

中文核公期刊/CSCD

请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

围垦对滨海稻田土壤N20还原潜力的影响

汪方圆, 张耀鸿, 饶旭东, 谢晴, 贾仲君

引用本文:

汪方圆, 张耀鸿, 饶旭东, 等. 围垦对滨海稻田土壤N20还原潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(11): 2668-2674.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0533

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

清液肥对滴灌棉田NH3挥发和N2O排放的影响

王方斌,刘凯,殷星,廖欢,孙嘉璘,闵伟,侯振安 农业环境科学学报.2020,39(10):2354-2362 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0067

洱海北部表流人工湿地氮截留的长效性及影响因子

梁启斌,侯磊,李能发,陈鑫,王克勤 农业环境科学学报.2020,39(7):1585-1593 https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1324

不同处理梯度污水对细菌群落和酶活性的影响

吴晓斐,何源,黄治平,张丹丹,郑宏艳,丁健 农业环境科学学报. 2020, 39(9): 2026-2035 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0155

同步硝化反硝化菌(Alcaligenes faecalis WT14)养殖污水脱氮效果研究

陈均利,张树楠,戴桂金,张苗苗,吴金水,刘锋 农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1811-1817 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0325

镉砷在线蚓中的毒物--毒效动力学过程及定量模拟

李敏, 龚冰, 黄雪莹, 肖雪, 何尔凯, 仇荣亮 农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1451-1459 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0209



关注微信公众号,获得更多资讯信息

汪方圆,张耀鸿,饶旭东,等.围垦对滨海稻田土壤N₂O还原潜力的影响[J].农业环境科学学报,2020,39(11):2668-2674. WANG Fang-yuan, ZHANG Yao-hong, RAO Xu-dong, et al. Effects of reclamation on the N₂O reduction potential of paddy soils in coastal wetlands[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(11): 2668-2674.



围垦对滨海稻田土壤 N₂O还原潜力的影响

汪方圆1,2,张耀鸿1*,饶旭东1,谢晴1,贾仲君2

(1.南京信息工程大学气象灾害预报预警与评估协同创新中心/江苏省农业气象重点实验室,南京 210044; 2.中国科学院南京土壤 研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室,南京 210008)

摘 要:稻田湿地生态系统的 N₂O 还原消耗潜力对缓解大气温室气体效应具有重要意义,而滨海自然湿地围垦改造成稻田后耕层 土壤的 N₂O 还原速率及其微生物机制却鲜有报道。选取崇明岛光滩湿地为对照(WKO),比较研究不同围垦年限(19、27、51、86 a) 的围垦区稻田耕作层土壤 N₂O 还原速率演替规律及其微生物数量变异特征。结果表明,土壤总有机碳含量(TOC)随围垦年限增 长而显著增加,而土壤 pH值、SO² 浓度和 EC 值则均随围垦年限增长而呈逐渐下降趋势。土壤 N₂O 还原速率随围垦年限增长而显 著增加,其中围垦 86 a 稻田土壤达到 25.5 μg N₂O ·g⁻¹·d⁻¹,与光滩湿地相比增加了 58.4%。定量 PCR 结果发现,功能基因 nosZ I 和 nosZ II 拷贝数也随着围垦年限增长而显著增加,其中围垦 86 a 的稻田土壤功能基因分别为 1.72×10⁸ copies ·g⁻¹和 4.36×10⁸ copies · g⁻¹,比光滩湿地稻田高出一个数量级。相关性分析发现土壤 N₂O 还原速率与功能基因 nosZ I 拷贝数呈显著正相关,而功能基因 nosZ II 拷贝数随围垦年限的增加率远高于功能基因 nosZ I;N₂O 还原速率、功能基因 nosZ I 拷贝数量显著正相关,而功能基因 (pH、EC、SO²)均呈负相关。因此,围垦造田促进了滨海湿地土壤 N₂O 还原过程,而功能基因 nosZ I 数量的大幅增加是 N₂O 还原 速率增加的重要原因。

关键词:围垦;滨海稻田;nosZ基因;N2O还原

中图分类号:S154.1 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)11-2668-07 doi:10.11654/jaes.2020-0533

Effects of reclamation on the N2O reduction potential of paddy soils in coastal wetlands

WANG Fang-yuan^{1,2}, ZHANG Yao-hong^{1*}, RAO Xu-dong¹, XIE Qing¹, JIA Zhong-jun²

