



文章编号: 1000-4025(2013)10-2113-07

黄土高原旱塬区陇东苜蓿草地 N_2O 释放动态及微生物驱动因子的研究

王 涛, 周 莹, 王先之, 沈禹颖*

(兰州大学 草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州 730020)

摘 要: 在甘肃庆阳黄土高原, 采用静态箱-气相色谱法测定了 3 年轮陇东苜蓿草地不同物候期的 N_2O 释放通量, 采用最大或然数法(MPN)测定了土壤 0~30 cm 硝化细菌和反硝化细菌数量, 探讨旱区紫花苜蓿草地 N_2O 释放规律与其土壤微生物的关系。结果表明: (1) 3 年轮陇东苜蓿草地年内 N_2O 释放通量在 $-0.099 \sim 0.085 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间; N_2O 释放通量在头茬花期和越冬前再生期达到高峰, 而二茬再生期和越冬期则处于 N_2O 吸收期, 成为 N_2O 贮存库。(2) 陇东苜蓿草地亚硝酸细菌、硝酸细菌和反硝化细菌数量在不同物候期和土壤层次间存在差异。(3) 3 年轮陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量与土壤水分含量、土壤 pH、硝酸细菌和反硝化细菌数量间呈显著正相关性关系。(4) 庆阳黄土高原旱区陇东苜蓿草地是较弱的农业 N_2O 释放源, 远低于同类研究和国际释放平均水平。

关键词: 温室气体排放; 细菌; 硝化; 反硝化; 紫花苜蓿; 旱区

中图分类号: Q948.113

文献标志码: A

N_2O Emission Dynamics and Its Microbial Mechanism of a 3-year-old Alfalfa Grassland in the Arid Loess Plateau

WANG Tao, ZHOU Ying, WANG Xianzhi, SHEN Yuying*

(College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Lanzhou 730020, China)

Abstract: N_2O emission dynamics and its microbial mechanisms within alfalfa grassland in arid areas were previously unclear. Accordingly, gas collection was performed on a 3-year old alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. Longdong) grassland in Qingyang, on the Loess Plateau, using a static, enclosed chamber. N_2O emission flux was measured using High Performance Gas Chromatography. Quantities of nitrifying and denitrifying bacteria in soils at a depth of 0~30 cm were determined using the most probable number (MPN) method. The results showed: (1) The N_2O emission flux of alfalfa grassland ranged from $-0.099 \sim 0.085 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ through all phenological stages. N_2O emission peaked at flowering stage of the first cut and at the re-growth stage before overwintering, whereas the grassland absorbed N_2O at re-growth stage of the second cut and during overwintering, which became the N_2O repository. (2) The amounts of nitrite bacteria, nitrate bacteria and denitrifying bacteria varied among different phenological stages and soil layers. (3) Significant linear correlation was found between N_2O emission flux and soil moisture content and soil pH value and the amounts of nitrate and denitrifying bacteria. (4) Longdong alfalfa grassland in Qingyang was found to be a weaker N_2O emission source than other agricultural sources as reported in similar research and the international average of emission level.

Key words: greenhouse gas emission; bacteria; nitrifying; denitrifying; *Medicago sativa* L.; arid area

收稿日期: 2013-05-22; 修改稿收到日期: 2013-08-20

基金项目: 教育部重大科技项目(313028); 甘肃省重大科技专项(1203FKDA035)

作者简介: 王 涛(1988—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事栽培草地环境研究。E-mail: 784878650@qq.com

* 通信作者: 沈禹颖, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事草地农业生态系统研究。E-mail: yy.shen@lzu.edu.cn

N_2O 是最主要的温室气体之一,农业系统土壤 N_2O 释放量占全球总量的 70%~90%,美国 N_2O 释放量占整个农业温室气体释放量的 50%左右^[1],加拿大和英国的 N_2O 释放量占本国温室气体释放量的比例大致为 8%^[2],德国因农业活动引起的 N_2O 释放量占全部释放量的 39%~52%^[3]。中国农田土壤的 N_2O 年释放总量为 398 Gg,约占全球农田土壤释放总量的 10%^[4]。 N_2O 释放受硝化和反硝化作用过程的控制^[5-10],与土壤中硝化细菌和反硝化细菌的活性、数量和种类有关^[11],植物种类也影响着 N_2O 的释放,豆科作物 N_2O 的释放量显著高于非豆科作物^[12]。豆科植物的生物固氮特性在增加植物可利用氮素的同时,也为硝化和反硝化过程提供了额外的底物,如大豆地 N_2O 释放量显著高于玉米地^[13],加拿大农业领域释放的 N_2O 中有 22%来源于豆科作物^[14]。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)作为优良的豆科牧草,在中国栽培面积已达 250 万 hm^2 ^[15],在草畜产业发展中发挥着重要作用。目前有关苜蓿草地 N_2O 释放的研究很少^[14],对其 N_2O 释放动态及其硝化和反硝化过程尚不明确。本研究在黄土高原旱塬区,以 3 年龄陇东苜蓿草地为对象,测定了不同物候期草地的 N_2O 释放通量以及硝化和反硝化细菌的数量,探究紫花苜蓿草地 N_2O 释放与相关微生物活动的耦联关系,为理解豆科植物-土壤系统的 N_2O 释放,进一步确定农业系统的 N_2O 释放量提供一定的科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地设在兰州大学庆阳黄土高原试验站(35°39'N,107°51'E),海拔 1 297 m,多年平均年降水量 564 mm,多集中于 7~9 月份,年均蒸发量 1 504 mm,年均气温 8℃~10℃,极端最高气温 39.6℃,极端最低气温为-22.4℃,>5℃年平均积温 3 446℃。全年无霜期约 161 d,属温带大陆性季风气候;土壤为黑垆土,粉粒含量 70%,有机质含量约 1%,全氮含量低于 0.1%。

