

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2023.01.008

张楠, 黎焯, 刘玉莲, 等. 有机肥组分特征对黑土 N₂O 排放的影响研究. 土壤, 2023, 55(1): 62–71.

有机肥组分特征对黑土 N₂O 排放的影响研究

张楠^{1,2}, 黎焯^{1,3}, 刘玉莲^{1,3}, 苗淑杰², 乔云发², 陈增明^{1*}, 丁维新¹

(1 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; 2 南京信息工程大学应用气象学院, 南京 210044; 3 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 有机肥正被广泛用于东北黑土地固碳培肥, 为探究其影响 N₂O 排放的效应及碳组分机制, 试验设置在两个氮水平下(0、100 mg/kg), 不加有机肥(CK)和 6 个添加不同原料制成的有机肥, 共 14 个处理, 动态测定培养期(365 d)N₂O 排放通量, 并分析有机肥性质及结构特征。结果表明, 施用有机肥总体上促进黑土 N₂O 排放, 特别是加氮条件下; 但是在不同培养阶段, 不同种类有机肥对 N₂O 排放的影响存在显著差异。培养前期有机肥对 N₂O 排放的快速刺激作用主要与其带入的无机氮含量正相关, 但是活性有机碳与木质素酚“共代谢”分解可能通过促进微生物对氮素的同化作用进而削减有机肥对 N₂O 排放的促进作用。在培养中后期, 纤维素和半纤维素成为有机肥调控 N₂O 排放的关键组分。氮添加有利于后期惰性木质素单体分解, 促进含氮有机组分矿化, 进而增强 N₂O 排放对有机肥的正响应。综上, 有机肥组分特征影响其可分解性进而调控黑土 N₂O 排放, 在制定黑土有机培肥措施时需着重考虑对 N₂O 排放的效应。

关键词: 黑土; 氮循环; 氧化亚氮; 有机肥; 有机碳组分

中图分类号: S154.2 **文献标志码:** A

Effects of Manure Chemical Compositions on N₂O Emissions from Black Soils

ZHANG Nan^{1,2}, LI Ye^{1,3}, LIU Yulian^{1,3}, MIAO Shujie², QIAO Yunfa², CHEN Zengming^{1*}, DING Weixin¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2 School of Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China; 3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Manure is now widely used for C sequestration and fertility improvement in black soils of Northeast China. In order to explore the mechanisms underlying the responses of N₂O emissions to manure application, the experiment was set up at two nitrogen levels (0 and 100 mg/kg), without manure application and six manure-added treatments were set by adding various kinds of composts, resulting in 14 treatments in total. N₂O fluxes was measured during the whole incubation period (365 d) and the properties and compositions of manure were analyzed. It is showed that the application of manure promotes N₂O emissions in general, especially under N100 treatment. However, there are significant differences in the effects of different manures and at different incubation stages. The rapid response of N₂O emission to manure application at the early stage is mainly attribute to the input of inorganic N of manure, but the labile organic C and lignin phenols may reduce N₂O emissions by co-metabolism that can promote microbial N immobilization. Subsequently, celluloses and hemicelluloses become the key factors for manure in regulating N₂O emission that are negatively related to N₂O emissions without N addition; while, N addition may promote the decomposition of lignin vanillyl which can facilitate N release from nitrogenous organic matter and N₂O production. Overall, the study suggests that the chemical compositions of manure affect the decomposition process and thus regulate N₂O emission, which should be taken into account in developing measures to improve the SOC and fertility of black soils by manure application.

Key words: Black soils; Nitrogen cycling; Nitrous oxide; Manure; Compositions of organic carbon

①基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项黑土地保护与利用科技创新工程项目(XDA28010302)、中科院南京土壤所“十四五”自主部署项目(ISSASIP2212)和江苏省优秀青年基金项目(BK20211610)资助。

* 通讯作者(zmchen@issas.ac.cn)

作者简介: 张楠(1996—), 女, 陕西富平人, 博士研究生, 主要研究方向为黑土氮循环与温室气体排放。E-mail: zhangn9658@163.com

全球农业有机物料资源丰富, 每年产生约 35 亿吨作物秸秆以及 70 亿吨畜禽粪便^[1], 是有机肥生产的重要原料。施用有机肥能够为作物生长供应各种养分元素, 并促进土壤有机质(SOM)形成, 实现土壤肥力的持续提升^[2]。有机肥碳在微生物作用下转化形成土壤有机质, 并通过物理保护和化学结合等机制稳定存在^[3]。最新全球尺度 meta 分析表明, 与化肥相比, 施用有机肥可提高农田土壤有机质储量 C 7.41 Mg/hm²^[4]。因此, 有机肥施用是实现农田土壤固碳培肥和维持生产力的重要手段^[5]。然而, 研究发现有机肥的施用可能会诱导 N₂O 大量排放, 从而抵消固碳缓解气候变化的效应^[6]。

作为一种重要的温室气体, N₂O 的百年尺度增温潜势是 CO₂ 的 265 倍, 同时也是平流层臭氧的主要消耗物质^[7]。据估算, 农田对工业革命以来全球陆地生态系统 N₂O 排放量增长的贡献率高达 82%^[8]。在土壤中, N₂O 主要通过微生物驱动的反硝化和硝化过程产生, 这些过程受 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和活性碳底物供应的控制, 并受土壤通气状况、pH、质地等性质影响^[6]。施用有机肥显著改变土壤有效碳氮含量, 进而直接影响土壤 N₂O 的产生过程^[7]; 并通过影响土壤通气性, 特别是改变有机物分解微域的氧气有效性间接调节 N₂O 产生^[9]。然而现有研究表明, 相比化肥促进 N₂O 排放, 施用有机肥对 N₂O 排放的影响尚不明确, 可能促进、抑制或是没有显著影响^[6, 10]。造成上述矛盾结果的重要原因是不同种类有机肥的性质存在较大差异, 而有机肥的可分解性是影响土壤 N₂O 排放的关键控制因素^[11]。有机肥的可分解性受控于其碳氮含量以及有机碳组成^[12]。据报道, 土壤 N₂O 排放量与施入有机肥的碳氮比(C/N)呈负相关关系, 因为较高的 C/N 会导致有机肥的微生物分解出现氮限制, 从而促进对土壤无机氮的同化作用^[13]; 但也有研究发现 N₂O 排放量与 C/N 并无显著关系, 而是受控于有机肥中无机氮和活性碳含量^[14]。有研究进一步表明, 碳组分特征和内在物质构成是决定土壤 N₂O 排放对不同有机物响应的根本因素^[15]。然而, 目前相关研究主要集中在基于田间观测试验探讨有机肥种类和元素计量性质对 N₂O 排放的影响, 在有机肥可分解性调控 N₂O 产生机制尤其是对于有机碳化学组成作用的认知仍存在空缺。

