

冻融交替对黑土氮素转化及酶活性的影响*

李源¹ 祝惠² 袁星^{1†}

(1 东北师范大学环境学院, 长春 130117)

(2 中国科学院东北地理与农业生态研究所湿地生态与环境重点实验室, 长春 130102)

摘要 以黑土为试验材料, 通过室内培养实验, 研究了不同冻融循环(-25—5℃、-10—5℃)对黑土氮素转化速率和土壤酶活性的影响。结果表明: 随着冻融频次的增加, 铵态氮含量和硝态氮含量均逐渐增加。除了中强度冻融(-10—5℃)的土壤铵态氮在培养第 1 周期内的含量最低外, 剩余培养周期内, 铵态氮含量均表现为中强度冻融(-10—5℃) > 高强度冻融(-25—5℃) > 对照组(5℃); 硝态氮含量对不同冻融温度的响应差异显著。与对照组相比较, 冻融循环整体上降低了土壤的矿化速率和硝化速率, 但实验末期有促进硝化的趋势, 不同强度冻融对矿化速率和硝化速率影响显著。受土壤温度和冻融交替的影响, 土壤的脲酶活性和转化酶活性均低于对照组, 且脲酶活性和转化酶活性均表现为中强度冻融 > 高强度冻融(第 1 周期除外)。综上, 冻融作用对黑土的供氮能力和土壤酶活性具有重要影响。

关键词 黑土; 冻融交替; 铵态氮; 硝态氮; 转化速率; 土壤酶

中图分类号 S141.4; S153.6 **文献标识码** A

氮素是农作物生长发育的重要元素之一。土壤中的氮主要以有机氮为主^[1], 其必须通过土壤微生物的矿化作用不断地转化为无机氮形式, 才能被农作物吸收。土壤圈氮素的迁移转化过程主要包括土壤中铵的吸附和矿物固定、氨挥发、氮的淋溶与径流、有机氮矿化、无机氮的微生物固持、硝化、反硝化等。其中有机氮矿化和硝化作用是土壤中氮素转化的关键过程, 可以表征土壤供氮能力强弱^[2]以及硝态氮径流和淋溶风险^[3]。

土壤酶是控制氮素转化过程的重要因素之一, 它是土壤生物化学反应的催化剂, 对土壤中有机质的分解和植物营养元素的循环起着重要作用。Purig 和 Ashman 等^[4]指出, 土壤温度是影响土壤微生物活性的重要因素。早期研究认为, 冬季极寒的温度条件可以降低土壤酶活性甚至使酶失活^[5-6], 但近期研究表明, 冻融交替能增加土壤中嗜冷生物的底物有效性^[7-8], 为冬季维持相对较高的土壤酶活性提供有利条件。中国的黑土资源主要分布在东北地区松嫩平原东部及北部的山前台地。在长达半年的冬春季节里, 土壤处于冻结和解冻状态,

存在明显的季节性冻融现象。冻融过程改变了土壤水分状况, 直接影响土壤的物理性质和微生物活性, 导致土壤的生物地球化学过程发生变化。有关冻融过程对土壤物理性质和营养元素有效性的影响国内外已进行了大量研究, 但这些研究主要针对高山草甸、森林、苔原和湿地生态系统^[9-10], 而有关多重冻融交替对黑土氮素转化及土壤酶影响等方面的研究鲜有报道。因此, 本研究通过室内模拟实验, 分别控制不同的冻融温度(-25—5℃、-10—5℃), 并以 5℃ 作为空白对照, 探讨不同冻融强度下土壤矿化和硝化速率的变化以及土壤酶的变化规律, 以期深入了解冻融对黑土的供氮能力, 对土壤肥力、农田养分管理和环境保护具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土样采集于吉林省德惠市沃皮乡晨光村的中国科学院东北地理与农业生态研究所示范研究基地(北纬 44°02' ~ 44°53', 东经 125°14' ~ 126°24'),

* 中国科学院黑土区农业生态重点实验室开放基金(2012ZKHT-01)和国家自然科学基金项目(41101470)资助

† 通讯作者, 袁星(1956—), 女, 汉族, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为污染生态化学研究。E-mail: yuanx@nenu.edu.cn

作者简介: 李源(1988—), 女, 满族, 硕士研究生, 主要研究方向为环境土壤化学。E-mail: liy387@nenu.edu.cn

收稿日期: 2013-12-24; 收到修改稿日期: 2014-05-04

地处吉林省中北部,松辽平原中部,1月份平均气温为 $-18.2\text{ }^{\circ}\text{C}$,7月份平均气温为 $22.9\text{ }^{\circ}\text{C}$,年平均气温 $4.4\text{ }^{\circ}\text{C}$,无霜期 $135\sim 140\text{ d}$,属温带半湿润季风气候。全年平均降水量 520 mm ,年际间变