(1. Collaborative Innovation Center for Forecast and Evaluation of Meteorological Disasters / Jiangsu Provincial Key Laboratory of Agricultural Meteorology, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: The nitrous oxide (N₂O) reduction potential of paddy fields is of great significance for mitigating atmospheric greenhouse gas emissions. However, N₂O reduction rates of tillage layer soil and the underlying microbial mechanisms remain unclear after the reclamation of coastal natural wetland as paddy fields. In this study, the Chongming Dongtan Natural Wetland in the Yangtze River estuary was selected as the control(WK0), and N₂O reduction potential and related microbial quantity characteristics were investigated in paddy field soils with different reclamation years(19, 27, 51 a, and 86 a). The results showed that total organic carbon(TOC) soil content increased significantly as the reclamation period increased, whereas pH, EC value, and SO₄^{2–} concentration gradually decreased. The N₂O reduction rates increased significantly as the reclamation period increased, and the N₂O reduction rate in the paddy field with an 86 a reclamation period was 25.5 µg N₂O · g⁻¹ · d⁻¹, which was 58.4% higher than that of natural wetlands(WK0). The copy numbers of *nos*Z I and *nos*Z II genes increased as the reclamation period increased, and the copy numbers of the paddy field with an 86 a reclamation period were 1.72×10^8 copies · g⁻¹ and

收稿日期:2020-05-13 录用日期:2020-06-15

作者简介:汪方圆(1996一),女,安徽黄山人,硕士研究生,主要从事土壤温室气体排放研究。E-mail:496563761@qq.com

^{*}通信作者:张耀鸿 E-mail:yhzhang@nuist.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41671247,41103039);江苏省自然科学基金项目(BK20171455);国家留学基金项目(201908320185)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41671247,41103039); The National Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20171455); China State Scholarship Fund(201908320185)

 4.36×10^8 copies \cdot g⁻¹, which were one order of magnitude higher than those of natural wetlands. The correlation analysis showed that the N₂O reduction rate was positively correlated with the abundance of *nos*Z I gene, whereas the increase in the copy number of the *nos*Z II gene was much higher than that of the *nos*Z I gene as the reclamation period increased. The N₂O reduction rate and the copy number of *nos*Z I and *nos*Z II genes was negatively correlated with pH, EC, and SO₄²⁻ concentration in the soil. Therefore, the reclamation of coastal wetlands into paddy fields promote the N₂O reduction potential of topsoil; the significant increase in the number of *nos*Z I genes is one of the primary factors controlling the N₂O reduction rate increase.

Keywords: reclamation; coastal paddy field; nosZ gene; N2O reduction potential

氧化亚氮(N₂O)是三大温室气体之一,根据IPCC 的评估报告,单位质量N₂O的百年尺度增温潜势是单 位质量CO₂的265倍,对全球变暖的贡献约为6%^[1]。 目前大气中N₂O浓度为324 µg·L⁻¹,并在过去30a中 以0.73 µg·L⁻¹·a⁻¹的速度稳定增长,对全球气候和大 气环境造成严重威胁,引起了人们对其源和汇的高度 关注。研究发现,农业土壤是全球范围内最主要的 N₂O来源,占人类活动排放量的44%^[2]。迄今,有关不 同地域、不同作物类型及不同农艺措施下的农田土壤 N₂O排放通量方面已有大量研究报道^[3]。然而,排放 通量中的N₂O是土壤中N₂O产生过程和还原过程综 合作用的动态净变量,反映不出土壤的N₂O还原潜 力。因此,充分了解农田土壤N₂O最大还原潜力及影 响因素对于全球N₂O的减排具有重要意义。

N₂O的生物合成途径以硝化和反硝化过程为主,而 N₂O的还原消耗过程却只有一个,即土壤微生物在氧化 亚氮还原酶基因(nosZ)的催化下将N2O还原为N2的生 物过程^[4]。以往的研究发现,完全反硝化细菌具有将 NO_3 还原为 N_2 的全部基因,包括nosZ基因,其呼吸过程 是N2O消耗的主要原因。近来的研究显示,一些非反硝 化细菌和古菌具有以N₂O为唯一电子受体而生长的能 力,表明具有N2O还原能力的微生物不局限于反硝化细 菌范围,远比人们预期要丰富得多^[5]。Sanford等^[6]和 Jones 等¹⁷报道,除了存在于完全反硝化细菌的典型 nosZ基因(简称为nosZI)之外,还存在一种新型的非 典型nosZ 基因(简称为nosZ Ⅱ),普遍存在于各种生态 系统土壤生境中。与携带 nosZ I 的完全反硝化微生物 相比,具有nosZ II 基因的微生物在分类学上更加多样 化,且绝大部分为非完全反硝化微生物,即只具有N₂O 还原能力而缺失N2O产生功能16-71,表明它们是一个更 为广泛的微生物类群,这些微生物可能在全球N2O还原 过程中发挥着重要作用。

