

DOI: 10.11686/cyxb2025034

http://cyxb.magtech.com.cn

景煜都, 刘小伟, 梁可, 等. 灌丛化对黄土高原草地土壤有机碳组分与稳定性的影响及其微生物调控机制. 草业学报, 2025, 34(12): 1-15.

JING Yu-du, LIU Xiao-wei, LIANG Ke, *et al.* Impacts of shrub encroachment on the fraction and stability of soil organic carbon of grassland on the Loess Plateau, and the underlying microbial mechanisms. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(12): 1-15.

## 灌丛化对黄土高原草地土壤有机碳组分与稳定性的影响及其微生物调控机制

景煜都<sup>1,2,3</sup>, 刘小伟<sup>4</sup>, 梁可<sup>4</sup>, 封俊豪<sup>4</sup>, 于强<sup>5</sup>, 郭梁<sup>5,6\*</sup>

(1. 中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 西北农林科技大学草业与草原学院, 陕西 杨凌 712100; 5. 西北农林科技大学水土保持与荒漠化整治全国重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 6. 宁夏云雾山国家级自然保护区管理局, 宁夏 固原 756000)

**摘要:** 灌丛化显著影响全球草地生态系统的碳循环, 但其对土壤有机碳组分及稳定性的影响, 尤其是微生物在其中的调控机制, 仍然缺乏深入研究。本研究以黄土高原半干旱草原为对象, 分析了不同类型灌丛化对土壤理化与生物性质、有机碳组分与占比、微生物群落特性的影响, 以及其中的微生物调控机制。结果表明, 半灌木(白莲蒿)和灌木(矮脚锦鸡儿)扩张的生态影响差异不显著, 但两种类型的灌丛化显著提高了土壤含水量(SWC)、土壤总有机碳(SOC)含量、可溶性有机碳(DOC)含量与全量养分, 促进了碳循环相关酶活性上升与微生物残体碳积累, 并显著提高了矿物结合态有机碳(MAOC)、颗粒态有机碳(POC)的绝对含量与MAOC的相对占比, 显著降低了土壤pH与POC的相对占比。此外, 灌丛化显著改变了土壤细菌与真菌群落组成, 提高了土壤细菌的硝化作用、硫化物氧化与铁呼吸功能, 同时增强了真菌的凋落物腐生与木本腐生营养型的丰度。土壤微生物残体碳及细菌的功能均与POC和MAOC的含量和占比显著相关。偏最小二乘路径分析进一步表明, 与碳循环相关的胞外酶活性和微生物残体碳分别是调控土壤有机碳组分含量与其相对占比的直接微生物因素, 而微生物群落组成通过间接途径影响这些过程。总之, 灌丛化不仅显著增加了草地土壤碳库的总量及各有机碳组分的含量, 还提高了土壤碳库的稳定性, 而土壤微生物分泌的胞外酶与微生物残体碳在该过程中起到重要调控作用。本研究为深入理解灌丛化对草地土壤碳组分的微生物调控机制, 并为预测黄土高原灌丛化草地土壤碳库未来变化提供了理论支持。

**关键词:** 黄土高原半干旱草地; 灌丛化; 有机碳组分; 土壤微生物

### Impacts of shrub encroachment on the fraction and stability of soil organic carbon of grassland on the Loess Plateau, and the underlying microbial mechanisms

JING Yu-du<sup>1,2,3</sup>, LIU Xiao-wei<sup>4</sup>, LIANG Ke<sup>4</sup>, FENG Jun-hao<sup>4</sup>, YU Qiang<sup>5</sup>, GUO Liang<sup>5,6\*</sup>

1. *The Research Center for Soil and Water Conservation and Ecological Environment, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Education, Yangling 712100, China;* 2. *Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling 712100, China;* 3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;* 4. *College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;* 5. *State Key Laboratory of Soil and Water Conservation and Desertification Control, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;* 6. *Ningxia Yunwushan National Nature Reserve Administration, Guyuan 756000, China*

**Abstract:** Shrub encroachment is significantly affecting carbon cycling in grassland ecosystems worldwide, yet its

收稿日期: 2025-02-02; 改回日期: 2025-04-03

基金项目: 国家自然科学基金(42377471)和宁夏回族自治区自然科学基金(2024A AC05099)资助。

作者简介: 景煜都(1998—), 男, 山西运城人, 在读硕士。E-mail: jingyudu22@mails.ucas.ac.cn

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: guoliang2014@nwfufu.edu.cn

impact on the components and stability of grassland soil organic carbon, and particularly the underlying microbial regulatory mechanisms, remains insufficiently studied. In this study, we focused on the semi-arid grassland of the central Loess Plateau, and analyzed the effects of shrub encroachment on various soil physicochemical and biological properties, organic carbon components and their proportions, microbial community structure, functions, and trophic types, as well as the underlying microbial regulatory mechanisms. The results show that shrub encroachment significantly increased the total organic carbon, dissolved organic carbon, mineral-associated organic carbon (MAOC), and particulate organic carbon (POC) contents in soil, and the relative proportion of MAOC, but significantly decreased the relative proportion of POC. Furthermore, shrub encroachment significantly altered the bacterial and fungal community composition by affecting soil physicochemical properties, with different impacts on the relative abundance of amplicon sequence variants of different phyla. Shrub encroachment enhanced soil bacterial nitrification, sulfur oxidation, and iron respiration functions, as well as the abundance of fungal saprotrophic and woody saprotrophic type functions, but reduced the abundance of bacterial methylotrophy and aromatic compound degradation functions. The soil microbial residue carbon and bacterial functions were significantly correlated with the contents and proportions of POC and MAOC. A partial least squares path analysis showed that extracellular enzyme activity and microbial residue carbon, related to carbon cycling, were the microbial factors directly regulating the contents and relative proportions of soil organic carbon components, whereas microbial community composition influenced these processes indirectly. These results indicate that shrub encroachment not only increases the total amount of soil carbon and the contents of soil organic carbon components in grassland soils, but also significantly enhances the stability of the soil carbon pool, with extracellular enzymes secreted by soil microbes and microbial residue carbon playing crucial regulatory roles. The findings of this study provide new information about the mechanisms by which microbes regulate organic carbon components in grassland soils under shrub encroachment. These results provide theoretical support for predicting future changes in the soil carbon pool of shrub-encroached grassland on the Loess Plateau.

**Key words:** semi-arid grasslands on the Loess Plateau; shrub encroachment; organic carbon fractions; soil microorganisms

灌丛化是灌木或半灌木植物在草地生态系统中的扩张过程。近年来,气候变化和土地利用变化加剧,导致灌丛化在许多地区,尤其是干旱和半干旱草地生态系统中逐渐成为明显的生态现象,且对草地生态系统多重功能与生态服务产生了深远而复杂的影响<sup>[1]</sup>。灌丛化不仅改变了草地植被的群落结构与景观格局<sup>[2]</sup>,还深刻影响了土壤的理化性质和微生物活性<sup>[3-4]</sup>,进而对草地生态系统的生物地球化学循环产生重要影响。特别是灌丛化通过改变土壤有机碳组分及其空间分布,影响草地土壤碳库的储量与稳定性<sup>[5-6]</sup>,进而影响草地生态系统的碳固存和二氧化碳排放等关键过程<sup>[5,7-8]</sup>。因此,深入揭示灌丛化对土壤碳组分及其稳定性的影响机制,对维持土壤碳库健康、预测其对气候变化的响应具有重要意义。

目前,灌丛化对土壤碳库影响的研究主要聚焦在土壤有机碳总量及其空间分布的变化。例如,对内蒙古典型草原的研究发现,灌丛化提高了土壤有机碳总储量,但加剧了其水平和垂直方向的空间异质性<sup>[9]</sup>。然而,也有研究发现土壤有机碳总量对灌丛化无显著响应<sup>[10]</sup>。近年来,更多研究开始通过分析土壤碳组分的变化,进一步探讨灌丛化对土壤碳库及稳定性的影响<sup>[11]</sup>。根据稳定性,土壤有机碳可分为颗粒态有机碳(particulate organic carbon, POC)与矿物结合态有机碳(mineral associated organic carbon, MAOC)两种组分<sup>[11]</sup>。POC主要来源于部分分解的植物残体,易被微生物分解利用<sup>[12]</sup>;而MAOC则以微生物来源的低分子量有机碳组成,受到矿物的物理保护,较难被微生物降解<sup>[13]</sup>。研究表明,MAOC对气候变化与土地利用变化等外界干扰的敏感性显著低于POC<sup>[14-15]</sup>。因此,二者相对于土壤总有机碳的占比常被用作评估土壤有机碳稳定性的指标,其中MAOC占比的提高通常表

明土壤碳库稳定性增强<sup>[16]</sup>。然而,关于灌丛化对土壤POC和MAOC的影响研究仍较为匮乏,且在不同研究间存在较大差异。例如,在青藏高原地区,川西锦鸡儿(*Caragana erinacea*)的扩张未显著影响表层土壤MAOC含量<sup>[17]</sup>;而在乌拉圭热带稀树草原,灌丛化则显著增加了MAOC含量<sup>[18]</sup>。此外,灌丛化对土壤POC的影响通常与灌木的扩张强度密切相关<sup>[19]</sup>。然而,驱动这些变化的潜在机制仍不清晰,亟待深入研究。

