

DOI: 10.5846/stxb201810102193

王婉丽, 袁庆叶, 董必成, 高俊琴, 韩广轩, 于飞海. 克隆整合和石油污染对芦苇湿地土壤理化性质的影响. 生态学报, 2019, 39(24): 9179-9187.
Wang W L, Yuan Q Y, Dong B C, Gao J Q, Han G X, Yu F H. Effects of clonal integration and crude oil pollution on soil physicochemical properties in a *Phragmites australis* wetland. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(24): 9179-9187.

克隆整合和石油污染对芦苇湿地土壤理化性质的影响

王婉丽¹, 袁庆叶^{1,2}, 董必成¹, 高俊琴¹, 韩广轩³, 于飞海^{1,4,5,*}

1 北京林业大学自然保护区学院, 北京 100083

2 北京农业职业学院国际教育学院, 北京 102442

3 中国科学院烟台海岸带研究所中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 烟台 264003

4 台州学院湿地生态学与克隆生态研究所, 台州 318000

5 台州学院植物进化生态学与保护浙江省重点实验室, 台州 318000

摘要: 克隆整合是克隆植物重要的性状之一。它不仅能够提高分株对环境胁迫的耐受能力, 而且可能影响分株周围的土壤属性。为检验克隆整合对土壤属性的影响, 在黄河三角洲芦苇湿地开展克隆整合和石油污染的两因子的野外实验。每年将 0、5 或 10 mm 厚的原油添加到直径为 60 cm 的圆形芦苇群落样方内来模拟无污染、轻度或重度石油污染, 并通过保留或切断样方内外芦苇根状茎的连接来实现克隆整合的有或无。实验开始于 2014 年, 并于 2016 年 10 月采集样方内土壤样品, 测定土壤团聚体组成、pH 值、电导率、总碳、总氮、总磷和有机碳含量。石油污染显著增加了土壤粗大团聚体(粒径: >2 mm)、pH 值、总氮和有机碳含量, 降低了土壤微团聚体(粒径: 0.053—0.25 mm)占比以及电导率。克隆整合显著降低了土壤 pH 值, 提高了土壤电导率和氮磷比。克隆整合和石油污染的交互作用仅对电导率有显著效应。因此, 石油污染和克隆整合都可以影响湿地土壤的理化性质, 而克隆整合对分株周围土壤理化性质的影响可能进一步影响克隆植物的优势度。

关键词: 克隆植物; 石油污染; 生理整合; 根状茎植物; 黄河三角洲

Effects of clonal integration and crude oil pollution on soil physicochemical properties in a *Phragmites australis* wetland

WANG Wanli¹, YUAN Qingye^{1,2}, DONG Bicheng¹, GAO Junqin¹, HAN Guangxuan³, YU Feihai^{1,4,5,*}

1 School of Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 International Education College, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442, China

3 Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, and Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

4 Institute of Wetland Ecology & Clone Ecology, Taizhou University, Taizhou 318000, China

5 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Plant Evolutionary Ecology and Conservation, Taizhou University, Taizhou 318000, China

Abstract: Clonal integration is one of the most important traits of clonal plants. It not only can improve the ability of ramets to tolerate environmental stress, but also may influence physicochemical properties of the soil around the ramets. To test the effect of clonal integration on soil properties, we conducted a field experiment in a wetland dominated by *Phragmites australis* in the Yellow River Delta in China, with clonal integration and crude oil contamination as the two main factors. We added 0, 5, or 10 mm thick crude oil per year to circular plots (60 cm in diameter) of the *P. australis* community to simulate none, moderate, or heavy oil contamination, and kept the rhizome connections between the ramets of *P. australis*

基金项目: 国家自然科学基金项目(31570413)

收稿日期: 2018-10-10; 网络出版日期: 2019-09-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: feihaiyu@126.com

<http://www.ecologica.cn>

inside and outside the plots severed or not, to prevent or allow clonal integration. The experiment started in 2014. In October 2016, we collected soil samples in the plots and measured soil aggregate composition, pH, electric conductivity, total carbon, total nitrogen, total phosphorus, and organic carbon. Crude oil contamination significantly increased the proportion of large macroaggregates (diameter >2.0 mm), pH, total nitrogen, and organic carbon in the soil, but decreased the proportion of soil microaggregates (diameter: 0.053—0.25 mm) and soil electric conductivity. Clonal integration significantly decreased soil pH, but increased soil electric conductivity, and nitrogen to phosphorus ratio. There was a significant interaction effect between clonal integration and oil contamination only on soil electric conductivity. Therefore, both crude oil contamination and clonal integration can influence physicochemical properties of the soil in wetlands, and the effect of clonal integration on physicochemical properties of the soil around the ramets may further affect the dominance of clonal plants.

Key Words: clonal plant; crude oil contamination; physiological integration; rhizomatous plants; Yellow River Delta

自然界中的许多植物是具有无性繁殖能力的克隆植物,并且克隆植物在很多群落如草原、草甸、冻原、苔原、竹林和湿地等占据优势地位,影响着这些群落的结构和功能^[1-4]。克隆植物可以通过匍匐茎、根状茎和水平根等横生结构实现相连分株之间物质、能量以及信号等的传递和共享^[5],这种现象称为克隆整合^[6-7]。克隆整合一般通过示踪物质(如同位素和染料)的传输来直接表征,或者通过其对分株生长、形态和生理等的影响来间接体现^[5]。大量研究表明,克隆整合可以显著改变植物的生长、形态和生理特征^[8-10],提高克隆植物适应逆境和耐受胁迫的能力^[8-9],增强外来植物的入侵性^[10-13]。例如,克隆整合可以提高沙地克隆植物沙鞭(*Psammochloa villosa*)对流沙掩埋^[14]和风蚀^[15]的耐受力,提高水陆两栖克隆植物空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)对水淹的耐受力^[16-17],以及提高水陆两栖克隆植物双穗雀稗(*Paspalum paspaloides*)对重金属胁迫的耐受力^[18]等。

