

中国百种杰出学术期刊  
中国精品科技期刊  
中国科协优秀期刊  
中国科学院优秀科技期刊  
新中国 60 年有影响力的期刊  
国家期刊奖

ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

# 生态学报

## Acta Ecologica Sinica

(Shengtai Xuebao)

第 30 卷 第 23 期  
Vol.30 No.23  
**2010**



中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
科学出版社 主办  
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

# 生态学报 (SHENTAI XUEBAO)

第30卷 第23期 2010年12月 (半月刊)

## 目 次

1940—2002年长江中下游平原乡村景观区域中耕地类型及其土壤氯磷储量的变化	武俊喜,程序,焦加国,等(6309)
海洋生态资本概念与属性界定	陈尚,任大川,李京梅,等(6323)
海洋生态资本价值结构要素与评估指标体系	陈尚,任大川,夏涛,等(6331)
黔中喀斯特山区退化生态系统生物量结构与N、P分布格局及其循环特征	杜有新,潘根兴,李恋卿,等(6338)
长白山阔叶红松林样地槭属树木木生真菌的群落组成和分布	魏玉莲,戴玉成,袁海生,等(6348)
内蒙古退化荒漠草原土壤细菌群落结构特征	吴永胜,马万里,李浩,等(6355)
盐度对尖瓣海莲幼苗生长及其生理生态特性的影响	廖宝文,邱凤英,张留恩,等(6363)
基于树轮火疤痕塔河蒙克山樟子松林火灾的频度分析	胡海清,赵致奎,王晓春,等(6372)
不同农业景观结构对麦蚜种群动态的影响	赵紫华,石云,贺达汉,等(6380)
黑河中游荒漠灌丛斑块地面甲虫群落分布与微生境的关系	刘继亮,李锋瑞,刘七军,等(6389)
刺槐树冠光合作用的空间异质性	郑元,赵忠,周慧,等(6399)
南海北部夏季基础生物生产力分布特征及影响因素	宋星宇,刘华雪,黄良民,等(6409)
怒江三种裂腹鱼属鱼类种群遗传结构	岳兴建,汪登强,刘绍平,等(6418)
大型水生植物对重金属的富集与转移	潘义宏,王宏镔,谷兆萍,等(6430)
依据大规模捕捞统计资料分析东黄渤海白姑鱼种群划分和洄游路线	徐兆礼,陈佳杰(6442)
正交试验法分析环境因子对苦草生长的影响	朱丹婷,李铭红,乔宁宁(6451)
基于中分辨率TM数据的湿地水生植被提取	林川,官兆宁,赵文吉(6460)
基于CVM的三江平原湿地非使用价值评价	敖长林,李一军,冯磊,等(6470)
耕地易地补充经济补偿的生态价值——以江阴市和兴化市为例	方斌,杨叶,郑前进,等(6478)
自然旅游地居民自然保护态度的影响因素——中国九寨沟和英国新森林国家公园的比较	程绍文,张捷,徐菲菲(6487)
基于PSR方法的区域生态安全评价	李中才,刘林德,孙玉峰,等(6495)
灌浆期高温对水稻光合特性、内源激素和稻米品质的影响	滕中华,智丽,吕俊,等(6504)
秦岭北坡不同生境栓皮栎实生苗生长及其影响因素	马莉薇,张文辉,薛瑶芹,等(6512)
子午岭三种生境下辽宁栎幼苗定居限制	郭华,王孝安,朱志红(6521)
温度、盐度对龟足胚胎发育和幼虫生长的联合影响	饶小珍,林岗,张殿彩,等(6530)
锡林郭勒盟气候干燥度的时空变化规律	王海梅,李政海,韩国栋,等(6538)
北京市水足迹及农业用水结构变化特征	黄晶,宋振伟,陈阜(6546)
延安北部丘陵沟壑区退耕还林(草)成效的遥感监测	孙智辉,雷廷鹏,卓静,等(6555)
冰川前缘土壤微生物原生演替的生态特征——以乌鲁木齐河源1号冰川为例	王晓霞,张涛,孙建,等(6563)
储藏方式和时间对三峡水库消落区一年生植物种子萌发的影响	申建红,曾波,施美芬,等(6571)
云南普洱季风常绿阔叶林演替系列植物和土壤C、N、P化学计量特征	刘万德,苏建荣,李帅锋,等(6581)
青藏高原高寒矮嵩草草甸碳增汇潜力估测方法	曹广民,龙瑞军,张法伟,等(6591)
基于CEVSA2模型的亚热带人工针叶林长期碳通量及碳储量模拟	顾峰雪,陶波,温学发,等(6598)
太原盆地土壤呼吸的空间异质性	张义辉,李洪建,荣燕美,等(6606)
<b>专论与综述</b>	
热带森林碳汇或碳源之争	祁承经,曹福祥,曹受金(6613)
景观对河流生态系统的影响	欧洋,王晓燕(6624)
自由空气中臭氧浓度升高对大豆的影响	杨连新,王云霞,赵秩鹏,等(6635)
<b>研究简报</b>	
基于生态系统服务价值的区域生态补偿——以山东省为例	王女杰,刘建,吴大千,等(6646)
鹤伴山国家森林公园土壤甲螨群落结构	许士国,付荣恕(6654)
栓皮栎人工林树干液流对不同时间尺度气象因子及水面蒸发的响应	桑玉强,张劲松,孟平,党宏忠,等(6661)
赤眼蜂发育速率对梯度恒温的响应	陈洪凡,岑冠军,黄寿山(6669)
<b>学术信息与动态</b>	
GIS和遥感技术在生态安全评价与生物多样性保护中的应用	李文杰,张时煌(6674)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q \* 1981 \* m \* 16 \* 374 \* zh \* P \* ￥70.00 \* 1510 \* 42 \* 2010-12

