DOI: 10.5846/stxb202101290314

孙嘉鸿,郭彤,董彦民,王升忠,汪祖丞,徐志伟.冻融循环对金川泥炭沼泽土壤微生物量及群落结构的影响.生态学报,2022,42(7):2763-2773. Sun J H, Guo T, Dong Y M, Wang S Z, Wang Z C, Xu Z W.Effect of freezing and thawing on soil microbial biomass and community structure in Jinchuan peatlands. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(7):2763-2773.

冻融循环对金川泥炭沼泽土壤微生物量及群落结构的 影响

孙嘉鸿1,郭 形1,董彦民1,王升忠1,2,3,4,汪祖丞1,2,3,4,徐志伟1,2,3,4,*

1 东北师范大学地理科学学院,长白山地理过程与生态安全教育部重点实验室,长春 130024

2 东北师范大学泥炭沼泽研究所,长春 130024

3 东北师范大学长白山湿地与生态吉林省联合重点实验室,长春 130024

4 东北师范大学国家环境保护湿地生态与植被恢复重点实验室,长春 130024

摘要:冻融作用显著改变土壤微生物活性及碳氮循环过程。以长白山金川泥炭沼泽 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤为研究对象, 进行室内冻融交替模拟实验。实验设置两个冻融幅度(-10—10℃和-5—5℃)。经过 0/1/3/5/7/15 次冻融循环后,分别采用 氯仿熏蒸法和磷脂脂肪酸法测定泥炭沼泽土壤微生物量及磷脂脂肪酸含量,并与未进行冻融处理的 FTC(0)对比。实验结果 表明:冻融作用对土壤微生物量碳、氮及微生物磷脂脂肪酸含量有显著影响(P<0.001)。15 次冻融交替作用后,土壤微生物碳 (MBC)含量均显著增加,土壤微生物量氮(MBN)含量显著降低。两种冻融模式下,各类型微生物磷脂脂肪酸含量均显著降低。 冻融作用显著改变了泥炭沼泽土壤微生物群落结构。冻融作用降低了土壤真菌/细菌比值(-5—5℃,0—15 cm 土壤除外),增 加了革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌比值。-5—5℃ 冻融作用下,各土壤微生物磷脂脂肪酸含量变幅大于-10—10℃,土壤 MBC 的变化则与其相反,在-10—10℃变化幅度更大。两种冻融幅度下 MBC 与大部分微生物群落在 15—30 cm 土壤的变幅更大,这 说明冻融作用对不同深度土壤微生物量和微生物群落结构的影响存在差异。冻融次数对土壤微生物量和各类型磷脂脂肪酸含 量有显著影响(P<0.01)。相关性分析结果表明多种微生物磷脂脂肪酸含量与 MBN 含量呈正相关关系(P<0.01),与 DOC 含量 呈负相关关系(P<0.05)。综上,冻结作用促进了微生物的死亡,为融化期微生物生存提供更多碳源与营养物质,改变了土壤微 生物群落结构。冻融期间各类型微生物磷脂脂肪酸含量降低,可能会降低泥炭沼泽土壤碳汇能力。

关键词:冻融循环;室内模拟实验;泥炭沼泽;磷脂脂肪酸;土壤有机碳、氮

Effect of freezing and thawing on soil microbial biomass and community structure in Jinchuan peatlands

SUN Jiahong¹, GUO Tong¹, DONG Yanmin¹, WANG Shengzhong^{1,2,3,4}, WANG Zucheng^{1,2,3,4}, XU Zhiwei^{1,2,3,4,*}

1 Key Laboratory of Geographical Processes and Ecological Security of Changbai Mountains, Ministry of Education; School of Geographical Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

2 Institute for Peat and Mire Research, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

3 Jilin Provincial Key Laboratory for Wetland Ecological Processes and Environmental Change in the Changbai Mountains, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

4 Key Laboratory of Wetland Ecology and Vegetation Restoration of National Environmental Protection, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

Abstract: Freezing and thawing cycles (FTCs) significantly changed the soil microbial activity and carbon and nitrogen

收稿日期:2021-01-29; 网络出版日期:2021-12-15

基金项目:国家自然科学基金项目(32071599);中央高校基本科研业务费(2412019FZ001);国家重点研发计划项目(2016YFC0500407)

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: xuzw647@ nenu.edu.cn

cycling processes. A laboratory freezing-thawing stimulating experiment was conducted using 0-15 cm and 15-30 cm soil samples from Jinchuan peatland in Changbai Mountain. Two FTC amplitudes, namely, -10-10 °C and -5-5°C, were tested. Soil microbial biomass and phospholipid fatty acid (PLFA) concentrations were analyzed using chloroform fumigation method and phospholipid fatty acid method, respectively. Soil properties were analyzed after 0, 1, 3, 5, 7, and 15 cycles and compared with the properties of FTC (0). Results showed that freezing-thawing cycle had significant effects on soil microbial biomass carbon (MBC), microbial biomass nitrogen (MBN), and microbial phospholipid fatty acids (P<0.001). Soil microbial biomass carbon (MBC) increased significantly, but soil microbial biomass nitrogen (MBN) decreased compared with the FTC (0) after 15 FTCs. All groups of PLFAs concentrations dramatically decreased both in the -5-5 °C and -10-10 °C FTC amplitudes. The Freezing and thawing cycles significantly changed the soil microbial community structure with soil Fungi/Bacteria ratio decreasing (except -5-5 °C, 0-15 cm soil) but Gram-positive bacteria/Gramnegative bacteria ratio increasing after FTCs. The effect of FTCs on soil microbial PLFAs under FTC amplitude of -5-5 °C was greater than that under the FTC amplitude of −10—10 °C, but the opposite phenomenon was observed with respect to the effect of FTCs on MBC. The effect of FTCs on soil MBC and most groups of PLFAs were greater in the 15-30 cm than those in the 0-15 cm under the two FTC amplitudes. This indicated that the effect of FTCs on soil microbial biomass and microbial community varied with soil depth. The number of FTCs had a significant influence on soil microbial biomass and PLFAs (P<0.05). The results of correlation analysis showed that the different group of soil microbial PLFAs were positively correlated with the soil MBN concentrations (P < 0.01) but negatively with the dissolved organic carbon (DOC) (P < 0.05). In conclusion, freezing promotes the death of microorganisms and provides more carbon sources and nutrients for the survival of microorganisms in thawing period, which further changes the structure of soil microbial community. The decreasing of different groups of phospholipid fatty acids during freezing and thawing period may reduce the soil carbon sequestration capacity of peatland in this period.

