应用生态学报 2015年8月 第26卷 第8期
Chinese Journal of Applied Ecology, Aug. 2015, **26**(8): 2298-2306

西藏那曲地区高寒草甸不同放牧方式下土壤微生物群落结构特征*

牛 磊[1,2] 刘颖慧[1,2**] 李 悦[2,3] 欧阳胜男[2,3]
([1]北京师范大学资源学院, 北京 100875; [2]北京师范大学地表过程与资源生态国家重点实验室, 北京 100875; [3]北京师范大学减灾与应急管理研究院, 北京 100875)

摘 要 以不同放牧方式下那曲高寒草甸为研究对象,通过比较土壤化学性质和土壤磷脂脂肪酸(PLFA)研究土壤微生物群落结构的变化.结果表明:土壤化学性质(总有机碳、全磷和硝态氮含量)和微生物生物量碳总体表现为休牧7年>自由放牧>禁牧;除真菌细菌比外,土壤PLFA总值、细菌PLFA值、真菌PLFA值、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌PLFA值均表现为休牧7年>禁牧5年>自由放牧>禁牧7和9年.主成分分析(PCA)表明:第1主成分(PC1=74.6%)主要由单烯脂肪酸、多烯脂肪酸、支链饱和脂肪酸组成;第2主成分(PC2=13.2%)主要由直链脂肪酸和部分单烯脂肪酸组成.土壤微生物生物量碳(MBC)和PLFA总值之间有较好的相关性.与禁牧方式相比,休牧最适宜于那曲高寒草甸健康稳定,轻度放牧也有利于高寒草甸的稳定.

关键词 微生物生物量碳; 磷脂脂肪酸; 放牧方式
文章编号 1001-9332(2015)08-2298-09 **中图分类号** S154.3 **文献标识码** A

Microbial community structure of the alpine meadow under different grazing styles in Naqu prefecture of Tibet. NIU Lei[1,2], LIU Ying-hui[1,2], LI Yue[2,3], OUYANG Sheng-nan[2,3] ([1]*College of Resources Science and Technology, Beijing Normal University, Beijing* 100875, *China*; [2]*State Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology, Beijing Normal University, Beijing* 100875, *China*; [3]*Academy of Disaster Reduction and Emergency Management, Beijing Normal University, Beijing* 100875, *China*). *-Chin. J. Appl. Ecol.*, 2015, **26**(8): 2298-2306.

Abstract: To clarify the effects of grazing styles on the soil microbial community in the alpine meadow, we explored the changes of soil microbial community structure in the alpine meadow located in Naqu district of Tibet Autonomous Region by analyzing the soil chemical properties and phospholipid fatty acids (PLFAs). The results showed that the contents of soil total organic carbon, total phosphate and nitrate nitrogen under the different grazing styles followed the trend of 7-year rest grazing > free grazing > grazing prohibition. Except for the ratio of fungal PLFAs/bacterial PLFAs, total PLFAs, the bacterial PLFAs, the fungal PLFAs, the gram negative bacterial and the gram positive bacterial PLFAs over the different grazing types were in the order of 7-year rest grazing > 5-year grazing prohibition > 7-year and 9-year grazing prohibition. The principal component analysis (PCA) presented that the first principal component (PC1=74.6%) was mainly composed of monounsaturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids and branched fatty acids, and the second principal component (PC2=13.2%) was mainly composed of saturated fatty acids and some monounsaturated fatty acids. Total PLFAs content was significantly positively correlated with microbial biomass carbon content. Compared with grazing prohibition, fallow grazing was best for the alpine meadow in Naqu district, and free grazing with light intensity was good for the alpine meadow.

Key words: microbial biomass carbon; phospholipid fatty acid; grazing style.

* 国家自然科学基金项目(31270500,31240002)和中国科学院战略性先导科技专项(XDA05050602)资助.
** 通讯作者. E-mail: lyh@bnu.edu.cn
2014-09-18 收稿,2015-05-23 接受.

在人类过度放牧和自然因素的双重影响下,青藏高原高寒草地退化严重,严重影响了当地社会、经济和生态环境的可持续发展[1].更深层次的草地退化表现在其土壤环境的退化,由于土壤微生物对土壤环境条件的变化非常敏感[2-3],因此土壤微生物群落结构的变化可作为衡量草地生态环境功能的指标,也能够较好地指示草地生态系统的健康变化[4].

为研究土壤复杂群落中的微生物多样性,磷脂脂肪酸(PLFA)生物标记方法被广泛应用于生态学研究中[5-8].由于 PLFA 具有结构多样性和生物学特异性[9-11],是特别有效的生物标记物,可用于了解微生物群落结构[12-15].近年来,对草地生态系统土壤微生物多样性研究主要集中在放牧方式下生态因子影响[16]、微生物数量和时空分布变化等[16-18].以往研究对不同放牧方式下的土壤微生物多样性和群落结构变化的报道相对较少,且研究区域主要集中于温带草原[19-20],而对青藏地区高寒草甸的研究鲜有报道.

那曲地区位于西藏自治区北部,草地总面积约占全区土地总面积的 94.4%,是西藏自治区的主要畜牧基地之一[21].过度放牧等因素使得该地区草甸土壤退化十分严重[22].本研究的目的是通过了解不同放牧方式下土壤 PLFA 变化情况,揭示土壤微生物多样性和群落变化对不同土地管理方式的响应,为那曲地区高寒草甸生态系统利用保护和恢复重建提供基础数据.

1　研究地区与研究方法

1.1　研究区概况

那曲地区位于西藏自治区冈底斯山和念青唐古拉山以北地区(30°27′—35°39′ N,83°4′—95°10′ E).土地总面积为 44.6 万 km^2,其中草地总面积为 42.1 万 km^2,占那曲地区土地总面积的 94.4%.草地生态系统是该地区最重要和面积最大的生态系统,主要以高寒草原和高寒草甸类草地为主[21-23].

