

藏北高寒草地土壤有机质化学组成对土壤蛋白酶和脲酶活性的影响

马书琴¹ 汪子微^{2,3} 陈有超⁴ 鲁旭阳^{2*}

¹河南师范大学旅游学院, 河南新乡 453007; ²中国科学院、水利部成都山地灾害与环境研究所, 中国科学院山地表生过程与生态调控重点实验室, 成都 610041; ³中国科学院大学, 北京 100049; ⁴中国科学院武汉植物园, 武汉 430074

摘要 土壤酶作为生态系统的生物催化剂, 是土壤有机体的代谢驱动力, 在土壤物质循环和能量转化过程中起着重要作用。该研究以藏北5种不同类型高寒草地(高寒草甸、高寒草原、高寒草甸草原、高寒荒漠草原和高寒荒漠)为研究对象, 利用热裂解气质联用技术(Py-GC/MS)分析不同类型草地土壤有机质化学组成, 并建立其与土壤蛋白酶和脲酶活性之间的相互关系。结果表明, 5种高寒草地土壤(0–15 cm)的酶活性表现出一定差异性, 高寒荒漠草原土壤的脲酶活性显著高于蛋白酶活性, 而其余类型高寒草地的脲酶和蛋白酶活性之间的差异未达到显著水平; 蛋白酶活性在5种高寒草地土壤之间的差异显著, 而脲酶活性在5种草地土壤之间的差异性未达到显著水平。相关分析发现, 土壤蛋白酶活性与土壤有机质烷烃、烯烃和芳香烃的相对丰度和糠醛:吡咯的值密切相关, 土壤脲酶活性与土壤有机质化学组成之间相关性未达到显著水平。综上所述, 高寒草地类型和土壤有机质化学组成是影响高寒草地土壤蛋白酶活性的重要因素, 而对土壤脲酶活性的影响均未达到显著水平, 其影响因素有待进一步深入的研究。

关键词 高寒草甸; 高寒草原; 土壤有机质化学组成; 酶活性; 热裂解气质联用(Py-GC/MS)

马书琴, 汪子微, 陈有超, 鲁旭阳 (2021). 藏北高寒草地土壤有机质化学组成对土壤蛋白酶和脲酶活性的影响. 植物生态学报, 45, 00–00. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0169

Effect of soil organic matter chemical compositions on soil protease and urease activity in alpine grassland soils in Northern Xizang, China

MA Shu-Qin¹, WANG Zi-Wei^{2,3}, CHEN You-Chao⁴, and LU Xu-Yang^{2*}

¹College of Tourism, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China; ²Key Laboratory of Mountain Surface Processes and Ecological Regulation, Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; ³University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China; and ⁴Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China

Abstract

Aims Soil enzymes play an important role in the process of soil nutrient transformation. The main purpose of this study is to explore the chemical composition of soil organic matter and its effect on soil protease and urease activity in alpine grasslands in Northern Xizang, China.

Methods The pyrolysis Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (Py-GC/MS) was used to obtain the chemical compositions of soil organic matter, and to analyze the relationships between soil chemical compositions and soil enzyme activity in five alpine grasslands, including alpine meadow, alpine grassland, alpine meadow grassland, alpine desert grassland and alpine desert ecosystems.

Important findings The results showed that the enzyme activities among five alpine grassland soils (0–15 cm) were different. Soil urease activity was significantly higher than soil protease activity in the alpine desert steppe, while the difference between the urease and protease activities was not significant in other types of alpine grasslands. Soil protease activity was significantly different among five alpine grassland types, but soil urease activity was not. The correlation analysis showed that soil protease activity was closely related to the relative abundance of alkanes, alkenes and aromatics in soil organic matter and the ratio of furfural to pyrrole. However, the correlation relationships between urease activity and soil organic matter chemical compositions were not significant. The results indicated that alpine grassland type and soil organic matter chemistry were the key factors

affecting soil protease activity, but their effects on soil urease activity was non-significant, which calls for further study on the influencing factors on soil urease activity.

Key words alpine meadow; alpine steppe; soil organic matter chemical composition; enzyme activity; Pyrolysis Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (Py-GC/MS)

Ma SQ, Wang ZW, Chen YC, Lu XY (2021). Effect of soil organic matter chemical compositions on soil protease and urease activity in alpine grassland soils in Northern Xizang, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 45, 00–00. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0169

土壤酶是土壤中具有生物活性的蛋白质,主要来自土壤中动植物和微生物活动以及有机残体的分解物,在生态系统物质循环和能量流动中扮演重要角色(Rao *et al.*, 2016)。土壤酶和微生物共同推动着土壤的生物化学过程,对有机残体分解和无机化合物的转化以及土壤肥力的演化具有重要作用(刘琳等, 2011; Kuypers *et al.*, 2018)。土壤蛋白酶和脲酶是土壤中参与有机态氮转化的两种关键酶,蛋白酶作用于有机氮的矿化,将土壤中植物残体中的蛋白质和肽类物质分解为氨基酸(Watanabe, 2009);脲酶则是将土壤中有机氮转化为植物和微生物可以利用的无机氮,也是唯一可以水解土壤中尿素的水解酶,其分解尿素的速度是尿素自然分解速度的1014倍(余燕玲等, 2008; Fraser *et al.*, 2013)。因此,土壤蛋白酶和脲酶的活性直接影响着土壤中氮转化的强度和土壤的供氮能力(Du *et al.*, 2020)。王学霞等(2018)研究青藏高原退化高寒草地土壤氮矿化影响因素发现,土壤硝化速率和氨化速率与土壤蛋白酶和脲酶活性密切相关;而在一个39年长期施肥的热带稻田中,研究不同季节施肥对土壤温室气体释放的影响时发现,冬季脲酶活性与土壤 N_2O 的排放密切相关(Bhattacharyya *et al.*, 2013);但在挪威的欧洲云杉(*Picea abies*)林土壤有机层的研究发现,土壤蛋白酶并未有效地降解较为顽固的单宁蛋白复合物中的蛋白质(Adamczyk *et al.*, 2009)。因此,土壤蛋白酶和脲酶对氮素的作用方式在不同生态系统中存在一定差异,其活性可能与基质中的养分浓度和有效性密切相关。

土壤酶在调节催化反应的过程中受土壤结构稳定性、有机质降解和矿化、养分循环、能量传输及其他环境条件的影响,另外,土壤类型(Baligar *et al.*, 1999)、植被类型(Schimel *et al.*, 2017)、取样季节(Wallenstein *et al.*, 2009)和火烧(Senthilkumar *et al.*, 1997)等环境因子也都可能影响土壤酶活性(Avazpoor *et al.*, 2019)。通常在有机养分相对丰富的土壤中,土壤酶活性较高,对土壤中营养元素的转

化作用强度较大,更有利于系统内物质的循环(Dinesh *et al.*, 1998)。土壤有机质是影响土壤酶活性的关键因子(Avazpoor *et al.*, 2019; 于春甲等, 2020),一方面,土壤有机质和有机残体在土壤微生物和酶的作用下分解成不同的产物,同时为微生物和酶提供能源和物质基础,从而直接或间接地影响着土壤微生物的生长发育和土壤酶活性的消长(Aranda *et al.*, 2015);另一方面,土壤有机质可以通过改善土壤物理结构(孔隙度、团粒结构和土壤保水能力等)影响土壤微生物繁殖和酶的分泌(Cui & Holden, 2015)。然而,土壤有机质是由土壤中植物、动物和微生物等有机残体混合而成的复杂物质,其组成一直是土壤学界研究的难点之一(Derenne & Quénée, 2015)。近年来,热裂解气质联用技术(Pyrolysis Gas Chromatography/Mass Spectrum, Py-GC/MS)被广泛用于研究草地、森林、农田和苔原等不同生态系统土壤有机质化学成分和化学组成,对土壤有机质成分从分子水平上有了新的认识(Ma *et al.*, 2018)。Py-GC/MS通过测定土壤有机质中苯、D-丙氨酸、呋喃等化学成分的相对丰度研究土壤有机质化学组成和判断其与前体物质的关系,从而为研究气候变化、土地利用方式和土壤管理方式下有机质的变化特征,分析土壤过程和功能等提供了新的工具(Mehrabanian, 2013)。

