土 壤 学 报
Acta Pedologica Sinica

DOI: 10.11766/trxb202401020003

周晗，王晓敏，魏志军，马小芳，张雨蒙，单军，颜晓元. 南方农田土壤剖面硝态氮消纳的热时和热区效应及其影响因素[J]. 土壤学报，2024，

ZHOU Han, WANG Xiaomin, WEI Zhijun, MA Xiaofang, ZHANG Yumeng, SHAN Jun, YAN Xiaoyuan. Hot Moments and Hot Spots and the Associated Influencing Factors of Denitrification along Farmland Soil Profiles in Southern China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024,

南方农田土壤剖面硝态氮消纳的热时和热区效应及其影响因素 *

周 晗[1,2,3]，王晓敏[1,2,3]，魏志军[1,2,3]，马小芳[1,3,4]，张雨蒙[1,3]，单 军[1,2,3†]，颜晓元[1,2,3]

（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. 中国科学院大学，北京 100049；3. 中国科学院常熟农业生态实验站，江苏常熟 215555；4. 南京大学环境学院，南京 210023）

摘 要：为评估中国南方典型农田剖面土壤的硝态氮消纳能力，探究反硝化的“热时”和“热区”效应，选取太湖地区的水稻-麦轮作农田（稻田）、设施蔬菜地（菜地）和葡萄园（果园）作为研究对象，利用膜进样质谱法（Membrane Inlet Mass Spectrometer，MIMS）和 RoFlow 系统（Robotized continuous flow incubation system）分别对土壤剖面（0 ~ 300 cm）的淹水层和非淹水层进行近似原位培养，监测一周年反硝化速率。结果表明：三种种植模式下剖面土壤反硝化速率均存在“热时”和“热区”，稻田的反硝化“热时”主要发生在 10 月（稻季），速率为 17.6 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$；菜地和果园的反硝化“热时”则主要发生在 3 月，速率分别为 44.2 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$ 和 45.3 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$；稻田土壤反硝化“热区”发生在表层土（0 ~ 20 cm），平均速率为 3.4 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$；菜地和果园的反硝化“热区”主要发生在 20 ~ 100 cm 处，平均速率分别为 11.7 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$ 和 9.4 $nmol·g^{-1}·h^{-1}$；这些反硝化“热区”中的硝态氮去除率均达到了 90%以上，三种种植模式下土壤剖面 300 cm 处几乎没有 NO_3^--N 残留。相关性分析结果表明土壤 NO_3^--N 含量是反硝化过程的主要限制因子。研究表明，太湖地区三种种植模式下农田土壤剖面具有较高的反硝化速率，且存在明显的反硝化发生的“热区”和“热时”，能够有效消纳土壤剖面中的 NO_3^--N。

关键词：硝态氮；反硝化；种植模式；土壤剖面；N_2∶Ar

中图分类号：X53　　**文献标志码**：A

* 国家重点研发计划项目（2021YFD1700800）和国家自然科学基金项目（U20A20113、42177303）共同资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2021YFD1700800) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. U20A20113, 42177303)

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail: shanjun@issas.ac.cn

作者简介：周 晗（1997—），女，山西忻州人，硕士研究生，主要从事农田氮素循环关键过程研究。E-mail: zhouhan@issas.ac.cn

收稿日期：2024-01-02；收到修改稿日期：2024-03-19；网络首发日期（www.cnki.net）：

土 壤 学 报
Acta Pedologica Sinica

Hot Moments and Hot Spots and the Associated Influencing Factors of Denitrification along Farmland Soil Profiles in Southern China

ZHOU Han[1,2,3], WANG Xiaomin[1,2,3], WEI Zhijun[1,2,3], MA Xiaofang[1,3,4], ZHANG Yumeng[1,3], SHAN Jun[1,2,3†], YAN Xiaoyuan[1,2,3]

(1. *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing* 210008*, China;* 2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049*, China;* 3. *Changshu Agro-ecological Experimental Station, Chinese Academy of Sciences, Changshu, Jiangsu* 215555*, China;* 4. *School of Environment, Nanjing University, Nanjing* 210023*, China*)

Abstract: 【Objective】To evaluate the NO_3^--N removal capacity of typical farmland profiles in southern China and to explore the hot moments and hot spots of denitrification.【Method】Paddy fields (rice-wheat rotation), vegetable fields, and orchards (vineyard) in the Taihu Lake region were selected for this study. Near *in-situ* incubation of flooded and non-flooded layers of the soil profile (0~300 cm) of these fields was performed using the Membrane Inlet Mass Spectrometer (MIMS) and Robotized continuous flow incubation system (RoFlow) over a year. 【Result】Our results showed that the soil denitrification rate exhibited distinct hot moments and hot spots across the three planting patterns. Denitrification hot moments in paddy fields were primarily observed in October during the rice season, with a rate of 17.6 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$. The denitrification hot moments of vegetable fields and orchards mainly occurred in March, with rates of 44.2 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$ and 45.3 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$, respectively. The hot spots of denitrification in the paddy fields occurred in the topsoil (0~20 cm) with an average rate of 3.4 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$. The denitrification hot spots of the vegetable fields and orchards mainly occurred at 20~100 cm, with average rates of 11.7 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$ and 9.4 $nmol\cdot g^{-1}\cdot h^{-1}$, respectively. Also, the removal rate of NO_3^--N in these denitrification hot spots exceeded 90%, and almost all NO_3^--N in the soil profile was removed under the three planting patterns. Correlation analysis results indicated that the soil NO_3^--N content was the primary limiting factor for denitrification. 【Conclusion】Our study reveals that the farmland soil profiles under the three planting patterns in the Taihu Lake area exhibit high denitrification rates with distinct denitrification hot moments and hot spots, effectively removing NO_3^--N from the soil profile.

