

DOI: 10.11766/trxb202401090018

CSTR: 32215.14.trxb202401090018

李一凡, 石碧婉, 杨志颖, 高文静, 马田, 朱剑霄, 贺金生. 短期和长期氮磷添加对青藏高原草甸土壤微生物残体积累系数的影响[J]. 土壤学报, 2025, 62 (3): 893–904.

LI Yifan, SHI Biwan, YANG Zhiying, GAO Wenjing, MA Tian, ZHU Jianxiao, HE Jinsheng. Effects of Short-term and Long-term Nitrogen and Phosphorus Additions on Microbial Necromass Accumulation Coefficients in Meadow Soils of the Qinghai-Tibet Plateau[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025, 62 (3): 893–904.

短期和长期氮磷添加对青藏高原草甸土壤微生物残体积累系数的影响*

李一凡, 石碧婉, 杨志颖, 高文静, 马田[†], 朱剑霄, 贺金生

(兰州大学草种创新与草地农业生态系统全国重点实验室/草地农业科技学院, 兰州 730000)

摘要: 微生物残体积累系数 (NAC) 是单位微生物生物量积累的微生物残体量, 可用来指征微生物残体的积累效率, 然而青藏高原草甸生态系统的土壤 NAC 对短期和长期氮磷添加的响应尚不明确。以青藏高原草甸氮磷添加 1 年 (短期) 和 10 年 (长期) 后的土壤为研究对象, 量化了土壤微生物残体碳 (MNC)、土壤微生物生物量碳 (MBC), 并估算了短期和长期养分添加后的 NAC, 同时综合土壤基本理化性质、微生物胞外酶活性、植物生物量等环境因子, 分析了 NAC 的主要调控因素。结果显示, 短期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 分别为 31.33 和 38.12, 不同氮磷添加处理对 NAC 无显著影响 ($P>0.05$); 长期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 分别为 14.46 和 17.49, 氮磷添加显著降低了 20~30 cm 土层的 NAC ($P<0.05$)。进一步的统计分析结果显示, pH 是影响 NAC 的主要因素, 长期氮磷添加导致土壤 pH 降低, 从而降低了 NAC。本研究探讨了 NAC 对氮磷添加的差异响应及影响因素, 为理解氮磷沉降增加背景下微生物介导的碳积累提供了数据支持。

关键词: 土壤有机碳; 微生物残体积累系数; 氮磷添加; pH; 青藏高原

中图分类号: S812 文献标志码: A

Effects of Short-term and Long-term Nitrogen and Phosphorus Additions on Microbial Necromass Accumulation Coefficients in Meadow Soils of the Qinghai-Tibet Plateau

LI Yifan, SHI Biwan, YANG Zhiying, GAO Wenjing, MA Tian[†], ZHU Jianxiao, HE Jinsheng

(State Key Laboratory of Herbage Improvement and Grassland, Agroecosystems / College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

* 国家自然科学基金项目 (42301105)、兰州大学“双一流”引导专项: 队伍建设经费 (561119221) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42301105), and the “Double First Class Initiative” Guided Project Team Building-Funding-Research Startup Fee of Lanzhou University, China (No. 561119221)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: matian@lzu.edu.cn

作者简介: 李一凡 (1999—), 男, 山西晋城人, 硕士研究生, 主要从事陆地生态系统土壤碳的生物地球化学研究。E-mail: lyf9906@126.com

收稿日期: 2024-01-09; 收到修改稿日期: 2024-06-27; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2024-08-26

Abstract: 【Objective】Microbes and their necromass play a key role in the accumulation and long-term sequestration of soil organic carbon (SOC). Moreover, continuous increases in nitrogen (N) and phosphorus (P) inputs can significantly affect microbe-mediated SOC accumulation processes. The microbial necromass accumulation coefficient (NAC), which quantifies the accumulation of microbial necromass per unit of microbial biomass, plays a key role in assessing the efficiency of microbial necromass accumulation. However, the influence of short-term and long-term additions of N and P on this coefficient within meadow ecosystems remains unclear. This study focused on investigating the differential responses of NAC to (1) short-term and long-term N and P additions and (2) additions of N and P across different soil layers. 【Method】To explore the response of NAC to N and P additions, this study analyzed soil samples from the meadow on the Qinghai-Tibet Plateau subjected to 1 year (short-term) and 10 years (long-term) of N and P additions. It was measured the soil microbial necromass carbon (MNC) and the soil microbial biomass carbon (MBC), and calculated the value of NAC. Additionally, considering other environmental factors including soil physical and chemical properties, microbial extracellular enzyme activities, and plant biomass, the main influencing factors of NAC were identified. 【Result】The results showed that after short-term N and P additions, the NAC values in the 0-10 cm and 20-30 cm soil layers were 31.33 ± 2.97 (mean \pm SE) and 38.12 ± 3.90 , respectively, and N and P additions had no significant effect on NAC ($P > 0.05$). After long-term additions of N and P, the NAC values in the 0-10 cm and 20-30 cm soil layers were 14.46 ± 1.12 and 17.49 ± 3.22 , respectively; and the additions of N and P significantly reduced the NAC in the 20-30 cm layer ($P < 0.05$). The results of the Random Forest indicated that pH was the most important factor affecting NAC, and the correlation analysis revealed a significant positive relationship between soil pH and NAC. Moreover, the long-term N addition, P addition and simultaneous addition of N and P significantly reduced the pH of the 20-30 cm soil layer. These findings suggest that the decrease in soil pH due to long-term N and P supplementation is the main cause of the reduction in NAC. The lowered soil pH may lead to the dissolution of minerals, thereby reducing the mineral protection of MNC, making it more susceptible to decomposition, ultimately decreasing the NAC of microorganisms. 【Conclusion】In summary, changes in pH resulting from long-term nutrient additions dominated the changes in NAC. In the context of ongoing increases in N and P deposition, it is advisable to closely monitor changes in soil pH and implement timely measures to maintain the stability of SOC. This study explores the differential responses of NAC to N and P additions and their influencing factors, providing data support for understanding microbial-mediated carbon accumulation under the context of increasing N and P deposition.

Key words: Soil organic carbon; Microbial necromass accumulation coefficient; Nitrogen and phosphorus addition; pH; Qinghai-Tibet Plateau

土壤有机碳 (Soil organic carbon, SOC) 是陆地生态系统最重要的活性碳库, 其碳储量为植被碳库的 3 倍~4 倍、大气碳库的 2 倍~3 倍, SOC 库的微小变化就可能对大气二氧化碳浓度产生显著影响^[1], 从而影响全球气候变暖。近年来, 关于 SOC 形成与稳定机制的认知已逐渐从早期的腐殖质理论转变为由微生物转化和调控^[2-4]。微生物可通过“体外修饰”和“体内周转”两条途径调控 SOC 的积累^[2-3], “体外修饰”是指大分子植物来源的碳在微生物或者胞外酶的作用下分解转化, 最终导致植物源有机碳在土壤中积累的过程; “体内周转”是指植物源碳被微生物摄取后, 经过合成代谢、细胞生长以及细胞死亡等一系列周转, 最终以微生物残体碳 (Microbial necromass carbon, MNC) 的形式在土壤

