

DOI: 10.5846/stxb202103290818

郑佳华, 赵萌莉, 王琪, 张峰, 张彬, 张军. 放牧和刈割对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响. 生态学报, 2022, 42(12): 4998-5008.

Zheng J H, Zhao M L, Wang Q, Zhang F, Zhang B, Zhang J. Effects of management regime on soil microbial community structure and diversity of *Stipa grandis* grassland. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12): 4998-5008.

放牧和刈割对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响

郑佳华^{1,2}, 赵萌莉^{1,2,*}, 王琪^{1,2}, 张峰^{1,2}, 张彬^{1,2}, 张军³

1 内蒙古农业大学草原与资源环境学院, 呼和浩特 010019

2 内蒙古农业大学草地资源教育部重点实验室, 呼和浩特 010019

3 内蒙古农业大学理学院, 呼和浩特 010019

摘要: 放牧和刈割是内蒙古草原的两种主要利用方式, 然而, 长期放牧和刈割对大针茅草原土壤微生物群落的影响知之甚少, 因此, 以内蒙古大针茅草原为研究对象, 设置放牧和刈割两种利用方式, 以围封不利用为对照, 基于高通量测序技术, 研究大针茅草原在不同利用方式下土壤微生物组成及多样性的变化, 并结合土壤理化因子进一步探究土壤微生物群落组成的主要影响因素。研究表明: 不同利用方式下土壤细菌 α 多样性指数无显著差异, 而刈割显著提高了土壤真菌 Observed_species、Chao1 和 ACE 指数; 土壤细菌群落的优势菌门是变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria), 土壤真菌群落的优势菌门是子囊菌门 (Ascomycota) 和被孢霉门 (Mortierellomycota), 不同利用方式下部分微生物类群的相对丰度差异显著, 放牧显著提高了细菌群落的变形菌门、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 的相对丰度, 刈割显著提高了真菌群落的担子菌门 (Basidiomycota) 相对丰度, 此外, 放牧和刈割均显著降低了厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度; 冗余分析表明, 土壤细菌主要受硝态氮和铵态氮影响, 二者均与酸杆菌门 (Acidobacteria) 呈正相关, 与变形菌门 (Proteobacteria) 呈负相关, 土壤真菌主要受有效磷和硝态氮影响。综上所述, 草地利用方式的改变通过土壤理化因子改变了土壤微生物群落组成及多样性, 其中土壤铵态氮、硝态氮和有效磷是微生物群落形成和演化的主要驱动因素。研究揭示了不同利用方式下大针茅草原土壤微生物群落结构特征及多样性的变化及其与土壤理化性质的关系, 可为大针茅草原合理利用提供理论依据。

关键词: 大针茅草原; 土壤微生物; 冗余分析; 放牧

Effects of management regime on soil microbial community structure and diversity of *Stipa grandis* grassland

ZHENG Jiahua^{1,2}, ZHAO Mengli^{1,2,*}, WANG Qi^{1,2}, ZHANG Feng^{1,2}, ZHANG Bin^{1,2}, ZHANG Jun³

1 College of Grassland, Resources and Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

2 Key Laboratory of Grassland Resources, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

3 College of Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

Abstract: Grazing and mowing are two dominant management regimes in the Inner Mongolia grassland, both of which have a profound impact on grassland ecosystem, and most of the previous studies have primarily focused on the effects on plant and soil. Soil microbial communities are the most abundant and diverse groups of organisms on earth and are responsible for numerous key ecosystem processes. They play an important role in the circulation of materials and nutrients between plants and soil ecosystems. However, their response to these management regimes has not been comprehensively explored in *Stipa*

基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目 (2019ZD008); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2020ZD03); 国家自然科学基金项目 (31861143001, 32160332)

收稿日期: 2021-03-29; 网络出版日期: 2022-02-11

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

grandis grassland. In this study, two management regimes of grazing and mowing were set up in a typical *S. grandis* area, and enclosure was used as the control. Based on high-throughput sequencing technology, the changes of soil microbial composition and diversity under different management regimes was examined, Redundancy analysis was used to analysis soil physical and chemical characteristics influencing on it. The results showed that there was no significant difference in soil bacterial α diversity index under different management regimes, but mowing significantly increased soil fungal Observed species, Chao1 and ACE index. Amplicon sequencing revealed Proteobacteria and Actinobacteria were the dominant bacterial phylum under different grassland management regimes, and the dominant phyla of soil fungal communities were Ascomycota and Mortierellomycota. Grazing significantly increased the relative abundance of Proteobacteria, Verrucomicrobia and Gemmatimonadetes of the bacterial community, and mowing significantly increased the relative abundance of Basidiomycota of fungal community. In addition, grazing and mowing significantly reduced the relative abundance of Firmicutes. Redundancy analysis showed that soil bacteria were mainly affected by nitrate nitrogen and ammonium nitrogen, which were positively correlated with Acidobacteria and negatively correlated with Proteobacteria. Soil fungi were mainly affected by available phosphorus and nitrate nitrogen. In conclusion, changes in grassland usage methods altered the composition and diversity of soil microflora through soil physicochemical factors, and soil ammonium nitrogen, nitrate nitrogen and available phosphorus were the main driving factors on microbial community formation and evolution. This study revealed the structural characteristics and diversity of soil microbial communities in the *S. grandis* steppe under different management regimes and their relationship with soil physicochemical properties, which may provide a theoretical basis for the rational utilization of *S. grandis* steppe.

Key Words: *Stipa grandis* grassland; soil microbial; redundancy analysis; management regimes

大针茅草原是欧亚草原中最常见,最具代表性和最稳定的典型草原群落,广泛分布于我国内蒙古中东部^[1]。有研究表明,我国内蒙古锡林郭勒盟 74.0%的大针茅草原处于退化状态,严重威胁着畜牧业生产和当地牧民的生计^[2]。放牧和刈割是该地区最普遍的利用方式,也是造成草地退化的主要原因^[3],过度放牧会对草地生态系统造成许多负面影响,包括有毒植物的增加以及植被覆盖度和生物量的损失、破坏植物群落的结构和组成、导致土壤环境恶化等^[4-5],宋洁等的研究发现,重度放牧导致大针茅草原优势种重要值降低,并且显著降低了土壤养分含量^[6],此外,土壤含水量、草地蒸散速率、土壤有机碳含量和土壤呼吸速率均与放牧强度呈负相关,说明放牧对草地生态系统功能有负效应^[7]。另一方面,刈割显著降低大针茅草原的产量和土壤氮含量^[8],也导致土壤中营养元素的流失,降低生态系统的稳定性^[9-10]。