青藏高原被称为“地球第三极”,是我国和亚洲的“江河源”,主要生态系统是高寒草地(孙鸿烈等, 2012)。高寒草地生态系统植被生物量低于其他植被类型,有机物的返还较低,导致微生物和酶促底物可获取的营养物质含量相对较少(闫钟清等, 2017; Niu *et al.*, 2019),另一方面,高寒草地长期处于低温、寒冷条件下,土壤生物生命活动受到强烈限制,土壤有机体难以分解,使得土壤可供植物和微生物直接利用的有效成分严重匮乏(黄海莉等, 2019; Sun *et al.*, 2019)。因此,土壤酶活性在可供养分相对较低的高寒草地中受到不同程度的限制。李茜等(2019)研究表明高寒草甸土壤酶活性总体水平较低,与土

壤有机碳、全氮、铵态氮和有效磷等养分存在协同作用, 共同作用于高寒草地养分循环过程。青藏高原关于土壤有机质含量, 不同组分(轻组、重组)等对酶活性的影响已有部分报道(索南吉等, 2012; Xu *et al.*, 2018)。但是, 从分子水平研究高寒草地土壤有机质化学成分和酶活性的关系还尚未系统报道。本研究以我国藏北高寒草甸、高寒草原、高寒草甸草原、高寒荒漠草原和高寒荒漠共5种高寒草地类型的土壤为研究对象, 采用Py-GC/MS技术测定高寒草地土壤有机质化学成分质谱图, 依据不同成分的质谱图中特征峰解析土壤有机质的化学成分, 并通过每种成分面积计算其相对丰度获得高寒草地土壤有机质化学“指纹图谱”; 同时, 通过对不同类型高寒草地土壤蛋白酶和脲酶活性的测定, 分析高寒草地土壤酶活性和土壤有机质化学组成之间的关系, 揭示影响高寒草地土壤酶活性的关键因素, 为认识高寒草地土壤生态系统氮转化和循环过程提供重要理论依据。在本研究中, 我们假设: (1)由于环境因子、植被和土壤条件的不同, 不同类型高寒草地土壤酶活性存在差异; (2)高寒草地土壤有机质化学组成与土壤酶活性存在密切联系, 土壤酶活性是由土壤有机质的某些化学成分或成分之间的比值决定的。

1 材料和方法

1.1 研究区域和样品采集

藏北高原主要位于冈底斯山和念青唐古拉山之间, 平均海拔4 500 m以上, 是长江、怒江等的发源

地, 孕育着纳木错、色林错等湖泊。研究区属亚寒带气候, 干燥寒冷, 大部分地区年平均气温低于0 °C, 最暖月平均气温不及14 °C, 最冷月平均气温在-10 °C以下, 65%–85%的降水量集中在植物生长旺盛的季节(6–8月)。高寒草地是该区域面积最大和最重要的生态系统类型, 主要包括高寒草甸、高寒草原、高寒草甸草原、高寒荒漠草原和高寒荒漠5种草地类型。其中高寒草甸、高寒草原和高寒荒漠草原是西藏自治区主要的草地类型。高寒草甸在全区广泛分布, 占全区草地面积的34.14%, 以矮生嵩草(*Kobresia humilis*)为主, 草层高度为20–30 cm, 植被盖度明显高于其余4种草地类型, 为70%–90%。高寒草原是全区面积最大的草地类型, 占全区草地面积的37.36%, 以紫花针茅(*Stipa purpurea*)为主, 草层高度10–15 cm, 植被盖度20%–45%。高寒草甸草原是高寒草原和高寒草甸之间的过渡类型, 占全区草地面积的7.33%, 以青藏薹草(*Carex moorcroftii*)和紫花针茅为主, 草层高度约10 cm, 植被盖度约40%。高寒荒漠草原主要分布在羌塘高原西部和藏西北高原, 占全区草地面积的9.88%, 以青藏薹草、垫状驼绒藜(*Ceratoides compacta*)和沙生针茅(*Stipa glareosa*)、固沙草(*Orinus thoroldii*)为代表, 草层高度5–10 cm, 植被盖度5%–10%。高寒荒漠是在寒冷和极为干旱的气候条件下发育而成的草地类型, 占全区总面积的5.92%, 以垫状驼绒藜、高原芥(*Christolea crassifolia*)为主, 草层高度为5–15 cm, 植被盖度为5%–10% (图1)(崔恒心和维纳汉, 1997;



图1 藏北5种高寒草地类型。

Fig. 1 Five alpine grasslands in Northern Xizang, China.

Lu *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2013)。

于2016年7–8月, 选择典型的高寒草地分布区域, 在面积较大的高寒草甸、高寒草原和高寒荒漠草原各布设5个样点, 在面积较小的高寒草甸草原和高寒荒漠各布设3个样点, 共布设21个样点。在每个样点选取3个1 m × 1 m样方, 收集0–15 cm土层土壤。土壤样品分为两份, 一份过0.25 mm筛后风干, 用于测定土壤有机质化学组成; 另一份过1 mm筛后4 °C冷藏, 用于测定土壤酶活性和室内培养实验。

1.2 土壤有机质化学组成测定

利用Py-GC/MS技术测定土壤有机质化学成分图谱, 用质谱数据库(National Institute of Standards and Technology, NIST 2014)比对获得化学成分。根据已有的研究结果(Grandy *et al.*, 2007; Yassir & Buurman, 2012; Oliveira *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2018)和这些成分的化学结构相似性, 将这些成分归类为烷烃、烯烃、芳香烃、脂肪酸、木质素、含氮化合物、酚类、多环芳烃、多糖、萜烯类和其他成分(表1),

表1 藏北高寒草地土壤有机质化学成分
Table 1 Soil organic matter chemical compositions in Northern Xizang