供试样地为 2009 年种植的陇东苜蓿(*Medicago sativa* L. cv. Longdong)草地,测定时为 3 年龄,苜蓿开始进入生长和各种代谢活动的旺盛期,因此,具有一定的代表性。设 4 个重复小区,小区面积 3 m×3 m。分别于 2011 年 5 月 11 日(返青期,Ⅰ)、6 月 7 日(头茬花期,Ⅱ)、7 月 20 日(二茬再生期,Ⅲ)、9 月 1 日(二茬花期,Ⅳ)、10 月 13 日(越冬前再

生期,Ⅴ)和 12 月 24 日(越冬期,Ⅵ)进行 6 次取样。

1.2 观测方法

1.2.1 N_2O 释放通量的测定 采用密闭式静态箱法收集 N_2O ,该装置由厚度 1.1 cm 的 PVC 管制成,圆柱型,直径 30 cm,总高 60 cm(地上净高 50 cm),分为箱体与底座两部分,底座由铝合金制成,上有凹形圆槽,测定时只需将箱体扣入凹形圆槽,用水密封,底座插入土壤后不再移动,对土壤环境无扰动,不影响植物正常生长,密封性好。测定时间为取样当日上午 9:00~11:00,静态箱密闭稳定后即抽气采样 1 次,之后每间隔 10 min 取样 1 次,共取样 4 次。每次取样气 150 mL,储存于铝箔气体采样袋中,常温下保存。

采用高效气相色谱仪(型号:Aglient-7890)测定气体样品 N_2O 的浓度。气相色谱设定条件—色谱柱:Park Q 15 m×0.53 mm×25 μm ,柱温 45℃; N_2O 检测器为 ECD 后检测器,检测温度 300℃,载气为高纯氮气,流量 60 mL/min。气体排放通量 F 的公式如下^[16]:

$$F = \frac{\Delta m}{A \times \Delta t} = \frac{m_2 - m_1}{A \times \Delta t} \\ = \frac{C_2 \times V \times M_0 \times \frac{273}{T_2} - C_1 \times V \times M_0 \times \frac{273}{T_1}}{A \times (t_2 - t_1) \times 22.4}$$

式中, F 为气体排放通量 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,正值为排放,负值为吸收; A 为取样箱的底面积(m^2); V 为取样箱体积(m^3); M_0 为测定气体的分子量; m_1 、 m_2 分别为测定箱关闭时和测定箱开启前箱内某温室气体的质量(mg); t_1 、 t_2 为测定开始和测定结束的时间; C_1 、 C_2 分别为测定箱关闭时和测定箱开启前箱内温室气体的体积浓度; T_1 、 T_2 分别为测定箱关闭时和测定箱开启前箱内温度。

1.2.2 硝化、反硝化细菌数量的测定 在采集 N_2O 的同时,采用土钻法取土样。土样为 0~10、10~20 和 20~30 cm 等 3 层,每层土取 4 钻混合作为一个样品处理,土壤样品于 4℃下保存。

采用最大或然数法(MPN)测定硝化细菌和反硝化细菌数量。取 10 g 土壤样品,放入盛有 90 mL 蒸馏水的 250 mL 三角瓶中,室温下在摇床上震荡 20 min,使土样与水分充分混合,制成 1×10^{-1} 的土壤悬浮液,吸取 1 mL 此悬浮液于 9 mL 无菌水中,制成 10^{-2} 的土壤悬浮液,以此类推,依次制成 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 的土壤悬浮液。测定亚硝酸细菌和硝酸细菌数量时,制成 1

$\times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-6}$ 的土壤悬浮液;测定反硝化细菌数量时,制成 $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-7}$ 的土壤悬浮液。每一稀释度做 3 个平行样,在改良史蒂芬逊(Stephenson)培养基上接种,接种后于 25 ℃~28 ℃ 条件下避光培养 10~14 d。培养结束后,在白瓷比色板上进行显色观察,确定亚硝酸细菌、硝酸细菌和反硝化细菌数量。

