

干湿交替对水钠锰矿促进黄棕壤性水稻土 N₂O 释放效应的影响

甘雪莲, 郑 恒, 付庆灵*, 胡红青, 朱 俊

(华中农业大学 资源与环境学院, 湖北 武汉 430070)

摘要:【目的】水稻土中锰氧化物的氧化还原状态可随土壤水分干湿交替而变化, 影响土壤氮素循环, 进而影响氧化亚氮 (N₂O) 的排放。以土壤水分条件和水钠锰矿 (0.1%, w/w) 对土壤 N₂O 释放的影响为切入点, 探究干湿交替下水钠锰矿影响土壤 N₂O 释放的机制。【方法】以黄棕壤性水稻土为对象, 设置不同水分条件和水钠锰矿 (0.1%, w/w) 进行微宇宙培养试验, 探究土壤水分和水钠锰矿对土壤 N₂O 释放的影响。【结果】培养 14 d 内, 土壤水分在 60% 和 100% 田间持水量恒定条件下水钠锰矿显著促进了土壤 N₂O 累计释放量, 增幅分别为 11.3% 和 25.3%; 但土壤水分在干湿交替 (100% ~ 60% 田间持水量) 条件下水钠锰矿对土壤 N₂O 累计释放量影响不显著。水钠锰矿显著提高了恒定土壤水分条件下亚硝酸还原酶 (*nirK*) / 氧化亚氮还原酶 (*nosZ*) 基因拷贝数比; 但水钠锰矿显著降低了土壤水分干湿交替条件的 *nirK/nosZ* 基因拷贝数比。【结论】土壤水分在干湿交替条件下不添加水钠锰矿处理和恒定条件下 (60% 和 100% 田间持水量) 添加水钠锰矿处理分别促进黄棕壤性水稻土 N₂O 的释放, 但干湿交替条件下降低了水钠锰矿对土壤 N₂O 释放的促进效应。土壤水分条件比水钠锰矿对黄棕壤性水稻土 N₂O 释放的影响更大。

关键词: 氧化亚氮; 水稻土; 水分变化; 水钠锰矿

中图分类号: S153.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0564-3945(2023)04-0872-09

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2022051601

甘雪莲, 郑 恒, 付庆灵, 胡红青, 朱 俊. 干湿交替对水钠锰矿促进黄棕壤性水稻土 N₂O 释放效应的影响 [J]. 土壤通报, 2023, 54(4): 872 - 880

GAN Xue-lian, ZHENG Heng, FU Qing-ling, HU Hong-qing, ZHU Jun. Reduced Promoting Effect of Birnessite on N₂O Emissions from Yellow-Brown Paddy Soil under Alternating Wet and Dry Conditions[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(4): 872 - 880

【研究意义】氧化亚氮 (N₂O) 是一种高温室效应的气体, 主要由农田土壤的硝化和反硝化过程产生, 其增温潜势是 CO₂ 的 298 倍, CH₄ 的 20 ~ 30 倍^[1]。我国水稻种植范围广, 水稻土 N₂O 直接排放量占人为总排放量的 11.4%^[2]。因此, 探明水稻土 N₂O 释放的影响因素及机制, 符合国家“双碳”战略目标, 可为稻田土壤 N₂O 科学减排提供理论依据。

【前人研究进展】土壤水分是影响稻田土壤 N₂O 释放的关键因子, 可以通过影响土壤氮循环微生物活性, 进而影响土壤 N₂O 释放^[3-4]。在恒定水分条件下, Zhang 等^[5]发现淹水土壤是 N₂O 释放的重要来源; Ma 等^[6]研究表明水稻土 N₂O 释放量随着土壤含水量的升高而升高, 当土壤含水量增至 100% 田间持水量 (WHC) 时, N₂O 释放量达到峰值。在土壤水分干

湿交替条件下, Ma 等^[7]发现潮土干湿交替处理 N₂O 的释放主要集中在高含水量阶段。水稻土常为干湿交替的水分状况, 水稻土中铁锰氧化物的氧化还原状态可随土壤水分干湿交替而变化, 进而影响土壤氮素循环^[8-9]。水钠锰矿是土壤中常见的一类具有较强氧化性的锰氧化物, 可与土壤氮素发生相互作用, 进而影响土壤 N₂O 释放^[10]。Cavazos 等^[11]发现水钠锰矿能够在 3 分钟内将 80% ~ 100% 的硝化中间产物羟胺 (NH₂OH) 氧化为 N₂O。邢志强等^[12]发现水钠锰矿提高恒定含水量时红壤性水稻土 N₂O 释放速率。

【本研究切入点】水钠锰矿是否会影响干湿交替的水稻土中 N₂O 的释放, 尚需进一步探索。【拟解决的问题】本文通过设置不同的水分处理, 添加水钠锰矿 (0.1%, w/w), 研究不同土壤水分状况下水钠

收稿日期: 2022-05-16; 修订日期: 2022-07-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41771270) 资助

作者简介: 甘雪莲 (1999-), 女, 湖南永顺人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤氮素循环。E-mail: 767018104@qq.com

*通讯作者: E-mail: fuqingling@hzau.edu.cn

锰矿对黄棕壤性水稻土 N₂O 释放的影响, 阐明土壤水分干湿交替的环境中水钠锰矿影响黄棕壤性水稻土 N₂O 释放的机制, 为减少水稻土 N₂O 释放提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤理化性质

土壤为湖北省荆门市团林镇石龙村 (30°51' N, 121°06' E) 的黄棕壤性水稻土, 母质类型为第四纪沉积物 (Q₃)。取 0~20 cm 的耕层土壤, 去除明显的石砾、动植物残体等杂质并混合均匀后, 室内避光通风处自然风干后过 2 mm 孔径的筛子, 取一部分储存在 4 °C 冰箱中用于培养实验, 另一部分过 1 mm 孔径的筛子用于测定土壤基本理化性质。土壤 pH 6.4、有机质 37.3 g kg⁻¹、全氮 1.8 g kg⁻¹、铵态氮 24.6 mg kg⁻¹、硝态氮 2.2 mg kg⁻¹、全锰 675.5 mg kg⁻¹、HCl 提取态锰 83.1 mg kg⁻¹、全铁 30.7 g kg⁻¹ 和 HCl 提取态铁 3.1 g kg⁻¹。

