

# 内蒙古呼伦贝尔草原土壤氨氧化细菌多样性及群落结构\*

文都日乐<sup>1,2</sup> 李刚<sup>1</sup> 杨殿林<sup>1</sup> 张静妮<sup>1\*\*</sup> 易津<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; <sup>2</sup>内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010018)

**摘要** 采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳技术及扩增产物序列分析方法, 研究了呼伦贝尔5种草地类型(线叶菊草原、贝加尔针茅草原、羊草草原、大针茅草原、克氏针茅草原)土壤氨氧化细菌多样性及群落结构特征。研究表明: 不同草地类型间土壤氨氧化细菌群落结构组成差异显著, 相似性均低于50%。线叶菊草原土壤氨氧化细菌群落多样性最高, 其次是贝加尔针茅草原、羊草草原和克氏针茅草原, 大针茅草原最低。5种草地类型土壤氨氧化细菌均以 *Nitrosospira* cluster 3 为优势种群, 此外还发现有 *Nitrosospira* cluster 1、2、4 和 *Nitrosomonas*。线叶菊草原土壤氨氧化细菌群落组成较其他草地类型复杂, 而羊草草原和大针茅草原群落组成较简单。经相关性分析, 土壤含水量、土壤全氮、有机碳、土壤 C/N 与土壤氨氧化细菌群落多样性显著正相关 ( $P < 0.05$ )。

**关键词** 呼伦贝尔草原 氨氧化细菌 多样性 系统发育分析

文章编号 1001-9332(2011)04-0929-07 中图分类号 Q938.1; S154.3 文献标识码 A

**Diversity and community structure of soil ammonia-oxidizing bacteria in Hulunbeier Grassland, Inner Mongolia.** WENDU Ri-le<sup>1,2</sup>, LI Gang<sup>1</sup>, YANG Dian-lin<sup>1</sup>, ZHANG Jing-ni<sup>1</sup>, YI Jin<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; <sup>2</sup>College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2011, 22(4): 929-935.

**Abstract:** By the methods of polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis and sequence analysis, a comparative study was conducted on the diversity and community structure of soil ammonia-oxidizing bacteria in the *Filifolium sibiricum* steppe, *Stipa baicalensis* steppe, *Leymus chinensis* steppe, *Stipa grandis* steppe, and *Stipa kryrowi* steppe in Hulunbeier Grassland, Inner Mongolia. A significant difference was observed in the community structure of soil ammonia-oxidizing bacteria among the five steppes, with the similarity lower than 50%. The diversity of soil ammonia-oxidizing bacteria was the highest in *F. sibiricum* steppe, followed by in *S. baicalensis* steppe, *L. chinensis* steppe, *S. kryrowi* steppe, and *S. grandis* steppe. In the five steppes, *Nitrosospira* cluster 3 was the dominant group, and the *Nitrosospira* cluster 1, 2, and 4 as well as *Nitrosomonas* were also found. The community structure of soil ammonia oxidizing bacteria in *F. sibiricum* steppe was most complex, while that in *L. chinensis* steppe and *S. grandis* steppe was relatively simple. Correlation analysis indicated that there existed significant positive correlations between the diversity of soil ammonia-oxidizing bacteria and the soil moisture, total nitrogen, total organic carbon, and C/N ratio ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** Hulunbeier Grassland; ammonia-oxidizing bacteria; diversity; phylogenetic analysis.

天然草地是地球陆地表面最大的绿色植被层, 总面积占地球陆地表面面积的41%, 在全球生态系统中发挥着举足轻重的作用<sup>[1]</sup>。氮(N)作为植物生长

发育最重要的元素之一<sup>[2]</sup>, 是决定草地生产力的重要指标<sup>[3-4]</sup>。氮循环是草地生态系统重要的物质循环<sup>[5]</sup>, 主要包括固氮作用、硝化作用、反硝化作用和氨化作用, 这些过程均由微生物驱动<sup>[6]</sup>。硝化作用是氮循环的关键环节之一, 包括氨氧化作用和亚硝化作用两个过程, 而氨氧化细菌(ammonia oxidizing bacteria, AOB)是硝化作用中将氨氧化为亚硝酸盐

\* 国家自然科学基金项目(31000242, 30770367)和中国农业科学院院长基金项目资助。

\*\* 通讯作者。E-mail: zjn09@126.com

2010-09-25 收稿, 2011-01-26 接受。

的关键微生物<sup>[7-10]</sup>. 近年对于氨氧化细菌的生态学  
研究受到广泛关注<sup>[11-12]</sup>.

