#### DOI: 10.5846/stxb201809121962

李富, 臧淑英, 刘赢男, 吴祥文, 倪红伟.冻融作用对三江平原湿地土壤活性有机碳及酶活性的影响.生态学报,2019,39(21): - . Li F, Zang S Y, Liu Y N, Wu X W, Ni H W.Effects of freezing and thawing on soil active organic carbon and enzyme activity in the Sanjiang Plain wetlands.Acta Ecologica Sinica,2019,39(21): - .

# 冻融作用对三江平原湿地土壤活性有机碳及酶活性的 影响

李 富<sup>1,2</sup>, 臧淑英<sup>1</sup>, 刘赢男<sup>3</sup>, 吴祥文<sup>1</sup>, 倪红伟<sup>1,3,\*</sup>

1哈尔滨师范大学寒区地理环境监测与空间信息服务黑龙江省重点实验室,哈尔滨 150025

2 佳木斯大学理学院, 佳木斯 154007

3 黑龙江省科学院自然与生态研究所,哈尔滨 150040

摘要:为了研究冻融作用对不同类型土壤活性有机碳组分及酶活性的影响,选取三江平原未受干扰小叶章湿地(UDAW),干扰 小叶章湿地(DDAW)和水稻田(RP)土壤(0—10 cm,10—20 cm 和 20—30 cm)进行室内冻融模拟实验。实验设置(-10—10 ℃)和(-5—5℃)两个冻融幅度。将经过 3 次、6 次、10 次和 15 次冻融循环处理后的土壤活性有机碳和酶活性分别与未经过冻 融处理的 FTC(0)对比。结果表明:冻融循环增加了 3 种湿地土壤可溶性有机碳(Dissolved Organic Carbon, DOC)浓度。随着活 动层深度的增加,同一类型土壤 DOC 增量降低,不同类型土壤 DOC 增量为 UDAW 最高,其次是 DDAW,RP 增量最低。与此相 反,冻融循环均降低了土壤微生物量碳(Microbial Biomass Carbon, MBC)浓度和纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶的活性。随着土壤 深度的增加,冻融循环对 MBC 和 3 种酶活性的影响逐渐减弱,不同类型间 MBC 浓度和 3 种酶活性降低幅度为 UDAW 高于 DDAW,RP 降低幅度最小。冻融幅度对 DOC 浓度的影响为-5—5 ℃大于-10—10 ℃,而对 MBC 浓度和 3 种酶活性的影响则是 -10—10 ℃大于-5—5 ℃。冻融次数显著影响土壤活性有机碳组分(DOC 与 MBC)及 3 种酶活性(P<0.05)。随着冻融次数的 增加,DOC 浓度先升高后降低,MBC 浓度和 3 种酶活性则先降低后升高。此外,UDAW 和 DDAW 土壤活性有机碳组分和土壤 酶活性显著正相关(P<0.01),暗示 DOC 浓度的增加,MBC 起着重要作用。而在 RP 土壤中,二者的相关性降低,或许与人类的 强烈干扰有关。

关键词:冻融循环;活性有机碳;酶活性;三江平原湿地

# Effects of freezing and thawing on soil active organic carbon and enzyme activity in the Sanjiang Plain wetlands

LI Fu<sup>1, 2</sup>, ZANG Shuying<sup>1</sup>, LIU Yingnan<sup>3</sup>, WU Xiangwen<sup>1</sup>, NI Hongwei<sup>1,3,\*</sup>

1 Heilongjiang Province Key Laboratory of Geographical Environment Monitoring and Spatial Information Service in Cold Regions, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

2 The Faculty of Science of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China

3 Institute of Natural Resource and Ecology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150040, China

Abstract: The aim of this study was to analyze the influence of freezing-thawing cycles (FTCs) on soil active organic carbon fractions and soil enzyme activity in different types of soils. To this end, a laboratory freezing-thawing simulation test was carried out using soil samples from undisturbed *Deyeuxia angustifolia* wetlands (UDAW), disturbed *Deyeuxia angustifolia* wetlands (DDAW), and rice paddy fields (RP) in Sanjiang Plain. Soil samples were taken from different layers of each soil type (0–10 cm, 10–20 cm, and 20–30 cm). Two FTC amplitudes, namely,  $(-10-10^{\circ}C)$  and

基金项目:国家科技重大专项(No. 2012ZX07201003-003);"十三五"国家重点研发计划子课题(No. 2016YFC0500405-03)

收稿日期:2018-09-12; 网络出版日期:2019-00-00

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: nihongwei2000@163.com

 $(-5-5^{\circ})$ , were tested. Soil samples were then processed during the 3rd, 6th, 10th, and 15th FTCs, and dissolved organic carbon (DOC), microbial biomass carbon (MBC) and enzyme activity was compared in relation to FTCs (0). The results demonstrated that, in the three wetland soils, the dissolved DOC concentration increased after freezing-thawing cycles. The DOC concentration in each type of soil decreased with soil depth. DOC concentration increased the most in UDAW, followed by DDAW, and then RP. In contrast, MBC concentration and cellulase, sucrose and amylase activity in the soils decreased after freezing-thaving cycles. The effects of FTCs on MBC and the aforementioned activity of the three enzymes gradually weakened with increases in soil depth. MBC concentration and the three enzymes activities presented the greatest reduction in UDAW, followed by DDAW, and then RP. The effects of FTCs on DOC concentration in soils under a FTC amplitude of  $-5-5^{\circ}$  were greater than that under a FTC amplitude of  $-10-10^{\circ}$  c, but the opposite phenomenon was observed with respect to the effects of FTCs on MBC concentration and the three enzymes. The number of FTCs had a significant influence on the active organic carbon fractions (DOC and MBC) and the three enzymes activities (P < 0.05). With an increasing number of FTCs, the DOC concentration was first observed to increase and then decrease, whereas the MBC concentration and the activity of the three enzymes first decreased and then increased. In addition, soil active organic carbon fractions in UDAW and DDAW were significantly and positively correlated with soil enzyme activity (P < 0.01), which suggests that MBC contributes to the increased DOC concentration in soils. This correlation was weak in RP soils, which might be related to greater human disturbance in these types of soils.

