

# 高浓度二氧化碳处理对红松幼苗土壤水解酶活性的影响\*

贾 夏<sup>1,2</sup> 韩士杰<sup>2\*\*</sup> 赵永华<sup>3</sup> 周玉梅<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 长安大学环境科学与工程学院, 西安 710054; <sup>2</sup> 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; <sup>3</sup> 长安大学地球科学与国土资源学院, 西安 710054)

**【摘要】** 研究了 700 和 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  高浓度  $\text{CO}_2$  处理的红松幼苗 0~10 cm 土层土壤蛋白酶、脲酶、淀粉酶、转化酶和磷酸酶活性的变化。结果表明, 土壤蛋白酶(除 7 月)、脲酶、淀粉酶(除 7 月)和磷酸酶(除 9 月)活性在高浓度  $\text{CO}_2$  条件下极显著增加, 而转化酶(除 9 月)活性却极显著降低。不同高浓度  $\text{CO}_2$  对酶活性的影响程度不同, 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  浓度  $\text{CO}_2$  处理对蛋白酶和磷酸酶活性的影响较 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  处理明显, 而 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  浓度  $\text{CO}_2$  处理对脲酶、淀粉酶和转化酶活性的影响较 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  显著。

**关键词** 高浓度  $\text{CO}_2$  红松 土壤水解酶 酶活性

文章编号 1001-9332(2006)11-2222-04 中图分类号 S718.8 文献标识码 A

**Effects of elevated  $\text{CO}_2$  on soil hydrolase activities associated with *Pinus koraiensis* seedlings.** JIA Xia<sup>1,2</sup>, HAN Shijie<sup>2</sup>, ZHAO Yonghua<sup>3</sup>, ZHOU Yumei<sup>2</sup> (<sup>1</sup>College of Environmental Science and Engineering, Chang'an University, Xi'an 710054, China; <sup>2</sup>Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; <sup>3</sup>College of Earth Science and Land Resources, Chang'an University, Xi'an 710054, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(11): 2222~2225.

In this study, *Pinus koraiensis* seedlings were grown under elevated  $\text{CO}_2$  (500 and 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), and the hydrolase activities in 0~10 cm soil layer were determined. The results showed that compared with those under ambient condition, the activities of soil protease, urease, amylase and phosphatase under elevated  $\text{CO}_2$  increased significantly, while invertase activity decreased significantly. Different concentration of elevated  $\text{CO}_2$  had different effects on soil hydrolase activities. 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  had more significant effect on soil protease and phosphatase activities, while 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  had more significant effect on soil urease, amylase, and invertase activities.

**Key words** Elevated  $\text{CO}_2$ , *Pinus koraiensis*, Soil hydrolase, Enzyme activity.

## 1 引言

由于人类活动的影响, 森林生态系统对全球变化特别是大气  $\text{CO}_2$  浓度升高的响应日益受到人类的重视。在过去的几十年中, 高浓度  $\text{CO}_2$  对环境影响的研究主要集中在植物群落多样性、植物生理、植物根系、根系分泌物<sup>[25]</sup>及养分有效性等方面, 且到目前为止, 大多数研究主要集中在位于热带、温带和暖温带的农作物、草本和灌木方面<sup>[3,9,12,15]</sup>。已有研究表明, 在高浓度  $\text{CO}_2$  条件下, 由于植物光合作用等的变化, 致使输入土壤的有机质和微生物所需的矿质养分发生相应变化, 植物根系为获得养分和水分会延伸得更远, 且植株日益增加的 C 的固定对根系产量、分泌物、细根及细根周转率起着刺激作用<sup>[1,5~7,18,22,26,28]</sup>。此外, 高浓度  $\text{CO}_2$  亦会改变植物组织<sup>[20]</sup>及分泌物的化学成分<sup>[9]</sup>。这些变化均会引起微生物活性的改变, 作为代谢有机质主要因子的酶活性也将相应地变化。目前有关高浓度  $\text{CO}_2$  对土壤酶活性影响的研究相对很少, 且已有的研究主要集中在农作物和草本植物方面<sup>[2,8,9,17,23,28]</sup>, 而有关林地土壤酶活性受高浓度  $\text{CO}_2$  影响的研究甚少。

