DOI: 10.5846/stxb201902150270
王誉陶,李建平,井乐,张翼,张娟.模拟降雨对黄土高原典型草原土壤化学计量及微生物多样性的影响.生态学报,2020,40(5):1517-1531.
Wang Y T,Li J P,Jing L,Zhang Y,Zhang J.Effects of different precipitation treatments on soil ecological chemistry and microbial diversity in the Loess Plateau.Acta Ecologica Sinica,2020,40(5):1517-1531.

模拟降雨对黄土高原典型草原土壤化学计量及微生物多样性的影响

王誉陶[1],李建平[1,2,*],井　乐[1],张　翼[1],张　娟[1]
1 宁夏大学农学院, 银川　750021
2 西北退化生态系统恢复与重建国家重点实验室培育基地, 银川　750021

摘要:以宁夏固原云雾山自然保护区封育 19 年天然草地为研究对象,利用遮雨棚和滴灌技术对研究区的降水量进行人为调控,系统分析了草原土壤生态化学计量及其微生物多样性在 50% 、100% 和 150% 不同降雨处理下的响应。结果表明:经过一年的水分控制处理(1)不同降雨梯度对土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷(TP)、碳氮比(C/N)、碳磷比(C/P)、氮磷比(N/P)无显著性影响,但 100% 降水处理下 SOC、TN、TP、N/P 均高于 50% 和 150%降水处理。(2)在 3 种不同降水梯度处理下,各处理不同土层深度 SOC、TN、TP、C/N、C/P、N/P 有显著性差异(P<0.05),且随土层深度加深,土壤化学计量及其比值逐渐降低。(3)降雨对土壤微生物多样性影响不大,但增雨和减雨均能增加真菌多样性,引起细菌菌群结构发生相应的变化,且真菌优势种相对丰度随降雨增加呈下降趋势。(4)土壤 SOC、TP、C/N 与微生物多样性无显著相关,C/P、N/P 与细菌多样性呈显著负相关关系(P <0.05),与真菌多样性呈极显著正相关关系(P<0.01)。短期(一年)降雨变化对土壤养分及微生物多样性影响较弱,但微生物多样性与土壤养分二者之间关系密切,研究结果为探讨长期降雨处理对草地生态系统影响提供参考。

关键词:降雨控制;土壤生态化学计量;微生物多样性;天然草地

Effects of different precipitation treatments on soil ecological chemistry and microbial diversity in the Loess Plateau

WANG Yutao[1],LI Jianping[1,2,*],JING Le[1],ZHANG Yi[1],ZHANG Juan[1]
1 *School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan* 750021, *China*
2 *Breeding Base of State Key Laboratory for Preventing Land Degradation and Ecological Restoration, Ningxia University, Yinchuan* 750021,*China*

Abstract: In this study, the natural grassland (which has been shielded for 19 years) of the Ningxia Yunwushan Grassland Nature Reserve in Guyuan was used as the research object. The precipitation in the study area was artificially regulated by the measure of artificial increase and decrease of rain using rainwater shed and drip irrigation technologies, and the responses of the ecological stoichiometry and microbial diversity of grassland soil were systematically analyzed under 50%, 100%, and 150% rainfall treatments. The results show that after one year of precipitation change, (1) different rainfall gradients had no significant effect on the soil organic carbon(SOC), total nitrogen(TN), total phosphorus(TP), carbon-nitrogen ratio(C/N), carbon-phosphorus ratio(C/P), and nitrogen-phosphorus ratio(N/P), but the SOC, TN, TP, and N/P under 100% simulated rainfall treatment were higher than those under 50% and 150% respectively. (2) The SOC, TN, TP, C/N, C/P, and N/P of different soil depth were significantly different (P < 0.05) under the three different precipitation gradient treatments. As the depth of the soil deepened, the soil stoichiometry and its ratio gradually decreased.

基金项目:国家自然科学基金项目(31660143);宁夏大学草学一流学科建设项目(NXYLXK2017A01)
收稿日期:2019-02-15;　　**网络出版日期**:2019-12-17
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: lijianpingsas@163.com

(3) Precipitation had little effect on soil microbial diversity, but both 150% and 50% precipitation can increase fungal diversity, causing changes in the fungal flora structure, and the relative abundance of fungal dominant species decreased under 150% precipitation. (4) There was no significant correlation between the SOC, TP, and C/N and microbial diversity. The C/P and N/P were significantly negative correlated with the bacterial diversity ($P < 0.05$), and showed a significant positive correlation with the fungal diversity ($P < 0.01$). Therefore, Short-term (one year) precipitation changes have weak effects on the soil nutrient and microbial diversity, but the microbial diversity is closely related to soil nutrients. These results will provide a proof for further analysis of the effects of changing precipitation on soil ecological stoichiometry and microbial diversity on the ecological function of temperate grassland.

Key Words: precipitation control; soil ecological stoichiometry; microbial diversity; natural grassland

随着全球气候变暖,全球降水分布格局也相应发生了一系列变化[1-2],在干旱半干旱地区,水分是影响草地生态系统中植被生长的主要限制因素[3],降水格局变迁导致植物及微生物生境发生变化,进而导致土壤微生物多样性及土壤化学元素发生相应改变[4-5]。黄土高原半干旱区作为全球气候变化的敏感区,研究该区土壤及微生物特征对降雨变化的响应机制,对于该区植被应对气候变化具有重要的科学意义。

碳、氮、磷是生物有机体所必须的营养元素[6],同时也是草地生态系统的关键限制元素,且元素之间的相互平衡及作用机制,对于揭示生态系统稳态转化机制具有重要的理论和实践意义[7-8]。气候变化对土壤营养元素的影响已有大量报道,如模拟增温、增雨提高内蒙古锡林浩特旱区草原土壤酶活性[9]、二氧化碳浓度升高对大豆根际微生物群落结构的影响[10],草地生态化学计量特征对于降雨变化的响应极为敏感[11],休眠期增温对黄土高原天然草地植被生产力提升明显[12]。也有研究表明海拔梯度[13-14]、火烧干扰[15]、放牧措施[16]等对土壤生态化学计量特征影响显著。

微生物是养分元素循环的“转换器”[17]、环境污染的“净化器”[18]、陆地生态系统稳定的“调节器”[19],时刻影响着人类的生存、生活与发展。土壤微生物多样性与土壤养分储存之间存在密切关系,是天然草地中最活跃的组分[20],也是评价土壤养分含量变化的有效指标之一[21-22]。土壤微生物多样性对于气候变化反馈明显,研究表明,在气候变化大背景下,青藏高原大多数地区在未来几十年土壤微生物多样性将呈增加趋势,气候变化对地下微生物的影响不仅在当代而且在未来[23],大气氮沉降增加贝加尔针茅草原和中亚热带杉木人工林土壤微生物多样性[24-25],增温、增雨及交互作用影响土壤微生物多样性与土壤温湿度之间的关系,并未表现出特异性规律[26];相反,二氧化碳浓度和温度升高,土壤细菌和真菌丰度没有显著变化[27],增温和降水变化对青藏高原高寒草甸土壤 nirK(可溶性含铜酶)、nirS(细胞色素酶)、nosZ(氧化亚氮还原酶) 反硝化菌群落多样性没有明显的影响,不同采样时间对多样性也没有明显影响[28]。

总结已有研究看来,气候变化对土壤化学计量及土壤微生物研究及二者之间的相关性研究报道较少。因此,本试验以黄土高原宁夏云雾山自然保护区天然草地为研究对象,采用人工遮雨/补雨装置,实现不同降雨梯度,深入研究降雨变化对不同深度土壤微生物、土壤化学计量及二者之间的关系,研究工作可为气候变化背景下草地生态系统可持续发展提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区地处黄土高原腹地的宁夏固原云雾山自然保护区(106°21′—106°27′ E,36°10′—36°17′ N),海拔 1700—2148 m,属于温带半干旱气候区,年平均气温 7 ℃,年均降水量为 425 mm(1980—2014 年平均值),且多集中在夏季,年蒸发量 1300—1640 mm,年日照时数可达 2500 h,≥0 ℃积温 2370—2882 ℃,无霜期 112—140 d,土壤为山地灰褐土和黑垆土,植被类型为典型草原,长芒草(*Stipa bungeana*)、铁杆蒿(*Artemisia gmelinii*)、冰草(*Agropyron michnoi*)、大针茅(*S. grandis*)、冷蒿(*A. frigida*)、星毛委菜(*Potentilla acaulis*)等是主要的优势植物[29-30]。

