

DOI: 10.20103/j.stxb.202206241799

罗正明, 刘晋仙, 赫磊, 周妍英, 李眉红, 郑庆荣, 柴宝峰. 基于分子生态学网络探究亚高山草甸退化对土壤微生物群落的影响. 生态学报, 2023, 43(18): 7435-7447.

Luo Z M, Liu J X, He L, Zhuo Y Y, Li M H, Zheng Q R, Chai B F. Revealing the effects of subalpine meadow degradation on soil microbial communities by molecular ecological network analyses. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(18): 7435-7447.

# 基于分子生态学网络探究亚高山草甸退化对土壤微生物群落的影响

罗正明<sup>1,2</sup>, 刘晋仙<sup>2</sup>, 赫磊<sup>3</sup>, 周妍英<sup>1</sup>, 李眉红<sup>4</sup>, 郑庆荣<sup>1</sup>, 柴宝峰<sup>2,\*</sup>

1 忻州师范学院地理系, 忻州 034003

2 山西大学黄土高原研究所, 黄土高原生态恢复山西省重点实验室, 太原 030006

3 山西省林业和草原工程总站, 太原 030006

4 山西省五台山国有林管理局, 繁峙 034300

**摘要:** 土壤微生物群落在草地生态系统功能中发挥着至关重要的作用, 但目前尚不清楚微生物群落的分子生态网络如何响应亚高山草甸退化。以五台山 4 个不同退化阶段(未退化、轻度退化、中度退化和重度退化)亚高山草甸为研究对象, 利用高通量测序和随机矩阵网络构建理论构建土壤微生物群落分子生态网络。探讨草地退化对亚高山草甸土壤微生物群落结构及网络的影响, 不同退化程度下微生物网络结构中的关键微生物变化规律以及该过程中微生物之间的互作关系。研究表明, 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物(细菌、真菌和细菌-真菌)网络拓扑属性存在差异。总体上, 退化增加了土壤细菌内部、真菌内部以及细菌-真菌群落间的相互作用, 导致其网络结构更为复杂。未退化草甸土壤微生物网络具有较长的平均路径距离和较高的模块性, 使其比退化草甸更能抵抗外界环境的变化, 在应对人为干扰或者气候变化时可能具有更高的稳定性。退化草甸中的网络关键物种(模块枢纽和连接器)与未退化草甸明显不同。土壤含水量和 pH 与亚高山草甸土壤细菌、真菌以及整个微生物网络连通度均显著相关( $P < 0.05$ ), 总氮和硝氮态氮含量与土壤真菌和微生物网络连通度呈显著相关( $P < 0.05$ )。亚高山草甸退化导致土壤微生物种间关系改变, 进而改变土壤微生物整体生态网络。

**关键词:** 退化草地; 亚高山草甸; 土壤微生物; 分子生态学网络

## Revealing the effects of subalpine meadow degradation on soil microbial communities by molecular ecological network analyses

LUO Zhengming<sup>1,2</sup>, LIU Jinxian<sup>2</sup>, HE Lei<sup>3</sup>, ZHUO Yanying<sup>1</sup>, LI Meihong<sup>4</sup>, ZHENG Qingrong<sup>1</sup>, CHAI Baofeng<sup>2,\*</sup>

1 Department of Geography, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034003, China

2 Shanxi Key Laboratory of Ecological Restoration for Loess Plateau, Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3 Shanxi Forestry and Grassland General Engineering Station, Taiyuan 030006, China

4 Shanxi Wutaishan State-owned Forest Administration Bureau, Fanshi 034300, China

**Abstract:** In this study, the molecular ecological network of soil microbial community was constructed by using high-throughput sequencing and random matrix network construction in the subalpine meadow of Wutai Mountain in four different degradation stages, i.e., non-degraded (ND), lightly degraded (LD), moderately degraded (MD), and heavily degraded

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31801962); 山西省高等学校人文社会科学重点研究基地项目(2022J027); 山西省高等学校科技创新项目(2021L465)

**收稿日期:** 2022-06-24; **网络出版日期:** 2023-05-08

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: bfcchai@sxu.edu.cn

(HD). To explore the effects of grassland degradation on the soil microbial community structure and network in subalpine meadow, the key microbial changes in the microbial network structure under different degradation degrees were studied, and the interactions between microorganisms during the process were investigated. The results showed that there were differences in the topological properties of soil microbial networks (bacteria, fungi and bacteria-fungi) in subalpine meadows with different degradation levels. In general, degradation increased interactions within soil bacteria, within fungi, and between bacteria-fungal communities, resulting in more complex network structures. The non-degraded meadow network had a longer average path distance and modularity than the degraded meadow networks, making it more resilient to the environmental changes with a higher stability in response to human disturbance or climate change. Key species in the degraded meadow networks (hubs and connectors) differed substantially from those in the non-degraded meadow. Soil water content and pH were significantly correlated with the network connectivity of soil bacteria, fungi and microorganisms in subalpine meadow ( $P < 0.05$ ), and total nitrogen and ammonium nitrogen contents were significantly correlated with the network connectivity of soil fungi and microorganisms ( $P < 0.05$ ). The degradation of subalpine meadow resulted in the change of the interspecific relationship of soil microorganisms and the overall ecological network of soil microorganisms.

**Key Words:** degraded grassland; subalpine meadow; soil microbe; molecular ecological network

亚高山草甸作为高寒草甸的重要类型,具有调节气候、维持生物多样性、防止水土流失、为放牧牲畜提供饲料、调节营养元素循环等重要的生态功能<sup>[1]</sup>。我国的亚高山草甸主要分布在西部高山、青藏高原东部、以及秦岭、太行山和滇西北山地森林上界。亚高山草甸类草地植物群落组成以多年生中生草本植物为主,以耐寒冷的嵩草以及苔草、禾草为建群植物<sup>[2]</sup>。长期以来,在过度放牧等人为干扰和气候变化的双重影响下,亚高山草甸面临严重的退化问题,导致生态系统功能衰退和恢复能力减弱<sup>[3]</sup>。近年来,草地生态系统退化的研究多以地上植物群落变化为主,而对地下土壤微生物群落动态的研究较少。

土壤微生物在调节碳、氮循环等生物地球化学过程中发挥着重要作用,其群落结构和多样性对干扰很敏感<sup>[4-5]</sup>。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)控制着微生物种群、群落结构和活性<sup>[6]</sup>。因此,草地退化引起的土壤养分状况和植物多样性的变化会导致微生物群落结构和多样性的变化<sup>[4,7]</sup>。近年来,高通量测序技术以其通量高、测序时间短、一次分析样品量多等优点,成为研究土壤微生物群落组成、结构和多样性的有效手段。Li 等<sup>[8]</sup>利用高通量测序技术研究了青藏高原不同退化程度高寒草甸土壤细菌和真菌组成及其多样性的变化,结果发现草甸退化显著改变了微生物物种组成,增加了土壤微生物多样性,细菌和真菌多样性与植物多样性均没有显著相关关系。Che 等<sup>[9]</sup>发现青藏高原高寒草甸退化斑块的形成显著降低了微生物呼吸速率,增加了真菌多样性,但对微生物丰度没有显著影响。课题组对五台山亚高山草甸四个不同退化阶段土壤细菌和真菌群落特征进行了分析,发现土壤真菌  $\alpha$  多样性随着草地退化加剧而显著降低,而土壤细菌群落没有显著的变化,土壤养分状况和植物参数是控制土壤微生物群落结构变化的最重要因素<sup>[1,4]</sup>。但这些研究大多是分析土壤微生物各分类水平的相对多度、 $\alpha$  和  $\beta$  群落多样性以及微生物群落分布与环境因素的相互关系,对于土壤微生物的网络结构及物种之间相互作用关系研究很少。分子生态网络分析是一种基于随机矩阵理论分析生态系统中内在相互关系的方法,可以很好地体现出生物群落内物种间的互作关系<sup>[10]</sup>。利用高通量测序对土壤微生物进行生态网络分析为理解复杂微生物群落的种间关系提供了一种可靠的途径。

