#### DOI: 10.5846/stxb202203230722

朱玲,魏文涛,吴若冰,郭鸿蓉,张潇月,王定一,吴福忠.间歇性溪流米槠凋落叶分解过程胞外酶活性动态.生态学报,2023,43(6):2535-2545. Zhu L, Wei W T, Wu R B, Guo H R, Zhang X Y, Wang D Y, Wu F Z.Dynamics of extracellular enzyme activities during the decomposition of *Castanopsis carlesii* leaf litter in intermittent streams. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(6):2535-2545.

# 间歇性溪流米槠凋落叶分解过程胞外酶活性动态

朱 玲,魏文涛,吴若冰,郭鸿蓉,张潇月,王定一\*,吴福忠

福建师范大学地理科学学院,湿润亚热带生态-地理过程教育部重点实验室,福州 350007

摘要:以米槠(Castanopsis carlesii)凋落叶为研究对象,于 2021 年 4—7月,对照森林地表和持续流水的溪流,研究间歇性溪流凋落叶分解过程中胞外酶活性变化规律。结果表明:(1)间歇性溪流凋落叶分解过程中酸性磷酸酶 β-葡萄糖苷酶 β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和脲酶活性总体高于地表,低于溪流。(2)通过分析胞外酶化学计量比和矢量特征,发现三种生境凋落叶分解过程中微生物群落受碳和磷的共同限制。分解初期,间歇性溪流凋落叶分解过程中微生物群落相对碳限制程度高于其他两个生境,但相对磷限制低于地表,高于溪流;随着分解的进行,间歇性溪流凋落叶分解过程中微生物群落相对磷限制程度逐渐减弱,相对碳限制程度逐渐加强。(3)统计分析表明,间歇性溪流中大气温度是凋落叶分解过程中胞外酶活性的主控因子,而地表凋落叶分解过程中胞外酶活性与大气温度、地表温度和土壤含水量关系更为密切,溪流凋落叶分解过程中胞外酶活性主要受水体温度、溪流深度和气温等因子的影响。研究结果为全面认识亚热带森林生态系统物质迁移与循环过程提供了新思路和科学依据。 关键词:微生物养分限制;胞外酶化学计量比;胞外酶活性;不同生境

# Dynamics of extracellular enzyme activities during the decomposition of *Castanopsis* carlesii leaf litter in intermittent streams

ZHU Ling, WEI Wentao, WU Ruobing, GUO Hongrong, ZHANG Xiaoyue, WANG Dingyi\*, WU Fuzhong Key Laboratory for Humid Subtropical Eco-Geographical Processes of the Ministry of Education, School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007. China

**Abstract:** The extracellular enzyme activities of *Castanopsis carlesii* leaf litter were evaluated during the decomposition in intermittent streams, forest floor and streams from April 2021 to July 2021 in this study. The results showed that: (1) the extracellular enzyme activities of acid phosphatase,  $\beta$ -Glucosidase,  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase and urease were higher than those in forest floor but lower than those in streams. (2) Ecoenzymatic stoichiometry and enzyme vector features indicated that microorganisms in the three habitats were restricted by carbon and phosphorus availability in the process of leaf litter decomposition. The carbon limitation of the microbial community was higher than that in the stream and forest floor while phosphorus limitation was lower than the forest floor but higher than that in streams in the early stage of decomposition. With the progress of litter decomposition, the degree of phosphorus limitation was weakened but the carbon limitation was strengthened during the process of litter decomposition of leaf litter in subtropical intermittent streams. (3) The statistical analysis showed that air temperature greatly accounted for the variation in extracellular enzyme activities in intermittent streams, while air temperature, soil moisture content and soil temperature were more closely related to extracellular enzyme activities in forest floor. Meanwhile, the extracellular enzyme activity of stream litter was mainly affected by factors such as water temperature, stream depth and air temperature. These results provide new ideas and scientific basis for a comprehensive understanding of the material fluxes and circulation process in subtropical China.

Key Words: microbial nutrient limitation; ecoenzymatic stoichiometry; extracellular enzyme activity; different habitats

基金项目:国家自然科学基金青年项目(32001965);国家自然科学基金面上项目(32171641)

收稿日期:2022-03-23; 网络出版日期:2022-11-04

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: albertwdy@fjnu.edu.cn

胞外酶活性是驱动凋落物分解过程中碳和养分释放最直接的生物因素之一,对于环境变化非常敏感<sup>[1-4]</sup>。受季节性降雨、地形地貌和生境异质性的影响,亚热带森林地表形成了丰富的间歇性溪流。这些间歇性溪流不仅可以通过水流的汇集作用迁移和集聚凋落物,而且频繁的干湿交替可以显著改变生物与非生物环境,影响胞外酶活性,作用于凋落物分解过程。与地表相比,间歇性溪流水体的冲刷作用会加速凋落叶的物理破碎<sup>[5]</sup>,可为微生物和底栖动物在凋落叶上的定殖提供更大的表面积,但是通气性较差,且水分和温度变化较大。相对于持续流水的溪流,间歇性溪流流速慢且流量小,干湿交替明显,影响微生物和底栖动物等水生生物的生存环境<sup>[6]</sup>,进而调控凋落叶分解过程中胞外酶活性。然而,相关的过程并不清晰,极大地限制了对森林凋落物分解过程的全面认识。