化学成分 Chemical Compositions	化学分子 Chemical molecular
烷烃 <i>n</i> -Alkanes	3-乙基-己烷、正十一烷、2,4,6-三甲基戊烷、3-甲基-十一烷、乙基-环十二烷、正十九烷 3-ethyl-hexane, undecane, 2,4,6-trimethyl-octane, 3-methyl-undecane, ethyl-cyclododecane, nonadecane
烯烃 <i>n</i> -Alkenes	2-甲基-1-丁烯、1,4-环己二烯、5-甲基-1,3-环戊二烯、1-庚烯、1,2-二甲基-环戊烯、1,5-庚二烯, (顺)、2,6-辛二烯、1-辛烯、3-甲基-1-庚烯、3-甲基-2,5-庚二烯、2-十一烯, (顺)、1-癸烯、2-十二烯, (顺)、2-甲基-1-十五烯、17-三十五烯、5-十八烯, (顺)、9-十九烯 2-methyl-1-butene, 1,4-cyclohexadiene, 5-methyl-1,3-cyclopentadiene, 1-heptene, 1,2-dimethyl-cyclopentene, 1,5-heptadiene, (E)-, 2,6-octadiene, 1-octene, 3-methyl-1-heptene, 3-methyl-1,5-heptadiene, 2-undecene, (E)-, 1-decene, 2-dodecene, (E)-, 2-methyl-1-pentadecene, 17-pentatriacontene, 5-octadecene, (E)-, 9-nonadecene
芳香烃 Aromatics	苯、甲苯、乙苯、对二甲苯、苯乙烯、1-乙烯基-3-甲苯、邻苯二甲酸酐、2-甲基苯乙炔、2,5-二甲基-对三联苯、1-甲基-4-(1-丙炔基)-苯 Benzene, toluene, ethylbenzene, p-xylene, styrene, 1-ethenyl-3-methyl- benzene, phthalic anhydride, methylphenylacetylene, 2,5-dimethyl-p-terphenyl, 1-methyl-4-(1-propynyl)- benzene
脂肪酸 Fatty acids	4-溴丁酸、4-氧基苯甲酸-6-乙基-3-辛酯、邻苯二甲酸二甲酯、十四酸、邻苯二甲酸2-(2-甲氧基)异丁基己酯、十六烷酸甲酯、棕榈酸、十五烷酸、9-十六碳烯酸、反式-13-十八烯酸、顺式-13-十八烯酸、邻苯二甲酸二异辛酯、酞酸丁十一酯、1,3-苯二甲酸二(2-乙基己基)酯、顺-3-己烯-1-醇乙酸酯 4-bromobutyric acid, 4-cyanobenzoic acid, 6-ethyl-3-octyl ester, dimethyl phthalate, tetradecanoic acid, phthalic acid, isobutyl 2-(2-methoxyethyl)hexyl ester, hexadecanoic acid, dimethyl ester, n-hexadecanoic acid, pentadecanoic acid, 9-hexadecenoic acid, trans-13-octadecenoic acid, cis-13-octadecenoic acid, diisooctyl phthalate, phthalic acid, butyl undecyl ester, 1,3-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester, 3-hexen-1-ol, acetate, (E)-
木质素 Lignins	2-甲基-1-戊醇、3-己炔-2,5-二醇、2-甲基-4-乙烯基酚、 α -乙基-4-甲氧基-苯甲醇 2-methyl-1-pentanol, 3-hexyne-2,5-diol, 2-methoxy-4-vinylphenol, α -ethyl-4-methoxy-benzenemethanol
含氮化合物 N-compounds	D-丙氨酸、1,2-丙二酰胺、2-丙胺、4-甲基-2-戊胺、异丁腈、3-甲基丁腈、N-甲基吡咯、吡啶、吡咯、2-甲基吡啶、2-甲基噻啶、2-甲基吡咯、异己腈、3-甲基吡咯、3-甲基吡啶、2,6-二甲基吡啶、2,3-二甲基吡啶、3-乙基吡啶、3,5-二甲基吡啶、2,4-二甲基吡啶、苄腈、吡啶、氨基苯并噻唑、2(3H)-苯并噻唑酮、硬脂酰胺、十八腈、11-硝基-1-十一碳烯、十七腈、十二酰胺、N-苯基-2-氨基苯并噻唑、油酸酰胺、十九酰胺、芥酸酰胺 D-alanine, 1,2-propanediamine, 2-propanamine, 4-methyl-2-pentanamine, isobutyronitrile, 3-methyl-butanenitrile, 1-methyl-1H-pyrrole, pyridine, pyrrole, 2-methyl-pyridine, 2-methyl-pyrimidine, 2-methyl-1H-pyrrole, isoamyl cyanide, 3-methyl-1H-pyrrole, 3-methyl-pyridine, 2,6-dimethyl-pyridine, 2,3-dimethyl-1H-pyrrole, 3-ethyl-1H-pyrrole, 3,5-dimethyl-pyridine, 2,4-dimethyl-pyridine, benzyl nitrile, indole, 2-benzothiazolamine, 2(3H)-benzothiazolone, octadecanamide, octadecanenitrile, 11-nitro-1-undecene, heptadecanenitrile, dodecanamide, N-phenyl-2-benzothiazolamine, 9-octadecanamide, (Z)-, nonadecanamide, 13-docosenamide
酚 Phenols	酚、2-甲酚、对甲酚、3-乙基苯酚、邻苯基苯酚、4,4'-(1-甲基亚乙基)苯酚 Phenol, 2-methyl-phenol, p-cresol, 3-ethyl-phenol, o-hydroxybiphenyl, 4,4'-(1-methylethylidene)bis- phenol
多环芳烃 Polyaromatics	茚、1,2-二氢茚、1-亚甲基-1H-茚、1-亚乙基-1H-茚、1-甲基茚、2-甲基茚 Indane, 1,2-dihydro-naphthalene, 1-methylene-1H-indene, 1-ethylidene-1H-indene, 1-methyl-naphthalene, 2-methyl-naphthalene
多糖 Polysaccharides	3-甲基丁醛、乙酸、巴豆醛、异丁烯醛、2,5-二甲基呋喃、4-羟基-2-环戊烯酮、3-糠醛、糠醛、4-环戊烯-1,3-二酮、2-甲基-2-环戊烯酮、1,2-环戊二酮、5-甲基-2-糠醛、3-甲基-1,2-环戊二酮、2,3-二甲基-2-环戊烯酮、苯乙酮、2,3-二羟基苯呋喃、2,3-二羟基-1H-茚-1-酮、苯酚、黄柏酮、2-二烯丙氨基-N-苯基-2-硫基-乙酰胺 3-methyl-butanal, acetic acid, 2-butenal, methacrolein, 2,5-dimethyl-furan, 4-hydroxy-2-cyclohexen-1-one, 3-furaldehyde, furfural, 4-cyclopentene-1,3-dione, 2-methyl-2-cyclopenten-1-one, 1,2-cyclopentanedione, 5-methyl-2-furancarboxaldehyde, 3-methyl-1,2-cyclopentanedione, 2,3-dimethyl-2-cyclopenten-1-one, acetophenone, 2,3-dihydro-benzofuran, 2,3-dihydro-1H-inden-1-one, phthalic anhydride, obacunone, 2-diallylamino-N-phenyl-2-thioxo-acetamide
萜烯类 Terpenes	角鲨烯 squalene
其他成分 Others	己基过氧化氢、顺式1,3-环戊烷二醇、反式4-环戊烯-1,3-二醇、癸醇、十六醇 Hexyl-hydroperoxide, 1,3-cyclopentanediol, cis-, 4-cyclopentene-1,3-diol, trans-, 1-decanol; 1-hexadecanol
未知物质 Unknowns	未知1、未知2、未知3、未知5、未知6、未知7、未知8、未知9、未知10、未知11、未知12 Unknown 1, unknown 2, unknown 3, unknown 4, unknown 5, unknown 6, unknown 7, unknown 8, unknown 9, unknown 10, unknown 11, unknown 12

此外, 将未被识别出的12个峰归类为未知物质。土壤有机质化学成分相对丰度用各成分的相对面积表示。另外, 糠醛和吡咯的相对丰度之比、吡咯和酚的相对丰度之比分别被认为是有机质易矿化组分和难矿化组分的矿化指数; 苯和甲苯相对丰度之比与土壤腐殖化强度相关, 是由于苯来源于缩聚芳香族物质, 甲苯则主要来源于非缩聚芳香族链状物质 (Aranda *et al.*, 2015)。

1.3 土壤酶活性和氮矿化指标测定

蛋白酶和脲酶活性采用茚三酮和靛酚蓝比色法测定, 活性分别以($\mu\text{g glycine} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)和 $\text{mg NH}_3\text{-N} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示(蔡红和沈仁芳, 2005; 黄娟等, 2012)。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在室内培养条件下, 用AA3流动分析仪(AutoAnalyzer 3HR, SEAL Analytical, Hamburg, Germany)测定。室内培养试验于2016年11月至2017年5月进行, 培养210天。培养时将相当于100 g干土的土壤样品装入250 mL的土壤培养瓶中, 并用透气的塑料薄膜封住瓶口后放置到恒温培养箱进行培养。因样品来自于不同区域、不同草地类型, 土壤的温湿度条件都不同, 故在本研究中为保持实验条件的一致性, 培养温度固定为25 °C, 土壤湿度固定为40%的体积含水量。在培养过程中如果水分含量降低, 及时进行补充, 从而维持土壤水分含量的一致。在培养前先测定土壤样品中初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量。在培养结束后测定同样的指标, 计算土壤净氮矿化、净硝化和净氨化速率。

1.4 数据统计

采用SPSS 20.0进行单因素方差分析检验不同草地类型土壤有机质化学成分和酶活性的差异, 并采用Duncan法进行多重比较。采用Pearson相关系数分析土壤有机质化学成分和酶活性的相关性。采用Canoco 5.0进行主成分分析。

土壤有机质各化学成分的相对丰度(RA)按照以下公示进行计算:

$$RA_{ij} = (X_{ij} / \sum X_i) 100$$

式中, RA_{ij} 是指第*i*个土壤有机质样品中第*j*化学成分的相对丰度, X_{ij} 是指第*i*个土壤有机质样品中第*j*化学成分的综合热裂解图谱面积, $\sum X_i$ 是指第*i*个土壤有机质样品中所有鉴定出的化学成分的综合热裂解图谱面积之和。

采用香农-维纳指数(*H*)计算土壤有机质化学组

成多样性特征:

$$H = -\sum_i^s P_i \ln P_i$$

式中, *S*是种数, P_i 是样品中属于第*i*种的个体的比例。

土壤矿化指标计算公式:

$$V = (v_2 - v_1) / t$$

式中, *V*为土壤的净氮矿化速率、净氨化速率和净硝化速率($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), v_2 和 v_1 分别为培养前后土壤中氮的含量 ($\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$) ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$); *t*为培养时间(d)。

