

放牧对中国北部草地土壤真菌群落组成和功能的影响: Meta 分析*

林曦照¹, 李星陆¹, 姜筱雨¹, 贺鹏¹, 王雪薇¹, 凌宁^{1, 2†}

(1. 兰州大学草种创新与草地农业生态系统全国重点实验室/草地农业科技学院, 兰州 730000; 2. 南京农业大学资源与环境科学学院/江苏省固体有机废弃物资源化研究重点实验室, 南京 210095)

摘要: 为明确放牧对中国北部草地土壤真菌群落组成和功能影响的普遍规律, 并为草原生态保护提供理论依据, 收集了 119 条放牧草地的土壤真菌原始数据, 使用统一的生物信息学处理方式和 Meta 分析方法探究放牧草地土壤真菌 α -多样性、群落组成和功能群落的变化, 并使用加权混合效应模型进行环境因素分析。结果表明: 放牧使土壤真菌 α -多样性降低, 同时显著降低了土壤中病原真菌、木腐真菌、土壤腐生真菌、内生真菌的相对丰度。土壤真菌 α -多样性降低以及功能真菌相对丰度的改变依赖于不同地区环境因素的变化。在土壤有机碳含量和碳氮比较低以及年均降水量高的地区, 放牧对土壤真菌 α -多样性的负效应被适当缓解。初始有机碳含量和禁牧时间影响了土壤功能真菌丰度变化的趋势。长期禁牧能够恢复土壤腐生型和共生型真菌的相对丰度。随初始碳氮比的升高, 放牧条件下病原真菌相对丰度的减少程度减弱, 而腐生真菌相对丰度的减少程度增强。降水量越低的地区, 放牧会更大程度减少腐生和共生真菌的相对丰度。总体而言, 放牧对中国北部草地土壤真菌群落的 α -多样性和功能产生负效应, 但负效应程度和趋势依赖于当地环境状况。

关键词: Meta 分析; 放牧; 真菌群落; 生态功能; 草地

中图分类号: S812 文献标志码: A

Meta-analysis: Effects of Grazing on Composition and Function of Soil Fungal Community in Northern Grasslands of China

LIN Xizhao¹, LI Xinglu¹, JIANG Xiaoyu¹, HE Peng¹, WANG Xuewei¹, LING Ning^{1, 2 †}

(1. College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University / State Key Laboratory of Herbage Improvement and Grassland, Agroecosystems, Lanzhou 730000, China; 2. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University / Jiangsu Provincial Key Laboratory of Solid Organic Waste Utilization, Nanjing 210095, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to clarify the general rules of the impact of grazing on the composition and function of soil fungal communities in northern grasslands of China, and to provide the theoretical foundation for ecological conservation efforts in these grasslands. 【Method】 This study collected 119 raw data of soil fungi from different studies in grazed grasslands, used unified bioinformatics processing methods and meta-analysis to demonstrate the changes in α -diversity, community composition and functional groups of soil fungi within grazed

*国家自然科学基金项目 (42277100) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42277100)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: nling@njau.edu.cn

作者简介: 林曦照 (1999—), 女, 福建福州人, 硕士研究生, 主要从事草地微生物多样性与功能研究。E-mail: linxzh21@lzu.edu.cn

收稿日期: 2023-04-15; 收到修改稿日期: 2023-10-15; 网络首发日期 (www.cnki.net):

<http://pedologica.issas.ac.cn>

grasslands, and used weighted mixed-effects models for environmental factor analysis. 【Result】 The results indicated that grazing reduced the soil fungal α -diversity and significantly decreased the relative abundance of pathotrophic fungi, wood saprotrophic fungi, soil saprotrophic fungi, and endophytic fungi. The change in grazing soil fungal α -diversity and functional fungal relative abundance depended on altered environmental factors in different regions. The negative effect of grazing on soil fungal α -diversity was mitigated to some extent in the regions with lower organic carbon content, lower carbon-to-nitrogen ratio, and higher annual precipitation. Initial soil organic carbon content and grazing exclusion duration influenced the variations in functional fungal abundance, with long-term grazing exclusion promoting the recovery of soil saprotrophic and symbiotrophic fungi communities. As the initial carbon-to-nitrogen ratio increased, the degree of reduction in the relative abundance of pathotrophic fungi under grazing decreased. In contrast, the degree of reduction in the relative abundance of saprotrophic fungi increased. Importantly, in regions with lower precipitation, grazing had a more significant impact on reducing the relative abundance of saprotrophic and symbiotrophic fungi. 【Conclusion】 Overall, grazing negatively affected the α -diversity and functional traits of soil fungal communities in the northern grasslands of China. However, the degree and direction of this effect depended on the local environmental conditions.

Key words: Meta-analysis; Grazing; Fungal community; Ecological function; Grassland

中国北部地区温带草原是草地畜牧业主要的自然资源^[1]。放牧作为草地生态系统的主要生产方式为牧民带来可观的经济收益^[2]，但不合理的放牧方式会破坏草地生态系统^[3]。同时，草地基况的差异使草地的抗干扰能力不尽相同^[4]。因此，评估放牧对中国北部不同地区草地生态系统健康的影响对我国畜牧业生产具有重要意义。

土壤微生物是决定草地生态系统功能和土壤生产力的重要因素之一^[5]，微生物的 α -多样性是衡量土壤生态系统健康的重要指标^[6]。放牧活动中的采食、践踏、粪尿输入等过程改变草原的土壤微生物生存环境^[7]。其中，真菌在土壤中参与了诸多生态过程，如加速凋落物分解从而促进草地生物化学养分循环，提升草地生态系统健康水平^[6]。功能真菌的丰富度与草地植物的丰富度和生产力有着密切联系。腐生型真菌能够分解土壤惰性有机碳，促进土壤养分循环^[8]，病原型真菌会通过负密度制约 (Negative density dependence) 或生长防御平衡策略 (Growth-defense tradeoffs) 影响优势物种，从而促进植物的物种共存^[9]，但也会干扰生态系统稳定性^[10]。同时，土壤真菌群落组成能够反映出土壤生态状况^[11]。众所周知，放牧影响草地土壤微生物的 α -多样性^[12]，但其变化具有环境依赖性^[13]。因此，综合探究放牧对土壤真菌群落的 α -多样性和功能的影响对保护草原生态功能健康有重要意义。