1.2　试验设计与方法

1.2.1　试验设计

本研究以黄土高原宁夏固原云雾山封育 19 年天然草地为研究对象(106°22′53.1″ E,36°15′07.3″ N,海拔 2077 m,半阳坡,坡度 7—10°),采用单因素完全随机试验,水分梯度分别为正常降雨的 150%、50%、100%,分别记为 A、B、C(对照区),每个降雨梯度设置 3 个 6 m × 6 m 水分控制重复,为防止水分扩散,在每个水分控制小区四周利用 1.2 m 宽塑料板进行水分隔离,塑料板的地下埋藏深度为 1.1 m,地上漏出 10 cm 阻止地表径流。小区上采用钢架结构与 V 形透明塑料板对 50%雨水进行收集形成减雨区 B,采用滴管将收集雨水滴灌至 A 形成 150%增雨区(灌管设置高于植被平均高度,形成冠层降水),正常降雨为 C。土层采样深度分别为 0—10 cm,10—20 cm,20—30 cm,分别记为 X、Y、Z。重复样品分别对应为 D、E、F。水分控制试验示意图见图 1,水分控制试验时间为 2017 年 5 月—2018 年 5 月,期间正常降雨量为 512 mm。

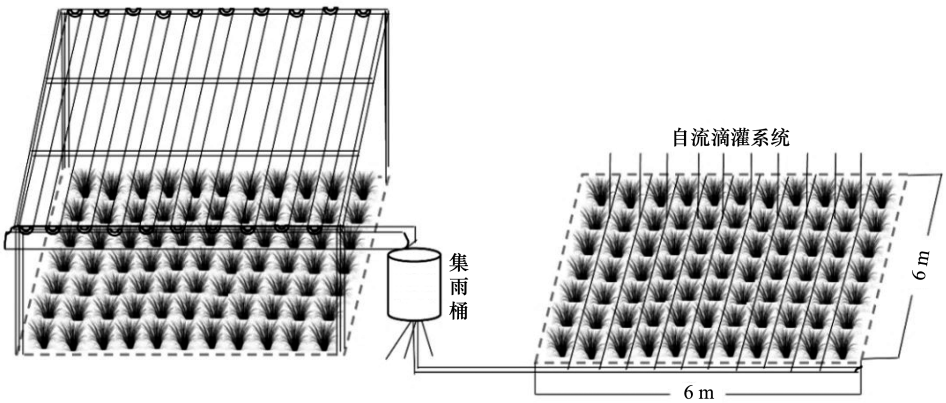

图 1　水分控制装置

Fig.1　Water control device

1.2.2　样品采集

2018 年 5 月,在 A、B、C 区各随机选择 3 个重复,用直径 6 cm 原状土—土钻取样,以 10 cm 为取样间隔,取 0—30 cm 土层土样(0—10 cm,10—20 cm,20—30 cm),每个重复随机取土样 3 次,将每个重复样点内 3 个取样点同一土层土壤混和组成 1 个土壤样品,去除残留的枯落物及混杂物后装入无菌密封袋,立即带回实验室放入 4℃冰箱供土壤理化性质和微生物多样性分析,共计采集土壤样品 27 个。为了便于微生物多样性的分析,对样品进行编号(表 1),如 A-D-X 代表 150%降雨梯度下第 1 个重复 0—10 cm 土层深度样品。

表 1　样品编号对应表

Table 1　Sample number Correspondence table

样品 Sample	M01	M02	M03	M04	M05	M06	M07	M08	M09
代码 Code	A-D-X	A-D-Y	A-D-Z	A-E-X	A-E-Y	A-E-Z	A-F-X	A-F-Y	A-F-Z
样品 Sample	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18
代码 Code	B-D-X	B-D-Y	B-D-Z	B-E-X	B-E-Y	B-E-Z	B-F-X	B-F-Y	B-F-Z
样品 Sample	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27
代码 Code	C-D-X	C-D-Y	C-D-Z	C-E-X	C-E-Y	C-E-Z	C-F-X	C-F-Y	C-F-Z

TA:水分梯度分别为正常降雨的 150% A;TB:水分梯度分别为正常降雨的 50% B;TC:水分梯度分别为正常降雨的 100% C;D:每个水分处理下第 1 个重复样品 D;E:每个水分处理下第 2 个重复样品 E;F:每个水分处理下第 3 个重复样品 F;X:0—10 cm 土层深度土壤 X;Y:10—20 cm土层深度土壤 Y;Z:20—30 cm 土层深度土壤 Z

1.3　样品分析方法

土壤 SOC 采用重铬酸钾容量法-外加热法测定,土壤 TN 采用半微量凯氏蒸馏法测定[31-32],土壤 TP 采用

高氯酸-浓硫酸($HCLO_4$-H_2SO_4)消煮后流动注射仪测定(型号 Skalar-SAN++);土壤微生物多样性是基于 Illumina HiSeq 测序平台,利用双末端测序(Paired-End)的方法,构建小片段文库进行测序,通过对 Reads 拼接过滤,OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类,并进行物种注释及丰度分析,揭示样品的物种构成,进一步进行 α 多样性分析(Alpha Diversity)、β 多样性分析(Beta Diversity)和显著物种差异分析等等,挖掘样品之间的差异。细菌主要是基于 16S 区,真菌主要基于 18S 区或 ITS 区(内转录间区)(北京百迈克云科技有限公司)。

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 软件进行数据记录及整理,Origin 8.0 进行图表绘制,采用 SPSS 软件对不同水分管理和不同土层深度数据进行单因素 Anova 统计分析,并在不同处理下对土壤碳氮磷含量、化学计量比和微生物多样性进行 Pearson 相关性分析,使用 Mothur (version v.1.30) 软件,对样品丰富度估计指数 Chao1、ACE 指数和样品多样性指数 Shannon、Simpson 指数进行评估。

2 结果与分析

2.1 土壤碳氮磷含量变化

在 0—20 cm 土层中,不同水分梯度下,土壤 SOC、TN、TP 均无显著性差异;在 20—30 cm,100%和 150%降雨处理土壤 TN 显著高于 50% 降雨处理,SOC 和 TP 无显著变化,表明增雨或减雨对草地各层土壤碳氮磷含量影响较小(图 2)。

同一降雨梯度下不同土层深度间土壤的碳、氮、磷含量进行差异性分析表明,在 3 个降雨梯度中,0—10 cm 土壤 SOC 含量显著高于 10—20 cm、20—30 cm(P <0.05),在 100%降水处理下,10—20 cm 土壤 SOC 含量显著高于 20—30 cm(P <0.05),而在 50%和 150%水分处理下,10—20 cm 土层与 20—30 cm 土层 SOC 含量差异不显著。各水分处理下 0—10 cm、10—20 cm、20—30 cm 土壤 SOC 含量平均值分别为 7.935、6.735、6.469 g/kg,表现为随着土层的加深逐渐递减,即表层土壤的 SOC 含量最高(图 2)。

在 3 个降雨梯度中,0—10 cm 土壤 TN 含量显著高于 10—20 cm、20—30 cm(P <0.05),50%降雨处理下,10—20 cm 土壤 TN 含量显著高于 20—30 cm(P <0.05),100%和 150% 降雨梯度下,10—20 cm 和 20—30 cm 土壤 TN 含量无显著差异。各水分处理下,0—10 cm、10—20 cm、20—30 cm 土壤 TN 含量平均值分别为 2.314、2.068、2.014 g/kg,表现为随着土层的加深逐渐递减,即表层土壤 TN 含量最高(图 2)。

各降雨处理及其土层深度间,土壤 TP 含量无差异,3 个降雨梯度下土壤 TP 含量分别为:0.712、0.723、0.714 g/kg(图 2)。

2.2 土壤碳氮磷化学计量比变化

在三种降雨梯度下各土层,土壤 C/N、C/P、N/P 均无显著差异,除了 20—30 cm 土层,N/P 值在 100%降雨样地显著高于 50%降雨样地(P <0.05)。各水分处理样地 C/N 平均值变化范围为 3.27—3.35,C/P 平均值变化范围为 9.77—9.90,N/P 平均值变化范围为 2.96—3.00。0—30 cm 土层 C/N、C/P、N/P 平均值呈现降雨梯度 100% > 50% > 150%的变化趋势(图 3)。

同一降水处理不同土层深度下土壤 C/N 变化规律分析显示,在 50%和 100%降水处理下,0—10cm 土层深度的 C/N 显著高于 10—20 cm 和 20—30 cm(P <0.05),150%降水处理则无明显差异,在 50%、100%、150%降水处理下,土壤各层 C/N 平均值均呈现 0—10 cm > 10—20 cm >20—30 cm 的变化趋势(图 3)。

同一降水处理下不同土层深度土壤 C/P 变化,在 3 个降水处理下,0—10 cm 土层深度的 C/P 显著高于 10—20 cm 和 20—30 cm(P <0.05),10—20 cm 土层略高于 20—30 cm 土层,但变化不显著,C/P 平均值范围在 50%、100%、150%降水处理下分别为:8.80—11.31、9.19—11.29、9.18—10.86,且各降水处理下土壤各层 C/P 平均值也呈现出随土层加深而减小的变化规律(图 3)。

