

# 黄土高原半干旱区不同种植年限紫花苜蓿人工草地土壤微生物和线虫群落特征

耿德洲<sup>1,2</sup> 黄菁华<sup>2,3</sup> 霍娜<sup>1,2</sup> 王楠<sup>1,2</sup> 杨盼盼<sup>2,4</sup> 赵世伟<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>西北农林科技大学黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西杨凌 712100; <sup>3</sup>中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西杨凌 712100; <sup>4</sup>中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要** 建植紫花苜蓿人工草地是黄土高原植被恢复的重要措施之一。土壤微生物和线虫群落特征是评价和调控植被恢复的生态环境效应的重要依据。本研究在宁夏南部山区选取不同种植年限(1、2、6和12年)的紫花苜蓿人工草地为研究样地,以农田和天然草地作为对照,探索黄土高原人工草地植被恢复过程中土壤微生物和线虫群落的演变规律及其影响因素。结果表明:1)种植苜蓿显著提高了土壤细菌群落的Chao1、ACE和Shannon多样性指数,并在种植苜蓿后第6年达到最高,但在种植6年和12年后真菌群落多样性降低;随着苜蓿种植年限的增加,真菌群落组成从农田逐渐向天然草地方向演变;2)土壤线虫数量与细菌群落多样性的变化趋势相同,在种植苜蓿后第6年出现峰值,该时期线虫群落结构组成与农田较相似,苜蓿12年样地则更接近天然草地;随着苜蓿种植年限的增加,食细菌线虫、植食性线虫比例总体呈上升趋势,食真菌线虫、杂食/捕食线虫比例呈下降趋势,土壤成熟度指数(MI)逐渐减小,植物寄生线虫指数(PPI)和线虫通路指数(NCR)则不断增大;3)在苜蓿人工草地植被恢复过程中,土壤有机碳、全氮和速效磷对土壤微生物群落结构影响较大,并进一步影响线虫群落结构;细菌和真菌群落优势类群和多样性与线虫的不同营养类群及生态指数之间存在密切联系,表明微生物群落结构与多样性对线虫群落具有显著影响;在不同种植年限苜蓿草地中,植物的生物量与多样性的变化可能通过影响土壤微生物与线虫食物资源状况从而引起其群落特征的改变。

**关键词** 种植年限; 线虫群落; 微生物群落; 多样性指数

**Characteristics of soil microbial and nematode communities under artificial *Medicago sativa* grasslands with different cultivation years in semi-arid region of Loess Plateau, Northwest China.** GENG De-zhou<sup>1,2</sup>, HUANG Jing-hua<sup>2,3</sup>, HUO Na<sup>1,2</sup>, WANG Nan<sup>1,2</sup>, YANG Pan-pan<sup>2,4</sup>, ZHAO Shi-wei<sup>1,2,3\*</sup> (<sup>1</sup>College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>3</sup>Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences & Ministry of Water Resources, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>4</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China).

**Abstract:** The establishment of *Medicago sativa* artificial grasslands is an important practice of grassland vegetation restoration in the Loess Plateau. Understanding community characteristics of soil microbes and nematodes can provide important information for evaluating and controlling ecological and environmental effects of vegetation restoration. In this study, we used *M. sativa* artificial grasslands with four different cultivation years (1, 2, 6 and 12 years) in southern Ningxia mountainous region, with a farmland and a natural grassland as control, to explore changing trends of the

本文由国家自然科学基金项目(31500449)、国家科技支撑计划项目(2015BAC01B01)、中央高校基本科研业务费专项资金(2452016101)和陕西省引进博士资助经费(A279021836)资助 This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31500449), the National Science and Technology Support Program of China (2015BAC01B01), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2452016101), and the Fund for Introduction of Doctors in Shaanxi Province (A279021836).

2019-10-11 Received, 2020-02-10 Accepted.

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: swzhao@nwafu.edu.cn

two biological communities during artificial grassland restoration in semi-arid region of the Loess Plateau. The results showed that: 1) After the conversion of farmland to *M. sativa* grassland, Chao1, ACE and Shannon diversity indices of soil bacterial community increased firstly and then decreased, which reached the maximum after six years of *M. sativa* grassland establishment. For soil fungal community, Shannon diversity index was lower in 6 and 12 year-old *M. sativa* grasslands than in the other two artificial grasslands, and the community composition differed across restoration years. 2) With the increases of restoration years, the abundance of soil nematodes showed a similar changing trend with Shannon diversity index of bacterial community. The composition of nematode community did not greatly differ between the 6-year-old *M. sativa* grassland and farmland, while that in 12-year-old artificial grassland was more similar to that in natural grassland. The proportion of bacterivorous and plant-feeding nematodes, as well as plant parasitic index and nematode channel index of nematode community, were increased, while the proportion of fungivores and omnivores-predators and maturity index were decreased. 3) During the restoration, changes in soil organic carbon, total nitrogen and available phosphorus greatly affected soil microbial community, which could further influence soil nematode community. There were significant correlations between dominant microbial phyla and trophic groups of soil nematodes, implying the possible effects of soil microbes on nematode community. In *M. sativa* artificial grassland with different establishment years, changes in plant biomass and diversity might significantly affect soil nematode and microbial communities through affecting their food conditions.

**Key words:** cultivation duration; nematode community; microbial community; diversity index.

黄土高原是全球生态环境最为脆弱的地区之一,水土流失和土壤退化问题十分严重<sup>[1]</sup>。人工草地植被建设是黄土高原干旱与半干旱地区重要的植被恢复措施,在加速植被恢复演替、改善生态环境和促进当地畜牧业发展过程中发挥关键作用<sup>[2]</sup>。紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是黄土高原分布广泛的人工植被类型,由于其产量高、营养丰富、生态适应性强,在防治水土流失和土壤退化方面有着重要的作用<sup>[3]</sup>。然而,不同种植年限的紫花苜蓿生长情况有所不同。在黄土高原半干旱地区,紫花苜蓿生长盛期持续时间最多不超过5~6年,到6~7年之后产草量迅速下降,10年后逐渐退化演变为自然草地群落<sup>[2]</sup>。这种阶段性生长差异进一步对土壤生态系统造成影响,导致不同种植年限的苜蓿人工草地,其土壤水分、容重、团聚体稳定性、有机碳和养分含量等都有着显著的差异<sup>[4-7]</sup>。因此,研究黄土高原不同种植年限紫花苜蓿人工草地的土壤环境变化,对了解和评价苜蓿草地生长和退化过程及其对土壤质量的影响,科学指导黄土高原草地植被恢复具有重要意义。

微生物和线虫是土壤中数量和种类最为丰富的两类生物,占据着食物网的关键位置,参与根际有机质分解和养分周转等重要土壤生态过程,是土壤生态系统中最活跃的部分<sup>[8-9]</sup>,二者之间存在密切的联系<sup>[10]</sup>。草地植被恢复能够通过影响进入土壤的资源数量和质量,对微生物和线虫群落的组成和结

构产生显著影响<sup>[11-12]</sup>,而这些影响对植物的生长及植物群落的恢复起着重要的反馈作用<sup>[13]</sup>。与土壤理化性质相比,微生物和线虫能够更为敏感和迅速地反映土壤质量状况、生态系统功能的变化等<sup>[14-15]</sup>,目前已被广泛应用于指示和评价植被恢复的生态环境效应。已有研究表明,建植苜蓿对土壤微生物群落有显著影响。Agnello等<sup>[16]</sup>对评估法国地区苜蓿植被恢复潜力的研究中发现其能够有效提高根际微生物活性;郇继承<sup>[17]</sup>对内蒙古灰色草甸土的研究发现,种植苜蓿能够有效促进微生物群落的发展,且种植5年的紫花苜蓿土壤细菌数量高于种植2年苜蓿地,真菌数量则变化不大。在黄土高原半干旱区,Yang等<sup>[18]</sup>、赵彤等<sup>[19]</sup>对不同土地利用方式下细菌群落的研究中发现,苜蓿能提高细菌群落多样性。而对于土壤线虫群落,吴东辉等<sup>[12]</sup>研究发现,苜蓿能够明显改善松嫩平原中度退化草地土壤线虫的多样性。但是在黄土高原地区土壤线虫的相关研究较少,且有关草地植被恢复过程中土壤线虫和微生物群落的同步变化及其相互关系的研究处于空白。因此,研究紫花苜蓿人工草地的土壤微生物与线虫群落的变化规律及其相互关系对评价和调控紫花苜蓿人工草地的恢复过程与生态效应具有重要意义。

本研究在黄土高原半干旱区选取不同种植年限的紫花苜蓿人工草地为研究对象,以农田和天然草地为对照,通过分析土壤微生物和线虫群落的组成、

结构和多样性特征及二者之间的相互关系,及其与土壤理化性质的相关关系,探索黄土高原人工草地植被恢复过程中土壤微生物和线虫群落的演变规律及二者之间的联系,从土壤食物网角度为综合评价该地区人工草地植被恢复的生态环境效应,探寻合理的人工草地种植和管理措施提供科学依据。

