

短期增温对紫花针茅草原土壤微生物群落的影响

王 军^{1,2} 王冠钦^{1,2} 李 飞^{1,2} 彭云峰¹ 杨贵彪^{1,2} 郁建春^{1,2} 周国英³
杨元合^{1,2*}

¹中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093; ²中国科学院大学, 北京 100049; ³中国科学院西北高原生物研究所藏药研究重点实验室, 西宁 810008

摘 要 土壤微生物是生态系统碳循环的重要参与者和调控者。全球变暖可能对土壤微生物群落产生影响, 加速陆地生态系统向大气中释放碳, 进而引起陆地碳循环对气候变暖的正反馈。然而, 目前学术界对土壤微生物群落如何响应气候变暖等问题认识不足, 尤其是缺乏低温干旱条件下土壤微生物对增温响应的实验证据。为此, 该文依托青藏高原紫花针茅(*Stipa purpurea*)草原建立的增温实验平台, 基于磷脂脂肪酸(PLFA)方法测定了2015和2016年生长季表层(0–10 cm)土壤微生物各类群的生物量, 在此基础上揭示气候变暖对紫花针茅草原土壤微生物群落结构的影响。结果显示, 短期增温处理导致2015和2016年生长季(5–10月)的表层土壤温度均显著提高1.6 °C, 同时也导致土壤含水量显著下降了3.4%和2.4% (体积分数), 但并没有显著改变土壤化学性质及归一化植被指数。增温处理下, 两年生长季旺期(8月)的微生物生物量碳(MBC)含量分别为749.0和844.3 mg·kg⁻¹, 微生物生物量氮(MBN)含量为43.1和102.1 mg·kg⁻¹, 微生物生物量碳氮比分别为17.9和8.4, 但实验期间MBC、MBN和微生物生物量碳氮比与对照没有差异。PLFA分析的结果显示细菌在微生物群落中占主导, 而丛枝菌根真菌含量最少, 增温处理并没有改变不同类群的微生物生物量以及群落结构。进一步的分析显示, 土壤温度和含水量是调控土壤微生物群落变异的主要因子, 并且增温导致的微生物生物量碳的变化量分别与土壤温度和含水量的变化量呈显著正相关关系。以上结果表明, 由于受水分的限制, 短期增温对紫花针茅草原土壤微生物群落没有显著影响。

关键词 气候变暖; 磷脂脂肪酸; 微生物群落; 青藏高原; 高寒草原

王军, 王冠钦, 李飞, 彭云峰, 杨贵彪, 郁建春, 周国英, 杨元合 (2018). 短期增温对紫花针茅草原土壤微生物群落的影响. 植物生态学报, 42, 116–125. DOI: 10.17521/cjpe.2017.0297

Effects of short-term experimental warming on soil microbes in a typical alpine steppe

WANG Jun^{1,2}, WANG Guan-Qin^{1,2}, LI Fei^{1,2}, PENG Yun-Feng¹, YANG Gui-Biao^{1,2}, YU Jian-Chun^{1,2}, ZHOU Guo-Ying³, and YANG Yuan-He^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; and ³Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China

Abstract

Aims Soil microbe plays key role in mediating terrestrial carbon cycles. It has been suggested that climate warming may affect the microbial community, which may accelerate carbon release and induce a positive feedback to soil climate warming. However, there is still controversy on how microbial community responds to experimental warming, especially in cold and drought environment.

Methods We conducted an open top chambers (OTCs) experiment to explore the effects of warming on soil microbial community in an alpine steppe on Qinghai-Xizang Plateau. During the maximum of the growing seasons (August) of 2015 and 2016, we monitored the biomass and structure of soil microbial community in warming and control plots using phospholipid fatty acids (PLFA) as biomarkers.

Important findings Short-term warming treatment significantly increased the soil temperature by 1.6 and 1.6 °C and decreased soil moisture by 3.4% and 2.4% (volume fraction) respectively, but did not alter either soil properties or normalized difference vegetation index (NDVI) during the growing season (from May to October) in 2015 and 2016. During the maximum of growing seasons (August) of 2015 and 2016, the magnitude of microbial biomass carbon (MBC) were 749.0 and 844.3 mg·kg⁻¹, microbial biomass nitrogen (MBN) were 43.1 and 102.1 mg·kg⁻¹,

收稿日期Received: 2017-11-13 接受日期Accepted: 2018-01-05

基金项目: 国家自然科学基金(31670482)。Supported by National Natural Science Foundation of China (31670482).

* 通信作者Corresponding author (yhyang@ibcas.ac.cn)

and the microbial biomass C:N ranged between 17.9 and 8.4. Moreover, all three showed no significant differences between warming and control treatments. The abundance of bacteria was the most in microbial community, while arbuscular mycorrhizal fungi was the least, and warming treatment did not alter the abundance of different microbial group and the microbial community structure. Nonetheless, our result revealed that warming-induced changes in MBC had significant positive correlation with changes in soil temperature and soil moisture. These patterns indicate that, microbial community in this alpine steppe may not respond substantially to future climate warming due to the limitation of soil drought. Therefore, estimation of microbial community response to climate change calls for consideration on the combined effect of warming and drought.

Key words climate warming; phospholipid fatty acids (PLFA); microbial community; Qinghai-Xizang Plateau; alpine steppe

Wang J, Wang GQ, Li F, Peng YF, Yang GB, Yu JC, Zhou GY, Yang YH (2018). Effects of short-term experimental warming on soil microbes in a typical alpine steppe. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 116–125. DOI: 10.17521/cjpe.2017.0297

当前全球正经历着快速的增温过程。自1880年以来, 全球气温已上升0.85 °C, 预计21世纪末气温将上升1.5–4.8 °C (IPCC, 2013)。显著的气候变暖会改变陆地生态系统碳循环(Smith & Fang, 2010; Wolf *et al.*, 2016)。气候变暖会加速土壤呼吸(Hicks *et al.*, 2017), 导致生态系统向大气的碳排放增加, 进而引起生态系统碳循环对气候变暖的正反馈(Luo *et al.*, 2009; Friedlingstein, 2015)。然而, 关于正反馈假说的实验证据存在较大争议, 这些争议很大程度上是因为学术界对生态系统碳循环对气候变暖的反馈机制认识不足, 没有充分考虑土壤微生物的作用。土壤微生物是碳(C)、氮(N)、磷(P)、硫(S)等生物地球化学循环的重要参与者和调控者, 在生态系统碳循环中起着关键作用(沈菊培和贺纪正, 2011; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016), 地球系统模型中加入土壤微生物因素能有效地改进模型对碳循环及其对气候变暖反馈关系的预测能力(Lehmann & Kleber, 2015)。鉴于此, 研究土壤微生物生物量及其群落组成对气候变暖的响应, 对准确认识未来气候变暖背景下陆地碳循环的演变规律及其与气候变暖之间的反馈关系具有重要意义(Schmidt *et al.*, 2011)。