1.2.3 土壤硝态氮、铵态氮、水分和 pH 值的测定

取过 2 mm 筛土样 10 g,加 50 mL 1 mol/L KCl 制备浸提液,用流动注射仪(FIASTAR 5000, FOSS)测定硝态氮和铵态氮含量。土壤水分含量用铝盒法测定;取过 2 mm 筛土样 20 g,加 50 mL 去二氧化碳水,用酸度计(PSH-25C)测定土壤 pH 值。

1.3 数据统计与分析

采用 SPSS(V17.0)软件进行不同物候期各项指标的方差分析和 N₂O 释放通量与细菌数量、土壤水分、土壤 pH 以及土壤水分、土壤 pH 与细菌数量之间的相关性分析。

2 结果与分析

2.1 3 年龄陇东苜蓿草地的 N₂O 释放动态特征

图 1 显示,从返青期至越冬期,3 年龄陇东苜蓿草地 N₂O 释放通量在 $-0.099 \sim 0.085 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间,并呈上升-下降-上升-下降的变化趋势。其中,N₂O 释放通量分别在头茬花期和越冬前再生期

达到释放高峰,而在二茬再生期和越冬期处于吸收期,成为 N₂O 贮存库。从二茬再生期至越冬前再生期 N₂O 释放通量呈逐渐递增趋势,二茬花期和越冬前再生期 N₂O 释放通量比二茬再生期分别增加 0.60% 和 36.21%。但仅头茬花期和二茬再生期越冬期间 N₂O 释放通量具有显著差异,其余物候期间均无显著差异。

2.2 陇东苜蓿草地各物候期铵态氮和硝态氮含量

图 2 显示,3 年龄陇东苜蓿草地土壤铵态氮除了头茬花期稍高外,其他物候期变化不大,头茬花期分别比二茬再生期、二茬花期和越冬前再生期显著提高了 4.98%、4.53% 和 5.97%,其余物候期并无显著差异。土壤硝态氮含量变化呈现上升-下降-上升的变化趋势,并以头茬花期最高,返青期最低;头茬花期土壤硝态氮含量分别比返青期、二茬再生期和二茬花期显著提高了 32.34%、23.36% 和 22.14%,越冬前再生期土壤硝态氮含量比返青期显著提高了 50.34%,其余物候期并无显著差异。

2.3 陇东苜蓿草地硝化和反硝化细菌的数量动态与空间分布特征

从二茬再生期至越冬前再生期,陇东苜蓿草地土壤亚硝酸、硝酸与反硝化细菌数量均呈递增的趋势;随着土层的加深,亚硝酸、硝酸与反硝化细菌数量均呈递减的趋势,且 3 种细菌主要集中在表层(图 3)。其中,在 0~10 cm 土层内,亚硝酸细菌数量在越冬前再生期显著比二茬花期和二茬再生期提高 22.90% 和 57.80%;硝酸细菌数量虽仍以二茬花期

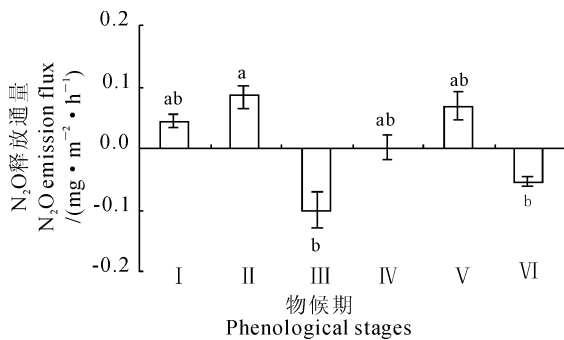


图 1 3 年龄陇东苜蓿草地不同物候期 N₂O 释放通量
I. 返青期; II. 头茬花期; III. 二茬再生期; IV. 二茬花期;
V. 越冬前再生期; VI. 越冬期;不同小写字母表示
在 0.05 水平存在显著性差异

Fig. 1 N₂O emission flux of a 3-year-old Longdong alfalfa grassland with different phenological stages
I. Greening stage; II. Flowering stage of the first cut;
III. Re-growth stage of the second cut; IV. Flowering stage of the second cut; V. Re-growth stage before overwintering;
VI. Overwintering; The different normal letters show significant difference at 0.05 level