本研究以五台山不同退化程度亚高山草甸土壤样品为研究对象,通过 Illumina MiSeq 高通量测序和分子生态网络相结合,分析不同退化程度亚高山草甸土壤微生物(细菌和真菌)群落分子生态网络特征,探讨亚高山草甸退化对土壤微生物群落网络结构、关键物种以及微生物内部物种之间互作关系的影响,并确定影响土壤微生物群落分子生态网络结构变化的主要环境影响因子,为阐明亚高山草甸生态系统退化的过程与机制奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区五台山(38°27′—39°15′N, 112°48′—113°55′E), 位于山西省黄土高原东北边缘。海拔 2000 m 以上的亚高山地区属于高山气候区, 年平均气温为-4.2℃, 极端最低气温为-44.8℃, 年降水量为 966.3 mm, 土壤类型为亚高山草甸土。五台山亚高山草甸是我国华北最大的高山夏季牧场之一, 面积 106993 hm<sup>2</sup>, 也是重要的绿色生态屏障<sup>[4]</sup>。近年来, 由于过度放牧, 五台山亚高山草甸植被破坏严重, 局部地区形成退化斑块甚至裸露地。据估计, 不同退化程度的草地约占五台山草地总面积的五分之三<sup>[11]</sup>。未退化亚高山草甸的原生植被以高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)为优势种, 同时伴生有直梗高山唐松草(*Thalictrum alpinum*)和珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)。在退化过程中, 优势种逐渐被鹅绒委陵菜(*Plantago depressa*)和平车前(*Plantago depressa*)所取代。

### 1.2 样地设置与样品采集

基于植被盖度、物种优势度和地上生物量等指标<sup>[12]</sup>划分了 4 种不同退化程度的亚高山草甸, 包括未退化(nondegraded, ND)、轻度退化(lightly degraded, LD)、中度退化(moderately degraded, MD)和重度退化(heavily degraded, HD)草甸。每个退化草地样地面积为 100 m×100 m, 样地之间的最大距离不超过 500 m。2018 年 8 月, 在每种不同退化程度草甸斑块中随机选取 5 个 1 m×1 m 的样方, 样方之间距离大于 50 m, 共选取 20 个小样方进行采样。在每个样方内, 利用对角线多点(共 5 点)混合取样的方法对 0—10 cm 表层土壤进行采样, 混为一个样品。将土壤样品通过 2 mm 的筛网去除大部分根系、动物和石头。然后将样品分为两部分, 一部分样品保存-80℃冰箱进行分子生物学分析, 另一个样品风干进行理化分析。在每个样方中调查植被参数, 记录每种植物的名称、高度、盖度及多度指标。用植物 Richness 指数和 Shannon-wiener 指数表示植物的  $\alpha$  多样性。

### 1.3 土壤理化性质测定

烘干法测定土壤含水量(SWC); 土壤 pH 值用电位法(HANNA, 意大利)测定(土水比为 1:2.5); 总碳(TC)和总氮(TN)通过元素分析仪(Elementar Vario MACRO, 德国)测定; 采用 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 氧化法测定土壤有机碳(SOC); 铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)采用间断元素分析仪(CleverChem 380, 德国)测定。用钼蓝法测定土壤有效磷(AP), 用火焰光谱法测定土壤有效钾(AK)。按 Lampurlanés 和 Cantero-Martinez 的方法测定土壤容重<sup>[13]</sup>。理化性质测定结果参见课题组前期发表的文章<sup>[4]</sup>。

### 1.4 DNA 提取、PCR 扩增及高通量测序

称取 0.5 g 土壤样品, 使用 E.Z.N.A.® 土壤 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, USA)按照试剂盒使用说明书步骤提取和纯化土壤微生物 DNA, 送往上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。分别采用 338F 和 806R 引物对细菌 16S rRNA 的 V3—V4 高可变区<sup>[14]</sup>, ITS1F 和 ITS2R 引物对真菌核糖体的 ITS1 高可变区进行 PCR 扩增<sup>[15]</sup>。扩增体系总体积为 20  $\mu$ L, 包括 5  $\mu$ mol/L 正反引物 0.8  $\mu$ L, 5×FastPfu Buffer 4  $\mu$ L, 2.5 mmol/L dNTPs 2  $\mu$ L, FastPfu Polymerase 0.4  $\mu$ L, 0.2  $\mu$ L 的 BSA, 10 ng DNA 模板<sup>[14]</sup>。每组引物的 PCR 反应条件见表 1, 每个样本均进行三次 PCR 扩增反应。通过 Illumina MiSeq 测序平台对细菌和真菌扩增产物进行测序。

### 1.5 生物信息学分析

原始序列经过质控后, 剔除嵌合序列后, 细菌和真菌分别保留了 1118879 和 1375613 条高质量的序列。剩下的序列使用 UPARSE 1.3.0 (<http://drive5.com/uparse/>) 以 97% 的相似性作为阈值划分分类操作单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)。然后采用 RDP classifier 贝叶斯算法进行分类学分析, 细菌和真菌序列分别与 Silva 128 (<http://www.arb-silva.de>) 数据库和 UNITE 8.0 (<http://unite.ut.ee/index.php>) 进行比对, 设置比对阈值为 70%。去除在所有样品中丰度小于 0.001% 的 OTU, 未能比对到门的 OTUs 定义为其他(Others)。细菌和真菌分别按最小样本序列数 36150 和 31639 抽平, 共鉴定出 4340 个细菌和 3111 个真菌 OTU, 包括

672 个细菌属和 458 个真菌属,用于下游分析。

表 1 细菌和真菌引物信息及 PCR 反应条件

Table 1 Bacterial and fungal primer information and PCR reaction conditions

	引物 Primer	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'→3')	目标基因 Target genes	目标区 Target area	PCR 反应条件 PCR reaction conditions
细菌 Bacteria	338 F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	16S	V3—V4	95°C-3 min(预变性),共 27 个循环, 95°C-30 s(变性),55°C-30 s(退火), 72°C-45 s(延伸),72°C-10 min(终延 伸)
	806 R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT			
真菌 Fungi	ITS1 F	CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA	ITS	ITS1	95°C-3 min(预变性),共 36 个循环, 95°C-30 s(变性),55°C-30 s(退火), 72°C-45 s(延伸),72°C-10 min(终延 伸)
	ITS2 R	GCTGCGTTCATCGATGC			

