

养猪场处理尾水灌溉对太湖地区水稻土 硝酸根异化还原为铵的影响*

卢伟伟^{1,2} 施卫明^{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 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 以太湖地区的普通筒育水耕人为土(湖白土)和底潜筒育水耕人为土(乌栅土)为研究对象,通过室内¹⁵N 示踪实验研究了养猪场处理尾水灌溉对土壤硝酸根异化还原为铵(DNRA)的影响。底潜筒育水耕人为土(乌栅土)DNRA 速率和相对潜势分别为 $N\ 0.68 \sim 0.79\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}\ \text{d}^{-1}$ (以干土计)和 34.61%~44.45%;普通筒育水耕人为土(湖白土)DNRA 速率和相对潜势分别为 $N\ 1.14 \sim 1.41\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}\ \text{d}^{-1}$ (以干土计)和 54.24%~106.70%。养猪场处理尾水对 2 种土壤的 DNRA 速率均影响不大;养猪场处理尾水对普通筒育水耕人为土(湖白土)DNRA 相对潜势影响不大而明显降低了底潜筒育水耕人为土(乌栅土)DNRA 相对潜势。相关分析表明,土壤 DNRA 相对潜势与培养开始($r=0.836, p<0.05, n=6$)和结束($r=0.936, p<0.01, n=6$)时的土壤溶解有机碳/硝态氮(DOC/NO₃⁻-N)均显著正相关,而与培养始末土壤 Eh 和 DOC 含量的相关性不显著。以上研究结果表明,太湖地区底潜筒育水耕人为土(乌栅土)具有较高的 DNRA 潜势,实践上有可能通过调控 DNRA 过程实现保持土壤氮素而减少农田氮损失的目的;尾水灌溉主要通过改变土壤 DOC/NO₃⁻-N 而影响 DNRA 对 NO₃⁻ 异化还原的贡献,且其影响因土壤类型而异。

关键词 污灌;硝酸根异化还原为铵;普通筒育水耕人为土(湖白土);底潜筒育水耕人为土(乌栅土);DOC/NO₃⁻-N; Eh

中图分类号 S154.1 文献标识码 A

太湖地区是我国工农业最发达的地区之一,但同时也是我国地表水污染严重的地区之一。据调查,目前该地区许多河流水质已达到水体富营养化的标准^[1-2]。稻田作为人工湿地,具有消纳污水中氮的功能。在保证粮食安全的前提下使用废水灌溉稻田不仅减少水体污染的压力,而且为植物生长提供营养元素。实践中,处理后的污水用于灌溉也将越来越普遍^[3]。反硝化是稻田氮损失的主要途径之一^[4-5]。研究表明,废水灌溉会增强反硝化^[6]。因此,污灌具有潜在加剧稻田系统氮损失的风险。

硝酸根异化还原为铵(DNRA)是除反硝化外硝酸根(NO₃⁻)异化还原的另一条途径。由于 NO₃⁻ 带负电,其较铵根(NH₄⁺)更容易发生淋溶。此外,由于 NO₃⁻ 在组织中被还原消耗更多的能量,其较 NH₄⁺ 更难被微生物和植物所同化。DNRA 过程减少了土壤中 NO₃⁻ 库的大小而增加了 NH₄⁺ 库的大

小,从而有利于土壤中氮素的保持。然而,目前尚未见污灌对土壤 DNRA 影响的报道。一般认为只有在强烈还原条件下($Eh < -200\ \text{mV}$) DNRA 在 NO₃⁻ 异化还原中起到重要的作用^[7]。但是,近期的研究表明 DNRA 过程对 Eh 变化或氧气的敏感性不如反硝化过程^[8-9]。Tiedje^[10] 认为易分解碳的可利用性高可能会有利于最高效利用电子受体(NO₃⁻)的微生物。当 1 mol NO₃⁻ 用作电子受体被还原时,在 DNRA 过程中其接受 8 mol 电子,而在反硝化过程中其仅接受 5 mol 电子,因此 DNRA 微生物利用电子受体 NO₃⁻ 的效率高。后来的研究者也证实 DNRA 在易分解碳含量高而 NO₃⁻ 含量低的环境中有利^[11-12]。废水灌溉会影响土壤有机碳和氮的含量和形态^[13-14],从而可能会影响土壤 DNRA 潜势。所以,本研究以太湖地区的普通筒育水耕人为土(湖白土, HB)和底潜筒育水耕人为土(乌栅土,

* 国家自然科学基金重大国际合作研究项目(30821140542)和公益性行业(农业)科研专项项目(201003014-1)资助

† 通讯作者, E-mail: wmsi@issas.ac.cn

作者简介:卢伟伟(1983—),女,山东济南人,博士研究生,主要从事土壤氮素转化研究。E-mail: wwlu@issas.ac.cn

收稿日期:2011-11-24;收到修改稿日期:2012-01-13

WS)2 种典型水稻土为研究对象旨在揭示养猪场处理尾水灌溉对 DNRA 潜势的影响并探究其原因。

1 材料与方法

1.1 供试土壤和养猪场处理尾水

实验所用水稻土为宜兴市普通筒育水耕人为土和常熟市底潜筒育水耕人为土。于 2011 年 8 月上旬,使用混合采样法采集以上 2 种土壤样品(0 ~ 15 cm)。样品尽快运回实验室并储藏于 4 °C 冰箱中。

2 种土壤的基本理化性质见表 1。底潜筒育水耕人为土的 pH、总有机碳(TOC)、全氮(TN)、溶解有机碳(DOC)和铵态氮(NH_4^+ -N)明显高于普通筒育水耕人为土,而两者的硝态氮(NO_3^- -N)含量差异不大。本研究中 2 种土壤的 pH 较一般情况下偏低,这可能是由于农户 8 月初施入肥料硝化作用而导致的。

