•研究报告•

土壤细菌群落特征对高寒草甸退化的响应

李世雄^{1,2,3}, 王彦龙^{1,2,3}, 王玉琴¹, 尹亚丽^{1,3*}

1. 青海大学畜牧兽医科学院/青海省畜牧兽医科学院, 西宁 810016; 2. 三江源区高寒草地生态教育部重点实验室, 西宁 810016; 3. 青海省高寒草地适应性管理重点实验室, 西宁 810016

摘要: 为明确高寒草甸土壤细菌物种组成及功能结构对草地环境恶化的响应规律, 本文采用高通量基因测序技术对高寒草甸未退化、轻度退化、中度退化、重度退化和极重度退化草地土壤细菌的组成、格局和功能进行了研究。结果表明: 高寒草甸土壤优势细菌为酸杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、变形菌门和疣微菌门, 在土壤细菌中占比分别为16%–18%、9%–12%、12%–14%、23%–29%和11%–12%。退化草地中土壤细菌物种组成明显改变, 变形菌门细菌丰度降低, 酸杆菌门和浮霉菌门丰度增加, 不同草地科水平细菌丰度差异因土层而异。草地退化对细菌Chao1指数无影响, 轻度退化提高了细菌Simpson指数, 重度退化草地土壤细菌Shannon-Wiener指数最高。Faprotax细菌功能分组以化能异养、硝化作用、亚硝酸盐氧化及硫代谢作用为主, 草地退化改变了微生物介导的碳循环、氮循环、硫循环、铁循环和锰循环。重度及极重度退化提高了细菌氨氧化功能作用, 降低了硫化物、亚硝酸盐氧化及尿素水解作用; 草地退化过程中细菌化能异养、芳香族化合物降解及反硝化作用功能等均呈先降低后升高的变化趋势, 中度退化阶段是微生物群落生态功能结构转变的拐点。高寒草甸退化改变了土壤细菌的群落及功能结构, 土壤含水量、pH、总有机碳、全氮、全钾和有效氮磷比是土壤细菌群落及功能结构变化的主要驱动因子。

关键词: 退化高寒草甸; 土壤细菌; 物种组成; 群落特征; 生态功能结构

李世雄, 王彦龙, 王玉琴, 尹亚丽 (2021) 土壤细菌群落特征对高寒草甸退化的响应. 生物多样性, 29, 53–64. doi: 10.17520/biods.2020137.

Li SX, Wang YL, Wang YQ, Yin YL (2021) Response of soil bacterial community characteristics to alpine meadow degradation. Biodiversity Science, 29, 53–64. doi: 10.17520/biods.2020137.

Response of soil bacterial community characteristics to alpine meadow degradation

Shixiong Li^{1,2,3}, Yanlong Wang^{1,2,3}, Yuqin Wang¹, Yali Yin^{1,3*}

1 Academy of Animal and Veterinary Science, Qinghai University/Qinghai Academy of Animal and Veterinary Science, Xining 810016

2 Key Laboratory of Alpine Grassland Ecosystem in the Three-River-Source, Ministry of Education, Xining 810016

3 Qinghai Provincial Key Laboratory of Adaptive Management on Alpine Grassland, Xining 810016

ABSTRACT

Aim: This study aims to clarify the response of soil bacterial species composition, pattern, and functional structure to a range of grassland degradation in alpine meadows.

Methods: Degraded alpine meadows at five stages (including non-degraded, light-degraded, moderate-degraded, severe-degraded, and extreme-degraded) were selected in 2017 by the classification standard in the Three-River-Source. Four different plots at each degraded stages were set as replications, and the area of each plot is about 80 m². Soil microbial characteristics were analyzed by high-throughput gene detection, and the soil physical and chemical properties were analyzed by conventional methods.

Results: Acidobacteria, Actinobacteria, Planctomycetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia were the dominant bacteria in alpine meadow soil, accounting for 16%–18%、9%–12%、12%–14%、23%–29% and 11%–12% of the total soil bacteria abundance, respectively. The soil bacterial species compositions changed substantially with increasing

收稿日期: 2020-04-03; 接受日期: 2020-08-11

基金项目: 青海省重大科技专项(2019-SF-A3-1)、青海省科技项目(2019-ZJ-7070)和国家自然科学基金(31560660)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yaliyin@163.com

grassland degradation: Proteobacteria abundance decreased, while Acidobacteria and Planctomycetes abundance increased significantly with increasing degradation. Furthermore, the number of taxa (at the family level) differed across the diverse soil layers in degraded alpine meadows. Grassland degradation had no effect on bacterial diversity, as measured by the Chao1 index, but alpine meadow that were lightly degraded increased bacterial diversity, as measured by the Simpson index. Soil bacterial diversity, as measured by the Shannon-Wiener index, was greatest in severe-degraded grasslands. The Faprotax functions were mainly composed by the processes of Chemoheterotrophy, nitrification, nitrite oxidation, and sulfur metabolism. Grassland degradation altered the carbon, nitrogen, sulfur, iron and manganese cycles, which were mediated by microorganisms. Severe and extreme degradation increased the bacterial ammonia-oxidizing function, and decreased the functions of sulfide, nitrite oxidation, and ureolysis. Across the gradient of grassland degradation, the bacteriological Chemoheterotrophy, aromatic compounds degradation, and the denitrification functions all initially decreased before subsequently increasing; moderate stages of degradation stage represented turning points of the bacterial community in terms of ecological functional structure changes.

Conclusion: Alpine meadow degradation altered the soil bacterial community and functional structures. The main driving factors for differences in soil bacterial community and functional structures were soil moisture content, pH, total organic carbon, total nitrogen, total potassium, and the ratio of available nitrogen and phosphorus.

