

DOI: 10.11766/trxb202110120550

杨知书, 徐传红, 汤逸帆, 申建华, 孟岩, 韩建刚. 沼液替代化肥及与秸秆联用对稻田土壤反硝化和硝态氮氨化潜力的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60 (3): 738–748.

YANG Zhishu, XU Chuanhong, TANG Yifan, SHEN Jianhua, MENG Yan, HAN Jiangang. Effects of Substitution of Chemical Fertilizer with Biogas Slurry and Combined with Straw on Denitrification and Nitrate Ammoniation Potential of Paddy Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60 (3): 738–748.

沼液替代化肥及与秸秆联用对稻田土壤反硝化和硝态氮氨化潜力的影响*

杨知书^{1, 2}, 徐传红¹, 汤逸帆¹, 申建华³, 孟岩³, 韩建刚^{1, 2†}

(1. 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037; 2. 南京林业大学江苏省南方现代林业协同创新中心, 南京 210037; 3. 中粮家佳康(江苏)有限公司, 江苏东台 224200)

摘要: 为揭示沼液替代化学氮肥及与秸秆联用对土壤反硝化 (Denitrification, Den) 和硝态氮氨化 (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA) 特征的影响, 以江苏东台典型滨海稻田为对象, 进行田间小区实验, 设置单施化肥 (C)、单施沼液 (B)、沼液秸秆联用 (BS) 和化肥秸秆联用 (CS) 以及对照 (CK) 5 个处理, 借助 ¹⁵N 同位素示踪技术研究水稻不同生育期各处理土壤 Den 和 DNRA 潜力的变化特征。结果表明: (1) 整个水稻生育期内, 沼液替代化肥可有效降低稻田土壤 Den 强度 ($1.48 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), N_2O 总生成量减少 27%, 但沼液秸秆配施与化肥秸秆配施相比导致 N_2O 生成总量显著增加 70%。(2) 从不同生育期看, 成熟期 N_2O 的调控显得尤为必要。沼液处理 (B、BS) 与化肥处理 (C、CS) 均在成熟期出现 N_2O 产生高峰, 平均占总产生量的 70%~71% 与 75%~92%。沼液替代化肥有利于氮素在土壤的保存, 分蘖期土壤 DNRA 潜力最高, 并且 B 和 BS 处理 DNRA 潜力显著高于 C 和 CS 处理。(3) 相关性分析发现, 单施沼液或化肥处理 Den 潜力均与 pH 正相关, 与 C:N 负相关, 其中 C:N 的升高是沼液替代化肥 (即 B 处理) Den 强度降低的重要原因。配施秸秆, 主导 Den 潜力变化的因子转变为 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, 且 C:N 的降低导致 Den 强度增加。本研究明确了沼液替代化肥与秸秆还田对稻田土壤 Den、DNRA 过程的影响及其环境效应评估, 并为滨海农田沼液施用模式的探索提供一定理论依据。

关键词: 秸秆还田; 沼液替代化肥; 反硝化; 氨化; 稻田

中图分类号: X71 文献标志码: A

Effects of Substitution of Chemical Fertilizer with Biogas Slurry and Combined with Straw on Denitrification and Nitrate Ammoniation Potential of Paddy Soil

YANG Zhishu^{1, 2}, XU Chuanhong¹, TANG Yifan¹, SHEN Jianhua³, MENG Yan³, HAN Jiangang^{1, 2†}

* 国家自然科学基金项目 (41375149)、国家重点研发计划项目 (2017YFC0505803) 和江苏高校优势学科建设工程项目 (PAPD) 共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41375149), the National Key R&D Program of China (No. 2017YFC0505803), and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hjg@njfu.edu.com

作者简介: 杨知书 (1998—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为废弃物资源化利用, E-mail: 837488762@qq.com

收稿日期: 2021-10-12; 收到修改稿日期: 2021-12-31; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-04-26

(1. College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3. COFCO Jiajiakang (Jiangsu) Co., Ltd., Dongtai, Jiangsu 224200, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to reveal the effects of biogas slurry instead of chemical nitrogen fertilizer on soil Denitrification (Den) and Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA). 【Method】 A field plot experiment was carried out in a typical coastal paddy field in Dongtai, Jiangsu Province. Five treatments were set up: a single application of chemical fertilizer (C), a single application of biogas slurry (B), combined application of biogas slurry and straw (BS), combined application of chemical fertilizer and straw (CS) and control (CK). The variation characteristics of soil Den and DNRA potential at different growth stages of rice plants were studied by the ^{15}N isotope tracer technique. 【Result】 The results showed that: (1) In the whole rice growth period, Biogas slurry instead of chemical fertilizer effectively reduced the Den intensity ($1.48 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) and the total amount of N_2O by 27% in paddy soil. Compared with the combined application of chemical fertilizer and straw, the combined application of biogas slurry and straw resulted in a significant increase in total N_2O (70%). (2) Looking at different growth stages, the regulation of N_2O in the mature stage of the plant is particularly necessary. The N_2O production in biogas slurry (B, BS) and chemical fertilizer (C and CS) treatments peaked at maturity, accounting for 70%~71% and 75%~92% of the total production on average, respectively. Also, the soil DNRA potential was the highest at tillering stage, and the DNRA potential of B and BS treatments were significantly higher than that of C and CS treatments. (3) The Den potential of biogas slurry or chemical fertilizer treatment was positively correlated with pH and negatively correlated with C:N. Also, the increase in C:N resulted in a decrease in Den intensity of biogas slurry instead of chemical fertilizer (i.e. treatment B). When combined with straw, the factors leading to changes in Den potential are transformed into $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, and the decrease of C: N leads to an increase in Den intensity. 【Conclusion】 Biogas slurry instead of chemical fertilizer can play a positive role in the preservation of nitrogen in soils. This study provides a theoretical basis for clarifying the impact of biogas slurry replacing chemical fertilizer and straw returning on the process of Den and DNRA in paddy soils. Also, it highlights the environmental impact as well as the exploration of biogas slurry application mode in coastal farmland.

