

# 暖温带森林土壤酶活性对增温的响应及其环境解析

王 一, 刘彦春, 刘世荣\*

(中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091)

**摘要:** [目的] 模拟气候变化背景下土壤酶活性季节变化规律和土壤酶活性对环境因子变异的响应, 以深入理解气候变化背景下微生物因素在调控土壤碳循环过程中的作用。 [方法] 以暖温带锐齿栎林土壤为研究对象, 采用红外辐射增温技术和 96 孔 - 微平板法测定了生长季和非生长季土壤水解酶和氧化酶活性, 解析环境因子在调控土壤酶活性季节变异中的作用。 [结果] 显示: 增温处理在生长季显著提高土壤温度 1.91℃, 导致土壤有机碳含量显著降低了 12.15%, 微生物量碳氮显著增加了 40.30% 和 61.29%; 增温处理在非生长季显著提高土壤温度 2.24℃, 但对微生物量碳氮影响并不显著。增温处理对土壤专一酶活性的影响存在季节差异, 生长季除 N-乙酰 - 葡糖苷酶外增温处理降低了土壤专一酶活性; 非生长季除 β - 葡糖苷酶和蛋白酶外增温处理增加了土壤专一酶活性。环境因子可以解释土壤专一酶活性变异的 82.5%, MBN 和 NH<sub>4</sub>-N 极显著影响土壤专一酶活性, 二者共可以解释变异的 59.0%。 [结论] MBN 和 NH<sub>4</sub>-N 是影响土壤专一酶活性的主要环境因子, 其他环境因子: 土壤水热配比、微生物量碳、微生物量碳氮比、溶解性有机碳和硝态氮等是影响土壤专一酶活性在处理间和季节间变异的主要驱动因子。

**关键词:** 暖温带; 锐齿栎林; 土壤酶活性; 增温; 环境解析

中图分类号: S714

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2017)01-0117-08

## Response of Soil Enzyme Activities to Soil Warming and Explanation of Environmental Factors in Warm-temperate Oak Forest

WANG Yi, LIU Yan-chun, LIU Shi-rong

(Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Forest Ecology and Environment, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

**Abstract:** [Objective] To study the seasonal variation of soil enzyme activities and its response to environmental factors and to understand the effect of microbial factor in the regulation of soil carbon cycle in the context of climate change. [Method] The infrared radiation heater and the 96 micro-plate method were used to assay the activity of the hydrolytic and oxidative enzymes of the soil, and determine the role of environmental factors in addressing the seasonal variation in the activity of soil enzymes. [Result] During growing season, the warming treatment significantly increased the soil temperature by 1.91℃, leading to a 12.15% decrease of organic carbon content and significant increase of 40.30% and 61.29% of microbial biomass carbon (MBC) and nitrogen (MBN). During non-growing season, however, although the warming treatment increased the soil temperature by 2.24℃, no significant effect was found on MBC or MBN. The effects of warming treatment on specific enzyme varied in different seasons. During growing season, the activities of specific enzyme in warming treatment were lower than those in control except

收稿日期: 2015-04-30 修回日期: 2016-02-20

基金项目: 国家自然科学基金重大项目“植物对森林生态系统碳-氮-水耦合循环的作用机制”(项目编号:31290223); 中国林业科学研究院基本科研业务费专项资金项目“海内外杰出学者讲习计划”(项目编号:CAFYBB2011007)。

作者简介: 王 一(1986—), 在读博士, 主要研究方向为模拟气候变化背景下森林生态系统土壤碳氮循环。E-mail: wylx0830@126.com

\* 通讯作者: E-mail: liusr9311@163.com

for NAG, while they were higher during non-growing season except for BG and LAP. [ **Conclusion** ] The environmental factors accounted for 82.5% of the total variations of soil enzyme activities, while the activities of specific enzyme were significantly affected by  $\text{NH}_4\text{-N}$  and MBN. The other environmental factors (soil moisture, MBC, DOC, MBC/MBN and  $\text{NO}_3\text{-N}$ ) were the main reasons for the variations of specific enzyme activities in different treatments and seasons.

**Keywords:** warm-temperate zone; *Quercus aliena* var. *acuteserrata*; soil enzyme activity; warming; explanation of environmental factors