土壤微生物作为有机碳组分的重要调控因子,可通过改变群落组成、调控胞外酶活性和微生物残体碳等途径,影响POC与MAOC的生成与降解<sup>[20]</sup>。其中,微生物群落组成是影响土壤碳组分的关键因素之一。例如,利用易分解有机碳的微生物类群的增加会促进POC分解,从而降低其含量;而腐生细菌与真菌的增加则可能促进微生物残体碳的积累,进而提高MAOC<sup>[21]</sup>。研究还发现,植被退化会改变土壤细菌群落组成及其r-K选择类型,从而改变土壤POC与MAOC及其相对占比<sup>[22]</sup>。此外,土壤微生物通过分泌碳循环相关的酶(如 $\beta$ -葡萄糖苷酶与纤维素二糖水解酶)调控POC与MAOC的生成与降解。例如,一项在青藏高原草甸的研究揭示,土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性与细菌、真菌群落组成共同驱动土壤POC的增加<sup>[22]</sup>。此外,土壤细菌的功能与真菌的营养型也可能影响MAOC和POC的含量及其占比,如有研究表明,根际自养固碳微生物类群占比的增加促进了土壤MAOC的积累<sup>[16]</sup>。灌丛化显著影响土壤微生物群落结构,导致其富养型类群的增加与寡养型类群的减少,从而调控土壤有机碳组分的变化及其稳定性,然而具体的调控机制尚不明确。

黄土高原是典型的生态脆弱区,草原生态系统对其水土保持与碳固存起到重要作用<sup>[23]</sup>。得益于一系列生态恢复工程,黄土高原草地近年来得到了显著恢复,其固碳潜力显著提高,已成为重要的碳库<sup>[24]</sup>。然而,长期封育过程中出现的灌丛化对该区草地土壤碳库的影响及其调控机制尚不明确。因此,探究黄土高原半干旱草地土壤碳组分及稳定性对灌丛化的响应及微生物作用机制,将有助于预测灌丛化草地土壤碳库变化趋势及其对气候变化的敏感性。本研究选取宁夏云雾山半干旱典型草原,以长期封育过程中出现灌丛化草地为对象,结合土壤碳组分和微生物生物信息学分析,综合探究灌丛化对黄土高原草地土壤有机碳组分与稳定性的影响及其微生物调控机制,为该区草地土壤碳库的未来动态预测提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

本研究在宁夏云雾山国家级自然保护区(36.10°—36.17° N, 106.21°—106.27° E, 海拔1800~2100 m)开展。该保护区位于黄土高原中部,属于中温带半干旱气候,年均温7℃,年平均降水量425 mm,降水集中于6—8月<sup>[25]</sup>。土壤主要为山地灰褐土与黑垆土<sup>[3]</sup>。植被类型为典型草原,草本植物优势种主要包括长芒草(*Stipa bungeana*)、大针茅(*Stipa grandis*)、百里香(*Thymus mongolicus*)、星毛委陵菜(*Potentilla acaulis*)等,主要的半灌木与灌木物种为白莲蒿(*Artemisia gmelinii*)与矮脚锦鸡儿(*Caragana brachypoda*)。自20世纪80年代初,保护区实施围栏封育措施以恢复草原生态<sup>[26]</sup>。随着封育年限的增加,近年来草地中白莲蒿与矮脚锦鸡儿的盖度显著上升,逐渐形成了半灌木(白莲蒿)和灌木(矮脚锦鸡儿)扩张的景观。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 样品采集** 根据草地中白莲蒿与矮脚锦鸡儿的盖度,选取了3种不同灌木扩张情况的样地:无灌木扩张(no shrub encroachment, NSE)、半灌木扩张(subshrub encroachment, SSE)和灌木扩张(shrub encroachment, SE)。在发生灌丛化前,3种样地均为长芒草为主的均一化草地;然而,随着长期封育,SSE与SE样地分别经历了白莲蒿与矮脚锦鸡儿的重度扩张(盖度>50%),而NSE样地则保持原始植被组成,白莲蒿与矮脚锦鸡儿盖度均为0。SSE样地中,白莲蒿平均株高为32 cm,平均盖度为72%;SE样地中,矮脚锦鸡儿平均株高为38 cm,平均盖度为75%。每个样地的面积为100 m×100 m,相互之间距离大于200 m,且具有相同海拔与坡向。在每个样地内,设置4个重复样方,其中NSE样地的样方面积为1 m×1 m,SSE与SE样方面积为5 m×5 m,各样方间距大于10 m。2023年8月,在每个样方内采用五点法采取0~15 cm土层土壤样本,充分混匀后密封,置入保温箱中冷藏并立即带回实验室。实验室内,土样过2 mm筛后分为3份:1份风干后用于测定土壤基本理化性质与有机碳组分,1份鲜土储存于4℃用于测定胞外酶活性,最后1份鲜土储存于-80℃用于提取土壤微生物DNA及后续生物

信息分析。

**1.2.2 土壤理化及生物指标测定** 采用 105 °C 烘干法测定土壤含水量(soil water content, SWC),采用原子吸收分光光度法测定土壤交换态钙(exchangeable calcium, CA)含量,使用电位式 pH 计(PHS-3C, INESA, 中国)测定土壤 pH,采用元素分析仪(Vario EL III, Elementar, 德国)测定土壤总有机碳(soil organic carbon, SOC)、土壤全氮(total nitrogen, TN)与土壤可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)含量,通过钼锑抗分光光度法测定土壤全磷(total phosphorus, TP)含量。采用酶标仪(Multiskan FC, Thermo, 芬兰)测定土壤参与碳循环的重要胞外酶[ $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -glucosidase, BG)与纤维二糖水解酶(cellobiohydrolase, CBH)]活性。此外,采用酸水解法测定土壤氨基糖(包括氨基葡萄糖与胞壁酸)含量,并通过以下公式计算细菌残体碳(bacterial necromass carbon, BNC)、真菌残体碳(fungal necromass carbon, FNC)和微生物残体碳(microbial necromass carbon, MNC)含量<sup>[27]</sup>:

$$BNC = C_{MA} \times 45 \quad (1)$$

$$FNC = \frac{C_{AG}}{179.17} - \frac{2 \times C_{MA}}{251.23} \quad (2)$$

$$MNC = BNC + FNC \quad (3)$$

式中: $C_{MA}$ 为土壤胞壁酸含量( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); $C_{AG}$ 为土壤氨基葡萄糖含量( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。

**1.2.3 土壤有机碳组分测定** 将土壤有机碳通过六偏磷酸钠溶液湿筛法<sup>[28]</sup>分为 POC 与 MAOC 两个组分,并使用元素分析仪(Vario EL III, Elementar, 德国)测定这两个组分中的有机碳含量。按以下公式计算土壤 POC 与 MAOC 含量<sup>[29]</sup>:

$$R_{POC} = \frac{m_{POC}}{m} \quad (4)$$

$$POC = SOC_{POC} \times R_{POC} \quad (5)$$

式中: $R_{POC}$ 为颗粒态有机碳的质量分离比; $m_{POC}$ 与  $m$  分别为分离后颗粒态组分的质量与分离前土壤总质量;单位均为 g; $SOC_{POC}$ 为颗粒态组分中测定的有机碳含量,单位为  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。MAOC 计算公式与 POC 计算公式相同,将式(4)与(5)中 POC 各项替换为对应的 MAOC 项即可。

**1.2.4 土壤微生物扩增子 DNA 测定与分析** 采用 FastDNA Spin 试剂盒(MP Biomedicals, 美国)按照说明书提取土壤细菌与真菌基因组 DNA,并使用琼脂糖凝胶电泳进行分离纯化。DNA 测序工作委托北京诺禾致源科技股份有限公司,分别使用引物对 341F(5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3')与 806R(5'-GGACTACNNGGG TATCTAAT-3'),以及 1737F(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')与 2043R(5'-GCTGCGTTCTT CATCGATGC-3')对土壤细菌 16SrRNA 基因的 V3-V4 可变区以及真菌 ITS 基因 1-5F 区进行多聚酶链式反应(PCR)扩增。扩增产物随后在 Illumina Hiseq 平台(Hiseq2500, Illumina, 美国)进行高通量测序。

参考 EasyAmplicon 分析流程<sup>[30]</sup>,使用 vsearch 与 USEARCH 分析工具进行下机原始序列的质控、配对与嵌合体去除,并使用去噪法生成扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs)。对于土壤细菌与真菌 ASVs,分别使用 RDP-16S-v18<sup>[31]</sup>数据库与 UNITE<sup>[32]</sup>数据库进行序列比对,获得其物种注释信息。同时,使用 FAPROTAX 软件对土壤细菌功能进行注释,并通过 FunGuild 软件注释土壤真菌的营养型。以上生物信息学分析均在模拟 Linux 环境中进行。

### 1.3 数据分析

采用单因素方差分析(one-way ANOVA)与最小显著差异法(least significant difference, LSD)检验不同灌木扩张情况下土壤理化性质、酶活性、有机碳组分及占比,以及微生物残体碳的差异和显著性。采用非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析不同灌木扩张情况下土壤细菌和真菌群落结构差异,并通过置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)检验其显著性。使用 ggtree 软件包<sup>[33]</sup>分别构建土壤细菌和真菌的系统发育树,并基于微生物 ASVs 与土壤理化性质的 Spearman 相关分析,绘制相关性热图。此外,采用冗余分析(redundancy analysis, RDA)探究不同灌木扩张情况下土壤有机碳组分的差

异,并筛选关键解释变量。采用置换检验验证各个解释变量对碳组分的影响是否具有统计显著性,并进一步使用 rdacca.hp 软件包<sup>[34]</sup>进行层次分割,解析土壤理化性质、酶活性与微生物群落组成对土壤有机碳组分差异的贡献。使用 pheatmap 软件包基于 Pearson 相关分析绘制土壤有机碳组分及占比与微生物残体碳、土壤细菌功能及土壤真菌营养型之间的相关性热图。最后,通过构建偏最小二乘路径模型(partial least square pathway modeling, PLS-PM),解析灌丛化对土壤有机碳组分及其占比的调控机制。所有分析均使用 R 语言 4.3.1 版本进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 灌丛化对土壤理化及生物指标与有机碳组分的影响

