



王宇歆,钱思妍,杨蔚桐,等. 不同盐度滨海盐渍土壤 N<sub>2</sub>O 排放特征[J]. 南京农业大学学报,2024,47(2):253-263.

WANG Yuxin, QIAN Siyan, YANG Weitong, et al. Characteristics of soil N<sub>2</sub>O emissions with different salinity contents in coastal saline soil [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(2): 253-263.

## 不同盐度滨海盐渍土壤 N<sub>2</sub>O 排放特征

王宇歆,钱思妍,杨蔚桐,田欣,李舒清\*,邹建文

(南京农业大学资源与环境科学学院/农业农村部东南沿海农业绿色低碳重点实验室,江苏 南京 210095)

**摘要:** [目的]滨海盐渍土壤作为耕地的后备资源,具有强大的生产潜力,科学改良应用盐渍土壤的同时综合考量温室气体的排放,有利于实现经济-环境的双赢。探究不同盐度滨海盐渍土 N<sub>2</sub>O 排放规律特征,可为后续盐渍土壤盐度管控和温室效应的应对提供科学依据。 [方法]采集自然形成的不同盐度梯度的滨海盐渍土壤进行室内培养试验,土壤盐度分别为 0.96、2.57、4.04 和 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>,并依次命名为 Y1、Y2、Y3、Y4,采用气相色谱动态监测土壤 N<sub>2</sub>O 的排放特征。 [结果]不同盐分浓度影响下盐渍土壤 N<sub>2</sub>O 累积排放量存在显著差异,当土壤盐度为 0.96~4.04 mS·cm<sup>-1</sup>时,随着盐度上升,土壤 N<sub>2</sub>O 排放量下降;当盐度达到 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>时,N<sub>2</sub>O 再次被刺激产生,排放量(2 598.94 μg·kg<sup>-1</sup>)仅次于轻度盐渍土(5 384.17 μg·kg<sup>-1</sup>)。盐度的增加给土壤微生物生存带来压力,氨氧化细菌 AOB 相较于古菌 AOA 更易受到盐分的影响,在轻、重度盐渍化土壤(Y1、Y2、Y3)中 AOA 仍能保持较高丰度;而在高盐分土壤(Y4)中,AOA 和 AOB 的相对丰度受到抑制,阻碍了硝化作用的进行。盐度梯度影响下 N<sub>2</sub>O 累积排放量还与反硝化潜势(PDR)呈显著正相关。当盐度持续增加,土壤类型划分为盐土(Y4)时,nosZ 基因丰度显著降低,N<sub>2</sub>O 还原作用减弱,使得 Y4 盐渍土中的氮素最终以 N<sub>2</sub>O 的形式排放。 [结论]盐度梯度影响滨海盐渍土壤硝化和反硝化进程,二者共同促进了土壤氮素的转化,造成 N<sub>2</sub>O 排放的差异。当 EC<sub>2.5:1</sub> 为 0.96~4.04 mS·cm<sup>-1</sup>时,盐度的提高限制硝化、反硝化作用的速率,表现出 N<sub>2</sub>O 的减排;当盐分分类达到盐土标准时,由硝化作用产生的 N<sub>2</sub>O 减少,由反硝化作用(异养反硝化和硝化细菌反硝化)产生的 N<sub>2</sub>O 成为盐土土壤的主要温室气体排放来源。

**关键词:**滨海盐渍土;盐度;氧化亚氮(N<sub>2</sub>O);功能基因

中图分类号:S153.6;S154.3

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2024)02-0253-11

## Characteristics of soil N<sub>2</sub>O emissions with different salinity contents in coastal saline soil

WANG Yuxin, QIAN Siyan, YANG Weitong, TIAN Xin, LI Shuqing\*, ZOU Jianwen

(College of Resources and Environmental Sciences/Key Laboratory of Low-Carbon and Green Agriculture in Southeastern China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** [Objectives] Coastal saline soils, as potential arable land reserves, harbor significant productive capacities. A win-win scenario for business and environment can be achieved by scientifically enhancing and employing saline soils while taking greenhouse gas emissions into account. We examined the N<sub>2</sub>O emission patterns from coastal saline soils at varying salinity levels in order to lay a scientific foundation for later efforts in salinity regulation and mitigating the greenhouse effect. [Methods] Natural coastal saline soils with varying salinity gradients were collected for the laboratory incubation experiment. The soil salinity levels were measured as 0.96, 2.57, 4.04 and 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>, respectively labeled as Y1, Y2, Y3 and Y4. Gas chromatography was employed to monitor the emission characteristics of N<sub>2</sub>O from coastal saline soils at different salinity levels. [Results] Variable soil salinity levels resulted in dramatically variable N<sub>2</sub>O emissions. Soil N<sub>2</sub>O emissions decreased as salinity contents increased within the salinity range of 0.96 to 4.04 mS·cm<sup>-1</sup>. N<sub>2</sub>O production was again enhanced when the salinity contents reached 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>. The emissions (2 598.94 μg·kg<sup>-1</sup>) were second only to those recorded in soils with a moderate salinity level (5 384.17 μg·kg<sup>-1</sup>). The survival of soil microorganisms was stressed by the rise in salt. Salinity disturbances were more likely to affect ammonia-oxidizing bacteria (AOB) than ammonia-oxidizing archaea (AOA). AOA remained comparatively more abundant in soils that were either strongly or moderately

收稿日期:2023-10-17

基金项目:江苏省现代农业碳达峰碳中和科技创新专项资金(农业农村领域重大关键技术攻关)(BE2022304);江苏省沿海开发集团有限公司2022年科技揭榜挂帅研发项目(2022YHTDJ01)

\*通信作者:李舒清,副教授,研究方向为土壤碳氮循环与环境效应,E-mail:shuqingli@njau.edu.cn。

salinized(Y1, Y2, Y3). On the other hand, the relative abundances of AOA and AOB decreased in heavily salinized soil(Y4), which hindered the nitrification process. Additionally, the cumulative  $N_2O$  emission demonstrated a strong positive association with the potential denitrification rate(PDR) under the effect of the salinity gradient. One of the primary elements influencing denitrification was the amount of organic material present. Because microorganisms might directly use dissolved organic carbon(DOC), they had the ability to manage its turnover in soil. The abundance of the *nosZ* gene dramatically decreased as the salt content kept rising and the soil type was identified as saline. The nitrogen in the saline soil of Y4 eventually discharged in the form of  $N_2O$  due to the inability to complete the  $N_2O$  reduction process. [Conclusions] In coastal saline soils, the salinity gradient affected the nitrification and denitrification processes, which both significantly contributed to the transformation of soil nitrogen and produced distinct  $N_2O$  emissions. The rising salinity contents lowered the rates of nitrification and denitrification, which decreased  $N_2O$  emission in the range of  $0.96 - 4.04 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  for  $EC_{2.5:1}$ .  $N_2O$  emissions from nitrification processes (heterotrophic denitrification and nitrifier denitrification) became the main source of  $N_2O$  emissions in saline soils, but nitrification production declined as the salt classification exceeded salty soil.

