

不同灌溉方式设施土壤 N_2O 排放特征及其影响因素

韩冰, 叶旭红, 张西超, 李文, 范庆锋, 邹洪涛, 张玉龙

(沈阳农业大学土地与环境学院, 农业部东北耕地保育重点实验室, 土壤肥料资源高效利用国家工程实验室, 沈阳 110866)

摘要: 为探明 3 种灌溉方式设施土壤 N_2O 排放特征及相关因素的影响, 通过田间试验与室内分析相结合的方法, 采用静态箱—气相色谱法与实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 技术分析不同灌溉方式 (滴灌 (D_{30})、渗灌 (S_{30})、沟灌 (G_{30})) 土壤 N_2O 排放特征的差异以及土壤温度、湿度、无机氮、反硝化细菌对土壤 N_2O 排放的影响。研究表明, 灌溉后 1~8 d 设施土壤会出现明显的 N_2O 排放高峰; 整个番茄生长季沟灌处理土壤 N_2O 平均排放通量最大, 分别较滴灌和渗灌处理高出 52.74% 和 50.82%; 与沟灌处理相比, 滴灌处理和渗灌处理土壤 N_2O 排放总量分别降低了 54.31% 和 53.30%。土壤 N_2O 排放与硝态氮含量 ($P < 0.05$), 土壤湿度呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 与土壤温度、铵态氮含量之间关系不显著。不同灌溉方式土壤反硝化细菌丰度差异显著, 表现为 $\text{G}_{30} > \text{S}_{30} > \text{D}_{30}$; 土壤 N_2O 排放与反硝化细菌 *nosZ* 丰度呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。综上, 土壤湿度、硝态氮、反硝化细菌 *nosZ* 是影响土壤 N_2O 排放的重要因素。与沟灌相比, 滴灌与渗灌能够减少设施土壤 N_2O 排放量。

关键词: 设施土壤; N_2O 排放; 反硝化细菌; 实时荧光定量

中图分类号: S154 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-2242(2016)05-0310-06

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2016.05.051

Characteristics of Soil Nitrous Oxide Emissions and Influence Factors under Different Irrigation Managements from Greenhouse Soil

HAN Bing, YE Xuhong, ZHANG Xichao, LI Wen, FAN Qingfeng, ZOU Hongtao, ZHANG Yulong

(College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, Northeast Key Laboratory of Conservation and Improvement of Cultivated Land (Shenyang), Ministry of Agriculture, National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, Shenyang 110866)

Abstract: Observation was performed during the period from April, 2015 to August, 2015 of N_2O emissions from long-term irrigation field under different irrigation managements; Drip irrigation (D_{30}), subsurface irrigation (S_{30}) and furrow irrigation (G_{30}) during the tomato season, using the static chamber-gas chromatograph method and Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) technique. In order to find the relationship between the N_2O emissions and impact factors, soil temperature, soil moisture, soil mineral nitrogen and soil denitrifying bacteria were observed in the meanwhile, which conducted by the combination of field experiments and laboratory analysis. Results showed that N_2O emission peaks would obviously occur within 1~8 days after each irrigation. In tomato growth season, soil N_2O mean fluxes was highest under furrow irrigation treatment, 52.74% higher than drip irrigation treatment and 50.82% higher than subsurface irrigation treatment; compared with furrow irrigation, the soil N_2O total fluxes significantly decreased by 54.31% and 53.30%. Soil N_2O emissions were very significant positive correlation with soil moisture ($P < 0.01$) and nitrate nitrogen concentration ($P < 0.05$). There was no consistent correlation between soil N_2O fluxes and soil temperature, soil ammonium nitrogen concentration. Abundances of soil denitrifying bacteria had significant difference under different irrigation managements, followed by $\text{G}_{30} > \text{S}_{30} > \text{D}_{30}$. Abundances of soil denitrifying bacteria *nosZ* were related to the soil N_2O emissions ($P < 0.01$). In conclusion, soil moisture, nitrate nitrogen, denitrifying bacteria *nosZ* were important factors that affected the soil N_2O emissions; choosing drip irrigation and subsurface irrigation could effectively reduce N_2O emissions from the greenhouse soil.

