DOI：10.11766/trxb202501160033 CSTR：32215.14.trxb202501160033
苏比努尔·吾布力，尹晓月，冯晶莹，索南江才，王长庭. 牦牛粪添加对高寒草甸土壤酶活性的时空变化特征[J]. 土壤学报，2026，63（6）：2078–2088.
SUBINUER Wubuli，YIN Xiaoyue，FENG Jingying，SUONAN Jiangcai，WANG Changting. The Spatiotemporal Variation Characteristics of Soil Enzyme Activity in Alpine Meadow after Adding Yak Dung[J]. Acta Pedologica Sinica，2026，63（6）：2078–2088.

牦牛粪添加对高寒草甸土壤酶活性的时空变化特征*

苏比努尔·吾布力[1]，尹晓月[1]，冯晶莹[1]，索南江才[2]，王长庭[1†]
（1. 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，西南民族大学草地资源学院，成都 610041；2. 澜沧江源园区国家公园管理委员会，西宁 810003）

摘　要：牦牛粪是影响高寒草地生态系统土壤养分循环的重要因素，而土壤酶活性的变化可以有效衡量土壤养分循环过程。为探索高寒草甸牦牛粪添加下土壤酶活性的时空变化特征，利用 96 微孔酶标板荧光分析法，以青藏高原东缘高寒草甸土壤中参与土壤碳氮转化过程的关键酶（β-葡萄糖苷酶（BG）、过氧化物酶（PER）和酚氧化酶（PPO）、β-N-乙酰葡萄糖苷酶（NAG）和亮氨酸氨基肽酶（LAP））为研究对象，分析牦牛粪在冷暖季不同分解时间以及不同堆积距离（牛粪下方（D0）、距离牛粪 10 cm（D10）和 20 cm（D20））对土壤酶活性的潜在影响。结果表明：（1）冷暖季牛粪分解均显著增加了上述五种酶的活性，且 D0 下土壤酶活性达到最高。随着暖季向冷季分解时间的推移和牛粪为中心向外辐射距离的增加土壤酶活性逐渐降低；（2）冷暖季牛粪分解均显著提高了土壤全量养分（全碳、全氮、全磷）和速效养分（铵态氮、硝态氮、有效磷），土壤水分和 pH，但冷暖季分解时间对以上土壤环境因子的影响存在差异；冷季的土壤理化性质与酶活性之间的相关性显著强于暖季，其中冷季的 C/N 对酶活性的影响最为显著。外源性养分的添加导致营养物和有机物的重新分配，酶活性变化具有时空梯度分布特征，其变化规律与距牛粪的空间距离（向外辐射）与土层（向下延伸）呈显著相关性。

关键词：牦牛粪添加；土壤理化性质；酶活性；高寒草甸
中图分类号：S154.1　　**文献标志码：**A

The Spatiotemporal Variation Characteristics of Soil Enzyme Activity in Alpine Meadow after Adding Yak Dung

SUBINUER Wubuli[1], YIN Xiaoyue[1], FENG Jingying[1], SUONAN Jiangcai[2], WANG Changting[1†]
(1. *Sichuan Provincial Forest and Grassland Key Laboratory of Alpine Grassland Conservation and Utilization of Qinghai-Tibet Plateau*, *College of Grassland Resources*, *Southwest Minzu University*, *Chengdu* 610041, *China*; 2. *Administrative Committee of Lancang River Source National Park*, *Xining* 810003, *China*)

* 三江源国家公园“多功能性”草地综合评价项目（QHQXD-2023-28）、西南民族大学青藏高原研究科技创新团队项目（2024CXTD01）和西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金优秀学生培养工程项目（ZYN2024096）资助 Supported by the Grassland Multi-functionality Evaluation in Three-River-Source National Park（No. QHQXD-2023-28），the Scientific and Technological Innovation Team for Qinghai-Tibet Plateau Research in Southwest Minzu University（No. 2024CXTD01），and the Fundamental Research Funds for the Central Universities，Southwest Minzu University（No. ZYN2024096）

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail：wangct@swun.edu.cn
作者简介：苏比努尔·吾布力（1997—），女，新疆乌鲁木齐人，硕士研究生，主要从事草地生态学、根系生态学等方面的研究。E-mail：1447352132@qq.com

收稿日期：2025–01–16；收到修改稿日期：2025–04–11；网络首发日期（www.cnki.net）：2025–07–08

Abstract: 【Objective】Yak dung is an important factor affecting the nutrient cycling of soil in alpine grassland ecosystems, and changes in soil enzyme activity can effectively measure the soil nutrient cycling processes. This study aims to explore the temporal and spatial variations in soil enzyme activity under the addition of yak dung in alpine meadows. 【Method】A fluorescence analysis method using 96-well microplate enzyme assays was employed. This study focused on key enzymes involved in soil carbon and nitrogen transformation processes (β-glucosidase (BG), peroxidase (PER), phenol oxidase (PPO), β-N-acetylglucosaminidase (NAG), and leucine aminopeptidase (LAP)) in alpine meadow soils of the eastern margin of the Tibetan Plateau, aiming to investigate the potential effects of yak dung decomposition across different temporal scales (varying decomposition periods during warm and cold seasons) and spatial gradients (under the dung(D0), 10 cm away (D10), and 20 cm away (D20)) on soil enzyme activities. 【Result】The results indicate that (1) The decomposition of yak dung in both warm and cold seasons significantly increased the activities of BG, PER, PPO, NAG, and LAP, with the highest enzyme activity observed under D0. As the decomposition time progressed from warm to cold seasons and the distance from the dung increased, soil enzyme activity gradually decreased; (2) The decomposition of yak dung in both seasons significantly enhanced the total soil nutrients (total carbon, total nitrogen, total phosphorus) and available nutrients (ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, available phosphorus), soil moisture, and pH, although the impacts of decomposition time on these soil environmental factors varied between seasons. The correlation between soil physicochemical properties and enzyme activity in the cold season was significantly stronger than in the warm season, with the C/N ratio in the cold season having the most pronounced effect on enzyme activity. 【Conclusion】The addition of exogenous nutrients led to the redistribution of nutrients and organic matter, with changes in enzyme activity exhibiting spatial and temporal gradient distribution characteristics, which were significantly correlated with the distance from the dung (radiating outward) and soil depth (extending downward).