位于我国东北地区的黑土素以土壤有机质和肥力高著称, 生产的粮食总量占全国的 1/4, 是我国粮食安全的“压舱石”。但是在近几十年来, 黑土地出现肥力退化的问题, 主要原因是有机物质输入不足导

致土壤有机质衰减^[16]。因此, 施用有机物料对于黑土地耕地质量提升尤为重要, 是落实国家黑土地保护战略的关键举措。Chen 等^[9]利用原位试验研究发现, 施用猪粪有机肥显著提高黑土 N₂O 排放, 但是鸡粪有机肥没有显著影响。有机肥结构性质的差异是造成这种现象的主要原因, 然而其驱动机制以及关键组分与 N₂O 排放的耦联效应并不清楚。本研究选取 6 种化学组分不同的有机肥, 进行为期一年的培养试验, 以期量化典型黑土 N₂O 排放对不同种类有机肥响应的方向与程度; 同时设置加氮和不加氮处理, 探究不同有机肥施用情况下化肥对黑土 N₂O 排放的影响, 揭示调控有机肥影响 N₂O 排放的关键组分, 为气候变化情境下黑土农田有机肥施用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况和试验设计

采样地点位于黑龙江省的中国科学院海伦农业生态实验站(47°26' N, 126°38' E), 该地区海拔 240 m, 属于中温带湿润季风气候, 年平均气温为 1.5 °C, 降水量为 550 mm。种植作物为玉米, 试验地划分为 10 个 20 m × 100 m 的区域, 随机采集耕层(0 ~ 20 cm)土壤样品, 混匀后运至实验室, 挑除根系过 2 mm 筛, 置于 4 °C 保存备用。土壤类型为典型黑土(Mollisols), 质地为壤土, 母质为第四纪黄土, 含有 8% 砂粒、72% 粉粒和 20% 黏粒, pH 为 5.96, 有机碳 27.7 g/kg, 全氮 1.88 g/kg, NH₄⁺-N 1.6 mg/kg, NO₃⁻-N 13.2 mg/kg。

培养试验设 7 个处理, 分别为不添加有机肥(CK)和添加猪粪有机肥(PGM)、鸡粪有机肥(CKM)、牛粪与稻壳有机肥(CMH)、芦蒿秸秆与中药渣有机肥(HRS)、菇渣有机肥(SMC)、糠醛渣及米渣有机肥(CFR)。采取等碳量原则, 添加量为 C 6120 kg/hm², 即 C 3.0 g/kg^[17]。同时设置两个氮水平(0、100 mg/kg, NO、N100), 模拟田间不施肥背景和实际氮肥用量水平(N 204 kg/hm²)^[18], 氮素以尿素溶液形式添加。所有 14 个处理设置 3 次重复。试验开始时称取 40 g(以干重计)土样于培养瓶中, 在 20 °C 下预培养 1 d。预培养结束后添加有机肥, 使其与土壤混合均匀, 压实至田间容重 1.0 g/cm³。随后 N100 处理加入尿素溶液, 并调节所有处理土壤含水量至 50% 土壤孔隙含水量(WFPS)^[9]。覆盖扎孔保鲜膜保持通气, 于 20 °C 培养箱中培养一年(365 d), 培养期内定时采集气体和补充水分。

1.2 气体采集和 N₂O 分析

在培养期内共进行 45 次采气, 培养初期采气频

率为一天一次(1~7 d),之后每两天一次(9、11、13、16 d),待采气高峰结束后改为每周一次(17~99 d),后期每 10 d 一次(100~181 d),最后阶段两周一次直至培养结束。采气前将培养瓶通气 30 min,密封后注入 20 ml 新鲜空气,混匀培养瓶内气体并抽出 20 ml 注入真空瓶作为第一针;密封培养 6 h 后用注射器采集 20 ml 气体样品注入真空瓶,作为第二针。使用气相色谱分析仪(Agilent 7890)测定 N_2O 浓度,采用 ^{63}Ni 电子捕获检测器检测, N_2O 标准气体购于国家标准物质中心。 N_2O 排放通量根据培养期间(6 h)浓度变化和培养瓶内气体体积计算。

1.3 土壤和有机肥性质测定

土壤和有机肥中全碳(TC)和全氮(TN)含量采用碳氮分析仪(Elementar Vario Max CN)测定;pH 采用水土比 1:2.5(*m*:*V*)测定;有机肥活性有机碳(LOC)含量用高锰酸钾氧化法测定; NH_4^+-N 和 $NO_3^- -N$ 由

2 mol/L 的氯化钾溶液浸提,用氧化镁-代氏合金蒸馏法测定;采用考马斯亮蓝法测定有机肥总蛋白质含量。有机肥主要化学性质见表 1。

1.4 有机肥中有机碳官能团和木质素单体测定

利用固态 ^{13}C 核磁共振技术测定有机肥中有机碳的结构特征。得到的核磁共振图谱划分为 7 个代表不同有机碳官能团的化学位移:烷基碳($\delta=0 \sim 45$)、甲氧基碳($\delta=45 \sim 60$)、烷氧碳($\delta=60 \sim 93$)、双氧烷基碳($\delta=93 \sim 110$)、芳基碳($\delta=110 \sim 142$)、酚基碳($\delta=142 \sim 160$)和羰基碳($\delta=160 \sim 190$)。利用 MestReNova 软件对图谱进行积分,不同官能团的相对含量用对应区间积分面积占比来表示。根据已有研究^[19]计算有机肥易分解性指标 CC/MC(烷氧基碳/甲氧基碳)和难分解指标芳基度指数(Aromaticity)=(芳香碳+酚基碳)/(烷基碳+甲氧基碳+烷氧基碳+双氧烷基碳+芳香碳+酚基碳) $\times 100$ 。

表 1 有机肥的主要化学性质
Table 1 Chemical properties of manure

指标	PGM	CKM	CMH	HRS	SMC	CFR
TC (g/kg)	124.3 ± 3 c	132.9 ± 2 c	214.7 ± 6 b	208.3 ± 5 b	300.7 ± 6 a	214.1 ± 8 b
TN (g/kg)	12.12 ± 0.2 d	20.04 ± 0.5 b	13.66 ± 0.4 d	29.59 ± 1.4 a	20.40 ± 0.5 b	16.10 ± 0.3 c
C/N	10.26 ± 0.4 c	6.64 ± 0.2 d	15.76 ± 0.8 a	7.09 ± 0.5 d	14.77 ± 0.6 ab	13.32 ± 0.7 b
pH	7.65 ± 0.02 c	7.90 ± 0.04 b	7.92 ± 0.02 b	7.57 ± 0.02 c	8.21 ± 0.03 a	5.91 ± 0.02 d
LOC (g/kg)	2.71 ± 0.06 c	1.99 ± 0.07 d	4.06 ± 0.03 a	2.78 ± 0.13 c	4.32 ± 0.07 a	3.33 ± 0.16 b
NH_4^+-N (mg/kg)	853 ± 23 c	3 976 ± 153 b	38 ± 3 d	32 ± 4 d	52 ± 9 d	4 340 ± 95 a
$NO_3^- -N$ (mg/kg)	50 ± 1 d	1 634 ± 47 a	80 ± 7 cd	5 ± 2 e	198 ± 54 b	99 ± 8 c
蛋白质 (g/kg)	3.51 ± 0.02 b	3.25 ± 0.05 c	2.88 ± 0.03 e	3.06 ± 0.03 d	3.62 ± 0.03 b	4.28 ± 0.06 a

