

冻融作用下模拟氮沉降对土壤酶活性与土壤无机氮含量的影响

于济通, 陶佳慧, 马小凡, 李琳慧, 王观竹, 郭 平 *

(吉林大学环境与资源学院, 地下水资源与环境教育部重点实验室, 长春 130012)

摘 要:采用野外模拟实验方法研究了冻融作用下氮沉降对东北松嫩羊草草地土壤酶活性和无机氮含量的影响。结果表明:氮沉降对土壤脲酶和蛋白酶活性具有一定的影响,而且随着氮沉降量的升高,两种酶活性均呈先升高后降低的趋势;土壤脲酶和蛋白酶活性在 T1 取样时间(秋冬冻融循环时期)和 T2 取样时间(冬春冻融循环时期)差异显著。土壤铵态氮含量随氮沉降量的增加呈上升趋势,且 T1 与 T2 取样时间差异显著;土壤硝态氮含量在 T1 取样时间随氮沉降量的增加而增加,在 T2 取样时间随施氮量的增加呈先升高后降低的趋势,且在温度较低的 T1 取样时间含量明显高于 T2 取样时间。刈割处理对 T1 取样时间土壤硝态氮含量影响显著,对 T2 取样时间土壤脲酶活性及土壤铵态氮含量影响显著。

关键词:草原;氮沉降;冻融;土壤酶;土壤无机氮;刈割

中图分类号:S153.6 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)03-0518-06 doi:10.11654/jaes.2015.03.014

Effects of Simulated Nitrogen Deposition on Enzymatic Activities and Inorganic Nitrogen Contents in Soil During Freeze – Thaw Cycles

YU Ji-tong, TAO Jia-hui, MA Xiao-fan, LI Lin-hui, WANG Guan-zhu, GUO Ping*

(Key lab of Ground Resources and Environment, Ministry of Education, College of Environment and Resources, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract: Atmospheric nitrogen deposition and freeze-thaw cycles impact soil nitrogen transformation. In this study, a field simulation experiment was conducted to investigate the effects of nitrogen deposition on enzymatic activities and inorganic nitrogen contents in soil during freeze-thaw cycles in Songnen grassland of Northeastern China. Nitrogen deposition exerted some impacts on soil urease and protease activities. The activities of both enzymes increased with nitrogen rates, but decreased at higher nitrogen, which may relate to N saturation. Urease and protease activities were significantly higher in the sampling time 2 (T2) (freeze-thaw cycles during winter/ spring seasons) than in the sampling time 1 (T1) (freeze-thaw cycles during fall/ winter seasons), due to more freeze-thaw cycles occurred in T2 resulted from higher temperature. The contents of soil ammonium nitrogen increased with nitrogen deposition, and was significantly higher in T2 than in T1. With nitrogen addition, nitrate nitrogen contents in soil increased in T1, while it increased initially but decreased then in T2. Soil nitrate nitrogen contents were significantly higher in T1 than in T2, which might be due to nitrate leaching by water from the melting process in the early spring. Compared with non-clipping, clipping significantly reduced soil nitrate nitrogen contents in T1, but increased soil urease activity and soil ammonium nitrogen contents in T2. The changes in soil surface temperature and grass residues caused by clipping may also influence soil enzyme activities and inorganic nitrogen contents.

Keywords: grassland; nitrogen deposition; freeze-thaw cycle; soil enzyme; soil inorganic nitrogen; clipping

收稿日期:2014-11-16

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项基金(2012ZX07208-011)

作者简介:于济通(1990—),男,辽宁沈阳人,硕士研究生,从事土壤污染与生态修复方面研究。E-mail:yujt12@mails.jlu.edu.cn

* 通信作者:郭 平 E-mail:guoping@jlu.edu.cn

近年来,随着工业化水平的提高,由矿物燃烧、化肥使用和畜牧业发展等人类活动带来的大气中含氮化合物的激增,导致大气氮沉降迅速增加,并呈全球化的态势。据报道,从1961年至2000年,我国活性氮排放从 $1.4 \times 10^7 \text{ t} \cdot \text{a}^{-1}$ 升至 $6.8 \times 10^7 \text{ t} \cdot \text{a}^{-1}$,预计在2030年将达到 $1.05 \times 10^8 \text{ t} \cdot \text{a}^{-1}$ 。氮沉降持续增加将导致生态系统氮素循环、生物多样性、生态系统服务等一系列的变化^[2]。