Key Words: freeze-thaw cycle; laboratory stimulating experiment; peatlands; PLFAs; soil organic carbon and nitrogen

土壤的冻融作用作为土壤内部的重要物理过程,是全球中高纬度及高海拔地区普遍存在的自然现象。冻 融过程会改变土壤结构、破坏土壤和凋落物中微生物及动植物残体细胞,促进土壤底物和养分的释放^[1],是 影响土壤碳氮等元素生物地球化学过程的重要因素。全球变暖将会导致土壤的冻融频率变化^[2]、冻融强度 改变^[3]和冻融时间缩短^[4],这必将会引起土壤微生物及其参与的土壤碳、氮循环过程的变化^[5]。因此,冻融 作用对土壤微生物的影响已经成为全球关注的热点问题^[6-7]。

土壤微生物是生态系统中的重要生物组分,在土壤有机质分解、矿化及营养元素循环等方面发挥着重要作用^[8-9],并对环境变化十分敏感^[10]。土壤微生物量碳、氮(MBC 和 MBN)表征土壤中所有活体微生物中碳和氮的总量,是反映微生物量大小的重要指标^[11]。磷脂脂肪酸(PLFA)是生物活细胞的重要膜组分的构成成分,随着微生物死亡而迅速分解,用以表征活体微生物,并可以提供微生物群落结构和组成的信息。研究表明,随着冻融次数的增加,土壤微生物碳、氮含量呈现降低、先降低后升高或者先升高后降低的变化趋势^[12-15]。同时,冻融作用通过致死作用或者降低可溶性养分含量来改变土壤微生物群落结构^[16-18]。微生物死亡后细胞破裂释放出有机质为存活微生物提供碳源与能量^[19-20],适应冻融环境的微生物群占据群落的优势地位,微生物群落结构随即改变。然而,有关冻融作用对土壤微生物的影响更多的集中在对土壤 MBC、MBN 的影响,且不同冻融作用对不同土层的 MBC、MBN 的影响存在差异,并较少关注冻融循环过程中土壤不同类型微生物群落数量及结构的变化。因此,冻融过程对土壤微生物群落的变化机制尚不明确。

尽管泥炭地占地面积不到陆地表面积的 3%,但其碳储量却占全球土壤碳储量的 1/3^[21-22],是陆地生态 系统最重要的碳库之一。随着全球变暖,季节性冻土区冻融过程的改变对势必会对泥炭沼泽土壤碳循环过程 有重要影响。长白山地位于东北及华北北部温带中-深季节冻土亚区,是我国泥炭沼泽最主要的分布区之一, 冻融作用频繁。本文以金川泥炭沼泽为研究对象,由于不同深度土壤受冻融的影响不同,分别在采样地采集 表层(0—15 cm)和深层(15—30 cm)的土壤样品,通过室内冻融模拟实验,测定土壤微生物碳、氮含量及磷脂 脂肪酸含量,揭示不同冻融模式下泥炭沼泽土壤微生物量及微生物群落结构的变化特征,以其为全球气候变 化背景下泥炭沼泽冻融过程中碳循环的微生物机制研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

金川泥炭沼泽(42°20′42.58″N—42°21′9.27″ N,126°21′48.61″E—126°22′37.74″E)位于吉林省通化市辉南 县金川镇,是第四纪火山口湖发育的泥炭地,海拔为 613—616 m。金川泥炭沼泽的泥炭层厚度一般为 4— 6 m,最厚可达 9 m。该区属于温带大陆性季风气候区,年平均气温为 3.3℃,7 月最高平均气温 22.4℃,1 月最 低平均气温-18℃。初霜期在 9 月中旬,中霜在 5 月下旬,年降水量为 1054 mm。泥炭地为季节性积水,积水 约为 10 cm,降水集中在 7—8 月,无霜期约为 134 d,气候湿冷。泥炭沼泽内主要植物群落类型为臌囊薹草群 落和油桦群落,臌囊薹草群落居中且大面积分布,油桦群落分布在外缘^[23—24]。

1.2 样品采集与处理

在金川泥炭沼泽中心部位设置 3 个间隔 50 m 的 5 m×5 m 样方采样点,采用多点混合法于 2019 年 1 月份 利用直径为 15 cm 的泥炭钻(冰芯钻),在每个样方随机取 5 个点,共采集 15 钻,采集土壤深度为 30 cm。将 采集好的土壤分为 0—15 cm 和 15—30 cm 两层,分别装入自封袋,尽快带回实验室并放 4℃冷藏保存。培养 实验前,去除土壤中的杂草和植物根系,并分别将两个土层的样品混合均匀,4℃冷藏备用。另取一部分土壤 自然风干后,研磨过筛后用于土壤理化性质的测定,土壤理化性质见表 1。