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于宁夏回族自治区固原市原州区河川乡上黄村(35°60′—36°2′ N, 106°27′—106°29′ E, 海拔 1534~1733 m),属于半干旱中温带向暖温带过渡的季风气候区,年均气温 7.1 °C,年均降水量 420 mm,干燥度 1.5~2.0,无霜期 150 d,土壤主要类型是黄绵土。该地区为农牧交错生态区,土壤侵蚀及水土流失较为严重,自 20 世纪 90 年代末被列为退耕还林还草重点示范区以来,该地区的植被覆盖情况逐渐得到改善,分布有大面积紫花苜蓿人工草地试验区和示范区,天然草地以百里香(*Thymus mongolicus*)、长芒草(*Stipa bungeana*)、星毛委陵菜(*Potentilla acaulis*)、二裂委陵菜(*Potentilla bifurca*)、蓼草(*Eulaliopsis binata*)、冰草(*Agropyron cristatum*)等为主;该地区农作物以玉米(*Zea mays*)为主,少数种植燕麦(*Avena sativa*)和高粱(*Sorghum bico*)。

### 1.2 试验设计

在野外植被调查的基础上,于研究区选择地理位置与地形相似的 4 种不同种植年限(退耕年限为 1、2、6 和 12 年)的紫花苜蓿人工草地为研究样地,并以农田(种植玉米,耕种>20 年)和天然草地(天然草地植被恢复>50 年)为对照。样地基本概况如表 1 所示。在每个样地中,设置 3 个 10 m×10 m 取样小区,小区之间及其与样地边界之间的距离均大于 10 m。在每个采样小区中,按照“S”型多点采样法,沿“S”形路线均匀设置 12 个取样点(取样点距

离植株基部 3 cm 左右),去除土壤表面凋落物层后,用土钻采集 0~10 cm 土壤样品,并进行混合,用无菌密封袋密封后,于冰盒冷藏并迅速带回实验室。采集的土壤样品分为 3 份,一份过 5 mm 筛后置于冰箱(4 °C)内,用于分离提取土壤线虫和测定土壤活性碳氮指标;一份-20 °C 冷冻保存用于土壤微生物群落的测定;一份室内自然风干后用于测定其他土壤理化性质。

### 1.3 土壤理化性质测定

土壤理化性质采用常规测定方法。土壤 pH 采用电位法(水土比为 2.5:1),含水量采用烘干法,有机碳采用重铬酸钾-外加热法,全氮采用半微量凯氏定氮法,速效磷采用钼锑抗比色法,铵态氮和硝态氮经 1 mol·L<sup>-1</sup> KCl 浸提后用流动分析仪测定(Bran Luebbe, Germany),微生物生物量碳和氮采用氯仿熏蒸-硫酸钾溶液浸提法<sup>[20]</sup>进行浸提,浸提液中有机碳和氮的含量分别采用总有机碳自动分析仪(TOC, TOC-V MP, Japan)和紫外分光光度计(UV2310II, China)测定。可溶性有机碳和氮采用蒸馏水浸提,浸提液中碳氮含量的测定同微生物生物量碳和氮的测定方法。土壤理化性质如表 2 所示。

### 1.4 土壤微生物群落分析

土壤微生物基因组 PCR 扩增及测定:采用 CTAB 法对同样地的总 DNA 进行提取,经 1% 琼脂糖凝胶电泳测定抽提的基因组 DNA。扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3~V4 高变区段,引物为 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。真菌多样性对 18S rDNA 的 ITS1 区段进行测序,引物为 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAG TAA-3')和 2043R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。扩增条件为 98 °C 预变形 1 min,98 °C 变形 10 s,50 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 60 s,30 个循环,72 °C 延伸 5 min<sup>[21]</sup>。测序采用 Illumina HiSeq 平台。

表 1 样地概况

Table 1 General status of sampling sites

样地 Sampling site	恢复年限 Restoration years	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude (m)	坡向 Aspect	坡度 Slope degree (°)
CL	-	106°27'54" E	36°0'42" N	1530	西偏北 14°	7
GR	-	106°28'30" E	36°0'24" N	1610	南	13
MS1	1	106°27'58" E	36°0'53" N	1588	西偏北 15°	10
MS2	2	106°28'01" E	36°0'46" N	1591	西偏北 14°	13
MS6	6	106°28'54" E	36°0'55" N	1581	西偏北 30°	12
MS12	12	106°28'01" E	36°0'47" N	1588	西偏北 16°	15

CL: 农田 Cropland; GR: 天然草地 Natural grassland; MS1: 苜蓿 1 年 *M. sativa* for 1 year; MS2: 苜蓿 2 年 *M. sativa* for 2 years; MS6: 苜蓿 6 年 *M. sativa* for 6 years; MS12: 苜蓿 12 年 *M. sativa* for 12 years. 下同 The same below.

表 2 不同植被类型土壤理化性质

Table 2 Soil physical and chemical properties with different vegetation types

样地 Sampling site	pH	SM (%)	SOC (g · kg <sup>-1</sup> )	TN (g · kg <sup>-1</sup> )	C/N	Olsen-P (mg · kg <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg · kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg · kg <sup>-1</sup> )	DOC (mg · kg <sup>-1</sup> )	DON (mg · kg <sup>-1</sup> )	MBC (mg · kg <sup>-1</sup> )	MBN (mg · kg <sup>-1</sup> )
CL	8.61a	14.5a	7.40c	0.75b	9.91ab	15.61a	2.60ab	7.45bc	23.80a	26.69a	34.90d	71.65b
GR	8.13ab	14.7a	14.45a	1.42a	10.18ab	1.79d	2.88a	0.17e	13.25b	24.90ab	509.93a	91.17ab
MS1	8.25ab	10.4b	4.44d	0.65d	6.94c	9.88b	3.07a	8.60b	6.54b	24.07ab	144.59b	83.15ab
MS2	8.18ab	8.3c	6.48c	0.70cd	9.25b	6.66c	1.76ab	4.21cd	12.41b	29.34a	107.98bc	69.25b
MS6	8.09b	8.9bc	9.30b	0.78bc	11.97a	5.88c	1.42b	12.28a	12.13b	20.30b	168.14b	62.12b
MS12	8.43ab	7.5c	7.04c	0.69cd	10.22ab	6.04c	2.18ab	1.70de	10.13b	28.96a	519.94a	115.91a

同列不同小写字母表示不同样地间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercase letters in the same column indicated significant difference at 0.05 level among sampling sites. 下同 The same below. SM: 土壤含水量 Soil moisture; SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; Olsen-P: 速效磷 Available phosphorus; C/N: 碳氮比 C/N ratio; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; DOC: 水溶性碳 Dissolved carbon; DON: 水溶性氮 Dissolved nitrogen; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen.

微生物测序结果优化:对原始数据进行拼接 (FLASH 1.2.11),将拼接得到的序列进行质量过滤 (Trimmomatic 0.33),并去除嵌合体 (UCHIME 8.1),得到高质量的 Tags 序列。

分类操作单元 (operational taxonomic units, OTU) 分析:采用 RDP Classifier 贝斯叶算法对 97% 相似水平的 OTU 序列进行分类学分析 (USEARCH 10.0),以测序所有序列数的 0.005% 作为阈值过滤 OTU,并在门水平上计算每个样品的群落组成。比对数据库为细菌 16S: Silva 和真菌 ITS: Unite。算法为 RDP Classifier,置信阈值为 0.8。

微生物  $\alpha$  多样性:度量菌群丰度的指标有 Chao1 和 ACE 丰富度估计量;度量菌群多样性的指标有: Shannon 多样性指数<sup>[22]</sup>:  $H = -\sum P_i \ln P_i$ ; Simpson 指数<sup>[23]</sup>:  $\lambda = \sum P_i^2$ 。其中,  $P_i$  为第  $i$  个分类单元中个体占微生物总个体数量的比例。

### 1.5 土壤线虫群落分析

线虫分离和鉴定:采用浅盘-蔗糖离心浮选连续提取法分离提取 100 g 新鲜土壤样品中的线虫,经过温和热杀死法和三乙醇胺福尔马林液 (TAF) 固定后,倒入标本瓶等待鉴定。在立体显微镜下进行线虫计算,换算成每 100 g 干土的线虫数量,并参照 Bongers<sup>[24]</sup> 方法对线虫进行分类鉴定,计算各属线虫在群落中的相对数量,并根据线虫头部形态特征和取食生境划分为不同的营养类群 (植食、食细菌、食真菌、杂食和捕食线虫) 和生活史 c-p 值,从极端 r-对策者 (c-p 值为 1) 向 K-对策者 (c-p 值为 5) 划分为 5 个类群<sup>[25]</sup>。

线虫群落生态指数:1) Shannon 多样性指数<sup>[22]</sup>:  $H = -\sum P_i \ln P_i$ ; 2) Simpson 指数<sup>[23]</sup>:  $\lambda = \sum P_i^2$ 。其