Key words: Nitrate; Denitrification; Planting pattern; Soil profile; N_2：Ar

在我国“高投入、高产出”为特点的集约化农业生产方式下，氮肥的投入量往往超过作物所需，造成氮素的大量盈余，导致农田土壤剖面中存在大量 NO_3^--N 的累积[1-2]。NO_3^--N 易随水流失造成地下水硝酸盐污染。研究表明，尽管华北平原和太湖地区均是典型的高氮肥投入的农区，氮肥年投入量在 400 ~ 500 $kg\cdot hm^{-2}$ 左右，但两个区域在土壤硝态氮累积特征上存在明显差异，华北平原农田土壤剖面中存在大量硝态氮累积（453 ~ 2 155 $kg\cdot hm^{-2}$）[3]，而太湖地区农田土壤剖面中无明显硝态氮累积，0 ~ 400 cm 土壤剖面 NO_3^--N 的平均含量分别为 8.8、31.1 和 36.4 $kg\cdot hm^{-2}$[4]。土壤剖面对 NO_3^--N 的消纳作用主要由微生物介导的反硝化过程完成，该过程将 NO_3^--N 逐步还原为 N_2，使部分氮素通过地下水和土壤孔隙回归大气氮库。研究显示，华北平原小麦-玉米轮作农田 0 ~ 10 m 土壤剖面中，仅在表层（0 ~ 20 cm）存在显著的反硝化过程，100 cm 以下剖面土壤中反硝化速率较低[5]。然而，目前有关南方农区反硝化的研究多集中在表层土，对剖面土壤的 NO_3^--N 消纳能力还缺乏定量分析，剖面土壤中是否存在反硝化的“热时”和“热区”也不清楚。

剖面反硝化强度受到反硝化微生物群落及底物 NO_3^--N 浓度的控制[6]，同时其他环境因

素，例如土壤有机质[7]、温度、pH[8-9]、氧气和水分条件，也会通过影响反硝化微生物的群落多样性和丰富度、生物活性和呼吸强度来调控反硝化速率[10-11]。季节气候条件和农作物管理措施的不同也会直接或间接影响反硝化强度[12-13]。可利用性有机碳的缺乏是限制土壤反硝化作用的关键因素[5]，华北平原深层土壤剖面中的溶解性有机碳（DOC）仅有 10 $mg·kg^{-1}$，深层土壤中的 DOC 不足以提供足够的电子供体，导致深层土壤中的反硝化作用受到限制[14]，而南方农区剖面反硝化作用是否受到土壤中DOC含量的限制仍不清楚，其关键影响因素仍然未知。

以往采用的土壤反硝化研究方法主要包括乙炔抑制法和 ^{15}N 同位素标记法等，然而，这些方法均存在一定局限性[15-18]，无法反映土壤剖面的原位反硝化速率和硝态氮的消纳能力。RoFlow 系统（Robotized continuous flow incubation system）采用 N_2 直接测定法[19-20]对原位采集的旱地土柱进行培养，通过实时检测土柱的 N_2 产生量，可以表征旱地土柱原位反硝化速率。而 Flow-through 培养装置则是采用 N_2：Ar 比测量法[21]，将原位采集的上覆水和土柱共同密闭培养，按一定的时间间隔对上覆水进行采样，利用 MIMS（Membrane inlet mass spectrometer）测定溶解在水中 N_2，表征淹水土柱原位反硝化速率。这两种方法不需要添加底物，培养过程中模拟了原位状态，且适用于淹水和非淹水条件下反硝化速率的测定，对于剖面上处于不同水分状态的土壤都能够进行监测，能够较为直接准确地反映土壤原位反硝化速率，可以用来研究南方农田土壤剖面的反硝化差异。

本研究分别选取江苏省常熟市的水稻-麦轮作农田（稻田）、设施蔬菜地（菜地）和葡萄园（果园）作为研究对象，通过模拟土壤原位条件和监测不同剖面土壤（0～300 cm）在不同季节的反硝化速率，并探究其影响因素，以评估该农区土壤剖面的 NO_3^--N 消纳能力，为南方农区农业面源污染防控与决策提供基础数据支持。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区位于江苏省常熟市（31°32’ N，120°41’ E），属于典型的亚热带季风气候，年均温为 16 ℃，年降水量为 1 055 mm，地下水水位在 20～60 cm 范围内波动。选取三种当地典型的农业种植模式土壤，分别为水稻—小麦轮作农田、果园和设施蔬菜地。稻麦轮作地位于辛庄镇合泰村，年施氮量约为 576 $kg·hm^{-2}$，稻季从每年的 7 月开始种植，11 月收获，6 月中旬施用基肥，7 月和 8 月下旬分别施分蘖肥和穗肥，施肥量分别为 120、90 和 90 $kg·hm^{-2}$，稻季年施氮量约 300 $kg·hm^{-2}$，麦季从当年 11 月下旬开始种植，次年 6 月下旬收获，麦季年施氮量约为 276 $kg·hm^{-2}$，11 月中旬施用基肥，次年 1 月和 3 月分别施用越冬肥和分蘖肥，施肥量分别为136、80和60 $kg·hm^{-2}$；大棚设施蔬菜地年施氮量约为600 $kg·hm^{-2}$，施肥时间分别为 10 月、12 月、2 月和 5 月，每次施肥量约 150 $kg·hm^{-2}$；果园种植葡萄，年施氮量约 500 $kg·hm^{-2}$，3 月施用基肥，4 月施用促花肥，5 月和 6 月追肥，施肥量分别为 240、100、80 和 80 $kg·hm^{-2}$。试验样地土壤均为太湖湖基母质发育而来的乌栅土。

1.2 样品采集

于 2022 年 10 月、11 月及 2023 年 2 月、3 月、5 月、7 月和 9 月按照 0～20、20～100、100～200 和 200～300 cm 四个层次进行土壤采集。利用单人手持式高频振动原状土壤取样钻机（VD51，澳大利亚）分别采取稻田、菜地和果园的 0～300 cm 剖面原状土柱。每个采样点设置三个平行。采集的土样一部分用于速率培养，另一部分用于理化性质测定。正式

采样开始前 30 d 分别在稻田、菜地和果园埋设 3 个地下水采样井，每 3 天进行一次水样采集，每次连续采集 40 d 左右，收集好的地下水用作淹水培养的上覆水。

1.3 样品培养及指标测定

将稻田、菜地和果园的原状土柱分为 0 ~ 20、20 ~ 100、100 ~ 200 和 200 ~ 300 cm 四个层次进行培养，由于研究区地下水位常年高于 50 cm，所以将果园和菜地的 0 ~ 20 cm 土柱设置为好氧培养组，其余设置为淹水培养组。好氧培养组和淹水培养组均采用鲜土培养。