Key words: grassland degradation; soil bacteria; species composition; diversity; community characteristics; ecological functional structures

近年来,受全球气候变化与人类活动的持续影响,加之不合理的放牧管理和家畜数量与草地资源的不当匹配使得草地严重超载,草地环境日益恶化,大面积的草地出现不同程度退化(王一博等, 2005; 张中华等, 2018)。草地退化是在特定环境下草原生态系统逆向演替的过程,主要表现为草地植被衰退、土壤生境恶化、草地生产能力和生态功能下降。据统计,我国的草地退化和荒漠化面积已经分别达到 1.35×10^8 ha和 2.62×10^8 ha,并且每年还在持续增加,黄河源头在20世纪80–90年代平均草场退化速率比70年代增加了1倍以上(赵新全和周华坤, 2005)。与20世纪50年代相比,江河源区高寒草地单位面积产草量下降了30%–50%,优质牧草比例下降了20%–30%,有毒有害类杂草增加了70%–80%,草地植被盖度减少了15%–25% (赵新全和周华坤, 2005)。长时间大范围的草地退化、地面覆盖度降低、土壤侵蚀、水土流失、草地生产力下降、生态系统结构和功能严重受损,不仅阻碍了牧区社会、经济和生态环境的可持续发展,还严重威胁到长江流域和黄河中下游地区的生态平衡与人类的生存发展(龙瑞军, 2007)。

土壤微生物是土壤中一切生态功能的媒介,是土壤有机质和土壤养分等在土壤和大气圈双向循环和转化中的主要推动力,在调节营养物质循环和有机质降解等生态功能方面发挥着重要作用(褚海燕, 2013; 刘安榕等, 2018),推动着整个环境中物质的循环转化和能量的流动转移(Yang YF et al, 2013;

Yang YS et al, 2016)。细菌作为微生物中含量最多、丰度最高的类群,具有丰富的遗传多样性,促进营养物质释放、有机质的分解,参与碳、氮等物质循环过程(戴雅婷等, 2017),在土壤生态过程中有着不可或缺的地位。由于微生物生命周期短暂,对微环境极其敏感,可对环境胁迫和生态变化做出快速反应(戴雅婷等, 2017; Li et al, 2020),因此土壤微生物群落结构差异可指示土壤环境的变化(李飞等, 2018)。草地退化使原有的土壤微环境受到扰动,土壤质量和养分循环发生改变,逐渐形成了与之相适应的土壤微生物群落结构并发挥其相应功能(Mganga et al, 2016)。微生物的生态特征可分为结构特征和功能特征,结构特征是决定生物群落生态功能的关键,也是认识与解决环境问题的有效切入点(杨浩等, 2017);功能特征是生物多样性模式和生态系统功能之间的重要联系,它决定了微生物之间的营养关系和相互作用(Arthur et al, 2019)。

以往对不同退化阶段高寒草甸土壤微生物的研究多采用平板分离培养、磷脂脂肪酸(PLFA)和Biolog-ECO对微生物数量、群落多样性及碳源利用情况进行分析,关于土壤细菌物种组成、群落结构和功能等对草地退化的响应规律及其变化的调控因子等方面尚不清楚。高通量测序技术作为新兴分子生物学测序技术,可以一次分析测定几十万到几百万条DNA序列,结果能够准确反映土壤微生物物种组成、群落及功能结构变化情况(Wang et al, 2016)。因此,本研究采用高通量基因测序技术,对

高寒草甸不同退化演替阶段土壤细菌物种组成及群落结构和功能多样性进行研究,以明确环境因子对细菌群落结构的调控作用,揭示高寒草甸土壤细菌对草地退化的响应规律,为退化草地生态环境恢复治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验地概况

样地位于三江源国家级自然保护区青海省果洛州玛沁县大武镇(34°27'N, 100°13' E, 海拔约3,700 m)。该区昼夜温差大,全年日照时间短、太阳辐射强,寒冷、多风,属典型的高原大陆性气候。年平均气温为-3.9℃,≥ 5℃的年积温850.3℃,最冷月1月的平均气温为-12.6℃,最热月7月的平均气温为9.7℃;年降水量为513.2-542.9 mm,多集中于5-9月,占年均降水量的85.20%。牧草生长期约为156 d,全年无绝对无霜期。植被为高寒矮嵩草(*Kobresia humilis*)草甸,土壤为高山草甸土。

1.2 样地设置与样本采集

参照马玉寿等(2002)的分类标准,依据草地植被覆盖度、可食牧草及有毒有害植物比例和草场质量等指标,在海拔高度及土壤状况基本一致的高寒草甸设置5个不同退化程度的处理,即:未退化(non-degradation, ND)、轻度退化(light-degradation, LD)、中度退化(moderate-degradation, MD)、重度退化(severe-degradation, SD)和极重度退化草地(extreme-degradation, ED)为,各重复4次。每实验小区面积约80 m²,共20个小区。

2017年8月,采用蛇形取样法,以直径3.5 cm的土钻在各小区采集0-10 cm和10-20 cm的土样,每小区5-8个点的土壤混合为1个土样,过2 mm筛,拣除石粒及植物根系等,装入10 mL离心管,干冰运输至广州基迪奥生物科技有限公司进行测序。测序和生物信息服务在Illumina 2500 PE平台完成。

1.3 土壤理化性质分析

土壤含水量(soil water content, SWC)采用恒重法测定,总有机碳(total organic carbon, TOC)含量采用硫酸亚铁滴定法测定,全氮(total nitrogen, TN)含量采用凯氏定氮法测定,全磷(total phosphorus, TP)和全钾(total potassium, TK)含量采用碱熔融法测定,有效磷(available phosphorus, AP)含量采用碳酸氢钠浸提法测定,速效钾(available potassium, AK)含量

采用醋酸铵-火焰光度法测定,铵态氮(ammonium nitrogen, NH₄⁺-N)和硝态氮(nitrate nitrogen, NO₃⁻-N)含量采用氯化钾浸提法测定。

1.4 土壤细菌DNA提取及基因检测

采用HiPure Soil DNA Mini Kit (Magen, Guangzhou, China)提取土壤微生物DNA。取2 μL DNA样品,采用NanoDrop微量分光光度计(NanoDrop 2000, Thermo Fisher, USA)测定核酸的吸光度,检测核酸的纯度。采用琼脂糖(1% agarose)凝胶电泳检测核酸样品的完整性和蛋白污染程度。取2 μL DNA样品,采用Qubit荧光定量(Qubit 3.0, Thermo Fisher, USA)检测每一个样品的DNA浓度,并根据浓度计算样品DNA总量。采用微生物Marker基因高通量测序评估土壤细菌群落结构和多样性,细菌检测区为16S rRNA基因的V3 + V4区(王娜等, 2019)。