克隆整合对克隆植物生长和胁迫耐受力的影响将可能进一步对分株周围生物和非生物的环境因子产生影响,但相关的研究却十分有限,且研究结果并不一致^[19-21]。研究表明,克隆整合可以影响活血丹(*Glechoma longituba*)根际土壤的有机碳含量、碳和氮有效性、氮的矿化和硝化速率、脲酶和蔗糖酶活性以及土壤微生物总磷酸脂肪酸(PLFA)含量^[19],并可以改变遮荫白夹竹(*Phyllostachys bissetii*)根际土壤的胞外酶活性和功能基因的丰度^[21]。然而,袁庆叶等^[20]对黄河三角洲芦苇湿地的研究却发现,克隆整合对土壤微生物群落的总PLFA含量、各主要类群的PLFA含量、土壤微生物碳和氮含量均无显著的影响。此外,国内外尚未开展有关克隆整合对分株周围土壤团聚体组成特征影响的研究。

滨海湿地是海陆交错的重要地带,一方面直接或间接为人类提供淡水、生物、矿产等重要物资,另一方面也是矿物质、营养物质和有机有毒物质净化的重要场所^[22]。近年来,随着近海和沿海石油开采活动的增加,石油在开采、加工和集运过程中泄露问题频发,严重影响滨海湿地的安全与生态系统服务和功能^[23]。黄河三角洲作为我国暖温带典型的滨海湿地生态系统,同样遭受石油污染的影响,而石油污染也已成为黄河三角洲地区湿地生态系统退化的主要因子之一^[24-25]。

石油主要由碳和氢两种元素组成^[26],包含烷烃、环烷烃和芳香烃三大类有机化合物^[27],以及铜(Cu)、锌(Zn)、铅(Pb)、磷(P)等许多元素^[28]。石油复杂的有机混合物成分不仅能够毒害植物的生长^[29-30],而且也会改变土壤理化性质^[23]。例如,石油进入环境后,会增加土壤中有机质的含量,其反应基可以与无机氮、磷结合并限制其硝化和脱磷酸作用,使得N、P等营养元素不足,导致土壤中的C/N、C/P和N/P失调^[31]。同时,石油污染土壤后,还可能改变土壤pH值、持水率、透气性等^[32]。此外,石油带来的污染并非总是均匀的,在野外情况下常常形成大小不等的石油污染斑块,而克隆植物的相连分株可以从遭受石油污染的斑块扩展到无石油污染的斑块或者相反。目前有关滨海湿地石油污染的研究较多,但国内外尚缺乏有关克隆整合对石油污染后的土壤理化属性影响的研究。由于克隆整合可以提高受胁迫分株的耐受能力,因此预测,克隆整合可能削弱

石油污染对分株周围土壤理化性质的影响。

以根状茎型克隆植物——芦苇(*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel)为单优群落的黄河三角洲滨海湿地为对象,开展了一个为期3年的野外实验,以探究克隆整合和石油污染对芦苇湿地土壤理化性质的影响。在芦苇湿地内设置36个圆形样方,每年向样方添加0、5或10 mm的原油,用于模拟无污染、轻度和重度石油污染。同时,通过保持或切断样方内外芦苇分株间的根状茎来控制克隆整合的有或无。通过本实验,我们拟回答两个科学问题:(1)石油污染如何影响芦苇湿地的土壤理化性质?(2)石油污染条件下,芦苇的克隆整合是否能够减弱石油污染对土壤理化性质的影响?

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

本研究在中国科学院烟台海岸带研究所滨海湿地生态试验站内(37°45′36.62″—37°46′15.56″N, 118°58′38.74″—118°58′58.77″E)开展,该试验站位于山东省东营市黄河三角洲(图1)。试验站所在地为季节性湿地,属于温带大陆性季风气候,冷热干湿界限明显。每年70%的降水分布在5—9月份,年平均降水量为551.6 mm^[33]。年均气温为12.9℃,年均蒸发量为1962 mm^[34-35]。研究区淡水缺乏,土壤为隐域性潮土和盐碱土,并向积盐方向发展。该试验站优势物种为芦苇、伴生有白茅(*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.)、鹅绒藤(*Cynanchum chinense* R. Br.)和盐地碱蓬(*Suaeda salsa* (Linn.) Pall.)等。

