DOI: 10. 11686/cyxb2026010
http://cyxb. magtech. com. cn
邹弟洋, 宋小艳, 高洋, 等. 增温和降水变化对高寒草甸土壤微生物生物量和酶活性的影响. 草业学报, 2026, 35(11): 24－37.
ZOU Di-yang, SONG Xiao-yan, GAO Yang, *et al*. Effects of warming and precipitation changes on soil microbial biomass and enzyme activities in alpine meadows. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(11): 24－37.

增温和降水变化对高寒草甸土壤微生物生物量和酶活性的影响

邹弟洋[1,2], 宋小艳[1,2*], 高洋[3], 李富梅[1,2], 彭希[1,2], 柳杨[1,2], 胡雷[1,2], 丁路明[1,2], 王长庭[1,2]
(1. 西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041; 2. 青藏高原高寒草地生态保护与利用四川林业草原重点实验室, 四川 成都 610041; 3. 贵州师范大学喀斯特研究院, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 阐明增温和降水变化对高寒草甸土壤微生物生物量和酶活性的影响及机制, 是预测气候变化下高寒草甸土壤碳库与养分循环过程变化的重要基础。本研究依托2021年在青藏高原东缘建立的高寒草甸增温与降水变化双因素模拟试验平台[减水 50%($0.5PW_0$)、对照($1.0PW_0$)、增水 50%($1.5PW_0$)、减水 50%＋增温(0.5PW)、增温(1.0PW)和增水50%＋增温(1.5PW)], 分析了2024年表层土壤微生物生物量碳(MBC)、微生物生物量氮(MBN)与酶活性的响应规律及关键驱动因子。结果表明, 增温处理显著降低土壤pH, 增加土壤水解酶[β-葡萄糖苷酶(BG), 纤维素二糖水解酶(CBH)和β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)]活性, 增幅为105. 26%～188. 03%。而对土壤氧化还原酶[多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(PER)]无显著影响。降水变化显著影响NAG和PPO活性: 自然温度下, 增水提高土壤NAG活性, 增幅为147. 60%; 减水降低土壤MBN含量, 降幅为64. 71%; 增温条件下, 增水和减水均提高土壤PPO的活性, 增幅分别为36. 31%和34. 76%。增温和降水变化对土壤MBN、MBC/MBN及酶活性均存在交互效应, 表现为增温与增水联合作用削弱了单增温或单增水处理对土壤MBN和水解酶活性的影响, 但增强了对土壤氧化还原酶活性的影响。土壤pH是调控土壤酶活性的关键因子, 解释率为40. 78%。综上所述, 单增温降低了高寒草甸土壤pH, 增加了土壤水解酶活性; 而青藏高原暖湿化过程将削弱增温对土壤水解酶的促进作用, 但增强对土壤氧化还原酶的影响, 从而可能促进土壤难分解碳的降解, 加强有机氮的释放和矿化。

关键词: 土壤水解酶; 土壤氧化还原酶; 青藏高原东缘; 气候变化; 交互作用

Effects of warming and precipitation changes on soil microbial biomass and enzyme activities in alpine meadows

ZOU Di-yang[1,2], SONG Xiao-yan[1,2*], GAO Yang[3], LI Fu-mei[1,2], PENG Xi[1,2], LIU Yang[1,2], HU Lei[1,2], DING Lu-ming[1,2], WANG Chang-ting[1,2]
1. *Institute of Qinghai-Tibetan Plateau Research, Southwest Minzu University, Chengdu* 610041, *China*; 2. *Sichuan Provincial Forest and Grassland Key Laboratory of Alpine Grassland Conservation and Utilization of Tibetan Plateau, Chengdu* 610041, *China*; 3. *School of Karst Science, Guizhou Normal University, Guiyang* 550001, *China*

Abstract: Elucidating the effects and underlying mechanisms of warming and precipitation changes on soil microbial biomass and enzyme activities in alpine meadows is essential for predicting the dynamics of soil carbon pools and nutrient cycling processes in these ecosystems under climate change. This study utilized a dual-factor simulation

收稿日期: 2026-01-12; 改回日期: 2026-03-12
基金项目: 国家自然科学基金项目(32101350), 中国科学院山地表生过程与生态调控重点实验室开放基金项目(1190410616046)和西南民族大学青藏高原研究科技创新团队(2024XCTD01)资助。
作者简介: 邹弟洋(1999－), 女, 四川宜宾人, 在读硕士。E-mail: 272564256@qq. com
*通信作者 Corresponding author. E-mail: songxy@swun. edu. cn

platform for warming and precipitation manipulation established in 2021 at the eastern edge of the Tibetan Plateau. The experimental treatments comprised: precipitation decreased by 50% without warming ($0.5PW_0$); natural precipitation without warming (control, $1.0PW_0$); precipitation increased by 50% without warming ($1.5PW_0$) precipitation decreased by 50% with warming (0.5PW); natural precipitation with warming (1.0PW) warming; and precipitation increased by 50% with warming (0.5PW). The response patterns and key drivers of microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), and enzyme activities in surface soil in 2024 were analyzed. It was found that the soil pH was significantly decreased by the warming treatment, and the activities of soil hydrolytic enzymes [β-glucosidase (BG), cellobiohydrolase (CBH), and β-N-acetylglucosaminidase (NAG)] were increased by 105.26% to 188.03%. However, no significant effects were observed on the activities of soil oxidoreductase [phenol oxidase (PPO) and peroxidase (PER)]. Precipitation changes significantly affected the activities of NAG and PPO. Under natural temperature, NAG activity was increased by 147.60% under increased precipitation; while MBN content was reduced by 64.71% under decreased precipitation. Under warming conditions, PPO activity was increased by both increased and decreased precipitation, with increases of 36.31% and 34.76%, respectively. There were significant interactive effects between warming and precipitation change treatments on soil MBN, the MBC/MBN, and enzyme activities. Specifically, the combined effect of warming and increased precipitation mitigated the effects of individual warming or increased precipitation treatments on soil MBN and hydrolytic enzyme activities, but amplified their effects on soil oxidoreductase activities. Soil pH was identified as a key factor regulating soil enzyme activities, explaining 40.78% of the variance. In conclusion, soil pH in alpine meadows was decreased by warming alone, while soil hydrolytic enzyme activities were increased. However, the warming and wetting trend on the Tibetan Plateau is projected to weaken the promotion of warming on soil hydrolytic enzyme activities, but enhance its effects on soil oxidoreductase activities, thereby potentially facilitating the degradation of recalcitrant carbon and intensifying the release and mineralization of organic nitrogen.

Key words: soil hydrolytic enzyme; soil oxidoreductase; eastern edge of the Tibetan Plateau; climate change; interaction

青藏高原是我国最重要的生态安全屏障,同时也是受气候变化影响的敏感区。近50年来,青藏高原气温以每10年增加约0.4 ℃的速度上升,其增温速度是全球的2倍[1]。降水格局则呈现时空异质性,南部和西部降水量减少,东北部和东部降水量增加[2]。气候变暖和降水改变作为气候变化的核心过程,能够通过控制生态系统过程的关键驱动因子(温度和水分)深刻影响生态系统碳氮循环过程,二者的协同作用将加剧碳氮循环的复杂性[3]。土壤微生物和胞外酶是土壤生物地球化学循环的引擎和催化剂,调控着土壤碳、氮、磷的周转速率[4-5]。气候变化将通过直接和间接途径改变土壤胞外酶活性,进而改变土壤有机质分解、碳固定和养分循环等关键陆地生态系统过程[4]。因此,明晰土壤微生物与胞外酶对增温和降水改变的关联响应,解析高寒草甸元素循环对气候变化的响应机制,对预测气候变化背景下高寒草甸元素循环和碳库演变具有重要的科学意义。

土壤微生物生物量和特定功能胞外酶活性是陆地生态系统生物地球化学循环的重要驱动力[6-8]。土壤酶作为微生物分解代谢的关键信息指标,通过参与凋落物和土壤有机质的分解过程,驱动土壤养分循环[5,9]。温度和水分可以直接影响土壤酶活性,或者通过改变土壤微生物产酶的速率与土壤酶在环境中的降解速率来调控土壤酶库,从而影响土壤酶活性[10]。大多数研究表明,土壤酶活性和土壤含水量之间有明显的正相关关系,水分增加可促进酶和底物的扩散,从而提高酶活性[5,11-12]。增温对土壤胞外酶活性的影响则更为复杂。Liu等[13]发现长期(14年)土壤增温会显著提升N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶等胞外酶活性。也有研究发现,增温对土壤水解酶活性无显著影响,因为水解酶对土壤温度的小幅升高不敏感,但增温显著提高了过氧化物酶和多酚氧化酶活性[14],这与温暖土壤中pH的增加有关[15]。然而,增温引发的土壤水分降低也可能限制酶和底物的扩散,从而

