论文

生物有机指标在气候和环境变化研究中的应用进展专题

青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的分布特征

戴国华^①, 朱珊珊^①, 刘宗广^①, 陈立同^②, 贺金生^{②③}, 冯晓娟^{①*}^① 中国科学院植物研究所, 植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093;^② 中国科学院西北高原生物研究所, 高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810008;^③ 北京大学城市与环境学院生态学系, 北京 100871

* 通讯作者, E-mail: xfeng@ibcas.ac.cn

收稿日期: 2015-09-29; 接受日期: 2016-01-08; 网络版发表日期: 2016-05-23

国家重点基础研究发展计划项目(编号: 2014CB954003, 2015CB954201)、国家自然科学基金项目(批准号: 31370491, 41503073)、国家青年千人计划项目和中国科学院战略性先导科技专项项目(编号: XDA05050404)资助

摘要 脂肪酸作为一种重要的生物标志物, 已被广泛用于沉积物和土壤中有机质来源的示踪。青藏高原是世界上海拔最高的高原, 也是亚洲许多大河沉积物的主要源。本研究在青藏高原高寒草地选择 17 个采样点, 采集不同土层深度的土壤样品, 通过测定土壤样品中总有机质参数和生物标志物脂肪酸的含量与组成, 并结合环境要素(气温、降水和土壤理化性质)数据, 阐明了青藏高原高寒草地不同土层深度脂肪酸的组成、来源和分布特征。结果表明: 脂肪酸呈双峰型分布, 以 C_{16} 和偶碳长链脂肪酸(C_{20} ~ C_{30})为主, 表明土壤微生物和高等植物的混合输入源。源解析结果显示高等植物对青藏高原土壤中脂肪酸含量的贡献至少达 40%。脂肪酸的含量随土层深度增加而降低, 最大值为 $(1.08 \pm 0.09) \text{ mg/g OC}$ (以 OC 计) 出现在 0~10cm 层, 最小值为 $(0.46 \pm 0.12) \text{ mg/g OC}$ 出现在 50~70cm 层, 植物组织的输入在深层土壤中急剧减少是导致此现象的主要原因。与环境因子的相关性分析表明, 脂肪酸总含量与年平均气温($P < 0.05$)和土壤 pH($P < 0.01$)呈显著负相关关系, 表明低温和低土壤 pH 更有益于青藏高原土壤中脂肪酸的保存。新鲜有机质来源的脂肪酸含量与年均降水呈显著正相关关系($P < 0.05$), 表明降水有助于新鲜有机质来源的脂肪酸在青藏高原土壤中的累积。此外, 其他环境因素, 如土壤矿物含量(铁、铝氧化物)、微生物群落组成、枯落物的质量和数量等, 对青藏高原土壤中脂肪酸保留所起的作用亟待进一步研究, 以便更好理解青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的保留机理。

关键词 青藏高原, 土壤有机质, 生物标志物, 脂肪酸, 分布, 源

1 引言

生物标志物(biomarker)是记载了原始生物母质

(如高等植物和微生物)的特殊分子结构信息的有机化合物(Kögel-Knabner, 2002; Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007)。脂肪酸是构成生物体的主要

中文引用格式: 戴国华, 朱珊珊, 刘宗广, 陈立同, 贺金生, 冯晓娟. 2016. 青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的分布特征. 中国科学: 地球科学, 46: 756~766, doi: 10.1360/07SCES-2015-0122
英文引用格式: Dai G H, Zhu S S, Liu Z G, Chen L T, He J S, Feng X J. 2016. Distribution of fatty acids in the alpine grassland soils of the Qinghai-Tibetan Plateau. Science China Earth Sciences, 59: 1329~1338, doi: 10.1007/s11430-016-5271-2

有机成分之一, 由于具有高度的生物专一性, 因而可以用来判断沉积物和土壤中有机质的来源(Jandl等, 2005; Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007). 土壤中来源于植物、微生物和土壤动物的脂肪酸是土壤有机质中脂肪族化合物的重要组成部分(Otto和Simpson, 2005). 脂肪酸在土壤形成以及土壤有机质的稳定性方面具有重要作用. 过去的几十年中, 脂肪酸已经成功用于沉积物中有机质来源和稳定性的研究(Perry等, 1979; Camacho-Ibar等, 2003; Hu等, 2006; Morgunova等, 2012; Huang等, 2015), 为沉积物有机质的组成、来源和生物地球化学循环提供了大量的宝贵信息.

近些年来, 脂肪酸分析方法被用于森林和草地土壤碳循环研究中, 用于推断土壤有机质的来源、稳定性及转化过程等(如, Bull等, 2000; Naafs等, 2004; Jandl等, 2005; Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007). 然而, 对高寒草地土壤中脂肪酸分布特征的研究较少. 鉴于此, 本研究选择青藏高原——世界海拔最高的高原, 其面积约为250万平方公里, 平均海拔4000m, 作为研究区开展高寒草地土壤中脂肪酸分布特征的研究. 青藏高原植被类型以高寒草甸、高寒草原和高寒草甸草原为主, 覆盖高原面积60%, 约占全国草地面积的40%(Yang等, 2008). 冷湿的气候条件使青藏高原土壤储存了大量碳(Yang等, 2008; Shi等, 2012). 由于其独特的地理位置和生态条件, 青藏高原土壤有机质在区域和全球碳循环中扮演着重要角色, 并为亚洲许多大河, 如长江、黄河和湄公河沉积物提供了主要物质源. 近年来, 一些研究者指出青藏高原是全球气候变化的高度敏感区, 全球气候变化会导致青藏高原高寒草地退化和土壤有机质在微生物降解和河流迁移作用下的大量流失(Baumann等, 2009; Lin等, 2011; Chen等, 2013; Dörfer等, 2013). 然而目前对青藏高原土壤有机质的研究局限于碳、氮等整体参数的测定, 对青藏高原高寒草地土壤中生物标志物脂肪酸的分析能更清晰地阐明全球气候变化背景下土壤的碳动态, 并为示踪发源于青藏高原的河流中沉积物的源提供重要信息(Bull等, 2000; Feng和Simpson, 2007; Feng等, 2013). 基于此, 本研究于2012年8月在青藏高原选择了17个采样点采集土壤剖面, 通过对土壤样品中脂肪酸的检测分析, 并结合气候和土壤性质等的观测, 主要达到以下三个方面目

标: (1) 阐明青藏高原土壤中脂肪酸的组成与分布特征; (2) 定量表征植物和微生物来源的有机质对土壤中脂肪酸的贡献量; (3) 评价气温、降水以及土壤理化性质对青藏高原土壤中脂肪酸分布的影响.

