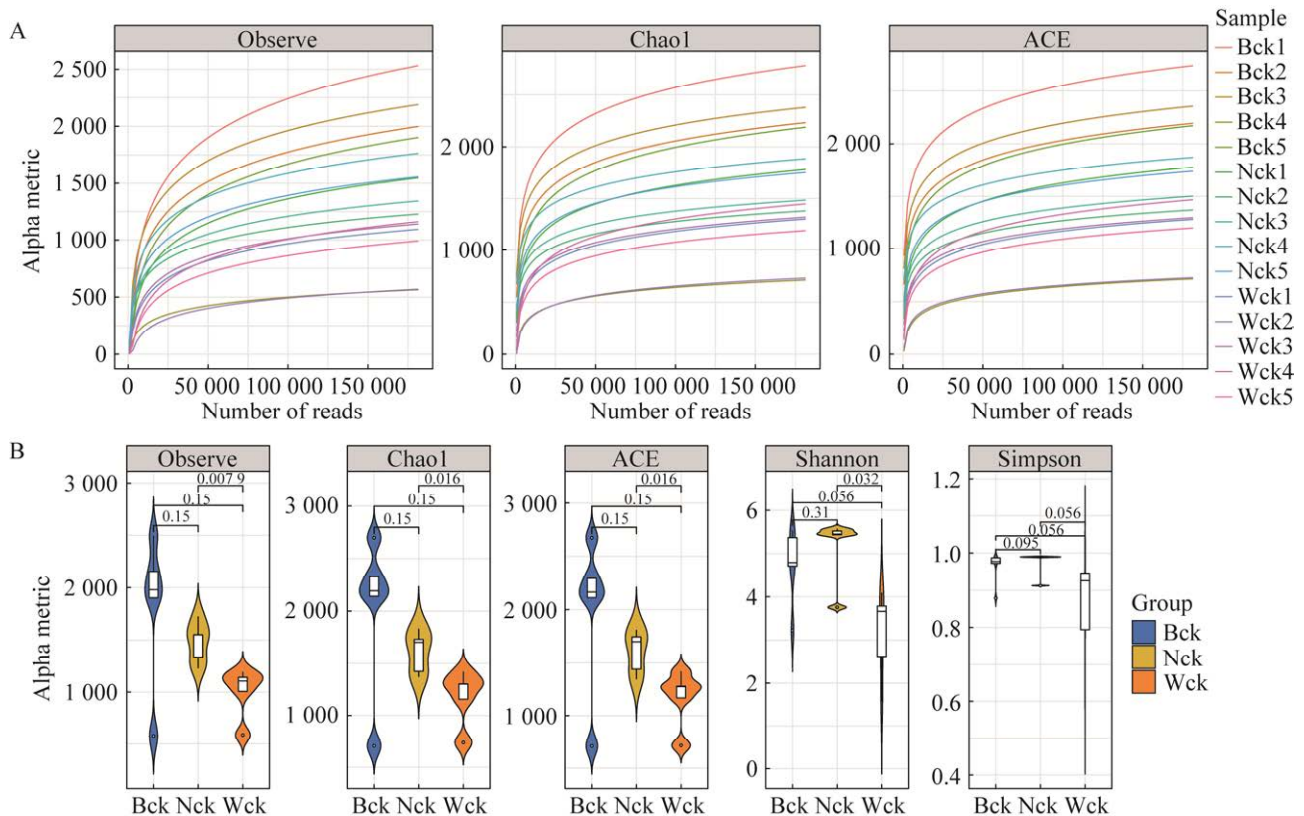


图3 土壤样品甲烷氧化菌稀释性曲线(A)及 α 多样性指数(B)

Figure 3 Dilution curve (A) and alpha diversity index (B) of methanogens in soil samples.

所有属水平的甲烷氧化菌为指标,通过主坐标分析法(principal coordinates analysis, PCoA)对不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落进行分析。图 4 中样本点的位置较为分散,不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌的第一主成分、第二主成分贡献率分别为 37%和 13%,累积贡献率达到了 50%。采用 ANOSIM 非参数检验(图 5)来进一步判断分组有效性,得到 R 值为 0.795, P 值为 0.001 ($P < 0.01$),说明组间差异大于组内差异且不同分组之间差异极显著,达到预期分组目标。

2.5 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落结构组成

如图 6 所示,3 种类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌门中变形菌门(*Proteobacteria*)的相对丰度最高,达到 89.64%;其次是硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*),相对丰度为 4.25%;另有相对丰度为 6.10%的未分类菌群及相对丰度小于 1%的放线菌门(*Actinobacteria*)和疣微菌门(*Verrucomicrobia*)。

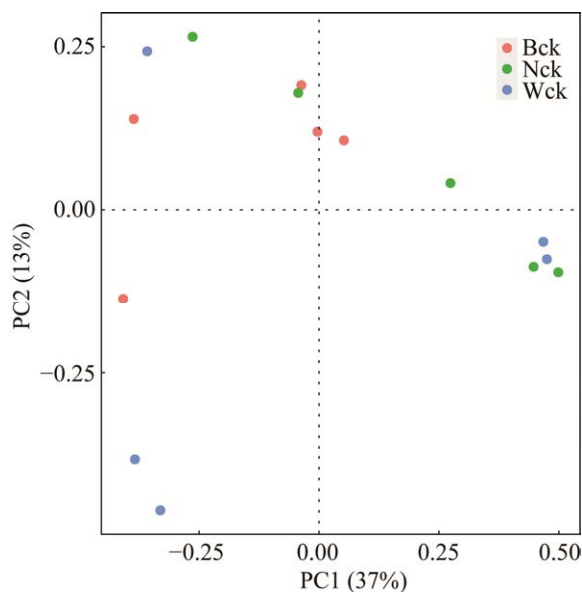


图 4 不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落 PCoA 分析

Figure 4 PCoA analysis of soil methane oxidizing bacteria communities in different types of alpine wetlands.