围垦是一种重要的土地利用方式,将滨海滩涂围 垦改为农田是解决我国土地问题的有效途径之一。 根据中国国家海洋局的海洋功能区划报告,20112020年间中国东部沿海地区围垦面积达到2469 km²。崇明东滩湿地是我国长江口发育最完善的河口 型滩涂湿地;自解放初至今,开展了多次围垦造田工 程,形成了一系列不同围垦年限的围垦稻田。围垦后 的湿地不再受潮汐的影响,与近海间的物质能量交换 基本消失。其后的农业生产使围垦区生境发生显著 变化^[8-9]。这种土地利用方式改变了土壤生物地球化 学过程,对土壤N₂O还原潜力可能会产生深刻影响。 尽管有关该滨海湿地的反硝化过程研究已有大量报 道,但是从N₂O净还原潜力角度研究滨海土壤N₂O "源"或"汇"的报道十分鲜见。围垦改稻田后土壤中 携带 nosZ I 或 nosZ II 基因的两类微生物如何变化? 其对N₂O还原潜力有何影响?这些科学问题的探索 对于深入了解围垦工程的生态效应至关重要。

基于此,本试验选取崇明东滩区域不同围垦年限的稻田为研究对象,以空间替代时间变化的方法,研究不同围垦年限条件下土壤 N₂O还原潜力的空间变 异特征,分析功能基因的数量特征,探明其与 N₂O还 原潜力的相关性,为合理评估我国沿海地区围垦造田 的生态效应提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

土样采自上海市崇明岛东滩湿地和围垦区稻田 (121.80° E,31.60° N),所属气候是典型的亚热带季 风气候,年平均气温为15.3℃,降水量为1004 mm。 崇明岛东滩湿地位于崇明岛最东端,保护区内为自然 湿地,保护区以西为一系列不同围垦种稻年限的稻 田。本研究选取保护区内低位光滩自然湿地,作为围 垦0 a的原生态样点,以WK0表示。在围垦区选取4 处不同围垦年限,即围垦种稻19 a(WK19)、27 a (WK27)、51 a(WK51)、86 a(WK86)的稻田进行研 究。不同围垦年限样点根据相关参考文献选取¹¹⁰。 该区域农田为稻麦轮作方式,农田管理措施基本一 致。2017年7月中旬采集样品,在每个围垦稻田样区 中先选取50m×50m的采样区,然后在采样区内以S 形走线,沿线按照10~15m的间隔在水稻行间确定6 个采样点,以提高样品的代表性。用土钻取0~20cm 耕层鲜土,将该6个采样点的土壤均匀混合成1个样 本,重复3次。土样装入冰盒内迅速转移至实验室, 储存于4℃冰箱备用。

1.2 土样理化性质测定

土壤总有机碳采用浓硫酸-重铬酸钾消煮-硫酸 亚铁滴定法测定;土壤全氮含量采用半微量凯氏定氮 法测定;土壤铵态氮和硝态氮用2 mol·L⁻¹ KCl溶液浸 提后,采用AA3 流动分析仪测定;土壤 pH采用水土 比为2.5:1提取后,用数字酸度计测定;土壤硫酸根含 量采用离子色谱法测定;土壤可溶性盐度(EC)采用 电导法用EC计测定。

1.3 N₂O还原速率测定

采用厌氧培养试验进行测定。称取 2.00 g鲜土 放入 12 mL的 Labco 顶空瓶后加入 2 mL过 0.45 μm滤 膜的灭菌去离子水,用高密橡胶塞密闭瓶口,振荡 5 min形成均匀泥浆。用真空泵抽真空后置换高纯氩 气,反复操作 3 次以达到严格厌氧状态。预培养 3 d, 以尽可能去除瓶内残余氧的影响。预培养结束后,再 进行抽真空 - 充氩气 3 次,然后在顶空气体中置换 500 μL N₂O,室温 25 ℃避光条件下厌氧培养 6 d,期间 从 0 时刻开始每 24 h 用 100 μL 微量采样器采气,气体 样品采集后立即补入相同量的高纯氩气以保证瓶内 气压平衡。采集的气体用装有电子捕获检测器 (ECD)的气相色谱仪(Agilent 7890)分析 N₂O 浓度。 根据不同时间点的瓶内顶空 N₂O 浓度值进行线性回 归,计算出厌氧培养期间的平均 N₂O 还原速率。

1.4 相关基因丰度测定

将野外采集的原状鲜土冷冻干燥后,采用 FastDNA Spin Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals,美 国)提取土壤微生物基因组 DNA。称取 0.5 g土样,按 照说明书的步骤提取土壤微生物总 DNA,溶解于 100 μL 无菌 TE 缓冲液(10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 1 mmol· L⁻¹EDTA, pH 8.0)。通过微量紫外分光光度计(Nano-Drop ND-1000,美国)测定 DNA浓度和纯度,并利用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA的完整性,满足条件 后用于 qPCR 分析。