中,  $P_i$  为第  $i$  个分类单元中个体占线虫总个体数量的比例; 3) 成熟度指数<sup>[25]</sup>:  $MI = \sum v_i f_i$ 。其中,  $v_i$  为根据自由生活线虫的生活史 c-p 值,  $f_i$  为某一科/属 ( $i$ ) 在自由生活线虫 (不包括植食性线虫) 总数中所占的比例,能反映土壤生态系统稳定性和受干扰影响的程度; 4) 植物寄生线虫指数<sup>[25]</sup>:  $PPI = \sum v_i f_i'$ 。其中,  $f_i'$  为第  $i$  类植物寄生线虫在线虫群落中所占的比例; 5) 线虫通路比值<sup>[26]</sup>:  $NCR = B / (B + F)$ 。其中,  $B$  和  $F$  分别是食细菌和食真菌线虫数量; 6) 瓦斯卡尔指数<sup>[27]</sup>:  $WI = (B + F) / PP$ 。其中,  $PP$  为植食性线虫数量,能够指示土壤的健康状况。

### 1.6 数据处理

数据分析采用 SPSS 22.0,柱状图采用 Origin 2016。用单因素方差分析法 (one-way ANOVA) 评价不同样地中微生物和线虫群落特征的差异显著性 ( $P < 0.05$ ),平均值多重比较采用最小显著极差法 (LSD)。采用主成分分析方法 (PCA) 揭示不同样地土壤微生物群落和线虫群落组成的差异。采用 Pearson 相关分析和冗余度分析法 (RDA),研究土壤线虫和微生物群落以及土壤理化性质之间的相关关系。主成分分析以及冗余分析使用 CANOCO 4.5。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同植被类型土壤微生物群落多样性和结构组成

2.1.1 不同植被类型土壤细菌群落多样性和结构组成 对土壤细菌群落进行测序分析,共获得有效序列 2001067 条,样品平均序列数为 111780 条,平均序列长度为 419 bp。所有样地序列共包含 30960 个 OTU 单元,在 97% 相似水平下,共检测到 27 门、79 纲、161 目、246 科、413 属、448 种。苜蓿人工草地的

细菌群落 Chao1、ACE 和 Shannon 指数总体上高于农田和草地,细菌 OTU 丰富度、Chao1 和 ACE 指数以及 Shannon 多样性指数在种植初期均有所增加,并且在苜蓿 6 年样地中达到最高,而在苜蓿 12 年样地下降(表 3)。表明种植苜蓿能有效提高土壤细菌群落的丰度与多样性。

从图 1 可以看出,所有样品中检测到的细菌主要门有:变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)和拟杆菌门(Bacteroidetes)等,其中前 3 个为土壤细菌优势菌群。变形菌门的相对丰度随着苜蓿种植年限的增加而降低,且苜蓿 1 年显著高于其他时期,放线菌门和绿弯菌门相对丰度则随着苜蓿种植年限增加而逐渐增加,酸杆菌门和芽单胞菌门在农田中相对丰度显著低于其他样地,而拟杆菌门则相反。PCA 前两轴分别解释了 75.3%和 12.0%的变异信息,其结果表明苜蓿 1 年、2 年、6 年样地的细菌群落组成较为相似,但与苜蓿 12 年样地有所不同。

**2.1.2 不同植被类型土壤真菌群落多样性和结构组成** 对土壤真菌群落进行测序分析,共获得有效序列 1334862 条,样品平均序列数为 74159 条,平均序列长度为 242 bp。所有样地序列共包含 3210 个 OTU 单元,共检测到 12 门 23 纲 47 目 95 科 145 属 143 种(表 3)。总体上,在所有样地中,土壤细菌群落的 OTU 丰富度、Chao1、ACE 和 Shannon 指数均显著高于真菌群落,而 Simpson 指数则相反。与农田

表 3 不同植被类型土壤微生物群落丰度与多样性指数(相似水平 97%)

Table 3 Richness and diversity of soil microbial communities with different vegetation types (a similarity level of 97%)

微生物群落 Microbial community	样地 Sampling site	OTU 序列 OTU sequence	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index (H)	Simpson 指数 Simpson index (λ)
细菌 Bacteria	CL	1384b	1438b	1412b	6.01b	0.0069a
	GR	1676ab	1733ab	1718ab	6.23ab	0.0051a
	MS1	1864a	1903a	1886a	6.34ab	0.0070a
	MS2	1840a	1898a	1880a	6.31ab	0.0061a
	MS6	1879a	1909a	1899a	6.48a	0.0043a
	MS12	1677ab	1720ab	1709ab	6.37ab	0.0040a
真菌 Fungi	CL	133b	198a	216a	3.98a	0.0346b
	GR	170ab	176a	178a	2.12c	0.2375a
	MS1	160ab	181a	179a	3.40ab	0.1023b
	MS2	228a	235a	233a	3.89a	0.0470b
	MS6	221a	228a	228a	2.81bc	0.1391b
	MS12	158ab	181a	177a	2.93bc	0.1111b

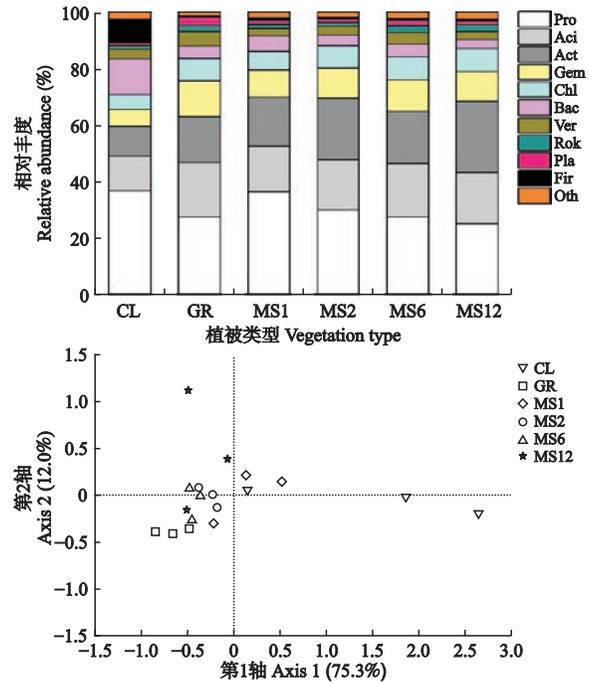


图 1 不同植被类型细菌群落结构组成

Fig.1 Composition of soil bacterial communities under different vegetation types.

CL: 农田 Cropland; GR: 天然草地 Natural grassland; MS1: 苜蓿 1 年 *M. sativa* for 1 year; MS2: 苜蓿 2 年 *M. sativa* for 2 years; MS6: 苜蓿 6 年 *M. sativa* for 6 years; MS12: 苜蓿 12 年 *M. sativa* for 12 years. Pro: 变形菌门 Proteobacteria; Aci: 酸杆菌门 Acidobacteria; Act: 放线菌门 Actinobacteria; Gem: 芽单胞菌门 Gemmatimonadetes; Chl: 绿弯菌门 Chloroflexi; Bac: 拟杆菌门 Bacteroidetes; Ver: 疣微菌门 Verucomicrobia; Rok: Rokubacteria; Pla: 浮霉状菌门 Planctomycetes; Fir: 厚壁菌门 Firmicutes; Oth: 其他 Others. 下同 The same below.

相比,苜蓿人工草地与天然草地土壤真菌 OTU 丰富度均有所提高,且在苜蓿 2 年和 6 年样地中最大;Chao1 和 ACE 指数在所有样地间无显著差异;农田中土壤真菌群落 Shannon 多样性指数最高,天然草地最低;天然草地土壤真菌群落 Simpson 指数显著高于其他样地。

所有样地中土壤真菌包含的主要门有:被孢霉门(Mortierellomycota)、子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和毛霉亚门(Mucoromycota)等(图 2),其中被孢霉门和子囊菌门在真菌群落中占据主导地位。被孢霉门的相对丰度在农田中最低,在天然草地中最高,且在苜蓿 6 年和 12 年样地中高于苜蓿 1 年和 2 年样地;子囊菌门相对丰度则表现出和被孢霉门相反的变化趋势。PCA 前两轴分别解释了 77.1%和 11.1%的变异信息(图 2),结果表明在第 1 轴(Axis1)方向上,随着苜蓿种植年限的增加,土壤真菌群落组成产生明显的阶段性变化,苜蓿 1 年样地与农田相似,而苜蓿 6 年、12 年样地与天然草地相似。

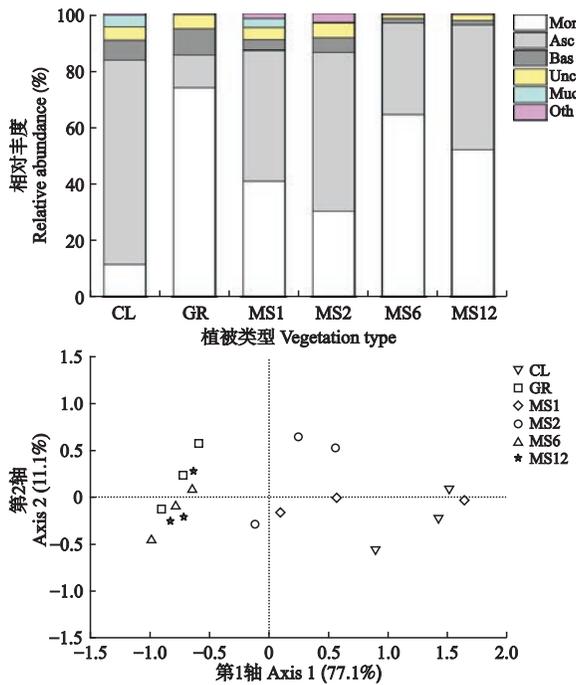


图2 不同植被类型真菌群落结构组成  
Fig.2 Composition of soil fungal communities under different vegetation types.