灌丛化对土壤理化及生物指标均产生显著影响(表 1)。SSE 与 SE 显著提高了 SWC、SOC、DOC、TN、TP、CA 含量以及 BG 活性( $P < 0.05$ ),特别是在 SE 下,SOC 与 TP 的提升幅度相比 SSE 更高。与此相反,灌丛化显著降低了土壤 pH,而对 CBH 活性无显著影响( $P > 0.05$ )。SWC、pH、DOC、TN 含量与 CBH 活性等指标在 SSE 与 SE 之间无显著差异。

灌丛化对土壤 POC 和 MAOC 的绝对含量与相对占比及微生物残体碳含量亦产生显著影响(图 1)。具体而言,SSE 与 SE 显著提高了土壤 POC 与 MAOC 的绝对含量以及 MAOC 的相对占比,但显著降低了 POC 的相对占比( $P < 0.05$ )。鉴于 MAOC 是土壤有机碳中较为稳定的组分,而 POC 相对更易被分解,上述结果表明灌丛化显著增强了土壤有机碳的稳定性。此外,灌丛化亦显著提高了土壤 BNC、FNC 与 MNC 含量。在 SSE 与 SE 之间,POC 与 MAOC 的绝对含量与相对占比及微生物残体碳均未表现出显著差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 灌丛化对土壤微生物特性的影响

研究区内土壤细菌主要包括酸杆菌门、变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、疣微菌门、绿弯菌门与迟杆菌门(图 2a);而土壤真菌主要包括子囊菌门、担子菌门、球囊菌门、被孢霉门、壶菌门、梳霉门、罗兹菌门、毛霉门与油壶菌门(图 2b)。分别对土壤细菌与真菌门水平相对丰度进行非度量多维尺度分析及置换多元方差分析(图 2c,d)发现,不同灌木扩张状态下土壤细菌和真菌门水平群落结构均存在显著差异( $P < 0.05$ )。具体而言,土壤细菌群落结构在 SE 与 SSE 下均与 NSE 存在显著差异( $P < 0.05$ ),但在 SE 与 SSE 之间差异不显著( $P = 0.23$ )。与之相反,土壤真菌群落结构则在 SE 与 SSE 和 NSE 之间存在显著差异( $P < 0.05$ ),而在 SSE 与 NSE 之间差异不显著( $P = 0.09$ )。

为解析土壤基本理化性质对细菌与真菌 ASVs 相对丰度的影响,本研究分别基于土壤细菌与真菌各自相对丰度最高的 100 个 ASVs 构建了系统发育树,并计算了各 ASVs 与 SWC、pH、CA、SOC、TN 与 TP 的 Pearson 相关性(图 3)。土壤细菌相对丰度前 100 的 ASVs 主要归属于酸杆菌门、变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门与拟杆菌门,而土壤真菌相对丰度前 100 的 ASVs 主要归属于子囊菌门、担子菌门、球囊菌门与被孢霉门。不同土壤理化基本性质与微生物 ASVs 的相关性不同。对于土壤细菌,芽单胞菌门的多数 ASVs 与土壤 SWC、SOC、TN 与 TP 均显著正相关,而酸杆菌门的多数 ASVs 与其显著负相关;与之相反,芽单胞菌门的多数 ASVs 与土壤 pH 显著负相

表 1 灌丛化对土壤理化与生物指标的影响

Table 1 Impacts of shrub encroachment on soil physicochemical and biological properties

土壤指标 Soil property	无灌木扩张 NSE	半灌木扩张 SSE	灌木扩张 SE
SWC (%)	14.80±1.01b	20.41±0.80a	21.26±1.18a
pH	8.18±0.01a	8.05±0.01b	8.06±0.02b
SOC (g·kg <sup>-1</sup> )	16.74±0.87c	25.77±0.87b	28.41±0.69a
DOC (mg·kg <sup>-1</sup> )	51.99±2.06b	72.12±4.16a	74.88±2.70a
TN (g·kg <sup>-1</sup> )	1.60±0.04b	2.94±0.17a	3.14±0.17a
TP (g·kg <sup>-1</sup> )	0.58±0.01c	0.67±0.01b	0.77±0.02a
CA (g·kg <sup>-1</sup> )	8.07±0.03b	8.16±0.10b	8.56±0.05a
BG (nmol·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	15.22±0.91c	36.32±3.35a	29.43±1.28b
CBH (nmol·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	9.69±0.60a	9.48±1.51a	10.38±0.17a

NSE: No shrub encroachment; SSE: Subshrub encroachment; SE: Shrub encroachment; SWC: 土壤含水量 Soil water content; SOC: 有机碳 Soil organic carbon; DOC: 可溶性有机碳 Dissolved organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; CA: 交换态钙 Exchangeable calcium; BG:  $\beta$ -葡萄糖苷酶  $\beta$ -glucosidase; CBH: 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase; 数值为均值±标准误,不同小写字母代表不同灌木扩张状态下存在显著差异( $P < 0.05$ ) The values are means±standard errors. Different lowercase letters indicate significant differences among different shrub encroachment conditions ( $P < 0.05$ ); 下同 The same below.

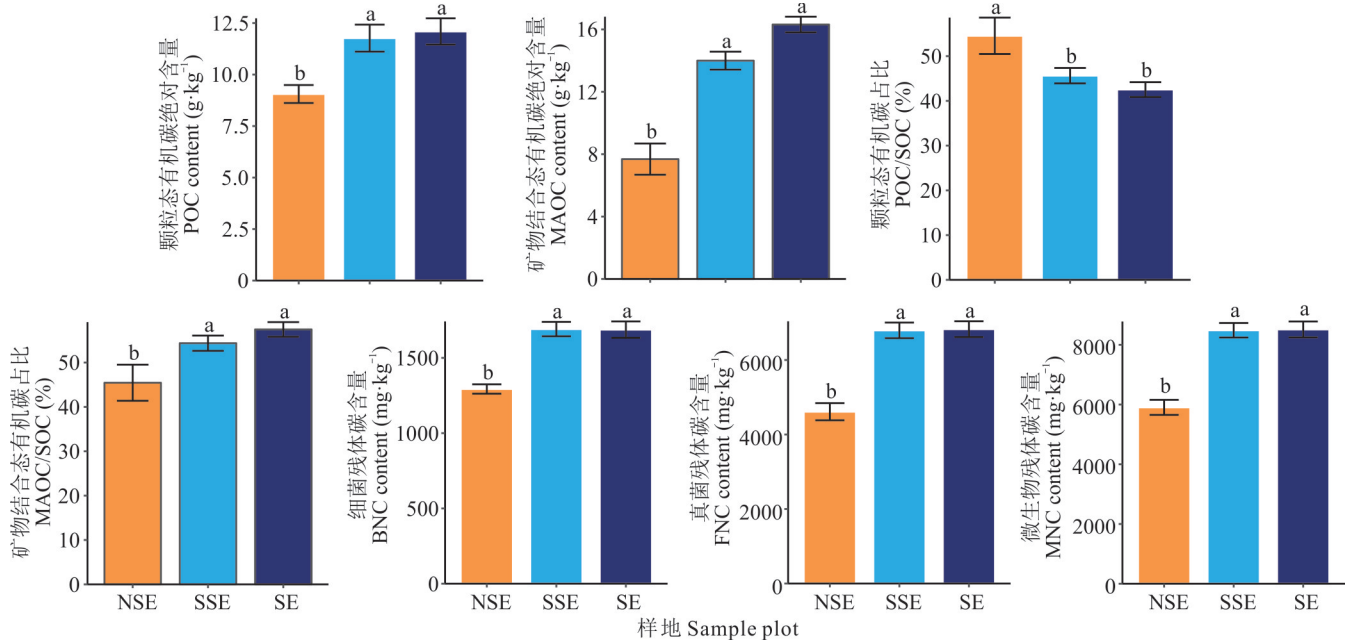


图1 灌丛化对土壤有机碳组分与相对占比及微生物残体碳的影响

Fig. 1 Impacts of shrub encroachment on the content and relative proportion of soil organic carbon fractions and microbial necromass carbon

POC: Particulate organic carbon; MAOC: Mineral associated organic carbon; BNC: Bacterial necromass carbon; FNC: Fungal necromass carbon; MNC: Microbial necromass carbon; 误差棒代表均值±标准误 Error bars represent means±standard errors. 下同 The same below.