实时 PCR 扩增所用仪器为 CFX96 Real-Time PCR System(Bio-Rad 公司)。标准曲线分别用含 16S rRNA、nosZ I和nosZ II基因的质粒为模板,并将其 连续稀释 8个数量级配制。定量 PCR 扩增反应体系 为 20 µL,包括:10 µL 的 SYBR Premix EX Taq[™],1.0 µL土壤总 DNA 模板,上、下游引物(10 pmol·µL⁻¹)各 0.5 µL,加灭菌水至 20 µL。16S rRNA 基因和 nosZ 基 因 PCR 引物及 qPCR 的循环条件见表 1。所有样品重 复 3次,并采用灭菌双蒸水代替 DNA 作为反应模板设 置阴性对照。

1.5 数据处理

采用 SPSS 21.0软件进行数据的统计分析。N₂O 还原速率、基因拷贝数的差异性比较采用单向方差分 析和最小差值法。N₂O 还原速率与功能基因丰度、土 壤理化性质的关系采用线性回归分析拟合。图形制 作采用 Excel 2016和 Origin 9.5软件完成。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质变化特征

围垦稻田土壤总有机碳含量(TOC)在9.54~ 18.34g·kg⁻¹,显著高于未围垦的光滩湿地,且随围垦 年限增加而显著增加(表2)。围垦19.51a,稻田与光 滩湿地的土壤总氮含量(TN)没有达到显著差异。围 垦27、51a和86a的稻田土壤NH。含量显著高于围垦 19a的稻田和光滩湿地(P<0.05)。围垦稻田土壤NO3 含量在8.86~18.67mg·kg⁻¹,随围垦年限增加而显著增 加(P<0.05)。光滩湿地土壤pH值、SO²;浓度和EC值 均显著高于围垦稻田(P<0.05),且在围垦稻田中这些 指标均随围垦年限增加而呈逐渐下降的趋势。

2.2 土壤 N₂O 还原速率

本培养试验中,培养瓶密闭气体中N2O的起始浓

表1 qPCR 引物及循	环条件
--------------	-----

Table 1 List of primers and thermal cycling conditions used for 16S rRNA and nosZ clade I and II genes

基因 Genes	引物Primers	循环条件Thermal cycling conditions
16S rRNA	341F(5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') 534R(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GGC A-3')	95℃5min,95℃15s,60℃30s,72℃30s,35个循环
nosZ I	1840F(5′-CGC RAC GGC AAS AAG GTS MSS GT-3′) 2090R(5′-CAK RTG CAK SGC RTG GCA GAA-3′)	95℃5min,95℃15s,65℃30s,60℃30s,35个循环
nosZ II	<i>nos</i> Z $\prod F(5'-CTI GGI CCI YTK CAY AC-3')$ <i>nos</i> Z $\prod R(5'-GCI GAR CAR AAI TCB GTR C-3')$	95℃5min,95℃30s,54℃60s,72℃60s,35个循环

2020年11月

Table 2 Physicochemical properties of soils with different reclamation years							
采样点 Sites	有机碳 TOC/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	铵态氮 NH‡/(mg·kg ⁻¹)	硝态氮 NO₃/(mg•kg⁻¹)	酸碱度 pH	硫酸盐 SO ² -/(mg·kg ⁻¹)	$EC/(mS \cdot cm^{-1})$
WK0	$7.95{\pm}0.46\mathrm{d}$	$0.86 \pm 0.09 \mathrm{b}$	$6.38{\pm}3.53{\rm d}$	$6.39 \pm 0.45 \mathrm{e}$	7.86±0.08a	797.40±23.92a	5.07±0.15a
WK19	$9.54{\pm}0.64{\rm c}$	$0.77 \pm 0.05 \mathrm{b}$	$5.46{\pm}0.91\mathrm{d}$	$8.86{\pm}1.07{\rm d}$	$7.44 \pm 0.03 \mathrm{b}$	$328.11{\pm}26.36\mathrm{b}$	$1.84\pm0.12b$
WK27	$15.29 \pm 0.06 \mathrm{b}$	1.00±0.06a	$14.48 \pm 5.59 c$	$11.79{\pm}0.07{\rm c}$	$7.38 \pm 0.11 \mathrm{b}$	$299.91 \pm 35.43 \mathrm{b}$	$1.59 \pm 0.03 \mathrm{c}$
WK51	$16.89 \pm 0.42 ab$	$0.84 \pm 0.03 \mathrm{b}$	23.37±2.37a	18.67±6.59a	$7.32 \pm 0.06 \mathrm{b}$	$226.03 \pm 20.55 c$	$1.31{\pm}0.04\mathrm{d}$
WK86	18.34±0.22a	1.12±0.04a	$16.25{\pm}0.09{\rm b}$	$14.11\pm0.55b$	$7.25{\pm}0.07{\rm b}$	$196.07 \pm 18.64 c$	$0.74\pm0.04e$

表2 不同围垦年限土壤的理化性质

注:同一列不同字母表示在P<0.05水平差异显著。

Note: Values followed by different small letters within a column are significantly different at the P<0.05 level.

