DOI: 10.20103/j.stxb.202210062831

敖登,贺琬婷,冯程龙,陈圆佳,王宝荣,李会军,安韶山.青藏高原典型冰川小流域土壤微生物生物量及胞外酶活性分布特征.生态学报,2024,44 (4):1700-1716.

Ao D, He W T, Feng C L, Chen Y J, Wang B R, Li H J, An S S.Distribution characteristics of soil microbial biomass and extracellular enzyme activity in a typical glacial sub-basin on the Qinghai-Tibet Plateau. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(4):1700-1716.

青藏高原典型冰川小流域土壤微生物生物量及胞外酶 活性分布特征

敖 登1,贺琬婷2,冯程龙2,陈圆佳2,王宝荣3,李会军4,安韶山1,2,5,*

1 西北农林科技大学资源环境学院,杨凌 712100

2 西北农林科技大学水土保持研究所,杨凌 712100

3 西北农林科技大学草业与草原学院,杨凌 712100

4 中国科学院大学,北京 100049

5 西北农林科技大学黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室,杨凌 712100

摘要:土壤微生物释放的胞外酶是决定碳(C)、氮(N)、磷(P)生物地球化学循环的关键因素,为了阐明青藏高原典型小流域土 壤微生物生物量和胞外酶活性沿海拔和土层的分布特征并揭示影响该分布格局的主要养分限制状况,于 2021 年 8 月采集了青 藏高原廓琼岗日冰川小流域 5 个海拔梯度(4900 m; 5000 m; 5100 m; 5200 m; 5300 m)中4 个土壤发生层(A层:腐殖质层、E 层:淋溶层、B层:淀积层和C层:母质层)的土壤样品,定量分析了土壤基本理化性质、微生物生物量、胞外酶活性等指标。结果 表明:1)微生物生物量碳氮磷的海拔差异变化规律不同,随着土层加深微生物量物量碳氮磷随海拔变化越小。同时,各海拔之 间微生物生物量均有随土层加深而显著降低的趋势(P<0.05);2)四种酶活性的海拔间变化规律各异,但整体呈现随海拔升高 而升高的趋势且在表层(A和E层)增长趋势更明显,而且随土层加深显著降低(P<0.05);3)该区域土壤微生物受到碳和磷共 同限制,土层越深限制越高,而且海拔越高 C限制越强,但P限制降低;4)青藏高原典型冰川小流域土壤微生物生物量和胞外 酶活性在海拔和土层之间存在较明显的差异,可能是由于土壤养分含量的差别造成的。整体而言,青藏高原典型冰川小流域土 壤养分含量影响土壤微生物生物量和胞外酶活性在海拔和土层之间的分布特征。为深入理解青藏高原冰川小流域土壤养分循 环提供了数据基础和科学依据。

关键词:青藏高原;微生物生物量;胞外酶活性;微生物碳利用效率;养分限制;土壤养分

Distribution characteristics of soil microbial biomass and extracellular enzyme activity in a typical glacial sub-basin on the Qinghai-Tibet Plateau

AO Deng¹, HE Wanting², FENG Chenglong², CHEN Yuanjia², WANG Baorong³, LI Huijun⁴, AN Shaoshan^{1,2,5,*}

1 College of Nature Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

2 Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

3 College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

4 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

5 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

Abstract: Soil microorganisms and their extracellular enzymes are key determinants of the biogeochemical cycles of carbon

基金项目:中国科学院"西部之光"交叉团队项目-重点实验室合作研究专项(xbzg-zdsys-202009);第二次青藏高原综合科学考察研究 (2019QZKK0603)资助

收稿日期:2022-10-06; 网络出版日期:2023-11-27

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: shan@ms.iswc.ac.cn

http://www.ecologica.cn

(C), nitrogen (N), and phosphorus (P). The objective of this study is to characterize the distribution patterns of soil microbial biomass and soil extracellular enzyme activity along different elevations and soil horizons within a typical sub-basin on the Tibetan Plateau. Additionally, this paper aims to identify the major nutrient-limited conditions that affect these distribution patterns. In this study, soil samples were collected in August 2021 from four layers of soil occurrence (layer A: humus layer, layer E: leached layer, layer B: sediment layer, and layer C: parent material layer) at five different elevations (4900 m, 5000 m, 5100 m, 5200 m, and 5300 m) in the Gokyo Gangri glacier sub-basin on the Tibetan Plateau. The soil samples were analyzed to determine their basic physical and chemical properties, soil microbial biomass, soil extracellular enzyme activity, and microbial carbon use efficiency. The results showed that: 1) the elevation differences of carbon, nitrogen and phosphorus of microbial biomass varied, with the deepening of soil layer, the carbon, nitrogen and phosphorus of microbial biomass changed less with elevation. At the same time, the microbial biomass tended to decrease significantly (P < 0.05) with the deepening of the soil layer between each elevation. 2) The elevation variation pattern of the four enzyme activities varied, but the overall trend of increasing with elevation was more obvious in the surface layers (A and E) and decreased significantly (P < 0.05) with the deepening of the soil layer. 3) The soil microorganisms in this area were limited by both carbon and phosphorus. The deeper the soil layer, the higher the limitation, and the higher the elevation, the stronger the C limitation, but the lower the P limitation. 4) Changes in soil vertical profile had a significant effect on changes in microbial Carbon use efficiency (CUE) (P<0.01). There were pronounced disparities in soil microbial biomass and extracellular enzyme activity observed among various altitudes and soil layers within a typical glaciated subbasin on the Tibetan Plateau. These disparities are likely attributed to variations in soil nutrient composition and pH levels, which significantly influence the stoichiometry of extracellular enzymes. Overall, the soil nutrient content of typical glacial sub-basins on the Tibetan Plateau influenced the distribution characteristics of soil microbial biomass and extracellular enzyme activity between altitudes and soil horizons. The study provides a data base and scientific basis for an in-depth understanding of soil nutrient cycling in glacial sub-basins on the Tibetan Plateau.

Key Words: Tibetan Plateau; microbial biomass; extracellular enzyme activity; microbial carbon use efficiency; nutrient limitation; soil nutrients

青藏高原作为全球"第三极",其对气候变化响应敏感。同时由于蕴藏的土壤碳规模巨大,气候的轻微变 化都会对该区域土壤碳循环格局造成影响。因此,研究该区域碳循环过程对理解并调节全球气候变化—碳循 环反馈过程具有重要意义^[1]。全球气候变暖会影响青藏高原的碳循环,因此在青藏高原明晰土壤有机碳循 环过程的影响十分重要^[2]。冰川流域海拔梯度差异大,土壤特性不同,不同的土壤环境会影响微生物活性以 及微生物群落组成,进而会影响土壤有机碳的循环过程^[3]。最新研究指出微生物功能发生变化,会通过削弱 其碳汇和养分循环动态而不可逆转地改变生态系统功能^[4]。微生物驱动的土壤碳转化在全球有机碳和养分 循环中扮演着重要角色^[5],土壤微生物介导物质循环过程^[6]。土壤微生物可以将复杂的有机质转化为简单 基质,调节土壤碳氮磷比例,再利用反馈作用对微生物自身进行调节^[7]。土壤胞外酶是由土壤微生物及植物 根系分泌到土壤中的一种发挥催化作用的特殊蛋白质,微生物通过释放胞外酶矿化有机化合物是其获得养分 的一个重要机制,可以达到维持微生物 C:N:P 稳态以及克服养分限制的目的^[8—9]。土壤胞外酶介导的 SOM 分解过程,是调控全球碳养循环的关键步骤,胞外酶活性是土壤微生物生命过程的主要调节剂^[10—11]。