测序得到的Rawreads通过过滤、Tags拼接、过滤、去嵌合体,对N50、N90 Tags由长到短加和,最终在有效Tags样本中随机选取8.0-9.2 × 10⁴ Tags开展OTU (operational taxonomic units)聚类分析(He et al, 2016)。用Uparse软件对所有样品的全部有效Tags序列聚类,以97%的一致性将序列聚类成为OTUs结果,并计算出每个OTU在各个样品中的Tags绝对丰度和相对信息(Li et al, 2016)。采用Silva (Quast et al, 2013)数据库进行物种注释(设定置信度的阈值为0.8-1.0),并根据注释信息统计每个样品在各个分类水平(界、门、纲、目、科、属、种)上的Tags序列数目。基于OTUs计数统计,利用Bray-Curtis距离系数分析土壤细菌群落差异(王娜等, 2019),采用Faprotax数据库对土壤细菌生态功能进行预测。

1.5 数据处理

采用Excel 2010进行数据整理,采用SPSS 17.0软件对数据进行Kruskal-Wallis秩和检验、Wilcoxon秩和检验、单因素(one-way ANOVA)和Duncan方差分析和多重比较(α = 0.05),采用R 3.5.2进行物种组成及多样性、非度量多维标度(NMDS)、Adonis、Anosim及Mantel test分析;利用SigmaPlot 14.0和R 3.5.2软件作图;表1中数据为平均值 ± 标准差。

(1) Chao1指数。是用Chao1算法估计群落中含OTU数目的指数,在生态学中常用来估计物种总数(曹辉等, 2016)。

$$Chao1 = Sobs + F1(F1 - 1)/(F2 + 1) \quad (1)$$

式中: S_{obs} 表示样本中观察到的OTU数目; $F1$ 是样本中数量只为1的OTU数目(称为Singleton); $F2$ 是样本中数量只为2的OTU数目(称为Doubleton)。

(2) Shannon-Wiener多样性指数(H 指数)。用来估算群落多样性的高低(曹辉等, 2016)。

$$H = -\sum_{i=1}^{S_{obs}} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N} \quad (2)$$

式中: S_{obs} 为实际测出的OTU数目; n_i 为含有 i 条序列的OTU数目; N 为所有的序列数。

(3) Simpson多样性指数(D)。反映群落中最常见的物种, 评估微生物群落丰富度(朱金山等, 2018)。

$$D = 1 - \sum_{i=1}^{S_{obs}} P_i^2 \quad (3)$$

式中: S_{obs} 为实际测出的OTU数目; P_i 为种 i 的个体在群落中的比例; P_i^2 表示随机取2个个体为同种的概率。

2 结果

2.1 高寒草甸退化对土壤细菌物种组成的影响

对不同退化程度高寒草甸土壤中细菌群落门水平物种组成进行分析, 获得的细菌序列分属于11个门, 包括酸杆菌门、放线菌门、拟杆菌门、绿弯

菌门、厚壁菌门、芽单胞菌门、硝化螺旋菌门、浮霉菌门、变形菌门、疣微菌门和俭菌门(图1)。

高寒草甸土壤优势细菌为酸杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、变形菌门和疣微菌门, 在土壤细菌中占比分别为16%–18%、9%–12%、12%–14%、23%–29%和11%–12%; 在0–10 cm土层, 酸杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、变形菌门和疣微菌门的相对丰度之和在未退化、轻度退化、中度退化、重度退化和极重度退化草地分别为79.78%、81.05%、83.34%、79.31%和81.31%; 在10–20 cm土层, 分别为78.04%、77.73%、74.85%、75.4%和76.35%。与未退化草地相比, 退化导致变形菌门细菌相对丰度减少, 酸杆菌门和浮霉菌门相对丰度增加, 酸杆菌门、放线菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、芽单胞杆菌门、硝化螺旋菌门和变形菌门和细菌在不同草地间差异显著($P < 0.05$) (图1)。

不同退化程度高寒草甸土壤细菌在科水平的丰度差异见图2, 图3。在0–10 cm土层有显著差异的科主要是 Blastocatellaceae、芽单胞菌科、硫还原菌科、鞘脂单胞菌科、0319-6A21、丛毛单胞菌科和黄单胞菌科; 其中丛毛单胞菌科、黄单胞菌科和硫还原菌科在未退化草地, Blastocatellaceae 在中度退化草地显著富集, 而鞘脂单胞菌科在轻度退化草

图1 不同退化程度高寒草甸土壤细菌门水平的相对丰度。图中1和2分别代表0–10 cm和10–20 cm土层。

Fig. 1 Soil bacterial relative abundance at the phylum level in different degraded alpine meadows. Numbers 1 and 2 in the figure represent 0–10 cm and 10–20 cm soil layer, respectively.

图2 不同退化程度高寒草甸0-10 cm土壤科水平细菌丰度差异。* $P < 0.05$ 。

Fig. 2 The soil bacterial abundance in family level at soil depth of 0-10 cm in different degraded alpine meadows. * $P < 0.05$.

图3 不同退化程度高寒草甸10-20 cm土壤科水平细菌丰度差异。* $P < 0.05$ 。

Fig. 3 The soil bacterial abundance in family level at soil depth of 10-20 cm in different degraded alpine meadows. * $P < 0.05$.

地显著减少($P < 0.05$) (图 2)。在 10-20 cm 土层有显著差异的科主要是 DA101、Blastocatellaceae、浮霉

菌科、硫还原菌科、芽单胞杆菌科和硝化螺旋菌科 ($P < 0.05$) (图 3)。可见, 不同退化程度草地间丰度

有差异的科因土层而异。

2.2 高寒草甸退化对土壤细菌物种多样性的影响

对不同退化程度高寒草甸土壤细菌Chao1指数、Shannon-Wiener指数和Simpson指数进行分析(表1), 在0–10 cm和10–20 cm土层, Chao1指数在各草地间均无显著差异, 即不同退化程度草地土壤细菌物种总数无明显差异。在0–10 cm土层, 重度退化草地土壤细菌Shannon-Wiener多样性指数最高(11.05), 显著高于未退化和中度退化草地($P < 0.05$); 未退化草地最低(8.83), 与轻度退化和重度退化草地间差异显著($P < 0.05$)(表1)。在10–20 cm土层, 草地土壤细菌群落多样性Shannon-Wiener指数由高到低依次为: 重度退化草地 > 极重度退化草地 > 轻度退化草地 > 未退化草地 > 中度退化草地, 除极重度退化草地外, 重度退化草地与其他草地间均表现出显著差异, 未退化和中度退化草地显著低于极重度退化草地, 轻度退化草地与中度退化草地间差异显著($P < 0.05$)(表1)。Simpson-Wiener指数用于指示群落丰富度, 在0–10 cm土层, 极重度退化草地Simpson指数最低, 与轻度退化和重度退化草地相比差异显著, 轻度退化草地最高, 显著高于未退化和极重度退化草地($P < 0.05$), 其他草地间均无显著差异; 在10–20 cm土层, 重度退化草地最高, 与其他草地间差异显著, 轻度退化草地和极重度退化草地次之, 二者均显著高于未退化和中度退化草地($P < 0.05$)(表1)。