研究区平均海拔在 4500 m 以上,年均温在 -2.8~1.6 ℃,年降水量在 247.3~513.6 mm[24],年蒸发量在 1500~2300 mm,由东南向西北逐渐增大[25].植被以矮生嵩草(*Kobresia humilis*)为建群种,常见的伴生种主要有早熟禾(*Poa annua*)、高原毛茛(*Ranunculus tangutica*)、二裂委陵菜(*Potentilla bifurca*)、鹅观草(*Roegneria tsukushiensis*)等[21].

1.2　样地设置及样品采集

样地位于那曲地区那曲县(31.44° N,92.02° E).调查时间在 2013 年 8 月 21—29 日,选取 5 种放牧方式草地进行调查,分别是牧民轻度放牧样地(自由放牧,FM)、2004 年起禁牧样地(禁牧 9 年,JM_9)、2006 年起禁牧样地(禁牧 7 年,JM_7)、2008 年起禁牧样地(禁牧 5 年,JM_5)和 2006 年起进行夏季禁牧、冬季放牧的季节性放牧即休牧样地(休牧 7 年,XM_7). 2004 年那曲地区植被土壤调查数据中,该区域草地属于中度退化程度且无鼠害,土壤质地为轻壤土,草地利用方式为自然状态放牧利用[22].

每种放牧方式的草地中,均设置 4 个样地作为重复,共计 20 个样地.每个样地内随机选取 5 个点,去除表面植被,用直径为 5 cm 的土钻钻取 0~15 cm 的土壤,混匀过 2 mm 筛以除去石头、根系以及土壤动植物.土壤样品冷藏后带回实验室于-18 ℃冷冻保存,以备室内分析.

1.3　土壤化学性质、土壤微生物生物量碳测定和 PLFA 分析

土壤铵态氮(NH_4^+-N)以及硝态氮(NO_3^--N)使用离子色谱仪测定;土壤总有机碳(TOC)使用重铬酸钾氧化-外加热法测定;土壤全氮(TN)采用元素分析仪测定;土壤全磷(TP)为土样经消解后由光谱仪测定.土壤微生物生物量碳(MBC)采用氯仿熏蒸法测定.

PLFA 分析方法如下:称取相当于 8.0 g 干土的新鲜土样,使用 Bligh-Dyer 提取液提取磷脂脂肪酸,采用 HP6890 气相色谱 HP5973 质谱联用仪(GC-MS)进行分析[25].以往研究表明,表征细菌的 PLFA 可通过 i14∶0、i15∶0、a15∶0、16∶0、i16∶0、16∶1w5c、16∶1w7c、16∶1w9c、16∶1 2OH、17∶0、i17∶0、a17∶0、cy17∶0、17∶1w8c、18∶0、18∶0 2OH、18∶11、18∶1w7c、cy19∶0 含量估算[26-30];表征真菌的 PLFA 可通过 18∶1w9c、18∶2w6,9c 的含量估算[29];表征放线菌的 PLFA 可通过 10Me17∶0 和 10Me18∶0 的含量估算[30].表征革兰氏阳性菌的 PLFA 可通过 i14∶0、i15∶0、a15∶0、i16∶0、i17∶0、a17∶0 的含量估算,而表征革兰氏阴性细菌的 PLFA 可通过 16∶1w5c、16∶1w7c、16∶1w9c、cy17∶0、17∶1w8c、18∶0 2OH、18∶1w5c、18∶1w7c、18∶1w9c、cy19∶0 的含量估算[31].真菌与细菌的 PLFA 值比可由真菌 PLFA 细菌 PLFA 的比值得出[32].

1.4　数据分析

对数据重复值($n=4$)进行单因素方差分析(one-way ANOVA),对不同放牧方式下各指标值进行差异显著性检验($\alpha=0.05$)以及相关性分析,采用

SPSS 12.0 软件进行上述分析. 采用 CANOCO 4.5 软件对 PLFA 数据进行主成分分析(PCA),使用 SigmaPlot 12.5 软件作图.

2 结果与分析

2.1 不同放牧方式下土壤化学性质和土壤微生物生物量碳

由表 1 可见,不同放牧方式下样地的土壤基本化学性质呈现一定的规律.总体上除了 NH_4^+-N 外,样地土壤化学性质含量表现为休牧 7 年>自由放牧>禁牧.土壤 MBC 含量在 195.4~471.4 mg·kg^{-1},而休牧 7 年与自由放牧差异不显著,但显著高于禁牧处理;自由放牧与禁牧 9 和 7 年差异不显著,但与禁牧 5 年差异显著,不同禁牧处理土壤 MBC 含量差异不显著.TOC 在 12.4~26.8 g·kg^{-1},禁牧 5 年的土壤 TOC 含量与其他放牧方式之间差异显著,而其他管理方式之间差异不显著.土壤 NH_4^+-N 含量在 3.0~4.4 mg·kg^{-1},不同管理方式之间差异不显著. 土壤 NO_3^--N 含量在 0.5~8.6 mg·kg^{-1},自由放牧与其他管理方式之间差异显著,而其他管理方式之间差异不显著. 土壤 TP 含量在 0.26~0.33 g·kg^{-1},休牧与自由放牧差异不显著,但与禁牧 5、7 和 9 年差异显著;自由放牧与禁牧 9 年差异显著,但与禁牧 7 和 5 年差异不显著,禁牧管理方式之间差异不显著.

