

草地生态系统土壤微生物量及其影响因子研究进展

何亚婷^{1,2}, 董云社¹, 齐玉春¹, 肖胜生³, 刘欣超^{1,2}

(1. 中国科学院地理科学与资源研究所, 北京 100101; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049;
3. 江西省水土保持科学研究所, 南昌 330029)

摘 要: 草地作为陆地生态系统的主体类型之一, 受到人类活动和全球变化的广泛影响。这些因素在直接影响草地生态系统地上植被生长和群落动态的同时, 还直接或间接地影响着草地生态系统的各种地下生态过程。土壤微生物是指示草地生态系统各地下生态与生物地球化学过程对外部干扰响应的良好指标, 其中微生物量是土壤微生物活性和大小度量的重要参数, 是土壤有机质中最活跃的组分之一, 能够敏感地反映土壤生态系统水平的微小变化, 在各种土壤生化过程研究中具有非常重要的意义。研究综述了自然因子(土壤温度、土壤湿度、pH值)、人为干扰(放牧、开垦、施肥)和全球变化(大气CO₂浓度升高、气候变暖)对草地生态系统土壤微生物量影响的研究进展, 并指出目前的研究由于基础薄弱、研究样地间的差异以及各研究处理间的差异, 土壤微生物量对各种干扰的响应仍存在很大的不确定性, 在今后的研究中应加强长期性的野外定位试验研究、多因子的综合控制实验研究以及N输入对微生物量影响的研究等, 并进一步完善和发展测量微生物量的新技术和新方法。

关 键 词: 草地生态系统; 土壤微生物量; 影响因子; 全球变化

1 引言

土壤微生物量(Soil Microbial Biomass, SMB)指土壤中除活的植物体外体积小于 $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ 的生物总量, 它是活的土壤有机质部分。广义的土壤微生物量包括微生物量碳(SMB-C)、微生物量氮(SMB-N)、微生物量磷(SMB-P)和微生物量硫(SMB-S), 而狭义的微生物量主要是指微生物量碳, 即土壤中所有活的微生物体中碳的总量。微生物量碳是反映土壤微生物量大小的最重要的指标, 约占微生物干物质的40%~45%^[1]。作为土壤养分的重要来源, 虽然土壤微生物量只占土壤有机碳的1%~5%, 却直接或间接参与几乎所有的土壤生物化学过程, 在推动土壤物质转换、能量平衡和生物地球化学循环中起着重要作用^[2], 从而成为近年来国内外土壤学研究的热点之一^[3-4]。

早期对土壤微生物量的研究更多地侧重于农田土壤肥力方面, 主要用来表征土壤质量和培肥指标。随着全球碳循环问题受到广泛关注和陆地生

态系统碳循环研究不断深入, 土壤微生物量研究领域也由农田逐步扩展到森林^[5-7]、草地^[8-9]和湿地^[10]等自然生态系统, 自然环境因子、人类活动以及全球变化对土壤微生物量的影响则成为该研究领域关注的焦点与热点^[11-12]。

草地作为世界上最广布的植被类型之一, 面积约占全球陆地总面积的1/5, 尤其是在中国, 各类草地面积约4亿hm², 占到中国国土面积的40%左右, 是中国最大的陆地生态系统^[13]。但到目前为止, 中国关于草地土壤微生物生态学方面的研究还鲜见报道。而且, 与森林和农田生态系统相比, 中国草地生态系统土壤微生物生态学研究起步较晚^[14]。目前, 虽然有对内蒙古草原^[15]、东北羊草草原^[16]、天祝和东祁连山高寒草地^[17-18]土壤微生物量的相关报道, 但大部分都是摸底性质的草地土壤本底状况研究, 研究范围较窄, 并且在全球变化的背景下, 中国草地土壤微生物学特征对气候变化的响应研究也相对滞后。鉴于此, 本文综述了目前国内外草地生态系统土壤微生物量研究动态及其影响因子, 期望对今后开展相关研究有所裨益。

收稿日期: 2010-03; 修订日期: 2010-04.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(40730105); 国家自然科学基金项目(40973057); 国家科技攻关计划项目(2007BAC03A11-02)。

作者简介: 何亚婷, 女, 陕西宝鸡人, 博士研究生。主要从事草地土壤微生物学研究。E-mail: heyating@126.com

通讯作者: 齐玉春, 女, 黑龙江人, 副研, 主要从事全球变化与陆地生态系统碳氮元素循环过程研究。E-mail: qiyc@igsrr.ac.cn

2 自然环境因子对草地土壤微生物量的影响

2.1 土壤温度对草地土壤微生物量的影响

由于微生物的生命活动都是由一系列的生物化学反应组成的,而这些生化反应又受到温度的强烈影响,因此,温度就成为微生物数量与活性的重要影响因子。一般来说,在湿度适宜的情况下,土壤微生物量与土壤温度呈正相关关系的报道比较常见。吕秀华^[19]发现东北羊草草原土壤微生物量与土壤温度呈显著的线性正相关,但陈珊等^[20]发现东北羊草草原凋落物分解过程中土壤微生物量与土壤温度呈非线性相关。可能的原因是适宜的土壤温度促进了土壤微生物量的增加,但随着温度的不断上升,微生物的繁殖和代谢活动对能量和营养物质的需求超过了土壤基质的载荷,微生物不得不消耗自身的碳源来维持活性,从而限制了微生物的生长,降低了微生物量^[21]。同时也有报道土壤微生物量与土壤温度表现为负相关,土壤微生物量在冬季的低温下达到最高^[22-23]。原因在于草地秋季有大量枯枝落叶富集地表,通过动物扰动逐渐进入土壤,从而使土壤微生物获得宽裕的能源供应而不断增殖。同时,冬天气温低、代谢弱,微生物能在较低能量供给下生存下来,从而使土壤能维持较多的微生物量。

