

DOI: 10.20103/j.stxb.202301310161

李传虹, 张林, 刘四义, 韩丽丽, 姚保民, 申聪聪, 郝志鹏, 张丽梅. 青藏高原灌丛土壤碳氮含量及其相关功能基因分布特征. 生态学报, 2024, 44(1): 392-404.

Li C H, Zhang L, Liu S Y, Han L L, Yao B M, Shen C C, Hao Z P, Zhang L M. Distribution characteristics of carbon and nitrogen contents and related functional genes in shrub soils of the Tibetan Plateau. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(1): 392-404.

青藏高原灌丛土壤碳氮含量及其相关功能基因分布特征

李传虹^{1,2}, 张林³, 刘四义¹, 韩丽丽¹, 姚保民^{1,2}, 申聪聪¹, 郝志鹏¹, 张丽梅^{1,2,*}

1 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 中国科学院青藏高原研究所, 青藏高原地球系统与资源环境国家重点实验室, 北京 100101

摘要: 在微生物的代谢活动下, 土壤中有态碳氮化合物矿化分解释放矿质养分和二氧化碳, 深刻影响着自然生态系统土壤碳、氮等元素的循环转化、土壤的养分供应和有机质的更新, 并对地上植被的演替和分布有极为重要的意义。青藏高原灌丛面积分布广泛, 地形和气候条件复杂, 但目前对灌丛分布地区土壤碳氮含量、矿化作用强度及其影响因素等的认识较少。研究结合土壤理化分析和高通量定量 PCR (quantitative microbial element cycling, QMEC) 技术研究了青藏高原喜马拉雅山-冈底斯山地区不同类型灌丛土壤碳氮含量、碳氮矿化速率和相关功能基因的分布特征及其与植被、气候和土壤因子间的耦联关系。结果表明, 不同类型灌丛土壤的有机碳、全氮含量、CO₂ 释放速率、净氮矿化速率、碳氮矿化基因的丰度有显著差异。其中, 位于青藏高原东南部的雪层杜鹃和香柏灌丛分布区土壤有机碳和全氮含量、CO₂ 释放速率、净氮矿化速率显著高于位于中西部的变色锦鸡儿、金露梅和砂生槐灌丛地区, 并与年平均降雨量显著正相关。然而, 碳、氮矿化基因丰度分布趋势与之相反, 在雪层杜鹃和香柏灌丛分布区丰度显著低于中西部的三类灌丛, 且与年平均降雨量呈显著负相关, 但与土壤 pH 呈显著正相关。同时 pH 与年平均降水量、湿润指数和土壤含水率均为显著负相关。这些结果表明降水可通过增加盐基离子淋溶, 使土壤盐基饱和度下降、氢饱和度增加, 引起土壤酸化, 进而影响碳氮循环过程, 导致不同类型灌丛土壤碳氮元素的赋存及其周转速率差异。同时, 碳、氮矿化相关功能基因丰度各类群间呈现显著的正相关关系, 表明土壤碳氮循环过程间紧密的耦联关系。这些结果为准确评估青藏高原土壤碳、氮库及其动态平衡提供了重要信息和参考依据。

关键词: 青藏高原; 高寒灌丛; 碳氮循环; 碳氮矿化功能基因; 高通量定量 PCR (QMEC)

Distribution characteristics of carbon and nitrogen contents and related functional genes in shrub soils of the Tibetan Plateau

LI Chuanhong^{1,2}, ZHANG Lin³, LIU Siyi¹, HAN Lili¹, YAO Baomin^{1,2}, SHEN Congcong¹, HAO Zhipeng¹, ZHANG Limei^{1,2,*}

1 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

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

3 State Key Laboratory of Tibetan Plateau Earth System Science, Resources and Environment, Institute of Tibetan Plateau Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Under the effect of microbial metabolic activities, the mineralization and decomposition of organic carbon and nitrogen compounds in the soil release mineral nutrients and carbon dioxide, which profoundly affects the circulation and

基金项目: 第二次青藏高原综合科学考察项目 (2019QZKK0306, 2019QZKK0308); 国家自然科学基金项目 (42007077)

收稿日期: 2023-01-31; **网络出版日期:** 2023-09-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Zhanglm@rcees.ac.cn

transformation of soil C, N, and other elements in the natural ecosystem, the supply of soil nutrients and the renewal of organic matter, and is of great significance to the succession and distribution of aboveground vegetation. Combined with soil physicochemical analysis and High throughput quantitative PCR (quantitative microbial element cycling, QMEC) technology, this study investigated the content of soil organic C and total N, soil respiration rate, net N mineralization rate and the abundance of C and N mineralization genes, and further explored their correlation with vegetation, climate, and soil factors in alpine shrub soils across the Himalayan—Gangdise regions on the Tibetan Plateau. The results showed that there were significant differences in the content and mineralization rate of C and N elements, and the abundance of C and N mineralization genes in the soils of different shrub types. Among them, soil respiration rate, net N mineralization rate, soil organic C and total N content in the *Rhododendron nivale* and *Juniperus pingii* var. *wilsonii* shrub areas were significantly higher than those in the *Caragana versicolor*, *Dasiphora fruticosa*, and *Sophora moorcroftian* shrub areas, but the abundance of C and N mineralization genes was on the reverse. Soil respiration rate, net N mineralization rate, soil organic C and total N content were positively correlated with the mean annual precipitation. However, the abundance of C and N mineralization genes was negatively correlated with the mean annual precipitation, but positively correlated with the soil pH. Meanwhile, pH was negatively correlated with the mean annual precipitation, humidity index, and soil water content. All these results indicated that precipitation could reduce soil base saturation and increase soil hydrogen saturation by increasing the leaching of base ion, causing soil acidification and affecting the process of C and N cycle, thus affecting the turnover of C and N elements and determining the storage of C and N elements in the soils of different shrub types. Further, a significantly positive correlation was observed between the abundance of C and N mineralization genes, suggesting the close coupling relationship between soil C and N cycling processes. These results provide important information and reference basis for the accurate assessment of soil C and N pools and their dynamic balance of storage on the Tibetan Plateau.

Key Words: Tibetan Plateau; alpine shrub; C and N cycle; C and N mineralization gene; quantitative microbial element cycling

高寒灌丛是由耐寒的中生或旱生灌木为优势种而形成的一类植被,常分布在高山和高原林线之上向高寒植被的过渡带,是青藏高原常见的优势植被之一^[1]。由于独特的地理、气候条件,青藏高原的灌丛类型复杂、种质资源丰富,为野生动物和家畜提供了栖居和放牧地,具有较强的生态服务价值^[2]。然而其生态系统脆弱,对全球变暖的响应极为敏感^[3]。近年来,气候变暖及其导致的土壤水分、养分有效性和土壤微生物群落等环境条件变化对青藏高原地区高寒灌丛植物生产力、生物量分配和演替过程产生了深刻影响,进而影响着区域生态系统碳氮循环和周转过程^[4]。因此,探明青藏高原不同灌丛类型下土壤养分状况、碳氮循环特征及其影响因素对青藏高原灌丛合理利用与管理有重要的理论与实践价值。

微生物是土壤物质转化和元素生物地球化学循环的主要驱动力^[5]。微生物驱动的矿化作用,即土壤中有机态化合物转化为无机态化合物的过程,是自然生态系统土壤碳氮循环的关键过程之一^[6]。土壤碳氮矿化过程深刻影响着土壤碳、氮等元素的循环流动,土壤的养分供应、有机质的更新和地上生产力^[7-8]。碳和氮矿化速率的微小改变能够显著影响土壤碳库和氮库大小以及大气二氧化碳浓度,最终影响碳氮循环—气候耦合系统的动态变化^[9],对地上植被的演替和分布有极为重要的意义。大量研究表明,气候因子如温度和降水是影响土壤碳氮矿化速率的主要因素,温度升高和降雨量增加可以提高碳氮矿化速率从而提高土壤中养分的有效性和净生产力^[10-11]。除气候因素外,土壤有机质含量、pH、水分等对碳氮矿化速率也有交互影响。有机质含量越高,矿化速率越高;同时,随土壤 pH 升高,土壤有机质的可溶性增加,为微生物生长提供了充足的生长基质,因此碳氮矿化速率通常与土壤 pH 呈显著正相关关系^[12-14]。此外,土壤水分一方面可直接控制微生物的活性,另一方面可通过影响凋落物的分解和有机质的形成间接地影响碳氮矿化速率^[15]。研究表明土壤氮矿化速率通常随土壤水分增加而增加,在土壤含水率达到田间持水量时最高,并随含水率进一步增加而降低^[16],如亚热带林区氮矿化速率与土壤含水量呈显著负相关^[17]。碳和氮的矿化速率也可能受土壤 pH 和含水量等因素的交互影响,如与湿润地区相比,干旱地区土壤 pH 相对较高,矿化能力也相对较强^[18]。青藏高原