Keywords: greenhouse soil; nitrous oxide emissions; influence factors; denitrifying bacteria; Real-time PCR

收稿日期: 2016-05-09

资助项目: 国家自然科学基金(31572206); 辽宁省农业科技创新团队项目; 辽宁省农业领域青年科技创新人才培养计划项目(2015051); 农业部产地环境质量重点实验室开放课题资助

第一作者: 韩冰(1989—), 男, 硕士研究生, 主要从事农业环境保护方面研究。E-mail: hnb0128@sina.com

通信作者: 邹洪涛(1975—), 男, 博士, 教授, 主要从事农业环境保护与新型肥料研发方面研究。E-mail: zouhongtao2001@163.com

全球气候变暖是目前人类面临的主要环境问题之一。N₂O 是仅次于 CO₂ 和 CH₄ 的重要温室气体,其 100 a 尺度的增温潜势分别是 CO₂ 和 CH₄ 的 298 倍和 12 倍^[1]。农田土壤和热带土壤是全球 N₂O 的主要来源,反硝化作用、硝化作用、硝化微生物的反硝化作用以及硝酸盐异化还原成铵作用等微生物过程均能生成 N₂O,其中硝化作用与反硝化作用被认为是农田土壤释放 N₂O 的最重要途径^[2]。大量研究表明,驱动反硝化作用 4 个步骤的酶分别为硝酸根还原酶(nitrate reductases, NAR)、亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NIR)、一氧化氮还原酶(nitric oxide reductase, NOR)和氧化亚氮还原酶(nitrous oxide reductase, NOS)^[3]。反硝化菌属种类繁多,研究中一般以各种反硝化还原酶的编码基因为靶标,如 *nosZ*、*nirK*、*narG* 和 *cnorB* 等,对其进行系统的评价^[3-4]。目前已知的 N₂O 排放的影响因素主要有以下几个方面:土壤温度,含水量, pH, 有机质含量, 铵态氮与硝态氮含量。其中土壤含水量是影响 N₂O 排放的重要因素。目前,我国针对农业土壤 N₂O 排放的研究主要集中在水稻,小麦—玉米轮作、草地等大田作物,对设施蔬菜地的研究较少^[5-7]。随着我国农业产业结构的调整,设施蔬菜产业发展迅猛。2014 年我国设施蔬菜(含瓜类)面积达 386.5 万 hm²,全国设施蔬菜产量逾 2.6 亿 t^[8]。由于设施蔬菜地具有封闭性、灌溉频繁、复种指数高、氮肥施入量大等特点,其 N₂O 排放规律及其影响因素往往和大田作物有一定的差异。因此,明确设施蔬菜地土壤 N₂O 排放特征对相应减排措施的提出具有重要的意义。目前,滴灌、渗灌、沟灌是设施菜田较为常见的灌溉方式。不同的灌溉方式导致设施土壤水分运动方式,土壤环境,蔬菜产量、品质均有很大差异^[9]。但已有的设施蔬菜土壤 N₂O 排放的研究多集中在不同施肥及用量等方面^[10],对不同灌溉方式土壤 N₂O 排放的研究较少。因此,本研究以番茄为供试作物,研究滴灌、渗灌、沟灌 3 种灌溉方式对 N₂O 排放通量的影响,以期揭示 N₂O 排放的动态变化规律及其影响因素,为水资源的合理利用及 N₂O 减排提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验于 2015 年 4 月 19 日—2015 年 8 月 2 日在沈阳农业大学长期定位灌溉试验基地(于 2010 年开始)进行,供试作物为番茄。试验基地位于辽宁省沈阳市(41°49'N,123°33'E),该地区为温带半湿润大陆性气候,土壤类型为棕壤。基本理化性质如下:有机质含量 12.58 g/kg,全氮含量 1.47 g/kg,碱解氮含

量 61.26 mg/kg, pH 5.8。

1.2 试验设计

试验设置 3 个处理:滴灌(D₃₀)、渗灌(S₃₀)、沟灌(G₃₀),每个处理 3 次重复,随机区组设计,各小区面积为 20 m²。各灌溉处理的灌水控制上限和下限相同,分别为土壤水吸力 6 kPa 和 30 kPa。即理论上计划湿润层土壤水吸力达到 30 kPa 时开始灌水,灌到土壤水吸力 6 kPa 时灌水结束。由事先于供试温室

内计划湿润层土体所采集土样测得的土壤持水特征曲线,算出灌溉控制上限和下限土壤水吸力对应的土壤含水量,再用公式(2)计算小区单次灌水量。

$\theta=0.5212[1+(6.3824h)^{11.5005}]^{-0.0094}$ (1)

式中: θ 为土壤体积含水量(cm³/cm³); h 为土壤水吸力(kPa)。

$Q=(\theta_2-\theta_1)\times H\times R\times S$ (2)

式中: Q 为小区单次灌水量(m³); H 为计划湿润层厚度(cm); R 为计划湿润比,即计划湿润层土壤中灌水后实际湿润体积占总体积的比例,为一无量纲的小数; θ_2 和 θ_1 分别为灌水控制上限、下限土壤水吸力值所对应的土壤体积含水量(cm³/cm³)。

