

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

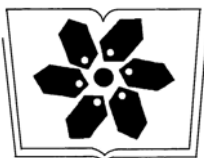
Acta Ecologica Sinica



第33卷 第11期 Vol.33 No.11 **2013**

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

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 11 期 2013 年 6 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 新一代 Landsat 系列卫星: Landsat 8 遥感影像新增特征及其生态环境意义 徐涵秋, 唐 菲 (3249)
- 两种自然保护区设计方法——数学建模和计算机模拟 王宜成 (3258)
- 家域研究进展 张晋东, Vanessa HULL, 欧阳志云 (3269)
- 浅水湖泊生态系统稳态转换的阈值判定方法 李玉照, 刘 永, 赵 磊, 等 (3280)
- 辐射传输模型多尺度反演植被理化参数研究进展 肖艳芳, 周德民, 赵文吉 (3291)
- 微囊藻毒素对陆生植物的污染途径及累积研究进展 靳红梅, 常志州 (3298)

个体与基础生态

- 年龄、性别及季节因素对千岛湖岛屿社鼠最大活动距离的影响 叶 彬, 沈良良, 鲍毅新, 等 (3311)
- 寄主大小及寄生顺序对蝇蛹佣小蜂寄生策略的影响 詹月平, 周 敏, 贺 张, 等 (3318)
- 两种苹果砧木根系水力结构及其 PV 曲线水分参数对干旱胁迫的响应
..... 张林森, 张海亭, 胡景江, 等 (3324)
- 三种根系分泌脂肪酸对花生生长和土壤酶活性的影响 刘 苹, 赵海军, 仲子文, 等 (3332)

种群、群落和生态系统

- 象山港春季网采浮游植物的分布特征及其影响因素 江志兵, 朱旭宇, 高 瑜, 等 (3340)
- 洞头海域网采浮游植物的月际变化 朱旭宇, 黄 伟, 曾江宁, 等 (3351)
- 狗牙根与牛鞭草在三峡库区消落带水淹结束后的抗氧化酶活力 李兆佳, 熊高明, 邓龙强, 等 (3362)
- 三亚岩相潮间带底栖海藻群落结构及其季节变化 陈自强, 寿 鹿, 廖一波, 等 (3370)
- 长期围封对不同放牧强度下草地植物和 AM 真菌群落恢复的影响 周文萍, 向 丹, 胡亚军, 等 (3383)
- 北京松山自然保护区森林群落物种多样性及其神经网络预测 苏日古嘎, 张金屯, 王永霞 (3394)
- 藏北高寒草地生态补偿机制与方案 刘兴元, 龙瑞军 (3404)
- 辽东山区次生林生态系统不同林型树干茎流的理化性质 徐天乐, 朱教君, 于立忠, 等 (3415)
- 施氮对亚热带樟树林土壤呼吸的影响 郑 威, 闫文德, 王光军, 等 (3425)
- 人工高效经营雷竹林 CO₂ 通量估算及季节变化特征 陈云飞, 江 洪, 周国模, 等 (3434)
- 新疆典型荒漠区单食性天花吉丁虫磷元素含量对环境的响应 王 晶, 吕昭智, 宋 菁 (3445)
- 双斑长跗萤叶甲越冬卵在玉米田的空间分布型 张 聪, 葛 星, 赵 磊, 等 (3452)
- 舟山群岛四个养殖獐种群遗传多样性和遗传结构 林杰君, 鲍毅新, 刘 军, 等 (3460)

景观、区域和全球生态

- 乡镇尺度金塔绿洲时空格局变化 巩 杰, 谢余初, 孙 朋, 等 (3470)
- 合并与不合并: 两个相似性聚类分析方法比较 刘新涛, 刘晓光, 申 琪, 等 (3480)

资源与产业生态

基于投入产出表的中国水足迹走势分析 王艳阳,王会肖,张 昕 (3488)

基于 MRICES 模型的气候融资模拟分析 朱潜挺,吴 静,王 铮 (3499)

黄东海陆架区沉积物中磷的形态分布及生物可利用性..... 张小勇,杨 茜,孙 耀,等 (3509)

鄱阳湖采砂南移扩大影响范围——多源遥感的证据 崔丽娟,翟彦放,邬国锋 (3520)

温度、盐度及其互作效应对吉富罗非鱼血清 IGF-I 与生长的影响 强 俊,杨 弘,王 辉,等 (3526)

城乡与社会生态

福建省城镇-交通系统的景观分隔效应 张天海,罗 涛,邱全毅,等 (3536)

研究简报

青藏高原高寒草原区工程迹地面积对其恢复植物群落特征的影响 毛 亮,周 杰,郭正刚 (3547)

黄土山地苹果树树体不同方位液流速率分析..... 孟秦倩,王 健,张青峰,等 (3555)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 314 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 33 * 2013-06



封面图说: 清晨的天山马鹿群——家域是动物行为学和保护生物学的重要概念之一,它在动物对资源环境的适应与选择,种群密度及社会关系等生态学过程研究中有着重要的作用。马鹿属于北方森林草原型动物,在选择生境的各种要素中,隐蔽条件、水源和食物的丰富度是最重要的指标。野生天山马鹿是中国的特产亚种,主要分布在北天山深山海拔1500—3800m 地带的森林草原中,在高山至谷地之间不同高度的坡面上,马鹿按季节、昼夜变化的不同进行采食。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201204020460

周文萍, 向丹, 胡亚军, 李志芳, 陈保冬. 长期围封对不同放牧强度下草地植物和 AM 真菌群落恢复的影响. 生态学报, 2013, 33(11): 3383-3393.

Zhou W P, Xiang D, Hu Y J, Li Z F, Chen B D. Influences of long-term enclosure on the restoration of plant and AM fungal communities on grassland under different grazing intensities. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(11): 3383-3393.

长期围封对不同放牧强度下草地植物和 AM 真菌群落恢复的影响

周文萍^{1, 2}, 向 丹², 胡亚军², 李志芳¹, 陈保冬^{2, *}

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要:为探明人为干扰对草地生态系统生态恢复的影响,以不同放牧强度试验草地为研究对象,调查了围封 14a 后草地植物群落的多样性,并应用第二代高通量测序技术 454 测序法分析了植物根际土壤中 AM 真菌的群落结构。研究结果显示,14a 围封保育使得不同放牧强度小区与长期封育小区植被盖度及植物多样性指数基本恢复至同一水平。土壤速效磷含量在重度放牧小区最低(1.00 mg/kg),轻度放牧区最高(2.25 mg/kg),其它土壤理化性质指标在不同小区之间没有显著差异。通过分子鉴定发现所有土壤样品中 AM 真菌共有 87 个分类单元(VT),隶属于 *Diversispora*、*Otospora*、*Scutellospora*、*Glomeraceae* *Glomus*、*Rhizophagus*、*Paraglomus* 和 *Archaeospora* 等 7 个属。对不同放牧强度小区 AM 真菌进行多样性分析,结果表明长期封育小区 AM 真菌 Shannon 多样性指数和 Pielou 均匀度指数最低,且显著低于中度放牧区,而 AM 真菌多样性在各放牧小区之间差异不显著。本研究表明长期围封可以有效促进退化草地植物群落的恢复,而 AM 真菌表现出与植物群落恢复的不同步性。对于草地生态系统退化及恢复过程中植物和土壤功能微生物类群的协同关系还需要进一步系统深入的研究。

