

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2018.01.005

黄河源区黑土滩人工草地地表结皮与未结皮区土壤微生物多样性

李发祥¹, 张涛^{2*}, 罗玉珠³, 张蕊⁴, 韩瑾², 白彦福², 董全民⁵, 周华坤⁶, 尚占环²

(1. 青海三江源生态保护和建设办公室, 青海 西宁, 810008; 2. 兰州大学生命科学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 3. 青海省果洛州畜牧兽医工作站, 青海 果洛 814000; 4. 中国科学院西北生态环境资源研究院, 甘肃 兰州 730020; 5. 青海大学畜牧兽医科学院, 青海 西宁 810000; 6. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008)

摘要:为研究微生物群落多样性对土壤生物结皮的响应, 本试验通过对有生物结皮和无生物结皮土壤微生物多样性的研究, 分析黑土滩人工草地有生物结皮和无生物结皮土壤微生物细菌群落多样性。结果显示, 无论是否有土壤生物结皮, 土壤微生物细菌群落门水平的优势群落相同。变形菌门 *Proteobacteria* 群落都表现出在有生物结皮土壤中的百分含量大于无生物结皮土壤。放线菌门 *Actinobacteria* 和酸杆菌门 *Acidobacteria* 微生物含量在无生物结皮土壤中高于有生物结皮土壤。PCA 分析结果表明, 在相同采样地点有土壤生物结皮与无土壤生物结皮群落之间微生物细菌群落遗传距离较近, 而不同采样点之间的微生物细菌群落遗传距离相对较远。本研究认为土壤生物结皮的形成与土壤中微生物群落结构的变化密切相关, 微生物群落结构组成的变化在一定程度上能够说明土壤生物结皮的发生。

关键词:退化草地; 人工草地; 土壤生物结皮; 微生物

中图分类号: S154

文献标识码: A

文章编号: 1007-0435(2018)01-0045-08

Soil Microbial Diversity in Surface Crust and Non-Crust of Artificial Grassland in Black Soil Region of the Yellow River Source Region

LI Fa-xiang¹, ZHANG Tao^{2*}, LUO Yu-zhu³, ZHANG Rui⁴, HAN Jin², BAI Yan-fu²,
DONG Quan-min⁵, ZHOU Hua-kun⁶, SHANG Zhan-huan²

(1. College of Environmental Protection and Construction, Sanjiangyuan, Qinghai Province 810008, China; 2. State Key Laboratory of Agroecological Ecosystems, College of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province 730000, China; 3. Animal husbandry and veterinary workstation, Guolu, Qinghai Province 814000, China; 4. Northwest Institute of Eco-Environmental Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou, Gansu Province 730020, China; 5. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University, Xining, Qinghai Province 810000, China; 6. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining, Qinghai Province 810008, China)

Abstract: In this study, the microbial diversity of the crust and non-crust soil was examined in the artificial grassland. The results showed that dominant microbial community in the crust and non-crust soil was similar, belonging to the same phylum. The percentage of Proteobacteria in the crust soil was higher than non-crust soil. While the percentage of Actinobacteria was comparatively lower in the crust soil. PCA (Principal Component Analysis) demonstrated that the bacterial genetic distance was relatively minimum in the same sampling sites for crust as well as non-crust soil. This study suggests that the formation of soil biological crusts was closely associated with the change of the soil microbial community structure. So change in microbial community structure to a certain extent may develop soil biological crust.

Key words: Degraded grassland; Artificial grass; Soil biological crusts; Microbes

收稿日期: 2017-06-06; 修回日期: 2018-03-07

基金项目: 国家重点研发计划课题(2016YFC0501906); 国家自然科学基金(41671508); 青海省创新平台建设专项(2017-ZJ-Y20)资助

作者简介: 李发祥(1963-), 男, 青海西宁人, 本科, 高级工程师, E-mail: qhlifx@163.com; * 通信作者 Author for correspondence, E-mail: Tzhang2014@lzu.edu.cn

“黑土滩”是指在青藏高原上,海拔 3 500~4 500 m 之间的高寒草甸极度退化后形成的暖季生长大量毒草,冷季黑土裸露的草地,是一种外观描述性的叫法,无生物学上的意义^[1-2]。“黑土滩”是由气候变化、过度放牧和鼠害等因子共同作用的结果^[3]。“黑土滩”是高寒草甸的一种特殊类型的荒漠化,“黑土滩”的出现说明天然草地已经发生了严重的退化。我国大约有 703 万公顷的“黑土滩”,主要分布在西藏和青海,三江源地区“黑土滩”草地面积约为 184 万公顷。三江源区“黑土滩”的出现严重影响该区域高寒草地生态功能和生产功能的正常发挥^[4],已成为制约当地经济发展和生态环境保护的瓶颈。如何遏制草地退化、进行草地植被恢复是当前青藏高原地区社会、经济和环境可持续发展面临的重大难题^[5]。其中建植人工草地是“黑土滩”治理的首选方法,其在“黑土滩”草地生产性能和生态功能方面均有重要的意义。但建植人工草地也有其缺点,建植的人工草地往往在 3~5 年后再次出现退化。因此,建植人工草地恢复“黑土滩”退化草地是否合理是不确定的,“黑土滩”治理的工作仍面临困境。

