



## 退化高寒草地土壤真菌群落与土壤环境因子间相互关系

李海云, 姚拓\*, 高亚敏, 张建贵, 马亚春, 路晓雯, 杨晓蕾, 张慧荣, 夏东慧

甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730070

**摘要:**【目的】为探究祁连山高寒草地退化过程中土壤真菌群落分布特征与土壤环境因子间的相互关系。【方法】利用 Illumina Miseq PE250 高通量测序技术对轻度、中度和重度退化草地土壤真菌群落结构变化及其多样性进行分析, 并对土壤真菌群落与土壤环境因子的相互关系进行冗余分析(RDA)。【结果】随着退化程度加剧, 土壤 pH 呈现出升高趋势, 电导率呈现出先升高后降低趋势, 土壤含水量、有机碳、全氮、全磷和全钾含量均逐渐降低。高通量测序共得到 750575 条有效序列和 5788 个 OTUs; 各试验点样地中真菌群落 Chao1 指数和 Shannon-Wiener 指数变化各异。在门分类水平上, 子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)和壶菌门(Chytridiomycota)是各草地土壤的优势类群。RDA 分析表明, 土壤速效钾、全氮、速效氮和有机碳是祁连山不同退化高寒草地土壤真菌群落分布的主要驱动因子。【结论】祁连山不同退化高寒草地土壤真菌群落间差异明显, 土壤环境因子是影响土壤真菌群落分布的重要因素。

**关键词:** 祁连山, 退化草地, 高通量测序, 真菌群落结构, 土壤环境因子

草地是陆地生态系统的重要组成部分, 对陆地生态系统的稳定与平衡、人类社会可持续发展具有重要意义<sup>[1]</sup>。我国的草地资源比较丰富, 占地面积近 4 亿  $\text{hm}^2$ , 约占国土面积的 41.7%。然而, 近年来由于人类活动日益频繁、草地粗放经营、草畜不平衡、煤矿资源开采等原因, 高寒草原已遭到不同程度的干扰和破坏, 已呈现出退化趋势。如何调控土壤退化、改良 2 个过程就是要使土壤向土壤恢复方向发展, 长期保持或改善土壤质量

或健康状况, 这将决定畜牧业生产的可持续发展<sup>[2]</sup>。草地退化的核心问题是土壤退化, 而土壤微生物是土壤中具有生命力的主要组成部分, 在土壤形成和演化过程中起着主导作用<sup>[3]</sup>。为了探究退化草地的生态质量, 从不同方面、角度对草地退化机理和防止退化及退化后治理措施进行了大量研究<sup>[4-6]</sup>, 但从微生物角度探讨草地退化的研究却相对较少<sup>[7]</sup>。微生物在土壤发育、土壤环境净化、生物修复及生态平衡维持等方面发挥着重要作

基金项目: 国家自然科学基金(31660688)

\*通信作者。Tel/Fax: +86-931-7634065; E-mail: yaotuo@gsau.edu.cn

收稿日期: 2018-06-04; 修回日期: 2018-09-10; 网络出版日期: 2018-09-20

用<sup>[8]</sup>,影响土壤微生物多样性及特征的因素主要是植被特性和土壤特性,这些因素强烈地影响着土壤微生物群落结构、种群数量和活性。同时土壤中的微生物种群结构与数量对环境的变化十分敏感,可作为草地退化的预测指标<sup>[9]</sup>。

草地土壤微生物群落结构与物种多样性备受专家、学者关注,有关研究表明,退耕还林还草处理与玉米地土壤细菌群落结构较高<sup>[10]</sup>,短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成细菌高于真菌<sup>[11]</sup>,不同根序细根根际真菌群落的趋异化组成和结构与细根功能具有密切关系<sup>[12]</sup>。目前,有关于草地退化对土壤微生物种群结构影响的研究鲜有报道,主要集中在可培养微生物、磷脂脂肪酸(PLFA)、PCR-DGGE、16S rRNA 基因文库构建技术等方面<sup>[13-15]</sup>,这些方法所能反映出的微生物信息十分有限,在很大程度上极可能低估土壤微生物的物种组成并高估其丰度<sup>[16]</sup>,与传统培养、第一代测序相比,高通量测序作为第二代测序方法,无需构建克隆,耗时少,通量高,能够准确全面反映土壤微生物群落分布等优势。因此,为了明确祁连山不同退化高寒草地真菌种群结构变化规律,探寻草地退化微生物机理,本研究以祁连山段不同退化高寒草地为研究对象,采用 Illumina Miseq PE 250 高通量测序技术对不同退化高寒草地土壤真菌微生物种群结构变化规律进行分析,旨在为祁连山草地健康及持续利用提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于甘肃省祁连山东段,地理坐标 94°10' E-103°04' E, 35°50' N-39°19' N,全区海拔

2900-4300 m。年均气温-0.1-0.6 °C,全年 $\geq 0$  °C 的有效积温为 1300 °C 左右,年均降水量 416 mm,年均蒸发量 1483-1614 mm。土壤以亚高山草甸土、亚高山黑钙土等为主。植被以嵩草(*Kobresia bellardii*)、苔草(*Carex* spp.)、针茅(*Stipa capillata*)、莎草(*Cyperus* spp.)、珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)、金露梅(*Potentilla fruticosa*)、棘豆(*Oxytropis* spp.)、狼毒(*Stellera chamaejasme*)、委陵菜(*Potentilla chinensis*)、杜鹃(*Rhododendron* spp.) 等为主。