Key words: Straw returning; Biogas slurry instead of chemical fertilizer; Denitrification; Ammonification; Paddy field

反硝化 (Denitrification, Den) 与硝态氮氨化 (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA) 是 NO_3^- 在厌氧状态下两条重要的还原路径。Den 过程是指厌氧条件下 NO_3^- 转化为 N_2O 或 N_2 的过程^[1], 是农业土壤 N_2O 产生的主要途径。DNRA 过程指厌氧条件下 NO_3^- 经硝酸盐还原酶转变为 NO_2^- , 再经亚硝酸还原酶最终转变为 NH_4^+ 的过程^[2], 被认为有利于氮素在土壤中的保存与利用。目前通常采用 ^{15}N 同位素示踪法, 通过培养实验, 测定单位时间内 N_2O 或 NH_4^+ 浓度的增量来计算土壤 Den 或 DNRA 速率/强度, 反映其异化还原的潜力。研究发现, 水稻土异化硝态氮还原过程中 Den (76.75%~92.47%) 为主要途径, DNRA (0.54%~17.63%) 也有较大贡献^[3], 但无论 Den 或 DNRA 过程, 其强度的变化受施肥措施的显著影响。研究表明, 施用化肥反硝化酶活性增加, 而固氮酶活性受到抑制^[4], 导致微生物氮循环失衡和稻田氮损失增加^[5], 土壤

Den 潜力显著增大^[6]。

沼液是沼气工程的副产物, 富含氮素和作物生长所需的其他养分, 施用于农田可以显著提高作物产量, 因此已成为目前化学氮肥减量与替代的重要方式。尽管已有报道表明沼液施用可使农田土壤 N_2O 排放量增加^[7], 然而由于沼液同时含有 HCO_3^- , 小分子有机酸, 各类矿质离子与营养物质, 其对 Den 与 DNRA 的影响可能并不同于化学氮肥。秸秆还田作为是传统且重要的农耕措施之一^[8], 尤其是在当前“双碳”计划背景下受到了更多的关注。研究表明, 秸秆还田不仅可以通过提供充足的碳源, 还可以通过提高微生物活性^[9]对土壤氮素还原过程产生重要影响。然而, 尽管目前对有关沼液施用或秸秆还田对反硝化过程的影响进行了一定的探索^[10], 但研究结果仍十分有限, 并且可能由于受不同环境背景下土壤本身差异等因素^[11-12]的影响, 导致对 Den 过程的认识还存在不少争议^[13-17], 并且尤其缺乏对

DNRA 过程的探索。因此,在当前化肥减量与替代需求下,进一步深入研究沼液替代化肥以及与秸秆联用对 Den 与 DNRA 过程的影响显得尤为重要。

我国江苏滨海地区地广人稀,土地成本低,分布着大量大型集约化畜禽养殖企业,大量沼液入田与利用已经得到当地农户的普遍认可,相关环境效应的研究也逐渐成为研究的热点。因此,本文选择该区域沼液消纳量最大的稻田为对象,通过田间定位试验,深入研究沼液替代化肥及其与秸秆联用对水稻不同生育期土壤 Den、DNRA 过程的影响,以期沼液替代化学氮肥以及秸秆还田的环境效益评估提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于江苏省东台市(32°38'23"N, 120°53'59"E),属于典型的季风气候,年均温度 16 °C,降水量为 1 061 mm,年均日照达 2 130 h。该区域农田为滨海盐碱地改良而成,土壤为粉砂质壤土,砂粒、粉粒、黏粒含量分别为 36.2%、56.7%、7.1%。其中,稻麦轮种和秸秆全量还田为当地传统的耕作和农田管理模式。试验样地布设前,土壤 pH 为 8.28,电导率(EC)为 102 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$,土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷、全钾含量分别为 4.58、0.48、0.60 和 16.92 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

试验小区建于 2016 年,共设置对照(CK)、单施沼液(B)、单施化肥(C)、沼液秸秆联用(BS)和化肥秸秆联用(CS)5 个处理。沼液和化肥的施用均依照当地农田肥料常规用量,总量为 225 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ (以氮量计),秸秆施入量为 7.5 $\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$,对照处理不施肥。每个处理 3 个重复,共 15 个小区(6 m×10 m),各小区随机排布。为防止各小区间的干扰,使用防渗膜进行分隔。

供试沼液来自位于当地的中粮肉食(江苏)公司沼气站,沼液 pH 为 7.94, TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量分别为 1.06、0.90 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 总有机碳(TOC)含量为 1.63 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。作物种植实行稻麦两熟制度,水稻、小麦采用当地常用品种淮稻 5 号、扬麦 16 号。水稻和小麦生长季化肥(尿素,含氮量 46.4%)与沼液的施用

均按基肥、分蘖肥和穗肥 2:1:2 的比例进行分期施用。按照当地耕作习惯,水稻和小麦收获后的秸秆经粉碎后均进行直接还田(7.5 $\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)。种植方式及其他管理也同于当地。

于 2020 年分别在水稻分蘖肥施用前、穗肥施用前和水稻排水前采集土样样品。各小区随机取 5 点采集 0~10 cm 混合土样,每个样品 3 个重复。所采土壤样品去掉杂物后充分混匀,一部分土样保存于 4°C 冰箱用于土壤 Den 和 DNRA 潜力以及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量测定,其余土样风干过筛后进行土壤 pH、EC、TN 和 SOC 等含量的测定。

1.3 样品分析与测定

1.3.1 土壤 Den 和 DNRA 强度测定 取适量鲜土(干土量 30 g)于 250 mL 塑料培养瓶中,向瓶中加入蒸馏水(使得加入标记液后水土比 1:1),加盖密封后置于振荡器上,调节振荡器转速为 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 15 min 使得土样混合均匀。振荡处理后的土样中添加 K^{15}NO_3 溶液(^{15}N 丰度为 99.19%),使土壤 ^{15}N 丰度($^{15}\text{N}/(^{15}\text{N}+^{14}\text{N})$)达到 20%。添加完标记液后将土样与标记液充分混匀,加硅胶盖和封口膜密封,加入适量 C_2H_2 抑制剂(充分抑制土壤 N_2O 的还原),25°C 的温度条件下避光培养^[18]。分别在培养后的 6 h 和 24 h 将注射器针头插入培养瓶中反复抽压 5 次后各抽取两份 20 mL 瓶内气体待测。使用气相色谱仪(Agilent 7890A Series GC, 美国安捷伦)测定其中一份 20 mL 气体样的 N_2O 浓度,另一份 20 mL 气体样,使用稳定性同位素质谱仪(DELTA V Advantage, 美国热电)测定 N_2O 气体中的 ^{15}N 丰度。气体样品采集完成后,向塑料瓶中加入 120 mL 浓度为 2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KCl 溶液使得水土比达 5:1,加盖后置于振荡器上以 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速振荡 1 h。振荡完毕静置 1 h 后过滤,取 10 mL 滤液测定土壤浸提液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量,另取 100 mL 滤液采用孙建飞等^[19]的扩散法提取 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,并使用 EA-IRMS 联用技术测定提取的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 中 ^{15}N 丰度。