关,但酸杆菌门的多数 ASVs 与之显著正相关。此外,细菌 ASVs 与土壤 CA 的相关性大多不显著。而对于土壤真菌,子囊菌门的多数 ASVs 与土壤 SWC、SOC、TN 与 TP 显著正相关,担子菌门的多数 ASVs 与其显著负相关。与细菌 ASVs 类似,真菌 ASVs 与土壤 CA 的相关性较弱。

基于前人研究,本研究筛选了可能影响土壤有机碳组分的细菌代谢功能与真菌营养型,并通过单因素方差分析探究灌丛化对它们的影响。结果表明,灌丛化显著影响了土壤细菌的功能与真菌的营养型(图4)。具体而言,土壤细菌的硝化作用、硫化物氧化与铁呼吸功能在 SE 与 SSE 下显著高于 NSE ( $P < 0.05$ ),与之相反,甲基营养与芳香化合物降解的功能丰度在 SE 与 SSE 下显著低于 NSE ( $P < 0.05$ )。在土壤真菌营养型中,凋落物腐生营养与木本腐生营养的相对丰度在 SE 与 SSE 下显著高于 NSE ( $P < 0.05$ ),而从植菌根真菌、外生菌根真菌与土壤腐生营养的相对丰度则在 SE、SSE 与 NSE 间不存在显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 土壤有机碳组分和理化与微生物性质的相关分析

本研究进一步针对土壤有机碳组分开展冗余分析,以检验灌丛化是否对碳组分的结构存在显著影响,同时解析土壤理化性质、酶活性与微生物群落组成对碳组分变异的解释程度。结果表明,SE 与 SSE 的碳组分结构均与 NSE 存在明显差异,但 SE 与 SSE 之间差异不显著(图5a)。土壤理化与生物性质在两个非度量多维尺度分析轴上共解释了 96.49% 土壤有机碳组分的变异。除 CA 与 CBH 外,其他解释因子对碳组分的解释效应均具有统计显著性。层次分割进一步揭示,SOC 对土壤有机碳组分具有最高的解释率(17.4%),而土壤细菌群落组成(NMDS1)次之(14.4%)(图5b)。此外,通过 Pearson 相关性分析(图5c)发现,土壤 POC 与 MAOC 的绝对含量和 MAOC 的相对占比均与 MNC 含量显著正相关,而 POC 的相对占比与 MNC 含量显著负相关。土壤 POC 与 MAOC 的绝对含量与细菌甲基营养和芳香化合物降解显著负相关,但与硝化作用、硫化物氧化与铁呼吸正相关(图5c)。土壤 POC 的相对占比与芳香化合物降解显著负相关,而与硝化作用及硫化物氧化显著正相关,MAOC 相对占比与这 3 个功能的相关性则呈相反趋势。对于真菌营养型,POC 与 MAOC 绝对含量均与凋落物腐生营养显著正相关(图5c)。

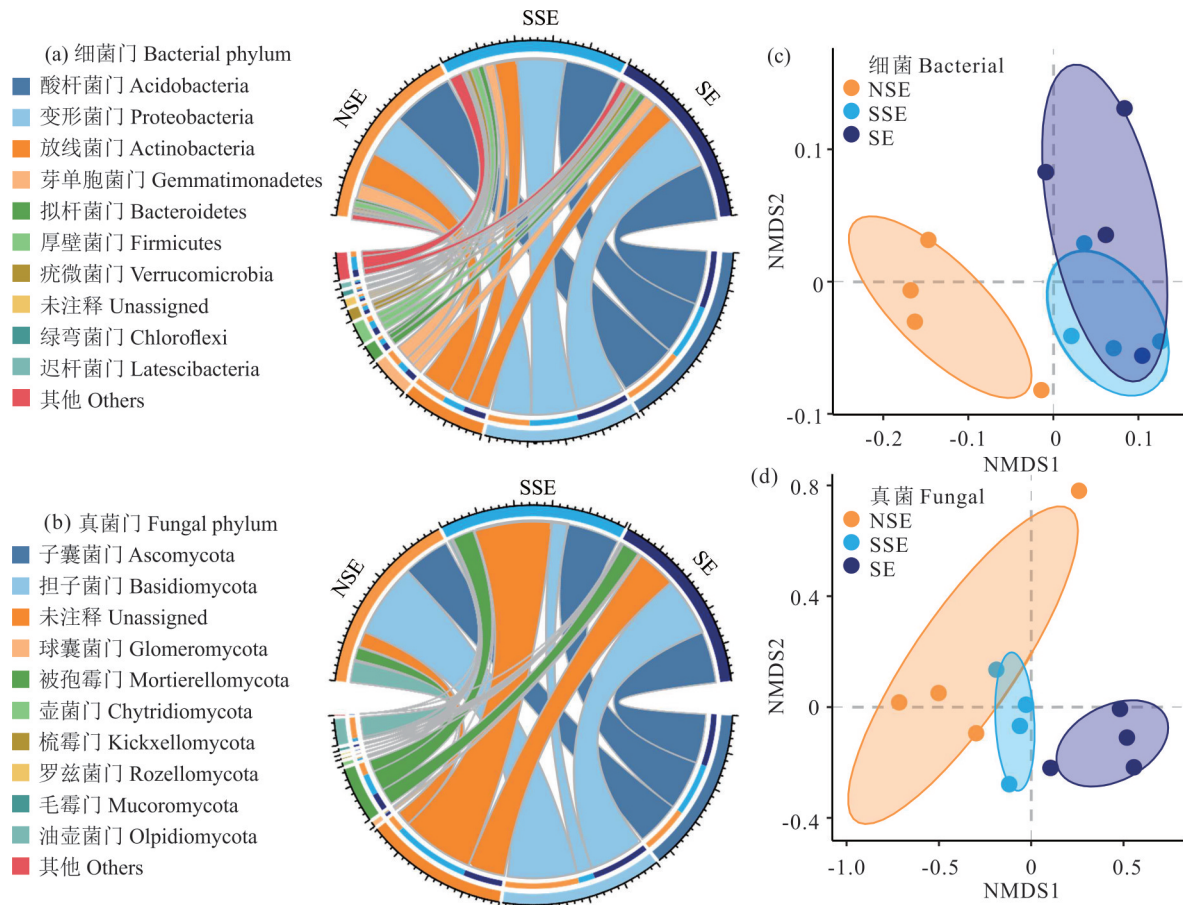


图 2 灌丛化对土壤细菌与真菌门水平群落结构的影响

Fig. 2 Impacts of shrub encroachment on phylum-level community structures of soil bacteria and fungi

NMDS1 和 NMDS2 分别为非线性多维度量分析第一轴与第二轴 NMDS1 and NMDS2 represent the first and second axis of non-metric multidimensional scaling analysis, respectively.

基于上述结果(图 3 和图 5)与前人研究,本研究首先构建了灌丛化对土壤有机碳组分与占比调控的经验模型。土壤有机碳各组分的绝对含量反映了土壤碳库储量,而矿物结合态有机碳的相对占比反映了土壤碳库的稳定性,因此本研究将其作为模型的两个响应变量。为提高模型的解释率与稳健性,基于载荷值与路径的显著性对模型中各个解释变量与通路进行筛选。最终构建的模型拟合优度(goodness of fit)为 0.779(图 6a),证明模型稳健性较高。模型表明,灌丛化促进了 SWC、pH、SOC、TN、TP 与 CA 等土壤理化性质提高,而土壤理化性质不仅直接促进土壤有机碳组分绝对含量的上升,也调控了土壤微生物的群落组成(图 6a)。微生物群落组成的改变,尤其是参与凋落物或木本植物残体降解微生物的提高一方面促进了碳循环相关胞外酶活性的增加,从而提高了有机碳组分的绝对含量,另一方面促进了微生物残体碳的积累,从而导致矿物结合态有机碳相对占比的提高(图 6a)。对于土壤各组分有机碳的含量,土壤理化性质(0.93)与灌丛化(0.87)具有更高的总效应(图 6b),而对于矿物结合态有机碳的相对占比,微生物残体碳的含量(0.60)与土壤微生物群落组成(0.51)具有更高的总效应(图 6c)。

### 3 讨论

#### 3.1 灌丛化对土壤理化与生物性质与有机碳组分的影响

本研究发现,灌木扩张和半灌木扩张显著提高了土壤含水量、土壤有机碳、可溶性有机碳、全氮及全磷含量(表 1),这体现了灌丛化带来的“沃岛效应”<sup>[1]</sup>,与内蒙古典型草原中发现的灌丛化促进土壤水分、碳和养分积累的结果一致<sup>[35-36]</sup>。相较于草本植物,灌木和半灌木在截留富含有机碳及养分的粉尘和土壤微粒方面更为高效,且能