好氧培养组使用 RoFlow 系统进行培养并测定反硝化速率。培养过程产生的 N_2 和 N_2O 由检测系统实时检测。培养装置设有 16 个罐体，每个罐体的出口依次连接至气相色谱仪，装入 1 kg 原状土柱后进行气体置换，此后 16 个罐体每 3.5 h 依次完成一次检测，培养 24 h 左右，取 5 次检测的平均浓度（此时罐体内气体浓度趋于稳定），以 24 h 为培养时间计算 N_2 和 N_2O 的产生速率。

淹水培养组的土壤参考 N_2：Ar 法[21]，使用上述各层混匀的土壤，采用 Flow-through 培养装置进行培养。将各层混匀的鲜土分别称 1 kg 装填到底部用橡胶塞密封的培养柱中，加入采集好的原位地下水作为培养用的上覆水，预培养 15 h，通过控制进出水管处的止水夹取样，取满水样后，用移液枪加入 200 μL 7 mol·L^{-1} $ZnCl_2$ 后拧紧瓶盖，分别在 0、2、4、6 和 8 h 进行取样，使用 MIMS（Bay Instruments，Easton，MD，美国）测定水样中溶解的 N_2，将该结果与取样时间做线性回归，以斜率作为 N_2 产生速率。

1.4 数据处理

剖面各土层硝酸盐去除率（RV）按照以下公式计算：

$$\mathrm{RV}(\%) = \frac{r_a \times 365 \times 24 \times M \times 10^{-6}}{Re_a + r_a \times 365 \times 24 \times M \times 10^{-6} + le \times fe} \times 100$$

式中，r_a 表示各土层时间尺度上反硝化速率的均值，nmol·g^{-1}·h^{-1}；Re_a 表示各土层时间尺度上硝态氮残留量的均值，mg·kg^{-1}；M 表示 N 的摩尔质量，g·mol^{-1}；le 表示各种植模式下的氮淋溶率，%；fe 表示各种植模式下的施氮量，kg·hm^{-2}。其中 le 参考相关文献选取稻田为 7%[22]，菜地为 19.7%[23]，果园为 20.5%[24]。由于土壤具有非均质性，采样点和采样时间的不同可能导致土壤理化性质和反硝化速率的异质性，所以在相关性分析前采用 Cook 距离诊断分析中的异常数据并剔除，采用 Spearman 相关对土壤理化性质和反硝化速率进行分析，用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行数据分析，利用 Origin 2023 软件进行制图。

2 结果与讨论

2.1 土壤理化性质时空变化规律

三种种植模式下土壤 pH 在 6.2 ~ 8.1 范围内，总体上呈现中性，表层土壤呈现弱酸性，深层土壤呈现弱碱性。稻季淹水处理使稻田土壤质量含水率（31.6% ~ 42.7%）略高于菜地（25.7% ~ 39.2%）和果园（30.1% ~ 49.9%）。土壤中 DOC 平均含量为稻田 24.2 mg·kg^{-1}、菜地 21.5 mg·kg^{-1}、果园 22.9 mg·kg^{-1}，在剖面尺度上表现为表层含量最高，除表层外随深度增加逐渐累积的趋势（表 1）。Lan 等[25]的研究结果表明，相较于酸性稻田土壤，中性和碱性稻田土壤更有利于反硝化的发生。通常，DOC 的缺乏是限制土壤反硝化作用的关键因素[26]。其中 Qin 等[7]的研究表明，添加富含 DOC 的液体到土壤中可以显著提高华北平原冬小麦和夏玉米的年度双季轮作地的剖面反硝化作用，在添加三周后，200 cm 处剖面中累积的硝酸盐去除了 70%。研究表明，华北平原深层土壤的作用受到 DOC 限制，表层土壤中

DOC 约 40 ~ 300 mg·kg^{-1}，深层显著降低到 10 mg·kg^{-1} 以下[14]。而在本实验中，三种种植模式下的土壤剖面中 DOC 的含量均相对较高（10.0 ~ 86.2 mg·kg^{-1}），可以为反硝化微生物提供充足的碳源和能源，接近中性的 pH 条件和良好的淹水条件也有利于反硝化，为剖面 NO_3^--N 的消纳作用提供了良好的条件。

表 1 不同剖面深度土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of soil along different profile depths

种植模式 Planting pattern	深度 Depth/ cm	硝态氮 NO_3^--N/ (mg·kg^{-1})	铵态氮 NH_4^+-N/ (mg·kg^{-1})	溶解性有机碳 DOC/ (mg·kg^{-1})	pH	含水率 Moisture/ %
稻田 Paddy field	0 ~ 20	8.4±1.6a	2.4±1.0b	28.9±7.8a	6.2±2.4b	42.7±2.0a
	20 ~ 100	1.2±0.5b	2.6±0.2b	15.0±2.8b	7.0±2.7a	31.6±3.0b
	100 ~ 200	0.5±0.1b	5.4±1.1ab	26.8±1.2a	7.2±2.8a	46.8±3.1a
	200 ~ 300	0.6±0.2b	7.8±1.0a	25.9±2.3a	7.1±2.8a	38.5±6.1ab
	均值 Average	2.7±0.7B	4.6±0.4A	24.2±3.5A	6.9±2.6B	39.9±2.6A
菜地 Vegetable field	0 ~ 20	92.0±14a	9.8±1.9a	46.1±13.7a	6.5±2.6c	25.7±0.5c
	20 ~ 100	8.1±0.3b	1.8±1.2a	11.0±1.30b	7.4±2.8b	33.3±2.9b
	100 ~ 200	5.8±0.5b	2.7±1.0a	10.5±1.8b	7.9±3.0a	37.4±1.2ab
	200 ~ 300	0.5±0.1b	3.5±1.1a	18.3±4.3b	8.1±3.1a	39.2±0.5a
	均值 Average	26.6±6.9A	4.4±0.8A	21.5±6.7A	7.5±2.9A	33.9±1.3B
果园 Orchard	0 ~ 20	102.1±10.4a	6.0±0.6a	49.8±5.6a	6.8±2.6b	33.3±0.5c
	20 ~ 100	34.0±2.6b	1.6±0.6a	15.4±3.4b	7.7±2.9a	30.1±0.6d
	100 ~ 200	5.0±0.6b	1.8±0.8a	10.0±1.2b	8.0±3.1a	39.6±0.9b
	200 ~ 300	0.5±0.1b	3.8±1.2a	16.4±1.9b	8.0±0.4a	49.9±7.4a
	均值 Average	35.4±4.7A	3.3±0.4A	22.9±2.6A	7.6±2.9A	38.2±3.6AB

注：表中数据为全年不同种植模式下各土层的平均值±标准误差。表中同列数据不同小写字母表示相同种植模式下不同土层间及不同种植模式土层均值间的差异显著（$P < 0.05$）；不同大写字母表示不同种植模式下均值的差异显著（$P < 0.05$）。Note: The data in the table are the average ± standard error of each soil layer under different planting patterns throughout the year. Different lowercase letters within the data in the same column indicate the differences among different soil layers are significant at 0.05 level; Different uppercase letters with the data indicate the differences among different planting patterns are significant at 0.05 level.