IPCC 第 5 次报告指出:到本世纪末,全球地表平均温度可能会升高  $1.5 \sim 2^\circ\text{C}$  [1]。气温增加会导致土壤温度增加和土壤湿度的下降 [2-3]。温度和水作为调节生态系统过程中最重要的两个环境因子,二者变化会深刻地影响着土壤生物学过程(如:土壤有机质分解) [4]。土壤有机质分解作为土壤生物化学过程中重要的一步,它是连接陆地生态系统碳氮循环的重要环节 [5]。土壤酶通过酶促反应打破土壤有机质的复杂结构,将复杂化合物转化为简单化合物以供微生物分解利用。土壤环境因子引起土壤酶库(糖苷酶、磷酸酶、蛋白酶等)变化是影响土壤有机碳分解的主要原因 [6-7]。土壤酶作为土壤细菌、真菌和古菌的代谢产物 [8],环境因子通过影响微生物群落结构和生理作用 [9-10],进而改变土壤酶活性。胞外酶活性作为土壤微生物功能的指示因子,已成为检验土壤微生物对气候变化响应的重要工具 [11]。目前关于模拟气候变暖对土壤酶活性影响的研究中关于农田和草原的报道较多,关于森林的报道相对较少。Wang 等人 [12] 通过研究高山草甸发现增温处理对土壤纤维素酶、过氧化氢酶和磷酸酶活性无显著影响,但显著提高了脲酶活性。Zhou 等人 [13] 通过对北方草原研究发现增温处理显著增加了磷酸酶活性。Steinweg [14] 通过对弃耕农田增温试验发现增温并未改变土壤酶(BG、CB、NAG)活性,且土壤酶活性并未随着季节性温度变化而发生改变。McDaniel [15] 通过对采伐迹地进行增温试验发现:增温处理显著降低了 BG 和 NAG 酶活性,且与土壤碳库和氮库相比,非生物因子是调控土壤酶活性的主要原因。不同的研究结果表明调控土壤酶活性的生态因子是复杂的,这也为利用土壤酶准确地检验土壤微生物对气候变化响应增加了不确定性。因此研究变化环境下的土壤酶活性对于探索土壤碳库对气候变化的响应及气候、生态系统和大气  $\text{CO}_2$  浓度间的反馈作用具有重要的意义 [16]。

河南省宝天曼国家级自然保护区位于北亚热带

向南暖温带过渡区域,属气候变化敏感区。Luan 等人 在此研究表明:温度是影响土壤呼吸的重要环境因子,土壤异氧呼吸的温度敏感性高于自养呼吸 [17],说明该区域微生物对气候变暖的响应更敏感,预测未来气候变暖背景下该区微生物分解作用导致土壤碳库更容易分解。通过海拔土柱置换试验模拟气候变暖发现气候变暖显著增加了土壤  $\text{CO}_2$  通量并改变土壤有机质层的分解过程 [18]。本研究以该区域落叶阔叶林土壤为研究对象,采用红外辐射增温模拟气候变暖进行进一步研究。旨在探明:(1)模拟气候变化背景下,土壤酶活性季节变化规律;(2)土壤酶活性对环境因子变异的响应,以深入理解气候变化背景下微生物因素在调控土壤碳循环过程中的作用。

## 1 研究区域

研究地位于河南省南阳市内乡县宝天曼国家级自然保护区 ( $111^\circ47' \sim 112^\circ04' \text{ E}$ ,  $33^\circ20' \sim 33^\circ36' \text{ N}$ ),海拔 600 ~ 1 800 m,是北亚热带向南暖温带过渡区域,年均气温  $15.1^\circ\text{C}$ ,年均降水量为 885.6 mm,降水多集中分布于 6—8 月。土壤垂直分布明显,海拔 1 300 m 以上为山地棕壤,海拔 800 ~ 1 300 m 为山地黄棕壤,海拔 600 ~ 800 m 为山地褐土,土壤厚度 20 ~ 60 cm [19]。试验区植被以锐齿栎 (*Quercus aliena* var. *acuteserrata* Maxim.) 为优势树种,占林分的 65%,林龄 60 年,林分密度  $1\ 276.7 \text{ 株} \cdot \text{hm}^{-2}$ ;其他伴生树种主要有四照花 (*Dendrobenthamia japonica* (A. P. DC.) Fang var. *chinensis* (Osborn) Fang),青皮槭 (*Acer cappadocicum* Gled.) 等 [20]。

## 2 研究方法

### 2.1 样地设置

采用随机区组试验设计,于 2011 年 3 月在研究区域典型林分中布设 3 个区组,具体试验设计见文献 [20]。简言之:在增温样地内,将长 165 cm,宽 15

cm 的红外线辐射加热灯 (MSR-2420, Kalglo Electronics Inc., Bethlehem, PA, USA) 平行样地短边垂直悬挂于样地正中央上方, 悬挂高度 2.25 m, 额定功率为 2 000 瓦, 全年持续供电; 在对照样地内, 以相同的方式安装与红外线辐射加热灯形状和大小相同的假灯, 以消除红外线辐射加热灯遮阴对试验造成的误差。

## 2.2 土壤样品采集及土壤温湿度测定

2013 年 7 月和 12 月进行野外土壤样品采集, 采样前清除土壤表面新鲜和半分解的凋落物残体, 在增温和对照处理每个子样地内随机选择 3 个点, 利用直径 5.8 cm 土钻采集 0~10 cm 土层的土壤样品混合, 并对采样点进行标识。采集的鲜土用冰盒保温, 医用泡沫箱封存好迅速带回实验室过 2 mm 土筛去除碎石和植物残体等, 一部分鲜土置于 4℃ 冰箱中保存以待后期测定土壤微生物量碳氮、酶活性、硝态氮和铵态氮含量; 另一部分鲜土室内风干后用于 pH 测定, 过 100 目筛后用于总有机碳和全氮测定。采样时同步测定土壤温度和湿度: 5 cm 土壤湿度 (SWC) 由 MPK 便携式土壤水分仪 (MPKIt, Nantong, China) 测得, 每个子样地随机选取 3 个点测量取平均值; 同时利用便携式土壤温度计 (Spectrun, USA) 测定 5 cm 土壤温度, 每个子样地随机选取 3 个点测量取平均值。

