DOI:10.11686/cyxb2016433 http://cyxb.lzu.edu.cn
张建贵，蒋永梅，姚拓，高亚敏，李海云，兰晓君，田永亮，李建宏，张英. 不同管理措施对高寒草甸土壤微生物氮素生理群数量影响研究. 草业学报，2017，26(8)：65-73.
ZHANG Jian-Gui, JIANG Yong-Mei, YAO Tuo, GAO Ya-Min, LI Hai-Yun, LAN Xiao-Jun, TIAN Yong-Liang, LI Jian-Hong, ZHANG Ying. Effects of different management strategies on the number of soil nitrogen microorganism groups in an alpine meadow. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(8): 65-73.

不同管理措施对高寒草甸土壤微生物氮素生理群数量影响研究

张建贵[1]，蒋永梅[1]，姚拓[1*]，高亚敏[1]，李海云[1]，兰晓君[1]，田永亮[1]，李建宏[1]，张英[2]
(1.甘肃农业大学草业学院，草业生态系统教育部重点实验室，甘肃省草业工程实验室，中－美草地畜牧业可持续发展研究中心，甘肃 兰州 730070；2.青海大学农牧学院，青海 西宁 810016)

摘要：从微观视野认识土壤氮素形成机理，为高寒草甸微生物生长和恢复提供科学依据。本研究采用平板表面涂抹法和稀释法对玛曲高寒草甸 4 种不同管理措施(不围栏、围栏、围栏＋施肥、围栏＋补播)土壤微生物氮素生理群数量进行了测定分析，结果表明，1)同一管理措施下，不同空间层次土壤微生物氮素生理群数量变化较大，具有明显的垂直分布规律，0～10 cm 和 10～20 cm 土层的数量均显著高于 20～30 cm 土层($P<0.05$)，一般前者是后者的 1.23～4.03 倍和 1.11～2.25 倍；且不同土壤微生物氮素生理群之间数量差异显著，氨化细菌＞反硝化细菌＞硝化细菌＞好气性固氮菌＞嫌气性固氮菌。2)同一空间层次，不同管理措施土壤微生物氮素生理群间数量差异较大。土壤微生物氮素生理群数量以围栏＋施肥和围栏＋补播草地最高，围栏草地次之，不围栏草地最少。3)不同管理措施，土壤铵态氮和硝态氮含量随着土层深度增加逐渐减少，但围栏＋施肥和围栏＋补播处理均显著高于其他处理($P<0.05$)。可见，围栏＋施肥和围栏＋补播措施对玛曲高寒草甸土壤微生物氮素生理群数量和不同形态氮素含量有提高效果。

关键词：高寒草甸；土壤微生物；氮素生理群；管理措施

Effects of different management strategies on the number of soil nitrogen microorganism groups in an alpine meadow

ZHANG Jian-Gui[1], JIANG Yong-Mei[1], YAO Tuo[1*], GAO Ya-Min[1], LI Hai-Yun[1], LAN Xiao-Jun[1], TIAN Yong-Liang[1], LI Jian-Hong[1], ZHANG Ying[2]
1. *College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministery of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou* 730070, *China*; 2. *Agriculture and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining* 810016, *China*

Abstract: Understanding the micro-mechanisms of soil nitrogen formation can provide useful information about the growth and recovery of microorganisms in an alpine meadow. In this study, soil samples were collected from the alpine meadow in Maqu from sites under four types of management; unfenced, enclosed, enclosed with fertilization, and enclosed with sowing. The number of soil nitrogen microorganism groups was determined by the plate colony count and MPN (most probable number) methods. The number of nitrogen bacterial

收稿日期：2016-11-15；改回日期：2017-02-10
基金项目：国家自然科学基金资助项目(31360584)和国家科技支撑技术(2009BAC53B06)资助。
作者简介：张建贵(1991-)，男，甘肃靖远人，在读硕士。E-mail：zhangjgyx@yeah.net
* 通信作者 Corresponding author. E-mail：yaotuo@gsau.edu.cn

groups decreased with increasing soil depth at all sites. The number of nitrogen bacterial groups was significantly higher in the 0－10 cm and the 10－20 cm soil layers ($P<0.05$) than in the 20－30 cm soil layer (1.23－4.03 times and 1.11－2.25 times that in the 20－30 cm soil layer, respectively). There were also significant differences in abundance among the microorganism groups. The groups were ranked, from most abundant to least abundant, as follows: ammonifiers>denitrifying bacteria>nitrifiers>aerobic nitrogen-fixing bacteria (aerobic NFB)>anaerobic nitrogen-fixing bacteria (anaerobic NFB). In the same soil layer, there were significant differences in the abundance of bacterial groups among the different management strategies. The nitrogen bacterial groups were most abundant in the enclosed fertilized grassland and enclosed sown grassland, less abundant in enclosed grassland, and least abundant in the unfenced grassland. The amounts of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen decreased with increasing soil depth in all treatments, and were significantly higher in enclosed fertilized grassland and enclosed sown grassland ($P<0.05$) than in enclosed grassland and unfenced grassland. These results show that, in the alpine meadow, the number and types of soil microorganisms and the contents of different forms of nitrogen can be increased by enclosure with sowing and enclosure with fertilization.