可能降低土壤酶活性[12]。Sardans等[4]认为,土壤温度的升高是提高还是限制土壤酶活性取决于土壤含水量。可见,增温对土壤酶活性的影响结果并不一致,一方面因土壤酶的种类不同而异,另一方面因土壤水分条件而异[16]。因此,本研究提出假设:1)增温和增水提高土壤酶活性,而减水由于水分限制降低土壤酶活性;2)增水与增温的共同作用可能抵消增温对土壤酶活性的影响,而减水与增温的共同作用则可能加剧增温对土壤酶活性的影响。

全球气候变化不仅是增温过程,降水格局的改变可能在更大程度上塑造土壤酶活性对增温的响应,从而影响生态系统养分循环。降水改变与增温可能产生协同、加和或拮抗等非线性效应[3],且二者的综合效应可能掩盖单一因子作用,但目前相关研究多来自单因子试验[8,17]或时间[18]、空间[19]梯度调查。因此,增温与降水变化对土壤酶活性的交互影响亟待明晰。全球草地分布区气候64.57%呈暖湿化,33.18%呈暖干化[20]。增温和降水改变对草地生态系统存在着普遍的叠加影响。高寒草甸作为青藏高原的主体植被类型,是中国碳密度最高的区域,在碳库储存和气候调节中发挥关键作用[21-22]。目前,针对亚热带杉木(*Cunninghamia lanceolata*)林、内蒙古温带草原和沙质草地、半干旱农田和撂荒草地等生态系统,已有部分研究揭示降水改变与增温对土壤酶活性呈现出复杂的交互作用[5,9,23]。但是,对于高寒草甸土壤酶活性对增温与降水改变交互作用的响应还鲜有报道[24],通过增温与增水以及增温与减水交互作用的系统解析揭示暖湿化及暖干化气候情景下高寒草甸土壤酶活性的响应研究尤其缺乏,限制了对高寒草甸土壤有机碳库演变机制和养分循环过程的全面认知。因此,本研究利用增温与降水改变(增水和减水)及其交互处理的野外试验平台,探讨了土壤微生物生物量及酶活性的生态响应,以期为未来全球变化背景下高寒草甸土壤养分循环和碳循环响应预测提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于四川若尔盖高寒湿地生态系统国家野外科学观测研究站,该站地处青藏高原东缘的阿坝藏族羌族自治州红原县(31°51′－33°33′ N,101°51′－103°22′ E)。该区域属于高原大陆性气候,长冬无夏,春秋短促。年平均气温为1.4 ℃,多年平均年降水量769 mm,且多集中于5－9月。土壤类型为亚高山草甸土。高寒草甸是该区域主要植被类型,主要有垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、剪股颖(*Agrostis matsumurae*)、矮嵩草(*Kobresia humilis*)和四川嵩草(*Kobresia setchwanensis*)等禾本科和莎草科植物,黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)、异叶米口袋(*Tibetia himalaica*)等豆科植物,钝苞雪莲(*Saussurea nigrescens*)、湿生扁蕾(*Gentianopsis paludosa*)、高山紫菀(*Aster alpinus*)和鹅绒委陵菜(*Potentilla anserina*)等杂类草。

1.2 样地设置与采样

2021年6月,在研究区内选取地势平坦、植被均一的高寒草甸作为试验样地(40 m×40 m),建立围栏,排除放牧干扰。采用随机区组设计在样地内设置减水50%(0.5PW$_0$)、对照(1.0PW$_0$)、增水50%(1.5PW$_0$)、减水50%＋增温(0.5PW)、增温(1.0PW)和增水50%＋增温(1.5PW)6个处理,每个处理6个重复样方(共计36个样方)。每个样方面积3 m×3 m,相邻样方间距2 m。增温处理采用红外线辐射器(长220 cm,宽12 cm;HS-2420,德国)进行全年连续加热,辐射器悬挂于处理样方中心上方1.2 m处,输出功率为2000 W。降水控制通过“V”形高透光有机玻璃降水截流装置(透光率95%,长2.4 m,宽14 cm)实现,该装置覆盖样方上方50%的面积以达到减水50%的处理效果。截流装置通过聚氯乙烯管道与增水处理样方连接,可将截留的雨水自动导入相应样方,从而实现增水50%处理(图1)。所有样方四周均埋设高45 cm、入土深度40 cm的铝板,以防止土壤水分侧向运移对水分处理的影响。

2024年8月,从各处理中随机选取3个重复样方作为本研究的试验样方。在选取的样方内,首先采用0.5 m×0.5 m的样方框对地上植被进行群落调查,记录植物物种数及各物种的高度、盖度、频度。然后采集样方内所有地上植被及凋落物,于65 ℃下烘干至恒重,用于计算群落地上生物量(aboveground biomass, AGB)。植被调查完成后,用内径3.5 cm的土钻在样方内随机选取3个采样点,采集0～10 cm土层土壤,均匀混合。土钻内样品,首先挑出肉眼可见的根系,用水洗净,于65 ℃下烘干至恒重,称量后计算群落地下生物量(belowground biomass, BGB)。随后将土样过2 mm筛,去除杂质后分两部分保存:一部分保存于－20 ℃冰箱,用于测定土壤铵态氮



图 1　试验装置示意

Fig. 1　Schematic diagram of the experimental setup

(a)：减水 50%(0.5PW$_0$)处理装置 The setup for the decreased precipitation by 50% treatment (0.5PW$_0$)；(b)：增水 50%(1.5PW$_0$)处理装置 The setup for the increased precipitation by 50% treatment (1.5PW$_0$).

(ammonium nitrogen, NH_4^+-N)、硝态氮(nitrate nitrogen, NO_3^--N)、微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC)、微生物生物量氮(microbial biomass nitrogen, MBN)、可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)含量和土壤酶活性；另一部分自然风干，用于测定土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)、土壤全氮(total nitrogen, TN)含量及 pH。

1.3　样品分析

由于本研究中土壤呈酸性(pH＜6.2)，无机碳含量极低，可将全碳含量视为土壤有机碳含量。因此，使用元素分析仪(Elementar, Vario macro cube，德国)(杜马斯燃烧法)[25]直接测定土壤有机碳和全氮含量。采用电位法[26]测定土壤 pH(水土比为 2.5∶1.0)；采用环刀法[26]测定土壤容重(bulk density, BD)。在未下雨的上午时段(9:00－11:00)，采用便携式土壤温湿度计(Fieldscout TDR 150，美国)测定土壤 5 cm 处的温度和湿度，约每周测定一次。采用靛酚蓝比色法[27]测定土壤铵态氮含量，采用双波长紫外分光光度法[28]测定土壤硝态氮含量。采用总有机碳分析仪(TNM-L ROHS，日本)测定土壤微生物生物量碳氮(氯仿熏蒸浸提法)[29]，未熏蒸组测定得到的有机碳含量即为可溶性有机碳。

采用微板荧光法[23]测定土壤 β-葡萄糖苷酶(β-glucosidase, BG, EC3.2.1.21)、纤维素二糖水解酶(cellobiohydrolase, CBH, EC3.2.1.91)、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(β-N-acetylglucosaminidase, NAG, EC3.1.6.1)和亮氨酸氨基肽酶(leucine aminopeptidase, LAP, EC3.4.11.1)活性；采用微板比色法[30]测定土壤多酚氧化酶(phenol oxidase, PPO, EC1.10.3.2)和过氧化物酶(peroxidase, PER, EC1.11.1.7)活性。具体操作如下：提前 1 d 将冷冻土壤样品从－20 ℃转移到 4 ℃进行微生物活化，之后称取 1.0 g 鲜土，加入 50 mL 乙酸缓冲液，用磁力搅拌器(85-1，中国)高速匀浆 1 min，制成土壤悬浊液。吸取 200 μL 悬浊液至 96 孔微孔板中，每孔分别加入相应底物溶液：BG、CBH 和 NAG 测定使用 4-甲基伞形酮(4-methylumbelliferone, MUB)标记的底物；LAP 测定使用 7-氨基-4-甲基香豆素(7-amino-4-methylcoumarin, AMC)标记的底物；PPO 和 PER 测定使用 L-3,4 二羟苯丙氨酸(L-3,4-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA)为底物。加样后将微孔板置于 25 ℃暗环境中反应，用多功能酶标仪(SpectraMax M 5，美国)测定其荧光度或吸光度。