灌丛面积分布广泛,气候和土壤环境复杂^[19],但目前对灌丛分布地区土壤碳氮矿化作用强度、影响因素及其与灌丛分布特征的关系等的认识较少。探明青藏高原灌丛分布区土壤碳氮含量、矿化作用特征及其影响因素,对理解青藏高原气候变化背景下,灌丛分布区土壤质量变化及其对地上植被的影响具有重要意义。

此外,土壤碳、氮元素矿化过程复杂,参与反应的微生物类群众多,并与其他过程耦合发生,可能导致土壤CO₂排放增加、温室气体产生和养分流失等问题^[20–21]。但目前对碳氮循环相关功能微生物的研究多针对单一元素或单一过程开展,缺乏大尺度下自然生态系统土壤碳、氮循环关键过程功能基因分布特征的耦联分析,且在不同研究尺度和生态系统类型中开展的研究结果不同^[22–23]。对参与土壤碳、氮循环过程相关的功能基因多样性和丰度的调查有助于更好地理解微生物介导的元素生物地球化学过程及其对全球变化的响应和反馈^[24–26]。因此,本研究采用高通量定量PCR(quantitative microbial element cycling, QMEC)技术,对青藏高原喜马拉雅山-冈底斯山地区沿降水梯度采集的高寒灌丛土壤样品碳氮循环相关的功能基因多样性进行了分析,并结合土壤理化性质、气候、植被等信息,综合探讨了青藏高原不同灌丛分布区域土壤养分状况和参与碳氮矿化过程相关功能基因的分布特征、驱动因子及其与灌丛分布特征的关系,以期认识气候变化背景下青藏高原土壤质量和灌丛生态系统功能变化趋势提供重要信息和依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况与土壤样本的采集

土壤样品采集于2020年8月第二次青藏高原科学考察喜马拉雅山-冈底斯山沿线灌丛样带调查,沿线经革吉-吉隆-昆莎机场-拉昂错-嘛咪乡-门士乡-马攸木拉山-普兰-帕羊-狮泉河-扎达县-如角-珠峰-茶巴拉乡-多角乡-贡嘎县-南木乡-日喀则-扎囊县-拉孜-八宿-东达山-拉藏-南木林-折巴-拉乌山-业拉山(79.97°—98.68°E, 28.31°—32.62°N)等地区,最远相距1800 km。植被以灌丛为主,包括5种优势灌木类型:变色锦鸡儿(CV)、金露梅(DF)、砂生槐(SM)、香柏(JP)、雪层杜鹃(RN)。根据同一灌丛的分布面积和间隔距离,共布设了28个采样点,每个采样点间隔至少9 km。使用手持式全球定位系统(GPS)记录采样点的经度、纬度等地理数据,并从中国科学院资源环境科学数据中心(<http://www.resdc.cn/>)提取年平均温度(MAT)、年平均降水量(MAP)和植被NDVI指数^[27],采样点分布和对应灌木类型如图1所示。

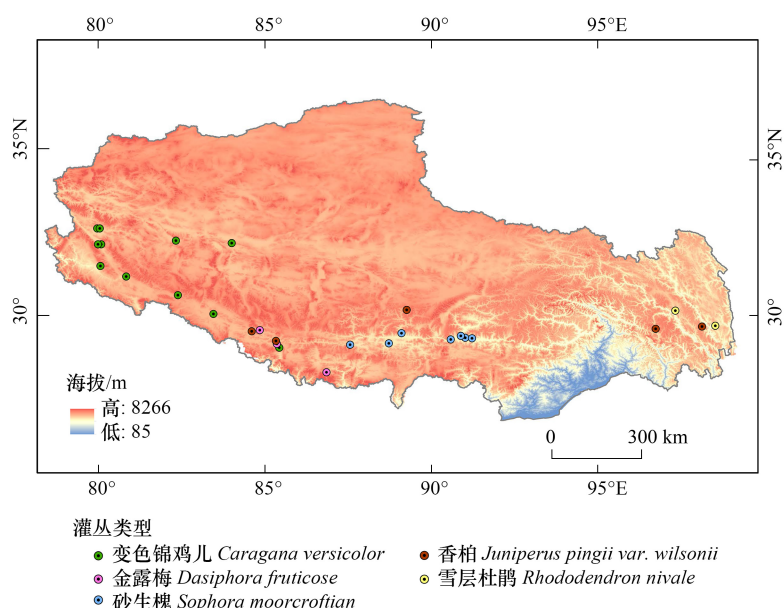


图1 采样点的地理位置分布示意

Fig.1 Geographic locations of sampling sites

每个采样点尽量设置在远离人类居住的地区,以本地分布的天然灌丛为主。每个采样点随机选取 3 个 5 m×5 m 样方,每个样方按梅花状进行 5 点取样混合成一个样品,取样深度 0—15 cm,最终共采集到 84 份土壤样本。所有样品在去除根系和大的石块后放入无菌塑料袋中,通过便携式车载移动冰箱运到实验室。土壤样品通过 2.0 mm 筛去除细根和砾石后分成两部分:一部分储存在 4 ℃ 下,用于土壤理化性质分析,另一部分储存在-80 ℃ 下,用于土壤总 DNA 提取。

1.2 土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参考文献^[28]:土壤 pH(水土比 2.5:1)采用酸度计电位法测定,土壤含水量采取烘干称重法测定,土壤速效磷(Available Phosphorus, AP)采用 Olsen 法测定,土壤全碳(Total Carbon, TC)和全氮(Total Nitrogen, TN)含量采用元素分析仪(Vario EL III-Elementar, Germany)测定,土壤无机碳(Inorganic carbon, IC)含量采用总有机碳分析仪(SSM-5000A, Japan)测定,土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)为 TC 与 IC 的差值,碳氮比(C:N)为 SOC 与 TN 的比值。

无机氮含量及净矿化速率的测定:称取土壤样品置于 250 mL 无菌锥形瓶中,一式两份,一份使用 2mol/L KCl(国药,优级纯)溶液浸提(土水比 1:5),所得提取液用连续流动分析仪(AA3, Bran + Luebbe, Germany)测定初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 浓度^[29]。另一份置于 25℃ 恒温培养箱中培养 7d 后,用同样方法测定溶液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 浓度。培养 7 天的土壤无机氮($\text{NH}_4^+\text{-N}+\text{NO}_3^+\text{-N}$)含量减去初始无机氮含量再除以培养时间即为净矿化速率^[30]。

土壤 CO_2 释放速率(SRR)的测定:称取 10 g 土壤样品放入培养瓶中,用保鲜膜封好瓶口后放置于 20 ℃ 培养箱预培养 24 h。培养完成后将培养瓶放入封闭动态系统中,使用 LI-820 CO_2 分析仪进行 CO_2 浓度实时动态测定,得到封闭动态系统中 CO_2 浓度的增加速率 a,利用线性回归方法计算土壤的 CO_2 释放速率^[31]。

1.3 土壤 DNA 提取与 QMEC 检测

称取 0.5 g 土壤样品,利用 Dneasy PowerSoil Kit(QIAGEN GmbH, Germany),按步骤对土壤微生物总 DNA 进行提取。使用 NanoDrop 分光光度计(NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA)测定 DNA 的浓度和纯度。DNA 样品存储在-40 ℃ 冰箱中备用。