## 2.3 土壤酶活性及理化性质测定

土壤酶测定: 把相当于 1 g 干土的鲜土或 1.25 g 鲜土加入 125 mL 的醋酸钠缓冲液 (50 mmol · L<sup>-1</sup>, pH = 5.0) 中, 在搅拌机中处理 1 min 制成均质土壤

悬液。水解酶测定采用荧光微平板法<sup>[21]</sup>: 样品控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL 酶底物), 对照控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL 缓冲液), 淬灭控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL 标准液), 底物控制 (控制 1: 200 μL 缓冲液 + 50 μL 酶底物, 控制 2: 200 μL 缓冲液 + 50 μL 标准底物), 以上操作除底物控制加入 96 孔板 (黑板) 外, 其余均加入 96 深孔板中; 在 25℃ 培养箱中暗培养 3 h 后加入 10 μL NaOH (0.5 mol · L<sup>-1</sup>) 停止反应, 将 96 深孔板以 5 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 3 min 后, 用八通道微量取样器取 250 μL 加到 96 孔板中 (黑板), 标仪 (PerkinElmer Enspire, USA) 进行荧光扫描 (波长: 365 nm, 450 nm)。氧化酶测定采用比色法: 以 25 mmol · L<sup>-1</sup> L-DOPA 作为底物, 酚氧化酶测定中样品控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL DOPA), 对照控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL 缓冲液), 底物控制 (200 μL 缓冲液 + 50 μL DOPA); 过氧化物酶测定中样品控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL DOPA + 40 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 对照控制 (800 μL 土壤悬液 + 200 μL 缓冲液 + 40 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 底物控制 (200 μL 缓冲液 + 50 μL DOPA + 10 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 3%)。以上操作除底物控制加入 96 孔板 (黑板) 外, 其余均加入 96 深孔板中。室温震荡暗培养 1 h 后, 将 96 深孔板以 5 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 3 min 后, 用八通道微量取样器取 250 μL 加到 96 孔板中 (黑板), 酶标仪 (PerkinElmer Enspire, USA) 进行吸光扫描 (波长: 465 nm)。(底物信息见表 1, 酶活性计算方法见文献[22])

表 1 底物基本信息

Table 1 The substrate basic information

中文名 Chinese Name	缩写 abbreviation	功能 Function	底物 Substrate	浓度 Concentration/ (μmol · L <sup>-1</sup> )
α-葡萄糖苷酶	AG	碳循环: 从可溶性糖中释放葡萄糖	4-MUB-α-D-glucoside	200 (酶底物)
β-葡萄糖苷酶	BG	碳循环: 从纤维素中释放葡萄糖	4-MUB-β-D-glucoside	200 (酶底物)
维二糖水解酶	CB	碳循环: 从纤维素中释放二糖	4-MUB-β-D-cellobioside	200 (酶底物)
N-乙酰-葡萄糖苷酶	NAG	氮循环: 降解几丁质	4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide	200 (酶底物)
蛋白酶	LAP	氮循环: 把蛋白质降解成氨基酸	L-Leucine-7-amido-4-methylcoumarin	200 (酶底物)
4-甲基伞形酮	MUB		4-methylumbelliferone	10 (标准底物)
7-氨基-4-甲基伞形酮	AMC		7-amino-4-methylcoumarin	10 (标准底物)
酚氧化物酶	POX	碳循环: 降解难分解物质	L-DOPA	25 000
过氧化物酶	PER	碳循环: 降解难分解物质	L-DOPA	25 000

土壤理化性质测定: 土壤有机碳含量采用重铬酸钾外加热方法测定<sup>[23]</sup>, 土壤全氮含量采用凯氏定氮方法测定<sup>[24]</sup>; 土壤铵态氮、硝态氮含量通过 2 mol KCL 溶液提取过滤后采用流动分析仪测定<sup>[25]</sup>; 土壤

pH 采用玻璃电极法测定<sup>[26]</sup>; 微生物量碳氮采用氯仿熏蒸浸提法<sup>[27]</sup>。

## 2.4 数据统计分析

文章中所有酶活性均采用土壤专一酶活性, 专

—酶活性 = 土壤酶活性/微生物量碳<sup>[28]</sup>。采用水热配比(S/T)作为衡量土壤环境因子的指标(S/T = 平均土壤湿度/平均土壤温度)。采用 *t* 检验比较增温处理和对照处理土壤理化性质、生长季和非生长季内增温处理和对照处理土壤活性碳库、氮库和专一酶活性以及相同处理下生长季和非生长季专一酶活性的差异。所有的数据都使用 SPSS 17.0 进行统计分析,图表采用 Sigmaplot 12.5 绘制,用 Canoco 4.5 分析专一土壤酶活性与环境因子间的关系。

### 3 结果与分析

#### 3.1 样地土壤基本理化性质

表2可知:与对照样地相比,增温处理土壤有机碳含量显著低于对照处理( $P < 0.05$ ),土壤有机碳含量降低12.15%;增温处理土壤总氮和pH值虽低于对照处理,但未达到显著水平;增温与对照处理对土壤碳氮比的影响也未达到显著水平。