我国的亚热带森林,水热充沛,物种丰富,生产力高,被称为全球同纬度荒漠地带上的"绿洲",有着旺盛的能量转化和物质循环能力<sup>[7]</sup>。受季节性降雨的影响,亚热带森林地表分布改丰富的间歇性溪流,且大量的凋落物累积到间歇性溪流中,成为森林物质迁移和循环的重要组成部分,这些间歇性溪流不同于地表的水热环境和频繁的干湿交替可能影响胞外酶活性,作用于凋落叶分解等物质循环过程,但是与胞外酶的关系并不清楚。因此,结合温度和降水等环境动态,选取典型间歇性溪流,以地表和持续水流的溪流为对照,采用凋落物分解袋法研究亚热带常绿阔叶林建群树种米槠(Castanopsis carlesii)凋落叶在间歇性溪流分解过程中胞外酶活性动态,以期为全面认识亚热带凋落叶分解过程及其为载体的物质循环提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 研究区概况

研究区域位于福建省三明森林生态系统国家野外科学观测研究站陈大观测点(26°19′N,117°36′E)。该区以低山丘陵为主,平均海拔约300 m,坡度为25°—45°,属中亚热带季风气候。年平均气温为19.3℃,年平均降水量1610 mm(主要集中于3—8月),相对湿度为81%。地带性植被为亚热带常绿阔叶林,优势树种为米槠。土壤为花岗岩发育而成的红壤,厚度超过1 m,容重为1.04 g/cm³[8]。

#### 1.2 实验设计

于 2021 年 1 月收集新鲜的米槠凋落叶,带回实验室风干,以确保凋落叶形态和化学组分不受破坏。称取 10 g 风干后的米槠凋落叶装入孔径为 1 mm 的尼龙网凋落物袋(20 cm×20 cm),将凋落物袋放置于地表、间歇性溪流和溪流中。第一,在研究区选取一个以米槠为建群种的典型常绿阔叶林,设置 3 个相距 100 m 左右的 3 m×3 m 均质样方,将凋落物袋平铺于地表。第二,在研究区内选取一条典型溪流放置凋落叶袋,设置 3 个重复。从溪流上游向下随机选取 3 个自然凋落叶分布较为集中的流段作为实验样点。每个样点两两相距 1—2 km 以避免样点之间的相互影响。将系有凋落叶袋的安全绳放置于溪流中央的水体中(与自然条件下凋落叶分布一致,可随水体涨落,并将绳头系于溪流沿岸树木的主干上,放置米槠凋落物袋。第三,在研究区随机选取 3 个条件基本一致且具有代表性的间歇性溪流,所选间歇性溪流长度在 200 m 左右,宽度在 30—160 cm 之间,仅在雨水满足地表径流和地下径流时,有水体流通。将系有凋落物袋的安全绳铺开放置于样带内,保证凋落物袋互不重叠,且在雨量充足时凋落袋能在间歇性溪流中沿水流上下起伏飘动,这与自然条件下溪流中凋落物袋互不重叠,且在雨量充足时凋落袋能在间歇性溪流中沿水流上下起伏飘动,这与自然条件下溪流中凋落叶的动态较类似,放置米槠凋落物袋。

#### 1.3 样品采集及测定

从 2021 年 4 月到 2022 年 7 月,每月采集凋落物袋,保存于 4℃带回实验室,用于测定酶活性。凋落叶失重与养分释放等过程由课题组其他成员完成。溪流和间歇性溪流凋落叶分解较快,4 个月后就已经分解完全。研究期间,4 月 1 日—4 月 3 日,4 月 8 日—4 月 11 日,4 月 14 日—7 月 7 日,7 月 23 日—7 月 24 日间歇性溪流中有水体流通。

首先将样地上采集的凋落物袋装入冰盒低温保存并运回实验室,然后将凋落叶放入预冷的研钵研磨成粉末状,最后加入一定浓度的缓冲溶液,经离心、过滤制成粗提取液,用于凋落叶酶活性测定。测定凋落叶分解

过程中碳(纤维二糖水解酶(CBH)、 $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta G$ )、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(PER))、氮( $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、脲酶(URE))和磷(酸性磷酸酶(AP))循环相关的酶活性。其中, $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维素二糖水解酶、 $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶活性采用对硝基酚法<sup>[9]</sup>。多酚氧化酶、过氧化物酶以左旋多巴为测定基质,采用改进的 Williams 法<sup>[10—11]</sup>测定。脲酶活性测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法来测定<sup>[12]</sup>;亮氨酸氨基肽酶以 L-亮氨酸-4-硝基苯胺为底物来测定<sup>[13]</sup>。

## 1.4 胞外酶活性矢量特征和胞外酶化学计量比计算方法

为量化微生物代谢 C、N 和 P 的限制,对胞外酶活性相对比例进行矢量分析<sup>[14]</sup>,矢量长度代表碳和养分的相对限制,矢量与 X 轴的夹角代表磷和氮的相对限制<sup>[15-17]</sup>。其中相对较长的矢量长度表示微生物相对碳限制越大;矢量的角度< 45°表示微生物相对氮限制;矢量的角度> 45°表示微生物相对磷限制<sup>[18-19]</sup>。

矢量长度 = 
$$\sqrt{\left[\frac{\ln\beta G}{\ln(\text{NAG} + \text{LAP})}\right]^2 + \left(\frac{\ln\beta G}{\ln AP}\right)^2}$$
  
矢量角度(°) = Degrees  $\left(\frac{\ln\beta G}{\ln AP}\right)$ ,  $\left(\frac{\ln\beta G}{\ln(\text{NAG} + \text{LAP})}\right)$ 

