应用生态学报 2015年9月 第26卷 第9期
Chinese Journal of Applied Ecology, Sep. 2015, **26**(9): 2794-2802

高原鼢鼠扰动及恢复年限对高寒草甸土壤养分和微生物功能多样性的影响*

胡 雷 阿的鲁骥 字洪标 王长庭**
(西南民族大学生命科学与技术学院, 成都 610041)

摘 要 为了研究高原鼢鼠扰动后退化高寒草甸恢复演替的动态过程,利用常规实验室分析方法和Biolog-ECO生态板法对青藏高原东缘高寒草甸土壤养分和微生物功能多样性进行分析.结果表明:高原鼢鼠扰动显著降低了土壤有机质、全氮、速效氮和速效磷含量,对土壤全磷和全钾含量无显著影响;在一定植被恢复年限内,土壤微生物的碳源利用率、Shannon、Pielou和McIntosh指数随着植被恢复年限的增加而升高;主成分分析表明,碳水化合物和氨基酸是土壤微生物利用的主要碳源类型;冗余分析表明,土壤pH、有机质、全氮、速效氮和全钾是影响土壤微生物代谢活性和功能多样性的主要因子.不同植被恢复年限土壤微生物功能多样性的变化可能是对地上植被、土壤微生物群落组成和土壤养分变化的响应.

关键词 高寒草甸; 鼠丘; 植被恢复; 土壤微生物群落; Biolog-ECO
文章编号 1001-9332(2015)09-2794-09 **中图分类号** S15 **文献标识码** A

Effects of plateau zokor disturbance and restoration years on soil nutrients and microbial functional diversity in alpine meadow. HU Lei, ADE Lu-ji, ZI Hong-biao, WANG Chang-ting (*College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu* 610041, *China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2015, **26**(9): 2794-2802.

Abstract: To explore the dynamic process of restoration succession in degraded alpine meadow that had been disturbed by plateau zokors in the eastern Tibetan Plateau, we examined soil nutrients and microbial functional diversity using conventional laboratory analysis and the Biolog-ECO microplate method. Our study showed that: 1) The zokors disturbance significantly reduced soil organic matter, total nitrogen, available nitrogen and phosphorus contents, but had no significant effects on soil total phosphorus and potassium contents; 2) Soil microbial carbon utilization efficiency, values of Shannon, Pielou and McIntosh indexes increased with alpine meadow restoration years; 3) Principal component analysis (PCA) showed that carbohydrates and amino acids were the main carbon sources for maintaining soil microbial community; 4) Redundancy analysis (RDA) indicated that soil pH, soil organic matter, total nitrogen, available nitrogen, and total potassium were the main factors influencing the metabolic rate of soil microbial community and microbial functional diversity. In summary, variations in soil microbial functional diversity at different recovery stages reflected the microbial response to aboveground vegetation, soil microbial composition and soil nutrients.

Key words: alpine meadow; zokor mounds; vegetation restoration; soil microbial community; Biolog-ECO.

高寒草甸是高度复杂性和持续性的生态系统,为该区域草食动物的生存提供了必要的食物来源和栖息地,是研究草食动物扰动与植物群落结构、生态系统功能关系的理想场所.草食动物通过觅食、排泄、挖掘和践踏等活动对草地植被产生影响,进而影响生态系统的生产力、微生物活动、有机质分解以及物质循环等.在过去几十年间,由于人为扰动和气候变化等原因,青藏高原高寒草甸发生了数次严重的鼠类灾害[1-2].草地退化是鼠害的重要诱因,同时鼠害又是加速草地退化的主要驱动力和草地退化程度的主要表征[3-4].

高原鼢鼠(*Myospalax baileyi*)是完全营地下生活的啮齿动物,由于其觅食和挖掘洞道的特点,被视为高寒草甸退化的主要危害种之一[5].据报道,为了

*国家自然科学基金项目(31370542)和中央高校基本科研业务费优秀科研团队及重大孵化项目(2014NZYTD01)资助.
**通讯作者. E-mail: wangct@swun.edu.cn.
2014-10-20 收稿,2015-06-08 接受.

觅食植物根系和自我保护,每个高原鼢鼠每年通过挖掘活动,约有 1024 kg 土壤被推至地面形成土丘[6],对植被的基本性状、植被演替和土壤理化性质都会产生影响[7].同时,作为高寒草甸生态系统的关键种和青藏高原特有食肉兽类的主要食物资源,高原鼢鼠在高寒草甸生态系统食物网结构中占有承上启下的地位[4].因此,如何客观评价高原鼢鼠挖掘活动的生态意义以及对退化高寒草甸植被和土壤质量的影响成为相关学者研究的热点问题.目前,对于高原鼠类挖掘活动的生态意义大致存在 3 种观点: 1)"有害论"认为高原鼠类是造成草地退化的诱因之一[8],同时延缓了退化高寒草甸的恢复演替[9]; 2)"平衡论"则认为高原鼠类的挖掘行为改变了土壤质量和植被性状,但这是对立地条件的适应[10]; 3)"有益论"在考虑到"中度扰动理论"的同时,认为地下鼠类是草地平衡机制不可缺少的组成部分[11].李文靖等[12]研究发现,当高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)种群密度在 44~52 只·hm^{-2}时,其扰动有助于显著改善表层土壤含水量和土壤有机质含量,从而发挥其生态意义的积极作用.因此,正确认识高原鼢鼠的活动,尤其是挖掘和觅食行为对高寒草甸生态系统的影响,有利于该地区生态系统功能的维持和可持续发展.许多学者和研究人员对高原鼢鼠已有了一定程度的研究,主要集中在高原鼢鼠扰动对高寒草甸植被特征、群落植物多样性、草地植被生产力、土壤营养元素、土壤物理性质和高原鼢鼠食性、生态位等方面[3,13-17].而对高原鼢鼠的挖掘行为形成的土丘对地上植被和地下微环境的影响,特别是土壤微生物群落组成和功能多样性与地上植被关系、反馈机制方面的研究鲜有报道.