Key words: alpine meadow; soil microorganism; the physiological bacteria group of nitrogen; management measures

高寒草甸具有独特的服务价值，特别是涵养水源、水土保持功能对整个黄河流域生态安全和可持续发展起着重要作用[1]。玛曲草原既是青藏高原生态系统重要构成成分之一，又是黄河上游地区主要水源涵养地，享有“中华水塔”美誉[2]。高寒生态区草地具有气候寒冷，水热不同期和生态脆弱等独特特性，破坏后难以恢复。近些年，玛曲地区由于人口因素、经济因素、制度因素和文化因素等制约，致使该地区不同程度地出现生态环境日益恶化，天然湿地草场大面积退化、沙化和盐碱化[3-4]。放牧是草原畜牧业的主要经营方式之一，对于自然环境较为恶劣的高寒草甸而言，早牧、过牧常常导致草地植被的严重退化[5]。草畜极端不平衡，如何在提高草地生产力的基础上遏制草地退化，是目前亟待解决的问题。

草地土壤微生物是草地生态系统分解者亚系统的重要组成部分，是植物养料转化、有机碳代谢及污染物降解的驱动力，对土壤养分循环具有重要意义。草地土壤微生物的存在，能够影响草地植被生长发育及改良土壤状况[6]。土壤微生物氮素生理群可作为土壤质量变化、草地发育与演替的重要指标之一[7]。土壤微生物氮素生理群指具有同种功能的相同或不同形态的一类微生物，能将生物残体水解为氨基酸和氨，将氨氧化为硝酸，还原一切硝酸盐以及固定大气中气态氮素[6]。因此，土壤微生物氮素生理群具有为植物根际生境提供氮素、调节氮素平衡及氮素循环的作用，定量分析土壤微生物在草地生态系统中的分布与活动规律，可以揭示草地生态系统地下生理生态学的格局和过程，及形成草地管理实践理论体系[8]。

国内外一些学者从不同角度出发，对高寒草甸保护、退化机理及退化后治理措施进行大量研究。刘若萱等[9]提出虽然大气中氮含量很多，但很多植物不能直接转化利用，然而某些固氮微生物具有固定大气中氮素的能力。Mekuria 等[10]研究表明，围栏有利于植被恢复，也可改善土壤营养状况；李文等[11]和鱼小军等[12]研究表明，经封育、灌溉及补播几种方式改良荒漠草原后，补播改良草地效果显著。尽管许多学者对高寒草甸的退化恢复进行了大量的研究，但有关草地土壤微生物氮素生理群数量分布的研究鲜有报道。本研究通过 4 种不同管理措施对玛曲高寒草甸土壤氮素生理群数量及土壤铵态氮和硝态氮含量进行比较分析，旨在为探寻不同管理措施研究土壤微生物活动布局和植物作用机制及其改良、复壮和科学管理提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究地自然概况

本研究选择玛曲县大水种畜厂(E 100°45′45″－102°29′00″，N 33°06′30″－34°30′15″)作为研究区域，境内海拔

在 3200～3500 m 之间，地处青藏高原东部边缘，位于甘肃省甘南藏族自治州西南部。玛曲县气候属明显的高原大陆性高寒湿润区。受海拔影响，高寒多风雨（雪），无四季之分，仅有冷暖之别。冷季长达 314 d，漫长而寒冷；暖季 51 d，短暂而温和。雨水集中，日照充足，辐射强烈，无绝对无霜期。年平均气温 1.2 ℃，平均风速 2.5 m/s，牧草生长期 190 d。年平均日照 2583.9 h，日照率为 61%。玛曲高寒草甸土壤为亚高山草甸土，草地类型以莎草科嵩草属（*Kobresia*）和禾本科针茅属（*Stipa*）、羊茅属（*Festuca*）、早熟禾属（*Poa*）的一些种及菊科风毛菊属（*Saussurea*）、橐吾属（*Ligularia*）和瑞香科狼毒属（*Stellera*）等属的植物为主，并伴有高山唐松草（*Thalictrum alpinum*）、莓叶委陵菜（*Potentilla fragarioides*）、钝裂银莲花（*Anemone obtusiloba*）、细叶亚菊（*Ajania tenuifolia*）、火绒草（*Leontopodium nanum*）和花苜蓿（*Medicago ruthenica*）等[13]。

1.2　样地设置及土壤样品采集

2010 年 5 月在研究区设置了 4 个等面积共为 20 hm^2 样地（每个样地内设 3 个重复），采取了不围栏（自由放牧）、围栏、围栏＋施肥和围栏＋补播 4 种管理措施。自由放牧家畜为绵羊，放牧强度约为 14 只/hm^2。施肥选用复合肥磷酸二铵撒施，施肥量为 10 kg/hm^2。选取当地常用的垂穗披碱草（*Elymus nutans*）、草地早熟禾（*Poa pratensis*）和中华羊茅（*Festuca sinensis*），补播比例为 6∶2∶2，总播量为 10.2 kg/hm^2。采样时间为 2010 年 8 月，分别在各样地内采用 5 点法，用土钻分别采集 0～10 cm、10～20 cm 和 20～30 cm 的土样，每个样地 5 次重复，剔除植株根系和石头等杂物，并将各点土样分层混合，按四分法取 1 kg 左右新鲜土样装入灭菌信封袋或无菌聚乙烯袋并密封，土壤带回实验室后立即进行各类微生物分离（4 ℃保存不超过 24 h）、计数及土壤氮素测定。

1.3　研究方法

将 10 g 新鲜土样用无菌水配成不同浓度梯度悬浮液：接种于盛有灭菌固体的培养皿中，用无菌刮刀涂抹均匀，每个浓度 3 个重复，恒温（28 ℃）培养 3 d，选取每皿菌落数为 15～150 的 1 个稀释度统计菌落数，采用平板表面涂抹法计数；将各梯度土壤悬浮液 1 mL 分别接入已灭菌含 15 mL 液体培养基的试管中，每个稀释度设置 3 次重复。另取 3 支试管接种 1 mL 无菌水作为对照，于 28～30 ℃人工气候箱中培养 14 d，检查是否有菌生长，如有细菌生长，一般有气泡出现，培养液浑浊，采用稀释培养法测定并计算每 g 干土中的菌数[14-15]。