## 1.6 分子生态网络构建

基于高通量测序数据,对五台山亚高山草甸土壤细菌、真菌和整个微生物群落(包括细菌和真菌)分别进行系统发育分子生态网络构建(pMENs, phylogenetic molecular ecological networks)。为了简化微生物分子生态网络计算的复杂性,以属水平相对丰度为对象,采用基于随机矩阵理论(random matrix theory, RMT)的网络方法在 Molecular Ecological Network Analyses Pipeline (MENA) (<http://ieg4.rccc.ou.edu/mena>) 网站上构建 pMENs,并确定网络拓扑性质<sup>[16]</sup>。网络拓扑性质由节点数、节点之间的连线、连通度、平均路径长度(average path distance)、聚集系数(clustering coefficient)、模块性(modularity)等指数来表征<sup>[10,17]</sup>。网络构建主要包括四个主要步骤<sup>[17-18]</sup>:数据收集、数据转换/标准化、成对相似度矩阵计算和基于 RMT 方法的邻接矩阵。首先,对收集的属水平相对丰度数据进行 lg 标准化处理,按格式要求上传数据。然后,用皮尔森相关系数计算两个转换后物种之间的相关性,构建相关性矩阵,取绝对值将相关矩阵转换为相似矩阵。最后,应用合适的相似度阈值,得到编码每对节点之间连接强度的邻接矩阵。利用 Cytoscape 3.6.1 软件导入网络文件及相应的节点数据文件对网络进行可视化处理<sup>[10]</sup>。用模块间连通度( $P_i$ )和模块内连通度( $Z_i$ )指标将节点划分为 4 大类型:网络枢纽( $P_i > 0.62$  且  $Z_i > 2.5$ )、模块枢纽( $P_i \leq 0.62$  且  $Z_i > 2.5$ )、连接节点( $P_i > 0.62$  且  $Z_i \leq 2.5$ )和外围节点( $P_i \leq 0.62$  且  $Z_i \leq 2.5$ )<sup>[18]</sup>。用相同的网络数据(相同的节点和连接数)构建随机网络比较随机网络和分子生态网络之间的差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤微生物群落分子生态网络模型的拓扑学属性

基于高通量测序数据分别构建了 4 个不同退化程度亚高山草甸(*ND*、*LD*、*MD* 和 *HD*)土壤细菌群落分子生态网络(相关性阈值均为 0.96;图 1)、土壤真菌群落分子生态网络(相关性阈值均为 0.89;图 2)以及土壤微生物(同时包含细菌和真菌)群落分子生态网络(相关性阈值均为 0.96;图 3)。构建的网络均体现了网络的无尺度特征、小世界特征以及模块化特征。

随着退化程度增加,细菌群落网络节点数、连接数、正相关连线的比例、平均连接度和连通度呈增加的趋势,而平均路径距离和模块性呈降低的趋势(图 1 和表 2)。与 *ND* 草甸的模块数(25 个)相比,*LD* 和 *MD* 草甸中没有明显的变化(分别为 23 和 24 个),而 *HD* 中的模块数增加到 39 个。从土壤真菌群落分子生态网络可知(图 2 和表 3),随着退化程度增加,网络总节点数变化不明显,总连接数、正相关连线的比例、平均连接度、连通度和随机网络聚类系数呈增加的趋势,而模块数、平均路径距离、模块性、随机网络平均路径距离和随机网络的模块性呈降低的趋势。在退化的过程中土壤细菌和真菌群落的整体结构发生了明显变化。

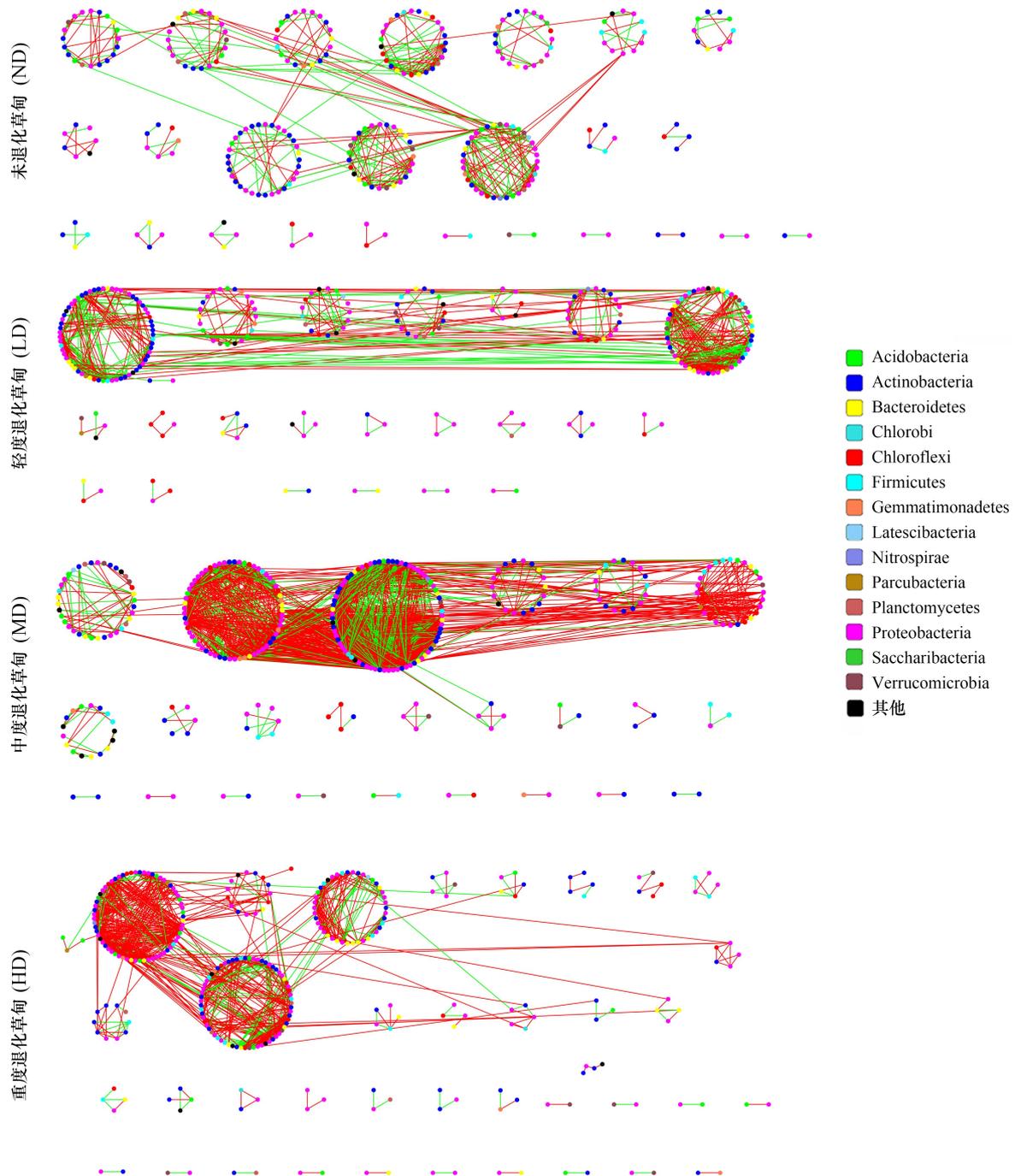


图1 不同退化程度亚高山草甸土壤细菌群落的系统发育分子生态网络

Fig.1 The phylogenetic molecular ecological networks (pMEN) of soil bacterial communities in subalpine meadows with different degrees of degradation

ND:未退化草甸 nondegraded meadow; LD:轻度退化草甸 lightly degraded meadow; MD:中度退化草甸 moderately degraded meadow; HD:重度退化草甸 heavily degraded meadow;红线表示正相关,绿线表示负相关; Acidobacteria:酸杆菌门; Actinobacteria:放线菌门; Bacteroidetes:拟杆菌门; Chlorobi:绿菌门; Chloroflexi:绿弯菌门; Firmicutes:厚壁菌门; Gemmatimonadetes:芽单胞菌门; Latescibacteria:匿杆菌门; Nitrospirae:硝化螺旋菌门; Planctomycetes:浮霉菌门; Proteobacteria:变形菌门; Saccharibacteria:糖细菌门; 其他:其他相对丰度小于1%细菌门

