

冻融作用下土壤物理和微生物性状变化与氧化亚氮排放的关系*

王连峰^{1,2**} 蔡延江² 解宏图¹

(¹中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; ²大连交通大学环境与化学工程学院, 辽宁大连 116028)

摘要 在中、高纬度及高海拔地区,土壤冻融交替现象普遍存在.冻融作用影响土壤的物理和微生物性状,影响土壤的氮素转化过程和强度,导致土壤温室气体氧化亚氮排放增多,使冻融区土壤成为氧化亚氮的重要排放源.冻融作用改变了土壤水分特征和土壤团聚体的稳定性;冻融作用使土壤微生物量、微生物的组成和结构发生改变,导致微生物标识物氨基糖种类和数量改变.本文概述了上述变化与氧化亚氮排放的关系,简要提出了冻融作用下土壤氧化亚氮产生、排放的理论问题及其研究去向.

关键词 氧化亚氮 冻融作用 土壤性状

文章编号 1001-9332(2007)10-2361-06 **中图分类号** S154.2 **文献标识码** A

Relationships of soil physical and microbial properties with nitrous oxide emission under effects of freezing-thawing cycles WANG Lian-feng^{1,2}, CAI Yan-jiang², XIE Hong-tu¹ (¹Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ²College of Environment and Chemical Engineering, Dalian Jiaotong University, Dalian 116028, Liaoning, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2007, 18(10): 2361-2366

Abstract: Freezing-thawing cycles often occurs in the regions of mid-high latitude and high altitude. This process can affect soil physical and biological properties, e.g., soil water status, aggregate stability, and microbial biomass and community structure. Under its effects, the bio-indicators of soil microbes, i.e., the kinds and quantities of some specific amino sugars varied, and the course and intensity of soil nitrogen transformation changed, which resulted in an increase of nitrous oxide (N₂O) production and emission, and made the soil be a major source of N₂O emission. This paper summarized the research progress on the aspects mentioned above, with the further research directions on the theoretical problems of soil N₂O production and emission under effects of freezing-thawing suggested.

Key words: nitrous oxide; freezing-thawing cycle; soil property

1 引言

氧化亚氮(N₂O)是一种重要的温室气体.在百年尺度上,单分子N₂O的全球增温潜能(global warming potential)约是CO₂的300倍,是CH₄的23倍,N₂O可与平流层中的臭氧进行反应,降低臭氧浓度,增加紫外线到达地面的辐射量^[13].土壤是N₂O的主要排放源,全球近60%的N₂O来自土壤排放^[13].

*国家自然科学基金青年基金项目(40601045)、中国博士后科学基金项目(20060400978)和辽宁省博士科研启动基金资助项目(20051059).

**通讯作者. E-mail: wanglfdl@yahoo.com.cn

2006-10-07收稿,2007-07-29接受.

土壤中硝化作用、反硝化作用、硝态氮异化还原成铵作用以及化学反硝化作用都能产生N₂O^[9].

冻融作用作为一种自然现象普遍存在于中、高纬度及高海拔地区.冻融作用会破坏土壤团聚体结构^[25]、改变土壤微生物的种群和结构^[37]、释放有效养分、促进土壤微生物活动^[44]、使土壤N₂O排放增加,从而使冻融区土壤成为N₂O排放的一个重要源^[13,34,45].冻融期N₂O的排放量约占全年排放量的65%^[45].目前,关于土壤N₂O排放量的研究多集中在作物生长季节,而忽视了冻融休闲期土壤N₂O的排放,Freibauer^[7]在农业土壤N₂O排放量估算方法中指出,应考虑霜冻严重地区的土壤比温暖地区的

