

DOI: 10.5846/stxb202107091856

郭彤, 孙嘉鸿, 徐志伟, 王升忠, 董彦民. 冻融作用对金川泥炭沼泽土壤酶活性的影响. 生态学报, 2022, 42(13): 5348-5359.

Guo T, Sun J H, Xu Z W, Wang S Z, Dong Y M. Effects of freezing and thawing on soil enzyme activities in Jinchuan peatlands. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(13): 5348-5359.

冻融作用对金川泥炭沼泽土壤酶活性的影响

郭 彤^{1,2,3}, 孙嘉鸿^{1,2,3}, 徐志伟^{1,2,3,*}, 王升忠^{1,2,3}, 董彦民^{1,2,3}

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, 长白山湿地与生态吉林省联合重点实验室, 长春 130024

3 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: 为研究冻融作用对泥炭沼泽土壤酶活性的影响, 选取金川草本泥炭沼泽为研究对象, 采集表层(0—15 cm)和深层(15—30 cm)土壤样品, 进行室内冻融模拟实验。实验设置(−5—5℃)和(−10—10℃)两个冻融幅度, 分析经 0、1、3、5、7、15 次冻融循环处理后土壤 3 种水解酶活性(β-1,4-葡萄糖苷酶(BG)、β-1,4-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NAG)和酸性磷酸酶(AP))和 2 种氧化酶(过氧化物酶(PER)和多酚氧化酶(PPO))的变化特征, 并结合土壤有机碳、氮组分, 探讨泥炭沼泽土壤酶活性与土壤活性有机碳、氮组分间的相关关系。结果表明, 冻融频次与冻融幅度均显著影响了土壤有机碳、氮组分及土壤酶活性。−10—10℃冻融作用下, 土壤可溶性有机碳(DOC)与可溶性有机氮(DON)含量呈现先增加后降低的变化趋势。−5—5℃的冻融作用下土壤 DOC 与 DON 释放相对−10—10℃冻融作用更为缓慢, 在冻融结束后呈现增加趋势。冻融循环增加了土壤微生物碳(MBC)含量, 而降低了土壤微生物氮(MBN)含量。冻融幅度对土壤 MBC 和 MBN 的影响表现为−5—5℃ < −10—10℃。随着土层的增加, 土壤 MBC、MBN 和 DOC 含量的幅度变化表现为 0—15 cm < 15—30 cm, 而土壤 DON 含量幅度变化表现为 0—15 cm > 15—30 cm。冻融循环降低了土壤水解酶活性和氧化酶活性。冻融幅度对土壤水解酶活性的影响表现为−5—5℃ > −10—10℃, 对土壤氧化酶活性的影响表现为−5—5℃ < −10—10℃。随着土层深度的增加, 土壤水解酶活性变化的幅度表现为 0—15 cm < 15—30 cm, 土壤氧化酶活性变化的幅度表现为 0—15 cm > 15—30 cm。土壤酶活性与土壤 MBC 和 MBN 含量呈正相关, 而与土壤 DOC 含量呈显著负相关($P < 0.05$)。研究结果表明冻融作用初期促使部分微生物死亡, 其死亡残体释放的可利用养分, 促进了适应冻融作用的微生物生长, 但在培养后期随着土壤养分的消耗, 土壤微生物量呈现下降趋势, 进而最终降低了土壤酶活性。

关键词: 冻融循环; 泥炭沼泽; 水解酶; 氧化酶; 土壤有机碳氮

Effects of freezing and thawing on soil enzyme activities in Jinchuan peatlands

GUO Tong^{1,2,3}, SUN Jiahong^{1,2,3}, XU Zhiwei^{1,2,3,*}, WANG Shengzhong^{1,2,3}, DONG Yanmin^{1,2,3}

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

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

Abstract: The aim of this study was to analyze the influence of freezing-thawing cycles on soil enzyme activity in peatland. A laboratory freezing-thawing simulation test was carried out using soil samples from surface layer (0—15 cm) and deep layer (15—30 cm) in Jinchuan herbaceous peatland. Two freezing-thawing cycles amplitudes, namely, (−5—5℃) and (−10—10℃), were tested. Soil samples were then processed during the 1st, 3rd, 5th, 7th and 15th freezing-thawing cycles. We analyzed the activities of three hydrolases (β-1, 4-glucosidase (BG), 4-N-acetylglucosaminosidase (NAG) and

基金项目: 中央高校基本科研业务费(2412019FZ001); 吉林省自然科学基金项目(20210101397JC); 国家自然科学基金项目(32071599)

收稿日期: 2021-07-09; **采用日期:** 2022-02-13

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

acid phosphatase (AP)), two oxidases (peroxidase (PER) and polyphenol oxidase (PPO)), dissolved organic carbon and nitrogen (DOC and DON), and microbial biomass carbon and nitrogen (MBC and MBN) which were compared to the values of the initial freezing-thawing cycle. We also analyzed the relationship between the soil organic carbon and nitrogen concentrations and soil enzyme activities in peatland. The results demonstrated that freezing-thawing cycles frequency and freezing-thawing amplitudes had significant effects on soil organic carbon and nitrogen fractions and soil enzyme activities. Soil DOC and DON concentrations increased first and then decreased under $-10\text{--}10^{\circ}\text{C}$ freezing-thawing cycling. The release of soil DOC and DON concentrations under $-5\text{--}5^{\circ}\text{C}$ freezing-thawing cycling was slower than those under $-10\text{--}10^{\circ}\text{C}$ freezing-thawing cycling, which showed an increasing trend at the end of freezing and thawing. Soil MBC concentrations increased but MBN concentrations decreased after freezing-thawing cycles. The effects of freezing-thawing amplitude on MBC and MBN concentrations under the amplitude of $-10\text{--}10^{\circ}\text{C}$ were greater than those of $-5\text{--}5^{\circ}\text{C}$. The effects of freezing-thawing cycles on MBC, MBN, and DOC concentrations gradually increased with the increases in soil depth, but the opposite phenomenon was observed with respect to the effects of freezing-thawing cycles on DON concentration. Freezing-thawing cycles had a negative influence on the soil enzyme activities. The effects of freezing-thawing cycles on the hydrolase activities under the amplitude of $-5\text{--}5^{\circ}\text{C}$ were greater than those of the amplitude of $-10\text{--}10^{\circ}\text{C}$, whereas oxidase activities showed an opposite pattern. The effects of freezing-thawing cycles on hydrolase activities gradually increased with soil depth increasing, but the opposite phenomenon was observed with respect to the effects of freezing-thawing cycles on oxidase activities. Soil enzyme activities were positively correlated with MBC and MBN concentration, but negatively correlated with DOC concentration ($P<0.05$). The results indicated that, at the early stage of freezing-thawing cycling, the available nutrients released by the dead residues of some dead microorganisms promoted the growth of microorganisms to adapt to freezing-thawing. However, with the consumption of soil nutrients at the later stage of freezing-thawing cycling, soil microbial biomass showed a downward trend, which ultimately reduced soil enzyme activities.