此外,土壤温度也可能对土壤微生物量没有影响。Contin等^[24]对英国一个长期的草地试验站土壤的培养实验发现,该草地土壤微生物量对0~25℃的温度变化不敏感,微生物量不随温度升高而变化,并认为原因有二:①土壤微生物量的测定通常都是要先对所测土壤经过一段时间的培养(通常是25℃下暗培养7天),然后才测定微生物量,这有可能降低了土壤微生物对温度的敏感性,从而导致了土壤微生物量与温度变化不相关的现象;②高温导致的土壤微生物量的下降被土壤有机质分解性提高产生的新生物量的增加所平衡。

2.2 土壤水分对草地土壤微生物量的影响

土壤水分是维持土壤微生物正常代谢活性不可缺少的物质,一般来说主要通过以下2个方面对土壤微生物量产生影响^[16]:①水作为微生物原生质的重要组成部分,约占微生物组成的90%左右,因此任何时候水分的缺失,都将严重影响到微生物自身的基本特征;②水分通过影响土壤的通气状况、

土壤温度、酸碱度及含盐量等生态因子间接地作用于微生物。在草地生态系统中,适宜的水分含量会增加土壤微生物量,但若超出土壤的田间持水量,随湿度增加土壤微生物量将会下降,原因是过量的水分造成的厌氧环境抑制了微生物的代谢活动,从而降低了微生物量^[25]。

王启兰等^[17]、王慧春等^[26]分别通过通径分析和相关分析对青藏高原海北高寒草甸生态系统的研究表明:土壤微生物量与土壤水分存在显著的正相关关系,并认为土壤水分是调节高寒草甸生态系统土壤微生物代谢、繁殖及物质转化的关键因子。吴建国等^[27]对祁连山高寒草甸和干草原土壤的研究也得到了类似的结论。张崇邦等^[28]通过对东北羊草草原环境因素对微生物生物量影响的灰色分析则表明,土壤含水量和土壤温度对于土壤微生物量的形成具有较大的灰色关联度,是优势因素,并认为用土壤含水量和土壤温度共同模拟的土壤微生物量理论值与实测值的吻合性较好,总相关系数达极显著水平。

此外,土壤的干湿交替对土壤微生物量也有重要影响。Roscher等^[29]发现在持续干旱条件下草地土壤微生物量大幅下降,但当土壤含水量增加到最大持水量的50%~60%时土壤微生物量增加。与此同时,也有报道认为草原土风干后再加湿会显著增加土壤微生物量^[30],原因在于:大多数土壤微生物不能忍受低湿环境,因而会在风干过程中由于干旱胁迫而分解死亡,当紧接着又重新加湿风干土时,死亡微生物的分解和基质可利用性的提高就为存活下来的土壤微生物量的爆发性增长提供了可能^[31]。但Wu等^[32]则发现草原土壤在第一个风干后再加湿的循环后会降低土壤微生物量的44%,并认为这是由于风干过程中杀死了部分微生物量。

2.3 土壤pH对草地土壤微生物量的影响

土壤pH值是反映土壤盐碱化程度的主要指标,它可以通过影响微生物代谢的酶活性及细胞膜的稳定性进而影响微生物对环境中的营养物质的吸收。Wardle^[33]认为土壤pH值对土壤微生物量大小的影响效应至少和土壤碳和土壤氮对土壤微生物量的影响效应同等重要。

在草地生态系统中,土壤pH值与土壤微生物量的负相关关系比较常见。郭继勋等^[16]对东北羊草草原的研究发现,在一定范围内,微生物量与土壤pH值呈指数负相关。康健^[34]发现贺兰山西坡不

同草地类型土壤微生物量均与土壤pH值呈极显著线性负相关。Bardgett等^[35]通过对英国威尔士4类草原的研究后发现,pH值通过改变土壤微生物群落的结构而影响草地土壤微生物量,即随pH值降低,细菌生物量降低,而真菌生物量增加,从而最终造成土壤总生物量的降低。Pietri等^[36]则更进一步的解释了pH值对土壤微生物量的影响机理:低pH值影响土壤有机碳的溶解,提高了土壤溶液中交换性铝离子的生物毒性,而低pH值下铝离子生物毒性的提高将降低碳从植物向土壤中的释放,并降低了植物碳转化为微生物碳的效率,因而影响了微生物群落结构,降低了土壤微生物量。

但同时也有不同报道。Wardle^[37]通过对前人已发表的58篇文章的整理和研究后发现,随pH值增大,土壤微生物量增大,同时其时间变异减小,其原因在于pH值增大使微生物群落的胁迫压力有所缓解,提高了土壤系统的稳定性,为微生物量的形成提供了比较稳定的环境,从而增加了土壤微生物量。而杨成德等^[18]对东祁连山高寒草甸6种不同类型的草甸研究却发现,土壤微生物量与pH值的关系有显著正相关、显著负相关和相关性不显著3种结果,但对产生这种现象的机制不清楚。

此外,Chen等^[38]发现红壤土中土壤微生物量随pH值的增大呈正态分布,而且pH值对微生物量的影响存在两个关键极端值,即在酸性土壤中关键pH值为3.0和在碱性土壤中关键pH值为8.0~8.5,一旦超过这两个极端pH值,大多数微生物均不能存活。但在草地生态系统中,尚未见有报道确定对土壤微生物量有显著影响的极端pH值。

3 人类活动对草地土壤微生物量影响

3.1 放牧对草地土壤微生物量的影响

放牧作为草地一种典型的人为干扰,对草地生态系统的影响是多方面且持久深刻的。放牧家畜主要通过采食、践踏以及畜体对营养物质的转化和排泄物归还等途径来影响土壤的物理结构(如紧实度、渗透率)^[39]、营养物质的循环^[40]以及风蚀过程等进而对土壤微生物量产生间接的影响。

放牧对草地土壤微生物量的影响由于草地类型、放牧年限、放牧压力不同,目前的研究结果还存在分歧。一般来说,放牧会降低土壤微生物量。马秀枝等^[41]对内蒙古锡林河流域两类草原的研究发