度约为 6×10^4 µmol·mol⁻¹,如此高浓度的气体底物可 以反映出土壤的最大 N_2O 还原潜力。随后,水稻土上 层密闭空间中的 N_2O 浓度随着厌氧培养时间的延长 均呈现明显的下降趋势。将气体浓度变化与培养时 间进行回归分析,可计算出培养时间内的平均 N_2O 还 原速率。结果显示,土样 WKO、WK19、WK27、WK51 和 WK86的 N_2O 消耗速率分别为 16.08、21.16、23.08、 22.46 µg N_2O ·g⁻¹·d⁻¹和 25.47 µg N_2O ·g⁻¹·d⁻¹(图 1)。 与光滩湿地(WKO)相比,围垦植稻 86 a 的稻田土壤 N_2O 消耗速率增加了 58.4%,显著高于光滩湿地(P< 0.05)。围垦 19、27、51 a 的稻田 N_2O 消耗速率无显著 差异,但均显著高于光滩湿地(P<0.05),分别比光滩 湿地 N_2O 消耗速率高出 31.6%、43.5% 和 39.6%。

2.3 功能基因 nosZ 及细菌 16S rRNA 丰度变化

图 2 显示, N₂O还原功能基因 nosZ I 拷贝数随围 垦年限增加而显著增加(P<0.05),其中围垦 86 a 的稻 田土壤 nosZ I 拷贝数为 1.72×10⁸ copies · g⁻¹,比光滩 湿地(WK0)和围垦 19 a 的稻田(WK19)高出一个数 量级。nosZ II 基因拷贝数在光滩湿地和围垦 19 a 土样 之间差异不显著,且均显著低于围垦 27、51 a 和 86 a 稻 田土壤(P<0.05),其中围垦 86 a 的稻田土壤 nosZ II 拷 贝数为 4.36×10⁸ copies · g⁻¹,比WK0和WK19 土壤高出





一个数量级。进一步分析发现,5个土样的 nosZ I/ nosZ II 比值范围为0.39~3.03,表明两种类型的功能 基因在各个土样中所占比例各异,但基本处于同一个 数量级。不同围垦年限水稻土的细菌16S rRNA基因 丰度均存在显著差异,表现出随围垦年限增加而增加 的趋势,其中围垦86 a的稻田土壤16S rRNA基因拷 贝数最高,为7.88×10¹⁰ copies·g⁻¹。

2.4 功能基因 nosZ与 N₂O 还原速率的相关性分析

对功能基因 nosZ Ⅰ、nosZ Ⅱ 与 N₂O 还原速率进



图 2 不同土样中nosZ I 、nosZ Ⅱ 和 16S rRNA 的基因丰度差异 Figure 2 nosZ I ,nosZ Ⅱ and 16S rRNA gene abundance in different soil samples

农业环境科学学报 第39卷第11期

行相关分析,结果表明,N₂O 消耗速率与这两种基因 拷贝数均呈正相关关系(图3),说明相关微生物的功 能基因丰度很大程度上决定了土壤 N₂O 消耗能力。 其中功能基因 nosZ I 拷贝数与 N₂O 消耗速率的相关 性达到显著水平(P<0.05),表明功能基因 nosZ I 的 丰度可能是土壤 N₂O 消耗能力的决定性因素。进一 步分析发现,功能基因 nosZ I 、nosZ II 拷贝数随围垦 年限增加而明显增加,其增加速率分别为 1.6×10⁶ copies·g⁻¹·a⁻¹和4.4×10⁶ copies·g⁻¹·a⁻¹,功能基因 nosZ II 表现出更高的增长速率。

2.5 土壤 N₂O 还原速率与土壤性质的回归分析

土壤 N₂O 还原速率与土壤 TOC 的回归方程达到 显著水平,说明土壤 TOC 是影响 N₂O 还原速率非常重 要的环境要素(表3)。相反,土壤 TN、NH4、NO5却与 N₂O 还原速率没有达到显著水平,可能与本试验中提供高 浓度的 N₂O 底物,进而不再受土壤本底 N 水平影响有 关。值得注意的是,土壤 pH、EC、SO4-与 N₂O 还原速率 呈负相关,且回归方程均达到了极显著水平。这 3 项 土壤指标均为海洋性特征指标,随围垦植稻年限增加 而明显下降,而 N₂O 还原速率却显著增加,说明围垦植 稻生态工程极大促进了围垦土壤的 N₂O 还原潜力。