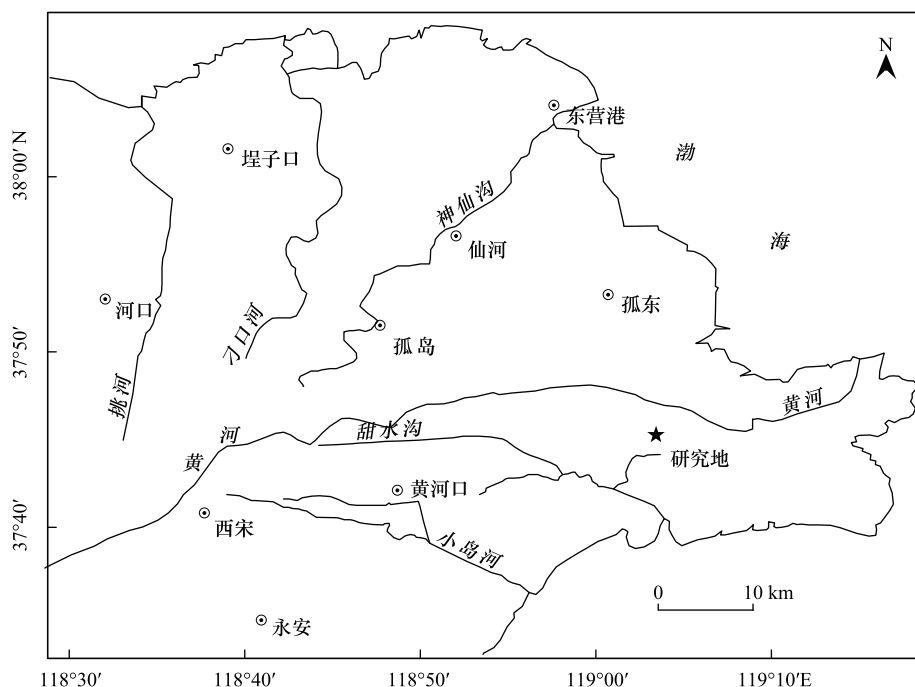


图1 黄河三角洲及试验站地理位置

Fig.1 The geographical location of the Yellow River Delta and the research station

1.2 实验设计

在试验站布设6个区组,各区组的植被群落组成、芦苇生长状况和分株数量相对一致。每个区组内包含6个直径为60 cm的圆形样方,样方间距在2 m以上。应用析因设计对样方进行设置,包括克隆整合(有和无)和石油污染(无污染、轻度或重度污染)两个因子。通过对圆形样方内外芦苇根状茎的物理切断与否来实现克隆整合的有或无。为此,我们将直径60 cm、高35 cm的PVC管穿过芦苇植株后垂直插入地面以下5 cm,作为根状茎连接处理(即不阻断克隆整合),而将直径和高均为60 cm的PVC管垂直插入到地面以下30 cm,作为芦苇根状茎切断处理(即阻断克隆整合)。预实验表明,研究区内的芦苇根状茎主要分布在地表以下

15—20 cm 处。因此,前者不影响样方内外芦苇根状茎的连接,而后者可以有效切断样方内外绝大部分芦苇根状茎的连接。两种根状茎处理中 PVC 管的地表以上部分均为 30 cm,以保证 PVC 管对不同处理的影响一致性和防止石油溢出。石油污染水平分别为每年添加 0、5 和 10 mm 厚的原油,原油来源于胜利油田;分别在 2014 年 6 月 29 日、2015 年 5 月 13 日和 2016 年 5 月 11 日向处理样方内进行均匀添加,石油添加过程中避免接触样方中的植物地上部分。石油添加后逐渐渗入土壤,土壤表面无残存的石油块状物。每个区组的 6 个样方被分别随机安排一个处理,即每个区组均包含 6 个处理,共计 36 个样方。从 2014 年 6 月 28 日布设样方到实验结束,共持续 3 年。

1.3 测定方法

2016 年 10 月 25 日,采用土钻法对每个圆形样方内土壤进行采集。用内径为 3 cm 的土钻在圆形样方内采集 3 个 0—20 cm 的平行样后充分混匀作为一个土壤样品,去除土样中可见的杂物、植物根系和大型土壤动物等,经自然风干后用于土壤理化性质的测定。每个土样被分为两部分,一部分土壤保持原状用于土壤团聚体组成的测定,另一部分土壤研磨过 1 mm 筛后用于其他指标的测定。

土壤团聚体采用湿筛法测定,分为 4 个级别^[36-37]:粗大团聚体(>2.0 mm)、细大团聚体(0.25—2.0 mm)、微团聚体(0.053—0.25 mm)和粉黏团聚体(<0.053 mm)。土壤 pH 值和电导率分别用 pH 计测定和电导仪测定(土:水=1:5)。土壤总碳和有机碳用总有机碳分析仪(Multi3100 N/C,耶拿分析仪器股份公司,德国)固体模块测定;土壤总氮经浓硫酸消煮后用连续流动分析仪(AutoAnalyzer 3,Seal,德国)测定;土壤总磷采用酸溶-钼锑抗比色法测定。土壤理化性质测定的具体操作方法参照南京农业大学所编《土壤农化分析》^[38]和中国土壤学会所编《土壤农业化学分析方法》^[39]。

1.4 数据分析

应用 SPSS 16.0 统计软件对测定结果进行数据处理与分析,为满足数据的正态性,对电导率、总碳、C/P 和 N/P 进行了正弦值转换,并对有机碳和微团聚体(0.053—0.25 mm)分别进行平方根和自然对数转换。采用双因素方差分析(Two-way ANOVAs)探讨克隆整合(有和无)和石油添加水平(0、5、10 mm)对土壤团聚体组成、pH 值、电导率、总碳、总氮、总磷、有机碳及其比值的影响。

2 结果

2.1 克隆整合和石油污染对土壤团聚体组成的影响

石油添加显著影响了土壤团聚体组成(表 1)。随着石油添加量的增加,粗大团聚体(>2 mm)的比例显著增大(从 5.0%—7.2%到 27.6%—31.8%),而微团聚体(0.053—0.25 mm)的比例显著降低(从 23.4%—23.5%到 14.5%—14.8%;表 1,图 2)。芦苇的克隆整合及其与石油添加的交互作用对土壤团聚体各部分组成均无显著效应(表 1,图 2)。