	Table 1 The basic physicochemical properties of the soils with different depths								
土层/cm Soil layer	酸碱度 pH	含水率/% Soil water content	土壤有机碳/(g/kg) Soil organic carbon	全氮/(g/kg) Total nitrogen	全磷/(g/kg) Total phosphorus				
0—15	5.17±0.02	78.1±0.01	303.25±8.12	16.64±1.14	0.81±0.06				
15—30	4.94 ± 0.01	80.0 ± 0.01	317.36±11.06	18.38 ± 0.60	0.77 ± 0.03				

表1 土壤基本理化性质

1.3 实验设计

称取 50 g(相当于风干土重)混合均匀的土壤样品置于 500 mL 玻璃培养瓶中,根据野外实际含水量情况 用去离子水调节所有土壤样品含水量为最大持水量的 60%,并将全部土壤样品在室温(20℃)下预培养 1 周, 定期称重并补充损失的水分。预配养使微生物从低温环境苏醒,在冻融培养实验前保持较为稳定的状态,虽 然微生物会因此发生改变,但土壤样品经过一致处理后排除其他干扰变量,主要观测冻融作用对微生物的数 量及群落结构的影响。结合金川泥炭沼泽冻融期间实际情况,设置-5—5℃与-10—10℃两个冻融幅度, -10℃接近采样地冬季的平均气温,-5℃则是依据全球变暖的大背景下温度升高设定的。-5—5℃与-10— 10℃即把土壤样品分别放入-5℃和-10℃低温培养箱中培养 24 h,再分别调节温度为 5℃和 10℃使其融化 24 h,作为一次冻融循环。本实验设置 15 次冻融循环,共培养 30 天。培养过程中,分别在冻融循环的第 0、1、3、 5、7、15 次后取出培养瓶,测定土壤磷脂脂肪酸含量、土壤微生物碳、氮(MBC 和 MBN)、土壤可溶性有机碳、氮 (DOC 和 DON)。将经过 1、3、5、7、15 次冻融循环处理后的土壤活性有机碳、氮和不同类型磷脂脂肪酸含量与 未经过冻融处理的 FTC(0)对比。

1.4 磷脂脂肪酸及活性有机碳、氮组分测定

土壤微生物群落的测定采用磷脂脂肪酸法,将相当于4g干重的土壤分别加入3.0 mL磷酸缓冲液、6.0 mL氯仿、12 mL甲醇,避光震荡2h,在3000 r/min下离心10 min,转移上清液到装有12 mL三氯甲烷,12 mL 磷酸缓冲液的分液漏斗中,再向土壤中加入相同体积的磷酸缓冲液、氯仿和甲醇溶液,手工摇动并震荡30

42 卷

氢氧化钾,摇匀,37℃水浴加热 15 min(水浴锅中),最后用正己烷萃取,收集正己烷相并吹干。运用美国 MIDI 公司研发的 Sherlock MIS 4.5 全自动系统鉴定微生物细胞中磷脂脂肪酸成分,根据其分子结构划分为不同微 生物类群并进行定量分析。将 15:0、17:0、i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、16:1ω7c、cy17:0、cy19:0 表征为细菌; i15:0, a15:0, i16:0, i17:0 表征为革兰氏阴性菌;16:1ω7c, cy17:0, cy19:0 表征为革兰氏阳性菌;18:1ω9c, 18:2ω6 表征为真菌;10Me16:0, 10Me18:0 表征为放线菌^[25-33]。

土壤 MBC 与 MBN 采用改进的氯仿熏蒸 K₂SO₄浸提法测定^[34-35]。取 10 g 土壤样品用三氯甲烷熏蒸 24 h,用 0.5 mol/L 的 K₂SO₄浸提熏蒸和未熏蒸的样品约 30 min,应用 MultiN/C 2100 TOC 仪碳模块测定浸提液总 有机碳浓度,氮模块测定浸提液总有机氮浓度。使用以下公式进行 MBC 与 MBN^[36-37]的计算:

MBC = Ec/0.45

MBN = En/0.54

式中,MBC为微生物量碳,MBN为微生物量氮,单位均为 mg/kg。Ec 为熏蒸与未熏蒸样品浸提液测定出的有机碳差值,En 为熏蒸与未熏蒸样品浸提液测定出的有机氮差值。0.45 为微生物量碳熏蒸提取法的转换系数, 0.54 为微生物量氮的转化系数。

土壤 DOC 与 DON 测定:称1g新鲜土壤置于离心管中,加50 mL 去离子水,常温下振荡浸提5h,用高速 离心机以8000 r/min 离心5 min,上清液过0.45 μm 滤膜用 Multi N/C 2100 TOC 仪(德国耶拿)测定^[38]。 **1.5** 统计分析

采用双因素方差分析法,分析不同深度下,冻融幅度和冻融次数主效应及交互效应对土壤磷脂脂肪酸含量、微生物量碳、氮含量的影响。采用 Pearson 相关分析法,分析土壤磷脂脂肪酸含量与土壤活性有机碳氮组分的关系。双因素方差分析及相关分析利用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 软件进行,并利用 Origin 2019 软件绘图。

2 结果

2.1 土壤微生物碳、氮含量的变化

双因素方差分析结果表明, 冻融次数和冻融幅度及其交互作用对土壤 MBC 含量有显著影响(*P*<0.0001), 而只有冻融次数对 15—30 cm 土壤 MBN 含量有显著影响(*P*<0.001)(表 2)。-5—5℃冻融模式下, 随着冻融次数的增加, 土壤 MBC 含量表现为逐渐增加(图 1)。-5—5℃冻融作用下 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量分别在 15 次冻融循环后达到了最大值,分别为 4362.4 mg/kg 和 2804.44 mg/kg; -10—10℃冻 融作用下,0—15 cm 土壤 MBC 含量在 7 次冻融循环后达到了最大值 16978.1 mg/kg, 15—30 cm 土壤 MBC 含量在 7 次冻融循环后达到了最大值 8096.6 mg/kg。与冻融前相比, 在-5—5℃冻融作用下 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量分别增加了 80.2%、100.6%; -10—10℃冻融作 用下,0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量分别增加了 4.3 倍和 4.8 倍。两种冻融模式对土壤 MBC 的影响 表现为-10—10℃>-5—5℃, 15—30 cm>0—15 cm。

