

赵坤, 周聪, 陈汉, 等. 稻田土壤 N_2O 还原潜力的影响因素[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(3): 563-573.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.03.014

稻田土壤 N_2O 还原潜力的影响因素

赵坤, 周聪, 陈汉, 滕钊军, 张耀鸿
(南京信息工程大学生态与应用气象学院, 江苏 南京 210044)

摘要: 稻田是陆地生态系统 N_2O 的主要排放源之一, 明确土壤 N_2O 还原潜力对稻田 N_2O 减排和缓解大气温室效应具有重要意义。本研究选取江苏常熟、黑龙江建三江、江西鹰潭、四川资阳、海南三亚和贵州贵阳 6 个典型稻田土壤进行厌氧培养, 分析稻田土壤 N_2O 还原速率和 N_2O 还原酶基因 $nosZ I$ 和 $nosZ II$ 拷贝数的差异性及其关键影响因素。结果表明, 供试稻田土壤的可溶性有机碳(DOC)含量为9.52~61.21 mg/kg, 其变异系数高于土壤总有机碳含量。不同地区稻田土壤 N_2O 还原速率存在显著差异, 其中, 常熟稻田土壤的 N_2O 平均还原速率为28.55 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$, 是鹰潭稻田土壤的5.9倍。稻田土壤 N_2O 还原速率与土壤DOC含量呈显著正相关。6个地区稻田土壤 N_2O 还原酶基因 $nosZ I$ 和 $nosZ II$ 的拷贝数分别为 $0.90\times 10^7\sim 9.09\times 10^7$ copies/g和 $1.01\times 10^7\sim 6.53\times 10^7$ copies/g。 $nosZ I$ 基因拷贝数与稻田土壤 N_2O 还原速率呈显著正相关, 而 $nosZ II$ 拷贝数与 N_2O 还原速率的相关性不显著。稻田反硝化过程的 N_2O 净排放速率与 N_2O 还原速率呈显著正相关。上述结果说明, 土壤活性碳含量是影响稻田 N_2O 还原过程的关键因素, 供试稻田土壤的 N_2O 还原过程主要由 $nosZ I$ 型微生物驱动。

关键词: 稻田土壤; N_2O 还原; 可溶性有机碳; $nosZ$ 基因

中图分类号: S154.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)03-0563-11

Influencing factors of N_2O reduction potential in paddy soils

ZHAO Kun, ZHOU Cong, CHEN Han, TENG Zhaojun, ZHANG Yaohong

(School of Ecology and Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China)

Abstract: The ecosystem of paddy fields is a primary contributor to N_2O emissions within agricultural land, and studying the N_2O reduction potential in paddy fields is of great significance for reducing N_2O emissions and mitigating the atmospheric greenhouse effect. In this experiment, six typical paddy field soils from Jiangsu Changshu, Helongjiang Jiansanjiang, Jiangxi Yingtan, Sichuan Ziyang, Hainan Sanya and Guizhou Guiyang were selected for anaerobic cultivation to study the differences in N_2O reduction rates and copy numbers of N_2O reductase genes $nosZ I$ and $nosZ II$ in the plough layer of paddy fields, as well as their key influencing factors. The results showed that dissolved organic carbon (DOC) content in the tested paddy soils ranged from 9.52 mg/kg to 61.21 mg/kg, which had a higher coefficient of variation than the total organic carbon content. The soil N_2O reduction rate in paddy fields showed significant regional variation, and the averaged N_2O reduction rate in Changshu paddy fields was 28.55 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$, which was 5.9 times higher than that in the Yingtan paddy fields. Correlation analysis found that there was a significant positive correlation between the N_2O reduction

rate in paddy fields and soil DOC content. Quantitative PCR results showed that the copy numbers of N_2O reductase genes $nosZ I$ and $nosZ II$ in the six paddy soils were $0.90\times 10^7\sim 9.09\times 10^7$ copies/g and $1.01\times 10^7\sim 6.53\times 10^7$ copies/g, respectively. The copy number of gene $nosZ I$ was significantly and positively correlated with the N_2O reduction rate in paddy fields, while the copy number

收稿日期: 2025-06-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(42175138, 42377295)

作者简介: 赵坤(2001-), 男, 安徽滁州人, 硕士研究生, 主要研究方向为碳氮循环与全球变化。(E-mail) zk3102619152@163.com

通讯作者: 张耀鸿, (E-mail) yhzhang@nuist.edu.cn

of gene *nosZ II* did not reach a significant level. Moreover, N_2O net emission rate during the denitrification process was significantly positively correlated with the N_2O reduction rate in paddy fields. This results suggested that the active carbon content was an important factor in the process of N_2O reduction in paddy fields, and N_2O reduction process in the tested paddy fields might be mainly driven by *nosZ I* type microorganisms.

Key words: paddy soil; N_2O reduction; soluble organic carbon; *nosZ* gene

氧化亚氮(N_2O)作为一种重要的温室气体,对大气臭氧层、气溶胶和气候变化有重要影响,其百年尺度的增温潜势约为 CO_2 的 300 倍。近 1 个世纪以来,大气中 N_2O 浓度呈现显著上升趋势,目前全球 N_2O 含量约 324 nL/L^[1]。陆地 N_2O 排放主要由硝化过程和反硝化过程产生,其中反硝化过程占据优势^[2]。反硝化是一个兼性厌氧呼吸过程,将 NO_3^- 或 NO_2^- 逐步还原为 N_2O 或 N_2 ,其中 N_2O 是该过程的中间产物^[3]。 N_2O 排放通量是 N_2O 产生与还原过程共同作用的结果,深入探索农田土壤 N_2O 还原潜力及其影响因子,对全球 N_2O 减排具有重要的科学意义。

农业活动对大气 N_2O 的贡献不可忽视,土壤耕作层是 N_2O 重要的排放源之一^[4-7]。在全球人为活动导致的 N_2O 释放总量中,农业活动占比高达 50% 以上。而稻田土壤释放的 N_2O 尤为显著,其排放量约占整个农业系统 N_2O 排放总量的 25%^[8],因此,探明典型稻田土壤 N_2O 消减潜力对缓解全球变暖具有重要意义。

稻田土壤 N_2O 排放过程受土壤有机质、矿质态氮、pH 值、水分状况等多种因素的影响^[9]。增施氮肥能显著促进稻田土壤 N_2O 排放^[10]。水稻生长后期,干湿交替的土壤水分管理模式能显著影响土壤硝化和反硝化过程,进而导致稻田土壤 N_2O 排放量的显著增加^[11-13]。 N_2O 还原酶微生物将 N_2O 还原为 N_2 是目前已知的 N_2O 消减的唯一生物过程。编码 N_2O 还原酶的基因可分为 *nosZ I* 和 *nosZ II* 两类^[14]。携带 *nosZ I* 基因的微生物大多同时也具有将 NO 还原为 N_2O 的 *nor* 基因,属于完全反硝化细菌,且该类微生物对 N_2O 的亲合力较低,可能会导致较高的 N_2O 排放通量。Sanford 等^[15] 与 Jones 等^[16-17] 研究指出,*nosZ II* 型微生物呈现丰富的物种多样性与广泛的生态分布特征,且 *nosZ II* 型微生物的多数物种仅具备 N_2O 还原功能,而无 N_2O 产生能力,这一特性使得其在陆地生态系统的 N_2O 减排过程中发挥着关键作用^[18]。Zumft 等^[19] 研究发现,许多生境中同时存在上述两类 N_2O 还原微生物。

