

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2021.Z1.004

模拟增温对高寒草地土壤原核生物群落组成及多样性影响

姚世庭¹, 芦光新^{1*}, 邓 晔^{2,3}, 范月君^{4*}, 周华坤⁴, 党 宁¹, 王英成¹, 张海娟¹, 颜琿璘¹
(1. 青海大学农牧学院, 青海 西宁 810016; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 中国科学院环境生物技术重点实验室, 北京 100085; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省寒区恢复生态学重点实验室, 青海 西宁 810001)

摘要:全球变暖成为目前关注的热点话题,而微生物对环境变化的反馈对研究全球变暖具有重要意义,本文通过对青藏高原高寒草地土壤原核生物群落组成、多样性与环境因子进行相关性分析,研究不同的环境因子与土壤原核生物群落结构的关系,旨在揭示土壤原核生物群落与全球变暖的关系,为预测全球变暖将如何改变生态系统功能做铺垫。结果表明:温度增加会使原核生物群落 α 多样性和丰富度降低;模拟增温处理下土壤原核生物群落以变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、奇古菌门(Thaumarchaeota)等为主要优势菌门;模拟增温处理对原核生物群落结构没有显著的影响;铵态氮、植株高度、物种数是主要影响原核群落结构的因子。

关键词:模拟增温;原核生物;多样性;相关性分析

中图分类号:Q938.1+3

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2021)Z1-0027-08

Effects of Simulated Warming on the Composition and Diversity of Soil Prokaryotic Communities in Alpine Grasslands

YAO Shi-ting¹, LU Guang-xin^{1*}, DENG Ye^{2,3}, FAN Yue-jun^{4*}, ZHOU Hua-kun⁴,
DANG Ning¹, WANG Ying-cheng¹, ZHANG Hai-juan¹, YAN Hui-lin¹

(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai Province 810016, China; 2. Research Center for Ecological Environment, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Qinghai Provincial Key Laboratory of Restoration Ecology of Cold Area, Xining, Qinghai Province 810001, China)

Abstract: Global warming has become a hot topic of concern at present, and the feedback of microbes to environmental changes was of great significance to the study of global warming. This article analyzed the correlation between the composition, diversity and environmental factors of soil prokaryotic communities in the alpine grasslands on the Qinghai-Tibet Plateau. The relationship between different environmental factors and the structure of soil prokaryotic communities would help to reveal how soil prokaryotic communities respond to global warming, and to pave the way for predicting how global warming will change ecosystem functions. The results showed that: Simulated warming reduced the alpha diversity and richness of the prokaryotic community; The soil prokaryotic communities under simulated warming treatment were mainly composed of the main dominant phyla of Proteobacteria, Actinobacteria, and acid. Acidobacteria, Thaumarchaeota, etc.; Simulated warming treatment had no significant effect on the structure of the prokaryotic community; Ammonium nitrogen, plant height, and the number of species were the main influencing factors affecting prokaryotic community structure.

Key words: Simulated warming; Prokaryotic; Biodiversity; Correlation analysis

收稿日期:2021-02-23;修回日期:2021-04-05

基金项目:青海省寒区恢复生态学重点实验室开放课题(2011-3);高寒草地土壤微生物漆酶基因多样性及其对土壤有机质转化机理的研究(31860103)资助

作者简介:姚世庭(1995-),女,青海乐都人,博士研究生,主要从事高寒草地微生物多样性及功能利用的研究, E-mail: 2317523428@qq.com; * 通信作者 Author for correspondence, E-mail: lugx74@qq.com; fanyuejun_79@163.com

以气候变暖为主要特征的全球气候变化影响着生态系统的稳定性^[1],同时也严重威胁着人类的生存和社会经济的可持续发展。青藏高原是世界上海拔最高、面积最大、类型最为独特的高寒草甸生态系统,属于典型的生态脆弱区^[2]。土壤微生物群落是陆地生态系统中重要组成部分。微生物虽小,但在草地生态系统的土壤养分循环和能量转换中起着关键作用^[3]。土壤微生物包括细菌、放线菌、蓝藻、衣原体、支原体、立克次氏体、古细菌等原核生物和真菌、藻类(蓝藻除外)等^[4]。随着全球温度的升高,土壤微生物的丰富度和多样性也随之发生改变^[5]。土壤温度的升高改变土壤酶活性及土壤分解速率,进而也改变了土壤微生物群落结构及其多样性^[6],微生物群落在很大程度上会受到土壤环境因子如 pH、温度、水分、电导率、土壤碳、氮含量等变化的影响^[8]。土壤原核生物作为土壤微生物中的重要生物群落,在分解和地球化学循环过程中起着至关重要的作用^[7]。

