#### DOI: 10.20103/j.stxb.202502250389

肖红,景媛媛,徐长林,鱼小军.春季休牧对东祁连山高寒草甸土壤胞外酶活性和微生物代谢限制的影响.生态学报,2025,45(17): - . Xiao H, Jing Y Y, Xu C L, Yu X J.The effects of spring rest-grazing on soil extracellular enzyme activities and microbial metabolic limitation in alpine meadows of the Eastern Qilian Mountains.Acta Ecologica Sinica,2025,45(17): - .

# 春季休牧对东祁连山高寒草甸土壤胞外酶活性和微生 物代谢限制的影响

# 肖 红,景媛媛,徐长林,鱼小军\*

甘肃农业大学草业学院/草业生态系统教育部重点实验室,兰州 730070

摘要:精准休牧期的确定对于高寒草甸冷季牧场可持续利用和科学管理具有重要意义。土壤胞外酶活性及微生物代谢限制是 评价土壤质量的重要参数,但其对东祁连山高寒草甸春季不同时期休牧的响应规律尚不清楚。以当地传统休牧期为对照 (CK),设置了土壤解冻临界期(ST1)、土壤解冻后期(ST2)、牧草返青初期(RG1)和牧草返青后期(RG2)开始休牧处理。分别 在传统休牧时间开始时(2022年6月1日)和牧草生长旺季(2022年7月28日)测定了土壤理化指标和碳(C)、氮(N)和磷(P) 获得酶活性,使用土壤酶化学计量比评估了微生物的代谢限制。结果表明,与CK相比,土壤解冻期休牧(ST1和ST2)可显著抑 制6月份和7月份土壤C获得酶活性(β-1,4-葡糖苷酶和纤维素二糖水解酶)、N获得酶(β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨 酸氨基肽酶)和P获得酶(酸性磷酸酶)活性,显著降低土壤酶C:P比和酶N:P比。矢量分析结果表明,与CK相比,土壤解冻 期休牧缓解了微生物C和N限制。Mantel检验和随机森林分析结果表明,土壤温度、土壤渗水速率和可利用氮含量可能是春 季不同时期休牧处理影响微生物C和N限制的主要因子。研究结果为东祁连山高寒草甸冷季牧场精准休牧期的确定提供了 数据支持。

关键词:春季休牧;高寒草甸;土壤胞外酶活性;微生物代谢限制

# The effects of spring rest-grazing on soil extracellular enzyme activities and microbial metabolic limitation in alpine meadows of the Eastern Qilian Mountains

XIAO Hong, JING Yuanyuan, XU Changlin, YU Xiaojun\*

College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou 730070, China

**Abstract:** The precise determination of rest-grazing periods is of great significance for the sustainable utilization and scientific management of cold-season pastures in alpine meadow. Soil extracellular enzyme activities and microbial metabolic limitations serve as critical parameters for assessing soil quality, yet their response patterns to different spring rest-grazing periods in alpine meadows of the eastern Qilian Mountains remain unclear. This study used the traditional local rest-grazing period as the control (CK), spring rest-grazing treatments were initiated at rest-grazing soil surface began to thaw (ST1), soil thawing depth was >10 cm (ST2), plant upper ground re-greening (coverage reached 30%—40%) (RG1), re-green plant coverage reached 80% (RG2). Soil physicochemical properties and the soil carbon (C), nitrogen (N), and phosphorus (P) acquisition enzymes activities were measured on 1 June (the local traditional rest-grazing time) and 28 July (the vigorous grass growing season) in 2022, we evaluated microbial metabolic limitations using soil enzymatic stoichiometry. The results showed that rest-grazing during the soil thawing periods (ST1 and ST2) significantly inhibited soil

收稿日期:2025-02-25; 网络出版日期:2025-00-00

基金项目:国家自然科学基金项目(32301509,32460356);甘肃农业大学公招博士科研启动基金项目(GAU-KYQD-2021-01)

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

C-acquiring enzyme activities ( $\beta$ -1, 4-glucosidase and  $\beta$ -D-cellobiosidase), N-acquiring enzyme activities ( $\beta$ -1, 4-N-acetylglucosaminidase and L-leucine aminopeptidase), and P-acquiring enzyme activity (acid phosphatase), as well as significantly decreased enzyme C:P and N:P ratios in both June and July. Moreover, vector analysis showed that rest-grazing during the soil thawing periods (ST1 and ST2) alleviated microbial C and N limitations compared to the control. Mantel tests and random forest analysis demonstrated that soil temperature, soil infiltration rate, and available nitrogen content were the primary factors influencing microbial C and N limitations. These findings provide data support for determining optimal

Key Words: spring rest-grazing; alpine meadow; soil extracellular enzyme activity; microbial metabolic limitation

resting grazing periods in cold-season pastures of the eastern Qilian Mountains.

土壤微生物分泌胞外酶来催化有机质的降解、转化和矿化,为自身提供可利用的养分<sup>[1-2]</sup>。目前,研究最 为广泛的土壤胞外酶主要有与碳(C)循环相关的β-1,4-葡糖苷酶(β-1,4-glucosidase,BG)、纤维素二糖水解 酶(β-D-cellobiosidase,CBH),与氮(N)循环相关的β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(β-1,4-Nacetylglucosaminidase,NAG)、亮氨酸氨基肽酶(L-leucine aminopeptidase,LAP)和与磷(P)循环相关的酸性磷 酸酶(Acid phosphatase,AP)<sup>[3-5]</sup>,这五种胞外酶常被用于评价土壤微生物 C、N、P 获得能力的强弱<sup>[6]</sup>。然而, 单种胞外酶活性的分析不能全面评估土壤微生物群落整体行为或营养状况,所以通常会用酶化学计量比来揭 示微生物的代谢需求<sup>[7-8]</sup>。Moorhead 等<sup>[7-8]</sup>通过计算土壤酶化学计量比的矢量长度和矢量角度来量化土壤 微生物能量(C)和养分(N或P)的相对限制。此后,该方法被广泛应用于评估不同生态系统土壤微生物代谢 限制状况,但在不同区域尺度下表现出不一致性,其主要与特定生态系统植被类型和土壤环境因子密切 相关<sup>[9-10]</sup>。