# 内蒙古退化荒漠草原土壤细菌群落结构特征

吴永胜<sup>1,2</sup>, 马万里<sup>2,3,\*</sup>, 李 浩<sup>2</sup>, 卢 萍<sup>2</sup>, 吕桂芬<sup>2</sup>

(1. 北京师范大学 地表过程与资源生态国家重点实验室 北京 100875; 2. 内蒙古师范大学 生命科学与技术学院  
内蒙古呼和浩特 010022; 3. 国家林业局林产工业规划设计院 北京 100714)

**摘要:**用 PCR-DGGE 技术对不同退化程度荒漠草地土壤细菌群落结构的分析表明:不同退化草地土壤细菌群落结构发生了明显的变化。2006 年夏季,不同退化草地土壤细菌的 Shannon-Weaver 指数随退化程度的加剧呈降低趋势,由高到低依次是:轻度退化、中度退化和重度退化草地。2007 年夏季多样性指数随退化程度的加剧呈先降低后增加的趋势,由高到低依次为:轻度退化、重度退化和中度退化。对 17 个克隆进行了序列测定所得到的 16S rDNA 在数据库中的登录号为:EU327142-EU327157 和 EU327164。将其与 Genbank 数据库中的序列进行比对,结果表明这些序列与已知序列的相似性均在 95%—99% 之间。系统发育分析结果表明,内蒙古荒漠草地土壤主要细菌隶属于以下几个分支:拟杆菌纲 (*Bacteroidetes*),酸杆菌纲 (*Acidobacteria*),变形菌纲 (*Proteobacteria*) 的  $\gamma$ 、 $\delta$  类群和厚壁菌纲 (*Firmicutes*)。其中,拟杆菌纲所占的比例为 47% 左右,为优势种。

**关键词:**荒漠草原;土壤细菌;群落结构;PCR-DGGE

## Characteristics of bacterial community structure in degraded desert steppe of Inner Mongolia

WU Yongsheng<sup>1,2</sup>, MA Wanli<sup>2,3,\*</sup>, LI Hao<sup>2</sup>, LU Ping<sup>2</sup>, LÜ Guifen<sup>2</sup>

1 State Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2 College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Huhhot 010022, China

3 Planning and Design Academy of Forestry Products Industry, State Forestry Administration, Beijing 100714, China

**Abstract:** Soil microorganisms play key roles in soils through regulating organic matter decomposition and plant nutrient availability. However, due to the complexity of microorganism survival condition, only 1%—5% of the total microorganisms can be isolated by cultural method in soils. Recently, the advances of molecular biological techniques can provide information regarding soil bacterial community structure through culture-independent approaches. To better understand the impact of grassland degradation on the composition and structure of soil bacterial community, the total DNA of microorganisms was extracted directly and amplified by the 16S rRNA gene specific primers of f954 with GC clamp and 1369r, and the changes of the soil bacterial community structure in degraded area (including light, moderate and heavy degraded) of desert steppe ecosystem in Inner Mongolia were determined by the PCR-DGGE method. Results indicate that soil bacterial community structures in degraded desert steppe changed significantly. In 2006 summer, Shannon-Weaver Indices decreased as increasing of degradation degree, i.e., the highest in the light degradation area, followed with moderate degraded area, and the least in heavy degradation area. In 2007 summer, they decreased initially and then increased, i.e., in the light, heavy and moderate degradation areas, they decreased orderly. Seventeen 16S rDNA clones were sequenced and their accession numbers in the data bank were EU327142-EU327157 and EU327164. Compared with deposited in the Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov), it shows that their level of nucleotide identity changed with a range from 95 to 100%. The phylogenetic affiliation of bacteria determined by 16S rDNA sequencing of cloned DNA fragments in different degraded desert steppe indicate that they were mainly attributed to *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*,  $\gamma$ 、 $\delta$  groups of

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30560030, 30760051); 内蒙古自然科学基金资助项目(20080404MS0515)

收稿日期:2009-10-21; 修订日期:2010-03-11

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wanlima518@126.com

*Proteobacteria* and *Firmicutes* and in which *Bacteroidetes* were dominant with 47%.

**Key Words:** desert steppe; soil bacteria; community structure; PCR-DGGE

草地作为我国陆地面积最大的生态系统类型,在维持我国自然生态系统格局、功能以及过程方面具有特殊的生态学意义<sup>[1]</sup>。荒漠草原是内蒙古草原的重要组成部分,是草原区向荒漠区过渡的旱生化草原生态系统,目前存在不同程度的退化<sup>[2]</sup>。

在草地生态系统中,以土壤微生物为主体的地下部亚系统具有重要的生态功能,它们不仅是土壤中物质循环的调节者,也是有机物质库和速效养分的一部分,对土壤肥力、植被生产力和生态系统功能等的维持方面均发挥着不可替代的作用<sup>[3-4]</sup>。然而,荒漠草原土壤生态系统的重要性近几十年才被人们重视,对其研究成果也集中在土壤可培养微生物数量、土壤养分和生物活性等方面<sup>[5-10]</sup>。事实上,传统的微生物分离和培养方法所能反应的微生物信息十分有限,该方法所反应的信息还不到自然界微生物总数的10%<sup>[11]</sup>,绝大多数微生物因无法培养而不为人所知。分子生态学方法在土壤微生物生态学领域的应用使人们避开了传统的分离培养过程而直接探讨土壤微生物群落结构及其与环境的关系成为可能。本文应用PCR-DGGE方法,检测了内蒙古退化荒漠草原土壤细菌群落结构变化,以期为评价我国荒漠草原的更新潜力和生态系统的恢复能力提供重要依据。