表 1 不同灌溉方法试验设计

处理	灌水控制下限		湿润比	单次灌水量/ (m ³ ·hm ⁻²)
	土壤水吸力/ kPa	体积含水量/ (cm ³ ·cm ⁻³)		
G ₃₀	30	0.2953	1.00	168.37
D ₃₀	30	0.2953	0.50	84.19
S ₃₀	30	0.2953	0.33	55.56

根据本试验具体条件, H 取值为 30 cm,小区面积 S 为 20 m²。由于 3 种灌溉方法的湿润方式不同,沟灌灌水后计划湿润层得到全面湿润,渗灌和滴灌均为局部湿润,且渗灌出水孔在地下作物根系周围,节水效果更强,故将沟灌、滴灌和渗灌 3 种灌水方法的湿润比分别设定为 1.00,0.50,0.33。据此算得的 3 种灌溉方法的单次灌水量见表 1。为防止试验过程中水分相互渗透,各小区之间用埋深 60 cm 的塑料薄膜相隔。滴灌带铺放在地表,出水孔放置在番茄植株附近(距植株约 10 cm)。渗灌管埋深 30 cm,管下铺设塑料薄膜以防止水分下渗。渗灌管上铺设 1 cm 厚锯末做过滤层,以防泥土进入而堵塞渗灌管管壁上的渗水孔。同时,每个小区在 20 cm 深度处理设张力计(澳大利亚 ICT 公司生产),用来指示灌溉。试验过程中,每天上午 8:00 观测并记录张力计读数,当各处理土壤水吸力值一旦达到或超出所设定的灌水控制下限土壤水吸力值时开始灌水。当灌水与采气冲突时,采取先采气后灌水的原则。

1.3 肥料施用

各处理的基肥种类和用量一致。整地时撒施腐

熟的牛粪(1.84% N)和膨化鸡粪(3.13% N),施用量分别为 22.5 t/hm² 和 37.5 t/hm²。定植时,施用尿素、磷酸二铵和硫酸钾,施用方式均为沟施,施用量分别为 0.15、0.6、0.6 t/hm²。于 6 月 9 日和 7 月 7 日随各灌溉方式追肥尿素两次,施用量均为 0.15 t/hm²。田间管理同当地。

1.4 样品的采集与测定

1.4.1 气体样品采集与测定 N₂O 采集与分析采用静态箱—气相色谱法。采样箱箱体为 50 cm×50 cm×60 cm 的长方体,内部装有搅拌空气的小风扇,保证箱体内气体均匀。箱体上部安装温度计,用于测定箱内温度。待番茄植株生长至超过 60 cm,增加采样箱来保证取样的顺利进行。底座(50 cm×50 cm×25 cm)于定植时将其埋入地下。为了保证小区内土壤 N₂O 排放量尽可能均匀,各小区采样箱均放置在小区中央位置,罩住一棵番茄苗,且灌水时尽可能保证每个小区水压基本一致。采样时,将箱体置于底座上,用水密封。用注射器抽取每隔一定时间间隔(分别在罩箱后第 0、5、10、15、20 min 时)抽取 40 mL 气体于气袋中,带回实验室测定。气体样品采集自水分处理后一天开始,前两次测气时间间隔为一周,而后由于灌水频繁,频率为每周 2 次,时间分别为每周三、周日上午 8:00—10:00。采集气体样品的同时用曲管地温计测定 5 cm 深度土壤温度。

气袋中的样品用气相色谱仪分析,采用电子捕获测器(ECD)分析 N₂O 的浓度,根据气体浓度随时间的变化速率计算气体排放通量。所测气体的排放通量(*F*)的计算公式为:

$$F=\rho H\frac{dc}{dt}\frac{273}{273+TP_0}\frac{P}{P_0}$$

式中:*F* 为气体的排放通量(mg N₂O/(m²·h)); ρ 为

标准大气压下 N₂O 的密度(g/L);*H* 为采样箱气室高度(cm);*T* 为采样箱内气温(℃);*P* 为采样时气压(mmHg);*P*₀ 为标准大气压(mmHg);*dc/dt* 为采样箱内 N₂O 浓度的变化速率(μ l/(L·min))。