为探究土壤理化性质对 N_2O 还原作用的调控机制,明确 N_2O 还原微生物对 N_2O 消减过程的相对贡献,本研究从江苏常熟、黑龙江建三江、江西鹰潭、四川资阳、贵州贵阳和海南三亚典型稻田采集土壤样本,测定其理化性质指标、 N_2O 还原潜力及 N_2O 还原酶基因拷贝数,分析不同地区土壤样品 N_2O 还原潜力差异及其关键影响因素,功能基因数量特征及其对 N_2O 还原潜力的贡献,阐明中国稻田 N_2O 消减的潜力特征及关键控制因素,以为为低碳农业发展提供关键科学支撑,为中国稻田生态系统温室气体的减排、合理 N_2O 减排措施的制定提供依据。

1 材料与方 法

1.1 土壤样品采集

2023 年 10 月,分别从江苏常熟的脱潜型水稻田(黄斑黏田土)、江西鹰潭的潜育型水稻田(砂质黏壤土)、黑龙江建三江的淹育型水稻田(黏壤土)、四川资阳的渗育型水稻田(黏壤土)、贵州贵阳的脱潜型水稻田(粉砂质黏土)和海南三亚的淹育型水稻田(砂土),利用“S”点取样法采集耕作层(0~20 cm)新鲜土壤各 2 kg,剔除其中的动植物残留物和石块等杂质,将土样分为 2 份,其中 1 份鲜土置于干燥通风处风干至恒重,研磨过筛后测定土壤理化性质指标;另 1 份鲜土保存于 4 ℃ 冰箱中用于培养试验和微生物功能基因分析。

1.2 土壤理化性质测定

采用重铬酸钾氧化-硫酸亚铁滴定法^[20]测定土壤样品有机碳总量(TOC);利用 Vario 元素分析仪(德国 Analytik Jena 公司产品)进行土壤可溶性有机碳(DOC)含量测定;使用 Vario MAX CN 碳氮分析仪(德国 ELEMENTAR 公司产品)和凯氏定氮法测定土壤全氮含量;采用 2 mol/L KCl 溶液提取土壤样品中的 NH_4^+ 和 NO_3^- ,再利用 FIAstar 5000 Analyzer 流动注射分析系统(瑞典 FOSSTECATOR 公司产品)进行 NH_4^+ 含量和 NO_3^- 含量的测定;按照 1.0 : 2.5 的质量比制备悬浊液,再采用 FiveEasy Plus 精密 pH

计(瑞士 Mettler Toledo 公司产品)进行土壤酸碱度(pH 值)测定。

1.3 土壤N₂O还原和 CO₂产生速率的测定

分别添加N₂O气体到上述6个稻田土壤样品中,每个样品进行3次重复,采用恒温培养箱厌氧培养的方法来分析土壤样品中的N₂O还原和CO₂产生速率。

采用厌氧培养的方法测定土壤样品N₂O还原和CO₂产生速率。具体步骤如下:准确称取2.000 g新鲜土壤样品,置于12 mL的Labco培养瓶中。然后,向培养瓶内注入2 mL经纯化处理的无离子水,使用高密度橡胶塞密封。振荡60 s,得到均质泥浆混合物。随后进行3次连续的抽真空、充氩气操作,以排除培养瓶中的氧气、氮气、二氧化碳等气体以构建严格的厌氧培养环境。然后将培养瓶置于25 °C恒温培养箱中进行为期3 d的预培养,进一步消除瓶内残留氧气及初始氮氧化物,形成无氧的培养环境。预培养结束后,对培养瓶再次进行抽真空、充氩气处理,并用Agilent Manual Syringe高精密度气体进样器(美国Agilent Technologies公司产品)在顶空气中置换800 μL N₂O气体,振荡60 s使培养瓶内的气体和液体两相达到平衡状态。随即采集100 μL顶空气体,用于测定N₂O和CO₂的起始浓度(0 d),并在培养第3 d和7 d分别采集气体样品测定顶空气体N₂O浓度和CO₂浓度。使用Agilent 7890B气相色谱分析仪(美国Agilent Technologies公司产品)对顶空气体N₂O浓度和CO₂浓度进行定量检测。气相色谱分析仪的工作条件设置如下:前检测器和后检测器的加热温度250 °C,载气系统采用流速为50 mL/min的氢气和流速为25 mL/min的氮气(尾吹气),空气流量450 mL/min,镍催化转化器工作温度375 °C;色谱柱箱采用50 °C的恒温模式。根据培养期间培养瓶内N₂O的浓度变化计算土样N₂O的还原速率和CO₂产生速率,公式如下:

$$P = \frac{dc}{dt} \times \frac{V}{W} \times \frac{MW}{MV} \quad (1)$$

式中: P 表示N₂O的还原速率[μg/(g·d)]或CO₂产生速率; dc/dt 为培养瓶顶部空间气体N₂O浓度或CO₂浓度的变化速率[μL/(L·d)]; V 为培养瓶顶部空间气体的体积(L); W 为用于培养的土壤质量(g); MW 为N₂O或CO₂的摩尔质量(g/mol); MV 为标准状态下理想气体的摩尔体积,取值为22.4

L/mol。

1.4 土壤反硝化过程N₂O净排放速率的测定

取上述6个稻田土壤,预培养步骤同1.3节,预培养结束后加入100 μL亚硝酸钠(NaNO₂)溶液,使瓶内液体的最终浓度为5 mmol/L。充分混合后,置于25 °C恒温培养箱中进行培养。在加入NaNO₂溶液当天与之后3 d、7 d进行顶空气体采样,并测定N₂O浓度。

