

DOI: 10.11766/trxb202005110231

马芸芸, 周伟, 何莉莉, 赵旭, 王林权. 秸秆生物质炭对稻田土壤剖面 N_2O 和 N_2 浓度的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58 (6): 1540–1551.
MA Yunyun, ZHOU Wei, HE Lili, ZHAO Xu, WANG Linquan. Effect of Application of Straw-derived Biochar on Concentrations of N_2O and N_2 in Paddy Soil Profile[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58 (6): 1540–1551.

秸秆生物质炭对稻田土壤剖面 N_2O 和 N_2 浓度的影响*

马芸芸^{1, 2}, 周伟², 何莉莉³, 赵旭^{2†}, 王林权^{1†}

(1. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌, 712100; 2. 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; 3. 浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所, 杭州 310021)

摘要: 氧化亚氮 (N_2O) 和氮气 (N_2) 是淹水稻田土壤剖面反硝化过程的重要气态产物, 可通过土水界面向大气排放, 也可随水向下淋溶。秸秆生物质炭施入稻田后会改变土壤理化及微生物学性质, 影响反硝化过程及 N_2O 和 N_2 产排。依托 2010 年夏建立的连续秸秆生物质炭还田的稻麦轮作农田试验, 通过埋设淋溶管收集土壤剖面溶液, 采用气相色谱和膜进样质谱分别定量溶液中 N_2O 和 exN_2 (反硝化产生 N_2 量), 观测 2018 和 2019 年水稻季不同秸秆生物质炭施用量 (CK: 每季 $0 t \cdot hm^{-2}$; 1BC: 每季 $2.25 t \cdot hm^{-2}$; 5BC: 每季 $11.3 t \cdot hm^{-2}$; 10BC: 每季 $22.5 t \cdot hm^{-2}$) $0 \sim 1 m$ 土壤剖面溶液中 N_2O 和 exN_2 浓度的时空变化, 评估长期施用秸秆生物质炭对稻田土壤剖面反硝化作用及其主要气态氮产物 exN_2 随水流失的影响。结果表明, 两个稻季 CK 处理 N_2O 浓度以 $60 cm$ 处较高, exN_2 浓度则随土壤深度增加呈降低趋势。秸秆生物质炭处理能降低剖面 N_2O 和 exN_2 浓度, 以 10BC 处理最为明显。其中, N_2O 浓度降低以 $60 cm$ 处较大, exN_2 浓度降低随土壤深度增加而加大。施用秸秆生物质炭对土壤剖面溶液无机氮 ($NO_3^- + NH_4^+$) 含量无明显影响, 但 5BC 和 10BC 处理增加了可溶性有机碳 (DOC) 和溶解氧 (DO) 浓度以及氧化还原电位 (Eh)。CK 处理下土壤剖面溶液 N_2O 和 exN_2 浓度变化与 DOC、硝态氮 (NO_3^-) 及 DO 有关; 秸秆生物质炭处理下则主要受 DO 和 Eh 控制。 exN_2 淋溶量 (按 $1 m$ 深度计算) CK 处理下为 $2.3 \sim 5.5 kg \cdot hm^{-2}$, 相当于无机氮和有机氮 (DON) 淋溶量的 $32\% \sim 34\%$, 5BC 和 10BC 处理则降低为 $1.7 \sim 3.7 kg \cdot hm^{-2}$ 和 $1.1 \sim 1.9 kg \cdot hm^{-2}$ 。综上, 反硝化产生 N_2 随水淋溶量不容忽视, 秸秆生物质炭还田可改善淹水稻田土壤剖面的通气状况, 增加 DO, 提高 Eh, 进而有效减少深层反硝化及其主要气态产物 exN_2 随水流失的风险。

关键词: 稻田剖面反硝化; 秸秆生物质炭; N_2 直接定量法; 气态氮淋溶

中图分类号: S151.9 **文献标志码:** A

Effect of Application of Straw-derived Biochar on Concentrations of N_2O and N_2 in Paddy Soil Profile

MA Yunyun^{1, 2}, ZHOU Wei², HE Lili³, ZHAO Xu^{2†}, WANG Linquan^{1†}

(1. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100 China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, 210008 China; 3. Institute of Environment, Resource, Soil and Fertilizer, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021 China)

* 国家自然科学基金项目 (41771338、41807088、41807096) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41771338, 41807088, 41807096)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhaoxu@issas.ac.cn; linquanw@nwsuaf.edu.cn

作者简介: 马芸芸 (1994—), 女, 甘肃静宁人, 硕士研究生, 主要从事淹水稻田土壤剖面反硝化规律的研究。E-mail: 1264101423@qq.com

收稿日期: 2020-05-11; 收到修改稿日期: 2020-08-29; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2020-10-21

Abstract: 【Objective】 Nitrous oxide (N_2O) and nitrogen (N_2) are important gaseous products of denitrification in soil profile of flooded rice field, which may be discharged directly into the atmosphere through soil-water interface, or leached into groundwater and eventually into the atmosphere. Application of biochar can alter denitrification process in the paddy field by changing physicochemical and microbiological properties of the paddy soil and then affect the generation and emission of N_2 and N_2O in the field. 【Method】 In this study, based on a long-term (since 2010) rice-wheat rotation field experiment on biochar amendment. Soil solutions (0-1 m depth) were collected through specially designed piezometers imbedded in the paddy soil. And concentrations of dissolved N_2O and exN_2 (N_2 produced by denitrification) in soil solution were determined by gas chromatography and membrane inlet mass spectrometer. The experiment was designed to have 4 treatments (CK: each season $0 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$; 1BC: each season $2.25 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$; 5BC: each season $11.3 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$; 10BC: each season $22.5 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$) for the two rice seasons in 2018 and 2019, and aimed to investigate spatial and temporal variations of N_2O and exN_2 concentrations in soil solution as affected by biochar application rate. The effects of long-term application of biochar on denitrification in paddy soil profile and the exN_2 , which was the main gaseous nitrogen product, was washed away by water were evaluated. 【Result】 The concentration of N_2O is higher in the soil 60 cm in depth in CK and exN_2 concentration decreased with soil depth. N_2O and exN_2 concentrations in profile decreased with rising biochar application rate, thus being the lowest in treatment 10BC. Among them N_2O concentration decreased the most significantly in the soil 60 cm in depth and exN_2 concentration decreased with increasing soil depth. Biochar amendments had no obvious effect on inorganic nitrogen ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$) in the soil profile, but increased the concentrations of soluble organic carbon (DOC), dissolved oxygen(DO)and redox potential (Eh) in 5BC and 10BC. The variations of N_2O and exN_2 was related to DOC, NO_3^- and DO in CK, and to DO and Eh in the biochar treatments. The leaching amount of exN_2 (calculated by 1 m depth) is $2.3\text{-}5.5 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ in CK, which was equivalent to 32%~34% of the leaching amount of inorganic nitrogen and organic nitrogen (DON), while it was reduced to $1.7\text{-}3.7 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ and $1.1\text{-}1.9 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ in 5BC and 10BC. 【Conclusion】 All the findings show that the leaching amount of N_2 produced by denitrification with water can not be ignored, the amendment of biochar can improve aeration of the soil profile and increase DO and Eh, thus inhibiting denitrification and reducing the risk of leaching loss of its main gaseous products, exN_2 .