### 1.2 样地设置及土样采集

本试验选取祁连山东段具有代表性的高寒草原(肃南县康乐草原、肃南县皇城草原和天祝抓喜秀龙草原)进行研究比较,根据草地退化程度的划分标准<sup>[17]</sup>,在 2017 年 8 月,研究区选择轻度退化草地(lightly degraded grassland, LDG)、中度退化草地(moderately degraded grassland, MDG)和重度退化草地(severely degraded grassland, SDG) 3 种不同退化草地类型,具体样地信息见表 1。每个样地设置 3 个大样方(25 m×25 m),在每个大样方各设置 3 个小样方(50 cm×50 cm),在样方内记录植物种类、物种数、群落总盖度和高度,采用刈割法测定植被群落地上部生物量。并在各小样方内采集 0-20 cm 土样,将土样低温带回实验室,放置于-80 °C 冰箱中以备用。

### 1.3 土壤理化性质测定

土壤理化指标测定均采用常规分析方法<sup>[18]</sup>。土壤 pH 值测定采用酸度计电位法;土壤含水量(soil water content, SWC)测定采用烘干称重法;土壤电导率(electronic conductivity, EC)测定采用电导率仪;土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)含量测定采用重铬酸钾容量法-外加热法;土壤全

表 1. 样地基本概况

Table 1. Basic information of the soil samples

Test site	Sample plot	Latitude and longitude	altitude/m	Main vegetation	Coverage	Above-ground biomass/(g/m <sup>2</sup> )	Frequency	Density
Kangle Town, Sunan County	LDG1	99°52'20"E, 38°48'16"N	2940	<i>Poa pratensis</i> L., <i>Geranium pratense</i> L., <i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Potentilla chinensis</i> Ser., <i>Polygonum viviparum</i> L., et al.	0.78±0.01a	564.45±23.14a	0.58±0.07c	67.67± 20.05d
	MDG1	99°52'18"E, 38°47'44"N	3013	<i>Poa pratensis</i> L., <i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Cyperus rotundus</i> L., et al.	0.66±0.23b	220.17±19.20c	0.58±0.07c	106.57± 15.63c
	SDG1	99°52'15"E, 38°47'54"N	2955	<i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Cyperus rotundus</i> L., et al.	0.38±0.15c	181.40±5.50d	0.63±0.04c	65.21± 0.35d
Huangcheng Town, Sunan County	LDG2	101°32'01"E, 37°53'60"N	2960	<i>Geranium pratense</i> L., <i>Elymus nutans</i> Griseb., <i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Artemisia tanacetifolia</i> Linn., <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Polygonum viviparum</i> L., et al.	0.77±0.01a	492.09±32.70ab	0.58±0.56c	148.99± 0.70b
	MDG2	101°32'03"E, 37°53'35"N	3100	<i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Thalictrum aquilegifolium</i> , <i>Potentilla chinensis</i> Ser., <i>Polygonum viviparum</i> L., et al.	0.60±0.15b	247.96±14.80bc	0.76±0.27b	87.89± 4.22d
	SDG2	101°48'45"E, 37°54'47"N	2963	<i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvel., <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Draba nemorosa</i> , et al.	0.36±0.01c	218.05±45.31c	0.57±0.03c	83.19± 11.89d
Zhuaxixiulong Town, Tianzhu Count	LDG3	102°47'05"E, 37°11'51"N	2900	<i>Ruthenian medic</i> , <i>Elymus nutans</i> Griseb., <i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Anaphalis lactea</i> Maxim., <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Thalictrum aquilegifolium</i> , <i>Potentilla chinensis</i> Ser., <i>Polygonum viviparum</i> L., et al.	0.76±0.01a	470.63±29.52b	0.82±0.06b	340.78± 41.01a
	MDG3	102°47'05"E, 37°11'51"N	2900	<i>Ruthenian medic</i> , <i>Elymus nutans</i> Griseb., <i>Oxytropis ochrocephala</i> , <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Thalictrum aquilegifolium</i> , <i>Potentilla chinensis</i> Ser., et al.	0.52±0.27b	253.41±29.52c	0.95±0.05a	309.90± 78.30a
	SDG3	102°47'05"E, 37°11'51"N	2900	<i>Ruthenian medic</i> , <i>Elymus nutans</i> Griseb., <i>Thermopsis lanceolata</i> R.Br., <i>Cyperus rotundus</i> L., <i>Potentilla chinensis</i> Ser., et al.	0.32±0.20c	133.79±8.87d	0.63±0.04c	120.67± 14.02b

The different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level.

