

DOI: 10.5846/stxb201706301182

韦应莉, 曹文侠, 李建宏, 张爱梅, 李小龙, 马周文. 不同放牧与围封高寒灌丛草地土壤微生物群落结构 PLFA 分析. 生态学报, 2018, 38(13): - .
Wei Y L, Cao W X, Li J H, Zhang A M, Li X L, Ma Z W. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis of soil microbial community structure with different intensities of grazing and fencing in alpine shrubland. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(13): - .

不同放牧与围封高寒灌丛草地土壤微生物群落结构 PLFA 分析

韦应莉¹, 曹文侠^{1,*}, 李建宏¹, 张爱梅², 李小龙¹, 马周文

¹ 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 兰州 730070

² 西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070

摘要: 土壤微生物群落可以指示土壤质量变化, 是土壤生态系统变化的预警及敏感指标。采用磷脂脂肪酸 (PLFA) 分析方法研究了高寒杜鹃灌丛草地不同强度放牧及围封后, 土壤微生物群落结构特征的变化规律和响应。结果显示, 高寒杜鹃灌丛草地土壤总 PLFA 量、细菌生物量、真菌生物量和放线菌生物量均随着放牧强度的增大而显著降低 ($P < 0.05$)。重牧灌丛草地, 围封后的土壤总 PLFA 量、细菌生物量、放线菌生物量、 G^+/G^- 和压力指数显著高于放牧处理, 而细菌/真菌比显著低于放牧处理; 中牧灌丛草地, 围封后的土壤总 PLFA 量、细菌生物量、细菌/真菌比显著高于放牧处理, 而真菌生物量和压力指数显著低于放牧处理; 轻牧灌丛草地, 围封处理的土壤各生物量和生物量比值与放牧处理无显著差异。PLFA 主成分分析表明: 主成分一 (PC1) 主要包括 14:0、15:0、10Me16:0 和 18:1 ω 9c 等直链饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸, 占 PC1 的 53.68%; 主成分二 (PC2) 主要包括由 i16:0、16:1 ω 7c、i17:0、cy17:0、17:0、18:1 ω 9t、18:0 和 cy19:0 等支链饱和脂肪酸和环丙烷脂肪酸组成, 占 PC2 的 51.34%; 各处理样地土壤微生物群落结构相似; 围封处理的响应程度大于放牧处理。相关性分析表明, 土壤总 PLFA 量、细菌生物量、真菌生物量和放线菌生物量与土壤有机碳、全氮均呈极显著正相关, 细菌/真菌比值与土壤有机碳、全氮呈极显著负相关。以上表明过度放牧降低了高寒灌丛草地土壤微生物活性, 显著降低了土壤微生物生物量, 适度放牧和围封可维持土壤微生物群落结构的稳定, 围封有利于过度放牧草地土壤微生物的恢复。

关键词: 放牧; 围封; 土壤微生物群落结构; 磷脂脂肪酸

Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis of soil microbial community structure with different intensities of grazing and fencing in alpine shrubland

WEI Yingli¹, CAO Wenxia^{1,*}, LI Jianhong¹, ZHANG Aimei², LI Xiaolong¹, MA Zhouwen

¹ Grassland Science College of Gansu Agricultural University, Grassland Ecosystem Key Laboratory of Ministry of Education Lanzhou 730070, China

² Life Sciences College of Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

Abstract: The soil microbial community, which indicates soil quality changes, has been regarded as an early warning and sensitive indicator of soil ecosystem change. The phospholipid fatty acid (PLFA) method was used to study the changing rule and response of the soil microbial community structure to different intensities of grazing and fencing of alpine rhododendron shrubland. The results showed that soil total PLFA, bacterial biomass, actinomycetes biomass, and fungi biomass were significantly reduced with an increase in grazing intensity ($P < 0.05$). At heavy grazing intensity, soil total PLFA, bacterial biomass, actinomycetes biomass, G^+/G^- ratio, and the stress index after the fenced treatment were significantly higher than those after the grazing treatment, whereas the bacteria/fungi ratio after the fenced treatment was significantly lower than that

基金项目: 国家自然科学基金 (31360569, 31360005)

收稿日期: 2017-06-30; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: caowx@gsau.edu.cn

after the grazing treatment. At medium grazing intensity, soil total PLFA, bacterial biomass, and bacteria/fungi ratio were significantly higher than those after the grazing treatment, whereas fungal biomass and the stress index were significantly lower than those after the grazing treatment. At light grazing intensity, biomass and biomass ratio after the fenced treatment and those after the grazing treatment were not significantly different. PLFA principal component analysis (PCA) showed that 53.68% of PC1 was composed of straight-chain saturated and unsaturated fatty acids 14:0, 15:0, 10Me16:0, and 18:1 ω 9c, whereas 51.34% of PC2 was composed of branched-chain saturated and cyclopropane fatty acids i16:0, 16:1 ω 7c, i17:0, cy17:0, 17:0, 18:1 ω 9t, 18:0, and cy19:0. Grazing grassland and fenced grassland of different grazing intensities had similar soil microorganisms. The fenced treatment affected the microbial community structure to a greater extent than did the grazing treatment. Correlation analysis showed that soil total PLFA, bacteria biomass, fungi biomass, and actinomycetes biomass were significantly and positively correlated with soil organic carbon and total nitrogen at $p < 0.001$, whereas bacteria/fungi had a significant and negative correlation with soil organic carbon and total nitrogen ($P < 0.001$). The above indicated that overgrazing reduces soil microbial activity of alpine shrublands and significantly reduces the soil microbial biomass, the soil microbial community was stable in fenced and moderately grazed areas, and fencing is advantageous to recovery of the soil microbial community in overgrazed grasslands.

Key Words: grazing; fenced; soil microbial community structure; phospholipid fatty acid

土壤微生物是微生物界的重要成员,对土壤肥力的形成和转化起着积极作用。土壤微生物作为生态系统能量流动与物质循环的重要角色,受土壤环境和地上生物量的影响,对预测土壤有机质乃至土壤环境的变化过程敏感^[1]。土壤微生物群落结构和功能的改变,可以进一步反映外界环境的变化,对于土壤生态环境的动态监测具有重要的指示作用^[2-5]。由于土壤微生物的数量巨大,组成极为复杂,用传统的土壤微生物研究方法往往会低估土壤微生物真实状况,给准确了解微生物群落结构带来困难^[6]。磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acids, PLFA)是活体微生物细胞膜恒定组分,它对环境因素比较敏感、能在生物体外迅速降解,因此特定菌群 PLFA 数量改变可反映原位土壤真菌、细菌活体生物量与菌群结构^[7]。磷脂脂肪酸(PLFA)法具有对试验条件要求低、测试功能多和稳定性好等优点^[8],被广泛应用于微生物动态检测中。王曙光等^[9]主要对磷脂脂肪酸(PLFA)方法在土壤微生物分析中的应用做一剖析。颜慧等^[10]将常用的研究微生物多样性的几种方法进行了比较,通过一些实例证明 PLFA 方法的特色或独到之处。