1.4　数据分析

依据马克平等[31]的方法计算植物多样性指标。

$$\text{重要值}=(\text{相对高度}+\text{相对盖度}+\text{相对频度})/3$$

$$\text{丰富度指数(richness index, } R)=S$$

$$辛普森指数(Simpson\ index,\ D)=1-\sum_{i=1}^{s}P_i^{\ 2}$$

$$香农\text{-}威纳指数(Shannon\text{-}Wiener\ index,\ H')=-\sum_{i=1}^{s}P_i\cdot \ln P_i$$

$$均匀度指数(Pielou\ index,\ J)=\left(-\sum_{i=1}^{s}P_i\cdot \ln P_i\right)/\ln S$$

式中:S是物种i所在样方的物种数目,P_i是物种i的相对重要值。

在数据分析前,对所有变量进行正态性检验与方差齐性检验,对未满足正态分布或方差齐性检验的数据(AGB、均匀度指数、pH、MBC/MBN、BG)进行对数转换以满足正态分布和方差齐性。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较不同处理间植被特征、土壤理化性质和土壤酶活性的差异。采用双因素方差分析(two-way ANOVA)比较增温、降水变化及其交互作用对植被特征、土壤理化性质和土壤酶活性的影响。采用T检验比较相同降水条件下增温处理对土壤理化性质和土壤酶活性的影响。采用Pearson相关性分析探究植被特征、土壤理化性质和酶活性之间的关系。采用“vegan”“ggplot 2”和“ggrepe l”软件包,基于冗余分析(redundancy analysis, RDA)探讨植物生产力与土壤理化性质等因子对土壤酶活性的驱动特征。使用SPSS 23.0软件进行单因素和双因素方差分析以及T检验,R 4.4.3软件进行Pearson相关性分析和冗余分析,使用Graphpad prism 9.5和R软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 增温和降水变化对土壤温度和湿度的影响

土壤温度和湿度在不同处理下具有明显的季节变化。土壤温度随时间动态呈现先升高后降低的趋势,且增温处理下的土壤温度明显高于其他处理(图2a)。增温及增温和降水的交互作用显著影响土壤温度($P<0.05$)。在自然温度条件下,增水处理的土壤温度显著高于减水处理和自然降水($P<0.05$)。而在增温条件下,不同降水处理间的土壤温度无显著差异。此外,在减水和自然降水条件下,增温处理的土壤温度均显著高于自然温度处理($P<0.05$,图2b)。土壤湿度随时间动态呈逐步下降的趋势,且在9月初土壤湿度均降到最低(图2c)。降水变化对土壤湿度具有极显著影响($P<0.01$)。在自然温度条件下,减水处理的土壤湿度显著低于自然降水和增水处理($P<0.05$)。在增温条件下,增水处理的土壤湿度显著高于减水处理($P<0.05$)。而相同降水条件下,土壤湿度对增温处理的响应不显著(图2d)。

2.2 增温和降水变化对高寒草甸植被特征和土壤理化性质的影响

如表1所示,双因素方差分析中的增温处理显著影响土壤pH($P<0.05$)。降水变化显著影响地上和地下生物量($P<0.05$),地上生物量在自然温度和增温条件下均随降水量的增加而增加;地下生物量在相同温度条件下减水处理明显高于增水处理。物种多样性、BD、SOC、TN、SOC/TN、NH_4^+-N和NO_3^--N对处理无显著响应($P>0.05$)。

2.3 增温和降水变化对高寒草甸土壤微生物生物量碳氮和可溶性有机碳的影响

增温和降水变化的交互作用对土壤微生物生物量氮(MBN)具有显著影响($P<0.05$,图3b)。在自然温度条件下,减水处理显著降低了MBN,与自然降水相比,MBN降幅约为64.7%($P<0.05$);而在增温条件下,不同降水处理间的MBN无显著差异。在相同减水条件下,增温处理显著增加了MBN($P<0.05$);而在自然降水条件下,增温处理的MBN显著低于自然温度处理($P<0.05$)。此外,增温和降水变化的交互效应对土壤微生物生物量碳氮比(MBC/MBN)也产生显著影响($P<0.05$,图3c)。在自然温度条件下,减水处理的MBC/MBN显著高于自然降水及增水处理($P<0.05$);而在增温条件下,不同降水处理间的MBC/MBN未出现显著变化。土壤微生物生物量碳(MBC)和可溶性有机碳(DOC)未受增温和降水变化及二者交互效应的显著影响($P>0.05$,图3a和d)。

2.4 增温和降水变化对高寒草甸土壤酶活性的影响

双因素方差分析结果表明,增温处理显著影响土壤β-葡萄糖苷酶(BG,$P<0.05$)、纤维素二糖水解酶(CBH,$P<0.01$)和β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG,$P<0.01$)活性,降水处理显著影响土壤NAG($P<0.05$)和多酚氧

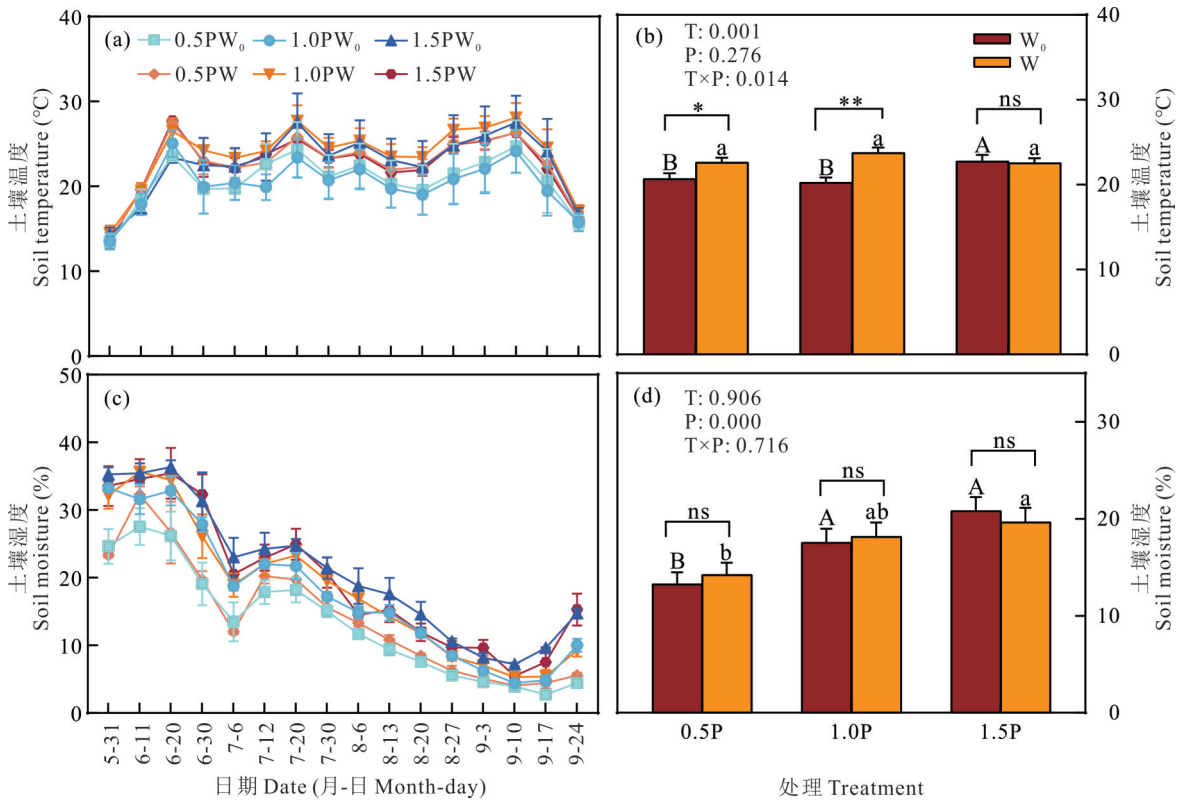


图 2　增温和降水变化对土壤温度和湿度的影响

Fig. 2　Effects of warming and precipitation changes on soil temperature and moisture