Key Words: freeze-thaw cycle; peatlands; hydrolytic enzymes activity; oxidase activity; soil organic carbon and nitrogen

冻融是指土层由于温度降到 0°C 以下和升至 0°C 以上而产生冻结和融化的一种物理地质作用和现象。土壤的冻结和融化实质是水分的相态变化过程^[1],且广泛存在于中、高纬度以及高海拔地区^[2-3]。全球受冻融作用影响的陆地面积约占陆地总面积的 55%—70%,因此冻融作用对人类的生产活动和生存环境产生重要影响^[4-5]。冻融作用强烈地改变土壤理化性质^[6-7],影响微生物活性^[8],从而影响土壤碳、氮生物地球化学过程^[9]。

土壤酶是生态系统碳、氮循环的重要参与者,对温度的变化十分敏感。土壤碳库变化主要发生在活性碳库中易被土壤微生物分解矿化,对植物和微生物产生较高有效性的那部分有机碳,其中可溶性有机碳(DOC)和微生物量碳(MBC)是重要的表征指标^[10]。大部分的研究表明,室内冻融模拟实验对活性碳库的影响比较显著^[10-12]。同时,冻融作用是作用于土壤的非生物应力^[13],对土壤氮素迁移转化乃至整个生态系统的氮循环过程具有十分重要的调控作用^[14-15]。土壤碳及养分的转化速率与土壤酶活性的高低直接相关^[16-18]。先前研究结果发现,土壤酶对冻融作用的响应受到酶活性的检测方法、土壤理化性质与土壤酶的种类的不同而存在差异^[19-21]。沼泽土壤纤维素酶、淀粉酶和转化酶活性在冻融作用影响下呈现出降低或先降低后增加的变化趋势^[22-23]。同时,冻融作用对深层土壤酶活性的影响更大,酶活性强度变幅更大^[22]。以往的研究多关注于与碳循环有关的酶如转化酶、纤维素酶等^[23-24],对与碳、氮、磷循环相关的水解酶以及在泥炭地分解中起重要作用的氧化酶关注较少。在全球变暖趋势下,季节性冻土区泥炭沼泽土壤的冻融频次、冻融温度和冻融时间都将产生变化。然而,这些改变将如何影响泥炭沼泽土壤活性有机碳氮和土壤酶活性,进而影响区域土壤碳库平衡和气候变化,仍需进一步研究。

长白山地泥炭沼泽区是我国泥炭沼泽最主要的分布区之一,该区泥炭泥炭平均覆盖度 0.19%,最强覆盖度为 0.76%^[25]。同时,该地区位于东北及华北北部温带中-深季节冻土亚区,冻融作用频繁。本研究以金川泥炭沼泽为研究对象,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,

测定土壤活性有机碳、氮组分及水解酶和氧化酶活性,揭示不同冻融模式下泥炭沼泽土壤酶活性的变化特征,并结合土壤有机碳、氮组分,探讨泥炭沼泽土壤酶活性的影响因素。研究有助于了解全球气候变化背景下,冻融作用对泥炭沼泽碳排放过程影响的酶学机制,为东北地区泥炭沼泽土壤碳收支估算提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

金川泥炭沼泽(42°20′42.58″—42°21′9.27″N, 126°21′48.61″—126°22′37.74″E)位于长白山西麓龙岗山脉中段,海拔为 613—616 m,泥炭层厚度一般为 4—6 m。该区属温带季风气候,年均温为 3.3℃,年降水量为 1054 mm,降水集中在 7—8 月,7 月最高平均气温为 22.4℃,1 月最低平均气温为 -18℃。该区一般初霜在 9 月中旬,终霜在 5 月中下旬,无霜 110—120 d,5—9 月积温 2500—2600℃。受到水文条件的制约,主要植物群落类型为居中且占优势的腋囊薹草群落和分布在外缘的油桦群落^[26-27]。

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 采样点,采用多点混合法于 2019 年 1 月份利用泥炭钻(油气钻),采集 0—15 cm 和 15—30 cm 的土壤样品,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,研磨后过 100 目筛,用于土壤理化性质的测定,土壤理化性质见表 1。

表 1 土壤基本理化性质

Table 1 The basic physicochemical properties of the soils with different depths

土层 Layer/cm	pH	含水率 Water content/%	有机碳 Organic carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)
0—15	5.17±0.02a	78.1±0.01a	303.24±8.12a	16.64±1.14b	0.81±0.06a
15—30	4.94±0.01b	80.0±0.01a	317.35±11.06a	18.38±0.60a	0.77±0.03b

同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

1.3 培养实验与测试

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,用去离子水调节土壤含水量为最大持水量的 60%,为使微生物恢复到正常状态,在室温(20℃)条件下预培养 1 周,同时定期称重并补充损失的水分。根据冻融期间金川泥炭沼泽实际温度,设置(-5—5℃)与(-10—10℃)两个冻融幅度,根据全球气候变暖的背景下气温升高幅度设定-5℃,-10℃则与当地冬季的平均气温较为接近。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 d。准备好足够数量的培养瓶土壤样品,培养过程中,分别在冻融循环的第 0、1、3、5、7、15 次后不放回的取出培养瓶,每次取出每个土层每个冻融处理的 3 个培养瓶,作为 3 个重复。取出培养瓶的时间前后不超过 5 min,各冻融处理的时间保持一致。测定土壤酶活性(水解酶和氧化酶)、土壤可溶性有机碳、氮(DOC 和 DON)和微生物碳、氮(MBC 和 MBN)指标。

土壤 β -1,4-葡萄糖苷酶(BG)、 β -1,4-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NAG)和酸性磷酸酶(AP)等 3 种水解酶活性采用微孔板荧光法测定^[28],利用多功能酶标仪(Cytation 5, BioTek)。采用 4-甲基伞形酮酰-B-D-吡喃葡萄糖苷为 BG 酶的底物,采用 4-甲基伞形酮酰-B-D-吡喃葡萄糖酸为 NAG 酶的底物,采用 4-甲基伞形酮磷酸酯为 AP 酶的底物。首先,称取培养后的鲜土样 0.5 g 加入烧杯中,加入 125 mL 的 50 mmol/L 醋酸钠缓冲液(pH=5),用磁力搅拌器搅拌均匀,以制备土壤悬浮液。吸取 200 μ L 土壤悬浮液和以上 3 种土壤酶对应的底物 50 μ L,加入微孔板中于 20℃ 黑暗条件下培养 4 h。培养结束后,在每个孔中加入 10 μ L 的 1 mol/L 的 NaOH 溶液,1 min 后进行荧光检测。标准物为 4-甲基伞形酮,在 365 nm 波长处激发,在 450 nm 波长处测定。每个样品重复测定 8 次。

土壤氧化酶(多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(PER))活性也利用多功能酶标仪进行测定。采用 L-3,4-二羟基苯丙氨酸(L-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA)为两种氧化酶的底物。首先,称取培养后的鲜土样1.5 g,制备土壤悬浮液的其余步骤与水解酶相同。吸取 600 μL 土壤悬浮液和 150 μL 底物于深孔板内用于测定 PPO 酶活性,PER 酶活性还需另加 30 μL 0.3%的 H_2O_2 ,在 20 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养 5 h。停止培养,以 3000 r/min 离心 5 min 后,转移上清液 250 μL 至浅口透明板中,在 460 nm 波长下测定吸光值。