土壤胞外酶的种类繁多,功能各异,不同的胞外酶可以催化不同的反应阶段,也可以协同合作,维持生态 系统养分平衡^[12]。本研究选择碳获取酶(β-葡萄糖苷酶,BG)、氮获取酶(β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶,NAG;亮 氨酸氨基肽酶,LAP)和磷获取酶(酸性磷酸酶,AP),这些参与末端催化反应的胞外酶,因其可以反映土壤碳 氮磷代谢水平而被广泛研究。首先1)BG 相较于其他 C 获取酶拥有将纤维二糖水解为葡萄糖的专一功能;其 次2)N 获取酶中的 NAG 虽然可以参与 C 和 N 的水解,但是几丁质是土壤中有机氮的主要储存库,而其在降 解几丁质中发挥着重要作用,同时几丁质已被证明是几丁质酶活性的诱导剂;然后 3) LAP 从多肽的 N 端水解 亮氨酸和其他疏水性氨基酸,相较于其他氨肽酶其更具水解蛋白质的专一性;最后 4) AP 水解磷酸单酯,在一 些情况下磷酸二酯水解为磷酸盐。同时土壤胞外酶化学计量理论可以反映微生物生物量化学计量和土壤有 机质组成元素之间的平衡^[8,13-14],并且已被广泛用于探索地球生物化学的系统养分循环^[15-18],表征土壤的能 量及养分限制^[19]。Sinsabaugh 等人^[20]首次提出,对数转换的碳、氮、磷获取酶的比率,在全球尺度上趋于 1:1:1。海拔试验已广泛用于检验土壤微生物对气候变化的响应^[21-22],进而也得到了不同的试验结果,随着 海拔梯度的升高,微生物多样性、微生物生物量以及酶活性等都表现出不一致的变化规律(例如单调递减、驼 峰或无变化)^[23-24]。这种现象主要是环境条件会随海拔变化,对微生物产生复杂影响造成的^[25]。对于不同 海拔梯度上土壤发生层之间的微生物生物量和胞外酶活性变化规律的研究尚不清楚。本研究采集了 8 月的 5 个海拔梯度以及 4 个土壤发生层的土壤样品,通过分析土壤基本理化性质、微生物生物量、胞外酶活性等指 标,拟解决以下科学问题:1) 明晰青藏高原典型小流域微生物生物量和胞外酶活性沿海拔和土层的分布格 局;2)揭示海拔梯度和土层间微生物代谢养分限制的变化;3) 阐明微生物特性变化的驱动因素。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

拉萨河廓琼岗日冰川小流域位于西藏自治区拉萨西部(N 29°53′8″, E 90°12′8″),海拔介于 4895— 6144 m,流域控制面积约为 27.4 km²。流域上游高山分布冰川,夏季温度升高,冰川末端融冰、融雪后形成径 流,中下游沟谷区分布草地,流域出口处形成小型冲积扇(图 1)。温度季节性显著,降水主要受东南季风控 制,季节分配极不均匀,分明显的雨季和旱季。研究区的植被类型主要以高寒草甸为主^[26],年均温 0 ℃以下, 年降水量为 400—700 mm 左右^[27]。



图1 采样点地理位置示意图、采样点流域分布示意图和采样点植被覆盖类型图



1.2 样品采集

在研究区内,于 2021 年 8 月选取阳坡的高寒草甸土壤,从流域出口到冰川末端按 100 m 的高程差共设置 5 个海拔梯度(4900 m; 5000 m; 5100 m; 5200 m; 5300 m),在每个海拔梯度上按照上、中、下三个坡位设置重

复,各样地重复间隔 30 m 左右(图 2),每个样地按照随机采样法均匀设置取样点。本研究的采样分层依据土 壤发生层理论,并按照颜色、质地、结构、松紧程度和新生体等特点,由表层到深层分为 4 层—A 层:腐殖质层 (土层中混有有机物质,呈现深褐色,土层厚度约为 10 cm);E 层:淋溶层(石英等抗风化物质富集的发生层, 土层厚度约为 15 cm);B 层:淀积层(具块状或粒状结构,土层厚度约为 15 cm);C 层:母质层(矿物质富集, 土层厚度约为 10 cm)(图 2)。由于土壤的发育程度并不相同,所以各样地会根据实际采样量选择多个(8— 12 个)样点进行取样,以满足实验用土量。多个取样点土壤样品的 4 个分层各自合成 4 份混合土样,装于自 封袋,迅速冷藏运回实验室进行处理。在室内过 2 mm 筛后,将样品去除可见的石块、根系以及动植物残体 等,再把土样分为干、鲜样两份,分别用于测定土壤基本理化性质和微生物指标。

1.3 土壤理化性质测定

土壤含水量(SWC)采用烘干法测定;土壤pH 按水土比为 2.5:1 使用 pH 计测定;土壤有机碳(SOC)、土壤 总碳(TC)、土壤总氮(TN)使用常用分析方法测定^[28];全磷(TP)采用 HClO₄-H₂SO₄-钼锑抗比色法,用分光光 度计测定^[28]。其中可溶性碳和氮以及磷(DOC、DN 和 DP)含量由微生物生物量测定时的未熏蒸样品计算 得出^[29-30]。

1.4 土壤微生物生物量测定

微生物生物量碳、氮(MBC、MBN)采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法,微生物生物量碳使用总有机碳分析仪测定,微生物生物量氮使用分光光度计测定^[31]。土壤微生物生物量磷(MBP)使用氯仿熏蒸-NaHCO₃浸提法,使用分光光度计测定^[32]。

1.5 土壤酶活性测定

土壤酶活性参照 Saiya-Cork 等的方法提取和培养^[16],由于两种标准物 4-甲基伞形酮(4-Methylumbelliferone, MUB)或7-氨基-4-甲基香豆素(7-Amino-4-methylcoumarin, MUC)在365 nm 波长处激发, 能在460 nm 处检测到荧光^[33],本研究采用微孔板荧光法测定酶活性,通过检测荧光量来表征酶活性,原理是标准物与酶代谢的产物结合后,荧光特性会消失,而水解酶作用后又会将其释放出来。选取与碳、氮、磷循环相关的土壤水解酶,包括 BG、NAG、LAP 和 AP 4 种酶,土壤酶的种类、类型、所用底物及功能见表 1。测定方法如下:称取于-4℃解冻保存的1g新鲜土样于容器中,并加入125 mL 蒸馏水,置于摇床震荡2h(25℃,180转),制备成土壤悬浊液。用移液枪吸取1 mL 悬浊液和250 μL 底物(浓度为200 μmol/L)、标准物(标准物 MUB 浓度为 10 μmol/L;标准物 MUC 浓度为 100 μmol/L)或蒸馏水于2 mL 离心管中,充分摇匀后放入25 ℃ 恒温培养箱中培养4h,之后再加入50 μL NaOH 溶液(浓度为 0.5 mol/L)终止反应,最后用移液枪分别转入微孔板当中,利用多功能酶标仪(瑞士 Tecan Infinite M200 PRO 型)进行检测。最后通过土壤干重和反应时间来计算土壤酶的活性,以 nmol g⁻¹h⁻¹为单位来表示^[34-35]。

土壤酶活性计算公式如下(1)、(2)、(3)和(4):

$$A_b = FV/(e V_1 tm) \tag{1}$$

$$F = (f - f_b) / (q - f_s)$$
⁽²⁾

$$e = f_r / (C_s V_2) \tag{3}$$

$$q = (f_q - f_b) / f_r \tag{4}$$

式中,*A*_b为每小时每克土壤样品的胞外酶活性(nmol g⁻¹ h⁻¹);*F* 为校正后的样品荧光值;*V* 为土壤悬浊液的总体积;*V*₁为微孔板每孔中加入的土壤悬浊液的体积;*t* 为暗培养时间;*m* 为干土样的质量;*f* 为多功能酶标仪读取土壤样品微孔的荧光值;*f*_b为空白微孔的荧光值;*q* 为淬火系数;*f*_s为阴性对照微孔的荧光值;*f*,为参考标准微孔的茨光值;*y*2为加入参考标准物的体积;*f*_a为淬火标准微孔的荧光值。



图 2 采样点高程图、采样设计示意图和土层剖面图 Fig.2 Point elevation diagram, design diagram of sampling and soil profile