放牧是草地管理的重要措施。近年来,土壤生物学指标(如土壤微生物生物量和胞外酶活性)逐渐成为 表征不同放牧强度及管理方式对草地生态系统土壤质量影响的重要参数<sup>[11-12]</sup>。有研究表明,土壤胞外酶活 性对放牧的响应比土壤理化特性更为敏感<sup>[12]</sup>,因此,建立基于土壤生物学指标的评价体系对于阐明不同放牧 强度对草地生态系统土壤质量的影响具有重要意义。放牧主要通过家畜的采食、践踏和粪尿返还直接或间接 地改变土壤环境条件,从而影响土壤 C、N 和 P 的有效性<sup>[13]</sup>。有研究得出,放牧强度的增加,显著降低了内蒙 古荒漠草原土壤 C、N、P 获得酶活性<sup>[14]</sup>。Zhao 等<sup>[15]</sup>的研究得出,长期轻度放牧显著降低了内蒙古典型草原 土壤 C 获得酶 BG 活性,但显著增加了 N 和 P 获得酶活性,而潘森等<sup>[16]</sup>在青藏高原高寒草原的研究发现,与 对照相比,轻度放牧对土壤 C、N、P 获得酶活性均无显著影响,而中度放牧显著降低了土壤 N 和 P 获得酶活 性。造成这些结果不一致的原因可能与生态系统类型、放牧强度以及放牧引起的植被斑块分布和土壤资源异 质性等因素有关。

高寒草甸是青藏高原面积最大的草地类型,约占青藏高原可利用草地面积的35%,是高原畜牧业生产的 主要基地之一<sup>[17]</sup>。由于海拔高、气候寒冷、放牧时间长及枯草期长等原因,导致该区草地退化主要发生在冷 季牧场<sup>[18-19]</sup>。然而青藏高原高寒草甸冷季牧场休牧时期多集中于牧草返青期,忽略了早春土壤解冻后放牧 家畜对草地的践踏和剥离。因此,精准休牧期的确定对于高寒草甸冷季牧场可持续利用和科学管理具有重要 意义。前人研究表明,土壤解冻期休牧可提高祁连山高寒草甸土壤有效养分含量、土壤细菌多样性和植物群 落生产力<sup>[20-21]</sup>。然而,祁连山高寒草甸土壤微生物代谢限制对春季不同休牧时期的响应规律尚不清楚。

基于此,本研究依据土壤解冻程度和牧草返青情况,对祁连山高寒草甸冷季牧场春季开始休牧的时间进 行精准划分,研究休牧时间变化对土壤 C、N、P 获得酶活性和微生物代谢限制的影响规律,进一步探究不同休 牧时期下土壤微生物代谢限制的调控因子,其结果为揭示土壤微生物代谢限制对春季不同休牧时期的响应机 理奠定理论基础,为祁连山高寒草甸冷季牧场精准休牧期的确定提供理论参考。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验地概况

试验地设于青藏高原东缘、东祁连山高寒草甸(37°40′N,102°32′E),行政区域属于甘肃省武威市天祝藏族自治县抓喜秀龙乡。该地区海拔为2960m,气候寒冷潮湿,空气稀薄,太阳辐射强,年均温-0.1℃,1月最冷(均温-18.3℃),7月最热(均温12.7℃),0℃以上年积温约1380℃;年均降水量416 mm,多为地形雨,集中于7—9月;年蒸发量1592 mm。仅有冷暖两季之分。研究区属于高寒草甸冷季牧场,冬春放牧,夏季休牧。该草地是以线叶嵩草(*Kobresia capillifolia*)建群的高寒草甸,土壤类型为亚高山草甸土,土层厚度80—120 cm, 土壤 pH 7.26—7.38。

### 1.2 试验设计

2018 年在天祝高山草原生态系统试验站邻近牧户的天然草地上布置了春季不同休牧时期的试验平台。 按照当地天然草地土壤解冻深度和牧草返青情况,划分了5个不同的休牧起始时间:1)土壤解冻临界期休牧, ST1(土壤表层开始解冻);2)土壤解冻后期休牧,ST2(土壤解冻深度>10 cm),3)牧草返青初期休牧,RG1(地 上部分由枯黄色变绿,返青盖度为30%—40%);4)牧草返青后期休牧,RG2(建群种高度达约2 cm,返青盖度 达 80%);5)传统休牧,CK(优势牧草高5 cm)。

通过观测发现研究区在3月18日左右土壤开始解冻,4月1日左右土壤解冻深度大于10 cm,4月5日左 右牧草开始返青,5月1日左右牧草返青高度达2 cm 左右,5月20日左右优势牧草高度达到5 cm 左右。以 观测时间为基础,确定放牧时长(表1)。根据试验点牧民的草场地形及实际情况,设置放牧家畜组合形式: 1头成年牦牛+1只成年藏羊为1个放牧组合单位,每小区放牧4个(牦牛+藏羊)组合单位,传统休牧小区为 16个(牦牛+藏羊)。以草地利用率为80%进行样地面积计算(表1),放牧试验小区使用围栏围封,之后每年 3月1日开始放牧家畜,并在设定的始休期开始休牧。由于年际气候变化影响,草地产草量每年都具有差异 性,试验小区在围封之后面积固定,放牧试验则根据草地实际草量情况及土壤解冻情况增减家畜放牧组合单 位,草地利用率为80%时开始休牧。

Table 1 Test design and plot condition								
处理 Treatments	始牧期 Beginning of grazing	始休 Beginning of	期 rest-grazing	放牧天数	放牧家畜头数 Livestock number	样地面积 Plot area/m <sup>2</sup>		
		样地条件	日期	Grazing time/d				
		Plot conditions	Date	_				
ST1	3月1日	土壤解冻临界期	3月18日	18	4 头牦牛+4 只藏羊	1881		
ST2	3月1日	土壤解冻后期	4月1日	32	4 头牦牛+4 只藏羊	3344		
RG1	3月1日	牧草返青初期	4月15日	46	4 头牦牛+4 只藏羊	4807		
RG2	3月1日	牧草返青后期	5月1日	62	4 头牦牛+4 只藏羊	6478		
СК	3月1日	当地传统休牧	5月20日	81	16头牦牛+16 只藏羊	33855		

表1 试验设计和样地条件

ST1:土壤解冻临界期 Soil surface began to thaw;ST2:土壤解冻后期 Soil thawing depth was more than 10 cm;RG1:牧草返青初期 Re-greening coverage reached 30%—40%;RG2:牧草返青后期 Re-greening coverage reached 80%;CK:对照 Control

#### 1.3 土壤样品采集

土壤取样于休牧试验的第5年进行,在传统休牧时间开始时(2022年6月1日)和牧草生长旺季(2022年7月28日)取样两次。每次取样时,在各休牧处理小区中用直径3.5 cm的土钻随机取6钻0—10 cm 土样,混合成1个土壤样品,然后过2 mm 筛取出根系和杂物,将过筛后的混合土样分成三份,一份放置于4℃冰箱低温保存,测定土壤含水量和土壤无机氮(铵态氮和硝态氮)含量,另一份于-20℃冰箱储存用于土壤可溶性有机碳含量和土壤酶活性的测定,剩余的土壤自然风干后测定土壤化学性质。