土壤释放出更多 N_2O 的情况. 就中国而言, 土壤冻深超过 0.5 m 的季节性冻土面积占国土面积的 46.3%^[54], 土壤冻融作用强烈. 随着全球变暖问题关注度的增大, 对于温室气体排放的研究越来越受到重视, 2007年6月4日中国政府公布了《中国应对气候变化国家方案》, 并于14日发布了《中国应对气候变化科技专项行动》, 提出要在控制温室气体排放和减缓气候变化的关键技术方面取得突破, N_2O 等温室气体排放问题备受关注. 目前, 国内对于冻融作用下土壤 N_2O 排放的研究鲜有报道. 因此, 本文主要介绍了冻融作用下土壤水分、团聚体等物理性状的变化, 土壤微生物种群、结构和数量等生物性状变化, 以及这些变化与土壤 N_2O 产生、排放的关系, 并初步提出了冻融作用下土壤 N_2O 排放的理论问题和研究方向, 旨在探讨冻融作用下土壤 N_2O 的产生和排放状况, 对于如何减少土壤 N_2O 的排放量、提高氮肥利用率以及走作物高产和环境友好的可持续农业之路有重要意义^[42].

2 冻融作用下土壤物理性状的变化与氧化亚氮排放的关系

冻融作用显著影响土壤水热传导^[12]、溶质运移^[30]和水分入渗特性^[55]. 冻融使土壤容重降低、孔隙度增大、饱和导水率提高^[6], 土壤水向冻层移动, 将养分运至冻层附近^[30], 融解后的土壤水分含量显著提高, 土壤水分增加的数量决定于冻结前土壤水分的剖面分布状况^[8]. 冻结期入渗能力随冻层厚度的增加而降低, 而在融化期水分入渗能力随融化层厚度的增加而增加^[55]. 冻融交替使土壤水处于不同的相态, 土体温度时空变化很大^[2]. 冻融作用使土壤局部环境发生改变, 冻结强度不同的土体内部, 水分状况差异较大, 在土体融化过程中, 水分入渗润湿土壤颗粒的速度不同, 造成土体中不同部位的土壤颗粒水分特性与含量差异, 微域土壤 N_2O 产生强度和进一步还原为 N_2 的能力亦不同^[48]. 由于反硝化作用是冻融交替下土壤 N_2O 产生的主要过程^[20, 37], 冻结的土壤颗粒表面被一层薄冰膜覆盖, 阻止氧气进入土粒内部, 使土粒处于缺氧环境, 利于土壤微生物进行反硝化作用产生 N_2O , 同时冰膜又部分地阻碍了 N_2O 的释放^[40], 在土体融化后 N_2O 得以充分排放, 出现 N_2O 排放峰^[22, 28]. Burton 和 Beauchamp^[51]认为, N_2O 在未冻底土中产生但却封存在冰冻表土下, 从而造成 N_2O 的累积, 积累的

N_2O 会在解冻时释放出来. 但这一假设值得怀疑, 因为任何以这种方式存在的 N_2O 极有可能被进一步还原为 N_2 , 除非温度很低从而抑制了反硝化细菌的作用, 否则将不会以 N_2O 的形式存在. 解冻过程中大量排放的 N_2O 来自于表层土壤产生的 N_2O 和土壤下表面扩散出来的 N_2O ^[34, 40]. 覆雪时间长短可对土壤中的 N 循环产生很大影响, 尽管土壤覆雪时间差异不大, 但 N_2O 的排放量会有较大差异^[4].

冻融循环影响土壤团聚体的稳定性. Lehrs 等^[18]指出由冰冻导致土壤团聚体稳定性的增加或减少, 视冻结情况而定. 在冰冻土壤样品时, 一部分土壤会变得更湿润而另外部分变得更干燥. 在土壤的湿润部分, 由于冰晶粒在土壤孔隙中的扩张会减弱土粒间的结合力, 此时冰冻会破坏土壤团聚体; 而干燥会引起土粒收缩, 增加土粒间结合力. 这两个截然相反的过程作用于土壤的不同部位时, 分别会对土壤团聚体稳定性的减弱或增加产生影响, 因此, 只有取这两个相反变化的平均值, 才能正确判定土壤团聚体的稳定性. Lehrs^[17]认为冻融作用增加表层土壤团聚体的稳定性. 而更多的研究表明, 冻融循环降低团聚体的稳定性, 导致团聚体的破碎^[25, 44]. 冰冻对大团聚体 (粒径 > 0.25 mm) 稳定性的破坏程度强于微团聚体^[44]. 土壤冻结时的水分较高, 会极大地破坏大团聚体的稳定性^[25, 44], 而大团聚体中富集、保护着较多新近形成的活性有机碳^[29], 随着团聚体的破碎, 释放出大量的活性有机碳可供微生物利用, 促进反硝化作用, 产生和排放较多的 N_2O . 冻融胁迫使土壤碳矿化作用和反硝化作用增加了 95%, N_2O 的排放量增加 220%, 且微团聚体的增量比大团聚体高 57%^[44], 更有甚者冻融作用使 N_2O 的排放量增加 1 000 多倍^[28]. 笔者以前的研究表明, 有机碳的生物可利用性显著地影响土壤中微生物产生 N_2O 过程, 即使在较低的水分下, 如果给微生物提供充足的活性有机碳, 反硝化作用产生 N_2O 的强度也很大^[49].