现代分子技术的发展为群落多样性、物种丰度等研究工作提供了基础^[9]。高通量测序具有测序准确率高、耗时短以及信息处理量大等优点。结合生物信息学的数值分析,能科学地表征或预测微生物的群落结构^[10]。16S rRNA 基因普遍存在于细菌和古细菌中,具有多个拷贝数,全长 1 500 bp 左右,其结构由 9 个可变区(Variable region)和 10 个保守区(Conserved region)交替组成。保守区有利于扩增引物的设计,可变区体现了物种间的进化差异。这些特性使 16S rRNA 基因成为原核生物鉴定分类、系统进化以及多样性分析等研究中常用的分子标志物^[11]。本文为探索在全球气候变暖的大背景下原核生物群落对温度变化的响应,通过模拟增温控制试验,采用通用引物对土壤总 DNA 进行高通量测序以分析土壤样品中原核生物多样性,分析讨论了在模拟增温下高寒草地土壤原核生物丰度变化及分析土壤原核生物多样性与环境因子之间的关系。

1 材料与方法

1.1 研究区概况及样地设置

1.1.1 研究区域概况 研究区位于青海省玉树州称多县珍秦镇的青海大学-清华大学三江源草地生态系统监测定位站,地理位置为 33°24'30" N,97°18'00" E,海拔 4 270 m。气候类型属典型大陆性高原高寒气候,气候寒冷,四季不分明。年降水 502.30

mm,主要集中在 6—9 月份,占全年降水量的 72.57%;土壤为高寒草甸土,植被为高寒草甸,存在轻度退化。建群种为高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)、伴生种有青藏薹草(*Carex moorcroftii*)、早熟禾(*Poa pratensis*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、异针茅(*Stipa aliena keng*)、洽草(*Koeleria cristata*)等;其他杂类草有黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)、钉柱萎陵菜(*Potentilla saundersiana*)、兔耳草(*Lagotis ramalana*)等。

1.1.2 模拟增温试验设计 模拟增温试验开始于 2013 年 7 月。采用开顶式气室增温方法,从 2013—2018 年连续增温得到 0~15 cm 年均温度增加 2.50℃,在 15~30 cm 年均温度增加 1.36℃,增温气室由 6 块梯形聚碳酸酯板链接成正六边形棱台体,梯形板下底边长 91.4 cm,上底边长 62.6 cm,斜边长为 62.6 cm,高为 61.0 cm,上底边与斜边的夹角为 103.3°和下底边与斜边的夹角为 76.7°,将下底边以宽度为 5.0 cm 的铝合金条固定,梯形板之间用螺丝固定。试验期内将增温气室底部的铝合金边扎入土中,保证增温小室和地面的密闭性,同时也避免冬季大风吹移。样地所处地点地势平坦,植物群落组成相对均一。为保证试验样地不受干扰和破坏,用围栏封闭,禁止放牧活动,文中用编号 F, M 分别代表增温样地与未增温样地,用 a, b 分别代表 0~15 cm 土层和 15~30 cm 土层, Fa 代表增温 0~15 cm, Fb 代表增温 15~30 cm, Ma 代表不增温 0~15 cm, Mb 代表不增温 15~30 cm。

1.2 样品采集

1.2.1 植物样品采集 在 2013—2018 每年植物生长季(八月上旬)对地上植物指标进行观测,在增温与不增温样地随机选取 0.5 m×0.5 m 的植物样方,每个样地 3 次重复,用卷尺测量样方内所有植物的自然高度 10 次并记录,记录样方内的物种数,用剪刀将每个样方内的植物地上部分齐地面剪下,不同种类的植物分别装进不同的信封袋,并做好标记。现场称量生物量鲜重。

1.2.2 土壤样品采集 使用土钻在样方内采集 0~15 cm(a 层)与 15~30 cm(b 层)土层土样,设三次重复,将标记好的土壤样品放置于车载 4℃冰盒内运输至实验室,去除石子、植物根茎、凋落物等混匀,一份过 2 mm 筛存至 4℃冰箱用于测定土壤理化性质,另一份过 1 mm 存于-80℃超低温冰箱用于微生物分析。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤理化性质 全氮(Total nitrogen, TN)采用凯氏定氮法^[12];全碳(Total carbon, TC)采用重铬酸钾容量法^[13];土壤微生物量碳(Soil microbial biomass carbon, SMBC)采用熏蒸提取-仪器分析法^[14];土壤微生物量氮(Soil microbial biomass nitrogen, SMBN)和土壤硝态氮(Nitrate nitrogen, $\text{NO}_3^- \text{-N}$)采用紫外分光光度法^[15];土壤铵态氮(Ammonium nitrogen, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$)采用靛酚蓝比色法^[16];碱解氮(Alkaline nitrogen, AN)采用碱解扩散法^[17];有机质(Organic matter, OM)采用重铬酸钾氧化-油浴加热法^[18];土壤 pH 值采用电位测定法^[19]。