Key Words: freeze-thaw cycle; active organic carbon; enzyme activity; Sanjiang Plain wetlands

冻融作为一种自然现象普遍存在于中、高纬以及高海拔地区,是影响该区域土壤生态的重要因素之一<sup>[1]</sup>。它强烈地改变土壤理化性质<sup>[2-3]</sup>,影响微生物活性<sup>[1]</sup>,从而影响到土壤碳、氮生物地球化学过程<sup>[4]</sup>。土壤碳库变化主要发生在活性碳库中稳定性差、周转速率快、易矿化分解,对植物和微生物活性较高的那部分有机碳,其中可溶性有机碳(DOC)和微生物量碳(MBC)是其重要的表征指标<sup>[5]</sup>。土壤中 DOC 与 MBC 含量虽然仅占总有机碳的很小一部分,但对土壤有机碳的动态有不可忽视的影响<sup>[6]</sup>。DOC 既是微生物新陈代谢的产物又是微生物可以利用的底物,尤其在冻土中,DOC 的存在为微生物活动提供了碳源<sup>[7]</sup>。而 MBC 是形成土壤有机质的重要碳源,直接或间接地参与几乎所有的土壤生物生化过程,在土壤物质和能量循环中起着重要的作用<sup>[8]</sup>。土壤酶与土壤活性有机碳关系密切<sup>[9-11]</sup>,参与了土壤活性有机碳的分解和转化过程,是土壤生物过程的主要调节者<sup>[6]</sup>。酶活性的高低直接影响土壤碳循环速率<sup>[12]</sup>。尤其是土壤中的纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶,是参与有机质矿化过程的重要酶类,对于土壤生态系统中的碳、氮循环具有重要作用<sup>[13]</sup>。

目前,国内外已经开展了一些研究,大多集中在生长季期间土壤活性有机碳和土壤酶活性的关系<sup>[14]</sup>、组分特征<sup>[6]</sup>以及不同土地利用方式的影响<sup>[15]</sup>等方面。而对于冻融期间土壤活性有机碳和酶活性变化的相关报道却较少。随着全球变暖,季节性冻融区域土壤的冻融结构和冻融次数都将发生变化,这些变化将如何影响 土壤活性有机碳和酶活性,进而影响区域土壤碳库平衡和气候变化,仍需要进一步研究。

三江平原是中国最大的淡水湿地集中分布区,也是中国湿地生物多样性的关键区域之一<sup>[16]</sup>,其植被类型 中以小叶章(*Deyeuxia angustifolia*)群系最为普遍<sup>[12]</sup>。近几十年来的高强度农业开发和过度利用,导致了三江 平原地区湿地面积锐减和生态功能削弱<sup>[16]</sup>。湿地的大量开垦造成了残存湿地斑块零星散落于农田的分布格 局。为了研究三江平原湿地土地覆被变化后,冻融作用对土壤活性有机碳组分和酶活性的影响,按照"典型 性"的原则,采集三江平原具有代表性的小叶章湿地、水稻田及其相邻的受干扰的小叶章湿地土壤进行室内 冻融模拟试验。着重探讨了冻融频次和冻融幅度对三江平原不同湿地土壤活性有机碳和酶活性影响的变化 趋势。为进一步科学评估三江平原土壤的固碳潜力和调控机理提供参考依据。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 研究区域概况

研究区域位于中国东北黑龙江省三江平原(47°44′N,133°31′E)(表1),平均海拔55.4—57.9 m,属北温带湿润大陆性季风气候,冬季严寒漫长,夏季温暖湿润,年均气温为1.9 ℃,年降水量约为600 mm,最低温出现在1月,平均温度为-23.4 ℃,最高温出现在7月,平均温度为22.4 ℃。每年10月下旬至11月中旬和次年3月下旬至4月中旬存在多次冻融交替过程。三江平原植被均为适应水多的沼生、湿生植物和少数中生植物,主要是多种苔草(*Carex spp*)、小叶章(*Deyeuxia angustifolia*)、丛桦和沼柳等。土壤类型主要为草甸土、沼泽土、腐殖质沼泽土和潜育白浆土。

表1 三江平原采样点位置描述

|                | Table 1   Description of sampling sites in the Sanjiang Plain |                        |                        |  |  |  |  |  |  |
|----------------|---|------------------------|------------------------|--|--|--|--|--|--|
| 采样点            | 湿地类型 Soil type  |                        |                        |  |  |  |  |  |  |
| Sampling Sites | UDAW  | DDAW                   | RP                     |  |  |  |  |  |  |
| GPS 坐标         | 47°45′39″N 133°37′04″E  | 47°43′15″N 133°30′37″E | 47°43′27″N 133°30′22″E |  |  |  |  |  |  |
|                | 47°45′42″N 133°37′04″E  | 47°39′08″N 133°29′03″E | 47°39′11″N 133°29′02″E |  |  |  |  |  |  |
|                | 47°45′44″N 133°37′05″E  | 47°37′33″N 133°35′48″E | 47°37′29″N 133°35′47″E |  |  |  |  |  |  |
| 湿地类型           | 小叶章湿地   | 小叶章湿地                  | 水稻田                    |  |  |  |  |  |  |
| 水文特点           | 常年积水  | 季节性积水                  | 季节性积水                  |  |  |  |  |  |  |
| 土壤类型           | 草甸土   | 草甸土                    | 水稻土                    |  |  |  |  |  |  |

UDWA,未受干扰小叶章湿地 Undisturbed Deyeuxia Angustifolia Wetland; DDWA,干扰小叶章湿地 Disturbed Deyeuxia Angustifolia Wetland; RP, 水稻田 Rice Paddy

