



论 文

高寒草甸土壤微生物与酶活性及有机碳库对氮添加和降水改变的关联响应

张法伟^{1*}, 李红琴², 宋成刚³, 祝景斌⁴, 独威⁵, 梁乃申⁶, 司梦可¹, 樊博¹, 周华坤¹, 李英年¹

1. 中国科学院西北高原生物研究所高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810008

2. 洛阳师范学院生命科学学院, 洛阳 471934

3. 青海省工程咨询中心, 西宁 810001

4. 枣庄学院旅游与资源环境学院, 枣庄 277160

5. 生态环境部环境发展中心, 北京 100029

6. 日本国立环境研究所, 筑波 3058506

* 联系人, E-mail: mywing963@126.com

收稿日期: 2025-01-16; 接受日期: 2025-04-17; 网络版发表日期: 2025-08-22

青海省重点研发与转化计划科技国际合作专项(批准号: 2024-HZ-801)、青海省寒区恢复生态学重点实验室开放课题(批准号: 2023-KF-03)、

河南省自然科学基金(批准号: 242300420170)、国家自然科学基金(批准号: 32471752)和青海省2021昆仑英才-拔尖人才项目资助

摘要 阐明土壤微生物与酶活性对氮沉降及降水格局改变的响应机制, 是预测全球变化背景下高寒草甸碳循环过程的重要科学基础. 本研究依托2017年在青藏高原东北缘建立的高寒草甸氮、水改变模拟实验平台(氮添加 $10\text{g}/(\text{m}^2\text{a})$, 降水 $\pm 50\%$), 分析2024年表层(0~10 cm)与深层(30~40 cm)土壤微生物生物量碳、氮含量(MBC, MBN)、微生物磷脂脂肪酸(PLFA)、酶活性及有机碳(SOC)化学组分的响应规律. 结果表明, 氮添加提高地上生产力及表层SOC和全氮含量, 同时导致表层土壤酸化, 但对地下生物量(BGB)及土壤磷、钾含量无显著影响. MBC, MBN和PLFA在表层稳定但深层下降. 氮添加促进表层脲酶活性, 但抑制水解酶和深层氧化酶活性. 表层缓效SOC提升, 深层活性和惰性SOC下降. pH和BGB通过调控微生物和酶活性影响SOC. 因此, 氮、水改变通过“环境过滤-代谢底物”双重路径调控土壤碳稳定性.

关键词 氮添加, 降水改变, 微生物生物量, 微生物磷脂脂肪酸, 土壤水解酶氧化酶

草地生态系统地处半湿润和半干旱区, 受氮、水资源可利用性的强烈影响, 因此对全球变化十分敏感, 在区域碳循环及社会可持续发展中扮演着重要角色^[1~3]. 大气氮沉降增加和降水格局改变是全球变化的两个重要内容, 深刻影响草地生态系统过程和功能, 驱

动生态系统演变^[4~6]. 地下生态过程和功能是草地生态系统稳定的关键, 却也是系统演变中最难量化的因素^[7~9]. 土壤微生物和胞外酶是土壤碳氮循环的引擎和催化剂^[10,11], 也是土壤质量及其恢复潜力的重要评估指标, 与生态系统稳定及演化联系密切^[12~14]. 高寒

引用格式: 张法伟, 李红琴, 宋成刚, 等. 高寒草甸土壤微生物与酶活性及有机碳库对氮添加和降水改变的关联响应. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 1929–1942

Zhang F W, Li H Q, Song C G, et al. Responses and linkages of soil microbes, enzyme activities, and organic carbon pools to nitrogen addition and precipitation change of an alpine meadow (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2025, 55: 1929–1942, doi: [10.1360/SSV-2025-0015](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0015)

草甸是青藏高原的主体植被类型, 其碳储功能十分重要且绝大部分集中在地下, 0~100 cm土壤有机碳密度达11.7 kg/m², 虽然以相对稳定有机碳组分占优^[15~17], 但受植被-微生物-土壤相互作用驱动而对外源扰动较为敏感, 明晰其土壤有机碳稳定性对全球变化响应至关重要^[18~20]. 由于气候变化和人类活动加剧, 青藏高原的降水和大气氮沉降呈现出增加趋势, 改变了高寒草甸碳氮循环及生态功能, 但其驱动效应受试验年限、站点背景和气候因子调控, 存在较大的不确定性^[21~23]. 因此, 系统研究氮富集和降水变化对高寒草甸土壤微生物、酶活性及有机碳库的驱动机制, 有利于准确预测全球变化背景下高寒草甸生态系统碳循环和碳储功能的演变.

氮添加通常能够提高草地植被地上生产力^[1,6,24], 但根系生产力和土壤有机碳库等地下碳过程的变化表现出增加^[25,26]、不变^[23,27,28]和降低^[3,16,29]的多元响应, 与群落结构、水热状况及本底土壤理化性状密切相关^[3,9,30]. 水分不仅直接参与生理生化反应, 还通过调控土壤氧化还原的状态和底物的溶解及迁移影响草地碳循环及其对氮添加响应^[31,32], 但也有降水变化无显著影响的研究报道^[6,23,33]. 土壤微生物数量、丰度和酶活性驱动土壤有机质转化及养分循环等代谢过程^[34,35], 明晰其对氮、水改变的响应机制是理解地下碳过程多元变化及内在植被-土壤-微生物联动调控的关键. 基于资源分配理论, 养分和水分变化会通过影响植物和微生物的生长策略或土壤理化性状作用于土壤微生物性状及酶活性^[7], 进而调控土壤碳循环速度及碳储功能^[36], 但具有很大变异^[3]. 例如, 有研究发现, 氮添加引起的土壤酸化会降低细菌丰度和多样性, 但对耐受性较强的真菌影响较小, 进而抑制土壤酶活性^[35], 有利于土壤有机碳的积累^[37]. 也有研究表明, 氮添加能够缓解植物和微生物之间的氮素竞争, 增加细菌丰度和微生物生物量氮含量^[7], 加快土壤有机质的矿化^[16]. 抑或二者正负效应相互抵消, 导致土壤有机碳不变^[23,28]. 水分增加可以提高根系生产力和土壤微生物生物量^[32], 减缓氮富集对土壤酶活性的抑制作用^[38], 增加有机碳的稳定性^[31]; 而水分减少对高寒草甸碳交换和土壤有机碳的影响较为有限^[6,19]. 全球变化通常涉及多因子交互作用, 可能产生协同、加和或拮抗等非线性效应^[9,39], 而且综合效应会掩盖单一因子作用, 但目前相关研究多来自单因子试验^[27]或时

间^[19]、空间^[7]梯度调查, 加之土壤采样多集中在表层, 而草地地下碳过程的响应具有显著的层次特异性^[40,41], 增加了研究结论的不确定性. 因此, 多因子交互试验及深层土壤响应的研究匮乏, 限制了对高寒草甸土壤有机碳库演变机制的全面认知, 亟需采用氮、水交互的长期野外试验探讨表层和深层土壤微生物及酶活性的生态响应, 以期揭示高寒草甸植被-微生物-土壤对有机碳库的协同调控.

因此, 本研究依托2017年建立于青藏高原东北缘的高寒草甸氮添加和降水变化的全因子随机区组试验平台, 以植物根系和微生物的土壤集中分布层(0~40 cm)为对象, 研究表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)微生物生物量碳氮含量、微生物磷脂脂肪酸含量和10种主要酶活性及土壤有机碳化学组分的变化特征及环境调控, 以期进一步揭示植被-微生物(酶活性)-土壤有机碳库对大气氮沉降增加和降水格局变化的联动响应机制. 根据前期研究结果发现, 植物根系、土壤养分及微生物集中在表层导致其稳定性相关较高^[6,23], 本文假设氮、水改变主要通过影响深层微生物和酶活性进而驱动土壤碳库. 研究结果可为高寒草甸生态系统碳储功能的评估和区域“双碳行动”提供理论依据和政策建议.

1 材料和方法

1.1 样地概况

试验平台地处青藏高原东北缘, 位于青海海北高寒草地生态系统国家野外科学观测研究站(37.62°N, 101.32°E, 海拔3200 m)附近的高寒草甸冬季牧场. 区域气候为典型的高原大陆性气候, 雨热同季, 年均气温和降水量分别为-1.7℃和580.0 mm. 土壤类型为高山草甸土, 质地为砂壤土. 植被类型为高寒禾草-嵩草草甸, 优势种包括垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、异针茅(*Stipa aliena*)、矮生嵩草(*Kobresia humilis*)、麻花艽(*Gentiana straminea*)和黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)等, 地上净初级生产力约为8月底的400.0 g/m². 有关研究区域气候、土壤和植被的详细信息可参阅相关文献^[42,43].