化较大,年内降水分布很不均衡。采样时,先将土表的植物清除,采用土壤取样器采集 $0\sim 20\text{ cm}$ 耕层土壤,然后将其均匀混合。土壤基本理化性质见表1。

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of the tested soil

| 土壤类型 Soil type | 土壤有机质 Soil organic matter | pH | 阳离子交换量 Cation exchange | 全氮 Total nitrogen | 土壤机械组成 Soil mechanical composition (%) | | |
|-------------------|------------------------------|------|------------------------------------|------------------------|---|---------|---------|
| | (g kg^{-1}) | | capacity (cmol kg^{-1}) | (g kg^{-1}) | 黏粒 Clay | 粉粒 Silt | 砂粒 Sand |
| 黑土 Black soil | 42.3 | 7.75 | 18.93 | 2.32 | 66.41 | 29.78 | 3.81 |

1.2 试验方法

耕层土壤样品($0\sim 20\text{ cm}$)采集于2013年4月27日(玉米播种前)。样品采集后放于实验室干燥阴凉处,剔除植物残根及石砾等杂物,过 2 mm 筛备用。

将土样置于大口塑料瓶中,并用扎有小孔的保鲜膜封口后放入 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱预培养一周,期间调节土壤含水量使其达到田间最大持水量的 60% 。预培养结束后将土样分别放在 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中冷冻 48 h ,然后移至 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中进行融化 48 h ,此循环为一个冻融过程,共进行8个冻融过程,每个冻融过程结束后取土壤样品,测定铵态氮和硝态氮含量、脲酶、转化酶等指标,以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 未冻结土壤作空白对照。每个处理设3个平行。

土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定^[11];土壤转化酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[11];土壤铵态氮、硝态氮含量采用 2 mol L^{-1} (1:5土液比例)KCl浸提^[12]后使用全自动化学分析仪(Smartchem 200)分析测定。

1.3 数据处理

矿化速率、硝化速率的计算公式如下^[13]:

