

DOI: 10.5846/stxb201906261351

王思琦, 薛亚芳, 王颖, 杨丽扬, 张永清, 田静. 喀斯特关键带不同干扰梯度下土壤-岩石界面对土壤有机质水解酶活性的影响. 生态学报, 2020, 40(10): 3431-3440.

Wang S Q, Xue Y F, Wang Y, Yang L Y, Zhang Y Q, Tian J. Effect of soil-rock interface on soil organic matter hydrolase activity under different disturbance gradients in Karst Critical Zone. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(10): 3431-3440.

## 喀斯特关键带不同干扰梯度下土壤-岩石界面对土壤有机质水解酶活性的影响

王思琦<sup>1,2</sup>, 薛亚芳<sup>2</sup>, 王颖<sup>2</sup>, 杨丽扬<sup>1,2</sup>, 张永清<sup>1</sup>, 田静<sup>3,\*</sup>

1 山西师范大学地理科学学院, 临汾 041000

2 中国科学院地理科学与资源研究所, 生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

3 中国农业大学资源与环境学院, 国家农业绿色发展研究院, 教育部植物-土壤重点实验室, 北京 100193

**摘要:** 土壤酶在土壤生态系统的物质循环和能量流动中具有重要作用, 受土地利用方式影响强烈。喀斯特地区具有岩石出露面积广和土层浅薄不连续的特点, 且随着人为干扰强度的增加而加剧。但是目前关于土壤碳氮循环酶活性对出露岩石(土壤-岩石界面)的响应受土地利用变化的影响的研究还较为薄弱。以贵州省喀斯特地区陈旗和天龙山流域为研究区域, 探讨了原生林、次生林、弃耕地和耕地 4 种不同干扰梯度下土壤-岩石界面的土壤有机质水解酶活性的差异以及影响机制。研究表明: (1) 当土地利用方式从森林转化为弃耕地或耕地后, 土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)、硝态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)、铵态氮( $\text{NH}_4^+$ -N)含量和SOC/TN随着人为干扰强度的增加呈现降低的趋势。在 4 种不同干扰强度的土地中, 岩土界面的 pH、SOC 和  $\text{NH}_4^+$ -N 含量较高。(2) 土壤酶活性在不同干扰梯度下土壤-岩石界面和非交界处有明显的分异。与碳循环有关的  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶( $\beta$ G)、 $\beta$ -1,4-木糖苷酶( $\beta$ X)、纤维素二糖水解酶(CBH)和  $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷酶( $\alpha$ G)酶活性均表现为弃耕地和耕地高于原生林和次生林。与氮循环有关的  $\beta$ -1,4-N-乙酰葡萄糖氨糖苷酶(NAG)和亮氨酸氨基肽酶(LAP)在原生林和弃耕地中表现出更高的活性。所有水解酶均在弃耕地的土壤-岩石交界处活性最高。(3) RDA 分析表明, 可溶性有机碳(DOC)的含量对土壤水解酶活性影响最大, 贡献率为 33.4% ( $P=0.002$ )。土壤 pH、SOC 和  $\text{NH}_4^+$ -N 与酶活性显著相关。综上, 土地利用方式和岩石裸露显著影响土壤的理化性质和水解酶活性; 同时弃耕地的土壤-岩石界面维持了较高的碳氮周转酶活性, 反映出长期恢复下土壤的养分循环功能仍然存在, 表明退耕还林还草对喀斯特地区生态系统恢复和土地资源可持续利用具有重要意义。

**关键词:** 喀斯特地区; 干扰梯度; 土地利用类型; 土壤-岩石界面; 土壤酶活性

## Effect of soil-rock interface on soil organic matter hydrolase activity under different disturbance gradients in Karst Critical Zone

WANG Siqi<sup>1,2</sup>, XUE Yafang<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>2</sup>, YANG Liyang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yongqing<sup>1</sup>, TIAN Jing<sup>3,\*</sup>

1 College of Geographical Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China

2 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, Ministry of Education, National Academy of Agriculture Green Development, College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

**Abstract:** Soil enzymes play an important role in the material cycle and energy flow of soil ecosystem, and are strongly affected by land use patterns. Karst area has the characteristics of wide exposed area of rock and shallow discontinuity of soil

基金项目: 国家自然科学基金委国际合作项目(41571130041); 国家自然科学基金委面上项目(31770560)

收稿日期: 2019-06-26; 修订日期: 2020-02-20

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tianj@igsnr.ac.cn

layer, and increased with the aggravation of human interference intensity. However, the progress on the response of soil enzymes related to carbon and nitrogen cycling to exposed rock (soil rock interface) under different land use disturbance gradients is weak. In this study, we selected Chenqi and Tianlongshan river basins in karst area of Guizhou Province as the research areas to explore the differences of soil organic matter hydrolase activities and their driving factors of soil-rock interface under four different disturbance gradients: primary forest, secondary forest, abandoned farmland and cultivated land. The results showed that: (1) when the land use pattern changed from forest to abandoned farmland or cultivated land, the content of soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3^-$ -N), ammonium nitrogen ( $\text{NH}_4^+$ -N) and SOC/TN decreased with the increase of human disturbance intensity. The pH, SOC and  $\text{NH}_4^+$ -N contents of the soil-rock interface were higher in the four soils with different disturbance intensities. (2) Soil enzyme activities differed significantly between soil-rock interface and bulk soil under different disturbance gradients. The activities of  $\beta$ -1,4-glucosidase ( $\beta$ G),  $\beta$ -1,4-xylanase ( $\beta$ X), cellulose disaccharide hydrolase (CBH) and  $\alpha$ -1,4-glucosidase ( $\alpha$ G) related to carbon cycle were higher in abandoned farmland and cultivated land than in primary and secondary forests. The  $\beta$ -1,4-N-acetylglucuronidase (NAG) and leucine aminopeptidase (LAP) related to nitrogen cycle showed higher activity in primary forest and abandoned farmland. All the hydrolases had the highest activity at the rock-soil interface of abandoned farmland. (3) RDA analysis showed that the content of dissolved organic carbon (DOC) had the greatest influence on soil hydrolase activity, and contributed to the variation of 33.4% ( $P = 0.002$ ). Soil pH, SOC and  $\text{NH}_4^+$ -N were significantly correlated with enzyme activities. In conclusion, land use and rock exposure significantly affected the physical and chemical properties and hydrolase activity of soil; at the same time, the soil rock interface of the abandoned farmland maintained a high carbon and nitrogen turnover enzyme activities, which reflected that the nutrient cycling function of soil still existed under long-term restoration. The results further indicates that returning farmland to forest and grassland are of great significance to ecosystem restoration and sustainable use of land resources in karst areas.