Key words: Denitrification in rice field profile; Straw-derived biochar; N_2 direct measuring method; Gaseous nitrogen leaching

反硝化是指硝态氮 (NO_3^-) 或亚硝态氮 (NO_2^-) 经还原转化为 NO_x 、 N_2O 等气态氮氧化物和氮气 (N_2) 的过程, 是氮素生物地球化学循环的重要环节。反硝化发生需要满足如下条件: NO_3^- 作为底物、严格厌氧环境、电子供体以及与反硝化有关的微生物。由于硝态氮和微生物普遍存在于农田土壤, 因此, 对于农田土壤而言, 反硝化主要依赖于厌氧条件和电子供体。由于缺乏严格的厌氧环境和足量的溶解有机碳 (DOC) 做电子供体, 旱地土壤反硝化会受到抑制^[1-2]。农田表层土壤由于碳源充足、微生物活性高, 反硝化速率高于底层土壤^[3-4]。但有越来越多的证据表明在农田底土中也有显著的反硝化作用^[5], 甚至有底层土壤反硝化活性远高于表层土壤的报道^[6]。底层土壤是农田氮素, 尤其是移动性较强的 NO_3^- 向下淋溶的必经之路, 因此在降水充沛、地下水水位较高的南方河网地区农田底层土壤中, NO_3^-

的反硝化过程被认为是阻止农田氮进入地下水的重要屏障^[7]。然而, 土壤深层反硝化产生的 N_2O 和 N_2 除向上扩散离开农田系统外, 也可随水向下迁移流失^[8]。在农田氮淋溶观测研究中通常以对水环境产生直接影响的无机氮 (NH_4^+ 和 NO_3^-) 和有机氮为主, 而对反硝化产生的溶解性 N_2O 和 N_2 关注甚少。由于水稻生长季节稻田需要长时间保持淹水环境, 导致根系下形成还原性土层, 有利于反硝化作用, 因而反硝化是稻田氮损失的重要途径。水稻土氧化还原层的分异, 使得进入农田的肥料 NH_4^+ 硝化转为 NO_3^- 后, 往往可淋至土壤剖面更深的还原层发生反硝化作用产生 N_2O 和 N_2 ^[9]。明确土壤剖面溶液反硝化气态产物分布特征及其变化规律有助于准确定量稻田反硝化过程及其氮去除能力, 也可为客观评价农田氮素淋溶损失提供依据。

由于反硝化的最终产物 N_2 在大气中含量高达

78%，因此直接测定来自土壤反硝化过程产生的 N_2 存在困难^[10]。除 N_2 外，反硝化过程中间产物之一的 N_2O 会导致温室效应和破坏臭氧层，而稻田也是 N_2O 排放的重要来源^[11]。测定土壤溶液中 N_2O 和反硝化产生 N_2 量 (Excess N_2 ，下文中用 exN_2 表示) 的方法是一直以来研究稻田反硝化的有效手段。由于研究方法的限制，稻田剖面反硝化的研究多是室内培养实验，田间原位研究较少。近年来，随着膜进样质谱方法的成熟应用，使得快速、准确测定水中溶解性 N_2 成为可能。由于土壤的阻滞和水压的作用使得稻田土壤溶液中的气体扩散缓慢，因此可通过测定土壤溶液中溶解性 N_2 量，再减去自然溶解性 N_2 量，得到反硝化产生 N_2 量，该法被称为 N_2 直接定量法^[7]。

生物质炭是近些年来新兴起的功能性物质，施用生物质炭能够提高土壤 pH，改善土壤物理性状，其中部分可降解组分还可被微生物利用，因此生物质炭施入到土壤会改变微生物主导的反硝化过程。已有的生物质炭对土壤反硝化影响研究多集中在其对地表 N_2O 、 N_2 排放通量的影响。例如 Obia 等^[12] 认为生物质炭可以改变酸性土壤的 pH，进而抑制酸性土壤的 N_2O 净产生，并增加 N_2 的产量。Chintala 等^[13] 用乙炔抑制法研究发现，生物质炭能够降低 N_2O 的排放及总的 (N_2O+N_2)-N 的排放。还有研究发现新鲜的生物质炭可以抑制异养硝化作用，而老化的生物质炭通过增加羧基和羟基的官能团密度来增强硝化-反硝化作用^[14]，可见生物质炭对土壤反硝化的影响与土壤性质、老化时间等密切相关。上述研究均基于短期培养试验，并未考虑田间状况下可能发生的其他因素，比如生物质炭老化、生物质炭-土壤-植物之间的相互作用。此外稻田水分下渗量大，大量的物质会随水下渗，从而影响耕层以下土壤的理化性质及微生物活性。生物质炭可影响耕层土壤反硝化的能力已经得到了证实^[15]，但其对耕层以下土壤反硝化过程的影响尚不明确，考虑到深层土壤反硝化对减少地下水硝酸盐污染至关重要，因此有必要开展田间试验，研究秸秆生物质炭对稻田剖面反硝化的影响。

鉴于此，本研究开展了为期 2 年的野外原位观测实验，测定了不同处理稻田剖面土壤溶液中反硝化产物 N_2O 和 exN_2 的时空变异规律及其影响因素，以明确长期秸秆生物质炭还田对稻田土壤剖面反硝

化能力的影响。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地位于中国科学院常熟农业生态实验站宜兴面源污染防治技术研发与示范基地 ($31^{\circ}07'N-31^{\circ}37'N$, $119^{\circ}31'E-120^{\circ}03'E$)，距离太湖西北岸约 1 km。属于亚热带季风气候区，年均气温 $15.7^{\circ}C$ ，年均降雨量 1 177 mm。当地降水和高温主要集中在夏季，2018 年 8 月份月均降水量高达 255 mm，7 月份月均气温高达 $29.4^{\circ}C$ 。

1.2 供试材料

供试土壤类型为发育于湖泊沉积物上的水稻土 (潜育水耕人为土)，采用稻麦轮作，耕层土壤 (0~20 cm) 基本理化性质如下： $pH6.05$ ，有机碳 $15.4 g\cdot kg^{-1}$ ，全氮 $1.79 g\cdot kg^{-1}$ ；砂粒 ($>0.05 mm$) 8.3% ，粉粒 ($0.002\sim 0.05 mm$) 81.5% ，黏粒 ($<0.02 mm$) 10.2% 。

供试生物质炭制备原材料为水稻秸秆，通过基于沼气能源的秸秆生物炭化炉在 $5^{\circ}C\ min^{-1}$ 的热解速率，最高温度为 $500^{\circ}C$ 限氧条件下 8 h 制成。秸秆生物炭的基本性质如下： $pH9.16$ ，灰分 $131 g\cdot kg^{-1}$ ，CEC $18.9 cmol\cdot kg^{-1}$ ，TOC $620 g\cdot kg^{-1}$ ，碱度 $210 cmol\cdot kg^{-1}$ ，全氮全磷分别为 $13.3 g\cdot kg^{-1}$ 和 $4.40 g\cdot kg^{-1}$ ，比表面积 $51.3 m^2\cdot g^{-1}$ ，有效钾、钙、钠、镁分别为 13.4 、 4.06 、 5.41 、 $1.24 g\cdot kg^{-1}$ 。

1.3 试验设计

试验设置 4 个处理：(1) 对照处理 (CK)，不施秸秆生物质炭；(2) 低倍秸秆生物质炭处理 (1BC)，秸秆生物质炭每季施加量为 $2.25 t\cdot hm^{-2}$ ；(3) 中倍量秸秆生物质炭处理 (5BC)，秸秆生物质炭每季施加量为 $11.3 t\cdot hm^{-2}$ ；(4) 高倍量秸秆生物质炭处理 (10BC)，秸秆生物质炭每季施加量为 $22.5 t\cdot hm^{-2}$ 。每个处理重复 3 次，共计 12 个小区，随机区组排列，小区面积为 $24 m^2$ 。该地区每季秸秆生产量约为 $7.5 t\cdot hm^{-2}$ ，秸秆生物炭化炉的产率为 30%，1BC、5BC 和 10BC 处理相当于将 $7.5 t\cdot hm^{-2}$ (1 倍)、 $37.5 t\cdot hm^{-2}$ (5 倍) 和 $75 t\cdot hm^{-2}$ (10 倍) 作物秸秆炭化还田。秸秆生物质炭以撒施的方式均匀施入田中，并翻耕入土。各处理均按当地常规施肥量，氮肥 (尿素) 用量 (以 N 计) 稻季施 $250 kg\cdot hm^{-2}$ ，

