

DOI: 10.11766/trxb201303210134

亚高山森林土壤酶活性的温度敏感性特征^{*}

秦纪洪¹ 张文宣^{2,3} 王琴³ 孙辉^{3†}

(1 成都大学城乡建设学院环境系, 成都 610106)

(2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

(3 四川大学环境科学与工程系, 成都 610065)

TEMPERATURE SENSITIVITY OF ENZYME ACTIVITY IN SUBALPINE FOREST SOIL INSOUTHWEST CHINA

Qin Jihong¹ Zhang Wenxuan^{2,3} Wang Qin³ Sun Hui^{3*}

(1 Department of Environmental Engineering, College of Urban and Rural Construction, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

(2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 Department of Environmental Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

摘 要 关键词 亚高山森林土壤; 土壤酶活性; 土壤温度敏感性; 低温生态系统

中图分类号 S154.2; S714.3

文献标识码 A

处于高海拔与低温环境的青藏高原东缘亚高山森林是我国西南林区主体,也是我国最主要土壤碳库之一^[1-2]。已有研究表明低温生态系统(高纬度与高海拔)可能对全球变化产生更为强烈反馈效应^[3-5],土壤生态与生物化学过程也可能更为敏感,特别是在土壤酶与土壤微生物活性等为表征的土壤生物活性方面^[5]。在高寒生态系统因为植物根系休眠期长,土壤酶主要是土壤微生物产生的对土壤生物化学过程具有催化活性的胞外酶,因此土壤酶库和酶活性主要受土壤微生物区系与活性制约。一般认为,像高寒土壤等低温土壤生态系统的呼吸活性更易受土壤温度变化的影响,可作为土壤的温度敏感性指标,这也使得有关土壤微生物温度敏感性相关的研究已经成为低温土壤生态系统的研究热点之一。土壤微生物呼吸温度敏感性指数一般用 Q_{10} 值表征,即温度升高 10℃ 土壤呼吸速率增加的倍数。 Q_{10} 值常被认为是一个接近于 2.0 的常数^[3,6],近期研究表明 Q_{10} 值波动范围很大,从不敏感(Q_{10} 接近或者小于 1)到极敏感(Q_{10} 值大于

20)^[7-8]。同时, Q_{10} 具有明显地带性,在北方森林与苔原土壤 Q_{10} 范围为 2.5 ~ 10.3,温带土壤 Q_{10} 为 1.1 ~ 14.2,热带和亚热带土壤 Q_{10} 范围为 1.4 ~ 4.6^[9];Fierer 等也发现不同条件下 Q_{10} 在 2.2 ~ 4.6 之间变动(均值 3.0)^[10]。此外, Q_{10} 还受生态系统类型、土壤微生物群落、土壤水分、底物质量和数量等方面的影响,而且 Q_{10} 与温度之间关系仍然存在争论^[9],这也使土壤酶活性的温度敏感性研究更加复杂。

高纬度或高海拔为特征的低温生态系统被认为是全球最敏感生态系统之一,低温生态系统土壤微生物类群因土壤温度变化而发生根本性变化,如 Schadt 报道了科罗拉多高山土壤真菌/细菌生物量的比值在冬季和夏季分别为 14.9 和 6.6^[11],显示低温生态系统微生物群落结构与功能方面温度依赖性显著;并且低温阶段的土壤呼吸活性对温度可能更加敏感,如高山生态系统微生物呼吸活性在 -3 ~ 0℃ 变化最为剧烈, Q_{10} 更是呈现数量级的变化^[12]。