#### 3.2 增温处理对土壤环境和活性碳库与氮库的影响

表3和4表明:生长季和非生长季中,增温处理显著改变土壤环境,增温处理显著增加土壤温度和

表2 样地土壤基本理化性质

Table 2 Soil physical and chemical properties

处理 Treatment	有机碳 SOC/ (g · kg <sup>-1</sup> )	总氮 TN/ (g · kg <sup>-1</sup> )	碳氮比 SOC/TN	pH 值 pH value
对照 Ambient	52.79 ± 1.00a	3.72 ± 0.32a	14.36 ± 1.02a	4.46 ± 0.11a
增温 Warming	46.38 ± 1.89b	3.17 ± 0.26a	14.93 ± 1.86a	4.34 ± 0.07a

(不同字母表示在0.05水平上显著差异)

(The different letters refer to significant effects at  $p < 0.05$ )

降低土壤湿度导致土壤水热配比显著低于对照样地,且增温处理导致非生长季水热配比下降幅度大于生长季的下降幅度;土壤溶解性有机碳含量在生长季和非生长季对增温处理的响应均未达到显著水平;生长季增温处理土壤微生物量碳和微生物量氮显著高于对照样地,分别增加了40.30%和61.29%,微生物量碳氮比显著低于对照样地12.64%;非生长季增温处理对土壤微生物量碳、微生物量氮和微生物量碳氮比的影响并不显著;土壤硝态氮和铵态氮含量在生长季和非生长季对增温处理的响应均未达到显著水平。

表3 土壤环境及土壤活性碳库和氮库的 *t* 检验结果

Table 3 Results of t-test on soil labile carbon and nitrogen pools and environment

季节 Season	处理 Treatment	水热比 S/T	溶解性有机碳 DOC/ (mg · g <sup>-1</sup> )	微生物量碳 MBC/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	微生物量氮 MBN/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	微生物 碳氮比 MBC/MBN	硝态氮 NO <sub>3</sub> -N/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	铵态氮 NH <sub>4</sub> -N/ (mg · kg <sup>-1</sup> )
生长季 Growing season	对照 Ambient	1.52 ± 0.11a	0.32 ± 0.08a	588.03 ± 58.04b	77.98 ± 7.26b	7.53 ± 0.24a	3.08 ± 0.98a	53.99 ± 3.95a
	增温 Warming	1.11 ± 0.04b	0.25 ± 0.02a	825.03 ± 17.42a	125.78 ± 5.79a	6.58 ± 0.06b	3.29 ± 1.08a	44.76 ± 9.80a
非生长季 Ungrowing season	对照 Ambient	7.06 ± 0.29a	0.17 ± 0.03a	670.23 ± 114.19a	117.85 ± 17.20a	5.68 ± 0.35a	4.04 ± 1.59a	11.96 ± 1.39a
	增温 Warming	2.65 ± 0.50b	0.17 ± 0.01a	607.59 ± 26.67a	103.70 ± 2.94a	5.86 ± 0.12a	5.54 ± 0.70a	14.82 ± 3.16a

(不同字母表示在0.05水平上显著差异)

(The different letters refer to significant effects at  $p < 0.05$ )

表4 增温和对照处理土壤湿度的 *t* 检验结果

Table 4 Results of t-test on soil moisture and temperature

季节 Season	处理 Treatment	土壤温度 Soil temperature	土壤湿度 Soil moisture
生长季 Growing season	对照 Ambient	21.49 ± 0.13b	32.54 ± 2.28a
	增温 Warming	23.40 ± 0.09a	25.98 ± 0.90a
非生长季 Ungrowing season	对照 Ambient	1.81 ± 0.23b	12.65 ± 1.03a
	增温 Warming	4.05 ± 0.35a	10.39 ± 1.23a

(不同字母表示在0.05水平上显著差异)

(The different letters refer to significant effects at  $p < 0.05$ )

#### 3.3 增温处理对土壤酶活性的影响

增温处理改变了土壤专一水解酶和氧化酶活性(图1)。除NAG外,生长季增温处理降低了AG、BG、CB和LAP专一酶活性,但均未达到显著水平;

增温处理显著降低了PER活性,未显著改变POX活性。非生长季增温处理增加了AG、CB、NAG、PER和POX专一酶活性,但降低了BG和LAP专一酶活性,且对LAP影响达到显著水平;与生长季不同,增温处理在非生长季不同程度地增加土壤专一酶活性,但未达到显著水平。图1和表5可知:除AG和LAP外,对照处理非生长季酶活性均低于生长季;增温处理非生长季酶活性均高于生长季,且非生长季AG活性显著高于生长季活性( $P = 0.019$ )。增温处理在生长季普遍降低了土壤专一酶活性,但非生长季增温处理则增加了土壤专一酶活性。说明土壤酶活性存在季节间变异,且增温处理在不同季节间对土壤酶的影响不同。