矿化速率 = (培养后的无机氮量 - 培养前的无机氮量) / 培养天数

硝化速率 = (培养后的硝态氮量 - 培养前的硝态氮量) / 培养天数

试验结果采用SPSS16.0对数据进行统计分析,采用Origin7.5对数据进行制图处理。

2 结 果

2.1 冻融交替作用下无机氮含量的变化特征

不同冻融强度显著影响铵态氮浓度和硝态氮浓度(图1)。预培养结束后,土壤中铵态氮和硝态

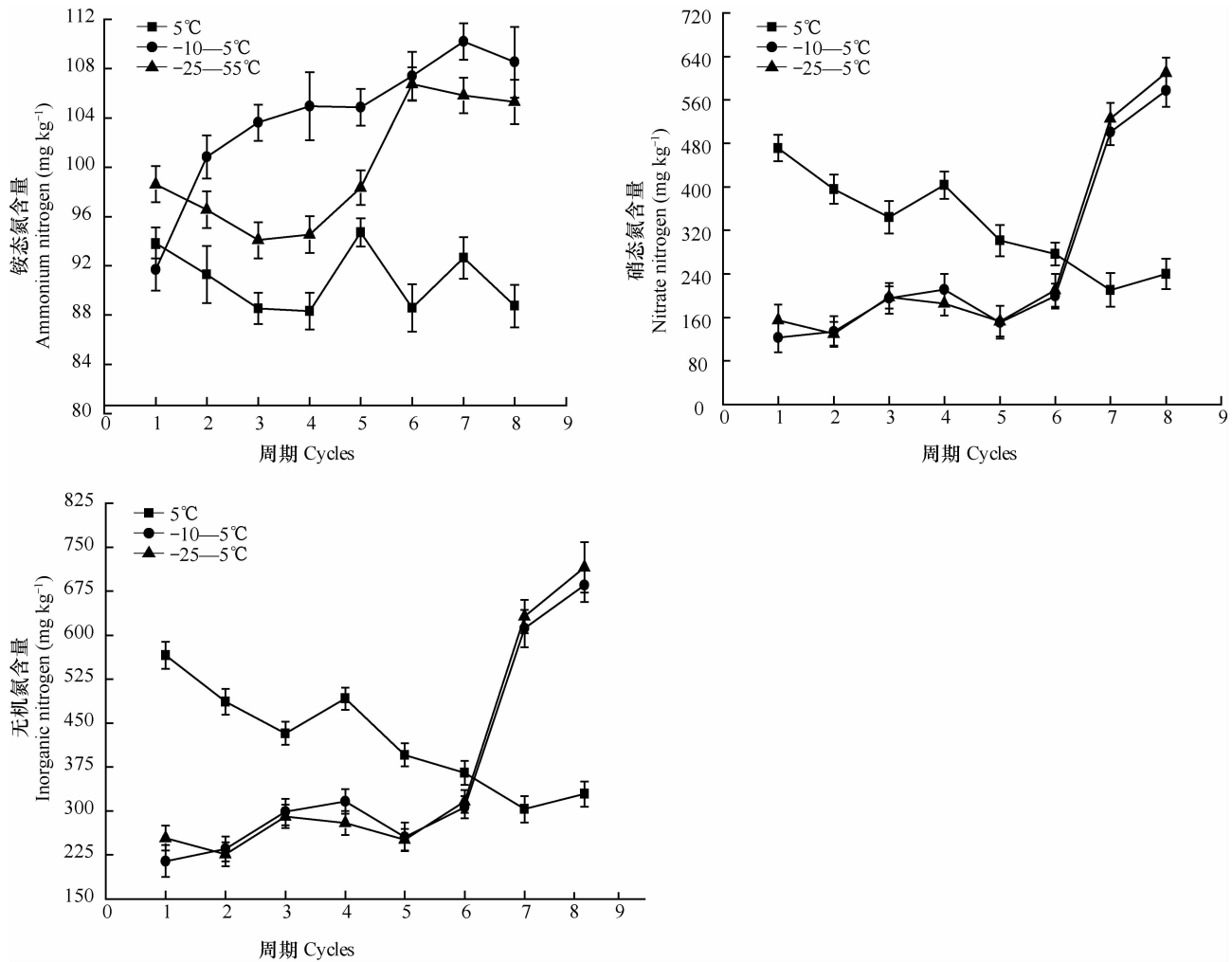
氮浓度分别为 35.07 和 112.0 mg kg^{-1} ;随着冻融次数的增加,未冻结的对照组($5\text{ }^{\circ}\text{C}$)和高强度冻融($-25\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$)土壤铵态氮含量在前5个周期表现为先降低后上升趋势,随后对照组土壤铵态氮含量呈波动性变化,高强度冻融土壤呈上升-下降趋势;而中强度冻融($-10\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$)土壤铵态氮含量呈先上升后降低规律。除了在培养第1周期时,中强度冻融的土壤铵态氮含量最低外,剩余培养周期内,铵态氮含量均表现为中强度冻融 > 高强度冻融 > 对照组,且差异显著($p < 0.05$,表2)。土壤硝态氮含量随着培养时间的延长变化趋势与铵态氮不同。不同冻融强度的土壤硝态氮含量呈相似的变化规律,即先波动后上升,且高强度冻融过程的土壤硝态氮含量高于中强度冻融(第2、4周期除外),差异显著($p < 0.05$,表2);对照组土壤的硝态氮含量整体上处于下降趋势,前6周期土壤硝态氮含量始终高于其他两组不同冻融温度的实验处理组,而7个周期后则相反。经过 $-25\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-10\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻融处理后的无机氮含量(铵态氮 + 硝态氮)较对照处理分别提高了 2.20 倍和 1.82 倍。

2.2 冻融交替作用下氮素净转化速率的变化特征

不同冻融强度下氮素转化速率呈明显周期性变化规律(图2)。随着培养时间的增加,矿化速率和硝化速率表现为相似的变化趋势,未冻结的对照组土壤随着培养周期的延长整体下降,而不同冻融强度的实验处理组呈轻微波动性变化,且前6周期的对照组矿化速率和硝化速率始终高于实验处理组;冻融强度和冻融频次对氮素转化速率影响均达到显著性水平($p < 0.01$,表2)。

2.3 冻融交替作用下脲酶活性、转化酶活性的变化特征

不同冻融强度对脲酶和转化酶活性的影响见



注: 误差线表示标准差, 显示潜在的误差或相对于系列中每个数据标志的不确定程度。下同 Note: Error line stands for standard deviation, indicating the potential error or the degree of uncertainty of each corresponding data mark in the series. The same below

图 1 冻融交替对无机氮含量的影响

Fig. 1 Effects of freezing and thawing alternation on inorganic nitrogen content in the soil