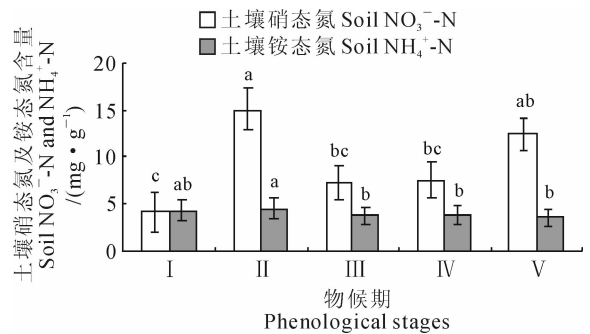


图 2 3 年龄陇东苜蓿草地不同物候期
土壤铵态氮和硝态氮的含量
同一种氮素形态内不同小写字母表示物候期
之间在 0.05 水平存在显著差异

Fig. 2 Soil NH₄⁺-N and soil NO₃⁻-N of a 3-year-old Longdong alfalfa grassland at different phenological stages
The different normal letters within the same nitrogen form indicate significance among different phenological stages at 0.05 level

最高,但在各物候期之间无显著差异;反硝化细菌数量在越冬前再生期分别显著高于二茬再生期和二茬花期 6.66% 和 7.26%。在 10~20 cm 土层内,亚硝酸细菌数量在二茬花期分别显著高于越冬前再生期和二茬再生期 19.66% 和 40.00%;硝酸细菌数量在越冬前再生期显著比二茬花期和二茬再生期提高 8.89% 和 10.02%;反硝化细菌数量在越冬前再生期和二茬花期分别显著高于二茬再生期 59.68% 和 12.15%。在 20~30 cm 土层内,反硝化细菌数量以二茬花期为最低,亚硝酸细菌和硝酸细菌数量则以二茬花期为最高,但 3 种细菌在各物候之间无显著差异。

2.4 陇东苜蓿草地降水量、土壤水分和 pH 值动态变化特征

2011 年 3 年龄陇东苜蓿草地降水量主要集中在二茬再生期到越冬前再生期,头茬花期最低(图 4,A);其草地土壤水分含量在返青期和越冬前再生

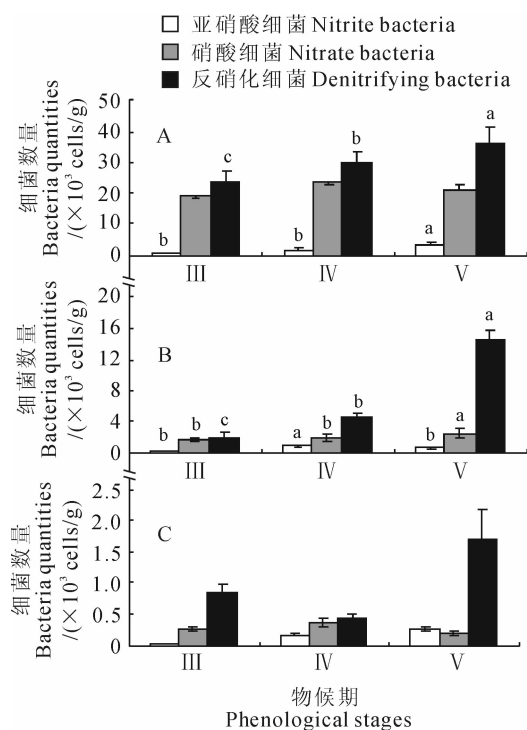


图 3 3 年龄陇东苜蓿草地不同物候期 0~30 cm 土壤中硝化细菌和反硝化细菌的数量

A. 0~10 cm; B. 10~20 cm; C. 20~30 cm; 同一种细菌内不同小写字母表示物候之间在 0.05 水平存在显著差异

Fig. 3 Amounts of nitrifying and denitrifying bacteria in 0~30 cm soils of a 3-year-old Longdong alfalfa grassland at different phenological stages

A. 0~10 cm; B. 10~20 cm; C. 20~30 cm; The different normal letters within the same bacteria indicate significance among different phenological stages at 0.05 level

期达到最高,分别为 15.82% 和 17.45% (图 4,B),主要是因为这两次取样前 1 周内下过雨。头茬花期至越冬前再生期土壤水分含量逐渐增加,与降水量的变化趋势基本一致。3 年龄陇东苜蓿草地土壤 pH 值含量变化范围在 7.85~8.03 之间(图 4,C)。头茬花期和越冬前再生期土壤 pH 值较高,二茬再生期土壤 pH 值最低。

2.5 陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量与其土壤细菌数量、含水量和 pH 间的关系

2.5.1 N_2O 释放通量与其土壤细菌数量关系 图 5 显示,3 年龄陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量与 0~10 cm 土壤中亚硝酸细菌数量间无显著的相关关系(图 5,A),而与硝酸细菌数量、反硝化细菌数量间有显著正线性相关关系,相关系数分别为 0.909、0.958 (图 5,B,C)。据此相关系数可推测,陇东苜蓿草地,0~10 cm 土壤中硝酸细菌数量每增加 13.1×10^3 个/g,反硝化细菌数量增加 36.2×10^3 个/g,则其 N_2O 释放通量增加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