由于高浓度  $\text{CO}_2$  会通过改变土壤理化性状、减少土壤团粒结构<sup>[19]</sup>以及增加土壤湿度<sup>[19,20]</sup>, 间接地影响土壤生物区, 从而对土壤微生物活性产生影响。作为微生物活性和地下生物量 C、N 周转最敏感指示者<sup>[2]</sup>——土壤酶, 受高浓度  $\text{CO}_2$  的影响, 其活性可能会发生改变。本文主要研究不同高浓度(500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  和 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ )  $\text{CO}_2$  处理对红松(*Pinus koraiensis*)幼苗土壤水解酶活性的影响。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

实验地设在中国科学院长白山森林生态系统开放研究站院内, 海拔高度约 740 m, 土壤类型为在火山灰母质上发育的暗棕壤。

研究试材选用连续 5 年在生长季以高浓度  $\text{CO}_2$  处理的红松幼苗土壤。从 1998 年 5 月开始高浓度  $\text{CO}_2$  处理,  $\text{CO}_2$  浓度分别为 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、500  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、对照箱(370

\* 国家自然科学基金重点项目(90411020)和国家重点基础研究发展计划资助项目(2002CB412502)。

\*\* 通讯联系人, E-mail: hansj@iae.ac.cn

2005-12-02 收稿, 2006-09-05 接受。

$\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ )和裸地( $370 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ )。CO<sub>2</sub>控制采用 $1.2 \text{ m} \times 0.9 \text{ m} \times 0.9 \text{ m}$ 的开顶箱(OTCs)形式,每处理种植100株实生小苗,各处理之间相距2.5 m,彼此间干扰因素可忽略不计。于2003年在幼苗生长季的7、8和9月中旬,以多点混合法采集各处理0~10 cm层土样,过2 mm筛,带回实验室于冰箱4℃储存,并于1个月内完成土壤酶活性分析。

## 2.2 研究方法

转化酶活性采用0.1 mol·L<sup>-1</sup>硫代硫酸钠滴定法,脲酶活性采用靛青比色法,中性磷酸酶活性采用苯磷酸二钠比色法,淀粉酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法,蛋白酶活性采用茚三酮比色法<sup>[10]</sup>。实验所需化学试剂均为分析纯。

采用SPSS 10.0和Excel软件进行数据处理。

## 3 结果与分析

由图1可以看出,与对照和裸地相比,7月的土壤蛋白酶活性在高浓度CO<sub>2</sub>(700和500 μmol·mol<sup>-1</sup>)条件下极显著( $P < 0.01$ )降低;而8、9月却显著增高( $P < 0.05$ ),尤其500 μmol·mol<sup>-1</sup>的活性更高。说明500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理较700 μmol·mol<sup>-1</sup>处理对土壤蛋白酶活性的影响明显。

7月和9月,与对照和裸地处理相比,红松幼苗地土壤脲酶活性在高浓度(700和500 μmol·mol<sup>-1</sup>)CO<sub>2</sub>条件下极显著增加,且700 μmol·mol<sup>-1</sup>处理较500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理对脲酶活性影响大,9月份高浓度CO<sub>2</sub>对脲酶活性影响极显著的原因可能与高CO<sub>2</sub>下红松的光合速率上调<sup>[11]</sup>以及开顶箱的温室效应等因素有关;8月,与裸地条件相比,500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理下土壤脲酶活性增高,而700 μmol·mol<sup>-1</sup>处理下脲酶活性变化不大,但8月份对照箱脲酶活性较其他处理呈极显著增加,其原因有待于进一步探索。

在7月,受高浓度CO<sub>2</sub>处理的红松幼苗林地土壤淀粉酶活性较对照和裸地处理极显著降低,尤其500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理下酶活性降低更多;而在8、9月则相反,表现为高浓度CO<sub>2</sub>条件下酶活性较对照和裸地处理显著升高,其中8月份尤为显著,且700 μmol·mol<sup>-1</sup>处理较500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理对土壤淀粉酶活性的影响明显。