废水采自宜兴市某养猪场经处理后所排放的尾水,其基本性质如下:pH 为 8.26, Eh 为 142.1 mV, TN 为 12.5 mg L⁻¹, NH_4^+ -N 为 10.02 mg L⁻¹, NO_3^- -N 为 2.23 mg L⁻¹, DOC 为 12.6 mg L⁻¹。

表 1 太湖地区 2 种主要水稻土的基本理化性质

Table 1 Main physico-chemical properties of the two main paddy soils (Typic Haplic-Stagnic Anthrosols and Endogleyic Haplic-Stagnic Anthrosols according to Chinese Soil Taxonomy) in the Taihu Lake region

土壤类型 Soil type	pH	质量含水量 Gravitational water content (%)	总有机碳 TOC (C g kg ⁻¹)	全氮 TN (N mg kg ⁻¹)	铵态氮 NH_4^+ -N (N mg kg ⁻¹)	硝态氮 NO_3^- -N (N mg kg ⁻¹)	溶解有机碳 DOC (C mg kg ⁻¹)
普通筒育水耕人为土 Typic Haplic-Stagnic Anthrosols	3.92	59.6	19.3	1 649	15.40	1.29	36.16
底潜筒育水耕人为土 Endogleyic Haplic- Stagnic Anthrosols	4.75	69.4	28.3	2 353	68.05	1.44	59.75

1.2 实验处理

实验共 6 个处理:不施尾水的普通筒育水耕人为土和底潜筒育水耕人为土对照(HB + CK 和 WS + CK),普通筒育水耕人为土 + 尾水氮负荷 TN 30 kg hm⁻²(HB + N30),普通筒育水耕人为土 + 尾水氮负荷 TN 60 kg hm⁻²(HB + N60),底潜筒育水耕人为土 + 尾水氮负荷 TN 30 kg hm⁻²(WS + N30)和底潜筒育水耕人为土 + 尾水氮负荷 TN 60 kg hm⁻²(WS + N60)。各处理 12 个重复,共 72 个实验样品。

称相当于 30 g 烘干土的鲜土置于 250 ml 三角瓶中,分别向氮负荷为 TN 0, 30 和 60 kg hm⁻²的处理中加入 0, 48 和 96 ml 尾水。尾水施用量不足 96 ml 的处理中用去离子水补足。每个三角瓶中加入 1 ml K¹⁵NO₃ 溶液(¹⁵N 丰度(atom%) 99%, N 3 mg kg⁻¹干土)。取每个处理的 6 个重复作为培养开始时的样品,其中 3 个重复按液土比 5:1,用 KCl 溶液浸提以测定土壤无机氮浓度,此外 3 个重复用于测定土壤 DOC。剩下的每个处理的 6 个重复,抽真空充氮气(N₂)后在 28 °C 下培养 1 d。培养结束后,同样是 3 个重复用于测定无机氮浓度和¹⁵N atom%,此外 3 个重复用于测定土壤 DOC。培养始

末浸提后剩余的土壤固体用于测定土壤有机氮(ON)含量及其¹⁵N atom%。培养始末,随机选择每个处理的 1 个三角瓶样品,将其置于冰上,在每个三角瓶样品中的 3 个不同位置测定土壤 Eh。

1.3 指标测定

土壤基本性质的测定见参考文献[15]。土壤含水量采用烘干称重法。土壤 TOC 采用高温外热重铬酸钾(K₂Cr₂O₇)氧化容量法。土壤 TN 或 ON 采用开氏消煮法。土壤 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 分别采用靛酚蓝比色法和紫外分光光度法。测定土壤 DOC 时,分别从用于培养的三角瓶样品中取出 6 g 湿土置于 50 ml 离心管中,加入 30 ml 去离子水,震荡,离心,过 0.45 μm 滤膜,最后使用 Multi N/C 3000 进行测定。土壤 pH 和 Eh 均使用电极进行测定。为测定土壤 NH_4^+ -¹⁵N atom% 和 NO_3^- -¹⁵N atom%,首先使用扩散法获得土壤 KCl 浸提液的含氮滤膜^[16-17],然后利用 Flash EA-δ V 质谱仪(Thermo-Fisher Scientific Ltd., USA)测定该滤膜。在该质谱仪上直接使用土壤固体样品测定土壤 ON-¹⁵N atom%。

1.4 DNRA 速率和相对潜势的计算

一般认为由 DNRA 过程产生的 NH_4^+ 被微生物

固定在 ON 中而非进行硝化^[18-21]。Rice 和 Tiedje^[22] 的研究表明 NO_3^- 同化还原对 NH_4^+ 极为敏感:土壤 NH_4^+ 浓度在 $\text{N } 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ 时 1 min 之内就可以抑制 60% 的同化还原,在 $\text{N } 10 \text{ mg kg}^{-1}$ 时 5 min 后所发生的第二个抑制阶段可抑制 80%。由于土壤中 NH_4^+ -N 浓度均高于 $\text{N } 10 \text{ mg kg}^{-1}$ 干土(表 2),所以本研究中 NO_3^- 的同化途径被忽略。因此,本研究中土壤 ON^{-15}N 来源于 DNRA 过程所产生的 $^{15}\text{NH}_4^+$ 。土壤 DNRA 速率的计算公式如下:

$$d = [([\text{NH}_4]_t \times f'_t - [\text{NH}_4]_0 \times 0.366) + ([\text{ON}]_t \times f''_t - [\text{ON}]_0 \times 0.366)] / (100 \times t) \quad (1)$$

