

FACE 环境下不同秸秆与氮肥管理对稻田土壤 硝化和反硝化菌的影响

韩琳¹, 王妥屹^{1,2}, 史奕^{1*}, 梅宝玲³, 朱建国⁴

(1 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3 中国科学院大气物理研究所, 北京 100029;

4 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 利用位于江都市小记镇的中国稻-麦轮作 FACE 平台, 采用最大可能 (MPN) 法, 在 2004 年水稻生长季研究了不同施肥情况 (施常规 N 量 UN 和低 N 量 LN)、不同秸秆还田情况 (秸秆全还田 HR 和秸秆不还田 NR) 下, 土壤中硝化和反硝化细菌数量在 FACE 条件下随时间的变化。结果表明, FACE 条件下, 土壤硝化菌数普遍在抽穗期或乳熟期达到最大值, 而对照土壤的硝化菌数普遍到成熟期才达到最大值, 并且显著高于 FACE 处理的相应值 ($P < 0.05$)。在 HR 条件下, LN 和 UN 小区 FACE 处理的土壤硝化细菌数量较对照减少 6% ~ 10%。FACE 条件 LN 小区的反硝化菌数在成熟期达到最大值, 而对照处理则在乳熟期达到最大值, 并显著高于 FACE 处理 ($P < 0.05$); 而 UN 小区的反硝化菌数二者均在抽穗期达到最大值。在 LN 小区 HR 和 NR 情况下, FACE 处理土壤反硝化细菌数量分别低于对照处理的相应值 8% 和 13%。在 HR 情况下, 土壤反硝化潜势 FACE 处理显著低于对照。在 LN 和 UN 小区, FACE 处理土壤的反硝化作用潜势分别是对照的 83.7% 和 95.4%。

关键词: CO₂ 浓度升高; 稻田; 硝化细菌; 反硝化细菌; 反硝化强度

中图分类号: S154.3; S365

大气中 CO₂ 浓度已从工业革命前的 280 $\mu\text{mol/mol}$ 升高到现在的 370 $\mu\text{mol/mol}$, 目前每年仍增加约 1.5 $\mu\text{mol/mol}$ ^[1]。N₂O 对红外线的吸收率是 CO₂ 的 180 倍, 在大气中具有较长的滞留时间并参与大气中的许多光化学反应, 同时也与臭氧层遭破坏有关。N₂O 浓度在 1994 年达到 312 $\mu\text{mol/mol}$, 工业化前仅为 275 $\mu\text{mol/mol}$ ^[2]。因此, 大气 CO₂ 和 N₂O 浓度的升高对植物及整个农业生态系统产生巨大的影响, 现已成为全球关注的一个热点问题之一。

Byrnes^[3] 认为大气层中 90% 的 N₂O 来自陆地硝化和反硝化过程。其中由农业种植产生的 N₂O 量约占 N₂O 总增长量的 70% ~ 92%。在常规的水分管理措施下水田土壤的 N₂O 排放基本上来自硝化和反硝化作用都十分强烈的土壤干湿交替阶段, 在淹水期间 N₂O 的排放量极为有限。N 肥和农作物残体等

土壤中的有机物是重要的 N₂O 释放源, 可通过化学或生物化学的硝化和反硝化作用释放 N₂O^[4]。硝化与反硝化的微生物过程非常重要, 对土壤 N 浓度、N 损失、N₂O 的产生有关键的调节作用^[5]。研究发现, FACE (开放式空气 CO₂ 浓度升高, free-air CO₂ enrichment) 条件下 CO₂ 倍增主要是通过影响植物生长和改变土壤化学组成 (如 pH 升高, 有效 C 的吸收利用率提高和 NO₃⁻ 含量增加) 来间接影响硝化和反硝化作用的微生物学过程^[5], 也可能通过影响硝化及反硝化细菌的底物供应而影响 N₂O 的释放^[6-7]。目前对 FACE 条件下硝化细菌的研究结果并不一致, 关于反硝化细菌的研究很少。为了更深入地了解大气 CO₂ 浓度升高对农田生态系统土壤硝化及反硝化过程的影响, 本研究利用位于江都市的 FACE 系统平台 (首次在低纬度地区进行的稻-麦轮作

①基金项目: 国家自然科学基金项目 (40271111, 40331014, 40231003, 40110817) 和中国科学院创新方向项目 (KZCX3-SW-440) 共同资助。