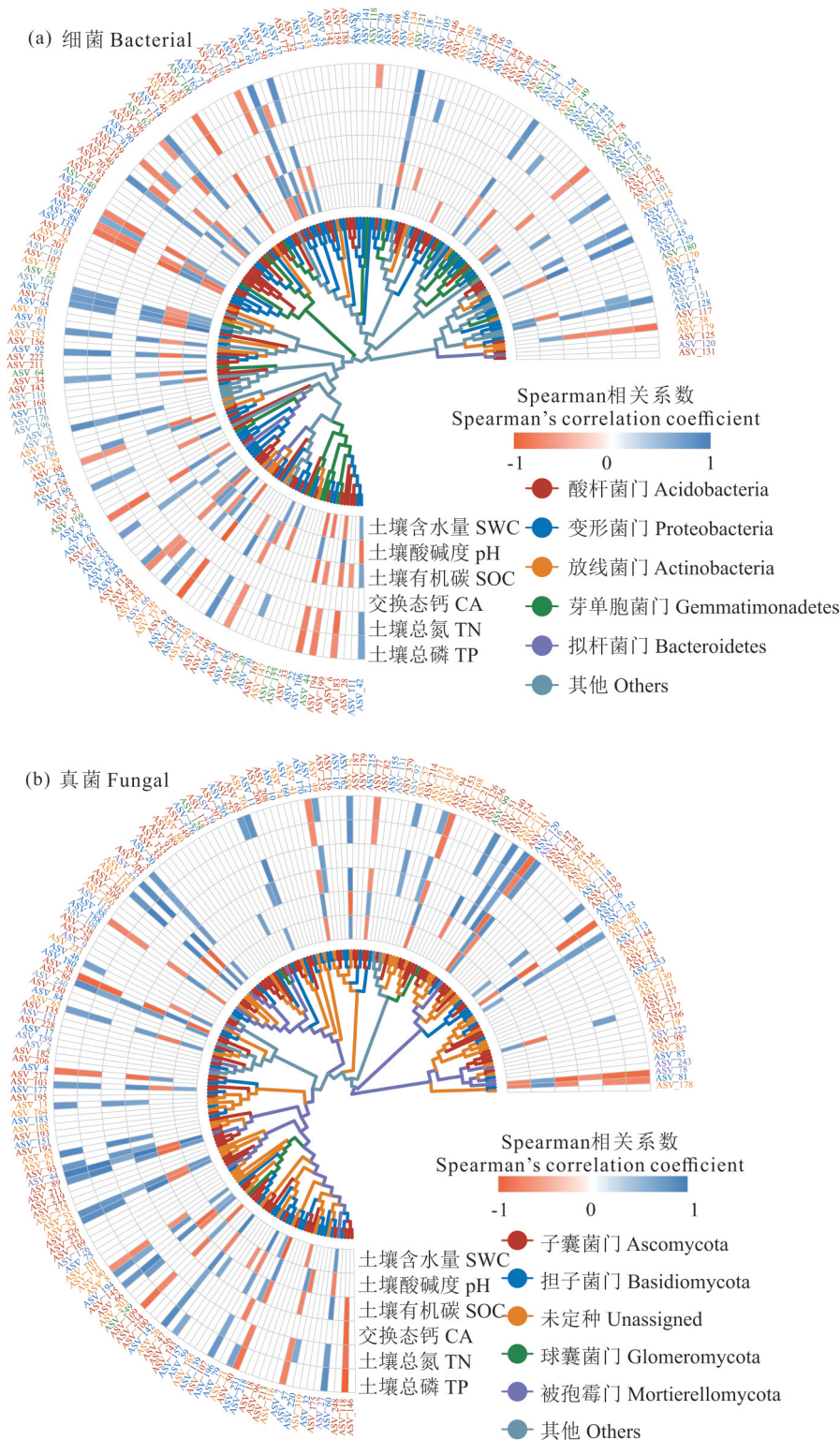


图3 土壤细菌与真菌 ASVs 的系统发育树及与土壤基本理化性质的相关性

Fig. 3 The phylogenetic trees of soil bacterial and fungal ASVs and the correlation between the ASVs and soil basic physicochemical properties

系统发育树中,不同颜色代表 ASVs 属于不同的细菌或真菌门。相关性热图基于 Spearman 相关性,其中不同颜色代表土壤微生物 ASVs 与土壤基础理化性质相关性不同,图中只保留具有统计显著性 ( $P < 0.05$ ) 的相关关系,红色代表负相关,蓝色代表正相关。In the phylogenetic trees, different colors represent ASVs that belong to different bacterial or fungal phylum. In the correlation heatmaps based on Spearman's correlation, different colors indicate different correlations between soil microbial ASVs and soil basic physicochemical properties. Only the correlations with statistical significance ( $P < 0.05$ ) were retained in the heatmaps, where red indicates negative correlations, while blue indicates positive correlations.

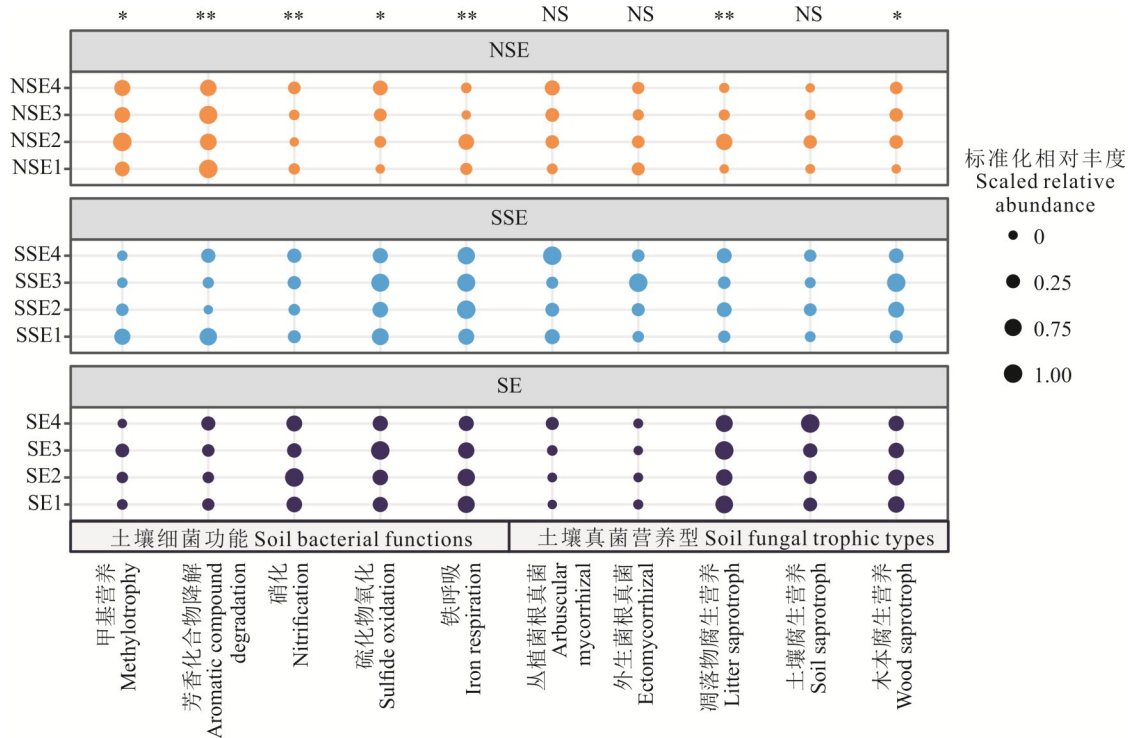


图 4 灌丛化对土壤细菌功能与真菌营养型的影响

Fig. 4 Impacts of shrub encroachment on soil bacterial functions and fungal trophic types

\*\* :  $P < 0.01$ ; \* :  $P < 0.05$ ; NS :  $P > 0.05$ .

有效抑制土壤侵蚀,进而促进土壤水分、有机碳及养分的积累,这一效应在表层土壤中尤为显著<sup>[2]</sup>。灌丛化还通过增加植物凋落物和根系分泌物的总量,并改变其组成,进而调控SOC与养分的含量<sup>[37-38]</sup>。土壤pH在SE与SSE下显著低于NSE(表1),可能是由于灌木凋落物中的有机质分解过程中释放了更多的有机酸<sup>[39]</sup>。而pH的下降可能进而提高碱性土壤中的阳离子交换能力<sup>[40]</sup>,从而导致SE下土壤交换态钙的增加(表1)。此外,本研究发现,灌丛化显著提高了土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性,而对纤维二糖水解酶活性无显著影响(表1)。这一现象可能是由于BG主要参与易降解碳水化合物的水解,而CBH则主要参与纤维素等大分子化合物的降解<sup>[41]</sup>。而灌丛化可能导致土壤易降解的碳水化合物,如DOC的增加<sup>[42]</sup>(表1),从而促进微生物分泌BG以加速对其的降解。

对于土壤有机碳各组分,SE与SSE显著提高了颗粒态有机碳(POC)与矿物结合态有机碳(MAOC)的绝对含量(图1)。土壤POC主要来自部分降解的植物残体<sup>[13]</sup>,因此灌丛化导致向土壤输入的植物残体增加可能促进POC含量提高。而在微生物降解作用下,土壤POC会向MAOC转化<sup>[13]</sup>,因此灌丛化导致的POC含量增加可能间接促进了MAOC含量的增加。此外,土壤有机碳含量的增加可促进土壤微生物的活性并提高其丰度<sup>[43]</sup>,从而提高微生物中储存的碳,最终提高MAOC含量。SSE与SE土壤中细菌、真菌及总体微生物残体碳的显著增加(图1)亦佐证该调控途径。SE与SSE导致MAOC的相对占比显著提高,而POC相对占比显著下降。这一变化可能由于灌丛化导致土壤微生物丰度与活性均显著提高<sup>[4,15]</sup>,不仅直接增加微生物来源碳,也促进POC向MAOC的转化以间接提高MAOC含量,使其相对占比增加。POC为有机碳中较为活跃的组分,而MAOC相对较难被微生物接触并降解<sup>[17]</sup>,因而该结果表明灌丛化可能提高土壤碳库的稳定性,这与内蒙古典型草原中发现灌丛化提高土壤碳库稳定性的结果<sup>[5]</sup>相同。

### 3.2 灌丛化对土壤微生物多样性与功能的影响

SE与SSE对土壤细菌与真菌群落组成影响模式存在差异。SE与SSE土壤细菌群落组成与NSE差异显著,但SSE与SE间不存在显著差异(图2)。研究表明,灌木或半灌木与草本植物在凋落物与根际分泌物的质量与成分上有所不同,从而影响土壤养分与物质输入,并对土壤细菌起到选择作用<sup>[10]</sup>。此外,亦有研究表明半灌木与灌