2 材料与方法

2.1 土壤样品采集

全部土壤样品于2012年8月在青藏高原中部的17个采样点采集(图1). 每个采样点土壤样品用内径50cm的土钻按0~10、10~20、20~30和50~70cm分层采集, 部分采样点20~30和50~70cm未能获取, 每个采样点设置3个平行土壤剖面, 共采集了162个土壤样品. 样品采集前, 利用GPS定位仪记录采样点的经纬度和海拔高度, 同时对采样点周边环境状况及植物群落特征进行描述, 详见表1. 研究区纬度范围为28.31°~37.41°N, 海拔高度在3130~5418m之间, 其植被类型主要为高寒草甸(如, *Kobresia pygmaea*、*Kobresia humilis*和*Saussurea* sp.)和高寒草原(*Stipa purpurea*、*Stipa subsessiliflora*和*Carex lanceolata*), 详见表1. 土壤样品采集后带回实验室, 自然风干、去除杂质、过2 mm筛和研磨, 用于生物标志物及土壤理化性质的测定.

2.2 环境参数分析

每个采样点的气候数据是以全国680个气象站点30年平均气温(MAT)和平均降水(MAP)的经度、纬度和海拔为变量, 利用线性模型外推计算得到(He等, 2006). 研究区域内MAP变为范围为193~529mm, 其中80%的MAP发生在7~9月; MAT变化在-4.35~3.01℃之间. 每个采样点地理位置、MAT、MAP及植被类型数据见表1所示.

土壤pH: 采用水浸法测定, 即研磨过筛后的土壤样品按1:2.5(质量:体积)浸泡于1mol/L的NaCl溶液中, 玻璃棒搅拌混匀, 待至溶液澄清, 用pH计测定, 即为土壤pH(Ding等, 2015). 土壤粒径分析: 称取1.0g土样与过量的盐酸(1mol/L)和过氧化氢(30%)反应, 分别去除碳酸盐和有机质, 然后加入六偏磷酸钠, 静置24h, 超声1min后用粒度仪(Mastersize 2000)测定土壤粒径百分比(Sun等, 2011); 粒径扫描范围在0.02~2000μm之间, 粒径分级划分为3个组分: 砂

图 1 采样点位置示意图

表 1 采样点地理位置、年平均气温(MAT)、年均降水(MAP)及主要植被类型

采样点	纬度(N)	经度(E)	海拔(m)	MAT (°C)	MAP (mm)	主要植被类型
P783	36.98°	100.92°	3130	1.49	437	高寒草甸草原
P793	35.71°	94.28°	4374	-4.35	193	高寒草甸
P804	32.19°	91.68°	4632	-3.01	510	高寒和亚高寒草甸
P806	31.58°	91.86°	4594	-1.22	459	高寒草甸
P811	30.62°	91.54°	4542	-0.30	529	高寒草甸
P815	37.41°	100.11°	3370	-1.84	429	高寒草甸草原
P816	29.28°	90.64°	3630	3.01	381	高寒荒漠草原
P818	29.20°	90.62°	4721	2.99	369	高寒和亚高寒草甸
P819	29.21°	90.64°	4544	3.01	381	高寒和亚高寒草甸
P821	29.23°	90.63°	4148	3.01	381	高寒草甸草原
P826	28.89°	90.30°	4666	-1.80	364	高寒草甸草原
P830	28.31°	89.47°	4441	0.92	315	高寒草甸
P835	28.56°	87.79°	4212	1.96	377	高寒荒漠草原
P839	28.94°	87.44°	5216	-1.40	354	高寒草甸
P858	29.90°	90.13°	5418	-2.75	452	高寒和亚高寒草甸
P860	29.87°	90.12°	5065	-2.75	452	高寒和亚高寒草甸
P862	29.80°	90.03°	4627	-1.37	419	高寒和亚高寒草甸

(20~2000 μm), 粉砂(2~20 μm)和黏土(<2 μm). 土壤有机碳(OC)和总氮(TN)采用Vario EL III elementar元素分析仪测定. 土壤所有理化参数分析, 每个样品设置2个平行样, 取平均值.

2.3 脂肪酸的萃取与分析

脂肪酸的萃取参考文献(Feng和Simpson, 2007)中的方法, 并有所改进. 称取5~8g研磨后的土壤样品, 分别用二氯甲烷、二氯甲烷:甲醇(体积比, 1:1)、

甲醇各30mL超声萃取3次. 萃取液(约100mL)加入C₁₈烷烃作为替代内标, 然后用经过450℃灼烧的玻璃纤维滤膜(Whatman GF/F)过滤, 过滤后的萃取液旋转蒸发浓缩至近干. 浓缩后的萃取液过硅胶柱(内径0.5cm)净化分离, 碳氢化合物组分用15mL正己烷洗脱, 脂肪酸组分用10~15mL甲醇洗脱. 脂肪酸组分洗脱液氮气吹干至2mL进样小瓶中, 然后加入1mL二氯甲烷: 甲醇(1:1)混合液进行溶解. 取100μL此溶液, 在氮气下吹干, 加入90μL BSTFA(双(三甲基硅烷基)氟乙酰胺)和10μL吡啶, 在70℃下衍生化3h, 冷至室温后加入100μL二氯甲烷以备GC-MS检测分析.

脂肪酸用Trace GC 1310-ISQ检测分析. 色谱柱为DB-5 MS(柱长30m, 内径0.25mm, 涂层0.25μm). 色谱条件为: 柱温箱初始温度65℃, 保持2min, 以6℃/min升温至300℃保持15min. 载气为氦气, 气流速度为1.2mL/min. 质谱电离源为EI源, 工作电压为70eV, 质量数采集范围为50~650道尔顿. 脂肪酸的定量用C₁₉脂肪酸甲酯作为定量内标进行定量.

