

# 三江平原典型草甸小叶章湿地土壤的反硝化作用

孙志高<sup>1,2</sup>, 刘景双<sup>2</sup>, 于君宝<sup>1</sup>

- (1. 中国科学院 烟台海岸带可持续发展研究所, 山东 烟台 264003;
2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 吉林 长春 130012)

**摘要:** 选择三江平原典型草甸小叶章湿地土壤(草甸沼泽土)为研究对象,采用厌氧淹水培养法,研究了不同土层的反硝化率、反硝化能力及反硝化速率。结果表明,不同土层的反硝化率均随培养时间延长而增加,0~30cm 土层的反硝化率较高,30cm 以下土层较低且相近;不同土层的氮损失贡献率在不同阶段具有明显的时空分异特征,0~30cm 土层的氮损失贡献率较高,介于 52.39% 和 57.91% 之间;不同土层的反硝化速率与培养时间均符合一阶指数衰减模型( $R^2 \geq 0.97$ ),上层土壤的反硝化速率明显高于下层土壤。不同土层的反硝化率和反硝化速率与土壤理化性质密切相关,反硝化细菌的剖面分布可能对其具有重要影响。图 3,表 4,参 24。

**关键词:** 反硝化作用; 土壤; 小叶章湿地; 三江平原

中图分类号: S152 文献标识码: A 文章编号: 1001-0068 (2010) 01-0117-06

## Denitrification of Nitrogen in Typical Meadow *Calamagrostis angustifolia*

### Wetland Soils in the Sanjiang Plain

SUN Zhi-gao<sup>1,2</sup>, LIU Jing-shuang<sup>2</sup>, YU Jun-bao<sup>1</sup>

- (1. Yantai Institute of Coastal Zone Research for Sustainable Development, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China;
2. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China)

**Abstract:** The typical *Calamagrostis angustifolia* wetland soil (meadow marsh soil) was selected as study objects, and the denitrification ratios, capacities and rates of different soil layers were studied by anaerobic submerged incubation method. Results showed that the denitrification ratios of different soil layers increased as the lapse of incubation time, and the values of 0-30cm layers were much higher, while those of 30cm-80cm layers were much lower and approximate. In different incubation phases, the nitrogen loss percentages of different soil layers had significantly temporal and spatial variation characteristics. Comparatively, the nitrogen loss percentages of 0-30cm layers were much higher, and the values were between 52.39% and 57.91%. The relationships between denitrification rates of different soil layers and incubation times accorded with first-order exponential decay models ( $R^2 \geq 0.97$ ). In addition, the denitrification rates of upper soil layers were much higher than those of subsoil layers. The denitrification activities and rates were mainly correlated with soil physical or chemical properties, and the profile distribution of denitrifying bacteria might have significant effects on them.

**Key words:** denitrification; soil; *Calamagrostis angustifolia* wetland; Sanjiang Plain

湿地介于水陆之间,其常年积水或季节干湿交替的环境条件,以及较为丰富的氮素物质基础为土壤中硝化-反硝化作用的进行提供了良好的反应条件。反硝化作用是湿地土壤氮循环的重要环节之一,它不仅影响着土壤氮供给的有效性,而且还是导致氮素气态损失( $N_2$ 、 $N_2O$ 等)的重要机制<sup>[1]</sup>,其强弱直接影响着 $N_2O$ 的释放量。 $N_2O$ 作为温室效应强烈的温室气体有着巨大的环境效应<sup>[2]</sup>,其在过去 100a 中对全球温室效应的贡献达 4%~7%<sup>[3]</sup>。由于 $N_2O$ 在大气中的寿命可达 150a,所以它对于全球环境的影响是长期的和潜在的<sup>[4]</sup>。目前,湿地土壤反硝化作用已经成为环境科学和土壤学研究的热点,而由其引起的环境效应愈来愈受到人们的关注。

三江平原是我国湿地面积较大、类型较齐全的地区之一,小叶章湿地是该区主要的湿地类型,占湿地面积的 34.45%<sup>[5]</sup>。典型草甸小叶章湿地大多分布于该区沼泽发育最为普遍的碟形洼地边缘,地表无积水但常年保持湿润,发育着草甸沼泽土<sup>[6]</sup>。选择典型草甸小叶章湿地作为研究对象,原因在于该类型湿地处于碟形洼地的水分交错带上,其对于水分变化的指示极为敏感。目前,尽管国内外学者已对土壤反硝化

收稿日期: 2008-06-10.