同一降水处理下不同土层深度土壤 N/P 变化,50%水分处理各土层间差异显著,表现为 0—10 cm > 10—20 cm > 20—30 cm(P <0.05),100%和 150%水分处理下 0—10 cm 土层深度 N/P 显著高于 10—20 cm、20—

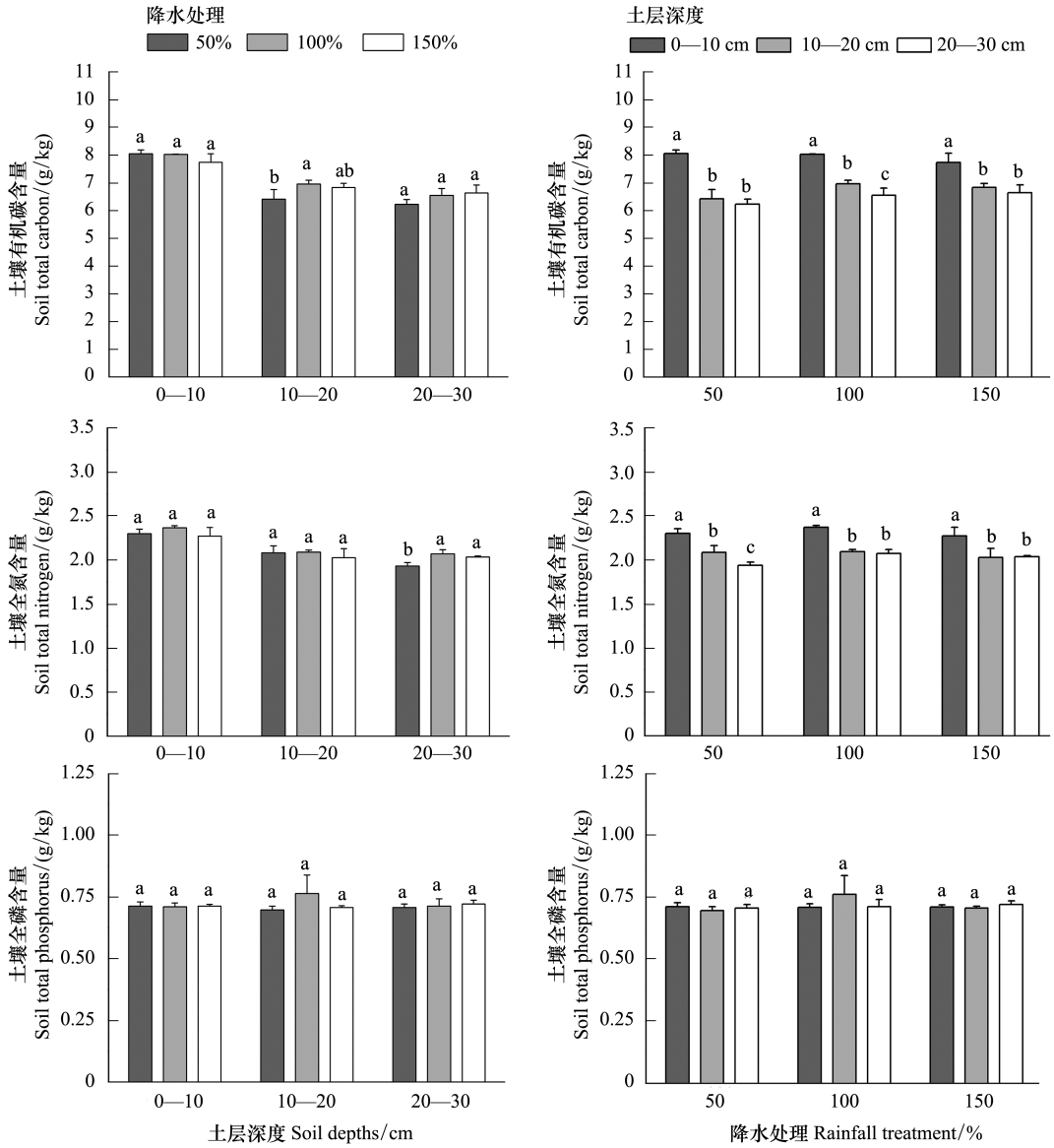

图 2　不同降雨梯度土壤碳氮磷含量

Fig.2　Soil carbon, nitrogen and phosphorus content under different treatment

30 cm(P <0.05),10—20 cm 与 20—30 cm 土层间 N/P 无明显差异,50%降水各土层 N/P 平均值分别为 3.23、2.99、2.74,N/P 随土层加深而减小,表层最高,20—30 cm 最低(图 3)。

2.3　不同处理对细菌多样性的影响

2.3.1　细菌菌群 OTUs 及多样性分析

所有土壤样品经过 16S r DNA 测序共获得 3691743 条原始序列,优化后共获得 3290324 条有效序列,平均优化率为 90.66%。为比较样品间的多样性指数,分析时将样品所含序列数进行标准化,在 97%相似度水平下,各样品所获得的序列覆盖了土壤中 99.94%微生物。同一土层不同水分处理样品在 0.03 距离下,各 Alpha 多样性指数均无显著差异,说明不同水分处理对土壤中细菌多样性影响不大(表 2)。

同一水分不同土层深度样品在 0.03 距离下 Alpha 丰富程度见表 3,OTUs(Operational taxonomic units)个数、ACE 指数、Chao1 指数大小顺序为 Y> Z> X,表明 10—20 cm 土层深度细菌丰度显著高于其他土层(P <0.05);辛普森指数(Simpson)大小顺序为 Z> Y> X;0—10 cm、10—20 cm、20—30 cm 土层深度香农指数(Shannon)依次为 6.325、6.246、

6.162,说明表层土壤细菌多样性显著高于其他土层(10—30 cm)(P <0.01)。

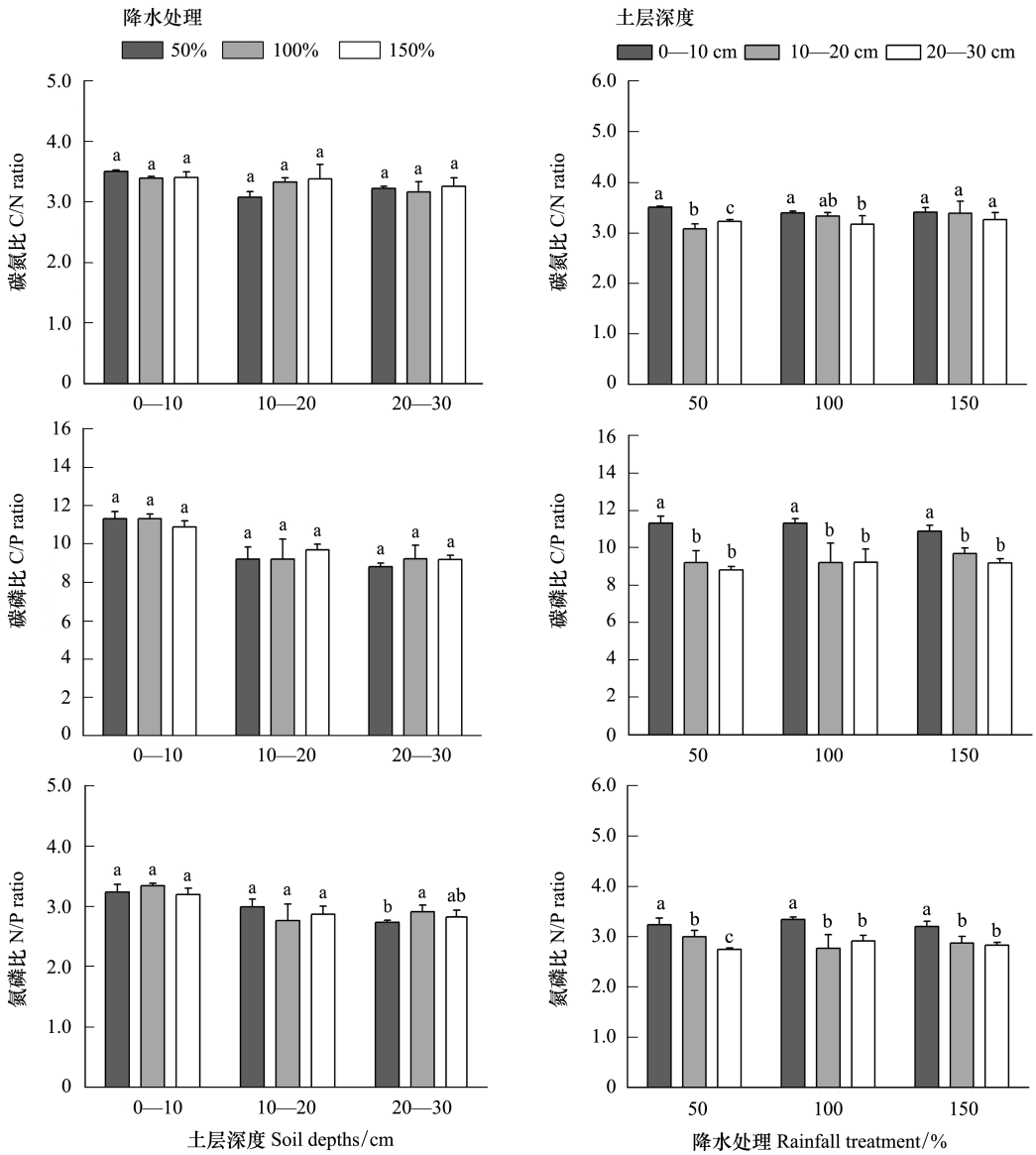

图 3 不同处理下土壤化学计量比变化

Fig.3 Changes of soil chemical metering ratio under different treatment

表 2 不同水分处理下样品在 0.03 距离下的 Alpha 丰富程度表

Table 2 Alpha richness of samples at 0.03 distances under different moisture treatment table