与对照和裸地处理相比,7、8月的红松土壤转化酶活性受高浓度CO<sub>2</sub>的影响,极显著降低,而9月却表现为增加,且700 μmol·mol<sup>-1</sup>处理较500 μmol·mol<sup>-1</sup>处理下增加极显著。这可能与开顶箱的温室效应和高CO<sub>2</sub>促进红松光合速率<sup>[11,31]</sup>等原因有关。此外,8、9月份中转化酶活性受700 μmol·mol<sup>-1</sup>CO<sub>2</sub>的影响较500 μmol·mol<sup>-1</sup>CO<sub>2</sub>显著( $P < 0.01$ ),而7月则相反。

由图1可以看出,与对照和裸地相比,7、8月,高浓度CO<sub>2</sub>处理土壤磷酸酶活性增加,且500 μmol·mol<sup>-1</sup>CO<sub>2</sub>处理酶活性较700 μmol·mol<sup>-1</sup>CO<sub>2</sub>处理极显著增高;而在9月份则显著下降( $P < 0.01$ )。在大气CO<sub>2</sub>浓度升高时,由于红松幼苗生理特点等<sup>[11,31]</sup>的改变,从而引起了土壤微生物和红松根系及根系分泌物发生变化,可能是0~10 cm层土壤中性磷酸酶活性变化的主要原因。

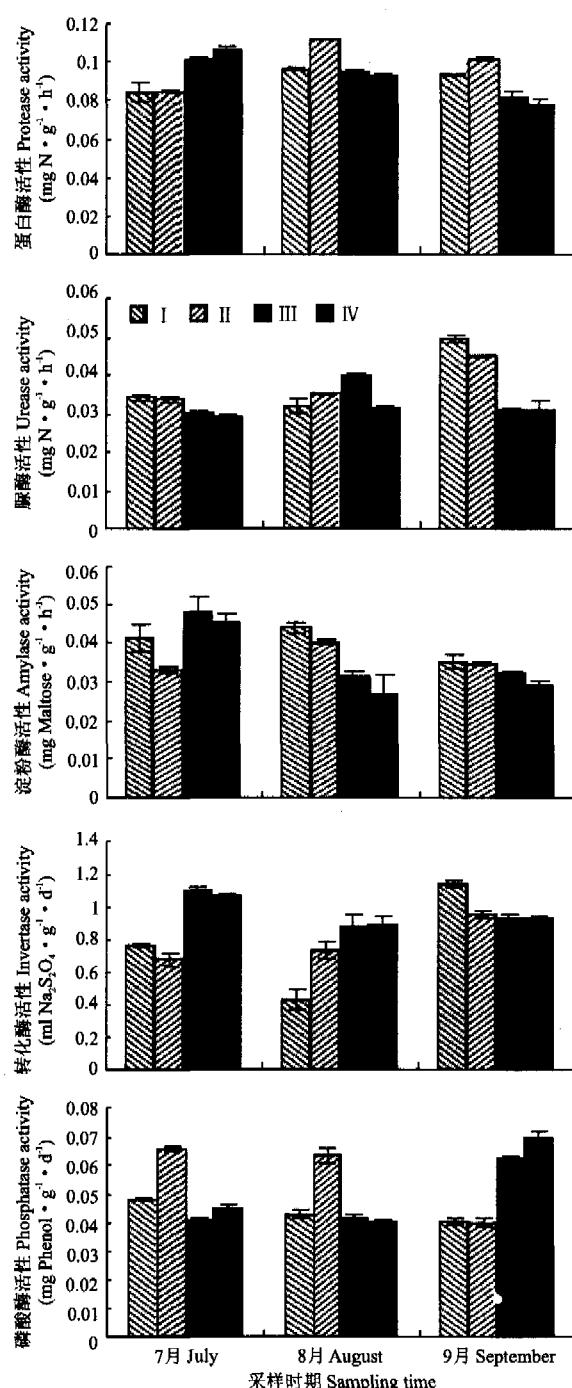


图1 高浓度CO<sub>2</sub>对土壤蛋白酶、脲酶、淀粉酶、转化酶和中性磷酸酶活性的影响

Fig. 1 Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the activity of soil protease, urease, amylase, invertase, and phosphatase.