2.2 不同放牧方式下土壤 PLFA 分析

不同放牧方式下土壤共检测出 24 种土壤 PLFA 标记的磷脂脂肪酸(图 1).由表 2 可以看出,土壤 PLFA 以 7 种单烯脂肪酸和 8 种支链饱和脂肪酸以及 3 种直链饱和脂肪酸为主,相对含量分别占总量的 34.2%~43.5%、24.9%~34.5%和 18.0%~19.6%.还有 2 种环丙烷脂肪酸和 2 种双烯脂肪酸以及 2 种羟基脂肪酸被检测出.禁牧 9 年没有检测到 20∶4w6,9,12,15c,禁牧 7 年没有检测到18∶0 2OH.在 24 种 PLFA 标记的磷脂脂肪酸中 16∶0、18∶1w9c 和 18∶1w7c 含量很高,分别占 PLFA 总量的 14.5%~15.3%、8.5%~10.8%和 10.6%~11.0%.

对自由放牧、禁牧 9 年、禁牧 7 年、禁牧 5 年和休牧 7 年样地土壤 PLFA 进行分析.从图 2 可以看出,除真菌/细菌外,土壤 PLFA 均是休牧 7 年>禁牧 5 年>自由放牧>禁牧 7 和 9 年.土壤 PLFA 总值为 9.5~17.7 nmol·g^{-1},休牧 7 年的 PLFA 总值分别比自由放牧和禁牧 9、7 和 5 年多 52.6%、79.2%、85.4%

表 1 高寒草甸不同放牧方式 0~15 cm 土壤性质和土壤微生物生物量碳

Table 1 Basic properties and MBC in alpine meadow soils within 0-15 cm depth under different grazing styles

土壤化学性质 Soil basic property	放牧方式 Grazing style				
	FM	JM_9	JM_7	JM_5	XM_7
微生物生物量碳 MBC (mg·kg^{-1})	386.9±61.9ab	232.2±50.2bc	275.7±48.7bc	195.4±33.3c	471.4±79.7a
总有机碳 TOC (g·kg^{-1})	22.0±1.6a	20.7±2.4a	24.3±3.6a	12.4±1.7b	26.8±3.0a
铵态氮 NH_4^+-N (mg·kg^{-1})	3.0±0.6a	4.2±0.9a	3.4±0.6a	2.8±0.6a	4.4±0.3a
硝态氮 NO_3^--N (mg·kg^{-1})	8.6±0.9a	2.3±1.5b	0.5±0.1b	0.8±0.2b	0.7±0.1b
全磷 TP (g·kg^{-1})	0.31±0.01ac	0.26±0.02b	0.29±0.02bc	0.28±0.00bc	0.33±0.01a

同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different small letters in the same row meant significant difference at 0.05 level. FM: 自由放牧 Free grazing; JM_9: 禁牧 9 年 9-year grazing prohibition; JM_7: 禁牧 7 年 7-year grazing prohibition; JM_5: 禁牧 5 年 5-year grazing prohibition; XM_7: 休牧 7 年 7-year rest grazing. 下同 The same below.

表 2 高寒草甸不同放牧方式 0~15 cm 土壤 PLFA 类型及比例

Table 2 PLFAs and their proportions (%) of alpine meadow soils within 0-15 cm depth under different grazing styles

PLFAs		高寒草甸放牧方式 Grazing style in alpine meadow				
		FM	JM_9	JM_7	JM_5	XM_7
直链饱和脂肪酸	数量 Number	3	3	3	3	3
Saturated fatty acid	%	18.0±0.6	19.6±0.2	18.4±0.6	19.0±0.6	18.7±0.4
单烯脂肪酸	数量 Number	7	7	7	7	7
Monounsaturated fatty acid	%	38.0±0.5	33.0±0.9	34.2±0.9	43.5±0.2	37.7±0.4
多烯脂肪酸	数量 Number	2	1	2	2	2
Polyunsaturated fatty acid	%	4.7±0.4	4.3±0.7	5.3±1.0	6.9±0.6	5.8±1.0
支链饱和脂肪酸	数量 Number	8	8	8	8	8
Branched fatty acid	%	31.4±0.7	34.5±0.8	32.8±1.9	24.9±0.7	30.1±0.8
环丙烷脂肪酸	数量 Number	2	2	2	2	2
Cyclo fatty acid	%	6.1±0.2	6.5±0.3	7.5±0.4	4.6±0.2	6.1±0.3
羟基脂肪酸	数量 Number	2	2	1	2	2
Hydroxy fatty acid	%	1.8±0.7	2.2±0.2	1.9±0.3	1.1±0.1	1.6±0.4