2.3 高寒草甸退化对土壤细菌功能的影响

Faprotax功能预测结果(图4)显示, 化能异养、

硝化作用、亚硝酸盐氧化及硫呼吸和硫化物呼吸作用为高寒草甸主要功能群。功能预测相对丰度前30的菌群中, 在各草地间表现出差异的共28种, 碳、氮、硫、铁、锰等功能群在不同草地间差异显著($P < 0.05$); 28种差异功能群中, 16种在中度退化草地丰度最低, 占比57%。硫化物呼吸、硝酸盐呼吸、亚硝酸盐呼吸、氮呼吸、尿素水解、动物寄生-共生作用、人类病原体、有氧氨氧化、固氮作用、硝酸盐还原、亚硝酸盐反硝化、一氧化二氮反硝化、内寄生、外寄生、光异养、光自养、无氧光自养S氧化、无氧光自养和几丁质分解作用等功能群在0–10 cm和10–20 cm土层不同草地间均表现出显著差异($P < 0.05$), 而化能异养(含有氧化能异养)和亚硝酸盐氧化作用等功能群仅在0–10 cm土层不同草地间表现出显著差异(图4)。

对功能预测相对丰度前10的菌群进行分析, 硝化作用功能群在各草地间无显著差异; 草地退化前期有氧氨氧化作用功能群无明显变化, 重度退化和极重度退化草地有氧氨氧化作用功能群显著升高; 硫化物呼吸、亚硝酸盐氧化、尿素水解及氮呼吸作用功能群则呈降低趋势, 中度退化草地氮呼吸作用功能群最少; 化能异养、有氧化能异养和芳香族化合物降解作用功能群在轻度退化草地最低, 极重度退化草地最高($P < 0.05$)(图4)。反硝化作用、固氮作用及光养作用功能群均呈先降低后升高的变化趋势, 中度退化草地最低。

2.4 土壤细菌群落结构对草地退化的响应

NMDS分析结果显示, 两土层高寒草甸土壤细菌

表1 不同退化程度高寒草甸土壤细菌 α -多样性

Table 1 Soil bacterial α -diversity in different degraded alpine meadows

土层深度 Soil depth	退化程度 Degradation degree	多样性指数 Diversity index		
		Chao1	Shannon-Wiener index	Simpson index
0–10 cm	未退化 Non-degradation	8,828.18 $\pm$ 363.61 ^a	10.31 $\pm$ 0.15 ^c	0.997 $\pm$ 0.001 ^{bc}
	轻度退化 Light-degradation	9,015.26 $\pm$ 2,567.38 ^a	10.54 $\pm$ 0.13 ^{ab}	0.998 $\pm$ 0.000 ^a
	中度退化 Moderate-degradation	9,904.47 $\pm$ 490.73 ^a	10.32 $\pm$ 0.05 ^{bc}	0.997 $\pm$ 0.000 ^{abc}
	重度退化 Severe-degradation	11,054.59 $\pm$ 1,330.52 ^a	10.63 $\pm$ 0.07 ^a	0.997 $\pm$ 0.000 ^{ab}
	极重度退化 Extreme-degradation	9,517.00 $\pm$ 1,023.90 ^a	10.52 $\pm$ 0.18 ^{abc}	0.996 $\pm$ 0.001 ^c
10–20 cm	未退化 Non-degradation	7,686.14 $\pm$ 636.88 ^a	9.95 $\pm$ 0.19 ^{cd}	0.996 $\pm$ 0.000 ^c
	轻度退化 Light-degradation	8,022.41 $\pm$ 1,254.05 ^a	10.19 $\pm$ 0.15 ^{bc}	0.997 $\pm$ 0.000 ^b
	中度退化 Moderate-degradation	7,251.09 $\pm$ 706.01 ^a	9.91 $\pm$ 0.05 ^d	0.996 $\pm$ 0.000 ^c
	重度退化 Severe-degradation	8,891.85 $\pm$ 1,224.30 ^a	10.48 $\pm$ 0.11 ^a	0.998 $\pm$ 0.000 ^a
	极重度退化 Extreme-degradation	8,756.00 $\pm$ 1,594.71 ^a	10.29 $\pm$ 0.22 ^{ab}	0.997 $\pm$ 0.000 ^b

同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。Different letters in the same column indicate significant difference at the probability of $P = 0.05$

图4 不同退化程度高寒草甸土壤细菌生态功能多样性。图中1和2分别代表0-10 cm和10-20 cm土层。* $P < 0.05$ 。
 Fig. 4 Ecological functiona diversity of soil bacterial community in different degraded alpine meadows. Numbers 1 and 2 in the figure represent 0-10 cm and 10-20 cm soil layer, respectively. * $P < 0.05$.

菌群落结构在各草地间均表现出显著差异(Stress 分别为 0.064 和 0.05) (图 5), 即草地退化土壤细菌群落结构发生了明显变化。

2.5 植被及土壤环境因子对细菌群落及功能特征的影响

Mantel test分析结果显示 (表2), 退化高寒草甸

植被因子对土壤细菌群落和功能结构均无明显影响($r = 0.03$, $P = 0.42$; $r = 0.14$, $P = 0.11$), 土壤因子与细菌群落和功能结构显著关联($r = 0.21$, $P = 0.01$; $r = 0.23$, $P = 0.009$), SWC、pH、TOC、TN、TK和AN/AP对土壤细菌群落及功能结构起主要调控作用, 即土壤状况越好, 细菌群落及功能结构越稳定,

图5 不同退化程度高寒草甸土壤细菌群落结构

Fig. 5 Soil bacterial community structures in different degraded alpine meadows

土壤系统物质循环效率就越高(表2)。

冗余分析结果表明(图6), 高寒草甸植被和土壤环境因子对土壤细菌群落结构变化的解释率为85.69%, 未能解释率为14.31%, 其中土壤因子可单独解释48.45%, 植被因子单独解释率为7.39%, 土壤植被因子交互作用可解释29.85% (图6a)。植被和土壤环境因子对土壤细菌Faprotax生态功能结构变化的解释率为87.17%, 未能解释率为12.83%, 其中土壤因子可单独解释31.55%, 植被因子单独解释率为4.88%, 土壤植被因子交互作用可解释50.74% (图6b)。即相比土壤细菌群落结构, 土壤-植被耦联作用对细菌功能结构的影响更大。