土壤 DNRA 的相对潜势用来表征 DNRA 在 NO_3^- 消耗中的贡献,其计算公式如下:

$$d' = [([\text{NH}_4]_t \times f'_t - [\text{NH}_4]_0 \times 0.366) + ([\text{ON}]_t \times f''_t - [\text{ON}]_0 \times 0.366)] / ([\text{NO}_3]_0 \times f_0 - [\text{NO}_3]_t \times f_t) \times 100 \quad (2)$$

式中, d 为土壤 DNRA 速率($\text{N mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (以干土计)), d' 为土壤 DNRA 相对潜势(%), t 为培养时间

(d), $[\text{NH}_4^+]_t$ 为培养结束时土壤 NH_4^+ -N 含量(N mg kg^{-1} 干土), $[\text{NH}_4^+]_0$ 为培养开始时土壤 NH_4^+ -N 含量(N mg kg^{-1} 干土), f'_t 为培养结束时土壤 NH_4^+ - ^{15}N atom% (%), $[\text{ON}]_t$ 为培养结束时土壤 ON 含量(N mg kg^{-1} 干土), $[\text{ON}]_0$ 为培养开始时土壤 ON 含量(N mg kg^{-1} 干土), f''_t 为培养结束时土壤 ON^{-15}N atom% (%),0.366 为大气中氮的自然丰度(%), $[\text{NO}_3^-]_t$ 为培养结束时土壤 NO_3^- -N 含量(N mg kg^{-1} 干土), $[\text{NO}_3^-]_0$ 为培养开始时土壤 NO_3^- -N 含量(N mg kg^{-1} 干土), f_t 为培养结束时土壤 NO_3^- - ^{15}N atom% (%), f_0 为培养开始时土壤 NO_3^- - ^{15}N atom% (%)。

1.5 统计分析

相同尾水施用量下,2 种土壤类型的土壤性质及 DNRA 潜势的差异比较采用独立样本 t 检验;相同土壤类型下,不同尾水施用量对土壤性质及 DNRA 潜势的影响采用单因素方差分析(ANOVA);土壤性质与 DNRA 潜势的相关检验采用 Pearson 相关

表 2 施用不同量尾水(TN 0,30 和 60 kg hm^{-2} 分别标记为 CK,N30 和 N60)厌氧培养始末太湖地区普通筒育水耕人为土(HB)和底潜筒育水耕人为土(WS)的无机氮含量及 ^{15}N atom%

Table 2 Inorganic nitrogen content and ^{15}N atom% in Typic Haplic-Stagnic Anthrosols (HB) and Endogleyic Haplic-Stagnic Anthrosols (WS) soils in the Taihu Lake region at the start and end of the anaerobic incubation as affected by tail water application rate (TN 0, 30 and 60 kg hm^{-2} , coded as CK, N30 and N60, respectively)

培养时间 Incubation time (d)	处理 Treatment	铵态氮	硝态氮	有机氮	NH_4^+ - ^{15}N atom% (%)	NO_3^- - ^{15}N atom% (%)	ON^{-15}N atom% (%)
		NH_4^+ -N (N mg kg^{-1} dry soil)	NO_3^- -N (N mg kg^{-1} dry soil)	ON (N mg kg^{-1} dry soil)			
0	HB + CK	16.64 ± 0.60 c B	2.66 ± 0.09 c A	1373 ± 59 a B	0.366	69.34	0.366
	HB + N30	27.12 ± 1.61 b B	5.97 ± 0.01 b A	1387 ± 58 a B	0.366	38.01	0.366
	HB + N60	41.29 ± 2.87 a B	8.95 ± 0.34 a A	1399 ± 31 a B	0.366	26.25	0.366
	WS + CK	47.45 ± 4.49 b A	2.23 ± 0.12 c B	2122 ± 15 a A	0.366	67.01	0.366
	WS + N30	61.55 ± 8.07 ab A	5.38 ± 0.19 b B	2126 ± 14 a A	0.366	37.31	0.366
	WS + N60	70.18 ± 5.69 a A	9.21 ± 0.28 a A	2160 ± 22 a A	0.366	25.92	0.366
1	HB + CK	14.32 ± 0.48 c B	0.78 ± 0.03 b A	1403 ± 23 a B	1.50 ± 0.01 a A	27.13 ± 0.30 a A	0.396 ± 0.002 a B
	HB + N30	22.46 ± 0.66 b B	1.11 ± 0.21 b A	1450 ± 6 a B	0.88 ± 0.05 b A	20.31 ± 0.46 b A	0.398 ± 0.003 a B
	HB + N60	31.50 ± 0.66 a B	1.83 ± 0.12 a A	1437 ± 15 a B	0.70 ± 0.02 c A	13.89 ± 0.58 c A	0.402 ± 0.005 a A
	WS + CK	36.29 ± 0.65 c A	0.63 ± 0.10 a A	2137 ± 23 a A	1.56 ± 0.03 a A	25.95 ± 0.43 a A	0.411 ± 0.002 a A
	WS + N30	47.18 ± 0.30 b A	1.12 ± 0.06 a A	2161 ± 26 a A	1.03 ± 0.02 b A	14.89 ± 0.77 b B	0.408 ± 0.002 a A
	WS + N60	53.47 ± 0.72 a A	0.86 ± 0.30 a B	2120 ± 13 a A	0.77 ± 0.03 c A	20.01 ± 9.40 ab A	0.419 ± 0.005 a A

注:表中数据为均值 ± 标准误;同一土壤类型时,标有相同小写字母的不同处理间的差异不显著;同一尾水添加量时,标有相同大写字母的不同土壤类型间的差异不显著;培养开始时土壤无机氮和 ON 的 ^{15}N atom% 均是根据同位素稀释原理计算而得 Note: Values in the table are means ± standard errors; within the lines of the same soil type, values followed by the same lower-case letter are not significant in difference; within the lines of the same tail water application rate, values followed by the same capital letter are not significant in difference; ^{15}N atom% of various soil nitrogen fractions at the start of the incubation is calculated according to isotope dilution principle

