

# 不同岩溶生态系统土壤及其细菌碳酸酐酶的活性分析及生态意义

李 为<sup>1</sup>, 余龙江<sup>1</sup>, 袁道先<sup>2</sup>, 吴 云<sup>1</sup>

(1. 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074; 2. 国土资源部岩溶动力学开放研究实验室, 桂林 541004)

**摘要:**对能加速岩溶作用的碳酸酐酶(CA)的来源及分布进行了研究。测定了来自中国西南 4 个不同岩溶地区生态系统土壤样品中的 CA 活性,结果表明在表层土壤中都能检测到 CA 活性,且 CA 活性在不同岩溶生态系统土壤之间存在明显差异,其中植被覆盖率低的六盘水米苏嘎的土壤 CA 活性最低,而植被种类丰富且生长较好的重庆金佛山和马山弄拉等地土壤 CA 活性较高。同一类型岩溶生态系统不同岩溶地形的土壤 CA 活性亦存在差异,植物根际附近土壤 CA 活性较高,而且土壤 CA 活性呈现明显的垂直分布和季节变化,表明植物根系及土壤微生物是土壤 CA 的主要来源。同时还筛选了能产 CA 的细菌,并测定了细胞内和细胞外 CA 活性,结果表明土壤细菌的细胞内和细胞外 CA 活性在具有不同植被状况的弄拉和试验场两种不同岩溶生态系统间具有明显差异。这些都暗示着土壤及其细菌 CA 活性与赋予不同地形和植被特征的岩溶生态系统的特性高度相关。

**关键词:**岩溶生态系统; 碳酸酐酶; 岩溶地形; 植被

## Researches on activity of carbonic anhydrase from soil and its bacteria in different Karst ecosystems and its ecological significance

LI Wei<sup>1</sup>, YU Long-Jiang<sup>1</sup>, YUAN Dao-Xian<sup>2</sup>, WU Yun<sup>1</sup> (1. School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430074, China; 2. Karst Dynamics Laboratory, Ministry of Land and Resources, Guilin, 541004, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 438~443.

**Abstract:** The origin and distribution of carbonic anhydrase (CA) which could accelerate Karst processes were explored in this paper. The soil samples used in the experiment were collected from Jinfu Mountain of Chongqing, Misuga of Liu Panshui, Nongla of Guangxi and the Yaji Karst Experimental Site of Guilin, representing different Karst ecosystems of southwest China. The CA activities of the soil samples were determined according to the pH decline method. The results indicated that the CA activity could be detected not only in surface (10~20cm depth) soils of different karst ecosystems, but also in the control plot on a shale and sandstone area. The facts showed that CA, which is widespread in animals, plants and prokaryotes, is present in the environment such as soils where the living organisms exist, through the decomposing and secreting of the living organisms. Because CA can remarkably catalyze the reversible reaction between CO<sub>2</sub> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, so it might have influence on the surrounding environment. For example, CA might have effects on atmospheric CO<sub>2</sub> precipitation or carbonate rock dissolution. However, these presumptions require further studies.

The comparative analysis showed that the CA activity varied obviously among the soils in different karst ecosystems. Of

**基金项目:**国家自然科学基金重大研究计划资助项目(90202016);国家自然科学基金资助项目(40152002, 40302034);国土资源部岩溶动力学开放研究实验室资助项目

**收稿日期:**2002-11-21; **修订日期:**2003-03-26

**作者简介:**李为(1969~),女,湖南邵东人,博士生,讲师,主要从事生物技术、地质生态学研究。E-mail: hulwei-009@163.com

**致谢:**曹建华博士、谢运球博士、何师意博士、姜光辉、郭芳等协助野外采样并提供有关岩溶地质和气候方面的信息,Dr. Heather A Viles 协助修改英文摘要,在此深表感谢。

**Foundation item:** the Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China(No. 90202016), the National Natural Science Foundation of China(No. 40152002, 40302034) and the Karst Dynamics Laboratory, Ministry of Land and Resources