2.6 冗余分析

采用冗余分析(RDA)反映基因丰度与土壤理化 性质之间的关系。排序图前两轴分别解释了基因丰 度变异程度的51.4%和13.2%(图4)。5个土样处于 不同的位点,土壤pH、EC、SO⁴⁻均与TN呈负相关。 *nosZ*I、*nosZ*I和16SrRNA基因丰度与土壤TN表现 为正相关,其中*nosZ*II基因丰度与土壤TN的相关性 最高。这3个基因的丰度均与土壤pH、EC、SO⁴⁻呈负 相关,表明这些功能基因随着土壤海洋性特征指标逐 渐减小,随围垦植稻年限增加而明显增加。



3 讨论

围垦造田的土地利用方式对滨海表层土壤的理 化性质产生了深刻的变化。本研究发现,表层土壤的 pH值、SO²-浓度和EC值均表现为滨海自然湿地显著 高于围垦稻田(P<0.05),且随围垦年限增加而呈逐渐 下降趋势。围垦之后围垦区土壤不再受到海水潮汐 的影响,其脱盐化过程加速,这种现象在本试验区和 杭州湾滨海区均有报道[10-11];而且受到农业施肥的影 响,围垦区土壤pH值下降明显。Chen等^[12]报道杭州 湾滨海湿地被围垦造田700 a 后土壤 pH 值下降至 6.3,与本研究结果的变化趋势一致。另一方面,围垦 区土壤 TOC 显著高于光滩湿地,且随围垦年限增加 而显著增加。Davidson等[13]认为滨海湿地土壤的有 机碳不易被土壤矿物质所固定,导致在干湿交替过程 中被快速分解。相反,围垦之后的农田土壤,土壤孔 隙水动力学发生改变,目有大量农作物有机碳输入土 壤中,易形成土壤团聚体或有机-矿物交联体,可通

表 3 土壤 N_{2O} 还原速率与土壤理化性质的回归方程 Table 3 Regression relationship between N_{2O} reduction rate(y) and soil characteristics(x)

土壤性质	回归方程	决定系数	<i>P</i> 值
Soil properties	Regression equation	R^2	P value
TOC	y=1.165x-11.628	0.78	< 0.05
TN	y=0.025x+0.377	0.38	0.26
NH_4^+	y=1.307x-15.109	0.38	0.25
NO_3^-	y=0.946x-8.527	0.48	0.19
pH	y = -0.067x + 8.898	0.94	< 0.01
EC	y = -0.474x + 12.363	0.94	< 0.01
SO_{4}^{2-}	<i>y</i> =-66.724 <i>x</i> +1 814	0.90	< 0.01



过物理保护、化学固定方式提高土壤有机碳的固持作 用^[14]。在此过程中,土壤的全N和活性N也会相应增 加。这种围垦造田进程中土壤理化性质的变化可能 会显著影响该区域湿地土壤的N₂O还原过程。

本研究发现,培养瓶顶空气体中N2O浓度随着培养时间延长而出现明显的下降,表明所试土样都具备还原消耗N2O的能力,与王玲等¹⁵⁹的报道一致。本试验的培养条件为淹水厌氧培养,厌氧反硝化作用可能是调控土壤N2O还原消耗的重要过程。在此过程中,活性碳源供应可促进反硝化微生物的呼吸作用,进而促进土壤N2O的还原消耗过程^{116-17]}。相关性分析发现,土壤N2O还原潜力与土壤pH、EC值和SO²涂度呈极显著负相关(P<0.01),而与土壤TOC呈显著正相关(P<0.05),表明围垦引起的土壤理化性质的改变可能是导致N2O还原潜力发生演替性变化的重要原因。而且,土壤N2O还原潜力随围垦年限增加而显著增强,表明围垦造田提高了滨海湿地土壤的N2O还原潜力,可能成为大气N2O的汇。

参与N循环的微生物类群中能够产生N₂O的途 径有很多,然而只有 nosZ 基因编码的氧化亚氮还原 酶才能催化将 N₂O 还原成 N₂的过程^[18]。典型的 nosZ 基因(nosZ I)主要存在于完全反硝化菌类群中,以 变形细菌为主,它们的反硝化基因链完整,具有产生 N₂O的基因(nirS/nirK)^[19]。而新近发现的非典型nosZ 基因(nosZⅡ)存在于更为多样的微生物类群中,如 Firmicutes、Bacteroidetes、Chloroflexi门和变形细菌等, 绝大多数为非完全反硝化微生物,缺少nirS/nirK基 因,目前被普遍认为是消耗 N₂O 的更为广泛的贡 献者^[4]。本试验定量PCR结果发现,还原N₂O的功能 基因 nosZ Ⅰ和 nosZ Ⅱ 拷贝数为 2.2×107~4.36×108 copies·g⁻¹,随着围垦年限增加而明显增加,说明功能 基因nosZ数量增加是土壤N2O还原潜力增大的微生 物学机理之一。相关性分析发现,功能基因 nosZ I 丰度与土壤 N₂O 还原速率呈显著正相关(P<0.05),表 明功能基因 nosZ I 对 N₂O 消耗还原能力演替性变化 的贡献可能高于 nosZ Ⅱ。Francisco 等^[20]对荷兰 Schiermonnikoog岛上一系列不同发育时间的滨海湿 地土壤进行分析,发现 nosZ I 基因的丰度比 nosZ Ⅱ高出10倍左右,是消耗N₂O的主要贡献者。他们 还发现nosZ I 基因丰度变化与滨海湿地土壤的化学 性质(SOC、TN、NHi、NO3)高度相关, 而nosZ II 基因丰 度则与土壤物理性质(砂粒、粉粒、黏粒)显著相关。 本试验中,nosZ [和nosZ]]基因丰度均表现为与土