分析。使用 SPSS 16.0 软件进行统计分析 (SPSS Inc., Chicago, US), 采用 Origin 7.5 软件进行制图 (OriginLab, US)。

2 结果与分析

2.1 培养始末土壤无机氮浓度和¹⁵N atom%

一方面, 由于测定无机氮浓度时土壤和尾水同时被 KCl 浸提, 所测土壤无机氮包含了尾水中的无机氮; 另一方面, 尾水中几乎不含 ON。因此, 培养开始时随尾水施用量的增加土壤无机氮含量逐渐增加, 而 ON 含量几乎不变 (表 2)。培养开始时, 与土壤 NO₃⁻-N 含量随尾水施用量增加而增加相对应, 土壤 NO₃⁻-¹⁵N atom% 逐渐降低 (表 2)。培养期间, 土壤 NH₄⁺-N 有所降低, 这可能由 NH₄⁺ 的净固定所引起; 土壤 NO₃⁻-N 明显降低; 除 WS + N60 处理中土壤 ON 含量稍微减少外, 其余处理中土壤 ON 均稍微增加; 土壤 NH₄⁺-¹⁵N atom% 升高且增加量随尾水施用量的增加而减少, 表明发生了 DNRA 过程; 除 WS + N60 处理中土壤 NO₃⁻-¹⁵N atom% 变化不大外,

其余处理中 NO₃⁻-¹⁵N atom% 均明显降低; 土壤 ON-¹⁵N atom% 有所升高, 表明发生了土壤 NH₄⁺ 的固定 (表 2)。土壤 NO₃⁻-¹⁵N atom% 的降低表明低丰度或自然丰度的氮进入了 NO₃⁻ 库, 即发生了硝化。硝化过程一般发生在好氧条件下。但是, 培养期间 NO₃⁻-¹⁵N atom% 明显降低的处理中土壤 Eh 为 -178.5 ~ -18.3 mV (表 3)。在实验操作过程中土壤有可能产生了好氧微区, 从而导致了硝化的发生。

2.2 培养始末土壤 Eh、DOC 及溶解有机碳/硝态氮 (DOC/NO₃⁻-N)

由于所测定的 DOC 只包含土壤中的而未包含尾水中的, 因此培养开始时 2 种土壤的 DOC 含量均不受尾水施用的影响 (表 3)。培养开始时, 随着尾水施用量的增加土壤 DOC/NO₃⁻-N 显著降低 (表 3)。这有 2 方面的原因: 第一, 随尾水施用量的增加土壤 NO₃⁻-N 逐渐增加而 DOC 几乎不变化; 第二, 尾水的 DOC/NO₃⁻-N (5.65) 明显低于土壤 (普通筒育水耕人为土 28.03, 底潜筒育水耕人为土 41.49)。培养开始时, 施用尾水对 2 种土壤的 Eh 均影响很小 (表 3)。经过 1 d 的培养, 土壤 Eh 稍微降低, DOC

表 3 施用不同量尾水 (TN 0, 30 和 60 kg hm⁻², 分别标记为 CK, N30 和 N60) 厌氧培养始末太湖地区普通筒育水耕人为土 (HB) 和底潜筒育水耕人为土 (WS) 的 Eh、溶解有机碳含量 (DOC) 及溶解有机碳与硝态氮比值 (DOC/NO₃⁻-N)

Table 3 Eh, content of dissolved organic carbon (DOC) and ratio of DOC to nitrate nitrogen (DOC/NO₃⁻-N) in Typic Haplic-Stagnic Anthrosols (HB) and Endogleyic Haplic-Stagnic Anthrosols (WS) soils in the Taihu Lake region at the start and end of the anaerobic incubation as affected by tail water application rate (TN 0, 30 and 60 kg hm⁻², coded as CK, N30 and N60, respectively)

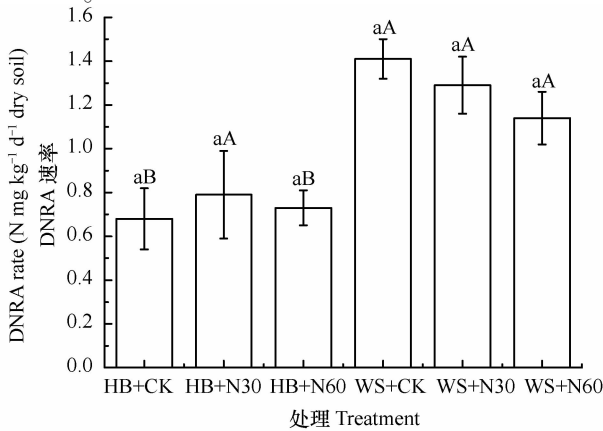
培养时间 Incubation time (d)	处理 Treatment	Eh (mV)	溶解有机碳 DOC (C mg kg ⁻¹ dry soil)	溶解有机碳与硝态氮比值 DOC/NO ₃ ⁻ -N
0	HB + CK	-2.8 ± 16.0	39.11 ± 1.25 a B	14.72 ± 0.66 a B
	HB + N30	18.3 ± 6.8	38.55 ± 2.02 a B	6.46 ± 0.34 b B
	HB + N60	-10.1 ± 3.7	32.70 ± 1.26 a B	3.58 ± 0.31 c B
	WS + CK	-123.5 ± 25.9	56.86 ± 5.44 a A	25.47 ± 1.61 a A
	WS + N30	-146.5 ± 11.8	59.60 ± 4.59 a A	11.13 ± 1.10 b A
	WS + N60	-129.0 ± 10.5	53.80 ± 3.15 a A	5.85 ± 0.34 c A
1	HB + CK	-36.1 ± 7.6	27.30 ± 1.17 a B	35.13 ± 2.01 a A
	HB + N30	-76.5 ± 24.5	27.87 ± 0.44 a B	27.61 ± 6.41 ab A
	HB + N60	-48.7 ± 2.73	28.55 ± 0.69 a B	15.76 ± 1.42 b A
	WS + CK	-153.6 ± 1.65	44.19 ± 0.72 a A	75.59 ± 15.48 a A
	WS + N30	-178.5 ± 9.18	44.00 ± 0.94 a A	39.60 ± 2.61 a A
	WS + N60	-164.6 ± 6.20	44.80 ± 0.39 a A	68.93 ± 25.21 a A