从土壤细菌-真菌群落分子生态网络可以看出,亚高山草甸退化对土壤细菌-真菌群落之间的共现性模式产生重要影响。网络拓扑性质的分析表明,与ND草甸相比,退化草甸中节点数、连接数、正相关连线比例、平

表 2 不同退化程度亚高山草甸土壤细菌群落分子生态网络拓扑属性

拓扑属性 Topological characteristics	ND	LD	MD	HD
总节点 Total nodes	281	258	307	309
总连接线数 Total links	574	786	1785	998
模块数 Modules	25	23	24	39
正相关关系 Positive link percentage/%	53.48%	60.31%	68.96%	76.75%
负相关关系 Negative link percentage/%	46.52%	39.69%	31.04%	23.25%
指数分布相关系数平方 $r^2$ of power-law	0.786	0.867	0.673	0.874
平均连接度 Average connectivity	4.085	6.093	11.629	6.46
平均聚类系数 Average clustering coefficient	0.377	0.422	0.442	0.394
模块性 Modularity	0.819	0.643	0.463	0.618
连通性 Connectivity	0.499	0.658	0.625	0.532
平均路径距离 Average geodesic distance	6.922	5.912	4.896	4.992
随机网络平均聚类系数 Random clustering coefficient	0.018±0.005	0.049±0.008	0.119±0.008	0.047±0.007
随机网络平均路径距离 Random average path distance	4.039±0.044	3.285±0.043	2.783±0.025	3.264±0.037
随机网络的模块性 Random modularity	0.490±0.007	0.358±0.007	0.218±0.004	0.344±0.006

ND:未退化草甸 nondegraded meadow; LD:轻度退化草甸 lightly degraded meadow; MD:中度退化草甸 moderately degraded meadow; HD:重度退化草甸 heavily degraded meadow

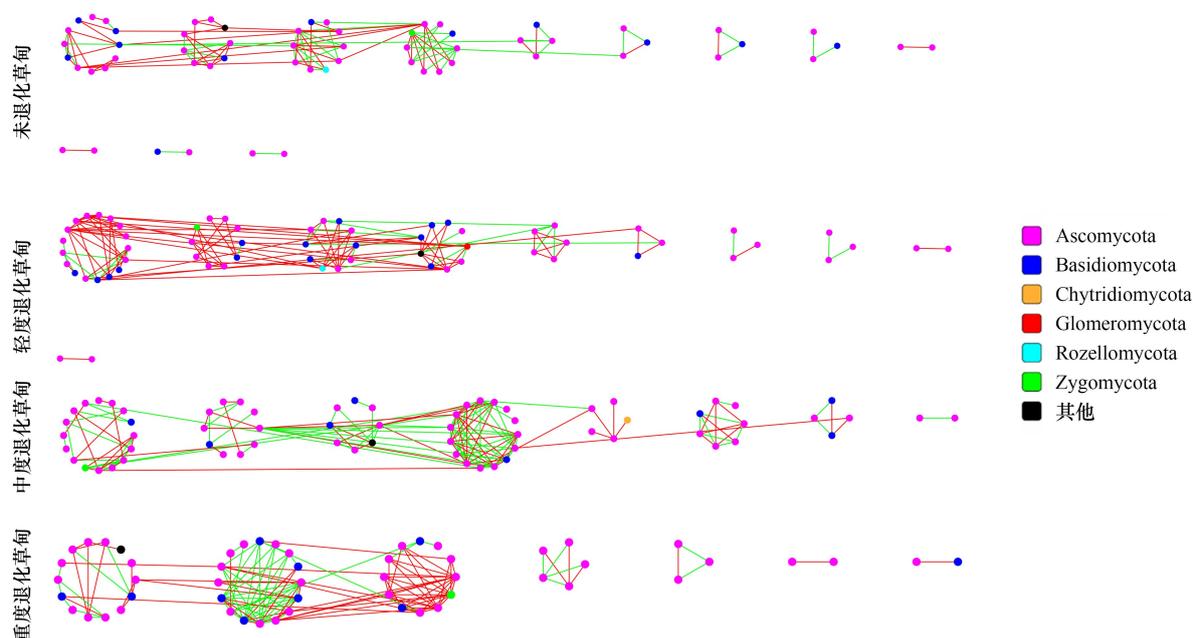


图 2 不同退化程度亚高山草甸土壤真菌群落的系统发育分子生态网络

Fig.2 The phylogenetic molecular ecological networks (pMEN) of soil fungal communities in subalpine meadows with different degrees of degradation

红线表示正相关,绿线表示负相关;Ascomycota:子囊菌门;Basidiomycota:担子菌门;Chytridiomycota:壶菌门;Glomeromycota:球囊菌门;Rozellomycota:罗兹菌门;Zygomycota:接合菌门;其他:其他相对丰度小于1%真菌门

均连接度和随机网络聚类系数增加,而模块性、平均路径距离、随机网络平均路径距离和随机网络的模块性降低(图3和表4)。由表5和图3可知,细菌群落内部的相互作用占主导地位(正相关比例38.47%—59.18%,负相关比例19.21%—33.46%),远高于细菌-真菌群落之间的相互作用(正相关比例10.41%—16.64%,负相关比例4.78%—13.66%)和真菌群落内部的相互作用(正相关比例0.83%—2.49%,负相关比例0.71%—

1.38%)。与 ND 草甸相比,MD 和 HD 草甸土壤细菌群落内部、真菌群落内部以及细菌-真菌群落之间的正相关作用更强,而细菌群落内部、真菌群落内部以及细菌-真菌群落间负相关作用较弱(表 5)。

表 3 不同退化程度亚高山草甸土壤真菌群落分子生态网络拓扑属性

Table 3 Topological properties of molecular ecological network of soil fungal communities in different degraded subalpine meadows

拓扑属性 Topological characteristics	ND	LD	MD	HD
总节点 Total nodes	62	64	67	54
总连接线数 Total links	101	119	143	127
模块数 Modules	12	10	8	7
正相关关系 Positive link percentage/%	55.45%	77.31%	46.85%	59.84%
负相关关系 Negative link percentage/%	44.55%	22.69%	53.15%	40.16%
指数分布相关系数平方 $r^2$ of power-law	0.59	0.707	0.664	0.431
平均连接度 Average connectivity	3.258	3.719	4.269	4.704
平均聚类系数 Average clustering coefficient	0.451	0.29	0.367	0.548
模块性 Modularity	0.695	0.599	0.602	0.562
连通性 Connectivity	0.602	0.714	0.758	0.642
平均路径距离 Average geodesic distance	4.725	4.028	4.107	3.215
随机网络平均聚类系数 Random clustering coefficient	0.050±0.021	0.064±0.021	0.089±0.022	0.138±0.029
随机网络平均路径距离 Random average path distance	3.519±0.135	3.206±0.105	3.045±0.086	2.723±0.074
随机网络的模块性 Random modularity	0.493±0.017	0.444±0.017	0.394±0.015	0.345±0.015

表 4 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物群落分子生态网络拓扑属性

Table 4 Topological properties of molecular ecological network of soil microbial communities in different degraded subalpine meadows