**Received date:** 2002-11-21; **Accepted date:** 2003-03-26

**Biography:** LI Wei, Lecturer, Ph. D. candidate, mainly engaged in the research of biotechnology and geological ecology. E-mail: hulwei-009@163.com

the four kinds of Karst area, the mean CA activity of the surface soil in Misuga of Liu Panshui, which had the lowest rate of covered vegetation, was the lowest at 0.02 U/g dry soil. Nongla and Jinfu Mountain, where there is abundant plant biodiversity and healthy vegetation, had higher mean CA activity in the surface soil with 3.83 U/g dry soil and 3.13 U/g dry soil respectively. The Karst Experimental Site, where the vegetation is not growing as well as at the Nongla and Jinfu Mountain sites, had lower mean CA activity in the surface soil with 2.61U/g dry soil. Moreover, there were certain differences in CA activities in the soils between different kinds of Karst landscape in the same kind of Karst ecosystem. These results suggest that the activity of CA from soil correlated highly with the characteristics of Karst ecosystems as represented by their different karst geochemical background, Karst landscape as well as plant species and growth status. On the other hand, higher CA activity could be detected in rhizosphere soils, such as the soils in plots NL4#, NL5# of Nongla and JFS3# of Jinfu mountain. Furthermore, the variation of CA activity in soils with season was almost in accordance with seasonal changes in the quantities of soil microorganisms in Karst ecosystems. These facts implied that plant roots and soil microorganisms serve as important sources of CA.

Meanwhile, the bacteria that can produce CA were screened through special plates containing calcium carbonate, and the activity of extracellular or intracellular CA was measured. In addition, the CA activities of predominant bacteria from two different types of Karst areas were also measured. The results indicated that most of the screened strains and the predominant bacteria produced detectable activity of intracellular or extracellular CA. There were obvious differences in intracellular and extracellular CA activities of soil bacteria among different karst ecosystems with different conditions of vegetation. NLCa602, isolated and screened from NL5# soil sample of Nongla where the vegetation is abundant, had the highest intracellular CA activity of 13.52 U/mg protein. While GLCa102, isolated and screened from a soil sample from doline No. 1 covered with flourishing bush cluster in the Karst Experimental Site, had the highest extracellular CA activity of 1.12 U/mg protein. These results suggested that the activity of CA from soil bacteria in the two different karst areas also correlated highly with characteristics of Karst ecosystems featured by their different landscape and vegetation.

**Key words:**Karst ecosystem; carbonic anhydrase; Karst landscape; vegetation

文章编号:1000-0933(2004)03-0438-06 中图分类号:S154.3 文献标识码:A

根据国际地质对比计划 IGCP379 项目的研究,生物及其特种酶在岩溶动力系统的运行中具有十分重要的作用<sup>[1]</sup>。表层带岩溶系统的发育演进为石质岩溶→生物岩溶→土壤岩溶→生态系统岩溶,这种演进以生物量增长及土壤形成成为纽带,最终成为以生物活动和土壤媒体过程为主导的岩溶生态系统<sup>[2]</sup>。可见,生物岩溶在岩溶作用中的重要性。对岩溶作用中生物作用的研究也引起了越来越多的关注<sup>[3~5]</sup>。

目前为止,在生物岩溶领域中对生物酶的研究还很少。碳酸酐酶(carbonic anhydrase,简称 CA)是一种含 Zn 的金属酶,广泛分布于动植物和原核生物中<sup>[6]</sup>,可以迅速催化 CO<sub>2</sub> 和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 之间的相互转化反应(H<sub>2</sub>O+CO<sub>2</sub>⇌HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>+H<sup>+</sup>)<sup>[7]</sup>。CA 不仅对于许多真核生物的生理过程如光合作用、呼吸作用、CO<sub>2</sub> 和离子运输、钙化作用和酸碱平衡等是必需的,而且对于许多原核生物的生理代谢具有重要意义<sup>[8]</sup>。最近有研究<sup>[9]</sup>表明 CA 对碳酸盐岩的溶解亦具有催化作用,分别在石灰岩和白云岩的溶解实验中加入 CA,结果发现,对于石灰岩,其溶解速率在高 CO<sub>2</sub> 分压时可增加 10 倍,而对于白云岩,其溶解速率增加主要在低 CO<sub>2</sub> 分压时,可达 3 倍左右。然而这些实验仅仅是在室内模拟进行的,所用的 CA 为牛 CA,难以说明自然的岩溶生态环境下生物 CA 对岩溶动力系统的驱动作用及其过程机理。为了弄清楚生物 CA 对岩溶作用的贡献,有必要研究自然的岩溶生态环境(包括土壤和水体)及其生物中 CA 的分布及其活性<sup>[10]</sup>。本研究采集了西南不同岩溶生态系统的土壤样品,分析比较土壤及其细菌碳酸酐酶的活性,其结果可为进一步研究生物 CA 在自然界碳酸盐岩风化作用中的作用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究地点与土壤样品的采集