1.4.2 土壤样品采集与测定 土壤样品采集分别在番茄生长过程中(与采气同时)和番茄收获后。各处理每个小区随机选取 5 个取样点,采集 0—20 cm 耕层土,均匀混合备用,土样每 2 周取土一次。测定土壤含水量、容重、铵态氮、硝态氮。番茄收获后,各处理每个小区用土钻取耕层土,用于提取土壤 DNA 以及实时荧光定量 PCR 分析。土壤含水量采用烘干法测定;土壤容重采用环刀法测定;土壤铵态氮、硝态氮采用 AA3 流动分析仪测定。根据土壤含水量和土壤容重换算成土壤含水孔隙率(WFPS),公式为:

$$\begin{aligned}WFPS&= \text{土壤体积含水量} / \text{土壤孔隙度} \\ \text{土壤孔隙度}&= 1 - (\text{土壤容重} / 2.65) .\end{aligned}$$

1.5 土壤总 DNA 提取与实时荧光定量 PCR 分析

采用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals,Santa Ana,CA)试剂盒,称取 0.5 g 土壤样品,按试剂盒规定的实验步骤进行土壤总 DNA 的提取。反硝化细菌定量 PCR 分析的分子靶基因如表 2 所示。参照于涌杰^[11]所报道的方法,得到上述各微生物分子靶基因的重组质粒,分别以 10 倍梯度稀释各基因重组质粒获得各自的标准曲线,每个样品 2 次重复。采用 TaKaRa 的 SYBR[®] Premix Ex TaqTM Perfect Real Time 试剂盒于 Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR System 扩增仪上分析。定量 PCR 的反应体系为 20 μ L,包括 1 μ L DNA 模板、10 μ L SYBR Premix Ex TaqTM Perfect Real Time,前、后引物各 0.4 μ L(10 μ mol/L)和 8.2 μ L 的灭菌双蒸水。试验对照用灭菌双蒸水代替 DNA 作为反应模板。

表 2 荧光实时定量 PCR 扩增引物及反应条件

名称	引物序列(5'-3')	片段长度	定量 PCR 反应程序
反硝化细菌 <i>nosZ</i>	<i>nosZ</i> 2F;CGC RAC GGC AAS AAG GTS MSS GT	267 bp	95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 10 s,62℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,40 个循环。
	<i>nosZ</i> 2R;CAK RTG CAK SGC RTG GCA GAA		
反硝化细菌 <i>nirK</i>	<i>nirK</i> F1aCu;ATC ATG GTS CTG CCG CG	473 bp	95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 10 s,57℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 15 s,40 个循环。
	<i>nirK</i> R3Cu;GCC TCG ATC AGR TTG TGG TT		

1.6 数据分析

采用 Excel 2003 进行 N₂O 排放通量及排放总量的计算,采用 SPSS19.0 进行方差分析及相关性分析,采用 Origin8.5 制图。

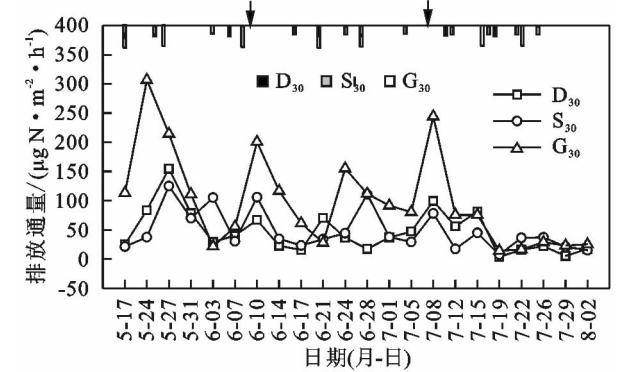
2 结果与分析

2.1 不同灌溉方式 N₂O 排放特征

从图 1 中可以看出,各灌溉处理在整个番茄生长季土壤 N₂O 排放通量波动较大,且变化趋势不一致,具体表现为:D₃₀ 处理灌水 9 次,N₂O 排放通量出现 6

次明显的峰值;S₃₀ 处理灌水 13 次,N₂O 排放通量出现 7 次明显的峰值;G₃₀ 处理灌水 9 次,N₂O 排放通量仅出现 5 次明显的峰值。但 3 个处理 N₂O 排放峰值均出现在每次灌溉后 1~8 d,两次追肥后 1 天。出现这种现象的原因可能是由于本研究是通过测定土壤水吸力值进行灌溉处理,进而 3 种灌溉方式的灌溉时间不相同,导致 N₂O 排放通量变化趋势不一致。土壤 N₂O 排放最大量均出现在番茄生长初期(D₃₀ 和 S₃₀ 处理为 5 月 27 日,G₃₀ 处理为 5 月 24 日),主要是因为番茄处在