## 4 讨 论

大气CO<sub>2</sub>浓度升高对土壤酶活性的影响主要是通过间接作用引起的<sup>[30]</sup>,如通过改变植物的光合作用、根系分泌物、根系生物量等,进而可能引起土壤微生物数量和种类等的变化,最终会引起土壤酶活性的升高或降低。

土壤蛋白酶能催化植物残体和微生物体中的蛋白质水解成多肽,最终形成氨基酸,同时参与土壤氮素循环,对土壤

生物和植物生长起着重要作用,其活性受植物根系分泌物、微生物种类和群落结构以及土壤特性等的影响<sup>[28]</sup>。在本试验中,在高浓度CO<sub>2</sub>条件下,红松幼苗光合作用能力增强以及叶片淀粉含量增高<sup>[11,31]</sup>;地上部分的这些变化最终可能引起源于植物和微生物的蛋白酶活性的改变。

土壤脲酶是决定土壤中N转化的关键酶,主要来源于微生物和植物的活体分泌和死亡残体分解释放两个方面,而植物和微生物对大气CO<sub>2</sub>浓度升高有直接的响应<sup>[4,13,31]</sup>;在大气CO<sub>2</sub>浓度升高时,植物生理活性增强进入土壤的凋落物数量增加,土壤微生物活性增强、数量增多<sup>[16]</sup>,都可能引起土壤脲酶活性升高。同时,土壤腐殖酸共聚物的增加亦会提高土壤脲酶的活性,而大气CO<sub>2</sub>浓度升高条件下进入土壤的凋落物数量增加<sup>[16,24]</sup>将会引起土壤腐殖质的增加,也可能使脲酶活性增加。已有研究表明,在高浓度CO<sub>2</sub>条件下,红松幼苗光合作用和叶片碳水化合物含量等增强<sup>[11,31]</sup>,根际细菌数量增多<sup>[13]</sup>,从而利于其土壤脲酶活性的增加。

土壤淀粉酶广泛存在于土壤中,主要来源于植物根系分泌物、植物残体及微生物分泌,参与土壤有机碳的代谢,其活性大小表征着有机碳代谢的快慢。高浓度CO<sub>2</sub>下红松幼苗土壤淀粉酶活性较对照和裸地增加,可能与高浓度CO<sub>2</sub>下红松光合上调、植株地上部分固碳能力增加<sup>[11,31]</sup>、根系细根数量增多和根际微生物数量增多<sup>[13]</sup>等因素有关。

土壤转化酶是参与土壤有机碳循环的酶。大气CO<sub>2</sub>浓度升高后,植物对C的吸收和同化增加,同化的光合产物约20%~50%运送到地下,通过根系的分泌和死亡输入土壤,使根际土壤的理化及生物特性发生显著变化<sup>[6,21]</sup>。由于CO<sub>2</sub>浓度升高会使植物根系生物量增加,给土壤微生物带来更多的可利用底物,从而提高微生物活性,加速养分的矿化过程,改善植物的养分状况<sup>[27]</sup>。植株地上部分生物量的增加会使凋落物量随之增加,这些变化都会间接地影响土壤的生物活性<sup>[14]</sup>,最终影响土壤转化酶活性。此外,土壤转化酶活性的高低亦受土壤温度、湿度、pH等的影响,而开顶箱的存在和高浓度CO<sub>2</sub>的影响均会造成土壤温湿度的改变<sup>[9]</sup>,故7、8月份高浓度CO<sub>2</sub>下红松幼苗土壤转化酶活性的降低可能与土壤温湿度变化等原因有关。土壤中的磷作为植物可利用的三大营养元素之一,磷酸酶是其循环主要环节,即是有机态转化为无机磷的催化剂。植物根系、土壤细菌和真菌等微生物能分泌胞外磷酸酶,其活性很大程度上取决于土壤的腐殖质含量、有效磷含量、分解有机磷的微生物数量和来源植物种类<sup>[28]</sup>。7、8月份受高浓度CO<sub>2</sub>的影响,红松根际土壤细菌数量显著增多<sup>[13]</sup>,同时,生长在高浓度CO<sub>2</sub>条件下的红松幼苗根系较对照和裸地处理的细根数量多,此外,由于高浓度CO<sub>2</sub>下红松光合作用等生理特点<sup>[11,31]</sup>,均可能引起其土壤磷酸酶活性增加。