**Key Words:** karst area; disturbance gradient; land use type; soil-rock interface; soil enzyme activity

土壤水解酶主要是由微生物、植物根系分泌的具有高度催化作用的蛋白质,在促进土壤有机质(SOM)分解和腐殖质的合成、生态系统的物质循环和能量流动中发挥着重要的作用<sup>[1-3]</sup>。土壤酶活性对环境的变化比土壤理化指标具有更高的敏感性,能较早地指示生态环境的变化<sup>[4-6]</sup>;其次土壤酶活性可代表土壤中物质代谢的旺盛程度,反映微生物对养分的吸收利用状况,不仅能表征土壤养分转化能力,而且能反映生态系统的功能<sup>[7]</sup>。因此深入了解水解酶活性的变化规律可以提供有关参与 SOM 分解和土壤养分转化的关键反应的信息,进而了解土壤物质循环与转化潜力<sup>[2]</sup>,为区域土壤质量演化及其评价提供重要理论依据<sup>[8]</sup>。

土地利用方式的改变是人类影响酶活性最重要、最直接的活动<sup>[9]</sup>。土地利用方式可以通过改变植被覆盖<sup>[10-12]</sup>、土壤养分含量<sup>[13-14]</sup>、水热条件<sup>[15]</sup>以及化学性质<sup>[16-17]</sup>进而影响土壤酶活性高低。我国的喀斯特地形分布广泛,其特点主要表现为地表植被稀少、岩石出露面积广、耕地土层浅薄并且不连续、营养贫乏、微地貌复杂多样等特征<sup>[10,18]</sup>。由于喀斯特地区特殊的形成基质<sup>[19]</sup>和生态环境条件,使得喀斯特地区土壤具有高度的空间异质性。土壤水解酶活性作为生态系统结构与功能的重要因子,对喀斯特生态系统的稳定性起着重要作用。近年来,不同学者对喀斯特地区不同土地利用下酶活性变化进行研究。例如刘璐等<sup>[20]</sup>对典型喀斯特区域的农田、草地、灌丛、次生林 4 种不同植被恢复阶段下的土壤进行研究,发现随着植被恢复土壤水解酶活性不断增加,这可能是由于喀斯特地区土壤有机碳(SOC)极高的稳定性导致微生物趋向于利用活性有机碳库。刘烁等<sup>[21]</sup>通过研究喀斯特小流域土壤水解酶活性的空间异质性特征,分析土地利用类型、坡向、坡位和土壤环境因子等对土壤水解酶活性及其空间异质性格局的影响,结果表明,研究区内的土壤水解酶活性均呈现中等程度的变异性,但土壤养分在不同坡位之间没有显著差异,导致土壤酶活性在不同坡向之间的差异不显著。蒲通达等<sup>[18]</sup>通过对喀斯特山区森林生态系统中不同微地形(石坑、石沟、石缝)和连片土面下土壤进行调查,

探讨不同小生境条件下土壤 SOM 及酶活性的变化,结果表明受小生境地表微形态和微地貌空间变异的影响,小生境的成土条件和成土过程出现明显的差异,造成土壤养分及酶活性也出现较大的差别。

裸露岩石能够聚集土壤中的 SOC 和营养物质,其在维持土壤肥力、生态系统的可持续性和附近土壤的生物多样性方面的作用已经在沙漠的鹅卵石<sup>[22-23]</sup>、热带草原生态系统的沼泽<sup>[24]</sup>和原始冰川前田遗址的岩石中<sup>[25]</sup>被关注到。随着土地利用加剧,喀斯特地区大量岩石露出地表,裸露的岩石通过影响对地表光、水等资源的再分配,进而影响区域的小气候和植被的生长,致使岩石与浅薄土层相互镶嵌,导致喀斯特生境高度异质性和土壤生态功能显著差异<sup>[26]</sup>。但是目前岩溶地区岩石露头的生态功能还没有引起足够的重视,很少研究考虑喀斯特地区不同干扰梯度下岩石出露(如土壤-岩石界面)对土壤酶活性异质性分布的影响。因此本文以贵州省普定县陈旗和天龙山流域为研究区域,探究不同干扰梯度下岩石-土壤界面对参与土壤 C 和 N 周转的水解酶活性的影响,同时探讨了土壤水解酶活性与环境因子之间的关系,研究可为喀斯特地区环境退化和土壤石漠化提供预警,同时为土地资源保护、生态环境恢复和可持续管理提供重要的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于贵州省安顺市普定县的陈旗流域(26°15'37"—26°15'40" N, 105°46'11"—105°46'29" E)和天龙山流域(26°14'48"N, 105°45'51"E),海拔高度 1310—1524m,碳酸盐岩分布广泛,且岩石裸露率高,主要岩石类型为中厚至薄层的石灰岩、泥灰岩<sup>[21]</sup>,属于典型的喀斯特地貌。研究区年平均气温 15.1 C,年平均降水量 1390mm<sup>[27]</sup>,降水集中在 5—10 月,属亚热带季风性湿润气候类型<sup>[28]</sup>;表层土壤类型以黄棕壤为主,土层浅薄且连续性差,呈斑、块状分布于溶沟、溶槽和溶缝内;中间喀斯特洼地地势开阔和缓,沿东西向伸展,地表覆盖暗棕色厚层第四纪松散堆积物<sup>[29]</sup>。根据人为干扰的梯度,我们在研究区选择了原生林(primary forest, PF)、次生林(secondary forest, SF)、弃耕地(abandoned land, AL)和耕地(cultivated land, CL)4种主要的土地利用类型,干扰强度由原生林到耕地逐渐增大。其中原生林为约 100 年内未曾砍伐的自然状态林地,主要植被为窄叶石栎(*Lithocarpus confinis*)和安顺润楠(*Machilus cavaleriei*);次生林在 20 世纪 80 年代遭到毁林伐木,2000 年后封山育林,主要植被为响叶杨(*Populus adenopoda*)、盐肤木(*Rhus chinensis*)和红叶木姜子(*Litsea rubescens*);弃耕地曾有多年耕种历史,退耕还林政策实施后约 5 年内没有人为干扰,现主要植被为香丝草(*Conyza bonariensis*)和白茅(*Imperata cylindrica*);耕地中的主要作物为玉米(*Zea mays*)、番薯(*Ipomoea batatas*)和大豆(*Glycine max*)。次生林、弃耕地、耕地设置在陈旗流域,原生林设置在距陈旗 2km 的天龙山流域,土壤类型和地质条件相同。