生长初期,施入了大量的有机肥和化肥作为底肥,为微生物提供了充足的反应底物,加之灌水量较大,有利于硝化与反硝化过程,因而促进了 N₂O 排放。此外,番茄生长初期土壤 N₂O 排放通量变化较为剧烈,后期维持在较低的排放水平。整个番茄生长季土壤 N₂O 排放通量 G₃₀ 处理基本上高于 S₃₀ 处理和 D₃₀ 处理。



注:图中小矩形表示灌溉量,箭头表示施肥。

图 1 番茄生长季不同灌溉方式 N₂O 排放通量动态变化

从表 3 中可以看出,不同灌溉方式处理下,D₃₀ 处理 N₂O 平均排放通量最低,为 46.65 μg N/(m²·h),S₃₀ 处理为 48.54 μg N/(m²·h),G₃₀ 处理为 98.70 μg N/(m²·h)。与 G₃₀ 处理相比,D₃₀ 处理与 S₃₀ 处理 N₂O 平均排放通量分别降低了 52.74% 和 50.82%,且 G₃₀ 处理与 D₃₀ 处理和 S₃₀ 处理的差异达到显著水平($P<0.05$)。

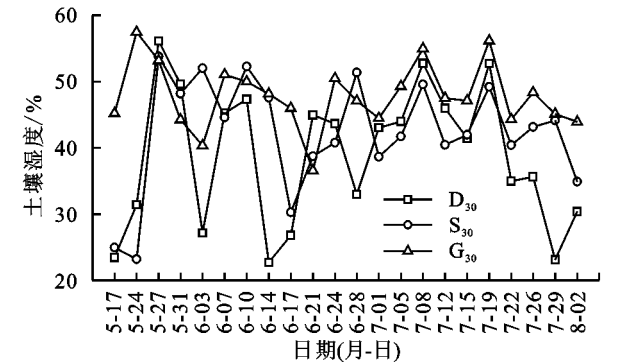


图 2 番茄生长季不同灌溉方式土壤温度与湿度的动态变化

由于本试验通过测定土壤水吸力进行灌溉处理,且各处理灌水时间与灌水量不同。因此,整个番茄生长季土壤湿度(WFPS)并没有较一致的变化趋势。整个番茄生长季土壤湿度(WFPS)在 22.69%~57.45% 之间变化,平均 43.00%。不同灌溉方式土壤湿度(WFPS)G₃₀ 处理最高。与 G₃₀ 处理相比,D₃₀ 处理与 S₃₀ 处理土壤湿度(WFPS)分别降低了 18.60% 和 11.32%,且 G₃₀ 处理与 D₃₀ 处理和 S₃₀ 处理的差异达到显著水平($P<0.05$)。从表 4 中可以看出,土壤 N₂O 排放与土壤湿度(WFPS)呈极显著正相关($P<0.01$)。

2.2.2 土壤无机氮 土壤 N₂O 排放主要是由硝化和反硝化作用而产生的。土壤中铵态氮与硝态氮含

量直接影响硝化与反硝化作用。从图 3 中可以看出,土壤硝态氮含量显著高于铵态氮含量,铵态氮含量在 8~23 mg/kg 之间变化,平均含量为 13.09 mg/kg。硝态氮含量在 61~182 mg/kg 之间变化,平均含量 98.32 mg/kg。整个番茄生长季铵态氮含量维持在相对较低的水平。土壤铵态氮含量整体上呈现先降低后升高的趋势,在番茄收获时铵态氮含量达到最大值。土壤硝态氮含量未呈现较明显的变化规律,但在番茄生长初期硝态氮含量最高。选择取土与测气同步的 6 个日期分析 N₂O 排放与无机氮的相关性,从表 4 中可以看出,各处理土壤 N₂O 排放与硝态氮含量呈显著正相关($P<0.05$)。本研究未发现土壤 N₂O 排放与铵态氮含量之间存在直接的相关性。

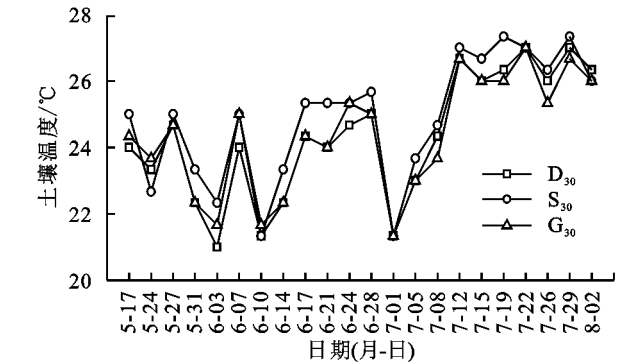
表 3 不同灌溉处理 N₂O 排放通量、总量、总灌水量及平均 WFPS

处理	平均通量/ (μg N·m ⁻² ·h ⁻¹)	排放总量/ (kg N·hm ⁻²)	总灌水量/ (m ³ ·hm ⁻²)	平均 WFPS/ %
D ₃₀	46.65±7.85b	0.90±0.29b	622.4	38.88±2.23b
S ₃₀	48.54±7.39b	0.92±0.22b	647.4	42.35±1.79b
G ₃₀	98.70±17.28a	1.97±0.78a	1234.6	47.76±1.06b

