

人工湿地污水处理系统中氧化亚氮的释放规律研究

吴娟^{1,2}, 张建^{1*}, 贾文林¹, 谢慧君³, Roy R Gu⁴

(1. 山东大学环境科学与工程学院, 济南 250100; 2. 青岛农业大学资源与环境学院, 青岛 266109; 3. 山东大学环境研究院, 济南 250100; 4. Department of Civil, Construction & Environmental Engineering, Iowa State University, Ames IA50011, USA)

摘要: 利用静态箱-气相色谱法研究了潜流和表面流人工湿地系统中 N_2O 的释放规律和相关的氨氧化细菌. 结果表明, 潜流和表面流人工湿地的 N_2O 平均通量分别为 $296.5 \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ 和 $28.2 \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$, 总体上均表现为大气 N_2O 的排放源, 前者的 N_2O 平均释放通量高于农田、森林、草原和沼泽湿地等生态系统, 潜流方式促进了 N_2O 的释放. 潜流和表面流人工湿地 N_2O 通量有较大的月份差异和明显的日变化特征, 最高值出现在7月, 分别为 $(762.9 \pm 239.3) \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ 和 $(91.9 \pm 20.3) \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$, 一天中的极大值和极小值分别出现在中午和凌晨. 温度和芦苇的生长情况对 N_2O 通量有一定的影响. 人工湿地系统进水端, 较高浓度的污水和充足的碳、氮源, 促进了硝化和反硝化过程, 使得 N_2O 通量均高于出水端. 克隆结果表明, 人工湿地污水处理系统中与 N_2O 产生相关的氨氧化细菌主要为 *Nitrosomonas* 和 *Nitrosospira*.

关键词: 人工湿地; 氧化亚氮; 污水处理; 克隆; 氨氧化细菌

中图分类号: X511 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3146-06

Nitrous Oxide Fluxes of Constructed Wetlands to Treat Sewage Wastewater

WU Juan^{1,2}, ZHANG Jian¹, JIA Wen-lin¹, XIE Hui-jun³, Roy R Gu⁴

(1. School of Environmental Science & Engineering, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 2. College of Resources & Environment, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 3. Environment Research Institute, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 4. Department of Civil, Construction & Environmental Engineering, Iowa State University, Ames IA50011, USA)

Abstract: The nitrous oxide fluxes and ammonia-oxidizing bacterium in two typical constructed wetlands, i.e. subsurface flow(SF) and free water surface(FWS) were studied by the method of static chamber-gas chromatography. The results showed that the mean N_2O fluxes were $296.5 \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ and $28.2 \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ respectively, and two typical wetlands were all the sources of atmosphere nitrous oxide as a whole. SF wetland exhibited a higher risk of N_2O emissions, and the mean N_2O flux in this system was higher than the values reported in the literature for ecosystems, e.g. farmland, forest, grassland and marsh. The nitrous oxide fluxes in test wetlands presented obvious seasonal and diurnal variation, and the highest N_2O emission flux was in July. The highest flux was $(762.9 \pm 239.3) \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ and $(91.9 \pm 20.3) \mu\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ in SF and FWS wetlands, respectively. The peak flux mostly occurred around midday, whereas the minimum flux likely occurred in the early morning. The results indicated that the growth of *Phragmites australis* and temperature were the key factors controlling the variation of N_2O fluxes. The average N_2O emission from the microsites above the inflow zones was higher than that above the outflow microsites. High influent strength promoted nitrification and denitrification, and high fluxes were obtained. The clone results showed that *Nitrosomonas* and *Nitrosospira* were the main ammonia-oxidizing microorganisms contributing to N_2O production in constructed wetlands.

Key words: constructed wetlands; nitrous oxide; wastewater treatment; clone; ammonia-oxidizing bacteria

人工湿地具有投资省、管理简单、运行费用低廉等优点, 近年来, 在污水处理中的应用日益广泛. 但是在氮的转化和去除过程中, 人工湿地会释放氧化亚氮(N_2O). N_2O 是大气中的一种痕量气体, 虽然大气中 N_2O 的浓度仅是 CO_2 浓度的1/1 000, 但它的辐射增温潜势则是 CO_2 的296倍^[1], 而且 N_2O 分子还会对大气臭氧层造成破坏^[2]. 目前大气中 N_2O 的浓度为 $314 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 比工业革命前增长了大约14%^[3], 现在仍以每年约0.3%的速率继续增长^[4].