### 1.2 样品采集

2017 年 4 月,我们在 4 种不同的土地利用类型中分别建立 6 个具有代表性的样方(10m×20m),样方间至少相隔 30m。在设立样地时,为增加实验的可比性和科学性,尽量使坡度、坡位等区位因素保持一致。在每个样方中,考虑到不同人为干扰强度和出露岩石的影响,分别在裸露岩石周围(距离岩石约 2 cm,定义为土壤-岩石界面土壤)和远离岩石的非界面处(距离岩石约 20 cm,定义为非交界土壤)用小土铲采集 0—10 cm 表层土壤(图 1)。取样前先清除地表植物或凋落物,每个样点随机采集 4 个土样,然后均匀混合形成一个具有代表性的土壤样品。采集土壤样品后,去除样品中的石块、植物根系等非土壤成分,过 2 mm 筛后,装袋 4℃ 冷藏运回实验室,用于后期测试分析指标。

### 1.3 样品测试

土壤 pH 值用 pH 计来测定(土水比 1:2.5)测定。有机碳(SOC)和全氮(TN)的含量使用元素分析仪(Elementar, VarioEL III)测定。可溶性有机碳(DOC)根据 Jones 和 Willett<sup>[30]</sup>方法采用超纯水浸提,震荡 2h 后离心过滤,用日本岛津公司 TOC-VCPH 型分析仪测定。土壤硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)和铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)采用 1mol/L 氯化钾(KCl)溶液浸提,震荡 1h 后离心过滤,用连续流动分析仪(BranLuebbe, AA3)测定<sup>[31]</sup>。

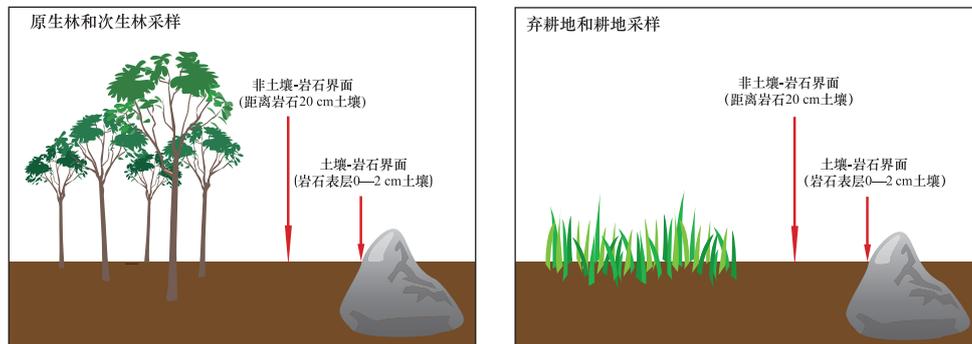


图 1 土壤样品采样示意图

Fig.1 Schematic diagram of soil sampling

土壤水解酶活性的测定方法参考 Saiya-Cork<sup>[32]</sup>, 共测定了 6 种参与 C、N 循环的水解酶, 具体方法为: 取样品 1g 鲜土, 加入 125mL 的 pH=7.3 (由土壤 pH 值决定) 的 50mmol/L 醋酸钠缓冲液充分混匀, 制备土壤悬浮液, 吸取 200 $\mu$ L 土壤悬浮液和 50 $\mu$ L 底物注入 96 微孔板内, 在 20 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养 4h, 加入 10 $\mu$ L 1 mol/L NaOH 终止反应。采用微孔板荧光法, 使用多功能酶标仪 (SynergyH4, BioTek) 测定其荧光值。底物以碳为主的多糖 (纤维素)、芳香族化合物 (木质素) 和脂肪族化合物, 测定其分解酶主要包括  $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶 ( $\beta$ G)、 $\beta$ -1,4-木糖苷酶 ( $\beta$ X)、纤维素二糖水解酶 (CBH) 和  $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ G)。底物为以氮为主的氨基化合物、缩氨酸和非缩氨基化合物, 测定其分解酶包括  $\beta$ -1,4-N-乙酰葡萄糖氨糖苷酶 (NAG) 和亮氨酸氨基肽酶 (LAP)。所测定的水解酶都通过预实验确定获得最大酶活性所需要的底物浓度和标准物浓度。

#### 1.4 数据处理

采用双因素方差分析 (ANOVA) 和 LSD 多重比较法对不同干扰梯度与不同位置的土壤理化性质和酶活性进行差异显著性检验 (SAS Inc., Cary, NC, USA), 显著水平设置为  $P=0.05$ 。采用 CANOCO 软件 (version 5.0, Microcomputer Power, Inc., Ithaca, NY, USA) 对土壤酶活性进行主成分分析 (PCA)。借助冗余分析 (RDA), 探讨环境因子对土壤酶活性变异的贡献作用大小。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同干扰梯度下土壤-岩石界面对土壤理化性质的影响

土壤理化性质随土地利用的转化而发生显著变化 (表 1)。土壤 pH 在不同干扰梯度下有着明显的差异, 表现为次生林 > 弃耕地 > 原生林 > 耕地。土壤 SOC、TN、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量和 C/N 随着人为干扰强度的增加呈现降低的趋势。原生林中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的含量显著高于其他 3 种人为干扰强度的土地。次生林和弃耕地的 DOC 含量差异不显著, 但与原生林和耕地的 DOC 含量的差异均达到显著水平 ( $P<0.05$ )。