**Keywords:** coastal saline soil; salinity; nitrous oxide ( $N_2O$ ); function genes

中国盐渍化土壤面积约为  $0.36 \times 10^8 \text{ hm}^2$ , 并且仍在以每年  $1 \sim 200 \text{ hm}^2$  的趋势扩大<sup>[1-2]</sup>。其中, 耕地盐渍化面积约  $7.6 \times 10^6 \text{ hm}^2$ , 大概占全国耕地面积的  $5.9\%$ <sup>[3]</sup>。我国的盐渍土壤类型具有分布广泛、区域特性显著、存在不同主导盐分等特点。根据地理位置差异, 盐渍土可划分为滨海盐渍土和内陆盐渍土两类。我国海岸线较长(北起鸭绿江, 南至北仑河), 沿岸涉及的 8 个省均含有一定面积的滨海盐渍土。盐城市位临黄海, 拥有江苏省最长的海岸线, 常年的海水入侵不断为盐城市滨海土壤及地下水输送盐分, 使该地区形成了由内陆向滨海盐度递增的梯度盐渍土。高盐度会阻碍土壤团聚体的形成和分散, 降低土壤有机碳含量, 同时破坏微生物的代谢能力和生命活力, 影响土壤养分循环与转化<sup>[4-5]</sup>。

近年来氧化亚氮( $N_2O$ )的增长率一直处于较高水平<sup>[6]</sup>。土壤是温室气体排放的温床, 据估计, 土壤中  $N_2O-N$  的年释放量为  $1.7 \sim 4.8 \text{ Tg}$ , 占全球总排放量的  $61\%$ 以上<sup>[7]</sup>。与非盐渍土壤相比, 盐渍土壤肥力差, 为实现作物的增产往往施用过量的氮肥, 导致转变为农田类型的滨海盐渍土壤成为新的  $N_2O$  排放源<sup>[8-9]</sup>。盐度诱导下的  $N_2O$  排放现象可能增排, 可能减排, 也可能是无影响<sup>[10-12]</sup>。同时盐度可能增强  $N_2O$  排放的温度敏感性, 这预示着盐渍化土壤在气候变暖背景下的高温温室气体(GHG)排放风险<sup>[13-14]</sup>。此外, 土地利用方式、农业措施、气候条件、土壤含水量差异等因素也会影响盐度作用下的  $N_2O$  排放机制<sup>[7, 10, 13]</sup>。在碳达峰、碳中和的政策背景下, 应优先考虑农田增汇减排潜力, 并不断完善盐度对土壤  $N_2O$  排放的响应模型, 以应对全球气候变化带来的挑战。

国内外对自然条件下不同盐度土壤温室气体排放特征的研究主要集中于甲烷( $CH_4$ )和二氧化碳( $CO_2$ )的观测<sup>[15-16]</sup>, 鲜有对盐渍土壤  $N_2O$  排放特征的研究, 且大多又以厌氧环境下的土壤为研究对象, 如湖泊底泥、河口沉积物, 对于滨海盐渍农田土壤  $N_2O$  排放的研究还相对欠缺<sup>[17-19]</sup>。现有部分滨海盐渍土的研究主要定位于黄河三角洲<sup>[20-22]</sup>, 而不同成因下形成的滨海盐渍土的理化性质、水盐条件、微生物群落之间存在明显差异。本研究选取江苏省盐城地区用于农业种植的滨海梯度盐渍土, 观测  $N_2O$  动态排放的同时测定土壤化学性质和氮循环关键目标基因(主要围绕硝化和反硝化过程相关的功能基因), 初步探讨盐分浓度对江苏滨海盐渍土  $N_2O$  排放影响及微生物学机制, 以期对滨海盐渍土盐度梯度对温室气体产生效应提供理论数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤概况

选取江苏省盐城市大丰区东台试验地的滨海盐渍农田土壤( $33^\circ 2' \text{ N}$ ,  $120^\circ 48' \text{ E}$ ), 试验地自北向南呈盐度梯度递增的趋势, 采用五点取样法破碎性采取不同盐分梯度的盐渍土, 分别为轻度盐渍土 Y1( $EC_{2.5:1}$   $0.96 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ , pH7.98)、重度盐渍土 Y2( $EC_{2.5:1}$   $2.57 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ , pH7.96)、重度盐渍土 Y3( $EC_{2.5:1}$   $4.04 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ , pH7.85)和盐土 Y4( $EC_{2.5:1}$   $15.23 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ , pH7.87)。盐城市东邻黄海, 地处北亚热带气候向南暖温带气候过渡的地带, 四季分明, 雨水丰沛, 雨热同季, 日照充足, 无霜期长。平均年降水量约  $1000 \text{ mm}$ , 年降水日  $100 \sim 115 \text{ d}$ , 年平均气温  $14^\circ \text{C}$ , 年均日照时数  $2200 \text{ h}$ , 年均无霜期  $210 \text{ d}$ 。该地区土壤为砂壤土, 黏粒  $6.7\%$ 、粉粒  $35.1\%$ 、砂粒  $58.2\%$ <sup>[23]</sup>。

## 1.2 试验设计

室内培养试验于2022年7月1日至2022年8月10日进行,历时41 d。试验处理设置与地块同名,分别为Y1、Y2、Y3和Y4处理,每个处理进行4个重复。称取与25 g烘干土质量相当的土样于250 mL锥形瓶中,用去离子水调节土壤含水率至27%,于25 ℃黑暗条件下预培养10 d。4种供试土壤均施入浓度为200 mg·kg<sup>-1</sup>的尿素溶液作为氮源(以N计),统一将土壤含水率控制在35%后进行正式培养。整个培养期间均使用带有针刺孔的塑料膜覆盖于锥形瓶瓶口,以减缓水分散失,每隔2 d采用称重法补充损失的水分。

## 1.3 样品采集与分析

**1.3.1 气体样品的采集与分析** 在施氮后的前3 d每天采集2次气体,分别为施氮后2、12、24、36和48 h,第4~8天每天采集气体。第9天直至培养结束,采气频率延长为2~3 d采集1次。采样时间基本固定在当日的07:00—09:00和19:00—21:00。每次采气前,首先移除锥形瓶的塑料膜并将其放置在通风处至少10 min,使锥形瓶中充满与环境相同的新鲜空气;其次用与锥形瓶大小相配套的带有三通阀的橡胶塞封闭瓶口,使锥形瓶处于完全密闭的状态,采用注射器采集瓶内25 mL气体作为背景值;将其放入培养箱黑暗中培育2 h后再次采集气体。取样结束后,需使用环境空气再次冲洗锥形瓶后覆盖塑料膜。

采用气相色谱仪测定气体样品,仪器型号为Agilent 7890B(美国),电子捕获检测器(electron capture detector, ECD)检测N<sub>2</sub>O,载气为含95%氩气和5%甲烷的混合气。N<sub>2</sub>O排放通量根据密闭前后0~2 h累积的气体浓度计算,计算公式:

$$R = \frac{\rho \times 273 \times (C_1 - C_0) \times V}{(273 + T) \times m \times t} \quad (1)$$

式中: $R$ 为气体释放速率( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ); $\rho$ 为气体标准状态下(0 ℃,101 kPa)的密度( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); $C_1$ 为密封2 h后气体浓度( $\mu\text{L} \cdot \text{m}^{-3}$ ); $C_0$ 为密封前背景气体浓度( $\mu\text{L} \cdot \text{m}^{-3}$ ); $V$ 为培养瓶体积( $\text{m}^3$ ); $T$ 为培养温度(℃); $m$ 为培养的土壤干重(kg); $t$ 为密封时间(h)。

N<sub>2</sub>O累积排放量由每2个相邻采气时间的排放通量的平均值与2次采样间隔时长乘积的总和统计计算,计算公式:

$$F = \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{R_i + R_{i-1}}{2} \times (t_i - t_{i-1}) \right\} \quad (2)$$

式中: $F$ 为N<sub>2</sub>O累积排放量( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); $R$ 为气体释放速率( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ); $t_i - t_{i-1}$ 为2次采样间隔时间; $n$ 为采样周期内的采样次数。

**1.3.2 化学指标的测定** 采用pH计(METTLER TOLEDO FiveEasy Plus FP20)和电导率仪(METTLER TOLEDO FiveEasy Plus FE38)分别测定土壤pH值和电导率(EC),测定水、土质量比为2.5:1;采用流动分析仪(Skalar SANplus analyser, Skalar, 荷兰)测定铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量;采用元素分析仪(multi EA 5000, Analytikjena, 德国)测定总碳(TC)、总氮(TN)含量;采用TOC分析仪(multi N/C 3100/1, Analytikjena, 德国)测定可溶性有机碳(DOC)含量;采用电感耦合等离子体发射光谱仪(Agilent 710, Agilent, 美国)测定K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>含量;采用离子色谱仪(Dionex™ ICS-1100, Thermo Scientific, 美国)测定Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>含量;采用氯酸盐抑制法和乙炔抑制法分别测定硝化潜势速率(PNR)和反硝化潜势速率(PDR)<sup>[24-25]</sup>。