呼伦贝尔草原(115°31'00"—121°34'30" E, 47°20'00"—50°50'30" N)位于内蒙古高原东部,大  
兴安岭西麓,是我国典型的温带草原之一,是欧亚大  
陆草原的重要组成部分. 呼伦贝尔草原总面积  
785.3×10<sup>4</sup> hm<sup>2</sup>,其中温性草甸草原 141.9×10<sup>4</sup> hm<sup>2</sup>,  
占草原总面积的 18.1%,主要草地类型有线叶菊  
(*Filifolium ibiricum*)草原、贝加尔针茅(*Stipa ba-  
icalensis*)草原等;温性典型草原 431.4×10<sup>4</sup> hm<sup>2</sup>,占  
总面积的 54.9%,主要草地类型有羊草(*Leymus  
chinensis*)草原、大针茅(*Stipa grandis*)草原、克氏针  
茅(*Stipa kryrowi*)草原等<sup>[13-14]</sup>. 呼伦贝尔草原作为  
世界草地资源研究和生物多样性保护的重要基地之  
一,一直受到高度重视和关注. 加强对呼伦贝尔草原  
生态系统的研究,不仅对该区域的生物多样性保护和  
可持续发展具有重大指导意义,还可为推动中国  
乃至世界温带草原生态系统研究做出贡献<sup>[15]</sup>. 本文  
以呼伦贝尔 5 种不同草地类型为研究对象,采用  
PCR-DGGE 分子生物学技术及扩增产物序列分析方  
法,初步研究了呼伦贝尔不同草地类型土壤氨氧化  
细菌多样性及群落结构组成,旨在为揭示呼伦贝尔  
草原氮循环提供参考,并为深入研究我国温带草原

土壤微生物生态系统提供资料.

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

试验地(115°31'—126°4' E,47°05'—53°20' N)  
位于内蒙古呼伦贝尔市境内. 该地区属温带大陆性  
季风气候,年平均气温-2.2℃左右,无霜期 115~  
124 d,年降水量 339 mm<sup>[16]</sup>. 本试验以线叶菊草原、  
贝加尔针茅草原、羊草草原、大针茅草原、克氏针茅  
草原为研究对象,在植被典型、地势平坦、开阔的区  
域,分别选择 2001 年以来的围栏草地作为试验样  
地,围封年限均为 8 a. 具体样地设置见表 1.

### 1.2 样品采集

于 2009 年 7 月进行野外采样,每个样地内按照  
S 型曲线选择 40 个点,各取样点之间间隔大于 100  
m,去除表面植被,用直径为 5 cm 的土钻,取 0~20  
cm 土壤,最后将 40 份土样混匀过筛,去除根系和土  
壤入侵物,采用“四分法”选取 1 kg 土样冷藏带回实  
验室保存于-70℃超低温冰箱,其余土样带回实验  
室风干后,过 0.15 mm 筛,用于土壤理化性质分  
析<sup>[17]</sup>. 土壤基本理化性质见表 2.

### 1.3 分析方法

**1.3.1 土样总 DNA 的提取** 采用 BBI 公司的 EZ-10

表 1 观测样地概况

Table 1 General status of sampling plots

项目 Item	线叶菊草原 <i>F. sibiricum</i> steppe	贝加尔针茅草原 <i>S. baicalensis</i> steppe	羊草草原 <i>L. chinensis</i> steppe	大针茅草原 <i>S. grandis</i> steppe	克氏针茅草原 <i>S. kryrowis</i> steppe
经度 Longitude (E)	119°53'42"	119°30'42"	119°04'12"	119°17'45"	117°58'53"
纬度 Latitude (N)	49°49'54"	49°30'56"	49°14'55"	48°25'30"	48°11'29"
海拔 Elevation (m)	817	732	639	723	595
植物群落 Vegetation community	线叶菊+贝加尔针茅 +日荫菅 <i>F. sibiricum</i> + <i>S. baicalensis</i> + <i>Carex pediformis</i>	贝加尔针茅+羊草+ 日荫菅 <i>S. baicalensis</i> + <i>L. chinensis</i> + <i>C.</i> <i>pediformis</i>	羊草+贝加尔针茅+ 寸草苔 <i>L. chinensis</i> + <i>S. baicalensis</i> + <i>C.</i> <i>duriuscula</i>	大针茅+羊草+糙隐子 草 <i>S. grandis</i> + <i>L.</i> <i>chinensis</i> + <i>Cleisto-</i> <i>genes squarrosa</i>	克氏针茅+糙隐子草 <i>S. kryrowii</i> + <i>C.</i> <i>squarrosa</i>