2 结果

2.1 藏北高寒草地土壤有机质化学组成

采用Py-GC/MS获取土壤样品有机质化学成分色谱图, 色谱图中每个波峰代表着一种化学分子, 每个色谱图中可以识别出的波峰的总个数则表示该土壤样品有机质化学分子的总数。不同高寒草地类型土壤样品的化学分子总的个数存在一定的差异性。具体表现为, 高寒草甸>高寒草原>高寒草甸草原>高寒荒漠草原, 分别为(86.2 ± 1.72)、(78.4 ± 3.88)、(70.33 ± 3.68)和(57.4 ± 5.64), 以上差异性均达到显著水平($p < 0.05$), 高寒荒漠草原和高寒荒漠(51.33 ± 5.44)土壤有机质化学分子数之间差异性未达到显著水平(图2)。

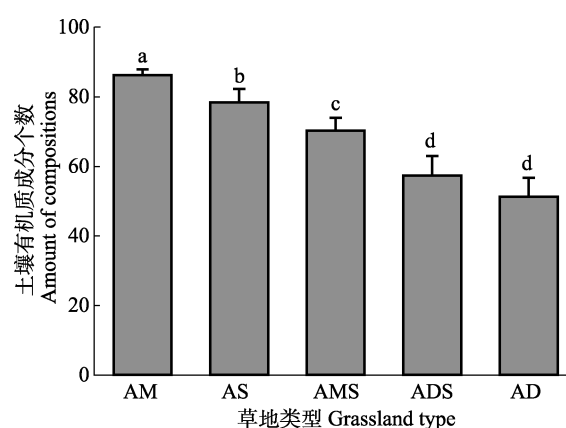


图2 基于热裂解气质联用技术获得的藏北不同高寒草地类型土壤有机质化学成分个数(平均值+标准误差)。不同小写字母表示土壤有机质化学成分个数在不同草地类型之间差异显著($p < 0.05$)。AD, 高寒荒漠; ADS, 高寒荒漠草原; AM, 高寒草甸; AMS, 高寒草甸草原; AS, 高寒草原。

Fig. 2 Amount of different soil organic matter chemical compositions by Py-GC/MS in Northern Xizang, China (mean + SE). Different lowercase letters indicate significant differences among different grasslands ($p < 0.05$). AD, alpine desert; ADS, alpine desert steppe; AM, alpine meadow; AMS, alpine meadow steppe; AS, alpine steppe

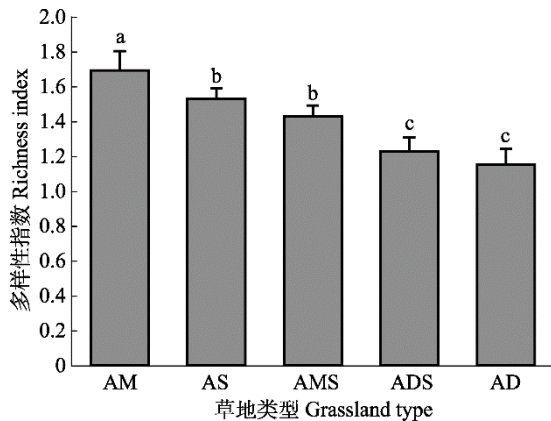


图3 不同高寒草地类型土壤有机质化学组成多样性指数。不同小写字母表示土壤有机质化学组成多样性指数在不同草地类型之间的差异性($p < 0.05$)。AM, 高寒草甸; AS, 高寒草原; AMS, 高寒草甸草原; ADS, 高寒荒漠草原; AD, 高寒荒漠。

Fig. 3 Richness index of soil organic matter compositions in different alpine grassland soils in Northern Xizang, China. Different lowercase letters indicate significant differences among different grasslands ($p < 0.05$). AD, alpine desert; ADS, alpine desert steppe; AM, alpine meadow; AMS, alpine meadow steppe; AS, alpine steppe

不同高寒草地类型土壤有机质化学组成多样性指数也存在一定差异。高寒草甸土壤有机质化学多样性指数显著($p < 0.05$)高于其余4种草地类型, 分别为高寒草甸(1.70 ± 0.11)、高寒草原(1.53 ± 0.06)、高寒草甸草原(1.43 ± 0.06)、高寒荒漠草原(1.23 ± 0.08)和高寒荒漠(1.15 ± 0.09)。高寒草原和高寒草甸草原土壤有机质化学多样性显著($p < 0.05$)高于高寒荒漠草原和高寒荒漠, 高寒草原和高寒草甸草原之间差异性未达到显著水平, 高寒荒漠草原和高寒荒漠之间差异性也未达到显著水平(图3)。

5种草地土壤有机质均以含氮化合物为主, 在高寒草甸、高寒草原、高寒草甸草原、高寒荒漠草原和高寒荒漠土壤中的相对丰度分别为 $32.47\% \pm 5.88\%$ 、 $41.77\% \pm 9.79\%$ 、 $51.76\% \pm 3.05\%$ 、 $48.72\% \pm 5.65\%$ 和 $40.33\% \pm 4.42\%$ (图4)。其次是多糖和脂肪酸, 其中, 多糖类表现为高寒草甸和高寒草甸草原显著($p < 0.05$)高于高寒草原、高寒荒漠草原和高寒荒漠土壤; 脂肪酸相对丰度表现为高寒荒漠显著($p < 0.05$)高于高寒荒漠草原、高寒草原、高寒草甸和高寒草甸草原土壤。烷烃、多环芳烃和木质素等物质在高寒草地土壤有机质中相对丰度较低, 均表现为高寒草甸土壤相对丰度显著($p < 0.05$)高于其余4种草地类型土壤(图4)。主成分分析结果显示, 5种草地土壤有机质化学组成存在一定差异, 即同一草地

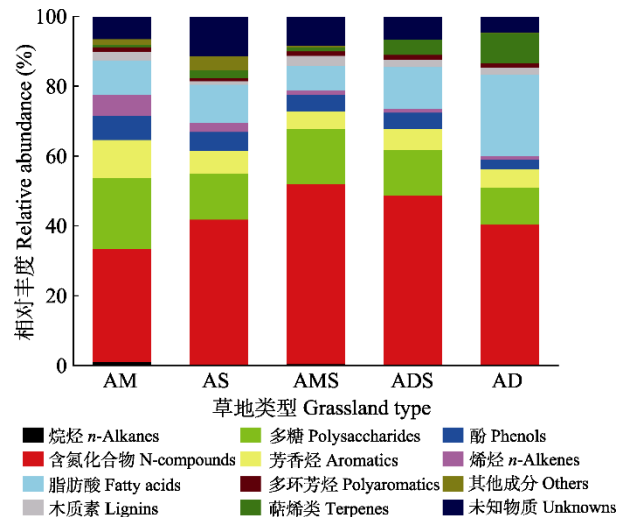


图4 藏北不同高寒草地类型土壤有机质化学成分相对丰度。AM, 高寒草甸; AS, 高寒草原; AMS, 高寒草甸草原; ADS, 高寒荒漠草原; AD, 高寒荒漠。

Fig. 4 Relative abundance of soil organic matter chemical compositions in different grassland soils in Northern Xizang, China. AD, alpine desert; ADS, alpine desert steppe; AM, alpine meadow; AMS, alpine meadow steppe; AS, alpine steppe.

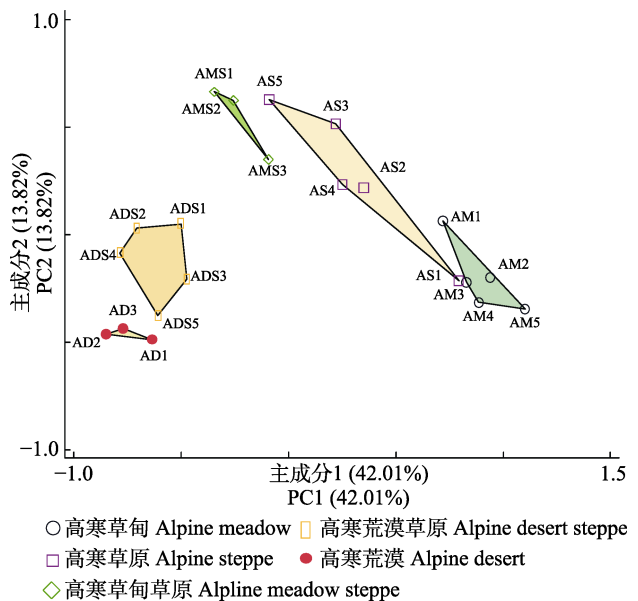


图5 藏北不同高寒草地类型土壤有机质化学组成主成分分析。**Fig. 5** Principal component (PC) analysis of soil organic matter chemical components in alpine grassland soils in Northern Xizang, China.

