



• 研究报告 •

# 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落多样性特征及驱动因素

罗正明<sup>1,2</sup>, 刘晋仙<sup>2</sup>, 张变华<sup>1</sup>, 周妍英<sup>3</sup>, 郝爱华<sup>1</sup>, 杨凯<sup>1</sup>, 柴宝峰<sup>2\*</sup>

1. 忻州师范学院地理系, 山西忻州 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. 忻州师范学院生物系, 山西忻州 034003

**摘要:** 原生生物在草地生态系统养分循环、微生物群落稳定和土壤肥力维持方面发挥着重要作用。为了揭示亚高山草甸退化过程中土壤原生生物群落组成和多样性变化格局及环境驱动机制, 本文利用18S rDNA高通量测序技术研究了五台山不同退化阶段(未退化(nondegraded, ND)、轻度(lightly degraded, LD)、中度(moderately degraded, MD)和重度退化(heavily degraded, HD))亚高山草甸土壤原生生物群落组成和多样性的变化特征。结果表明: 丝足门、褐藻门、纤毛门、叶足亚门、锥足亚门、绿藻门和顶复门是亚高山草甸土壤原生生物的优势门(相对丰度 > 1%)。纤毛门、叶足亚门、绿藻门、Choanoflagellida和Perkinsea的相对丰度在4种不同退化程度草甸中存在显著差异( $P < 0.05$ )。LEfSe分析显示未退化草甸中主要富集了Perkinsea类群, 轻度退化草甸中富集了盾纤目类群, 中度退化草甸中富集了变形虫纲和卵菌纲类群, 重度退化草甸中主要富集了绿藻纲和硅藻纲类群等光合自养原生生物。随着亚高山草甸退化加剧, 土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性呈下降的趋势( $P < 0.05$ )。总氮、植物Shannon-Wiener指数、地上生物量、土壤含水量和铵态氮是土壤原生生物群落结构变化的主要预测因子。方差分解分析(variance partitioning analysis, VPA)结果表明土壤理化因子和植被参数共同解释了原生生物群落结构变异的38.44%, 且土壤理化因子(20.69%)解释度大于植被参数(7.85%)。五台山亚高山草甸退化过程中土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性和结构均发生了明显的变化, 土壤环境因子是影响原生生物群落结构变化的重要因素。本研究结果加强了原生生物群落作为指示草地退化指标的潜力, 可为科学全面地评价亚高山草甸土壤生态系统健康状况提供数据支撑与参考。

**关键词:** 亚高山草甸; 草地退化; 原生生物群落; 微生物多样性; 高通量测序

罗正明, 刘晋仙, 张变华, 周妍英, 郝爱华, 杨凯, 柴宝峰 (2023) 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落多样性特征及驱动因素. 生物多样性, 31, 23136. doi: 10.17520/biods.2023136.

Luo ZM, Liu JX, Zhang BH, Zhou YY, Hao AH, Yang K, Chai BF (2023) Diversity characteristics and driving factors of soil protist communities in subalpine meadow at different degradation stages. Biodiversity Science, 31, 23136. doi: 10.17520/biods.2023136.

## Diversity characteristics and driving factors of soil protist communities in subalpine meadow at different degradation stages

Zhengming Luo<sup>1,2</sup>, Jinxian Liu<sup>2</sup>, Bianhua Zhang<sup>1</sup>, Yanying Zhou<sup>3</sup>, Aihua Hao<sup>1</sup>, Kai Yang<sup>1</sup>, Baofeng Chai<sup>2\*</sup>

1 Department of Geography, Xinzhou Normal University, Xinzhou, Shanxi 034003

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

3 Department of Biology, Xinzhou Normal University, Xinzhou, Shanxi 034003

### ABSTRACT

**Aims:** Protists play an important role in nutrient cycling, microbiome stability and soil fertility maintenance. Compared with bacteria and fungi, the change characteristics and driving factors of soil protist community composition and diversity in degraded grassland ecosystems remain unclear. The aim of this study was to explore the community dynamics of soil protists during the degradation of subalpine meadow in Mount Wutai and its driving factors, and to

收稿日期: 2023-05-04; 接受日期: 2023-06-29

基金项目: 山西省应用基础研究计划(202203021221225; 202203021222306)、山西省高等学校科技创新项目(2021L465)、山西省高等学校人文社会科学重点研究基地项目(2022J027)和山西省“1331工程”提质增效建设计划项目(2023WTS04)

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: bfchai@sxu.edu.cn

provide basic data and decision-making references for further research on subalpine meadow ecosystem health monitoring and ecological restoration.

**Methods:** In this study, high-throughput sequencing technology was used to study the change characteristics and environmental driving factors of soil protist community composition and diversity in subalpine meadow of Mount Wutai under nondegraded (ND), lightly, moderately and heavily degraded (LD, MD and HD) conditions. The  $\alpha$  diversity of community was analyzed by Shannon-Wiener index and richness index. Non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS) based on Bray-Curtis distance was used to assess the overall structural changes of the protist community. Linear discriminant analysis (LDA) combined with LEfSe analysis was used to determine the biomarkers of statistical difference among four different degradation stage of subalpine meadows. The relationship between protist community structure and environmental variables were analyzed by redundancy analysis (RDA). Variance partitioning analysis (VPA) quantified the effects of soil physicochemical properties and plant variables on the changes of protist community structure.

**Results:** The results showed that the dominant phyla (relative abundance > 1%) of soil protist in subalpine meadows were Cercozoa, Ochrophyta, Ciliophora, Lobosa, Conosa, Chlorophyta and Apicomplexa. There were significant differences in the relative abundances of Ciliophora, Lobosa, Chlorophyta, Choanoflagellida and Perkinsea among the four different degradation stage of subalpine meadows ( $P < 0.05$ ). LEfSe showed that the ND meadow was mainly enriched with the phylum Perkinsea group, the LD meadow was enriched with the order Scuticociliatida group, the MD meadow was enriched with the Tubulinea and Oomycota groups, and the HD meadow was mainly enriched with the phototrophs, the Chlorophyta and Bacillariophyta groups. The  $\alpha$  diversity of soil protists decreased with the deterioration of subalpine meadow ( $P < 0.05$ ). NMDS results indicated that there were significant differences in the community structure of soil protists in four degradation stages of subalpine meadow ( $P < 0.05$ ). Total nitrogen, plant Shannon-Wiener index, aboveground biomass, soil water content and ammonium nitrogen were identified as the top predictors for the composition of protist communities ( $P < 0.05$ ). VPA showed that both physicochemical factors and vegetation parameters jointly accounted for 38.44% of the variation of the protist community, and soil physicochemical factors (20.69%) had a greater explanation than vegetation parameters (7.85%).

**Conclusion:** The diversity and community structure of soil protists have changed obviously in the process of subalpine meadow degradation in Mount Wutai. Soil environmental factors are important factors affecting the changes of the protist community structure. The results of this study strengthen the potential of protists as indicators of grassland degradation and provide experimental data for scientific and comprehensive evaluation of soil ecosystem health in subalpine meadow.