拓扑属性 Topological characteristics	ND	LD	MD	HD
总节点 Total nodes	347	334	377	384
总连接线数 Total links	798	1124	2277	1884
模块数 Modules	20	21	29	23
正相关关系 Positive link percentage/%	51.50%	61.30%	65.31%	75.11%
负相关关系 Negative link percentage/%	48.50%	38.70%	34.69%	24.89%
指数分布相关系数平方 $r^2$ of power-law	0.716	0.853	0.769	0.78
平均连接度 Average connectivity	4.599	6.731	12.08	9.813
平均聚类系数 Average clustering coefficient	0.415	0.406	0.414	0.443
模块性 Modularity	0.803	0.621	0.467	0.56
连通性 Connectivity	0.757	0.834	0.597	0.789
平均路径距离 Average geodesic distance	8.676	6.35	5.026	5.093
随机网络平均聚类系数 Random clustering coefficient	0.019±0.005	0.046±0.005	0.115±0.007	0.065±0.005
随机网络平均路径距离 Random average path distance	3.909±0.030	3.251±0.031	2.821±0.024	2.939±0.019
随机网络的模块性 Random modularity	0.456±0.006	0.339±0.005	0.212±0.005	0.262±0.004

表 5 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物相互作用网络中相互作用特征

Table 5 The interaction characteristics of soil microbial interaction networks in subalpine meadows with different degrees of degradation

草甸 Meadow	细菌间正相关 (占比)	细菌与真菌 正相关数量(占比)	真菌间正相关 (占比)	细菌间负相关 (占比)	细菌与真菌 负相关(占比)	真菌间负相关(占比)
	Positive correlation among bacteria (proportion)	Positive correlation between bacteria and fungi (proportion)	Positive correlation among fungi (proportion)	Negative correlation among bacteria (proportion)	Negative correlation between bacteria and fungi (proportion)	Negative correlation among fungi (proportion)
ND	307 (38.47%)	97 (12.16%)	7 (0.88%)	267 (33.46%)	109 (13.66%)	11 (1.38%)
LD	474 (42.17%)	187 (16.64%)	28 (2.49%)	312 (27.76%)	115 (10.23%)	8 (0.71%)
MD	1231 (54.06%)	237 (10.41%)	19 (0.83%)	554 (24.33%)	214 (9.40%)	22 (0.97%)
HD	1115 (59.18%)	267 (14.17%)	33 (1.75%)	362 (19.21%)	90 (4.78%)	17 (0.97%)

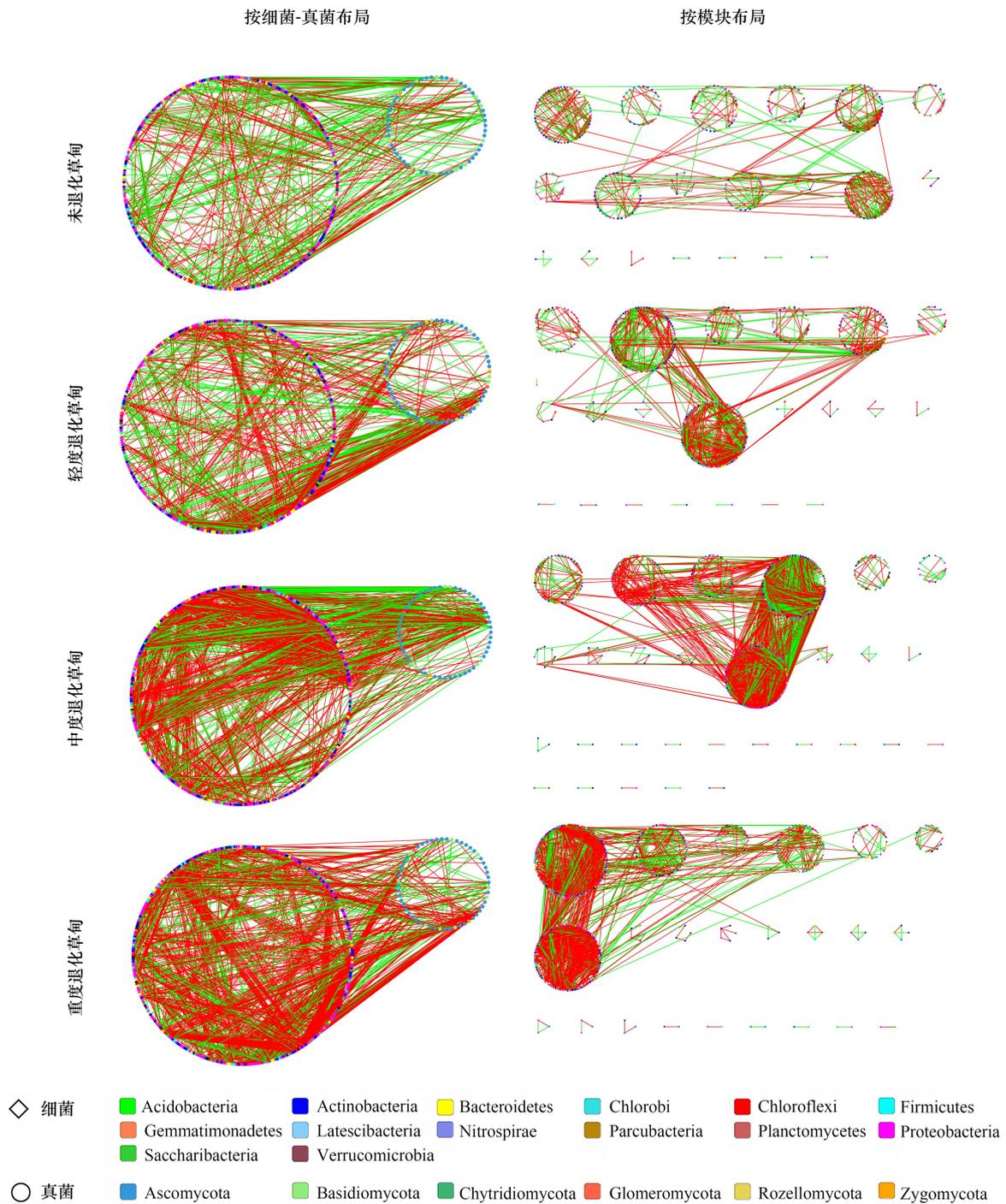


图 3 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物群落的系统发育分子生态网络

Fig.3 The phylogenetic molecular ecological networks (pMEN) of soil microbial communities in subalpine meadows with different degrees of degradation

红线表示正相关,绿线表示负相关; Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门; Bacteroidetes: 拟杆菌门; Chlorobi: 绿菌门; Chloroflexi: 绿弯菌门; Firmicutes: 厚壁菌门; Gemmatimonadetes: 芽单胞菌门; Latescibacteria: 匿杆菌门; Nitrospirae: 硝化螺旋菌门; Planctomycetes: 浮霉菌门; Proteobacteria: 变形菌门; Saccharibacteria: 糖细菌门; Verrucomicrobia: 疣微菌门; Ascomycota: 子囊菌门; Basidiomycota: 担子菌门; Chytridiomycota: 壶菌门; Glomeromycota: 球囊菌门; Rozellomycota: 罗兹菌门; Zygomycota: 接合菌门

2.2 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物分子生态网络的模块和关键节点

从图 4 可知, ND 草甸土壤微生物(包括细菌和真菌)分子生态网络中包含 3 个模块枢纽和 2 个连接器,

其中模块枢纽为短波单胞菌属(*Brevundimonas*) (变形菌门)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*) (变形菌门)和赤霉菌属(*Gibberella*) (子囊菌门)。连接器为 norank\_f\_\_ncd2191h07c1 和 H16, 分别属于放线菌门和变形菌门。LD 草甸分子生态网络中包含 2 个模块枢纽(硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)), 均属于硝化螺旋菌门; 2 个连接器为角菌根菌属(*Ceratobasidium*) 和粪壳属(*Sordaria*), 分别属于担子菌门和子囊菌门。MD 草甸中包括 2 个模块枢纽(鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*) 和 norank\_o\_\_NB1-j) 和 4 个连接器(异茎点霉属(*Paraphoma*)、光黑壳属(*Preussia*)、*Intestinibacter* 属和 *Bryobacter* 属)。HD 草甸有 3 个模块枢纽(芽孢杆菌属(*Bacillus*)、黄单胞菌属(*Xanthomonas*) 和 norank\_c\_\_JG37-AG-4) 和 1 个连接器(头梗霉属)。

