

放牧对草原土壤 N_2O 产生及微生物的影响

杜睿, 王庚辰, 吕达仁(中国科学院大气物理研究所中层大气与环境探测开放实验室, 北京 100029)

摘要:利用 AlM 乙炔抑制法,首次测试了我国内蒙古放牧和非放牧羊草草原土壤 N_2O 产生的微生物过程;通过分析不同类型草原土壤 N_2O 产生的微生物过程和相关微生物菌群的季节变化,研究了放牧行为对于草原土壤 N_2O 微生物产生过程的影响.放牧行为改变了土壤结构,有利于土壤微生物反硝化作用的发生,在一定程度上降低了草原土壤 N_2O 的排放.揭示了内蒙古草原土壤 N_2O 产生是以异养硝化作用过程为主的微生物过程,解释了内蒙古典型草原土壤 N_2O 通量较低和其季节变化的微生物学机理.

关键词:乙炔抑制法;放牧;内蒙古羊草草原土壤; N_2O 通量; 异养硝化作用

中图分类号:X511 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2001)04-05-0011

Effect of Grazing on Microbiological Processes of N_2O Production in Grassland Soils

Du Rui, Wang Gengchen, Lü Daren(Institute of Atmospheric Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China)

Abstract: A laboratory incubation study on effect of grazing on microbiological processes of N_2O production in *Aneurolepidium chinense* grassland soils by using the acetylene-inhibition method was firstly conducted and the seasonal variations of related bacteria groups and N_2O fluxes were analyzed. Results suggested that grazing behavior altered the soil structure which were benefit to microbiological denitrification so that N_2O emission from this steppe soil was reduced. It was the heterotrophic nitrification that is the key microbiological process for N_2O production in the non-grazing and grazing semi-arid typical grassland soils in Inner Mongolia. The reasons why N_2O flux from Inner Mongolia semi-arid typical grassland soils was lower were also explained in this paper.

Key words: acetylene-inhibition method; grazing; Inner Mongolia *Aneurolepidium chinense* grassland soil; N_2O flux; heterotrophic nitrification

草原生态系统作为陆地生态系统的主要组成部分,其温室气体的排放对于全球气候变化的贡献及其在地球生物化学循环过程中的作用,日益成为当前地球与生命科学界所共同关注的前沿科学问题之一^[1].在生物形成 N_2O 的过程中,微生物的硝化和反硝化作用被认为是最基本的机理^[2].由于等摩尔浓度的 N_2O 的增温潜势是 CO_2 的 150 倍, N_2O 的温室效应对于全球气候变化有着重要的影响.在不同的土壤类型中,由于土壤微生物种群、菌群类型不同,产生 N_2O 的微生物过程也各不相同.研究草原土壤 N_2O 微生物产生的主导过程及其变化,是人们认识草原生态系统 N_2O 通量特征及其季

节变化的依据,也是评价草原生态系统对于全球气候变化贡献的关键.迄今为止,鲜见有关温带草原温室气体排放过程尤其是生物过程研究的文献报道.研究放牧行为对于草原土壤 N_2O 的微生物生成及土壤排放过程的影响,不仅便于明确草地氮循环途径及其在全球氮循环中的作用,而且有助于研究人类活动对于草地气候变化的影响以及区域气候变化对于全球气

基金项目:国家自然科学基金项目(49790025,40005009);中科院资源环境九五重大项目(KZ951-B1-415)

作者简介:杜睿(1970~),女,开封人,助理研究员,博士,主要研究方向是草原生态系统与大气间温室气体的交换过程.