1.3.2 微生物测定分析 微生物测定方法参考王朱珺等^[20]人的研究方法,用冷冻研磨法从 2 g 土壤中提取微生物群落基因组 DNA,并使用 PowerSoil[®] DNA 分离试剂盒(MOBIO)进行纯化。DNA 质量和浓度是根据用 NanoDrop 分光光度计(Nano-100, Aosheng Instrument Co Ltd.)检测到的 260/280 nm(>1.8)和 260/230 nm(>1.7)的吸光度比评估。对于细菌和古细菌 16S rRNA 基因, V4 区用成对的通用引物 515F 和 806R,结合自行设计的条形码来区分样品。PCR 扩增,扩增子的详细信息纯化,文库制备, Illumina Miseq 测序序列在 (<http://mem.rcees.ac.cn;8080>)处理内部管道中进行与必要的生物信息学工具集成,使用 UPARSE 删除嵌合体并将序列分类为操作分类相似度为 97%的单位(OTU),不丢弃任何单例;获得随机重采样 OTU 表。

1.3.3 环境因子土壤水分、土壤温度、土壤电导率

的测定 在试验样地安装了 HOBO U30 小型自动气象站和基于 CR1000 的土壤三参数分层测量系统,可以连续观测土壤水分、土壤温度、土壤电导率等指标,并且在各处理小区内,分别在地上 30 cm, 15 cm、地表、地下 7.5 cm, 15 cm, 22.5 cm 处安置温湿度自动记录仪探头(onset 公司生产)。

1.4 数据统计与分析

本研究中使用 Microsoft Excel 2010 对各项分析测定数据进行运算,所有测序的原始数据均于中科院生态环境研究中心邓晔研究员课题组的 Galaxy 分析平台 (<http://mem.rcees.ac.cn;8080>)完成。用 DPS 6.55, SPSS 2.0 采用方差分析、最小显著差异法和相关性分析等方法进行数据统计分析,用 origin 2016 软件进行非度量多维尺度分析(Normetric multidimensional scaling analysis, NMDS)和主坐标分析图表绘制。

2 结果与分析

2.1 原核生物多样性分析

2.1.1 土壤微生物优质序列统计 利用高通量测序技术,分析高寒草地不同土壤微生物群落结构多样性,测序剔除不合格序列,所得原核生物有效序列数介于 124 000 到 173 000。通过个体数与物种数来构建稀释性曲线(图 1),反映测序的数据是否合理,样品中物种是否丰富。通过原核生物群落稀释性曲线发现物种的丰富度(Observed species): Mb $>$ Ma $>$ Fb $>$ Fa。

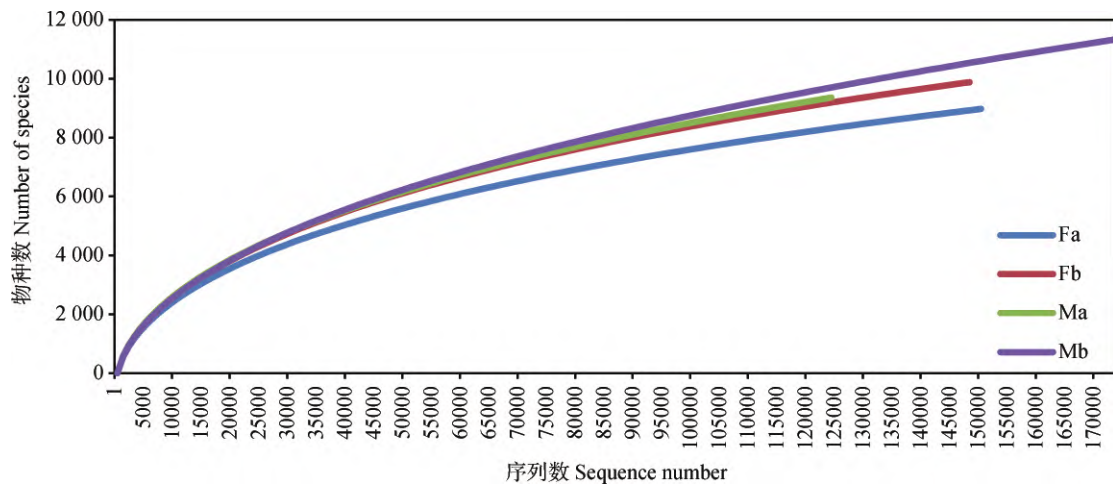


图 1 土壤样品原核生物群落的稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curves for bacterial communities of different soil samples

由表 1 可知,土壤原核生物群落 α 多样性指数,发现香农指数(Shannon index)呈现出: $Ma > Mb > Fb > Fa$; 辛普森指数(Simpson index)呈现出: $Ma > Fb > Mb > Fa$; Chao1 指数呈现: $Ma > Fb > Mb >$

Fa ; 但是差异不显著。说明增温对原核生物群落多样性及群落丰富度的影响不高,可能是因为增温年限不够温度还未达到使其微生物多样性变化的高度。

表 1 原核生物群落 Alpha 多样性指数特征

Table 1 Characteristics of alpha diversity indexes of bacterial communities

编号 Numbering	土壤样品 Soil sample	香农 Shannon	辛普森 Simpson	Chao1 指数
Fa	0~15 cm	6.64±0.18 ^a	165.86±70.71 ^a	8 062.87±1 417.41 ^a
Fb	15~30 cm	6.78±1.34 ^a	183.31±70.21 ^a	9 350.91±721.23 ^a
Ma	0~15 cm	6.90±0.13 ^a	262.64±27.45 ^a	8 765.28±2 218.73 ^a
Mb	15~30 cm	6.79±0.14 ^a	181.34±78.31 ^a	10 601.60±3 165.74 ^a