Key words: Yak dung addition; Soil physical and chemical properties; Enzyme activity; Alpine meadow

放牧草地生态系统中，食草动物约采食 30%～50%的地上植物生物量[1]，其中约占其总摄入的60%～95%的生物量以排便的形式排放到草地之中[2]。粪便排泄被认为是对放牧草地的一种天然施肥措施，也是草地营养归还的一种重要途径，对于维持土壤肥力和植被生产力具有十分重要的生态学意义[3]。畜牧粪便排泄能直接影响土壤营养元素含量[4]，增强粪便斑块下土壤微生物活性而加快养分循环速率，在较小尺度范围内显著改变草地土壤理化性质和生物学特性[3]。有研究表明，粪便沉积过程中其分解速率取决于非生物（温度、降水量等）[5-6]与生物（粪食性无脊椎动物和土壤微生物的活动）因素影响[7-8]，而对于粪便沉积影响最大的非生物因子主要以天气和季节变化为主[9]。同时，还受粪便堆积的质量、距离、含水量等固有属性影响，进而改变粪便参与土壤养分循环的生物化学过程[10]。

土壤酶是土壤有机质分解和地球元素生化循环的介导者[11-12]。由于土壤酶可以快速响应环境条件、微生物群落结构和干扰的变化，因此，酶活性常被用作衡量土壤养分循环和微生物活性的指标[13-14]。酶活性测定已广泛用于研究粪肥施用对土壤养分循环和微生物活动的影响。与土壤微生物相比，酶活性对牲畜粪便的响应更敏感[15]。当前，只有少数关于土壤酶活性对粪便添加响应的研究[16]，且多关注于使用粪肥前后土壤酶活性的变化[17]，酶活性呈先增加后下降趋势[18]。然而，粪便添加对土壤酶活性的时空变化特征鲜有研究。牦牛是青藏高原地区的主要畜种，其数量已超过 1 400 万头，较高的种群分布密度导致密集的牛粪沉积，仅生长季放牧时期高寒草地牛粪密度可高达每公顷 5 900 堆，覆盖面积占整个草场面积的 24%[19]。牦牛粪作为良好的生物资源，牦牛粪可通过养分的直接转移和沉积后间接地改变土壤理化性质来影响土壤碳氮循环[20]，从而调控高寒草地土壤养分平衡并影响植被生长[3]。研究表明，牦牛粪肥的添加可以提高土壤微生物生物量和碳、氮养分的供应能力，显著增强与碳循环相关土壤酶如 β-1, 4-葡萄糖苷酶、β-1, 4-木糖苷酶、多酚氧化酶、过氧化物酶以及与氮循环相关的脲酶的活性[15]。此外，通过土壤酶谱法可视化粪便添加下土壤酶的二维动态分布和活性的变化，结果表明粪便添加改变了高寒草甸土壤酶活性时空模式[18]。然而，牦牛粪添加下不同分解周期、不同土层和堆

积距离对土壤酶活性的影响知之甚少，从不同时间和空间维度上认识土壤酶活性变化特征对高寒草甸生态系统养分管理具有一定的理论和实际意义。

本研究通过分析青藏高原东缘高寒草甸牦牛粪添加下，冷暖季不同分解时间、分解距离、不同土层土壤养分和酶活性对牦牛粪分解过程的响应，旨在全面了解牦牛粪添加土壤酶活性的时空变化特征，以期为研究高寒草甸生态系统气候变化和放牧共同作用机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

该试验研究区位于青藏高原东南缘四川省红原县（31°47′34″N，102°33′07″E）境内的西南民族大学青藏高原研究基地。该区域地貌类型以浅丘山地和丘间低地为主，属于大陆性高原寒温带半湿润季风气候，平均海拔高度约 3 500 m，年均温度 0.9 ℃，年平均降水量 657～730 mm，80%降水集中在 5—9 月，年均蒸发量 648 mm，土壤类型主要为高山灌丛草甸土，以坡积物为成土母质。主要植被类型有矮嵩草草甸，主要优势植物种包括：垂穗披碱草（*Elymus nutans*）、矮生嵩草（*Carex alatauensis*）、剪股颖（*Agrostis matsumurae*）、钝苞雪莲（*Saussurea nigrescens*）、条叶银莲花（*Anemone trullifolia* var. *linearis*）和鹅绒委陵菜（*Potentilla anserina*）等。土壤类型以亚高山草甸土和高山草甸土为主，pH 呈中性至弱酸性。放牧牦牛品种主要以麦洼牦牛为主[21]。

1.2 试验设计

研究站内选择地势较为平坦、地上植被类型分布比较均匀的高寒草甸作为试验样地，并作围栏处理。该区域草甸主要以垂穗披碱草、矮生嵩草和钝苞雪莲为主，在区域内选取两块 30 m×30 m 的区域分别作为暖季和冷季牦牛粪添加试验样地。在暖季牦牛粪沉积样地内，采用随机区组试验方法布设 21 个 2 m × 2 m 的样方，其中牛粪沉积设置 15 个重复，未添加牦牛粪对照处理（CK）设置 6 个重复，每个样方之间至少间隔 1.5 m 作为缓冲区。试验开始前将样方内草甸植物统一剪成 3 cm 高度，尽可能排除因植被造成的样地异质性。暖季牦牛粪沉积试验于 2018 年 5 月 20 日进行，野外采集的新鲜成年牦牛粪充分混合均匀，用圆底塑料盆将牛粪堆成 1 头成年牦牛一次排泄粪便的平均大小（高约 5 cm、直径约 22 cm、质量约 2.0 kg）平整置于样方的中心。冷季牦牛粪沉积试验于 2018 年 12 月 1 日进行，样方设置 15 个重复，与暖季试验组共用未添加牛粪对照处理（CK）样方，其余样方布置情况与暖季试验组相同。

1.3 样品采集和处理

分别在暖季和冷季实验组分解前期（3 个月、5 个月）和分解后期（9 个月、11 个月）各采集两次土壤。利用内径 5 cm 的土钻分别从牛粪下方（D0）、距牛粪边缘 10 cm 处（D10）、距牛粪边缘 20 cm 处（D20）和对照组（CK）分层（0～10 cm、10～20 cm）钻取 5 钻，充分混合为一个土壤样品，每个处理重复 3 次。分取部分土样封装，用泡沫冰盒运回实验室测定土壤含水量（SM）后，部分土样储存于 4 ℃冰箱用于测定土壤铵态氮（NH_4^+-N）、硝态氮（NO_3^--N）以及酶活性，部分土样自然风干后过 0.15 mm 筛，用于测定土壤全碳（TC）、全氮（TN）、全磷（TP）、有效磷（AP）和 pH。其中，采用杜马斯燃烧法测定土壤 TC 和 TN 含量，钼锑抗比色法测定土壤 TP 和 AP 含量，连续流动法测定土壤 NH_4^+-N 和 NO_3^--N，电极法测定土壤 pH，烘干法测定土壤 SM，96 微孔酶标板荧光分析法测定 β-1，4-葡萄糖苷酶（BG）、β-1，4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶（NAG）、亮氨酸氨基肽酶（LAP）、过氧化物酶（PER）和多酚氧化酶（PPO）[22]。

1.4 数据统计和分析

试验数据使用 Microsoft Excel 2019 进行整理。采用 IBM SPSS Statistics 26.0 进行数据分析，对所有数据进行正态分布检验和方差齐性检验。采用双因素方差分析（Two-way ANOVA）检验牦牛粪分解时期和距牦牛粪距离对于土壤理化特征和酶活性影响，用最小显著差数法（Least significant difference，LSD）进行不同距离间差异性显著检验（P<0.05），不同分解时期间的差异采用配对样本 t 检验。一元线性回归分析采用 Origin 2021 完成。使用 R 语言（V4.0.3）中 corrplot 包对土壤理化特征及其与土壤酶活性进行皮尔森相关性分析；使用 stats 包对土壤水解酶活性进行 PCA 降维处理；使用 lavaan 包构建