放牧是人类利用草地资源的主要方式,而不合理的放牧将使草地植被退化,导致土壤养分循环恶化^[11-12]。另外,不同强度放牧不仅对土壤微生物各类群数量产生影响,还影响微生物类群的组成^[13]。围封作为退化草地生态系统恢复的重要手段,其对土壤微生物多样性及群落结构变化的影响逐渐成为近年来研究的热点之一。李春莉等^[14]研究发现,适度的放牧使土壤微生物数量增加,而不放牧和过度放牧不利于土壤微生物的生长。张成霞和南志标^[15]对不同放牧强度下陇东天然草地土壤微生物三大类群的动态特征研究表明,围栏封育和适度放牧均有助于土壤微生物的恢复,使草地土壤微生物的数量增加,但过度放牧降低了土壤微生物的活性,导致微生物数量下降。祁连山作为青藏高原和北部内陆荒漠地区重要的分水岭,地处青藏、蒙新、黄土三大高原交汇地带,形成了独具特色的生物多样性和成土条件^[16]。高寒杜鹃灌丛草地作为东祁连山主要地带性植被之一,其生态系统脆弱,退化程度日益加重,且恢复周期长^[17]。放牧对高寒灌丛草地产生的影响如何,过度放牧后的围封恢复在土壤微生物方面有何响应并不清楚。本研究以高寒杜鹃灌丛草地为研究对象,旨在探讨不同强度放牧和围封对高寒灌丛草地土壤微生物群落及其结构特征的影响,从而揭示了微生物对灌丛草地围封和放牧后的变化规律和响应,为祁连山高寒杜鹃灌丛草地的合理利用提供有效措施和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区自然概况

试验地选在青藏高原东部的天祝县金强河地区(37°11' N,102°47' E),平均海拔 3200 m,年均温-0.1℃,最冷月(1 月)平均气温为-18.3℃,最热月(7 月)平均气温为 12.7℃;≥0℃和≥10℃的年积温分别为 1581℃和 1026℃;年降水量 416 mm,多为地形雨(其中 66%集中在 7—9 月);年蒸发量 1592 mm。无绝对无霜期,每年 5 月下旬植被进入返青期,10 月上旬枯黄,生长季长 120—140 d。土壤为高山灌丛草甸土,显微碱性,土层较薄,为 40—80 cm。植被分布受地形特征和气候差异等因素的影响,垂直分异明显,沿海拔梯度向上依次分布着珠芽蓼草甸、金露梅灌丛、杜鹃灌丛等。试验设在杜鹃灌丛草地,坡向西北。灌下生长着以问荆(*Equisetum arvense*)、珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)、嵩草(*Kobresia* spp.)、苔草(*Carex* spp.)等为优势种的草层植物。

1.2 样地设置与样品采集

2014 年 6 月,选取坡向和海拔一致围栏高寒杜鹃灌丛草地作为研究样地,以相邻禁牧杜鹃灌丛为未放牧利用的参照草地,根据农业部放牧利用草地退化分级标准,综合考虑灌下可饲用草本植物利用率、可饲用灌木被采食率,灌丛地境土壤基况及家畜践踏程度^[18],将样地划分为:重度放牧(HG)、中度放牧(MG)、轻度放牧(LG)。分别在不同放牧强度灌丛草地内沿海拔方向各设置 3 个 100 m×30 m 的围栏,共 9 个围栏,实施全年禁牧,作为恢复样地,继续观测,以围栏外的自由放牧围封灌丛草地为对照,放牧家畜为藏羊、牦牛。

土壤样品于 2016 年 8 月中旬采集,鉴于围封时间较短,而且草地土壤中微生物数量的垂直分布一般是上层大于下层^[19],本试验取 0—10 cm 土壤,按照 S 型曲线选择 40 个点,去除表面植被,用直径为 3.5 cm 的土钻取样,最后将 40 份土样混匀过筛,去除根系和土壤入侵物,采用“四分法”选取 1 kg 土样冷藏带回实验室保存于-70℃超低温冰箱,用于测定土壤微生物 PLFA 分析;一份带回实验室风干,用于测定土壤有机质和全氮。

1.3 测定方法

1.3.1 PLFA 的测定

土壤中脂肪酸的提取和检测主要分为 4 步:提取、分离、酯化、GC-MS 分析^[1-2]。

主要试剂:37 种脂肪酸混标(FAME)(Supelco, USA)和 26 种脂肪酸混标(BAME)(Supelco, USA)。

1.3.2 土壤有机质和全氮分别采用重铬酸钾-外加热法和半微量凯氏法。

1.3.3 数据分析

脂肪酸采用 Frostegård 方法命名^[20]。PLFA 可以作为微生物生物量和群落结构变化的生物标记分子^[20-21]。根据已有的研究结果,指示特定微生物的 PLFA 生物标记物如下表(表 1)。微生物生物量用各 PLFA 含量加和表示^[25],另外,常用一些相关生理比值来分析磷脂脂肪酸(PLFA)数据,如(*cyc17:0+cyc19:0*)/(*16:1ω7c+18:1ω7c*)表示压力指数^[26]、细菌/真菌、革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌(*G⁺/G⁻*)。用 SPSS 19.0 对试验数据进行方差分析、差异显著性比较(α=0.05)、主成分分析和相关性分析;采用 Excel 作图。

表 1 不同微生物种群的磷脂脂肪酸标记

Table 1 PLFA of different microbial communities		
微生物类型 Microbial group	磷脂脂肪酸标记 Phospholipids fatty acids signatures	文献 Reference
细菌 Bacteria	14:0, i15:0, a15:0, 15:0, 16:0, i16:0, i17:0, 16:1ω7c, cyc17:0, 17:0, 18:0, cyc19:0, 20:0	[21]
革兰氏阳性菌 Gram-positive bacteria	i15:0, a15:0, i16:0, i17:0	[22]
革兰氏阴性菌 Gram-negative bacteria	16:1ω7c, cyc17:0, cyc19:0	[21]
放线菌 Actinomycetes	10Me16:0, 10Me18:0	[23]
真菌 Fungi	18:1ω9c, 18:1ω9t, 18:2ω6, 9	[24]

2 结果与分析

2.1 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤有机碳、全氮含量的影响

方差分析结果表明(表2),高寒杜鹃灌丛草地土壤有机碳和全氮含量随着放牧强度的增强而降低,且差异显著($P<0.05$)。LG灌丛草地土壤有机碳含量比MG高44.0%左右,全氮含量比MG高25.0%左右;MG灌丛草地土壤有机碳比HG高38.0%左右,全氮含量比HG高22%左右。各个放牧强度下围封处理后的土壤有机碳和全氮含量略高于放牧处理,但均未达到显著水平。

表2 不同放牧强度下土壤有机碳、全氮含量(g/kg)

Table 2 organic-C and Total-N on soils in different grazing intensity (g/kg)

项目 Items	轻牧 Light grazing (LG)		中牧 Moderate grazing (MG)		重牧 Heavy grazing (HG)	
	放牧 Grazing	围封 Fenced	放牧 Grazing	围封 Fenced	放牧 Grazing	围封 Fenced
有机碳 Organic-C	82.56±0.40a	83.48±0.75a	57.17±0.54b	58.14±0.42b	41.31±0.69c	41.55±0.0.67c
全氮 Total-N	5.37±0.27a	5.70±0.10a	4.31±0.27b	4.46±0.18b	3.45±0.13c	3.69±0.09c