1.2 水钠锰矿的制备

将 166.7 ml 12 mol L⁻¹ 浓 HCl 匀速逐滴加入到煮沸的 2.5 L 0.4 mol L⁻¹ 高锰酸钾溶液中, 持续搅拌溶液, 滴加结束后计时, 保持沸腾 10 分钟, 将得到的黑褐色沉淀离心并用去离子水反复洗涤至上清液电导率低于 5 μs cm⁻¹, 然后在 60 °C 下老化 12 h, 得到钾含量 9.5%, 比表面积 32 m² g⁻¹ 的水钠锰矿^[13], 将水钠锰矿研磨过 0.149 mm 的筛子, 通过 X 射线衍射仪鉴定合成产物为水钠锰矿。

1.3 微宇宙培养试验

课题组前期研究表明土壤中添加 0.1% 质量比的水钠锰矿, 可以增强红壤性水稻土 N₂O 的释放^[12]。基于此选择 0.1% 的质量百分比的水钠锰矿与土壤充分混合, 同时设置不添加水钠锰矿 (0%) 的对照处理。将添加水钠锰矿的土壤样品 (0.1%-Bir) 与对照土壤样品 (0%-Bir) 分别放入 19 cm × 27 cm 培养盒中, 调节土壤含水量为 30% WHC, 覆上透气膜, 放入 25 °C 恒温避光培养箱中预培养 10 天以恢复微生物活性。

预培养结束后, 取相当于干重 25 g 的土壤于 300 ml 培养瓶中, 以水溶液的形式将硫酸铵 (N 100 mg kg⁻¹) 加入土壤。试验周期为 14d, 为模拟水稻土不同水分状况, 设置三种水分处理, 分别为: 60%WHC、100%WHC 两种恒定水分处理以及 100%

~60% WHC 一种干湿交替水分处理。恒定水分处理中用去离子水调整土壤含水量; 干湿交替水分处理中变化周期设置为: 100% WHC (湿) -60% WHC (干) -100% WHC (湿) -60% WHC (干), 即 3 天保持 100% WHC 阶段、1 天通过 40 g 干燥硅胶干燥土壤和 3 d 保持 60% WHC 阶段, 7 d 为一周期, 循环重复 2 次上述环节, 土壤相对含水量变化趋势如图 1 所示。每个处理设置 3 个重复, 于 25 °C 恒温培养箱避光密闭培养。

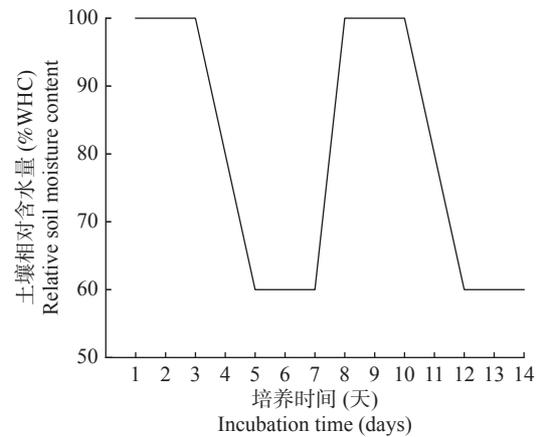


图 1 100%~60%WHC 处理土壤相对含水量变化
Fig.1 Soil moisture content changes in the 100% ~ 60%WHC treatment

1.4 样品采集及测定

以土壤开始淹水时为 0 d, 在 3、4、7、10 和 14 d 分别用针筒采集培养瓶顶空气体作为气样, 土样与气样同步采集, 并通过质量法用去离子水调整含水量。采集的土壤样品一部分分析测定理化指标, 另一部分保存在 -80 °C 超低温冰箱中用以测定生物指标。使用气相色谱仪 (Agilent GC7890A) 分析气体样品中的 N₂O 含量, 用去离子水浸提 (水土比 2.5 : 1) pH 计测定 pH; 采用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测有机质含量^[14]; 使用 2 mol L⁻¹ KCl 溶液浸提过滤后比色法测定 NH₄⁺ 与 NO₃⁻ 含量^[15]; 采用硫酸铝浸提, 高碘酸钾比色法测定 Mn²⁺ 含量^[14]; 采用王水与高氯酸混酸消化土壤, 电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES) 测定总锰含量; 采用盐酸浸提, 邻菲罗啉比色法测定土壤 Fe²⁺ 和 Fe³⁺ 含量; 添加盐酸羟胺, 邻菲罗啉比色法测定总铁含量^[14]; 田间持水量用重量法测定^[16]。

1.5 土壤 DNA 提取与定量 PCR 测定

使用 HiPure Soil DNA Mini Kit 试剂盒提取培养结束时的土壤样品的 DNA, 使用 NanoDrop™

One (ND-ONE-W, Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 检测 DNA 浓度和纯度, 于-20 °C 储存。

利用实时荧光定量 PCR 仪 (CFX96, Bio-rad, USA), 采用 SYBRGreen 染料法测定 16S rDNA 基因、氨氧化微生物 (*amoA*) 基因、亚硝酸还原酶

(*nirK*) 基因丰度和氧化亚氮还原酶 (*nosZ*) 基因丰度。实验中使用 15 ul 体系, 包括 7.5 ul 2 × SYBR Green Mix, 0.7 ul 上游引物, 0.7 ul 下游引物, 1 ul DNA 模板, 5.1 ul DEPC 水。各种功能基因所用引物如表 1 所示。

