

DOI:10.13869/j.cnki.rswc.2025.01.037; CSTR:32311.14.rswc.2025.01.037.

徐嘉翊, 王巧红, 马钺, 等. 高寒地区不同人工牧草种类对土壤酶活性及酶化学计量比的影响[J]. 水土保持研究, 2025, 32(1): 73-81.

Xu Jiayi, Wang Qiaohong, Ma Cheng, et al. Impact of different artificial grass species on soil enzyme activity and enzyme stoichiometry in alpine regions[J]. Research of Soil and Water Conservation, 2025, 32(1): 73-81.

## 高寒地区不同人工牧草种类对土壤酶活性及 酶化学计量比的影响

徐嘉翊<sup>1</sup>, 王巧红<sup>2</sup>, 马钺<sup>3</sup>, 梁蒙<sup>1</sup>, 王梅<sup>1</sup>, 薛蕙<sup>1</sup>

(1.西北农林科技大学 水土保持研究所/黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100;

2.四川水利职业技术学院, 成都 611830; 3.宁夏三十六度生物科技有限公司, 银川 750001)

**摘 要:**[目的]探究青藏高原高寒草甸区不同人工牧草土壤酶活性及其化学计量特征,为深入认识高寒地区土壤养分状况及草地生态系统功能提供科学依据。[方法]以冷地早熟禾(*Poa crymophila*)、无芒披碱草(*Elymus submuticus*)、短芒披碱草(*Elymus breviaristatus*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、星星草(*Puccinellia tenuiflora*)、同德老芒麦(*Elymus sibiricus*)、贫花鹅观草(*Roegneria pauciflora*) 7 种人工牧草种植地土壤为研究对象,并以邻近的天然温带草原土壤作为对照(CK),探讨与土壤碳、氮和磷循环有关酶活性及其化学计量学特征。[结果](1) 不同牧草种植地土壤酶活性差异较大[(3~496 nmol/(g·h))], 7 种牧草土壤酶的活性均明显低于 CK[(13~506 nmol/(g·h))]. (2) 土壤碳氮酶活性比( $E_{C:N}$ )在各样地之间无显著差异,冷地早熟禾样地的碳磷酶活性比( $E_{C:P}$ )和氮磷酶活性比( $E_{N:P}$ )最大(0.82, 0.94); 7 种牧草土壤酶活性矢量角度均大于 45°,表明牧区土壤微生物受到 P 元素限制。(3) 土壤酶活性及其化学计量主要受土壤 SOC, TN, W, MBC 和 MBN 的影响,与 MBC:MBN, SOC:TP 和 TN:TP 也显著相关。[结论]人工牧草的种植改变了土壤养分结构从而影响土壤酶的分泌,不同牧草种类种植地土壤酶活性及其化学计量存在显著差异。未来结合土壤微生物群落组成以及功能特征可进一步揭示青藏高原高寒草甸土壤养分循环及草地生态系统功能的影响机制。

**关键词:**青藏高原; 人工牧草种植地; 土壤酶活性; 土壤酶化学计量

中图分类号:S154.2

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2025)01-0073-09

## Impact of different artificial grass species on soil enzyme activity and enzyme stoichiometry in alpine regions

Xu Jiayi<sup>1</sup>, Wang Qiaohong<sup>2</sup>, Ma Cheng<sup>3</sup>, Liang Meng<sup>1</sup>, Wang Mei<sup>1</sup>, Xue Sha<sup>1</sup>

(1.State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2.Sichuan Water Conservancy Vocational College, Chengdu 611830, China; 3.Ningxia Thirty-six Degrees Biotechnology Co., Ltd., Yinchuan 750001, China)

**Abstract:**[Objective] The aims of this study are to explore the characteristics of soil enzyme activity and its chemical stoichiometry in alpine meadows of the Qinghai-Tibet Plateau under different artificial grass species, and provide scientific basis for a deeper understanding of soil nutrient status and grassland ecosystem function in the alpine pastoral areas. [Methods] Soils in seven different artificial grass planting including *Poa crymophila*, *Elymus submuticus*, *Elymus breviaristatus*, *Elymus nutans*, *Puccinellia tenuiflora*, *Elymus sibiricus*, and *Roegneria pauciflora*, were chosen as research objects, and the adjacent natural temperate grassland was used as a control (CK). The enzyme activity and chemical stoichiometry related to soil carbon, nitrogen and phosphorus cycles were investigated. [Results] (1) The soil enzyme activity in different pasture

收稿日期:2024-04-29

修回日期:2024-05-07

资助项目:国家自然科学基金(42171301);陕西省创新人才推进计划科技创新团队项目(2023-CX-TD-37)

第一作者:徐嘉翊(1997—),女,山东潍坊人,硕士研究生,研究方向为土壤微生物学。E-mail:xjyszb163@163.com

通信作者:薛蕙(1978—),男,陕西西安人,博士,研究员,主要从事土壤微生物和生态恢复研究。E-mail:xuesha100@163.com

<http://stbcej.paperonce.org>

planting sites was significantly different, which was in the range of  $3 \sim 496 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , and the soil enzyme activities of the seven pasture species were significantly lower than that of the control at  $13 \sim 506 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ . (2) No significant difference in soil carbon/nitrogen enzyme ratio ( $E_{\text{C:N}}$ ) was observed among the different sites, and the carbon/phosphorus enzyme ratio ( $E_{\text{C:P}}$ ) at 0.82 and nitrogen/phosphorus enzyme ratio ( $E_{\text{N:P}}$ ) at 0.94 were the highest in the plot of *Poa crymophila*. The vector angles of soil enzyme activities for all seven grass types were greater than  $45^\circ$ , indicating that soil microorganisms in the pastoral areas were limited by phosphorus. (3) Soil enzyme activities and its chemical stoichiometry were mainly influenced by soil organic carbon, total nitrogen, soil moisture, microbial biomass carbon, and microbial biomass nitrogen, were also significantly related to  $\text{MBC} : \text{MBN}$ ,  $\text{SOC} : \text{TP}$  and  $\text{TN} : \text{TP}$ . [Conclusion] The cultivation of artificial pasture has changed the nutrient structure of soil and affected the secretion of soil enzymes. There are significant differences in soil enzyme activity and chemical stoichiometry among different pasture species planting sites. In the future, the composition and functional characteristics of soil microbial communities can be further revealed to elucidate the mechanisms of nutrient cycling and grassland ecosystem function in high-altitude alpine meadow soils of the Qinghai-Tibet Plateau.