水分处理 Rainfall treatment	操作分类单元 OTUs	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖度 Coverage
150%	1553	1564.374	1572.468	0.005	6.232	0.999
50%	1557	1567.051	1570.975	0.005	6.227	0.999
100%	1547	1561.486	1568.954	0.005	6.273	0.999
P	0.695	0.827	0.909	0.528	0.498	0.410

2.3.2 土壤微生物结构差异

基于各处理 OTUs 维恩图(97%相似性)显示(图 4),不同水分处理共有的 OTUs 数为 1588 个,不同土层深度共有的 OTUs 数为 1588 个,两种处理下单独出现的细菌几乎没有,样品间差异不显著。不同降雨和不同

土层深度基于 Shannon 指数的细菌系数曲线如图 5 所示,随测序深度不断加深,曲线逐渐趋于平稳达到平台期,各样品达到饱和状态,说明测序深度能够基本覆盖到样品中的所有物种。

表 3　不同深度处理下样品在 0.03 距离下的 Alpha 丰富程度表

Table 3　Alpha richness table of samples at 0.03 distances under different depth treatment

土层深度/cm Soil depths	操作分类单元 OTUs	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖度 Coverage
0—10	1534	1549.525	1558.803	0.004	6.325	0.999
10—20	1572	1578.857	1584.106	0.005	6.246	1.000
20—30	1551	1564.528	1569.487	0.006	6.162	0.999
P	0.003	0.001	0.002	0.000	0.000	0.199

OTUs:操作分类单元 Operational taxonomic units

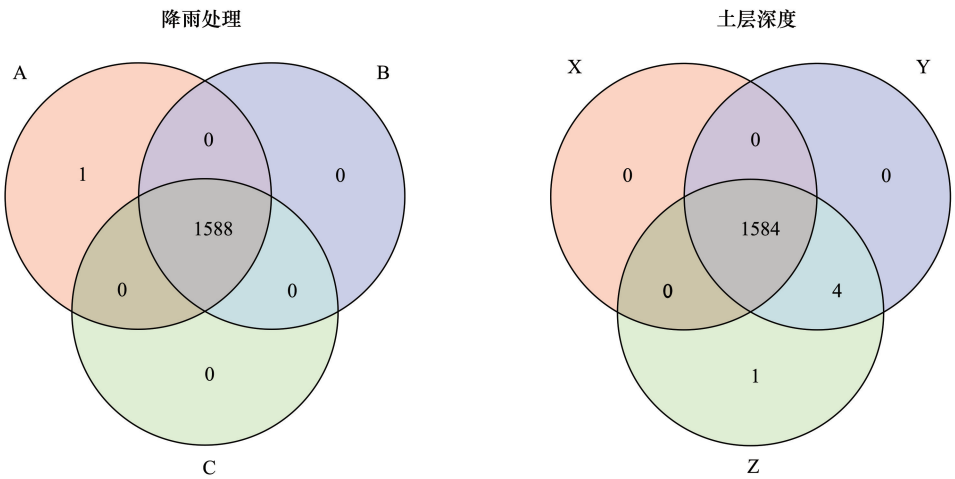

图 4　细菌菌群基因 OTUs 分布

Fig.4　Bacterial flora gene outs distribution

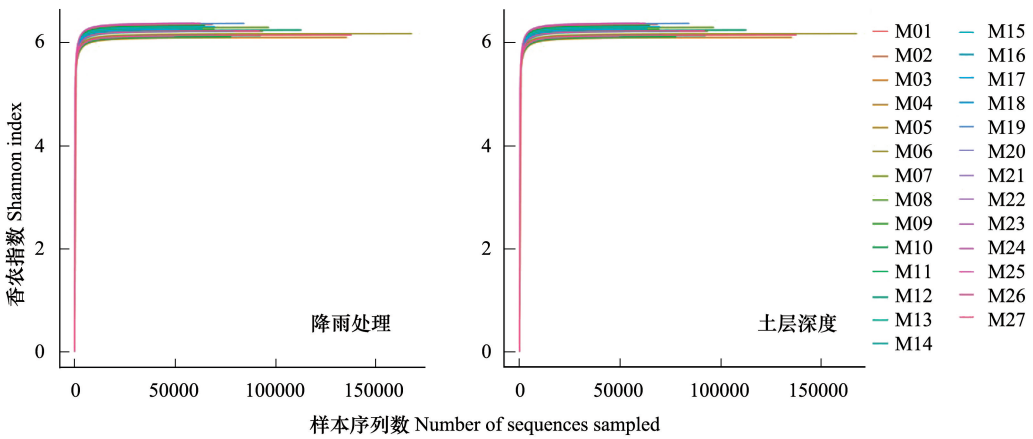

图 5　细菌菌群基因 Shannon 指数

Fig.5　Bacterial Flora Gene Shannon Index

样品对应处理及其编码见表 1

2.3.3　土壤细菌 Beta 多样性分析

不同处理下土壤细菌 PCoA 分析中(图 6),两个主成分分别解释变量方差的 76.01%(第 1 主成分)和

11.51%(第 2 主成分),累计贡献率达到 87.52%。在不同水分管理下,土壤各样品图上距离近、样品间分布密集且无明显分界,样品间差异不明显,说明土壤细菌对水分处理的响应较小;而在不同土层深度,0—10 cm 与 10—20 cm、20—30 cm 土层深度之间被坐标轴明显分开,0—10 cm 位于第一主成分的正端,10—20 cm 、20—30 cm 位于第一主成分的负端,反映了表层土壤与 10—30 cm 深度土壤细菌群落的差异状况,且 10—20 cm 和 20—30 cm 土层深度之间也被明显界线分割(PC1 轴数值为-5),说明不同土层深度对土壤细菌群落结构有较大差异,且表层土壤与深层土壤间差异较大。

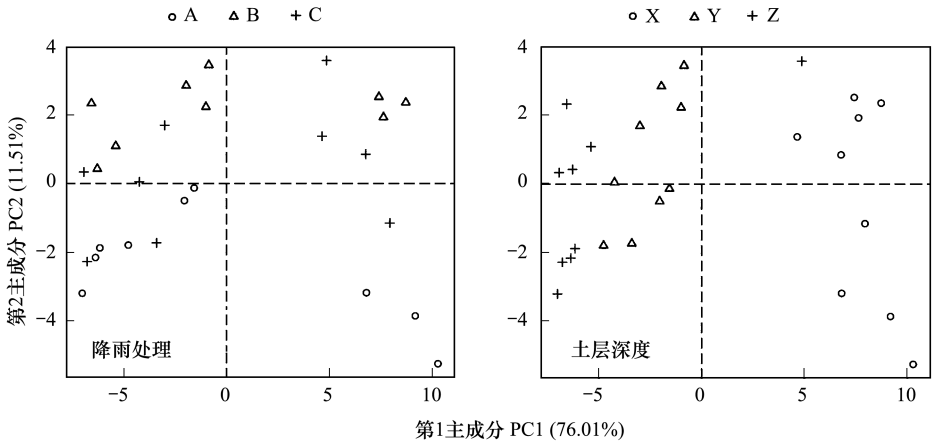

图 6 细菌菌群基因 Beta 多样性

Fig.6 Bacterial flora gene Beta diversity

2.3.4 细菌群落结构在门水平上的组分分析

图 7 是细菌群落结构丰度水平前十的物种组分情况,色块长度表示物种所占相对丰度比例,其他物种合并为 Others,Unclassified 代表未得到分类学注释的物种。通过高通量测序检测到的主要门有:放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、匿杆菌门(Latescibacteria)。放线菌门、绿弯菌门、变形菌门、浮霉菌门、酸杆菌门约占所有微生物总数的 80—89%以上。