土壤微生物量碳氮采用氯仿熏蒸 0.5 mol/L K_2SO_4 浸提法^[29-30]。取 10 g 土壤样品用三氯甲烷熏蒸 24 h,用 0.5 mol/L 的 K_2SO_4 浸提熏蒸与未熏蒸的样品 30 min,采用总有机碳分析仪(Multi N/C 2100 TOC,德国耶拿)测定浸提液总有机碳浓度,由熏蒸与未熏蒸土样浸提液的浓度差值计算得到 MBC,转换系数 0.45^[31]。熏蒸与未熏蒸土样浸提液的浓度差值计算得到 MBN,转换系数 0.54^[31]。土壤可溶性有机碳氮:称取 1 g 新鲜土样置于 50 mL 离心管,加入 50 mL 去离子水后充分震荡 5 h,用离心机转速 8000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 滤膜进行真空抽滤,采用总有机碳分析仪(Multi N/C 2100 TOC,德国耶拿)测定^[32]。

1.4 数据处理

采用单因素方差分析方法,分析不同冻融模式下土壤活性有机碳、氮组分和酶活性的差异,并辅以 Levene 方差齐性检验。采用双因素方差分析法,分析不同深度下,冻融幅度和冻融频次对土壤酶活性及土壤活性有机碳、氮组分的交互影响。采用 Pearson 相关分析法,分析土壤酶活性与土壤活性有机碳、氮组分的关系。在 SPSS 22.20 软件进行统计分析,并利用 Origin 2019 绘图。

2 结果与分析

2.1 冻融作用下土壤活性有机碳、氮变化特征

-5—5 $^{\circ}\text{C}$ 冻融模式下,随着冻融频次的增加,两层土壤 DOC 和 DON 含量均表现为先增加、后减少、再增加的变化趋势。-10—10 $^{\circ}\text{C}$ 冻融模式下则表现为先增加后减小的变化趋势,并在 3 次冻融循环后达到最大值。-5—5 $^{\circ}\text{C}$ 冻融模式下,与冻融前相比,15 次冻融循环结束后 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 DOC 含量分别增加了 33.2% 和 138.5%,而 DON 含量分别增加了 36.4% 和 33.9% (图 1)。-10—10 $^{\circ}\text{C}$ 冻融模式下,与冻融前相比,0—15 cm 土壤 DOC 含量减少了 33.2%,15—30 cm 土壤 DOC 含量增加了 30.2%,0—15 cm 土壤 DON 含量增加了 41.9%,15—30 cm 土壤 DON 含量减少了 9.2% (图 1)。冻融幅度、冻融频次以及二者的交互作用均对土壤 DOC 与 DON 含量有显著影响($P < 0.05$) (表 2)。实验结果表明,-5—5 $^{\circ}\text{C}$ 的冻融作用对 DOC 与 DON 的影响大于-10—10 $^{\circ}\text{C}$ 的冻融作用。随着土层深度的增加,土壤 DOC 的变化幅度表现为 0—15 cm < 15—30 cm,但对 DON 的影响表现为 0—15 cm > 15—30 cm。

表 2 冻融幅度和冻融频次对土壤活性有机碳、氮含量影响的方差分析

Table 2 The effects of freezing and thawing amplitude and frequency on soil active organic carbon and nitrogen concentrations

土层 Layer/cm	冻融模式 Freezing and thawing mode	df	DOC		DON		MBC		MBN	
			F	P	F	P	F	P	F	P
0—15	冻融幅度	1	7.626	0.011 *	1.734	0.200	278.256	<0.0001 **	5.426	0.029 *
	冻融频次	5	7.323	<0.0001 **	4.460	0.005 **	64.727	<0.0001 **	8.095	<0.0001 **
	幅度×频次	5	40.903	<0.0001 **	10.805	<0.0001 **	42.647	<0.0001 **	4.813	0.003 **
15—30	冻融幅度	1	51.137	<0.0001 **	44.578	<0.0001 **	397.660	<0.0001 **	18.658	<0.0001 **
	冻融频次	5	26.617	<0.0001 **	13.884	<0.0001 **	129.707	<0.0001 **	30.450	<0.0001 **
	幅度×频次	5	50.449	<0.0001 **	35.536	<0.0001 **	74.746	<0.0001 **	3.347	0.020 *

* $P < 0.05$ 为显著影响, ** $P < 0.01$ 为极显著影响; DOC: 可溶性有机碳 dissolved organic carbon; DON: 可溶性有机氮 dissolved organic nitrogen; MBC: 微生物量碳 microbial biomass carbon; MBN: 微生物量氮 microbial biomass nitrogen

两种冻融模式下,随着冻融次数的增加,0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量均表现为逐渐增加的变化趋势。在-5—5 $^{\circ}\text{C}$ 冻融模式下,与冻融前相比,0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量分别增加了 80.2% 和