麦季为 200 kg·hm⁻²，按 3:4:3 的比例分别在稻麦移栽或直播、分蘖期和拔节期施用。磷、钾肥（磷酸二氢钙和氯化钾，以 P₂O₅ 和 K₂O 计）每季均按照 60 kg·hm⁻² 水平基施。

生物质炭还田始于 2010 年水稻季，在 2018 和 2019 年两个稻季进行观测。2018 年稻季在 7 月初施基肥后插秧，7 月和 8 月中旬分别进行第一次追肥和第二次追肥，10 月下旬收获。2019 年稻季为 6 月中旬施基肥后移栽，2019 年 7 月和 8 月中旬分别进行第一次追肥和第二次追肥，10 月下旬收获。作物生长季的田间管理措施与当地农民的大田常规管理措施相同。

1.4 土壤剖面溶液采集

为了采集不同深度土壤溶液，特别设计了一种土壤淋溶液采集装置并于 2018 年水稻种植前将装置埋入稻田。该采集装置包括采集口、集液管和 5 根长度不同的采集管，采集管包括抽液管和通气管，集液管设于采集口底端，有 5 个隔板与集液管无缝衔接并从顶端开始分段设于集液管内部，隔板中有采集管管孔，集液管管壁有小孔底部呈锥状密闭，采集管贯穿采集口和集液管内部，每组采集管及其对应隔板和所述对应隔板与下一隔板的上部形成一个采集单元，该装置可分层收集 0~20 cm、20~40 cm、40~60 cm、60~80 cm 和 80~100 cm 的土壤溶液，各层次不会交叉污染，占地面积小。于 2018 年 6 月份开始采样，约 10 d 1 次，施肥后适当加密采样。具体采集方法如下：提前一天将采样管中旧水排空，确保采集新鲜土壤溶液。遇稻田烤田或排水期，则提前 1 d 进行灌水。利用可调速蠕动泵（Kamoer，卡川尔流体科技（上海）有限公司）采集土壤溶液，流速控制在 30~50 mL·min⁻¹，以免产生气泡干扰分析结果。预先在 7 mL 取样瓶（Sampling bottle, Labco Limited, 英国）加入 40 μL 饱和 ZnCl₂，然后将硅胶管伸入取样瓶底部采样，让水样缓慢流入，直至瓶口冒出半滴时立即拧紧盖子密封，避免空气进入污染水样。各处理相应土层溶液取 3 个平行水样，采集好的样品放入 4℃ 冰箱冷藏保存，用于测定地下水中溶解性 N₂ 和 Ar 含量。另取 100 mL 水样装入塑料瓶中冷冻保存后尽快运往实验室，用于测定溶解性 N₂O、DOC、NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 含量。水样采集的同时，用便携式多功能水质分析仪（Portable multi-function water quality

analyzer, YSI professional plus, 美国)测定水样温度、pH、氧化还原电位 (Eh)、电导率 (EC) 和溶解氧 (DO)。

1.5 溶解性 N₂O 和 N₂ 测定

地下水中来自反硝化产生的 N₂ 浓度参照 Weymann 等^[16]所推荐的计算方法，计算过程如下：

$$\text{exN}_2 = \text{N}_{2\text{T}} - \text{N}_{2\text{EQ}} - \text{N}_{2\text{EA}}$$

式中，exN₂ 代表反硝化产生的 N₂ 浓度，计算中该值会出现零是由于外界高温水的进入造成的稀释效应，或者是土壤水中 CH₄ 或者 CO₂ 等气体饱和度过高，出现了气泡现象，会带走大量的 N₂，目前的方法无法定量这一过程造成的 N₂ 损失，所以以零计。N_{2T} 表示地下水样品中溶解性 N₂ 的浓度，由膜进样质谱仪 MIMS (Membrane inlet mass spectrometer, Bay Instruments, Easton, MD, 美国)测定。Ar 为惰性气体，水环境中 Ar 溶解度一般只受温度和盐度的控制，其浓度非常稳定，N₂ 源于物理过程（水气平衡）和生物过程（主要为反硝化），因此可以通过测定水样中 N₂/Ar 计算水样中真实的 N₂ 浓度；N_{2EQ} 表示 N₂ 自然溶解度，可根据 Weiss^[17]推导的 N₂ 溶解度方程计算得到；N_{2EA} 表示源自其他途径来源的 N₂，例如地下水补给过程中带入的 N₂，可根据地下水中 Ar 的浓度进行估算，方法参照 Weymann 等^[16]，具体如下：

$$\text{N}_{2\text{EA}} = \frac{(\text{Ar}_\text{T} - \text{Ar}_{\text{EQ}}) \times \left(\frac{\text{N}_{2\text{EQ}}}{\text{Ar}_{\text{EQ}}} + \frac{\text{N}_{2\text{atm}}}{\text{Ar}_{\text{atm}}} \right)}{2}$$

式中，Ar_T 表示地下水中 Ar 的浓度，由 MIMS 测定；Ar_{EQ} 表示地下水中 Ar 的自然溶解度，可根据 Weiss^[17]推导的 Ar 溶解度方程计算得到；N_{2atm} 和 Ar_{atm} 分别表示自然大气中 N₂ 和 Ar 的摩尔浓度。

水体中溶解的 N₂O 根据 Terry 等^[18]的方法测定。用注射器抽取 5 mL 水样，打入已抽真空的 20 mL 玻璃瓶中（日本国立农业环境研究所提供）中，并设置 5 个空白对照瓶打入 5 mL 的去离子水，通入当地空气，使其与外界大气平衡，随后放入 4℃ 冰箱平衡 24 h，抽取瓶内上部空气注入电子捕获 (ECD) 检测器的气相色谱 (安捷伦-7890A) 中测定 N₂O 浓度。计算公式如下：

$$\text{N}_2\text{O}_{\text{diss}} = \frac{(\text{N}_2\text{O}_\text{h} - \text{N}_2\text{O}_\text{a}) \times \text{H}_{\text{vol}} + \alpha \times \text{N}_2\text{O}_\text{h} \times \text{W}_{\text{vol}}}{\text{W}_{\text{vol}}}$$

式中, N_2O_{diss} 表示地下水中 N_2O 的浓度; N_2O_h 表示平衡后测出真空玻璃瓶空气中 N_2O 的浓度; N_2O_a 表示外界空气中 N_2O 浓度; H_{vol} 表示加入水样后玻璃中空气的体积, 为 15 mL;

α 表示温度是 4 °C 时, N_2O 的本生系数, 为 1.12896; W_{vol} 表示吸取水样体积, 为 5 mL。

1.6 氮淋溶量估算

氮素淋溶损失量按照 1 m 深度计算^[19], 为 1 m 处土壤溶液氮浓度与淋溶水量的乘积。在稻田淹水条件下, 淋溶水体积可根据测得的水分垂直下渗速率估计。本研究中实测得到 CK、1BC、5BC 和 10BC 处理小区的平均水分垂直下渗速率分别为 3.42 ± 0.16 、 3.43 ± 0.23 、 3.61 ± 0.18 和 $3.54 \pm 0.12 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ 。各处理氮素淋溶量计算公式为:

$$P = C \times t \times v \times 10^{-2}$$

式中, P 为氮素淋溶量 ($\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$), C 为 1 m 处剖面溶液中氮平均浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), t 为水稻移栽至收获之间的淹水天数 (d), v 为稻田淹水下连续 3 d 测得的土壤水分垂直下渗速率平均值, 2018 年和 2019 年间稻田淹水时长分别为 98 d 和 103 d。

1.7 其他观测指标和分析

供试土壤和秸秆生物质炭的基本理化性质分析方法参考《土壤农业化学分析方法》^[20]。采集后的水样经定量滤纸过滤后, 滤液用 AA3 连续流动分析仪 (Skalar) 测定 NH_4^+ 、 NO_3^- 含量。剩余水样过 0.45 μm 滤膜, 用 TOC 分析仪 (multi N/C 3100, 德国耶拿分析仪器股份公司) 测定水样 DOC 浓度。