土壤生物结皮在草地退化和恢复机制的研究中扮演着重要的角色^[7]。土壤生物结皮(biological soil crusts, BSCs)是指隐花植物与土壤中的细菌、真菌及土壤中的颗粒物组合形成的生物覆盖体。土壤生物结皮对外界胁迫具有一定的抵抗性,能适应多种气候条件和土壤生境,在全世界均有分布。土壤结皮中的生物群落主要有自养生物体和异养生物体组成。自养生物群落的光合作用是结皮群落生产力的主要来源,异养生物在结皮群落中主要起代谢和分解的作用^[8]。土壤生物结皮与土壤的稳定性,水文条件和物质循环均息息相关。微生物是土壤生物结皮的主要生物组分,其多样性和群落结构是认识微生物驱动土壤生物结皮的形成和发展的重要基础^[9]。生物结皮往往出现在高等植物生长受限的环境中,生物种类不易辨别,长期得不到科学家的关注^[7]。

草地退化包括地上部分植被的退化,也包括地下部分土壤的退化。土壤微生物在土壤环境中占据重要的位置,是土壤中物质循环和能量流动的主要驱动力。土壤微生物的生物量和群落结构多样性与

植被退化和土壤理化性质的改变息息相关^[10]。有研究表明,植被恢复抑制土壤生物结皮的发生,相反,土壤生物结皮也会影响植被的生长^[11]。然而,在人工草地中关于土壤生物结皮的研究少见,本研究旨在揭示退化人工草地土壤结皮与否和土壤微生物中细菌群落结构多样性之间的关系,为“黑土滩”退化草地的恢复与治理提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 研究区域自然概况

青海省果洛藏族自治州地处青藏高原腹地,位于巴颜喀拉山和阿尼玛卿山之间、三江源区东部,地理位置北纬 32°21'~35°45',东经 96°56'~101°45'之间。平均海拔 4 200 m 以上,年均气温 -4℃,年均降水量 400~700 mm,属高寒气候^[12]。本试验开展于果洛州玛沁县、达日县和甘德县。该地区植被类型丰富多样,主要有高寒嵩草草甸、高寒沼泽草甸和灌丛、疏林类植被。主要植物有小嵩草(*Kobresia parva*)、矮嵩草(*K. humilis*)、线叶嵩草(*K. capillifolia*)、藏嵩草(*K. tibetica*)、青藏苔草(*Carex moorcroftii*)、发草(*Deschampsia caespitosa*)、珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)、小花剪股颖(*Agrostis micrantha*)、细叶亚菊(*Ajania tenuifolia*)、美丽风毛菊(*Saussurea pulchra*)等,土壤类型主要为高山草甸土、高山灌丛草甸土、沼泽草甸土等。

1.2 取样方法

本试验以果洛州玛沁县(13 龄)、达日县(9 龄)和甘德县(8 龄)的已结皮的退化人工草地为研究对象。选取的样地均是已退化的用散播法建植的人工草地。本试验于 2015 年 06 月在黄河源区的果洛州进行。在上述三个研究地点,分别在有土壤生物结皮的区域和无土壤生物结皮的区域分别随机选取三个取样点作为重复,编号为 M46、M47、M48;M70、M71、M72;M85、M86、M87;M49、M50、M51;M73、M74、M75;M88、M89、M90 装袋,分别把作为重复的三个样本混合均匀,编号 M46_48、M49_51、M70_72、M73_75、M85_87 和 M88_90,密封后使用干冰运至基因科技服务公司进行检测。

表 1 研究地点及样地概况

Table 1 Basic information of research plots

地点 Site	土壤类型 Type	编号 Number	经纬度 Longitude and latitude	海拔 Altitude/m
玛沁县 Maqing county	苔藓结皮 Moss crust	M46-48	34°21'48" N	3997
	未结皮 Non-crust	M49-51	100°31'10" E	
达日县 Dari county	苔藓结皮 Moss crust	M70-72	33°34'48" N	4051
	未结皮 Non-crust	M73-75	99°53'35" E	
甘德县 Gande county	苔藓结皮 Moss crust	M85-87	33°10'8" N	4055
	未结皮 Non-crust	M88-90	100°3'57" E	

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

根据 (GeneClean II kit; BIO101, Vista, CA) 试剂盒附带的操作指南,称取 0.5 g 新鲜土壤提取总 DNA。用 Nanophotometer 分光光度计检测 DNA 吸光值,范围在 1.8~2.0 为合格样品,随即用 1% 的琼脂糖电泳检测 DNA 是否含有杂质,检测合格的样品用于构建文库。取 10ngDNA 模板,选择 V3 区引物 338F-533R, V6 区引物 967F-1046R,对目的区域进行扩增。先用 Qubit 2.0 进行初步定量,稀释至 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$,随后用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测,符合预期后使用 Bio-RAD CFX 96 荧光定量 PCR 仪,使用 (iQ SYBR Green Supermix; Bio-RAD) 试剂盒进行 QPCR,准确定量文库的有效浓度,合格样品进行 HiSeq 测序。