* 国家自然科学基金项目(41271094, 40871124)和中央高校基本科研业务费(2010SCU22007)资助

† 通讯作者, E-mail: sunhuifiles@gmail.com

作者简介:秦纪洪(1981—),女,四川成都人,博士,副教授,主要研究方向为高寒土壤生态过程及特征。E-mail: floodqjh@gmail.com

收稿日期:2013-03-21;收到修改稿日期:2013-06-26

实际上土壤微生物区系及其活性(土壤呼吸)在低温下(特别是在 0℃ 上下)特别敏感是可以理解的,因为在 0℃ 时土壤水分形态和活性发生全部或者部分发生相变,微生物的功能类群随土壤冻结或者解冻产生适应性变化。已有研究证实,如同微生物功能类群的适应性变化一样,低温土壤酶可通过同工酶表现出一些低温适应性,使一些土壤酶在低温下仍具有较高活性,而且酶活性在低温时对温度变化更加敏感^[13]。国内对亚高山森林等高寒土壤酶活性的季节动态等进行了一些原位研究^[14-15],也有一些关于土壤酶 Q_{10} 的定量研究,但多是在较高的温度区间(多高于 10℃)土壤酶 Q_{10} 的测定,罕有针对高海拔土壤在低温区间(0~10℃)一些重要土壤酶温度敏感性的定量研究,而高寒土壤每年大部分时间的温度低于 10℃,漫长的低温季节对于高寒土壤生态过程具有重要意义。为此,本文所研究的问题对深入理解全球气候变化背景下,我国高山生态系统和北方季节性冻土区的土壤生化过程与动态机制十分重要。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤样品为四川阿坝藏族羌族自治州小金县梦笔山海拔 3 200~3 250 m 亚高山棕色针叶林土去掉凋落物层后 0~20 cm 表土。该海拔年均温 8.2℃,5 cm 深度土壤年均温约 5.6℃(最低温 -5.0℃),5 cm 深度土壤月均温低于 0℃ 月份为 12 月—3 月;每年初雪多在 9 月底,终雪多在 5 月初。本实验土壤样品为 2012 年 3 月份采集,采样时表土日均温 3.8℃,10 cm 深度日均温 1.6℃,20 cm 深度日均温 0℃,处于冻融交替期间。土壤采集后用冰盒带回实验室,清除树根和石块,过 2 mm 筛。混合后土壤有机碳 $141.9 \pm 3.8 \text{ g kg}^{-1}$,水溶性氮 $2.23 \pm 1.32 \text{ mg kg}^{-1}$,速效磷 $3.17 \pm 0.05 \text{ mg kg}^{-1}$,pH6.52 ± 0.05 。

将过筛后的土壤混合均匀,含水量调节至田间持水量 70% 后,按原容重(0.91 g cm^{-3})重装土柱,土柱直径 30 cm,深度 30 cm。所有土柱在 4℃ 黑暗环境预培养 1 周后,开始进行培养实验。实验设置 0、2、5、10、15、25、37℃ 共 7 个水平,温度误差控制在 $\pm 0.1^\circ\text{C}$,3 次重复;每个温度水平的持续培养时间均为 7 d。培养结束后,每个土柱采样,分析土壤脲酶(URE)、磷酸单酯酶(PME)、过氧化氢酶(CAT)、

过氧化物酶(POX)、多酚氧化酶(PPO)、 β -葡萄糖苷酶(β -GL)、转化酶(INV)、脱氢酶(DEH)等 8 种土壤酶活性。

1.2 测定方法

磷酸单酯酶采用对硝基苯磷酸盐法; β -葡萄糖苷酶活性采用对硝基苯基- β -D-葡萄糖苷(PNPG)比色法;土壤脲酶采用靛酚蓝比色法,土壤转化酶(蔗糖酶)活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法;土壤脱氢酶活性采用三苯基四氮唑氯化物比色法(TTC)比色法;土壤多酚氧化酶活性采用红紫椴精比色法;土壤过氧化物酶活性采用邻苯三酚比色法;土壤过氧化氢酶活性采用滴定法。