类型样点分布相对集中, 而不同草地类型样点分布较为分散(图5)。

2.2 藏北高寒草地土壤酶活性

高寒草甸土壤蛋白酶活性 ($(170.20 \pm 55.28) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) 显著($p < 0.05$)高于高寒荒漠($(85.60 \pm 10.02) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)、高寒草甸草原((79.97 ± 43.97)

表2 藏北不同高寒草地类型土壤酶活性(平均值±标准误差)

Table 2 Enzyme activity in different alpine grassland soils in Northern Xizang, China (mean ± SE)

高寒草地类型 Alpine grassland type	蛋白酶 Protease ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	脲酶 Urease ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
高寒草甸 Alpine meadow	170.20 ± 55.28 ^{Aa}	96.25 ± 52.08 ^{Aa}
高寒草原 Alpine steppe	117.84 ± 36.68 ^{Aab}	130.20 ± 41.59 ^{Aa}
高寒荒漠 Alpine desert	85.60 ± 10.02 ^{Abc}	80.07 ± 1.97 ^{Aa}
高寒草甸草原 Alpine meadow steppe	79.97 ± 43.97 ^{Abc}	68.53 ± 6.22 ^{Aa}
高寒荒漠草原 Alpine desert steppe	31.00 ± 20.81 ^{Bc}	85.86 ± 14.31 ^{Aa}

不同大写字母表示同一草地类型土壤不同酶的活性之间差异显著($p < 0.05$), 不同小写字母表示土壤酶在不同草地类型之间的差异显著($p < 0.05$)。Different uppercase letters indicate significant difference between the two enzymes in the same grassland type ($p < 0.05$), while different lowercase letters indicate significant difference among different grassland types for the same type of enzyme ($p < 0.05$).

表3 藏北不同高寒草地类型土壤净氮矿化速率、净氨化速率和净硝化速率(平均值±标准误差)

Table 3 Net nitrogen (N) mineralization rate, net ammonification rate and net nitrification rate in different alpine grassland soils in Northern Xizang, China (mean ± SE)

高寒草地类型 Alpine grassland type	净氮矿化速率 Net N mineralization rate ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	净氨化速率 Net ammonification rate ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	净硝化速率 Net nitrification rate ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)
高寒草甸 Alpine meadow	0.33 ± 0.17 ^a	0.01 ± 0.004 ^a	0.32 ± 0.16 ^a
高寒草原 Alpine steppe	0.15 ± 0.06 ^b	0.008 ± 0.002 ^b	0.14 ± 0.06 ^b
高寒荒漠 Alpine desert	0.05 ± 0.02 ^b	0.003 ± 0.002 ^c	0.05 ± 0.01 ^b
高寒草甸草原 Alpine meadow steppe	0.12 ± 0.05 ^b	0.004 ± 0.001 ^c	0.12 ± 0.05 ^b
高寒荒漠草原 Alpine desert steppe	0.05 ± 0.02 ^b	0.004 ± 0.002 ^c	0.04 ± 0.02 ^b

不同小写字母表示不同草地类型之间的差异性($p < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among different grassland types ($p < 0.05$).

$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)和高寒荒漠草原(31.00 ± 20.81) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), 但和高寒草原(117.84 ± 36.68) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)差异不显著(表2)。脲酶活性在5种类型草地土壤中的差异性未达到显著水平。高寒荒漠草原土壤脲酶活性显著($p < 0.05$)高于蛋白酶活性, 其余4种草地土壤脲酶和蛋白酶活性之间差异性未达到显著水平(表2)。

2.3 藏北高寒草地土壤氮矿化速率及其与酶活性的关系

室内培养实验结果显示, 高寒草甸土壤净氮矿化速率、净氨化速率和净硝化速率显著($p < 0.05$)高于高寒草原、高寒荒漠、高寒草甸草原和高寒荒漠草原。高寒草原土壤净氨化速率显著高于高寒荒漠、高寒草甸草原和高寒荒漠草原(表3)。高寒草地土壤蛋白酶活性和净氮矿化速率, 净氨化速率及净硝化速率之间相关关系均达到极显著水平($p < 0.01$); 脲酶活性和土壤氮转化速率之间相关性均未达到显著水平($p > 0.05$)(表4)。

2.4 藏北高寒草地土壤有机质化学组成与酶活性之间的关系

高寒草地土壤蛋白酶活性和土壤有机质化学组成中的烷烃、芳香烃相对丰度显著相关($p < 0.05$), 和烯烃相对丰度呈极显著相关关系($p < 0.01$), 和其

表4 藏北高寒草地土壤酶活性和土壤氮转化速率的关系

Table 4 Relationship between soil enzyme activity and soil nitrogen (N) transformation rate in alpine grasslands in Northern Xizang, China

土壤氮转化速率 Soil nitrogen transformation rate	蛋白酶 Protease	脲酶 Urease
净氮矿化速率 Net N mineralization rate	0.75 ^{**}	0.33
净氨化速率 Net ammonification rate	0.79 ^{**}	0.37
净硝化速率 Net nitrification rate	0.71 ^{**}	0.33

^{**}, $p < 0.01$.

余物质的相对丰度之间相关性未达到显著水平。脲酶活性和土壤有机质中所有成分之间的相关性均未达到显著水平($p > 0.05$)。此外, 蛋白酶活性和糠醛:吡咯的值呈极显著($p < 0.01$)相关关系, 和苯:甲苯值和吡咯:酚值之间的相关性未达到显著水平(表5)。高寒草地土壤有机质化学成分中烷烃、烯烃、芳香烃的相对丰度和土壤净氮矿化速率、净氨化速率、净硝化速率之间均呈极显著相关关系($p < 0.01$)。多糖相对丰度和土壤净氮矿化速率、净氨化速率、净硝化速率之间显著正相关($p < 0.05$); 萜烯类的相对丰度和净氮矿化速率、净氨化速率、净硝化速率显著负相关($p < 0.05$)。糠醛:吡咯值和净氨化速率呈极显著相关关系($p < 0.01$), 和净氮矿化速率、净硝化速率之间呈显著相关关系($p < 0.05$)。

表5 藏北高寒草地土壤有机质化学组成和酶活性的相关性
Table 5 The relationship between soil organic matter compositions and enzyme activity in alpine grasslands in Northern Xizang, China

化学成分 Chemical composition	蛋白酶 Protease	脲酶 Urease	净氮矿化速率 Net nitrogen mineralization rate	净氨化速率 Net ammonification rate	净硝化速率 Net nitrification rate
烷烃 <i>n</i> -Alkanes	0.45*	−0.02	0.63**	0.67**	0.63**
烯烃 <i>n</i> -Alkenes	0.72**	0.15	0.70**	0.83**	0.69**
芳香烃 Aromatics	0.53*	0.16	0.61**	0.80**	0.60**
脂肪酸 Fatty acids	−0.13	−0.12	−0.35	−0.33	−0.35
木质素 Lignins	0.17	−0.33	−0.11	−0.02	−0.11
含氮化合物 N-compounds	−0.43	−0.09	−0.40	−0.60*	−0.39
酚 Phenols	0.27	0.22	0.33	0.60**	0.32
多环芳烃 Polyaromatics	−0.27	−0.12	0.03	0.05	0.02
多糖 Polysaccharides	0.30	0.03	0.50*	0.61**	0.49*
萜烯类 Terpenes	−0.35	−0.16	−0.49*	−0.53*	−0.49*
糠醛:吡咯 Furfural:Pyrrole	0.56**	0.12	0.47*	0.62**	0.46*
苯:甲苯 Benzene:Toluene	−0.38	0.07	−0.19	−0.41	−0.18
吡咯:酚 Pyrrole:Phenol	−0.12	0.26	0.05	−0.25	0.06