## 1.2 样品的采集与处理

2015年10月在研究区域内选取洪河国家自然保护区内未受干扰的常年积水的小叶章湿地、保护区外小 叶章湿地开垦的水稻田以及与水稻田相邻的受人类活动干扰导致湿地含水量减少的季节性积水的小叶章湿 地为试验对象,土壤类型为草甸土和水稻土。每块样地选择3处间隔30m的10×10m<sup>2</sup>样地为试验点。每个 试验点采用多点混合法采集0—10 cm,10—20 cm和20—30 cm土壤,去除其中杂草和大根,均匀混合后装入 密封袋,排除上部气体,并在72 h内运回实验室,将样品过4 mm的土壤筛子后保持在4℃冰箱中用于培养试 验,另一部分土壤自然风干后,研磨和过筛后用于土壤理化性质测试。供试土壤的基本理化性质见(表2)。

| Table 2   The basic physicochemical properties of the soils |                |                                     |                             |                             |                            |  |  |  |  |  |
|---|----------------|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--|--|--|--|--|
| 土壤类型<br>Soil type   | 土层/cm<br>Layer | 土壤有机碳/(g/kg)<br>Soil organic carbon | 全氮/(g/kg)<br>Total nitrogen | 碳/氮<br>Carbon/Nitrogen      | 酸碱度<br>pH                  | 最大持水能/%<br>Maximum water<br>holding capacity |  |  |  |  |
| UDAW  | 0—10           | 47.76±6.32a                         | 3.81±0.52a                  | 12.54±0.81a                 | $5.64 \pm 0.16 \mathrm{b}$ | 85.91±9.08a                                  |  |  |  |  |
|   | 10—20          | 36.52±4.16a                         | $2.64{\pm}0.39{\rm b}$      | 13.83±0.52a                 | 5.83±0.11ab                | $52.51 \pm 6.81 \mathrm{b}$                  |  |  |  |  |
|   | 20—30          | $20.43{\pm}1.96\mathrm{b}$          | $1.12 \pm 0.32c$            | $18.45 \pm 0.33 \mathrm{b}$ | 6.58±0.18a                 | $42.50{\pm}3.79\mathrm{b}$                   |  |  |  |  |
| DDAW  | 0—10           | 30.47±4.62a                         | 2.89±0.45a                  | $10.67 \pm 2.1 \mathrm{b}$  | $5.72 \pm 0.18 \mathrm{b}$ | 79.55±5.12a                                  |  |  |  |  |
|   | 10—20          | $20.03{\pm}2.84\mathrm{b}$          | $2.07 \pm 0.21 \mathrm{b}$  | 9.67±0.57ab                 | $5.98 \pm 0.21$ ab         | $47.20{\pm}2.82\mathrm{b}$                   |  |  |  |  |
|   | 20—30          | $15.30 \pm 3.05 \mathrm{b}$         | $1.06 \pm 0.19 c$           | 14.53±2.91a                 | 6.31±0.16a                 | $40.63 \pm 1.77 \mathrm{b}$                  |  |  |  |  |
| RP  | 0—10           | 28.03±6.94a                         | 3.96±0.53a                  | $7.10{\pm}1.72\mathrm{b}$   | $5.70 \pm 0.11 \mathrm{b}$ | 53.27±3.07a                                  |  |  |  |  |
|   | 10—20          | 23.4±4.06ab                         | 3.44±0.23a                  | $9.67 \pm 0.57 \mathrm{b}$  | $5.93{\pm}0.09{\rm b}$     | $43.65{\pm}2.49\mathrm{b}$                   |  |  |  |  |
|   | 20—30          | $18.4{\pm}1.39\mathrm{b}$           | $1.59{\pm}0.27{\rm b}$      | 11.82±2.14a                 | 6.32±0.14a                 | $40.04{\pm}1.38\mathrm{b}$                   |  |  |  |  |

表 2 土壤基本理化性质

表中值为平均值±标准差(n=3);同一列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)

# 1.3 样品培养与测试

称取(相当于风干土重)70g均匀混合的土壤样品置于250ml培养瓶中,用去离子水调节土壤含水量为

最大持水量的 60%,并在 25 ℃的恒温箱中培养 7 天,使微生物活性恢复到正常状态,定期称重,保持土壤水分 含量恒定。结合三江平原冻融期间实际温度,设(-10—10 ℃)和(-5—5 ℃)两个冻融幅度,即将土壤样品分 别放入-10 ℃和-5 ℃低温培养箱中冷冻 24 h,再分别调节温度为 10 ℃和 5 ℃使其融化 24 h,作为 1 次冻融 循环,实验设定 15 次冻融循环,共 30 天。同时设定 10 ℃和 5 ℃未经过冻融处理样品作为空白对照 FTC(0)。 分别在冻融循环的第 3 次、6 次、10 次和 15 次后取出重复部分的培养瓶,测定土壤活性碳组分(DOC 和 MBC)和酶活性(纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶)指标。

1.4 样品分析方法

土壤有机碳(SOC):称取风干研磨土壤 0.1 g,加入 2 mol/L 盐酸浸没,应用 Multi N/C 2100 TOC 仪(德国 耶拿)高温燃烧法测定土壤 SOC 含量。土壤总氮(TN):采用全自动凯氏定氮仪(德国 Behr)测定 TN。pH 值: 称取过 2 mm 筛的风干土样 10 g 置于 100 ml 烧杯中,加入 50 ml 无二氧化碳的水,用玻璃棒剧烈搅动后静置 30 min,然后用 pH 仪测定。溶解性有机碳(DOC):称取 10 g 新鲜土壤放入盛有 100 mL 蒸馏水的三角瓶中, 常温下振荡浸提 30 min,用高速离心机离心,上清液过 0.45 μm 滤膜,采用 MultiN/C 2100 TOC 仪(德国耶拿) 测定。微生物量碳(MBC):采用改进的氯仿熏蒸-K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浸提法测定<sup>[17]</sup>。取 10 g 土壤样品用三氯甲烷熏蒸 24 h,用 0.5 mol/L 的 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浸提熏蒸和未熏蒸的样品约 30 min,应用 MultiN/C 2100 TOC 仪(德国耶拿)测定 浸提液总有机碳浓度。使用以下公式进行微生物生物量碳的计算<sup>[18]</sup>:MBC=EC/0.45 式中:MBC 为微生物生物量碳,EC 为熏蒸和未熏蒸土壤样品浸提液中有机碳含量差值,0.45 为校正系数。

纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶活性采用 3,5 二硝基水杨酸比色法,纤维素酶活性以 1g 土壤在 37 ℃下培养 72 h 后生成的葡萄糖 mg 表示;蔗糖酶、淀粉酶活性以 1g 土壤在 37 ℃下培养 24 h 后生成的葡萄糖 mg 表示<sup>[13]</sup>。

1.5 统计分析

利用 SPSS 19.0 和 Excel 2010 对数据进行统计分析和图形绘制,采用多元方差(MANOVA)分析冻融幅度 和冻融次数对土壤活性有机碳和土壤酶活性的差异性影响。利用 Pearson 相关分析探讨土壤活性有机碳和 土壤酶活性之间的相关性。当 P<0.05,差异性和相关性在统计学上有意义。

2 结果分析

2.1 冻融循环对土壤活性有机碳组分的影响

2.1.1 冻融循环对土壤 DOC 浓度的影响

冻融次数显著影响湿地土壤 DOC 浓度,而冻融幅度只对 3 种湿地 0—10 cm 土壤 DOC 浓度影响显著(P< 0.05,表 3)。冻融次数与冻融幅度的交互作用对 UDAW 三个活动层中 DOC 浓度,DDAW 与 RP10—20 cm 和 20—30 cm 土壤中 DOC 浓度影响显著(P<0.05,表 3)。随着冻融次数的增加,两个冻融幅度作用下的土壤 DOC 浓度均增加,均在第6次冻融循环后达到最大值后降低,并趋于稳定,其最低值仍高于没有经过冻融处 理的 FTC(0)(图 1),表明冻融作用对土壤 DOC 含量的影响具有短期效应。随着土壤深度增加,同一类型土 壤中 DOC 增量 0—10 cm>10—20 cm>20—30 cm,而不同类型土壤 DOC 增量为:UDAW>DDAW>RP(图 1)。在-5—5 ℃ 冻融处理下,UDAW、DDAW 和 RP 三个活动层中 DOC 浓度比冻融前 FTC(0)分别增加了 (29.3%—51.7%),(28.1%—40.2%)和(16.5%—31.8%),而-10—10 ℃冻融处理下,UDAW、DDAW 和 RP 三 个活动层土壤 DOC 浓度比冻融前分别增加了(23.4%—37.5%),(15.9%—32.1%)和(5.4%—15.5%)。实验 结果显示,冻融循环增加了活动层土壤 DOC 浓度,其中-5—5 ℃对 DOC 含量的增幅略大。

2.1.2 冻融循环对土壤 MBC 浓度的影响

冻融次数显著影响 MBC 浓度(P<0.05,表3),而冻融幅度对 MBC 浓度影响不显著(P>0.05,表3)。冻融 次数与冻融幅度的交互作用只对 UDAW 和 RP 土壤 0—10 cm 的 MBC 浓度影响显著 (P<0.05,表3),对 DDAW 三个活动层 MBC 浓度的影响均不显著(P>0.05,表3)。冻融作用对 3 种类型的三个活动层 MBC 浓度

| 变量<br>Variable | 土壤类型<br>Soil Type | 土层/cm<br>Soil Layer | 冻融幅度<br>Amplitude of Freezing<br>and Thawing | 冻融次数<br>Number of Freezing<br>and Thawing | 幅度×次数<br>Amplitude × Numbe |
|----------------|-------------------|---------------------|--|---|----------------------------|
| DOC            | UDWA              | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.000 *                    |
|                |                   | 10—20               | 0.006 *                                      | 0.000 *                                   | 0.026 *                    |
|                |                   | 20—30               | 0.120  | 0.000 *                                   | 0.000 *                    |
|                | DDWA              | 0—10                | 0.001 *                                      | 0.001 *                                   | 0.434                      |
|                |                   | 10—20               | 0.186  | 0.000 *                                   | 0.003 *                    |
|                |                   | 20—30               | 0.017 *                                      | 0.000 *                                   | 0.000 *                    |
|                | RP                | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.109                      |
|                |                   | 10—20               | 0.377  | 0.002 *                                   | 0.001 *                    |
|                |                   | 20—30               | 0.081  | 0.009 *                                   | 0.002 *                    |
| MBC            | UDWA              | 0—10                | 0.719  | 0.000 *                                   | 0.015 *                    |
|                |                   | 10—20               | 0.085  | 0.000 *                                   | 0.005 *                    |
|                |                   | 20—30               | 0.047 *                                      | 0.000 *                                   | 0.291                      |
|                | DDWA              | 0—10                | 0.326  | 0.000 *                                   | 0.249                      |
|                |                   | 10—20               | 0.245  | 0.000 *                                   | 0.528                      |
|                |                   | 20—30               | 0.326  | 0.000 *                                   | 0.326                      |
|                | RP                | 0—10                | 0.470  | 0.000 *                                   | 0.099                      |
|                |                   | 10—20               | 0.647  | 0.000 *                                   | 0.007 *                    |
|                |                   | 20-30               | 0.747  | 0.000 *                                   | 0.059                      |

表 3 冻融幅度和冻融次数对土壤 DOC 和 MBC 浓度影响的方差分析

\*影响显著(P< 0.05)