目前, 国外已开展了人工湿地 N_2O 排放问题的研究工作^[3,5-7], 但国内 N_2O 研究主要集中在农田、草原、森林和天然沼泽等土壤生态系统中^[8-13], 对于

人工湿地污水处理系统的研究则鲜见报道. 由于人工湿地系统通常以有机质、氮、磷等污染物的去除为主要目标, 进水中较高浓度的氮和有机质, 必然导致人工湿地系统中氮的传质及迁移转化过程跟天然土壤生态系统比较而言具有很大的差异. 本试验选择潜流和表面流人工湿地污水处理系统进行 N_2O 的观测和研究, 通过发现其特有的排放规律和特征, 以

收稿日期: 2008-12-22; 修订日期: 2009-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(50508019); 国家自然科学基金-日本科技振兴机构重大国际合作项目(50721140017)

作者简介: 吴娟(1980~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污水处理系统温室气体的排放和环境微生物, E-mail: wujuan410@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: zhangjian00@sdu.edu.cn

期为评价我国人工湿地污水处理系统在全球气候变化中的贡献提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验装置

人工湿地装置如图 1 所示,尺寸为 3.0 m×1.0 m×0.9 m(长×宽×高),其中表面流湿地内基质为土壤(厚度 0.5 m),水面控制在土壤层上方 0.2 m。潜流湿地基质分为 2 层,底层为 0.6 m 厚的石子(粒径 3~5 cm),上层为 0.1 m 厚的土壤,水深 0.6 m。人工湿地内种有芦苇,种植密度为 50 株/m²。进水水质见表 1,水力负荷为 15 cm·d⁻¹。

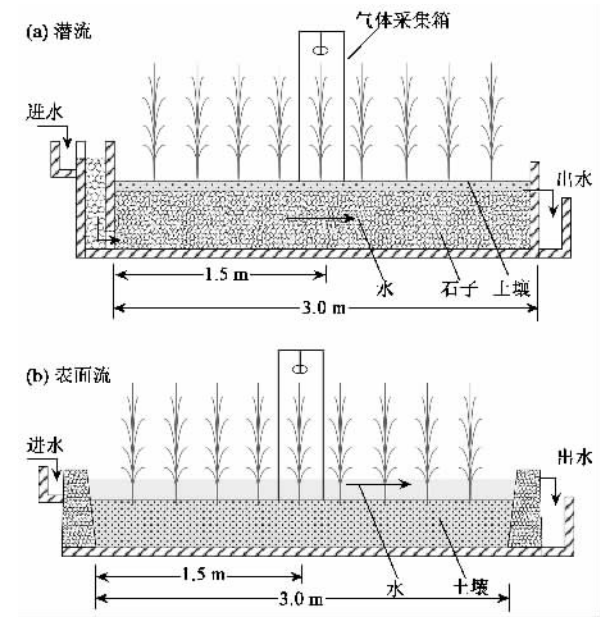


图 1 人工湿地试验装置

Fig.1 Schematic diagrams of the two types of constructed wetlands

表 1 进水水质/mg·L⁻¹

Table 1 Quality of influent/mg·L⁻¹

COD	NH ₄ ⁺ -N	TN	TP
95~169	12~25	19~40	0.1~1.0

1.2 试验方法

试验采用静态箱-气相色谱法^[11]观测 N₂O 的通量。气体采集装置由底座(50 cm×50 cm×20 cm)、组合式箱体(50 cm×50 cm×50 cm)和盖子组成。底座和箱体材料分别为不锈钢和有机玻璃,顶部均有凹槽。采集气体时,将底座下端插入土壤 5~10 cm,然后根据植物的高度,安装箱体,用水密封。为消除沿程对 N₂O 通量的影响,研究季节变化时将采集箱安装在人工湿地的中部位置。采样期为 2008 年 3~11 月,每月观测 2~3 次,为减少日变化引起的误差,采