表 2 冻融温度和频次对土壤氮素转化和酶活性的方差分析

Table 2 ANOVA of the effects of temperature and frequency of freezing and thawing on nitrogen transformation and soil enzyme activity

| 变异来源 Source of variance | 铵态氮 Ammonium nitrogen | | 硝态氮 Nitrate nitrogen | | 矿化速率 Mineralization rate | | 硝化速率 Nitrifying rate | | 脲酶 Urease activity | | 转化酶 Invertase activity | |
|----------------------------|--------------------------|--------|-------------------------|--------|-----------------------------|--------|-------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------------------|--------|
| | F | p | F | p | F | p | F | p | F | p | F | p |
| 冻融温度 Temperature | 42.26 | <0.001 | 165.7 | <0.001 | 23.99 | <0.001 | 231.3 | <0.001 | 896.8 | <0.001 | 3452 | <0.001 |
| 频次 Frequency | 3.298 | 0.006 | 445.8 | <0.001 | 37.42 | <0.001 | 239.4 | <0.001 | 148.0 | <0.001 | 243.4 | <0.001 |

注: $\alpha = 0.05$ Note: $\alpha = 0.05$

图 3。对照组土壤脲酶和转化酶活性表现为先上升后下降的变化趋势, 不同冻融温度的实验处理组脲酶活性先降低后上升, 而转化酶活性呈先降低后升高再降低的变化趋势, 高强度冻融和中强度冻融对脲酶活性及转化酶活性影响变化趋势一致, 且不同

冻融温度对土壤脲酶和转化酶活性影响显著 ($p < 0.01$, 表 2)。除了第 1 周期的高强度冻融脲酶活性高于中强度冻融外, 整个培养周期, 脲酶活性和转化酶活性均表现为中强度冻融 > 高强度冻融, 但均低于实验对照组 (第 8 周期除外) 的土壤酶活性。

将冻融处理的铵态氮、硝态氮浓度、净矿化、硝化速率和土壤酶活性进行相关分析,可以看出除了矿化速率与脲酶活性相关性不明显外,其余的相关性均

达到显著性程度(表 3),说明冻融交替作用下土壤氮素的转化与土壤酶活性息息相关。

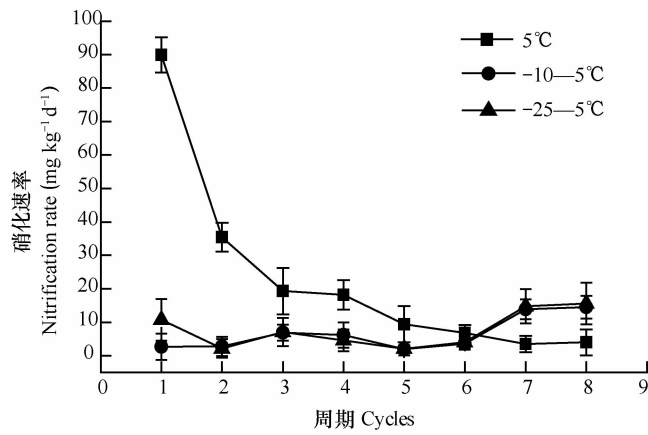
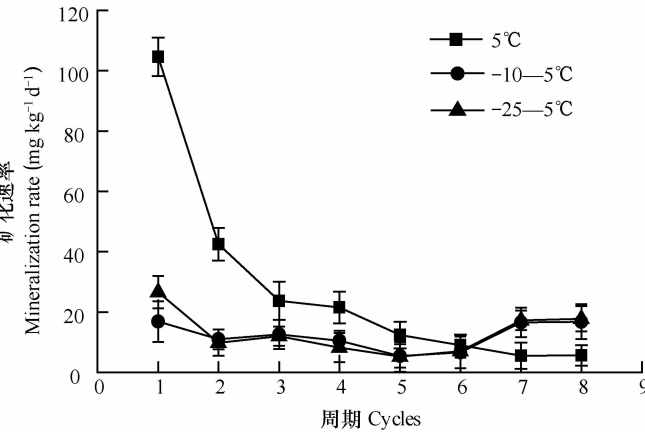


图 2 冻融交替对氮素转化速率的影响

Fig. 2 Effects of freezing and thawing alternation on nitrogen transformation rate