表 1 荧光定量 PCR 扩增引物
Table 1 The primer information of RT-PCR

基因名称 Gene name	引物序列/5'-3' Primer sequence/5'-3'	参考文献 Reference
16S rDNA	F: GTGYCAGCMGCCGCGGTAA R: GGACTACNVGGGTWTCTAAT	[17]
<i>AOA amoA</i>	F: GACTACATMTTCTAYACWGAYTGGGC R: GGKGTCA TRTATGGWGGY AAYGTTGG	[18]
<i>AOB amoA</i>	F: GGGGTTTCTACTGGTGGT R: CCCCTCKGSAAGCCTTCTTC	[19]
<i>nirK</i>	F: TCATGGTGCTGCCGCGYGANGG R: GAACCTGCCGGTKGCCAGAC	[20]
<i>nosZ</i>	F: GGGCTBGGGCCRTTGCA R: GAAGCGRTCCTTSGARAACCTTG	[21]

注: F代表上游引物; R代表下游引物。W=A/T; K=G/T; S=G/C。

1.6 数据分析

使用 Excel 2010 汇总计算数据、Origin 2019C 绘图和 PCA 分析、IBM SPSS Statistics 21 进行双因素方差分析和最小显著性差异法 (LSD) 进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤氧化亚氮累计释放量

如图 2 所示, 从整个培养时期来看, N₂O 累计释放量随着土壤含水量的增加而增加, 60% WHC 和 100% WHC 处理的 N₂O 累计释放量分别为 118.5 和 9556.7 μg kg⁻¹; 100% ~ 60% WHC 交替处理的 N₂O 累计释放量为 17513.3 μg kg⁻¹, 显著高于 60% WHC 和 100% WHC 处理, 说明干湿交替显著促进 N₂O 的释放。在培养时期内, 水钠锰矿显著促进了恒定含水量条件 (60% WHC 和 100% WHC 处理) N₂O 累计释放量 ($P < 0.05$), 增幅分别为 11.3% 和 25.3%, 但水钠锰矿对干湿交替水分条件 (100% ~ 60% WHC 处理) N₂O 累计释放量影响不显著。

培养 14 天内, 100% ~ 60% WHC 处理中的 N₂O 累计释放主要集中在 100% WHC 阶段, 占总 N₂O 累计释放量的 79.2% ~ 89.1%, 100% WHC 的水分条件利于黄棕壤性水稻土 N₂O 的释放。水钠锰矿能够显著促进第一个高含水量阶段 (100% WHC) N₂O 的累计释放, 增幅为 10.6%; 但水钠锰矿显著抑制第二个

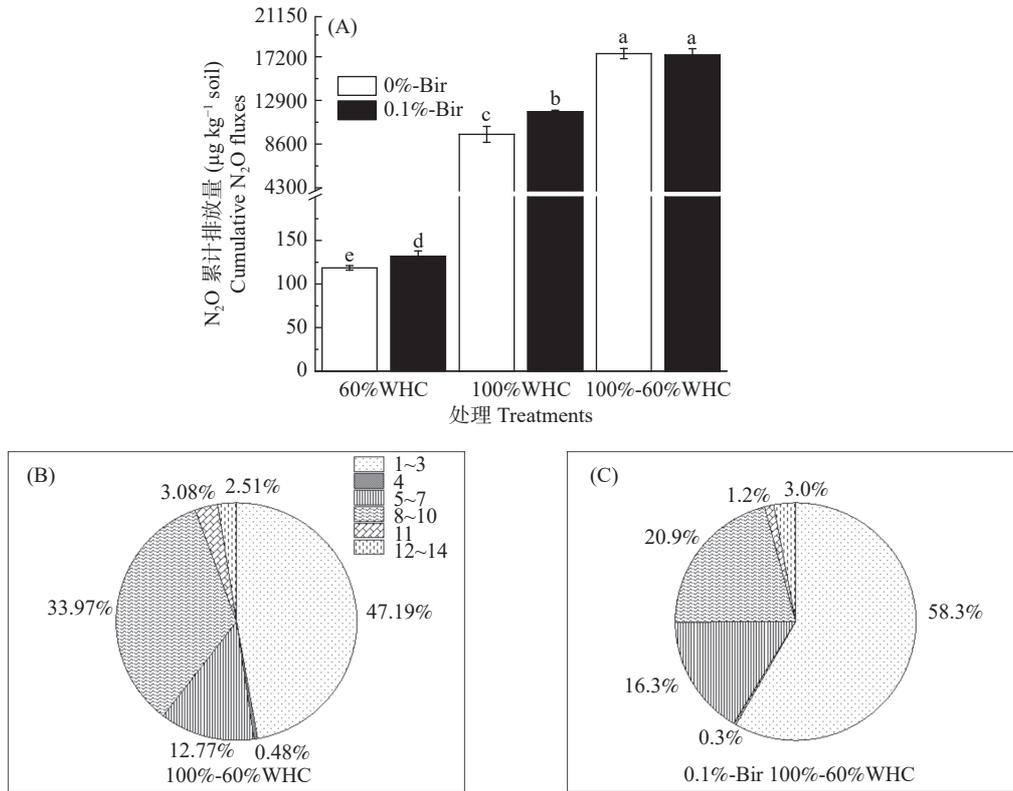
高含水量阶段 N₂O 的累计释放, 降幅为 13.0%。

培养期内, 黄棕壤性水稻土 N₂O 累计释放量与水钠锰矿有显著相关性 ($P < 0.05$), 与水分含量有极显著的相关性 ($P < 0.01$), 表明水分和水钠锰矿均影响黄棕壤性水稻土 N₂O 的释放, 但干湿交替抑制水钠锰矿对黄棕壤性水稻土 N₂O 释放的促进效应。

2.2 土壤硝态氮与铵态氮含量

如图 3 所示, 随着培养的进行, 不同处理的 NH₄⁺ 含量均在降低, NO₃⁻ 含量均在升高。培养结束时, 60% WHC 和 100% ~ 60% WHC 处理的 NH₄⁺ 消耗量分别为 106.6 和 114.9 mg kg⁻¹, 显著高于 100% WHC 处理的 NH₄⁺ 消耗量 53 mg kg⁻¹。在培养时期内, 100% ~ 60% WHC 处理的低水分阶段 (3 ~ 7d 和 10 ~ 14 d) 中 NH₄⁺ 消耗量高于第二个高水分阶段 (7 ~ 10 d), 结果表明 60% WHC 更利于 NH₄⁺ 的消耗。水钠锰矿促进恒定水分处理的 NH₄⁺ 消耗; 抑制干湿交替处理的 NH₄⁺ 累计消耗量, 其中水钠锰矿提高干湿交替处理前 7 d 的 NH₄⁺ 消耗量, 降低 10 ~ 14 d 的 NH₄⁺ 消耗量。