1.3 数据处理

土壤温度主要影响酶促反应的速度常数。根据 von't Hoff 规则,土壤酶温度效应以两个温度下酶促反应的速度常数之比,不过土壤呼吸活性敏感性指标在此基础上多有修改,本文土壤酶活性温度敏感性指数 Q_{10} 采用下式计算^[16]。

$$Q_{10} = \left(\frac{R_2}{R_1} \right)^{\frac{10}{T_2 - T_1}}$$

式中, Q_{10} 为土壤酶的温度敏感性指数; R_2 和 R_1 分别为温度 T_2 、 T_1 下的土壤酶潜在活性值。

数据采用 SPSS13.0 分析。

2 结果

2.1 亚高山土壤酶活性的温度效应

不同土壤酶活性的温度效应趋势见图 1。总体来看,在 0~37℃ 区间内,亚高山土壤酶活性随着培养温度增加,活性随温度增加的变化趋势体现为四种类型,即先降后升型(脲酶与过氧化氢酶,图 1a),先升后降型(转化酶与磷酸单酯酶,图 1b)、持续升高型(β -葡萄糖苷酶与脱氢酶,图 1c)和基本不变型(过氧化物酶与多酚氧化酶,图 1d)。

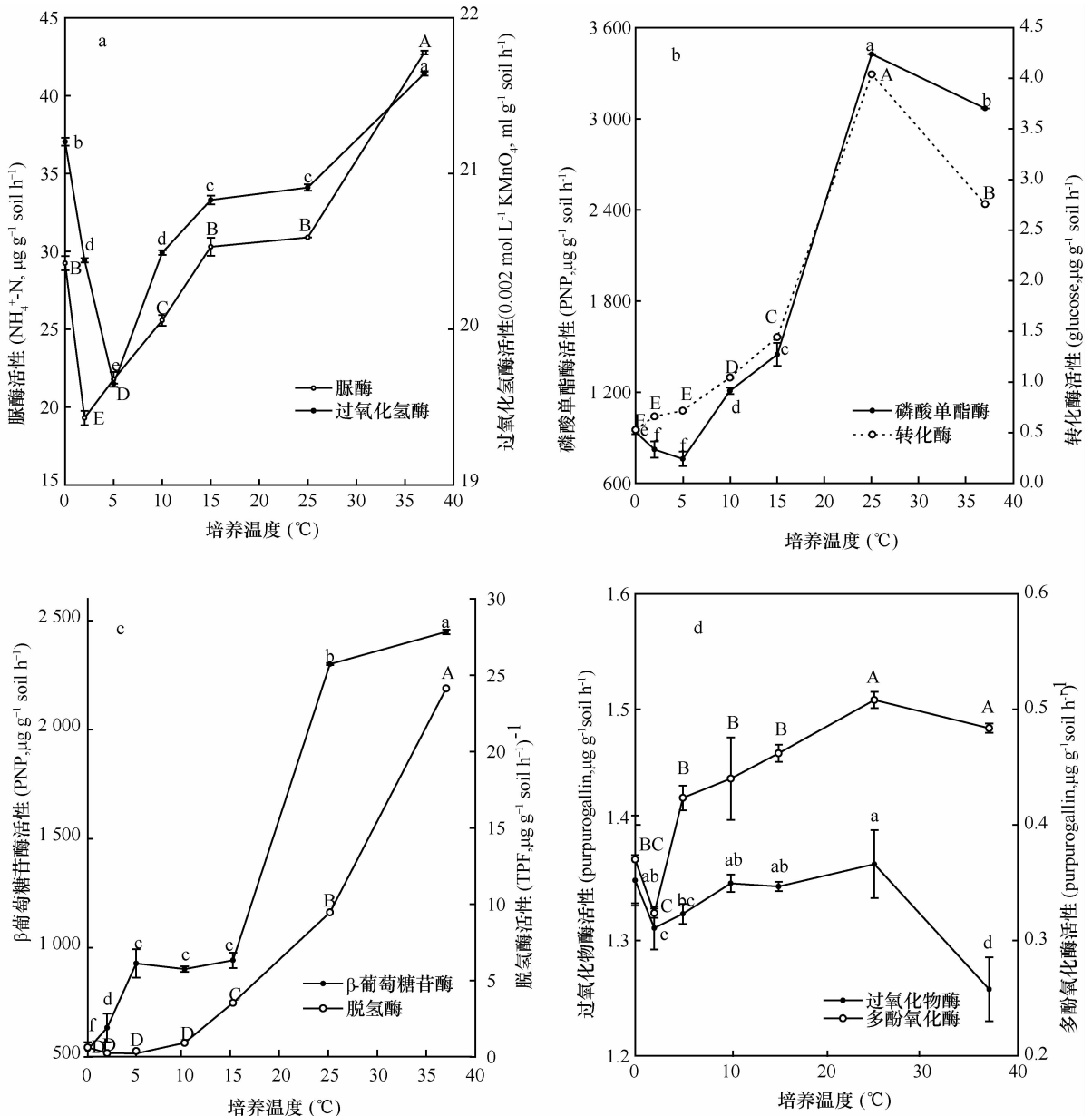
除了脱氢酶(DEH)、 β -葡萄糖苷酶(β -GL)外,其余几种土壤酶在 10℃ 以下的低温下仍然表现出很高的酶促活性,说明亚高山土壤酶活性与低温环境背景是一致的。可能与低海拔温带和亚热带相应土壤酶在低温环境的活性有所差异。