表 1 石油添加水平和芦苇根状茎切断情况对土壤团聚体组成的影响

Table 1 Effects of crude oil addition and rhizome severance of *Phragmites australis* on the aggregate composition of the soil

| 处理 Treatment | df | 土壤团聚体粒径分级 Diameter groups of the soil aggregates/mm | | | |
|-------------------|------|--|---------------------|-------------------|---------------------|
| | | <0.053 | 0.053—0.25 | 0.25—2.0 | >2.0 |
| 石油水平 Oil(O) | 2,30 | 2.0 ^{ns} | 10.1 ^{***} | 2.2 ^{ns} | 36.7 ^{***} |
| 切断情况 Severance(S) | 1,30 | 0.3 ^{ns} | <0.1 ^{ns} | 0.1 ^{ns} | 0.8 ^{ns} |
| O×S | 2,30 | 0.2 ^{ns} | 0.1 ^{ns} | 0.2 ^{ns} | 0.6 ^{ns} |

ns $P \geq 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

2.2 克隆整合和石油污染对土壤 pH 值和电导率的影响

石油添加和克隆整合均显著影响土壤 pH 和电导率,两者的交互作用对电导率有显著效应,而对 pH 值无显著效应(表 2)。所有处理的土壤样品 pH 值均大于 8(8.033—8.403),表明实验地土壤为碱性;所有土样的

电导率均在 0.60 mS/cm (0.60—1.63 mS/cm) 以上,表明实验地土壤属于盐渍化土壤。与对照组相比,随着石油添加量的增大,土壤 pH 值随之增大,而电导率随之减小(图 3)。无论石油添加水平如何,芦苇根状茎切断处理的土壤 pH 值比连接处理大,电导率则表现为切断处理小于连接处理(图 3)。

2.3 克隆整合和石油污染对土壤碳、氮和磷含量的影响

在所有的土壤 C、N 和 P 指标中,石油添加仅显著影响了土壤有机碳和总氮含量,而克隆整合仅对 N/P 有显著效应(表 3)。两者的交互作用对各土壤 C、N 和 P 含量、C/N、C/P 和 N/P 没有显著效应(表 3)。与对照组相比,土壤有机碳和总氮含量随石油添加量的增加而增大;芦苇根状茎连接时的土壤 N/P 比切断时高(图 4)。

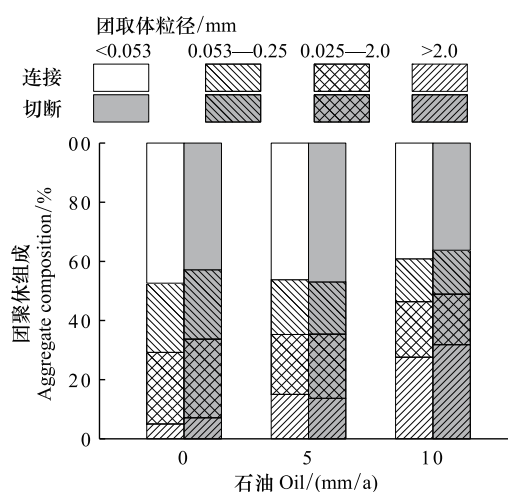


图 2 不同石油添加和根状茎切断处理下的土壤团聚体组成
Fig. 2 The aggregate composition of the soil under different crude oil addition and rhizome severance treatments

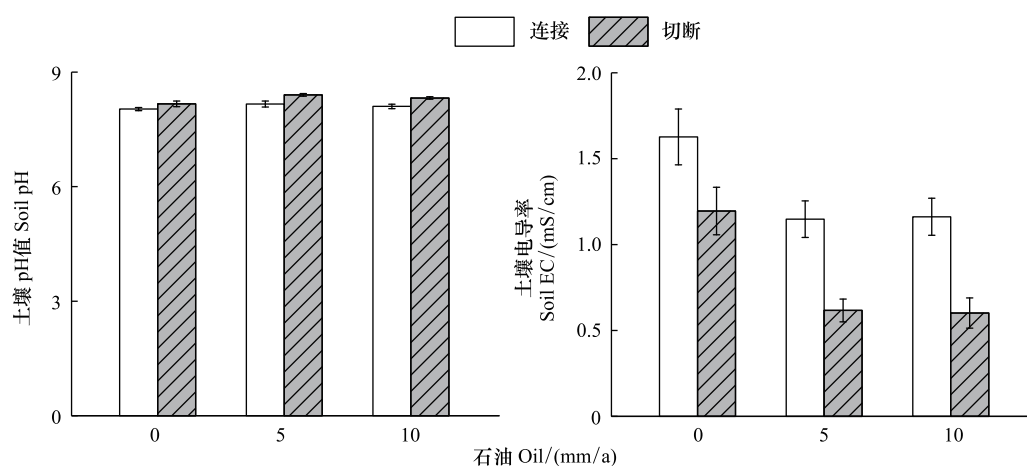


图 3 不同石油添加和根状茎切断处理下的土壤 pH 值和电导率

Fig. 3 Soil pH and electric conductivity under different oil addition and rhizome severance treatments

柱体和竖直线分别代表均值和标准差

3 讨论

本研究结果表明,遭受不同石油添加处理的芦苇湿地,其土壤理化性质差异显著。石油添加主要改变了土壤团聚体组成、pH、电导率、土壤有机碳和总氮含量。与对照组相比,两个石油添加水平下粗大团聚体分别平均增加了 57.1% (5 mm 厚石油处理) 和 79.6% (10 mm 厚石油处理),而微团聚体分别平均减小了 29.6% (5 mm 厚石油处理) 和 59.8% (10 mm 厚石油处理)。土壤团聚体组成的改变可能是由于土壤颗粒团聚作用导致的,构成更多粗大团聚体。以往的研究表明石油的高粘度性易导致土壤结块,阻碍土壤气体交流,造成土壤的厌氧环境^[40]。此外,本研究实验地的土壤为盐碱土,添加石油后土壤的 pH 增大,电导率减小。土壤 pH 会影响土壤营养盐有效性,即当土壤 pH 过高时,部分营养元素会难以溶解,有效性降低^[41]。类似的,随着土壤石油烃的增加,莫莫格湿地的土壤 pH 值也显著增加^[42]。石油污染后土壤 pH 的增大的原因可能有两个。一方面,石油具有疏水性,这可能导致受污染土壤表层和地下层的潜在干旱,从而加剧土壤的盐渍化,进而增大了 pH 值^[43]。另一方面,土壤石油污染与交换性酸(TEA, total exchangeable acidity, 如 H⁺、Al³⁺ 等)的减小,交