注: 表中数据为均值 ± 标准误; 由于缺少重复样品的测定值, 没有对土壤 Eh 进行差异性检验; 同一土壤类型时, 标有相同小写字母的不同处理间的差异不显著; 同一尾水添加量时, 标有相同大写字母的不同土壤类型间的差异不显著 Note: Values in the table are means ± standard errors; difference test was not carried out for soil Eh due to lack of data of replicates; within the lines of the same soil type, values followed by the same lower-case letter are not significant in difference; within the lines of the same tail water application rate, values followed by the same capital letter are not significant in difference

明显降低, DOC/NO₃⁻-N 明显升高(表 3)。培养结束时, 施用尾水对 2 种土壤 DOC 含量同样均没有影响, 对土壤 Eh 的影响也较小; 施用低量尾水使 2 种土壤 DOC/NO₃⁻-N 均降低但差异不显著; 施用高量尾水显著降低了普通筒育水耕人为土 DOC/NO₃⁻-N 而对底潜筒育水耕人为土 DOC/NO₃⁻-N 的影响不大(表 3)。

2.3 土壤 DNRA 速率及其与土壤性质的关系

DNRA 速率的最小值和最大值分别为 N 0.68 和 1.41 mg kg⁻¹ d⁻¹(以干土计)(图 1)。施用尾水对 2 种土壤的 DNRA 速率均影响不大; 底潜筒育水耕人为土 DNRA 速率明显高于普通筒育水耕人为土且在不施用尾水和施用高量尾水时差异显著(图 1)。相关分析表明, 土壤 DNRA 速率分别与培养开始($r = -0.928, p < 0.01, n = 6$)和结束($r = -0.937, p < 0.01, n = 6$)时土壤 Eh 显著负相关, 与培养开始($r = 0.949, p < 0.01, n = 6$)和结束($r = 0.950, p < 0.01, n = 6$)时土壤 DOC 含量显著正相关, 而与培养始末土壤 DOC/NO₃⁻-N 的相关性不显著。这表明低 Eh 和高易分解碳含量有利于土壤 DNRA。



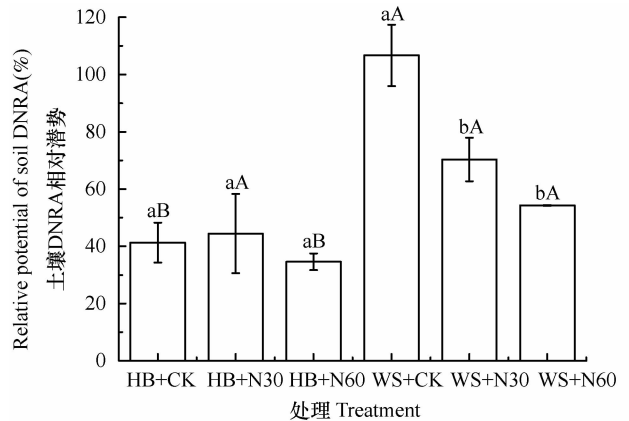
注: 图中误差棒代表标准误; 同一土壤类型, 标有相同小写字母的不同处理间的差异不显著; 同一尾水添加量, 标有相同大写字母的不同土壤类型间的差异不显著。Note: Error bars stand for standard errors; under the same soil type, columns marked by the same lower-case letter are not significant in difference; under the same tail water application rate, columns marked by the same capital letter are not significant in difference

图 1 施用不同量尾水(TN 0, 30 和 60 kg hm⁻², 分别标记为 CK, N30 和 N60)的太湖地区普通筒育水耕人为土(HB)和底潜筒育水耕人为土(WS)中硝酸根异化还原为铵(DNRA)的速率

Fig. 1 Rate of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in Typic Haplic-Stagnic Anthrosols (HB) and Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols (WS) soils in the Taihu Lake region as affected by tail water application rate (TN 0, 30 and 60 kg hm⁻², coded as CK, N30 and N60, respectively)

2.4 土壤 DNRA 相对潜势及其与土壤性质的关系

普通筒育水耕人为土中 DNRA 相对潜势的最小值和最大值分别是 34.61% 和 44.45%; 底潜筒育水耕人为土中 DNRA 相对潜势的最小值和最大值分别是 54.24% 和 106.70% (图 2)。WS+CK 处理中 DNRA 相对潜势超过了 100%, 这主要是由实验误差导致的。施用尾水对普通筒育水耕人为土 DNRA 相对潜势影响不大而显著降低了底潜筒育水耕人为土 DNRA 相对潜势; 底潜筒育水耕人为土 DNRA 相对潜势高于普通筒育水耕人为土且不施尾水和施用高量尾水时两者的差异显著(图 2)。相关分析表明, 土壤 DNRA 相对潜势与培养开始($r = 0.836, p < 0.05, n = 6$)和结束($r = 0.936, p < 0.01, n = 6$)时 DOC/NO₃⁻-N 显著正相关, 而与培养始末土壤 Eh 和 DOC 含量的相关性不显著。这表明, 与土壤 Eh 相比, 土壤 DOC/NO₃⁻-N 对 DNRA 在 NO₃⁻ 异化还原中贡献的影响更大。