氮(total nitrogen, TN)含量测定采用硫酸消煮-凯氏定氮仪法;土壤全磷(total phosphorus, TP)含量测定采用硫酸-高氯酸消煮法-钼锑抗比色法;土壤全钾(total potassium, TK)含量测定采用 NaOH 熔融-火焰光度法测定;土壤速效氮(available nitrogen, AN)含量测定采用碱解扩散法;土壤速效钾(available potassium, AK)含量测定采用  $\text{NH}_4\text{OAc}$  浸提-火焰光度法;土壤速效磷(available phosphorus, AP)含量测定采用  $\text{NaHCO}_3$  浸提-钼锑抗比色法。

#### 1.4 总 DNA 提取及 ITS 基因扩增

土壤总 DNA 基因组采用 OMEGA 土壤 DNA 提取试剂盒进行提取,每个样品 3 次重复。采用 ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增 ITS rRNA 基因片段,PCR 扩增条件参照 Miao 等<sup>[19]</sup> 方法进行扩增。扩增 PCR 产物经 1% 琼脂糖电泳检测合适后,送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司,采用 Illumina Miseq PE250 测序平台进行测序。

#### 1.5 生物信息学及数据分析

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样品数据,截去 Barcode 和引物序列后对每个样品的 reads 进行拼接,得到的拼接序列为原始 Tags 数据(Raw Tags);拼接得到的 Raw Tags 经过过滤处理和去除嵌合体序列得到最终有效数据(effective tags)。利用 Uparse 软件对所有样品的 Effective Tags 在 97% 水平上进行 OTUs 聚类,用 Mothur 方法与 SILVA 软件的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析(设定阈值为 0.8-1.0),使用 PyNAST 软件与 GreenGene 数据库中数据信息进行多序列比对,得到所有 OTU 代表序列的系

统发育地位。最后对各样品的数据进行均一化处理,使用 Qiime 软件(Version 1.7.0)计算多样性和丰富度指数;使用 R 软件(Version 2.15.3)绘制稀释曲线、Rank abundance 曲线和 PCA 图。采用 SPSS 21.0 软件对数据进行 One-Way ANOVA 和 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验分析。采用 CANOCO 4.5 软件对真菌群落与土壤环境因子间的相互关系进行冗余分析(RDA)。

## 2 结果和分析

### 2.1 土壤理化特性

由表 2 可以看出,同一退化程度各试验点草地土壤特征差异性不同,土壤 pH 表现为 MDG2>MDG1>MDG3,土壤电导率表现为 MDG1>MDG3>MDG2;随着退化程度加剧,各试验点土壤 pH 呈现出升高趋势,电导率呈现出先升高后降低趋势,土壤含水量、有机碳、全氮、全磷和全钾含量均随着退化程度的加剧而逐渐降低。

### 2.2 土壤真菌群落丰度与多样性分析

通过对不同退化草地土壤样品进行高通量测序,共得到有效序列 750575 条,在 97% 水平上聚类共得到 3873 个 OTUs,各样品测序覆盖度均在 99.1% 以上,并结合各样品的稀释曲线均趋于平缓,说明样品测序数据合理,能反映出各样地真菌群落的真实信息(图 1)。从表 3 可以看出,随着退化程度加剧,各样地真菌群落丰富度指数(Chao1 指数)依次为 LDG>SDG>MDG,Shannon-Wiener 指数依次为 SDG>LDG>MDG。如图 2 所示,各样地共有的 OTUs 为 480 个,其中 LDG、MDG 和 SDG 中所特有的 OTUs 数目分别为 677、1094 和 504 个。

表 2. 不同退化高寒草地土壤特征

Table 2. Soil characteristics of different degraded alpine grasslands

Sample plot	LDG			MDG			SDG		
	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1	LDG1
pH	8.18±0.12ab	8.22±0.14ab	8.57±0.41a	7.20±0.06c	8.28±0.04ab	8.13±0.02ab	8.06±0.07b	8.17±0.07ab	8.13±0.01ab
EC/(μs/cm)	238.70±2.51bcd	702.33±28.42a	370.07±16.82b	136.72±3.83d	156.31±17.44cd	307.31±17.02cd	187.74±8.61bcd	216.72±5.03bcd	203.32±8.43bcd
SWC/%	32.81±1.01bc	27.20±1.09de	20.19±1.19f	33.68±1.32b	29.93±0.43cd	17.10±0.40f	37.74±0.85a	24.08±0.44e	13.00±0.28g
SOC/(g/kg)	72.84±5.37a	25.46±1.34b	18.39±0.52b	73.27±6.17a	25.86±1.89b	19.64±0.69b	81.43±2.68a	71.62±3.30a	66.82±3.24a
TN/(g/kg)	4.12±0.35a	2.26±0.10b	1.63±0.10c	3.75±0.16a	1.57±0.02c	0.99±0.03d	4.09±0.26a	2.51±0.10b	1.30±0.03cd
TP/(g/kg)	0.65±0.04c	0.45±0.04cd	0.32±0.01d	1.31±0.16a	0.40±0.02d	0.31±0.02d	0.86±0.04b	0.41±0.03d	0.33±0.02d
TK/(g/kg)	5.38±0.11b	4.21±0.17ef	4.17±0.32ef	6.08±0.10a	4.81±0.31cd	3.92±0.29f	5.17±0.15bc	4.63±0.12de	3.92±0.40f
AN/(mg/kg)	212.06±12.50a	91.10±2.80cd	55.42±3.87cd	187.11±6.49a	63.57±1.92cd	51.37±1.77d	216.63±5.75a	199.11±6.63a	173.72±10.23ab
AP/(mg/kg)	27.96±1.33b	15.35±1.11de	15.28±0.38de	37.05±2.89a	26.01±1.62c	11.22±0.52e	29.39±1.05b	16.15±1.00de	12.10±0.56e
AK/(mg/kg)	531.29±10.42a	359.17±8.68b	317.10±2.47cd	354.02±11.97b	321.68±4.65cd	281.06±14.09d	365.75±7.26b	363.02±9.85b	336.15±4.98c

The different lowercase letters indicate that the difference is significant at the 0.05 level.