1.5 土壤微生物功能基因分析

7 d厌氧培养结束后,将培养土冷冻干燥后进行土壤样品本底中N₂O还原酶功能基因*nosZ I*和*nosZ II*基因的定量PCR分析。称取0.5 g土壤样品置于无菌离心管中,利用Fast DNA Spin Kit for Soil试剂盒(美国MP Biomedicals公司产品),参照试剂盒说明书进行土壤微生物DNA提取。提取后,以DNA洗脱液(DES)进行DNA洗脱。利用Nano Drop ND-1000 UV-Vis超微量紫外分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司产品)测定DNA质量浓度(ng/μL)及纯度(260 nm和280 nm吸光度比值),以DES溶液作为空白进行基线校正。将纯度1.8~2.0的合格DNA样品分装后储存于-80 °C超低温冰箱备用。采用双蒸水(ddH₂O)对上述提取的土壤样品DNA进行稀释,至其质量浓度达5~8 ng/μL。利用CFX96 Real-Time PCR System(美国Bio-Rad公司产品)进行目的基因聚合酶链式反应(PCR)扩增。PCR反应体系总体积为20.00 μL,包括土壤总DNA模板1.00 μL、正向引物和反向引物各0.25 μL、SYBR Premix EX Taq™ 10.00 μL及ddH₂O 8.50 μL。扩增引物序列及PCR扩增条件见表1。

实时荧光定量PCR标准曲线的制备:分别以含*nosZ I*和*nosZ II*功能基因的质粒为模板,将质粒质量浓度依次进行梯度稀释,构建7个数量级的质量浓度梯度,进而制作标准曲线。所有样本均设置3次重复,同时以高温灭菌超纯水替代DNA模板设置阴性对照,以排除污染干扰。PCR扩增产物采用1.2%琼脂糖凝胶进行电泳检测,验证扩增效果。根据实时荧光定量PCR下机数据换算得到最终的功能基因拷贝数,计算方法如下:

$$A = \frac{B \times C \times D}{W} \quad (2)$$

式中: A 为功能基因拷贝数(copies/g), B 为

PCR 下机数据 (copies/ μL), C 为 DNA 稀释倍数, D 为提取 DNA 时 DES 的体积 (μL), W 为提取 DNA 所称取的土壤重量 (g)。

表 1 qPCR 引物及扩增条件^[16]

Table 1 Primers and conditions used in the real-time qPCR analysis^[16]

引物名称	引物序列(5'→3')	目的基因	反应条件
1840F	CGCRACGGCAASAGGTSMSST	<i>nosZ I</i> 基因	95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 15 s, 65 °C 退火 30 s, 60 °C 延伸 30 s, 35 个循环
2090R	CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA		
<i>nosZ II</i> F	CTIGGICCIYTKAYAC	<i>nosZ II</i> 基因	95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 54 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 60 s, 35 个循环
<i>nosZ IIR</i>	GCIGARCARAATCBGTRC		

1.6 数据分析

采用 Excel 2016 软件进行数据整理与分析, 利用 SPSS 22.0 软件及单因素方差分析法 (One-way ANOVA) 和最小显著差异法 (LSD) 多重比较法进行处理间差异显著性分析 ($P < 0.05$), 利用 Pearson 相关分析测定指标间的相关性, 利用 Origin 2023 软件进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 稻田土壤的理化性质差异

不同地区采集的稻田土壤理化性质如表 2 所示。从表中可以看出, 江苏常熟与四川资阳稻田土壤的总有机碳 (TOC) 含量显著高于其他 4 个地区的

稻田土壤, 而江西鹰潭和海南三亚稻田土壤总有机碳含量显著低于其他 4 个地区稻田土壤。江苏常熟稻田土壤总氮 (TN) 含量显著高于其他地区稻田土壤, 而江西鹰潭、黑龙江建三江、四川资阳稻田土壤总氮含量则无显著差异。贵州贵阳稻田土壤铵态氮 (NH_4^+) 含量和海南三亚稻田土壤的硝态氮 (NO_3^-) 含量均显著高于其他地区稻田土壤, 而江西鹰潭稻田土壤 NH_4^+ 含量和 NO_3^- 含量显著低于其他 5 个地区稻田土壤。6 个地区稻田土壤的可溶性有机碳 (DOC) 含量为 9.52~61.21 mg/kg, 地区间差异显著。6 个地区稻田土壤的 pH 值为 5.22~6.60, 其中海南稻田土壤 pH 显著低于其他地区稻田土壤。

表 2 供试稻田土壤的基本理化性质

Table 2 The basic physicochemical properties of the tested paddy soils

土样来源	总有机碳含量 (g/kg)	总氮含量 (g/kg)	铵态氮含量 (mg/kg)	硝态氮含量 (mg/kg)	可溶性有机碳含量 (mg/kg)	pH
江苏常熟	2.91±0.02a	0.26±0.02a	23.81±0.03b	13.84±0.01d	61.21±0.98a	5.67±0.02c
江西鹰潭	1.49±0.02d	0.15±0.01c	7.95±0.02f	4.21±0.02f	9.52±0.27f	6.07±0.14b
黑龙江建三江	2.05±0.03c	0.16±0.01c	15.06±0.03d	11.80±0.02e	57.93±0.57b	6.60±0.13a
四川资阳	2.88±0.01a	0.15±0.01c	18.08±0.05c	55.22±0.55b	21.37±1.15d	6.39±0.08a
贵州贵阳	2.11±0.02b	0.20±0.01b	48.14±0.04a	18.68±0.06c	49.95±0.53c	6.56±0.12a
海南三亚	1.51±0.02d	0.19±0.01b	11.88±0.05e	77.09±0.15a	11.77±0.41e	5.22±0.26d

同一列数据后不同小写字母表示土样间差异显著 ($P < 0.05$)。

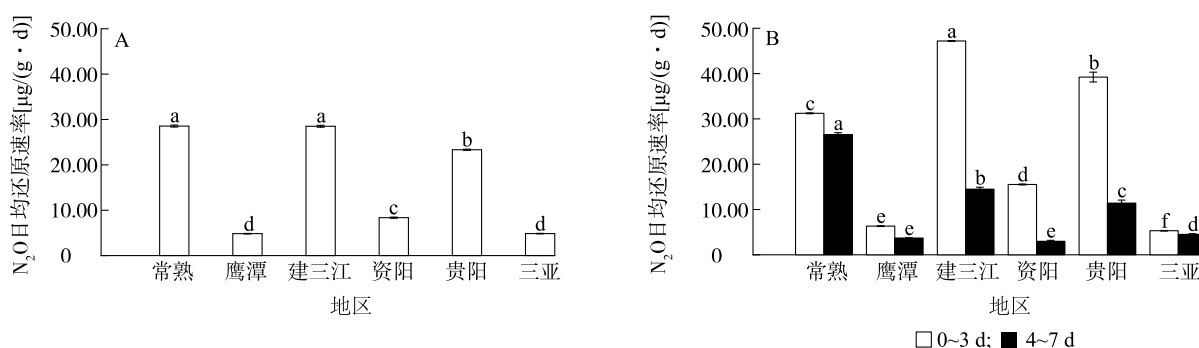
2.2 不同稻田土壤 N_2O 还原速率的差异

厌氧培养 0~7 d, 不同地区稻田土壤的 N_2O 日均还原速率如图 1 所示。从图中可以看出, 不同地区稻田土壤 0~7 d N_2O 日均还原速率存在着显著差异。其中, 江苏常熟和黑龙江建三江稻田土壤 N_2O 日均还原速率分别为 28.55 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 和 28.51