(a)和(c)为 5 cm 深处土壤温度和湿度的时间动态变化；(b)和(d)为 5—9 月土壤温度和湿度的平均值。$0.5PW_0$：减水 50%；$1.0PW_0$：对照；$1.5PW_0$：增水 50%；0.5PW：减水 50%＋增温；1.0PW：增温；1.5PW：增水 50%＋增温。W_0表示自然温度；W 表示增温；0.5P、1.0P、1.5P 分别表示减水 50%、自然降水、增水 50%。T、P 和 T×P 分别表示双因素方差分析中的增温处理、降水处理以及增温和降水处理交互效应的 P 值。不同大写字母表示自然温度条件下降水变化之间的差异显著($P<0.05$)，不同小写字母表示增温条件下降水变化之间的差异显著($P<0.05$)；*、**和 ns 分别表示相同降水条件下增温的影响显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)和不显著。下同。(a) and (c) show the temporal dynamics of soil temperature and soil moisture at 5 cm depth; (b) and (d) present the average of soil temperature and soil moisture from May to September. $0.5PW_0$: Decreased precipitation by 50%; $1.0PW_0$: Control; $1.5PW_0$: Increased precipitation by 50%; 0.5PW: Decreased precipitation by 50% and warming; 1.0PW: Warming; 1.5PW: Increased precipitation by 50% and warming. W_0 represents natural temperature; W represents warming; 0.5P, 1.0P, and 1.5P represent precipitation decreased by 50%, natural precipitation, and precipitation increased by 50%, respectively. T, P, and T×P represent the P-values for the warming treatment effect, precipitation treatment effect, and the interaction effect between warming and precipitation treatments, respectively, in the two-way ANOVA. Different capital letters indicate significant differences among precipitation changes under natural temperature conditions ($P<0.05$), and different lowercase letters indicate significant differences among precipitation changes under warming conditions ($P<0.05$). *, ** and ns indicate that the effect of warming is significant ($P<0.05$), highly significant ($P<0.01$), and not significant, respectively, under the same precipitation conditions. The same below.

化酶(PPO，$P<0.05$)活性，增温和降水处理对土壤 BG($P<0.05$)、CBH($P<0.01$)、PPO($P<0.05$)和过氧化物酶(PER，$P<0.05$)活性具有显著的交互效应(图 4)。具体而言，在减水和自然降水条件下，增温显著提高了 BG 和 NAG 的活性；在自然降水条件下，增温显著提高了 CBH 的活性；而在增水条件下，增温后三者活性变化不显著(图 4a～c)。土壤 NAG 活性对降水变化敏感，在自然温度下，增水显著增加土壤 NAG 活性($P<0.05$)，而在增温条件下，不同降水条件间差异不显著(图 4c)。对于土壤亮氨酸氨基肽酶(LAP)，其活性未受增温、降水变化及二者交互作用的显著影响(双因素方差分析结果，$P>0.05$)，但在减水条件下，增温显著增加 LAP 活性($P<0.05$，图 4d)。土壤 PPO 活性受降水变化影响显著，在增温条件下，增水和减水均增加了土壤 PPO 活性，而在自然温度下，不同降水条件间无显著差异，表现出增温与降水变化的交互影响(图 4e)。相似的，增温与降水变化的交互作用对土壤 PER 活性影响显著，增水条件下，增温显著提高了土壤 PER 活性(图 4f)。

表 1 增温和降水变化下植被特征和土壤理化性质

Table 1 Vegetation characteristics and soil physicochemical properties under warming and precipitation changes

项目 Item	处理 Treatment					双因素方差分析 Two-way ANOVA		
	$0.5PW_0$	$1.0PW_0$	$1.5PW_0$	0.5PW	1.0PW	1.5PW	T	P	T×P
地上生物量 Aboveground biomass ($g \cdot m^{-2}$)	196.21±28.21a	258.17±25.25a	361.75±56.67a	273.76±6.49a	301.48±1.63a	331.93±64.43a		*	
地下生物量 Belowground biomass ($g \cdot m^{-2}$)	762.60±247.38a	322.37±87.41a	685.47±236.67a	1039.91±67.86a	350.10±45.44a	837.12±228.93a		*	
丰富度指数 Richness index	18.00±0.58a	20.33±1.76a	14.67±1.67a	16.33±3.18a	18.00±0.58a	17.33±2.40a			
辛普森指数 Simpson index	0.88±0.01a	0.89±0.01a	0.80±0.09a	0.84±0.03a	0.88±0.00a	0.89±0.02a			
香农-威纳指数 Shannon-Wiener index	2.39±0.06a	2.54±0.05a	2.11±0.32a	2.18±0.20a	2.40±0.05a	2.43±0.16a			
均匀度指数 Pielou index	0.83±0.01a	0.85±0.01a	0.78±0.10a	0.79±0.02a	0.83±0.02a	0.86±0.03a			
pH	6.07±0.08a	6.16±0.07a	6.00±0.01a	5.97±0.05a	6.04±0.03a	5.93±0.03a	*		
容重 Bulk density ($g \cdot cm^{-3}$)	1.31±0.03a	1.22±0.12a	1.25±0.07a	1.33±0.05a	1.18±0.07a	1.19±0.09a			
土壤有机碳 Soil organic carbon (SOC, $g \cdot kg^{-1}$)	36.83±3.99a	36.30±2.65a	35.07±4.06a	34.60±1.35a	37.53±0.65a	36.87±3.37a			
土壤全氮 Soil total nitrogen (TN, $g \cdot kg^{-1}$)	3.17±0.43a	3.07±0.19a	2.97±0.27a	2.97±0.09a	3.23±0.03a	3.30±0.40a			
土壤碳氮比 SOC/TN	11.73±0.38a	11.71±0.23a	11.76±0.30a	11.61±0.21a	11.64±0.15a	11.22±0.11a			
铵态氮 NH_4^+-N ($mg \cdot kg^{-1}$)	12.16±2.15a	14.04±2.30a	15.59±1.23a	10.92±0.41a	15.25±2.26a	15.56±1.37a			
硝态氮 NO_3^--N ($mg \cdot kg^{-1}$)	5.72±0.77a	5.53±0.91a	6.40±0.45a	5.69±0.34a	5.47±0.61a	5.57±0.59a			

不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)；T、P和T×P分别表示双因素方差分析中的增温处理、降水处理以及增温和降水处理交互效应的P值。*表示影响显著($P<0.05$)。Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). T, P, and T×P represent the P-values for the warming treatment effect, precipitation treatment effect, and the interaction effect between warming and precipitation treatments, respectively, in the two-way ANOVA. * indicates significant effects ($P<0.05$).

2.5 植被特征和土壤理化性质及土壤酶活性的相关性

增温和降水变化使土壤酶活性发生明显变化(图5)。在RDA分析过程中,基于显著模型选择贡献值靠前的5个理化性质作为解释变量,第一轴解释了变量的72.16%,第二轴解释了变量的23.79%,共解释了土壤酶活性变异程度的95.95%。其中,土壤pH(R^2=0.41, P=0.014)对变异的解释贡献最高。

土壤β-葡萄糖苷酶与MBC/MBN呈显著正相关($P<0.05$)。土壤纤维素二糖水解酶与AGB和MBC/MBN呈显著正相关,与pH呈极显著负相关($P<0.01$)。土壤多酚氧化酶和过氧化物酶与BGB呈显著正相关($P<0.05$)。土壤β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶与AGB、土壤温度(ST)和MBC呈显著正相关($P<0.05$);与丰富度指数和pH呈显著负相关($P<0.05$)。此外,土壤亮氨酸氨基肽酶与植被特征和土壤理化性质之间无显著相关关系(图6)。

3 讨论

3.1 土壤微生物生物量和酶活性对增温和降水变化的响应

土壤微生物生物量是土壤微生物群体大小的重要表征,对土壤碳氮循环过程起着重要的调节作用[19]。增温和降水改变等气候变化过程,可通过直接(改变土壤微生物代谢效率)或间接途径(影响植物、养分有效性)调控土壤微生物量[32]。本研究中,模拟增温和降水改变对土壤MBN和MBC/MBN的影响表现出显著的交互效应(图3b, c)。具体表现为,单独减水处理(自然温度条件)和单独增温处理(自然降水)均显著降低了MBN($P<0.05$),而减水与增温共同作用却显著增加了MBN($P<0.05$,图3b)。减水处理对MBN的负效应在区域和样点尺度都得到以往研究的支持:区域尺度上,李继伟[11]发现土壤微生物生物量随着降水量的减少而降低;在样点尺度上,减水处理亦使土壤微生物生物量显著降低[5]。本研究中,减水处理下MBN的降