现,自由放牧22年后,羊草草原土壤0~10 cm和10~20 cm土层土壤微生物量分别下降了27.9%和12.8%,大针茅草原0~5 cm和5~15 cm土层土壤微生物量分别下降了38.2%和12.2%,这说明在羊草和大针茅草原,自由放牧导致土壤碳素的损失是比较明显的。Holt^[42]发现澳大利亚东北部2个半干旱草原重度放牧(0.5头牲畜/hm²)6年和8年后,2个草地土壤微生物量显著下降,分别降低了大约24%和51%。王启兰等^[43]对青藏高原海北高寒蒿草草甸、Shrestha等^[44]对美国俄亥俄州一个围封40年的稀树大草原以及Raiesi等^[45]对伊朗东南部的半干旱草地的研究均发现,随着放牧压力增大土壤微生物量降低。而Northup等^[46]对北昆士兰多年生禾草丛生草地的研究和张蕴薇等^[47]对华北农牧交错区人工草地的研究则发现,土壤微生物量以中牧区最高,重牧区降低了土壤微生物量。原因在于放牧期间,中牧条件下土壤根系相对丰富,其分泌物促进微生物大量繁殖;同时放牧将更多的牧草枝叶输送到土壤中,导致更多的可利用氮进入土壤,推动了微生物活跃的运动、旺盛的生长,重牧区则由于水气状况不佳制约了土壤微生物的发展^[48]。

与此同时,也有研究认为放牧增加了土壤微生物量。Wang等^[49]对美国佛罗里达州一个草地的研究发现,土壤微生物量在放牧草地显著高于禁牧草地,且放牧还改变了线虫群落结构。Bardgett等^[50]也发现英国一高原草地土壤的微生物量随放牧强度增大而增加,当停止放牧时微生物量下降,并认为这是由于输入土壤的物质数量和质量改变刺激根系分泌更多的活性碳,为微生物生长提供能源。

除了降低或增加草地土壤微生物量,也有放牧对草地土壤微生物量没有影响的报道。Kieft^[51]对新墨西哥一个多年生杂草草地的研究发现,放牧对草地土壤微生物量的影响不显著。Moussa等^[52]发现南非一半干旱沙质草地的土壤微生物量在放牧区与禁牧区没有显著差别,而且该草地土壤微生物量的值远远低于全球温带草地的土壤微生物量值,原因在于该地植被丰富度低,以及该草地处于退化状态,不能为微生物提高足够的能源。

综上所述,放牧对草地土壤微生物量的影响有促进、抑制和无影响3种结果,但总体来看,放牧对草地土壤微生物的抑制作用是比较常见的,尤其是在重牧样地。Milchunas等^[53]对全世界有关放牧和禁牧的34项研究进行综述后发现,40%的研究发现

围栏封育降低土壤碳,60%的研究发现围栏封育增加了土壤碳。出现影响结果不一的原因与草地初始状态、草地类型、放牧方式、放牧时间长短、放牧动物类型、放牧强度等有关,尤其在对放牧强度的描述上,不同研究之间对适牧、轻牧、中牧、重牧、过牧这样的定性指标之间不能定量比较,所以出现研究结果的分歧^[54]。

3.2 开垦对草地土壤微生物量的影响

就影响强度而言,草地开垦是影响草原土壤碳贮量最为剧烈的人类活动因素^[55]。有统计表明,截至1998年,全球已有约660 Mhm²的草地被开垦成农田,占土地利用变化的近40%^[56]。就中国而言,从1949—1996年不到50年的时间内,共开垦草地约19.3 Mhm²,约占中国现有草地面积的4.8%和现有耕地面积的18.2%^[57]。草地开垦为农田后会损失原来土壤中总碳量的30%~50%左右^[58],其中尤其是易分解有机碳部分的损失更为显著,从而对土壤微生物量产生重要影响。

目前,有关开垦活动对草地土壤微生物量影响的研究结论基本一致,即草地开垦为农田后降低了土壤微生物量。平立凤等^[59]对东北松嫩羊草草原的研究表明,草地开垦种植向日葵后土壤微生物量下降,这是由于草原相对于农田植被覆盖度大,土壤中空气与大气中氧的交换慢,有机质积累多,从而使土壤微生物量提高。王百群等^[60]研究了广西北部喀斯特地区天然草地开垦后的变化发现,草地开垦为农田后,土壤微生物量显著下降,由自然草地的576.1 mg/kg下降到长期农田的51.4 mg/kg,且土壤微生物量下降的幅度大于土壤总有机碳下降的幅度。

与草地相比,开垦后农田生态系统之所以具有较低的土壤微生物量主要是基于以下3个方面的原因^[61]:①农田的地上生物量大部分被收割移走,使得以植物残体和凋落物形式向土壤归还的碳素减少,降低了微生物可利用的碳源含量,导致土壤微生物量的下降;②草地土壤中很大一部分由根系周转或根际沉降而来的碳素以化学性质很稳定的颗粒有机碳的形式所保护,而开垦活动破坏了这种物理保护作用,促进了这部分碳素的矿化,损失了微生物的部分碳源;③开垦活动破坏了土壤团聚体使得一部分土壤活性有机质更易遭受分解。

3.3 施肥对草地土壤微生物量的影响

作为草地管理的重要手段,施肥能加快植物生

长,促使土壤中的碳增加,同时施肥还可直接改善土壤养分限制状况,导致微生物群落发生变化,因此施肥作为改善土壤微生物生境的可能方法近年引起了人们的重视^[62]。关于草地土壤微生物量对施氮的响应,由于不同的施肥量、不同的肥料类型、施肥时间长短、草地初始氮水平都会对土壤微生物量产生影响,因此,目前还没有得到一致的结论。目前较为统一的看法是长期施氮情况下会降低土壤微生物量,但短期施氮则有可能提高、降低、或是对草地土壤微生物量没有影响。