3 冻融作用下土壤微生物性状的变化与氧化亚氮排放的关系

冻结期土壤微生物特性对全年土壤碳、氮循环有重要意义. 冰冻可使一些细菌死亡, 死亡的细菌会释放出碳、氮营养物质^[16]. 释放出来的碳、氮营养物质可被冰冻过程中幸存的微生物固持、消耗利用, 增加土壤微生物的活性, 使得土壤碳和氮矿化能力增强、土壤融化时排放的 N_2O 增多^[26, 37].

冻结温度、冻结时间、冻融次数和冻结前的土壤水分均影响冻结期土壤微生物活性及种群结构。较温和的冻融对土壤微生物量碳和微生物量氮影响不大,但强烈的冻融循环会影响土壤溶液中氮和有机碳的供应数量、形态和时间^[11]。冰冻增加森林土壤碳、氮循环速率,冰冻强度对碳氮转化的影响程度不同,土壤经过强冻(-13℃)处理、再培养后会促进土壤呼吸、N₂O排放和碳氮矿化,经弱冻(-3℃)处理、再培养后对碳氮转化的影响不大^[23]。冰冻过程的持续时间会对融化过程中N₂O的损失产生影响,冰冻时间越长,融化时期N₂O的损失量就会越大,有研究认为冻结期活体微生物快速利用被冻死微生物释放出的营养物质而产生大量的N₂O^[26]。冻融循环次数越多,N₂O排放越多^[16,28],对土壤微生物量碳的影响也越大。冻结前土壤水分含量越高,土壤越处于厌氧环境,反硝化细菌越多,在土壤融化时释放的N₂O越多。Röver等^[34]测得土壤含水孔隙率(water filled pore space)为80%的农业土壤在冰冻之后具有最大的N₂O释放量。van Bochove等^[44]发现,对于容积含水量为39%和28%的粘土来说,前者的N₂O释放量比后者大得多。Teepo等^[41]监测了冻结前4个不同水分含量下农业土壤融化时N₂O排放量的差异,结果表明土壤微生物产生N₂O过程中的呼吸量与整个土壤的呼吸量相差很大,土壤中其它生物的呼吸依旧很强烈。季节冻融作用使休闲期土壤中微生物种群和生命活动过程都与生长季不同^[3]。冻融作用使微生物种群结构改变^[37],冬季休闲期土壤的优势种群为真菌^[36],生长季则为细菌^[19]。

由于微生物种群的复杂性、数量的易变性及测定结果的不稳定性,采用微生物本身作为土壤生态过程的指示物具有不确定性,选用具有一定稳定性的微生物来源物质(如氨基糖)反推微生物作用可能会更好地指示土壤微生物的变化及其生态环境效应。氨基糖的组成是评价真菌和细菌对土壤生物化学过程相对贡献的依据^[46],土壤中的氨基糖主要来源于微生物,且具有异源性^[27,53]。土壤中常见的4种氨基糖中,氨基葡萄糖主要来源于真菌^[27],氨基半乳糖主要由细菌合成^[38],氨基甘露糖的来源不很明确,但研究者发现某些细菌可产生氨基甘露糖^[14],胞壁酸的唯一来源是细菌^[14]。Zhang和Amelung^[53]在世界上首次建立了一种同时测定土壤中4种氨基糖的气相色谱法,这使得利用不同微生物残体来源的氨基糖反推土壤中的微生物种群及其活性