岩土界面的土壤与远离岩土界面的土壤的理化性质之间存在差异性 (表 1)。pH 值在 4 种土地利用类型中均表现为非交界处的土壤显著低于岩土交界处的土壤 ( $P<0.05$ )。原生林、次生林和弃耕地中, 岩土界面土壤的 SOC 含量均显著高于非交界处土壤 ( $P<0.05$ )。在弃耕地中非交界处土壤的 TN 含量低于岩土边界的土壤。DOC 含量仅在次生林中非交界处土壤高于岩土边界土壤。除次生林外, 原生林、弃耕和耕地中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量表现为岩土界面土壤显著高于非交界处土壤 ( $P<0.05$ )。

### 2.2 不同干扰梯度下土壤-岩石界面的酶活性

主成分分析表明, 土壤酶活性在不同干扰梯度下非交界处土壤和土壤-岩石界面土壤中有明显的分异 (图 1)。主成分 1 (PC1) 和主成分 2 (PC2) 的方差贡献率分别为 74.7% 和 9.91%, 累计方差贡献率为 84.6%, 说明不同干扰梯度和土壤-岩石界面对土壤水解酶活性均有显著影响。

表 1 不同干扰梯度及土壤位置对土壤理化性质的影响

Table 1 Effects of land use intensities and soil location on soil physical and chemical properties

土壤理化性质 Soil physical and chemical property	原生林 Primary forest		次生林 Secondary forest		弃耕地 Abandoned land		耕地 Cultivated land	
	非交界处 Bulk	土壤-岩石 交界处 Soil-rock interface	非交界处 Bulk	土壤-岩石 交界处 Soil-rock interface	非交界处 Bulk	土壤-岩石 交界处 Soil-rock interface	非交界处 Bulk	土壤-岩石 交界处 Soil-rock interface
	pH	6.43±0.33BCb	7.95±0.05BCa	7.11±0.17Ab	8.27±0.07Aa	6.82±0.39ABb	8.14±0.07ABa	6.23±0.35Cb
SOC/(g/kg)	62.00±3.32Ab	77.00±2.31Aa	52.10±2.97Bb	65.40±3.21Ba	30.10±3.12Cb	40.20±1.90Ca	29.50±2.04Ca	33.10±2.06Ca
TN/(g/kg)	5.63±0.54Aa	6.70±0.71Aa	3.42±0.23Ba	4.01±0.37Ba	2.57±0.20Cb	3.09±0.11Ca	2.39±0.28Ca	2.76±0.17Ca
SOC:TN	13.10±0.59Aa	13.70±0.62Aa	14.40±1.17Aa	14.50±0.66Aa	11.70±0.33Ba	12.40±0.64Ba	10.90±0.69Ba	12.00±0.32Ba
DOC/(mg/kg)	88.70±1.23Bb	119.00±4.64Ba	222.00±11.8Aa	162.00±14.7Ab	180.00±10.51Ab	228.00±9.26Aa	107.00±8.89Bb	137.00±5.72Ba
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(mg/kg)	6.11±1.85Ab	14.80±2.13Aa	1.09±0.38Ba	1.81±0.49Ba	2.74±1.02Ba	2.85±0.63Ba	3.65±2.24Ba	4.37±0.71Ba
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/(mg/kg)	30.30±2.24Ab	64.30±5.82Aa	29.30±3.26ABa	36.20±3.80ABa	20.00±1.35BCb	34.10±4.54BCa	12.80±1.19Cb	27.00±1.23Ca

大写字母表示土地利用类型间存在显著性差异,小写字母表示同一土地利用类型下不同土壤位置存在显著性差异( $P < 0.05$ ); SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon; TN:全氮 Total nitrogen; DOC:溶解性有机碳 Dissolved organic carbon; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, 硝态氮 Nitrate nitrogen; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N:铵态氮 Ammonium nitrogen.

不同干扰梯度下土壤酶活性差异显著(图 2)。与碳循环有关的  $\beta$ G、 $\beta$ X、CBH 和  $\alpha$ G 酶活性在弃耕地和耕地高于原生林和次生林,而与氮循环有关的 NAG 和 LAP 在原生林和弃耕地中表现出更高的活性。

研究发现所有水解酶活性在弃耕地中的土壤-岩石交界处最大,在原生林和弃耕地中均表现为非交界处 < 土壤-岩石交界处(图 2)。在次生林中,所有水解酶活性在非交界处和土壤-岩石交界处差异不显著。在耕地中 NAG 表现为非交界处 < 土壤-岩石交界处,其余水解酶在非交界处和土壤-岩石交界处差异不显著。

### 2.3 不同干扰梯度下土壤-岩石界面酶活性的主要环境影响因子

以 6 种土壤水解酶活性为响应变量,以土壤理化性质为解释变量,对不同干扰梯度下土壤-岩石界面酶活性进行冗余分析,从而探究土壤理化性质和微生物胞外酶活性之间的相关关系(图 3)。RDA1 和 RDA2 分别解释了总变量的 50.6% 和 2.76%。

根据蒙特卡洛检验(表 2),DOC 含量对土壤水解酶活性影响最大,贡献率为 33.4% ( $P = 0.002$ )。土壤 pH、SOC 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 与酶活性显著相关,贡献率分别为 26.2%、22.7% 和 9.11% ( $P < 0.05$ )。TN、SOC:TN 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 与酶活性相关性不显著( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 不同干扰梯度和土壤-岩石界面对土壤理化性质的影响

由于人类活动的影响,土地利用方式对土壤的理化性质产生极大的影响(表 1)。在我们的研究中,土壤 SOC、TN、无机氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)含量和 C/N 在弃耕地或耕地中比在林地中有所减少,表明了土壤的质量随

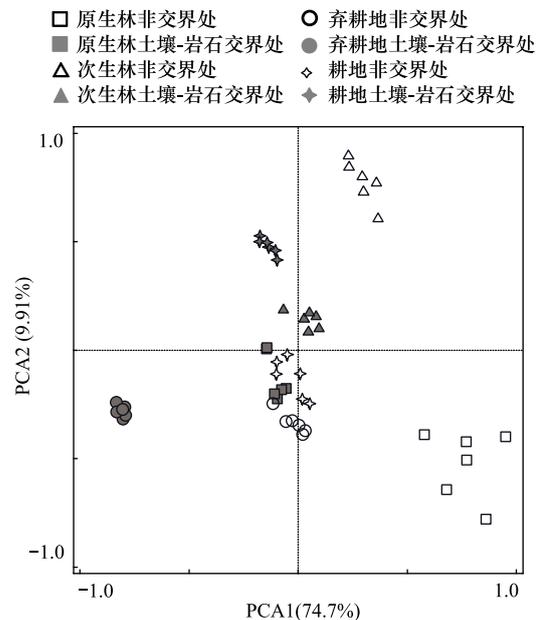


图 2 土壤有机质水解酶活性的主成分分析

Fig.2 Principal component analysis of soil organic matter hydrolytic enzyme activities