1.2 试验设计

试验采用随机区组全因子设计, 共3个区组, 18个

小区, 每个区组包括6个处理, 分别为对照(CK)、氮添加(N)、增雨(CK+50%)、减雨(CK-50%)、氮添加增雨(N+50%)和氮添加减雨(N-50%)。每个小区面积为6 m×6 m, 四周设置1 m宽的缓冲带以减少边际效应干扰。氮添加水平为10 g/(m² a), 材料为树脂薄膜缓释尿素(氮含量46.4%), 在每年4月底至5月初雨天来临之前一次性人工均匀撒施。CK-50%处理采用拱形钢构遮雨棚(6 m×6 m×4 m)加凹形树脂透光槽(3 m×0.3 m, 透光率大于99%)实现^[44]。透光槽投影面积为小区面积的一半, 均匀纵向分布在遮雨棚上。透光槽尾端安装集水槽自动汇集截留的降水于桶中, 并在每次有效降水后将桶内水分均匀喷洒至毗邻增雨相关处理小区。该平台于2017年正式运行, 四周架设围栏以防止家畜干扰, 小区每年冬季进行轻度放牧。详细试验设计可参阅相关文献^[6,23]。

1.3 植被和土壤理化性状

2024年9月采集植被和土壤样品。在每个小区随机选取1个0.5 m×0.5 m的样方, 齐地面剪取植被活体部分获取地上样品。利用内径7 cm的根钻在收获植被地上样品的样方内, 按照0~10和30~40 cm采集土柱, 并装入2 mm网袋内清洗后获取现存根系样品。同时, 将2023年10月底埋入的用无根土壤填充的生长袋(网眼2 mm的尼龙网缝制成外径7.0 cm, 长100 cm的圆柱形袋子)取出, 分层剪开清洗后, 获取0~10 cm和30~40 cm的新生根系样品。植被地上样品和现存、新生根系样品放置在65℃的烘箱中分别烘干24和48 h后称重, 以表征地上生物量(AGB, g/m²)、地下生物量(BGB, g/m²)和地下净初级生产力(BNPP, g/m²)。再利用同样根钻按照根系的采样深度获取土壤样品。随机采集3份土壤混合成1份样品, 一部分-20℃冷冻保存用于测定微生物性状及部分酶活性, 一部分经室内风干、过筛等处理后, 测定土壤理化性状。土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾-硫酸外加热法测定, 全氮(TN)通过凯氏定氮法分析, 全磷(TP)和全钾(TK)分别采用硫酸-高氯酸-钼锑抗比色法和电感耦合等离子体发射光谱仪法测定。土壤pH采用水浸法加pH计测定, 土水比1:2.5。土壤质地用激光衍射粒度分析仪(Mastersizer 2000, 英国)测定土壤粒径百分比, 粒径划分为3个组分: 黏粒(clay: <2 μm)、粉粒(silt: 2~20 μm)和砂粒(sand: 20~2000 μm)。

1.4 土壤有机碳化学组分、微生物生物量、磷脂脂肪酸含量和酶活性

土壤有机碳化学组分采用酸水解法将土壤有机碳库分为两个活性程度不同的组分(活性有机碳: LCP1; 缓效有机碳: LCP2)和惰性有机碳组分(RCP)^[45]。土壤微生物生物量用氯仿熏蒸提取后, 用TOC和流动分析仪分别测定其碳含量(MBC)和氮含量(MBN)。

微生物磷脂脂肪酸(PLFA)含量用气相色谱-质谱联用法分析。新鲜冷冻土壤样品经过提取、分离、酯化后, 利用气质联用色谱仪(7890B-5977A, 美国安捷伦)测定微生物PLFA组分及含量。根据高寒草地已有的研究结果^[46], 利用PLFA结构标记指示放线菌(Actinomycetes)、真菌(fungi)、丛植菌根真菌(AMF)、细菌(革兰氏阳性菌(Gram positive)和革兰氏阴性菌(Gram negative)), 并根据色谱峰的面积计算各自含量, 进而表征微生物的群落结构。

蔗糖酶(INV)、纤维素酶(CEL)、脲酶(URE)利用分光光度计测定, 纤维素二糖水解酶(CBH)、α-1,4葡萄糖苷酶(αG)、β-1,4葡萄糖苷酶(βG)、β-1,4木糖苷酶(βX)和β-1,4-N-乙酰基葡萄糖苷酶(NAG)采用微孔板荧光法测定, 过氧化物酶(PER)和多酚氧化酶(PPO)微孔板比色测定。

1.5 数据分析

首先, 采用单因素方差分析和最小显著性差异法(LSD)进行植被生产力、土壤理化、微生物、酶活性及有机碳组分的差异比较; 其次, 基于混合效应线性模型探讨氮、水改变对上述响应因子的驱动特征, 其中, 试验处理为固定效应, 区组为随机效应。由于土壤层次具有显著效应, 因此分别探讨表层和深层响应特征, 以期明晰土壤微生物、酶活性及有机碳的层次分异响应。响应因子均进行自然对数转换以满足数据正态分布要求。混合效应线性模型利用“nlme”软件包的“lme”函数完成。

基于响应比(RR)量化氮、水改变对响应因子的驱动强度。RR能够降低由于小样本容量所导致的方差异质性影响^[47], 适宜表示响应因子的变化量^[48]。RR及其方差(v)的计算公式如下:

$$RR = \ln(\bar{X}_T / \bar{X}_C) = \ln(\bar{X}_T) - \ln(\bar{X}_C), \quad (1)$$

$$v = \frac{S_T^2}{N_T \bar{X}_T^2} + \frac{S_C^2}{N_C \bar{X}_C^2}, \quad (2)$$

其中, $\bar{X}_T$ 和 $\bar{X}_C$ 分别是试验组和对照组的平均值, S_T^2 和 S_C^2 分别为试验组和对照组的标准差, N_T 和 N_C 分别是试验组和对照组的样本量。RR及其95%的置信区间基于随机效应模型利用“metafor”软件包中的“rma”函数计算^[49]。

采用“Vegan”软件包“rda”函数, 基于冗余分析探讨地下生产力和土壤理化等因子对土壤微生物PLFA含量和酶活性变化的驱动特征, 并利用层次分割法(“rdacca.hp”函数)量化因子的相对贡献。采用“pairwise.adonis”函数, 依据土壤微生物PLFA含量和酶活性的Bray-Curtis距离矩阵, 利用置换多元方差分析评估氮、水改变对二者变化的整体影响。最后基于观测因子的RR(因样本量限制通过RR弱化层次差异), 构建植被生产力(AGB, BGB, BNPP)、土壤理化(TN, TP, TK, pH, 土壤质地)、土壤微生物(MBC, MBN, PLFA)、土壤酶(10种酶活性)和土壤有机碳库(LCP1, LCP2, RCP)等潜变量, 采用“plspm”函数, 拟合偏最小二乘法结构方程模型(SEM)探讨氮、水改变对土壤有机碳库的变化的驱动强度和潜在路径。基于潜变量的Cronbach's alpha(>0.7, 以保障测量模型的信度和内部一致性)、观测因子对潜变量的载荷(loading)及拟合度(goodness of fit)对SEM进行优化。所有统计分析在R 4.3.2平台完成。显著性水平依据P值定义为显著($P<0.05$)和临界显著($0.05\leq P<0.10$)。

2 结果

2.1 植被生产力和土壤理化性状的响应

氮、水改变对BGB, BNPP, TP, TK和土壤质地没有显著影响(表1)。AGB和表层SOC受N处理的显著影响, 其中CK-50%处理的AGB(292.4 ± 65.7 g/m², 平均值±标准差, 下同)和表层SOC(58.0 ± 0.6 g/kg)相对最小, AGB和SOC在N和N+50%处理下相对最大(AGB和SOC在此2种处理下均无显著差异), 分别比最小值高约1.1倍和27.6%。相对CK, N处理临界显著($P=0.06$)降低深层BGB约28.7%。表层TN受氮、水交互效应的显著影响, 在N和CK+50%处理下相对最大(~5.0 g/kg)。表层pH在N和N+50%处理下相对最小(~6.3)。相对CK,

N处理的AGB、表层SOC和TN分别升高38.3%, 7.9%(图1)和21.8%, pH降低7.8%。

2.2 土壤微生物生物量碳氮含量和有机碳组分的响应

CK表层MBC和MBN分别为(530.6 ± 88.6)和(100.6 ± 2.8) mg/kg, 分别为深层的4.6和7.8倍; CK表层LCP1, LCP2和RCP分别(9.7 ± 0.8), (7.9 ± 1.2)和(49.5 ± 7.7) g/kg, 约为深层的2倍。氮、水改变没有显著影响MBC和MBN及有机碳组分(表2), 除氮相关(N, N+50%和N-50%)处理的表层LCP2比CK显著高约22%外。另外, 相对CK, N+50%处理的表层MBN临界显著($P=0.07$)下降45.5%, 而表层LCP1临界显著($P=0.07$)升高42.8%。响应比的分析表明, MBC和MBN均表现为负响应(图1), 其中, N+50%, N-50%和CK+50%处理的表层MBN显著下降约41.0%, N处理的表层MBN临界显著($P=0.06$)下降31.4%; N-50%处理显著降低深层MBN(14.2%)和深层LCP1(4.9%), 但显著提高表层LCP2(22.6%)。因此, 氮、水改变降低MBC和MBN及深层LCP1、LCP2和RCP(除CK-50%外), 氮相关处理提高表层LCP1和LCP2。