* 通讯作者 (shiyi@iae.ac.cn)

作者简介: 韩琳 (1980—), 女, 硕士研究生, 主要从事大气 CO₂ 浓度升高对参与温室气体 (N₂O 和 CH₄) 产生的相关土壤微生物影响的研究。E-mail: hl19800606@yahoo.com.cn

FACE 平台),对水稻生长季几个重要生长时期的土壤硝化和反硝化细菌的数量进行了分析测定。

1 研究区概况与研究方法

1.1 研究区概况

试验地点位于中国江苏省江都市小记镇良种场(32°35'N, 119°02'E)(2004—)。研究对象是稻-麦轮作农田生态系统。土壤类型为下位砂姜土。稻-麦轮作制是当地典型轮作制度,其分布约占水稻土面积的 60% 或占总农田面积的 47%,也是中国(如华东、华中、西南地区)典型轮作制度^[5]。试验地气候条件:年降水量 918~978 mm,年平均气温约为 15℃,年日照时间>2000 h,年无霜期天数 220 天。试验地土壤基本理化性质:有机质含量 18.39 g/kg,全 N 含量 1.45 g/kg,全 P 含量 0.63 g/kg,全 K 含量 14.02 g/kg。pH 7.9, <0.002 mm 黏粒含量 136.0 g/kg,体积质量 1.16 g/cm³。

1.2 试验处理与分析方法

1.2.1 试验处理 试验平台 FACE 圈和 CK 圈分别各设 3 个。3 个 FACE 圈在田间随机分布。FACE 圈与 FACE 圈之间,FACE 圈与 CK 圈之间的间隔>90 m,以减少 CO₂ 释放对其他圈的影响。FACE 圈设计为正八角形,直径为 12.5 m,通过 FACE 圈周围的管道向 FACE 圈中心喷射纯 CO₂ 气体,电脑控制 FACE 圈内 CO₂ 浓度,使其全生育期 FACE 圈的平均 CO₂ 浓度保持在比 CK 高 200 μmol/mol,控制误差为 10%。CK 田块没有安装 FACE 管道,其余环境条件与自然状态完全一致。

本试验供试水稻品种为武香粳 14。2004 年 5 月播种,利用大田旱育秧,6 月 12 日人工移栽,行距为 25 cm,株距为 16.7 cm,24 穴/m²,3 株苗/穴。自移栽之日起,大气 CO₂ 浓度设为 CK(自由空气 CO₂ 浓度)和 FACE 两个水平。FACE 圈与 CK 圈除 CO₂ 浓度水平不同外,其他的施肥和秸秆还田情况完全相同。施 N 量分为施常规 N 量(UN, 250 kg/hm²,以纯 N 计,下同)和施低 N 量(LN, 150 kg/hm²)。不同 N 肥处理水平下又有两种不同的秸秆还田方式:秸秆全还田(HR, C 2000 kg/hm²)和秸秆不还田(NR, C 0 kg/hm²)。其中常规 N 量处理 6 月 12 日施 N 肥 90 kg/hm²,6 月 18 日施 N 肥 60 kg/hm²,7 月 30 日施 N 肥 100 kg/hm²;低 N 处理为 6 月 18 日不施 N 肥,7 月 30 日施 N 肥 60 kg/hm²。水分管理为 6 月 13 日—7 月 10 日保持浅水层(约 5

cm),7 月 11 日—8 月 4 日进行多次轻搁田,8 月 5 日至收割前 7 日进行间隙灌溉。此外,适时进行病虫害防治,保证作物生长发育正常。2004 年 10 月收割。

1.2.2 样品采集与分析测定 按水稻生长阶段,用直径 2 cm 土钻采集 0~10 cm 土层土壤样品,每个小区取 5 点土样组成 1 个混合样品,进行相关试验分析。各次采样时间分别为:2004 年 7 月 9 日,代表分蘖期;7 月 25 日,代表拔节-孕穗期;8 月 17 日,代表抽穗期;9 月 14 日,代表乳熟期;10 月 12 日,代表成熟期。