**Key words:** subalpine meadow; grassland degradation; protist community; microbial diversity; high-throughput sequencing

草地占世界陆地面积的40%, 为人类提供了重要的生态系统服务, 如蓄水、固碳、减缓气候变化等(司绍诚等, 2022)。然而, 受气候变化及长期不合理的人为活动干扰, 全球范围内由于过度放牧导致超过23%的草地退化(Bardgett et al, 2021)。土壤微生物是草地生态系统健康的关键驱动因素, 通过调节养分循环、分解有机物、改良土壤结构、抑制植物病害和提高植物生产力, 发挥着一系列重要的生态作用(Coban et al, 2022; Liu et al, 2023)。研究证实草地退化可以通过改变土壤养分和植物特征来驱动土壤微生物多样性和功能的变化(Luo et al, 2020)。与未退化草地相比, 退化草地土壤细菌和真菌群落多样性、组成、生物网络和功能基因存在显著差异(Li et al, 2016; Luo et al, 2020, 2022)。土壤微生物群落在草地退化过程中可能具有双重作用(Xun et al,

2018; Coban et al, 2022)。一方面, 土壤微生物(如固氮菌、溶磷菌、丛枝菌根真菌等)可通过提高植物对环境胁迫的抗性来促进退化草地的恢复(Ezawa & Saito, 2018; Lai et al, 2021)。另一方面, 土壤传播的病原体严重威胁植物的健康, 加剧草地退化(Che et al, 2019; Zhang Q et al, 2022)。然而, 这些研究主要集中在细菌和真菌, 对原生生物群落的研究很少, 限制了我们退化草地生态系统土壤微生物群落生态学的整体认识。

原生生物作为土壤微生物的重要组成部分, 种类丰富, 功能多样(Singer et al, 2021)。原生生物是细菌、真菌和其他小型真核生物的主要捕食者, 在微生物食物网中扮演着关键角色(Xiong et al, 2018)。原生生物的捕食活动促进了固定在微生物生物量中营养物质的释放, 促进了营养物质的周转和

吸收,影响了生态系统的功能。另外,原生生物还可以通过调节有机质降解和碳固定来促进养分循环(Jassey et al, 2015; Kramer et al, 2016; Geisen et al, 2018)。最近的研究报道了原生生物在植物疾病控制和促进植物生长中的作用(Xiong et al, 2020),可能是通过直接捕食土壤传播的病原体(Geisen et al, 2018),或间接改变植物有益微生物和次生代谢物的产生(Gao et al, 2019)。长期过度放牧显著影响了青藏高原高寒草甸土壤原生生物功能群的组成及其生物或非生物调节过程(Lin et al, 2017)。亚高山草甸土壤原生生物群落组成和结构在海拔梯度上存在显著的差异,土壤含水量、总氮和植物丰富度指数是主要的环境驱动因子(罗正明等, 2021)。作为指示生物,原生生物同其他微生物一样在草地生态系统中起着关键作用,且对环境变化非常敏感,能较早地指示土壤生态系统功能的变化(Zhao et al, 2019)。因此,阐明草地退化过程中原生生物群落多样性、结构和功能变化及其驱动机制至关重要。近年来,随着分子技术的快速发展和原生生物数据库的不断完善,基于18S rDNA高通量测序技术方法成为全面分析原生生物群落组成和多样性的重要手段(Geisen et al, 2018)。

五台山被称为“华北屋脊”,位于太行山北端,最高峰叶斗峰海拔3,061.1 m,植被垂直带谱明显,海拔从高到低依次为:亚高山和高山草甸带—亚高山灌丛带—针叶林带—针、阔叶混交林带—山地灌丛带—灌草丛及农田带。分布在五台山海拔2,000–3,000 m间的亚高山草甸是华北地区面积最大(106,993 ha)的高寒草甸之一(罗正明等, 2022)。五台山亚高山草甸群落以耐寒冷、密丛短根茎地下芽嵩草(*Kobresia*)以及苔草(*Carex*)、禾草为建群种。土壤类型为亚高山草甸土,又名黑毡土,是在高寒(年均气温 $-4^{\circ}\text{C}$ )、多水(年降雨量900 mm以上)、长日照(年均2,722.8 h)、大风、矮化草甸植被的作用下,经反复冻融发育而成,草甸地表呈“草丛土丘”景观。五台山亚高山草甸是华北地区重要的生态屏障和夏季牧场。然而,随着人类活动加剧,加上连年超载放牧,使得五台山亚高山草甸植被遭到严重破坏,生物多样性锐减,面临严重的退化问题。据统计不同退化程度的草甸约占五台山草甸总面积的3/5,中度以上退化的草甸占整体退化草甸的一半以上

(Luo et al, 2020)。本研究以五台山典型亚高山草甸为研究对象,通过18S rDNA高通量测序,对4个不同退化阶段(未退化(nondegraded, ND)、轻度(lightly degraded, LD)、中度(moderately degraded, MD)和重度退化(heavily degraded, HD))亚高山草甸土壤原生生物群落进行了分析。旨在探讨: (1)不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落结构组成和多样性变化特征; (2)土壤原生生物群落结构变化的主要驱动因子。研究结果不仅可以提供亚高山草甸土壤原生生物多样性方面的基础资料,深入理解原生生物对于土壤微生态系统中的影响和作用,还能为亚高山草甸生态系统监测与保护提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样地设置与样品采集

根据植被盖度、物种优势度、地上生物量等指标(Wang et al, 2009)在五台山东台顶( $39^{\circ}02' \text{N}$ ,  $113^{\circ}39' \text{E}$ )选取未退化、轻度退化、中度退化和重度退化草甸作为固定样地(各样地面积 $100 \text{ m} \times 100 \text{ m}$ ),样地之间的最大距离不超过500 m,海拔在2,527–2,590 m之间(图1)。2018年8月,在每个样地随机设置5个 $1 \text{ m} \times 1 \text{ m}$ 的样方,每个样方之间距离为50 m以上,采集0–10 cm表层土壤,共获得20个土样。将每个土壤样品低温运至实验室,并分成两部分,一部分储存在 $4^{\circ}\text{C}$ 下用于测量土壤特性,另一部分储存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 下用于总DNA提取。

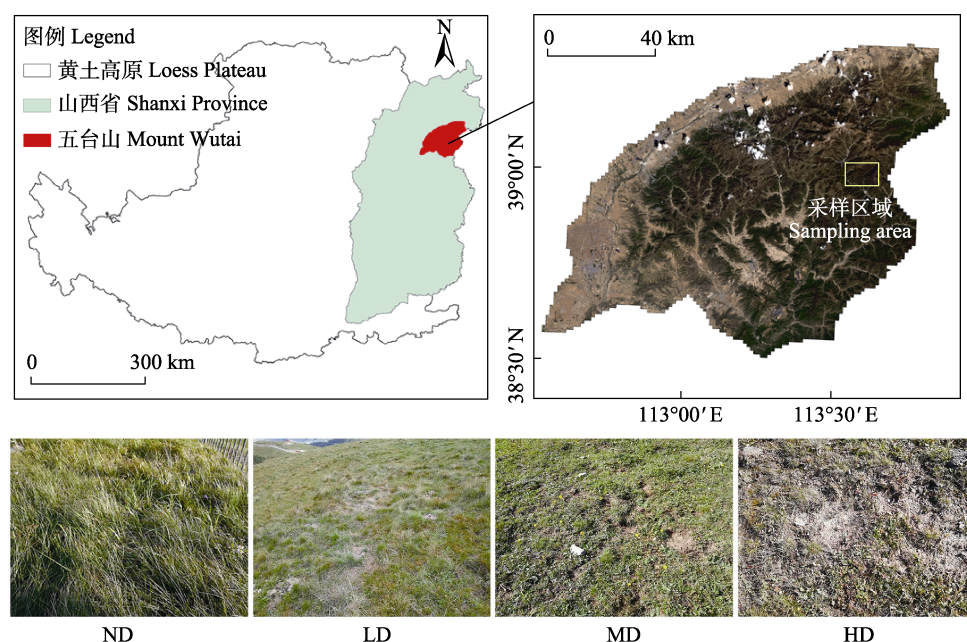
### 1.2 环境因子测定

记录样方内植物种类、物种数、群落总盖度和高度。植物多样性测定采用Shannon-Wiener指数和丰富度指数进行评价。采用烘干法测定土壤含水量,电位法(HANNA, 意大利)测定土壤pH值(土水比为1:2.5),元素分析仪(Elementar Vario MACRO, 德国)测定总碳和总氮,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 氧化法测定土壤有机碳,间断元素分析仪(Clever Chem 380, 德国)测定铵态氮、硝态氮、亚硝态氮,钼蓝法测定土壤有效钾,火焰光谱法测定土壤有效磷,激光粒度仪法测定土壤粒径。

### 1.3 高通量测序及生物信息学分析

使用土壤DNA试剂盒(Omega Bio-tek, USA)从0.25 g土壤中提取总DNA。用正向引物TAReuk 454FWD1F (5'-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3')





**图1** 五台山采样位置和区域示意图。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。  
Fig. 1 Sketch map of sampling location and area of Mount Wutai. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow.