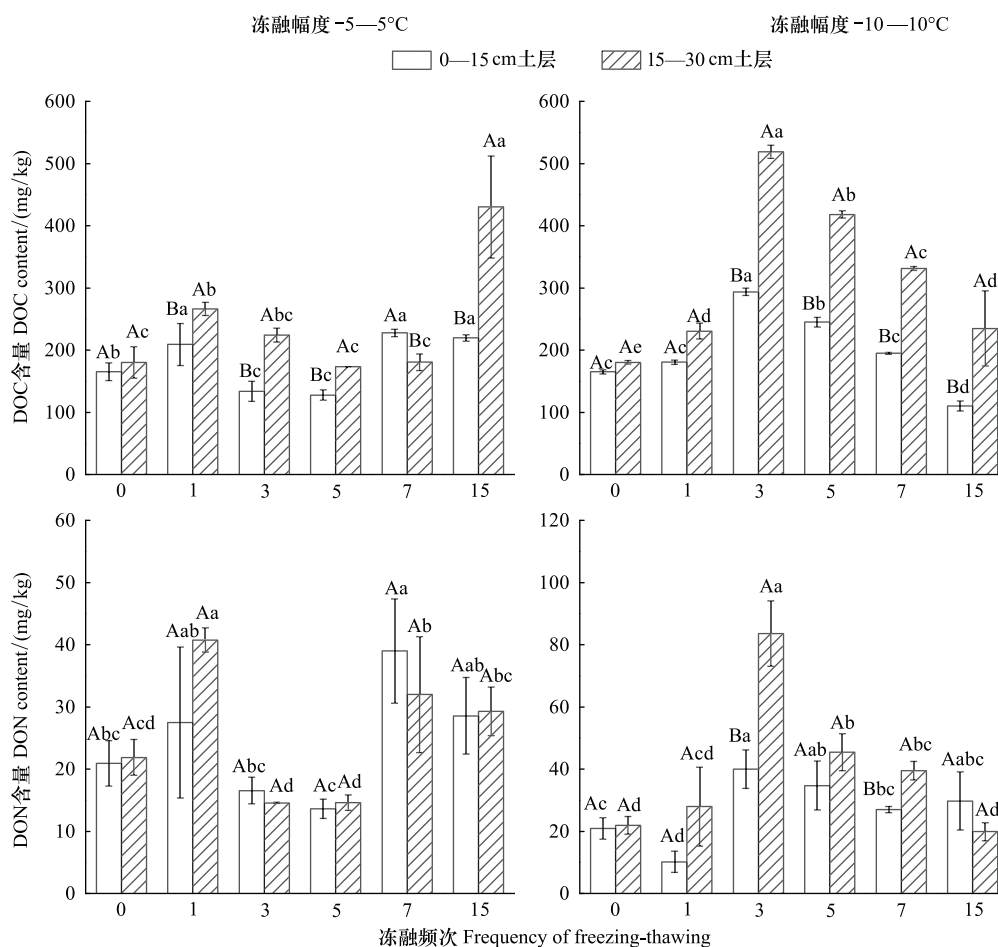


图1 -5—5°C和-10—10°C处理下不同冻融频次土壤可溶性有机碳、氮的变化

Fig.1 Variations in the soil dissolved organic carbon and nitrogen concentrations under different freezing-thawing times in -5—5°C and -10—10°C

不同大写字母表示同一次取样两种深度之间差异显著 ($P<0.05$); 不同小写字母表示同一深度在冻融频次上的差异显著 ($P<0.05$); 图中数据为平均值 $\pm$ 标准偏差 ($n=3$); DOC: 可溶性有机碳 dissolved organic carbon; DON: 可溶性有机氮 dissolved organic nitrogen

100.6%, 而土壤 MBN 含量分别减少了 5.6% 和 60.6% (图 2)。在 -10—10°C 冻融模式下, 与冻融前相比, 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 MBC 含量分别增加了 434.8% 和 479.0%, 而土壤 MBN 含量分别减少了 63.0% 和 54.4% (图 2)。冻融幅度和冻融频次以及二者的交互作用均对土壤 MBC 和 MBN 含量具有显著影响 ($P<0.05$) (表 2)。实验结果表明, 冻融幅度对土壤 MBC 和 MBN 含量的影响表现为 -5—5°C < -10—10°C。随着土层深度的增加, 土壤 MBC 和 MBN 含量的变化幅度均表现为 0—15 cm < 15—30 cm。

2.2 冻融作用下土壤水解酶活性变化特征

-5—5°C 冻融作用下, 与冻融前相比, 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 BG 酶活性在冻融循环作用的初期显著降低; 在 15 次冻融循环结束后, 土壤 BG 酶活性再次增加, 但最高值仍低于冻融前土壤 BG 酶活性。-5—5°C 冻融模式下, 与冻融前相比, 0—15 cm 和 15—30 cm 土壤 BG 酶活性分别降低了 42.9% 和 58.3%, 土壤 NAG 酶活性分别降低了 16.2% 和 39.3%, 土壤 AP 酶活性分别降低了 36.7% 和 32.4% (图 3)。冻融频次对 0—15 cm 土壤水解酶活性均有显著影响 ($P<0.0001$), 而冻融幅度仅对 0—15 cm 土壤的 NAG 酶活性及 15—30 cm 的 AP 酶活性影响显著, 而冻融频次和冻融幅度的交互作用对土壤水解酶活性均产生显著影响 ($P<0.05$) (表 3)。综上, 15 次 -5—5°C 冻融循环后, 土壤水解酶活性显著降低。

-10—10°C 冻融模式下, 两层土壤水解酶活性在冻融作用初期显著降低, 而在冻融循环后期又再次增加。

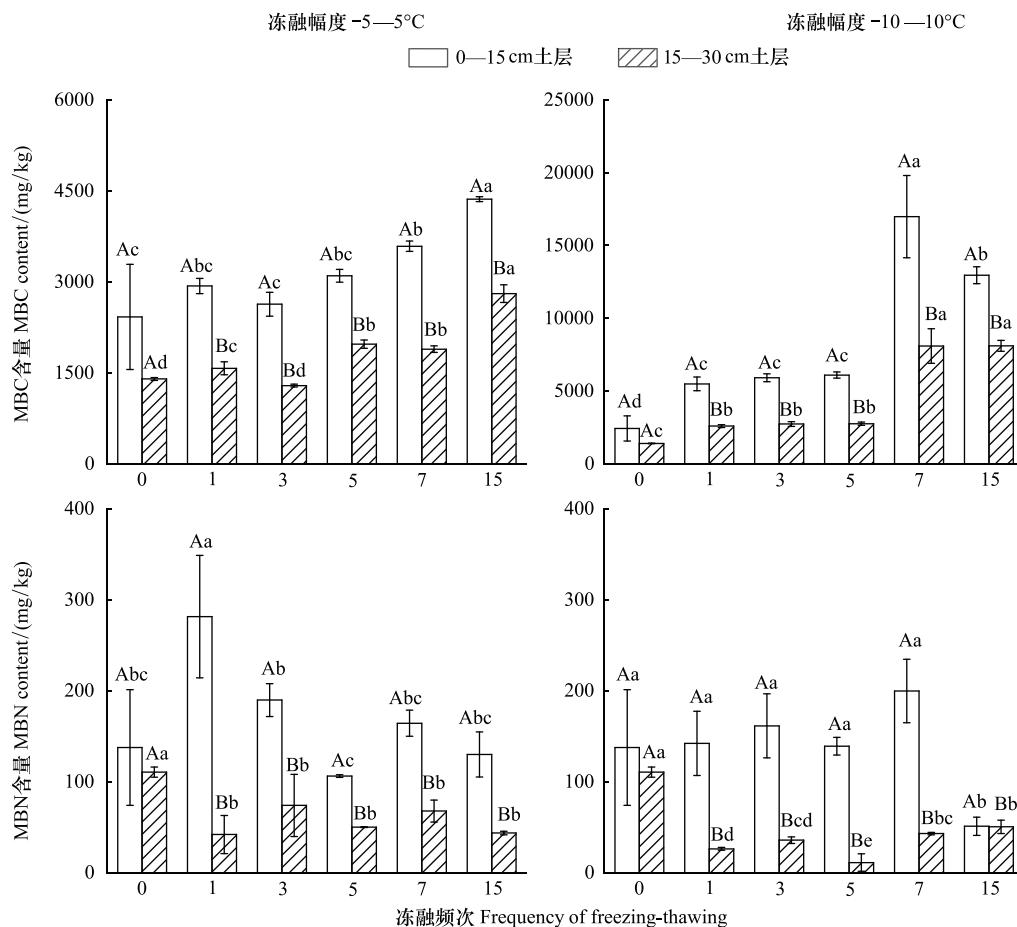


图2 -5—5°C和-10—10°C处理下不同冻融频次的土壤微生物量碳、氮的变化

Fig.2 Variations in the soil microbial biomass carbon and nitrogen concentrations under different freezing-thawing times in -5—5°C and -10—10°C

不同大写字母表示同一次取样两种深度之间差异显著 ($P<0.05$); 不同小写字母表示同一深度在冻融频次上的差异显著 ($P<0.05$); 图中数据为平均值±标准偏差 ($n=3$); MBC: 微生物量碳 microbial biomass carbon; MBN: 微生物量氮 microbial biomass nitrogen