收稿日期:2000-10-17

候变化的响应,同时也为合理开发和持续利用草原资源提供科学依据。

1 研究方法

1.1 实验材料及方法

供试土壤分别在放牧羊草原和非放牧羊草原植物不同生长阶段:05-15,春季,返青期;06-13,春末,抽穗期;07-12,夏季,开花期;08-25,秋季,结实期;10-20,冬季,立枯期。采自实验地气体采样箱附近之土壤,随机重复采集,土壤采样深度为0~20cm,贮存于密封塑料袋中运回实验室内,过筛2min混匀,贮存于4℃冰箱内,在短时间内用AIM乙炔抑制法^[3]对鲜土进行培养。

称30g新鲜土壤样品于300ml培养瓶,加盖密封,设空白对照(C.K.)加入乙炔使瓶内气相中C₂H₂体积分数分别达到0.06%(可抑制硝化作用过程F-N)和3%(可抑制反硝化作用过程F-D)3种处理,每种处理3个重复,避光放置温控箱内进行培养,每次培养温度根据采样时所测得采样箱内的温度设定。培养24h后定期用气相色谱HP5890对培养瓶内N₂O气体浓度进行测定。

N₂O检测器为ECD,分离柱内填充料为80~100目Porapak Q,载气为Ar-CH₄(Ar90%,CH₄10%),检测器、分离柱和进样口温度分别是380℃、65℃和375℃。

1.2 气体通量的计算

气体释放速率(f)用g/h鲜土释放气体量表示,计算公式如下:

$$f = \frac{\Delta m}{M \times \Delta t} = \frac{\rho \times V \times \Delta c}{M \times \Delta t}$$

式中, ρ 是气体密度, Δm 和 Δc 分别是 Δt 时间内培养瓶内气体质量和混合比浓度变化; V 是培养瓶内有效空间体积, M 是土壤鲜重。

1.3 微生物数据的测定

供试土壤分别于1998年5、7、8月下旬在通量原位观测样地采自0~10cm土层(7月下旬采自0~20cm土层),过100目土筛,0℃以下冷冻,实验前12h在4℃解冻,取30g土样

(湿重),制备菌悬液,好气性自生固N菌测定用平板涂抹记数法,其余用最大或然率法。氯化细菌测定4个重复,其余菌测3个重复;稀释倍数均为10。亚硝化细菌和反硝化细菌培养14d,其余菌类培养8d,测定方法详见《土壤微生物分析方法手册》。

2 结果与分析

2.1 放牧对羊草草原非放牧土壤N₂O产生过程的影响作用

图1为利用乙炔抑制法,室内培养模拟放牧和非放牧羊草原土壤,不同季节土壤N₂O的产生过程,培养24h的测试结果。从图1中可知:在春季植物返青时,羊草草原非放牧土壤自养硝化作用较强,反硝化作用仅产生少量的N₂O;放牧土壤N₂O的产生过程中以异养硝化作用为主,反硝化作用也产生少量的N₂O,但自养硝化作用也有贡献。春末植物抽穗期,放牧和非放牧土壤N₂O的产生过程中均以异养硝化作用为主,自养硝化作用有一定作用,反硝化不起作用。但放牧土壤培养48h后发现:F-D瓶内3%的C₂H₂抑制反硝化作用中N₂O至N₂的还原反应,从而使N₂O的产生增加非常显著,N₂O的产生速率提高了近1倍。反硝化作用发生在厌氧条件下(图2),在春末的土壤培养中发现放牧土壤微生物的反硝化作用潜力很大,表明放牧草原土壤中的反硝化细菌的反硝化潜势很高,从而解释了放牧草原中出现少

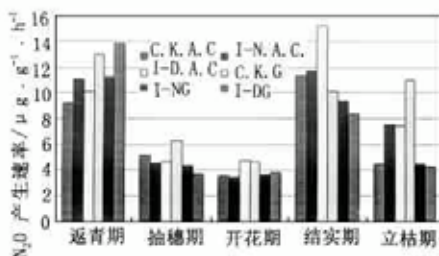


图1 放牧对羊草草原土壤微生物产生N₂O过程的影响

Fig.1 Effect of grazing on N₂O microbial production process in *Aneurolepidium chinense* steppe soil