和反向引物 TAREukREV3F (5'-ACTTTCGTTCTT GATYRA-3')扩增18S rRNA的V4高变区(Stoeck et al, 2010)。PCR扩增程序: 94℃初始变性3 min, 然后在95℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸45 s, 共进行27个循环, 最后在72℃延伸10 min。PCR产物在Illumina Miseq平台(上海美吉生物医药科技有限公司)上进行纯化、聚合和测序。利用QIIME2中的标准操作程序对原始序列进行分析。使用UPARSE进行嵌合体去除, 按97%序列相似度聚类OTUs。根据Protist Ribosomal Reference (PR2)数据库对基于真核生物18S rRNA基因数据的原生生物序列进行分类(Guillou et al, 2013)。去除被定义为真菌、后生动物(Metazoan)、红藻(Rhodophyta)和链形植物(Streptophyta)的OTUs (占有所有OTUs的43.5%), 按最小样本序列数抽平, 然后进行后续的分析(Zhao et al, 2019; Zhang SY et al, 2022)。平均相对丰度 > 1%, 的门被定义为优势门。

#### 1.4 数据分析

利用QIIME2软件计算原生生物群落的 $\alpha$ 多样性。采用线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)结合LEfSe分析确定不同退化阶段亚高山草甸间统计学差异的生物标志物(biomarker) ( $P < 0.05$

和LDA评分 > 3.5)。使用基于Bray-Curtis距离的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling analysis, NMDS)评估原生生物群落整体结构变化。使用相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)来确定土壤原生生物群落结构差异的显著性。采用Pearson相关分析和Mantel test分别分析环境因子间相关性及其与环境与土壤原生生物群落结构的关系。进一步使用逐步回归和Monte Carlo permutation test对所有环境变量进行前选择, 选择具有统计学意义( $P < 0.05$ )的环境变量进行冗余分析(redundancy analysis, RDA), 评价原生生物群落结构与环境变量之间的相关性。基于前选择筛选的环境因子, 采用方差分解分析(variance partitioning analysis, VPA)定量土壤理化性质和植物变量对原生生物群落结构变化的影响程度。采用单因素方差分析和Duncan多重比较分析对不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物优势门相对丰度以及原生生物群落 $\alpha$ 多样性和 $\beta$ 多样性相异性进行显著性差异检验。基于Galaxy进行LEfSe的在线分析及绘图(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>)。利用软件Origin Pro 2021版绘制柱状图。采用R语言ggplot2程序包进行RDA、NMDS和Mantel test分析及绘图。

## 2 结果

### 2.1 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落组成的变化

扩增子测序结果显示, 4个不同退化阶段亚高山草甸土壤的所有样本中共鉴定出4,726个OTUs。有孔虫界(Rhizaria)是在所有样本中相对丰度最高的超群(占所有序列数的49.52%), 其他超群按相对丰度从高到低依次为不等鞭毛类(Stramepopila, 19.29%)、囊泡虫类(Alveolata, 17.14%)、变形虫界(Amoebzoa, 10.12%)、泛植物界(Archaeplastida, 2.17%)、后鞭毛生物(Opisthokonta, 0.64%)、古虫界(Excavata, 0.58%)、Hacrobia (0.32%)和无根虫界(Apusozoa, 0.21%)。一共包含25门61纲104目176科298属。其中丝足门(Cercozoa)、褐藻门(Ochrophyta)、纤毛门(Ciliophora)、叶足亚门(Lobosa)、不等鞭毛类中未定义的目(Stramepopila\_X)、锥足亚门(Conosa)、绿藻门(Chlorophyta)和顶复门(Apicomplexa)为优势门(图2a)。纤毛门、叶足亚门、绿藻门、Choanoflagellida和Perkinsea在4个不同退化阶段亚高山草甸间存在显著差异( $P < 0.05$ , 图2b)。

LEfSe结果显示, 不同退化阶段亚高山草甸共有32个相对丰度显著较高的原生生物分类单元( $LDA > 3.5$ ,  $P < 0.05$ , 图3)。ND草甸中富集了9个原生生物类群, 即在超群水平的类群为囊泡虫类(Alveolata); 在门水平上有Perkinsea; 纲水平上有Perkinsida和Endomyxa-Phytomyxea; 目水平上有

Perkinsida中未定义的目(Perkinsida\_X)和质体目(Plasmodiophorida); 在科水平上有Perkinsida中未定义的科(Perkinsida\_XX)、Polymyxa\_lineage和Paracercomonadidae。LD草甸中富集了盾纤目(Scuticociliatida)、精巢虫科(Orchitophryidae)和Allapsidae科。MD草甸中检测到10个显著差异的原生生物类群(2门2纲3目3科), 即叶足亚门(Lobosa)、变形虫纲(Tubulinea)、Echinamoebida (目)、Vermamoebidae (目)、ATCC50593-lineage (科)、ATCC50593-Flamella (科)、不等鞭毛类中未定义的目(Stramenopiles\_X)、卵菌纲(Oomycota)、卵菌纲中未定义的目(Oomycota\_X)和Peronosporales (科)。HD草甸富集了10个原生生物分类群(2超群1门3纲2目2科), 包括泛植物界超群(Archaeplastida)、绿藻门(Chlorophyta)、绿藻纲(Chlorophyceae)、共球藻纲(Trebouxiophyceae)、环藻目(Sphaeropleales)、环藻目中未定义的科(Sphaeropleales\_X)、不等鞭毛类超群(Stramenopiles)、硅藻纲(Bacillariophyta)、硅藻纲中未定义的目(Bacillariophyta\_X)和Raphid-pennate (科)。结果表明, 亚高山草甸退化过程中土壤原生生物群落组成和相对丰度在各分类水平上发生了显著变化。

### 2.2 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落多样性的变化

土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性指数(丰富度指数和Shannon-Wiener指数)随着亚高山草甸退化程度增加而减少(图4)。与ND草甸相比, HD草甸土壤原生

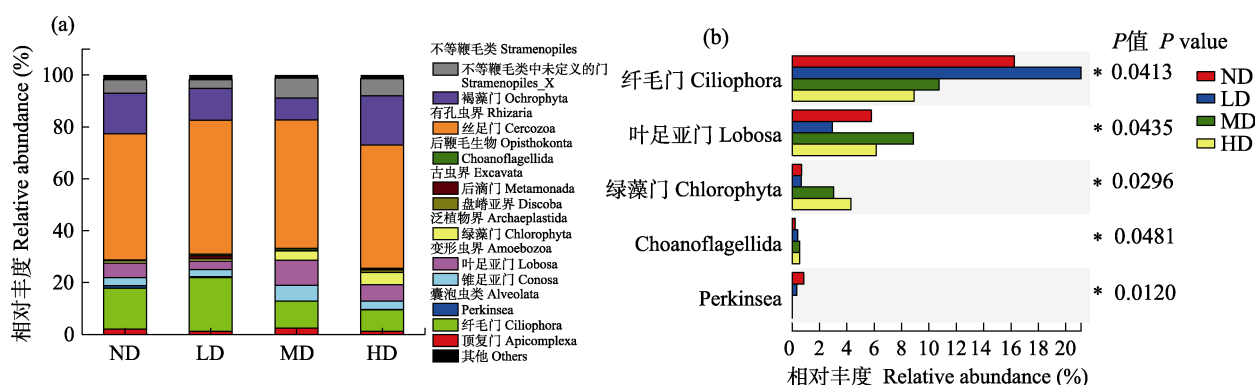


图2 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物优势门(a)和存在显著差异优势门(b)的相对丰度。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。 $P$ 值表示不同退化阶段亚高山草甸间土壤原生生物门相对丰度的差异水平, \*表示存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 2 Relative abundance of dominant (a) and significantly differentially dominant (b) phyla of soil protist in subalpine meadow at different degradation stages. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow.  $P$  value indicates the level of difference in relative abundance of soil protists among subalpine meadows at different stages of degradation, and \* indicates a significant difference ( $P < 0.05$ ).