中积累的过程, 由于这些通过微生物的“体内周转”而进入稳定 SOC 库的碳化合物均源自于微生物细胞, 所以该过程被形象的称作土壤“微生物碳泵” (Microbial carbon pump, MCP)^[2-3]。研究表明, 微生物残体通常较难分解, 并且常与矿物结合, 从而得到保护, 它们对 SOC 的贡献可达 50%~80%, 在 SOC 的长期保存中发挥着关键作用^[2-4]。近一个多世纪以来, 由于工业化的迅速发展和人口的激增, 大气中的氮和磷沉降量显著增加, 这与 SOC 以及氮和磷的循环紧密相关^[5-6], 因此, 了解氮和磷输入对 MNC 的影响及调控机制有助于深入理解微生物介导的碳储存过程及其对全球变化的响应。

氮和磷是植物、微生物生长的限制性养分, 氮和磷通过影响微生物残体的产生、改变微生物胞外

酶活性、调控土壤矿物含量等,直接影响土壤中 MNC 的产生、分解及稳定^[7-10]。例如,在亚热带森林进行的一项为期 5.5 年的氮添加实验表明^[8],氮添加会增加植物和 0~10 cm 土层中微生物对磷的需求,这会使得具有较高磷获取能力的真菌丰度增加,并最终增加了 0~10 cm 土层中的 MNC。在亚热带人工林进行的另一项为期 12 年的氮磷添加实验表明^[9],磷添加和氮磷同时添加会降低酸性磷酸酶的活性以及微生物残体受到的矿物保护,从而减少 MNC 的积累;此外,对于不同土壤深度而言,磷添加和氮磷同时添加时 20~40 cm 土层中 MNC 的减少更多,主要是因为在 0~20 cm 土层中,养分添加导致的微生物生物量增加(MNC 的产生增加)减缓了 MNC 的下降趋势;在亚高山森林进行的一项为期 8 年的磷添加实验表明^[10],磷添加会使土壤氮有效性增加,这会降低氮获取酶的活性,从而减少微生物残体的分解,促进 MNC 的积累。而在高寒草地进行的一项为期 4 年的氮磷添加实验表明^[11],养分添加对 MNC 总量无显著影响,但是氮磷添加显著降低了微生物的碳利用效率从而降低了 SOC,导致 MNC 对 SOC 的贡献增加。由此可见,氮磷添加对 MNC 的影响已被广泛研究,然而,土壤中的 MNC 是微生物残体长期积累的产物,在积累过程中也伴随着微生物残体的周转和再利用,单位微生物生物量积累的微生物残体决定了 MNC 的积累效率,效率高的系统有利于通过微生物转化途径进行土壤碳固持^[12]。因此,除 MNC 之外,还应考虑 MNC 的积累效率对氮磷添加的响应及调控机制。

尽管微生物生物量碳(MBC)占 SOC 的比例极小(不足 4%),但微生物周转快速,在微生物死亡后,其残体可在土壤中迭代积累^[13]。仅有的几项研究利用 MNC 与 MBC 的比值(MNC/MBC)、MNC 与磷脂脂肪酸(PLFA)的比值(MNC/PLFA)来估算单位微生物生物量积累的微生物残体数量,即微生物残体的积累效率^[12, 14-15]。由于 MBC 的数据更容易获得,因此 MNC/MBC 更适合推广至全球尺度对微生物残体积累效率进行研究^[12], MNC/MBC 高的生态系统表明其可通过微生物体内途径合成更多的 MNC 并稳定积累在土壤中,有利于 SOC 固持,反之则不利于 SOC 积累。Han 等^[12]将该比值称为微生物残体积累系数(Necromass accumulation coefficient, NAC),他们通过 Meta 分析计算了不同生态系统的

NAC,结果发现森林、农田和草地土壤中 NAC 的均值分别为 26.8、28.2 和 21.1,同时,NAC 与 SOC 的显著正相关关系验证了土壤 MCP 在促进 SOC 积累中的重要作用,文章同时指出微生物丰度和微生物生物量氮(MBN)是 NAC 的关键驱动因素。Zhang 等^[15]估算了青藏高原天然草地土壤的 NAC,其范围区间为 3.9~59.6,进一步的结构方程模型分析发现较低的干旱指数和净初级生产力限制了青藏高原草地土壤微生物残体对 SOC 的贡献。作为衡量微生物将可利用碳转化为稳定微生物残体碳的关键指标,对比不同生态系统下的 NAC 并研究其对全球变化的响应对预测 SOC 动态有直接指导意义。然而,目前尚未有研究关注 NAC 对氮磷添加的响应。

青藏高原是世界上最高、最大的高原,其高海拔和低温的地理环境使得其对气候变化非常敏感^[16]。近年来青藏高原氮沉降明显,并具有逐年增加的趋势,人为活动也导致磷输入大量增加^[6]。青藏高原在 0.75 m 的土层中储存了 49 Pg 的有机碳,相当于全球土壤碳库的 3.6%^[17],其动态可能会受到氮磷输入的强烈影响。因此研究该区域 NAC 对氮磷添加的响应,对理解区域和全球碳平衡具有重要意义。本研究拟依托青海海北高寒草地生态系统国家野外科学观测研究站的高寒草地养分添加实验平台,探讨短期和长期氮磷添加对不同深度土壤中 NAC 的影响,以期为草甸土壤碳固存提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于青藏高原东北部的海北高寒草地生态系统国家野外科学观测研究站(本文简称“海北站”)。海北站位于祁连山北支冷龙岭东段南麓,大通河河谷的西北部(37°36' N, 101°19' E, 海拔约 3 215 m)。气候类型属于典型的高原大陆性气候,一年中无明显的四季之分,按照植物生长周期通常将全年分为非生长季(10 月—次年 4 月)和生长季(5—9 月),生长季相对温暖湿润,非生长季寒冷干燥。1982—2014 年均温为-1.2℃,其中最冷月(1 月)和最热月(7 月)的平均气温分别为-14.5℃和 10.4℃,年降水量为 485 mm,84%的降水集中在每年的生长季,呈现雨热同期的特点^[6]。该地区的土壤类型主要为高寒沼泽土、高寒草甸土和高寒灌丛

土, 土壤平均厚度为 65 cm。草地植被以多年生草本植物为主, 植物优势种为矮嵩草 (*Kobresia humilis*)、早熟禾 (*Poacrymophila*)、异针茅 (*Stipa aliena*)、垂穗披碱草 (*Elymus nutans*) 等, 同时也包含少数灌木, 如矮生忍冬 (*Loniceraminuta*)^[6]。

1.2 试验设计

养分添加实验平台建立于 2009 年, 于 2011 年正式开始进行养分添加处理。样地共设计 6 个区组, 每个区组包含随机设置的 6 个养分添加处理 ($6 \text{ m} \times 6 \text{ m}$): 对照组 (CK, 未进行任何处理), 三个水平的氮添加处理 (N1, $25 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (以 N 计, 下同); N2, $50 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$; N, $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$), 磷添加处理 (P, $50 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (以 P 计, 下同)), 氮磷同时添加处理 (NP, $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1} + 50 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$), 共计 36 个小区。施加的氮肥为尿素, 磷肥为磷酸钙。本研究选取了 CK、N、P、NP

四个处理, 每个处理选取三个重复。为避免不同处理之间相互干扰, 在区组之间和小区之间分别设置了 2 m 和 1 m 的缓冲带 (图 1)。施肥前将肥料分为三等份, 在每年 6—8 月的月初由人工均匀播撒在样地内。施肥时间尽量选择在降雨活动前或太阳落山后, 以利用雨水或次日的露水溶解肥料, 减少肥料挥发并且使其更易渗透至土壤中。