注:表中的值是平均值±标准差,不同的小写字母表示有显著性差异($P < 0.05$),下同

Note: The values in the table are the mean±standard deviation, and different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level, the same as below

2.1.2 土壤微生物群落结构分析 通过测序分析,土壤中原核生物共检测出 31 个门。对最大丰度占比前 11 的物种,做物种相对丰度累加图(图 2),土壤原核生物主要分布为变形菌门(*Proteobacteria* 19.1%~27.1%),放线菌门(*Actinobacteria* 16.8%~25.6%),酸杆菌门(*Acidobacteria* 15.6%~24.9%),奇古菌门(*Thaumarchaeota* 4.9%~12.0%),拟杆菌门(*Bacteroidetes* 3.3%~7.4%),疣微菌门(*Verrucomicrobia*

3.6%~9.7%),*unclassified*(4.4%~6.4%),厚壁菌门(*Firmicutes* 2.5%~6.5%),浮霉菌门(*Planctomycetes* 1.8%~3.6%),芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes* 0.6%~2.0%)。以其中占绝对优势的变形菌门为例进行分析,发现在变形菌门上的丰度表现为: $Mb > Fb > Ma > Fa$ 。并且发现 Fb 表现出在拟杆菌纲上最高的丰度, Ma 表现出在放线菌纲上最高的丰度, Fa 表现出在酸杆菌纲上最高的丰度。

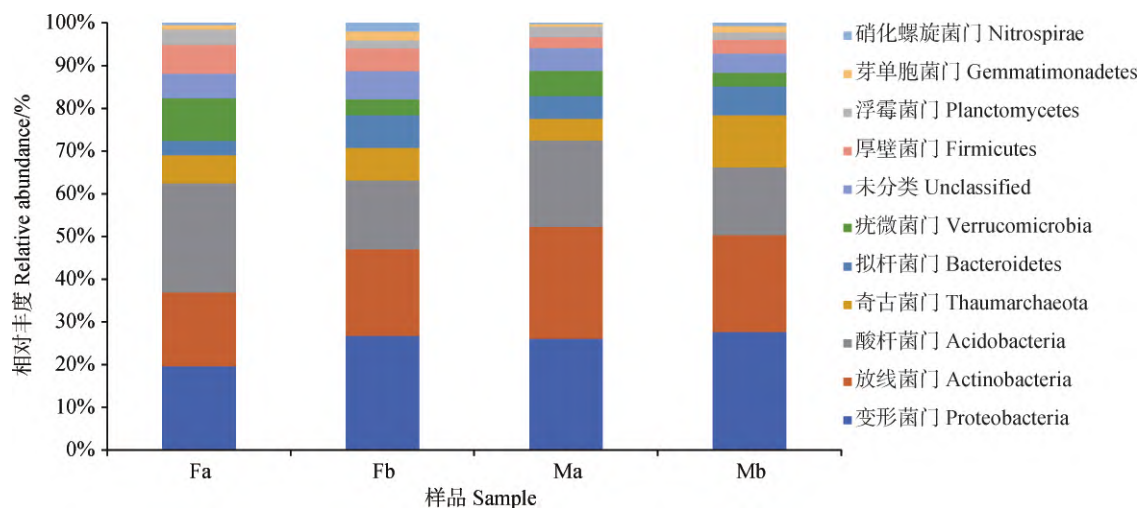


图 2 原核生物群落门水平相对丰度的比较

Fig. 2 Differences in relative abundance of bacterial communities at the phylum level

通过测序分析,土壤中原核生物共检测出 619 个属。在属分类水平上,将丰度占比前 20 的物种进行排序,其余物种合并成 other,做物种相对丰度累加图(图 3),土壤原核生物主要分布为亚硝化螺菌属(*Nitrososphaera* 4.93%~12.01%), Gp4 (4.81%~10.87%), Gp6 (3.14%~7.46%), *Spartobacteria genera incertae sedis* (2.25%~8.67%), *Gaiella* (2.75%~3.98%), 土壤红杆菌属

(*Solirubrobacter* 1.87%~4.65%), Gp16 (0.88%~4.28%), *Bacillus* (1.11%~2.97%), *Conexibacter* (1.13%~2.61%), 节杆菌属(*Arthrobacter* 0.69%~3.00%), 芽单胞菌属(*Gemmatimonas* 0.63%~2.05%), 慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium* 0.82%~1.99%), 类诺卡氏属(*Nocardioides* 0.70%~1.81%), 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* 0.92%~1.30%), 生丝微菌属(*Hyphomicrobium*