1.4 数据分析

所得原始下机数据去除低质量碱基、Ns、接头污染序列等过程完成数据过滤得到 Clean Reads。将双端测序的相应的 Read1 与 Read2 (Read1 与 Read2 是指分别从 5' 和 3' 端两个方向测序所得到的序列片段) 利用序列拼接方法 PEAR 进行拼接,后续有效序列主要在用 QIIME 1.8.0 软件中进行分析。提取分类操作单元 OTUs,默认相似度大于 97% 的 Reads 为 1 类 OTUs,默认每类 OTUs 具有相同的物种来源。由于存在同一物种具有多个不同 OTUs 的情况,在了解每个 OTUs 对应的物种后,把具有相同物种分类的 OTUs 合并到一起,统计不同样品间物种成分的变化,即可了解不同样品中的物种分布。表处理使用 Excel 2007,生物统计学分析使用 Rversion 2.15.2,文库多样性分析采用

PAST 软件。

2 研究结果

2.1 测序样本的质量检测

本次试验测序的序列数为 (表 2) M46_48, 14202; M49_51, 19062; M70_72, 24513; M73_75, 18896; M85_87, 8934; M88_90, 10551。共得到可操作分类单元 (OTU) 数量为 M46_48, 1 436 个; M49_51, 1 662 个; M70_72, 1 439 个; M73_75, 1 533 个; M85_87, 2 174 个; M88_90, 1 345 个。经过抽平分析, 16s rDNA 测序分析得到 $1 448 \pm 137$ 个 OTU, 其中 M85_87 得到的最少, 为 1 274 个; M49_51 得到的最多, 为 1 662 个。生物结皮土壤的 OTU 数为 M46_48, 1 436 个; M70_72, 1 439 个; M85_87, 1 274 个。相对应的未结皮土壤的 OTU 数为 M49_51, 1 662 个; M73_75, 1 533 个; M88_90, 1 345 个。生物结皮土壤微生物 OTU 数量均低于未结皮土壤。ace 和 chao 算法估算的 OTU 也是类似的规律。shannon 指数也是表现出生物结皮土壤微生物低于未结皮土壤的规律。这可能是在结皮层各类养分含量丰富, 增加微生物中群内的竞争, 部分群落大量繁殖导致的结果。

如图 1 所示在 DNA 测序深度达到 5 000 条序列时, 曲线已趋于平坦。说明测序需最小满足该测序水平才能反映样本中绝大多数的微生物信息。表 2 中测序数据是经抽平分析得到的数据, 其中所测片段数已远超过 5 000 条, 说明本次检测测序深度合理, 所测数据能反映样本中微生物的多样性水平。

表 2 样本的多样性指数

Table 2 Diversity index of samples

所测片段	编号	测序数据	分类操作单元	Ace 指数	Chao1 指数	香农指数	辛普森指数
The measured segment	Sample ID	Reads	OTU	Ace index	Chao1 index	Shannon index	Simpsonindex
16s rDNA	M46_48	14 202	1 436	1 655	1 643	6.09	0.0114
	M49_51	19 062	1 662	1 796	1 788	6.5	0.0034
	M70_72	24 513	1 439	1 583	1 584	6.01	0.0099
	M73_75	18 896	1 533	1 727	1 714	6.34	0.0039
	M85_87	8 934	1 274	1 542	1 508	6.36	0.0034
	M88_90	10 551	1 345	1 617	1 586	6.38	0.0034

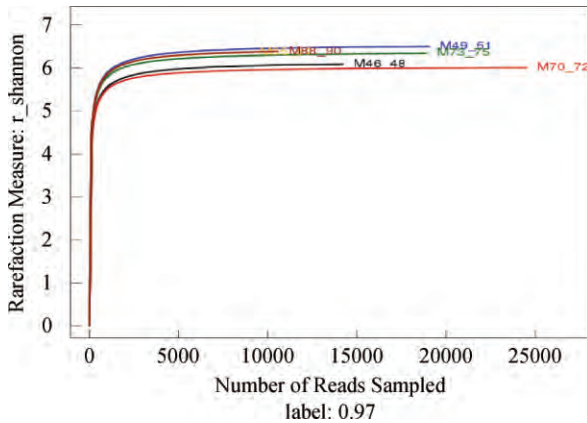


图 1 样品 Shannon-Wiener 曲线图

Fig. 1 The Shannon-wiener curve of samples

2.2 门水平群落结构分析

在细菌群落门水平上(图 2),每个样品都包括变形菌门 *Proteobacteria*、酸杆菌门 *Acidobacteria*、拟杆菌门 *Bacteroidetes*、放线菌门 *Actinobacteria*、浮霉菌门 *Planctomycetes*、蓝藻 *Cyanobacteria*、芽单胞菌门 *Gemmatimonadetes*、绿弯菌门 *Chloroflexi*、装甲菌门 *Armatimonadetes*、疣微菌门 *Verrucomicrobia*、硝化螺旋菌门 *Nitrospirae* 11 个门类。其中变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、浮霉菌门、放线菌门为本试验中土壤微生物的优势菌群。相对