$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$, 显著高于其他地区稻田土壤; 江西鹰潭和海南三亚稻田土壤 N_2O 日均还原速率分别 4.83 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 和 4.85 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$, 显著低于其他地区稻田土壤; 贵州贵阳稻田土壤的 N_2O 日均还原速率分别为江西鹰潭、四川资阳和海南三亚稻田土壤的 4.83 倍、2.79 倍和 4.81 倍 (图 1A)。

厌氧培养0~3 d,黑龙江建三江稻田土壤N₂O日均还原速率为47.20 μg/(g·d),显著高于其他地区采集的稻田土壤,江西鹰潭和海南三亚稻田土壤N₂O日均还原速率分别为6.33 μg/(g·d)和5.31 μg/(g·d),显著低于其他地区的稻田土壤。厌氧培养0~3 d,黑龙江建三江稻田土壤N₂O日均还原速率分别是江西鹰潭和海南三亚稻田土壤的7.45倍和8.89倍。厌氧培养4~7 d,各地区稻田土壤N₂O

日均还原速率均低于培养0~3 d。其中,培养4~7 d,江苏常熟稻田土壤N₂O日均还原速率为26.53 μg/(g·d),显著高于其他地区稻田土壤,江西鹰潭和四川资阳N₂O日均还原速率分别为3.77 μg/(g·d)和2.99 μg/(g·d),显著低于其他地区稻田土壤。四川资阳稻田土壤0~3 d N₂O日均还原速率是4~7 d的5.19倍,4~7 d的减少幅度最大(图1B)。



A: 0~7 d N₂O日均还原速率; B: 0~3 d, 4~7 d N₂O日均还原速率。图柱上不同小写字母表示地区间存在显著差异($P < 0.05$)。

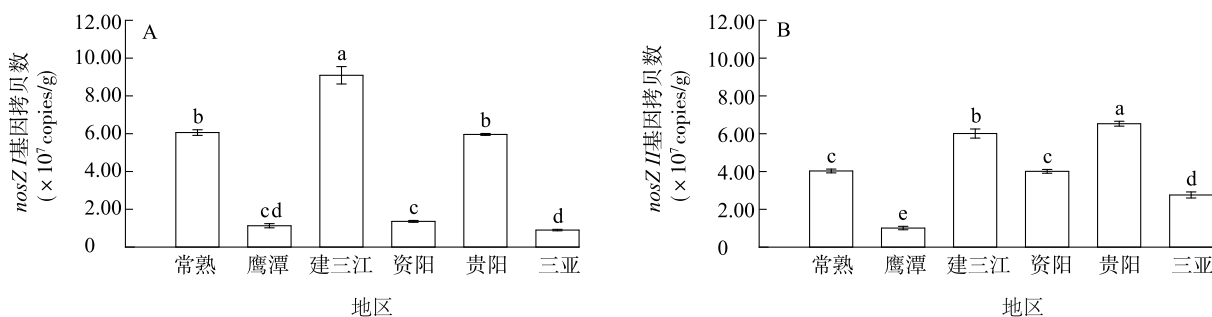
图1 不同地区水稻土壤N₂O还原速率差异

Fig.1 Variations in N₂O reduction rates among different paddy soil samples

2.3 不同地区稻田土壤的*nosZ I*和*nosZ II*基因数量特征

不同地区稻田土壤N₂O还原功能基因*nosZ I*和*nosZ II*的基因拷贝数如图2所示。从图中可以看出,6个地区稻田土壤的*nosZ I*基因拷贝数存在显著差异,其中黑龙江建三江稻田土壤*nosZ I*基因拷贝数为 9.09×10^7 copies/g,显著高于其他5个地区的稻田土壤,是海南稻田土壤(0.90×10^7 copies/g)的10.1倍。江苏常熟和贵州贵阳稻田土壤的*nosZ I*基因拷

贝数无明显差异,均显著高于江西鹰潭、四川资阳和海南三亚等地区的稻田土壤。同样,6个地区稻田土壤的*nosZ II*基因拷贝数亦存在显著差异,其中贵州贵阳和黑龙江建三江稻田土壤*nosZ II*基因拷贝数分别为 6.53×10^7 copies/g和 6.01×10^7 copies/g,显著高于其他4个地区的稻田土壤;江西鹰潭稻田土壤*nosZ II*基因拷贝数仅为 1.01×10^7 copies/g,显著低于其他地区的稻田土壤。



图柱上不同小写字母表示地区间存在显著差异($P < 0.05$)。

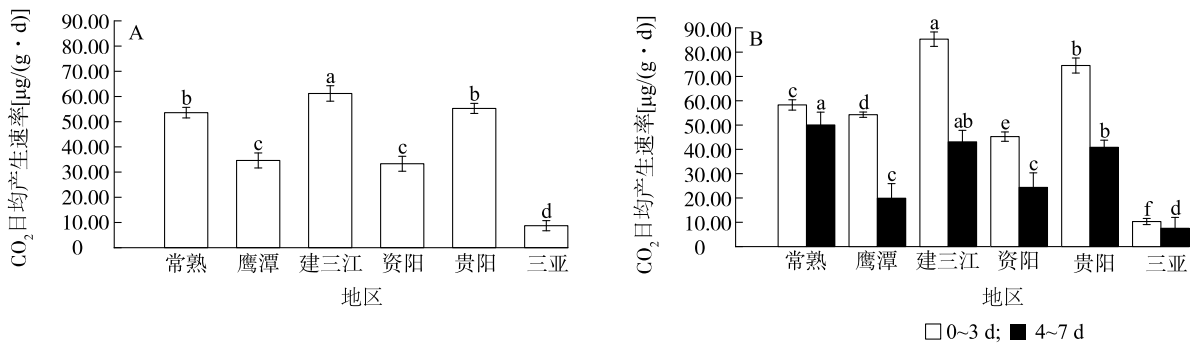
图2 不同地区稻田土壤中*nosZ I*和*nosZ II*的基因拷贝数差异

Fig.2 Differences of gene copy numbers of *nosZ I* and *nosZ II* in paddy soils from different regions

2.4 不同地区稻田土壤 N_2O 还原过程中 CO_2 排放特征

不同地区稻田土壤 N_2O 还原过程中 CO_2 日均产生速率如图3所示。从图中可以看出,厌氧培养0~7 d,黑龙江建三江稻田土壤 CO_2 日均产生速率为 $61.20 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,显著高于其他地区的稻田土壤。江西鹰潭和四川资阳稻田土壤 CO_2 日均产生速率分别为 $34.62 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ 和 $33.31 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,显著低于江苏常熟和贵州贵阳稻田土壤,而显著高于海南三亚稻田土壤。厌氧培养0~3 d,黑龙江建三江稻