2.3 土壤微生物磷脂脂肪酸含量的响应

CK表层放线菌、AMF、真菌、革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌的PLFA含量分别约为(12.8 ± 5.8), (4.6 ± 2.9), (5.2 ± 3.7), (36.1 ± 22.3)和(32.9 ± 15.0) nmol/g, 约为深层的2倍。N处理显著影响深层土壤微生物PLFA含量, 除革兰氏阳性细菌外(表3)。响应比的分析表明, 深层土壤微生物PLFA含量对氮、水改变均表现为负响应(图2)。相对CK, N+50%处理的深层土壤放线菌、AMF、真菌、革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌的PLFA含量分别显著降低57.6%, 62.1%, 72.6%, 65.1%和64.5%, N-50%处理的深层土壤真菌、革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌的PLFA含量分别显著降低78.8%, 70.4%和70.3%。因此, 氮、水改变, 尤其N+50%和N-50%处理, 降低深层土壤微生物PLFA含量。

2.4 土壤酶活性的响应

CK的表层INV, CEL, URE, CBH, α G, β G, β X, NAG, PER和PPO分别为(3069.2 ± 208.7), (30.7 ± 5.7)和

表 1 氮添加和降水改变对高寒草甸地上-地下生产力及土壤理化特性影响的混合效应模型F值^{a)}

Table 1 F values from linear mixed-effects models examining the effects of nitrogen addition and precipitation changes on above- and below-ground productivity and soil physicochemical properties in an alpine meadow^{a)}

土壤深度	因子	地上生物量	地下生物量	地下净初级生产力	土壤有机碳	土壤全氮	土壤全磷	土壤全钾	土壤	土壤黏粒	土壤粉粒	土壤砂粒
表层	氮	10.23**	0.03	1.47	5.55*	1.69	0.09	2.18	22.14***	0.09	1.92	0.87
	降水	3.27	0.66	1.39	1.34	0.13	0.19	0.13	2.64	0.06	0.50	0.51
	氮×降水	0.03	0.35	0.44	0.21	5.04*	0.58	0.84	1.27	0.22	0.25	0.40
深层	氮	—	4.38	0.06	0.71	1.67	1.15	0.65	1.06	0.05	0.48	0.24
	降水	—	0.94	1.25	1.27	0.68	2.18	2.17	0.70	0.76	3.36	1.11
	氮×降水	—	1.01	0.64	1.95	0.14	1.13	0.07	0.54	0.05	1.53	0.86

a) “***”, “**”和“*”差异显著性水平 $P<0.001$, $P<0.01$ 和 $P<0.05$

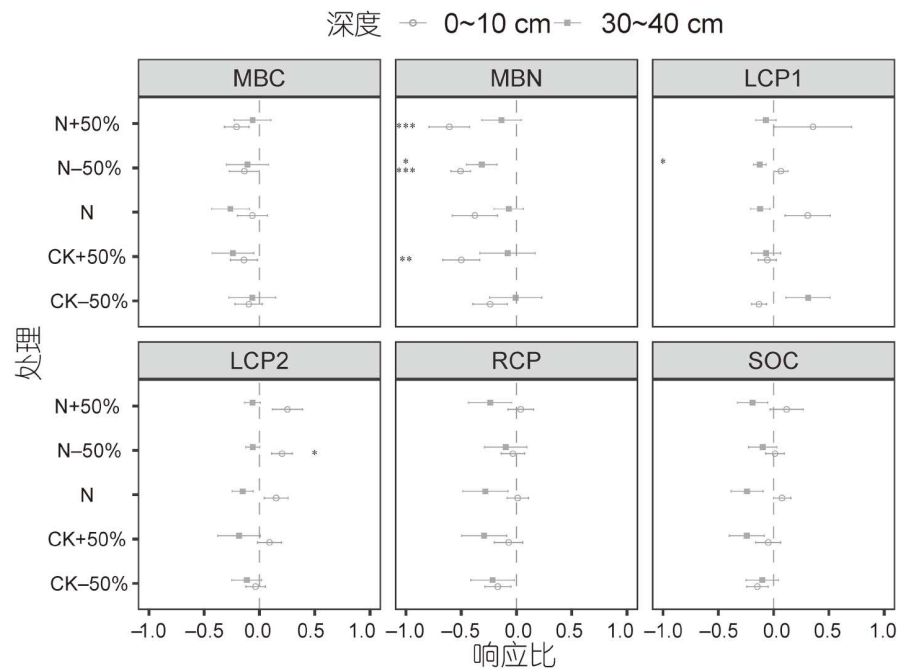


图 1 表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤微生物生物量碳含量(MBC)、氮含量(MBN)及土壤活性有机碳(LCP1)、缓效有机碳(LCP2)、惰性有机碳(RCP)及总有机碳(SOC)对氮、水改变(CK+50%: 增雨50%; CK-50%: 减雨50%; N: 氮添加; N+50%: 氮添加且增雨; N-50%: 氮添加且减雨)的响应比。误差棒为标准差。***, **和*差异显著性水平 $P<0.001$, $P<0.01$ 和 $P<0.05$

Figure 1 Response ratios of the soil microbial biomass carbon (MBC) and nitrogen content (MBN), labile carbon pool (LCP1), slow labile carbon pool (LCP2), recalcitrant carbon pool (RCP), and total organic carbon pool (SOC) of topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) to the changes in nitrogen and precipitation (CK+50%: increased precipitation; CK–50%: decreased precipitation; N: nitrogen addition; N+50%: nitrogen addition with increased precipitation; N–50%: nitrogen addition with decreased precipitation). Error bars are standard deviations. “***”, “**”, and “*” are $P<0.001$, $P<0.01$, and $P<0.05$, respectively

(16.3±2.3) $\mu\text{g}/(\text{g h})$, (126.7±16.9), (419.7±40.5), (165.4±12.2), (86.8±19.4), (125.4±21.1), (0.78±0.51)和(0.37±0.2) $\mu\text{mol}/(\text{g h})$, 表层水解酶活性远大于深层(2.0~31.4倍), 表层氧化酶则相反(0.12倍). 除INV和 βG , 氮、水改变对其他8种酶活性均有显著影响(表4). 几乎所有深层水解酶均表现为负响应(图3). N-50%处

理的表层URE和N处理的表层PPO及CK-50%处理的深层PER表现出正响应, 相对CK三者分别显著升高约73.4%和90.1%及62.2%(图3). 因此, 氮、水改变降低深层土壤水解酶活性, 提高表层URE和PPO活性; 氮相关处理降低深层氧化酶活性, 但增雨和减雨处理则对其表现出正效应.

表 2 氮添加和降水改变对高寒草甸表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤微生物生物量碳氮及有机碳化学组分影响的混合效应模型 F 值^{a)}

Table 2 F values from linear mixed-effects models examining the effects of nitrogen addition and precipitation changes on microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, and soil organic carbon chemical composition in topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) of an alpine meadow^{a)}

土壤深度	因子	微生物生物量碳	微生物生物量氮	活性有机碳	缓效有机碳	惰性有机碳
表层	氮	0.67	4.11	3.99	16.45**	2.42
	降水	1.31	2.82	0.60	1.72	1.24
	氮×降水	0.01	0.48	0.06	0.38	0.41
深层	氮	0.09	0.76	3.28	0.08	0.08
	降水	0.12	0.41	1.07	0.19	0.19
	氮×降水	1.63	0.35	1.61	1.13	1.13