选取中国西南 4 个不同类型的岩溶地区:(1)重庆金佛山;(2)贵州六盘水米苏嘎;(3)广西马山县弄拉;(4)广西桂林丫吉村岩溶试验场。这 4 个点代表了不同的地球化学背景及岩溶发育和植被发育状况。金佛山地处亚热带湿润气候区,相对高度达 1300~1500m,植物种类及植被群落类型多。受岩性和垂直气候的影响,金佛山的岩溶生态系统明显分成两大类型:山体下部为亚热带岩溶生态系统,由寒武纪、奥陶纪的石灰岩、白云岩构成岩溶发育的物质基础,平均气温 16.6℃,降雨量 1286.5mm;山体上部为温带岩溶生态系统,由二叠纪石灰岩构成岩溶发育的物质基础,平均气温 8.5℃,降雨量 1434.5mm,集中分布在 4~10 月份。贵州六盘水米苏嘎的岩溶地貌为典型的峰丛洼地,岩石类型为三叠纪纯石灰岩,石漠化为其突出的生态特征,植被覆盖率

仅为 8%,主要为草本和小灌木,土壤覆盖率不足 15%,岩石裸露率在 70%以上。广西马山县弄拉位于南方亚热带地区,年平均降雨量 1700mm,年平均气温 19.84℃,85%的降雨量集中在 4~10 月份,海拔高度为 450~500m。弄拉的岩溶地貌是典型的峰丛洼地,地层为泥盆纪东岗岭组中段,以含泥硅质的白云岩为主,具有丰富的植物群落。桂林丫吉村岩溶试验场也是位于南方亚热带地区,岩溶地貌亦是典型的峰丛洼地,地层为泥盆纪融县组灰岩,植被以灌木为主,最高海拔为 650m,年平均降雨量为 1915mm,年平均温度为 18.8℃,有 70.32%的降雨量分配在 4~8 月份。

土壤样品于 2001 年 7 月(夏季)和 9 月(秋季)、2002 年 3 月(春季)和 7 月(夏季)分别采于上述地点,采样点的基本情况和土壤的基本化学性质见表 1。采样方法:在每个样地中随机设置 3 个样点(即 3 个重复),对于金佛山和米苏嘎两个岩溶区的样地,采集 0~20cm 深度的土样,对于弄拉和试验场两个岩溶区的样地,分别在每个样点采集 0~20cm、20~40cm 和 40~60cm 深度的土样,将同一样地 3 个重复样点的土样按相同层次等比例混匀,将混合样保鲜带回室内进行分析。

