#### DOI: 10.5846/stxb202102200477

李营,赵小蓉,李贵桐,林启美.内蒙古典型草原不同地形单元放牧对土壤微生物量磷及磷酸酶活性的影响.生态学报,2022,42(10):4137-4149. Li Y, Zhao X R, Li G T, Lin Q M.Effect of grazing on soil microbial biomass phosphorus and phosphatase activities on different topographic unit of a typical steppe. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(10):4137-4149.

# 内蒙古典型草原不同地形单元放牧对土壤微生物量磷 及磷酸酶活性的影响

# 李 营,赵小蓉\*,李贵桐,林启美

中国农业大学土地科学与技术学院,北京 100193

摘要:土壤微生物量磷和磷酸酶在土壤磷的有效化过程中起着极为重要的作用。过度放牧干扰微生物主导的草原土壤磷的有效化过程,地形也会驱动土壤磷的形态转化和积累。然而,地形与放牧强度的交互作用对土壤微生物参与磷活化过程的影响尚不明确,它们对不同地形单元放牧强度的响应可能存在差异。基于十年定位不同地形单元(坡地和平地)放牧试验,研究不同地形单元放牧对土壤磷酸酶活性和微生物量磷(SMBP)的影响。结果表明,地形而不是放牧显著影响土壤全磷(TP)、有机磷(P<sub>0</sub>)、有效磷(Olsen-P)含量。坡地 SMBP含量显著低于平地,平地重牧(G7.5-G9.0)显著提高了SMBP含量,而坡地放牧则对其没有显著影响。土壤碱性磷酸酶(ALP)和磷酸二酯酶(PD)活性的变化只受放牧影响,而酸性磷酸酶活性(ACP)受地形驱动。平地土壤 PD、ALP 活性与土壤理化性质间存在复杂的联系,且与放牧强度呈负相关关系,而坡地则只保留了土壤 PD 活性与磷、全氮(TN)的联系。平地和坡地的土壤 ACP 活性与土壤化学性质无关。土壤含水量(WC)驱动了平地和坡地 SMBP 和磷酸酶活性的差异,其中 WC、P<sub>0</sub>、TP、TN 驱动平地土壤变化,而坡地土壤则受到 WC、P<sub>0</sub>、TOC 的影响。综上,地形驱动 SMBP 和土壤磷酸酶活性对放牧的响应。本研究表明在平地放牧和坡地放牧是通过不同的方式影响的微生物活化磷的过程,并且土壤含水量和美键作用。

关键词:地形;放牧;土壤微生物量磷;土壤磷酸酶活性;典型草原

# Effect of grazing on soil microbial biomass phosphorus and phosphatase activities on different topographic unit of a typical steppe

LI Ying, ZHAO Xiaorong\*, LI Guitong, LIN Qimei

College of Land Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

**Abstract**: Overgrazing interferes the grassland soil process of phosphorus (P) availability which is dominated by microorganisms, and topography also drives the P transformation and accumulation in soil. Soil microbial biomass phosphorus (SMBP) and enzymes involved phosphorus mineralization played important roles in soil P transformation. However, the effect of the interaction between topography and grazing rate on the participation of soil microorganisms in phosphorus activation process is not clear. In this study, the effects of grazing on the activities of soil alkaline phosphatase (ALP), acid phosphatase (ACP), phosphodiesterase (PD), and SMBP were investigated based on a ten-year grazing experiment (0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0, 7.5 and 9.0 sheep/hm<sup>2</sup>) on two topography treatments (slope and flat). This study hypothesized that 1) due to the soil water content (WC) of slope treatment is lower than the flat treatment, and so do soil nutrient properties, so the effect of slope treatment on SMBP is stronger than flat soil; 2) due to the slope soil lack of phosphorus than flat soil, so the activities of ALP, ACP, PD are higher than flat soil; 3) slope soil is facing higher nutrient

收稿日期:2021-02-20; 网络出版日期:2022-01-11

基金项目:国家自然科学基金应急项目(21025120)

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhaoxr@ cau.edu.cn

limit caused by the difference of parent material, and water limit caused by topography, so, there may be different environmental factor driving the change of SMBP and enzymes. The results showed that topography, not grazing, significantly affected soil TP,  $P_0$  and Olsen-P. SMBP in slope treatment was significantly lower than that in flat treatment. SMBP was significantly increased by heavy grazing on flat treatment, but not on slope treatment. ALP and PD activities were only affected by grazing, while the activities of ACP were driven by topography. There was a complex relationship between the activities of PD, ALP and soil physical and chemical properties in the flat group, and there was a negative correlation between the activities of PD, ALP and grazing rate, while only the relationship between PD activities, phosphorus and TN was maintained in the slope group. The ACP activity of flat group and slope group was not related to soil chemical properties. Soil water content drives the difference between flat land and sloping land. Considering topographic factors, soil water content,  $P_0$ , TP and TN drive the change of flat soil, while slope soil is affected by soil water content,  $P_0$  and TOC. In conclusion, topography drives the response of SMBP phosphorus and phosphatase activity to grazing. This article indicates that, under grazing, the process of soil microorganism activities phosphorus is affected by different factors on flat and slope grazing treatments, and soil water content plays an important role.

Key Words: topography; grazing; soil microbial biomass phosphorus; soil phosphatase activities; typical steppe

草原土壤磷以有机磷为主,有效磷低<sup>[1-2]</sup>。土壤微生物和酶共同驱动的磷转化过程,对维持土壤有效磷 含量起到重要作用<sup>[3-4]</sup>。土壤微生物量磷(soil microbial biomass phosphorus,SMBP)是重要的土壤有效磷来 源<sup>[5]</sup>,其在草原土壤磷库中比例很低,但是其年周转量是植物年吸收磷量的 40—90 倍<sup>[6]</sup>。放牧<sup>[7]</sup>、水分<sup>[6,8]</sup> 等均会导致草原 SMBP 的变化。研究表明,过度放牧造成土壤容重增加,不利于微生物生存<sup>[9-10]</sup>,进而降低 土壤微生物量<sup>[11]</sup>和土壤磷活性<sup>[12-13]</sup>,延长了土壤磷循环周期<sup>[6]</sup>,同时放牧家畜因采食带走草原土壤的 磷<sup>[14]</sup>,造成磷流失<sup>[15]</sup>,加剧草原土壤磷的限制。适度放牧有利于增加植被多样性和群落生产力<sup>[16-17]</sup>,也有 利于土壤磷的累积和活化<sup>[12]</sup>。

土壤有机磷需要通过碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)或者酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)矿 化成为无机磷后才能成为植物所需要的有效磷<sup>[18]</sup>,且草原土壤有机磷矿化的速度受磷酸二酯酶活性 (phosphodiesterase, PD)限制<sup>[19]</sup>。研究表明,土壤磷酸酶活性对放牧强度<sup>[20]</sup>、水热变化<sup>[21-23]</sup>、有机质<sup>[24]</sup>、养分 变化<sup>[25-26]</sup>等十分敏感。过度放牧条件下,微生物量调节着土壤酶对长期放牧的响应<sup>[20]</sup>。所以通过研究土壤 磷酸酶的活性,可以了解放牧对土壤磷的有效性的影响。然而,目前对草原生态系统中土壤磷酸酶活性的研 究还不全面,有必要通过研究土壤磷酸酶的活性及其影响因素,从而了解土壤磷的可用性。