Mor: 被孢霉门 Mortierellomycota; Asc: 子囊菌门 Ascomycota; Bas: 担子菌门 Basidiomycota; Muc: 毛霉亚门 Mucoromycota; Unc: 未命名 Unclass; Oth: 其他 Others. 下同 The same below.

2.2 不同植被类型土壤线虫群落组成、结构和生态指数

2.2.1 不同植被类型土壤线虫数量、群落组成和结构 对各样地土壤线虫进行调查,共鉴定线虫 7532 条,隶属于 2 纲 5 目 17 科 30 属,包括食细菌线虫 8 属,食真菌线虫 3 属,植食性线虫 9 属以及杂食/捕食类线虫 10 属(表 4)。其中,真滑刃属(*Aphelenchus*)、茎属(*Ditylenchus*)和索努斯属(*Thonus*)为优势属(>10%)。农田土壤线虫总数量低于其他样地,随着苜蓿种植年限的增加,土壤线虫总数量在第 6 年达到最高并显著高于其他样地,到第 12 年时有所降低(图 3)。对土壤线虫群落组成进行 PCA 分析,前两轴分别解释了 24.2%和 15.6%的变异信息(图 4)。结果表明,苜蓿 1 年和 2 年样地土壤线虫群落组成较为相似,苜蓿 6 年样地与农田线虫群落组成较为接近,而天然草地的线虫群落组成与苜蓿 12 年样地较为相似。

土壤线虫群落营养结构在农田、草地以及不同种植年限苜蓿草地存在较大差异。食细菌线虫比例在所有样地间无显著差异,但随着苜蓿种植年限延长,其比例略有增加;食真菌线虫比例在苜蓿草地中显著低于农田(35.0%),且随着苜蓿种植年限的延

长呈下降趋势;植食线虫比例在农田中最高(48.3%),在天然草地中最低(18.7%),在苜蓿种植初期与天然草地无显著差异,而后随着种植年限延长而逐渐增加;杂食/捕食类线虫则呈现与植食线虫相反的变化趋势(图 5)。

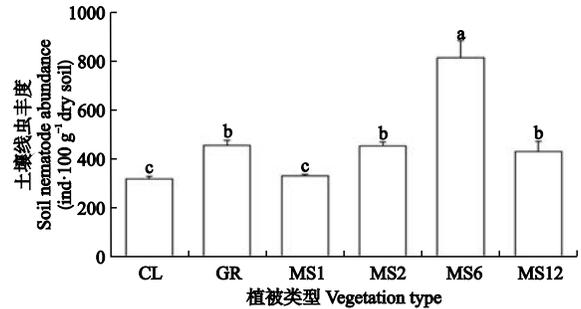


图3 不同植被类型土壤线虫丰度  
Fig.3 Abundance of soil nematodes with different vegetation types.

不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level. 误差线表示标准误差 Error bars represented standard errors (SE). 下同 The same below.

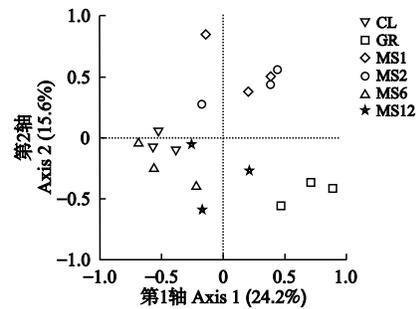


图4 不同植被类型土壤线虫群落组成主成分分析  
Fig.4 Principal component analysis (PCA) of soil nematode community composition under different vegetation types.

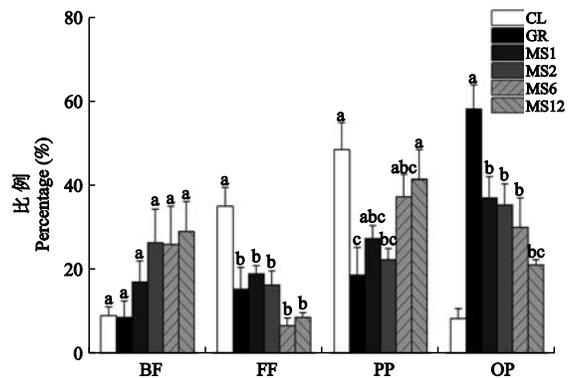


图5 不同植被类型土壤线虫各营养类群比例  
Fig.5 Proportions of soil nematode trophic groups with different vegetation types.

BF: 食细菌线虫 Bacterivores feeding; FF: 食真菌线虫 Fungivores feeding; PP: 植物寄生线虫 Plant parasites; OP: 杂食/捕食性线虫 Omnivores-predators.

表 4 不同植被类型土壤线虫属水平相对丰度

Table 4 Relative abundance of soil nematodes communities at genus level with different vegetation types

属 Genus	简称 Abbreviation	营养类群 Trophic group	c-p 值 c-p value	相对丰度 Relative abundance (%)					
				CL	GR	MS1	MS2	MS6	MS12
小杆属 <i>Rhabditis</i>	Rha	BF	1	2.6	0.3	3.8	7.0	16.2	3.2
丽突属 <i>Acrobeles</i>	Acr1	BF	2	2.2	1.6	1.3	4.8	4.6	9.5
拟丽突属 <i>Acrobelloides</i>	Acr2	BF	2	0	2.9	2.2	0.6	0	4.4
头叶属 <i>Cephalobus</i>	Cep	BF	2	3.5	0.3	8.6	12.7	4.3	8.3
鹿角唇属 <i>Cervidellus</i>	Cer	BF	2	0.6	0.3	0	0	0.7	2.2
板唇属 <i>Chiloplacus</i>	Chi1	BF	2	0	1.6	0	0.6	0	0.6
真头叶属 <i>Eucephalobus</i>	Euc	BF	2	0	0.6	0.6	0.6	0.3	0.6
无咽属 <i>Alaimus</i>	Ala	BF	4	0	1.0	0.3	0	0	0
滑刃属 <i>Aphelenchoides</i>	Aph1	FF	2	0.6	0	0.6	0	0	0.3
真滑刃属 <i>Aphelenchus</i>	Aph2	FF	2	31.1	3.2	15.6	8.0	5.9	5.1
垫咽属 <i>Tylencholaimus</i>	Tyl1	FF	4	3.2	11.8	2.9	8.3	1.0	3.5
茎属 <i>Ditylenchus</i>	Dit	PP	2	8.9	9.9	18.4	7.9	9.4	9.8
<i>Neopsilenchus</i>	Neo	PP	2	0.3	0	0.3	0.3	0.3	0
针属 <i>Paratylenchus</i>	Par1	PP	2	0	0	0	1.6	0.4	0
垫刃属 <i>Tylenchus</i>	Tyl2	PP	2	0	0.3	0	0.6	0	0.3
螺旋属 <i>Helicotylenchus</i>	Hel	PP	3	1.0	0.6	0.3	2.2	9.8	2.2
短体属 <i>Pratylenchus</i>	Pra	PP	3	31.3	2.3	2.5	1.6	7.1	10.2
盘旋属 <i>Rotylenchus</i>	Rot	PP	3	4.1	4.2	2.9	1.6	10.2	18.2
矮化属 <i>Tylenchorhynchus</i>	Tyl3	PP	3	2.6	0.6	2.9	6.4	0	0.3
剑属 <i>Xiphinema</i>	Xip	PP	5	0	0.6	0	0	0	0
真矛线属 <i>Eudorylaimus</i>	Eud	Om	4	0	0.3	2.5	3.5	0	0
微矛线属 <i>Microdorylaimus</i>	Mic	Om	4	0	1.3	0.6	1.9	0	0
<i>Kochinema</i>	Koc	Om	4	0	1.9	5.4	1.9	0	1.9
索努斯属 <i>Thonus</i>	Tho	Om	4	3.5	12.8	9.8	15.2	16.2	8.9
孔咽属 <i>Aporcelaimellus</i>	Apo	Om	5	2.9	19.1	9.8	7.3	10.1	5.7
<i>Paraxonchium</i>	Par2	Om	5	0	0.3	1.6	1.3	0	0.3
狭咽属 <i>Discolaimium</i>	Dis1	Pr	5	1.0	10.5	3.2	2.5	3.8	2.2
盘咽属 <i>Discolaimus</i>	Dis2	Pr	5	0	2.2	0	1.0	0	0.3
穿咽属 <i>Nygolaimus</i>	Nyg	Pr	5	0	1.3	0	0	0	0.6
<i>Paravulvus</i>	Par3	Pr	5	0.6	8.0	3.8	0.6	0	1.3
类群数 Group number				17	27	23	25	16	24

BF: 食细菌线虫 Bacterivores feeding; FF: 食真菌线虫 Fungivores feeding; PP: 植物寄生线虫 Plant parasites; Om: 杂食性线虫 Omnivores; Pr: 捕食性线虫 Predators..