国内外学者已经开展了模拟氮沉降对草原生态系统氮转化的研究,发现添加氮显著地影响草原生态系统氮转化进程(氮矿化和硝化),能够增加土壤无机氮,提高土壤净氮矿化和硝化率^[3]。在一个典型羊草草原,氮添加呈现剂量效应,低氮添加(e.g. $17.5 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)刺激氮矿化,高氮添加(e.g. $280 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)抑制氮矿化^[4]。氮沉降引起土壤氮转化改变是与土壤酶活性的变化分不开的^[5],土壤酶作为土壤生物化学过程的积极参与者,在生态系统的物质循环和能量流动中扮演着极其重要的角色^[6]。土壤酶主要来源于土壤微生物和植物根系的分泌物以及动植物残体分解释放,是生态环境质量的重要生物指标^[7]。土壤酶活性对氮沉降^[8]和冻融作用^[9]存在潜在的响应。

地上植物的生长也对土壤理化性质和土壤微生态环境造成了一定的影响^[10]。在草原生态系统中,刈割可以缓解放牧对草原生态系统的持续性压力,会对其土壤生物化学过程造成一定的影响^[11],刈割处理对于生长季草原土壤氮矿化影响的研究已经有人开展^[12]。虽然大多数探索土壤氮动态的研究是在植物生长季节的背景中进行的,但是冻融作用对氮循环影响的重要性仍不容忽视^[13]。冻融是指土层由于温度变化而产生冻结和融化的一种地质作用和现象,普遍存在于中、高纬度以及高海拔地区。有研究表明,冻融季节明显的冻结作用、冻融循环和融化作用能显著影响土壤微生物活动^[14],并可能直接作用于土壤氮矿化过程。事实上,土壤氮矿化能够引起土壤无机氮含量的变化。秋冬和冬春之间的季节交替是土壤发生冻融循环的重要时期,虽然秋冬和冬春发生季节交替时都会发生冻融循环作用,但在这两个季节所发生的冻融循环是明显不同的。到目前为止,秋冬和冬春之间季节

交替发生的冻融循环作用对土壤氮转化和相关酶活性的影响还待研究。

本文以松嫩草原典型的羊草草地为对象,研究了秋冬和冬春季节交替时期的冻融循环作用对土壤无机氮含量和相关酶活性的影响,同时考察了刈割在上述过程中的作用,旨在通过此研究了解在冻融循环作用下氮沉降对羊草草原土壤氮转化的影响。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

研究地位于吉林省松原市长岭县腰井子牧场东北师范大学松嫩羊草草地生态研究站,北纬 $44^{\circ}34'35.6''$,东经 $123^{\circ}31'11.6''$ 。松嫩羊草草地位于我国东北中部,是欧亚草原带向东延伸的末端,主要由松花江、嫩江冲击而成,是我国优良的天然打草场和优良放牧场,羊草(*Aneurolpidium chinese*)草甸是该地区的优势植被。该地区属于大陆性季风气候,年平均气温 4.5°C , $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 有效积温 3160°C ,年平均降雨量在 $400\sim 500 \text{ mm}$ 之间,多集中在7、8月份。土壤主要为风沙土、草甸土,其理化性质见表1。

1.2 样地设计与样品采集

本文选择硝酸铵(NH_4NO_3)来模拟氮沉降实验,共设计刈割和未刈割2种情况,在此基础上进行4种梯度施氮处理来模拟氮沉降,分别是 $0(\text{N}0)$ 、 $5(\text{N}5)$ 、 $10(\text{N}10)$ 、 $20(\text{N}20) \text{ gN} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ 。模拟氮沉降自2013年8月开始,每种氮沉降添加量平均分配于整个研究时期,在每月中旬将氮肥溶于水中均匀喷洒,对照组样地喷洒同样剂量的蒸馏水。每个实验小区面积为 $2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$ (其中中间 $1.5 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$ 为实验面积,氮肥喷洒面积仍为 $2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$),随机区组排列实验小区,并保持相邻小区之间间隔大于 1 m 。

为了研究秋冬和冬春季节交替时期的冻融循环作用对土壤氮转化过程中无机氮含量和相关酶活性的影响,分别在秋冬冻融交替期2013年12月(记为T1取样时间)和冬春冻融交替期2014年3月(记为T2取样时间)进行样品采集(两个采样期气温分别为 -9.3°C 和 -2.6°C)。在各实验小区中随机采集土壤样品,采用四分法收集,装入袋中贴好标签带回实验