田土壤 CO_2 日均产生速率显著高于其他地区的稻田土壤,是海南三亚稻田土壤的8.27倍。江苏常熟和江西鹰潭稻田土壤的 CO_2 日均产生速率显著高于四川资阳稻田土壤,但显著低于贵州贵阳稻田土壤。厌氧培养4~7 d,江苏常熟稻田土壤 CO_2 日均产生速率最大,为 $50.05 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,是海南稻田土壤的6.64倍。江西鹰潭稻田土壤厌氧培养0~3 d CO_2 日均产生速率是厌氧培养4~7 d日均产生速率的2.73倍,减少幅度最大。



A: 0~7 d CO_2 日均产生速率; B: 0~3 d和4~7 d CO_2 日均产生速率。图柱上不同小写字母表示地区间存在显著差异($P < 0.05$)。

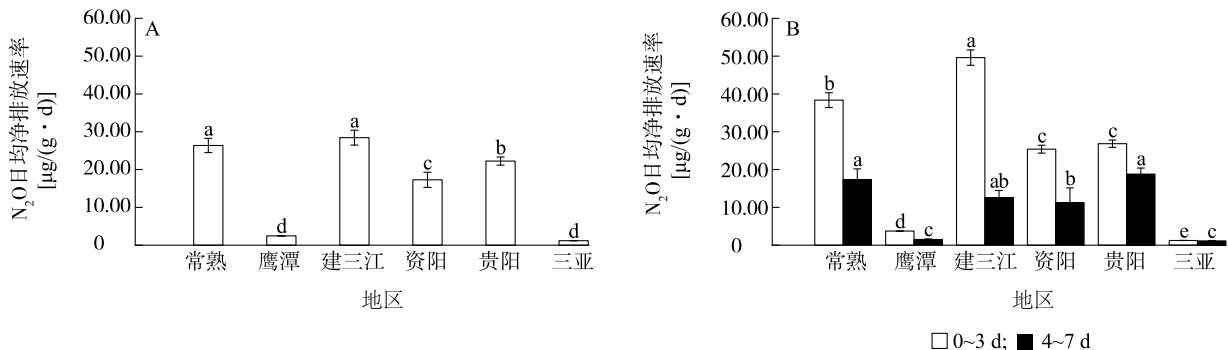
图3 不同稻田土壤 N_2O 还原过程中 CO_2 排放特征

Fig.3 CO_2 production rates driven by N_2O reduction in different paddy soils

2.5 不同地区稻田土壤反硝化过程中 N_2O 净排放速率差异

不同地区稻田土壤反硝化过程中 N_2O 日均净排放速率的差异如图4所示。培养0~7 d,江苏常熟与黑龙江建三江稻田土壤 N_2O 日均净排放速率分别

为 $26.37 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ 和 $28.44 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,均显著高于其他地区的稻田土壤;江西鹰潭和海南三亚稻田土壤的 N_2O 日均净排放速率分别为 $2.46 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ 和 $1.18 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,显著低于四川资阳和贵州贵阳稻田土壤。



A: 0~7 d N_2O 日均净排放速率; B: 0~3 d, 4~7 d N_2O 日均净排放速率。同一指标图柱上不同小写字母表示地区间存在显著差异($P < 0.05$)。

图4 不同稻田土壤反硝化中的 N_2O 净排放速率差异

Fig.4 N_2O net emission rates of different paddy soils

培养0~3 d,黑龙江建三江稻田土壤 N_2O 日均净

排放速率为 $49.61 \mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$,显著高于其他地区

稻田土壤;海南三亚稻田土壤N₂O日均净排放速率为1.24 μg/(g·d),显著低于其他地区的稻田土壤。培养4~7 d,江苏常熟和贵州贵阳稻田土壤N₂O日均净排放速率高于其他地区稻田土壤,江西鹰潭和海南三亚稻田土壤N₂O日均净排放速率显著低于其他地区稻田土壤。黑龙江建三江稻田土壤0~3 d N₂O日均净排放速率是4~7 d的3.89倍,减少幅度较大。

2.6 土壤N₂O日均还原速率与土壤理化性质和 *nosZ* 基因拷贝数的关系

2.6.1 土壤N₂O日均还原速率与土壤理化性质相关

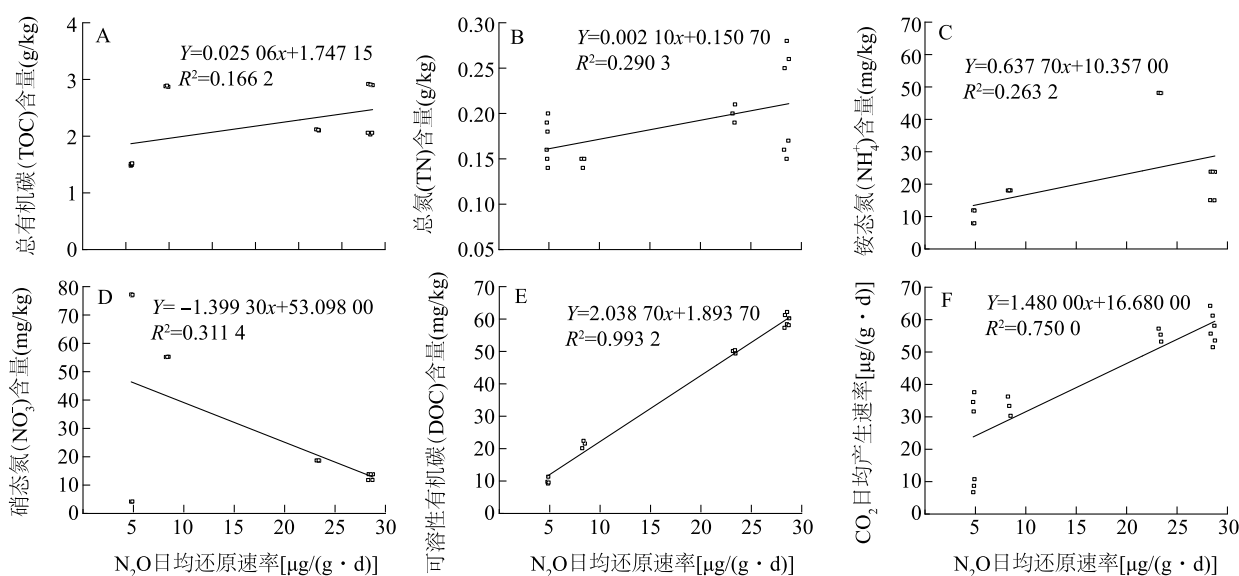


图5 厌氧培养0~7 d土壤N₂O日均还原速率与土壤理化性质和CO₂日均产生速率的相关性

Fig.5 Relationship between N₂O daily average reduction rates and soil physicochemical properties as well as CO₂ daily average emission rates after anaerobic incubation for 0-7 d