培养结束时, 60% WHC 和 100% ~ 60% WHC 处理的 NO₃⁻ 生成量分别为 116.6 和 84.1 mg kg⁻¹, 显著高于 100% WHC 处理的 4.3 mg kg⁻¹, 其中 60% WHC 处理的 NO₃⁻ 生成量与其 NH₄⁺ 消耗量相当, 表明 60% WHC 下黄棕壤性水稻土中发生了 NH₄⁺ 转化为 NO₃⁻ 的硝化反应, 比其他处理更明显。培养时期



注: 不同字母表示差异达 5% 为显著水平, 下同。

图 2 不同处理 N₂O 累计排放量(A)及 100%~60%WHC 处理 N₂O 累计排放量的相对占比(B,C)

Fig.2 The cumulative N₂O emissions in different treatments (A) and the relative proportion of N₂O cumulative emissions in 100%-60% WHC treatment (B, C)

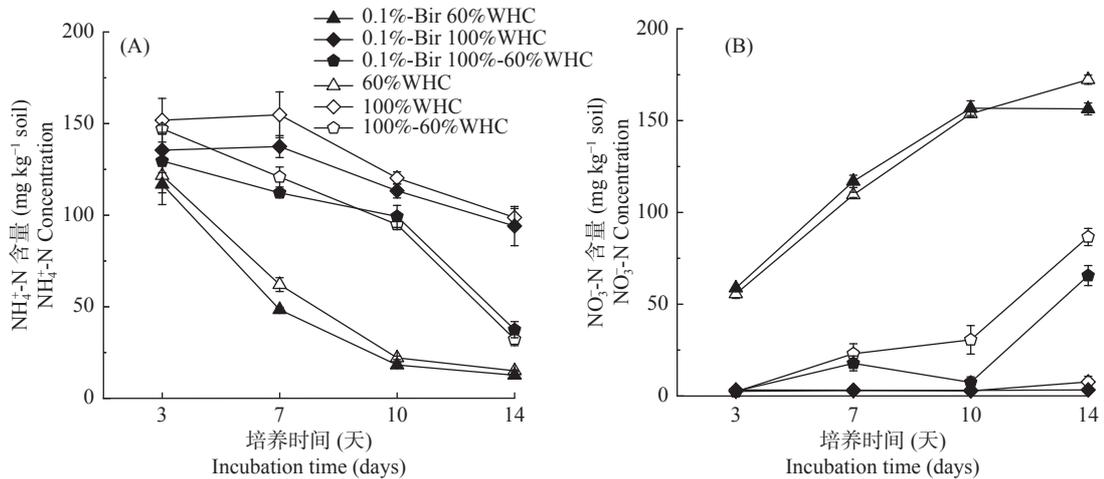


图 3 不同处理 NH₄⁺-N 含量(A)和 NO₃⁻-N 含量(B)的变化

Fig.3 Changes of NH₄⁺-N (A) and NO₃⁻-N contents (B) in different treatments

内, 水钠锰矿促进了第二个高水分处理阶段的 NH₄⁺ 消耗, 降低了第二个高水分处理阶段的 NO₃⁻ 生成, 但水钠锰矿显著抑制第二个高含水量阶段 N₂O 的累计释放, 表明干湿交替能够改变水钠锰矿对黄棕壤性水稻土无机氮转化的影响。

培养时期内, 三种处理中净硝化速率由强到弱

依次为 60%WHC、100%~60%WHC 和 100%WHC 处理, 大小分别为 10.60 ± 0.04 、 7.65 ± 0.46 和 $0.39 \pm 0.29 \text{ mg kg}^{-1}$, 结合 2.1 的结果表明 60% WHC 条件下土壤主要发生硝化反应, N₂O 的累计释放量低; 100% WHC 条件下土壤发生了反硝化反应, N₂O 的累计释放量高。净硝化速率与水钠锰矿加入无显著

相关性 ($P > 0.05$), 而与水分含量有着极显著的相关性 ($P < 0.05$), 水分是影响硝化速率更为重要的因素。

2.3 土壤 Mn^{2+} 含量

如图 4 所示, 随着培养的进行, 所有处理的 Mn^{2+} 含量随着培养的进行而呈下降趋势。培养时期内, 三种水分处理中的 Mn^{2+} 含量无显著变化。水钠锰矿加入后 Mn^{2+} 含量变化幅度增大, 其中恒定水分条件下降幅小, 为 8.8% ~ 11.0%; 干湿交替水分条件下降幅大, 为 72.4%, 且集中在低水分阶段急剧下降, 结果表明干湿交替能够显著影响水钠锰矿在黄棕壤性水稻土中的转化。

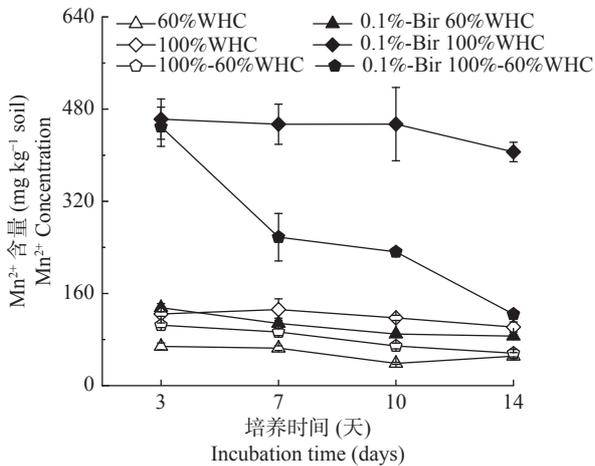


图 4 不同处理 Mn^{2+} 含量的变化

Fig.4 Changes of Mn^{2+} content in different treatments

2.4 土壤微生物基因拷贝数

如图 5 所示, 在培养时期内, 随着含水量的增加, 16S rDNA 基因拷贝数增加, 表明水分含量越高, 黄棕壤性水稻土微生物数量增加。水钠锰矿显著提高了 60% WHC 处理的 16S rDNA 基因拷贝数, 降低了 100% WHC 和 100% ~ 60% WHC 处理的 16S rDNA 基因拷贝数, 表明水分含量的变化能够改变水钠锰矿对黄棕壤性水稻土中微生物的影响。