表 2 不同草地类型土壤理化性质

Table 2 Soil physicochemical characteristics of different grassland types

项目 Item	线叶菊草原 <i>F. sibiricum</i> steppe	贝加尔针茅草原 <i>S. baicalensis</i> steppe	羊草草原 <i>L. chinensis</i> steppe	大针茅草原 <i>S. grandis</i> steppe	克氏针茅草原 <i>S. kryrowis</i> steppe
pH	6.10±0.01d	6.85±0.08ab	7.01±0.29a	6.36±0.03c	6.69±0.07b
土壤含水量 Soil moisture (%)	27.73±0.01a	17.20±0.03b	12.76±0.02c	9.21±0.04d	6.17±0.02e
容重 Bulk density (g·cm <sup>-3</sup> )	1.00±0.01d	1.07±0.03d	1.17±0.01c	1.49±0.02b	1.73±0.01a
全氮 Total nitrogen (g·kg <sup>-1</sup> )	2.12±0.01a	1.74±0.05b	1.77±0.01b	1.16±0.01d	1.57±0.01c
全磷 Total phosphorus (g·kg <sup>-1</sup> )	0.87±0.02a	0.30±0.00c	0.57±0.01b	0.21±0.01e	0.23±0.00d
铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg·kg <sup>-1</sup> )	17.00±0.42a	10.99±0.76b	11.59±0.54b	15.06±0.02a	8.09±0.34c
硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg·kg <sup>-1</sup> )	2.51±1.00c	5.24±1.21a	2.53±0.24c	1.92±0.11c	3.88±0.73b
有机碳 Total organic carbon (g·kg <sup>-1</sup> )	44.75±0.17a	20.76±0.46b	19.75±0.37b	12.51±0.10c	10.33±0.12d
C/N	21.12±0.54a	11.92±0.34b	11.17±0.11be	10.79±0.25c	6.58±0.14d

同列不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different letters within the same column indicated significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.



的 DGGE 图谱的条带数、条带位置和亮度存在一定的差异。聚类分析结果(图 1B)表明,不同草地类型间土壤氨氧化细菌群落结构相似性均低于 50%。5 种草地类型土壤氨氧化细菌群落结构聚为两类:一类为线叶菊草原和大针茅草原先聚,再与贝加尔针茅草原聚类,相似系数分别为 49%、33%;另一类为羊草草原和克氏针茅草原,相似性指数仅为 27%。

根据电泳图谱中每个条带的强度,对不同草地类型土壤氨氧化细菌群落多样性指数( $H$ )和丰富度( $S$ )进行分析。由表 4 可知,5 种草地类型土壤中线叶菊草原氨氧化细菌多样性指数最高,为 2.27;其次是贝加尔针茅草原、羊草草原、克氏针茅草原,分别为 1.76、1.59 和 1.42;大针茅草原最低,仅为 1.21。

