

放牧对冷蒿根际土壤微生物数量和群落功能多样性的影响

臧晓琳¹, 张洪芹¹, 王鑫朝¹, 马元丹¹, 宝音陶格涛², 高岩¹, 张汝民¹

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 内蒙古大学 生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘要: 为揭示放牧扰动对内蒙古典型草原植物冷蒿 *Artemisia frigida* 根际土壤微生物的影响, 运用平板计数法和 Biolog-ECO 板技术, 对不同放牧强度[对照(ck), 轻度放牧(LG), 重度放牧(HG)]下冷蒿根际(ARS)和非根际(NRS)土壤微生物群落特征及其功能多样性进行了研究。结果表明: 不同放牧强度下冷蒿根际土壤微生物数量均显著高于非根际土壤($P < 0.05$), 土壤微生物均以细菌占优势。Biolog 分析显示, 土壤微生物群落代谢活性(A_{wcd})随培养时间延长而逐渐增加, 不同放牧强度处理后 A_{wcd} 值差异显著($P < 0.05$), 大小顺序依次为 LG-ARS > ck-ARS > ck-NRS > LG-NRS > HG-ARS > HG-NRS。土壤微生物群落 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数和丰富度指数的总体趋势为 ck-ARS 和 LG-ARS 最高, ck-NRS, LG-NRS 和 HG-ARS 次之, HG-NRS 最低。不同放牧强度的土壤微生物对不同碳源利用强度存在较大差异($P < 0.05$), 其中 LG-ARS 利用率最高, HG-NRS 利用率最低, 糖类和氨基酸类碳源是各放牧强度下土壤微生物的主要碳源。聚合物类和氨基酸类碳源在主成分分离中发挥了主要贡献作用。总之, 放牧处理能够降低土壤微生物群落多样性, 但冷蒿根际微生物种群密度和群落多样性均高于非根际, 说明冷蒿生长能够提高土壤微生物群落功能多样性, 削弱放牧干扰; 冷蒿根际丰富的土壤微生物有利于改善土壤微生态, 进而促进冷蒿生长, 使它们成为草场退化的阻击者。图 3 表 3 参 39

关键词: 植物学; Biolog-ECO 板; 微生物功能多样性; 放牧; 冷蒿; 土壤微生物

中图分类号: S718.5; S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2017)01-0086-10

Effect on functional diversity of *Artemisia frigida* rhizosphere soil microbial community with grazing

ZANG Xiaolin¹, ZHANG Hongqin¹, WANG Xinzhaoh¹, MA Yuandan¹, Baoyintaogetao²,
GAO Yan¹, ZHANG Rumin¹

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. College of Life Science, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, Inner Mongolia, China)

Abstract: To understand the response mechanism of soil microbial biomass in the rhizosphere soil of *Artemisia frigida*, we measured the functional diversity of *Artemisia frigida* rhizosphere (ARS) and non-rhizosphere soil (NRS) microbial community under three levels (no, light and heavy) of manipulative grazing conditions using the Biolog EcoPlate analysis. Results showed that with different grazing intensities, the soil microbial population of ARS was significantly greater than NRS ($P < 0.05$) with bacteria playing a dominant role in all soil microbial species accounting for 88%–97%. The average well color development (AWCD), directly reflecting microbial activity and functional diversity, increased over time; whereas, AWCD for the two soil types significantly changed ($P < 0.05$) along with increased grazing intensity such that: LG-ARS > ck-ARS > ck-NRS > LG-

收稿日期: 2016-01-15; 修回日期: 2016-04-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31270756, 31470704); 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2014CB138805); “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAC07B01)

作者简介: 臧晓琳, 从事植物生理生态与土壤生态学研究。E-mail: 1927172754@qq.com。通信作者: 高岩, 教授, 博士, 从事植物生理生态与土壤生态学研究。E-mail: gaoyan1960@sohu.com

NRS > HG-ARS > HG-NRS. The Simpson, Shannon-Wiener, richness, and McIntosh indexes of ck-ARS were all higher ($P < 0.05$) than HG-NRS, and for ARS, population density and diversity of microbial communities were higher ($P < 0.05$) than NRS. The PCA was used to obtain two principal components related to soil microbial biomass utilization and that explained separately 52.1% (PC1) and 17.2% (PC2). The carbon carboxylic and amino acid play a major role in the separation of principal components. Thus, *A. frigida* growth could increase diversity of the soil microbial community, weaken grazing disturbances, improve the soil microecology, and prevent degradation of the grasslands. [Ch, 3 fig. 3 tab. 39 ref.]

Key words: botany; Biolog-ECO plate; microbial community functional diversity; grazing; *Artemisia frigida*; soil microorganism

放牧是草地的主要利用方式之一, 主要通过牲畜的采食、践踏、卧息和排泄粪便等方式对地表植被、土壤养分以及土壤微生物产生影响^[1]。土壤微生物在有机质的分解、养分循环与转化等方面具有重要作用^[2], 其数量和群落功能多样性能够在一定程度上指示土壤质量及其可持续利用性^[3]。研究放牧与土壤微生物的关系, 有助于揭示过度放牧导致草场沙漠化的机制。根际是植物、土壤、微生物之间进行物质和能量交换的关键区域, 是植物和土壤相互作用的重要界面, 诸多学者对植物根际与非根际土壤的养分、微生物数量及群落组成的差异性开展了大量的研究^[4-7]。邱权等^[8]综合比较了 4 种人工灌木丛根际和非根际土壤的特性, 发现土壤酶活性和微生物数量呈现出根际高于非根际; 对宁夏宁南山区猪毛蒿 *Artemisia scoparia*, 百里香 *Thymus mongolicus* 等 9 种典型植物^[9]和内蒙古羊草 *Leymus chinensis*, 大针茅 *Stipa grandis* 和冷蒿 *Artemisia frigida* 等典型植物^[10]进行研究, 表明大多数植物的根际土壤微生物数量、活性及多样性等均高于非根际土壤, 是由于植物物种差异所引起。冷蒿是菊科 Compositae 蒿属 *Artemisia* 植物, 多年生小半灌木, 是退化草场的典型植物, 具有强烈的耐牧生存能力, 高强度放牧干扰后仍能够生长繁殖并维持一定的生产力, 这与其自身的生物学特性^[11]及根系代谢产物^[12]对土壤微环境的调控密切相关。目前, 关于放牧干扰对冷蒿根际土壤微生物群落多样性影响的研究尚未报道。本研究拟采用微生物传统培养法和 Biolog-ECO 板技术, 对不同放牧强度下冷蒿根际土壤化学性质、微生物数量及其群落功能多样性进行研究, 分析冷蒿根际土壤微生物数量及代谢功能多样性对放牧干扰的响应, 探讨冷蒿耐牧性与土壤微生物群落多样性之间的关系, 为揭示冷蒿成为草场退化阻击者提供土壤生态学方面的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