1.8 数据处理

所有数据用 Microsoft excel 2016 (Microsoft) 软件整理并用 Origin 2016 作图。用 IBM SPSS 22.0 软件 (IBM SASS Statistics, Stanford University, USA) 进行统计分析。图表所列数据均为相应处理 3 次重复的均值, 使用最小显著性差异法 (LSD) 对数据均值进行多重比较, 误差棒为相应处理 3 次重复的标准误 (Standard Deviation)。

2 结 果

2.1 不同剖面深度土壤溶液中 N_2O 浓度时空变化

长期秸秆生物质炭还田不同程度改变了水稻生长期土壤剖面的 N_2O 浓度, 渗漏水中 N_2O 浓度变

化范围在 $0.00 \sim 3.64 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其最高值出现在 2019 年不添加秸秆生物质炭 CK 处理 60 cm 深度, 各处理峰值出现的时间不尽相同 (图 1)。

如图 2, CK 处理的深层土壤溶液中 N_2O 浓度高于耕层 20 cm, 峰值出现在 60 cm 处。秸秆生物质炭处理剖面 N_2O 浓度变化较小, 2018 年 1BC、5BC 和 10BC 峰值分别在 80 cm、20 cm 和 80 cm 处, 2019 年 1BC、5BC 和 10BC 分别在 100 cm、60 cm 和 80 cm 处。

相较于 CK 处理, 中、高倍量秸秆生物质炭 (5BC 和 10BC) 还田降低了深层土壤剖面 N_2O 浓度, 其中 2018 年 5BC 和 10BC 在 60~100 cm 和 40~100 cm 处, 2019 年 5BC 和 10BC 在 60 cm 和 40~60 cm 深度的降幅达到差异显著水平 ($P < 0.05$)。

2.2 不同剖面深度土壤溶液中反硝化产生 N_2 浓度的时空变化

如图 3 所示, 2 年间不同剖面深度的土壤溶液中 exN_2 浓度呈现脉冲式变化, 其范围在 $0.00 \sim 4.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 施肥和烤田之后 exN_2 浓度均出现峰值, 最高峰出现在 2018 年 CK 处理第二次追肥 3 d 后的 20 cm 深度。

如图 4 所示, 随着剖面深度的增加, CK 处理 exN_2 浓度有降低趋势, 其中 2019 年的底层 exN_2 浓度显著低于耕层 ($P < 0.05$)。5BC 和 10BC 处理有降低土壤剖面 exN_2 浓度的趋势, 2018 年的降幅显著大于 2019 年。低倍秸秆生物质炭 (1BC) 对 exN_2 浓度影响不明显。5BC 和 10BC 处理 2 年间 exN_2 浓度均在表层 20 cm 处最高, 底层 100 cm 处最低, 两个深度差异显著 ($P < 0.05$)。

2 年间表层 20 cm 处各处理差异不显著, 但耕层以下土层的差异明显。相较于 CK, 2018 年 5BC 在 40 cm 处和 10BC 处理在 40~100 cm 处 exN_2 浓度均显著下降 ($P < 0.05$); 2019 年 5BC 在 100 cm 处, 10BC 处理在 60~100 cm 处 exN_2 浓度均显著降低 ($P < 0.05$)。

2.3 不同剖面深度土壤溶液中 DOC、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、DO 和 Eh 分布特征

如图 5, 2018 年土壤剖面中各处理的 DOC 浓度无显著差异 ($P > 0.05$); 2019 年各处理间差异显著, 10BC 处理土壤溶液中 DOC 浓度最高, 显著高于 CK 和 1BC 处理 ($P < 0.05$)。相比于 CK, 5BC 土壤溶液中 DOC 浓度增加了 14%~52%, 10BC 土壤溶液中 DOC 浓度增加了 57%~85%。

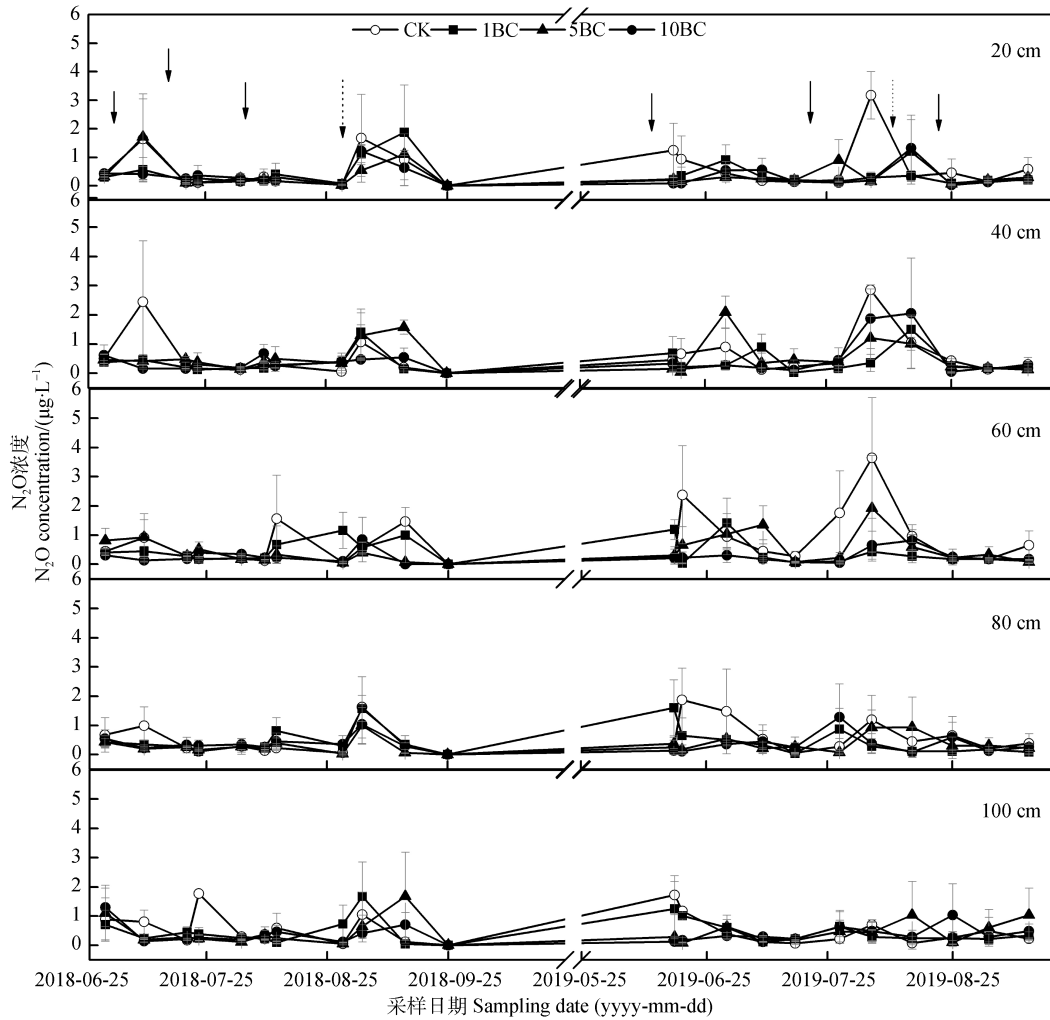


图 1 不同剖面深度土壤溶液中 N_2O 浓度变化 (实线箭头代表施肥日期, 虚线箭头代表烤田日期, 下同)

Fig. 1 Variation of N_2O concentration in leachate with soil depth (solid arrow represents date of fertilization, and dotted arrow date of field sunning exposure, the same as below)