关键词:丛枝菌根真菌;454 测序;放牧强度;封育;生态恢复

Influences of long-term enclosure on the restoration of plant and AM fungal communities on grassland under different grazing intensities

ZHOU Wenping^{1, 2}, XIANG Dan², HU Yajun², LI Zhifang¹, CHEN Baodong^{2, *}

1 College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Abstract: Grassland is one of the most important terrestrial ecosystems, however, in recent years, degradation and desertification of grassland ecosystem becomes more and more serious due to intensive human activities, such as overgrazing, mowing, and conversion of grassland to cropland. Effective countermeasures, such as pasture enclosure, are suggested to maintain the grassland productivity and sustainability. Most studies on ecological restoration of degraded grassland focused on recovery of plant communities, while little information is available as for the parallel succession of belowground microbial communities, especially for symbiotic microbes associated with plants.

Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are ubiquitous symbionts for higher plants in most natural and agricultural ecosystems. It has been widely accepted that these symbiotic fungi play important roles in stimulating biodiversity and productivity of plant communities. To reveal the impacts of grassland enclosure on recovery of the degraded grassland ecosystem, especially for the recovery of AMF communities, we conducted an investigation based on a long-term field

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KZCX2-YW-BR-17);国家自然科学基金面上项目(41071178);城市与区域生态国家重点实验室自主方向项目(SKLURE2008-1-03)

收稿日期:2012-04-02; 修订日期:2013-04-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: bdchen@cees.ac.cn

experiment where experimental plots under different grazing intensities (heavily, moderately, slightly grazed and the ungrazed control) have been enclosed for 14 years. Plant coverage, height and species richness were recorded *in situ*, while soil samples were collected for analysis of soil chemo-physical properties and AM fungal parameters. As a newly developed molecular tool, the second-generation sequencing technology, 454 pyrosequencing, was applied for predicting AMF community composition and biodiversity.

The experimental results indicated that, after enclosure for 14 years, the coverage, diversity and evenness index of plant communities on different experimental plots did not show significant difference; The soil organic matter, available N, total N and total C contents tended to be higher in lightly and moderately grazed plots compared with heavily grazed plots, but statistically there were no significant differences among different plots. Available soil P was lowest in the heavily grazed plots (1.00 mg/kg), which was significantly lower than that in the lightly grazed plots (2.25 mg/kg). The 454 pyrosequencing of AM fungi from all soil samples yielded a total of 59,382 *Glomeromycota* sequences, assigned to 87 virtual taxa (VT) in the MaarjAM database, belonging to 7 genera, namely *Diversispora*, *Otospora*, *Scutellospora*, *Glomeraceae* *Glomus*, *Rhizophagus*, *Paraglomus* and *Archaeospora*. Similar to previous reports, *Glomus* was the dominant genera on the grassland, as 83.9% of the 87 VTs belonged to *Glomeraceae* *Glomus*; while only 13 sequences (1 VT) were identified as *Archaeospora*, which was undoubtedly the rarest genus in the research area. In contrast with plant communities, the AM fungal communities had not equally recovered in different experimental plots. Although there were common VTs for all plots, but each plot clearly exhibited some specific VTs, and most specific VTs were recorded in CK plot. Furthermore, the diversity index and evenness index were lowest in CK plot, lower than any other plots, and significantly lower than that in the moderately grazed plot.

This investigation suggested that grassland enclosure after overgrazing is essentially important for the recovery of plant communities, soil chemo-physical properties and also soil microbial communities. However, recovery of AM fungal communities was out of synch with plant communities. Further research is still necessary to reveal the interactions between plant and functional soil microbial communities during the ecological restoration of degraded grassland.

Key Words: arbuscular mycorrhizal fungi; 454 pyrosequencing; grazing intensity; grassland enclosure; ecological restoration

草地生态系统是陆地上最重要、分布最广的生态类型之一。在我国,草地面积占国土面积的 41.7%,约 4 亿 hm^2 ^[1]。20 世纪以来,环境变化和人类活动干扰导致草地退化日益严重。在华北地区,退化草地面积超过草地总面积的 2/3^[2]。不合理放牧是导致草地退化的一个重要原因^[3-4],放牧行为直接影响到草地生物量及物种多样性,间接改变草地生态系统物质与能量的分配模式,最终引起生态系统内部生物群落结构和功能的变化^[5]。不同放牧强度干扰对草地生态系统会产生不同的影响,多数研究表明过度放牧导致草地生态系统植被盖度和生物量下降、群落结构趋于简化,土壤容重、含水量、有机质以及氮、磷、钾等营养元素含量降低^[6],而中度放牧可能降低具有竞争能力的优势物种的多度,增加亚优势物种的多度,间接增加土壤种子库的物种多样性,提高植物物种多样性和丰富度指数^[7]。在我国,牧区缺乏统一、规范的管理,过度放牧情况严重,很多草地由于过度放牧严重退化。作为一种人工保护退化草地自然恢复的措施,围封可以有效恢复植物群落的结构和生产力,增加土壤有机质、氮、磷等养分含量^[8-9]。此外,也有研究发现,封育草地由于所受外界干扰较少,少数优势物种会迅速占据生态位而导致物种多样性指数较低^[4]。放牧强度与草地生物多样性响应机制一直是草地生态学的一个研究热点。

丛枝菌根(AM)真菌是一种广泛分布,可与大部分陆生高等植物共生的一类土壤真菌^[10]。AM 真菌感染植物根系建成共生体系,宿主植物为菌根真菌提供能量物质,而作为回报 AM 真菌则帮助宿主植物吸收各种矿质养分,并增强植物的抗逆性。研究表明,菌根真菌的多样性影响到生态系统的物种多样性,AM 真菌群落

的变化会导致植物群落组成的改变^[11-13]。在草地生态系统中,AM 真菌是不可忽视的组成部分,对于退化草原的生态恢复具有潜在的重要作用^[14]。

以往有关草地生态恢复的研究多侧重于考察植被演替^[15-16],而忽略了地下功能微生物群落的变化。事实上,生态系统是由地上和地下两个部分组成的一个有机整体^[17],通过很多直接或间接的相互作用将这两部分紧密联系在一起。地下生态系统是土壤生物群落及其生存环境共同组成的动态平衡系统^[18],结构上包含土壤基质、地下水循环系统及土壤生物系统,研究内容侧重于土壤生物与环境间的相互作用机制。土壤生态系统可以提供必要的水循环、生物化学循环和能量流,拥有丰富的、可以维持生态系统功能的生物多样性,并且能汇集土壤中的根系、矿质营养及枯枝落叶形成巨大的碳汇和养分库^[19]。显而易见,生态系统的恢复不只是地上部植被的恢复,客观上还应包括地下部分土壤肥力和功能微生物类群的恢复。研究表明,植被恢复情况可以直接影响土壤微生物群落的恢复过程^[20],而土壤微生物群落也能直接驱动植物群落的改变^[21]。认识草地恢复过程中植物和土壤关键功能微生物类群的协同演替规律,可为科学评价草地生态恢复效果及探索有效生态恢复途径提供理论依据。