1.3 植物生物量测定

采用样方收获法获取植物生物量, 样方面积为 $25 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$, 样方框位置随机选取。将齐地面收割的植物样品置于烘箱内 (65°C , 48 h) 烘干称重后计算植物地上生物量 (AGB)。采用根钻法获取植物根系样品, 根钻直径为 7 cm, 每个处理随机取 3 孔。使用冲洗法获取土层根系后, 置于烘箱内 (65°C , 48 h) 烘干称重, 计算植物地下生物量 (BGB)。



图 1 养分添加试验设计
Fig. 1 Experimental design of nutrient addition

1.4 土壤样品采集

土壤样品采集时间为每年的 8 月下旬 (生长季后期), 从每个样方不同深度随机取 3 个完整的土芯 (直径 5 cm), 并充分混合均匀。本研究选取 2012 年和 2020 年的 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的土壤样品进行分析, 2012 年的土壤样品从 -80°C 取出置于 4°C 解冻进行后续分析, 2020 年的土壤样品带回实验室后立即进行后续分析, 样品均过 2 mm 土筛并去除可见的根和石砾。

1.5 土壤理化性质测定

在测定 SOC 前先用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸去除土壤中的无机碳^[18], 然后采用有机碳和元素碳全自动分析仪 (Primacs ATC 100-IC-E, Skalar, 荷兰) 测定 SOC。

采用元素分析仪 (Vario EL III, Elementar, 德国) 测定土壤全氮 (Total nitrogen, TN)。土壤中的全磷 (Total phosphorus, TP) 用高氯酸-浓硫酸消解法提取^[19], 用钼锑抗比色法测定。采用 pH 计测定土壤的 pH (土水质量比 1:2.5)^[19]。使用氯仿熏蒸法测定 MBC 和 MBN^[20-21], 经 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸钾溶液浸提后, 利用 TOC 分析仪 (Elementar vario TOC, 德国) 测定浸提液的有机碳和氮浓度。未熏蒸土壤的有机碳记为可溶性有机碳 (Dissolved organic carbon, DOC)^[22]。MBC 和 MBN 可通过熏蒸和未熏蒸土壤间有机碳和氮的差计算, 校正系数分别为 0.45 和 0.54^[23]。土壤无机氮可用氯化钾浸提法测定, 首先用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾溶液浸提土壤样品 (土壤:

氯化钾溶液=1:10 (m:v), 浸提液再利用全自动间断化学分析仪 (Smart chem 450, 意大利) 测得铵态氮 (NH_4^+)^[19]。使用激光粒度分析仪 (Malvern Mastersizer 2000, 英国) 测定土壤质地^[24]。

1.6 土壤微生物胞外酶活测定

本研究测定了参与土壤中碳、氮和磷循环的6种微生物胞外酶活性^[25], 包括与土壤碳循环有关的 α -1, 4-葡萄糖苷酶 (α -1, 4-glucosidase, AG) 和 β -1, 4-葡萄糖苷酶 (β -1, 4-glucosidase, BG), 与土壤氮循环有关的 β -1, 4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (β -1, 4-Nacetyl-glucosaminidase, NAG) 和亮氨酸氨基肽酶 (Leucine aminopeptidase, LAP), 与土壤磷循环有关的酸性磷酸酶 (Acid phosphatase, AP), 以及酚氧化酶 (Phenol oxidase, PO)。将200 μL 土壤悬浮液和50 μL 酶底物分别加入96孔微孔板中。AG、BG和AP的活性以4-甲基伞形酮为底物测定, LAP的活性以7-氨基-4-甲基香豆素为底物测定, NAG的活性以4-甲基香豆素-2-乙酰氨基为底物测定, 微孔板在25℃黑暗条件下培养4 h。PO的活性以L-3, 4-二羟基苯丙氨酸为底物进行测定, 微孔板在25℃黑暗条件下培养3 h。培养结束后立即借助多功能酶标仪 (Synergy Mx, BioTek Instruments Inc, 美国) 测定土壤胞外酶活性。

1.7 氨基糖含量测定

参照Zhang等^[26]的方法提取土壤中的氨基糖。

(1) 水解及纯化: 向一定量冻干土中加入10 mL 6 mol·L⁻¹盐酸, 105℃下水解8 h, 冷却后加入肌醇, 过滤后将滤液旋转蒸发至干燥, 调pH至6.6~6.8。离心取上清液旋转蒸发至干燥, 加入超纯水和N-甲基氨基葡萄糖后冻干。(2) 衍生化: 依次加入衍生试剂和乙酸酐并分别加热, 冷却后加入二氯甲烷。过量试剂通过盐酸和超纯水萃取3次去除, 剩余样品经氮吹干燥后溶解于乙酸乙酯和正己烷混合液中, 借助气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS; QP2020, Shimadzu, 日本) 对氨基糖进行定量。氨基葡萄糖 (GluN) 和胞壁酸 (MurA) 用来计算真菌残体碳 (FNC) 和细菌残体碳 (BNC)。FNC、BNC和MNC的计算公式如下^[2]:

$$\text{FNC} = (\text{GluN}/179.2 - 2 \times \text{MurA}/251.2) \times 179.2 \times 9 \quad (1)$$

$$\text{BNC} = \text{MurA} \times 45 \quad (2)$$

$$\text{MNC} = \text{FNC} + \text{BNC} \quad (3)$$

式(1)中, 179.2和251.2为GluN和MurA的分子量; 2为假设细菌细胞壁中GluN和MurA的摩尔比为2:1; 9为真菌来源的GluN与FNC的转化系数; 式(2)中45为细菌来源的MurA与BNC的转化系数。

参照Han等^[12]的方法利用以下公式计算NAC:

$$\text{NAC} = \text{MNC}/\text{MBC} \quad (4)$$

1.8 数据分析

数据进行统计分析前, 首先检验数据是否符合正态分布。如果数据不是正态分布, 采用非参数检验 (克鲁斯卡尔-沃利斯 (Kruskal-Wallis H) 或威尔科克森 (Wilcoxon))。使用单因素方差分析比较氮、磷添加处理间MNC、MBC以及NAC的差异。使用双因素方差分析检验氮磷添加处理、土壤深度和二者的交互作用对土壤MNC、MBC以及NAC的影响。使用皮尔森相关性分析法对NAC与各因子之间进行相关性分析, 在进行相关性分析之前, 所有变量均经过lg变换。冗余分析展示了土壤理化性质、微生物胞外酶活性和植物生物量对MNC、MBC以及NAC的影响。随机森林模型用于检验影响NAC的相关因子的重要性, 均方误差 (Mean squared error, MSE) 增加的百分比用于表示变量的相对重要性, 每个因子的显著性用“rfpermute”包评估。使用SPSS 24.0和R 4.3.2软件对以上数据进行统计分析和作图, 显著性水平为P<0.05。

2 结果

2.1 短期和长期养分添加对土壤理化性质的影响

短期和长期养分添加对土壤理化性质的影响如表1所示。短期养分添加后, 与CK相比, 氮添加对不同土壤理化性质均无显著影响, 磷添加显著降低了20~30 cm土层的DOC和pH (P<0.05), 氮磷同时添加显著增加了0~10 cm土层的TP (P<0.05), 显著降低了0~10 cm和20~30 cm土层的DOC (P<0.05)以及20~30 cm土层的pH (P<0.05)。长期养分添加后, 氮添加显著增加了0~10 cm土层的SOC (P<0.05), 显著降低了20~30 cm土层的pH (P<0.05); 磷添加显著增加了0~10 cm土层的TP和黏粒+粉粒 (P<0.05), 显著降低了20~30 cm土层的pH (P<0.05); 氮磷同时添加显著增加了0~