N_2O 日变化观测过程量的 N_2O 吸收现象^{*},即在适宜的厌氧条件下土壤微生物的反硝化作用将 N_2O 继续转化成 N_2 .在夏季和秋季的土壤 N_2O 的产生过程中仍以异养硝化作用为主,非放牧草原土壤伴随有反硝化作用发生,而放牧草原反硝化作用对 N_2O 的产生却没起作用.冬季非放牧草原土壤异养硝化和反硝化作用共同参与 N_2O 的产生,放牧草原土壤仍是硝化作用过程产生 N_2O ,其中自养和异养硝化菌的作用贡献基本相同,反硝化作用却无贡献.从图 2 中可以明显的看出土壤 N_2O 的产生速率春季最高,春末与夏季最低,秋季又逐渐升高,冬季又降低,放牧行为并未使其季节变化有明显的改变.

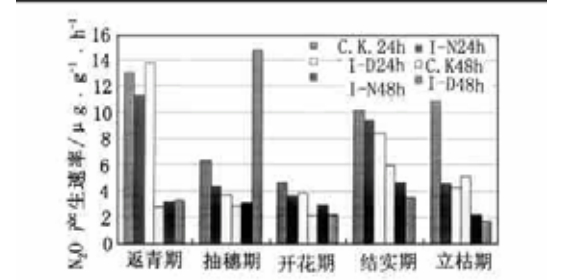


图 2 放牧草原土壤微生物产生 N_2O 过程的季节变化

Fig.2 Seasonal variation of N_2O microbial production process in grazing steppe soil

2.2 放牧对羊草草原土壤 N_2O 排放通量的影响

田间原位观测放牧和非放牧羊草草原 N_2O 排放通量季节变化趋势均为:夏 > 春 > 秋 > 冬,放牧行为降低了草原土壤 N_2O 排放通量(表 1).主要原因是:气体从土壤向大气的排放过程是一个复杂的输送过程,与土壤结构有较大的相关性,而放牧草原土壤由于牲畜的践踏直接影响着土壤结构的变化,尤其是土壤孔隙和土壤松紧性都有较大的改变^[4],从而导致表层土壤通气性的降低,阻碍了气体从土壤向大气的输送.培养实验结果表明:除秋季土壤样品,放牧草原土壤(C. K. G) N_2O 的产生速率低

于非放牧草原(C. K. A. C.)外,其他季节放牧草原土壤样品 N_2O 的产生速率均高于非放牧草原(见图 1).这是由于牲畜粪便代谢物的排泄,放牧草原土壤较非放牧草原土壤有较多的外加有机碳、氮源,此有助于土壤微生物的活性,促进了土壤硝化、反硝化作用所致.同时又由于牲畜的践踏,放牧草原土壤较非放牧草原土壤更易形成厌氧微区,土壤中反硝化细菌的反硝化潜势较高,反硝化细菌很可能将 N_2O 在其排放之前继续转化成 N_2 ,所以放牧行为促进土壤中 N_2O 的产生和转化但不利于 N_2O 的排放,最终导致放牧草原土壤 N_2O 排放通量低于非放牧草原(表 1).

表 1 草原土壤 N_2O 排放通量的
季节平均值/ $\mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$

Table 1 Seasonal mean of N_2O flux emission from grassland soil		
季节	羊草草原	放牧草原
春季	8.49	5.61
夏季	9.10	6.66
秋季	3.69	1.45
冬季	2.13	1.12

2.3 放牧行为影响下草原土壤 N_2O 产生相关微生物菌群的变化

表 2 和表 3 分别是非放牧草原与放牧草原土壤产生 N_2O 相关微生物菌群的季节变化.硝化细菌作为土壤有机氮向硝态氮转化过程中的重要功能菌,其数量在一定程度上反映着土壤有机质的矿化和氮源的输入及固定的速率,为硝化作用提供反应底物.对于不施肥草地来讲,氮素的输入主要途径就是生物固氮作用^[5].豆科牧草是牲畜的喜食植物,由于牲畜的踩食,根瘤共生固氮菌的生物固氮作用被减弱,所以自生固氮菌的生物固氮作用在放牧草地的氮素输入中应起到一定的作用,好气性自生固氮菌数量的变化从一定程度上反映了放牧草地氮素的

* 杜睿.内蒙古草原土壤-植被-大气间主要温室气体(N_2O 、 CH_4 和 CO_2)交换过程的研究,博士论文,1999.

