

川西高寒地区不同海拔高度土壤酶活性特征研究

周琳, 艾应伟

(四川大学生命科学学院 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065)

摘要: 为增进对川西高寒地区土壤微生物的能量和养分限制状况的了解, 以川西地区不同海拔高度(2969 m, 3280 m, 3697 m 和 3992 m)的土壤为研究对象, 通过测定土壤的酶活性和相关理化性质, 探讨了川西地区土壤酶活性和酶化学计量沿海拔的分布规律及其影响因素. 结果表明: (1) 土壤的 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)、纤维二糖水解酶(CBH)、 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)和酸性磷酸酶(AP)活性随着海拔的增加, 呈现出先减小后增大的分布模式. 具体表现为土壤 BG、CBH 和 AP 酶活性在海拔 3992 m 处最大, 在海拔 3280 m 处最小. 土壤 NAG 和 LAP 酶活性在海拔 2969 m 处最大, 在海拔 3697 m 处最小. (2) 海拔 3280 m 的土壤微生物相对受氮、磷限制, 而其余三个海拔的土壤微生物相对受碳、磷限制. (3) 铵态氮、全氮、全碳和土壤养分的化学计量是驱动土壤酶活性及酶化学计量沿海拔变化的关键因素. 从结果可知本研究区域的土壤酶活性特征与环境资源的可用性相关.

关键词: 海拔梯度; 土壤酶活性; 酶化学计量

中图分类号: S158.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2023.036003

Study on soil enzyme activity characteristics at different altitudes in the alpine region of Western Sichuan

ZHOU Lin, AI Ying-Wei

(Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to improve the understanding of the energy and nutrient limitation of soil microorganisms in the alpine region of western Sichuan, the soils at different altitudes (2969 m, 3280 m, 3697 m and 3992 m) in the alpine region of western Sichuan were used as the research object. By measuring soil physicochemical properties and extracellular enzyme activities, the distribution law of soil enzyme activity and enzyme stoichiometry along the altitude and its influencing factors were discussed. The results showed that: (1) The activities of β -1,4-glucosidase (BG), Cellobiohydrolase (CBH), β -1,4-N-acetylglucosaminidase (NAG), Leucine aminopeptidase (LAP) and Acid phosphatases (AP) showed a distribution pattern of first decreasing and then increasing with the increase of altitude. Specifically, the activities of carbon and phosphorus acquisition enzymes were the highest at 3992 m, and the lowest at 3280 m. The highest nitrogen-acquisition enzyme activity was at 2969 m, and the lowest was at 3697 m. (2) Soil microorganisms at 3280 m were relatively limited by N and P, while those at the other three altitudes were relatively limited by C and P. (3) Soil ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), total nitrogen (TN),

收稿日期: 2022-04-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(41971056); 国家重点研发计划课题(2017YFC0504903)

作者简介: 周琳(1992-), 女, 四川遂宁人, 硕士研究生, 研究方向为修复生态学. E-mail: 463375399@qq.com

通讯作者: 艾应伟. E-mail: aiyw99@sohu.com

soil total carbon (TC), and soil nutrient stoichiometry were the key factors driving the changes in soil enzyme activities and their stoichiometry along the altitude. According to the results, the characteristics of soil enzyme activities in this study area were related to the availability of environmental resources.

Keywords: Altitude gradient; Soil enzyme activity; Enzyme stoichiometry

1 引言

土壤酶是一类具有催化作用的生物活性物质。它在催化有机物分解和驱动生物地球化学循环过程中起到重要作用,常被用作微生物对养分需求的指标。其中,参与催化分解环境中资源最丰富的有机碳、氮和磷的土壤酶被研究得最为广泛,如 β -1,4-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶和酸性磷酸酶。研究这些酶的活性可增进对生态系统中微生物的代谢和养分限制状况的了解^[1,2]。高山生态系统具有重要的生态服务功能,是陆地碳库的重要组成部分^[3]。在山地生态系统中,沿海拔梯度的气候、植被和土壤性质的变化较大。这些变化对土壤微生物群落的结构和功能影响显著^[3]。目前已有众多学者对不同海拔梯度的微生物群落及土壤酶活性的变化模式展开了研究,主要是为了提升对微生物群落响应气候变化的认识^[4]。四川西部岷江上游地区处于青藏高原东缘,该地区植被垂直地带性分布明显,是我国生态环境治理的重点地区之一^[5]。针对该区域不同海拔的微生物生物量、酶活性已有报导^[3,6],但关于不同植被类型下土壤微生物的能量和养分限制状况的研究相对较少。因此,本研究对川西地区植被类型分异的土壤进行取样,通过测定土壤的酶活性和理化性质,探讨了土壤酶活性及其化学计量沿海拔的分布模式及其影响因素,以期为该区域的生态恢复提供理论参考。