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-YW-309); 山东省黄河三角洲生态环境重点实验室开放基金项目(2007KFJJ01); 中国科学院“优秀博士学位论文、院长奖获得者”科研启动专项资金项目(AJ0809BX-036)。

第一作者简介: 孙志高(1979-),男,博士,副研究员,主要研究方向为湿地环境生态与生物地球化学过程。

作用与  $N_2O$  释放的关系以及其作用机制进行了许多研究,但这些研究大多集中于农田<sup>[7-10]</sup>、草地<sup>[11-14]</sup>和森林生态系统<sup>[15-18]</sup>的相关探讨上,对于湿地土壤反硝化活性的相关研究还不多见。我们对此进行了研究,目的在于揭示草甸沼泽土不同土层的反硝化率、反硝化能力以及反硝化速率的变化规律,以为该区湿地土壤质量演变、环境保护以及氮循环等方面研究提供重要科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试土壤基本性质

试验供试土壤为草甸沼泽土。土壤样品于 2005 年 8 月在中国科学院三江平原沼泽湿地生态试验站以东 12km 的野外试验场典型样地内按照多小区、多点混合的方法分层采集,并另用环刀法测定土壤密度。采样时,每 10cm 一层,共采集 8 层。所有土壤样品自然风干后,分为 3 份。一份用球磨机磨碎后过 100 目筛,用于测定土壤理化性质;一份磨碎过 0.84mm 孔径筛,用于培养试验;另一份用于测定土壤粒度。粒度分析采用吸管法,质地采用国际制分类;pH 采用电位法测定,  $m$  (土):  $V$  (水) = 1: 5;有机质采用重铬酸钾容量法测定;TN 采用凯氏法测定;TP 采用高氯酸—硫酸酸溶—钼锑抗比色法测定。供试土壤的基本理化性质如表 1 所示。

表 1 草甸沼泽土的基本性质

土壤层次 cm	颗粒组成 $g \cdot kg^{-1}$			密度 $g \cdot cm^{-3}$	pH	有机质 %	TN $mg \cdot kg^{-1}$	TP $mg \cdot kg^{-1}$	C/N
	黏粒 <0.002mm	粉粒 0.002mm ~ 0.02mm	砂粒 >0.02mm						
0 ~ 10	393.2	543.2	63.6	0.90	5.37	5.35	2939.32	859.80	18.20
10 ~ 20	430.7	525.5	43.9	1.14	6.37	5.31	2515.85	841.19	21.11
20 ~ 30	468.1	507.7	24.1	1.39	5.83	2.18	1046.28	530.61	20.84
30 ~ 40	537.7	440.3	22.0	1.53	6.12	1.17	455.63	384.62	25.68
40 ~ 50	718.9	239.3	41.8	1.40	5.36	1.07	429.25	353.09	24.93
50 ~ 60	835.2	159.7	51.0	1.56	5.85	1.23	586.67	383.77	20.96
60 ~ 70	824.3	169.6	6.1	1.25	6.01	1.21	594.79	378.84	20.34
70 ~ 80	852.2	138.8	8.9	1.51	6.06	1.36	610.03	329.89	22.29

### 1.2 研究方法

2006 年 6 月,采用加入  $KNO_3$  恒温条件下厌氧淹水培养法进行培养试验。称取 10g 过 0.84mm 孔径筛的各层供试土壤各 10 份,共计 80 份,分别放入 100mL 培养瓶中。其中 64 份分别定量加入 5.00mgN  $KNO_3$ ,另外 16 份不加  $KNO_3$ ,然后加入去离子水至 25mL,瓶口用橡胶塞密闭封口(外加胶带封紧),置于 30℃ 的培养箱中恒温培养。预培 2d 后,对不加  $KNO_3$  的 16 份分别加入 25ml 4.0mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的 KCl 溶液,振荡 1h 后,过滤至干净的塑料瓶中,用连续流动分析仪 (SKALAR - SAN<sup>++</sup>) 测定硝态氮的含量作为初始量。而对加  $KNO_3$  的 64 个培养瓶继续恒温培养,并开始计算时间,在正式培养后的第 4d、8d、16d 和 24d 分别取样,每层土壤 2 个重复,其硝态氮含量也采用上述方法进行测定。计算不同培养期的硝态氮变化量,以变化量除以初始量来表征硝态氮的反硝化率,以硝态氮变化量除以培养时间来计算硝态氮的反硝化速率。