表 1 采样点的基本情况及表层土壤的基本化学性质

Table 1 The conditions of sample plots and some chemical properties of surface soils						
样地编号 Plot No.	样地描述 Plot description	植物种类 Plant species	有机质(g/kg) Organic matter	全氮(g/kg) Total N	C/N Ratio	pH (H <sub>2</sub> O)
金佛山 <sup>(1)</sup>						
JFS1 #	卧龙潭树林 <sup>(2)</sup>	常绿阔叶林 <sup>(21)</sup>	76.08	4.11	10.73	6.62
JFS2 #	亚高山草甸 <sup>(3)</sup>	金山小茨竹 <sup>(22)</sup>	77.23	5.04	8.89	5.93
JFS3 #	生态石林,岩石上千年红豆杉树下根际腐殖土 <sup>(4)</sup>	千年红豆杉 <sup>(23)</sup>	132.96	6.14	12.56	6.73
JFS4 #	生态石林,出露岩石旁边 <sup>(5)</sup>	杜鹃 <sup>(24)</sup> , 巴东栎 <sup>(25)</sup>	74.80	3.80	11.42	6.26
JFS5 #	银杉林 <sup>(6)</sup>	银杉 <sup>(26)</sup>	83.38	5.88	8.23	6.28
米苏嘎 <sup>(7)</sup>						
LPS1 #	小山包山顶岩石旁 <sup>(8)</sup>	草本,小灌木 <sup>(27)</sup>	12.18	0.95	7.44	7.05
LPS2 #	小山包半山腰,岩石上沟槽土 <sup>(9)</sup>	草本,小灌木	11.96	1.00	6.94	7.21
弄拉 <sup>(10)</sup>						
NL1 #	上弄拉森林 <sup>(11)</sup>	石岩枫 <sup>(28)</sup> , 竹 <sup>(29)</sup>	75.33	4.10	10.66	6.72
NL2 #	兰电堂鸡蛋堡森林边缘 <sup>(12)</sup>	常绿阔叶,肾蕨 <sup>(30)</sup>	71.31	3.75	11.03	6.54
NL3 #	鸡蛋堡山腰灌丛 <sup>(13)</sup>	黄荆 <sup>(31)</sup> , 肾蕨	74.84	3.46	12.55	7.02
NL4 #	鸡蛋堡山坡,一棵任木树下 <sup>(14)</sup>	任木 <sup>(32)</sup> , 肾蕨	88.18	4.16	12.30	7.00
NL5 #	鸡蛋堡山坡,一棵苦丁茶树下 <sup>(15)</sup>	苦丁茶 <sup>(33)</sup> , 肾蕨	81.65	4.07	11.63	6.50
试验场 <sup>(16)</sup>						
YJ1 #	1 号洼地,灌丛 <sup>(17)</sup>	老虎刺 <sup>(34)</sup> , 构树 <sup>(35)</sup>	63.65	3.58	10.31	6.38
YJ2 #	1 号洼地坡地 <sup>(18)</sup>	黄荆, 木 <sup>(36)</sup>	45.47	2.15	12.27	6.55
YJ3 #	垭口 <sup>(19)</sup>	黄荆	61.46	3.02	11.80	6.00
YJ4 #	25 号泉松树林 <sup>(20)</sup>	松树 <sup>(37)</sup>	36.11	2.10	9.97	6.35

(1)Jinfu mountain; (2)Wolongtan woods; (3)Subalpine meadow; (4)Ecological stone forest, humus soil of rhizosphere of thousand-year-old *Yew* on the rock; (5)Ecological stone forest, beside the bare rock; (6)*Cathaya argyrophylla* forest; (7)Misuga; (8)Beside the bare rock of hilltop; (9)Mountainside of hill, soil of groove on the rock; (10)Nongla; (11) Shangnongla forest; (12) The edge of Jidanbao forest at Landiantang; (13) Bush cluster, Jidanbao hillside; (14) Under a tree of *Zenia insignis* Chun, Jidanbao hillside; (15) Under a tree of *Ilex Kudingcha*, Jidanbao hillside; (16) Karst Experimental Site; (17) Doline No. 1, bush cluster; (18) Slope of Doline No. 1 ; (19) Puerto; (20) *Pine* woods, Spring of No. 25; (21) Evergreen broadleaf; (22) *Sasa nubigena*; (23) thousand-year-old *Yew*; (24) *Rhododendron simsii*; (25) *Quercus engliana*; (26) *Cathaya argyrophylla*; (27) Herbage, undershrub; (28) *M. repandus*; (29) *Bambusa blumeana*; (30) *Nephrolepis auriculata*; (31) *Vitex negundo*; (32) *Zenia insignis* Chun; (33) *Ilex kudingcha*; (34) *Pterolobium punctatum*; (35) *Broussonetia papyrifera*; (36) *Loropetalum chinensis*; (37) *Pine*

1.2 土壤样品基本理化性质分析

参照《土壤农业化学分析方法》<sup>[11]</sup>,土壤含水量采用烘干法,pH 值采用酸度计法,有机质含量采用重铬酸钾氧化法,全氮含量采用半微量凯氏定氮法。

1.3 土壤碳酸酐酶活性分析

将每个新鲜土壤样本准确称取 3 份,每份 2.0g,分别加入 10ml、20mmol/L 的巴比妥缓冲液(pH8.3),混匀后在 7000r/min 下离心 10min,取上清液测定 CA 活性。CA 活性按 Brownell 等<sup>[12]</sup>的方法略作改进后测定。该测定是在一个 2℃的冷冻反应室中,通过测定 5ml 煮沸或未煮沸土壤提取液的测定液中注入 4.5ml 冰冷的 CO<sub>2</sub> 饱和水后 pH 下降的速度差异来进行的。酶活单位数由公式  $U=10(T_0/T_e-1)$  求得, $T_0$  为加入煮沸土壤提取液测得的 pH 变化所需时间, $T_e$  为加入未煮沸土壤提