表 3. 样品序列数统计、丰富度与多样性指数

Table 3. Sample sequence numbers statistics, richness and diversity index

Sample	Effective sequences	Total OTUs	Shannon-Wiener index	Chao1 index	Good's coverage
LDG	212927	2031	6.16±0.43b	1318.0±98.2a	99.1±0.1a
MDG	277359	2071	6.15±0.04b	743.0±259.1b	99.6±0.3a
SDG	260289	1849	6.35±0.85a	961.2±66.0ab	99.5±0.1a

The different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level.

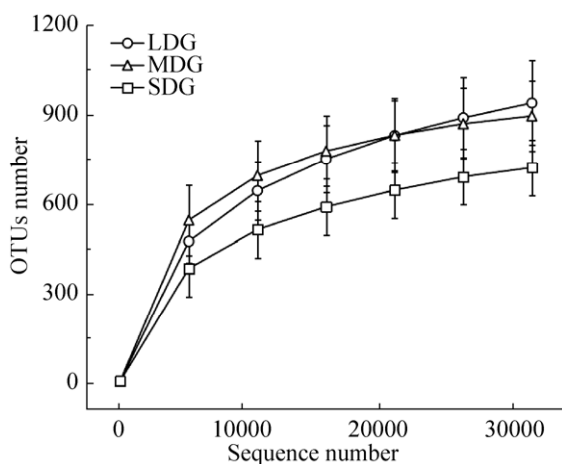


图 1. 样品稀释曲线

Figure 1. Rarefaction curves for samples.

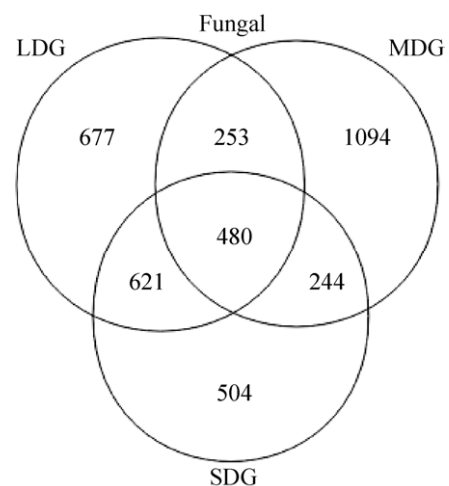


图 2. 样品韦恩图

Figure 2. Venn diagrams of samples.

### 2.3 不同退化草地土壤真菌群落分布特征

**2.3.1 真菌群落在门水平上的组成:** 在不同退化草地土壤中, 真菌在门分类水平上相对丰度>1%的分别为子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)和壶菌门(Chytridiomycota)。随着退化程度的加剧, 子囊菌门相对丰度呈现出先降低后升高趋势; 担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)和

壶菌门(Chytridiomycota)相对丰度呈现出先升高后降低趋势(图 3)。

**2.3.2 真菌群落在属水平上的组成:** 如图 4 所示, 在各样地中真菌在属分类水平上, 相对丰度>1%的分别为蜡伞属(*Hygrocybe*)、*Microidium*、*Leptosphaerulina*、帚枝霉属(*Sarocladium*)、被孢霉属(*Mortierella*)、珊瑚菌属(*Clavaria*)、鬼伞属(*Coprinopsis*)、小画线壳属(*Monographella*)、腹孢菌属(*Gastrosporium*)、散尾菌属(*Lysurus*)、链格孢

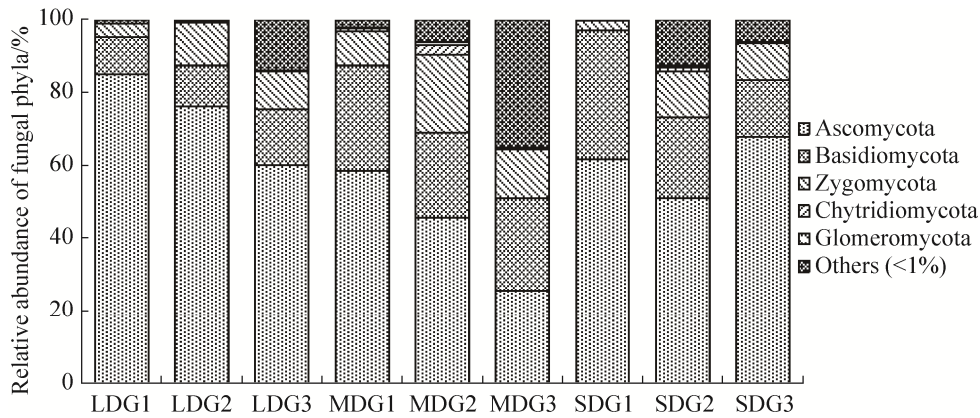


图 3. 门水平各样品菌群分布图

Figure 3. Frequency of phyla in microbial community from samples.