1.6 数据处理

根据 Moorhead 等人^[36]的方法计算胞外酶化学计量向量特征(包括向量长度和向量角度),来反应微生物的营养限制:向量长度的值越高代表着微生物碳限制;而向量角度低于 45°表示微生物氮限制,反之微生物磷限制占主导地位^[37]。土壤胞外酶活性的化学计量比用于探索土壤中潜在的 C、N 和 P 限制。以 1.0 作为沿酶活性比轴的水平和垂直基线(x 轴, NAG+LAP/AP; y 轴, LAP),四组微生物养分限制(N 限制、P 限制、C 和 N

共同限制以及 C 和 P 共同限制)进行了分类^[37-38]。计算公式如下(5)和(6):

向量长度=
$$\sqrt{(\ln(BG)/\ln(NAG+LAP))^2+(\ln(BG)/\ln(AP))^2}$$
 (5)

向量角度=DEGREES{ATAN2[(
$$\ln(BG)/\ln(AP)$$
),($\ln(BG)/\ln(NAG+LAP$)]} (6)

表1 土壤胞外酶名称、缩写及其功能

Table 1 Full name, abbreviations and functions of soil extracellular enzyme							
	类型	底物	功能				
Enzyme	Type	Substrate	Function				
β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase (BG)	C 获取酶	4-甲基伞形酮-β-D-葡萄糖苷	分解易降解碳、分解纤维素释放葡 萄糖				
酸性磷酸酶 Acid phosphatase (AP)	P 获取酶	4-甲基伞形酮酰-磷酸	水解磷酸多糖和磷脂中释放磷酸盐				
β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-1,4-N-acetylglucosaminidase (NAG)	C/N 获取酶	4-甲基伞形酮-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-葡萄 糖苷	参与几丁质水解,分解氮、分解甲 壳素释放 N-乙酰氨基葡萄糖				
亮氨酸氨基肽酶 L-leucine aminopeptidase(LAP)	N获取酶	L-亮氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素	水解蛋白质释放亮氨酸				

微生物碳利用效率(CUE)用来评估生态系统中微生物将有机碳转化为自身生物量的效率,指的是微生物用于生长同化的有机碳底物量与分解异化呼吸过程对底物碳利用量的比值^[39-40]。其大小反映的是生态系统中同化和固持的能力。CUE 越大表明微生物同化利用率越高,呼吸代谢消耗的碳越少。因此,确定 CUE 与养分限制之间的关系至关重要,这将揭示微生物对外界环境变化的响应并了解土壤碳库的动态^[41]。应用生物地球化学平衡模型计算微生物碳利用效率^[41-42],并利用 Persson 等人^[43]提出的公式计算了微生物化学计量稳态强度。EEA_{CN}由 BG/(NAG+LAP)计算得到;EEA_{CP}由 BG/AP 计算得到。使用不稳定底物的摩尔 C:X 比作为 L_{CN}和 L_{CP}的估计值。在氯仿熏蒸分析当中,以未熏蒸的对照样品中提取的 DOC、DN 和 DP 的测量值 来测定碳氮磷的不稳定底物可用性。微生物生物量碳:微生物生物量氮和微生物生物量碳:微生物生物量磷 (B_{CN} 和 B_{CP})也按照摩尔比计算,具体公式如下(7)、(8)和(9):

$$CUE = CUE_{max} \times \{ (S_{C:N} \times S_{C:P}) / [(K_{C:N} + S_{C:N}) \times (K_{C:P} + S_{C:P})] \}^{0.5}$$

$$(7)$$

$$S_{C:N} = B_{C:N} / L_{C:N} \times 1 / EEA_{C:N}$$
(8)

$$S_{\rm C:P} = B_{\rm C:P} / L_{\rm C:P} \times 1 / \rm EEA_{\rm C:P}$$
⁽⁹⁾

式中,*K*_{CN}和*K*_{CP}是基于 C、N 和 P 可用性的 CUE 的半饱和常数。该模型假设,当可同化养分供应的比率与微 生物生物量化学计量相匹配并且生长效率与 N 和 P 供应相对于 C 的几何平均值成比例时,生长速率最大。 *K*_{CN}和 *K*_{CP}取值 0.5,并且 CUE_{max}取值 0.6^[42]。

为了便于数据分析,使酶活性及化学计量数据服从正态分布,统一进行了数据的对数转化。使用 IBM SPSS Statistics 21(SPSS, Chicago, Illinois USA)软件进行单因素 ANOVA 检验分析,然后进行事后 LSD 测试 (α=0.05),以测试土壤化学性质、微生物生物量、胞外酶活性等在不同海拔梯度和不同土层当中的显著差异。 使用 Origin 2021 的 Pearson 相关性评估土壤胞外酶活性及其化学计量与单一环境因素的关系。

2 结果

2.1 土壤理化性质

研究区的土壤特性见表 2。土壤为弱酸性,pH 值为 5.90—6.58。含水率、SOC、TC、TN、TP 以及可溶性碳 氮磷均随土层加深显著降低(P<0.05)。TN 在 B 和 C 层间无海拔差异,A 和 E 层在海拔 5000 m 和 5300 m 时 分别出现最低值和最高值;SOC、TC、碳氮磷之比均在 A 和 C 层无海拔差异,其他土层在 5300 m 处出现最高 值(P<0.05)。DOC 的 A 和 E 层在不同海拔之间有波动;DN 在 A 和 E 层会沿海拔升高而增加(P<0.05);而 DP 的各个土层在不同海拔之间都存在波动。