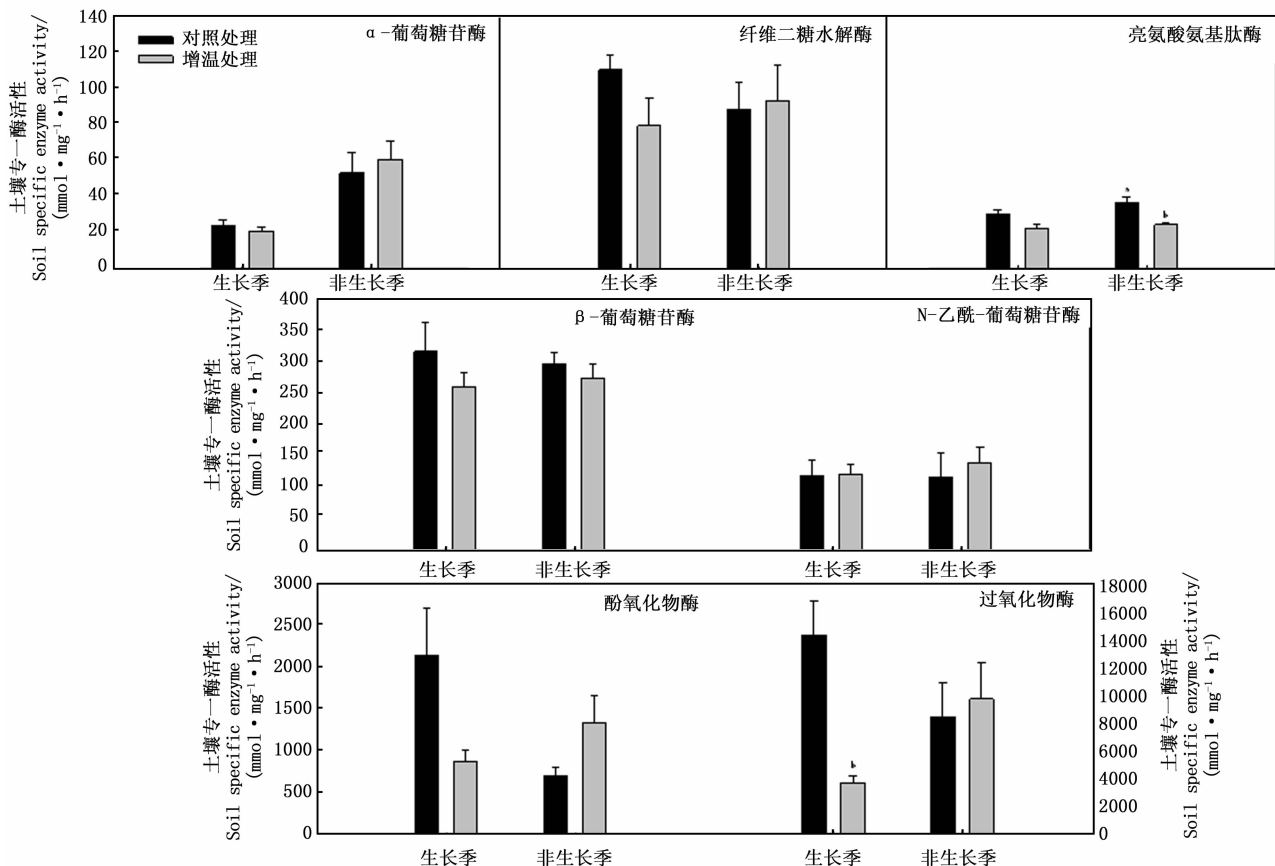


图1 生长季和非生长季土壤专一酶活性 *t* 检验结果

Fig. 1 Results of *t*-test on soil specific enzyme activity in growing and ungrowing seasons

表5 生长季和非生长季土壤专一酶活性和土壤活性碳库与氮库的 *t* 检验结果 (*p* 值)

Table 5 Results of *t*-test on soil labile carbon and nitrogen pools and specific enzyme activity in growing and ungrowing seasons (*p* value)

处理 Treatment	AG	BG	CB	NAG	LAP	POX	PER
对照 Ambient	0.060	0.731	0.277	0.965	0.163	0.066	0.163
增温 Warming	<b>0.019</b>	0.677	0.597	0.606	0.411	0.247	0.086
处理 Treatment	水热比 S/T	溶解性有机碳 DOC/ (mg · g <sup>-1</sup> )	微生物量碳 MBC/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	微生物量氮 MBN/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	微生物碳氮比 MBC/MBN	硝态氮 NO <sub>3</sub> -N/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	铵态氮 NH <sub>4</sub> -N/ (mg · kg <sup>-1</sup> )
对照 Ambient	< <b>0.01</b>	0.150	0.556	0.100	< <b>0.01</b>	0.634	< <b>0.01</b>
增温 Warming	<b>0.037</b>	<b>0.013</b>	< <b>0.01</b>	<b>0.027</b>	0.057	0.156	<b>0.044</b>

(加粗字体表示在 0.05 水平上显著差异)

(The bold numbers refer to significant effects at *p* < 0.05)

### 3.4 土壤酶活性的环境解析

冗余度分析(RDA)表明:9个环境因子变量中,有2个环境因子(NH<sub>4</sub>-N和MBN)与专一土壤酶活性显著相关。RDA分析中第一主成分和第二主成分共可以解释9个环境因子与7种土壤专一酶活性关系变异的82.5%(图2)。NH<sub>4</sub>-N和MBN共可以解释土壤专一酶活性变异的59.0%。RDA排序图说明主要环境因子和土壤专一酶活性之间的特异关系。其中LAP和AG与S/T和NO<sub>3</sub>-N呈正相关关