土壤微生物是碎屑养分系统的基本组成成分,在土壤形成和养分循环过程中起着重要作用,并且对土壤结构、温湿度和养分条件的改变非常敏感[18].通过控制土壤有机质分解和植物养分的有效性,土壤微生物在陆地生态系统净碳平衡中发挥着重要作用[19].土壤养分是土壤生态系统的重要组分,土壤养分含量直接影响着立地植被的生长,是土壤肥力的重要指标之一.土壤微生物则通过分解动植物残体参与高寒草甸生态系统的物质循环和能量流动,影响地上植被的生长发育.同时,土壤微生物对植物有效养分具有储备作用,对土壤碳(C)、氮(N)的有效性及对地上植被和地下生态系统起着调控作用[20].本文以高原鼢鼠扰动后不同植被恢复年限的高寒草甸为研究对象,野外调查其鼠丘上植物群落组成,利用 Biolog-ECO 生态板测定土壤微生物代谢活性和功能多样性变化,旨在探讨和分析植物群落-土壤养分-土壤微生物功能多样性之间的关系,以期进一步了解和完善高原鼢鼠对高寒草甸生态系统功能影响的基础科学理论.

1　研究区域与研究方法

1.1　试验区概况

高原鼢鼠扰动后恢复年限高寒草甸试验区位于青藏高原东缘四川阿坝州红原县境内(31°50′—33°22′ N,101°51′—103°23′ E),地势由东南向西北倾斜,平均海拔 3500 m,草地面积 6293 km^2,占全县总面积的 76.8%,大部分属于高山草甸类型;属大陆高原寒温带半湿润季风气候,年降水量 650~800 mm,年均气温 1.1 ℃,最高气温 10.9 ℃,最低气温 -10.3 ℃,年均积温 1432.3 ℃,年平均日照 2417.9 h,平均相对湿度 71%[21].高寒草甸植被生长期为 120~140 d,主要集中在每年的 5—9 月.植被平均盖度超过 80%,最高植被高度达到 45~60 cm,主要莎草科植被为四川嵩草(*Kobresia setschwanensis*)和高山嵩草(*K. pygmaea*),禾本科主要有四川剪股颖(*Agrostis clavata*)和垂穗披碱草(*Elymus nutans*),杂类草中条叶银莲花(*Anemone trullifolia*)、钝苞雪莲(*Saussurea nigrescens*)和委陵菜属(*Potentilla*)占优势[22].试验区土壤为亚高寒草甸土.高原鼢鼠鼠丘试验区具体地理坐标及植被类型等信息见表 1.

表 1　试验区基本概况

Table 1　General properties of the study sites

样地 Site	地理坐标 Geographic coordinate	海拔 Altitude (m)	主要物种 Dominant species
P_1	32°49.802′ N, 102°35.276′ E	3491	蒿草 *Koeleria cristata* + 垂穗披碱草 *E. nutan* + 早熟禾 *Poa pratensi* + 羊茅 *Festuca rubra*
P_2	32°49.825′ N, 102°35.270′ E	3484	蒿草 *K. cristata* + 垂穗披碱草 *E. nutan* + 早熟禾 *P. pratensis* + 双柱头藨草 *Scripus distigmaticus*
CK	32°49.801′ N, 102°35.214′ E	3489	瑞苓草 *Saussurea nigrescens* + 羊茅 *F. rubra* + 黄花蒿 *Artemisia annua*+ 野燕麦 *Avena fatua*

P_1: 1~2 年 1-2 years; P_2: 5 年以上 >5 years; CK: 对照 Control.

1.2 试验设计

本研究于2011年9月在红原县青藏高原生态保护与畜牧业高科技研发基地试验园区内进行.在进行挖掘觅食活动后,高原鼢鼠常常会转移到新的草地挖掘新的洞道[4],因此相同年限的高原鼢鼠丘往往分布在相对较为集中的区域.判定高原鼢鼠丘形成年限根据以下两个步骤:1)请当地有经验的高寒草甸工作者帮助初步选择和判定高原鼢鼠丘年限[17,23];2)根据初步选定的样地,以鼠丘的土丘高度、土壤紧实度和鼠丘上植被种类组成的变化确定土丘形成年限[3,24].按照估算结果,本试验将其划分为3个阶段:具有1~2年植被恢复年限的高寒草甸样地(P_1),具有5年以上植被恢复年限的高寒草甸样地(P_2)和未发生高原鼢鼠扰动的原生植被区(CK).在两块面积为50 m×50 m且明显有高原鼢鼠丘的草地上分别选取1~2年鼠丘10个(直径约50 cm),5年以上鼠丘10个(直径约50 cm)作为处理样地(P_1和P_2相距约2.6 km),在离P_1和P_2样地约6.8 km处取无高原鼢鼠扰动的高寒草甸作为对照(面积50 m×50 m).

1.3 群落调查和土壤样品采集

分别在10个1~2年鼠丘、10个5年以上鼠丘上随机选取5个0.5 m×0.5 m的调查样方,在对照样地随机选取5个对照样方,对植物群落特征进行详细调查.包括记录每种植物的种名、高度、分盖度及群落总盖度;对样方内植物按照功能群(禾本科、莎草科、豆科和杂类草)进行生物量收割,在65 ℃烘箱内烘24 h至恒量并称量;在刈割后的样方内,用土钻法(直径5 cm)测定其根土比,用环刀法测定土壤容重.在每个样方内采用"V"字形法钻取5次,按0~10、10~20 cm土层分别取样,做好标记,其中一部分过0.25 mm土壤筛,风干后用于测定土壤pH值和养分;另一部分拣去石块和杂物等做好标记,迅速放入保鲜盒,带回实验室放入4 ℃冰箱保存,用于土壤微生物功能多样性的测定.

1.4 测定方法

1.4.1 土壤pH和土壤养分测定 采用电极法测定土壤pH,丘林法测定土壤有机质(SOM)含量,凯氏定氮法测定全氮(TN)含量,康惠法测定土壤碱解氮(AN)含量,钼锑抗比色法测定土壤全磷(TP)含量,碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定土壤速效磷(AP)含量,醋酸铵法测定土壤全钾(TK)含量,四苯硼钠法测定土壤速效钾(available potassium,AK)含量[25].土壤pH和养分测定均进行5次重复.