两种冻融模式下,随冻融次数的增加,0—15 cm 土壤 MBN 表现为先增加后降低的变化趋势,而 15—30 cm 土壤 MBN 则表现为先降低后增加的变化趋势。-5—5℃冻融模式下,15 次冻融循环后,0—15 cm 土壤 MBN 含量与冻融前相比无明显变化(图 1);而-10—10℃冻融模式下,0—15 cm 土壤 MBN 7 次冻融循环后达 到最大值 199.6 mg/kg,随后降低,15 次冻融结束后土壤 MBN 为 58.86 mg/kg,与冻融前相比 0—15 cm 土壤 MBN 含量降低了 63%(图 1)。-5—5℃和-10—10℃冻融作用下,15—30 cm 土壤 MBN 在冻融循环结束后分

别减少了 60.6% 和 54.4%。

表 2 冻融幅度和冻融次数对土壤不同类型磷脂脂肪酸含量和微生物碳、氮含量影响的方差分析

Table 2 The effects of freeze-thaw amplitude and freeze-thaw frequency on the phospholipid fatty acid concentrations and microbial biomass carbon and nitrogen

土层/cm Soil layer	冻融模式 Freezing and thawing mode	微生物量碳 MBC Microbial biomass carbon	微生物量氮 MBN Microbial biomass nitrogen	总磷脂 脂肪酸 总 PLFAs Total phospholipid fatty acid	革兰氏 阳性菌 G ⁺ Gram-positive bacteria	革兰氏 阴性菌 G ⁻ Gram-negative bacteria	细菌 B Bacteria	真菌 F Fungi	放线菌 Actinomyces	革兰氏 阳性菌/ 革兰氏阴性 菌 G ⁺ /G ⁻	真菌/ 细菌 F/B
0—15	冻融幅度	0.00 **	0.19	0.10	0.17	0.11	0.84	0.04 *	0.00 **	0.00 **	0.00 **
	冻融次数	0.00 **	0.07	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.02 *	0.00 **
	冻融幅度 * 冻融次数	0.00 **	0.22	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.01 **	0.00 **	0.00 **
15—30	冻融幅度	0.00 **	0.12	0.00 **	0.67	0.00 **	0.02 *	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **
	冻融次数	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 *	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **
	冻融幅度 * 冻融次数	0.00 **	0.69	0.00 * *	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 * *	0.00 **

* P<0.05 为显著影响, ** P<0.01 为极显著影响



图 1 -5--5℃和-10-10℃处理下不同冻融次数土壤微生物碳、氮含量变化

2.2 土壤磷脂脂肪酸含量的变化

冻融幅度对 0—15 cm 土壤总 PLFAs 及细菌、G⁺、G⁻PLFAs 含量无显著影响,而冻融幅度、冻融次数及二 者的交互作用对 0—15 cm 土壤真菌、放线菌、F/B、G⁺/G⁻及 15—30 cm 土壤不同类型 PLFAs 含量均具有显著 影响(P<0.05)(表 2)。-5—5℃冻融作用下,0—15 cm 和 15—30 cm 土壤各类型 PLFAs 含量在冻融循环初期 (前 3 次冻融循环)无显著变化,但随后逐渐降低(图 2,图 3)。15 次冻融循环后,与冻融前相比,0—15 cm 土

Fig.1 Variations in the microbial biomass carbon and nitrogen concentrations under different freezing-thawing times in $-5-5^{\circ}$ and $-10-10^{\circ}$

壤总 PLFAs、细菌、真菌、放线菌、G⁺、G⁻PLFAs 分别降低了 57.8%、56.7%、60.6%、58.6%、53.8%、58.9%, 而 15—30 cm 土壤中上述各类型 PLFAs 含量分别降低了 79%、86.5%、56.6%、72.8%、93.5%、75.8%。两种土层 土壤微生物 PLFAs 含量对-5—5℃冻融作用的响应表现为 15—30 cm>0—15 cm。

-10—10℃冻融作用下, 土壤各类型 PLFAs 含量呈现先降低后增加的变化趋势, 但仍低于冻融前的 PLFAs 含量(图2,图3)。-10—10℃冻融作用下, 与冻融前相比,0—15 cm 土壤中总 PLFAs、细菌、真菌、放线 菌、G⁺、G⁻PLFAs 分别减少了 50.4%、39.8%、46.1%、100%、34.4%、44.6%, 而 15—30 cm 土壤中上述各类型 PLFAs 含量分别降低了 75%、39.7%、40.4%、62.6%、36.1%、44.6%。综上, 两种冻融幅度对土壤各类型 PLFAs 含量的影响表现为-5—5℃>-10—10℃。不同土层土壤 PLFAs 含量对-10—10℃冻融作用的响应因微生物 类型而异, 总 PLFAs 表现为 0—15 cm<15—30 cm, 而真菌和放线菌 PLFAs 表现为 0—15 cm>15—30 cm。



图 2 -5--5℃和-10-10℃处理下不同冻融次数土壤各类型磷脂脂肪酸含量变化 Fig.2 Variations in the different groups of PLFAs concentrations under different freezing-thaving times in -5--5℃ and -10--10℃