2.6.2 土壤N₂O日均还原速率与 *nosZ* 基因拷贝数的相关性 厌氧培养0~7 d,土壤N₂O日均还原速率与*nosZ I*和*nosZ II*基因拷贝数的相关性如图6A所示。从图中可以看出,*nosZ I*和*nosZ II*基因拷贝数与N₂O日均还原速率均呈正相关趋势,其中*nosZ I*基因拷贝数与N₂O日均还原速率的线性回归方程决定系数为0.90,二者相关性达显著水平。这表明,*nosZ I*型微生物是稻田土壤N₂O还原过程的主导功能菌群。土壤N₂O日均还原速率与N₂O日均净排放速率的相关性如图6B所示。从图中可以看出,土壤N₂O日均还原速率与N₂O日均净排放速率呈正相关,且相关性达显著水平,说明以*nosZ I*型微生物为主要菌群驱动的N₂O还原过程与N₂O产生过程之间存在

性厌氧培养0~7 d,土壤N₂O日均还原速率与土壤理化性质指标及CO₂日均产生速率的回归关系如图5所示。从图中可以看出,土壤N₂O日均还原速率与其TOC含量、TN含量、NH₄⁺含量、NO₃⁻含量的线性回归方程决定系数分别为0.1662、0.2903、0.2632、0.3114,均未达到显著相关。土壤N₂O日均还原速率与DOC含量和CO₂日均产生速率的线性回归方程决定系数分别为0.9932和0.7500,相关性均达显著水平,说明影响稻田N₂O还原速率变化的主导因子是DOC含量,N₂O还原过程主要由异养反硝化微生物所驱动。

着密切的联动关系。

3 讨论

N₂O还原过程作为反硝化作用的最后一个步骤,是决定农田土壤N₂O净排放量的重要因素。不同类型的农田N₂O排放通量之间存在显著差异,而这些差异与N₂O还原过程密切相关^[21]。本研究分析了不同区域典型稻田耕层土壤N₂O还原潜力和N₂O排放特征,结果表明,黑龙江建三江和江苏常熟稻田土壤的N₂O日均还原速率较高,分别为28.51 μg/(g·d)和28.55 μg/(g·d),海南三亚和江西鹰潭稻田土壤N₂O日均还原速率较低,分别仅为4.85 μg/(g·d)和4.83 μg/(g·d),这与前人的研究结果^[22]一致。

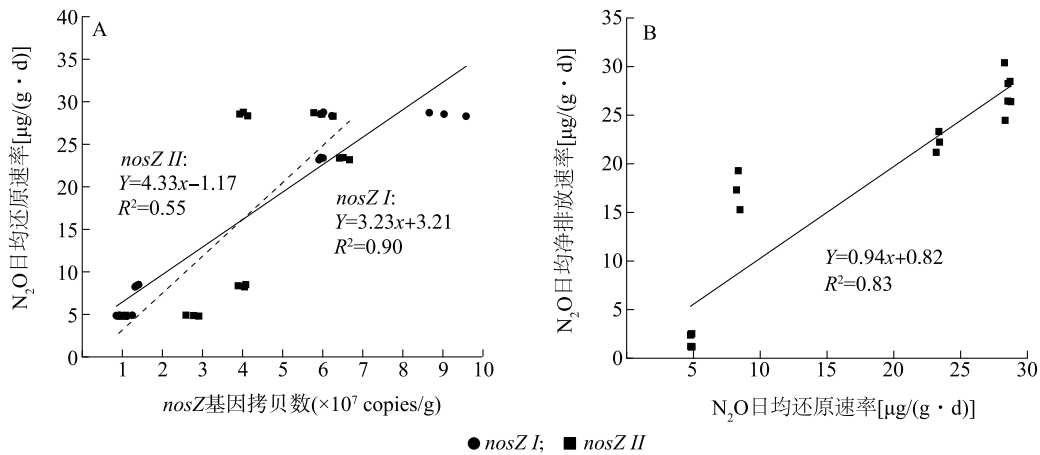


图 6 厌氧培养 0~7 d 土壤 N_2O 日均还原速率与 nos 功能基因拷贝数、 N_2O 日均净排放速率之间的关系

Fig.6 Relationship between N_2O daily average reduction rate and nos functional gene copy numbers as well as N_2O daily average net emission rate after anaerobic incubation for 0-7 d

Minami^[23] 研究认为,厌氧、高有机碳含量、低 NO_3^- 浓度和高含水量对促进土壤 N_2O 消耗起着重要的作用。Mathieu 等^[24]的研究结果表明,土壤有机碳含量与其氮气的产生密切相关,较高浓度的土壤可溶性有机碳含量有助于增强土壤环境的厌氧程度。汪方圆等^[25]研究认为,土壤 TOC 含量是导致滨海稻田 N_2O 还原潜力空间变异的主要因子,且随着围垦年限的增加,围垦滨海稻田土壤 pH 值下降, N_2O 还原速率显著增加。Wang 等^[26-27]的研究结果表明,在水旱轮作种植模式下,土壤含水量和 pH 显著影响 $nosZ I$ 型反硝化菌的群落丰度与结构组成,而在双季稻种植模式下, $nosZ II$ 型反硝化菌的丰度与群落组成主要受土壤质地和 pH 的调控。Qin 等^[28]和 Xing 等^[29]的研究结果表明,土壤水分含量和温度的变化可改变 $nosZ$ 功能基因相关微生物的群落结构从而调控 N_2O 的排放。一般认为,驱动淹水稻田土壤 N_2O 还原消耗的最主要机制是异养反硝化过程。充足的碳源与电子传递能够显著促进土壤反硝化微生物的增殖与代谢活性,加速土壤 N_2O 的还原进程。本研究结果表明,江苏常熟、黑龙江建三江、四川资阳、贵州贵阳稻田土壤的总有机碳含量(TOC)均大于 2.00 g/kg,显著高于江西鹰潭和海南三亚稻田土壤,6 个地区稻田土壤的 N_2O 日均还原速率亦有显著差异,但土壤 TOC 含量与 N_2O 还原速率相关性不显著,说明 TOC 含量可能不是所试稻田土壤 N_2O 还原速率差异的主要因素。同样,土壤总 N 含量和 NH_4^+ 含量、 NO_3^- 含量与 N_2O 还原速率的相