取液测得的 pH 变化所需时间。CA 活性以每克干重土壤含有的酶活单位数(U/g)表示。所得数据为 3 份样品测量的平均值。

1.4 土壤细菌碳酸酐酶活性分析

1.4.1 土壤优势细菌的分离 土壤细菌的分离参照《土壤微生物研究法》<sup>[13]</sup>进行,采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。根据菌落形态和细胞形态挑出优势细菌到斜面上培养,然后置于 4℃ 冰箱保存,以测定 CA 活性。

1.4.2 产碳酸酐酶细菌的筛选 将适量土壤稀释液涂布于含有 60 g/L 碳酸钙、1μmol/L ZnSO<sub>4</sub> 的牛肉膏蛋白胨琼脂平板上,将平板置于 34~37℃ 培养 24h,挑出长好的菌落并采用划线法进行纯化,然后测定每个纯细菌培养物的 CA 活性,从而获得能产 CA 的细菌。

1.4.3 碳酸酐酶活性测定 纯细菌培养物在 5000rpm 下冷冻离心 5min,取上清液测定细胞外 CA 活性。将收集的菌体用蒸馏水充分洗涤 2 次,称取 0.2~0.6g 鲜重菌体置于预冷的研钵中,用 7ml、100mmol/L Tris -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 缓冲液(pH 8.3)研磨,将研磨液在 7000r/min 下离心 5min,取上清液测定细胞内 CA 活性。CA 活性测定方法同 1.3。蛋白测定参照 Lowry 等<sup>[14]</sup>的方法。CA 活性以每 mg 蛋白含有的酶活单位数(U/mg)表示。所得数据为 3 次测量的平均值。

2 结果与分析

2.1 不同地球化学背景和不同植被类型对土壤碳酸酐酶分布及活性的影响

由图 1、图 2 可以看出,在不同岩溶生态系统的表层土壤(0~20cm)中均检测到不同程度的 CA 活性,CA 活性的差异与不同岩溶生态系统的地球化学背景和植被类型不同有关。总体比较而言,米苏嘎的表层土壤 CA 活性最低,弄拉的表层土壤 CA 活性平均比试验场高(图 1),而试验场的表层土壤 CA 活性平均略低于金佛山(图 2),其中弄拉的 NL4# 和 NL5# 采样点以及金佛山的 JFS3# 采样点的表层土壤 CA 活性较其它采样点的高,可能与这几处采样点位于乔木植物根际环境有关。此外在砂页岩对照区土壤样品(YJ4#)中也检测到了 CA 活性,说明 CA 广泛存在于自然界的土壤中。

2.2 两种类型岩溶生态系统土壤碳酸酐酶的垂直分布

从图 3 可以看出,弄拉各样地土壤 CA 活性具有明显一致的垂直变化规律,随土壤深度的加深,酶活性逐渐降低,但不同样地 CA 活性降低的幅度有差异,其中兰电堂森林边缘土壤 CA 活性随土壤深度降低幅度最大,表层土壤 CA 活性是底层土壤的 4.2 倍。试验场各样地土壤 CA 活性的垂直变化模式不太一致,1 号洼地土壤 CA 活性是表层最大,中层最小;坡地和松林土壤 CA 活性都表现为底层最大,表层次之,中层最小;而垭口土壤 CA 活性则表现为中层最大,底层次之,表层最小。

2.3 不同季节对岩溶生态系统土壤碳酸酐酶分布及活性影响

比较岩溶试验场春、夏、秋季各样地土壤 CA 活性可知(图 4),岩溶生态系统土壤 CA 活性的季节变化规律是明显的,洼地、坡地和垭口土壤 CA 活性的一般变化规律是春季上升,夏季或秋季达到最高,洼地和垭口土壤 CA 活性是秋季比夏季高,而坡地土壤 CA 活性是夏季最高,秋季略有下降,其中坡地土壤 CA 活性变化幅度较小,洼地土壤 CA 活性变化幅度较大。