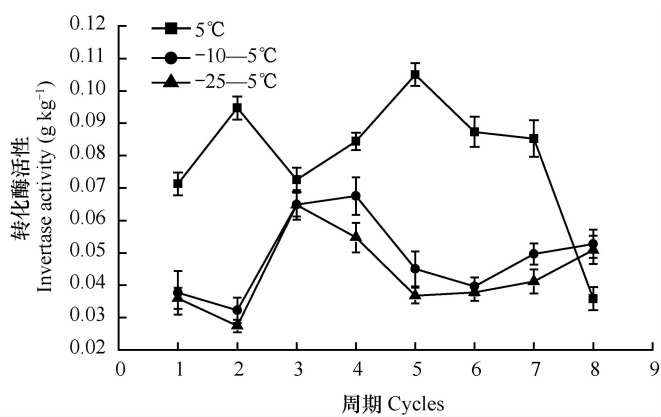
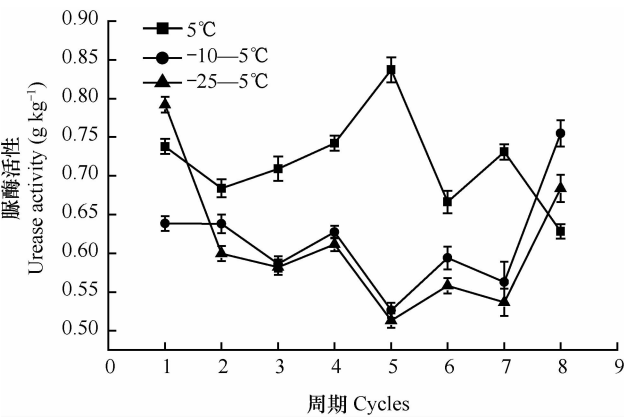


图 3 冻融交替对酶活性的影响

Fig. 3 Effects of freezing and thawing alternation on soil enzyme activity

表 3 冻融交替作用下氮素转化与酶活性之间的相关分析

Table 3 Correlation analyses between nitrogen transformation and soil enzyme activity under alternative freezing and thawing

| | 铵态氮 Ammonium nitrogen | 硝态氮 Nitrate nitrogen | 矿化速率 Mineralizationrate | 硝化速率 Nitrifyingrate |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------|
| 脲酶活性 Urease activity | -0.353 ** | 0.254 * | 0.183 | 0.306 ** |
| 转化酶活性 Invertase activity | -0.396 ** | 0.266 ** | 0.374 ** | 0.337 ** |

注: ** 代表 0.01 水平显著; * 代表 0.05 水平显著 Note: ** stands for 0.01 of significant correlation; * stands for 0.05 of significant correlation

3 讨 论

3.1 冻融交替对无机氮含量的影响

本研究结果表明土壤中铵态氮含量经过 1~2 个冻融处理后就显著高于对照组。其原因是:一方

面冻融过程对土壤矿化的影响同干湿交替或氯仿熏蒸结果相似,冻融过程杀死一部分微生物,造成其细胞破裂,矿质氮直接来自于土壤微生物的释放^[14];其次,由于死亡微生物为残留的微生物提供了足够的底物,刺激了微生物活性,有利于土壤有机氮的矿化过程^[15];土壤中非生物源有机质对铵态

氮也有贡献, Freppaz 等^[8]认为, 冻融可能导致土壤中以前不可利用的有机和无机胶体中 NH_4^+ -N 的释放。同时, 经历冻融交替过程也会改变土壤的物理性状, 导致土壤交替与收缩, 最终会引起晶格开放, 释放出固定的铵态氮。但 $-25\text{—}5\text{ }^\circ\text{C}$ 冻融处理的前 3 个周期铵态氮含量反而降低, 这可能与铵态氮同化有关。此外, 冻融温度也是影响土壤团聚体的一个重要因素。温度越低, 土壤稳定性团聚体越少^[9], 大团聚体被破坏成小团聚体。土壤大团聚体大部分是由真菌丝连接的有机胶结, 稳定性较低; 而小团聚体是由不同的粘结剂包括持久的有机质、结晶氧化物和非晶形铝硅酸盐结合的, 稳定性较强。稳定性较低的大团聚体经过冻融作用相互转化, 促进土壤有机质和微生物的接触, 从而增强有机质的分解和矿化作用, 因此增加了铵态氮的含量^[16]。这可以解释高强度冻融 ($-25\text{—}5\text{ }^\circ\text{C}$) 的铵态氮含量低于中强度冻融 ($-10\text{—}5\text{ }^\circ\text{C}$) 的原因。不同冻融强度对硝态氮含量影响显著(表 2), 说明本实验的两个冻融温度对硝化细菌的影响程度不相同; 而经过第一个周期后, 冻融处理硝态氮浓度较对照处理低几倍, 这是由于土壤的硝化作用受温度影响而被抑制, 已有研究表明低温能够显著抑制土壤的硝化作用^[17]。Henry^[18]曾开展了土壤冻融循环的动态试验, 结果表明硝化细菌较氨化细菌对温度变化更敏感; 随着铵态氮含量的增加, 硝化作用增强, 硝态氮含量随着冻融频次增加而增加。相反, 对照组硝态氮浓度逐渐降低则是土壤中反硝化作用的结果, 而对照组反硝化作用很快主要是因为反硝化微生物所要求的适宜温度为 $5\text{—}75\text{ }^\circ\text{C}$ ^[19], 本研究的对照处理组温度一直维持在其范围内。