**1.3.3 DNA提取及功能基因定量分析** 采用DNA提取试剂盒(Dneasy® PowerSoil® kit, QIAGEN, 德国)提取土壤样品DNA,具体步骤按照试剂盒说明书;采用超微量紫外分光光度计(Nanodrop, Thermo Scientific, 美国)测定土壤DNA浓度和纯度。采用实时荧光定量PCR仪(Applied-Biosystems Real-Time PCR, Thermo Scientific, 美国)测定硝化、反硝化过程功能基因丰度,20 μL扩增反应体系为:SYBR® Premix Ex Taq™(2×)10 μL,正向引物0.4 μL,反向引物0.4 μL,ROX Reference Dye II(50×)0.4 μL,DNA或质粒模板2 μL,ddH<sub>2</sub>O 6.8 μL。扩增反应程序:95 ℃ 30 s;95 ℃ 5 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,循环40次;95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,95 ℃ 15 s。引物序列见表1。

表 1 试验所需引物参数

Table 1 Primer parameters required for experiments

目的基因 Target gene	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence(5'→3')	片段大小/bp Fragment size	参考文献 References
AOA- <i>amoA</i>	CrenamoA23f CrenamoA616r	ATGGTCTGGCTWAGACG GCCATCCATCTGTATGTCCA	594	[26]
AOB- <i>amoA</i>	<i>amoA</i> -1F <i>amoA</i> -2R	GGGGTTTCTACTGGTGTT CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	491	[27]
<i>nirK</i>	<i>nirK</i> -F1aCu <i>nirK</i> -R3Cu	ATCATGGTSCCTGCCGCG GCCTCGATCAGRITGTGGTT	473	[28]
<i>nirS</i>	<i>nirS</i> Cd3aF <i>nirS</i> R3cd	GTSAACTSAAGGARACSGG GASTTCGGRTGSGTCTTGA	425	[29]
<i>nosZ</i>	<i>nosZ</i> -F <i>nosZ</i> -R	AGAACCACGACTGATCGACA TCCATGGTGACGCCGTGGTTG	380	[30]

注:AOA-*amoA*:氨氧化古菌氨单加氧酶编码基因;AOB-*amoA*:氨氧化细菌氨单加氧酶编码基因;*nirK*:Cu型亚硝酸盐还原酶编码基因;*nirS*:细胞色素 cd1 型亚硝酸还原酶编码基因;*nosZ*:氧化亚氮还原酶编码基因。

Note:AOA-*amoA*(Ammonia-Oxidizing Archaea-*amoA*):Gene encoding ammonia monoxygenase from an ammonia-oxidizing archaeon;AOB-*amoA*(Ammonia-Oxidizing Bacteria-*amoA*):Gene encoding ammonia monoxygenase from ammonia-oxidizing bacteria;*nirK*:Cu-type nitrite reductase-encoding genes;*nirS*:Gene encoding cytochrome cd1-type nitrite reductase;*nosZ*:Gene encoding nitrous oxide reductase.

按 10 倍梯度逐级稀释含有克隆基因片段的质粒,以制备标准曲线。标准曲线的相关系数和基因的扩增效率应达到标准,质粒拷贝数计算公式:

$$CN_{DNA} = \frac{6.02 \times 10^{23} \times C_p \times 10^{-9}}{L_{DNA} \times 660} \quad (3)$$

式中: $CN_{DNA}$ 为质粒拷贝数( $\text{copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ); $C_p$ 为质粒浓度( $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ); $L_{DNA}$ 为各基因与载体的总片段长度(bp); $6.02 \times 10^{23}$ 为阿伏伽德罗常数( $\text{copies} \cdot \text{mol}^{-1}$ );660为一个碱基对所含的分子质量( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{bp}^{-1}$ )。

以质粒拷贝数的 log 值为横坐标,对应的  $C_T$  值为纵坐标绘制各基因的标准曲线,相关系数( $R^2$ )必须高于 0.99。

扩增效率的计算公式:

$$E = (10^{-1/\text{标准曲线斜率}} - 1) \times 100\% \quad (4)$$

标准曲线的扩增效率应在 90%~110%。

#### 1.4 数据分析和统计方法

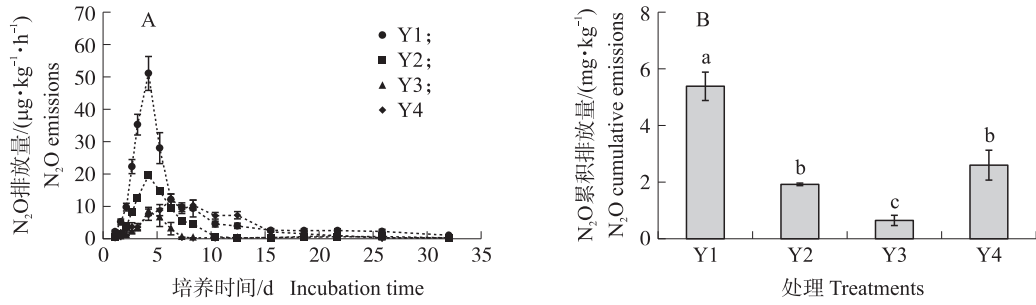
所有数据均基于烘干土壤质量计算,试验结果以平均值±标准误差的形式展现,控制硝化、反硝化过程功能基因的拷贝数经过对数转换后用于后续计算。采用 Excel 2016 和 SPSS Statistics 26 软件进行数据分析及单因素 ANOVA 检验和 Pearson 相关性分析,并使用 Origin 2023 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同盐度影响下滨海盐渍土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 排放特征

从图 1 可知,在整个培养过程中,梯度盐度影响下土壤的  $\text{N}_2\text{O}$  排放规律基本一致,施氮后随着铵态氮的转化, $\text{N}_2\text{O}$  呈先上升后下降的趋势。盐渍化土壤 Y1、Y2、Y3 的  $\text{N}_2\text{O}$  排放速率在施氮后的 2 d 内缓慢上升,2~4 d 急速上升并达到峰值,其中土壤  $\text{N}_2\text{O}$  排放量从大到小的处理依次为 Y1、Y2、Y3。Y1、Y2、Y3 处理土壤的  $\text{N}_2\text{O}$  排放速率在 3~5 d 迅速下降,施氮 10 d 后均始终维持在低排放水平直至培养结束。高盐分土壤 Y4 在氮肥施用后  $\text{N}_2\text{O}$  排放速率逐步上升但未出现明显峰值,4~12 d 始终维持在较高的排放水平( $7.33 \sim 12.66 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ),12~15 d, Y4 处理土壤的  $\text{N}_2\text{O}$  排放速率下降,并在之后始终维持在较低水平直至培养结束。

土壤  $\text{N}_2\text{O}$  累积排放量从大到小的处理依次为 Y1、Y4、Y2、Y3。盐度最低的 Y1 土壤  $\text{N}_2\text{O}$  累积排放量( $5384.17 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )显著高于其他 3 种盐度的盐渍土壤( $P < 0.05$ )。当  $\text{EC}_{2.5:1}$  为  $0.96 \sim 4.04 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  时, Y1、Y2、Y3 土壤盐含量与  $\text{N}_2\text{O}$  排放量呈显著负相关,与低盐分土壤 Y1 相比, Y2 和 Y3 土壤  $\text{N}_2\text{O}$  减排潜力分别为 64.33% 和 87.94%。而当土壤盐度达到  $15.23 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  时,  $\text{N}_2\text{O}$  出现增排的现象, Y4 土壤在培养周期中  $\text{N}_2\text{O}$  排放峰值最低,但排放时间延长,总累积排放量达  $2598.94 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 约为 Y3 土壤  $\text{N}_2\text{O}$  排放量的 4 倍。

图 1 不同盐度土壤 N<sub>2</sub>O 的动态变化 (A) 和排放总量 (B)Fig. 1 Dynamic (A) and cumulative emissions (B) of soil N<sub>2</sub>O with different salinity contents

Y1:轻度盐渍土 Mildly saline soil ( $EC_{2.5:1} = 0.96 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ); Y2:重度盐渍土 Heavily saline soil ( $EC_{2.5:1} = 2.57 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ); Y3:重度盐渍土 Heavily saline soil ( $EC_{2.5:1} = 4.04 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ); Y4:盐土 Saline soil ( $EC_{2.5:1} = 15.23 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). 不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著 Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level. 下同 The same as follows.