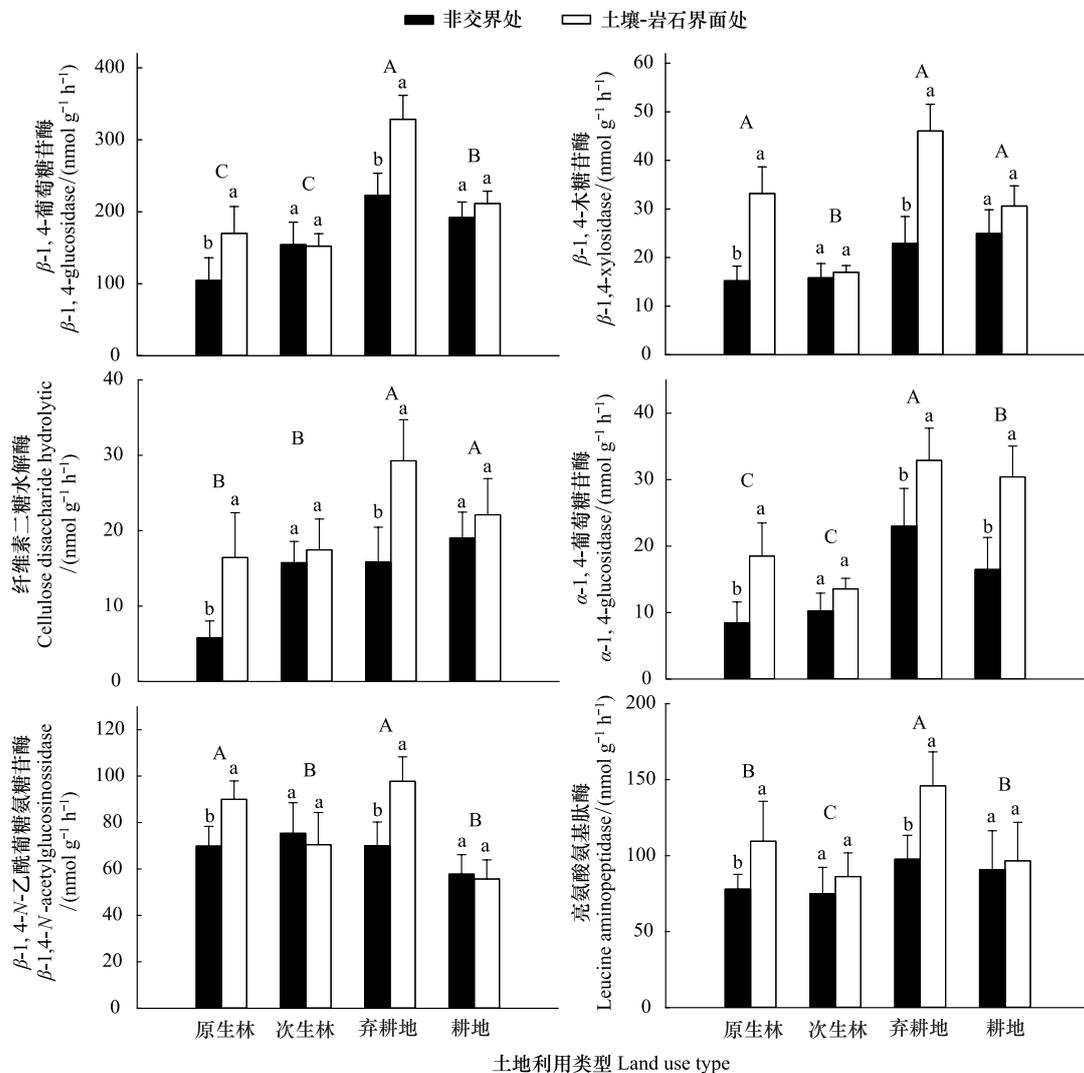


图3 不同干扰梯度及土壤位置对有机质水解酶活性的影响

Fig.3 Effects of land use intensities and soil location on soil organic matter hydrolytic enzyme activities

大写字母表示土地利用类型间存在显著性差异,小写字母表示同一土地利用类型下不同土壤位置存在显著性差异( $P < 0.05$ );误差线表示均值的标准误差( $n = 6$ )

着人为干扰强度的增加呈现降低的趋势。该结论与胡尧<sup>[15]</sup>等得出较少人为干扰的土地利用方式有助于土壤养分的提高的结果一致。这主要是由于SOC和TN来源于地表枯枝落叶层的积累、分解和矿化,林地植被盖度和生物量相对较高,受人为干扰的影响小,SOC积累多而分解少,因此林地土壤SOC和TN的含量较高,耕地与此相反,地表几乎没有枯枝落叶层的覆盖,造成养分循环代谢较低,土壤养分含量也相对较低<sup>[13]</sup>。本研究中不同干扰梯度下土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的含量与土壤TN的含量趋势一致,这很可能说明了 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 主要来自于土壤TN的矿化<sup>[33]</sup>。 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 均在原生林中浓度最高, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量在其他3种土地利用类型中差异不显著且含量较低( $P > 0.05$ ), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量变化显著( $P < 0.05$ ),随扰动梯度的增大而减小。这是因为 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 均为水溶性,可被植物直接吸收利用,而土壤对 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 几乎不吸附,对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 吸附较强<sup>[34]</sup>, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 易于从土壤尤其是阴离子交换能力差的土壤淋溶流失,同时 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 也会通过反硝化作用变为易挥发的气体而减少<sup>[35]</sup>。