-10—10°C冻融模式下,与冻融前相比,0—15 cm和15—30 cm土壤BG酶活性分别降低了21.2%和12.8%,而土壤NAG酶活性分别增加了17.6%和7.3%。0—15 cm土壤AP酶活性增加了14.7%,15—30 cm土壤AP酶活性降低了28.4%(图3)。数据分析显示,-5—5°C的冻融循环对水解酶的影响略大。随着土层深度的增加,土壤水解酶活性变化的幅度表现为0—15 cm<15—30 cm。

2.3 冻融作用下土壤氧化酶活性变化特征

与冻融循环前相比,冻融初期土壤氧化酶活性显著降低,随着冻融次数的增加,土壤氧化酶活性逐渐增加,但仍低于冻融前的酶活性。-5—5°C冻融模式下,与冻融前相比,15次冻融循环后0—15 cm和15—30 cm土壤PPO酶活性分别减少了49.6%和21.9%,土壤PER酶活性分别减少了91.0%和60.1%(图4)。-10—10°C冻融模式下,与冻融前相比,0—15 cm和15—30 cm土壤PPO酶活性分别减少了46.2%和43.0%,土壤PER酶活性分别减少了83.8%和62.7%(图4)。冻融频次对0—15 cm及15—30 cm土壤氧化酶活性均有显著影响 ($P<0.05$),冻融幅度及其与冻融频次的交互作用对土壤氧化酶活性均无显著影响(表3)。实验结果表明,-10—10°C的冻融幅度对土壤氧化酶活性的影响略大。随着土壤深度的增加,土壤氧化酶活性的变化幅度表现为0—15 cm>15—30 cm。

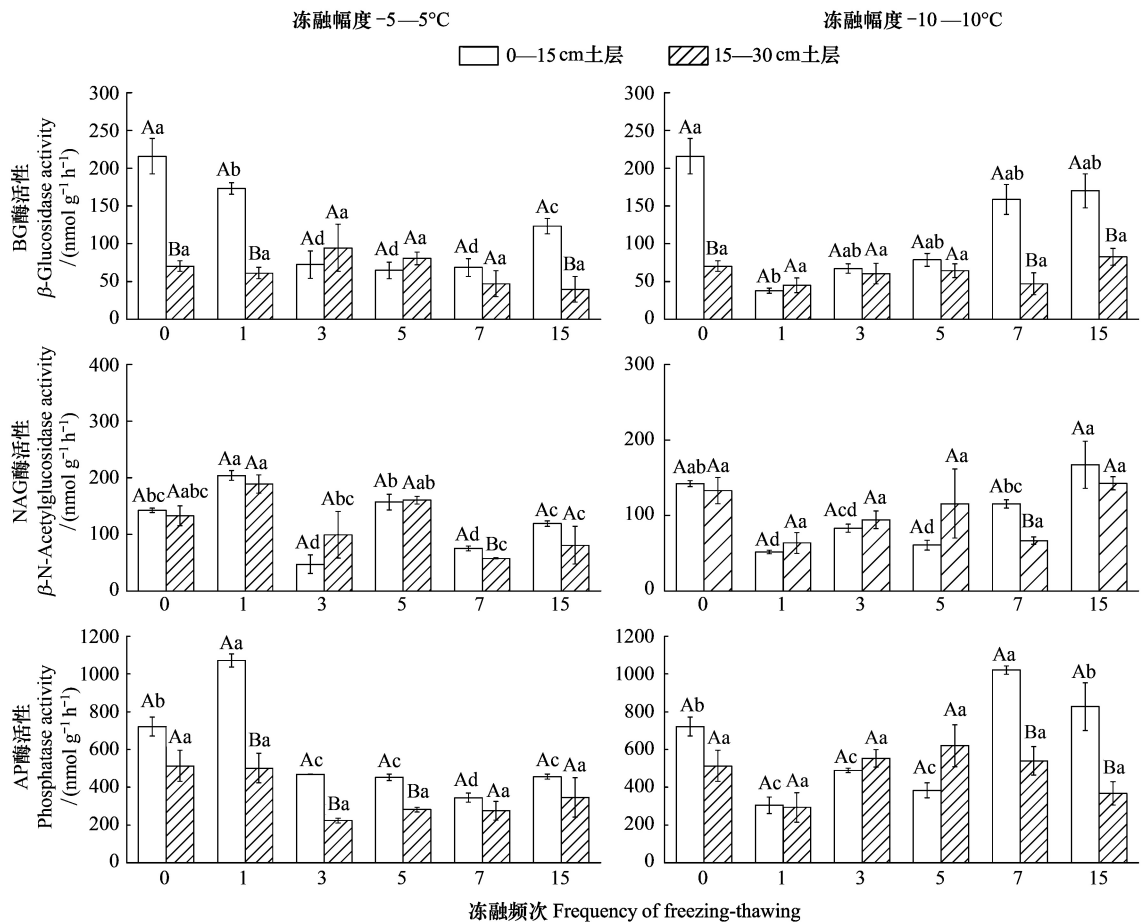


图3 -5—5℃和-10—10℃处理下不同冻融频次的土壤水解酶活性的变化

Fig.3 Variations in the soil hydrolytic enzyme activities under different freezing-thawing times in -5—5℃ and -10—10℃

不同大写字母表示同一次取样两种深度之间差异显著 ($P<0.05$);不同小写字母表示同一深度在冻融频次上的差异显著 ($P<0.05$);图中数据为平均值±标准偏差 ($n=3$);BG:β-1,4-葡萄糖苷酶 β-1, 4-glucosidase;NAG:β-1,4-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶 4-N-acetylglucosaminosidase;AP: 酸性磷酸酶 acid phosphatase

表3 冻融幅度和冻融次数对土壤水解酶和氧化酶活性影响的方差分析

Table 3 The effects of freezing-thawing amplitude and frequency on the soil hydrolase and oxidase activities

土层 Layer/cm	冻融模式 Mode of freezing-thawing	df	水解酶 Hydrolase						氧化酶 Oxidase			
			BG		NAG		AP		PPO		PER	
			F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
0—15	冻融幅度	1	0.062	0.806	8.136	0.009 **	2.382	0.136	0.157	0.696	0.052	0.822
	冻融频次	5	40.551	<0.0001 **	11.596	<0.0001 **	16.729	<0.0001 **	9.596	<0.0001 **	14.256	<0.0001 **
	幅度×频次	5	19.502	<0.0001 **	22.111	<0.0001 **	62.605	<0.0001 **	0.464	0.799	0.755	0.591
15—30	冻融幅度	1	0.179	0.676	1.888	0.182	11.147	0.003 **	1.082	0.309	1.442	0.242
	冻融频次	5	2.465	0.061	3.409	0.018 *	1.465	0.238	3.567	0.015 *	4.499	0.005 **
	幅度×频次	5	1.375	0.269	4.184	0.007 **	5.898	0.001 **	0.431	0.822	0.331	0.889