建构方程模型（SEM）分析土壤水解酶活性和土壤理化特征间的相互影响，并分别在 Graphpad Prism 8 和 PowerPoint 对分析结果进行可视化。

2 结　果

2.1 冷暖季牦牛粪添加下土壤理化性质的变化

暖季牦牛粪添加 0～10 cm 土层中，牦牛粪分解前期：D0 处土壤养分（TN、TP、NH_4^+-N、NO_3^--N 和 AP）、pH 和 SM 达最大值；TC、TN 及化学计量比（C/N、C/P）随距牦牛粪距离增加呈先降后升趋势，D10 处最低。牦牛粪分解后期：D0 处 TN、速效养分（NH_4^+-N、NO_3^--N 和 AP）、SM 和 N/P 均高于 CK；土壤速效养分（NH_4^+-N 和 NO_3^--N）、N/P 和 SM 随距牦牛粪距离增加呈显著下降；土壤 C/N、C/P 和 pH 随距牦牛粪距离增加呈先升后降趋势。10～20 cm 土层中，牦牛粪分解前期：D0 处土壤养分、C/P、N/P、pH 和 SM 升高；速效养分随距牦牛粪距离增加显著下降。牦牛粪分解后期：D0 处土壤 TC、TP、NH_4^+-N、AP 低于 CK；TP 随距牦牛粪距离增加显著上升，土壤 NH_4^+-N、NO_3^--N、C/P、N/P、pH 和 SM 显著下降，D20 处最低。暖季牦牛粪分解后期 0～20 cm 土壤 TP 和速效养分均显著高于分解前期；10～20 cm 土壤 C/N 在分解后期较分解前期显著增加，C/P 和 N/P 则表现相反。

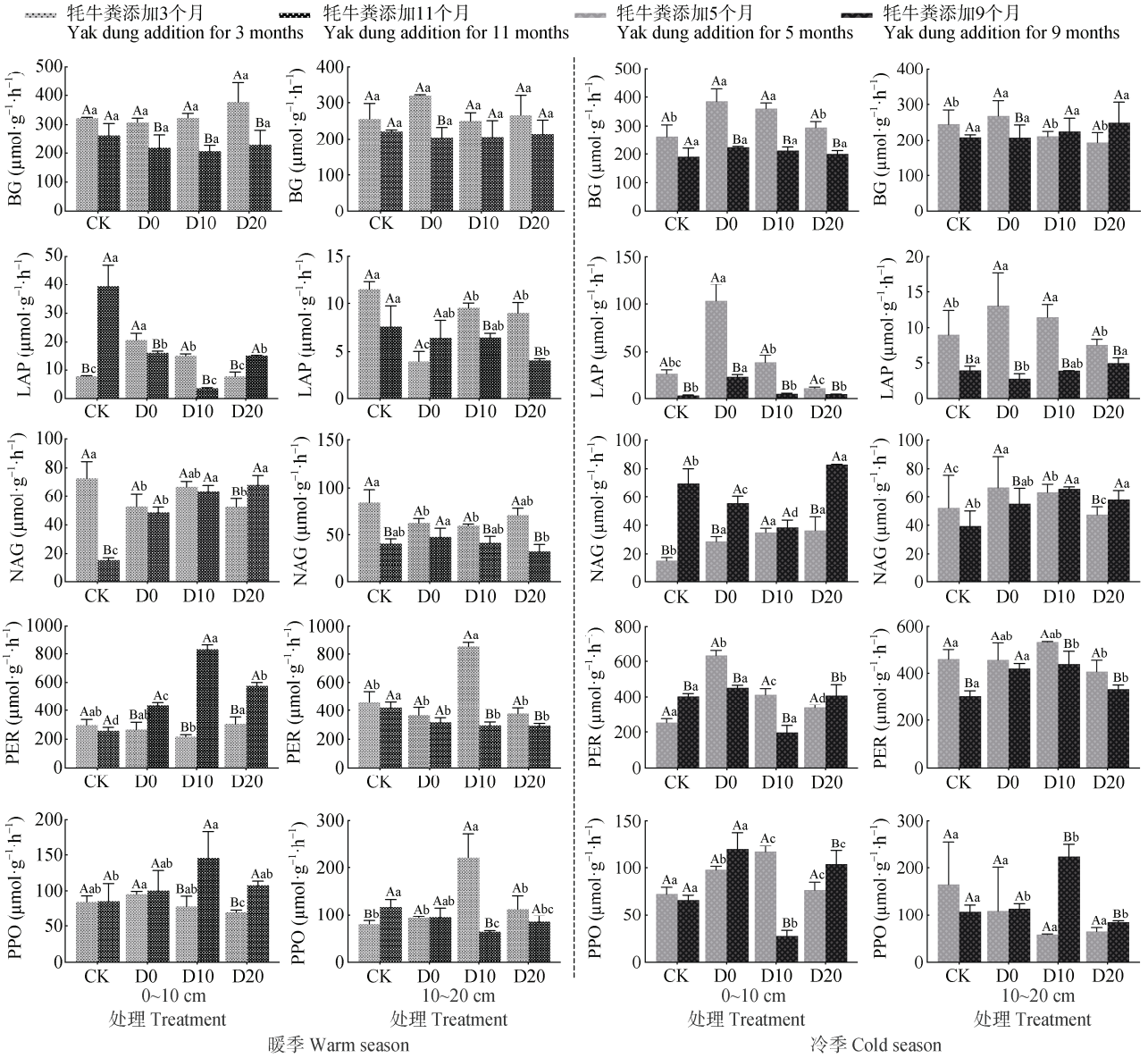
冷季牦牛粪添加 0～10 cm 土层中，牦牛粪分解前期：D0 处 TC、土壤养分、pH 和 SM 升高；TC 随距牦牛粪距离增加显著上升，TN、AP、C/P 和 N/P 在 D10 处最高；NH_4^+-N 和 SM 随距牦牛粪距离增加显著下降。牦牛粪分解后期：D0 处除 TP 和 C/N 外其余理化特征均高于 CK；TC、TN、NH_4^+-N、AP、C/P、N/P 和 SM 随距牦牛粪距离增加呈下降趋势。10～20 cm 土层中，牦牛粪分解前期：D0 处 TC、土壤养分、pH 和 SM 均高于 CK；TC、NO_3^--N、pH 和 SM 随距牦牛粪距离增加显著下降；C/P 和 N/P 均在 D10 达最大值。牦牛粪分解后期：D0 处除 C/N 和 pH 外其余理化特征均高于 CK；TC、TN、TP 在 D10 处最高；C/P 和 N/P 随距牦牛粪距离增加显著降低。冷季牦牛粪分解 0～20 cm 土壤 TC、TP、AP、C/N 和 pH 在分解后期高于前期，0～20 cm 土壤速效养分、N/P 和 SM 随分解期的增加出现下降趋势。