2 材料与方法

2.1 研究区域及土壤取样

2020 年 7 月至 8 月,在四川省阿坝州松潘县川主寺镇附近区域($32^{\circ}65' \sim 32^{\circ}76' \text{ N}$, $103^{\circ}60' \sim 103^{\circ}75' \text{ E}$)进行土壤取样,共选取了 4 个海拔点,即 2969 m(亚高山针阔混交林)、3280 m(亚高山针叶林)、3697 m(高山灌丛)和 3992 m(高山草甸)。该地区的年均气温为 6.3°C ,年均降雨量为 708.3 mm,主要受西南暖湿季流和东南季风影响^[5]。在每个海拔点设置 3 个样方,样方面积为 $20 \text{ m} \times 30 \text{ m}$,样方间隔为 20 m。每个样方取 25~30 个点 0~

10 cm 的表土,混合均匀以构成一份复合土样,共采集 12 份复合土样。

2.2 测定指标和数据处理

土壤含水量(MC)用烘干法测定,土壤 pH 用电位法测定,土壤全磷(TP)和速效磷(SAP)用钼锑抗比色法测定,土壤有机碳(SOC)用重铬酸钾容量法测定,土壤铵态氮(NH_4^+-N)用靛酚蓝比色法测定,土壤硝态氮(NO_3^--N)用酚二磺酸比色法测定^[7]。土壤全碳(TC)和全氮(TN)用元素分析仪测定。土壤养分化学计量用 TC/TN、TC/TP 和 TN/TP 表示。土壤酶活性用多孔板荧光光度法测定,本次测定的微生物获取碳相关的酶包括 BG 和 CBH,微生物获取酶 N 相关的酶包括 NAG 和 LAP,微生物获取 P 的酶包括 AP^[8],酶活性单位为 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Cmic h}^{-1}$ 。微生物生物量碳(MBC)用氯仿熏蒸法测定^[9],本研究测得的 MBC 从低海拔到高海拔为: $(35.69 \pm 5.38) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(77.21 \pm 1.21) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(91.07 \pm 0.52) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(43.87 \pm 3.33) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。酶化学计量比:用 $\ln(\text{BG}+\text{CBH})/\ln(\text{NAG}+\text{LAP})$ 表示 C/N 酶活性比(ECN),用 $\ln(\text{BG}+\text{CBH})/\ln(\text{AP})$ 表示 C/P 酶活性比(ECP),以及用 $\ln(\text{NAG}+\text{LAP})/\ln(\text{AP})$ 表示 N/P 酶活性比(ENP)^[9]。统计分析主要在 SPSS 25.0 和 R 4.1.2 中完成。

3 结果

3.1 不同海拔的土壤酶活性和酶化学计量比特征

沿海拔梯度土壤 BG、CBH、NAG、LAP 和 AP 酶活性随着海拔的增加,呈先减小后增大的趋势。海拔 3280 m 的土壤 C、P 获取酶活性最小,海拔 3992 m 的土壤 C、P 获取酶活性最大。海拔 2969 m 的土壤 N 获取酶活性最大,海拔 3697 m 的 N 获取酶活性最小。土壤 ECN 随着海拔的增加,呈先减小后增大的趋势。土壤 ECP 在海拔间的差异不显著。较低海拔(2969 m 和 3280 m)的土壤 ENP 大于较高海拔(3697 m 和 3992 m)。海拔 3280 m 的土壤 ECN 和 ECP 均小于 1,因此海拔 3280 m 的土壤微生物分泌的 N、P 获取酶多于 C 获取酶,微生物受 N、P 限制。除海拔 3280 m 以外,其余三个

海拔的土壤 ECN 均大于 1,表明微生物分泌的 C 获取酶多于 N 获取酶,因此这三个海拔的土壤微生物受 C 限制. 海拔 2969、3697 和 3992 m 的土壤 ECP 均接近于 1,说明这三个海拔的土壤微生物在分泌 C 获取酶和 P 获取酶时没有明显的权衡效

应. 四个海拔的土壤 ENP 均小于 1,表明四个海拔的土壤微生物分泌的 P 获取酶多于 N 获取酶,因此本研究的土壤微生物均受 P 限制. 其他酶活性及酶化学计量比的详细信息见表 1.