a) “***”差异显著性水平 $P<0.01$

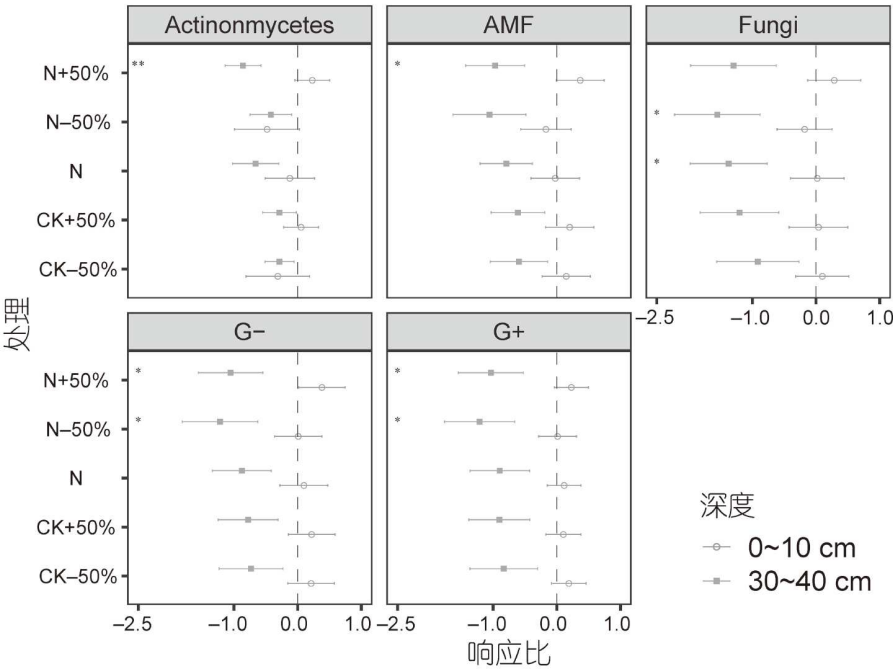


图 2 表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤放线菌(Actinomycetes)、丛植菌根真菌(AMF)、真菌(Fungi)、革兰氏阴性细菌(G-)和革兰氏阳性细菌(G+)的磷脂脂肪酸含量对氮、水改变(CK+50%: 增雨50%; CK-50%: 减雨50%; N: 氮添加; N+50%: 氮添加且增雨; N-50%: 氮添加且减雨)的响应比。误差棒为标准差。“***”和“*”差异显著性水平 $P<0.01$ 和 $P<0.05$

Figure 2 Response ratio of the phospholipid fatty contents of actinomycetes, AMF, fungi, and Gram negative (G-) and Gram positive (G+) bacteria of topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) to the changes in nitrogen and precipitation (CK+50%: increased precipitation; CK-50%: decreased precipitation; N: nitrogen addition; N+50%: nitrogen addition with increased precipitation; N-50%: nitrogen addition with decreased precipitation). Error bars are standard deviations. “***” and “*” are $P<0.01$ and $P<0.05$, respectively

2.5 土壤微生物磷脂脂肪酸含量和酶活性响应的环境调控

冗余分析(RDA)的结果表明, 土壤微生物PLFA含量和酶活性对氮、水改变表现出显著的土壤层次特异性(图4)。环境因子对土壤微生物PLFA含量和酶活性的

总解释度分别为49.4%和82.8%, RDA第一轴的贡献率分别为74.9%和88.2%。环境因子与RDA的拟合分析表明, 除了TK($P>0.40$), 其余因子对土壤微生物PLFA含量和酶活性排序结果的影响均达到显著水平。基于层次分割的结果表明, pH和BGB对土壤微生物PLFA含量排序结果的贡献率相对最大, 分别为11.0%和10.9%;

表 3 氮添加和降水改变对高寒草甸表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤微生物磷脂脂肪酸含量影响的混合效应模型F值^{a)}
Table 3 F values from linear mixed-effect models examining the effects of nitrogen addition and precipitation changes on soil microbial phospholipid fatty acid contents in topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) of an alpine meadow^{a)}

土壤深度	因子	放线菌	丛枝菌根真菌	真菌	革兰氏阴性细菌	革兰氏阳性细菌
表层	氮	0.05	<0.01	0.23	0.22	0.14
	降水	3.98	1.50	0.55	1.29	0.46
	氮×降水	0.30	0.73	0.72	0.68	0.94
深层	氮	4.90*	4.85*	5.56*	4.55*	2.88
	降水	0.41	1.30	1.27	1.71	1.85
	氮×降水	0.43	0.14	0.90	0.23	0.36

a) “*”差异显著性水平 $P<0.05$

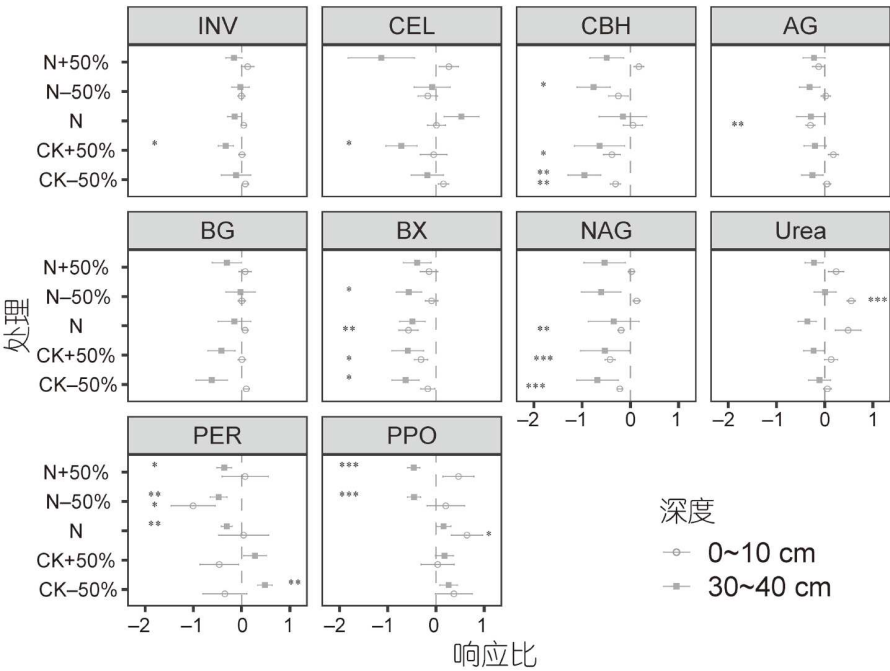


图 3 表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤蔗糖酶(INV)、纤维素酶(CEL)、纤维素二糖水解酶(CBH)、 α -1,4葡萄糖苷酶(α G)、 β -1,4葡萄糖苷酶(β G)、 β -1,4木糖苷酶(β X)、 β -1,4-N-乙酰基葡萄糖苷酶(NAG)、脲酶(URE)、过氧化物酶(PER)和多酚氧化酶(PPO)活性对氮、水改变(CK+50%: 增雨50%; CK-50%: 减雨50%; N: 氮添加; N+50%: 氮添加且增雨; N-50%: 氮添加且减雨)的响应比。误差棒为标准差。“***”和“**”差异显著性水平 $P<0.01$ 和 $P<0.05$

Figure 3 Response ratio of the activities of invertase (INV), cellulose (CEL), cellobiohydrolase (CBH), α -1,4 glucosidase (α G), β -1,4 glucosidase (β G), β -1,4 xylosidase (β X), β -1,4-N-acetylglucosidase (NAG), urease (URE), peroxidase (PER), and polyphenol oxidase (PPO) of topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) to the changes in nitrogen and precipitation (CK+50%: increased precipitation; CK-50%: decreased precipitation; N: nitrogen addition; N+50%: nitrogen addition with increased precipitation; N-50%: nitrogen addition with decreased precipitation). Error bars are standard deviations. “***” and “**” are $P<0.01$ and $P<0.05$, respectively

pH和TP对酶活性排序结果的贡献率居前2位, 分别为11.8%和11.6%。基于距离矩阵的置换多元方差分析表明, 土壤微生物PLFA含量和酶活性在不同处理间差异不显著($P>0.60$)。因此, 氮、水改变对土壤微生物PLFA含量和酶活性的影响呈现层次特异性, pH是首要的驱动因子。

2.6 植被、土壤微生物、酶活性与土壤有机碳库变化的关联过程

由于植被生产力响应比潜变量的Cronbach’s alpha极小(<0.001), 即AGB, BGB和BNPP无法有效组合为植被生产力, 因此构建了土壤+植被的潜变量, 以检验植被生产力的作用。优化的偏最小二乘法结构方程

表 4 氮添加和降水改变对高寒草甸表层(0~10 cm)和深层(30~40 cm)土壤酶活性影响的混合效应模型 F 值^{a)}
Table 4 F values from linear mixed-effects models examining the effects of nitrogen addition and precipitation changes on enzyme activities in topsoil (0–10 cm) and subsoil (30–40 cm) of an alpine meadow^{a)}

土壤深度	因子	蔗糖酶	纤维素酶	纤维素二糖水解酶	α -1,4葡萄糖苷酶	β -1,4葡萄糖苷酶	β -1,4木糖苷酶	β -1,4-N-乙酰基葡萄糖苷酶	脲酶	过氧化物酶	多酚氧化酶
表层	氮	0.16	0.00	5.34*	14.61**	0.07	1.88	18.95**	7.73*	0.05	4.64*
	降水	0.17	0.17	3.76	4.69*	0.04	1.44	4.02	0.45	2.16	0.02
	氮×降水	1.03	2.47	4.13*	2.75	1.13	7.80**	18.52***	1.03	1.49	2.96
深层	氮	0.18	0.05	0.12	1.07	1.57	0.10	0.04	0.48	23.29***	11.22**
	降水	0.71	13.62**	2.47	0.27	1.09	2.22	1.07	1.07	0.38	1.48
	氮×降水	0.62	3.73	0.39	0.51	2.05	2.30	0.37	2.03	2.08	5.11*

a) “***”, “**”和“*”差异显著性水平 $P<0.001$, $P<0.01$ 和 $P<0.05$.