注: 图中误差棒代表标准误; 同一土壤类型, 标有相同小写字母的不同处理间的差异不显著; 同一尾水添加量, 标有相同大写字母的不同土壤类型间的差异不显著。Note: Error bars stand for standard errors; under the same soil type, columns marked by the same lower-case letter are not significant in difference; under the same tail water application rate, columns marked by the same capital letter are not significant in difference

图 2 施用不同量尾水(TN 0, 30 和 60 kg hm⁻², 分别标记为 CK, N30 和 N60)的太湖地区普通筒育水耕人为土(HB)和底潜筒育水耕人为土(WS)中硝酸根异化还原为铵的相对潜势 Fig. 2 Relative potential of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in Typic Haplic-Stagnic Anthrosols (HB) and Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols (WS) soils in the Taihu Lake region as affected by tail water application rate (TN 0, 30 and 60 kg hm⁻², coded as CK, N30 and N60, respectively)

3 讨论

3.1 土壤 DNRA 速率及影响因素

本研究中 DNRA 速率为 N 0.68 ~ 1.41 mg kg⁻¹ d⁻¹

(以干土计)(图1)。陆地生态系统中, DNRA 过程的研究主要集中在森林和草地生态系统, 农田生态系统中的研究较少^[23]。Buresh 和 Patrick^[24]及 Yin 等^[19]通过计算¹⁵NO₃⁻-N 在各 N 库的回收研究了厌氧水稻土的 DNRA 潜势, 但是没有量化 DNRA 速率。依据本研究中 DNRA 速率的表征方法, Buresh 和 Patrick^[24]及 Yin 等^[19]中水稻土 DNRA 速率分别是 0.23 ~ 17.43 和 0.67 ~ 6.07 mg kg⁻¹ d⁻¹(以干土计)(本研究中 DNRA 速率的表征方法适用于他们的研究)。Nishio^[25]通过模型和实验相结合的方法研究得出表层好氧水稻土的 DNRA 速率低于 1.2 mg kg⁻¹ d⁻¹(以干土计)。因此, 与所报道的水稻土 DNRA 速率相比, 本研究中所得的速率较低。

本研究表明高易分解碳含量有利于土壤 DNRA, 与 Fazzolari 等^[9]及 Yin 等^[19]的研究结果相一致。这主要是因为易分解碳是 DNRA 微生物生长所需的碳源。此外, 本研究也表明低 Eh 有利于土壤 DNRA, 这与 Matheson 等^[26]及 Buresh 和 Patrick^[7]的研究结果相一致。DNRA 过程主要由厌氧发酵微生物进行, 在高度还原的土壤环境中普遍^[10, 27]。然而, 有研究发现高的 DNRA 潜势并不总是与低的 Eh 值相一致。Samuelsson^[28]在海洋 DNRA 细菌腐败假单胞菌 (*Pseudomonas putrefaciens*) 的纯培养中发现, 高 Eh 条件下 NO₃⁻ 被还原为 NH₄⁺, 但是在相同介质的较低的 Eh 条件下没有发生。Eh 对 DNRA 过程的影响机理目前还不是很清楚。由于由 NO₃⁻ 生成 NO₂⁻ 这一步 DNRA 与反硝化相同或相似, 因此氧气分压调控反硝化过程中一系列还原酶的合成和活性这一机理可能也部分地适用于 DNRA 过程^[29]。除氧气分压调控机理外, Eh 也有可能通过改变 DNRA 细菌的主导区系来影响 DNRA 过程^[29]。

3.2 土壤 DNRA 相对潜势及影响因素

普通筒育水耕人为土和底潜筒育水耕人为土中 DNRA 相对潜势分别是 34.61% ~ 44.45% 和 54.24% ~ 106.70% (图2)。Buresh 和 Patrick^[24]及 Yin 等^[19]通过计算所添加的¹⁵NO₃⁻-N 在 NH₄⁺ 和 ON 库中的回收研究了厌氧水稻土的 DNRA 潜势。如果将¹⁵NO₃⁻-N 在 NH₄⁺ 和 ON 中的回收率换算为本研究中的 DNRA 相对潜势, Buresh 和 Patrick^[24]及 Yin 等^[19]中的 DNRA 相对潜势分别是 5% ~ 54% 和 1% ~ 70%。与之相比, 本研究中底潜筒育水耕人为土的 DNRA 相对潜势较高。一般认为, 在农田土壤

中反硝化过程主导 NO₃⁻ 的异化还原^[30-31]。李振高等^[32]发现太湖地区土壤中有许多菌株(主要是 *Bacillus* sp.) 可以进行 DNRA 过程。土壤 DNRA 潜势是土壤微生物和环境条件共同作用的结果。因此, 可能是底潜筒育水耕人为土中数量较大的 DNRA 微生物及较低 Eh 和较高易分解碳的有利环境条件共同促进了 DNRA 过程。但是, 这只是室内的研究结果, 野外实际条件下底潜筒育水耕人为土中 DNRA 的发生程度还不清楚。目前关于稻田土壤 DNRA 原位潜势的报道较少。Lu 等^[33]报道了日本灰色低地土中 DNRA 的原位相对潜势为 3.88% ~ 25.4%。因此, 今后可以进一步研究底潜筒育水耕人为土 DNRA 的原位潜势, 从而更好的认识 DNRA 的发生程度。