3 讨论

本文调查的高寒草甸土壤细菌分属于10个门, 其中酸杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、变形菌门和疣微菌门为高寒草甸优势细菌。草地退化过程中,

表2 植被特征、土壤性质与土壤细菌群落结构的Mantel test 分析

Table 2 Mantel test analysis of plant community characters, soil properties and soil bacterial community composition in an alpine meadow

指标 Item	细菌群落结构 Bacterial community composition		Faprotax生态功能结构 Faprotax ecological functional structure	
	r	P	r	P
植物Shannon-Wiener指数	-0.01	0.52	0.07	0.23
物种丰富度 richness	0.12	0.12	0.02	0.39
植被盖度 Coverage	0.02	0.38	0.08	0.23
地上生物量 Above-ground biomass	0.04	0.32	0.12	0.14
地下生物量 Below-ground biomass	-0.04	0.62	-0.08	0.09
土壤含水量 SWC	0.17	0.02	0.18	0.02
土壤酸碱度 pH	0.19	0.02	0.18	0.04
总有机碳 TOC	0.17	0.03	0.21	0.02
全氮 TN	0.17	0.03	0.17	0.03
铵态氮 $\text{NH}_4\text{-N}$	0.05	0.22	0.23	0.008
硝态氮 $\text{NO}_3\text{-N}$	0.11	0.09	0.14	0.06
全磷 TP	0.10	0.11	0.15	0.09
速效磷 AP	0.09	0.17	0.10	0.20
全钾 TK	0.22	0.006	0.21	0.02
速效钾 AK	0.07	0.19	-0.04	0.61
土壤有效氮磷比 AN/AP	0.15	0.048	0.20	0.03
土壤碳氮比 C/N	0.18	0.05	0.09	0.22

变形菌门相对丰度减少。Blastocatellaceae、芽单胞菌科、硫还原菌科、鞘脂单胞菌科、0319-6A21、丛毛单胞菌科、黄单胞菌科、DA101、浮霉菌科和硝化螺旋菌科是造成丰度差异的主要科。Li等(2016)对西藏那曲不同退化程度高寒草甸土壤微生物群落的研究指出, 高寒草甸土壤中优势细菌与退化程度无关; 高寒草甸土壤细菌相对丰度由高到低依次为变形菌门、放线菌门和酸杆菌门等; 认为草地退化过程中, 中度退化与未退化草地土壤细菌种类组成无差异, 但是相对于未退化和中度退化, 重度退化显著改变了土壤细菌种类组成。Zhou等(2019)的研究也指出, 退化高寒草原的优势类群为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门, 高寒草原退

图6 高寒草甸土壤和植被环境因子与土壤细菌群落的冗余分析。圆圈表示环境因子，圆中的数字表示解释率，中心椭圆的数字表示两个环境因子的共同解释率。

Fig. 6 Redundancy analysis of soil and vegetation environmental factors to soil bacterial community in an alpine meadow. The circles show the variation explained by each factor alone. The number in the ellipse represents interactions of the two factors.

化可能导致微生物群落组成的变化，放线菌、变形杆菌和酸性细菌对青藏高原退化高寒草原的生境条件(如土壤性质和植被变异)具有很好的适应性，认为与土壤中有机物质输入的改变、土壤性质变化及生物竞争、对物理和生物环境的扰动适应性等因素有关(Li et al, 2016; Nixon et al, 2019)。

高寒草甸土壤细菌Chao1指数在各草地间无明显差异；Shannon-Wiener指数随草地退化加剧呈之字形变化，与未退化和中度退化相比，重度退化显著提高了细菌Shannon-Wiener指数；Simpson指数则随草地退化加重先升高后降低，轻度退化提高了土壤细菌Simpson指数，极度退化则显著降低了Simpson指数。Li等(2016)等研究发现，未退化和中度退化草地土壤细菌Shannon-Wiener指数和物种丰富度差异不显著；但是与未退化相比，重度退化显著增加了细菌Shannon-Wiener指数和物种丰富度；与中度退化相比，重度退化显著提高了细菌Shannon-Wiener指数，但没有显著改变其物种丰富度，本文结果与前人基本一致。而Zhou等(2019)和

Luo等(2020)则认为，不同退化程度草地的细菌 α -多样性差异不显著，即退化对土壤细菌 α -多样性无影响，是否是因草地类型差异所导致，还有待证实。

高寒草甸土壤细菌生态功能以化能异养(含有氧化能异养)、硝化作用、亚硝酸盐氧化及硫代谢作用为主(图4)。草地退化改变了微生物介导的碳、氮、硫、铁和锰循环功能。中度退化阶段是微生物群落功能结构转变的拐点。化能异养、硝化作用、氨氧化作用、亚硝酸盐氧化作用及硝酸盐还原作用功能类细菌在土壤中具有较高的丰度(包明等, 2018)，本文结果与前人研究结果一致。氨氧化作用功能群在草地退化前期无明显变化，重度退化和极重度退化草地氨氧化作用功能显著增强。微生物功能基因对环境干扰更敏感(Ma et al, 2019)。氨氧化是硝化反应的第一步，也是硝化反应的限速步骤(Yang et al, 2017)，对土壤硝化过程起关键作用，是生物地球化学氮循环的关键过程。生态系统类型的转换可能会对参与氨氧化的土壤微生物产生重要的潜在影响，土壤氨氧化细菌数量与土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著正相关(杨亚东等, 2017)， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 显著影响土壤氨氧化细菌种群组成，土壤理化性质差异导致土壤氨氧化细菌种群和丰度多样性的改变(王丰等, 2020)，本课题组以往研究(王玉琴等, 2019)发现，高寒草甸中度退化阶段后土壤铵态氮含量显著升高，草地退化后期土壤出现了明显的铵聚积现象，这可能是导致氨氧化功能基因富集的主要原因。