图 1 -5--5 ℃和-10--10 ℃处理下不同冻融次数的土壤可溶性有机碳浓度变化

Fig.1 Changes of DOC concentration under different freezing and thawing times in -5–5  $^\circ$ C and -10–10  $^\circ$ C

http://www.ecologica.cn

的影响均表现出一致的趋势。随着冻融次数的增加,MBC 浓度先降低后升高,最高值均低于没有经过冻融循环的对照 FTC(0)(图 2),表明冻融循环降低了活动层土壤 MBC 浓度。在-5—5℃冻融幅度处理下,UDAW、 DDAW 和 RP 三个活动层中 MBC 浓度分别降低了(6.2%—27.6%),(10.6%—26.3%)和(10.6%—24.1%),而 -10—10℃冻融处理下,分别降低了(8.8%—40.8%),(7.8%—36%)和(11.2%—33.6%)。数据显示,-10— 10℃冻融循环对 MBC 浓度的影响略大。随着土壤深度增加,在-5—5℃冻融幅度处理下,3种湿地土壤中 MBC 浓度变化 0—10 cm>10—20 cm>20—30 cm,在-10—10℃冻融幅度处理下,DDAW 和 RP 土壤 MBC 浓 度变化 0—10 cm>10—20 cm>20—30 cm,但 UDAW 土壤中 MBC 浓度变化表现为 0—10 cm<10—20 cm<20— 30 cm(图 2)。



图 2 −5—5 ℃和−10—10 ℃处理下不同冻融次数的土壤微生物量碳浓度变化

Fig.2 Changes of MBC concentration under different freezing and thawing times in -5–5 % and -10–10 %

#### 2.2 冻融循环对土壤酶活性的影响

冻融次数对 3 种湿地活动层土壤的纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶活性影响均显著 (P<0.05,表4)。而冻融幅度对 3 种湿地部分土壤酶活性影响显著(P<0.05,表4)。冻融次数与冻融幅度的交互作用只对 DDAW 三个活动层的纤维素酶和淀粉酶活性,UDWA 和 DDWA 10—20 cm 以及 RP 0—10 cm 的蔗糖酶活性影响显著 (P<0.05,表4)。与 FTC(0)相比,冻融循环引起的 3 种湿地土壤酶(纤维素酶、淀粉酶和蔗糖酶)活性在初期均降低,随着冻融次数的增加,酶活性逐渐升高,但最高值仍低于 FTC(0)。冻融循环对 3 种酶活性的影响的趋势与 MBC 相一致(图 3、图 4、图 5)。与 FTC(0)相比,在-5—5℃冻融处理后,UDAW、DDAW 和 RP 的纤维素酶活性分别降低了(4.5%—25.1%)、(2.5%—22.2%)和(3.7%—22.6%);蔗糖酶活性分别降低了(14.7%—

41.1%)、(10.6%—34.9%)和(5.9%—22.5%);淀粉酶活性分别降低了(3.2%—15.8%)、(2.9%—15.1%)和(6.5%—20.7%)。而经过-10—10℃冻融处理后,纤维素酶活性分别降低了(7.7%—34.7%)、(8.8%—27.5%)和(3.1%—24.6%);蔗糖酶活性分别降低了(15.7%—43.3%)、(13.3%—40.4%)和(11.2%—32.9%);淀粉酶活性分别降低了(20.9%—29.1%)、(14.6%—28.6%)和(17.7%—34.2%)。数据分析显示,-10—10℃对3种酶活性的影响略大。随着土壤活动层深度的增加,同一类型湿地土壤中3种酶活性降低幅度均表现为0—10 cm>10—20 cm>20—30 cm;不同类型湿地土壤纤维素酶和蔗糖酶活性降低幅度表现为:UDAW>DDAW。

| Table 4 MANOVA results (P values) for cellulase, invertase and amylase activities with amplitudes of freeze -thaw and number of cycles |                   |                     |  |   |                             |  |  |  |  |
|--|-------------------|---------------------|--|---|-----------------------------|--|--|--|--|
| 变量<br>Variable   | 土壤类型<br>Soil type | 土层/cm<br>Soil layer | 冻融幅度<br>Amplitude of Freezing<br>and Thawing | 冻融次数<br>Number of Freezing<br>and Thawing | 幅度×次数<br>Amplitude × Number |  |  |  |  |
| 纤维素酶   | UDWA              | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.246                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.002 *                                      | 0.000 *                                   | 0.467                       |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.390  | 0.033 *                                   | 0.383                       |  |  |  |  |
|  | DDWA              | 0—10                | 0.001 *                                      | 0.000 *                                   | 0.000 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.675  | 0.000 *                                   | 0.000 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.001 *                     |  |  |  |  |
|  | RP                | 0—10                | 0.002 *                                      | 0.000 *                                   | 0.193                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.207  | 0.000 *                                   | 0.168                       |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.035 *                                      | 0.000 *                                   | 0.808                       |  |  |  |  |
| 蔗糖酶  | UDWA              | 0—10                | 0.004 *                                      | 0.000 *                                   | 0.682                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.045 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.829                       |  |  |  |  |
|  | DDWA              | 0—10                | 0.867  | 0.000 *                                   | 0.228                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.880  | 0.000 *                                   | 0.022 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.445  | 0.000 *                                   | 0.208                       |  |  |  |  |
|  | RP                | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.002 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.150  | 0.654                                     | 0.456                       |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.016 *                     |  |  |  |  |
| 淀粉酶  | UDWA              | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.203                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.002 *                                      | 0.000 *                                   | 0.526                       |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.361  | 0.018 *                                   | 0.320                       |  |  |  |  |
|  | DDWA              | 0—10                | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.000 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.697  | 0.000 *                                   | 0.000 *                     |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.000 *                                      | 0.000 *                                   | 0.000 *                     |  |  |  |  |
|  | RP                | 0—10                | 0.001 *                                      | 0.000 *                                   | 0.115                       |  |  |  |  |
|  |                   | 10—20               | 0.169  | 0.000 *                                   | 0.106                       |  |  |  |  |
|  |                   | 20—30               | 0.057  | 0.000 *                                   | 0.107                       |  |  |  |  |

表 4 冻融幅度和冻融次数对土壤纤维素酶, 蔗糖酶和淀粉酶活性影响的方差分析

\*影响显著 (P< 0.05)