使用土壤温湿度仪(TDR350, Spectrum, USA)测得土壤温度(Soil temperature, ST);土壤含水量(Soil water content, SWC)采用烘干法测定;采用环刀法测得土壤容重(Soil bulk density, BD);土壤渗水速率(Soil infiltration rate, IR)以平均渗透速率(mm/min)表示,为达到稳渗时的渗透总量(mm)/达到稳渗时的时间(min)。

土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)采用重铬酸钾氧化-外加热法测定;土壤可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)用总有机碳分析仪测定(MultiN/C2100, Analytik Jena, Germany);土壤全氮(Total nitrogen, TN)用元素分析仪(Vario MAX CN; Elementar, Hanau, Germany)测定。土壤无机氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量采用 AA3 流动分析仪(AutoAnalyser 3; Seal Analytical, Norderstedt, Germany);土壤全磷(Total phosphorus, TP)和速效磷(Olsen-P)采用钼锑抗比色法测定<sup>[22]</sup>。

1.5 土壤酶活性测定

用荧光光度法来测定 BG、CBH、NAG、LAP 和 AP 的潜在活力<sup>[8]</sup>。称取 2.75 g 待测土壤样品,转移至 150 mL的三角瓶中,加入 91 mL 醋酸缓冲液(0.05 mol/L,用醋酸和 NaOH 调节 pH 同土壤 pH 值),置于 200 r/ min 摇床振荡 30 min,接种 250 μL 不同的荧光标记底物(表 2)到深孔板中,吸取 800 μL 土壤悬液到 96 孔深 孔板中,25 ℃培养箱中暗培养 4 h,在酶标仪上进行读数(激发光波长 365 nm,放射光波长 450 nm)。BG、CBH、NAG、LAP 和 AP 的荧光读数根据 4-甲基伞形酮(4-Methylumbelliferone,MUB)标准曲线换算成 MUB 的 浓度,通过土壤干重和反应时间计算酶的活性,单位为  $\mu$ mol  $h^{-1}$  g<sup>-1</sup>。

表 2 土壤胞外酶及其荧光标记底物

Table 2 Soil extracellular enzymes and their substrates

酶的名称 Enzyme name	反应底物 Substrate	酶的名称 Enzyme name	反应底物 Substrate
BG	4-甲基伞形酮酰-β-D-吡喃葡萄糖苷	LAP	L-亮氨酰 7-氨基-4-甲基香豆素盐酸盐
СВН	4-甲基伞形酮-B-D-纤维素二糖苷	AP	4-甲基伞形酮磷酸酯
NAG	4-甲基香豆素-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷		

BG:β-1,4-葡糖苷酶 β-1,4-glucosidase; CBH:纤维素二糖水解酶 β-D-cellobiosidase; NAG: β-1,4-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

1.6 数据分析

酶 C:N=ln(BG+CBH)/ln(NAG+LAG) 酶 C:P=ln(BG+CBH)/lnAP 酶 N:P=ln(NAG+LAG)/lnAP

采用矢量分析表征微生物的代谢限制<sup>[8]</sup>。向量长度(Vector length)表示微生物 C 限制, Vector length 越大,表示微生物受到 C 限制的程度越大,向量角度(Vector angle)表示微生物 N 或 P 限制,当 Vector angle 大于 45°时,表示微生物受到 P 限制,且角度越大,P 限制程度越大;当 Vector angle 小于 45°时,表示微生物受到 N 限制,且角度越小,N 限制程度越大。Vector length 和 Vector angle 通过以下公式计算:

 $X = \ln(BG + CBH) / \ln(BG + CBH + AP)$ 

 $Y = \ln(BG + CBH) / \ln(BG + CBH + NAG + LAP)$ 

Vector length = 
$$\sqrt{X^2 + Y^2}$$

Vector angle (°) = Degrees {ATAN2 [X, Y] }

两因素方差分析检验不同休牧时期处理,取样时间及其交互作用对土壤理化指标、酶活性及其化学计量 比、微生物代谢限制的影响。采用 Duncan 多重比较(P<0.05)检验不同休牧时期处理间的差异,方差分析均 使用 SPSS 22.0 进行。为了分析土壤理化性质与微生物代谢限制之间的关联,使用 R 4.2.2 中的"linkET"包进 行了 Mantel 检验。进一步分析土壤理化指标对土壤微生物代谢限制的相对重要性,使用 R 4.2.2 中的 "randomForest"包进行了随机森林分析。数据作图采用 GraphPad 8.0.1 进行。

# 2 结果与分析

## 2.1 不同休牧时期对土壤理化性质的影响

不同休牧时期处理对 ST、SWC、IR、TP、SOC、DOC、NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N、和 NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N 和 TP 的影响显著(表 3, *P*<0.05)。 当休牧时间从土壤解冻临界期(ST1)推迟到传统休牧期(CK)时,ST 和 IR 呈上升趋势,而 SWC 呈下降趋势 (表 4, *P*<0.05)。与传统休牧期(CK)相比,早春休牧处理,特别是 ST1,显著增加了 SOC 含量,但显著降低了 NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N 含量(*P*<0.05)。土壤 DOC 和 NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N 含量受取样时间的影响显著(表 3, *P*<0.05),早春休牧处理(ST1 和 ST2)显著减少了 6 月份土壤 DOC 和 NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N 含量,而 7 月份 DOC 和 NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N 含量分别在 ST1 和 ST2 处理下 表现出最高值。土壤 BD、TN 和 Olsen-P 含量在各处理间无显著差异(*P*>0.05)。

#### 表 3 两因素方差分析不同休牧时期、取样时间及其交互作用对土壤理化指标的影响

Table 3 Two-way ANOVA showing the effects of different rest-grazing periods, sampling dates and their interaction  $(R \times D)$  on soil physiochemical properties

指标	休牧  Bast arrain	时期	取样时间 Semalian data		休牧时期×取样时间 Rest-grazing periods×Sampling dates	
Index	Kest-grazing periods		Sampin	ig dates		
mucx	F	P	F	Р	F	Р
ST	101.26	* * *	33.25	* * *	9.73	* * *
SWC	2.79	*	3.88	0.06	1.78	0.15
BD	1.52	0.21	32.53	* * *	3.46	*
IR	26.38	* * *	11.04	* *	0.41	0.79
SOC	46.19	* * *	311.99	* * *	6.26	* * *
DOC	7.64	* * *	4.01	*	6.36	* * *
TN	2.71	*	0.02	0.89	0.21	0.93
NH <sup>+</sup> <sub>4</sub> -N	19.93	* * *	353.09	* * *	26.32	* * *
$NO_3^N$	2.54	*	67.11	* * *	5.90	* * *
TP	3.23	*	0.02	0.90	0.27	0.89
Olsen-P	0.89	0.47	30.90	* * *	3.41	*