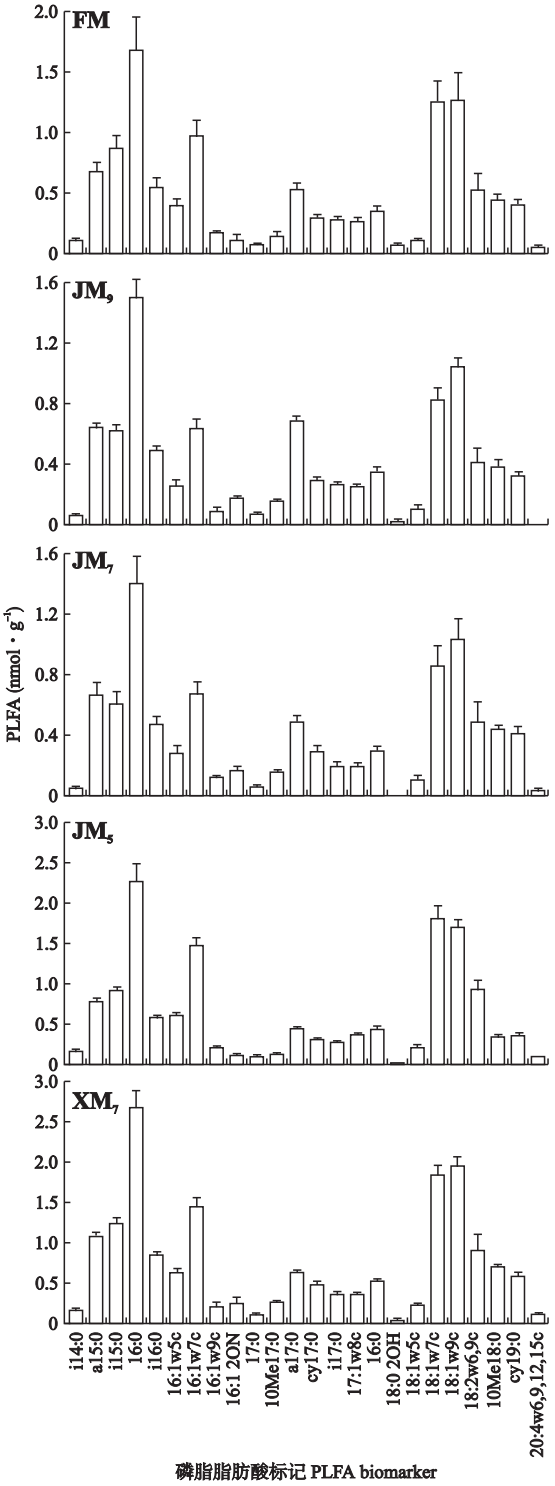


图 1　高寒草甸不同放牧方式土壤微生物 PLFA 图谱

Fig.1　Soil microbial PLFA profiles of alpine meadow under different grazing styles.

FM：自由放牧 Free grazing；JM_9：禁牧 9 年 9-year grazing prohibition；JM_7：禁牧 7 年 7-year grazing prohibition；JM_5：禁牧 5 年 5-year grazing prohibition；XM_7：休牧 7 年 7-year rest grazing. 下同 The same below.

和 17.9%.土壤细菌 PLFA 值为 7.4～13.7 nmol · g^{-1}，休牧 7 年的细菌 PLFA 值分别比自由放牧和禁牧 9、7 和 5 年多 49.9%、75.2%、86.0%和 16.9%.土壤真菌 PLFA 值为 1.5～2.9 nmol · g^{-1}，休牧 7 年的真菌 PLFA 值分别比自由放牧和禁牧 9、7 和 5 年多 59.2%、94.2%、86.6%和 7.2%.土壤革兰氏阴性菌 PLFA 值为 3.9～7.8 nmol · g^{-1}，其中休牧 7 年的革兰氏阴性菌 PLFA 值分别比自由放牧和禁牧 9、7 和 5 年多 49.5%、98.0%、95.1%和 7.5%.休牧 7 年和禁牧 5 年土壤 PLFA 总值、土壤细菌 PLFA 值、土壤真菌 PLFA 值和土壤革兰氏阴性菌 PLFA 值显著高于自由放牧、禁牧 9 和 7 年.而休牧 7 年和禁牧 5 年之间 PLFA 数值差异不显著，同样自由放牧、禁牧 9 年和 7 年之间 PLFA 数值差异也不显著.土壤中革兰氏阳性菌 PLFA 值为 2.5～4.3 nmol · g^{-1}，休牧 7 年的革兰氏阳性菌 PLFA 值分别比自由放牧和禁牧 9、7 和 5 年多 43.6%、53.4%、73.8%和 34.3%，其中休牧 7 年与其他管理方式差异显著，而禁牧 5 年只与禁牧 7 年差异显著，自由放牧与禁牧 9、7 年之间无显著差异.土壤中真菌细菌含量比为 0.187～0.227，各种管理方式之间没有显著差异.

2.3　不同放牧方式下土壤微生物群落结构

对自由放牧、禁牧 9 年、禁牧 7 年、禁牧 5 年和休牧 7 年样地土壤的 23 种土壤 PLFA 进行主成分分析，发现第 1 主成分（PC1）和第 2 主成分（PC2）合计达到土壤微生物群落组成的 87.8%（图 3），其余 12.2%为其他种类微生物.PC1 主要由单烯脂肪酸、多烯脂肪酸、支链饱和脂肪酸组成，共占微生物群落结构变异的74.6%，其中16∶1w5c、16∶1w7c、

表 3　土壤基本化学性质和土壤微生物生物量碳与 PLFA 相关分析

Table 3　Correlation between soil PLFAs content and soil basic properties, MBC

PLFAs	土壤理化性质 Soil basic property				
	微生物生物量 MBC	总有机碳 TOC	铵态氮 NH_4^+-N	硝态氮 NO_3^--N	全磷 TP
总 PLFA Total PLFA	0.50*	0.15	0.08	−0.21	0.29
细菌 Bacteria	0.49*	0.15	0.10	−0.19	0.29
真菌 Fungi	0.45	0.05	−0.05	−0.25	0.21
放线菌 Actinomycete	0.68**	0.59**	0.27	−0.21	0.47*
革兰氏阳性菌 Gram positive bacteria	0.63**	0.37	0.28	−0.10	0.32
革兰氏阴性菌 Gram negative bacteria	0.40	0.02	0.01	−0.18	0.27
真菌细菌比 Fungi:bacteria	0.14	−0.09	−0.34	−0.26	−0.01

* $P<0.05$；** $P<0.01$.