**Keywords:** Qinghai-Tibet Plateau; artificial grass planting land; soil enzyme activity; soil enzyme stoichiometry

青藏高原高寒草地生态系统在气候调节、水源涵养和生物多样性保育等方面为人类提供了重要的生态服务功能,也是支撑高原畜牧业发展和传承草原文化的重要物质基础<sup>[1]</sup>。近年来,受全球气候变暖、草畜矛盾加重等影响,草地退化情况愈加严重,高寒草地生态系统的稳定与发展受到严重影响<sup>[2]</sup>。土壤养分含量影响牧草的生长速率,关乎草地生产力的高低。而土壤微生物分泌的胞外酶是各种生物化学过程的关键驱动因子,是联系“植物—土壤酶—土壤养分”的关键纽带<sup>[3]</sup>。由外界因素如微生物群落结构和土壤理化性质等引起的变化均能引起土壤酶活性的波动<sup>[4]</sup>,在一定程度上反映了土壤养分结构<sup>[5]</sup>。土壤酶化学计量特征常被用来评估土壤微生物养分利用能力和表征微生物的相对资源限制,可为研究牧草种类差异下的土壤养分状况打开新视野<sup>[6]</sup>。酶化学计量比可反映土壤微生物生物量与养分吸收和生长效率之间的平衡<sup>[7]</sup>,生境中土壤  $E_{\text{C:N:P}}$  平均活性比接近  $1 : 1 : 1$ ,一旦酶化学计量比偏离此比值,土壤微生物受养分限制情况便可预见<sup>[6]</sup>。

近年来,关于土壤生态化学计量学的研究多集中于森林、草地等自然生态系统的不同气候条件、地理环境和植被类型等内容。研究表明,南岭山区土壤养分、微生物生物量和酶活性化学计量比均有明显的海拔梯度变化<sup>[8]</sup>;喀斯特高原峡谷地区不同土地利用方式土壤 C, N, P 化学计量和酶活性特征存在显著差异,且土壤微生物主要受 N 养分限制<sup>[9]</sup>。关于土壤酶的研究多集中在生物及非生物因素对酶活性及其化学计量的影响,如海拔、林分类型、温度、土壤含水量、养分有效性和微生物群落组成等<sup>[10]</sup>。前人研究显示,人工植被及管理措施可以通过改善土壤环境为

微生物创造良好的生存环境,从而使土壤脲酶、过氧化氢酶、转化酶<sup>[11]</sup>以及酸性磷酸酶<sup>[12]</sup>的活性显著提高。另有研究指出,随着年平均气温的升高,纤维素水解酶(CBH), $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶(BG)和 N-乙酰- $\beta$ -D-葡萄糖苷酶(NAG)的活性降低,亮氨酸氨基肽酶(LAP)的活性增加;而年平均降水量对酶活性并无显著影响<sup>[13]</sup>。总体看来,专注于高寒草甸土壤酶活性及其化学计量比以及土壤养分限制的研究相对薄弱。

青藏高原孕育了全世界最独特的高寒草原类型,探究青藏高原不同牧草种类下土壤胞外酶活性及其化学计量的变化特征,对于改善高寒地区土壤质量以及畜牧业发展具有重要意义。因此,以冷地早熟禾(*Poa crymophila*)、无芒披碱草(*Elymus submuticus*)、短芒披碱草(*Elymus breviaristatus*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、星星草(*Puccinellia tenuiflora*)、同德老芒麦(*Elymus sibiricus*)、贫花鹅观草(*Roegneria pauciflora*) 7 种高寒区典型牧草土壤为研究对象,通过分析土壤微生物生物量碳、氮、磷以及 7 种与碳循环[(CBH, BG 和  $\beta$ -1,4-木糖苷酶(XYL))、氮循环[LAP, NAG 和丙氨酸氨基肽酶(ALA)]和磷循环相关酶[碱性磷酸酶(ALP)]的活性及酶化学计量学特征,阐明不同种类牧草土壤的微生物养分限制状况以及土壤酶活性及其计量比的环境驱动因子,为深入认识青藏高原牧区土壤微生物养分循环及草地生态系统功能提供新的见解。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区设在中国青海省同德县青海饲料良种选种厂( $35.25^\circ\text{N}$ ,  $100.65^\circ\text{E}$ ),海拔 3 280 m,地属高原大陆性气

候,年平均气温 0.2 ℃,年降水量 429.8 mm,无绝对霜期。研究区土壤类型为暗栗钙土,土壤有机质含量为 31.57 g/kg,全氮含量为 2.77 g/kg,全磷含量为 0.51 g/kg,土壤含水量为 21%。植被类型为典型的高山草甸,主要物种为多年生草本植物,包括芨芨草(*Achnatherum splendens*)、毛针茅(*Stipa picillata*)、大腹草(*Orinus thoroldii*)和日本雪莲(*Saussurea japonica*)等。

## 1.2 试验设计

人工牧草地的构建于 2013 年进行,选择的 7 个牧草种类分别为冷地早熟禾(LD)、无芒披碱草(WM)、短芒披碱草(DM)、垂穗披碱草(CP)、星星草(XX)、同德老芒麦(TD)和贫花鹅观草(PH),均为青藏高原区温带草原的适应物种,并以邻近的天然温带草原作为对照(CK)。每种处理随机设置 3 个 3 m×4 m 的样地作为重复,共计 24 个样地。为避免相互干扰,样地之间以 1.5 m 宽的缓冲带隔开。分别称取 18 g 每种牧草种子播种到 7 个人工草地中,并在样地边缘加设围栏且不施加任何肥料,在生长季节及时清除草地中的杂草。每年 9 月中旬,收获草地中除 5 cm 残茬外的地上生物量。

## 1.3 土壤取样及分析

2019 年进行土壤样品采集。去除地表凋落物

后,在每个地块内随机采集 3 个土壤样品(直径 5 cm,深度 0—10 cm),并将其混合成一个复合样本。取部分新鲜土样密封保存于 4 ℃ 冰箱中,用于土壤酶活性及微生物生物量的测定。再将部分土样风干后过筛,用于土壤酸碱度(pH)、有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷(TP)等理化指标的测定。