丰度分别占 6 块样地的比例分别为 M46-48(结皮), 77.43%; M49-51(未结皮)82.77%; M70-72(结皮), 83.36%; M73-75(未结皮), 78.54%; M85-87(结皮), 74.89%; M88-90(未结皮), 83.49%。变形菌门 *Proteobacteria* 群落细菌在结皮层含量高于未结皮地含量,放线菌门和酸杆菌门两个门类为未结皮样地含量高于结皮层含量,但在统计学上均未达到显著水平。根据图 2 中基于 16s rDNA 分析显示的 6 个样本的树状关系可以看出,6 个样本虽都聚为 1 类,但样本间的距离有明显的特征:有生物结皮的 M70-72、M46-48 和 M85-87 之间的距离较近,无土壤生物结皮的 M73-75、M49-51 和 M88-90 之间的距离较近。说明有土壤生物结皮样地的土壤微生物群落结构和无土壤生物结皮样地的差异较大,而在同一采样地点则差异较小。

如图 3 所示,将 3 个样地中发生土壤生物结皮的样地当作 1 个重复,未发生土壤生物结皮的样地也作为 1 个重复。对有生物土壤结皮的 3 个样地的微生物和未结皮样地土壤的 3 个样地微生物丰度进行 T 检验分析可知,有生物结皮和无生物结皮样地的土壤微生物百分含量在门水平差异均未达到显著水平,这可能是由于与是否发生土壤结皮相比,不同生境对土壤微生物细菌的影响更明显。