QMEC 包含 71 个微生物 CNPS 引物和 1 个细菌类群引物,可以平行定量 72 个 DNA 样本,引物与基因参照文献所示^[32]。主要操作过程如下,首先将检测合格后的 DNA 样品添加至 384 孔板作为样品板(Sample Sourceplate),同时将引物和 qPCR 所用的试剂添加至另一 384 孔板作为引物板(Assay Sourceplate)。采用高通量自动微量加设备 SmartChip Multisample Nanodispenser(Takara Biomedical Technology)分别将样品板和引物板试剂添加至高通量 qPCR 芯片 SmartChip MyDesign Chip(Takara Biomedical Technology, Clontech)的微孔中,在 SmartChip Real-Time PCR System(WaferGen Biosystems USA)中进行 qPCR 反应及荧光信号检测,并自动生成扩增曲线和溶解曲线^[5]。根据 SmartChip Real-Time PCR System 和 Canco software 软件给出的各基因在各样本中的 Ct 值,根据公式(1)计算得出各基因在各样本中的相对丰度信息。只有在三个技术重复均被检出的基因,才会将该基因判定为阳性,并计算其平均值作为该基因在对应样本中的相对定量。以 F525/R907 为引物通过普通定量 PCR(Roche, LightCycler480 II)获得细菌 16S rRNA 基因的绝对丰度信息,16S rRNA 相对丰度默认为 1,根据公式(2)计算得到各样品中各基因的绝对定量信息^[32]。

$$\text{基因相对丰度} = (31 - \text{Ct}) / (10/3) \quad (1)$$

$$\text{基因绝对丰度} = \text{基因相对丰度} \times 16\text{S rRNA 绝对丰度} / 16\text{S rRNA 相对丰度} \quad (2)$$

本文从 71 个功能基因数据中选取了 18 个碳降解功能基因和 7 个氮矿化功能基因做进一步深入分析。参考 Benbi 和 Richter 等^[33]学者的观点,本文将硝化作用并入氮矿化过程,因此将 AOA(氨氧化古菌) *amoA*、AOB(氨氧化细菌) *amoA*、*amoB*、*hao*、*nirA* 基因也纳入矿化基因进行分析。

1.4 数据分析

利用 SPSS 26.0 软件,基于 Kruskal-Wallis 检验对不同灌丛类型间碳、氮矿化基因的丰度和土壤理化性质

进行非参数检验,以及分别将碳、氮基因丰度进行因子分析降维并标准化转化。使用 Pearson 相关性分析研究碳、氮矿化基因丰度之间以及与土壤基本理化性质及环境因子之间的相关性。此外,用 R(v.4.2.1) 软件的“vegan”进行 Mantel test 分析,以探明青藏高原喜马拉雅山-冈底斯山沿线高寒灌丛区碳、氮矿化过程相关微生物的空间分布格局的主要驱动因子。

2 结果与分析

2.1 不同灌丛类型土壤养分状况及其影响因素

表 1 显示,不同灌丛类型间气候、土壤理化性质均存在显著差异。与位于青藏高原西部和中部的变色锦鸡儿、金露梅和砂生槐三类灌丛相比,位于东南部的香柏和雪层杜鹃灌丛的年平均降水量(MAP)((427.5 ± 189.2) mm, (557.2 ± 37.3) mm)、湿润指数(HI)(-7.5 ± 22.7 , 3.1 ± 5.6)、植被 NDVI 指数(0.4 ± 0.1 , 0.6 ± 0.1)、土壤含水率(SWC)((16.9 ± 7.9)%, (29.9 ± 2.3)%)、全氮(TN)((2.5 ± 1.5) g/kg, (5.0 ± 0.5) g/kg)、有机碳含量(SOC)((28.7 ± 18.1) g/kg, (57.7 ± 7.1) g/kg)、碳氮比(C:N)(11.0 ± 1.0 , 11.6 ± 0.4)及土壤 CO₂ 释放速率(SRR)((0.25 ± 0.06) $\mu\text{g C g}^{-1} \text{h}^{-1}$, (0.41 ± 0.17) $\mu\text{g C g}^{-1} \text{h}^{-1}$)均显著更高,而土壤 pH(5.2—7.1)显著更低($P < 0.05$, 表 1)。无机氮含量($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)在变色锦鸡儿灌丛处((3.1 ± 2.5) mg/kg, (38.2 ± 42.0) mg/kg)最高,在砂生槐灌丛处((1.5 ± 0.3) mg/kg, (10.1 ± 7.8) mg/kg)最低,速效磷含量(AP)在不同灌丛类型间没有显著差异($P > 0.05$, 表 1)。氮的净矿化速率(Mnet)在金露梅灌丛处((0.7 ± 0.3) mg kg⁻¹ d⁻¹)最高,香柏和雪层杜鹃处次之,砂生槐灌丛处最低((0.3 ± 0.1) mg kg⁻¹ d⁻¹)($P < 0.05$, 表 1)。年平均气温(MAT)在海拔最低的砂生槐灌丛处最高((5.75 ± 0.31) °C),其次为雪层杜鹃和香柏灌丛,在海拔最高的变色锦鸡儿灌丛处最低((2.14 ± 1.28) °C)($P < 0.05$, 表 1)。相关性分析表明,MAP、HI、SWC、TN、SOC、植被 NDVI 指数、C:N 与净氮矿化速率(Mnet)和土壤 CO₂ 释放速率(SRR)之间(除 Mnet 与植被 NDVI 指数和 MAP 与 C:N 外)均为显著正相关($P < 0.05$),而 MAP($R = -0.55$)、SWC($R = -0.74$)、HI($R = -0.43$)、TN、SOC、植被 NDVI 指数、Mnet、SRR 与 pH 均为显著负相关($P < 0.05$),无机氮含量与 MAT、MAP 均为显著负相关($P < 0.05$)(图 2)。

2.2 碳、氮矿化过程功能基因的丰度分布特征

基于 QMEC 检测,我们对与碳矿化和分解相关的 18 个基因,以及与氮矿化作用相关的 7 个基因进行了统计分析。结果表明,除丰度较低的淀粉水解酶基因 *amyX*、木质素降解酶基因 *pox* 和纤维素降解酶基因 *naglu*, 其余 22 个基因的丰度在五种灌丛类型差异显著($P < 0.05$, 图 3)。丰度总体表现为从青藏高原西部向东部降低的趋势,变色锦鸡儿、金露梅和砂生槐灌丛土壤基因丰度普遍高于香柏和雪层杜鹃灌丛,并以雪层杜鹃灌丛的丰度最低(图 3)。但细菌 16S rRNA 基因的绝对丰度(4.5×10^9 — 5.1×10^9 拷贝数/g 干土)在不同灌丛类型土壤中无显著差异($P > 0.05$, 图 3)。

易降解碳矿化基因中,半纤维素降解酶基因 *abfA* 丰度最高(2.9×10^6 — 5.3×10^7 拷贝数/g),其次为半纤维素降解酶基因 *manA*(2.4×10^6 — 3.2×10^7 拷贝数/g)和 *xylA*(1.2×10^6 — 3.3×10^7 拷贝数/g),淀粉水解基因 *amyX* 丰度在所有碳氮矿化基因中最低(0 — 6.8×10^3 拷贝数/g)(图 3)。难降解碳矿化基因中,木质素降解酶基因 *mnp* 丰度最高(6.6×10^5 — 1.1×10^7 拷贝数/g),纤维素降解酶基因 *naglu* 丰度最低(0 — 3.1×10^4 拷贝数/g)(图 3)。尿素酶基因 *ureC* 的丰度在所有碳氮矿化基因中最高,为 5.8×10^7 — 3.0×10^8 拷贝数/g,谷氨酸脱氢酶基因 *gdh* 丰度也较高,为 2.7×10^6 — 2.6×10^7 拷贝数/g(图 3)。硝化过程相关基因中,古菌的氨单加氧酶基因 *amoA* 和 *amoB* 丰度最高,分别为 8.1×10^4 — 7.6×10^6 拷贝数/g 和 4.5×10^5 — 8.6×10^6 拷贝数/g,羟胺氧化还原酶基因 *hao* 丰度最低,为 0 — 1.3×10^5 拷贝数/g(图 3)。