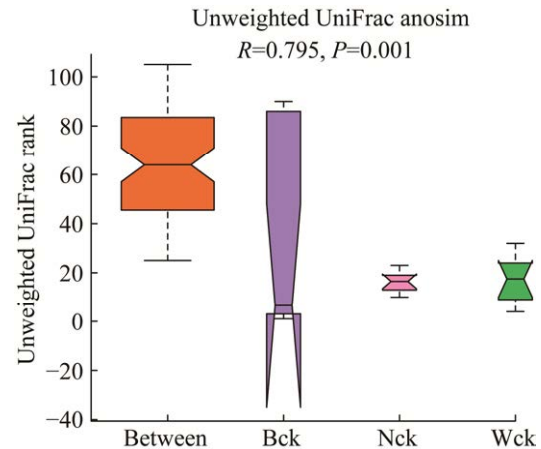


图 5 不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌未加权 UniFrac 分析

Figure 5 Unweighted UniFrac analysis of methane oxidizing bacteria in different types of alpine wetland soils.

在属水平上(图 7),未知菌群的相对丰度占比达到 86.75%。已知菌群中,按相对丰度大于 0.1%从高到低依次为硝化螺菌属(*Nitrospira*, 4.25%)、甲基球菌属(*Methylococcus*, 4.15%)、亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*, 1.76%)、甲基杆菌属(*Methylobacter*, 1.42%)、甲基单胞菌属(*Methylomonas*, 0.97%)、甲基暖菌属(*Methylocaldum*, 0.21%)、亚硝化球菌属(*Nitrosococcus*, 0.11%)和甲基弯曲菌属(*Methylosinus*, 0.11%)。

2.6 高寒湿地土壤甲烷氧化菌菌群 LEfSe 分析

对 3 种生境中不同水平甲烷氧化菌菌群进行 LEfSe 分析,如图 8 所示,共鉴定出 40 个差异菌群,其中 Wck 中发现 20 个差异菌群, Nck 中发现 4 个差异菌群, Bck 中发现 16 个差异菌群。青海湖 3 种类型高寒湿地甲烷氧化菌的相对丰度从门水平到属水平上均存在显著差异,其中门水平存在 3 个差异菌群,纲水平存在 5 个差异菌群,目水平存在 7 个差异菌群,科水平存在 9 个差异菌群,属水平存在 16 个差异菌群。

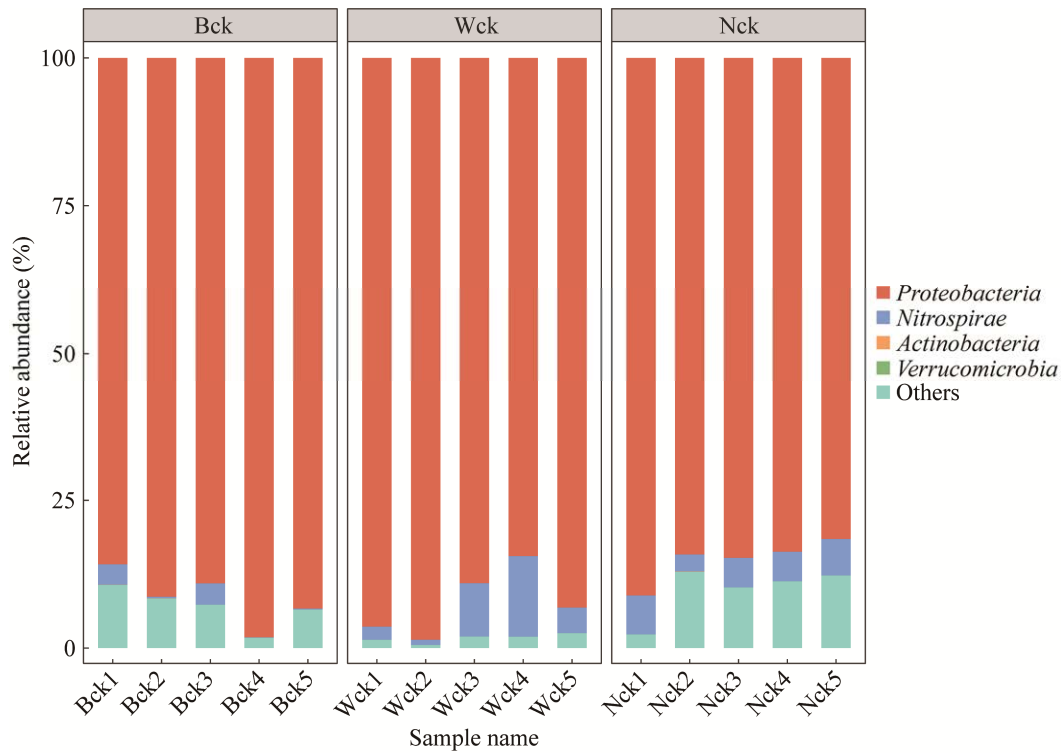


图 6 土壤样品门水平甲烷氧化菌群落组成

Figure 6 Composition of horizontal methane oxidizing bacteria community in soil samples.