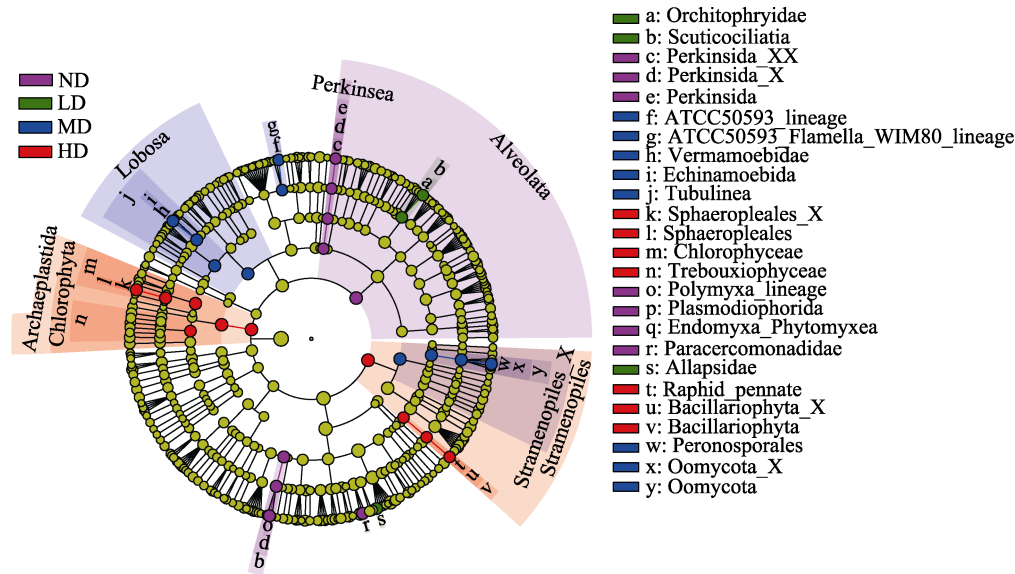


图3 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落差异的LEfSe分析。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。每个圆环为一个分类学层次内的所有分类群, 从内到外的圆环分别代表超群、门、纲、目和科; 圆环上的节点表示分类学层次上的一个分类单元, 每个节点的直径与丰度成正比; 不同退化程度草甸中相对丰度显著较高的分类单元(生物标志物)在进化分支图中进行了颜色编码。

Fig. 3 LefSe analysis showing soil protist community differences in subalpine meadow at different degradation stages. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow. Each circular ring deposit all taxa within a taxonomic level, the circular ring from inside to outside represents supergroup, phylum, class, order and family, respectively. The node on the circular ring represents taxon, affiliating within the taxonomic level. The diameter of each node is proportional to the abundance of the group. Taxa that had significantly higher relative abundance in a certain treatment within each meadow degradation type were color-coded within the cladogram.

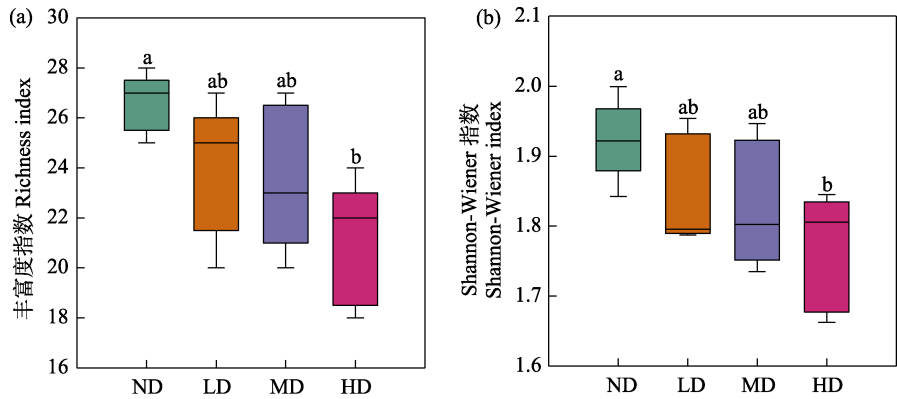


图4 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。各组间不相同的小写字母表示存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 4 The  $\alpha$  diversity indices of soil protist communities in subalpine meadow at different degradation stages. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow. Data that do not share a lowercase letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

生物群落的 $\alpha$ 多样性显著降低( $P < 0.05$ , 图4)。

亚高山草甸退化过程中土壤原生生物群落的结构发生了明显的变化, 4种不同退化阶段草甸土壤原生生物群落样本分成4个部分(图5)。ANOSIM结果证实不同退化阶段草甸土壤原生生物群落结构存在显著的差异, 4个不同退化阶段亚高山草甸

中任意两个土壤原生生物群落组成均显著分离( $r = 0.577$ ,  $P < 0.001$ , 图5a)。此外, 基于Bray-Curtis距离估计了不同退化草甸土壤原生生物群落 $\beta$ 多样性的相异性。与ND草甸相比, LD、MD和HD草甸土壤原生生物群落 $\beta$ 多样性相异性均显著增加( $P < 0.05$ , 图5b)。



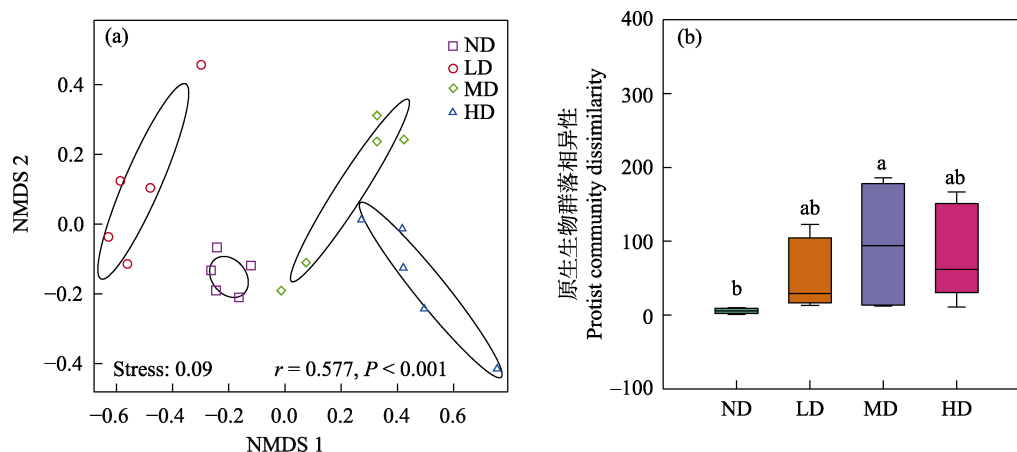


图5 不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落非度量多维尺度分析(NMDS) (a)及相异性分析(基于Bray-Curtis距离) (b)。 $r = 0.577, P < 0.001$ 为不同退化阶段亚高山草甸之间原生生物群落相似性的ANOSIM检验结果。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。

Fig. 5 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) (a) and dissimilarity analysis (based on Bray-Curtis distance) (b) of soil protist communities in subalpine meadow at different degradation stages. The  $r = 0.577, P < 0.001$  are the ANOSIM test results of protist community similarity between subalpine meadows in different degradation stages. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow.