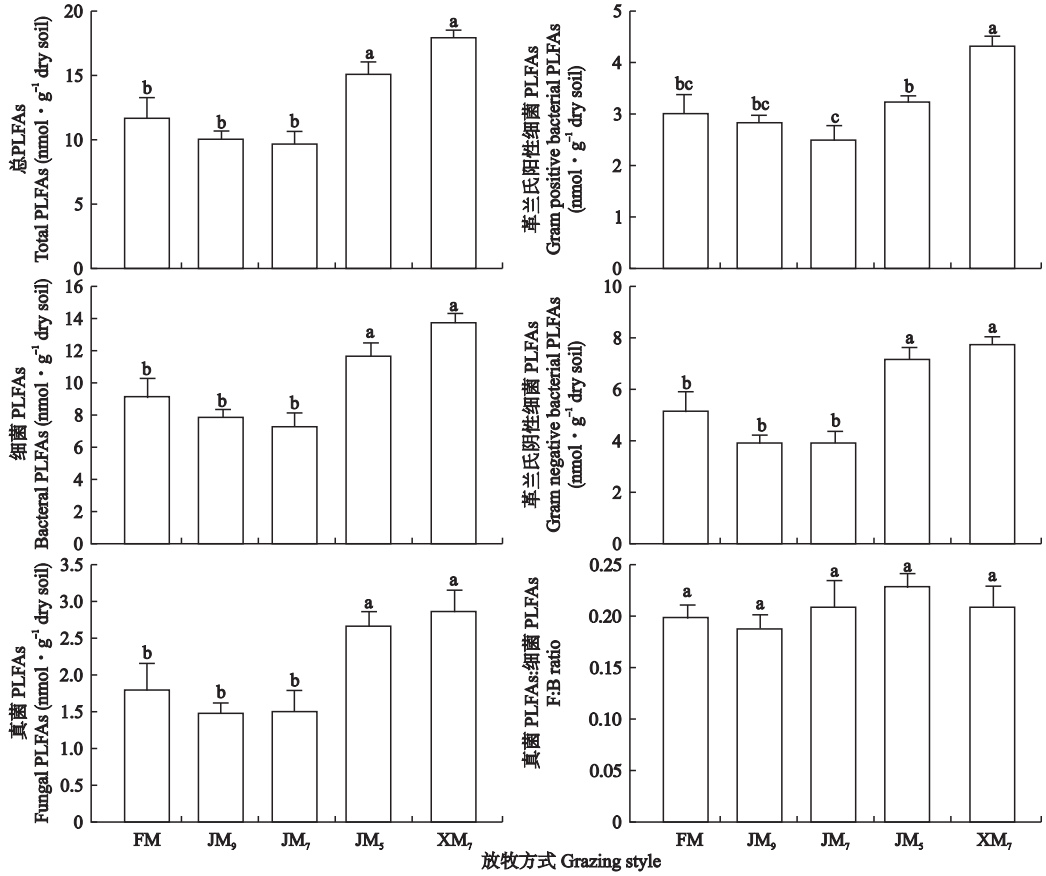


图 2 不同放牧方式 0~15 cm 土壤微生物 PLFA 指标

Fig.2 Microbial PLFAs in soils within 0-15 cm depth under different grazing styles.

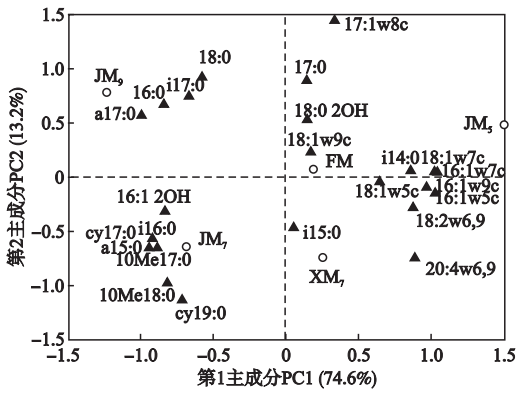


图 3 不同放牧方式 0~15 cm 土壤微生物 PLFA 结构主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of soil microbial PLFAs within 0-15 cm depth under different grazing styles.

16∶1w9c、a17∶0、i16∶0、18∶2w6,9 含量较高. PC2 主要由直链脂肪酸和部分单烯脂肪酸组成,共占微生物群落结构变异的 13.2%,其中 18∶0、7∶0、17∶1w8c 等含量较高.

不同放牧方式下土壤微生物 PLFA 在主成分分析图坐标轴上的分布差异较大(图 3),表明 PC1 主要是由禁牧 5 年、禁牧 7 年和禁牧 9 年的 PLFA 种类和数量决定,PC2 主要由休牧 7 年的 PLFA 种类和数量决定.即 PC1 可代表不同禁牧时间对土壤微生物群落结构的影响,PC2 可代表休牧 7 年对土壤微生物群落结构的影响.根据主成分 PC1 和 PC2 的贡献值,发现禁牧 5、7 和 9 年对土壤微生物群落结构的影响程度明显高于休牧 7 年.

2.4 不同放牧方式下土壤微生物生物量碳和土壤化学性质与 PLFA 的相关性

对本研究区土壤 MBC 含量与土壤 PLFA 值进行比较,发现二者在不同放牧方式下的变化规律存在差异. 土壤 MBC 含量表现为:休牧 7 年>自由放牧>禁牧 5 年.PLFA 值表现为:休牧 7 年>禁牧 5 年>自由放牧. 由表 3 可以看出,土壤 MBC 含量与 PLFA 总值、细菌 PLFA 值和放线菌 PLFA 值、革兰氏阳性菌 PLFA 值分别呈显著相关.氯仿蒸熏法和 PLFA 法之间有很好的一致性,这表明在不同放牧方式下土壤 MBC 含量可以表征西藏那曲草甸微生物结构变化.土壤 TOC 含量和 TP 含量与放线菌PLFA值呈显著正相关.