1.4.2 土壤微生物功能多样性的测定和计算 土壤微生物功能多样性的测定采用Biolog-ECO生态板,选择0~10 cm土壤样品进行3次重复测定.具体操作方法参照Chaerun等[26]、计算采用Classen等[27]的方法.其中Biolog数据计算得出的平均颜色变化率(average well color development,AWCD)是评价土壤利用单一碳源能力的一个重要指标,可作为土壤微生物整体活性的有效指标来反映微生物对碳源的利用程度,指示土壤微生物的代谢活性[28].

多样性指数可以反映土壤微生物多样性的不同方面.Shannon指数(H)是反映群落物种及其个体分布均匀程度的综合指标,受群落物种丰富度影响较大;Pielou指数(J)是群落物种丰富度均一性的度量;McIntosh指数(U)则是反映土壤中微生物群落均匀度的指标.本研究利用Biolog方法取培养72 h的各样品数据进行微生物多样性的计算[29].各指标计算公式如下:

$$AWCD = \sum_{i=1}^{n} (C_i - R)/n \quad (1)$$

$$H = -\sum_{i=1}^{n} P_i \ln P_i \quad (2)$$

$$J = (-\sum_{i=1}^{n} P_i \ln P_i)/\ln S \quad (3)$$

$$U = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} n_i^2} \quad (4)$$

式中:C_i为第i孔的590和750 nm下的吸光值之差;R为对照孔的吸光值;n为Biolog微平板的碳源种类数目($n=31$);P_i为第i孔的相对吸光度值与整个平板相对吸光度值总和的比率;S为产生颜色变化的孔的数目;n_i为第i孔的相对吸光度值[30].

1.5 数据处理

数据采用SPSS 19.0软件对数据进行分析,最小显著差数法(LSD法)进行多重比较,其中对土壤养分进行双因素方差分析(two-way analysis of variance),对微生物功能多样性进行单因素方差分析(one-way ANOVA).用CANOCO for Windows 4.5软件对培养72 h的土壤微生物进行主成分分析(principal component analysis, PCA)来解释不同植被恢复年限土壤微生物功能特征的变化;使用线性冗余分析(redundancy analysis, RDA)来解释土壤理化性质与土壤微生物功能多样性的关系;分析前数据均进行对数转换,RDA分析采用Monte Carlo置换检验筛选出显著性的环境变量($\alpha=0.05$).

2　结果和分析

2.1　高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤理化性质

高原鼢鼠扰动、土层深度及其交互作用对土壤物理性质均有显著影响($P<0.05$),但高原鼢鼠扰动对土壤含水量的影响不显著($P>0.05$)(表 2).高原鼢鼠的造丘活动和觅食行为显著降低了土壤根土比,但显著增加了表层土壤(0~10 cm)容重.随着土壤层次的加深,土壤根土比显著降低;原生植被样地(CK)土壤容重随土壤层次显著增加,高原鼢鼠干扰样地(P_1和P_2)不同土层之间无显著性变化;土壤含水量表现不一致,原生植被(CK)和植被恢复 4~5 年样地(P_2)的土壤含水量显著降低,植被恢复 1~2 年样地(P_1)土壤含水量显著升高(表 2, 图 1).

方差分析表明,高原鼢鼠扰动、不同土层深度及其交互作用对 TP 和 TK 无显著影响,对 SOM、AN 和 AK 有显著影响;高原鼢鼠干扰对土壤 pH 无显著影响,而土层深度对 TN 无显著影响,高原鼢鼠干扰和土层深度的交互作用则对 AP 无影响($P<0.05$)(表 2).高原鼢鼠扰动对表层(0~10 cm)土壤理化性质影响较大,TN、AP、AN 和 SOM 含量显著低于原生植被样地,而土壤 pH 则高于 CK;P_2样地土壤 pH 最高,AP 和 AK 含量则显著低于 CK 和P_1样地(图 1).

2.2　高原鼢鼠扰动及恢复年限对高寒草甸土壤微生物功能多样性的影响

从接种开始到培养 24 h,不同处理土壤微生物的平均颜色变化率(AWCD)接近 0,且无明显变化,表明微生物代谢活性很低;在培养 24 h 后,AWCD 值以近似指数型的增长方式从接近 0 升高至 168 h 的 1 左右,其中 P_2样地 AWCD 值最高为 1.332,大于 P_1样地的 1.193 和 CK 样地的 1.192,在这 144 h 内,样品中的土壤微生物进入指数生长期,碳源底物被大量消耗利用;培养到 168 h 以后,AWCD 值继续增大,但增长速度变慢,表明土壤微生物底物利用率降低,3 个样地微生物活性均在培养 228 h 时达到最大值,即 P_2样地(1.3559)>P_1样地(1.2338)>CK(1.2326);之后随着培养时间的延长,AWCD 值开始下降,土壤微生物活性开始降低.在整个培养过程中,植被恢复年限越长,样地土壤微生物活性越高,显著大于 P_1 样地和 CK($P<0.05$)(图 2).

图 3 表明,不同处理样地的土壤微生物多样性均存在显著性差异.培养 72 h 的 Shannon 指数、Pielou 指数、McIntosh 指数均表现出相同的变化规律,即 P_2 样地>P_1 样地>CK,P_2 样地土壤微生物多样性指数分别为 3.263、0.959 和 5.329.