### 1.3 数据处理与统计

运用 Origin7.5 软件对数据进行作图、计算和数学模拟,运用 SPSS10.0 软件对数据进行相关分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 湿地土壤的反硝化率

图 1 为草甸沼泽土不同土层的反硝化率随时间的变化。从图中可以看出,各土层反硝化率的变化趋势基本一致,均随时间的延长而逐渐增加。培养 4d 后,草甸沼泽土 0 ~ 10cm、10 cm ~ 20 cm、20 cm ~

30cm 土层的反硝化率就已达到较高值, 其中 10cm ~ 20cm 土层最高 (76.89%), 其它两土层也分别高达 39.50% 和 45.04%。从第 4 天到培养结束, 除 10cm ~ 20cm, 20cm ~ 30cm 土层反硝化率的增长趋势较为明显 (分别增加 23.04% 和 11.73%) 外, 0 ~ 10cm 土层的变化并不明显, 仅增加 6.00%。比较而言, 草甸沼泽土自 30cm 以下各土层的反硝化率在相同培养阶段均差别不大, 并且不同培养阶段其值的增长趋势也并不明显。从第 4 天到培养结束, 30cm ~ 40cm、40cm ~ 50cm、50cm ~ 60cm、60cm ~ 70cm、70cm ~ 80cm 土层的反硝化率分别仅增加 4.78%、4.45%、4.22%、4.10% 和 3.89% (在第 8 天, 40cm 以下各土层的反硝化率相对于第 4 天的降低主要与试验误差有关)。

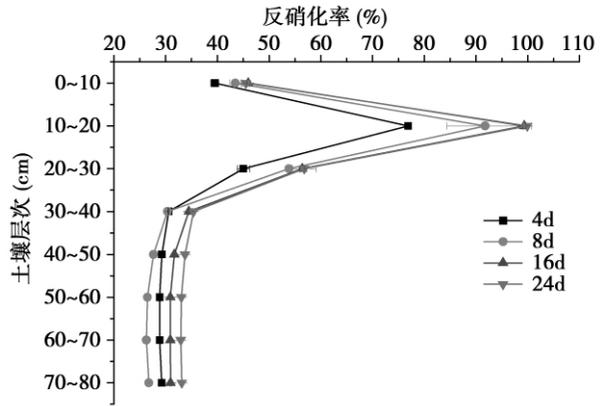


图 1 草甸沼泽土反硝化率的时空分异

草甸沼泽土各土层的反硝化率在各培养阶段均具有较为一致的剖面分异特征, 其中 0 ~ 20cm 土层的反硝化率呈骤然增加趋势, 而自 20cm 向下, 各土层的反硝化率均呈逐渐降低趋势, 其中 20cm ~ 40cm 土层骤减明显, 40cm 以下则呈平稳变化。培养 24d 后, 10cm ~ 20cm 土层的反硝化率高达 99.3%, 显著高于 40cm 以下各土层的反硝化率 (高出 60% 以上)。总的来说, 草甸沼泽土 20cm 以下各土层反硝化率的剖面分布特征与其有机质、TN 和 TP 含量的分布特征较为相似 (表 1), 其反硝化率在各培养阶段均与黏粒含量和密度呈一定的负相关 (表 2), 与粉粒、砂粒含量和 pH 呈一定的正相关, 而与有机质、TN 和 TP 含量则呈显著正相关 ( $p < 0.05$ )。一般而言, 土壤碳、氮含量 (C/N 比) 对于反硝化作用的进行具有重要影响。由于反硝化微生物需要有机物作为电子供体和细胞能源, 所以湿地土壤有机物的生物有效性直接影响着反硝化率<sup>[19]</sup>。同时, 易分解有机物的分解还会消耗土壤中的  $O_2$ , 从而促进了厌氧环境的形成, 进而在一定程度上促进了反硝化作用的进行。但如果易分解有机物的含量过高 (C/N 比过高), 又会导致硝化率降低, 从而影响反硝化作用所需  $NO_3^-$  的供给<sup>[20]</sup>。草甸沼泽土 0 ~ 30cm 土层的 C/N 比相对较低 (18.20 ~ 21.11) (表 1), 而其有机质又因易接触到  $O_2$  而分解迅速, 由此导致其反硝化率较高。另有研究表明, 黏粒含量高的土壤, 其反硝化率一般较高<sup>[21]</sup>, 但研究发现, 草甸沼泽土 40cm 以下各土层的黏粒含量一般要高于 40cm 以上土层 (表 1), 而其反硝化率却较低, 原因可能与相应土层中反硝化细菌分布和反硝化酶活性的差异有关<sup>[22-23]</sup>。此外, 导致下层土壤反硝化率明显低于上层土壤的原因, 可能也与反硝化酶活性自表层向下逐渐降低的剖面分布有关。