关性亦不显著。

Yan 等^[30]的研究结果表明,DOC 含量对稻田土壤反硝化过程的影响程度显著高于 TOC 含量。虽然可溶性有机碳(DOC)占土壤总有机碳的比例较小,但对于微生物而言,DOC 是一种重要的碳源,直接影响微生物活性及群落结构^[31]。异养反硝化微生物可以直接吸收低分子量 DOC,同时获取碳源和电子,从而加强自身同化代谢过程^[32]。而微生物在同化高分子量惰性碳时,需要消耗额外的能量将其进行分解,才能加以利用,所以微生物对高分子量惰性碳的利用效率明显低于 DOC。葡萄糖和乙酸等物质经过根系分泌进入稻田土壤中作为 DOC 被土壤中的微生物分解利用,徐鹏等^[33]研究认为,土壤活性碳组分是影响 N_2O 还原过程的关键因子,与乙酸相比,葡萄糖更能显著提高 N_2O 还原速率。Cavigelli 等^[34]研究认为,土壤 C/N 对其反硝化微生物群落结构、代谢途径有较大影响;C/N 高时, N_2O 排放量减少^[35]。目前生产中常通过减少有机物质的投入量^[36]及优化肥料和水管理方案^[37-38]来降低土壤中 DOC 的含量,另外,还可以使用控释肥和脲酶抑制剂、硝化抑制剂等^[39]延长肥料释放时间,使肥料释放量与作物养分需求匹配,进而降低 N_2O 的排放量^[40-41]。本研究结果表明,常熟稻田土壤 DOC 含量高达 61.2 mg/kg,其表现出最强的 N_2O 还原潜力,是鹰潭稻田土壤的 6.4 倍。土壤 DOC 含量与 N_2O 还原速率呈显著正相关。因此,可以认为活性碳含量和性质是影响土壤 N_2O 还原潜力的关键因

素。另一方面,土壤活性氮对N₂O还原过程亦具有重要调控作用。例如,硝态氮既是反硝化作用的底物,直接决定N₂O的生成量;同时作为强电子受体,其电子获取能力优于N₂O,对N₂O还原过程可产生强烈抑制效应。本研究中,除江西鹰潭之外的5个地区稻田土壤硝态氮含量与N₂O还原速率呈显著负相关,这与前人的研究结果^[30]一致。但江西鹰潭稻田土壤硝态氮含量与N₂O还原速率均最低,原因可能是鹰潭土壤中活性碳含量过低,难以满足N₂O还原微生物生长所需。因此,活性碳和硝态氮的含量及组分是土壤N₂O还原潜力存在差异的主要因素^[42]。N₂O还原过程是由携带N₂O还原酶的微生物催化完成的,目前编码N₂O还原酶的基因主要包括*nosZ I*和*nosZ II*两类。刘春梅等^[43]的研究结果表明,有较多含*nosZ II*基因的微生物在反硝化过程中可能不具备产生N₂O能力,但能有效还原N₂O。Domeignoz-Horta 等^[44]的研究结果表明,耕作方式与农艺管理措施对土壤含*nosZ I*和*nosZ II*基因的微生物的群落结构有显著影响,且耕作方式与农艺管理措施对含*nosZ II*基因微生物的群落丰度影响程度显著强于含*nosZ I*基因的微生物种群。一般认为,含*nosZ I*基因微生物大多为完全反硝化菌,即携带有反硝化作用所需的4个关键酶基因,既能产生N₂O,又能还原N₂O,其N₂O排放量是这两个过程综合作用的结果。在*nosZ I*型微生物主导的反硝化过程中,N₂O排放量往往与其N₂O还原过程呈显著正相关^[45]。Dini-Andreote 等^[46]研究发现,土壤含*nosZ I*基因微生物的丰度可能是决定土壤N₂O消耗能力的关键因素。Pascual 等^[47]和 Dong 等^[48]研究发现,秸秆还田和施用生物质炭等措施可以显著提升稻田含*nosZ II*基因微生物对N₂O消减的贡献率。本研究从6个地区的稻田土壤中均检测到*nosZ I*和*nosZ II*基因,说明6个地区稻田土壤中均存在含这2种基因的微生物。6个地区稻田土壤N₂O平均还原速率与*nosZ I*基因拷贝数呈显著正相关,而与*nosZ II*基因拷贝数间的相关性未达到显著水平。这说明,供试土壤N₂O还原过程可能主要由*nosZ I*型微生物催化完成。此外,本研究还发现,稻田土壤N₂O还原速率与N₂O净排放速率呈显著正相关。

此外,农田耕作模式、肥料运筹措施、环境条件及作物生育进程均影响农田土壤N₂O还原过程及其微生物群落结构。本研究结果仅表征特定稻田耕层土壤

的N₂O还原潜力及其相关功能基因在DNA水平的拷贝数变化,实际水平的稻田土壤N₂O的产生和还原过程还需要开展进一步的田间试验来说明和验证。

4 结 论

在本研究中,6个地区稻田土壤N₂O还原潜力存在显著差异,江苏常熟和黑龙江建三江稻田土壤N₂O还原潜力较高,海南三亚和江西鹰潭稻田土壤N₂O还原潜力较低。稻田土壤可溶性有机碳(DOC)含量是影响稻田N₂O排放通量的一个重要因素,与N₂O平均还原速率呈显著正相关。6个供试稻田土壤中均存在含*nosZ I*和*nosZ II*基因的微生物,且*nosZ I*基因拷贝数与N₂O还原速率呈显著正相关,*nosZ I*微生物对N₂O还原作用的贡献率高于*nosZ II*型微生物,是驱动稻田土壤N₂O还原过程的主要菌群。通过农艺措施提高*nosZ II*型微生物的数量和活性,是稻田N₂O减排的有效措施。

参考文献:

- [1] SU J, HU C, YAN X, et al. Expression of barley SUSIBA2 transcription factor yields high-starch low-methane rice [J]. *Nature*, 2015, 523(7562):602-606.
- [2] 赵光影,刘景双,王 洋. 陆地生态系统N₂O排放源研究进展[J]. *土壤通报*, 2008, 39(5):1192-1197.
- [3] 张玉铭,胡春胜,张佳宝,等. 农田土壤主要温室气体(CO₂、CH₄、N₂O)的源/汇强度及其温室效应研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2011, 19(4):966-975.
- [4] REAY D S, DAVIDSON E A, SMITH K A, et al. Global agriculture and nitrous oxide emissions [J]. *Nature Climate Change*, 2012, 2:410-416.
- [5] SMITH K A, MOSIER A R, CRUTZEN P J, et al. The role of N₂O derived from crop-based biofuels, and from agriculture in general, in Earth's climate [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2012, 367(1593):1169-1174.
- [6] MONTZKA S A, DLUGOKENCKY E J, BUTLER J H. Non-CO₂ greenhouse gases and climate change [J]. *Nature*, 2011, 476(7358):43-50.
- [7] 宋文质,王少彬,苏维瀚,等. 我国农田土壤的主要温室气体CO₂、CH₄和N₂O排放研究[J]. *环境科学*, 1996, 17(1):85-88.
- [8] INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Climate change 2007: mitigation contribution of working group III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [9] 王晓洁,卑其成,刘 钢,等. 不同类型水稻土微生物群落结构特征及其影响因素[J]. *土壤学报*, 2021, 58(3):767-776.