系,POX与NH<sub>4</sub>-N、DOC和MBC/MBN呈正相关关系,NAG、PER、BG和CB则与DOC和MBC/MBN呈正相关关系。说明土壤专一酶活性变异受多种环境因子同时调控。

## 4 讨论

### 4.1 增温处理对土壤碳库和氮库的影响

本研究可知:与对照样地相比,增温处理土壤有机碳含量显著降低12.15%。与POST<sup>[29]</sup>和Shav-

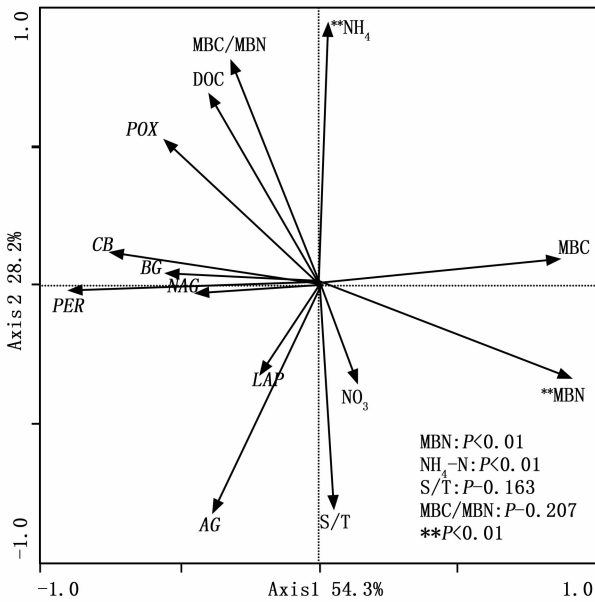


图2 环境因子与土壤专一酶活性 RDA 分析  
Fig. 2 Redundancy analysis of soil specific enzyme activity and environmental factors

er<sup>[30]</sup> 等人的研究结果一致,认为在气候变化背景下,土壤有机碳含量可能会随着温度的升高而呈现下降的趋势。作为土壤碳库和氮库的最重要组成,土壤有机碳和总氮的微弱变化都可能会对大气温室气体浓度产生显著的影响,进而影响全球尺度的碳氮循环。增温处理土壤全氮含量低于对照处理,但并未达到显著水平。与 Rui 等人<sup>[31]</sup> 在高山草甸开展的增温控制试验得出的结论一致,增温处理导致 0 ~ 10 cm 土壤总氮含量下降。增温处理虽导致土壤有机碳和总氮含量下降,但并未引起土壤碳氮比显著变化。

作为土壤碳库和氮库中重要组成部分,活性碳库和氮库(微生物量碳、微生物量氮、溶解性有机碳和溶解性有机氮)虽然所占比例不高,却在调节土壤碳氮循环中发挥着重要的作用。研究表明:生长季增温处理显著提高了土壤中微生物量碳氮,但非生长季增温处理对微生物量碳氮的影响并不显著,说明微生物量碳氮对增温处理的响应受季节变化影响。Xu 等人<sup>[32]</sup> 开展增温试验也发现土壤活性碳库和氮库对增温处理的响应受季节变化影响显著。溶解性有机碳作为土壤微生物有机体可直接利用碳源,增温处理并未显著增加溶解性有机碳含量。Luo 等人<sup>[33]</sup> 研究表明,温度和湿度并不是影响土壤溶解性有机碳的主要因子,地下生物量等生物因子是调

控土壤溶解性有机碳的重要因子。故增温处理虽显著增加土壤温度,但并不能增加土壤中溶解性有机碳的含量。微生物量碳氮比在粗略水平上可以看作微生物中细菌和真菌的相对丰度比<sup>[34]</sup>。生长季中增温处理显著降低了土壤微生物碳氮比,说明与对照样地相比增温样地的细菌群落占优势。已有整合分析研究表明<sup>[35]</sup>:增温处理会显著增加土壤净矿化作用和净硝化作用。本研究观察到增温处理虽导致土壤硝态氮和铵态氮(生长季除外)含量增加,但并未达到显著水平。这可能是因为增温处理导致细根生物量和土壤微生物量的增加促进了二者对土壤中无机氮的吸收和利用。

#### 4.2 增温处理对土壤专一酶活性的影响

土壤酶作为土壤微生物活性和土壤理化性质的指示因子<sup>[11]</sup>,在调控土壤碳氮循环中发挥着重要的作用。由于土壤酶活性与土壤性质、微生物特性等密切相关,所以增温处理下土壤酶活性可能出现季节性变化。在考察土壤酶活性的研究中,专一酶活性可以把微生物和土壤酶活性建立较好的联系。图 1 表明:生长季中除 NAG 外,增温处理不同程度降低其他 4 种水解酶专一酶活性,但均未达到显著水平。说明气候变暖情况下,酶催化反应变得更有效,单位微生物产生的酶量降低。黄雪蔓<sup>[36]</sup> 研究发现:土壤微生物群落受土壤底物的数量(有机碳含量)和质量(碳氮比)影响。作为土壤微生物两大主要类群,通常认为细菌与水解酶活性相关,主要利用土壤中活性底物;真菌与氧化酶活性相关,主要利用土壤中惰性底物<sup>[37-38]</sup>。微生物量碳氮比作为粗略反映微生物群落中细菌和真菌相对丰度的指标,且真菌比细菌具有更高的碳氮比,所以微生物量碳氮比升高反映真菌相对丰富度更高。生长季中对照样地微生物量碳氮比(7.53)显著高于增温样地微生物量碳氮比(6.58),说明对照样地中真菌相对丰富度比增温样地的高,真菌通常分泌氧化酶以分解大分子化合物,故生长季对照样地内过氧化物酶活性显著高于增温样地的。