注:同行小写字母不同表示不同有机肥间差异显著($P < 0.05$)。

采用碱性氧化铜水解法测定有机肥中木质素酚含量和组成,水解产生 3 种类型的木质素酚单体:香草基(vanillyl, V; 包括香草醛、乙酰香草酮和香草酸)、丁香基(syringyl, S; 包括丁香醛、乙酰丁香酮和丁香酸)和肉桂基(cinnamyl, C; 包括 *p*-香豆酸和阿魏酸)。木质素酚类单体衍生物用气相色谱仪(Agilent 6890)测定。总木质素酚含量(VSC)为各单体含量之和,表征木质素降解程度;香草基类单体在土壤中相对稳定,而肉桂基和丁香基类单体相对转化较快,因此比值 V/VSC 也用来指示木质素被微生物分解和利用的程度^[20]。

1.5 统计与分析

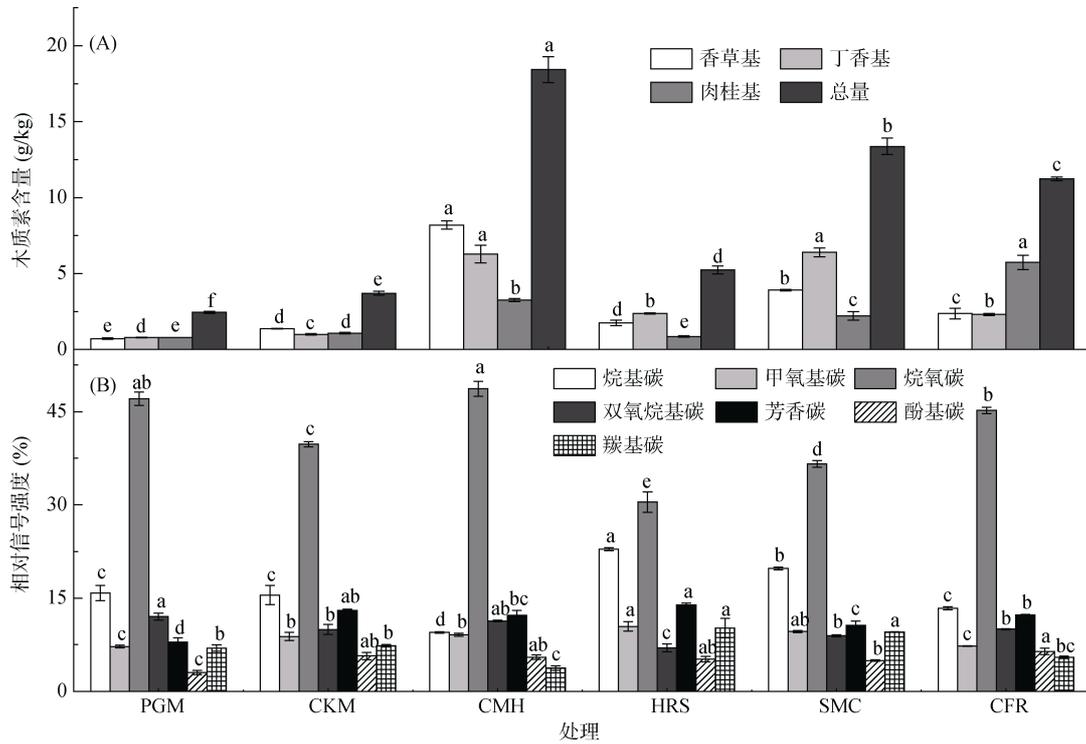
采用 Microsoft Excel 2021 进行数据计算;采用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析比较不同处理间差异的显著性;采用 SPSS 22.0 和 Origin 2021 进行相关分析和回归分析 N_2O 排放量与有机肥性质的关系;采用 R 4.0.3 进行随机森林分析得到影响 N_2O

排放的主要因素;用 Origin 2021 和 R 4.0.3 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 有机肥木质素含量及有机碳结构

不同种类有机肥中总木质素酚含量存在显著差异(图 1A),其中 CMH 含量最高,PGM 含量最低。木质素香草基和丁香基类单体均为 CMH 含量最高,肉桂基类单体则为 CFR 含量最高,3 类单体含量的最小值均出现在 PGM。 ^{13}C 核磁共振结果表明(图 1B),烷氧碳是相对含量最高的有机碳官能团,占比达 36%~48%,其次为烷基碳和芳基碳,酚基碳相对含量最低。不同有机肥对比发现,烷氧碳最大和最小含量占比分别出现在 CMH 和 HRS,双氧烷基碳分别为 PGM 和 HRS,芳香碳则分别为 HRS 和 PGM。PGM 的 CC/MC 指数最高、芳基度指数最低,说明其活性有机碳组分含量最高,可能具有更高的分解性。



(图柱上方小写字母不同表示不同有机肥间同一木质素酚单体和总木质素酚含量或有机官能团相对含量差异显著($P < 0.05$))

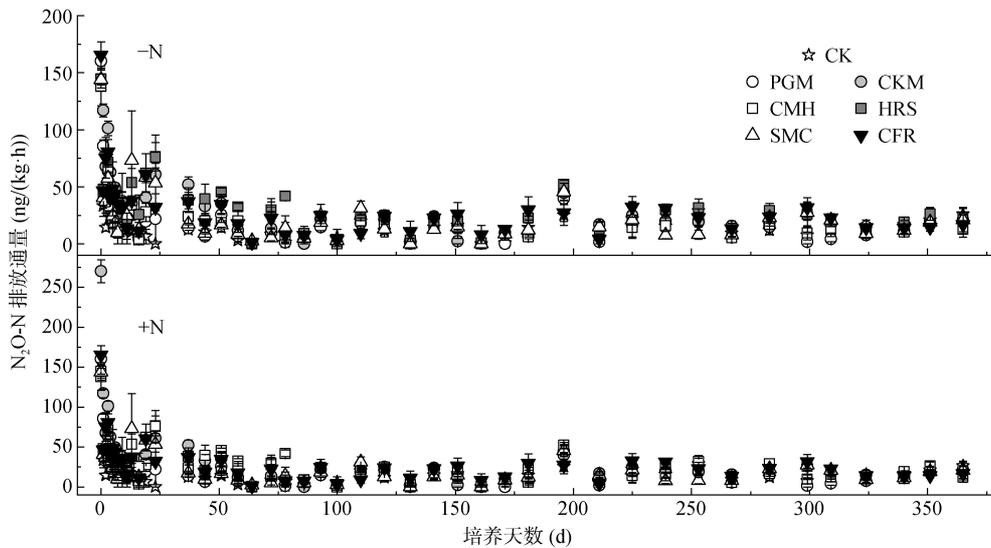
图 1 有机肥的木质素酚单体和总木质素酚含量(A)以及有机碳官能团的相对含量(B)