国内外学者已广泛开展了增温对土壤微生物影响的研究。以往研究显示, 气候变暖可能会影响土壤微生物群落结构。例如, 增温导致温带草原土壤细菌和真菌群落的生物量显著增加(Zhou *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2016b), 也可能单独提高土壤细菌或真菌群落的丰度, 而不影响其他群落(杨林等, 2016; Cheng *et al.*, 2017)。此外, 有些研究发现增温可能并不改变土壤微生物的群落结构(Weedon *et al.*, 2012; Hopkins *et al.*, 2014)。这些研究很大程度上促进了学术界对土壤微生物群落对气候变暖响应的认

识, 然而, 以往的研究主要集中在温带地区, 来自寒冷地区的证据较为缺乏。最新的一项整合分析显示, 在全球11类生态系统的25个原位增温实验中, 仅有两个实验来自低温地区(Romero-Olivares *et al.*, 2017)。实际上, 低温条件下土壤微生物群落对气候变暖十分敏感(Margestin *et al.*, 2009; Xue *et al.*, 2016a)。例如, 最近的一项研究指出, 在北极冻土区, 增温1.5年显著改变了土壤中与碳氮循环相关的微生物功能类群(Xue *et al.*, 2016a)。但是, 温度上升会导致土壤含水量下降, 尤其是在低温并且干旱的环境中, 这可能会限制土壤微生物对气候变暖的响应。按照现有的报道, 由于土壤干旱对微生物活性的抑制, 土壤微生物的生物量在气候变暖背景下可能并不会提高(李世清等, 2004), 甚至可能会出现下降(Sheik *et al.*, 2011)。同样, 在土壤干旱的条件下, 土壤微生物的群落结构也可能并不会响应气候变暖, 而是保持相对稳定的状态(Zhang *et al.*, 2015a)。因此, 关于低温干旱地区土壤微生物如何响应气候变暖这一问题值得进一步研究。

青藏高原位于我国西南地区, 平均海拔超过4 000 m, 是我国最大、世界最高的高原, 被称为“地球第三极”。自20世纪以来, 青藏高原地区的气温显著上升(Liu & Chen, 2000; Zhang *et al.*, 2015b)。高海拔导致青藏高原具有低温的气候特征, 进而使得这一地区的生态过程对气候变暖十分敏感(Chen *et al.*, 2013)。高寒草原是青藏高原面积最大的草地生态系统, 面积达 $6.4 \times 10^5 \text{ km}^2$ (Ding *et al.*, 2016), 而紫花针茅(*Stipa purpurea*)是青藏高原地区的特有植物(Yang *et al.*, 2015), 作为建群种构成了青藏高原高寒草地中分布广、最具代表性的紫花针茅草原(Miller, 2005; 段敏杰等, 2010)。因此, 紫花针茅草

原成为研究高寒干旱生态系统中土壤微生物群落对增温响应的理想平台。本研究依托在青海省刚察县三角城种羊场建立的紫花针茅草原增温控制实验平台, 试图揭示紫花针茅草原土壤微生物生物量及群落结构对增温的响应及其调控因素。

1 材料和方法

1.1 样地概况和实验设计

本研究在青海省刚察县三角城种羊场开展, 详细的样地情况见Peng等(2017)的描述。简单来讲, 研究区域过去30年的年平均气温为0.08 °C, 年降水量为387 mm, 属于高原大陆性气候, 植被类型为青藏高原高寒草原中最具代表性的紫花针茅草原。我们于2013年建立了增温实验平台, 每个4 m × 4 m的样方内设置增温与对照两种配对处理, 共设10个重复。采用开顶箱(OTC)装置实现增温, 于2013年7月开始全年连续增温处理。同时, 在每个实验处理中安装土壤温湿度探头, 采用EM50数据采集器(Decagon Devices, Pullman, USA)以0.5 h为间隔持续记录5 cm深度的土壤温湿度。

1.2 研究方法

1.2.1 土壤样品采集与测定

我们于2015和2016年的生长季旺盛期(8月)采集了土壤样品。在每个样方的对照、增温处理中随机选3个点, 去除表层凋落物, 采用直径3 cm的土钻取表层0–10 cm的土壤, 将3钻样品混匀, 挑根, 并过2 mm筛后分为两份。一份储存于–20 °C冰箱内用于微生物生物量碳、氮以及磷脂脂肪酸(PLFA)等指标的测定; 另一份自然风干, 用于分析土壤理化性质。此外, 在每年8月的生长季旺期每隔7–10天使用多光谱数码相机(Tetracam, Chatsworth, Los Angeles, USA)测定归一化植被指数(*NDVI*)。

为了揭示短期增温对土壤性质的影响, 我们测定了土壤碳(C)、氮(N)元素含量。其中, 土壤总碳含量(TC)和全氮含量(TN)采用元素分析仪(Vario EL III Elementar, Elementar Analysensysteme GmbH, Langenselbold, Germany)测定。土壤无机碳含量(SIC)采用碳酸盐分析仪(Eijelkamp 08.53, Eijelkamp, Giesbeek, Netherlands)测定, 土壤有机碳含量(SOC)则通过计算TC减去SIC的差值获得。SOC与TN的比值作为土壤碳氮比(C:N)。