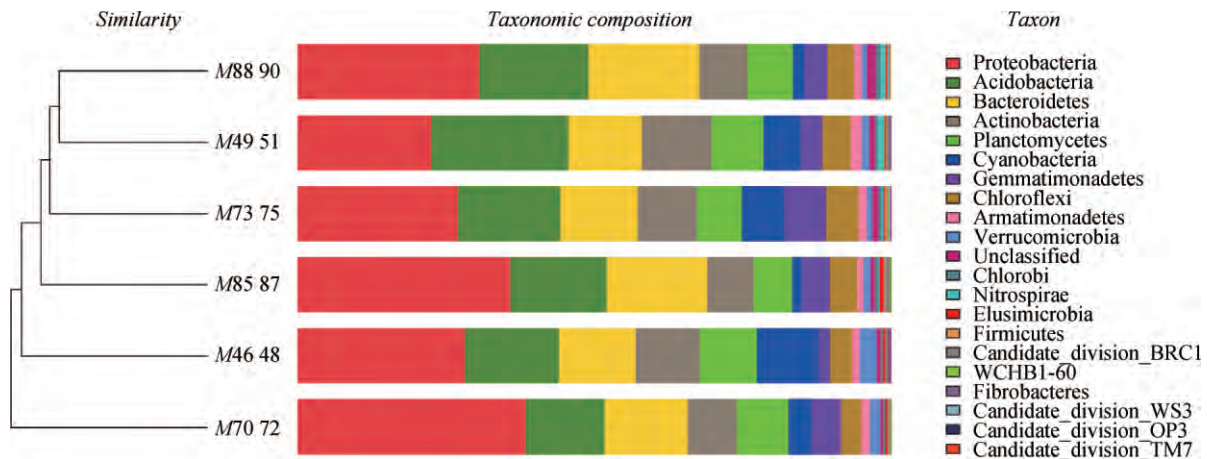


图 2 门水平土壤细菌群落组成百分数

Fig. 2 Percentage of bacterial community composition at the phylum level

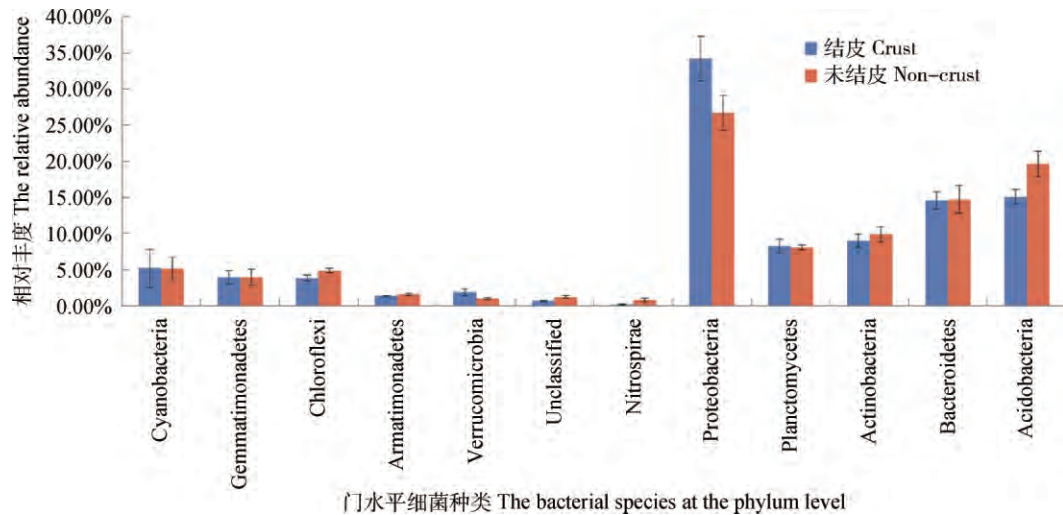


图 3 门水平土壤细菌群落相对丰度

Fig. 3 The relative abundance of bacterial communities at the phylum level

2.3 属水平群落结构分析

微生物在属水平上较为丰富(图 4), 6 个样本中均有(48%~59%)的未知序列, 已知署名的共有的就有 28 种, 分别是: *WD2101_soil_group_norank*、玫瑰弯菌属 (*Roseiflexus*)、黄质菌属 (*Flavobacterium*)、屈挠杆菌属 (*Flexibacter*)、大理石雕菌属 (*Marmoricola*)、薄层菌属 (*Hymenobacter*)、*SC-I-84_norank*、嗜盐海洋粘细菌 (*Haliangium*)、*Bryobacter*、*480-2_norank*、*Caenimonas*、*TRA3-20_norank*、*Armatimonadetes_norank*、*Flavisolibacter*、*Opitutus*、*43F-1404R_norank*、微鞘藻属 (*Microcoleus*)、鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*)、水库杆菌属 (*Piscinibacter*)、牙球菌属 (*Blastocatella*)、*Ferruginibacter*、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*)、*Chloroplast_norank*、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、马赛菌属 (*Massilia*)、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*。相对含量大于 1% 的序列作为代表序列, 在样地 M49-51 中有 13 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、玫瑰弯菌属、*Caenimonas*、*Armatimonadetes_norank*、*43F-1404R_norank*、微鞘藻属、水库杆菌属、牙球菌属、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、马赛菌属、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*; 样地 M49-51 中有 13 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、*Bryobacter*、*TRA3-20_norank*、*Armatimonadetes_norank*、*Flavisolibacter*、*43F-1404R_norank*、微鞘藻属、牙球菌属、*Ferruginibacter*、芽单胞菌属、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、*RB41_norank*。

norank、*Subgroup_6_norank*; 样地 M70-72 中有 20 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、黄质菌属、薄层菌属、*480-2_norank*、*Caenimonas*、*Armatimonadetes_norank*、*Flavisolibacter*、*Opitutus*、*43F-1404R_norank*、鞘脂单胞菌属、水库杆菌属、*Ferruginibacter*、芽单胞菌属、*Chloroplast_norank*、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*; 样地 M73-75 中有 15 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、*SC-I-84_norank*、*Caenimonas*、*Armatimonadetes_norank*、*Flavisolibacter*、微鞘藻属、水库杆菌属、牙球菌属、*Ferruginibacter*、芽单胞菌属、*Chloroplast_norank*、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、马赛菌属、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*; 样地 M85-8 中有 11 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、*SC-I-84_norank*、*TRA3-20_norank*、*Opitutus*、鞘脂单胞菌属、水库杆菌属、*Ferruginibacter*、芽单胞菌属、*Uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*; 样地 M88-9 中有 8 种, 分别是, *WD2101_soil_group_norank*、*Caenimonas*、*TRA3-20_norank*、牙球菌属、*Ferruginibacter*、*uncultured_norank*、*Subgroup_7_norank*、*RB41_norank*、*Subgroup_6_norank*。在 3 个样地中均为有土壤生物结皮的地方属水平的微生物种类多与未结皮地。

WD2101_soil_group_norank、玫瑰弯菌属、*Caenimonas*、*43F-1404R_norank*、水库杆菌属、*uncultured_norank* 和马赛菌属类的土壤微生物含量在结皮层高于未结皮层。其中 *Caenimonas*、水库杆

菌属和马赛菌属类的土壤微生物都属于 变形菌门 类。TRA3-20_norank、微鞘藻属、牙球菌属、Fer- ruginibacter、RB41_norank 和 Subgroup_6_norank