2.3　高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤微生物功能的主成分分析

对高原鼢鼠扰动后不同植被恢复年限高寒草甸样地培养 72 h 的表层(0~10 cm)土壤微生物的每孔吸光值进行主成分分析(PCA),结果表明,主成分 1(PC1)对土壤微生物功能多样性的贡献率为 27.9%,主成分 2(PC2)的贡献率为 21.7%,累计贡献率为 49.6%(图 4).PCA 图中代表不同处理样地的土壤微生物群落分布于不同区域,表明微生物利用碳源的种类、水平和代谢多样性存在差异.其中P_1、P_2和 CK 样地平行样本分布相对集中,表明高原鼢鼠扰动和扰动时间对表层(0~10 cm)土壤微生物功能多样性产生了影响.P_1样地分布在第一、第二象限,CK样地分布在第二和第三象限,P_2样地集中在

表 2　高原鼢鼠扰动不同恢复年限和土层深度对土壤理化性质的影响的方差分析结果

Table 2　Results of two-way analyses of variance showing the effects of zokor disturbance, restoration years and soil depth on soil physicochemical properties

项目 Item	扰动 Disturbance (Z)			土层深度 Soil depth (D)			Z × D		
	df	*F*	*P*	*df*	*F*	*P*	*df*	*F*	*P*
根土比 Ratio of root to soil	2	32.483	<0.001	1	55.340	<0.001	2	26.610	<0.001
土壤容重 Soil bulk density (g·cm^{-3})	2	28.801	<0.001	1	29.564	<0.001	2	9.338	0.004
土壤含水量 Soil water content (%)	2	1.008	0.368	1	5.897	0.032	2	11.668	0.002
土壤 pH Soil pH	2	2.722	0.114	1	5.280	0.044	2	9.927	0.004
全氮 Total nitrogen (g·kg^{-1})	2	19.827	<0.001	1	2.352	0.156	2	7.784	0.009
全磷 Total phosphorus (g·kg^{-1})	2	0.894	0.439	1	0.135	0.721	2	0.087	0.917
全钾 Total potassium (g·kg^{-1})	2	2.545	0.128	1	3.174	0.105	2	0.106	0.900
速效氮 Available nitrogen (mg·kg^{-1})	2	37.665	<0.001	1	6.469	0.029	2	7.774	0.009
速效磷 Available phosphorus (mg·kg^{-1})	2	22.542	<0.001	1	5.056	0.048	2	1.665	0.238
速效钾 Available potassium (mg·kg^{-1})	2	47.119	<0.001	1	84.988	<0.001	2	12.714	0.002
土壤有机质 Soil organic matter (g·kg^{-1})	2	34.961	<0.001	1	18.850	0.001	2	13.234	0.002

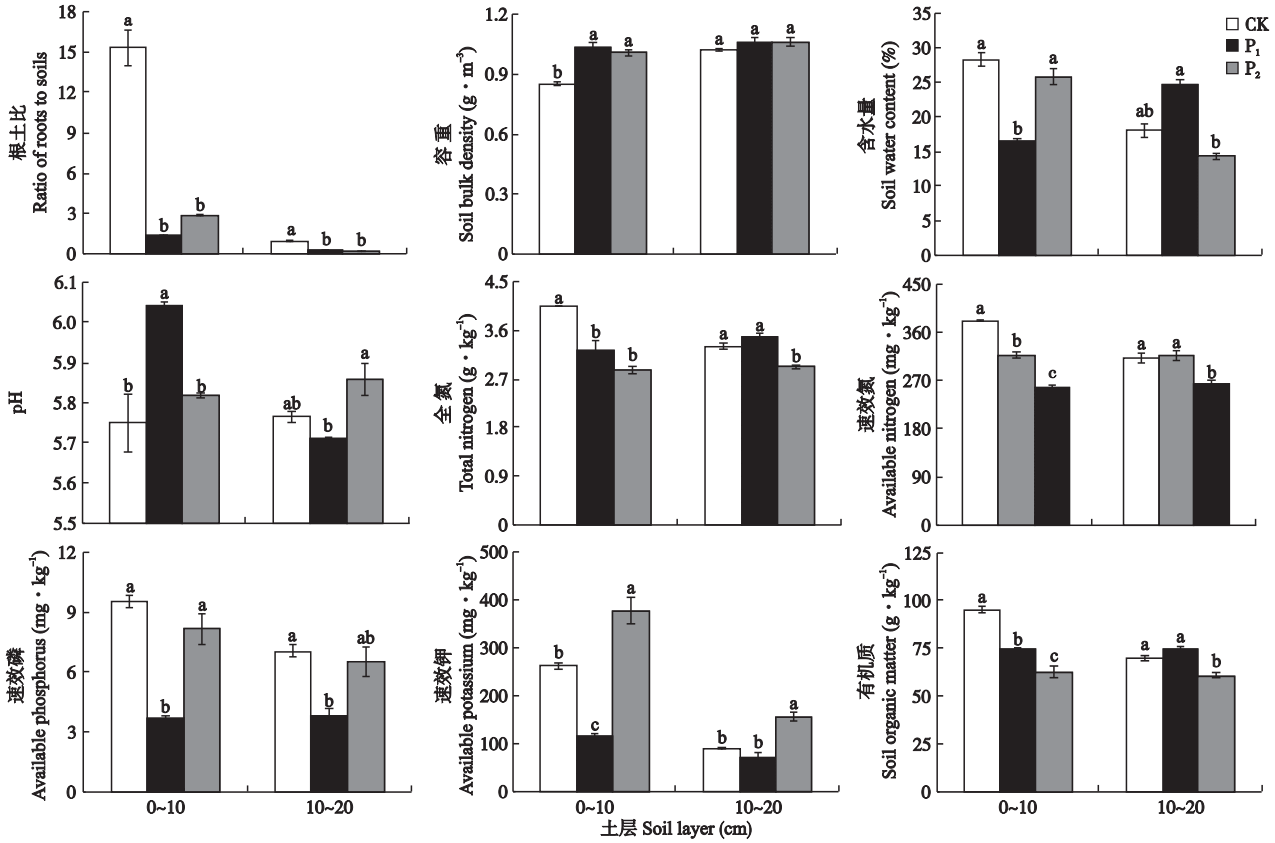


图 1 高原鼢鼠扰动不同恢复年限高寒草甸土壤理化性质的变化

Fig.1 Changes in soil physicochemical properties under different restoration years in alpine meadow with zokor disturbance.

P_1: 1~2 年样地 1-2 years site; P_2: 5 年以上样地 Beyond 5 years site; CK: 对照样地 Control site. 下同 The same below.不同小写字母表示相同土层不同高原鼢鼠扰动年限高寒草甸土壤理化性质差异显著($P<0.05$) The same lowercase letters indicated that significant difference of soil physicochemical properties under restoration years at same soil depth at 0.05 level. 高原鼢鼠扰动恢复年限对土壤全钾和全磷含量无显著影响 TK and TP had no significant difference under different restoration years with zokor disturbance.