表1 短期和长期氮磷添加下的土壤理化性质

Table 1 Effects of short-term and long-term nitrogen and phosphorus additions on soil physicochemical properties

养分添加时长 ^①	深度 Depth/cm	处理 Treatment	C+S/ %	pH	SOC/ (mg·g ⁻¹)	TN / (mg·g ⁻¹)	SOC/TN TN	TP/ (mg·g ⁻¹)	NH ₄ ⁺ / (mg·kg ⁻¹)	DOC/ (mg·g ⁻¹)	MBN/ (mg·g ⁻¹)
			0~10	20~30	0~10	20~30	0~10	20~30	0~10	20~30	0~10
短期 Short-term	0~10	CK	66.02± 3.25a	7.37± 0.49a	62.04± 7.69a	6.04± 0.50a	10.20± 0.47a	0.71± 0.03b	7.05± 0.34a	0.26± 0.03a	0.01± 0.00a
		N	66.69± 0.54a	7.28± 0.20a	62.80± 2.43a	5.89± 0.21a	10.67± 0.13a	0.82± 0.03ab	6.10± 0.26a	0.24± 0.03a	0.01± 0.00a
		P	66.11± 0.97a	7.12± 0.17a	59.51± 5.66a	5.70± 0.35a	10.41± 0.39a	0.89± 0.10ab	4.82± 0.57a	0.21± 0.01a	0.01± 0.00a
		NP	66.29± 0.82a	6.74± 0.35a	55.73± 3.29a	5.62± 0.11a	9.90± 0.39a	0.93± 0.02a	4.90± 0.79a	0.19± 0.01b	0.04± 0.02a
	20~30	CK	63.89± 0.47a	8.43± 0.02a	26.50± 1.28a	3.21± 0.08a	8.25± 0.20a	0.63± 0.02a	3.49± 0.27a	0.25± 0.01a	0.01± 0.00a
		N	63.59± 1.60a	8.51± 0.02a	22.75± 2.74a	2.91± 0.21a	7.75± 0.38a	0.64± 0.01a	3.36± 0.49a	0.25± 0.00ab	0.01± 0.00a
		P	67.50± 3.32a	8.11± 0.01b	21.99± 3.22a	2.75± 0.23a	7.93± 0.63a	0.64± 0.01a	2.02± 0.43a	0.22± 0.01b	0.01± 0.00a
		NP	68.26± 3.39a	8.34± 0.12a	22.78± 1.49a	2.93± 0.17a	7.77± 0.06a	0.57± 0.05a	3.51± 0.64a	0.23± 0.00b	0.01± 0.00a
	长期 Long-term	CK	62.54± 0.82b	6.93± 0.15a	62.28± 3.82b	5.54± 0.34a	11.25± 0.24a	0.30± 0.04c	1.96± 0.49a	0.24± 0.02a	0.43± 0.08a
		N	65.22± 1.50ab	6.13± 0.46ab	73.28± 0.77a	6.04± 0.21a	12.17± 0.50a	0.44± 0.02c	2.36± 0.29a	0.21± 0.03a	0.48± 0.08a
		P	67.38± 0.92a	6.08± 0.24ab	58.11± 3.43b	5.13± 0.29a	11.33± 0.32a	0.86± 0.07b	2.18± 0.55a	0.32± 0.11a	0.46± 0.03a
		NP	66.25± 1.13ab	5.81± 0.23b	74.79± 4.26a	6.23± 0.37a	12.01± 0.17a	1.18± 0.07a	1.97± 0.09a	0.32± 0.07a	0.23± 0.10a
长期 Long-term	20~30	CK	65.34± 1.19a	7.37± 0.09a	28.89± 2.83a	3.03± 0.23a	9.50± 0.39a	0.60± 0.03a	1.27± 0.11a	0.50± 0.02a	0.16± 0.00a
		N	67.03± 2.22a	6.06± 0.09b	27.42± 0.94a	2.88± 0.13a	9.56± 0.35a	0.60± 0.02a	1.39± 0.35a	0.51± 0.00a	0.27± 0.12a
		P	65.91± 0.96a	6.37± 0.09b	31.30± 4.65a	3.11± 0.47a	10.09± 0.06a	0.58± 0.04a	1.29± 0.28a	0.49± 0.03a	0.24± 0.05a
		NP	64.55± 0.70a	6.13± 0.12b	28.55± 0.35a	2.89± 0.09a	9.91± 0.39a	0.64± 0.08a	1.44± 0.39a	0.46± 0.01a	0.28± 0.05a

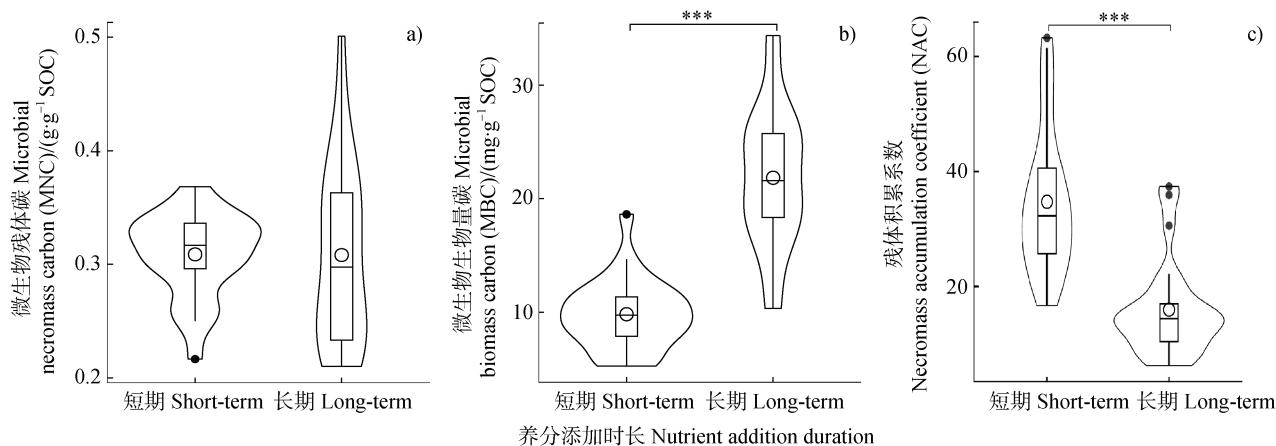
注: CK: 对照组; N: 氮添加; P: 磷添加; NP: 氮磷同时添加。C+S: 黏粒+粉粒, 表示由激光粒度分析仪测得的黏粒和粉粒体积分数之和; SOC: 土壤有机碳; TN: 全氮; SOC/TN: 碳氮比; TP: 全磷; NH₄⁺: 铵态氮; DOC: 可溶性有机碳; MBN: 微生物生物量氮。表中数据为平均值±标准误 ($n=3$), 不同小写字母表示指标在相同深度不同处理间的差异显著 ($P<0.05$)。下同。Note: CK: control; N: nitrogen addition; P: phosphorus addition; NP: nitrogen and phosphorus simultaneous addition. C+S: clay and silt, represents the sum of the volume fractions of clay and silt measured by the laser particle size analyzer. SOC: soil organic carbon; TN: total nitrogen; SOC/TN: ratio of soil organic carbon to total nitrogen; TP: total phosphorus; NH₄⁺: ammonium nitrogen; DOC: dissolved organic carbon; MBN: microbial biomass nitrogen; Data in the table are mean ± standard error ($n=3$), and different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) between treatments at the same depth for the indicator. The same below. ①Nutrient addition duration.