表1 土壤理化性质

Table 1 Soil physical and chemical properties

pH	电导率/ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ Conductivity	含水率/% Moisture content	容重/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ Bulk density	土壤有机质/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ Soil organic matter	土壤铵态氮/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Soil ammonium nitrogen	土壤硝态氮/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Soil nitrate nitrogen
8.14	0.115	20.95	1.56	31.10	3.55	11.48

室。在实验室内去除枯枝落叶等杂物后,过 2 mm 孔径筛待用。

1.3 参数测定方法

土壤 pH 值(水土比 1:5)采用玻璃复合电极-酸度计测定。土壤铵态氮和硝态氮在经 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 浸提后,采用分光光度法测定^[15]。土壤脲酶活性和蛋白酶活性的测量均参考关松荫的方法^[16]。

1.4 数据分析

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,以其方差分析进行单一变量间差异性检验。采用 Origin 8.0 软件进行图像绘制。

2 结果

2.1 冻融作用下氮沉降对土壤酶活性的影响

图 1A 所示为冻融作用下氮沉降对土壤蛋白酶活性的影响。土壤蛋白酶活性随着施氮量的增加呈现先升高后降低的趋势,而且在两次取样时间内土壤蛋白酶活性峰值对应的施氮量不同。T1 取样时间最高点出现在 N10 处理,而 T2 时期出现在 N5 处理。T1 与 T2 取样时间土壤蛋白酶活性差异与是否刈割和施氮量有关:在所有施氮量情况下,T1 取样时间与 T2 取样时间的土壤蛋白酶活性在刈割组和未刈割组均差异显著($P<0.05$);施氮量对不同取样时间土壤蛋白酶活性存在影响,在 T1 和 T2 取样时间,刈割组不同施氮量处理间差异显著($P<0.05$),未刈割组差异不显著。经检验发现,除 T1 取样时间 N0、N5 处理外,刈割组与未刈割组间土壤蛋白酶的活性差异显著($P<0.05$)。

图 1B 所示为冻融作用下氮沉降对土壤脲酶活性的影响。施氮量对土壤脲酶活性的影响规律与蛋白酶的一致,也呈现先升高后降低的趋势,而且脲酶活性最高值对应的施氮量与蛋白酶的相同。在本文设定

的所有施氮量情况下,与 T1 取样时间相比,T2 取样时间脲酶活性显著提高,而且刈割组和未刈割组两个取样时间的酶活性差异显著($P<0.01$)。施氮量对于土壤脲酶活性影响不大,仅在 T1 取样时间刈割组不同施氮量土壤脲酶活性间差异显著($P<0.05$),在 T1 和 T2 取样时间不同施氮量土壤脲酶的活性差异不显著。刈割处理对于 T1 取样时间土壤脲酶的活性影响不显著,然而对 T2 取样时间脲酶活性的影响显著($P<0.05$)。

2.2 冻融作用下氮沉降对土壤无机氮的影响

图 2A 所示为冻融作用下氮沉降对土壤铵态氮含量的影响。随着施氮量的增加,土壤铵态氮含量亦升高。在 T1 和 T2 取样时间内,土壤铵氮含量在刈割组不同施氮量间差异均显著($P<0.05$)。不同施氮量处理间 T1 取样时间未刈割组的差异不显著,然而在 T2 取样时间未刈割组间差异显著($P<0.05$)。T2 取样时间的土壤 NH_4^+-N 含量在不同氮沉降情况下都明显高于 T1 取样时间的 NH_4^+-N 含量($P<0.001$)。刈割处理对于 T1 取样时间土壤 NH_4^+-N 含量影响不显著,然而对于 T2 取样时间 NH_4^+-N 含量影响显著($P<0.05$)。

图 2B 所示为冻融作用下氮沉降对土壤硝态氮含量的影响。T1 取样时间土壤硝态氮含量与铵态氮含量变化趋势一致,随施氮量的增加而增加,未刈割组不同施氮量间的土壤硝态氮含量差异不显著,刈割组不同施氮量间土壤硝态氮含量差异显著($P<0.05$)。T2 取样时间的土壤硝态氮含量随着施氮量的增加呈先增加后下降的趋势,未刈割组土壤硝态氮含量在不同施氮量间差异显著($P<0.05$),而刈割组土壤硝态氮含量在不同施氮量间差异不显著。不同取样时间土壤 NO_3^--N 含量则均有极显著差异($P<0.001$)。刈割处理对于土壤 NO_3^--N 含量存在影响,且对 T1 取样时间的 NO_3^--N 含量影响显著($P<0.01$),对 T2 取样时间的