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 研究区

内蒙古荒漠草原属于典型的大陆性气候,冬季干冷多风,夏季炎热,年均气温2—5℃,年均降水量200—250 mm,降水主要集中在6—8月份,占全年降水量的60%左右,全年无霜期138 d,年均大风日数60 d左右<sup>[2]</sup>。土壤类型为淡栗钙土和棕钙土,表土已开始沙质化,淡栗色腐殖质层厚度约20 cm。该地区的植物种类比较贫乏,主要植物区系成分包括戈壁蒙古种和亚洲中部种。

### 1.2 研究样地设置

退化梯度的划分是根据植被样方调查和分析土壤样品的基础上确定的。在综合考虑样地植被、土壤、退化程度和气候条件的基础上,研究区初选的5个样地设立在相互距离最近的地区,目的在于尽量降低小区域尺度上气候等因素差异对土壤微生物产生的影响。于2006年夏季在初选的5个样地进行植物样方调查。沿植被类型变化较大的方向设样方线,设3条样线作为重复,样线之间的距离为50 m,使样线所包含的信息尽可能代表样地的植被特征。然后按照3条样线平行的做植物样方,每隔25 m做1个1 m×1 m的样方,每条样线设立10个样点,3条样线共设30个样点,记录植物种的盖度、多度和地上生物量,初选的5个样地共获150个样方数据。每一条样带由相关的专业人员来负责该样带的整个取样过程并踏查周围的植物种类,目的在于尽量排除人为的误差。同时沿样线每隔50 m设一个样线,每条样线设3个点,按五点采样法采集表层(0—20 cm)土壤样品,将3个样点的土样混合均匀,按四分法取样,将其装入无菌可封口聚乙烯袋中,每个样地3个样线共获3份土样,分析其有机质含量和理化性质,最后把地上植被调查数据和土壤理化性质测定数据做聚类,对荒漠草地退化等级进行数量分析。草地退化梯度的划分根据内蒙古天然草地退化标准的划分原则来确定<sup>[12]</sup>。从初选的5个样地中最终确定3个典型退化样地。达茂旗样地中原优势植物的地上现存生物量(干重,下同)达到群落总生物量的73.12%,据划分原则,该样地为轻度退化类型(简称LD);四子王旗样地中,原优势植物的优势地位有所下降,地上现存生物量占总生物量的56.33%,糙隐子草明显增多,该样地属于中度退化类型(简称MD);苏尼特右旗样地中原有优势植物的地上现存生物量仅占总生物量的18.62%,故将其确定为重度退化类型(简称HD)。样地基本情况见表1。

### 2.2 样品采集

于2006和2007年7月,沿植被样方调查的样线方向分别采集供试土样。具体步骤与样地设置中的土壤

样品采集方法相同。所采集的土壤样品置于低温保温箱中尽快运回实验室,将可见的植物残体(如根、茎和叶)和土壤动物去除,在-20℃下保存备用。

表 1 研究区基本情况一览表

样地 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	退化程度 Degradation degree	土壤类型 Soil type	主要植物 Vegetation	优势种 Dominant species	植物群落特征 Vegetation characteristics	
							原优势植物 的综合优势比 Summed dominance ratio of original dominant species	原优势植物 的重要值/% Important value of original dominant species
内蒙古达茂旗	E110°11'	N41°50'	LD	棕钙土	小针茅( <i>Stipa klemenzii</i> ) , 糙隐子草( <i>Cleistogenes squarrosa</i> ) ,银灰旋花 ( <i>Convolvulus ammannii</i> ) 等	小针茅 ( <i>Stipa klemenzii</i> )	60.67	77.56
内蒙古四子王旗	E111°46'	N41°45'	MD	棕钙土	糙隐子草,小针茅( <i>Stipa klemenzii</i> ) ,银灰旋花,猪毛菜( <i>Salsola collina</i> ) ,冷蒿( <i>Artemisia frigida</i> )等	糙隐子草	47.22	45.53
内蒙古苏尼特右旗	E112°47'	N42°34'	HD	棕钙土	银灰旋花,沙葱( <i>Allium mongolicum</i> ) ,糙隐子草, 小针茅( <i>Stipa klemenzii</i> ) 等	银灰旋花, 沙葱	23.39	21.20

LD: 轻度退化; MD: 中度退化; HD: 重度退化

### 2.3 土壤微生物总 DNA 的提取

采用 Mo-Bio 公司的试剂盒 MoBio Ultra clean Soil DNA isolation Kit (MoBio laboratories, Solana Beach, CA, USA) 来提取土壤微生物总 DNA。

## 2.4 细菌 16S rDNA 的 PCR 扩增

利用 16S rDNA(V6—V8 区)引物对 954f 和 1369r 对细菌 16S rDNA(V6—V8 区)进行扩增(设计引物的时候在正向引物的 5' 端加一 40 bp 的 GC 夾:(CGCCCGCCGCCGCCTTGGCCCCGGCCGCCGCCCCGGCCCC),该引物对可以有效地扩增出约 456 bp 的序列,反应条件和程序参见文献<sup>[13]</sup>。