2.4 源解析方法

利用主成分分析(PCA)和多元线性回归(MLR)方法对脂肪酸数据进行分析, 可定量表征不同源(植物和微生物源)对青藏高原土壤中脂肪酸含量的贡献率. PCA的目的是降维: 减少相关变量, 用最少的因子数解释最大的变异. 对最重要的几个因子采样MLR中逐步回归方法(stepwise)计算不同源(因子)对脂肪酸总浓度的贡献量. 标准化后的PCA-MLR模型为

$$\hat{Z}_{\text{SumFAs}} = \sum B_k t_k, \quad (1)$$

式中, SumFAs是脂肪酸的总浓度, $\hat{Z}$ 是SumFAs的标准正态偏差, B_k 为方程的回归系数, t_k 是PCA计算得到的因子得分.

每个源(因子)的平均贡献比率可用下式表示:

$$\text{Mean contribution of source } k(\%) = 100 \times (B_k / \sum B_k). \quad (2)$$

而不同采样点每个源的贡献可以用式(3)计算:

$$\begin{aligned} & \text{Contribution of source } k(\text{mg/g OC}) \\ &= \text{mean}_{\text{SumFAs}} \times \left(\frac{B_k}{\sum B_k} \right) + B_k \sigma_{\text{SumFAs}} t_k, \end{aligned} \quad (3)$$

式中, $\text{Mean}_{\text{SumFAs}}$ 是SumFAs的平均值; σ_{SumFAs} 是SumFAs的标准偏差.

2.5 统计分析

数据分析利用SPSS 18.0软件进行统计分析. 不同土层深度之间土壤中脂肪酸含量与总体性质的差异用Mann-Whitney U方法进行检验. 脂肪酸含量与环境因素之间的相关性用线性回归模型进行计算. 所有情况下, 当 $P < 0.05$ (双尾)即认为具有显著性.

3 结果与讨论

3.1 土壤总体性质

青藏高原高寒草地土壤总体性质如表2所示. 土壤粒径以砂和粉砂为主, 其百分含量分别为(58.7±2.7)%和(35.3±2.4)%(平均值±s.e.), 黏土的百分含量仅为(6.0±0.4)%. 黏土含量一般随土层增加而升高, 其中采样点P830在底层50~70cm处的黏土含量最高, 为(17.9±0.3)%. 土壤pH范围在5.83~8.47之间, 其中最高值出现在采样点P804, 而最低值在点P862. 土壤pH呈现出随土层深度增加而增加的趋势, 在表层30cm范围内, 土壤pH变动在7.20左右, 而在底层50~70cm, pH升高到8.20(表2). 土壤OC含量在0.6~13.0%之间变化, 最高值出现在点P862, 最低值出现在点P835. OC和TN含量均呈现出随土层深度增加而降低的趋势, OC和TN的含量在0~10cm土层分别为(5.0±0.7)%和(0.4±0.05)%, 在50~70cm层分别为(2.5±0.6)%和(0.1±0.02)%. TN与OC具有显著正相关关系($r=0.909$, $P<0.01$), 表明土壤中OC和TN的来源可能是一致的. 土壤中OC/TN的比值会随着植物来源有机质的降解而降低, 据报道该值在发育良好的草地为10左右(Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007; Zhao等, 2014), 而本研究中土壤表层30cm范围内OC/TN值在16左右变动. 较高的OC/TN值表明青藏高原土壤表层30cm范围内有机质的降解程度较低, 可能是青藏高原的低温环境限制了微生物降解造成的. 更为有趣的的结果是, 青藏高原土壤OC/TN值在底层50~70cm显著升高, 其值高达25, 这说明植物来源的新鲜有机质在该层得到很好保留, 对这一结果可能的解释是在50~70cm土层存在氧化还原边界层限制了该层土壤有机质的降解(Baumann等, 2009; Dörfer等, 2013). 这一研究结果与已有研究报道的OC/TN值随土层深度增加而降低的结论是相悖的(Naafs等, 2004; Feng和Simpson, 2007), 正说明了青