注:同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤磷脂脂肪酸数量的影响

如图1,各个样地均检测出18种脂肪酸(14:0,i15:0,a15:0,15:0,16:0,i16:0,i17:0,16:1ω7c,cy17:0,17:0,10Me16:0,10Me18:0,18:2ω6,18:1ω9c,18:1ω9t,18:0,cy19:0,20:0),其中都以16:0和10Me16:0的含量最高,i15:0,16:1ω7c,10Me16:0,16:0和18:1ω9c的总和占脂肪酸总量的64%—68%。由表3可知,构成脂肪酸的主要是6种支链饱和脂肪酸(BFA),绝对含量占总量的42.25%—47.10%,其中主要是i15:0和10Me16:0;其次是6种直链饱和脂肪酸(SFA),绝对含量占总量的23.18%—27.81%,其中主要是16:0和18:0;3种直链单不饱和脂肪酸(MFA),绝对含量占总量的21.18%—22.23%,其中主要是16:1ω7c和18:1ω9c;多不饱和脂肪酸(PFA)1种,绝对含量占总量的1.44%—2.12%;环丙烷脂肪酸2种,绝对含量占总量的4.61%~6.22%。

表3 不同样地土壤磷酸脂肪酸类型及其比例(%)

Table 3 PLFAs and their proportions of different sample sites (%)

磷酸脂肪酸 PLFAs	轻牧 Light grazing (LG)		中牧 Moderate grazing (MG)		重牧 Heavy grazing (HG)	
	放牧 Grazing	围封 Fenced	放牧 Grazing	围封 Fenced	放牧 Grazing	围封 Fenced
直链饱和脂肪酸 Saturated fatty acids (SFA)	27.68	27.81	25.75	23.18	27.03	23.98
多不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acids (PFA)	2.04	2.12	1.82	1.49	1.44	1.60
直链单不饱和脂肪酸 Monounsaturated fatty acids (MFA)	21.44	21.18	22.02	22.21	22.04	22.23
支链饱和脂肪酸 Branched fatty acids (BFA)	43.78	43.79	45.12	47.10	42.25	45.57
环丙烷脂肪酸 Cyclo fatty acids (CFA)	4.63	4.61	4.84	5.68	5.50	6.22

由图1可知,脂肪酸14:0、15:0、16:0、17:0、18:0、18:2ω6、9、18:1ω9c、18:1ω9t、10Me16:0和10Me18:0的含量随着放牧强度的增强而降低,且达到显著水平($P<0.05$)。围封处理下,i15:0,i16:0,i17:0含量在HG和MG间无显著差异,但显著高于LG灌丛草地;16:1ω7c(好氧细菌)含量在MG出现峰值,且差异显著($P<0.05$),在LG和HG间无显著差异;(厌氧细菌)cy17:0和cy19:0的含量在各个放牧强度间存在显著差异($P<0.05$),且cy17:0随着放牧强度的增强而升高;a15:0和20:0的含量在各个放牧强度间无显著差异;放牧处理下,脂肪酸i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、cy17:0和cy19:0的含量在各个放牧强度下随着放牧强度的增大而降

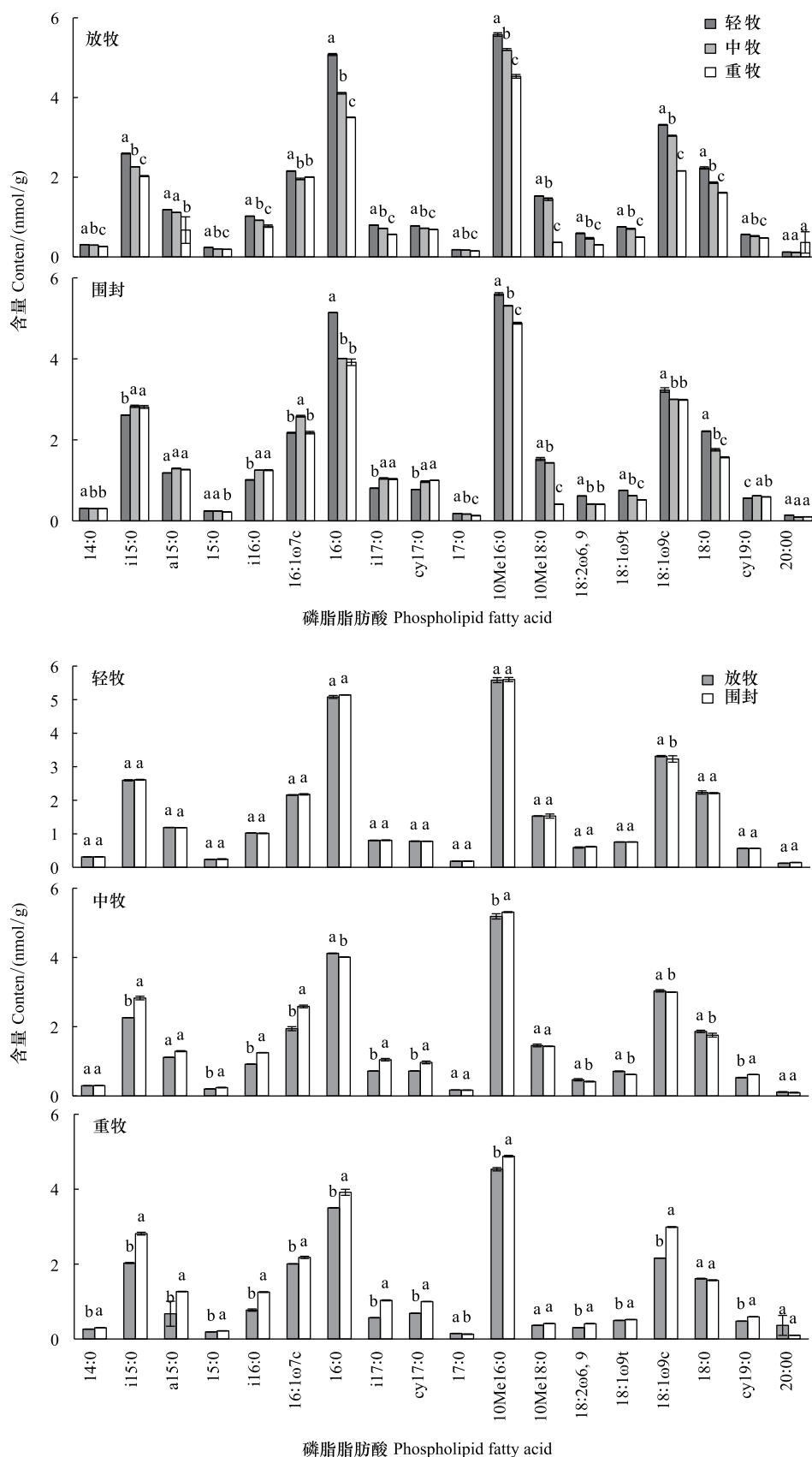


图 1 不同样地土壤微生物 PLFA 图谱

Fig.1 Soil microbial PLFA profiles of different sample sites

各个菌落相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)

低,且差异显著($P<0.05$);16:1 ω 7c 含量在 MG 灌丛草地出现最低值,且显著低于 LG 灌丛草地($P<0.05$),但与 HG 差异不显著;20:0 的含量在各个放牧强度间均无显著差异。HG 强度下,围封处理后的 18:0 和 20:0 含量低于放牧处理,但差异不显著,而其它脂肪酸的含量都高于放牧处理,且都达到显著水平($P<0.05$);MG 强度下,围封处理后的 14:0、15:0、16:1 ω 7c、15:0、16:0、17:0、10Me16:0、cy17:0 和 cy19:0 的含量都高于放牧处理,16:0、17:0、10Me18:0、18:1 ω 9c、18:1 ω 9t、18:2 ω 6,9 和 18:0 的含量都低于放牧处理;LG 强度下,围封处理后的 18:1 ω 9c 的含量高于放牧处理,且差异显著($P<0.05$),而其它脂肪酸的含量与放牧处理无显著差异。