2.2 冷暖季牛粪添加对土壤酶活性的影响

暖季，在 0～10 cm 土层中，牦牛粪分解前期，BG 活性无显著变化（P>0.05）；D0 处土壤 NAG 显著降低，LAP 显著提高，且 LAP 活性随距牛粪距离增加显著降低（P<0.05）。PER 活性随距牦牛粪距离增加呈先减后增趋势，PPO 呈显著降低变化规律。分解后期，土壤 BG 无显著变化（P>0.05），LAP 显著降低，NAG 显著上升（P<0.05）。PER 和 PPO 活性均得到提升，均在 D10 达最大值。10～20 cm 土层，分解前期，BG 无显著变化，LAP 和 NAG 显著降低，PER 和 PPO 均在 D10 达最大值。分解后期，BG 无显著变化，LAP 和 NAG 均随距牦牛粪距离增加呈下降趋势。土壤 PER 和 PPO 均出现下降，分别在 D20 和 D10 达最小值。整体而言，暖季牛粪添加对 0～20 cm 水解酶活性在牛粪分解前期高于分解后期，0～10 cm 土壤氧化酶活性在分解后期较高，10～20 cm 土壤氧化酶活性则相反（图 1）。

冷季，在 0～10 cm 土层，牦牛粪分解前期，土壤水解酶活性在 D0 均显著高于 CK（P<0.05），其中 BG 和 LAP 随距牦牛粪距离增加显著降低（P<0.05），NAG 呈增长趋势；各距离条件下土壤氧化酶活性均高于 CK，其中在 D0 和 D10 显著提升。分解后期，BG 无明显变化（P>0.05），LAP 和 NAG 分别在 D0 和 D20 达最大值。PER 随距牦牛粪添加中心距离增加呈显著下降趋势，PPO 在 D10 达最大值。10～20 cm 土层，分解前期，土壤水解酶活性均随距牦牛粪中心距离增加呈显著降低的变化规律（P<0.05）；土壤 PER 在 D10 达最大值，PPO 显著降低。分解后期，BG 无明显变化，LAP 随距离增加呈显著上升趋势，NAG 活性在 D10 达最大值。土壤氧化酶活性变化规律一致，均在 D10 达最大值。整体看，0～10 cm 土壤 BG 和 0～20 cm 土壤 LAP 活性在分解前期显著高于后期（P<0.05）。D0 和 D10 下 0～20 cm 土壤 PER 活性在分解前期显著高于分解后期。10～20 cm 土壤 PPO 活性在分解后期显著高于分解前期（图 1）。

F 检验表明，暖季牦牛粪分解对本研究五种土壤酶均产生了影响。BG 和 LAP 两种酶在 0～20 cm 土层中显示出牛粪分解时间对活性的极显著正影响（P<0.01）。在 0～10 cm 土层中，LAP 表现出显著的距离效应（P<0.01），而 BG 在这一效应中不显著。



注：不同大写字母代表同一季节不同分解时间之间的显著差异（P<0.05），不同小写字母代表牛粪添加不同分解距离间的显著差异（P<0.05）。表中数据为平均值 ± 标准差（n=3）。BG：β-葡萄糖苷酶；LAP：亮氨酸氨基肽酶；NAG：β-N-乙酰葡萄糖苷酶；PER：过氧化物酶；PPO：酚氧化酶；CK：未添加牛粪对照处理；D0：牛粪下方；D10：距牛粪边缘 10 cm 处；D20：距牛粪边缘 20 cm 处。 Different uppercase letters represent significant differences between different decomposition times in the same season（P<0.05），and different lowercase letters represent significant differences between different decomposition distances of yak dung addition（P<0.05）. Data in the table are means ± standard deviation（n=3）. BG：β-glucosidase；LAP：Leucine aminopeptidase；NAG：β-N-acetylglucosaminidase；PER：peroxidase；PPO：phenol oxidase；CK：Control treatment without adding yak dung；D0：under the dung；D10：10 cm from the edge of yak dung；D20：20 cm from the edge of yak dung.

图 1 冷暖季牦牛粪添加对不同土层土壤酶活性的影响

Fig. 1 The effect of adding yak dung in cold and warm seasons on soil enzyme activity in different soil layers

LAP 在 0～10 cm 土层中显示出极强的交互作用效应（P<0.01），而 BG 则较弱。NAG 和 PPO 两种酶活性表现出随牛粪分解时间增长而增加的趋势，尤其是 PPO，在 10～20 cm 土层中显著性最高（P<0.01）。NAG 在 0～10 cm 土层中活性随距离增加而显著增加（P<0.01），而 PPO 在不同土层的影响不一致。NAG 和 LAP 多个土层中均显示出交互作用的显著性，尤其是在 10～20 cm 土层中。PER

显示出非常强的时间依赖性，尤其是在 0～10 cm 土层中（P<0.01），时间与距离的交互作用在 0～20 cm 土层中均有显著影响（P<0.01）（表 1）。

冷季牦牛粪分解时间对大多数酶在 0～10 cm 土层的活性影响更大，尤其是 BG、LAP、NAG 酶活性。在 10～20 cm 土层中，PPO 和 PER 酶活性受时间影响较大。牦牛粪分解距离主要影响 0～10 cm 土层中的 BG 和 NAG 活性，以及 10～20 cm 土层中的 PPO 和 PER 酶活性。牛粪分解时间和分解距离的交互作用对各个酶活性均有显著和极显著影响，表明在牛粪分解策略中要同时考虑牛粪分解时间和距离，以达到最佳酶活性水平（表 1）。

表 1　牦牛粪分解周期和距离对土壤酶活性的双因素方差分析

Table 1　Two-way ANOVA of yak dung decomposition time and distance on soil enzyme activity

季节 Season	土层 Soil layer/cm	因素 Factor	*df*	BG	LAP	NAG	PPO	PER
暖季	0～10	Time（T）	1	42.662**	24.059**	20.163**	11.658**	319.873**
Warm	10～20			18.556**	22.295**	76.708**	14.813**	103.868**
season	0～10	Distance	3	1.582	30.652**	12.438**	2.137	57.162**
	10～20	（D）		1.025	14.553**	2.620	5.704**	38.746**
	0～10	T × D	3	1.443	63.002**	33.724**	3.646*	92.481**
	10～20			1.674	11.431**	4.795*	19.543**	48.372**
冷季	0～10	Time（T）	1	120.401**	155.200**	190.562**	8.353*	10.543**
Cold season	10～20			0.343	122.384**	0.888	26.679**	43.400**
	0～10	Distance	3	10.584**	75.544**	17.378**	20.696**	62.181**
	10～20	（D）		1.712	4.984*	16.501**	43.501**	20.954**
	0～10	T × D	3	3.797*	30.760**	22.740**	44.587**	44.840**
	10～20			5.748**	12.682**	5.665**	78.510**	0.492

注：* P < 0.05；** P < 0.01。Time（T）：牦牛粪分解时间；Distance（D）：牦牛粪分解距离；T × D：牦牛粪分解时间和距离交互作用。下同。Note：* P < 0.05；** P < 0.01. Time（T）：Decomposition time of yak manure；Distance（D）：Decomposition distance of yak manure；T × D：Interaction between time and distance of yak manure decomposition. The same below.