0.81%~1.14%),黄杆菌属(*Flavobacterium* 0.17%~1.91%),*Terrimonas*(0.58%~1.37%),硝化螺旋菌属(*Nitrospira* 0.23%~1.96%),Gp7(0.50%~0.84%),others(20.60%~26.86%)但

依然有26.01%~30.69%无法鉴定到属水平上。发现Fa表现出在Gp4上最高的丰度,Ma表现出在*Solirubrobacter*上最高的丰度,Mb表现出在*Nitrososphaera*上最高的丰度。

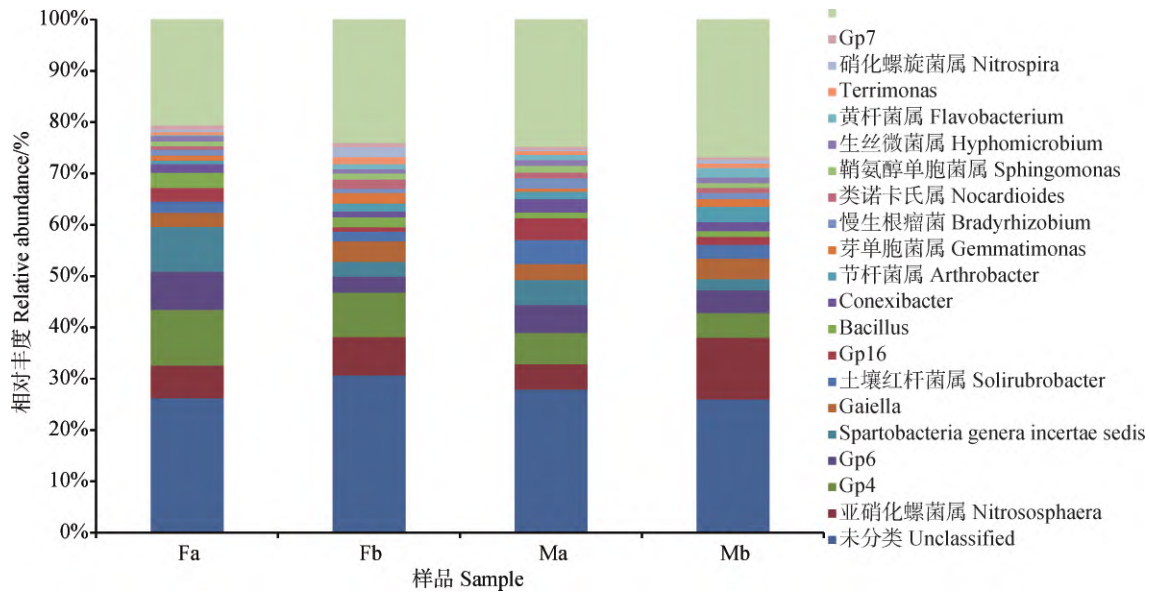


图3 原核生物群落属水平相对丰度的比较

Fig. 3 Comparison of relative abundance of prokaryotic communities at the genus level

2.1.3 非度量多维尺度分析 对Fa(Warming 0~15 cm),Fb(Warming 15~30 cm),Ma(No warming 0~15 cm),Mb(No warming 15~30 cm)四个

不同样进行Bray-Curtis相异系数和Jaccard相似系数差异检测(表2),结果发现原核生物中各组之间差异均不显著。

表2 不同样品相异性检测

Table 2 Dissimilarity test for different samples

相异性检测 Dissimilarity test	原核生物 Prokaryotic			
	Jaccard		Bray	
因子 Factors	F. Model	Pr(>F)	F. Model	Pr(>F)
Fa vs Fb	0.6438	0.2	0.4785	0.2
Fa vs Ma	0.6396	0.4	0.4408	0.2
Fa vs Mb	0.6611	0.2	0.4869	0.3
Fb vs Ma	0.6458	0.3	0.4279	0.1
Fb vs Mb	0.6672	0.4	0.4739	0.6
Ma vs Mb	0.6631	0.5	0.4363	0.3

Bray-Curtis距离主要基于OTUs的计数统计比较两个群落微生物的组成差异,相比于jaccard距离Bray-Curtis则包含了OTUs丰度信息(图4)。不同处理水平下土壤样品原核生物群落组成差异不显著,F和M样品聚集在一起,说明这两个样品的原核生物群落结构组成较为相似。

2.2 微生物多样性指数与土壤环境因子相关性分析
微生物群落组成和分布因为环境因子的影响而呈现出多样性,因此微生物群落的多样性与环境因子

之间存在着一定的相关性。青藏高原高寒草地土壤微生物多样性指数与环境因子的Pearson相关系数分析结果显示(表3),在原核生物群落中,铵态氮、硝态氮、全氮、碱解氮、有机质、微生物量氮、物种数、物种鲜重生物量、土壤温度、土壤含水量与Shannon指数、Simpson指数、Chao1指数、PD指数呈负相关,pH、全碳与Shannon指数、Simpson指数、Chao1指数、PD指数呈正相关,微生物碳与Shannon指数、Chao1指数呈负相关,微生物碳与Simpson指数、PD指数呈显著负相关($P<0.05$)。植被高度Shannon指