注:同列相同字母表示处理间差异不显著,同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

2.2 N₂O 排放通量的影响因素

2.2.1 土壤温度与湿度 土壤温度与湿度是影响土壤 N₂O 排放的重要因素。从图 2 可知,整个番茄生长季不同灌溉方式土壤温度变化不大,且各处理土壤温度整体变化趋势基本一致。整个番茄生长季土壤温度在 21~28 °C 之间变化,平均温度 24.5 °C。受气候影响,土壤温度自 7 月 12 日起达到一个较高的水平,但这并没有引起较高的 N₂O 排放。相关分析表明,土壤 N₂O 排放与 5 cm 土壤温度未表现明显的相关关系(表 4)。



量直接影响硝化与反硝化作用。从图 3 中可以看出,土壤硝态氮含量显著高于铵态氮含量,铵态氮含量在 8~23 mg/kg 之间变化,平均含量为 13.09 mg/kg。硝态氮含量在 61~182 mg/kg 之间变化,平均含量 98.32 mg/kg。整个番茄生长季铵态氮含量维持在相对较低的水平。土壤铵态氮含量整体上呈现先降低后升高的趋势,在番茄收获时铵态氮含量达到最大值。土壤硝态氮含量未呈现较明显的变化规律,但在番茄生长初期硝态氮含量最高。选择取土与测气同步的 6 个日期分析 N₂O 排放与无机氮的相关性,从表 4 中可以看出,各处理土壤 N₂O 排放与硝态氮含量呈显著正相关($P<0.05$)。本研究未发现土壤 N₂O 排放与铵态氮含量之间存在直接的相关性。

表 4 不同灌溉方式下 N₂O 排放通量与土壤温度、湿度、无机氮的相关系数

处理	土壤温度	土壤湿度	铵态氮	硝态氮
D ₃₀	-0.212	0.617**	-0.442	0.850*
S ₃₀	-0.420	0.635**	-0.177	0.827*
G ₃₀	-0.346	0.627**	-0.124	0.874*

注: ** 表示在 0.01 水平下差异显著, * 表示在 0.05 水平下差异显著。

2.2.3 反硝化细菌丰度 选取了 2 种有代表性反硝化细菌基因: *nosZ*、*nirK*, 利用实时荧光定量 PCR 技术, 对不同灌溉方式下反硝化细菌数量进行测定。从

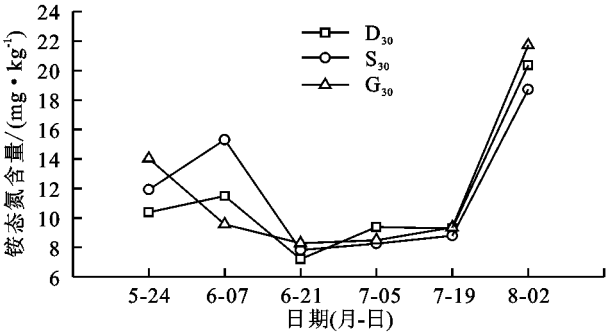


图 3 番茄生长季不同灌溉方式土壤无机氮的动态变化

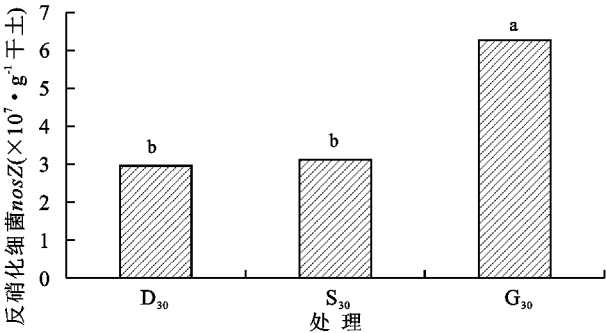
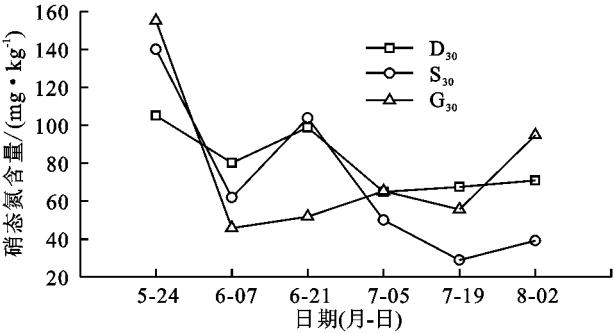