Fig. 1 Contents of lignin phenols and monomer (A) and relative abundances of functional carbon groups (B) of manures

2.2 N₂O 排放通量及其对有机肥施用的响应

不同处理 N₂O 排放通量随培养时间呈相似的变化特征(图 2)。N₂O 排放峰值出现在培养第 1 天，不加氮情况下最大排放峰值出现在 CKM，最小峰值为 CMH 处理的 23.1 ng/(kg·h)，与 CK 处理峰值 25.6 ng/(kg·h)相近且显著低于其他处理。加氮处理 N₂O 排放峰值为 137.7~299.1 ng/(kg·h)，显著高于不

加氮处理，最大和最小峰值出现的处理与不加氮一致。随后，N₂O 排放通量急剧下降，至培养第 23 天出现另一排放峰。不加氮情况下，除 CMH 和 HRS 处理外，第 23 天峰值均低于第一天出现的峰值；相反，所有加氮处理第 23 天排放峰值均较低，仅为第 1 天排放峰的 13~55%。之后直至培养结束，N₂O 排放通量虽仍有波动，但均保持在较低水平。



(-N: 不加氮处理; +N: 加氮处理, 下同)

图 2 不加氮和加氮处理下添加不同有机肥土壤 N₂O 排放通量的动态变化

Fig. 2 Dynamics of N₂O emission fluxes from soils received different manures with or without N addition

将各有机肥添加处理与 CK 处理 N_2O 排放通量的比值进行对数转化(图 3), 得到 N_2O 排放通量对有机肥添加的响应比值(response ratio, RR)。按照其动态变化特征将整个培养期划分为 3 个阶段, 分别为培养前期(第 0 ~ 14 次采气)、中期(第 15 ~ 28 次采气)和后期(第 29 ~ 45 次采气)。整个培养期, N_2O 排放通量的 RR 大多数大于 0, 小于 0 的情况主要出现在

中后期。培养前期, 除 CMH 和 HRS 外, 其他有机肥处理 N_2O 排放通量的 RR 均呈下降趋势; 加氮情况下, 各处理 RR 则呈波动上升趋势。然而, 在培养中期加氮和不加氮处理的 N_2O 排放通量对有机肥的响应 RR 均迅速下降, 氮添加显著增强了有机肥对 N_2O 排放的促进效应。各处理 RR 在培养后期表现为缓慢增加的波动变化趋势。

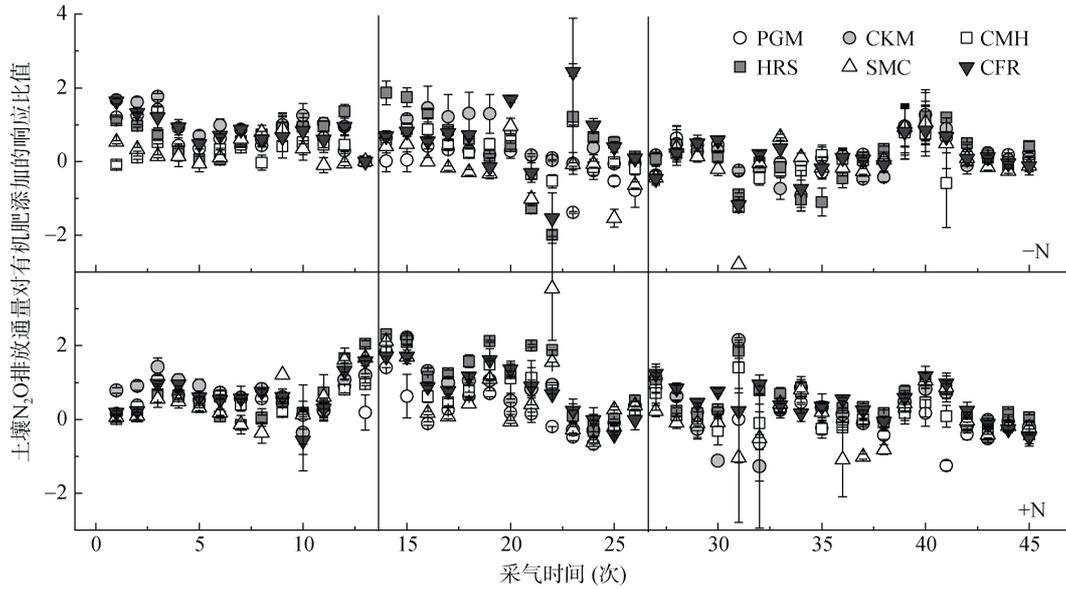
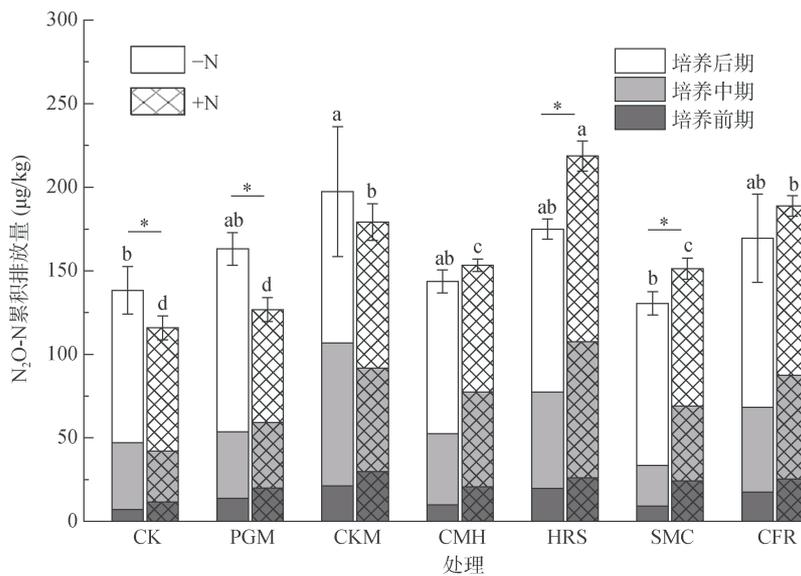