1.2.2 土壤微生物生物量碳、氮含量的测定

为了揭示短期增温对土壤微生物生物量的影响, 我们基于氯仿熏蒸法(Vance *et al.*, 1987)测定了微生物生物量碳(MBC)、氮(MBN)。首先, 称取20 g的新鲜土样在25 °C条件下预培养7天, 然后放入真空干燥器, 常温下用氯仿熏蒸24 h, 用0.5 mol·L⁻¹的K₂SO₄浸提。同时称取同等质量的土壤样品, 不经氯仿熏蒸, 直接用0.5 mol·L⁻¹的K₂SO₄浸提(吴金水等, 2006)。浸提液采用碳氮分析仪(multi-N/C 3100, Analytik Jena AG, Jena, Germany)测定C、N含量, 通过计算熏蒸和未熏蒸浸提液的C、N浓度差值获得MBC和MBN, 转换系数采用0.45和0.54 (Brookes *et al.*, 1985; Tischler *et al.*, 2014)。

1.2.3 土壤微生物群落结构的测定

为了揭示短期增温对土壤微生物群落结构的影响, 我们参照Bossio等(1998)的方法测定了土壤微生物PLFA。首先利用单相氯仿-甲醇-磷酸缓冲液提取土壤微生物PLFA, 然后将提取的磷脂通过固相萃取柱分离糖脂和中性脂, 并将极性脂甲酯化形成PLFA甲基脂。最后将样品用含有正十九酸甲酯(19:0)作为内标的正己烷重新溶解, 用气相色谱仪(Agilent 6850, Agilent Technologies, Santa Clara, USA)进行测定。分析过程中, 依据MIDI微生物鉴别系统进行脂肪酸鉴定, 并采用以下指示脂肪酸标准: 丛枝菌根真菌(AMF): 16:1 ω 5c (Olsson, 1999); 真菌: 18:2 ω 6, 9c 18:1 ω 9 (Frostegård *et al.*, 1993); 革兰氏阳性菌(G⁺): i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, a17:0, i17:0; 革兰氏阴性菌(G⁻): 16:1 ω 7c, cy-17:0, 18:1 ω 7, cy19:0 (Frostegård & Bååth, 1996), 阳性菌与阴性菌加和得到细菌的丰度; 放线菌: 10Me-16:0, 10Me-17:0, 10Me-18:0 (Kroppenstedt, 1985)。饱和脂肪酸: 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0; 不饱和脂肪酸: 16:1 ω 7c, 16:1 ω 5c, 17:1 ω 8c, a17:1, 18:1 ω 9c, 18:1 ω 7c, 18:1 ω 5c。土壤微生物的生理状态通过饱和与不饱和脂肪酸之比(S/M)表征(Moore-Kucera & Dick, 2008)。土壤微生物总PLFA为各类群微生物PLFA的总和, 各类群PLFA占总PLFA的比例为相应类群的相对丰度。

1.3 数据分析

数据分析按照以下步骤进行。首先, 采用配对*t*检验来检验环境变量(土壤温度、土壤含水量、SOC、TC、TN、C:N及*NDVI*)和微生物生物量及群落对增

温的响应。其次,采用双因素方差分析检验增温处理和环境因子的年际波动对不同土壤微生物群落的影响,并利用主成分分析法(PCA)检验增温对微生物群落结构的影响,冗余分析法(RDA)分析微生物群落结构与环境变量(土壤温度、土壤含水量、SOC、TC、TN、C:N)之间的关系。最后,利用混合线性回归分析了土壤温度的变化量(ΔST , 增温-对照)、土壤水分变化量(ΔSM , 增温-对照)与微生物生物量碳的变化量(ΔMBC , 增温-对照)之间的关系。上述统计分析利用软件R 3.4.0 (R Development Core Team, 2017)及CANOCO 5.0 (Microcomputer Power, Ithaca, New York)完成。

2 研究结果

2.1 短期增温对土壤环境和地上植被的影响

4年增温处理显著改变了土壤微环境(表1)。增温显著提高了土壤表层0–5 cm的温度,2015和2016年的土壤平均温度分别为14.4和15.4 °C,相对于对

照均上升了1.6 °C (2015年: $p < 0.01$; 2016年: $p < 0.01$; 表1)。同时,增温处理导致土壤含水量显著下降,2015和2016年的土壤平均含水量分别为9.8%和13.3%,相对于对照分别下降了3.4%和2.4% (体积分数; 2015年: $p < 0.05$, 2016年: $p < 0.01$; 表1)。然而,增温并没有改变土壤SOC、TC、TN和C:N等化学性质,也没有改变NDVI (表1)。需要说明的是,NDVI在2015和2016年间略有差异,但土壤属性在两年实验期间较为稳定(表1)。

2.2 短期增温对土壤微生物群落的影响

4年增温并没有改变MBC和MBN (图1)。短期增温处理后,2015、2016年的MBC分别为749.0、844.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, MBN分别为43.1和102.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,二者相对于对照没有显著差异(图1A、1B)。类似地,增温处理中2015、2016年的微生物C:N分别为17.9和8.4,并且和对照相比没有显著差异(图1A、1B)。此外, MBC和MBN之间呈现显著的线性关系(2015年,对照: $R^2 = 0.86$, $p < 0.01$; 增温: $R^2 = 0.83$, $p < 0.01$;

表1 短期增温对土壤理化性质及地上植被的影响

Table 1 Short-term warming effects on soil physicochemical properties and standing vegetation

土壤因子 Soil factors	2015年		2016年	
	对照 Control	增温 Warming	对照 Control	增温 Warming
土壤温度 Soil temperature (°C)	12.80 ± 0.30	14.40 ± 0.20**	13.90 ± 0.20	15.40 ± 0.30**
土壤含水量(体积分数) Soil moisture (volume fraction)	13.20 ± 1.80	9.80 ± 1.10**	15.60 ± 1.80	13.30 ± 1.20*
有机碳含量 Soil organic carbon content (%)	3.20 ± 0.20	3.20 ± 0.20	3.30 ± 0.10	3.32 ± 0.10
总碳含量 Total carbon content (%)	4.50 ± 0.20	4.40 ± 0.20	4.20 ± 0.10	4.50 ± 0.10
全氮含量 Total nitrogen content (%)	0.38 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.38 ± 0.01
碳氮比	8.50 ± 0.20	8.60 ± 0.20	8.70 ± 0.20	8.80 ± 0.20
归一化植被指数 Normalized difference vegetation index	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.02