ST:土壤温度 soil temperature;SWC:土壤含水量 Soil water content;BD:土壤容重 Soil bulk density;IR:土壤渗水速率 Soil water infiltration rate; SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon;DOC:可溶性有机碳 Dissolved organic carbon;TN:土壤全氮 Soil total nitrogen;NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N:土壤铵态氮 Soil ammonium concentration;NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N:土壤硝态氮 Soil nitrate concentration;TP:土壤全磷 Soil total phosphorus;\*表示 P<0.05;\*\*表示 P<0.01;\*\*\*表示 P<0.001

#### 表 4 不同休牧时期对土壤理化性质的影响

Table 4 Effects of rest-grazing on soil physiochemical properties at different start times

指标	6月 June						
Index	ST1	ST2	RG1	RG2	СК		
ST∕℃	$20.89{\pm}0.02{\rm c}$	$20.26{\pm}0.02{\rm d}$	$20.89{\pm}0.03{\rm c}$	$22.32{\pm}0.04\mathrm{b}$	22.81±0.03a		
SWC/%	25.30±0.38ab	26.50±1.20a	$23.39{\pm}0.71{\rm bc}$	$23.66{\pm}0.72\mathrm{b}$	$21.07{\pm}0.84{\rm c}$		
BD/ (g/cm <sup>3</sup> )	0.64±0.03a	0.67±0.02a	0.69±0.03a	0.67±0.01a	$0.64 \pm 0.02a$		
IR/(mm/min)	$0.44 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$0.45 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$0.51{\pm}0.04{\rm b}$	0.62±0.03a	0.63±0.05a		
SOC/(g/kg)	96.84±0.84a	$87.57{\pm}0.73\mathrm{b}$	$88.84{\pm}1.47\mathrm{b}$	$86.54{\pm}0.50\mathrm{b}$	$86.10{\pm}0.32\mathrm{b}$		
DOC/(g/kg)	$0.45 \pm 0.04 \mathrm{b}$	$0.43 \pm 0.05 \mathrm{b}$	$0.56 \pm 0.06 \mathrm{ab}$	$0.51 \pm 0.03 \mathrm{ab}$	$0.64 \pm 0.04a$		
TN/ (g/kg)	6.55±0.24a	6.87±0.07a	6.63±0.11a	6.33±0.45a	6.24±0.27a		
$NH_4^+-N/(mg/kg)$	$22.04{\pm}1.32\mathrm{b}$	36.29±2.02a	$24.15{\pm}1.38\mathrm{b}$	34.63±0.28a	34.48±0.56a		
$NO_3^-N/(mg/kg)$	$5.16{\pm}0.37{\rm c}$	$6.23 \pm 0.24 \mathrm{b}$	$5.14 \pm 0.20c$	$5.60{\pm}0.13{\rm bc}$	6.92±0.06a		
TP/(g/kg)	0.85±0.03a	$0.82 \pm 0.02 \mathrm{ab}$	$0.80 \pm 0.01  \mathrm{ab}$	$0.79{\pm}0.02{\rm bc}$	$0.73 \pm 0.02 \mathrm{c}$		
Olsen-P/(mg/kg)	25.18±2.10a	22.76±1.77a	24.91±1.10a	24.61±2.12a	24.91±1.06a		

6		生态	学 报		45 卷
续表					
指标			7月 July		
Index	ST1	ST2	RG1	RG2	СК
ST∕℃	$21.31{\pm}0.08{\rm c}$	$21.50{\pm}0.23{\rm bc}$	$21.40{\pm}0.29{\rm bc}$	$22.08{\pm}0.25{\rm b}$	22.97±0.02a
SWC/%	23.76±0.33a	23.19±0.31ab	22.99±0.21ab	$22.87{\pm}0.29\mathrm{b}$	$22.60{\pm}0.17\mathrm{b}$
BD/ $(g/cm^3)$	0.76±0.02a	0.75±0.01a	$0.67 \pm 0.00 \mathrm{b}$	0.76±0.02a	$0.74 \pm 0.02a$
IR/(mm/min)	$0.51 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$0.46 \pm 0.00 \mathrm{b}$	$0.56 \pm 0.04 \mathrm{b}$	$0.68 \pm 0.04a$	$0.73 \pm 0.04 a$
SOC/(g/kg)	85.70±0.74a	$78.18{\pm}0.65{\rm c}$	$80.03{\pm}1.33{\rm bc}$	$78.67 \pm 0.46c$	$82.00\pm0.31\mathrm{b}$
DOC/(g/kg)	0.56±0.02a	$0.39 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$0.42 \pm 0.02 \mathrm{b}$	$0.55 \pm 0.02 \mathrm{b}$	0.53±0.02a
TN/ (g/kg)	6.98±0.24a	6.50±0.21ab	$6.50 \pm 0.14$ ab	$6.26 \pm 0.09 \mathrm{b}$	$6.39 \pm 0.27 \mathrm{ab}$
$NH_4^+-N/(mg/kg)$	$15.63 \pm 0.21 \mathrm{b}$	$15.86{\pm}0.33\mathrm{b}$	21.09±0.30a	16.12±0.69b	20.90±0.13a
$NO_3^N/(mg/kg)$	$8.02 \pm 0.72 \mathrm{b}$	10.31±0.55a	$8.59 \pm 0.65 \mathrm{ab}$	8.23±0.74ab	$6.91 \pm 0.71 \mathrm{b}$
TP/(g/kg)	0.86±0.03a	$0.83 \pm 0.01 \mathrm{ab}$	$0.83 \pm 0.02 \mathrm{ab}$	$0.78 \pm 0.02 \mathrm{bc}$	$0.72 \pm 0.02 \mathrm{c}$
Olsen-P/(mg/kg)	28.04±1.98a	30.33±2.21a	26.95±0.43a	29.42±1.67a	25.62±0.25a

表中不同小写字母表示同一取样时间下各处理间差异显著(P<0.05)