表 2 青藏高原土壤总体性质、脂肪酸含量及表征脂肪酸降解程度的指数(CPI 和 ACL)^{a)}

样点	深度 (cm)	OC (%)	TN (%)	OC/TN _a	pH	黏土 (%)	粉砂 (%)	砂 (%)	SumFAs (mg/g OC)	CPI	ACL	<i>t</i> ₁	<i>t</i> ₂	<i>t</i> ₃	<i>t</i> ₄
P783	0~10	4.36	0.43	12	8.02	7.3	39.1	53.6	0.38	5.7	22.4	0.73	0.46	0.45	0.62
	10~20	3.52	0.34	12	8.09	5.8	54.9	39.3	0.41	5.9	22.1	0.82	0.32	0.35	0.83
	20~30	3.15	0.28	13	8.07	4.2	54.9	40.9	0.30	5.5	20.8	0.68	0.31	0.32	0.84
	50~70	3.50	0.16	25	8.29	7.6	37.1	55.3	0.06	4.1	20.3	0.60	0.27	0.36	0.59
P793	0~10	5.03	0.35	17	7.95	5.2	31.0	63.8	1.06	9.3	20.3	0.01	0.73	1.82	0.65
	10~20	4.09	0.25	19	8.09	5.5	31.9	62.6	0.53	8.7	21.2	0.60	0.54	0.71	0.59
	20~30	3.63	0.18	23	8.17	6.0	36.6	57.4	0.19	9.6	22.6	0.68	0.31	0.38	0.61
P804	0~10	1.77	0.05	38	8.28	2.0	12.3	85.7	0.39	8.7	19.3	0.50	0.57	0.40	0.79
	10~20	1.59	0.05	37	8.41	0.6	2.4	97.0	1.24	6.5	22.0	1.02	1.09	0.71	0.67
	20~30	1.88	0.06	35	8.35	1.1	5.1	93.8	0.40	6.2	21.7	0.78	0.48	0.38	0.63
	50~70	2.28	0.07	36	8.47	5.7	20.0	74.4	0.57	5.0	21.7	0.88	0.54	0.38	0.74
P806	0~10	3.85	0.32	14	7.13	5.3	19.1	75.6	0.70	6.5	22.3	0.99	0.42	0.47	0.81
	10~20	2.89	0.24	14	7.17	3.6	15.5	81.0	0.40	5.8	23.5	0.95	0.36	0.34	0.62
P811	0~10	6.59	0.55	15	5.85	4.8	19.8	75.3	0.94	13.6	20.6	0.09	0.44	1.78	0.68
	10~20	4.48	0.42	12	5.99	5.7	24.6	69.7	3.32	10.5	21.3	1.30	0.56	0.98	3.65
	20~30	4.84	0.43	13	6.29	5.4	20.8	73.8	1.34	9.7	23.1	1.59	0.49	0.49	0.93
P815	0~10	8.04	0.70	14	7.21	7.4	36.1	56.4	0.68	6.2	21.3	0.46	0.67	0.81	0.70
	10~20	6.03	0.59	12	7.60	6.8	37.5	55.7	0.48	5.1	22.8	0.85	0.45	0.50	0.60
	20~30	4.12	0.42	11	7.84	7.4	34.9	57.8	0.22	4.8	22.7	0.78	0.35	0.35	0.59
	50~70	3.25	0.17	23	8.22	6.0	33.7	60.3	0.14	3.8	22.3	0.69	0.27	0.34	0.64
P816	0~10	1.22	0.15	10	7.67	4.6	24.0	71.4	0.18	6.0	18.8	0.53	0.47	0.37	0.61
	10~20	0.98	0.12	9	7.81	5.1	32.2	62.7	0.17	7.3	20.2	0.59	0.44	0.32	0.60
	20~30	0.82	0.09	11	7.88	6.2	34.0	59.8	0.25	6.7	20.0	0.63	0.54	0.28	0.61
P818	0~10	5.44	0.45	14	6.39	5.9	35.7	58.4	1.09	5.5	22.6	1.41	0.63	0.47	0.65
	10~20	4.36	0.37	14	6.48	7.5	40.3	52.1	1.55	5.0	23.4	2.01	0.67	0.46	0.67
P819	0~10	6.00	0.50	14	6.60	5.6	30.8	63.5	1.00	5.3	22.4	1.12	0.49	0.92	0.59
	10~20	4.17	0.38	13	6.50	7.0	38.5	54.5	0.75	5.1	23.7	1.32	0.39	0.44	0.60
	20~30	3.29	0.26	15	6.55	6.1	38.3	55.6	0.92	4.6	23.8	1.56	0.47	0.39	0.56
P821	0~10	3.98	0.31	15	7.06	7.6	38.1	54.3	0.55	6.0	22.9	1.07	0.42	0.35	0.65
	10~20	2.16	0.17	15	7.11	6.9	44.9	48.2	0.44	5.9	22.8	0.98	0.39	0.34	0.63
	20~30	1.21	0.13	11	7.11	6.8	43.4	49.8	0.34	5.5	22.8	0.91	0.37	0.33	0.63
P826	0~10	3.15	0.29	12	7.97	4.6	44.7	50.7	0.93	5.0	22.6	1.34	0.64	0.51	0.54
	10~20	2.40	0.22	13	8.10	4.0	48.0	48.0	0.58	5.4	22.5	1.01	0.59	0.37	0.55
	20~30	1.89	0.16	14	8.12	4.3	48.5	47.2	1.56	1.3	23.5	2.04	0.98	0.19	0.62
	50~70	0.77	0.06	15	8.09	6.0	50.3	43.7	1.62	5.1	20.0	0.57	2.59	0.38	0.45
P830	0~10	4.41	0.14	40	7.93	11.6	81.5	6.9	0.15	7.1	22.2	0.69	0.30	0.32	0.62
	10~20	4.59	0.10	54	7.84	11.1	80.1	8.8	0.08	6.1	23.0	0.65	0.26	0.34	0.60
	20~30	4.84	0.19	30	7.73	13.4	80.4	6.2	0.08	5.8	24.2	0.68	0.24	0.34	0.59
	50~70	4.67	0.12	45	7.74	17.9	73.8	8.3	0.09	5.4	23.7	0.69	0.24	0.35	0.59
P835	0~10	0.61	0.14	5	8.38	0.6	5.3	94.1	1.27	9.5	20.0	0.35	2.10	0.47	0.59
	10~20	0.76	0.20	4	8.36	2.1	13.5	84.4	0.53	10.1	20.5	0.55	0.80	0.45	0.64
	20~30	0.64	0.15	5	8.39	1.9	16.6	81.4	0.59	11.5	19.8	0.47	1.02	0.40	0.61
	50~70	0.87	0.17	6	8.33	2.5	27.9	69.7	0.28	7.1	21.0	0.67	0.51	0.32	0.62

续表2

样点	深度 (cm)	OC (%)	TN (%)	OC/TN _a	pH	黏土 (%)	粉砂 (%)	砂 (%)	SumFAs (mg/g OC)	CPI	ACL	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄
P839	0~10	4.00	0.30	16	6.57	3.5	18.3	78.2	2.33	6.5	23.7	3.28	0.80	0.35	0.71
	10~20	3.41	0.28	14	6.33	6.2	30.5	63.3	1.70	6.2	23.9	2.77	0.52	0.19	0.67
	20~30	2.01	0.17	14	6.49	6.9	34.2	58.9	1.92	6.0	21.3	1.78	0.77	0.06	1.79
P858	0~10	6.82	0.46	17	6.76	5.0	30.1	64.9	1.41	5.6	22.8	1.80	0.68	0.58	0.66
	10~20	3.66	0.27	16	6.49	4.2	23.1	72.7	2.04	4.3	23.2	2.89	1.11	0.38	0.47
P860	0~10	6.90	0.38	21	6.25	5.5	32.0	62.5	2.93	8.0	23.6	3.49	0.40	0.85	0.89
	10~20	5.03	0.28	21	6.21	6.6	38.0	55.3	1.14	5.6	24.0	1.83	0.39	0.44	0.63
	20~30	4.02	0.22	21	6.04	7.2	42.0	50.8	1.91	5.4	20.1	0.90	0.92	0.35	2.16
P862	0~10	13.04	0.77	20	6.04	7.7	33.6	58.8	2.38	5.5	23.6	2.93	0.63	1.46	0.07
	10~20	10.91	0.64	20	5.87	9.4	45.1	45.5	1.27	6.6	23.5	1.77	0.47	0.61	0.57
	20~30	10.48	0.60	20	5.83	8.8	39.2	52.0	1.48	4.9	23.4	2.01	0.46	1.21	0.27

a) OC, 土壤有机碳; TN, 土壤全氮; OC/TN_a, OC/TN 原子比; SumFAs, 脂肪酸总浓度; CPI, 碳优势指数:

$$CPI = \left[\left(\sum C_{20+22+24+26+28+30} / \sum C_{19+21+23+25+27+29} \right) + \left(\sum C_{20+22+24+26+28+30} / \sum C_{21+23+25+27+29+31} \right) \right] / 2; ACL, 碳链长度: ACL = \sum (z_n \times n) / \sum z_n, z_n \text{ 具有 } n$$