图 3 不同培养阶段不加氮和加氮处理下土壤 N_2O 排放通量对有机肥添加响应比值的动态变化
Fig. 3 Dynamics of the response ratio of N_2O emission fluxes to manure application with or without N addition

2.3 N_2O 累积排放量及其对有机肥和氮添加的响应

不加氮情况下, 添加有机肥处理的 N_2O 累积排放量为 144 ~ 197 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (图 4); 除 SMC 处理外, 有机肥处理均高于对照 CK(138 $\mu\text{g}/\text{kg}$), CKM 处理

达到显著水平。加氮情况下, 所有有机肥处理均高于 CK(116 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 除 PGM 处理外(127 $\mu\text{g}/\text{kg}$)均达显著水平; HRS 处理 N_2O 累积排放量最高, 达到 219 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。



(图中小写字母不同表示不加氮或加氮条件下各处理间差异显著; *表示同一有机肥处理加氮和不加氮处理间差异显著($P < 0.05$))

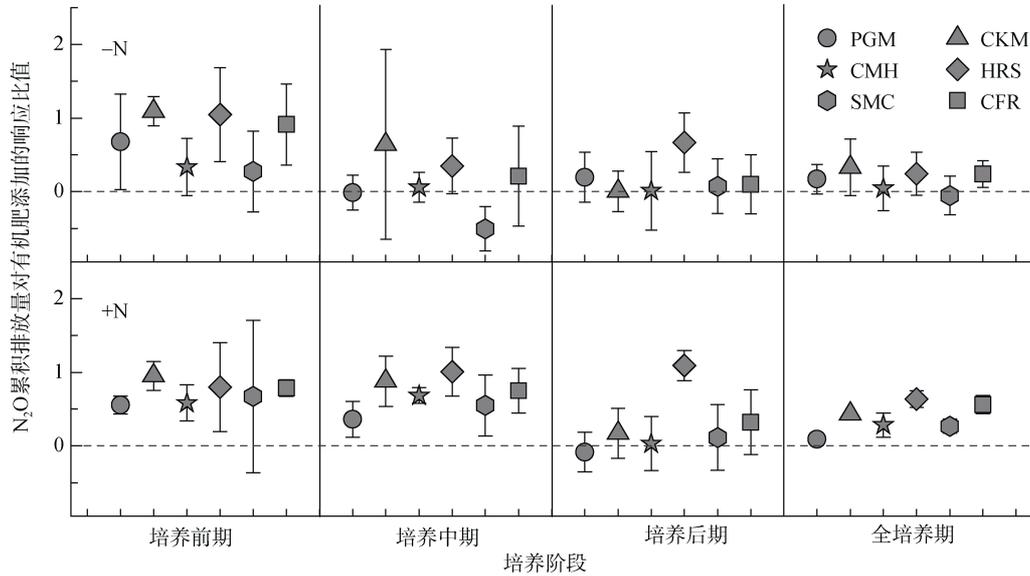
图 4 不加氮和加氮处理下添加不同有机肥土壤 N_2O 累积排放量

Fig. 4 N_2O cumulative emissions from soils received different manures with or without N addition

计算整个培养期和不同阶段 N₂O 累积排放量对有机肥添加的响应比值 RR(图 5), 在不加氮情况下不同有机肥处理前期 RR 均高于中后期, 前期和中期 RR 的最高值出现在 CKM 有机肥, 后期则为 HRS。氮添加增强了全培养期有机肥对 N₂O 排放的效应, 主要是由于中期 RR 的增加。

与不加氮相比, 加氮显著降低了 CK、PGM 处

理的 N₂O 累积排放量, 显著提高了 HRS 和 SMC 处理的累积排放量(图 4)。氮添加对 CK、PGM 和 CKM 处理 N₂O 累积排放量表现为负效应, 其他处理则为正效应, HRS、SMC 和 CFR 的效应显著高于 CK 处理(表 2)。回归分析表明, 不同有机肥处理 N₂O 累积排放量对氮添加的响应随有机肥 C/N、TC 和 LOC 增加而显著增强(图 6)。



(小写字母不同表示同一培养期不同有机肥处理间差异显著(P<0.05))

图 5 不同培养阶段不加氮和加氮处理下土壤 N₂O 累积排放量对有机肥添加的响应比值

Fig. 5 Response ratios of soil N₂O cumulative emissions to manure application with or without N addition at different incubation stages

表 2 施用不同有机肥情况下 N₂O 累积排放量对氮添加的响应

Table 2 Response ratios of N₂O cumulative emissions to nitrogen addition under different manure treatments

处理	CK	PGM	CKM	CMH	HRS	SMC	CFR
加氮效应	-0.01 b	-0.12 b	-0.09 b	0.14 ab	0.27 a	0.23 a	0.16 a

注: 不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

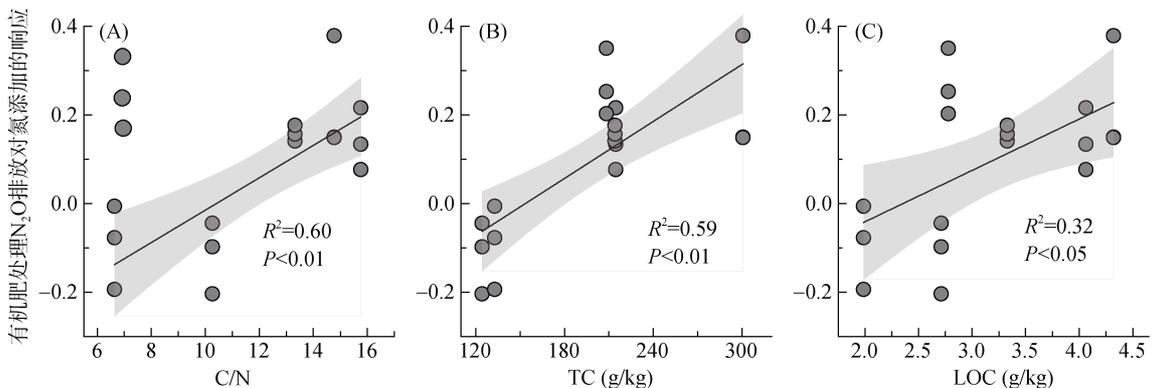


图 6 不同有机肥处理下土壤 N₂O 排放对氮添加响应与有机肥 C/N(A)(HRS 处理不计入计算)、全碳(B)、活性有机碳(C)的关系

Fig. 6 Relationships between the effect of nitrogen addition on soil N₂O emissions under different manure treatments and C/N(A), TC(B) and LOC(C)