## 2.2 不同盐度土壤化学性质

**2.2.1 离子含量** 不同盐度滨海盐渍土壤的离子指标差异见表 2。滨海盐渍土中的阴、阳离子主要以  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  为主。随着 EC 值的升高,土壤中的水溶性阳离子 ( $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ ) 和阴离子 ( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ ) 的含量也随之增加。 $\text{K}^+$  含量维持为  $1.12 \sim 7.14 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Y1 土壤的  $\text{K}^+$  含量要略高于 Y2 土壤; $\text{Ca}^{2+}$  含量为  $1.56 \sim 9.28 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $\text{Mg}^{2+}$  含量在 Y4 土壤中含量较高,达到  $31.08 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,在低盐度和重度盐渍土壤中为  $1.33 \sim 7.46 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $\text{Na}^+$  作为主导离子,其含量远远高于其他 3 种离子含量,为  $16.07 \sim 186.46 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,几乎是其他 3 种离子的 6~16 倍;Y4 土壤中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量均大于  $30 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,分别为  $39.70$  和  $32.62 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,然而在低盐度和重度盐渍土壤中它们的含量均小于  $10 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

土壤钠吸附比 (SAR) 和交换性钠百分比 (ESP) 影响土壤养分状况和作物生长情况,对于衡量盐渍土地力及后续农业改良管理有重要意义。SAR 从小到大的处理依次为 Y1、Y3、Y2、Y4,其中 Y3 土壤的  $EC_{2.5:1}$  值为  $4.04 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,大于 Y2 土壤的  $2.57 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,但是 Y2 土壤的 SAR 值 (8.72) 显著高于 Y3 土壤 (7.67)。ESP 随着土壤盐度的增加而增加,增幅为  $20.29\% \sim 67.61\%$ 。

表 2 不同盐度土壤中离子指标

Table 2 Soil ion indexes with different salinity contents

离子指标 Index of ions	Y1	Y2	Y3	Y4
pH 值 pH value	$7.98 \pm 0.02^a$	$7.96 \pm 0.03^{ab}$	$7.85 \pm 0.03^c$	$7.87 \pm 0.00^{bc}$
$EC_{2.5:1} / (\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1})$	$0.96 \pm 0.00^d$	$2.57 \pm 0.05^c$	$4.04 \pm 0.04^b$	$15.23 \pm 0.03^a$
水溶性钾含量 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{K}^+$ content	$1.45 \pm 0.01^c$	$1.12 \pm 0.02^d$	$3.06 \pm 0.02^b$	$7.14 \pm 0.04^a$
水溶性钠含量 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{Na}^+$ content	$16.07 \pm 0.01^d$	$47.14 \pm 0.10^c$	$59.22 \pm 0.31^b$	$186.46 \pm 0.75^a$
水溶性钙含量 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{Ca}^{2+}$ content	$1.56 \pm 0.01^d$	$2.90 \pm 0.02^c$	$4.54 \pm 0.02^b$	$9.28 \pm 0.14^a$
水溶性镁含量 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{Mg}^{2+}$ content	$1.33 \pm 0.00^d$	$2.97 \pm 0.01^c$	$7.46 \pm 0.02^b$	$31.08 \pm 0.54^a$
水溶性氯离子 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{Cl}^-$ content	$2.02 \pm 0.00^d$	$5.21 \pm 0.01^c$	$6.20 \pm 0.01^b$	$39.70 \pm 0.36^a$
水溶性硫酸根 / ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) $\text{SO}_4^{2-}$ content	$2.87 \pm 0.00^d$	$6.62 \pm 0.01^c$	$9.71 \pm 0.03^b$	$32.62 \pm 0.28^a$
钠吸附比 SAR	$4.24 \pm 0.00^d$	$8.72 \pm 0.04^b$	$7.67 \pm 0.04^c$	$13.21 \pm 0.07^a$
交换性钠百分比 / % ESP	$20.29 \pm 0.37^d$	$38.13 \pm 0.12^c$	$44.01 \pm 0.23^b$	$67.61 \pm 0.10^a$

Note: SAR; Sodium adsorption ratio; ESP; Exchangeable sodium percentage. The same as follows.

**2.2.2 基础化学性质** 从表 3 可知:4 种土壤的  $\text{NH}_4^+$ -N 含量差异显著,其含量由高到低的处理依次为 Y1、Y4、Y3、Y2,轻度盐渍土中  $\text{NH}_4^+$ -N 含量为重度盐渍土的 2~9 倍,表明低盐度可能会刺激土壤氮矿化;当盐分大于  $0.96 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  时,  $\text{NH}_4^+$ -N 含量与盐度呈负相关,其在 Y4 盐土中残留有效氮含量最高。Y2 土壤的  $\text{NO}_3^-$ -N 含量显著高于其他 3 种土壤,达到  $5.89 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,这可能与铵态氮的转化有关。Y1 和 Y4 土壤 DOC 含量高于 Y2 和 Y3,分别为  $73.26$  和  $63.56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,两者差异并不显著, Y3 土壤 DOC 含量 ( $39.58 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 最低。轻度盐渍化土壤 Y1 中 TC、TN 含量最高,分别为  $19.30$  和  $1.61 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。不同盐度土壤的 PNR 随 EC 值的升高而降低,为  $0.24 \sim 2.68 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ,其中 Y4 土壤的 PNR 最低。Y1、Y4 土壤的 PDR 分别为  $255.85$  和  $283.93 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ,显著高于 Y2 ( $76.43 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )、Y3 ( $98.81 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) 土壤。

表 3 不同盐分含量土壤化学性质

Table 3 Chemical properties of soil with different salinity contents

基础化学指标 Basic chemical index	Y1	Y2	Y3	Y4
铵态氮含量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N content	13.21±0.03 <sup>a</sup>	1.38±0.11 <sup>d</sup>	4.89±0.07 <sup>c</sup>	6.16±0.11 <sup>b</sup>
硝态氮含量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N content	0.16±0.12 <sup>b</sup>	5.89±0.03 <sup>a</sup>	0.29±0.10 <sup>b</sup>	0.45±0.03 <sup>b</sup>
溶解性有机碳含量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) DOC content	73.26±9.01 <sup>a</sup>	56.30±17.30 <sup>ab</sup>	39.58±8.40 <sup>b</sup>	63.59±0.41 <sup>a</sup>
总碳含量/(g·kg <sup>-1</sup> ) TC content	19.30±0.33 <sup>a</sup>	16.63±0.09 <sup>b</sup>	15.63±0.18 <sup>c</sup>	15.82±0.20 <sup>c</sup>
总氮含量/(g·kg <sup>-1</sup> ) TN content	1.61±0.02 <sup>a</sup>	1.33±0.02 <sup>b</sup>	1.14±0.07 <sup>c</sup>	1.04±0.06 <sup>d</sup>
硝化潜势速率/(mg·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> ) PNR	2.68±0.40 <sup>a</sup>	1.09±0.01 <sup>b</sup>	1.04±0.09 <sup>bc</sup>	0.24±0.02 <sup>c</sup>
反硝化潜势速率/(μg·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> ) PDR	255.88±19.62 <sup>a</sup>	98.81±1.02 <sup>b</sup>	76.43±7.89 <sup>b</sup>	283.93±8.45 <sup>a</sup>

Note: DOC: Dissolved organic carbon; TC: Total carbon; TN: Total nitrogen; PNR: Potential nitrification rate; PDR: Potential denitrification rate. The same as follows.