本研究以不同放牧强度试验草地为研究对象,调查了围封 14a 后草地植物群落多样性,并应用第二代高通量测序技术 454 测序法分析了植物根际土壤中 AM 真菌群落的组成情况,探讨退化草地生态恢复过程中植物群落及其共生 AM 真菌的协同演替规律,期望为草地生态系统的恢复与重建提供理论依据。

1 调查样地与研究方法

1.1 样地与样品采集

1.1.1 研究区域自然概况

研究区域位于内蒙古科尔沁沙地中国科学院奈曼沙漠化研究站附近(42°56'N,120°42'E),海拔 358 m,具有明显的温带大陆性半干旱气候特点。年平均气温 6.0—6.5℃,年平均降水量 366 mm,降水主要集中在 6—8 月,年均蒸发量 1972.8 mm。

1.1.2 样地设置

调查样地原为自由放牧的天然沙质草地,面积约 60,000 m²,于 1992 年刺线围封,在围封区布置梯度放牧强度试验。试验设 4 个处理:重牧区(HG,6 只羊/hm²)、中牧区(MG,4 只羊/hm²)、轻牧区(LG,2 只羊/hm²)及封育区(CK,不放牧)。各小区面积相等,为 75 m×200 m。每年的放牧时间从 6 月 1 日开始,9 月 20 日结束。梯度放牧强度试验于 1996 年结束,此后围封进行生态系统自然恢复。本试验以封育区为对照,研究梯度放牧强度处理后长期封育对地上植被和 AM 真菌群落恢复的影响。

1.1.3 样品采集

试验样品采集于 2010 年 8 月,采样时间距离试验区围封已经 14a。取样时在每个试验小区的两端和中间各选择一块样地,样地面积 10 m×10 m,在样地四个边角及中心各取一个 1 m×1 m 的样方,按照方精云等^[22]的草本层植物群落清查方法对各小区植被组成、盖度、密度、高度等进行调查统计,并取 0—30 cm 土层土壤及植物根样。每个样地内的土壤过 2 mm 筛后混匀,取 200 g 样品装袋,植物根系样品也混匀后装袋,暂放低温保温箱带回实验室,保存于-80℃冰箱待用。其余土壤样品装袋后带回实验室自然风干,进行理化性质分析。

1.2 样品分析

1.2.1 土壤理化性质测定

土壤有机质采用重铬酸钾氧化法^[23],土壤 pH 值用电位法,土壤速效 N 用碱解扩散法,土壤速效磷用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法^[24]。土壤全 N 和全 C 由元素分析仪(Vario EL III, Elementar company, German)测定^[25]。

1.2.2 菌根侵染率测定

采用根段染色-镜检法^[26],从采集的根样中挑出细根剪成 1 cm 根段,用 10% KOH 透明、2% HCl 酸化、0.05% 台盼蓝(Trypan Blue)染色-乳酸甘油脱色。将 30 条经染色的根段置于载玻片上在显微镜下逐一观测

丛枝、泡囊和菌丝着生状况,计算菌根侵染率。

1.2.3 菌丝密度测定

台盼蓝染色-镜检法^[27],取 5 g 过 2 mm 筛土壤样品放入带盖塑料瓶中,加入 100 mL 水和 12 mL 3.7% 六偏磷酸钠溶液,剧烈振荡 30 s,静置 2.5 min 后过 0.05 mm 筛,收集筛上过滤物于搅拌器中搅拌 20 s,静置 10 s,吸取 5 mL 滤液抽滤(滤膜孔径 0.22 μm),台盼蓝染色制片,显微镜下观测,计算菌丝密度。

1.2.4 AM 真菌分子鉴定

采用 454 焦磷酸测序法对 AM 真菌进行多样性鉴定。该测序方法对各样品片段高通量平行测序,稀有物种的序列也不会丢失。454 焦磷酸测序有其固定的测序引物,为了保证多个样品测序同时进行,需要在样品引物的一端添加识别序列 bar-code^[28]。本试验采用巢式 PCR,即需要在第二对引物上添加 bar-code,添加完 bar-code 的前引物序列为:5'-CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG (NNNNNNN) TGGAGGG CAGTCTGT C-3';后引物序列为 5'-CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG GTTTCCCGTAAGGCGCC GAA-3'。其中,带下划线部分是测序引物,括号内为 7bp 的 bar-code,斜体部分是样品特异性引物 NS31/AM1。NS31/AM1 是近年来最常用于测定自然土壤 AM 真菌群落多样性的引物,其扩增区域位为 SSU rRNA,片段大小约为 550 bp,满足 454 焦磷酸测序对片段长度的要求。由于该引物具有一定的偏扩性,不利于无梗囊霉科和类球囊霉科 AM 真菌的扩增^[29],为弥补 NS31/AM1 偏扩带来的误差,选用覆盖度更广的 AML1/AML2^[30]作为第 1 对引物。该引物能覆盖除 *Archaeospora trappei* 以外的所有已知 AM 真菌。具体测序步骤如下:

1) DNA 提取 取 500 mg 过 2 mm 筛的混匀鲜土,按照 DNA 提取试剂盒说明(Fast DNA spin kit for soil, Bio 101, La Jolla, Calif.)进行操作,提取的 DNA 溶液贮藏于-20℃ 冰箱待用。

2) Nested-PCR 第 1 次扩增反应体系 25 μL ,包括 2 μL DNA 模板(10—20 ng/ μL ,由土壤 DNA 提取液稀释得到)、0.3 μL 25 $\mu\text{mol/L}$ 引物(前后引物各 0.3 μL)、2.5 μL 10 $\times$ *Ex Taq* Buffer、2 μL 2.5 mmol/L dNTP 混合液(各碱基浓度均为 2.5 mmol/L)、0.3 μL 25 $\mu\text{mol/L}$ BSA、0.5 μL 5 U/ μL *Ex Taq*,以及 17.1 μL dd H₂O。反应程序为:94℃ 变性 5 min;94℃ 30 s,58℃ 45 s,72℃ 1 min,循环 35 次;最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。第 1 次扩增产物稀释十倍作为第 2 次扩增反应的模板,第 2 次扩增体系为 50 μL ,包括 2 μL DNA 模板(10—20 ng/ μL ,由第 1 次扩增产物稀释得到)、0.6 μL 25 $\mu\text{mol/L}$ 引物(前后引物各 25 $\mu\text{mol/L}$)、5.0 μL 10 $\times$ *Ex Taq* Buffer、4.0 μL 2.5 mmol/L dNTP 混合液(各碱基浓度均为 2.5 mmol/L)、0.6 μL 5 U/ μL *Ex Taq*,以及 37.2 μL dd H₂O。反应程序与结果鉴定方法与第 1 次扩增相同。