表 1 土壤酶活性和酶化学计量比
Tab. 1 Soil enzyme activities and its stoichiometric ratios

海拔	BG	CBH	NAG	LAP	AP	ECN	ECP	ENP
2969 m	1747.58 ± 438.11 ^{ab}	675.72 ± 389.10 ^b	972.61 ± 318.86	731.64 ± 222.12 ^a	2424.84 ± 714.96 ^b	1.05±0.01 ^c	1.00±0.07	0.96±0.06 ^a
3280 m	368.45 ± 23.29 ^b	98.52 ± 71.12 ^c	385.35 ± 206.17	215.94 ± 147.25 ^{ab}	805.15 ± 288.86 ^c	0.96±0.01 ^d	0.93±0.06	0.96±0.06 ^a
3697 m	993.22 ± 263.92 ^{ab}	300.48 ± 127.96 ^b	240.20 ± 85.11	29.80 ± 3.45 ^b	1139.93 ± 175.43 ^c	1.28±0.03 ^b	1.02±0.05	0.79±0.06 ^b
3992 m	2668.14 ± 142.29 ^a	1808.29 ± 649.61 ^a	315.49 ± 15.75	192.30 ± 18.83 ^{ab}	3666.73 ± 473.51 ^a	1.35±0.02 ^a	1.02±0.03	0.76±0.01 ^b

平均值±标准差($n=3$). 酶活性单位为 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Cmic h}^{-1}$. 同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)
Values are shown using mean ± standard error ($n=3$). All enzymatic activities are in $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{Cmic} \cdot \text{h}^{-1}$. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$)

3.2 土壤的酶活性和酶化学计量比与土壤理化性质之间的关系

Spearman 相关分析表明 BG 和 CBH 酶活性与 NH_4^+-N 和 TC/TN 有显著的负相关关系. NAG 和 LAP 酶活性与 TC、TC/TP 和 TN/TP 有显著的负相关关系. AP 酶活性与 NH_4^+-N 、TC/TN 和 TC/TP 有显著的负相关关系. ECN 与 SAP 和 TN 有显著的正相关关系,且其与 TC/TN 有显著的负相关关系. ENP 与 TN 有显著的负相关关系. 其他

相关分析的详细信息见表 2. 将土壤酶活性及其化学计量比作为响应变量,以土壤理化性质数据作为解释变量进行冗余分析(RDA),得到对土壤酶活性及其化学计量特征影响的排序. 如图 1 所示,第一轴解释了变量的 60.31%,第二轴解释了变量的 32.37%,所有解释变量可以解释土壤酶活性及其化学计量特征总变异的 92.68%. 由图可知 NH_4^+-N 、TC、TN、TC/TN、TC/TP 和 TN/TP 与前两轴的相关性最大(图 1).

表 2 土壤酶活性和酶化学计量比与土壤理化性质的相关系数

Tab. 2 Correlation coefficients of soil enzyme activities and enzyme stoichiometric ratios with soil physicochemical properties

	BG	CBH	NAG	LAP	AP	ECN	ECP	ENP
pH	-0.392	-0.343	0.126	-0.371	-0.455	-0.161	0.007	0.063
MC	-0.203	-0.119	-0.517	-0.273	-0.133	0.028	-0.175	-0.028
SOC	0.070	0.224	-0.497	-0.336	0.112	0.413	0.049	-0.266
NH_4^+-N	-0.720**	-0.608*	-0.455	-0.678*	-0.748**	-0.238	-0.161	0.056
NO_3^--N	0.252	0.308	-0.077	0.196	0.238	0.168	0.126	0.042
SAP	0.392	0.455	-0.462	-0.245	0.378	0.636*	0.203	-0.524
TC	-0.126	0.098	-0.664*	-0.720**	-0.168	0.524	0.231	-0.441
TN	0.329	0.434	-0.734**	-0.490	0.308	0.762**	0.336	-0.706*
TP	0.224	0.322	-0.608*	-0.343	0.315	0.559	0.007	-0.503
TC/TN	-0.846**	-0.853***	-0.294	-0.448	-0.853***	-0.587*	-0.448	0.364
TC/TP	-0.566	-0.483	-0.601*	-0.846**	-0.664*	0.000	0.007	-0.168
TN/TP	-0.182	-0.084	-0.748**	-0.755**	-0.259	0.406	0.252	-0.476

表中数字是 Spearman 相关系数. 显著水平为: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$
The numbers in the table are Spearman correlation coefficients. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