### 2.3 土壤氮循环中硝化和反硝化功能基因丰度

使用实时荧光定量 PCR 测定了不同盐分梯度土壤 DNA 样品的目标功能基因丰度,包括硝化过程的 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 以及反硝化过程的 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* (图 2)。4 种土壤 AOA-*amoA* 的基因丰度 (copies·g<sup>-1</sup>) 均值为 6.67,其中 Y1、Y2、Y3 土壤的基因丰度为 6.82~6.92,均显著高于 Y4 土壤 (6.03)。4 种土壤的 AOB-*amoA* 均存在显著的梯度差异,基因丰度从大到小的处理依次为 Y1、Y2、Y3、Y4。总体来说,AOB-*amoA* 的平均基因丰度为 7.64,高于 AOA-*amoA* 的平均基因丰度 6.67,但相比于 AOB,AOA 群落更能抵抗盐度的变化。Y4 土壤的 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 基因丰度均显著低于其他 3 种盐分含量土壤,表明高盐度会削弱硝化过程中的氨氧化微生物的丰度。

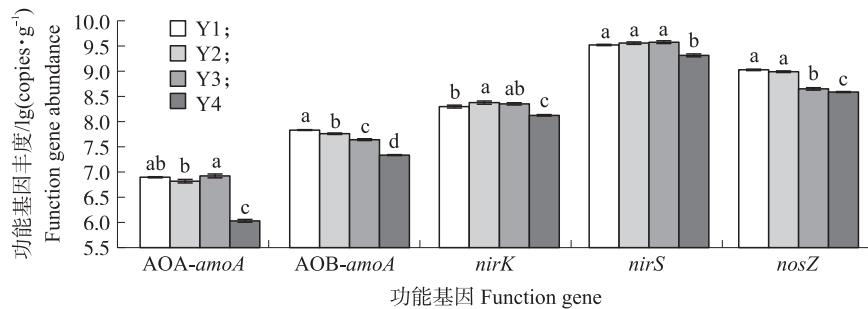


图 2 不同盐分含量土壤硝化和反硝化功能基因丰度

Fig. 2 Abundances of key function genes for nitrification and denitrification with different salinity contents

基因丰度以每克干土的基因拷贝数的对数值计。Gene abundances are calculated as log score of gene copies per dry soils.

Y1、Y2、Y3 土壤的 *nirS* 基因丰度为 9.52~9.58,均显著高于 Y4,但三者之间并未出现显著性差异。Y1、Y2、Y3、Y4 土壤的 *nirK* 基因丰度为 8.12~8.38,其中 Y2 土壤的 *nirK* 基因丰度显著高于 Y1 土壤,Y3 土壤的 *nirK* 基因丰度介于 Y1 和 Y2 之间,Y1、Y2、Y3 土壤的 *nirK* 基因丰度均显著高于 Y4 土壤。Y1、Y2 土壤的 *nosZ* 基因丰度分别为 9.03 和 8.99,显著高于 Y3 和 Y4 土壤。4 种土壤的 *nirS* 基因丰度均值为 9.49,*nirK* 基因丰度均值为 8.29,*nosZ* 基因丰度均值为 8.82,反硝化过程中的 *nirS* 基因丰度总体要高于 *nirK* 和 *nosZ*。Y4 土壤的 3 种反硝化功能基因均显著低于其他 3 种盐分含量土壤,这意味着极高盐度会降低亚硝酸盐还原酶和氧化亚氮还原酶的丰度,从而影响反硝化过程,N<sub>2</sub>O 的产生和消耗随之发生变化。

### 2.4 N<sub>2</sub>O 排放量与土壤化学性质、功能基因丰度的相关性

从表 4 可知,EC、SAR、ESP、可溶性盐离子指标均可以表示盐度,上述指标与化学指标 PNR、TN 之间呈现出极显著负相关性 ( $P < 0.01$ ),阳离子 Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 和阴离子 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 与 TC 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )。这表明盐离子浓度可能会改变滨海盐渍土壤中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的吸附和释放,进而影响土壤硝化潜势<sup>[31]</sup>。尽管鲜有研究可以明确证明自然环境中土壤 TC、TN 的变化是由于盐分还是由于其他因素导致的,但 Liu 等<sup>[32]</sup> 在田间原位观测试验中观察到 TN 含量随盐度的增加而逐渐降低,这与本文结论一致,推测土壤盐度会影响 TN 的总量和积累。土壤全碳、全氮含量还与土壤有机质含量密切相关,输入的可溶性盐离子可能会通过破坏土壤原有性质以及微生物代谢活动和适应能力,进一步影响土壤中碳、氮基质有效性。研究表明,与 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 相比,Na<sup>+</sup> 对土壤颗粒表面的吸附强度较弱,发生水合作用时,以 Na<sup>+</sup> 为主的水膜包裹的土壤颗粒发生相互排斥作用<sup>[33]</sup>,使得钠质化程度高的盐渍土壤中黏土之间的结合力被破坏,土壤团聚体失稳,土

壤结构松散,出现土壤封闭板结的情况,土壤侵蚀加剧使得有机质含量流失<sup>[34-35]</sup>;高钠含量的盐渍土壤也不利于微生物活动分解有机质,使得土壤碳、氮赋存量降低,养分循环转化过程受到限制。

真菌倾向于分解难降解的有机物,细菌则与易降解的底物周转有关,在农田系统中细菌对于盐度和有机质的变化更为敏感<sup>[13,36-37]</sup>。EC、SAR、ESP 及所有离子指标均与硝化、反硝化过程相关的功能基因 AOA-*amoA*、AOB-*amoA*、*nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 存在极显著的负相关关系 ( $P<0.01$ )。推测盐度是驱动滨海盐渍土中微生物多样性及群落结构的主要环境因子之一,盐度增高会对土壤微生物生存造成压力,敏感的微生物将由于盐胁迫而发生功能退化,不敏感的微生物也需要利用更多的能量来抵抗盐的胁迫<sup>[38]</sup>。

在本研究中 N<sub>2</sub>O 与盐度未表现出显著的相关性关系,这可能是由于 N<sub>2</sub>O 的产生与转化是一个复杂的过程,是多种环境、生物因子交叉作用的结果。由上述分析可得,盐分浓度增高,可溶性盐离子含量随之增加,盐渍土壤化学性质发生改变,发生硝化和反硝化作用的关键功能基因丰度随之下降,对土壤碳、氮素周转过程产生影响。

表 4 不同盐分含量土壤离子指标与 N<sub>2</sub>O 排放量、化学性质以及硝化、反硝化功能基因丰度的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between soil ion indexes with N<sub>2</sub>O emissions, chemical properties, and gene abundances (nitrification and denitrification processes) with different salinity contents

	EC	SAR	ESP	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
N <sub>2</sub> O	-0.25	-0.49	-0.55	-0.24	-0.30	-0.39	-0.23	-0.17	-0.26
pH	-0.60*	-0.57	-0.72**	-0.68*	-0.61*	-0.71**	-0.61*	-0.52	-0.61*
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	-0.17	-0.54	-0.47	-0.05	-0.24	-0.26	-0.12	-0.12	-0.18
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	-0.28	0.09	-0.11	-0.46	-0.23	-0.29	-0.33	-0.26	-0.27
PNR	-0.77**	-0.93**	-0.93**	-0.71**	-0.81**	-0.84**	-0.74**	-0.72**	-0.78**
PDR	0.51	0.20	0.18	0.52	0.46	0.37	0.54	0.58*	0.50
DOC	0.05	-0.13	-0.22	0.01	0.01	-0.09	0.06	0.13	0.04
TC	-0.56	-0.76**	-0.81**	-0.55	-0.61*	-0.69*	-0.54	-0.49	-0.58*
TN	-0.76**	-0.85**	-0.93**	-0.76**	-0.79**	-0.86**	-0.75**	-0.70*	-0.77**
AOA- <i>amoA</i>	-0.93**	-0.79**	-0.78**	-0.91**	-0.92**	-0.87**	-0.94**	-0.96**	-0.93**
AOB- <i>amoA</i>	-0.95**	-0.78**	-0.86**	-0.98**	-0.93**	-0.94**	-0.96**	-0.93**	-0.94**
<i>nirS</i>	-0.82**	-0.77**	-0.72**	-0.76**	-0.82**	-0.76**	-0.81**	-0.84**	-0.82**
<i>nirK</i>	-0.84**	-0.84**	-0.80**	-0.77**	-0.85**	-0.81**	-0.83**	-0.85**	-0.84**
<i>nosZ</i>	-0.75**	-0.64*	-0.80**	-0.85**	-0.75**	-0.83**	-0.77**	-0.70*	-0.76**