图 4 中可以看出,不同灌溉方式显著影响土壤反硝化细菌数量。与 G₃₀ 处理相比,D₃₀ 处理与 S₃₀ 处理 *nosZ* 基因数量分别降低了约 52.78% 和 50.17%,且 G₃₀ 处理与 D₃₀ 处理和 S₃₀ 处理达到显著水平($P<0.05$);与 G₃₀ 处理相比,D₃₀ 处理与 S₃₀ 处理 *nirK* 基因数量分别降低了约 55.75% 和 42.62%,但 3 个处理间无显著性差异。土壤反硝化细菌是驱动反硝化作用的主要因子,3 个处理反硝化细菌丰度与土壤 N₂O 排放通量均表现为:G₃₀>S₃₀>D₃₀。相关分析表明,反硝化细菌 *nosZ* 丰度与土壤 N₂O 排放呈极显著正相关($P<0.01$)。



注:图中不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

图 4 不同灌溉方式下土壤反硝化细菌丰度

3 讨论

3.1 不同灌溉方式土壤 N₂O 排放特征

研究不同灌溉下土壤 N₂O 排放及其影响因素对选择最佳的灌溉方式以及科学、合理的进行田间管理具有重要的科学意义。本研究对整个番茄生长季土壤 N₂O 排放进行了系统观测,整个番茄生长季土壤 N₂O 排放沟灌处理排放通量显著高于滴灌处理与渗灌处理,且存在显著性差异,滴灌处理与渗灌处理之间无显著性的差异($P<0.05$)。这与 Sanchez-Martin 等^[12]和 Zhang 等^[13]所得出的结论基本一致,说明灌溉方式的不同显著影响土壤 N₂O 的排放。主要是由于沟灌处理灌水量与平均 WFPS 均高于滴灌与渗灌处理,随着土壤含水量的增加,水分不断充满土壤孔隙,加大了厌氧环境并使反硝化作用加强,N₂O 也随之大量产生并释放到大气中。有研究表明,土壤干湿交替使得土壤中硝化作用和反硝化作用交替循

环进行,从而促进了 N₂O 的产生^[14]。本试验是通过测定土壤水吸力来控制灌溉处理,灌溉频繁,发生多次干湿交替。由于干湿交替会增加土壤中死亡微生物的量,使得土壤有效碳和有效氮的矿化量增加,当降雨或灌溉使得土壤充分湿润发生反硝化作用时,N₂O 的产生比其还原更加迅速,因而造成积累。同时,土壤干湿交替过程通过影响土壤中的氧含量直接影响土壤微生物的活性,从而影响土壤硝化作用和反硝化作用^[15],且在干旱后复湿润过程中土壤微生物量迅速上升。本研究土壤由于干变湿的过程中,沟灌处理自地表向下灌水,灌水量高于其他两个处理,且每次灌水后 0—30 cm 计划湿润土层土体均全部湿润。在这样的条件下,相对于滴灌和渗灌处理,沟灌处理微生物活性更高,数量更多,更容易发生反硝化作用。

3 个处理番茄生长季土壤 N₂O 排放通量的峰值都出现在灌溉或施肥后的一段时间,这与他人的研究结果基本一致^[16-17]。从土壤 N₂O 排放总量和平均排

放通量来看,本研 究所得到的试验结果都远低于一些学者的研究结果^[16,18],这可能是由于本试验不同灌溉方式下肥料处理相同,且施用次数和用量较少造成的,也可能是由于本试验温室内温度较高,水分蒸发较快,每次测气前土壤含水量较低,此时灌溉对土壤 N₂O 排放的影响相对较小。

