

DOI: 10.5846/stxb201706161096

李飞, 刘振恒, 贾甜华, 李珊珊, 白彦福, 郭灿灿, 王惟惟, 孔猛, 张涛, Awais Iqbal, 周华坤, 贾宇, 尚占环. 高寒湿地和草甸退化及恢复对土壤微生物碳代谢功能多样性的影响. 生态学报, 2018, 38(17): - .

Li F, Liu Z H, Jia T H, Li S S, Bai Y F, Guo C C, Wang W W, Kong M, Zhang T, Awais Iqbal, Zhou H K, Jia Y, Shang Z H. Functional diversity of soil microbial community carbon metabolism with the degradation and restoration of alpine wetlands and meadows. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(17): - .

高寒湿地和草甸退化及恢复对土壤微生物碳代谢功能多样性的影响

李 飞¹, 刘振恒², 贾甜华¹, 李珊珊³, 白彦福¹, 郭灿灿¹, 王惟惟³, 孔 猛¹, 张 涛¹,
Awais Iqbal¹, 周华坤⁴, 贾 宇¹, 尚占环^{1,4,*}

1 兰州大学生命科学学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州 730000

2 甘肃省玛曲县畜牧林业局草原站, 玛曲 747300

3 兰州大学草地农业科技学院, 兰州 730070

4 青海省寒区恢复生态学重点实验室, 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008

摘要: 为研究高寒湿地、草甸的退化及恢复与土壤微生物碳代谢功能多样性的关系, 以及影响土壤微生物碳代谢功能多样性的关键因素, 该研究利用 BIOLOG Eco 微平板法, 分析了甘肃玛曲地区 5 类(湿地、沼泽化草甸、高寒草甸、退化草甸、人工恢复草甸) 14 个退化与恢复样地的土壤微生物对单一碳源的利用情况。结果表明, 从湿地到沙化草地的逐渐退化过程中, 草甸的土壤微生物群落代谢活性差异显著; 主要是由于在湿地干化过程中, 微生物活性逐渐升高, 沼泽草甸土壤微生物活性最高; 随着草甸不断退化, 微生物活性逐渐降低, 沙化草地最低; 而人工补播恢复使土壤微生物活性有所增加, 表明退化对微生物碳代谢功能多样性造成显著影响, 人工恢复措施在一定程度上提高了土壤微生物活性。聚合物类(吐温 40、吐温 80、环状糊精、肝糖)、氨基酸类及碳水化合物类是土壤微生物主要利用的碳源。冗余分析结果显示, 土壤的碳氮比、含水量、有机碳、全氮、容重、氮磷比、pH 及植被覆盖度是影响土壤微生物碳代谢功能多样性的关键因子。因此, 可用土壤碳代谢功能多样性变化评价高寒湿地及草甸的退化和恢复及其变化程度。

关键词: 退化草甸; 微生物多样性; BIOLOG Eco 微平板法; 土壤理化性质; 植被

Functional diversity of soil microbial community carbon metabolism with the degradation and restoration of alpine wetlands and meadows

LI Fei¹, LIU Zhenheng², JIA Tianhua¹, LI Shanshan³, BAI Yanfu¹, GUO Cancan¹, WANG Weiwei³, KONG Meng¹, ZHANG Tao¹, Awais Iqbal¹, ZHOU Huakun⁴, JIA Yu¹, SHANG Zhanhuan^{1,4,*}

1 State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Life Sciences College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2 Grassland Station, Livestock and Forest Bureau of Gansu Maqu County, Maqu 747300, China

3 College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

4 Qinghai Provincial Key Laboratory of Ecology Restoration in Cold Region, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China

Abstract: Qinghai-Tibetan plateau being the third pole of the earth, has global ecological significance and plays a

基金项目: 国家重点研发计划课题(2016YFC0501906-2); 国家自然科学基金(41671508); 青海省创新平台建设专项(2017-ZJ-Y20)

收稿日期: 2017-06-16; **网络出版日期:** 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shangzh@lzu.edu.cn

considerable role as a watershed of major rivers of the region. Approximately 85% of the plateau comprises alpine grasslands, thus acting as a major pool for livestock grazing and providing many other ecosystem services. Over the past few decades, grassland deterioration has been the consequence of overgrazing and some other additional factors. Grassland degradation triggers adverse changes in the physical and chemical properties of the soil, which ultimately influence soil microbes. Soil microbes play a significant role in nutrition and other bio-geochemical cycling of the soil. This paper aims to explore the correlation between grassland degradation, soil microbes, and the key factors affecting the diversity of soil microbial carbon metabolism. The BIOLOG Eco microplate method was applied to analyze the community level physiological profile (CLPP) of soil microbes. In this study, we investigated the soil microbial community functional diversity profile for different types of alpine wetlands and meadows including alpine wetlands, swamp meadows, alpine meadows, and degraded and artificially restored meadows. Soil samples from the above grasslands were collected during August 2015. The BIOLOG plates were incubated at 25°C, and color development in each well was noted as optical density (OD) at 595 nm with a plate reader over a 7-d period, i.e., 24, 48, 72, 96, 120, 144, and 168 h. The variation in utilization rates of soil microbes was analyzed from 14 restoration plots with varying degrees of disturbances/degradation of 5 types of land, including wetlands, swamp wetlands, meadows, and degraded and restored meadows from the Maqu region of Gansu Province. The metabolic activity of the soil microbial community amidst different soils of various meadows was significantly different. During the process of wetland drying, microbial activity progressively increased, and the soil microbial activity was highest in the swamp meadow. Nonetheless, Microbial activity decreased gradually with meadow degradation. Sandy grasslands exhibited the lowest microbial activity, while the reseeded grasslands portrayed increased microbial activity. These results signified that degradation had a promising effect on the functional diversity of microbial carbon metabolism. However, artificial reseeded slightly increased soil microbial activity depicting that microorganism utilize polymers, amino acids, and carbohydrates as the main carbon sources. The BIOLOG data recorded at 144 h were subjected to the redundancy analysis, and the results showed that C/N ratio, total soil organic carbon, total soil nitrogen, soil bulk density, N/P ratio, pH, and plant coverage are the key factors affecting microbial function diversity. The given results elucidate that microbial diversity in swamp wetlands was the highest because of its more suitable soil nutrient status and higher vegetation cover. On the contrary, degraded meadow caused by changes in soil nutrients and physical properties created a hostile milieu for soil microbial activity. It is therefore elucidated that by monitoring soil microbial community not only predicts the status of soil and vegetation nutrition status but also reflect a theoretical basis for the restoration and improvement of degraded alpine wetlands and meadows of the Qinghai-Tibetan Plateau.