Note: \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

从图 3 可知,氮底物的可用性将极大影响氮的气态损失, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的存在是硝化过程中 N<sub>2</sub>O 排放的驱动力。N<sub>2</sub>O 与 PNR 呈极显著正相关,这表明硝化作用的加强会促进 N<sub>2</sub>O 的排放,此外 N<sub>2</sub>O 排放量与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量也呈极显著正相关 ( $P<0.01$ )。随着盐度的胁迫效应增强,硝化作用被抑制,土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 留存量高,难以有效转化成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N。已有大量研究结果与本文得出的结论一致,即低盐分 ( $EC_{2.5:1} = 0.96 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) 可以刺激土壤氮素的硝化和矿化,土壤盐分含量增加会削弱土壤硝化能力,土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的积累量逐渐升高,并有可能增加土壤氮挥发的强度<sup>[39-42]</sup>。N<sub>2</sub>O 排放量与 TC、TN、DOC 含量呈极显著正相关 ( $P<0.01$ ), TC、TN 与 PNR 之间也表现为极显著正相关 ( $P<0.01$ ), 可知土壤碳、氮底物有效性是土壤硝化作用以及刺激 N<sub>2</sub>O 产生和排放的重要影响因素之一, Y1 相较于其他 3 种土壤具有最高的碳、氮源有效性,可以为硝化作用提供充足的基质,从而产生强 N<sub>2</sub>O 排放。

N<sub>2</sub>O 排放量与 PDR 呈显著正相关 ( $P<0.05$ ), 在抑制氧化亚氮还原酶作用下,反硝化作用产生 N<sub>2</sub>O 且不发生还原作用。通常认为土壤反硝化作用对碳源、O<sub>2</sub> 含量、盐分、水分条件较为敏感<sup>[43]</sup>。从图 4 可知, DOC 与 PDR 表现出极显著正相关 ( $P<0.01$ ), 缺乏 DOC 是限制土壤反硝化作用的关键条件之一, Y2、Y3 重度盐渍土的 DOC 含量仅为 Y1、Y4 土壤的 54%~77%, 二者可能由于具有相对较低的碳源, 不足以支撑反硝化作用, 从而降低由反硝化过程产生的 N<sub>2</sub>O 排放。PNR 与 AOB-*amoA* 表现出更强的正相关效应 ( $P<0.05$ ), 这表明氨氧化细菌在盐渍土中占据主导地位, 更有利于进行调控硝化作用, 进行 N<sub>2</sub>O 的产生和转化。其他功能基因丰度与 N<sub>2</sub>O 之间相关性不显著, 这可能是由于 N<sub>2</sub>O 的产生与转化过程并非由单一类型微生物所控制。

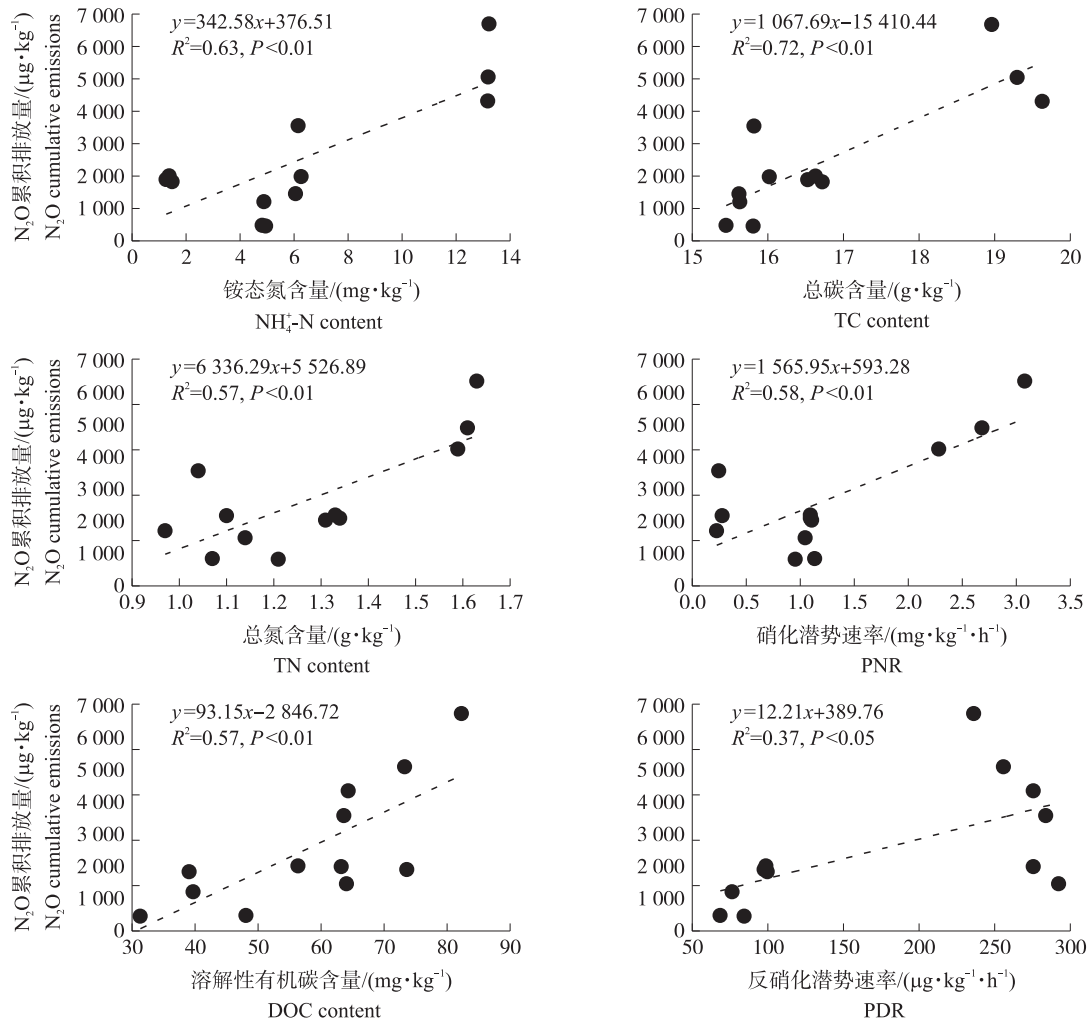
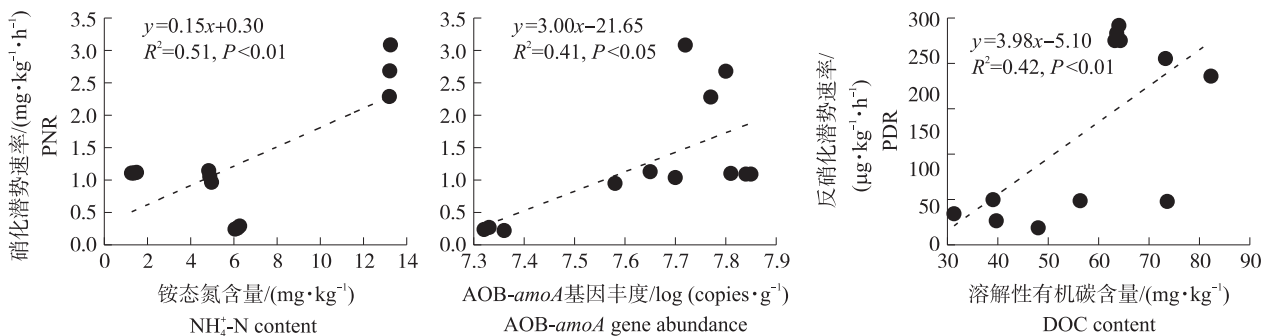
图3  $N_2O$ 排放量与土壤化学性质的相关性Fig. 3 Correlation between  $N_2O$  emissions and chemical properties in soil

图4 PNR和PDR与土壤化学性质和功能基因的相关性

Fig. 4 Correlation of PNR and PDR with chemical properties in soil and function genes

### 3 讨论与结论

盐度改变土壤结构,驱动微生物群落系统发生变化,进一步对土壤中碳、氮循环过程产生影响,诱导产生的GHG可能会打破全球温室气体的动态收支平衡,对全球变暖产生不可估量的结果。本研究通过分析不同盐度梯度滨海盐渍土壤化学性质、离子含量、氮循环中硝化与反硝化过程相关功能基因丰度的变化对 $N_2O$ 排放的影响,为后续滨海盐渍土转型农田以及减缓全球变暖进程提供科学支撑。

滨海盐渍土主要是由于海水倒灌入侵所形成,土壤中离子成分与海水中离子成分相似。盐度的增加伴随着 $Na^+$ 、 $Cl^-$ 和 $SO_4^{2-}$ 离子的激增,进而诱导产生微生物细胞毒性; $Na^+$ 作为土壤溶液中的主要阳离子,高