由于地形差异带来的地表温度、蒸发量、土壤含水量等的差异<sup>[27]</sup>,造成土壤理化特性对放牧响应的不同<sup>[10,17,28]</sup>。例如,随着放牧强度增加,土壤有效磷含量在平地放牧呈现上升趋势,而在坡地放牧则呈现下降趋势<sup>[17]</sup>。而放牧强烈干扰了地形所控制的土壤颗粒迁移过程,并对地上生物量生产和总有机碳(TOC)储量等与生物量相关的土壤特性表现出强烈影响<sup>[29]</sup>。通常,坡顶比坡底土壤磷含量更低,而且坡顶面临磷流失,坡底则为磷累积<sup>[30]</sup>。土壤理化性质、微生物和植被等方面<sup>[17,31–32]</sup>也会受到地形与放牧的交互作用影响<sup>[29]</sup>。比如,微生物氮矿化对放牧的响应受到水分的影响<sup>[33]</sup>。另外,以菌丝长度密度(hyphal length density,HLD)举例,HLD与土壤磷有效性相关<sup>[34]</sup>,在坡地放牧,HLD 随着放牧强度增加显著降低,而在平地放牧则是先增加后降低<sup>[17]</sup>。

内蒙古典型草原位于欧亚草原东部,目前面临严重的植被和土壤退化问题。其中,锡林河流域典型草原 退化面积达7700 km<sup>2</sup>,约占流域总面积的82%,过度放牧是退化的主要原因<sup>[35]</sup>。基于植被群落组成和生产力 的研究表明,典型草原平地可以放牧3.75 只/hm<sup>2</sup>,而坡地不宜超过3.0 只/hm<sup>2[16,36]</sup>。为研究不同地形单元 放牧对土壤微生物量磷和磷酸酶活性的影响,本研究基于中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站的长期 定位试验平台,通过测量土壤微生物量碳(soil microbial biomass carbon, SMBC)、氮(soil microbial biomass nitrogen,SMBN)、SMBP 含量和土壤 ALP、ACP、PD 活性,从而研究不同地形单元放牧是否影响土壤磷转化的 微生物过程。本研究假设:1)由于坡地土壤含水量低于平地,且养分条件弱于平地,所以放牧对坡地土壤微 生物量磷的影响比平地的更大;2)由于坡地土壤磷含量低于平地,导致坡地磷酸酶活性高于平地,并且放牧 对其影响更大;3)由于母质问题,坡地比平地面临更高的养分限制,且平地土壤有更好的水热条件,从而放牧 对微生物的影响可能是通过不同的环境因子造成的。

### 1 材料与方法

#### 1.1 样地介绍

研究样地设置在内蒙古锡林郭勒盟白音锡勒牧场中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站(43°38′N, 116°42′E,1200—1280 m a.s.l)的放牧试验样地内。该地区属于温带半干旱草原气候,年均降水量为 346.1 mm,且 60%—80%集中在生长季的 4—8 月,年蒸发量为 1600—1800 mm,年均温为 0.3℃。土壤类型为暗栗钙土(Mollisol,FAO),多为砂壤质地。植被类型属于典型草原,植被群落中建群种为羊草(Leymus chinensis)和大针茅(Stipa grandis),是欧亚大陆草原地带性生态系统类型。

放牧试验开始于 2005 年,占地面积约为 160 hm<sup>2</sup>,每个处理设 7 个放牧强度(0、1.5、3.0、4.5、6.0、7.5、9.0 只/hm<sup>2</sup>,分别记为 G0—G9.0)和 2 个地形处理(平地和坡地,分别记为 F和 S)。坡地坡度小于 10°<sup>[37]</sup>。其中, 1.5 只/hm<sup>2</sup>的放牧小区面积为 4 ha(确保每个试验小区至少有 6 只羊),其它试验小区均为 2 hm<sup>2</sup>。放牧时间 为每年的 6 月初至 9 月中旬,持续 100 d 左右,晚上不归牧。为了保证放牧的持续性,样地从 2007 年起改变了 放牧方式,每月放牧的羊数根据牧草的变化而改变,但是保证年均放牧强度维持不变。经过十年放牧,土壤容 重发生显著变化<sup>[17]</sup>。在本文中,放牧强度指年均放牧强度,具体细节介绍参考 Schoenbach 的方法<sup>[38]</sup>。

#### 1.2 土壤采集

土壤样品采集于 2015 年 8 月初,为当年地上生物量最大的时期。考虑到试验地足够大又没有重复,采样 从羊圈所在位置向长边方向划分为 3 个小区,每个小区间留 1 m 缓冲区。每个小区使用土钻(直径 5 cm)随 机采集 5 钻 0—20 cm 表层土混匀,作为 3 个观测值。土壤样品过 2 mm 筛后一部分保存在 4℃,用于土壤含 水量、微生物量和磷酸酶活性的测定;另一部分风干用于基础理化因子测定。

#### 1.3 土壤理化指标测定

土壤 pH 采用 1:2.5 土水比测定;土壤含水量采用 105℃烘干法;土壤有机碳(TOC)采用重铬酸钾消煮法; 全氮(TN)采用凯氏定氮法;全磷(TP)在  $HClO_4 - H_2SO_4$ 消煮后使用钼锑抗法比色;有机磷(P<sub>o</sub>)通过  $H_2SO_4$ 浸 提液经 550℃灼烧 1 h 和未灼烧的差值确定; Olsen-P 采用 0.5 mol/L 的 NaHCO<sub>3</sub>浸提之后使用钼锑抗比 色法<sup>[39]</sup>。

# 1.4 土壤微生物量碳、氮、磷

为消除土壤含水量对土壤微生物量测定的影响,测定前用去离子水调节土壤含水量到 40% 田间持水量, 之后在 4℃过夜以平衡土壤含水量。SMBC、SMBN 采用氯仿熏蒸-0.5 mol/LK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浸提法<sup>[40-41]</sup>,土液比 1:4。 滤液中的碳氮采用总有机碳/总氮分析仪(TOC-N auto-analyzer (multi N/C<sup>®</sup> 3100, Jena, Germany))测定。 SMBC(SMBN)=(熏蒸测定值-未熏蒸测定值)/k,其中  $k_c$  = 0.45<sup>[40]</sup>, $k_N$  = 0.54<sup>[41]</sup>。SMBP 采用氯仿熏蒸-0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub>(pH 8.5)浸提法<sup>[42]</sup>,土液比 1:20。同时于未熏蒸土壤中加入 25 µg P/g 土用于测定 P 回收率。 SMBP = (熏蒸测定值-未熏蒸测定值)/( $k_p \times R_p$ ),其中校正系数  $k_p$  = 0.4<sup>[42]</sup>, $R_p$ 为外加 P 的回收率。

#### 1.5 土壤磷酸酶活性

土壤 ALP、ACP 和 PD 活性采用 Browman (1978)的方法<sup>[43]</sup>。分别称取 1 g 鲜土,加入 1 mL 相应底物和 4 mL缓冲液(ALP 的 pH=11, ACP 的 pH=6.5, PD 的 pH=8)在 37℃下培养 1 h。其中 ALP 和 ACP 的底物为

