

肖霜霜, 陈武荣, 傅伟, 等. 土地利用方式对喀斯特土壤微生物资源限制的影响[J]. 中国岩溶, 2024, 43(5): 1065-1075.

DOI: 10.11932/karst20240507

土地利用方式对喀斯特土壤微生物资源限制的影响

肖霜霜^{1,2}, 陈武荣^{1,2}, 傅伟^{3,4}, 张建兵^{1,2}

(1. 南宁师范大学北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室, 广西南宁 530001; 2. 南宁师范大学广西地表过程与智能模拟重点实验室, 广西南宁 530001; 3. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南长沙 410125; 4. 中国科学院环江喀斯特生态系统观测研究站, 广西环江 547100)

摘要: 文章选取广西喀斯特地区4种常见土地利用方式(封育、刈割、牧草、玉米种植)为研究对象, 分析土壤养分碳(C)、氮(N)、磷(P)相关酶的活性, 并基于酶化学计量学方法揭示土壤微生物受何种养分资源限制, 以探讨不同土地利用方式对土壤微生物养分资源限制的作用规律。结果表明: 不同土地利用方式下土壤的4种酶活性发生显著变化, 其与土壤的可利用性养分紧密相关。通过酶化学计量学发现, 种植玉米和牧草均显著加剧土壤微生物的C资源限制, 这主要由土壤有机碳及微生物生物量碳的减少导致。4种土地利用方式的土壤微生物均受到N的限制, 而非P的限制, 且刈割和牧草种植会加剧微生物的N限制。相关性分析表明, N资源限制与微生物生物量碳的增加有关, 因为微生物同化碳可能需要土壤中更多的可利用氮素。此外, 微生物生物量C、N、P与酶化学计量有较强的相关性, 很好地解释了不同土地利用方式下微生物资源限制的变化, 可作为评估喀斯特土壤微生物资源限制的有效指标。

关键词: 土地利用; 喀斯特生态系统; 微生物资源限制; 酶活性; 酶化学计量

创新点: 通过分析西南喀斯特地区常见4种土地利用方式的土壤胞外酶活性, 从酶化学计量特征的角度(采用酶比与矢量分析两种方法), 揭示出不同土地利用下土壤微生物的养分资源限制状况。

中图分类号: S154.3 文献标识码: A

文章编号: 1001-4810(2024)05-1065-11

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

微生物是土壤元素循环的驱动者, 控制着元素的生物地球化学循环。然而, 土壤微生物的生长和活性往往受到碳(C)、氮(N)、磷(P)等养分资源的限制, 这被称为微生物资源限制^[1-2]。由于土壤微生物在生态系统过程中的重要作用, 了解何种养分资源限制微生物活动对于评价生态系统功能至关重要, 并有助于制订有效的生态系统管理策略。目前微生物资源

限制状况可采用与C、N、P相关的胞外酶计量表示微生物群落的相对资源需求^[2-4]。Moorhead等^[5]提出利用土壤酶化学计量比的矢量长度和角度表示微生物资源的相对限制。有研究结果表明: 农田撂荒后土壤微生物的C资源限制逐渐减弱, 撂荒前期微生物受N资源限制, 后期受P资源限制^[6]。退耕还林后微生物的C资源限制减轻, 而微生物的N和P资源限制加重^[2]。在农田管理中有机肥替代化学氮肥可以提高土壤养分含量, 进而能显著减轻微生物受

基金项目: 国家自然科学基金(41807517); 广西教育厅中青年教師科研基礎能力提升項目(2024KY0397); 广西地表过程与智能模拟重点实验室系统基金(GTEU-KLOP-X1716, NNUU-KLOP-X2004)

第一作者简介: 肖霜霜(1986—), 女, 博士研究生, 副研究员, 主要研究方向为喀斯特养分循环。E-mail: xshuangshuang525@126.com。

通信作者: 陈武荣(1985—), 男, 硕士研究生, 中级农艺师, 主要研究方向为农业可持续管理。E-mail: wrchen0921@163.com。

收稿日期: 2023-11-23

C和P资源的限制^[7]。这些均表明土地利用或管理方式的变化会导致土壤养分改变,影响微生物资源限制状况。此外,很多研究表明温度、降水等环境因素也会影响土壤酶化学计量比^[8-9],从而改变微生物资源限制状况。

中国西南喀斯特地区属于脆弱生态系统,成土过程非常缓慢,土层相对浅薄,土壤资源十分宝贵^[10-11]。不合理的土地利用方式正在加剧该地区的石漠化现象,导致植被严重退化、土壤养分大量流失,进而使得生态系统服务功能显著降低^[12-13]。特别是种植牧草或玉米等农作物后,土壤C、N、P等关键养分含量出现显著下降^[14-15]。然而,想全面评估土地利用方式对土壤生态功能的影响,仅仅关注这些养分指标是不够的,应考虑更多与土壤生态功能紧密相关的微生物状况特征。为实现该地区土壤资源的可持续利用,探索合理的土地利用和管理方式显得十分重要^[16]。目前大多数学者的研究都集中在喀斯特地区不同土地利用方式对土壤养分状况及其生态化学计量比的影响^[14-17],对于土壤酶生态化学计量及微生物资源限制的探讨仍显不足。现有研究表明:在喀斯特森林生态系统中,氮饱和现象较为普遍^[18],而在撂荒后的自然演替过程中(农田、草地、灌丛和次生林),土壤微生物主要受到C和P的限制^[19]。然而农业活动中的施肥等措施可能会改变这一微生物资源限制的状况。因此,有必要对农业用地中微生物利用资源的相对状况进行更深入的研究。本实验基于长期野外定位样地,选取当地4种常见的土地利用方式(封育、刈割、牧草及玉米种植),分析土壤中与C、N、P相关的酶活性及其化学计量特征,以期阐明不同土地利用方式对土壤微生物资源限制变化的影响,为不同土地利用生态系统的评价和管理提供指导。

1 研究区概况

试验区位于广西壮族自治区环江毛南族自治县中国科学院环江喀斯特生态系统观测研究站木连综合试验示范区,属于中亚热带季风气候区;全年无霜期300~330 d;年均气温19.9℃,极端高温38.7℃,极端低温-5.2℃;年均降雨量1380 mm,降水丰富但季节分布不均,雨季降雨量占全年降雨量的70%以上。研究区为典型的喀斯特峰丛洼地,海拔272.0~647.2 m,

洼地、坡地平均基岩裸露分别为15%和30%,土层深度分别为20~160和10~50 cm;土壤主要为黄棕色石灰土和棕色石灰土,由白云岩发育而成,表土碎石体积分数可达10%~40%;土壤质地为黏壤土和黏土,其中粉粒、黏粒质量分数分别为25%~50%和30%~60%,土壤pH呈中性至微碱性^[20-21]。