本研究表明, 与土壤 Eh 相比, 土壤 DOC/NO₃⁻-N 对 DNRA 在 NO₃⁻ 异化还原中贡献的影响更大。总体而言, 多数研究者认为土壤易分解碳或易分解碳/NO₃⁻-N 是影响 NO₃⁻ 异化还原在 DNRA 和反硝化之间分配的关键因素^[9, 19, 34-36]。然而, Matheson 等^[26]认为土壤 Eh 而非 C/NO₃⁻-N 是影响 NO₃⁻ 异化还原在 DNRA 和反硝化之间分配的关键因子。此外, Sotta 等^[37]在室内土柱培养实验中发现土壤的 DNRA 与 C/NO₃⁻-N 之间没有相关性。DNRA 可能在厌氧微区中发生, 而整个土体的 C/NO₃⁻-N 不能代表土壤中活性位点的 C/NO₃⁻-N, 这可能是出现这些相反结果的原因^[23]。

4 结 论

太湖地区底潜筒育水耕人为土 DNRA 潜势高于普通筒育水耕人为土。DNRA 对 NO₃⁻ 异化还原的较高贡献(34.61% ~ 106.70%) 表明, 实践上有可能通过调控 DNRA 过程实现保持土壤氮素而减少农田氮损失的目的。尾水灌溉主要通过改变土壤 DOC/NO₃⁻-N 而影响 DNRA 对 NO₃⁻ 异化还原的贡献, 且其影响因土壤类型而异。

参 考 文 献

- [1] Xing G X, Cao Y C, Shi S L, et al. N pollution sources and denitrification in waterbodies in Taihu Lake region. *Science in China: Ser B*, 2001, 44(3): 304—314
- [2] 熊正琴, 邢光熹, 沈光裕, 等. 太湖地区湖、河和井水中氮污染状况的研究. *农村生态环境*, 2002, 18(2): 29—33. Xiong Z Q, Xing G X, Shen G Y, et al. Non-point source N pollution of Lakes, rivers and wells in the Taihu Lake Region (In Chinese).

- Rural Eco-Environment, 2002, 18(2): 29—33
- [3] 周维博, 李佩成. 我国农田灌溉的水环境问题. 水科学进展, 2001, 12(3): 414—417. Zhou W B, Li P C. Water environment problem of irrigation in China (In Chinese). Advances in Water Science, 2001, 12(3): 414—417
- [4] Katyal J C, Gadalla A M. Fate of urea-N in floodwater. I. Relation with total N loss. Plant Soil, 1990, 121(1): 21—30
- [5] Cai G X, Yan G C, Lu W F, et al. Gaseous loss of nitrogen from fertilizers applied to a paddy soil in southeastern China. Pedosphere, 1992, 2(3): 209—217
- [6] Zhou S, Nishiyama K, Watanabe Y, et al. Nitrogen budget and ammonia volatilization in paddy fields fertilized with liquid cattle waste. Water Air Soil Poll, 2009, 201(1/4): 135—147
- [7] Buresh R J, Patrick W H Jr. Nitrate reduction to ammonium and organic nitrogen in an estuarine sediment. Soil Biol Biochem, 1981, 13(4): 279—283
- [8] Pett-Ridge J, Silver W L, Firestone M K. Redox fluctuations frame microbial community impacts on N-cycling rates in humid tropical forest soil. Biogeochemistry, 2006, 81(1): 95—110
- [9] Fazzolari É, Nicolardot B, Germon J C. Simultaneous effects of increasing levels of glucose and oxygen partial pressures on denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in repacked soil cores. Eur J Soil Biol, 1998, 34(1): 47—52
- [10] Tiedje J M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium//Zehnder A J B. Biology of anaerobic microorganisms. New York: John Wiley and Sons, 1988: 179—244
- [11] Kelso B, Smith R V, Laughlin R J, et al. Dissimilatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrite accumulation. Appl Environ Microb, 1997, 63(12): 4 679—4 685
- [12] Silver W L, Herman D J, Firestone M K. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium in upland tropical forest soils. Ecology, 2001, 82(9): 2 410—2 416
- [13] Bol R, Kandeler E, Amelung W, et al. Short-term effects of dairy slurry amendment on carbon sequestration and enzyme activities in a temperate grassland. Soil Biol Biochem, 2003, 35(11): 1 411—1 421
- [14] 吕殿青, 张树兰, 杨学云. 外加碳、氮对土壤氮矿化、固定与激发效应的影响. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(2): 223—229. Lü D Q, Zhang S L, Yang X Y. Effect of supplying C and N on the mineralization, immobilization and priming effect of soil nitrogen (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2007, 13(2): 223—229
- [15] 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. Lu R K. Analytical methods of soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000
- [16] Brooks P D, Stark J M, McInteer B B, et al. Diffusion method to prepare soil extracts for automated nitrogen-15 analysis. Soil Sci Soc Am J, 1989, 53(6): 1 707—1 711
- [17] Sørensen P, Jensen E S. Sequential diffusion of ammonium and nitrate from soil extracts to a polytetrafluorethyle trap for ¹⁵N determination. Anal Chim Acta, 1991, 252(1/2): 201—203
- [18] Tobias C R, Macko S A, Anderson I C, et al. Tracking the fate of a high concentration groundwater nitrate plume through a fringing marsh: A combined groundwater tracer and in situ isotope enrichment study. Limnol Oceanogr, 2001, 46(8): 1 977—1 989
- [19] Yin S X, Chen D, Chen L M, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium and responsible microorganisms in two Chinese and Australian paddy soils. Soil Biol Biochem, 2002, 34(8): 1 131—1 137
- [20] Ma H, Aelion C M. Ammonium production during microbial nitrate removal in soil microcosms from a developing marsh estuary. Soil Biol Biochem, 2005, 37(10): 1 869—1 878
- [21] Scott J T, McCarthy M J, Gardner W S, et al. Denitrification, dissimilatory nitrate reduction to ammonium, and nitrogen fixation along a nitrate concentration gradient in a created freshwater wetland. Biogeochemistry, 2008, 87(1): 99—111
- [22] Rice C W, Tiedje J M. Regulations of nitrate assimilation by ammonium in soils and in isolated microorganisms. Soil Biol Biochem, 1989, 21(4): 597—602
- [23] Rütting T, Boeckx P, Müller C, et al. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle. Biogeosciences, 2011, 8(7): 1 779—1 791
- [24] Buresh R J, Patrick W H Jr. Nitrate reduction to ammonium in anaerobic soil. Soil Sci Soc Am J, 1978, 42(6): 913—918
- [25] Nishio T. Estimating nitrogen transformation rates in surface aerobic soil of a paddy field. Soil Biol Biochem, 1994, 26(9): 1 273—1 280
- [26] Matheson F E, Nguyen M L, Cooper A B, et al. Fate of ¹⁵N-nitrate in unplanted, planted and harvested riparian wetland soil microcosms. Ecol Eng, 2002, 19(4): 249—264
- [27] Caskey W H, Tiedje J M. Evidence for *Clostridia* as agents of dissimilatory reduction of nitrate to ammonium in soils. Soil Sci Soc Am J, 1979, 43(5): 931—936
- [28] Samuelsson M. Dissimilatory nitrate reduction to nitrite, nitrous oxide, and ammonium by *Pseudomonas putrefaciens*. Appl Environ Microb, 1985, 50(4): 812—815
- [29] 殷士学. 淹水土壤中硝态氮异化还原成铵过程的研究. 南京: 南京农业大学, 2000. Yin S X. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium in submerged soils (In Chinese). Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2000
- [30] Nömmik H. Investigations on denitrification in soil. Acta Agr Scand, 1956, 6(2): 195—228
- [31] 蔡祖聪. 尿素和 KNO₃ 对水稻土无机氮转化过程和产物的影响 I. 无机氮转化过程. 土壤学报, 2003, 40(2): 239—245. Cai Z C. Effects of urea and KNO₃ on processes and products of inorganic nitrogen transformation in paddy soils I. Processes of inorganic nitrogen (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(2): 239—245
- [32] 李振高, 潘映华, 伍期途, 等. 太湖地区水稻土优势反硝化细菌的数量、组成与酶活性. 土壤学报, 1989, 26(1): 79—86. Li Z G, Pan Y H, Wu Q T, et al. Numbers, compositions and enzyme activities of denitrifiers in paddy soils of Taihu Lake district (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1989, 26(1): 79—86