土壤是一个复杂的生态系统,可以提供植物生长所需的水分和养分,是生物地球化学循环的基础^[11]。草地退化会导致沙漠化,并降低微生物数量^[12]。土壤微生物是草地生态系统的重要组成部分,参与多种重要的生态功能,在调节碳氮循环等生物地球化学过程中发挥着重要作用^[13]。不同的微生物在土壤养分循环中发挥不同的功能,如分解有机质和凋落物等^[14]。有研究发现,人为干扰导致的草地植被群落的变化改变了一些土壤细菌的代谢,导致其对植物生长有害^[15]。同时,生物和非生物因素,如凋落物输入、土壤物理性质和土壤养分状况可以调控微生物种群数量、群落结构和活性^[16]。因此,不同利用方式下大针茅草原土壤养分状况和环境因子的变化可能导致微生物群落结构和组成的变化,这一研究对于草地管理和健康评价具有重要意义。

目前有关大针茅草原长期放牧和刈割下对土壤微生物群落的研究较少,因此本研究采用高通量测序技术,旨在研究大针茅草原在不同利用方式下土壤微生物组成及多样性的变化,并结合土壤理化因子进一步探究土壤微生物群落组成的主要影响因素。阐明土壤微生物群落组成的驱动因素,为大针茅草原合理利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于内蒙古锡林浩特市毛登牧场(116.03°—116.50°E、44.80°—44.82°N)。该地区属温带干旱大

陆性气候,气温变化剧烈,昼夜温差较大。年平均气温 2.25℃,年降水量 136—387mm,年平均降水量 281.39mm;年蒸发量 2000—2700mm。大部分降水集中在 6—9 月,占全年降水量的 80%以上。光照、热、降水同期出现。土壤以栗钙土为主,土壤有机质含量 2%—3%。该地区以大针茅(*Stipagrandis*)为建群种,优势种有羊草(*Leymuschinensis*)和知母(*Anemarrhenaasphodeloides*),主要伴生种有黄囊苔草(*Carexkorshinskyi*)、黄花黄芪(*Astragalusluteolus*)、冰草(*Agropyroncristatum*)以及冷蒿(*Artemisia frigida*)等。

1.2 试验设计

本研究选择刈割(M)以及自由放牧(G)两种利用方式,并以围封作为对照(E),各个样地在地形地貌、土壤组分、气候及原生群落组成与类型上基本一致。其中刈割样地和围封样地位于毛登牧场天然打草场试验地,实验样地于 2011 年开始处理,设置了刈割处理区和围封对照区,3 次重复,共 6 个小区,每个小区面积为 50m×30m,小区间隔 10m,每年的 8 月 31 号使用打草机对刈割样地进行割草处理,留茬高度约为 5cm。放牧样地选择毛登牧场中利用强度相近的 3 户牧民草场,面积分别为 533、500、400hm²,全年自由放牧,主要放牧家畜为绵羊,放牧年限超过 20 年,2014—2020 年使用移动围笼测定 3 户草地的 7 年平均草地利用率为 60.9%^[17]。

1.3 土壤取样

野外取样于 2020 年 8 月 10—20 日生物量高峰期进行。在刈割和对照样地各个重复小区内随机设置 3 个 1m×1m 的样方,3 个家庭牧场各随机设置 3 个 1m×1m 的样方,使用内径 7cm 的根钻在每个样方内以“S”形 5 点混合采样法收集 0—20cm 土层的土壤并装入根袋中,筛出土壤样品分成 2 份保存,一份放在 4℃冰盒中带回实验室用于土壤微生物高通量测定,另一份带回实验室风干后用于土壤理化性质指标的测定。完成土壤样品采集后,在每个小区内使用快速检测温度计随机测定 3 处 20cm 深度的土壤温度,计算平均值记为该小区的土壤温度,使用烘干称重法测定土壤含水量。

1.4 土壤微生物 DNA 提取及测序

将低温保存的土壤样品按每个区组混合成为 1 个样品,使用 MOBIO 土壤 DNA 提取试剂盒(德国 QIAEN 公司)提取土壤微生物总 DNA。将得到的 DNA 溶液利用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳仪检测浓度和样品完整性(琼脂糖凝胶浓度:1%;电压:150V;电泳时间:40 分钟)。当用 Nanodrop 2000 测定 DNA 样品的 A260/A280 比值均接近于 1.8 时,表明所提取 DNA 无降解,质量较好,可用于后续的 PCR 扩增实验。PCR 扩增细菌 16S rRNA V3-V4 高变区:515F(5'-gtgccagcmgcccgcgtaa-3')、806R(5'-ggac-TACHVGGGTWTCTAAT-3'),使用真菌引物组 ITS5-1737F 和 ITS2-2043R 扩增 ITS1 可变区。在 2%琼脂糖凝胶中检测 PCR 产物,以确定扩增的成功率和条带的相对强度。使用 TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 进行文库构建。测序工作由“北京诺禾致源科技股份有限公司”完成。基于 IonS5TMXL 测序平台,利用单端测序的方法,构建小片段文库进行单端测序。测序完成后,对原始数据进行剪切、过滤、拼接得到有效数据用于后续分析,在 97%相似性水平下将优质序列聚类成为 OTUs(Operational taxonomic units),然后对 OTUs 序列进行物种注释。使用 Qiime 软件计算 Observed-otus 指数、Chao1 指数、Shannon-wiener 指数、Simpson 指数、ACE 指数,用于分析土壤微生物群落 α 多样性^[17]。

1.5 土壤理化性质测定

土壤全碳、全氮使用元素分析仪测定;土壤全磷使用钼锑抗比色法测定;土壤铵态氮、硝态氮使用连续流动分析仪 AA3 测定;土壤有机碳使用重铬酸钾容量法-外加热法测定;土壤有效磷使用 0.5mol/L NaHCO₃法测定;土壤电导率使用电导仪测定;土壤 pH 使用 pH 计测定。以上指标均严格按照土壤农化分析手册中的实验步骤测定^[18]。

1.6 数据分析

使用 Excel 2010 初步整理数据,使用 SPSS 20.0 对实验数据进行正态分布检验和方差齐性检验,本试验的数据均符合正态分布且通过了方差齐性检验,对数据进行差异显著性检验(DUNCAN 法,α=0.05)。使用

Origin 2019 作图。使用 canoco 5.0 软件进行冗余分析。

2 结果分析

2.1 土壤理化性质

由表 1 可以看出,利用方式对土壤养分含量有显著影响,与围封相比,放牧显著降低了土壤硝态氮、有效磷、有机碳、总氮和总碳含量,而刈割显著提高了土壤总氮和总碳含量($P<0.05$)。说明刈割有利于大针茅草原土壤养分的累积,而放牧则导致了土壤养分流失严重。同时,利用方式对土壤物理性质也有显著影响,与围封相比,放牧显著降低了土壤含水量、温度和 pH,而刈割显著提高了土壤 pH($P<0.05$)。