Key Words: degraded meadows; microbial diversity; BIOLOG Eco microplate; soil physical and chemical properties; vegetation

土壤微生物是土壤营养转化、能量代谢的重要参与者,其群落多样性变化受到土壤肥力^[1]及植被特性(组成、生物量)^[2]的影响。其中,土壤因素是土壤微生物群落变化的主要影响因素,其次是生物(地上生物量、植物物种丰富度)和环境(年降雨量)因素^[3]。植物从土壤中摄取养分,同时又通过残体及分泌物作用于土壤,而土壤微生物又是土壤养分循环的重要参与者,因此植被-土壤-土壤微生物三者间的相互作用,对于维持生态系统平衡十分重要^[4]。土壤退化过程中,土壤肥力、植被性质的改变,必然影响土壤微生物群落多样性的变化。因此,土壤微生物群落结构变化可作为土壤及植被变化的指示因子。

青藏高原高寒湿地,对全球生态系统平衡具有重要意义。近年来,由于全球变暖和人为干扰等因素的影响,湿地干化程度加剧,湿地向草甸演替。加之高强度的放牧进一步造成草甸退化、生产力降低,荒漠化、沙化程度加深,鼠害泛滥^[5-6],而草甸退化导致土壤碳损失、营养降低、含水量降低,土壤肥力下降等一系列问题的出现,进一步加剧了土壤退化。土壤微生物对气候及环境变化十分敏感,其群落结构变化也一定程度上反映

了土壤营养状况^[7],因此土壤微生物群落结构差异可指示土壤环境的变化。

BIOLOG Eco 作为一种研究微生物群落功能多样性的方法,其通过土壤微生物对不同单一碳源的利用情况,直接获得土壤微生物整体活性^[8]及代谢功能的差异^[9],是研究土壤微生物群落功能多样性的主要方法^[10]。目前针对草甸利用微生物碳代谢功能多样性的研究主要集中在不同植被类型、恢复措施、干扰(放牧、鼠害、围封、施肥)等方面,但目前尚未有综合分析高寒湿地、草甸变化过程中土壤微生物碳代谢功能多样性差异的研究。本文利用 BIOLOG Eco 研究退化及恢复干扰等因素作用下高寒湿地、草甸土壤微生物碳代谢功能多样性的变化规律,探究高寒地区土壤微生物多样性变化与土壤及植被性质的互作关系,为高寒地区生态系统退化和恢复及其评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 样地概况

研究地点位于若尔盖湿地玛曲县范围,玛曲县位于甘肃省甘南藏族自治州(100°45′45″—102°29′00″E, 33°06′30″—34°30′15″N),海拔 3300—4806 m,属高寒湿润型气候,年平均气温 1.2℃,降水量 615 mm,年蒸发量 1352.4 mm^[11]。玛曲地区牧草资源丰富,素有“亚洲第一优质牧场”之称,同时也是黄河上游重要的水源涵养区,在畜牧业生产及生态系统服务功能方面具有重要价值。在全球变暖等自然及人为因素干扰下,玛曲地区出现湿地萎缩、草场退化、水源涵养能力下降、土壤沙漠化等一系列环境问题^[12]。针对这些问题,国家提出退牧还草、鼠害防治、防沙治沙等措施,但这些措施并未使退化趋势得到有效遏制^[13]。湿地不断退化,减少面积大部分转变为草甸,部分草甸也呈现退化趋势,土地沙漠化面积得到有效控制^[14-15]。

实验按照玛曲湿地、草甸变化序列,从湿地到沼泽化草甸、退化草甸,及人工恢复设置研究样地。样地有湿地(MQ-1、MQ-2)、沼泽化草甸(MQ-3、MQ-4)、高寒草甸(MQ-5、MQ-6、MQ-7)、退化草甸(MQ-10→MQ-11→MQ-12→MQ-13→MQ-14)、人工恢复草甸(MQ-8、MQ-9)。其中,MQ-1、MQ-2 分别为两种类型湿地,MQ-3 和 MQ-4 均为沼泽化草甸,高寒草甸中包含两种草甸(灌丛草甸 MQ-5 和草甸(MQ-6 和 MQ-7))、退化草甸按退化强度进行分类,人工恢复草甸 MQ-8 和 MQ-9 分别为混播和单播人工草甸。各样地基本情况见表 1。土壤以泥炭土、草甸土为主。样地植被以湿地、草甸植被为主,湿地主要优势植被种分别为:碱毛茛(*Halerpestes ruthenica* (Jacq.) Ovcz.)、两栖蓼(*Polygonum amphibium* L)、海韭菜(*Triglochin maritimum*)、水麦冬(*Triglochin palustre*)等。草甸主要优势植被种分别为:青藏苔草(*Carex moorcroftii* Falc. ex Boott)、矮嵩草(*Kobresia humilis* (C. A. Mey. ex Trautv.) Sergiev.)、雪蒿(*Artemisia roxburghiana* Bess.)、黄帚橐吾(*Ligularia virgaurea* (Maxim.) Mattf.)、金露梅(*Potentilla fruticosa*)、披碱草(*Elymus dahuricus* Turcz.)、早熟禾(*Poa annua* L.)、华扁穗草(*Blysmus sinocompressus* Tang et Wang)、长毛风毛菊(*Saussurea hieracioides* Hook.f.)、异针茅(*Stipa aliena* Keng)等。