表 1 采样点基本信息及土壤理化性质

Table 1 Geographical information of sampling sites and soil physiochemical properties										
灌丛类型 Shrub types	样本数 Sample size	区域 Region	纬度 Latitude(°N)	经度 Longitude(°E)	海拔 Altitude/m	湿润指数 Humidity index	年均温 MAT/°C	年降雨量 MAP/mm	NDVI 指数 NDVI index	土壤含水率 Soil water content/%
变色锦鸡儿 CV	33	青藏高原中西部	29.04—32.62	79.97—85.44	4240—5100	-38.8±16.8b	-2.1±1.3c	145.1±101.4c	0.3±0.1c	3.8±4.0c
金露梅 DF	9	青藏高原中部	28.31—29.57	84.85—86.85	4580—4700	-16.9±20.6ab	-0.3±0.9bc	305.1±80.2ab	0.3±0.1c	9.4±3.3ab
砂生槐 SM	21	青藏高原中部	29.13—29.48	87.56—91.23	3570—4015	-14.8±9.4a	5.8±0.3a	349.2±39.3ab	0.4±0.1bc	7.4±4.1bc
香柏 JP	15	青藏高原中部和东 南部	29.24—30.17	84.61—98.13	4332—4700	-7.5±22.7a	0.3±1.1b	427.5±189.2a	0.4±0.1ab	16.9±7.9a
雪层杜鹃 RN	6	青藏高原东南部	29.70—30.15	97.33—98.53	4372—4620	3.1±5.6a	1.8±1.2ab	557.2±37.3a	0.6±0.1a	29.9±2.3a

灌丛类型 Shrub types	全氮 Total N/ (g/kg)	有机碳 Organic C/ (g/kg)	碳氮比 C:N	pH	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	速效磷 Available P/ (mg/kg)	CO ₂ 释放速率 soil respiration rate/ (μg C g ⁻¹ h ⁻¹)	净氮矿化速率 Net N mineralization rate/ (mg N kg ⁻¹ d ⁻¹)
变色锦鸡儿 CV	1.5±0.7b	14.8±6.7b	10.1±1.2a	8.1±0.4ab	3.1±2.5a	38.2±42.0a	2.7±1.6a	0.1±0.1c	0.4±0.2bc
金露梅 DF	1.7±0.9abc	17.4±9.1ab	10.3±0.6a	7.4±0.2bc	1.6±0.3ab	21.8±8.0a	1.9±0.9a	0.2±0.1ab	0.7±0.3a
砂生槐 SM	0.8±0.4c	6.6±2.5c	8.4±1.2b	8.3±0.4a	1.5±0.3b	10.1±7.8b	1.7±0.7a	0.1±0.1bc	0.3±0.1c
香柏 JP	2.5±1.5ab	28.7±18.1ab	11.0±1.0a	6.8±0.5c	2.0±0.8ab	10.7±5.2ab	1.7±0.7a	0.3±0.1a	0.5±0.3abc
雪层杜鹃 RN	5.0±0.5a	57.7±7.1a	11.6±0.4a	5.7±0.6c	1.7±0.3ab	16.4±4.0ab	1.5±0.3a	0.4±0.2a	0.6±0.2ab

表中数据为平均值±标准差,不同灌丛类型间的不同字母表示差异显著($P<0.05$);MAT:年平均温度;MAP:年平均降雨量;Mean annual precipitation;CV:变色锦鸡儿 *Caragana versicolor*;DF:金露梅 *Dasiphora fruticosa*;SM:砂生槐 *Sophora mocroftian*;JP:香柏 *Juniperus pingii* var. *wilsonii*;RN:雪层杜鹃 *Rhododendron nitida*

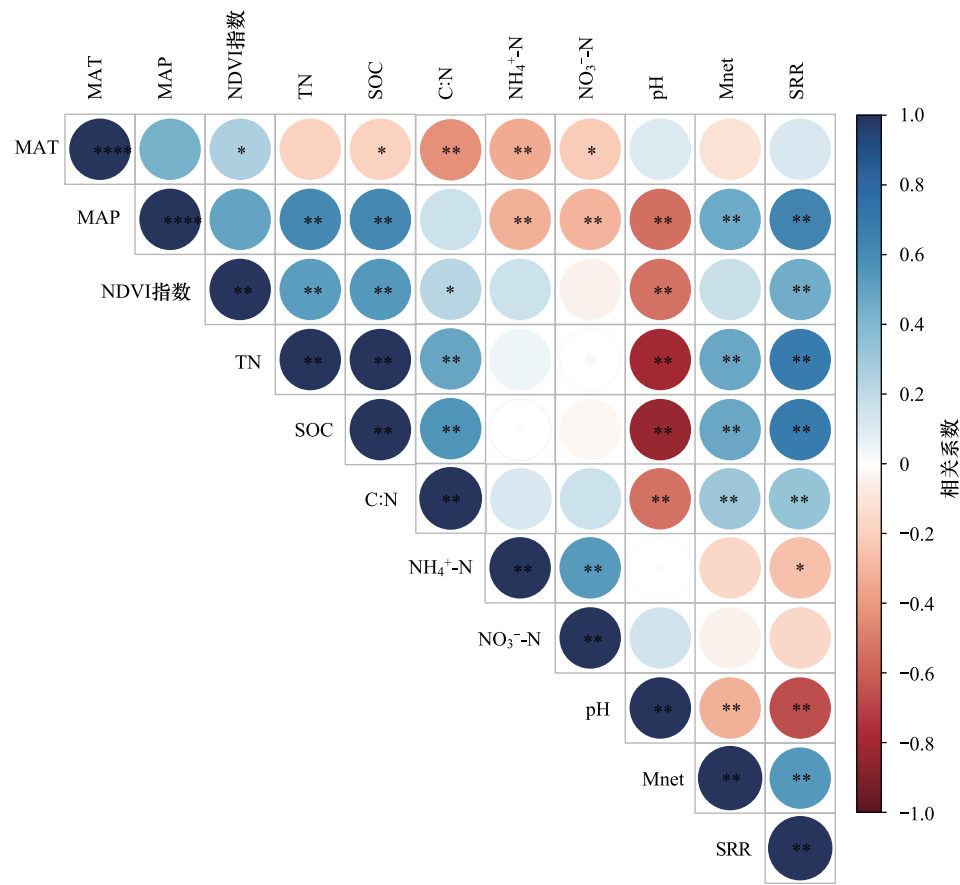


图 2 土壤理化性质与气候和植被因子间的相关性分析

Fig.2 The relationship between soil properties and climatic and vegetational factors

圆圈的颜色表示相关性的 大小;MAT:年平均温度 Mean annual temperature;MAP:年平均降雨量 Mean annual precipitation;TN:全氮 Total N; SOC:土壤有机碳 Soil organic C;C:N:碳氮比 SOC;TN;Mnet:氮矿化速率 Net N mineralization rate;SRR:CO₂释放速率 Soil respiration rate

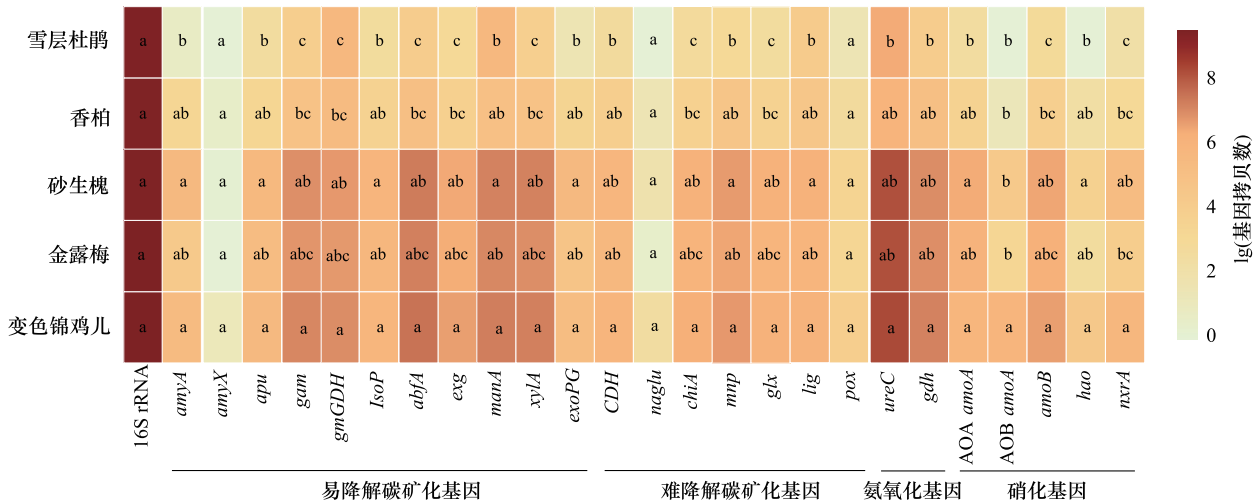


图 3 青藏高原不同灌丛类型土壤碳氮矿化功基因丰度热图

Fig.3 Heatmap of absolute abundances of C and N mineralization genes in soils separated according to shrub types on the Tibetan Plateau
不同灌丛类型间同一基因的不同字母表示差异显著 (P < 0.05)