第四象限,表明 P_2样地土壤微生物利用的碳源类型与 P_1、CK 相比有较大差异.PC1 代表高原鼢鼠扰动对微生物的影响,3 个样地与 PC1 的相关性表现为 CK<P_1<P_2.PC2 代表高原鼢鼠扰动时间对土壤微生物的影响,3个样地与PC2的相关性表现为P_2<CK<P_1,表明随着扰动时间的增加,受高原鼢鼠扰动的土壤微生物群落功能有逐渐向原生植被土壤微生物功能特征水平恢复的趋势.

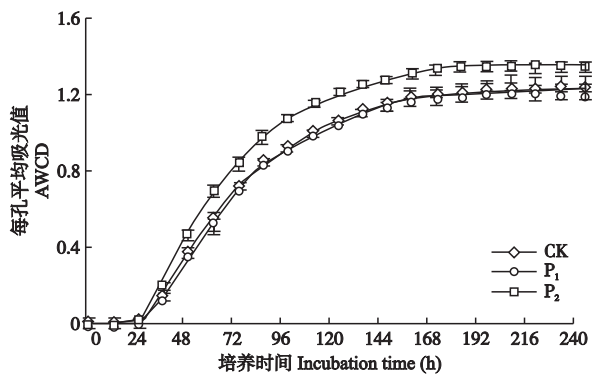


图 2 高原鼢鼠扰动不同恢复年限高寒草甸土壤微生物群落的 AWCD 值

Fig.2 AWCD value of soil microbial community under different restoration years in alpine meadow with zokor disturbance.

主成分因子载荷值表明,分别有 11 种和 4 种碳源与 PC1 和 PC2 呈显著相关.其中与 PC1 显著相关的 11 种碳源中,碳水化合物有 5 种:β-甲基-D-葡萄糖苷、D-半乳糖酸-γ-内脂、i-赤藓糖醇、α-D-葡萄糖-1-磷酸和 D, L-α-磷酸甘油,其余 6 种碳源分别属于多聚物类(3)、羧酸类(2)和氨基酸类(1)三大类;与 PC2 显著相关的 4 种碳源中,碳水化合物和氨基酸类碳源各含两种,为 N-乙酰-D-葡萄糖胺、D, L-α-磷酸甘油和 L-精氨酸、L-丝氨酸.主成分分析和土壤微生物群落对 6 种不同碳源的利用图谱表明,碳水化合物是土壤微生物群落利用的主要碳源类型,氨基酸类碳源次之.

2.4 高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤微生物功能的冗余分析

首先对培养72 h的Biolog数据进行降趋对应

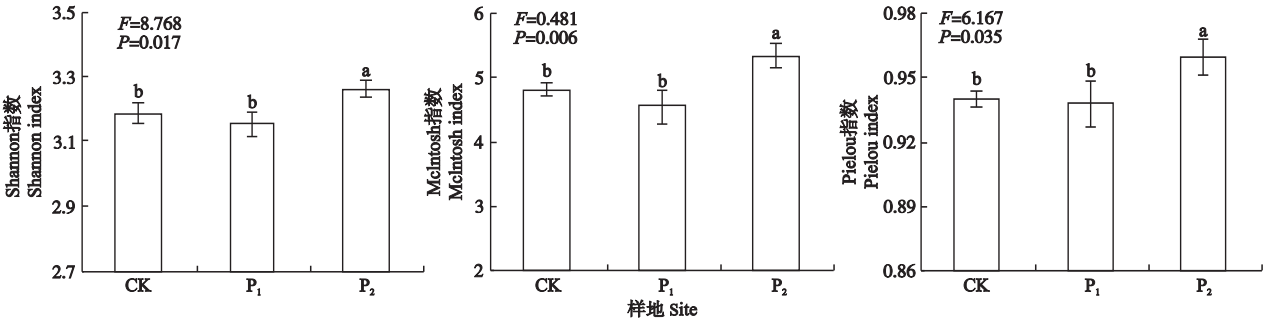


图 3　高原鼢鼠扰动不同恢复年限高寒草甸土壤微生物群落功能多样性

Fig.3　Soil microbial functional diversity under different restoration years in alpine meadow with zokor disturbance.

分析(detrended correspondence analysis, DCA),得到第 1 轴最大梯度长度为 0.119,因此选择线性冗余分析(RDA)对环境梯度进行直接排序分析,探讨环境因子对土壤微生物功能多样性的影响.RDA 分析表明,PC1 和 PC2 分别解释总变异的 68.5%和 31.5%,前 2 轴的解释变异达到了 100%(图 5).总体来看,土壤理化性质对土壤微生物碳源代谢特征和功能多样性有较大的影响.SOM、TN、AN 和根土质量比(R/S)对第一排序轴有显著负相关关系,TK和SBD与第一排序轴呈显著正相关;与第二排序轴存在显著负相关的土壤指标为:TP、TK、AP、AK、R/S 和土壤含水量,而存在显著正相关的为土壤 pH 和土壤容重.

将 31 种碳源分为 6 类,分别为碳水化合物、氨基酸、羧酸、多聚物、酚酸和胺类.6 类碳源分布在 RDA 排序图不同区域(图 5),碳水化合物和氨基酸类分布在第一象限,多聚物、酚酸和羧酸分布在第四象限,胺类分布在第三象限,表明高原鼢鼠扰动后不同样地土壤微生物群落功能多样性的差异.