样时间为观测日的 08:00~10:00。在 2007 年的 8 月 15 日和 8 月 17 日进行了全天观测,每 3h 观测 1 次。在罩箱后 0、20、40、60 min 时采气,同时记录箱内温度、气温、水温、土壤下 5 cm 温度、箱体高度。气相色谱(SP-3410)配有 ECD 检测器,Porapak Q 填充柱,检测器、进样口和分离柱的温度分别为 370、72 和 72℃,载气(高纯 N₂)流速 30 mL·min⁻¹。采用下式^[14]计算通量:

$$J = \frac{dc}{dt} \cdot \frac{M}{V_0} \cdot \frac{p}{p_0} \cdot \frac{T_0}{T} \cdot H$$

式中, J 为气体通量[$\text{mg} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$], dc/dt 为箱内气体浓度随时间的变化率[$\text{mm}^3 \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{h})^{-1}$], M 为 N₂O 的相对分子质量(44), p 为采样箱气压, T 为采样箱热力学温度(取采样开始和结束时平均值,K), V_0 、 p_0 、 T_0 分别为标准状态下的气体摩尔体积、气压和温度, H 为土壤(或水面)以上采样箱的高度。

同时测定人工湿地进出水水质,测定指标有氨氮、硝态氮、亚硝态氮、总氮、COD 等,分析方法见文献[15]。基质硝化细菌、反硝化细菌数量和硝化、反硝化强度的测定见文献[16]。

取湿地基质 0.5 g,采用 Zhou 等^[17]的直接法提取总 DNA,进行 PCR 扩增,克隆,测序。扩增引物为: *amoA*-1F 5'-GGG GTT TCT ACT GGT GGT-3' 和 *amoA*-2R 5'-CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC-3'。

数据相关性分析与显著性分析均采用 SPSS 11.0 处理。

2 结果与讨论

2.1 人工湿地 N₂O 通量的季节变化特征分析

2008 年 3~11 月,对人工湿地系统进行了观测研究,根据每月的实际采样分析结果进行算数平均,得到 2 种典型人工湿地的 N₂O 月平均通量,结果如图 2 所示。可见,潜流和表面流人工湿地系统总体上均表现为大气 N₂O 的排放源,仅表面流人工湿地在 3 月植物发芽期表现为大气 N₂O 的弱吸收汇。潜流人工湿地的 N₂O 平均通量比表面流人工湿地的高 10 倍以上,表明潜流方式促进了 N₂O 的释放。人工湿地系统中 N₂O 主要产生于硝化和反硝化过程,人工湿地类型和基质水分含量等能明显影响微生物的活性和 O₂ 含量,从而成为影响 N₂O 生成的重要因素。潜流人工湿地通透性较好,硝化过程会放出 N₂O^[18],表面流人工湿地土壤层上一定厚度的污水大大降低了土壤的通透性,厌氧条件促进了微生物

的反硝化过程,同时也阻碍了 N_2O 向大气中的迁移,使 N_2O 被进一步还原成 N_2 的几率增加^[19],从而导致 N_2O 的释放量减少.这与孙志高等^[20]的研究结果相似,沼泽湿地积水条件会导致 $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ 比例降低.另外,2 种人工湿地的植物生长情况出现差异,潜流人工湿地的芦苇密度高于表面流人工湿地的 ($p < 0.05$).研究表明^[21],维管植物对 CH_4 的排放具有重要作用,有植物促进的 CH_4 排放占湿地总 CH_4 排放量的 75% ~ 90%.陈冠雄等^[22]发现小麦、谷子、水稻和玉米等高等植物释放 N_2O 的现象.芦苇是典型的维管植物,可以推断,潜流人工湿地较多的芦苇植株促进了 N_2O 的排放,芦苇本身直接或间接参与了 N_2O 的排放.