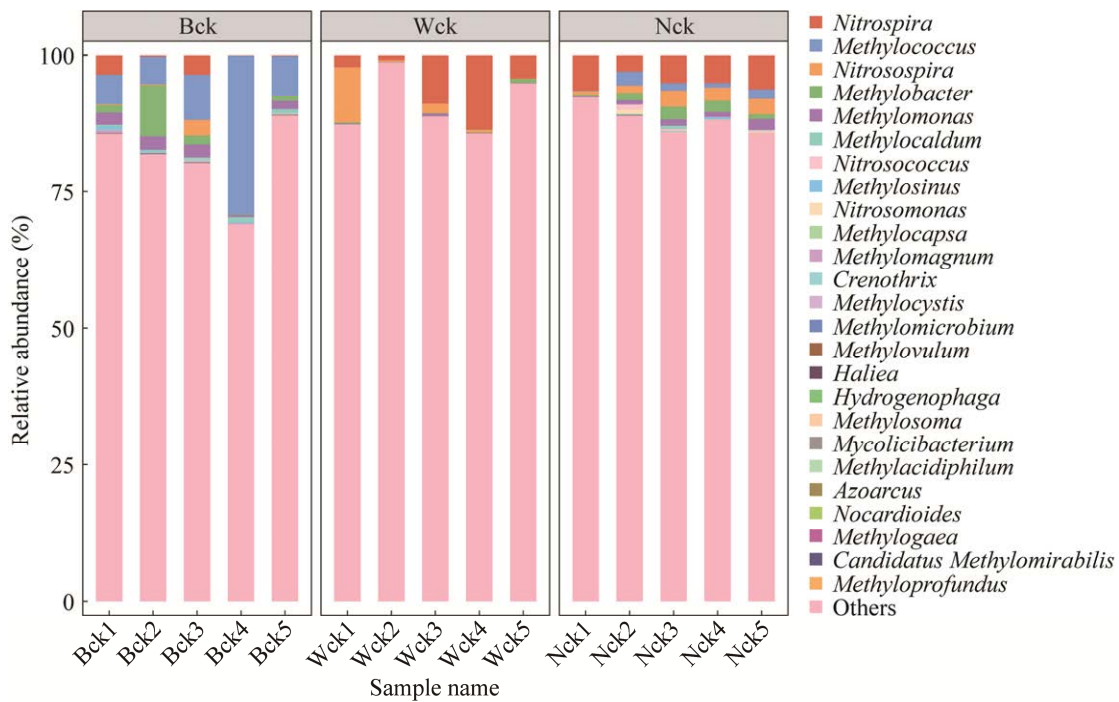


图 7 土壤样品属水平甲烷氧化菌群落组成

Figure 7 The soil samples belong to the composition of horizontal methane oxidizing bacteria community.

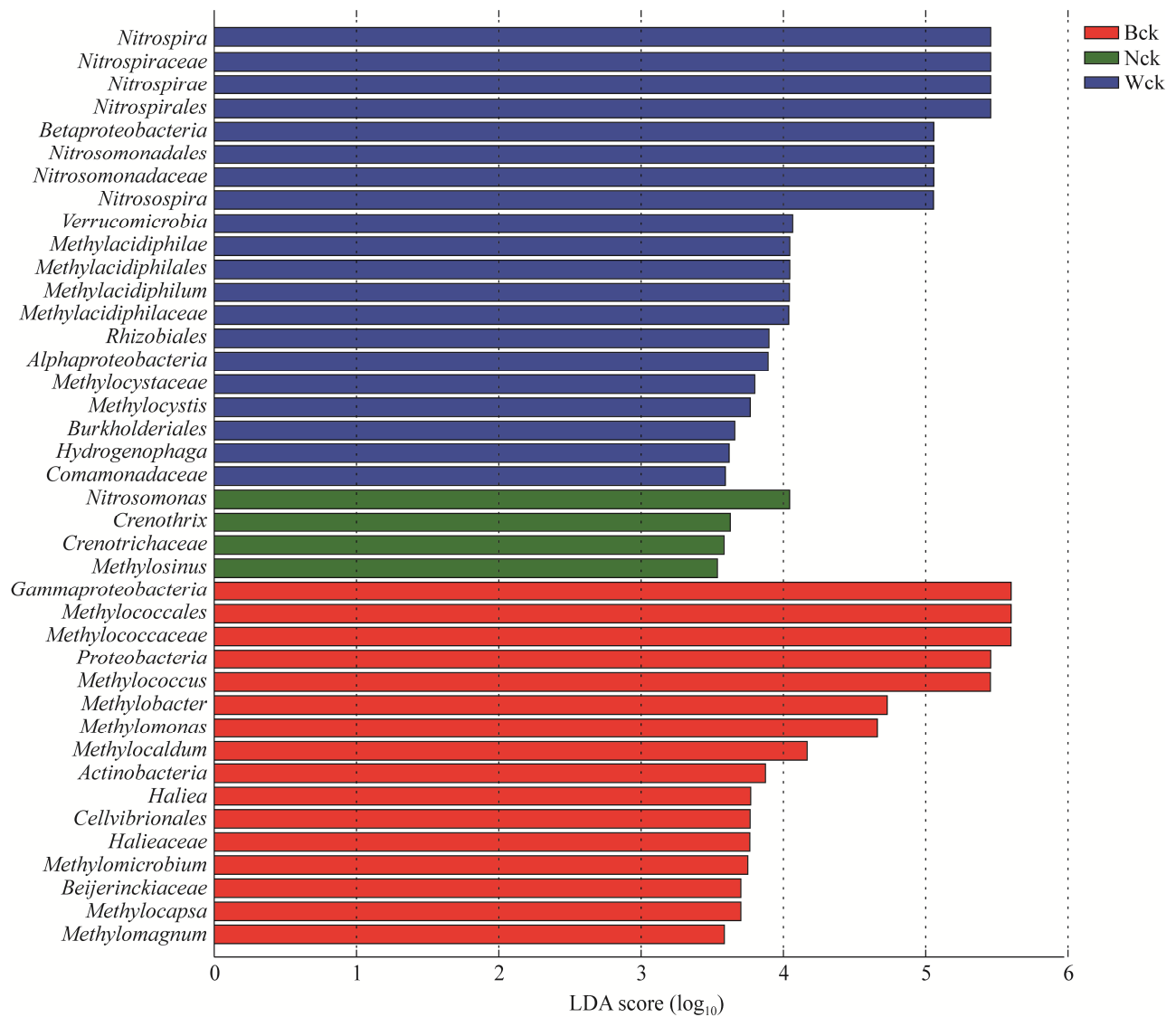


图 8 不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌菌群 LEfSe 分析

Figure 8 LEfSe analysis of methane oxidizing bacteria in different types of alpine wetland soils.