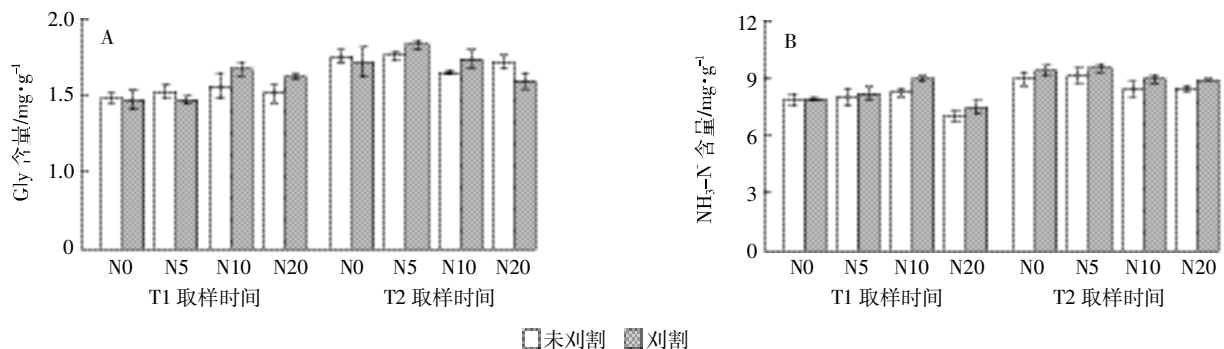


图 1 冻融作用下氮沉降对土壤蛋白酶(A)和土壤脲酶(B)活性的影响

Figure 1 Effects of nitrogen deposition on soil protease(A) and urease activities(B) during freeze - thaw cycles

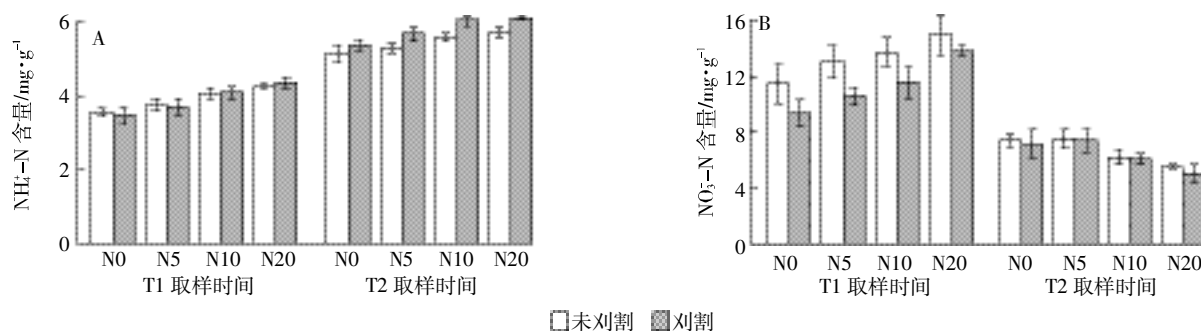


图2 冻融作用下氮沉降对土壤铵态氮含量(A)和土壤硝态氮含量(B)的影响

Figure 2 Effects of nitrogen deposition on soil ammonium(A) and nitrate nitrogen(B) contents during freeze - thaw cycles

$\text{NO}_3\text{-N}$ 含量影响则不显著。

3 讨论

3.1 冻融作用下氮沉降对土壤酶活性的影响

土壤温度对土壤蛋白酶造成了一定的影响,在温度较低的12月,土壤蛋白酶活性显著低于3月。曾智科^[17]的研究指出,土壤蛋白酶的活性与温度的变化趋势基本一致,与本文得出的结果相近。土壤中的蛋白酶主要来自微生物释放的内蛋白酶和外蛋白酶以及植物根系所释放的蛋白酶,它能够将蛋白质及肽类化合物水解为氨基酸。土壤蛋白酶活性与土壤氮素营养状况有极其重要的关系,其活性与总氮含量呈极显著相关^[18]。随着氮沉降量的增加,土壤蛋白酶的活性增强,当沉降量为 $10 \text{ gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 或者 $20 \text{ gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ 时,可能已经达到或者超过 N 饱和点,因此酶活性没有继续增大,反而因 N 的过量添加对酶活性产生了抑制效果。