综合表 1 和图 1 可以看出，在冷季牦牛粪分解过程中牛粪分解时间与分解距离对土壤酶活性的影响显著。在牦牛粪中心，尤其是在牦牛粪沉积的早期阶段，土壤酶活性最高，随着时间推移和距离增加，酶活性逐渐降低。

2.3　土壤酶活性与土壤理化性质的关系

图 2a 相关性分析表明暖季牦牛粪沉积下土壤氧化酶活性与土壤理化性质无显著关联，水解酶活性与 C/N、TP、N/P、SM 等环境因子之间存在较强烈的相关性。其中，BG 与 TP、C/N、C/P、N/P 之间均呈显著相关性（P<0.01），LAP 活性与 TN、NH_4^+-N、NO_3^--N、AP、C/N、N/P、SM 有较高的相关关系（P<0.01），NAG 和 TP、SM 之间均呈现强烈相关性（P<0.01）。

由冷季土壤酶活性与土壤理化性质的 Pearson 相关分析可知，土壤 BG 活性与土壤 TN、NH_4^+-N、NO_3^--N、C/N、N/P 和 SM 存在极显著相关，土壤 LAP 活性与土壤 TN、NH_4^+-N、NO_3^--N、C/N、N/P 和 SM 存在极显著相关，土壤 NAG 活性与土壤 TN、TP、C/N 和 N/P 存在极显著关联，土壤氧化酶 PPO 和 PER 活性与土壤理化性质关联性较弱。冷季牛粪沉积下土壤水解酶活性变化与土壤 C/N、N/P、TN、NH_4^+-N 和 NO_3^--N 存在显著关联。其中，C/N 与水解酶活性变化具有较强关联性。冷季牦牛粪沉积下土壤氧化酶活性与土壤理化性质无显著关联，三种水解酶活性与 C/N、N/P、TN、NH_4^+-N、NO_3^--N 等环境因子之间存在较强烈的相关性（P<0.01）。氧化酶 PPO 活性与 SM 之间呈现较强的相关性（P<0.01）（图 2b）。

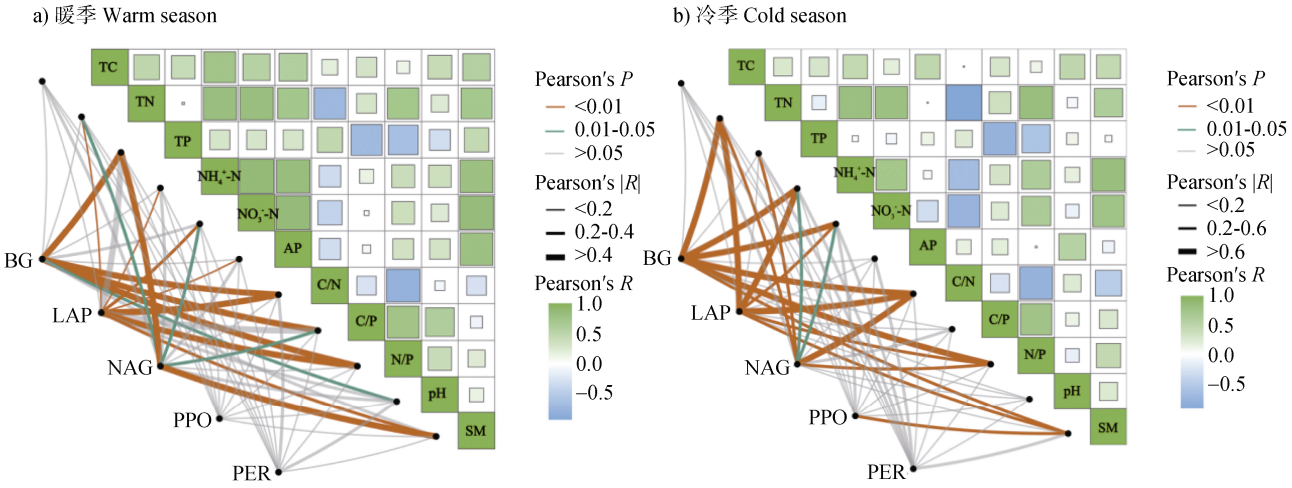


图 2 冷暖季牦牛粪分解下土壤酶活性与土壤理化性质的关系

Fig. 2 Relationship between soil enzyme activity and soil physicochemical characteristics under yak dung deposition in the cold and warm seasons

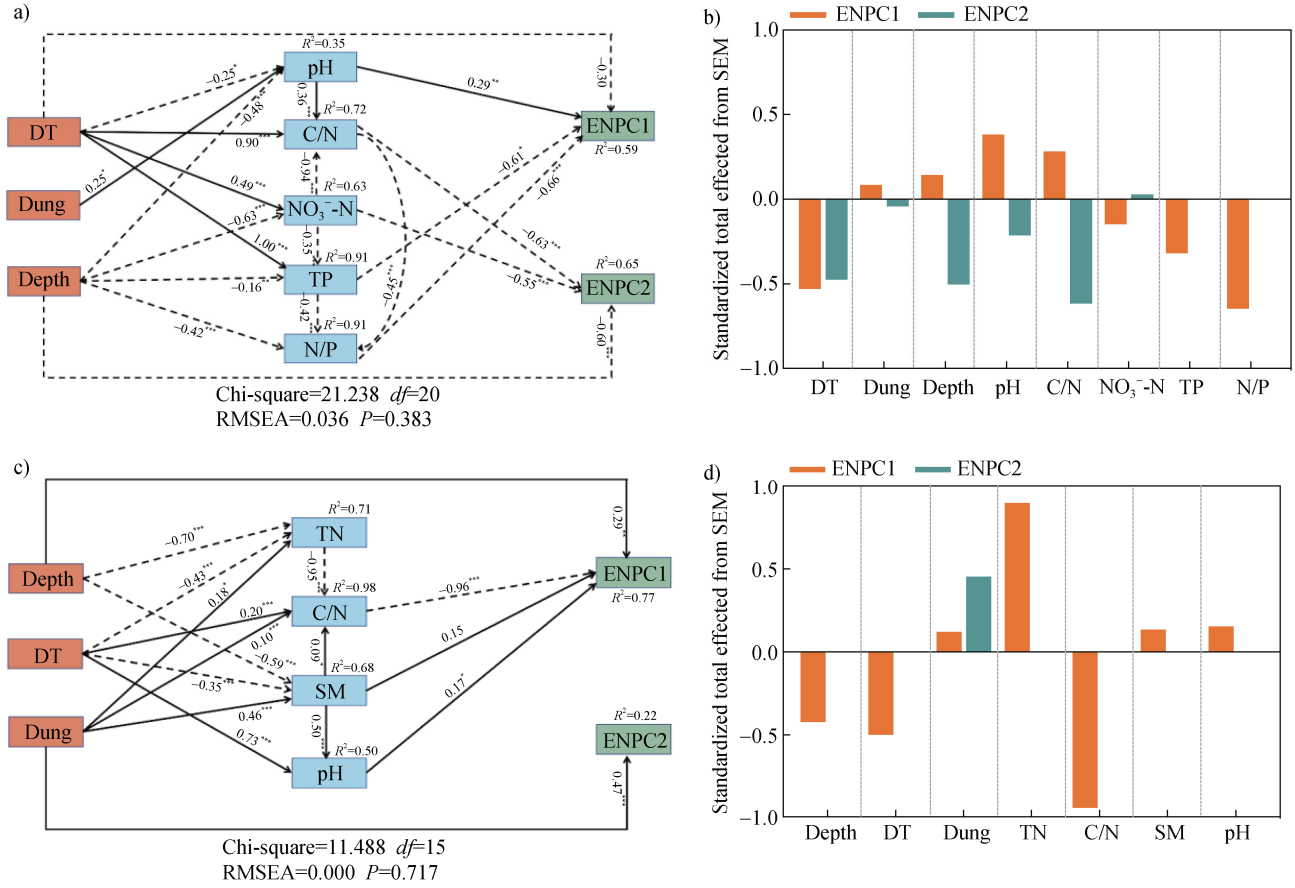
结合相关性分析，对暖季土壤水解酶和土壤理化性质进行路径分析，构建结构方程模型，进一步分析土壤水解酶活性与土壤理化性质之间的相互影响关系。对 BG、LAP 和 NAG 三种水解酶活性进行 PCA 降维处理，提取第一成分（47.92%）和第二成分（36.45%）数据纳入结构方程模型。图 3 可以看出，牦牛粪沉积通过直接改变土壤 pH 进而影响土壤水解酶第一成分（ENPC1）且极显著正相关（P<0.01）；牦牛粪分解时间通过直接影响土壤 TP 进而影响 ENPC1 且显著负相关（P<0.05），同时通过直接影响 C/N 和 NO_3^--N 从而对水解酶第二成分（ENPC2）产生极显著负相关影响（P<0.001）；土层深度通过影响 N/P 进而影响 ENPC1 且极显著负相关，同时对 ENPC2 存在直接且极显著负相关影响。