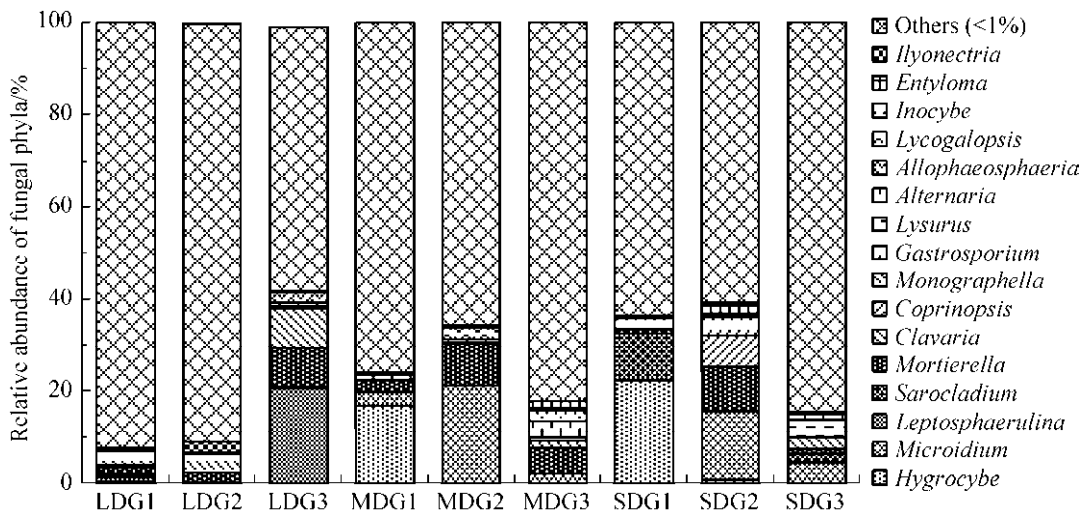


图 4. 属水平各样品菌群分布图

Figure 4. Frequency of genus in microbial communities from samples.

属 (*Alternaria*)、*Allophaeosphaeria*、马勃属 (*Lycogalopsis*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、叶黑粉菌属 (*Entyloma*)和土赤壳属 (*Ilyonectria*)。随着退化程度的加剧,蜡伞属 (*Hygrocybe*)、鬼伞属 (*Coprinopsis*)、腹孢菌属 (*Gastrosporium*)和散尾菌属 (*Lysurus*)相对丰度呈现出逐渐升高趋势; *Microidium*、被孢霉属 (*Mortierella*)、链格孢属 (*Alternaria*)、马勃属 (*Lycogalopsis*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)和叶黑粉菌属 (*Entyloma*)相对丰度呈现出先升高后降低趋势; *Leptosphaerulina*、帚枝霉属 (*Sarocladium*)、珊瑚菌属 (*Clavaria*)、土赤壳属 (*Ilyonectria*)和被孢霉属 (*Mortierella*)相对丰度呈现出先降低后升高趋势; *Allophaeosphaeria* 相对丰度呈现出逐渐降低趋势。

#### 2.4 不同退化草地土壤真菌群落与土壤环境因子间相互关系

通过 RDA 分析真菌群落与土壤特性之间的相互关系(图 5)。RDA 分析表明,第一、二排序轴累计解释率分别为 50.8%和 16.9%,累计解释率达到 67.7%,说明第一、二排序轴能较好地反映出真菌群落与土壤特性之间的相互关系。其中接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、壶菌门(Chytridiomycota)与电导率、pH 箭头方向相同,说明真菌菌群与养分之间呈正相关性。担子菌门(Basidiomycota)、子囊菌门(Ascomycota)与全钾、速效钾、全磷、有效磷、全氮、有效磷、有机碳和含水量箭头方向相同,说明真菌菌群与养分之间呈正相关性,与电导率、pH 方向相反呈负相关性。对真菌群落结构具有重要影响因素的土壤指标有:土壤速效钾( $r^2=0.415$ ,  $P<0.01$ ),全氮( $r^2=0.261$ ,  $P<0.01$ ),速效氮( $r^2=0.227$ ,  $P<0.01$ ),有机碳( $r^2=0.180$ ,  $P<0.05$ )(表 4)。研究表明,土壤速效钾、全氮、速效氮和有机碳是祁连山不同退化高寒草地土壤真菌群落分布的主要驱动因子。

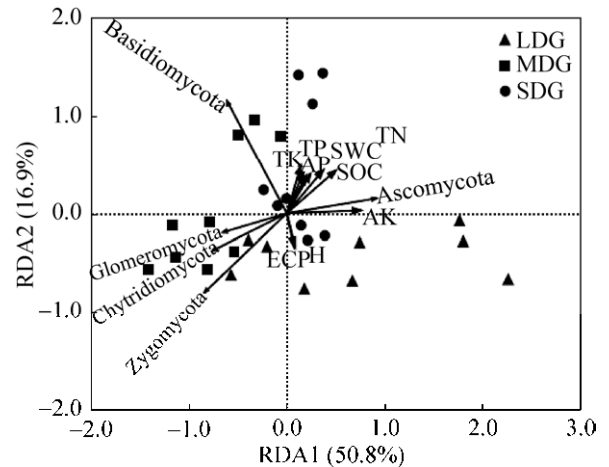


图 5. 真菌优势类群与土壤环境因子的 RDA 分析  
Figure 5. Redundancy analysis for fungal dominant groups and soil environmental factors.