人们普遍认为,土壤酶活性与温度在自然温度范畴内呈正相关的关系,即土壤温度降低,酶活性也相对较低。但本实验经过低温冻融循环之后,酶活性反而上升,冻融作用对土壤脲酶活性存在着显著的影响。李娜^[19]的研究结果也证明了这点,即土壤脲酶的活性经多次冻融循环后有显著提高。冻融作用会破坏微生物细胞,使其释放 C、N 营养物质,提供给在冰冻过程中幸存的微生物固持、消耗利用,增加土壤微生物的活性^[20]。这可能是土壤酶活性经过冻融作用提高的主要原因。

施氮处理对土壤脲酶活性也造成了影响,总体呈先升高后降低的趋势。Saiya-Cork 等^[21]的研究表明,氮沉降增加了土壤脲酶的活性;Ajwa 等^[8]的研究却得出氮肥的添加会降低土壤脲酶的活性,但在其研究中施氮量为 $100 \text{ gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$,脲酶活性被抑制的原因可能

是施氮量过高产生的剂量效应;涂利华等^[5]的研究表明,中等剂量的氮沉降增加了土壤脲酶的活性,但是高剂量 ($30 \text{ gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$) 的氮沉降比中等剂量 ($15 \text{ gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$) 使土壤脲酶活性下降,可见高浓度的氮会抑制土壤脲酶活性。

刈割处理对于土壤脲酶活性影响显著,刈割提高了土壤脲酶的活性。这与章家恩^[10]的研究结果相反,可能原因是冻融期间轻度的刈割致使植物残体增多,经分解产生养分刺激了地下微生物的活动,导致酶活性的上升。但刈割处理对土壤蛋白酶活性影响没有呈显著差异,总体上呈现与施氮量正相关的趋势。

3.2 冻融作用下氮沉降对土壤无机氮的影响

有研究表明,土壤铵态氮含量会随着冻融交替而增加^[22]。这可能是土壤冻融循环过程中土壤结构、孔隙等物理性状发生变化,破坏了土壤团聚体和微生物活性,导致土壤无机氮释放增加。对于模拟氮沉降的施用,土壤铵态氮含量随着模拟氮沉降量的增加而增加,与袁颖红^[23]的研究一致。另外,较低的土壤温度导致土壤胶体中铵态氮释放增加也是土壤铵态氮升高的原因之一^[24],当土壤温度低于 10°C 时,土壤的氨化速率通常大于硝化速率^[25],这也意味着冬季土壤更易积累 $\text{NH}_4\text{-N}$ 。

土壤硝态氮含量在 T2 取样时间大幅降低,原因可能是春季积雪开始融化带来水分,而硝态氮带负电荷,容易从离子交换能力差的土壤中流失;铵态氮因为容易被植物和微生物吸收或矿物质所固持^[26],所以没有出现含量降低的情况。Groffman 等^[27]的研究表明,流域氮素流失主要的是硝态氮,冻融会造成流域硝态氮流失增多。本文中 T2 取样时间冰雪融化带来的渗透水,会在淋溶的过程中带走一定量的硝态氮,造成硝态氮的流失。硝态氮的流失说明本实验中外加的氮可能已超出生态系统对氮的需求。赵俊晔等^[28]的

研究指出,过量施氮使硝态氮在土壤剖面大量积累并下移;Mergel 等^[29]的研究表明,早春季节的反硝化细菌数量最高,冻融循环过程促进了反硝化细菌的增加,其反硝化作用消耗硝态氮的能力增强,也是土壤 NO_3^- -N 下降的可能原因。

刈割处理对土壤硝态氮含量起到了抑制作用。这可能是因为刈割导致土壤裸露于空气中,使土壤温度低于有枯草覆盖的未刈割组,低温降低了土壤中硝化细菌的活性,因此抑制了硝化作用导致土壤硝态氮的降低。刈割处理对于土壤铵态氮含量的影响总体上呈现出对施氮量的正响应,氮的添加对土壤铵态氮含量的影响在刈割组中比未刈割组更大。由于这方面的文献报道较少,其内在机制还有待研究。