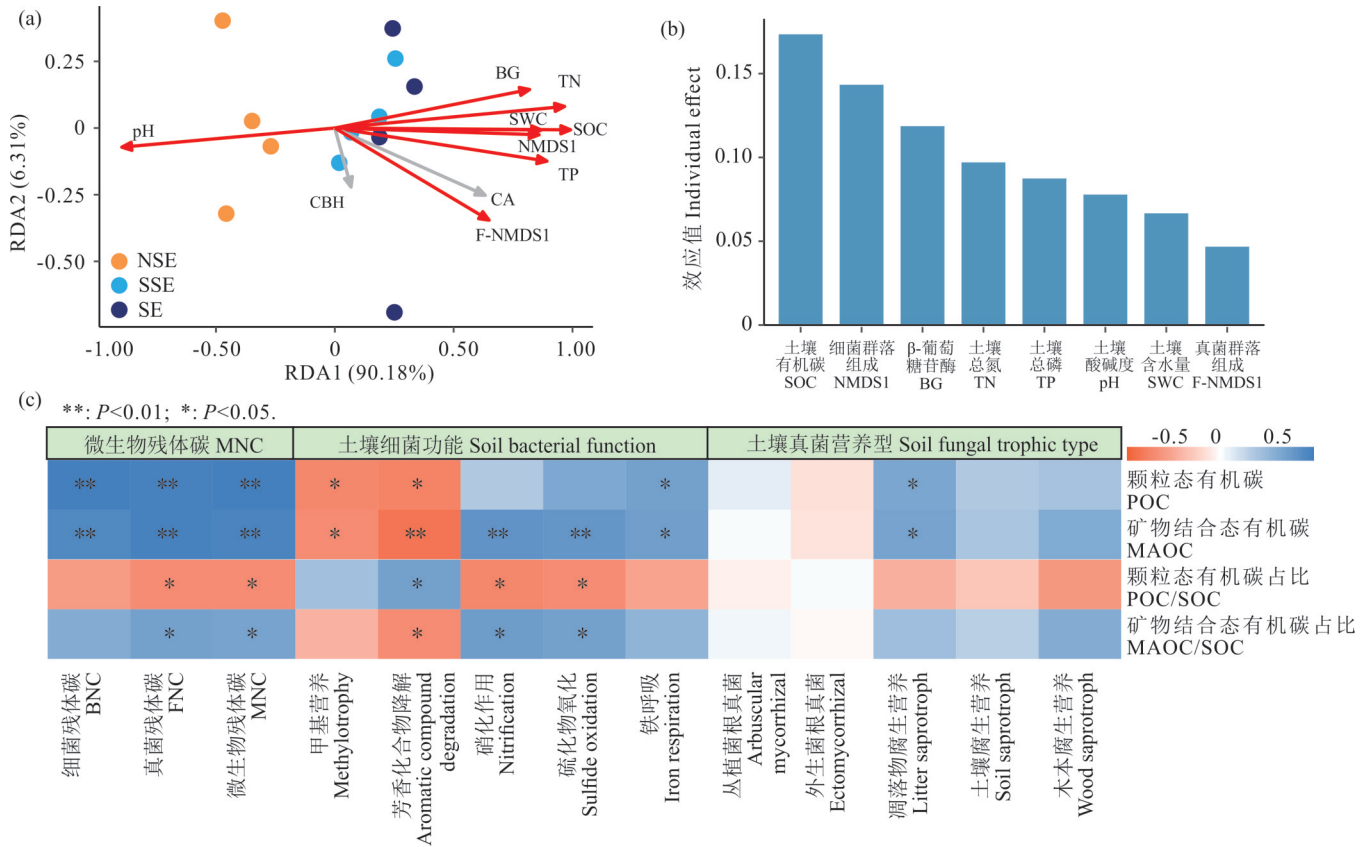


图5 土壤有机碳组分影响因素及土壤有机碳组分与土壤微生物性质的相关分析

Fig. 5 Analysis of the potential drivers of soil organic carbon fraction and the correlation between soil organic carbon fraction and soil microbial properties

(a)土壤理化因子与微生物群落组成对土壤有机碳组分影响的冗余分析,红色箭头所指为对土壤有机碳组分影响显著的解释变量,灰色箭头所指为对其影响不显著的解释变量。NMDS1:土壤细菌群落组成,以非度量多维尺度分析(NMDS)第一轴坐标表征;F-NMDS1:土壤真菌群落组成,以NMDS第一轴坐标表征。(b)各个解释变量对土壤有机碳组分总体变化的贡献。(c)土壤有机碳组分及占比与土壤微生物残体碳、细菌功能与真菌营养型的Pearson相关性热图,红色代表负相关,蓝色代表正相关;星号代表相关的显著性。(a) Redundance analysis for the effects of soil physicochemical properties and microbial community composition on soil carbon fraction. Red arrows point to properties that significantly affect soil organic carbon fraction, while gray arrows point to properties with no significant effect. NMDS1: Community composition of soil bacteria indicated with the first axis of non-metric multidimensional scaling; F-NMDS1: Community composition of soil fungi indicated with the first axis of non-metric multidimensional scaling. (b) Contribution of individual properties on the changes of soil organic carbon fraction. (c) Heatmap based on Pearson's correlation between soil organic carbon fraction as well as the ratio of each fraction to total organic carbon and soil microbial properties including necromass carbon, bacterial functions and fungal trophic types. Red represents negative correlations, while red represents positive correlations. Star marks indicate the significance of correlations.

木的根系形态与草本植物不同,可能通过物理途径影响土壤结构与资源的可利用性,从而影响细菌的群落组成<sup>[44]</sup>。土壤理化性质是调控细菌群落组成的关键因素(图3和图5a,b),一项研究表明灌丛化下土壤水分与养分的增加可能导致细菌群落中富营养型类群增加,而寡营养型类群减少<sup>[45]</sup>;而另一研究表明灌丛化下土壤pH能调控酸杆菌等特定类群的相对丰度,从而影响细菌群落结构<sup>[10]</sup>,本研究发现SWC、SOC与pH在SE和SSE与NSE间差异显著,但在前两者间无显著差异的结果与之相符(表1)。与细菌相反,SE真菌群落组成与SSE和NSE存在显著差异,但SSE与NSE之间差异不显著(图2)。本研究选取的灌木物种为矮脚锦鸡儿,属于豆科固氮植物,可能与白莲蒿及草本植物具有不同的根际共生类型,而后者是解释不同植物物种下土壤真菌群落差异的主要因素,例如固氮植物不仅影响固氮菌的丰度与组成,也能间接调控菌根真菌的类型,从而影响真菌群落组成<sup>[10]</sup>。

相较NSE,SSE与SE土壤细菌的甲基营养与芳香化合物降解功能的相对丰度显著下降,而硝化作用、硫化物氧化与铁呼吸等功能的相对丰度显著提高(图4)。灌木与草本植物的凋落物与根际分泌物化学组成相异<sup>[4]</sup>,如

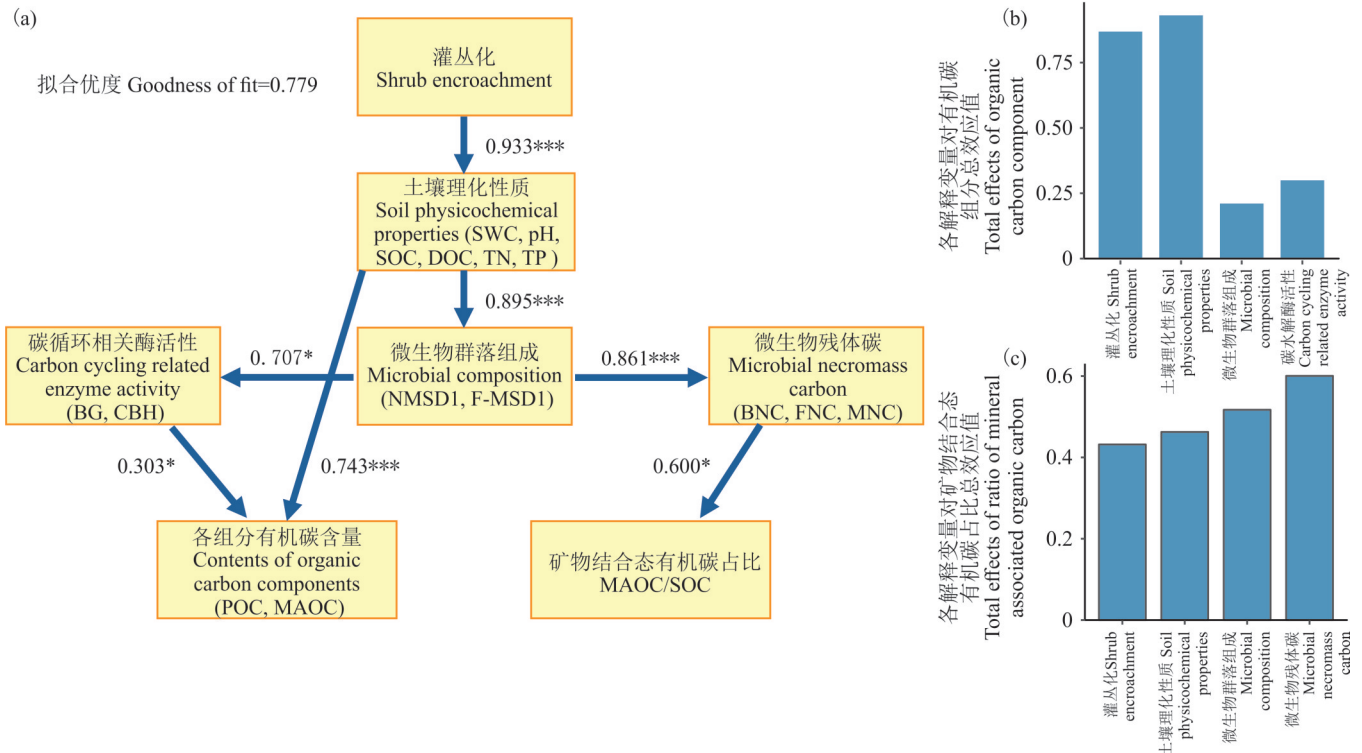


图 6 灌丛化对土壤有机碳组分及其占比调控机制的偏最小二乘路径模型

Fig. 6 The partial-least square path modeling for the regulatory mechanisms of shrub encroachment on soil organic carbon fractions and their ratio to soil total organic carbon

(a): 灌丛化对土壤有机碳组分及矿物结合态有机碳占比调控机制的偏最小二乘路径模型,每个方框代表不同的显变量,方框中括号内的因子为用于计算该显变量的隐变量,箭头代表模型中的路径,其侧数字为该路径标准化路径系数,星号代表路径的统计显著性 The partial-least square path modeling for the regulatory mechanisms of shrub encroachment on soil organic carbon fraction and the ratio of soil mineral-associated organic carbon to total organic carbon. Each square represents each of the different observable variables, the properties bracketed represent hidden variables used to calculate the observable variable. Arrows represent paths in the model, the numbers aside represent the standardized pathway index, the star marks indicate statistical significance of the paths; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*:  $P < 0.05$ .