表 4. 真菌优势类群与土壤环境因子的蒙特·卡罗检验  
Table 4. Monte Carlo permutation test of soil environmental factors and fungi community composition

Parameter	RDA1	RDA2	$r^2$	F	P-value
AK	0.7335	0.1358	0.415	17.712	0.001
TN	0.4679	0.7077	0.261	8.831	0.007
AN	0.4391	0.6533	0.227	7.349	0.009
SOC	0.3411	0.6967	0.180	5.482	0.021
SWC	0.2257	0.6116	0.115	3.259	0.070
TP	0.1206	0.7213	0.111	3.126	0.073
AP	0.1523	0.6168	0.097	2.678	0.103
TK	0.1801	0.5762	0.091	2.514	0.133
EC	0.0729	-0.4654	0.062	1.646	0.189
pH	0.0965	-0.4796	0.052	1.373	0.269

### 3 讨论和结论

草地土壤微生物在物质能量转化中发挥着巨大作用,由于放牧等土地利用方式的干扰,对土壤微生物种群分布及其变化规律存在显著影响<sup>[20]</sup>。通过对祁连山不同退化程度高寒草地土壤真菌多样性进行分析,各试验点真菌群落丰富度指数(Chao1 指数)逐渐降低,Shannon-Wiener 多样性指

数先升高后降低。其一, 随退化程度加剧, 草地植被稀疏覆盖度降低, 地表枯枝落叶堆积量少, 导致地表光辐射增强、温度升高、土壤表层含水量减少影响真菌生存导致真菌群落丰富度降低。其二, 根据中度干扰假说, 在中度放牧措施下, 能够促进植物生长, 影响植物根系分泌物的产生, 导致真菌类群增加<sup>[21]</sup>, 可能是根系分泌物启动和调节了根系与土壤微生物之间的信号传导<sup>[22]</sup>。其三, 在东祁连山中部地区高寒草地中草地老鹳草、垂穗披碱草、黄花棘豆、赖草、裂叶蒿、莎草、珠芽蓼、扁蓄豆、乳白香青、唐松草、委菱菜等为主要优势种(表 1), 多为有花高等植物, 能够与球囊菌门(*Glomeromycota*)共生形成菌根, 提高土壤真菌的多样性<sup>[23]</sup>。同时家畜的排泄物提高了土壤中氮素含量, 促进真菌类群的丰度, 故中度退化草地 Shannon-Wiener 多样性指数最高, 反之亦然。

随草地退化程度加剧, 子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)是不同退化草地土壤真菌的优势类群。有研究表明, 担子菌门(*Ascomycota*)在土壤木质素含量较高的环境中占优势地位, 是木质化植被碎屑最主要的分解者之一<sup>[24-25]</sup>。高寒草甸由于自然环境因素造成土壤木质素含量相对较高<sup>[26]</sup>, 这可能是促使子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)成为土壤真菌的优势类群的重要原因之一。随着退化程度的加剧, 蜡伞属(*Hygrocybe*)、鬼伞属(*Coprinopsis*)相对丰度呈现出逐渐升高趋势, 链格孢属(*Alternaria*)、马勃属(*Lycogalopsis*)、丝盖伞属(*Inocybe*)和叶黑粉菌属(*Entyloma*)相对丰度呈现出先升高后降低趋势, 这是因为土壤透气性和植物根系密集养料充足与真菌生存的条件有关<sup>[21]</sup>,

大约有 97% 的高等植物根系与球囊菌门(*Glomeromycota*)共生<sup>[23]</sup>, 形成种间合作提高了土壤真菌的竞争能力, 同时蜡伞属(*Hygrocybe*)、鬼伞属(*Coprinopsis*)在有限的资源里相对地抑制了其他真菌种类的生命活动, 具有抑制土壤其他真菌生长、繁殖的特性。

土壤相对含水量、酸碱性、有机碳、全氮、全钾均属于土壤微生境的基本组成成分, 可以直接反映出土壤的肥力, 并且对微生物生存和植物生长具有显著影响。本研究发现土壤速效钾、全氮、速效氮、有机质和有机碳是祁连山不同退化高寒草地土壤真菌群落分布的主要驱动因子。有研究指出, 祁连山土壤总有机碳库和各组分碳库在海拔高度上表现为中高海拔 > 高海拔 > 中低海拔, 这种变化规律主要由气候因子即温度和降水量所主导<sup>[27]</sup>, 且高寒草甸土壤有机质、全硫、有效氮、有效磷和有效镁的含量随着海拔高度的升高先是逐渐降低, 含量最低点出现在海拔 3200–3400 m, 后随着海拔的升高逐渐增加<sup>[28]</sup>。本研究试验点均处在海拔 2900–3100 m 之间(表 1), 速效氮含量相对最低。位于中高海拔的试验地含有较高的有机碳, 能够为真菌提供相对充足的碳源, 并且真菌群落 Chao1 指数和速效氮含量呈显著负相关与 pH 值呈极显著正相关( $P < 0.01$ ), Simpson 指数与全氮含量呈显著负相关( $P < 0.05$ )<sup>[29]</sup>, 这可能是导致该海拔地区真菌多样性相对较高的主要原因。土壤真菌所处的外界环境条件(如土壤质地、pH、光照、水分、温度)对土壤真菌群落组成产生一定的影响。本研究发现, *Zygomycota*、*Glomeromycota* 和 *Chytridiomycota* 与电导率、pH 呈正相关性, 说明这类真菌适应性强, 能够在盐碱性环境中生存, 可以通过这类真