10 cm 土层的 SOC 和 TP ($P<0.05$), 显著降低了 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 pH ($P<0.05$)。

2.2 短期和长期养分添加对 MNC 的影响

短期和长期养分添加后, MNC 的平均含量分别为 0.31 ± 0.01 和 $0.31\pm0.02 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 短期和长期养分添加后的 MNC 无显著差异 (图 2a)。其中短期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MNC 平均含量均为 $0.31\pm0.01 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 两土层间无显著差

异 (图 3a)。长期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MNC 平均浓度分别为 0.30 ± 0.02 和 $0.32\pm0.03 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 两土层间无显著差异 (图 3d)。短期养分添加后, 与 CK 相比, 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MNC 均无显著改变 (图 3a)。长期养分添加后, 与 CK 相比, 磷和氮磷同时添加显著降低了 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MNC ($P<0.05$; 图 3d), 氮添加对其无显著影响 (图 3d)。



注: 1) 小提琴形状表示数据的频率分布, 小提琴的上下须帽分别表示数据中的最大值和最小值。2) 小提琴内方框的上端和下端分别表示 25% 和 75% 分位数, 方框内的实线和圆圈分别表示每组数据的中位数和平均数。3) *** 表示显著性水平为 $P<0.001$ 。Note: 1) The shape of the violin indicates the frequency distribution of the data, and the upper and lower whiskers of the violin indicate the maximum and minimum values in the data, respectively. 2) The upper and lower ends of the box inside the violin represent the 25% and 75% quantile, respectively, and the solid line and circle inside the box represent the median and mean of each data set, respectively. 3) *** indicates significance level of $P<0.001$.

图 2 短期和长期氮磷添加后的微生物残体碳 (a)、微生物生物量碳 (b)、残体积累系数 (c)

Fig. 2 Microbial necromass carbon (a), microbial biomass carbon (b), and necromass accumulation coefficient (c) after short- and long-term nitrogen and phosphorus additions

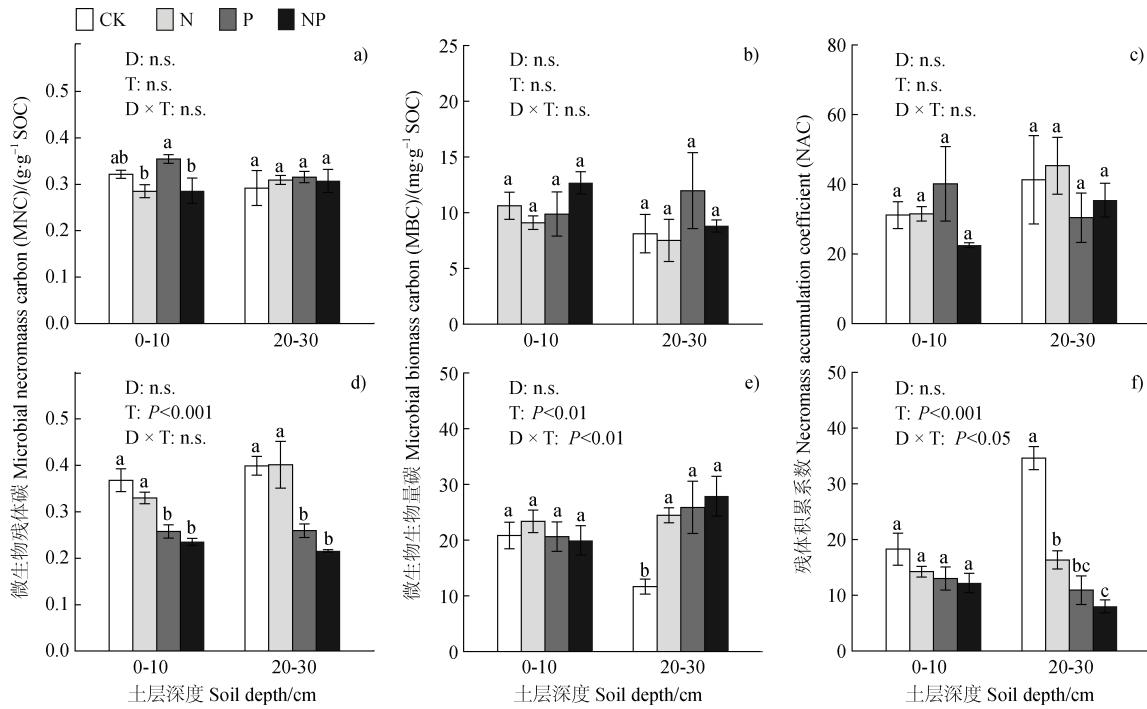
2.3 短期和长期养分添加对 MBC 的影响

短期和长期养分添加后, MBC 的平均含量分别为 9.83 ± 0.63 和 $21.84\pm1.27 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 长期养分添加后的 MBC 显著高于短期养分添加 ($P<0.001$; 图 2b)。其中短期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MBC 平均浓度分别为 10.57 ± 0.66 和 $9.10\pm1.10 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 两土层间无显著差异 (图 3b)。长期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MBC 平均含量分别为 21.20 ± 1.11 和 $22.48\pm2.33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ SOC, 两土层间无显著差异 (图 3b)。短期养分添加后, 与 CK 相比, 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MBC 均无显著改变 (图 3b)。长期养分添加后, 与 CK 相比, 氮、磷和氮磷同时添加均显著增加了 20~30 cm 土层的 MBC ($P<0.05$), 0~10 cm 土层的 MBC

对氮磷添加无显著响应 (图 3e)。

2.4 短期和长期养分添加对 NAC 的影响

短期和长期养分添加后, NAC 分别为 34.73 ± 2.60 和 15.97 ± 1.70 , 长期养分添加后的 NAC 显著低于短期养分添加 ($P<0.001$; 图 2c)。其中短期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 分别为 31.33 ± 2.97 和 38.12 ± 3.90 , 两土层间无显著差异 (图 3c)。长期养分添加后 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 分别为 14.46 ± 1.12 和 17.49 ± 3.22 , 两土层间无显著差异 (图 3f)。短期养分添加后, 与 CK 相比, 0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 均无显著改变 (图 3c)。长期养分添加后, 与 CK 相比, 氮、磷和氮磷同时添加均显著降低了 20~30 cm 土层的 NAC ($P<0.05$; 图 3f), 0~10 cm 土层的 NAC



注：图中展示了土层深度 (D)、养分添加处理 (T) 以及二者的交互影响 (D × T)。不同小写字母表示指标在相同深度不同处理间的差异显著 ($P<0.05$)。n.s. 表示差异不显著。Note: The effects of soil depths (D), nutrient addition treatments (T), and their interaction (D × T) are shown. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) between treatments at the same depth for the indicator. n.s. indicates non-significant differences.