1.2 土壤和植物样品采集

于 2015 年 8 月,在甘肃省玛曲县境内,选取 14 种不同类型样地,调查植物覆盖度并采集植物和土壤样本。植物样品采用“0.5 m×0.5 m”样方,齐地刈割后带回实验室,105℃杀青 30 min,65℃烘干至恒重,测定地上生物量,粉碎后测定氮磷含量,三次重复(灌丛草甸采用“1 m×1 m”样方^[16])。根样采集使用土钻钻取土芯,去除表面凋落物^[17],3 次重复,各重复间相距至少 10 m,自封袋带回实验室清洗干净,65℃烘干至恒重,粉碎后测定氮磷含量,3 次重复。土壤样品采用“三点混合法”取样,3 次重复,各重复间相距至少 10 m,并剔除土壤样品中石块及植物残体,装入自封袋中,用冰袋将样品运回实验室,过 2 mm 筛(湿地样品剔除植物残体及碎石),部分 4℃冰箱保存备用,其余风干测定土壤理化性质。

1.3 土壤和植物样品理化性质测定

土壤基本理化性质见表 2,pH 采用 pH 计(Sartorius PB-10,德国)测定,土壤有机碳采用重铬酸钾-内稀释热法测定,土壤、植物及根的全氮、全磷采用流动注射分析仪(FIAstar 5000 Analyzer,瑞典)测定,土壤含水量

采用烘干法测定,土壤容重采用环刀法测定^[18-19]。

表 1 各样地基本概况

Table 1 The basic situation of samples

样地 Samples	海拔/m Elevation	纬度 Latitude	经度 Longitude	覆盖度/% Coverage	生物量/(g/m ²) Biomass
MQ-1 有水泥炭地 Watery peatland	3508	33°46'11"	101°43'14"	—	—
MQ-2 有水湿地 Watery wetland	3442	33°41'15"	102°07'33"	—	—
MQ-3 草甸化沼泽 Meadow swamp	3434	33°41'15"	102°07'33"	88.33±3.33	246.00±18.05
MQ-4 沼泽草甸 Swamp meadow	3508	33°46'09"	101°43'16"	96.00±3.06	225.73±12.13
MQ-5 灌丛草甸 Shrub meadow	3587	33°51'85"	101°55'26"	91.33±3.18	213.47±23.34
MQ-6 草甸 Meadow	3517	33°46'17"	101°44'15"	96.67±3.33	230.67±21.95
MQ-7 草甸(MQ-14 对照) Meadow(control of MQ-14)	3431	33°46'18"	102°12'44"	88.33±4.41	140.80±10.49
MQ-8 鼯鼠破坏退化补播恢复草甸 Restoration of meadow after zokor degradation	3538	33°52'58"	101°55'57"	82.33±5.04	217.73±16.12
MQ-9 人工补播退化草甸 Artificial replenishment of meadow after degradation	3419	33°41'39"	102°12'33"	94.33±2.33	353.33±14.47
MQ-10 中度退化草甸(MQ-9 对照) Moderate degraded meadow(control of MQ-9)	3429	33°41'38"	102°12'29"	70.00±10.41	150.00±12.06
MQ-11 退化草甸(鼠害严重) Degraded meadow(Rodents serious)	3514	33°46'27"	101°46'03"	58.33±4.41	112.00±10.74
MQ-12 黄帚橐吾退化草甸 Ligularia virgaurea degraded meadow	3534	33°47'30"	101°47'59"	78.67±16.84	198.53±26.52
MQ-13 黑土滩 Black beach	3435	33°41'39"	102°12'30"	28.33±11.67	184.93±47.24
MQ-14 沙化草地 Sandy grassland	3428	33°46'17"	102°12'43"	21.67±1.67	125.33±26.41

由于 MQ-1 与 MQ-2 为湿地,植物样品采集困难,故没有覆盖度及生物量数据

表 2 土壤基本理化性质

Table 2 Soil physical and chemical properties

样地 Samples	pH 值 pH value	总有机碳 TOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (g/kg)	总有机碳/ 全氮 TOC/TN	全氮/全磷 TN/TP	含水量 Moisture/%	容重 Bulk density/ (g/cm ³)
MQ-1	7.45±0.02b	35.87±1.42i	3.68±0.85e	1.00±0.08de	10.98±2.83bc	3.59±0.58de	31.72±4.56de	—
MQ-2	6.55±0.03i	133.66±1.02c	14.65±0.69a	2.22±0.08abc	9.17±0.41bc	6.60±0.08ab	63.20±1.56a	0.58±0.01d
MQ-3	6.37±0.03j	202.24±2.08a	13.16±1.89a	1.95±0.27bc	16.04±2.33a	6.76±0.18a	62.37±0.81a	0.49±0.08d
MQ-4	6.93±0.01ef	158.05±2.86b	12.62±0.68a	2.23±0.04abc	12.57±0.47ab	5.66±0.22c	56.13±0.87b	0.48±0.02d
MQ-5	6.58±0.02i	81.17±0.53d	8.98±0.23b	2.57±0.04a	9.04±0.17bc	3.51±0.14e	36.79±0.77c	0.66±0.08d
MQ-6	6.96±0.02e	50.08±0.61gh	6.26±0.13cde	2.08±0.05bc	8.01±0.25bcd	3.01±0.01e	28.61±0.42def	0.91±0.06bc
MQ-7	7.13±0.01c	39.41±3.20i	5.55±0.48de	1.28±0.05d	7.30±1.17cd	4.35±0.41d	22.84±1.14g	1.06±0.08b
MQ-8	6.71±0.01h	52.72±1.57fg	6.11±1.26cde	1.95±0.31bc	9.78±2.81bc	3.07±0.20e	31.41±1.33de	0.70±0.08cd
MQ-9	7.07±0.01d	46.39±2.20h	5.95±0.21cde	1.15±0.04de	7.82±0.55cd	5.21±0.33c	24.23±0.25fg	0.89±0.06bc
MQ-10	6.88±0.01f	69.95±0.82e	7.25±0.46bcd	1.34±0.03d	9.72±0.62bc	5.38±0.23c	30.17±0.83de	0.65±0.07d
MQ-11	6.92±0.00ef	51.95±2.33fgh	6.25±0.28cde	1.78±0.07c	8.32±0.24bcd	3.51±0.07e	29.11±0.30de	0.99±0.04b
MQ-12	6.83±0.02g	75.80±3.31d	8.53±0.65bc	2.27±0.26ab	8.93±0.30bc	3.80±0.20de	31.98±0.45d	0.51±0.15d
MQ-13	6.66±0.01h	57.81±1.93f	8.16±1.09bcd	1.36±0.14d	7.44±1.34cd	5.95±0.21bc	26.98±0.95efg	0.66±0.07d
MQ-14	7.52±0.02a	2.76±0.12j	0.77±0.23f	0.75±0.03e	4.22±1.06d	1.01±0.27f	4.22±0.23h	1.39±0.05a