海拔 Altitude ∕m	土层 Soli layer	Ηd	土壤有机碳 Soil organic carbon /(g/kg)	总氯 Total nitrogen/ (g/kg)	.00鍒 Total phosphorus/ (g/kg)	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon /(g/kg)	可溶性氮 Dissolved nitrogen/ (g/kg)	可浴性磷 Dissolved phosphorus/ (g/kg)
4900	Α	$5.97 \pm 0.20 Aa$	58.52±18.96Aa	5.47±0.63ABa	0.72±0.07Aa	281.96±14.82Aba	68.02±6.25Ba	$23.08 \pm 9.41 Ba$
	Е	5.99±0.23Aa	$28.03 \pm 3.01 Bb$	$3.35\pm0.32ABb$	$0.75 \pm 0.07 Aa$	217.20±1.18Aab	50.50 ± 2.25 Bb	$20.11 \pm 3.31 \text{Aab}$
	В	6.25±0.22Aa	$14.51 \pm 1.19Bb$	$2.15\pm0.25Ac$	0.65±0.13Aa	127.54±8.2Ab	$25.40\pm 2.56 Ac$	$6.74 \pm 1.28 Bb$
	C	6.35±0.23Aa	$7.08\pm1.85\mathrm{Ab}$	$1.10\pm0.22 \mathrm{Ad}$	$0.42\pm0.07\mathrm{Ab}$	$98.71 \pm 26.56 \text{Ab}$	$12.99\pm4.26\mathrm{Ad}$	$8.18\pm1.72Bab$
5000	А	$6.28 \pm 0.23 Aa$	48.51±8.51Aa	4.74 ± 0.71 Ba	$0.62\pm0.08Aa$	$129.03 \pm 9.91 Ba$	154.85±22.20Aa	$47.22\pm3.50\mathrm{ABa}$
	E	$6.27 \pm 0.24 \text{Aa}$	$24.9\pm1.87Bb$	$2.78\pm0.35Bb$	$0.57\pm0.05Bab$	131.63±62.46Ba	53.67 ± 12.12 Abb	$20.99 \pm 1.72 \text{Ab}$
	В	6.53±0.26Aa	$14.23 \pm 1.88 Bc$	$2.04\pm0.25\mathrm{Ab}$	$0.47\pm0.05\mathrm{Ab}$	137.11±22.48Aa	$47.45{\pm}0.53\mathrm{Abc}$	$18.08 \pm 1.85 \mathrm{Ab}$
	С	6.58±0.26Aa	$6.81{\pm}1.10\mathrm{Ac}$	$1.02\pm0.16Ac$	$0.30\pm0.04\mathrm{Ac}$	53.39±0.14Aa	$10.71 \pm 3.08 \mathrm{Ac}$	$19.06 \pm 4.81 \mathrm{Ab}$
5100	А	5.98±0.28Aa	59.24±7.10Aa	5.73±0.99ABa	$0.64\pm0.06Aa$	465.27±79ABa	167.96±28.15Aa	$50.33 \pm 7.70 \mathrm{ABa}$
	Е	6.04 ± 0.28 Aa	$28.17\pm6.98Bb$	$3.30\pm0.72ABb$	$0.55\pm0.12Ba$	245.95±37.39ABa	$64.11 \pm 3.90 Bb$	$21.57 \pm 5.60 \text{Ab}$
	в	6.34±0.29Aa	$14.55\pm4.41\mathrm{Bc}$	$2.04{\pm}0.64\mathrm{Abc}$	0.45±0.12Aa	175.44±17.47Aa	$37.18\pm 2.42 \text{Ab}$	$15.4\pm 2.26 \text{Ab}$
	C	6.45±0.29Aa	$9.01 \pm 3.49 \mathrm{Ac}$	$1.32\pm0.49\mathrm{Ac}$	0.40 ± 0.11 Aa	123.94±5.21Aa	$21.52 \pm 3.45 \text{Ab}$	$12.47 \pm 1.65 \text{Ab}$
5200	А	5.95±0.17Aa	56.31±3.48Aa	$5.46\pm0.26\mathrm{ABa}$	0.68 ± 0.01 Aa	$347.89 \pm 13.93 \text{ABa}$	142.63±25.77Aa	$14.28\pm0.33\mathrm{Ba}$
	Е	5.90±0.12Aa	$30.33 \pm 1.50 \text{Ab}$	$3.35\pm0.21ABb$	$0.71\pm0.06ABa$	$214.82\pm7.95ABb$	$76.03 \pm 5.69 \text{Ab}$	$9.70\pm0.21\mathrm{Aa}$
	в	$6.17 \pm 0.21 \text{Aa}$	$16.7\pm0.61 \mathrm{Bc}$	$2.38\pm0.07\mathrm{Ac}$	$0.58\pm0.03\mathrm{Aab}$	$155.27 \pm 7.47 \text{Ab}$	$35.25\pm3.65Ac$	$7.04\pm0.62\mathrm{ABa}$
	С	$6.25 \pm 0.25 \text{Aa}$	$7.55 \pm 1.20 \text{Ad}$	$1.10\pm0.15\mathrm{Ad}$	$0.40\pm0.03{ m Ac}$	$103.42 \pm 10.96 Ac$	$8.83 \pm 1.98 {\rm Ac}$	$10.06\pm0.76\mathrm{ABa}$
5300	Ч	6.10±0.15Aa	64.69±7.50Aa	6.60±0.65Aa	$0.67\pm0.03Aa$	415.71±70.36Aa	$147.91 \pm 13.60 \text{Aa}$	$55.54 \pm 3.96 \text{Aa}$
	E	5.93±0.11Aa	$39.35 \pm 5.01 \text{Ab}$	4.29 ± 0.44 Ab	$0.68\pm0.04\mathrm{ABa}$	291.16±10.82Aa	$76.89\pm5.23\mathrm{Ab}$	$21.49 \pm 7.38 Aa$
	в	5.99±0.10Aa	24.55 ± 2.94 Ac	$2.97\pm0.53\mathrm{Ac}$	$0.57 \pm 0.06 Aa$	217.73 ± 34.24 Ab	$45.20{\pm}5.58\mathrm{Abc}$	$18.23 \pm 3.64 \mathrm{Aa}$
	С	6.21 ± 0.18 Aa	7.27±3.34Ad	$1.16\pm0.55 \mathrm{Ad}$	$0.33\pm0.10Ab$	$84.61 \pm 15.53 \text{Ab}$	$15.04 \pm 1.69 \mathrm{Ac}$	13.42±3.12Aa
A:腐殖质层	;E:淋溶层;B:淀	积层;C:母质层;(土壤,	发生层国际代号);不同.	大写字母表示同一土质	灵不同海拔差异显著, 不li	司小写字母表示同一海抄	发不同土层间差异显著(」	P<0.05)

表 2 土壤理化性质 Table 2 Soil physiochemical properties

http://www.ecologica.cn

2.2 土壤微生物生物量及其化学计量比在海拔梯度和垂直剖面上的分布特征

不同微生物生物量的海拔差异变化规律不同。但是微生物生物量碳氮磷的 A 和 E 层在海拔 4900 m 到 5000 m 间显著降低(P<0.05)(图 3)。随着土层加深微生物生物量碳氮磷随海拔变化波动越小。同时,各海拔之间微生物生物量均有随土层加深而显著降低的趋势(P<0.05)(图 3)。微生物生物量化学计量比,随海拔梯度变化整体均无显著变化,同时如表 3 所示,随土层加深,也均无显著变化(P<0.05)。





2.3 土壤胞外酶活性及其化学计量比在海拔梯度和垂直剖面上的分布特征

研究区内的 BG、NAG、LAP 和 AP 四种酶活性均在土层间有显著变化规律,随土层加深显著降低(P<0.05)(图 4)。四种酶活性的海拔间变化规律各异。BG 活性在四个土层当中均随海拔有升高的趋势(P<0.05);NAG 活性在 A 和 B 层随海拔升高(P<0.05),而在 E 和 C 层当中海拔间无显著差异;同时,LAP 活性除在 E 层有海拔间波动以外,在其他土层当中均无显著差异;AP 活性在各个土层当中,随海拔升高都没有显著性的变化规律。

碳氮磷获取酶之间的化学计量比在研究区内有显著变化规律。C 获取酶/N 获取酶活性(BG/(NAG+LAP)),在 B 和 C 层随海拔升高显著增高(P<0.05);在 5300 m 处随土层加深显著增高(P<0.05)(表 3)。C 获取酶/P 获取酶活性(BG/AP),在 A 层的最低值出现在 5200 m 处,其他土层中的碳磷获取酶活性化学计量比均随海拔升高显著增高(P<0.05);在 4900 m 和 5200 m 处随土层加深显著降低(P<0.05)(表 3)。C 获取酶/N 获取酶活性((NAG+LAP)/AP)在 5200 m 和 5300 m 处随土层加深显著降低(P<0.05)(表 3)。C 获取 m M A 回归结果表明,C:N:P 获取酶活性显著偏离 1:1:1。除碳氮获取酶活性化学计量比在 E 层 1:1 有显著差异(水)。

2.4 海拔梯度和土壤垂直剖面的养分限制特征

向量长度在 B 和 C 层随海拔升高显著升高(P<0.05),相比于 A 和 E 层土壤微生物碳限制在 B 和 C 层当 中随海拔升高而显著升高的趋势更剧烈;4900 m 处的向量长度在土壤垂直剖面间随土层加深显著降低(P< 0.05),而 5300 m 处则相反,表明碳限制在土壤垂直剖面中的变化在 4900 m 和 5300 m 处更加显著,而且 4900 m 处的碳限制随土层加深显著降低,而 5300 m 处相反(图 5)。该研究区的向量角度均大于 45°,均处于微生 物 P 限制状态。向量角度的土层间差异也只出现在 5200 m 和 5300 m 处,土壤 P 限制在 5200 m 和 5300 m 处 沿土层加深显著增大(图 5)。





Fig.4 Variations in soil extracellular enzyme activities in different elevation and different soil layers

BG:β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase; NAG: β-N-乙 酰氨基葡萄糖苷酶 β-1, 4-N-acetylglucosaminidase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 L-leucine aminopeptidase; AP:酸性磷酸酶 Acid phosphatase