3.2 冻融交替对氮素转化速率的影响

温度波动引起的冻融循环必将影响到土壤中氮素的矿化和硝化作用^[15]。本研究表明, 未经冻结的对照组矿化速率和硝化速率逐渐下降, 冻融处理后的实验组矿化速率和硝化速率均低于对照组(前 6 周期), 说明在低温或零摄氏度以下, 土壤中微生物的活性降低, 减缓土壤中氮素的循环速率^[20], 而后 2 个周期则表现为对照组低于实验组, 这与硝态氮含量的变化特征密切相关(图 1), 且矿化速率变化趋势与硝化速率一致, 这是因为土壤有效氮中硝态氮占优势的缘故; 然而, 随着冻融次数的增加(2 个周期后), 矿化速率和硝化速率变化趋势不明显, 这可能是两种机制的相互作用导致的。王洋等^[21]研究表明, 酶在冰冻土壤中并不完全钝化, 一旦冰冻土壤融

化, 各种酶活性增强, 加快氮素转化速度。但土壤微生物(尤其是真菌)产生的腐殖质分解酶的量随土壤矿质氮含量增加而减少, 从而减少矿化速率^[22]。两种作用同时存在最终出现了本研究的实验结果。

3.3 冻融交替对土壤酶活性的影响

研究土壤酶活性动态变化对于认识冬季土壤生态过程有重要意义。不同的冻融强度及频繁的冻融交替也会改变土壤物理和化学性质^[23], 影响土壤能量流动和物质循环的方向^[24]。本实验结果表明不同土壤酶活性对不同冻融强度的响应存在明显差异($p < 0.01$, 表 2), 与对照组相比较, 冻融交替抑制了脲酶和转化酶活性, 仅在实验末期脲酶活性和转化酶活性高于对照组。分析原因可能是冻结冰层及其下活动层的局部形成厌氧环境, 冰融化后, 活动层底部饱水排氧又造成缺氧和还原状态^[25], 使得脲酶活性和转化酶活性低于对照组。土壤脲酶是参与土壤氮转化的关键酶, 在培养的前 3 周期, 土壤的无机氮含量上升(图 1), 而脲酶活性下降, 这可能是因为底物的反馈机制改变了生物化学反应方向, 抑制了土壤酶的产生; 在培养后期, 铵态氮含量总体较高, 这与土壤中较高的脲酶活性有一定的关系; 而转化酶主要水解蔗糖产生葡萄糖和果糖, 与有机碳转化密切相关^[11]。土壤融化阶段, 温度和冻融格局均会引起转化酶活性的变化。首先, 培养前 2 周期, 低温使土壤中转化酶活性暂时失活或处于较低水平, 但在培养的第 3 周期, 转化酶活性最高, 这可能是 3 次的冻融使土壤释放了可溶性碳, 增加了酶底物的有效性, 转化酶活性提高, 随着碳源被逐渐耗散及微生物残体的消耗, 酶活性降低。经过多次反复的冻融过程杀死部分土壤生物, 破坏死亡土壤生物残体细胞^[26], 促进细胞内酶向土壤中释放, 转化酶活性总体呈上升趋势。万忠梅和吴景贵^[27]认为, 冻融期环境温度的升高、土壤疏松度的增加、水稳性团聚体的降低, 均在不同程度上提高了土壤酶的活性。与 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 的中强度冻结相比较, $-25\text{ }^\circ\text{C}$ 高强度冻结的酶活性更低, 因此土壤酶活性表现为中强度冻融 $>$ 高强度冻融。从本实验的研究结果也可以看出, 氮素转化也间接影响着土壤转化酶活性, 并且和各个指标间相关度较大, 这可能是由于土壤中氮素的转化影响了土壤中的 C/N 比, 引起微生物活性变化^[28]。