# 2.2 不同休牧时期对土壤胞外酶活性的影响

不同休牧时期、取样时间及其交互作用显著影响土壤胞外酶活性(表 5, P<0.05)。与传统休牧期(CK)相比, ST1和 ST2处理显著抑制了 C 获得酶 BG和 CBH的活性(图 1, P<0.05), 6月和7月 RG1处理下 C 获得酶 BG 的活性显著低于 CK, 而 RG2处理下 C 获得酶 CBH 的活性显著低于 CK(P<0.05)。随着休牧时期的推迟, 6月份 N 获得酶 NAG 的活性呈显著增强趋势, 而7月份呈先增强后减弱的趋势, 在 RG2处理下表现出最大值, 6月份和7月份 N 获得酶 LAP 的活性随着休牧时期的推迟均呈显著增强趋势, 在 CK 处理下表现出最大值(P<0.05)。与传统休牧期(CK)相比, ST1和 ST2处理显著抑制了 P 获得酶 AP 的活性(P<0.05)。

and stoichiometry, soil microbial metabolic limitation	
	<b>i</b> ]

表 5 两因素方差分析不同休牧时期、取样时间及其交互作用对土壤酶活性及其化学计量比、微生物代谢限制的影响

	休牧时期 Rest-grazing periods		取样时间 Sampling dates		休牧时期×取样时间 Rest-grazing periods×Sampling dates	
指标						
Index	F	Р	F	Р	F	Р
BG	38.89	* * *	15.86	* * *	4.02	* *
СВН	44.77	* * *	52.71	* * *	3.96	* *
NAG	53.68	* * *	39.47	* * *	15.90	* * *
LAP	52.29	* * *	7.15	*	5.73	* * *
AP	10.20	* * *	64.02	* * *	2.54	*
酶 C:N	4.56	* *	7.73	* *	7.35	* * *
酶 C:P	37.18	* * *	2.93	0.09	3.84	* *
酶 N:P	38.72	* * *	3.14	0.08	11.10	* * *
向量长度 Vector length	18.90	* * *	7.68	* *	4.94	* *
向量角度 Vector angle	26.85	* * *	4.19	*	12.05	* * *

# 2.3 不同休牧时期对土壤酶化学计量比和微生物代谢限制的影响

土壤酶 C:N 比受取样时间的显著影响(表 5, P<0.01),与传统休牧期(CK)相比,6月 RG2 处理显著提高 土壤酶 C:N 比(图 2, P<0.05),而 7月份不同休牧处理(ST1、ST2、RG1 和 RG2)土壤酶 C:N 比与 CK 均无显著 差异(P>0.05)。土壤酶 C:P 比和酶 N:P 比不受取样时间的显著影响(表 5, P>0.05),与 CK 相比,ST1、ST2 和 RG1 处理显著降低了土壤酶 C:P 比和酶 N:P 比(图 2, P<0.05)。

采用矢量分析对不同休牧时期下不同月份土壤微生物 C 和养分(N/P)限制进行了评估(图 3),可以得出向量角度均小于 45°,说明该生态系统微生物受到 N 限制,微生物 N 限制的程度随向量角度的减小而增强。



图 1 不同休牧时期对土壤胞外酶活性的影响



ST1:土壤解冻临界期 Soil surface began to thaw;ST2:土壤解冻后期 Soil thawing depth was more than 10 cm;RG1:牧草返青初期 Re-greening coverage reached 30%—40%;RG2:牧草返青后期 Re-greening coverage reached 80%;CK:对照 Control;图中不同小写字母表示同一取样时间下 各处理间差异显著(P<0.05)

向量长度表征微生物 C 限制,与 CK 相比,ST1、ST2 和 RG1 处理显著降低了 6 和 7 月份的向量长度,说明春季 休牧期提前可缓解微生物 C 限制(P<0.05),与 CK 相比,ST1 和 ST2 处理显著增加了 6 和 7 月份的向量角度, 说明春季休牧期提前可缓解微生物 N 限制(P<0.05)。

2.4 土壤理化指标与土壤胞外酶活性、微生物代谢限制间的关系

RDA 分析结果显示,6月份和7月份土壤理化性质对土壤 C、N、P 获得酶活性和化学计量比的解释度均较高,分别为92.80%和87.06%(图4)。其中,土壤物理性质 ST、IR 对6月份和7月份土壤 C、N、P 获得酶活性和化学计量比 变化的相对解释度均较高,7月份土壤 NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N 含量对土壤 C、N、P 获得酶活性和化学计量比 变化的相对解释度均较高。相关性分析结果表明,ST 和 IR 与土壤 C、N、P 获得酶活性、酶 C:P 比、酶 N:P 比 显著正相关(图4,P<0.05),SWC 与 BG、CBH、LAP 活性以及酶 N:P 比显著负相关(P<0.05), m SOC 含量与 CBH、LAP 活性和酶 N:P 比显著正相关(P<0.05), m SOC 含量与其负相关。7月份土 壤 NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N 含量与 BG、CBH、LAP 活性以及酶 C:N 比和酶 C:P 比显著正相关(P<0.05), m Olsen-P 含量与 BG、CBH、LAP 活性以及酶 C:N 比和酶 C:P 比显著正相关(P<0.05), m Olsen-P 含量与 BG、CP KLAP 活性以及酶 C:N 比和酶 C:P 比显著正相关(P<0.05), m Olsen-P 含量与 BG、CP KLAP 活性以及酶 C:N 比和酶 C:P 比显著正相关(P<0.05), m Olsen-P 含量与 BG、CP KLAP 活性以及酶 C:N 比和酶 C:P KLAP 活性以及酶 C:N KLAP 活性以及 KLAP S

为探究不同取样时间下不同休牧时期对土壤理化性质与微生物代谢限制间关系的影响,对6和7月份土 壤理化性质与微生物代谢限制分别进行了 Mantel 检验(图5)。结果表明,6月份向量长度与 ST、IR、TN 和 NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N 含量显著相关(P<0.01),向量角度与 ST、DOC 和 NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N 含量显著相关(P<0.05);而7月份向量长度



图 2 不同休牧时期对土壤酶化学计量比的影响

Fig.2 Effects of rest-grazing on soil enzyme stoichiometry at different start times



图 3 矢量分析不同休牧时期对土壤微生物代谢限制的影响

**Fig.3 Vector analysis showing the effects of rest-grazing on soil microbial metabolic limitation at different start times** 向量长度(Vector length)表示微生物 C 限制;向量角度(Vector angle)表示微生物 N 限制