成为可能。故通过测定冻融作用前后土壤氨基糖组成及在团聚体中的分配,可以指示冻融对微生物种群和活性的影响,并结合土壤微生物培养计数法和PCR-DGGE分子生物学方法进一步求证微生物种群和数量的变化^[37]。

4 冻融作用下氧化亚氮的产生过程及研究方法

土壤中生物硝化作用和反硝化作用是N₂O产生的主要途径,非生物过程产生的N₂O量很少^[9,15],冻融作用下土壤N₂O产生过程也是如此^[20-22]。

硝化作用可以是自养的,也可以是异养的^[50],二者都是在好氧条件下进行。在农业土壤中自养硝化作用是产生N₂O的主要过程^[43]。自养硝化细菌从NH₄⁺的氧化过程中获得能量。NH₄⁺在硝化还原酶的催化下氧化成NO₃⁻,经过一系列反应形成中间产物N₂O^[52],0.1~10 Pa的乙炔抑制铵的氧化^[1],自养硝化作用受到抑制。异养硝化过程的研究不如自养硝化过程那样深入,其不受低浓度C₂H₂的抑制^[32]。异养硝化菌以有机碳为碳源和能源^[33]。一般认为,真菌比细菌更易进行异养硝化过程,尤其在低pH的酸性土壤中^[24],如冻融作用下的草地土壤^[22]。

土壤中反硝化过程主要由异养反硝化细菌完成。厌氧条件下,异养反硝化细菌以氮氧化物为最终电子受体,有机碳为电子供体,从而进行电子传递氧化磷酸化作用。参与反硝化的酶包括硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、一氧化氮还原酶和氧化亚氮还原酶。前3个酶与N₂O的产生有关,而氧化亚氮还原酶则与N₂O的消耗有关,该酶催化N₂O进一步还原为N₂。10 kPa C₂H₂足可抑制氧化亚氮还原酶的活性,使反硝化产生的N₂O不能被还原为N₂,导致N₂O成为反硝化的终产物而积累^[15]。土壤水分状况对反硝化酶活性影响很大^[47]。

N₂O产生途径的研究方法有硝化抑制剂(如双氰胺DCD)法、同位素示踪法和乙炔抑制法等,每种方法都有其优点和局限^[9]。目前冻融作用下土壤N₂O排放通量的研究较多,主要分布在北美地区和中、北欧地区(表1),而冻融作用对土壤N₂O产生途径的研究较少,在国内还未见报道。Priem é和Christensen^[28]运用乙炔抑制法定量研究了冻融循环下农田有机土壤中硝化和反硝化作用对N₂O产生的贡献,在德国耕作土壤以及瑞典耕作和草地土壤

表 1 部分冻融地区田间土壤氧化亚氮排放量

研究地区 Location	植 被 Vegetation	冻融测量时期 Freeze-thaw period	冻融测量期排放量 N ₂ O amount (kg N · hm ⁻²)	冻融期排放量占全年 排放量的百分数 Percent of freeze-thaw flux to annual flux (%)	参考文献 References
加拿大圭尔夫 Guelph, Canada	大麦、大豆田 Barley, soybean	1994年 3—4月 Mar - April 1994	1.50 ~ 4.30	65.0	[45]
美国新罕布什尔 New Hampshire, USA	山毛榉、枫树、桦树 Beech, maple, birch	1997年 12月—1998年 3月 Dec 1997-Mar 1998	0.67	8.68	[10]
		1998年 12月—1999年 3月 Dec 1998-Mar 1999	0.88	24.6	
		1999年 12月—2000年 3月 Dec 1999-Mar 2000	0.63	17.7	
芬兰南部 Jokioinen, Finland	大麦田 Barley	1999年 10月—2000年 4月 Oct 1999-April 2000	3.30	53.2	[31]
		2000年 10月—2001年 4月 Oct 2000-April 2001	8.00	53.7	
		2001年 10月—2002年 4月 Oct 2001-April 2002	18.9	78.6	
芬兰北部 Rovaniemi, Finland	大麦田 Barley	2000年 10月—2001年 4月 Oct 2000-April 2001	5.80	80.5	[31]
		2001年 10月—2002年 4月 Oct 2001-April 2002	14.5	77.1	