本研究依托内蒙古锡林浩特市毛登牧场(内蒙古大学草地生态学研究基地)进行, 其地理位置为 44°10′02.4″ N, 116°28′56.8″ E, 海拔 1 160 m, 属半干旱大陆性气候, 冬季寒冷干燥, 夏季在一定程度上受海洋季风气候影响。全年平均气温为 -0.4 °C, 最冷月(1 月)平均气温 -22.3 °C, 最热月(7 月)平均气温 18.8 °C, ≥ 0 °C 年积温为 2 410 °C, ≥ 10 °C 积温为 1 597.9 °C, 无霜期 91 d, 草场植物生长期为 150 d 左右。全年平均降水量为 365.6 mm, 集中于 6-9 月, 占年降水量的 80% 左右, 但年度间的变幅较大, 多雨和少雨的年份降水量相差 1 倍以上。该地雨热同期, 有利于植物的生长, 土壤为栗钙土。本研究区域主要草原植物为羊草, 糙隐子草 *Cleistogenes squarrosa*, 克氏针茅 *Stipa krylovii*, 大针茅, 防风 *Saposhnikovia divaricata*, 冷蒿, 瓣蕊唐松草 *Thalictrum petaloideum*, 阿尔泰狗娃花 *Heteropappus altaicus* 等。

1.2 样地设置及土样采集

1.2.1 试验设计 于 2012 年 5 月至 2014 年 7 月连续 2 a 对草场进行不同放牧强度处理, 每年放牧时间为 5-9 月。试验按照放牧强度设置不放牧为对照(ck), 5 月和 7 月每月 21 日放牧 1 d 为轻度放牧(light grazing, LG), 5-9 月每月 21 日放牧 1 d 为重度放牧(heavy grazing, HG), 3 个处理; 受天气因素的影响, 每次放牧时间延后。分别设置重复 3 个·处理⁻¹, 面积为 33.3 m × 33.3 m·小区⁻¹。试验用羊为当年生乌珠穆沁羊 *Capra hircus* ‘Ujimqin’, 各个放牧季节羊放牧率为 6 只·小区⁻¹。

1.2.2 土壤样品的采集与保存 土壤样品采集于 2014 年 7 月冷蒿生长高峰期, 在各个小区采用 5 点取

样法。随即选取4~5丛冷蒿,以冷蒿株丛为中心,将冷蒿纯植株丛完整挖起(0~10 cm),轻轻抖动根系并去除粘附在根系上的较大颗粒土,作为冷蒿非根际土壤(NRS),采集粘附在根际上根系表面的土壤作为冷蒿根际土壤(ARS)。各个小区采集的土壤混合在一起作为该小区样地的土样,各个小区用5点取样法采样2次以获得同一小区的2份土样。将土壤装入无菌封口塑料袋,带回实验室。土样分成2份,1份于4℃保存,用于可培养微生物的分离、计数及Biolog-ECO板测定,另1份风干过2 mm筛,用于测定土壤理化性质。

1.2.3 微生物分离与计数 土壤可培养微生物数量(colony forming units, cfu)用稀释平板法分离计数。细菌采用牛肉膏蛋白胨固体培养基;真菌采用马丁培养基;放线菌采用高氏1号培养基,30℃恒温培养,细菌培养1 d后计数,真菌、放线菌培养3 d后计数。

1.2.4 微生物代谢功能多样性测定 土壤微生物代谢功能多样性采用Biolog-ECO板方法进行分析。称取新鲜土样1 g于9 mL磷酸缓冲液中,在摇床上震荡30 min,在接种前按10倍稀释法制成 10^{-4} 土壤稀释液,使用8通道移液器,从V型槽中吸取150 μL稀释液至ECO板的微孔中,接种后的板置于30℃恒温培养,每隔24 h在Biolog读板仪上用Biolog Reader 4.2软件(Biolog, Hayward, CA, 美国)读取590 nm波长的吸光度 $D(590)$,培养时间为168 h。

1.3 土壤理化性质测定

测定参照鲁如坤^[13]的土壤农化分析方法进行。有机质(organic matter, OM)采用重铬酸钾容量法;全氮(total nitrogen, TN)采用半微量凯氏定氮法;碱解氮(hydrolysis nitrogen, HN)采用碱解扩散法;全磷(total phosphorus, TP)采用氢氧化钠碱溶-钼锑抗比色法;速效磷(available phosphorus, AP)采用碳酸氢钠浸提钼锑抗比色法;全钾(total potassium, TK)采用氢氧化钠碱溶-火焰光度法;速效钾(available potassium, AK)采用乙酸氨浸提-火焰光度法;pH值采用酸度计法,土壤悬液为水土比为 $m(\text{水}):m(\text{土})=5:1$ 。

1.4 数据处理

土壤微生物群落利用碳源的整体能力(即代谢活性)用平均孔颜色变化率(average well color development, A_{WCD})表示。 $A_{\text{WCD}} = [\sum (C_i - R)]/n$, 其中: C_i 为测定的31个碳源孔吸光值, R 为对照孔吸光值, n 为碳源数目。土壤微生物群落功能多样性采用Shannon指数、Simpson指数、丰富度指数和McIntosh指数进行分析。

所有的数据均为5次重复的平均值±标准误差,利用Origin 8软件(美国Origin Lab公司)对96 h的 A_{WCD} 值进行统计分析和作图。统计方法采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行检验,并进行Fisher最小显著差数法(LSD)多重比较($P < 0.05$)。采用双因素方差分析(two-way ANOVA)分析土壤×放牧处理之间相互作用的影响,利用SPSS 16.0进行主成分分析^[14]。