表 2 反硝化率与土壤理化性质的关系

反硝化率	黏粒	粉粒	砂粒	密度	pH	有机质	TN	TP
反硝化率 <sub>4</sub>	-0.657	0.660	0.295	-0.480	0.441	0.772*	0.753*	0.773*
反硝化率 <sub>8</sub>	-0.702	0.706	0.301	-0.487	0.410	0.777*	0.759*	0.786*
反硝化率 <sub>16</sub>	-0.671	0.676	0.287	-0.469	0.441	0.763*	0.744*	0.768*
反硝化率 <sub>24</sub>	-0.645	0.650	0.273	-0.450	0.456	0.746*	0.727*	0.749*

注: \*  $p = 0.05$  水平上显著相关,  $n = 8$ 。

## 2.2 湿地土壤的反硝化能力

以硝态氮的净累积损失量来表征土壤的反硝化能力, 图 2 为草甸沼泽土在不同培养阶段各土层反硝化能力及其对氮损失贡献率的对比。从中可知, 草甸沼泽土上层土壤的反硝化能力明显高于下层土壤, 其中 0 ~ 10cm、10cm ~ 20cm、20cm ~ 30cm 土层的反硝化能力在各土层中最强, 培养 4d 后, 三者的硝态氮净累积损失量就分别高达  $197.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $384.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $225.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 而从第 4 天到培养结束, 以 10cm ~ 20cm 土层净累积损失量的增幅最为明显 ( $111.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 0 ~ 10cm 和 20cm ~ 30cm 土层次之 ( $30.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $58.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 其它土层介于  $19.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ~  $23.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  之间而差别不大。此外, 不同培养阶段各土层对氮损失的贡献率也存在较为明显的剖面分异特征。培养 4d 后, 0 ~ 10cm、10cm ~

20cm、20cm~30cm 土层对氮损失的贡献率之和就高达 52.39%，而其它各土层的贡献率均较低，介于 9.35%~9.92% 之间而差别不大。从第 4 天到培养结束，0~10cm，10cm~20cm，20cm~30cm 土层对各培养阶段氮损失的贡献率之和一直均较高，介于 54.50%~57.91% 而变化较小，而其它土层对氮损失的贡献率在各培养阶段一直均较低，其变幅一般不超过 1.5%。