壤pH、EC、SO²呈负相关,而与土壤TN呈正相关且相 关度最大。推测TN可能是调控其空间变异的最主要 因素,说明在滨海湿地N水平相对匮乏的环境中,土 壤N库及活性N供应可能是导致N2O还原微生物数 量发生演替变化的决定性因素。Kearns等^[21]对长期 遭受N负荷的Sippewissett滨海湿地进行研究,发现 外源N高输入区的nosZI基因拷贝数比对照区高出 一个数量级,且nosZI基因的多样性指数(Shannon Index)和丰富度指数(Chao 1 Richness)随着N供应的 增加而显著增加。而且有研究认为,携带nosZI基 因的完全反硝化菌更偏好于定殖在植物根区微域^[21]。 这暗示了本试验中围垦区水稻生长可促进nosZI型 反硝化微生物的定殖生长,从而促使nosZI基因在 围垦区稻田N2O还原过程中发挥更重要的作用。

也有研究发现nosZ Ⅱ基因在滨海湿地环境中分 布广泛,且丰度远高于nosZ [基因^[23],在N转化过程 中发挥更重要的作用。而且,nosZⅡ型微生物的N₂O 半饱和常数(K_s)明显低于nosZ I 微生物,表现出对 N₂O 更强的还原能力,在控制 N₂O 排放方面可能更为 突出^[24]。Domeignoz-Horta 等^[25]发现,与nosZ I种群 相比,nosZ II 群落丰度及N2O转化率更容易受到农田 耕作制度和管理措施的影响。本试验中,围垦植稻背 景下,nosZ Ⅱ功能基因丰度的年增长率为nosZ Ⅰ功能 基因的2.8倍,说明nosZⅡ功能基因对围垦植稻的响 应度更高,在围垦区稻田土壤的N2O还原消耗过程中 可能也发挥着重要作用。值得注意的是,DNA水平 上的nosZ基因数量并不能完全代表土壤微生物的 N₂O还原活性,为探明nosZ I和nosZ II两类基因对 土壤 N₂O 消耗能力的贡献,可以从mRNA 水平上进行 深入研究。

需要指出的是,稻田土壤N转化过程及相关微生 物群落结构会受到许多因素的影响,如耕作制度、施 肥量及种类、水稻发育期、秸秆还田等。本研究结果 仅能代表特定稻区内特定生长发育期的耕层土壤 N₂O还原潜势与功能菌群变化。在此基础上,需要通 过设置更加细化的田间试验和室内模拟培养,进行深 入研究围垦区典型稻田土壤N转化的关键过程,为科 学评估滨海围垦造田的生态效应和我国稻田温室气 体减排提供科学依据。

4 结论

(1)潮滩湿地围垦造田的土地利用方式,显著增加了耕层土壤TOC和NO3含量,降低了土壤pH值、EC

2674

值和SO²⁻含量,促进了土壤的N₂O还原潜力。

(2)随着围垦植稻年限的增长,土壤N₂O还原的 功能基因nosZ I和nosZ II数量大幅度增加;其中,功 能基因nosZ I是耕层土壤N₂O还原速率发生演替性 变异的主要贡献者。

致谢:在本试验的野外采样过程中,上海崇明东滩湿地自然保 护区给予了大力支持和协助,在此表示衷心感谢!

参考文献:

- [1] IPCC. Summary for policymakers[M]//Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part a: Global and Sect Oral A spects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge and New York: Cambridge University Press, 2014, 1-32.
- [2] 续勇波, 蔡祖聪. 亚热带土壤氮素反硝化过程中 N₂O 的排放和还原 [J]. 环境科学学报, 2008, 28(4):731-737.

XU Yong-bo, CAI Zu-cong. Nitrous oxide emission and reduction during denitrification in subtropical soils[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(4):731-737.