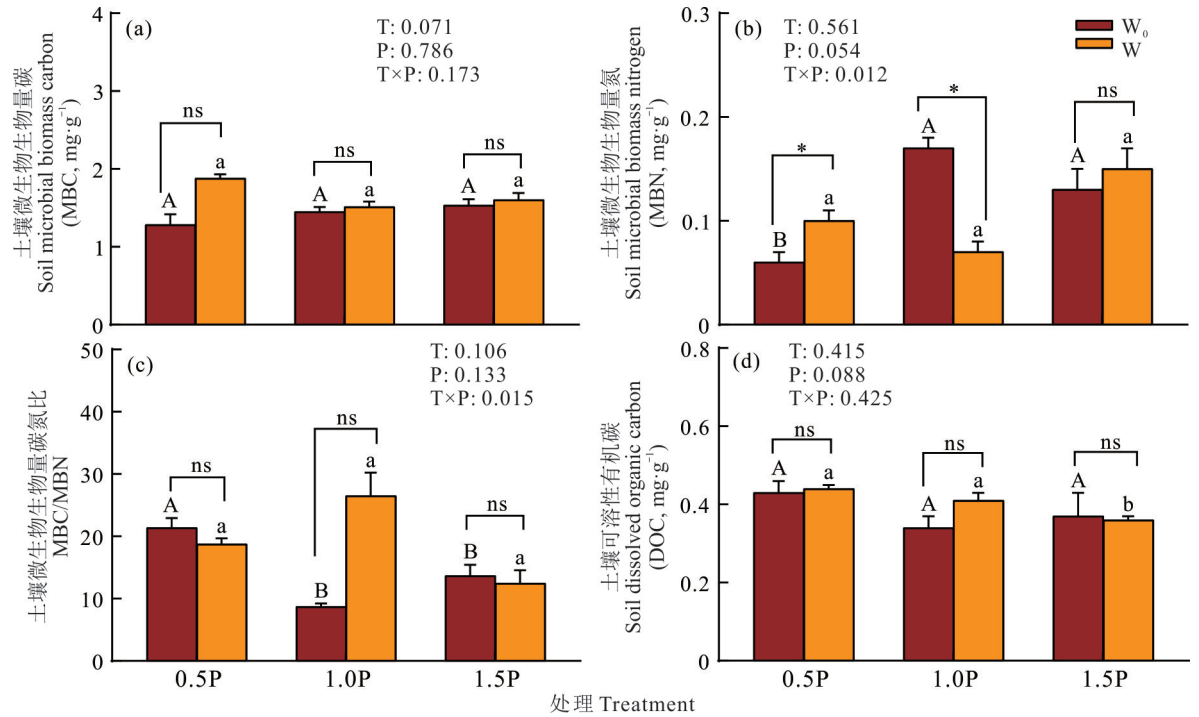


图 3　增温和降水变化对土壤微生物生物量碳氮与可溶性有机碳的影响

Fig. 3　Effects of warming and precipitation changes on soil microbial biomass carbon and nitrogen and dissolved organic carbon

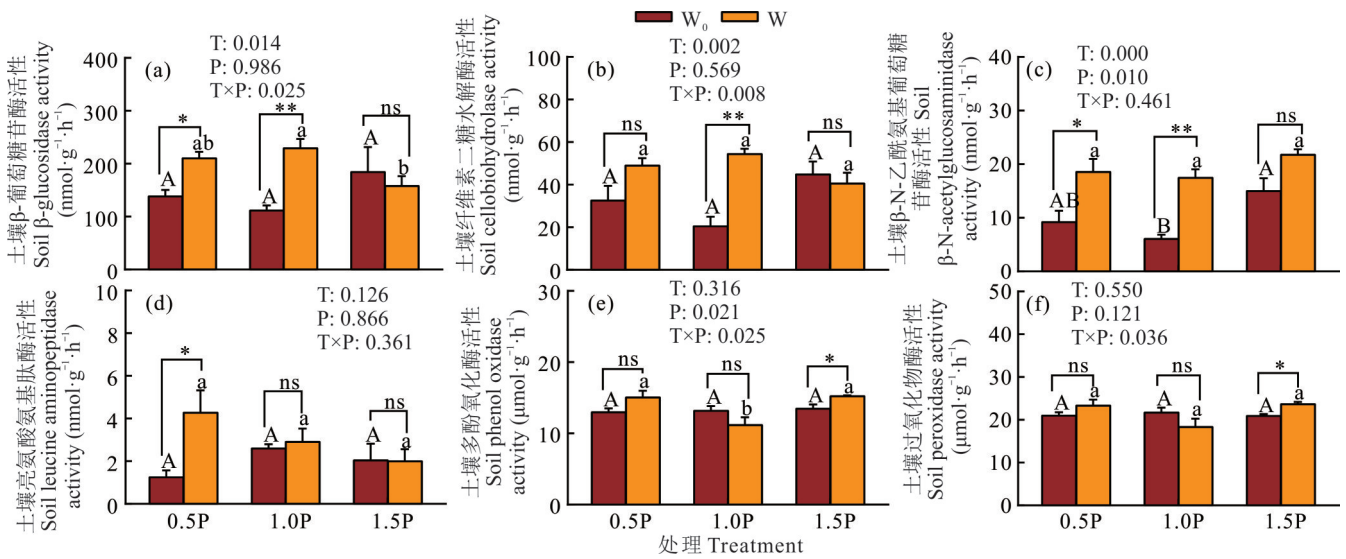


图 4　增温和降水变化对土壤酶活性的影响

Fig. 4　Effects of warming and precipitation changes on soil enzyme activities

低与土壤有效养分的降低密切相关[33]。而当减水与增温共同作用时，由于土壤酶活性的显著提升（图 4），酶活性驱动的养分循环加快可以部分缓解土壤微生物的养分限制，从而使得土壤 MBN 增加。关于增温的影响，短期增温条件下，土壤微生物生物量一般呈增加趋势，但在增温幅度较高（＞2 ℃）的情况下，增温可能通过水分限制，降低土壤微生物生物量[33]。本研究中，单独增温处理导致生长季土壤平均温度增加 3.3 ℃（图 2b），虽然并未检测到土壤湿度的显著降低（图 2d），但土壤 MBN 显著降低、MBC/MBN 显著增加，说明高增温幅度对土壤微生物生物量的限制机制可能不限于土壤水分，还可能与增温下微生物群落组成的改变以及养分有效性相关[34]。与减水相反，增水对土壤微生物生物量无显著影响，这可能与高寒草甸土壤水分条件较好有关。由于高寒草甸土壤水分条件较好，增水无法通过提高土壤水分促进高寒草甸土壤养分积累，从而限制了增水条件下土壤微生物生物量的变

化。同时，当增水与增温共同作用时，增温对土壤微生物生物量的效应亦不显著，表现为增水抵消了增温对土壤微生物生物量的影响，其原因与增水条件限制了增温处理对土壤温度的提高直接相关(图2b)。