降雨梯度对细菌菌群的影响不大,各菌群基本表现为同步变化趋势;在 0—10 cm、10—20 cm、20—30 cm 土层深度下,Actinobacteria 丰度平均值依次为 24.80%、30.47%、31.10%,Gemmatimonadetes 丰度平均值依次 7.67%、10.92%、11.67%,Chloroflexi 丰度平均值依次 6.71%、7.23%、8.08%,Actinobacteria、Gemmatimonadetes、Chloroflexi 丰度随土层深度加深显著增加($P<0.05$);随土层加深 Acidobacteria 丰度平均值依次为 32.85%、27.45%、25.42%,Proteobacteria 丰度平均值分别为 18.94%、14.93%、14.56%,Verrucomicrobia 丰度平均值依次为 2.84%、2.33%、2.23%,丰度随土层加深则表现出逐渐递减的变化趋势($P<0.05$)。Actinobacteria、Acidobacteria、Proteobacteria 三种细菌在样品群落结构中占有重要组分,约占总数的 75.26%,且在不同土层深度下,菌群优势种发生了一定的变化。

2.4 不同处理对真菌多样性的影响

2.4.1 真菌菌群 OTUs 及多样性分析

真菌经过 18S r DNA 或 ITS 区测序共获得 1952744 条原始序列,优化后共获得 1861685 条有效序列,平均优化率为 95.26%。为比较样品间的多样性指数,分析时将样品所含序列数进行标准化,在 97%相似度水平下,各样品所获得的序列覆盖了土壤中 99.93%微生物。如表 4 所示,同一土层不同降雨处理样品在 0.03 距离下,各 Alpha 多样性指数同细菌一样,均无显著差异,说明不同水分处理对土壤微生物多样性影响不显著。但

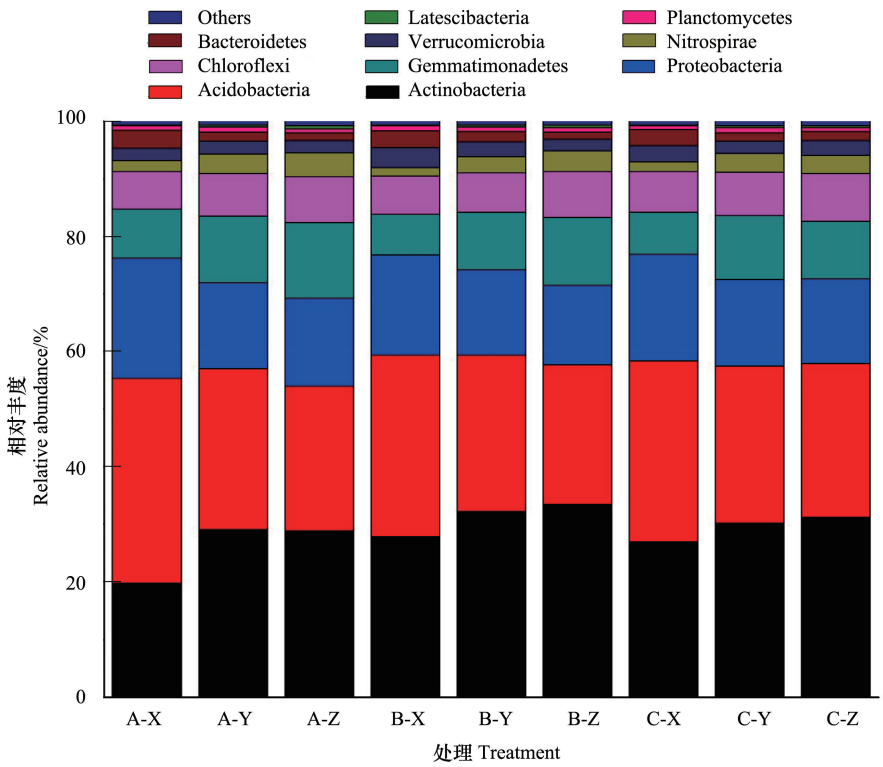

图 7　不同处理门水平上的细菌菌群结构

Fig.7　Bacterial flora structure at different treatment gate levels

Others:其他物种合并为 Others; Latescibacteria: Latescibacteria 门(待鉴定菌); Planctomycetes: 浮霉菌门; Bacteroidetes: 拟杆菌门; Verrucomicrobia: 疣微菌门; Nitrospirae: 硝化螺旋菌门; Chloroflexi: 绿弯菌门; Gemmatimonadetes: 芽单胞菌门; Proteobacteria: 变形菌门; Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门

OTUs、Chao1 指数、ACE 指数和 Shannon 指数都表现为 A > B > C,说明增减雨能够增加土壤中真菌多样性。

表 5 为同一降雨下不同土层深度样品在 0.03 距离下 Alpha 丰富程度表,ACE 指数、Chao1 指数大小顺序为 X >Y > Z,表明 0—10 cm 土层深度真菌多样性与其他土层相比差异显著(P <0.05);Shannon 指数大小顺序与 ACE 指数、Chao1 指数具有一致性;Simpson 指数大小顺序为 Z > Y > X;Shannon 指数值越大,Simpson 指数值越小,说明样品的物种多样性越高,即表层土壤真菌多样性最高,10—20 cm 次之,20—30 cm 最低。

表 4　不同水分处理下样品在 0.03 距离的 Alpha 丰富程度表

Table 4　Alpha richness table of samples at 0.03 distances under different moisture treatments

水分处理 Rainfall treatment	操作分类单元 OTUs	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖度 Coverage
150%	683	651.228	658.443	0.024	5.132	0.999
50%	645	644.778	647.811	0.022	4.848	0.999
100%	564	586.750	602.021	0.036	4.558	0.999
P	0.911	0.955	0.933	0.978	0.862	0.545

表 5　不同土层深度处理下样品在 0.03 距离的 Alpha 丰富程度表

Table 5　Alpha richness table of samples at 0.03 distances under different soil layer depth treatment

土层深度/cm Soil depths	操作分类单元 OTUs	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖度 Coverage
0—10	616	697.806	704.516	0.014	5.132	0.999
10—20	631	661.863	665.969	0.020	4.848	0.999
20—30	646	578.319	584.512	0.036	4.558	0.999
P	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.574

2.4.2 土壤微生物结构差异

基于各处理 OTUs 的维恩图(97%相似性)显示(图 8),3 种水分管理共有的 OTUs 数为 915 个,占所有 OTUs 的 31.02%,且 A(150%)和 B(50%)单独出现的 OTUs 的数量相等,C(100%)单独出现的 OTUs 数量为 29,明显多于增雨和减雨处理样地;3 个不同土层深度下共有 OTUs 数为 914 个,占所有 OTUs 数的 30.67%,X、Y、Z 单独出现的 OTUs 数量分别为 9 个、2 个、5 个。

不同水分和不同土层深度处理下基于 Shannon 指数的真菌系数曲线(图 9)可以看出,随测序深度不断加深,曲线逐渐趋于平稳达到平台期,各样品达到饱和状态,说明测序深度能够基本覆盖到样品中的所有物种。