2 研究方法

试验地此前为耕地,直到1985年居民外迁,耕地进行休耕,经过21年的植被恢复,均为灌草丛,优势种为圆叶乌桕(*Triadica rotundifolia* (Hemsley) Esser)、黄荆(*Vitex negundo* L.)、臭蒿(*Artemisia annua* L.)等^[22-23]。2006年底在中国科学院环江喀斯特研究站相对均一的山坡中下部建立了封育、刈割、牧草种植、玉米种植4种喀斯特峰丛洼地常见的利用方式动态监测样地,每种利用方式投影面积为1400 m² (20 m×70 m)。所有利用方式均有相似自然地理条件和初始土壤环境特征,土壤均为黄棕色石灰土。各利用方式的详细处理及施肥水平参考前人文献^[14-15](表1)。

2.1 样品采集及前处理

2021年7月(长期试验处理已有15年),分别在每种处理模式下随机建立3个10 m×10 m的样方,共计12个样方。为减少喀斯特土壤分布高异质性的影响,每个样方内按“S”形10点取样法采集0~10 cm表层土壤,充分混合成一份土壤样品,累积土壤采样点数为150个,最终获取土壤样品数15份。

土壤样品过2 mm筛,挑出植物根系和石砾,分成3份。一部分保存于4℃冰箱里,用于测定土壤酶活性;第二部分保存于-20℃冰箱里,用于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);第三部分风干保存,用于测定土壤理化性质。

2.2 测定项目和方法

土壤有机碳(SOC)采用重铬酸盐氧化还原比色法湿氧化法测定^[24]。土壤总氮(TN)采用元素分析仪(Vario MAX CN, Elementar, Germany)测定。土壤全磷(TP)采用硫酸—高氯酸消解后,钼锑抗比色法测定。土壤可溶性有机碳(DOC)采用TOC分析仪测

表 1 各利用方式的详细处理及施肥水平

Table 1 Treatment and fertilization level of each land use pattern

利用方式	相应处理及施肥措施
封育	保留原植被, 作为参照; 植物优势种为圆叶乌柏(<i>Triadica rotundifolia</i> (Hemsley) Esser)、黄荆(<i>Vitex negundo</i> L.)、 椴木(<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.)、臭蒿(<i>Artemisia annua</i> L.)等
刈割	每年12月施加处理一次, 地上植被完全移除, 根系保留
牧草种植	牧草每3个月收割一次, 免耕, 每年于牧草返青后施用底肥, 氮(N)、磷(P ₂ O ₅)、钾(K ₂ O)施用量均为45 kg·hm ⁻² , 每次收割后施用N和K ₂ O肥各50 kg·hm ⁻² , P ₂ O ₅ 肥15 kg·hm ⁻²
玉米种植	施用的N、P ₂ O ₅ 、K ₂ O肥分别为160 kg·hm ⁻² 、90 kg·hm ⁻² 和90 kg·hm ⁻² , 其中100%的P肥、70%的N肥和K肥作基肥, 30%的 N肥和K肥作追肥

定。土壤无机氮(TIN)采用流动注射分析仪测定(AA3, SEAL, Germany)。土壤有效磷(SAP)采用碳酸氢钠浸提, 钼锑抗比色法测定。土壤 pH 用 pH 计(FE20K, Mettler-Toledo, Switzerland)测定。土壤 MBC 和 MBN 含量采用氯仿熏蒸—K₂SO₄ 浸提法测定^[25-26], 然后分别用 TOC 分析仪和流动分析仪测定总有机碳和总有机氮含量, 以计算 MBC、MBN 的含量。土壤 MBP 含量采用氯仿熏蒸—NaHCO₃ 浸提法测定^[27], 然后用钼锑抗比色法测定磷含量, 以计算 MBP 含量。

本研究测定 4 种酶: β-葡萄糖苷酶 (BG)、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG)、亮氨酸氨基肽酶 (LAP) 和酸性磷酸酶 (AP)(表 2)。根据酶化学计量学理论, 假设这些酶代表有机 C、N 和 P 的全部获取^[3]。测定方法为前人研究中描述的微孔板方法^[28], 即: 土壤悬浮液的制备方法是 1 g 新鲜土壤加到 15 mL pH = 8 的缓冲液中, 分散均匀制成土壤悬液; 将等量悬液分配到 96 孔微孔板中, 每个样品有 8 个重复孔; 在 20 °C 的黑暗中孵育 (BG、NAG、AP 孵育 4 h, LAP 孵育 18 h) 后, 使用 365 nm 激发和 450 nm 发射滤光片测量荧光。

表 2 土壤酶的类群、功能、名称及缩写

Table 2 Groups, functions, names, and abbreviations of soil enzymes

类群	功能	酶名称	缩写
C获取	水解纤维素二糖	β-葡萄糖苷酶	BG
N获取	水解几丁质	N-乙酰氨基葡萄糖苷酶	NAG
	水解蛋白质和多肽	亮氨酸氨基肽酶	LAP
P获取	水解磷酸多糖和磷脂	酸性磷酸酶	AP

2.3 微生物资源限制指标

微生物资源限制的选用两种方法: 第一种方法是计算有机 C、N 和 P 获取的酶比, 即 BG/(LAP+NAG)、BG/AP 与 (NAG+LAP)/AP。依据生态经济学“最优配置”理论, 即微生物的资源分配策略是倾向分泌更多与匮乏的某种养分相关的水解酶, 以满足自身养分需求^[29], 即更高的 BG/(LAP+NAG) 或 BG/AP 表明更高的微生物资源 C 限制, 更高的 (NAG+LAP)/AP 表明更高的微生物 N 限制^[2-3]。第二种方法是采用酶化学计量学的矢量分析^[5], 矢量长度 (Vector Length) 和矢量角 (Vector Angle) 通过对数变换活度的比率计算。在目前的研究中, 与 Moorhead 等^[5]提出的其他方法相比, 该方法对矢量角的偏度

和峰度最低。

$$\text{Vector Length} = \sqrt{\left(\frac{\ln BG}{\ln [NAG + LAP]}\right)^2 + \left(\frac{\ln BG}{\ln AP}\right)^2}$$

$$\text{Vector Angle} =$$

$$\text{Degrees} \left(\text{ATAN2} \left(\frac{\ln BG}{\ln AP}, \frac{\ln BG}{\ln [NAG + LAP]} \right) \right)$$