2.3 影响碳氮矿化基因丰度的关键因素

Mantel test 分析结果显示土壤 SOC、TN、pH、MAP、SWC 对土壤易降解碳矿化基因、难降解碳矿化基因、氨氧化基因和硝化基因的丰度均有显著影响 ($P < 0.05$), 且以 SOC、TN、pH 和土壤水分的解释量 (R 值) 最高 (表 2)。相关性分析结果显示, C、N 矿化基因丰度与 MAP、土壤含水率、SOC 和 TN 含量均为显著负相关 ($P < 0.001$), 但与土壤 pH 均为显著正相关 ($P < 0.05$), 与年平均温度 (MAT) 无显著相关性 ($P > 0.05$) (图 4)。此外, 除丰度较低的 *amyX* 基因外, 其余 C、N 矿化相关的功能基因丰度之间均存在显著的正相关性 ($P < 0.05$) (图 5)。

表 2 碳和氮矿化基因丰度与环境因子的 Mantel test 分析

Table 2 Mantel test analysis for the correlation between the abundance of C and N mineralization genes and environmental factors

因子 Factors	易降解碳矿化基因 Biodegradable C mineralization genes		难降解碳矿化基因 Refractory C mineralization genes		氨氧化基因 Ammonia oxidation genes		硝化基因 Nitrification genes	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
土壤有机碳 SOC	0.547	0.001	0.427	0.001	0.507	0.001	0.110	0.046
全氮 TN	0.532	0.001	0.414	0.001	0.487	0.001	0.111	0.041
pH	0.483	0.001	0.387	0.001	0.460	0.001	0.124	0.010
年平均降雨量 MAP	0.407	0.001	0.296	0.001	0.268	0.001	0.109	0.006
土壤含水率 SWC	0.444	0.001	0.340	0.001	0.411	0.001	0.186	0.004
湿润指数 HI	0.229	0.001	0.153	0.004	0.095	0.027	0.046	0.089
NDVI 指数 NDVI index	0.266	0.001	0.178	0.002	0.275	0.001	0.015	0.339
年平均温度 MAT	-0.037	0.790	-0.020	0.665	0.019	0.338	-0.013	0.636
铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	-0.066	0.790	-0.044	0.645	-0.096	0.906	0.141	0.024
硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$	-0.110	0.956	-0.093	0.910	-0.114	0.950	0.089	0.092
速效磷 AP	-0.061	0.796	-0.029	0.611	-0.066	0.804	0.052	0.190
碳氮比 C:N	0.049	0.163	0.025	0.269	0.076	0.064	-0.022	0.686

SOC: 土壤有机碳 Soil organic C; TN: 全氮 Total N; SWC: 土壤含水率 Soil water content; HI: 湿润指数 Humidity index; AP: 速效磷 Available P; C:N: 碳氮比 SOC:TN

3 讨论

土壤中碳氮元素的含量及其周转对地上植被的生长发育和生态功能的发挥极为重要。不少研究表明灌丛、森林、草地等植被类型演替过程中土壤的性质也发生了显著变化^[34]。如 Hibbard 等^[35]发现由于灌木叶片中木质素和纤维素含量低于草本植物, 亚热带草原灌丛化过程使 0—10 cm 土壤有机质和全氮含量显著提高 8—23 g/m², 氮矿化速率增加 3—5 倍。本文研究的结果显示, 不同类型灌丛土壤的有机碳和全氮含量、土壤 CO₂ 释放速率、净氮矿化速率和碳氮矿化基因的丰度有显著差异。其中, 位于东南部的雪层杜鹃和香柏灌丛比位于中西部的变色锦鸡儿、金露梅和砂生槐灌丛土壤具有更高的有机碳、全氮含量和 CO₂ 释放速率、净氮矿化速率, 但碳、氮矿化基因丰度更低。这意味着灌丛类型的演替也同样伴随着土壤元素循环、养分供应的改变。由此可见, 相同植被类型下, 灌丛种类演替对青藏高原生态系统功能的影响也值得关注。

温度和降水是影响土壤元素循环和养分供应的重要影响因素。本研究结果显示, 土壤有机碳、全氮含量、CO₂ 释放速率、净氮矿化速率与年平均降雨量、湿润指数、土壤含水量等水分指标显著正相关, 而与年平均温度无显著相关性。这些结果说明水分条件的变化对土壤碳氮等元素含量和矿化过程有更重要的影响。已有研究表明, 降水减少会通过降低微生物生物量和胞外酶活性来抑制凋落物的分解^[36—39]。与本文的研究结果类似, 苟小林等^[40]也认为由于更充沛的水分条件, 青藏高原半湿润地区的植物生物量和土壤碳氮磷等元素含量比半干旱地区显著更高。喜马拉雅山-冈底斯山自西向东降雨量明显增加, 降水量增加一方面可直接影响土壤理化性质和微生物活性促进土壤养分的周转, 另一方面可通过影响植物生长间接提高土壤养分含量^[41]。

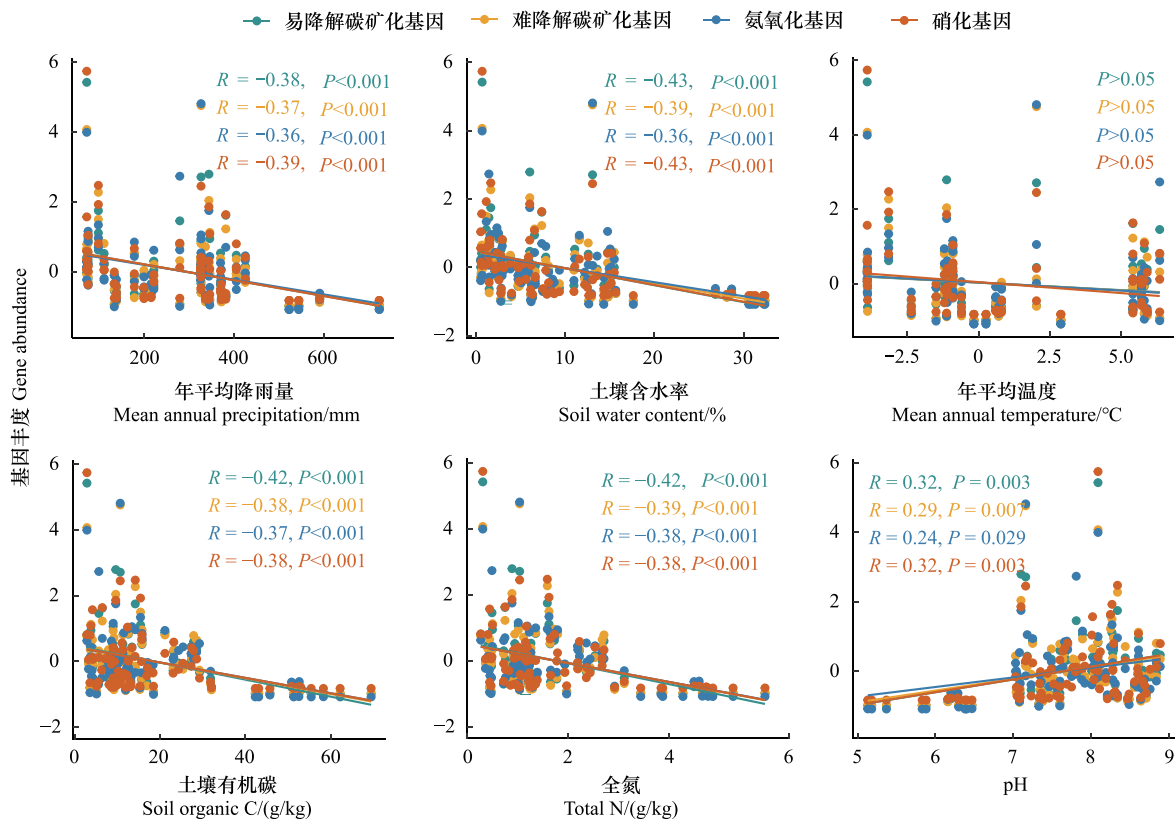


图4 环境因子与碳、氮矿化基因丰度间的相关性分析

Fig.4 The correlation between environmental factors and the abundance of the C and N mineralization genes