2 结果与分析

2.1 不同放牧强度下土壤部分化学性质的变化

由表1可知:放牧对2种土壤中的有机质、全磷、碱解氮、速效钾和pH值具有极显著影响,对全氮和全钾具有显著影响。放牧特别是重度放牧后,NRS土壤中各养分质量分数均显著增加,pH值显著下降;ARS土壤中有机质和其他养分质量分数均显著增加,重度放牧后,有机质、全氮、全磷、碱解氮、速效磷和速效钾与对照相比分别增加20.0%,29.1%,17.7%,13.0%,3.4%和6.7%,但pH值显著降低,重度放牧后呈弱碱性;相同放牧处理下ARS土壤各养分质量分数均显著高于NRS土壤,pH值明显低于NRS土壤。

2.2 不同放牧强度下土壤微生物的组成

不同放牧强度下2类土壤中微生物的总量、主要类群数量差异显著(图1),微生物总量以LG-ARS和ck-ARS最高,分别为 24.6×10^6 个(cfu)·g⁻¹和 20.4×10^6 个(cfu)·g⁻¹,显著高于其他处理组。三大类异养微生物数量在各土壤微生物组成中均以细菌类群占绝对优势,但细菌、真菌、放线菌间的组成比例差异较大,其中细菌占微生物总数88%~95%,放线菌其次,占微生物总数的3%~12%,真菌最少。放牧后NRS土壤中细菌、真菌数量显著下降,而ARS土壤中真菌数量增加显著,且显著高于NRS,细菌数

表 1 不同放牧强度下土壤化学性质

Table 1 Soil chemical properties under different grazing intensity

土壤类型	处理	有机质/ (g·kg ⁻¹)	全氮/ (g·kg ⁻¹)	全磷/ (g·kg ⁻¹)	全钾/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮/ (mg·kg ⁻¹)	速效磷/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾/ (mg·kg ⁻¹)	pH 值
冷蒿根际土壤	对照	15.63±0.52 B	1.03±0.10 B	0.34±0.01 B	1.14±0.02 B	96.12±6.74 C	1.17±0.04 B	21.22±0.08 B	8.05±0.10 A
	轻度放牧	20.11±1.07 A	1.46±0.06 A	0.41±0.03 A	1.20±0.01 A	141.28±3.87 A	1.06±0.08 B	20.86±0.22 B	7.97±0.03 A
	重度放牧	18.75±0.61 A	1.33±0.02 A	0.40±0.02 A	1.14±0.02 B	108.62±2.86 B	1.21±0.04 A	22.65±0.31 A	7.77±0.04 B
变异来源	组间(df ₁ =2)	31.744	0.293	0.010	0.008	3 263.014	0.033	5.387	0.124
	组内(df ₂ =12)	3.550	0.029	0.003	0.002	137.298	0.022	0.307	0.024
冷蒿非根际土壤	对照	14.20±0.08 ab	0.93±0.06 b	0.33±0.02 ab	1.14±0.01 b	64.62±6.29 a	0.37±0.04 b	14.03±0.08 c	8.43±0.04 a
	轻度放牧	12.75±0.83 b	1.02±0.10 ab	0.31±0.01 b	1.19±0.04 a	73.45±2.03 a	0.58±0.08 a	15.52±0.10 b	8.14±0.02 c
	重度放牧	15.79±0.86 a	1.11±0.04 a	0.36±0.02 a	1.13±0.02 b	72.37±3.68 a	0.65±0.15 a	16.11±0.04 a	8.31±0.09 b
变异来源	组间(df ₁ =2)	13.871	0.050	0.012	0.006	139.222	0.129	6.913	0.129
	组内(df ₂ =12)	2.874	0.030	0.002	0.004	114.456	0.061	0.034	0.020
P: F _s		*	**	ns	ns	**	**	**	**
	P: F _g	**	*	**	*	**	ns	**	**
	P: F _s ×F _g	**	*	*	ns	**	ns	**	*

说明：数值均为平均值±标准误(n=6)。根据 LSD 测验(P<0.05)，不同大写字母表示冷蒿根际土壤的差异显著性，不同小写字母表示冷蒿非根际土壤的差异显著性。F_s 为土壤类型的影响；F_g 为放牧的影响；F_s×F_g 为土壤类型与放牧的交互作用。* 为 P<0.05；** 为 P<0.01；*** 为 P<0.001；ns 为不显著。

量在轻度放牧后显著增加，重度放牧后下降。

2.3 土壤微生物群落代谢活性的变化

图 2 为土壤微生物群落代谢活性(A_{wcd})随培养时间的变化曲线：在培养初始的 24 h 内土壤微生物活性较低，24 h 后 A_{wcd} 值快速增长，168 h 时各处理的 A_{wcd} 值均达到最大，利用碳源能力的顺序为 LG-ARS>ck-ARS>ck-NRS>LG-NRS>HG-ARS>HG-NRS，平均值分别为 0.999，0.918，0.861，0.769，0.695，0.310；相同牧压下 ARS 土壤微生物的 A_{wcd} 值均显著高于 NRS，对照、轻度和重度放牧后 A_{wcd} 值分别是 NRS 的 1.07 倍、1.30 倍和 2.24 倍。

2.4 土壤微生物对不同类型碳源利用强度分析

放牧强度不同，土壤微生物对不同种类碳源利用强度存在显著差异(表 2)；冷蒿根际土壤中，轻度放牧可增加微生物对不同种类碳源的利用能力，碳源代谢的优势群落与对照相同，依次为糖类>氨基

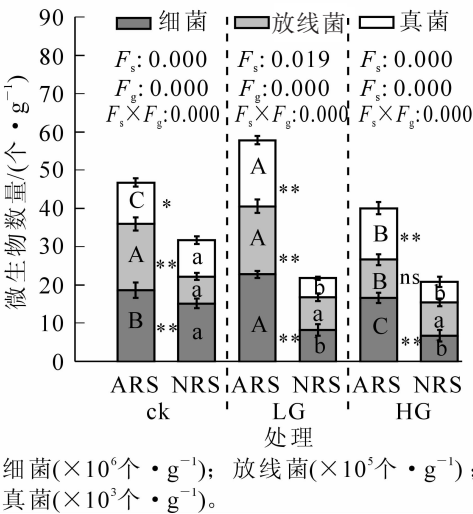


图 1 不同放牧强度下土壤微生物种群密度
Figure1 Soil microbial population density under different grazing intensity