NO_3^--N 和 NH_4^+-N 均呈现出明显的时空异质性。在时间尺度上，果园（9.7 ~ 66.0 mg·kg^{-1}）和菜地（7.7 ~ 55.8 mg·kg^{-1}）NO_3^--N 变化较大，而稻田（0.3 ~ 9.2 mg·kg^{-1}）变化相对较小。具体来说，从 10 月到次年 9 月，果园的 NO_3^--N 呈现先升高再降低的趋势，3 月份基肥施用后最高，表土 NO_3^--N 含量为 225.2 mg·kg^{-1}。菜地的 NO_3^--N 呈现夏冬低春秋高的趋势，含量最高出现在 5 月，表土 NO_3^--N 含量为 191.8 mg·kg^{-1}。果园 7 月表土含量相对较低但 20 ~ 100 cm 处含量较高，这是由于对葡萄地多次大量灌水进行催果，导致大量 NO_3^--N 在没有被植物吸收和反硝化作用去除时向下淋溶累积。Huang 等[27]的研究结果也表明，葡萄园大量灌水会导致 NO_3^--N 在剖面上的累积层下移，与对照组相比，灌水 48 h 后累积层由 20 cm 转变为 100 cm。稻田的 NO_3^--N 在 3 月施用分蘖肥后含量最高，表土含量为 34.8 mg·kg^{-1}。总体上，在集中施肥后，土壤表层的 NO_3^--N 含量升高，这一现象在菜地和

果园中较为明显。在剖面尺度上，三种种植模式下 NO_3^--N 在表层的含量远大于深层，随着深度增加 NO_3^--N 含量逐渐降低，在 100 ~ 200 cm 处均低于 10.0 mg·kg^{-1}，300 cm 处几乎没有 NO_3^--N 残留（图 1）。这与太湖农区的研究结果一致[4]。与华北平原的研究结果相比，在同样为高施氮量（大于 500 kg·hm^{-2}）的情况下，南方农区的深层剖面累积量（小于 2 mg·kg^{-1}）低于华北平原（12 ~ 60 mg·kg^{-1}）[14]。

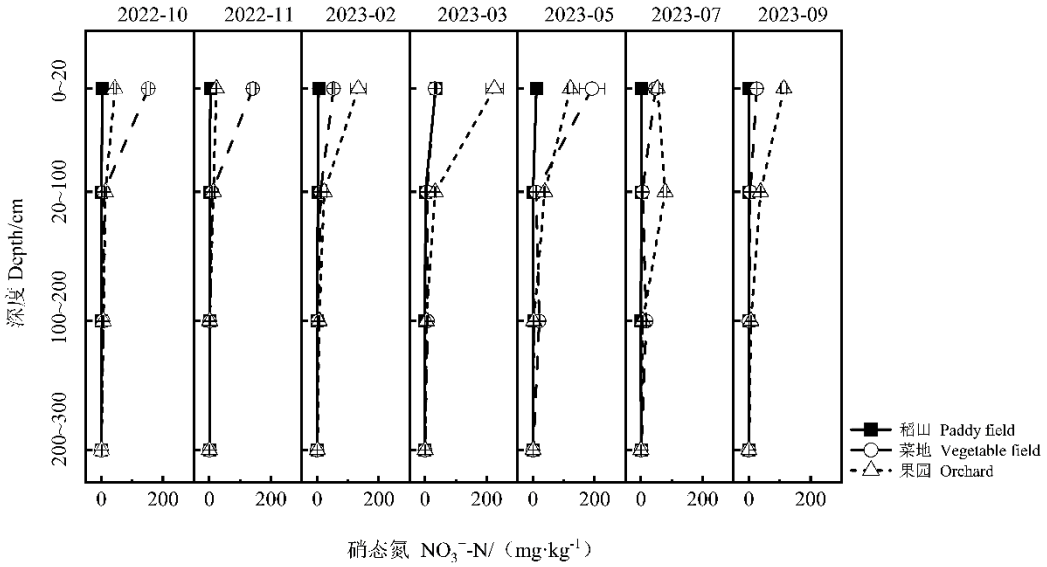


图 1 不同种植模式下土壤中硝态氮的剖面（0 ~ 300 cm）和季节性变化特征
Fig. 1 Seasonal characteristics of nitrate across soil profile (0 ~ 300 cm) among different planting patterns

在时间尺度上，菜地和果园的 NH_4^+-N 含量变化较大，而稻田变化小。从冬季到次年秋季，三种种植模式下土壤表层变化较大，深层变化较小。菜地和果园 NH_4^+-N 表土含量都呈现春秋季高、夏冬季低的特点，菜地 10 月含量最高，表土含量为 48.6 mg·kg^{-1}，果园 3 月含量最高，表土含量为 24.8 mg·kg^{-1}。稻田表土含量最高发生在 7 月（4.7 mg·kg^{-1}）和 11 月（4.7 mg·kg^{-1}），分别为稻季和麦季开始进行集中施肥的时间。在空间尺度上，果园和菜地表层含量略高（大于 6.0 mg·kg^{-1}），表层以下随深度增加逐渐累积（1.6 ~ 3.8 mg·kg^{-1}），稻田则从表层到深层逐渐累积（2.4 ~ 7.8 mg·kg^{-1}）。已有研究表明，青藏高原地区表土中的 NH_4^+-N 含量为 1.76 mg·kg^{-1} [13]，玛纳斯河流域灌区棉田土壤中的 NH_4^+-N 约 10 mg·kg^{-1} [28]，许祥富等[29]的研究表明，施用尿素可显著增加 0 ~ 40 cm 土壤中 NH_4^+-N 的含量，大量施肥后 30d 内，表层土壤中的 NH_4^+-N 含量与对照组相比增加了 10 倍，这与本实验的研究结果类似。