培养时期内, 随着含水量的升高, 土壤中 *amoA*、*nosZ* 和 *nirK* 基因拷贝数增多, 而水钠锰矿对 60% WHC 处理的 *amoA*、*nosZ* 和 *nirK* 基因拷贝数没有显著影响, 却显著降低了 100% WHC 和 100% ~ 60% WHC 处理的 *amoA*、*nosZ* 和 *nirK* 基因拷贝数, 表明水分含量的升高抑制了水钠锰矿对黄棕壤性水稻土中氨氧化微生物与反硝化微生物的影响。

nosZ 基因是唯一能将 N_2O 还原为 N_2 的酶^[22-23],

以 *nirK* 基因拷贝数与 *nosZ* 基因拷贝数的比值衡量反硝化微生物释放 N_2O 的主要驱动力^[24], 比值越高土壤反硝化微生物释放的 N_2O 越多。培养时期内, 水钠锰矿显著提高了 60% WHC 和 100% WHC 处理的 *nirK/nosZ* 比, 土壤反硝化微生物释放的 N_2O 增多; 但水钠锰矿显著降低了 100% ~ 60% WHC 处理的 *nirK/nosZ* 比, 土壤反硝化微生物释放的 N_2O 减少, 表明干湿交替会降低水钠锰矿对黄棕壤性水稻土 N_2O 反硝化微生物释放 N_2O 的促进效应。

2.5 主成分分析

如图 6 主成分分析结果显示黄棕壤性水稻土中 N_2O 累计释放量与土壤理化性质及微生物活性之间的相关性, 结果表明 N_2O 累计释放量与 16S rDNA、*amoA*、*nosZ*、*nirK* 基因拷贝数和 Mn^{2+} 含量具有正相关性。培养时期内, 60% WHC 处理及添加水钠锰矿后在主成分上变化很小; 但 100% WHC 和 100% ~ 60% WHC 处理及添加水钠锰矿后在主成分上变化很大, 表明含水量是影响黄棕壤性水稻土 N_2O 释放更为重要的因素。

3 讨论

培养周期内, 黄棕壤性水稻土 N_2O 累计释放量随着土壤水分含量的增加而增加, 且干湿交替会进一步促进 N_2O 释放。土壤在 60% WHC 时的 N_2O 释放量最小, 可能是由于湿度低, 微生物活性低, 土壤脱氮率低, 土壤有机碳和无机氮扩散弱^[25]; 同时, 60% WHC 处理的 NH_4^+ 消耗量与 NO_3^- 生成量高于 100% 和 100% ~ 60% WHC 处理, 且净硝化速率最高, 该条件下主要发生硝化反应, 反硝化反应弱, 导致 N_2O 释放偏低。100% WHC 处理中的 N_2O 累计释放量高于 60% WHC 处理, 同时 100% ~ 60% WHC 处理中的 N_2O 累计释放主要集中在 100% WHC 阶段, 表明培养时期内黄棕壤性水稻土主要在 100% WHC 阶段释放 N_2O 。这与前人研究结果一致, Bollmann^[26] 发现较高的土壤含水量有利于通过反硝化释放 N_2O , 低于 80% WHC 主要由硝化释放 N_2O 。Ma 等^[7] 通过将潮土从干旱到再湿润的试验, 区分不同时期 N_2O 的释放, 发现在恒定土壤水分条件下, 90% WHC 土壤 N_2O 总释放量显著高于 30% WHC、45% WHC、60% WHC 和 75% WHC 处理。100% ~ 60% WHC 处理中的 N_2O 累计释放量高于 60% WHC 和 100% WHC 处理, 表明干湿交替会增加黄棕壤性水稻土