2.3 土壤活性有机碳与土壤酶之间的关系

经过2个不同冻融幅度和15次冻融循环处理后,相关性分析显示,UDAW和DDAW土壤中DOC浓度与MBC浓度、纤维素酶和蔗糖酶活性以及3种酶活性之间表现为显著正相关(P<0.05;表5);DOC浓度与淀粉



Fig.3 Changes of celluase activity under different freezing and thawing times in −5–5 °C and −10–10 °C

酶活性之间表现为显著正相关(P<0.01;表5)。而在 RP 土壤中,只有 DOC 浓度与 MBC 浓度和纤维素酶活性,MBC 浓度与 3 种酶活性之间以及淀粉酶和蔗糖酶活性之间显著相关(P<0.01;表5);其他变量之间却不相关(P>0.05;表5)。

# 3 讨论

实验结果表明, 冻融作用刺激了土壤中 DOC 的释放, 增加了土壤 DOC 的含量(图 1), 该结果与 Matzner<sup>[19]</sup>、Chaer<sup>[20]</sup>及赵光影<sup>[21]</sup>等的研究有着相似的结论。其原因可能是冻融作用如同氯仿熏蒸等一样对 微生物有灭杀作用,造成微生物死亡和小根分解, 而死亡的微生物和小根在分解过程中会释放出一些小分子 糖和氨基酸等, 能够提高土壤中有机物质的含量, 从而也就增加了土壤 DOC 的含量<sup>[22]</sup>。随着冻融次数的增加, 土壤微生物逐渐适应这种变化, 冻融过程中微生物死亡绝对数量有所减少, 降低了 DOC 释放量, 而且土壤 中原有的 DOC 又在不断地被活着的微生物利用分解, 因此多次冻融后土壤 DOC 含量开始不断减少。

通过实验发现,随着土壤活动层深度的增加,冻融作用逐渐减弱,其原因可能是土壤深度的增加使微生物和细根的数量减少,冻融作用对微生物和细根的分解减弱,使 DOC 含量降低。冻融循环对 3 种湿地土壤 DOC 含量的影响发现,DOC 含量与湿地受干扰强度有关,干扰越强,DOC 含量越低。湿地受到干扰后土壤养分、通透性、温度等理化性状发生改变,影响植物生长环境和凋落物数量,导致土壤微生物种群改变和数量减少<sup>[23]</sup>。 另外,干扰强度越大,土壤淋溶作用和流失作用就会加剧,实验数据显示三江平原湿地开垦为水田后土壤有机





碳含量仅为原湿地的二分之一(表1)。DOC含量还与土壤有机质的含量有关,有机质含量高,土壤团聚体较

|            | Table 5 The | correlations betwee                   | n active organic carb                | on fractions and soil | enzyme activities |                |
|------------|-------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------------|----------------|
| 类型<br>Type | 变量 Variable | 可溶性有机碳<br>Dissolved<br>organic carbon | 微生物量碳<br>Microbial<br>biomass carbon | 纤维素酶<br>Celluase      | 蔗糖酶<br>Invertase  | 淀粉酶<br>Amylase |
| UDAW       | DOC         | 1                                     |                                      |                       |                   |                |
|            | MBC         | 0.789 **                              | 1                                    |                       |                   |                |
|            | 纤维素酶        | 0.657 **                              | 0.698 **                             | 1                     |                   |                |
|            | 蔗糖酶         | 0.768 **                              | 0.778 **                             | 0.871 **              | 1                 |                |
|            | 淀粉酶         | 0.871 *                               | 0.893 **                             | 0.771 **              | 0.867 **          | 1              |
|            | DOC         | MBC                                   | 纤维素酶                                 | 蔗糖酶                   | 淀粉酶               |                |
| DDAW       | DOC         | 1                                     |                                      |                       |                   |                |
|            | MBC         | 0.734 **                              | 1                                    |                       |                   |                |
|            | 纤维素酶        | 0.753 **                              | 0.661 *                              | 1                     |                   |                |
|            | 蔗糖酶         | 0.842 **                              | 0.742 **                             | 0.806 **              | 1                 |                |
|            | 淀粉酶         | 0.760 *                               | 0.749 **                             | 0.612 **              | 0.757 **          | 1              |
|            | DOC         | MBC                                   | 纤维素酶                                 | 蔗糖酶                   | 淀粉酶               |                |
| RP         | DOC         | 1                                     |                                      |                       |                   |                |
|            | MBC         | 0.732 *                               | 1                                    |                       |                   |                |
|            | 纤维素酶        | 0.821 *                               | 0.673 *                              | 1                     |                   |                |
|            | 蔗糖酶         | 0.798                                 | 0.842 *                              | 0.638                 | 1                 |                |

http://www.ecologica.cn





Fig.5 Changes of amylase activity under different freezing and thawing times in -5-5 °C and -10-10 °C

| 续表         |              |                                       |                                      |                  |                  |                |  |
|------------|--------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------|------------------|----------------|--|
| 类型<br>Type | 变量 Variable  | 可溶性有机碳<br>Dissolved<br>organic carbon | 微生物量碳<br>Microbial<br>biomass carbon | 纤维素酶<br>Celluase | 蔗糖酶<br>Invertase | 淀粉酶<br>Amylase |  |
|            | 淀粉酶          | 0.770                                 | 0.587 *                              | 0.552            | 0.602 *          | 1              |  |
| * 表示在 0.0  | )5 水平显著相关:** | 表示在 0.01 水平显                          | 著相关                                  |                  |                  |                |  |

稳定,从而使包裹在土壤团聚体中的有机碳释放慢;而有机质含量较低的土壤,其团聚体较易解聚,土壤有机 碳会快速释放<sup>[24]</sup>。两个冻融幅度对比发现,-5—5℃冻融对土壤 DOC 含量影响大于-10—10℃冻融,或许是 由于大幅度冻融会剧烈破坏土壤团聚体微生物和细根;另外,大幅度冻融在高温融化时期加速 DOC 的消耗, 因为高温土壤碳矿化速率增加<sup>[25]</sup>。