Meta 分析是一种系统性定量分析方法，可利用效应值定量表现相同研究问题的多个研究结果的试验数据，系统分析目标处理产生的综合效应及其影响因素^[14]。目前已有 Meta 分析证明放牧对土壤微生物群落生物量和多样性变化的影响^[15-16]，但是，尚未有研究关注放牧条件下真菌群落组成及其功能的变化；同时，目前有关放牧导致土壤微生物群落变化的 Meta 分析均未使用标准化的生物信息处理方式，这可能影响结果的准确性。因此，应当进行统一参数的下游数据处理，保证研究结果的标准化，以提高数据结果可比性，对 Meta 分析方法在土壤微生物群落组成领域研究的应用具有进步意义。

综上所述，为系统研究放牧对中国北部草地土壤真菌群落组成和功能的影响，本文收集含有公开二代测序原始数据的研究，通过统一的生物信息学处理方式得到放牧前后的草地真菌种群信息，再使用真菌种群数据库和功能数据库进行注释，通过 Meta 分析整合草地土壤真菌群落受放牧影响的程度，最后结合环境因素，对土壤真菌群落的 α -多样性以及不同功能群落丰度受放牧的影响进行了相关性分析。本研究结果为中国北部放牧区草原土壤真菌群落生态功能保护和北部草原开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料收集

本研究在 Web of Science 数据库筛选 2022 年 5 月前的文献,检索词如下: graz* and (grassland or soil) and (microb* or fung*) and high through-put。本研究借助文献中的研究课题检索号 (SRP) 从美国国家生物技术信息中心数据库 (NCBI) 下载各研究中公开的真菌测序数据,这些数据均来自自由因美纳公司 (Illumina) 平台提供的放牧前后土壤样本 DNA 的测序结果,样本所使用的测序引物为 2 对 (ITS1F/ITS2R、ITS5-1737F/ITS2-2043R)。为筛选能够准确反映放牧影响的文章,本研究制定了三项研究入选标准:(1) 自然条件下进行放牧处理,在对照组和处理组中至少有一对数据,以证明放牧产生的影响。(2) 研究者上传数据库的测序数据信息必须完整,能够对应到处理组和对照组。(3) 土壤理化试验结果应该准确展现对照组和处理组中所选变量的平均值和样本量 (n)。本研究借助 Sratoolkit 工具于公共数据库 NCBI 中获取文中的原始测序数据,共收集了 119 条样本测序数据,以放牧处理与禁牧为一对观察组,摘录文中环境因素信息,若为表格数据则直接摘录,若为图片信息则使用 getdata 工具摘录。本研究所收集到的环境信息有试验点位置、年均降水量 (MAP)、放牧密度、放牧年限 (GY)、禁牧时间、初始土壤有机碳 (SOC)、初始全氮 (TN) 等背景信息。本文用于解释效应值变化的环境因素信息见表 1。需要注意的是,本研究所使用的环境信息均为放牧地初始土壤信息,以此研究不同环境背景下放牧对真菌群落的影响,所有的标准误转化为标准差进行计算。使用元数据表格列出样本数据源和详尽的样本环境信息,表中所有信息的计量单位均统一。

表 1 可获取土壤真菌原始数据的地块信息

Table 1 Plot information for available raw data of soil fungi

| 试验地点 ^① | NCBI 号 ^② | 年均降水量 ^③ /mm | 海拔高度 ^④ /m | 禁牧时间 ^⑤ /a | 放牧年限 ^⑥ /a | 放牧密度 ^⑦ / (sheep·h m ⁻²) | 酸度 ^⑧ /度 ^⑧ | 碳氮比 ^⑨ /比 ^⑨ | 初始有机碳 ^⑩ /(g·kg ⁻¹) | 初始全氮 ^⑪ /(g·kg ⁻¹) | 文献 ^⑫ |
|-------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--|------------------------------------|-------------------------------------|--|---|-----------------|
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 14 | - | - | 8.32 | 10.8 | 24.6 | 2.27 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 19 | - | - | 8.53 | 10 | 10.1 | 1.01 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 24 | - | - | 8.46 | 10.6 | 16.1 | 1.53 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 29 | - | - | 8.37 | 10.6 | 27.8 | 2.64 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 34 | - | - | 8.33 | 10.4 | 27.3 | 2.61 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 14 | - | - | 8.44 | 10.3 | 22.2 | 2.17 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 19 | - | - | 8.62 | 9.3 | 8.3 | 0.87 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 24 | - | - | 8.5 | 10.3 | 14.8 | 1.44 | [17] |
| N,106.24 E | SRP139 861 | 425 | 1 200 | 29 | - | - | 8.44 | 10.1 | 24.3 | 2.4 | [17] |

| | | | | | | | | | | | |
|------------|--------|-------|-------|----|----|-------|------|------|-------|------|------|
| 36.06 | SRP139 | 425 | 1 200 | 34 | - | - | 8.36 | 9.9 | 25.3 | 2.54 | [17] |
| N,106.24 E | 861 | | | | | | | | | | |
| 42.78 | SRP345 | 180.3 | 1 107 | - | 12 | 0.375 | 7.66 | 12.6 | - | 0.76 | [18] |
| N,112.67 E | 875 | | | | | | | 1 | | | |
| 42.78 | SRP345 | 180.3 | 1 107 | - | 12 | 0.5 | 7.66 | 12.6 | - | 0.76 | [18] |
| N,112.67 E | 875 | | | | | | | 1 | | | |
| 42.78 | SRP345 | 180.3 | 1 107 | - | 12 | 0.625 | 7.83 | 10.5 | - | 0.64 | [18] |
| N,112.67 E | 875 | | | | | | | 7 | | | |
| 42.78 | SRP345 | 180.3 | 1 107 | - | 12 | 0.75 | 7.66 | 12.6 | - | 0.76 | [18] |
| N,112.67 E | 875 | | | | | | | 1 | | | |
| 44.25N,116 | SRP312 | 286 | - | - | 5 | 0.75 | 7.18 | 12.0 | 19.86 | 1.65 | [19] |
| .70 E | 469 | | | | | | | 9 | | | |
| 44.25N,116 | SRP312 | 286 | - | - | 5 | 1.5 | 7.18 | 12.0 | 19.86 | 1.65 | [19] |
| .70 E | 469 | | | | | | | 9 | | | |
| 44.25N,116 | SRP312 | 286 | - | - | 5 | 2.25 | 7.18 | 12.0 | 19.86 | 1.65 | [19] |
| .70 E | 469 | | | | | | | 9 | | | |
| 44.25N,116 | SRP312 | 286 | - | - | 5 | 3 | 7.18 | 12.0 | 19.86 | 1.65 | [19] |
| .70 E | 469 | | | | | | | 9 | | | |
| 44.75 | SRP302 | 150 | 1 368 | - | 20 | 21 | 8.3 | - | - | - | [20] |
| N,123.75 E | 187 | | | | | | | | | | |