4 结论

(1)氮的添加对土壤酶活性及土壤无机氮含量造成了一定的影响。低浓度氮处理使土壤酶活性增加,高浓度的氮添加却抑制了土壤酶活性的增长,土壤无机氮的含量总体上随着模拟氮沉降量的增加而增加,但是在冬春交际的 T2 取样时间,土壤硝态氮随施氮量增加呈先升高后降低的趋势。

(2)不同取样时间对于土壤酶活性及土壤无机氮含量的差异十分显著。相对于秋冬交际,冬春交际时间土壤经历更多频次的冻融循环作用,经冻融破坏的微生物细胞提供给幸存的微生物更多的营养物质,刺激了微生物生长,导致酶活性的提升。土壤冻融循环过程中土壤结构、孔隙等物理性状的变化,造成了土壤无机氮释放的增加,进而对土壤无机氮的含量产生影响。

(3)刈割处理对于土壤酶活性及无机氮的影响不大,仅对部分取样时间的脲酶、无机氮存在显著影响。

参考文献:

- [1] Zhang X H, Fu C B, Xu X K, et al. The Asian nitrogen cycle case study [J]. *Ambio*, 2002, 31(2): 79–87.
- [2] Liu X, Duan L, Mo J, et al. Nitrogen deposition and its ecological impact in China: An overview [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(10): 2251–2264.
- [3] 邹亚丽, 牛得草, 杨 益, 等. 氮素添加对黄土高原典型草原土壤氮矿化的影响 [J]. *草地学报*, 2014, 22(3): 461–468.
ZOU Ya-li, NIU De-cai, YANG Yi, et al. The effects of nitrogen addition on soil nitrogen mineralization in the semi-arid typical grassland of loess plateau [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2014, 22(3): 461–468.
- [4] 张 璐, 黄建辉, 白永飞, 等. 氮素添加对内蒙古羊草草原净氮矿化的影响 [J]. *植物生态学报*, 2009, 33(3): 563–569.
ZHANG Lu, HUANG Jian-hui, BAI Yong-fei, et al. Effects of nitrogen addition on net nitrogen mineralization in *Leymus chinensis* grassland, Inner Mongolia, China [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2009, 33(3): 563–569.
- [5] 涂利华, 胡红玲, 胡庭兴, 等. 模拟氮沉降对华西雨屏区光皮桦林土壤酶活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2012, 23(8): 2129–2134.
TU Li-hua, HU Hong-ling, HU Ting-xing, et al. Effects of simulated nitrogen deposition on soil enzyme activities in a *Betula luminifera* plantation in rainy area of West China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(8): 2129–2134.
- [6] Yao X H, Min H, Lu Z H, et al. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2006, 42(2): 120–126.
- [7] Garcia-Ruiz R, Ochoa V, Belen Hinojosa M, et al. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(9): 2137–2145.
- [8] Ajwa H A, Dell C J, Rice C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31(5): 769–777.
- [9] Wallenstein D, McMahon S K, Schimel J P. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils [J]. *Global Change Biology*, 2009, 15(7): 1631–1639.
- [10] 章家恩, 刘文高, 陈景青, 等. 刈割对牧草地下部根区土壤养分及土壤酶活性的影响 [J]. *生态环境*, 2005, 14(3): 387–391.
ZHANG Jia-en, LIU Wen-gao, CHEN Jing-qing, et al. Effect on mowing on soil nutrient and soil enzyme activity in the belowground of pasture root zone [J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(3): 387–391.
- [11] 单玉梅, 陈海军, 白永飞, 等. 内蒙古典型草原土壤无机氮含量对交替利用方式的响应 [J]. *中国草地学报*, 2011, 33(4): 24–30.
SHAN Yu-mei, CHEN Hai-jun, BAI Yong-fei, et al. Response of soil inorganic nitrogen content to alternate using pattern in typical steppe, Inner Mongolia [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2011, 33(4): 24–30.
- [12] Sorensen L I, Kytoviita M M, Olofsson J, et al. Soil feedback on plant growth in a sub-arctic grassland as a result of repeated defoliation [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(11): 2891–2897.
- [13] Joseph G, Henry H A L. Soil nitrogen leaching losses in response to freeze-thaw cycles and pulsed warming in a temperate old field [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(7): 1947–1953.
- [14] Sharma S, Szele Z, Schilling R, et al. Influence of freeze-thaw stress on the structure and function of microbial communities and denitrifying populations in soil [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 2148–2154.
- [15] 中华人民共和国环境保护部. HJ 634—2012 土壤 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定 氯化钾溶液提取-分光光度法 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2012.
Ministry of Environmental protection of PRC. HJ 634—2012 Soil-determination of ammonium, nitrite and nitrate by extraction with potassium chloride solution-spectrophotometric methods [S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2012.
- [16] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986: 270–344.