冻融幅度、冻融次数及二者的交互作用对土壤真菌/细菌比(F/B)及革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌比 (G⁺/G⁻)均具有显著影响(P<0.01)(表2)。-5—5℃冻融初期(3次冻融循环)土壤F/B无显著变化,并在5 次冻融循环后达到最大值,随后降低;15—30 cm 土壤F/B则在5次冻融循环作用后逐渐增加。(见图4) -5—5℃冻融循环结束后,0—15 cm 土壤F/B减少了9.3%,15—30 cm 土壤F/B增加了1.26倍。在-10— 10℃冻融作用下,0—15 cm 与15—30 cm 土壤F/B变化幅度相对较小,冻融结束后分别减少了11.4%和 1.9%。

-5—5℃冻融作用下,0—15 cm 土壤 G⁺/G⁻表现为先降低后增加的变化趋势,15—30 cm 土壤 G⁺/G⁻在冻 融初期无显著变化,5 次冻融循环后显著降低;0—15 cm 增加了 18.2%,而 15—30 cm 土壤减少了 73.4%。-10—10℃冻融作用下,0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 G⁺/G⁻分别增加了 24.4%和 17.2%。

2.3 土壤微生物磷脂脂肪酸与土壤活性有机碳氮组分的关系

土壤各类型磷脂脂肪酸含量与土壤微生物碳、氮及可溶性有机碳、氮的相关分析结果显示,土壤 MBN 含量与土壤总 PLFAs、G⁺、G⁻、细菌、真菌、放线菌 PLFAs 含量呈显著正相关关系(P<0.01),而与土壤 G⁺/G⁻呈显



图 3 -5-5 C和-10-10 C处理下不同冻融次数工壤单二C内性困种单三C内性困碎脑脑的酸含重变化 Fig.3 Variations in the gram positive and negative bacterial PLFAs concentrations under different freezing-thawing times in -5-5℃ and -10-10℃

著负相关(P<0.05)。土壤 MBC 含量与土壤 G⁺含量呈显著正相关,而与放线菌含量呈显著负相关关系(P<0.01)。土壤总 PLFAs、G⁺、G⁻、细菌、真菌、放线菌 PLFAs 含量与土壤 DOC 呈显著负相关关系,但与土壤 DON 含量无显著相关关系(表 3)。

微生物群茨和碳氮组合之间的相关性

农5 版工物研查和顾负组分之间的相关性								
Table3 Correlation between microbial community and carbon and nitrogen components								
	微生物量碳 MBC Microbial biomass carbon	微生物量氮 MBN Microbial biomass nitrogen	可溶性有机碳 DOC Dissolved organic carbon	可溶性有机氮 DON Dissolved organic nitrogen				
总磷脂脂肪酸总 PLFAs Total phospholipid fatty acid	-0.16	0.66 **	-0.37 *	-0.17				
革兰氏阳性菌 G ⁺ Gram-positive bacteria	0.78 **	0.53 **	-0.31 *	-0.15				
革兰氏阴性菌 G ⁻ Gram-negative bacteria	0.05	0.69 **	-0.38 **	-0.16				
细菌 B Bacteria	0.06	0.63 **	-0.36 *	-0.16				
真菌 F Fungi	0.06	0.69 **	-0.37 **	-0.14				
放线菌 Actinomyces	-0.37 **	0.60 **	-0.31 *	-0.19				
革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌 G ⁺ /G ⁻	0.10	-0.31 *	0.24	0.18				
真菌/细菌 F/B	-0.13	0.00	-0.02	-0.09				

*表示在 0.05 水平显著相关, **表示在 0.01 水平显著相关

3 讨论

3.1 冻融作用对土壤微生物碳、氮的影响

冻融作用对土壤 MBC 和 MBN 含量的影响在不同生态系统和不同土层之间存在差异。本研究中,两种不同冻融强度下泥炭沼泽土壤 MBC 含量在 15 次冻融结束后均较冻融前显著增加,与李龙对长白山森林土壤的



图 4 -5--5℃和-10-10℃处理下不同冻融次数土壤真菌/细菌和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌含量变化 Fig.4 Variations in the fungi/bacteria and gram positive/gram negative bacteria ratios under different freezing-thawing times in -5--5℃ and -10--10℃

研究结果一致^[39]。随着冻融次数的增加,土壤 MBC 含量变化趋势是先增加后降低,这与任伊滨对小兴安岭 湿地研究结果相同^[15]。通过 PLFA 数据也可以看出,在短期冻融时间内微生物对冻融作用的响应不敏感,微 生物数量基本保持稳定,说明微生物在此阶段受冻融作用的影响较小,活性较强。冻融作用将土壤中的大团 聚体打碎成小团聚体,这一过程中土壤有机质得以释放,此时微生物利用周围环境中积累的有机物,使得土壤 MBC 在短期冻融时间内含量逐渐上升。随冻融次数的增加,在5次冻融作用结束后,微生物群落数量减少, 但 MBC 含量仍然增加说明虽然有部分微生物死亡,但死亡的微生物释放出的有机质为存活微生物提供了营 养物质^[19—20]。然而,土壤 MBC 含量的增加并不是无限制的,在-10—10℃冻融作用下,7 次冻融循环 MBC 含 量达到了最大值,随后降低,这与在森林生态系统的研究结果相同^[40-41]。土壤 MBC 降低的原因可能是随时 间增加死亡细胞的有机质及团聚体破碎后的有机质不足以维持存活细胞的生命活动,经过7次大幅度的冻融 循环后,得不到营养供给的部分细胞死亡。研究结果与预想的 MBC 含量受冻融作用影响会降低正好相反,原 因可能是微生物对冻融环境的适应性较强,主要因为采样时间及采样点的气候条件存在差异。本研究研究区 属季节性冻土区,土壤样品为2019年1月底采集,采样时土壤平均温度为-7.3℃,土壤经过冬季的冻结作用, 不能适应低温的土壤微生物大部分死亡,耐低温的土壤微生物在秋季冻融后微生物抗寒性较强可以生存^[42]。 这也可以解释为什么 MBC 含量在-5—5℃一直增加,在-10—10℃的7次冻融作用后下降。-10—10℃冻融 作用下对 MBC 含量的变幅的影响也大于-5--5℃,因为温度变化幅度增大,死亡微生物细胞释放出的有机质 对存活微生物的刺激作用也就越强,MBC 含量变幅较大。徐俊俊对青藏高原高寒草甸土壤的研究发现冻融 作用使 MBN 含量先降低后增加^[14],而本研究中的两种冻融模式下,15 次冻融作用后,与冻融作用前相比土 壤 MBN 含量降低。0—15 cm 土壤 MBN 变化趋势为先增加后降低,可能是因为冻融交替过程使土壤中的有 机质释放出来,激发部分酶的活性,促进微生物对氮的固持作用,使土壤中微生物量氮含量有所增加[43-44]。 15—30 cm 土壤 MBN 含量变化为先降低后增加,这是因为野外环境中深层土壤受冻融交替的影响小,在培养 实验中更易受冻融作用影响而死亡。15 次冻融结束后 MBN 含量均显著降低(-5--5℃,0-15 cm 土壤除