菌的生存状况表征草原土壤酸碱性及盐分状况。然而 Basidiomycota、Ascomycota 与大部分土壤养分元素呈正相关性, 说明这类菌群对外界环境适应性差, 适合生存在土壤水分、养分充足的土壤环境中, 可能是因为植被根系结构和功能的差异性影响根系分泌物释放的种类和数量, 影响依赖植物生存的真菌群落的构建, 但相关直接证据需要进一步研究。由此可看出, 土壤真菌的变化可表征草地土壤养分的变化, 对高寒草地退化研究提供新的方向。

## 参 考 文 献

- [1] Merbold L, Eugster W, Stieger J, Zahniser M, Nelson D, Buchmann N. Greenhouse gas budget (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O) of intensively managed grassland following restoration. *Global Change Biology*, 2014, 20(6): 1913–1928.
- [2] Gould IJ, Quinton JN, Weigelt A, de Deyn GB, Bardgett RD. Plant diversity and root traits benefit physical properties key to soil function in grasslands. *Ecology Letters*, 2016, 19(9): 1140–1149.
- [3] Legay N, Baxendale C, Grigulis K, Krainer U, Kastl E, Schloter M, Bardgett RD, Arnoldi C, Bahn M, Dumont M, Poly F, Pommier T, Clément JC, Lavorel S. Contribution of above- and below-ground plant traits to the structure and function of grassland soil microbial communities. *Annals of Botany*, 2014, 114(5): 1011–1021.
- [4] Pathak K, Nath AJ, Sileshi GW, Lal R, Das AK. Annual burning enhances biomass production and nutrient cycling in degraded *Imperata* grasslands. *Land Degradation & Development*, 2017, 28(5): 1763–1771.
- [5] de Figueiredo EB, Panosso AR, de Oliveira Bordonal R, de Bortoli Teixeira D, Berchielli TT, La Scala N Jr. Soil CO<sub>2</sub>-C emissions and correlations with soil properties in degraded and managed pastures in Southern Brazil. *Land Degradation & Development*, 2017, 28(4): 1263–1273.
- [6] Pan WJ, Song ZL, Liu HY, Müller K, Yang XM, Zhang XD, Li ZM, Liu X, Qiu S, Hao Q, Wang HL. Impact of grassland degradation on soil phytolith carbon sequestration in Inner Mongolian steppe of China. *Geoderma*, 2017, 308: 86–92.
- [7] Chabrierie O, Laval K, Puget R, Desaire S, Alard D. Relationship between plant and soil microbial communities along a successional gradient in a chalk grassland in north-western France. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24(1): 43–56.
- [8] Zak DR, Holmes WE, White DC, Peacock AD, Tilman D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology*, 2003, 84(8): 2042–2050.
- [9] Hu H, Borjigin S, Cheng YX, Nomura N, Nakajima T, Nakamura T, Uchiyama H. Effect of abandonment on diversity and abundance of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in the cropland soils of Hulun Buir, Inner Mongolia. *PLoS ONE*, 2014, 9(9): e106714.
- [10] Chen ML, Zeng QC, Huang YM, Ni YX. Effects of the farmland-to-forest/grassland conversion program on the soil bacterial community in the Loess Hilly region. *Environmental Science*, 2018, 39(4): 1824–1832. (in Chinese)  
陈孟立, 曾全超, 黄懿梅, 倪银霞. 黄土丘陵区退耕还林还草对土壤细菌群落结构的影响. *环境科学*, 2018, 39(4): 1824–1832.
- [11] Gao XF, Han GD, Zhang GG. Soil microbial community structure and composition of *Stipa Breviflora* on the desert steppe. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(15): 5129–5136. (in Chinese)  
高雪峰, 韩国栋, 张国刚. 短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成及结构. *生态学报*, 2017, 37(15): 5129–5136.
- [12] Wang QT, Gao MY, Liu ML, Wang HT, Dong YF, Wang YP. Illumina Miseq sequencing-based fungal community of rhizosphere soils along root orders of poplar plantation. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(4): 1177–1183. (in Chinese)  
汪其同, 高明宇, 刘梦玲, 王华田, 董玉峰, 王延平. 基于高通量测序的杨树人工林根际土壤真菌群落结构. *应用生态学报*, 2017, 28(4): 1177–1183.
- [13] Li ZZ, Zhu LB, Lin YC, Hu YG, Zeng ZH. Seasonal variation of soil bacterial community under different degrees of degradation of Hulunbuir grassland. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(11): 2883–2889. (in Chinese)  
李梓正, 朱立博, 林叶春, 胡跃高, 曾昭海. 呼伦贝尔草原不同退化梯度土壤细菌多样性季节变化. *生态学报*, 2010, 30(11): 2883–2889.