数、Simpson 指数、PD 指数呈负相关, 植被高度与

Chao1 指数呈负相关, 土壤电导率与 Shannon 指数、PD 指数呈显著负相关($P < 0.05$)。

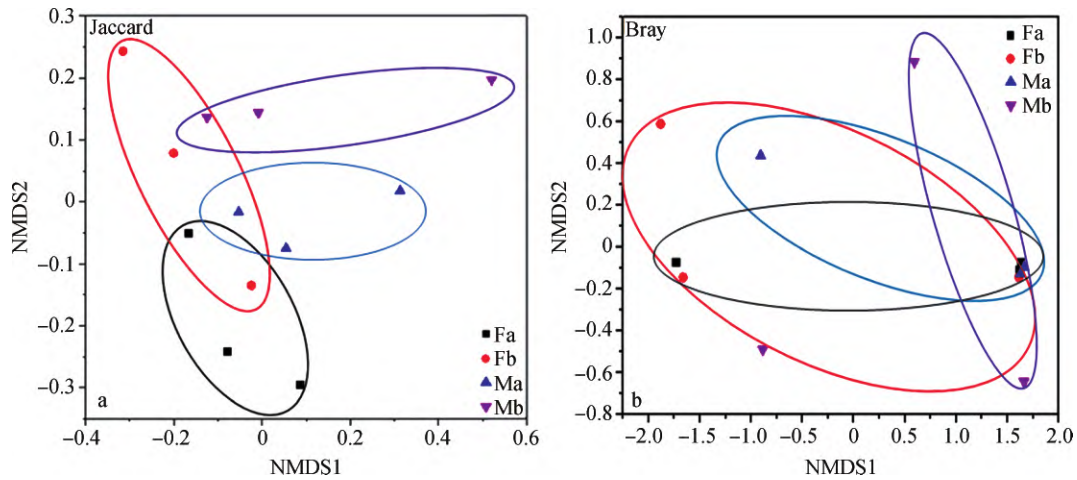


图 4 不同处理土壤原核生物的非度量多维尺度分析

Fig. 4 Non-metric multidimensional scaling analysis of soil bacteria under different treatments

表 3 微生物多样性与土壤环境因子 Pearson 相关系数矩阵

Table 3 Pearson correlation coefficient matrix of microbial diversity and soil environmental factors

Pearson	原核生物 Prokaryotic			
	香农 Shannon	辛普森 Simpson	Chao1 指数	PD 指数
铵态氮 NH_4^+-N	-0.30	-0.389	-0.24	-0.286
硝态氮 NO_3^--N	-0.20	-0.415	-0.53	-0.126
全氮 TN	-0.40	-0.484	-0.09	-0.459
碱解氮 AN	-0.30	-0.491	-0.27	-0.329
有机质 OM	-0.40	-0.450	-0.12	-0.410
酸碱度 pH	0.48	0.600	0.07	0.488
全碳 TC	0.30	0.480	0.29	0.375
微生物量碳 SMBC	-0.50	-0.643*	-0.08	-0.590*
微生物量氮 SMBN	-0.20	-0.354	-0.05	-0.219
高度 HEIGHT	-0.10	-0.111	0.25	-0.116
物种数 S	-0.40	-0.328	-0.29	-0.443
鲜重 FW	-0.50	-0.504	-0.34	-0.436
温度 T	-0.30	-0.345	-0.22	-0.325
土壤含水量 SMC	-0.30	-0.275	-0.27	-0.213
土壤电导率 EC	-0.60*	-0.810**	-0.34	-0.531**

注: * 显著相关($P < 0.05$); ** 极显著相关($P < 0.01$), 下同

Note: * means significant correlation at the 0.05 level ** means significant correlation at the 0.01 level, the same as below

2.3 微生物群落结构与土壤环境因子距离矩阵分析

通过使用 Mantel test 分析(表 4), 发现在原核生物中, 铵态氮、碱解氮、pH 值、全碳、微生物氮、鲜重生物量与 Bray-Curtis 存在显著相关关系

($P < 0.05$), 相关系数分别为 $r = 0.4652$, $r = 0.5017$, $r = 0.2610$, $r = 0.3824$, $r = 0.2657$, $r = 0.3097$, 全碳与 Jaccard 呈显著相关关系($P < 0.05$), 相关系数分别为 $r = 0.3488$ 。

表 4 Mantel test 分析微生物群落结构与土壤环境因子

Table 4 Mantel test analysis of microbial community structure and soil environmental factors