- [3] 冯洁,张克强,陈思,等. 土壤 N₂O 吸收和消耗机制及研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(11):2084-2089.
 FENG Jie, ZHANG Ke-qiang, CHEN Si, et al. Mechanism of N₂O uptake and consumption by soil: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(11):2084-2089.
- [4] Hallin S, Philippo L, Löffler F E, et al. Genomics and ecology of novel N₂O-reducing microorganisms[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26 (1):43-55.
- [5] Mania D, Heylen K, van Spanning R J M, et al. The nitrate-ammonifying and nosZ-carrying bacterium *Bacillus vireti* is a potent source and sink for nitric and nitrous oxide under high nitrate conditions[J]. *Envi*ronmental Microbiology, 2014, 16: 3196-3210.
- [6] Sanford R A, Wagner D D, Wu, Q, 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: 19709-19714.
- [7] 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, 7:417–426.
- [8] 林黎, 崔军, 陈学萍, 等. 滩涂围垦和土地利用对土壤微生物群落的 影响[J]. 生态学报, 2014, 34(4):899–906.
 LIN Li, CUI Jun, CHEN Xue-ping, et al. Effects of reclamation on tidal flat and land use on soil microbial community[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(4):899–906.
- [9] 侯颖, 李红, 赵敏, 等. 从湿地到农田: 围垦对生态系统碳排放的影响[J]. 应用生态学报, 2017, 28(8):2517-2526.
 HOU Ying, LI Hong, ZHAO Min, et al. Effects of reclamation on ecosystem carbon emission: Wetland conversion to cropland[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(8):2517-2526.
- [10] Cui J, Liu C, Li Z L, et al. Long-term changes in topsoil chemical properties under centuries of cultivation after reclamation of coastal wetlands in the Yangtze Estuary, China[J]. Soil and Tillage Research,

2012, 123:50-60.

- [11] Iost S, Landgraf D, Makeschin F. Chemical soil properties of reclaimed marsh soil from Zhejiang Province P. R. China[J]. *Geoderma*, 2007, 142:245-250.
- [12] Chen L, Zhang G. Parent material uniformity and evolution of soil characteristics of a paddy soil chronosequence derived from marine sediments[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 46:753-763.
- [13] Davidson E A, Janssens I A. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change[J]. *Nature*, 2006, 440: 165–168.
- [14] Six J, Conant R T, Paul E A, et al. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils[J]. *Plant Soil*, 2002, 241:155–176.

[15] 王玲, 邢肖毅, 秦红灵, 等. 淹水水稻土消耗 N₂O 能力及机制[J]. 环境科学, 2017, 38(4):1633-1639.
WANG Ling, XING Xiao-yi, QIN Hong-ling, et al. N₂O consumption ability of submerged paddy soil and the regulatory mechanism[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(4):1633-1639.

- [16] Bent E, Nemet D, Wagner-Riddle C, et al. Residue management leading to higher field-scale N₂O flux is associated with different soil bacterial nitrifier and denitrifier gene community structures[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 108:288–299.
- [17] Mathieu O, Lévêque J, Hénault C, et al. Emissions and spatial variability of N₂O: N₂ and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with ¹⁵N isotopic techniques[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5):941–951.
- [18] Cai Y L, Zhang X L, Li G H, et al. Spatiotemporal distributions and environmental drivers of diversity and community structure of nosZ – type denitrifiers and anammox bacteria in sediments of the Bohai Sea and North Yellow Sea, China[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2019, 37:1211-1228.
- [19] Tatsunori N, Yuki T, Shingo U, et al. Eelgrass sediment microbiome as a nitrous oxide sink in brackish lake Akkeshi, Japan[J]. *Microbes* and Environments, 2019, 34:13-22.
- [20] Francisco D, Maria J L, Jan D E, et al. Reconstructing the genetic potential of the microbially-mediated nitrogen cycle in a salt marsh ecosystem[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 902.
- [21] Kearns P J, Angell J H, Feinman S G, et al. Long-term nutrient addition differentially alters community composition and diversity of genes that control nitrous oxide flux from salt marsh sediments[J]. *Estuarine*, *Coastal and Shelf Science*, 2015, 154:39–47.
- [22] Wittorf L, Bonilla-Rosso G, Christopher M, et al. Habitat partitioning of marine benthic denitrifier communities in response to oxygen availability[J]. Environmental Microbiology Reports, 2016, 8:486-492.
- [23] Graves C J, Makrides E J, Schmidt V T, et al. Functional responses of salt marsh microbial communities to long-term nutrient enrichment [J]. Applied Environmental Microbiology, 2016, 82:2862-2871.
- [24] Yoon S, Nissen S, Park D, et al. Nitrous oxide reduction kinetics distinguish bacteria harboring clade I nosZ from those harboring clade II nosZ[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(13): 3793-3800.
- [25] Domeignoz-horta L A, Philippot L, Peyrard C, et al. Peaks of in situ N₂O emissions are influenced by N₂O producing and reducing microbial communities across arable soils[J]. *Global Change Biology*, 2018, 24:360–365.

农业环境科学学报 第39卷第11期