采用氯仿熏蒸提取法<sup>[14]</sup>测定微生物生物量碳(MBC)、微生物生物量氮(MBN)和微生物生物量磷(MBP)浓度:MBC 含量使用 Liqui TOCII 分析仪(Elementar, Germany)测定,MBN 采用凯氏定氮法测定,MBP 使用紫外分光光度计测定;SOC 含量采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 氧化法测定;TN 含量采用凯氏定氮法估算;TP 含量采用钼锑抗比色法测定;土壤铵态氮(SaN)和硝态氮(SxN)含量采用 KCl 浸提-流动分析仪法测定,土壤中有效氮(AN)含量取 SaN 和 SxN 含量之和。土壤 pH 由 pH 计(Metrohm702, Herisau, Switzerland)在土水比为 1:5 的悬液中测定。土壤含水率(W)采用连续烘干法测定。土壤基本理化性质结果如表 1 所示。采用微孔板荧光法<sup>[15]</sup>测定土壤酶活性,包含与 C 循环相关的 CBH, BG 和 XYL,与 N 循环相关的 LAP, NAG 和 ALA 以及与 P 循环相关的 ALP 活性。

表 1 不同牧草种植地土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of soil in different pasture fields

牧草 类型	W	SOC/ (g · kg <sup>-1</sup> )	TN/ (g · kg <sup>-1</sup> )	TP/ (g · kg <sup>-1</sup> )	SaN/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	SxN/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	SOC : TN	SOC : TP	TN : TP
LD	0.20±0.01ab	19.38±0.44a	1.51±0.05ab	0.63±0.03a	9.06±1.57b	2.28±0.41abc	12.88±0.31a	30.91±1.19b	2.41±0.15ab
WM	0.19±0.01b	18.71±0.12a	1.52±0.04ab	0.63±0.01a	9.62±0.80ab	1.92±0.41abc	12.32±0.25a	29.69±0.46b	2.41±0.02ab
DM	0.19±0.01b	21.62±1.58a	1.53±0.09ab	0.65±0.02a	16.70±2.07ab	1.17±0.10c	14.13±0.65a	33.41±1.69ab	2.37±0.11ab
CP	0.22±0.01a	21.91±1.27a	1.68±0.18a	0.66±0.01a	12.51±2.84ab	2.78±0.65a	13.20±0.83a	33.39±1.63ab	2.56±0.24a
XX	0.21±0.01ab	19.22±1.59a	1.34±0.09b	0.66±0.03a	12.66±3.17ab	2.65±0.49ab	14.60±2.25a	29.16±1.61b	2.06±0.19b
TD	0.19±0.00b	21.53±1.28a	1.42±0.05ab	0.60±0.01a	18.61±5.53a	1.96±0.12abc	15.20±0.55a	35.84±1.75a	2.36±0.04ab
PH	0.15±0.01c	18.90±1.51a	1.38±0.07b	0.62±0.02a	12.43±2.50ab	1.47±0.35bc	13.62±0.48a	30.45±1.50b	2.23±0.05ab

注:表中数据均为平均值±标准误。数据后缀小写字母表示不同牧草种类间差异显著性( $p < 0.05$ )。下同。

## 1.4 数据处理及分析

在 IBM SPSS Statistics 26 中进行统计分析,利用单因素方差法(one-way ANOVA)进行方差分析,不同牧草之间土壤理化性质及酶活等特征的差异性检验通过 Duncan 法进行多重比较( $p < 0.05$ ),用 Pearson 相关性分析法分析酶特征与土壤性质之间的相关性,利用 Canoco 5.0 软件进行冗余分析,并在 Origin 2023 中绘图。

酶化学计量比计算公式如下:

$$E_{C:N} = \frac{\ln(BG+CBH+XYL)}{\ln(NAG+LAP+ALA)} \quad (1)$$

$$E_{C:P} = \frac{\ln(BG+CBH+XYL)}{\ln ALP} \quad (2)$$

$$E_{N:P} = \frac{\ln(NAG+LAP+ALA)}{\ln ALP} \quad (3)$$

式中:以土壤酶名称简写(BG, CBH, XYL, NAG, LAP, ALA 和 ALP)表示各种类土壤酶活性[单位为 nmol/(g · h)],下同。 $E_{C:N}$ 为土壤碳氮酶活性比, $E_{C:P}$ 为土壤碳磷酶活性比, $E_{N:P}$ 为土壤氮磷酶活性比。 $\ln(BG+CBH+XYL)$ 表示微生物对碳的相对需求; $\ln(NAG+LAP+ALA)$ 表示微生物对氮的相对需求; $\ln ALP$ 表示微生物对磷的相对需求。

通过矢量分析表示土壤养分限制情况,具体计算公式<sup>[16]</sup>如下:

$$VL = \sqrt{x^2 + y^2} \quad (4)$$

$$VA = \text{Degrees}[\text{Atan2}(x, y)] \quad (5)$$



$$\text{其中: } x = \frac{BG+CBH+XYL}{(BG+CBH+XYL)+ALP} \quad (6)$$

$$y = \frac{BG+CBH+XYL}{(BG+CBH+XYL)+(NAG+LAP+ALA)} \quad (7)$$

式中:VL 表示矢量长度,VL 越长,代表受 C 限制越大。VA 表示矢量角度,VA > 45°,代表受 P 限制;VA < 45°,表示受 N 限制。 $x$  表示 C-获取酶与 P-获取酶的相对活性; $y$  表示 C-获取酶与 N-获取酶的相对活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同牧草种植地中土壤微生物生物量、酶活性及化学计量学特征

总体来看,牧草种类对土壤碳、氮和磷循环相关酶活性的影响显著,不同牧草种植地土壤酶活性差异较大,趋势变化的相关性不强,且 7 种牧草土壤酶的活性均低于 CK(图 1)。与碳循环相关的土壤酶中:BG 活性在不同牧草之间不存在显著差异,且活性在 69~82 nmol/(g·h)之间,比 CK [171 nmol/(g·h)] 低 52%以上;星星草(XX)、同德老芒麦(TD)和贫花鹅观

草(PH)样地的 CBH 活性差距较小,在 18~19 nmol/(g·h)之间,比 CK 和其他种类样地低 44%以上,差异显著( $p < 0.05$ );XYL 活性在冷地早熟禾(LD)样地中最高[37 nmol/(g·h)],显著高于 PH 样地[26 nmol/(g·h)]( $p < 0.05$ )而与其他样地不存在显著差异,同时不同种类牧草样地 XYL 活性比 CK[77 nmol/(g·h)] 低 49%以上。与氮循环相关的土壤酶中:NAG 活性在 PH 样地中最高[5 nmol/(g·h)],显著高于 LD 样地[3 nmol/(g·h)]( $p < 0.05$ )而与其他样地不存在显著差异,同时不同种类牧草样地 NAG 活性比 CK[13 nmol/(g·h)] 低 56%以上;LAP 活性在不同牧草之间不存在显著差异,活性在 122~146 nmol/(g·h)之间,比 CK [243 nmol/(g·h)] 低 40%以上;ALA 活性在不同牧草之间也不存在显著差异,活性在 110~135 nmol/(g·h)之间,比 CK[306 nmol/(g·h)] 低 64%以上。与磷循环相关的土壤酶 ALP 活性在不同牧草种植地存在显著差异( $p < 0.05$ ),其中 TD 和 PH 样地活性最高[496 nmol/(g·h)],LD 样地最低[417 nmol/(g·h)],均低于 CK[506 nmol/(g·h)]。