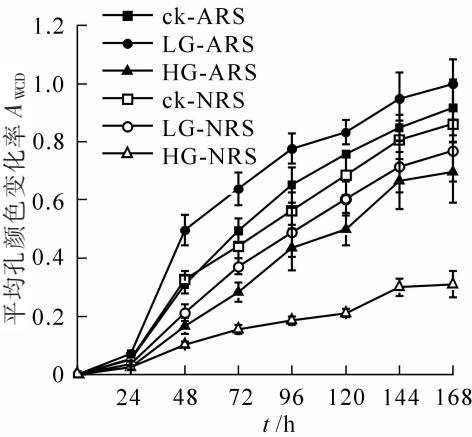


图 2 不同放牧强度下土壤微生物群落 A_{wcd} 随培养时间的变化
Figure 2 A_{wcd} changes with incubation time of soil microbial under different grazing intensity

酸>羧酸>聚合物>胺类>酚酸代谢群落，土壤微生物群落结构稳定；重度放牧后，微生物对各类碳源的利用率显著下降，优势群落发生改变；冷蒿非根际土壤中，放牧强度增强，土壤微生物对不同种类碳源利用率变化较大，未显示一定的规律性，土壤微生物群落功能多样性变化很大，不稳定。

表 2 不同放牧强度下土壤微生物群落对 6 类碳源的利用(96 h)

Table 2 Effect of soil microbial on the ability to utilize six types carbon source under different grazing intensity (96 h)							
土壤类型	处理	糖类	氨基酸类	羧酸类	聚合物类	胺类	酚酸类
冷蒿根 际土壤	对照	0.250 ± 0.023 A	0.133 ± 0.012 B	0.103 ± 0.010 B	0.072 ± 0.007 B	0.046 ± 0.004 B	0.047 ± 0.004 B
	轻度放牧	0.240 ± 0.016 A	0.192 ± 0.012 A	0.133 ± 0.009 A	0.085 ± 0.006 A	0.089 ± 0.006 A	0.039 ± 0.003 C
	重度放牧	0.102 ± 0.019 B	0.107 ± 0.01 9 C	0.065 ± 0.013 C	0.090 ± 0.016 A	0.009 ± 0.002 C	0.064 ± 0.011 A
变异 来源	组间($df_1=2$)	0.082	0.023	0.014	9.628×10 ⁻⁴	0.019	0.002
	组内($df_2=15$)	0.005	0.003	0.001	0.001	2.089×10 ⁻⁴	5.153×10 ⁻⁴
冷蒿非根 际土壤	对照	0.238 ± 0.026 a	0.010 ± 0.011 b	0.115 ± 0.013 a	0.066 ± 0.007 b	0.038 ± 0.004 b	0.008 ± 0.001 b
	轻度放牧	0.075 ± 0.014 b	0.149 ± 0.025 a	0.088 ± 0.016 b	0.107 ± 0.018 a	0.037 ± 0.006 c	0.033 ± 0.006 a
	重度放牧	0.017 ± 0.002 c	0.050 ± 0.004 c	0.031 ± 0.003 c	0.035 ± 0.003 c	0.044 ± 0.003 a	0.008 ± 0.001 b
变异 来源	组间($df_1=2$)	0.158	0.030	0.022	0.016	1.758×10 ⁻⁴	0.002
	组内($df_2=15$)	0.003	0.003	0.002	0.001	2.391×10 ⁻⁴	1.403×10 ⁻⁴
	$P: F_s$	**	**	**	**	**	**
	$P: F_g$	**	**	**	**	**	**
	$P: F_s \times F_g$	**	ns	**	**	**	**

2.5 土壤微生物群落功能多样性指数分析

随放牧强度的增加，冷蒿根际和非根际土壤微生物的 4 种指数均显著降低(表 3)。Shannon 指数和碳源利用丰富度指数表明放牧降低微生物群落功能多样性，减少碳源的利用数目，而冷蒿根际土壤微生物种类多且较均匀，利用的碳源数量较多；冷蒿根际土壤的 Simpson 指数显著高于非冷蒿根际，表明冷蒿能够显著提高优势菌的数量，削弱放牧对常见微生物物种的不良影响；LG-ARS 和 HG-ARS 的 McIntosh 指数显著高于 LG-NRS 和 HG-NRS，说明 LG-ARS 和 HG-ARS 的土壤微生物种类更为丰富，碳源利用程度较高；重度放牧后 McIntosh 指数最低，表明过度放牧会降低土壤微生物种类丰富度和碳源利用程度。

表 3 不同放牧强度下土壤微生物群落功能多样性指数比较(96 h)

Table 3 Functional diversity indices for soil microbial community under different grazing intensity (96 h)					
土壤类型	处理	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数	丰富度指数
冷蒿根际 土壤	对照	3.248 ± 0.005 A	0.958 ± 0.000 A	0.133 ± 0.012 A	25.60 ± 1.52 A
	轻度放牧	3.104 ± 0.007 B	0.948 ± 0.000 B	0.178 ± 0.011 B	22.60 ± 0.89 B
	重度放牧	2.839 ± 0.033 C	0.931 ± 0.002 C	0.115 ± 0.020 A	16.60 ± 1.14 C
变异 来源	组间($df_1=2$)	9.129×10 ⁻⁴	0.002	0.011	210
	组内($df_2=15$)	1.899×10 ⁻⁴	9.829×10 ⁻⁶	0.002	17.6
冷蒿非根 际土壤	对照	2.894 ± 0.021 a	0.932 ± 0.001 a	0.147 ± 0.015 a	20.20 ± 0.84 a
	轻度放牧	2.841 ± 0.025 b	0.928 ± 0.001 b	0.131 ± 0.021 a	17.00 ± 1.41 b
	重度放牧	2.595 ± 0.046 c	0.903 ± 0.003 c	0.058 ± 0.004 b	9.00 ± 0.00 c
变异 来源	组间($df_1=2$)	0.254	0.003	0.023	332.8
	组内($df_2=15$)	0.013	4.858×10 ⁻⁵	0.003	10.8
	$P: F_s$	**	**	**	**
	$P: F_g$	**	**	**	**
	$P: F_s \times F_g$	**	**	**	*