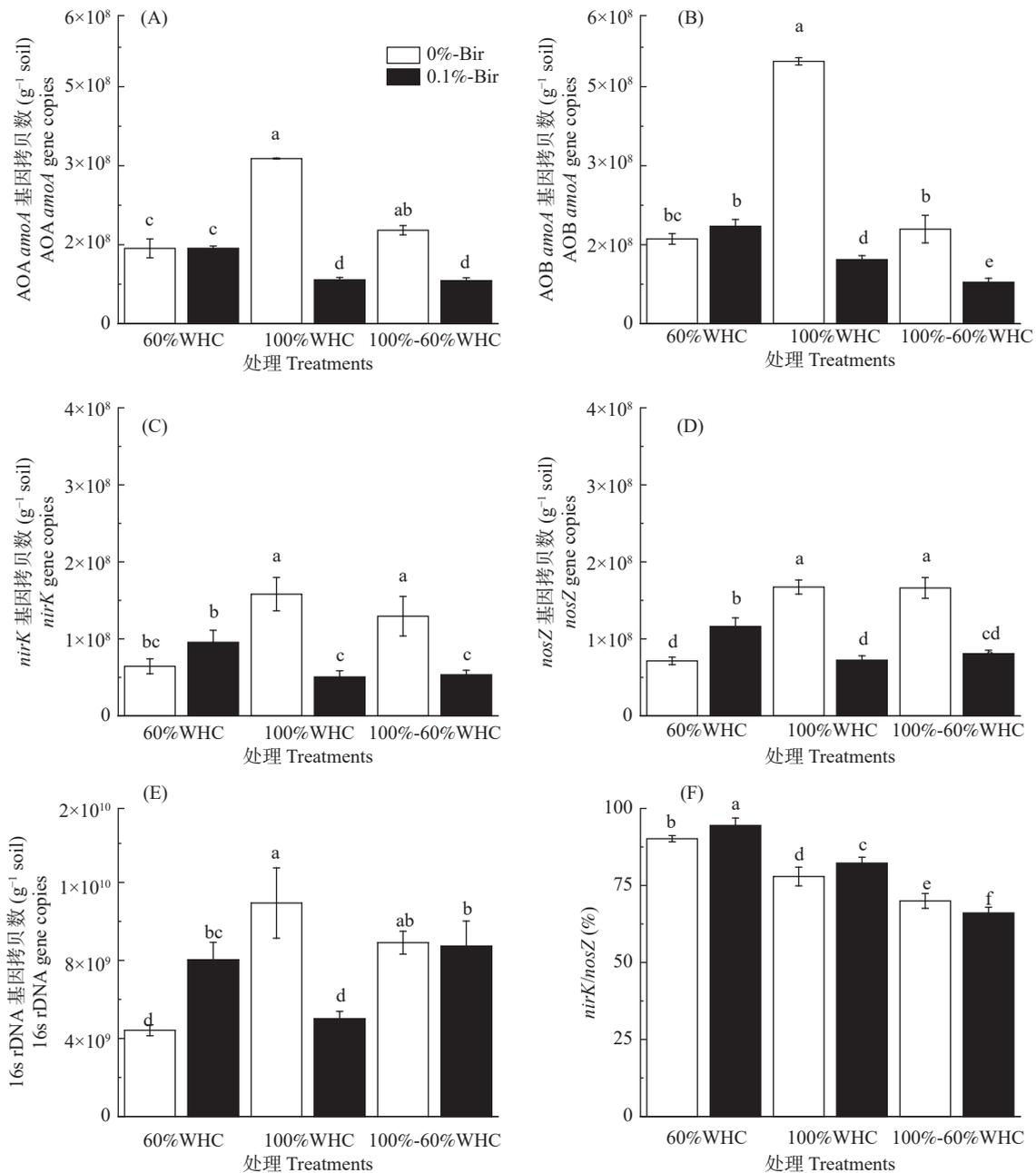


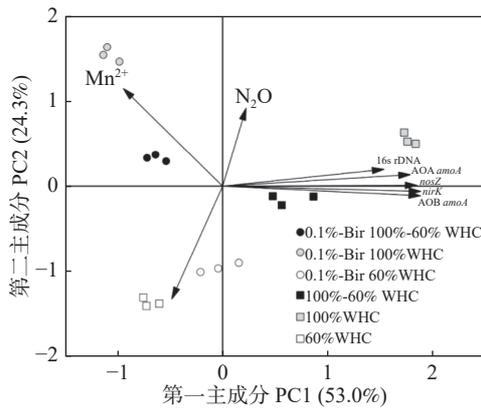
图5 不同处理中 AOA *amoA*、AOB *amoA*、*nirK*、*nosZ*、16S rDNA 基因拷贝数(A, B, C, D, E)和 *nirK/nosZ* 的比值(F)

Fig.5 AOA *amoA*, AOB *amoA*, *nirK*, *nosZ*, 16S rDNA gene copies (A, B, C, D, E) and the ratio of *nirK* to *nosZ* (F) in different treatments

N_2O 的释放。这是因为在 100%WHC 和 100%~60% WHC 处理的 *amoA*、*nosZ* 和 *nirK* 基因拷贝数均高于 60% WHC 处理, 土壤氨氧化和反硝化可能反应过程强烈, NO_3^- 大量被转化, N_2O 的释放增多; 60%WHC 阶段时 16S rDNA 基因拷贝数低, 主要发生硝化反应, 土壤中的 NH_4^+ 转化为 NO_3^- , 未被利用导致 NO_3^- 大量累积, 为下一阶段的反硝化过程提供了更多的底物。

培养时期内, 水钠锰矿提高了 60%WHC 和 100% WHC 处理的 N_2O 释放量, 与前人的研究结果

一致, 邢志强等^[12]通过在红壤性水稻土中添加不同质量百分比的水钠锰矿, 发现水钠锰矿提高了土壤 N_2O 释放速率, 增加了土壤 N_2O 累积释放量。不同的是在 100%~60% WHC 处理中, 水钠锰矿对 N_2O 的释放并无显著影响。这可能是因为水钠锰矿对黄棕壤性水稻土的影响可能是生物与非生物耦合产生。60% WHC 条件下水钠锰矿可能显著提高了土壤反硝化微生物驱动的 N_2O 释放, 从而促进了 60% WHC 条件下黄棕壤性水稻土 N_2O 的释放。而随着含水量的升高, 黄棕壤性水稻土的反硝化微生物驱动的



注: N_2O 为氧化亚氮累计释放量, Mn^{2+} 为二价锰离子含量, NN 为净硝化速率。

图 6 主成分分析结果

Fig. 6 Principal component analysis results

N_2O 释放可能减少, 但 N_2O 的释放量增多, 这可能是因为高含水量下, 土壤中氧化还原反应增强, 生物与非生物的耦合过程增多, 非生物 N_2O 的释放增强。同时, 100% WHC 处理水钠锰矿大幅降低了土壤 16S rDNA 基因拷贝数, 水钠锰矿会对微生物产生毒害从而抑制其活性, 改变土壤的细菌群落结构^[27], 进而可能影响水钠锰矿对黄棕壤性水稻土的生物与非生物耦合作用。