3) 纯化 按照纯化试剂盒(QIAEX II Gel Extraction Kit, QIAGEN Sciences, Maryland)操作说明对第 2 次扩增产物进行纯化,纯化产物由 NanoDrop 1000 测定浓度。各样品纯化后 DNA 等量(每个样品 DNA 含量 150 ng)混合,混合液送上海人类基因组研究中心进行 454 焦磷酸测序。

4) 测序结果分析 454 测序得到的序列满足以下 3 个条件的用作进一步分析:1) 包含正确的 bar-code;2) 有正确的 NS31 引物序列;3) 片段总长超过 160 bp(不包括测序引物及 bar-code)。进一步分析需要用到 MaarjAM 数据库^[31],该数据库包含所有已报道的球囊菌门(*Glomeromycota*)真菌 SSU rRNA 序列,以相似度 $\geq 90\%$ 和片段长度不少于 query 序列 10 bp 为条件与该数据库比对筛选出属于球囊菌门真菌的序列。筛选出的序列以相似度 $\geq 97\%$ 及片段长度不小于 query 序列 10 bp 为条件进一步与 MaarjAM 数据库比对,相同序列比对结果即为同一虚拟分类单元(Virtual taxa, VT)。VT 是 MaarjAM 数据库中用以区别不同 AM 真菌序列的新的分类方法。与以往形态学鉴定不同, MaarjAM 数据库中 AM 真菌不以种作为最基本分类单位,而是用不同的 VT 加以区分。获得 VT 分类后,用 MOTHUR^[32]软件(Version 1.23.1)及其在线平台(<http://www.mothur.org>)分析 AM 真菌群落 Shannon-Wiener 指数,并对不同处理群落结构差异进行显著性分析。AM 真菌 Margalef 丰富度指数及 Pielou 均匀度指数计算方法与植物丰富度指数及均匀度指数计算方法相同。

1.3 数据处理

1.3.1 物种多样性采用 Shannon-Winer 指数(H)表示。

植物物种多样性指数计算公式

$$H = - \sum P_i \times \ln P_i, P_i = N_i / N$$

式中, n_i 为物种 i 的个体数, n 为群落中所有物种个体数之和;

1.3.2 物种丰富度采用 Margalef 指数 (Ma) 表示。

$$Ma = (S - 1) / \ln N$$

式中, S 为物种数目, N 为群落中所有物种个体总数; 计算 AM 真菌物种丰富度时, S 为 VT 数目, N 为群落中所有 VT 个体总数。

AM 真菌 Chao-1 index^[33] 通过 MOTHUR 软件及其在线平台计算得到, 该指数为 AM 真菌 VT 期望值, 即 AM 真菌群落的理论物种丰富度。

1.3.3 物种均匀度采用 Pielou 均匀度指数 (E) 表示。

$$E = H / \ln S$$

式中, H 为 Shannon-Wiener 指数。计算植物物种均匀度时, S 为物种数目; 计算 AM 真菌物种均匀度时, S 为 VT 数目。

1.4 统计分析

采用 aRarefactWin 软件 (Version 1.3) 对 AM 真菌进行 Rarefaction 分析, 检测 454 测序序列数的充分性。采用 R 软件 (Version 1.0) 下的 Heatmap builder 程序对 454 测序得到的序列进行处理制作成热图, 分析群落中不同物种的丰度。

所有试验数据采用 Microsoft Excel 进行均值和标准差计算并作图, 采用 SPSS 统计分析软件 (SPSS 17.0) 对数据进行单因素方差分析, 采用邓肯新复极差法 (SSR) 多重比较检验处理之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

不同试验处理小区土壤理化性质见表 1。由于研究区为沙质草地, 各处理小区土壤有机质及矿质养分含量均不高。速效 N 最高为 19.60 mg/kg, 速效 P 最高为 2.25 mg/kg。重牧区速效 P 含量仅 1.00 mg/kg, 显著低于中牧区和轻牧区。其余土壤理化性质指标在各处理之间差异均不显著。

表 1 不同试验小区土壤基本理化性质

Table 1 The chemo-physical properties of soils from different experimental plots

处理 Treatments	有机质 Organic matter /(mg/kg)	速效 P Available P /(mg/kg)	速效 N Available N/(mg/kg)	全 N Total N /%	全 C Total C /%	pH
重牧区 Heavily grazed HG	4.75±2.04a	1.00±0.21a	15.87±3.45a	0.03±0.01a	0.32±0.15a	8.50±0.03a
中牧区 Moderately grazed MG	6.89±0.85a	2.24±0.66b	19.48±2.72a	0.04±0.00a	0.43±0.04a	8.39±0.06a
轻牧区 Lightly grazed LG	6.80±1.54a	2.25±0.62b	19.60±7.23a	0.04±0.00a	0.39±0.04a	8.24±0.19a
封育区 Control, ungrazed CK	6.16±0.72a	1.46±0.47ab	17.15±1.53a	0.04±0.00a	0.39±0.04a	8.41±0.08a

表中数据为均值±标准差 ($n=3$); 同列数值后标注不同字母表示经 SSR 检验处理间有显著差异 ($P < 0.05$), 相同字母的数据列表示方差分析结果显示试验处理对该观测指标影响不显著

2.2 植物多样性

各试验处理小区单位面积物种数、植物多样性指数、丰富度指数以及均匀度指数均无显著差异 (表 2)。

2.3 AM 真菌多样性

2.3.1 菌根侵染率和根外菌丝密度

菌根侵染率在不同处理之间无显著差异 (表 3)。重牧区根外菌丝密度最低, 为 2.41 m/g 土, 显著低于轻牧区 (3.58 m/g 土), 但和其它各小区差异不显著。

表 2 不同试验小区植物多样性和丰富度指数

Table 2 Plant diversity and species richness in different experimental plots				
处理 Treatments	单位面积物种数 Species per m ²	Shannon 多样性指数 Shannon-Wiener index	Margalef 丰富度指数 Margalef index	Pielou 均匀度指数 Pielou index
重牧区 HG	9.7±1.2a	1.66±0.25a	1.24±0.12a	0.73±0.08a
中牧区 MG	9.0±2.0a	1.30±0.31a	1.18±0.32a	0.60±0.16a
轻牧区 LG	9.0±1.7a	1.40±0.39a	1.22±0.30a	0.65±0.22a
封育区 CK	10.7±2.1a	1.51±0.28a	1.46±0.36a	0.64±0.08a

表 3 不同试验小区菌根侵染率和根外菌丝密度

Table 3 Infection percentage and hyphal length density of AM fungi		
处理 Treatments	菌根侵染率 Mycorrhizal colonization rate/%	菌丝密度 Hyphal length density/(m/g soil)
重牧区 HG	51.3±7.5a	2.41±0.10a
中牧区 MG	37.1±16.0a	2.97±0.69ab
轻牧区 LG	44.7±5.3a	3.58±0.44b
封育区 CK	40.7±8.6a	3.36±0.65ab