2.6 不同放牧强度下土壤微生物碳源利用的主成分分析

运用 SPSS 软件对培养 96 h 测定的 A_{WCD} 数据进行主成分分析, 得到 2 个与土壤微生物利用碳源多样性相关的主成分, 累计贡献率达到 69.3%。其中第 1 主成分(PC1)的方差贡献率为 52.1%, 权重最大, 第 2 主成分(PC2)贡献率为 17.2%。因其他主成分贡献率较小, 因此只用 PC1 和 PC2 得分作图来表征微生物群落碳源代谢特征(图 3)。由图 3 可知: 不同处理在 PC 轴上出现明显的分布差异, HG-ARS 位于 PC1 负方向, 得分系数为-0.308, 其他处理均位于 PC1 正方向, 得分系数为 0.160~1.030; HG-NRS 位于 PC2 负方向, 得分系数为-0.357, 其他处理位于 PC2 正方向, 得分系数范围为 0.300~0.950。可见, 提取的 2 个主成分基本上能够区分不同放牧强度 ARS 和 NRS 土壤类别的微生物群落功能多样性。另外, 将主成分 PC1 和 PC2 的得分系数与 31 种单一碳源做相关性分析, 其中与 PC1 相关的碳源有 16 种, 其中 11 个呈负相关, 主要是糖类、羧酸类和聚合物, 肝糖与 PC1 显著负相关; 5 个呈正相关, 主要是氨基酸类和胺类。与 PC2 相关的碳源有 17 种, 其中 15 种呈正相关, 主要是糖类和羧酸类碳源, L-苯丙氨酸与其相关性显著。可见羧酸类和氨基酸类碳源在主成分分离中具有主要贡献作用。

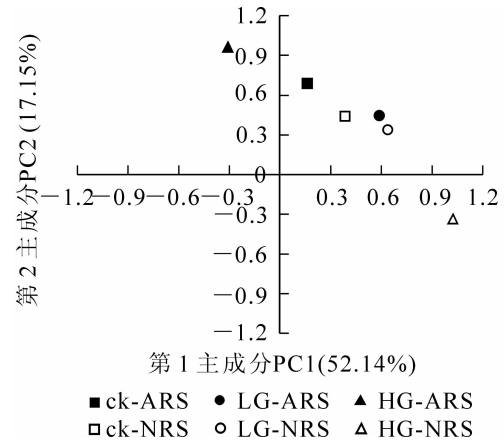


图 3 不同放牧强度下土壤微生物碳源利用类型的主成分分析

Figure 3 Principal components for carbon utilization of soil microbial communities under different grazing intensity

3 讨论

3.1 放牧对冷蒿根际土壤养分的影响

土壤养分是土壤健康状况的重要指标, 放牧对土壤有机质、元素循环产生影响。对中国西藏高原高山草甸^[15]、科尔沁沙漠化草地^[16]、松嫩平原羊草草甸^[17]和玉树隆宝滩地区高寒草甸^[18]的研究中均发现土壤有机质质量分数在放牧后显著降低, 但是 REEDER 等^[19]和 WIENHOLD 等^[20]的研究结果与之相反, 认为放牧能够增加土壤中的有机质等。安慧等^[21]认为放牧过程动物通过粪便将消耗的植物养分大部分返还到土壤中, 增加土壤碳氮输入, 使有机质、氮素和速效钾、速效磷等增加。本研究结果与上述研究结果相似, 放牧后土壤中有有机质、全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效钾和速效磷等增加, 土壤 pH 值下降。同时, 本研究还发现冷蒿根际土壤中有有机质、全氮、碱解氮、速效磷和速效钾等养分显著高于非根际, 而土壤的 pH 值显著低于非根际 ($P < 0.05$), 冷蒿的生长能够有效改善土壤健康状况, 降低放牧对土壤的扰动, 可能是由于冷蒿的生物量、盖度、根茎比与牧压成正比^[22], 较大的根茎比增加了碳素等向地下的分配量^[23], 使得土壤中各化学组分的量增加; 根系分泌大量的酸性物质^[12], 降低土壤 pH 值的同时增加各种元素的溶解性和可被利用性。

3.2 放牧对冷蒿根际土壤微生物数量的影响

关于放牧对草原土壤微生物影响的研究很多, 但结果不一致。WANG 等^[24]在美国佛罗里达州一草地的研究表明, 放牧草地土壤微生物数量显著高于未放牧草地, 停止放牧微生物数量也随之下降; BARDGETT 等^[25]研究表明: 放牧能增加高原草地土壤的微生物量。有更多研究认为, 适度放牧有助于土壤微生物数量的增加, 过度放牧则会导致微生物数量显著降低^[26]。与此类研究结果不同, 本研究中放牧干扰降低了非根际土壤微生物数量, 但冷蒿的生长却使土壤微生物数量在放牧后显著升高, 并且相同放牧强度下, 冷蒿根际微生物的数量均高于非根际(图 1)。表明冷蒿的生长能够降低放牧对土壤微生物产生的干扰, 使土壤微生物能够较正常的生长繁殖, 这可能是冷蒿在放牧后较其他草原植物仍能生长良好引起的。冷蒿被动物践踏破坏顶端优势后, 其半匍匐型枝条生成不定根进行克隆生长^[22,27], 其发达的根系及丰富的根系分泌物能够为土壤微生物提供丰富的生长基质和有利的生存环境, 丰富了土壤微生物的能量来源。另外, 冷蒿地上茎叶部分常释放出具有抑制动物采食、其他牧草种子萌发、幼苗生长和繁衍能力的挥发性物质, 增强冷蒿的生存竞争力^[28-29], 这些特性为构建稳定土壤生态群落提供了坚实基础。

础。冷蒿的良好生长为土壤微生物提供了良好的生存环境以及丰富的碳源,而对非根际土壤微生物来说土壤微环境破坏严重且可用的碳源较少而不能大量繁殖。本研究表明:土壤微生物量与冷蒿的有无具有密切关系,冷蒿能够为微生物提供相对稳定的微生态环境以及相对丰富的土壤养分,降低放牧对土壤的扰动,使土壤微生物量显著升高。