3.2 不同灌溉方式土壤 N₂O 排放影响因素

土壤温度和湿度是影响土壤 N₂O 排放的重要因素。土壤温度通过影响土壤微生物的活性,进而影响土壤 N₂O 的生成与排放。有研究表明,硝化微生物活动的适宜温度为 15~35 ℃,反硝化微生物适宜温度为 5~75 ℃。本研究中,土壤温度为 21~28 ℃,平均温度 24.5 ℃,既有利于硝化微生物活动,也有利于反硝化微生物活动,且整个番茄生长季土壤 N₂O 排放与土壤温度未表现明显的相关性,这可能是由于本试验的 5 cm 土壤温度是微生物活动的最适温度。此时,5 cm 土壤温度不是土壤 N₂O 排放的影响因素。另外,本研究发现土壤 N₂O 排放与土壤湿度(WFPS)呈现极显著的正相关关系($P<0.01$),这与许多学者的研究一致^[19]。由此可以看出,在温室大棚的高温环境下,土壤湿度是影响 N₂O 排放的主要因素。土壤中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量是硝化作用、反硝化作用最直接的底物,土壤 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量越高,转化为 N₂O 的几率也越大^[20]。在本研究中,硝态氮含量远高于铵态氮含量,土壤 N₂O 排放与 NO₃⁻-N 含量呈显著正相关关系,与铵态氮含量不相关($P<0.05$)。说明在本研究中,土壤硝态氮含量影响着土壤 N₂O 的排放。此外,沟灌处理 2 种反硝化细菌基因丰度显著高于滴灌和渗灌处理,说明不同灌溉方式显著改变反硝化细菌基因丰度,且受番茄生长季灌水量与土壤含水孔隙率的影响。同时,土壤 N₂O 排放与反硝化细菌 *nosZ* 丰度呈正相关关系,说明反硝化细菌基因丰度会显著影响土壤 N₂O 的排放。硝化作用与反硝化作用对土壤 N₂O 排放的相对贡献程度需做进一步研究。

4 结 论

(1)整个番茄生长季沟灌处理土壤 N₂O 排放量显著高于滴灌和渗灌处理,滴灌与渗灌处理无显著差异。灌溉后 1~8 d 设施土壤会出现明显的 N₂O 排放高峰。滴灌与渗灌处理相对于沟灌处理更节水。

(2)土壤湿度、硝态氮、反硝化细菌 *nosZ* 是影响土壤 N₂O 排放的重要因素。土壤 N₂O 排放与硝态氮含量呈显著正相关($P<0.05$),与土壤湿度(WFPS)呈极显著正相关($P<0.01$),与铵态氮含量和土壤温度无显著性相关关系,与反硝化细菌基因丰度呈极显著正相关($P<0.01$)。

参考文献:

- [1] Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007 Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing [S]. Cambridge:Cambridge University Press,2007.
- [2] Baggs E M. A review of stable isotope techniques for N₂O sourcepartitioning in soils: recent progress, remaining challenges and future considerations[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry,2008,22(11):1664-1672.
- [3] Kandeler E,Deiglmayr K, Tschierko D, et al. Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland [J]. Applied and Environmental Microbiology,2006,72(9):5957-5962.
- [4] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis A, et al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE[J]. Fems Microbiology Ecology,2006,49(3):401-417.
- [5] 郑建初,张岳芳,陈留根,等. 稻麦轮作系统冬小麦农田耕作措施对氧化亚氮排放的影响[J]. 生态学报,2012,32(19):6138-6146.
- [6] 于亚军,高美荣,朱波. 小麦—玉米轮作田与菜地 N₂O 排放的对比研究[J]. 土壤学报,2012,49(1):96-104.
- [7] Virkajarvi P, Maljanen M, Saarijarvi K, et al. N₂O emissions from boreal grass and grass-clover pasture soils [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment,2010,137(1/2):59-67.
- [8] 梁静. 我国设施番茄氮肥施用量现状及其利用率、产量影响和地力贡献率分析评价[J]. 中国蔬菜,2015(10):16-21.
- [9] 张西超,邹洪涛,张玉龙,等. 灌溉方式对设施土壤理化性质及番茄生长状况的影响[J]. 水土保持学报,2015,29(6):2-6.
- [10] 李银坤,武雪萍,郭文忠,等. 不同氮水平下黄瓜—番茄日光温室栽培土壤 N₂O 排放特征[J]. 农业工程学报,2014,30(12):260-267.
- [11] 于涌杰. 3 种典型纳米材料对水稻土 CH₄ 和 N₂O 排放的影响及其微生物学机制[D]. 南京:中国科学院南京土壤研究所,2014.
- [12] Sanchez-Martin L, Arce A, Benito A, et al. Influence of drip and furrow irrigation systems on nitrogen oxide emissions from a horticultural crop[J]. Soil Biology & Biochemistry,2008,40(7):1698-1706.
- [13] Zhang Y J, Niu H S, Wang S P, et al. Application of the DNDC model to estimate N₂O emissions under different types of irrigation in vineyards in Ningxia, China [J]. Agricultural Water Management,2016,163(1):295-304.
- [14] Borken W, Matzner E. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils[J]. Global Change Biology,2009,15(4):808-824.