## 参考文献

- 1 Allen AS, Andrews JA, Finzi AC, et al. 2000. Effects of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) on belowground processes in a *Pinus taeda*

- forest. *Ecol Appl*, **10**: 437~448  
 2 Barnard R, Barthes L, Roux XL, et al. 2004. Atmospheric CO<sub>2</sub> elevation has little effect on nitrifying and denitrifying enzyme activity in four European grasslands. *Glob Change Biol*, **10**: 488~497  
 3 Bauer GA, Berntson GM, Bazzaz FA. 2001. Regenerating temperate forests under elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen deposition: Comparing biochemical and stomatal limitation of photosynthesis. *New Phytol*, **152**: 249~266  
 4 Chen L-J (陈利军), Wu Z-J (武志杰), Huang G-H (黄国宏), et al. 2002. Effect of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on soil urease and phosphatase activities. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(10): 1356~1357 (in Chinese)  
 5 Comins HN, McMurtrie RE. 1993. Long-term response of nutrient-limited forests to CO<sub>2</sub> enrichment: Equilibrium behavior of plant-soil models. *Ecol Appl*, **3**: 666~681  
 6 Conroy JP, Milham PJ, Barlow EWR. 1992. Effect of nitrogen and phosphorus availability on the growth response of *Eucalyptus grandis* to high CO<sub>2</sub>. *Plant Cell Environ*, **15**: 843~847  
 7 Curtis PS, Zak DR, Pregitzer KS, et al. 1996. Linking above- and belowground responses to rising CO<sub>2</sub> in northern deciduous forest species. In: Koch GW, Mooney HA, eds. *Terrestrial Ecosystem Response to Elevated CO<sub>2</sub>*. New York: Academic Press. 41~51  
 8 Dhillon SS, Roy J, Abrams M. 1996. Assessing the impact of elevated CO<sub>2</sub> on soil microbial activity in a Mediterranean model ecosystem. *Plant Soil*, **187**: 333~342  
 9 Ebersberger D, Niklaus PA, Kandeler E. 2003. Long-Term CO<sub>2</sub> enrichment stimulates N-mineralisation and enzyme activities in calcareous grassland. *Soil Biol Biochem*, **35**: 965~972  
 10 Guan S-Y (关松荫). 1986. *Soil Enzymes and Their Methodology*. Beijing: Agricultural Press. (in Chinese)  
 11 Han S-J (韩世杰), Zhou Y-M (周玉梅), Wang C-R (王琛瑞), et al. 2001. Ecophysiological response of *Pinus koraiensis* seedlings to elevated CO<sub>2</sub>. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **12**(1): 27~30 (in Chinese)  
 12 Jackson RB, Sala OE, Field CB, et al. 1994. CO<sub>2</sub> alters water use, carbon gain, and yield for the dominant species in a natural grassland. *Oecologia*, **98**: 257~262  
 13 Jia X (贾夏), Han S-J (韩士杰), Zhou Y-M (周玉梅), et al. 2005. Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on rhizosphere soil microbes under *Pinus koraiensis* and *Pinus sylvestris* seedlings. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **16**(7): 1295~1298 (in Chinese)  
 14 Li F-S (李伏生), Kang S-Z (康绍忠), Zhang F-C (张富仓). 2002. Response of plant physiology to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(3): 1169~1173 (in Chinese)  
 15 Lodge RJ, Dijkstra P, Drake BG, et al. 2001. Stomatal acclimation to increased CO<sub>2</sub> concentration in a Florida scrub oak species *Quercus myrtifolia* Willd. *Plant Cell Environ*, **24**: 77~88  
 16 Moorhead DL, Linkins AE. 1997. Elevated CO<sub>2</sub> alters below-ground exoenzyme activities in tussock tundra. *Plant Soil*, **189**: 321~329  
 17 Niklaus PA, Alphei J, Ebersberger D, et al. 2003. Six years of in situ CO<sub>2</sub> enrichment evoke changes in soil structure and soil biota of nutrient-poor grassland. *Glob Change Biol*, **9**: 585~600  
 18 O'Neill EG, Luxmoore R, Norby RJ. 1987. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> effects on seedling growth, nutrient uptake, and rhizosphere bacterial populations of *Liriodendron tulipifera* L. *Plant Soil*, **104**: 3~11  
 19 Owensby C, Ham J, Knapp A, et al. 1997. Water vapour fluxes and their impact under elevated CO<sub>2</sub> in a C<sub>4</sub>-tallgrass prairie. *Glob Change Biol*, **3**: 189~195  
 20 Paterson E, Hall JM, Rattray EAS, et al. 1997. Effect of elevated CO<sub>2</sub> on rhizosphere carbon flow and soil microbial processes. *Glob Change Biol*, **3**: 363~377