Lovell等^[63]发现短期的施氮提高了草地土壤微生物量,而Dijkstra等^[64]的研究则表明短期的施氮降低了美国Minnesota州高草草地的土壤微生物量。原因一方面是由于植物根分泌物的减少使微生物可利用的碳源不足,一方面是由于硝酸盐这种形式的氮添加抑制了土壤中 β -葡萄糖苷酶的活性,而这种酶会降低微生物的碳富集。此外,Johnson等^[9]和Liu等^[65]分别对英国一个高原草地和中国内蒙古温带草原的研究还发现,短期施氮对土壤微生物量没有影响,Liu等^[65]进一步认为不产生影响的原因在于短期内土壤微生物的丰富度和活性由植物调控的程度大于施氮的直接调控作用。

同时,Lovell等^[66]对英国一个低地草地的研究发现,施氮虽然在一年内对土壤微生物量没有影响,但连续10年有规律的施氮降低了土壤微生物量。Wallenstein等^[67]、Fisk等^[6]、Compton等^[3]在森林生态系统的长期试验也印证了这一结果。目前,微生物量对长期施氮的下降响应是有共识的,但机制并不清楚,可能的原因有:①长期施氮下有毒化合物和对抗物质的形成^[67];②早期的氮添加增加了植物生物量和凋落物产量,但长期施氮的效果相反^[3];③长期施氮使原来受氮限制的草地生态系统出现氮饱和现象,氮饱和系统会渗出NO₃⁻,导致阳离子流失、铝毒效应和土壤酸度增加,最终对微生物活性产生不利影响^[68];④长期施氮促进了微生物呼吸熵,微生物用代谢碳的很大一部分来补偿土壤生境的生理胁迫,这势必导致微生物自身生物量同化的减少,最终导致微生物量的下降^[69];⑤施氮增加了土壤溶液离子势,降低渗透势,从而降低微生物群落水分的可利用性,因此降低微生物量^[70]。

此外,氮肥的不同施用量对土壤微生物量的影响也不同。Zhang等^[71]对中国内蒙古温带半干旱草地的施氮研究表明,土壤微生物量在16g Nm⁻²y⁻¹时

最高,高氮($32\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$ 、 $64\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$)降低草地土壤微生物量,对中国北方草地土壤微生物量和功能多样性最佳的氮浓度为 $16\sim 32\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$,而且高氮水平下微生物量的下降部分的归因于土壤pH的毒害效应。张彦东等^[72]对金沙江干热河谷退化草地的研究发现,在施氮量为 5 、 $15\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$ 时,土壤微生物量没有明显变化,而当施氮量增加到 $25\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$ 时,土壤微生物的数量和生物量比对照明显增加。原因在于该退化草地严重缺氮,高氮施肥使地上生产力增加,土壤有机质和有效氮增加,缓和了植物和微生物之间的竞争,促进微生物量。Zhang等^[73]发现短期内 $5\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$ 对微生物量没有影响,但 $50\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$ 却显著提高了微生物量,原因在于施氮导致土壤有机物的分解,促进了微生物量的形成。

氮肥的不同类型对土壤微生物量的影响也不相同。Lovell等^[74]对英国一永久性草地的研究表明,施粪肥能增加土壤微生物量的大小和活性,但施无机氮肥对微生物量没有影响。Johnson等^[75]对英国一酸性草地和一碱性草地的研究表明,当施肥量相同($14\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$)而肥料类型不同时,酸性草地的微生物量下降,而碱性草地的生物量在施 NH_4NO_3 时降低,在施 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 时升高,这种相反的效应可能是该草地生态系统对氮饱和响应的结果,因为该草地土壤主要是受P限制,而非N限制。

4 全球变化对草地土壤微生物量影响

4.1 CO_2 升高对草地土壤微生物量的影响

大气 CO_2 浓度持续升高与全球气候变化已是不争的事实,并且根据IPCC^[76]预测,到21世纪末,大气 CO_2 浓度将会在目前水平下增加1倍,即达到 700 ppm ,但土壤中 CO_2 浓度约为大气中的 $10\sim 50$ 倍,因而大气 CO_2 浓度升高对土壤微生物的影响很可能不是直接的,而主要是通过影响植物生长从而间接影响土壤微生物^[77]。

目前,国际上主要利用FACE(Free Air Carbon Dioxide Enrichment, 自由大气 CO_2 加富)和OTC(Open Top Chamber, 开顶箱)这两种方法来研究大气 CO_2 浓度升高对土壤微生物的影响。在草地生态系统,大多数研究认为大气 CO_2 浓度升高条件下土壤微生物量升高,但是也有降低以及无影响的报道。Dijkstra等^[64]利用FACE对美国明尼苏达州一个沙质草地的研究表明,5年的大气 CO_2 浓度

升高(560 ppm)增加了土壤微生物量。Drissner等^[78]利用同样的方法对瑞士一个草地的研究也表明,在大气 CO_2 浓度升高(600 ppm)9年后,土壤微生物量在春季提高了 48.1% ,秋季提高了 23% ,并认为这种提高是由于根凋落物数量和类型的改变以及根际沉降改变引起的。Kandeler等^[79]利用OTC对美国科罗拉多北部的一个半干旱矮草草原的研究表明,在大气 CO_2 浓度升高(720 ppm)5年后,土壤微生物量在 $0\sim 60\text{ cm}$ 的深度范围内都没有改变。但在5年的OTC试验结束约半年后,土壤微生物量却显著提高,可能的原因是这个受氮限制的草地生态系统, CO_2 浓度的降低减轻微生物和植物之间对氮素营养的竞争。