注:表中“-”表示该地块研究未记录该信息。Note: The “-” in the chart indicates the absence of this information for the plot. ① Experiment location, ②NCBI number, ③Mean annual precipitation, ④Elevation, ⑤Grazing exclusion year, ⑥Grazing year, ⑦Stocking rate, ⑧pH, ⑨C/N, ⑩Initial soil organic carbon, ⑪ Initial total nitrogen, ⑫Reference.

1.2 数据处理

本研究对获取到的原始测序数据进行以下处理。在 USEARCH 软件中,用“fastq_mergepairs”函数合并每个研究中的原始配对末端(正向和反向)序列,用“fastx_truncate”切除引物,为保证引物和样品标签完全除去,共切去序列首尾两端各 30 bp,用“fastq_filter”函数删除序列长度小于 150 bp 和总错误率过高(Q<25)的低质量序列。然后使用“fastx_uniques”和“unosie3”函数对序列进行去冗余和去噪并生成代表序列。再使用“otutab”函数生成 zOTU 表格。使用“syntax”函数用 UNITE 数据库(http://www.drive5.com/usearch/manual/syntax_downloads.html)以 50%的识别阈值对代表序列进行注释。在 R 4.1.2 软件中使用“rreify”函数对各研究的 zOTU 表格进行抽平,抽平至序列数目为 10 000。

1.3 数据分析

使用 R4.1.2 软件中的“vegan”包对各抽平后的 zOTU 表格进行多样性计算,使用“FUNGuildR”包对物种注释后的 zOTU 表格进行功能注释,使用的数据库为 Funguilds (<http://www.stbates.org/guilds/app.php>)。

使用 Microsoft Excel 2016 软件,依据各研究内同处理的样地计算结果,包括观察到的物种丰富度(Observed OTU)、ACE 指数(ACE index)、香农指数(Shannon index)、物种均匀度(Pielou's evenness)、门物种水平相对丰度和功能群落相对丰度,按照不同放牧处理计算平均值和标准差(SD)。最后,将各研究的 20 组地块的平均值和标准差以及环境因素信息合并进同一个表格中为后续的分析做准备。

依照各结果的平均值和标准差,使用 R 语言中的“metafor”包对元数据表选用随机效应模型计算得出放牧前后的多样性、物种组成相对丰度变化和功能群落相对丰度变化的效应值。此外,

以效应值的标准差的倒数为权重,进行混合效应模型加权回归,计算环境因素与效应值的相关性。最后,使用 Origin 2022b 软件可视化效应值及其与解释变量的相关性图。

放牧对土壤真菌 α -多样性(物种丰富度、物种均匀度、ACE 指数、香农指数)、真菌群落组成(门水平相对丰度)和功能真菌群落(腐生型真菌、共生型真菌、病原型真菌及其中更详细的功能真菌)相对丰度的效应值定义为响应比(Response Ratio, RR)^[21],计算公式如下:

$$RR = \ln\left(\frac{X_t}{X_c}\right) \quad (1)$$

式中, X_t 和 X_c 分别表示处理组和对照组的实验结果数据。此外, RR 的方差 (v) 由以下公式计算:

$$v = \frac{s_t^2}{n_t X_t^2} + \frac{s_c^2}{n_c X_c^2} \quad (2)$$

式中, n_t 和 n_c 表示样本容量, s_t 和 s_c 分别为放牧处理组和对照组中目标变量的标准差(SD)。

使用随机效应模型计算累计效应值 RR_{++} 各 RR 的权重 (w_i), 用总方差 (s^2) 的倒数表示 ($w_i = 1 / s^2$)。总方差由案例间方差 (τ) 和案例内方差 (v_i) 的和, 案例间方差的估计使用限制性最大似然法(REML)。为了校正样本量的影响, 根据对照组和处理组之间每个个体比较的单个 RR 计算加权响应比 (RR_{++})、 RR_i ($i = 1, 2, \dots, k$) 以及每个 RR 的权重 (w_i), 其中 k 表示研究的数目。采用以下公式计算加权响应比:

$$RR_{++} = \frac{\sum_{i=1}^n RR_i}{\sum_{i=1}^n w_i} \quad (3)$$

$$w_i = \frac{1}{s^2} \quad (4)$$

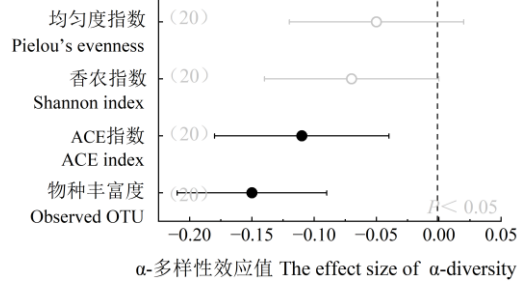
$$s^2 = v_i + \tau^2 \quad (5)$$

式中, $RR_{++} \pm 1.96 S(RR_{++})$ 为 95% 置信区间^[22]。 RR_{++} 为正值时, 表明放牧处理对变量的影响为积极的, 反之则为消极的。如果 95% 置信区间不与零重叠, 则表示放牧处理对变量的影响具有显著性。