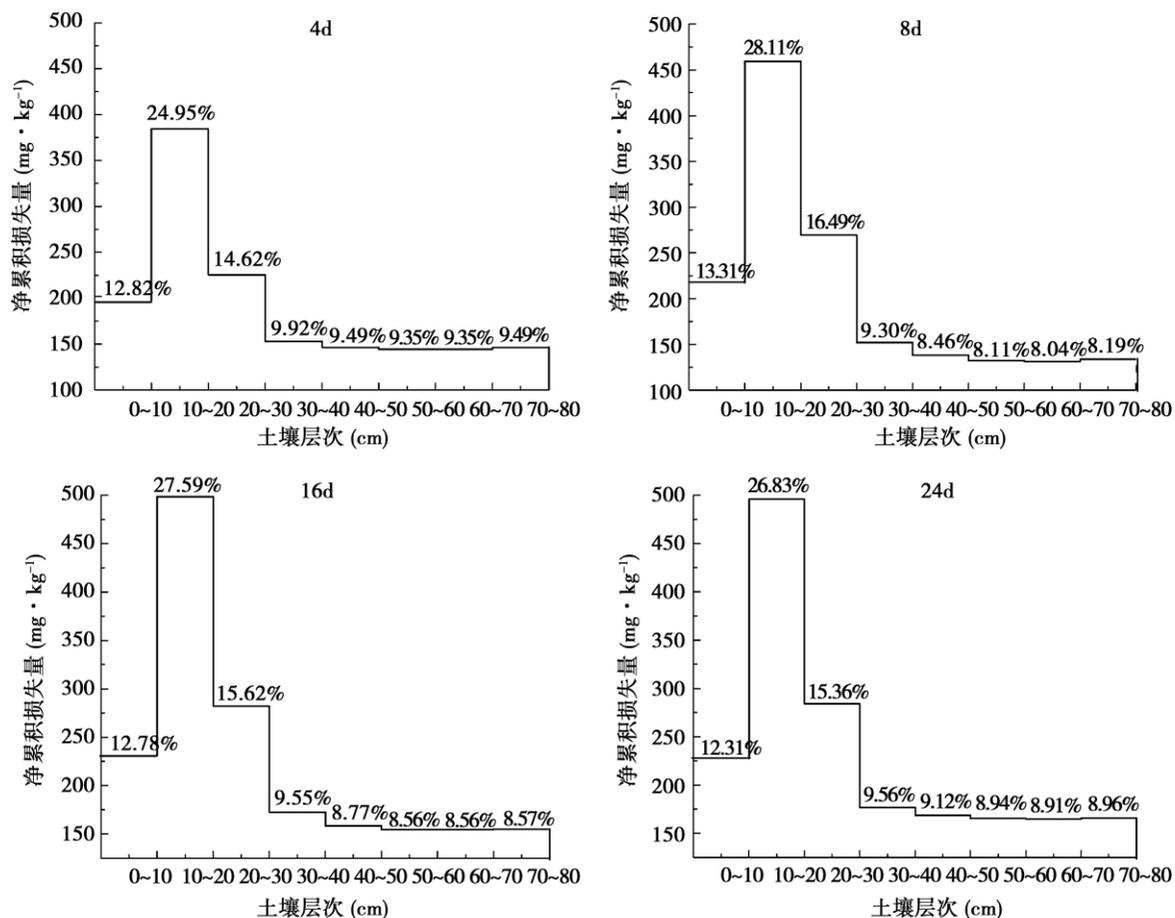


图 2 不同土层反硝化能力及对氮损失的贡献率

### 2.3 湿地土壤的反硝化速率

图 3 为草甸沼泽土各土层反硝化速率的时空分异特征。从中可知，草甸沼泽土各土层的反硝化速率 ( $D_R$ ) 均随时间 ( $T$ ) 延长呈一阶指数衰减曲线变化 (表 3)，且  $R^2 \geq 0.97$ 。比较而言，不同土层的反硝化速率在各培养阶段均以 10cm~20cm 土层较高，0~10cm 和 20cm~30cm 土层次之，其它土层较低且比较相近。这也说明草甸沼泽土的反硝化活性除 30cm 以上各土层差异较大外，其它土层的反硝化活性基本一致。相关分析表明，草甸沼泽土的反硝化速率与其黏粒含量和密度呈一定的负相关，而与有机质、TN 和 TP 含量呈显著正相关 ( $p < 0.05$ ) (表 4)。可见，TN 和有机质等作为土壤反硝化作用进行所必需的氮源、碳源和反应基质显著影响着其反硝化速率的高低<sup>[24]</sup>。上层土壤较高的 TN、TP 和有机质含量也是导致其反硝化速率明显高于下层土壤的重要原因，而土壤质地、密度和 pH 对其也有重要影