Na<sup>+</sup>比例会破坏土壤团聚体的稳定性,增加微生物对表层有机质的分解,从而降低土壤有机碳含量<sup>[44-45]</sup>。本试验结果表明,滨海盐渍土壤为 N<sub>2</sub>O 的源,当土壤盐度为 0.96~4.04 mS·cm<sup>-1</sup>时,盐分会抑制 N<sub>2</sub>O 的排放,而当盐分含量达到盐土标准时,会再次刺激 N<sub>2</sub>O 的产生和排放。盐度主要通过影响土壤硝化和反硝化作用,进而控制氮素转化。低盐度能刺激土壤的矿化和硝化,轻度盐渍土具有较高的铵态氮含量、硝化潜势和反硝化潜势,这表明氮肥施入轻度盐渍土有可能同时加强硝化和反硝化两部分作用从而增加 N<sub>2</sub>O 的净排放。随着土壤盐度的不断增加,离子的特异性毒性和高渗透势会导致微生物细胞裂解,进而减缓土壤硝化进程。硝化作用由土壤微生物调节,由 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 驱动的氨氧化过程是硝化作用的第一步,也是限速步骤<sup>[46]</sup>。AOB 在盐渍土壤中似乎表现出更强的耐盐能力和较高的硝化作用活性,其丰度水平平均高于 AOA 一个单位。Zhu 等<sup>[47]</sup>发现 AOA 和 AOB 丰度受到盐度的抑制,整体上 AOB-*amoA* 的基因拷贝数大于 AOA-*amoA*,AOB 的多样性指数随着土壤盐度的增加呈显著下降趋势,但 AOA 多样性指数随着土壤盐度的增加呈先上升后下降的趋势。在盐度为 0.96~4.04 mS·cm<sup>-1</sup>,盐渍土壤中 AOA 丰度仍能保持在较高水平;当土壤盐度极高时,主导氨氧化过程的 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 活性受到强烈抑制,同时可能影响亚硝酸盐还原酶的活性,使土壤硝化过程基本停留在亚硝酸盐阶段,延缓硝化进程,从而减少通过硝化作用产生的 N<sub>2</sub>O<sup>[41]</sup>。

在盐度小于 4.04 mS·cm<sup>-1</sup>时,盐分与反硝化潜势呈负相关的关系;当盐度达到 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>时,反硝化潜势增强。这可能是由于极高盐度使得土壤通透性下降,土壤环境由好氧向厌氧转变,使得 N<sub>2</sub>O 的产生由反硝化所主导。异养反硝化通过无氧呼吸利用硝酸盐作为电子受体,以有机物作为碳源和电子供体,进行 N<sub>2</sub>O 的产生和消耗。因此,有机碳含量对土壤反硝化作用发挥着重要的影响。生物介导和非生物参数共同控制土壤中 DOM 的形成和衰减<sup>[9]</sup>。本试验结果表明,盐度增加会降低土壤可溶性有机碳含量。分析原因主要为盐度毒害微生物,抑制微生物对 DOC 的分解;另一方面可能为重度盐渍土中的高含量 Na<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>离子与 DOC 中的酸性物质发生中和反应,降低土壤 DOC 含量,底物 DOC 含量降低限制土壤反硝化进程,从而减少由反硝化产生的 N<sub>2</sub>O 排放量<sup>[48-49]</sup>。同时,在低 EC、高 SAR 的重度盐渍土中,DOC 含量更高,这可能会增加 CO<sub>2</sub> 排放的风险。极高盐含量的盐土中赋存的 DOC 含量略高于重度盐渍土,分析认为盐土较差的理化特性使得土壤碳库极不稳定,SOC 易转换成 DOC,从而促进土壤反硝化作用。结合反硝化过程相关功能基因分析得出,当盐度达到 15.23 mS·cm<sup>-1</sup>时,主导亚硝酸盐还原的 *nirK* 和 *nirS* 基因丰度显著降低,其中 *nirS* 的丰度仍要高于 *nirK*。这可能由于 *nirS* 对盐分的耐受能力更高,二者所代表的微生物种类在盐分压力下存在差异,形成不同的生态位分化;同时高盐度强烈抑制了 *nosZ* 基因的丰度,导致 N<sub>2</sub>O 向 N<sub>2</sub> 的还原过程受到阻碍,最终气态氮再次以 N<sub>2</sub>O 的形式排放;高浓度的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 以 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 作为电子受体还原成 H<sub>2</sub>S,H<sub>2</sub>S 进一步抑制 N<sub>2</sub>O 的彻底还原过程<sup>[50]</sup>;而亚硝酸盐的积累也可能发生硝化细菌反硝化作用,直接加强 N<sub>2</sub>O 净排放。

综上所述,盐度会通过影响土壤硝化和反硝化进程从而影响盐渍土壤 N<sub>2</sub>O 的排放:在盐度为 0.96~4.04 mS·cm<sup>-1</sup>的轻度、重度盐渍土中,N<sub>2</sub>O 排放通量随盐度升高整体降低,这主要是盐度抑制了土壤硝化和反硝化过程。盐度胁迫产生的高渗透势和离子毒性可能会率先破坏原有土壤的团聚体稳定性,降低 TC、TN、DOC 等碳、氮底物的有效性;另一方面盐分浓度对硝化微生物的生存产生了压力,氨氧化细菌 AOB 的丰度在盐度胁迫作用下不断下降,多因子共同影响下减缓了土壤硝化和反硝化速率,使得硝化与反硝化进程逐步被阻碍,最终实现 N<sub>2</sub>O 的减排;而在极高盐度的盐土中,土壤通透性进一步下降,产生微厌氧环境,同时高可溶性盐含量阻碍了硝化作用的发生,大量不稳定的 DOC 为反硝化细菌提供碳底物,土壤 N<sub>2</sub>O 排放以反硝化过程为主导,而 *nosZ* 基因丰度在盐土中显著减少,抑制了完全反硝化过程,土壤氮最终以 N<sub>2</sub>O 的形式扩散到大气中。

#### 参考文献 References:

- [1] Abbas A, Khan S, Hussain N, et al. Characterizing soil salinity in irrigated agriculture using a remote sensing approach[J]. Phys Chem Earth, 2013, 55/56/57: 43-52.
- [2] Chen X D, Wu J G, Opoku-Kwanowaa Y. Rationalizing the use of agricultural organic waste: effects on soil dissolved organic carbon in primary saline-alkali soil[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2021, 52(2): 102-115.
- [3] 孙波,朱安宁,姚荣江,等. 潮土、红壤和盐碱地障碍消减技术与产能提升模式研究进展[J]. 土壤学报, 2023, 60(5): 1231-1247.