构建冷季牦牛粪沉积下土壤水解酶与土壤理化性质结构方程模型，将三种水解酶经 PCA 降维后第一成分（67.30%）和第二成分（23.55%）数据纳入结构方程模型。结果表明，牦牛粪沉积和牦牛粪分解时间通过改变 C/N 进而影响 ENPC1 且极显著负相关（P<0.001），同时牦牛粪沉积对 ENPC2 存在直接且极显著正相关影响（P<0.001）；牦牛粪分解时间通过改变土壤 pH 从而影响 ENPC1 且显著正相关（P<0.05）；土层深度对 ENPC1 存在直接且极显著正相关的影响（P<0.061）（图 3c、图 3d）。

3 讨 论

3.1 牦牛粪添加下土壤理化特征变化

牦牛粪添加能够改变土壤属性，并显著影响土壤养分循环[23]。本研究从时间尺度上发现，整个暖季牦牛粪添加试验周期内，粪下土壤全量养分（TC、TN、TP）含量均无显著提升，这与何奕忻等[24]的研究结果一致。造成这种现象的原因可能是由于分解前期（8 月份）是高寒草甸生长季，地上植物的生长以及土壤微生物的剧烈活动消耗了大量的养分。在暖季分解前期，处于生长旺季的植物需要从土壤吸收大量养分，并且分解前期时间段内处于研究区的雨季，加之暖季牦牛粪分解较快，土壤养分失去牛粪的保护，容易被降雨淋溶；在暖季分解后期，由于牛粪覆盖的窒息作用导致粪下的植物死亡减少了对土壤养分的消耗；同时，植物残体和凋落物大量回归土壤，进一步提升土壤速效养分含量[4]。然而，在整个冷季试验周期内，粪下土壤 TC 显著升高（P<0.05），TN 出现不同程度的上升，Müller 等[25]也曾验证过类似的结论。由于整个冷季气温与降水均呈下降趋势，植物凋零，粪便中微生物和无脊椎动物活动受限，抑制了牦牛粪分解。在化学计量比方面，暖季牦牛粪添加粪下 0～10 cm 土层中，土壤 C/N 从开始的较高值逐渐降低，如 D0 从 9.79 降至 6.55，表明随着分解时间的增加土壤中氮的相



注：DT 表示牦牛粪分解时间，Dung 表示牦牛粪沉积，Depth 表示土层深度，ENPC1 表示土壤水解酶经 PCA 降维后第一成分，ENPC2 表示土壤水解酶经 PCA 降维后第二成分。实线代表正相关，虚线代表负相关。***，$P < 0.001$；**，$P < 0.01$；*，$P < 0.05$。

Note: DT represents the decomposition time of yak dung, Dung represents the deposition of yak dung, Depth represents the depth of the soil layer, ENPC1 represents the first component of soil hydrolase after dimension reduction by PCA, and ENPC2 represents the second component of soil hydrolase after dimension reduction by PCA. The solid line represents a positive correlation, and the dashed line represents a negative correlation. ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$.

图 3　冷暖季牦牛粪添加对土壤水解酶与土壤理化性质结构方程模型以及不同因素对土壤酶活性的标准化效应值

Fig. 3　Structural equation model of soil hydrolase and soil physicochemical characteristics under yak dung deposition in the cold and warm seasons and standardized effect values of different factors on soil enzyme activity

对积累速度逐渐超过了碳。在冷季数据中，土壤 C/N 在分解的早期阶段较低，然而在某些情况下有所增加，如 0～10 cm 土层中 D0 从 6.85 升至 13.95，反映出随着时间的推移氮的生物可利用性可能降低。另一方面，土壤磷养分的降解速度也呈现不同的趋势。在 0～10 cm 土层中 C/P 在暖季逐渐下降，而在冷季有所增加，表明磷在冷季随时间积累速度较慢。土壤 N/P 解释了氮和磷的相对生物可利用性，添加牦牛粪不同分解周期内，土壤 N/P 在暖季通常较高，而在冷季可能会下降，这说明氮在暖季相对于磷更加富集。

空间尺度上，针对不同距离牦牛粪分解情况，粪下 0～10 cm 土壤速效养分（NH_4^+-N、NO_3^--N、AP）含量均有不同程度的上升，其中在暖季分解后期含量显著高于分解前期。Shen 等[26]也发现施粪肥会使土壤中的铵态氮和硝态氮含量上升。一方面，土壤速效养分含量上升可能是由于粪便养分随雨水淋溶进入土壤导致；另一方面，牲畜粪便含有大量的氮（约 75%），因此粪便沉积物是氮素转化的重要活动场所，粪便排泄量增加会使土壤 NH_4^+-N 含量升高[27-28]。而从牦牛粪分解中心到边缘（即 D0、D10、D20）的变化伴随着牦牛粪分解对土壤化学计量比的直接影响。通常在分解中心 D0 处，土壤 C/N、C/P、N/P 较高，随着距离的增加，以上比值逐渐降

低，表明牦牛粪分解物的影响随距离递减，再次验证了粪下养分循环过程最为强烈。

土壤 pH 和含水量影响土壤养分的状态，对土壤健康非常重要。粪下土壤 pH 在暖季和冷季牦牛粪分解整个试验周期内呈现基本上升状态。一方面，粪便中的碱性元素（钙和镁等）在牦牛粪分解过程中释放到土壤中，导致 pH 升高；另一方面，在牦牛粪有机质分解过程中，有机质的脱羧反应和活性有机氮的氨化会消耗土壤 H^+，从而使土壤 pH 上升[29]。粪下 SM 在暖季和冷季牦牛粪沉积整个试验周期内均上升，这与 Fang 等[30]的研究结果相似。主要原因有：1）牦牛粪本身含有的大量水分随牦牛粪的分解不断渗入土壤中；2）青藏高原表面由于地形原因接受了大量太阳热辐射，牦牛粪吸收了强烈的热辐射，从而减少了土壤水分蒸发[31]。