- 21 Pregitzer KS, Zak DR, Curtis PS, et al. 1995. Atmospheric CO<sub>2</sub>, soil nitrogen, and turnover of fine roots. *New Phytol*, **129**: 579 ~ 585
- 22 Rogers HH, Runton GB, Krupa SV. 1994. Plant responses to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. *Environ Pollut*, **83**: 155 ~ 189
- 23 Ross DJ, Saggar S, Tate KR, et al. 1996. Elevated CO<sub>2</sub> effects on carbon and nitrogen cycling in grass/clover turves of a Psammaquent soil. *Plant Soil*, **182**: 185 ~ 189
- 24 Ross DT, Tate KR, Feltham CW, et al. 1995. Elevated CO<sub>2</sub> and temperature effects on soil carbon and nitrogen cycling in ryegrass/white clover turves of an Endoaquept soil. *Plant Soil*, **176**: 37 ~ 49
- 25 Schortemeyer M, Dijkstra P, Dale W, et al. 2000. Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on C and N pools and rhizosphere processes in a Florida scrub oak community. *Glob Change Biol*, **6**(4): 383 ~ 391
- 26 Shepherd T, Davies HV. 1993. Carbon loss from the roots of forage rape (*Brassica napus* L.) seedlings following pulse-labeling with <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. *Ann Bot*, **72**: 155 ~ 163
- 27 Van Veen JA, Liljerot E, Lekkerkerk LJA, et al. 1991. Carbon fluxes in plant-soil systems at elevated atmospheric CO<sub>2</sub> levels. *Ecol Appl*, **1**(2): 175 ~ 181
- 28 Yang W-Q (杨万勤), Wang K-Y (王开运). 2002. Advances on soil enzymology. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **8**(5): 564 ~ 570 (in Chinese)
- 29 Zak DR, Pregitzer KS, Curtis PS, et al. 1993. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and feedback between carbon and nitrogen cycles. *Plant Soil*, **151**: 105 ~ 117
- 30 Zhang L-L (张丽莉), Zhang Y-L (张玉兰), Chen L-J (陈利军), et al. 2004. Response of soil saccharidase activities to free-air carbon dioxide enrichment (FACE) under rice-wheat rotation. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **15**(6): 1019 ~ 1024 (in Chinese)
- 31 Zhou Y-M (周玉梅), Han S-J (韩世杰), Zhang J-H (张军辉), et al. 2002. Photosynthetic characteristics of three tree species seedlings in Changbai Mountain under different CO<sub>2</sub> concentrations. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(1): 41 ~ 44 (in Chinese)

**作者简介** 贾 夏,女,1975年生,博士,讲师。主要从事植物化学及根土界面微生物分子生态研究,发表论文10篇。E-mail: jiaxia75@hotmail.com or jiaxianavy@163.com

**责任编辑** 李凤琴