环境因子变化可影响土壤底物扩散作用<sup>[39]</sup>和底物利用有效性<sup>[40]</sup>。非生长季中土壤温度因子成为限制性因子时,底物扩散作用和有效性受到限制,微生物利用底物效率和微生物活性也随之降低。增温处理显著提高了非生长季土壤温度,故非生长季增温样地微生物活性增强,微生物为满足自身生长需要,单位微生物量会产生更多的酶以提高其对土

壤养分的利用,所以增温处理在非生长季对土壤专一酶活性多表现出促进作用。

#### 4.3 环境因子变异对专一土壤酶活性的影响

除温度因子外,土壤湿度也影响土壤底物的扩散作用<sup>[39]</sup>,作者引入水热比(S/T),考察温湿度因子共同作用对土壤专一酶活性的影响。图2可知:LAP和AG与S/T和NO<sub>3</sub>-N显著正相关,而温度因子对氮循环酶LAP的作用不明显<sup>[41]</sup>,说明LAP活性受土壤湿度影响,该结论与Brzostek通过整合分析发现LAP酶活性受土壤湿度限制的结论一致<sup>[3]</sup>;表5可知:增温样地和对照样地非生长季土壤NO<sub>3</sub>-N与生长季土壤NO<sub>3</sub>-N差异并不显著,但非生长季S/T显著高于生长季,故非生长季LAP和AG活性与生长季相比均表现出增加趋势(图1,表5)。RDA排序图表明NAG、BG和CB则与DOC和MBC/MBN呈正相关关系。表5可知:非生长季与生长季相比,对照样地MBC/MBN显著降低是引起非生长季对照样地酶(NAG、BG和CB)活性低于生长季的主要原因,说明微生物群落结构的变化可能是影响土壤专一酶活性季节变化的主要原因。You<sup>[42]</sup>在该区域研究也发现微生物群落结构与土壤酶活性之间具有很强的相关性,氧化酶活性与真菌相关而细菌与水解酶活性相关。这与我们得到的结论较为一致。图2可知,POX与NO<sub>3</sub>-N呈负相关关系;PER与NO<sub>3</sub>-N和NH<sub>4</sub>-N也呈负相关,与Sinsabaugh等人<sup>[37]</sup>研究结果一致,认为氧化酶活性与土壤无机氮可利用性呈负相关关系。我们把MBC作为分子将总土壤酶活性专一化,故RDA分析中土壤专一酶活性与MBC和MBN呈负相关关系。

## 5 结论

(1)增温处理显著提高了土壤温度,但并未显著降低土壤湿度。

(2)生长季增温处理引起土壤温度增加改变了酶催化反应效率进而改变了土壤专一酶活性;除PER外,增温处理导致土壤专一酶活性的降低并未达到显著水平。非生长季增温处理普遍增加了土壤专一酶活性,说明土壤专一酶活性对增温处理的季节性响应不同。

(3)除微生物量氮和铵态氮外,其他环境因子,诸如:土壤水热比、微生物量碳、微生物量碳氮比、溶解性有机碳和硝态氮等是影响土壤专一酶活性在不同处理间和季节间变异的主要原因。

## 参考文献:

- [1] IPCC. Climate Change 2013: The Physical Science Basis [M]. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 2013.
- [2] Groffman P M, Driscoll C T, Fahey T J, *et al.* Effects of mild winter freezing on soil nitrogen and carbon dynamics in a northern hardwood forest. [J]. *Biogeochemistry*, 2001, 56(2): 191–213.
- [3] Brzostek E R, Blair J M, Dukes J S, *et al.* The effect of experimental warming and precipitation change on proteolytic enzyme activity: positive feedbacks to nitrogen availability are not universal [J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(8): 2617–2625.
- [4] Baldrian P, Šnajdr J, Merhautová V, *et al.* Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 56: 60–68.
- [5] Weedon J T, George A Kowalchuk, Bodegom P M. No effects of experimental warming but contrasting seasonal patterns for soil peptidase and glycosidase enzymes in a sub-arctic peat bog [J]. *Biogeochemistry*, 2014, 117(1): 55–66.
- [6] Bastida F, Barberá G G, García C, *et al.* Influence of orientation, vegetation and season on soil microbial and biochemical characteristics under semiarid conditions [J]. *Applied Soil Ecology*, 2008, 38(1): 62–70.
- [7] Wittmann C, Kähkönen M A, Llesviñeni H, *et al.* Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(3): 425–433.
- [8] Burns R. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(5): 423–427.
- [9] Sowerby A, Emmett B, Beier C, *et al.* Microbial community changes in heathland soil communities along a geographical gradient: interaction with climate change manipulations [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(10): 1805–1813.
- [10] Zogg G P, Zak D R, Ringelberg D B, *et al.* Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 475–481.
- [11] Weedon J, Aerts R., George A. Kowalchuk, *et al.* Enzymology under global change: organic nitrogen turnover in alpine and sub-Arctic soils [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2011, 39(1): 309.
- [12] Wang X, Dong S, Gao Q, *et al.* Effects of short-term and long-term warming on soil nutrients, microbial biomass and enzyme activities in an alpine meadow on the Qinghai-Tibet Plateau of China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 76: 140–142.
- [13] Zhou X, Chen C, Wang Y, *et al.* Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 444(1): 552–558.
- [14] Steinweg J M, Dukes J S, Paul E A, *et al.* Microbial responses to