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

3 讨论

3.1 高寒草地类型对土壤酶活性的影响

土壤酶是土壤有机体代谢的主要动力, 是反映生态系统土壤肥力和养分转化过程的重要指标(王理德等, 2016; Luo *et al.*, 2020)。土壤脲酶和蛋白酶是土壤中氮转化的重要催化剂, 对促进土壤氮循环和提高土壤氮的利用率有重要意义(Caldwell, 2005)。脲酶是促进土壤中酰胺肽键的水解生成植物根系可吸收利用的氨, 指示土壤的供氮水平(Gong *et al.*, 2015); 蛋白酶则是参与土壤中氨基酸、蛋白质和其他含蛋白质氮的有机化合物的转化, 可用于指示土壤氮的矿化(黄珣璠等, 2020)。藏北高寒草地土壤酶活性研究结果显示, 不同草地类型土壤酶活性大小存在一定差异, 其中, 高寒荒漠草原土壤脲酶活性显著($p < 0.05$)高于蛋白酶活性, 这说明高寒荒漠草原土壤中虽然可供微生物利用的有机氮含量较低, 但对土壤氮的利用率却相对较高。

土壤氮矿化和硝化是为草地植物和微生物生长提供可利用氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)的关键过程。研究表明, 高寒草甸土壤净氮矿化速率、净硝化速率和净氨化速率显著高于其余4种草地类型(表3), 与Cai等(2013)、Li等(2015)和白洁冰等(2011)部分研究结果相似, 即不同类型高寒草地土壤氮矿化速率存在显著差异, 其中高寒草甸土壤氮转化速率高于其他类型的高寒草地, 这可能是由于高寒草甸土壤酶活性较强, 氮的转化效率相对较高。本研究中, 5种

高寒草地土壤中蛋白酶活性存在显著差异($p < 0.05$)(表2), 即土壤蛋白酶活性在高寒草甸中高于其余4种类型高寒草地, 而在高寒荒漠草原中相对较低, 印证了高寒草甸土壤氮转化速率高于其他类型的高寒草地是由于土壤酶活性较强的观点。马星星等(2016)研究发现, 高寒草甸植物生物量、土壤温湿度以及土壤养分含量等环境条件均优于其他高寒草地类型, 这为微生物生长提供较好的养分来源; 而在高寒荒漠草原, 植被多样性较差, 凋落物和根系对土壤有机质的返还率较低(Gao *et al.*, 2009; 朱桂丽等, 2017)。因此, 土壤蛋白酶和氮转化效率在不同类型高寒草地之间的差异还可能是因为不同生态系统之间土壤结构、植被类型和盖度、凋落物返还量及其化学组分、土壤有机质质量、pH、氮磷含量等存在一定的差异(Li *et al.*, 2020; 白洁冰等, 2011)。

西藏中部和西北部植被为旱生性草类为主, 土壤类型以冷钙土和寒钙土为主, 表层土壤有机质含量分别为49.0和21.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮含量为2.57和1.15 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 碱解氮含量分别为135和77 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最西北部的冷漠土和寒漠土中土壤有机质积累极弱(刘世全等, 2004)。分布于该区的申扎县的高寒草原土壤表层可溶性有机氮含量约为7 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Chen *et al.*, 2017), 远远低于温带森林土壤(239–526 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (Zhong & Makeschin, 2003)和耕地麦田土壤(0–15 m) (344 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)(梁斌等, 2016)。因此, 草地土壤中可供微生物利用的氮含量较低, 同时低温环境下土壤微生物的活性较弱, 其土壤氮化效率(1.72 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)

低于农田和森林(3.82 和 $2.58 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)等其他植被类型(Li *et al.*, 2020)。本研究结果显示, 脲酶活性在不同类型高寒草地之间的差异性未达到显著水平(表2)。一方面, 高寒草地土壤尿素等微生物可利用资源整体相对匮乏, 导致脲酶活性在5种草地类型土壤中均处于较低水平。另一方面, 高寒草地是长期适应高寒气候条件所形成的一种特殊生境, 其生态系统自身存在一定的稳定性和特殊的维持机制, 导致微生物分泌脲酶与微生物自身对养分的需求有关, 植物生物量、土壤温湿度等环境因子并不是影响高寒草地脲酶活性的关键因子(Utobo & Tewari, 2015)。脲酶活性在植被物种数较少, 丰富度和多样性较小的高寒荒漠类型中和高寒草甸、高寒草原等环境条件较好的地区之间差异未达到显著水平, 这可能是土壤微生物为从养分比较贫乏的环境中获取自身所需的养分而分泌一定含量的酶。这与退化草地的部分研究结果相似, 即养分极度贫乏的高寒草地极端环境刺激了碳氮转化酶类一定的活性(李茜等, 2019), 而与养分的全量和有效量相对较高的生态系统(森林和农田)的研究结果存在差异, 即土壤总氮和可溶性有机氮等养分含量较高的土壤中酶的活性较强(鲍勇等, 2018), 因此, 高寒草地土壤微生物分泌脲酶可能同时受环境因素和自身需求的影响。

3.2 高寒草地土壤有机质化学组成对酶活性的影响

通常情况下, 土壤酶活性受植被类型、土地利用方式、施肥、放牧、种植年限和季节变化等因素的影响, 与土壤水分、养分、容重和微生物数量等密切相关(Aranda *et al.*, 2015; Schimel *et al.*, 2017)。土壤有机质是影响土壤酶活性的关键因子, 这是因为在微生物的作用下, 土壤有机物质和有机残体分解成不同的中间产物和最终产物, 为微生物和植物提供了营养物质和能量, 同时有机物质通过诱导微生物生成胞外酶进而调节土壤酶活性(Avazpoor *et al.*, 2019)。

土壤酶活性的高低与土壤中可供养分循环的营养元素的含量直接相关。在有机养分充足的情况下, 土壤酶活性越高, 土壤有机质的矿化率和代谢速度越高, 越有利于土壤生态系统营养循环(马源等, 2020)。高寒草地因长年处于低温、寒冻条件, 其土壤生物生命活动受到强烈限制, 加之高寒草甸草毡化的极度发育, 致使土壤有机体难以分解、转化而大量累积, 形成全量养分丰富, 而速效养分严重匮

乏的现象(Chen *et al.*, 2020), 因此, 在养分含量相对较低的高寒草地, 土壤酶活性受到了不同程度的限制(李茜等, 2019)。本研究结果表明, 土壤有机质化学组成中烷烃、烯烃和芳香烃的相对丰度和糠醛:吡咯的值和土壤蛋白酶活性密切相关, 同时这些化学成分和比值与土壤净氮矿化速率、净氨化速率和净硝化速率也呈显著相关关系(表5)。这可能是由于烷烃、烯烃和芳香烃是来自于植物残体的蛋白质、多糖和木质素的分解; 矿化指数(糠醛:吡咯)是指相对于吡咯, 糠醛来源于更容易降解的有机化合物(如碳水化合物)(Yassir & Buurman, 2012; Oliveira *et al.*, 2016), 微生物为分解这些来自植物的大分子物质而分泌更多的蛋白酶, 并且该过程伴随着芳香烃等稳定成分产生。

土壤酶活性和气候条件等环境因素密切相关, 具有一定波动性, 而土壤有机质化学反应是长期的降解过程(Grandy *et al.*, 2007)。因此, 不同土壤有机质化学成分对不同土壤酶活性的影响程度和方式可能不同。本研究结果显示, 高寒草地土壤脲酶活性和土壤有机质各化学成分和比值之间的相关关系均未达到显著水平。这与Andreotta等(2013)对意大利中部地中海林地土壤酶活性的研究结果存在一定差异, 即土壤中脲酶在土壤有机质吡咯:苯酚值高土壤中活性高, 而在土壤有机质苯:甲苯和糠醛:吡咯值高的土壤中活性较低。这种差异可能是由于高寒草地特殊环境导致影响土壤酶活性的因素更加复杂和特殊, 其影响因子有待于进一步深入的研究。

4 结论

本文研究了藏北高寒草地土壤蛋白酶和脲酶活性与土壤有机质化学之间的关系。结果表明: 1)高寒草地土壤酶活性整体水平较低, 可能是高寒草地养分相对匮乏, 土壤水热条件相对较差导致的; 2)高寒草地类型是影响土壤蛋白酶活性的重要因子; 3)土壤有机质化学指标烷烃、烯烃、芳香烃和糠醛:吡咯与土壤蛋白酶存在显著或极显著相关关系, 土壤脲酶活性与土壤有机质化学组成之间相关性未达到显著水平。因此高寒草地土壤有机质化学是影响土壤蛋白酶活性的关键因子, 而关于脲酶活性的影响因素还有待进一步深入的研究。