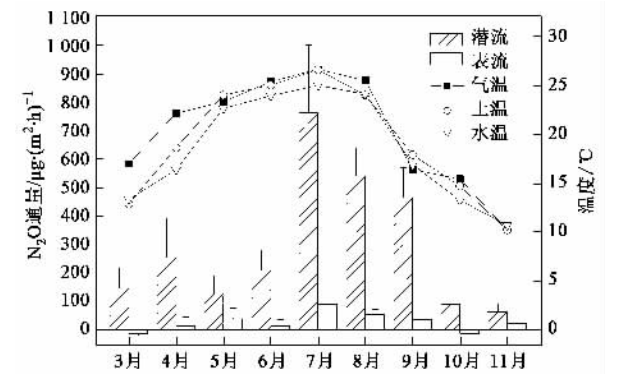


图 2 2 种类型人工湿地 N_2O 通量的季节变化(平均值 $\pm$ SD)

Fig.2 Seasonal variation of N_2O emission from constructed wetlands systems (mean $\pm$ SD)

对 2 种类型人工湿地 N_2O 的释放通量与国内已公开报道的农田、森林、草原、沼泽湿地等生态系统的相关研究结果进行了比较,见表 2.可见,潜流人工湿地 N_2O 平均释放通量大大高于农田、森林、草原和沼泽湿地等生态系统,而表面流人工湿地 N_2O 平均释放通量高于森林和草原,但低于旱作农田、水田和沼泽湿地等生态系统.

在观测期间,潜流和表面流人工湿地 N_2O 通量

均有较大的月份差异,最大值均出现在 7 月份,分别为 $(762.9 \pm 239.3) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $(91.9 \pm 20.3) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$.潜流人工湿地 N_2O 的最低释放量在 11 月,为 $(65.4 \pm 28.5) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$;而表面流人工湿地 N_2O 的最低通量在 3 月,表现为吸收 $[(-12 \pm 7.1) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}]$.夏季是芦苇生长代谢最旺盛的阶段,植物合成过程强烈,呼吸作用较强,致使根系周围氧含量降低,从而导致湿地系统反硝化作用加强.另外,生长季的湿地植物可能会对 N_2O 的排放传输过程产生影响,旺盛的植物生长状态,特殊的生理生态特征对 N_2O 的排放与传输亦可能存在着重要的促进作用.综上所述,植物生长期的 7、8 月份是 N_2O 排放通量较高的重要时期.

对研究期间的气温、水温和土壤温度进行了跟踪观测,结果列于图 2 中.温度通过制约硝化和反硝化菌的活性来影响 N_2O 的释放^[23],通常认为硝化菌的最适生长温度为 25 ~ 35℃,反硝化菌的最适生长温度在 30℃ 以上,如果不存在其他环境因素的限制,在一定温度范围内,其生长代谢能力随温度的升高而增强.对温度与 N_2O 通量进行相关性分析显示,表面流人工湿地 N_2O 通量与水温呈显著正相关 ($p < 0.05$),7 月水温最高,其 N_2O 的排放通量均高于其他月份.

2.2 人工湿地 N_2O 通量日变化特征分析

在 2007 年 8 月对人工湿地 N_2O 通量的日变化特征进行了观测研究,结果分别如图 3 和图 4 所示.可见,人工湿地 N_2O 通量有明显的日变化特征.

由图 3 和图 4 可以看出,潜流和表面流人工湿地 N_2O 通量日变化范围分别为 $(28.2 \sim 198.7) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $(-27.0 \sim 59.0) \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$,变化范围较大,其中潜流人工湿地 N_2O 通量的极大值是极小值的 7.1 倍,而表面流人工湿地在凌晨表现为对 N_2O 的吸收.2 种类型人工湿地 N_2O 通量的极大值和极小值分别出现在中午和凌晨,21:00 也有 1

表 2 不同生态系统 N_2O 通量比较

Table 2 N_2O fluxes from different ecosystems

生态系统类型	植被	位置	N_2O 平均通量/ $\mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$	文献
旱作农田	玉米、大豆、小麦	下辽河平原	46.3 ~ 110.3	[9]
水田	水稻	南京市	231.5	[10]
森林、草原土壤	—	北京市、河北省	- 19.0 ~ 23	[11]
沼泽湿地	毛果苔草、小叶章等	三江平原	25 ~ 110	[13]
潜流人工湿地	芦苇	山东省	296.5	本研究
表面流人工湿地	芦苇	山东省	28.2	本研究