## 2.5 扩增产物的 DGGE 分析和克隆测序

采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶, 变性范围为 35%—60%, PCR 产物加样量 20  $\mu$ L, 在 60  $^{\circ}$ C 预热好的缓冲液中 85 V 电泳 11 h。电泳结束后将凝胶放入 SYBR Green 染色液中染色 30 mins。将染色后的凝胶用凝胶成像系统进行照相, 切胶回收那些特异和优势的条带进行“去夹子”反应, 克隆。挑选白斑进行假阳性检测并测序, 测序由北京赛诺基因公司完成。

## 2.6 系统发育分析

利用 DNAMAN 软件对测序结果进行同源性比较,利用 BLAST 软件,将测序得到的基因与 GenBank 数据库进行序列比对分析,获得相近基因序列。然后利用 CLASTALX1.83 对序列进行校正,用 Mega3.1 中的邻接法( Neighbor-Joining)建立 16S rRNA 基因的系统发育树,对其进行系统发育分析。

## 2.7 多样性指数的计算

<sup>[14]</sup> 多样性指数的计算参见文献。

### 3 结果与分析

### 3.1 退化草地土壤细菌 PCR-DGGE 图谱分析

图1 显示了退化荒漠草地不同时期(2006和2007年夏季)土壤细菌多样性。图谱中电泳条带数目、强度

和迁移率均存在不同程度的差异,充分显示了不同退化草地土壤细菌多样性的变化。不同退化草地土壤样品之间具有共同的条带,说明供试土壤之间可能存在一些共有的细菌类型,然而这些公共条带的亮度也有所不同,表明土壤细菌群落结构发生了明显的变化。从图谱条带亮度上还能够看出高 G + C mol% 的细菌是研究区土壤细菌的优势类群,而低 G + C mol% 的细菌类群相对劣势。

从图 1 和表 2 可看出,B1、B3、B7、B9、B10、B14、B15、B17、B21 和 B26 是研究区共有细菌,其中 B3、B15 和 B17 是优势类群,细菌 B15 和 B17 在 2007 年夏季尤其比较活跃。B2 菌只出现在中度退化样地,轻度和重度退化样地未检测到该菌,成该样地特有细菌类群。B11 菌是 2007 年夏季重度退化样地特有类群(图 1 和表 2)。

### 3.2 不同退化草地土壤细菌多样性

运用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱进行数字化处理,所得的数据计算其多样性。表 3 是退化荒漠草地土壤细菌多样性。从中能够看出,2006 年夏季轻度退化草地土壤细菌的 Shannon-Weaver 指数最高,中度退化样地次之,重度退化样地最低,不同退化样地之间差异显著( $P < 0.05$ )。2007 年夏季退化草地土壤细菌多样性与 2006 年略不同,即轻度退化样地最高,重度退化样地次之,中度退化样地最低,中度与重度退化样地细菌多样性差异不显著( $P > 0.05$ )。

表 2 土壤细菌 PCR-DGGE 电泳图谱条带分析

Table 2 PCR-DGGE analysis of soil bacteria

编号 Sample ID	序列号 Accession No.	条带 Band					
		06LD	06MD	06HD	07LD	07MD	07HD
B1	EU327142	+	+	+	+	+	+
B2	EU327143	-	+	-	-	+	-
B3	EU327144	+	+	+	+	+	+
B4	*	-	-	-	+	+	+
B5	EU327145	+	-	-	+	-	-
B6	EU327146	+	-	-	+	+	+
B7	*	+	+	+	+	+	+
B8	*	+	-	-	+	-	-
B9	EU327147	+	+	+	+	+	+
B10	EU327148	+	+	+	+	+	+
B11	EU327149	-	-	-	-	-	+
B12	EU327150	+	-	-	+	+	-
B13	*	+	+	-	+	+	+
B14	EU327151	+	+	+	+	+	+
B15	*	+	+	+	+	+	+
B16	*	+	+	-	+	+	+
B17	EU327152	+	+	+	+	+	+

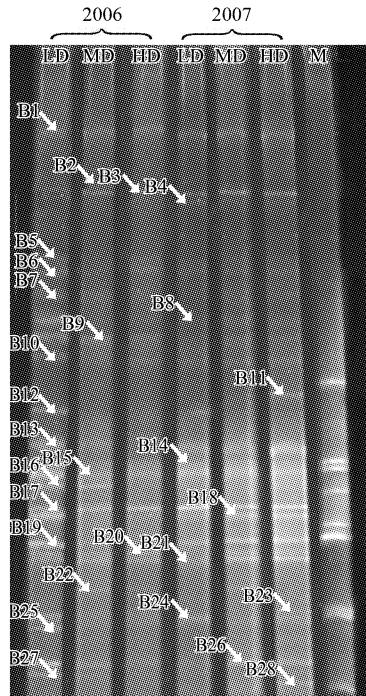


图 1 2006 和 2007 年夏季研究区土壤细菌的 PCR-DGGE 电泳图谱

Fig. 1 PCR-DGGE of Bacteria in 2006 and 2007 Summer; LD, MD and HD Represent the Soil Sample from Light Degradation, Moderate Degradation and Heavy Degradation Respectively  
M:100bp DNA ladder; LD、MD 和 HD 分别代表轻度、中度和重度退化草地; 图中 B 表示土壤细菌,B1 表示土壤 1 号细菌,其余以此类推