矿化基因丰度值经过了标准化转换

这些结果表明,降水条件改变对青藏高原灌丛土壤碳氮循环的影响更大。目前青藏高原正面临着暖湿化的影响,降水增加引起的碳氮循环变化及其带来的生态环境效应值得进一步关注。

由于微生物的活动需要水分,所以在一定湿度范围内,土壤水分增加有利于矿化作用发生^[10, 42]。然而,本文研究却显示土壤碳氮矿化基因丰度与年平均降水量呈显著的负相关关系,但与土壤 pH 呈显著的正相关。导致这一现象的原因主要有两方面:一方面,pH 可直接影响微生物的生理代谢,过低或过高的 pH 会对微生物产生生理限制,并影响微生物间相互作用进而影响其群落组成和丰度^[43];另一方面,土壤 pH 作为一个综合变量,与一些土壤养分可利用性、有机碳特性和土壤水分状况等密切相关,土壤 pH 的升高会增加土壤有机质的可溶性,为微生物生长提供了基质从而间接影响了微生物的多样性和丰度^[12-13]。大量研究表明,土壤 pH 是影响土壤细菌群落空间分布格局及多样性的主要驱动因素^[44]。与我们的研究结果一致,Tsiknia 等^[45]发现在流域尺度土壤 pH 与氮循环功能基因丰度显著正相关。对我国大尺度区域不同生态系统类型土壤的研究发现,pH 是影响氨氧化微生物分布和功能活性的主要因子,氨氧化细菌和古菌 *amoA* 基因的丰度与土壤 pH 值呈显著正相关^[46-47]。乔沙沙^[48]研究发现土壤 pH 通过影响土壤微生物群落结构,决定碳代谢相关微生物的丰度,进而通过影响碳代谢功能基因的丰度来影响土壤碳代谢过程。然而,我们的研究发现土壤细菌的丰度在不同植被类型下无显著差异,与土壤性质、MAP、植被 NDVI 指数等均无显著相关,这些结果表明功能基因对 pH 的响应比细菌更敏感。细菌的多样性远远高于参与 C、N 转化的功能微生物,因而具有更多生理代谢类型和更宽的 pH 适应范围。特别值得注意的是,本文结果显示土壤的 pH 与年平均降雨量、湿润指数和土壤含水率均为显著负相关,这说明气候因素,特别是降水改变对土壤 pH 有重要影响。如有研究发现水分平衡的变化会导致碱性土壤向酸性土壤逐渐过渡,这主要是由于当降雨量大于蒸发量时,土壤及其母质的淋溶

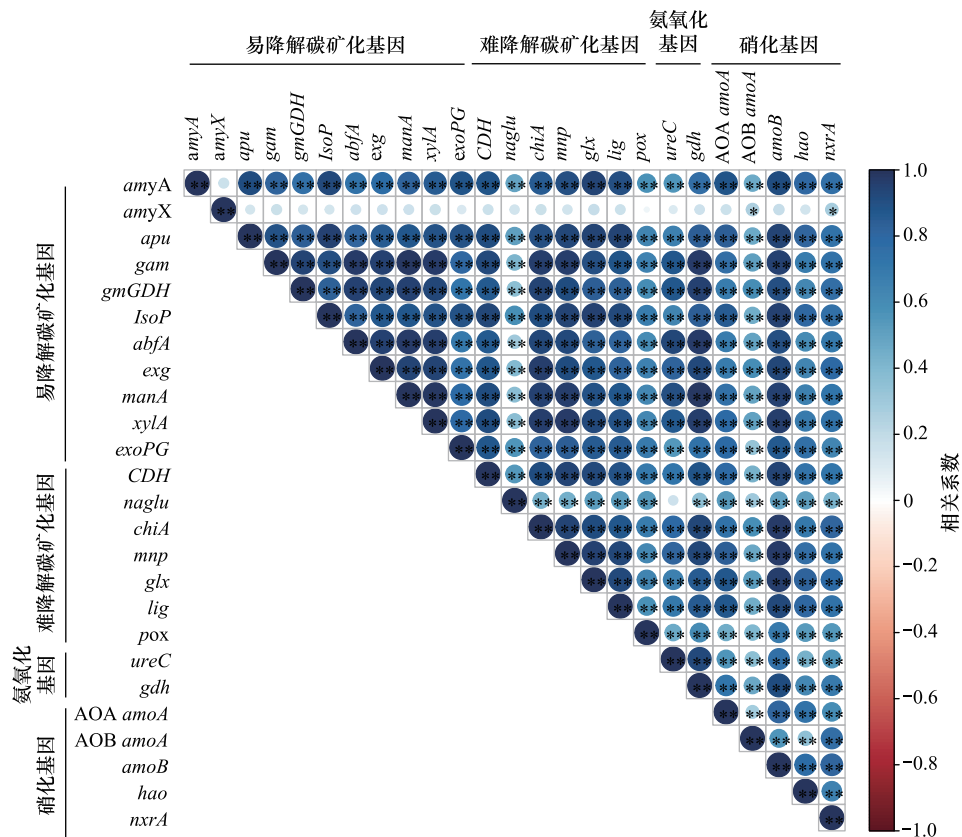


图5 土壤碳和氮矿化相关功能基因丰度间的耦合关系

Fig.5 The coupling relationship among the abundance of C and N mineralization functional genes

圆圈的颜色和大小表示相关性的大小

作用十分强烈,土壤溶液的盐基离子易于随渗滤水向下移动,导致土壤中易溶性成分减少,溶液中 H^+ 取代土壤胶体表面交换态的金属离子被土壤所吸附,这些被取代的金属离子和酸根阴离子一起淋失,使土壤盐基饱和度下降、氢饱和度增加,引起土壤酸化^[49]。因此,未来需要重视青藏高原降水改变引起土壤 pH 变化影响碳氮循环功能微生物代谢,进而对土壤碳、氮等元素的赋存及其周转过程产生影响。

除此之外,土壤养分也是影响功能基因分布的关键因子,大多研究表明基因丰度与土壤养分呈正相关关系^[23,50—52]。如斯贵才等^[53]研究发现,随着年平均降水量的下降,土壤有机碳和全氮含量显著下降,细菌、真菌和放线菌含量随着年降水量的下降而显著减少。然而,我们的研究发现与之相反,碳、氮矿化过程相关的 25 个功能基因的丰度均与土壤 SOC 和 TN 含量呈负相关,与无机氮含量不相关,这也表明降水条件所导致的土壤 pH 的差异对土壤碳氮循环功能基因丰度的影响可能远远超过了养分的影响。本研究中位于中部的砂生槐灌丛所处海拔最低,年均温和 pH 在所有灌丛类型中最高,降雨量适中,土壤有机碳和全氮含量最低,不及其他灌丛类型 1/2,但其功能基因丰度比碳氮含量最高的雪层杜鹃灌丛高。这些结果表明较高的功能基因丰度以及适宜的温度、湿度和 pH 条件,可能加速了土壤中有机碳氮养分库的分解,不利于碳氮养分的累积。综合以上,这些结果表明青藏高原土壤碳氮养分库和矿化作用受土壤 pH、气候、植被和功能微生物多因素的共同调控,这些结果为准评估青藏高原土壤碳、氮库及其动态平衡提供了重要参考。

本研究中,土壤 CO_2 释放速率、净氮矿化速率与碳氮矿化基因丰度之间没有显著的正相关关系。类似地,不少研究发现在 DNA 水平上功能基因丰度与碳氮循环转化速率无显著相关。如汪小兰等^[54]发现紫色水稻土的硝化作用活性与 AOA 和 AOB 的基因拷贝数无显著相关性。肖海兵^[55]研究发现侵蚀区土壤细菌丰度显著高于沉积区,但有机碳矿化速率显著低于沉积区;刘琪等^[56]也发现微生物生物量较低的土壤在培养初期