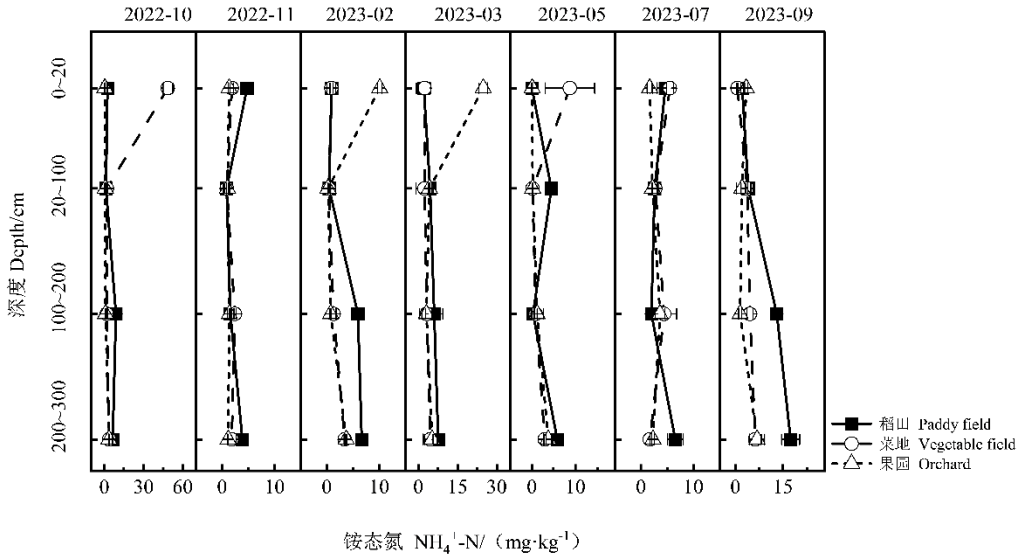


图 2 不同种植模式土壤中铵态氮的剖面（0 ~ 300 cm）和季节性变化特征
Fig. 2 Seasonal characteristics of ammonium across soil profile (0~300 cm) among different planting patterns

2.2 土壤反硝化速率时空变化规律

施肥、灌溉和翻耕等农业管理措施在时间和空间上均会对土壤的理化性质产生影响，反硝化速率受到土壤氧气有效性、温度、湿度和 NO_3^--N 浓度之间相互作用的驱动[30]，导致土壤在时间尺度和空间尺度上均可能存在有反硝化作用的“热时”和“热区”[31]。整体上三个种植模式下，菜地反硝化速率（4.3 nmol·g^{-1}·h^{-1}）大于果园（3.9 nmol·g^{-1}·h^{-1}）和稻田（2.1 nmol·g^{-1}·h^{-1}）。

稻田在 10 月出现了明显的反硝化“热时”，反硝化速率达到 17.6 nmol·g^{-1}·h^{-1}，这一时期处于水稻的拔节孕穗和灌浆施肥期，土壤处于嫌气状态且有大量的外源 NO_3^--N 投入，良好的淹水条件和高浓度反硝化底物有利于反硝化作用。菜地和果园淹水的上层土壤（20 ~ 100 cm）在 3 月时出现了反硝化“热时”，果园（45.3 nmol·g^{-1}·h^{-1}）略高于菜地（44.2 nmol·g^{-1}·h^{-1}），这时处于冬季休闲结束，农民通过大量施肥和灌水进行肥地。此前也有研究表明，蔬菜地在基础施肥后的生长季节开始时和作物氮吸收较低的时期反硝化速率最高，生长季节第一个月的反硝化活性相当于累积季节反硝化的 60% ~ 77%[32]。灌溉导致土壤含水量增加从而产生更多的厌氧微位点，进而刺激反硝化活性，Zhang 等[33]的研究表明，菜地中的高反硝化中间产物 N_2O 排放率主要是由于频繁施肥和高氮施用或灌溉造成的，总 N_2O 排放量与氮施用率之间存在显著正相关关系（$P < 0.01$）。

稻田的反硝化“热区”在表土（0 ~ 20 cm），平均反硝化速率为 3.4 nmol·g^{-1}·h^{-1}，菜地和果园的反硝化“热区”在 20 ~ 100 cm 处，平均反硝化速率分别为 11.7 nmol·g^{-1}·h^{-1} 和 9.4 nmol·g^{-1}·h^{-1}（图 3）。该地区的地下水水位常年在 20 ~ 60 cm 范围内波动，使得稻田表土及菜地和果园的 20 ~ 100 cm 土壤剖面中存在频繁的干湿交替过程，干旱后的再湿润会增加硝酸盐还原基因的丰度并提高硝酸盐还原酶的活性[34]，且在干湿交替条件下会促进微生物硝化-反硝化耦合活性提高[35]，从而有利于反硝化“热区”的产生。

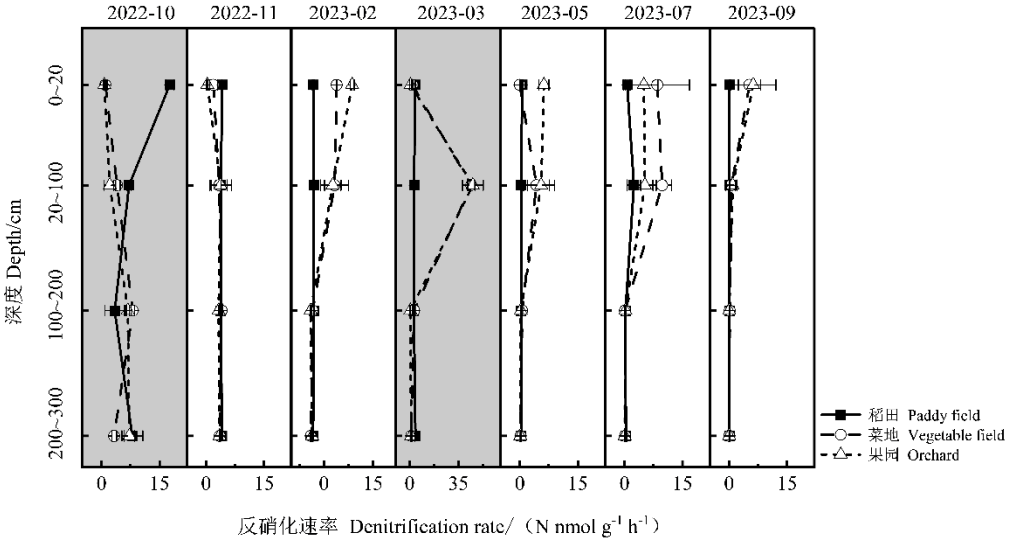
稻田反硝化速率（1.1 ~ 3.4 nmol·g^{-1}·h^{-1}）在剖面上呈现随深度增加逐渐降低的趋势，菜地（0.6 ~ 11.7 nmol·g^{-1}·h^{-1}）和果园（1.0 ~ 9.4 nmol·g^{-1}·h^{-1}）均呈现随深度增加先升高再降低的趋势。Yuan 等[14]在华北平原的研究结果显示，反硝化在表层土（0 ~ 40 cm）中始终最大，并随着土壤深度的增加而降低，年施氮量为 600 kg·hm^{-2} 处理下，表土反硝化总平均