3.2 牦牛粪沉积下土壤酶活性特征变化

土壤酶是土壤生物过程的主要调节者，参与土壤环境中的所有生化过程，与养分循环、能量转移和环境质量密切相关[13, 32]。本研究中，在时间尺度上，季节性的温度差异对酶活性产生了显著性影响。例如，在暖季牦牛粪分解中心 D0 处的 β-葡萄糖苷酶活性测量值高达 400 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$，这与前人的研究一致，表明粪肥添加会提高粪肥底下土壤酶活性[33-34]。相比之下，冷季该地点的活性降至 280 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$。这种显著的差异表明季节温度是影响酶活性的关键因素。暖季的高活性反映了微生物活动的增强和有机质分解速率的增加。相反，冷季温度下降导致微生物代谢速度减慢，温度下降导致酶的合成和活性相应减少[35]。高寒草甸生态系统全年温度变化较大，时间尺度上土壤酶活性的变化暗示了高寒草甸土壤生态系统对环境变化的敏感性和适应性。因此暖季可能是进行有机物料添加的最佳时期，此时土壤酶活性高，有机物分解率快，可以更快地释放营养物质供植物吸收；而在冷季，应考虑减少有机物料的添加，以避免营养物质的过量积累和潜在的环境风险。

在空间尺度上，随着距牦牛粪分解中心的距离增加，部分酶的活性表现出空间梯度性。例如，BG 在 D0 中心点的活性最高，相比之下，D20 位置表现出较低活性，这可能反映了营养物质扩散和微生物群落的空间异质性[36]。这种由近到远的酶活性梯度不仅反映了有机物分解强度，还可能指示土壤中其他生物地球化学过程中的空间变异，如养分循环等。从土层深度的角度看，表层土壤（0～10 cm）大部分酶活性普遍高于深层土壤（10～20 cm），土壤酶活性通常会随着土层变深而下降[18]。虽然粪便本身的固有酶均集中在局部粪便层中，但该层的养分可以向下淋滤。粪便层中有效养分和有效有机物的浸出刺激了微生物，从而刺激了该层下方土壤中的酶活性[37]。因此，由于营养物和有机物的重新分配，酶活性随着空间的推移而向下延伸。

3.3 冷暖季牦牛粪沉积下土壤酶活性与土壤理化相互作用

土壤酶活性与土壤养分密切相关，土壤酶的活性强弱显著影响土壤有机质分解转化的效率，是指示土壤微生物功能和评价土壤肥力的重要指标[38]。本研究运用结构方程模型结果表明，牦牛粪分解显著提升了土壤中的营养物质，这些营养物质的增加与酶活性的提高呈现显著的正相关。添加牦牛粪后土壤中 TP、TN、NH_4^+-N、NO_3^--N 均与土壤酶活性密切相关。氮素是动物粪便养分中的重要组成部分，在草地土壤地球化学过程中起重要作用[39]。

在暖季，尽管土壤 C/N 的增加可能在表示氮素的相对匮乏，但土壤中的总体酶活性并未显著下降。这可能是因为暖季较高的温度和湿度条件优化了微生物的生长环境，使其能够更有效地利用土壤中的碳源和氮源，维持了较高的生物化学反应速率。相关性分析可以看出，暖季的土壤理化性质与酶活性指标之间的相关性不如冷季显著。冷季的土壤 C/N 对酶活性的影响非常显著，SEM 发现土壤 C/N 对 ENPC1 的路径系数达到了-0.96。此负相关表明在低温条件下，土壤 C/N 的升高对氮转化酶活性的抑制作用增强，因为氮素的生物可用性降低，微生物的代谢能力受限。无论在暖季还是冷季分解周期中，牦牛粪分解时间和土层深度均对土壤酶活性产生了显著影响，体现了酶活性对牦牛粪添加在时间和空间尺度上的异质性响应。

4 结 论

牦牛粪添加对高寒草甸土壤养分和酶活性影响效应存在时空差异。土壤养分含量从牦牛粪分解前

期到后期逐渐递减，空间上随分解时间的变化从牦牛粪中心向外扩散。酶活性的时间效应前期优于后期，空间效应随土层的加深和分解距离的增加而减弱。高寒草地生态系统的外源性养分添加及其管理策略应在添加量和季节间加以区分。如在冷季，管理策略应侧重于优化土壤 C/N，以减少其对酶活性的抑制作用，包括增加氮源或减少高碳物料的添加；而在暖季，虽然土壤 C/N 和 N/P 的抑制作用减弱，但仍需监控和调整以维持土壤生物活性和养分循环的效率。未来应进一步深入分析和合理评估气候变化下高寒草甸生态系统放牧承载力和生产力及畜牧粪便的生态环境效应，为高寒草地生态系统的适应性管理提供理论依据。

参考文献（References）

[1] Towne E G, Hartnett D C, Cochran R C. Vegetation trends in tallgrass prairie from bison and cattle grazing[J]. Ecological Applications, 2005, 15(5): 1550—1559.

[2] Giese M, Brueck H, Gao Y Z, et al. N balance and cycling of Inner Mongolia typical steppe: A comprehensive case study of grazing effects[J]. Ecological Monographs, 2013, 83(2): 195—219.

[3] Du Z Y, Cai Y J, Wang X D, et al. Research progress on grazing livestock dung decomposition and its influence on the dynamics of grassland soil nutrients[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(13): 4627—4637. [杜子银, 蔡延江, 王小丹, 等. 放牧牲畜粪便降解及其对草地土壤养分动态的影响研究进展[J]. 生态学报, 2019, 39(13): 4627—4637.]

[4] Jiang S C, Zhou D W. The impact of cattle dung deposition on grasslands in the Songnen Grassland[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2006, 15(4): 30—35. [姜世成, 周道玮. 牛粪堆积对草地影响的研究[J]. 草业学报, 2006, 15(4): 30—35.]

[5] Gillet F, Kohler F, Vandenberghe C, et al. Effect of dung deposition on small-scale patch structure and seasonal vegetation dynamics in mountain pastures[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2010, 135(1/2): 34—41.

[6] Yu X J, Xu C L, Muhammad I, et al. Effects of yak dung patch dropped in cold season on soil and pasture on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(5): 241—244.

[7] Banegas N, Albanesi A S, Pedraza R O, et al. Non-linear dynamics of litter decomposition under different grazing management regimes[J]. Plant and Soil, 2015, 393(1): 47—56.

[8] O'Hea N M, Kirwan L, Finn J A. Experimental mixtures of dung fauna affect dung decomposition through complex effects of species interactions[J]. Oikos, 2010, 119(7): 1081—1088.

[9] Underhay V H S, Dickinson C H. Water, mineral and energy fluctuations in decomposing cattle dung pats[J]. Grass and Forage Science, 1978, 33(3): 189—196.

[10] Chen G J. Effects of wild animal feces on soil organic carbon decomposition, formation, and stability[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2024. [陈广娇. 野生动物粪便对土壤有机碳分解、形成和稳定的影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2024.]

[11] Prieto L H, Bertiller M B, Carrera A L, et al. Soil enzyme and microbial activities in a grazing ecosystem of Patagonian Monte, *Argentina*[J]. Geoderma, 2011, 162(3/4): 281—287.