在 LDA score 值 4.5 的极显著水平下, 硝化螺旋菌门的硝化螺菌属和变形菌门的亚硝化螺菌属在瓦颜山河源湿地土壤甲烷氧化菌群落中的相对丰度较高; 变形菌门的甲基球菌属、甲基杆菌属和甲基单胞菌属在小泊湖沼泽湿地土壤甲烷氧化菌群落中的相对丰度较高。在 LDA score 值 2.0 的显著水平下, 变形菌门的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、*Crenothrix* 和甲基弯曲菌

属在鸟岛湖滨湿地土壤甲烷氧化菌群落中的相对丰度较高。

2.7 土壤理化因子对微生物群落的影响分析

在属分类水平上对 3 种类型高寒湿地土壤中相对丰度大于 0.1% 的甲烷氧化菌与土壤理化因子进行 RDA 分析(图 9)的结果表明, 第一排序轴与第二排序轴的解释度分别为 85.04% 和 9.53%, 累计解释度达到 94.57%, 能较好地反

映甲烷氧化菌群落优势菌属与土壤理化因子之间的关系。根据土壤理化因子在第一排序轴的投影长度可知, ST、SMC、EC 是影响不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落的主控因子。通过对相对丰度大于0.1%的甲烷氧化菌与土壤理化因子进行 Pearson 相关性分析,发现土壤理化因子中的 SMC、TN、TC 和 pH 对亚硝化球菌属有显著影响($P<0.05$), ST 对甲基杆菌属有极显著影响($P<0.01$)。

2.8 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落 FAPROTAX 功能

将3种类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落与 FAPROTAX 数据库进行比对,共鉴定出21个功能基团(图10),其中甲烷氧化(methanotrophy)、甲基营养化(methylotrophy)、好氧氨氧化(aerobic ammonia oxidation)、有氧亚硝酸盐氧化(aerobic nitrite oxidation)、硝化作用(nitrification)、固氮

作用(nitrogen fixation)、烃降解(hydrocarbon degradation)、化能异养(chemoheterotrophy)等8类功能基团在15个样品中占主导地位。鉴定出的功能基团中与碳氮循环相关的功能基团占比大于80%,表明大部分土壤样品中的甲烷氧化菌在高寒湿地生态系统碳氮循环过程中发挥着重要作用;甲烷氧化菌群落中进行化能异养的序列占比为16.92%,表明部分甲烷氧化菌能够以有机物作为碳源和能源进行生长繁殖。

3 讨论

3.1 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落多样性分析

土壤微生物有着丰富的物种与基因资源,研究其多样性在不同环境的分布情况,有助于预测生态系统功能的演变方向和发掘更多生物资源。Chen 等^[24]对青藏高原的高山草原进行了多海拔梯度的生态系统功能预测,发现随着海拔梯度的增加,细菌与真菌群落的多样性、网络复杂性和生态系统的多功能性均显著下降。Li 等^[25]的研究表明,在海拔2 600–2 800 m之间,细菌群落多样性急剧下降,群落结构由于土壤 pH 和植被类型的变化而在海拔较低和较高的区域差异显著。Wang 等^[26]研究发现,重氮营养体的 α 多样性在海拔3 000 m以上呈下降趋势,这主要受土壤全碳、全氮和植物丰富度的影响。Wang 等^[27]研究发现,沿海拔梯度或气候区的微生物物种存在生境分离的现象,说明相同气候区或植被区的微生物群落存在相似性。上述结论与本文研究结果一致,由此推测,鸟岛湖滨湿地与瓦颜山河源湿地可能是由于海拔高度与植被类型的不同导致土壤性质的差异,进而导致二者的甲烷氧化菌 α 多样性存在差异($P<0.05$)。然而小泊湖沼泽湿地与鸟岛湖滨湿地的海拔接近,与瓦颜山河源湿地具有相似的植

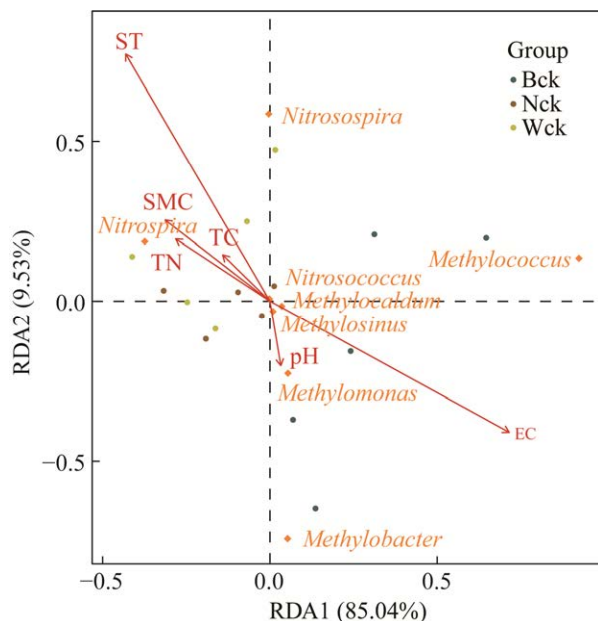


图9 土壤甲烷氧化菌群落与土壤理化因子冗余分析

Figure 9 Soil methane oxidizing bacteria community and soil physicochemical factor RDA analysis.