2.3 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物群落结构的影响

磷脂脂肪酸的组成可以反映土壤微生物群落的细微变化,如生物量和分类结构的改变^[27]。土壤微生物的生物量可通过直接从土壤中提取的磷脂脂肪酸的量来准确地表达。

2.3.1 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物 PLFA 总量的影响

由图 2 可以看出,方差分析表明,土壤微生物 PLFA 总量随着放牧强度的增强而降低,且达到显著水平($P<0.05$)。围封处理下,LG 灌丛草地土壤微生物 PLFA 总量分别比 MG 和 HG 高 4.1%和 13.8%,MG 比 HG 高 9.2%;放牧处理下,LG 土壤微生物 PLFA 总量分别比 MG 和 HG 高 12.4%和 37.3%,MG 比 HG 高 22.2%。HG 和 MG 强度下,围封处理后的灌丛草地土壤微生物总量分别比放牧处理高 8.1%和 20.9%,且达到显著水平($P<0.05$);LG 强度下,围封处理后的灌丛草地土壤微生物 PLFA 总量略高于放牧处理,但未达到显著水平。说明随着放牧强度的增大,土壤微生物的生物总量不断减少,各个放牧强度下围封处理后的微生物的生物总量都高于放牧处理,但在 HG 强度下围封处理对微生物总生物量的提高作用比较明显。

2.3.2 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地细菌生物量的影响

如图 2,土壤细菌生物量随着放牧强度的增强而降低,且达到显著水平($P<0.05$)。围封处理下,LG 灌丛草地土壤细菌生物量分别比 MG 和 HG 高 1.2%和 6.1%,MG 比 HG 高 4.9%,在 LG、MG 和 HG 强度下,细菌生物量占微生物总量的百分数分别为 59.7%、61.4 和 64.0%;放牧处理下,LG 土壤细菌生物量分别比 MG 和 HG 高 15.3%和 29.9%,MG 比 HG 高 12.7%,在 LG、MG 和 HG 强度下,细菌生物量占微生物总量的百分数分别为 59.5%、58.0%和 62.9%。HG 和 MG 强度下,围封处理后的土壤细菌生物量分别比放牧处理高 23.1%和 14.6%,且差异显著($P<0.05$);LG 强度下,围封处理后的土壤细菌生物量略高于放牧处理,但差异不显著。可以看出,围封处理和放牧处理在不同放牧强度下土壤微生物细菌的生物量变化与微生物总生物量变化大致相同,这也证明了土壤微生物是以细菌为主体的群落结构。

2.3.3 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤真菌生物量的影响

见图 2,土壤真菌生物量随着放牧强度的增强而降低,且差异显著($P<0.05$)。围封处理下,LG 灌丛草地土壤细菌生物量分别比 MG 和 HG 高 14.0%和 17.5%,MG 比 HG 高 12.1%;放牧处理下,LG 土壤细菌生物量分别比 MG 和 HG 高 10.5%和 57.4%,MG 比 HG 高 42.4%。HG 强度下,围封处理后的土壤真菌生物量比放牧处理高 32.2%,且差异显著($P<0.05$);MG 强度下,围封处理后的土壤真菌生物量显著比放牧处理低 4.3%,且达到显著水平($P<0.05$);LG 强度下,围封处理后的土壤真菌生物量略高于放牧处理,但未达到显著水平。可以看出,围封处理在 LG 和 MG 强度下使土壤真菌生物量降低,而在 HG 强度下又使土壤真菌生物量显著增加,总的来看,不管是放牧处理还是围封处理,土壤真菌生物量都随着放牧强度的增大而降低,且各个放牧强度下围封处理对土壤真菌生物量影响作用各不相同。

2.3.4 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤放线菌生物量的影响

图 2,土壤放线菌生物量随着放牧强度的增强而降低,且差异显著($P<0.05$)。围封处理下,LG 土壤放线菌生物量分别比 MG 和 HG 高 5.7%和 34.7%,MG 比 HG 高 27.4%;放牧处理下,LG 土壤放线菌生物量分别比 MG 和 HG 高 7.0 和 45.2%,MG 比 HG 高 35.7%。HG 强度下,围封处理后的土壤放线菌生物量比放牧处理高 8.1%,且差异显著($P<0.05$);LG 和 MG 强度下,围封处理后的土壤放线菌生物量略高于放牧处理,但未达到显著水平。结果表明,土壤放线菌生物量都随着放牧强度的增大而降低;围封处理能使灌丛草地土壤放线菌

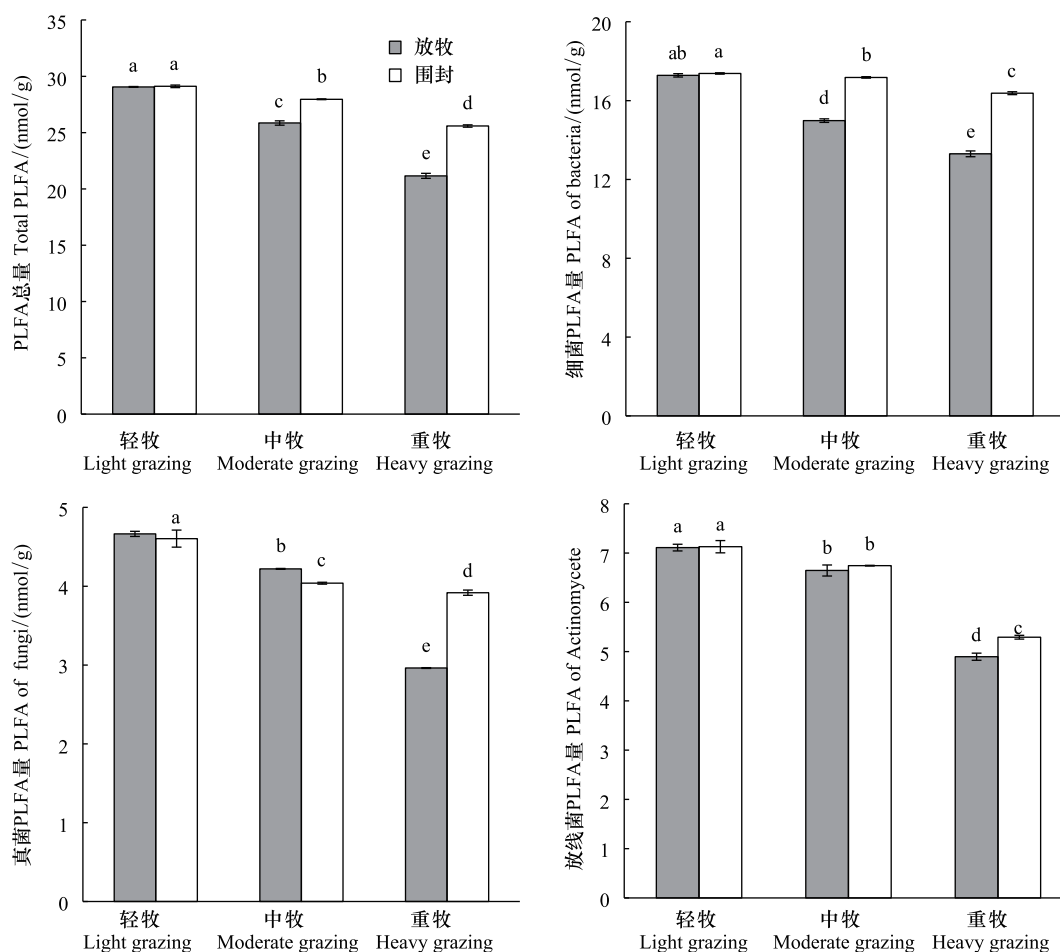


图2 不同样地土壤微生物各菌群生物量

Fig.2 PLFA of each group of soil microorganisms in different sample sites

注:相同字母表示差异不显著 ($P>0.5$)