4 结 论

冻融交替显著影响黑土的无机氮含量, 中强度

冻融有利于土壤铵态氮累积,而高强度冻融过程的土壤硝态氮含量整体上高于中强度冻融过程;冻结强度和冻融次数影响黑土的氮素转化速率,冻融循环降低了矿化速率,而对硝化速率的影响为先抑制后促进。整体上看,短期冻融对土壤脲酶和转化酶活性起到抑制作用,且脲酶活性和转化酶活性均表现为中强度冻融 > 高强度冻融。综上,土壤的冻融作用对黑土氮素转化及土壤酶活性具有重要影响,而土壤中的脲酶活性与土壤供氮能力显著相关,转化酶活性则通过碳源供给量及温度等因素影响着土壤中的地球化学循环过程,同时黑土中氮素的转化也间接影响着转化酶活性。

参考文献

- [1] 蔡延江,王小丹,丁维新,等. 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. Cai Y J, Wang X D, Ding W X, et al. Effects of freeze-thaw on soil nitrogen transformation and N_2O emission: A review (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(5): 1032—1042
- [2] Sajadevan K, Bavor H J. Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetlands systems. Water Research, 1998, 32(2): 393—399
- [3] 许晓光,李裕元,孟岑,等. 亚热带区稻田土壤氮磷淋失特征试验研究. 农业环境科学学报, 2013, 32(5): 991—999. Xu X G, Li Y Y, Meng C, et al. The characteristics of nitrogen and phosphorus leaching in a paddy soil in subtropics. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(5): 991—999
- [4] Purig G, Ashman R M. Relationship between soil microbial biomass and gross N mineralization. Soil Biology & Biochemistry, 1998, 30(2): 251—256
- [5] Burns R G, Dick R P. Enzymes in the environment: Activity, ecology and applications. New York: Marcel Dekker, CRC Press, 2002: 1—342
- [6] Mikan C J, Schimel J P, Doyle A P. Temperature controls of microbial respiration in arctic tundra soils above and below freezing. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(11): 1785—1795
- [7] Hentschel K, Borken W, Matzner E. Repeated freeze-thaw events affect leaching losses of nitrogen and dissolved organic matter in a forest soil. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2008, 171(5): 699—706
- [8] Freppaz M, Williams B L, Edwards A C, et al. Simulating soil freeze/thaw cycles typical of winter alpine conditions: Implications for N and P availability. Applied Soil Ecology, 2007, 35(1): 247—255
- [9] Lehrs G A, Sojka R E, Carter D L, et al. Freezing effects on aggregate stability affected by texture, mineralogy, and organic matter. Soil Science Society of America Journal, 1991, 55(5): 1401—1406
- [10] Grogan P, Michelsen A, Ambus P, et al. Freeze-thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms. Soil Biology & Biochemistry, 2004, 36(4): 641—654
- [11] 关松荫. 土壤酶及其研究方法. 北京:农业出版社, 1986: 274—340. Guan S Y. Soil enzyme and its research methods (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986: 274—340
- [12] 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: 156—159. Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 156—159
- [13] Rasion R J, Connell M J, Khanna P K. Methodology for studying fluxes of soil mineral N in situ. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19(5): 521—530
- [14] 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
- [15] Herrmann A, Witter E. Sources of C and N contributing to the flush in mineralization upon freeze-thaw cycles in soils. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(10): 1495—1505
- [16] 王洋,刘景双,王全英. 冻融作用对土壤团聚体及有机碳组分的影响. 生态环境学报, 2013, 22(7): 1269—1274. Wang Y, Liu J S, Wang Q Y. The Effects of freeze-thaw processes on soil aggregates and organic carbon (In Chinese). Ecology and Environmental Sciences, 2013, 22(7): 1269—1274
- [17] Campbell C A, Biederbeck V O. Influence of fluctuating temperatures and constant soil moistures on nitrogen changes in amended and unamended loam. Canadian Journal of Soil Science, 1972, 52(3): 323—336
- [18] Henry H. Soil freeze-thaw cycle experiments: Trends, methodological weaknesses and suggested improvements. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(5): 977—986
- [19] Klemmedtsson L, Svensson B, Rosswall T. Dinitrogen and nitrous oxide produced by denitrification and nitrification in soil with and without plants. Plant and Soil, 1987, 99: 303—319
- [20] Dalias P, Anderson J M, Bottner P, et al. Temperature responses of net nitrogen mineralization and nitrification in conifer forest soils incubated under standard laboratory condition. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(5): 691—701
- [21] 王洋,刘景双,王国平,等. 冻融作用与土壤理化效应的关系研究. 地理与地理信息科学, 2007, 23(2): 91—96. Wang Y, Liu J S, Wang G P, et al. Study on the effect of freezing and thawing action to soil physical and chemical characteristics (In Chinese). Geography and Geo-Information Science, 2007, 23(2): 91—96
- [22] 方运霆,莫江明,周国逸. 离子交换树脂袋法研究森林土壤硝态氮及其对氮沉降增加的响应. 生态环境, 2005, 14(4): 483—487. Fang Y T, Mo J M, Zhou G Y. Response of soil NO_3^- -N dynamics to N additions in Dinghushan forests, assessed by ion-exchange resin bag method (In Chinese). Ecology and Environment, 2005, 14(4): 483—487
- [23] Campbell J L, Ollinger S V, Flerchinger G N, et al. Past and projected future changes in snowpack and soil frost at the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire, USA. Hydrological Process, 2010, 24(17): 2465—2480