### 2.3 环境因子对土壤原生生物群落结构的影响

Mantel test分析表明, 土壤含水量、全氮、总碳、硝态氮、植物盖度会显著影响原生生物群落结构(图6,  $P < 0.01$ )。绿藻门与土壤质地(粘粒、粉粒和砂粒)、pH、碳氮比、植物盖度和高度显著相关( $P < 0.05$ ); 叶足亚门与土壤粉粒、pH、植物盖度和丰富度显著相关( $P < 0.05$ ); 纤毛门与pH和植物盖度显著相关(图6,  $P < 0.05$ )。RDA结果显示, 轴1和轴2分别解释了原生生物群落结构变异量的31.87%和22.30%, 土壤和植物参数共同解释了原生生物群落变异量的54.17% (图7a)。总氮、植物Shannon-Wiener指数、地上生物量、土壤含水量和铵态氮是驱动原生生物群落结构变化的重要环境因子( $P < 0.05$ )。方差分解分析结果显示, 土壤理化因子(总氮、土壤含水量和铵态氮)和植被参数(植物Shannon-Wiener指数和地上生物量)共同解释了原生生物群落变异的38.44%, 其中土壤理化因子单独解释了20.69%, 植被参数单独解释了7.85%, 土壤理化因子对群落结构变异的贡献大于植被参数(图7b)。

## 3 讨论

### 3.1 土壤原生生物群落物种组成对亚高山草甸退化的响应

通过原生生物群落门水平的组成和差异分析

结果可知, 不同退化阶段亚高山草甸中土壤原生生物群落的优势类群基本一致(图2), 其中丝足门、褐藻门、纤毛门相对丰度最高, 与黑土中的优势门相似, 而红壤中以绿藻门和丝足门为主(Zhao et al, 2019)。这可能是由于亚高山草甸土和黑土中有机质含量通常比红壤高, 成土气候条件也明显不同。纤毛门、绿藻门、Choanoflagellida和Perkinsea的相对丰度在不同退化阶段亚高山草甸中存在显著差异(图3,  $P < 0.05$ )。另外, 4种不同退化阶段亚高山草甸均富集了不同的生物标志物(图3), 说明土壤原生生物群落组成和相对丰度沿草甸退化梯度呈现出明显的分异。未退化草甸富集的Perkinsea被认为是囊泡虫超群中唯一的寄生群, 广泛分布在从海洋到淡水的各种水生环境和湿地中(Itoiz et al, 2022)。Perkinsea由寄生原生生物的4个主要谱系组成, 寄主范围广泛, 其中一些因较强的地理入侵能力和致病性而构成重大生态和经济威胁。与未退化草甸相比, 退化草甸中Perkinsea的相对丰度显著减少, 其原因可能是未退化草甸中含水量高, 更适合喜湿的Perkinsea生存(Chambouvet et al, 2014)。Perkinsea可以寄生在各种寄主(动物、植物或其他生物)上, 未退化草甸土壤养分含量高以及植被状态良好, 为它们提供了最丰富的寄主来源, 这可能是它们更多的存在于未退化草甸的另一个原因(Sun et al, 2021)。然

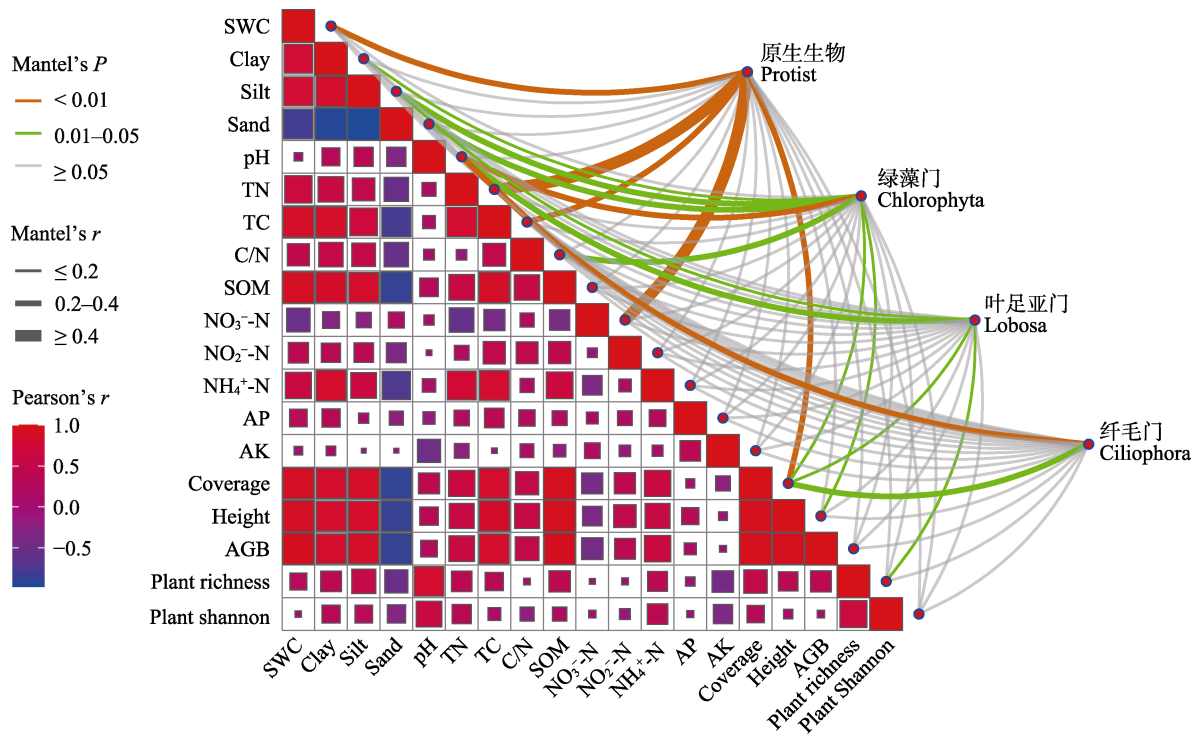


图6 环境因子相关性分析及环境与土壤原生生物群落关系的Mantel分析。SWC: 土壤含水量; Clay: 粘粒含量; Silt: 粉粒含量; Sand: 砂粒; TN: 全氮; TC: 总碳; C/N: 碳氮比; SOM: 土壤有机质;  $\text{NO}_3^-$ -N: 硝态氮;  $\text{NO}_2^-$ -N: 亚硝态氮;  $\text{NH}_4^+$ -N: 铵态氮; AP: 有效磷; AK: 有效钾; Coverage: 植被盖度; Height: 植被高度; AGB: 地上生物量; Plant richness: 植物丰富度指数; Plant Shannon: 植物Shannon-Wiener指数。

Fig. 6 Correlation of environmental factors and Mantel analysis of relationship between environment and soil protist communities. SWC, Soil water content; Clay, Clay content; Silt, Silt content; Sand, Sand content; TN, Total nitrogen; TC, Total carbon; C/N, Carbon nitrogen ratio; SOM, Soil organic matter;  $\text{NO}_3^-$ -N, Nitrate nitrogen;  $\text{NO}_2^-$ -N, Nitrous nitrogen;  $\text{NH}_4^+$ -N, Ammonium nitrogen; AP, Available phosphorus; AK, Available potassium; Coverage, Vegetation coverage; Height, Vegetation height; AGB, Aboveground biomass; Plant richness: Plant richness index; Plant Shannon, Plant Shannon-Wiener index.