个碳的脂肪酸的含量, n 的取值范围 16~32; t_1 、 t_2 、 t_3 和 t_4 分别利用正文中方程(2)和(4)计算获取; t_1 以长链饱和脂肪酸为主, 代表植物来源的脂肪酸; t_2 以短链饱和脂肪酸为主, 代表植物和微生物混合来源的脂肪酸; t_3 仅含支链饱和脂肪酸(*iso*-C₁₅和*iso*-C₁₇), 代表微生物来源的脂肪酸; t_4 仅含 C₁₈ 非饱和脂肪酸(C_{18:1}和C_{18:2}), 代表新鲜有机质来源的脂肪酸

藏高原土壤有机质独特的分布格局.

3.2 脂肪酸的组成与分布特征

青藏高原土壤中脂肪酸的分布见图2所示. 由图2可知, 脂肪酸(碳数范围为C₉~C₃₂)在青藏高原不同土层中的分布是相似的, 均以C₁₆、C₁₈和偶碳长链脂肪酸(C₂₂~C₃₂)为主. 总体而言, 脂肪酸呈现双峰型分布特征, 短链脂肪酸(C₁₄~C₁₈)中的C₁₆以及长链脂肪酸(C₂₀~C₃₂)中的C₂₄含量最高(图2), 表明高等植物和微生物的混合输入, 相似的分布特征在其他研究区域的土壤样品中也曾有报道(Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007; Zhao等, 2014). 不同来源的脂肪酸具有不同的分布特征, 来源于高等植物蜡质的脂肪酸以长链饱和脂肪酸为主(C₂₀~C₃₂), 最大浓度为C₂₄和C₂₆; 微生物来源的脂肪酸则以短链脂肪酸为主(C₁₄~C₁₈), 最大浓度为C₁₆(Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007). 本研究中来源于细菌和真菌的支链脂肪酸(*iso*-C₁₅和*iso*-C₁₇)在土壤样品中有大量检出, 表明青藏高原土壤有机质有微生物的输入. 除了饱和脂肪酸, C₁₈非饱和脂肪酸(C_{18:1}和C_{18:2})也有大量检出. 由于非饱和脂肪酸主要源于新鲜植物和微生物, 且在土壤中易于降解, 因此其存在反映了新鲜有机质来源的贡献, 以及青藏高原土壤有机质处于较低

的降解程度(Moucawi等, 1981; Wiesenberget等, 2010).

青藏高原土壤中脂肪酸的浓度数据见表2所示. 脂肪酸总浓度变化在0.40~5.99mg/g OC(以OC计)之间, 平均值为(2.89±1.91)mg/g OC, 最高值出现在点P860, 最低值出现在点P830. 就不同土层深度而言, 脂肪酸总浓度随土层深度增加呈现降低的趋势, 最高值为(1.08±0.09)mg/g OC在0~10cm层, 最低值为(0.46±0.12)mg/g OC在50~70cm层. 与其他研究区域相比, 青藏高原高寒草地土壤表层(0~10cm)脂肪酸浓度比Alberta西部草地土壤中脂肪酸浓度(0.10~0.16mg/g OC)高很多(Otto和Simpson, 2005; Feng和Simpson, 2007), 但与我国内蒙古草原土壤中脂肪酸含量相当(0.38~1.20mg/g OC) (Zhao等, 2014). 图3展示了青藏高原不同深度土壤样品中总脂肪酸、长链脂肪酸和短链脂肪酸的分布情况. 由图3可知, 总脂肪酸以及植物来源的长链脂肪酸在50~70cm土层中的浓度显著高于表层30cm层中的浓度($P<0.05$). 这一现象可能是由于植物来源的有机质在深层土壤急剧减少导致的. 据报道在青藏高原高寒草地, 根总生物量的90%分布在土壤表层30cm范围内(Yang等, 2009), 进一步验证了上述结论. 与长链脂肪酸比较而言, 短链脂肪酸的浓度在不同土层深度中保持较为一致的水平, 可能与土壤剖面中微生物的原位生产并保持较高活性有关.

图2 青藏高原不同土层(0~10、10~20、20~30 和 50~70cm)中脂肪酸的含量

脂肪酸表达: 冒号前面是碳数量, 后面是双键的数量

图3 青藏高原不同深度土壤中总脂肪酸、长链脂肪酸和短链脂肪酸的分布

柱状图上方不同的字母(a, b)表示具有显著性差异($P < 0.05$)

3.3 脂肪酸降解程度与源解析

脂肪酸的两个指数, 即平均碳链长度(average chain length, ACL)和碳优势指数(carbon preference index, CPI), 可用于分子水平上评价土壤有机质的降解程度(Gleixner等, 2001)。一般而言, ACL值会随降解程度的增加而升高, 这是由于随着降解程度增加, 易于降解的短链脂肪酸减少, 而长链脂肪酸相对富集引起的; 而CPI值则随降解程度的增加而降低(Kolattukudy等, 1976; Wiesenberg等, 2010)。ACL和

CPI值见表2所示, 由表2可知, ACL值在0~10、10~20、20~30和50~70cm层分别为(21.8 ± 0.4)、(22.6 ± 0.3)、(22.1 ± 0.4)和(21.5 ± 0.6), 可见ACL值随土层深度增加没有明显的变化趋势。而CPI值则呈现出随土层深度增加而降低的趋势, 其最高值(7.1 ± 0.5)出现在0~10cm层, 10~20和20~30cm层的值分别为(6.5 ± 0.4)和(6.3 ± 0.7), 最低值(5.1 ± 0.5)在底层50~70cm(表2)。CPI随土层深度增加而降低的趋势可能是由植物来源的有机质的降解程度随土层深度增加而增加所导致的。

从脂肪酸分布图(图2)可看出, 青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的来源是植物来源占主导, 其次是微生物的来源。为了进一步定量表征不同源对脂肪酸含量的贡献量, 本研究应用PCA-MLR方法对青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸进行源解析。将所有采样点不同土层深度中脂肪酸含量作为PCA分析的变量, 经过方差极大旋转后, 所得结果见表3所示。