草本植物细胞壁中果胶含量通常高于灌木木质化细胞壁<sup>[46]</sup>,前者凋落物中果胶含量亦可能较后者更高。果胶是甲醇等单碳化合物的主要来源,因而灌丛化可能降低土壤中甲醇与其他单碳化合物含量,从而使甲基营养细菌相对丰度下降。然而,与之前在青藏高原发现灌丛土壤中细菌芳香化合物降解相对丰度高于草地的结果相反<sup>[47]</sup>,本研究发现灌丛化导致芳香化合物降解功能的下降,这可能由于不同灌木物种对凋落物化学组成与微生物群落的影响不同<sup>[10]</sup>,有待后续研究。此外,灌丛化可能通过促进土壤能量输入与养分积累(表 1),提高土壤细菌参与元素循环的活性,从而提高土壤细菌硝化作用、硫化物氧化与铁呼吸等功能相对丰度(图 4),与在青藏高原高山草地的研究<sup>[48]</sup>中发现灌丛化导致土壤细菌氮硫循环相关功能提高的结果一致。而在土壤真菌营养型中,凋落物腐生营养与木本腐生营养的相对丰度在 SE 与 SSE 下显著提高(图 4)。这可能是由于与草本植物相比,灌木与半灌木的凋落物总量与木质素含量均更高,为凋落物腐生与木本腐生的土壤真菌提供了更多碳源与更适宜的环境,从而促进这些营养型相对丰度提升。

### 3.3 灌丛化对土壤有机碳组分及占比的微生物调控机制

灌丛化对 SOC 组分的绝对含量与相对占比具有不同的调控机制(图 6a)。对于各组分有机碳绝对含量,土壤理化性质同时为直接与间接的调控因子,碳循环相关的胞外酶活性为另一直接调控因子,而微生物群落组成则通过影响酶活性对其起到间接调控作用(图 6a)。土壤理化性质对于有机碳组分绝对含量的直接调控效应可能主要源于 SOC。作为土壤各有机碳组分的总体,SOC 的提高通常伴随着各组分有机碳含量的提高<sup>[17]</sup>。冗余分析亦表明,SOC 是土壤碳组分最重要的解释因子(图 5b)。而 SWC、TN、TP 等其他理化性质可能主要通过影响土壤

微生物群落结构间接调控有机碳组分。同时, BG 与 CBH 则可能通过直接参与 POC 与 MAOC 的生产影响其绝对含量, 因为 POC 与 MAOC 分别主要来自部分降解的植物残体与微生物残体, 而这些组分的降解均离不开胞外酶<sup>[13]</sup>。一项在青藏高原高寒草甸的研究亦报道, 碳循环相关酶通过调节植物残体对有机碳组分产生显著影响<sup>[19]</sup>。而对于 MAOC 的相对占比, MNC 是重要的直接调控因子, 微生物群落结构则通过调控 MNC 起到间接调控作用(图 6a, c)。不同的土壤微生物类群在土壤碳循环中扮演不同角色, 如厚壁菌门细菌与拟杆菌门细菌增加可能促进有机碳积累<sup>[49]</sup>, 而变形菌门增加可能促进小分子有机碳的降解<sup>[50]</sup>, 因而土壤微生物群落结构变化对有机碳组分存在重要影响。此外, MNC 是 MAOC 的重要来源, 在黄土高原草地中, 其对 MAOC 的贡献显著高于对 POC 的贡献<sup>[11]</sup>, 因而 MNC 的提高对 MAOC 的促进作用可能高于 POC, 最终导致 MAOC 相对占比的升高。相关性分析表明, FNC 比 BNC 对于 MAOC 相对占比的相关性更显著(图 5c), 与之前的研究发现真菌是微生物残体碳主要贡献者的结果一致<sup>[10]</sup>。

本研究发现, 在土壤微生物介导下, 黄土高原长期封育草地中发生的灌丛化不仅促进 SOC 含量提高, 也促进其各组分绝对含量的上升。与草本植物相比, 灌木对土壤碳的利用与富集能力通常更强, 在碳源丰富的环境中可能有更高的竞争能力<sup>[51]</sup>。因而该结果提示, 继续维持封育措施可能导致灌丛化程度加深, 进一步影响草地景观与生态功能。然而, 灌丛化导致 MAOC 相对占比的提高则提示土壤有机碳库的稳定性提高, 其对升温的敏感性可能下降, 并可能通过降低土壤碳排放抑制全球变暖的正反馈<sup>[52]</sup>。因此, 对黄土高原灌丛化草地进行管理时, 应综合考量灌丛化的各项生态效应, 以制定适合的管理措施。

#### 4 结论

黄土高原长期封育导致的灌丛化显著提高了土壤 DOC、POC 与 MAOC 等组分的绝对含量, 同时提高了 MAOC 相对占比, 但降低了 POC 的相对占比。此外, 灌丛化显著影响了土壤微生物的群落组成、细菌功能特征与真菌的营养型。土壤微生物群落结构变化所介导的碳循环相关酶活性提高与微生物残体碳增加分别是各组分有机碳含量与 MAOC 占比的直接调控因子, 而土壤理化性质不仅间接调控有机碳组分与 MAOC 占比, 也对前者有直接调控作用。综合以上结果, 灌木扩张不仅导致黄土高原草地有机碳库总量增加, 也通过提高 MAOC 占比提高其稳定性, 可能导致该区灌丛化程度进一步加深, 但也使草地碳库面对全球变暖等干扰具有更高的抵抗力。而微生物群落结构、其分泌的碳循环相关胞外酶活性及残体碳共同在上述过程中起到关键调控作用。

#### 参考文献 References:

- [1] Van Auken O W. Causes and consequences of woody plant encroachment into western North American grasslands. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(10): 2931–2942.
- [2] Eldridge D J, Bowker M A, Maestre F T, *et al.* Impacts of shrub encroachment on ecosystem structure and functioning: Towards a global synthesis. *Ecology Letters*, 2011, 14(7): 709–722.
- [3] Li M H, Li Y H, Yan X H, *et al.* Characteristics of plant diversity and aboveground productivity and their relationship driven by subshrub expansion. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(5): 27–39.  
李美慧, 李玉华, 晏昕辉, 等. 半灌木扩张驱动的草地植物多样性与地上生产力特征及其关系研究. *草业学报*, 2023, 32(5): 27–39.
- [4] Guo Q, Wen Z, Ghanizadeh H, *et al.* Shift in microbial communities mediated by vegetation-soil characteristics following subshrub encroachment in a semi-arid grassland. *Ecological Indicators*, 2022, 137: 108768.
- [5] Li H, Shen H H, Chen L Y, *et al.* Effects of shrub encroachment on soil organic carbon in global grasslands. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 28974.
- [6] Zhang D, Liu J Q, Ma W M, *et al.* Effects of shrub encroachment on soil organic carbon components in Qinghai-Tibetan alpine grassland. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(6): 1810–1821.  
张东, 刘金秋, 马文明, 等. 灌丛化对高寒草地土壤有机碳组分的分异研究. *土壤学报*, 2023, 60(6): 1810–1821.
- [7] Bai Y, Cotrufo M F. Grassland soil carbon sequestration: Current understanding, challenges, and solutions. *Science*, 2022, 377(6606): 603–608.