表 1 不同利用方式下土壤理化特性

Table 1 Physical and chemical characteristics of soil under different grassland management regime

土壤理化因子 Soil properties factors	围封 Enclosed	刈割 Mowing	放牧 Grazing
铵态氮 Ammonium nitrogen/(mg/kg)	0.78±0.08a	0.83±0.09a	0.63±0.04a
硝态氮 Nitrate nitrogen/(mg/kg)	3.89±0.27a	3.96±0.21a	3.06±0.09b
总磷 Total phosphorus/(g/kg)	0.25±0.02a	0.3±0.03a	0.22±0.02a
有效磷 Available phosphorus/(mg/kg)	4.14±0.18a	3.99±0.14a	3.46±0.09b
有机碳 Organic carbon/(mg/kg)	15.15±0.43a	16.5±0.42a	12.29±0.55b
总氮 Total nitrogen/(g/kg)	1.78±0.03b	1.93±0.05a	1.47±0.06c
总碳 Total carbon/(g/kg)	15.33±0.39b	20.28±1.13a	12.62±0.74c
含水量 Moisture/%	10.98±0.34a	10.53±0.32ab	9.32±0.55b
温度 Soil temperature/°C	25.76±0.35a	25.57±0.3a	21.66±0.17b
电导率 Electric conductivity/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	128.22±2.51a	128.11±2.81a	131.19±7.47a
pH	8.04±0.14b	8.63±0.12a	7.19±0.05c

同行不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.2 OTU 数量分析

根据不同利用方式下细菌、真菌的 OTU 数量绘制韦恩图,由图 1 可以看出,不用利用方式下共有细菌 OTU2959 个,围封样地特有的 OTU 数为 762 个;刈割样地为 749 个;放牧样地为 974 个,不用利用方式下共有

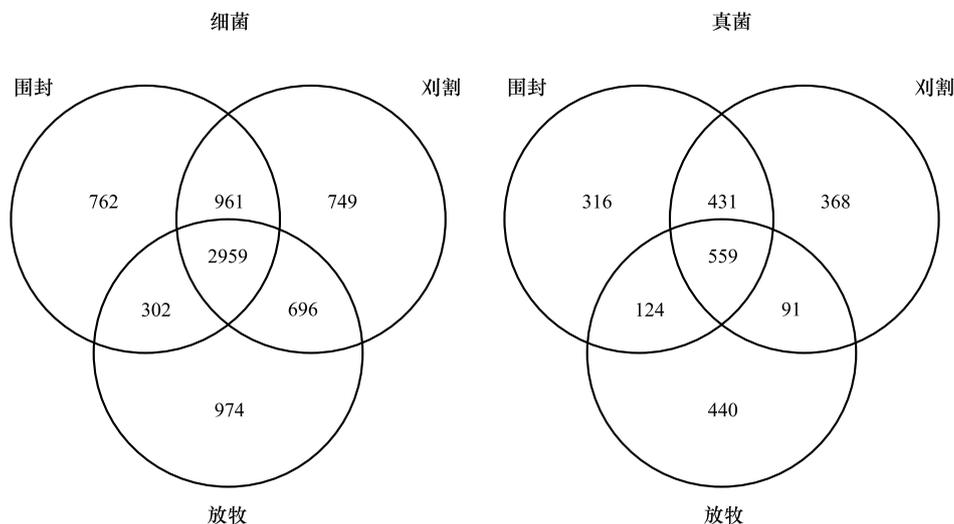


图 1 土壤样品微生物 OTUs 数量的 16S(细菌)和 ITS(真菌)韦恩图

Fig.1 Venne diagram of OTUs number of bacteria and fungi

OTUs: 操作分类单位 Operational taxonomic units

真菌 OTU559 个,围封样地特有的 OTU 数为 316 个;刈割样地为 368 个;放牧样地为 440 个,可以看出土壤细菌数量远大于真菌数量。此外,在放牧样地中,特有的细菌 OTU 数和真菌 OTU 数均最大,说明在放牧下条件,土壤微生物群落变化最大,特有的微生物群落最多。

2.3 土壤微生物 α 多样性分析

不同利用方式下土壤细菌群落的 α 多样性指数间无显著性差异,而土壤真菌群落的 α 多样性指数间差异显著 ($P < 0.05$)。其中,Observed_species 指数、Chao1 指数以及 ACE 指数的变化趋势一致,与围封相比,放牧无显著影响,但是刈割显著提高了土壤真菌群落的 Observed_species 指数、Chao1 指数以及 ACE 指数 ($P < 0.05$),分别提高了 7.24%、7.76% 和 8.13% (表 2)。Observed_species 指数表示真菌的物种数目,值越高表示该样地内物种丰富度越高;Chao1 指数表示样地内真菌 OTU 数目;ACE 指数表示样地内真菌物种丰富度和均匀度。说明在刈割处理下,土壤真菌群落丰富度最高且物种分布最均匀。

表 2 不同利用方式下土壤细菌和真菌 α 多样性指数方差分析

Table 2 Variance analysis of α diversity index of soil bacteria and fungi under different grassland management regimes

土壤微生物 Soil microbes	利用方式 Management regimes	物种数目 Observed_species	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index
细菌 Bacteria	围封	3421.33±29.17	9.79±0.08	0.9967±0	3741.07±39.84	3788.38±42.23
	刈割	3391.67±35.1	9.7±0.01	0.9967±0	3727.46±56.41	3774.32±59.92
	围割	3384.67±34.92	9.72±0.04	0.9967±0	3694.86±43.94	3747.86±41.03
真菌 Fungi	围封	846.00±81.54b	5.92±0.22	0.9497±0.01	915.26±89.79b	926.47±96.13b
	刈割	912.00±10.54a	6.06±0.08	0.9533±0	992.62±6a	1008.19±13.94a
	围割	791.00±11.68b	5.87±0.04	0.956±0	845.85±13.23b	855.03±10.77b

同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$),未标注表示处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。E: 围封 Enclosure; M: 刈割 Mowing; G: 放牧 Grazing

2.4 土壤微生物群落结构

不同利用方式下土壤细菌群落相对丰度在门水平上排名前 10 的菌群依次为:变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、undefined_Bacterial、厚壁菌门 (Firmicutes)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、泉古菌门 (Crenarchaeota) 以及