土壤 Den 和 DNRA 强度/速率的计算参照王新新等^[18]。分别以单位时间单位质量土壤 $\text{N}_2\text{O}-^{15}\text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-}^{15}\text{N}$ 生成量表征土壤 Den 强度和 DNRA 强度,其单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

1.3.2 土壤其他性状指标的测定 土壤 pH 采用

雷磁 pH 计 (pHS-3C) 测定 (水土比为 2.5 : 1); 土壤 EC (水土比 5 : 1) 采用电导率测定仪测定; TN 采用凯氏定氮法测定; SOC 采用 TOC 分析仪进行测定; NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 采用流动注射分光光度法测定。

1.4 统计方法

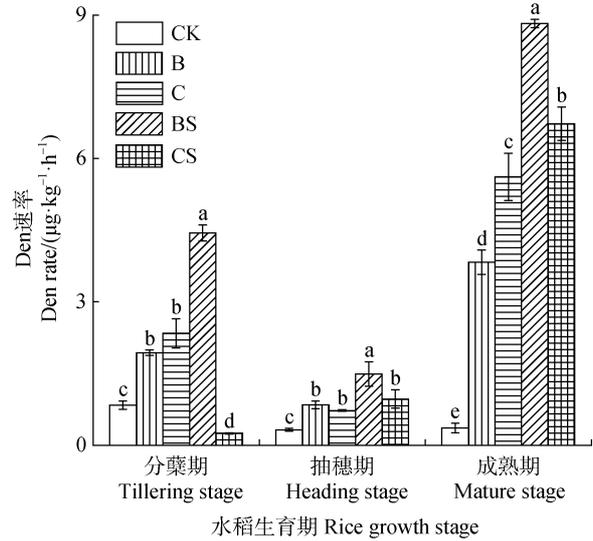
采用 SPSS 23 对数据进行统计分析, 采用 Origin 2018 和 Canoco 5 绘图。采用单因素方差分析法比较特定生育期各处理土壤 Den 和 DNRA 潜力的差异显著性。不同的字母表示处理间的差异显著 ($P < 0.05$)。采用冗余分析 (RDA) 分析土壤 Den 和 DNRA 潜力与土壤性状的关系。

2 结果

2.1 不同施肥处理土壤 Den 速率的变化特征

水稻分蘖期, B 和 C 处理土壤 Den 速率均显著高于 CK 处理 ($P < 0.05$) (图 1), BS 处理土壤 Den 速率为 $4.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 高于 B 处理 1.3 倍, 而 CS 处理低于 C 处理 89.4%。BS 处理土壤 Den 速率高于 CS 处理 16.8 倍。抽穗期各处理间的差异与分蘖期较为相似, BS 处理土壤 Den 速率与 CS 处理相比也显著增加, 增长幅度为 53.6%。水稻成熟期, 各处理土壤 Den 速率均高于 CK ($P < 0.05$)。其中, BS 处理土壤 Den 速率高于 CS 处理 (31.2%), 二者均高于 C 处理 ($5.6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) 和 B 处理 ($3.8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。

就水稻整个生育期而言, 土壤 N_2O 总生成量表现为 B 处理 ($15.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 最低, BS 处理 ($34.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 最高, B、C、BS 和 CS 处理土壤均在成熟期 N_2O 总生成量最高 (表 1)。



注: CK, 对照; B, 单施沼液; C, 单施化肥; BS, 沼液秸秆联用; CS, 化肥秸秆联用。Note: CK, Control; B, Single application of biogas slurry; C, Single application of chemical fertilizer; BS, Combined application of biogas slurry and straw; CS, Combined application of chemical fertilizer and straw.

图 1 水稻不同生育期土壤反硝化 (Den) 速率的变化特征
Fig. 1 Variation characteristics of soil Den rates in different growth stages of rice

表 1 水稻不同生育期 Den 平均速率及 N_2O 总生成量

Table 1 Average Den rate and total N_2O production in different growth stages of rice

处理 Treatment	分蘖期 Tillering stage (50 d)		抽穗期 Heading stage (32 d)		成熟期 Mature stage (76 d)		总生育期 Total growth stage (158 d)
	生成量 ^① / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Den 平均速率 ^② / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	生成量 ^① / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Den 平均速率 ^② / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	生成量 ^① / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Den 平均速率 ^② / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	生成量 ^① / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
CK	1.5±0.2Ac	0.030	0.4±0.0Bc	0.013	1.0±0.3Ae	0.013	2.9
B	3.6±0.1Bb	0.072	1.0±0.1Cb	0.031	10.7±0.7Ad	0.141	15.3
C	4.3±0.6Bb	0.086	0.9±0.0Cb	0.028	15.7±1.4Ac	0.207	20.9
BS	8.2±0.3Ba	0.164	1.8±0.3Ca	0.056	24.7±0.2Aa	0.325	34.6
CS	0.5±0.0Bd	0.010	1.1±0.2Bb	0.034	18.8±1.0Ab	0.247	20.4

①Generated quantity; ②Den average rate.

2.2 不同施肥处理土壤 DNRA 速率变化特征

水稻分蘖期, B 和 C 处理土壤 DNRA 速率分别为 $2.8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 和 $1.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 2), 分别高于对照 CK 处理 4.7 倍和 1.9 倍, 且 B 处理显著高于 C 处理 (94.7%); BS 处理显著高于 CS 处理 (36.7%), 且二者分别高于 B 和 C 处理 90.8%和 1.7 倍。水稻抽穗期, B 和 C 处理土壤 DNRA 速率无显著差异, BS 和 CS 处理分别显著高于 B 和 C 处理 68.7%和 1.3 倍, 且 BS 处理高于 CS 处理 31.4%。水稻成熟期, BS、CS 和 C 处理土壤 DNRA 速率均显著高于 CK 处理, 但三者间无显著差异, B 处理则与 CK 间无显著差异。

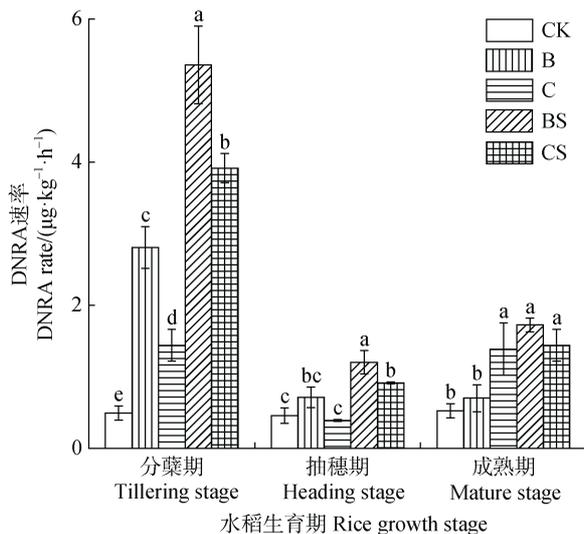


图 2 水稻不同生育期土壤 DNRA 速率的变化特征
Fig. 2 Variation characteristics of soil DNRA rates in different growth stages of rice