生物量增加。

2.3.5 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤 G^+/G^- 的影响

由图3可知,围封处理下,土壤革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的 PLFA 含量比值(G^+/G^-)在各个放牧强度间差异不显著;放牧处理下, G^+/G^- 随着放牧强度的增强而降低,且在 LG 和 MG 强度间差异不显著,但显著高于 HG 强度。在 HG 强度下,围封处理后的 G^+/G^- 比放牧处理高 32.2%,且差异显著 ($P<0.05$);MG 和 LG 强度下,围封处理后的 G^+/G^- 略高于放牧处理,但均未达到显著水平。各个强度放牧和围封的灌丛草地土壤中革兰氏阳性菌含量均高于革兰氏阴性菌含量,而 HG 围封处理后的灌丛草地 G^+/G^- 显著高于放牧处理,主要是由围封处理后的土壤革兰氏阳性菌含量明显升高造成的。围封处理后的土壤 G^+/G^- 在各个放牧强度间较接近,不存在显著性差异,这说明围封处理可以维持土壤微生物群落结构。

2.3.6 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤细菌/真菌生物量比值的影响

一般认为细菌/真菌比值可判断土壤生态系统稳定性和两个种群的相对丰富程度^[28]。由图3可看出,围封处理下,细菌/真菌比值开始随着放牧强度的增强而升高,后趋于平稳;放牧处理下,细菌/真菌比值在各个放牧强度间差异显著 ($P<0.05$),在 HG 强度下最高,在 MG 强度下最低。HG 强度下,围封处理后的细菌/真菌比值比放牧处理低 6.9%,且达到显著水平 ($P<0.05$);MG 强度下,围封处理后的细菌/真菌比值比放牧处理高 19.8%,且差异显著 ($P<0.05$);LG 强度下,围封处理后的细菌/真菌比值略高于放牧处理,但未达到显著水平。说明不同强度放牧和围封对土壤生态系统稳定性及两个种群的相对丰富程度及有一定的影响。

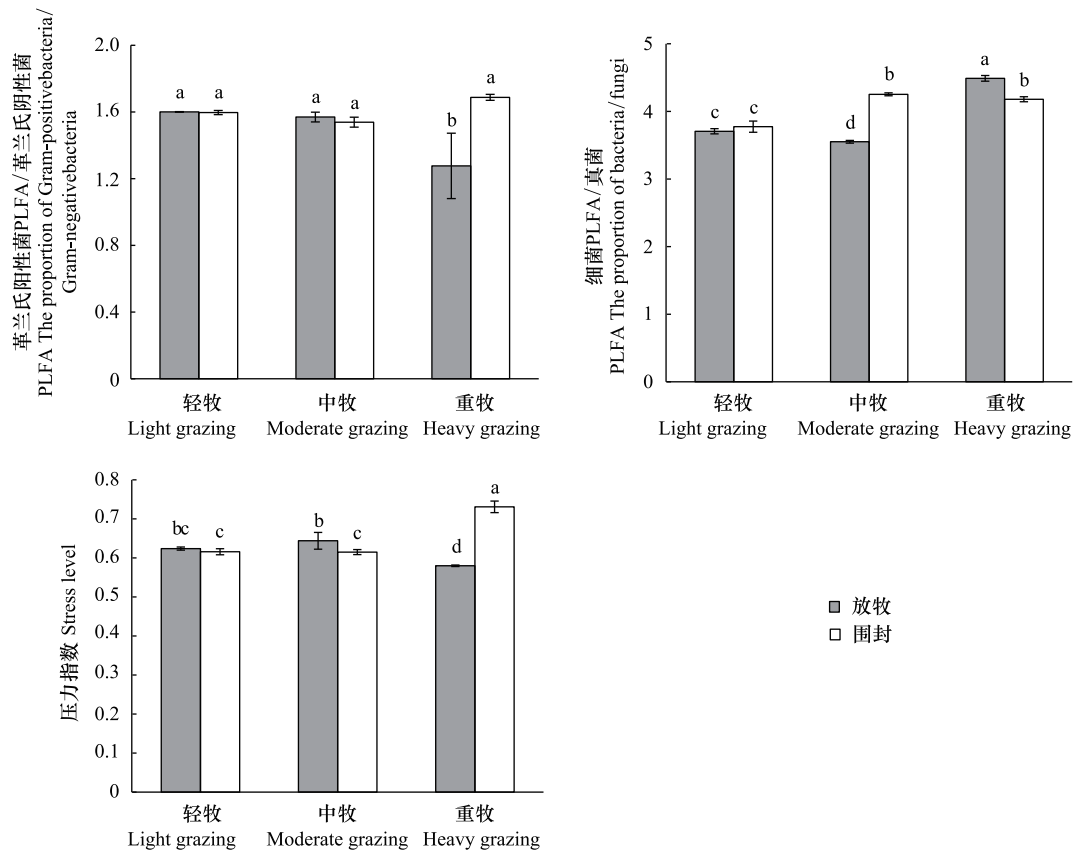


图3 不同样地土壤微生物各菌群生物量比值

Fig.3 Ratios of each group of soil microorganisms in different sample sites

注:各个菌群比值的相同字母表示差异不显著($P>0.05$)

2.3.7 不同强度放牧和围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物压力指数的影响

微生物压力指数($cyc17:0+cyc19:0$)/($16:1\omega7c+18:1\omega7c$)作为评价土壤微生物群落对环境适应程度的具体指标。由图3看出,围封处理下,微生物压力指数随着放牧强度增强开始无显著差异而后又升高,且差异显著($P<0.05$);放牧处理下,微生物压力指数随着放牧强度增强开始无显著差异而后又降低,且差异显著($P<0.05$)。HG强度下,围封处理后的压力指数显著比放牧处理高26.0%,且差异显著;MG强度下,围封处理后的压力指数比放牧处理低4.5%,且达到显著水平($P<0.05$);LG强度下,围封处理后的微生物压力指数比放牧处理略高1.3%,但未达到显著水平。

2.4 总 PLFA 主成分分析

供试土壤的18种脂肪酸进行主成分分析,PC1、PC2和PC3三个主成分合计达到土壤微生物群落结构组成的92.61%,其余7.39%为其它种群微生物。PC1和PC2总的方差贡献率为85.62%,因此PC1和PC2基本可以全面反映研究区域微生物群落结构特征,18种脂肪酸可以分成两个主要类型(图4)。其中中PC1主

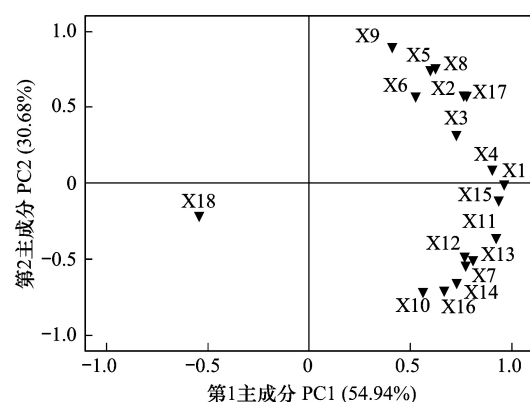


图4 不同样地 PLFA 主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of PLFAs of different sample sites