2.4 不同岩溶生态系统土壤细菌细胞内或细胞外 CA 活性的比较

对采自弄拉和试验场的土壤样品进行了产 CA 细菌的筛选,在筛选获得的 33 株菌株中,有 32 株,也就是说,几乎所有的菌株都能检测到细胞内或细胞外 CA 活性。从 NL5#(弄拉)土壤样品中分离到的菌株 NLCa602,具有最高的细胞内 CA 活性,达 13.522 U/mg 蛋白;从 YJ1#(试验场)土壤样品中分离到的菌株 GLCa102,具有最高的细胞外 CA 活性,达 1.116 U/mg 蛋白。CA 活性测定结果数据见表 2。此外,对来自这两个不同类型岩溶地区的优势细菌的 CA 活性也进行了检测,结果(表 2)表明大多数的优势细菌都具有细胞内或细胞外 CA 活性。总体比较后明显可知,含有碳酸钙的特殊平板上可以筛选到较高 CA

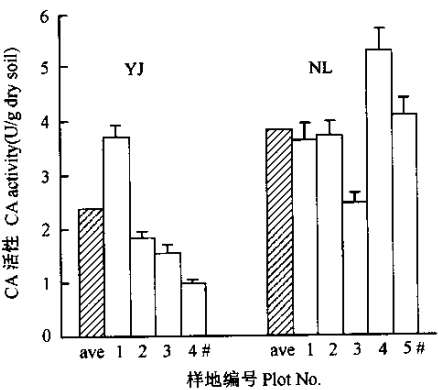


图 1 2001 年夏季(7 月份)各样地土壤(0~20cm)碳酸酐酶活性  
Fig.1 CA activity of surface soils from different plots in summer (July)in 2001

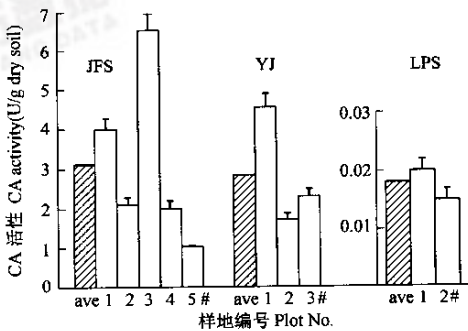


图 2 2001 年秋季(9 月份)各样地土壤(0~20cm)碳酸酐酶活性  
Fig.2 CA activity of surface soils from different plots in autumn (Sept.)in 2001



活性的菌株,而且细胞内 CA 活性明显高于细胞外 CA 活性。另一方面,从不同的岩溶生态系统土壤中分离获得的菌株的细胞内或细胞外 CA 活性存在明显差异,比较而言,从弄拉土壤样品中分离到的菌株表现出较强的细胞内 CA 活性,而从试验场分离到的菌株则表现出较强的细胞外 CA 活性。

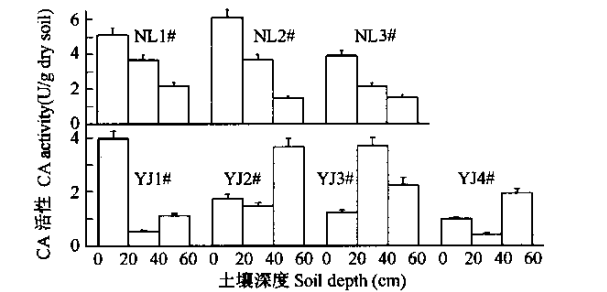


图3 2002年夏季(7月份)弄拉与试验场各样地不同深度土壤碳酸酐酶活性

Fig. 3 CA activity of different depth soils from different plots in Nongla and the experimental site in summer(July) in 2002

3 讨论

(1)以往在土壤酶的研究中尚缺乏有关 CA 的研究报道。本研究表明在不同岩溶生态系统的表层土壤中都能检测到不同程度的 CA 活性,在非碳酸盐岩的砂页岩对照区土壤中也检测到了 CA 活性,这说明广泛存在于动植物和原核生物中的 CA 可以通过生物的腐烂或分泌,存在于生物所处的周围环境例如土壤中。由于 CA 具有高效快速催化  $\text{CO}_2$  和  $\text{HCO}_3^-$  之间相互转化反应的功能<sup>[7]</sup>,因而可能对周围的环境产生影响,如对大气  $\text{CO}_2$  沉降、碳酸盐岩的溶解等产生影响,这需要进行进一步深入的研究。