根据土壤胞外酶在土壤中的功能，土壤酶可分为水解酶、氧化还原酶、裂解酶和转移酶，其中以水解酶和氧化还原酶为主[35]。土壤中的水解酶能够催化主要碳、氮和磷同化产物的水解，介导相对易分解底物的降解，在土壤碳氮磷循环中起着重要作用[35]。一般认为，水解酶对土壤温度的敏感性较低[14,16,32]。但本研究发现，对于温度较低的高寒草甸，其土壤水解酶对增温响应敏感(图4a～c)。与假设1相符，增温显著增加了高寒草甸土壤BG、CBH和NAG等水解酶活性，与Liu等[13]的研究结果一致，与增温下显著降低的土壤pH直接相关(表1)。同时，增温可以直接促进胞外酶与基质的结合效率，改变酶促反应动力学特征，提高酶活性[32]；增温下土壤微生物的生长与代谢加速，也可能通过扩充土壤酶库，从而增加土壤酶活性[5]。然而，当增温与增水共同作用时，增温对土壤BG和CBH活性的提升效应不再显著，即增水抵消了增温对土壤BG和CBH活性的提升效应。该结果与本研究的假设2相符，可能与增水限制了增温处理对土壤温度的增温效应影响直接相关(图2b)。土壤BG和CBH是土壤纤维素酶的主要组成部分，与土壤不稳定碳库关系密切，该结果提示未来增温和增水交互作用的气候变化情景，可能通过限制土壤纤维素酶活性，从而在一定程度上有利于土壤有机碳的保存(相比单增温或单增水)。土壤NAG主要作用于几丁质的分解过程，该物质是真菌细胞壁的主要成分。本研究发现，土壤NAG活性对降水变化敏感，这可能与NAG本身对水分要求苛刻相关[24]。在自然温度条件下，增水显著增加了土壤NAG活性($P<0.05$)，与假设1相符。然而，张法伟等[24]对海北高寒草甸的研究发现，增水和减水处理均导致表层NAG活性下降，本研究结果与其不一致。张法伟等[24]认为，原因可能是增水导致海北高寒草甸土壤中氧气供应不足形成厌氧环境，抑制酶活性；减水则由于水分不足，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。在本研究中，增水处理下生长季平均土壤湿度约为21%，增水不会导致厌氧环境的形成，而是改善土壤水分条件，一方面有利于酶和底物扩散，另一方面可促进植物与微生物的生长(表1)，从而促进土壤NAG活性提高。NAG活性与地上生物量和微生物生物量碳的显著正相关关系(图6)，进一步支持了上述关于增水通过促进植物与微生物生长进而提高NAG活性的推断。然而，在增温条件下，不同降水条件间土壤NAG活性差异不显著(图4c)，说明增温与降水变化共同影响下，增温对高寒草甸土壤NAG活性起主导作用。同时，相关性分析表明，土壤NAG活性与土壤温度显著正相关，亦体现出其对温度的敏感性(图6)。

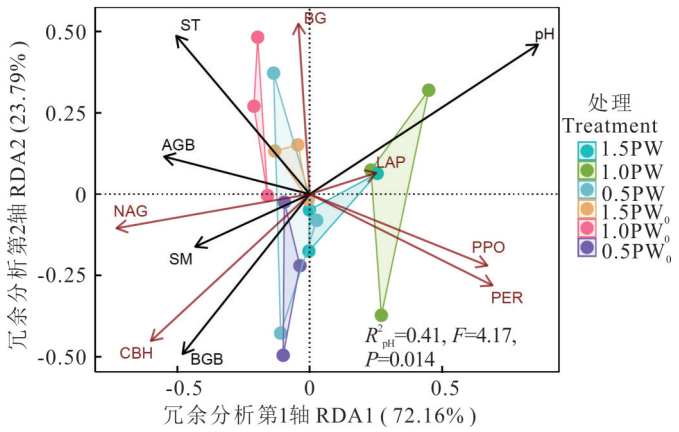


图5 土壤酶活性与主要因子的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis of soil enzyme activities and key factors

红色箭头表示响应变量(土壤酶活性)；黑色箭头表示解释变量(植被特征和土壤理化性质)。Red arrows represent the response variables (soil enzyme activities); black arrows represent the explanatory variables (vegetation characteristics and soil physical and chemical properties). AGB：地上生物量 Aboveground biomass；BGB：地下生物量 Belowground biomass；ST：土壤温度 Soil temperature；SM：土壤湿度 Soil moisture；pH：土壤酸碱度 Potential of hydrogen；BG：β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase；CBH：纤维素二糖水解酶 Cellobiohydrolase；PPO：多酚氧化酶 Phenol oxidase；PER：过氧化物酶 Peroxidase；NAG：β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-N-acetylglucosaminidase；LAP：亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase. 下同 The same below.

土壤氧化还原酶能够分解诸如纤维素和木质素这类化学结构复杂的化合物[15,35]，其活性与土壤真菌数量存在显著正相关[36]。与假设1不符，本研究中增温对土壤氧化还原酶无显著影响(图4e，f)，这与以往的研究结果不一致。以往研究认为，氧化酶(如木质素过氧化物酶)活性对增温的响应强度高于水解酶，主要原因是增温导致易分解碳库的耗竭可能限制水解酶对增温的响应，而相应地顽固碳库的积累则促使微生物通过提升氧化酶的活性实现资源获取策略的转型[32]。而本研究中，可能由于增温处理的时间较短(3年)，易分解碳库未出现明显损失，

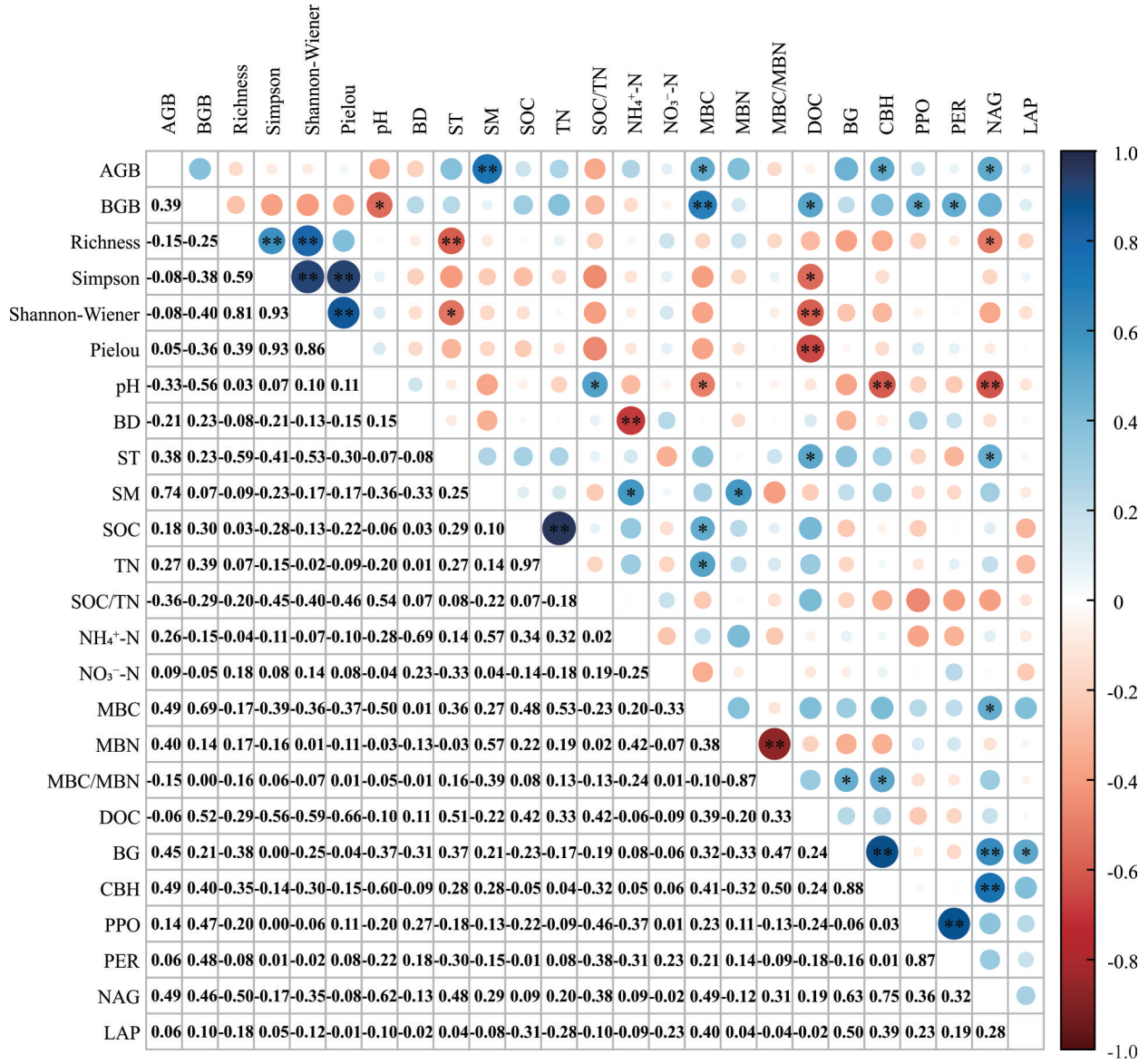


图 6　植被特征、土壤理化性质及土壤酶活性的相关性

Fig. 6　Correlations among vegetation characteristics, soil physicochemical properties, and soil enzyme activities

蓝色表示正相关，红色表示负相关；*和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。Blue indicates positive correlation, red indicates negative correlation; * and ** represent significant correlation at 0.05 and 0.01 levels, respectively. Richness：丰富度指数 Richness index；Simpson：辛普森指数 Simpson index；Shannon-Wiener：香农-威纳指数 Shannon-Wiener index；Pielou：均匀度指数 Pielou index；BD：土壤容重 Bulk density；SOC：土壤有机碳 Soil organic carbon；TN：土壤全氮 Soil total nitrogen；NH_4^+-N：铵态氮 Ammonium nitrogen；NO_3^--N：硝态氮 Nitrate nitrogen；MBC：微生物生物量碳 Microbial biomass carbon；MBN：微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen；DOC：可溶性有机碳 Dissolved organic carbon.