- GUAN Song-yin. Soil enzyme and its study methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986:270-334.
- [17] 曾智科. 三江源区高寒草甸土壤微生物季节动态及对草地退化的响应[D]. 西宁:青海师范大学, 2009:36-42.
- ZENG Zhi-ke. The seasonal dynamics of alpine meadow soil microorganisms and the response from grassland degradation in the area of Three River Source[D]. Xining: Qinghai Normal University, 2009:36-42.
- [18] 徐惠风, 刘兴土. 长白山区沟谷沼泽乌拉苔草(*Carex meyeriana*)湿地土壤酶活性与氮素、土壤微生物相关性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(5):946-950.
- XU Hui-feng, LIU Xing-tu. Relationship between soil enzyme activity and nitrogen, soil microorganisms of *Carex meyeriana* wetland in Changbai mountain valley[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(5):946-950.
- [19] 李娜. 冻融作用对吉林西部典型土壤碳氮酶的影响机制及温室气体排放研究[D]. 长春:吉林大学, 2012:108-111.
- LI Na. Mechanism of soil organic carbon/total nitrogen/soil enzymes and greenhouse gas emissions during freezing-thawing period in Western Jilin[D]. Changchun: Jilin University, 2012:108-111.
- [20] 譙兴国, 李法云, 张营, 等. 冻融作用对石油污染土壤酶活性和水溶性碳的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3):914-919.
- QIAO Xing-guo, LI Fa-yun, ZHANG Ying, et al. The effect of freezing and thawing on enzyme activity and dissolved organic carbon in petroleum contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3):914-919.
- [21] 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[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34(9):1309-1315.
- [22] 范志平, 李胜男, 李法云, 等. 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[J]. 气象与环境学报, 2013, 29(4):106-111.
- FAN Zhi-ping, LI Sheng-nan, LI Fa-yun, et al. Effect of freezing-thawing on soil dissolved inorganic nitrogen and soil microbial biomass nitrogen in riparian zone[J]. *Journal of Meteorology and Environment*, 2013, 29(4):106-111.
- [23] 袁颖红, 樊后保, 李燕燕, 等. 模拟氮沉降对土壤酸化和土壤盐基离子含量的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(4):461-466.
- YUAN Ying-hong, FAN Hou-bao, LI Yan-yan, et al. Effect of simulated N deposition on soil acidification and content of base cations[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2011, 17(4):461-466.
- [24] Kvaerno S H, Oygarden L. The influence of freeze-thaw cycles and soil moisture on aggregate stability of three soils in Norway[J]. *Catena*, 2006, 67(3):175-182.
- [25] Smith J, Wagner-Riddle C, Dunfield K. Season and management related changes in the diversity of nitrifying and denitrifying bacteria over winter and spring[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 44(2):138-146.
- [26] Matson P A, McDowell W H, Townsend A R, et al. The globalization of N deposition: Ecosystem consequences in tropical environments[J]. *Biogeochemistry*, 1999, 46(1-3):67-83.
- [27] Groffman P M, Driscoll C T, Fahey T J, et al. Effects of mild winter freezing on soil nitrogen and carbon dynamics in a northern hardwood forest[J]. *Biogeochemistry*, 2001, 56(2):191-213.
- [28] 赵俊晔, 于振文, 李延奇, 等. 施氮量对土壤无机氮分布和微生物量氮含量及小麦产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(4):466-472.
- ZHAO Jun-ye, YU Zhen-wen, LI Yan-qi, et al. Effects of nitrogen application rate on soil inorganic nitrogen distribution, microbial biomass nitrogen content and yield of wheat[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(4):466-472.
- [29] Mergel A, Kloos K, Bothe H. Seasonal fluctuations in the population of denitrifying and N-2-fixing bacteria in an acid soil of a Norway spruce forest[J]. *Plant and Soil*, 2001, 230(1):145-160.