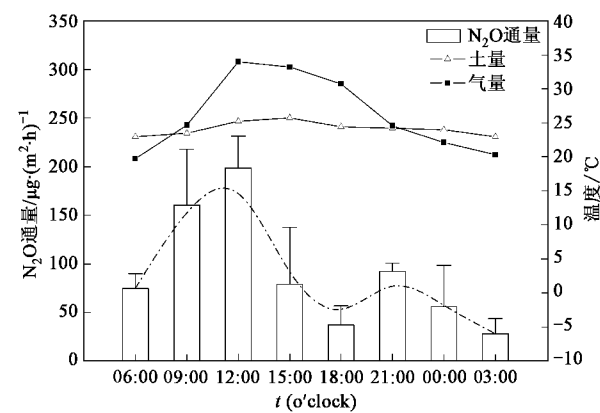


图 3 潜流人工湿地 N₂O 通量日变化(平均值 ± SD)

Fig.3 Daily variations of N₂O emission from subsurface flow constructed wetlands(mean ± SD)

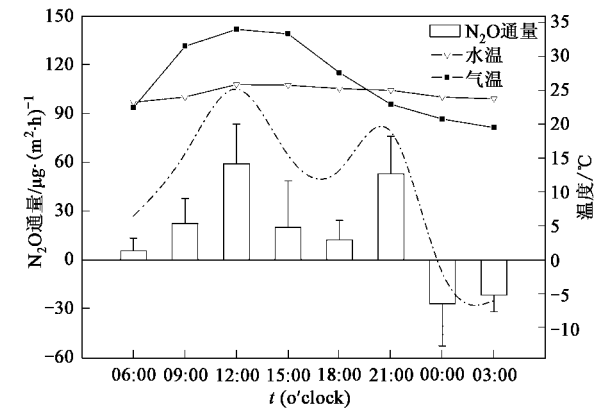


图 4 表面流人工湿地 N₂O 通量日变化(平均值 ± SD)

Fig.4 Daily variations of N₂O emission from free surface flow constructed wetlands(mean ± SD)

个较高值. Grünfeld 等^[24]认为太阳辐射能加快植物组分对气体的交换和传输.一方面在相对较高的温度条件下分子扩散较快,有利于 N₂O 的扩散,另一方面,随着温度的升高,基质中微生物活性增强,其参与的各类氮素地球化学循环反应加快,有利于 N₂O 的产生.表面流人工湿地 21:00 的 N₂O 通量显著高于前后 2 个时间段的($p < 0.05$),这可能与植物的生理生态特征有关.表面流人工湿地的表层积水阻碍了 N₂O 向大气的扩散,因而植物的传输对其 N₂O 的释放影响很大.

2007 年 8 月 15 日和 8 月 17 日 09:00 ~ 10:00, 潜流和表面流人工湿地 N₂O 通量分别为(160.5 ± 57.6) $\mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ 和(22.3 ± 15.5) $\mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$, 显著低于 2008 年相同时间段测得的通量.可见,潜流和表面流人工湿地 N₂O 通量也有明显的年际差异存在,可能与人工湿地系统中微生物和芦苇的生长情况有关.2 种类型的湿地均在 2007 年 3 月构建,4 月开始通入人工污水.稳定运行 1 a 后,基质内的微生物数量和芦苇植株数均高于前一年的,从而促进了 N₂O 的释放.

2.3 N₂O 通量沿程变化特征分析

对人工湿地系统中不同位置处的 N₂O 通量进行了观测,结果如图 5 所示.潜流人工湿地进水端 N₂O 通量显著高于出水端($p = 0.017$).表面流人工湿地沿程 N₂O 通量也有相似变化规律,但其差异不如潜流人工湿地显著.

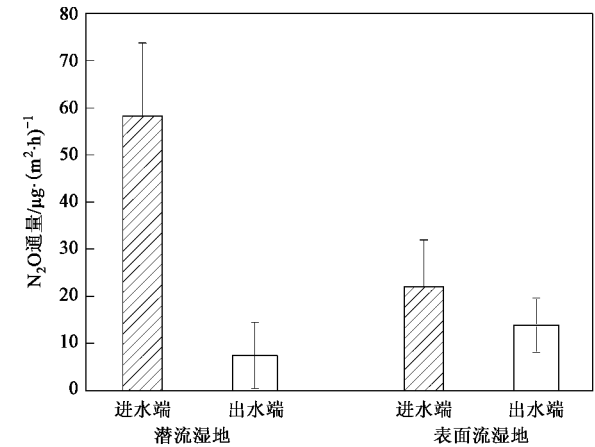


图 5 人工湿地 N₂O 通量沿程变化(平均值 ± SD)