参照文献[8],采用 MPN 法测定硝化和反硝化细菌数量。

参照文献[5],测定反硝化潜势。具体方法为:取 10 g 湿土壤样品置于 310 ml 玻璃杯中,向其中加入含 N(KNO₃) 3 mg 和含 C(葡萄糖) 3 mg 的溶液 5 ml,然后向瓶中通入 99.99% 的氦气 2 min 以除尽瓶中的空气,并用丁基橡胶塞将瓶密封。向用来测定反硝化的样品中加入 10% 乙炔来抑制 N₂O 转化为 N₂。经过 48 h 培养,将瓶中的气体取出 1 ml 稀释 300 倍,用气相色谱进行分析。

1.2.3 数据统计分析 采用 SPSS 11.5,方差分析—F 检验方法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 FACE 对土壤硝化细菌的影响

在不同的 N 肥与秸秆管理条件下,FACE 处理的硝化菌数普遍在抽穗期或乳熟期达到最大值,NR 条件下,分蘖期的硝化菌数也很高并且高于 CK 处理的相应值。而 CK 处理的硝化菌数普遍到成熟期才达到最大值,且显著高于 FACE 处理的相应值(P<0.05)。总体上,在 HR 条件下,水稻生长期内 FACE 处理的土壤硝化菌数较 CK 处理减少 6%~10%,并且在 UN 小区这种减少趋势更为明显(图 1)。

2.2 FACE 对土壤反硝化细菌的影响

在不同的 N 肥与秸秆管理条件下,FACE 处理 LN 小区的反硝化菌数在成熟期达到最大值,而 CK 处理则在乳熟期达到最大值,并显著高于 FACE 处理的相应值(P<0.05);无论是 FACE 处理还是 CK 处理,UN 小区的反硝化菌数均在抽穗期达到最大值。LN 条件下,HR 和 NR 小区的土壤反硝化细菌数量,FACE 处理分别低于 CK 8% 和 13%;UN 条