2.4 有机肥性质与 N₂O 排放响应的关系

在不加氮和加氮情况下, 随机森林模型分别解释

了 N₂O 全培养期排放量对有机肥响应比值(RR)73.8% 和 75.6% 的变化。不加氮情况下有机肥的 LOC 和 VSC

含量是影响其对 N₂O 排放效应的主要因素，而加氮处理中有机肥的 VSC 是影响 N₂O 排放对其响应的最关键因素，且显著提高了 TN 的重要性(图 7)。加氮和不加氮处理中 C/N 对 RR 的影响均不显著。

对有机肥性质与不同阶段 N₂O 累积排放量响应比值 RR 的相关分析表明(图 8)，不加氮情况下培养

前期 RR 与无机氮和蛋白质含量呈显著正相关关系，与 TC、C/N、LOC 和 VSC 呈显著负相关关系，其中与 LOC 和 VSC 的相关系数最高。在培养中期，RR 与 TN 和芳基度呈显著正相关关系，与 CC/MC 呈显著负相关关系。培养后期 RR 与烷氧碳和双氧烷基碳呈显著负相关关系。

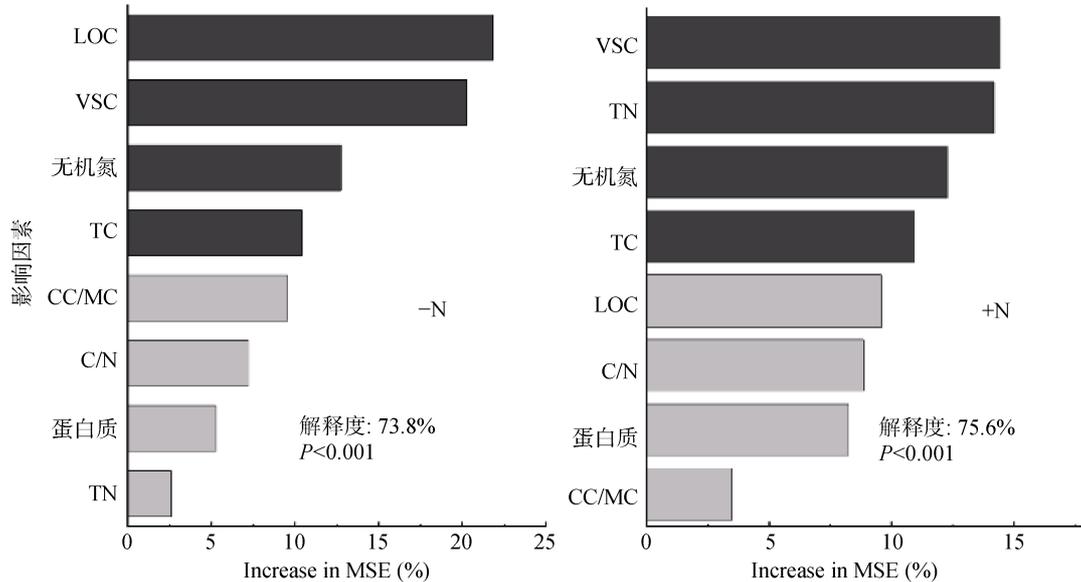
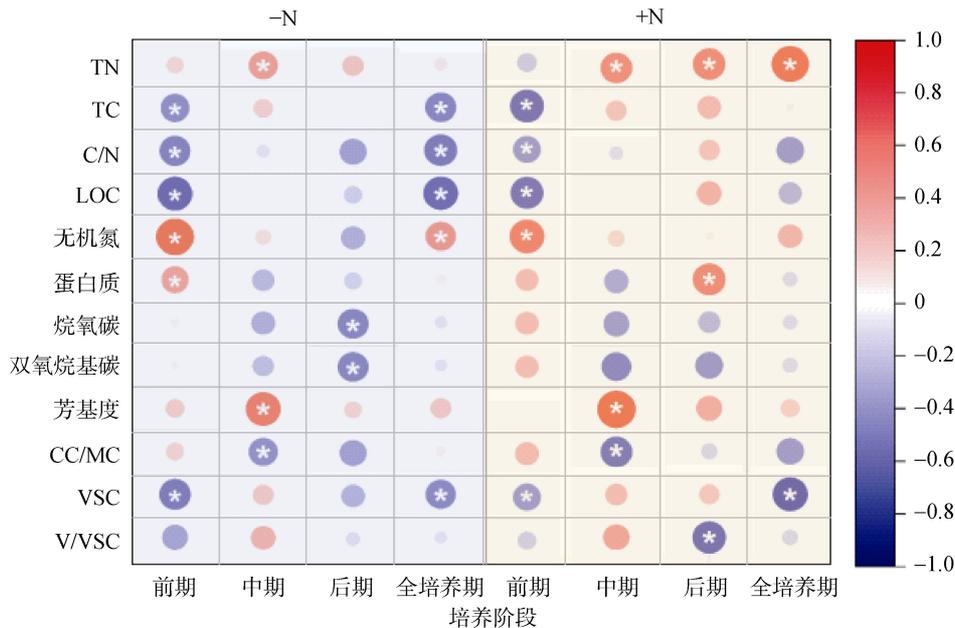


图 7 影响全培养期 N₂O 累积排放量对有机肥添加响应的重要因素(黑色表示该因子作用显著)

Fig. 7 Relative importance of factors influencing the response ratio of N₂O emissions to manure application during the whole incubation period



(图中 * 表示相关性达到 P<0.05 显著水平)

图 8 不同培养阶段不加氮和加氮处理下土壤 N₂O 排放对有机肥添加的响应比值与有机肥性质的关系

Fig. 8 The relationships between the ratio of soil N₂O fluxes response to manure application and the properties of manure at different incubation stages with or without N addition

加氮降低了前期 RR 与 LOC 和 VSC 的相关性，不影响中期 RR 与有机肥性质的关系；加氮增强了后

期 RR 与 V/VSC 的负相关关系及与蛋白质的正相关关系，但不影响烷氧碳和双氧烷基碳对 RR 的关系。

3 讨论

3.1 黑土 N₂O 排放对施用有机肥的响应

本研究中,施用有机肥总体上促进黑土 N₂O 排放(除 SMC 处理外),平均增幅为 23%(图 4)。理论上,有机肥施用带入大量有效碳氮,可以提高土壤硝化和反硝化微生物活性,诱导 N₂O 产生;同时外源有机碳的输入提高土壤异养呼吸,产生更多厌氧微域,促进反硝化作用^[10]。本研究中有有机肥对 N₂O 的促进作用增幅(23%)低于最新全球尺度 meta 分析的结果(33%)^[6]。这可能是由于该试验是在模拟野外 N₂O 高排放期平均含水量(50% WFPS)条件下进行,未达到反硝化作用发生的水分条件(70%~90% WFPS),因此主导 N₂O 产生的过程可能是硝化作用,而硝化作用产生 N₂O 的能力远低于反硝化作用^[21-22]。另外,在田间情况下,施用有机肥能够促进作物根系生长及活性,形成更加缺氧/厌氧的根际环境,进而增强土壤 N₂O 排放对有机肥的正响应^[6]。因此,本研究中有有机肥添加对 N₂O 排放的促进作用较低。