- Sun B, Zhu A N, Yao R J, et al. Research progress on barrier remediation technology and productivity enhancement model for fluvo aquic soil, red soil, and saline-alkali soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(5): 1231–1247 (in Chinese with English abstract).
- [4] Rath K M, Murphy D N, Rousk J. The microbial community size, structure, and process rates along natural gradients of soil salinity[J]. *Soil Biol Biochem*, 2019, 138: 107607.
- [5] Kristin R. Soil salinity as a driver of microbial community structure and functioning[D]. Lund: Lund University, 2018.
- [6] Gulev K S, Thorne P W, Ahn J, et al. Changing state of the climate system[M]// *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*. Cambridge: IPCC, 2021.
- [7] Montzka S A, Dlugokencky E J, Butler J H. Non-CO<sub>2</sub> greenhouse gases and climate change[J]. *Nature*, 2011, 476(7358): 43–50.
- [8] Davidson E A. The contribution of manure and fertilizer nitrogen to atmospheric nitrous oxide since 1860[J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2(9): 659–662.
- [9] Ghosh U, Thapa R, Desutter T, et al. Saline-sodic soils: potential sources of nitrous oxide and carbon dioxide emissions? [J]. *Pedosphere*, 2017, 27(1): 65–75.
- [10] Zhang J, Wang J J, Xiao R, et al. Effect of salinity on greenhouse gas production and emission in marsh soils during the decomposition of wetland plants[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23(1): 131–144.
- [11] Zhang L H, Song L P, Wang B C, et al. Co-effects of salinity and moisture on CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions of laboratory-incubated salt-affected soils from different vegetation types[J]. *Geoderma*, 2018, 332: 109–120.
- [12] Zhang W, Zhou G W, Li Q, et al. Saline water irrigation stimulate N<sub>2</sub>O emission from a drip-irrigated cotton field[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 2016, 66(2): 141–152.
- [13] Yu Y X, Zhao C Y, Zheng N G, et al. Interactive effects of soil texture and salinity on nitrous oxide emissions following crop residue amendment[J]. *Geoderma*, 2019, 337: 1146–1154.
- [14] Yu Y X, Li X, Zhao C Y, et al. Soil salinity changes the temperature sensitivity of soil carbon dioxide and nitrous oxide emissions[J]. *Catena*, 2020, 195: 104912.
- [15] Marton J M, Herbert E R, Craft C B. Effects of salinity on denitrification and greenhouse gas production from laboratory-incubated tidal forest soils[J]. *Wetlands*, 2012, 32(2): 347–357.
- [16] Doroski A A, Helton A M, Vadas T M. Greenhouse gas fluxes from coastal wetlands at the intersection of urban pollution and saltwater intrusion: a soil core experiment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 131: 44–53.
- [17] Jiang Y H, Yin G Y, Li Y, et al. Saltwater incursion regulates N<sub>2</sub>O emission pathways and potential nitrification and denitrification in intertidal wetland[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2022, 59(5): 541–553.
- [18] Sun X X, Yang J, Jiang H C, et al. Nitrite- and N<sub>2</sub>O-reducing bacteria respond differently to ecological factors in saline lakes[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2022, 98(2): 1–12.
- [19] Li Y W, Xu J Z, Liu B Y, et al. Enhanced N<sub>2</sub>O production induced by soil salinity at a specific range[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(14): 5169.
- [20] Xia J B, Ren J Y, Zhang S Y, et al. Forest and grass composite patterns improve the soil quality in the coastal saline-alkali land of the Yellow River Delta[J]. *Geoderma*, 2019(349): 25–35.
- [21] Wang X T, Jiang Z X, Li Y, et al. Inorganic carbon sequestration and its mechanism of coastal saline-alkali wetlands in Jiaozhou Bay[J]. *Geoderma*, 2019, 351: 221–234.
- [22] Dong Y, Chen R, Petropoulos E, et al. Interactive effects of salinity and SOM on the ecoenzymatic activities across coastal soils subjected to a saline gradient[J]. *Geoderma*, 2022, 406: 115519.
- [23] 张贺. 施磷对滨海盐碱地不同水埋深下棉花产量影响的机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.  
Zhang H. Mechanism study on the effect of phosphorus application on cotton yield under different water depths in coastal saline-alkali land[D]. Nangjing: Nanjing Agricultural University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [24] Petersen D G, Blazewicz S J, Firestone M, et al. Abundance of microbial genes associated with nitrogen cycling as indices of biogeochemical process rates across a vegetation gradient in Alaska[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(4): 993–1008.
- [25] Hu H W, Macdonald C A, Trivedi P, et al. Effects of climate warming and elevated CO<sub>2</sub> on autotrophic nitrification and nitrifiers in dryland ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 92: 1–15.
- [26] Tournay M, Freitag T E, Nicol G W, et al. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(5): 1357–1364.
- [27] Witzel K P, Rothhauwe J H. 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.
- [28] Henry S, Baudoin E, López-Gutiérrez J C, et al. Quantification of denitrifying bacteria in soils by *nirK* gene targeted real-time PCR[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 59(3): 327–335.
- [29] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis S, et al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2004, 49(3): 401–417.
- [30] Scala D J, Kerkhof L J. Nitrous oxide reductase (*nosZ*) gene-specific PCR primers for detection of denitrifiers and three *nosZ* genes from marine sediments[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2010(1): 61–68.

- [31] Rysgaard S, Thastum P, Dalsgaard T, et al. Effects of salinity on NH<sub>4</sub><sup>+</sup> adsorption capacity, nitrification, and denitrification in Danish estuarine sediments[J]. *Estuaries*, 1999, 22(1): 21–30.
- [32] Liu P P, Bai J H, Ding Q Y, et al. Effects of water level and salinity on TN and TP contents in marsh soils of the Yellow River Delta, China[J]. *Clean-Soil Air Water*, 2012, 40(10): 1118–1124.
- [33] Amini S, Ghadiri H, Chen C R, et al. Salt-affected soils, reclamation, carbon dynamics, and biochar: a review[J]. *Soils Sediments*, 2016, 16: 939–953.
- [34] Kumar A, Singh S, Gaurav A K, et al. Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1216.
- [35] Dong X L, Li M Z, Lin Q M, et al. Soil Na<sup>+</sup> concentration controls salt-affected soil organic matter components in Hetao region China[J]. *Soils Sediments*, 2019, 19(3): 1120–1129.
- [36] Boer W, Folman L B, Summerbell R C, et al. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(4): 795–811.
- [37] 季国军, 纪洪亭, 程琨, 等. 江苏稻田轮作模式碳、氮足迹分析[J]. *南京农业大学学报*, 2023, 46(3): 510–521. DOI: 10.7685/jnau.202212015.
- Ji G J, Ji H T, Cheng K, et al. Analysis on carbon footprint and nitrogen footprint of paddy field rotation patterns in Jiangsu Province[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2023, 46(3): 510–521 (in Chinese with English abstract).
- [38] Hagemann M. Molecular biology of cyanobacterial salt acclimation[J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2011, 35(1): 87–123.
- [39] Chandra S, Joshi H C, Pathak H, et al. Effect of potassium salts and distillery effluent on carbon mineralization in soil[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 83(3): 255–257.
- [40] Zeng W Z, Xu C, Wu J W, et al. Effect of salinity on soil respiration and nitrogen dynamics[J]. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 2013, 20: 519–530.
- [41] Zhou G W, Zhang W, Ma L J, et al. Effects of saline water irrigation and N application rate on NH<sub>3</sub> volatilization and N use efficiency in a drip-irrigated cotton field[J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 2016, 227(4): 17.
- [42] Li Y W, Xu J Z, Liu S M, et al. Salinity-induced concomitant increases in soil ammonia volatilization and nitrous oxide emission[J]. *Geoderma*, 2019, 361: 114053.
- [43] Shoun H, Fushinobu S, Jiang L, et al. Fungal denitrification and nitric oxide (NO) reductase P450nor[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2012, 367(1593): 1186–1194.
- [44] Han J P, Shi J C, Zeng L Z, et al. Effects of nitrogen fertilization on the acidity and salinity of greenhouse soils[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, 22(4): 2976–2986.
- [45] Haj-Amor Z, Araya T, Kim D G, et al. Soil salinity and its associated effects on soil microorganisms, greenhouse gas emissions, crop yield, biodiversity and desertification: a review[J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 843: 156946.
- [46] Leininger S, Urich T, Schlöter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. *Nature*, 2006, 442(7104): 806–809.
- [47] Zhu H, Yang J S, Li Y L, et al. Effects of soil salinity on nitrification and ammonia-oxidizing microorganisms in coastal reclaimed farmland soil[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, 22(2): 2743–2754.
- [48] Tibor F, Márk R. Factors controlling dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and DOC/DON ratio in arable soils based on a dataset from Hungary[J]. *Geoderma*, 2011, 162: 312–318.
- [49] 李哲, 张仲胜, 李敏, 等. 黄河三角洲盐沼表层土壤有机碳含量、可溶性有机碳含量及其官能团结构特征[J]. *湿地科学*, 2019, 17(6): 645–650.
- Li Z, Zhang Z S, Li M, et al. Contents of organic carbon and dissolved organic carbon and characteristics of functional group structure in surface soils of salt marshes in Yellow River Delta[J]. *Wetland Science*, 2019, 17(6): 645–650 (in Chinese with English abstract).
- [50] Xin Y F, Zhang H L, Wu Y, et al. Salinization of coastal saline-alkali soil might enhance H<sub>2</sub>S release by affecting H<sub>2</sub>S-related bacterial communities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 184: 104787.

责任编辑: 刘怡辰