2.3 土壤 DNRA 和 Den 的相对重要性

以 DNRA 速率与 Den 速率的比值表征土壤 DNRA 和 Den 的相对重要性大小 (DNRA/Den), 该比值大于 1 则表示 DNRA 过程占主导, 且该比值越大表示 DNRA 和 Den 速率相差越大^[20]。水稻分蘖期, B 处理土壤 DNRA/Den 为 1.5, 显著高于 C 处理 (0.6) (图 3)。BS 处理土壤 DNRA/Den (1.2) 显著低于 CS 处理 (15.7)。水稻抽穗期和成熟期, 土壤 DNRA/Den 均以 CK 处理最高, 其他 4 个处理间无显著性差异。

2.4 水稻不同生育期土壤性状的变化

土壤 pH 的变化表现为水稻分蘖期 CK 显著低于其他各处理 (图 4a), 抽穗期, BS 处理土壤 pH 显著高于其他处理 ($P < 0.05$)。不同生育期下, B 处理土壤 EC 值均显著高于 CK 处理 (图 4b), CS 与 C

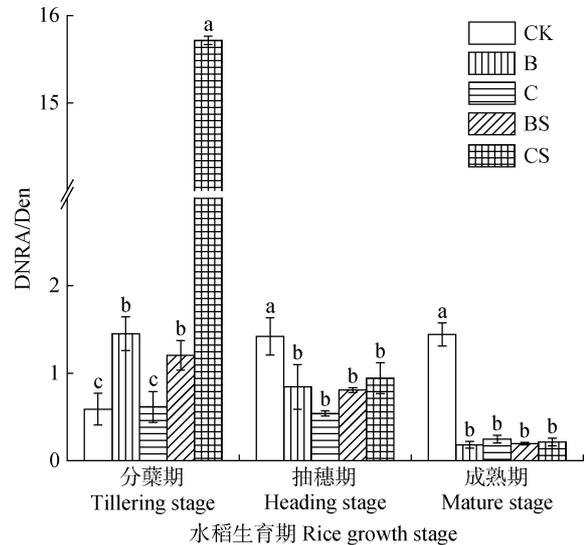
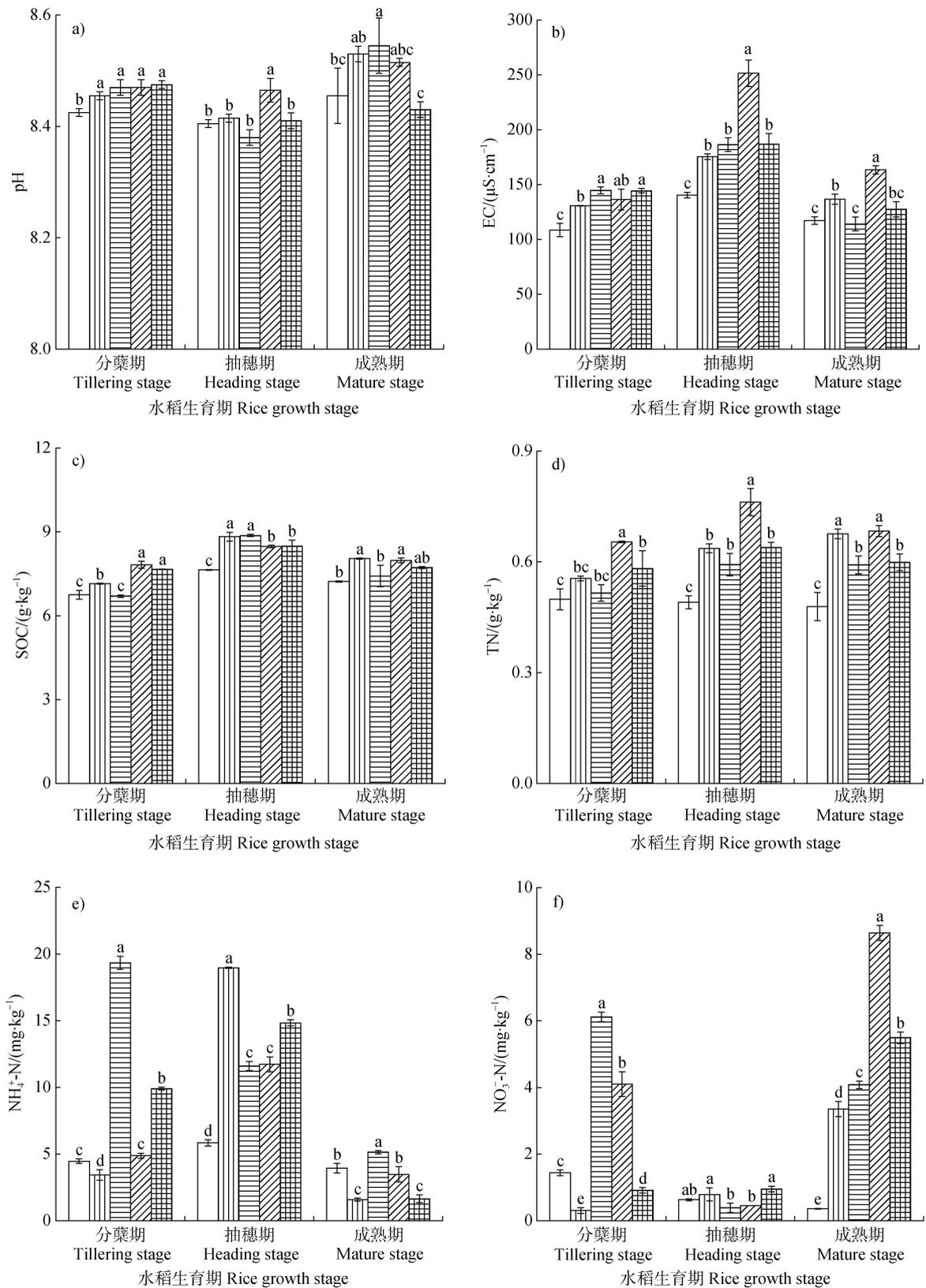


图 3 水稻不同生育期土壤 DNRA/Den 的变化特征
Fig. 3 Variation characteristics of soil DNRA/Den in different growth stages of rice