土壤理化性质对土壤微生物碳源代谢特征有显著的影响,但对单独 6 类碳源无显著影响.图 5 表明,对土壤微生物群落功能多样性有影响的土壤指标为 AN、SOM 和 TN,但均未达到显著相关水平.虽然土壤 pH 与 6 种碳源之间无显著相关性,但从 pH 的箭头长度及其与6种碳源间的夹角可以看出,土

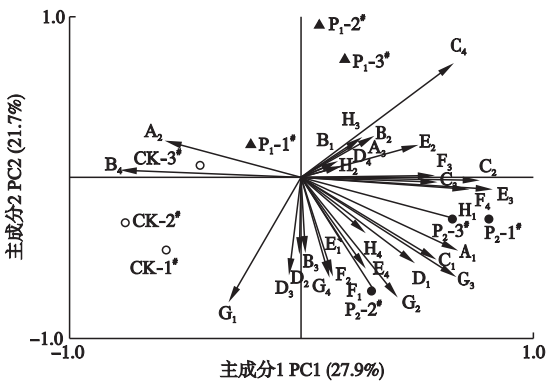


图 4　高原鼢鼠扰动不同恢复年限高寒草甸土壤微生物群落功能多样性主成分分析

Fig.4　PCA for soil microbial function diversity under different restoration years in alpine meadow with zokor disturbance.

A_1: β-甲基-D-葡萄糖苷 β-methyl-D-glucoside; A_2: D-半乳糖酸-γ-内脂 D-galactonic acid lactone; A_3: L-精氨酸 L-arginine; B_1: 丙酮酸甲酯 Pyruvic acid methyl ester; B_2: D-木糖 D-xylose; B_3: D-半乳糖醛酸 D-galacturonic acid; B_4: L-天门冬酰胺 L-asparagine; C_1: 吐温 40 Tween 40; C_2: i-赤藻糖醇 i-erythritol; C_3: 2-羟基苯甲酸 2-hydroxybenzoic acid; C_4: L-苯基丙氨酸 L-phenylalanine; D_1: 吐温 80 Tween 80; D_2: D-甘露醇 D-mannitol; D_3: 4-羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid; D_4: L-丝氨酸 L-serine; E_1: α-环式糊精 α-cyclodextrin; E_2: N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-acetyl-D-glucosamine; E_3: γ-羟基丁酸 γ-Hydroxybutyric acid; E_4: L-苏氨酸 L-Threonine; F_1: 肝糖 Glycogen; F_2: D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic acid; F_3: 衣康酸 Itaconic acid; F_4: 甘氨酰-L-谷氨酸 Glycyl-L-glutamic acid; G_1: D-纤维二糖 D-cellobiose; G_2: α-D-葡萄糖-1-磷酸 α-D-glucose-1-phosphate; G_3: α-丁酮酸 α-ketobutyric acid; G_4: 苯乙胺 Phenylethylamine; H_1: α-D-乳糖(碳水化合物) α-D-lactose; H_2: D, L-α-磷酸甘油 D, L-α-glycerol phosphate; H_3: D-苹果酸 D-malic acid; H_4: 腐胺 Putrescine.

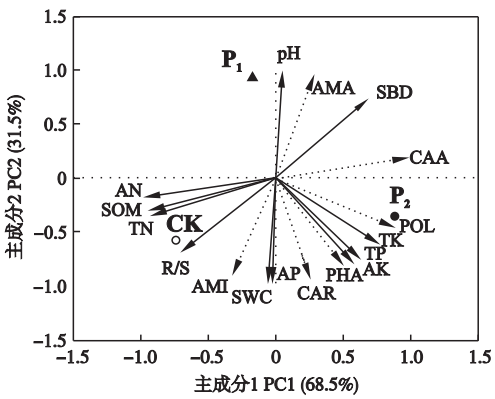


图 5　高原鼢鼠扰动不同恢复年限高寒草甸土壤理化性质与土壤微生物群落功能特征的 RDA 分析

Fig.5　RDA for soil physicochemical properties and soil microbial function diversity under different restoration years in alpine meadow with zokor disturbance.

SBD: 土壤容重 Soil bulk density; SWC: 土壤含水量 Soil water content; R/S: 根土质量比 Ratio of root to soil. CAR: 碳水化合物 Carbohydrates; AMA: 氨基酸 Amino acids; CAA: 羧酸 Carboxylic acids; POL: 多聚物 Polymers; PHA: 酚酸 Phenolic acids; AMI: 胺类 Amines.

壤 pH 与氨基酸类碳源有明显正相关,与碳水化合物、酚酸类和胺类碳源有明显负相关.

3 结 论

3.1 高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤理化性质的变化

高原鼢鼠的中度干扰能够增加表层土壤有机质含量和土壤含水量,进而改变土壤理化性质,促进土壤的物质循环[31];然而,当高原鼢鼠种群密度持续增长到一定数量时,植被特征和土壤理化性质随之发生改变,这种变化在一定程度上成为草地沙化和水土流失的基础[6].高原鼢鼠通过其觅食和挖掘行为对高寒草甸土壤理化性质产生重要的影响.本试验中,受高原鼢鼠扰动的土壤含水量更低,土壤紧实度变大,土壤根土比更低,这与其他研究结果相符[2].由于高原鼢鼠的踩踏和土壤的积淀,土壤容重增大,而大量的鼠丘裸露面积会增加地表蒸发,降低土壤含水量,同时,高原鼢鼠主要以植物根系为食物来源,根系被消耗,土壤根土比降低.高原鼢鼠挖掘洞道,消耗掉所有植物根系并将更深层次的土壤抛至地表,从而增加土壤通透性,同时将土壤表层水分和养分迅速带入更深层次的土壤[32],降低土壤养分含量,如 AP、AK、AN、TN 和 SOM,这与 Li 等[2]研究结果相符.SOM 的积累会产生较多的有机酸,导致土壤 pH 下降[33],因此未受到高原鼢鼠扰动的土壤表层具有较高的有机质含量和较低的土壤 pH.