2.5.2 N_2O 释放通量与其土壤水分含量和 pH 间的关系

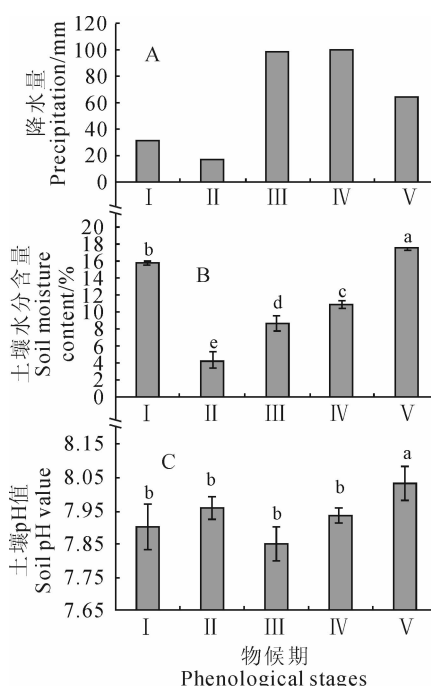


图 4 3 年龄陇东苜蓿草地不同物候期月降水量、0~30 cm 土壤水分含量和 pH 值变化特征

不同小写字母表示物候期间在 0.05 水平存在显著性差异

Fig. 4 Changes of monthly precipitation, soil moisture content in 0~30 cm soils and pH of a 3-year-old Longdong alfalfa grassland at different phenological stages

The different normal letters indicate significance among different phenological stages at 0.05 level

~30 cm 土壤含水量间有显著正相关线性关系,相关系数为 0.944(图 6,A)。同时,其 N_2O 释放通量与土壤 pH 间也有显著线性正相关关系,相关系数为 0.863(图 6,B)。

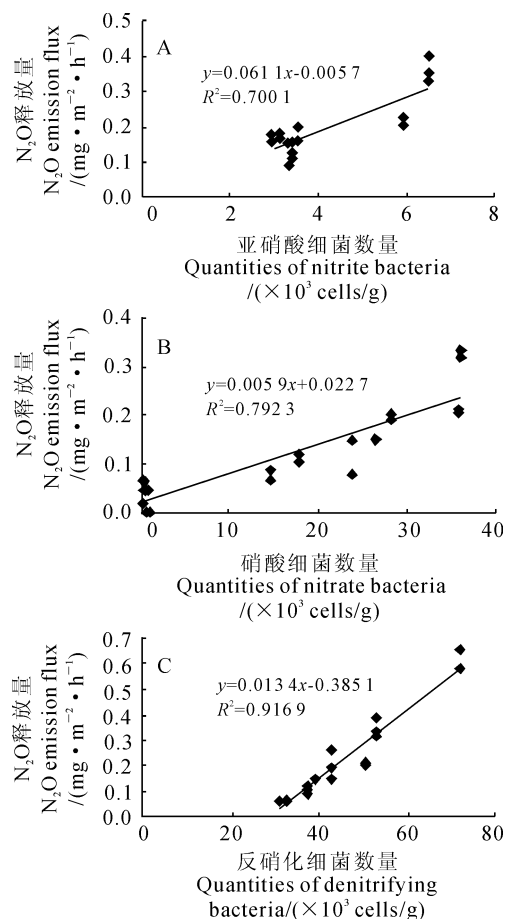


图 5 3 年龄陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量与 0~10 cm 土壤中硝化细菌和反硝化细菌数量间的相关关系

Fig. 5 Correlation between N_2O emission flux and the amounts of nitrifying and denitrifying bacteria in 0~10 cm soil of a 3-year-old Longdong alfalfa grassland

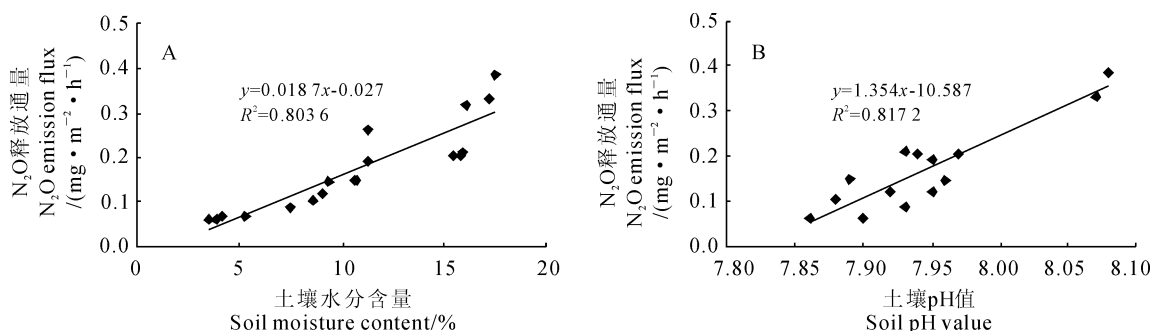


图 6 3 年龄陇东苜蓿草地 0~30 cm 土壤水分含量和 pH 与其 N_2O 释放通量间的相关关系

Fig. 6 The correlation of soil moisture content in 0~30 cm soils and pH with N_2O emission flux in a 3-year-old Longdong alfalfa grassland