水钠锰矿在土壤中很可能显著提高了恒定水分处理中的土壤反硝化微生物驱动的 N_2O 释放, 却显著降低了干湿交替水分处理中的土壤反硝化微生物驱动的 N_2O 释放, 这可能是因为黄棕壤性水稻土中, 含水量的升高和降低极有可能改变了水钠锰矿的形态, 干湿交替的水分条件下水钠锰矿发生氧化还原, Mn^{2+} 变化强烈。土壤 N_2O 的释放主要集中在前 3 d, 添加水钠锰矿的处理中 Mn^{2+} 的浓度显著高于没有添加水钠锰矿的处理, 这可能是因为水钠锰矿被还原提高了土壤 Mn^{2+} 的浓度, 从而促进了培养前 3 d 土壤 N_2O 的释放。水钠锰矿可能与氨氧化过程产生的 NH_2OH 反应生成 N_2O , 促进黄棕壤性水稻土 N_2O 的释放。在热力学上, 存在锰氧化物能够通过氧化 NH_2OH 产生 N_2O , 即: $2NH_2OH + 2MnO_2 + 4H^+ \rightarrow N_2O + 2Mn^{2+} + 5H_2O$ ^[28]。Zhang 等^[29] 发现锰氧化物被还原为 Mn^{2+} , 形成氨氧自由基作为 NH_2OH 氧化的产物。随着培养时间的延长, 干湿交替处理对土壤 Mn^{2+} 的影响显著, 但干湿交替时水钠锰矿对 N_2O 释放的促进效应明显被抑制, 这可能是干湿交替中还原后的 Mn^{2+} 能够与 NO_3^- 反应产生 N_2 ^[30], 促进反硝化过程, 从而导致干湿交替条件下水钠锰矿

并没有显著促进土壤 N_2O 的释放。水钠锰矿在土壤中受干湿交替的水分影响不停地发生氧化还原反应, 极有可能参与非生物反硝化过程。水钠锰矿参与的非生物反硝化过程可能在黄棕壤性水稻土 N_2O 的释放中发挥了不可忽视的作用。

当黄棕壤性水稻田淹水时, 主要发生反硝化过程, 微生物活性可能增强; 土壤中的水钠锰矿具有强氧化性, 能够直接与 NH_4^+ 反应生成 NO_3^- ^[31], 为反硝化过程提供更多的底物, 同时, 水钠锰矿能够提高土壤反硝化微生物驱动的 N_2O 释放, 生物与非生物的反硝化耦合反硝化产生 N_2O 过程强烈, 导致土壤 N_2O 释放增多。干燥时, 主要发生硝化过程, 微生物活性减弱, 累积大量 NO_3^- ; 上一过程产生的还原态锰能够转化为氧化态锰^[32], 为下一阶段兼性厌氧环境中的反硝化提供了大量反应底物。交替进行应使黄棕壤性水稻田 N_2O 释放增多, 但干湿交替降低了水钠锰矿对黄棕壤性水稻土 N_2O 释放的促进效应从而导致干湿交替下添加水钠锰矿并未促进黄棕壤性水稻 N_2O 的释放。干湿交替的水分条件下生物与非生物反硝化耦合反硝化频繁发生, 可能是水稻土 N_2O 释放的重要原因。土壤中的铁氧化物易发生氧化还原变化, 其氧化和还原过程可能会耦合土壤氮素的转化, 进而影响土壤 N_2O 的释放^[33], 可以结合 ^{15}N 和 ^{16}O 双同位素示踪技术, 探明氨氧化微生物、铁锰氧化物和反硝化微生物对不同土壤 N_2O 释放的耦合机制。

4 结论

培养时期内, 随着含水量升高黄棕壤性水稻土 N_2O 的释放增加, 干湿交替会导致更强的 N_2O 的释放。在恒定水分条件下, 水钠锰矿 (0.1%, w/w) 显著促进了黄棕壤性水稻土 N_2O 释放; 但在干湿交替水分条件下, 水钠锰矿对 N_2O 释放影响不显著, 干湿交替降低了水钠锰矿对黄棕壤性水稻土 N_2O 释放的促进效应。

参考文献:

- [1] Wagner-Riddle C, Congreves K A, Abalos D, et al. Globally important nitrous oxide emissions from croplands induced by freeze-thaw cycles[J]. *Nature Geoscience*, 2017, 10(4): 279 - 283.
- [2] Gao B, Ju X, Zhang Q, et al. New estimates of direct N_2O emissions from Chinese croplands from 1980 to 2007 using localized emission factors[J]. *Biogeosciences*, 2011, 8(10): 3011 - 3024.