施用不同种类有机肥土壤 N₂O 排放对氮添加的响应不同,主要是由于有机肥碳氮化学计量比尤其是活性碳含量的差异(图 6);另一方面,氮添加总体上增强了 N₂O 排放对有机肥的响应(图 5)。在有机碳供应充足的土壤中,外源氮素的添加缓解了异养微生物同化作用和硝化作用对氮的竞争,促进 N₂O 排放^[23]。此外,尽管本试验设定的水分条件更利于硝化作用主导 N₂O 产生,在有机肥分解形成的厌氧微域以及土壤团聚体内部可能具备反硝化作用进行的缺氧条件,施用高碳活性有机肥也可以通过刺激反硝化作用而促进氮肥来源中 N₂O 的产生和排放。

本研究中,不加氮情况下,施用 SMC 有机肥并未增加 N₂O 排放,相反导致一定程度的降低。这可能是因为 SMC 有机肥(14.77)与供试土壤(14.73)具有相似的 C/N,更加符合土著微生物的代谢需求,导致微生物优先利用 SMC 有机肥中的活性有机物^[24],从而增强异养微生物的呼吸,促进了对氮素的同化作用^[25-26]。此外,SMC 自身 pH 较高(8.21),施入土壤后可能促进了微生物生物量的增加,进而增强了氮素的固持同化作用^[23]。更重要的是,SMC 具有最高的活性有机碳和较高的总木质素酚含量,可能是导致 N₂O 排放较低的主要诱因。

3.2 有机肥碳组分对不同阶段 N₂O 排放的影响

有机肥的活性有机碳和总木质素酚(而非碳氮计量比)是其影响 N₂O 排放的主要因素(图 7),表明有机

肥的组分特征对调控其影响整个培养期 N₂O 的排放起决定性作用。Chen 等^[27]研究发现,有机碳的结构是影响其在土壤中分解和氮素释放速率的重要因素。有机碳内在分子结构和微生物可利用性的差异^[15],导致不同阶段碳组分与 N₂O 排放之间的耦合关系和强度不同。

培养前期, N₂O 排放对有机肥的响应比值(RR)显著高于中后期,主要是因为有机肥带入的无机氮(主要是 NH₄⁺)可以迅速被硝化微生物利用产生 N₂O(图 8)。培养前期 RR 与有机肥的活性有机碳含量呈显著负相关(图 8),可能是由于此时有机肥源活性碳成为微生物的主要底物,促进了异养微生物的代谢,增强对土壤 NH₄⁺的同化作用^[25-26],造成与硝化微生物竞争利用氮底物,从而降低 N₂O 排放;而此时有机肥的总木质素酚含量也与 RR 呈负相关关系。已有研究发现,在活性有机碳供应充足的情况下,木质素会通过共代谢作用被微生物利用^[28],并且这种作用往往出现在有机物分解的前期^[15]。因此,高木质素酚含量可能进一步促进异养微生物对 NH₄⁺同化。氮添加后减弱了 RR 与活性有机碳和木质素酚含量的负相关关系,进一步证实有机肥中活性碳组分诱导的氮同化作用是抑制有机肥对 N₂O 排放正效应的重要机制。此外,丰富的活性碳底物也可能通过增强厌氧微域内 N₂O 还原为 N₂^[29],从而降低 N₂O 排放,该机制的贡献可能较低,需要进一步结合 ¹⁵N 技术进行量化区分。

培养中期 RR 与有机肥的 CC/MC 呈显著负相关关系。Bonanomi 等^[30]研究指出,CC/MC 主要表征纤维素,特别是其中的活性部分。前期木质素与活性碳的共代谢作用破坏了包裹在纤维素外层的木质结构,微生物才得以对暴露在外的纤维素进一步降解^[30]。因此,此时易降解的纤维素可能是有机肥中被分解的主要组分,进而调控氮素的同化作用并影响土壤 N₂O 排放对有机肥的响应。与活性碳组分等可以直接被微生物利用的小分子物质不同,纤维素需要在胞外酶的作用下被分解成小分子物质后才能被微生物进一步利用,这降低了微生物对碳氮底物的利用效率^[31]。因此,与前期相比,该培养阶段的 RR 总体呈降低的趋势(图 3)。同时,随着活性有机碳的不断消耗,稳定难降解的芳香类物质累积,从而降低了整体有机碳的可分解性^[32],进而抑制同化作用,致使有机肥的芳基度与 RR 呈显著正相关关系。

培养后期,在不加氮情况下,烷氧碳和双氧烷基碳与 RR 呈显著负相关关系,表明纤维素和半纤维素

进一步成为微生物的主要底物。与前期和中期不同的是,加氮显著改变有机肥性质对培养后期 N_2O 排放的影响,RR 与有机肥的 V/VSC 呈显著负相关关系,但是与蛋白质和全氮含量显著正相关。一方面,氮添加促进了前期和中期有机肥中活性碳底物的分解^[15,27],导致纤维素和半纤维素被更大程度地降解,使得木质素酚的稳定单体(V类)成为后期的主要碳底物;另一方面,氮添加缓解了中后期微生物的氮限制,降低了“氮挖掘”作用^[33],减少了有机肥中含氮化合物的分解速率,使其在后期仍能作为硝化作用的氮底物来源,进而增强 N_2O 排放对有机肥的响应。

总体来看,有机肥中总木质素酚和全氮含量是影响加氮土壤 N_2O 排放最主要的因素(图 7)。PGM 的全氮含量最低,SMC 和 CMH 的总木质素酚含量最高,因此上述 3 种有机肥处理土壤 N_2O 排放水平较低。前期研究发现,木质素是调控黑土中有机肥分解过程的重要因子,SMC 和 CMH 的分解速率最低从而具有更高的残留效应^[12]。因此,施用 SMC 和 CMH 有机肥对黑土有机碳提升和 N_2O 减排具有积极作用。

4 结论

本研究表明添加有机肥总体上促进了黑土 N_2O 排放(除 SMC 处理外),有机肥中有机碳的组分特征是驱动 N_2O 排放响应的重要因素。在硝化作用主导的好氧环境下,有机组分主要是通过影响微生物铵态氮同化与硝化作用之间的底物竞争关系,进而调控有机肥对 N_2O 排放的效应方向及程度。不同培养时期内起主导作用的有机组分存在明显分异,关键组分由前期共代谢的活性有机碳与木质素酚,转为中后期的纤维素和半纤维素。施用低氮、高木质素酚的有机肥能够在一定程度上缓解 N_2O 排放带来的气候负效应,更好实现黑土地固碳减排的目标。但考虑到室内培养和原位试验的差异,今后还需结合田间原位试验,以期更准确评价不同有机肥施用下黑土 N_2O 的排放响应及有机组分特征与 N_2O 排放的耦联效应,同时需进一步利用 ^{15}N 示踪和分子生物学技术阐明有机肥驱动的黑土 N_2O 产生过程及其微生物机制。

参考文献:

[1] Thangarajan R, Bolan N S, Tian G L, et al. Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 465: 72–96.