2.2 亚高山森林土壤酶活性不同温度段的 Q_{10} 值

不同温度段亚高山土壤酶活性敏感性指标 Q_{10} 见表 1。不同温度段、不同土壤酶 Q_{10} 的差异都很大。对于同一种酶在实验中测定的 0~37℃ 范围的不同温度段的 Q_{10} ,其中转化酶(INV)在 0~2℃ 段

是最高的,分别为 1.87 和 3.05;脲酶(URE)、多酚氧化酶(PPO)和 β -葡萄糖苷酶(β -GL) Q_{10} 在 2~5℃最高,分别为 1.50、2.45 和 3.58;而过氧化氢酶(CAT)、磷酸单酯酶(PME)和脱氢酶(DEH)最高的温度段则是 5~10℃,分别为 1.09、2.53 和 16.78;过氧化物酶(POX)在 2~5℃以及 5~10℃的 Q_{10} 相近,分别为 1.03 和 1.04,也是整个温度段的最高值或者次高值。

在 0~37℃范围内,从这几种亚高山土壤酶的 Q_{10} 测定结果来看,土壤酶活性的敏感性指数最高的温度范围均在 10℃以下。这些结果表明,随着土壤温度升高,土壤酶的温度敏感性是在逐渐降低的。对于亚高山土壤酶而言,在低温阶段(10℃以下,甚至是在 5℃或者 2℃以下),这些土壤酶的温度敏感性最高,相关生化过程对土壤暖化的热动力学响应也高于低海拔温度高的土壤。



注:图中值为平均值+标准差;同一种酶的活性值上标注大写(或者小写)字母为 Duncan 法进行多重比较检验结果,字母相同则差异不显著($p < 0.05$)

图1 西南亚高山森林表土不同温度下土壤酶活性变化趋势

表 1 不同温度下 8 种土壤酶活性的温度敏感系数 Q_{10} 值

温度(°C)	CAT	URE	POX	PPO	PME	β -GL	INV	DEH
0~2	0.83	0.13	0.86	0.51	0.52	2.35	3.05	0.01
2~5	0.88	1.50	1.03	2.45	0.77	3.58	1.32	0.65
5~10	1.09	1.38	1.04	1.08	2.53	0.95	2.12	16.78
10~15	1.03	1.40	1.00	1.10	1.44	1.09	1.91	15.05
15~25	1.00	1.02	1.01	1.10	2.36	2.44	2.80	2.68
25~37	1.03	1.31	0.93	0.96	0.91	1.05	0.73	2.18
平均值	1.01	1.10	0.98	1.07	1.38	1.51	1.56	1.69

3 讨 论

一般而言,土壤酶活性与温度变化应该是一个先升高后降低的过程,即在一定温度范围内酶活性随着温度的升高而升高,到达最适温度后土壤酶活性下降,但是不同酶的最适温度不同,有些土壤酶的最适温度很高。如 Trasar-Cepeda 等指出 β -葡萄糖苷酶与脱氢酶活性随温度升高,70°C 仍然没有达到这两种酶的最适温度;而转化酶、纤维素酶最适温度为 57°C^[17],我们的结果与该研究相应温度范围这些酶活性的变化趋势是相似的。本文测定了 5°C 以下的脲酶活性,而高于 5°C 的脲酶活性,则与 Trasar-Cepeda 与文祥等研究结果是一致的^[7,17],脲酶最适温度可能是 60°C 左右。