属类的土壤微生物含量在未结皮层高于结皮层。牙 球菌属、RB41_norank 和 Subgroup_6_norank 属类 的土壤微生物属于酸杆菌门类。

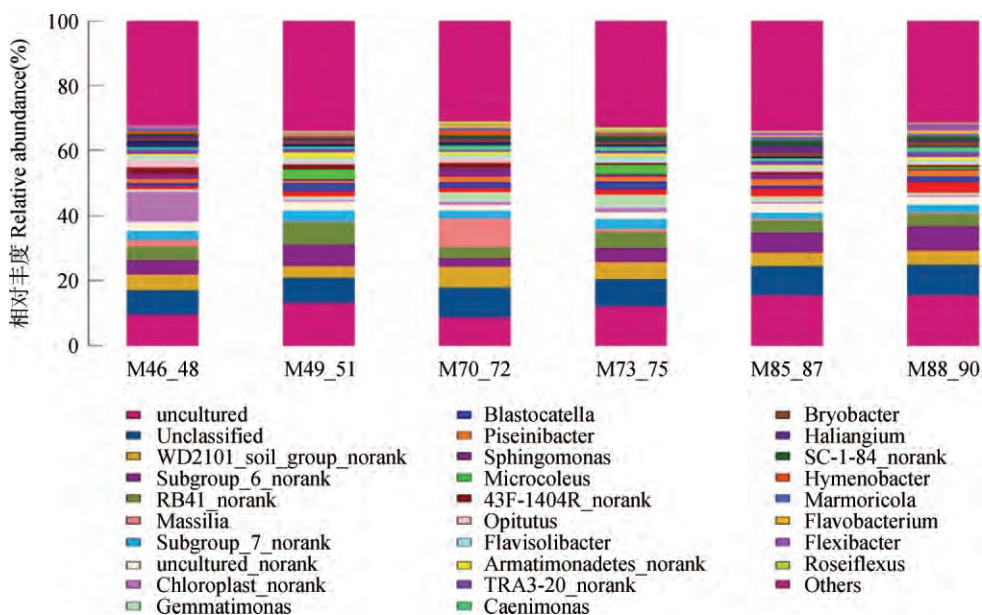
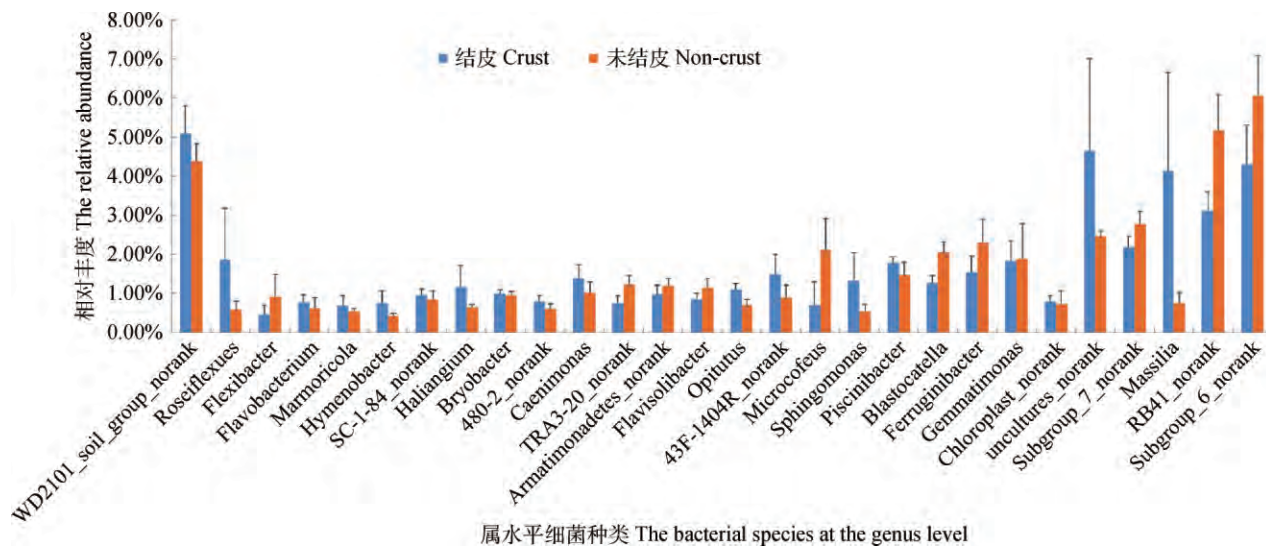


图 4 属水平土壤细菌群落组成百分数

Fig. 4 Percentage of bacterial community composition at the genus level



属水平细菌种类 The bacterial species at the genus level

图 5 属水平土壤细菌群落相对丰度

Fig. 5 The relative abundance of bacterial communities at the genus level

2.4 PCA 分析

PCA 分析通过对复杂数据降维, 去除冗余数据, 揭示数据背后简化分析技术。样本越相似, PCA 图上它们的距离越相近。如图 6 所示, 不同颜色分别代表不同地点的样本, 其中横坐标和纵坐标是相对距离, 并无实际意义。在图 4 中样本在纵轴方向分开, 则说明纵轴是导致样本分开的主要因素, 也说明纵轴代表的因素可能是样本组成差异的原因。图

6 是通过 16s rDNA 对样本进行主坐标轴分析, 显示 6 个样本土壤中(3 个结皮和 3 个未结皮)分布较为分散, 在 PC3 为 8.16% 水平下呈现出有土壤生物结皮的 M46_48、M85_87 和 M70_72 均在它们对应的样地未发生土壤生物结皮样地 M49_51、M88_90 和 M73_75 的上侧。且在同一采样地点的 M85_87, M88_90、M70_72, M73_75 和 M46_48, M49_51 距离相对较近。说明采样地点是否发生土壤生物结皮

对土壤微生物细菌群落分布有较大的影响。

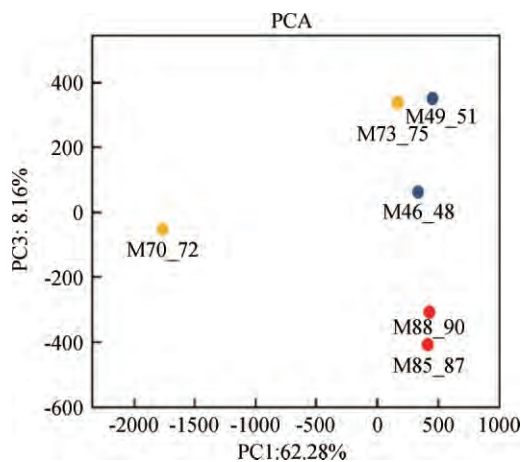


图 6 主坐标分析图(16s rDNA)

Fig. 6 Principal co-ordinates analysis(16s rDNA)