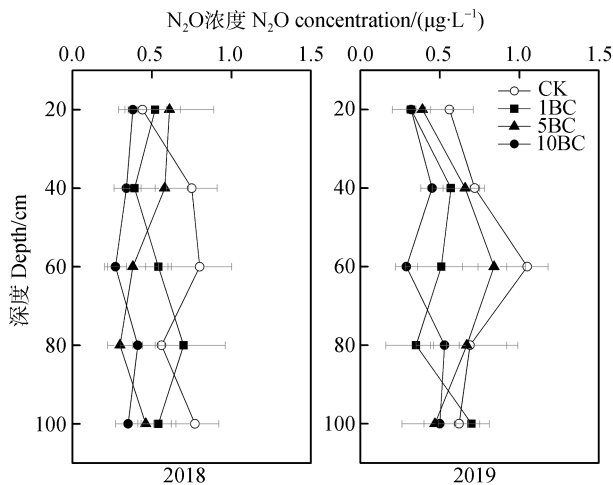


图 2 不同剖面深度土壤溶液中 N_2O 时间加权平均浓度

Fig. 2 Time weighted average N_2O concentration in leachate in soil profile relative to depth

不同深度的剖面土壤溶液中 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 时间加权平均浓度如表 1 所示。稻田土壤溶液中的矿质氮以 NH_4^+ -N 为主, NO_3^- -N 含量较少。2019 年土壤溶液中 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 均低于 2018 年。2 年间 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度变化范围分别为 $0\sim 2.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0\sim 18.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。随着土壤深度的增加, NO_3^- -N 浓度降低。相同深度各处理 NO_3^- -N 浓度差异不显著 ($P>0.05$)。

如图 6, 2018 年 DO 值的变化范围为 $2.43\sim 3.33\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 2019 年为 $2.40\sim 4.21\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最高值出现在 2019 年 10BC 处理。与 CK 相比, 5BC 和 10BC 处理增加了溶液 DO 浓度; 对于相同的处理, 随着深度的增加, DO 值呈增加的趋势。

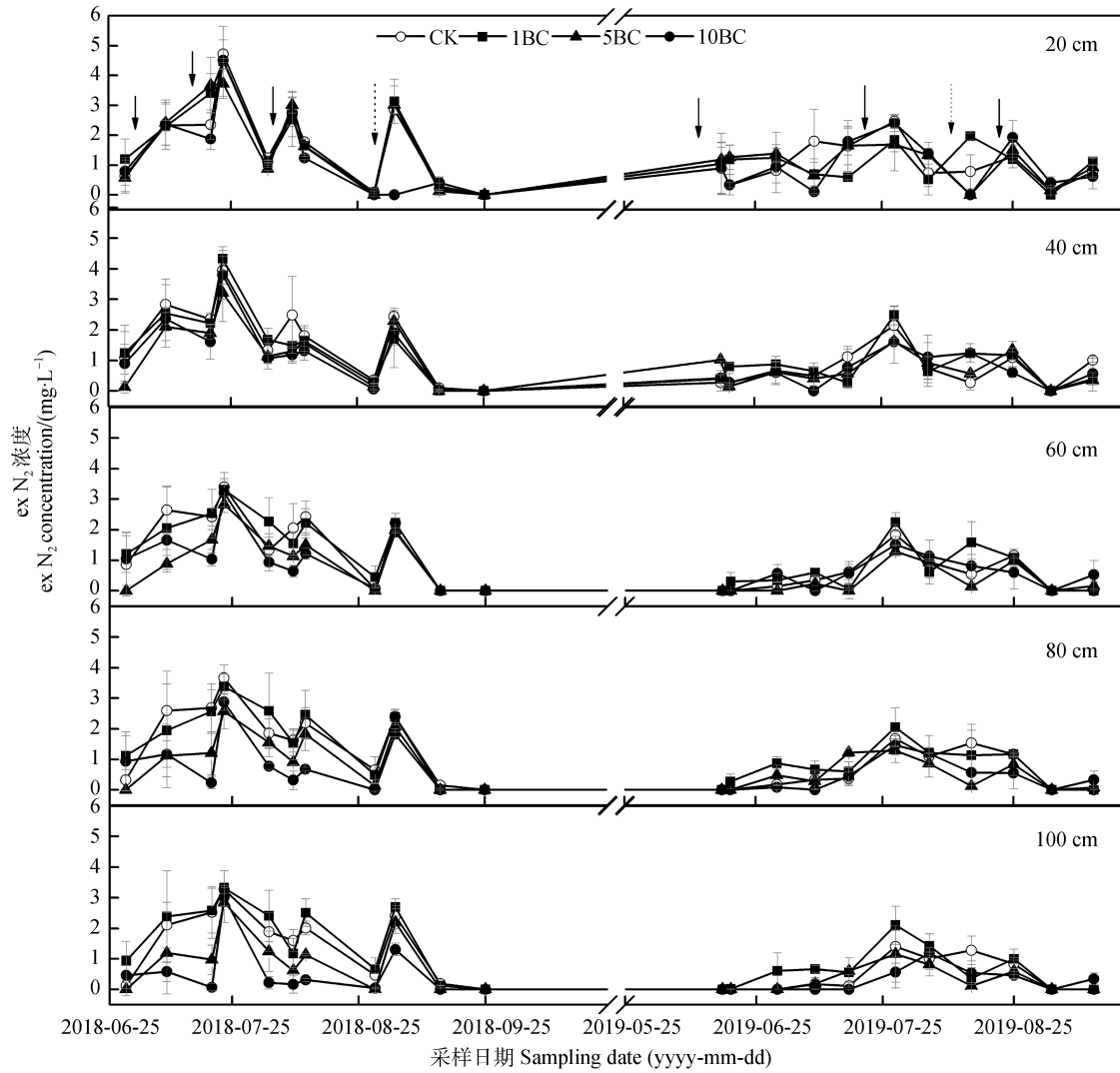


图 3 不同剖面深度土壤溶液中 exN₂ 浓度变化

Fig. 3 Variation of exN₂ concentration in leachate in soil profile relative to depth

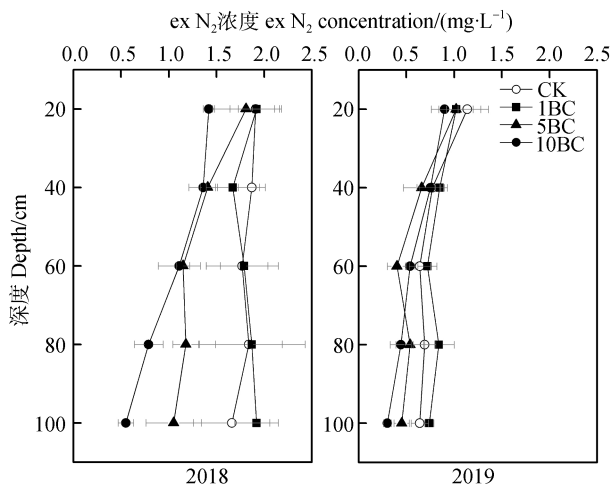


图 4 不同剖面深度土壤溶液中 exN₂ 时间加权平均浓度
Fig. 4 Time weighted average exN₂ concentration in leachate in soil profile relative to depth

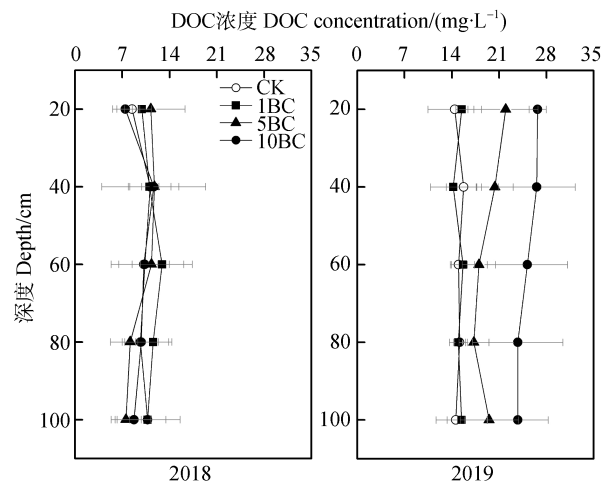


图 5 不同剖面深度土壤溶液中 DOC 时间加权平均浓度
Fig. 5 Time weighted average DOC concentration in leachate in soil profile relative to depth