致谢 感谢河南师范大学博士科研启动课题(qd18052)资助。

参考文献

- Adamczyk B, Kitunen V, Smolander A (2009). Polyphenol oxidase, tannase and proteolytic activity in relation to tannin concentration in the soil organic horizon under silver birch and Norway spruce. *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 2085–2093.
- Andreetta A, Macci C, Giansoldati V, Masciandaro G, Carnicelli S (2013). Microbial activity and organic matter composition in Mediterranean humus forms. *Geoderma*, 209, 198–208.
- Aranda V, Macci C, Peruzzi E, Masciandaro G (2015). Biochemical activity and chemical-structural properties of soil organic matter after 17 years of amendments with olive-mill pomace co-compost. *Journal of Environmental Management*, 147, 278–285.
- Avazpoor Z, Moradi M, Basiri R, Mirzaei J, Taghizadeh-Mehrjardi R, Kerry R (2019). Soil enzyme activity variations in riparian forests in relation to plant species and soil depth. *Arabian Journal of Geosciences*, 12, 708. DOI: 10.1007/s12517-019-4910-2.
- Bai JB, Xu XL, Fu G, Song MH, He YT, Jiang J (2011). Effects of temperature and nitrogen input on nitrogen mineralization in alpine soils on the Tibetan Plateau. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 39, 14698–14700. [白洁冰, 徐兴良, 付刚, 宋明华, 何永涛, 蒋婧 (2011). 温度和氮素输入对青藏高原3种高寒草地土壤氮矿化的影响. 安徽农业科学, 39, 14698–14700.]
- Baligar VC, Wright RJ, Fageria NK, Pitta GVE (1999). Enzyme activities in Cerrado soils of Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30, 1551–1560.
- Bao Y, Gao Y, Zeng XM, Yuan P, Si YT, Chen YM, Chen YY (2018). Relationships between carbon and nitrogen contents and enzyme activities in soil of three typical subtropical forests in China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 508–516. [鲍勇, 高颖, 曾晓敏, 袁萍, 司友涛, 陈岳民, 陈滢伊 (2018). 中亚热带3种典型森林土壤碳氮含量和酶活性的关系. 植物生态学报, 42, 508–516.]
- Bhattacharyya P, Nayak AK, Mohanty S, Tripathi R, Shahid M, Kumar A, Raja R, Panda BB, Roy KS, Neogi S, Dash PK, Shukla AK, Rao KS (2013). Greenhouse gas emission in relation to labile soil C, N pools and functional microbial diversity as influenced by 39 years long-term fertilizer management in tropical rice. *Soil & Tillage Research*, 129, 93–105.
- Cai H, Shen RF (2005). Determination of soil protease activity with modified ninhydrin colorimetry. *Acta Pedologica Sinica*, 42, 306–313. [蔡红, 沈仁芳 (2005). 改良茚三酮比色法测定土壤蛋白酶活性的研究. 土壤学报, 42, 306–313.]
- Cai YJ, Wang XD, Ding WX, Tian LL, Zhao H, Lu XY (2013). Potential short-term effects of yak and Tibetan sheep dung on greenhouse gas emissions in two alpine grassland soils under laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 1215–1226.
- Caldwell BA (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 49, 637–644.
- Chen QY, Niu B, Hu YL, Luo TX, Zhang GX (2020). Warming and increased precipitation indirectly affect the composition and turnover of labile-fraction soil organic matter by directly affecting vegetation and microorganisms. *Science of the Total Environment*, 714, 136787. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136787.
- Chen YC, Ma SQ, Sun J, Wang XD, Cheng GW, Lu XY (2017). Chemical diversity and incubation time affect non-additive responses of soil carbon and nitrogen cycling to litter mixtures from an alpine steppe soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 109, 124–134.
- Cui HX, Wei NH (1997). The geographical distribution of grassland types in Xizang, China. *Foreign Animal Husbandry — Grassland and Pastures*, (4), 11–17. [崔恒心, 维纳汉 (1997). 西藏草地类型及其地理分布规律. 国外畜牧学——草原与牧草, (4), 11–17.]
- Cui JF, Holden NM (2015). The relationship between soil microbial activity and microbial biomass, soil structure and grassland management. *Soil and Tillage Research*, 146, 32–38.
- Derenne S, Quénéa K (2015). Analytical pyrolysis as a tool to probe soil organic matter. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 111, 108–120.
- Dinesh R, Shome BR, Shome R, Bandyopadhyay AK (1998). Soil enzymes in the mangroves: activities and their relation to relevant soil properties. *Current Science*, 75, 510–512.
- Du EZ, Terrer C, Pellegrini AFA, Ahlstrom A, van Lissa CJ, Zhao X, Xia N, Wu XH, Jackson RB (2020). Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation. *Nature Geoscience*, 13, 221–226.
- Fraser FC, Hallett PD, Wookey PA, Hartley IP, Hopkins DW (2013). How do enzymes catalysing soil nitrogen transformations respond to changing temperatures? *Biology and Fertility of Soils*, 49, 99–103.
- Gao QZ, Li Y, Wan YF, Qin XB, Jiangcun WZ, Liu YH (2009). Dynamics of alpine grassland NPP and its response to climate change in Northern Tibet. *Climatic Change*, 97, 515–528.
- Grandy AS, Neff JC, Weintraub MN (2007). Carbon structure and enzyme activities in alpine and forest ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 2701–2711.
- Gong SW, Zhang T, Guo R, Cao HB, Shi LX, Guo JX, Sun W (2015). Response of soil enzyme activity to warming and nitrogen addition in a meadow steppe. *Soil Research*, 53, 242–252.
- Huang HL, Zong N, He NP, Tian J (2019). Characteristics of