2.2.2 不同植被类型土壤线虫群落生态指数 如表 5 所示, 苜蓿人工草地和天然草地中土壤线虫群落 Shannon 多样性指数  $H$  均高于农田, 表明种植苜蓿

表 5 不同植被类型土壤线虫群落生态指数

Table 5 Ecological indices of soil nematode communities with different vegetation types

样地 Sampling site	$H$	$\lambda$	MI	PPI	WI	NCR
CL	1.89c	0.72b	1.28c	2.83a	1.00b	0.21c
GR	2.31ab	0.79ab	3.45a	2.80a	3.55a	0.33bc
MS1	2.46a	0.86a	2.40b	2.34a	1.37b	0.44bc
MS2	2.55a	0.86a	2.38b	2.50a	2.02b	0.59ab
MS6	2.10b	0.84a	1.85bc	2.72a	1.02b	0.74a
MS12	2.52a	0.87a	1.73bc	2.74a	1.13b	0.75a

$H$ : Shannon 多样性指数 Shannon diversity index;  $\lambda$ : Simpson 优势度指数 Simpson dominance index; MI: 成熟度指数 Maturity index; PPI: 植物寄生线虫指数 Plant parasites index; WI: 瓦斯乐卡指数 Wasilewska index; NCR: 线虫通路比值 Nematode channel ratio.

和自然植被恢复均能改善土壤线虫多样性。在苜蓿种植前 2 年  $H$  有所上升, 随后逐渐下降, 在第 6 年时降到最低, 在第 12 年时又有所上升; Simpson 指数  $\lambda$  则呈现出与  $H$  相反的变化趋势。与农田相比, 退耕地种植苜蓿初期(2 年内)成熟度指数 MI 显著增加, 后随着苜蓿种植年限的增加呈下降趋势, 且天然草地 MI 值显著高于农田和苜蓿。PPI 指数在不同苜蓿种植年限间无显著差异, 但随种植年限的增加呈上升趋势, 且低于农田和天然草地。天然草地 WI 值显著高于其他样地, 在农田和苜蓿 6 年样地中最低。线虫通路指数 NCR 在农田、天然草地与苜蓿 1 年中均小于 0.5, 从苜蓿种植 2 年后大于 0.5, 并随着苜蓿种植年限的增加而逐渐增大。

2.3 土壤理化性质与土壤微生物和线虫的相关性 在不同种植年限的苜蓿人工草地以及农田和天

表 6 土壤微生物和线虫群落组成的相关系数

Table 6 Correlation coefficients between characteristics of soil microbial communities and nematode communities

微生物 Microorganism		线虫群落特征 Nematode community characteristics										
		BF	FF	PP	Om	Pr	H'	$\lambda$	MI	PPI	WI	NCR
细菌 Bacteria	变形菌门 Proteobacteria	-0.16	0.61 **	-0.03	-0.17	-0.23	-0.25	0.31	-0.15	-0.23	-0.08	-0.43
	酸杆菌门 Acidobacteria	0.27	-0.46	-0.57 *	0.47 *	0.41	0.41	-0.44	0.55 *	0.13	0.42	0.41
	放线菌门 Actinobacteria	0.36	-0.61	-0.06	0.21	-0.04	0.63 **	-0.65 **	0.07	-0.19	-0.08	0.63 **
	芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	0.10	-0.40	-0.51 *	0.54 *	0.39	0.23	-0.24	0.57 *	0.01	0.44	0.27
	绿弯菌门 Chloroflexi	0.18	-0.41	-0.40	0.44	0.24	0.38	-0.40	0.42	0.16	0.22	0.39
	拟杆菌门 Bacteroidetes	-0.27	0.48 *	0.49 *	-0.48 *	-0.27	-0.50 *	0.50 *	-0.47	0.08	-0.30	-0.45
	Chao1	0.39	-0.27	-0.60 **	0.43	0.04	0.43	-0.48 *	0.38	-0.28	0.24	0.40
	ACE	0.39	-0.27	-0.59 **	0.44	0.04	0.43	-0.48 *	0.38	-0.26	0.24	0.41
	Shannon 多样性指数 (H)	0.37	-0.33	-0.39	0.31	0.01	0.42	-0.50 *	0.23	-0.14	0.09	0.47 *
	Simpson 指数 ( $\lambda$ )	0.13	-0.33	0.16	-0.05	0.02	0.20	-0.28	-0.08	0.23	-0.14	-0.34
真菌 Fungi	被孢霉门 Mortierellomycota	0.09	-0.49 *	-0.26	0.36	0.40	-0.01	-0.06	0.41	0.16	0.28	0.28
	子囊菌门 Ascomycota	0.06	0.49 *	0.28	-0.42	-0.61 **	-0.02	0.13	-0.53 *	-0.07	-0.41	-0.14
	担子菌门 Basidiomycota	-0.37	0.07	0.17	-0.17	0.53 *	-0.03	0.07	0.04	-0.32	0.24	-0.34
	毛霉亚门 Mucoromycota	-0.22	0.46	0.20	-0.27	-0.15	-0.13	0.16	-0.23	-0.05	-0.19	0.36
	Chao1	0.12	-0.19	0.05	0.11	-0.22	-0.18	0.18	-0.12	-0.01	0.17	0.10
	ACE	0.07	-0.08	0.13	0.02	-0.28	-0.27	0.26	-0.20	0.02	-0.22	-0.02
	Shannon 多样性指数 (H)	-0.03	0.47 *	0.22	-0.28	-0.54	0.01	0.05	-0.43	-0.26	0.36	-0.23
	Simpson 指数 ( $\lambda$ )	-0.24	0.60 **	-0.10	-0.14	-0.36	-0.14	0.23	-0.21	-0.01	-0.19	-0.40

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

然草地中,微生物与线虫群落的结构组成与多样性特征存在一定相关关系(表 6)。食真菌线虫比例与细菌变形菌门以及真菌群落子囊菌门, Shannon 多样性指数和 Simpson 指数均呈显著正相关关系,而与被孢霉门呈负相关;植食线虫比例与细菌酸杆菌门、Chao1 和 ACE 指数呈显著负相关关系;杂食性线虫比例与酸杆菌门呈显著正相关;捕食性线虫比例与真菌子囊菌门呈负相关。

线虫群落的生态指数与细菌群落结构组成及多样性有密切的联系。线虫群落 Shannon 多样性指数与放线菌门相对丰度呈显著正相关;线虫 Simpson 指数与细菌群落的 Chao1、ACE 和 Shannon 多样性指数均呈显著负相关;线虫群落成熟度指数与酸杆菌门和芽单胞菌门呈显著正相关;NCR 指数与放线菌门及细菌群落 Shannon 多样性指数呈显著正相关。

RDA 结果表明,对于土壤细菌群落,速效磷 (Olsen-P)、土壤有机碳 (SOC) 和全氮 (TN) 是影响土壤细菌群落的主要因子,细菌优势菌群变形菌门与 Olsen-P 呈正相关关系,酸杆菌门以及放线菌门分别与 Olsen-P 呈负相关关系(图 6a)。对于真菌群落, Olsen-P、微生物生物量碳 (MBC)、SOC 是影响土壤真菌群落的主要因子,真菌优势菌群被孢霉门与 Olsen-P 呈负相关关系,与 MBC、SOC 呈正相关关系,子囊菌门与 TN 和 SOC 呈负相关关系(图 6b)。MBC、TN、SOC 和 Olsen-P 是影响土壤线虫群落的主

要环境因子,线虫优势属真滑刃属和茎属与 Olsen-P 呈正相关,与 TN、SOC 和 MBC 呈负相关(图 6c)。总体上,与线虫群落相比,土壤理化性质对不同种植年限苜蓿人工草地中土壤微生物群落的影响更显著。

### 3 讨 论

#### 3.1 不同种植年限紫花苜蓿人工草地对土壤微生物群落多样性和结构组成的影响

微生物参与养分循环和能量流动等关键土壤生态过程,对土壤质量状况有着重要作用,其群落组成和多样性能够灵敏地反映植被恢复过程中土壤环境和植物群落的变化<sup>[8,13]</sup>。赵彤等<sup>[19]</sup>对宁南山区不同植被类型下的土壤微生物群落进行比较时发现,苜蓿人工草地能够显著改善土壤微生物多样性;本研究也得到相似结论,苜蓿草地中的细菌群落 Chao1、ACE 和 Shannon 指数高于农田。对于不同种植年限的紫花苜蓿草地,土壤微生物丰度和多样性同样发生改变,这与张萌萌等<sup>[28]</sup>的研究结果相同。在黄土高原半干旱区,由于降雨量少,土壤肥力水平低,苜蓿草地生长盛期的持续时间很短,一般种植 6 年后草地生产力逐年下降,在 10 年以后可演变为自然植被<sup>[2]</sup>。在苜蓿种植初期 (<6 年),随着种植年限的增加,植被盖度与生物量不断增加,凋落物和根系的腐解程度增大,苜蓿根瘤菌的固氮作用较强,使土壤有机碳和养分含量增加,为细菌和真菌的稳定