1.3.1　微生物氮素生理群数量测定　　氨化细菌数量测定采用蛋白胨琼脂培养基，好气性固氮菌数量测定采用阿须贝（Ashby）培养基，均以平板表面涂抹法计数。计算公式[6]：$N=M\times$鲜土重/干土重，其中：$M=a\times u/v$，N 为每 g 干土的菌数；M 为每 g 鲜土的菌数；v 为每个培养皿中加悬浮液体积（本研究为 50 μL）；a 为培养皿中平均菌落数；u 为稀释倍数。

硝化细菌数量测定采用改良的斯蒂芬逊（Stephenson）培养基，反硝化细菌数量测定采用组合培养基[14]，嫌气性固氮菌数量测定采用玉米面培养基，采用稀释法测定。每 g 干土中的菌数计算公式[6]：菌数＝近似菌落数×稀释倍数/干土（%），其中，干土（%）＝（干土重/鲜土重）×100。

1.3.2　土壤铵态氮和硝态氮测定　　用四分法取出一部分新鲜土样并过 2 mm 筛，带回实验室立即测定 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量，NH_4^+-N 采用氯化钾浸提－靛酚蓝比色法测定[16]；NO_3^--N 采用酚二磺酸比色法测定[16]。

1.4　数据分析

采用 Excel 2010 整理、计算数据以及制作柱形图，采用 SPSS 19.0 软件进行方差分析（One-way ANOVA）、相关性分析。

2　结果与分析

2.1　土壤微生物氮素生理群数量分布特征

2.1.1　氨化细菌数量分布特征　　1）同一管理措施，不同空间层次土壤氨化细菌数量不同。上层（0～10 cm）均显著高于下层（20～30 cm）（$P<0.05$），0～10 cm 氨化细菌数量是 20～30 cm 的 2.01～2.65 倍；10～20 cm 氨化细菌数量是 20～30 cm 的 1.43～1.98 倍。2）不同管理措施，相同空间层次土壤氨化细菌数量不同。如 0～10 cm 围栏＋施肥显著高于不围栏、围栏和围栏＋补播（$P<0.05$）。3）不同管理措施下，土壤氨化细菌总数量：围

栏＋施肥＞围栏＋补播＞围栏＞不围栏(图 1)。

2.1.2 硝化细菌数量分布特征　1)同一管理措施，不同空间层次土壤硝化细菌数量不同。上层(0～10 cm)均显著高于下层(20～30 cm)($P<0.05$)，0～10 cm 硝化细菌数量是 20～30 cm 的 1.66～3.18 倍；10～20 cm 数量是 20～30 cm 的 1.32～2.11 倍。2)不同管理措施，相同空间层次土壤硝化细菌数量不同。如 0～10 cm 围栏＋施肥、围栏＋补播均显著高于不围栏和围栏($P<0.05$)。3)不同管理措施下，土壤硝化细菌总数量：围栏＋施肥＞围栏＋补播＞围栏＞不围栏(图 2)。

2.1.3 反硝化细菌数量分布特征　1)同一管理措施，不同空间层次土壤反硝化细菌数量不同。上层(0～10 cm)均显著高于下层(20～30 cm)($P<0.05$)，0～10 cm 反硝化细菌数量是 20～30 cm 的 1.58～2.33倍；10～20 cm 反硝化细菌数量是 20～30 cm 的 1.43～1.83 倍。2)不同管理措施，相同空间层次土壤反硝化细菌数量不同。如 10～20 cm 围栏＋施肥、围栏＋补播均显著高于不围栏和围栏($P<0.05$)。3)不同管理措施下，土壤反硝化细菌总数量：围栏＋补播＞围栏＋施肥＞围栏＞不围栏(图 3)。

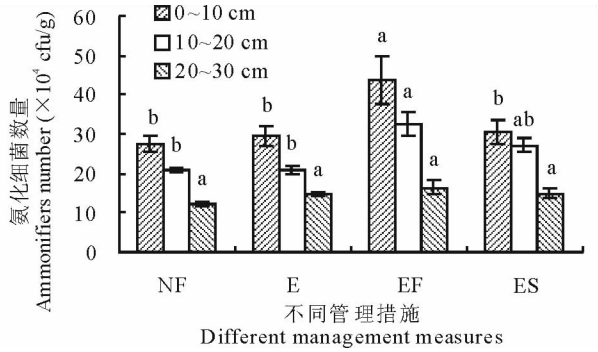


图 1　不同管理措施下氨化细菌数量的空间动态

Fig. 1　Space dynamic of ammonifiers amount under different management measures

NF：不围栏 No-fenced；E：围栏 Enclosed；EF：围栏＋施肥 Enclosed with fertilization；ES：围栏＋补播 Enclosed with sowing；不同小写字母表示同一土层不同管理措施差异显著($P<0.05$)。下同。Different small letters indicate significant differences at the 0.05 level among different management measures in the same depth of soil. The same below.