胞外酶碳氮比通过 InβG: In(NAG+LAP) 计算,胞外酶碳磷比通过 InβG: InAP 计算,胞外酶氮磷比通过 In(NAG+LAP): InAP 计算 $[^{20-23}]$ 。

# 1.5 数据分析与处理

使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析;采用单因素方差分析检验同一分解时期不同生境胞外酶活性的显著性差异;选择重复测量方差分析(Repeated measures ANOVA)检验凋落叶分解过程中胞外酶活性、胞外酶化学计量比、酶矢量特征在不同生境,分解时期及其交互作用的显著性差异;利用 Pearson 相关分析法分析凋落叶分解过程中与碳、氮、磷循环相关的胞外酶、胞外酶化学计量比和酶矢量特征与环境因子的关系。统计检验性显著水平设定为 P=0.05。图由 GraphPad Prism 6 和 Origin 2021 软件完成,数值以平均值±标准差 (Mean±SD)表示。

#### 2 结果与分析

# 2.1 凋落叶分解过程中胞外酶活性动态

重复测量方差表明,分解时期显著影响酸性磷酸酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、脲酶、亮氨酸氨基肽酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性(P<0.001);生境显著影响 $\beta$ -葡萄糖苷酶、 $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性(P<0.05);生境与分解时期的交互作用显著影响酸性磷酸酶、纤维二糖水解酶、脲酶、亮氨酸氨基肽酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性(P<0.05)(表 1)。

表 1 凋落叶分解过程中胞外酶活性与分解时期和生境的重复测量方差分析

Table 1 Repeated measurement ANOVAR analysis on the effect of decomposition periods and habitats on extracellular enzyme activities during litter decomposition process

因素 Factors	df	AP	$\beta G$	NAG	СВН	URE	LAP	PPO	PER
时期 Periods	3	41.32 ***	28.85 ***	3.12	22.86 ***	85.91 ***	18.45 **	29.47 ***	3.49 ***
生境 Habitats	2	9.75	12.42 *	14.31 **	6.65	3.23	24.12 **	11.26*	12.87 *
生境×时期 Habitats×Period	6	5.63 **	1.99	2.10	6.28 *	2.94 *	2.704	45.04 ***	13.08 ***

AP:酸性磷酸酶 acid phosphatase;βG:β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase;NAG:β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-N-acetylglucosaminidase;CBH:纤维二糖 水解酶 cellobiohydrolase;URE:脲酶 urease;LAP:亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase;PPO:多酚氧化酶 polyphenol oxidase;PER:过氧化物酶 peroxidase;\*、\*\*和\*\*\*分别表示 P<0.05, P<0.01, P<0.001

相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶分解过程中β-葡萄糖苷酶、纤维二糖水解酶、多酚氧化酶、酸性磷

酸酶、亮氨酸氨基肽酶活性在分解的第 28 天最高;间歇性溪流凋落叶分解过程中纤维二糖水解酶、多酚氧化酶和过氧化酶、亮氨酸氨基肽酶、脲酶活性在分解的第 62 天最低;间歇性溪流凋落叶分解过程中纤维二糖水解酶和β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶在分解的第 119 天最高(图 1)。

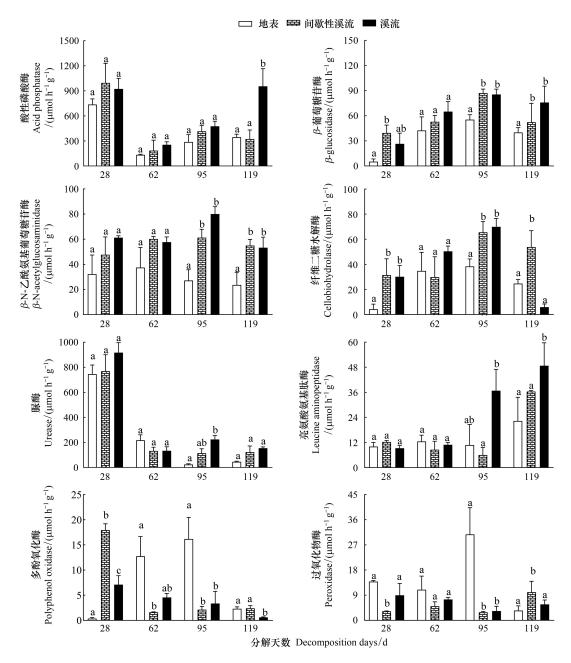


图 1 不同生境下凋落叶分解过程中胞外酶活性变化

**Fig.1** Dynamics of extracellular enzyme activities during the decomposition of leaf litter in different habitats 不同小写字母表示凋落叶在同一分解时期不同生境下胞外酶活性的差异显著(*P*<0.05)

# 2.2 胞外酶化学计量特征

分解时期对凋落叶分解过程中胞外酶化学计量比有显著的影响(P<0.05),分解时期和生境的交互作用显著影响凋落叶分解过程中胞外酶化学计量比(P<0.01)(表 2)。相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶分解过程中胞外酶碳氮比在分解第 62 天和 119 天达到最小值,在分解的第 28 天达到最大值;间歇性溪流凋落叶分解过程中胞外酶碳磷比在整个分解期间均最大,三种生境胞外酶碳磷比均呈先增高后下降趋势;间歇性