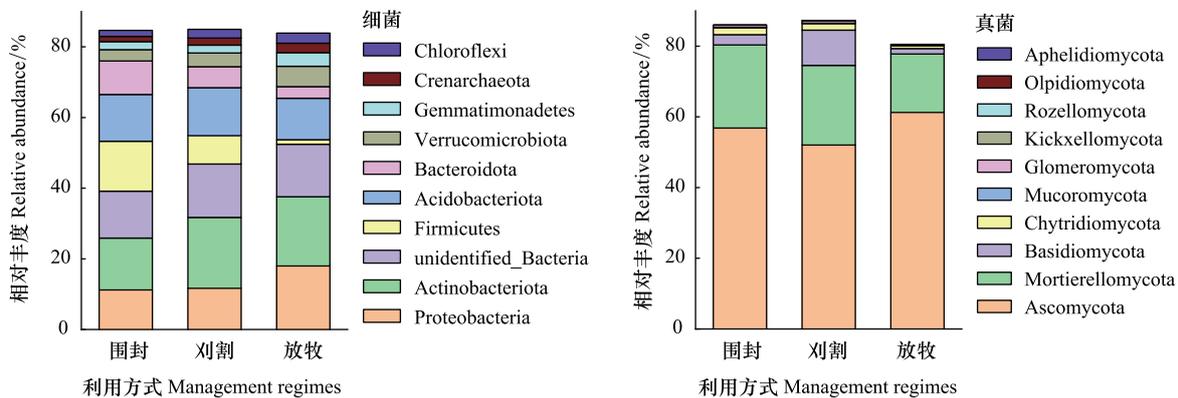


图 2 不同利用方式下土壤细菌和真菌群落在门水平上的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of total bacterial and fungi phyla in soil under different grassland management regimes

细菌: Proteobacteria, 变形菌门; Actinobacteria, 放线菌门; Firmicutes, 厚壁菌门; Acidobacteria, 酸杆菌门; Bacteroidetes, 拟杆菌门; Verrucomicrobia, 疣微菌门; Gemmatimonadetes, 芽单胞菌门; Crenarchaeota, 泉古菌门; Chloroflexi, 绿弯菌门;
 真菌: Ascomycota, 子囊菌门; Mortierellomycota, 被孢霉门; Basidiomycota, 担子菌门; Chytridiomycota, 壶菌门; Mucoromycota, 毛霉门; Glomeromycota, 球囊菌门; Kickxellomycota, 梳霉门; Rozellomycota, 罗兹菌门/隐菌门; Olpidiomycota, 油壶菌门; Aphelidiomycota, 隐孢子菌门

绿弯菌门(Chloroflexi),其中相对丰度排名前5的细菌群落占土壤细菌总 OTU 数的 60%以上(图 2)。不同利用方式下土壤真菌群落相对丰度在门水平上排名前 10 的菌群依次为:子囊菌门(Ascomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、霉门(Mucoromycota)、球囊菌门(Kickxellomycota)、梳霉门(Kickxellomycota)、罗兹菌门/隐菌门(Rozellomycota)、油壶菌门(Olpidiomycota)以及隐孢子菌门(Aphelidiomycota),其中子囊菌门(Ascomycota)和被孢霉门(Mortierellomycota)占土壤真菌总 OTU 数的 70%以上(图 2)。

通过 MetaStat 分析不同利用方式下土壤细菌的相对丰度在门水平上的差异性,共有 6 种细菌类群存在显著性差异,分别是变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、疣微菌门、芽单胞菌门以及绿弯菌门(图 3)。与围封相比,放牧显著提高了变形菌门、疣微菌门和芽单胞菌门的相对丰度($P<0.05$),而围封样地与刘割样地间无显著差异;放牧和刘割显著提高了放线菌门和绿弯菌门的相对丰度($P<0.05$);放牧和刘割显著降低了厚壁菌门的相对丰度($P<0.05$)。

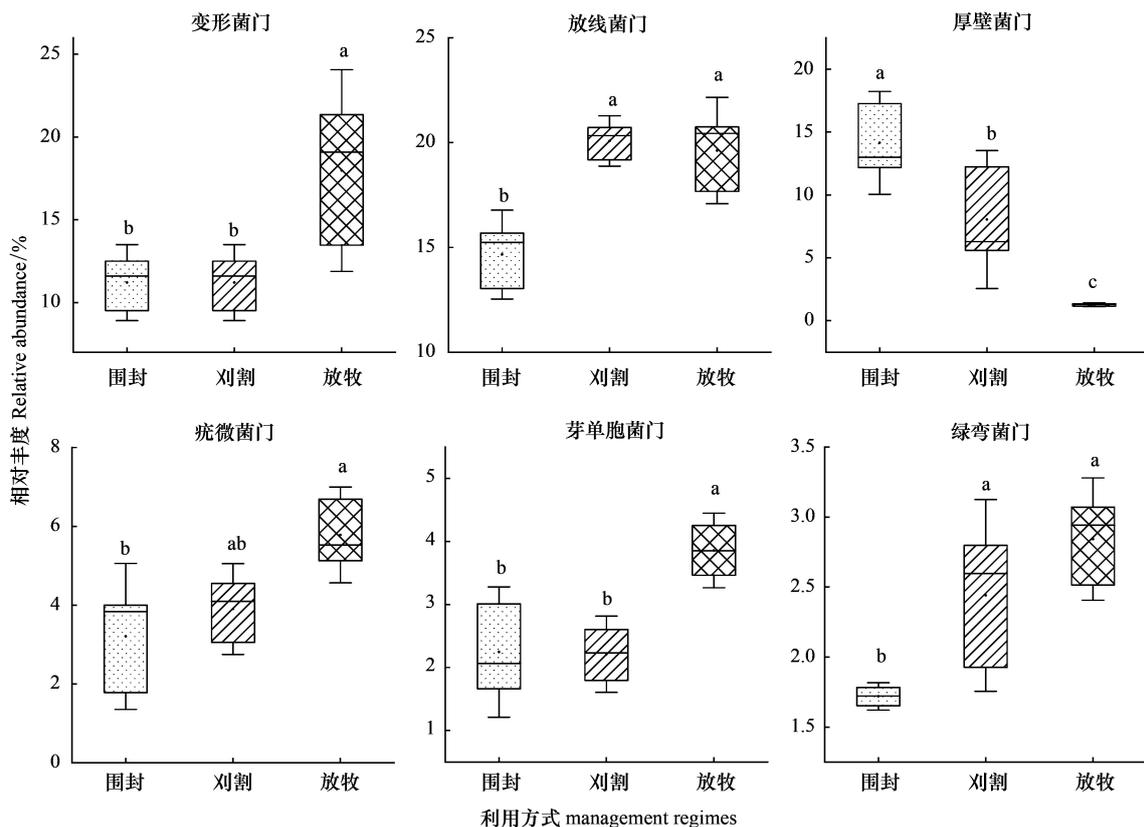


图 3 不同利用方式下土壤门水平上主要细菌相对丰度的方差分析

Fig.3 Variance analysis of relative abundance of major bacteria at soil phylum level under different grassland management regimes