图 3 短期 (a~c) 和长期 (d~f) 氮磷添加对不同土层微生物残体碳 (a, d)、微生物生物量碳 (b, e)、残体积累系数 (c, f) 的影响

Fig. 3 Effects of short-term (a~c) and long-term (d~f) nitrogen and phosphorus additions on microbial necromass carbon (a, d), microbial biomass carbon (b, e), and necromass accumulation coefficients (c, f) in different soil layers

对氮磷添加无显著响应 (图 3f)。

2.5 NAC 的影响因素

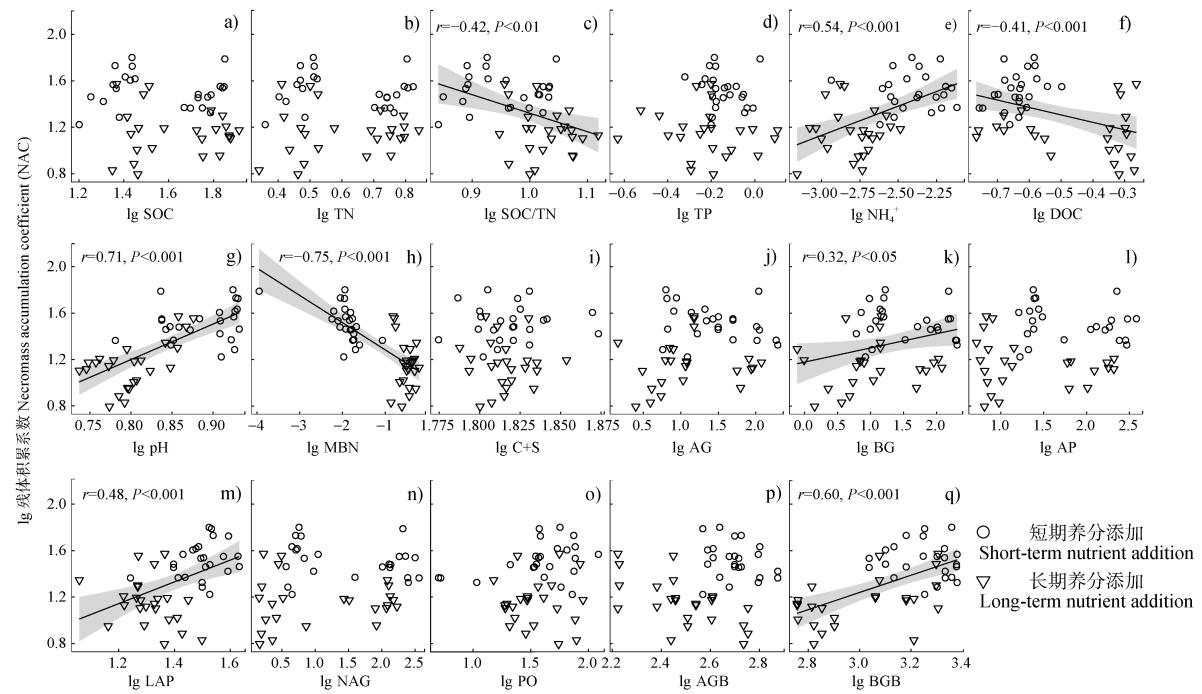
NAC 与环境因子的线性相关分析如图 4 所示。NAC 与 NH_4^+ 、pH、BG、LAP、BGB 显著正相关 ($P<0.05$)，与 SOC/TN、DOC、MBN 显著负相关 ($P<0.05$)。冗余分析结果表明，土壤理化性质、微生物胞外酶活性和植物生物量对 MNC、MBC 和 NAC 有重要影响 ($R^2=98.25\%$, 图 5a)，其中 pH、MBN 和 BGB 对 NAC 有较大影响。随机森林模型对 NAC 的解释度为 58.46%，相对重要性排序结果显示 pH 为 NAC 最主要的影响因素，其次为 MBN 和 BGB (图 5b)。

3 讨 论

3.1 短期和长期养分添加对 NAC 影响的可能原因

本研究发现，相较于 CK，短期养分添加对 0~

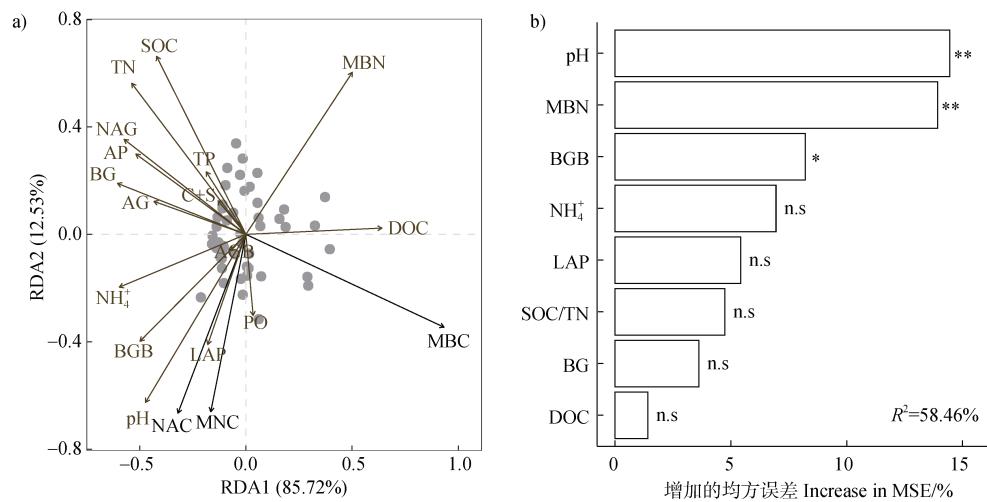
10 cm 和 20~30 cm 土层的 NAC 均无显著影响 (图 3c)，这与短期的养分添加对微生物活体及其残体的影响较弱有关，0~10 cm 和 20~30 cm 土层的 MNC 和 MBC 在短期养分添加后也均未观察到显著变化 (图 3a, 图 3b)。可能由于青藏高原高海拔和低温环境导致土壤中存在普遍的氮磷限制^[27]，外源氮磷进入土壤后，植物和微生物对有限养分的竞争激烈，而微生物在有限的资源竞争中通常处于劣势^[28-29]，短期添加的养分倾向于被植物优先利用，因此短期养分添加对微生物活体的影响较弱。此外，微生物残体倾向于与矿物颗粒表面紧密结合而具有较高的稳定性^[30-31]，因此受短期养分添加的直接影响也较弱。本研究中，短期养分添加后土壤中的 NAC 为 34.73 ± 2.60 ，显著高于 Zhang 等^[15]对青藏高原土壤中 NAC 的估算值 (16.62 ± 2.19)。Zhang 等^[15]的研究表明，青藏高原土壤 NAC 受干旱指数和植物净初级



注: AG: α -1, 4-葡萄糖苷酶; BG: β -1, 4-葡萄糖苷酶; AP: 酸性磷酸酶; LAP: 亮氨酸氨基肽酶; NAG: β -1, 4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶; PO: 酚氧化酶; AGB: 地上生物量; BGB: 地下生物量。下同。Note: AG: α -1, 4-glucosidase; BG: β -1, 4-glucosidase; AP: acid phosphatase; LAP: leucine amino peptidase; NAG: β -1, 4-N-acetyl-glucosaminidase; PO: phenol oxidase; AGB: above-ground biomass; BGB: below-ground biomass. The same below.