2 结果

2.1 放牧对北部草地土壤真菌群落的影响

放牧草地土壤真菌 α -多样性的效应值表明, 放牧降低了北部草地土壤真菌 α -多样性(图 1)。与禁牧土壤相比, 放牧土壤的真菌物种丰富度(Observed OTU)效应值为-0.15 ($P < 0.05$), ACE 指数(ACE index)效应值为-0.11 ($P < 0.05$), 物种均匀度(Pielou's evenness)和香农指数(Shannon index)的效应值也均为负值(图 1)。总体而言, 20 组地块的四种多样性指数研究结果表明, 放牧降低了草地土壤真菌 α -多样性。



注：图中实心圆点表示放牧下该指标显著变化 ($P < 0.05$)，空心圆点表示不显著。条形图表示 95% 的置信区间。竖虚线表示效应值为 0。括号中的数字表示样本量。下同。Note: The solid circle in the figure indicates that the impact of grazing on this indicator is significant decreased ($P < 0.05$), while the hollow circle indicates that it is not significant. The bar graph represents a 95% confidence interval. The vertical dotted line indicates that the effect value is 0. The number in the bracket indicates the sample size. The same as below.

图 1 北部放牧草地土壤真菌 α -多样性变化的效应值森林图

Fig. 1 Forest plot of effect size of soil fungal α -diversity change in northern grazed grassland

2.2 放牧对北部草地土壤真菌群落组成的影响

如图 2 效应值变化所示，放牧改变了北部草地土壤真菌群落组成。在门分类水平下，芽枝霉门 (Blastocladiomycota)、毛霉门 (Mucoromycota) 和捕虫霉门 (Zoopagomycota) 的相对丰度因放牧而显著降低 ($P < 0.05$)，效应值分别为-6.02、-13.72 和-18.45；罗兹菌门 (Rozellomycota) 相对丰度变化的效应值为正，但相对丰度的增加程度不显著。此外，壶菌门 (Chytridiomycota)、子囊菌门 (Ascomycota)、被孢霉门 (Motierellomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、球囊菌门 (Glomeromycota) 的相对丰度变化均不显著 (图 2)。

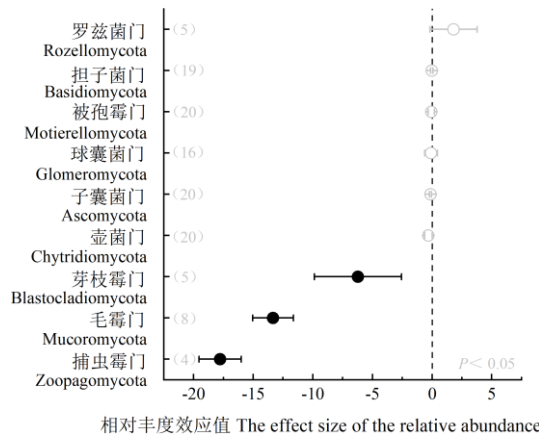


图 2 北部放牧草地土壤真菌群落门水平物种变化的效应值森林图

Fig. 2 Forest plot of the effect size of soil fungal community at the phylum level of composition change in northern grazed grassland

2.3 放牧对土壤功能真菌群落的影响

放牧降低了病理营养型、腐生营养型和共生营养型真菌群落相对丰度 (图 3)。其中，土壤中病理营养型真菌 (病原型真菌) 相对丰度显著减少，效应值表现为-0.34 ($P < 0.05$)。共生营养型 (共生型真菌) 和腐生营养型 (腐生型真菌) 真菌相对丰度效应值分别为-0.18 和-0.08。真菌功能群落的效应值结果 (图 4) 表明，放牧对病原真菌中的动物病原真菌的影响最大 (效应值为-0.91, $P < 0.05$)，而对植物病原真菌的影响较小 (效应值为-0.38, $P < 0.05$)，叶片寄生真菌相对丰度效应值为-0.7821 ($P < 0.05$)。共生型真菌中，附生真菌和内生真菌相对丰度效应值均为负值，

分别为-1.63和-0.5 ($P < 0.05$, 图4)。腐生真菌中,放牧显著降低了植物腐生真菌(效应值为-1.43)、木质腐生真菌(效应值为-0.9)和土壤腐生真菌(效应值为-0.62)的相对丰度 ($P < 0.05$, 图4)。

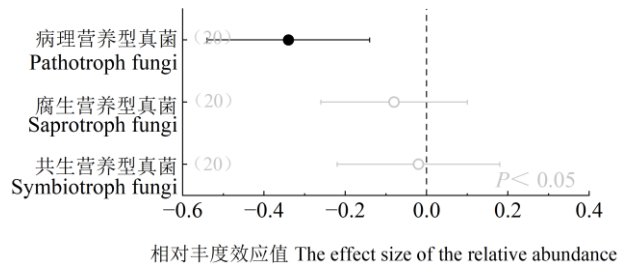


图3 北部放牧草地土壤营养型真菌群落相对丰度变化的效应值森林图

Fig. 3 Forest plot of the effect size of changes in the relative abundance of different trophic modes of fungi in northern grazed grassland