2.3.2 AM 真菌总体构成

通过 454 测序从所有土壤样品共得到 60108 条有效序列,序列长度 160 bp 至 534 bp,平均长度 385 bp。AM 真菌序列数为 59382 条,约占总有效序列的 98.8%,各样品菌根真菌序列数不等(1057—9161 条),平均约 5830 条。所得 AM 真菌序列以 97% 相似度与 MaarjAM 数据库进行比对,最终得到序列总数为 51509 条,样品之间序列数差异较大,最多为 8216 条,最少为 974 条。所有 AM 真菌序列归类至 4 目 5 科 7 属 87 VT。球囊霉属 AM 真菌有效序列数最多,共 50306 条,占总序列数 97.7%。所有球囊霉属序列归为 73 VT,占 VT 总数 83.9%。原囊霉属 AM 真菌最少,仅有 13 条序列(占总序列数 0.03%),1 个 VT(表 4)。

表 4 454 测序获得 AM 真菌序列数和虚拟分类

Table 4 Number of Sequences and VTs of AM fungi from all soil samples by 454 pyrosequencing				
目 Order	科 Family	属 Genus	VT 数 Number of VT	序列数 Number of sequences
多孢囊霉目 Diversisporales	多孢囊霉科 Diversisporaceae	Otospora	1	210
		多孢囊霉属 Diversispora	4	209
	盾巨孢囊霉科 Scutellosporaceae	盾巨孢囊霉属 Scutellospora	1	312
球囊霉目 Glomerales	球囊霉科 Glomeraceae	球囊霉属 Glomus	74	50306
		Rhizophagus	3	371
类球囊霉目 Paraglomerales	类球囊霉科 Paraglomeraceae	类球囊霉属 Paraglomus	4	88
原囊霉目 Archaeosporales	原囊霉科 Archaeosporales	原囊霉属 Archaeospora	1	13

2.3.3 物种稀释曲线

由物种稀释曲线可见,当序列数达到 2000 时,AM 真菌 VT 数上升幅度已非常缓慢,除轻牧区序列数为 1633 条外,其余各处理序列数均超过 4000 条达到平台期(图 1),所以本研究 AM 真菌多样性结果基本可以反映取样区 AM 真菌群落的真实情况。

2.3.4 AM 真菌多样性指数及均匀度指数

如表 5 所示,中度放牧区 Shannon-Wiener 多样性指数和 Pielou 均匀度指数均显著高于封育区,而 Shannon-Wiener 多样性指数在不同放牧强度小区之间差异不显著,Pielou 均匀度指数在中牧区和重牧区也较

高,与封育区相比达到显著差异。中牧区单位面积物种数及 Margalef 丰富度指数相对较高,但经统计分析与其它处理无显著性差异。

2.3.4 Chao-1 物种丰富度

表 6 给出的是各处理的 AM 真菌实测 VT 数和经计算得到的 Chao-1 物种丰富度(期望物种数)。由表中数据可以看出,实测 AM 真菌 VT 数与期望 AM 真菌物种数趋势一致(极显著正相关, $r=0.92, P<0.01$),均为重牧区最多,轻牧区最少,这从一个方面表明试验方法的可信度。对各处理平均序列数进行统计分析,结果表明,封育区平均序列数最多,约 6342 条,显著高于轻牧区(1634 条),但与另两个处理之间差异不显著(表 6)。

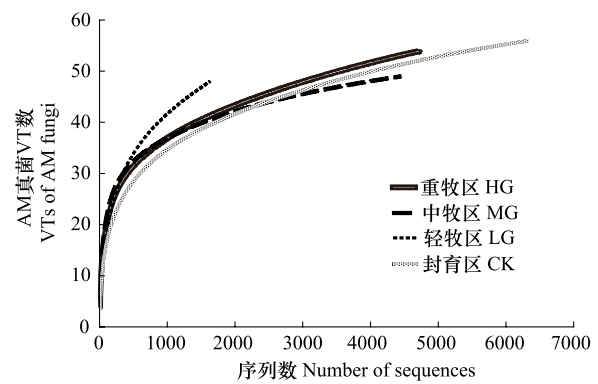


图 1 不同处理 AM 真菌物种稀释曲线
Fig. 1 AMF taxon accumulation curves along the number of sequences obtained from different experimental plots

表 5 各处理 AM 真菌多样性指数和丰富度指数
Table 5 Shannon-wiener index and Margalef index in different experimental plots

处理 Treatment	单位面积物种数 Species per Square meter	Shannon-Wiener 多样性指数 Shannon-Wiener index	Margalef 丰富度指数 Margalef index	Pielou 均匀度指数 Pielou index
重牧区 HG	32.3±4.2a	2.39±0.26ab	4.55±0.61a	0.69±0.06b
中牧区 MG	34.7±1.2a	2.67±0.21b	4.89±0.17a	0.75±0.05b
轻牧区 LG	32.3±9.7a	2.17±0.25ab	4.55±1.41a	0.63±0.02ab
封育区 CK	28.0±7.0a	1.86±0.43a	3.92±1.02a	0.56±0.10a

表 6 不同处理实测和理论 AM 真菌物种数
Table 6 Observed and estimated number of species (VT) of AM fungi in different experimental plots

处理 Treatments	平均序列数 Average sequences	实测 AM 真菌 VT 数 Observed VT of AM fungi	AM 真菌 VT 期望值 Estimated VT of AM fungi
重牧区 HG	4738±3012ab	46.7±7.8a	59.7±14.4a
中牧区 MG	4456±2275ab	44.3±2.5a	49.5±3.6a
轻牧区 LG	1634±991a	36.3±15.0a	45.0±21.8a
封育区 CK	6342±1605b	43.7±6.4a	49.5±6.7a

2.3.5 AM 真菌群落结构分析

不同小区共有及特有的 AM 真菌 VT 如图 2 所示。所有小区共有的 AM 真菌有 40 个 VT,其余不同小区间共有的 VT 数量不一,以封育区和重牧区共有的 VT 数最多(53 个)。封育区特有的 AM 真菌 VT 数最多(10 个),而轻牧区最少(2 个)。

图 3 显示各处理小区 AM 真菌群落的物种组成及丰度信息。封育区优势 VT 为 VT00130 及 VT00156,轻牧区优势 VT 为 VT00130 及 VT00214,中牧区优势 VT 为 VT00214 及 VT00295,重牧区物种丰度较高的 VT 较多,有 VT00063、VT00130 及 VT00156 等。各小区优势 VT 分布相对较集中,且处理之间存在一定的差异,但由 Mothur 软件分析不同小区 AM 真菌群落差异表明,各小区之间的群落结构并无显著性差异。

3 讨论

草地围栏封育是维护草地生态系统生产力的重要手段,也是牧区开展退化草地恢复治理的有效途径之一。大多数有关草地恢复的研究主要关注植物群落、土壤养分,或是土壤生物群落的变化^[34-36],而对生态系统地上和地下部分的协同关系考虑较少。事实上,生态系统地上部分植物群落和地下微生物群落在物种水平、群落水平及系统水平上均存在互动机制。植物从土壤中吸收水分和养分,并通过根际过程改变土壤环境,进而影响土壤微生物的种类和数量^[37];反之,根际微生物种类和数量的不同也可以改变植物从土壤中获取营