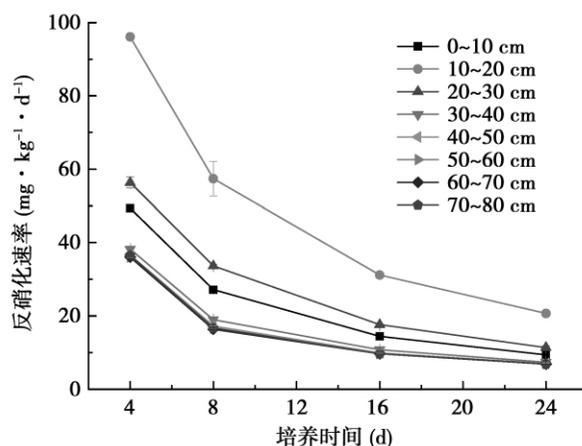


图 3 草甸沼泽土反硝化速率的时空分异

响

响。此外,反硝化细菌的剖面分布及其活性可能对于不同土层的反硝化速率也有重要影响<sup>[22-23]</sup>。

表 3 土壤反硝化速率随培养时间变化的模拟模型

草甸沼泽土 cm	一阶指数衰减模型	$R^2$	草甸沼泽土 cm	一阶指数衰减模型	$R^2$
0 ~ 10	$D_R = 71.393 e^{(-T/7.000)} + 7.130$	0.992	40 ~ 50	$D_R = 67.231 e^{(-T/4.832)} + 7.090$	0.997
10 ~ 20	$D_R = 149.664 e^{(-T/5.996)} + 19.001$	0.998	50 ~ 60	$D_R = 58.023 e^{(-T/5.482)} + 6.297$	0.976
20 ~ 30	$D_R = 76.474 e^{(-T/7.026)} + 9.681$	0.996	60 ~ 70	$D_R = 34.007 e^{(-T/7.648)} + 5.463$	0.967
30 ~ 40	$D_R = 63.155 e^{(-T/5.646)} + 6.880$	0.995	70 ~ 80	$D_R = 52.008 e^{(-T/5.129)} + 6.433$	0.978

表 4 反硝化速率与土壤理化性质的关系

反硝化速率	黏粒	粉粒	砂粒	密度	pH	有机质	TN	TP
反硝化速率 <sub>4</sub>	-0.657	0.660	0.295	-0.479	0.442	0.772*	0.753*	0.773*
反硝化速率 <sub>8</sub>	-0.702	0.706	0.301	-0.487	0.410	0.777*	0.759*	0.786*
反硝化速率 <sub>16</sub>	-0.672	0.676	0.288	-0.470	0.440	0.764*	0.745*	0.769*
反硝化速率 <sub>24</sub>	-0.634	0.638	0.275	-0.448	0.465	0.746*	0.726*	0.747*

注: \*  $p=0.05$  水平上显著相关,  $n=8$ 。

### 3 结论

草甸沼泽土不同土层的反硝化率均随培养时间的延长而增加, 0 ~ 30cm 土层的反硝化率较高, 30cm 以下土层较低且差别不大; 不同土层的反硝化率在各培养阶段均具有相似的剖面分异特征;

草甸沼泽土上层土壤的反硝化能力明显高于下层土壤, 不同土层对氮损失的贡献率在各培养阶段均存在明显的剖面分异特征, 0 ~ 30cm 土层的贡献率较高, 介于 52.39% ~ 57.91% 之间;

草甸沼泽土不同土层的反硝化速率随培养时间延长均符合一阶指数衰减模型 ( $R^2 \geq 0.97$ ), 0 ~ 30cm 土层的反硝化速率在各培养阶段均较高, 其它土层较低且比较相近;