中,反硝化作用是 N₂O 产生的主要途径,同时也指出了乙炔抑制法的不足。Müller等^[21-22]分别用¹⁵N示踪技术和乙炔抑制技术研究了冻融作用下德国草地土壤 N₂O 的产生过程,两种方法都证明反硝化作用是 N₂O 产生的主要过程。Müller等^[22]就冻融作用不同阶段的 N₂O 产生过程进行了分析。土壤融化时,随土温升高氧化亚氮还原酶的活性增强^[21]。目前只有少量文献报道了采用¹⁵N示踪技术研究冬季冻土中 N₂O 的产生过程^[20,22],对冻融作用下 N₂O 产生过程的定量研究还相当缺乏。冻结土壤开始融化时,反硝化作用对 N₂O 的贡献达 83%^[20]。随着分析¹⁵N₂O 的同位素比例质谱(RMS)方法^[39]、气相色谱(GC-ICD)方法直接测定¹⁵N₂O^[35]以及¹⁵N和¹⁸O双标记法测定¹⁵N₂O^[51]的建立,为土壤 N₂O 产生途径的界定提供了准确、便捷的分析手段。明确 N₂O 产生的各条途径,有利于进一步调控 N₂O 的产生和排放量。

5 结 语

N₂O 是氮素转化的中间产物,在稳定的环境条件下,土壤氮素形态相对稳定,N₂O 排放逐渐减少;环境条件变化引起氮素形态变化,从而促进 N₂O 的产生和排放。因此,N₂O 的排放量不仅取决于环境条件,更取决于环境条件变化的强度和频度。现有的环境条件对 N₂O 排放的研究结果大多是在环境条件相对稳定的情况下所获得,而不是某一环境条件变

化后获得的结果。冻融作用说到底就是外界水、热条件的强烈变化改变了土壤结构,使土壤微生物的种群结构和数量以及生存环境发生改变,进而影响土壤硝化和反硝化微生物活性,表现为硝化作用和反硝化作用的绝对强度和相对强度以及土壤酶活性的改变,使得 N₂O 产生和排放增多。冻融作用一方面使土壤水相改变、土壤团聚体破碎,释放包裹的 N₂O 和营养成分;另一方面冻死一些微生物,微生物残体分解释放大量的活性营养物质被幸存的微生物利用进行硝化、反硝化作用产生 N₂O,这些变化对 N₂O 的排放产生影响。

由于冻融作用严重影响土壤的物理性状和微生物性状,进而影响土壤 N₂O 的产生和排放,今后应从以下几方面做进一步的探讨研究:1)应深入研究冻融前后土壤团聚体组成、土壤有机碳分布和活性、有效氮的变化,了解冻融作用下土壤团聚体及碳氮养分变化与 N₂O 排放的关系,冻融前后不同粒级的团聚体土壤 N₂O 的排放强度差异;2)运用现代分子生物学方法研究冻融作用下微生物种群和数量变化与 N₂O 产生过程的关系及影响因素,土壤硝化酶、反硝化酶活性、N₂O 还原酶活性与 N₂O 产生过程、排放量的关系。土壤冻结后,微生物利用底物的模式,冻结期微生物利用的底物是否与生长季相同,还是转而利用其他不同的底物;3)应用微生物残体标识物(氨基糖)评估细菌和真菌种群及活性变化与 N₂O 产生过程的关系、微生物生存状态及活性变化,