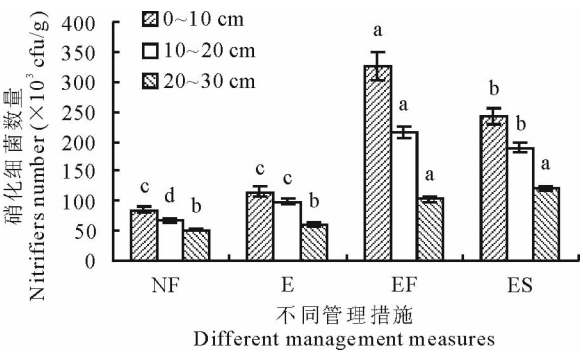


图 2　不同管理措施下硝化细菌数量的空间动态

Fig. 2　Space dynamic of nitrifiers amount under different management measures

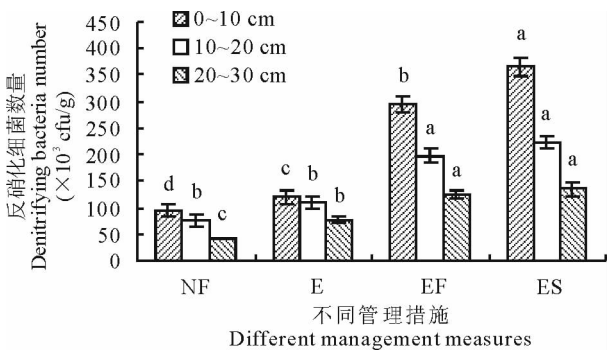


图 3　不同管理措施下反硝化细菌数量的空间动态

Fig. 3　Space dynamic of denitrifying bacteria amount under different management measures

2.1.4 好气性固氮菌数量分布特征　1)同一管理措施，不同的空间层次土壤好气性固氮菌的数量不同。上层(0～10 cm)均显著高于下层(20～30 cm)($P<0.05$)，0～10 cm 好气性固氮菌的数量是 20～30 cm 的 1.23～4.03倍；10～20 cm 好气性固氮菌的数量是 20～30 cm 的 1.11～2.55 倍。2)不同管理措施，相同空间层次土壤好气性固氮菌数量不同。20～30 cm 围栏＋施肥和围栏＋补播均显著高于围栏、不围栏($P<0.05$)。3)不同管理措施下，土壤好气性固氮菌总数量：围栏＋补播＞围栏＋施肥＞围栏＞不围栏(图 4)。

2.1.5 嫌气性固氮菌数量分布特征　1)同一管理措施，不同的空间层次土壤嫌气性固氮菌的数量不同。上层(0～10 cm)均显著高于下层(20～30 cm)($P<0.05$)，0～10 cm 嫌气性固氮菌数量是 20～30 cm 的 1.56～3.70 倍；10～20 cm 嫌气性固氮菌数量是 20～30 cm 的 1.18～1.65 倍。2)不同管理措施，相同空间层次土壤嫌气性固氮菌数量不同。20～30 cm 围栏＋施肥和围栏＋补播均显著高于围栏、不围栏($P<0.05$)。3)不同管理措施下，土壤嫌气性固氮菌总数量：围栏＋施肥＞围栏＋补播＞围栏＞不围栏(图 5)。

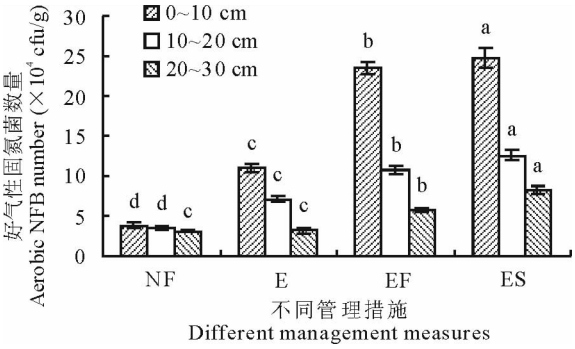


图 4　不同管理措施下好气性固氮菌数量的空间动态

Fig. 4　Space dynamic of aerobic NFB amount under different management measures

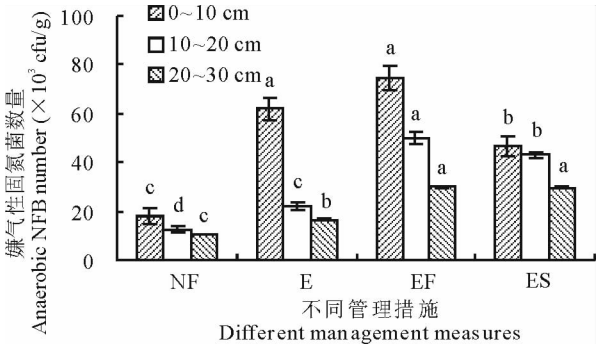


图 5　不同管理措施下嫌气性固氮菌数量的空间动态

Fig. 5　Space dynamic of anaerobic NFB amount under different management measures

2.2　不同管理措施对土壤铵态氮和硝态氮的影响

1)同一管理措施,不同的空间层次土壤铵态氮和硝态氮含量不同。0～10 cm 和 10～20 cm 铵态氮和硝态氮含量均显著高于 20～30 cm。0～10 cm 铵态氮和硝态氮含量分别是 20～30 cm 的 1.48～1.72 倍和 2.48～3.21 倍;10～20 cm 铵态氮和硝态氮含量分别是 20～30 cm 的 1.14～1.42 倍和 1.53～1.87 倍。2)不同管理措施,铵态氮和硝态氮在 0～10 cm 围栏＋施肥均显著高于围栏＋补播、围栏和不围栏($P<0.05$)。3)不同管理措施下,土壤铵态氮(除 20～30 cm 外)和硝态氮总含量:围栏＋施肥＞围栏＋补播＞围栏＞不围栏(表 1)。

表 1　不同管理措施对 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量的影响

Table 1　Effects of different management measures on soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen

处理	NH_4^+-N 含量 Ammonium nitrogen content (mg/kg)			NO_3^--N 含量 Nitrate nitrogen content (mg/kg)		
Treatment	0～10 cm	10～20 cm	20～30 cm	0～10 cm	10～20 cm	20～30 cm
不围栏 NF	26.76±1.01c	19.99±0.95c	17.49±0.63b	8.77±0.61c	5.12±0.29b	2.73±0.73b
围栏 E	31.47±1.20bc	24.77±1.20bc	21.27±1.20a	9.46±0.49bc	5.43±0.24b	3.12±0.07ab
围栏＋施肥 EF	38.56±1.80a	31.86±1.80a	22.44±0.67a	11.46±0.71a	7.24±0.87a	4.62±0.65a
围栏＋补播 ES	34.24±2.65ab	27.54±2.65ab	20.70±1.00a	10.94±0.25ab	6.68±0.21ab	4.37±0.19ab

NF: No-fenced; E: Enclosed; EF: Enclosed with fertilization; ES: Enclosed with sowing; 表中数据为 3 个重复的平均值±标准差;不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data in the Table are the average of three replicates±standard deviation; Different small letters mean significant differences at $P<0.05$ level.