	Table 3Variation characteristics of soil microbial biomass (mean±SD)							
海拔 Altitude /m	土层 Soli layer	微生物 生物量碳:氮 MBC:MBN	微生物 生物量碳:磷 MBC:MBP	微生物 生物量氮:磷 MBN :MBP	C 获取酶/ N 获取酶活性 BG/(NAG+LAP)	C 获取酶/ P 获取酶活性 BG/AP	C 获取酶/ N 获取酶活性 (NAG+LAP)/AP	
4900	А	6.30±0.4Aa	35.00±0.86Aa	5.58±0.48Aa	1.38±0.07Aa	0.66±0.09BCa	0.48±0.06Aa	
	Е	5.26±1.01Aa	50.86±13.30Aa	9.59±1.05Aa	1.15±0.42Aa	$0.48 \pm 0.16 Bab$	0.43±0.03Aa	
	В	5.42±1.25Aa	84.11±52.75Aa	16.81±12.30ABa	1.10±0.44Ba	$0.34 \pm 0.08 \mathrm{Cbc}$	0.34±0.08Aa	
	С	7.16±4.55Aa	105.98±104.44Aa	19.98±21.03Aa	0.73±0.30Ca	$0.21 \pm 0.05 $ Cc	0.39±0.26Aa	
5000	А	5.81±0.66Aa	37.61±9.39Aa	6.40±1.15Aa	1.28±0.43Aa	$0.68 \pm 0.01 \mathrm{Bab}$	0.59±0.16Aa	
	Е	4.21±1.12Aab	$76.26{\pm}35.94{\rm Aab}$	19.85±12.38Aa	1.32±0.25Aa	0.63±0.07ABa	0.49±0.10Aa	
	В	$2.64{\pm}0.93{\rm Ab}$	$29.55{\pm}6.10\mathrm{Ab}$	14.56±0.81Aa	1.18±0.13Ba	0.50±0.09BCa	0.43±0.10Aa	
	С	$2.11 \pm 0.95 \mathrm{Ab}$	$24.25{\pm}5.09{\rm Ab}$	22.67±15.36Aa	1.35±0.22Ba	0.53±0.15Ba	0.42±0.18Aa	
5100	А	6.45±3.17Aa	128.75±140.80Aa	21.68±22.64Aa	1.62±0.80Aa	0.53±0.05Ca	0.48±0.31Aa	
	Е	3.64±1.91Aa	100.22±86.72Aa	31.28±16.93Aa	1.28±0.60Aa	0.54±0.22ABa	0.45±0.06Aa	
	В	3.33±1.75Aa	4.54±2.98Aa	1.26±0.22Ba	1.35±0.40Ba	0.54±0.07BCa	0.44±0.16Aa	
	С	3.25±2.61Aa	33.23±39.52Aa	6.84±4.58Aa	1.77±0.12ABa	0.73±0.06Aa	0.41±0.05Aa	
5200	А	6.05±0.44Aa	73.01±17.78Aa	12.12±2.91Aab	1.28±0.05Aa	0.84±0.06Aa	0.66±0.05Aa	
	Е	6.25±1.80Aa	81.41±20.25Aa	13.35±1.52Aab	1.39±0.26Aa	0.72±0.12ABab	$0.52 \pm 0.06 \mathrm{Ab}$	
	В	5.40±1.34Aab	72.21±6.24Aab	14.63±5.24ABa	1.60±0.35ABa	$0.62 \pm 0.10 \text{ABb}$	$0.39 \pm 0.02 \mathrm{Ac}$	
	С	$2.70{\pm}0.83{\rm Ab}$	15.89±6.36Aa	$5.96{\pm}1.51{\rm Ab}$	1.63±0.11ABa	$0.70 \pm 0.05 \mathrm{Aab}$	$0.43 \pm 0.06 \mathrm{Abc}$	
5300	А	14.09±8.63Aa	44.34±17.32Aa	4.79±3.11Aa	$1.50\pm0.15\mathrm{Ab}$	0.92±0.06Aa	0.62±0.06Aa	
	Е	6.37±0.17Aa	54.40±17.91Aa	8.48±2.66Aa	1.74±0.21Aab	0.83±0.10Aa	$0.48 \pm 0.04 \mathrm{Ab}$	
	В	5.46±1.27Aa	44.85±23.86Aa	7.78±2.52ABa	2.13±0.20Aa	0.79±0.17Aa	$0.37{\pm}0.04\rm{Abc}$	
	С	6.95±4.62Aa	31.94±30.26Aa	7.00 ± 4.84 Aa	2.00±0.11Aa	0.81±0.03Aa	$0.41{\pm}0.03\mathrm{Ab}$	

表 3	土壤微生物生物量变化特征 (平均值±标准差)

Table 4 Stalida	u major axis regi	resions between the natural logarithm of son extracembal enzyme activities				
化学计量比 Ecological stoichiometric ratio	土层 Layer	公式 Formulas	置信区间 Confidence interval	R^2		
BG~(NAG+LAP)	Α	y = 1.042x + 0.1008	0.93—1.169	0.397 ***		
	Е	y = 1.501x - 2.2522	1.377—1.636	0.66 ***		
	В	y = 1.897x - 3.4233	1.713-2.102	0.52 ***		
	С	y = 1.232x - 0.4402	1.109—1.37	0.491 ***		
	总	y = 1.09x - 0.115	1.058—1.123	0.834 ***		
BG~AP	Α	y = 1.185x - 1.493	1.097—1.279	0.729 ***		
	Е	y = 1.49x - 3.277	1.391—1.596	0.782 ***		
	В	y = 1.365x - 2.516	1.263—1.477	0.721 ***		
	С	y = 1.561x - 2.962	1.397—1.744	0.439 ***		
	总	y = 1.227x - 1.738	1.196—1.259	0.877 ***		
$(NAG+LAP) \sim AP$	А	y = 1.1363x - 1.5292	1.0067—1.2827	0.326 ***		
	Е	y = 0.9925x - 0.6828	0.9128-1.0793	0.678 ***		
	В	y = 0.7196x + 0.4792	0.6555-0.7901	0.603 ***		
	С	y = 1.2663x - 2.0466	1.1377—1.4093	0.477 ***		
	总	y = 1.1251x - 1.4874	1.0946—1.1564	0.86 ***		

表 4 土壤胞外酶活性自然对数之间的标准主轴化回归分析 Fable 4 Standard major axis regressions between the natural logarithm of soil extracellular enzyme activi

符号"*"和"***"分别表示 P<0.05 和 P<0.001

如图 5,所有数据点均在 1:1 线,表明该研究区土壤中存在强烈的 P 限制,而且是 C 和 P 共同限制(图 5)。 这种碳磷共同的限制的情况,土层越深限制越高,而且海拔越高 C 限制越强,但 P 限制降低(图 5)。

土壤垂直剖面变化对于微生物 CUE 的变化有显著影响(P<0.01),海拔以及土层和海拔的交互作用对于 CUE 无显著影响(图 6),造成这种现象的原因可能是降水、光照、土壤养分以及生物因子等的共同作用^[39]。 为了测试微生物中化学计量稳态的强度,分析了微生物生物量的元素比率与土壤养分比率之间的关系。分析 数据过程中未发现 MBC:MBP 与土壤 C:P 之间以及 MBN:MBP 与土壤 N:P 之间存在显著相关性(P<0.05), 这表明该研究区的 MBC:MBP 和 MBN:MBP 的化学计量是稳态的,然而,MBC:MBN 与土壤 C:N 之间存在显 著正相关(P<0.001),这表明该研究区 MBC:MBN 的化学计量是非稳态的(图 7)。