注: X1: 14:0; X2: i15:0; X3: a15:0; X4: 15:0; X5: i16:0; X6: 16:1 ω 7c; X7: 16:0; X8: i17:0; X9: cyc17:0; X10: 17:0; X11: 10Me16:0; X12: 10Me18:0; X13: 18:2 ω 6,9; X14: 18:1 ω 9t; X15: 18:1 ω 9c; X16: 18:0; X17: cyc19:0; X18: 20:0

要由直链饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸、直链单不饱和脂肪酸、支链饱和脂肪酸环丙烷脂肪酸组成,占微生物群落结构变异的 50.94%;其中 14:0、15:0、10Me16:0 和 18:1 ω 9c 的含量较高,占第一主成分的 53.68%。PC2 包括直链饱和脂肪酸、直链单不饱和脂肪酸、环丙烷脂肪酸和支链饱和脂肪酸,解释微生物群落结构组成变异的 30.68%,主要由 i16:0、16:1 ω 7c、i17:0、cy17:0、17:0、18:1 ω 9t、18:0 和 cy19:0 脂肪酸组成,占第二主成分的 51.34%。由特征向量与标准化后的数据相乘得出主成分表达式及公式: $F = 54.94\% \cdot F_{PC1} + 30.68\% \cdot F_{PC2} + 0.0699 \cdot F_{PC3}$,计算不同强度放牧和围封的总和得分 F 值(土壤微生物群落结构影响程度指数),并进行排序得到 MG 围封>HG 围封>LG 围封>LG 放牧>MG 放牧>HG 放牧,即放牧和围封处理对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物群落结构的影响程度是围封处理大于放牧处理。由此可知,土壤微生物群落结构影响程度指数的排序结果与前面的论证结果一致,故主成分分析结果能较好地反映土壤微生物群落结构。

不同强度放牧和围封地土壤磷脂脂肪酸的主成分分析(图 5),结果表明各处理与第一主成分表现出正相关, HG 围封、HG 放牧和 MG 围封与第二主成分表示出正相关,其他处理与第二主成分表现为负相关。六种处理样地相距较近,且 MG 放牧、LG 放牧和 LG 围封土壤的因子载荷十分接近,三者几乎重叠,但部分处理样地明显分开。说明不同强度放牧和围封改变了土壤微生物群落结构。

2.5 各菌群 PLFA 与土壤有机碳、全氮的相关性分析

本试验对不同放牧强度杜鹃灌丛草地各菌群 PLFA 与土壤有机碳、全氮进行相关性分析表明(表 4),土壤总 PLFA 量、细菌、真菌和放线菌的 PLFA 与土壤有机碳、全氮均呈极显著正相关,细菌/真菌比值与有机碳、全氮呈极显著负相关。可用其来表征土壤这两项重要的肥力属性,也说明它们可用作评价土壤肥力与健康的生物指标,同时在这一地区土壤碳、氮含量也是影响土壤微生物数量和种类的最重要养分因素。

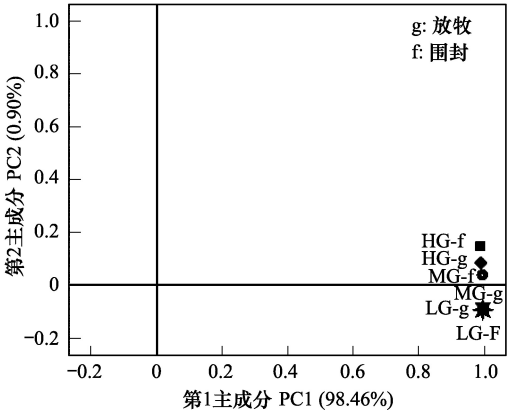


图 5 样地间脂肪酸主成分分析
Fig.5 Principalcomponent analysis of PLFA structure among sites

表 4 微生物种群与土壤有机碳、全氮相关性分析

Table 4 Correlation between soil microorganisms and organic-C and Total-N					
分析指标 Analysis index	有机碳 organic-C	全氮 Total-N	分析指标 Analysis index	有机碳 organic-C	全氮 Total-N
微生物总量 Total PLFA	0.831 **	0.839 **	放线菌 Actinomycetes	0.890 **	0.865 **
细菌 Bacteria	0.684 **	0.721 **	革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌 G+/G-	0.313	0.413
革兰氏阳性菌 G+	0.180	0.302	细菌/真菌 Bacteria/Fungi	-0.678 **	-0.623 **
革兰氏阴性菌 G-	0.028	0.130	压力指数 Stress level	-0.286	-0.200
真菌 Fungi	0.842 **	0.827 **			

注: * * 两尾检验, $P < 0.01$ 。

3 讨论

土壤微生物群落多样性可以检测系统受干扰后的细微变化,描述微生物群落变化和自然或人为干扰对群落的影响。高寒杜鹃灌丛草地土壤真菌生物量最少,占微生物总量的 14.00%—16.32%,细菌生物量占微生物总量的 57.97%—63.98%,放线菌生物量占微生物总量的 20.47%—24.49%。以往的研究表明,在 pH 值较高的碱性土壤中细菌占据优势地位,反之则真菌占据优势地位^[29]。姚拓和龙瑞军^[30]采用平板表面涂抹法和稀释法对天祝高寒草地不同干扰生境土壤三大类微生物数量的时空动态进行了测定,结果表明三大类微生物中,细菌数量最大,放线菌次之,真菌最小,分别占微生物总数的 82.29%—86.09%, 13.91%—17.71% 和 0.017%—0.023%。无论是从微生物菌落的数量,还是从整体的 PLFA 群落结构分析(PCA),本研究都表明了

放牧强度和围封对土壤微生物群落有显著的影响。

3.1 不同强度放牧对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物群落结构的影响

不同强度放牧对土壤结构的破坏程度有所不同,即高寒杜鹃灌丛草地围封区和放牧区因其放牧强度的不同结果不尽相同。围封处理下,土壤总 PLFA 量、细菌生物量、真菌生物量和放线菌生物量随着放牧强度的增大而降低,且差异显著($P<0.05$); G^+/G^- PLFA 量比值在各个放牧强度间无显著差异;细菌/真菌比值开始随着放牧强度的增强开始显著升高后无显著差异;微生物压力指数随着放牧强度增强开始无显著差异后又升高,且差异显著($P<0.05$),主要是因为放牧强度增强,土壤的压实程度加重,从而降低土壤的孔隙度,扩散到土壤中的氧气的含量就比较少,好养细菌(16:1 ω 7c)的含量显著降低。放牧处理下,土壤总 PLFA 量、细菌生物量、真菌生物量和放线菌生物量随着放牧强度的增强而显著降低; G^+/G^- PLFA 量比值随着放牧强度的增强而降低;细菌/真菌生物量比值在各个放牧强度间差异显著($P<0.05$),在 HG 强度下比值达到最高, MG 强度下比值最低,说明土壤生态系统在适度放牧下最稳定,过度放牧将低了土壤生态系统的稳定性;微生物压力指数随着放牧强度增强开始不变而后又降低,且差异显著($P<0.05$),主要是由放牧强度增强,牲畜的践踏使土壤变得紧实,通气性下降,从厌氧细菌(cy17:0 和 cy19:0)的含量显著降低造成。萨如拉等^[31]研究放牧强度对典型草原土壤微生物特征的影响,表明土壤微生物总数量随着放牧强度的增强而降低。但 Wang 和 Sheng^[32]对松嫩平原农牧交错带天然草地的研究发现,土壤细菌、放线菌和真菌数量随放牧强度的增加呈现先增多后减少的趋势,中牧地的土壤微生物数量最多。张成霞和南志标^[15]对陇东黄土高原天然草地土壤微生物研究发现:土壤微生物总数和细菌数量随放牧强度的增大呈先减少后增多的趋势,而真菌和放线菌数量随放牧强度的增大而减少。谭红妍^[33]等在温性草甸草原研究发现,土壤总微生物量、细菌和革兰氏阴性菌生物量均随着放牧强度的增加表现为先减少后增加的趋势,而革兰氏阳性菌、放线菌生物量则随着放牧强度的增加而增加。土壤微生物各菌落生物量因研究区域不同而有差异,且不同强度放牧使灌丛草地地上部分生物量的差异使其根系的分泌物明显不同,放牧强度不同其枯落物的质量也不同,以上两个方面均会影响杜鹃灌丛草地土壤微生物生长和代谢,从而影响微生物的数量和群落结构。另外,放牧牲畜的排泄物对土壤微生物也会造成一定的影响。