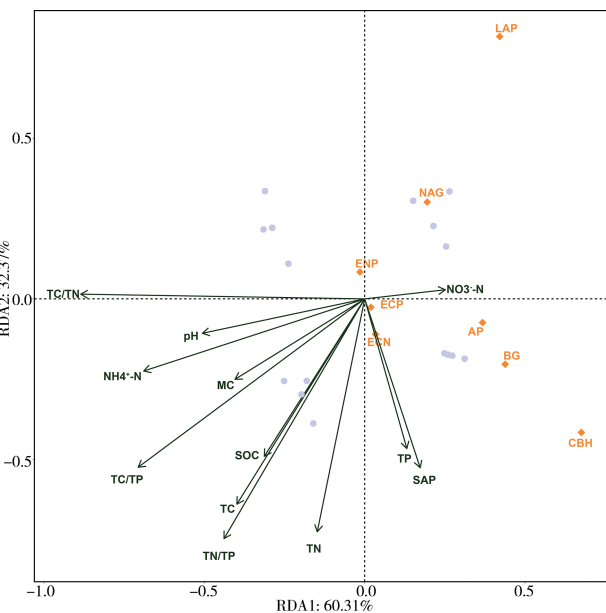


图 1 土壤酶活性和酶化学计量的冗余分析
Fig. 1 Redundancy analysis (RDA) of soil enzyme activities and their stoichiometric ratios

4 讨 论

4.1 土壤酶活性和酶化学计量比沿海拔的分布模式

本研究的土壤 C、N 和 P 获取酶活性随着海拔的升高,呈先减小后增加的模式,且土壤的 C、P 获取酶活性在海拔 3280 m 处最小,这可能跟海拔 3280 m 的土壤养分含量较高相关;根据微生物代谢的经济学理论,当土壤养分丰富时,微生物分泌的酶较少^[10]. 海拔 3280 m 针叶林土壤的根系分泌物和植物残体多,且该海拔的土壤含水量最高,海拔 3280 m 的土壤微生物的可利用养分充足,因此该海拔的土壤酶活性低. 海拔 3992 m 的土壤的 C、P 获取酶活性较高,即高海拔的草甸土壤酶活性显著高于低海拔的林地,这与金裕华等对武夷山不同海拔典型植被带的研究结果相同^[11]. 曹睿等对与本研究同地理区域的研究表明,土壤酸性磷酸酶与土壤总磷呈显著负相关^[6]. P 获取酶与土壤 P 养分总体上呈负相关,这在很多研究中都得到了证实^[12, 13]. 然而我们的研究结果发现 C、P 获取酶活性与 C、P 养分含量并未呈负相关关系,这暗示着该区域的土壤 C、P 获取酶活性的沿海拔的分布模式除了受养分影响外,可能还受其他因素影响. 本研究的 N 获取酶活性与 N 养分可用性的相关性较大. 海拔 2969 m 的 NAG 和 LAP 酶活性最大,其对应的土壤氮养分的总含量最低($\text{NH}_4^+\text{-N}$: $(23.60 \pm$

$1.45) \text{ mg/kg}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$: $(15.95 \pm 4.90) \text{ mg/kg}$, TN : $(3.00 \pm 0.19) \text{ mg/kg}$),因此微生物分泌了更多的 N 获取酶. 除海拔 2969 m 以外,其余三个海拔的 N 养分总含量相近,且这三个海拔间的 NAG 和 LAP 酶活性差异也不显著. 土壤的 ECN 随着海拔的增加呈现先减小后增加的变化趋势,土壤 ECP 和 ENP 无明显的分布模式,这说明了海拔对酶化学计量的影响可能小于土壤微环境对酶化学计量变化产生的影响.

4.2 土壤酶活性和酶化学计量比的影响因素

RDA 分析表明土壤的理化性质对酶活性及其化学计量特征总变异的解释度大于 92%,因此本研究的土壤理化性质与酶活性及其化学计量的变化有较大的相关性. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TC、TN、TC/TN、TC/TP 和 TN/TP 与酶活性及其化学计量变化有显著相关关系(图 1);其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TC/TP 与 C、N 和 P 获取酶活性有显著相关关系, TN 与 ECN 和 ENP 有显著的相关关系(表 3),这些结果体现了 N 养分和土壤的养分化学计量对土壤酶活性及其化学计量的变化起着重要作用. 土壤养分可通过改变特定产酶微生物的丰度或者影响微生物表达酶的比例来影响酶的活性,这在很多研究已得到证实^[14]. 如 Kivlin 等的研究表明土壤的 N 浓度与水解酶活性紧密相关^[15],这与本研究结果一致. 然而本研究的土壤 C、P 获取酶活性沿海拔梯度变化的具体机制并不明晰,因此还亟需结合其他研究结果以作进一步解析. 土壤化学计量变化反映了 C、N 和 P 养分的相对含量,它对酶活性产生影响体现在微生物响应土壤养分浓度变化而改变酶产量^[16]. 土壤化学计量与酶活性及其化学计量有显著的关联性,这在添加实验和其他自然生态系统中也得到证实. 如 Ma 等通过添加试验表明土壤酶活性主要受 N、P 含量以及 C : N 和 C : P 的比例影响^[16]. Peng 等对温带草原的研究发现土壤酶化学计量主要受土壤养分化学计量影响^[9]. Xu 等对中国东部不同纬度的 9 个森林生态系统的研究表明酶化学计量关系与土壤化学计量关系相关^[17]. 因此,本研究区域沿海拔梯度的酶活性和酶计量比受土壤养分及土壤养分化学计量影响显著,这与其他研究结果一致.