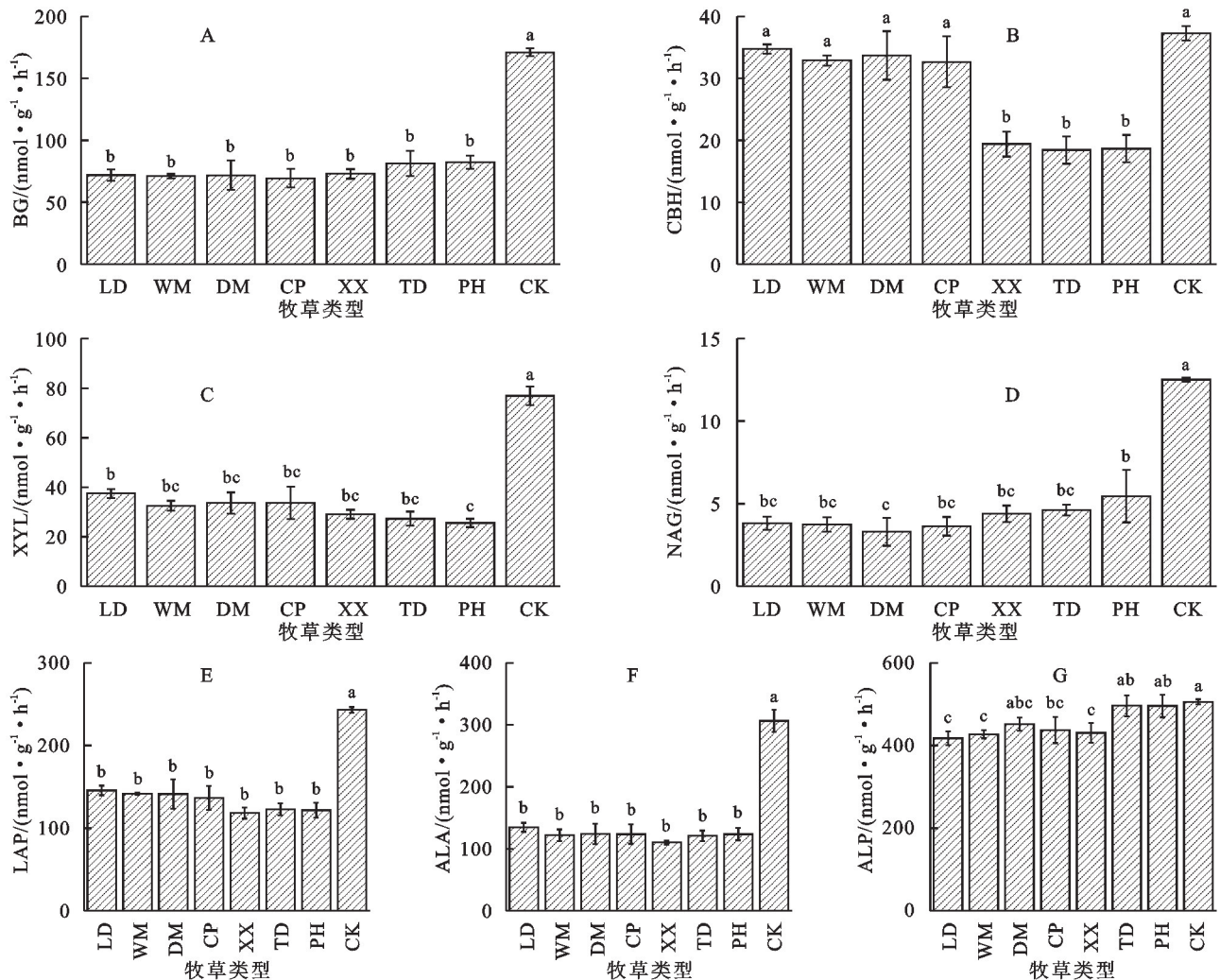


图 1 不同牧草种类下土壤酶活性特征

Fig. 1 Characteristics of soil enzyme activities under different grass species

对土壤酶活性进行对数转换从而进行酶化学计量学特征分析(表 2),总体来说, $E_{C:N}$ 和 VL 在不同样地无显著差异, $E_{C:P}$ 、 $E_{N:P}$ 和 VA 在不同牧草种类样地表现出显著差异。 $E_{C:N}$ 在各样地之间不存在显著差异,且比值均在 0.88 左右;LD 样地  $E_{C:P}$  最大(0.82),显著高于 TD 和 PH 样地(0.78)( $p<0.05$ ),但与其他样地不存在显著差异; $E_{N:P}$ 变化趋势与  $E_{C:P}$ 存在一致性,但不同牧草种类样地间差异更大( $p<0.05$ ),其中 LD 样地最大(0.94),TD 和 PH 样地最小(0.89)。此外,矢量分析表明,矢量长度(VL)在不同牧草种类间的差异不显著,介于 0.39~0.41 之间。7 种牧草土壤酶活性矢量角度(VA)均大于  $45^\circ$ ,表明该地区土壤微生物受 P 限制,其中 TD 和 PH 的矢量角度( $59^\circ$ )最大,LD 样地的矢量角度( $53^\circ$ )最小。此外,用  $\ln(BG+CBH+XYL): \ln$

(NAG+LAP+ALA):  $\ln$  ALP 表示土壤碳氮磷酶活性比( $E_{C:N:P}$ ),结果显示不同牧草种植地土壤酶化学计量比  $E_{C:N:P}$  为 1:1.14:1.25。

不同牧草种类样地之间土壤微生物生物量及其化学计量比差异显著( $p<0.05$ ;图 2,表 2)。其中,TD 样地的 MBC 含量最高(236 mg/kg),而 WM 样地最低(135 mg/kg);MBN 含量在 PH 样地中最低(22 mg/kg),而在 WM 样地中最高(35 mg/kg);MBP 含量在 XX 样地中最高(45 mg/kg),且显著大于其他牧草(15~22 mg/kg)。在微生物生物量化学计量比中,PH 样地的 MBC:MBN 最大(10.43),显著大于其他样地( $p<0.05$ ),WM 样地最小(3.89);PH 样地的 MBC:MBP 最大(14.81),而 XX 样地最小(5.03);TD 样地的 MBN:MBP 最大(1.83),其中 XX 最小(0.67)。