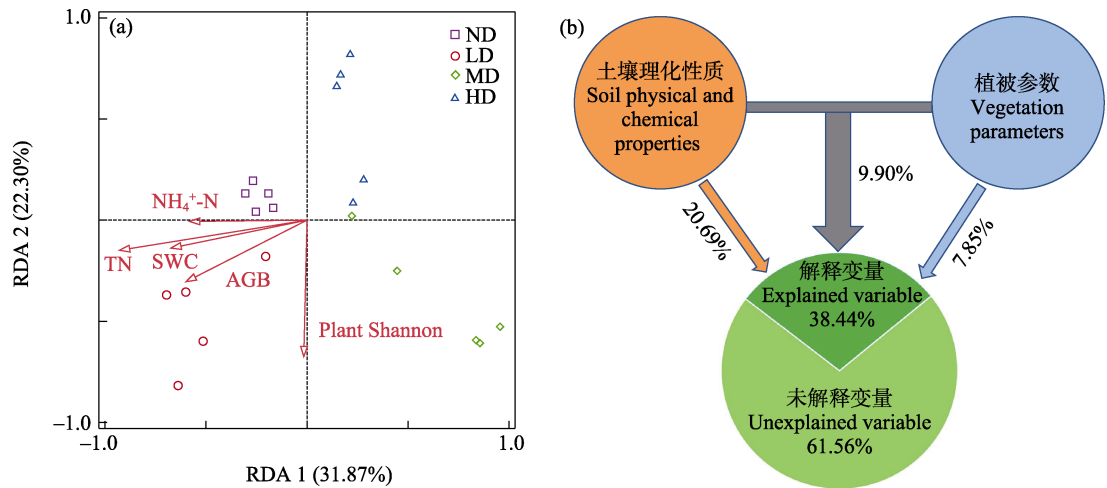


图7 土壤原生生物群落结构与环境变量的冗余分析(a)和方差分解分析(b)。TN: 总氮; Plant Shannon: 植物Shannon-Wiener指数; AGB: 地上生物量; SWC: 土壤含水量;  $\text{NH}_4^+$ -N: 铵态氮。ND: 未退化草甸; LD: 轻度退化草甸; MD: 中度退化草甸; HD: 重度退化草甸。

Fig. 7 Relationships between soil protist community structure and environmental variables based on redundancy analysis (a) and variation partitioning analysis (b). TN, Total nitrogen; Plant Shannon, Plant Shannon-Wiener index; AGB, Aboveground biomass; SWC, Soil water content;  $\text{NH}_4^+$ -N, Ammonium nitrogen. ND, Nondegraded meadow; LD, Lightly degraded meadow; MD, Moderately degraded meadow; HD, Heavily degraded meadow.



而, 目前对Perkinsea的形态、生命周期、宿主的身份和生理特征仍然认识不够, 特别是它们土壤中的相关信息知之甚少(Jeon & Park, 2021)。轻度草甸中富集的盾纤目(Scuticociliatida)纤毛虫通常个体较小, 大多数在15–50  $\mu\text{m}$ 范围内, 广泛生存于各类水环境中, 尤其在富营养化水体中是常见的自由生活(或兼性寄生)原生动物。中度退化草甸中富集的叶足亚门属于变形虫界超群, 变形虫门中多数物种靠细胞内原生质的流动而移动(Zhang SY et al, 2022)。其伪足类似于手指形状, 边缘是钝的, 生活于水、泥土或腐败有机物中, 滋养体以细菌为主, 二分裂方式增殖, 并可形成包裹, 有些也被发现与其他生物共生, 某些甚至是病原体(Sun et al, 2021)。另外, 中度退化草甸中富集的卵菌纲属于不等鞭毛类, 具有渗透性和溶氧性, 可以自由生活, 兼性或专性寄生于其他卵菌、真菌、植物和动物, 并通过溶氧作用促进有机物的分解(Geisen et al, 2018)。卵菌中部分成员属于植物致病菌, 可能会对中度退化草甸植物产生不利的影响。重度退化草甸富集了包含绿藻门的泛植物界超群和包含硅藻纲的不等鞭毛类超群, 说明重度退化草甸富集的原生生物主要是光合自养类群。与未退化草甸相比, 中度和重度退化草甸中光合原生生物绿藻门的丰度显著增加(图2)。草地退化降低了净初级生产力, 进而导致亚高山草甸中土壤肥力和有机碳含量显著下降。然而, 退化严重草甸中相对丰度较高的光合自养原生生物可以通过光合作用获取能量输入到土壤(Jassey et al, 2015)。因此, 光合自养原生生物可以作为初级生产者对退化严重草甸中土壤有机碳固存做出贡献, 在一定程度上可以缓解退化对草地生态系统的不良影响。然而, 在退化亚高山草甸生态系统中地上植物和光合自养类群原生生物对初级生产力的相对贡献还需要进一步深入研究。

### 3.2 土壤原生生物群落多样性对亚高山草甸退化的响应

亚高山草甸土壤原生生物群落的 $\alpha$ 多样性随退化加剧呈下降的趋势, 特别是重度退化草甸土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性显著下降(图4)。这与前期发现的土壤真菌群落 $\alpha$ 多样性变化趋势相一致(罗正明等, 2022), 土壤细菌群落 $\alpha$ 多样性没有发生显著的变化(Luo et al, 2020)。这说明土壤微生物组中不同组分

(如细菌、真菌和原生生物)的 $\alpha$ 多样性对亚高山草甸退化的响应模式不同, 原生生物群落和真菌群落 $\alpha$ 多样性比细菌群落对草甸退化更敏感。原生生物和真菌属于真核生物, 细菌属于原核生物, 由于两者结构和生理的差异, 导致真核生物在草地退化过程中对土壤养分限制和植被退化的敏感性高于原核生物(Lauber et al, 2008), 这可能是导致这一观察结果的原因。另一方面, 原生生物的栖息地生态位宽度低于细菌(Wu et al, 2018), 这表明原生生物对环境变化的耐受性低于细菌。草地退化导致原生生物多样性的丧失可能随后对土壤生态系统稳定性和土壤多功能产生负面影响(Wu et al, 2022)。

亚高山草甸退化显著影响了土壤原生生物群落结构和增加了 $\beta$ 多样性相异性(图5), 与前期研究细菌和真菌的结果一致(Luo et al, 2020; 罗正明等, 2022), 说明土壤微生物群落结构对亚高山草甸退化较为敏感。原生生物群落结构沿草甸退化梯度的变化( $r = 0.577$ ,  $P < 0.001$ )比细菌( $r = 0.421$ ,  $P < 0.001$ )和真菌群落结构( $r = 0.445$ ,  $P < 0.001$ )的变化更为明显(Luo et al, 2020; 罗正明等, 2022)。4个不同退化阶段亚高山草甸中任意两个土壤原生生物群落组成均显著分离( $P < 0.05$ ), 而细菌和真菌群落组成在中度和重度退化草甸间没有显著差异。这些结果表明原生生物群落结构的变化比细菌和真菌更为敏感。特别是本研究发现纤毛门对草地退化较敏感, 与未退化和轻度退化草甸相比, 中度和重度退化草甸中纤毛门的相对丰度显著下降。宁应之等(2018)研究发现退耕还林生态恢复后, 土壤纤毛虫的优势类群从肾形目逐渐演替为散毛目, 从 $r$ -对策型演替成 $K$ -对策型, 土壤纤毛虫群落结构可作为对退耕还林生态恢复的评价指标。土壤纤毛虫是原生生物中的重要类群之一, 其体积小、物种丰富、生长周期短、分布广泛、群落演替迅速, 对环境变化敏感(Zhao et al, 2019), 本研究结果证实了纤毛虫原生生物群落作为指示环境变化指标的潜力, 在未来的工作中应该优先考虑, 例如, 构建纤毛虫相对丰度与草地土壤退化的关系曲线, 以指示草地土壤退化程度等。