输入状况.牲畜的践踏导致放牧草原土壤表层容重增加,孔隙度降低,从而使得喜氧的氨化细菌、自养亚硝化细菌、好气性自生固氮菌和兼性喜氧的反硝化细菌的数量普遍低于非放牧羊草原土壤的相应菌群数量(表 2 3) .

由于牲畜的排泄物,使得春季放牧草原土

表 2 非放牧羊草草原土壤产生 N₂O 的相关微生物菌群的季节变化 / 个·g⁻¹

Table 2 Seasonal variation of bacteria group related to N₂O production from non-grazing *A. chinense* grassland soil

采样时间	氨化细菌	自养亚硝化细菌	反硝化细菌	好气性自生固 N 菌
5 月下旬	3.8 × 10 ⁶	1.0 × 10 ¹	1.7 × 10 ⁸	1.7 × 10 ⁵
7 月下旬	1.1 × 10 ⁷	1.1 × 10 ¹	7.5 × 10 ⁵	9.0 × 10 ³
8 月下旬	1.4 × 10 ⁸	1.1 × 10 ¹	2.0 × 10 ⁶	1.4 × 10 ⁴

表 3 放牧草原土壤产生 N₂O 的相关微生物菌群的季节变化 / 个·g⁻¹

Table 3 Seasonal variation of bacteria group related to N₂O production from grazing *A. chinense* grassland soil

采样时间	氨化细菌	自养亚硝化细菌	反硝化细菌	好气性自生固 N 菌
5 月下旬	4.4 × 10 ⁶	1.7 × 10 ¹	1.7 × 10 ⁵	1.1 × 10 ⁵
7 月下旬	2.4 × 10 ⁶	8.3 × 10 ⁰	1.2 × 10 ⁵	2.0 × 10 ³
8 月下旬	5.7 × 10 ⁶	4.7 × 10 ⁰	2.0 × 10 ⁵	1.1 × 10 ⁴

壤氨化细菌和自养亚硝化细菌数量高于非放牧草原土壤,其 N₂O 产生过程中自养硝化作用贡献大于非放牧草原.观测期间放牧草地好气性自生固氮菌普遍较非放牧草地低,亦从一侧面证实由牲畜践踏导致土壤表层紧实度增强,通气性降低.通常情况下,NO₃⁻浓度的增加促使反硝化速率上升,由于氨化细菌在夏季中数量最少,土壤有机氮的矿化减弱反硝化作用的底物减少,同时反硝化菌的数量在夏季也是最少,导致土壤中反硝化作用在同等厌氧条件下夏季最弱,故夏季土壤中 N₂O 产生过程主要以异养硝化作用为主,非放牧草原反硝化作用也产生 N₂O,但放牧草原土壤夏季 N₂O 产生过程反硝化作用却无贡献,这是由于反硝化作用只有在厌氧条件下,其它条件合适才发生,反硝化菌数量在夏季最少,而且有些反硝化菌只产生 N₂气,有些只产生 N₂O,有些 2 种气体均产生^[6].另外土壤中的动物与微生物的总生物量和活动高峰期大多发生在水热条件较适宜的夏季,反硝化细菌数量在夏季较少,这些因素有助于夏季放牧草原土壤 N₂O 的产生和排放.所以虽然