矢量长度越长, 微生物资源 C 限制越大; 矢量角 <45° 和 >45° 分别表示微生物资源 N 和 P 限制。当矢量角 <45° 时, 矢量角越小, 微生物资源 N 限制越大。当矢量角 >45° 时, 矢量角越大, 微生物资源 P 限制越大。

2.4 数据处理

数据统计在分析前进行正态分布和方差齐次性检验。利用单因素方差分析 (ANOVA) 比较不同利

用方式下土壤性质、酶活性及酶化学计量学变量的差异,采用 Duncan 方法检验显著性水平,在 5% 显著性水平下确定显著性。利用 Pearson 相关分析评价土壤性质与酶活性、酶化学计量学变量的关系。采用线性回归方法分析酶化学计量学矢量长度、矢量角与 SOC、MBC 的关系。以上统计分析使用 SPSS (IBM SPSS 16) 软件实现。

3 结果与分析

3.1 不同利用方式下土壤理化性质变化

喀斯特坡地不同利用方式下土壤理化性质变化规律表现为:玉米种植的 SOC 和 TN 显著低于封育 ($P<0.05$),刈割、牧草种植的 SOC 和 TN 与封育无显著差异。而土壤全磷、C/N 在不同利用方式中无显著差异。玉米种植的 C/P 和 N/P 显著低于封育。玉米种植、刈割的 TIN 显著低于封育。玉米种植的 MBC、MBN 和 MBP 均显著低于封育,牧草种植的 MBN 和土壤 pH 显著低于封育(表 3)。

3.2 不同利用方式下土壤酶活性变化

牧草种植、玉米种植的 BG 酶活性显著高于封育,而刈割的 BG 酶活性显著低于封育($P<0.05$)。刈割、玉米种植的 LAP 酶活性显著低于封育;牧草种植的 NAG 酶活性显著高于封育。刈割、牧草种植和玉米种植的 AP 酶活性均显著低于封育(图 1)。

3.3 不同利用方式下土壤微生物资源限制规律

由图 2a、图 2b 可知,矢量长度在封育呈现最低值,其次是刈割,其和封育无显著差异,牧草种植、玉米种植的矢量长度显著高于封育($P<0.05$)。这说明种植玉米、牧草是微生物资源 C 相对限制较高的利用方式,刈割是微生物资源 C 相对限制较低利用方式。由图 2a、图 2c 可知,封育、玉米种植的酶样点在 1:1 线附近,刈割、牧草种植的酶样点在线下,刈割、牧草种植的矢量角小于 45° ,且显著低于封育,这说明 4 种利用方式均无微生物资源 P 限制,刈割、牧草种植存在微生物资源 N 限制,而玉米种植几乎无微生物资源 N 限制。

酶化学计量比 BG/AP 和 BG/(NAG+LAP) 在玉米种植方式下呈现最高值(图 2d, 图 2e),反映出该利用方式的微生物资源 C 相对限制较高,这与矢量长度的结果一致。(NAG+LAP)/LP 在刈割、牧草种植呈现较高值(图 2f),均显著大于封育与玉米种植 ($P<0.05$),这表明刈割与牧草种植拥有较高的微生物资源 N 限制,此结果与矢量角的结果基本一致。

3.4 土壤酶活性、酶化学计量学与环境因子的关系

由图 3 可知,BG 活性与土壤 N/P、MBN 和 pH 呈显著负相关,与 SAP 呈显著正相关;NAG 活性与土壤 SAP 呈显著正相关,与 pH 呈显著负相关;LAP 活性与土壤 TIN、MBC 和 MBP 呈显著正相关;AP 活性与土壤 SOC、TIN、MBP 呈显著正相关。

BG/(NAG+LAP) 与土壤 SOC、TN、N/P、MBC、

表 3 不同利用方式下土壤理化性质

Table 3 Soil physical and chemical properties under different land use patterns

	封育	刈割	牧草种植	玉米种植
有机碳 /g·kg ⁻¹	52.96 (1.98) a	45.37 (3.14) a	44.96 (3.76) a	31.74 (5.50) b
全氮/g·kg ⁻¹	4.20 (0.37) a	3.99 (0.80) a	3.12 (0.13) ab	2.45 (0.05) b
全磷/g·kg ⁻¹	1.24 (0.16) a	1.17 (0.12) a	1.09 (0.12) a	1.02 (0.02) a
C/N	12.72(0.88) a	11.86 (1.80) a	14.43(1.02) a	12.95(2.26) a
C/P	43.37(3.97) a	39.05(2.74) ab	41.47(1.72) ab	31.18 (5.61) b
N/P	3.40 (0.14) a	3.36(0.32) a	2.90(0.22) ab	2.40 (0.02) b
DOC /mg·kg ⁻¹	47.18 (7.77) a	37.66 (6.25) a	42.36 (5.69) a	37.94 (6.04) a
TIN /mg·kg ⁻¹	24.49 (0.96) a	18.48 (2.76) b	24.04 (1.45) a	17.52 (1.09) b
SAP /mg·kg ⁻¹	4.97 (0.21) b	5.60 (0.67) b	9.20 (0.77) a	6.03 (0.67) b
MBC /mg·kg ⁻¹	718.07 (55.35) a	836.74 (40.76) a	817.69 (132.99) a	274.01 (36.26) b
MBN /mg·kg ⁻¹	78.10 (8.37) a	75.80 (1.85) a	52.11 (10.58) b	12.39 (2.66) c
MBP /mg·kg ⁻¹	11.17 (2.42) a	7.88 (0.95) ab	7.58 (1.24) ab	4.38 (0.68) b
Soil pH	7.57 (0.16) a	7.75 (0.07) a	7.12 (0.03) b	7.45 (0.12) a