115 mmol/L的硝基苯磷酸二钠(Disodium 4-nitrophenyl phosphate, pNPP), PD 的底物为5 mmol/L的双硝基苯 磷酸二钠(Bis(4-nitrophenyl) phosphate, bpNPP)。培养后迅速加入1 mL 0.5 mol/L CaCl<sub>2</sub>和4 mL 0.5 mol/L NaOH, 混匀后过滤。为了消除底物的颜色和土壤的颜色,在培养的同时做空白对照:先加其它溶液,最后加底物,然后迅速过滤。使用分光光度计在 400 nm 波长处比色。使用对硝基酚(p-nitrophenol, pNP)浓度梯度的 吸光值作为标准曲线来计算酶活性。ALP、ACP 和 PD 的详细试验过程参考 Katsalirou 的方法<sup>[44]</sup>。

1.6 统计分析

将 3 个观测值作为 3 个重复处理。所有的数据均以干土重比较放牧和地形对土壤理化因子的影响。放 牧因素分析采用单因素方差分析(ANOVA),地形间分析采用配对 t 检验。对各指标进行放牧和地形的主效 应分析,并进行显著检验。因子间相关性网络图由 R igraph 和 psych 包分析并绘制。对不同地形的 SMBP 和 磷酸酶活性进行 CCA(Canonical correspondence analysis)分析,使用 R Vegan 和 ggplot2 包分析并绘制,分析前 对环境因子进行方差膨胀系数计算,去除 VIF ≥ 10 的因子。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 土壤理化因子特征

地形对土壤各理化因子均产生显著影响, 坡地处理土壤理化指标均显著低于平地(表1), 其中 pH、TN、TN/TP 还同时受放牧强度主效应和交互效应的影响(表2)。坡地和平地土壤 pH 均随着放牧强度增加而呈现上升趋势: 与 G0 处理相比, 平地放牧 G3.0—G9.0 处理的 pH 显著提高 0.15—0.29 个单位, 坡地放牧的土壤 pH 显著提高 0.43—0.71 个单位(表1)。无论平地还是坡地放牧对土壤 TOC 和 TN 含量、土壤含水量均没有显著影响(表1), 但坡地 TN 除了 G4.5 和 G7.5 处理外, 均显著低于平地处理, 降低了 0.56—0.71 g/kg。平地放牧对 TN/TP 影响不显著, 而在坡地放牧, G1.5 处理比 G0 显著降低了 13.73%, 其他处理间差异不显著。平地放牧对土壤 TP 没有显著影响, 而坡地放牧的 G1.5, G3.0, G6.0 处理比 G0 处理显著降低 4.33—37.89 mg/kg。无论平地还是坡地放牧均对土壤 P<sub>0</sub>没有显著影响, 但是 P<sub>0</sub>受到地形、地形×放牧强度的影响(表 2)。土壤 Olsen-P 平地放牧的 G4.5 和 G7.5 处理比 G0 处理显著降低 1.26—1.41 mg/kg, 而坡地放牧仅 G4.5 处理显著低于 G0 处理 0.94 mg/kg, 其他处理间差异不显著(表1)。

Table 1 Soil physical and chemical properties in the typical steppe									
地形 Topography	放牧强度 Grazing Rate/ (只/hm <sup>2</sup> )	速效磷 Olsen-P/ (mg/kg)	有机磷 P <sub>0</sub> ⁄ (mg/kg)	全磷 TP/ (mg/kg)	рН	有机碳 TOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	氮磷比 TN/TP	含水量 WC Water Content/%
平地 Flat	0	5.11Ab	113.12Aa	385.89Aa	7.75Aa	18.74Aa	2.28Aa	5.90Aabc	15.17Aa
	1.5	4.43Aab	141.96Aa	437.97Aa	7.87Aab	23.69Aa	2.35Aa	5.37Aabc	15.96Aa
	3	3.86Aab	126.36Aa	394.20Aa	7.92Ab	24.02Aa	2.36Aa	$6.06\mathrm{Abc}$	16.18Aa
	4.5	3.85Aa	96.14Aa	331.16Aa	8.04Ab	17.96Aa	1.73Aa	5.24Aabc	13.84Aa
	6	4.53Aab	125.69Aa	373.05Aa	7.90Ab	20.76Aa	2.33Aa	6.34Ac	14.62Aa
	7.5	3.70Aa	102.06Aa	332.24Aa	7.98Ab	17.40Aa	1.63Aa	4.90Aabc	13.77Aa
	9	3.48Aab	115.38Aa	387.07Aa	8.01Ab	21.56Aa	2.22Aa	5.75Aabc	15.04Aa
坡地 Slope	0	3.84Ac	100.50Aabc	337.94Ab	6.78Ba	17.73Aa	1.72Bab	5.10Aabc	13.75Aa
	1.5	3.39Babc	97.42Babc	300.85Ba	7.21Bb	18.54Ba	1.77Bab	5.90Bd	14.29Aa
	3.0	3.47Abc	93.90Ba	304.94Ba	7.40Bcd	17.04Ba	1.65Ba	5.41Abc	14.85Aa
	4.5	2.90Aa	$101.70 \mathrm{Abc}$	333.61Ab	7.40Bcd	18.38Aa	1.73Aab	5.18Aabc	12.97Aa
	6.0	$3.64 \mathrm{Abc}$	95.43Bab	305.19Ba	7.31Bbc	18.16Aa	1.68Bab	5.51Ac	14.78Aa
	7.5	3.18Aab	$103.65 \mathrm{Ac}$	336.44Ab	7.23Bb	19.20Aa	1.71Aab	5.09Babc	14.09Ba
	9.0	3.74Ac	103.18Bc	333.10Bb	7.49Bd	18.38Ba	1.85Bb	5.55Ac	12.31Ba
平地 Flatall		4.14A	117.24A	377.37A	7.92A	7.92A	2.13A	5.65A	14.94A
坡地 Slopeall		3.45B	99.40B	321.72B	7.26B	7.26B	1.73B	5.39B	13.86B

表 1 典型草原土壤理化因子特性

不同大写字母表示不同地形单元之间相同放牧强度之间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示不同放牧强度相同地形单元之间差异显著(P<0.05);缩写: Olsen-P:有效磷;P<sub>0</sub>:有机磷, organic phosphorus;TP:全磷, total phosphorus;TOC:有机碳, total organic carbon;TN:全氮, total nitrogen

#### 4141

## 2.2 土壤微生物量磷及微生物量氮磷比、碳磷比

SMBP 受地形影响, 坡地 SMBP 含量显著低于平地 35.47% (图 1, 表 2)。相对于 G0 处理, 平地 G1.5—G6.0处理对 SMBP 影响不显著, 但是重度放牧(G7.5 和 G9.0)显著提高了 SMBP 含量 80.61%—88.10%, 而坡地放牧处理则均对 SMBP 影响不显著(图 1)。SMBN/SMBP 和 SMBC/SMBP 变化趋势一致, 且均不受地形的影响(图 1, 表 2)。平地和坡地放牧各个放牧强度的 SMBN/SMBP 和 SMBC/SMBP 均与 G0 处理差异不显著, 平地放牧均只在 G3.0 处理分别显著高于 G7.5 处理 2.05 倍和 1.72 倍, 而坡地放牧均在 G3.0、G6.0 高于 G4.5、G9.0 处理 92.18%—97.47% 和 80.19%—93.99% (图 1)。