表 2 不同牧草种类土壤微生物生物量、酶活性化学计量和矢量特征

Table 2 Stoichiometric and vector characteristics of soil microbial biomass and enzyme activity under different grass species

牧草类型	$E_{C:N}$	$E_{C:P}$	$E_{N:P}$	MBC:MBN	MBC:MBP	MBN:MBP	VL	VA
LD	0.88±0.01a	0.82±0.01a	0.94±0.00a	6.28±0.66bc	10.91±2.01bc	1.76±0.37a	0.42±0.02a	52.67±0.05c
WM	0.88±0.00a	0.81±0.00ab	0.92±0.00ab	3.89±0.16d	6.47±0.16d	1.67±0.05ab	0.42±0.00a	54.41±0.30bc
DM	0.88±0.01a	0.80±0.02ab	0.91±0.02abcd	4.21±0.38d	6.43±0.60d	1.53±0.00ab	0.41±0.02a	55.76±2.46abc
CP	0.88±0.01a	0.81±0.01ab	0.92±0.01abc	5.79±0.88cd	7.44±1.97cd	1.25±0.15b	0.41±0.01a	55.30±1.09bc
XX	0.88±0.01a	0.79±0.01ab	0.90±0.00bcd	7.53±0.32bc	5.03±0.52d	0.67±0.06c	0.41±0.02a	57.27±0.80ab
TD	0.88±0.01a	0.78±0.01b	0.89±0.00d	8.03±1.06b	14.56±1.61ab	1.83±0.10a	0.39±0.01a	59.01±0.42a
PH	0.88±0.01a	0.78±0.01b	0.89±0.01cd	10.43±0.65a	14.81±0.58a	1.44±0.14ab	0.39±0.01a	58.82±0.46a

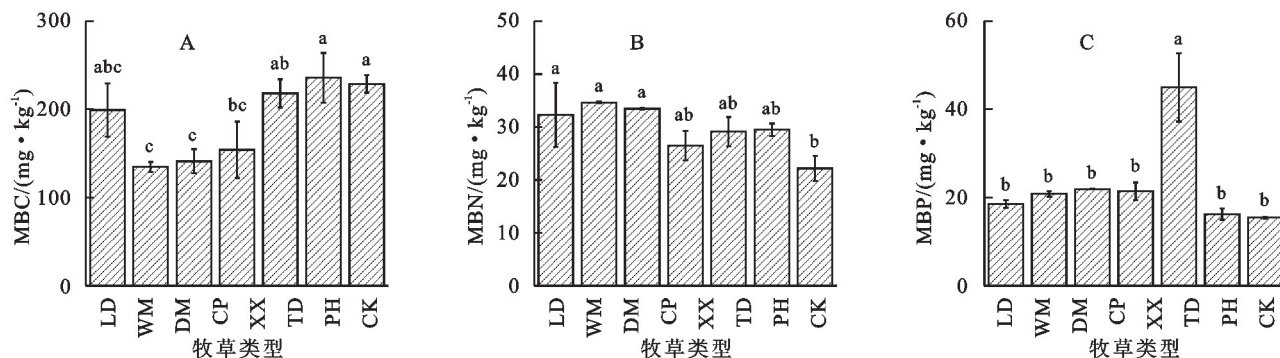


图 2 不同牧草种类土壤微生物生物量

Fig. 2 Soil microbial biomass under different grass species

## 2.2 土壤酶活性及其化学计量比的影响因素

通过 Pearson 相关性分析表现土壤酶活性与土壤理化性质及化学计量比之间的关系,整体来看,土壤酶活性与 SOC, TN 和 TN:TP 之间有较强的正相关性(表 3,表 4)。土壤 CBH 和 XYL 活性与 W 显著正相关( $p<0.05$ ;表 3),BG,XYL,LAP 和 ALA 活性与 SOC 含量显著正相关( $p<0.05$ ),NAG 活性与 MBC 含量呈极显著正相关关系( $p<0.01$ ),CBH,XYL,LAP 和 ALA 活性与 TN 含量极显著正相关( $p<0.01$ ),CBH 与 MBC 含量极显著负相关( $p<0.01$ )。此外,CBH,XYL,LAP 与

$E_{N:P}$ ,MBC:MBN 呈显著负相关关系( $p<0.05$ ;表 4),其中 CBH 达到极显著水平( $p<0.01$ );ALP 与 MBC:MBP 显著正相关( $p<0.05$ );BG,ALP 和  $E_{C:N}$ 与 SOC:TP 均为显著正相关关系( $p<0.05$ );CBH,XYL,LAP 和 ALA 与 TN:TP 呈显著正相关关系( $p<0.05$ ),其中 XYL 和 LAP 达到极显著( $p<0.01$ )。

通过冗余分析进一步探究土壤酶活性及其化学计量变化的环境驱动因子(图 3)。结果表明,环境因子对土壤酶活性变异的总解释率为 62.22%,其中 RDA1 和 RDA2 的解释率分别为 41.79%和 20.43%

(图 3A);对土壤酶化学计量比的总解释率为 57.12%, RDA1 和 RDA2 分别解释了 48.32%和 8.80%的变异(图 3B)。土壤酶活性与 TN,SOC,W 和 MBC 显著相关( $p<0.05$ ),其中 TN,W 和 SOC 对 ALA,LAP,XYL 和 CBH 活性有正向效应;BG,ALP 和 NAG 活性与 MBC 和 SOC 正相关,而与 W 负相关。同时,土壤酶活性与 SaN 负相关,但未达到显著水平。土壤酶化

学计量比与 TN,SOC,W,TP,SxN 和 MBP 呈正相关,其中与 SOC,TN 和 W 的相关性显著( $p<0.05$ ),而与 MBC 和 SaN 呈负相关。

综上,土壤 SOC,TN,W,MBC 和 MBN 是影响牧草地土壤酶活性及酶化学计量比的主要因子,MBC:MBN,SOC:TP 和 TN:TP 也与酶活性及其化学计量比显著相关。

表 3 土壤理化性质与酶活性的相关性分析  
Table 3 Correlation analysis of soil physicochemical properties and enzyme activities