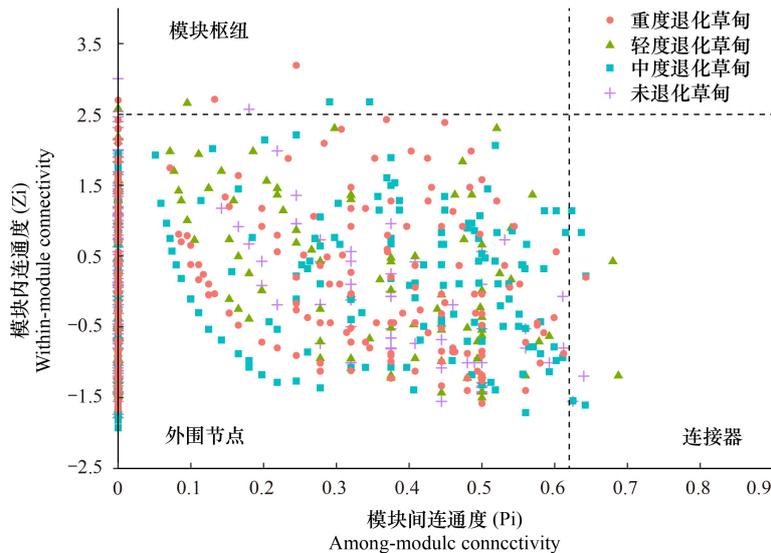


图 4 不同退化程度亚高山草甸土壤微生物网络的拓扑角色

Fig. 4 Topological role of soil microbial network in subalpine meadows with different degradation degree

### 2.3 影响土壤微生物分子生态网络结构的环境因子

为了分析微生物分子生态网络与环境因子的关系,对连通度与土壤理化性质和植被参数进行皮尔森相关分析(表 6)。结果表明,土壤含水量和 pH 与亚高山草甸土壤细菌、真菌以及整个微生物(含细菌和真菌)网

表 6 环境因子与网络连通度的皮尔森相关系数

Table 6 Pearson correlation coefficients between environmental variables and connectivity of network

环境变量 Environment variables	细菌网络 Bacterial network	真菌网络 Fungal network	微生物(含细菌和真菌)网络 Microbial (including bacteria and fungi) networks
土壤含水量 Soil water content	0.3495 *	0.4152 **	0.4361 **
酸碱度 pH	0.2686 *	0.4315 **	0.2638 *
总氮 Total nitrogen		0.4129 *	0.6958 ***
总碳 Total carbon			0.3606 *
碳氮比 C/N ratio	0.2684 *		
有机质 Soil organic matter	0.3326 *		
铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$		0.2359 *	0.3885 *
植物盖度 Plant coverage	0.2843 *	0.2634 *	
植物高度 Plant height	0.4389 **	0.3183 *	
植物丰富度指数 Plant richness index	0.5953 **	0.6037 **	
植物 Shannon 指数 Plant Shannon-index	0.3531 *	0.3759 *	

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

络连通度均显著相关( $P < 0.05$ );总氮和氨态氮含量与土壤真菌和微生物网络连通度呈显著相关;植被参数(包括植物盖度、高度、丰富度和 Shannon-Wiener 指数)均与土壤细菌和真菌网络连通度显著相关( $P < 0.05$ );总碳含量仅与整个微生物网络连通度显著相关( $P < 0.05$ );碳氮比和土壤有机质含量仅与土壤细菌网络显著相关( $P < 0.05$ )。综合考虑,土壤含水量、pH、总氮和铵态氮在决定亚高山草甸退化过程中土壤微生物网络互作关系方面起到重要作用。

### 3 讨论

本研究利用扩增子高通量测序和微生物群落分子生态学网络分析方法研究亚高山草甸退化对土壤细菌和真菌群落网络结构的影响,发现微生物(细菌、真菌和细菌-真菌)分子网络的拓扑学属性受到草地退化的影响,不同退化程度亚高山草甸土壤微生物网络拓扑属性存在明显的差异。总体来说,表明草地退化增加了土壤细菌内部、真菌内部以及细菌-真菌群落间的相互作用,导致其网络结构更为复杂。随着草地退化程度增加,土壤微生物网络模块性下降,平均路径距离缩短,稳定性下降,暗示退化草地中土壤微生物群落的抵抗外界干扰的能力下降<sup>[19]</sup>。这说明草甸退化过程中土壤微生物群落复杂性与稳定性解耦合,这与宏观生态学中观察到的并不一致,即麦克阿瑟提出的生态系统的复杂性决定其稳定性<sup>[20]</sup>。周集中团队<sup>[21]</sup>最近一项研究发现长期实验变暖下草地土壤微生物群落分子生态网络变得更加稳健,网络的稳定性与网络的复杂性密切相关,但更高的复杂性也会破坏生态系统的稳定性。然而,本研究很好地支持了 Hernandez 等人<sup>[22]</sup>的研究结论,认为生态系统复杂性的增加将削弱系统的稳定性,更大环境压力胁迫下的微生物群落具有较低的网络稳定性。本研究中随着草地退化程度增加,环境压力增加,微生物群落物种间正相关作用更强,这可能是由于在草地退化环境压力下土壤微生物拮抗作用的减弱和环境过滤作用的增加,导致环境胁迫的负、正相关聚集性的比例降低<sup>[22]</sup>。这与一些理论研究推测一致,网络中模块化和负相关关系的存在增加了网络在扰动下的稳定性<sup>[23-24]</sup>。如果群落中有相当比例的微生物菌群是通过正相关联系在一起,那么这个群落就被认为是不稳定的。在这样的群落中,菌群可能会对环境波动做出同步反应,从而产生正反馈和共同波动<sup>[25-26]</sup>。相反,负相关可以稳定群落随干扰的波动,促进网络的稳定性<sup>[27]</sup>。虽然微生物群落中正相关优势的增加或负相关的减少可以单独破坏群落的稳定<sup>[28-29]</sup>,但高环境压力下的低模块化可能会加剧这些后果<sup>[22]</sup>。高环境压力胁迫下的低模块性表明物种之间的跨模块关联可能比低环境压力胁迫下更为普遍,低模块化则意味着主要的正反馈回路所遇到的任何扰动都更容易传播到其他微生物群落<sup>[22]</sup>。因此,在退化程度高的草甸中土壤微生物群落具有物种丰富度较低、模块性较低和负相关联系比例较低的特征。当外界环境发生扰动时,能在很短的时间内将环境扰动传递到整个网络,导致网络结构不稳定<sup>[27,30]</sup>,并且这种不稳定的微生物网络结构可能导致参与土壤碳、氮等养分循环的微生物群落发生显著改变,从而影响草地生态系统的功能<sup>[25,30]</sup>。