表 2 地形与放牧对土壤理化因子、微生物量磷和磷酸酶活性的交互效应分析

Table 2 Topographic effect, grazing effect and the topography and grazing interaction effect on soil properties, soil microbial biomass phosphorus and phosphatase activities

因子	地形 Topography			放牧强度 Grazing Rate			地形×放牧强度 Topography×Grazing rate		
Factor	df	F	P	df	F	P	df	F	Р
pH	1	649.89	< 0.001	6	32.31	< 0.001	6	5.16	< 0.001
有机磷 P <sub>0</sub>	1	60.36	< 0.001	6	1.78	0.12	6	9.32	< 0.001
全磷 TP	1	74.37	< 0.001	6	1.58	0.17	6	8.54	< 0.001
速效磷 Olsen-P	1	13.03	< 0.001	6	2.18	0.06	6	1.05	0.40
有机碳 TOC	1	16.83	< 0.001	6	1.11	0.37	6	3.99	0.003
全氮 TN	1	95.30	< 0.001	6	4.79	< 0.001	6	8.62	< 0.001
氮磷比 TN/TP	1	4.35	0.05	6	3.77	0.007	6	2.54	0.04
含水量(WC)Water content	1	6.01	0.02	6	1.77	0.14	6	0.83	0.55
微生物量磷 SMBP	1	31.13	< 0.001	6	10.22	< 0.001	6	4.76	< 0.001
微生物量碳磷比 SMBC/SMBP	1	0.91	0.35	6	5.79	< 0.001	6	5.37	< 0.001
微生物量氮磷比 SMBN/SMBP	1	0.00	1.00	6	4.78	0.001	6	4.94	< 0.001
碱性磷酸酶活性 ALP	1	0.00	1.00	6	11.97	< 0.001	6	0.00	1.00
酸性磷酸酶活性 ACP	1	41.06	< 0.001	6	2.04	0.08	6	2.24	0.05
磷酸二酯酶活性 PD	1	2.23	0.14	6	7.45	< 0.001	6	5.08	< 0.001

SMBP:土壤微生物量磷, Soil microbial biomass phosphorus; SMBC:土壤微生物量碳, Soil microbial biomass carbon; SMBN:土壤微生物量氮, Soil microbial biomass nitrogen; ALP:碱性磷酸酶活性, Alkaline phosphatase: ACP:酸性磷酸酶活性, Acid phosphatase; PD:磷酸二酯酶活性, Phosphodiesterase

# 2.3 土壤磷酸酶活性

土壤磷酸酶活性以 ALP 活性最高,平均为 453.33 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>(范围在 356.94—506.43 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), PD 活性最低,平均为 191.52 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>(图 2)。地形对磷酸酶活性的影响并不一致,其中 ALP 活性和 PD 活性均不受地形的影响,而坡地 ACP 活性比平地显著高 24.10%(图 2,表 2)。放牧强度对 ALP 和 PD 活性的影响在平地和坡地上表现一致,其中 ALP 活性均在 G7.5 最低,约 365.56 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,比 G0 处理分别降低 24.58%和 21.55%,而在 G1.5、G3.0 处理最高,为 484.33—506.43mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; PD 活性均在 G4.5 处理显著降低,分别比 G0 处理降低了 74.72 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>和 24.43 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。 放牧强度对 ACP 活性的影响正好相反,在平地放牧显著降低 ACP 活性,约降低了 63.64 mg pN P<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, 而 在坡地放牧则对 ACP 活性没有显著影响(图 2,表 2)。

2.4 土壤微生物量磷和磷酸酶活性与土壤理化因子的关系

相关性网络图表明(图3),在不考虑地形因素(图3),放牧强度与土壤 ALP 活性有显著负相关关系,且与 SMBP 有显著正相关关系;SMBP 与土壤 ACP 活性间有显著负相关关系,与土壤 ALP 活性间没有相关关系;土 壤 PD 活性只与土壤 ALP 活性有显著正相关关系,与土壤 ACP 活性、SMBP 间没有相关关系;TN 与除土壤 ACP 活性外的所有土壤性质指标均有显著正相关关系,与土壤 ACP 活性有显著负相关关系;土壤含水量与 P<sub>0</sub>、Olsen-P、TP、TOC、TN、ALP、PD 均有显著正相关关系。在平地中(图3),土壤 ACP 活性与其它因素之间没 有相关关系,但是增加了放牧强度与 pH 的正相关关系、与土壤 PD 活性的负相关关系;SMBP 只与放牧强度



图 1 典型草原不同地形单元放牧条件下土壤微生物量磷、微生物量碳磷比和微生物量氮磷比

Fig.1 Soil microbial biomass phosphorus, the ratios of microbial biomass carbon to phosphorus and nitrogen to phosphorus under different topographic grazing in the typical steppe. topography

不同大写字母表示不同地形单元之间相同放牧强度之间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示不同放牧强度相同地形单元之间差异显著(P<0.05);"All"表示平地或者坡地单元整体

有正相关关系;土壤 PD 活性位于整个网络的核心。在坡地中(图 3),大部分链接被破坏,只有土壤 ACP 活性与土壤含水量、P<sub>0</sub>与 TP、TN 三者间、土壤 PD 活性与 Olsen-P 和 TN 的正相关关系被保留。



图 2 典型草原不同地形单元放牧条件下土壤酸性磷酸酶活性、碱性磷酸酶活性和磷酸二酯酶活性

Fig.2 Activities of soil acid phosphatase, alkaline phosphatase and phosphodiesterase under different topographic grazing in the typical steppe.

不同大写字母表示不同地形单元之间相同放牧强度之间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示不同放牧强度相同地形单元之间差异显著(P<0.05);"All"表示平地或者坡地整体

不考虑不同地形单元这一因素,CCA1 轴和 CCA2 轴解释了总变异的 21.60% 和 8.46%,整体上,坡地与平 地没有在 CCA1 上分开(图 4)。土壤含水量(WC)对样品在 CCA 上分开有极显著影响(表 3)。其中,WC、TN 分别单独解释了 28.05% 和 4.88% 的变异,P<sub>0</sub>、pH、Olsen-P、TN、TP、TOC 共同解释了 15.82% 的变异。在平地放 牧的 CCA 分析中(图 4),CCA1 轴和 CCA2 轴解释总变异的 37.43% 和 21.13%。WC、P<sub>0</sub>、TP、TN 对样品在 CCA 上分开有显著或者极显著影响(表 3)。其中,WC、P<sub>0</sub>和 TP 分别解释了 38.10%、10.53% 和 6.79% 的变

异,TP、TOC、P<sub>o</sub>、TN 共同解释了 23.23%的变异,pH 和 Olsen-P 共同解释了 3.72%的变异。在坡地放牧中, CCA1 轴和 CCA2 轴解释了总变异的 71.65%和 5.15%(图4)。WC、P<sub>o</sub>、TOC 对样品在 CCA 上分开有显著或者 极显著影响(表3)。其中,P<sub>o</sub>、WC 和 TOC 分别单独解释 37.91%、2.53%和 3.61%的变异,P<sub>o</sub>、Olsen-P、TN、TP、 TOC 共同解释了 62.78%的变异。