值为 2.3 μg·g^{-1}·d^{-1}，0 ~ 400 cm 反硝化在 0.5 ~ 3.5 μg·g^{-1}·d^{-1} 范围内。太湖农区的研究结果显示，在 0 ~ 400 cm 剖面中，反硝化速率的范围在 0.2 ~ 1.0 μg·g^{-1}·d^{-1}，且随土壤深度的增加而降低[4]。经换算，本文的研究结果与华北平原反硝化速率相近，但高于太湖农区的研究结果。由于 Yuan 等[14]有关华北平原的实验结果仅能代表反硝化潜势，存在一定程度高估，南方农区剖面中实际的反硝化速率可能高于华北平原。太湖农区的研究结果[4]采样时间为 5 月，处在反硝化速率较低的时期，且菜地和果园全部采用淹水培养，导致反硝化“热区”都在表土。

深层土壤中存在 NH_4^+-N 的累积现象，但连纲等[36]的研究结果表明 NH_4^+-N 在土壤中的淋洗量很小，仅占施肥量的 0.008% ~ 0.074%，所以推测深层土壤中可能存在硝酸盐异化还原过程（Dissimilatory nitrate reduction to ammonium，DNRA）。研究表明，电子供体（可利用性碳）与受体的比例是反硝化和 DNRA 之间 NO_3^--N 还原分配的一个重要因素，当电子受体有限时，高的 C/NO_3^--N 比率有利于 DNRA 过程的发生[37]。本研究中，深层土壤具有较低的 NO_3^--N、较高的溶解性有机碳，且处于厌氧状态，有利于 DNRA 过程的发生，因此在深层土壤剖面中可能存在 DNRA 过程的反应“热区”。

表层土壤 NO_3^--N 含量较高，可能会抑制 N_2O 的还原[38]，因此在评估表土反硝化能力时，N_2O 产生量不应该被忽视。本研究观测了菜地和果园的 0 ~ 20 cm 土层中 N_2O 的排放速率，前五次采样的研究结果表明，N_2O 在菜地 0 ~ 20 cm 土层中的平均排放速率约 0.27 nmol·g^{-1}·h^{-1}，约占 N_2O 和 N_2 总排放量的 26.8%；在果园 0 ~ 20 cm 土层中的平均排放速率约 0.62 nmol·g^{-1}·h^{-1}，约占 N_2O 和 N_2 总排放的 29.0%。上述研究结果表明，菜地和果园 0 ~ 20 cm 土层中 N_2O 的产生也对硝态氮的去除具有一定贡献。研究表明[39]，稻田的长期淹水环境会抑制 N_2O 的排放，但干湿交替可能会促进 N_2O 产生，本研究未检测淹水组的 N_2O 产生速率，这可能导致淹水组的反硝化速率存在一定低估。

总体上，反硝化“热时”与农业施肥和灌溉时期一致，此时“热区”的反硝化活性较强，可以在较短时间内去除大量投入的外源氮，降低了淋溶风险。虽然深层土壤中的反硝化速率相对较低，但对淋溶硝态氮的去除量也十分可观。即使在非反硝化“热区”，土壤中仍有 0.97 ~ 4.38 nmol·g^{-1}·h^{-1} 的反硝化速率，能够持续消纳土壤中残留的 NO_3^--N。



注：灰色背景代表该月存在反硝化作用“热时”。Note: The grey background represents the hot moments of denitrification.

图 3 不同种植模式土壤反硝化速率随剖面（0 ~ 300 cm）的季节性变化特征

Fig. 3 Seasonal characteristics of denitrification rates across soil profile (0~300 cm) among different planting patterns

2.3 剖面土壤硝态氮消纳能力及影响因素

整体上三个种植模式下，在不考虑植物吸收和径流损失的情况下，稻田土壤的 NO_3^--N 去除率最高，在表土中去除率约 85.6%，深层土壤剖面 NO_3^--N 去除率在 96%以上，菜地土壤的 NO_3^--N 在表土中去除率约为 68.1%，在反硝化“热区”去除率可达到 98.8%（图 4）。果园土壤的 NO_3^--N 在表土中去除率为 77.9%，在反硝化“热区”去除率可达到 95.3%。以目前的施肥量来看，NO_3^--N 在 0 ~ 300 cm 剖面上几乎能被全部消纳，不会污染地下水，NO_3^--N 地表径流造成污染风险的可能性比淋溶造成风险的可能性大。相关研究[32]也表明，南方农田稻季总淋洗量仅占施肥量的 1.4% ~ 2.8%，麦季地表径流氮损失通常更多，且以 NO_3^--N 为主，占施肥量的 38% ~ 67%[40]。河北地区菜地中的氮素损失以 NO_3^--N 为主，据研究数据估算，地表径流损失约占总损失量的 86%，且施肥量和径流量越大，氮素损失比率越高[41]。

相关性分析结果表明，剖面 NO_3^--N 含量和反硝化速率呈现显著的正相关关系（$r = 0.39$，$P < 0.001$），其他因子和反硝化速率没有相关关系，这表明在本实验中 pH、DOC 和 NH_4^+-N 不是限制剖面反硝化作用的关键因子，NO_3^--N 含量是限制该地区农田反硝化速率的关键因子。Yuan 等[14]的研究表明，高施氮情况下，反硝化在剖面上主要受 DOC 控制（$R^2 = 0.79$，$P < 0.001$）。根据 Brye 等[42]所描述的理想化反硝化反应方程，反硝化消耗的 C∶N 质量比为 12∶14。假设深层土壤中的 DOC 全部可以被微生物利用，此时深层土壤中的 C∶N 可以支撑全部 NO_3^--N 被转化，与华北平原不同，南方农田剖面反硝化并不受 DOC 限制。