3 讨　论

土壤理化性质是土壤肥力的基础[33].研究发现,禁牧对退化的草地土壤的恢复作用,容易发生在沙地、坡地、干旱区等环境下[34].但有研究认为,禁牧对草地土壤有负面效应,比如对未退化的草地长时间禁牧使枯落物大量积累进而影响草地生态系统的物质能量循环.这与本研究中禁牧(包括禁牧 5 年、禁牧 7 年、禁牧 9 年)土壤 TOC(除禁牧 7 年)、土壤 NO_3^--N 和 TP 指标小于自由放牧一致,原因可能是禁牧草地凋落物过多导致碳循环不畅[35].有研究发现,放牧对土壤有机碳、土壤可利用氮、土壤磷等土壤化学性质有负面作用或者无明显作用[36-38].但也有研究表明,放牧对土壤化学性质的增加有促进作用[39],这与本研究自由放牧土壤化学性质指标大于禁牧一致,主要原因可能是合理放牧导致牧草增加或者导致植物组成变化,有机质生产能力和碳沉积量提高,氮磷转化率增加[40].有研究指出,休牧对草原恢复和土壤理化性质有正面作用[34],与本研究中休牧 7 年土壤化学性质指标(除土壤 NO_3^--N)高于放牧和禁牧的结论一致,可能是由于休牧 7 年控制了家畜的放牧时间和强度,保证草地植被的良性发展以及群落结构优化,使土壤环境改善[41].

土壤 MBC 是土壤有机质和养分转化与循环的动力[42],又可作为土壤中植物有效养分的储备库,对土壤环境条件变化极为敏感[43].本研究表明,不同放牧方式那曲草甸土壤 MBC 含量差异显著,表现为休牧>自由放牧>禁牧.有研究发现,放牧可以使草原土壤 MBC 含量减少[44].但有研究指出,放牧使高原草原土壤微生物生物量碳、氮增加[45],本研究中土壤 MBC 值为自由放牧>禁牧,原因可能是适度放牧刺激植物根系分泌更多的活性碳,为微生物生长提供能源,促进土壤养分循环[46].

目前,PLFA 分析广泛应用在土壤微生物多样性研究中,PLFA 是磷脂的构成成分,PLFA 可揭示特定生物种群的存在和丰度[4].本研究中,休牧 7 年的 PLFA 总值、细菌 PLFA 值和真菌 PLFA 值均显著高于自由放牧、禁牧(包括禁牧 5 年、禁牧 7 年、禁牧 9 年).PLFA 与土壤 MBC 表现出一致的变化特征,土壤 MBC 含量与 PLFA 的显著相关性在前人文献中已有报道[20,47].本研究表明了 PLFA 作为微生物量表征的可靠性.

对草地实行围封禁牧是当前退化草地恢复与重建的重要措施之一,根据兼顾畜牧业发展和草地生态系统健康的可持续性原则,草地禁牧要有一定的封育期限[34].封育期的长短主要根据草地退化程度和恢复状况而定[48].有学者对退化草地的禁牧时间进行研究并得出了一些结论,比如对重度退化草地采用禁牧围封方式 8 年后,植物群落能得到较好的恢复[49].本研究中,禁牧 5 年的 PLFA 值最高,这与在同一块试验样地的关于生物多样性和生物量的研究得出禁牧 5 年达到其生产潜力峰值的观点一致[21]. 但禁牧 7 年土壤 MBC 值、TOC、TP 含量最高.土壤 PLFA、生物多样性和生物量与土壤 MBC 最高值出现年份不同,可能是由于土壤系统本身的复杂性、分布不均匀和相对于植被反应的滞后性导致的[50].

土壤真菌细菌含量比可以反映真菌和细菌的相对变化范围和相对丰富程度[51].有研究认为,土壤真菌细菌比越高土壤生态系统稳定程度越高[52].本研究中,禁牧方式中禁牧 5 年的真菌细菌比最高,说明禁牧 5 年生态系统的稳定程度较禁牧 7 和 9 年要高.前人关于不同放牧方式下真菌细菌比的研究结论不同,有人认为围封禁牧样地的真菌与细菌比要高于自由放牧[19,47],而有些持相反观点[53],原因可能是放牧强度和禁牧周期存在差异.本研究主要通过对 PLFA 主成分贡献值进行分析,发现禁牧对土壤微生物群落结构的影响程度明显高于休牧 7 年,这说明不同利用方式不仅影响微生物生物量,也明显影响微生物群落结构.

对西藏那曲地区高寒草甸进行科学的利用和保护,需要深入了解自由放牧、禁牧和休牧各种方式对高寒草甸健康程度的影响.本研究从土壤理化性质、土壤微生物生物量碳和土壤 PLFA 的角度综合考虑不同放牧方式下高寒草甸的土壤情况,认为休牧和适度放牧(轻度自由放牧)有利于高寒草甸生态系统的健康与稳定,而禁牧不利于高寒草甸的健康发展.比较禁牧时间对高寒草甸的影响,认为禁牧 5 年可达到生产潜力峰值.

土壤酸碱性对微生物群落的数量和结构特征影响显著.不同土壤微生物群落的最适 pH 范围不同,细菌和放线菌适宜中性和碱性土壤,真菌则适宜于酸性土壤[54].在 pH 5~8 范围内微生物数量会随着 pH 值的升高而增加,但是 pH 值过低或者过高对绝大多数微生物不适宜[55].有研究指出,随着土壤氮添加量的增加,土壤 pH 值显著下降,但土壤PLFA 值呈上升趋势,这可能是由于氮添加对土壤微生物的促进作用大于抑制作用[56].也有学者对不同耕作

方式下土壤酶活性和 PLFA 研究指出,pH 值在深松、翻耕等耕作方式下没有显著差异[8].本研究未讨论不同放牧方式下土壤微生物群落结构与土壤酸碱性的关系,今后可对土壤酸碱性进行长期测定.