[2] Zhou M, Butterbach-Bahl K, Vereecken H, et al. A meta-analysis of soil salinization effects on nitrogen pools,

cycles and fluxes in coastal ecosystems[J]. *Global Change Biology*, 2017, 23(3): 1338–1352.

- [3] Diacono M, Montemurro F. Long-term effects of organic amendments on soil fertility: A review[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2010, 30(2): 761–786.
- [4] Li B, Song H, Cao W, et al. Responses of soil organic carbon stock to animal manure application: A new global synthesis integrating the impacts of agricultural managements and environmental conditions[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(20): 5356–5367.
- [5] Lehmann J, Bossio D A, Kögel-Knabner I, et al. The concept and future prospects of soil health[J]. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2020, 1(10): 544–553.
- [6] Zhou M, Zhu B, Wang S, et al. Stimulation of N_2O emission by manure application to agricultural soils may largely offset carbon benefits: A global meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2017, 23(10): 4068–4083.
- [7] Thomson A J, Giannopoulos G, Pretty J, et al. Biological sources and sinks of nitrous oxide and strategies to mitigate emissions[J]. *The Science of the Total Environment*, 2012, 367(1593): 1157–1168.
- [8] Tian H, Yang J, Xu R, et al. Global soil nitrous oxide emissions since the preindustrial era estimated by an ensemble of terrestrial biosphere models: Magnitude, attribution, and uncertainty[J]. *Global Change Biology*, 2019, 25(2): 640–659.
- [9] Chen Z M, Ding W X, Luo Y Q, et al. Nitrous oxide emissions from cultivated black soil: A case study in Northeast China and global estimates using empirical model[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2014, 28(11): 1311–1326.
- [10] Xia F, Mei K, Xu Y, et al. Response of N_2O emission to manure application in field trials of agricultural soils across the globe[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 733: 139390.
- [11] Chen H, Li X, Hu F, et al. Soil nitrous oxide emissions following crop residue addition: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2013, 19(10): 2956–2964.
- [12] Xu Y H, Chen Z M, Ding W X, et al. Responses of manure decomposition to nitrogen addition: Role of chemical composition[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 587/588: 11–21.
- [13] Klemmedtsson L, von Arnold K, Weslien P, et al. Soil CN ratio as a scalar parameter to predict nitrous oxide emissions[J]. *Global Change Biology*, 2005, 11(7): 1142–1147.
- [14] Huang Y, Zou J W, Zheng X H, et al. Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C: N ratios[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(6): 973–981.
- [15] Rashti M R, Wang W J, Reeves S H, et al. Linking chemical and biochemical composition of plant materials to their effects on N_2O emissions from a vegetable soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 502–511.

- [16] Yu Y Y, Guo Z T, Wu H B, et al. Spatial changes in soil organic carbon density and storage of cultivated soils in China from 1980 to 2000[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2009, 23(2): GB2021.
- [17] 苑亚茹, 邹文秀, 郝翔翔, 等. 黑土团聚体结合碳对不同有机肥施用量的响应[J]. *生态学报*, 2019, 39(9): 3235–3242.
- [18] 郝小雨, 周宝库, 马星竹, 等. 氮肥管理措施对黑土玉米田温室气体排放的影响[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(11): 3227–3238.
- [19] 李娜, 盛明, 尤孟阳, 等. 应用 ¹³C 核磁共振技术研究土壤有机质化学结构进展[J]. *土壤学报*, 2019, 56(4): 796–812.
- [20] 刘宁, 何红波, 解宏图, 等. 土壤中木质素的研究进展[J]. *土壤通报*, 2011, 42(4): 991–996.
- [21] 张楠, 苗淑杰, 乔云发, 等. 东北农田黑土 N₂O 排放研究进展[J]. *土壤学报*, 2022. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20220106.1711.006.html>.
- [22] 蔡延江, 丁维新, 项剑. 土壤 N₂O 和 NO 产生机制研究进展[J]. *土壤*, 2012, 44(5): 712–718.
- [23] Li Z, Zeng Z, Song Z, et al. Vital roles of soil microbes in driving terrestrial nitrogen immobilization[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(9): 1848–1858.
- [24] 魏圆云, 崔丽娟, 张曼胤, 等. 土壤有机碳矿化激发效应的微生物机制研究进展[J]. *生态学杂志*, 2019, 38(4): 1202–1211.
- [25] 王敬, 程谊, 蔡祖聪, 等. 长期施肥对农田土壤氮素关键转化过程的影响[J]. *土壤学报*, 2016, 53(2): 292–304.
- [26] Chen R, Senbayram M, Blagodatsky S, et al. Soil C and N availability determine the priming effect: Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories[J]. *Global Change Biology*, 2014, 20(7): 2356–2367.
- [27] Chen Z M, Xu Y H, Cusack D F, et al. Molecular insights into the inhibitory effect of nitrogen fertilization on manure decomposition[J]. *Geoderma*, 2019, 353: 104–115.
- [28] Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, 45(2): 115–131.
- [29] 蔡延江, 丁维新, 项剑. 农田土壤 N₂O 和 NO 排放的影响因素及其作用机制[J]. *土壤*, 2012, 44(6): 881–887.
- [30] Bonanomi G, Incerti G, Giannino F, et al. Litter quality assessed by solid state ¹³C NMR spectroscopy predicts decay rate better than C/N and Lignin/N ratios[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 56: 40–48.
- [31] Hu Y T, Zheng Q, Noll L, et al. Direct measurement of the *in situ* decomposition of microbial-derived soil organic matter[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 141: 107660.
- [32] Berg B, Matzner E. Effect of N deposition on decomposition of plant litter and soil organic matter in forest systems[J]. *Environmental Reviews*, 1997, 5(1): 1–25.
- [33] Jung J Y, Lal R, Ussiri D A N. Changes in CO₂, ¹³C abundance, inorganic nitrogen, β-glucosidase, and oxidative enzyme activities of soil during the decomposition of switchgrass root carbon as affected by inorganic nitrogen additions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(7): 801–81