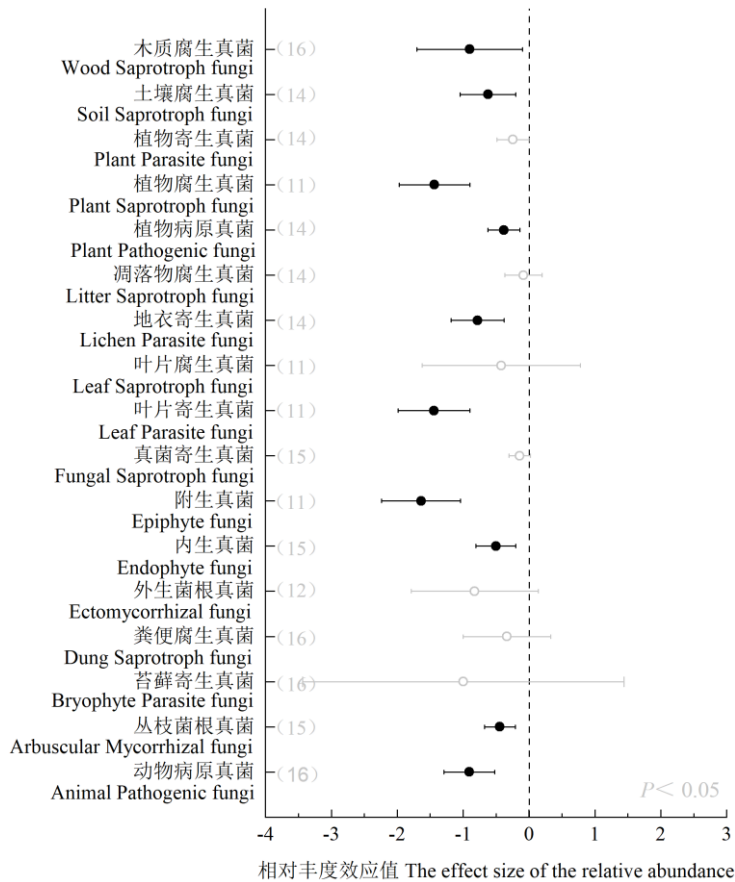


图4 北部放牧草地土壤功能真菌群落相对丰度变化的效应值森林图

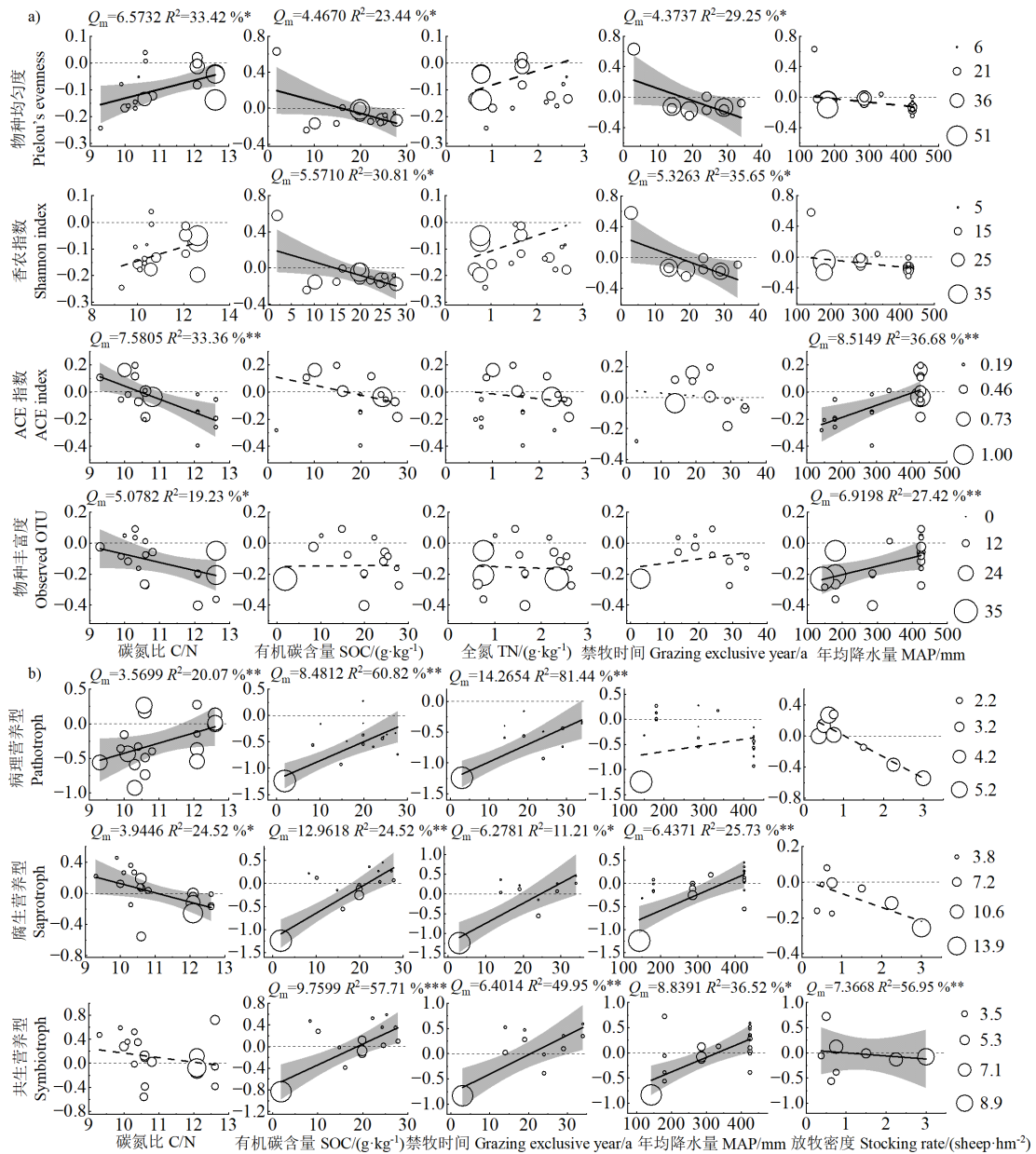
Fig. 4 Forest plot of the effect size of changes in the relative abundance of functional groups of fungi in northern grazed grassland

2.4 放牧下介导北部草地土壤真菌 α -多样性和功能真菌群落相对丰度变化的环境因素

放牧条件下,环境因素中的初始碳氮比、初始有机质含量、年均降水量以及禁牧时间对草地土壤真菌群落的 α -多样性的变化有显著影响(图5a)。相关性分析表明,放牧土壤的真菌物种均匀度的变化与环境因素密切相关(图5a)。其中,土壤初始碳氮比、年均降水量对物种丰富度、物种均匀度和 ACE 指数变化的影响显著 ($P < 0.05$),其次是初始有机碳含量和禁牧时间 ($P < 0.05$)。说明,土壤初始碳氮比的提升使得放牧条件下真菌物种均匀度负效应减缓,而物种丰富

度和 ACE 指数的负效应增强。在年均降水量越高的地区,物种丰富度和 ACE 指数的负效应减缓 ($P < 0.05$)。放牧对真菌物种均匀度和香农指数的负效应随着土壤初始有机碳含量和禁牧时间的增加而加强 ($P < 0.05$)。