#### 图 3 所有处理、平地和坡地相关性网络图

#### Fig.3 Correlation networks of all, flat and slope treatments

不显著相关部分(-0.3<r<0.3, P ≥ 0.05)未展示,线宽代表r值绝对值大小,蓝色线代表显著负相关,红色线代表显著正相关;红色点代表放 牧强度,黄色点代表土壤含水量(WC),绿色点代表土壤化学性质,浅蓝色点代表土壤生物指标;WC:含水量 Water content;Olsen-P:有效磷 Available phosphorus;PO:有机磷 Organic phosphorus;TP:全磷 Total phosphorus;TOC:有机碳 Total organic carbon;TN:全氮 Total nitrogen;ALP: 碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase;ACP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase;PD:磷酸二酯酶 Phosphodiesterase;SMBC:微生物量碳 Soil microbial biomass carbon;SMBN:微生物量氮 Soil microbial biomass nitrogen;SMBP:微生物量磷 Soil microbial biomass phosphorus

# 3 讨论

# 3.1 不同地形单元放牧对土壤微生物量磷的影响

SMBP 是草原土壤的重要有效磷库<sup>[6,45]</sup>,研究表明,SMBP 的变化受到土壤水分变化影响强于 NaHCO<sub>3</sub>浸

提磷<sup>[8]</sup>。本研究中,平地重度放牧(G7.5 和 G9.0 处理)显著提高了 SMBP 含量(图 1),这与前人研究结果一

致<sup>[44]</sup>。而整体看,坡地放牧对 SMBP 没有显著影响,这与我们的第一个假设坡地放牧对 SMBP 的影响大于平 地不符,这可能是放牧对 SMBP 的影响不足以抵消由于坡地水分不足<sup>[2]</sup>、养分限制<sup>[46]</sup>引起的 SMBP 的变化所 致,即地形的效应大于放牧强度的效应。此外,坡地土壤水分含量显著低于平地,尤其是在重度放牧处理中 (表1,表2),其 SMBP 含量显著低于平地也说明了水分的影响起到了重要作用。

本研究中 SMBC/SMBP 和 SMBN/SMBP 变化趋势一致,平均分别为 26.54:1 和 5.26:1(图 1),全球平均值 为 46:1 和 6:1<sup>[47]</sup>。前人基于内蒙古典型草原的研究接近 25:1 和 3:1<sup>[6]</sup>。这是由于本研究土壤的水分、养分 (表 1)均高于 Chen<sup>[6]</sup>的研究所致。本研究中,不同地形对 SMBC/SMBP 和 SMBN/SMBP 没有显著影响(表 2),由于不同微生物的氮磷比和碳磷比不同<sup>[47]</sup>,说明不同地形单元土壤的微生物群落没有发生质的改变。而 放牧和放牧 \* 地形对土壤微生物量碳磷比和氮磷比有显著影响(表 2),是由于相对于平地,坡地土壤微生物 量碳磷比和氮磷比分别在 G4.5 处理显著降低,在 G7.5 处理显著增加造成的(图 1)。G4.5 处理显著降低是由 于 SMBC 和 SMBN 的降低造成的,研究表明,土壤微生物量碳、氮的变化受到土壤养分影响<sup>[11]</sup>,坡地 G4.5 处 理的 pH 显著低于平地,而 pH 的增加有助于土壤养分的释放<sup>[10,48]</sup>,从而缓解放牧胁迫。G7.5 处理的增加是 由于平地 G7.5 处理 SMBP 显著增加,而坡地没有增长造成的。



图 4 土壤微生物量磷和磷酸酶活性与环境因子间 CCA 分析所有处理、平地和坡地处理

Fig.4 Canonical correspondence analysis (CCA) was shown for the relationships between the soil phosphatase activities, soil microbial biomass phosphorus and soil properties all, flat and slope  $b_{1}$   $b_{2}$   $b_{3}$   $b_{4}$   $b_{3}$   $b_{4}$   $b_{4}$   $b_{5}$   $b_{$ 

点代表土壤样品。箭头代表土壤性质

**3.2** 不同地形单元放牧对土壤磷酸酶活性的影响 土壤 ALP 活性代表土壤微生物缺磷状况<sup>[49]</sup>。本研究中,放牧对土壤 ALP 活性的影响不受地形限制(表 2),且只在 G7.5 放牧强度下土壤 ALP 活性显著降低(图 2),这与前人基于平地放牧的研究一致<sup>[20,44]</sup>。研究 表明,土壤性质可以解释 86%的土壤 ALP 活性的变化<sup>[31]</sup>,但在本研究中,尽管坡地土壤性质与平地差异显著 (表 1),但土壤 ALP 活性却没有明显差异,这与上述研究不符。因此,土壤 ALP 活性的变化可能是因为坡地 土壤理化性质弱,植被和菌根长度密度低<sup>[17]</sup>,从而导致微生物需要提高土壤 ALP 活性来获取磷。本研究中, 坡地和平地 G7.5 处理土壤 ALP 活性显著降低,是因为重度放牧引起的凋落物减少,根输入降低,土壤生存环 境恶化,导致通过 ALP 来提高土壤磷有效性变得不经济造成的<sup>[31,50-51]</sup>。而极重牧(G9.0)进一步恶化土壤结 构<sup>[17]</sup>,严重影响植被生长<sup>[29]</sup>,减弱了植被-微生物之间的竞争,微生物可以获得足够的资源来分泌 ALP 获 取磷。

Table 3 Variation of the CCA by environmental factors									
因素	平地	Flat				全部 All			
Factor	F	Р	F	Р	F	Р			
土壤含水量 WC	19.01	0.001	16.12	0.001	18.2	0.001			
рН	2.15	0.13	1.33	0.26	1.98	0.144			
有机磷 Po	7.07	0.008	24.1	0.001	2.41	0.1			
速效磷 Olsen-P	2.52	0.1	1.92	0.18	0.32	0.76			
全磷 TP	4.9	0.03	3.98	0.05	0.38	0.71			
有机碳 TOC	1.65	0.2	7.48	0.01	0.53	0.57			
全氮 TN	4.13	0.03	3.23	0.08	3.24	0.05			

表 3 环境因子对 CCA 的解释方差

PD 是分解新鲜有机质中的活性有机磷必需的酶,可以将磷酸二酯降解成磷酸单酯,进一步被 ALP 矿 化<sup>[19]</sup>,新鲜植被根系是重要的 PD 重要的底物,其减少会降低土壤 PD 活性<sup>[43, 52]</sup>。本研究中,土壤 PD 活性在 G0—G3.0 处理中平地高于坡地处理,而在 G4.5 处理则相反(图 2)。研究表明,轻度和中度放牧提高根系分 泌物,增加植被根系生物量<sup>[53]</sup>,而重度放牧降低了土壤碳含量和根系生物量<sup>[17, 54]</sup>。由于在平地轻度放牧 (G1.5—G3.0)提高了植被根系含量,提高了土壤 PD 活性,而在 G4.5 处理之后,轻度放牧带来的促进作用减弱,地形造成的根系生物量差距减少,造成土壤 PD 活性在平地和坡地差异不显著。相对于平地放牧,坡地放 牧仅保留了土壤 PD 活性与磷、TN 的联系(图 3),研究表明,氮限制了微生物利用磷<sup>[55]</sup>,而 PD 是诱导酶,所 以本研究表明坡地土壤微生物利用磷受到氮的限制。