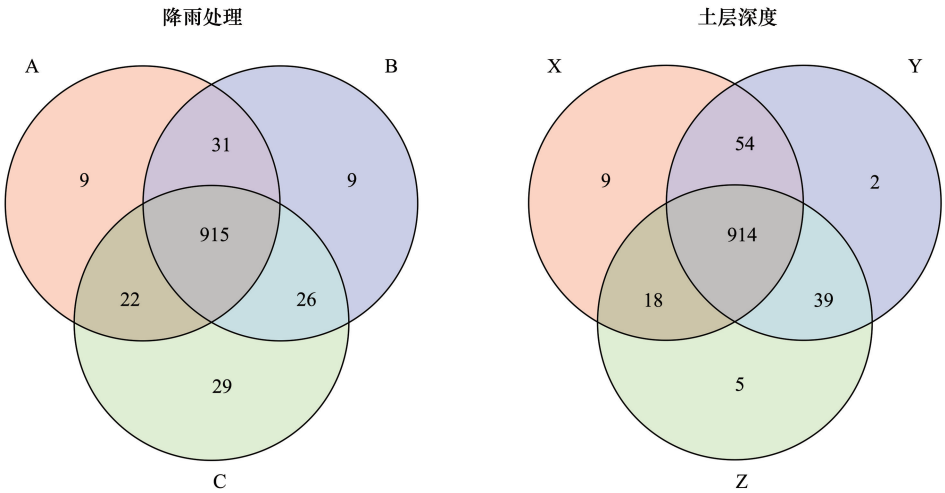

图 8 真菌菌群基因 OUTs 分布

Fig.8 Gene outs distribution of fungal flora

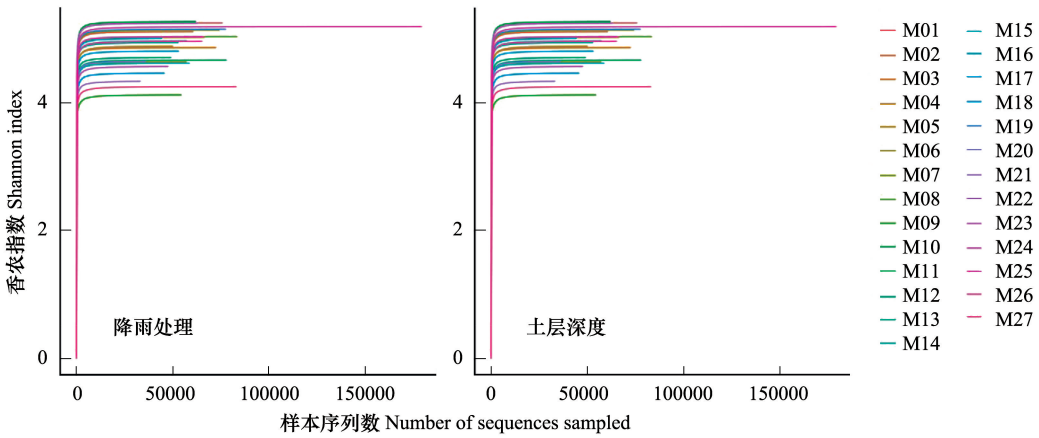

图 9 真菌菌群基因 Shannon 指数

Fig.9 Fungal Flora Gene Shannon Index

2.4.3 土壤真菌 Beta 多样性分析

对土壤真菌进行 PCoA 分析可看出(图 10),与土壤真菌群落有关的第 1 主成分解释变量方差的 37.25%,第 2 主成分解释变量方差的 8.75%。不同水分处理下,各样品混杂图中,没有明确的界线分开,说明了水分处理对真菌多样性影响小;但在不同土层深度间有显著界线分割,对第 1 主成分起主要作用的 0—10 cm 土壤位于 PC1 轴的正端,其数值大于 20,10—20 cm 、20—30 cm 处于 PC1 轴的负端,反映了 0—10 cm 土壤与 10—30 cm深度土壤真菌群落有显著差异,且 10—20 cm 和 20—30 cm 土层深度之间也被显著分割开,表明不同土

层深度下土壤真菌的群落结构存在显著差异。

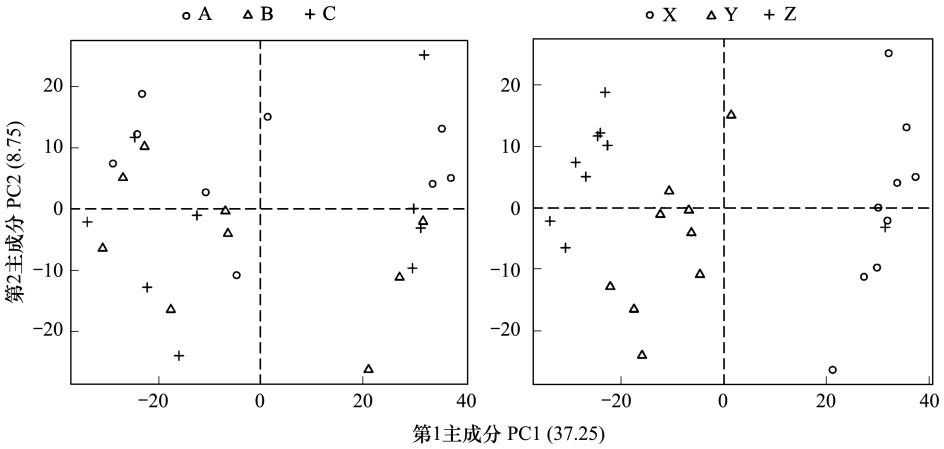

图 10　真菌菌群基因 Beta 多样性

Fig.10　Fungal flora gene beta diversity

2.4.4　真菌群落结构在门水平的结构分析

真菌群落结构在门水平的相对丰度比例分析见图 11,图中只显示了丰度水平较高的物种,Unclassified 代表未得到分类学注释的物种。通过高通量测序检测到的主要门有:子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉菌(Mortierellomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、梳霉亚门(Kickxellomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、毛霉亚门(Mucoromycota)、丝足虫类(Cercozoa)。子囊菌门、担子菌门是土壤中占主导地位的真菌,约占到了所有真菌总数的 80%—93%以上[33]。

在门水平下,同一水分管理对真菌菌群结构无显著影响(P <0.05),Ascomycota 在 150%、50%、100%水分下丰度平均值分别为 48.67%、48.25%、47.35%,占所有真菌群落的 48.09%,丰度最高,其次为 Basidiomycota,占 14.25%。

在 0—10 cm、10—20 cm、20—30 cm 土层深度下,Ascomycota 为主要优势种,其丰度平均值依次为 43.79%、48.80%、51.68%,即随土层加深丰度增高,Kickxellomycota 和 Chytridiomycota 变化规律与之相同;Basidiomycota 丰度平均值依次为 14.50%、12.25%、16.01%,表现为 20—30 cm 深层土壤丰度最高;Mortierellomycota、Glomeromycota 的丰度比例 X >Z >Y,则表层土壤的丰度达到最高,因此不同的真菌类型在不同土层深度下表现出不同的变化规律。

2.5　土壤碳氮磷与土壤微生物的相关性分析

由表 6 可以看出,在不同水分处理下土壤 TN 和 SOC 之间存在极显著正相关关系(P <0.01),土壤 C/N 和 C/P 之间、C/P 和 N/P 之间存在极显著正相关关系(P <0.01),C/P、N/P 与细菌之间存在显著负相关关系(P <0.05),而与真菌之间存在极显著正相关关系(P <0.01),土壤 TN、SOC、TP 含量与细菌、真菌之间无相关性。

在不同土层深度(表 7),土壤 TN、SOC、TP 三者之间无相关性,全氮与 C/P、N/P 之间极显著正相关(P <0.01),SOC 与 C/N 之间存在极显著正相关(P <0.01),TP 与 N/P 为显著负相关(P <0.05),C/N 与 C/P 之间、C/P 与 N/P 之间存在极显著正相关(P <0.01),SOC、TP、C/N 与细菌、真菌之间无相关性,TN、C/P、N/P 与细菌为显著负相关(P <0.05),与真菌之间存在极显著正相关关系(P <0.01)。

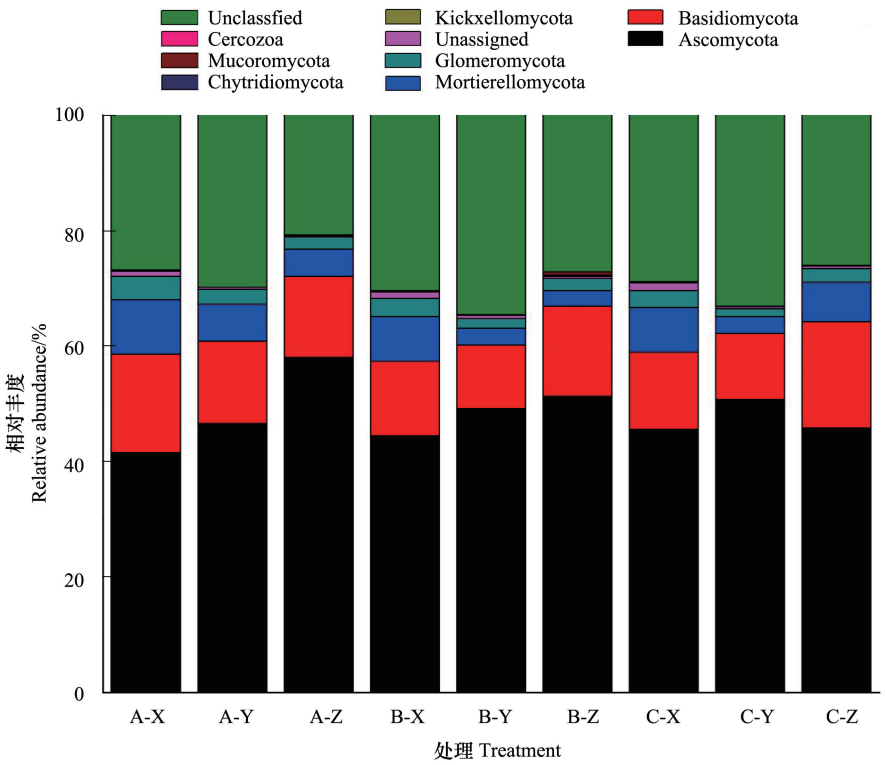

图 11 不同处理门水平上的真菌菌群结构

Fig.11 Fungal flora structure at different treatment gate levels

Unclassified:未得到分类学注释的物种;Cercozoa:丝足虫类;Mucoromycota:毛霉亚门; Chytridiomycota:壶菌门;Kickxellomycota:梳霉亚门;Unassigned:未定义的菌群;Glomeromycota:球囊菌门;Mortierellomycota:被孢霉菌;Basidiomycota:担子菌门;Ascomycota:子囊菌门