酶种类	W	SOC	TN	TP	SaN	SxN	MBC	MBN	MBP
BG	-0.178	0.466 *	0.221	-0.037	-0.128	-0.038	0.392	-0.139	0.004
CBH	0.460 *	0.395	0.649 **	0.366	-0.206	0.089	-0.563 **	0.455 *	-0.169
XYL	0.492 *	0.474 *	0.662 **	0.303	-0.097	0.246	-0.308	0.400	0.044
NAG	-0.250	0.350	0.163	0.157	0.041	0.121	0.496 *	-0.033	0.052
LAP	0.307	0.438 *	0.716 **	0.377	-0.214	0.237	-0.265	0.519 *	-0.130
ALA	0.097	0.500 *	0.594 **	0.253	-0.149	0.135	0.137	0.388	-0.162
ALP	-0.413	0.370	0.238	-0.036	0.220	0.057	0.409	0.020	-0.200

注: \* 表示  $p<0.05$ , \*\* 表示  $p<0.01$ 。下同。

表 4 土壤微生物生物量、养分化学计量比与土壤酶活性及其化学计量比的相关性分析  
Table 4 Correlation analysis of soil microbial biomass, nutrient stoichiometric ratio with soil enzyme activity and its stoichiometric ratio

酶种类	MBC:MBN	MBC:MBP	MBN:MBP	SOC:TN	SOC:TP	TN:TP
BG	0.362	0.293	-0.062	0.188	0.541 *	0.249
CBH	-0.714 **	-0.398	0.244	-0.242	0.230	0.505 *
XYL	-0.509 *	-0.341	0.092	-0.171	0.355	0.557 **
NAG	0.366	0.373	0.058	0.161	0.312	0.096
LAP	-0.523 *	-0.183	0.312	-0.292	0.278	0.561 **
ALA	-0.133	0.172	0.366	-0.129	0.415	0.491 *
ALP	0.303	0.464 *	0.233	0.068	0.437 *	0.250
$E_{C:N}$	0.031	-0.200	-0.343	0.280	0.453 *	0.158
$E_{C:P}$	-0.378	-0.321	-0.019	-0.074	0.274	0.375
$E_{N:P}$	-0.519 *	-0.292	0.200	-0.275	0.070	0.391

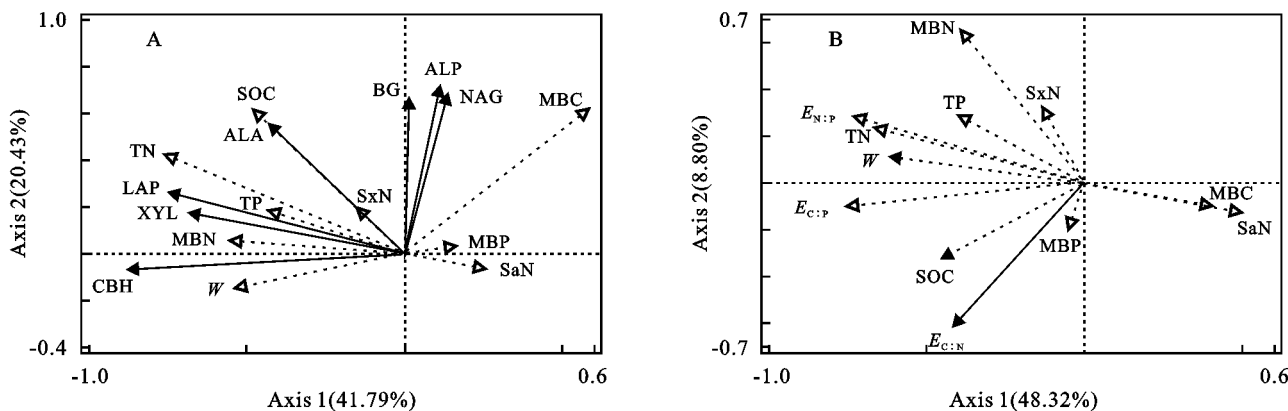


图 3 土壤理化性质与土壤酶活性(A)及酶化学计量比(B)的冗余分析

Fig. 3 Redundancy analysis of soil physicochemical properties with soil enzyme activity (A) and enzyme stoichiometry (B)

3 讨论

3.1 牧草种类对土壤酶活性的影响

土壤酶活性和土壤养分含量作为土壤肥力的重

要指标,在土壤生态系统的物质循环和能量流动中发挥着重要作用<sup>[17]</sup>,不仅能反映出土壤质量的分布状况<sup>[18]</sup>,也间接影响元素的形态转化<sup>[4]</sup>。本研究表明,7 种牧草种植地土壤酶活性存在一定差异,总体来



看,不同牧草种植地土壤中 7 种酶的活性均显著低于对照组土壤。本试验中,与 CK 土壤养分信息(SOC 31.57 g/kg, TN 2.77 g/kg)相比,牧草种植显著降低了土壤全量碳氮养分(SOC 18.71~21.91 g/kg, TN 1.34~1.68 g/kg),酶作用的底物总量减少,导致微生物可利用养分相对减少,生长受限,碳氮循环相关酶活性因而整体降低。分开来看,对于土壤碳循环相关酶,LD 样地 XYL 和 CBH 活性高于其他牧草,表明 LD 样地土壤碳代谢相比于其他牧草种植地更为活跃。氮循环相关酶 NAG 是微生物产生用以获取养分或抵御植物致病真菌,主要作为几丁质酶分解几丁质以促进有机养分吸收<sup>[19]</sup>,其活性表现在 PH 样地较高,但整体较低,表明牧草生长过程中不以几丁质分解产物为主要氮素来源,但 PH 在生长过程中更需要 NAG 酶的参与,但具体原因还需结合土壤微生物群落结构分析。LAP 和 ALA 均是催化多肽链释放氨基酸的蛋白水解酶,本试验中其活性在不同牧草种植地中无显著差异,表明微生物对蛋白质营养来源的摄取较为稳定。土壤磷循环相关酶 ALP 直接影响有机磷在土壤中的分解和转化,可提高有机磷的脱磷率<sup>[20]</sup>。土壤微生物会将资源倾斜向限制性养分的获取,而土壤中磷素的短缺会刺激微生物产生更多的磷获取酶,促使土壤中有机磷的分解以供微生物代谢需要<sup>[21]</sup>。本试验中 ALP 活性在所有样地均较高,也与土壤中有效磷水平较低有关,但在 LD, WM 和 XX 样地中表现相对较低,表明这 3 种牧草可在一定程度上抵御低水平土壤磷素对自身生长的影响。此外,本试验结果表明,不同牧草种植样地土壤 TP 含量为 0.60~0.66 g/kg,高于 CK 土壤 TP 的 0.51 g/kg。对于磷素相对缺乏的土壤,牧草的种植可一定程度上提高土壤全磷含量。