参考文献

[1] Zhou H-K (周华坤), Zhao X-Q (赵新全), Zhou L (周 立), *et al*. A study on correlations between vegetation degradation and soil degradation in the alpine meadow of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2005, **14**(3): 31-40 (in Chinese)

[2] Rousk J, Brookes PC, Bååth E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, **42**: 516-520

[3] Huang XM, Liu SR, Wang H, *et al*. Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **73**: 42-48

[4] Yan H (颜 慧), Cai Z-C (蔡祖聪), Zhong W-H (钟文辉). PLFA analysis and its applications in the study of soil microbial diversity. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2006, **43**(5): 851-859 (in Chinese)

[5] Feng H-M (冯慧敏), He H-B (何红波), Bai Z (白震), *et al*. Microbial degradation of acetochlor in mollisol and the effects of acetochlor on the characteristics of soil phospholipid fatty acids. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008, **19**(7): 1585-1590 (in Chinese)

[6] Yan H (颜 慧), Zhong W-H (钟文辉), Li Z-P (李忠佩), *et al*. Effects of long-term fertilization on phospholipid fatty acids and enzyme activities in paddy red soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008, **19**(1): 71-75 (in Chinese)

[7] Liu W (刘 微), Wang S-T (王树涛), Chen Y-X (陈英旭), *et al*. Microbial diversity in rhizosphere soil of transgenic *Bt* rice based on the characterization of phospholipids fatty acids. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22**(3): 727-733 (in Chinese)

[8] Pei X-X (裴雪霞), Dang J-Y (党建友), Zhang D-Y (张定一), *et al*. Effects of different tillage methods on phospholipid fatty acids and enzyme activities in calcareous cinnamon soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2014, **25**(8): 2275-2280 (in Chinese)

[9] Bossio DA, Scow KM. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology*, 1998, **35**: 265-278

[10] Bai Q, Gattinger A, Zelles L. Characterization of microbial consortia in paddy rice soil by phospholipid analysis. *Microbial Ecology*, 2000, **39**: 273-281

[11] Bossio DA, Fleck JA, Scow KM, *et al*. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**: 1223-1233

[12] Zelles L, Bai QY, Rackwitz R, *et al*. Determination of phospholipid- and lipopolysaccharide-derived fatty acids as an estimate of microbial biomass and community structures in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, **19**: 115-123

[13] Merila P, StrMmer R, Fritze H. Soil microbial activity and community structure along a primary succession transect on the land-uplift coast in western Finland. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, **34**: 1647-1654

[14] Zhong W-H (钟文辉), Cai Z-C (蔡祖聪). Methods for studying soil microbial diversity. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(5): 899-904 (in Chinese)

[15] Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom H. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 2002, **83**: 3152-3166

[16] Gao X-F (高雪峰), Wu C-Y (武春燕), Han G-D (韩国栋). Effect of grazing on several ecological factors of the soil in typical steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment* (干旱区资源与环境), 2010, **24**(4): 130-133 (in Chinese)

[17] Gu A-X (顾爱星), Fan Y-M (范燕敏), Wu H-Q (武红旗), *et al*. Relationship between the number of three main microorganisms and the soil environment of degraded grassland on the north slope of the Tianshan Mountains. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2010, **19**(2): 116-123 (in Chinese)

[18] Li C-L (李春莉), Zhao M-L (赵萌莉), Han G-D (韩国栋), *et al*. The effect of grazing on soil microorganism and soil nutrients and their seasonal dynamics in *Stipa breviflora* steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment* (干旱区资源与环境), 2009, **23**(4): 184-190 (in Chinese)

[19] Zhao S (赵 帅), Zhang J-N (张静妮), Lai X (赖欣), *et al*. Analysis of microbial biomass C, N and soil microbial community structure of *Stipa* steppes using PLFA at grazing and fenced in Inner Mongolia, China. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2011, **30**(6): 1126-1134 (in Chinese)

[20] Wen Q (文 倩), Lin Q-M (林启美), Zhao X-R (赵小蓉), *et al*. Application of PLFA analysis in determination of soil microbial community structure in woodland, cropland and grassland in farmland-pasture interleaving zone of north China. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2008, **45**(2): 321-327 (in Chinese)

[21] Zhang W-N (张伟娜), Ganjurjav (干珠扎布), Li Y-W (李亚伟), *et al*. Effects of banning grazing and delaying grazing on species diversity and biomass of alpine meadow in northern Tibet. *Journal of Agricultural Science and Technology* (中国农业科技导报), 2013, **15**(3): 143-149 (in Chinese)

[22] Wan Y-F (万运帆), Gao Q-Z (高清竹), Lin E-D (林而达), *et al*. Investigation of grassland growth and soil nutrient situation in Naqu prefecture of Tibet. *Prat-*