由表3可知, 提取的4个主成分(PC1、PC2、PC3和PC4)可以概括原始信息的85%, 因此可以用这4个因子解析青藏高原土壤中脂肪酸的来源, 4个主成分分别解释总变量的32.4%、23.0%、15.6%和13.9%。分析表3中脂肪酸的主因子载荷, 第1主成分的代表物质是长链饱和脂肪酸($C_{20} \sim C_{32}$), 因此第1主成分代表

表 3 方差极大正交旋转后的主因子载荷和方差贡献率^{a)}

脂肪酸	旋转后因子			
	1	2	3	4
9:0	0.037	0.863	-0.119	0.078
10:0	0.498	0.616	0.416	-0.098
12:0	0.140	0.773	0.219	0.223
14:0	0.315	0.752	0.253	0.024
i15:0	0.243	0.083	0.859	0.052
i15:0	0.263	0.356	0.780	0.365
15:0	0.310	0.625	0.532	0.318
16:1	0.318	0.277	0.687	0.190
16:1	-0.157	0.757	0.361	0.153
16:0	0.435	0.778	0.337	0.233
i17:0	0.138	0.491	0.816	0.043
17:0	0.464	0.774	0.331	0.081
18:2	0.060	0.078	0.130	0.969
18:1	0.140	0.165	0.196	0.913
18:1	0.246	0.177	0.548	0.782
18:0	0.379	0.786	0.097	0.378
20:0	0.722	0.637	-0.016	0.041
21:0	0.837	0.311	0.170	0.212
22:0	0.796	0.231	0.307	0.347
24:0	0.916	0.136	0.229	0.146
25:0	0.590	0.139	0.010	0.133
26:0	0.871	0.051	0.313	0.197
27:0	0.734	0.362	-0.002	-0.148
28:0	0.861	0.217	0.275	0.258
29:0	0.785	0.252	0.217	-0.201
30:0	0.859	0.177	0.167	0.219
31:0	0.846	0.008	0.273	-0.167
32:0	0.717	0.066	0.375	0.461
解释的总方差	32.4%	23.0%	15.6%	13.9%

a) 冒号前面表示碳数量, 后面为双键的数量; i表示支链脂肪酸

了高等植物有机质的来源. 第2主成分的代表物质是短链饱和脂肪酸(C₉、C₁₂、C₁₄、C₁₆、C₁₇和C₁₈), 由于植物和微生物均具有短链脂肪酸, 因此第2主成分代表了微生物和植物的混合来源. 第3主成分仅包括支链脂肪酸(*iso*-C₁₅和*iso*-C₁₇), 因此第3主成分代表了细菌和真菌等微生物的来源. 第4主成分的代表物质是C₁₈非饱和脂肪酸(C_{18:1}和C_{18:2}), 其主要来源于新鲜植物和微生物, 因此其代表了新鲜有机质的来源.

脂肪酸总浓度的标准正态偏差 $\hat{Z}$ 与因子得分 t_k 的线性回归方程如下所示:

$$\hat{Z}_{\text{SumFAs}} = 0.393t_1 + 0.204t_2 + 0.176t_3 + 0.249t_4, (R^2 = 0.996, P < 0.001), \quad (4)$$

式中, t_1 代表高等植物来源的脂肪酸; t_2 代表植物和微生物混合来源的脂肪酸; t_3 代表微生物来源的脂肪酸; t_4 代表新鲜有机质来源的脂肪酸; 利用公式(2)计算各源(因子)的贡献率, t_1 、 t_2 、 t_3 和 t_4 源的贡献率分别为38.4%、20.0%、17.2%和24.4%, 由此可知, 青藏高原高寒草地土壤中的脂肪酸至少40%来源于高等植物.

为了定量表征各采样点不同源对脂肪酸的贡献情况, 基于各采样点脂肪酸的总浓度利用公式(3)进行了计算, 其中公式(3)中需要输入的脂肪酸总浓度的平均值($\text{mean}_{\text{SumFAs}}$)为3.0mg/g OC, 标准偏差(σ_{SumFAs})为2.0mg/g OC. 计算结果显示, 在采样点P818、P819、P839、P858、P860和P862, t_1 的贡献较高, 即植物来源的脂肪酸占主导, 表明这些采样点具有较高的植物组织输入. 就不同土层深度而言, 高等植物(t_1)和微生物(t_3)的贡献随土层深度增加而明显降低, 可能是由植物和微生物来源的有机质在深层土壤中的输入急剧减少所致(Yang等, 2009). t_2 (高等植物和微生物的混合来源)和 t_4 (新鲜有机质来源)的贡献率分别在50~70和20~30cm表现出最高值, 这一现象可以用短链脂肪酸在青藏高原土壤剖面中的淋溶进行解释, 一些研究者曾报道了短链脂肪酸随同土壤溶液、胶体以及微团聚体在剖面中淋溶的现象(Piccolo等, 1996; Nierop和Buurman, 1998; Feng和Simpson, 2007).

3.4 脂肪酸含量与环境因素之间的相关关系

据已有研究报道, 气温、降水和土壤理化性质是控制土壤有机质组成和分布的重要因素(Feng和Simpson, 2008; Baumann等, 2009; Schmidt等, 2011; Pisani等, 2014; Toriyama等, 2015). 本文考察了MAT、MAP、土壤pH和土壤粒径组成对青藏高原土壤中脂肪酸的保留所起的作用, 结果见表4所示. 由表4可知, 脂肪酸总浓度与MAT呈显著负相关关系($r = -0.301$, $P = 0.027$), 表明青藏高原土壤中脂肪酸含量会随年均气温的升高而降低, 这是由温暖气候条件下脂肪酸的降解增加导致的. 与MAP的相关性分

析表明, 仅新鲜有机质来源的脂肪酸(t_4)呈现出与MAP显著的正相关关系($r=0.270$, $P=0.049$), 表明降水增加有助于新鲜有机质来源的脂肪酸的累积. 这一结果与Pisani等(2014)的研究结论一致, 认为可能是降水增加导致植物生产力增加, 从而使得新鲜有机质来源的脂肪酸获得较多的累积. 本文对这一结果的解释可以通过青藏高原最近研究成果得到验证, 即土壤湿度在青藏高原土壤有机碳储藏中扮演中重要作用(Baumann等2009; Dörfer等, 2013).