外),这可能是氮在土壤中不稳定极易发生矿化作用,冻融循环有利于土壤矿质氮的增加^[19],且长期的冻融循 环不利于微生物对无机氮的固持^[45]。

3.2 冻融作用对土壤微生物磷脂脂肪酸的影响

两种冻融模式下,各类型微生物 PLFAs 含量均显著降低。不同幅度的冻融作用对微生物群落结构及数量的影响不同。研究表明大幅度冻融作用可显著降低微生物数量,促进更多的可溶性有机碳的释放^[46],而相对较小幅度的冻融作用可以杀死更少的土壤微生物^[47-48],本研究中,-5—5℃冻融作用下,各土壤微生物PLFAs 含量变幅大于-10—10℃的冻融作用(放线菌除外),这与本研究中土壤 DOC 含量经 15 次冻融循环显著增加(表 4)的研究结果相一致。土壤营养物质供应不足使微生物难以维持自身代谢和存活^[49],-5—5℃冻融循环后期营养物质供应低于-10—10℃,这可以从土壤 MBC 含量变幅进一步证明。冻融作用对不同土层的土壤微生物 PLFAs 含量的影响也存在差异。由于泥炭沼泽表层土壤在野外条件下受冻融作用的影响更为频繁,土壤微生物产生适应性,对室内冻融交替作用并不敏感。因此,两种冻融作用下,土壤微生物 PLFAs 含量的变化幅度表现为 0—15 cm<15—30 cm。

表 4 -5--5℃和-10--10℃处理下不同冻融次数土壤可溶性有机碳、氮含量变化

Table 4 Variations in the soil dissolved organic carbon and nitrogen concentrations under different freeze-thawing times in -5--5℃ and -10--10℃

冻融幅度 Amplitude of freezing and thawing/℃	变量 Variable/ (mg/kg)	土层 Soil - layer/cm	冻融次数 Number of freezing and thawing							
			0	1	3	5	7	15		
-5-5	DOC	0-15	178.17±20.88	209.06±33.91	133.48±16.05	127.71±8.51	227.78±5.92	219.75±5.23		
		15-30	217.6±29.68	266.11±10.51	224.3±11.17	173.28±0.20	180.53±13.18	430.04±82.1		
	DON	0-15	20.78±3.1	27.48±12.14	16.56±2.13	13.634±1.55	38.98±8.41	28.57±6.17		
		15-30	27.17±1.68	40.76±1.96	14.57±0.1	14.6±1.24	31.99±9.34	29.3±3.91		
-10-10	DOC	0-15	178.17±3.1	180.52±3.43	293.8±6.17	245.04 ± 7.90	195.3±0.99	110.36±8.19		
		15-30	217.6±29.68	230.61±12.68	519.10 ± 10.53	418.07±5.99	331.33±2.94	234.82±60.25		
	DON	0-15	20.77±3.1	10.19±3.43	39.96±6.17	34.73 ± 7.90	26.9±0.99	29.72±9.35		
		15-30	27.17±1.68	27.94±12.68	83.62±10.53	45.45±5.99	39.51±2.94	19.88±2.94		

DOC:可溶性有机碳 dissolved organic carbon; DON:可溶性有机氮 dissolved organic nitrogen

本研究中,-5→5℃,0—15 cm 土壤 F/B 先增加后降低,而 15—30 cm 土壤 F/B 在冻融结束后显著增加, 表明冻融作用显著改变了土壤微生物群落结构。细菌和真菌在环境中有着不同生长策略以及生态位,因此他 们对冻融交替作用的响应可能不同^[50]。冻融期土壤水分相对缺乏限制了细菌生长,而真菌菌丝体能利用土 壤周围吸附的未动水以保持自身生理代谢活性,对于恶劣环境的适应能力及在物质和能量的积累效率方面, 真菌明显优于细菌^[51]。有研究发现冻融交替后的微生物群落优势种从细菌逐渐转向真菌^[52]。相对于细菌, 真菌对低温的抗性更强,随着冻融交替作用的进行,土壤 F/B 呈增加趋势^[53],这与本文研究结果一致。真菌 比细菌的碳存储能力高,土壤 F/B 比的增加表明随着冻融交替的进行,土壤有机质的分解过程可能会减 缓^[54]。本研究中-10—10℃冻融作用增加了土壤 G⁺/G⁻比。土壤 G⁺对环境胁迫的适应力相对较强^[55],能够 更好地适应冻融交替环境,成为优势群落。然而,-5—5℃冻融作用下 15—30 cm 土壤 G⁺/G⁻比在冻融后期下 降,其原因有待进一步解释。