不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

土壤真菌群落的相对丰度在门水平上仅有担子菌门差异显著,与围封相比,刘割显著增加了担子菌门相对丰度($P<0.05$),而围封样地与放牧样地间无显著差异(图 4)。

2.5 土壤微生物群落结构与土壤理化性质的关系

使用冗余分析(RDA)进一步分析土壤理化性质与土壤微生物群落结构的影响,图 5 为土壤细菌群落与土壤理化性质的 RDA 分析,RDA 的前两个轴分别解释了总方差的 74.38%和 10.74%,共解释了 85.12%,说明 RDA 的结果可靠,蒙特卡洛检验的结果表明,土壤硝态氮($P=0.024$)和铵态氮($P=0.046$)是影响土壤细菌群落最主要的因素(表 3),由图 5 可以看出,二者均与酸杆菌门呈正相关,与变形菌门呈负相关;而土壤电导率

与变形菌门呈正相关;土壤含水量与拟杆菌门呈正相关。

图 6 为土壤真菌群落与土壤理化性质的 RDA 分析,RDA 的前两个轴分别解释了总方差的 71.08% 和 26.72%,共解释了 97.8%,说明 RDA 的结果可靠,蒙特卡洛检验的结果表明,土壤有效磷 (P=0.06) 和硝态氮 (P=0.024) 是影响土壤真菌群落最主要的因素,由图 6 可以看出,土壤有效磷、硝态氮、pH、铵态氮等理化性质与被孢霉门和担子菌门呈正相关,与子囊菌门和油壶菌门呈负相关。冗余分析的结果表明,土壤细菌和真菌对土壤理化性质的响应结果和敏感程度不同。

3 讨论

3.1 利用方式对土壤理化性质的影响

放牧和刈割作为大针茅草原最主要的利用方式,对草地生态系统起到至关重要的作用,放牧主要通过家畜的粪尿和践踏影响草地养分循环^[19],而刈割则是通过均匀的去掉植物地上部分影响草地生态系统^[20]。本研究表明,放牧显著降低了土壤总碳、总氮、有机碳含量,而刈割显著提高了土壤总碳含量,大针茅草原主要由多年生牧草,如大针茅、糙隐子草、羊草等组成,这些植物具有较高的地下生物量分配用于根系的发育,以便为来年植物的生长存储养分,因此,高强度放牧提高了植物地下碳的分配和对土壤碳的吸收,导致土壤有机碳含量下降^[21-22]。植物残渣的分解是土壤碳储量的主要来源之一,而刈割仍会有少量植物残渣归还与土壤,并且刈割会导致植物根部死亡率提高,有利于土壤碳储量累积^[23],同时,刈割有利于更多的微生物降解不稳定的有机碳,增加有机碳输入^[24]。土壤氮素的输入主要取决于植物残渣返回土壤,还有一小部分来自大气沉积^[25],张峰等人的研究表明,放牧显著降低凋落物量^[26],导致草地养分返回减少,固氮能力下降,另一方面,放牧家畜的排泄物主要集中在棚圈中,也导致土壤氮素流失严重。此外,与铵态氮相比,植物主要吸收利用土壤中的硝态氮^[25],长期放牧条件下,植物对土壤硝态氮的持续吸收以及固氮能力的不足导致其含量显著降低。土壤有机质分别通过在低养分条件下供应和在高养分条件下储存养分来发挥缓冲作用,并有助于将可溶性养分的可用性与植物需求同步,通过这种缓冲机制维持草地生态系统的碳、氮循环,但在重度放牧下,土壤有机质含量的显著降低导致碳、氮循环失衡^[27],此外,放牧下土壤碳、氮损失可归因于土壤微生物群落结构的改变导致较低的真菌与细菌的比例^[28-29]。

放牧对土壤物理性质的影响主要归因于动物践踏^[30-31],随着放牧强度的增加,频繁的扰动可能会超过土

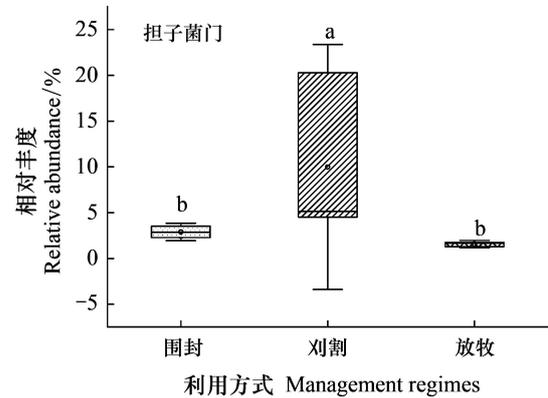


图 4 不同利用方式下土壤门水平上主要真菌相对丰度的方差分析

Fig.4 Variance analysis of relative abundance of major fungi at soil phylum level under different grassland management regimes

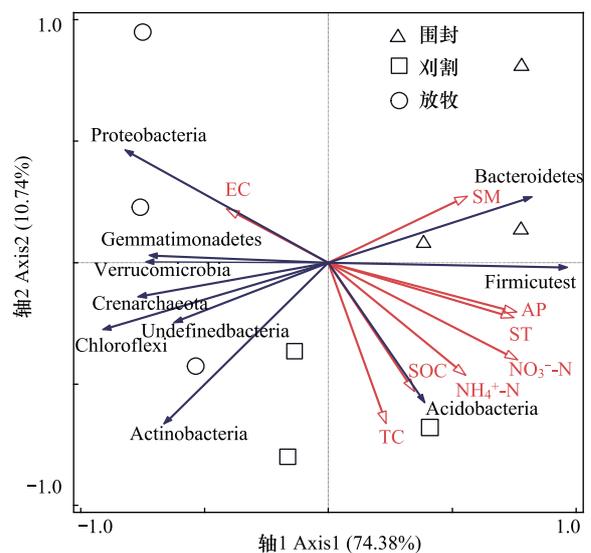


图 5 土壤细菌群落与土壤理化性质的冗余 (RDA) 分析

Fig.5 RDA analysis of soil bacterial community and soil physicochemical properties

EC:电导率 Electrical conductivity; SM: 土壤含水量 Soil moisture; AP: 有效磷 Available phosphorus; ST: 土壤温度 Soil temperature; SOC: 有机质 Soil organic carbon; TC: 全碳 Total carbon; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium Nitrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen

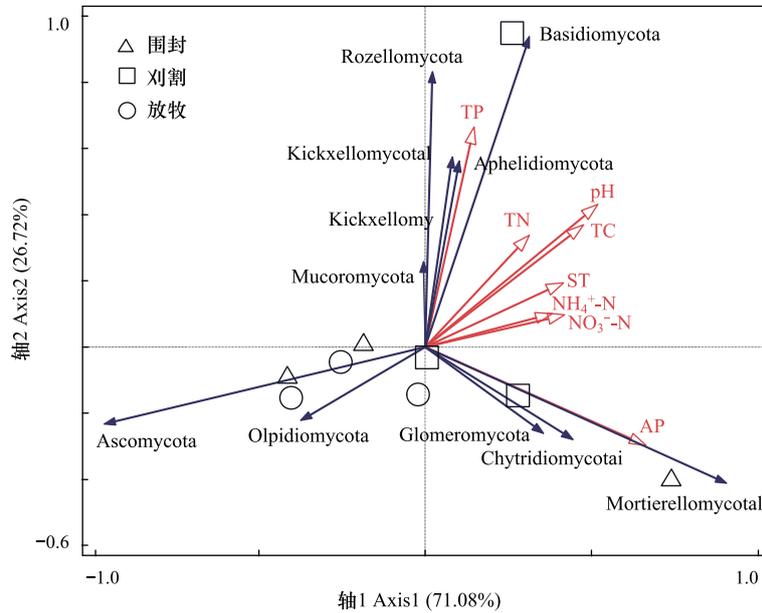


图 6 土壤真菌群落与土壤理化性质的 RDA 分析

Fig.6 RDA analysis of soil fungal community and soil physicochemical properties

TP:全磷 Total phosphorus;TN: 全氮 Total nitrogen

壤的自然恢复能力,导致土壤结构恶化,进而导致水分渗透能力降低,同时,凋落物和植被盖度的降低导致裸露土壤的面积增加,从而增加日温度波动和日最高温度,进而导致土壤水分蒸发率更高^[32],这些原因均导致放牧样地中土壤含水量显著降低^[33]。本研究发现,放牧显著降低土壤 pH,放牧导致根系分泌物和土壤呼吸产生更多的碳酸和有机酸等酸性物质,导致土壤酸化^[34],而刘割显著提高土壤 pH 可能是由于刘割导致土壤有机氮的铵化作用增强,刘割下土壤铵态氮含量升高也证明了这一观点^[35]。在本研究中,土壤理化因子,包括土壤总碳、有机碳、总氮、铵态氮、硝态氮、有效磷、水分及 pH 存在显著差异,这些差异可能导致了微生物群落结构和组成的差异。

表 3 经冗余分析确定土壤理化性质对土壤微生物群落结构的影响

Table 3 The effects of soil physical and chemical properties on soil microbial community structure were determined by redundancy analysis

土壤理化因子			细菌 Bacteria			土壤理化因子			细菌 Bacteria		
Soil properties factors		解释率/%	P		Soil properties factors		解释率/%		P		
NO ₃ ⁻ -N		46.1		0.024	AP		34.0		0.06		
NH ₄ ⁺ -N		20.5		0.046	pH		15.2		0.146		
TC		9.2		0.146	NO ₃ ⁻ -N		25.1		0.024		
ST		8.1		0.156	NH ₄ ⁺ -N		10.8		0.1		
SM		7.3		0.138	TC		7.3		0.18		
AP		4.4		0.21	ST		5.3		0.19		
SOC		3.5		0.188	TP		1.9		0.204		
EC		1.0		1.0	TN		0.5		0.521		

NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium Nitrogen;TC: 全碳 Total carbon;ST: 土壤温度 Soil temperature;SM: 土壤含水量 Soil moisture;AP: 有效磷 Available phosphorus;SOC: 有机质 Soil organic carbon;EC: 电导率 Electrical conductivity

3.2 利用方式对土壤微生物多样性及群落结构的影响

土壤微生物作为土壤系统的重要组成部分,通过调节土壤有机质和植物凋落物的分解以及植物养分的可用性,在草地生态系统中发挥着重要作用。本研究表明,刘割对土壤细菌群落多样性的影响有限,而土壤真菌

多样性对刈割的响应更显著。刈割显著提高了土壤真菌 α 多样性,这一结果与 Yu 等人在高寒草甸的研究结果一致^[36],可能是由于刈割后植物残渣的累积有利于真菌的聚集;此外,也有研究表明,刈割显著提高了丛枝菌根真菌的丰度和多样性,进而提高了土壤真菌的多样性^[37]。而韦恩图表明,在放牧样地中特有的微生物 OTU 数最多,放牧条件下土壤受到的干扰最大,家畜的践踏、采食作用、排泄物以及人类活动导致土壤条件发生显著改变,进而导致微生物类群特异性最大^[38]。

本研究区域内主要优势细菌类群为变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和酸杆菌门 (Acidobacteria),主要优势真菌类群为子囊菌门 (Ascomycota) 和孢霉菌门 (Mortierellomycota)。不同利用方式下部分微生物类群的相对丰度差异显著。放牧和刈割均显著提高了放线菌门和绿湾菌门 (Chloroflexi) 的相对丰度,二者中有很一部分细菌可以通过光合作用获取能量并固定 CO_2 ^[39-40],意味着其固碳能力提高,RDA 分析结果也表明,土壤总碳和有机碳含量与放线菌门呈正相关关系,且放线菌门和绿湾菌门在有机物分解和营养循环中发挥重要作用。放牧和刈割均显著降低了厚壁菌门 (Firmicutes) 的丰度,许多植物致病菌属于厚壁菌门^[41],说明刈割和放牧减小了土壤致病菌对植物健康的威胁。放牧显著提高了变形菌门的丰度,其被认为可以降解土壤中更多的顽固性有机质,如甲壳素等^[42-43],说明放牧下草地退化伴随着顽固性有机质输入的增加。同时,放牧还显著提高了疣微菌门 (Verrucomicrobia) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 的丰度,二者均是主要参与土壤氮循环的微生物类群,与土壤氮含量呈负相关,与前人的研究结果一致^[44],以上结果表明,具有营养物质降解功能和较高代谢活性的微生物在放牧下生存良好,这一现象证实了放线菌门和变形菌门等对放牧条件下大针茅草原的生境条件具有良好的适应能力。刈割显著提高了担子菌门 (Basidiomycota) 的相对丰度,这是一类主要功能为分解植物木质化残渣的真菌类群,刈割后的植物残渣的增加导致了富集^[45]。