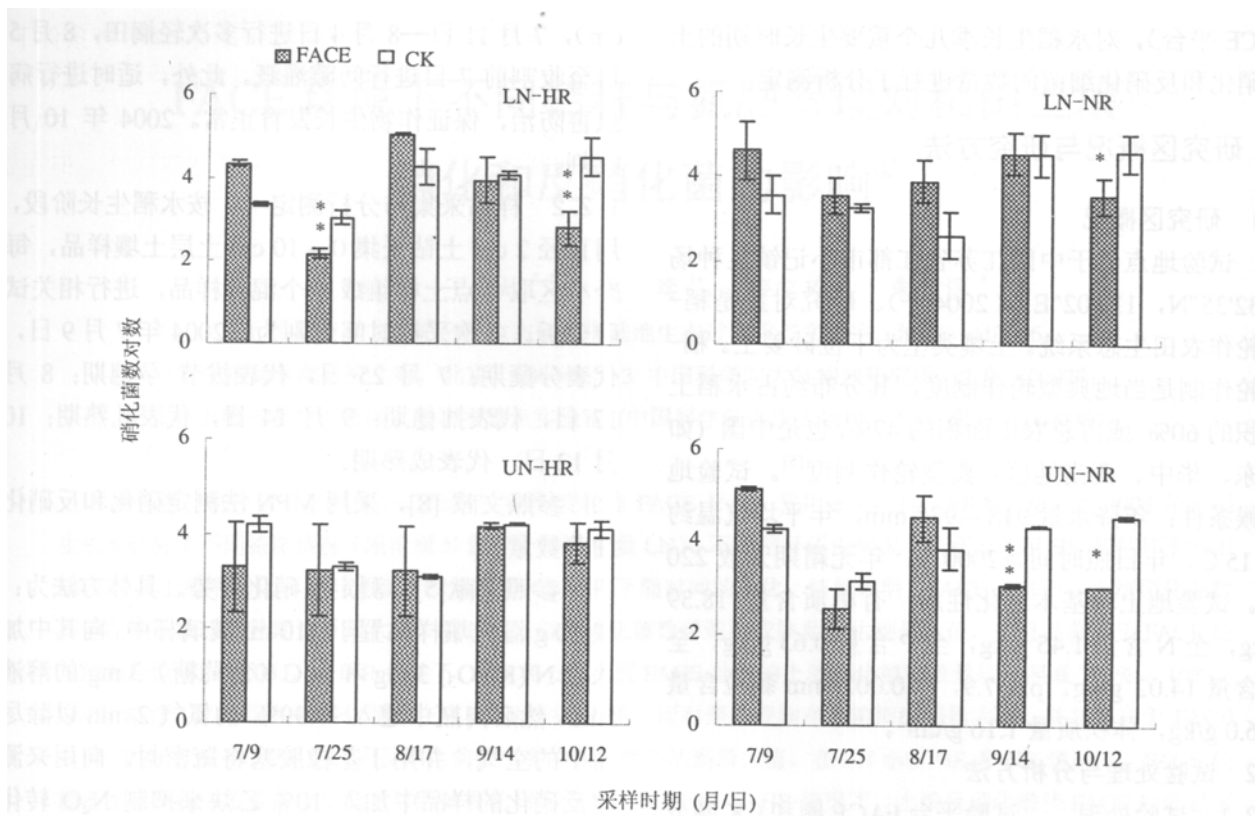


图 1 FACE 对稻田土壤硝化细菌的影响 (*P<0.05, **P<0.01, 下同)

Fig. 1 Effects of FACE on nitrifiers in paddy soils

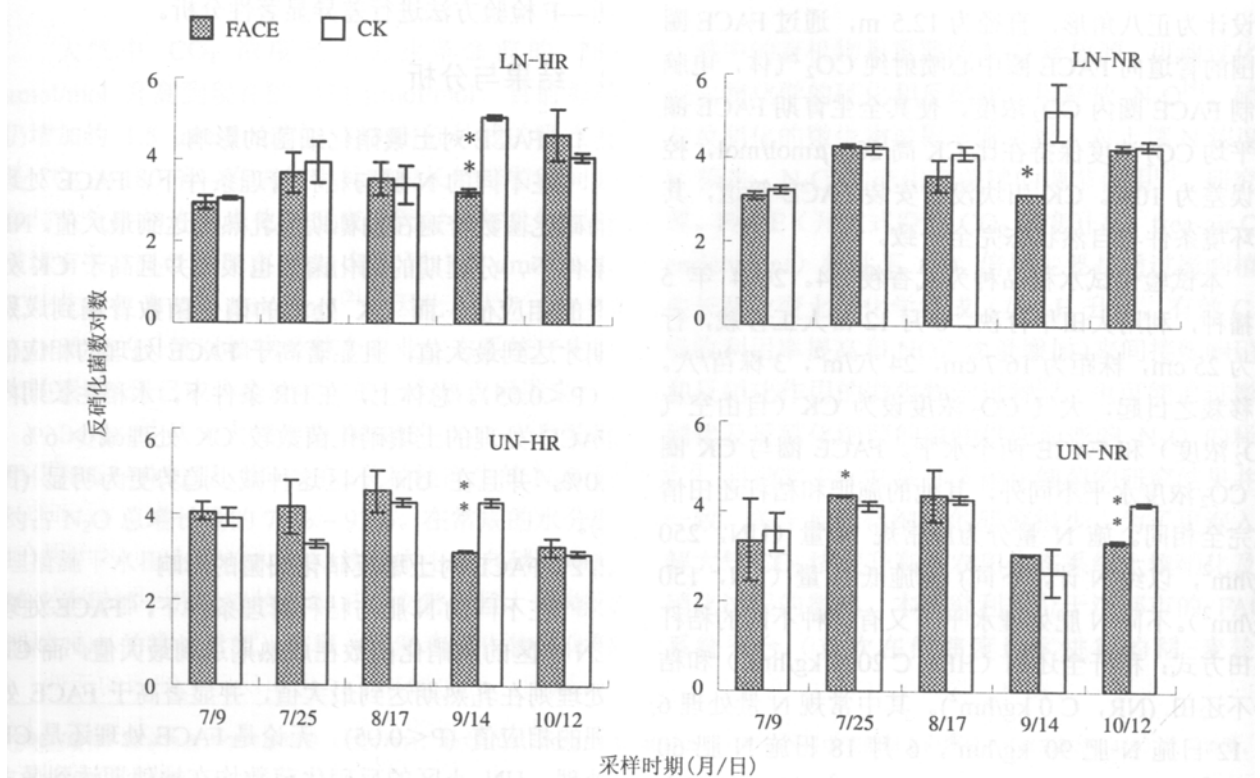


图 2 FACE 对稻田土壤反硝化细菌的影响

Fig. 2 Effects of FACE on denitrifiers in paddy soils

件下, FACE 对反硝化菌数影响不大(图 2)。总之, FACE 在 LN 条件下, 使反硝化菌数减少; 而在 UN 条件下, FACE 对其影响不大。

2.3 FACE 对土壤反硝化作用潜势的影响

不同的 N 肥管理, HR 条件下, FACE 处理土壤的反硝化作用潜势均低于 CK (图 3), 其中在 LN

小区达显著水平 ($P < 0.01$)。不同 N 肥处理条件下, FACE 处理土壤的反硝化作用潜势分别是 CK 的 83.7% (LN 处理) 和 95.4% (UN 处理)。总之, FACE 处理减弱了土壤微生物的反硝化细菌活性, 但在施入高浓度 N 肥后, 这种趋势有所缓解。