植被通过分泌质子和提高土壤 ACP 活性来缓解磷限制<sup>[56]</sup>。本研究中,坡地土壤整体 ACP 活性高于平地 (图 2),这是由于坡地有效磷含量低于平地造成的(表 1)<sup>[44]</sup>。平地放牧显著降低土壤 ACP 活性,坡地放牧对 ACP 活性没有影响,除 G4.5 和 G9.0 处理外,均显著高于平地(图 2)。相关性网络分析中表明,平地 ACP 活 性与其它因素间没有显著关系,而坡地只有 WC 与其有正相关性,且与其他因素间没有显著关系(图 3),说明 土壤 ACP 活性的变化与土壤性质的关系较弱。所以推测土壤 ACP 活性的变化是由于放牧降低了植被生物 量<sup>[6, 17]</sup>,导致植被需磷量下降,及放牧改变了植被群落组成,进而影响土壤 ACP 活性<sup>[57]</sup>,而坡地植被群落组 成不受放牧强度的直接影响<sup>[17]</sup>,因此其 ACP 活性不受放牧的影响。

3.5 土壤磷生物转化与环境因子间关系

植物生产力由地形、放牧强度和土壤特性共同决定<sup>[58]</sup>。本研究表明,不同地形放牧对土壤理化性质的影响不一致(表1,表2)。在本研究中,地形主导了土壤磷养分的变化,坡地土壤的 TP、P。、Olsen-P 显著低于平地(表1,表2),且不受放牧影响(图3),这与前人研究一致<sup>[31, 59-60]</sup>。这一方面可能是由于土壤母质造成的,另一方面,坡地比平地更易水土流失,从而损失养分所致。前人研究指出,随着放牧强度增加,土壤 Olsen-P 含量在平地呈现上升趋势,而在坡地中则呈现下降趋势<sup>[17]</sup>。本研究中,放牧 \* 地形交互效应小幅度地影响了土壤 TP 和 Po,但对 Olsen-P 没有影响(表 2),这与上述结果有一定的差异,但与刈割<sup>[61]</sup>和长期放牧结果一致<sup>[13, 44, 62]</sup>。说明无论平地放牧还是坡地放牧,放牧改变土壤理化性质<sup>[63]</sup>,但对土壤磷的影响有限<sup>[64]</sup>。对于

TN 来讲, 坡地 TN 除了 G4.5 和 G7.5 处理外, 均显著低于平地处理(表 1), 这是由于地块差异引起的。此外, 平地放牧对 TN/TP 没有影响, 而坡地 1.5 只/hm<sup>2</sup>放牧强度下, 土壤 TN/TP 显著低于 G0 处理(表 1), 从而导致 其受到了放牧强度和放牧强度\*地形的交互效应影响(表 2), 这是由于坡地 G1.5 处理降低了土壤 TP 造成 的。另外, 不同地形放牧在大于 3.0 只/hm<sup>2</sup>处理之后, 土壤 pH 均显著上升(表 1), 而本研究中, pH 与 P<sub>0</sub>、TP 显著正相关(图 3), 说明 pH 的增加有助于土壤养分的释放<sup>[10, 48]</sup>, 而在坡地, 虽然放牧也提高土壤 pH, 但仍低 于平地, 这表明坡地的潜在养分释放低于平地, 从而减弱了坡地的养分供给。

本研究中,土壤含水量对土壤磷的生物转化起到重要作用。相关性网络图表明,WC 通过与 PD 和 ALP 的正向关系,间接与土壤化学性质、ACP、SMBP 等建立联系(图 3)。土壤微生物量磷(图 1)和磷酸酶活性(图 2)的柱状图也表明,地形带来的水分差异驱动其变化。平地放牧通过同时提高 pH,抑制了 PD 和 ALP 活性,从而提高了 SMBP 含量(图 3)。而平地放牧中构建了微生物分泌的酶(ALP、PD)和土壤理化性质间的复杂 网络(图 3),可以缓冲放牧对土壤的影响,所以平地可以抵抗一定程度的放牧强度。坡地破坏了指标间的联系(图 3),SMBP、ALP 的变化不再受放牧强度和土壤理化性质影响,而 PD 依然存在与土壤磷的联系,表明坡地放牧条件下,PD 是维持土壤磷有效性的主要酶。

土壤微生物和酶共同驱动土壤磷的转化<sup>[65]</sup>。整体而言(图 4),土壤微生物量磷和磷酸酶活性受地形带 来的土壤理化性质驱动,土壤含水量对其解释度最高,其次是土壤化学性质(P<sub>0</sub>、PH、Olsen-P、TN、TP、TOC)的 共同作用,即地形带来的水分差异驱动土壤微生物转化磷,这与大尺度的研究一致<sup>[6,11]</sup>。坡地和平地的土壤 微生物量磷和磷酸酶活性对环境因子的响应不同(图 4),这说明坡地与平地存在两种不同的驱动微生物转化 磷的因素。在平地放牧中,最主要的驱动因素是土壤含水量,土壤 P<sub>0</sub>、TP 也对样品在 CCA 上分开有显著作 用(图 4,表 3),表明土壤含水量和土壤磷对土壤磷转化有重要作用。与平地不同的是,在坡地中,最主要的 驱动因素是 P<sub>0</sub>,且 P<sub>0</sub>、Olsen-P、TP、TN、TOC 共同解释了 62.78%的变异(图 4,表 3)。这表明土壤有机磷在坡 地的重要性要大于平地,这是与坡地土壤酶活性变化趋势一致(图 2)。

#### 4 结论

本研究基于十年定位放牧试验平台,考虑坡地和平地两种地形单元,通过研究土壤微生物量磷(SMBP)、 土壤碱性磷酸酶(ALP)、土壤酸性磷酸酶(ACP)和土壤磷酸二酯酶(PD)活性的变化,得出以下结论:坡地 SMBP 含量显著低于平地,平地重牧(G7.5—G9.0)显著提高了 SMBP 含量,而在坡地放牧则不影响。土壤 ALP 和 PD 活性的变化只受放牧影响,而 ACP 活性则受地形驱动。平地土壤 PD、ALP 活性与土壤理化性质 间存在复杂的联系,且与放牧强度呈负相关关系,而坡地则只保留了土壤 PD 活性与磷、TN 的联系。平地和 坡地的土壤 ACP 活性与土壤化学性质无关。土壤含水量(WC)驱动了平地和坡地 SMBP 和磷酸酶活性的差 异,其中 WC、Po、TP、TN 驱动平地土壤变化,而坡地土壤则受到 WC、Po、TOC 的影响。综上,坡地和平地的 SMBP 和土壤磷酸酶活性对放牧的响应受到不同因素驱动。虽然坡地微生物性质受放牧处理影响较小,但是 坡地土壤的理化性质弱于平地,所以本研究建议坡地适当降低放牧强度。

**致谢:**感谢中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站和陈昊博士、董新亮博士在样品的采集过程给予的 帮助。

#### 参考文献(References):

- [1] Zhu X Y, Zhao X R, Lin Q M, Alamus, Wang H, Liu H L, Wei W X, Sun X C, Li Y T, Li G T. Distribution characteristics of soil organic phosphorus fractions in the inner mongolia steppe. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2020, 20(4): 2394-2405.
- [2] Chen H, Zhao X R, Lin Q M, Li G T, Kong W D. Spring watering interactively improves aboveground net primary productivity and soil microbial biomass in a semi-arid grassland of China. CATENA, 2020, 189: 104478.
- [3] Buehler S, Oberson A, Rao I M, Friesen D K, Frossard E. Sequential phosphorus extraction of a <sup>33</sup>P-labeled oxisol under contrasting agricultural

systems. Soil Science Society of America Journal, 2002, 66(3): 868-877.