对于过氧化氢酶,Trasar-Cepeda 的结果显示其最适温度可能是 27°C^[17],本文结果与此完全不同,这可能是季节性适应的有关微生物类群引起的,即在亚高山每年只分为低温季节和生长季节,这就可能使微生物存在适应低温阶段(5°C 以下)与较高温度(5°C 以上)的类群,从而产生适应低温的同工酶。目前已有研究表明低温环境可诱导土壤微生物的生理低温适应,即使低至 -20°C 甚至 -39°C,土壤微生物仍具较高活性^[18-19]。在低温环境下土壤活性高的微生物类群以真菌为主,而细菌生物量在夏季相对升高^[11],土壤酶活性的季节性适应是由于适应相应的环境温度条件的同工酶的变化引起的^[20],因此冻土和季节性冻土在低温季节有关生物与生化活性都较高^[14,21],如主要来源于真菌的土壤磷酸酶在低温下具有较高^[22],这与低海拔和低纬度土壤有所差异。

本文探索了在低温区间与常温区间的土壤有关酶活性的温度敏感性之间的差异,发现在低温阶段土壤酶活性表征指标较高温阶段高,这与 German

等研究的土壤胞外酶回归模型得到 β -葡萄糖苷酶(β -GL)活性的 Q_{10} 值与年均温负相关的结果相互印证^[23]。不过目前关于土壤酶温度敏感性与气温(年均温)特征相关性这方面的研究报道还不多见。本研究中所测的 8 种土壤酶(主要是水解酶和氧化还原酶类) Q_{10} 均表现出在低温阶段 0~10°C 处于 0~30°C 范围最高,比较一致地显示了土壤酶在低温阶段(0~10°C)的温度敏感性高于高温阶段。这对于研究冻土和季节性冻土土壤生态过程具有重要的参考价值,因为在青藏高原及其周缘高山生态系统,分布的多是冰川、冻土和季节性冻土,如在研究区域随着海拔的差异,从海拔 3 200~4 100 m,5 cm 深度土层的月均温低于 0°C 的时间长达 60~150 d。如果土壤酶活性在低温区间敏感性更高这个特征是普遍存在的话,那么气候变化导致的轻微的土壤暖化效应,就有可能放大相关的土壤生化过程。

4 结 论

亚高山森林土壤酶活性随着培养温度升高而增加。活性随温度增加的变化趋势体现为 4 种类型,即先降后升型(CAT、URE),先升后降型(INV、PME)、持续升高型(β -GL、DEH)和基本不变型(PPO、POX)。除了脱氢酶(DEH)、 β -葡萄糖苷酶(β -GL)外,其余几种土壤酶在 10°C 以下的低温下仍然表现出很高的酶促活性,这显示低温生态系统土壤酶对低温环境条件的协同适应。

土壤酶温度敏感性在低温区间更高。转化酶(INV) Q_{10} 最高是 0~2°C;脲酶(URE)、多酚氧化酶(PPO)和 β -葡萄糖苷酶(β -GL) Q_{10} 在 2~5°C 最高;过氧化氢酶(CAT)、磷酸单酯酶(PME)和脱氢酶(DEH)最高的温度段则是 5~10°C;过氧化物酶(POX)在 2~5°C 以及 5~10°C 的 Q_{10} 相近。即在 0

~37℃ 的温度范围内,亚高山森林土壤中这些酶在 0~10℃ 低温区间拥有最高的温度敏感性。这表明低温生态系统温度的轻微升高及可能导致相关生化反应的激发,从而为全球变化中最为敏感的低温生态系统提供了相关的土壤学特征指标。