2.5 酶活性和化学计量比与生物和非生物因素的关系

以土壤胞外酶活性为因变量,以非生物因素(pH、含水率、DOC、DN和 DP含量)和生物因素(土壤微生物 生物量 C、N和 P含量)为自变量进行相关性分析。生物因素与四种胞外酶呈显著正相关(P<0.05);而非生 物因素中除 pH和 DOC:DN与四种胞外酶呈负相关,其他均呈正相关。胞外酶活性和微生物生物量化学计量 与土壤环境因子之间相关性分析结果显示:MBC:MBN和 pH呈显著负相关(P<0.05),与含水率、土壤碳氮磷 以及土壤碳氮磷之比呈显著正相关(P<0.05,P<0.01),而 MBC:MBP和 MBN:MBP与土壤环境因子之间无相 关关系(图 8)。ln(BG:(NAG+LAP))只与 pH 呈极显著负相关(P<0.01),于 DOC 呈极显著正相关(P< 0.01);ln(BG:AP)与 pH 呈显著负相关(P<0.05),与 DOC 呈显著正相关(P<0.05),与 DN 呈极显著正相关 (P<0.01),与 DOC:DN 呈极显著负相关(P<0.01),且与 DN:DP 呈显著正相关(P<0.05);ln((NAG+LAP)) AP)与 pH 呈显著正相关(P<0.05),与 DN 呈显著正相关(P<0.05),与 DOC:DN 呈极显著负相关(P<0.01) (表 4,表 5)。

3 讨论

3.1 海拔和土层对土壤微生物生物量和化学计量的影响

土壤微生物生物量及其化学计量比可以反映陆地生态系统中的土壤养分循环^[44-46]。本研究表明表层 (A和E层)微生物生物量在4900m处值最高(图3),其原因可能是,海拔越低表层土壤温度越高,有利于植





物生长,植被根系分泌物增多^[47-49],同时较高的土壤温度促进了微生物增殖,在两者的共同作用下提高了微 生物生物量。本研究区的土壤微生物生物量显著高于全球平均水平(0—30 cm 土层中 MBC、MBN 和 MBP 的 模拟全球储量分别为 27.3 Pg C、4.06 Pg N 和 1.91 Pg P)^[50],而且海拔梯度上微生物生物量的变化没有显著 的沿海拔升高而降低的规律,表明微生物生物量受多种因素协同影响。造成这种现象可能是因为(1)不同的 气候条件会影响微生物生物量^[51],同时土壤微生物又对气候条件有一定的生理适应性,虽然海拔升高会造成 气温降低,但是微生物可以通过降低代谢活动来维持平衡^[52-53];(2)土壤有机质浓度同样会影响微生物生物 量,本研究区的土壤有机质含量较高,这种气温低含水率高的环境下,SOM 分解缓慢,而微生物生物量的转化

1710



图 6 微生物碳利用效率

Fig.6 Microbial carbon use efficiency (CUE)

符号"**"表示 P<0.01; NS, None Significant; 海拔:NS, 5个海拔梯度之间没有显著性; 土层: **, 同一海拔梯度的不同土层之间存在极 显著差异



图 7 微生物生物量元素化学计量比率与土壤养分元素化学计量比率的关系



依然很高^[45,54]。研究结果还显示,土壤微生物生物量随土层加深显著降低(图 3),这与全球的 Meta 分析结 果一致,而且高寒草甸地区的土壤微生物生物量浓度的垂直下降程度十分显著,因此深层土壤中的微生物生 物量容纳性更应该成为土壤碳储量的研究重点^[55—56]。研究结果强烈表明微生物生物量在该研究区的分布特 征是多种因素长期协作的结果。

MBC:MBN、MBC:MBP 和 MBN:MBP 的模拟全球平均质量比(0—30 cm)分别为10、48 和 6.7^[50],本研究 其中 MBC:MBN 低于与全球平均值;而 MBC:MBP 和 MBN:MBP 高于全球平均水平,这可能与该研究区土壤 P 限制的现象有关,MBC:MBP 和 MBN:MBP 能表征土壤磷素的供给能力,值越小说明土壤对植物可利用磷 的有效性越高^[57]。这与 Cui 等人^[58]研究发现相一致,青藏高原的高山地区,高海拔处的土壤微生物 C 和 P 限制要高于低海拔地区。

表 5 土壤微生物生物量和胞外酶化学计量比与土壤环境因子的相关性分析							
Table 5 Correlation analy	ysis of soil mic	robial biomass a	nd extracellular e	enzyme stoichion	netric ratio with	soil environment	al factors
化学计量比 Ecological stoichiometric ratio	рН	土壤含水率 SWC Soil water content	可溶性 有机碳 DOC Dissolved organic carbon	可溶性氮 DN Dissolved nitrogen	可溶性磷 DP Dissolved phosphorus	可溶性有机 碳:可溶性氮 DOC :DN	可溶性有机 碳:可溶性磷 DOC:DP
ln(BG:(NAG+LAP))	-0.465 **	0.066	0.333 **	0.150	0.005	-0.009	0.206
ln(BG:AP)	-0.255 *	0.229	0.320*	0.378 **	0.213	-0.365 **	-0.007
ln((NAG+LAP):AP)	-0.254 *	0.198	-0.015	0.277 *	0.253	-0.430 **	-0.260

符号"*","**"和"***"分别表示 P<0.05,P<0.01 和 P<0.001



图 8 各指标间的相关性热图

Fig.8 Heat map of the correlation between the indicators

符号"*","**"和"***"分别表示 P<0.05,P<0.01 和 P<0.001

3.2 海拔和土层对土壤酶活性和化学计量的影响

微生物释放细胞外酶以矿化有机化合物是维持微生物 C:N:P 稳态和克服营养限制的重要机制^[8,36],根据生物地球化学平衡模型^[42],酶水解后土壤微生物相对养分有效性的程度可由底物、微生物生物量和酶的化学计量得出。

研究结果显示,表层土壤酶活性及其化学计量比随海拔梯度增加而增加。温度随海拔升高而降低的同时,也会降低凋落物的数量和质量,这可能是改变土壤中酶活性和化学计量比的原因^[59-60]。同时温度与胞外酶活性的关系还有待进一步研究,Sinsabaugh等人^[20]的 Meta 分析又显示 C 和 P 获取酶活性与温度呈负相

关。酶活性在海拔梯度上的波动性,表明青藏高原典型小流域生态系统的复杂性。随土层加深,这种海拔间 的波动会减弱,这可能是因为,土层越深土温波动范围越小,土壤养分变化更小,而且微生物活性低,对于环境 因素的敏感度降低。四种酶活性在各海拔梯度上均随土层加深而显著降低(图 6),这可能说明底层土壤有机 质含量及养分有效性低,相关性分析显示(图 8)BG、NAG、LAP 和 AP 与土壤养分(DOC、DN 和 DP)呈显著正 相关,同时土壤养分随土层加深显著降低(表 2),表明养分"表聚性"现象显著,这与大多数研究结果一致^[61]。 原因在于土壤有机碳主要源于植物、微生物残体及其分泌物,表层分布广泛的根系可以提供大量分泌物同时 凋落物聚集,随着土层加深,营养物质会逐渐减少^[62]。

虽然在不同土层有所不同,但是 C、N 和 P 获取酶之比并不符合 1:1:1^[20](图 5)。相关研究表明,全球尺 度范围内,C:N 获取酶、C:P 获取酶以及 N:P 获取酶的平均值分别为 1.41、0.62 和 0.44^[13]。本研究区的 C:N 获取酶偏高,C:P 获取酶以及 N:P 获取酶偏低,反映出土壤 N 获取酶活性较低,而磷获取酶活性较高。图 5 显示,该研究区主要受 C 和 P 的共同限制,说明有效 C 和 P 少,微生物需要释放更多的相关获取酶以维持养 分平衡,而且图 7 说明该研究区的微生物内稳性较低。在青藏高原高山生态系统当中,由于高降水和潮湿条 件,酸性的土壤环境当中通常存在由铁和铝离子结合的 TP 和有效磷的大量浸出^[63]。这可能导致微生物代谢 受到 P 限制。