溪流凋落叶分解过程中胞外酶氮磷比在分解的第 62 天和 119 天达到最大值,三种生境胞外酶氮磷比均呈先升高后降低趋势(图 2)。

三种生境凋落叶分解过程中胞外酶碳氮比均高于碳磷比,表明三种生境凋落叶分解过程中微生物群落均受到磷限制。基于胞外酶氮磷比和胞外酶碳氮比,间歇性溪流和地表凋落叶在分解的第 28 天,微生物受到磷限制,随着分解的进行,微生物既受到磷限制又受碳限制,最后转化为碳限制。溪流凋落叶在分解过程中微生物只受磷限制。

表 2 凋落叶分解过程中胞外酶化学计量比、酶矢量特征与分解时期和生境的重复测量方差分析

Table 2 Repeated measurement ANOVAR analysis on the effect of decomposition periods and habitats on ecoenzymatic stoichiometry and enzyme vector features during litter decomposition process

因素 Factors	df	胞外酶碳氮比 Extracellular enzyme C:N	胞外酶碳磷比 Extracellular enzyme C:P	胞外酶氮磷比 Extracellular enzyme N:P	矢量长度 Vector length	矢量角度 Vector angle
时期 Periods	3	22.539 *	134.408 ***	64.372 **	81.783 **	7.596 ***
生境 Habitats	2	1.644	9.353	3.46	5.835	4.134
生境×时期 Habitats×Period	6	8.587 **	10.112 ***	2.525	22.744 **	6

<sup>\*、\*\*</sup>和\*\*\*分别表示 P<0.05, P<0.01, P<0.001

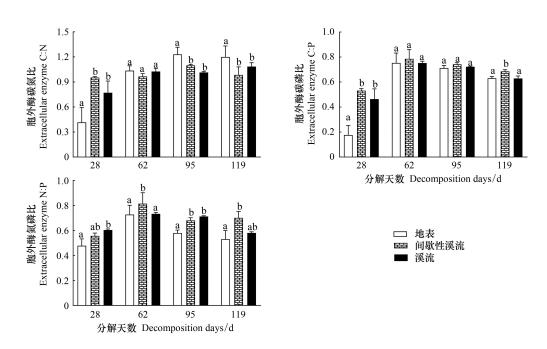


图 2 不同生境下凋落叶分解过程中胞外酶化学计量特征

Fig.2 Dynamics of ecoenzymatic stoichiometry during the decomposition of leaf litter in different habitats 不同小写字母表示凋落叶在同一分解时期不同生境下胞外酶活性的差异显著(*P*<0.05)

# 2.3 凋落叶分解过程中胞外酶矢量特征

分解时期对凋落叶分解过程中胞外酶矢量长度和矢量角度有显著影响(P<0.01),分解时期和生境其交互作用显著影响凋落叶分解过程中矢量长度(P<0.01)(表 2)。三种生境胞外酶矢量角度均大于 45°,表明凋落叶分解过程中微生物群落受到不同程度的磷限制。相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶分解过程中微生物在分解的第 62 天和 119 天受到的相对碳和磷限制程度最小;在分解的第 28 天微生物受到的相对碳限制程度最大(图 4)。

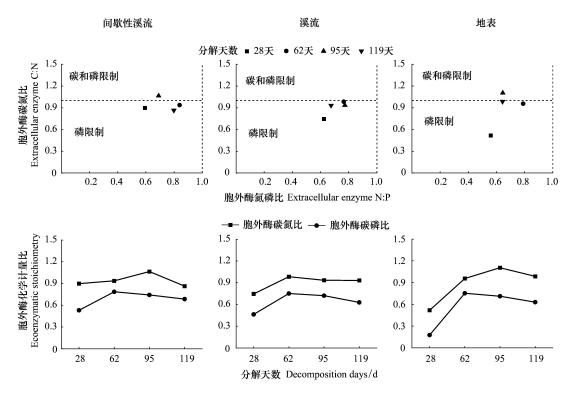


图 3 不同生境凋落叶胞外酶化学计量比所表征的碳和养分限制

Fig.3 Carbon and nutrient limitation characterized by ecoenzymatic stoichiometry of litter leaves in different habitats

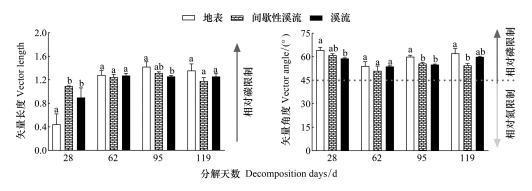


图 4 不同生境凋落叶分解过程中酶矢量特征

Fig.4 Dynamics of enzyme vector features during the decomposition of leaf litter in different habitats 不同小写字母表示凋落叶在同一分解时期不同生境下胞外酶活性的差异显著(P<0.05)