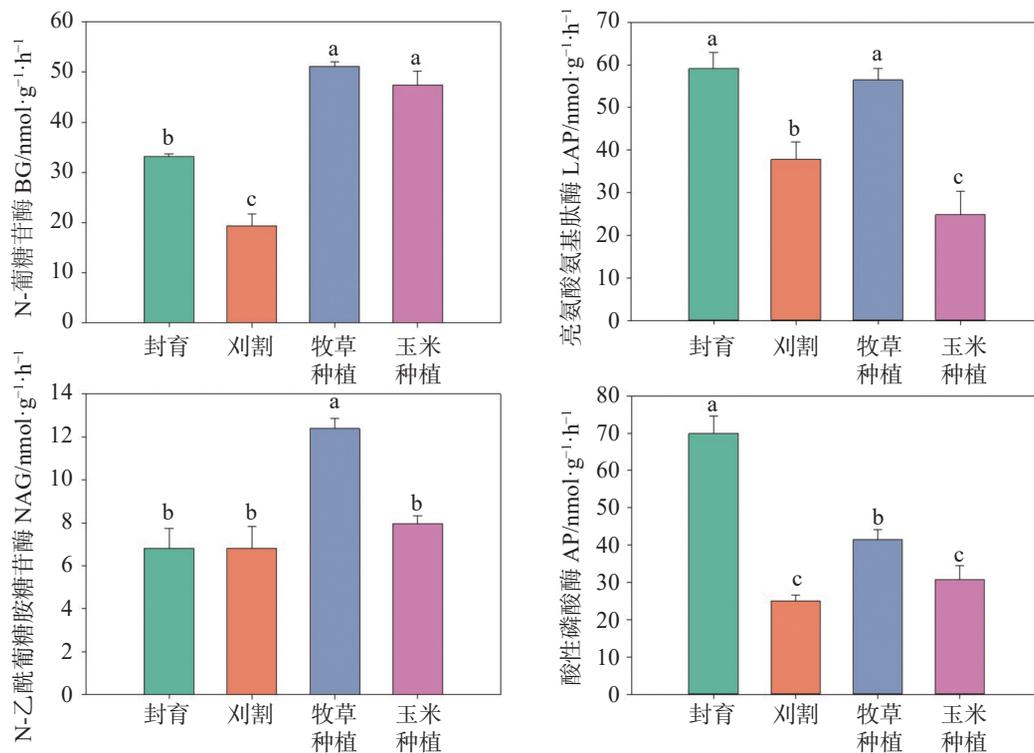


图 1 不同利用方式下土壤酶活性

注：相同字母表示不同处理差异不显著 ($P>0.05$)；不同字母表示不同处理差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 1 Soil enzyme activities under different land use patterns

Note: The same letters indicate no significant difference between different treatments ($P>0.05$), while different letters indicate significant difference between different treatments ($P<0.05$).

MBN 和 MBP 呈显著负相关；BG/AP 与土壤 SOC、TN、N/P、MBC、MBN 和 MBP 呈显著负相关。由图 3、图 4 可知，矢量长度与土壤 SOC、TN、N/P、MBC、MBN 和 MBP 呈显著负相关；矢量角与 MBC 呈显著负相关。

4 讨论

4.1 土地利用对土壤酶的影响

土壤酶是评论土壤质量和微生物活性的关键指标，不同的土地利用方式对土壤酶活性有不同程度和方向的影响。为适应生境的变化，产酶生物会调整其资源分配策略，优先合成那些能促进它们获取限制性养分的酶，以此来优化养分的利用并平衡碳、氮、磷等元素的组成^[30]。本研究中，观察到参与碳转化的 BG 在牧草与玉米种植下的活性显著高于封育地，这一结果与生态经济学中的“最优配置”理论相吻合。由于牧草与玉米的种植消耗了大量的土壤有机碳，导致土壤中碳的含量相对较低，因此微生物需要分泌更多的碳转化相关酶（如 BG）来获取足够的

碳源以满足其生长和代谢的需求。在氮循环方面，发现参与氮转化相关的酶，如 NAG 和 LAP，它们的活性在不同土地利用方式下表现出显著的差异，即：NAG 的活性在牧草种植下显著高于封育地，而 LAP 的活性则在封育地和牧草种植下都显著高于刈割和玉米种植地，这种差异可能源于底物可利用性的不同，根据 Michaelis-Menten 理论，酶的活性与其底物的浓度密切相关^[3]。因此，微生物群落会根据底物的变化来调整其酶的分泌策略。在本研究中，种植牧草的土壤可能更有利于产生 NAG 的微生物的生长，而封育和种植牧草的土壤则可能更有利于产生 LAP 的微生物繁殖。

此外，前人研究表明活性的变化通常与土壤性质的变化有关，如土壤有机质、pH 或微生物生物量^[2-3]。本研究也发现土壤酶活性与土壤养分的可利用性之间存在密切关系。与土壤 SOC 和 TN 相比，土壤酶活性与氮、磷的可利用性（即 TIN 和 SAP）关系更为密切。同时，微生物生物量（包括 MBC、MBN 与 MBP）作为土壤中养分碳、氮、磷的活跃组分，也与土壤酶活性表现出较强的相关性。这些结果表明