### 3.2 不同人工牧草种类对土壤酶化学计量的影响

土壤酶化学计量可评估微生物的养分利用状况以及微生物养分需求与土壤供应间的平衡。通过酶化学计量特征分析土壤养分比例关系,也可明晰微生物应对养分限制的策略。本研究中土壤  $E_{C:N:P}$  为 1:1.14:1.25,偏离土壤全球酶化学计量比 1:1:1<sup>[3]</sup>,表明研究区氮获取酶和磷获取酶活性较高。根据资源分配理论<sup>[21]</sup>,微生物通过调节胞外酶的分泌,提高限制性元素的有效性,以缓解土壤养分限制。有关微生物资源利用的理论也表示,土壤微生物会将更多资源投入到限制性养分的获取,分泌更多相关酶以供生长代谢需要<sup>[22]</sup>。本试验结果中,VA 在所有牧草种植地均大于 45°,可推断本地区土壤磷获取酶活性较高的原因是微生物受磷养分限制较为严重,从而通过增强分泌磷获取酶的能力增加有效磷养分以满足自身生

长需求。同时,LD 样地土壤  $E_{C:P}$  和  $E_{N:P}$  均显著高于 PH 和 TD,表明其磷获取酶的分泌水平更高,且 PH 和 TD 样地 VA 也显著高于 LD,进一步说明 LD 牧草的缓解磷养分限制作用相较其他两种牧草更大。此外,各样地之间  $E_{C:N}$  并无显著差异,且比值十分接近,这也表明微生物对碳氮养分的需求在不同牧草种类土壤间也可以保持稳定的比例,牧草种类并不是  $E_{C:N}$  差异的主导因素。

### 3.3 土壤酶及其化学计量比的影响因素

土壤酶主要来源于植物根系、土壤动物或微生物分泌物及其残体的分解物等,其活性受海拔高度、植被类型、环境湿度、土壤养分、pH、微生物生物量和微生物群落结构等多因子影响<sup>[23]</sup>。本试验中,在相同土壤中种植不同种类牧草,使得土壤表层植被类型产生差异,改变了土壤微生物养分的植物供应来源,进而影响与微生物群落的物质交换,促使土壤微生物分泌出不同质量的酶<sup>[24-25]</sup>。相关分析结果表明,SOC, TN 和 W 是影响土壤酶活性的关键因子。有机质不仅是土壤中酶促底物的反应物来源,还是保持土壤酶活性和稳定性的土壤有机载体,其分解转化过程也会提高酶活性<sup>[12]</sup>。Liu 等<sup>[4]</sup>的研究也认为土壤活性有机质含量与土壤酶密切相关,不同牧草种类土壤酶活性的差异可能由有机物的增减引起。此外,土壤中的氮素不仅是土壤酶的结构组分,且土壤有机质中的有机态氮素是决定土壤中酶活性的重要因子<sup>[26]</sup>。研究结果显示,酶活性与 SOC, TN 均呈正相关关系,表明土壤中全量碳氮养分的充足为微生物提供了适宜的养分条件,提高其生长活跃度,分泌更多的养分获取酶用以生长繁殖。而土壤中的水直接参与土壤生化反应,还通过影响微生物和植物根系的生命活动改变土壤酶活性<sup>[27]</sup>。结果中 W 对酶活性的正、负效应均存在,因水解酶种类而异,但对 CBH 和 XYL 的正效应显著,表明土壤水分的增加可以提高碳获取酶 CBH 和 XYL 的活性从而促进碳循环。

冗余分析结果表明,除了 SOC, TN 和 W 之外, MBC 和 MBN 也是影响土壤酶及其化学计量比的重要因子。微生物生物量表征了流向微生物的养分,也是微生物数量和活跃度的体现,微生物生物量和酶活性与酶化学计量的紧密相关性也已在许多研究中被证实<sup>[27]</sup>。养分化学计量比 SOC:TP 和 TN:TP 对酶活性及其化学计量比的正效应,源于微生物对碳、氮和磷资源的分配<sup>[25]</sup>。植被类型和养分含量差异改变了土壤养分结构,其体现在土壤碳、氮和磷的化学计量特征,微生物调节胞外酶的分泌以适应环境,酶化学计量也因此改变。此外,土壤 MBC:MBN 与微

生物群落结构有关,通常细菌微生物生物量碳氮比在 5.1 左右,放线菌为 6.1,真菌为 10.1<sup>[28]</sup>。WM 和 DM 样地的 MBC:MBN 最低,为 3.89,4.21,群落组成中细菌的比例更大,而 PH 样地中(10.43)真菌的比例大于其他草地。而土壤中细菌或真菌比例对土壤酶的分泌也具有显著影响。研究结果中,CBH,XYL 和 LAP 活性与 MBC:MBN 负相关,说明土壤群落中的细菌优势可提高这 3 种酶的活性,相反,真菌在土壤中的数量优势会降低其活性。

## 4 结 论

本研究表明,牧草种类对土壤碳、氮和磷循环相关酶活性及其酶化学计量有显著影响。不同牧草种植地土壤酶活性在 3~496 nmol/(g·h)之间,差异较大,且均低于 CK[13~506 nmol/(g·h)]。其中,牧草种植对碳和氮循环相关酶(CBH 除外)影响更大,比 CK 降低至少 40% 以上。同时,土壤中 ALP 活性明显高于其他酶,矢量角度大于 45°,表明该研究区土壤微生物受到磷养分限制。土壤  $E_{C:P}$  和  $E_{N:P}$  受到牧草种类的显著影响,其中 LD 样地  $E_{C:P}$  和  $E_{N:P}$  最大(0.82,0.94),表明其更高的磷获取酶分泌水平。而  $E_{C:N}$  在不同牧草之间无明显差异,表明牧草种类并不是  $E_{C:N}$  差异的主导因素。此外,W, SOC 和 TN 是影响土壤酶活性及其化学计量的主要因素,而 SOC:TP 和 TN:TP 的变化也与酶活性及其化学计量显著相关,而不同牧草种植地土壤 MBC,MBN 含量及 MBC:MBN 差异表征了微生物群落结构的区别,也影响了酶的分泌。本研究阐明了不同种类牧草土壤酶活性和酶化学计量特征及其驱动因子,未来有必要探究牧区土壤微生物群落组成以及功能特征变化,进一步揭示青藏高原高寒草甸土壤养分循环动态及草地生态系统功能的影响机制。