此外,大气 CO_2 浓度升高对草地土壤微生物量的影响还与土壤水分和土壤N素可利用性有关。Rice等^[80]利用OTC对美国曼哈顿一个原生高草草原的研究发现,在两倍于周围大气 CO_2 浓度三个生长季(每年4月初—10月底施加 CO_2)之后,草地土壤微生物量对 CO_2 浓度升高的响应主要依赖于土壤水分含量。实验开始的第二年是个干旱年份, CO_2 浓度升高显著增加了土壤微生物量,但实验的第三年为湿润年份, CO_2 浓度升高对土壤微生物量则没有影响。研究还发现在 CO_2 浓度升高的情况下添加N素能提高土壤微生物量,说明该草地的生产力受N可利用性的限制。Williams等^[81]在该实验进行了8年之后又对同一个草地土壤微生物量对长期 CO_2 浓度升高的响应做了报道,结果发现在实验进行的8年中, CO_2 浓度的升高在大部分年份中促进了 $5\sim 15\text{ cm}$ 土层的土壤微生物量,但与对照相比,这种差异不显著。此外,在整个实验期内 CO_2 浓度升高均促进了10月份的土壤微生物量。而且,该研究也发现了在干旱年份土壤微生物量在 CO_2 浓度升高下显著增加的现象。对于土壤微生物量在8年的 CO_2 浓度升高下没有持续增加的原因,作者认为是由于 CO_2 浓度升高促进了微生物活性和碳的周转,而 CO_2 浓度升高促进10月份土壤微生物量的原因则在于植物凋落物和根产量在10月份达到最大及植物—微生物之间的竞争在10月份降低的缘故。Körner等^[82]利用OTC对瑞士阿尔卑斯山中部的高山草甸的研究表明,4年的 CO_2 浓度上升(680 ppm)并没有增加土壤微生物量,而当氮肥($4\text{ gNm}^{-2}\text{y}^{-1}$)与 CO_2 升高联合作用时,土壤微生物量受到促进,说明该草地土壤受到碳和氮的联合限

制,但由于土壤微生物量在 CO_2 升高时无响应,因此认为该草地在当前的大气 CO_2 浓度下碳饱和。

4.2 气候变暖对草地土壤微生物量的影响

目前,国际上主要利用温室(Greenhouse)和开顶箱(Open-top Chamber)、土壤加热管道和电缆(Soil Heating Pipes and Cables)、红外线反射器(Infrared Reflector)、红外线辐射器(Infrared Radiator)这4种温度控制装置来研究气候变暖对土壤微生物影响^[83]。在草地生态系统,气候变暖对土壤微生物量的影响还没有达成共识,在不同的研究中土壤微生物量的变化表现为增加、降低或不变。

Belay-Tedla 等^[84]对美国大平原高草草原的研究表明,持续两年半的升温处理显著促进了土壤微生物量。如果增温处理的同时对样地剪草,则土壤微生物量显著减少。这说明增温虽然同时促进了植物生物量的增加和土壤活性有机碳的分解,但植物生物量的增加速率大于活性有机碳分解的速率,因此多余的植物生物量向土壤的输入间接地提高了土壤微生物量。而 Zhang 等^[11]在同一草地的研究则表明,2年的持续增温对土壤微生物量没有显著效应,但提高了微生物的C:N比。原因是由于增温显著降低了土壤微生物量中的细菌比重,而提高了真菌的比重,使土壤微生物群落结构发生了改变。而这种改变可以提高微生物对土壤有机碳的利用效率,有利于土壤碳的蓄积,即气候变暖将会有利于碳在土壤中的富集。但是也有相反的结果, Liu 等^[85]对中国内蒙古多伦半干旱草原的研究表明,连续3年的增温处理显著降低了土壤微生物量,而降水增加则会显著促进土壤微生物量。

综上所述, CO_2 浓度升高和气候变暖对草地土壤微生物量的影响还未得出一致结论。究其原因,主要有以下4点:①土壤微生物量本身的高度变异性。有报道认为微生物量本身的变异系数可高达193%^[86],至于这种高度的变异如何对微生物量产生影响则仍不清楚;② CO_2 浓度升高和升温的装置不同。OTC有可能过高估计 CO_2 的影响效果^[87],而FACE系统内部各种条件十分接近于自然生态环境,其获得的数据更接近真实情况。对于各种增温装置的差异,牛书丽等^[83]则在文章中给予了详细的阐述;③ CO_2 升高的目标浓度、熏蒸时间长短以及温度升高的幅度和时间不同,且各研究对 CO_2 和升温的处理方式不同,导致各研究结果之间没有统一的分析标准,数据之间很难整合,因此会出现互相矛

盾的结果;④草地类型以及植物种类之间的差异。不同草地类型(草甸草原、典型草原和荒漠草原)所具有的水分状况和植物种类不同,而 CO_2 浓度升高和温度升高对土壤微生物的影响又与土壤水分紧密相连,因此,草地类型和植物种类的异质性也导致了各研究结果之间的分歧。

5 研究展望

从上述分析中可以看出,尽管国内外学者对自然环境要素、人类活动以及全球变化对草地土壤微生物量的影响开展了大量研究,并取得了一定的进展,但有相当一部分研究结果尚存在很大的不确定性,有的甚至截然相反。鉴于土壤微生物量在全球碳循环中的重要作用,草地生态系统土壤微生物量在未来迫切需要开展以下研究:

(1) 开展长期性的野外定位实验研究。土壤微生物量本身具有极高的变异性,短期的实验有可能掩盖生态系统对实验处理的敏感性和滞后效应。此外,在不同的时间尺度上土壤微生物量对实验处理的响应可能存在较大差异。因此,开展长期的野外试验研究有助于从整体上得出全面和令人信服结论。

(2) 开展多因子综合控制实验。在全球变化的背景下,大气 CO_2 浓度上升、气候变暖、大气N沉降、土地利用变化和人为管理措施的改变都将对草地生态系统土壤微生物量产生影响,并且这些影响因素并不是相互独立的,而是彼此间存在着较强的交互作用。因此,通过多因子综合控制实验整合各种密切相关的影响因子进行研究,将会更全面真实地反映全球变化和人类活动对草地生态系统土壤微生物量的影响机制。

(3) 开展N输入对微生物量影响的研究。目前全球N沉降问题日趋严重,中国目前已成为除北美和欧洲之外的全球第三大氮沉降区,与此同时,草地的人为施肥活动作为草地管理的一项措施也正逐渐被人们接受,因此,深入探讨氮输入对草地生态系统土壤微生物量的定量影响是摆在我们面前亟待解决的关键科学问题。此外,由于适量的N输入能够促进植物生长,造成地下生物量和凋落物的归还增加,有利于土壤微生物量的提高,使土壤有可能成为大气 CO_2 的一个潜在碳库,但究竟氮输入能在多大程度上起到增加碳固定的作用以及对固