表 5 DGGE 条带比对结果

Table 5 Results of the BLAST for the sequences of DGGE bands

条带编号 Band No.	分布 Distribution	相似度 Similarity (%)	GenBank 登录号 GenBank accession No.	比对菌描述 Description of closest relatives	AOB 簇 AOB cluster
1	FSS, SGS, SKS	99	AF409023.1	<i>Proteobacterium</i> Ellin181	-
2	FSS	98	EU043527.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone GASP-0KA-497-A03	1
3	FSS, SBS	94	GU556219.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. clone 002	4
4	SKS	95	AY123797.1	<i>Nitrosomonas</i> sp. Nm84	X
5	FSS, LCS, SBS, SGS, SKS	97	AY293115.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. clone SBMSPH7	3
6	FSS, LCS	98	GU097360.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. isolated DGGE gel band 8	1
7	FSS, SBS	96	EU486832.1	Uncultured soil bacterium isolated DGGE gel band AOB-01	-
8	FSS, LCS, SGS	98	FM252744.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i>	-
9	SGS	98	DQ295494.1	Uncultured bacterium clone SM-A55	-
10	FSS, SGS	97	AM503962.1	Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp.	X
11	FSS, SGS	93	GU001878.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. isolated DGGE gel band MN12	1
12	FSS	94	EF663632.1	Uncultured <i>proteobacterium</i> clone GASP-MA3W1_G06	-
13	FSS	98	AY727034.1	<i>Nitrosospira</i> sp. EnU4a	3
14	FSS	100	EF220412.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone FI-2F_D07	4
15	SBS	96	AB474998.1	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium	3
16	FSS	99	AF386754.1	<i>Nitrosospira</i> sp. BF16c46	3
17	SBS	92	GU097377.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. isolated DGGE gel band 25	1
18	SBS	93	FJ792836.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. isolated DGGE gel band SM15	1
19	SBS, SKS	99	AY694566.1	Uncultured <i>Nitrosomonadales</i> bacterium clone JAB SHC 138	3
20	FSS, SKS	97	GU390896.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. isolated DGGE gel band A1	3
21	LCS	97	GQ255602.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp. clone P87-D3-T7	1
22	LCS	98	AM934971.1	Uncultured <i>Nitrosomonadaceae</i> bacterium	1
23	FSS	100	GQ366502.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone RUGL6-178	2
24	LCS, SBS, SGS, SKS	98	AY123802.1	<i>Nitrosospira</i> sp. Nsp2	3
25	FSS, SBS	98	EU299448.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone GASP-KC1W2_D06	-
26	FSS, SBS, SGS	98	AY123813.1	<i>Nitrosospira</i> sp. Nsp65	3
27	SKS	98	AF431309.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone C47.01PG	4
28	SBS, SGS	98	AY214710.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone SL2-2-E10F	-
29	FSS	98	FJ484872.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone	4
30	LCS, SBS, SKS	99	AY123807.1	<i>Nitrosospira multiformis</i>	3
31	FSS	98	EF651629.1	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> clone AUVÉ_13H04	-
32	FSS	98	FJ166781.1	Uncultured bacterium clone Q_LQ1_H06	-
33	SKS	97	GU390895.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp.	3
34	FSS	98	AJ298745.1	<i>Nitrosospira</i> sp. Nsp2	3
35	FSS	97	DQ099479.1	Soil <i>beta proteobacterium</i> BG. Sph. 062	4
36	FSS	98	GU375594.1	Uncultured soil bacterium clone Bact. dry. 4ACATC10	-
37	FSS, LCS, SBS, SGS	100	AY856376.1	<i>Nitrosospira</i> sp. PM2	3
38	FSS	94	AY917241.1	Uncultured <i>proteobacterium</i> clone 1700CTO-06	-
39	FSS, SGS	98	AY123812.1	<i>Nitrosospira</i> sp. N15	3
40	SBS	98	DQ068719.1	Uncultured ammonia-oxidizing bacterium clone CL2-15/B	3

Cluster X; *Nitrosomonas*; FSS:线叶菊草原 *F. sibiricum* steppe; LCS:羊草草原 *L. chinensis* steppe; SBS:贝加尔针茅草原 *S. baicalensis* steppe; SGS:大针茅草原 *S. grandis* steppe; SKS:克氏针茅草原 *S. kryrowi* steppe.

表 4 土壤氨氧化细菌 Shannon 指数和丰富度

Table 4 Shannon index ( $H$ ) and richness ( $S$ ) of ammonia-oxidizing bacteria

草地类型 Steppe types	$H$	$S$
线叶菊草原 <i>F. sibiricum</i> steppe	2.27±0.04a	26a
羊草草原 <i>L. chinensis</i> steppe	1.59±0.03bc	11b
贝加尔针茅草原 <i>S. baicalensis</i> steppe	1.76±0.06b	13b
大针茅草原 <i>S. grandis</i> steppe	1.21±0.01d	9c
克氏针茅草原 <i>S. kryrowi</i> steppe	1.42±0.02cd	12b