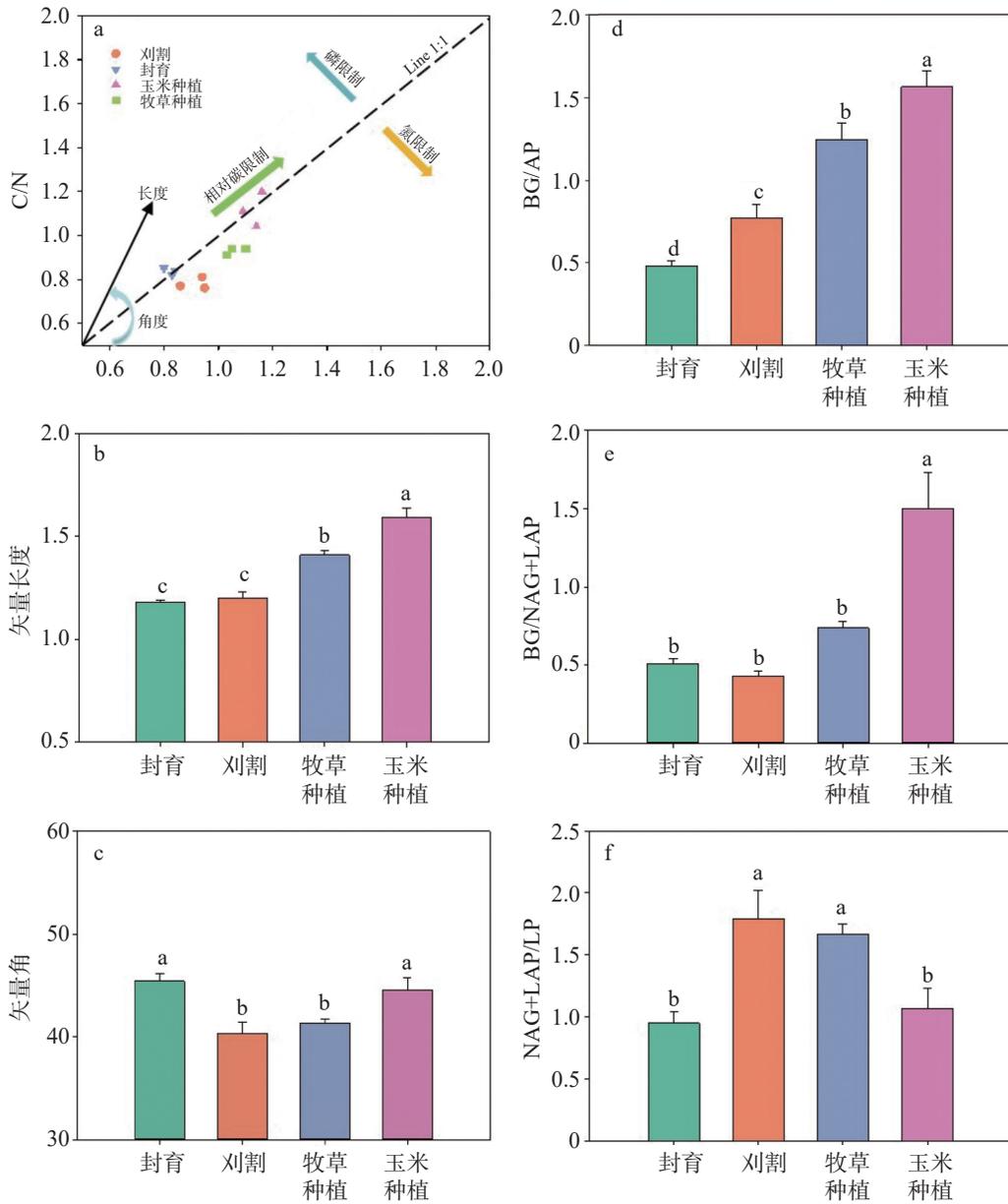


图 2 不同利用方式下酶化学计量学

a.为矢量分析图 b.为矢量长度 c.为矢量角度 d-f.为酶化学计量比

Fig. 2 Enzyme stoichiometry under different land use patterns

a. diagram of vector analysis b. vector length c. vector angle d-f. enzyme stoichiometric ratios

土壤养分的可利用性或活性组分可能通过调节微生物的生长和代谢活动来间接影响土壤酶的分泌。

4.2 土地利用对微生物资源限制的影响

分析单一酶活性的变化并不足以揭示微生物所面临的资源限制状况,因为资源限制并非仅由某一种营养元素所决定,而是多种营养元素相对可用性的综合体现。在农业生态系统中,碳元素一般被认为是土壤微生物生长的主要限制因子^[31]。这一点前人在喀斯特地区对不同土地利用类型的研究中也得

到印证,该地区的土壤微生物普遍受到碳限制的影响^[19, 32]。本研究发现,相较于封育处理,种植玉米和牧草均进一步加剧了微生物的碳限制,这一结论可从种植玉米和牧草处理下的矢量长度显著高于封育处理的数据中得到支持(图 2),矢量长度的增加意味着微生物碳限制的加剧^[33]。种植玉米和牧草后土壤碳储量的减少可能是导致微生物碳限制加剧的主要原因,这一点得到了种植玉米和牧草土壤中 SOC 含量下降,以及矢量长度与 SOC 含量呈显著负相关关系的证据支持(图 3, 图 4)。此外, MBC 作为土壤活

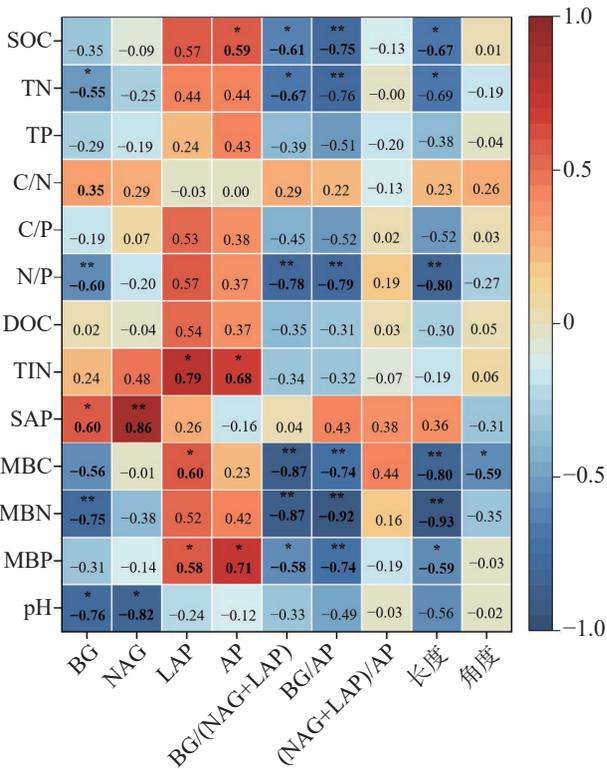


图 3 土壤性质与酶活性、酶化学计量学相关性

注：蓝色表示两因子间呈负相关关系，红色表示两因子间呈正相关关系，数字表示相关性大小。*表示关系显著 ($P < 0.05$)，**表示关系极显著 ($P < 0.01$)。

Fig. 3 Correlations among soil properties, enzyme activity and enzymatic stoichiometry

Note: Blue indicates a negative correlation between the two factors; red indicates a positive correlation, and the number indicates the size of the correlation. * indicates significance at the level of 0.05, and ** indicates significance at the level of 0.01.

跃的碳组分，直接反映了微生物可利用的碳状况。本研究发现 MBC 与矢量长度之间存在显著的负相关关系(图 4)。MBC 含量的降低意味着微生物可利用碳源的减少，从而加剧了微生物的碳限制。这表明在本研究背景下，MBC 可作为评估微生物碳资源限制状况的有效指标。

基于酶化学计量比假说，当矢量角小于 45° 时，表明该生态系统中的微生物主要受氮限制，而矢量角大于 45° 时，则表明微生物主要受磷限制^[33]。本研究中所有土地利用类型的矢量角均小于 45° (图 2)，这表明在本研究的 4 种生态系统中，微生物普遍面临氮限制，而非磷限制。进一步分析显示，与封育相比，刈割和种植牧草这两种土地利用方式加剧了微生物的氮限制。这一结论主要从以下两方面得到支持：第一，从矢量角方面，刈割和种植牧草处理下的