碳有作用的氮的合适施入量是多少也都是有待于进一步研究的问题。

(4) 完善和发展测量微生物量的新技术和新方法。虽然近20年来对微生物量的测定方法研究较多,但以当前的技术,真正直接地测定土壤微生物量仍是难以实现。因此,开发能快速简便地直接测定土壤微生物量的新方法,在进一步提高土壤微生物量测量的速度和精度的同时,为生态模型提供更多有意义的参数估计和模型验证是未来土壤微生物量研究领域值得关注的问题。

参考文献

- [1] 吴金水,林启美,黄巧云,等. 土壤微生物生物量及其应用. 北京:气象出版社, 2006: 54-61.
- [2] 陈国潮,何振立,黄昌勇. 土壤微生物生物量C周转及其研究. 土壤学报, 2002, 39(2): 153-159.
- [3] Compton J E, Watrud L S, Porteous L A, et al. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at Harvard forest. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 143-158.
- [4] Zhong W H, Cai Z C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. *Applied Soil Ecology*, 2007, 36(2-3): 84-91.
- [5] Boxman A W, Blanck K, Brandrud T E, et al. Vegetation and soil biota response to experimentally-changed nitrogen inputs in coniferous forest ecosystems of the NITREX project. *Forest Ecology and Management*, 1998, 101(1-3): 65-79.
- [6] Fisk M C, Fahey T J. Microbial biomass and nitrogen cycling responses to fertilization and litter removal in young northern hardwood forests. *Biogeochemistry*, 2001, 53(2): 201-223.
- [7] Wang Q K, Wang S L, Liu Y X. Responses to N and P fertilization in a young *Eucalyptus dunnii* plantation: Microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter. *Applied Soil Ecology*, 2008, 40(3): 484-490.
- [8] Joergensen R G, Potthoff M. Microbial reaction in activity, biomass, and community structure after long-term continuous mixing of a grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37(7): 1249-1258.
- [9] Johnson D, Leake J R, Read D J. Liming and nitrogen fertilization affects phosphatase activities, microbial biomass and mycorrhizal colonization in upland grassland. *Plant and Soil*, 2005, 271(1-2): 157-164.
- [10] 黄靖宇,宋长春,宋艳宁,等. 湿地垦殖对土壤微生物量及土壤溶解有机碳、氮的影响. 环境科学, 2008, 29(5): 1380-1387.
- [11] Zhang W J, Parker K M, Luo Y Q, et al. Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tall-grass prairie. *Global Change Biology*, 2005, 11(2): 266-277.
- [12] Potthoff M, Steenwerth K L, Jackson L E, et al. Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(7): 1851-1860.
- [13] 齐玉春,董云社,耿元波,等. 我国草地生态系统碳循环研究进展. 地理科学进展, 2003, 22(4): 342-352.
- [14] 姚拓,马丽萍,张德罡. 我国草地土壤微生物生态研究进展及浅评. 草业科学, 2005, 22(11): 1-7.
- [15] 谷雪景,赵吉,王娟. 内蒙古典型草原土壤微生物生物量研究. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1444-1448.
- [16] 郭继勋,祝延成,马文明,等. 东北羊草草原土壤微生物与生态环境的关系. 草地学报, 1996, 4(4): 240-245.
- [17] 王启兰,曹广民,王长庭. 高寒草甸不同植被土壤微生物数量及微生物生物量的特征. 生态学杂志, 2007, 26 (7): 1002-1008.
- [18] 杨成德,龙瑞军,陈秀蓉,等. 东祁连山高寒草甸土壤微生物量及其与土壤物理因子相关性特征. 草业学报, 2007, 16(4): 62-68.
- [19] 吕秀华. 东北羊草草原不同生境土壤微生物生物与土壤理化性质关系研究[D]. 长春:东北师范大学, 2003: 15-18.
- [20] 陈珊,张常钟,刘东波,等. 东北羊草草原土壤微生物生物量的季节变化及其与土壤生境的关系. 生态学报, 1995, 15(1): 91-94.
- [21] Alvarez R, Santanoglia O J, Garcia R. Effect of temperature on soil microbial biomass and its metabolic quotient in situ under different tillage systems. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 19(2-3): 227-230.
- [22] Garcia F O, Rice C W. Microbial biomass dynamics in tallgrass prairie. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58(3): 816-823.
- [23] 赵先丽,程海涛,吕国红,等. 土壤微生物生物量研究进展. 气象与环境学报, 2006, 22(4): 95-99.
- [24] Contin M, Corcimaru S, Nobili M De, et al. Temperature changes and the ATP concentration of the soil microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32(8-9): 1219-1225.
- [25] Killham K. *Soil Ecology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994: 13-14.
- [26] 王慧春,赵修堂,王启兰. 青海高寒草甸不同植被土壤微生物生物量的测定. 青海草业, 2006, 15(4): 2-5.
- [27] 吴建国,艾丽. 祁连山3种典型生态系统土壤微生物活性和生物量碳氮含量. 植物生态学报, 2008, 32(2): 465-476.
- [28] 张崇邦,刘士山,杨靖春. 东北羊草草原环境因素对微生物生物量影响的灰色分析. 中国草地, 1996, 18(1): 10-14.
- [29] Rosacker L L, Kieft T L. Biomass and adenylate energy