- soil enzyme stoichiometry along an altitude gradient on Qinghai-Tibet Plateau alpine meadow, China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 30, 3689–3696. [黄海莉, 宗宁, 何念鹏, 田静 (2019). 青藏高原高寒草甸不同海拔土壤酶化学计量特征. 应用生态学报, 30, 3689–3696.]
- Huang J, Li Z, Zhang J (2012). Improvement of indophenol blue colorimetric method on activity of urease in soil. *Journal of Civil, Architectural & Environment Engineering*, 34, 102–107. [黄娟, 李祺, 张健 (2012). 改良靛酚蓝比色法测土壤脲酶活性. 土木建筑与环境工程, 34, 102–107.]
- Huang YF, Shu YG, Xiao SY, Chen MJ (2020). Quantification of soil nutrient levels and enzyme activities in different grassland categories in karst mountains. *Acta Prataculturae Sinica*, 29, 93–104. [黄巧璠, 舒英格, 肖盛杨, 陈梦军 (2020). 喀斯特山区不同草地土壤养分与酶活性特征. 草业学报, 29, 93–104.]
- Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews: Microbiology*, 16, 263–276.
- Li Q, Sun YN, Li L, Li YK, Du YG, Guo XW, Yang YS, Cao GM (2019). Changes of soil enzyme activities and nutrients across different succession stages of grazing alpine *Kobresia* grassland. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 30, 2267–2274. [李茜, 孙亚男, 林丽, 李以康, 杜岩功, 郭小伟, 杨永胜, 曹广民 (2019). 放牧高寒嵩草草地不同演替阶段土壤酶活性及养分演变特征. 应用生态学报, 30, 2267–2274.]
- Li YY, Dong SK, Liu SL, Zhou HK, Gao QZ, Cao GM, Wang XX, Su XK, Zhang Y, Tang L, Zhao HD, Wu XY (2015). Seasonal changes of CO₂, CH₄ and N₂O fluxes in different types of alpine grassland in the Qinghai-Tibetan Plateau of China. *Soil Biology & Biochemistry*, 80, 306–314.
- Li ZL, Zeng ZQ, Tian DS, Wang JS, Fu Z, Zhang FY, Zhang RY, Chen WN, Luo YQ, Niu SL (2020). Global patterns and controlling factors of soil nitrification rate. *Global Change Biology*, 26, 4147–4157.
- Liang B, Li JL, Yang XY, Zhou JB (2016). Effect of fertilization on extractable organic nitrogen in wheat monoculture cropping systems. *Acta Ecologica Sinica*, 14, 4430–4437. [梁斌, 李俊良, 杨学云, 周建斌 (2016). 施肥对麦田土壤可溶性有机氮的影响. 生态学报, 36, 4430–4437.]
- Liu L, Zhu X, Sun G, Luo P, Wang B (2011). Effects of simulated warming and fertilization on activities of soil enzymes in alpine meadow. *Pratacultural Science*, 28, 1405–1410. [刘琳, 朱霞, 孙庚, 罗鹏, 王蓓 (2011). 模拟增温与施肥对高寒草甸土壤酶活性的影响. 草业科学, 28, 1405–1410.]
- Liu SQ, Gao LL, Pu YL, Deng LJ, Zhang SR (2004). Analysis on status of soil organic matter and N nutrient and their influencing factors in Tibet. *Journal of Soil and Water Conservation*, 18, 54–57. [刘世全, 高丽丽, 蒲玉琳, 邓良基, 张世熔 (2004). 西藏土壤有机质和氮素状况及其影响因素分析. 水土保持学报, 18, 54–57.]
- Lu XY, Yan Y, Fan JH, Wang XD (2012). Gross nitrification and denitrification in alpine grassland ecosystems on the Tibetan Plateau. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 44, 188–196.
- Luo RY, Luo JF, Fan JL, Liu DY, He JS, Perveen N, Ding WX (2020). Responses of soil microbial communities and functions associated with organic carbon mineralization to nitrogen addition in a Tibetan grassland. *Pedosphere*, 30, 214–225.
- Ma SQ, Chen YC, Lu XY, Wang XD (2018). Soil organic matter chemistry: based on pyrolysis-gas chromatography mass spectrometry (Py-GC/MS). *Mini-reviews in Organic Chemistry*, 15, 389–403.
- Ma XX, Yan Y, Lu XY, Wang XD (2016). Dynamics of belowground biomass and its relationship with soil moisture in alpine grassland on the North Tibetan Plateau. *Ecology and Environment*, 25, 189–195. [马星星, 鄢燕, 鲁旭阳, 王小丹 (2016). 藏北高寒草地地下生物量特征及其与土壤水分的关系. 生态环境学报, 25, 189–195.]
- Ma Y, Yang J, Zhang DG, Zhou H, Zhou HC, Chen JG (2020). Effects of alpine meadow degradation on soil microbial biomass and nitrogen mineralization rate in the Qilian Mountains. *Acta Ecologica Sinica*, 40, 2680–2690. [马源, 杨洁, 张德罡, 周恒, 周会程, 陈建纲 (2020). 高寒草甸退化对祁连山土壤微生物生物量和氮矿化速率的影响. 生态学报, 40, 2680–2690.]
- Mehrabanian M (2013). Molecular geochemistry of soil organic matter by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) technique: a review. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 4, 11–16.
- Niu B, Zeng CX, Zhang XZ, He YT, Shi PL, Tian Y, Feng YF, Li M, Wang ZP, Wang XT, Cao YN (2019). High belowground productivity allocation of alpine grasslands on the northern Tibet. *Plants*, 8, 535. DOI: 10.3390/plants8120535.
- Oliveira DMDS, Schellekens J, Cerri CEP (2016). Molecular characterization of soil organic matter from native vegetation-pasture- sugarcane transitions in Brazil. *Science of the Total Environment*, 548, 450–462.
- Rao CS, Grover M, Kundu S, Desai S (2016). Soil enzymes//Lal R. *Encyclopedia of Soil Science*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, USA. 2100–2107.
- Schimel JP, Becerra CA, Blankinship JC (2017). Estimating decay dynamics for enzyme activities in soils from different ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 114, 5–11.
- Senthilkumar K, Manian S, Udaiyan K (1997). The effect of burning on soil enzyme activities in natural grasslands in southern India. *Ecological Research*, 12, 21–25.
- Sun HL, Zheng D, Yao TD, Zhang YL (2012). Protection and construction of the national ecological security shelter

- zone on Tibetan Plateau. *Acta Geographica Sinica*, 67, 3–12. [孙鸿烈, 郑度, 姚檀栋, 张懿铨 (2012). 青藏高原国家生态安全屏障保护与建设. 地理学报, 67, 3–12.]
- Sun J, Hou G, Liu M, Fu G, Zhan TY, Zhou HK, Tsunekawa A, Haregeweyn N (2019). Effects of climatic and grazing changes on desertification of alpine grasslands, Northern Tibet. *Ecological Indicators*, 107, 105647. DOI: 10.1016/j.ecolind.2019.105647.
- Suo NJ, Tan YR, Zhu WX, Gu ZK, Du GZ (2012). A study on soil enzyme activity in four different grasslands of the eastern Tibetan Plateau. *Acta Prataculturae Sinica*, 21, 10–15. [索南吉, 谈嫣蓉, 朱炜歆, 顾振宽, 杜国祯 (2012). 青藏高原东缘不同草地类型土壤酶活性研究. 草业学报, 21, 10–15.]
- Utobo EB, Tewari L (2015). Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status. *Applied Ecology and Environmental Research*, 13, 147169. DOI: 10.15666/aeer/1301_147169.
- Wallenstein MD, McMahon SK, Schimel JP (2009). Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Global Change Biology*, 15, 1631–1639.
- Wang LD, Wang FL, Guo CF, Han FG, Wei LY, Li FM (2016). Review: progress of soil enzymology. *Soils*, 48, 12–21. [王理德, 王方琳, 郭春芳, 韩福贵, 魏林源, 李发明 (2016). 土壤酶学研究进展. 土壤, 48, 12–21.]
- Wang XX, Dong SK, Gao QZ, Zhang Y, Hu GZ, Luo WR (2018). The rate of soil nitrogen transformation decreased by the degradation of alpine grasslands in the Qinghai Tibet Plateau. *Acta Prataculturae Sinica*, 27, 1–9. [王学霞, 董世魁, 高清竹, 张勇, 胡国铮, 罗文蓉 (2018). 青藏高原退化高寒草地土壤氮矿化特征以及影响因素研究. 草业学报, 27, 1–9.]
- Watanabe K (2009). Detection of protease genes in field soil applied with liquid livestock feces and speculation on their function and origin. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55, 42–52.
- Xu HY, Liu GM, Wu XD, Smoak JM, Mu CC, Ma XL, Zhang XL, Li HQ, Hu GL (2018). Soil enzyme response to permafrost collapse in the Northern Qinghai-Tibetan Plateau. *Ecological Indicators*, 85, 585–593.
- Yan ZQ, Qi YC, Peng Q, Dong YS, Guo SF, He YL, Wang LQ, Li ZL (2017). Effects of increased precipitation and nitrogen deposition on soil enzyme activities. *Acta Ecologica Sinica*, 37, 3019–3027. [闫钟清, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 贺云龙, 王丽芹, 李兆林 (2017). 降水和氮沉降增加对草地土壤酶活性的影响. 生态学报, 37, 3019–3027.]
- Yassir I, Buurman P (2012). Soil organic matter chemistry changes upon secondary succession in *Imperata* grasslands, Indonesia: a pyrolysis-GC/MS study. *Geoderma*, 173, 94–103.
- Yu CJ, Jiang DQ, Tian MY, Chen ZH, Zhang YL, Wang J, Jiang H, Chen LJ (2020). Soil intracellular and extracellular urease activities and their response mechanisms to carbon additions in chernozem. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 31, 1957–1962. [于春甲, 姜东奇, 田沐雨, 陈振华, 张玉兰, 王俭, 蒋晖, 陈利军 (2020). 碳添加下黑钙土胞内、胞外脲酶活性变化及其机制. 应用生态学报, 31, 1957–1962.]
- Yu YL, Pan Q, Chen AG (2008). Study on the mechanism of cinnamon extracts as an urease inhibitor. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 29, 47–50. [余燕玲, 潘倩, 陈安国 (2008). 脲酶抑制剂樟科提取物的作用机理初探. 家畜生态学报, 29, 47–50.]
- Zhong ZK, Makeschin F (2003). Soluble organic nitrogen in temperate forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 35, 333–338.
- Zhu GL, Li J, Wei XH, He NP (2017). Longitudinal patterns of productivity and plant diversity in Tibetan alpine grasslands. *Journal of Natural Resources*, 32, 210–222. [朱桂丽, 李杰, 魏学红, 何念鹏 (2017). 青藏高寒草地植被生产力与生物多样性的经度格局. 自然资源学报, 32, 210–222.]

责任编辑: 程晓莉 责任编辑: 李 敏