3.3 驱动酶活性的生物与非生物因子

土壤胞外酶活性会受到多种因素的影响,可分为生物因子和非生物因子两类^[43],本研究主要探讨了微生物生物量碳氮磷以及土壤理化性质对胞外酶活性及化学计量的影响。相关性分析结果显示,pH和 DOC:DN 与胞外酶活性呈负相关,表明随着 pH 的升高,微生物会调整自身生长策略以适应环境变化,这与 Cao 等人^[44]的研究结果一致。本研究中4种土壤胞外酶活性和微生物生物量碳氮磷含量均与 SOC、TN、TP 以及可溶性碳氮磷含量呈显著正相关,这一研究结果与前人研究相同^[65]。LAP 相较于其他酶与环境因子的相关性要低,可能是因为微生物对环境的适应能力维持了 LAP 活性的相对稳定性,其他酶均对 TC、TN 和 MBC 有很强的相关性,土壤养分升高,增加了胞外酶利用底物的浓度,进而激发了胞外酶活性^[66-67]。

4 结论

本研究探讨了微生物生物量和胞外酶及其化学计量比沿廓琼岗日冰川典型青藏高原小流域不同海拔和 土层的分布格局和养分限制分布特点。研究发现微生物生物量和胞外酶活性整体随土层加深而降低。表层 (A和E)土壤微生物生物量碳氮磷含量随海拔升高而显著降低;C获取酶(BG)以及N获取酶(NAG和LAP) 活性均随海拔升高而显著降低,而且土层越浅这种趋势越明显。而P获取酶(LAP)活性受海拔影响不明显。 本研究结果表明青藏高原典型冰川小流域土壤微生物受碳和磷的共同限制,C限制随海拔升高而增强,且在 A和E层更加显著,而P限制则相反;同时P限制随土层加深而显著增强。结果显示土壤碳利用效率,随土 层加深而显著降低。整体而言,青藏高原典型冰川小流域土壤微生物生物量和胞外酶活性在海拔和土层之间 存在较明显的差异,可能是由于土壤养分含量的差别造成的。本研究能够反映土壤有机碳固存的研究方向, 为应对未来全球气候变化条件下土壤养分的空间地理格局提供了科学依据。

参考文献(References):

- [1] Li C, Xiao C W, Guenet B, Li M X, Xu L, He N P. Short-term effects of labile organic C addition on soil microbial response to temperature in a temperate steppe. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 167: 108589.
- [2] Hancock G R, Kunkel V, Wells T, Martinez C. Soil organic carbon and soil erosion-Understanding change at the large catchment scale. Geoderma, 2019, 343; 60-71.
- [3] Bai Y F, Cotrufo M F. Grassland soil carbon sequestration: current understanding, challenges, and solutions. Science, 2022, 377 (6606): 603-608.
- [4] Breidenbach A, Schleuss P M, Liu S B, Schneider D, Dippold M A, de la Haye T, Miehe G, Heitkamp F, Seeber E, Mason-Jones K, Xu X L,

Yang H M, Xu J C, Dorji T, Gube M, Norf H, Meier J, Guggenberger G, Kuzyakov Y, Spielvogel S. Microbial functional changes mark irreversible course of Tibetan grassland degradation. Nature Communications, 2022, 13: 2681.

- [5] Zhou L H, Liu S S, Shen H H, Zhao M Y, Xu L C, Xing A J, Fang J Y. Soil extracellular enzyme activity and stoichiometry in China's forests. Functional Ecology, 2020, 34(7): 1461-1471.
- [6] 黄懿梅,安韶山,薛虹.黄土丘陵区草地土壤微生物 C、N 及呼吸熵对植被恢复的响应. 生态学报, 2009, 29(6): 2811-2818.
- [7] Falkowski P G, Fenchel T, Delong E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. Science, 2008, 320(5879): 1034-1039.
- [8] Zechmeister-Boltenstern S, Keiblinger K M, Mooshammer M, Peñuelas J, Richter A, Sardans J, Wanek W. The application of ecological stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations. Ecological Monographs, 2015, 85(2): 133-155.
- [9] Mooshammer M, Wanek W, Zechmeister-Boltenstern S, Richter A. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources; mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 22.
- [10] Chen J, Luo Y Q, Li J W, Zhou X H, Cao J J, Wang R W, Wang Y Q, Shelton S, Jin Z, Walker L M, Feng Z Z, Niu S L, Feng W T, Jian S Y, Zhou L Y. Costimulation of soil glycosidase activity and soil respiration by nitrogen addition. Global Change Biology, 2017, 23(3): 1328-1337.
- [11] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 58: 216-234.
- [12] 左宜平,张馨月,曾辉,王娓.大兴安岭森林土壤胞外酶活力的时空动态及其对潜在碳矿化的影响.北京大学学报:自然科学版,2018, 54(6):1311-1324.
- [13] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. Nature, 2009, 462(7274): 795-798.
- [14] 罗叙,王誉陶,张娟,李建平.黄土高原典型草原优势种植物及其根际土壤化学计量对降雨变化的响应.生态学报,2022.42(03): 1002-1014.
- [15] Jing X, Chen X, Tang M, Ding Z J, Jiang L, Li P, Ma S H, Tian D, Xu L C, Zhu J X, Ji C J, Shen H H, Zheng C Y, Fang J Y, Zhu B. Nitrogen deposition has minor effect on soil extracellular enzyme activities in six Chinese forests. Science of the Total Environment, 2017, 607/608: 806-815.
- [16] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an Acer saccharum forest soil. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [17] Zhang J Y, Ai Z M, Liang C T, Wang G L, Liu G B, Xue S. How microbes cope with short-term N addition in a Pinus tabuliformis forestecological stoichiometry. Geoderma, 2019, 337: 630-640.
- [18] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, He N P, Wang Q F, Wang S Z, Wang R L, Zhao N, Jia Y L, Wang C Y. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in Eastern China (NSTEC). Soil Biology and Biochemistry, 2017, 104: 152-163.
- [19] 王福慧,周林燕,胡汗,王俊,郭垚鑫,任成杰,白红英,孙昊田,赵发珠.秦岭太白山不同植被带土壤团聚体碳库变化及温度敏感性. 生态学报,2022,42(8):3300-3314.
- [20] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, Ahmed B, Allison S D, Crenshaw C, Contosta A R, Cusack D, Frey S, Gallo M E, Gartner T B, Hobbie S E, Holland K, Keeler B L, Powers J S, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M P, Wallenstein M D, Zak D R, Zeglin L H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. Ecology Letters, 2008, 11(11): 1252-1264.
- [21] Chen X, Feng J G, Ding Z J, Tang M, Zhu B. Changes in soil total, microbial and enzymatic C-N-P contents and stoichiometry with depth and latitude in forest ecosystems. Science of the Total Environment, 2022, 816; 151583.
- [22] Nottingham A T, Whitaker J, Turner B L, Salinas N, Zimmermann M, Malhi Y, Meir P. Climate warming and soil carbon in tropical forests: insights from an elevation gradient in the Peruvian Andes. BioScience, 2015, 65(9): 906-921.
- [23] Ren C J, Zhang W, Zhong Z K, Han X H, Yang G H, Feng Y Z, Ren G X. Differential responses of soil microbial biomass, diversity, and compositions to altitudinal gradients depend on plant and soil characteristics. Science of the Total Environment, 2018, 610/611: 750-758.
- [24] Wang J T, Cao P, Hu H W, Li J, Han L L, Zhang L M, Zheng Y M, He J Z. Altitudinal distribution patterns of soil bacterial and archaeal communities along Mt. shegyla on the Tibetan Plateau. Microbial Ecology, 2015, 69(1): 135-145.
- [25] 元晓春,林惠瑛,曾泉鑫,陈文伟,陈俊明,许敬华,陈岳民,林开森.武夷山不同海拔梯度黄山松土壤有机氮解聚酶活性及其影响因素. 生态学报, 2022, 42(4): 1560-1570.
- [26] 田悦,赵正武,刘艳,西藏东部高寒草甸苔藓植物群落数量分类与排序. 生态学报, 2022. 42(02): 755-765.
- [27] 杨元合,朴世龙.青藏高原草地植被覆盖变化及其与气候因子的关系.植物生态学报,2006,30(1):1-8.
- [28] Guo M X. Soil sampling and methods of analysis. Journal of Environmental Quality, 2009, 38(1): 375.
- [29] 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.