### 3.3 亚高山草甸退化过程中土壤原生生物群落结构变化与环境变量的关系

亚高山草甸退化降低了土壤中的养分、总碳、





总氮和有机质含量, 这是由于退化导致植物生物量和土壤团聚体减少, 可能会增加养分淋滤, 导致养分的损失(Luo et al, 2022)。草甸退化过程中植物和土壤等环境变量发生了明显的变化, 不可避免地影响着土壤原生生物群落结构。土壤理化因子对原生生物群落组成变化的解释度(20.69%)高于植物参数(7.85%), 说明土壤理化性质可能是决定亚高山草甸退化土壤原生生物群落变化的关键因素。本研究发现总氮、植物Shannon-Wiener指数、地上生物量、土壤含水量和铵态氮显著影响了土壤原生生物群落结构( $P < 0.05$ ), 是最重要的环境驱动因子。与之前的报道一致, 土壤中氮和其他营养物质塑造了土壤原生生物多样性和结构。纤毛虫、有壳变形虫(testate amoebae)和藻类(algae)的组成、多样性和密度随土壤氮梯度变化很大(Clarholm, 2002; Acosta-Mercado & Lynn, 2004; Krashevskaya et al, 2014)。Hu等(2022)在青藏高原高寒草甸中发现提升30%降水量增加了吞噬性原生生物的多样性, 减少30%降水量降低了吞噬性原生生物的多样性, 且氮输入( $12 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{yr}^{-1}$ )可以增加原生生物的丰度, 通过增加微生物生物量抵消降水减少对吞噬型原生生物相对丰度的负面影响。水分对土壤原生生物非常重要, 原生生物基本上依赖于连接土壤孔隙的水层来移动、进食和繁殖, 它们的栖息地大小将随着土壤水分有效性的变化而增大或缩小(Geisen et al, 2014)。原生生物数量最多的时候往往出现在潮湿的季节和雨后。因此, 亚高山草甸退化过程中土壤水分含量显著减少, 可能会影响土壤原生生物群落组成和结构。植物和植被类型可以通过各种方式影响土壤原生生物群落(Geisen et al, 2018), 包括凋落物或根系分泌物质量的差异、小气候的变化(如开阔地与林地)以及对细菌或真菌群落的影响。植物与其微生物群落密切相关, 尤其是在根际。Acosta-Mercado和Lynn (2006)的研究发现两种不同热带植物根际差异显著影响了其纤毛虫群落的结构和组成。较高的植物功能多样性被证实可以增加变形虫原生生物的丰度。沿冰川消退带有壳变形虫的物种丰富度沿时间序列增加, 与植物群落演替一致(Carlson et al, 2010)。然而, 变形虫物种丰富度的增加并不一定与维管植物丰富度相关, 因为其他因素如土壤有机碳或氮含量也有助于增加原生生物多样性(Dassen

et al, 2017)。亚高山草甸退化过程中原生生物群落对生物和非生物驱动因素的复杂组合做出反应, 这些驱动因素的相互作用仍远未被理解, 有待进一步深入研究。

## 4 结论

本研究利用高通量测序技术对五台山不同退化阶段亚高山草甸土壤原生生物群落多样性和结构特征进行研究。研究结果表明, 亚高山草甸退化显著改变了土壤原生生物群落组成和部分类群的相对丰度。在门水平上, 纤毛门、绿藻门、Choanoflagellida和Perkinsea对草甸退化最敏感。不同退化阶段亚高山草甸富集了不同的生物标志物, 且土壤原生生物群落结构存在显著差异。随着亚高山草甸退化加剧, 土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性呈下降的趋势。与未退化草甸相比, 重度退化草甸土壤原生生物群落 $\alpha$ 多样性显著下降。土壤原生生物群落对亚高山草甸退化过程中土壤环境条件的变化有较好的响应。总氮、植物Shannon-Wiener指数、地上生物量、土壤含水量和铵态氮是原生生物群落结构变化的主要驱动因素。土壤理化性质和植物参数均对土壤原生生物群落结构的变化产生了重大影响, 且土壤理化性质对原生生物群落结构的影响大于植被参数的影响。

## ORCID

罗正明  <https://orcid.org/0000-0003-3719-629X>  
 刘晋仙  <https://orcid.org/0000-0002-1957-0981>  
 柴宝峰  <https://orcid.org/0000-0002-0024-0659>  
 郝爱华  <https://orcid.org/0000-0002-5340-1436>

## 参考文献

- Acosta-Mercado D, Lynn DH (2004) Soil ciliate species richness and abundance associated with the rhizosphere of different subtropical plant species. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51, 582–588.
- Acosta-Mercado D, Lynn DH (2006) Contrasting soil ciliate species richness and abundance between two tropical plant species: A test of the plant effect. *Microbial Ecology*, 51, 453–459.
- Bardgett RD, Bullock JM, Lavorel S, Manning P, Schaffner U, Ostle N, Chomel M, Durigan G, Fry EL, Johnson D, Lavelle JM, Le Provost G, Luo S, Png K, Sankaran M, Hou XY, Zhou HK, Ma L, Ren WB, Li XL, Ding Y, Li YH, Shi HX (2021) Combatting global grassland degradation. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2, 720–735.

- Carlson ML, Flagstad LA, Gillet F, Mitchell EAD (2010) Community development along a proglacial chronosequence: Are above-ground and below-ground community structure controlled more by biotic than abiotic factors? *Journal of Ecology*, 98, 1084–1095.
- Chambouvet A, Berney C, Romac S, Audic S, Maguire F, De Vargas C, Richards TA (2014) Diverse molecular signatures for ribosomally ‘active’ *Perkinsea* in marine sediments. *BMC Microbiology*, 14, 110.
- Che RX, Wang YF, Li KX, Xu ZH, Hu JM, Wang F, Rui YC, Li LF, Pang Z, Cui XY (2019) Degraded patch formation significantly changed microbial community composition in alpine meadow soils. *Soil and Tillage Research*, 195, 104426.
- Clarholm M (2002) Bacteria and protozoa as integral components of the forest ecosystem—Their role in creating a naturally varied soil fertility. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 309–318.
- Coban O, De Deyn GB, van der Ploeg M (2022) Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375, abe0725.
- Dassen S, Cortois R, Martens H, de Hollander M, Kowalchuk GA, van der Putten WH, De Deyn GB (2017) Differential responses of soil bacteria, fungi, Archaea and protists to plant species richness and plant functional group identity. *Molecular Ecology*, 26, 4085–4098.
- Ezawa T, Saito K (2018) How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. *New Phytologist*, 220, 1116–1121.
- Gao ZL, Karlsson I, Geisen S, Kowalchuk G, Jousset A (2019) Protists: Puppet masters of the rhizosphere microbiome. *Trends in Plant Science*, 24, 165–176.
- Geisen S, Bandow C, Roembke J, Bonkowski M (2014) Soil water availability strongly alters the community composition of soil protists. *Pedobiologia*, 57, 205–213.
- Geisen S, Bonkowski M (2018) Methodological advances to study the diversity of soil protists and their functioning in soil food webs. *Applied Soil Ecology*, 123, 328–333.
- Geisen S, Mitchell EAD, Adl S, Bonkowski M, Dunthorn M, Ekelund F, Fernández LD, Jousset A, Krashevska V, Singer D, Spiegel FW, Walochnik J, Lara E (2018) Soil protists: A fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiology Reviews*, 42, 293–323.
- Guillou L, Bachar D, Audic S, Bass D, Berney C, Bittner L, Boutte C, Burgaud G, de Vargas C, Decelle J, del Campo J, Dolan JR, Dunthorn M, Edvardsen B, Holzmann M, Kooistra WHCF, Lara E, Le Bescot N, Logares R, Mahé F, Massana R, Montresor M, Morard R, Not F, Pawlowski J, Probert I, Sauvadet AL, Siano R, Stoeck T, Vaulot D, Zimmermann P, Christen R (2013) The Protist Ribosomal Reference database (PR2): A catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic Acids Research*, 41, D597–D604.
- Hu ZK, Yao JN, Chen XY, Gong X, Zhang Y, Zhou XH, Guo H, Liu MQ (2022) Precipitation changes, warming, and N input differentially affect microbial predators in an alpine meadow: Evidence from soil phagotrophic protists. *Soil Biology and Biochemistry*, 165, 108521.
- Itoiz S, Metz S, Derelle E, Reñé A, Garcés E, Bass D, Soudant P, Chambouvet A (2022) Emerging parasitic protists: The case of *Perkinsea*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 735815.
- Jassey VEJ, Signarbieux C, Hättenschwiler S, Bragazza L, Buttler A, Delarue F, Fournier B, Gilbert D, Laggoun-Défarge F, Lara E, Mills RTE, Mitchell EAD, Payne RJ, Robroek BJM (2015) An unexpected role for mixotrophs in the response of peatland carbon cycling to climate warming. *Scientific Reports*, 5, 16931.
- Jeon BS, Park MG (2021) A novel parasitoid of marine dinoflagellates, *Pararosarium dinoexitiosum* gen. et sp. nov. (Perkinsozoa, Alveolata), showing characteristic beaded sporocytes. *Frontiers in Microbiology*, 12, 748092.
- Kramer S, Dibbern D, Moll J, Huenninghaus M, Koller R, Krueger D, Marhan S, Urich T, Wubet T, Bonkowski M, Buscot F, Lueders T, Kandeler E (2016) Resource partitioning between bacteria, fungi, and protists in the detritosphere of an agricultural soil. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1524.
- Krashevska V, Sandmann D, Maraun M, Scheu S (2014) Moderate changes in nutrient input alter tropical microbial and protist communities and belowground linkages. *The ISME Journal*, 8, 1126–1134.
- Lai CM, Li CY, Peng F, Xue X, You QG, Zhang WJ, Ma SX (2021) Plant community change mediated heterotrophic respiration increase explains soil organic carbon loss before moderate degradation of alpine meadow. *Land Degradation & Development*, 32, 5322–5333.
- Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N (2008) The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2407–2415.
- Li YM, Wang SP, Jiang LL, Zhang LR, Cui SJ, Meng FD, Wang Q, Li XN, Zhou Y (2016) Changes of soil microbial community under different degraded gradients of alpine meadow. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 222, 213–222.
- Lin B, Zhao XR, Zheng Y, Qi S, Liu XZ (2017) Effect of grazing intensity on protozoan community, microbial biomass, and enzyme activity in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Journal of Soil & Sediments*, 17, 2752–2762.
- Liu KF, Li T, Duan XW, Zhang S, Chen MP, Hou HY, Wang ZL, Yu AL, Chen DH, Zhang XL, Hu JM, Dong YF, Liu D, Che RX (2023) The degradation of subalpine meadows significantly changed the soil microbiome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 349, 108470.
- Luo ZM, He L, Liu JX, Hu YQ, Zhou YY, Zheng QR, Chai BF (2022) Responses of soil fungal communities to subalpine meadow degradation in Mount Wutai. *Environmental*