Fig.5 N₂O fluxes distribution from constructed wetlands systems(mean ± SD)

对人工湿地系统中不同位置处基质的硝化和反硝化强度进行了监测分析,结果如表 3 所示,系统进水端的硝化和反硝化强度均明显高于出水端($p < 0.05$).采用 MPN 计数法监测了人工湿地系统中基质的硝化和反硝化细菌数量的空间变化情况(表 3),总体而言人工湿地系统中沿程各处均具有丰富

表 3 基质中硝化、反硝化细菌数量及硝化、反硝化强度

Table 3 Bacteria numbers and intensity of nitrification and denitrification in the constructed wetlands

指标	项目	潜流		表面流	
		进水端	出水端	进水端	出水端
细菌数量/MPN·g ⁻¹	硝化细菌	5.1 × 10 ³	3.3 × 10 ²	4.3 × 10 ³	2.5 × 10 ²
	反硝化细菌	3.7 × 10 ⁵	5.3 × 10 ⁴	5.2 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁵
作用强度/mg·(kg·h) ⁻¹	硝化强度	5.0	2.2	3.4	1.1
	反硝化强度	22.7	10.1	16.8	11.5

的硝化和反硝化细菌,但系统进水端的硝化和反硝化细菌数量高于出水端.出现这些差异的原因在于人工湿地系统进水端的污水浓度比出水端高,碳源和氮源丰富.较高的污水浓度促进了硝化和反硝化过程,使得进水端 N_2O 释放量较高.

2.4 与 N_2O 产生相关的氨氧化细菌

将测序所得序列与 GenBank 数据库中的进行同源性比较.利用 CLUSTALX 软件进行序列比对,然后采用 MEGA4 软件构建系统发育进化树,如图 6 所示.测序发现,潜流和表面流人工湿地基质中氨氧化细菌的种类没有差别,可同用一个系统发育进化树.主要的限制性内切酶分析(RFLP)类型与亚硝化单胞菌属 *Nitrosomonas* 的序列同源性很高,可以将其归为亚硝化单胞菌属.另外有 21% 的序列与亚硝化螺菌属 *Nitrospira* 有较高的序列同源性.还有一部分序列属于未知菌属.研究表明^[25],在一定的条件下 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira* 均可产生 N_2O .因此,人工湿地污水处理系统中与 N_2O 产生相关的氨氧化细菌主要为 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira*.

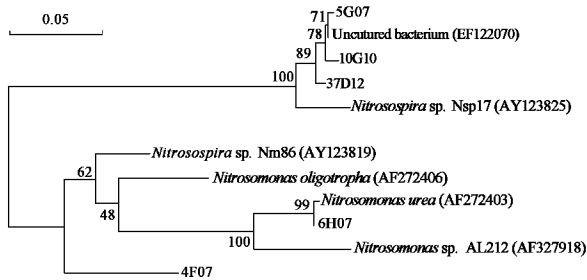


图 6 人工湿地基质中氨氧化细菌系统发育树

Fig.6 Phylogenetic tree of the ammonia-oxidizing bacteria from constructed wetlands

3 结论

(1)潜流和表面流人工湿地系统的 N_2O 平均通量分别为 $296.5 \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $28.2 \mu\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$,总体上均表现为大气 N_2O 的排放源.潜流人工湿地 N_2O 平均通量大大高于农田、森林、草原和沼泽湿地,潜流方式促进了 N_2O 的释放.

(2)2 种类型人工湿地 N_2O 通量均有较大的季节性和日变化特征. N_2O 的排放通量最高值出现在 7 月,一天中的极大值和极小值分别出现在中午和凌晨.温度对 N_2O 通量有一定的影响.

(3)人工湿地进水端 N_2O 通量均高于出水端,进水端污水浓度较高,充足的碳、氮源促进了硝化和反硝化过程,使得 N_2O 释放量较高.

(4)人工湿地污水处理系统中与 N_2O 产生相关的氨氧化细菌主要为 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira*.

致谢:感谢中国科学院生态环境研究中心的牟玉静研究员在气体测定方面所给予的无私帮助.