模型中, 土壤+植被、微生物、酶活性和有机碳库的Cronbach’s α 分别为0.72, 0.93, 0.82和0.86, 且第一、第二主成分的特征值分别大于1和小于1, 模型的拟合优度(GOF)为0.83(图5), 表明该模型结果具有良好信度. 土壤+植被的潜变量对土壤有机碳库及微生物的直接效应分别为0.68和0.90, 对土壤酶活性的间接效应为0.90, 对土壤有机碳库的总效应高达0.87, 其中, BGB效应为正, pH的效应为负且其驱动强度略大于BGB. 酶活性对土壤有机碳库的直接效应为0.80. 因此, 氮、水改变直接通过影响环境过滤(pH)和代谢底物(BGB), 并间接通过调控土壤微生物影响土壤酶活性, 驱动土壤有机碳库.

3 讨论

3.1 土壤微生物、酶活性和有机碳响应的层次特异性

由于不同生境下的微生物资源获取策略的差异^[34,35], 高寒草甸土壤微生物、酶活性和有机碳组分对氮、水改变的响应表现出明显的土壤层次特异性(图4), 和研究假设相对一致. 高寒植物根系多集中在表层土壤^[1,23], 加之表层水分、资源丰富, 为微生物的生长和繁殖提供良好的能量和营养基质, 有利于土壤酶(尤其水解酶)活性的增强及有机碳的形成与转化^[1,23], 加之微生物群落内的功能互补效应较强, 导致表层土壤微生物和酶活性对氮、水改变响应较弱(图1~3). 而深层代谢底物和O₂相对不足, 微生物数量较少, 对外界变化更为敏感^[40,41]. 同时, 深层土壤新鲜植物源碳供应缺乏, 加之土壤C/N(9.7±1.8)低于仅为表层

(13.0±2.8)的3/4, 深层微生物因碳源限制加剧^[14,34], 致使微生物依靠分泌氧化酶来分解C/N比高的稳定态有机碳(如木质素)以维持体内化学计量平衡, 这也可能是深层氧化酶活性较高而水解酶活性较低的原因. 另外, 革兰氏阳性细菌/革兰氏阴性细菌(G+/G-)可以一定程度上反映微生物的饥饿状态^[27], 深层G+/G-(1.0±0.4)相对表层(1.1±0.2)略低, 也部分暗示深层微生物存在碳源限制.

3.2 土壤微生物生物量及群落的响应

土壤微生物生物量碳氮含量表征土壤活性养分储存库, 对土壤碳氮循环及转化有着重要的调节功能^[7]. 研究区MBC和MBN对氮、水改变均表现出负响应(图1), 与基于空间调查所得出的氮、水有效性正相关与高寒草甸MBC和MBN的结论不一致^[7], 暗示空间代时间的研究方法可能存在一定局限性^[42]. 土壤pH是影响土壤微生物群落性状的重要环境因子^[35], 表层MBC和MBN的负反馈与氮、水改变导致土壤pH下降密切相关(图4和5). 土壤酸化一方面直接抑制微生物生理活性, 另一方面容易造成离子析出导致微生物的离子毒害, 直接降低微生物生物量^[1,10]. N处理的表层MBN降低幅度(38.9%)大于MBC(12.6%, 图1), 可能是氮添加直接提高土壤氮素的可利用性(表1), 并间接刺激植被生产力提高表层植物源碳输入^[6,24], 进而有利于土壤微生物中C/N较低的细菌繁殖^[17], 而N处理下表层细菌/真菌相对CK高约8%也表明细菌相对增加, 表明氮添加细菌具有一定程度的正效应, 能够缓解pH下降通过膜通透性抑制细菌ATP合成而引发的负响应(图2), 因此相对真菌的负响应强度较小(图2), 导致了群落

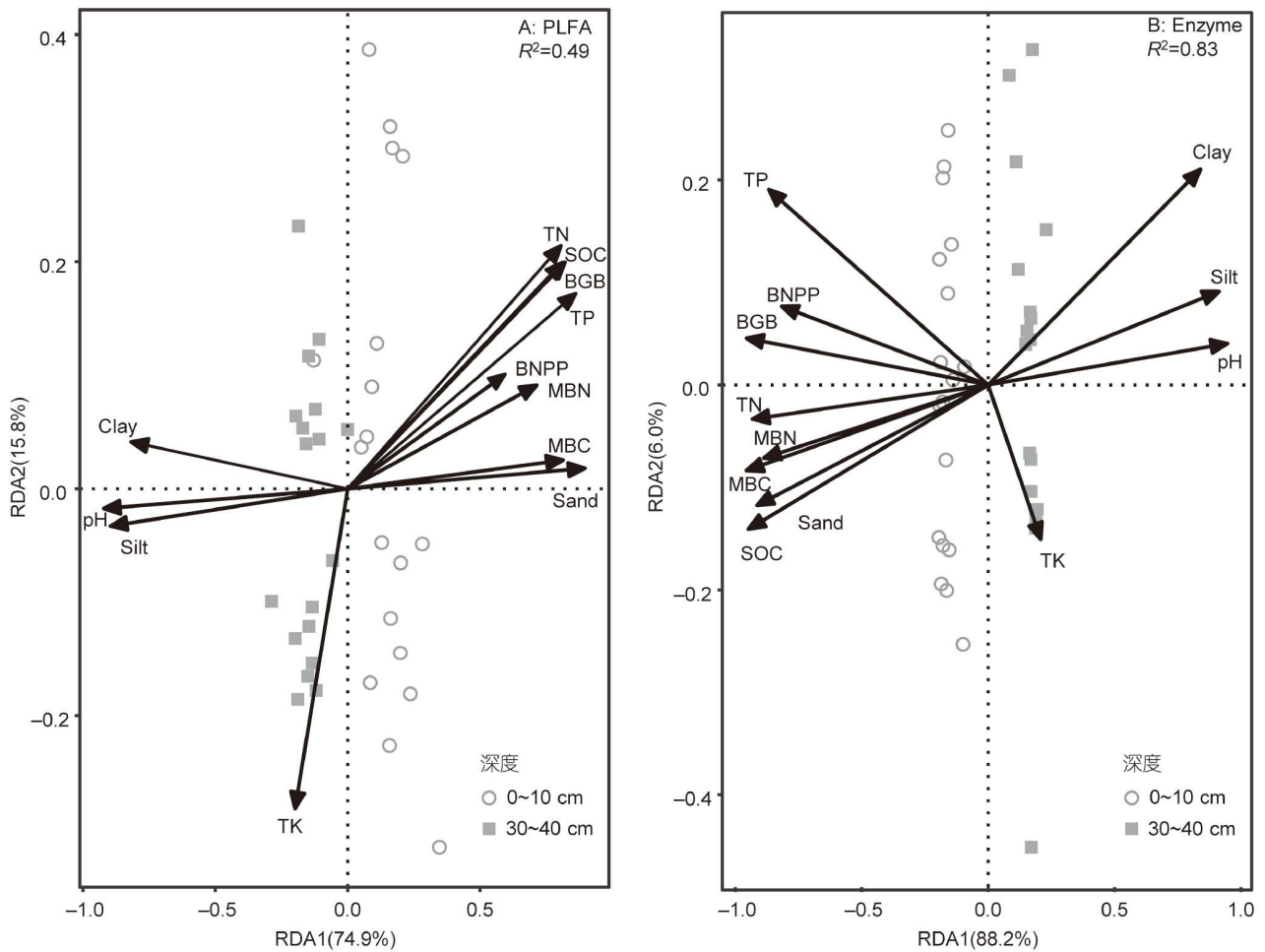


图 4 土壤微生物磷脂脂肪酸含量(PLFA: A)和酶活性(Enzyme: B)与环境因子的冗余分析. BGB: 地下生物量; BNPP: 地下净初级生产力; MBC: 土壤微生物生物量碳含量; MBN: 土壤微生物生物量氮含量; pH: 土壤pH; SOC: 土壤有机碳含量; TK: 土壤全钾含量; TN: 土壤全氮含量; TP: 土壤全磷含量; Clay: 土壤黏粒含量; Silt: 土壤粉粒含量; Sand: 土壤砂粒含量; Depth: 土壤层次

Figure 4 Redundancy analysis of soil microbial phospholipid fatty acid contents (PLFA: A) and enzyme activity (Enzyme: B) and environmental factors. BGB: belowground biomass; BNPP: belowground net primary production; MBC: soil microbial biomass carbon content; MBN: microbial biomass nitrogen content; pH: soil pH; SOC: soil organic carbon content; TK: soil total potassium content; TN: soil total nitrogen content; TP: soil total phosphorus content; Clay: soil clay content; Silt: soil silt content; Sand: soil sand content. Depth: soil layer

MBN比MBC下降幅度大, 暗示群落结构向低C/N微生物偏移. 深层MBC和MBN下降的原因(图2)则可能是减少的BNPP(17.7%)和BGB(13.7%)加剧了深层微生物生长的碳源限制^[34]. 另外, 相对MBC, MBN变化更为显著(图1), 是高寒草甸土壤微生物对氮、水改变响应的适宜评估指标. 以表层MBN响应比为例(图1), N+50%(N-50%)处理下的响应比小于(接近)N处理和CK+50%(CK-50%)处理的响应比, 表明氮添加和降水增加(减少)对MBN具有拮抗(加和)效应, 二者的分异响应可能与降水增多易引发土壤营养渗漏减少氮素积

累有关, 凸显了高寒草甸生态系统对氮、水交互响应的复杂性^[6,23].