- [10] KIM G W, KIM P J, KHAN M I, et al. Effect of rice planting on nitrous oxide (N_2O) emission under different levels of nitrogen fertilization[J]. *Agronomy*, 2021, 11(2): 217.
- [11] 马二登, 马静, 徐华, 等. 施肥对稻田 N_2O 排放的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(12): 2453-2458.
- [12] 邹建文, 黄耀, 宗良纲, 等. 稻田 CO_2 、 CH_4 和 N_2O 排放及其影响因素[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(6): 758-764.
- [13] SMITH C J, PATRICK W H. Nitrous oxide emission as affected by alternate anaerobic and aerobic conditions from soil suspensions enriched with ammonium sulfate[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1983, 15(6): 693-697.
- [14] 李冀, 朱莹, 张晓君. 非典型型氧化亚氮还原酶基因 *nosZ II* 研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1714-1719.
- [15] SANFORD R A, WAGNER D D, WU Q Z, et al. Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(48): 19709-19714.
- [16] JONES C M, GRAF D R H, BRU D, et al. The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(2): 417-426.
- [17] JONES C M, SPOR A, BRENNAN F P, et al. Recently identified microbial guild mediates soil N_2O sink capacity[J]. *Nature Climate Change*, 2014, 4: 801-805.
- [18] 宋雅琦, 王玲, 李昆, 等. 土壤微生物还原 N_2O 机制及其研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2019, 42(9): 82-90.
- [19] ZUMFT W G, KÖRNER H. Nitrous oxide reductases [M]// BOTHE H, FERGUSON S J, NEWTON W E. *Biology of the Nitrogen Cycle*. Amsterdam: Elsevier, 2007: 67-81.
- [20] 鲍士旦. *土壤农化分析* [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [21] 郑燕, 侯海军, 秦红灵, 等. 施氮对水稻土 N_2O 释放及反硝化功能基因 (*narG/nosZ*) 丰度的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(11): 3386-3393.
- [22] 饶旭东, 谢晴, 薛梦琪, 等. 外源氮对滨海围垦稻田土壤 N_2O 还原速率的影响机制研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2022(8): 76-83.
- [23] MINAMI K. Atmospheric methane and nitrous oxide: sources, sinks and strategies for reducing agricultural emissions[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 1997, 49(1): 203-211.
- [24] MATHIEU O, LÉVÊQUE J, HÉNAULT C, et al. Emissions and spatial variability of N_2O , N_2 and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with ^{15}N isotopic techniques[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 941-951.
- [25] 汪方圆, 张耀鸿, 饶旭东, 等. 围垦对滨海稻田土壤 N_2O 还原潜力的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(11): 2668-2674.
- [26] WANG X M, WU M, WEI Z J, et al. Investigating drivers of free-living diazotroph activity in paddy soils across China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024, 199: 109601.
- [27] WANG X M, ZHANG Y M, ZHOU H, et al. Investigating drivers of N_2 loss and N_2O reducers in paddy soils across China[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 954: 176287.
- [28] QIN H L, WANG D, XING X Y, et al. A few key *nirK*- and *nosZ*-denitrifier taxa play a dominant role in moisture-enhanced N_2O emissions in acidic paddy soil[J]. *Geoderma*, 2021, 385: 114917.
- [29] XING X Y, TANG Y F, XU H F, et al. Warming shapes *nirS*- and *nosZ*-type denitrifier communities and stimulates N_2O emission in acidic paddy soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(12): e0296520.
- [30] YAN D Z, WANG D J, YANG L Z. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on labile organic matter fractions in a paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, 44(1): 93-101.
- [31] 李彬彬, 马军花, 武兰芳. 土壤溶解性有机物对 CO_2 和 N_2O 排放的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(16): 4690-4697.
- [32] 王玲, 邢肖毅, 秦红灵, 等. 淹水水稻土消耗 N_2O 能力及机制[J]. *环境科学*, 2017, 38(4): 1633-1639.
- [33] 徐鹏, 邹磊, 胡金丽, 等. 添加葡萄糖、乙酸、草酸对红壤旱地土壤氮素矿化及反硝化的影响[J]. *环境科学学报*, 2017, 37(12): 4740-4746.
- [34] CAVIGELLI M A, ROBERTSON G P. Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(3): 297-310.
- [35] 高焕平, 刘世亮, 赵颖, 等. 秸秆与氮肥调节C/N比对潮土 CH_4 、 CO_2 和 N_2O 排放/吸收的影响[J]. *土壤通报*, 2019, 50(1): 157-164.
- [36] JENSEN E S. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of ^{15}N -labelled pea and barley residues[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 24(1): 39-44.
- [37] 吴梦琴, 李成芳, 盛锋, 等. 基于DNDC模型评估湖北省不同稻作系统不同管理措施温室气体排放的周年变化[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2021, 29(9): 1480-1492.
- [38] 韩燕云, 吴永红, 李丹, 等. 微生物介导的稻田水土界面温室气体排放及其农事减排措施研究进展[J]. *环境科学研究*, 2023, 36(12): 2369-2381.
- [39] BARTH G, VON TUCHER S, SCHMIDHALTER U. Influence of soil parameters on the effect of 3,4-dimethylpyrazole-phosphate as a nitrification inhibitor[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34(2): 98-102.
- [40] XU X, BOECKX P, WANG Y, et al. Nitrous oxide and methane emissions during rice growth and through rice plants: effect of dicyandiamide and hydroquinone[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(1): 53-58.
- [41] 赵苗苗, 张文忠, 裴瑶, 等. 农田温室气体 N_2O 排放研究进展[J]. *作物杂志*, 2013(4): 25-31.
- [42] 王丽丽, 赵林, 谭欣, 等. 不同碳源及其碳氮比对反硝化过程的影响[J]. *环境保护科学*, 2004, 30(1): 15-18.
- [43] 刘春梅, 魏文学, 盛荣, 等. 氧化亚氮还原酶基因 *nosZ II* 及与环境的关系研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(3): 651-656.
- [44] DOMEIGNOZ-HORTA L A, SPOR A, BRU D, et al. The diversity of the N_2O reducers matters for the $N_2O:N_2$ denitrification end-

- product ratio across an annual and a perennial cropping system[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6:971.
- [45] 王 玲,李 昆,宋雅琦,等. 浅表层水稻土N₂O消耗能力及其与N₂O还原微生物的耦合关系[J]. *生态学报*, 2019, 39(20): 7602-7610.
- [46] DINI-ANDREOTE F, BROSSI M J, VAN ELSAS J D, et al. Reconstructing the genetic potential of the microbially-mediated nitrogen cycle in a salt marsh ecosystem[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7:902.
- [47] PASCUAL M B, SÁNCHEZ-MONEDERO M Á, CAYUELA M L, et al. Biochar as electron donor for reduction of N₂O by *Paracoccus denitrificans* [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2020, 96(8): fi-aa133.
- [48] DONG W X, WALKIEWICZ A, BIEGANOWSKI A, et al. Biochar promotes the reduction of N₂O to N₂ and concurrently suppresses the production of N₂O in calcareous soil[J]. *Geoderma*, 2020, 362:114091.

(责任编辑:石春林)