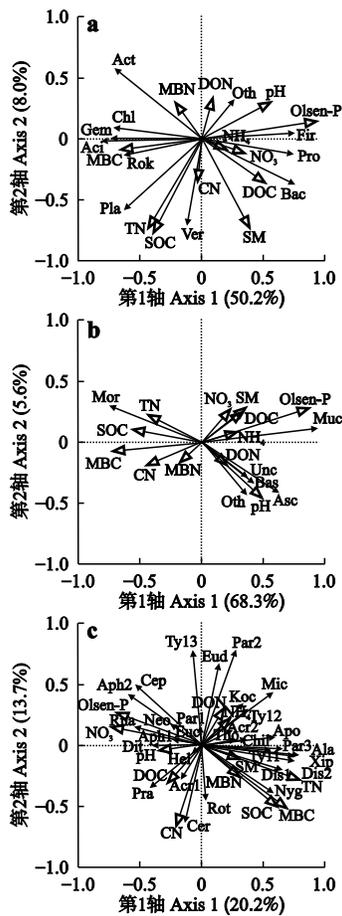


图 6 土壤细菌(a)、真菌(b)和线虫(c)群落与土壤理化性质间的冗余分析(RDA)

Fig.6 Redundancy analysis (RDA) of the relationship between soil bacterial (a), fungal (b) and nematode (c) communities and physicochemical properties.

SM: 土壤含水量 Soil moisture; SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; Olsen-P: 速效磷 Available phosphorus; CN: 碳氮比 C/N ratio; NH<sub>4</sub>: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO<sub>3</sub>: 硝态氮 Nitrate nitrogen; DOC: 水溶性碳 Dissolved carbon; DON: 水溶性氮 Dissolved nitrogen; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen. 线虫属的缩写含义见表 4 The meaning of the abbreviations of nematode genera referred to Table 4.

生长提供了良好的环境<sup>[17]</sup>。种植 6 年之后,苜蓿草地开始退化,土壤养分含量、细菌和真菌丰度与多样性均显著下降,由于苜蓿具有较强的化感自毒效应,能够通过根系分泌物、植株残体分解和地上部分淋洗等形式释放化感物质到土壤中,并呈现出逐年富集的趋势<sup>[29]</sup>,产生自毒效应,特别是对其根系的生长发育及根瘤菌的固氮能力造成损害<sup>[30]</sup>。与此同时,苜蓿生长后期草本植物的入侵导致植物群落物种多样性有所上升(数据未列出),有可能对微生物群落造成一定影响。Belnap 等<sup>[31]</sup>研究发现,植物入侵过程中由于植物输送到土壤中的有机物数量和质

量发生变化,土壤有效资源含量降低,土壤中微生物群落多样性全面降低。

农田中细菌和真菌的群落组成均与天然草地和苜蓿人工草地存在较大差异,反映了施肥等农业措施对土壤中微生物群落组成有显著影响<sup>[32]</sup>。在所有样地中,变形菌门、酸杆菌门和放线菌门为土壤细菌的主要优势菌群,这与陈孟立等<sup>[33]</sup>在宁南山区的研究结果相似。刘洋等<sup>[34]</sup>研究表明,变形菌门是碱性土壤中的主要优势群落,本研究也验证了这一点。与农田相比,贫营养型细菌类群酸杆菌门的相对丰度在苜蓿地中有所增加,而富营养型细菌类群变形菌门则减少,并且随着种植年限的增加下降程度加剧,这与黄土高原草地植被自然演替过程中的细菌群落组成的变化规律表现出相反的趋势<sup>[35]</sup>,这可能是由于随着恢复年限的增加,苜蓿自毒化感作用的增强导致土壤中可利用资源下降<sup>[30]</sup>,进而对微生物群落结构造成影响。放线菌门能够分解复杂的木质素和纤维素为土壤提供养分,并且能分泌多种抗生素类物质<sup>[36]</sup>,本研究中种植苜蓿后其相对丰度高于农田和天然草地,表明人工草地具有更多的抗生素资源。

在真菌群落中,子囊菌门和被孢菌门比例较高,这与 Yang 等<sup>[18]</sup>在黄土高原半干旱区退耕草地中发现的结果相似。子囊菌门大多数为腐生菌,本研究中各土壤 pH 值均在 8~8.5,适合腐生真菌的生长,这可能是子囊菌门为优势菌门的一个原因<sup>[37]</sup>,其相对丰度在农田及苜蓿种植前期(1~2 年)较高,这可能与土壤中较高的速效磷含量有关,Lauber 等<sup>[38]</sup>研究表明,富含有效磷的土壤含有较多的子囊菌门。Curran 等<sup>[39]</sup>研究发现,被孢霉门是土壤养分含量丰富标志类群,与土壤养分有密切联系。本研究中被孢霉门的相对丰度随苜蓿种植年限的增加呈先升后降的趋势,最高值在第 6 年,这与土壤有机碳、全氮变化规律相一致。毛霉亚门仅在苜蓿种植初期出现之后消失,表明真菌群落结构的变化可能与不同种植年限间真菌群落中类群的替代有关<sup>[40]</sup>。

### 3.2 不同种植年限紫花苜蓿人工草地对土壤线虫群落特征的影响

线虫是土壤中数量和种类最为丰富的后生动物,其群落组成和结构能够较好地指示土壤食物网和生态系统结构与功能变化<sup>[15,26]</sup>。本研究共捕获 30 属线虫,个体密度为 418 条·100 g<sup>-1</sup>干土,显著高于吴东辉等<sup>[12]</sup>对松嫩平原苜蓿人工草地土壤线虫调查研究的结果(120 条·100 g<sup>-1</sup>干土,31 属),

这主要与松嫩平原退化草地较低的土壤养分含量以及该地区较低的气温有关。苜蓿 6 年线虫数量显著高于其他样地,这与该时期养分状况以及较高的细菌丰度与多样性有着密切的关系。土壤线虫群落组成在苜蓿生长过程中存在阶段性变化,这与苜蓿草地中植物多样性的变化有关<sup>[2]</sup>。苜蓿生长盛期植物多样性单一,且线虫属数较少(17 个属,其中 14 个属与农田相同),使得苜蓿 6 年样地的土壤线虫群落组成与农田较为相似,而在苜蓿生长后期,草本植物的入侵增加了植物多样性<sup>[41]</sup>,苜蓿逐渐向天然草地退化,使得苜蓿 12 年样地更接近天然草地。

土壤线虫群落的营养结构依赖于不同营养类群所取食的食物资源状况<sup>[15]</sup>,对植物寄生线虫而言,植物根系的生长状况是影响其分布的主要因素之一<sup>[10]</sup>。苜蓿种植初期植食性线虫比例较低,随着种植年限的增加,苜蓿进入生长盛期(第 6 年),根系生物量显著增加进而导致了植食性线虫增加。然而到苜蓿生长后期,根系生物量下降但植食性线虫仍保持在较高比例,这可能是由于苜蓿自毒效应的不断增强导致其根系生长受到损害,根系抵抗力下降,为植食性线虫侵害创造了条件<sup>[42]</sup>,而较高的植食性线虫取食压力能够对植物生长产生负反馈作用<sup>[10]</sup>,进而加剧苜蓿草地的退化。农田食真菌线虫比例最高,这与真菌 Shannon 多样性指数结果相一致。较高的杂捕类线虫比例指示了较为成熟稳定的土壤生态系统,但随着苜蓿草地退化杂捕类线虫比例不断下降,土壤含水量的下降可能是原因之一。有研究通过灌溉试验发现捕食性线虫孔咽属(*Aporcelaimellus*)和真矛线属(*Eudorylaimus*)与土壤含水量呈正相关<sup>[43]</sup>,本研究中孔咽属的数量处于较高比例(9.2%)。

苜蓿样地的线虫 Shannon 多样性指数显著高于农田,表明种植苜蓿后土壤食物网多样性有所提升,宝音温都苏等<sup>[44]</sup>对内蒙古地区苜蓿土壤线虫群落结构的研究中也得到了相似结果。但随着苜蓿种植年限的增加,线虫多样性指数不断下降且在第 6 年时降至最低。这可能由于在苜蓿的生长盛期,较高的根系生物量导致了植食性线虫数量上升,造成线虫生物多样性下降。在苜蓿种植后期,草本植物的入侵促进了植物物种多样性,为线虫提供了更为多样化的食物来源<sup>[41]</sup>,因而导致线虫多样性有所上升。苜蓿 MI 指数低于天然草地,高于农田,表明退耕种植苜蓿能够提高土壤食物网的稳定性,降低土壤受外界的干扰程度。此外,在种植苜蓿 6 年后,

MI 指数明显下降,而 PPI 指数有所上升,这是由于此时期较高的植食性线虫比例导致其对植物生长的危害程度增大,引起土壤食物网的稳定性下降<sup>[25]</sup>。NCR 指数的变化表明,相比天然草地和农田,苜蓿草地土壤食物网中有机质分解速率较快,细菌通道所占比例更高。