同列不同字母表示差异显著($P<0.05$); 由于 MQ-1 为湿地,样品采集困难,故没有容重数据。TOC:总有机碳,total organic carbon; TN:全氮,total nitrogen; TP:全磷,total phosphorus

1.4 土壤微生物群落碳代谢功能多样性测定

本实验采用美国 BIOLOG Eco Microplate 测定土壤微生物群落碳代谢功能多样性。BIOLOG Eco 微平板

为 96 孔板,板内包含 3 次重复,每个重复中含六大类(碳水化合物类(7 种)、氨基酸类(6 种)、羧酸类(10 种)、胺类(2 种)、磷酸化物质类(2 种)、聚合物类(4 种))^[20]共 31 种不同单一碳源和一个空白对照,且其中多种碳源为根系分泌物。将土壤稀释液接种于孔内进行培养,土壤微生物利用板内碳源使其发生颜色反应,利用酶标仪(Thermo Multiskan FC,芬兰)读数,获得土壤微生物特征参数,从而很好的反映土壤微生物群落水平碳代谢功能多样性。

称取 10 g 混合均匀的新鲜土壤于 250 mL 锥形瓶中,在超净工作台中加入 90 mL 无菌生理盐水(0.85% NaCl),封口膜封口,置于 200 r/min 的摇床上震荡 20 min,4 ℃ 静置。取上清液,加入无菌生理盐水稀释 10³ 倍。将 BIOLOG Eco 板预热至 25 ℃,用 8 通道移液枪吸取 150 μL 稀释液加入 96 板中,25℃ 恒温培养箱培养 7 天^[20],每隔 24 h 用酶标仪读取 595 nm 吸光值数据^[21-22]。

计算公式如下:

$$AWCD = \frac{\sum (C_i - R)}{n}$$

式中,AWCD(average well color development)为平均颜色变化率(微生物碳代谢活性); C_i 表示反应孔对应的吸光值; R 表示对照孔的吸光值; n 表示碳源数量。

$$U = \sqrt{\sum n_i^2}$$

式中, U 为 McIntosh 均匀度指数; n_i 为第 i 孔的相对吸光值($n_i = C_i - R$)。

$$H' = - \sum P_i \cdot \ln P_i$$

式中, H' 为 Shannon 丰富度指数; P_i 为第 i 孔的相对吸光值 n_i 除以总的相对吸光值。

1.5 数据统计分析

利用 Excel 对样地基本数据进行计算和作图,数据采用均值±标准误进行统计。利用 SPSS 21.0 对数据进行单因素方差分析、Duncan 多重比较。利用 Pearson 相关分析比较培养 144 h 时的 AWCD 值、均匀度指数 U 、丰富度指数 H' 和土壤及植被理化性质间的相关关系。利用 Canoco for windows 4.5 对土壤微生物碳代谢功能多样性数据与理化性质进行除趋势对应分析(DCA),确定排序方式为冗余分析(RDA),对结果进行 Monte Carlo 检验,并使用 CanoDraw for windows 进行绘图。

2 结果

2.1 土壤微生物群落整体活性

平均颜色变化率(AWCD)表示土壤微生物群落的整体活性,也表示对碳源的整体利用情况。随着培养时间的增加,AWCD 值迅速升高,144 h 后数值变化趋于平缓,生长趋势呈“S 型”增长,表明土壤微生物在不断利用碳源。整体而言,不同类型样地土壤微生物活性有差异。其中,沼泽草甸和草甸化沼泽 AWCD 值最大,沙化草地 AWCD 值最小。

利用微生物活性变化趋于平缓的 144 h AWCD 值对玛曲地区不同类型样地进行分析(图 1)。144 h AWCD 值随退化及干扰强度增加呈“先上升后下降”的趋势,表明随退化程度的加深,土壤微生物总体活性先升高后逐渐降低。有水泥炭地和有水湿地均属于湿地,但其微生物活性上也存在差异。沼泽草甸微生物活性最高。人工补播后的退化草甸 AWCD 升高,表明补播一定程度上提高了微生物总体活性。黄帚橐吾退化草甸由于毒杂草的侵入,AWCD 值明显下降,表明毒杂草侵入降低了微生物整体活性。黑土滩及沙化草地相比于草甸,AWCD 值降低,表明草甸退化使得微生物活性显著降低。

2.2 土壤微生物多样性指数

土壤微生物多样性指数结果如图 2 所示。McIntosh 均匀度指数变化趋势与 AWCD(平均颜色变化率)相似,整体呈现“先上升后下降”。沼泽草甸和草甸化沼泽 McIntosh 指数最高,沙化草地 McIntosh 指数最低。