3.2 不同强度围封对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物群落结构的影响

HG 强度下,围封处理的高寒杜鹃灌丛草地土壤总 PLFA 量、细菌生物量、真菌生物量、放线菌生物量、 G^+/G^- PLFA 和压力指数高于放牧处理,而围封处理的细菌/真菌比显著低于放牧处理,且均差异显著($P<0.05$)。围封和放牧处理的 HG 灌丛草地土壤中 G^+ PLFA 量均高于 G^- PLFA 量,且围封处理的 HG 灌丛草地土壤 G^+ PLFA 量和 G^- PLFA 量均增加,但 G^+ PLFA 量增加的百分数大于 G^- PLFA 量增加的百分数,导致 G^+/G^- PLFA 比显著高于放牧处理。土壤细菌与真菌比值越低,土壤生态系统越稳定^[34-36]。此 HG 围封处理后的灌丛草地土壤细菌/真菌比值降低,说明生态系统稳定性升高。可能是因为围封处理的灌丛草地地上凋落物中含有更多的木质素和多酚类物质,这些物质能够诱导某些真菌生长,亦可能是围封没有牲畜的践踏,保证了真菌菌丝体的完整性使真菌菌丝体结构完整性的破坏减少,真菌生物量持续稳定增长,从而降低了细菌与真菌的脂肪酸比值。围封处理后的 HG 灌丛草地土壤厌氧细菌(cy17:0 和 cy19:0)和好氧细菌(16:1 ω 7c)均增加,但厌氧细菌增加的百分比大于好氧细菌,导致压力指数升高。MG 强度下,围封处理后的土壤总 PLFA 量、细菌生物量、和细菌/真菌比值高于放牧处理,真菌生物量和压力指数低于放牧处理,且均差异显著($P<0.05$)。围封处理的 MG 灌丛草地土壤细菌/真菌增大,可能因为围封处理后使动物排泄物减少,真菌吸收的营养减少,不利于真菌生长,导致真菌生物量有所降低,而细菌生物量增大,导致土壤生态系统的稳定性下降,微生物群落结构发生改变。围封处理的 MG 灌丛草地土壤厌氧细菌(cy17:0 和 cy19:0)和好氧细菌(16:1 ω 7c)均增加,但好氧细菌增加的百分比大于厌氧细菌,导致压力指数降低。LG 强度下,围封处理后的土壤生物量和生物量比值均无显著差异。原因可能是由放牧强度较轻,围封作用不明显,围封内外土壤稳定结构没有显著差异所造成。赵帅等^[37]在内蒙古针茅草原上的研究表明,围栏条件下,土壤细菌脂肪酸与总 PLFA 含量均显著

高于放牧草地;放牧导致各类型草原革兰氏阳性细菌 PLFA/革兰氏阴性细菌 PLFA (G^+/G^-) 比值显著降低,而除了克氏针茅草原,细菌/真菌 PLFA 则显著升高。究其原因可能为两地围封管理方式,放牧强度和草地类型不同所致,再者,放牧强度增加,牲畜践踏对土壤稳定结构的破坏程度增加,使土壤微生物生物量降低。张莉等^[38]以放牧为对照,应用 PLFA 法分析研究围封后高寒草甸土壤微生物群落结构的变化,结果表明,围封处理的微生物总量、土壤细菌、 G^+ 、 G^+/G^- 和真菌均小于放牧处理,但其细菌/真菌和放线菌生物量高于放牧处理,围封处理降低了微生物的土壤生态系统的稳定性。由于牲畜践踏改变了土壤的紧实度,使土壤孔隙度和水稳性团聚体减少,引起透水性、透气性和水导率下降,土壤微环境改变,土壤微生物的繁殖代谢受到强烈的干扰,造成围封样地的土壤微生物 PLFAs 量显著高于放牧样地。Bardgett 等^[39]的研究发现:长期围封地表层土壤真菌丰富度和真菌/细菌 PLFA 值显著低于放牧地。此研究结果与本研究 MG 杜鹃灌丛草地土壤真菌 PLFA 和细菌/真菌 PLFA 值研究结果一致。Bardgett 等^[28]使用 PLFA 技术对不同放牧管理程度的草原土壤以及不同草原类型土壤微生物群落结构开展研究,结果显示放牧显著降低了土壤微生物 PLFAs 生物量,这与本研究结果一致。高凤^[40]等对藏北古露高寒草地生态系统研究表明,短期围封使土壤微生物生物量(细菌、放线菌、真菌)均呈显著增加,能维持土壤微生物多样性。

主成分分析表明,不同的放牧强度和不同的利用方式(围封和放牧)对高寒杜鹃灌丛草地土壤微生物群落结构产生影响,且围封处理的影响程度大于放牧处理。说明利用方式和放牧强度对于微生物群落的影响不仅在于微生物生物量的变化,也影响微生物群落结构。

相关性分析表明,不同放牧强度下土壤结构及微生物可利用营养元素输入的变化是引起微生物群落结构变化的可能原因之一。韩世忠等^[41]利用磷脂脂肪酸(PLFA)生物标记法在中亚热带地区罗浮栲天然林和相邻的杉木人工林研究表明,土壤微生物主要类群 PLFAs 含量与总氮、有机碳、C/N 和铵态氮均呈显著正相关。吴则焰等^[42]研究结果表明,真菌类群与土壤养分因子都呈负相关,且与总有机碳、全氮之间呈显著负相关,表明真菌比其他微生物类型更能适应养分贫瘠的条件。由于放牧强度的增强,在一定程度上限制了土壤微生物的活动,进而影响了生态系统中土壤养分和土壤结构等的变化。在轻度放牧灌丛草地,自然植被良好,地上生物量相对较大,土壤微生物数量大,生态系统的稳定性高。因此在当地独特的气候条件影响下,随着放牧强度的加重,植被种类结构趋向简单化,植被和微生物总量减少,土壤理化性质恶化,导致土壤全氮和有机质含量下降。

尽管 PLFA 技术常被用于研究土壤微生物群落结构特征,但该技术本身也有局限性。PLFA 能定量描述环境样品中的微生物群体,而不能在菌种和菌株的水平精确的描述环境中微生物的种类,因此,要全面解析土壤微生物群落及其结构特征,还需结合 BIOLOG 鉴定系统和分子生物学等其它的研究手段。