岩土界面的土壤与远离岩土界面的土壤的理化性质之间存在差异性。在4种不同人为干扰强度下的土

地中,岩土界面处的土壤 pH 值普遍高于远离岩石露头处 1.1—1.5 个单位,这可能是石灰岩风化作用的结果,石灰岩风化作用可以产生交换性阳离子浓度,从而导致土壤 pH 值较高<sup>[36]</sup>。孙承兴等<sup>[37]</sup>在对黔中花溪灰岩风化壳原地风化残积特征的研究中也发现 pH 值在岩土界面附近突变和增大,并且表明岩土界面处风化过程中,由于碳酸盐矿物的快速溶解,下渗水能在很短的时间内与碳酸盐达到平衡,风化流体可以很快变成碱性。因此,pH 值在岩土界面附近发生突变并增大。此外,在 4 种不同人为干扰强度的土地中,临近岩土界面的 SOC 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量较高。这些现象可能由以下原因造成:首先,裸露的岩石可以截留和重新引导降水,将雨水及其所含的营养物质集中起来,随着水分在土壤中流动的过程中形成了靠近岩石的高营养龛位,从而导致土壤养分浓度在岩石附近出现小规模的变化<sup>[25]</sup>。其次,岩土界面附近既是风化流体的运移通道,也是残积土继续风化的主要场所,因此,土壤中养分的显著变化主要发生于此界面附近<sup>[37]</sup>。

### 3.2 不同干扰梯度和土壤-岩石界面的酶活性及影响机制

土壤酶作为土壤中各种生化反应重要的催化剂,是生态系统物质循环中不可或缺的重要部分。土壤酶活性具有表征土壤碳氮代谢循环和微生物活性的能力,可以反映出土壤养分的累积、分解和矿化等规律<sup>[38]</sup>。在本研究涉及的 6 种酶之中,活性最高的是  $\beta\text{G}$ ,说明了 C 转化在喀斯特地区土壤中的重要性。6 种水解酶在弃耕地中活性最大,这可能是由于营养资源的限制造成的。营养限制(尤其是氮营养)通常是修复初期的一个常见问题<sup>[39]</sup>。根据微生物经济学理论,当单一营养物质缺乏而复合营养物质丰富时,酶的产量会增加;然而,资源的限制也会限制酶的生产,即酶活性的不同反应可能是由营养供给驱动的酶生产(即生物量效应)或营养需求驱动的酶生产(即资源配置)驱动的<sup>[40-41]</sup>。本研究中的弃耕地正处于退耕还林还草的修复初期,植被类型多为灌木丛和灌草丛,植物生产力低,可供分解的凋落物少,不能为土壤微生物的生命活动提供丰富的营养物质,当可利用的营养物质缺乏时,微生物可以产生酶来调动其他复杂来源的资源<sup>[42-43]</sup>。因此,弃耕地养分含量不足会导致养分需求驱动的酶生产,导致酶活性增加,有助于克服养分限制<sup>[44]</sup>。我们的研究结果也支持了生态经济学的“最优配置”理论<sup>[40-41]</sup>。

表 2 不同干扰梯度及土壤位置有机质水解酶活性受环境因子影响的蒙特卡洛检验

Table 2 Monte Carlo test of environmental factors affecting the activity of organic matter hydrolytic enzyme in different land use intensities and soil location

环境因子 Environmental factor	贡献率% Contribution rate	F	P
pH	26.2	11.3	0.002
SOC	22.7	8.03	0.008
TN	0.83	0.41	0.574
SOC:TN	6.60	3.21	0.082
DOC	33.4	10.2	0.002
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	1.14	0.54	0.492
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	9.11	4.22	0.026

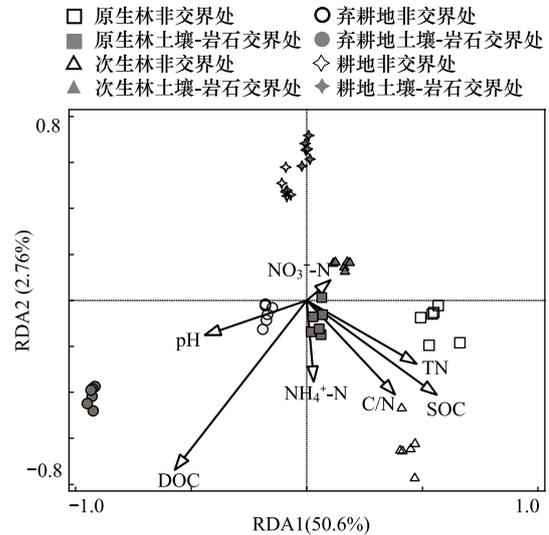


图 4 不同干扰梯度及土壤位置水解酶活性与环境因子的冗余分析  
Fig. 4 Redundancy analysis of hydrolytic enzyme activity and environmental factors with different land use intensities and soil location

在本研究中,所有水解酶活性在原生林和弃耕地中的土壤-岩石交界处表现出更高的活性,再一次验证了裸露岩石可以在其附近通过水分在土壤中流动聚集营养成分的作用<sup>[25]</sup>。但在耕地中,除 NAG 外其余水解酶在非交界处和土壤-岩石交界处差异并不显著,这可能是由于在农业生产活动中人为使用肥料造成的<sup>[45]</sup>。为了提高土壤肥力,在耕地中使用肥料可以促进作物生长,增加根系分泌物和凋落物等向土壤中输入,使土壤微生物陈陈代谢加快,微生物量增加,进而促进微生物活性和 C、N 循环<sup>[46-47]</sup>,弥补了农作物吸收和裸岩截留的养分损失。同时也进一步说明人为扰动强度越大,越会干扰裸露岩石对水解酶活性的影响。