2.3　土壤不同形态的氮素量与微生物氮素生理群数量的相关性

铵态氮和硝态氮含量与土壤氮素生理群数量均呈极显著正相关关系($P<0.01$)。不同管理措施,铵态氮含量与氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、好气性固氮菌和嫌气性固氮菌数量呈极显著正相关关系($P<0.01$),相关系数 R 值依次为 0.786、0.873、0.781、0.808 和 0.820(图 6);硝态氮含量与氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、好气性固氮菌和嫌气性固氮菌数量呈极显著正相关关系($P<0.01$),相关系数 R 值依次为 0.841、0.725、0.708、0.780和 0.747(图 7)。

3　讨论与结论

草地群落植被的差异会引起土壤微生物氮素生理群数量的变化,土壤微生物氮素生理群具有固定大气中氮素的能力,能将气态氮素转变为植物利用的形态,对土壤氮素补充和平衡、存在与调节,对土壤结构、肥力以及草地植物“四度一量”的恢复具有重要意义[16]。

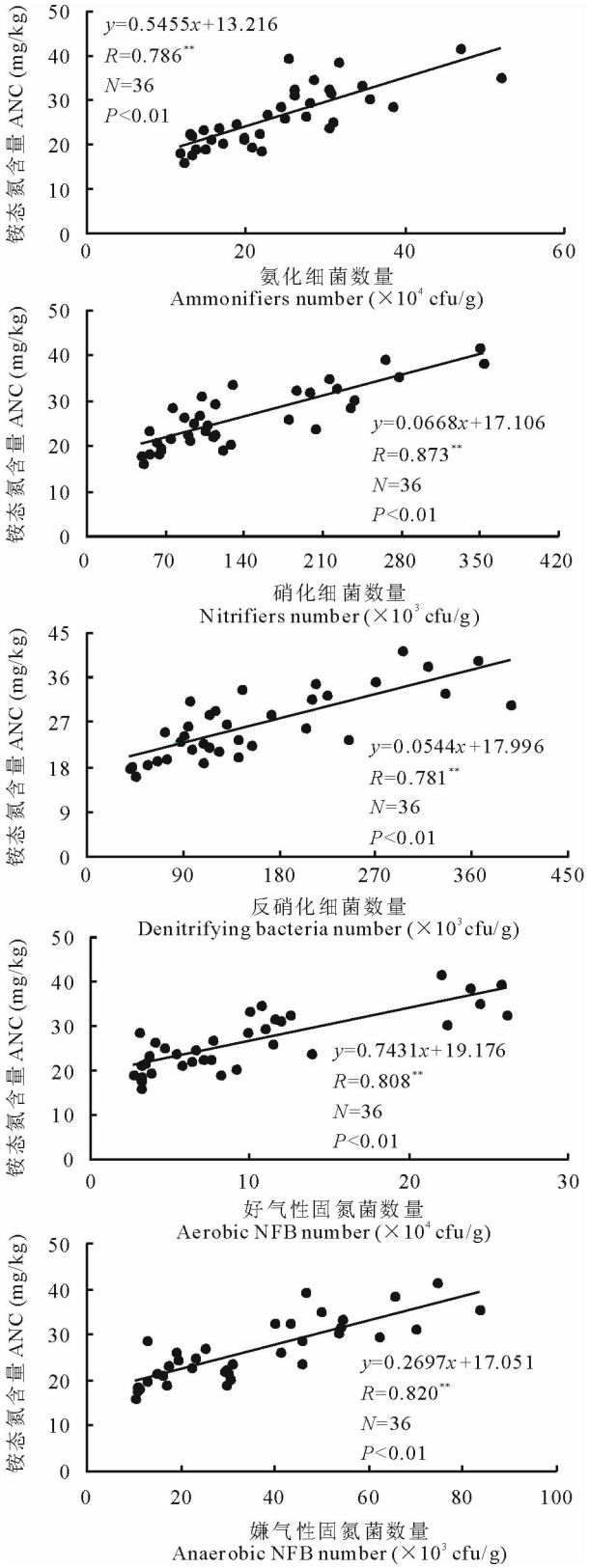


图 6 铵态氮含量与微生物氮素生理群数量的相关性

Fig. 6 Correlation analysis between ammonium nitrogen content (ANC) and the number of nitrogen physiological microorganisms group