由于土地利用方式的改变对土壤结构及养分状况的影响,土壤微生物组成也随之变化^[46]。我们的研究表明,土壤性质解释了 85.12% 和 97.8% 的土壤细菌和真菌群落的变化,这表明微生物群落组成的变化与土壤性质有很大的相关性。RDA 分析表明,土壤铵态氮和硝态氮含量是细菌群落最主要的影响因素,且与酸杆菌门呈正相关关系,酸杆菌门是一类寡营养型细菌,能利用铵态氮和硝态氮作为氮源^[47],Yuan 等也发现土壤铵态氮是影响青藏高原表层土壤细菌群落的主要环境因子,说明了土壤氮组分在细菌群落结构形成中的重要性^[48]。土壤真菌群落主要受有效磷和硝态氮的影响,这一结果与 Ding 等的研究结果一致^[49],土壤有效磷与真菌群落密切相关,说明土壤有效磷在建立土壤真菌群落中具有重要意义。本研究表明,细菌对铵态氮含量敏感,而真菌对硝态氮含量敏感,说明微生物对土壤不同形式氮的利用存在选择性。综上所述,不同利用方式下土壤微生物群落结构存在显著差异,土壤铵态氮、硝态氮和有效磷是土壤微生物群落形成和演化的主要驱动因素。

4 结论

不同利用方式显著改变了土壤微生物多样性及群落结构,刈割显著提高了土壤真菌 α 多样性指数。放牧显著提高了变形菌门 (Proteobacteria)、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 的相对丰度,刈割显著提高了放线菌门 (Actinobacteria)、绿湾菌门 (Chloroflexi) 及担子菌门 (Basidiomycota) 的相对丰度,此外,放牧和刈割显著降低了厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度。土壤理化性质共解释了土壤细菌 85.12% 和真菌 97.8% 的变化,土壤细菌群落结构主要受硝态氮和铵态氮含量的影响,土壤真菌群落结构主要受有效磷和硝态氮含量的影响,土壤速效养分是不同利用方式下大针茅草原土壤微生物群落形成和演化的主要驱动因素。本研究揭示了不同利用方式下大针茅草原土壤微生物多样性及群落结构的变化及其主要驱动因素,为大针茅草原合理利用提供了理论依据。

参考文献 (References):

- [1] 中国科学院内蒙古宁夏综合考察队. 内蒙古植被. 北京: 科学出版社, 1985.
- [2] Wang Z, Deng X Z, Song W, Li Z H, Chen J C. What is the main cause of grassland degradation? A case study of grassland ecosystem service in

- the middle-south Inner Mongolia. *Catena*, 2017, 150: 100-107.
- [3] Liang Y, Han G D, Zhou H, Zhao M L, Snyman H M, Shan D, Havstad K A. Grazing intensity on vegetation dynamics of a typical steppe in northeast Inner Mongolia. *Rangeland Ecology & Management*, 2009, 62(4): 328-336.
- [4] 朱晓亚, 李子豪, 赵小蓉, 林启美, 李贵桐. 连续 4 年不同放牧强度内蒙古典型草原土壤微生物量碳、氮、磷含量差异. *中国农业大学学报*, 2020, 25(9): 121-130.
- [5] 李怡, 韩国栋. 放牧强度对内蒙古大针茅典型草原地下生物量及其垂直分布的影响. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版*, 2011, 32(2): 89-92.
- [6] 宋洁, 王凤歌, 温璐, 王立新, 李金雷, 武胜男, 徐智超. 放牧对温带典型草原植物物种多样性及土壤养分的影响. *草地学报*, 2019, 27(6): 1694-1701.
- [7] 汤永康, 武艳涛, 武魁, 郭之伟, 梁存柱, 王敏杰, 常佩静. 放牧对草地生态系统服务和功能权衡关系的影响. *植物生态学报*, 2019, 43(5): 408-417.
- [8] 刘美玲, 宝音陶格涛, 杨持, 张新时. 不同轮割制度对内蒙古大针茅草原群落组成的影响. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 43(1): 83-87.
- [9] Liu N, Kan H M, Yang G W, Zhang Y J. Changes in plant, soil, and microbes in a typical steppe from simulated grazing: explaining potential change in soil C. *Ecological Monographs*, 2015, 85(2): 269-286.
- [10] Giese M, Brueck H, Gao Y Z, Lin S, Steffens M, Kögel-knabner I, Glindemann T, Susenbeth A, Taube F, Butterbach-bahl K, Zheng X H, Hoffmann C, Bai Y F, Han X G. N balance and cycling of Inner Mongolia typical steppe: a comprehensive case study of grazing effects. *Ecological Monographs*, 2013, 83(2): 195-219.
- [11] Wood J L, Liu W X, Tang C X, Franks A E. Microorganisms in heavy metal bioremediation: strategies for applying microbial-community engineering to remediate soils. *AIMS Bioengineering*, 2016, 3(2): 211-229.
- [12] Hirsch P R, Jhurrea D, Williams J K, Murray P J, Scott T, Misselbrook T H, Goulding K W T, Clark I M. Soil resilience and recovery: rapid community responses to management changes. *Plant and Soil*, 2017, 412(1/2): 283-297.
- [13] Allison S D, Martiny J B H. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(S1): 11512-11519.
- [14] Allison S D, Lu Y, Weihe C, Goulden M L, Martiny A C, Treseder K K, Martiny J B H. Microbial abundance and composition influence litter decomposition response to environmental change. *Ecology*, 2013, 94(3): 714-725.
- [15] Olf H, Hoorens B, De Goede R G M, Van Der Putten W H, Gleichman J M. Small-scale shifting mosaics of two dominant grassland species: the possible role of soil-borne pathogens. *Oecologia*, 2000, 125(1): 45-54.
- [16] Wang C T, Wang G X, Wang Y, Rafique R, Ma L, Hu L, Luo Y Q. Fire alters vegetation and soil microbial community in alpine meadow. *Land Degradation & Development*, 2016, 27(5): 1379-1390.
- [17] 郑佳华, 张峰, 杨阳, 乔芳璐, 赵天启, 孙宇, 张彬, 赵萌莉. 刘割留茬高度对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响. *中国草地学报*, 2021, 43(1): 68-75.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Bardgett R D, Wardle D A. Herbivore-mediated linkages between aboveground and belowground communities. *Ecology*, 2003, 84(9): 2258-2268.
- [20] Socher S A, Prati D, Boch S, Müller J, Klaus V H, Hölzel N, Fischer M. Direct and productivity-mediated indirect effects of fertilization, mowing and grazing on grassland species richness. *Journal of Ecology*, 2012, 100(6): 1391-1399.
- [21] 顿沙沙, 曹继容, 贾秀, 庞爽. 放牧和刘割对内蒙古典型草原土壤可提取碳和氮的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(10): 3235-3242.
- [22] Li W, Ciais P, Guenet B, Peng S S, Chang J F, Chaplot V, Khudyaev S, Peregon A, Piao S L, Wang Y L, Yue C. Temporal response of soil organic carbon after grassland-related land-use change. *Global Change Biology*, 2018, 24(10): 4731-4746.
- [23] 张微微, 杨劫, 宋炳煜, 清华. 刘割对草原化荒漠区驼绒藜(*Krascheninnikovia ceratoides*)根际土壤特性的影响. *生态学报*, 2016, 36(21): 6842-6849.
- [24] Li J Y, Zhang Q C, Li Y, Liu Y M, Xu J M, Di H J. Effects of long-term mowing on the fractions and chemical composition of soil organic matter in a semiarid grassland. *Biogeosciences*, 2017, 14(10): 2685-2696.
- [25] Goulding K W T, Bailey N J, Bradbury N J, Hargreaves P, Howe M, Murphy D V, Poulton P R, Willison T W. Nitrogen deposition and its contribution to nitrogen cycling and associated soil processes. *New Phytologist*, 1998, 139(1): 49-58.
- [26] 张峰, 杨阳, 乔芳璐, 贾丽欣, 赵天启, 赵萌莉. 利用方式对大针茅草原植物多样性、功能性状及地上生物量的影响. *中国草地学报*, 2019, 41(1): 1-8.
- [27] Soussana J F, Lemaire G. Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 190: 9-17.