- [24] Campbell J L, Mitchell M J, Groffman P M, et al. Winter in northeastern North America: a critical period for ecological processes. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2005, 3(6): 314—322
- [25] 李述训,南卓铜,赵林. 冻融作用对系统与环境间能量交换的影响. *冰川冻土*, 2002, 24(2): 109—115. Li S X, Nan Z T, Zhao L. Impact of freezing and thawing on energy exchange between the system and environment. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2002, 24(2): 109—115
- [26] Wu FZ, Yang WQ, Zhang J, et al. Litter decomposition in two subalpine forests during the freeze-thaw season. *Acta Oecologica*, 2010, 36: 135—140
- [27] 万忠梅,吴景贵. 土壤酶活性影响因子研究进展. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2005, 33(6): 87—90. Wan Z M, Wu J G. Study progress on factors affecting soil enzyme activity. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forest: Natural Science Edition*, 2005, 33(6): 87—90
- [28] 许泉,芮雯奕,刘家龙,等. 我国农田土壤碳氮耦合特征的区域差异. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(3): 57—60. Xu Q, Rui W Y, Liu J L, et al. Spatial variability of coupling characteristics of soil carbon and nitrogen in farmland of China (In Chinese). *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22(3): 57—60

INFLUENCE OF FREEZING AND THAWING CYCLES ON NET NITROGEN TRANSFORMATION AND ENZYME ACTIVITY IN BLACK SOILS

Li Yuan¹ Zhu Hui² Yuan Xing^{1*}

(1 School of Environment, Northeast Normal University, Changchun 130117, China)

(2 Key Laboratory of Wetland Ecology and Environment, Northeast Institute of Geography and Agroecology, CAS, Changchun 130102, China)

Abstract The black soil area in China is typically characterized by freeze-thaw alternation, however, little is known about impacts of the freeze-thaw cycles on N availability in black soil. An indoor batch experiment was conducted to investigate effects of freeze-thaw cycles different in temperature range (-25—5 °C and -10—5 °C) on net nitrogen transformation and soil enzyme activity in black soil. Soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen content was determined with the 2 mol L⁻¹ (1:5 soil liquid ratio) KCl extraction method, and analyzed with the automatic chemical analyzer, Smartchem 200. Soil urease activity measured with the indophenol blue colorimetric method and soil invertase activity determined with the 3,5-dinitrosalicylic acid assay method. Results show that the contents of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen increased gradually with frequency of the freezing and thawing alternation and varied with intensity of the cycle. In terms content of ammonium nitrogen, the following order was observed: cycles moderate in intensity (-10—5 °C) > cycles high in intensity (-25—5 °C) > control (5 °C), except for the first round of freeze-thaw cycle moderate in intensity. However, freezing-thawing cycles did not have much influence on soil nitrate nitrogen. On the whole, freeze-thaw cycles reduced soil nitrogen mineralization and nitrification rates, and the effect was obviously affected by the intensity of freezing and thawing, but at the end of the experiment, the cycles displayed a tendency of promoting nitrification. As affected by low temperature and the alternation, the activities of urease and invertase in the soil under the cycles moderate in intensity were higher than that in the soil under the cycles high in intensity (except for the first cycle), however, both were lower than control. So the effect of soil freezing and thawing on black soils has an important influence on nitrogen transformation and soil enzyme activity. Urease activity and soil nitrogen supply capability are significantly correlated. Besides, invertase activity is affected by soil geochemical cycles through carbon source supply and temperature.

Key words Black soil; Freeze-thaw cycles; Ammonium nitrogen; Nitrate nitrogen; Nitrogen transformation rate; Soil enzymes

(责任编辑:卢 萍)