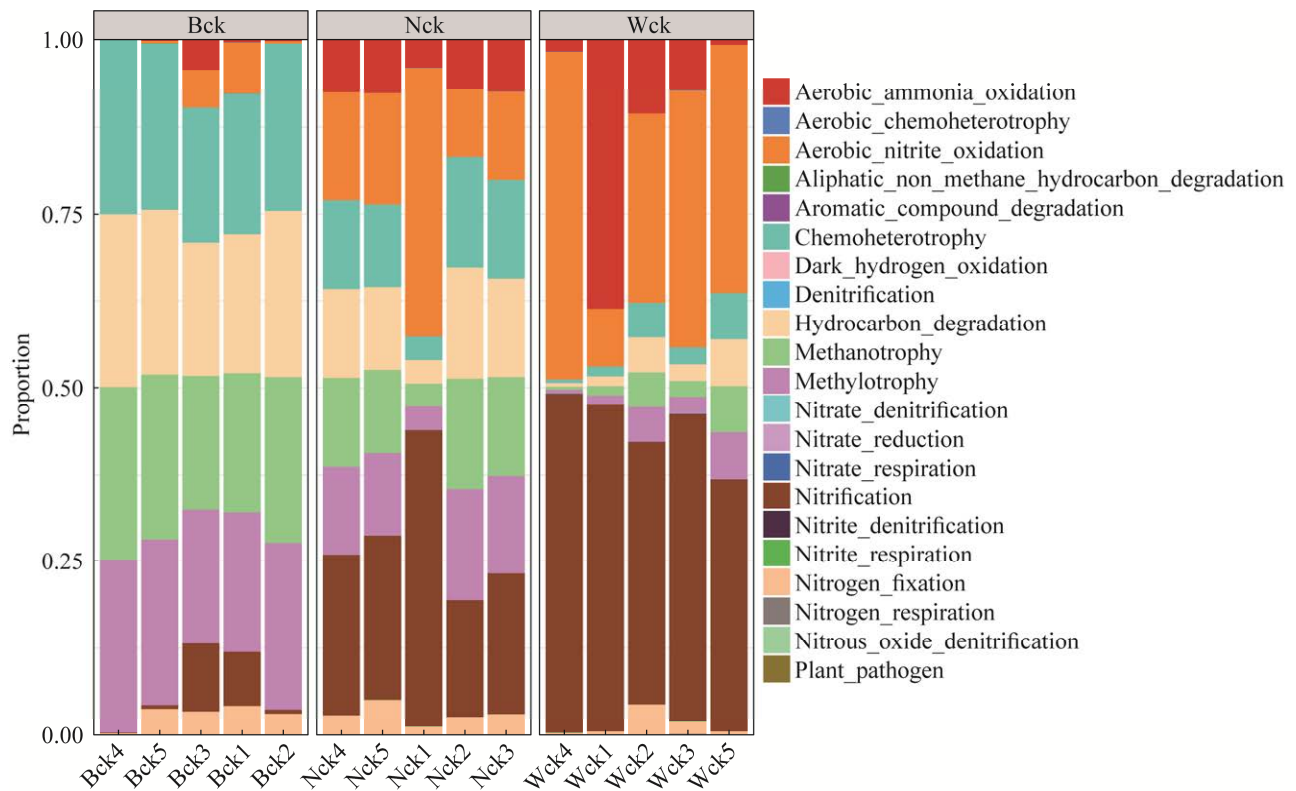


图 10 不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌 FAPROTAX 功能预测

Figure 10 FAPROTAX function prediction of methane oxidizing bacteria in different types of alpine wetlands.

被组成, 并且在小泊湖沼泽湿地检测到的土壤理化指标大多介于二者之间, 因此与二者的甲烷氧化菌 α 多样性的差异不显著 ($P > 0.05$)。

3.2 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落组成

变形菌门是常见的湿地菌门, 何玉实等^[28]发现鄂尔多斯的 5 种滩涂湿地中的变形菌门为相对丰度最高的门类。陈小弯等^[29]发现中河河口湿地中的变形菌门占大多数比例。Liu 等^[30]对黄河三角洲芦苇湿地微生物群落的研究也显示变形菌门为优势菌门。在本研究中同样发现, 3 种类型高寒湿地土壤环境中优势菌门均为变形菌门, 且占比达 80% 以上。本研究对不同类型高寒湿地的甲烷氧化菌菌群进行 LEfSe 分析, 以寻找不同湿地间具有显著差异的标志性微生物。在 LDA score 值 4.5 的极显著水平下,

硝化螺菌属和甲基球菌属分别在瓦颜山河源湿地和小泊湖沼泽湿地中具有较高的相对丰度; 在 LDA score 值 2.0 的显著水平下, 甲基弯曲菌属在鸟岛湖滨湿地中具有较高的相对丰度。这说明在未来土壤环境变化时, 硝化螺菌属、甲基球菌属和甲基弯曲菌属分别可作为瓦颜山河源湿地、小泊湖沼泽湿地和鸟岛湖滨湿地土壤甲烷氧化菌群落结构变化的指示种。

3.3 高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落与理化因子的关系

微生物群落结构在很大程度上会受到土壤理化因子的调控, 且不同菌群会受到一个或多个理化因子的影响^[31]。Bahram 等^[32]研究发现土壤 pH 是调控全球 189 个不同采样点土壤细菌群落结构和多样性的重要因子。郑佳华等^[33]研

究发现土壤温度、土壤含水量、全碳、全氮、电导率等理化因子对微生物群落结构有一定的影响。本研究通过 RDA 分析发现,硝化螺菌属、亚硝化螺菌属和亚硝化球菌属与 ST、SMC、TC 和 TN 呈正相关关系,与 pH、EC 呈负相关关系;而甲基球菌属、甲基杆菌属、甲基单胞菌属、甲基暖菌属和甲基弯曲菌属与 ST、SMC、TC 和 TN 呈负相关关系,与 pH、EC 呈正相关关系。整体而言,ST 和 SMC 与第一排序轴呈负相关关系,与第二排序轴呈正相关关系,对瓦颜山河源湿地与鸟岛湖滨湿地的土壤甲烷氧化菌群落结构的影响较大;EC 与第一排序轴呈正相关关系,与第二排序轴呈负相关关系,对小泊湖沼泽湿地的土壤甲烷氧化菌群落结构的影响较大。以上结果表明,土壤理化因子是影响甲烷氧化菌群落结构的重要因素,且 ST、SMC 和 EC 是影响 3 种不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落的主要驱动因子,与前人研究较为一致。

RDA 分析仅从整体上反映土壤理化性质与土壤甲烷氧化菌属的关系,为了明确 3 种类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌属与理化性质的相关性,将属水平优势菌属(相对丰度大于 0.1%)与土壤理化性质进行 Pearson 相关性分析,发现 SMC、TN、TC、pH 对亚硝化球菌属有显著影响($P<0.05$),ST 对甲基杆菌属有极显著影响($P<0.01$)。已有研究表明,亚硝化球菌属属于氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB),是一类化能自养型的微生物^[34]。亚硝化球菌属通常存在于水生栖息地中,土壤含水量是调节微生物群落结构的重要因素,水分的消耗可以防止 DNA 的降解,有利于其生长发育^[35-37]。宋凯伦等^[38]研究发现,全氮是丰水期亚硝化球菌属的关键影响因子且二者呈正相关关系。蔡张杰等^[39]研究发现, AOB 基因丰度与 TC 含量呈极