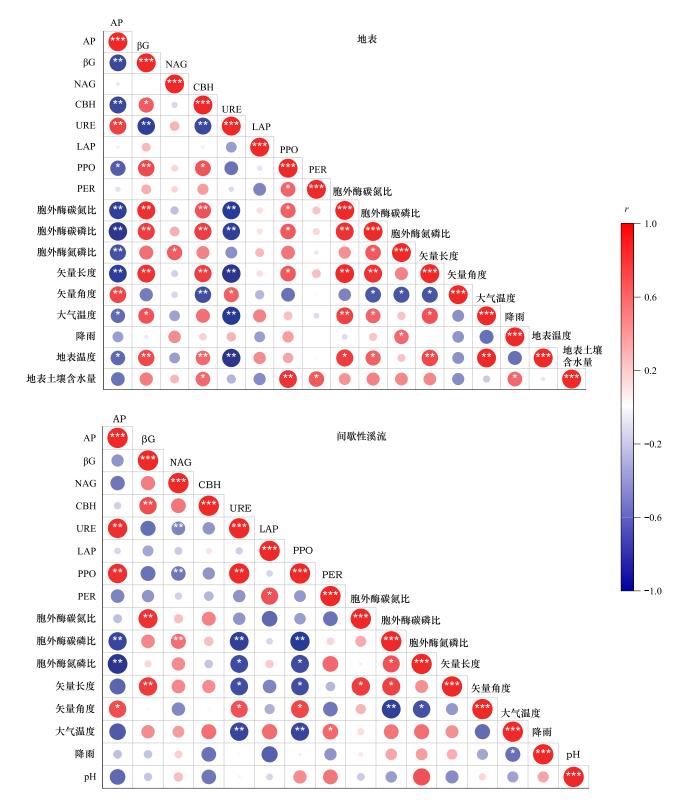
## 2.4 凋落叶分解过程中胞外酶活性、胞外酶化学计量比及其矢量特征影响因素

Pearson 相关分析表明,三种生境凋落叶分解过程中脲酶与大气温度呈显著负相关(P<0.05),地表和溪流凋落叶分解过程中胞外酶矢量长度与大气温度呈显著正相关(P<0.05),地表和溪流凋落叶分解过程中β-葡萄糖苷酶与大气温度呈显著正相关(P<0.05)。 地表凋落叶分解过程中胞外酶碳氮比、胞外酶碳磷比与地表温度、大气温度呈显著正相关(P<0.05);间歇性溪流 pH 与间歇性溪流凋落叶分解过程中胞外酶活性、胞外酶化学计量比及其矢量特征均无显著相关性,溪流 pH 与溪流凋落叶分解过程中脲酶呈显著负相关(P<0.05),溪流流速和深度与溪流凋落叶分解过程中胞外酶碳氮比、胞外酶碳磷比呈显著正相关(P<0.05)(图 5)。

#### 3 讨论与结论

#### 3.1 不同生境下胞外酶活性的差异

亚热带森林 3 种典型的微环境中 β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-葡萄糖苷酶 、亮氨酸氨基肽酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性存在显著的差异。其中,间歇性溪流凋落叶分解过程中酸性磷酸酶、脲酶 β-葡萄糖苷酶活性和 β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性高于地表,低于溪流。一方面,间歇性溪流具有周期性地干涸或停止流动



http://www.ecologica.cn

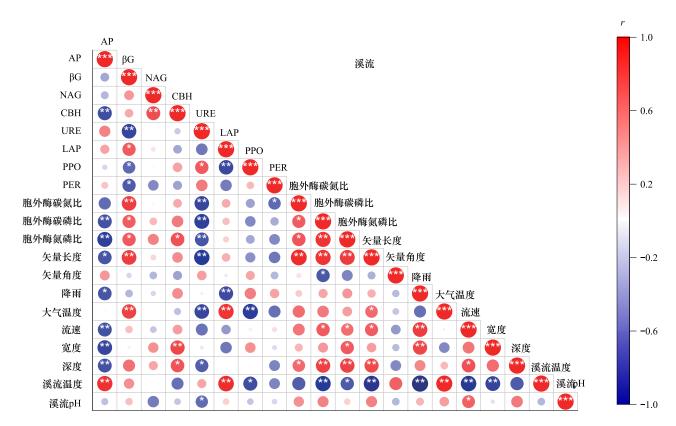


图 5 不同生境凋落叶分解过程中胞外酶活性、胞外酶化学计量比、酶矢量特征与环境因子的相关关系

Fig.5 Correlation coefficients among extracellular enzyme activity, ecoenzymatic stoichiometry, enzyme vector features during the decomposition of leaf litter and environmental factors in different habitats

AP:酸性磷酸酶 acid phosphatase;βG:β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase;NAG:β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β-N-acetylglucosaminidase;CBH:纤维二糖 水解酶 cellobiohydrolase;URE:脲酶 urease;LAP:亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase;PPO:多酚氧化酶 polyphenol oxidase;PER:过氧化 物酶 peroxidase. \*、\*\*\*和\*\*\*分别表示 P<0.05, P<0.01, P<0.001

的特点,在干湿交替的环境中凋落物的淋滤会产生更多有毒物质和更多酸性物质,这造成微生物的死亡,而死亡生物细胞破裂释放出的酶可以提高凋落叶胞外酶的活性<sup>[24]</sup>;另一方面,反复的干湿交替可增加碳矿化,使可溶性有机碳含量可增加 250%<sup>[25-26]</sup>,为微生物生长繁殖提供了充足的营养物质,这可能是间歇性溪流较地表凋落叶分解过程酶活性高的原因。间歇性溪流相较于溪流,淋溶和冲刷作用小,溪流持续流水的生态系统通常具有强烈的淋滤和冲刷效应,导致凋落叶物理破碎严重,增加了凋落叶分解表面积,使微生物更容易定着于凋落叶,同时快速释放的养分和能量也为微生物生长和繁殖提供了营养来源<sup>[27]</sup>,这可能是溪流凋落叶分解过程中酶活性比间歇性溪流高的原因之一。