## 2.2 土壤氨氧化细菌系统发育分析

根据不同草地类型土壤氨氧化细菌 DGGE 图谱结果,选取主要条带割胶回收(条带分布见表 5 和图 1A)。对所获取的 40 个条带序列在 Genbank 中



进行 Blast 比对,结果表明,40 个条带的序列与已知序列的相似性均较高,相似度为 92% ~ 100%。氨氧化细菌系统发育树(图 2)的构建所使用的 Cluster 命名形式为此前研究报告中所普遍接受的命名形式<sup>[22]</sup>。从系统发育树可知,测得的多数序列属于  $\beta$ -变形菌门的亚硝化螺菌群(*Nitrosospira*),且 5 种草地类型均以 *Nitrosospira* cluster 3 为优势种。

5 种草地类型中线叶菊草原土壤氨氧化细菌群落组成较其他草地类型复杂,除 *Nitrosospira* cluster 3

外,还检测到 *Nitrosospira* cluster 1、2、4 和 *Nitrosomonas* cluster X。羊草草原和大针茅草原土壤氨氧化细菌群落组成较简单,分别由 *Nitrosospira* cluster 1、3 和 *Nitrosospira* cluster 3、*Nitrosomonas* cluster X 组成。

### 2.3 土壤氨氧化细菌群落结构与土壤理化因子的关系

不同草地类型与土壤理化性质之间的相关分析(表 6)结果显示,土壤氨氧化细菌群落多样性与土壤含水量、土壤全氮、土壤有机碳呈显著正相关,土

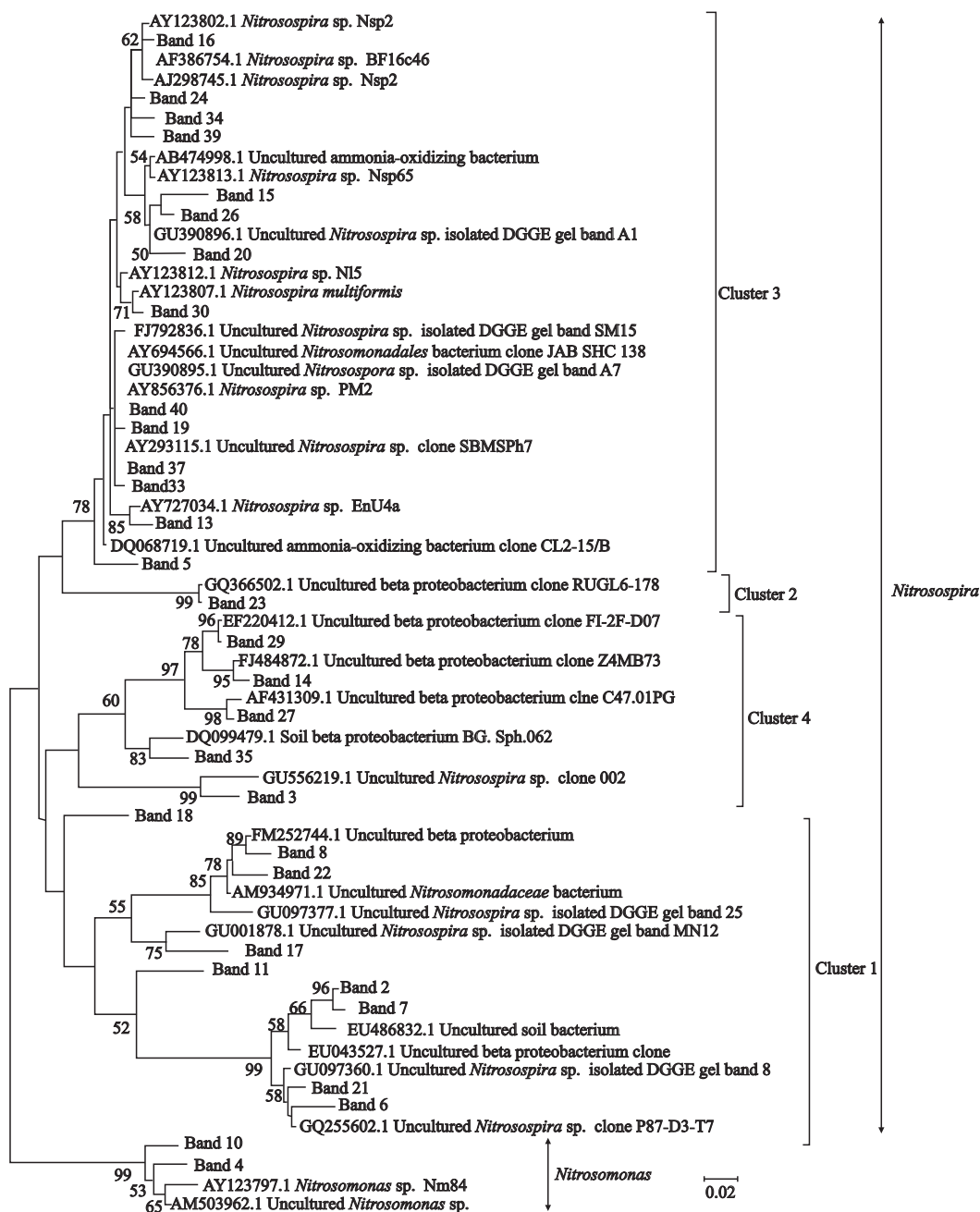


图 2 基于部分 16S rDNA 序列的氨氧化细菌系统发育树(邻接法)

Fig. 2 Neighbour-joining tree of  $\beta$ -ammonia oxidizing bacteria based on analysis of partial 16S rDNA sequences.

表 6 土壤氨氧化细菌群落多样性与土壤理化性质的相关分析

Table 6 Correlation analysis of soil ammonia-oxidizing bacteria diversity with soil physicochemical characteristics