- [3] Tatsumi C, Taniguchi T, Du S, et al. The steps in the soil nitrogen transformation process vary along an aridity gradient via changes in the microbial community[J]. *Biogeochemistry*, 2019, 144(1): 15 – 29.
- [4] Montoya M, Vallejo A, Corrochano-Monsalve M, et al. Mitigation of yield-scaled nitrous oxide emissions and global warming potential in an oilseed rape crop through N source management[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 288: 112304.
- [5] Zhang L, Zheng J Q, Han X, et al. The effect of soil moisture on the response by fungi and bacteria to nitrogen additions for N₂O production[J]. *Journal of Forestry Research*, 2020, 32(5): 2037 – 2045.
- [6] Ma L, Cheng Y, Wang J Y, et al. Mechanical insights into the effect of fluctuation in soil moisture on nitrous oxide emissions from paddy soil[J]. *Paddy Water Environment*, 2017, 15(2): 359 – 369.
- [7] Ma S T, Xia L L, Li X B, et al. End water content determines the magnitude of N₂O pulse from nitrifier denitrification after rewetting a fluvo-aquic soil[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2021, 31: e01824.
- [8] Chen S, Ding B J, Qin Y B, et al. Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation mediated by Mn(IV)-oxide reduction from agricultural drainage ditches into Jiuli River, Taihu Lake Basin[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 700: 134512.
- [9] Desireddy S, Chacko S P. A review on metal oxide (FeO_x/MnO_x) mediated nitrogen removal processes and its application in wastewater treatment[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*, 2021, 20(3): 697 – 728.
- [10] 李 颖, 顾雪元. 土壤中锰氧化物的形态及其化学提取方法综述[J]. *环境化学*, 2022, 41(1): 9 – 21.
- [11] Cavazos A R, Taillefert M, Tang Y Z, et al. Kinetics of nitrous oxide production from hydroxylamine oxidation by birnessite in seawater[J]. *Marine Chemistry*, 2018, 202: 49 – 57.
- [12] 邢志强, 左继超, 付庆灵, 等. 水钠锰矿提高红壤性水稻土 N₂O 释放速率和氨氧化细菌 *amoA* 基因丰度[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(6): 1156 – 1164.
- [13] McKenzie R M. The synthesis of birnessite, cryptomelane, and some other oxides and hydroxides of manganese[J]. *Mineralogical Magazine*, 1971, 38(296): 493 – 502.
- [14] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [15] Mulvaney R L. Nitrogen-inorganic forms//Bartels J M, Sparks D L, Page A L, et al. Methods of soil analysis part3-chemical methods[C]. Madison: Soil Science Society of America, 1996, 1123-1184.
- [16] 杜丽君. 红壤几种典型利用方式 CO₂ 的排放规律及其影响因素[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [17] Walters W, Hyde E R, Berg-Lyons D, et al. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys[J]. *Msystems*, 2015, 1(1): e00009 – 15.
- [18] Park S J, Park B J, Rhee S K. Comparative analysis of archaeal 16S rRNA and *amoA* genes to estimate the abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in marine sediments[J]. *Extremophiles*, 2008, 12(4): 605 – 615.
- [19] Rotthauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1997, 63(12): 4704 – 4712.
- [20] Braker G, Fesefeldt A, Witzel KP. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1998, 64(10): 3769 – 3775.
- [21] Chen Z, Liu J B, Wu M N, et al. Differentiated response of denitrifying communities to fertilization regime in paddy soil[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2): 446 – 459.
- [22] Park D, Kim H, Yoon S. Nitrous Oxide Reduction by an Obligate Aerobic Bacterium, *Gemmatimonas aurantiaca* Strain T-27[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(12): e00502 – 17.
- [23] 宋雅琦, 王 玲, 李 昆, 等. 土壤微生物还原 N₂O 机制及其研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2019, 42(9): 82 – 90.
- [24] Zhang Y, Ji G D, Wang R J. Genetic associations as indices of nitrogen cycling rates in an aerobic denitrification biofilter used for groundwater remediation[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 194: 49 – 56.
- [25] Yang Y L, Zhang L, Wei X Y, et al. Litter removal reduced soil nitrogen mineralization in repeated freeze-thaw cycles[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 2052.
- [26] Bollmann A, Conrad R. Influence of O₂ availability on NO and N₂O release by nitrification and denitrification in soils[J]. *Global Change Biology*, 1998, 4(4): 387 – 396.
- [27] Matsushita S, Komizo D, Cao L T T, et al. Production of biogenic manganese oxides coupled with methane oxidation in a bioreactor for removing metals from wastewater[J]. *Water Research*, 2018, 130: 224 – 233.
- [28] Zhu-Barker X, Cavazos A R, Ostrom N E, et al. The importance of abiotic reactions for nitrous oxide production[J]. *Biogeochemistry*, 2015, 126(3): 251 – 267.
- [29] Zhang T F, Liu L H, Tan W F, et al. Formation and transformation of manganese(III) intermediates in the photochemical generation of manganese(IV) oxide minerals[J]. *Chemosphere*, 2021, 262: 128082.
- [30] Luther GW, Sundby B, Lewis B L, et al. Interactions of manganese with the nitrogen cycle: Alternative pathways to dinitrogen[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1997, 61(19): 4043 – 4052.
- [31] Luther G W, Chanvalon A T D, Oldham V E, et al. Reduction of manganese oxides: thermodynamic, kinetic and mechanistic considerations for one-versus two-electron transfer steps[J].

Aquatic Geochemistry, 2018, 24(4): 257 – 277.

Science of the Total Environment, 2018, 644: 567 – 575.

[32] Rue K, Rusevova K, Biles C L, et al. Abiotic hydroxylamine nitrification involving manganese-and iron-bearing minerals[J].

[33] 胡 敏, 李芳柏. 土壤微生物铁循环及其环境意义[J]. 土壤学报, 2014, 51(4): 683 – 698.

Reduced Promoting Effect of Birnessite on N₂O Emissions from Yellow-Brown Paddy Soil under Alternating Wet and Dry Conditions

GAN Xue-lian, ZHENG Heng, FU Qing-ling*, HU Hong-qing, ZHU Jun
(College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: [Objective] The redox state of birnessite in paddy soil can change with the soil wet-dry alternation, which affects the soil nitrogen cycle and then affects the emission of greenhouse gas nitrous oxide (N₂O). The soil moisture conditions and the effect of birnessite (0.1%, w/w) on soil N₂O emissions were taken as the breakthrough point to explore the mechanism of birnessite affecting soil N₂O emissions under the alternation of wet and dry conditions. [Method] In this study, the yellow-brown paddy soil was used as the object, and the microcosm culture experiment was carried out by applying birnessite (0.1% w/w) and using different water conditions to explore its effect on N₂O emissions. [Result] Within 14 days of culture, birnessite deeply promoted the cumulative N₂O emissions under constant water conditions (60% and 100% field maximum water holding capacity treatments), with an increase of 11.3% and 25.3%. However, the effect of birnessite on the cumulative N₂O emissions under the alternating of wet and dry conditions (100%-60% soil maximum water holding capacity) was not significant. Birnessite significantly increased the nitrite reductase (*nirK*)/nitrous oxide reductase (*nosZ*) gene copy ratio under constant water conditions. However, birnessite significantly decreased the ratio of *nirK/nosZ* under alternating wet and dry moisture conditions. [Conclusion] The alternation of wet and dry conditions (100%-60% soil maximum water holding capacity) without birnessite or birnessite under constant water conditions can promote the release of N₂O emissions from the yellow-brown paddy soil, but the alternation of wet and dry conditions (60% and 100% field maximum water holding capacity treatments) can reduce promoting effect of birnessite on N₂O emissions. The effect of water conditions on N₂O emissions from yellow-brown paddy soil is greater than birnessite.

Key words: Nitrous oxide; Paddy soil; Soil moisture; Birnessite

[责任编辑: 张玉玲]