参考文献(References):

- [1] 张俊忠. 东祁连山高寒草地土壤微生物生理类群的生态分布及优势真菌的鉴定[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [2] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology*, 1998, 35(3/4): 265-278.
- [3] Bossio D A, Scow K M, Gunapala N, Graham K J. Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology*, 1998, 36(1): 1-12.
- [4] Staddon W J, Duchesne L C, Trevors J T. Microbial diversity and community structure of postdisturbance forest soils as determined by sole-carbon-source utilization patterns. *Microbial Ecology*, 1997, 34(2): 125-130.
- [5] Staddon W J, Trevors J T, Duchesne L C, Colombo C A. Soil microbial diversity and community structure across a climatic gradient in western Canada. *Biodiversity & Conservation*, 1998, 7(8): 1081-1092.
- [6] 于树, 汪景宽, 李双昇. 应用 PLFA 方法分析长期不同施肥处理对玉米地土壤微生物群落结构的影响. *生态学报*, 2008, 28(9): 4221-4227.
- [7] Liu B R, Jia G M, Chen J, Wang G. A review of methods for studying microbial diversity in soils 1. *Pedosphere*, 2006, 16(1): 18-24.
- [8] 刘波. 微生物脂肪酸生态学. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2011.
- [9] 王曙光, 侯彦林. 磷脂脂肪酸方法在土壤微生物分析中的应用. *微生物学通报*, 2004, 31(1): 114-117.
- [10] 颜慧, 蔡祖聪, 钟文辉. 磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多样性研究中的应用. *土壤学报*, 2006, 43(5): 851-859.

- [11] 顾振宽. 青藏高原东缘不同植被类型及放牧管理下土壤养分的分布研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2012.
- [12] 林丽, 张德罡, 曹广民, 欧阳经政, 柯浔, 刘淑丽, 张法伟, 李以康, 郭小伟. 放牧强度对高寒嵩草草甸土壤养分特性的影响. 生态学报, 2016, 36(15): 4664-4671.
- [13] 赵吉, 廖仰南, 张桂枝, 邵玉琴. 草原生态系统的土壤微生物生态. 中国草地学报, 1999, (3): 57-67.
- [14] 李春莉, 赵萌莉, 韩国栋, 红梅. 放牧对短花针茅草原土壤微生物和土壤养分的影响及其季节动态. 干旱区资源与环境, 2009, 23(4): 184-190.
- [15] 张成霞, 南志标. 不同放牧强度下陇东天然草地土壤微生物三大类群的动态特征. 草业科学, 2010, 27(11): 131-136.
- [16] 张如力, 张如清, 肖云峰. 绢蝶在祁连山(北坡)寺大隆林牧区的垂直分布及物种多样性. 草业科学, 2005, 22(9): 9-13.
- [17] 马玉寿, 郎百宁, 李青云, 施建军, 董全民. 江河源区高寒草甸退化草地恢复与重建技术研究. 草业科学, 2002, 19(9): 1-5.
- [18] Hobbs N Thompson. The ecology and management of grazing systems. Journal of Wildlife Management, 1998, 62(2): 812-814.
- [19] 马丽萍, 张德罡, 姚拓. 高寒草地不同扰动生境纤维素分解菌数量动态研究. 草原与草坪, 2005, (1): 29-33.
- [20] Frostegård A, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3605-3617.
- [21] Vestal J R, White D C. Lipid analysis in microbial ecology. Bioscience, 1989, 39(8): 535-541.
- [22] Kong C H, Wang P, Gu Y, Xu X H, Wang M L. Fate and impact on microorganisms of rice allelochemicals in paddy soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(13): 5043-5049.
- [23] Wang M C, Liu Y H, Wang Q, Gong M, Hua X M, Pang Y J, Hu S J, Yang Y H. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic, and genetic characteristics of soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(3): 778-788.
- [24] Zhang C P, Xu J, Liu X G, Dong F S, Kong Z Q, Sheng Y, Zheng Y Q. Impact of imazethapyr on the microbial community structure in agricultural soils. Chemosphere, 2010, 81(6): 800-806.
- [25] Bardgett R D, McAlister E. The measurement of soil fungal: bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29(3): 282-290.
- [26] Hammesfahr U, Heuer H, Manzke B, Smalla K, Thiele-Bruhn S. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(7): 1583-1591.
- [27] Haack S K, Garchow H, Odelson D A, Forney L J, Klug M J. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(7): 2483-2493.
- [28] Bardgett R D, Jones A C, Jones D L, Kemmitt S J, Cook R, Hobbs P J. Soil microbial community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(12/13): 1653-1664.
- [29] 马瑞丰, 刘金福, 吴则焰, 张广帅, 陈志芳. 格氏栲林土壤微生物结构的多样性特征研究. 西南林业大学学报, 2014, 34(4): 14-19.
- [30] 姚拓, 龙瑞军. 天祝高寒草地不同扰动生境土壤三大类微生物数量动态研究. 草业学报, 2006, 15(2): 93-99.
- [31] 萨茹拉, 侯向阳, 陈海军, 王珍, 丁勇. 放牧强度对典型草原土壤微生物特征的影响. 中国草地学报, 2013, 35(5): 86-91.
- [32] Wang X Z, Sheng L X. Effect of grazing intensity on microorganisms quantity and microbial biomass of soil in grassland under protection forest of Songnen Plain. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11(24): 4549-4552.
- [33] 谭红妍, 闫瑞瑞, 闫玉春, 陈宝瑞, 辛晓平. 不同放牧强度下温性草甸草原土壤微生物群落结构 PLFAs 分析[J]. 草业学报, 2015, 24(3): 115-121.
- [34] Bardgett R D, Lovell R D, Hobbs P J, Hobbs P J, Jarvis S C. Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(7): 1021-1030.
- [35] deVries F T, Hoffland E, van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2092-2103.
- [36] Thiet R K, Frey S D, Six J. Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal: bacterial ratios? Reality check and methodological issues. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(4): 837-844.
- [37] 赵帅, 张静妮, 赖欣, 杨殿林, 赵建宁, 李刚, 邹雨坤. 放牧与围栏内蒙古针茅草原土壤微生物生物量碳、氮变化及微生物群落结构 PLFA 分析. 农业环境科学学报, 2011, 30(6): 1126-1134.
- [38] 张莉, 党军, 刘伟, 王启兰, 向泽宇, 王长庭. 高寒草甸连续围封与施肥对土壤微生物群落结构的影响. 应用生态学报, 2012, 23(11): 3072-3078.
- [39] Bardgett R D, Leemans D K, Cook R, Hobbs P J. Seasonality of the soil biota of grazed and ungrazed hill grasslands. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(8): 1285-1294.
- [40] 高凤, 王斌, 石玉祥, 张更新, 王建, 斯贵才, 韩丛海, 袁艳丽, 胡益. 藏北古露高寒草地生态系统对短期围封的响应. 生态学报, 2017, 37(13): 4366-4374.
- [41] 韩世忠, 高人, 李爱萍, 马红亮, 尹云峰, 司友涛, 陈仕东, 郑群瑞. 中亚热带地区两种森林植被类型土壤微生物群落结构. 应用生态学报, 2015, 26(7): 2151-2158.
- [42] 吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 刘金福, 方长甸, 张志兴, 吴林坤, 陈婷. 武夷山不同海拔植被带土壤微生物 PLFA 分析. 林业科学, 2014, 50(7): 105-112.