夏季土壤 N₂O 的产生速率最低但由于此时微生物总量较大,N₂O 的产生量未必最少同时由于土壤动物的活动在夏季的加剧可促进 N₂O 的排放,所以其 N₂O 的排放通量在夏季较高.秋季草原土壤 N₂O 产生较夏季大但排放量却逐渐降低,其原因主要在于,秋季 8 月份正是草原雨季,土壤水分增大,土壤容易形成厌氧微区,非放牧草原反硝化作用潜势秋季明显较夏季增强,而放牧草地反硝化作用对土壤 N₂O 产生仍未有贡献.原因是放牧草地由于动物的踩食和雨季土壤水分增大一方面使土壤更容易形成和保持厌氧微区,但较长时间的厌氧环境会减弱兼性喜氧的反硝化细菌的活性,而且反硝化细菌在数量上低于非放牧草原,故产生上述结果.冬季土壤封冻、大雪覆盖同样阻碍了 N₂O 的排放,从而导致排放通量降低.非放牧草地冬季 N₂O 产生以异养硝化作用和反硝化作用为主,而放牧草地则以硝化作用为主,反硝化作用的贡献不明显.由于非放牧草地冬季反硝化作用潜势较放牧草地强,N₂O 可能被继续还原,使其 N₂O 的产生率明显低于放牧草地,

又由于放牧行为对于土壤结构的影响结果,导致冬季两者的 N_2O 排放通量相接近(表 1)。

3 结论

(1) 由于牲畜排泄物的输入,促进了草原土壤 N_2O 的产生速率,并未改变草原土壤作为 N_2O 源的功能。

(2) 由于牲畜的采食与践踏,改变了的土壤表层结构,阻碍了 N_2O 的排放过程,最终结果显示,放牧行为降低了草原土壤 N_2O 的排放通量。

(3) 放牧行为减少了与草原土壤产生 N_2O 相关的微生物菌群的数量,从而使得草原土壤 N_2O 产生的微生物过程有所改变:尽管未改变 N_2O 产生过程主要是硝化作用而且以异养硝化作用为主,但自养硝化作用在不同的季节对于 N_2O 的产生均有贡献,而反硝化作用在放牧草原土壤 N_2O 产生过程不同季节中影响作用与非放牧草原亦有区别。

(4) 由于反硝化作用不仅影响 N_2O 的产生

同时对 N_2O 的继续转化亦有贡献。此也是导致放牧草原 N_2O 的排放通量较非放牧草原低,有时会出现吸收少量 N_2O 的现象的原因之一。

参考文献:

- 1 吕达仁,陈佐忠,王庚辰等.内蒙古半干旱草原土壤-植被-大气相互作用——科学问题与实验计划概述.气候与环境研究,1997,2(3),199~209.
- 2 Firestone M K, Davidson E A. Microbiological basis of NO and NO_2 production and consumption in soil. In: Andreae M O, Schimel D S. Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. Chichester, England: John Wiley and Sons, 1989. 7~21.
- 3 Davidson E A, Swank W T, Perry T O. Distinguishing between nitrification and denitrification as sources of gaseous nitrogen production in soil. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 52(6): 1280~1286.
- 4 贾树海,李绍良,陈有君.草场退化与恢复改良过程中土壤物理性质和水分状况初探.草原生态系统研究,第 5 集.北京:科学出版社,1997.111~117.
- 5 李博.中国的草原.北京:科学出版社,1990. 222~227.
- 6 陈文新.土壤和环境微生物学.北京:北京农业大学出版社,1996.145.

关于提供垃圾处理技术和产业政策专题文献调研服务的启事

近年来,垃圾处理和垃圾产业成为我国科技和产业相关单位及人员关注的热点,我中心对此进行了专题文献调研,可为用户提供专门的资料集一册,A4 纸约 300 页,70 余万字,定价 300 元(包括邮费).内容包括我国环保状况与形势、环保产业状况与对策、环境管理的相关政策、国外与我国(包括港澳台地区)垃圾处理

状况、对策与技术等五大部分,需要者请与中国科学院生态环境研究中心情报编辑室范秀英联系,或直接汇款。

电话:010-62932252

通讯地址:北京市海淀区双清路 18 号中国科学院生态环境研究中心(2871 信箱),邮编 100085。