显著正相关关系。杨建强等^[40]研究发现, AOB 丰度与 pH 呈显著负相关关系;Huang 等^[41]研究同样证实 AOB 能在酸性土壤中发挥重要作用。甲基杆菌属属于 Type I 型好氧甲烷氧化菌,广泛分布于寒冷环境中^[42],其在低温环境中能以休眠体形式存在^[43]。Yun 等^[44]在若尔盖高寒湿地中检测到大量甲基杆菌属;章妮等^[45]研究发现小泊湖湿地中的甲基杆菌属的相对丰度经过增温处理后显著降低。上述研究报道与本研究成果一致,进一步证实了土壤甲烷氧化菌群落结构与土壤理化因子密切相关。鉴于亚硝化球菌属和甲基杆菌属与土壤理化性质之间明显的相关性,后续可进一步加强对两菌属的研究,从而更科学地评估土壤中的养分循环过程,预测土壤健康状况。

4 结论

本文采用高通量测序技术研究了青海湖 3 种类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落的结构及其多样性,并进行了差异分析和功能预测,主要结论如下:

(1) 通过对甲烷氧化菌多样性的研究发现,鸟岛湖滨湿地与瓦颜山河源湿地的甲烷氧化菌 α 多样性存在差异($P<0.05$),表现为 $N_{ck}>W_{ck}$,而小泊湖沼泽湿地与二者的甲烷氧化菌 α 多样性未达到显著性差异水平($P>0.05$)。

(2) 三种不同类型高寒湿地土壤环境中优势菌门均为变形菌门,且占比达 80%以上。不同生境下土壤甲烷氧化菌群落组成差异显著,硝化螺菌属、甲基球菌属和甲基弯曲菌属分别可作为瓦颜山河源湿地、小泊湖沼泽湿地和鸟岛湖滨湿地土壤甲烷氧化菌群落结构变化的指示种。

(3) 土壤温度、土壤水分和电导率是影响 3 种不同类型高寒湿地土壤甲烷氧化菌群落的主要驱动因子。

REFERENCES

- [1] 贺晨旻, 迟远英, 向翩翩, 徐杨梅, 吴亚珍, 焦玉捷, 胡宇, 姜克隽. 我国甲烷排放情景分析: IPAC 模型结果[J]. 大气科学学报, 2022, 45(3): 414-427.
HE CM, CHI YY, XIANG PP, XU YM, WU YZ, JIAO YJ, HU Y, JIANG KJ. CH₄ emission scenario analysis for China: IPAC results[J]. Transactions of Atmospheric Sciences, 2022, 45(3): 414-427 (in Chinese).
- [2] CONRAD R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved[J]. Environmental Microbiology Reports, 2009, 1(5): 285-292.
- [3] 姚璐, 杨东旭, 蔡兆男, 朱思虹, 刘毅, 邓剑波, 田龙飞, 尹增山, 卢乃锰. 面向我国碳中和、碳达峰的大气甲烷观测卫星现状与发展趋势分析[J]. 大气科学, 2022, 46(6): 1469-1483.
YAO L, YANG DX, CAI ZN, ZHU SH, LIU Y, DENG JB, TIAN LF, YIN ZS, LU NM. Status and trend analysis of atmospheric methane satellite measurement for carbon neutrality and carbon peaking in China[J]. Chinese Journal of Atmospheric Sciences, 2022, 46(6): 1469-1483 (in Chinese).
- [4] 聂明. 气候变暖下水圈甲烷排放及其微生物学机制[J]. 微生物学报, 2020, 60(9): 1821-1833.
NIE M. Hydrospheric methane emission and its microbiological mechanisms under climate warming[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(9): 1821-1833 (in Chinese).
- [5] 王子豪, 陈庆锋, 李金业, 司国瑞, 赵维怡, 刘婷. 黄河三角洲盐沼湿地甲烷厌氧氧化潜力及微生物群落对铁锰输入的响应研究[J]. 环境科学学报, 2022, 42(10): 452-461.
WANG ZH, CHEN QF, LI JY, SI GR, ZHAO WY, LIU T. Methane anaerobic oxidation potential and microbial community response to Fe and Mn input in a salt marsh wetland of the Yellow River Delta[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, 42(10): 452-461 (in Chinese).
- [6] 张贤, 朱求安, 杨斌, 王洁仪, 陈槐, 彭长辉. 基于过程模型的青藏高原湿地甲烷排放格局评估[J]. 生态学报, 2020, 40(9): 3060-3071.
ZHANG X, ZHU QA, YANG B, WANG JY, CHEN H, PENG CH. Evaluating patterns of wetland methane emissions in Qinghai-Tibet Plateau based on process model[J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(9): 3060-3071 (in Chinese).
- [7] SHI PL, SUN XM, XU LL, ZHANG XZ, HE YT, ZHANG DQ, YU GR. Net ecosystem CO₂ exchange and controlling factors in a steppe—*Kobresia* meadow on the Tibetan Plateau[J]. Science in China Series D: Earth Sciences, 2006, 49(2): 207-218.
- [8] CHEN H, JU PJ, ZHU QA, XU XL, WU N, GAO YH, FENG XJ, TIAN JQ, NIU SL, ZHANG YJ, PENG CH, WANG YF. Carbon and nitrogen cycling on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Nature Reviews Earth and Environment, 2022, 3(10): 701-716.
- [9] ZHANG B, NIU Z, ZHANG DQ, HUO XL. Dynamic changes and driving forces of alpine wetlands on the Qinghai-Tibetan Plateau based on long-term time series satellite data: a case study in the Gansu Maqu wetlands[J]. Remote Sens, 2022, 14: 4147.
- [10] PAN H, FENG HJ, LIU YW, LAI CY, ZHUGE YP, ZHANG QC, TANG CX, DI HJ, JIA ZJ, GUBRY-RANGIN C, LI Y, XU JM. Grazing weakens competitive interactions between active methanotrophs and nitrifiers modulating greenhouse-gas emissions in grassland soils[J]. ISME Communications, 2021, 1: 74.
- [11] CAI YF, ZHENG Y, BODELIER PLE, CONRAD R, JIA ZJ. Conventional methanotrophs are responsible for atmospheric methane oxidation in paddy soils[J]. Nature Communications, 2016, 7: 11728.
- [12] CAO SK, CAO GC, FENG Q, HAN GZ, LIN YY, YUAN J, WU FT, CHENG SY. Alpine wetland ecosystem carbon sink and its controls at the Qinghai Lake[J]. Environmental Earth Sciences, 2017, 76(5): 210.
- [13] 程雷星, 陈克龙, 汪诗平, 杨仕兵, 苏旭, 王记明. 青海湖流域小泊湖湿地植物多样性[J]. 湿地科学, 2013, 11(4): 460-465.
CHENG LX, CHEN KL, WANG SP, YANG SB, SU X, WANG JM. Plant diversity of Xiaopohu wetlands in Qinghai Lake basin[J]. Wetland Science, 2013, 11(4): 460-465 (in Chinese).
- [14] 杨紫唯, 陈克龙, 张乐乐, 蒋莉莉, 左弟召. 青海湖流域两种不同高寒湿地类型 CO₂、CH₄ 和 N₂O 排放通量对模拟降水的响应[J]. 生态科学, 2022, 41(2): 211-219.
YANG ZW, CHEN KL, ZHANG LL, JIANG LL, ZUO DZ. Response of CO₂, CH₄ and N₂O fluxes of two different alpine wetland types in Qinghai Lake basin to simulated precipitation[J]. Ecological Science, 2022, 41(2): 211-219 (in Chinese).
- [15] 陈骥, 曹军骥, 金钊, 时伟宇, 张宝成, 张思毅. 模拟增温对青海湖鸟岛高寒草原群落结构影响初步研究[J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(5): 127-133.
CHEN J, CAO JJ, JIN Z, SHI WY, ZHANG BC, ZHANG SY. The influence of short-term experimental warming on alpine steppe of bird island, Qinghai Lake[J]. Journal of Arid Land Resources and