3 讨论

土壤微生物多样性是土壤质量的良好指示剂^[13]。土壤是否发生生物结皮与土壤微生物群落结构的关系对了解高寒草甸土壤微生物多样性和土壤生物结皮与青藏高原“黑土滩”草地退化有重要的作用^[14]。

3.1 门水平群落结构分析

在本研究中 6 个样地中在门水平下的优势群落组成相似,但其相对丰度在不同样地之间存在差异(图 2)。在五种门水平的细菌群落中,均为变形菌门 *Proteobacteria* 的相对丰度为发生土壤生物结皮的样地高于未结皮土壤。而酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 则相反,在未结皮土壤中丰度高于生物土壤结皮的样地的土壤,这与刘柯澜的研究结果相似^[15]。这可能是由于发生土壤生物结皮导致土壤理化性质发生变化,对微生物的选择导致的结果。例如变形菌门类 *Proteobacteria* 的微生物多为兼性或者专性厌氧及异养生活微生物。酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 在未结皮土壤中丰度高于生物结皮土壤的原因可能是酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 的微生物主要降解纤维素甚至是难降解的芳香族化合物,促进土壤矿化作用。在发生土壤结皮区域水分含量低于周围未发生土壤生物结皮土壤^[16-17]。酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 的微生物在环境中的分布主要受水分的影响,也支持发生土壤生物结皮层酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 的微生物

丰度低于未发生土壤生物结皮的结论^[18]。另外土壤生物结皮使土壤 pH 下降,为酸杆菌提供了生长环境^[17]。在属水平群落结构分析中也证实杆菌门类 *Proteobacteria* 的 *Caenimonas*、*Piscinibacter* 和 *Massilia* 也是在生物结皮土壤的丰度高于未形成土壤生物结皮土壤。*Acidobacteria* 门类的 *Blastococcotella*、*RB41_norank* 和 *Subgroup_6_norank* 属的丰度在有生物结皮的土壤中大于无生物结皮的土壤。

3.2 门水平群落多样性分析

在“黑土滩”退化人工草地土壤微生物中,变形菌门 *Proteobacteria*、拟杆菌门 *Bacteroidetes*、酸杆菌门 *Acidobacteria*、浮霉菌门 *Planctomycetes*、放线菌门 *Actinobacteria* 均为优势门类。这些菌群在其他一些研究中也被认为是优势种群。2003 年 Buckley 和 Schmidt, 2015 年 Tang K 等人研究认为变形菌门 *Proteobacteria*、酸杆菌门 *Acidobacteria*、浮霉菌门 *Planctomycetes*、放线菌门 *Actinobacteria*、*Verrucomicrodetes* 和拟杆菌 *Bacteroidetes* 是农业类土壤微生物的优势门类^[18-19]。在本试验高寒草甸中的 5 种门类的土壤微生物均包含于以上研究中的 6 种,但是农业类土壤微生物的优势门类中的 *Verrucomicrodetes* 却不是本试验中高寒草甸土壤微生物中的优势门类。这说明高寒草甸土壤微生物与农业土壤微生物相比即有相似性又有其独特性。Nagy 等 2005 年对索诺兰沙漠地区, Gundlapally 和 Garcia-Pichel 等 2006 年对克罗打地区的研究结果也与此类似^[20-21]。在本研究中“黑土滩”退化人工草地土壤微生物中门水平下的优势种类均为以上 6 种门类,说明在高寒草甸上无论是否发生土壤生物结皮,其土壤微生物的优势门类都相同,与其他生境中的土壤微生物在门水平下的优势种类既有相似性又有差异性。

3.3 属水平群落结构分析

属水平群落结果显示(图 4),在土壤生物结皮区域,属水平土壤细菌相对丰度大于 1% 代表菌群种类多于未发生土壤生物结皮区域。土壤生物结皮的形成可显著增加土壤有机质和土壤全氮^[22-23],并对养分有富集作用。这可能是导致土壤生物结皮的区域其土壤细菌相对丰度大于 1% 的种类多于未结皮土壤细菌相对丰度的原因。*WD2101_soil_group_norank*、*Roseiflexus*、*Caenimonas*、*43F-1404R_norank*、*Piscinibacter*、*uncultured_norank* 和 *Massilia* 属类的土壤微生物含量在结皮层高于未结皮层(图 5)。其中 *Caenimonas*、*Piscinibacter* 和 *Massilia* 属类的土壤微

生物都属于 *Proteobacteria* 门类。而在土壤微生物门水平细菌群落结果则显示 *Proteobacteria* 门类细菌在结皮层含量高于未结皮层。*TRA3-20_norank*、*Microcoleus*、*Blastocatella*、*Ferruginibacter*、*RB41_norank* 和 *Subgroup_6_norank* 属类的土壤微生物含量在未结皮层高于结皮层(图 5)。*Blastocatella*、*RB41_norank* 和 *Subgroup_6_norank* 属类的土壤微生物属于 *Acidobacteria* 门类。在土壤微生物门水平细菌群落结果则显示 *Acidobacteria* 门类细菌在结皮层含量低于未结皮层。