- charge of a grassland soil during drying. *Soil Biology & Biochemistry*, 1990, 22(8): 1121-1127.
- [30] Xiang S R, Doyle A, Holden P A, et al. Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(9): 2281-2289.
- [31] Scheu S, Parkinson D. Changes in bacterial and fungal bio-volume and ergosterol content after drying, remoistening and incubation of different layers of cool temperate forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26(11): 1515-1525.
- [32] Wu J, Brookes P C. The proportional mineralization of microbial biomass and organic matter caused by air-drying and rewetting of a grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37(3): 507-515.
- [33] Wardle D A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 1992, 67(3): 321-358.
- [34] 康健. 贺兰山西坡不同草地类型土壤微生物碳-氮特征[D]. 兰州: 兰州大学, 2006: 26-28.
- [35] Bardgett R D, Jones A C, Jones D L, et al. Soil microbial community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(12-13): 1653-1664.
- [36] Pietri J C A, Brookes P C. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(7): 1856-1861.
- [37] Wardle D A. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: A global-scale synthesis. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(13): 1627-1637.
- [38] Chen G C, He Z L, Wang Y J. Impact of pH on microbial biomass carbon and microbial biomass phosphorus in red soil. *Pedosphere*, 2004, 14(1): 9-15.
- [39] Dakhah M, Gifford G F. Influence of vegetation, rock cover and trampling on infiltration rates and sediment production. *Water Resource Bull*, 1980, 16(6): 979-986.
- [40] Krzic M, Broersma K, Thompson D J, et al. Soil properties and species diversity of grazed crested wheatgrass and native rangelands. *Range Management*, 2000, 53(3): 353-358.
- [41] 马秀枝, 王艳芬, 汪诗平, 等. 放牧对内蒙古锡林河流域草原土壤碳组分的影响. *植物生态学报*, 2005, 29(4): 569-576.
- [42] Holt J A. Grazing pressure and soil carbon, microbial biomass and enzyme activities in semi-arid northeastern Australia. *Applied Soil Ecology*, 1997, 5(2): 143-149.
- [43] 王启兰, 王长庭, 杜岩功, 等. 放牧对高寒嵩草甸土壤微生物量碳的影响及其与土壤环境的关系. *草业学报*, 2008, 17(2): 39-46.
- [44] Shrestha G, Stahl P D. Carbon accumulation and storage in semi-arid sagebrush steppe: Effects of long-term grazing exclusion. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2008, 125(1-4): 173-181.
- [45] Raiesi F, Asadi E. Soil microbial activity and litter turnover in native grazed and ungrazed rangelands in a semi-arid ecosystem. *Biology Fertility of Soils*, 2006, 43(1): 76-82.
- [46] Northup B K, Brown J R, Holt J A. Grazing impacts on the spatial distribution of soil microbial biomass around tussock grasses in a tropical grassland. *Applied Soil Ecology*, 1999, 13(3): 259-270.
- [47] 张蕴薇, 韩建国, 韩永伟, 等. 不同放牧强度下人工草地土壤微生物量碳、氮的含量. *草地学报*, 2003, 11(4): 343-346.
- [48] 张蕴薇. 放牧强度对土壤物理性质的影响. *草地学报*, 2002, 10(1): 73-75.
- [49] Wang K H, McSorleya R, Bohlenb P, et al. Cattle grazing increases microbial biomass and alters soil nematode communities in subtropical pastures. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(7): 1956-1965.
- [50] Bardgett R D, Hobbs P J, Frostegård Åsa. Changes in soil fungal: bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(3): 261-264.
- [51] Kieft T L. Grazing and plant-canopy effects on semiarid soil microbial biomass and respiration. *Biology Fertility of Soils*, 1994, 18(2): 155-162.
- [52] Moussa A S, Rensburg L A, Kellner K, et al. Soil microbial biomass in semi-arid communal sandy rangelands in the Western Bophrima district, South Africa. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2007, 5(1): 43-56.
- [53] Milchunas D G, Lauenroth W K. A quantitative assessment of the effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecological Monographs*. 1993, 63(4): 327-366.
- [54] 高英志, 韩兴国, 汪诗平. 放牧对草原土壤的影响. *生态学报*, 2004, 24(4): 790-797.
- [55] 李凌浩. 土地利用变化对草原生态系统土壤碳贮量的影响. *植物生态学报*, 1998, 22(4): 300-302.
- [56] Lal R, Kimele J, Follett R. Land use and soil C pool in terrestrial ecosystem//Stewart B A. *Management of Carbon Sequestration in Soil*. Boca Ration: CRC Press, Fla, USA, 1998: 1-10.
- [57] 樊江文, 钟华平, 员旭疆. 50年来我国草地开垦状况及其生态影响. *中国草地*, 2002, 24(5): 69-72.
- [58] Dvidson E A, Ackerman I L. Changes in soil carbon inventories following cultivation of previously untilled soils. *Biogeochemistry*, 1993, 20(3): 181-198.
- [59] 平立凤, 窦森, 张晋京, 等. 草原及开垦后土壤有机质性质研究. *应用生态学报*, 2004, 15(5): 824-826.
- [60] 王百群, 苏以荣, 吴金水. 开垦草地对土壤有机碳库构成