增温主要促进水解酶活性，而对氧化酶活性无显著影响。全球尺度的 Meta 分析揭示氧化酶活性与增温持续时间呈正相关[37]，说明增温时间较短可能是增温下氧化酶活性无显著变化的重要原因。因此，增温对土壤水解酶和氧化酶活性的影响受底物可利用性调控，与增温处理时长紧密相关。本研究中，土壤 PPO 活性受降水变化影响显著，在增温条件下，增水和减水均增加了土壤 PPO 活性，这可能与地下生物量的增加相关（表 1，图 6）。然而，降水变化对土壤 PPO 活性的影响仅在增温条件下显著，在自然温度下，不同降水条件间无显著差异，其原因可能是增温条件下易分解碳库的分解加快，有利于顽固碳库的积累，使得土壤 PPO 活性对降水变化响应敏感[32]。这也是增温与降水变化对土壤 PPO 和 PER 活性存在显著交互影响的重要原因（图 4e，f）。类似地，增温对土壤 PPO 和 PER 活性的影响，仅在增水条件下显著，在自然降水和减水条件下不显著（图 4e，f）。以上结果表明，增温与增水交互作用对土壤 PPO 和 PER 活性的影响强于单增温或单降水变化处理，与本研究的假设 2 刚好相反。总结而

言,增温与增水联合作用削弱了单增温或单增水处理对土壤水解酶活性的提升作用,但增强了对土壤氧化还原酶活性的影响。在未来青藏高原暖湿化背景下[38],以往单因子试验结果可能高估了土壤水解酶活性,低估了土壤氧化还原酶活性,从而可能高估了易分解碳的损失,但低估了难分解碳的损失。

3.2 土壤酶活性变化的关键驱动因子

驱动土壤酶活性对气候变化作出响应的生态因子十分复杂,因生态系统类型、时间、空间等而异,且各因子间复杂的综合作用及关键因子的主导地位都是动态变化的[5]。以往研究认为,养分有效性是土壤微生物量和土壤酶活性的关键影响因子[32,34],碳捕获酶会随着有效氮水平的增加而增加[5,39-40]。然而,本研究并未观测到土壤酶活性与土壤氮水平的相关性(图6),可能与高寒草甸相对较好的土壤养分条件,以及模拟增温和降水变化下土壤全氮和有效氮均无显著变化有关(表1)。本研究中,土壤pH是高寒草甸土壤酶活性变化的关键驱动因子(R^2=0.41,P=0.014,图5),与Xu等[35]和Liu等[41]的研究结果一致。土壤pH作为土壤微生物群落组成的重要环境过滤器,同时影响土壤基质的组成、化学性质和养分利用效率[42-43],可以直接影响土壤酶活性,或通过影响土壤微生物群落组成和酶的分泌,间接影响土壤酶活性[35,40-41]。相关性分析表明,pH与土壤碳氮比显著正相关(图6)。由于土壤碳氮比是反映土壤有机质分解程度的重要指标,其值下降通常指示有机质分解程度的加深。本研究中pH与碳氮比的正相关关系表明,土壤pH的下降伴随着碳氮比的降低,即有机质分解程度的加剧。Wang等[44]指出,土壤有机质快速分解过程伴随着中间代谢产物的积累,其中有机酸(如乙酸、丁酸等)的生成与累积能够导致土壤pH下降。因此本研究中增温显著降低土壤pH(表1),其机制可能是增温加速了土壤有机质分解,促进有机酸释放,从而使土壤pH降低[44]。同时,本研究发现土壤pH与MBC显著相关,而MBC/MBN又与水解酶活性显著相关(图6),揭示土壤pH可能通过调控微生物进而影响酶活性。Zhalnina等[42]在青藏高原东部草原的研究表明,土壤酸化显著影响了微生物群落组成,具体表现为酸杆菌门、衣原体门及梭菌属等耐酸微生物类群的丰度增加。这些耐酸类群的富集及其代谢功能的调整,直接影响了土壤中与碳、氮循环相关的酶活性[45]。因此,增温引起的土壤pH下降可能通过筛选特定耐酸微生物类群,驱动群落结构与功能的适应性转变,进而引起土壤酶活性的显著变化。此外,土壤pH还与地下生物量显著相关(图6),可能通过改变地下碳分配,尤其是通过影响根系分泌物的成分和分泌速度[46],调控土壤酶活性。比较而言,气候变化下土壤温度和含水量的直接改变对土壤酶活性的影响相对有限。而已有研究表明,增温和降水改变对高寒草甸土壤pH存在普遍影响,且介导了土壤生物与酶活性的改变[17,24]。因此,气候变化通过间接改变土壤pH调控土壤酶活性,可能是气候变化驱动土壤酶活性的关键路径。鉴于土壤酶活性在土壤碳库和养分循环中的重要作用,本研究强调了该路径对于气候变化下土壤碳库和养分循环预测的关键性。

4 结论

本研究中在相对较短的增温处理时长下,增温显著增加了土壤水解酶活性,而对土壤氧化还原酶无显著影响。降水改变处理显著影响土壤NAG和PPO活性,自然温度下,增水提高了土壤NAG活性;增温条件下,增水和减水均增加土壤PPO活性。增温和降水处理存在普遍的交互效应,增温与增水联合作用削弱了单增温或单增水处理对土壤水解酶活性的提升作用,但增强了对土壤氧化还原酶活性的影响,说明以往单因子试验结果可能高估了土壤水解酶活性,低估了土壤氧化还原酶活性,从而可能高估了易分解碳的损失,但低估了难分解碳的损失。因此,明晰增温与降水变化的交互效应以及土壤水解酶和氧化还原酶对气候变化的不同响应,对于预测未来高寒草甸土壤碳库和养分循环非常关键。同时,应加强增温与降水变化交互作用的长期观测。

参考文献 References:

[1] Qiu J. Double threat for Tibet. Nature, 2014, 512(7514): 240-241.

[2] Yang Y X, Hu Z Y, Lu F Q, *et al*. Progress of recent 60 years' climate change and its environmental impacts on the Qinghai-Xizang Plateau. Plateau Meteorology, 2022, 41(1): 1-10.
杨耀先, 胡泽勇, 路富全, 等. 青藏高原近60年来气候变化及其环境影响研究进展. 高原气象, 2022, 41(1): 1-10.

[3] Wang Y F, Lv W W, Xue K, *et al*. Grassland changes and adaptive management on the Qinghai-Tibetan Plateau. Nature Reviews Earth & Environment, 2022, 3(10): 668－683.

[4] Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. Applied Soil Ecology, 2008, 39(2): 223－235.

[5] Jiang M H, Ni M Y, Zhou J C, *et al*. Effects of warming and precipitation reduction on soil enzyme activity in a young *Cunninghamia lanceolata* plantation. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(11): 3210－3219.
江森华, 倪梦颖, 周嘉聪, 等. 增温和降雨减少对杉木幼林土壤酶活性的影响. 生态学杂志, 2018, 37(11): 3210－3219.

[6] Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 67: 192－211.

[7] Xu M P, Ren C J, Zhang W, *et al*. Responses mechanism of C∶N∶P stoichiometry of soil microbial biomass and soil enzymes to climate change. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(7): 2445－2454.
许森平, 任成杰, 张伟, 等. 土壤微生物生物量碳氮磷与土壤酶化学计量对气候变化的响应机制. 应用生态学报, 2018, 29(7): 2445－2454.

[8] Xiao W, Chen X, Jing X, *et al*. A meta-analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 123: 21－32.

[9] Wang H H, Huang W D, He Y Z, *et al*. Effects of short-term warming and precipitation reduction on soil microbial biomass carbon, nitrogen and enzyme activity in sandy grassland. Journal of Desert Research, 2022, 42(3): 274－281.
王怀海, 黄文达, 何远政, 等. 短期增温和降水减少对沙质草地土壤微生物量碳氮和酶活性的影响. 中国沙漠, 2022, 42(3): 274－281.