处理间无显著差异; BS 处理土壤 EC 值在抽穗期和成熟期均高于 CS 处理。各生育期土壤 SOC 和 TN 含量的变化总体表现为 CK 低于其他 4 个处理 (图 4c, 4d), 其中土壤 TN 含量均表现为 BS 处理显著高于 CS 处理。土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的变化为分蘖期和成熟期均以 C 处理显著高于其他处理, 而抽穗期则以 B 处理最高 (图 4e)。土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量为在水稻分蘖和成熟期, BS 处理显著高于 B 处理和 CS 处理, 在抽穗期则相反 (图 4f)。

2.5 土壤 Den 和 DNRA 速率及其相对重要性与土壤性状的关系

采用 RDA 分别对各处理土壤 Den、DNRA 速率及其相对重要性与土壤性状的关系进行分析 (图 5), 可见 B 和 C 处理土壤 Den 速率均与 pH 表现出正相关性, 而与 C:N 为负相关。B 处理下, 土壤 Den 速率还与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量分别表现正相关和负相关性; 土壤 DNRA 速率与 TN 和 SOC 含量为负相关 (图 5b)。C 处理下, 土壤 Den 速率与 EC 呈负相关; 土壤 DNRA 速率与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量表现出正相关, 而与 SOC 含量为负相关 (图 5c)。BS 和 CS 处理土壤 Den 速率均与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量正相关, 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量为负相关。此外, BS 处理土壤 Den 速率与 pH、土壤 DNRA 速率与 C:N 也均为正相关 (图 5d)。CS 处理土壤 DNRA 速率则与 pH 表现出正相关而与 TN 含量负相关 (图 5e)。



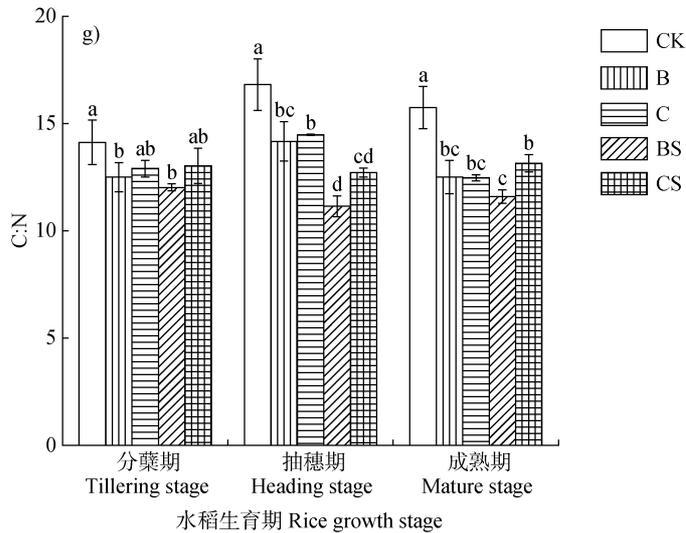


图 4 水稻不同生育期土壤理化性质的变化特征

Fig. 4 Variation characteristics of soil physicochemical properties in different growth stages of rice

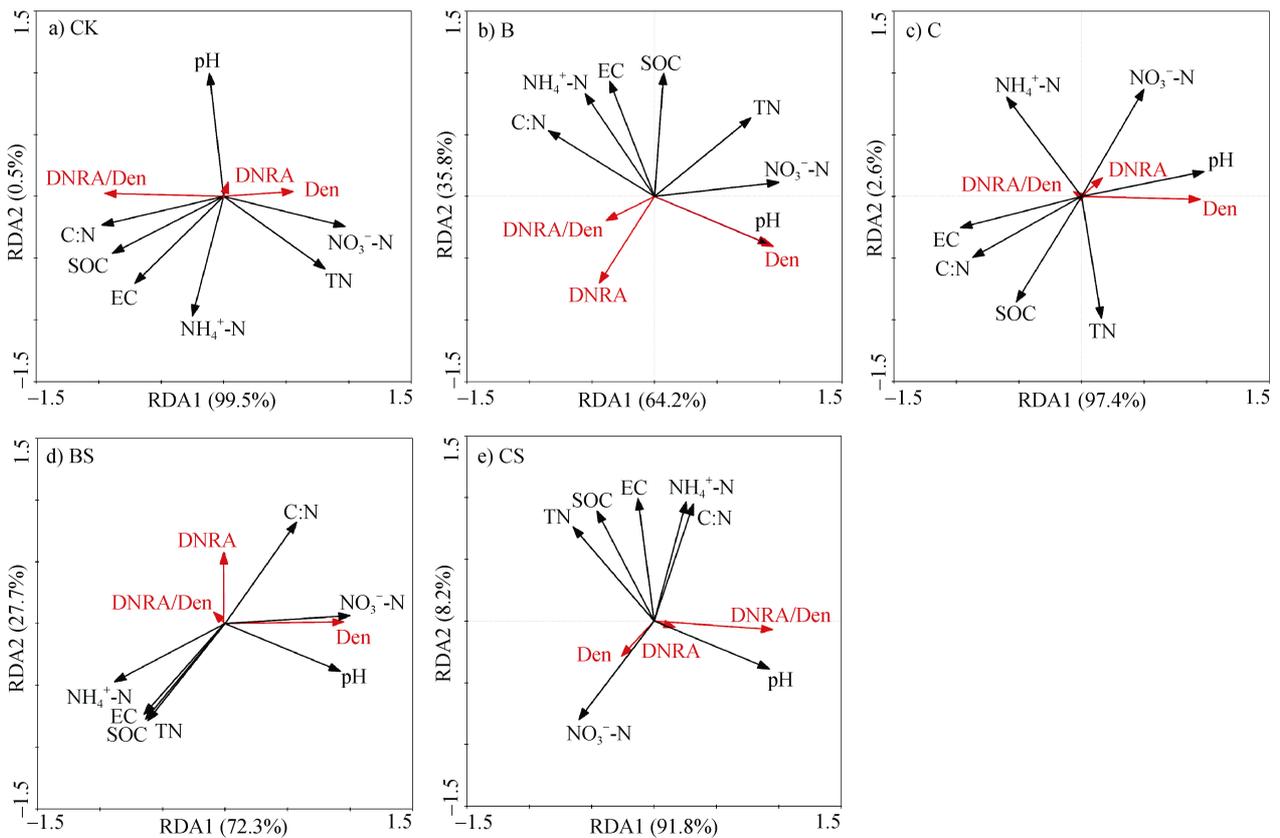


图 5 水稻各处理下土壤 Den、DNRA 速率及其相对重要性与土壤性状的 RDA 分析

Fig. 5 Redundancy analysis of soil Den, DNRA rates and their relative importance and soil properties with different rice treatment