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

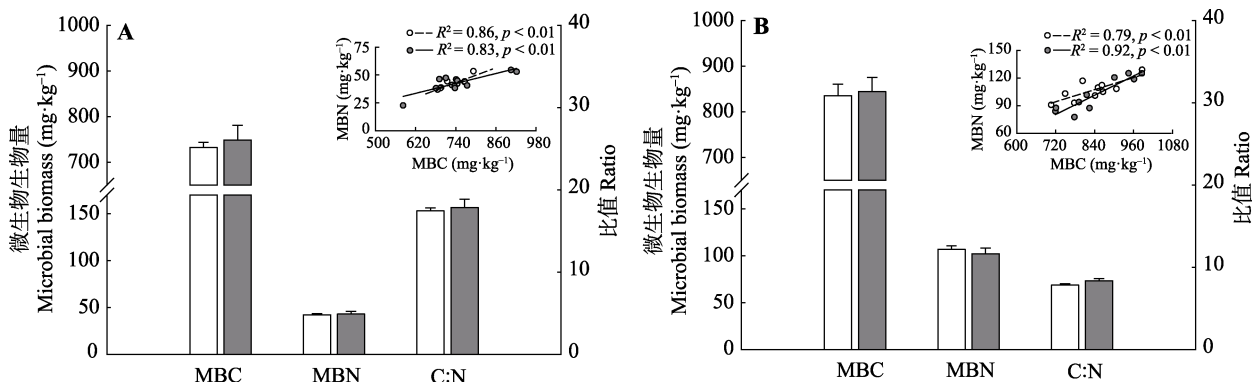


图1 2015(A)和2016年(B)生长季(8月)对照与增温处理下的土壤微生物生物量碳(MBC)、氮(MBN)、微生物生物量碳氮比(C:N)及MBC与MBN之间的关系(平均值±标准误差)。灰色柱条和圆圈为增温处理;白色柱条和圆圈为对照处理。

Fig. 1 Microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), and microbial biomass C:N under control and warming treatment during the growing season (August) in 2015 (A) and 2016 (B), as well as the relationships between MBC and MBN (mean ± SD). The gray bars and cycles represent warming treatments. The white bars and cycles represent control treatments.

0.01; 2016年, 对照: $R^2 = 0.79$, $p < 0.01$; 增温: $R^2 = 0.92$, $p < 0.01$; 图1A、1B), 且这种关系并没有受到短期增温的影响(2015年: $p = 0.08$, 2016年: $p = 0.13$)。

基于PLFA分析的结果显示, 细菌在紫花针茅草原生态系统的土壤微生物群落中占据主导地位, 其他类群的微生物占群落总量的35%–43%; 而AMF的占比为3%, 是相对量最少的微生物类群(图2)。并且, 短期增温并没有改变紫花针茅草原土壤微生物的群落结构。2015、2016年增温处理中, 土壤革兰氏阳性菌(G^+)、革兰氏阴性菌(G^-)、细菌、AMF、真菌以及放线菌的相对丰度均没有发生变化。

基于双因素方差分析的结果表明, 细菌、 G^+ 、 G^- 、AMF、放线菌的相对丰度以及土壤总PLFA、F/B、S/M出现显著的年际差异($p < 0.05$), 而真菌和 G^+/G^- 在两年间保持不变(表2)。两年综合分析中, 除了AMF和放线菌, 增温对其他各个土壤微生物类群及F/B、 G^+/G^- 、S/M没有显著影响。短期增温处理并没有显著改变S/M, 表明短期增温可能并没有对

微生物群落的生理状态产生影响。此外, 除了细菌群落, 增温和环境因子年际波动的交互作用对土壤微生物群落也没有显著影响(表2)。

表2 基于双因素方差分析得到的短期增温(W)、取样时间(T)及其交互作用(W × T)对微生物群落的影响(F值)

Table 2 Results (F values) of two-way ANOVA on the effects of short-term warming (W), sampling date (T), and their interactions (W × T) on microbial community

微生物群落 Microbial community	T	W	W × T
细菌 Bacteria	159.90**	0.11	4.30*
革兰氏阳性菌 Gram-positive bacteria	173.66**	0.93	2.56
革兰氏阴性菌 Gram-negative bacteria	67.70**	0.00	2.50
丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi	7.20*	8.49*	0.03
真菌 Fungi	2.12	0.18	2.13
放线菌 Actinomycetes	24.28**	5.37*	0.02
真菌细菌比 Fungi/Bacteria	123.85**	0.15	0.01
G^+/G^-			
Gram-positive bacteria/Gram-negative bacteria	0.27	0.45	0.28
饱和与不饱和脂肪酸比 Saturated PLFAs / Monosaturated PLFAs	7.13*	2.24	0.86
磷脂脂肪酸总量 Total phospholipid fatty acids	157.39**	1.67	1.08

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

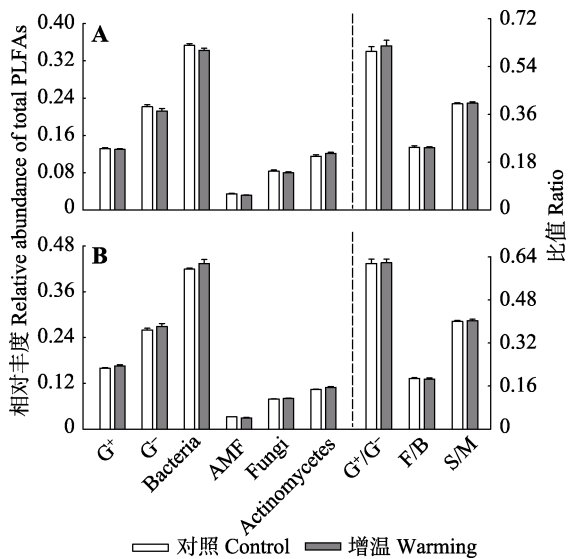


图2 短期增温对不同土壤微生物类群的影响(平均值±标准误差)。A, 2015年。B, 2016年。Actinomycetes, 放线菌; AMF, 丛枝菌根真菌; Bacteria, 细菌; Fungi, 真菌; G^+ , 革兰氏阳性菌; G^- , 革兰氏阴性菌; F/B, 真菌与细菌比值; G^+/G^- , 革兰氏阳性菌与阴性菌比值; S/M, 饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸比值。

Fig. 2 Effects of short-term experimental warming on different soil microbial groups (mean ± SD). A, In 2015. B, In 2016. AMF, arbuscular mycorrhizal fungi; G^+ , gram-positive bacteria; G^- , gram-negative bacteria; F/B, ratio of fungi and bacteria; G^+/G^- , ratio of gram-positive bacteria and gram-negative bacteria; S/M, ratio of saturated PLFAs and monosaturated PLFAs.