冻融作用降低了土壤活动层 MBC 的浓度,其变化趋势与 DOC 相反。MBC 浓度在第6次冻融循环时降到 最低值,而此时 DOC 浓度却达到最高(图1、图2),或许在 DOC 浓度增加过程中 MBC 起着重要作用,但相对 贡献是多少尚不清楚。DOC 和 MBC 浓度之间显著正相关性也验证了这一点。DeLuca<sup>[26]</sup>研究发现,一次冻融 循环甚至能杀死 50%的微生物种群,导致细胞内的物质释放,包括 DOC 和 MBC,因此土壤 MBC 浓度在冻融 循环初期降低而 DOC 浓度会增加,随着冻融次数的增加,土壤微生物逐渐适应冻融的影响,死亡微生物数量 减少,MBC 浓度逐渐增加,并趋于稳定。这与 Chaer<sup>[20]</sup>、Wang<sup>[18]</sup>及 Oztas<sup>[27]</sup>等人研究结果相一致。随着土壤 活动层深度和干扰强度的增加,微生物逐渐减少,冻融作用减弱,土壤 MBC 的变化量逐渐降低。此外,冻融作 用对土壤 MBC 的影响还与有机质含量、含水量、最初团聚体的大小、冻结温度及冻融循环次数等因素有 关<sup>[28]</sup>。尽管冻融幅度对 3 种湿地土壤 MBC 浓度的影响都不显著(P<0.05;表 3),但大幅度冻融对微生物的 损害是相当大的,因为大幅度冻融循环可以杀死更多的微生物,限制微生物的活性<sup>[29]</sup>。

冻融循环降低了 3 种湿地土壤酶(纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶)的活性,并且大幅度冻融的影响是强烈 的,这些变化与冻融循环对 MBC 的影响相一致。原因是 MBC 和土壤酶主要来源土壤微生物<sup>[30]</sup>,二者之间的 相关性也支持了这一观点(P<0.05;表5)。由于土壤酶活性与土壤微生物、土壤理化性质和环境条件密切相 关,因而土壤酶活性对环境扰动的响应敏感<sup>[31]</sup>。湿地受到垦殖的强烈扰动后,土壤理化性质改变,微生物量 减少,有机碳被大量释放,导致土壤酶活性降低。相关性分析显示,未受干扰湿地土壤酶活性与土壤活性有机 碳组分之间显著正相关(P<0.05;表5),而受到强烈干扰的水稻田土壤酶活性和土壤活性有机碳组分之间相 关性降低或者不相关。同时,连年的翻耕,使土壤在垂直方向上的差异减小。因此冻融对不同深度的水稻田 土壤酶活性影响不明显。早期研究显示,不同的研究方法和各种土壤性质差异导致土壤酶对冻融循环响应不 同。Chaer 等<sup>[21]</sup>对美国安德鲁深林土壤研究发现,冻融作用降低了β-葡萄糖苷酶活性,而磷酸酶和酚氧化酶 却没有反应。Yergeau<sup>[27]</sup>对南极土柱研究发现,冻融增加了纤维素酶的活性,但不显著。Wang<sup>[18]</sup>对大兴安岭 永久冻土研究发现,冻融降低了土壤的活性。事实上,在冻结土壤中一些酶的活性并没有钝化,尤其是在寒冷 的区域。冻融对土壤酶有损伤作用,而冻融作用下的破碎土壤团聚体和裂解细胞增加了不稳定有机物与微生 物的接触,从而促进了土壤酶的活性<sup>[32]</sup>。

随着全球变暖,冻融频次、冻融幅度和活动层厚度都将发生变化,这些都将会使更多的易被分解碳从土壤 中释放出来,进而影响区域碳平衡。然而,冻融循环如何影响土壤有机碳和土壤微生物活性仍需进一步研究。 由于冻融作用对土壤活性有机碳和酶活性变化研究较少,不能真实反映季节性冻融期间活性有机碳和酶活性 的变化情况。因此,进一步研究的焦点应该放在野外原位监测,以此来揭示土壤活性有机碳和土壤酶对冻融 变化的响应。

## 4 结论

通过实验室模拟清楚观测到土壤活性有机碳组分和酶活性对冻融循环反映敏感。冻融循环显著增加了 三江平原3种湿地土壤 DOC 的浓度,降低了 MBC 浓度和3种酶活性(纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶)。随着土 壤深度的增加,冻融作用对土壤活性有机碳和3种酶活性的影响逐渐减弱。冻融次数显著影响土壤活性有机 碳和3种酶活性,并表现出短期效应。冻融幅度影响土壤活性有机碳浓度和土壤酶活性,其中小幅度冻融对 DOC 影响大,而大幅度冻融对 MBC 浓度和3种酶活性的影响大。冻融作用对不同干扰程度的土壤活性有机 碳和酶活性的影响是不同的,对干扰强度大,土壤团聚体破坏严重的土壤影响较小,表明这类土壤中有机碳释 放严重,土壤微生物数量减少,土壤质量严重下降。此外,受到强烈干扰的土壤活性有机碳组分与土壤酶活性 之间相关性不高,甚至不相关,而干扰强度小的土壤中活性有机碳组分和土壤酶活性之间显著相关也证实了 这一观点。

#### 参考文献(References):

- [1] 赵媛,周旺明,王守乐,周莉,于大炮,代力民. 冻融对温带森林土壤碳、氮矿化作用的影响. 生态学杂志, 2017, 36(6): 1548-1554.
- [2] 娄鑫,谷岩,张军辉,韩士杰.冬季积雪与冻融对土壤团聚体稳定性的影响.北京林业大学学报,2016,38(4):63-70.
- [3] 高珊, 尹航, 傅伯杰, 吴明根, 董闯, 李龙. 冻融循环对温带 3 种林型下土壤微生物量碳、氮和氮矿化的影响. 生态学报, 2018, 38(21): 1-11.
- [4] Freppaz M, Williams B L, Edwards A C, Scalenghe R, Zanini E. Simulating soil freeze/thaw cycles typical of winter alpine conditions: Implications for N and P availability. Applied Soil Ecology, 2007, 35(1): 247-255.
- [5] 肖烨,黄志刚,武海涛,吕宪国.三江平原不同湿地类型土壤活性有机碳组分及含量差异.生态学报,2015,35(23):1-9.
- [6] 万忠梅,宋长春,杨桂生,黄靖宇,王丽丽,李英臣.三江平原湿地土壤活性有机碳组分特征及其与土壤酶活性的关系.环境科学学报, 2009, 29(2):406-412.