### 3.3 土壤理化性质、微生物群落与土壤线虫间的关系

土壤养分对微生物和线虫群落组成结构具有重要影响,能够引起土壤食物网的结构和功能的变化。我们的研究表明,在退耕地建植苜蓿的植被恢复过程中,土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)和速效磷(Olsen-P)是影响土壤微生物群落结构的主要因子,特别是细菌群落,这与陈孟立等<sup>[33]</sup>和张树荫等<sup>[37]</sup>研究结果相似。其中速效磷的影响较大,Bao 等<sup>[45]</sup>研究发现,土壤中可利用磷的含量影响真菌和细菌的活性。Cleveland 等<sup>[46]</sup>发现,土壤磷含量是影响土壤微生物群落结构的主要因素。同时,TOC、TN 和 Olsen-P 也是影响线虫群落结构的主要土壤环境因子,这也间接表明土壤养分的变化对微生物群落的影响可能进一步引起更高营养级线虫群落的响应<sup>[47]</sup>。

线虫占据了土壤食物网多个营养级,对细菌和真菌群落的结构与多样性造成复杂的影响<sup>[10]</sup>。食真菌线虫比例与真菌被孢霉门和子囊菌门的相对丰度分别呈负相关和正相关关系,与真菌多样性呈正相关,这说明食真菌线虫对真菌的不同优势类群可能有着不同的取食偏好。子囊菌门是土壤中重要的分解者,其多为腐生菌,在养分循环中有着重要作用<sup>[37]</sup>。在苜蓿种植初期,土壤中较高的速效磷含量及苜蓿-根瘤菌共生体的形成为子囊菌门的生长提供了有利条件<sup>[37-38]</sup>,进而促进了其捕食者食真菌线虫比例的增加,而种植中后期速效磷含量下降,根瘤菌受到苜蓿自毒效应的影响,因而子囊菌门与食真菌线虫的相对丰度均有所下降。作为土壤养分含量丰富标志类群的被孢霉门,则表现出与子囊菌门相反的变化趋势,这可能与两类真菌的竞争程度下降有关<sup>[39]</sup>。食真菌线虫与细菌优势菌群变形菌门呈显著正相关关系,这可能由于食真菌线虫对真菌的捕食减少了真菌和细菌间的资源竞争,给细菌提供了更好的生存空间<sup>[48]</sup>。植食性线虫与细菌群落多样性指数呈显著负相关,但是张爱林等<sup>[49]</sup>对贝加尔针茅草原土壤线虫与微生物群落特征及其相互作用的研究中发现,土壤微生物与植物寄生类群线虫之间有明显的相互促进作用,这可能与植被类型有关。

苜蓿根系会分泌酚酸类物质等化感物质,在土壤中逐渐积累,导致根际生态平衡被打乱<sup>[50]</sup>,使得植食性线虫数量大量增加引发线虫病虫害,进而抑制细菌群落丰度和多样性<sup>[51]</sup>。杂食/捕食性线虫也与部分微生物优势菌群呈相关关系,表明其能够通过捕食、调节食微线虫数量来间接调控微生物群落组成<sup>[26]</sup>。线虫群落的 Simpson 指数与细菌群落多样性指数呈显著负相关,表明细菌多样性的变化能够对土壤线虫优势属的相对丰度造成一定影响,这与线虫对细菌群落的取食和资源竞争密切相关<sup>[52]</sup>。细菌放线菌门与线虫 NCR 指数存在相互关系, Crawford<sup>[53]</sup>研究表明,丰富的放线菌有利于土壤中植物有机残体分解,因此很大程度影响细菌通道在有机质分解中所占的比例。在苜蓿人工草地植被恢复过程中,植物的生物量与多样性的变化,对土壤微生物和线虫群落的食物资源状况有着显著的影响,这可能是引起其群落特征改变的主要原因。

#### 4 结 论

与农田相比,种植苜蓿后土壤细菌和线虫的丰度及多样性得到了显著提升。随着恢复年限的增加,土壤细菌群落的 Chao1、ACE 和 Shannon 多样性指数呈先增后减的趋势,并在第 6 年时达到最高,而真菌群落的 Shannon 多样性指数在种植 2 年后逐年下降;线虫总数量与细菌群落丰度和多样性的变化趋势相同,食细菌线虫、植食性线虫比例呈上升趋势,而食真菌线虫、杂食/捕食性线虫比例则相反,线虫成熟度指数逐渐降低,植物寄生线虫指数和线虫通路指数则不断增大。土壤有机碳、全氮和速效磷对土壤微生物和线虫群落组成影响较大。微生物优势菌门与线虫营养类群、生态指数存在密切联系,表明微生物群落组成结构与多样性变化可能对线虫群落产生显著影响,二者共同影响着土壤食物网的结构与功能。在苜蓿人工草地植被恢复过程中,植物的生物量与多样性的变化,可能是引起土壤微生物与线虫群落特征变化的主要原因。

#### 参考文献

[1] 唐克丽,张仲子,孔晓玲,等.黄土高原水土流失与土壤退化的研究.水土保持通报,1987,7(6):12-18 [Tang K-L, Zhang Z-Z, Kong X-L, et al. A study of soil loss and soil degradation in the Loess Plateau. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 1987, 7(6): 12-18]

[2] 李裕元,邵明安.黄土高原北部紫花苜蓿草地退化过程与植物多样性研究.应用生态学报,2005,16

(12): 2321-2327 [Li Y-Y, Shao M-A. Degradation process and plant diversity of alfalfa grassland in North Loess Plateau of China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(12): 2321-2327]

[3] He H, Peng Q, Wang X, et al. Growth, morphological and physiological responses of alfalfa (*Medicago sativa*) to phosphorus supply in two alkaline soils. *Plant and Soil*, 2017, 416: 565-584

[4] 周恒,时永杰,路远,等.不同种植年限紫花苜蓿种植地土壤容重及含水量特征.江苏农业科学,2016,44(5):490-494 [Zhou H, Shi Y-J, Lu Y, et al. Study on soil bulk density and water content of alfalfa with different growth years. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(5): 490-494]

[5] 李婷,赵世伟,李晓晓,等.宁南山区不同年限苜蓿地土壤有机质官能团特征.应用生态学报,2012,23(12):3266-3272 [Li T, Zhao S-W, Li X-X, et al. Characters of soil organic matter functional groups in the fields planted with alfalfa (*Medicago sativa*) for different years in hilly regions of south Ningxia, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(12): 3266-3272]

[6] 李金芬,程积民,刘伟,等.黄土高原云雾山草地土壤有机碳、全氮分布特征.草地学报,2010,18(5):661-668 [Li J-F, Chen J-M, Liu W, et al. Distribution of soil organic carbon and total nitrogen of grassland in Yunwu Mountain of Loess Plateau. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18(5): 661-668]

[7] 赵如梦,张炳学,王晓霞,等.黄土高原不同种植年限苜蓿草地土壤与植物化学计量特征.草业科学,2019,36(5):1189-1199 [Zhao R-M, Zhang B-X, Wang X-X, et al. Ecological stoichiometry characteristics of soil and plant of alfalfa with different growing years on the Loess Plateau. *Pratacultural Science*, 2019, 36(5): 1189-1199]

[8] Wall DH, Moore JC. Interactions underground: Soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. *Bio-science*, 1999, 49: 109-117

[9] Yeates GW. Soil nematodes in terrestrial ecosystems. *Nematology*, 1979, 11: 213-229

[10] 杜晓芳,李英滨,刘芳,等.土壤微食物网结构与生态功能.应用生态学报,2018,29(2):403-411 [Du X-F, Li Y-B, Liu F, et al. Structure and ecological functions of soil micro-food web. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(2): 403-411]

[11] Frouz J, Toyota A, Mudrák, et al. Effects of soil substrate quality, microbial diversity and community composition on the plant community during primary succession. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 99: 75-84

[12] 吴东辉,尹文英,卜照义.松嫩草原中度退化草地不同植被恢复方式下土壤线虫的群落特征.生态学报,2008,28(1):1-12 [Wu D-H, Yin W-Y, Bu Z-Y. Changes among soil nematode community characteristics in relation to different vegetation restoration practices in the moderate degraded grasslands of Songnen. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 1-12]