PCA分析的结果进一步证实增温没有改变土壤微生物的群落结构。2015年PC1轴和PC2轴分别能够解释土壤微生物群落结构变异的57.3%和19.0%, 总解释率为76.3% (图3A); 2016年PC1轴和PC2轴分别解释了群落结构变异的46.8%和23.7%, 总解释率为70.5% (图3B)。两年中增温处理与对照的微生物群落相互重叠, 没有显著差异(2015年, $p = 0.08$; 2016年, $p = 0.34$; 图3A、3B)。

RDA分析结果显示, 排序轴能够解释微生物群落结构变异的49.2% (轴1: 37.4%; 轴2: 11.8%, 图4)。土壤温度、含水量、TN分别解释22.8% ($p < 0.01$)、20.7% ($p < 0.01$)、8.7% ($p < 0.01$)的微生物群落结构变异。土壤细菌生物量与土壤温度和含水量之间显著正相关, 进一步证明土壤温度和含水量对土壤微生物群落的调控作用。此外, TN能够解释8.7%的微生物群落结构变异($p < 0.01$)。

3 讨论

本文研究了紫花针茅草原土壤微生物群落对短期增温的响应, 发现尽管短期增温导致土壤温度显著增加, 土壤微生物的生物量和群落结构并没有发生改变。这种现象可能由以下3个原因造成。

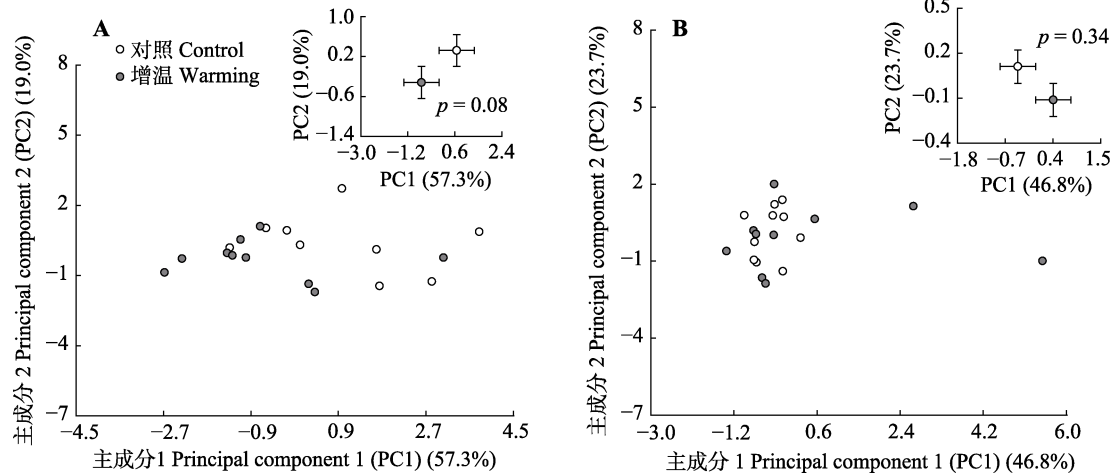


图3 短期增温对土壤微生物群落结构的影响(平均值±标准误差)。A, 2015年。B, 2016年。

Fig. 3 Effects of short-term experimental warming on soil microbial community structure (mean ± SE). A, In 2015. B, In 2016.

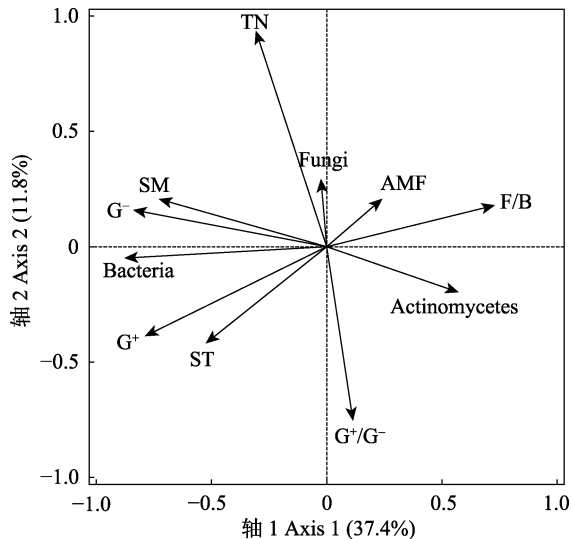


图4 基于冗余分析得到的2015和2016年微生物群落与环境因子之间的关系。Actinomycetes, 放线菌; AMF, 丛枝菌根真菌; Bacteria, 细菌; Fungi, 真菌; G^+ , 革兰氏阳性菌; G^- , 革兰氏阴性菌; F/B, 真菌与细菌比值; G^+/G^- , 革兰氏阳性菌与阴性菌比值; SM, 土壤含水量; ST, 土壤温度; TN, 全氮含量。

Fig. 4 Redundancy analysis of soil microbial community to soil environmental parameters. AMF, arbuscular mycorrhizal fungi; G^+ , gram-positive bacteria; G^- , gram-negative bacteria; F/B, ratio of fungi and bacteria; G^+/G^- , ratio of gram-positive bacteria and gram-negative bacteria; SM, soil moisture; ST, soil temperature; TN, total nitrogen content.