3 讨论

3.1 稻田土壤 Den 变化特征及影响因素

化肥或沼液的施用可对土壤 Den 速率有显著影

响。本研究结果表明，水稻 3 个不同生育期下，4 个施肥处理土壤 Den 潜力总体上均表现为高于 CK 处理（除分蘖期 CS 低于 CK 外），其中，BS 处理也显著高于 CS 处理，这表明化肥或沼液的单独施用

以及与秸秆的联用均会导致土壤 Den 潜力的显著升高。这可能主要与氮素的大量的输入有关, 尤其是沼液中含有更多的有效态氮, 沼液秸秆联用措施下土壤微生物的丰富度和多样性均会提高^[21]。就秸秆还田而言, 目前就该措施对土壤 Den 潜力的影响的认识存在较大差异。一方面, 有研究认为秸秆还田可通过提供充足的碳源和提高 Den 微生物活性等途径提高土壤 Den 强度^[9]。如施加复合肥的沙壤水稻土结合水稻秸秆还田措施后, 土壤 Den 功能基因的丰度显著提高, Den 速率显著增加^[13]。化肥秸秆联用措施下, 粉质黏壤土 Den 功能基因的丰度显著增大, Den 速率表现为显著高于只施加化肥处理^[15]。Shaaban 等^[14]也发现水稻土添加水稻秸秆后, 土壤微生物量碳和可溶性有机碳含量显著提高, Den 速率显著增大。另一方面, 也有研究显示, 秸秆还田可导致土壤 Den 速率减小或无显著变化^[22-23], 其原因主要在于秸秆还田下土壤有机质增多, 可通过促进厌氧微生物对 NO_3^- -N 的固定^[24], 以及有机质分解过程对 O_2 消耗的途径抑制硝化作用, 减少土壤 NO_3^- -N 含量进而使得稻田土壤 N_2O 的释放量减少^[25]。

土壤 Den 速率的变化同时受作物生育期的影响。从不同生育期来看, 本研究中 B、C 和 BS 处理土壤 Den 速率均是分蘖期大于抽穗期, 这与吴讷等^[26]的研究结果一致, 但各处理间的差异又有所不同。B 处理土壤 Den 速率在成熟期显著低于 C 处理, 但在分蘖期和抽穗期二者无显著差异。秸秆还田措施下, BS 处理土壤 Den 速率在各同生育期均高于 CS 处理, 这可能是沼液秸秆联合施用下形成了更利于 Den 进行的环境条件。值得关注的是, 分蘖期化肥秸秆联用土壤 Den 速率低于化肥处理, 这可能与该时期秸秆对化肥中氮素的强化固定导致 Den 过程所需的 NO_3^- -N 含量减少^[27]有关, 从而使得土壤 Den 速率降低。

相关性分析显示土壤理化性质对 Den 潜力有较大影响。其中, B、C 处理土壤 Den 潜力均与 pH、C:N 高度相关, 但沼液处理 (即 B 处理) Den 潜力与 pH 的关系更为密切 ($P < 0.01$)。这可能与沼液添加改变了土壤 pH 有关。尽管 pH 的变化在 B、C 处理间无显著差异, 但已有文献报道施加沼液可有效降低土壤 pH, 例如 Zhang 等^[28]研究表明施用沼液 5 年后, 土壤 pH 显著降低, 这主要是由于沼液中含有大量 NH_4^+ -N, NH_4^+ 的氧化将大量 H^+ 释放到土壤

中, 使土壤 pH 降低。Tang 等^[29]研究也证实, 水稻收获后, 不同用量的沼液处理土壤 pH 均低于种植前。沼液处理导致水稻土壤 pH 降低, 这对土壤溶液中多酚类化合物和有机酸的释放有积极影响, 可能改变了土壤微生物的环境条件, 使某些有益菌群富集^[30]。由于 Den 更适合土壤 6.5~7.5 的 pH 环境^[31], 沼液对 pH 的降低应当加速 N_2O 的释放, 但本研究显示, 沼液替代化肥即 B 处理较化肥 C 处理的 Den 速率降低了 $1.48 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, N_2O 的总生成量减少了 27%。相较而言, 配施秸秆后 (BS、CS) NO_3^- -N 含量与 Den 潜力相关度最高。这可能主要是由于秸秆分解释放有机碳, 不但较沼液或化肥单施提高了土壤 pH^[32], 而且提供了大量电子供体, 最终使 NO_3^- -N 成为 Den 的限制因子^[33-34]。然而, 秸秆与沼液配施导致 N_2O 释放激增的原因可能还与土壤 C:N 的变化有关。土壤 C:N 的升高可促进对氮素的净固定并降低 N_2O 产生, 反之会促进 N_2O 的产生^[12]。本研究 BS 处理 (分蘖期和成熟期) 的土壤 NO_3^- -N 含量均高于 B 和 CS 处理, 而 C:N 均低于 B 和 CS 处理, 因此可能导致出现其 Den 速率和 N_2O 产生量均较高的结果。

3.2 稻田土壤 DNRA 变化特征及影响因素

不同施肥措施对土壤 DNRA 过程的影响具有显著差异。研究表明长期施氮会对固氮酶活性产生抑制作用^[35], 因此导致土壤 DNRA 速率随着氮肥施用量的增加而减小^[5]。秸秆还田措施往往有利于土壤 DNRA 潜力的提高, 如水稻秸秆还田后紫砂岩土和红砂岩土 DNRA 潜力均显著增加^[17]。Zhang 等^[16]也表明水稻土添加秸秆后土壤 DNRA 潜力随秸秆添加量的增加而增大。本研究结果显示, B 处理土壤 DNRA 潜力显著高于 CK 处理, 这是因为沼液中大量有机质向土壤中输入, 为微生物提供养料, 有益于土壤氨化细菌的生长繁殖^[36]。5 个处理中均以 BS 处理的土壤 DNRA 速率为最高, 分别较 B 处理和 CS 处理高 40.7%~59.3%和 16.5%~26.8%, 这表明秸秆还田和沼液替代化肥均可促进土壤 DNRA 潜力的提高, 有利于更多氮素的保存, 并且沼液秸秆联用的效果最好。这一方面可能是由于沼液施用显著提高了土壤中养分含量以及土壤中三大类菌和氮循环细菌的数量^[36], 从而使土壤 DNRA 潜力增大, 另一方面也可能由于秸秆中 C:N 较大, 微生物需要从土壤中吸收更多无机氮以满足分解秸秆过程中的