土壤pH对土壤有机质, 无论是在总体水平(腐殖层的形成)还是分子水平(如脂肪酸)上的保留均具有深远的影响(Bull等, 2000). 如表4所示, 除了植物和微生物混合来源的脂肪酸外, 其他来源的脂肪酸均表现出随土壤pH降低而显著增加的趋势($P<0.05$), 表明低pH的土壤更有利于脂肪酸的保存. Bull等(2000)和Nierop等(2005)在对草地和橡树林土壤的研究中均发现了脂肪酸与土壤pH之间的负相关关系. 他们认为脂肪酸的来源除了植物的直接输入外, 另一个重要的来源是其他脂类, 如正构烷烃和正烷醇在酸性土壤中氧化为脂肪酸(Moucawir等, 1981; Amblès等, 1994; Bull等, 2000; Nierop等, 2005). 除此之外, 低pH的土壤阻碍微生物活动, 使得生物大分子(如脂肪酸)易于被保留下来也是重要原因之一(Bull等, 2000; Nierop等, 2005). 与土壤粒径组成的相关分析结果显

示, 植物和微生物来源的短链脂肪酸呈现出与土壤砂粒含量显著的正相关关系($r=0.300$, $P=0.027$). 然而, 由于砂粒具有较小的吸附能力, 因此这一相关关系并不能构成因果关系, 有待于进一步研究.

总体而言, 脂肪酸的总浓度与MAT($P<0.05$)和土壤pH($P<0.01$)均具有显著负相关关系, 表明低温和低的土壤pH条件有利于青藏高原土壤中脂肪酸的保存. 这一结果与已有研究结论是一致的(Bull等, 2000; Nierop等, 2005; Pisani等, 2014). 近年来, 有研究指出分子结构并非控制土壤有机质稳定性的唯一因素, 该过程应该看作是一个生态系统的综合属性, 是由多种环境要素, 如矿物表面活性、气候、水分、土壤酸碱度、土壤氧化还原电位以及土壤微生物群落等共同作用控制的(Schmidt等, 2011). 因此, 其他环境因素, 如土壤矿物含量、微生物群落组成以及枯落物质量和数量等也可能对青藏高原土壤中脂肪酸的保存和降解起着重要的控制作用, 亟待进一步研究以便更好地理解青藏高原土壤中脂肪酸的保留机理.

4 结论

本文研究了青藏高原高寒草地土壤剖面中脂肪酸的组成、来源及分布特征. 总体而言, 青藏高原土壤中脂肪酸以植物来源的偶碳长链脂肪酸为主. 源

表 4 不同来源脂肪酸含量与气候参数及土壤性质之间的相关系数^{a)}

环境因素	Pearson 相关参数	t_1	t_2	t_3	t_4	SumFAs
MAT	r	-0.190	-0.130	-0.245	-0.080	-0.301
	p	0.168	0.350	0.074	0.566	0.027
MAP	r	0.134	-0.019	0.051	0.270	0.232
	p	0.335	0.890	0.714	0.049	0.092
Clay	r	0.016	-0.387	-0.028	-0.026	-0.159
	p	0.910	0.004	0.840	0.850	0.251
Silt	r	-0.065	-0.277	-0.192	-0.086	-0.254
	p	0.638	0.042	0.165	0.536	0.064
Sand	r	0.055	0.300	0.172	0.079	0.246
	p	0.694	0.027	0.214	0.569	0.073
pH	r	-0.620	0.136	-0.343	-0.272	-0.644
	p	0.000	0.329	0.011	0.047	0.000

a) 黑色字体表示显著相关($P\leq 0.05$, $n=54$)

解析结果显示, 高等植物来源的脂肪酸占总脂肪酸含量的40%。新鲜有机质来源的C₁₈非饱和脂肪酸大量检出, 以及较高的土壤OC/TN比值, 说明青藏高原土壤有机质处于较低或中等程度降解水平。由于植物来源的有机质在深层土壤中输入的急剧减少, 导致总脂肪酸浓度以及植物来源的长链脂肪酸浓度在50~70cm层显著降低, 相比较而言, 短链脂肪酸的浓度在土壤剖面保持较为稳定的水平。与环境因子的相关分析表明, 总脂肪酸浓度与年均气温($P<0.05$)和土壤pH($P<0.01$)均呈现显著的负相关关系, 表明低温和低的土壤pH条件有利于青藏高原土壤中脂肪酸的保存。其他环境因素, 如土壤矿物含量(铁、铝氧化物)、微生物群落组成、枯落物的质量和数量等, 对青藏高原土壤中脂肪酸保留所起的作用亟待进一步研究, 以便更好理解青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的保留机理。