3.3 放牧对冷蒿根际土壤微生物群落功能多样性的影响

本试验采用 Biolog-ECO 板技术对内蒙古典型草原不同放牧强度下冷蒿根际和非根际土壤微生物功能多样性进行了研究,结果显示放牧后土壤微生物活性、4种微生物多样性指数及碳源利用能力均显著下降。导致微生物群落功能多样性下降的可能原因是放牧改变了地表植被多样性,使输入地下的植物残体、根系分泌物成分改变,加之牧畜践踏增强对土壤团聚体及地表的破坏,改变了土壤结构,使土壤微生物生境改变,从而影响土壤微生物的活性及群落多样性。当前,诸多研究证明草地利用、管理条件和植被类型的变化能显著改变土壤微生物群落组成、活性及功能多样性^[30]。张海芳等^[31]对内蒙古贝加尔针茅草原在放牧、刈割和围封等3种不同利用方式下土壤微生物功能多样性进行研究,发现放牧后土壤微生物代谢活性降低,但功能多样性增强;刈割与放牧方式下微生物群落碳源利用情况及代谢功能相似,而围封土壤微生物群落代谢活性最高,碳源利用模式及代谢强度也不同于放牧和刈割。李玉洁等^[32]认为随着休牧年限增加,贝加尔针茅草原土壤微生物的代谢功能增强,数量增大;毕江涛等^[33]研究荒漠草原5种不同植被类型土壤微生物活性、主要利用碳源类型、群落功能多样性均存在显著差异。可见,植物根际土壤微生物多样性不仅随着利用方式改变,还随着植物类型改变,具有很强的植物种的特异性。

本研究还发现:不同放牧强度处理下冷蒿根际土壤微生物活性、碳源利用能力及功能多样性等都高于非根际土壤。主成分分析表明:对照和轻度放牧后冷蒿根际与非冷蒿根际土壤差异不显著,重度放牧后两者差异显著,羧酸类和氨基酸类碳源在分异中起重要作用,植被类型和多样性的改变影响微生物的碳源利用,尤其体现在对这两类碳源的利用上^[34-35]。其中羧酸类和氨基酸类碳源是根系分泌物的主要成分,分别与植物抗胁迫和土壤养分有效性有关^[36]。根际土壤与非根际土壤微生物之间的差异与植物凋落物和根系分泌物息息相关,植物凋落物和根系分泌物是土壤微生物生长基质和有利环境的提供者。而不同植物的凋落物和根系分泌物化学组分差异很大^[37],是植被类型影响土壤微生物活性及功能类群的主要推进力量^[38]。王纳纳等^[10]对内蒙古草原典型植物对土壤微生物群落影响的研究发现,植物不同土壤微生物群落组成不同,并且土壤微生物群落结构在根际和非根际间的差异大于不同物种间的差异,说明植物根际和非根际土壤性质和微生物群落功能多样性存在巨大不同。杨阳等^[7]对宁夏荒漠草原不同植物根际与非根际微生物量分布特征的研究也发现,长芒草 *Stipa bungeana*, 蒙古冰草 *Agropyron mongolicum*, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 等6种地带性优势植物根际土壤微生物量显著高于非根际土壤。滕应等^[39]发现矿区土壤根际微生物数量、群落功能多样性、碳源利用类型及群落结构因种植牧草种类不同而发生相应变化,且根际土壤微生物代谢活性均显著高于非根际土壤。

4 结论

本研究结果表明:放牧处理后,在冷蒿根际和非根际土壤化学性质、微生物量、群落结构和代谢功能上存在不同程度的差异。冷蒿根际土壤微生物量、代谢活性、碳源利用能力和多样性指数均高于非根际。LG-ARS 微生物代谢活性最高,ck-ARS 微生物多样性指数最高,对31种碳源利用最强,而HG-NRS 微生物多样性指数均最低。冷蒿根际土壤微生物优势代谢群落为糖类、氨基酸类和羧酸类,相对稳定,而非根际优势代谢群落变化较大,不稳定。放牧处理后,冷蒿根际土壤pH值均低于pH 8.0,土壤养分均高于非根际。总之,冷蒿的“纯植株丛”生长方式能够改善土壤微环境,增加其根际土壤微生物群落功能多样性,从而增强抵抗放牧胁迫的能力,成为草场的优势群落。

5 参考文献

- [1] SHAN Yumei, CHEN Dima, GUAN Xuanxuan, *et al.* Seasonally dependent impacts of grazing on soil nitrogen mineralization and linkages to ecosystem functioning in Inner Mongolia grassland [J]. *Soil Bio Biochem*, 2011, 43(9): 1943 - 1954.