首先, 土壤微生物群落自身及其与土壤、植物组成的互作体系能够在一定程度上保持稳定。一方面, 微生物群落对环境胁迫具有一定的抗性, 使微生物群落得以在气候变暖等环境变化中保持稳定 (Griffiths & Philippot, 2013; 贺纪正等, 2013)。本研究的结果表明, 尽管短期增温显著地影响了AMF和

放线菌的生物量(表2), 然而这两个类群的微生物在土壤总微生物群落中所占比例很小, 不足以影响微生物的群落结构(图3)。因此, 持续4年的增温并没有整体上改变微生物的生物量及群落结构。另一方面, 除了土壤微生物本身的特性, 土壤性质和地上植被对微生物也有重要的影响, 三者间存在密切的交互作用(Pailler *et al.*, 2014; Birgander *et al.*, 2017)。最近的研究显示, 土壤性质和地上植物是调控青藏高原高寒草地土壤微生物群落的主要因素, 具体表现为SOC、土壤C:N、NDVI等环境因子与土壤微生物群落的显著相关性(Chen *et al.*, 2016)。本研究中, 增温处理并没有改变土壤SOC、TC、TN以及土壤C:N, 同时NDVI也没有发生显著变化。因此, 土壤性质和地上植被在短期增温背景下的相对稳定性可能导致土壤微生物群落没有受到短期土壤增温的显著影响。

其次, 土壤温度和水分等环境因素会对土壤微生物群落产生不同影响, 进而抑制土壤微生物对气候变暖的响应。大量研究表明, 土壤温度与土壤含水量对微生物的生理状态、生物量及群落结构有重要影响(Brockett *et al.*, 2012; Zeglin *et al.*, 2013)。气候变暖能够提高微生物代谢过程的酶活性(Nazaries *et al.*, 2015), 促进微生物的生长。本研究中, 我们发现土壤温度和水分对微生物群落结构有显著影响(图4), 同时土壤温度的变化量与微生物生物量碳的变化量之间存在显著的正相关关系(图5A), 在土壤温度显著上升的背景下(图5A), 这一结果意味着气候变暖也可能会对紫花针茅草原土壤微生物产生促进作用。然而, 如果生态系统受到水分的限制, 微生

物的变化将有所不同。例如, Sheik等(2011)在温带草原的研究发现, 正常降水年份中, 增温使土壤微生物生物量提高40%–150%; 而在干旱年份, 增温处理的土壤微生物生物量会下降50%–80%, 表明干旱会抵消增温对微生物的促进效应。本研究中, 我们发现土壤含水量的变化量与微生物生物量碳的变化量同样存在显著的正相关关系(图5B), 说明高寒草地生态系统存在水分限制, 而由于增温处理导致土壤含水量显著下降(图5B), 土壤的干旱将抵消增温对土壤微生物的促进作用, 进而使得微生物群落没有显著改变。

此外, 增温处理中土壤微生物群落特征保持相对稳定可能与增温时间较短以及增温幅度较低有关。以往的增温实验表明, 土壤微生物对增温的响应取决于增温年限。例如, Weedon等(2012)发现9年

的增温实验不足以改变微生物群落, 然而15年的增温导致微生物群落发生了显著变化(Rinnan *et al.*, 2007), 说明土壤微生物群落对增温的响应可能存在时间滞后, 也就是说微生物群落对短时间增温不会做出及时的响应。在我们的研究中, 4年的增温对于微生物群落来说可能时间较短, 不足以产生变化。除了增温的年限, 增温的幅度可能也会限制土壤微生物对增温的响应。王文立等(2015)通过整合分析证实, 土壤微生物的响应比与增温幅度之间显著正相关。即增温幅度越高, 微生物群落的变化越大。本实验采用开顶箱被动增温, 该装置对表层土壤的增温能力有限($< 2^{\circ}\text{C}$), 因此可能尚未达到显著影响土壤微生物群落的温度阈值。

值得注意的是, 本研究采用PLFA作为生物标记物指示微生物群落, PLFA法能够准确地反映不同类群微生物的生物量, 并且能反映微生物表现型和活性的信息(Frostegård *et al.*, 2011), 因此该方法能够确定相对宏观的微生物群落结构特征。然而, 该标记物的检测精度有限, 很难得到微生物种属一级的精确信息(Frostegård *et al.*, 2011), 无法检测更精细的微生物群落组成。鉴于此, 未来研究应考虑采用基于分子分析的定量PCR、高通量测序以及宏基因组等手段, 以揭示土壤微生物群落的精细结构及其对增温的响应。

4 结论

本研究利用青藏高原高寒草原生态系统的增温平台, 通过熏蒸法和PLFA法测定了土壤微生物生物量及群落结构, 在此基础上揭示了紫花针茅草原土壤微生物群落对短期增温的响应。结果表明, 土壤干旱抵消了温度上升对土壤微生物群落的促进作用, 导致其生物量与群落结构在4年增温中均保持不变。这个结果表明, 未来预测增温对土壤微生物群落的影响时, 应当考虑干旱对土壤微生物群落响应增温的限制作用。尽管如此, 由于土壤微生物群落对外界干扰具有一定程度的抵抗力, 4年增温可能并不会产生显著影响, 同时PLFA法的检测精度有限, 难以区分更精细的微生物群落组成。因此, 未来的研究应当延长增温处理期限, 并采用诸如高通量测序等更高精度的手段揭示土壤微生物群落结构及其对气候变暖的响应。

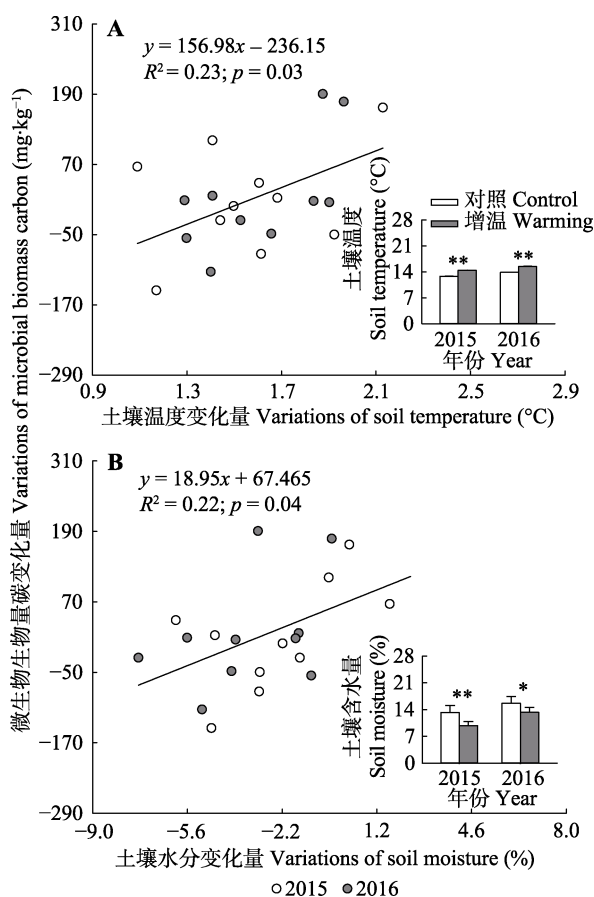


图5 土壤微生物生物量碳变化量(增温-对照)与土壤温度的变化量(增温-对照, A)、土壤水分的变化量(增温-对照, B)之间的关系及短期增温对土壤温度和土壤含水量的影响。

Fig. 5 Relationships among warming-induced changes (warming-control) in microbial biomass carbon, soil temperature (A) and soil moisture (B), and the effects of short-term warming on soil temperature and moisture.