指数 Index	pH	土壤含水量 Soil moisture	容重 Bulk density	全氮 Total nitrogen	全磷 Total phosphorus	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	有机碳 Total organic carbon	C/N
H	-0.374	0.950 *	-0.778	0.941 *	0.866	0.454	0.113	0.952 *	0.870
S	-0.647	0.899 *	-0.573	0.824	0.850	0.571	-0.810	0.951 *	0.890 *

\*  $P < 0.05$ .

壤氨氧化细菌丰富度与土壤含水量、土壤有机碳、碳氮比呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨 论

本文采用 PCR-DGGE 方法研究了呼伦贝尔草原不同草地类型土壤氨氧化细菌多样性及群落结构组成. 结果表明, 不同草地类型间土壤氨氧化细菌群落结构组成及多样性有一定的差异 (图 1A), 聚类分析 (UPGMA) (图 1B) 进一步说明不同草地类型间土壤氨氧化细菌群落结构相似性较低. 分析其原因, 不同草地类型的植被结构组成不同, 且对土壤表面的覆盖程度也不尽相同, 造成了土壤温度、湿度的差异; 同样地间土壤全氮含量的差异导致土壤中铵盐浓度各不相同, 而铵作为氨氧化细菌的间接底物, 其浓度与氨氧化细菌的数量和种类有直接的关系<sup>[10]</sup>. 程林等<sup>[23]</sup>研究发现, 氮素的输入导致土壤的铵盐浓度增加, 从而影响土壤氨氧化细菌群落结构及活性. 除此之外, 温度通过影响土壤中铵浓度、pH 和土壤湿度等来影响氨氧化细菌的群落结构. Avrami 等<sup>[12]</sup>研究得出, 不同的土壤温度对土壤微生物群落结构组成有影响. 因此, 不同植被类型下具有不同的氨氧化细菌群落结构.

从系统发育分析结果可知 (图 2), 5 种草地类型土壤氨氧化细菌主要属于亚硝化螺菌群 (*Nitrosospira*), 这与许多学者<sup>[24-27]</sup>研究报道的土壤环境中硝化细菌以 *Nitrosospira* 属为主, 而非 *Nitrosomonas* 属的结论相一致. *Nitrosospira* 中大多数序列均与 *Nitrosospira* cluster 3 聚为一族. 从而可知, 呼伦贝尔草原土壤中 *Nitrosospira* cluster 3 为主导类群, 在氨氧化作用中发挥主要的作用.