续表

编号 Sample ID	序列号 Accession No.	条带 Band					
		06LD	06MD	06HD	07LD	07MD	07HD
B18	EU327153	+	-	-	-	+	+
B19	EU327154	+	+	-	+	+	+
B20	EU327155	+	+	+	-	+	+
B21	EU327156	+	+	+	+	+	+
B22	EU327157	-	+	+	-	+	-
B23	*	-	+	+	-	-	+
B24	*	+	+	+	+	-	+
B25	*	+	-	-	-	-	-
B26	*	+	+	+	+	+	+
B27	EU327164	+	-	-	-	-	-
B28	*	-	-	-	-	-	+

注:“\*”表示切胶回收之后未能扩出;“+”表示有条带

### 3.3 部分片段的测序结果和系统发育分析

对已获得的 17 个克隆进行了测序分析。通过 GenBank 中的 BLAST 软件,将测序序列与 GenBank 数据库中的序列进行比对,所得到的 16S rDNA 在数据库中的登录号为:EU327142-EU327157 和 EU327164。所有克隆序列均没有发现完全相同的序列,因此这些序列均是以前没有描述过的 16S rDNA 基因序列,可能代表了以前没有描述过的细菌种类。从表 4 能够看出,部分条带与已知种类的细菌有着高度的相似性,如 B7 (EU327147) 与 *Bacillus psychrodurans* strain (EF101552) 有着 99% 的相似性,B9 (EU327149) 与 *B. aminovorans* NCIMB 8292 (X62178) 有着 99% 的相似性。其余克隆序列与已知序列相似性均在 95% 以上,说明这些克隆序列与已知序列可能是同一个属(表 4)。在 GenBank 中选取了部分与测序序列相似性较高的 16S rDNA 基因序列,用 Clustal1.83 软件和 Mega3.1 软件将这些序列构建系统进化树,进行系统发育分析。从图 2 能够看出,所克隆出的 16S rDNA 基因分别隶属于以下几个门:拟杆菌纲 (*Bacteroidetes*),酸杆菌纲 (*Acidobacteria*),变型菌纲 (*Proteobacteria*) 的  $\gamma$ 、 $\delta$  类群及厚壁菌纲 (*Firmicutes*)。优势和共有类群 B3 和 B17 分别分布在拟杆菌纲和酸杆菌纲,中度退化样地特有类群 B2 的分类地位还未确定,2007 年夏季重度退化样地特有类群分布在厚壁菌纲(图 2)。

### 4 讨论

传统的土壤微生物研究方法是基于分离培养技术的。高亭等<sup>[5]</sup>对荒漠草原地下亚系统的可培养微生物数量进行了初步的报道。高雪峰等<sup>[7]</sup>运用传统的方法分析了不同放牧强度下土壤微生物的动态变化,结果显示随放牧强度的加大,可培养微生物数量有降低的趋势。然而,土壤中只有极少一部分微生物是可以被培养的,绝大多数不可培养微生物信息很难被发现<sup>[11]</sup>。基于土壤微生物群落总 DNA 的分子生物学方法避免了传统分离培养方法的缺点,被广泛应用于土壤微生物群落结构、功能以及动态监测研究<sup>[15]</sup>。本文通过 PCR-DGGE 技术和克隆测序,分析了内蒙古荒漠草原生态系统典型退化样地土壤细菌 16S rDNA 基因的多样性及其系统发育关系,发现不少的细菌类群是不可培养微生物类群,甚至有些类群的分类地位还尚未确定的细菌类群也被检测到,充分体现了分子生物学方法的先进性。先进的分子生物学方法还检测出了典型退化样地优势和共有类群(如 B3 和 B17)和特有类群(如 B2 和 B11)(图 1 和表 2)。

土壤退化或受损会影响土壤微生物的多样性<sup>[16]</sup>。土壤微生物数量、种类及其组成受退化或污染程度的影响而发生变化,由此可以反映出一个受损生态系统的受损程度或恢复潜力<sup>[17-18]</sup>。荒漠草原生态系统典型

表 3 对图 1 中的 DGGE 图像进行数字化处理所得的结构多样性系数(Shannon-Weaver)

Table 3 Pairwise of Shannon-Weaver Index Calculated from the Digitized DGGE Patterns Shown in figure 1

样地名称 Location name	Shannon-Weaver 指数	
	2006 年	2007 年
LD	3.279 ± 0.012a	2.844 ± 0.006a
MD	2.631 ± 0.028b	2.668 ± 0.014b
HD	2.497 ± 0.036c	2.683 ± 0.026b

注:表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准差。表中不同的小写字母表示样地之间差异显著,  $P < 0.05$