本研究中,RDA 分析表明导致不同干扰梯度下非交界处和岩土边界的 6 种水解酶活性差异显著的主要原因可能是 pH、SOC、DOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  等土壤理化性质,其中 DOC 含量对土壤水解酶活性影响最大,贡献率为 33.4%(图 3,表 2)。有研究结果表明,土壤 pH 是土壤酶活性的重要影响因素<sup>[34,38]</sup>。土壤 pH 强烈影响有机大分子物质的生物降解和矿化过程,并以两种方式对酶活性产生影响:一是通过影响微生物种类而影响微生物释放酶的数量和种类;二是直接影响土壤酶参与生化反应的速度<sup>[48]</sup>。土壤碳和氮已被广泛证实是影响土壤酶活性的重要因素<sup>[10]</sup>。例如 Yang 等<sup>[49]</sup>以长白山红松混交林为研究对象,发现  $\beta\text{G}$ 、NAG 和 AP 与土壤碳、氮呈显著相关。周璞等<sup>[50]</sup>通过研究亚热带稻田土壤发现土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和 DOC 主要通过影响土壤微生物生物量氮进而影响  $\beta\text{G}$  活性。喀斯特地区土壤碳含量较高<sup>[51]</sup>,达到 29.5—65.4g/kg(表 1),碳在本地区发挥着养分利用的引领作用。土壤有机质周转是元素循环的主要途径<sup>[52]</sup>,DOC 是微生物较易利用的有机碳源,从而刺激相关酶的活性,因此研究区  $\beta\text{G}$  活性最高,DOC 是喀斯特地区土壤水解酶活性的重要驱动力之一。此外,冗余分析表明 7 个土壤理化性质对不同干扰梯度下土壤-岩石界面酶活性解释的方差比例为 53.35%,说明仍有其他未被选入的环境因子控制酶活性的变化,需要将来进一步的研究。

#### 4 结论

在喀斯特生态系统中,土壤 SOC、TN、无机氮( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )含量和 C/N 随着人为干扰强度的增加呈现降低的趋势;而土壤有机质水解酶在弃耕地中活性最大,这可能是为了克服营养限制,养分需求驱动造成的。在 4 种不同人为干扰强度的土地方式中,临近土壤-岩石界面维持了较高的土壤养分和碳氮周转酶活性,表明长期恢复下土壤的养分循环功能仍然存在。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Grandy A S, Neff J C, Weintraub M N. Carbon structure and enzyme activities in alpine and forest ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(11): 2701-2711.
- [ 2 ] Acosta-Martínez V, Cruz L, Sotomayor-Ramírez D, Pérez-Alegria L. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35(1):35-45.
- [ 3 ] Rutigliano F A, Castaldi S, D'Ascoli R, Papa S, Carfora A, Marzaioli R, Fioretto A. Soil activities related to nitrogen cycle under three plant cover types in Mediterranean environment. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43(1):40-46.
- [ 4 ] Zhang Y L, Chen L J, Chen X H, Tan M L, Duan Z H, Wu Z J, Li X J, Fan X H. Response of soil enzyme activity to long-term restoration of desertified land. *CATENA*, 2015, 133: 64-70.
- [ 5 ] Li J, Tong X G, Awasthi M K, Wu F Y, Ha S, Ma J Y, Sun X H, He C. Dynamics of soil microbial biomass and enzyme activities along a chronosequence of desertified land revegetation. *Ecological Engineering*, 2018, 111: 22-30.
- [ 6 ] Chen H, Luo P, Wen L, Yang L Q, Wang K L, Li D J. Determinants of soil extracellular enzyme activity in a karst region, southwest China. *European Journal of Soil Biology*, 2017, 80: 69-76.
- [ 7 ] 张雅茜,方晰,洗应男,王振鹏,项文化. 亚热带区 4 种林地土壤微生物生物量碳氮磷及酶活性特征. *生态学报*, 2019, 39(14): 5326-5338.
- [ 8 ] Trasar-Cepeda C, Leirós M C, Gil-Sotres F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2146-2155.
- [ 9 ] Wallenius K, Rita H, Mikkonen A, Lappi K, Lindström K, Hartikainen H, Raateland A, Niemi R M. Effects of land use on the level, variation and spatial structure of soil enzyme activities and bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1464-1473.