[12] Jian S Y, Li J W, Chen J, et al. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: A meta-analysis[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 101: 32—43.

[13] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33(12/13): 1633—1640.

[14] Gascó G, Paz-Ferreiro J, Cely P, et al. Influence of pig manure and its biochar on soil CO_2 emissions and soil enzymes[J]. Ecological Engineering, 2016, 95: 19—24.

[15] Zhang Z Y. Yak dung decomposition and its effects on soil physicochemical characteristics, microbial biomass and enzyme activities[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2019. 张志阳. 牦牛粪分解及对土壤理化性质、微生物生物量和酶活性的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2019.

[16] Liu S Y, Zheng R B, Guo X L, et al. Effects of yak excreta on soil organic carbon mineralization and microbial communities in alpine wetlands of southwest of China[J]. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19(3): 1490—1498.

[17] Wang Y Q, Du G Y, Cui X W, et al. Effects of one-time cattle manure application on soil fertility, microorganism and enzyme activity[J]. Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science Edition, 2018, 49(2): 181—186. [王亚奇, 杜桂英, 崔晓文, 等. 一次性施入牛粪对土壤肥力和土壤微生物及酶活性的影响[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2018, 49(2): 181—186.]

[18] Liu S B, Razavi B S, Su X, et al. Spatio-temporal patterns of enzyme activities after manure application reflect mechanisms of niche differentiation between plants and microorganisms[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 112: 100—109.

[19] Wu X W, Li G Y, Sun S C. Effect of rainfall regimes on the decomposition rate of yak dung in an alpine meadow of northwest Sichuan Province, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(23): 28—36. [吴新卫, 李国勇, 孙书存. 降水量对川西北高寒草甸牦牛粪分解速率的影

响[J]. 生态学报，2011，31（23）：28—36.]

[20] Du Z Y，Wang X D，Cai Y J. Short-term effects of yak and Tibetan sheep urine deposition on soil carbon and nitrogen concentrations in an alpine steppe of the northern Tibetan Plateau，China[J]. Journal of Mountain Science，2022，19（4）：1156—1167.

[21] Zi H B，Chen Y，Hu L，et al. Effects of nitrogen addition on root dynamics in an alpine meadow，Northwestern Sichuan[J]. Chinese Journal of Plant Ecology，2018，42（1）：38—49. [字洪标，陈焱，胡雷，等. 氮肥添加对川西北高寒草甸植物群落根系动态的影响[J]. 植物生态学报，2018，42（1）：38—49.]

[22] German D P，Weintraub M N，Grandy A S，et al. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies[J]. Soil Biology & Biochemistry，2011，43（7）：1387—1397.

[23] Liang D F，Niu K C，Zhang S T. Interacting effects of yak dung deposition and litter quality on litter mass loss and nitrogen dynamics in Tibetan alpine grassland[J]. Grass and Forage Science，2018，73（1）：123—131.

[24] He Y X，Sun G，Liu L，et al. Effect of yak dung on high-frigid meadow soil nutrition in northwestern Sichuan，China[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology，2009，15（5）：666—671. [何奕忻，孙庚，刘琳，等. 牦牛粪便对川西北高寒草甸土壤养分的影响[J]. 应用与环境生物学报，2009，15（5）：666—671.]

[25] Müller C，Stevens R J，Laughlin R J. Evidence of carbon stimulated N transformations in grassland soil after slurry application[J]. Soil Biology & Biochemistry，2003，35（2）：285—293.

[26] Shen W S，Lin X G，Shi W M，et al. Higher rates of nitrogen fertilization decrease soil enzyme activities，microbial functional diversity and nitrification capacity in a Chinese polytunnel greenhouse vegetable land[J]. Plant and Soil，2010，337（1）：137—150.

[27] Haynes R J，Williams P H. Changes in soil solution composition and pH in urine-affected areas of pasture[J]. Journal of Soil Science，1992，43（2）：323—334.

[28] Du Z Y，Cai Y J，Zhang B，et al. Research progress on livestock excreta returning on soil nitrogen transformation and nitrous oxide emission in grasslands[J]. Acta Ecologica Sinica，2022，42（1）：45—57. [杜子银，蔡延江，张斌，等. 牲畜排泄物返还对草地土壤氮转化和氧化亚氮（N_2O）排放的影响研究进展[J]. 生态学报，2022，42（1）：45—57.]

[29] Fu Q，Zheng R B，Fang X，et al. Effects of warming and yak excreta addition on enzyme activity of marsh soil[J]. Acta Ecologica Sinica，2020，40（14）：5055—5062. [付倩，郑荣波，方昕，等. 增温和牦牛排泄物输入对沼泽土壤酶活性的影响[J]. 生态学报，2020，40（14）：5055—5062.]

[30] Fang X，Zheng R，Guo X，et al. Yak excreta-induced changes in soil microbial communities increased the denitrification rate of marsh soil under warming conditions. Applied Soil Ecology，2021，165：103935.

[31] Hu G J，Zhao L，Li R，et al. Simulation of land surface heat fluxes in permafrost regions on the Qinghai-Tibetan Plateau using CMIP5 models[J]. Atmospheric Research，2019，220：155—168.

[32] Jiao X G，Gao C S，Lü G H，et al. Effect of long-term fertilization on soil enzyme activities under different hydrothermal conditions in Northeast China[J]. Agricultural Sciences in China，2011，10（3）：412—422.

[33] Miao F H，Li Y，Cui S，et al. Soil extracellular enzyme activities under long-term fertilization management in the croplands of China：A meta-analysis[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems，2019，114（2）：125—138.

[34] Holík L，Hlisnikovský L，Honzík R，et al. Soil microbial communities and enzyme activities after long-term application of inorganic and organic fertilizers at different depths of the soil profile[J]. Sustainability，2019，11（12）：3251.

[35] Liu Q Y，Xu X L，Wang H M，et al. Dominant extracellular enzymes in priming of SOM decomposition depend on temperature[J]. Geoderma，2019，343：187—195.

[36] Augustine D J，McNaughton S J，Frank D A. Feedbacks between soil nutrients and large herbivores in a managed savanna ecosystem[J]. Ecological Applications，2003，13（5）：1325—1337.

[37] Kang H，Kang S，Lee D. Variations of soil enzyme activities in a temperate forest soil[J]. Ecological Research，2009，24（5）：1137—1143.

[38] Yang C，Bai L，Liang R T，et al. Effect of *Funneliformis mosseae* on the continuous cropping soybean root and soil rhizosphere enzymes activities[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2019，35（30）：91—98. [杨超，白莉，梁锐婷，等. 摩西管柄囊霉（*Funneliformis mosseae*）对连作大豆根系及根际土壤相关酶活性的影响[J]. 中国农学通报，2019，35（30）：91—98.]

[39] Sun Y F，Shen J P，Zhang C J，et al. Responses of soil ammonia oxidizers and denitrifiers to different grazing intensities[J]. Acta Ecologica Sinica，2018，38（8）：2874—2883. [孙翼飞，沈菊培，张翠景，等. 不同放牧强度下土壤氨氧化和反硝化微生物的变化特征[J]. 生态学报，2018，38（8）：2874—2883.]

（责任编辑：卢 萍）