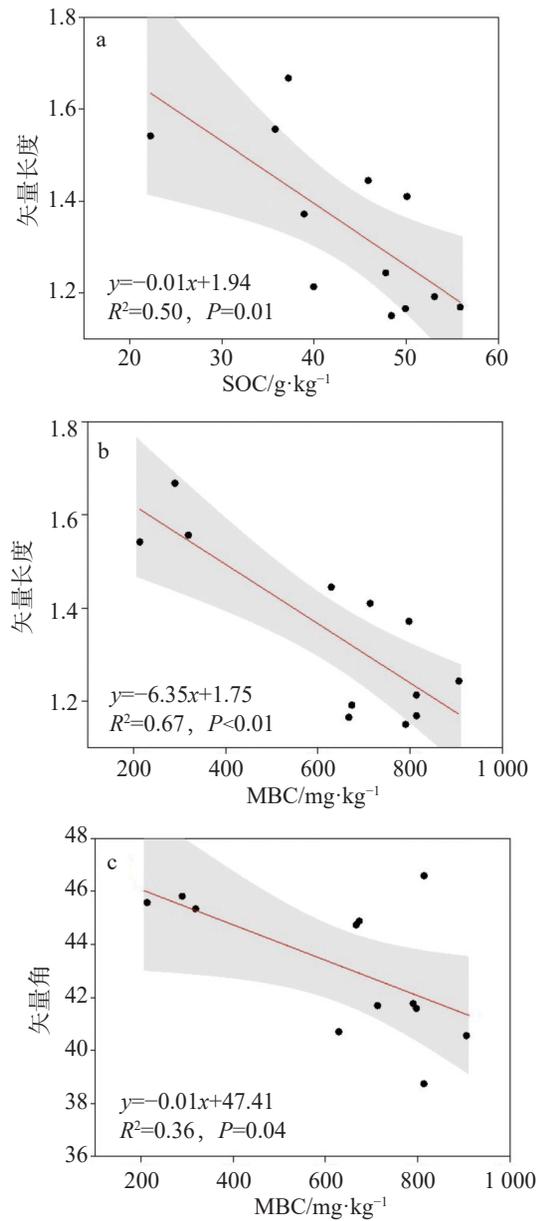


图 4 酶化学计量学矢量长度与 SOC、MBC 及矢量角与 MBC 的关系

注：实线和阴影区域分别表示线性模型拟合和 95% 置信区间。

Fig. 4 Relationship between vector length of enzyme stoichiometry and SOC and MBC, and relationship between vector angle and MBC

Note: The solid lines and shaded areas represent linear model fit and 95% confidence intervals, respectively.

矢量角显著低于封育处理(图 2c)。当矢量角 $< 45^\circ$ 时，矢量角越小表明该土地利用方式下的土壤微生物面临的氮限制越严重。第二，刈割和种植牧草下 (NAG+LAP)/LP 比值的升高也印证了这一观点(图 2f)。因为更高的 (NAG+LAP)/LP 比值反映了更高的氮限制^[28, 34]。本研究中微生物的氮限制加剧可

能与微生物可利用碳的增加有关。这一点得到了矢量角与土壤 MBC 呈显著负相关的证据支持(图 4c)。由于微生物自身具有一定的碳氮比值,当它们同化更多的碳时,对可利用氮的需求也会相应增加,从而加剧了微生物的氮限制。有研究表明在中国热带喀斯特地区 4 种利用方式(农田、草地、灌木林和森林)下,微生物资源主要受磷限制^[19],这可能是由于热带地区的风化和淋溶作用强烈,导致土壤中的有效磷容易与碱性阳离子结合,从而造成磷的缺失^[35]。而这与本研究结果不太一致,可能是由于此次研究主要涉及农业用地。在农业种植过程中,磷肥的施用可能缓解了微生物的磷限制,使得氮成为主要的限制因素,此解释与 Chen 等^[2]在喀斯特地区退耕地的研究结果相吻合,他们指出在农业用地中土壤氮是微生物的主要受限资源。

在本研究中,观察到土壤微生物生物量 C、N 和 P 与酶化学计量之间存在显著的相关性(图 3,图 4)。而溶解性 C、N 和 P 库与酶化学计量相关性相对较弱。这一发现暗示,土壤有效性养分库对土壤微生物资源利用状况的影响相对较小;相反,微生物生物量 C、N、P 的变化能够很好地解释上述土地利用下微生物资源限制的改变。因此,可认为微生物生物量 C、N、P 是评估喀斯特土壤中微生物资源限制状况的有效指标。

5 结论与建议

(1)玉米种植、牧草种植这两种土地利用方式加剧了微生物的 C 资源限制,这是由于土壤有机碳和微生物生物量碳含量的减少所导致的。4 种利用方式的土壤微生物均受到 N 限制,而不是 P 限制,其中刈割、种植牧草会加剧微生物的 N 限制。微生物 N 限制的加剧与微生物生物量碳的增加有关,因为微生物同化更多碳需要更多可利用氮素。此外,土壤溶解性养分对土壤微生物资源利用状况的影响较小,而微生物生物量 C、N、P 与酶化学计量有很强的关系,能很好解释不同土地利用下微生物资源限制的改变,可作为喀斯特土壤微生物资源限制的有效指标。

(2)由于微生物的 C 资源限制加剧,施用粪肥或者秸秆等有机肥对喀斯特地区种植玉米、牧草是十分必要的,而喀斯特地区刈割、种植牧草则需要适度施氮肥,以缓解土壤微生物的 N 资源限制,进一步提

高植物生产力。此外,仅用 4 种酶来代表有机碳、氮、磷的整体获取,可能局限了研究结果的普适性。

参考文献

- [1] Fanin N, Moorhead D, Bertrand I. Eco-enzymatic stoichiometry and enzymatic vectors reveal differential C, N, P dynamics in decaying litter along a land-use gradient[J]. *Biogeochemistry*, 2016, 129(1-2): 21-36.
- [2] Chen H, Zheng M H, Mao Q G, Xiao K C, Wang K L, Li D J. Cropland conversion changes the status of microbial resource limitation in degraded karst soil[J]. *Geoderma*, 2019, 352: 197-203.
- [3] 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.
- [4] 李雅男, 李邵宇, 史世斌, 王占海, 张彬, 陈恒, 赵萌莉. 荒漠草原不同放牧强度下土壤酶化学计量特征的研究[J]. *草地学报*, 2022, 30(9): 2239-2248.
LI Ya'nan, LI Shaoyu, SHI Shibin, WANG Zhanhai, ZHANG Bin, CHEN Heng, ZHAO Mengli. Study on soil enzyme stoichiometric characteristics of different grazing intensities in desert steppe[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(9): 2239-2248.
- [5] Moorhead D L, Sinsabaugh R L, Hill B H, Weintraub M N. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 93: 1-7.
- [6] 钟泽坤, 杨改河, 任成杰, 韩新辉. 黄土陵区撂荒农田土壤酶活性及酶化学计量变化特征[J]. *环境科学*, 2021, 42(1): 411-421.
ZHONG Zekun, YANG Gaihe, REN Chengjie, HAN Xinhui. Effects of farmland abandonment on soil enzymatic activity and enzymatic stoichiometry in the loess hilly region, China[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(1): 411-421.
- [7] 崔继文, 徐新朋, 何萍, 周卫, 朱平. 氮素有机替代对东北黑土区土壤微生物碳磷资源限制的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(11): 1953-1966.
CUI Jiwen, XU Xinpeng, HE Ping, ZHOU Wei, ZHU Ping. Effect of organic nitrogen substitution on soil microbial resources limitation by carbon and phosphorus in black soil of Northeast China[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(11): 1953-1966.
- [8] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, He N P, Wang Q F, Wang S Z, Wang R L, Zhao N, Jia Y L, Wang C Y. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in Eastern China (NSTEC)[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 152-163.
- [9] Cui Y X, Fang L C, Deng L, Guo X B, Han F, Ju W L, Wang X, Chen H S, Tan W F, Zhang X C. Patterns of soil microbial nutrient limitations and their roles in the variation of soil organic carbon across a precipitation gradient in an arid and semi-arid