参 考 文 献

- [1] 李克让,王绍强,曹明奎. 中国植被与土壤碳贮量. 中国科学 D 辑: 地球科学, 2003, 33(1): 72—80
- [2] 邓仁菊,杨万勤,张健,等. 川西亚高山森林土壤有机层碳、氮、磷储量特征. 应用与环境生物学报, 2007, 13(4): 492—496
- [3] Davidson E A, Janssens I A. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 2006, 440: 165—173
- [4] Yu H, Luedeling E, Xu J. Winter and spring warming result in delayed spring phenology on the Tibetan Plateau. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107 (51): 22151—22156
- [5] Edwards A C, Scalenghe R, Freppaz M. Changes in the seasonal snow cover of alpine regions and its effect on soil processes: A review. *Quaternary International*, 2007, 162/163(1): 172—181
- [6] 朱铭莪. 土壤酶动力学及热力学. 北京: 科学出版社, 2011
- [7] 和文祥,朱铭莪,张一平,等. 陕西土壤脲酶热力学特征研究. *土壤学报*, 2007, 44(6): 1043—1048
- [8] Townsend A, Vitousek P M, Desmarais D J, et al. Soil carbon pool structure and temperatures sensitivity inferred using CO₂ and ¹³CO₂ incubation fluxes from five Hawaiian soils. *Biogeochemistry*, 1997, 38(1): 1—17
- [9] Chen H, Tian H Q. Does a general temperature-dependent Q₁₀ model of soil respiration exist at biome and global scale? *Journal of Integrative Plant Biology*, 2005, 47(11): 1288—1302
- [10] Fierer N, Colman B P, Schimel J P, et al. Predicting the temperature dependence of microbial respiration in soil: A continental-scale analysis. *Global Biogeochemical Cycles*, 2006, 20(3), doi: 10.1029/2005GB002644
- [11] Schadt C W, Martin A P, Lipson D A, et al. Seasonal dynamics of previously unknown fungal linkages in tundra soils. *Science*, 2003, 301: 1359—1361
- [12] Schadt C W, Wilson K L, Monson R K, et al. Exponential growth of “snow molds” at sub-zero temperatures: An explanation for high beneath-snow respiration rates and Q₁₀ values. *Biogeochemistry*, 2009, 95(1): 13—32
- [13] Koch O, Tschirko D, Kandeler E. Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzyme activities in organic alpine soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, 21, GB4017, doi: 10.1029/2007GB002983
- [14] 秦纪洪,孙辉,易之煦. 低温季节西南亚高山森林土壤多酚氧化酶动态研究. *土壤通报*, 2012, 43(5): 1073—1079
- [15] 吴秀臣,孙辉,王开运,等. 川西亚高山红桦林土壤蔗糖酶活性对温度和大气 CO₂ 浓度升高的响应. *应用生态学报*, 2007, 18(6): 1225—1230
- [16] Balsler T C, Wixon D L. Investigating biological control over soil carbon temperature sensitivity. *Global Change Biology*, 2009, 15(12): 2935—2949
- [17] Trasar-Cepeda C, Gil-Sotres F, Leiros M C. Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(1): 311—319
- [18] Panikov N S, Flanagan P W, Oechel W C, et al. Microbial activity in soils frozen to below -39°C. *Soil Biology and Biochemistry*. 2006, 38(4): 785—794
- [19] Williams M W, Helmig D, Blanken P. White on green: under-snow microbial processes and trace gas fluxes through snow, Niwot Ridge, Colorado Front Range. *Biogeochemistry*, 2009, 95(1): 1—12
- [20] Di Nardo C, Cinquegrana A, Papa S, et al. Laccase and peroxidase isoenzymes during leaf litter decomposition of *Quercus ilex* in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36(10): 1539—1544
- [21] Clein J S, Schimel J P. Microbial activity of tundra and taiga soils at sub-zero temperatures. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27(9): 1231—1234
- [22] Tibbett M, Grantham K, Sanders F E, et al. Induction of cold active acid phosphomonoesterase activity at low temperature in psychrotrophic ectomycorrhizal *Hebeloma* spp. *Mycological Research*, 1998, 102(12): 1533—1539
- [23] German D P, Marcelo K R B, Stone M M, et al. The Michaelis-Menten kinetics of soil extracellular enzymes in response to temperature: Across-latitude study. *Global Change Biology*, 2012, 18(4): 1468—1479

(责任编辑:汪叔生)