[10] Steinweg J M, Dukes J S, Paul E A, *et al*. Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 146.

[11] Li J W. Responses and driving mechanisms of terrestrial nutrient stoichiometric characteristics under precipitation change. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2022.
李继伟. 降水变化下植被生态系统养分计量特征的响应规律及其驱动机制. 北京: 中国科学院大学, 2022.

[12] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, *et al*. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in eastern China (NSTEC). Soil Biology and Biochemistry, 2017, 104: 152－163.

[13] Liu X F, Tian Y, Heinzle J, *et al*. Long-term soil warming decreases soil microbial necromass carbon by adversely affecting its production and decomposition. Global Change Biology, 2024, 30(6): e17379.

[14] Jing X, Wang Y H, Chung H, *et al*. No temperature acclimation of soil extracellular enzymes to experimental warming in an alpine grassland ecosystem on the Tibetan Plateau. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 39－54.

[15] Sinsabaugh R L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(3): 391－404.

[16] Liu M R, Liu S T, Ma C Y, *et al*. Research progress of the responses of grassland plants and soil to the variation of temperature and precipitation. Chinese Journal of Ecology, 2024, 43(12): 3787－3796.
刘明蕊, 刘世婷, 马春燕, 等. 草地植物和土壤对温度和降水变化的响应研究进展. 生态学杂志, 2024, 43(12): 3787－3796.

[17] Dai J H, Wu P F, Tang S S, *et al*. Effects of altered precipitation on soil nematode communities in an alpine meadow. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(22): 9371－9383.
代江慧, 吴鹏飞, 唐思思, 等. 降水变化对高寒草甸土壤线虫群落的影响. 生态学报, 2023, 43(22): 9371－9383.

[18] Li H Q, Zhang F W, Li J X, *et al*. Differential responses of CO_2 and latent heat fluxes to climatic anomalies on two alpine grasslands on the northeastern Qinghai-Tibetan Plateau. Science of the Total Environment, 2023, 900: 165863.

[19] 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. Chinese Journal of Plant Ecology, 2021, 45(5): 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(5): 434－443.

[20] Gang C C, Wang Z Q, Yang Y, *et al*. The NPP spatiotemporal variation of global grassland ecosystems in response to climate change over the past 100 years. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(11): 1－14.
刚成诚, 王钊齐, 杨悦, 等. 近百年全球草地生态系统净初级生产力时空动态对气候变化的响应. 草业学报, 2016, 25(11): 1－14.

[21] Yang Y H, Mohammat A, Feng J M, *et al*. Storage, patterns and environmental controls of soil organic carbon in China. Biogeochemistry, 2007, 84(2): 131-141.

[22] Yang Y H, Fang J Y, Tang Y H, *et al*. Storage, patterns and controls of soil organic carbon in the Tibetan grasslands. Global Change Biology, 2008, 14(7): 1592-1599.

[23] Wang X, Zhong Z K, Jian J N, *et al*. Effects of simulated warming and increased precipitation on soil extracellular enzyme activity and enzymatic stoichiometry of abandoned grassland. Environmental Science, 2022, 43(5): 2812-2821.
王兴, 钟泽坤, 简俊楠, 等. 模拟增温和降雨增加对撂荒草地土壤胞外酶活性及计量特征的影响. 环境科学, 2022, 43(5): 2812-2821.

[24] 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. Scientia Sinica Vitae, 2025, 55(9): 1929-1942.
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(9): 1929-1942.

[25] Chen Y H, Xie Z Q, Xue L P. Process optimization for measurements of soil and plant samples with carbon/nitrogen element analyzer. Modern Chemical Industry, 2016, 36(4): 185-187, 189.
陈雅涵, 谢宗强, 薛丽萍. 碳氮元素分析仪测试土壤与植物样品的流程优化. 现代化工, 2016, 36(4): 185-187, 189.

[26] Bao S D. Agrochemical analysis of soil. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[27] Duan A L, Han Z X, Huang Y, *et al*. Problems and solutions for determination of ammonium nitrogen in soil by the method of indophenol blue colorimetry. Contemporary Chemical Industry, 2021, 50(12): 2861-2864.
端爱玲, 韩张雄, 黄艳, 等. 靛酚蓝比色法测定土壤中铵态氮注意事项. 当代化工, 2021, 50(12): 2861-2864.

[28] Song G, Sun B, Jiao J Y. Comparison between ultraviolet spectrophotometry and other methods in determination of soil nitrate-N. Acta Pedologica Sinica, 2007, 44(2): 288-293.
宋歌, 孙波, 教剑英. 测定土壤硝态氮的紫外分光光度法与其他方法的比较. 土壤学报, 2007, 44(2): 288-293.

[29] Deng Z H, Chen Z J, Han S J, *et al*. The impact of nitrogen application on the stoichiometry of soil and microorganisms in secondary forests of Changbai Mountain. Journal of Forest and Environment, 2025, 45(1): 20-30.
邓子豪, 陈志杰, 韩士杰, 等. 施氮对长白山次生林土壤与微生物化学计量比的影响. 森林与环境学报, 2025, 45(1): 20-30.

[30] Deforest J L. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and L-DOPA. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(6): 1180-1186.

[31] Ma K P, Huang J H, Yu S L, *et al*. Plant community diversity in Dongling mountain, Beijing, China: Ⅱ. Species richness, evenness and species diversities. Acta Ecologica Sinica, 1995, 15(3): 268-277.
马克平, 黄建辉, 于顺利, 等. 北京东灵山地区植物群落多样性的研究Ⅱ丰富度、均匀度和物种多样性指数. 生态学报, 1995, 15(3): 268-277.

[32] He M Y, Zhong Y Q W, Zhao F Z, *et al*. Research progress in the response of soil microbial traits to warming and their integration into carbon cycle models. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(3): 745-760.
何梦月, 钟杨权威, 赵发珠, 等. 土壤微生物性状对增温的响应及其在碳循环模型中的应用研究进展. 草地学报, 2026, 34(3): 745-760.

[33] Xu W F, Yuan W P. Responses of microbial biomass carbon and nitrogen to experimental warming: A Meta-analysis. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 115: 265-274.

[34] Li S C, Tang S M, Chen H Y, *et al*. Soil nitrogen availability drives the response of soil microbial biomass to warming. Science of the Total Environment, 2024, 917: 170505.

[35] Xu G, Long Z J, Ren P, *et al*. Differential responses of soil hydrolytic and oxidative enzyme activities to the natural forest conversion. Science of the Total Environment, 2020, 716: 136414.

[36] 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 Biology and Biochemistry, 2012, 44(1): 9-20.

[37] Chen J, Luo Y Q, García P P, *et al*. Differential responses of carbon-degrading enzyme activities to warming: Implications for soil respiration. Global Change Biology, 2018, 24(10): 4816-4826.

[38] Kang S C, Xu Y W, You Q L, *et al*. Review of climate and cryospheric change in the Tibetan Plateau. Environmental Research Letters, 2010, 5(1): 1-5.

[39] Gallo M, Amonette R, Lauber C, *et al*. Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north temperate forest soils. Microbial Ecology, 2004, 48(2): 218－229.

[40] Sinsabaugh R L, Carreiro M M, Repert D A. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. Biogeochemistry, 2002, 60(1): 1－24.

[41] Liu X C, Zhang S T. Nitrogen addition shapes soil enzyme activity patterns by changing pH rather than the composition of the plant and microbial communities in an alpine meadow soil. Plant and Soil, 2019, 440(1/2): 11－24.

[42] Zhalnina K, Dias R, de Quadros P D, *et al*. Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment. Microbial Ecology, 2015, 69(2): 395－406.

[43] Duan C W, Li X L, Li C Y, *et al*. Positive effects of fungal β diversity on soil multifunctionality mediated by pH in the natural restoration succession stages of alpine meadow patches. Ecological Indicators, 2023, 148: 110122.

[44] Wang X D, Wu W N, Ao G K L, *et al*. Minor effects of warming on soil microbial diversity, richness and community structure. Global Change Biology, 2025, 31(3): e70104.

[45] Wu Q C, Chen Y, Dou X H, *et al*. Microbial fertilizers improve soil quality and crop yield in coastal saline soils by regulating soil bacterial and fungal community structure. Science of the Total Environment, 2024, 949: 175127.

[46] Shen X, Yang F, Xiao C W, *et al*. Increased contribution of root exudates to soil carbon input during grassland degradation. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 146: 107817.