3.2 高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤微生物碳源利用的代谢活性

土壤微生物代谢活性的变化可以反映土壤生态系统的质量和健康水平.研究表明,土壤微生物的群落特征受到植物物种、植物根系及根系分泌物、土壤质量等因素的影响[29].高原鼢鼠扰动后,土壤微生物利用碳源的代谢活性发生了明显变化,AWCD 值随着培养时间的延长而呈指数型增长,土壤微生物代谢活性随之增强.在整个培养过程中,植被恢复年限越长,土壤微生物活性(AWCD 值)越高,P_2 样地显著高于 P_1 样地和 CK 样地.这可能是由于:1)随着植被恢复年限的增加,植被盖度和根系生物量逐渐增加,群落物种组成和多样性增大[4],植被物种间的差异改变了植物残体的有机组成和产量,为土壤微生物的生境特异性创造条件,从而改变异样微生物群落的组成和功能[34-35],植被恢复年限越长,地上植被群落多样性越高,其土壤微生物活性可能越大;2)土壤中的速效钾和含水量与微生物活性呈极显著正相关[36],P_2 样地中的土壤速效钾含量显著高于 P_1 和 CK 样地,因此土壤养分含量也是导致 P_2 样地土壤微生物代谢活性最高的主要原因.

高原鼢鼠扰动对高寒草甸土壤微生物代谢活性产生了明显影响,随着植被恢复年限的增加,这种差异会显著增强.

3.3 高原鼢鼠扰动及不同恢复年限下高寒草甸土壤微生物功能多样性的变化

PCA 分析表明,土壤微生物利用的主要碳源是碳水化合物和氨基酸.不同的多样性指标反映了土壤微生物群落组成的不同方面,综合反映了土壤微生物群落的功能多样性[25].本研究表明,随着扰动年限的增加,Shannon、Pielou 和 McIntosh 指数均增加,P_2 样地的土壤微生物多样性指数都显著高于 P_1 和 CK 样地.

土壤微生物群落的代谢活性和组成在很大程度上由生物地球化学循环、土壤有机物的代谢过程以及土壤的肥力和质量等因素所决定[37].本研究中,土壤理化性质是造成不同扰动年限土壤微生物群落功能多样性差异的重要原因之一.RDA 分析表明,SOM、TN、AN 和 TK 含量解释了土壤微生物碳源代谢的 68.5%,土壤 pH 对氨基酸、碳水化合物和酚酸类碳源均有显著相关关系.土壤理化性质的变化不仅改变了土壤微生物生境,也使微生物群落结构和代谢功能发生了变化.Li 等[2]对不同年限高原鼢鼠土丘土壤有机碳库和土壤代谢活性的相关性研究发现,土壤有机碳矿化与土壤微生物生物量、土壤酶活性之间呈显著正相关关系,在 3、6 和 15 年高原鼢鼠丘扰动下,土壤微生物活性显著低于原生植被样地和 3 个月高原鼢鼠丘样地.

此外,土壤微生物组成结构和多样性的变化可能改变了土壤微生物对碳源的选择性,从而影响土壤微生物碳源代谢活性和功能多样性的变化.

高原鼢鼠扰动对土壤微生物代谢活性和功能多样性影响显著.在一定时间内,随着植被恢复年限的延长,这种差异更加显著.本文只研究了两个扰动年限的样点分布,不能够全面地反映高原鼢鼠扰动后,高寒草甸土壤微生物群落功能多样性的变化规律及其与地上植被和土壤养分的相互作用.研究结果表明:在一定时间范围内,高原鼢鼠扰动下的土壤微生物对碳源的利用率、Shannon、Pielou 和 McIntosh 指数均随扰动年限的增加而升高;土壤 pH、SOM、TN、AN 和 TN 是影响土壤微生物代谢活性和功能多样性的主要因子.Li 等[2]认为高原鼢鼠扰动的高寒草

甸恢复至少需要 15 年,Zhang 等[38]认为需要 10 年以上才能够恢复到原生植被水平.因此,下一步的研究重点是采集扰动年限更长、划分更具有连续性的土壤样品,运用更加先进的分子生物学技术,如土壤宏基因组学技术,对土壤微生物群落组成和多样性进行基因水平研究,结合地上植被相关数据,更加全面地揭示土壤微生物在退化高寒草甸生态系统恢复演替中的功能.

参考文献

[1] Akiyama T, Kawamura K. Grassland degradation in China: Methods of monitoring, management and restoration. *Grassland Science*, 2007, **53**: 1-17

[2] Li XG, Zhang ML, Li ZT, *et al*. Dynamics of soil properties and organic carbon pool in topsoil of zokor-made mounds at an alpine site of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Biology and Fertility of Soils*, 2009, **45**: 865-872

[3] Jiang X-L (江小雷), Zhang W-G (张卫国), Yang Z-Y (杨振宇), *et al*. Plant diversity cariations in zokor-mound communitities along a successional stage. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15** (5): 814-818 (in Chinese)

[4] Zhou X-R (周雪荣), Guo Z-G (郭正刚), Guo X-H (郭兴华). The role of palteau pika and platea zokor in alpine meadow. *Pratacultural Science* (草业科学), 2010, **27**(5): 38-44 (in Chinese)

[5] Wei W-H (魏万红), Wang Q-Y (王权业), Zhou W-Y (周文扬), *et al*. The population dynamics and dispersal of plateau zokor after removing. *Acta Theriologica Sinica* (兽类学报), 1997, **17**(1): 53-61 (in Chinese)

[6] Wang Q-Y (王权业), Fan N-C (樊乃昌). Studies on the digging activities and exploration about the method of number estimation of plateau zokor. *Acta Theriologica Sinica* (兽类学报), 1987, **7**(4): 283-290 (in Chinese)

[7] Liu J-S (刘锦上), Zhang W-G (张卫国), Jiang X-L (江小雷), *et al*. Effects of burrow space of plateau zokor on vegetation characters on alpine meadows. *Acta Agrestia Sinica* (草地学报), 2011, **19**(6): 927-932 (in Chinese)

[8] Huang C-D (黄成定). Effect of plateau xokoron grassland vegetation in cold and high meadow. *Pratacultural Science* (草业科学), 2004, **21**(10): 58-62 (in Chinese)

[9] Liu W (刘　伟), Yan H-Y (严红宇), Wang X (王溪), *et al*. Effects of plateau pikas on restoring succession of degraded grassland and plant community structure. *Acta Theriologica Sinica* (兽类学报), 2014, **34** (1): 54-61 (in Chinese)

[10] Fehmi JS, Bartolome JW. Species richness and California voles in an annual and perennial grassland. *Western North American Naturalist*, 2002, **62**: 73-81