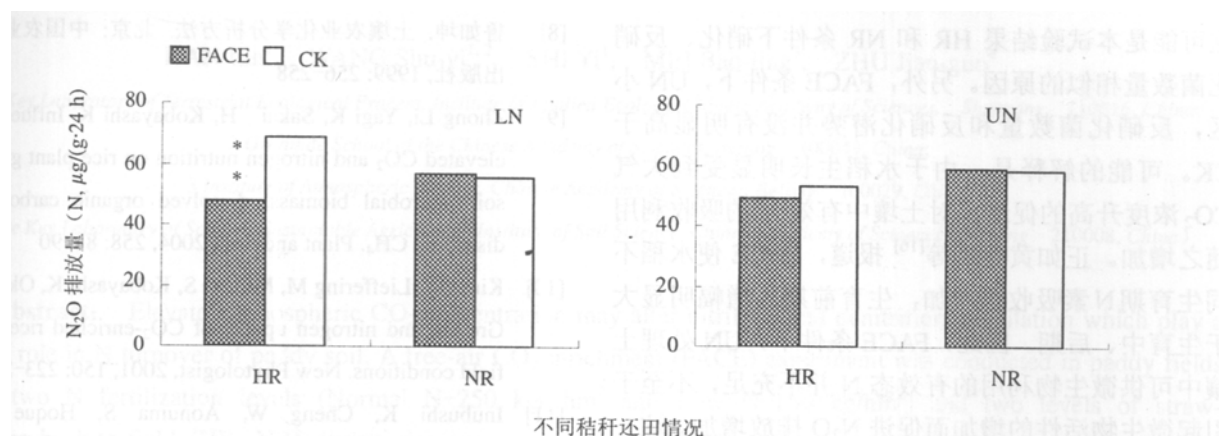


图 3 FACE 对稻田土壤反硝化潜势的影响

Fig. 3 Effects of FACE on denitrification potential in paddy soils

3 讨论

许多研究表明, CO_2 浓度增加促进植物地上部分和根系生长^[9-10], 同时许多生理代谢活动如根系分泌功能等也增强^[11]。这些变化最终将导致土壤有机质增加, 使硝化、反硝化细菌可利用的底物增加, 促进硝化和反硝化细菌活性^[12]。Ambus 等^[13]对美国森林 N_2O 排放的研究是, 大气 CO_2 浓度从 CK 浓度升高约 200 $\mu\text{mol/mol}$, 高 N 处理 ($\text{N } 250 \text{ kg/hm}^2$) 反硝化强度增加 12% ~ 26%, 低 N 处理 ($\text{N } 150 \text{ kg/hm}^2$) 反硝化强度增加 11% ~ 21%。Carnol 等^[5]对比比利时松树土壤硝化及反硝化潜势 (DP, denitrification potential) 进行为期 4 年的研究指出, 大气 CO_2 浓度升高到 750 $\mu\text{mol/mol}$, NO_3^- -N 含量显著增加 66%, DP 和 N_2O 排放都显著升高, 其中 DP 是 CK 的 160%。另外, NH_4^+ 含量显著增加也是硝化潜势增强的有力证据。

但本试验对水稻生长季土壤硝化和反硝化菌群的研究结果显示 (图 1、图 2), FACE 处理并未在不同的秸秆与 N 肥管理条件下显著促进微生物菌群数量增加, 反而使硝化细菌数量在几个生长期出现减少, 反硝化细菌在 LN 处理的不同秸秆还田情况下均低于 CK。对土壤反硝化强度的研究结果显