5 小 结

本研究区域的 BG、CBH、NAG、LAP 和 AP 酶活性沿海拔梯度(2969, 3280, 3697 和 3992 m),

总体上呈先减小后增加的趋势. 海拔 3280 m 的土壤微生物相对受氮、磷限制, 而海拔 3280、3697 和 3992 m 的土壤微生物相对受碳、磷限制. 土壤 C/P 酶活性比随着海拔的增加, 呈现先减小后增大的变化趋势, 土壤 C/N 和 N/P 酶活性比沿海拔梯度无明显的变化趋势. 土壤碳、氮养分和土壤的养分化学计量比是影响该地区土壤酶活性及其化学计量比沿海拔梯度发生变化的关键因素.

参考文献:

- [1] Wang J, Wang X T, Liu G B, *et al.* Fencing as an effective approach for restoration of alpine meadows: evidence from nutrient limitation of soil microbes [J]. *Geoderma*, 2020, 363: 114148.
- [2] Sinsabaugh R L, Hill B H, Shah J J F. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment [J]. *Nature*, 2009, 462: 795.
- [3] Cui Y X, Moorhead D L, Guo X B, *et al.* Stoichiometric models of microbial metabolic limitation in soil systems [J]. *Global Ecol Biogeogr*, 2021, 30: 2297.
- [4] Li J B, Shen Z H, Li C N, *et al.* Stair-step pattern of soil bacterial diversity mainly driven by pH and vegetation types along the elevational gradients of Gongga mountain, China [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 569.
- [5] 张林, 吴彦, 吴宁, 等. 林线附近主要植被类型下土壤非生长季磷素形态 [J]. *生态学报*. 2010, 30: 3457.
- [6] 曹瑞, 吴福忠, 杨万勤, 等. 海拔对高山峡谷区土壤微生物生物量和酶活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2016, 27: 1257.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [8] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 2002, 34: 1309.
- [9] Peng X Q, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of northern China [J]. *Soil Biol Biochem*, 2016, 98: 74.
- [10] Jing X, Yang X X, Ren F, *et al.* Neutral effect of nitrogen addition and negative effect of phosphorus addition on topsoil extracellular enzymatic activities in an alpine grassland ecosystem [J]. *Appl Soil Ecol*, 2016, 107: 205.
- [11] 金裕华, 汪家社, 李黎光, 等. 武夷山不同海拔典型植被带土壤酶活性特征 [J]. *生态学杂志*, 2011, 30: 1955.
- [12] Allison V J, Condron L M, Peltzer D A, *et al.* Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand [J]. *Soil Biol Biochem*, 2007, 39: 1770.
- [13] 及利, 马立新, 程政磊, 等. 大兴安岭北部不同海拔天然林土壤胞外酶化学计量特征及其季节动态 [J]. *应用生态学报*, 2020, 31: 2491.
- [14] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, *et al.* Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation in rhizosphere soil in the arid area of the northern Loess plateau, China [J]. *Soil Biol Biochem*, 2018, 116: 11.
- [15] Kivlin S N, Treseder K K. Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition [J]. *Biogeochemistry*, 2014, 117: 23.
- [16] Ma W, Li J, Gao Y, *et al.* Responses of soil extracellular enzyme activities and microbial community properties to interaction between nitrogen addition and increased precipitation in a semi-arid grassland ecosystem [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 703: 134691.
- [17] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, *et al.* Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in eastern China (NSTEC) [J]. *Soil Biol Biochem*, 2017, 104: 152.

引用本文格式:

中 文: 周琳, 艾应伟. 川西高寒地区不同海拔高度土壤酶活性特征研究 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2023, 60: 036003.

英 文: Zhou L, Ai Y W. Study on soil enzyme activity characteristics at different altitudes in the alpine region of Western Sichuan [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2023, 60: 036003.