- [28] Zhang C J, Yang Z L, Shen J P, Sun Y F, Wang J T, Han H Y, Wan S Q, Zhang L M, He J Z. Impacts of long-term nitrogen addition, watering and mowing on ammonia oxidizers, denitrifiers and plant communities in a temperate steppe. *Applied Soil Ecology*, 2018, 130: 241-250.
- [29] Raliya R, Tarafdar J C, Biswas P. Enhancing the mobilization of native phosphorus in the mung bean rhizosphere using ZnO nanoparticles synthesized by soil fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(16): 3111-3118.
- [30] Bi X, Li B, Xu X C, Zhang L X. Response of vegetation and soil characteristics to grazing disturbance in mountain meadows and temperate typical steppe in the arid regions of central Asian, Xinjiang. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(12): 4572.
- [31] Zhang B, Beck R, Pan Q M, Zhao M L, Hao X Y. Soil physical and chemical properties in response to long-term cattle grazing on sloped rough fescue grassland in the foothills of the Rocky Mountains, Alberta. *Geoderma*, 2019, 346: 75-83.
- [32] Donovan M, Monaghan R. Impacts of grazing on ground cover, soil physical properties and soil loss via surface erosion: a novel geospatial modelling approach. *Journal of Environmental Management*, 2021, 287: 112206.
- [33] Evans C R W, Krzic M, Broersma K, Thompson D J. Long-term grazing effects on grassland soil properties in southern British Columbia. *Canadian Journal of Soil Science*, 2012, 92(4): 685-693.
- [34] Jeddi K, Chaieb M. Changes in soil properties and vegetation following livestock grazing exclusion in degraded arid environments of South Tunisia. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2010, 205(3): 184-189.
- [35] 陈曦, 张利权, 袁琳. 持续淹水治理互花米草技术对盐沼土壤的影响. *环境科学学报*, 2010, 30(5): 1093-1100.
- [36] Yu C Q, Han F S, Fu G. Effects of 7 years experimental warming on soil bacterial and fungal community structure in the Northern Tibet alpine meadow at three elevations. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 814-822.
- [37] 朱瑞芬, 唐凤兰, 张月学, 刘杰琳, 刘凤岐, 陈积山. 不同利用方式对东北羊草草地土壤微生物数量的影响. *草地学报*, 2012, 20(5): 842-847.
- [38] 邹雨坤, 张静妮, 杨殿林, 陈秀蓉, 张天瑞, 赵建宁, 赵帅. 不同利用方式下羊草草原土壤生态系统微生物群落结构的 PLFA 分析. *草业学报*, 2011, 20(4): 27-33.
- [39] Klappenbach J A, Pierson B K. Phylogenetic and physiological characterization of a filamentous anoxygenic photoautotrophic bacterium '*Candidatus Chlorothrix halophila*' gen. nov., sp. nov., recovered from hypersaline microbial mats. *Archives of Microbiology*, 2004, 181(1): 17-25.
- [40] Pierson B K, Castenholz R W. A phototrophic gliding filamentous bacterium of hot springs, *Chloroflexus aurantiacus*, gen. and sp. nov. *Archives of Microbiology*, 1974, 100(1): 5-24.
- [41] Ehrlich S, Behrens D, Lebedeva E, Ludwig W, Bock E. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. *Archives of Microbiology*, 1995, 164(1): 16-23.
- [42] Bastida F, Hernández T, Albaladejo J, García C. Phylogenetic and functional changes in the microbial community of long-term restored soils under semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 12-21.
- [43] Fierer N, Lauber C L, Ramirez K S, Zaneveld J, Bradford M A, Knight R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 1007-1017.
- [44] Veselá A B, Franc M, Pelantová H, Kubác D, Vejvoda V, Šulc M, Bhalla T C, Macková M, Lovecká P, Janů P, Demnerová K, Martínková L. Hydrolysis of benzonitrile herbicides by soil actinobacteria and metabolite toxicity. *Biodegradation*, 2010, 21(5): 761-770.
- [45] Lienhard P, Terrat T, Prévost-Bouré N C, Nowak V, Régnier T, Sayphoummie S, Panyasiri K, Tivet F, Mathieu O, Levêque J, Maron P A, Ranjard L. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34(2): 523-533.
- [46] Zhou H, Zhang D G, Jiang Z H, Sun P, Xiao H L, Wu Y X, Chen J G. Changes in the soil microbial communities of alpine steppe at Qinghai-Tibetan Plateau under different degradation levels. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 2281-2291.
- [47] Melo V F, Barros L S, Silva M C S, Veloso T G R, Senwo Z N, Matos K S, Nunes T K O. Soil bacterial diversities and response to deforestation, land use and burning in North Amazon, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 2021, 158: 103775.
- [48] Yuan Y L, Si G C, Wang J, Luo T X, Zhang G X. Bacterial community in alpine grasslands along an altitudinal gradient on the Tibetan Plateau. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 121-132.
- [49] Ding J L, Jiang X, Guan D W, Zhao B S, Ma M C, Zhou B K, Cao F M, Yang X H, Li L, Li J. Influence of inorganic fertilizer and organic manure application on fungal communities in a long-term field experiment of Chinese Mollisols. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 114-122.