参考文献:

- [1] IPCC. Climate Change [M]. UK: Cambridge University Press, 2001. 239-287.
- [2] Tallec G, Garnier J, Billen G, et al. Nitrous oxide emissions from denitrifying activated sludge of urban wastewater treatment plants, under anoxia and low oxygenation [J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(4): 2200-2209.
- [3] Sjøvik A K, Kløve B. Emission of N_2O and CH_4 from a constructed wetland in southeastern Norway [J]. Science of the Total Environment, 2007, **380**(1): 28-37.
- [4] 杨晶, 张桂玲, 郑立晓, 等. 北黄海溶解氧化亚氮的分布与通量的季节变化[J]. 环境科学, 2009, **30**(3): 656-662.
- [5] Inamori R H, Wang Y H, Yamamoto T, et al. Seasonal effect on N_2O formation in nitrification in constructed wetlands [J]. Chemosphere, 2008, **73**(7): 1071-1077.
- [6] Maltais-Landry G, Maranger R, Brisson J, et al. Greenhouse gas production and efficiency of planted and artificially aerated constructed wetlands[J]. Environmental Pollution, 2009, **157**(3): 748-754.
- [7] Picek T, Čížková H, Dušek J. Greenhouse gas emissions from a constructed wetland—Plants as important sources of carbon [J]. Ecological Engineering, 2007, **31**(2): 98-106.
- [8] 焦燕, 黄耀, 宗良纲, 等. 氮肥水平对不同土壤 N_2O 排放的影响[J]. 环境科学, 2008, **29**(8): 2094-2098.
- [9] 王重阳, 郑靖, 顾江新, 等. 下辽河平原几种旱作农田 N_2O 排放通量及相关影响因素的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(3): 657-663.
- [10] 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.
- [11] 刘晔, 牟玉静, 钟晋贤, 等. 氧化亚氮在森林和草原中的地-气交换[J]. 环境科学, 1997, **18**(5): 15-18.
- [12] 张秀君, 徐慧, 陈冠雄. 影响森林土壤 N_2O 排放和 CH_4 吸收的主要因素[J]. 环境科学, 2002, **23**(5): 8-12.
- [13] 王毅勇, 郑循华, 宋长春, 等. 三江平原典型沼泽湿地氧化亚氮通量[J]. 应用生态学报, 2006, **17**(3): 493-497.
- [14] Wu J, Zhang J, Jia W L, et al. Impact of COD/N ratio on nitrous oxide emission from microcosm wetlands and their performance in removing nitrogen from wastewater [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(12): 2910-2917.
- [15] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 210-280.
- [16] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986. 110-118, 234-241.
- [17] Zhou J Z, Mary A B, James M T. DNA recovery from soils of diverse composition[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, **62**(2): 316-322.
- [18] Bremner J M, Blackmer A M. Nitrous oxide: Emission from soils

- during nitrification of fertilizer nitrogen[J]. Science, 1978, **199**(1): 295-297.
- [19] 王少斌. 中国大气中氧化亚氮浓度及土壤排放通量的测定[J]. 中国科学(B辑), 1994, **24**(12): 1275-1280.
- [20] 孙志高, 刘景双, 杨继松, 等. 三江平原典型小叶章湿地土壤硝化反硝化作用与氧化亚氮排放[J]. 应用生态学报, 2007, **18**(1): 185-192.
- [21] Schimel J P. Plant transport and methane production as controls on methane flux from arctic wet meadow tundra [J]. Biogeochemistry, 1995, **28**: 183-200.
- [22] 陈冠雄, 商曙辉, 于克伟, 等. 植物释放 N_2O 的研究[J]. 应用生态学报, 1990, **1**(1): 94-96.
- [23] Smith K A, Thomson P E, Clayton H, *et al*. Effects on temperature, water content and nitrogen fertilization on emissions of nitrous oxide by soil[J]. Atmospheric Environment, 1998, **32**(19): 3301-3309.
- [24] Grünfeld S, Brix H. Methanogenesis and CH_4 emissions: effects of water table, substrate type and presence of *Phragmites australis* [J]. Aquatic Botany, 1999, **64**(1): 63-75.
- [25] Blackmer A M, Bremner J M, Schmidt E L. Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1980, **40**(6): 1060-1066.