示 (图 3), HR 条件下, FACE 处理土壤反硝化潜势均低于 CK, 且在 LN 处理下达显著水平 ($P < 0.01$)。可能的原因是, CO_2 浓度升高增加了 C 向土壤中的输入, 枯枝落叶中的 C/N 将增高 20% ~ 40%^[14]。当高 C/N 的有机物进入土壤时, 由于微生物活动对 N 的竞争, 使微生物固定及利用的 N 增加, 土壤中可利用的 N 减少。虽然 N 肥的输入给亚硝化细菌提供了营养物质, 促进其生长繁殖, 但随着时间的推移, N 素被利用或损失, NH_4^+ -N 浓度下降, 使亚硝酸细菌数量下降。尤其在增施秸秆的条件下, 如果土壤供 N 不足, 微生物在分解过程中更易引起 N 的固定, 进而减少硝化和反硝化作用^[6]。

本试验对 N 肥影响分析表明, FACE 条件下, HP 处理土壤硝化菌数的高峰期普遍出现在抽穗期或乳熟期, 反硝化菌数的高峰期 LN 小区出现在成熟期, UN 小区出现在抽穗期。这主要是因为当地 7 月 30 日大量 N 肥的施入, 促进亚硝酸细菌迅速生长繁殖, 进而增加了硝化和反硝化细菌的活性, 促进了细菌数量的增加。但当 N 供应不足时, 大气 CO_2 浓度升高对根生长和土壤微生物生物量的促进受到限制。由于 LN 处理 6 月 18 日不施 N 肥, UN 处理 6 月 18 日施 N 肥 60 kg/hm^2 , 按照微生物对 C、

N 按比例吸收利用的原则, LN 处理虽然 C 源充足, 但土壤有效 N 缺乏会限制微生物对 C 源的利用^[15]。这可能就是本试验研究结果 UN 和 LN 条件下硝化、反硝化菌的数量高峰出现早晚不一致的原因。同样, HR 处理虽然 C 源充足, 但在 LN 情况下土壤有效 N 缺乏会限制微生物对 C 的吸收利用, 这可能是本试验结果 HR 和 NR 条件下硝化、反硝化菌数量相似的原因。另外, FACE 条件下, UN 小区, 反硝化菌数量和反硝化潜势并没有明显高于 CK。可能的解释是, 由于水稻生长明显受到大气 CO₂ 浓度升高的促进, 对土壤中有有效 N 的吸收利用随之增加。正如黄建晔等^[16]报道, FACE 使水稻不同生育期 N 素吸收量增加, 生育前期的增幅明显大于生育中、后期。因此, FACE 条件下, UN 处理土壤中可供微生物利用的有效态 N 并不充足, 不至于引起微生物活性的增加而促进 N₂O 排放增加。这一点与岳进等^[17]和林先贵等^[18]在无锡 FACE 基地对小麦田的观测结果一致。

总之, 大气 CO₂ 浓度升高在不同的秸秆与 N 肥管理条件下并未显著促进与 N₂O 排放相关的微生物菌群数量的增加。并且在施 HR 条件下, FACE 圈土壤反硝化潜势均低于 CK, 且在 LN 处理下达显著水平 ($P < 0.01$)。说明还有其他因素如温度、水分、施肥、营养等都制约着 N₂O 的释放, 还需进一步研究。

参考文献:

- [1] Keeling CD, Whorf TP, Wahlen M, Van der Plicht J. Interannual extreme in the rate of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980. *Nature*, 1995, 375: 660-670
- [2] IPCC. Third Assessment Report—Climate change 2001: The Scientific Basis. Cambridge UK: Cambridge University Press, 2001
- [3] Byrnes BH. Environment effects of N fertilizer use—an overview. *Atmos Environ.*, 1984, 18: 1797-1804
- [4] 华路, Vinten AJA, 郑海金. 不同有机物料对土壤 N₂O 排放的影响与调控. *中国环境科学*, 2004, 24 (4): 464-468
- [5] Carnd M, Hogenboon L, Jack ME, Remade J, Ceulemans R. Elevated atmospheric CO₂ in open top chambers increases net nitrification and potential denitrification. *Global Change Biology*, 2002, 8, 590-598
- [6] Hungate BA, Lund CP, Pearson HL, Chapin FS. Elevated CO₂ and nutrient addition alter soil N cycling and N trace gas fluxes with early season wet-up in a California annual grassland. *Biogeochemistry*, 1997, 37: 89-109
- [7] Ineson P, Coward PA, Hartwig UA. Soil gas fluxes of N₂O, CH₄ and CO₂ beneath *Lolium perenne* under elevated CO₂: The swiss free air carbon dioxide enrichment experiment. *Plant and Soil*, 1998, 198: 89-95
- [8] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 256-258
- [9] Zhong Li, Yagi K, Sakai H, Kobayashi K. Influence of elevated CO₂ and nitrogen nutrition on rice plant growth, soil microbial biomass, dissolved organic carbon and dissolved CH₄. *Plant and Soil*, 2004, 258: 81-90
- [10] Kim HY, Lieffering M, Minura S, Kobayashi K, Okada M. Growth and nitrogen uptake of CO₂-enriched rice under field conditions. *New Phytologist*, 2001, 150: 223-229
- [11] Inubushi K, Cheng W, Aonuma S, Hoque MM, Kobayashi K, Miura S, Kim HY, Okada M. Effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on CH₄ emission from a rice paddy field. *Global Change Biology*, 2003, 9: 1458-1464
- [12] 李振高, 俞慎, 吴胜春, 王俊华, 潘映华. 不同氮肥对水稻根圈微生物生物量及硝化-反硝化细菌的影响. *土壤*, 2003, 35 (6): 490-494
- [13] Ambus P, Robertson GP. Fluxes of CH₄ and N₂O in aspen stands grown under ambient and twice-ambient CO₂. *Plant Soil*, 1999, 209: 1-8
- [14] Woodward FI, Thompson GB, McKee IF. The effects of elevated concentrations of carbon dioxide on individual plant, populations, communities and ecosystems. *Ann. Bot.*, 1991, 67: 23-38
- [15] 韩琳, 史奕, 李建东, 岳进, 谢宝华, 朱建国, 王鸽. FACE 环境下不同秸秆与氮肥管理对稻田土壤产甲烷菌的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25 (2): 322-325
- [16] 黄建晔, 杨洪建, 杨连新, 刘红江, 董桂春, 朱建国, 王余龙. 开放式空气 CO₂ 浓度增加 (FACE) 对水稻产量形成的影响及其与氮的互作效应. *中国农业科学*, 2004, 37 (12): 1824-1830
- [17] 林先贵, 胡君利, 栢海燕, 尹睿, 苑学霞, 张华勇, 朱建国. 土壤氨氧化细菌对大气 CO₂ 浓度增高的响应. *农村生态环境*, 2005, 21 (1): 44-46
- [18] 岳进, 史奕, 黄国宏, 李杨, 朱建国. 大气 CO₂ 浓度增高对麦田土壤硝化和反硝化细菌的影响. *生态学杂志*, 2004, 23 (5): 67-70

Effect of Different Levels of Straw-Returning-Back-to-Field and N Fertilization on Nitrifiers and Denitrifiers of Paddy Soils in FACE (Free-Air Carbon Dioxide Enrichment)

HAN Lin¹, WANG Shu-yi^{1,2}, SHI Yi¹, MEI Bao-ling³, ZHU Jian-guo⁴

(1 Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China;

2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Institute of Atmospheric Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China;

4 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China)

Abstract: Elevated atmospheric CO₂ concentration may alter nitrifiers and denitrifiers population which play a pivotal role in N turnover of paddy soil. A free-air CO₂ enrichment (FACE) experiment was conducted in paddy fields under two N fertilization levels (Normal N-250 kg/ hm² and Low N-150 kg/hm²) and two levels of straw-returning-back-to-field (HR, NR) during rice-growing season in 2004 at Jiangdu of Jiangsu province to evaluate changes of nitrifiers and denitrifiers population by the-most-probable-number (MPN) method. Results showed that elevated atmospheric CO₂ concentration stimulated nitrifiers population to reach maximum at jointing or ripening stages, while ambient at booting stage and significantly higher than that of FACE. LN and UN treatments reduced nitrifiers population by 6% ~ 10% in HR condition. Denitrifiers population of LN treatments from FACE plots reached maximum at booting stage, while ambient at ripening stage and significantly higher than that of FACE. But denitrifiers population of UN plots reached maximum at jointing stage. LN treatments reduced denitrifiers population by 8% ~ 13% in HR and NR conditions. FACE significantly reduced denitrification potential (DP) in straw-returning-back-to-field treatments, and DP (denitrification potential) of LN and UN treatments from FACE plots were only 83.7% and 95.4% of those of ambient.

Key words: FACE, Paddy-field, Nitrifiers, Denitrifiers, Denitrification potential