养物质的方式和途径,从而促进或抑制植物的生长^[38]。显然,对于退化草地的生态恢复过程而言,只有地上植物群落和根际微生物群落均达到稳定状态才可认为达到了生态恢复的最终阶段。本研究分析了封育 14a 后不同放牧强度草地植物群落多样性、土壤理化性质及 AM 真菌的群落多样性,结果显示长期封育使得植物群落和土壤肥力基本恢复到与对照区一致的水平(表 1 和表 2)。单桂莲等^[16]曾研究过围封年限对典型草原群落结构及物种多样性的影响,结果表明退化草地采用生长季围封措施后,群落生产力与物种多样性增加,群落结构和优势物种地位发生较大改变,在围封 14a 的时候达到群落盖度和密度的最大值。本研究进一步印证以上的研究结果。另一方面,本研究还发现 AM 真菌多样性在各处理间存在显著差异,其多样性指数和均匀度指数在中度放牧强度区最高,且显著高于对照处理(表 5)。该结果表明不同放牧强度下的草地在封育 14a 后 AM 真菌群落的恢复与地上植物群落及土壤肥力的恢复并不一致。换言之,本研究揭示了草地生态恢复过程中植物和土壤微生物群落恢复过程具有不同步性,土壤微生物群落的演替可能较地上植物群落的演替过程缓慢。454 焦磷酸测序法为第 2 代基因测序技术,具有简便、快速、获取信息量大且花费较少的优点,已广泛应用于微生物基因组研究^[39]。该方法获得 DNA 信息量大,保证了稀有 AM 真菌的可检测性,可以较好的反映自然环境中 AM 真菌的群落组成,近几年在 AM 真菌多样性研究中也逐步得以应用^[40]。由 454 测序所获得 AM 真菌序列可以与 *MarrjAM* 数据库进行比对,获得可靠的 AM 真菌分类结果。*MarrjAM* 数据库^[31]收录了所有已知球囊霉门的序列及其相关信息(寄主植物、地理位置等),并对所有序列进行统一分类和命名。该数据库中不以“种”为最小分类单位,而是统一用虚拟分类单元“VT”表示。本研究中 AM 真菌序列共归为 88 VT,与形态学鉴定及其它分子鉴定方法(如克隆文库)获得的种类数相比,检测到的多样性更高^[41-42]。本试验各处理 AM 真菌物种稀释曲线基本到达平台期(图 1),所测物种丰富度趋势与 Chao-1 丰富度趋势一致,因而可反映 AM 真菌群落的真实情况^[43]。在研究样区中球囊霉属 AM 真菌共有 73 VT,占 AM 真菌 VT 总数的 83.9%,为优势属,这与其它研究者所得出的结论一致^[41-42]。

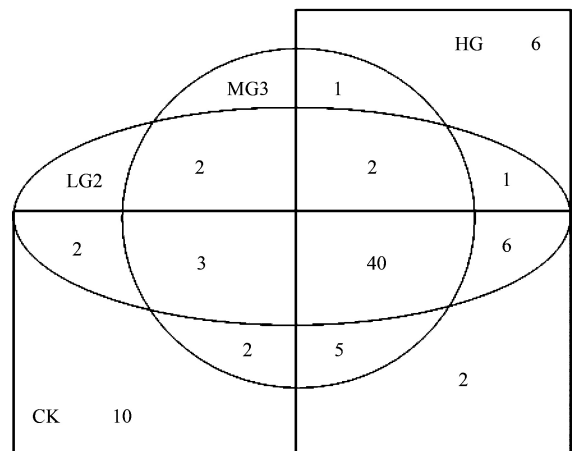


图 2 Venn 图-不同处理特有和共有 VT 数量
Fig 2 Number of unique and shared VTs among different experimental plots
图中面积大小与 VT 数量多少无关; CK, 封育区; LG, 轻度放牧区; MG, 中度放牧区; HG, 重度放牧区

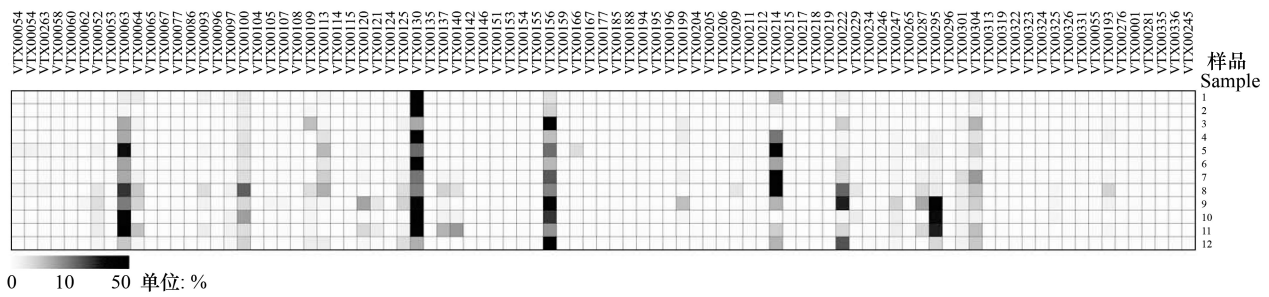


图 3 各处理小区 AM 真菌群落物种组成及丰度
Fig. 3 Composition of AM fungal community and abundance of species in different experimental plots

VT00054—VT00245 为 454 测序列分析得到的 87 个 AM 真菌 VT(虚拟分类单元); 1—12 为样品编号,其中 1—3 为封育区,4—6 为轻牧区,7—9 为中牧区,10—12 为重牧区; 方格颜色由浅到深代表群落中对应 VT 丰富度由低到高

放牧强度对草地生态系统各功能单元的影响已有很多研究报道。放牧可以影响土壤碳、氮循环^[44],随着放牧强度的增加,土壤有机质、总氮、总硫含量显著降低^[45],地上部植被生物量也有所降低^[46]。本试验中,土

壤总碳、总氮、速效氮含量以及地上部植物多样性与对照处理相比已经无显著差异(表 1,表 2),说明长达 14a 的封育已基本恢复放牧对植被和土壤的影响。有关放牧强度对 AM 真菌群落影响的报道也有很多,然而不同研究者得出的结论不一。Tian 等人^[41]对不同退化程度草地 AM 真菌多样性进行研究,其结果表明随着放牧强度的增加 AM 真菌多样性急剧降低。Ba 等^[47]的研究却显示中度放牧区的物种丰富度及均匀度最高,显著高于其它放牧强度处理。本试验 AM 真菌多样性指数和均匀度指数也是在中度放牧强度下最高,与 Ba 等的研究结果吻合,也在特定层面验证了 Connell 于 1978 年提出的中度干扰假说^[48]。该假说认为对群落实施中等强度的干扰比频繁干扰和不干扰群落的物种多样性要高,而在干扰后群落的恢复过程中,恢复中期物种丰富度最大。中度干扰假说几乎适应于所有生态系统。Sabatier 和 Molino^[49]对圭亚那地区热带雨林的研究与 Lindholm 等^[50]对奥卡万戈三角洲地区浮游生物的研究都表明所研究生态系统的物种丰富度在中度干扰水平下达到顶峰。不过,也有研究表明并不是所有情况下中度干扰处理物种多样性均达到最高,物种多样性也可能在干扰处理下没有相应变化或随着干扰强度增加而降低^[51],这与干扰方式以及干扰的空间、时间条件有密切相关。在本研究中,AM 真菌多样性对放牧强度的响应符合中度干扰假说,而植物群落生物多样性并没有表现出同样的规律,这很可能是受到特定时间节点的影响,不同生物类群对环境扰动的响应是不尽一致的。