- [4] Margenot A J, Sommer R, Mukalama J, Parikh S J. Biological P cycling is influenced by the form of P fertilizer in an oxisol. Biology and Fertility of Soils, 2017, 53(8): 899-909.
- [5] Picone L I, Zamuner E C, Berardo A, Marino M A. Phosphorus transformations as affected by sampling date, fertilizer rate and phosphorus uptake in a soil under pasture. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2003, 67(3): 225-232.
- [6] Chen H, Zhao X R, Chen X J, Lin Q M, Li G T. Seasonal changes of soil microbial C, N, P and associated nutrient dynamics in a semiarid grassland of north China. Applied Soil Ecology, 2018, 128: 89-97.
- [7] 朱晓亚,李子豪,赵小蓉,林启美,李贵桐.连续4年不同放牧强度内蒙古典型草原土壤微生物量碳、氮、磷含量差异.中国农业大学学报,2020,25(9):121-130.
- [8] Chen H, Lai L, Zhao X R, Li G T, Lin Q M. Soil microbial biomass carbon and phosphorus as affected by frequent drying-rewetting. Soil Research, 2016, 54(3): 321-327.
- [9] Boeddinghaus R S, Nunan N, Berner D, Marhan S, Kandeler E. Do general spatial relationships for microbial biomass and soil enzyme activities exist in temperate grassland soils?. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 88: 430-440.
- [10] Zhang B, Beck R, Pan Q M, Zhao M L, Hao X Y. Soil physical and chemical properties in response to long-term cattle grazing on sloped rough fescue grassland in the foothills of the Rocky Mountains, Alberta. Geoderma, 2019, 346: 75-83.
- [11] 胡艳宇, 乌云娜, 霍光伟, 宋彦涛, 王晓光, 张凤杰. 不同放牧强度下羊草草原群落斑块植被-土壤特征. 生态学杂志, 2018, 37: 9-16.
- [12] Alt F, Oelmann Y, Herold N, Schrumpf M, Wilcke W. Phosphorus partitioning in grassland and forest soils of germany as related to land-use type, management intensity, and land use-related pH. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2011, 174(2): 195-209.
- [13] Guo Y J, Du Q F, Li G D, Ni Y, Zhang Z, Ren W B, Hou X Y. Soil phosphorus fractions and arbuscular mycorrhizal fungi diversity following long-term grazing exclusion on semi-arid steppes in Inner Mongolia. Geoderma, 2016, 269: 79-90.
- [14] Sattari S Z, Bouwman A F, Rodríguez R M, Beusen A H W, Van Ittersum M K. Negative global phosphorus budgets challenge sustainable intensification of grasslands. Nature Communications, 2016, 7: 10696.
- [15] Giese M, Brueck H, Gao Y Z, Lin S, Steffens M, Kögel-Knabner I, Glindemann T, Susenbeth A, Taube F, Butterbach-Bahl K, Zheng X H, Hoffmann C, Bai Y F, Han X G. N balance and cycling of inner mongolia typical steppe: a comprehensive case study of grazing effects. Ecological Monographs, 2013, 83(2): 195-219.
- [16] Li W H, Xu F W, Zheng S X, Taube F, Bai Y F. Patterns and thresholds of grazing-induced changes in community structure and ecosystem functioning: species-level responses and the critical role of species traits. Journal of Applied Ecology, 2017, 54(3): 963-975.
- [17] Ren H Y, Gui W Y, Bai Y F, Stein C, Rodrigues J L M, Wilson G W T, Cobb A B, Zhang Y J, Yang G W. Long-term effects of grazing and topography on extra-radical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid grasslands. Mycorrhiza, 2018, 28(2): 117-127.
- [18] Fraser T, Lynch D H, Entz M H, Dunfield K E. Linking alkaline phosphatase activity with bacterial phoD gene abundance in soil from a long-term management trial. Geoderma, 2015, 257-258: 115-122.
- [19] Turner B L, Haygarth P M. Phosphatase activity in temperate pasture soils: potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity. Science of the Total Environment, 2005, 344(1/3): 27-36.
- [20] Olivera N L, Prieto L, Carrera A L, Cisneros H S, Bertiller M B. Do soil enzymes respond to long-term grazing in an arid ecosystem?. Plant and Soil, 2014, 378(1/2): 35-48.
- [21] Steinweg J M, Dukes J S, Paul E A, Wallenstein M D. Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 146.
- [22] Raiesi F, Salek-Gilani S. The potential activity of soil extracellular enzymes as an indicator for ecological restoration of rangeland soils after agricultural abandonment. Applied Soil Ecology, 2018, 126: 140-147.
- [23] Miguel D L, Da Silva E M R, Da Silva C F, Pereira M G, Leite L F C. Soil microbiological properties and enzyme activity in agroforestry systems compared with monoculture, natural regeneration, and native Caatinga. Bioscience Journal, 2020, 36(1): 1-16.
- [24] Pan C C, Liu C A, Zhao H L, Wang Y. Changes of soil physico-chemical properties and enzyme activities in relation to grassland salinization. European Journal of Soil Biology, 2013, 55: 13-19.
- [25] Bi Q F, Zheng B X, Lin X Y, Li K J, Liu X P, Hao X L, Zhang H, Zhang J B, Jaisi D P, Zhu Y G. The microbial cycling of phosphorus on long-term fertilized soil: insights from phosphate oxygen isotope ratios. Chemical Geology, 2018, 483: 56-64.
- [26] 刘秉儒, 牛宋芳, 张文文. 荒漠草原区土壤粒径组成对柠条根际土壤微生物数量及酶活性的影响. 生态学报, 2019, 39(24): 9171-9178.
- [27] Bennie J, Huntley B, Wiltshire A, Hill M O, Baxter R. Slope, aspect and climate: spatially explicit and implicit models of topographic microclimate in chalk grassland. Ecological Modelling, 2008, 216(1): 47-59.
- [28] Sigua G C, Coleman S W, Albano J, Williams M. Spatial distribution of soil phosphorus and herbage mass in beef cattle pastures: effects of slope

aspect and slope position. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2011, 89(1): 59-70.