表 1 不同剖面深度土壤溶液中 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 时间加权平均浓度Table 1 Time weighted average NO_3^- and NH_4^+ concentrations in leachate in soil profile relative to depth

年份 Year	深度 Depth/cm	NO_3^- -N / (mg·L ⁻¹)				NH_4^+ -N / (mg·L ⁻¹)			
		CK	1BC	5BC	10BC	CK	1BC	5BC	10BC
2018	20	0.44±0.10	0.43±0.15	0.60±0.22	0.52±0.09	0.23±0.05	0.24±0.07	0.30±0.04	0.32±0.04
	40	0.50±0.07	0.46±0.16	0.49±0.08	0.46±0.06	0.16±0.04	0.11±0.01	0.16±0.02	0.16±0.02
	60	0.41±0.01	0.44±0.11	0.48±0.10	0.38±0.08	0.14±0.03	0.12±0.03	0.12±0.07	0.18±0.01
	80	0.34±0.02	0.48±0.14	0.42±0.06	0.36±0.04	0.14±0.02	0.25±0.11	0.11±0.04	0.12±0.06
	100	0.39±0.05	0.54±0.08	0.59±0.19	0.33±0.05	0.17±0.02	0.27±0.12	0.18±0.07	0.13±0.11
	均值 Average		0.41±0.06	0.47±0.04	0.52±0.08	0.41±0.08	0.17±0.03	0.20±0.08	0.19±0.08
2019	20	5.90±1.38	5.70±1.31	8.84±2.75	4.55±2.18	1.29±0.42	1.45±0.32	2.00±0.86	2.04±1.07
	40	4.11±0.84	3.30±0.70	6.35±2.78	4.04±0.37	1.41±0.56	1.94±1.05	2.03±0.39	2.00±1.47
	60	3.29±1.24	2.24±0.98	3.92±2.32	4.70±1.96	1.58±0.41	1.25±0.06	1.28±0.56	0.68±0.34
	80	3.24±0.63	3.37±0.78	2.20±1.18	3.54±0.55	1.53±0.65	0.92±0.46	1.17±0.17	0.47±0.34
	100	3.94±1.96	2.30±1.11	2.35±0.25	2.40±0.17	1.38±0.78	0.75±0.50	0.72±0.24	0.53±0.44
	均值 Average		4.10±1.08	3.38±1.40	4.73±2.84	3.85±0.93	1.44±0.12	1.26±0.47	1.44±0.57

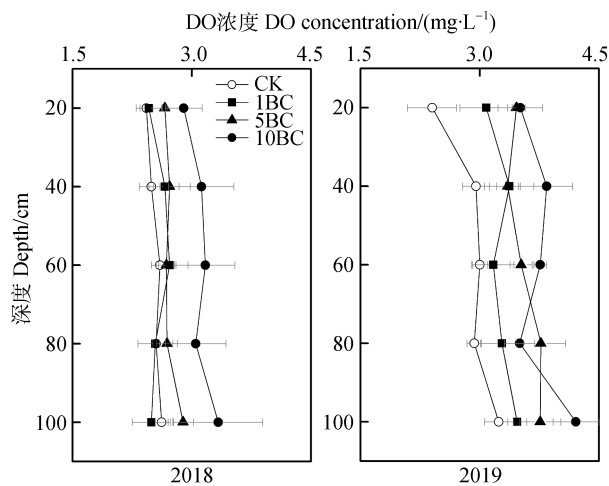


图 6 不同剖面深度土壤溶液中溶解氧 (DO) 时间加权平均浓度

Fig. 6 Time weighted average DO concentration in leachate in soil profile relative to depth

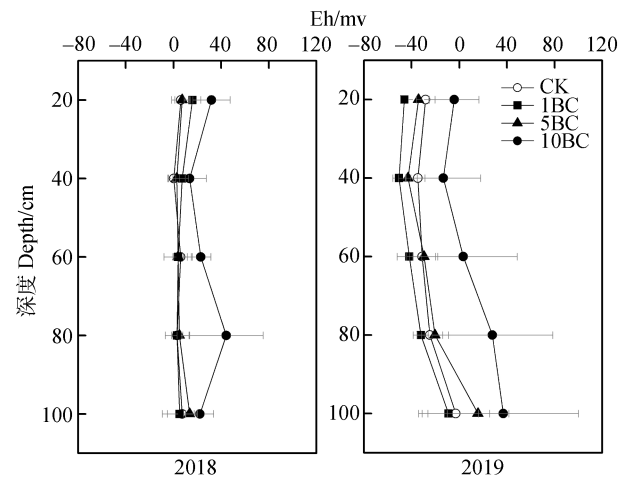


图 7 不同剖面深度土壤溶液中 Eh 时间加权平均值

Fig. 7 Time weighted average Eh in leachate in soil profile relative to depth

图 7 为 2 年间渗漏水中氧化还原电位 Eh 值, 2018 年 Eh 值在 -20~60 mv 之间, 2019 年为 -60~40 mv; 其中 10BC 处理 Eh 值高于 CK 处理。2018 年 Eh 值随深度变化不明显, 2019 年随着深度的增加 Eh 值有增加的趋势。

2.4 影响溶解性 N_2O 和反硝化产生 N_2 浓度变化的因素

多元线性回归结果表明, 不添加秸秆生物质炭的处理 NO_3^- -N 和 DO 对 exN_2 浓度影响最大, 二者共同解释变异的 77%, DOC 含量对 N_2O 排放影响最大, 可以解释变异的 25%; 添加秸秆生物质炭处

表 2 土壤溶液中 exN_2 和 N_2O 浓度与各因素的逐步回归关系Table 2 Stepwise linear regression analysis of factors involved in exN_2 and N_2O concentration

处理 Treatment	因变量 (y) Dependent variable (y)	自变量 Independent variable	<i>p</i>	<i>R</i> ²	回归方程 Regression equation
不添加秸秆生 物质炭 No biochar	exN_2	NO_3^- -N DO	0.000 0.010	0.72 0.05	$y=2.218+2.718 \text{NO}_3^-$ -N-0.631DO
添加秸秆生物 质炭 Biochar treatments	N_2O	DOC DO NO_3^- -N Eh	0.007 0.000 0.000 0.001	0.25 0.60 0.06 0.30	$y=0.406+0.031\text{DOC}$ $y=2.480-0.561\text{DO}+1.049 \text{NO}_3^-$ -N $y=0.470-0.012\text{Eh}$

注: 不施秸秆生物质炭为 CK 组, 添加秸秆生物质炭为 1BC、5BC、10BC 处理。Note: CK: no biochar, and 1BC, 5BC and 10BC: biochar treatments.