相对于表层的微弱变化, 深层土壤微生物PLFA含量对氮、水改变表现出负响应(表3; 图2). 表层pH显著下降, 而深层pH几乎没有变化(表1), 暗示土壤微生物PLFA含量的负响应无关乎pH变化. 由于深层土壤微生物数量相对较少, 且土壤C/N比小, 微生物活动更易受到碳源限制^[34]. 氮相关处理导致植被光合产物更多地被分配至地上部分以竞争地上光或CO₂资源^[1,6], 根系来源的碳输入下降, 更加剧底层微生物生长的碳源

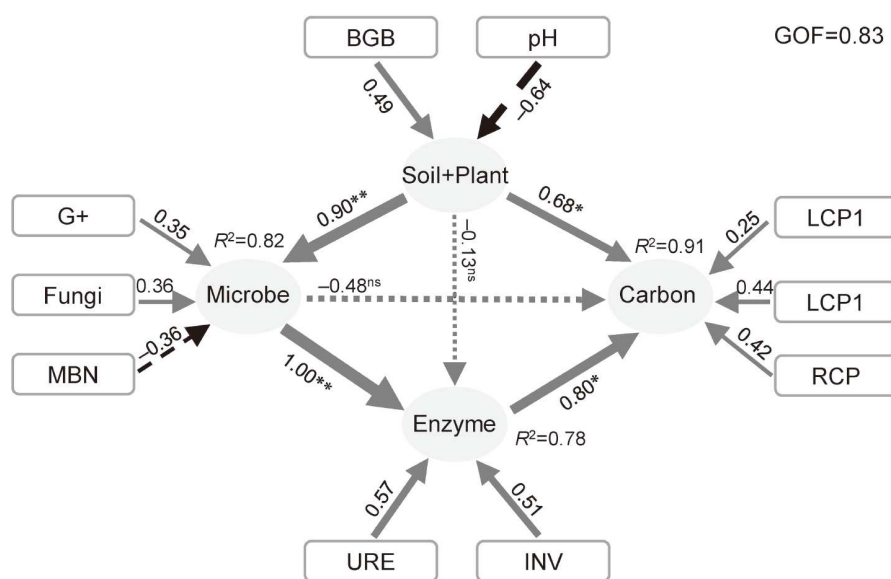


图 5 氮、水改变下的土壤理化+植被、微生物、酶活性及有机碳库响应比的结构方程模型。实线、短线和虚线分别表示正效应、负效应和无显著效应。线段上的数字为标准作用系数, 线段的粗细为标准作用系数的10倍。R²表示模型对响应变量的解释度。“**”, “*”和“ns”表示 $P < 0.01$, $P < 0.05$ 和 $P > 0.05$ 。pH: 土壤pH; Microbe: 土壤微生物; Enzyme: 酶活性; Carbon: 土壤有机碳库; INV: 土壤蔗糖酶; URE: 脲酶; G+: 革兰氏阳性细菌; Fungi: 真菌; MBN: 微生物生物量氮含量; LCP1: 活性有机碳; LCP2: 缓效有机碳; RCP: 惰性有机碳

Figure 5 Structural equation model of the response ratios of soil physiochemistry+plant (Soil+Plant), microbe (Microbe), enzyme activity (Enzyme), and soil organic carbon pool (Carbon) to the changes in nitrogen addition and precipitation. Solid, dashed, and dotted lines represent positive, negative, and insignificant relationships. The numbers above the arrows were the standardized path coefficients. The weight for each line was ten times the standardized coefficient. R², explanatory power of the models to response variables. “**”, “*”, and “ns” indicate $P < 0.001$, $P < 0.05$, and $P > 0.05$, respectively. pH: soil pH; Microbe: soil microbes; Enzyme: enzyme activities; Carbon: soil organic carbon pool; INV: invertase; URE: urease; G+: Gram-positive bacteria; Fungi: Fungi content; MBN: microbial biomass nitrogen content; LCP1: liable carbon pool; LCP2: slow liable carbon pool; RCP: recalcitrant carbon pool

限制, 从而导致微生物PLFA的负响应。另外, 微生物群落PLFA含量的响应比之间存在显著的正相关($r > 0.70$, $P < 0.05$), 暗示高寒草甸土壤微生物群落对氮、水改变的趋同负响应。

3.3 土壤酶活性的响应

微生物生产酶遵循投入-产出经济学原则^[50]。高寒草甸表层有机质丰富, 土壤水解酶活性远大于氧化酶活性, 有利于稳定态有机碳的形成^[10,15], 导致RCP占比高达~75.0%, 即高寒系统稳定态有机碳在土壤碳库中占优^[27]。由于INV主要由细菌分泌, 而细菌PLFA含量最高导致INV活性最大。氮、水改变通过影响植物根系及微生物生长或土壤理化性状进而调控土壤酶活性^[3,10]。INV和 β G分别参于土壤中蔗糖和纤维素的水解, 二者活性对氮、水改变几乎没有显著变化(表4; 图3), 暗示其不适宜表征高寒草甸土壤酶活性的响应。N处理的表层 β X和NAG活性显著下降, 这可能由于pH

下降导致酶活性中心失活^[38]。增雨处理和减雨处理均导致表层CBH和NAG活性下降, 这可能是因为增雨导致土壤中O₂供应不足形成厌氧环境, 抑制酶活性; 减雨则由于水分不足, 直接降低微生物和根系的生化反应及生理代谢强度, 降低酶活性, 暗示CBH和NAG对水分要求较为苛刻。URE能酶促有机氮化物水解成氨, 其活性表征土壤微生物及植物所利用的有效氮供应水平^[10]。氮、水改变下, 尤其是N处理的表层URE活性增加, 表明外源尿素及引发的低C/N比植物源碳的输入加速了表层有机氮化物的矿化。但仅有N-50%达到显著水平(图3), 这可能由于降雨减少导致其淋溶作用减弱, 外源氮素被集中在表层土壤。几乎所有深层土壤水解酶活性对氮、水改变表现出下降的趋势(图3), 这可能因为根系来源的碳水化合物输入的降低, 抑制了微生物水解酶活性及碳循环强度^[10]。

氧化酶主要用于降解有机质中难以分解的高分子化合物(木质素等), 其活性与土壤真菌数量存在显著

正相关^[15,50]. 氮添加降低与氧化酶合成和分泌有关的真菌的活性和生物量, 抑制氧化酶活性, 因此N+50%和N-50%深层PPO和PER活性的显著下降可能(图3)由于真菌PLFA的减少所致(图2). 尽管真菌PLFA下降, 但CK-50%深层PER活性增加的原因有待进一步研究, 有可能是根际微生物通过分泌氧化酶以抵抗干旱逆境, 从而间接提高其活性. N处理表层PPO的显著正响应(图3), 这与氮添加PPO活性下降的研究结果相反^[27], 且N处理真菌PLFA的负响应(图2), 暗示PPO活性的升高可能来源于表层复杂结构碳输入(如植物残体通过氮键直接形成成稳定酚聚合物^[15])的增加, 刺激了PPO的分泌. 大部分土壤酶活性对氮、水改变表现出负响应, 加之土壤微生物的下降(图1和2), 暗示土壤有效养分的供给和元素周转减弱, 土壤团聚体及系统稳定性的发生了一定程度的退化^[38], 氮、水改变通过“自下而上”效应, 增加植被生产力、生物多样性及系统稳定性下降乃至丧失的风险^[4,44].