- Science, 43, 3328–3337. (in Chinese with English abstract) [罗正明, 赫磊, 刘晋仙, 胡砚秋, 周妍英, 郑庆荣, 柴宝峰 (2022) 土壤真菌群落对五台山亚高山草甸退化的响应. 环境科学, 43, 3328–3337.]
- Luo ZM, Liu JX, He L, Du JQ, Wang LX, Jia T, Chai BF, Wu TH (2022) Degradation-induced microbiome alterations may aggravate soil nutrient loss in subalpine meadows. *Land Degradation & Development*, 33, 2699–2712.
- Luo ZM, Liu JX, Jia T, Chai BF, Wu TH (2020) Soil bacterial community response and nitrogen cycling variations associated with subalpine meadow degradation on the Loess Plateau, China. *Applied and Environmental Microbiology*, 86, e00180–20.
- Luo ZM, Liu JX, Zhou YY, Du JQ, Wu Q, Chai BF (2021) Community structures and diversity patterns of the soil protist communities along an altitudinal gradient in a subalpine grassland. *Acta Ecologica Sinica*, 41, 2783–2793. (in Chinese with English abstract) [罗正明, 刘晋仙, 周妍英, 杜京旗, 吴强, 柴宝峰 (2021) 亚高山草地土壤原生生物群落结构和多样性海拔分布格局. 生态学报, 41, 2783–2793.]
- Ning YZ, Yang YQ, Dong WH, Zhang HR, Ma JY (2018) Response of soil ciliate community to ecological restoration of different return patterns. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 3628–3638. (in Chinese with English abstract) [宁应之, 杨永强, 董汶含, 张惠茹, 马继阳 (2018) 土壤纤毛虫群落对不同退还模式生态恢复的响应. 生态学报, 38, 3628–3638.]
- Si SC, Wu YC, Li Y, Tu C, Fu CC, Luo YM (2022) The current research progress and prospects of cultivated and grassland soil health. *Acta Pedologica Sinica*, 59, 625–642. (in Chinese with English abstract) [司绍诚, 吴宇澄, 李远, 涂晨, 付传城, 骆永明 (2022) 耕地和草地土壤健康研究进展与展望. 土壤学报, 59, 625–642.]
- Singer D, Seppely CVW, Lentendu G, Dunthorn M, Bass D, Belbahri L, Blandenier Q, Debroas D, de Groot GA, de Vargas C, Domaizon I, Duckert C, Izaguirre I, Koenig I, Mataloni G, Schiaffino MR, Mitchell EAD, Geisen S, Lara E (2021) Protist taxonomic and functional diversity in soil, freshwater and marine ecosystems. *Environment International*, 146, 106262.
- Stoeck T, Bass D, Nebel M, Christen R, Jones MDM, Breiner HW, Richards TA (2010) Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water. *Molecular Ecology*, 19, 21–31.
- Sun AQ, Jiao XY, Chen QL, Trivedi P, Li ZX, Li FF, Zheng Y, Lin YX, Hu HW, He JZ (2021) Fertilization alters protistan consumers and parasites in crop-associated microbiomes. *Environmental Microbiology*, 23, 2169–2183.
- Wang CT, Long RJ, Wang QL, Jing ZC, Shi JJ (2009) 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 & Development*, 20, 187–198.
- Wu LW, Zhang Y, Guo X, Ning DL, Zhou XS, Feng JJ, Yuan MM, Liu S, Guo JJ, Gao ZP, Ma J, Kuang JL, Jian SY, Han S, Yang ZF, Ouyang Y, Fu Y, Xiao NJ, Liu XD, Wu LY, Zhou AF, Yang YF, Tiedje JM, Zhou JZ (2022) Reduction of microbial diversity in grassland soil is driven by long-term climate warming. *Nature Microbiology*, 7, 1054–1062.
- Wu WX, Lu HP, Sastri A, Yeh YC, Gong GC, Chou WC, Hsieh CH (2018) Contrasting the relative importance of species sorting and dispersal limitation in shaping marine bacterial versus protist communities. *The ISME Journal*, 12, 485–494.
- Xiong W, Jousset A, Guo S, Karlsson I, Zhao QY, Wu HS, Kowalchuk GA, Shen QR, Li R, Geisen S (2018) Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome. *The ISME Journal*, 12, 634–638.
- Xiong W, Song YQ, Yang KM, Gu YA, Wei Z, Kowalchuk GA, Xu YC, Jousset A, Shen QR, Geisen S (2020) Rhizosphere protists are key determinants of plant health. *Microbiome*, 8, 27.
- Xun WB, Yan RR, Ren Y, Jin DY, Xiong W, Zhang GS, Cui ZL, Xin XP, Zhang RF (2018) Grazing-induced microbiome alterations drive soil organic carbon turnover and productivity in meadow steppe. *Microbiome*, 6, 170.
- Zhang Q, Men X, Hui C, Ge F, Ouyang F (2022) Wheat yield losses from pests and pathogens in China. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 326, 107821.
- Zhang SY, Zhang HF, Liu HM, Wang H, Xiu WM, Li G, Zhang GL, Zhou ZK, Jiang N, Zhang H, Zhao JN, Yang DL (2022) Fertilization drives distinct biotic and abiotic factors in regulating functional groups of protists in a 5-year fertilization system. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1036362.
- Zhao ZB, He JZ, Geisen S, Han LL, Wang JT, Shen JP, Wei WX, Fang YT, Li PP, Zhang LM (2019) Protist communities are more sensitive to nitrogen fertilization than other microorganisms in diverse agricultural soils. *Microbiome*, 7, 33.

(责任编辑: 徐奎栋 责任编辑: 李会丽)