- [2] BACH E M, BAER S G, MEYER C K, *et al.* Soil texture affects soil microbial and structural recovery during grassland restoration [J]. *Soil Bio Biochem*, 2010, **42**(12): 2182 – 2191.
- [3] 于翠, 胡兴明, 李欣, 等. 3 种土壤类型桑园根际与非根际微生物种群结构及代谢功能多样性分析[J]. 蚕业科学, 2015, **41**(1): 28 – 36.
- YU Cui, HU Xingming, LI Xin, *et al.* Microbial community structure and metabolic function diversity between rhizospheric and non-rhizospheric soil in three types of mulberry fields [J]. *Sci Seric*, 2015, **41**(1): 28 – 36.
- [4] 耿增超, 孟令军, 刘建军. 普通鹿蹄草品质与根际和非根际土壤的关系[J]. 生态学报, 2014, **34**(4): 973 – 982.
- GENG Zengchao, MENG Lingjun, LIU Jianjun. The relationship between selected rhizosphere and non-rhizosphere soil properties and the quality of *Pyrola decorata* [J]. *Acta Ecol Sin*, 2014, **34**(4): 973 – 982.
- [5] 孟令军, 耿增超, 殷金岩, 等. 秦岭太白山区 6 种中草药根际与非根际土壤化学性质及酶活性[J]. 应用生态学报, 2012, **23**(10): 2685 – 2692.
- MENG Lingjun, GENG Zengchao, YIN Jinyan, *et al.* Chemical properties and enzyme activities of rhizosphere and non-rhizosphere soils under six Chinese herbal medicines on Mt. Taibai of Qinling Mountains, northwest China [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2012, **23**(10): 2685 – 2692.
- [6] 朱秋莲, 邢肖毅, 程曼, 等. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤碳、氮形态[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(4): 983 – 988.
- ZHU Qiulian, XING Xiaoyi, CHENG Man, *et al.* Concentrations of different carbon and nitrogen fractions in rhizosphere and non-rhizosphere soils of typical plant species in mountainous area of southern Ningxia, northwest China [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2013, **24**(4): 983 – 988.
- [7] 杨阳, 刘秉儒. 荒漠草原不同植物根际与非根际土壤养分及微生物量分布特征[J]. 生态学报, 2015, **35**(22): 7562 – 7570.
- YANG Yang, LIU Bingru. Distribution of soil nutrient and microbial biomass in rhizosphere versus non-rhizosphere area of different plant species in desertified steppe [J]. *Acta Ecol Sin*, 2015, **35**(22): 7562 – 7570.
- [8] 邱权, 李吉跃, 王军辉, 等. 西宁南山 4 种灌木根际和非根际土壤微生物、酶活性和养分特征[J]. 生态学报, 2014, **34**(24): 7411 – 7420.
- QIU Quan, LI Jiyue, WANG Junhui, *et al.* Microbes, enzyme activities and nutrient characteristics of rhizosphere and non-rhizosphere soil under four shrubs in Xining Nanshan, Prefecture, China [J]. *Acta Ecol Sin*, 2014, **34**(24): 7411 – 7420.
- [9] 安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性[J]. 生态学报, 2011, **31**(18): 5225 – 5234.
- AN Shaoshan, LI Guohui, CHEN Liding. Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non-rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Ningxia [J]. *Acta Ecol Sin*, 2011, **31**(18): 5225 – 5234.
- [10] 王纳纳, 陈颖, 应娇妍, 等. 内蒙古草原典型植物对土壤微生物群落的影响[J]. 植物生态学报, 2014, **38**(2): 201 – 208.
- WANG Nana, CHEN Ying, YING Jiaoyan, *et al.* Effects of typical plant on soil microbial communities in an Inner Mongolia grassland [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2014, **38**(2): 201 – 208.
- [11] 孙英杰, 李衍青, 赵爱芬, 等. 科尔沁沙地沙漠化恢复过程中冷蒿种群的扩散对策研究[J]. 草业学报, 2014, **23**(1): 3 – 11.
- SUN Yingjie, LI Yanqing, ZHAO Aifen, *et al.* Research on the spread strategy of *Artemisia frigida* populations during the desertification recovery process in Horqin sandy land [J]. *Acta Pratac Sin*, 2014, **23**(1): 3 – 11.
- [12] 刘娜娜, 田秋英, 张文浩. 内蒙古典型草原优势种冷蒿和克氏针茅对土壤低磷环境适应策略的比较[J]. 植物生态学报, 2014, **38**(9): 905 – 915.
- LIU Nana, TIAN Qiuying, ZHANG Wenhao. Comparison of adaptive strategies to phosphorus-deficient soil between dominant species *Artemisia frigida* and *Stipa krylovii* in typical steppe of Nei Mongol [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2014, **38**(9): 905 – 915.
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 21 – 142.
- [14] STEFANOWICZ A. The Biolog plates technique as a tool in ecological studies of microbial communities [J]. *Pol J*

- Environ Stud*, 2006, **15**(5): 669 – 676.
- [15] WU Gaolin, LIU Zhenheng, LEI Zhang, *et al.* Long-term fencing improved soil properties and soil organic carbon storage in an alpine swamp meadow of western China [J]. *Plant Soil*, 2010, **332**(1/2): 331 – 337.
- [16] 陈银萍, 李玉强, 赵学勇, 等. 放牧与围封对沙漠化草地土壤轻组及全土碳氮储量的影响[J]. 水土保持学报, 2010, **24**(4): 182 – 186.
- CHEN Yinping, LI Yuqiang, ZHAO Xueyong, *et al.* Light fraction and total organic carbon and nitrogen stores in desertified sandy grassland soil as affected by grazing and livestock exclusion [J]. *J Soil Water Conserv*, 2010, **24**(4): 182 – 186.
- [17] WANG Yuhui, ZHOU Guangsheng, JIA Bingrui. Modeling SOC and NPP responses of meadow steppe to different grazing intensities in northeast China [J]. *Ecol Model*, 2008, **217**(s1/2): 72 – 78.
- [18] 李凤霞, 李晓东, 周秉荣, 等. 放牧强度对三江源典型高寒草甸生物量和土壤理化特征的影响[J]. 草业科学, 2015, **32**(1): 11 – 18.
- LI Fengxia, LI Xiaodong, ZHOU Bingrong, *et al.* Effects of grazing intensity on biomass and soil physical and chemical characteristics in alpine meadow in the source of three rivers [J]. *Pratac Sci*, 2015, **32**(1): 11 – 18.
- [19] REEDER J D, SCHUMAN G E. Influence of livestock grazing on C sequestration in semi-arid mixed-grass and short-grass rangelands [J]. *Environ Pollut*, 2002, **116**(3): 457 – 463.
- [20] WIENHOLD B J, HENDRICKSON J R, KARN J F. Pasture management influences on soil properties in the Northern Great Plains [J]. *J Soil Water Conserv*, 2001, **56**(1): 27 – 31.
- [21] 安慧, 李国旗. 放牧对荒漠草原植物生物量及土壤养分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, **19**(3): 705 – 712.
- AN Hui, LI Guoqi. Effects of grazing on plant biomass and soil nutrient in desert steppe [J]. *J Plant Nutr Fert*, 2013, **19**(3): 705 – 712.
- [22] 李金花, 李镇清. 不同放牧强度下冷蒿、星毛委陵菜的形态可塑性及生物量分配格局[J]. 植物生态学报, 2002, **26**(4): 435 – 440.
- LI Jinhua, LI Zhenqing. Clonal morphological plasticity and biomass allocation pattern of *Artemisia frigida* and *Potentilla acaulis* under different grazing intensities [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 2002, **26**(4): 435 – 440.
- [23] 高英志, 韩兴国, 汪诗平. 放牧对草原土壤的影响[J]. 生态学报, 2004, **24**(4): 790 – 797.
- GAO Yingzhi, HAN Xingguo, WANG Shiping. The effects of grazing on grassland soils [J]. *Acta Ecol Sin*, 2004, **24**(4): 790 – 797.
- [24] WANG K H, McSORLEY R, BOHLEN P, *et al.* Cattle grazing increases microbial biomass and alters soil nematode communities in subtropical pastures [J]. *Soil Bio Biochem*, 2006, **38**(7): 1956 – 1965.
- [25] BARDGETT R D, HOBBS P J, FROSTEGÅRD Å. Changes in soil fungal: bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland [J]. *Biol Fert Soil*, 1996, **22**(3): 261 – 264.
- [26] 谭红妍, 闫瑞瑞, 闫玉春, 等. 不同放牧强度下温性草甸草原土壤生物性状及与地上植被的关系[J]. 中国农业科学, 2014, **47**(23): 4658 – 4667.
- TAN Hongyan, YAN Ruirui, YAN Yuchun, *et al.* The relationship between temperate meadow steppe soil's biological properties and aboveground vegetation under different grazing intensities [J]. *Sci Agric Sin*, 2014, **47**(23): 4658 – 4667.
- [27] 杨持, 宝音陶格涛, 李良. 冷蒿种群在不同放牧强度胁迫下构件的变化规律[J]. 生态学报, 2001, **21**(3): 405 – 408.
- YANG Chi, BAO Yintaotetao, LI Liang. Variation of module of *Artemisia frigida* population under different grazing intensities [J]. *Acta Ecol Sin*, 2001, **21**(3): 405 – 408.
- [28] 张汝民, 王玉芝, 侯平, 等. 几种牧草幼苗对冷蒿茎叶水浸提液的化感作用的生理响应[J]. 生态学报, 2010, **30**(8): 2197 – 2202.
- ZHANG Rumin, WANG Yuzhi, HOU Ping, *et al.* Physiological responses to allelopathy of aquatic stem and leaf extract of *Artemisia frigida* in seedling of several pasture plants [J]. *Acta Ecol Sin*, 2010, **30**(8): 2197 – 2202.
- [29] ZHANG Rumin, ZHANG Wenguang, ZUO Zhaojiang, *et al.* Inhibition effects of volatile organic compounds from *Artemisia frigida* Willd. on the pasture grass intake by lambs [J]. *Small Rumin Res*, 2014, **11**(2/3): 248 – 254.