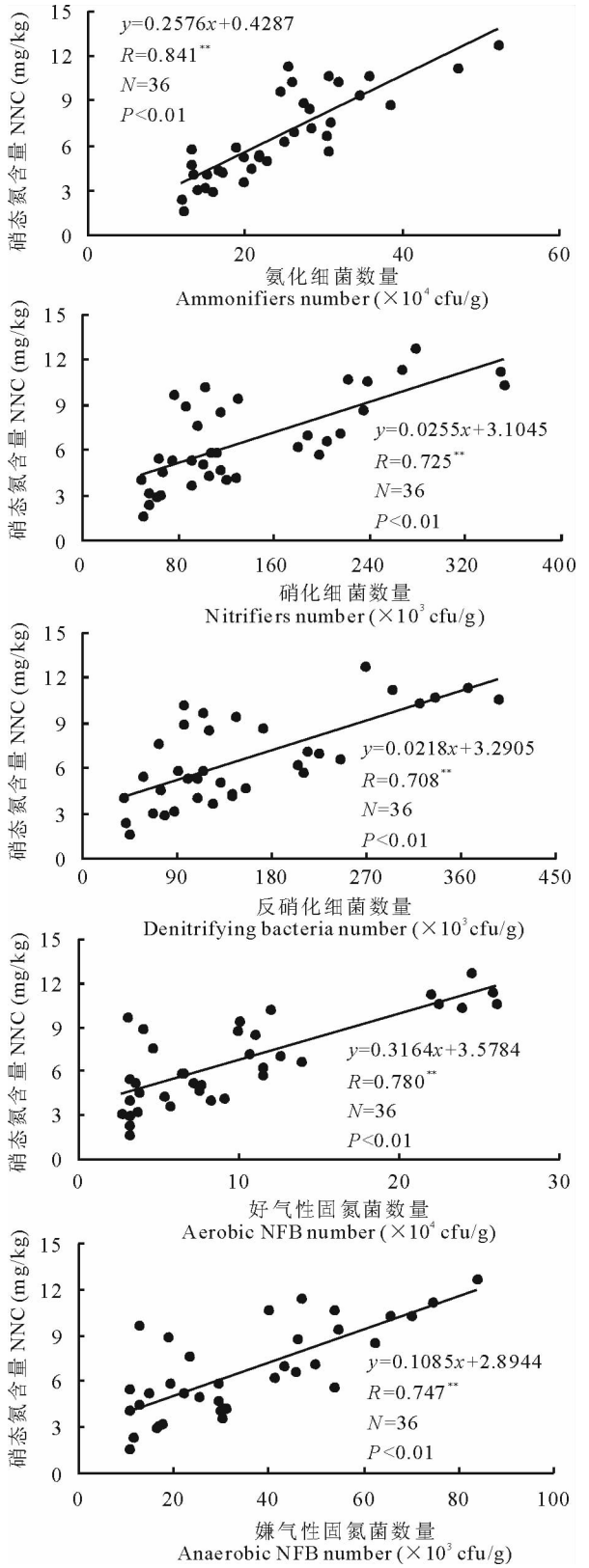


图 7 硝态氮含量与微生物氮素生理群数量的相关性

Fig. 7 Correlation analysis between nitrate nitrogen content (NNC) and the number of nitrogen physiological microorganisms group

不同空间层次高寒草甸土壤微生物氮素生理群数量具有明显的垂直分布规律。这与何芳兰等[17]、熊淑萍等[18]研究结果一致，这是因为草本植物根系多分布在表层土壤，而且根系是植物吸收营养的主要器官，也是微生物最活跃的活动场所。同时，根际各类群微生物趋向性聚居在植物根系并通过各自的代谢活动，分解转化根系分泌物和脱落物，从而为植物生长创造了汲取丰富有效养分的环境[19]。此外，还与土壤氮素生理群自身的特性有关，表层土壤中聚积有大量的凋零物，有充分的营养源，加之水分、热量、酸碱度和通气状况较好[20]，利于各类微生物的生长和繁殖。

不同管理措施土壤微生物氮素生理群数量差异很大。围栏＋施肥增加了该草地群落盖度和草产量[13]，苏洁琼等[21]研究结果表明，施用复合肥磷酸二胺对高寒草甸植物群落的恢复具有明显的效果。可能是因为施肥使草地土壤有机质含量升高，水热条件和通气状况较好，有充分的营养源促进氮素生理群的生长，从而施肥对氨化细菌、硝化细菌和嫌气性固氮菌的数量比其他管理措施显著增多。围栏＋补播增加草地的覆盖度、草群密度、高度和地上生物量，使土壤的养分状况得到改善，使反硝化细菌和好气性固氮菌快速生长，代谢旺盛，繁殖速度加快[22]。围栏减少了家畜的践踏和肆虐啃食以及人为活动的干扰，防止土壤退化和结块，从而提高水分利用率，促进草地植被恢复，为氮素生理群的生长繁殖提供了适宜的水分、氧气和营养物质[23]。不围栏由于家畜过度采食和践踏，优良牧草品质和数量降低，然而杂草大量出现，破坏草地；同时土壤较紧实，通气状况差，偏酸性（pH 6.78）[13]，故氮素生理群数量少。

不同管理措施对土壤氮素形态含量影响不同。不同形态氮素量的高低主要受土壤环境条件、微生物种类、放牧、施肥和补播等因素的影响[24-26]。在高寒草甸地区，由人类生产活动干扰，一定程度破坏草地生长，加剧养分流失[27]。载畜量超过一定承受能力，使生物群落结构破坏，适口性差，富含高氮量的植物减少，富含低氮量的植物增多，进而抑制氮素循环。通过不同管理措施对土壤铵态氮和硝态氮含量的研究，草地围栏后草产量增加，一方面，聚集了大量的凋落物，土壤表面枯落物和根系分泌物的输入，提高土壤全氮含量[16]；另一方面，提高土壤微生物活性，增强土壤氮素转化利用，提高氮素利用率。此外，植物枯体在微生物分解过程中产生的酸类物质，可以使土壤中那些难溶性物质向有效性方向转化，从而促进有效氮的增加[28-29]。