- [30] Hamel C, Hanson K, Selles F, Cruz A F, Lemke R, McConkey B, Zentner R. Seasonal and long-term resource-related variations in soil microbial communities in wheat-based rotations of the Canadian prairie. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2104-2116.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] Freeman C, Liska G, Ostle N J, Jones S E, Lock M A. The use of fluorogenic substrates for measuring enzyme activity in peatlands. Plant and Soil, 1995, 175(1): 147-152.
- [34] DeForest J L, Moorhead D L. Effects of elevated pH and phosphorus fertilizer on soil C, N and P enzyme stoichiometry in an acidic mixed mesophytic deciduous forest. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 150: 107996.
- [35] Li L D, Wilson C B, He H B, Zhang X D, Zhou F, Schaeffer S M. Physical, biochemical, and microbial controls on amino sugar accumulation in soils under long-term cover cropping and no-tillage farming. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135: 369-378.
- [36] Moorhead D L, Sinsabaugh R L, Hill B H, Weintraub M N. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 93: 1-7.
- [37] Bai X J, Dippold M A, An S S, Wang B R, Zhang H X, Loeppmann S. Extracellular enzyme activity and stoichiometry: the effect of soil microbial element limitation during leaf litter decomposition. Ecological Indicators, 2021, 121: 107200.
- [38] Cui J, Zhu Z K, Xu X L, Liu S L, Jones D L, Kuzyakov Y, Shibistova O, Wu J S, Ge T D. Carbon and nitrogen recycling from microbial necromass to cope with C: N stoichiometric imbalance by priming. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 142: 107720.
- [39] 吴建平,王思敏,蔡慕天,吴彬. 植物与微生物碳利用效率及影响因子研究进展. 生态学报, 2019, 39(20): 7771-7779.
- [40] 朱婧,刘鼎,王珊,黄祚水,梁建宏.土壤养分及其化学计量特征对微生物碳利用效率的影响机制.广西师范大学学报:自然科学版, 2022, 40(5): 376-387.
- [41] Cui Y X, Wang X, Zhang X C, Ju W L, Duan C J, Guo X B, Wang Y Q, Fang L C. Soil moisture mediates microbial carbon and phosphorus metabolism during vegetation succession in a semiarid region. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 147: 107814.
- [42] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43: 313-343.
- [43] Persson J, Fink P, Goto A, Hood J M, Jonas J, Kato S. To be or not to be what You eat: regulation of stoichiometric homeostasis among autotrophs and heterotrophs. Oikos, 2010, 119(5): 741-751.
- [44] Martiny J B H, Bohannan B J M, Brown J H, Colwell R K, Fuhrman J A, Green J L, Horner-Devine M C, Kane M, Krumins J A, Kuske C R, Morin P J, Naeem S, Øvreås L, Reysenbach A L, Smith V H, Staley J T. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(2): 102-112.
- [45] Liang C, Amelung W, Lehmann J, Kästner M. Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter. Global Change Biology, 2019, 25(11): 3578-3590.
- [46] van der Heijden M G A, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecology Letters, 2008, 11(3): 296-310.
- [47] Uselman S M, Qualls R G, Thomas R B. Effects of increased atmospheric CO₂, temperature, and soil N availability on root exudation of dissolved organic carbon by a N-fixing tree (Robinia pseudoacacia L.). Plant and Soil, 2000, 222(1): 191-202.
- [48] 阿旺,吕汪汪,周阳,孙建平,张苏人,夏露,李博文,刘培培,洪欢,王奇,张立荣,苏爱玲,姜丽丽,斯确多吉,张振华,罗彩云,汪诗平.温度和湿度对高寒草甸凋落物分解的影响.生态学报,2021.41(17):6846-6853.
- [49] 马进鹏, 庞丹波, 陈林, 万红云, 陈高路, 李学斌. 贺兰山不同海拔植被下土壤微生物群落结构特征. 生态学报, 2022, 42(2): 667-676.
- [50] Gao D C, Bai E, Wang S Y, Zong S W, Liu Z P, Fan X L, Zhao C H, Hagedorn F. Three-dimensional mapping of carbon, nitrogen, and phosphorus in soil microbial biomass and their stoichiometry at the global scale. Global Change Biology, 2022, 28(22): 6728-6740.
- [51] 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.
- [52] Li P, Yang Y H, Han W X, Fang J Y. Global patterns of soil microbial nitrogen and phosphorus stoichiometry in forest ecosystems. Global Ecology and Biogeography, 2014, 23(9): 979-987.
- [53] Reich P B, Oleksyn J. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(30): 11001-11006.
- [54] Wang B R, An S S, Liang C, Liu Y, Kuzyakov Y. Microbial necromass as the source of soil organic carbon in global ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 162: 108422.

[55]	Schenk H J, Jackson R B. Mapping the global distribution of deep roots in relation to climate and soil characteristics. Geoderma, 2005,	126(1/2):
	129-140.	

- [56] 刘放,吴明辉,魏培洁,贾映兰,陈生云.疏勒河源高寒草甸土壤微生物生物量碳氮变化特征.生态学报,2020.40(18):6416-6426.
- [57] He Z L, Wu J, O'Donnell A G, Syers J K. Seasonal responses in microbial biomass carbon, phosphorus and sulphur in soils under pasture. Biology and Fertility of Soils, 1997, 24(4): 421-428.
- [58] Cui Y X, Bing H J, Fang L C, Jiang M, Shen G T, Yu J L, Wang X, Zhu H, Wu Y H, Zhang X C. Extracellular enzyme stoichiometry reveals the carbon and phosphorus limitations of microbial metabolisms in the rhizosphere and bulk soils in alpine ecosystems. Plant and Soil, 2021, 458 (1): 7-20.
- [59] Zhou J, Wu Y H, Bing H J, Yang Z J, Wang J P, Sun H Y, Sun S Q, Luo J. Variations in soil phosphorus biogeochemistry across six vegetation types along an altitudinal gradient in SW China. CATENA, 2016, 142: 102-111.
- [60] Xiao W, Chen X, Jing X, Zhu B. A meta-analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 123: 21-32.
- [61] 刘学东,陈林,杨新国,张义凡,赵伟,李学斌.荒漠草原典型植物群落土壤活性有机碳组分特征及其与酶活性的关系.西北植物学报, 2016,36(9):1882-1890.
- [62] Zou X M, Ruan H H, Fu Y, Yang X D, Sha L Q. Estimating soil labile organic carbon and potential turnover rates using a sequential fumigationincubation procedure. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(10): 1923-1928.
- [63] He X L, Zhou J, Wu Y H, Bing H J, Sun H Y, Wang J P. Leaching disturbed the altitudinal distribution of soil organic phosphorus in subalpine coniferous forests on Mt. Gongga, SW China. Geoderma, 2018, 326: 144-155.
- [64] Cao R, Yang W Q, Chang C H, Wang Z, Wang Q, Li H, Tan B. Differential seasonal changes in soil enzyme activity along an altitudinal gradient in an alpine-gorge region. Applied Soil Ecology, 2021, 166: 104078.
- [65] 王榛,马晓林,刘攀,吕燕花,李香芬,周华坤,魏胜强,王文颖.青藏高原人工草地土壤微物量碳及酶活性动态变化特征.兰州大学学报:自然科学版,2018,54(4):472-479.
- [66] Weintraub S R, Wieder W R, Cleveland C C, Townsend A R. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest. Biogeochemistry, 2013, 114(1): 313-326.
- [67] Geisseler D, Horwath W R, Scow K M. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. Pedobiologia, 2011, 54(2): 71-78.