鉴于微生物群落的复杂性、多样性以及含有大量未培养微生物,找出微生物群落中的关键物种十分困难<sup>[31]</sup>。在本研究中识别土壤微生物的关键物种是基于网络拓扑结构和模块组成。本研究中构建的土壤微生物网络中均未发现网络枢纽,因此将模块枢纽和连接器节点作为网络中的关键物种。微生物网络模型中的关键物种主要属于变形菌门、酸杆菌门和担子菌门。变形菌门中的许多物种在生态系统中发挥着关键作用,例如氧化有机和无机化合物或从光中获取能量<sup>[31]</sup>,促进能量和营养物质在细菌之间的流动。许多研究表明,酸杆菌是一种适合在恶劣环境中生存的寡营养型生物,该类群具有广泛的代谢多样性<sup>[32]</sup>,对纤维素的降解能力在寒冷地区特别突出<sup>[33]</sup>。担子菌富含木质纤维素酶,能分解木质纤维素,促进营养物质和能量的流动。这可能是它们成为网络关键物种的原因之一。LD 草甸中 2 个模块枢纽硝化螺旋菌属和亚硝化螺菌属,其中硝化螺旋菌被认为是亚硝酸盐氧化细菌硝化作用( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ )的主要参与者<sup>[34]</sup>。LD 草甸中一个连接器为角菌根菌属,属于一种内生真菌,能够促进宿主植物对矿物质的吸收和干物质的累积。另一个连接器粪壳属被发现主要参与植物凋落物分解,随着凋落物的增加,其相对丰度显著增加<sup>[35]</sup>。MD 草甸中的模块枢纽鞘脂单胞菌属能够在寡营养等恶劣的条件生存,并能代谢各种碳源<sup>[36]</sup>。光黑壳属是 MD 草甸中的连接器,主要从土壤

和植物残体中分离出来,并被证明具有较强的抗菌活性,且随着营养条件的下降,光黑壳属会有明显的竞争优势<sup>[37]</sup>。HD 草甸的模块枢纽芽孢杆菌属为革兰氏阳性杆菌,可形成芽孢,对不良环境条件有很强的抵抗力,已有 20 种以上芽孢杆菌表现出了重金属污染土壤修复功能<sup>[38]</sup>。头梗霉属是 HD 草甸中的连接器,经常被发现有严重的植物病原体,容易导致植物病害的发生,并进一步加剧草地退化<sup>[1]</sup>。

本研究发现土壤含水量、pH、总氮和铵态氮在决定亚高山草甸退化过程中土壤微生物网络互作关系方面起到重要作用。前期研究发现 pH 值和铵态氮随亚高山草甸退化程度增加而增加,而土壤含水量和总氮随着退化程度增加而减少<sup>[41]</sup>。水分是影响土壤微生物群落的重要因素<sup>[39]</sup>,对土壤微生物的生长、活动、生存存在着重要的影响。草甸退化过程中土壤水分有效性降低<sup>[40]</sup>会导致土壤微生物群落碳利用效率降低,并最终改变土壤中真菌和细菌的生物量和结构,进而影响微生物的相互作用关系。由于土壤 pH 被广泛认为是塑造微生物群落的重要环境因素<sup>[41]</sup>,草甸退化过程中 pH 的变化会深刻影响土壤微生物群落组成和网络结构。李海云等<sup>[42]</sup>在祁连山退化高寒草地的研究也发现土壤全氮和速效氮是土壤微生物群落结构的主要驱动因子。退化生态系统中氮供应的直接影响生态系统的结构和功能,进而潜在的影响土壤微生物结构和多样性。本研究结果发现植被参数与土壤细菌和真菌网络连通度显著相关,说明草甸退化过程中植被参数的变化对地下微生物网络结构有重要的影响。课题组前期的研究结果<sup>[1, 4, 43]</sup>也证实草甸退化过程中植被参数和土壤养分是驱动土壤细菌和真菌结构变化的主要因子,植物群落  $\beta$  多样性与微生物群落分类和功能  $\beta$  多样性的显著相关。草甸退化过程中植物群落可以通过多种途径直接或间接影响微生物的群落结构和相互作用关系<sup>[43]</sup>。首先,由于草地退化而导致植物地上和地下生物量的减少,降低了输入到土壤中的凋落物和根的有机质含量,从而影响了微生物利用底物的有效性。不同的植被产生不同数量和质量的植物凋落物,主要导致土壤碳氮的变化,最终导致微生物群落组成和互作关系的变化<sup>[44]</sup>。其次,由于植物物种对其相关微生物的存在选择性效应,草地退化过程中植物组成的显著改变,如莎草科植物的减少和非禾本植物的增加,也可能对微生物群落产生显著影响。

#### 4 结论

本研究利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术结合分子生态网络,对五台山不同退化程度亚高山草甸土壤微生物群落结构和不同物种间互作网络关系进行研究。研究表明五台山亚高草甸退化改变了土壤微生物(细菌、真菌和细菌-真菌)网络结构和关键物种,增加了土壤细菌内部、真菌内部以及细菌-真菌群落间的相互作用,导致其网络结构更为复杂。而未退化草甸土壤微生物网络具有较长的平均路径距离和较高的模块性,使其比退化草甸更能抵抗外界环境的变化,具有较高的稳定性。土壤含水量、pH、总氮和铵态氮含量是影响亚高山草甸退化过程中土壤微生物网络互作关系的主要理化因子。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Luo Z M, Liu J X, Jia T, Chai B F, Wu T H. Soil bacterial community response and nitrogen cycling variations associated with subalpine meadow degradation on the loess plateau, China. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(9): e00180-e00120.
- [ 2 ] 庞晓瑜, 雷静品, 王奥, 邓云鹏. 亚高山草甸植物群落对气候变化的响应. *西北植物学报*, 2016, 36(8): 1678-1686.
- [ 3 ] 章异平, 江源, 刘全儒, 陶岩, 王耿锐. 放牧压力下五台山高山、亚高山草甸的退化特征. *资源科学*, 2008, 30(10): 1555-1563.
- [ 4 ] 罗正明, 赫磊, 刘晋仙, 胡砚秋, 周妍英, 郑庆荣, 柴宝峰. 土壤真菌群落对五台山亚高山草甸退化的响应. *环境科学*, 2022, 43(6): 3328-3337.
- [ 5 ] Che R X, Wang Y F, Li K X, Xu Z H, Hu J M, Wang F, Rui Y C, Li L F, Pang Z, Cui X Y. Degraded patch formation significantly changed microbial community composition in alpine meadow soils. *Soil and Tillage Research*, 2019, 195: 104426.
- [ 6 ] 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.
- [ 7 ] Yu Y, Zheng L, Zhou Y J, Sang W G, Zhao J N, Liu L, Li C, Xiao C W. Changes in soil microbial community structure and function following degradation in a temperate grassland. *Journal of Plant Ecology*, 2020, 14(3): 384-397.