换性盐基 (TEB, total exchangeable bases, 如 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 等) 和有效阳离子交换量 (ECEC, effective cation exchange capacity) 的积累有关^[44-46]。这些机制可能导致石油污染土壤 pH 值的增大。土壤电导率随石油添加量的增大而减小, 这可能是石油进入土壤后影响了离子的稳定性, 从而导致电导率的降低^[46]。

表 2 石油添加水平和芦苇根状茎切断情况对土壤 pH 值和电导率 (EC) 的影响

| 处理 Treatment | df | pH | EC |
|--------------------|-------|-------------------|----------|
| 石油水平 Oil (O) | 2, 30 | 5.3 ** | 9.7 *** |
| 切断情况 Severance (S) | 1, 30 | 18.3 *** | 35.1 *** |
| O×S | 2, 30 | 0.5 ^{ns} | 5.6 ** |

ns $P \geq 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

表 3 石油添加水平、芦苇根状茎切断情况对土壤碳、氮和磷及其比率的影响

Table 3 Effects of crude oil addition and rhizome severance of *Phragmites australis* on soil total carbon (TC), total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) and their ratios as well as soil organic carbon (SOC)

| 处理 Treatment | df | SOC | TC | TN | TP | C/N | C/P | N/P |
|--------------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 石油水平 Oil (O) | 2, 30 | 49.2 *** | 1.2 ^{ns} | 4.3 * | 2.0 ^{ns} | 0.1 ^{ns} | 0.7 ^{ns} | 1.8 ^{ns} |
| 切断情况 Severance (S) | 1, 30 | 0.7 ^{ns} | 1.6 ^{ns} | 2.1 ^{ns} | 2.3 ^{ns} | 1.4 ^{ns} | 0.1 ^{ns} | 5.3 * |
| O × S | 2, 30 | 0.9 ^{ns} | 0.9 ^{ns} | 0.5 ^{ns} | 0.2 ^{ns} | 0.6 ^{ns} | 2.7 ^{ns} | 0.6 ^{ns} |

ns $P \geq 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

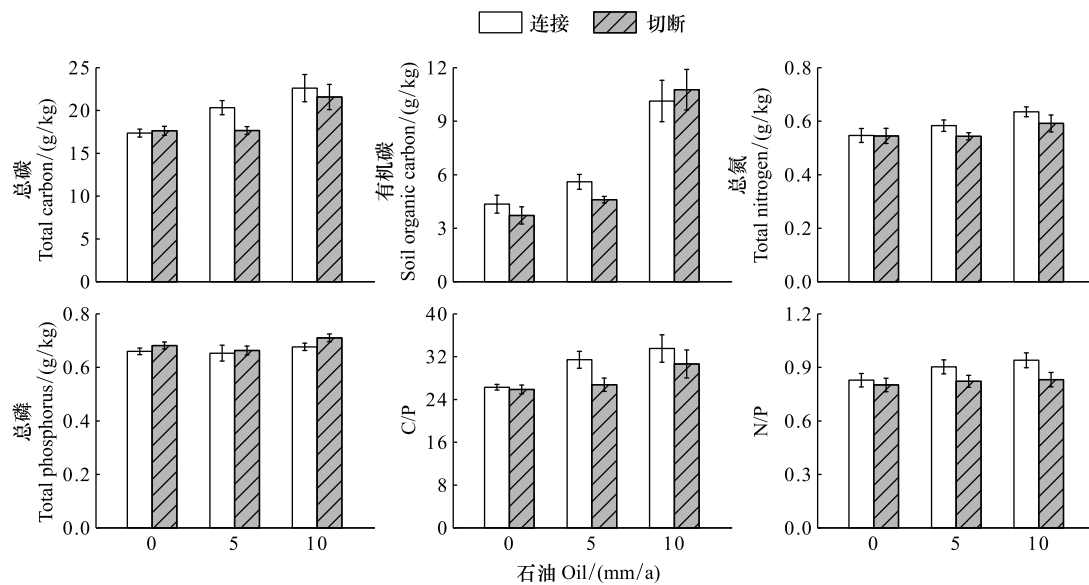


图 4 不同石油添加和根状茎切断处理下的土壤碳、总氮和总磷含量及其比率

Fig. 4 Soil carbon, total nitrogen and total phosphorus and their ratios under different crude oil addition and rhizome severance treatments

柱体和竖直线分别代表均值和标准差

土壤有机质是土壤中各种含碳有机化合物的总称, 是污染土壤生物修复的基础, 其含量和组成对生物修复的可行性和修复效率均发挥着决定性的作用^[47]。石油主要是碳 (83%—87%) 和氢 (11%—14%) 两种元素组成的复杂有机混合物, 包含了烷烃、环烷烃和芳香烃三大类有机化合物, 还包含少量重金属元素等。与对照组相比, 石油污染的芦苇湿地土壤有机碳含量发生了较大的改变, 表现为随石油添加量的增加而增大。这主要是由于石油复杂的含碳有机物难于降解, 并在土壤中长期停留所造成的^[48]。此外, 部分研究发现, 土壤有机碳含量的增高将会增大土壤的 C/N 和 C/P, 导致氮、磷等营养元素比例的失衡, 不利于土壤微生物对石油