与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 Olsen-P 含量显著相关(P<0.05),向量角度与 SWC、IR、TP 和 SOC 含量显著相关(P<0.05)。进 一步采用随机森林模型分析土壤理化指标对微生物代谢限制的相对贡献(图 5),结果得出,6 月份 ST 和 IR 对向量长度的相对贡献较大,而 ST 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量对向量角度的相对贡献较大;而 7 月份 ST、IR、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 Olsen-P 含量对向量长度的相对贡献较大,而 IR 和 SOC 含量对向量角度的相对贡献较大。

# 3 讨论

#### 3.1 土壤胞外酶活性对春季休牧的响应

土壤 BG 水解纤维二糖及其他短链 β-1,4-糖苷键寡糖,最终生成葡萄糖,而 CBH 可从纤维素分子链的末端切割纤维二糖,逐步降解纤维素<sup>[2]</sup>。因此,BG 和 CBH 活性通常可作为土壤微生物活性和有机质分解速率的重要指标<sup>[23]</sup>。在碳循环旺盛的土壤中,BG 和 CBH 的活性较高,有助于有机质的降解与养分的释放<sup>[24]</sup>。



图4 土壤理化性质与土壤胞外酶活性之间的关系(彩图)

#### Fig.4 The relationship between soil physiochemical properties and soil extracellular enzyme activities

ST:土壤温度 soil temperature;SWC:土壤含水量 Soil water content;BD:土壤容重 Soil bulk density;IR:土壤渗水速率 Soil water infiltration rate; SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon;DOC:可溶性有机碳 Dissolved organic carbon;TN:土壤全氮 Soil total nitrogen;NH<sup>+</sup><sub>4</sub>-N:土壤铵态氮 Soil ammonium concentration;NO<sup>-</sup><sub>3</sub>-N:土壤硝态氮 Soil nitrate concentration;TP:土壤全磷 Soil total phosphorus;BC:β-1,4-葡糖苷酶 β-1,4glucosidase;CBH:纤维素二糖水解酶 β-D-cellobiosidase;NAC:β-1,4-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;\*表示 P<0.05;\*\*表示 P<0.01;\*\*\*表示 P<0.001

本研究表明,与传统休牧期相比,土壤解冻期休牧可显著降低土壤 BG 和 CBH 活性。推迟休牧时间意味着冷季牧场在春季仍然受到放牧压力,导致植被生长受限,根系和地上生物量减少。由于植物光合作用受限,碳输入减少,植物向土壤中释放的根系分泌物(根系渗漏碳)减少,使得微生物更依赖于土壤有机质作为碳源,从而增强 C 获取酶的活性,以促进 SOC 分解、增加 DOC 含量来满足土壤微生物对碳源的需求。本研究中相关性分析的结果也印证了这一点,6 月份 SOC 含量与 BG 和 CBH 活性显著负相关,而 DOC 含量与 CBH 活性显著正相关。



11

与土壤 C 获得酶活性的变化趋势一致,春期休牧时期提前(ST1和ST2)可显著降低土壤 N和P 获得酶活 性。Li 等<sup>[23]</sup>在內蒙古荒漠草原的研究结果表明,长期的放牧可显著降低土壤 NAG 和 LAP 的活性,重度放牧 强度下可显著降低 AP 活性,而 Zhao 等<sup>[15]</sup>在內蒙古典型草原上的放牧试验结果表明,轻度和中度放牧强度可 显著提高土壤 N 获得酶(NAG+LAP)活性,重度放牧强度下无显著影响;AP 酶活性仅在轻度放牧下显著升 高,中度和重度放牧强度下与对照无显著差异。因此,土壤 N和P 获得酶活性对放牧管理措施的响应可能在 不同草地类型存在差异。土壤 N和P 获得酶活性的变化通常服从资源分配理论,即随着可利用养分含量的 增加,微生物会减少其获得酶的分泌<sup>[26]</sup>。然而,先前的研究表明,在微生物对可利用养分含量的响应尚未达 到阈值之前,土壤酶活性与可利用养分含量呈正相关<sup>[27]</sup>。与本研究结果一致,6月份土壤 NO<sub>3</sub>-N 含量与 NAG 和 LAP 活性呈显著正相关。6 月初为传统休牧期刚停止放牧的时期,与土壤解冻期休牧相比,延长放牧时间 后,牲畜的排泄物(粪尿)会为土壤微生物提供额外的有机物和无机养分,提高微生物活性,进而增强土壤 N 和 P 获得酶的分泌能力<sup>[28–29]</sup>。此外,本研究发现 7 月份土壤 NO<sub>3</sub>-N 含量与 NAG 活性呈显著负相关,Olsen-P 含量与 AP 活性也呈显著负相关。与土壤解冻期休牧相比,传统休牧期长时间的放牧会减少地上生物量,休 牧后会促进新一轮草本植物再生长,为了满足生长需求,地上草本植物吸收更多的可利用养分,而微生物则可 能通过增强 N 和 P 获得酶的合成和分泌,以提高土壤养分的可利用性,以满足自身代谢和草本植物生长的 需求。

3.2 土壤酶化学计量比及微生物代谢限制对春季休牧的响应

本研究矢量分析结果发现,在所有处理中,矢量角度均小于 45°(图 4),表明东祁连山高寒草甸冷季牧场 土壤微生物养分代谢主要受 N 限制,而非 P 限制。基于全球 Meta 分析表明,酶 C:N:P 的平均比值接近 1:1: 1<sup>[30]</sup>,而本研究所有处理中微生物生物量酶 C:N:P 的比值约为 1:1.16:1.08,这说明 N 获取酶活性相对较高,进 一步表明土壤微生物养分需求相对受 N 限制。这一结果与青藏高原冻土区以及全球尺度陆地生态系统的研 究结果一致<sup>[31-32]</sup>。然而,也有研究表明,在中国的森林生态系统和黄土高原典型的干旱半干旱生态系统中, 土壤微生物主要受 P 限制<sup>[9,33]</sup>。与传统休牧期相比,土壤解冻期休牧的向量角度显著增加(微生物 N 限制降 低),同时向量长度(微生物 C 限制)也显著降低,这说明土壤解冻期休牧缓解了高寒草甸冷季牧场土壤微生 物的 C 和 N 限制。前人关于放牧对草原土壤微生物 C 和养分相对限制的影响结果存在一定的差异。例如, Zhang 等<sup>[28]</sup>研究结果发现,随着放牧强度的增加,缓解了典型草原土壤微生物的 P 限制,而荒漠草原重度放 牧强度下土壤微生物由 P 限制转为 N 限制,而荒漠草原和典型草原重度放牧强度下微生物 C 限制均显著增 加。然而,Zhao 等<sup>[15]</sup>研究结果表明,中度放牧可加剧内蒙古典型草原土壤微生物 N 限制,而轻度放牧使得微 生物由 N 限制转为 P 限制;轻度和重度放牧可加剧微生物 C 限制,而重度放牧缓解了微生物 C 限制。这些试 验结果的差异可能主要是不同试验对放牧率的具体量化标准存在差异,其次,不同草地生态系统在植被类型 和土壤理化性质上也存在差异。