参考文献

- Birgander J, Rousk J, Olsson PA (2017). Warmer winters increase the rhizosphere carbon flow to mycorrhizal fungi more than to other microorganisms in a temperate grassland. *Global Change Biology*, 23, 5372–5382.
- Bossio DA, Scow KM, Gunapala N, Graham KJ (1998). Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology*, 36, 1–12.
- Brockett BFT, Prescott CE, Grayston SJ (2012). Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeomatic zones in western Canada. *Soil Biology & Biochemistry*, 44, 9–20.
- Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 17, 837–842.
- Chen H, Zhu Q, Peng CH, Wu N, Wang YF, Fang XQ, Gao YH, Zhu D, Yang G, Tian JQ, Kang XM, Piao SL, Ouyang H, Xiang WH, Luo ZB, Jiang H, Song XZ, Zhang Y, Yu GR, Zhao XQ, Gong P, Yao TD, Wu JH (2013). The impacts of climate change and human activities on biogeochemical cycles on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Global Change Biology*, 19, 2940–2955.
- Chen YL, Ding JZ, Peng YF, Li F, Yang GB, Liu L, Qin SQ, Fang K, Yang YH (2016). Patterns and drivers of soil microbial communities in Tibetan alpine and global terrestrial ecosystems. *Journal of Biogeography*, 43, 2027–2039.
- Cheng L, Zhang NF, Yuan MT, Xiao J, Qin YJ, Deng Y, Tu QC, Xue K, Van Nostrand JD, Wu LY, He ZL, Zhou XH, Leigh MB, Konstantinidis KT, Schuur EA, Luo YQ, Tiedje JM, Zhou JZ (2017). Warming enhances old organic carbon decomposition through altering functional microbial communities. *The ISME Journal*, 11, 1825–1835.
- Delgado-Baquerizo M, Maestre FT, Reich PB, Jeffries TC, Gaitan JJ, Encinar D, Berdugo M, Campbell CD, Singh BK (2016). Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature Communications*, 7, 10541. DOI:10.1038/ncomms10541.
- Ding JZ, Li F, Yang GB, Chen LY, Zhang B, Liu L, Fang K, Qin SQ, Chen YL, Peng YF, Ji C, He H, Smith P, Yang YH (2016). The permafrost carbon inventory on the Tibetan Plateau: A new evaluation using deep sediment cores. *Global Change Biology*, 22, 2688–2701.
- Duan MJ, Gao QZ, Wan YF, Li Y, Guo YQ, Danjiu LB, Luosang JS (2010). Effect of grazing on community characteristics and species diversity of *Stipa purpurea* alpine grassland in Northern Tibet. *Acta Ecologica Sinica*, 30, 3892–3900. [段敏杰, 高清竹, 万运帆, 李玉娥, 郭亚奇, 旦久罗布, 洛桑加措 (2010). 放牧对藏北紫花针茅高寒草原植物群落特征的影响. 生态学报, 30, 3892–3900.]
- Friedlingstein P (2015). Carbon cycle feedbacks and future climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 373, DOI: 10.1098/rsta.2014.0421.
- Frostegård A, Bååth E (1996). The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology & Fertility of Soils*, 22, 59–65.
- Frostegård A, Bååth E, Tunlio A (1993). Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology & Biochemistry*, 25, 723–730.
- Frostegård A, Tunlid A, Bååth E (2011). Use and misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 1621–1625.
- Griffiths BS, Philippot L (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiology Reviews*, 37, 112–129.
- He JZ, Li J, Zheng YM (2013). Thoughts on the microbial diversity-stability relationship in soil ecosystems. *Biodiversity Science*, 21, 411–420. [贺纪正, 李晶, 郑袁明 (2013). 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考. 生物多样性, 21, 411–420.]
- Hicks PCE, Castanha C, Porras R, Torn MS (2017). The whole-soil carbon flux in response to warming. *Science*, 355, 1420–1423.
- Hopkins FM, Filley TR, Gleixner G, Lange M, Top SM, Trumbore SE (2014). Increased belowground carbon inputs and warming promote loss of soil organic carbon through complementary microbial responses. *Soil Biology & Biochemistry*, 76, 57–69.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2013). *Climate Change 2013: the Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Kroppenstedt RM (1985). Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In: Goodfellow M, Minnikin D eds. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. Academic Press, London, UK.
- Lehmann J, Kleber M (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528, 60.
- Li SQ, Ren SJ, Li SX (2004). Seasonal change of soil microbial biomass and the relationship between soil microbial biomass and soil moisture and temperature. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 10, 18–23. [李世清, 任书杰, 李生秀 (2004). 土壤微生物体氮的季节性变化及其与土壤水分和温度的关系. 植物营养与肥料学报, 10, 18–23.]
- Liu XD, Chen BD (2000). Climatic warming in the Tibetan Plateau during recent decades. *International Journal of*