理的 DO 对 exN_2 浓度影响最大, 呈显著负相关, 其次为 NO_3^- -N, 二者可以解释变异的 66 %; N_2O 受 Eh 值的影响最大, Eh 值可以解释变异的 30 %。

3 讨论

Fox 等^[21]发现 exN_2 浓度与地下水反硝化速率之间有着很好的相关性, 在反硝化速率最高的河岸地区 exN_2 浓度较高, 而在反硝化较弱的农田缓冲带地下水, exN_2 浓度较低。说明 exN_2 可以真实地反映地下水反硝化的强弱, 本研究表明土壤剖面 exN_2 和 N_2O 浓度存在明显的变异性, 水稻土壤表层反硝化强烈, 且随着深度的增加反硝化活性逐渐降低 (图 1~图 4)。范晓晖和朱兆良^[22]曾经对我国 3 种不同农田土壤剖面的反硝化活性进行了研究, 认为反硝化活性在 3 种土壤中均表现出随深度加深而降低的趋势。CK 处理 exN_2 受 NO_3^- -N 影响最大, 这是因为作为反硝化的底物, NO_3^- -N 浓度对反硝化活性有着直接影响, 并且土壤表层 NO_3^- -N 浓度高于底层, 使得反硝化活性随着深度的增加而降低。当添加秸秆生物质炭后能够降低土壤剖面反硝化, 随着秸秆生物质炭施加量的增加, 反硝化降幅增大, 这与 He 等^[23]利用 NO_3^- -N 消减法表征反硝化速率得到的多年秸秆炭化还田降低 NO_3^- -N 的有效性及其还原速率的结果一致。反硝化过程不仅在稻田上部淹水耕作层的还原层发生, 在地下水分饱和的深层土壤

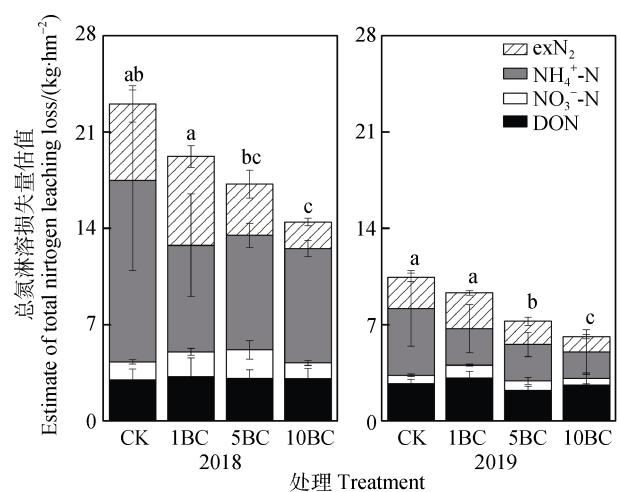
同样存在。Cayuela 等^[24]研究发现在较好的反硝化条件下, 秸秆生物质炭可持续减少农田土壤中 N_2O 的排放, 与本研究中 CK 处理深层土壤 N_2O 高于秸秆生物质炭还田处理的结果一致, 也与 Zhou 等^[25]研究结果类似。2 年间 exN_2 浓度变异较大, 这种变异除年际之间存在降雨、灌溉等因素影响外, 还可能与秸秆生物质炭的施用量和老化有关。引起这种变异的原因十分复杂, 但无论 N_2O 和 exN_2 浓度如何改变, 相对于 CK 处理, 2 年间 5BC 和 10BC 处理对 N_2O 和 exN_2 浓度的影响趋势相一致。

厌氧条件、 NO_3^- 和 DOC 含量是影响反硝化作用的关键因素。淹水稻田土壤会出现明显的氧化层和还原层分异, 稻田反硝化过程不仅在上部淹水耕作层的还原层发生, 而且也会在地下水分饱和的土壤层进行, 在平原地区, 地下饱和土层通常位于地表以下 0.7~1.5 m 处, 其深度因地形、季节、降水和灌溉等多种因素而变化。研究发现 exN_2 浓度在秸秆生物质炭添加和不添加的情况下有明显的差别, 且随土壤深度增加更为明显。而作为反硝化底物的 NO_3^- -N 浓度在 0.11~0.60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间 (表 1), 其含量较低且浓度变化并不大, 且各处理间在相同深度无明显差异, 表明 NO_3^- -N 浓度不是影响各处理下剖面反硝化和 exN_2 浓度差异的主要原因。DOC 可以为反硝化细菌提供能量并且可以作为电子传递链中的电子供体, 通常 DOC 含量与反硝化速率呈正相关, 添加秸秆生物质炭使得 DOC 含量有所增加 (图 5),

但是底物的限制使得即使 DOC 有所增加,对反硝化的影响也并不十分明显,这种情况下 N_2O 和 exN_2 浓度的改变可能取决于另外一个因素,即溶解氧 DO 含量,DO 含量的高低改变了氧化还原反应的条件,对反硝化作用产生了较大的影响。有研究表明,当 DO 大于 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反硝化过程便会受到抑制,当氧浓度越高时抑制反硝化的作用越强烈^[26],本研究中的 DO 值位于 $2\sim 4.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间(图 6),随着秸秆生物质炭的添加,DO 值也随之增加,反硝化作用与 DO 呈显著负相关,秸秆生物质炭增加了土壤溶液 DO 含量使得反硝化活性降低,逐步回归分析表明当不添加秸秆生物质炭时硝态氮含量对 exN_2 浓度的影响最大;添加秸秆生物质炭后,对 exN_2 浓度影响最大的变为溶解氧 DO(表 2)。对于生物质炭能改变溶解氧,前人也做过相应的研究,例如徐德福等^[27]向人工湿地添加 3 种类型的生物质炭发现均能显著增加人工湿地的溶解氧含量,王宁等^[28]研究显示进水后生物质炭潜流湿地和对照组 DO 均有降低,但生物质炭潜流湿地 DO 高于对照组。秸秆生物质炭本身具有较多的孔隙,施入土壤后,使土壤的孔隙大小发生改变,可能改变土壤的通透性,增加 DO 含量,从下渗速率看,秸秆生物质炭添加可以提高土壤水分的下渗速率,使得大气中进入水体的 DO 更加容易渗入下层,进而影响底层反硝化。此外秸秆生物质炭可以促进水稻根系的生长,增加根系泌氧量,这也会增加深层溶液中 DO 的含量,并随着水分下渗被带入下层。逐步回归结果表明不添加秸秆生物质炭时 DOC 含量对 N_2O 排放影响最大,当添加秸秆生物质炭后 N_2O 排放受氧化还原电位 Eh 影响最大,稻田中 N_2O 的产生途径较为复杂,硝化与反硝化作用均能够产生 N_2O ,与土壤的氧化还原状态密切相关。

反硝化是稻田氮损失的重要途径,反硝化产物或以气态形式进入大气,或随水淋溶到地下水。Fox 等^[21]将以溶解性气态氮形式损失的氮定义为“消失的氮(Missing nitrogen)”,认为这一部分氮对于评估区域氮素平衡十分重要。朱兆良^[29]曾对我国农田化肥氮去向进行了评估,认为有 13%的氮素去向不明,以溶解性气态氮流失的氮可能就是尚不明确去向之一。因此明确“Missing nitrogen”的量将有助于准确估算区域氮素损失^[30]。根据淹水稻田水分垂直下渗速率以及淹水天数,可计算水稻生长季淋

溶水量,结合剖面溶液 exN_2 浓度,我们计算了 1 m 深处溶解性反硝化气态产物随水淋溶量(图 8)。结果显示,CK 处理无机氮(NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N)和有机氮(DON)淋溶损失量为 $8.2\sim 17.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,而溶解性气态氮(主要为 exN_2)随水淋溶量也可达 $2.3\sim 5.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,占到总氮淋溶量(包括 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、DON 和 exN_2 淋溶量)的 23%~25%。以往对于氮损失的研究多关注于无机氮及有机氮流失,而对反硝化气态产物随水淋溶风险关注不多。尽管反硝化主要产物为 N_2 ,气态氮流失不造成环境风险,但是从农学和氮损失角度来看,反硝化产生的溶解性气态氮的淋溶损失也应当引起重视。5BC 和 10BC 处理稻田无机氮和有机氮淋溶损失为 $5.6\sim 13.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和 $5.0\sim 12.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,与 CK 相比,并没有显著差异,但是其溶解性气态氮随水淋溶量为 $1.7\sim 3.7\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和 $1.1\sim 1.9\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,显著低于 CK 处理。表明秸秆生物质炭的添加可以降低稻田总氮淋溶损失量。此外,在稻田氮收支的研究中,对于淋溶氮损失,如果只关注无机态氮和有机态氮,将会低估稻田氮淋溶损失,也应考虑溶解性气态氮随水淋溶部分。



注:图中不同的小写字母表示各处理 exN_2 浓度在 0.05 水平上的差异显著性。总氮淋溶量包括 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、DON 和 exN_2 淋溶量。Note: Different lowercase letters in the figure indicate the significant difference of exN_2 concentration at 0.05 level in each treatment. Total nitrogen leaching loss includes NO_3^- -N, NH_4^+ -N, DON and exN_2 .