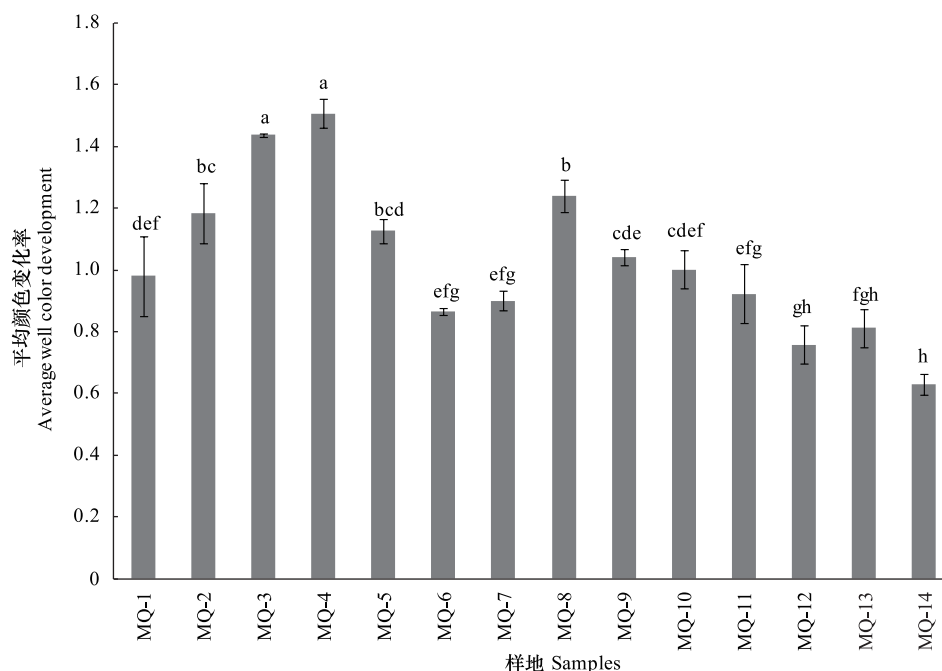


图1 调查样地 144 h AWCD 值比较

Fig.1 Comparison of 144 h AWCD values of samples

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

MQ-9 补播草甸相比于 MQ-10 草甸, McIntosh 指数有所增加, 但不显著。沙化草地 McIntosh 指数显著低于对照草甸。MQ-8 补播草甸 McIntosh 指数显著升高。Shannon 丰富度指数表示群落差异度, 反映群落丰富度。草甸化沼泽 Shannon 丰富度指数最高, 沙化草地、有水泥炭地和有水湿地 Shannon 丰富度指数最低, 其余样地差异并不显著。

2.3 相关性分析

AWCD 与土壤 pH、有机碳、全氮、TOC/TN、TN/TP、含水量、容重、覆盖度都有显著相关性, McIntosh 均匀度指数 (U) 与有机碳、全氮、TOC/TN、含水量、容重、覆盖度均有显著相关性, 而 Shannon 丰富度指数 (H') 与土壤理化性质无显著相关性, 却与植物覆盖度、氮磷含量有显著相关性, AWCD、McIntosh 均匀度指数 (U) 和 Shannon 丰富度指数 (H') 之间存在极显著正相关关系 (表 3)。由此可知, 土壤微生物群落碳代谢活性 (AWCD) 较其均匀度和丰富度对植被与土壤性质响应更为敏感; 均匀度较丰富度对土壤性质敏感, 而后者较前者对植被地上部分氮磷含量更敏感, 说明土壤微生物碳代谢功能多样性可指示土壤及植被理化性质的变化, 且微生物群落碳代谢丰富度主要依赖地上植被氮磷含量, 而其代谢活性及均与度主要依赖土壤性质的变化。

2.4 土壤微生物碳代谢功能多样性冗余分析

首先对土壤微生物碳代谢功能多样性数据进行 DCA 分析, 确定排序方式为 RDA。不同样地土壤微生物碳源利用率与环境变量的关系如图 3 所示。图中第一、二轴对变量的解释率分别为 54.2%、16.6%, 共解释变量的 70.8% (Monte Carlo permutation 999, $P = 0.001$)。第一轴解释了大多数变量, 其中各环境对土壤微生物碳代谢功能多样性的影响 (表 4) 如下: 碳氮比 > 含水量 > 总有机碳 > 全氮 > 容重 > 覆盖度 > 氮磷比 > pH > 植物含磷量 > 植物含氮量。其中, 碳氮比、含水量、有机碳、全氮对土壤微生物碳代谢功能多样性有极显著影响 ($P < 0.01$), 容重、覆盖度、氮磷比、pH 对土壤微生物碳代谢功能多样性有显著影响 ($P < 0.05$), 植物氮磷含量对土壤微生物无显著影响 ($P > 0.05$) (表 4)。

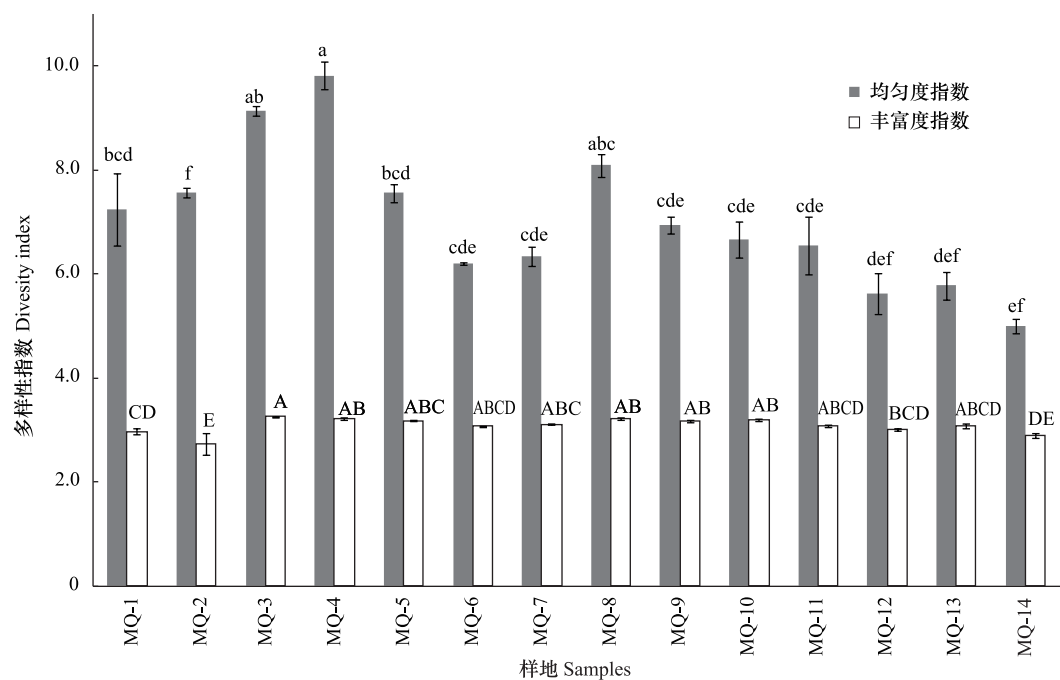


图 2 不同类型样地土壤微生物多样性指数

Fig.2 Soil microbial diversity indexes of different types of samples

不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

表 3 植物及土壤理化性质对土壤微生物碳代谢功能多样性的贡献率

Table 3 Importance of plant and soil physical and chemical properties to functional diversity of soil microbial carbon metabolism