2.5.3 土壤水分含量和 pH 与其细菌数量的关系

土壤水分含量与亚硝酸细菌和硝酸细菌数量显著负相关,而与反硝化细菌数量显著正相关(图 7, $A_1 \sim A_3$),这说明在黄土高原的 3 年龄陇东苜蓿草地中土壤水分含量主要通过影响硝化细菌和反硝化细菌的数量间接影响 N_2O 的释放。3 年龄陇东苜蓿草地头茬花期土壤水分含量较低,通气良好,利于硝化作用, N_2O 释放通量较高;返青期和越冬前再生期表层土壤含水量较高(分别为 15.82% 和 17.45%),反硝化作用较强, N_2O 释放通量也较高。同时,土壤 pH 与硝化细菌和反硝化细菌数量显著正相关(图 7, $B_1 \sim B_3$);从返青期到越冬前再生期,土壤 pH 与 N_2O 释放通量变化趋势一致,表明 3 年龄陇东苜蓿草地土壤 pH 通过影响硝化、反硝化细菌的数量来影响 N_2O 的释放。

3 讨论

Philippe 等在加拿大东部紫花苜蓿草地刈割后 N_2O 排放的研究中,测得 N_2O 释放通量在 $0.013 \sim 0.65 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间^[14]。本研究中庆阳黄土高原旱区陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量在 $-0.099 \sim 0.085 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 间,远低于同类研究和国际释放平均水平 $0.627 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ^[17]。因此,旱塬区陇东苜蓿草地是较弱的 N_2O 排放源,在头茬刈割再生期和越冬期甚至对 N_2O 还有一定的吸收,成为 N_2O 的贮存库。李迎春等用 GAINS 模型预测中国未来农业 N_2O 排放量后指出,农业 N_2O 排放量将逐年增加,2030 年达到 2 000 Gg,对环境的影响会日益严重^[18],而在甘肃庆阳黄土高原旱塬区陇东苜蓿草地 N_2O 释放量较少,在一些特定的物候期甚至成为 N_2O 贮存库,说明旱区紫花苜蓿草地刈割利用对农业 N_2O 释放的增加贡献不大。