烃的利用^[49]。一般认为,土壤中生物可利用的 C/P 为 120:1 左右,这种比例有利于改善土壤微生物对石油烃的降解^[50]。然而,本研究结果表明,研究地土壤内的 C/P 基本不会随着石油添加而发生显著改变,而且土壤中的 C/P 值也并未维持在上述的最佳比例状态。比如,在三种水平的石油添加下,芦苇湿地土壤的 C/P (26:1—34:1)均未达到微生物所需的营养物质比例水平。导致这一结果的可能原因是土壤中碳含量大幅度增加,而土壤磷含量没有显著变化,进而导致的 C/P 严重失调。本研究结果表明,石油添加对土壤总氮有显著效应,芦苇根围土壤总氮含量随石油添加量的增加而增大。我国现有油田中以低硫和高氮原油为主^[25],添加石油后土壤总氮的增加可能与原油中的矿物元素的输入有关^[51-52]。

克隆整合使得克隆植物的不同相连分株之间可以传递光合产物、矿质养分和水分等物质^[53],从而改善处在不利环境下的分株的适合度^[54-56]。同时,克隆整合可以通过传输光合产物等改变分株周围土壤理化性质^[57]。例如,薛阁等^[57]发现,克隆整合显著促进了遮荫分株根际土壤溶解性有机碳含量和微生物生物量碳、氮含量。本研究结果也表明,克隆整合显著影响了土壤 pH 值和电导率。实验区内芦苇根状茎连接比切断条件下拥有更高的土壤电导率,可能是因为根状茎切断不利于分株的生长,导致分株对土壤水分的吸收较少,促使根状茎切断处理的分株所在的土壤水分含量比连接处理的高,从而导致较低的土壤电导率。此外,本研究发现,克隆整合对土壤总氮和有机碳无显著效应。尽管 Lei 等^[19]发现克隆整合对土壤总氮也没有显著效应,但却发现克隆整合可以显著增加土壤有机碳含量和 C/N。造成这种差别的原因可能有两个。第一,由于本研究选取的土样是来自样方内 3 个深度为 0—20 cm 的混合土壤,而非根际土壤,从而削弱了克隆整合效应^[20];第二,原油在土壤中的迁移在水平方向上受毛细管力的作用,而在垂直方向上受重力的作用^[58-60]。由于插入土壤下 PVC 圆管的差异(5 cm 与 30 cm),根状茎连接和切断处理的样方内的石油有可能通过毛细管力向周围区域产生不同程度的水平扩散,从而影响了克隆整合作用。第三,不同胁迫处理和实验环境可能导致克隆整合对土壤理化性质的影响差异。

综上所述,石油污染和克隆整合均可以影响芦苇湿地的土壤理化性质。此外,石油污染和克隆整合还能影响土壤微生物群落的生物量、结构和组成等^[19,23,57]。例如,袁庆叶等^[20]发现石油污染显著影响了土壤微生物的磷脂脂肪酸总量,而 Lei 等^[19]发现克隆整合显著影响根际土壤细菌和真菌等的磷脂脂肪酸含量。因此,后续的研究将进一步利用 16S rRNA 高通量测序方法探讨石油污染和克隆整合对芦苇湿地土壤微生物群落的影响以及微生物群落与土壤理化性质的关系,以期了解克隆整合与土壤微生物群落的关系,并为微生物生态学的研究和黄河三角洲湿地石油污染土壤的生物修复技术提供新思路。黄河三角洲滨海湿地受海陆交互作用的影响,其土壤盐度较高,且位于不同海拔(高程)区域的土壤盐渍化程度也不同,盐分对其生态过程具有十分重要的影响^[61-63]。在本实验中,我们没有设计不同的土壤盐分水平和异质性,因此无法探讨土壤盐分对克隆整合的影响。因此,后续的研究可进一步考虑盐分水平和盐分异质性与克隆整合的交互作用对湿地土壤理化性质和微生物结构和组成的影响。

致谢:感谢北京林业大学自然保护区学院刘超明同学在土壤理化性质测定实验中给予的帮助。

参考文献 (References):

- [1] Song M H, Dong M. Clonal plants species diversity in wetland ecosystems in China. *Journal of Vegetation Science*, 2002, 13(2): 237-244.
- [2] Yu F H, Wang N, He W M, Dong M. Effects of clonal integration on species composition and biomass of sand dune communities. *Journal of Arid Environments*, 2010, 74(6): 632-637.
- [3] Ye D, Hu Y K, Song M H, Pan X, Xie X F, Liu G F, Ye X H, Dong M. Clonality-climate relationships along latitudinal gradient across China: adaptation of clonality to environments, *PLoS One*, 2014, 9(4): e94009.
- [4] Cornelissen J H C, Song Y B, Yu F H, Dong M. Plant traits and ecosystem effects of clonality: a new research agenda. *Annals of Botany*, 2014, 114(2): 369-376.
- [5] 董鸣. 克隆植物生态学. 北京: 科学出版社, 2011.
- [6] 董鸣, 于飞海. 克隆植物生态学术语和概念. *植物生态学报*, 2007, 31(4): 689-694.