- region[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 658: 1440-1451.
- [10] 刘丛强. 生物地球化学过程与地表物质循环[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
LIU Congqiang. Biogeochemical processes and surface material circulation[M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [11] 罗美, 周运超, 唐风华. 不同植被下碳酸盐岩石发育形成土壤属性研究[J]. *中国岩溶*, 2023, 42(2): 277-289.
LUO Mei, ZHOU Yunchao, TANG Fenghua. Soil properties of carbonate rocks under different vegetation types[J]. *Carsologica Sinica*, 2023, 42(2): 277-289.
- [12] 王克林, 岳跃民, 陈洪松, 吴协保, 肖峻, 祁向坤, 张伟, 杜虎. 喀斯特石漠化综合治理及其区域恢复效应[J]. *生态学报*, 2019, 39(20): 7432-7440.
WANG Kelin, YUE Yuemin, CHEN Hongsong, WU Xiebao, XIAO Jun, QI Xiangkun, ZHANG Wei, DU Hu. The comprehensive treatment of karst rocky desertification and its regional restoration effects[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(20): 7432-7440.
- [13] 蒋忠诚, 罗为群, 童立强, 程洋, 杨奇勇, 吴泽燕, 梁建宏. 21世纪西南岩溶石漠化演变特点及影响因素[J]. *中国岩溶*, 2016, 35(5): 461-468.
JIANG Zhongcheng, LUO Weiqun, TONG Liqiang, CHENG Yang, YANG Qiyong, WU Zeyan, LIANG Jianhong. Evolution features of rocky desertification and influence factors in karst areas of Southwest China in the 21st century[J]. *Carsologica Sinica*, 2016, 35(5): 461-468.
- [14] 张伟, 陈洪松, 苏以荣, 王克林, 林海飞, 刘坤平. 不同作物和施肥方式对新垦石灰土土壤肥力的影响[J]. *土壤通报*, 2013, 44(4): 925-930.
ZHANG Wei, CHEN Hongsong, SU Yirong, WANG Kelin, LIN Haifei, LIU Kunping. Effects of reclamation and fertilization on calcareous soil fertility in the initial period of cultivation[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2013, 44(4): 925-930.
- [15] Xiao S S, Zhang W, Ye Y Y, Zhao J, Wang K L. Soil aggregate mediates the impacts of land uses on organic carbon, total nitrogen, and microbial activity in a karst ecosystem[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41402.
- [16] 苏同庆, 崔婷婷, 张建兵, 罗为群, 胡宝清. 土地利用方式对广西平果喀斯特土壤碳氮磷全量与易利用组分的影响[J]. *中国岩溶*, 2023, 42(2): 311-320.
SU Tongqing, CUI Tingting, ZHANG Jianbing, LUO Weiqun, HU Baoqing. Effect of land utilization patterns on total and easy-to-use components of soil carbon, nitrogen and phosphorus in the karst area of Pingguo, Guangxi[J]. *Carsologica Sinica*, 2023, 42(2): 311-320.
- [17] 岳祥飞, 李衍青, 刘鹏. 广西岩溶区灌木林地凋落物-土壤碳、氮、磷化学计量特征[J]. *中国岩溶*, 2023, 42(5): 1106-1116.
YUE Xiangfei, LI Yanqing, LIU Peng. Stoichiometric characteristics of C, N and P in soil and litter of shrublands in karst areas of Guangxi[J]. *Carsologica Sinica*, 2023, 42(5): 1106-1116.
- [18] Wen L, Li D J, Yang L Q, Luo P, Chen H, Xiao K C, Song T Q, Zhang W, He X Y, Chen H S. Rapid recuperation of soil nitrogen following agricultural abandonment in a karst area, Southwest China[J]. *Biogeochemistry*, 2016, 129(3): 1-14.
- [19] 巢林, 曾鑫, 欧梦菲, 黄忻婷, 张建兵, 刘艳艳. 喀斯特山区不同土地利用方式对土壤微生物生物量、酶活性及其化学计量的影响[J]. *山地学报*, 2023, 41(1): 28-40.
CHAO Lin, ZENG Xin, OU Mengfei, HUANG Xinting, ZHANG Jianbing, LIU Yanyan. Effects of different land use patterns on soil microbial biomass, enzyme activity and stoichiometry in the mountainous karst areas of China[J]. *Mountain Research*, 2023, 41(1): 28-40.
- [20] Chen H, Liu J W, Wang K L, Zhang W. Spatial distribution of rock fragments on steep hillslopes in karst region of northwest Guangxi, China[J]. *Catena*, 2011, 84(1): 21-28.
- [21] Yang J, Nie Y P, Chen H S, Wang S, Wang K L. Hydraulic properties of karst fractures filled with soils and regolith materials: Implication for their ecohydrological functions[J]. *Geoderma*, 2016, 276: 93-101.
- [22] 肖霜霜, 叶莹莹, 张伟, 吴敏, 王克林. 干扰/利用方式对喀斯特石灰土团聚体分布及其碳氮含量的影响[J]. *生态学杂志*, 2016, 35(5): 1140-1146.
XIAO Shuangshuang, YE Yingying, ZHANG Wei, WU Min, WANG Kelin. Carbon and nitrogen contents in calcareous soil aggregates affected by disturbance and land use in karst region, China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(5): 1140-1146.
- [23] 刘艳, 宋同清, 蔡德所, 曾馥平, 彭晚霞, 杜虎, 刘焯. 抛荒土地不同处理及利用方式对喀斯特地区土壤微生物的影响[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(23): 202-210.
LIU Yan, SONG Tongqing, CAI Desuo, ZENG Fuping, PENG Wanxia, DU Hu, LIU Yang. Effects of different treatment and utilization types after land leaving unused on soil microbial properties in karst region[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 29(23): 202-210.
- [24] Carter M R, Gregorich E G. Soil sampling and methods of analysis[M]. Boca Raton, USA: CRC Press, 2007.
- [25] 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.
- [26] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. 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.
- [27] Brookes P, Powlson D, Jenkinson D. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil[J]. *Soil biology and biochemistry*, 1982, 14(4): 319-329.
- [28] Chen H, Li D J, Zhao J, Zhang W, Xiao K C, Wang K L. Nitrogen addition aggravates microbial carbon limitation: Evidence from coenzymatic stoichiometry[J]. *Geoderma*, 2018, 329: 61-64.
- [29] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, Waldrop M P. Evolu-