(2)土壤有机质是土壤酶活动的良好基质,有利于促进土壤各类酶的活动<sup>[15]</sup>。本文研究结果表明 CA 活性在不同岩溶生态系统土壤之间存在明显差异,植被覆盖率低的六盘水米苏嘎的土壤 CA 活性最低,而植被种类丰富且生长较好的重庆金佛山和马山弄拉等地土壤 CA 活性较高,而且同一类型岩溶生态系统不同岩溶地形的土壤 CA 活性亦存在差异。造成以上差异的原因主要是不同岩溶生态系统的地球化学背景、岩溶发育状况、植被状况、水热条件以及人类活动情况不同,因此土壤的有机质含量和理化性质存在差异,这说明土壤 CA 活性与岩溶生态系统的地球化学背景、岩溶地形和植被类型及生长状况高度相关。此外,植物根际附近土壤 CA 活性较高,而且土壤 CA 活性随季节的明显变化与岩溶生态系统土壤微生物数量的季节变化基本一致,这说明了植物根系及土壤微生物是土壤 CA 的主要来源,然而何者占主导地位、何者在碳酸盐岩风化中起主导作用等问题有待深入研究。

(3)虽然以往的研究报告使人以为 CA 在细菌界和古细菌界不是普遍存在的,但是最近的研究表明 CA 不仅更广泛地存在于原核生物中,而且分布在代谢更多样化的物种中<sup>[6]</sup>。本研究给上述论点提供了进一步的证据。实验结果表明 CA 活性可以在来源于两种类型岩溶地区土壤样品的大多数细菌菌株中检测到。土壤细菌的细胞内和细胞外 CA 活性在弄拉和试验场两种不同类型岩溶生态系统土壤样品中具有明显差异,具有较高细胞内 CA 活性的菌株是从具有良好植被的弄拉的土壤样品中分离筛选获得,而具有较高细胞外 CA 活性的菌株是从试验场 1 号洼地采集的土壤样品中分离筛选获得,这些都暗示着两种类型岩溶生态系统

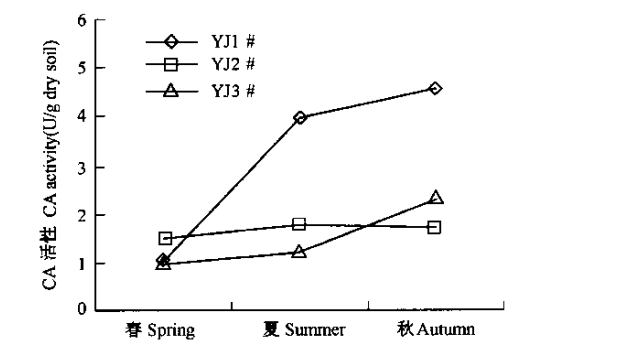


图4 岩溶试验场土壤 CA 活性的季节变化

Fig. 4 Seasonal changes in soil CA activity in the Karst Experimental Site

表2 不同岩溶生态系统土壤细菌碳酸酐酶活性比较

Table 2 Comparison of carbonic anhydrase activity among soil bacteria from different karst areas

菌株编号 Strain No.	细胞内 CA 活性(U/mg) Intracellular CA activity	细胞外 CA 活性(U/mg) Extracellular CA activity
弄拉 Nongla		
NLCa101	1.60±0.22	0.14±0.01
NLCa102	1.60±0.20	—
NLCa301	6.19±0.41	—
NLCa302	1.75±0.25	0.20±0.01
NLCa601	12.49±0.53	—
NLCa602	13.52±0.50	0.23±0.02
NL301	—	—
NL503	0.72±0.05	—
NL604	5.12±0.32	—
NL202	1.10±0.10	0.20±0.02
NL403	1.08±0.10	0.16±0.02
试验场 The experimental site		
GLCa101	5.61±0.33	0.21±0.03
GLCa102	4.68±0.20	1.12±0.2
GLCa201	3.84±0.32	—
GLCa202	—	0.18±0.01
GLCa301	—	—
GLCa302	0.95±0.04	0.08±0.01
GL104	1.36±0.20	—
GL204	0.79±0.05	0.06±0.01
GL302	—	0.57±0.02
GL303	9.73±0.26	—
GL404	2.45±0.34	—

— CA 活性未检出 Denotes that CA activity is undetected

统土壤细菌的 CA 活性与赋予不同地球化学背景、岩溶地形和植被特征的岩溶生态系统的特性相关。进一步的研究将深入探讨岩溶环境因子对土壤细菌 CA 活性表达的影响及其在岩溶动力系统中的作用。

References:

[ 1 ] Yuan D X, Jiang Z C. Advances in the IGCP 379 project in China, “Karst Processes and the Carbon Cycles.” *Hydrogeology and Engineering Geology*, 2000, **27**(1):49~51.