* $P<0.05$ 为显著影响, * * $P<0.01$ 为极显著影响;BG:β-1,4-葡萄糖苷酶 β-1, 4-glucosidase;NAG:β-1,4-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶 4-N-acetylglucosaminosidase;AP: 酸性磷酸酶 acid phosphatase;PPO:多酚氧化酶 polyphenol oxidase;PER:过氧化物酶 peroxidase

2.4 土壤酶活性与土壤活性有机碳、氮的关系

相关性分析显示,0—15 cm 土壤 AP 酶活性与土壤 MBC 与 MBN 含量呈显著正相关 ($P<0.05$),土壤 PPO 酶活性与 DOC 含量呈负相关 ($P<0.05$) (表4)。15—30 cm 土壤 BG 酶活性与土壤 MBN 含量呈显著正相关

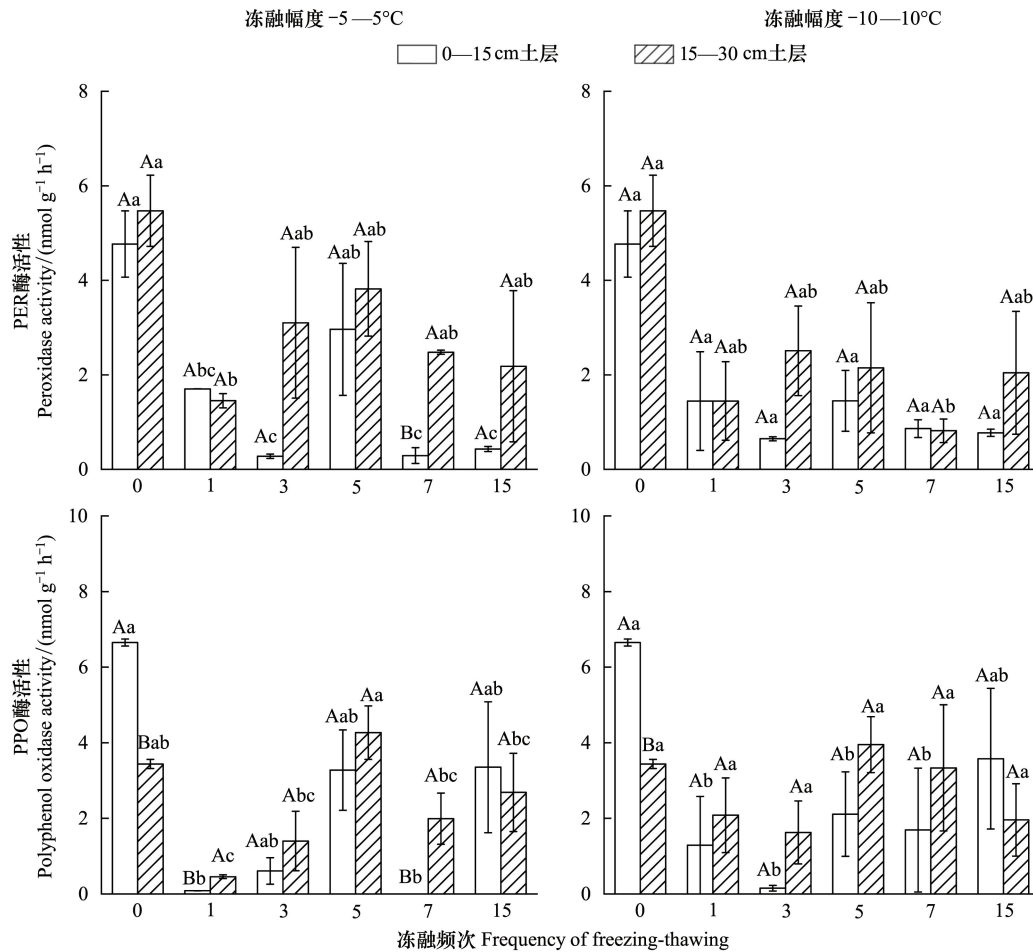


图4 -5—5℃和-10—10℃处理下不同冻融频次的土壤氧化酶活性的变化

Fig.4 Variations in the soil oxidase activities under different freezing-thawing times in -5—5℃ and -10—10℃

不同大写字母表示同一次取样两种深度之间差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母表示同一深度在冻融频次上的差异显著 ($P < 0.05$); 图中数据为平均值 $\pm$ 标准偏差 ($n = 3$); PPO: 多酚氧化酶 polyphenol oxidase; PER: 过氧化物酶 peroxidase

($P < 0.01$) (表4)。15—30 cm 土壤 AP 酶活性与土壤 DOC 与 DON 含量呈显著正相关 ($P < 0.05$) (表4)。15—30 cm 土壤 PER 酶活性与土壤 DOC 含量和 MBC 含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 但与土壤 MBN 含量呈显著正相关 ($P < 0.01$) (表4)。土壤 NAG 与土壤 DOC 和 DON 含量呈负相关, 但不显著 (表4)。

3 讨论

3.1 冻融交替作用对土壤活性有机碳、氮的影响

在土壤有机物转化和微生物代谢活动中, 会产生土壤 DOC 与 DON, 其含量的高低能够反映土壤微生物分解与利用有机物的情况^[33]。本实验结果表明, 随着冻融次数的增加, 大幅冻融环境下 DOC 和 DON 含量先增加后减少, 说明短期冻融过程对土壤 DOC 和 DON 的释放有促进作用。已有研究表明, 冻融过程可改变土壤团聚体的大小和稳定性, 冻融初期, 土壤孔隙中冰晶的膨胀打破颗粒之间的联结, 破碎大团聚体, 释放小分子有机质^[34], 同时冻融交替对微生物有灭杀作用, 即会降低土壤微生物数量, 造成微生物死亡。在分解菌的作用下, 死亡的微生物会释放出小分子糖和氨基酸等, 进而增加了土壤中 DOC 与 DON 含量^[35]。同时, 大幅度的冻融作用对团聚体的破碎作用更强, 释放出的小分子有机质速度更快^[36], 因此, 本研究在 -10—10℃ 冻融作用下, 土壤 DOC 和 DON 含量在 3 次冻融循环后达到最大值, 而在 -5—5℃ 冻融幅度下, 养分释放缓慢, DOC 和 DON 在 15 次冻融循环后依旧较高。随着冻融次数的增加, 土壤微生物开始适应冻融作用, 而释放

DOC 和 DON 为微生物提供能量和养分,促进微生物的生长,使得冻融后期土壤 DOC 和 DON 出现下降趋势^[11,13]。同时,由于矿化作用,土壤中原有的 DOC 与 DON 在不断被利用分解,因此经多次冻融后土壤 DOC 与 DON 含量减少^[35,37—38]。此外,本研究发现两种冻融幅度对比,小幅度冻融幅度对 DOC 与 DON 含量的影响更大,这可能是因为大幅度冻融作用中融化温度较高,在相对较高温度的融化时期加速 DOC 和 DON 的消耗,从而导致小幅度冻融循环下 DOC 和 DON 含量变幅更大^[24]。研究发现,0—15 cm 土壤 DOC 和 DON 受冻融频次及冻融幅度的影响不显著,可能是因为 0—15 cm 土壤受微生物影响较大,表层土壤的微生物群落数量多于深层土壤,表层土壤微生物对 DOC、DON 的利用也就更强^[36]。