不同的生态环境因子都可能影响土壤微生物的活性. 相关分析表明, 土壤氨氧化细菌多样性和丰富度与土壤含水量、土壤有机碳均显著相关 ( $P < 0.05$ ). 此外, 土壤氨氧化细菌群落多样性与全氮, 土壤氨氧化细菌群落丰富度与土壤 C/N 呈显著相关 ( $P < 0.05$ ). 多数研究表明, 养分条件好的土壤中微生物多样性及丰富度也较高, 这是土壤肥力、土壤

环境状况与土壤微生物协同发展的结果, 健康良好的土壤环境条件促进土壤微生物的繁殖和生长, 同时, 土壤微生物又会在改善土壤结构、养分积累、转化和维持中起促进作用. 土壤微生物直接调节土壤氮素的供给, 土壤中氨化细菌和硝化细菌的数量及其氨化作用和硝化作用的强弱与土壤氮素含量相关, 这与 Singh 和 Kashyap<sup>[28-29]</sup>的研究结果一致. Ballinger 等<sup>[30]</sup>研究发现, 土壤 C/N 的变化会影响氨氧化细菌的群落结构组成. 由此可知, 土壤碳氮比是影响土壤微生物群落结构变化的又一重要因子.

综上所述, 在呼伦贝尔草原 5 种草地类型中由于植被类型、水热条件的土壤环境的不同, 土壤氨氧化细菌群落结构组成也存在差异. 5 种草地类型土壤中氨氧化细菌的优势种群为  $\beta$  变形菌门的 *Nitrosospira* cluster 3, 此外还发现有 *Nitrosospira* cluster 1、2、4 和 *Nitrosomonas*. 线叶菊草原土壤氨氧化细菌群落结构较其他草地类型复杂, 而羊草草原和大针茅草原群落结构较简单. 土壤氨氧化细菌群落多样性与土壤理化因子间具有不同程度的相关性, 说明土壤理化因子影响着土壤氨氧化细菌群落结构的组成.

**致 谢** 试验得到内蒙古呼伦贝尔市畜牧工作站和鄂温克旗草原工作站领导和同志的支持和帮助. 感谢吕新龙研究员、王广慧站长、巴拉夫拉站长, 高级畜牧师张明、洪杰, 畜牧师曲仁华、陈香等在野外监测及采样过程中给予的指导和帮助!

### 参考文献

- [1] Yang D-L (杨殿林), Han G-D (韩国栋), Hu Y-G (胡跃高), et al. Effect of grazing intensity on plant diversity and aboveground biomass of *Stipa baicalensis* grassland. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2006, **25**(12): 1470-1475 (in Chinese)
- [2] Li Y-Z (李玉中), Wang Q-S (王庆锁), Zhong X-L (钟秀丽), et al. N internal cycling in *Leymus chinensis* grassland vegetation-soil system. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 2003, **27**(2): 177-182 (in Chinese)
- [3] Li S-L (李思亮), Liu C-Q (刘丛强), Xiao H-Y (肖化云). Microbial effect on nitrogen cycle and nitrogen isotope fractionation on the earth's surface: A review.