变量 Variables	碳氮比 TOC/ TN	含水量 Moisture	有机碳 TOC	全氮 TN	容重 Bulk density	覆盖度 Coverage	氮磷比 TN/TP	pH 值 pH value	植物含磷量 TP (Grass)	植物含氮量 TN (Grass)
R^2	0.395	0.386	0.372	0.295	0.229	0.222	0.198	0.194	0.141	0.091
F	7.823	7.556	7.113	5.026	3.557	3.433	2.956	2.896	1.973	1.206
P	0.001 **	0.001 **	0.001 **	0.001 **	0.013 *	0.010 *	0.024 *	0.028 *	0.123	0.319

*, $P<0.05$; **, $P<0.01$. TOC/TN: 总有机碳与全氮的比值, the ratio of total organic carbon to total nitrogen; TOC: 总有机碳, Total organic carbon; TN: 全氮, Total nitrogen; TN/TP: 全氮与全磷的比值, the ratio of total nitrogen to total phosphorus; TP (Grass): 地上部分全磷含量, total phosphorus of aboveground; TN (Grass): 地上部分全氮含量, total nitrogen of aboveground

表 4 AWCD、 U 、 H' 与植物及土壤理化性质之间的相关性分析

Table 4 Correlation between AWCD, U , H' and the physicochemical properties of vegetation and soil

变量 Variables	平均颜色变化率 Average well color development	均匀度指数 McIntosh evenness index	丰富度指数 Shannon richness index
植物性质 Properties of vegetation			
覆盖度	0.606 *	0.602 *	0.659 *
植物含氮量	0.024	-0.024	-0.689 **
植物含磷量	0.047	0.023	-0.715 **
土壤性质 Properties of soil			
pH 值	-0.539 *	-0.452	-0.292
有机碳	0.814 **	0.785 **	0.247
全氮	0.716 **	0.660 *	0.084
总有机碳/全氮	0.827 **	0.843 **	0.461
全氮/全磷	0.586 *	0.520	0.184
含水量	0.825 **	0.799 **	0.076
容重	-0.649 *	-0.624 *	-0.290

*, $P<0.05$; **, $P<0.01$.

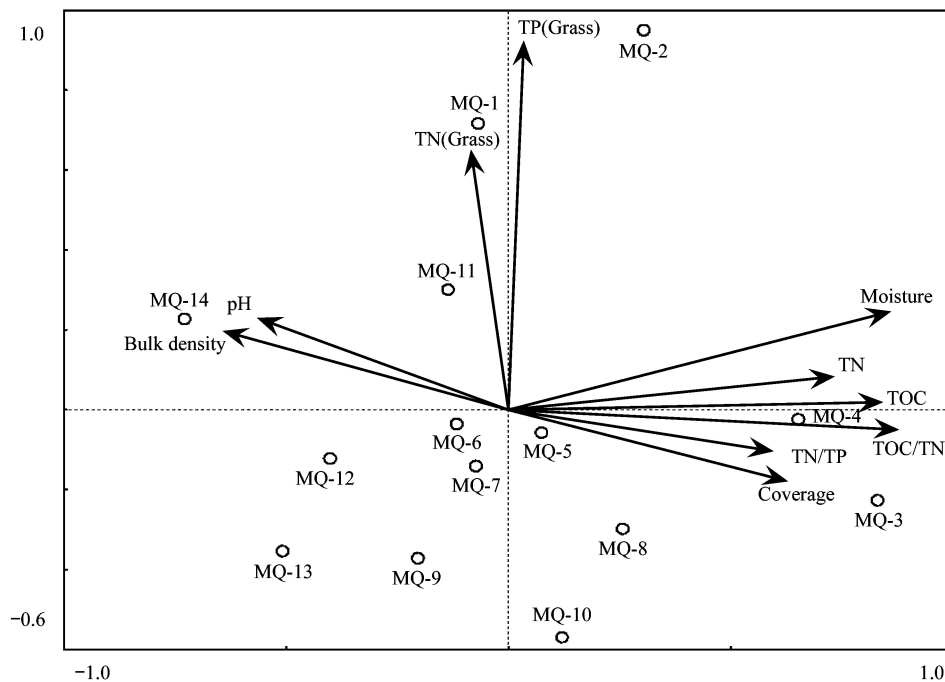


图3 不同类型样地土壤微生物碳源利用率与环境变量的冗余分析

Fig.3 Redundancy analysis of soil microbial carbon source utilization and environmental variables in different types of samples

冗余分析表示土壤微生物碳代谢情况(符号)与环境变量(箭头)间的关系;TP(Grass):地上部分全磷含量,total phosphorus of aboveground; TN(Grass):地上部分全氮含量,total nitrogen of aboveground; Coverage:植被覆盖度,the coverage of plants; Moisture:土壤含水量,the moisture of soil; TN:土壤全氮含量,the total nitrogen of soil; TOC:土壤有机碳含量,the total organic carbon of soil; TOC/TN:总有机碳与全氮的比值,the ratio of total organic carbon to total nitrogen; TN/TP:全氮与全磷的比值,the ratio of total nitrogen to total phosphorus; pH:土壤pH值,pH value of soil; Bulk density:土壤容重,the bulk density of soil

3 讨论

AWCD(平均颜色变化率)通过土壤稀释液对碳源利用的吸光值变化来表示土壤微生物活性,其变化能很好地反映整体微生物功能多样性^[23]。湿地干化并逐渐向沙漠化转变的退化过程中,土壤微生物活性先升高后降低。其中草甸化沼泽(MQ-3)、沼泽草甸(MQ-4)是湿地向草甸演替的中间过程,其微生物活性最高。相比于湿地,沼泽化草甸含水量、有机碳含量适当,利于微生物生长。有水泥炭地(MQ-1)和有水湿地(MQ-2)均为湿地,但MQ-1土壤微生物活性显著低于MQ-2($P < 0.05$),主要是因为MQ-1的土壤营养状况及含水量均低于MQ-2。灌丛草甸MQ-5相比于沼泽化草甸,其土壤微生物活性显著下降($P < 0.05$),而相比于草甸(MQ-6、MQ-7),其土壤微生物活性显著增加($P < 0.05$)。主要是因为随着退化程度的加剧,草甸荒漠化加深,土壤理化性质明显改变,土壤肥力下降,植被类型减少,毒杂草逐步成为优势种,微生物多样性呈下降趋势。人工补播草甸(MQ-8、MQ-9)通过影响植物覆盖度,进而对微生物多样性产生影响^[24],且混播(MQ-8)比单播(MQ-9)显著提高了土壤微生物活性($P < 0.05$)。