草地退化过程中，硫化物呼吸、亚硝酸盐氧化及尿素水解作用功能群呈减少趋势。微生物是硫化物氧化过程中的主要作用者，已报道两类细菌可以有效进行硫的氧化作用，即化能自养细菌(硫杆菌属*Thiobacillus*)和异养硫细菌，它们可将环境中硫及硫的无机化合物氧化成硫酸盐，并还原硝酸盐为亚硝酸盐或氮气(修世荫, 1993)。本研究未测定土壤中硫素含量，那么是否是退化过程中硫化物底物的减少导致了硫相关功能基因丰度的降低，还有待进一步研究。而关于亚硝酸盐氧化作用和尿素水解作用功能群的减少，我们认为一方面可能是草地退化中引起微生物物种组成改变，新的优势物种与相关功能物种存在种间竞争所致；另一方面可能与土壤中铵态氮和硝态氮的累积有关，土壤性质的变化导致微生物生存环境改变，进而抑制了此类功能菌群的生长繁殖。化能异养、有氧化能异养、芳香族化

合物降解、反硝化及光养等功能菌群均呈先降低后升高的趋势,其中化能异养、有氧化能异养、芳香族化合物降解作用功能菌群在轻度退化草地最低,极重度退化草地最高,其他分组功能则在中度退化草地最低。我们认为可能与土壤紧实度、土壤结构及土壤温度有关,草地退化前期随放牧家畜践踏强度加大,土壤紧实度增加、土壤孔隙结构压缩而导致土壤通气状况变差(Sørensen et al, 2009),土壤物理环境的改变抑制了好氧微生物生长,而到草地退化后期,土壤粘粒含量减少、砂粒含量增加(Li et al, 2016),土壤孔隙度加大激发了好氧微生物再度活跃;反硝化作用是一个在嫌气条件下进行的微生物学过程(刘义等, 2006),土壤因子可以解释约40%的反硝化速率变化,反硝化速率受硝酸根离子、土壤温度和水分及土壤通气状况等因子的制约(Robertson & Klemetsson, 1996),氧可以抑制反硝化过程中还原酶的活性(刘义等, 2006)。本课题组前期研究(王玉琴等, 2019)发现土壤硝态氮含量在中度退化阶段后显著升高,为反硝化作用细菌提供了更多的作用底物,加之退化后期植被覆盖度下降,太阳直射导致土壤温度急剧升高(杨元武等, 2016; 刘育红等, 2018),为反硝化细菌提供了良好的土壤环境。

NMDS结果显示,两土层高寒草甸土壤细菌群落结构在各草地间均表现出显著差异。青藏高原高寒草甸退化过程中微生物群落不同草地间差异显著(Li et al, 2016),细菌群落结构随着草地退化程度的增加而明显不同(Che et al, 2019; Zhou et al, 2019; Luo et al, 2020),认为这些差异是由于过度放牧等人类活动促进了草地退化,植物生长、土壤结构和养分状况受到物理伤害引起的不同退化草地之间土壤性质和植被特征的差异所致。不同土层土壤微生物群落结构变化的驱动因子不同,土壤有机碳和氮含量等环境因素是青藏高原活跃层土壤中细菌、古菌和真菌群落结构变化的主要驱动因素,而年平均降水量和总磷等环境变量在驱动多年冻土层微生物群落多样性方面起主导作用(Quast et al, 2013);土壤温度、pH、碳氮比、土壤质地是细菌、古菌和真菌群落结构的主要驱动因子(Cui et al, 2019; Hu et al, 2019),本课题组前期研究结果显示土壤pH、土壤碳氮比在不同草地间差异显著(王玉琴等, 2019)。此外,地上植物的消失可能会限制某

些土壤微生物群落的发展和种群组成(Zhang et al, 2014; Yin et al, 2021),认为是对土壤的凋落物投入的减少导致微生物底物有效性下降所致(王小平等, 2019)。Yang等(2013)指出土壤微生物群落功能结构的变化主要受地上植被、土壤碳氮比和铵态氮含量的控制,细菌群落结构与植被群落结构显著正相关(Luo et al, 2020)。本研究认为高寒草甸植被因子对土壤细菌群落及功能结构无影响,退化引起的土壤因子差异是土壤细菌群落及功能结构变化的主要驱动因子。

参考文献

- Bao M, He HX, Ma XL, Wang ZH, Qiu WH (2018) Effects of chemical nitrogen fertilizer and green manure on diversity and functions of soil bacteria in wheat field. *Acta Pedologica Sinica*, 55, 734–743. (in Chinese with English abstract) [包明, 何红霞, 马小龙, 王朝辉, 邱炜红 (2018) 化学氮肥与绿肥对麦田土壤细菌多样性和功能的影响. *土壤学报*, 55, 734–743.]
- Cao H, Li YG, Zhou CR, Ning LF, Yang HQ (2016) Effect of carbonized apple branches on bacterial and fungal diversities in apple root-zone soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 49, 3413–3424. (in Chinese with English abstract) [曹辉, 李燕歌, 周春然, 宁留芳, 杨洪强 (2016) 炭化苹果枝对苹果根区土壤细菌和真菌多样性的影响. *中国农业科学*, 49, 3413–3424.]
- 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.
- Chen YL, Deng Y, Ding JZ, Hu HW, Xu TL, Li F, Yang GB, Yang YH (2017) Distinct microbial communities in the active and permafrost layers on the Tibetan Plateau. *Molecular Ecology*, 26, 6608–6620.
- Chu HY (2013) Microbial communities in high latitudes and high altitudes ecosystems. *Microbiology China*, 40, 123–136. (in Chinese with English abstract) [褚海燕 (2013) 高寒生态系统微生物群落研究进展. *微生物学通报*, 40, 123–136.]
- Cui YX, Bing HJ, Fang LC, Wu YH, Yu JL, Shen GT, Jiang M, Wang X, Zhang XC (2019) Diversity patterns of the rhizosphere and bulk soil microbial communities along an altitudinal gradient in an alpine ecosystem of the eastern Tibetan Plateau. *Geoderma*, 338, 118–127.
- Dai YT, Yan ZJ, Xie JH, Wu HX, Xu LB, Hou XY, Gao L, Cui YW (2017) Soil bacteria diversity in rhizosphere under two types of vegetation restoration based on high throughput sequencing. *Acta Pedologica Sinica*, 54, 735–748. (in Chinese with English abstract) [戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟 (2017) 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究.