相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶分解过程中多酚氧化酶活性在分解第 28 天最高,溪流与间歇性溪流相同,而地表则是在分解第 95 天多酚氧化酶活性最高。这可能是因为溪流和间歇性溪流凋落叶相较地表分解较快,易分解成分的流失较快,有研究表明水体中凋落叶易分解成分最大的损失通常发生在前 24—48h<sup>[28]</sup>,随着易分解养分的流失,不断积累的木质素分子和酚类化合物等难降解物质含量相对较高<sup>[29—30]</sup>,用于微生物生长繁殖的能量物质明显减少,当营养物质受到限制时,微生物通过优先分配能量和分泌胞外酶以获取最受限制的资源<sup>[31—32]</sup>,此时多酚氧化酶和过氧化物酶活性较高。

## 3.2 凋落叶分解过程中微生物碳和养分限制

胞外酶化学计量比能够有效地衡量微生物对 C、N、P 养分的需求<sup>[33]</sup>,并且在一定程度上反映了微生物生物量和有机质之间的平衡状况、微生物的养分吸收速率和生长效率<sup>[34]</sup>。受基质有效性、无机环境和生物活动

等因素影响,酶化学计量比存在显著差异<sup>[20]</sup>。本研究中,三种生境凋落叶分解过程中微生物群落均受到磷限制,且三种生境凋落叶在分解的第 28 天,微生物群落均受到磷限制。这主要是因为:一方面,我国亚热带地区磷通常以有机形式存在,容易被铁铝物质固定成络合物难以利用<sup>[35]</sup>,导致凋落叶分解过程中微生物群落磷限制较为严重。另一方面,在湿润的森林中,丰富的降雨及其所引起的淋溶会进一步降低磷的有效性<sup>[36]</sup>。随着凋落叶分解的进行,微生物群落既受到磷限制又受碳限制(图 3)。这可能是因为:随着凋落物的不断分解,容易被微生物利用的有机物(糖类、蛋白质等)逐渐减少,木质素等较难分解的物质所占比例升高<sup>[37]</sup>,碳源和磷源供给降低,这可能是微生物群落既受到碳限制又受到磷限制的原因;另外可能是磷限制加剧了碳限制,当磷成为相对限制的元素时,此时微生物群落可能会消耗更多的碳来分泌与磷代谢相关的酶<sup>[38]</sup>。

酶矢量特征可评估微生物在短时间内需求的变化规律,可以反映微生物群落的资源相对获取状况,探究碳、氮和磷资源的共同限制状况。大多数自由生活的微生物群落受到能量(通常是碳)或关键营养素(通常是氮或磷)的限制或共同限制<sup>[39]</sup>。三种生境酶矢量角度均大于 45°,表明凋落叶分解过程中微生物群落受到不同程度的磷限制,与胞外酶化学计量特征的结果一致。相对于地表和溪流,间歇性溪流中凋落叶酶矢量角度在分解第 62 天和 119 天凋落叶分解过程中微生物群落磷限制程度最小,根据微生物分泌酶生产资源分配规律,间歇性溪流凋落叶分解过程中微生物分配较少的能量资源和营养物质来生产酸性磷酸酶<sup>[38]</sup>,因此在间歇性溪流用落叶分解过程中酸性磷酸酶活性在分解第 62 天和 119 天较低(图 1)。相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶酶矢量长度在分解第 28 天微生物群落碳限制程度最大,当碳成为相对限制的元素时,这种限制可以加速凋落叶有机质的分解,刺激凋落叶碳和养分的释放<sup>[40]</sup>,此时微生物群落可能会分泌更多 β-葡萄糖苷酶,这可能是间歇性溪流凋落叶在分解第 28 天 β-葡萄糖苷酶活性较地表和溪流高的原因(图 1)。

# 3.3 不同生境凋落叶分解过程中胞外酶活性影响因素

土壤水分被认为是影响酶活性的主要因子[41]。大部分研究表明,土壤水分的增加为各种酶促反应提供 了反应条件与场所,使胞外酶活性升高,其活性随土壤含水量的升高而增强[42-43],本研究中地表凋落叶分解 过程中纤维二糖水解酶和多酚氧化酶与土壤含水率呈显著正相关性,进一步证明此结论。流速与溪流凋落叶 分解过程中酸性磷酸酶活性呈极显著负相关,一方面可能是流速在一定程度上影响了底栖动物的栖息[44],而 底栖动物体内具有丰富的酶系统,能够释放一定的胞外酶,从而使得酶活性降低。另一方面,流速较快,其对 凋落叶的物理破碎作用会促进凋落叶中可溶性物质的流失,微生物可用于生长繁殖的能量物质明显减少,导 致微生物的活性下降, 胞外酶的活性随之降低。本研究中, 间歇性溪流 pH 与凋落叶分解过程中胞外酶活性 没有相关性,这可能是因为间歇性溪流 pH 处于凋落叶分解过程中胞外酶的最适 pH 范围之内,且变化范围较 小,因而没有显著影响酶活性。但是溪流 pH 与凋落叶分解过程中脲酶和 $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性呈显 著负相关,这与 Sinsabaugh 等[45]研究结果一致。溪流 pH 与凋落叶分解过程中脲酶活性呈显著负相关,这可 能是由于酸性环境不利于水生生物的存活,分解者的丰度及多度较低[46],从而使得胞外酶活性降低。已有研 究指出,生物和非生物因子可通过调节微生物代谢作用对酶矢量特征及其化学计量比产生影响<sup>[47-48]</sup>。相关 分析表明,地表凋落叶分解过程中胞外酶化学计量比和矢量特征受到大气温度和地表温度的影响;溪流受到 溪流温度、大气温度、溪流流速、溪流宽度和溪流深度的影响。间歇性溪流凋落叶分解过程中胞外酶化学计量 比和矢量特征与大气温度和降雨未呈现出显著的相关性、这说明胞外酶化学计量比和矢量特征或许更受其他 因子作用,例如干湿交替、微生物丰度等。