3.4 土壤有机碳库的响应

土壤有机碳库取决于植被源碳输入和微生物矿化的平衡^[1,10]. 氮相关处理表层SOC呈现增加趋势, 这主要由于N相关处理能够刺激植被生产力, 尤其是地上生产力而非根系生产力(表1), 进而增加凋落物输入所致^[17]. 表层LCP1和LCP2的提高印证了上述解释, 因为LCP1和LCP2分别由来非纤维素多糖和植物源纤维素, 而且, 降低的表层土壤微生物生物量、PLFA和水解酶活性(图2和3)有利于LCP1和LCP2积累^[12,45]. 但增雨和减雨处理的表层SOC呈现下降趋势, 可能与LCP1和RCP的降低有关(图1). 减雨处理下LCP1的减少应该与植被生产力的下降相关, 而RCP的减少可能来源于真菌PLFA(图2)及PPO活性(图3)的增加. 氮、水改变下深层SOC组分含量(除CK-50%处理的LCP1)几乎均表现为负响应. 但微生物生物量、丰度和酶活性的下降(图2和3), 暗示SOC的减少可能主要因为植被光合产物分配至深层土壤的比例减少, 导致根系生产力及植物源碳输入降低. 深层RCP的负响应可能源于两方面作用: 稳定态SOC的形成受阻^[1], 以及微生物碳源限制加剧引发的分解增强^[17]. 例如, 微生物残体碳是稳定态SOC的重要组分, 微生物生物量的降低(图1)不利于微生物残体碳的形成, 而碳源限制下微生物残体碳经常被二次分解以满足微生物的生

理需求^[17,34].

氮、水改变影响环境过滤(土壤pH)和代谢底物(BGB)驱动土壤微生物、酶活性及有机碳库(图5). 土壤微生物对有机碳库的直接效应不显著, 暗示氮、水改变下通过土壤微生物体内周转的碳泵效应对土壤有机碳库变化的作用微弱, 这可能由于高寒系统中植物残体直接与矿物吸附、结合形成的稳定复合体^[30]是土壤有机碳库的主要贡献者^[15], 同时微生物生物量(图1)和丰度(图2)及酶活性(图3)的减弱也暗示微生物碳泵作用的降低. pH的负效应主要来自表层土壤酸化改变矿物表面电荷及吸附位点进而减弱矿物对SOC的保护作用^[33]. 由于BGB是深层土壤有机质的主要直接来源, 而深层土壤微生物生理活动及酶活性更易受到碳源限制^[34], 所以其变化密切关联于BGB(图5). 尽管氮、水增加提高地上生产力及表层SOC的不稳定组分含量(图1), 但深层SOC的负响应导致土壤有机碳库的整体弱响应, 这与高寒草甸^[17]和美国温性草原^[28]的研究结果一致. 以N处理为例, 表层的SOC增加绝对量约为4.8 g/kg, 且多为LCP1(2.8 g/kg)和LCP2(1.8 g/kg), 而深层SOC的绝对减少量为5.2 g/kg, 却多为RCP(4.4 g/kg), 表明氮添加虽然增加了表层SOC却以不稳定组分为主, 但是深层减少的SOC却多是稳定组分, 因此氮添加虽然对土壤整体SOC含量的影响微弱, 但降低了SOC的稳定性^[16], 以氮促碳^[2,11]在高寒草甸生态系统的效果需要进一步评估. 值得注意的是, 试验中氮添加没有设计不同水平的梯度, 添加强度为单一10 g/(m² a), 尽管与全球温性草原^[4,24]和其他高寒草地^[29,32]的强度一致, 但相关的研究暗示草地生态系统对氮添加存在饱和^[32]或阈值响应^[37], 会增加结论的不确定性, 未来需结合多水平设计以验证结论普适性. 另外, 尽管40 cm以下的根系和微生物活动微弱, 但由于高寒草甸土粗骨性强, 降水增多易引发土壤有机碳和营养向深层渗漏, 是否会影响深层土壤碳库也有待后续研究.

4 结论

高寒草甸生态系统氮添加和降水改变试验的结果表明, 长期氮、水改变没有显著影响根系生产力, TP, TK与土壤机械组成. 氮添加相关处理提高表层SOC和TN, 降低pH. 氮、水改变降低表层及深层土壤的MBC,

MBN和水解酶活性与深层LCP1, LCP2, RCP和氧化酶活性. 氮、水改变对表层土壤微生物PLFA无显著影响, 但氮相关处理显著降低深层土壤微生物PLFA含量. 氮、水改变主要通过环境过滤(土壤酸化)和代谢

底物(根系碳输入)的双重路径, 驱动表层和深层土壤微生物、酶活性及有机碳库的分异响应. 表层LCP1和LCP2的增加被深层RCP的减少抵消, 暗示氮添加可能会削弱高寒草甸土壤有机碳库稳定性.

参考文献

- 1 Yang Y H, Zhang D Y, Wei B, et al. Nonlinear responses of community diversity, carbon and nitrogen cycles of grassland ecosystems to external nitrogen input (in Chinese). *Chin J Plant Ecol*, 2023, 47: 1–24 [杨元合, 张典业, 魏斌, 等. 草地群落多样性和生态系统碳氮循环对氮输入的非线性响应及其机制. 植物生态学报, 2023, 47: 1–24]
- 2 Bai Y, Cotrufo M F. Grassland soil carbon sequestration: current understanding, challenges, and solutions. *Science*, 2022, 377: 603–608
- 3 Sáez-Sandino T, Maestre F T, Berdugo M, et al. Increasing numbers of global change stressors reduce soil carbon worldwide. *Nat Clim Chang*, 2024, 14: 740–745
- 4 Borer E T, Grace J B, Harpole W S, et al. A decade of insights into grassland ecosystem responses to global environmental change. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 118
- 5 Fay P A, Prober S M, Harpole W S, et al. Grassland productivity limited by multiple nutrients. *Nat Plants*, 2015, 1: 15080
- 6 Li H Q, Zhang F W, Yi L B. Stoichiometric responses in topsoil and leaf of dominant species to precipitation change and nitrogen addition in an alpine meadow (in Chinese). *Chin J Plant Ecol*, 2023, 47: 922–931 [李红琴, 张法伟, 仪律北. 高寒草甸表层土壤和优势植物叶片的化学计量特征对降水改变和氮添加的响应. 植物生态学报, 2023, 47: 922–931]
- 7 Wang Y, Sun J, Ye C C, et al. Climatic factors drive the aboveground ecosystem functions of alpine grassland via soil microbial biomass nitrogen on the Qingzang Plateau (in Chinese). *Chin J Plant Ecol*, 2021, 45: 434–443 [王毅, 孙建, 叶冲冲, 等. 气候因子通过土壤微生物生物量氮促进青藏高原高寒草地地上生态系统功能. 植物生态学报, 2021, 45: 434–443]
- 8 Ottaviani G, Molina-Venegas R, Charles-Dominique T, et al. The neglected belowground dimension of plant dominance. *Trends Ecol Evol*, 2020, 35: 763–766
- 9 Feng J G, Zhang Q F, Yuan X, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil organic carbon: review and prospects (in Chinese). *Chin J Plant Ecol*, 2022, 46: 855–870 [冯继广, 张秋芳, 袁霞, 等. 氮磷添加对土壤有机碳的影响: 进展与展望. 植物生态学报, 2022, 46: 855–870]
- 10 Angst G, Mueller K E, Nierop K G J, et al. Plant- or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter. *Soil Biol Biochem*, 2021, 156: 108189
- 11 Gao Y Z, Ren J. Advances and prospects in plant root nodule symbiotic nitrogen fixation (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2025, 55: 131–145 [高英志, 任健. 植物根瘤共生固氮研究进展与展望. 中国科学: 生命科学. 2025, 55: 131–145]
- 12 Liang C, Schimel J P, Jastrow J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 17105
- 13 Chen J, Luo Y, García-Palacios P, et al. Differential responses of carbon-degrading enzyme activities to warming: implications for soil respiration. *Glob Change Biol*, 2018, 24: 4816–4826
- 14 Zhu J B, Zhang Z C, Li H Q, et al. Characteristics and interrelationship of vegetation biomass and soil properties in alpine meadow under grazing gradients (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 1166–1175 [祝景彬, 张志成, 李红琴, 等. 牧压梯度下高寒草甸植被生物量与土壤理化性质变化特征及相互关系. 中国科学: 生命科学. 2023, 53: 1166–1175]
- 15 Guo Y, Yu G, Hu S, et al. Deciphering the intricate control of minerals on deep soil carbon stability and persistence in Alaskan permafrost. *Glob Change Biol*, 2024, 30: e17552
- 16 Li J H, Cheng B H, Zhang R, et al. Nitrogen and phosphorus additions accelerate decomposition of slow carbon pool and lower total soil organic carbon pool in alpine meadows. *Land Degrad Dev*, 2021, 32: 1761–1772
- 17 Luo R, Kuzyakov Y, Liu D, et al. Nutrient addition reduces carbon sequestration in a Tibetan grassland soil: disentangling microbial and physical controls. *Soil Biol Biochem*, 2020, 144: 107764
- 18 Ding J, Chen L, Ji C, et al. Decadal soil carbon accumulation across Tibetan permafrost regions. *Nat Geosci*, 2017, 10: 420–424
- 19 Li H, Zhang F, Li J, et al. Differential responses of CO₂ and latent heat fluxes to climatic anomalies on two alpine grasslands on the northeastern Qinghai-Tibetan Plateau. *Sci Total Environ*, 2023, 900: 165863