[13] 胡婵娟,郭雷.植被恢复的生态效应研究进展.生态

- 环境学报, 2012, **21**(9): 1640–1646 [Hu C-J, Guo L. Advances in the research of ecological effects of vegetation restoration. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, **21**(9): 1640–1646]
- [14] Pascual JA, Garcia C, Hernandez T, *et al.* Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, **32**: 1877–1883
- [15] Bongers T, Bongers M. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, 1998, **10**: 239–251
- [16] Agnello AC, Huguenot D, Van Hullebusch ED, *et al.* Citric acid- and Tween 80-assisted phytoremediation of a co-contaminated soil: Alfalfa (*Medicago sativa* L.) performance and remediation potential. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**: 9215–9226
- [17] 邵继承. 种植年限对紫花苜蓿地土壤理化特性及其微生物影响的研究. 硕士论文. 通辽: 内蒙古民族大学, 2008 [Tai J-C. Study on Effects of Planting Years on Alfalfa Soil Physical-chemical Characteristics and Microorganisms. Master Thesis. Tongliao: Inner Mongolia University for the Nationalities, 2008]
- [18] Yang Y, Dou YX, Huang YM, *et al.* Links between soil fungal diversity and plant and soil properties on the Loess Plateau. *Frontiers in Microbiology*, 2017, **8**: 2198–2210
- [19] 赵彤, 黄懿梅, 温鹏飞. 高通量测序技术研究宁南山区不同植被恢复对土壤细菌的影响. 西部大开发(土地开发工程研究), 2016(4): 19–26 [Zhao T, Huang Y-M, Wen P-F. Influence of different vegetation restoration on soil bacteria by using high-throughput sequencing technologies in mountainous area of southern Ningxia. *Western Development (Land Development and Engineering Research)*, 2016(4): 19–26]
- [20] Li LJ, Han XZ. Changes of soil properties and carbon fractions after long-term application of organic amendments in Mollisols. *Catena*, 2016, **143**: 140–144
- [21] Magoç T, Salzberg SL. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, **27**: 2957–2963
- [22] Shannon CE. The mathematical theory of communication. *Bell Labs Technical Journal*, 1950, **3**: 31–32
- [23] Simpson EH. Measurement of diversity. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia*, 1972, **27**: 261
- [24] Bongers T. Nematodes of Netherland. Utrecht, the Netherland: Pirola Schoorl, 1988
- [25] Bongers T. The maturity index: An ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 1990, **83**: 14–19
- [26] Yeates GW. Nematodes as soil indicators: Functional and biodiversity aspects. *Biology & Fertility of Soils*, 2003, **37**: 199–210
- [27] Wasilewska L. The effect of age of meadows on succession and diversity in soil nematode communities. *Pedobiologia*, 1994, **38**: 1–11
- [28] 张萌萌, 敖红, 张景云, 等. 建植年限对紫花苜蓿根际土壤微生物群落功能多样性的影响. 草业科学, 2014, **31**(5): 787–796 [Zhang M-M, Ao H, Zhang J-Y, *et al.* Effects of planting years on functional diversity of carbon-metabolic microbial community in rhizosphere soils of alfalfa. *Pratacultural Science*, 2014, **31**(5): 787–796]
- [29] 李玉占, 梁文举, 姜勇. 苜蓿化感作用研究进展. 生态学杂志, 2004, **23**(5): 186–191 [Li Y-Z, Liang W-J, Jiang Y. Research progress in alfalfa allelopathy. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, **23**(5): 186–191]
- [30] Jennings JA, Nelson CJ. Influence of soil texture on alfalfa autotoxicity. *Agronomy Journal*, 1998, **90**: 54–58
- [31] Belnap J, Phillips SL. Soil biota in an ungrazed grassland: Response to annual grass (*Bromus tectorum*) invasion. *Ecological Applications*, 2001, **11**: 1261–1275
- [32] Tao HH, Slade EM, Willis KJ, *et al.* Effects of soil management practices on soil fauna feeding activity in an Indonesian oil palm plantation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, **218**: 133–140
- [33] 陈孟立, 曾全超, 黄懿梅, 等. 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 [Chen M-L, Zeng Q-C, Huang Y-M, *et al.* Effects of the farmland-to-forest/grassland conversion program on the soil bacterial community in the loess hilly region. *Environment Science*, 2018, **39**(4): 1824–1832]
- [34] 刘洋, 黄懿梅, 曾全超. 黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究. 环境科学, 2016, **10**(10): 3928–3938 [Liu Y, Huang Y-M, Zeng Q-C. Soil bacterial communities under different vegetation types in the Losses Plateau. *Environment Science*, 2016, **10**(10): 3928–3938]
- [35] Zhang C, Liu GB, Xue S, *et al.* Soil bacterial community dynamics reflect changes in plant community and soil properties during the secondary succession of abandoned farmland in the Loess Plateau. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, **97**: 40–49
- [36] 伍文宪, 张蕾, 黄小琴, 等. 川西北高寒牧区不同人工草地对土壤微生物多样性影响. 草业学报, 2019, **28**(3): 29–41 [Wu W-X, Zhang L, Huang X-Q, *et al.* Difference in soil microbial diversity in artificial grassland of the Northwest Plateau of Sichuan Province. *Acta Pratacultural Sinica*, 2019, **28**(3): 29–41]
- [37] 张树萌, 黄懿梅, 倪银霞, 等. 宁南山区人工林草对土壤真菌群落的影响. 中国环境科学, 2018, **38**(4): 1449–1458 [Zhang S-M, Huang Y-M, Ni Y-X, *et al.* Effects of artificial forest and grass on soil fungal community at southern Ningxia mountain. *China Environmental Science*, 2018, **38**(4): 1449–1458]
- [38] Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, *et al.* The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, **40**: 2407–2415
- [39] Curran HJ, Fischer SL, Dryer FL. The reaction kinetics of dimethyl ether. II: Low-temperature oxidation in flow reactors. *International Journal of Chemical Kinetics*, 2000, **32**: 741–759
- [40] Zumsteg R, Puzrin AM. Stickiness and adhesion of con-

- ditioned clay pastes. *Tunnelling and Underground Space Technology*, 2012, **31**: 86–96
- [41] 刘羽霞, 许嘉巍, 靳英华, 等. 长白山苔原草本植物入侵与土壤环境的关系. *生态学报*, 2018, **38**(4): 1235–1244 [Liu Y-X, Xu J-W, Jin Y-H, *et al.* Relationship between herbaceous plant invasion and soil properties in the Changbai Mountain Tundra. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, **38**(4): 1235–1244]
- [42] 李彦斌, 刘建国, 谷冬艳. 植物化感自毒作用及其在农业中的应用. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(增刊 1): 347–350 [Li Y-B, Liu J-G, Gu D-Y. Allelopathic autotoxicity of plants and its application in agriculture. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, **26**(suppl. 1): 347–350]
- [43] Porazinska DL, McSorley R, Duncan LW, *et al.* Nematode community composition under various irrigation schemes in a citrus soil ecosystem. *Nematology*, 1998, **30**: 170–178
- [44] 宝音温都苏, 希吉勒, 阿拉木斯, 等. 不同种植模式对苜蓿地土壤线虫群落种类及区系的影响. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版*, 2012, **33**(4): 272–276 [Bao Y-W-D-S, Xi J-L, A L-M-S, *et al.* Different planting patterns on soil nematode community in alfalfa species and flora impact. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University: Natural Science*, 2012, **33**(4): 272–276]
- [45] Bao Z, Ikonaga Y, Matsushita Y, *et al.* Combined analyses of bacterial, fungal and nematode communities in andosolic agricultural soils in Japan. *Microbes and Environments*, 2012, **27**: 72–79
- [46] Cleveland CC, Schmidt TSK. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests: Evidence from short-term laboratory incubations and field studies. *Ecosystems*, 2002, **5**: 680–691
- [47] Kerfahi D, Tripathi BM, Dong K, *et al.* Rainforest conversion to rubber plantation may not result in lower soil diversity of bacteria, fungi, and nematodes. *Microbial Ecology*, 2016, **72**: 359–371
- [48] Bonkowski M, Cheng WX, Griffiths BS, *et al.* Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 2000, **36**: 135–147
- [49] 张爱林, 赵建宁, 洪杰, 等. 贝加尔针茅草原土壤线虫与微生物群落特征及其相互作用. *草地学报*, 2018, **26**(1): 77–84 [Zhang A-L, Zhao J-N, Hong J, *et al.* Characteristics and interaction of soil nematodes and microbial communities in *Stipa grandis* grassland. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, **26**(1): 77–84]
- [50] 宋亮, 潘开文, 王进闯, 等. 酚酸类物质对苜蓿种子萌发及抗氧化酶活性的影响. *生态学报*, 2006, **26**(10): 3393–3403 [Song L, Pan K-W, Wang J-C, *et al.* Effects of phenolic acids on seed germination and seeding antioxidant enzyme activity of alfalfa. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, **26**(10): 3393–3403]
- [51] Brussaard L, de Ruiter PC, Brown GG. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2007, **121**: 233–244
- [52] 胡锋, 李辉信, 谢涟琪, 等. 土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其对 N、P 矿化生物固定的影响及机理. *生态学报*, 1999, **19**(6): 914–920 [Hu F, Li H-X, Xie L-Q, *et al.* Interactions of bacterivorous nematode and bacteria and their effects on mineralization-immobilization of nitrogen and phosphorus. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, **19**(6): 914–920]
- [53] Crawford DL. Lignocellulose decomposition by selected streptomycetes strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, **35**: 1041–1045

作者简介 耿德洲, 男, 1995 年生, 硕士研究生。主要从事土壤生态学研究。E-mail: gengcan12345@163.com

责任编辑 肖红

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



耿德洲, 黄菁华, 霍娜, 等. 黄土高原半干旱区不同种植年限紫花苜蓿人工草地土壤微生物和线虫群落特征. *应用生态学报*, 2020, **31**(4): 1365–1377

Geng D-Z, Huang J-H, Huo N, *et al.* Characteristics of soil microbial and nematode communities under artificial *Medicago sativa* grasslands with different cultivation years in semi-arid region of Loess Plateau, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, **31**(4): 1365–1377