土壤微生物数量与土壤氮素形态有相关性。土壤微生物数量与铵态氮含量相关性最大、最小的细菌数量分别是硝化细菌、反硝化细菌，与硝态氮含量相关性最大、最小的细菌数量分别是氨化细菌、反硝化细菌。这一结果显示，大量的氨化细菌使该草地死亡的生物体含氮物质转化为氨基酸和氨的过程相对较为容易[30-31]，可能是一些好气性固氮菌、嫌气性固氮菌将气态氮转化成铵态氮补充了铵态氮的含量，也有可能氨化作用所产生的铵盐本身已适于作为绿色植物的养料，但绿色植物更适合的养料是硝酸盐[32]。

综上可见，4 种不同管理措施不同程度改变土壤微生物数量及不同形态氮素量，其中，土壤围栏＋施肥和围栏＋补播恢复效果最好，能够大幅度提高土壤微生物数量，在玛曲高寒草甸土壤恢复和管理过程中可作为最佳的管理措施进行推广。然而，本研究只考虑了氮元素相关的土壤微生物数量因素，在今后的研究中需要增加土壤微生物量和微生物固氮量指标，进一步完善。

参考文献 References：

[1] Chen Q Q, Sun X H. Analysis of impact of human activities on grassland environment based on ImPACT identity—A case study of pastoral area of Gannan. Agricultural Research in the Arid Areas, 2010, 28(1): 168-174.
陈强强，孙小花. 基于 ImPACT 等式的人类活动对草原环境的影响以甘南州草原牧区为例. 干旱地区农业研究，2010，28(1)：168-174.

[2] Sun X T. Human Factors for Maqu Grassland Degeneration[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2010.
孙喜涛. 玛曲草原退化的人为因素分析[D]. 兰州：兰州大学，2010.

[3] Wang W Y, Wang Q J, Wang H C. The effect of land management on plant community composition, species diversity, and productivity of alpine *Kobersia* steppe meadow. Ecological Research, 2006, 21(2): 181-187.

[4] Yang D H, Zhao J, Zhang Z H, *et al*. Research on changes of net primary productivity of grassland vegetation in Gannan pastoral area over the past 10 years. Agricultural Research in the Arid Areas, 2011, 29(1): 257-263.
杨东辉，赵军，张智慧，等. 近 10 年甘南牧区草地净初级生产力变化研究. 干旱地区农业研究，2011，29(1)：257-263.

[5] Liu C E, An S Z, Sun Z J, *et al*. Influence of fencing on *Seriphidium transillense* pasture in Yili region of Xinjiang. Pratacultural Science, 2008, 25(10): 10-14.
刘长娥, 安沙舟, 孙宗玖, 等. 围栏封育对新疆伊犁绢蒿草地的影响. 草业科学, 2008, 25(10): 10-14.

[6] Lu H, Li X G, Yao T, *et al*. Characteristics of vegetation and soil microorganisms of molehill grassland in an ecologically vulnerable alpine region. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(5): 214-222.
卢虎, 李显刚, 姚拓, 等. 高寒生态脆弱区"黑土滩"草地植被与土壤微生物数量特征研究. 草业学报, 2014, 23(5): 214-222.

[7] Schipper L A, Degens B P, Sparling G P, *et al*. Changes in microbial heterotrophic diversity along five plant successional sequences. Soil Biology and Biochemistry, 2001, (33): 2093-2103.

[8] Bardgett R D, McAlister E. The measurement of soil fungal: Bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. Biology and Fertility of Soils, 1999, (29): 282-290.

[9] Liu R X, He J Z, Zhang L M. Response of nitrification/denitrification and their associated microbes to soil moisture change in paddy soil. Environmental Science, 2014, 35(11): 4275-4283.
刘若萱, 贺纪正, 张丽梅. 稻田土壤不同水分条件下硝化/反硝化作用及其功能微生物的变化特征. 环境科学, 2014, 35(11): 4275-4283.

[10] Mekuria W, Veldkamp E, Haile M, *et al*. Effectiveness of exclosures to restore degraded soils as a result of overgrazing in tigray, Ethiopia. Joural of Arid Environments, 2007, 69: 270-284.

[11] Li W, Cao W X, Wei W, *et al*. Effects of grassland cultivation measures on plant diversity and productivity in the alpine meadow-steppe. Acta Agrestia Sinica, 2015, 23(3): 457-462.
李文, 曹文侠, 魏巍, 等. 培育措施对高寒草甸草原植物多样性和生产力的影响. 草地学报, 2015, 23(3): 457-462.

[12] Yu X J, Jing Y Y, Duan C H, *et al*. Influence of enclosure and grazing intensity on alpine meadow vegetation and soil characteristics in the Eastern Qilian Mountains. Agricultural Research in the Arid Areas, 2015, 33(1): 252-257, 277.
鱼小军, 景媛媛, 段春华, 等. 围栏与不同放牧强度对东祁连山高寒草甸植被和土壤的影响. 干旱地区农业研究, 2015, 33(1): 252-257, 277.

[13] Xu T, Qi J, Pu X P, *et al*. Comparison of the yields and nutrients of seven forage species in Maqu county. Chinese Journal of Grassland, 2012, 34(3): 113-116.
许涛, 祁娟, 蒲小鹏, 等. 甘南玛曲七种主要饲草营养价值比较. 中国草地学报, 2012, 34(3): 113-116.

[14] Xu G H, Zheng H Y. Analysis Method of Manual to Soil Microbes[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986.
许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[15] Yao H Y, Huang C Y. Soil Microbial Ecology and Experimental Technology[M]. Beijing: Science Press, 2007.
姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007.