(前 20 天) CO_2 排放速率是高微生物生物量土壤的 1.1—6.1 倍。此外,土壤中不同碳氮转化过程耦合发生,矿化和硝化作用的产物可作为其他反应过程的底物被消耗,如土壤有机氮矿化所释放的无机氮,也会进一步被其他土壤微生物同化利用,导致净矿化速率测定值低于实际的氮矿化速率。此外,在碱性土壤中有机碳分解矿化所释放的 CO_2 还可以被碱性物质吸收,以碳酸盐的形式保存在土壤中,从而降低碱性土壤的 CO_2 排放速率。因此,未来研究可利用碳氮稳定性同位素示踪技术进一步区分土壤碳氮转化具体过程(矿化、同化等)的转化速率,为高原土壤的碳氮管理提供理论指导。

土壤中碳、氮循环存在强烈的耦合关系,土壤微生物驱动的碳氮耦联作用机制也是土壤微生物生态研究的热点之一^[57]。本研究发现参与碳、氮矿化的基因类群之间存在显著的正相关关系,表明碳氮循环过程互相依赖,紧密联系。土壤中碳氮的周转受其计量比的控制^[58],在氮素充足的条件下,土壤中较高的植物残体投入量及其较低的碳氮比导致微生物更倾向于选择“新鲜”碳源底物,进而减少了原有有机碳的矿化^[59];反之,在氮素受限条件下,高碳氮比的植物残体可能会增加微生物对无机氮素的需求,刺激土壤原有有机质的分解^[60]。本研究发现土壤 C:N 与 CO_2 释放、净矿化速率呈显著正相关,这也进一步证明了上述推断。同样,土壤微生物自身也维持相对稳定的 CNP 比值,据估计,全球土壤微生物的 CNP 比值的平均值为 60:7:1^[61]。显然,青藏高原碳氮元素循环紧密耦合,调控和驱动生物地球化学过程,加剧了其过程的复杂性和不确定性^[57]。

土壤中大多数微生物都参与土壤关键元素的生物地球化学过程,但这些微生物种类繁多,数量巨大,哪些微生物优先参与、如何参与仍不清楚^[62]。本研究利用高通量定量 PCR 技术,对青藏高原不同灌丛类型下参与土壤 C、N 循环的多个功能基因丰度进行了表征,一定程度上也代表了参与 C、N 循环的功能微生物的多样性及其潜在功能活性,未来还要结合宏基因组学、宏转录组学和地球化学分析技术等对土壤碳、氮元素的耦合作用过程和调控机理开展深入研究。

4 结论

青藏高原喜马拉雅山-冈底斯山地区不同灌丛类型土壤的碳氮含量、碳氮矿化速率及其相关功能基因的丰度有显著差异,位于东南部的雪层杜鹃和香柏灌丛区比位于中西部的变色锦鸡儿、金露梅和砂生槐灌丛具有更高的土壤有机碳含量、全氮含量、 CO_2 释放及净氮矿化速率,但碳、氮矿化基因丰度更低。土壤有机碳、全氮含量、 CO_2 释放速率、净氮矿化速率与年平均降雨量显著正相关,表明降水条件的改变对土壤碳氮元素赋存及其矿化过程有重要的影响。土壤碳氮矿化基因丰度与土壤 pH 呈显著的正相关,同时 pH 与年平均降雨量、湿润指数和土壤含水率均为显著负相关,这意味着青藏高原暖湿化背景下,降水条件改变可能会通过影响土壤 pH 来调节碳氮循环相关功能微生物的丰度和活性,从而对灌丛地区的土壤养分和灌丛的分布产生重要影响。同时,碳、氮矿化相关功能基因丰度在各类群间呈现显著的正相关关系,进一步证实了土壤碳氮循环过程间紧密的耦合关系,这些结果为准确评估青藏高原土壤碳、氮库及其动态平衡提供了重要参考。

参考文献 (References):

- [1] 洛桑·灵智多杰. 青藏高原环境与发展概论. 北京: 中国藏学出版社, 1996.
- [2] 于应文, 胡自治, 徐长林, 张德罡. 东祁连山高寒灌丛植被类型与分布特征. 甘肃农业大学学报, 1999, 34(1): 12-17.
- [3] Liu M, Ma Z L. Effects of experimental warming on soil nitrogen transformation in alpine scrubland of eastern Qinghai-Tibet Plateau, China. The Journal of Applied Ecology, 2021, 32(6): 2045-2052.
- [4] 刘美, 马志良. 青藏高原东部高寒灌丛生物量分配对模拟增温的响应. 生态学报, 2021, 41(0): 1421-1430.
- [5] 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.
- [6] Wang X W, Li X Z, Hu Y M, Lv J J, Sun J, Li Z M, Wu Z F. Effect of temperature and moisture on soil organic carbon mineralization of predominantly permafrost peatland in the Great Hing'an Mountains, Northeastern China. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(7): 1057-1066.
- [7] Zarraonaindia I, Smith D P, Gilbert J A. Beyond the genome: community-level analysis of the microbial world. Biology & Philosophy, 2013, 28(2): 261-282.

- [8] Vanwonderghem I, Jensen P D, Ho D P, Batstone D J, Tyson G W. Linking microbial community structure, interactions and function in anaerobic digesters using new molecular techniques. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 27: 55-64.
- [9] Mo F, Ren C J, Yu K L, Zhou Z H, Phillips R P, Luo Z K, Zhang Y Y, Dang Y T, Han J, Ye J S, Vinay N, Liao Y C, Xiong Y C, Wen X X. Global pattern of soil priming effect intensity and its environmental drivers. *Ecology*, 2022, 103(11): e3790.
- [10] 方熊, 刘菊秀, 张德强, 刘世忠, 褚国伟, 赵亮. 降水变化、氮添加对鼎湖山主要森林土壤有机碳矿化和土壤微生物碳的影响. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(4): 531-538.
- [11] 王其兵, 李凌浩, 白永飞, 邢雪荣. 气候变化对草甸草原土壤氮素矿化作用影响的实验研究. *植物生态学报*, 2000, 24(6): 687-692.
- [12] Xiao D, Huang Y, Feng S Z, Ge Y H, Zhang W, He X Y, Wang K L. Soil organic carbon mineralization with fresh organic substrate and inorganic carbon additions in a red soil is controlled by fungal diversity along a pH gradient. *Geoderma*, 2018, 321: 79-89.
- [13] Zhang S H, Chen D D, Sun D S, Wang X T, Smith J L, Du G Z. Impacts of altitude and position on the rates of soil nitrogen mineralization and nitrification in alpine meadows on the eastern Qinghai - Tibetan Plateau, China. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48(4): 393-400.
- [14] Song D F, Li H Y, Li J P, Li X Q, Luo Y C. Experimental simulation on migration and conversion of organophosphorus by pH value in aquitard. *World Geology*, 2011, 30(1): 121-127.
- [15] 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.
- [16] Wang C H, Han X G, Xing X R. Effects of grazing exclusion on soil net nitrogen mineralization and nitrogen availability in a temperate steppe in Northern China. *Journal of Arid Environments*, 2010, 74(10): 1287-1293.
- [17] Xiao H Y, Liu B, Yu Z P, Wan X H, Sang C P, Zhou F W, Huang Z Q. Seasonal dynamics of soil mineral nitrogen pools and nitrogen mineralization rate in different forests in subtropical China. *The Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(3): 730-738.
- [18] Zhang J, Cai Z, Müller C. Terrestrial N cycling associated with climate and plant-specific N preferences: a review. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(3): 488-501.
- [19] Hua T, Wang X M. Temporal and spatial variations in the climate controls of vegetation dynamics on the Tibetan Plateau during 1982 - 2011. *Advances in Atmospheric Sciences*, 2018, 35(11): 1337-1346.
- [20] Chapin III F S, Zavaleta E S, Eviner V T, Naylor R L, Vitousek P M, Reynolds H L, Hooper D U, Lavorel S, Sala O E, Hobbie S E, Mack M C, Díaz S. Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 2000, 405(6783): 234-242.
- [21] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 2014, 515(7528): 505-511.
- [22] 褚海燕, 王艳芬, 时玉, 吕晓涛, 朱永官, 韩兴国. 土壤微生物生物地理学研究现状与发展态势. *中国科学院院刊*, 2017, 32(6): 585-592.
- [23] 张森, 刘俊杰, 刘株秀, 顾海东, 李禄军, 金剑, 刘晓冰, 王光华. 黑土区农田土壤氮循环关键过程微生物基因丰度的分布特征. *土壤学报*, 2022, 59(5): 1258-1269.
- [24] Stevenson F J, Cole M A. *Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York: Wiley, 1999.
- [25] Peñuelas J, Poulter B, Sardans J, Ciais P, van der Velde M, Bopp L, Boucher O, Godderis Y, Hinsinger P, Llusia J, Nardin E, Vicca S, Obersteiner M, Janssens I A. Human-induced nitrogen - phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 1-10.
- [26] Graham E B, Knelman J E, Schindlbacher A, Siciliano S, Breulmann M, Yannarell A, Beman J M, Abell G, Philippot L, Prosser J, Foulquier A, Yuste J C, Glanville H C, Jones D L, Angel R, Salminen J, Newton R J, Bürgmann H, Ingram L J, Hamer U, Siljanen H M P, Peltoniemi K, Potthast K, Bañeras L, Hartmann M, Banerjee S, Yu R Q, Nogaro G, Richter A, Koranda M, Castle S C, Goberna M, Song B, Chatterjee A, Nunes O C, Lopes A R, Cao Y P, Kaisermann A, Hallin S, Strickland M S, Garcia-Pausas J, Barba J, Kang H, Isobe K, Papaspyrou S, Pastorelli R, Lagomarsino A, Lindström E S, Basiliko N, Nemergut D R. Microbes as engines of ecosystem function: when does community structure enhance predictions of ecosystem processes? *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 214.
- [27] 徐新良, 张亚庆. 中国气象背景数据集. 中国科学院资源环境科学数据中心数据注册与出版系统 (<http://www.resdc.cn/DOI>), 2017.
- [28] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [29] He J Z, Shen J P, Zhang L M, Zhu Y G, Zheng Y M, Xu M G, Di H J. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing Archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2364-2374.
- [30] Raison R J, Connell M J, Khanna P K. Methodology for studying fluxes of soil mineral-N *in situ*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(5): 521-530.
- [31] 刘四义, 张晓平, 贾淑霞, 孙冰洁, 陈升龙. 一种室内培养条件下采用封闭动态系统测定培养物质的 CO₂ 产生速率的方法: 中国, 201410035448.7. 2014-01-24.
- [32] Zheng B X, Zhu Y G, Sardans J, Peñuelas J, Su J Q. QMEC: a tool for high-throughput quantitative assessment of microbial functional potential in C, N, P, and S biogeochemical cycling. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(12): 1451-1462.
- [33] Benbi D K, Richter J. A critical review of some approaches to modelling nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35(3): 168-183.
- [34] 彭海英, 李小雁, 童绍玉. 干旱半干旱区草原灌丛化研究进展. *草业学报*, 2014, 23(2): 313-322.