氮需求^[17]，因此，随着秸秆掺入率的增加， NH_4^+ 固定化速度加快，并且由于 NH_4^+ 同化和固定化，硝化作用会受到限制^[37]。

本研究也表明，各处理间土壤 DNRA 潜力的差异同时受水稻生育期的影响。分蘖期各处理土壤的 DNRA 速率均显著高于成熟期和抽穗期，如沼液处理 (B、BS) 分蘖期分别是抽穗期的 3.9 倍和 4.5 倍，是成熟期的 4.0 倍和 3.1 倍；化肥处理 (C、CS) 分别是抽穗期的 3.7 倍和 4.3 倍以及成熟期的 1.0 倍和 2.7 倍，并且 B 和 BS 处理 DNRA 潜力显著高于 C 和 CS 处理。这可能是因为在分蘖期正处于秸秆的分解前期，秸秆中的高碳支持更活跃的微生物种群，增加了土壤微生物生物量而有助于 DNRA 过程^[38]。

土壤理化性质的变化也是影响 DNRA 潜力的关键因素，但不同土壤性质对各处理 DNRA 潜力变化的影响程度不同。陈瑶等^[39]发现沼液施用后土壤有机质含量增加，是沼液施用下土壤 SOC 含量显著增大的重要原因。本研究中，B 处理下土壤 DNRA 与 TN 和 SOC 含量呈负相关；C 处理下土壤 DNRA 与 NO_3^- -N 呈正相关，与 SOC 呈负相关，这可能与不同施肥措施下土壤性质变化导致微生物量以及微生物群落改变有关。CS 处理下，TN、pH 与 DNRA 相关度最高，但 BS 处理时，C : N 成为最主要的影响因子。该变化的原因可能在于沼液为秸秆分解提供了比化肥更适宜的环境，C、N 等物质的释放稀释了 TN、pH 的影响，最终形成 C : N 限制 DNRA 过程的状态。

DNRA/Den 值表征土壤 DNRA 和 Den 相对重要性高低，该值大于 1 则表示硝态氮还原过程中 DNRA 过程可能占主导；反之，则 Den 占主导地位。由于 Den 与 DNRA 属于 NO_3^- 还原的不同途径，这意味着二者存在“此消彼长”的关系。在抽穗期和成熟期，沼液 B 处理和化肥 C 处理均以 Den 为主，而在分蘖期，B、BS、CS 处理 DNRA 过程占优。这表明，水稻生育期，无论是否沼液替代化肥或是否秸秆还田，Den 是 NO_3^- 还原的主要方式这与以往研究相似^[3]。但应当指出的是，沼液替代化肥通过 DNRA 过程时氮素的保存对 N_2O 的控制仍具有积极意义，尤其是，沼液替代化肥具有减少 N_2O 产生和排放的潜力。因此，基于 N_2O 的控制及水稻产量提高双赢的目标，沼液替代化肥值得推广。但由于沼液替代化肥的推广还需要有养分利用效率、土壤肥

力、温室气体及氮损失等监测基础和综合环境经济效益等方面的科学评估作为支撑，其具体的应用推广模式以及是否同步秸秆还田等还需要进一步研究。

4 结 论

沼液替代化肥以及与秸秆联用，对稻田土壤 Den 和 DNRA 过程均有显著影响，并与水稻生育期密切相关。整个生育期不同处理的土壤反硝化 (Den) 强度依次为：BS ($34.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) > C ($20.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) > CS ($20.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) > B ($15.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) > CK ($2.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。沼液替代化肥可有效降低稻田反硝化强度和 N_2O 生成，但沼液与秸秆配施导致反硝化强度显著增加。从不同生育期看来，沼液处理 (B、BS) 与化肥处理 (C、CS) 均在成熟期出现最高的反硝化强度，因此在成熟期对 N_2O 进行调控显得尤为必要。此外，无论是否秸秆还田，水稻分蘖期各处理土壤 DNRA 潜力均最高，并且沼液替代化肥处理土壤 DNRA 潜力增大，有利于土壤氮素的保存。

参考文献 (References)

- [1] Baggs E M, Rees R M, Smith K A, et al. Nitrous oxide emission from soils after incorporating crop residues[J]. *Soil Use and Management*, 2000, 16 (2): 82—87.
- [2] Cai Y J, Ding W X, Xiang J. Mechanisms of nitrous oxide and nitric oxide production in soils: A review[J]. *Soils*, 2012, 44 (5): 712—718. [蔡延江, 丁维新, 项剑. 土壤 N_2O 和 NO 产生机制研究进展[J]. *土壤*, 2012, 44 (5): 712—718.]
- [3] Shan J, Zhao X, Sheng R, et al. Dissimilatory nitrate reduction processes in typical Chinese paddy soils: Rates, relative contributions, and influencing factors[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50 (18): 9972—9980.
- [4] Duan R, Long X E, Tang Y F, et al. Effects of different fertilizer application methods on the community of nitrifiers and denitrifiers in a paddy soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 18 (1): 24—38.
- [5] Pandey A, Suter H, He J Z, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium dominates nitrate reduction in long-term low nitrogen fertilized rice paddies[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019, 131: 149—156.
- [6] Zhao Y P. Effects of tillage and fertilization on anammox and denitrification rates in paddy soils[D]. Chongqing:

- Southwest University, 2017. [赵永鹏. 耕作和施肥对水稻土厌氧氨氧化和反硝化速率的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2017.]
- [7] Chen D J, Jiang L N, Huang H, et al. Nitrogen dynamics of anaerobically digested slurry used to fertilize paddy fields[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49 (6): 647—659.
- [8] Chen W H, Yuan W, Wang Z Y, et al. Crop straw returning: A review[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37 (21): 54—58. [陈婉华, 袁伟, 王子阳, 等. 作物秸秆还田研究进展[J]. *中国农学通报*, 2021, 37 (21): 54—58.]
- [9] Chen H H, Li X C, Hu F, et al. Soil nitrous oxide emissions following crop residue addition: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2013, 19(10): 2956—2964.
- [10] Rahaman M A, Zhang Q W, Shi Y L, et al. Biogas slurry application could potentially reduce N₂O emissions and increase crop yield[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 778: 146269.
- [11] Abid A A, Zhang Q, Afzal M, et al. Nitrous oxide emission and production pathways under alternate wetting-drying conditions in rice paddy soils[J]. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2019, 17 (6): 13777—13792.
- [12] Ma J, Ma E D, Xu H, et al. Wheat straw management affects CH₄ and N₂O emissions from rice fields[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41 (5): 1022—1028.
- [13] Pan F X, Chapman S J, Li Y Y, et al. Straw amendment to paddy soil stimulates denitrification but biochar amendment promotes anaerobic ammonia oxidation[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2017, 17 (10): 2428—2437.
- [14] Shaaban M, Wu Y, Peng Q, et al. The interactive effects of dolomite application and straw incorporation on soil N₂O emissions[J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69 (3): 502—511.
- [15] Tang H M, Xiao X P, Li C, et al. Effects of rhizosphere and long-term fertilization practices on the activity and community structure of denitrifiers under double-cropping rice field[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2019, 50 (6): 682—697.
- [16] Zhang Y S, Zheng X Z, Guo B L, et al. Mechanisms behind the inhibition of autotrophic nitrification following rice-straw incorporation in a subtropical acid soil[J]. *Soil & Tillage Research*, 2020, 196: 104436.
- [17] Zhao Y, Wang J, Cai Z C, et al. Short-term effects of nitrapyrin, rice straw and its biochar application on N transformation in soils of humid subtropical China[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 2018, 68 (5): 448—456.
- [18] Wang X X, Han J G, Xu C H, et al. Effects of C/NO₃⁻-N change on denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in the Chongming Dongtan wetland[J]. *Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition*, 2020, 44 (5): 174—180. [王新新, 韩建刚, 徐传红, 等. 碳氮比改变对崇明东滩湿地反硝化与硝态氮氨化的影响[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2020, 44 (5): 174—180.]
- [19] Sun J F, Bai E, Dai W W, et al. Improvements of the diffusion method to measure inorganic nitrogen isotope of ¹⁵N labeled soil[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33 (9): 2574—2580. [孙建飞, 白娥, 戴巍巍, 等. ¹⁵N 标记土壤连续培养过程中扩散法测定无机氮同位素方法改进[J]. *生态学杂志*, 2014, 33 (9): 2574—2580.]
- [20] Xu S, Chen Y, Yin J, et al. The relative importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium and denitrification in sediments in a typical coastal wetland[J]. *Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition*, 2016, 40 (2): 9—15. [徐莎, 陈圆, 印杰, 等. 典型滨海湿地沉积物反硝化与硝态氮氨化相对重要性研究[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2016, 40 (2): 9—15.]
- [21] Zhou Y, Huang X, Zhao H Y, et al. Regulation of wheat straw and biogas slurry application on rice seedling growth and soil microorganism[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57 (2): 479—489. [周阳, 黄旭, 赵海燕, 等. 麦秸秆和沼液配施对水稻苗期生长和土壤微生物的调控[J]. *土壤学报*, 2020, 57 (2): 479—489.]
- [22] 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.
- [23] Wang J Y, Jia J X, Xiong Z Q, et al. Water regime-nitrogen fertilizer-straw incorporation interaction: Field study on nitrous oxide emissions from a rice agroecosystem in Nanjing, China[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2011, 141(3/4): 437—446.
- [24] Burger M, Jackson L E. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in relation to ammonification and nitrification rates in organic and conventional cropping systems[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35 (1): 29—36.
- [25] Hou P F, Li G H, Wang S H, et al. Methane emissions from rice fields under continuous straw return in the middle-lower reaches of the Yangtze River[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2013, 25 (9): 1874—1881.
- [26] Wu N, Shao J W, Sheng R, et al. Variation of community structure and function of rhizospheric denitrifiers at tillering and booting stages of rice[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30 (4): 1344—1350. [吴讷, 邵嘉薇, 盛荣, 等. 水稻分蘖期和孕穗期根际反硝化菌群落结构及功能变化[J]. *应用生态学报*, 2019, 30 (4): 1344—1350.]
- [27] Bronson K F, Neue H U, Abao E B Jr, et al. Automated

- chamber measurements of methane and nitrous oxide flux in a flooded rice soil: I. residue, nitrogen, and water management[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61 (3): 981—987.
- [28] Zhang X, Zhao J, Yuan G, et al. Effects of repeated biogas slurry application on soil quality and bacterial community composition under wheat-rice rotation on a coastal reclaimed farmland[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2021, 6B (30): 7767—7779.
- [29] Tang Y F, Wen G L, Li P P, et al. Effects of biogas slurry application on crop production and soil properties in a rice-wheat rotation on coastal reclaimed farmland[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2019, 230 (3): 1—13.
- [30] Cao Y, Wang J D, Wu H S, et al. Soil chemical and microbial responses to biogas slurry amendment and its effect on *Fusarium* wilt suppression[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 116—123.
- [31] Šimek M, Cooper J E. The influence of soil pH on denitrification: Progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years[J]. *European Journal of Soil Science*, 2002, 53 (3): 345—354.
- [32] Wang Y F, Tang C X, Wu J J, et al. Impact of organic matter addition on pH change of paddy soils[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13 (1): 12—23.
- [33] Behrendt A, Tarre S, Belavski M, et al. Effect of high electron donor supply on dissimilatory nitrate reduction pathways in a bioreactor for nitrate removal[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 171: 291—297.
- [34] Yang S, Wu S J, Cai Y J, et al. The synergetic and competitive mechanism and the dominant factors of dissimilatory nitrate reduction processes: A review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36 (5): 1224—1232. [杨杉, 吴胜军, 蔡延江, 等. 硝态氮异化还原机制及其主导因素研究进展[J]. *生态学报*, 2016, 36 (5): 1224—1232.]
- [35] Mills M M, Ridame C, Davey M, et al. Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic[J]. *Nature*, 2004, 429: 292—294.
- [36] Zuo D, Lü W G, Li S X, et al. Effects of biogas slurry on soil nutrients and nitrogen cycling microorganism in paddy field[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2018, 34(2): 55—59. [左狄, 吕卫光, 李双喜, 等. 沼液还田对稻田土壤养分与氮循环微生物的影响[J]. *上海农业学报*, 2018, 34 (2): 55—59.]
- [37] Khalil M I, Hossain M B, Schmidhalter U. Carbon and nitrogen mineralization in different upland soils of the subtropics treated with organic materials[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37 (8): 1507—1518.
- [38] Said-Pullicino D, Cucu M A, Sodano M, et al. Nitrogen immobilization in paddy soils as affected by redox conditions and rice straw incorporation[J]. *Geoderma*, 2014, 228/229: 44—53.
- [39] Chen Y, Shi Q P, Chen Y C. Effects of continuous irrigation of biogas slurry on nutrient and heavy metal content in soil of dry land and paddy fields[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, 29 (2): 76—80, 105. [陈瑶, 史秋萍, 陈玉成. 沼液连续浇灌对旱作和水田土壤养分及重金属含量的影响[J]. *水土保持学报*, 2015, 29 (2): 76—80, 105.]

(责任编辑: 卢 萍)