### 参考文献(References):

- [1] 龙瑞军.青藏高原草地生态系统之服务功能[J].科技导报,2007,25(9):26-28.  
Long R J. Functions of ecosystem in the Tibetan grassland[J]. Science & Technology Review, 2007, 25(9): 26-28.
- [2] 刘兴元,冯琦胜.藏北高寒草地生态系统服务价值评估[J].环境科学学报,2012,32(12):3152-3160.  
Liu X Y, Feng Q S. Evaluation of ecological services value of alpine rangeland ecosystem in the northern Tibet Region[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(12):3152-3160.
- [3] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, et al. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale[J]. Ecology Letters, 2008, 11(11):1252-1264.
- [4] Liu J B, Chen J, Chen G S, et al. Enzyme stoichiometry indicates the variation of microbial nutrient requirements at different soil depths in subtropical forests[J]. PLoS One, 2020, 15(2):e0220599.
- [5] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 58:216-234.
- [6] Peng X Q, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of Northern China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 98:74-84.
- [7] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment[J]. Nature, 2009, 462(7274):795-798.
- [8] 黄伟佳,刘春,刘岳,等.南岭山地不同海拔土壤生态化学计量特征及影响因素[J].生态环境学报,2023,32(1):80-89.  
Huang W J, Liu C, Liu Y, et al. Soil ecological stoichiometry and its influencing factors at different elevations in Nanling Mountains[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2023, 32(1):80-89.
- [9] 郭超,盛茂银,何宇,等.土地利用方式对西南喀斯特土壤碳、氮、磷化学计量特征及酶活性的影响[J].土壤通报,2023,54(2):382-391.  
Guo C, Sheng M Y, He Y, et al. Effects of land use types on soil carbon, nitrogen, phosphorus stoichiometric characteristics and enzyme activities in the karst area of southwest China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(2):382-391.
- [10] Ma L N, Huang W W, Guo C Y, et al. Soil microbial properties and plant growth responses to carbon and water addition in a temperate steppe: The importance of nutrient availability[J]. PLoS One, 2012, 7(4):e35165.
- [11] 欧阳克蕙,王堃.人工草地植被重建对退化红壤化学性质和酶活性的影响[J].江西农业大学学报,2007,29(3):474-478.  
Ouyang K H, Wang K. Effects of artificial grassland reconstruction on soil nutrients and enzyme activity in degraded red soil[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2007, 29(3):474-478.
- [12] 魏小星.青海湖东沙化治理过程中土壤酶活性及养分含量特征[J].草业科学,2017,34(7):1408-1418.  
Wei X X. Soil nutrient content and the activities of soil enzymes during the desertification restoration process to the east of Qinghai Lake[J]. Pratacultural Science, 2017, 34(7):1408-1418.



- [13] Feyissa A, Gurmesa G A, Yang F, et al. Soil enzyme activity and stoichiometry in secondary grasslands along a climatic gradient of subtropical China[J]. The Science of the Total Environment, 2022,825:154019.
- [14] Chen W J, Zhou H K, Wu Y, et al. Direct and indirect influences of long-term fertilization on microbial carbon and nitrogen cycles in an alpine grassland[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020,149:107922.
- [15] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, et al. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011,43(7):1387-1397.
- [16] Moorhead D L, Sinsabaugh R L, Hill B H, et al. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016,93:1-7.
- [17] 李小容, 韦金玉, 陈云, 等. 海南岛不同林龄的木麻黄林地土壤微生物的功能多样性[J]. 植物生态学报, 2014, 38(6):608-618.  
Li X R, Wei J Y, Chen Y, et al. Functional diversity of soil microorganisms in *Casuarina equisetifolia* woodlands of different stand ages in Hainan Island[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2014,38(6):608-618.
- [18] 赵海燕, 徐福利, 王渭玲, 等. 秦岭地区华北落叶松人工林地土壤养分和酶活性变化[J]. 生态学报, 2015, 35(4):1086-1094.  
Zhao H Y, Xu F L, Wang W L, et al. Soil nutrients and enzyme activities in *Larix principis-rupprechtii* plantations in the Qinling Mountains, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015,35(4):1086-1094.
- [19] 张威, 张明, 白震, 等. 土壤中几丁质酶的研究进展[J]. 土壤通报, 2007, 38(3):569-575.  
Zhang W, Zhang M, Bai Z, et al. Research advances in soil chitinase[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2007,38(3):569-575.
- [20] Von Sperber C, Kries H, Tamburini F, et al. The effect of phosphomonoesterases on the oxygen isotope composition of phosphate[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014,125:519-527.
- [21] Sinsabaugh R L, Moorhead D L. Resource allocation to extracellular enzyme production: A model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1994,26(10):1305-1311.
- [22] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, et al. Evolutionary-economic Principles as Regulators of Soil Enzyme Production and Ecosystem Function[M]// Soil Enzymology, Berlin, Heidelberg: Springer, 2010:229-243.
- [23] Stark S, Männistö M K, Eskelinen A. Nutrient availability and pH jointly constrain microbial extracellular enzyme activities in nutrient-poor tundra soils [J]. Plant and Soil, 2014,383(1):373-385.
- [24] Wei L, Razavi B S, Wang W Q, et al. Labile carbon matters more than temperature for enzyme activity in paddy soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135:134-143.
- [25] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, et al. Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation in rhizosphere soil in the arid area of the northern Loess Plateau, China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018,116:11-21.
- [26] 万忠梅, 宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展[J]. 土壤通报, 2009, 40(4):951-956.  
Wan Z M, Song C C. Advance on response of soil enzyme activity to ecological environment[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2009,40(4):951-956.
- [27] 闫钟清, 齐玉春, 李素俭, 等. 降水和氮沉降增加对草地土壤微生物与酶活性的影响研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(6):1481-1490.  
Yan Z Q, Qi Y C, Li S J, et al. Soil microorganisms and enzyme activity of grassland ecosystem affected by changes in precipitation pattern and increase in nitrogen deposition: a review[J]. Microbiology China, 2017, 44(6):1481-1490.
- [28] 王晓龙, 胡锋, 李辉信, 等. 红壤小流域不同土地利用方式对土壤微生物量碳氮的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1):143-147.  
Wang X L, Hu F, Li H X, et al. Effects of different land used patterns on soil microbial biomass carbon and nitrogen in small red soil watershed[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006,25(1):143-147.