# 3.3 土壤微生物碳、氮限制与土壤理化特性间的关系

土壤有效养分含量(NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N、NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N和Olsen-P)、pH值和SWC是影响陆地生态系统土壤微生物代谢限制的主要因素<sup>[10,15]</sup>。土壤有效养分是直接影响胞外酶分泌的因素,这与资源分配假说相一致,即土壤微生物根据养分可利用性分泌相应的胞外酶。因此,土壤有效养分含量及其化学计量比是影响微生物代谢限制的主导因素<sup>[34]</sup>。Li等<sup>[35]</sup>研究发现,土壤有效氮磷比是影响微生物 C限制的主要因素,而土壤有效磷含量在改变微生物 P限制中起关键作用。Bi等<sup>[36]</sup>试验结果表明,无论是在根际还是非根际土壤中,土壤有效养分对微生物 N限制的直接效应最为显著。本研究 Mantel 检验结果也表明,NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N和NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N含量与土壤微生物 C和N限制存在显著的相关关系。

然而,本研究随机森林的结果得出,土壤物理性质 ST 和 IR 对微生物 C 和 N 限制的相对贡献总体要高于 土壤养分含量。长时间放牧导致地上植被覆盖度降低,进而使得土壤温度升高,而土壤温度通过调节土壤微 生物活性直接控制养分的矿化和吸收<sup>[37-38]</sup>。前人研究结果表明,土壤温度升高会显著加速高寒草甸土壤有 机质的分解速率和养分的矿化速率<sup>[39-40]</sup>。土壤微生物活性的增强意味着对 C 和养分元素的需求增加,以满 足自身代谢需要。然而,土壤温度的升高也可能会导致草本植物根系生理代谢相关酶活性的升高,加速植物 生长,植物对养分需求也会增加,植物和微生物对养分的竞争加剧,使得微生物 C 和 N 相对限制加剧。因此, 本研究中传统休牧期显著升高了土壤温度,微生物 C 和 N 代谢限制也显著增加。此外,本研究也发现传统休 牧期处理下土壤渗水速率更高,这与放牧踩踏通常导致土壤压实,降低渗水速率的现象相反<sup>[41]</sup>。有研究表 明,适度的放牧可以通过改善根系生长和增加有机质输入来促进土壤水分入渗<sup>[42-43]</sup>。春季推迟休牧时间可 增加侧根伸展范围和根长密度,从而使根系在表层土壤中积累,这有助于在传统休牧期内提高土壤水分入渗 速率<sup>[44]</sup>。土壤渗水速率升高通常伴随着土壤通气性的改善,研究表明,良好的通气条件有利于好氧微生物的 活动,从而加速有机质的分解。微生物活性的增加就伴随着需求的增加,进而可能激发微生物 C 和养分代谢 的相对限制。同时,渗水速率升高可能增加氮素的淋失风险,从而导致微生物氮源不足,加剧氮代谢限制。

#### 4 结论

本研究评估了东祁连山高寒草甸春季不同时期休牧对土壤酶活性和微生物代谢限制的影响。研究发现, 与传统休牧期相比,土壤解冻期休牧(ST1和ST2)可显著降低土壤碳、氮、磷获得酶活性及土壤酶 C:P 比和酶 N:P 比,缓解了微生物 C 和 N 限制。春季不同时期休牧引起土壤温度、土壤渗水速率和可利用氮含量的变化 是驱动微生物 C 和 N 限制的重要因子。从土壤微生物代谢限制的角度来看,土壤解冻期休牧是维持东祁连 山高寒草甸冷季牧场可持续利用的有效管理措施。

#### 参考文献(References):

- [1] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(3): 391-404.
- [2] 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.
- [3] Acosta-Martínez V, Pérez-Guzmán L, Johnson J M F. Simultaneous determination of β-glucosidase, β-glucosaminidase, acid phosphomonoesterase, and arylsulfatase activities in a soil sample for a biogeochemical cycling index. Applied Soil Ecology, 2019, 142: 72-80.
- [4] Geisseler D, Horwath W R, Joergensen R G, Ludwig B. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms-A review. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(12): 2058-2067.
- 5] Duff S M G, Sarath G, Plaxton W C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. Physiologia Plantarum, 1994, 90(4): 791-800.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Moorhead D L, Rinkes Z L, Sinsabaugh R L, Weintraub M N. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme-based decomposition models. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 223.
- [9] Cui Y X, Bing H J, Moorhead D L, Delgado-Baquerizo M, Ye L P, Yu J L, Zhang S P, Wang X, Peng S S, Guo X, Zhu B, Chen J, Tan W F, Wang Y Q, Zhang X C, Fang L C. Ecoenzymatic stoichiometry reveals widespread soil phosphorus limitation to microbial metabolism across Chinese forests. Communications Earth & Environment, 2022, 3: 184.
- [10] Xiao H, Rong Y P, Li P Z, Liu Y L. Soil moisture drives the response of soil microbial nutrient limitation to N and P additions in an Inner Mongolian meadow steppe. European Journal of Soil Biology, 2024, 120: 103601.
- [11] Avellaneda-Torres L M, Melgarejo L M, Narváez-Cuenca C E, Sánchez J. Enzymatic activities of potato crop soils subjected to conventional management and grassland soils. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2013.
- Teimouri M, Mohamadi P, Jalili A, Dick W A. Assessing soil quality through soil chemical properties and enzyme activities in semiarid area, Iran.
   Applied Ecology and Environmental Research, 2018, 16(3): 2113-2127.
- [13] Zhou G Y, Zhou X H, He Y H, Shao J J, Hu Z H, Liu R Q, Zhou H M, Hosseinibai S. Grazing intensity significantly affects belowground carbon and nitrogen cycling in grassland ecosystems: a meta-analysis. Global Change Biology, 2017, 23(3): 1167-1179.
- [14] 吴佳芯,李邵宇,韩国栋.不同放牧强度下荒漠草原土壤化学计量失衡与微生物碳利用效率的联系.应用生态学报,2024,35(8): 2108-2118.
- [15] Zhao Y Y, Liu L, Ding Y, Guo L Z, Guo J. The pattern of soil microbe metabolic limitation and carbon use efficiency was altered by light grazing in typical steppe. Global Ecology and Conservation, 2025, 58: e03456.
- [16] 潘森,卜嘉玮,甘安琪,尚振艳,郭丁,杨晓霞,董全民,牛得草.放牧强度对高寒草地土壤微生物胞外酶化学计量的影响.草地学报,

2023, 31(6): 1780-1787.