表4 不同样品的16SrDNA序列特征

**Table 4** Characters of 16S rDNA Sequence in Different Samples

克隆序列名 Clone No.	GenBank 登录号 GenBank No.	序列比较 Sequence comparison		最相似的已知序列 Most similar known sequence in Genbank
		核苷酸数 <sup>a</sup> Nucleotides	相似性 <sup>b</sup> Similarity	
B1	EU327142	457	97	Chitinophaga ginseng soil Bacteria clone ( AB245374 )
B2	EU327143	455	96	Uncultured soil bacterium clone S0202 ( AF507699 )
B3	EU327144	459	95	Bacterium CS57 ( AY124340 )
B5	EU327145	459	98	Uncultured soil bacterium clone F3-31 ( EF688340 )
B6	EU327146	459	96	Sphingobacterium sp. P-17 ( AM411963 )
B9	EU327147	456	99	Bacillus psychodurans strain ( EF101552 )
B10	EU327148	460	96	Uncultured Acidobacteria bacterium ( Z95712 )
B11	EU327149	456	99	B. aminovorans NCIMB 8292 ( X62178 )
B12	EU327150	459	97	Flavisolibacter ginsengiterrae ( AB267476 )
B14	EU327151	459	95	Sphingobacterium sp. P-17 ( AM411963 )
B17	EU327152	461	95	Uncultured Acidobacteria bacterium ( Z95712 )
B18	EU327153	481	97	Alkanindiges illinoiensis ( AF513979 )
B19	EU327154	478	95	Uncultured delta proteobacterium clone ( AY921878 )
B20	EU327155	456	96	Uncultured bacterium clone ( EU131948 )
B21	EU327156	459	98	Bacterium CS57 ( AY124340 )
B22	EU327157	459	96	Uncultured bacterium clone ( EF128749 )
B27	EU327164	458	96	Uncultured bacterium clone ( EF018757 )

a:用于序列比较的核苷酸数 b:与系统发育关系最近的已知序列的相似度

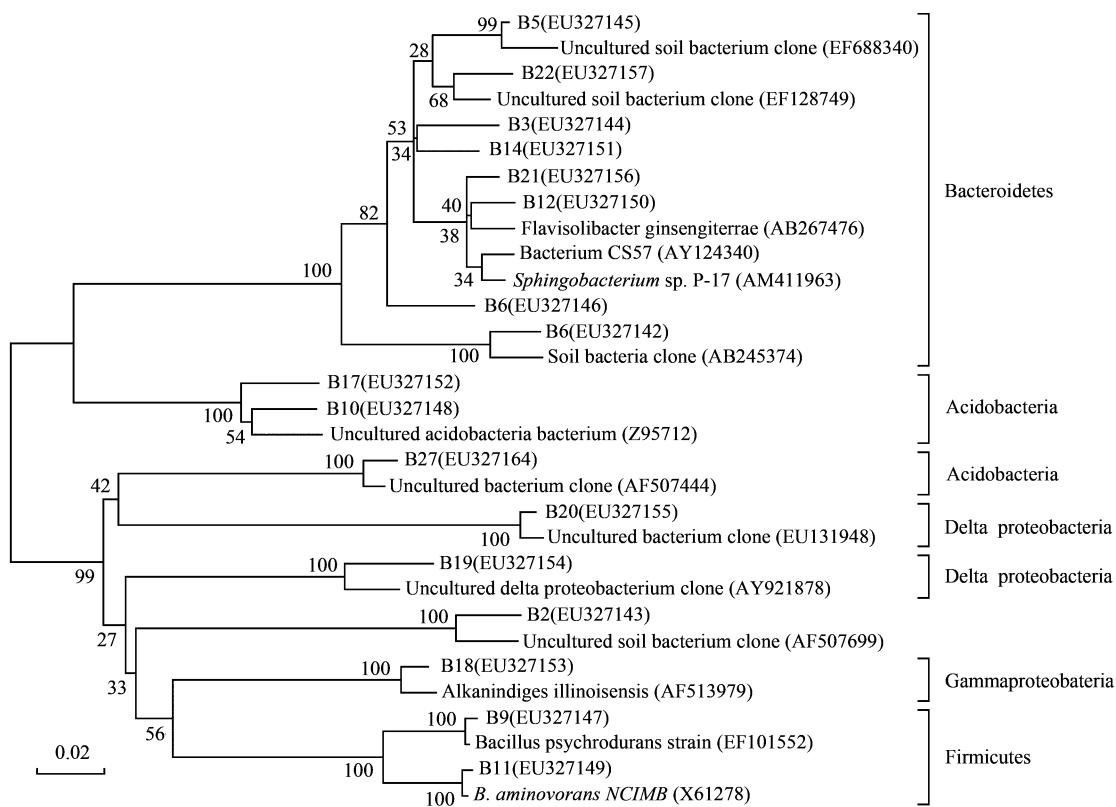


图2 根据遗传距离建立的16S rDNA基因系统发育树

**Fig. 2 Phylogenetic and molecular evolutionary analysis of 16S rDNA were conducted by genetic distance**

退化样地土壤细菌多样性在轻度退化样地较高,中度或重度退化样地较低。这可能是植物与土壤微生物通过植物的凋落物和植物根系分泌物建立起密切的联系<sup>[19]</sup>。地上部分丰富的物种多样性可引起凋落物质量和类型的多样性,而资源的异质性则可以引起分解者的多样性<sup>[20]</sup>。草地退化通过影响凋落物质量和类型的多样性,进一步影响土壤微生物群落结构及其多样性<sup>[21]</sup>。张善利等研究内蒙古典型草原不同退化阶段土壤微生物的变化发现,随退化程度的加剧和土壤剖面的加深,其微生物多样性呈降低,重度退化草地土壤微生物群落对外界刺激影响最小,加入过氧化氢酶能够显著的增加微生物群落的丰富度<sup>[14]</sup>。一般来说,土壤退化或受损对土壤微生物数量和种类产生的影响是负面的。但也有报道称某些耐性微生物种类在一些极端环境中的数量反而增加<sup>[22-23]</sup>。