草甸沼泽土的反硝化率和反硝化速率与土壤理化性质密切相关, 土壤反硝化细菌的剖面分布及其活性可能对反硝化率和反硝化速率具有重要影响。

#### 参考文献:

- [1] 韩兴国, 李凌浩, 黄建辉. 生物地球化学概论 [M]. 北京: 高等教育出版社 & 施普林格出版社, 1999.
- [2] IPCC. IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories [M], Reference Manual. 2001.
- [3] Bouwman A F. Conclusions and recommendations of the Conference Working Groups [A]. In: Bouwman (eds.). Soils and the Greenhouse effects [C]. Chichester: John Wiley & Sons. 1990.
- [4] Prinn R, D Cunnold, R Rasmussen. Atmospheric emissions and trends of nitrous oxide deduced from ten years of ALE - GAGE data [J]. J. Geophys. Res., 1990, 95 (D11): 18369 - 18385.
- [5] 何 珺. 中国三江平原 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2000.
- [6] 张养贞. 三江平原沼泽土壤的发生、性质与分类 [M] // 黄锡畴. 中国沼泽研究. 北京: 科学出版社, 1988.
- [7] Bremner J M, A M Blacker. Nitrous oxide: emission from soil during nitrification of fertilizer nitrogen [J]. Science, 1978, 199: 295 - 296.
- [8] Kralova M, P H Masscheleyn, C W Lindau, et al. Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redox potential [J]. Water, Air, Soil Pollut., 1992, 61: 37 - 45.
- [9] 黄益忠, 冯宗炜, 张福珠. 农田氮损失及其阻控对策研究 [J]. 中国科学院研究生院学报, 2000, 17 (2): 49 - 58.
- [10] 郑循华, 王明星. 温度对农田  $N_2O$  产生与排放的影响 [J]. 环境科学, 1997, 18 (5): 1 - 5.
- [11] Donoso L, R Santana, E Sanhueza. Seasonal variation of  $N_2O$  fluxes at a tropical Savannah site: Soil consumption of  $N_2O$  during the dry season [J]. Geophys. Res. Lett., 1993, 20 (13): 1379 - 1382.
- [12] Michael R G, Allan D M. Emissions of  $N_2O$  from Sonoran Desert and effluent - irrigated grass ecosystems [J]. Journal of Arid Environments, 1998, 38: 87 - 98.
- [13] Baggas E M, M Richter, G Cadisch, et al. Denitrification in grass swards is increased under elevated atmospheric  $CO_2$  [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2003, 35: 729 - 732.
- [14] 王跃思. 农垦与放牧对内蒙古草原  $N_2O$ 、 $CO_2$  排放和  $CH_4$  吸收的影响 [J]. 环境科学, 2001, 22 (6): 7 - 13.

- [15] Mogge B. Nitrous oxide emission and denitrification N – losses from soils in Bornh? ved lake region [J] . Soil Biology & Biochemistry ,1998 , 30 (60) : 703 – 710.
- [16] Borken W , F Beese , R Brumme , et al. Long – term reduction in nitrogen and proton inputs did not affect atmospheric methane uptake and nitrous oxide emission from a German spruce forest soil [J] . Soil Biology & Biochemistry ,2002 ,34: 1815 – 1819.
- [17] 徐 慧,陈冠雄,马成新. 长白山北坡不同土壤 N<sub>2</sub>O 和 CH<sub>4</sub> 排放的初步研究 [J] . 应用生态学报,1995 ,6 (4) : 373 – 377.
- [18] 孙向阳,徐化成. 北京低山区两种人工林土壤中 N<sub>2</sub>O 排放通量的研究 [J] . 林业科学,2001 ,37 (5) : 57 – 63.
- [19] Drury C F , E G Beauchamp. Ammonium fixation , release , nitrification and immobilization in high and low fixing soils [J] . Soil Sci. Soc. Am. J. ,1991 ,55: 125 – 129.
- [20] Strauss E A. The effects of organic carbon and nitrogen availability on nitrification rates in stream sediments [D] . A doctor degree dissertation of Notre Dame ,Indiana. 2000.
- [21] Anil K H , J Christopher , D C Weston. Denitrification in effluent – irrigated clay soil under Eucalyptus globulus plantation in south – eastern Australia [J] . Forest Ecology and Management ,2003 ,179: 547 – 558.
- [22] Jetten M S M , L S ogemann , G Muyzer , et al. Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds [J] . Antonie. Van. Leeuwenhoek. ,1997 ,71: 75 – 93.
- [23] Oscar P , F III Robert , D Shannon , et al. Nitrate removal in a riparian wetland of the Appalachian Valley and Ridge Physiographic Province [J] . Journal of Environmental Quality ,2002 ,30 (1) : 254 – 261.
- [24] Strauss E A. The effects of organic carbon and nitrogen availability on nitrification rates in stream sediments [D] . A doctor degree dissertation of Notre Dame ,Indiana. 2000.