- [17] 任继周. 草地农业生态学. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [18] 马玉寿,李世雄,王彦龙,孙小弟,景美玲,李松阳,李林栖,王晓丽. 返青期休牧对退化高寒草甸植被的影响. 草地学报, 2017, 25 (2): 290-295.
- [19] Shen H, Dong S K, DiTommaso A, Xiao J N, Zhi Y L. N deposition may accelerate grassland degradation succession from grasses- and sedgesdominated into forbs-dominated in overgrazed alpine grassland systems on Qinghai-Tibetan Plateau. Ecological Indicators, 2021, 129: 107898.
- [20] Jing Y Y, Bai M M, Xu C L, Wang L, Yang H, Jiang J C, Wang H, Yu X J. Advancing the spring rest-grazing time until the critical period when soil thaws promotes soil recovery and bacterial diversity in alpine meadows. Ecological Indicators, 2022, 139: 108929.
- [21] Ma K K, Xu C L, Yu X J, Liu Y Y, Yang H, Wei K T, Jing Y Y, Jiang J C, Wang H. Rest grazing start from the critical period of soil thawing optimizes plant community characteristics and grazsland grazing capacity in alpine meadows. Ecological Engineering, 2022, 183: 106763.
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [23] Cui Y X, Moorhead D L, Guo X B, Peng S S, Wang Y Q, Zhang X C, Fang L C. Stoichiometric models of microbial metabolic limitation in soil systems. Global Ecology and Biogeography, 2021, 30(11): 2297-2311.
- [24] 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.
- [25] Li S Y, Zhang B, Li Y N, Zhao T Q, Zheng J H, Qiao J R, Zhang F, Fadda C, Jarvis D, Bergamini N, Bai K Y, Zhang Z W, Han G D, Zhao M L. Long-term grazing exacerbates soil microbial carbon and phosphorus limitations in the desert steppe of Inner Mongolia: A study based on enzyme kinetics. Applied Soil Ecology, 2024, 194: 105192.
- [26] Sinsabaugh R L, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, 43: 313-343.
- [27] Chen H, Li D J, Zhao J, Xiao K C, Wang K L. Effects of nitrogen addition on activities of soil nitrogen acquisition enzymes: a meta-analysis. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2018, 252: 126-131.
- [28] Zhang X R, Zhang W Q, Sai X, Chun F, Li X J, Lu X X, Wang H R. Grazing altered soil aggregates, nutrients and enzyme activities in a Stipa kirschnii steppe of Inner Mongolia. Soil and Tillage Research, 2022, 219: 105327.
- [29] Lin B, Zhao X R, Zheng Y, Qi S, Liu X Z. Effect of grazing intensity on protozoan community, microbial biomass, and enzyme activity in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. Journal of Soils and Sediments, 2017, 17(12): 2752-2762.
- [30] 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.
- [31] Kou D, Yang G B, Li F, Feng X H, Zhang D Y, Mao C, Zhang Q W, Peng Y F, Ji C J, Zhu Q A, Fang Y T, Liu X Y, Xu-Ri, Li S Q, Deng J, Zheng X H, Fang J Y, Yang Y H. Progressive nitrogen limitation across the Tibetan alpine permafrost region. Nature Communications, 2020, 11 (1): 3331.
- [32] Meyerholt J, Sickel K, Zaehle S. Ensemble projections elucidate effects of uncertainty in terrestrial nitrogen limitation on future carbon uptake. Global Change Biology, 2020, 26(7): 3978-3996.
- [33] Xiao L, Liu G B, Li P, Li Q, Xue S. Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation during secondary succession of natural grassland on the Loess Plateau, China. Soil and Tillage Research, 2020, 200: 104605.
- [34] Bowles T M, Acosta-Martínez V, Calderón F, Jackson L E. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 68: 252-262.
- [35] Li J W, Xie J B, Zhang Y, Dong L B, Shangguan Z P, Deng L. Interactive effects of nitrogen and water addition on soil microbial resource limitation in a temperate desert shrubland. Plant and Soil, 2022, 475(1): 361-378.
- [36] Bi B Y, Wang Y, Wang K, Zhang H, Fei H Y, Pan R P, Han F P. Changes in microbial metabolic C- and N- limitations in the rhizosphere and bulk soils along afforestation chronosequence in desertified ecosystems. Journal of Environmental Management, 2022, 303: 114215.
- [37] Smith S W, Woodin S J, Pakeman R J, Johnson D, van der Wal R. Root traits predict decomposition across a landscape-scale grazing experiment. New Phytologist, 2014, 203(3): 851-862.
- [38] Schmidt I K, Jonasson S, Michelsen A. Mineralization and microbial immobilization of N and P in Arctic soils in relation to season, temperature and nutrient amendment. Applied Soil Ecology, 1999, 11(2/3): 147-160.
- [39] 白洁冰, 徐兴良, 宋明华, 何永涛, 蒋婧, 石培礼. 温度和氮素输入对青藏高原三种高寒草地土壤碳矿化的影响. 生态环境学报, 2011, 20(5): 855-859.
- [40] 赵宁,张洪轩,王若梦,杨满业,张艳,赵小宁,于贵瑞,何念鹏.放牧对若尔盖高寒草甸土壤氮矿化及其温度敏感性的影响.生态学报, 2014,34(15):4234-4241.
- [41] Lei L, Zheng J H, Li S Y, Yang L S, Wang W Q, Zhang F, Zhang B. Soil hydrological properties' response to long-term grazing on a desert steppe in Inner Mongolia. Sustainability, 2023, 15(23): 16256.
- [42] Dai Y J, Guo J Y, Li Y Q, Dong Z, Li H L. Soil physical and chemical properties affected by long-term grazing on the desert steppe of Inner Mongolia, China. Catena, 2022, 211: 105996.
- [43] Chen C F, Zou X, Singh A K, Zhu X A, Jiang X J, Wu J N, Liu W J. Effects of grazing exclusion on soil infiltrability and preferential flow in savannah livestock grazing systems. Land Degradation & Development, 2022, 33(16): 3010-3022.
- [44] Jing Y Y, Xiao H, Xu C L, Wang L, Chen Y Z, Liu Y Y, Yu X J. Rest-grazing before soil thawing alters the below-ground distribution and extent of rooting in Carex subalpine meadows. Land Degradation & Development, 2024, 35(2): 798-812.