- [33] Lu W W, Riya S, Zhou S, et al. *In Situ* dissimilatory nitrate reduction to ammonium in paddy soil fertilized with liquid cattle waste. *Pedosphere*, 2012, 22(3): 314—321
- [34] Tiedje J M, Sextstone A J, Myrold D D, et al. Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1982, 48(6): 569—583
- [35] D'Angelo E M, Reddy K R. Ammonium oxidation and nitrate reduction in sediments of a hypereutrophic lake. *Soil Sci Soc Am J*, 1993, 57(4): 1 156—1 163
- [36] Laverman A M, van Cappellen P, van Rotterdam-Los D, et al. Potential rates and pathways of microbial nitrate reduction in coastal sediments. *FEMS Microbiol Eco*, 2006, 58(2): 179—192
- [37] Sotta E D, Corre M D, Veldkamp E. Differing N status and N retention processes of soils under old-growth lowland forest, M. D., and Veldkamp, E.: forest in Eastern Amazonia, Caxiuanã, Brazil. *Soil Biol Biochem*, 2008, 40(3): 740—750

POTENTIAL OF DISSIMILATORY NITRATE REDUCTION TO AMMONIUM IN PADDY SOILS IN THE TAIHU LAKE REGION AS AFFECTED BY IRRIGATION WITH TAIL WATER FROM PIG REARING

Lu Weiwei^{1,2} Shi Weiming^{1†}

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

(2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Using the 15-nitrogen (¹⁵N) tracing method, potential of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in Typic Hapli-Stagnic Anthrosols and Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols of the Taihu Lake region as affected by tail water from pig rearing was studied. DNRA rates and relative potentials varied in the range of N 0.68 ~ 0.79 mg kg⁻¹ dry soil d⁻¹ and 34.61% ~ 44.45%, respectively, in Typic Hapli-Stagnic Anthrosols, and in the range of N 1.14 ~ 1.41 mg kg⁻¹ dry soil d⁻¹ and 54.24% ~ 106.70%, respectively in Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols. Irrigation with tail water from pig rearing had little effect on DNRA rates in both soils and DNRA relative potential in Typic Hapli-Stagnic Anthrosols, while it obviously reduced DNRA relative potential in Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols. Correlation analysis indicates that soil DNRA relative potential was significantly positively correlated with the ratio of soil dissolved organic carbon to nitrate nitrogen (DOC/NO₃⁻-N) at the start ($r = 0.836$, $p < 0.05$, $n = 6$) and the end ($r = 0.936$, $p < 0.01$, $n = 6$) of the incubation, but not significantly correlated with soil Eh or DOC at the start and the end of the incubation. The results indicate that Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols is of much higher DNRA potential, therefore, in practice, it might be possible to enhance N retention through regulation of DNRA and hence to minimize N loss from paddy fields; and irrigation of the soils with tail water affects the contribution of DNRA to dissimilatory NO₃⁻ reduction mainly by changing soil DOC/NO₃⁻-N and its effect varies with the soil types.

Key words Waste water irrigation; Dissimilatory nitrate reduction to ammonium; Typic Hapli-Stagnic Anthrosols; Endogleyic Hapli-Stagnic Anthrosols; DOC/NO₃⁻-N; Eh