表 4 土壤活性有机碳氮组分与土壤酶活性之间的相关性

Table 4 Pearson correlation coefficient between soil active organic carbon and nitrogen components and soil enzyme activity

深度/cm		N	DOC	DON	MBC	MBN
0—15	BG	36	-0.238	0.014	0.100	-0.005
	NAG	36	-0.278	-0.032	0.041	0.055
	AP	36	-0.181	0.078	0.412 *	0.335 *
	PPO	36	-0.364 *	-0.248	-0.065	-0.312
	PER	36	-0.259	-0.310	-0.300	0.018
15—30	BG	36	-0.313	-0.287	-0.141	0.371 *
	NAG	36	-0.234	-0.175	-0.133	0.223
	AP	36	0.375 *	0.496 **	0.113	-0.063
	PPO	36	-0.154	-0.162	0.097	0.060
	PER	36	-0.342 *	-0.267	-0.380 *	0.629 **

* 表示在 0.05 水平显著相关, ** 表示在 0.01 水平显著相关

冻融强度、冻融循环次数对土壤微生物量有显著影响^[39]。土壤 MBC 和 MBN 含量主要受到土壤微生物的数量与种类的决定性影响,同时还受土壤水分、土壤温度、土壤通气性等各生态因子的作用^[40—41]。随着冻融频次的增加,与冻融前相比,15 次冻融循环后土壤 MBC 含量增加。冻融交替作用和氯仿熏蒸会杀死土壤中的微生物,在冻融作用的初期,死亡微生物的细胞可作为存活微生物的底物,进而增加了土壤微生物活性;此外,死亡的微生物在分解过程中释放小分子物质,提高了土壤中有机质含量,同时也增加了土壤的微生物量^[42]。然而,冻融循环短期内改变了泥炭土壤基本理化性质,低温环境抑制了土壤微生物的活性,土壤中微生物的生物量随之受到影响^[43]。因此,随着冻融频次的增加,土壤 MBN 含量下降,MBC 在 7 次-10—10℃ 冻融作用后也开始下降,在其他湿地中也发现类似的研究结果^[43—44]。土壤 MBC 与以往研究结果有所差异,这可能是受采样时间及采样时温度的影响,采样时研究区土壤平均温度为-7.3℃,能够存活的土壤微生物对低温有一定的适应性可以很好存活,并在释放的 DOC 和 DON 的作用下,呈现增加趋势。土壤 MBN 与 MBC 含量变化不一致,可能是因为氮在土壤中不稳定,极易发生矿化,冻融作用加剧了氮的矿化^[45]。本研究发现,随着土壤深度的增加,冻融作用对深层土壤 MBC 和 MBN 含量变化影响更大,可能是因为在整个冻融循环中,冻土下界面稍晚于表层开始融化,已有研究表明,冻融交替主要发生在冻土近地表层,在该层产生单向的土壤解冻与双向的土壤冻结,即同时从地面和活动层的底部开始冻结,因此深层土壤冻结时间更长,从而导致微生物活性受到更强烈的抑制作用。此外,两种冻融幅度对比,大幅度冻融幅度对土壤 MBC 与 MBN 含量的影响更大,这可能是因为大幅度冻融循环作用下释放养分更快,微生物充分利用周围有机质维持自身生命活动使 MBC、MBN 含量变幅更大。

3.2 冻融交替作用对土壤酶活性的影响

土壤 BG、NAG 和 AP 酶在土壤有机质的分解转化过程中具有重要作用,表征土壤碳、氮、磷元素的生物有效性^[46—48]。土壤 PER 酶主要氧化酚类、胺类为醌,能够反应土壤腐殖化状况,而土壤 PPO 酶是一种非特异性酶,可分解木质素和腐殖酸等难降解聚合物^[49]。本研究发现,冻融频次显著影响了土壤胞外酶活性。两种冻融模式下,上述 5 种土壤胞外酶活性在冻融交替作用初期显著降低,而冻融作用后期有所增加,这与先前的

研究相一致^[50]。土壤酶大部分是土壤微生物的产物,因此影响土壤微生物活性或组成结构的条件也会改变土壤酶活性^[51]。双因素方差分析表明,冻融频次对 0—15 cm 土壤氧化酶与水解酶均有显著影响。土壤酶由微生物分泌,0—15 cm 土壤微生物数量高于 15—30 cm 土壤。然而,在-5—5℃冻融模式下,不同频次下各种酶的变化趋势有差异,在冻融循环初始阶段,冻融循环杀死了微生物,导致土壤水解酶和氧化酶活性降低;另一方面,冻融作用下土壤 DOC 含量增加,不需要微生物释放过多的酶满足其对能量的需求。在冻融作用后期,土壤团聚体的破碎和微生物细胞的破裂增加了胞内酶向土壤的释放^[52],同时也增加了土壤微生物与活性有机质的接触面积,促进了土壤酶活性后期的增加。土壤 NAG 酶和 AP 酶呈现先增加后降低的变化趋势,表明在-5—5℃冻融作用下,这 2 种土壤酶活性并未完全钝化^[53]。冻结作用下,土壤中 DOC 快速释放,同时磷元素的有效性降低,促使微生物释放更多的 NAG 和 AP 酶来缓解自身氮、磷限制^[54]。本研究,土壤 AP 酶与土壤 MBC 和 MBN 的显著正相关关系验证了这一结论。

冻融循环初期,相对于-5—5℃,-10—10℃的大幅冻融作用下土壤氧化酶活性下降更为明显,且在冻融作用后期增加也更为显著。这意味着大幅度冻融作用下土壤可溶性养分的释放及吸收更为迅速,促使土壤酶做出快速的反应,这与本研究中大幅度冻融作用对土壤 DOC 和 DON 的影响更为显著的研究结果相一致。此外,冻融作用对 0—15 cm 的土壤氧化酶活性变化比对 15—30 cm 的影响更加显著,其原因可能是土壤表层覆盖大量植物残体,同时具有利于微生物繁殖的较为良好的水气环境,使得土壤有效养分较高,因此表层土壤有较高的土壤酶活性^[55],且表层土壤直接应力于冻融循环,由于温度、水分的变化表层土壤酶活性而产生相应的变化;而深层土壤对于冻融循环的响应较上层土壤而迟缓^[56]。

4 结论

(1)通过冻融模拟实验结果得知,冻融作用显著改变泥沼泽土壤活性有机碳氮含量。-10—10℃冻融作用下土壤养分释放更为迅速,土壤 DOC 和 DON 呈现先增加后减小的变化趋势。-5—5℃冻融作用下土壤养分释放缓慢,在 15 次冻融循环后土壤 DOC 和 DON 含量高于-10—10℃冻融作用。

(2)冻融作用增加了土壤 MBC 含量,降低了土壤 MBN 含量,且-10—10℃冻融作用下对土壤微生物量碳氮的影响更为显著。-5—5℃和-10—10℃冻融幅度均对 15—30 cm 土壤微生物量碳氮的影响更强。