- 土壤学报, 54, 735–748.]
- Escalas A, Hale L, Voordeckers JW, Yang YF, Firestone MK, Alvarez-Cohen L, Zhou JZ (2019) Microbial functional diversity: From concepts to applications. *Ecology and Evolution*, 9, 12000–12016.
- He D, Xiang XJ, He JS, Wang C, Cao GM, Adams J, Chu HY (2016) Composition of the soil fungal community is more sensitive to phosphorus than nitrogen addition in the alpine meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Biology and Fertility of Soils*, 52, 1059–1072.
- Hu YJ, Veresoglou SD, Tedersoo L, Xu TL, Ge TD, Liu L, Chen YL, Hao ZP, Su YR, Rillig MC, Chen BD (2019) Contrasting latitudinal diversity and co-occurrence patterns of soil fungi and plants in forest ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 131, 100–110.
- Li F, Liu ZH, Jia TH, Li SS, Bai YF, Guo CC, Wang WW, Kong M, Zhang T, Iqbal A, Zhou HK, Jia Y, Shang ZH (2018) Functional diversity of soil microbial community carbon metabolism with the degradation and restoration of alpine wetlands and meadows. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 6006–6015. (in Chinese with English abstract) [李飞, 刘振恒, 贾甜华, 李珊珊, 白彦福, 郭灿灿, 王惟惟, 孔猛, 张涛, Iqbal A, 周华坤, 贾宇, 尚占环 (2018) 高寒湿地和草甸退化及恢复对土壤微生物碳代谢功能多样性的影响. *生态学报*, 38, 6006–6015.]
- Li M, Zhang XZ, He YT, Niu B, Wu JS (2020) Assessment of the vulnerability of alpine grasslands on the Qinghai-Tibetan Plateau. *PeerJ*, 8, e8513.
- Li YM, Wang SP, Jiang LL, Zhang LR, Cui SJ, Meng FD, Wang Q, Li XE, Zhou Y (2016) Changes of soil microbial community under different degraded gradients of alpine meadow. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 222, 213–222.
- Liu AR, Yang T, Xu W, Shangguan ZJ, Wang JZ, Liu HY, Shi Y, Chu HY, He JS (2018) Status, issues and prospects of belowground biodiversity on the Tibetan alpine grassland. *Biodiversity Science*, 26, 972–987. (in Chinese with English abstract) [刘安榕, 杨腾, 徐伟, 上官子健, 王金洲, 刘慧颖, 时玉, 褚海燕, 贺金生 (2018) 青藏高原高寒草地地下生物多样性: 进展、问题与展望. *生物多样性*, 26, 972–987.]
- Liu Y, Chen JS, Liu Q, Chen LW (2006) Advances in studies of soil nitrification and denitrification and controlling factors. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 27(2), 36–41. (in Chinese with English abstract) [刘义, 陈劲松, 刘庆, 陈林武 (2006) 土壤硝化和反硝化作用及影响因素研究进展. *四川林业科技*, 27(2), 36–41.]
- Liu YH, Yang YW, Zhang Y (2018) Redundancy analysis of the relationship between plant functional groups and soil factors in the degraded alpine meadow. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 34, 1112–1121. (in Chinese with English abstract) [刘育红, 杨元武, 张英 (2018) 退化高寒草甸植物功能群与土壤因子关系的冗余分析. *生态与农村环境学报*, 34, 1112–1121.]
- Long RJ (2007) Functions of ecosystem in the Tibetan grassland. *Science & Technology Review*, 25(9), 26–28. (in Chinese with English abstract) [龙瑞军 (2007) 青藏高原草地生态系统之服务功能. *科技导报*, 25(9), 26–28.]
- 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.
- Ma XY, Zhang QT, Zheng MM, Gao Y, Yuan T, Hale L, van Nostrand JD, Zhou JZ, Wan SQ, Yang YF (2019) Microbial functional traits are sensitive indicators of mild disturbance by lamb grazing. *The ISME Journal*, 13, 1370–1373.
- Ma YS, Lang BN, Li QY, Shi JJ, Dong QM (2002) Study on rehabilitating and rebuilding technologies for degenerated alpine meadow in the Changjiang and Yellow River source region. *Pratacultural Science*, 19(9), 1–5. (in Chinese with English abstract) [马玉寿, 郎百宁, 李青云, 施建军, 董全民 (2002) 江河源区高寒草甸退化草地恢复与重建技术研究. *草业科学*, 19(9), 1–5.]
- Mganga KZ, Razavi BS, Kuzyakov Y (2016) Land use affects soil biochemical properties in Mt. Kilimanjaro region. *Catena*, 141, 22–29.
- Nixon SL, Daly RA, Borton MA, Solden LM, Welch SA, Cole DR, Mouser PJ, Wilkins MJ, Wrighton KC (2019) Genome-resolved metagenomics extends the environmental distribution of the verrucomicrobia phylum to the deep terrestrial subsurface. *mSphere*, 4, e00613–19.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41, D590–D596.
- Robertson K, Klemetsson L (1996) Assessment of denitrification in organogenic forest soil by regulating factors. *Plant and Soil*, 178, 49–57.
- Sørensen LI, Mikola J, Kytöviita MM, Olofsson J (2009) Trampling and spatial heterogeneity explain decomposer abundances in a sub-arctic grassland subjected to simulated reindeer grazing. *Ecosystems*, 12, 830–842.
- Wang F, Ren LL, An TT, Liu LZ (2020) Effect of long-term fertilization and seasonal variation on abundance and population diversity of soil ammonia oxidizing bacteria. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 39, 86–94. (in Chinese with English abstract) [王丰, 任灵玲, 安婷婷, 刘灵芝 (2020) 长期施肥对土壤中氨氧化细菌丰度和种群多样性的影响. *华中农业大学学报*, 39, 86–94.]
- Wang LW, Li F, Zhan Y, Zhu LZ (2016) Shifts in microbial community structure during *in situ* surfactant-enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 14451–14461.
- Wang N, Gao J, Wei J, Liu Y, Zhuang XL, Zhuang GQ (2019) Effects of wetland reclamation on soil microbial community structure in the Sanjiang plain. *Environmental Science*, 40, 2375–2381. (in Chinese with English abstract) [王娜, 高婕, 魏静, 刘颖, 庄绪亮, 庄国强 (2019) 三江平原湿地开垦对土壤微生物群落结构的影响. *环境科学*, 40,

2375–2381.]