- [35] Hibbard K A, Archer S, Schimel D S, Valentine D W. Biogeochemical changes accompanying woody plant encroachment in a subtropical savanna. *Ecology*, 2001, 82(7): 1999-2011.
- [36] Santonja M, Fernandez C, Proffit M, Gers C, Gauquelin T, Reiter I M, Cramer W, Baldy V. Plant litter mixture partly mitigates the negative effects of extended drought on soil biota and litter decomposition in a Mediterranean oak forest. *Journal of Ecology*, 2017, 105(3): 801-815.
- [37] García-Palacios P, Prieto I, Ourcival J M, Hättenschwiler S. Disentangling the litter quality and soil microbial contribution to leaf and fine root litter decomposition responses to reduced rainfall. *Ecosystems*, 2016, 19(3): 490-503.
- [38] A'Bear A D, Jones T H, Kandeler E, Boddy L. Interactive effects of temperature and soil moisture on fungal-mediated wood decomposition and extracellular enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 151-158.
- [39] 谭向平, 申卫军. 降水变化和氮沉降影响森林叶根凋落物分解研究进展. *生态学报*, 2021, 41(02): 444-455.
- [40] 苟小林, 周青平, 陈有军, 魏小星, 涂卫国. 青藏高原不同气候区高寒沙地两种优势植物及其根际土壤的养分特征. *植物生态学报*, 2018, 42(1): 133-142.
- [41] Singh B K, Bardgett R D, Smith P, Reay D S. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(11): 779-790.
- [42] Bernhard-Reversat F. Soil nitrogen mineralization under a *Eucalyptus* plantation and a natural *Acacia* forest in Senegal. *Forest Ecology and Management*, 1988, 23(4): 233-244.
- [43] Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [44] Shi Y, Li Y T, Xiang X J, Sun R B, Yang T, He D, Zhang K P, Ni Y Y, Zhu Y G, Adams J M, Chu H Y. Spatial scale affects the relative role of stochasticity versus determinism in soil bacterial communities in wheat fields across the North China Plain. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1-12.
- [45] Tsiknia M, Paranychanakis N V, Varouchakis E A, Nikolaidis N P. Environmental drivers of the distribution of nitrogen functional genes at a watershed scale. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(6): fiv052.
- [46] Hu H W, Zhang L M, Dai Y, Di H J, He J Z. pH-dependent distribution of soil ammonia oxidizers across a large geographical scale as revealed by high-throughput pyrosequencing. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(8): 1439-1449.
- [47] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, He J Z. Ammonia-oxidizing Archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 1032-1045.
- [48] 乔沙沙. 庞泉沟针叶林微生物群落结构与碳代谢功能特征[D]. 太原: 山西大学, 2017.
- [49] Slessarev E W, Lin Y, Bingham N L, Johnson J E, Dai Y, Schimel J P, Chadwick O A. Water balance creates a threshold in soil pH at the global scale. *Nature*, 2016, 540(7634): 567-569.
- [50] Morugán-Coronado A, García-Orenes F, McMillan M, Pereg L. The effect of moisture on soil microbial properties and nitrogen cyclers in Mediterranean sweet orange orchards under organic and inorganic fertilization. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 158-167.
- [51] Chen Y L, Kou D, Li F, Ding J Z, Yang G B, Fang K, Yang Y H. Linkage of plant and abiotic properties to the abundance and activity of N-cycling microbial communities in Tibetan permafrost-affected regions. *Plant and Soil*, 2019, 434(1): 453-466.
- [52] Che R X, Deng Y C, Wang F, Wang W J, Xu Z H, Hao Y, Xue K, Zhang B, Tang L, Zhou H K, Cui X. Autotrophic and symbiotic diazotrophs dominate nitrogen-fixing communities in Tibetan grassland soils. *Science of the Total Environment*, 2018, 639: 997-1006.
- [53] 斯贵才, 王光鹏, 雷天柱, 张更新, 夏燕青, 陈芳荣. 青藏高原东北缘土壤微生物群落结构变化. *干旱区研究*, 2015, 32(05): 849-855.
- [54] 汪小兰. 紫色水稻土中的硝化作用与硝化微生物[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [55] 肖海兵. 黄土高原侵蚀与植被恢复驱动下土壤有机碳矿化与固定特征及其微生物作用机制[D]. 北京: 中国科学院大学(中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心), 2019.
- [56] 刘琪, 李宇虹, 李哲, 魏晓梦, 祝贞科, 吴金水, 葛体达. 不同水分条件和微生物生物量水平下水稻土有机碳矿化及其影响因子特征. *环境科学*, 2021, 42(5): 2440-2448.
- [57] 吴金水, 葛体达, 胡亚军. 稻田土壤关键元素的生物地球化学耦合过程及其微生物调控机制. *生态学报*, 2015, 35(20): 6626-6634.
- [58] Chen R R, Senbayram M, Blagodatsky S, Myachina O, Dittler K, Lin X G, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Soil C and N availability determine the priming effect: microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Global Change Biology*, 2014, 20(7): 2356-2367.
- [59] Hagedorn F, Spinnler D, Siegwolf R. Increased N deposition retards mineralization of old soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(12): 1683-1692.
- [60] Bloor J M G, Niboyet A, Leadley P W, Barthes L. CO₂ and inorganic N supply modify competition for N between co-occurring grass plants, tree seedlings and soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(3): 544-552.
- [61] Cleveland C C, Liptzin D. C: N: P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 2007, 85(3): 235-252.
- [62] Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 184-199.