如图 5b 所示,土壤初始有机碳含量是影响放牧条件下功能真菌群落相对丰度变化的重要环境因素。在初始有机碳含量越低的土壤中,放牧对三种营养型真菌群落相对丰度的消极影响越强 ($P < 0.01$)。此外,随着禁牧时间的延长,放牧土壤的功能真菌与禁牧土壤功能真菌的丰度差异减小 ($P < 0.05$)。初始碳氮比显著影响放牧条件下腐生型真菌和共生型真菌的相对丰度变化 ($P < 0.05$),随着初始碳氮比增加,放牧对病原型真菌丰度的消极影响逐渐减缓,对腐生型真菌相对丰度的影响则从积极变为消极的趋势。此外,放牧条件下腐生型真菌和共生型真菌相对丰度的变化也依赖于该地区年均降水量情况,如随着年均降水量的增加,放牧产生的消极影响有减缓的趋势 ($P < 0.05$)。



注: 实线表示符合混合效应模型加权回归的线性关系, 阴影区域表示拟合的 95% 置信区间。气泡大小表示研究所占的权重。“*”表示放牧产生的变化与环境因素变化显著相关, “*”代表 $P < 0.05$, “**”代表 $P < 0.01$, “***”代表 $P < 0.001$ 。

Q_m 数值表示由该因素引起的异质性程度。Note: The solid line represents a linear relationship that conforms to the weighted regression of the mixed effects model, and the shaded area represents the 95% confidence interval of the fitting. The bubble size represents the weight of the study sites.

represents the weight of the study. "*" represents ($P < 0.05$), "***" represents ($P < 0.01$), and "****" represents ($P < 0.001$). Q_m indicates the degree of heterogeneity caused by this factor.

图 5 北部放牧草地土壤真菌多样性指数 (a) 和功能群落相对丰度效应值 (b) 与环境因素的相关性气泡图

Fig. 5 Relationships between soil fungal diversity index and environmental factors (a) and relationships between effect sizes of soil fungal trophic modes relative abundance and environmental factors under grazed grassland (b)

3 讨论

3.1 放牧对北部草地土壤真菌群落结构的影响

总体而言,放牧降低了中国北部草地土壤真菌 α -多样性。放牧条件下土壤真菌多样性的变化不尽相同,研究表明放牧可增加青藏高原土壤真核生物的多样性与丰富度^[23],但也会通过提升子囊菌的竞争能力从而间接降低真菌丰富度与多样性^[24]。土壤真菌群落的结构变化表明,放牧条件下子囊菌门的相对丰度变化不明显,草地土壤真菌 α -多样性的降低可能是因芽枝霉门、捕虫霉门、毛霉门的相对丰度减少引起的(图 2)。

3.2 放牧对北部草地土壤功能真菌相对丰度的影响

放牧总体影响了中国北部草地土壤真菌群落的功能。放牧对真菌功能群落的作用通常是消极的^[25],这与本文的研究结果(图 3)相同。本研究发现,放牧条件下土壤中病原型真菌群落相对丰度显著降低(图 3),具有提升生态系统稳定性的潜力^[10]。家畜践踏减缓土壤中病原菌生长,以及放牧对牧草的取食过程减少了活体营养型病原菌的繁殖^[26]。此外,腐生型真菌相对丰度的减少对草原土壤关键养分元素的生物地球化学循环产生负效应^[10]。所以,放牧对北方草地生态系统健康的提升具有一定潜力。

叶片病原菌通过改变宿主植物的养分与次生代谢物含量,抑制牲畜对优势种的采食,从而缓解地上部分生物量的损失^[27],本研究发现叶片寄生真菌和植物病原真菌的相对丰度因放牧而减少(图 4),这可能会影响放牧对草地群落多样性与生产力的下行效应。此外,家畜取食使植物残体减少,腐生型真菌生存环境受扰动^[28],因此木质腐生真菌、土壤腐生真菌相对丰度均有减少(图 4)。在共生型真菌方面,本研究发现丛枝菌根真菌相对丰度的减少最为显著($P < 0.05$),其次是内生真菌(图 4)。鉴于丛枝菌根真菌对生态稳定性和内生真菌对植物健康的生态意义^[29-30],应该深入关注放牧对北方牧区土壤功能真菌的变化,这将能够更好地稳定牧区生产、保护草地生态系统健康。

3.3 环境因素介导放牧对北部草地土壤真菌 α -多样性和功能真菌群落相对丰度的影响

虽然放牧总体上减少了中国北部草地土壤真菌 α -多样性,但土壤真菌 α -多样性的降低具有环境依赖性,特别是对土壤初始有机碳含量和初始碳氮比的响应更显著(图 5a)。在土壤碳限制低(即碳氮比高)的情况下,土壤真菌群落相对丰度高^[31],在此基础上进行放牧使土壤真菌 α -多样性降低程度更大。此外,地区年均降水量与 α -多样性的相关性表明,旱地土壤真菌 α -多样性受放牧影响更大(图 5a)。这种结果可能是土壤真菌在干旱环境中群落稳定性差,对外界扰动更为敏感导致的。相反,在非干旱地区适度放牧和降水的耦合促进了土壤养分循环,提升土壤有机质^[32],从而间接缓解了放牧对土壤真菌的不利影响。此外,在有机碳含量越高的土壤中真菌 α -多样性越高^[33],在放牧条件下,其真菌 α -多样性降低越明显。然而,放牧活动也可提升土壤有机质含量^[34],为真菌群落提供充足养分^[28],所以在初始有机碳含量低的土壤进行放牧对真菌的 α -多样性和相对丰度的负面影响较小。