- Environment, 2014, 28(5): 127-133 (in Chinese).
- [16] 陈艳鑫, 耿玉清, 黄金, 崔雪晴, 侯盟. 青海湖鸟岛地区不同淹水条件下土壤酶活性的差异及其影响因素[J]. 生态学杂志, 2019, 38(3): 735-743.
CHEN YX, GENG YQ, HUANG J, CUI XQ, HOU M. Differences of soil enzyme activities and their driving factors under different flooding conditions in the Bird Island area, Qinghai Lake[J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(3): 735-743 (in Chinese).
- [17] 张乐乐, 高黎明, 陈克龙. 青海湖流域瓦颜山湿地辐射平衡和地表反照率变化特征[J]. 冰川冻土, 2018, 40(6): 1216-1222.
ZHANG LL, GAO LM, CHEN KL. The variation characteristics of radiation balance and surface albedo in Wayanshan Wetland in the Qinghai Lake watershed[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2018, 40(6): 1216-1222 (in Chinese).
- [18] LIU S, WANG PF, WANG X, CHEN J. Ecological insights into the elevational biogeography of antibiotic resistance genes in a pristine river: metagenomic analysis along the Yarlung Tsangpo River on the Tibetan Plateau[J]. Environmental Pollution, 2021, 286: 117101.
- [19] COSTELLO AM, LIDSTROM ME. Molecular characterization of functional and phylogenetic genes from natural populations of methanotrophs in lake sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(11): 5066-5074.
- [20] 李晶, 刘昌岭, 吴能友, 贺行良, 许晓晴, 陈焯, 孟庆国. 海洋生境的甲烷好氧氧化作用对氧浓度的响应特征[J]. 海洋地质与第四纪地质, 2021, 41(3): 44-53.
LI J, LIU CL, WU NY, HE XL, XU XQ, CHEN Y, MENG QG. Response characteristics of aerobic methane oxidation to oxygen concentration in marine habitats[J]. Marine Geology & Quaternary Geology, 2021, 41(3): 44-53 (in Chinese).
- [21] CHEN SM, WAGHMODE TR, SUN RB, KURAMAE EE, HU CS, LIU BB. Root-associated microbiomes of wheat under the combined effect of plant development and nitrogen fertilization[J]. Microbiome, 2019, 7(1): 136.
- [22] SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, SAHL JW, STRES B, THALLINGER GG, van HORN DJ, WEBER CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [23] WANG ZS, ZHU YQ, LI N, LIU H, ZHENG HJ, WANG WP, LIU Y. High-throughput sequencing-based analysis of the composition and diversity of endophytic bacterial community in seeds of saline-alkali tolerant rice[J]. Microbiological Research, 2021, 250: 126794.
- [24] CHEN WQ, WANG JY, CHEN X, MENG ZX, XU R, DUOJI DZ, ZHANG JH, HE J, WANG ZG, CHEN J, LIU KX, HU TM, ZHANG YJ. Soil microbial network complexity predicts ecosystem function along elevation gradients on the Tibetan Plateau[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 172: 108766-108777.
- [25] LI JB, SHEN ZH, LI CN, KOU YP, WANG YS, TU B, ZHANG SH, LI XZ. Stair-step pattern of soil bacterial diversity mainly driven by pH and vegetation types along the elevational gradients of Gongga Mountain, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 569.
- [26] WANG YS, LI CN, SHEN ZH, RUI JP, JIN DC, LI JB, LI XZ. Community assemblage of free-living diazotrophs along the elevational gradient of Mount Gongga[J]. Soil Ecology Letters, 2019, 1(3): 136-146.
- [27] WANG JJ, HU A, MENG FF, ZHAO WQ, YANG YF, SOININEN J, SHEN J, ZHOU JZ. Embracing mountain microbiome and ecosystem functions under global change[J]. The New Phytologist, 2022, 234(6): 1987-2002.
- [28] 何玉实, 何彤慧, 冯艳琼, 崔乔, 陈向全, 赵明涛, 邱文静. 鄂尔多斯台地盐沼滩涂湿地土壤细菌群落结构及特征[J]. 生态学报, 2022, 42(8): 3345-3355.
HE YS, HE TH, FENG YQ, CUI Q, CHEN XQ, ZHAO MT, QIU WJ. Characteristics and distribution of soil bacterial of salt marsh tidal wetland in Ordos Platform[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(8): 3345-3355 (in Chinese).
- [29] 陈小弯, 田华川, 常军军, 陈礼强, 舒兴权, 冯秀祥. 杞麓湖中河河口表流湿地净化河道污染水的效果及其微生物群落特征[J]. 生态环境学报, 2022, 31(9): 1865-1875.
CHEN XW, TIAN HC, CHANG JJ, CHEN LQ, SHU XQ, FENG XX. Purification effect of surface-flow wetland in the middle river mouth of Qilu Lake and its microbial community characteristics[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2022, 31(9): 1865-1875 (in Chinese).
- [30] LIU LL, WU YM, YIN MQ, MA XY, YU XN, GUO X, DU N, ELLER F, GUO WH. Soil salinity, not plant genotype or geographical distance, shapes soil microbial community of a reed wetland at a fine scale in the Yellow River Delta[J]. Science of the Total Environment, 2023, 856: 159136.