典型退化样地土壤细菌群落结构中优势类群比较明显。在已获得的 17 个克隆当中,拟杆菌纲 (*Bacteroidetes*) 所占的比例为 47% 左右,为优势种。这比周小奇等报道的内蒙古典型草原细菌群落结构中拟杆菌纲的比例略大一些<sup>[24]</sup>,反应内蒙古荒漠草原生态系统中土壤细菌群落结构中拟杆菌纲呈绝对优势。Barn 等<sup>[25]</sup>对大量的土壤样品进行研究,发现酸杆菌门在生态系统中是广泛存在的,并且在生态学上具有重要的意义。内蒙古荒漠草原生态系统土壤细菌的群落结构多样性研究发现,酸杆菌纲在克隆总数当中大约占 17.6%。厚壁菌纲 (*Firmicutes*) 在克隆总数当中大约占 11% 左右,并且所检测到的两个菌 (B9, B11) 均属于厚壁菌纲的芽孢杆菌属。变形菌类在克隆总数当中的比例是 17.6%。值得一提的是,周小奇等研究内蒙古典型草原细菌群落结构时发现,放线菌在微生物群落结构中占优势<sup>[24]</sup>,而研究对象变为内蒙古荒漠草原生态系统时,在典型退化样地土壤细菌群落结构中是拟杆菌纲成为优势类群,说明典型草原和荒漠草原之间在细菌群落的较大类群中可能存在差异。

综上所述,荒漠草原土壤细菌群落结构与其他类型草原土壤细菌群落结构相比有所不同,并且其细菌群落结构随草地退化程度的不同而发生了较大变化。在连续 2a 的定点检测中,土壤细菌的群落结构也有一定的变化,说明土壤细菌对外界环境因子较为敏感,虽然研究样点原生植被和土壤类型基本一致,但由于受不同退化程度荒漠草原的自然连续体比较难找等原因,在综合考虑退化等级和气候条件的基础上,把不同退化程度样地设立在相互距离最近的区域,这些小区域尺度上气候和放牧强度等因素的差异可能对土壤细菌群落结构变化产生一定的影响。本研究是把此影响视为最小的基础上讨论草地退化对土壤细菌群落结构产生的影响,具有重要的借鉴意义。更加系统的研究应在土壤、气候和植被等信息的量化和长时间连续检测的基础上开展。

此外,用 DGGE 技术对环境样品进行检测时也存在一些问题,如 DGGE 法只能对微生物群落中数量上大于 1% 的优势种群进行分析<sup>[26-27]</sup>。如果两种微生物 16S rRNA 的序列组成不一样,但是它们的 GC 含量是一样的,在 DGGE 图谱上就是同一条带,从而低估了微生物群落的多样性,产生虚假的认识<sup>[24,28]</sup>,因此分析微生物群落结构多样性的时候几种分析方法的结合使用能较为有效的降低由于分析方法导致的误差。本研究由于时间和 PCR 限制等原因,该研究未能对所有条带完成克隆,只对获得的 17 个主要和特征的克隆进行了测序分析,可以推测,实际土壤中的细菌种类的数量应比表 4 中所列种类或类群要丰富。

#### References:

- [ 1 ] Zhao T L, Ouyang Z Y, Jia L Q, Zheng H. Ecosystem services and their valuation of China grassland. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(6): 1101-1110.
- [ 2 ] Sai S B. Serious desertification of desert steppe zone and its control in northern Inner Mongolia. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2001, 15(4): 35-39.
- [ 3 ] Copley J. Ecology goes underground. *Nature*, 2000, 406: 452-454.
- [ 4 ] Shao Y Q, Zhao J, Yang J. Distribution characteristics of soil microbial numbers in recovered grassland and degenerated grassland. *Chinese Journal of Desert Science*, 2004, 3: 223-226.
- [ 5 ] Gao T, Zhang Y P. Study on seasonal variation of soil microorganisms in desertification of grassland in Ningxia. *Ningxia Engineering Technology*, 2006, 5(3): 297-299.
- [ 6 ] Wei Z J, Wu R T, Da B X L T, Su J A, Yang S M. The Influence of different grazing systems on soil physical and chemical properties in desert