- [29] Kölbl A, Steffens M, Wiesmeier M, Hoffmann C, Funk R, Krümmelbein J, Reszkowska A, Zhao Y, Peth S, Horn R, Giese M, Kögel-Knabner I. Grazing changes topography-controlled topsoil properties and their interaction on different spatial scales in a semi-arid grassland of inner mongolia, P.R. China. Plant and Soil, 2011, 340(1/2): 35-58.
- [30] Schnyder H, Locher F, Auerswald K. Nutrient redistribution by grazing cattle drives patterns of topsoil N and P stocks in a low-input pasture ecosystem. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2010, 88(2): 183-195.
- [31] Pan F J, Zhang W, Liang Y M, Liu S J, Wang K L. Increased associated effects of topography and litter and soil nutrients on soil enzyme activities and microbial biomass along vegetation successions in karst ecosystem, southwestern China. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(17): 16979-16990.
- [32] Zhong L, Li F Y, Wang Y F, Zhou X Q, Zhou S T, Gong X L, Bai Y F. Mowing and topography effects on microorganisms and nitrogen transformation processes responsible for nitrous oxide emissions in semi-arid grassland of inner mongolia. Journal of Soils and Sediments, 2018, 18 (3): 929-935.
- [33] 孙忠超,周玉蓉,赵亚楠,郭天斗,于露,王红梅.荒漠草原土壤微生物矿化对灌丛引入过程及水分的响应.生态学报,2021,41(4): 1537-1550.
- [34] Kluber L A, Carrino-Kyker S R, Coyle K P, DeForest J L, Hewins C R, Shaw A N, Smemo K A, Burke D J. Mycorrhizal response to experimental pH and P manipulation in acidic hardwood forests. PLoS One, 2012, 7(11): e48946.
- [35] Tong C, Wu J, Yong S, Yang J, Yong W. A landscape-scale assessment of steppe degradation in the Xilin River Basin, Inner Mongolia, China. Journal of Arid Environments, 2004, 59(1): 133-149.
- [36] Li W H, Zhan S X, Lan Z C, Wu X B, Bai Y F. Scale-dependent patterns and mechanisms of grazing-induced biodiversity loss: evidence from a field manipulation experiment in semiarid steppe. Landscape Ecology, 2015, 30(9): 1751-1765.
- [37] Hoffmann C, Funk R, Wieland R, Li Y, Sommer M. Effects of grazing and topography on dust flux and deposition in the Xilingele grassland, Inner Mongolia. Journal of Arid Environments, 2008, 72(5): 792-807.
- [38] Schönbach P, Wan H W, Gierus M, Bai Y F, Müller K, Lin L J, Susenbeth A, Taube F. Grassland responses to grazing: effects of grazing intensity and management system in an Inner Mongolian steppe ecosystem. Plant and Soil, 2011, 340(1/2): 103-115.
- [39] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [40] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19 (6): 703-707.
- [41] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(6): 837-842.
- [42] Brookes P C, Powlson D S, Jenkinson D S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. Soil Biology and Biochemistry, 1982, 14(4): 319-329.
- [43] Browman M G, Tabatabai M A. Phosphodiesterase activity of soils. Soil Science Society of America Journal, 1978, 42(2): 284-290.
- [44] Katsalirou E, Deng S P, Gerakis A, Nofziger D L. Long-term management effects on soil P, microbial biomass P, and phosphatase activities in prairie soils. European Journal of Soil Biology, 2016, 76: 61-69.
- [45] He M, Zhou G Y, Yuan T F, Van Groenigen K J, Shao J J, Zhou X H. Grazing intensity significantly changes the C: N: P stoichiometry in grassland ecosystems. Global Ecology and Biogeography, 2020, 29(2): 355-369.
- [46] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, Wang X, Zhang Y J, Li P F, Zhang X C. Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation in rhizosphere soil in the arid area of the northern Loess Plateau, China. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 116: 11-21.
- [47] Xu X F, Thornton P E, Post W M. A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. Global Ecology and Biogeography, 2013, 22(6): 737-749.
- [48] 宗宁,石培礼,蔣婧,熊定鹏,孟丰收,宋明华,张宪洲,沈振西.短期氮素添加和模拟放牧对青藏高原高寒草甸生态系统呼吸的影响. 生态学报,2013,33(19):6191-6201.
- [49] Sinsabaugh R L, Shah J J F. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43: 313-343.
- [50] Moore J A M, Sulman B N, Mayes M A, Patterson C M, Classen A T. Plant roots stimulate the decomposition of complex, but not simple, soil carbon. Functional Ecology, 2020, 34(4): 899-910.
- [51] Raiesi F, Beheshti A. Soil C turnover, microbial biomass and respiration, and enzymatic activities following rangeland conversion to wheat-alfalfa cropping in a semi-arid climate. Environmental Earth Sciences, 2014, 72(12): 5073-5088.
- [52] Wang J B, Chen Z H, Chen L J, Zhu A N, Wu Z J. Surface soil phosphorus and phosphatase activities affected by tillage and crop residue input

amounts. Plant Soil and Environment, 2011, 57(6): 251-257.

- [53] Bai Y F, Wu J G, Clark C M, Pan Q M, Zhang L X, Chen S P, Wang Q B, Han X G. Grazing alters ecosystem functioning and C:N:P stoichiometry of grasslands along a regional precipitation gradient. Journal of Applied Ecology, 2012, 49(6): 1204-1215.
- [54] Klumpp K, Fontaine S, Attard E, Le Roux X, Gleixner G, Soussana J F. Grazing triggers soil carbon loss by altering plant roots and their control on soil microbial community. Journal of Ecology, 2009, 97(5): 876-885.
- [55] Zhao F Z, Ren C J, Han X H, Yang G H, Wang J, Doughty R. Changes of soil microbial and enzyme activities are linked to soil C, N and P stoichiometry in afforested ecosystems. Forest Ecology and Management, 2018, 427; 289-295.
- [56] Yu R P, Zhang W P, Yu Y C, Yu S B, Lambers H, Li L. Linking shifts in species composition induced by grazing with root traits for phosphorus acquisition in a typical steppe in Inner Mongolia. Science of the Total Environment, 2020, 712: 136495.
- [57] Ma W J, Li J, Jimoh S O, Zhang Y J, Guo F H, Ding Y, Li X L, Hou X Y. Stoichiometric ratios support plant adaption to grazing moderated by soil nutrients and root enzymes. PeerJ, 2019, 7: e7047.
- [58] Sanaei A, Li M S, Ali A. Topography, grazing, and soil textures control over rangelands' vegetation quantity and quality. Science of the Total Environment, 2019, 697: 134153.
- [59] Zhao X, Wu P, Gao X, Persaud N. Soil quality indicators in relation to land use and topography in a small catchment on the loess plateau of China. Land Degradation & Development, 2015, 26(1): 54-61.
- [60] Steffens M, Kölbl A, Giese M, Hoffmann C, Totsche K U, Breuer L, Kögel-Knabner I. Spatial variability of topsoils and vegetation in a grazed steppe ecosystem in Inner Mongolia (PR China). Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2009, 172(1): 78-90.
- [61] Liu J, Qiu L P, Ao G, Zheng B Y, Wei X R, Zhang Y J, Gao H L, Cheng J M. Effect of clipping on aboveground biomass and nutrients varies with slope position but not with slope aspect in a hilly semiarid restored grassland. Ecological Engineering, 2019, 134: 47-55.
- [62] Krzic M, Lamagna S F, Newman R F, Bradfield G, Wallace B M. Long-term grazing effects on rough fescue grassland soils in southern british columbia. Canadian Journal of Soil Science, 2014, 94(3): 337-345.
- [63] Hoffmann C, Giese M, Dickhoefer U, Wan H W, Bai Y F, Steffens M, Liu C Y, Butterbach-Bahl K, Han X G. Effects of grazing and climate variability on grassland ecosystem functions in Inner Mongolia: synthesis of a 6-year grazing experiment. Journal of Arid Environments, 2016, 135: 50-63.
- [64] Peco B, Sánchez A M, Azcárate F M. Abandonment in grazing systems: consequences for vegetation and soil. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2006, 113(1/4): 284-294.
- [65] Stone M M, DeForest J L, Plante A F. Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 237-247.