- [10] 官杰芳, 蔡照军. 喀斯特地区不同植被类型的土壤酶活性及相关性. 贵州农业科学, 2018, 46(5): 59-63.
- [11] 王波, 李琴, 朱炜, 陈文海, 祝虹梁, 沈泉, 朱安明, 赵建诚. 毛竹林覆盖经营对土壤养分含量、酶活性及微生物生物量的影响. 林业科学, 2019, 55(1): 110-118.
- [12] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, Ge J P, He N P, Wang Q F, Wang D. The variations in soil microbial communities, enzyme activities and their relationships with soil organic matter decomposition along the northern slope of Changbai Mountain. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 19-29.
- [13] 文小琴, 舒英格, 何欢. 喀斯特山区土地不同利用方式的土壤养分及微生物特征. 西南农业学报, 2018, 31(6): 1227-1233.
- [14] Turner B L, Romero T E. Stability of hydrolytic enzyme activity and microbial phosphorus during storage of tropical rain forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 459-465.
- [15] 胡尧, 李懿, 侯雨乐. 岷江流域不同土地利用方式对土壤有机碳组分及酶活性的影响. 生态环境学报, 2018, 27(09): 1617-1624.
- [16] 张晓东, 李忠, 张峰. 新疆艾比湖地区不同土地利用方式土壤养分、酶活性及微生物特性研究. 水土保持研究, 2017, 24(6): 91-96.
- [17] 徐媛, 张军辉, 韩士杰, 王树堂, 王存国, 王树起. 长白山阔叶红松林土壤无机氮空间异质性. 应用生态学报, 2010, 21(7): 1627-1634.
- [18] 蒲通达, 陈祖拥, 刘方. 贵州喀斯特森林生态系统中小生境土壤酶活性的差异性. 河南农业, 2015, 22: 50-52.
- [19] 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): 289-296.
- [20] 刘璐, 陈浩, 李德军, 梁士楚. 喀斯特山区植被恢复过程中土壤水解酶和氧化酶活性的响应. 环境科学学报, 2017, 37(9): 3528-3534.
- [21] 刘烁, 王秋兵, 史文娇, 张心昱. 喀斯特典型集水区土壤水解酶活性空间异质性及其影响因素. 应用生态学报, 2018, 29(08): 2615-2623.
- [22] Chan Y K, Lacap D C, Lau M C Y, Ha K Y, Warren-Rhodes K A, Cockell C S, Cowan D A, McKay C P, Pointing S B. Hypolithic microbial communities: between a rock and a hard place. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(9): 2272-2282.
- [23] Kidron C J, Starinsky A. Chemical composition of dew and rain in an extreme desert (Negev): cobbles serve as sink for nutrients. *Journal of Hydrology*, 2012, 420-421: 284-291.
- [24] Büdel B. Ecology and diversity of rock-inhabiting cyanobacteria in tropical regions. *European Journal of Phycology*, 1999, 34(4): 361-370.
- [25] Göransson H, Edwards P J, Perreijn K, Smittenberg R H, Olde Venterink H. Rocks create nitrogen hotspots and N: P heterogeneity by funnelling rain. *Biogeochemistry*, 2014, 121(2): 329-338.
- [26] 李生, 任华东, 姚小华. 西南喀斯特石漠化地区旱季土壤水分对裸岩的响应. 生态学报, 2012, 31(12): 3174-3178.
- [27] Chang J J, Zhu J X, Xu L, Su H X, Gao Y, Cai X L, Peng T, Wen X F, Zhang J J, He N P. Rational land-use types in the karst regions of China: Insights from soil organic matter composition and stability. *CATENA*, 2018, 160: 345-353.
- [28] Peng T, Wang S J. Effects of land use, land cover and rainfall regimes on the surface runoff and soil loss on karst slopes in southwest China. *CATENA*, 2012, 90: 53-62.
- [29] 唐益群, 张晓晖, 周洁, 余恬钰, 杨坪, 王建秀. 喀斯特石漠化地区土壤地下漏失的机理研究——以贵州普定县陈旗小流域为例. 中国岩溶, 2010, 29(2): 121-127.
- [30] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 991-999.
- [31] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [32] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. Effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [33] 鲍勇, 高颖, 曾晓敏, 袁萍, 司友涛, 陈岳民, 陈滢伊. 中亚热带 3 种典型森林土壤碳氮含量和酶活性的关系. 植物生态学报, 2018, 42(4): 508-516.
- [34] 葛晓改, 肖文发, 曾立雄, 黄志霖, 黄玲玲, 谭本旺. 三峡库区不同林龄马尾松土壤养分与酶活性的关系. 应用生态学报, 2012, 23(2): 445-451.
- [35] 莫江明, 薛璟花, 方运霆. 鼎湖山主要森林植物凋落物分解及其对 N 沉降的响应. 生态学报, 2004, 24(7): 1413-1420.
- [36] Berthrong S T, Schadt C W, Piñeiro G, Jackson R B. Afforestation Alters the Composition of Functional Genes in Soil and Biogeochemical Processes in South American Grasslands. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(19): 6240-6248.
- [37] 孙承兴, 王世杰, 刘秀明, 冯志刚. 碳酸盐岩风化壳岩-土界面地球化学特征及其形成过程——以贵州花溪灰岩风化壳剖面为例. 矿物学报, 2002, 22(2): 126-132.
- [38] Sinsabaugh R L, Lauber C L, Weintraub M N, Ahmed B, Allison S D, Crenshaw C, Contosta A R, Cusack D, Frey S, Gallo M E, Gartner T B, Hobbie S E, Holland K, Keeler B L, Powers J S, Stursova M, Takacs-Vesbach C, Waldrop M P, Wallenstein M D, Zak D R, Zeglin L H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology letters*, 2008, 11(11): 1252-1264.
- [39] Li D J, Wen L, Jiang S, Song T Q, Wang K L. Responses of soil nutrients and microbial communities to three restoration strategies in a karst area,

- southwest China. *Journal of Environmental Management*, 2018, 207: 456-464.
- [40] Allison S D, Mcguire K L, Treseder K K. Resistance of microbial and soil properties to warming treatment seven years after boreal fire. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(10): 1872-1878.
- [41] Osburn E D, Elliott K J, Knoepf J D, Miniat C F, Barrett J E. Soil microbial response to *Rhododendron* understory removal in southern Appalachian forests: effects on extracellular enzymes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 50-59.
- [42] Harder W, Dijkhuizen L. Physiological responses to nutrient limitation. *Annual Review of Microbiology*, 1983, 37: 1-23.
- [43] Steven A C, Heymann J B, Cheng N Q, Trus B L, Conway J F. Virus maturation: dynamics and mechanism of a stabilizing structural transition that leads to infectivity. *Current Opinion in Structural Biology*, 2005, 15(2): 227-236.
- [44] Stark S, Männistö M K, Eskelinen A. Nutrient availability and pH jointly constrain microbial extracellular enzyme activities in nutrient-poor tundra soils. *Plant and Soil*, 2014, 383(1/2): 373-385.
- [45] Waldrop M P, Balsler T C, Firestone M K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(13): 1837-1846.
- [46] 魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 蔡观, 葛体达, 王久荣, 吴金水. 水稻不同生育期根际与非根际土壤胞外酶对施氮的响应. *环境科学*, 2017, 38(8): 3489-3496.
- [47] 杭玉浩, 王强盛, 许国春, 刘欣, 杨冰, 金梅. 稻田土壤养分特性对不同耕作方式的生态响应. *中国农学通报*, 2017, 33(10): 106-112.
- [48] 万忠梅, 宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展. *土壤通报*, 2015, 40(4): 951-956.
- [49] Yang F, Tian J, Fang H J, Gao Y, Zhang X Y, Yu G R, Kuzyakov Y. Spatial heterogeneity of microbial community and enzyme activities in a broad-leaved Korean pine mixed forest. *European Journal of Soil Biology*, 2018, 88: 65-72.
- [50] 周璞, 魏亮, 魏晓梦, 祝贞科, 袁红朝, 李巧云, 吴金水. 稻田土壤 $\beta$ -1,4-葡萄糖苷酶活性对温度变化的响应特征. *环境科学研究*, 2018, 31(07): 1282-1288.
- [51] Wen L, Li D J, Yang L Q, Luo P, Chen H, Xiao K C, Song T Q, Zhang W, He X Y, Chen H S, Wang K L. Rapid recuperation of soil nitrogen following agricultural abandonment in a karst area, southwest China. *Biogeochemistry*, 2016, 129(3): 341-354.
- [52] Currie W S, Aber J D, Medowell W H, Boone R D, Magill A H. Vertical transport of dissolved organic C and N under long-term N amendments in pine and hardwood forests. *Biogeochemistry*, 1996, 35(3): 471-505.