- [31] 李敏, 闫伟. 海拔对乌拉山油松根围真菌群落结构的影响[J]. 菌物学报, 2019, 38(11): 1992-2006.
LI M, YAN W. Effect of altitude on the fungal community structure around the root of *Pinus tabulaeformis* in Wulashan[J]. Mycosystema, 2019, 38(11): 1992-2006 (in Chinese).
- [32] BAHRAM M, HILDEBRAND F, FORSLUND SK, ANDERSON JL, SOUDZILOVSKAIA NA, BODEGOM PM, BENGTTSSON-PALME J, ANSLAN S, COELHO LP, HAREND H, HUERTA-CEPAS J, MEDEMA MH, MALTZ MR, MUNDRA S, OLSSON PA, PENT M, PÖLME S, SUNAGAWA S, RYBERG M, TEDERSOO L, BORK P. Structure and function of the global topsoil microbiome[J]. Nature, 2018, 560(7717): 233-237.
- [33] 郑佳华, 赵萌莉, 王琪, 张峰, 张彬, 张军. 放牧和刈割对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响[J]. 生态学报, 2022, 42(12): 4998-5008.
ZHENG JH, ZHAO ML, WANG Q, ZHANG F, ZHANG B, ZHANG J. Effects of management regime on soil microbial community structure and diversity of *Stipa grandis* grassland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12): 4998-5008 (in Chinese).
- [34] 董莲华, 杨金水, 袁红莉. 氨氧化细菌的分子生态学进展[J]. 应用生态学报, 2008, 19(6): 1381-1388.
DONG LH, YANG JS, YUAN HL. Research advances in molecular ecology of ammonia oxidizing bacteria[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(6): 1381-1388 (in Chinese).
- [35] SUN XX, ZHAO J, ZHOU X, BEI QC, XIA WW, ZHAO BZ, ZHANG JB, JIA ZJ. Salt tolerance-based niche differentiation of soil ammonia oxidizers[J]. The ISME Journal, 2022, 16(2): 412-422.
- [36] WANG F, CHE RX, DENG YC, WU YB, TANG LS, XU ZH, WANG WJ, LIU HB, CUI X. Air-drying and long time preservation of soil do not significantly impact microbial community composition and structure[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 157: 108238.
- [37] HORZ HP, BARBROOK A, FIELD CB, BOHANNAN BJM. Ammonia-oxidizing bacteria respond to multifactorial global change[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(42): 15136-15141.
- [38] 宋凯伦, 汪丽娜, 林益寰, 周春火, 谭泽彬, 高阳慧, 王亚丽, 尹鑫. 赣江南昌段丰、枯水期氨氧化微生物群落结构分析[J]. 环境污染与防治, 2022, 44(11): 1484-1490.
SONG KL, WANG LN, LIN YH, ZHOU CH, TAN ZB, GAO YH, WANG YL, YIN X. Community structure analysis of ammonia-oxidizing microorganisms in Nanchang section of Ganjiang River during high and low water periods[J]. Environmental Pollution & Control, 2022, 44(11): 1484-1490 (in Chinese).
- [39] 蔡张杰, 崔丽娟, 李晶, 李伟, 雷茵茹. 低温条件下人工湿地氨氧化微生物的群落结构特征[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(2): 373-383.
CAI ZJ, CUI LJ, LI J, LI W, LEI YR. Community structure characteristics of ammonia-oxidizing microorganisms in constructed wetland at low temperature[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2020, 36(2): 373-383 (in Chinese).
- [40] 杨建强, 曹梦琪, 王裕, 胡姝娅, 王常慧. 内蒙古不同类型草地土壤氨氧化细菌和古菌的比较研究[J]. 草地学报, 2021, 29(12): 2664-2669.
YANG JQ, CAO MQ, WANG G, HU SY, WANG CH. The characteristics of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in different grassland types of Inner Mongolia[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(12): 2664-2669 (in Chinese).
- [41] HUANG XR, ZHAO J, SU J, JIA ZJ, SHI XL, WRIGHT AL, ZHU-BARKER X, JIANG XJ. Neutrophilic bacteria are responsible for autotrophic ammonia oxidation in an acidic forest soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 119: 83-89.
- [42] 俞娟莉, 王艳芬, 张洪勋. 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展[J]. 生态学报, 2013, 33(21): 6774-6785.
YUN JL, WANG YF, ZHANG HX. Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(21): 6774-6785 (in Chinese).
- [43] STEPNIIEWSKA Z, PYTLAK A, KUZNIAR A. Methanotrophic activity in Carboniferous coalbed rocks[J]. International Journal of Coal Geology, 2013, 106: 1-10.
- [44] YUN JL, ZHUANG GQ, MA AZ, GUO HG, WANG YF, ZHANG HX. Community structure, abundance, and activity of methanotrophs in the zoige wetland of the Tibetan Plateau[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(4): 835-843.
- [45] 章妮, 陈克龙, 暴涵. 高寒湿地甲烷氧化菌群落对模拟增温的响应[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(5): 1232-1238.
ZHANG N, CHEN KL, BAO H. Response of methane-oxidizing bacteria community to simulated warming in alpine wetland[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2022, 28(5): 1232-1238 (in Chinese).