- [30] DENEK K, ROOBROECK D, WADU M C W M, *et al.* Microbial community composition and rhizodeposit-carbon assimilation in differently managed temperate grassland soils [J]. *Soil Bio Biochem*, 2009, **41**(1): 144 – 153.
- [31] 张海芳, 李刚, 宋晓龙, 等. 内蒙古贝加尔针茅草原不同利用方式土壤微生物功能多样性[J]. 生态学杂志, 2012, **31**(5): 1143 – 1149.
- ZHANG Haifang, LI Gang, SONG Xiaolong, *et al.* Functional diversity of microbial communities in *Stipa baicalensis* steppe in Inner Mongolia as affected by different land use patterns [J]. *Chin J Ecol*, 2012, **31**(5): 1143 – 1149.
- [32] 李玉洁, 李刚, 宋晓龙, 等. 休牧对贝加尔针茅草原土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 草业学报, 2013, **22**(6): 21 – 30.
- LI Yujie, LI Gang, SONG Xiaolong, *et al.* Effect of rest-grazing on soil microbial community functional diversity in *Stipa baicalensis* steppe [J]. *Acta Pratac Sin*, 2013, **22**(6): 21 – 30.
- [33] 毕江涛, 贺达汉, 沙月霞, 等. 荒漠草原不同植被类型土壤微生物群落功能多样性[J]. 干旱地区农业研究, 2009, **27**(5): 149 – 155.
- BI Jiangtao, HE Dahan, SHA Yuexia, *et al.* Functional diversity of soil microbial community under different types of vegetation in the desert grassland [J]. *Agric Res Arid Areas*, 2009, **27**(5): 149 – 155.
- [34] 吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 等. 武夷山自然保护区不同植被类型土壤微生物群落特征[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(8): 2301 – 2309.
- WU Zeyan, LIN Wenxiong, CHEN Zhifang, *et al.* Characteristics of soil microbial community under different vegetation types in Wuyishan National Nature Reserve, East China [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2013, **24**(8): 2301 – 2309.
- [35] 吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 等. 中亚热带森林土壤微生物群落多样性随海拔梯度的变化[J]. 植物生态学报, 2013, **37**(5): 397 – 406.
- WU Zeyan, LIN Wenxiong, CHEN Zhifang, *et al.* Variations of soil microbial community diversity along an elevational gradient in mid-subtropical forest [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2013, **37**(5): 397 – 406.
- [36] 董艳, 董坤, 汤利, 等. 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系[J]. 生态学报, 2013, **33**(23): 7445 – 7454.
- DONG Yan, DONG Kun, SHANG Li, *et al.* Relationship between rhizosphere microbial community functional diversity and faba bean fusarium wilt occurrence in wheat and faba bean intercropping system [J]. *Acta Ecol Sin*, 2013, **33**(23): 7445 – 7454.
- [37] ZAK D R, HOLMES W E, WHITE D C, *et al.* Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? [J]. *Ecology*, 2003, **84**(8): 2042 – 2050.
- [38] 蒋婧, 宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用[J]. 植物生态学报, 2010, **34**(8): 979 – 988.
- JIANG Jing, SONG Minghua. Review of the roles of plants and soil microorganisms in regulating ecosystem nutrient cycling [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2010, **34**(8): 979 – 988.
- [39] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. 中国环境科学, 2003, **23**(3): 72 – 76.
- TENG Ying, HUANG Changyong, LONG Jian, *et al.* Functional diversity of microbial community in herbage rhizosphere of reclaimed red soils [J]. *Chin Environ Sci*, 2003, **23**(3): 72 – 76.