12

| [7] | 王娇月, | 宋长春 | , 王宪伟, | 王丽丽. | 东融作用对土壤有机碳库及微生物的 | 影响研究进展. | 冰川冻土 | , 2011, | 33(2 | ): 442 | - 452 |
|-----|------|-----|--------|------|------------------|---------|------|---------|------|--------|-------|
|-----|------|-----|--------|------|------------------|---------|------|---------|------|--------|-------|

- [8] 符鲜,杨树青,刘德平,刘月.施氮水平对河套灌区套作小麦-玉米土壤微生物量碳、氮的影响研究.生态环境学报,2018,27(9): 1652-1657.
- [9] Feng X J, Nielsen L L, Simpson M J. Responses of soil organic matter and microorganisms to freeze—thaw cycles. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(8): 2027-2037.
- [10] Song Y Y, Song C C, Yang G S, Miao Y Q, Wang J Y, Guo Y D. Changes in labile organic carbon fractions and soil enzyme activities after marshland reclamation and restoration in the Sanjiang Plain in Northeast China. Environmental Management, 2012, 50(3): 418-426.
- [11] Zaccone R, Boldrin A, Caruso G, Ferla R L. Enzymatic activities and prokaryotic abundance in relation to organic matter along a west—east Mediterranean transect (TRANSMED Cruise). Microbial Ecology, 2012, 64(1): 54-66.
- [12] 万忠梅, 宋长春. 三江平原小叶章湿地土壤酶活性的季节动态. 生态环境学报, 2010, 19(5): 1215-1220.
- [13] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京:农业出版社, 1986: 274-323.
- [14] 万忠梅,宋长春.小叶章湿地土壤酶活性分布特征及其与活性有机碳表征指标的关系.湿地科学,2008,6(2):249-256.
- [15] 王健波,李银生,邱江平,林琪,王秀红, Forest F, Boulakia S, Séguy L. 崇明岛典型土地利用方式对土壤有机碳和酶活性的影响. 生态环境学报, 2010, 19(8): 1850-1854.
- [16] 施建敏,马克明,赵景柱,王继丰.三江平原残存湿地斑块特征及其对物种多样性的影响.生态学报,2010,30(24):6683-6690.
- [17] 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, 228-233.
- [18] Wang J Y, Song C C, Hou A X, Miao Y Q, Yang G S, Zhang J. Effects of freezing—thawing cycle on peatland active organic carbon fractions and enzyme activities in the Da Xing'anling Mountains, Northeast China. Environmental Earth Sciences, 2014, 72(6): 1853-1860.
- [19] Matzner E, Borken W. Do freeze-thaw events enhance C and N losses from soils of different ecosystems? A review. European Journal of Soil Science, 2008, 59(2): 274-284.
- [20] Chaer G M, Myrold D D, Bottomley P J. A soil quality index based on the equilibrium between soil organic matter and biochemical properties of undisturbed coniferous forest soils of the Pacific Northwest. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(4): 822-830.
- [21] 赵光影,郭冬楠,江姗,邵宗仁. 冻融作用对小兴安岭典型湿地土壤活性有机碳的影响. 生态学报, 2017, 37(16): 5411-5417.
- [22] 周旺明,王金达,刘景双,秦胜金,王洋. 冻融对湿地土壤可溶性碳、氮和氮矿化的影响. 生态与农村环境学报, 2008, 24(3): 1-6.
- [23] Mailapalli D R, Wallender W W, Burger M, Horwath W R. Effects of field length and management practices on dissolved organic carbon export in furrow irrigation. Agricultural Water Management, 2010, 98(1): 29-37.
- [24] Herrmann A, Witter E. Sources of C and N contributing to the flush in mineralization upon freeze thaw cycles in soils. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(10): 1495-1505.
- [25] Wang J Y, Song C C, Wang X W, Song Y Y. Changes in labile soil organic carbon fractions in wetland ecosystems along a latitudinal gradient in Northeast China. Catena, 2012, 96: 83-89.
- [26] DeLuca T H, Keeney D R, McCarty G W. Effect of freeze-thaw events on mineralization of soil nitrogen. Biology and Fertility of Soils, 1992, 14 (2): 116-120.
- [27] Yergeau W, Kowalchuk G A. Responses of Antarctic soil microbial communities and associated functions to temperature and freeze-thaw cycle frequency. Environmental Microbiology, 2008, 10(9): 2223-2235.
- [28] 王风,韩晓增,李良皓,张克强. 冻融过程对黑土水稳性团聚体含量影响. 冰川冻土, 2009, 31(5): 915-919.
- [29] Schimel J P, Bilbrough C, Welker J M. Increased snow depth affects microbial activity and nitrogen mineralization in two Arctic tundra communities. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(2): 217-227.
- [30] Vallejo V E, Roldan F, Dick R P. Soil enzymatic activities and microbial biomass in an integrated agroforestry chronosequence compared to monoculture and a native forest of Colombia. Biology and Fertility of Soils, 2010, 46(6): 577-587.
- [31] 索南吉,谈嫣蓉,朱炜歆,顾振宽,杜国祯.青藏高原东缘不同草地类型土壤酶活性研究.草业学报, 2012, 21(4): 10-15.
- [32] Pelletier F, Prévost D, Laliberté G, Bochove E V. Seasonal response of denitrifiers to temperature in a Quebec cropped soil. Canadian Journal of Soil Science, 1999, 79(4): 551-556.