冗余分析结果表明,不同类型样地对碳源的利用情况存在差异。碳源利用率结果显示,聚合物类、氨基酸类、碳水化合物类是各样地土壤微生物主要利用的碳源,其次为羧酸类、胺类,磷酸化物质类利用率最低。聚合物类中含有糖类及氨基酸的中间代谢物^[21];氨基酸类为土壤有机氮的主要来源,是植物根系分泌到土壤的有机化合物之一^[25];碳水化合物类为土壤中最重要有机成分之一^[26]。

土壤微生物群落碳源利用差异主要受土壤营养状况^[27]、物理特性及植被^[28]的影响。本研究结果表明,土壤有机碳、全氮、含水量、C/N、N/P、植物覆盖度与微生物功能多样性呈显著正相关($P < 0.05$),而土壤pH与

土壤微生物功能多样性呈显著负相关($P<0.05$)。前人研究也发现,土壤微生物多样性主要受 pH^[29]、有机碳^[30-31]、全氮^[30,32]、碳氮比^[33]、氮磷比^[31]、含水量^[30]、容重^[34]、植物覆盖度^[31]等因素的影响。土壤容重通过影响土壤孔隙度、通气状况直接对土壤微生物(特别是好氧微生物)产生影响^[34]。地上植被覆盖度影响土壤含水量^[35],土壤含水量、氮磷比又通过限制植物生长,影响植物覆盖度、生物量及丰富度^[31,36],进而间接影响土壤微生物活性。土壤含水量又是影响土壤碳氮循环过程中相关微生物的关键因素,其通过影响土壤有机碳、全氮,进而对土壤微生物活动尤其是碳氮循环产生影响^[37]。

湿地由于气候变暖及人为干扰等因素的影响,逐渐演替为沼泽化草甸,而人为排干进一步促使向高寒草甸演替,加之放牧等因素的影响,高寒草甸不断退化并不断向荒漠化演替。随湿地退化程度的加剧,土壤营养状况下降,影响植物生长,进而对土壤微生物产生影响,而土壤微生物又是参与矿化、有机质分解、养分循环的重要因子,因而导致三者处于恶性循环,退化程度加剧。补播使得土壤微生物群落功能多样性有所增加,主要是人工补播使得土壤理化性质及植被性质改变^[38],土壤营养状况有所改善,因而人工补播对于高寒退化草地恢复十分重要^[39]。因而,维持“植物-土壤-微生物”三者间的平衡,对于湿地恢复十分重要。

4 结论

不同类型样地土壤微生物在对单一碳源利用上存在显著差异。其中,草甸化沼泽对碳源的利用率最高,其次是湿地;随退化程度加剧,草甸对碳源利用率降低,沙化草地利用率最低;人工补播草甸能一定程度的改善土壤微生物活性,提高碳源利用率;湿地、草甸退化及恢复对土壤微生物碳代谢功能多样性造成了显著的影响($P<0.05$)。土壤微生物对 6 大类碳源代谢能力表现为:聚合物类利用效率最高,其次为氨基酸类、碳水化合物类、羧酸类、胺类,聚合物类利用效率最低。RDA 分析发现,土壤微生物群落结构有明显的差异。土壤微生物群落结构的差异主要受土壤、植被理化性质的影响,其中碳氮比、含水量、有机碳、全氮对土壤微生物多样性有极显著影响,而容重、氮磷比、pH、植物覆盖度对其有显著影响。

参考文献 (References):

- [1] Chu H Y, Sun H B, Tripathi B M, Adams J M, Huang R, Zhang Y J, Shi Y. Bacterial community dissimilarity between the surface and subsurface soils equals horizontal differences over several kilometers in the western Tibetan Plateau. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(5): 1523-1533.
- [2] 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.
- [3] Chen Y L, Ding J Z, Peng Y F, Li F, Yang G B, Liu L, Qin S Q, Fang K, Yang Y H. Patterns and drivers of soil microbial communities in Tibetan alpine and global terrestrial ecosystems. *Journal of Biogeography*, 2016, 43(10): 2027-2039.
- [4] Hollister E B, Engledow A S, Hammett A J M, Provin T L, Wilkinson H H, Gentry T J. Shifts in microbial community structure along an ecological gradient of hypersaline soils and sediments. *The ISME Journal*, 2010, 4(6): 829-838.
- [5] 田福平, 陈子萱. 人为干扰对玛曲高寒退化草地的影响. *中国农学通报*, 2011, 27(20): 1-5.
- [6] 邓茂林, 田昆, 杨永兴, 王进琼. 高原湿地若尔盖国家级自然保护区景观变化及其驱动力. *生态与农村环境学报*, 2010, 26(1): 58-62.
- [7] Ros M, Goberna M, Pascual J A, Klammer S, Insam H. 16S rDNA analysis reveals low microbial diversity in community level physiological profile assays. *Journal of Microbiological Methods*, 2008, 72(3): 221-226.
- [8] 朱平, 陈仁升, 宋耀选, 刘光琇, 陈拓, 张威. 祁连山不同植被类型土壤微生物群落多样性差异. *草业学报*, 2015, 24(6): 75-84.
- [9] 王楠楠, 韩冬雪, 孙雪, 国微, 马宏宇, 冯富娟. 降水变化对红松阔叶林土壤微生物功能多样性的影响. *生态学报*, 2017, 37(3): 868-876.
- [10] Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, Moutoglou P, Klironomos J N, Lee H, Trevors J T. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 58(2): 169-188.
- [11] 何芳兰, 金红喜, 王锁民, 韩生慧, 曾荣, 马俊梅. 沙化对玛曲高寒草甸土壤微生物数量及土壤酶活性的影响. *生态学报*, 2016, 36(18): 5876-5883.
- [12] 逯军峰, 董治宝, 胡光印, 宋翔, 魏振海. 甘肃省玛曲县土地沙漠化发展及其成因分析. *中国沙漠*, 2012, 32(3): 604-609.
- [13] 冯文兰, 钟昊哲, 王永前, 龚雪梅. 2001—2013 年若尔盖地区植被退化的时空格局分析. *草地学报*, 2015, 23(2): 239-245.
- [14] 褚琳, 黄翀, 刘高焕, 刘庆生. 2000—2010 年黄河源玛曲高寒湿地生态格局变化. *地理科学进展*, 2014, 33(3): 326-335.