本研究结果表明,围栏封育 14a 后梯度放牧草地植被及土壤肥力恢复到对照小区同一水平,但 AM 真菌多样性在不同处理之间仍存在差异。植被与 AM 真菌群落恢复程度的不同步性提示我们草地生态系统的退化和恢复是一个地上地下协同演进的动态过程,单一研究某一方面或某一节点都不能反映整体效应。今后的研究应该将生态系统地上与地下视为有机整体,把恢复的动态过程作为研究重点,探索生态系统地上和地下部分的协同演替规律,从而为退化草地的生态恢复及合理利用提供坚实的理论基础。

References:

- [1] Gao S Z, Zhao H, Han Z J, Chang W Q. Grassland tourism and sustainable development of grassland. *Journal of Agricultural Sciences*, 2006, 27 (3): 93-96.
- [2] Ye D Z, Chou J F, Liu J Y, Zhang Z X, Wang Y M, Zhou Z J, Ju H B, Huang Q. Causes of sand-stormy weather in Northern China and contral measures. *Acta Geographica Sinica*, 2000, 55(5): 513-520.
- [3] Green D R. Rangeland restoration projects in western New South Wales. *The Australian Rangeland Journal*, 1989, 11(2): 110-116.
- [4] Bouchard V, Tessier M, Digaire F, Vivier J P, Valery L, Gloaguen J C, Lefeuvre J C. Sheep grazing as management tool in Western European saltmarshes. *Comptes Rendus Biologies*, 2003, 326(S1): 148-157.
- [5] Hou F J, Yang Z Y. Effects of grazing of livestock on grassland. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(1): 244-264.
- [6] Wang Y H, He X Y, Zhou G S. Study on the responses of *Leymus chinensis* Steppe to grazing in Songnen Plain. *Acta Agrestia Sinica*, 2002, 10 (1): 45-49.
- [7] Watt A S. A comparison of grazed and ungrazed grassland a in east anglan breckland. *Journal of Ecology*, 1981, 69(2): 499-508.
- [8] Jia X N, Cheng J M, Wan H E. Change of species diversity on typical *Stipa bungeana* community restoration and succession in the Yunwu Mountain. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(4): 12-18.
- [9] Cheng J, Gao Y J. Variability of soil nutrient in enclosed grassland of Yunwu Mountain. *Acta Agrestia Sinica*, 2007, 15(3): 273-277.
- [10] Liu R J, Jiao H, Li Y, Li M, Zhu X C. Research advances in species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(9): 2301-2307.
- [11] Moora M, Zobel M. Effect of arbuscular mycorrhiza on inter- and intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia*, 1996, 108(1): 79-84.
- [12] Grime J P, Mackey J M L, Hillier S H, Read D J. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature*, 1987, 328 (6129): 420-422.
- [13] Van der Heijden M G A, Klironomos J N, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders I R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 1998, 396(6707): 69-72.
- [14] Dai Y, Deng B, Yang F Y, Zhang Y W. Research progress on biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland ecosystem. *Grassland and Turf*, 2007, (6): 69-72.
- [15] Wu J B, Bao X Y, Li J, Zhao N X, Gao Y B. Influence of fencing duration on community and population of *Stipa grandis* in a typical steppe. *Acta*

- Agrestia Sinica, 2010, 18(4): 490-495.
- [16] Shan G L, Xu Z, Ning F, Ma Y B, Li L H. Influence of enclosure year on community structure and species diversity on a typical steppe. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(6): 1-8.
- [17] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, Setälä H, Van der putten W H, Wall D H. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 2004, 304(5677): 1629-1633.
- [18] Zhou Q, Ou X K, Zhang Z M. Effects of belowground ecosystem on ecological restoration: a review. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(9): 1445-1453.
- [19] Johnson D W, Todd D E, Tolbert V R. Changes in ecosystem carbon and nitrogen in a loblolly pine plantation over the first 18 years. *Soil Science Society of America Journal*, 2003, 67(5): 1594-1601.
- [20] Viketoft M, Bengtsson J, Sohlenius B, Berg M P, Petchey O, Huss-Danell K. Long-term effects of plant diversity and composition on soil nematode communities in model grasslands. *Ecology*, 2009, 90(1): 90-99.
- [21] Birkhofer K, Wise D H, Scheu S. Subsidy from the detrital food web, but not microhabitat complexity, affects the role of generalist predators in an aboveground herbivore food web. *Oikos*, 2008, 117(4): 494-500.
- [22] Fang J Y, Wang X P, Shen Z H, Tang Z Y, He J S, Yu D, Jiang Y, Wang Z H, Zheng C Y, Zhu J L, Guo Z D. Methods and protocols for plant community inventory. *Biodiversity Science*, 2009, 17(6): 533-548.
- [23] Li Y K. *Conventional Analysis Methods of Soil Agricultural Chemistry*. Beijing: Science Press, 1983.
- [24] Olsen S R, Cole C V, Watanabe F S. *Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate*. Washington: USDA Circ, 1954: 939-939.
- [25] Zhen Z, Li Y, Chen H W. Sulphur determination by vario EL III elemental analyzers. *Electric Power Science and Engineering*, 2002, (4): 43-45.
- [26] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55(1): 158-161.
- [27] Jakobsen I, Abbott L K, Robson A D. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. (1) Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 1992, 120(3): 371-380.
- [28] Hamady M, Walker J J, Harris J K, Gold N J, Knight R. Error-correcting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nature Methods*, 2008, 5(3): 235-237.
- [29] Daniell T J, Husband R, Fitter A H, Young W. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 36(2/3): 203-209.
- [30] Lee J, Lee S, Young J P W. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(2): 339-349.
- [31] Öpik M, Vanatoa A, Vanatoa E, Moora M, Davison J, Kalwij J M, Reier Ü, Zobel M. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist*, 2010, 188(1): 223-241.
- [32] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, Hall J R, Hartmann M, Hollister E B, Lesniewski R A, Oakley B B, Parks D H, Robinson C J, Sahl J W, Stres B, Thallinger G G, Van Horn D J, Weber C F. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7534-7541.
- [33] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [34] Luo T X, Liu S. Influence of the intermediate grazing disturbance on the biodiversity of grassland ecosystem. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(21): 6567-6568.
- [35] Zhao H L, Okuro T, Li Y L, Zuo X A, Zhou R L. Changes of plant community in grazing and restoration processes in Horqin Sand land, Inner Mongolia. *Journal of Desert Research*, 2009, 29(2): 229-235.
- [36] Cécile V, Stéphane S, Eléonore A, Katja K, Xavier L R. Grassland management history affects the response of the nematode community to changes in above-ground grazing regime. *Nematology*, 2011, 13(8): 995-1008.
- [37] Hedlund K, Regina I S, Van der Putten W H, Lepš J, Díaz T, Korthals G W, Lavorel S, Brown V K, Gormsen D, Mortimer S R, Barrueco C R, Roy J, Smilauer P, Smilauerová M, Van Dijk C. Plant species diversity, plant biomass and responses of the soil community on abandoned land across Europe: idiosyncrasy or above-belowground time lags. *Oikos*, 2003, 103(1): 45-58.
- [38] Sanon A, Andrianjaka Z N, Prin Y, Bally R, Thioulouse J, Comte G, Duponnois R. Rhizosphere microbiota interferes with plant-plant interactions. *Plant and Soil*, 2009, 321(1/2): 259-278.
- [39] Warnecke F, Luginbühl P, Ivanova N, Ghasseman M, Richardson T H, Stege J T, Cayouette M, McHardy A C, Djordjevic G, Aboushadi N, Sorek R, Tringe S G, Podar M, Martin H G, Kunin V, Dalevi D, Madejska J, Kirton E, Platt D, Szeto E, Salamov A, Barry K, Mikhailova N,