- 与来源的效应. 核农学报, 2007, 21(6): 618-622.
- [61] Jones M B, Donnelly A. Carbon sequestration in temperate grassland ecosystem and the influence of management, climate and elevated CO₂. *New Phytologist*, 2004, 164(3): 423-439.
- [62] Hatch D J, Lovell R D, Antil R S, et al. Nitrogen mineralization and microbial activity in permanent pastures amended with nitrogen fertilizer or dung. *Biology Fertility of Soils*, 2000, 30(4): 288-293.
- [63] Lovell R D, Hatch D J. Stimulation of microbial activity following spring application of nitrogen. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 26(1): 28-30.
- [64] Dijkstra F A, Hobbie S E, Reich P B, et al. Divergent effects of elevated CO₂, N fertilization, and plant diversity on soil C and N dynamics in a grassland field experiment. *Plant and Soil*, 2005, 272(1-2): 41-52.
- [65] Liu W X, Xu W H, Han Y, et al. Responses of microbial biomass and respiration of soil to topography, burning, and nitrogen fertilization in a temperate steppe. *Biology Fertility of Soils*, 2007, 44(2): 259-268.
- [66] Lovell R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27(7): 969-975.
- [67] Wallenstein M D, McNulty S, Fernandez I J, et al. Nitrogen fertilization decreases forest soil fungal and bacterial biomass in three long-term experiments. *Forest Ecology and Management*, 2006, 222(1-3): 459-468.
- [68] Tietema A. Microbial carbon and nitrogen dynamics in coniferous forest floor material collected along a European nitrogen deposition gradient. *Forest Ecology and Management*, 1998, 101(1-3): 29-36.
- [69] Hopkins D W, Shiel R S. Size and activity of soil microbial communities in long-term experimental grassland plots treated with manure and inorganic fertilizers. *Biological Fertility of Soils*, 1996, 22(1-2): 66-70.
- [70] DeForest J L, Zak D R, Pregitzer K S, et al. Atmospheric nitrate deposition, microbial community composition, and enzyme activity in northern hardwood forests. *Soil Science Society of America*, 2004, 68(1): 132-138.
- [71] Zhang N L, Wan S Q, Li L H, et al. Impacts of urea N addition on soil microbial community in a semi-arid temperate steppe in northern China. *Plant Soil*, 2008, 311(1-2): 19-28.
- [72] 张彦东, 孙志虎, 沈有信. 施肥对金沙江干热河谷退化草地土壤微生物的影响. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 88-91.
- [73] Zhang Q S, Zak J C. Effects of water and nitrogen amendment on soil microbial biomass and fine root production in a semi-arid environment in west Texas. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(1): 39-45.
- [74] Lovell R D, Jarvis S C. Effect of cattle dung on soil microbial biomass C and N in a permanent treatments stored under controlled conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 1996, 28(3): 291-299.
- [75] Johnson D, Leake J R, Lee J A, et al. Changes in soil microbial biomass and microbial activities in response to 7 years simulated pollutant nitrogen deposition on a heathland and two grasslands. *Environmental Pollution*, 1998, 103(2-3): 239-250.
- [76] IPCC. Climate Change 2001. The Scientific Basis// Houghton J T, Ding Y, Griggs D J, et al. *The Carbon Cycle and Atmospheric Carbon Dioxide*. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 185-237.
- [77] Bruce K D, Jones T H, Bezemer T M, et al. The effect of elevated atmospheric carbon dioxide levels on soil bacterial communities. *Global Change Biology*, 2000, 6(4): 427-434.
- [78] Drissner D, Blum H, Tscherko D, et al. Nine years of enriched CO₂ changes the function and structural diversity of soil microorganisms in a grassland. *European Journal of Soil Science*, 2007, 58(1): 260-269.
- [79] Kandeler E, Mosier A R, Morgan J A, et al. Response of soil microbial biomass and enzyme activities to the transient elevation of carbon dioxide in a semi-arid grassland. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(8): 2448-2460.
- [80] Rice C W, Garcia F O, Hampton C O, et al. Soil microbial response in tallgrass prairie to elevated CO₂. *Plant and Soil*, 1994, 165(1): 67-74.
- [81] Williams M A, Rice C W, Owensby C E. Carbon dynamics and microbial activity in tallgrass prairie exposed to elevated CO₂ for 8 years. *Plant and Soil*, 2000, 227(1-2): 127-137.
- [82] Körner C, Diemer M, Schappi B, et al. The responses of alpine grassland to four seasons of CO₂ enrichment: A synthesis. *Acta Oecologica*, 1997, 18(3): 165-175.
- [83] 牛淑丽, 韩兴国, 马克平, 等. 全球变暖与陆地生态系统研究中的野外增温装置. *植物生态学报*, 2007, 31(2): 262-271.
- [84] Belay-Tedla A, Zhou X H, So B, et al. Labile, recalcitrant, and microbial carbon and nitrogen pools of a tallgrass prairie soil in the US Great Plains subjected to experimental warming and clipping. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(1): 110-116.
- [85] Liu W X, Zhang Z, Wan S Q. Predominant role of water in regulating soil and microbial respiration and their responses to climate change in a semiarid grassland. *Global Change Biology*, 2009, 15(1): 184-195.
- [86] 罗艳. 土壤微生物对大气 CO₂ 浓度升高的响应. *生态环境*, 2003, 12(3): 357-360.
- [87] Oijen M V, Schapendonk A H C M, Jansen M J H, et al. Do open-top chambers overestimate the effects of rising CO₂ on plants? An analysis using spring wheat. *Global Change Biology*, 1999, 5(4): 411-421.

Advances in Researches on Soil Microbial Biomass of Grassland Ecosystems and Its Influencing Factors

HE Yating^{1,2}, DONG Yunshe¹, QI Yuchun¹, XIAO Shengsheng³, LIU Xinchao^{1,2}

(1. Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, CAS, Beijing 100101, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Jiangxi Provincial Research Institute for Soil and Water Conservation, Nanchang 330029, China)

Abstract: As one of the main terrestrial ecosystems, grassland ecosystem has suffered the extensive effects from human activity and global change. These effects not only have an influence on aboveground process such as plant growth and plant community dynamics, but also exert a profound influence on multiple belowground processes simultaneously. Therefore, soil microorganism may be a good indicator to understand the response of the aforementioned belowground biological and biogeochemical processes to the changes of outside disturbances. Soil microbial biomass is an important parameter to character the soil microbe activity and size. Meanwhile, it is also the most active component of the soil organic carbon pool, and plays an important role in indicating the minute changes in soil system and is of great significance in the research of soil bio-chemical processes. Here the effects of natural factors (soil temperature, soil moisture and soil pH), human disturbances (grazing, grassland reclamation and fertilization) and global changes (elevated CO₂ and global warming) on soil microbial biomass of grassland ecosystem are presented. So far, the researches about the effects of natural factors and external disturbance on soil microbial biomass still have a lot of uncertainties, so long-term field studies, multiple factors controlled experimentation and nitrogen input studies should be strengthened in the future studies. Besides, new technologies and methods to determine soil microbial biomass are also expected to be developed.

Key words: grassland ecosystem; soil microbial biomass; influencing factors; global change

本文引用格式:

何亚婷, 董云社, 齐玉春, 等. 草地生态系统土壤微生物量及其影响因子研究进展. 地理科学进展, 2010, 29(11): 1350-1359.