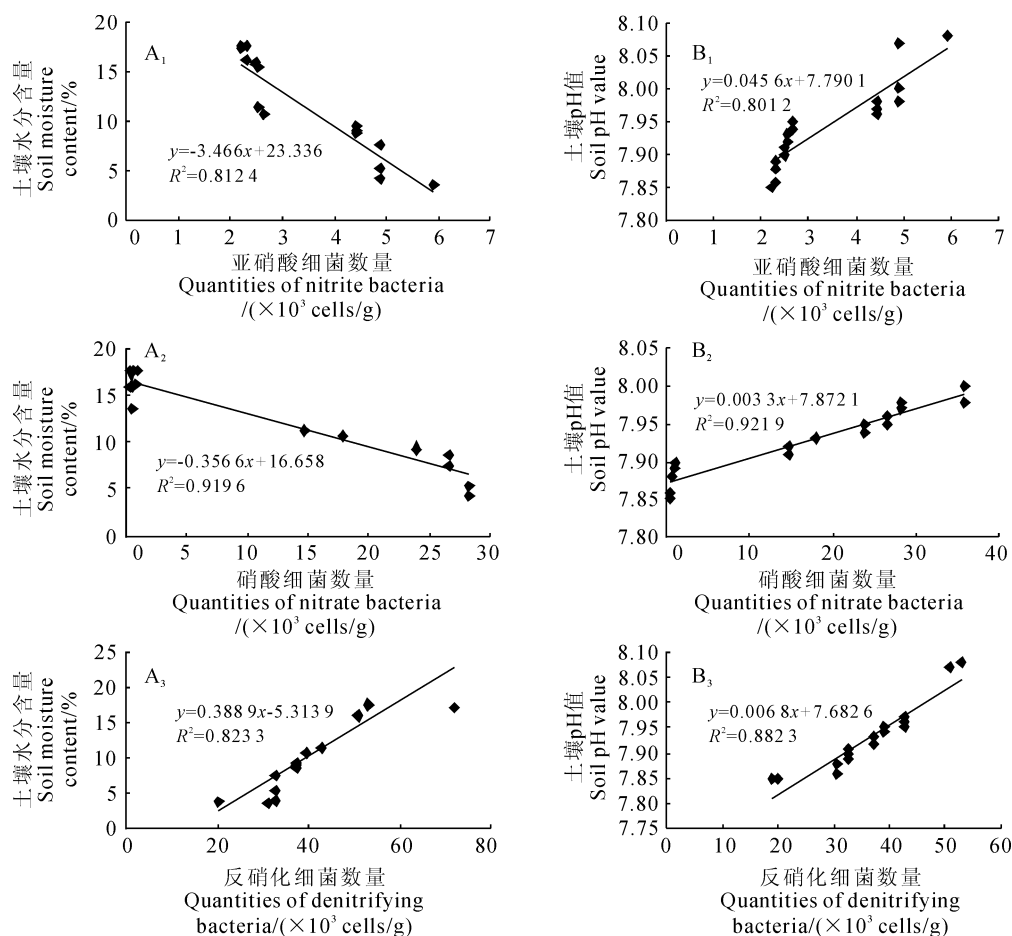


图7 3 年龄陇东苜蓿草地土壤中亚硝酸、硝酸、反硝化细菌数量与土壤水分、pH 的相关关系

Fig. 7 Correlation between amounts of nitrite, nitrate, denitrifying bacteria, soil moisture content and soil pH value of a 3-year old Longdong alfalfa grassland

同时,土壤中 N_2O 的释放主要受硝化和反硝化细菌的影响^[19-20],可以在硝化(氨氧化)或反硝化过程中产生^[21]。在设施栽培土壤中 N_2O 释放主要来自 0~15 cm 表层土中硝化和反硝化细菌的作用^[22]。在反硝化细菌的作用下, N_2O 释放量可占总释放量的 30%^[23-24]。据报道,反硝化细菌数量是限制反硝化速率的主要原因,其与反硝化速率显著正相关^[25]。因此,在特定条件下,如土壤 NO_3^- -N 含量增加,反硝化细菌数量可能是 N_2O 释放的主要影响因素。紫花苜蓿根瘤菌的生物固氮可增加土壤 NO_3^- -N 含量,因而会加强反硝化细菌的作用,从而导致更多 N_2O 的生产^[14,26]。本研究发现,3 年龄陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量从二茬再生期到越冬前再生期逐渐增加,与同期土壤硝态氮含量和反硝化

细菌数量的增加趋势一致,这表明,在黄土高原旱陵区,二茬再生期到越冬前再生期陇东苜蓿草地 N_2O 释放通量增加的主要原因是土壤硝态氮含量和反硝化细菌数量增加共同作用所致,反硝化细菌数量与 N_2O 释放通量间存在显著正相关也证实了这一结果。

另外,随着土壤水分含量的增加,硝化细菌受到抑制,而反硝化细菌活性增强。土壤含水量较高则通气较差,反硝化细菌成为影响土壤 N_2O 排放的主要因素,反之则相反^[27-28]。已有的研究表明,土壤 pH 为 3.4~8.6 时,土壤硝态氮含量的增加可促进反硝化细菌的生长,土壤硝态氮含量和反硝化速率与土壤 pH 值呈正相关关系^[29],其中,自养硝化细菌适宜在 pH 6.6~8.0 或更高的范围内发挥作用^[30-32],本研究结果支持了这一结论。

参考文献:

- [1] JOHNSON J M F, REICOSKY D C, ALLMARAS R, *et al.* Greenhouse gas contributions and mitigation potential of agriculture in the central USA[J]. *Soil & Tillage Research*, 2005, **83**(1): 73-94.