图 8 2018 和 2019 年稻季总氮淋溶损失量估值

Fig. 8 Estimate of total nitrogen leaching loss in the rice seasons of 2018 and 2019

本试验大田观测土壤 20~100 cm 剖面中溶解的气态氮仅是反硝化的小部分。为完整探究秸秆生物质炭长期施入对稻田反硝化的影响,需要对释放到大气中的 N_2O 以及 N_2 进行观测,也要对田面水溶解态 N_2O 及 N_2 加以考虑,并结合现代分子生物学技术探究各脱氮过程的微生物学机理。

4 结 论

长期配施秸秆生物质炭可减少稻田土壤剖面的 N_2O 和 exN_2 浓度,这种作用随秸秆生物质炭施加量和土壤剖面深度增加而显著。添加秸秆生物质炭增加了土壤溶解氧含量、提高了土壤剖面 Eh,改变了反硝化发生的环境条件,是降低稻田剖面的反硝化作用及其主要产物 N_2O 和 exN_2 释放的主要原因。长期施用中、高量秸秆生物质炭可以降低稻田深层土壤反硝化作用,并最终减少溶解性气态氮的淋溶损失。

参考文献 (References)

- [1] Yoo J, Woo S H, Park K D, et al. Effect of no-tillage and conventional tillage practices on the nitrous oxide (N_2O) emissions in an upland soil: Soil N_2O emission as affected by the fertilizer applications[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2016, 59 (6): 787—797.
- [2] Elmi A A, Astatkie T, Madramootoo C, et al. Assessment of denitrification gaseous end-products in the soil profile under two water table management practices using repeated measures analysis[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2005, 34 (2): 446—454.
- [3] Clément J C, Pinay G, Marmonier P. Seasonal dynamics of denitrification along topohydrosequences in three different riparian wetlands[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2002, 31 (3): 1025—1037.
- [4] Küstermann B, Christen O, Hülsbergen K J. Modelling nitrogen cycles of farming systems as basis of site- and farm-specific nitrogen management[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2010, 135 (1/2): 70—80.
- [5] Clough T, Condon L, Kammann C, et al. A review of biochar and soil nitrogen dynamics[J]. *Agronomy*, 2013, 3 (2): 275—293.
- [6] Dixon E R, Laughlin R J, Watson C J, et al. Evidence for the production of NO and N_2O in two contrasting subsoils following the addition of synthetic cattle urine[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24 (5): 519—528.
- [7] Yan X Y, Zhou W. Groundwater nitrate removal through denitrification under farmland in Yangtze River delta[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56 (2): 350—362. [颜晓元, 周伟. 长江三角洲农田地下水反硝化对硝酸盐的去除作用[J]. *土壤学报*, 2019, 56 (2): 350—362.]
- [8] Li Y, Ju X T. Rational nitrogen application is the key to mitigate agricultural nitrous oxide emission[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39 (4): 842—851. [李玥, 巨晓棠. 农田氧化亚氮减排的关键是合理施氮[J]. *农业环境科学学报*, 2020, (4): 842—851.]
- [9] Xing G X, Zhao X, Xiong Z Q, et al. Nitrous oxide emission from paddy fields in China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29 (1): 45—50.
- [10] Butterbach-Bahl K, Gasche R, Willibald G, et al. Exchange of N-gases at the höglwald forest—a summary[J]. *Plant and Soil*, 2002, 240 (1): 117—123.
- [11] Tian H Q, Yang J, Xu R T, 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.
- [12] Obia A, Cornelissen G, Mulder J, et al. Effect of soil pH increase by biochar on NO , N_2O and N_2 production during denitrification in acid soils[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (9): e0138781. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138781>.
- [13] Chintala R, Owen R K, Schumacher T E, et al. Denitrification kinetics in biomass- and biochar-amended soils of different landscape positions[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22 (7): 5152—5163.
- [14] Duan P P, Zhang X, Zhang Q Q, et al. Field-aged biochar stimulated N_2O production from greenhouse vegetable production soils by nitrification and denitrification[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 1303—1310.
- [15] Cayuela M L, van Zwieten L, Singh B P, et al. Biochar's role in mitigating soil nitrous oxide emissions: A review and meta-analysis[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 191: 5—16.
- [16] Weymann D, Well R, Flessa H, et al. Groundwater N_2O emission factors of nitrate-contaminated aquifers as derived from denitrification progress and N_2O accumulation[J]. *Biogeosciences*, 2008, 5 (5): 1215—1226.
- [17] Weiss R F. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater[J]. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 1970, 17 (4): 721—735.
- [18] Terry R E, Tate R L III, Duxbury J M. The effect of flooding on nitrous oxide emissions from an organic soil[J]. *Soil Science*, 1981, 132 (3): 228—232.
- [19] Zhao X, Zhou Y, Wang S Q, et al. Nitrogen balance in a highly fertilized rice-wheat double-cropping system in

- Southern China[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2012, 76 (3): 1068—1078.
- [20] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [21] Fox R J, Fisher T R, Gustafson A B, et al. Searching for the missing nitrogen: Biogenic nitrogen gases in groundwater and streams[J]. *Journal of Agricultural Science*, 2014, 152 (S1): 96—106.
- [22] Fan X H, Zhu Z L. Investigations on denitrification potential in agricultural soils as related with affected factors[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1997, 3 (2): 97—104. [范晓晖, 朱兆良. 农田土壤剖面反硝化活性及其影响因素的研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3 (2): 97—104.]
- [23] He L L, Shan J, Zhao X, et al. Variable responses of nitrification and denitrification in a paddy soil to long-term biochar amendment and short-term biochar addition[J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 558—567.
- [24] Cayuela M L, Sánchez-Monedero M A, Roig A, et al. Biochar and denitrification in soils: When, how much and why does biochar reduce N_2O emissions?[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1732. <https://doi.org/10.1038/srep01732>.
- [25] Zhou W, Xia L L, Yan X Y. Vertical distribution of denitrification end-products in paddy soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 576: 462—471.
- [26] Rivett M O, Buss S R, Morgan P, et al. Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes[J]. *Water Research*, 2008, 42 (16): 4215—4232.
- [27] Xu D F, Pan Q C, Li Y X, et al. Effect of biochar on root morphological characteristics of wetland plants and purification capacity of constructed wetland[J]. *Environmental Sciences*, 2018, 39 (7): 3187—3193. [徐德福, 潘潜澄, 李映雪, 等. 生物炭对人工湿地植物根系形态特征及净化能力的影响[J]. 环境科学, 2018, 39 (7): 3187—3193.]
- [28] Wang N, Huang L, Luo X, et al. Impact of biochar on nitrogen removal and nitrous oxide emission in aerated vertical flow constructed wetland[J]. *Environmental Science*, 2018, 39 (10): 4505—4511. [王宁, 黄磊, 罗星, 等. 生物炭添加对曝气人工湿地脱氮及氧化亚氮释放的影响[J]. 环境科学, 2018, 39 (10): 4505—4511.]
- [29] Zhu Z L. Research on soil nitrogen in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45 (5): 778—783. [朱兆良. 中国土壤氮素研究[J]. 土壤学报, 2008, 45 (5): 778—783.]
- [30] Gardner J R, Fisher T R, Jordan T E, et al. Balancing watershed nitrogen budgets: Accounting for biogenic gases in streams[J]. *Biogeochemistry*, 2016, 127 (2/3): 231—253.

(责任编辑: 卢萍)