综上所述,间歇性溪流、地表和溪流形成的不同水热环境以及气温与降雨所导致的环境差异显著作用于凋落物分解过程中胞外酶活性。间歇性溪流凋落叶分解过程中酸性磷酸酶、β-葡萄糖苷酶、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和脲酶总体高于地表,低于溪流。相对于地表和溪流,间歇性溪流凋落叶分解过程中微生物群落主要受磷限制,相对碳限制程度较低。其结果为深入认识亚热带森林间歇性溪流凋落叶分解过程及其作用机制提供了一定的基础资料和理论依据。

#### 参考文献 (References):

- [1] 孙思怡,卢胜旭,陆宇明,许恩兰,吴东梅,刘春华,蒋宗垲,郭剑芬.杉木林下套种阔叶树对土壤生态酶活性及其化学计量比的影响. 林业科学研究,2021,34(1):106-113.
- [2] 焦鹏宇, 郭文, 陈泽龙, 刘先, 胡亚林, 王玉哲. 中亚热带不同林龄马尾松林土壤酶学计量特征. 环境科学, 2022, 43(2): 1059-1068.
- [3] 钟泽坤,杨改河,任成杰,韩新辉. 黄土丘陵区撂荒农田土壤酶活性及酶化学计量变化特征.环境科学,2021,42(1):411-421.
- [4] 张玉林, 陆永兴, 尹本丰, 李永刚, 周晓兵, 张元明. 模拟降雨变化对古尔班通古特沙漠土壤养分及酶活性的影响. 生态学报, 2022, 42 (5): 1739-1749.
- [5] 陈书秀, 江明喜. 三峡地区香溪河流域不同树种叶片凋落物的分解. 生态学报, 2006, 26(9): 2905-2912.
- [6] Kobayashi S, Kagaya T. Hot spots of leaf breakdown within a headwater stream reach; comparing breakdown rates among litter patch types with different macroinvertebrate assemblages. Freshwater Biology, 2005, 50(6): 921-929.
- [7] 吴波波,郭剑芬,吴君君,任卫岭,刘小飞,杨玉盛.采伐剩余物对林地表层土壤生化特性和酶活性的影响.生态学报,2014,34(7):1645-1653.
- [8] Yang Y S, Wang L X, Yang Z J, Xu C, Xie J S, Chen G S, Lin C F, Guo J F, Liu X F, Xiong D C, Lin W S, Chen S D, He Z M, Lin K M, Jiang M H, Lin T C. Large ecosystem service benefits of assisted natural regeneration. Journal of Geophysical Research; Biogeosciences, 2018, 123 (2): 676-687.
- [9] Allison S D, Jastrow J D. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soils. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(11): 3245-3256.
- [10] Johnsen A R, Jacobsen O S. A quick and sensitive method for the quantification of peroxidase activity of organic surface soil from forests. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(3): 814-821.
- [11] Williams C J, Shingara E A, Yavitt J B. Phenol oxidase activity in peatlands in New York State: response to summer drought and peat type. Wetlands, 2000, 20(2): 416-421.
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京:农业出版社, 1986.
- [13] 谭波,倪祥银,吴福忠,李娇.森林土壤实验常规分析方法.成都:四川大学出版社,2020:144-148.
- [14] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, Han F, Ju W L, Ye L P, Wang X, Tan W F, Zhang X C. Natural grassland as the optimal pattern of vegetation restoration in arid and semi-arid regions: Evidence from nutrient limitation of soil microbes. Science of the total environment, 2019, 648: 388-397.
- [15] Moorhead D L, Sinsabaugh R L, Hill B H, Weintraub M N. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 93: 1-7.
- [16] Fanin N, Moorhead D, Bertrand I. Eco-enzymatic stoichiometry and enzymatic vectors reveal differential C, N, P dynamics in decaying litter along a land-use gradient. Biogeochemistry, 2016,129(1/2); 21-36.
- [17] 左宜平,张馨月,曾辉,王娓.大兴安岭森林土壤胞外酶活力的时空动态及其对潜在碳矿化的影响.北京大学学报:自然科学版,2018,54(6):1311-1324.
- [18] Moorhead D L, Rinkes Z L, Sinsabaugh R L, Weintraub M N. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities; informing enzyme-based decomposition models. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 223-235.
- [19] Bai X J, Dippold M A, An S S, Wang B R, Zhang H X, Loeppmann S. Extracellular enzyme activity and stoichiometry: The effect of soil microbial element limitation during leaf litter decomposition. Ecological Indicators, 2021, 121: 107200.
- [20] 喻岚晖,王杰,廖李容,张超,刘国彬. 青藏高原退化草甸土壤微生物量,酶化学计量学特征及其影响因素. 草地学报, 2020, 28(6): 1702-1710.
- [21] 乔航,莫小勤,罗艳华,刘兴元,胡亚军,陈香碧,苏以荣.不同林龄油茶人工林土壤酶化学计量及其影响因素.生态学报,2019,39 (6):1887-1896.
- [22] Guo Z M, Zhang X Y, Green S M, Dungait J A J, Wen X F, Quine T A. Soil enzyme activity and stoichiometry along a gradient of vegetation restoration at the Karst Critical Zone Observatory in Southwest China. Land Degradation & Development, 2019, 30(16): 1916-1927.
- [23] 袁萍,周嘉聪,张秋芳,曾晓敏,鲍勇,高颖,高金涛,司友涛,陈岳民,杨玉盛.中亚热带不同森林更新方式生态酶化学计量特征.生态学报,2018,38(18):6741-6748.
- [24] Decker K L M, Wang D, Waite C, Scherbatskoy T. Snow removal and ambient air temperature effects on forest soil temperatures in northern Vermont. Soil Science Society of America Journal, 2003, 67(4): 1234-1242.
- [25] Bünemann E K, Keller B, Hoop D, Jud K, Boivin P, Frossard E. Increased availability of phosphorus after drying and rewetting of a grassland soil; processes and plant use. Plant and Soil, 2013, 370(1/2); 511-526.