- [15] 胡梦珩, 潘宁惠, 李向锋, 左海玲. 1964—2014 年玛曲高原土地沙漠化驱动力定量分析. 水土保持通报, 2016, 36(4): 250-256.
- [16] 李东, 曹广民, 黄耀, 靳代樱, 明珠. 青藏高原高寒灌丛草甸生态系统碳平衡研究. 草业科学, 2010, 27(1): 37-41.
- [17] 熊德成, 黄锦学, 刘小飞, 林伟盛, 林成芳, 陈光水, 谢锦升, 杨玉盛. 中亚带杉木人工林细根生物量空间变异与取样数量估算. 生态学报, 2016, 36(6): 1599-1607.
- [18] 中国土壤学会. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 12-289.
- [19] 张蕊. 高寒草地植物氮素利用与草地退化对土壤及根系碳/糖的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2015.
- [20] Nair A, Ngouajio M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. *Applied Soil Ecology*, 2012, 58: 45-55.
- [21] Zhang T Y, Wu Y H, Zhuang L L, Wang X X, Hu H Y. Screening heterotrophic microalgal strains by using the Biolog method for biofuel production from organic wastewater. *Algal Research*, 2014, 6: 175-179.
- [22] Lagerlöf J, Adolfsson L, Börjesson G, Ehlers K, Vinyoles G P, Sundh I. Land-use intensification and agroforestry in the Kenyan highland: impacts on soil microbial community composition and functional capacity. *Applied Soil Ecology*, 2014, 82: 93-99.
- [23] Rutgers M, Wouterse M, Drost S M, Breure A M, Mulder C, Stone D, Creamer R E, Winding A, Bloem J. Monitoring soil bacteria with community-level physiological profiles using BiologTM ECO-plates in the Netherlands and Europe. *Applied Soil Ecology*, 2016, 97: 23-35.
- [24] Waldrop M P, Holloway J M, Smith D B, Goldhaber M B, Drenovsky R E, Scow K M, Dick R, Howard D, Wylie B, Grace J B. The interacting roles of climate, soils, and plant production on soil microbial communities at a continental scale. *Ecology*, 2017, 98(7): 1957-1967.
- [25] 宋贤冲, 郭丽梅, 田红灯, 邓小军, 赵连生, 曹继钊. 猫儿山不同海拔植被带土壤微生物群落功能多样性. 生态学报, 2017, 37(16): 5428-5435.
- [26] 房蕊, 鲁彩艳, 史奕. CO₂ 和 O₃ 浓度升高对土壤碳水化合物累积分布特征的影响. 农业环境科学学报, 2010, 29(S1): 285-288.
- [27] Castrillo G, Teixeira P J P L, Paredes S H, Law T F, De Lorenzo L, Feltcher M E, Finkel O M, Breakfield N W, Mieczkowski P, Jones C D, Paz-Ares J, Dangl J L. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. *Nature*, 2017, 543(7646): 513-518.
- [28] Wu G L, Ren G H, Dong Q M, Shi J J, Wang Y L. Above- and belowground response along degradation gradient in an alpine grassland of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Clean-Soil Air Water*, 2014, 42(3): 319-323.
- [29] Sharma K L, Grace J K, Mishra P K, Venkateswarlu B, Nagdeve M B, Gabhane V V, Sankar G M, Korwar G R, Chary G R, Rao C S, Gajbhiye P N, Madhavi M, Mandal U K, Srinivas K, Ramachandran K. Effect of Soil and nutrient-management treatments on soil quality indices under cotton-based production system in rainfed semi-arid tropical vertisol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2011, 42(11): 1298-1315.
- [30] Chu H J, Wang S P, Yue H W, Lin Q Y, Hu Y G, Li X Z, Zhou J Z, Yang Y F. Contrasting soil microbial community functional structures in two major landscapes of the Tibetan alpine meadow. *Microbiologyopen*, 2014, 3(5): 585-594.
- [31] Liu Z F, Fu B J, Zheng X X, Liu G H. Plant biomass, soil water content and soil N:P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: a regional scale study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 445-450.
- [32] Yue H W, Wang M M, Wang S P, Gilbert J A, Sun X, Wu L W, Lin Q Y, Hu Y G, Li X Z, He Z L, Zhou J Z, Yang Y F. The microbe-mediated mechanisms affecting topsoil carbon stock in Tibetan grasslands. *The ISME Journal*, 2015, 9(9): 2012-2020.
- [33] Bending G D, Turner M K, Jones J E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(8): 1073-1082.
- [34] 郭金瑞, 宋振伟, 朱平, 高洪军, 彭畅, 邓艾兴, 张卫建. 长期不同种植模式对东北黑土微生物群落结构与土壤理化性质的影响. 土壤通报, 2016, 47(2): 353-359.
- [35] 蔡晓布, 张永青, 邵伟. 不同退化程度高寒草原土壤肥力变化特征. 生态学报, 2008, 28(3): 1034-1044.
- [36] Bai Y F, Wu J G, Xing Q, Pan Q M, Huang J H, Yang D L, Han X G. Primary production and rain use efficiency across a precipitation gradient on the Mongolia Plateau. *Ecology*, 2008, 89(8): 2140-2153.
- [37] 文东新, 杨宁, 杨满元. 衡阳紫色土丘陵坡地植被恢复对土壤微生物功能多样性的影响. 应用生态学报, 2016, 27(8): 2645-2654.
- [38] Yang Z, Hao H M, Wang D, Chang X F, Zhu Y J, Wu G L. Revegetation of artificial grassland improve soil organic and inorganic carbon and water of abandoned mine. *Journal of Soil science and Plant Nutrition*, 2015, 15(3): 629-638.
- [39] Dong S K, Wang X X, Liu S L, Li Y Y, Su X K, Wen L, Zhu L. Reproductive responses of alpine plants to grassland degradation and artificial restoration in the Qinghai-Tibetan plateau. *Grass and Forage Science*, 2015, 70(2): 229-238.