此外,放牧减少了北部放牧草地土壤病原真菌、腐生真菌和共生真菌的相对丰度(图 3),

但是这种变化同样依赖于土壤初始有机碳含量、碳氮比以及年均降水情况(图 5b)。高降水量驱动土壤碳输入^[35], 依赖于植物的共生型真菌和依赖有机质生存的腐生型真菌对降水量的变化更加敏感, 因此降水量低的地区放牧导致了腐生真菌和共生真菌更大程度的减少。由于降水格局对有机碳积累的影响^[36], 在初始有机碳含量低的土壤上真菌变化与干旱地区呈现相同规律。有机碳含量较低的土壤, 放牧的取食过程使凋落物更加缺乏, 同时, 选择性的取食降低了凋落物的多样性, 使凋落物分解缓慢、碳输入持续减少^[37], 土壤有机碳含量进一步降低^[38], 从而导致功能真菌群落丰度降低; 而初始土壤有机碳含量高的地区, 由于自身环境凋落物丰富, 并且动物的排泄过程促进土壤碳循环^[39], 为腐生真菌和共生真菌提供良好的生存环境, 使这两种功能真菌相对丰度提升。在初始碳氮比低(即碳限制高)的草地上进行放牧活动, 腐生型真菌相对丰度提升(图 5b), 也是排泄过程促进土壤碳循环的结果^[39]。与长期的禁牧条件(25 年以上)相比, 放牧土壤的腐生型真菌和共生型真菌丰度增长的幅度更大, 有利于土壤养分循环^[40-41], 对土壤 C、N、P 的积累整体上有积极影响^[42]。因此, 在进行放牧活动时要充分考虑当地环境情况, 以保护牧区草地生态系统健康。

4 结论

中国北部地区温带草原作为草地畜牧业的主要自然资源, 放牧对其土壤真菌群落组成和功能影响的规律仍不明确。因此, 本研究通过基于原始序列数据的统一生物信息处理和 Meta 分析评价了放牧对中国北部牧区土壤真菌群落的影响。与禁牧相比, 放牧降低了中国北部草地土壤真菌 α -多样性, 并显著降低了病原真菌和部分腐生与共生真菌(木质腐生真菌、植物腐生真菌和内生真菌)的相对丰度。但环境因素能够改变放牧对草地土壤真菌群落组成和功能的影响强度, 放牧对土壤真菌 α -多样性的负效应受降水量、土壤初始有机碳含量和碳氮比影响, 在有机碳含量和碳氮比较低以及年均降水高的地区, 放牧对土壤真菌 α -多样性的负效应适度缓解; 初始有机碳含量、禁牧时间和降水量影响土壤中功能真菌丰度变化的趋势。长期禁牧能够恢复土壤腐生型和共生型真菌相对丰度。放牧条件下, 随初始碳氮比的增加, 病原真菌相对丰度的减少程度减缓, 而腐生真菌相对丰度减少程度加剧。腐生型和共生型真菌相对丰度的减少程度随地区降水量增大而减缓。总之, 放牧产生的负效应程度和趋势依赖于当地环境状况。研究结果总结了放牧对中国北部草地土壤真菌群落组成和功能影响的普遍规律, 强调当地环境因素与放牧造成的土壤功能真菌群落丰度变化的关系, 为北部牧区草原土壤真菌群落生态功能保护和开发利用提供参考。

参考文献 (References)

- [1] Wang L M, Yang J, Luo J C. Grassland resource on Southern and Northern China Transect (northern part) [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2003, 2(1): 36—42. [王利民, 杨劼, 罗菊春. 中国南北样带(北部)草地资源特征分析[J]. 北京林业大学学报, 2003, 2(1): 36—42.]
- [2] Hou F J, Li G, Chang S H. Physiological indices of grazed grassland under health management[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(8): 1049—1053.[侯扶江, 李广, 常生华. 放牧草地健康管理的生理指标[J]. 应用生态学报, 2002, 13(8): 1049—1053.]
- [3] Lin B, Zhao X R, Zheng Y, et al. Effect of grazing intensity on protozoan community, microbial biomass, and enzyme activity in an alpine meadow on the Tibetan Plateau[J]. Journal of Soils and Sediments, 2017, 17(12): 2752—2762.
- [4] Asner G P, Elmore A J, Olander L P, et al. Grazing systems, ecosystem responses, and global change[J]. Annual Review of Environment and Resources, 2004, 29(1): 261—299.
- [5] Grigulis K, Lavorel S, Krainer U, et al. Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services[J]. Journal of Ecology, 2013, 101(1): 47—57.
- [6] Shi Q L, Lin Y Z, Zhang E P, et al. Impacts of cultivated land reclamation on the climate and grain production in <http://pedologica.issas.ac.cn>