3.4 β 多样性分析

PCA 分析结果认为,与是否发生土壤生物结皮相比,采样地点对微生物群落组成的影响更大。在本试验中同一采样地点的微生物群落距离更近(图 6),说明同一采样地点无论是否发生土壤生物结皮其距离都较近。这说明生境比是否发生土壤生物结皮对土壤微生物群落的影响更明显。这可能是由于土壤植物主要是以植物残体为营养源,而不同生境中植物群落结构可能是不一样的^[24-25]。这一点在土壤微生物优势种群及其丰度在采样地点和是否发生土壤生物结皮的变化规律中也有体现。

4 结论

在高寒草甸“黑土滩”人工草地上,有土壤生物结皮的土壤中,属水平土壤细菌群落多样性高于无生物结皮土壤,门水平土壤细菌群落结构也有类似的结果。因此,本研究认为土壤生物结皮的形成与土壤中微生物群落结构的变化密切相关,土壤生物结皮的发生反映着土壤微生物结构的变化。

参考文献

- [1] 张蕊,徐松鹤,任国华,等. 黄河源区“黑土滩”退化草地 66 种草地植物种子大小统计特征[J]. 草地学报,2015,23(6): 1136-1144
- [2] 马玉寿,王启基. “黑土型”退化草地研究工作的回顾与展望[J]. 草业科学,1999,16(2):5-9
- [3] 张蕊,王媛,马丽娜,等. 三江源区退化人工草地、“黑土滩”和天然草地植物群落物种多样性[J]. 草地学报,2014,22(6): 1171-1178
- [4] Gao J, Li X. Degradation of frigid swampy meadows on the Qinghai-Tibet Plateau: Current status and future directions of research[J]. Progress in Physical Geography, 2016, 40(6): 794-810
- [5] 李媛媛,董世魁,李小艳,等. 围栏封育对黄河源区退化高寒草地植被组成及生物量的影响[J]. 草地学报,2012,20(2):275-279
- [6] Li Y, Dong S, Wen L, et al. Assessing the soil quality of alpine grasslands in the Qinghai-Tibetan Plateau using a modified soil

- quality index[J]. Environmental monitoring and assessment, 2013,185(10):8011-8022
- [7] 马洁,陈先江,侯扶江. 草地生物土壤结皮[J]. 草业科学, 2016,33(7):1243-1252
- [8] 程军回,张元明. 影响生物土壤结皮分布的环境因子[J]. 生态学杂志,2010,29(1):133-141
- [9] 唐凯. 浑善达克沙地生物土壤结皮细菌多样性和群落结构研究[D]. 内蒙古:内蒙古农业大学,2016
- [10] 段红芳. 青藏高原退化高寒草地生态系统中微生物群落结构多样性变化研究[D]. 兰州:兰州大学,2013:5-11
- [11] 杨秀莲,张克斌,曹永翔. 封育草地土壤生物结皮对水分入渗与植物多样性的影响[J]. 生态环境学报,2010,19(4):853-856
- [12] 赵志平,吴晓蕾,李果,等. 青海三江源区果洛藏族自治州草地退化成因分析[J]. 生态学报,2013,33(20):6577-6586
- [13] 吴才武. 松辽平原玉米带主要土壤微生物多样性特征研究[D]. 吉林:吉林农业大学,2011:13-18
- [14] 胡雷,王长庭,王根绪,等. 三江源区不同退化演替阶段高寒草甸土壤酶活性和微生物群落结构的变化[J]. 草业学报,2014, 23(3):8-19
- [15] 刘柯澜. 内蒙古荒漠生物结皮可培养细菌及两个盐碱湖中不产氧光合细菌群落结构分析[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2011:40-41
- [16] 张星星. 内蒙古荒漠生物土壤结皮及下层土壤微生物多样性和群落结构研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2015:38-43
- [17] 袁红朝,吴昊,葛体达,等. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J]. 应用生态学报,2015,26(6): 1807-1813
- [18] Buckley D H, Schmidt T M. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems[J]. Environmental Microbiology, 2003, 5(6):441-52
- [19] Tang K, Yuan B, Lai Q, et al. Hymenobacter terrenus sp. nov. isolated from biological soil crusts[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2015, 65(12)
- [20] Nagy M L, Pérez A, Garcia-Pichel F. The prokaryotic diversity of biological soil crusts in the Sonoran Desert(Organ Pipe Cactus National Monument, AZ)[J]. Fems Microbiology Ecology, 2005, 54(2):233-45
- [21] Gundlapally S R, Garcia-pichel F. The community and phylogenetic diversity of biological soil crusts in the Colorado Plateau studied by molecular fingerprinting and intensive cultivation [J]. Microbial Ecology, 2006, 52(2):345
- [22] 赵允格,许明祥,王全九,等. 黄土丘陵区退耕地生物结皮理化性状初报[J]. 应用生态学报,2006,17(8):1429-1434
- [23] 崔燕,吕贻忠,李保国. 鄂尔多斯沙地土壤生物结皮的理化性质[J]. 土壤,2004,36(2):197-202
- [24] 余悦. 黄河三角洲原生演替中土壤微生物多样性及其与土壤理化性质关系[D]. 济南:山东大学,2012:86-92
- [25] Yu Y, Wang H, Liu J, et al. Shifts in microbial community function and structure along the successional gradient of coastal wetlands in Yellow River Estuary[J]. European Journal of Soil Biology, 2012, 49(2):12-21

(责任编辑 贾 婉)