- [ 8 ] Li Y M, Wang S P, Jiang L L, Zhang L R, Cui S J, Meng F D, Wang Q, Li X E, Zhou Y. Changes of soil microbial community under different degraded gradients of alpine meadow. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 222: 213-222.
- [ 9 ] Che R X, Wang F, Wang W J, Zhang J, Zhao X, Rui Y C, Xu Z H, Wang Y F, Hao Y B, Cui X Y. Increase in ammonia-oxidizing microbe abundance during degradation of alpine meadows may lead to greater soil nitrogen loss. *Biogeochemistry*, 2017, 136(3): 341-352.
- [ 10 ] 朱瑞芬, 刘杰淋, 王建丽, 韩微波, 申忠宝, 辛晓平. 基于分子生态学网络分析松嫩退化草地土壤微生物群落对施氮的响应. *中国农业科学*, 2020, 53(13): 2637-2646.
- [ 11 ] 罗正明, 刘晋仙, 暴家兵, 王雪, 吴强, 柴宝峰. 五台山亚高山土壤真菌海拔分布格局与构建机制. *生态学报*, 2020, 40(19): 7009-7017.
- [ 12 ] Wang C T, Long R J, Wang Q L, Jing Z C, Shi J J. Changes in plant diversity, biomass and soil C, in alpine meadows at different degradation stages in the headwater region of three rivers, China. *Land Degradation and Development*, 2009, 20(2): 187-198.
- [ 13 ] Lampurlanés J, Cantero-Martínez C. Soil bulk density and penetration resistance under different tillage and crop management systems and their relationship with barley root growth. *Agronomy Journal*, 2003, 95(3): 526-536.
- [ 14 ] Luo Z M, Liu J X, Zhao P Y, Jia T, Li C, Chai B F. Biogeographic patterns and assembly mechanisms of bacterial communities differ between habitat generalists and specialists across elevational gradients. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 169.
- [ 15 ] Ren C J, Zhang W, Zhong Z K, Han X H, Yang G H, Feng Y Z, Ren G X. Differential responses of soil microbial biomass, diversity, and compositions to altitudinal gradients depend on plant and soil characteristics. *Science of the Total Environment*, 2018, 610/611: 750-758.
- [ 16 ] Deng Y, Jiang Y H, Yang Y F, He Z L, Luo F, Zhou J Z. Molecular ecological network analyses. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13(1): 113.
- [ 17 ] 胡晓婧, 刘俊杰, 魏丹, 朱平, 崔喜安, 周宝库, 陈雪丽, 金剑, 刘晓冰, 王光华. 东北黑土区不同纬度农田土壤真菌分子生态网络比较. *应用生态学报*, 2018, 29(11): 3802-3810.
- [ 18 ] 卢慧, 赵珩, 盛玉钰, 丛微, 王秀磊, 李迪强, 张于光. 基于高通量测序的两种高寒草甸土壤原核生物群落特征研究. *生态学报*, 2018, 38(22): 8080-8087.
- [ 19 ] Hu X J, Liu J J, Liang A Z, Li L J, Yao Q, Yu Z H, Li Y S, Jin J, Liu X B, Wang G H. Conventional and conservation tillage practices affect soil microbial co-occurrence patterns and are associated with crop yields. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 319: 107534.
- [ 20 ] MacArthur R. Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology*, 1955, 36(3): 533.
- [ 21 ] Yuan M M, Guo X, Wu L W, Zhang Y, Xiao N J, Ning D L, Shi Z, Zhou X S, Wu L Y, Yang Y F, Tiedje J M, Zhou J Z. Climate warming enhances microbial network complexity and stability. *Nature Climate Change*, 2021, 11(4): 343-348.
- [ 22 ] Hernandez D J, David A S, Menges E S, Searcy C A, Afkhami M E. Environmental stress destabilizes microbial networks. *The ISME Journal*, 2021, 15(6): 1722-1734.
- [ 23 ] Rooney N, McCann K, Gellner G, Moore J C. Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature*, 2006, 442(7100): 265-269.
- [ 24 ] Stouffer D B, Bascompte J. Compartmentalization increases food-web persistence. *PNAS*, 2011, 108(9): 3648-3652.
- [ 25 ] Kuiper J J, van Altena C, de Ruiter P C, van Gerven L P A, Janse J H, Mooij W M. Food-web stability signals critical transitions in temperate shallow lakes. *Nature Communications*, 2015, 6: 7727.
- [ 26 ] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability. *Science*, 2015, 350(6261): 663-666.
- [ 27 ] de Vries F T, Griffiths R I, Bailey M, Craig H, Girlanda M, Gweon H S, Hallin S, Kaisermann A, Keith A M, Kretzschmar M, Lemanceau P, Lumini E, Mason K E, Oliver A, Ostle N, Prosser J I, Thion C, Thomson B, Bardgett R D. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. *Nature Communications*, 2018, 9: 3033.
- [ 28 ] Danczak R E, Johnston M D, Kenah C, Slattery M, Wilkins M J. Microbial community cohesion mediates community turnover in unperturbed aquifers. *mSystems*, 2018, 3(4): e00066-e00018.
- [ 29 ] 汪峰, ZHOU JiZhong, 孙波. 我国东部土壤氮转化微生物的功能分子生态网络结构及其对作物的响应. *科学通报*, 2014, 59(S1): 387-396.
- [ 30 ] de Vries F T, Liiri M E, Bjørnlund L, Bowker M A, Christensen S, Setälä H M, Bardgett R D. Land use alters the resistance and resilience of soil food webs to drought. *Nature Climate Change*, 2012, 2(4): 276-280.
- [ 31 ] Tan L, Zeng W A, Xiao Y S, Li P F, Gu S S, Wu S L, Zhai Z G, Feng K, Deng Y, Hu Q L. Fungi-bacteria associations in wilt diseased rhizosphere and endosphere by interdomain ecological network analysis. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 722626.
- [ 32 ] Quaiser A, Ochsenreiter T, Lanz C, Schuster S C, Treusch A H, Eck J, Schleper C. Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(2): 563-575.
- [ 33 ] Pankratov T A, Ivanova A O, Dedysh S N, Liesack W. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic *Sphagnum* peat. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(7): 1800-1814.
- [ 34 ] Pan H, Liu H Y, Liu Y W, Zhang Q C, Luo Y, Liu X M, Liu Y M, Xu J M, Di H J, Li Y. Understanding the relationships between grazing intensity and the distribution of nitrifying communities in grassland soils. *Science of the Total Environment*, 2018, 634: 1157-1164.

- [35] Poll C, Brune T, Begerow D, Kandeler E. Small-scale diversity and succession of fungi in the detritosphere of rye residues. *Microbial Ecology*, 2010, 59(1): 130-140.
- [36] Patureau D, Zumstein E, Delgenes J P, Moletta R. Aerobic denitrifiers isolated from diverse natural and managed ecosystems. *Microbial Ecology*, 2000, 39(2): 145-152.
- [37] Mapperson R R, Kotiw M, Davis R A, Dearnaley J D W. The diversity and antimicrobial activity of *Preussia* sp. *Current Microbiology*, 2014, 68(1): 30-37.
- [38] 杨文玲, 杜志敏, 孙召华, 周伏忠, 安明理, 雷高, 魏传军, 巩涛. 芽孢杆菌在重金属污染土壤修复中的研究进展. *环境污染与防治*, 2021, 43(6): 759-763.
- [39] 金志薇, 钟文辉, 吴少松, 韩成. 植被退化对滇西北高寒草地土壤微生物群落的影响. *微生物学报*, 2018, 58(12): 2174-2185.
- [40] Fay P A, Blair J M, Smith M D, Nippert J B, Carlisle J D, Knapp A K. Relative effects of precipitation variability and warming on tallgrass prairie ecosystem function. *Biogeosciences*, 2011, 8(10): 3053-3068.
- [41] Fierer N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(10): 579-590.
- [42] 李海云, 姚拓, 高亚敏, 张建贵, 马亚春, 路晓雯, 杨晓蕾, 张慧荣, 夏东慧. 退化高寒草地土壤真菌群落与土壤环境因子间相互关系. *微生物学报*, 2019, 59(4): 678-688.
- [43] Luo Z M, Liu J X, He L, Du J Q, Wang L X, Jia T, Chai B F, Wu T H. Degradation-induced microbiome alterations may aggravate soil nutrient loss in subalpine meadows. *Land Degradation & Development*, 2022, 33(15): 2699-2712.
- [44] Li H, Xu Z W, Yan Q Y, Yang S, Van Nostrand J D, Wang Z R, He Z L, Zhou J Z, Jiang Y, Deng Y. Soil microbial beta-diversity is linked with compositional variation in aboveground plant biomass in a semi-arid grassland. *Plant and Soil*, 2018, 423(1): 465-480.