[ 2 ] Pan G X, Cao J H. Karstification in epikarst zone;the earth surface ecosystem processes taking soil as a medium——case of the Yaji Karst Experiment Site, Guilin. *Carsologica Sinica*, 1999, **18**(4):287~296.

[ 3 ] Cao J H, Yuan D X. Relationship between water-holding of carbonate rock and saxicolous algae, lichen and moss and its ecological significance. *Geochimica*, 1999, **28**(3):248~256.

[ 4 ] Wang F X, Cao J H and Huang J F. Development of biokarst micromorphologies in Longgang reserve, Guangxi, China. *Carsologica Sinica*, 1996,**15**(1~2):64~63.

[ 5 ] Zambo L. The experimental examination of microbial origin corrosion aggressivity of karst soils. *Acta Carsologica*,1998, **XII**:261~275.

[ 6 ] Smith K S, Jakubzick C, Whittam T S, *et al.* Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**:15184~15189.

[ 7 ] Tripp B C, Smith K and Ferry J G. Carbonic anhydrase: new insights for an ancient enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, **276**: 48615~48618.

[ 8 ] Smith K S and Ferry J G. Prokaryotic carbonic anhydrase. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, **24**:335~366.

[ 9 ] Liu Z H and Dreybrodt W. Dissolution kinetics of calcium carbonate minerals in H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub> solutions in turbulent flow;the role of the diffusion boundary layer and the slow reaction H<sub>2</sub>O+CO<sub>2</sub>⇌H<sup>+</sup>+HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. *Geochim Cosmochim Acta*, 1997, **61**:2879~2889.

[ 10 ] Liu Z H. The role of carbonic anhydrase as an activator in carbonate rock dissolution and its significance in atmospheric CO<sub>2</sub> precipitation. *Acta Geoscientia Sinica*,2001,**22**(5):477~480.

[ 11 ] Lu R K. *Analytic Methods of Soil Agricultural Chemistry*. Beijing:China Agricultural Science and Technology Press, 2000. 12~149.

[ 12 ] Brownell P F, Bielig L M and Grof C P L. Increased carbonic anhydrase activity in leaves of sodium-deficient C<sub>4</sub> plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1991,**18**: 589~592.

[ 13 ] Nanjing Institute of Soil, Chinese Academy of Sciences. *Research Methods of Soil Microorganisms*. Beijing;Science Press, 1985. 40~58.

[ 14 ] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 1951,**193**: 265~275.

[ 15 ] Mu J M,Song R,Jiang Y M,*et al.* Effect of different crop stubble remaining in field on soil enzyme activity. *Journal of Jilin Agricultural University*,1997, **19**(4):65~69.

参考文献:

[ 1 ] 袁道先,蒋忠诚. IGCP379“岩溶作用与碳循环”在中国的研究进展. 水文地质工程地质,2000, **27**(1): 49~51.

[ 2 ] 潘根兴,曹建华. 表层带岩溶作用:以土壤为媒介的地球表层生态系统过程——以桂林峰丛洼地岩溶系统为例. 中国岩溶, 1999,**18**(4): 287~296.

[ 3 ] 曹建华,袁道先. 石生藻类、地衣、苔藓与碳酸盐岩持水性及生态意义. 地球化学,1999,**28**(3):248~255.

[ 10 ] 刘再华. 碳酸酐酶碎碳酸盐岩溶解的催化作用及其在大气 CO<sub>2</sub> 沉降中的意义. 地球学报,2001,**22**(5):477~480.

[ 11 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科技出版社,2000. 12~149.

[ 13 ] 中国科学院南京土壤研究所编著. 土壤微生物研究法. 北京:科学出版社,1985. 40~58.

[ 15 ] 牟金明,宋日,姜亦梅,等. 不同作物根茬还田对土壤酶活性的影响. 吉林农业大学学报, 1997, **19**(4):65~69.