微生物群落结构主要受土壤物理性质(水分和导电率)和化学性质(pH和土壤溶解有机碳)的影响^[50]。 土壤 MBN 含量与土壤微生物群落呈显著正相关关系,可以通过 MBN 含量与微生物细胞壁组成成分氨基糖呈 负相关进一步证实^[44]。冻融作用通过破坏微生物细胞壁降低微生物数量使土壤氮素释放,氮素的释放又加 剧了氮的矿化作用,微生物量氮与微生物群落的数量随之降低。Ren 等人^[42]通过冗余分析发现微生物群落 与 DOC 之间存在着显著相关性。秋季冻融可能通过土壤微生物的分解促进 DOC 的释放,这与 Haei 等人^[3] 研究一致,研究表明土壤细菌生长速率与 DOC 含量呈负相关。本研究发现真菌、细菌、放线菌与 DOC 呈显著 负相关。这可能是冻融交替导致一部分微生物死亡并分解,从而释放出一些小分子有机质,增加了土壤 DOC 含量。

4 结论

(1)15次冻融交替作用后,两种冻融幅度下土壤微生物碳(MBC)含量均显著增加;而土壤微生物量氮(MBN)含量、各类型微生物磷脂脂肪酸含量均显著降低。冻融作用增加了土壤 F/B 比值。

(2)根据15次冻融结束后结果,不同冻融模式对土壤磷脂脂肪酸含量的影响表现为-5—5℃>-10— 10℃,而对土壤 MBC 的影响则表现为-10—10℃>-5—5℃。两种冻融模式对不同土层微生物量碳与大部分 微生物磷脂脂肪酸的影响均表现为15—30 cm>0—15 cm。

(3)多种微生物磷脂脂肪酸含量与 MBN 含量呈正相关关系,与 DOC 含量呈负相关关系,表明冻融作用下,土壤微生物的死亡增加了土壤可溶性有机碳的含量。

参考文献(References):

- [1] Groffman P M, Driscoll C T, Fahey T J, Hardy J P, Fitzhugh R D, Tierney G L. Effects of mild winter freezing on soil nitrogen and carbon dynamics in a northern hardwood forest. Biogeochemistry, 2001, 56(2): 191-213.
- [2] 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.
- [3] Haei M, Rousk J, Ilstedt U, Öquist M, Bååth E, Laudon H. Effects of soil frost on growth, composition and respiration of the soil microbial decomposer community. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(10): 2069-2077.
- [4] Yang M, Nelson F E, Shiklomanov N I, Guo D L, Wan G N. Permafrost degradation and its environmental effects on the Tibetan Plateau: a review of recent research. Earth-Science Reviews, 2010, 103(1/2): 31-44.
- [5] Song Y, Zou Y C, Wang G P, Yu X F. Altered soil carbon and nitrogen cycles due to the freeze-thaw effect: a meta-analysis. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 109: 35-49.
- [6] Christiansen C T, Svendsen S H, Schmidt N M, Michelsen A. High arctic heath soil respiration and biogeochemical dynamics during summer and autumn freeze-in-effects of long-term enhanced water and nutrient supply. Global Change Biology, 2012, 18(10): 3224-3236.
- [7] Song C C, Xu X F, Sun X X, Tian H Q, Sun L, Miao Y Q, Wang X W, Guo Y D. Large methane emission upon spring thaw from natural wetlands in the northern permafrost region. Environmental Research Letters, 2012, 7(3): 034009.
- [8] Ruan H H, Zou X M, Scatena F N, Zimmerman J K. Asynchronous fluctuation of soil microbial biomass and plant litterfall in a tropical wet forest. Plant and Soil, 2004, 260(1/2): 147-154.
- [9] 杨桂生, 宋长春, 万忠梅, 宋艳宇. 三江平原小叶章湿地土壤微生物活性特征研究. 环境科学学报, 2010, 30(8): 1715-1721.
- [10] 欧伟,李琪,梁文举,姜勇,闻大中.不同水分管理方式对稻田土壤生物学特性的影响. 生态学杂志, 2004, 23(5): 53-56.
- [11] 吴金水,林启美,黄巧云,肖和艾.土壤微生物生物量测定方法及其应用.北京:气象出版社,2006:54-61.
- [12] 王娇月. 冻融作用对大兴安岭多年冻土区泥炭地土壤有机碳的影响研究[D]. 长春: 中国科学院研究生院(东北地理与农业生态研究 所), 2014.
- [13] 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): 7938-7949.
- [14] 徐俊俊,吴彦,张新全,吴宁,石福孙,刘琳. 冻融交替对高寒草甸土壤微生物量氮和有机氮组分的影响. 应用与环境生物学报, 2011, 17(1): 57-62.
- [15] 任伊滨,任南琪,李志强.冻融对小兴安岭湿地土壤微生物碳、氮和氮转换的影响.哈尔滨工程大学学报,2013,34(4):530-535.
- [16] 王丽芹,齐玉春,董云社,彭琴,郭树芳,贺云龙,闫钟清. 冻融作用对陆地生态系统氮循环关键过程的影响效应及其机制. 应用生态学报, 2015, 26(11): 3532-3544.
- [17] Grogan P, Michelsen A, Ambus P, Jonasson S. Freeze-thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(4); 641-654.
- [18] 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.
- [19] Nielsen C B, Groffman P M, Hamburg S P, Driscoll C T, Fahey T J, Hardy J P. Freezing effects on carbon and nitrogen cycling in northern hardwood forest Soils. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65(6): 1723-1730.
- [20] 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.
- [21] Bridgham S D, Megonigal P J, Keller J K, Bliss N B, Trettin C. The carbon balance of North American wetlands. Wetlands, 2006, 26(4): 889-916.
- [22] Limpens J, Berendse F, Blodau C, Canadell J G, Freeman C, Holden J, Roulet N, Rydin H, Schaepman-Strub G. Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications-a synthesis. Biogeosciences, 2008, 5(5): 1475-1491.