参考文献

- Amblès A, Jambu P, Parlanti E, Joffre J, Riffe C. 1994. Incorporation of natural monoacids from plant residues into an hydromorphic forest podzol. *Eur J Soil Sci*, 45: 175–182
- Baumann F, He J S, Schmidt K, Kühn P, Scholten T. 2009. Pedogenesis, permafrost, and soil moisture as controlling factors for soil nitrogen and carbon contents across the Tibetan Plateau. *Glob Change Biol*, 15: 3001–3017
- Bull I D, Nott C J, van Bergen P F, Poulton P R, Evershed R P. 2000. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments-VI. The occurrence and source of organic acids in an experimental grassland soil. *Soil Biol Biochem*, 32: 1367–1376
- Camacho-Ibar V F, Aveytua-Alcázar L, Carriquiry J D. 2003. Fatty acid reactivities in sediment cores from the northern Gulf of California. *Org Geochem*, 34: 425–439
- Chen H, Zhu Q, Peng C, Wu N, Wang Y, Fang X, Gao Y, Zhu D, Yang G, Yian J, Kang X, Piao S, Ouyang H, Xiang W, Luo Z, Jiang H, Song X, Zhang Y, Yu G, Zhao X, Gong P, Yao T, Wu J. 2013. The impacts of climate change and human activities on biogeochemical cycles on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Glob Change Biol*, 19: 2940–2955
- Ding S, Xu Y, Wang Y, He Y, Hou J, Chen L, He J S. 2015. Distribution of branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in surface soils of the Qinghai-Tibetan Plateau: Implications of brGDGTs-based proxies in cold and dry regions. *Biogeosciences*, 12: 3141–3151
- Dörfer C, Kuehn P, Baumann F, He J S, Scholten T. 2013. Soil organic carbon pools and stocks in permafrost-affected soils on the Tibetan Plateau. *PLoS One*, 8: e57024
- Feng X J, Simpson M J. 2007. The distribution and degradation of biomarkers in Alberta grassland soil profiles. *Org Geochem*, 38: 1558–1570
- Feng X J, Simpson M J. 2008. Temperature responses of individual soil organic matter components. *J Geophys Res*, 113: G03036
- Feng X J, Vonk J E, van Dongen B E, Gustafsson Ö, Semiletov I P, Dudarev O V, Wang Z H, Montluçon D B, Wacker L, Eglinton T I. 2013. Differential mobilization of terrestrial carbon pools in Eurasian Arctic river basins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 14168–14173.
- Gleixner G, Czimczik C I, Kramer C, Lühker B, Schmidt M W I. 2001. Plant compounds and their turnover and stabilization as soil organic matter. In: Schulze E D, Heimann M, Harrison S, Holland E, Lloyd J, Prentice I C, Schimel D, eds. *Global Biogeochemical Cycles in the Climate System*. San Diego: Academic Press. 201–215
- He J S, Wang Z H, Wang X P, Schmid B, Zuo W Y, Zhou M, Zheng C Y, Wang M F, Fang J Y. 2006. A test of generality of leaf trait relationships on the Tibetan Plateau. *New Phytologist*, 170: 835–848
- Hu J F, Zhang H B, Peng P A. 2006. Fatty acid composition of surface sediments in the subtropical Pearl River estuary and adjacent shelf, Southern China. *Estuar Coast Shelf Sci*, 66: 346–356
- Huang X, Zeng Z G, Chen S, Yin X B, Wang X Y, Ma Y, Yang B J, Rong K B, Shu Y C, Jiang T. 2015. Abundance and distribution of fatty acids in sediments of the South Mid-Atlantic Ridge. *J Ocean Univ China*, 14: 277–283
- Jandl G, Leinweber P, Schulten H R, Ekschmitt K. 2005. Contribution of primary organic matter to the fatty acid pool in agricultural soils. *Soil Biol Biochem*, 37: 1033–1041
- Kögel-Knabner I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol Biochem*, 34: 139–162
- Kolattukudy P E, Croteau R, Buckner J S. 1976. Biochemistry of plant waxes. In: Kolattukudy P E, ed. *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*. Amsterdam: Elsevier. 290–348
- Lin X, Zhang Z, Wang S, Hu Y, Xu G, Luo C, Chang X, Duan J, Lin Q, Xu B, Wang Y, Zhao X, Xie Z. 2011. Response of ecosystem respiration to warming and grazing during the growing seasons in the alpine meadow on the Tibetan plateau. *Agric For Meteorol*, 151: 792–802
- Morgunova I P, Ivanov V N, Litvinenko I V, Petrova V I, Stepanova T V, Cherkashev G A. 2012. Geochemistry of organic matter in bottom sediments of the Ashadze hydrothermal field. *Oceanology*, 52: 345–353
- Moucwai J, Fustec E, Jambu P. 1981. Decomposition of lipids in soils: Free and esterified fatty acids, alcohols and ketones. *Soil Biol Biochem*, 13: 461–468
- Naafs D F W, van Bergen P F, Boogert S J, de Leeuw J W. 2004.

- Solvent-extractable lipids in an acid andic forest soil; variations with depth and season. *Soil Biol Biochem*, 36: 297–308
- Nierop K G J, Buurman P. 1998. Composition of soil organic matter and its water-soluble fraction under young vegetation drift sand, central Netherlands. *Eur J Soil Sci*, 49: 605–615
- Nierop K G J, Naffs D F W, van Bergen P F. 2005. Origin, occurrence and fate of extractable lipids in Dutch coastal dune soils along a pH gradient. *Org Geochem*, 36: 555–566
- Otto A, Simpson M J. 2005. Degradation and preservation of vascular plant-derived biomarkers in grassland and forest soils from western Canada. *Biogeochemistry*, 74: 377–409
- Perry G J, Volkman J K, Johns R B, Bavor H J. 1979. Fatty-acids of bacterial origin in contemporary marine-sediments. *Geochim Cosmochim Acta*, 43: 1715–1725
- Piccolo A, Nardi S, Concheri G. 1996. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. *Chemosphere*, 33: 595–602
- Pisani O, Hills K M, Courtier-Murias D, Haddix M L, Paul E A, Conant R T, Simpson A J, Arhonditsis G B, Simpson M J. 2014. Accumulation of aliphatic compounds in soil with increasing mean annual temperature. *Org Geochem*, 76: 118–127
- Schmidt M W I, Torn M S, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens I A, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning D A C, Nannipieri P, Rasse D P, Weiner S, Trumbore S E. 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478: 49–56
- Shi Y, Baumann F, Ma Y L, Song C, Kuehn P, Scholten T, He J S. 2012. Organic and inorganic carbon in the topsoil of the Mongolian and Tibetan grasslands: Pattern, control and implications. *Biogeosciences*, 9: 2287–2299
- Sun D Y, Tan W B, Pei Y D, Zhou L P, Wang H, Yang H, Xu Y P. 2011. Late Quaternary environmental change of Yellow River Basin: An organic geochemical record in Bohai Sea (North China). *Org Geochem*, 42: 575–585
- Toriyama J, Hak M, Imai A, Hirai K, Kiyono Y. 2015. Effects of forest type and environmental factors on the soil organic carbon pool and its density fractions in a seasonally dry tropical forest. *Forest Ecol Manag*, 335: 147–155
- Wiesenberg G L B, Dorodnikov M, Kuzyakov Y. 2010. Source determination of lipids in bulk soil and soil density fractions after four years of wheat cropping. *Geoderma*, 156: 267–277
- Yang Y H, Fang J Y, Tang Y H, He J S, Ji C J, Zheng C Y, Zhu B. 2008. Storage, patterns and controls of soil organic carbon in the Tibetan grasslands. *Glob Change Biol*, 14: 1592–1599
- Yang Y H, Fang J Y, Ji C J, Han W X. 2009. Above- and belowground biomass allocation in Tibetan grasslands. *J Veg Sci*, 20: 177–184
- Zhao L, Wu W, Xu X, Xu Y. 2014. Soil organic matter dynamics under different land use in grasslands in Inner Mongolia (northern China). *Biogeosciences*, 11: 5103–5113