DOI: 10.17521/cjpe.2017.0297

- Climatology*, 20, 1729–1742.
- Luo YQ, Sherry R, Zhou XH, Wan SQ (2009). Terrestrial carbon-cycle feedback to climate warming: Experimental evidence on plant regulation and impacts of biofuel feedstock harvest. *GCB Bioenergy*, 1, 62–74.
- Margesin R, Jud M, Tscherko D, Schinner F (2009). Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 67, 208–218.
- Miller DJ (2005). The Tibetan Steppe. In: Suttie JM, Reynolds SG, Batello C eds. *Grasslands of the World*. UN Food and Agriculture Organization, Rome.
- Moore-Kucera J, Dick RP (2008). PLFA profiling of microbial community structure and seasonal shifts in soils of a douglas-fir chronosequence. *Microbial Ecology*, 55, 500–511.
- Nazaries L, Tottey W, Robinson L, Khachane A, Abu Al-Soud W, Sorensen S, Singh BK (2015). Shifts in the microbial community structure explain the response of soil respiration to land-use change but not to climate warming. *Soil Biology & Biochemistry*, 89, 123–134.
- Olsson PA (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 29, 303–310.
- Pailler A, Vennetier M, Torre F, Ripert C, Guiral D (2014). Forest soil microbial functional patterns and response to a drought and warming event: Key role of climate-plant-soil interactions at a regional scale. *Soil Biology & Biochemistry*, 70, 1–4.
- Peng YF, Li F, Zhou GY, Fang K, Zhang DY, Li CB, Yang GB, Wang GQ, Wang J, Yang YH (2017). Linkages of plant stoichiometry to ecosystem production and carbon fluxes with increasing nitrogen inputs in an alpine steppe. *Global Change Biology*, 23, 5249–5259.
- Rinnan R, Michelsen A, Baath E, Jonasson S (2007). Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem. *Global Change Biology*, 13, 28–39.
- Romero-Olivares AL, Allison SD, Treseder KK (2017). Soil microbes and their response to experimental warming over time: A meta-analysis of field studies. *Soil Biology & Biochemistry*, 107, 32–40.
- Schmidt MW, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kogel-Knabner I, Lehmann J, Manning DA, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, 49–56.
- Sheik CS, Beasley WH, Elshahed MS, Zhou XH, Luo YQ, Krumholz LR (2011). Effect of warming and drought on grassland microbial communities. *The ISME Journal*, 5, 1692–1700.
- Shen JP, He JZ (2011). Responses of microbes-mediated carbon and nitrogen cycles to global climate change. *Acta Ecologica Sinica*, 31, 2957–2967. [沈菊培, 贺纪正 (2011). 微生物介导的碳氮循环过程对全球气候变化的响应. *生态学报*, 31, 2957–2967.]
- Smith P, Fang C (2010). Carbon cycle: A warm response by soils. *Nature*, 464, 499–500.
- Tischer A, Potthast K, Hamer U (2014). Land-use and soil depth affect resource and microbial stoichiometry in a tropical mountain rainforest region of southern Ecuador. *Oecologia*, 175, 375–393.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, 19, 703–707.
- Wang WL, Kong WD, Zeng H (2015). A meta-analysis of responses of soil microbes to warming. *Journal of Agro-Environment Science*, 34, 2169–2175. [王文立, 孔维栋, 曾辉 (2015). 土壤微生物对增温响应的Meta分析. *农业环境科学学报*, 34, 2169–2175.]
- Weedon JT, Kowalchuk GA, Aerts R, Hal VJ, Logtestijn VR, Taş N, Røling WFM, Bodegom VPM (2012). Summer warming accelerates sub-arctic peatland nitrogen cycling without changing enzyme pools or microbial community structure. *Global Change Biology*, 18, 138–150.
- Wolf S, Keenan TF, Fisher JB, Baldocchi DD, Desai AR, Richardson AD, Scott RL, Law BE, Litvak ME, Brunsell NA (2016). Warm spring reduced carbon cycle impact of the 2012 US summer drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113, 5880–5885.
- Wu JS, Lin QM, Huang QY, Xiao HA (2006). *Soil Microbial Biomass—Methods and Application*. China Meteorological Press, Beijing. [吴金水, 林启美, 黄巧云, 肖和艾 (2006). 土壤微生物生物量测定方法及其应用. 气象出版社, 北京.]
- Xue K, Yuan MT, Shi ZJ, Qin YJ, Deng Y, Cheng L, Wu LY, He ZL, Van Nostrand JD, Bracho R, Natali S, Schuur EAG, Luo CW, Konstantinidis KT, Wang Q, Cole JR, Tiedje JM, Luo YQ, Zhou JZ (2016a). Tundra soil carbon is vulnerable to rapid microbial decomposition under climate warming. *Nature Climate Change*, 6, 595–600.
- Xue K, Yuan MT, Xie JP, Li DJ, Qin YJ, Hale L, Wu LY, Deng Y, He ZL, Van Nostrand JD (2016b). Annual removal of aboveground plant biomass alters soil microbial responses to warming. *mBio*, 7, e00976–16, DOI:10.1128/mBio.00976-16.
- Yang L, Chen YM, He RL, Deng CC, Liu JW, Liu Y (2016). Responses of soil microbial community structure and function to simulated warming in alpine forest. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 27, 2855–2863. [杨林, 陈亚梅, 和润莲, 邓长春, 刘军伟, 刘洋 (2016). 高山森林土壤微生物群落结构和功能对模拟增温的响应. *应用生态学报*, 27, 2855–2863.]

- Yang YQ, Li XL, Kong XX, Ma L, Hu XY, Yang YP (2015). Transcriptome analysis reveals diversified adaptation of *Stipa purpurea* along a drought gradient on the Tibetan Plateau. *Functional & Integrative Genomics*, 15, 295–307.
- Zeglin LH, Bottomley PJ, Jumpponen A, Rice CW, Arango M, Lindsley A, McGowan A, Mfombep P, Myrold DD (2013). Altered precipitation regime affects the function and composition of soil microbial communities on multiple time scales. *Ecology*, 94, 2334.
- Zhang NL, Wan SQ, Guo JX, Han GD, Gutknecht J, Schmid B, Yu L, Liu WX, Bi J, Wang Z, Ma KP (2015a). Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands. *Soil Biology & Biochemistry*, 89, 12–23.
- Zhang XZ, Shen ZX, Fu G (2015b). A meta-analysis of the effects of experimental warming on soil carbon and nitrogen dynamics on the Tibetan Plateau. *Applied Soil Ecology*, 87, 32–38.
- Zhou JZ, Xue K, Xie JP, Deng Y, Wu LY, Cheng XL, Fei SF, Deng SP, He ZL, van Nostrand JD, Luo YQ (2011). Microbial mediation of carbon-cycle feedbacks to climate warming. *Nature Climate Change*, 2, 106–110.

责任编辑: 陈保冬 责任编辑: 王 葳



扫码加入读者圈
听语音, 看问答