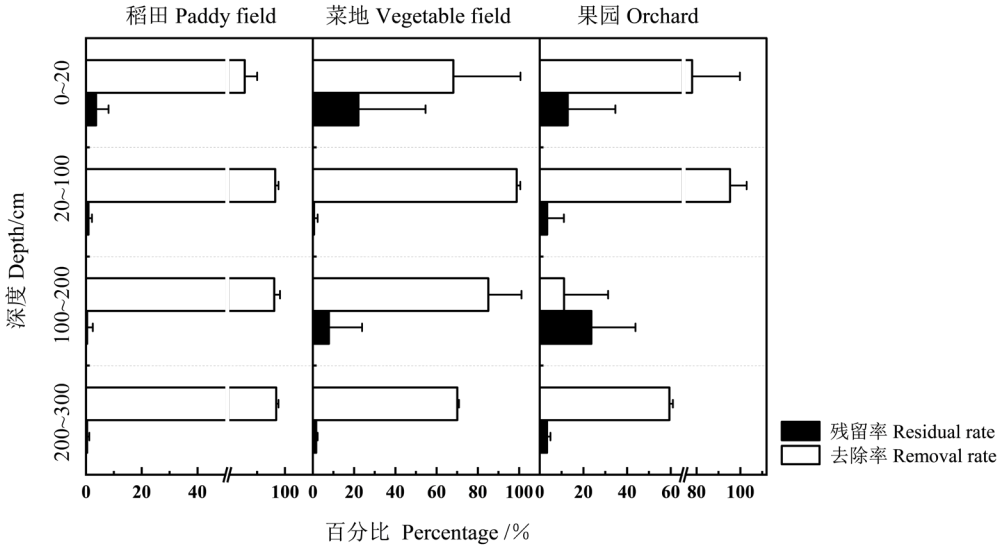


图 4 不同种植模式下土壤剖面硝态氮的去除率

Fig. 4 Nitrate removal percentage across soil profile under different planting patterns

3 结 论

南方农田三种种植模式下土壤剖面均具有较强的反硝化能力，稻田、菜地和果园土壤剖面的年平均反硝化速率分别为 2.1 $nmol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$、4.3 $nmol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ 和 3.9 $nmol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$。三种

种植模式下的土壤剖面反硝化速率均存在明显的“热时”和“热区”，其中稻田土壤反硝化“热时”主要发生在 10 月，“热区”主要发生在 0 ~ 20 cm 处；而菜地和果园反硝化的“热时”主要发生在 3 月，“热区”主要发生在 20 ~ 100 cm 处。相关性分析结果表明，土壤 NO_3^--N 含量是三种种植模式下剖面土壤反硝化过程的主要限制因子。反硝化过程发生的“热时”和“热区”能有效去除三种种植模式下土壤剖面的硝态氮，三种种植模式下土壤剖面无明显 NO_3^--N 残留。除反硝化过程外，厌氧氨氧化、硝酸根氨化和硝酸根同化也会消耗土壤 NO_3^--N，未来应关注这些过程对剖面土壤 NO_3^--N 去除的贡献。

致　谢　感谢中国科学院南京土壤研究所苗茜同学在样品采集与培养过程中给予的帮助。

参考文献（References）

[1] Zhou J Y, Gu B J, Schlesinger W H, et al. Significant accumulation of nitrate in Chinese semi-humid croplands[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 25088.

[2] Wu H Y, Song X D, Zhao X R, et al. Accumulation of nitrate and dissolved organic nitrogen at depth in a red soil Critical Zone[J]. Geoderma, 2019, 337: 1175-1185.

[3] Cui S H, Shi Y L, Groffman P M, et al. Centennial-scale analysis of the creation and fate of reactive nitrogen in China (1910-2010)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(6): 2052-2057.

[4] 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.]

[5] Chen S M, Wang F H, Zhang Y M, et al. Organic carbon availability limiting microbial denitrification in the deep vadose zone[J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(3): 980-992.

[6] Béraud C, Piola F, Gervaix J, et al. Biological denitrification inhibition (BDI) on nine contrasting soils: An unexpected link with the initial soil denitrifying community[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2024, 188: 109188.

[7] Qin S P, Hu C S, Clough T J, et al. Irrigation of DOC-rich liquid promotes potential denitrification rate and decreases $N_2O/(N_2O+N_2)$ product ratio in a 0–2 m soil profile[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 106: 1-8.

[8] Čuhel J, Šimek M. Proximal and distal control by pH of denitrification rate in a pasture soil[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2011, 141(1/2): 230-233.

[9] Šimek M, Jíšová L, Hopkins D W. What is the so-called optimum pH for denitrification in soil?[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(9): 1227-1234.

[10] Li Z L, Tang Z, Song Z P, et al. Variations and controlling factors of soil denitrification rate[J]. Global Change Biology, 2022, 28(6): 2133-2145.

[11] Wang Y, Hu C S. Research advances on community structure and function of denitrifiers[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2010, 18(6): 1378-1384. [王莹, 胡春胜. 环境中的反硝化微生物种群结构和功能研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(6): 1378-1384.]

[12] Hu J, Liao X L, Vardanyan L G, et al. Duration and frequency of drainage and flooding events interactively affect soil biogeochemistry and N flux in subtropical peat soils[J]. Science of the Total Environment, 2020, 727: 138740.

[13] Zhou L L, Liu M J, Li M J, et al. Effects on ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in rhizosphere soil of highland barley under different fertilization treatments[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(30): 85-90. [周兰兰, 刘梅金, 李明军, 等. 不同施肥处理对青稞根际土壤铵态氮和硝态氮的影响[J]. 中国农学通报, 2022,

38(30): 85-90.]

[14] Yuan H J, Qin S P, Dong W X, et al. Denitrification rate and controlling factors for accumulated nitrate in the deep subsoil of intensive farmlands: A case study in the North China Plain[J]. Pedosphere, 2019, 29(4): 516-526.