[11] Huntly N, Inouye R. Pocket gophers in ecosystems: Patterns and mechanisms. *BioScience*, 1988, **38**: 786-793

[12] Li W-J (李文靖), Zhang Y-M (张堰铭). Impacts of plateau pikas on soil organic matter and moisture content in alpine meadow. *Acta Theriologic Sinica* (兽类学报), 2006, **26**(4): 331-337 (in Chinese)

[13] Wang Q-Y (王权业), Zhang Y-M (张堰铭), Wei W-H (魏万红), *et al*. Food habit on the plateau zokor. *Acta Theriologica Sinica* (兽类学报), 2000, **20**(3): 193-199 (in Chinese)

[14] Zhang W-G (张卫国), Jiang X-L (江小雷), Wang S-M (王树茂), *et al*. Effects of mound-building activity of zokor (*Myospalax baileyi*) and different regimes of grazing-prohibited on vegetation productivity. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2004, **24**(10): 1882-1887 (in Chinese)

[15] Xin X-J (辛小娟), Yang Y-F (杨莹博), Wang G (王　刚), *et al*. Niche dynamics of plant community succession and grassland quality index on zokor mounds. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2011, **30** (4): 700-706 (in Chinese)

[16] Zhao G-Q (赵国琴), Li G-Y (李广泳), Ma W-H (马文虎), *et al*. Impacts of *Ochotona pallasi* disturbance on alpine grassland community characteristics. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24** (8): 2122-2128 (in Chinese)

[17] Zhang L-F (张灵菲), Zhang X-Z (张新中), Zhang Y-F (张燕堃), *et al*. Effects of zokor-mound succession on plant functional group and productivity. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2014, **23**(2): 305-312 (in Chinese)

[18] Fierer N, Schimel JP, Holden PA. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, **35**: 167-176

[19] Liski J, Nissinen A, Erhard M, *et al*. Climatic effects on litter decomposition from arctic tundra to tropical rainforest. *Global Change Biology*, 2003, **9**: 575-584

[20] Spehn EM, Joshi J, Schmid B, *et al*. Plant diversity effects on soil heterotrophic activity in experimental grassland ecosystems. *Plant and Soil*, 2000, **224**: 217-230

[21] Shen M (沈　敏), Pu M-K (蒲珉锴), Wang X-H (王筱卉). The present situation and countermeasures for grassland desertification in Hongyuan County. *Prataculture and Animal Husbandry* (草业与畜牧), 2009 (8): 28-28 (in Chinese)

[22] Li GY, Liu YZ, Sun SC, *et al*. Experimental warming induces degradation of a Tibetan alpine meadow through trophic interactions. *Journal of Applied Ecology*, 2011, **48**: 659-667

[23] Pech RP, Arthur AD, Zhang YM, *et al*. Population dynamics and responses to management of plateau pikas *Ochotona curzoniae*. *Journal of Applied Ecology*, 2007, **44**: 615-624

[24] Yang Y-F (杨莹博), Xin X-J (辛小娟), Aide X-C (艾得协措), *et al*. Plant diversity variations in zokor-

mound communities along a successional stage in sub-alpine meadow. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2010, **19**(1): 14-20 (in Chinese)

[25] Xiang Z-Y (向泽宇), Zhang L (张 莉), Zhang Q-F (张全发), *et al*. Soil nutrients and microbial functional diversity of different stand types in Qinghai Province. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), 2014, **50**(4): 22-31 (in Chinese)

[26] Chaerun SK, Pangesti NP, Toyota K, *et al*. Changes in microbial functional diversity and activity in paddy soils irrigated with industrial wastewaters in Bandung, West Java Province, Indonesia. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2011, **217**: 491-502

[27] Classen AT, Boyle SI, Haskins KE, *et al*. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: Plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **44**: 319-328

[28] Garland JL, Mills AL. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**: 2351-2359

[29] Zak DR, Holmes WE, White DC, *et al*. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology*, 2003, **84**: 2042-2050

[30] Fang H, Yu Y, Chu X, *et al*. Degradation of chlorpyrifos in laboratory soil and its impact on soil microbial functional diversity. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, **21**: 380-386

[31] Zong W-J (宗文杰), Jiang X-L (江小雷), Yan L (严 林). Effects of plateau zokor disturbance on species diversity of plant communities in alpine meadow. *Pratacultural Science* (草业科学), 2006, **23**(10): 68-72 (in Chinese)

[32] Wang TC, Xiong YC, Ge JP, *et al*. Four-year dynamic of vegetation on mounds created by zokors (*Myospalax baileyi*) in a subalpine meadow of the Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Arid Environments*, 2008, **72**: 84-96

[33] Cammeraat ELH, Risch AC. The impact of ants on mineral soil properties and processes at different spatial scales. *Journal of Applied Entomology*, 2008, **132**: 285-294

[34] Wu Z-Y (吴则焰), Lin W-X (林文雄), Chen Z-F (陈志芳), *et al*. Characteristics of soil microbial community under different vegetation types in Wuyishan National Nature Reserve, East China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24**(8): 2301-2309 (in Chinese)

[35] Li T-Y (立天宇), Kang F-F (康峰峰), Han H-R (韩海荣), *et al*. Responses of soil microbial carbolic metabolism characteristics to the leaf litter composition in Liaohe River Nature Reserve of northern Hebei Province, China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2015, **26**(3): 715-722 (in Chinese)

[36] Hou X-J (侯晓杰), Wang J-K (汪景宽), Li S-P (李世朋). Effects of different fertilization and plastic mulching on functional diversity of soil microbial community. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2007, **27**(2): 655-661 (in Chinese)

[37] Vestal JR, White DC. Lipid analysis in microbial ecology. *BioScience*, 1989, **39**: 535-541

[38] Zhang W, Liu C, Zheng X, *et al*. The increasing distribution area of zokor mounds weaken greenhouse gas uptakes by alpine meadows in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **71**: 105-112

作者简介 胡 雷,男,1991 年生,硕士研究生. 主要从事草地恢复生态研究. E-mail: hl007873@ sohu.com

责任编辑 肖 红