表 6 不同水分处理土壤碳氮磷与土壤微生物的相关性分析

Table 6 Correlation analysis of carbon, nitrogen and phosphorus and soil microorganisms in soil treated with different moisture

指标 Indices	全氮 TN	有机碳 SOC	全磷 TP	碳氮比 C/N	碳磷比 C/P	氮磷比 N/P	细菌 Bacteria	真菌 Fungus
全氮 TN	1	0.896**	−0.002	0.087	0.048	0.009	−0.054	−0.122
有机碳 SOC		1	−0.027	0.065	0.073	0.058	−0.052	−0.124
全磷 TP			1	−0.059	0.095	0.16	−0.248	−0.046
碳氮比 C/N				1	0.703**	0.342	−0.248	0.295
碳磷比 C/P					1	0.908**	−0.459*	0.565**
氮磷比 C/P						1	−0.452*	0.577**
细菌 Bacteria							1	0.115
真菌 Fungus								1

3 讨论

3.1 不同降水处理对土壤 SOC、TN、TP 含量及其化学计量比的影响

本试验结果表明:同一土层土壤在 50%、100%、150%降雨处理下,土壤 SOC、TN、TP、C/N、C/P、N/P 均无显著变化,但在正常降水处理下,其平均值均高于增雨和减雨处理。姚庭玉等人在对南亚热带季风气候区常绿阔叶林土壤的研究结果也得出相似的显著分析[34],可能原因是短期(1 年)降水差异对土壤化学计量的影响相对较为微弱,试验区蒸发量远高于降雨,降雨梯度对植被及土壤养分影响未达到显著差异。相反,刘海威研究表明[11],土壤碳随着降水量增加呈波动变化趋势,降水量持续两年增加 80%,对草本叶片碳、钾和根系

碳、氮影响达到显著性水平,对土壤碳有极显著性影响,短期减少降水对土壤化学养分的积累更为有利[34]。

表 7　不同土层深度处理下土壤碳氮磷与土壤微生物的相关性分析

Table 7　Correlation analysis of soil carbon, nitrogen and phosphorus and soil microorganisms under different soil layer depth treatment

指标 Indices	全氮 TN	有机碳 SOC	全磷 TP	碳氮比 C/N	碳磷比 C/P	氮磷比 N/P	细菌 Bacteria	真菌 Fungus
全氮 TN	1	0.153	−0.002	0.365	0.834**	0.881**	−0.462*	0.660**
有机碳 SOC		1	0.117	0.563**	0.311	0.089	0.135	0.195
全磷 TP			1	−0.047	−0.37	−0.473*	0.097	−0.005
碳氮比 C/N				1	0.703**	0.342	−0.248	0.295
碳磷比 C/P					1	0.908**	−0.459*	0.565**
氮磷比 C/P						1	−0.452*	0.577**
细菌 Bacteria							1	0.115
真菌 Fungus								1

在 0—30 cm 土层深度下土壤 SOC、TN 含量有显著差异, 表层土壤含量高于底层,有“表聚”现象,土壤 TP 含量垂直差异不显著[35],这是由于土壤碳、氮、磷的来源不同所造成的,碳、氮主要是来源于地表植物的枯枝落叶、动物和微生物残体在分解和转化过程中逐渐聚集而后向下迁移积累,因此表层含量高于深层,磷主要是在成土母质漫长的风化沉积过程中形成的,变化缓慢且差异较小[36-38]。在化学计量比方面,不同土层深度土壤 C/N、C/P、N/P 差异显著,且均在表层土壤中含量最高,钟春柳等人也得出了相似的结论[39]。C/N 是反映土壤有机质分解速度的指标之一,其比值与土壤有机质的分解速度成反比,土壤 C/P 能够反映出土壤中磷的有效性,土壤 N/P 可以衡量土壤养分在植物生长过程中的供应情况[40],随着土层深度的加深,土壤 SOC、TN 含量减少,TP 含量变化微弱,因此 C/P、N/P 也具有相同的变化趋势,且 N/P 与 TP 有显著负相关关系、而与 TN 有极显著正相关关系,SOC 与 C/N 具有极显著正相关关系,因此其变化符合生态化学计量特征。

3.2　不同降水处理对土壤微生物多样性的影响

本研究中细菌 OTUs 显著高于真菌 OTUs,这与前人研究结果一致[41-42]。此外,不同水分处理对土壤中细菌多样性的影响不大;但增雨和减雨处理都会增大真菌均匀度指数和丰富度指数,降水变化还使土壤微生物的菌群结构组分比例发生相应的变化[43],优势种所占的比例降低,这与王楠楠等人的结论相一致[44]。其原因可能是真菌对降水处理的响应与细菌相比更为敏感,在不同的降水处理下,土壤中的微生物能够使菌群结构发生改变以应对外界环境的变化,且 0—30 cm 土层深度相对较浅,细菌局部生存环境相对稳定,地表腐殖质层和根际有机物都能够产生大量有机质,适宜多种细菌的繁衍和生存。在同一降水处理不同土层深度下,土壤微生物多样性与土层的深度之间呈负相关关系,菌群结构也发生了变化。在现有的研究结论中,土层深度与微生物多样性呈负相关[45]和先降低后升高等[46]关系,其原因可能是试验区地处干旱半干旱地区,表层土壤中植被覆盖度较高,有机质含量、土壤水分等相对于深层土壤较高,微生物活性高,物种多样性也最高。

3.3　化学计量与微生物多样性的相关性分析

土壤微生物是陆地生态系统中土壤有机质分解、转化的主要组分,土壤微生物为了满足自身生存、发育、繁衍增殖而从土壤中获取化学能量和营养物质[47],而研究表明土壤碳氮磷及其化学计量比能够很好地反映能量和养分的含量[48]。本试验土壤 SOC、TP、C/N 与微生物多样性无关,C/P、N/P 与细菌多样性呈显著负相关关系,与真菌多样性呈极显著正相关关系,这一结论与黄菊莹等人[49]研究结果相似。在降水处理下,增雨和减雨均未使土壤碳、氮、磷发生显著的变化,可能是短期控雨条件下研究区草地生态系统相对稳定,土壤碳、氮、磷化学计量也处于相对稳定状态,且气候条件、地形地貌条件等是土壤养分来源以及含量高低的决定性因素,微生物仅起到推动作用[50],这也可能是土壤碳、氮、磷与微生物多样性之间无显著相关性的原因之一。土壤 C/P、N/P 作为反映土壤质量和养分的重要指标,能够很好的指示土壤对微生物新陈代谢和发育繁衍所需要养分的供应情况,这也说明了微生物对土壤养分有较高的依赖性[49]。

4 结论

模拟降雨对黄土高原典型草原土壤生态化学计量及微生物多样性的研究表明:短期(一年)不同降雨处理下土壤 SOC、TN、TP 及微生物多样性无显著性变化;同一降水处理,表层土壤养分含量显著高于深层土壤,且不同土层间微生物多样性差异明显;微生物多样性与土壤养分关系密切,土壤 C/P、N/P 均与微生物多样性呈显著性相关,研究结果为模拟长期降雨处理下草地生态系统土壤养分和微生物变化提供参考。

参考文献(References):

[1] IPCC. Summary for Policymakers of the Synthesis Report of the IPCC Fourth Assessment Report. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

[2] Piao S L, Ciais P, Huang Y, Shen Z H, Peng S S, Li J S, Zhou L P, Liu H Y, Ma Y C, Ding Y H, Friedlingstein P, Liu C Z, Tan K, Yu Y Q, Zhang T Y, Fang J Y. The impacts of climate change on water resources and agriculture in China. Nature, 2010, 467: 43-51.

[3] 霍利霞, 红梅, 赵巴音那木拉, 高海燕, 叶贺. 氮素和水分添加对荒漠草原土壤理化性质及微生物量碳氮的影响. 北方农业学报, 2018, 46(3): 54-59.

[4] Chen F, Tan M, Yang Y J, Ma J, Zhang S L, Li G. The diversity changes of soil microbial communities stimulated by climate, soil type and vegetation type analyzed via a functional gene array. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(11): 1755-1763.

[5] Zhang Y, Dong S K, Gao Q Z, Liu S L, Zhou H K, Ganjurjav H, Wang X X. Climate change and human activities altered the diversity and composition of soil microbial community in alpine grasslands of the Qinghai-Tibetan Plateau. Science of the Total Environment, 2016, 562: 353-363.

[6] 宁志英, 李玉霖, 杨红玲, 张子谦, 张建鹏. 沙化草地土壤碳氮磷化学计量特征及其对植被生产力与多样性的影响. 生态学报, 2019, 39(10): 3537-3546.