- [7] Roiloa S R, Hutchings M J. The effects of physiological integration on biomass partitioning in plant modules; an experimental study with the stoloniferous herb *Glechoma hederacea*. *Plant Ecology*, 2013, 214(4): 521-530.
- [8] Song Y B, Yu F H, Keser L H, Dawson W, Fischer M, Dong M, van Kleunen M. United we stand, divided we fall: a meta-analysis of experiments on clonal integration and its relationship to invasiveness. *Oecologia*, 2013, 171(2): 317-327.
- [9] 魏宇航, 周晓波, 陈劲松, 谌利民, 李娇, 刘庆. 模拟采食干扰下克隆整合对两种箭竹分株种群更新的影响. *植物生态学报*, 2013, 37(8): 699-708.
- [10] Wang N, Yu F H, Li P X, He W M, Liu F H, Liu J M, Dong M. Clonal integration affects growth, photosynthetic efficiency and biomass allocation, but not the competitive ability, of the alien invasive *Alternanthera philoxeroides* under severe stress. *Annals of Botany*, 2008, 101(5): 671-678.
- [11] Roiloa S R, Rodríguez-Echeverría S, de la Peña E, Freitas H. Physiological integration increases the survival and growth of the clonal invader *Carpobrotus edulis*. *Biological Invasions*, 2010, 12(6): 1815-1823.
- [12] You W H, Yu D, Liu C H, Xie D, Xiong W. Clonal integration facilitates invasiveness of the alien aquatic plant *Myriophyllum aquaticum* L. under heterogeneous water availability. *Hydrobiologia*, 2013, 718(1): 27-39.
- [13] Wang Y J, Müller-Schärer H, van Kleunen M, Cai A M, Zhang P, Yan R, Dong B C, Yu F H. Invasive alien plants benefit more from clonal integration in heterogeneous environments than natives. *New Phytologist*, 2017, 216(4): 1072-1078.
- [14] Yu F H, Dong M, Krüsi B. Clonal integration helps *Psammodochloa villosa* survive sand burial in an inland dune. *New Phytologist*, 2004, 162(3): 697-704.
- [15] Yu F H, Wang N, He W M, Chu Y, Dong M. Adaptation of rhizome connections in drylands; increasing tolerance of clones to wind erosion. *Annals of Botany*, 2008, 102(4): 571-577.
- [16] Wang N, Yu F H, Li P X, He W M, Liu J, Yu G L, Song Y B, Dong M. Clonal integration supports the expansion from terrestrial to aquatic environments of the amphibious stoloniferous herb *Alternanthera philoxeroides*. *Plant Biology*, 2009, 11(3): 483-489.
- [17] Luo F L, Chen Y, Huang L, Wang A, Zhang M X, Yu F H. Shifting effects of physiological integration on performance of a clonal plant during submergence and de-submergence. *Annals of Botany*, 2014, 113(7): 1265-1274.
- [18] Luo F L, Xing Y P, Wei G W, Li C Y, Yu F H. Clonal integration facilitates spread of *Paspalum paspaloides* from terrestrial to cadmium-contaminated aquatic habitats. *Plant Biology*, 2017, 19(6): 859-867.
- [19] Lei N F, Li J, Ni S J, Chen J S. Effects of clonal integration on microbial community composition and processes in the rhizosphere of the stoloniferous herb *Glechoma longituba* (Nakai) Kuprian. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108259.
- [20] 袁庆叶, 安菁, 高俊琴, 韩广轩, 于飞海. 芦苇克隆整合对石油污染湿地土壤微生物群落结构和生物量的影响. *生态学报*, 2018, 38(1): 215-225.
- [21] Li Y, Chen J S, Xue G, Peng Y Y, Song H X. Effect of clonal integration on nitrogen cycling in rhizosphere of rhizomatous clonal plant, *Phyllostachys bissetii*, under heterogeneous light. *Science of the Total Environment*, 2018, 628-629: 594-602.
- [22] 孙会梅. 石油污染物输入对滨海湿地根际微生物群落结构的影响研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [23] Mendelsohn I A, Andersen G L, Baltz D M, Caffey R H, Carman K R, Fleeger J W, Joye S B, Lin Q X, Maltby E, Overton E, Rozas L P. Oil impacts on coastal wetlands; implications for the Mississippi River Delta ecosystem after the *Deepwater Horizon* oil spill. *BioScience*, 2012, 62(6): 562-574.
- [24] Yang Z F, Wang L L, Niu J F, Wang J Y, Shen Z Y. Pollution assessment and source identifications of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Yellow River Delta, a newly born wetland in China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2009, 158(1/4): 561-571.
- [25] 王传远, 杨翠云, 孙志高, 杨玉玮, 瞿成利, 王允周. 黄河三角洲生态区土壤石油污染及其与理化性质的关系. *水土保持学报*, 2010, 24(2): 214-217.
- [26] 聂明. 芦苇及其根围微生物对石油污染响应的生态系统生态学研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
- [27] Amund O O, Igiri C O. Biodegradation of petroleum hydrocarbons under tropical estuarine conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1990, 6(3): 255-262.
- [28] Hitchon B, Filby R H. Use of trace elements for classification of crude oils into families-example from Alberta, Canada. *American Association of Petroleum Geologists Bulletin*, 1984, 68: 838-849.
- [29] Lin Q X, Mendelsohn I A. Impacts and recovery of the *Deepwater Horizon* oil spill on vegetation structure and function of coastal salt marshes in the northern Gulf of Mexico. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(7): 3737-3743.
- [30] Judy C R, Graham S A, Lin Q X, Hou A X, Mendelsohn I A. Impacts of Macondo oil from *Deepwater Horizon* spill on the growth response of the common reed *Phragmites australis*: a mesocosm study. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 79(1/2): 69-76.
- [31] 李小利, 刘国彬, 薛莲, 许明祥. 土壤石油污染对植物苗期生长和土壤呼吸的影响. *水土保持学报*, 2007, 21(3): 95-98, 127-127.
- [32] 邵涛, 金凤. 石油固体废弃物对土壤环境的生态效应研究. *中国环境监测*, 2009, 25(3): 99-103, 106-106.