- Kypides N C, Matson E G, Ottesen E A, Zhang X N, Hernández M, Murillo C, Acosta L G, Rigoutsos I, Tamayo G, Green B D, Chang C, Rubin E M, Mathur E J, Robertson D E, Hugenholtz P, Leadbetter J R. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*, 2007, 450(7169): 560-565.
- [40] Öpik M, Metsis M, Daniell T J, Zobel M, Moora M. Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist*, 2009, 184(2): 424-437.
- [41] Tian H, Gai J P, Zhang J L, Christie P, Li X L. Arbuscular mycorrhizal fungi in degraded typical steppe of Inner Mongolia. *Land Degradation and Development*, 2009, 20(1): 41-54.
- [42] Shi Z Y, Zhang L Y, Li X L, Feng G, Tian C Y, Christie P. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with desert ephemerals in plant communities of Junggar Basin, northwest China. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35(1): 10-20.
- [43] Chao A, Colwell R K, Lin C W, Gotelli N J. Sufficient sampling for asymptotic minimum species richness estimators. *Ecology*, 2009, 90(4): 1125-1133.
- [44] Piñeiro G, Paruelo J M, Oesterheld M. Potential long-term impacts of livestock introduction on carbon and nitrogen cycling in grasslands of Southern South America. *Global Change Biology*, 2006, 12(7): 1267-1284.
- [45] Steffens M, Kölbl A, Totsche K U, Kögel-Knabner I. Grazing effects on soil chemical and physical properties in a semiarid steppe of Inner Mongolia (P. R. China). *Geoderma*, 2008, 143(1/2): 63-72.
- [46] Wan H W, Bai Y F, Schönbach P, Gierus M, Taube F. Effects of grazing management system on plant community structure and functioning in a semiarid steppe: scaling from species to community. *Plant and Soil*, 2011, 340(1/2): 215-226.
- [47] Ba L, Ning J X, Wang D L, Facelli E, Facelli J M, Yang Y N, Zhang L C. The relationship between the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and grazing in a meadow steppe. *Plant and Soil*, 2012, 352(1/2): 143-156.
- [48] John F F. Intermediate-disturbance hypothesis. *Science*, 1979, 204(4399): 1344-1345.
- [49] Molino J F, Sabatier D. Tree diversity in tropical rain forests: a validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science*, 2001, 294(5547): 1702-1704.
- [50] Lindholm M, Hessen D O, Ramberg L. Diversity, dispersal and disturbance: cladoceran species composition in the Okavango Delta. *African Zoology*, 2009, 44(1): 24-35.
- [51] Haddad N M, Holyoak M, Mata T M, Davies K F, Melbourne B A, Preaton K. Species' traits predict the effects of disturbance and productivity on diversity. *Ecology Letters*, 2008, 11(4): 348-356.

参考文献:

- [1] 高生珠, 赵宏, 韩占军, 常万琴. 草地旅游业与草地可持续发展. *农业科学研究*, 2006, 27(3): 93-96.
- [2] 叶笃正, 丑纪范, 刘纪远, 张增祥, 王一谋, 周自江, 鞠洪波, 黄签. 关于我国华北沙尘天气的成因与治理对策. *地理学报*, 2000, 55(5): 513-520.
- [5] 侯扶江, 杨中艺. 放牧对草地的作用. *生态学报*, 2006, 26(1): 244-264.
- [6] 王玉辉, 何兴元, 周广胜. 放牧强度对羊草草原的影响. *草地学报*, 2002, 10(1): 45-49.
- [8] 贾晓妮, 程积民, 万惠娥. 云雾山本氏针茅草地群落恢复演替过程中的物种多样性变化动态. *草业学报*, 2008, 17(4): 12-18.
- [9] 程杰, 高亚军. 云雾山封育草地土壤养分变化特征. *草地学报*, 2007, 15(3): 273-277.
- [10] 刘润进, 焦惠, 李岩, 李敏, 朱新产. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展. *应用生态学报*, 2009, 20(9): 2301-2307.
- [14] 代艳, 邓波, 杨富裕, 张蕴薇. 草地生态系统丛枝菌根真菌多样性研究进展. *草原与草坪*, 2007, (6): 69-72.
- [15] 吴建波, 包晓影, 李洁, 赵念席, 高玉葆. 不同围封年限对典型草原群落及大针茅种群特征的影响. *草地学报*, 2010, 18(4): 490-495.
- [16] 单桂莲, 徐柱, 宁发, 马宝玉, 李临杭. 围封年限对典型草原群落结构及物种多样性的影响. *草业学报*, 2008, 17(6): 1-8.
- [18] 周庆, 欧晓昆, 张志明. 地下生态系统对生态恢复的影响. *生态学杂志*, 2007, 26(9): 1445-1453.
- [22] 方精云, 王襄平, 沈泽昊, 唐志尧, 贺金生, 于丹, 江源, 王志恒, 郑成洋, 朱江玲, 郭兆迪. 植物群落清查的主要内容、方法和技术规范. *生物多样性*, 2009, 17(6): 533-548.
- [23] 李西开. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1983.
- [25] 甄志, 李宇, 陈鸿伟. Vario EL III 元素分析仪测硫方法分析. *电力科学与工程*, 2002, (4): 43-45.
- [34] 罗天相, 刘莎. 中度放牧干扰对草地生物多样性影响的思考. *安徽农业科学*, 2007, 35(21): 6567-6568.
- [35] 赵哈林, 大黑俊哉, 李玉霖, 左小安, 黄刚, 周瑞莲. 科尔沁沙质草地植物群落的放牧退化及其自然恢复过程. *中国沙漠*, 2009, 29(2): 229-235.

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索自然奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 朱永官

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 33 卷 第 11 期 (2013 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 11 (June, 2013)

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	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
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 90.00 元