2773

- [23] 王杰, 王升忠. 长白山区泥炭沼泽植物多样性研究. 湿地科学, 2005, 3(2): 121-126.
- [24] 谭凤飞.金川湿地泥炭属性对其水动力参数的影响研究[D].长春:东北师范大学, 2012.
- [25] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22(1/2): 59-65.
- [26] Kulmatiski A, Beard K H. Long-term plant growth legacies overwhelm short-term plant growth effects on soil microbial community structure. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(4): 823-830.
- [27] Zelles L. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. Chemosphere, 1997, 35(1/2): 275-294.
- [28] Zogg G P, Zak D P, Ringelberg D B, White D C, MacDonald N W, Pregitzer K S. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. Soil Science Society of America Journal, 1997, 61(2): 475-481.
- [29] Frostegård Å, Bååth E, Tunlio A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. Soil Biology and Biochemistry, 1993, 25(6): 723-730.
- [30] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid Fatty Acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3605-3617.
- [31] Tunlid A, Hoitink H A J, Low C, White D C. Characterization of bacteria that suppress *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media by analysis of Fatty Acid biomarkers. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(6): 1368-1374.
- [32] Mutabaruka R, Hairiah K, Cadisch G. Microbial degradation of hydrolysable and condensed tannin polyphenol-protein complexes in soils from different land-use histories. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(7): 1479-1492.
- [33] Kaur A, Chaudhary A, Kaur A, Choudhary R, Kaushik R. Phospholipid fatty acid-a bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. Current Science, 2005, 89(7): 1103-1112.
- [34] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19 (6): 703-707.
- [35] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(6): 837-842.
- [36] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术. 北京: 科学出版社, 2006: 5-6.
- [37] 鲁如坤. 土壤农化分析. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [38] Zhang J B, Song C C, Yang W Y. Land use effects on the distribution of labile organic carbon fractions through soil profiles. Soil Science Society of America, 2006, 70(2): 660-667.
- [39] 李龙,辛贵民,杜彦梅,朱国君,尹航,高珊,傅民杰.季节性冻融对2种温带森林土壤微生物量碳和氮的影响.土壤通报,2019,50 (3):625-631.
- [40] 鲁博权, 臧淑英, 孙丽. 冻融作用对大兴安岭典型森林土壤活性有机碳和氮矿化的影响. 环境科学学报, 2019, 39(5): 1664-1672.
- [41] 高珊, 尹航, 傅民杰, 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): 7859-7869.
- [42] Ren J S, Song C C, Hou A X, Song Y Y, Zhu X Y, Caglec G A. Shifts in soil bacterial and archaeal communities during freeze-thaw cycles in a seasonal frozen marsh, Northeast China. Science of the Total Environment, 2018, 625; 782-791.
- [43] 蔡延江, 王小丹, 丁维新, 鄢燕, 鲁旭阳, 杜子银. 冻融对土壤氮素转化和 N₂O 排放的影响研究进展. 土壤学报, 2013, 50(5): 1032-1042.
- [44] Christensen S, Christensen B T. Organic matter available for denitrification in different soil fractions: effect of freeze/thaw cycles and straw disposal. European Journal of Soil Science, 1991, 42(4): 637-647.
- [45] 徐欢,王芳芳,李婷,伍星.冻融交替对土壤氮素循环关键过程的影响与机制研究进展.生态学报,2020,40(10):3168-3182.
- [46] Soina V S, Mulyukin A L, Demkina E V, Vorobyova E A, El-Registan G I. The structure of resting bacterial populations in soil and subsoil permafrost. Astrobiology, 2004, 4(3): 345-358.
- [47] 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.
- [48] 赵满兴,周建斌,陈竹君,杨绒.有机肥中可溶性有机碳、氮含量及其特性.生态学报,2007,27(1):397-403.
- [49] Price P B, Sowers T. Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, maintenance, and survival. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(13): 4631-4636.
- [50] Han Z M, Deng M W, Yuan A Q, Wang J H, Li H, Ma J C. Vertical variation of a black soil's properties in response to freeze-thaw cycles and its links to shift of microbial community structure. Science of the Total Environment, 2018, 625; 106-113.
- [51] 王怀玉,杨万勤.季节性冻融对亚高山冷杉林土壤微生物数量的影响.林业科学,2012,48(5):88-94.
- [52] Lipson D A, Schadt C W, Schmidt S K. Changes in soil microbial community structure and function in an alpine dry meadow following spring snow melt. Microbial Ecology, 2002, 43(3): 307-314.
- [53] 吕欣欣,孙海岩,汪景宽,丁雪丽. 冻融交替对土壤氮素转化及相关微生物学特性的影响. 土壤通报, 2016, 47(5); 1265-1272.
- [54] Männistö M K, Tiirola M, Häggblom M M. Effect of freeze-thaw cycles on bacterial communities of arctic tundra soil. Microbial Ecology, 2009, 58 (3): 621-631.
- [55] 王楠, 王传宽, 邸雪颖, 全先奎. 春季冻融期兴安落叶松林土壤微生物的时间动态及其影响因子. 应用生态学报, 2019, 30(8): 2757-2766.