Mental test	原核生物 Prokaryotic			
	r, BC	p, BC	r, JC	p, JC
铵态氮 NH_4^+-N	0.465*	0.011	0.143 5	0.227
硝态氮 NO_3^--N	0.033	0.400	0.013 6	0.425
全氮 TN	0.191	0.103	0.039 8	0.348
碱解氮 AN	0.502**	0.003	0.273 3	0.052
有机质 OM	0.218	0.100	0.046 5	0.345
酸碱度 pH	0.261	0.021	0.094 7	0.201
全碳 TC	0.382**	0.008	0.348 8*	0.021
微生物量碳 SMBC	0.139	0.106	0.065 0	0.244
微生物量氮 SMBN	0.266*	0.033	0.188 8	0.100
高度 HEIGHT	0.135	0.245	0.111 8	0.292
物种数 S	-0.075	0.657	-0.026 1	0.526
鲜重 FW	0.310*	0.014	0.171 8	0.101
温度 T	0.153	0.097	0.069 6	0.225
土壤含水量 SMC	0.098	0.183	0.061 6	0.268
土壤电导率 EC	0.089	0.277	0.229 4	0.129

3 讨论

青藏高原作为全球气候敏感区,在全球变暖的大背景下,植被、土壤、微生物等都发生着直接或间接的影响。土壤微生物多样性作为评价土壤质量的一个重要指标,研究土壤微生物多样性能够促进土壤的可持续利用提高土壤实际应用价值。本研究基于 Illumina 测序技术分析模拟增温后不同土层土壤真菌多样性的改变以及不同土壤环境因子与土壤真菌的相关性。研究发现,模拟增温使原核生物 α 多样性和丰富度降低,但增温之后对优势菌群并无显著影响。优势菌群为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)。与赵义等^[22]大兴安岭多年冻土区和李桥等在黄河三角洲研究发现变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、酸杆菌门优势菌群的结果相似^[24],苏贝贝^[24]和张杰雪等^[25]也在青藏高原高寒草地发现变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、放线菌门等为主要的优势菌群且变形菌门是土壤中丰度最高的细菌类群。非度量多维尺度分析中发现不同处理水平下土壤样品原核生物群落组成差异不显著。一般而言,微生物对于温度变化是及其敏感的,但是在本论文中经过增温后,原核生物没有发生显著改变,原因可能是本试验研究样地玉树州称多县年均温为 -4.8°C ,生长季最高气温可达到 16.77°C ^[27],而原核生物适宜生长温度为 $25^\circ\text{C}\sim 30^\circ\text{C}$ 。增温后温度依旧偏低未能达到使微生物发生改变的阈值,所以原核生物菌群未发生显著变化。目前,增温棚已连续增温 9 年,增温是

一个需要长期监测的过程,目前增温年限还不够长,在未来研究中可能会得出微生物发生质变的结果,还有一个可能原因是微生物发生了变化,但数量较少,未能从量变引起质变。

通过使用 Mental test 分析,发现铵态氮、碱解氮、pH 值、全碳、微生物氮、鲜重生物量是影响原核生物的主要因子^[28-30]。这与王楠等^[31]研究发现土壤 pH 值是构建土壤微生物群落结构的主要驱动力结果一致。土壤环境对微生物生长繁殖影响很大,土壤 pH 值、温湿度及土壤的呼吸方式等都会给微生物生存造成不同程度的影响^[32]。在相似的环境下,微生物群落的结构由植物的类型来确定^[33],正如本文得出植株高度、物种数是影响原核生物群落结构的主要影响因子。通过分析影响原核生物的主导因子,可以得出模拟增温虽然对原核生物的群落组成结构无显著影响,但是可以通过影响环境因子来间接影响原核生物。

4 结论

本研究对青藏高原高寒草地进行模拟增温后,发现对 $0\sim 15\text{ cm}$ 增温了 2.50°C ,对 $15\sim 30\text{ cm}$ 增温了 1.36°C 。但是不同土层下增温与未增温的微生物群落组成差异不大,优势菌群均为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、奇古菌门,但模拟增温后使原核生物 α 多样性和丰富度有所降低。通过分析微生物与环境因子之间的相关关系发现,铵态氮、植株高度、物种数是影响原核群落结构的主要因子。