- tionary-economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function[C]//Shukla G, Varma A. Soil enzymology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 229-243.
- [30] 李强, 漆昊, 何国兴, 张德罡, 韩天虎, 孙斌, 潘冬荣, 柳小妮. 东祁连山高寒草甸土壤酶活性及其化学计量特征对海拔和坡向的响应[J]. 水土保持学报, 2022, 36(4): 357-364.
- LI Qiang, QI Hao, HE Guoxing, ZHANG Degang, HAN Tianhu, SUN Bin, PAN Dongrong, LIU Xiaoni. Response of soil enzymes activities and their stoichiometric characteristics to altitude and aspect of alpine meadow in eastern Qilian mountains[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2022, 36(4): 357-364.
- [31] Allison S D, Wallenstein M D, Bradford M A. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology[J]. *Nature Geoscience*, 2010, 3(5): 336-340.
- [32] Chen H, Li D J, Mao Q G, Xiao K C, Wang K L. Resource limitation of soil microbes in karst ecosystems[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650: 241-248.
- [33] Moorhead D, Rinkes Z, Sinsabaugh R, Weintraub M. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: Informing enzyme-based decomposition models[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 56126.
- [34] Waring B G, Weintraub S R, Sinsabaugh R L. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils[J]. *Biogeochemistry*, 2014, 117(1): 101-113.
- [35] Cleveland C C, Townsend A R, Schmidt S K. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests: Evidence from short-term laboratory incubations and field studies[J]. *Ecosystems*, 2002, 5(7): 0680-0691.

Effects of land use patterns on the limitation of soil microbial resources in the karst areas of Southwest China

XIAO Shuangshuang^{1,2}, CHEN Wurong^{1,2}, FU Wei^{3,4}, ZHANG Jianbing^{1,2}

(1. Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf, Ministry of Education, Nanning Normal University, Nanning, Guangxi 530001, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Earth Surface Processes and Intelligent Simulation, Nanning Normal University, Nanning, Guangxi 530001, China; 3. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 4. Huanjiang Observation and Research Station for Karst Ecosystems, Chinese Academy of Science, Huanjiang, Guangxi 547100, China)

Abstract The experimental area is situated in the Mulian comprehensive experimental demonstration zone of Karst Ecosystem Observation and Research Station of Chinese Academy of Sciences, located in Huanjiang Maonan Autonomous County, Guangxi Zhuang Autonomous Region. This region falls within the subtropical monsoon climate zone. The average annual temperature is 19.9°C, with an extreme high of 38.7°C and an extreme low of -5.2°C. The average annual rainfall is 1,380 mm, characterized by abundant precipitation that is unevenly distributed throughout the seasons; the rainy season accounts for more than 70% of the total annual rainfall. The study area is characterized by a typical karst peak-cluster depression with an elevation of 272.0–647.2 m. The average bedrock exposure in the depression and the sloping land is 15% and 30%, respectively, and their soil depths are 20–160 cm and 10–50 cm, respectively. The soil primarily consists of yellow-brown lime soil and brown lime soil, which have been developed from dolomite. The volume fraction of topsoil gravel can reach 10%–40%. The soil texture is composed of clay loam and clay, with the mass fraction of silt ranging from 25% to 50% and that of clay from 30% to 60%, respectively.

Soil microbial growth and activity are often limited by nutrient resources, and understanding which nutrients limit microbial activities is crucial for assessing ecosystem function and developing effective management strategies. Previous studies have shown that soil microorganisms are mainly limited by nutrient carbon (C) and phosphorus (P) during natural succession after the land has been left uncultivated in karst areas. However, measures such as fertilization in agricultural activities may change microbial resource limitations. In order to investigate nutrient resource limitations of soil microorganisms in agricultural land, this experiment selected four common land use patterns in Huanjiang, Guangxi, including enclosure, mowing, grass planting and corn planting, and analyzed enzyme activities related to C, nitrogen (N) and P in soil. Based on enzyme stoichiometry, the nutrient limitations of soil microorganisms were identified, and the influence of different land use patterns on the changes in microbial resource limitations in soil was clarified. This study could provide valuable guidance for the evaluation and management of

different land use ecosystems.

The results showed that soil enzyme activities changed significantly under different land use patterns, which was closely related to nutrients available in soil. Through enzyme stoichiometry, it was found that planting maize and grass significantly increased the nutrient C resource limitation of soil microorganisms, which was mainly caused by the reduction of soil organic carbon and microbial biomass carbon. The soil microorganisms of the four land use patterns were limited by N, but not by P. In addition, mowing and grass planting exacerbated the N limitation of microorganisms. Correlation analysis suggested that N resource limitation was associated with an increase in microbial biomass carbon, as microbial assimilation of carbon may require more nitrogen available in soil. In addition, microbial biomass C, N and P were significantly correlated with enzyme stoichiometry, which well explained the changes of microbial resource limitations under different land use patterns, and could be used as an effective index to assess microbial resource limitations in karst soil.

In summary, this study indicates that changes in microbial resource limitations in soil should be fully considered in the evaluation and management of different ecosystems in karst areas, which was conducive to formulating more accurate and effective soil management strategies to promote the health and sustainable development of ecosystems. It is suggested to apply organic fertilizer such as manure or straw to alleviate the nutrient C resource limitation of soil microorganisms in karst areas where corn and forage are planted. In karst mowing areas, nitrogen fertilizer needs to be applied moderately to alleviate nutrient N resource limitation of microorganisms and to increase plant productivity.

Key words land use, karst ecosystem, microbial resource limitation, enzyme activity, enzyme stoichiometry

(编辑 黄晨晖)

名词解释：岩溶碳汇

雨水在降落过程中吸收空气中的二氧化碳,之后穿过土壤,进一步吸收更多的二氧化碳,形成富含碳酸的弱酸性水。这些弱酸性水沿着石灰岩裂隙

流动,与石灰岩发生化学反应生成富含碳酸氢根(HCO_3^-)和钙、镁离子的岩溶水。这一连续的化学作用过程就是岩溶作用的碳汇过程。