- Wang XP, Yang X, Yang N, Xin XJ, Qu YB, Zhao NX, Gao YB (2019) Effects of litter diversity and composition on litter decomposition characteristics and soil microbial community. *Acta Ecologica Sinica*, 39, 6264–6272. (in Chinese with English abstract) [王小平, 杨雪, 杨楠, 辛晓静, 曲耀冰, 赵念席, 高玉葆 (2019) 凋落物多样性及组成对凋落物分解和土壤微生物群落的影响. *生态学报*, 39, 6264–6272.]
- Wang YB, Wang GX, Shen YP, Wang YL (2005) Degradation of the eco-environmental system in alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 27, 633–640. (in Chinese with English abstract) [王一博, 王根绪, 沈永平, 王彦莉 (2005) 青藏高原高寒区草地生态环境系统退化研究. *冰川冻土*, 27, 633–640.]
- Wang YQ, Yin YL, Li SX (2019) Physicochemical properties and enzymatic activities of alpine meadow at different degradation degrees. *Ecology and Environmental Sciences*, 28, 1108–1116. (in Chinese with English abstract) [王玉琴, 尹亚丽, 李世雄 (2019) 不同退化程度高寒草甸土壤理化性质及酶活性分析. *生态环境学报*, 28, 1108–1116.]
- Xiu SY (1993) Microbial geochemistry of sulfur and its implication to geology. *Geology of Chemical Minerals*, 15, 101–106. (in Chinese with English abstract) [修世荫 (1993) 硫元素微生物地球化学研究及其地质意义. *化工地质*, 15, 101–106.]
- Yang H, Zhang GZ, Yang XN, Wu FP, Zhao W, Zhang HW, Zhang X (2017) Microbial community structure and diversity in cellar water by 16S rRNA high-throughput sequencing. *Environmental Science*, 38, 1704–1716. (in Chinese with English abstract) [杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (2017) 16S rRNA高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性. *环境科学*, 38, 1704–1716.]
- Yang YD, Wang ZM, Hu YG, Zeng ZH (2017) Irrigation frequency alters the abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in a northern Chinese upland soil. *European Journal of Soil Biology*, 83, 34–42.
- Yang YD, Zhang MC, Hu JW, Zhang K, Hu YG, Zeng ZH (2017) Effects of nitrogen fertilizer application on abundance and community structure of ammonia oxidizing bacteria and Archaea in a North China agricultural soil. *Acta Ecologica Sinica*, 37, 3636–3646. (in Chinese with English abstract) [杨亚东, 张明才, 胡君蔚, 张凯, 胡跃高, 曾昭海 (2017) 施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响. *生态学报*, 37, 3636–3646.]
- Yang YF, Wu LW, Lin QY, Yuan MT, Xu DP, Yu H, Hu YG, Duan JC, Li XZ, He ZL, Xue K, van Nostrand J, Wang SP, Zhou JZ (2013) Responses of the functional structure of soil microbial community to livestock grazing in the Tibetan alpine grassland. *Global Change Biology*, 19, 637–648.
- Yang YS, Li HQ, Zhang L, Zhu JB, He HD, Wei YX, Li YN (2016) Characteristics of soil water percolation and dissolved organic carbon leaching and their response to long-term fencing in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Environmental Earth Sciences*, 75, 1471.
- Yang YW, Li XL, Zhou XH, Qi YJ, Shi YY, Li CY, Zhou HK (2016) Study on relationship between plant community degradation and soil environment in an alpine meadow. *Acta Agrestia Sinica*, 24, 1211–1217. (in Chinese with English abstract) [杨元武, 李希来, 周旭辉, 祁银姐, 师月英, 李成一, 周华坤 (2016) 高寒草甸植物群落退化与土壤环境特征的关系研究. *草地学报*, 24, 1211–1217.]
- Yin YL, Wang YQ, Bao GS, Wang HS, Li SX, Song ML, Shao BL, Wen YC (2017) Characteristics of soil microbes and enzyme activities in different degraded alpine meadows. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 28, 3881–3890. (in Chinese with English abstract) [尹亚丽, 王玉琴, 鲍根生, 王宏生, 李世雄, 宋梅玲, 邵宝莲, 温玉存 (2017) 退化高寒草甸土壤微生物及酶活性特征. *应用生态学报*, 28, 3881–3890.]
- Yin YL, Wang YQ, Li SX, Liu Y, Zhao W, Ma YS, Bao GS (2021) Soil microbial character response to plant community variation after grazing prohibition for 10 years in a Qinghai-Tibetan alpine meadow. *Plant Soil*, 458, 175–189.
- Zhang Y, Cao CY, Peng M, Xu XJ, Zhang P, Yu QJ, Sun T (2014) Diversity of nitrogen-fixing, ammonia-oxidizing, and denitrifying bacteria in biological soil crusts of a revegetation area in Horqin Sandy Land, Northeast China. *Ecological Engineering*, 71, 71–79.
- Zhang ZH, Zhou HK, Zhao XQ, Yao BQ, Ma Z, Dong QM, Zhang ZH, Wang WY, Yang YW (2018) Relationship between biodiversity and ecosystem functioning in alpine meadows of the Qinghai-Tibet Plateau. *Biodiversity Science*, 26, 111–129. (in Chinese with English abstract) [张中华, 周华坤, 赵新全, 姚步青, 马真, 董全民, 张振华, 王文颖, 杨元武 (2018) 青藏高原高寒草地生物多样性与生态系统功能的关系. *生物多样性*, 26, 111–129.]
- Zhao XQ, Zhou HK (2005) Eco-environmental degradation vegetation regeneration and sustainable development in the headwaters of three rivers on Tibetan Plateau. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 20, 471–476. (in Chinese with English abstract) [赵新全, 周华坤 (2005) 三江源区生态环境退化、恢复治理及其可持续发展. *中国科学院院刊*, 20, 471–476.]
- Zhou H, Zhang DG, Jiang ZH, Sun P, Xiao HL, Wu YX, Chen JG (2019) Changes in the soil microbial communities of alpine steppe at Qinghai-Tibetan Plateau under different degradation levels. *Science of the Total Environment*, 651, 2281–2291.
- Zhu JS, Zhang H, Ma LJ, Liao DX, Yang XY, Wang LC, Wang DY (2018) Diversity of the microbial community in rice paddy soil with biogas slurry irrigation analyzed by illumine sequencing technology. *Environmental Science*, 39, 2400–2411. (in Chinese with English abstract) [朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2018) 不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析. *环境科学*, 39, 2400–2411.]

(责任编辑: 郭良栋 责任编辑: 时意专)