- [26] Yu Z H, Wang G H, Marschner P. Drying and rewetting-effect of frequency of cycles and length of moist period on soil respiration and microbial biomass. European Journal of Soil Biology, 2014, 62: 132-137.
- [27] Kampichler C, Bruckner A. The role of microarthropods in terrestrial decomposition: a meta-analysis of 40 years of litterbag studies. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 2009, 84(3): 375-389.
- [28] Taylor B R, Bärlocher F. Variable effects of air-drying on leaching losses from tree leaf litter. Hydrobiologia, 1996, 325(3): 173-182.
- [29] Kaiser C, Koranda M, Kitzler B, Fuchslueger L, Schnecker J, Schweiger P, Rasche F, Zechmeister-Boltenstern S Z, Sessitsch A, Richter A. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil. The New Phytologist, 2010, 187(3): 843-858.
- [30] Pei Z Q, Leppert K N, Eichenberg D, Bruelheide H, Niklaus P A, Buscot F, Gutknecht J L. Leaf litter diversity alters microbial activity, microbial abundances, and nutrient cycling in a subtropical forest ecosystem. Biogeochemistry, 2017, 134(1/2): 163-181.
- [31] Čapek P, Starke R, Hofmockel K S, Bond-Lamberty B, Hess N. Apparent temperature sensitivity of soil respiration can result from temperature driven changes in microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135: 286-293.
- [32] Zhou X Q, Chen C R, Wang Y F, Xu Z H, Han H Y, Li L H, Wan S Q. Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland. The Science of the Total Environment, 2013, 444: 552-558.
- [33] Wei H, Ma R, Zhang J, Saleem M, Liu Z, Shan X, Yang J, Xiang H. Crop-litter type determines the structure and function of litter-decomposing microbial communities under acid rain conditions. Science of the Total Environment, 2020, 713: 136600.
- [34] Waring B G, Weintraub S R, Sinsabaugh R L. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 101-113.
- [35] Schmidt S K, Porazinska D, Concienne B L, Darcy J L, King A J, Nemergut D R. Biogeochemical stoichiometry reveals P and N limitation across the post-glacial landscape of Denali National Park, Alaska. Ecosystems, 2016, 19(7): 1164-1177.
- [36] Margalef O, Sardans J, Fernúndez-Martínez M, Molowny-Horas R, Janssens I A, Ciais P, Goll D, Richter A, Obersteiner M, Asensio D, Peñuelas J. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. Scientific Reports, 2017, 7: 1337.
- [37] Santiago L S, Wright S J. Leaf functional traits of tropical forest plants in relation to growth form. Functional Ecology, 2007, 21(1): 19-27.
- [38] 季晓燕, 江洪, 洪江华, 马元丹. 亚热带 3 种树种凋落叶厚度对其分解速率及酶活性的影响.生态学报, 2013, 33(6): 1731-1739.
- [39] Marklein A R, Houlton B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. The New Phytologist, 2012, 193(3): 696-704.
- [40] 周正虎,王传宽. 微生物对分解底物碳氮磷化学计量的响应和调节机制. 植物生态学报,2016,40(6):620-630.
- [41] Brockett B F T, Prescott C E, Grayston S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 44(1): 9-20.
- [42] 王学娟,周玉梅,王秀秀,江肖洁,韩士杰.长白山苔原生态系统土壤酶活性及微生物生物量对增温的响应.土壤学报,2014,51(1):166-175.
- [43] Jin K, Sleutel S, Buchan D, De Neve S, Cai D X, Gabriels D, Jin J Y. Changes of soil enzyme activities under different tillage practices in the Chinese Loess Plateau. Soil and Tillage Research, 2009, 104(1): 115-120.
- [44] Bosco Imbert J, Gonzalez J M, Basaguren A, Pozo J. Influence of inorganic substrata size, leaf litter and woody debris removal on benthic invertebrates resistance to floods in two contrasting headwater streams. International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology, 2005, 90(1): 51-70.
- [45] 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.
- [46] Griffith M B, Perry S A. Colonization and processing of leaf litter by macroinvertebrate shredders in streams of contrasting pH. Freshwater Biology, 1993, 30(1): 93-103.
- [47] Kardol P, Cregger M A, Campany C E, Classen A T. Soil ecosystem functioning under climate change; plant species and community effects. Ecology, 2010, 91(3): 767-781.
- [48] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, He N P, Wang Q F, Wang S Z, Wang R L, Zhao N, Jia Y L, Wang C Y. Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in Eastern China (NSTEC). Soil Biology and Biochemistry, 2017, 104: 152-163.