(3)冻融作用显著降低了土壤水解酶和氧化酶活性,且-5—5℃冻融作用下对土壤水解酶活性变化影响更加显著,而-10—10℃冻融作用下土壤氧化酶活性的变化更为剧烈。随着土层深度的增加,土壤水解酶活性变化的幅度表现为 0—15 cm<15—30 cm,土壤氧化酶活性变化的幅度表现为 0—15 cm>15—30 cm。冻融作用下土壤酶活性的变化与土壤活性有机碳、氮组分的变化密切相关。

参考文献 (References):

- [1] 薛明霞. 不同地表条件下季节性冻融土壤的冻融特征分析. 山西水利科技, 2008, (1): 19-21.
- [2] 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.
- [3] 王连峰, 蔡延江, 解宏图. 冻融作用下土壤物理和微生物性状变化与氧化亚氮排放的关系. 应用生态学报, 2007, 18(10): 2361-2366.
- [4] 景国臣, 任宪平, 刘绪军, 刘丙友, 张丽华, 杨亚娟, 王亚娟. 东北黑土区冻融作用与土壤水分的关系. 中国水土保持科学, 2008, 6(5): 32-36.
- [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] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 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): 7625-7633.
- [11] 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.
- [12] Henry H A L. Soil freeze-thaw cycle experiments: trends, methodological weaknesses and suggested improvements. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(5): 977-986.
- [13] 王娇月, 宋长春, 王宪伟, 王丽丽. 冻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.
- [14] 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 N_2O 排放的影响研究进展. *土壤学报*, 2013, 50(5): 1032-1042.
- [15] Van Bochove E, Prévost D, Pelletier F. Effects of freeze-thaw and soil structure on nitrous oxide produced in a clay soil. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64(5): 1638-1643.
- [16] 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.
- [17] Zhang C B, Wang J, Liu W L, Zhu S X, Liu D, Chang S X, Chang J, Ge Y. Effects of plant diversity on nutrient retention and enzyme activities in a full-scale constructed wetland. *Bioresource Technology*, 2010, 101(6): 1686-1692.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 陈子豪, 张晓蓉, 谭波, 卫芯宇, 湛亚, 杨玉莲, 吴庆贵, 张丽. 冻融循环对川西亚高山森林土壤酶活性的影响. *生态学报*, 2020, 40(8): 2662-2669.
- [21] Yergeau E, 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 赵红艳, 冷雪天, 王升忠. 长白山地泥炭分布、沉积速率与全新世气候变化. *山地学报*, 2002, 20(5): 513-518.
- [26] 王杰, 王升忠. 长白山泥炭沼泽植物多样性研究. *湿地科学*, 2005, 3(2): 121-126.
- [27] 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.
- [28] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The 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.
- [29] 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.
- [30] Sparling G P, West A M. Modifications to the fumigation-extraction technique to permit simultaneous extraction and estimation of soil microbial C and N. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2008, 19(3): 327-344.
- [31] Jenkinson D S, Brookes P C, Powlson D S. Measuring soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(1): 5-7.
- [32] CHANTIGNY M H. DISSOLVED AND WATER-EXTRACTABLE ORGANIC MATTER IN SOILS: A REVIEW ON THE INFLUENCE OF LAND USE AND MANAGEMENT PRACTICES. *GEODERMA*, 2003, 113(3-4): 357-380.
- [33] 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.
- [34] Lehrs G A, Sojka R E, Carter D L, Jolley P M. Freezing effects on aggregate stability affected by texture, mineralogy, and organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 1991, 55(5): 1401-1406.
- [35] Wang F L, Bettany J R. Influence of freeze-thaw and flooding on the loss of soluble organic carbon and carbon dioxide from soil. *Journal of Environmental Quality*, 1993, 22(4): 709-714.
- [36] 孙嘉鸿, 郭彤, 董彦民, 汪祖丞, 王升忠, 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): DOI:10.5846/stxb202101290314
- [37] 朴河春, 刘广深, 洪业汤. 干湿交替和冻融作用对土壤肥力和生态环境的影响. *生态学杂志*, 1995, 14(6): 29-34.
- [38] 郝瑞军, 李忠佩, 车玉萍. 冻融交替对水稻土水溶性有机碳含量及有机碳矿化的影响. *土壤通报*, 2007, 38(6): 1052-1057.
- [39] Zhou W M, Chen H, Zhou L, Lewis B J, Ye Y J, Tian J, Li G W, Dai L M. Effect of freezing-thawing on nitrogen mineralization in vegetation

- soils of four landscape zones of Changbai Mountain. *Annals of Forest Science*, 2011, 68(5): 943-951.
- [40] Christopher S F, Shibata H, Ozawa M, Nakagawa Y, Mitchell M J. The effect of soil freezing on N cycling: comparison of two headwater subcatchments with different vegetation and snowpack conditions in the northern Hokkaido Island of Japan. *Biogeochemistry*, 2008, 88(1): 15-30.
- [41] 林允伟, 金光泽. 冻融期去根处理对小兴安岭 6 种林型土壤微生物量的影响. *生态学报*, 2016, 36(19): 6159-6169.
- [42] 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.
- [43] 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.
- [44] 范志平, 李胜男, 李法云, 高洪翠, 闫加亮. 冻融交替对河岸缓冲带土壤无机氮和土壤微生物量氮的影响. *气象与环境学报*, 2013, 29(4): 106-111.
- [45] 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.
- [46] Šnajdr J, Valášková V, Merhautová V, Herinková J, Cajthaml T, Baldrian P. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2068-2075.
- [47] Sinsabaugh R L, Moorhead D L. Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(10): 1305-1311.
- [48] Chen C R, Condon L M, Davis M R, Sherlock R R. Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don.). *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(4): 487-499.
- [49] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986: 22-30.
- [50] Chen J, Luo Y Q, García-Palacios P, Cao J J, Dacal M, Zhou X H, Li J W, Xia J Y, Niu S L, Yang H Y, Shelton S, Guo W, Van Groenigen K J. Differential responses of carbon-degrading enzyme activities to warming: implications for soil respiration. *Global Change Biology*, 2018, 24(10): 4816-4826.
- [51] 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.
- [52] Larsen K S, Jonasson S, Michelsen A. Repeated freeze-thaw cycles and their effects on biological processes in two arctic ecosystem types. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21(3): 187-195.
- [53] Koponen H T, Jaakkola T, Keinänen-Toivola M M, Kaipainen S, Tuomainen J, Servomaa K, Martikainen P J. Microbial communities, biomass, and activities in soils as affected by freeze thaw cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(7): 1861-1871.
- [54] Zong S W, Jin Y H, Xu J W, Wu Z F, He H S, Du H B, Wang L. Nitrogen deposition but not climate warming promotes *Deyeuxia angustifolia* encroachment in alpine tundra of the Changbai Mountains, Northeast China. *Science of the Total Environment*, 2016, 544: 85-93.
- [55] 刘育红. 三江源区退化高寒草地土壤酶活性研究. *江苏农业科学*, 2017, 45(6): 243-246.
- [56] 李龙, 尹航, 黄世臣, 傅民杰. 春季解冻期 3 种温带森林土壤酶活性动态变化. *土壤通报*, 2018, 49(3): 609-615.