[16] Li G, Wang L J, Li Y J, *et al*. Effects of different vegetation restoration patterns on the diversity of soil nitrogen-fixing microbes in Hulunbeier sandy land, Inner Mongolia of North China. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(6): 1639-1646.
李刚, 王丽娟, 李玉洁, 等. 呼伦贝尔沙地不同植被恢复模式对土壤固氮微生物多样性的影响. 应用生态学报, 2013, 24(6): 1639-1646.

[17] He F L, Jin H X, Wang S M, *et al*. Effect of desertification on soil microbial biomass and enzyme activities in Maqu alpine meadow. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(18): 5876-5883.
何芳兰, 金红喜, 王锁民, 等. 沙化对玛曲高寒草甸土壤微生物数量及土壤酶活性的影响. 生态学报, 2016, 36(18): 5876-5883.

[18] Xiong S P, Che F F, Ma X M, *et al*. Effects of nitrogen form on the activity of nitrogen bacteria group and inorganic nitrogen in rhizosphere soil of winter wheat. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(16): 5138-5145.
熊淑萍, 车芳芳, 马新明, 等. 氮肥形态对冬小麦根际土壤氮素生理群活性及无机氮含量的影响. 生态学报, 2012, 32(16): 5138-5145.

[19] Zhao X D, Zeng Q C, An S S, *et al*. Ecological stoichiometric characteristics of grassland soils and plant roots relative to enclosure history on the Loess Plateau. Acta Pedologica Sinica, 2016, (6): 1-13.
赵晓单, 曾全超, 安韶山, 等. 黄土高原不同封育年限草地土壤与植物根系的生态化学计量特征. 土壤学报, 2016, (6): 1-13.

[20] Guo J X, Zhu T C. Study on numbers and biomass of soil microorganism in aneurolepidium Chinense grassland. Acta Ecologica Sinica, 1997, 17(1): 78-82.
郭继勋, 祝廷成. 羊草草原土壤微生物的数量和生物量. 生态学报, 1997, 17(1): 78-82.

[21] Su J Q, Li X R, Yang H T, *et al*. Effects of fertilization on population density and biomass of herbaceous plants in desert steppe. Journal of Desert Research, 2013, 33(3): 696-702.

苏洁琼，李新荣，杨昊天，等. 施肥对荒漠化草原草本植物种群密度和生物量的影响. 中国沙漠，2013，33(3)：696-702.

[22] Qiu B，Luo Y J，Du G Z. The effect of fertilizer gradients on vegetation characteristics in alpine meadow. Acta Prataculturae Sinica，2004，13(6)：65-68.
邱波，罗燕江，杜国祯. 施肥梯度对甘南高寒草甸植被特征的影响. 草业学报，2004，13(6)：65-68.

[23] Luo D，Wang M J，Zheng S L，*et al*. Effects of enclosure on soil microbial quantity and enzyme activity in desert steppe. Ecology and Environmental Sciences，2016，25(5)：760-767.
罗冬，王明玖，郑少龙，等. 围封对荒漠草原土壤微生物数量及其酶活性的影响. 生态环境学报，2016，25(5)：760-767.

[24] Qin Y. Effect of Different Land Utilization on Soil Nutrients and Grassland Vegetation in Alpine Meadow[D]. Lanzhou：Lanzhou University，2010.
秦彧. 不同土地利用方式对玛曲高寒草地土壤养分与植被的影响[D]. 兰州：兰州大学，2010.

[25] Eviner V T，Chapin III F S. Selective gopher disturbance influences plant species effects on nitrogen cycling. Oikos，2005，109(1)：154-166.

[26] Tresserras R M C，Alvarez M T S. Role of small mammal disturbances in mountain grasslands. Revista Pastos，2004，(1)：47-60.

[27] Cheng J，Gao Y J. Variability of soil nutrient in enclosed grassland of Yunwu Mountain. Acta Agrestia Sinica，2007，15(3)：273-277.
程杰，高亚军. 云雾山封育草地土壤养分变化特征. 草地学报，2007，15(3)：273-277.

[28] Liao S X，Ren Y T，Yuan X B，*et al*. Effects of fencing on contents of soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in the Loess Plateau，northern China. Pratacultural Science，2016，33(6)：1044-1053.
廖圣祥，任运涛，袁晓波，等. 围封对黄土高原草地土壤铵态氮和硝态氮的影响. 草业科学，2016，33(6)：1044-1053.

[29] Wang C Y，Xiao H G，Liu J，*et al*. Insights into ecological effects of invasive plants on soil nitrogen cycles. American Journal of Plant Sciences，2015，6(1)：34-46.

[30] Ding L L，Qi B，Shang Z H，*et al*. The characteristics of soil microorganism quantity under different alpine grasslands in Eastern Qilian Mountain. Journal of Agro-Environment Science，2007，26(6)：2104-2111.
丁玲玲，祁彪，尚占环，等. 东祁连山不同高寒草地型土壤微生物数量分布特征研究. 农业环境科学学报，2007，26(6)：2104-2111.

[31] Xing X Y，Huang Y M，An S S，*et al*. Soil nitrogen concentrations and transformations under different vegetation types in forested zones of the Loess Gully Region. Acta Ecologica Sinica，2013，33(22)：7181-7189.
邢肖毅，黄懿梅，安韶山，等. 黄土高原沟壑区森林带不同植物群落土壤氮素含量及其转化. 生态学报，2013，33(22)：7181-7189.

[32] Gu M H，Qu H P，Liu X H，*et al*. Characteristics of N forms and N-transforming bacteria in paddy soil under different tillage patterns. Chinese Journal of Applied Ecology，2009，20(6)：1362-1368.
顾明华，区惠平，刘昔辉，等. 不同耕作方式下稻田土壤的氮素形态及氮素转化菌特征. 应用生态学报，2009，20(6)：1362-1368.