参考文献

- [1] 肖风劲,徐雨晴,黄大鹏,等. 气候变化对黄河流域生态安全影响及应对策略[J]. 人民黄河,2021,43(1):10-14
- [2] 靳铮,游庆龙,吴芳营,等. 青藏高原三江源地区近 60 a 气候与极端气候变化特征分析[J]. 大气科学学报,2020,43(6):1042-1055
- [3] 郑佳华,张峰,杨阳,等. 刈割留茬高度对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响[J]. 中国草地学报,2021,43(1):68-75
- [4] JENKINSON D S, LADD J N. Microbial biomass in soil: Measurements and turnover. In: Paul E A, Ladd J N (Eds) [J]. Soil Biochemistry, 1981(5):415-471
- [5] 贺有龙,张骞,张中华,等. 青藏高原高寒草地退化对土壤微生物影响研究进展[J]. 青海畜牧兽医杂志,2020,50(6):43-51
- [6] 马志良,赵文强. 植物群落向土壤有机碳输入及其对气候变暖的响应研究进展[J]. 生态学杂志,2020,39(1):270-281
- [7] 杜雄峰,厉舒祯,冯凯,等. 农牧交错带草地土壤剖面微生物总量、多样性和互作网络的垂直分布特征[J]. 微生物学通报,2020,47(9):2789-2806
- [8] 张贵云,吕贝贝,张丽萍,等. 黄土高原旱地麦田 26 年免耕覆盖对土壤肥力及原核微生物群落多样性的影响[J]. 中国生态农业学报,2019,27(3):358-368
- [9] 王新珍,王凤花,孙瑞波,等. 高通量测序技术在微生物分子生态学中的应用[J]. 中国生态农业学报,2018,26(10):1593-1600
- [10] 李克亚,文章,邓斌,等. 不同窖龄窖泥原核生物多样性的高通量测序研究[J]. 食品工业,2016,37(6):121-125
- [11] 黄志强,邱景璇,李杰,等. 基于 16S rRNA 基因测序分析微生物群落多样性[J]. 微生物学报,2021,61(5):1044-1063
- [12] 李容榕,盛观星,林小艳. 凯氏定氮法测定青海省不同地区羌活中全氮含量[J]. 山西大同大学学报(自然科学版),2020,36(2):8-9
- [13] 鲍士丹. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京:中国农业出版社,2000:106-108
- [14] 马婷. 基于 ASTER 影像的吉林省土壤耕层生物量碳含量反演[D]. 吉林:吉林农业大学,2013:26-28
- [15] 苗杰,李斐,张加康,等. 紫外分光光度法测定土壤硝态氮校正因数的优化[J]. 华北农学报,2019,34(S1):204-212
- [16] 李志萍,李维民,吴福忠,等. 川西亚高山森林林窗对不同关键时期土壤硝态氮和铵态氮的影响[J]. 水土保持学报,2013,27(6):270-274
- [17] 李金彦. 土壤水解性氮的测定(碱解扩散法)[J]. 农业科技与信息,2010(10):15
- [18] 张旭,牛艳萍. 油浴加热法测定土壤样品中有机碳[J]. 黑龙江科技信息,2014(10):77,189
- [19] 王瑞琨. 用电位法测定土壤 pH 值[J]. 山西化工,2018,38(03):64-65
- [20] WANG Z J, LU G X, YUAN M T, et al. Elevated temperature overrides the effects of N amendment in Tibetan grassland on soil microbiome[J]. Pergamon, 2019, 136(C):107532
- [21] 李国平,卢会国,黄楚惠,等. 青藏高原夏季地面热源的气候特征及其对高原低涡生成的影响[J]. 大气科学,2016,40(1):131-141
- [22] 谢云,郭芳芸,曹兵. 大气 CO₂ 浓度倍增对宁夏枸杞根区土壤微生物与酶活性的影响[J]. 中国农学通报,2021,37(3):90-97
- [23] 赵义. 大兴安岭多年冻土区土壤微生物多样性及其与环境因子相关性分析[D]. 哈尔滨:哈尔滨师范大学,2019:38-42
- [24] 李桥. 基于高通量测序技术下土壤微生物群落结构的研究[D]. 济南:山东师范大学,2014:26-48
- [25] 苏贝贝,张英,道日娜. 4 种豆科栽培牧草根际土壤细菌群落分布特征研究[J]. 草地学报,2021,29(2):250-258
- [26] 张杰雪,王占青,全小龙,等. 高寒地区人工草地土壤微生物群落对不同种植方式和年限的响应[J]. 草地学报,2021,29(2):270-280
- [27] 姚世庭,芦光新,李欣,等. 模拟增温对青海省玉树州称多县高寒草甸土壤水分的影响研究[J]. 生态环境学报,2019,28(11):2176-2184
- [28] JING X, SANDERS N J, SHI Y, et al. The links between ecosystem multifunctionality and above-and belowground biodiversity are mediated by climate[J]. Nature Communications, 2015(6):8159
- [29] ZHANG Y, DONG S, GAO Q, et al. Climate change and human activities altered the diversity and composition of soil microbial community in alpine grasslands of the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Science of the Total Environment, 2016(562):353-363
- [30] ZHANG B, WU X, ZHANG G, et al. Response of Soil Bacterial Community Structure to Permafrost Degradation in the Upstream Regions of the Shu le River Basin, Qinghai-Tibet Plateau[J]. Geomicrobiology journal, 2017, 34(4):300-308
- [31] 王楠,潘小承,王传宽,等. 模拟酸雨对毛竹阔叶林过渡带土壤真菌结构及其多样性的影响[J]. 环境科学,2020,41(5):2476-2484
- [32] 马骥毓. 民勤退耕区次生草地土壤微生物多样性研究及优势植物根际促生菌资源筛选[D]. 兰州:甘肃农业大学,2017:106-117
- [33] 张仰. 典型荒漠盐生植物根际土壤微生物多样性[D]. 乌鲁木齐:新疆大学,2019:48-57

(责任编辑 刘婷婷)