- 20 Sun J, Wang Y, Lee T M, et al. Nature-based solutions can help restore degraded grasslands and increase carbon sequestration in the Tibetan Plateau. *Commun Earth Environ*, 2024, 5: 154
- 21 Yu G, Jia Y, He N, et al. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. *Nat Geosci*, 2019, 12: 424–429
- 22 Han C, Ma Y, Wang B, et al. Long-term variations in actual evapotranspiration over the Tibetan Plateau. *Earth Syst Sci Data*, 2021, 13: 3513–3524
- 23 Zhang F, Li H, Zhu J, et al. Context dependencies in the responses of plant biomass and surface soil organic carbon content to nitrogen addition and precipitation change within alpine grasslands. *Agr Ecosyst Environ*, 2025, 381: 109475
- 24 Keller A B, Walter C A, Blumenthal D M, et al. Stronger fertilization effects on aboveground versus belowground plant properties across nine U. S. grasslands. *Ecology*, 2023, 104: e3891
- 25 Fornara D A, Tilman D. Soil carbon sequestration in prairie grasslands increased by chronic nitrogen addition. *Ecology*, 2012, 93: 2030–2036
- 26 Liu H Y, Huang N, Zhao C M, et al. Responses of carbon cycling and soil organic carbon content to nitrogen addition in grasslands globally. *Soil Biol Biochem*, 2023, 186: 109164
- 27 Yuan X, Qin W, Xu H, et al. Sensitivity of soil carbon dynamics to nitrogen and phosphorus enrichment in an alpine meadow. *Soil Biol Biochem*, 2020, 150: 107984
- 28 Keller A B, Borer E T, Collins S L, et al. Soil carbon stocks in temperate grasslands differ strongly across sites but are insensitive to decade-long fertilization. *Glob Change Biol*, 2022, 28: 1659–1677
- 29 Mack M C, Schuur E A G, Bret-Harte M S, et al. Ecosystem carbon storage in arctic tundra reduced by long-term nutrient fertilization. *Nature*, 2004, 431: 440–443
- 30 Xiao K Q, Zhao Y, Liang C, et al. Introducing the soil mineral carbon pump. *Nat Rev Earth Environ*, 2023, 4: 135–136
- 31 Ye C, Wu B, Bai T, et al. Interannual variation in precipitation predominantly controls mineral-associated organic carbon dynamics in a Tibetan alpine meadow. *Geoderma*, 2023, 433: 116432
- 32 Peng J, Zhang R, Ma F, et al. Precipitation differentially regulates above- and belowground productivity in response to nitrogen enrichment in an alpine meadow. *Agric For Meteorol*, 2024, 358: 110257
- 33 Rocci K S, Lavalley J M, Stewart C E, et al. Soil organic carbon response to global environmental change depends on its distribution between mineral-associated and particulate organic matter: a meta-analysis. *Sci Total Environ*, 2021, 793: 148569
- 34 Soong J L, Fuchslueger L, Maraňon-Jimenez S, et al. Microbial carbon limitation: the need for integrating microorganisms into our understanding of ecosystem carbon cycling. *Glob Change Biol*, 2020, 26: 1953–1961
- 35 Husson O. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil*, 2013, 362: 389–417
- 36 Cotrufo M F, Ranalli M G, Haddix M L, et al. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat Geosci*, 2019, 12: 989–994
- 37 Fang H J, Cheng S L, Yu G R, et al. Nitrogen deposition impacts on the amount and stability of soil organic matter in an alpine meadow ecosystem depend on the form and rate of applied nitrogen. *Eur J Soil Sci*, 2014, 65: 510–519
- 38 Tu N R, Hong M, Yan J, et al. Effects of precipitation variation and nitrogen deposition on soil bacterial community structure and enzyme activity in desert steppe (in Chinese). *J Agro-Environ Sci*, 2023, 42: 403–413 [图纳热, 红梅, 闫瑾, 等. 降水变化和氮沉降对荒漠草原土壤细菌群落结构及酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2023, 42: 403–413]
- 39 Wang Y, Lv W, Xue K, et al. Grassland changes and adaptive management on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Nat Rev Earth Environ*, 2022, 3: 668–683
- 40 He M, Fang K, Chen L, et al. Depth-dependent drivers of soil microbial necromass carbon across Tibetan alpine grasslands. *Glob Change Biol*, 2022, 28: 936–949
- 41 Hu Y, Deng Q, Kätterer T, et al. Depth-dependent responses of soil organic carbon under nitrogen deposition. *Glob Change Biol*, 2024, 30: e17247
- 42 Li H, Zhang F, Li Y, et al. Thirty-year variations of above-ground net primary production and precipitation-use efficiency of an alpine meadow in the north-eastern Qinghai-Tibetan Plateau. *Grass Forage Sci*, 2015, 71: 208–218
- 43 Liu H, Mi Z, Lin L, et al. Shifting plant species composition in response to climate change stabilizes grassland primary production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 4051–4056

- 44 Smith M D, Wilkins K D, Holdrege M C, et al. Extreme drought impacts have been underestimated in grasslands and shrublands globally. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121: e2309881120
- 45 Rovira P, Vallejo V R. Labile and recalcitrant pools of carbon and nitrogen in organic matter decomposing at different depths in soil: an acid hydrolysis approach. *Geoderma*, 2002, 107: 109–141
- 46 Wei Y L, Cao W X, Li J H, et al. Phospholipidfatty acid (PLFA) analysis of soil microbial community structure with different intensities of grazing and fencing in alpine shrubland (in Chinese). *Acta Ecol Sin*, 2018, 38: 4897–4908 [韦应莉, 曹文侠, 李建宏, 等. 不同放牧与围封高寒灌丛草地土壤微生物群落结构PLFA分析. *生态学报*. 2018, 38: 4897–4908]
- 47 Hedges L V, Gurevitch J, Curtis P S. The meta-analysis of response ratios in experimental ecology. *Ecology*, 1999, 80: 1150–1156
- 48 Maes S L, Dietrich J, Midolo G, et al. Environmental drivers of increased ecosystem respiration in a warming tundra. *Nature*, 2024, 629: 105–113
- 49 Viechtbauer W. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *J Stat Soft*, 2010, 36: 1–48
- 50 Brockett B F T, Prescott C E, Grayston S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol Biochem*, 2012, 44: 9–20

Responses and linkages of soil microbes, enzyme activities, and organic carbon pools to nitrogen addition and precipitation change of an alpine meadow

ZHANG FaWei^{1*}, LI HongQin², SONG ChengGang³, ZHU JingBin⁴, DU Wei⁵, LIANG NaiShen⁶,
SI MengKe¹, FAN Bo¹, ZHOU HuaKun¹ & LI YingNian¹

¹ Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China

² College of Life Sciences, Luoyang Normal University, Luoyang 471934, China

³ Qinghai Engineering Consulting Center, Xining 810001, China

⁴ College of Tourism and Resources Environment, Zaozhuang University, Zaozhuang 277160, China

⁵ Environmental Development Center of the Ministry of Ecology and Environment, Beijing 100029, China

⁶ National Institute for Environmental Studies, Tsukuba 3058506, Japan

* Corresponding author; E-mail: mywing963@126.com

Elucidating the response mechanisms of soil microorganisms and enzyme activities to nitrogen (N) deposition and altered precipitation regimes is crucial for understanding carbon cycle processes in alpine meadows under global change. Based on a manipulative platform involving N addition (10 g/(m² a)) and precipitation alteration (±50%) established in 2017 on the northeastern Tibetan Plateau, we analyzed the responses of soil microbial biomass carbon and nitrogen (MBC, MBN), phospholipid fatty acids (PLFAs), enzyme activities, and soil organic carbon (SOC) chemical fractions in surface (0–10 cm) and deep (30–40 cm) soil layers in 2024. Results showed that N addition enhanced aboveground biomass, surface SOC, and total nitrogen while inducing surface soil acidification, with no significant effects on belowground biomass (BGB) and soil phosphorus/potassium content. MBC, MBN, and PLFAs remained stable in surface layers but declined in deep layers. N addition increased surface urease activity but suppressed hydrolytic enzymes and deep-layer oxidative enzymes. Surface slow labile SOC increased whereas deep-layer labile and recalcitrant SOC decreased. pH and BGB jointly regulated SOC dynamics by mediating microbes and enzyme activities. These findings highlight that nitrogen and precipitation alteration drive soil carbon stability through dual pathways of environmental filtering and metabolic substrate availability.

nitrogen addition, precipitation alteration, soil microbial biomass, microbial phospholipid fatty acid content, soil hydrolase and oxidase

doi: [10.1360/SSV-2025-0015](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0015)