- Northeast China in the future 30 years[J]. *Advances in Meteorology*, 2013, 2013: 853098.
- [7] Mezei M. Adaptive umbrella sampling: Self-consistent determination of the non-boltzmann bias[J]. *Journal of Computational Physics*, 1987, 68(1): 237—248.
- [8] Klink S, Keller A B, Wild A J, et al. Stable isotopes reveal that fungal residues contribute more to mineral-associated organic matter pools than plant residues[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 168: 108634.
- [9] Bagchi R, Gallery R E, Gripenberg S, et al. Pathogens and insect herbivores drive rainforest plant diversity and composition[J]. *Nature*, 2014, 506(7486): 85—88.
- [10] Liu S G, García-Palacios P, Tedersoo L, et al. Phylotype diversity within soil fungal functional groups drives ecosystem stability[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2022, 6(7): 900—909.
- [11] Li G, Fan B L, Wen D R L, et al. Analysis of soil fungal community structure of *Stipa* steppes in Hulunbuir, Inner Mongolia[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(5): 1096—1102. [李刚, 范宝莉, 文都日乐, 等. 呼伦贝尔针茅草原土壤真菌群落结构分析[J]. *土壤学报*, 2011, 48(5): 1096—1102.]
- [12] Cao J J, Jiao Y M, Che R X, et al. The effects of grazer enclosure duration on soil microbial communities on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 839: 156238.
- [13] Maestre F T, Le Bagousse-Pinguet Y, Delgado-Baquerizo M, et al. Grazing and ecosystem service delivery in global drylands[J]. *Science*, 2022, 378(6622): 915—920.
- [14] Glass G V. Primary, secondary, and meta-analysis of research[J]. *Educational Researcher*, 1976, 5(10): 3—8.
- [15] Xu H W, You C M, Tan B, et al. Effects of livestock grazing on the relationships between soil microbial community and soil carbon in grassland ecosystems[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 881: 163416.
- [16] Jia T T, Liao L R, Wang J, et al. Effects of grazing on grassland ecosystem on the Loess Plateau based on a meta-analysis[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(10): 2772—2781. [贾涛涛, 廖李容, 王杰, 等. 基于 Meta 分析的放牧对黄土高原草地生态系统的影响[J]. *草地学报*, 2022, 30(10): 2772—2781.]
- [17] Cheng J M, Jing G H, Wei L, et al. Long-term grazing exclusion effects on vegetation characteristics, soil properties and bacterial communities in the semi-arid grasslands of China[J]. *Ecological Engineering*, 2016, 97: 170—178.
- [18] Wang Z, Jiang S Y, Struik P C, et al. Plant and soil responses to grazing intensity drive changes in the soil microbiome in a desert steppe[J]. *Plant and Soil*, 2022, 491: 219—237.
- [19] Wang Z, Ding Y, Jin K, et al. Soil bacterial and fungal communities are linked with plant functional types and soil properties under different grazing intensities[J]. *European Journal of Soil Science*, 2022, 73(1): e13195.
- [20] Yang Y R, Chen S Y, Wu X F, et al. Grazing affects bacterial and fungal diversities and communities in the rhizosphere and endosphere compartments of *Leymus chinensis* through regulating nutrient and ion distribution[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(3): 476.
- [21] Rosenberg M S, Adams D C, Gurevitch J. Metawin: Statistical software for meta-analysis with resampling tests. Version 1. [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 1998, 73(1): 126—128.
- [22] Zhang C H, Zhang S S. Confidence intervals for low dimensional parameters in high dimensional linear models[J]. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology*, 2014, 76(1): 217—242.
- [23] Fan D, Kong W, Wang F, et al. Fencing decreases microbial diversity but increases abundance in grassland soils on the Tibetan Plateau[J]. *Land Degradation & Development*, 2020, 31(17): 2577—2590.
- [24] Eldridge D J, Delgado-Baquerizo M, Travers S, et al. Competition drives the response of soil microbial diversity to increased grazing by vertebrate herbivores[J]. *Ecology*, 2017, 98(7): 1922—1931.
- [25] Eldridge D J, Delgado-Baquerizo M. Functional groups of soil fungi decline under grazing[J]. *Plant and Soil*, 2018, 426(1): 51—60.
- [26] Liu M, Mipam T D, Wang X X, et al. Contrasting effects of mammal grazing on foliar fungal diseases: Patterns and potential mechanisms[J]. *New Phytologist*, 2021, 232(1): 345—355.
- [27] Li T, Zhong Z, Pearson D E, et al. Parasites as ecosystem modulators: Foliar pathogens suppress top-down effects of large herbivores[J]. *New Phytologist*, 2023, 239(1): 340—349.

- [28] Zhang H J, Dong L Z, Yao X D, et al. Soil fertility shifts the relative importance of saprotrophic and mycorrhizal fungi for maintaining ecosystem stability[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(4): 1206—1216.
- [29] Garrido J, Alcantara J, Lopez-Garcia A, et al. The structure and ecological function of the interactions between plants and arbuscular mycorrhizal fungi through multilayer networks[J]. *Functional Ecology*, 2023, 37: 2217—2230.
- [30] Zhu Q, Fei Y J, Wu Y B, Endophytic fungus reshapes spikelet microbiome to reduce mycotoxin produced by *Fusarium* through altering rice metabolites[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(30): 11350—11364.
- [31] Bahram M, Hildebrand F, Forslund S K, et al. Structure and function of the global topsoil microbiome[J]. *Nature*, 2018, 560(7717): 233—237.
- [32] Chai J L, Xu C L, Zhang D C, et al. Effects of simulated trampling and rainfall on soil nutrients and enzyme activity in an alpine meadow[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(1): 333—344. [柴锦隆, 徐长林, 张德罡, 等.模拟践踏和降水对高寒草甸土壤养分和酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(1): 333—344.]
- [33] Delgado-Baquerizo M, Guerra C A, Cano-Díaz C, et al. The proportion of soil-borne pathogens increases with warming at the global scale[J]. *Nature Climate Change*, 2020, 10(6): 550—554.
- [34] Zhou G, Zhou X, He Y, et al. Grazing intensity significantly affects belowground carbon and nitrogen cycling in grassland ecosystems: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2017, 23(3): 1167—1179.
- [35] Gabarrón-Galeote A, Trigalet S, Wesemael B. Soil organic carbon evolution after land abandonment along a precipitation gradient in southern Spain[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2015, 199: 114—123.
- [36] Zhou J G, Zhang J F, Lambers H. et al. Intensified rainfall in the wet season alters the microbial contribution to soil carbon storage[J]. *Plant and Soil*, 2022, 476: 337—351.
- [37] Santonja M, Fernandez C, Gauquelin T, et al. Climate change effects on litter decomposition: Intensive drought leads to a strong decrease of litter mixture interactions[J]. *Plant and Soil*, 2015, 393(1): 69—82.
- [38] Wei Y Q, Xiong X, Ryo M, et al. Repeated litter inputs promoted stable soil organic carbon formation by increasing fungal dominance and carbon use efficiency[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2022, 58(6): 619—631.
- [39] Jiang Z Y, Hu Z M, Lai D Y F, et al. Light grazing facilitates carbon accumulation in subsoil in Chinese grasslands: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(12): 7186—7197.
- [40] Yang G W, Wagg C, Veresoglou S D, et al. How soil biota drive ecosystem stability[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(12): 1057—1067.
- [41] Yang H S, Fang C, Li Y F, et al. Temporal complementarity between roots and mycorrhizal fungi drives wheat nitrogen use efficiency[J]. *New Phytologist*, 2022, 236(3): 1168—1181.
- [42] Zhang Y W, Peng Z C, Chang S H, et al. Growing season grazing promotes the shallow stratification of soil nutrients while non-growing season grazing sequesters the deep soil nutrients in a typical alpine meadow[J]. *Geoderma*, 2022, 426: 116111.

(责任编辑: 陈荣府)