- [8] Thomas A D, Elliot D R, Dougill A J, *et al.* The influence of trees, shrubs, and grasses on microclimate, soil carbon, nitrogen, and CO<sub>2</sub> efflux: Potential implications of shrub encroachment for Kalahari rangelands. *Land Degradation & Development*, 2018, 29(5): 1306–1316.
- [9] Wei Y Y, Cui L J, Zhang M Y, *et al.* Research advances in microbial mechanisms underlying priming effect of soil organic carbon mineralization. *Chinese Journal of Ecology*, 2019, 38(4): 1202–1211.  
魏圆云, 崔丽娟, 张曼胤, 等. 土壤有机碳矿化激发效应的微生物机制研究进展. *生态学杂志*, 2019, 38(4): 1202–1211.
- [10] Collins C G, Spasojevic M J, Alados C L, *et al.* Belowground impacts of alpine woody encroachment are determined by plant traits, local climate, and soil conditions. *Global Change Biology*, 2020, 26(12): 7112–7127.
- [11] Zhou Y, Li Y Y, Li N, *et al.* Contribution of soil microbial necromass carbon to soil organic carbon in grassland under precipitation change and its influencing factors in loess hilly region, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2024, 35(9): 2592–2598.  
周玥, 李娅芸, 李娜, 等. 黄土丘陵区降水变化下草地土壤微生物残体碳对土壤有机碳组分的贡献及其影响因素. *应用生态学报*, 2024, 35(9): 2592–2598.
- [12] Zhang G, Cao Z P, Hu C J. Soil organic carbon fraction methods and their applications in farmland ecosystem research: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(7): 1921–1930.  
张国, 曹志平, 胡婵娟. 土壤有机碳分组方法及其在农田生态系统研究中的应用. *应用生态学报*, 2011, 22(7): 1921–1930.
- [13] Zhang R B, Wang J S, Wang Q C, *et al.* Responses of soil particulate and mineral-associated organic carbon to climate warming: A review. *Progress in Geography*, 2023, 42(12): 2471–2484.  
张睿博, 汪金松, 王全成, 等. 土壤颗粒态有机碳与矿物结合态有机碳对气候变暖响应的研究进展. *地理科学进展*, 2023, 42(12): 2471–2484.
- [14] Lugato E, Lavallee J M, Haddix M L, *et al.* Different climate sensitivity of particulate and mineral-associated soil organic matter. *Nature Geoscience*, 2021, 14(5): 295–300.
- [15] Liu F, Qin S, Fang K, *et al.* Divergent changes in particulate and mineral-associated organic carbon upon permafrost thaw. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5073.
- [16] Ramesh T, Bolan N S, Kirkham M B, *et al.* Soil organic carbon dynamics: Impact of land use changes and management practices: A review. *Advances in Agronomy*, 2019, 156: 1–107.
- [17] Li X, Geng H, Gao Y H, *et al.* Effects of *Caragana erinacea* shrub expansion on soil organic carbon mineralization in alpine grassland. *Acta Ecologica Sinica*, 2024, 44(16): 7150–7159.  
黎莹, 耿行, 高永恒, 等. 川西锦鸡儿灌木扩张对高寒草地土壤有机碳矿化的影响. *生态学报*, 2024, 44(16): 7150–7159.
- [18] Abrigo M, Lezama F, Grela I, *et al.* Grazing exclusion effects on vegetation structure and soil organic matter in savannas of Rio de la Plata grasslands. *Journal of Vegetation Science*, 2024, 35(5): e13304.
- [19] Li X, Chen D Y, Li L A, *et al.* Response of soil organic carbon active components to shrub encroachment in alpine meadows. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2024, 44(3): 317–325, 334.  
黎莹, 陈东毅, 李良安, 等. 高寒草甸土壤有机碳活性组分对灌丛化的响应. *水土保持通报*, 2024, 44(3): 317–325, 334.
- [20] Su Y, He Z, Yang Y, *et al.* Linking soil microbial community dynamics to straw-carbon distribution in soil organic carbon. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 5526.
- [21] Tang X, Lyu S, Wang T, *et al.* Microbial traits affect soil organic carbon stability in degraded Moso bamboo forests. *Plant and Soil*, 2024: 1–21. DOI: 10.1007/s11104-024-06908-z.
- [22] Yuan X, Chen Y, Qin W, *et al.* Plant and microbial regulations of soil carbon dynamics under warming in two alpine swamp meadow ecosystems on the Tibetan Plateau. *Science of the Total Environment*, 2021, 790: 148072.
- [23] Li Z S, Yang L, Wang G L, *et al.* The management of soil and water conservation in the Loess Plateau of China: Present situations, problems, and counter-solutions. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(20): 7398–7409.  
李宗善, 杨磊, 王国梁, 等. 黄土高原水土流失治理现状、问题及对策. *生态学报*, 2019, 39(20): 7398–7409.
- [24] Dong L B, Hai X Y, Wang X Z, *et al.* Effects of plant community dynamics on ecosystem carbon stocks since returning farmlands to grasslands on the Loess Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(23): 8559–8569.  
董凌勃, 海旭莹, 汪晓珍, 等. 黄土高原退耕还草地植物群落动态对生态系统碳储量的影响. *生态学报*, 2020, 40(23): 8559–8569.
- [25] Guo L, Cheng J, Luedeling E, *et al.* Critical climate periods for grassland productivity on China's Loess Plateau. *Agricultural*

- and Forest Meteorology, 2017, 233: 101–109.
- [26] Zhang Y W, Chang X F, Zhang Y W. Spatial pattern of shrub patches in a grassland fenced for a long term in Yunwu Mountain on the Loess Plateau. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(12): 3802–3808.  
张译文, 常小峰, 张玉薇. 黄土高原云雾山长期封育草地灌丛化空间分布格局. *草地学报*, 2023, 31(12): 3802–3808.
- [27] Liang C, Amelung W, Lehmann J, *et al.* Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter. *Global Change Biology*, 2019, 25(11): 3578–3590.
- [28] Shi Y P, Qiao L, Chen L X, *et al.* Spatiotemporal heterogeneity of soil particulate and mineral-associated organic carbon of forest gaps in *Pinus koraiensis* coniferous and broad-leaved mixed forest. *Scientia Silvae Sinicae*, 2014, 50(6): 18–27.  
石亚攀, 乔璐, 陈立新, 等. 红松针阔混交林林隙土壤颗粒有机碳和矿物结合有机碳的时空异质性. *林业科学*, 2014, 50(6): 18–27.
- [29] Zhang Y H, Li Y, Zhou Y, *et al.* Changes of soil nutrients and organic carbon fractions in *Caragana korshinskii* forests with different restoration years in mountainous areas of southern Ningxia, China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2024, 35(3): 639–647.  
张羽涵, 李瑶, 周玥, 等. 宁南山区不同恢复年限柠条林土壤养分及有机碳组分变化特征. *应用生态学报*, 2024, 35(3): 639–647.
- [30] Liu Y, Chen L, Ma T, *et al.* EasyAmplicon: An easy-to-use, open-source, reproducible, and community-based pipeline for amplicon data analysis in microbiome research. *iMeta*, 2023, 2(1): e83.
- [31] Cole J R, Wang Q, Fish J A, *et al.* Ribosomal database project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(D1): D633–D642.
- [32] Abarenkov K, Nilsson R H, Larsson K H, *et al.* The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: Sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(D1): D791–D797.
- [33] Xu S, Li L, Luo X, *et al.* ggtree: A serialized data object for visualization of a phylogenetic tree and annotation data. *iMeta*, 2022, 1(4): e56.
- [34] Lai J, Zou Y, Zhang J, *et al.* Generalizing hierarchical and variation partitioning in multiple regression and canonical analyses using the rdacca.hp R package. *Methods in Ecology and Evolution*, 2022, 13(4): 782–788.
- [35] Li H, Zhang J, Hu H, *et al.* Shift in soil microbial communities with shrub encroachment in Inner Mongolia grasslands, China. *European Journal of Soil Biology*, 2017, 79: 40–47.
- [36] Zhang Z H, Li X Y, Yang X, *et al.* Changes in soil properties following shrub encroachment in the semiarid Inner Mongolian grasslands of China. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 66(2): 369–378.
- [37] Pan J, An C P, Wu X D, *et al.* Distribution pattern of nutrients in the thickening of 2 types of *Caragana* in desert steppe. *Journal of Water and Soil Conservation*, 2015, 29(6): 131–136.  
潘军, 安超平, 吴旭东, 等. 荒漠草原2种锦鸡儿灌丛化过程中土壤养分分布规律. *水土保持学报*, 2015, 29(6): 131–136.
- [38] Liu X L, Hu J, Zhou Q P, *et al.* Effects of typical shrub-encroached grassland on vegetation characteristics and soil nutrients in the Zoige Plateau. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(4): 901–908.  
刘小龙, 胡健, 周青平, 等. 若尔盖高原典型草地灌丛化对植被特征和土壤养分的影响. *草地学报*, 2022, 30(4): 901–908.
- [39] Malik A A, Swenson T, Weihe C, *et al.* Drought and plant litter chemistry alter microbial gene expression and metabolite production. *The ISME Journal*, 2020, 14(9): 2236–2247.
- [40] Wei X R, Shao M A. Distribution characteristics of soil pH, CEC, and organic matter in a small watershed of the Loess Plateau. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(11): 2710–2715.  
魏孝荣, 邵明安. 黄土高原小流域土壤pH、阳离子交换量和有机质分布特征. *应用生态学报*, 2009, 20(11): 2710–2715.
- [41] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, *et al.* Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 2008, 11(11): 1252–1264.
- [42] Zhang S, Zhang Q, Li Y, *et al.* Shrubs have a greater influence on the nonstructural carbohydrates of desert mosses along precipitation decreased. *Environmental and Experimental Botany*, 2023, 216: 105530.
- [43] Zhang Y Y, Mo F, Han J, *et al.* Research progress on the native soil carbon priming after straw addition. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(6): 1381–1392.  
张叶叶, 莫非, 韩娟, 等. 秸秆还田下土壤有机质激发效应研究进展. *土壤学报*, 2021, 58(6): 1381–1392.

- [44] Xiang X, Gibbons S M, Li H, *et al.* Shrub encroachment is associated with changes in soil bacterial community composition in a temperate grassland ecosystem. *Plant and Soil*, 2018, 425(1/2): 539–551.
- [45] Hu X, Li X Y, Zhao Y, *et al.* Changes in soil microbial community during shrub encroachment process in the Inner Mongolia grassland of northern China. *Catena*, 2021, 202: 105230.
- [46] Voragen A G J, Coenen G J, Verhoef R P, *et al.* Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 2009, 20(2): 263–275.
- [47] Zhang X, Zhao W, Kou Y, *et al.* Secondary forest succession drives differential responses of bacterial communities and interactions rather than bacterial functional groups in the rhizosphere and bulk soils in a subalpine region. *Plant and Soil*, 2023, 484(1/2): 293–312.
- [48] Zhang Y C, Jia B, Chen J, *et al.* Shrub expansion increases nitrification and denitrification in alpine meadow soils. *Applied Soil Ecology*, 2024, 201: 105524.
- [49] Hou J W, Xing C F, Yang L L, *et al.* Differences in soil fertility and bacterial community structure between carbon inputs such as biochar and organic fertilizer and their relationship. *Environmental Science*, 2024, 45(7): 4212–4227.  
侯建伟, 邢存芳, 杨莉琳, 等. 生物炭与有机肥等碳量投入土壤肥力与细菌群落结构差异及关系. *环境科学*, 2024, 45(7): 4212–4227.
- [50] Shu Q, Gao S H, Liu X M, *et al.* Soil enzyme activities and microbial carbon pump promote carbon storage by influencing bacterial communities under nitrogen-rich conditions in tea plantation. *Agriculture*, 2025, 15(3): 238.
- [51] Peltzer D A, Kochoy M. Competitive effects of grasses and woody plants in mixed-grass prairie. *Journal of Ecology*, 2001, 89(4): 519–527.
- [52] Lal R. Soil carbon management and climate change. *Carbon Management*, 2013, 4(4): 439–462.