- [33] 朱敏, 张振华, 于君宝, 吴立新, 韩广轩, 杨利琼, 邢庆会, 谢宝华, 毛培利, 王光美. 氮沉降对黄河三角洲芦苇湿地土壤呼吸的影响. 植物生态学报, 2013, 37(6): 517-529.
- [34] Zhao Q Q, Bai J H, Lu Q Q, Zhang G L. Effects of salinity on dynamics of soil carbon in degraded coastal wetlands: implications on wetland restoration. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 2017, 97: 12-18.
- [35] 孙宝玉, 韩广轩, 陈亮, 王安东, 吴立新, 赵敏. 短期模拟增温对黄河三角洲滨海湿地芦苇光响应特征的影响. 生态学报, 2018, 38(1): 167-176.
- [36] 刘中良, 宇万太. 土壤团聚体中有机碳研究进展. 中国生态农业学报, 2011, 19(2): 447-455.
- [37] Aye N S, Sale P W G, Tang C X. The impact of long-term liming on soil organic carbon and aggregate stability in low-input acid soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52(5): 697-709.
- [38] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [39] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [40] Zhou E N, Crawford R L. Effects of oxygen, nitrogen, and temperature on gasoline biodegradation in soil. *Biodegradation*, 1995, 6(2): 127-140.
- [41] 王小雨, 冯江, 王静. 莫莫格湿地油田开采区土壤石油烃污染及对土壤性质的影响. 环境科学, 2009, 30(8): 2394-2401.
- [42] Wang Y, Feng J, Lin Q X, Lyu X G, Wang X Y, Wang G P. Effects of crude oil contamination on soil physical and chemical properties in Momoge wetland of China. *Chinese Geographical Science*, 2013, 23(6): 708-715.
- [43] Njoku K L, Akinola M O, Oboh B O. Phytoremediation of crude oil contaminated soil: the effect of growth of *Glycine max* on the physico-chemistry and crude oil contents of soil. *Nature and Science*, 2009, 7(10): 79-87.
- [44] Ekundayo E O, Obuekwe C O. Effects of an oil spill on soil physico-chemical properties of a spill site in a Typic Paleudult of Midwestern Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1997, 45(2): 209-221.
- [45] Osuji L C, Egbuson E J, Ojinnaka C M. Assessment and treatment of hydrocarbon inundated soils using inorganic nutrient (N-P-K) supplements: II. A case study of Eneka oil spillage in Niger Delta, Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2006, 115(1/3): 265-278.
- [46] Agbogidi O M, Erutor P G, Akparobi S O, Nnaji G U. Evaluation of crude oil contaminated soil on the mineral nutrient elements of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agronomy*, 2007, 6(1): 188-193.
- [47] 贾建丽, 刘莹, 李广贺, 张旭. 油田区土壤石油污染特性及理化性质关系. 化工学报, 2009, 60(3): 726-732.
- [48] 张晓阳. 陕北石油污染对土壤理化性质和酶活性的影响[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013.
- [49] 刘健. 胜利油田采油区土壤石油污染状况及其微生物群落结构[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [50] Plaza G, Nalecz-Jawecki G, Ulfig K, Brigmon R L. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. *Chemosphere*, 2005, 59(2): 289-296.
- [51] Okonokhua B O, Ikhajiagbe B, Anoliefo G O, Emede T O. The effects of spent engine oil on soil properties and growth of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Applied Sciences & Environmental Management*, 2007, 11(3): 147-152.
- [52] Nwite J N, Alu M O. Effect of different levels of spent engine oil on soil properties, grain yield of maize and its heavy metal uptake in Abakaliki, Southeastern Nigeria. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 2015, 5(4): 44-51.
- [53] Marshall C, Sagar G R. The distribution of assimilates in *Lolium multiflorum* Lam. following differential defoliation. *Annals of Botany*, 1968, 32(4): 715-719.
- [54] Alpert P, Holzapfel C, Slominski C. Differences in performance between genotypes of *Fragaria chiloensis* with different degrees of resource sharing. *Journal of Ecology*, 2003, 91(1): 27-35.
- [55] Du J, Wang N, Alpert P, Yu M J, Yu F H, Dong M. Clonal integration increases performance of ramets of the fern *Diplazium glaucum* in an evergreen forest in southeastern China. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2010, 205(6): 399-403.
- [56] Xu C Y, Schooler S S, van Klinken R D. Effects of clonal integration and light availability on the growth and physiology of two invasive herbs. *Journal of Ecology*, 2010, 98(4): 833-844.
- [57] 薛阁, 李洋, 陈劲松, 宋会兴. 克隆整合对遮荫白夹竹分株根际土壤细菌生物特征的影响. 生态学报, 2018, 38(9): 3132-3144.
- [58] 王洪涛, 罗剑, 李雨松, 牛冬杰, 李立清, 李光富. 石油污染物在土壤中运移的数值模拟初探. 环境科学学报, 2000, 20(6): 755-760.
- [59] 苏丽娜, 马晓利, 武海英, 张航, 王雪. 土壤中石油类污染物迁移转化及分析方法研究进展. 化学试剂, 2016, 38(11): 1071-1076, 1080-1080.
- [60] 顾廷富, 梁健, 肖红, 晋玉亮. 大庆油田落地原油对土壤污染的研究. 环境科学与管理, 2007, 23(9): 50-52, 56-56.
- [61] 王东明, 贾媛, 崔继哲. 盐胁迫对植物的影响及植物盐适应性研究进展. 中国农学通报, 2009, 25(4): 124-128.
- [62] 李玲, 仇少君, 檀菲菲, 杨红军, 刘京涛, 陆兆华. 盐分和底物对黄河三角洲区土壤有机碳分解与转化的影响. 生态学报, 2013, 33(21): 6844-6852.
- [63] Neubauer S C. Ecosystem responses of a tidal freshwater marsh experiencing saltwater intrusion and altered hydrology. *Estuaries and Coasts*, 2013, 36(3): 491-507.