[7] Elser J J, Sterner R W, Gorokhova E, Fagan W F, Markow T A, Cotner J B, Harrison J F, Hobbie S E, Odell G M, Weider L W. Biological stoichiometry from genes to ecosystems. Ecology Letters, 2000, 3(6): 540-550.

[8] Westheimer F H. Why Nature Chose Phosphates. Science, 1987, 235(4793): 1173-1178.

[9] 钞然, 张东, 陈雅丽, 万志强, 高清竹, 包铁军, 杨劼. 模拟增温增雨对典型草原土壤酶活性的影响. 干旱区研究, 2018, 35(5): 1068-1074.

[10] 郑庆伟. 东北地理所揭示 CO_2浓度升高对大豆根际微生物群落结构的影响. 农药市场信息, 2018, (18): 43-44.

[11] 刘海威. 黄土丘陵区草地群落生物学及生态化学计量学特征对降水改变的响应分析评价[D]. 杨凌: 中国科学院大学(中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心), 2018.

[12] 罗瑞敏. 休眠期增温、增雪对黄土高原封育草地生产力的影响机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.

[13] 秦海龙, 付旋旋, 卢瑛, 韦翔华, 李博, 贾重建, 姜坤. 广西猫儿山不同海拔土壤碳氮磷生态化学计量特征. 应用生态学报, 2019, 30(3): 711-717.

[14] 王雪梅, 闫帮国, 赵广, 史亮涛, 刘刚才, 方海东. 云南元谋不同海拔土壤微生物对车桑子碳、氮、磷化学计量特征及土壤特性的影响. 植物生态学报, 2017, 41(3): 311-324.

[15] 杨新芳, 鲍雪莲, 胡国庆, 邵帅, 周锋, 叶佳舒, 解宏图, 梁超. 大兴安岭不同火烧年限森林凋落物和土壤 C、N、P 化学计量特征. 应用生态学报, 2016, 27(5): 1359-1367.

[16] 吴雨晴, 田赟, 周建琴, 张克斌. 不同放牧制度草地土壤碳氮磷化学计量特征. 应用与环境生物学报, 2019, 25(4): 1-7.

[17] 郑慧芬, 吴红慧, 翁伯琦, 叶菁, 曾玉荣, 王义祥. 施用生物炭提高酸性红壤茶园土壤的微生物特征及酶活性. 中国土壤与肥料, 2019, (2): 68-74.

[18] 严磊, 陈杏娟, 杨永刚, 齐振雄, 姜瑞丽, 许玫英. 微生物对水环境污染物的趋化性研究进展. 微生物学杂志, 2018, 38(5): 106-111.

[19] 贺云龙, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 闫钟清, 王丽芹, 李兆林. 外源碳输入对陆地生态系统碳循环关键过程的影响及其微生物学驱动机制. 生态学报, 2017, 37(2): 358-366.

[20] 宋贤冲, 王会利, 秦文弟, 邓小军, 田红灯, 谭一波, 王绍能, 曹继钊. 退化人工林不同恢复类型对土壤微生物群落功能多样性的影响. 应用生态学报, 2019, 30(3): 841-848.

[21] 席军强, 杨自辉, 郭树江, 王强强, 张剑挥, 王多泽. 不同类型白刺沙丘土壤理化性状与微生物相关性研究. 草业学报, 2015, 24(6): 64-74.

[22] 刘艳梅, 李新荣, 何明珠, 贾荣亮, 李小军, 张志山. 生物土壤结皮对土壤微生物量碳的影响. 中国沙漠, 2012, 32(3): 669-673.

[23] Ladau, J, Shi Y, Jing X, He J S, Chen L T, Lin X G, Fierer N, Gilbert J A, Pollard K S, Chu H Y. Existing climate change will lead to

pronounced shifts in the diversity of soil prokaryotes. mSystems, 2018, 3(5): e00167-18.

[24] 张海芳. 贝加尔针茅草原植物与土壤微生物群落对氮素和水分添加的响应[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.

[25] 高金涛. 模拟增温和氮沉降对中亚热带杉木人工林土壤微生物和酶活性的影响[D]. 福州: 福建师范大学, 2016.

[26] 陈雅丽. 增温增雨对克氏针茅草原土壤微生物群落特征及酶活性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2017.

[27] 刘远, 张辉, 熊明华, 李峰, 张旭辉, 潘根兴, 王光利. 气候变化对土壤微生物多样性及其功能的影响. 中国环境科学, 2016, 36(12): 3793-3799.

[28] 潘晓悦. 增温和降水变化对青藏高原高寒草甸土壤反硝化微生物群落的影响研究[D]. 徐州: 中国矿业大学, 2017.

[29] 张翼, 李建平, 井乐. 封育对天然草地深层土壤粒径分形特征的影响. 水土保持研究, 2018, 25(5): 131-135.

[30] 李建平, 谢应忠. 封育对黄土高原天然草地深层土壤碳、氮储量的影响. 草业科学, 2016, 33(10): 1981-1988.

[31] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-30.

[32] 孙彩丽, 肖列, 李鹏, 薛莲, 刘国彬. 氮素添加和干旱胁迫下白羊草碳氮磷化学计量特征. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(4): 1120-1127.

[33] 曾全超, 黄土高原不同植被生态系统土壤微生物多样性及其影响因素研究[D]. 杨凌: 中国科学院研究生院(教育部水土保持与生态环境研究中心), 2015.

[34] 姚庭玉, 陈小梅, 何俊杰, 钟倩欣, 陈俐平. 模拟干旱对鼎湖山季风常绿阔叶林土壤碳氮磷化学计量特征的影响. 西南林业大学学报, 2017, 37(1): 104-109.

[35] 刘兴华, 陈为峰, 段存国, 王凯, 王海翠. 黄河三角洲未利用地开发对植物与土壤碳、氮、磷化学计量特征的影响. 水土保持学报, 2013, 27(2): 204-208.

[36] 汪宗飞, 郑粉莉. 黄土高原子午岭地区人工油松林碳氮磷生态化学计量特征. 生态学报, 2018, 38(19): 6870-6880.

[37] 李婷, 邓强, 袁志友, 焦峰. 黄土高原纬度梯度上的植物与土壤碳、氮、磷化学计量学特征. 环境科学, 2015, 36(8): 2988-2996.

[38] 张宏斌, 孟好军, 赵维俊, 高慧娟, 赵永宏. 黑河流域中游芦苇湿地土壤碳垂直分布特征. 生态科学, 2016, 35(2): 123-127.

[39] 钟春柳, 黄义雄, 张巧, 文华英. 平潭 4 种主要防护林碳氮磷化学计量特征与碳氮储量研究. 西南林业大学学报, 2016, 36(2): 96-102.

[40] 王绍强, 于贵瑞. 生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征. 生态学报, 2008, 28(8): 3937-3947.

[41] 尹亚丽, 王玉琴, 李世雄, 刘燕, 赵文, 马玉寿, 鲍根生. 围封对退化高寒草甸土壤微生物群落多样性及土壤化学计量特征的影响. 应用生态学报, 2019, 30(1): 127-136.

[42] 高凤, 王斌, 石玉祥, 张更新, 王建, 斯贵才, 韩丛海, 袁艳丽, 胡盎. 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.

[43] Wohl D L, Arora S, Gladstone J R. Functional redundancy supports biodiversity and ecosystem function in a closed and constant environment. Ecology, 2004, 85(6): 1534-1540.

[44] 王楠楠, 杨雪, 李世兰, 隋心, 韩士杰, 冯富娟. 降水变化驱动下红松阔叶林土壤真菌多样性的分布格局. 应用生态学报, 2013, 24(7): 1985-1990.

[45] 李艳丽, 赵化兵, 谢凯, 宋晓辉, 徐阳春, 董彩霞. 不同土壤管理方式对梨园土壤微生物及养分含量的影响. 土壤, 2012, 44(5): 788-793.

[46] 宋雪洁, 刘波, 刘天明. 利用高通量测序法分析中国北方葡萄园土壤细菌的多样性. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 48-52.

[47] 杨钙仁, 童成立, 张文菊, 吴金水. 陆地碳循环中的微生物分解作用及其影响因素. 土壤通报, 2005, 36(4): 605-609.

[48] Tian H Q, Chen G S, Zhang C, Melillo J M, Hall C A S. Pattern and variation of C:N:P ratios in China's soils: a synthesis of observational data. Biogeochemistry, 2010, 98(1/3): 139-151.

[49] 黄菊莹, 余海龙, 刘吉利, 马飞, 韩磊. 控雨对荒漠草原植物、微生物和土壤 C、N、P 化学计量特征的影响. 生态学报, 2018, 38(15): 5362-5373.

[50] 王传杰, 王齐齐, 徐虎, 高洪军, 朱平, 徐明岗, 张文菊. 长期施肥下农田土壤-有机质-微生物的碳氮磷化学计量学特征. 生态学报, 2018, 38(11): 3848-3858.