- [14] Wu YS, Ma WL, Li H, Lu P, Lv GH. Characteristics of bacterial community structure in degraded desert steppe of Inner Mongolia. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(23): 6355–6362. (in Chinese)  
吴永胜, 马万里, 李浩, 卢萍, 吕桂芬. 内蒙古退化荒漠草原土壤细菌群落结构特征. *生态学报*, 2010, 30(23): 6355–6362.
- [15] Yang XZ, Wang CT, Zi HB, Liu M. Soil microbial community structure characteristics in artificial grassland with different cultivation years in the headwater region of Three Rivers, China. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2015, 21(2): 341–349. (in Chinese)  
杨希智, 王长庭, 字洪标, 刘敏. 三江源区不同建植年限人工草地土壤微生物群落结构特征. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(2): 341–349.
- [16] Xia WW, Jia ZJ. Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(12): 1489–1499. (in Chinese)  
夏围围, 贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价. *微生物学报*, 2014, 54(12): 1489–1499.
- [17] Zhang JT. Applied ecology. Beijing: Science Press, 2003. (in Chinese)  
张金屯. 应用生态学. 北京: 科学出版社, 2003.
- [18] Bao SD. Soil and agricultural chemistry analysis. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)  
鲍士旦. 土壤农化分析. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Miao L, Wang SY, Li BK, Cao TH, Zhang FZ, Wang Z, Peng YZ. Effect of carbon source type on intracellular stored polymers during endogenous denitrification (ED) treating landfill leachate. *Water Research*, 2016, 100: 405–412.
- [20] Reiss KC, Brown MT, Lane CR. Characteristic community structure of Florida's subtropical wetlands: the Florida wetland condition index for depressional marshes, depressional forested, and flowing water forested wetlands. *Wetlands Ecology and Management*, 2010, 18(5): 543–556.
- [21] Broeckling CD, Broz AK, Bergelson J, Manter DK, Vivanco JM. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(3): 738–744.
- [22] Badri DV, Vivanco JM. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell & Environment*, 2009, 32(6): 666–681.
- [23] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(10): 763–775.
- [24] Lienhard P, Terrat S, Prévost-Bouré NC, Nowak V, Régnier T, Sayphoummie S, Panyasiri K, Tivet F, Mathieu O, Levêque J, Maron PA, Ranjard L. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34(2): 525–533.
- [25] de Araujo ASF, Bezerra WM, dos Santos VM, Nunes LAPL, de Lyra MDCCP, do Vale Barreto Figueiredo M, Melo VMM. Fungal diversity in soils across a gradient of preserved Brazilian Cerrado. *Journal of Microbiology*, 2017, 55(4): 273–279.
- [26] van der Wal A, van Veen JA, Smant W, Boschker HTS, Bloem J, Kardol P, van der Putten WH, de Boer W. Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(1): 51–60.
- [27] Zhu LY, Pan JJ, Zhang W. Study on soil organic carbon pools and turnover characteristics along an elevation gradient in Qilian Mountain. *Environmental Science*, 2013, 34(2): 668–675. (in Chinese)  
朱凌云, 潘剑君, 张威. 祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究. *环境科学*, 2013, 34(2): 668–675.
- [28] Wang RY, Liu SS, Wang CZ, Guo YX, Yan XB. Analysis on soil physicochemical indices at different altitudes in alpine rangeland. *Acta Agrestia Sinica*, 2009, 17(5): 621–628. (in Chinese)  
王瑞永, 刘莎莎, 王成章, 郭玉霞, 严学兵. 不同海拔高度高寒草地土壤理化指标分析. *草地学报*, 2009, 17(5): 621–628.
- [29] Su SM, Ren LX, Huo ZH, Yang XM, Huang QW, Xu YC, Zhou J, Shen QR. Effects of intercropping watermelon with rain fed rice on fusarium wilt and the microflora in the rhizosphere soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(3): 704–712. (in Chinese)  
苏世鸣, 任丽轩, 霍振华, 杨兴明, 黄启为, 徐阳春, 周俊, 沈其荣. 西瓜与旱作水稻间作改善西瓜连作障碍及对土壤微生物区系的影响. *中国农业科学*, 2008, 41(3): 704–712.

# Relationship between soil fungal community and soil environmental factors in degraded alpine grassland

Haiyun Li, Tuo Yao<sup>\*</sup>, Yamin Gao, Jianguai Zhang, Yachun Ma, Xiaowen Lu, Xiaolei Yang, Huirong Zhang, Donghui Xia

Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China

**Abstract:** [Objective] To explore the relationship between soil fungal community structure and soil environmental factors of the degradation process of alpine grassland in Qilian Mountains. [Methods] We analysed the changes and diversity of fungal community structure in lightly, moderately and severely degraded grassland by Illumina Miseq PE250 high throughput sequencing technology, and redundancy analysis (RDA) of the relationship between soil fungal community structure and soil environmental factors was analysed. [Results] With the aggravated degree of deterioration, soil pH was increased, electrical conductivity was increased first and then decreased, soil water content, organic carbon, total nitrogen, total phosphorus and total potassium were gradually decreased. We obtained a total of 750575 effective sequences and 5788 OTUs by high throughput sequencing, the Chao1 and Shannon-Wiener index of fungal communities varied in different samples. The fungal communities' dominant phyla of all soil samples were Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Glomeromycota and Chytridiomycota. RDA analysis showed that soil available potassium, total nitrogen, available nitrogen and organic carbon were the important driving factors for the distribution of soil fungal community structure in different degraded alpine grassland of Qilian Mountains. [Conclusion] The soil fungal community structure was significantly different in different degraded alpine grassland, and soil environmental factors was a important factor influenced the distribution of soil fungal community structure in Qilian Mountains.

**Keywords:** Qilian Mountains, degraded grassland, high throughput sequencing, fungal community structure, soil environmental factors

(本文责编: 李磊)

---

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31660688)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-931-7634065; E-mail: yaotuo@gsau.edu.cn

Received: 4 June 2018; Revised: 10 September 2018; Published online: 20 September 2018