- steppe. *Grassland of China*, 2005, 27(5): 6-10.
- [7] Gao X F, Han G D, Zhang G, Zhao M L. Effects of grazing on soil microorganisms and their seasonal changes in desert steppe. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 24(2): 10-13.
- [8] Gao X F, Han G D, Zhang G, Zhao M L. Study on dynamics of soil enzyme activity and nutrient of desert steppe under different grazing intensities. *Pratacultural Science*, 2007, 38(1): 145-148.
- [9] Pei S F, Fu H, Wan C G. Changes in soil properties and vegetation following exclosure and grazing in degraded Alxa desert steppe of Inner Mongolia, China. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2008, 124: 33-39.
- [10] Li C L, Hao X Y, Zhao M L, Han G D, Williams W D. Influence of historic sheep grazing on vegetation and soil properties of a desert steppe in Inner Mongolia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2008, 128: 109-116.
- [11] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 1995, 59: 143-169.
- [12] Inner Mongolia Municipality District Standard: The degenerate standard of natural grassland in Inner Mongolia. *Grassland of Inner Mongolia*, 1999, 2: 61-62.
- [13] Yu Z T, Morrison M. Comparisons of different hyper variable regions of *rps* genes for use in fingerprinting of microbial communities by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(8): 4800-4806.
- [14] Zhang S L. Bacterial Diversity of Different Degenerate Grassland in Inner Mongolia. Dalian: Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Science, 2007.
- [15] Pace N R. A Molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 1997, 276: 734-740.
- [16] Kurakov A. Assessment of soil quality by biological methods: experience from arable soil in Gzech Republic//Proceeding of the 16th World Congress of Soil Science. Montpellier, France: CABI publishing, 1998.
- [17] Hernot J, Robertson G P. Vegetation removal in two soils of the humid tropics: effect on microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 111-117.
- [18] Dilly O, Munch J C. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 27: 374-379.
- [19] Li X, Wang Y C. The biodiversity of microbe and plants. *Acta scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol*, 2006, 37(6): 708-713.
- [20] Sulkava P, Huhta V. Habitat patchiness affects decomposition and faunal diversity: a microcosm experiment on forest floor. *Oecologia*, 1998, 116: 390-396.
- [21] Stephan A, Meyer A H, Schmid B. Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology*, 2000, 88: 988-998.
- [22] Paoletti M G. Biodiversity in Agro-ecosystems-role for Sustainability and Bioindication, Lewis: Boca Raton, 1997: 35-42.
- [23] Teng Y, Huang C Y, Luo Y M, Long J, Yao H Y. Microbial activity and functional diversity of community in soils polluted with PB-ZN-AC mine tailings. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1): 113-119.
- [24] Zhou X Q, Wang Y F, Cai Y, Huang X Z, Hao Y B, Tian J Q, Chai T Y. PCR-DGGE detection bacterial community structure in the Inner Mongolia steppe with two different DNA extraction methods. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(5): 1674-1689.
- [25] Barns S M, Takala S L, Kuske C R. Wide distribution and diversity of members of the bacterial kingdom *Acidobacterium* in the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65: 1731-1737.
- [26] Muyzer G, Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59: 695-700.
- [27] Ma Y X, Carola H, Jeremy W. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(8): 1561-1569.
- [28] Seghers D, Wittebolle L, Top E M. Impact of agricultural practices on the *Zea mays* L. entophytic community. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 1475-1482.

#### 参考文献:

- [1] 赵同谦, 欧阳志云, 贾良清, 郑华. 中国草地生态系统服务功能简介价值评价. *生态学报*, 2004, 24: 1101-1110.
- [2] 赛胜宝. 内蒙古北部荒漠草原带的严重荒漠化及其治理. *干旱区资源与环境*, 2001, 15(4): 35-39.
- [4] 邵玉琴, 赵吉, 杨劫. 恢复草地和退化草地土壤微生物类群数量的分布特征. *中国沙漠*, 2004, 3: 223-226.
- [5] 高婷, 张源沛. 宁夏荒漠草原土壤微生物季节变化的初步研究. *宁夏工程技术*, 2006, 5(3): 297-299.
- [6] 卫智军, 乌日图, 达布希拉图, 苏吉安, 杨尚明. 荒漠草原不同放牧制度对土壤理化性质的影响. *中国草地*, 2005, 27(5): 6-10.
- [7] 高雪峰, 韩国栋, 张功, 赵萌莉. 荒漠草原不同放牧强度下土壤酶活性及养分含量的动态研究. *草业科学*, 2007, 24(2): 10-13.
- [8] 高雪峰, 韩国栋, 张功, 赵萌莉. 放牧对荒漠草原土壤微生物的影响及其季节动态研究. *土壤通报*, 2007, 38(1): 145-148.
- [12] 内蒙古自治区地方标准: 内蒙古天然草地退化标准. *草业科学*, 1999, 2: 61-62.
- [14] 张善利. 内蒙古不同退化程度草原土壤细菌群落结构多样性研究. 大连: 中国科学院大连物理化学研究所, 2007.
- [19] 李骁, 王迎春. 土壤微生物多样性与植物多样性. *内蒙古大学学报*, 自然科学汉文版, 2006, 37(6): 708-712.
- [23] 腾应, 黄昌勇, 骆永明, 龙健, 姚槐应. 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究. *土壤学报*, 2004, 41(1): 113-119.
- [24] 周小奇, 王艳芬, 蔡莹, 黄祥忠, 郝彦宾, 田建卿, 柴团耀. 内蒙古典型草原细菌群落结构的PCR-DGGE 检测. *生态学报*, 2007, 27(5): 1674-1689.
- [27] 马悦欣, Carola H, Jeremy W. 变性梯度凝胶电泳(DGGE)在微生物生态学中的应用. *生态学报*, 2003, 23(8): 1561-1569.

# 2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊\*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

\*《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次, 全国排名第 1; 影响因子 1.812, 全国排名第 14; 第 1~9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊; 中国精品科技期刊

编辑部主任: 孔红梅

执行编辑: 刘天星 段 靖

生态学报  
(SHENGTAI XUEBAO)  
(半月刊 1981 年 3 月创刊)  
第 30 卷 第 23 期 (2010 年 12 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA  
(Semimonthly, Started in 1981)  
Vol. 30 No. 23 2010

编 辑	《生态学报》编辑部 地址: 北京海淀区双清路 18 号 邮政编码: 100085 电话: (010) 62941099 www. ecologica. cn shengtaixuebao@ rcees. ac. cn	Edited by Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010) 62941099 www. ecologica. cn Shengtaixuebao@ rcees. ac. cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址: 北京海淀区双清路 18 号 邮政编码: 100085	Sponsored by Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科学出版社 地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717	Published by Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科学出版社 地址: 东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717 电话: (010) 64034563 E-mail: journal@ cspg. net	Distributed by Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010) 64034563 E-mail: journal@ cspg. net
订 购	全国各地邮局	Domestic All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044	Foreign China International Book Trading Corporation Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号	



ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元