[15] Murakami T, Kumazawa K. Measurement of denitrification products in soil by the acetylene inhibition method[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1987, 33(2): 225-234.

[16] Xuan Y X, Mai Y W, Xu Y Q, et al. Enhanced microbial nitrification-denitrification processes in a subtropical metropolitan river network[J]. Water Research, 2022, 222: 118857.

[17] Lin X B, Lu K J, Hardison A K, et al. Membrane inlet mass spectrometry method (REOX/MIMS) to measure ^{15}N-nitrate in isotope-enrichment experiments[J]. Ecological Indicators, 2021, 126: 107639.

[18] Qin S P, Hu C S, Oenema O. Quantifying the underestimation of soil denitrification potential as determined by the acetylene inhibition method[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2012, 47: 14-17.

[19] Molstad L, Dörsch P, Bakken L R. Robotized incubation system for monitoring gases (O_2, NO, N_2O, N_2) in denitrifying cultures[J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 71(3): 202-211.

[20] Qin S P, Clough T, Luo J F, et al. Perturbation-free measurement of in situ di-nitrogen emissions from denitrification in nitrate-rich aquatic ecosystems[J]. Water Research, 2017, 109: 94-101.

[21] Li X B, Xia Y Q, Lang M, et al. N_2: Ar technique for direct determination of denitrification rate of aquatic ecosystems using membrane inlet mass spectrometry[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(6): 1284-1288. [李晓波, 夏永秋, 郎漫, 等. N_2：Ar 法直接测定淹水环境反硝化产物 N_2 的产生速率[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(6): 1284-1288.]

[22] Tian Y H, Yin B, Yang L Z, et al. Nitrogen runoff and leaching losses during rice-wheat rotations in Taihu Lake region, China[J]. Pedosphere, 2007, 17(4): 445-456.

[23] Min J, Zhang H L, Shi W M. Optimizing nitrogen input to reduce nitrate leaching loss in greenhouse vegetable production[J]. Agricultural Water Management, 2012, 111: 53-59.

[24] Yang G, Wang Y, Wang S Q, et al. Legume cover with optimal nitrogen management and nitrification inhibitor enhanced net ecosystem economic benefits of peach orchard[J]. Science of the Total Environment, 2023, 873: 162141.

[25] Lan T, Han Y, Cai Z C. Denitrification and its product composition in typical Chinese paddy soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 51(1): 89-98.

[26] McCarty G W, Bremner J M. Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoils[J]. Biology and Fertility of Soils, 1992, 14(3): 219-222.

[27] Huang L B, Levintal E, Erikson C B, et al. Molecular and dual-isotopic profiling of the microbial controls on nitrogen leaching in agricultural soils under managed aquifer recharge[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(30): 11084-11095.

[28] Shi X, Li Y H, Li F D. Variation characteristics and influencing factors of soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in cotton fields in different irrigation districts of Manas River Basin[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2021, 60(6): 80-90. [石轩, 李艳红, 李发东. 玛纳斯河流域不同灌区棉田土壤铵态氮和硝态氮变化特征及影响因素[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2021, 60(6): 80-90.]

[29] Xu X F, Lin Z M, Lin Q H, et al. Effect of different nitrogen fertilizer levels on vertical distribution of NH_4^+-N and NO_3^-N in rubber plantation soil[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2009, 29(5): 6-11. [许祥富, 林钊沐, 林清火, 等. 施氮量对橡胶园土壤铵态氮和硝态氮垂直分布的影响[J]. 热带农业科学, 2009, 29(5): 6-11.]

[30] Wallenstein M D, Myrold D D, Firestone M, et al. Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: Insights from molecular methods[J]. Ecological Applications, 2006, 16: 2143-2152.

[31] Anthony T L, Silver W L. Hot spots and hot moments of greenhouse gas emissions in agricultural peatlands[J].

Biogeochemistry, 2024, 167: 461–477.

[32] Qasim W, Zhao Y M, Wan L, et al. The potential importance of soil denitrification as a major N loss pathway in intensive greenhouse vegetable production systems[J]. Plant and Soil, 2022, 471(1): 157-174.

[33] Zhang J, Li H, Wang Y C, et al. Multiple-year nitrous oxide emissions from a greenhouse vegetable field in China: Effects of nitrogen management[J]. Science of the Total Environment, 2018, 616/617: 1139-1148.

[34] Wu Q Y, Tang Y H, Chen R Y, et al. Metabolism characteristics of nitrogen functional microorganisms in bioretention system under multiple dry-wet alternation[J]. Journal of Water Process Engineering, 2023, 53: 103685.

[35] Carrasco D, Fernández-Valiente E, Ariosa Y, et al. Measurement of coupled nitrification-denitrification in paddy fields affected by Terrazole, a nitrification inhibitor[J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 39(3): 186-192.

[36] Lian G, Wang D J, Lin J H, et al. Characteristics of nutrient leaching from paddy field in Taihu Lake area[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(11): 1879-1883. [连纲, 王德建, 林静慧, 等. 太湖地区稻田土壤养分淋洗特征[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11): 1879-1883.]

[37] Tiedje J M, Sexstone A J, Myrold D D, et al. Denitrification: Ecological niches, competition and survival[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1983, 48: 569-583.

[38] Qin S P, Ding K R, Clough T J, et al. Temporal in situ dynamics of N_2O reductase activity as affected by nitrogen fertilization and implications for the $N_2O/(N_2O+N_2)$ product ratio and N_2O mitigation[J]. Biology and Fertility of Soils, 2017, 53(7): 723-727.

[39] Senbayram M, Wei Z J, Wu D, et al. Inhibitory effect of high nitrate on N_2O reduction is offset by long moist spells in heavily N loaded arable soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2022, 58(1): 77-90.

[40] Ma B G, Guan R H, Liu L, et al. Nitrogen loss in vegetable field under the simulated rainfall experiments in Hebei, China[J]. Water, 2021, 13(4): 552.

[41] Cao Y S, Sun H F, Liu Y Q, et al. Reducing N losses through surface runoff from rice-wheat rotation by improving fertilizer management[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(5): 4841-4850.

[42] Brye K R, Norman J M, Bundy L G, et al. Nitrogen and carbon leaching in agroecosystems and their role in denitrification potential[J]. Journal of Environmental Quality, 2001, 30(1): 58-70.

（责任编辑：卢 萍）