acultural Science（草业科学），2006，**23**(5)：7-11（in Chinese）
[23] Liu X-S（刘雪松），Ma Y-C（马玉才），Laba（拉巴），*et al*. Climatic Regionalization of the Animal Husbandry of Naqu Region. Beijing：China Meteorological Press，2003（in Chinese）
[24] Duan M-J（段敏杰），Gao Q-Z（高清竹），Wan Y-F（万运帆），*et al*. Effect of grazing on community characteristics and species diversity of *Stipa purpurea* alpine grassland in northern Tibet. *Acta Ecologica Sinica*（生态学报），2010，**30**(14)：3892-3900（in Chinese）
[25] Frostegård A，Bååth E，Tunlid A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*，1993，**25**：723-730
[26] Bardgett RD，Hobbs PJ，Frostegård A. Changes in soil fungal：bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*，1996，**22**：261-264
[27] Frostegård A，Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*，1996，**22**：59-65
[28] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil：A review. *Biology and Fertility of Soils*，1999，**29**：111-129
[29] Myers RT，Zak DR，White DC，*et al*. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*，2001，**65**：359-367
[30] Joergensen RG，Potthoff M. Microbial reaction in activity，biomass，and community structure after long-term continuous mixing of a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry*，2005，**37**：1249-1258
[31] Wu YP，Ma B，Zhou L，*et al*. Changes in the soil microbial community structure with latitude in eastern China，based on phospholipid fatty acid analysis. *Applied Soil Ecology*，2009，**43**：234-240
[32] Bååth E，Anderson TH. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry*，2003，**35**：955-963
[33] Liu Z-K（刘忠宽），Wang S-P（汪诗平），Chen Z-Z（陈佐忠），*et al*. Properties of soil nutrients and plant community after rest grazing in Inner Mongolia steppe，China. *Acta Ecologica Sinica*（生态学报），2006，**26**(6)：2048-2056（in Chinese）
[34] Yan Y-C（闫玉春），Tang H-P（唐海萍），Xin X-P（辛晓平），*et al*. Advances in research on the effects of exclosure on grasslands. *Acta Ecologica Sinica*（生态学报），2009，**29**(9)：5039-5046（in Chinese）
[35] Reeder JD，Schuman GE. Influence of livestock grazing on C sequestration in semi-arid mixed-grass and short-grass rangelands. *Environmental Pollution*，2002，**116**：457-463
[36] Menezes RS，Elliott ET，Valentine DW，*et al*. Carbon and nitrogen dynamics in elk winter ranges. *Journal of Range Management*，2001，**54**：400-408
[37] Pei SF，Fu H，Wan CG. Changes in soil properties and vegetation following exclosure and grazing in degraded Alxa desert steppe of Inner Mongolia，China. *Agriculture，Ecosystems & Environment*，2008，**124**：33-39
[38] Han GD，Hao XY，Zhao ML，*et al*. Effect of grazing intensity on carbon and nitrogen in soil and vegetation in a meadow steppe in Inner Mongolia. *Agriculture，Ecosystems & Environment*，2008，**125**：21-32
[39] Conant RT，Paustian K，Elliott ET. Grassland management and conversion into grassland：Effects on soil carbon. *Ecological Applications*，2001，**11**：343-355
[40] Liu N（刘　楠），Zhang Y-J（张英俊）. Effects of grazing on soil organic carbon and total nitrogen in typical steppe. *Pratacultural Science*（草业科学），2010，**27**(4)：11-14（in Chinese）
[41] Shan G-L（单贵莲），Xu Z（徐　柱），Ning F（宁发），*et al*. Influence of seasonal exclosure on plant and soil characteristics in typical steppe. *Acta Prataculturae Sinica*（草业学报），2009，**18**(2)：3-10（in Chinese）
[42] Wang Q-L（王启兰），Wang C-T（王长庭），Du Y-G（杜岩功），*et al*. Grazing impact on soil microbial biomass carbon and relationships with soil environment in alpine Kobresia meadow. *Acta Prataculturae Sinica*（草业学报），2008，**17**(2)：39-46（in Chinese）
[43] Liu E-K（刘恩科），Zhao B-Q（赵秉强），Li X-Y（李秀英），*et al*. Biological properties and enzymatic activity of arable soils affected by long-term different fertilization systems. *Chinese Journal of Plant Ecology*（植物生态学报），2008，**32**(1)：176-182（in Chinese）
[44] He Y-T（何亚婷），Dong Y-S（董云社），Qi Y-C（齐玉春），*et al*. Advances in researches on soil microbial biomass of grassland ecosystems and its influencing factors. *Progress in Geography*（地理科学进展），2010，**29**(11)：1350-1359（in Chinese）
[45] Bardgett RD，Leemans DK. The short-term effects of cessation of fertiliser applications，liming，and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil. *Biology and Fertility of Soils*，1995，**19**：148-154
[46] Zhao J（赵　吉）. Effect of stocking rates on soil microbial number and biomass in steppe. *Acta Agrestia Sinica*（草地学报），1999，**7**(3)：223-227（in Chinese）
[47] Zou Y-K（邹雨坤），Zhang J-N（张静妮），Yang D-L（杨殿林）. Phospholipid fatty acid analysis of microbial community structure under different land use patterns in soil ecosystems of *Leymuschinensis* steppes. *Acta Prataculturae Sinica*（草业学报），2011，**20**(4)：27-33（in Chinese）
[48] Sun X（孙　祥）. The Study of Pasture in Arid Zone. Beijing：China Forestry Press，1991（in Chinese）
[49] Liu Z-L（刘钟龄），Wang W（王　炜），Hao D-Y（郝敦元），*et al*. Probes on the degeneration and recovery succession mechanisms of Inner Mongolia steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment*（干旱区资源与环境），2002，**16**(1)：84-91（in Chinese）

[50] Zhou L-Y (周丽艳), Wang M-J (王明玖), Han G-D (韩国栋). Effects of different grazing intensities on community and soil physical and chemical characteristics in *Stipa baicalensis* steppe. *Journal of Arid Land Resources and Environment* (干旱区资源与环境), 2005, **19**(7): 182-187 (in Chinese)

[51] Van DW, Van VJ, Smant W, *et al*. Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**: 51-60

[52] De VF, Hoffland E, Van Eekeren N, *et al*. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**: 2092-2103

[53] Zhang L (张 莉), Dang J (党 军), Liu W (刘伟), *et al*. Effects of continuous enclosure and fertilization on soil microbial community structure in alpine meadow. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(11): 3072-3078 (in Chinese)

[54] Zhang W (张 薇), Wei H-L (魏海雷), Gao H-W (高洪文), *et al*. Advances of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2005, **24**(1): 48-52 (in Chinese)

[55] Li N (李 娜), Zhang L-M (张利敏), Zhang X-P (张雪萍). The discussion of affecting factors on soil microbial community structure. *Natural Sciences Journal of Harbin Normal University* (哈尔滨师范大学自然科学学报), 2012, **28**(6): 70-74 (in Chinese)

[56] Shi Y (施 瑶), Wang Z-Q (王忠强), Zhang X-Y (张心昱), *et al*. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2014, **34**(17): 4943-4949 (in Chinese)

作者简介 牛 磊,男,1990 年生,硕士研究生. 主要从事草原生态研究. E-mail: niulei@mail.bnu.edu.cn

责任编辑 肖 红