图 4 残体积累系数与环境因子 (a. SOC, b. TN, c. SOC/TN, d. TP, e. NH_4^+ , f. DOC, g. pH, h. MBN, i. C+S, j. AG, k. BG, l. AP, m. LAP, n. NAG, o. PO, p. AGB, q. BGB) 间的相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis between necromass accumulation coefficient and environmental variables (a. SOC, b. TN, c. SOC/TN, d. TP, e. NH_4^+ , f. DOC, g. pH, h. MBN, i. C+S, j. AG, k. BG, l. AP, m. LAP, n. NAG, o. PO, p. AGB, q. BGB)



注: NAC: 残体积累系数; MNC: 微生物残体碳; MBC: 微生物生物量碳。*表示显著性水平为 $P<0.05$, **表示显著性水平为 $P<0.01$, n.s. 表示无显著影响。Note: NAC: necromass accumulation coefficient; MNC: microbial necromass carbon; MBC: microbial biomass carbon. * indicates significance level of $P<0.05$, ** indicates significance level of $P<0.01$. n.s. indicates non-significant effect.

图 5 残体积累系数与环境因子的冗余分析 (RDA, a) 和随机森林分析 (b)

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA, a) and random forest analysis (b) of necromass accumulation coefficient with environmental variables

生产力的控制, 主要通过影响微生物对水分和能量的利用, 影响微生物周转, 进而影响微生物残体的积累。本研究站点年均降水 (485 mm) 显著高于 Zhang 等^[15]估算的青藏高原土壤 (均值: 318 mm), 并且本站点的植物净初级生产力在 2001—2010 年的平均值为 $340.16 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (以 C 计, 下同)^[32], 显著高于 Zhang 等^[15]研究的青藏高原样带植物净初级生产力均值 ($133 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$), 因此, 可能是海北站较高的年降水和植物净初级生产力导致了较高的 NAC。

研究发现, 对于 CK 土壤而言, 长期养分添加后 0~10 cm 与 20~30 cm 土层之间的 NAC 差异显著, 而短期养分添加 0~10 cm 与 20~30 cm 土层无显著差异 (图 3c, 图 3f)。由于 NAC 是单位 MBC 积累的 MNC 的量, 通过对比分析发现, 短期和长期养分添加后 MNC 对 SOC 的贡献无显著差异 (短期: $0.31 \pm 0.01 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC; 长期: $0.31 \pm 0.02 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC; 图 2a)。相比之下, 长期养分添加后的 MBC ($21.8 \pm 1.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC; 图 2b) 显著高于短期养分添加 ($9.83 \pm 0.63 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC), 然而 20~30 cm 土层 CK 的 MBC 变化不显著 (短期: $8.12 \pm 1.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC; 长期 $11.68 \pm 2.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ SOC; 图 3b, 图 3e), 可能是由于 20~30 cm 土层受到外界环境的直接影响较小, 这也最终导致 20~30 cm 土层 CK 的 NAC 无显著变化 (短期: 41.31 ± 12.69 ; 长期: 34.62 ± 2.07 ; 图 3c, 图 3f)。

3.2 养分添加条件下 NAC 的调控因素

氮磷添加可通过改变土壤理化性质、胞外酶活性、微生物生物量和植物生物量来间接或直接影响微生物残体的积累^[6-8]。本研究将短期和长期养分添加的数据合并, 进一步分析影响氮磷添加后土壤中 NAC 的主导因素。随机森林结果显示 pH 是影响 NAC 的最主要因素 (图 5b), 并且 pH 与 NAC 呈显著正相关关系 (图 4g), 说明长期氮磷养分添加后土壤 pH 的降低是 NAC 降低的最主要影响因素。本研究中长期氮添加、磷添加和氮磷同时添加均显著降低了 20~30 cm 土层的 pH (表 1)。首先, pH 可通过影响微生物的活性来影响微生物残体的积累。研究表明, pH 降低可能会导致铝和其他重金属(铜、铬等)的溶解和活化^[33], 从而增加金属毒性, 限制微生物的生长和生理活动, 最终改变微生物 NAC; 其次, pH 降低可能会使矿物溶解, MNC 受到的矿

物保护减弱, 因此更易被分解^[6], 进而降低微生物 NAC。然而, 本研究排除了 pH 降低导致微生物生长代谢受到抑制的可能性, 因为长期氮磷添加处理后, 虽然 20~30 cm 土层的 pH 显著降低, 但 MBC 显著提高 (图 3e)。磷添加和氮磷同时添加时 MNC 对 SOC 的贡献显著降低 (图 3d), 证实了 pH 降低使得 MNC 受到的矿物保护减弱、更易分解, 从而使得 NAC 降低的推测。此外, 磷和氮磷同时添加除了会导致土壤 pH 降低外, 也向土壤中引入了大量磷酸根离子, 磷酸根能够在矿物表面以键桥链接两种或多种金属形成双核或多核复合体, 从而占据微生物残体在矿物表面的吸附位点, 这也可能会导致更多的微生物残体游离, 从而进一步提高微生物残体被分解和利用的可能^[6], 进而导致在有磷输入时, MNC 的损失潜力更大。

此外, 结果显示, 除了 pH 外, MBN、BGB、 NH_4^+ 、pH、BG、LAP、SOC/TN、DOC 也在不同程度上影响着 NAC。NAC 与 MBN 负相关 (图 4h), 这与 Han 等^[12]的研究一致, 其发现在全球范围内 NAC 随着 MBN 的水平升高而降低。一般而言, 微生物的代谢熵和周转率会随着 MBN 的水平提高而显著降低^[34], 因此, 较高的 MBN 可促进活体微生物的生长而减缓其死亡, 从而减少微生物残体的积累。此外, 较高的 MBN 也可通过提高胞外酶的活性加速微生物残体的分解^[35], 从而导致 NAC 降低。BGB 与 NAC 呈正相关 (图 4q), 这与 Wang 等^[36]的研究一致, 即较高的地下生物量有利于提高微生物残体的积累, 根系可通过增加根系分泌物和凋落物的输入促进微生物代谢, 从而促进微生物残体积累。 NH_4^+ 与 NAC 显著正相关 (图 4e), NH_4^+ 作为微生物重要的氮源^[37], 在适宜的范围内会促进微生物的代谢, 从而促进微生物残体的积累。NAC 与 BG、LAP 的正相关关系表明, 微生物活性的提高会促进微生物残体的形成, 这与 Wang 等^[36]的研究一致。NAC 与 SOC/TN 显著负相关 (图 4c), 即较低 SOC/TN 的土壤中 NAC 更高, 这是由于较高的养分环境有利于微生物的合成代谢, 从而加速微生物残体的形成和保留^[38]。NAC 与 DOC 显著负相关 (图 4f), DOC 是陆地碳库中最活跃、最具流动性的部分, 易被土壤微生物分解, 作为一种基础营养物质支持着微生物的生长^[39], 较高的 DOC 可能会通过延缓微生物的死亡, 进而抑制微生物残体的积累。

4 结 论

本研究以短期(1年)和长期(10年)氮磷添加的草甸0~10 cm和20~30 cm土层土壤为研究对象, 研究了氮磷添加对微生物残体积累系数(NAC)的影响以及驱动因素。研究发现短期氮磷添加未显著改变NAC, 而长期氮磷添加显著降低20~30 cm土层的NAC; 其中, 长期氮磷添加导致的土壤pH降低可能是导致NAC降低的主要原因。土壤pH降低会减弱微生物残体的矿物保护从而增加其分解, 最终导致NAC降低。因此, 在全球气候变化和人为活动导致氮磷激增的背景下, 应密切关注土壤pH的变化, 并及时采取相应的措施以维持SOC稳定。

参考文献 (References)