- [2] GIBBONS J M, RAMSDEN S J, BLAKE A. Modeling uncertainty in greenhouse gas emissions from UK agriculture at the farm level[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2006, **112**(4): 347—355.
- [3] ISERMANN K, ISERMANN R. Food production and consumption in Germany: N flows and emissions[J]. *Nutrient Cycling Agro-ecosystem*, 1998, **52**(2/3): 289—301.
- [4] ZHANG Y SH(张玉树), DING H(丁 洪), QIN SH J(秦胜金). Progress in the studies of nitrogen denitrification and N_2O emission in agro-ecosystem[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2010, **26**(6): 253—259(in Chinese).
- [5] ZHANG ZH X(张振贤), HUA L(华 路), YIN X X(尹逊霄), *et al.* Nitrous oxide emission from and some influence agricultural soil factors[J]. *Journal of Capital Normal University* (Nat. Sci. Edi.) (首都师范大学学报·自然科学版), 2005: 115—118(in Chinese).
- [6] GAO Y H, ZOU J W, ZHENG X H, *et al.* Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 973—981.
- [7] LI X(李 鑫), JU X T(巨晓棠), ZHANG L J(张丽娟), *et al.* Effects of different fertilization modes on soil ammonia volatilization and nitrous oxide emission[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008: 99—104(in Chinese).
- [8] MOKVED P T, DORSCH P, HENRIKSEN T M, *et al.* N_2O emissions and product ratios of nitrification and denitrification as affected by freezing and thawing[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006: 3 411—3 420.
- [9] BOUWMAN A W. Soils and the greenhouse effect[J]. *John Wiley & Sons Ltd, Chichester*, 1990: 25—32.
- [10] YU K W(于克伟), CHEN G X(陈冠雄), YANG S H(杨思河), *et al.* Role of several upland crops in N_2O emission from farmland and its response to environmental factors[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 1995: 387—391(in Chinese).
- [11] 施振香. 上海城郊土壤硝化、反硝化作用及其影响因素研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2010.
- [12] XIONG ZH Q(熊正琴), XING G X(邢光熹), H TSURUTA(鹤田治雄), *et al.* The effects of summer legume crop cultivation on nitrous oxide emissions from upland farmland[J]. *Scientia Agriculturae Sinica* (中国农业科学), 2002, **35**(9): 1 104—1 108(in Chinese).
- [13] HUANG G H, CHEN G X, WU J, *et al.* N_2O and CH_4 fluxes from typical upland fields in northeast China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 1995, (4): 383—386(in Chinese).
- [14] PHILIPPE R, DENIS A A, GILLES B L, *et al.* Emissions of N_2O from alfalfa and soybean crops in Eastern Canada[J]. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2004, 68: 493—506.
- [15] HAN F H(韩方虎), SHEN Y Y(沈禹颖), WANG X(王 希), *et al.* Nitrogen mineralization in alfalfa stand[J]. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2009, **18**(2): 11—17(in Chinese).
- [16] 周 莹. 旱作条件下紫花苜蓿草地氧化亚氮排放及其影响因素的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2012.
- [17] SHEN Y P(沈永平). Key results from summary for policymakers of IPCC WGI AR4[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology* (冰川冻土), 2007, **29**(5): 1(in Chinese).
- [18] LI Y CH(李迎春), LIN E D(林而达), XIONG W(熊 伟), *et al.* Modeling N_2O emissions from agriculture in China[J]. *Progress in Geography* (地理科学进展), 2009, **28**(4): 636—642(in Chinese).
- [19] KAPLAN W A, WOFSEY S C. The biogeochemistry of nitrous oxide: A review[J]. *Adv. Agric. Micobiol.*, 1985, (3): 181—206.
- [20] ROBERTSON L A, KUENEN J G. Physiology of nitrifying and denitrifying bacteria[M]//ROGERS J E, WHITAMAN W B. Microbial Production and Consumption of Greenhouse Gases: Methane, Nitrogen Oxides and Halomethanes. American Society for Microbiology: Washington D C, 1991: 189—199.
- [21] AULAKH M S, DORAN J W, MOSIER A R. Soil denitrification-significance, measurement, and effects of management[J]. *Advances in Soil Science*, 1992: 18—57.
- [22] ZHANG Y G(张亚光), CHEN M C(陈美慈), MIN H(闵 航), *et al.* Research of oxide emission from greenhouse and nitrifier and denitrifier numbers[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), 2002, **8**(2): 239—243(in Chinese).
- [23] SUN ZH G(孙志高), MOU X J(牟晓杰), WANG L L(王玲玲). Research advance on nitrous oxide(N_2O) emission from Coastal Wetland Ecosystem[J]. *Marine Environmental Science* (海洋环境科学), 2010, **29**(1): 159—163(in Chinese).
- [24] SUN ZH G(孙志高), LIU J SH(刘景双), YU J B(于君宝), *et al.* Ammonia volatilization, nitrous oxide emission processes in wetland soil and affecting factors[J]. *Wetland Science* (湿地科学), 2008: 432—436(in Chinese).
- [25] LI J L(李佳霖), BAI J(白 洁), GAO H W(高会旺), *et al.* Quantification of denitrifying bacteria and denitrification process in surface sediment at adjacent sea area of the Yangtze River Estuary in summer[J]. *China Environmental Science* (中国环境科学), 2009, **29**(7): 756—761(in Chinese).
- [26] 丁雷. 东北农田土壤和植物 N_2O 排放过程初探[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [27] LAW C S, REES A P, OWENS N J P. Temporal variability of denitrification in estuarine sediments[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1991, **33**(1): 37—56.
- [28] WANG G L(王改玲), CHEN D L(陈德立), LI Y(李 勇). Effect of soil temperature, moisture and NH_4^+ -N concentration on nitrification and nitrification-induced N_2O emission[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报), 2010, **18**(1): 1—6(in Chinese).
- [29] STEVENS R J, LAUGHIN R J, MALONE J P. Soil pH affects the processes reducing nitrate to nitrous oxide and dinitrogen[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, **30**(8/9): 1 119—1 126.
- [30] FAN X H(范晓晖), ZHU ZH L(朱兆良). Nitrification and denitrification in upland soils[J]. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 2002, **33**(5): 385—391(in Chinese).
- [31] 孙 伟. 土壤 pH 变化影响 N_2O 排放的机理探讨[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2008.
- [32] LI L M(李良漠), PAN Y H(潘映华), ZHOU X R(周秀如), *et al.* The main types of soil nitrification and its influencing factors in Taihu Lake region[J]. *Soils* (土壤), 1987, 19: 289—293(in Chinese).