- Geology-Geochemistry* (地质地球化学), 2002, **30** (4): 40–46 (in Chinese)
- [4] Li X-Z (李香真), Chen Z-Z (陈佐忠). Nitrogen loss and management in grazed grassland. *Climatic and Environmental Research* (气候与环境研究), 1997, **2** (3): 241–250 (in Chinese)
- [5] Zhang S-Y (张淑艳), Li D-X (李德新). Effect of grazing to underground productivity and nitrogen turnover of *Stipa breviflora* steppe. *Grassland of China* (中国草地), 1997(1): 13–18 (in Chinese)
- [6] Francis CA, Beman JM, Kuypers MMM. New processes and players in the nitrogen cycle: The microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *The ISME Journal*, 2007, **1**: 19–27
- [7] Kowalchuk GA, Stephen JR. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology*, 2001, **55**, 485–529
- [8] Liu J-J (刘晶静), Wu W-X (吴伟祥), Ding Y (丁颖), et al. Ammonia-oxidizing archaea and their important roles in nitrogen biogeochemical cycling: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2010, **21**(8): 2154–2160 (in Chinese)
- [9] Choi OK, Hu ZQ. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**: 4583–4588
- [10] Dong L-H (董莲华), Yang J-S (杨金水), Yuan H-L (袁红莉). Research advances in molecular ecology of ammonia oxidizing bacteria. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008, **19**(6): 1381–1388 (in Chinese)
- [11] Fierer N, Carney KM, Horner-Devine MC, et al. The biogeography of ammonia-oxidizing bacterial communities in soil. *Microbial Ecology*, 2009, **58**: 435–445
- [12] Avrhami S, Conrad R. Patterns of community change among ammonia oxidizers in meadow soils upon long-term incubation at different temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**: 6152–6164
- [13] Yang D-L (杨殿林), Zhang M (张明), Ge R-L (格日勒), et al. Study of the biomass dynamics of the four main rangeland types in Hulunbeier. *Pratacultural Science* (草业科学), 1994, **11**(3): 12–16 (in Chinese)
- [14] Jiang J-C (蒋景纯), Yang D-L (杨殿林). Study on herbage production and dynamics of nutrient contents in Hulunbeier grandland. *Chinese Journal of Grassland* (中国草地), 1993(2): 32–35 (in Chinese)
- [15] Ren J-Z (任继周), Hu Z-Z (胡自治), Zhang Z-H (张自和), et al. A preliminary discussion on grassland ecological economic regions in China. *Acta Pratacultural Sinica* (草业学报), 1999, **8**(12): 12–22 (in Chinese)
- [16] Ni J, Zhang XS. Climate variability, ecological gradient and the Northeast China transect (NECT). *Journal of Arid Environments*, 2000, **46**: 313–325
- [17] Bao S-D (鲍士旦). Soil and Agricultural Chemical Analysis. 3rd Ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30–83 (in Chinese)
- [18] Kowalchuk GA, Stephen JR, De Boer W, et al. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**: 1489–1497
- [19] Mahmood S, Freitag TE, Prosser JI. Comparison of PCR primer based strategies for characterization of ammonia oxidizer communities in environmental samples. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **56**: 482–493
- [20] Li Z-G (李正国), Fu X-H (付晓红), Deng W (邓伟), et al. Analysis of bacterial diversity during the processing of *Brassica juncea* coss var. *tsatsai* by the culture-independent and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) methods. *Microbiology* (微生物学通报), 2009, **36**(3): 371–376 (in Chinese)
- [21] Andreoni V, Cavalca L, Rao MA, et al. Bacteria communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, 2004, **57**: 401–412
- [22] Mccaig AE, Phillips CJ, Stephen JR, et al. Nitrogen cycling and community structure of proteobacterial  $\beta$ -subgroup ammonia-oxidizing bacteria within polluted marine fish farm sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**: 213–220
- [23] Cheng L (程林), Liu G-T (刘桂婷), Wang B-L (王保莉), et al. Effects of long-term fertilization on diversity and composition of ammonia-oxidizing bacterium communities in Weibei dry-land. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2010, **29** (7): 1333–1340 (in Chinese)
- [24] Yuan F (袁飞), Ran W (冉炜), Hu J (胡江), et al. Ammonia-oxidizing bacteria communities and their influence on the nitrification potential of chinese soils measured by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2005, **25**(6): 1318–1324 (in Chinese)
- [25] Kowalchuk GA, Stephen JR. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology*. 2001, **55**: 485–529
- [26] Fierer N, Carney KM, Horner-Devine MC, et al. The biogeography of ammonia-oxidizing bacterial communities in soil. *Soil Microbiology*, 2009, **58**: 435–445
- [27] Yin J, Xu WF. Ammonia biofiltration and community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in biofilters. *Bioresource Technology*, 2009, **100**: 3869–3876
- [28] Singh JS, Kashyap AK. Dynamics of viable nitrifier community, N-mineralization and nitrification in seasonally drytropical forests and savanna. *Microbiological Research*, 2006, **161**: 169–179
- [29] Singh JS, Kashyap AK. Contrasting pattern of methanotrophs in dry tropical forest soils: Effect of soil nitrogen, carbon and moisture. *Microbiological Research*, 2007, **162**: 276–283
- [30] Ballinger SJ, Head IM, Curtis TP, et al. The effect of C/N ratio on ammonia oxidizing bacteria community structure in a laboratory nitrification-denitrification reactor. *Water Science and Technology*, 2002, **46**: 543–550

作者简介 文都日乐,女,1985年出生,博士研究生.主要从事草地植物生理生态研究. E-mail: wendurle@163.com

责任编辑 肖红