- multi-factor climate change: effects on soil enzymes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4(146): 1–11.
- [15] McDaniel M D, Kaye J P, Kaye M W. Increased temperature and precipitation had limited effects on soil extracellular enzyme activities in a post-harvest forest [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 56: 90–98.
- [16] Bengtson P, Bengtsson G. Rapid turnover of DOC in temperate forests accounts for increased CO<sub>2</sub> production at elevated temperatures [J]. *Ecology Letters*, 2007, 10(9): 783–790.
- [17] Luan J, Liu S, Wang J, *et al.* Rhizospheric and heterotrophic respiration of a warm-temperate oak chronosequence in China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(3): 503–512.
- [18] Luan J, Liu S, Scott X. Chang, *et al.* Different effects of warming and cooling on the decomposition of soil organic matter in warm-temperate oak forests: a reciprocal translocation experiment [J]. *Biogeochemistry*, 2014, 121: 551–564.
- [19] 史作民, 程瑞梅, 刘世荣, 等. 河南宝天曼变化香林特征及物种多样性[J]. *山地学报*, 2005, 23(3): 374–380.
- [20] 刘彦春. 暖温带锐齿栎林土壤呼吸及微生物群落结构对土壤增温和降雨减少的响应[D]. 北京: 中国林业科学研究院. 2013.
- [21] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309–1315.
- [22] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, *et al.* Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1387–1397.
- [23] Nelson D W, Sommers L E, Sparks D L, *et al.* Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter[M]//Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties, 1982: 539–579.
- [24] Bremner J M, Mulvaney C, Nitrogen-Total[M]//Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties, 1982: 595–624.
- [25] Magill A H, Aber J D. Variation in soil net mineralization rates with dissolved organic carbon additions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(5): 597–601.
- [26] LY/T1228-999. 森林土壤 pH 值的测定[S]. 1999.
- [27] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6): 703–707.
- [28] Stone M M, DeForest J L, Plante A F. Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 237–247.
- [29] Post W M, Emanuel W R, Zinke P J, *et al.* Soil carbon pools and world life zones[J]. *Nature*, 1982, 298: 156–159.
- [30] Shaver G R, Billings W D, Chapin F S, *et al.* Global change and the carbon balance of arctic ecosystems[J]. *BioScience*, 1992, 42(6): 433–441.
- [31] Rui Y, Wang S, Xu Z, *et al.* Warming and grazing affect soil labile carbon and nitrogen pools differently in an alpine meadow of the Qinghai-Tibet Plateau in China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, 11(6): 903–914.
- [32] Xu Z, Hu R, Xiong P, *et al.* Initial soil responses to experimental warming in two contrasting forest ecosystems, Eastern Tibetan Plateau, China: nutrient availabilities, microbial properties and enzyme activities [J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(2): 291–299.
- [33] Luo C, Xu G, Wang Y, *et al.* Effects of grazing and experimental warming on DOC concentrations in the soil solution on the Qinghai-Tibet plateau[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(12): 2493–2500.
- [34] Yao H, Bowman D, Shi W. Seasonal variations of soil microbial biomass and activity in warm-and cool-season turfgrass systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1536–1543.
- [35] Bai E, Li S, Xu W, *et al.* A meta-analysis of experimental warming effects on terrestrial nitrogen pools and dynamics[J]. *New Phytologist*, 2013, 199(2): 441–451.
- [36] 黄雪蔓, 刘世荣, 尤业明. 固氮树种对第二代桉树人工林土壤微生物生物量和结构的影响[J]. *林业科学研究*, 2014, 27(5): 612–620.
- [37] Sinsabaugh R L, Gallo M E, Lauber C, *et al.* Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition[J]. *Biogeochemistry*, 2005, 75(2): 201–215.
- [38] Talbot J M, Bruns T D, Smith D P, *et al.* Independent roles of ectomycorrhizal and saprotrophic communities in soil organic matter decomposition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 282–291.
- [39] Koch A L. Diffusion the crucial process in many aspects of the biology of bacteria, in *Advances in microbial ecology* [M]. 1990. Springer. 37–70.
- [40] Koch O, Tschermo D, Kandeler E. Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzyme activities in organic alpine soils[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, 21(4): 497–507.
- [41] Wallenstein M D, McMahon S K, Schimel J P. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils[J]. *Global Change Biology*, 2009, 15(7): 1631–1639.
- [42] You Y, Wang J, Huang X, *et al.* Relating microbial community structure to functioning in forest soil organic carbon transformation and turnover [J]. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(5): 633–647.

(责任编辑:彭南轩)