- [1] Lehmann J, Kleber M. The contentious nature of soil organic matter[J]. *Nature*, 2015, 528 (7580): 60—68.
- [2] Liang C, Amelung W, Lehmann J, et al. Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter[J]. *Global Change Biology*, 2019, 25 (11): 3578—3590.
- [3] Liang C, Schimel J P, Jastrow J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2 (8): 17105.
- [4] Shao P S, Xie H T, Bao X L, et al. Variation of microbial residues during forest secondary succession in topsoil and subsoil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58 (4): 1050—1059. [邵鹏帅, 解宏图, 鲍雪莲, 等. 森林次生演替过程中有机质层和矿质层土壤微生物残体的变化[J]. 土壤学报, 2021, 58 (4): 1050—1059.]
- [5] Finzi A C, Austin A T, Cleland E E, et al. Responses and feedbacks of coupled biogeochemical cycles to climate change: Examples from terrestrial ecosystems[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, 9 (1): 61—67.
- [6] Ma T, Yang Z Y, Shi B W, et al. Phosphorus supply suppressed microbial necromass but stimulated plant lignin phenols accumulation in soils of alpine grassland on the Tibetan Plateau[J]. *Geoderma*, 2023, 431: 116376.
- [7] Lu M Y, Ding X L. Response of soil microbial residue accumulation in paddy soil to straw amendment: A review[J]. *Soils*, 2024, 56 (1): 10—18. [卢孟雅, 丁雪丽. 稻田土壤微生物残体积累对外源秸秆输入的响应研究进展[J]. 土壤, 2024, 56 (1): 10—18.]
- [8] Fan Y X, Yang L M, Zhong X J, et al. N addition increased microbial residual carbon by altering soil P availability and microbial composition in a subtropical *Castanopsis* forest[J]. *Geoderma*, 2020, 375: 114470.
- [9] Fan L J, Xue Y W, Wu D H, et al. Long-term nitrogen and phosphorus addition have stronger negative effects on microbial residual carbon in subsoils than topsoils in subtropical forests[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30 (2): e17210.
- [10] Luo R Y, Kuzyakov Y, Zhu B, et al. Phosphorus addition decreases plant lignin but increases microbial necromass contribution to soil organic carbon in a subalpine forest[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28 (13): 4194—4210.
- [11] Luo R Y, Kuzyakov Y, Liu D Y, et al. Nutrient addition reduces carbon sequestration in a Tibetan grassland soil: Disentangling microbial and physical controls[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 144: 107764.
- [12] Han B B, Yao Y Z, Wang Y N, et al. Microbial traits dictate soil necromass accumulation coefficient: A global synthesis[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2023, 33 (1): 13776.
- [13] Jia S X, Liu X F, Lin W S, et al. Tree roots exert greater influence on soil microbial necromass carbon than above-ground litter in subtropical natural and plantation forests[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 173: 108811.
- [14] Li Y Z, Bao X L, Tang S X, et al. Toward soil carbon storage: The influence of parent material and vegetation on profile-scale microbial community structure and necromass accumulation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024, 193: 109399.
- [15] Zhang X Y, Jia J, Chen L T, et al. Aridity and NPP constrain contribution of microbial necromass to soil organic carbon in the Qinghai-Tibet alpine grasslands[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 156: 108213.
- [16] He M, Fang K, Chen L Y, et al. Depth-dependent drivers of soil microbial necromass carbon across Tibetan alpine grasslands[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28 (3): 936—949.
- [17] Wang G X, Qian J, Cheng G D, et al. Soil organic carbon pool of grassland soils on the Qinghai-Tibetan Plateau and its global implication[J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 291 (1/3): 207—217.
- [18] Carter M R, Gregorich E G. *Soil sampling and methods of analysis*[M]. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, 2006.
- [19] Lu R K. *Analytical methods for soil and agrochemistry*[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [20] Brookes P C, Landman A, Pruden G, et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17 (6): 837—842.

- [21] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19 (6): 703—707.
- [22] Wu L, Xu H, Xiao Q, et al. Soil carbon balance by priming differs with single versus repeated addition of glucose and soil fertility level[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 148: 107913.
- [23] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, et al. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction-An automated procedure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22 (8): 1167—1169.
- [24] Chaudhari S K, Singh R, Kundu D K. Rapid textural analysis for saline and alkaline soils with different physical and chemical properties[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2008, 72 (2): 431—441.
- [25] Zhu E X, Cao Z J, Jia J, et al. Inactive and inefficient: Warming and drought effect on microbial carbon processing in alpine grassland at depth[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27 (10): 2241—2253.
- [26] Zhang X D, Amelung W, Yuan Y, et al. Land-use effects on amino sugars in particle size fractions of an Argiudoll[J]. *Applied Soil Ecology*, 1999, 11 (2): 271—275.
- [27] Zhang D Y, Wang L, Qin S Q, et al. Microbial nitrogen and phosphorus co-limitation across permafrost region[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29 (14): 3910—3923.
- [28] Bardgett R D, Mawdsley J L, Edwards S, et al. Plant species and nitrogen effects on soil biological properties of temperate upland grasslands[J]. *Functional Ecology*, 1999, 13 (5): 650—660.
- [29] Liu W X, Xu W H, Han Y, et al. Responses of microbial biomass and respiration of soil to topography, burning, and nitrogen fertilization in a temperate steppe[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, 44 (2): 259—268.
- [30] Kopittke P M, Hernandez-Soriano M C, Dalal R C, et al. Nitrogen-rich microbial products provide new organo-mineral associations for the stabilization of soil organic matter[J]. *Global Change Biology*, 2018, 24 (4): 1762—1770.
- [31] Sollins P, Swanston C, Kleber M, et al. Organic C and N stabilization in a forest soil: Evidence from sequential density fractionation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38 (11): 3313—3324.
- [32] Zhu, J T. A dataset of net primary productivity of vegetation on the Qinghai-Tibet Plateau (2001-2020) [EB/OL]. A Big Earth Data Platform for Three Poles, 2022. <https://data.tpdc.ac.cn/zh-hans/data/ad85719c-73cf-4a7f-b89c-97b517b79ea7>. [朱军涛. 青藏高原植被净初级生产力数据集 (2001-2020) [EB/OL]. 时空三极环境大数据平台, 2022. <https://data.tpdc.ac.cn/zh-hans/data/ad85719c-73cf-4a7f-b89c-97b517b79ea7>.]
- [33] Lin Y X, Ye G P, Liu D Y, et al. Long-term application of lime or pig manure rather than plant residues suppressed diazotroph abundance and diversity and altered community structure in an acidic Ultisol[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 123: 218—228.
- [34] Li Z L, Zeng Z Q, Tian D S, et al. Global variations and controlling factors of soil nitrogen turnover rate[J]. *Earth-Science Reviews*, 2020, 207: 103250.
- [35] Cui J F, Holden N M. The relationship between soil microbial activity and microbial biomass, soil structure and grassland management[J]. *Soil and Tillage Research*, 2015, 146: 32—38.
- [36] Wang B R, An S S, Liang C, et al. Microbial necromass as the source of soil organic carbon in global ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 162: 108422.
- [37] Pan W K, Zhou J J, Tang S, et al. Utilisation and transformation of organic and inorganic nitrogen by soil microorganisms and its regulation by excessive carbon and nitrogen availability[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2023, 59 (4): 379—389.
- [38] Chen G P, Ma S H, Tian D, et al. Patterns and determinants of soil microbial residues from tropical to boreal forests[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 151: 108059.
- [39] Cleveland C C, Reed S C, Townsend A R. Nutrient regulation of organic matter decomposition in a tropical rain forest[J]. *Ecology*, 2006, 87 (2): 492—503.

(责任编辑: 陈荣府)