都将是今后研究的热点和难点。

参考文献

- [1] Berg P, Klemedtsson L, Rosswall T. 1982. Inhibitory effects of low partial pressures of acetylene on nitrification. *Soil Biology and Biochemistry*, **14**(3): 301-303
- [2] Bond-Lamberty B, Wang CK, Gower ST. 2005. Spatio-temporal measurement and modeling of stand-level boreal forest soil temperatures. *Agricultural and Forest Meteorology*, **131**(1): 27-40
- [3] Brooks PD, Schmidt SK, Williams MW. 1997. Winter production of CO₂ and N₂O from alpine tundra: Environmental controls and relationship to inter-system C and N fluxes. *Oecologia*, **110**(3): 403-413
- [4] Brooks PD, Williams MW, Schmidt SK. 1998. Inorganic nitrogen and microbial biomass dynamics before and during spring snowmelt. *Biogeochemistry*, **43**(1): 1-15
- [5] Burton DL, Beauchamp EG. 1994. Profile nitrous oxide and carbon dioxide concentrations in a soil subject to freezing. *Soil Science Society of America Journal*, **58**(1): 115-122
- [6] Deng X-M (邓西民), Wang J (王坚), Zhu W-S (朱文珊), et al. 1998. Effect of freezing-thawing event on physical properties of plowpan soil. *Chinese Science Bulletin (科学通报)*, **43**: 2538-2541 (in Chinese)
- [7] Freibauer A. 2003. Regionalised inventory of biogenic greenhouse gas emissions from European agriculture. *European Journal of Agronomy*, **19**(2): 135-160
- [8] Gong J-D (龚家栋), Qi X-S (祁旭升), Xie Z-K (谢忠奎), et al. 1997. Effect of seasonal freezing on soil moisture and its significance for agriculture. *Journal of Glaciology and Geocryology (冰川冻土)*, **19**(4): 328-333 (in Chinese)
- [9] Granli T, Bockman OC. 1994. Nitrous oxide from agriculture. *Nowegian Journal of Agricultural Science*, **12**(supp): 1-128
- [10] Groffman FM, Hardy JP, Driscoll CT, et al. 2006. Snow depth, soil freezing, and fluxes of carbon dioxide, nitrous oxide and methane in a northern hardwood forest. *Global Change Biology*, **12**(1): 1-13
- [11] Grogan P, Michelsen A, Ambus P, et al. 2004. Freeze-thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms. *Soil Biology and Biochemistry*, **36**(4): 641-654
- [12] Hansson K, Šimůnek J, Mizoguchi M, et al. 2004. Water flow and heat transport in frozen soil: Numerical solution and freeze-thaw applications. *Vadose Zone Journal*, **3**(2): 693-704
- [13] Intergovernmental Panel on Climate Change. 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Cambridge: Cambridge University Press: 7-76
- [14] Kenne LK, Lindburg B. 1983. Bacterial polysaccharides// Aspinall GO, ed. *The Polysaccharides*. New York: Academic Press: 287-365
- [15] Klemedtsson K, Svensson BH, Rosswall T. 1988. A method of selective inhibition to distinguish between nitrification and denitrification as sources of nitrous oxide in soil. *Biology and Fertility of Soils*, **6**(2): 112-119
- [16] Larsen KS, Jonasson S, Michelsen A. 2002. Repeated freeze-thaw cycles and their effects on biological processes in two arctic ecosystem types. *Applied Soil Ecology*, **21**(3): 187-195
- [17] Lehrsch GA. 1998. Freeze-thaw cycles increase near-surface aggregate stability. *Soil Science*, **163**(1): 63-70
- [18] Lehrsch GA, Sojka RE, Carter DL, et al. 1991. Freezing effect on aggregate stability affected by texture, mineralogy and organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, **55**(5): 1401-1406
- [19] Lipson DA, Schadt CW, Schmidt SK. 2002. Changes in soil microbial community structure and function in an alpine dry meadow following spring snow melt. *Microbial Ecology*, **43**(3): 307-314
- [20] Ludwig B, Wolf I, Teepe R. 2004. Contribution of nitrification and denitrification to the emission of N₂O in a freeze-thaw event in an agricultural soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **167**(6): 678-684
- [21] Mñler C, Kammann C, Ottow JCG, et al. 2003. Nitrous oxide emission from frozen grassland soil and during thawing periods. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **166**(1): 46-53
- [22] Mñler C, Martin M, Stevens RJ, et al. 2002. Processes leading to N₂O emissions in grassland soil during freezing and thawing. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**(9): 1325-1331
- [23] Neilsen CB, Groffman FM, Hamburg SP, et al. 2001. Freezing effects on carbon and nitrogen cycling in northern hardwood forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, **65**(6): 1723-1730
- [24] Odu CTI, Adeoye KB. 1970. Heterotrophic nitrification in soils: A preliminary investigation. *Soil Biology and Biochemistry*, **2**(1): 41-45
- [25] Oztas T, Fayetorbay F. 2003. Effect of freezing and thawing processes on soil aggregate stability. *Catena*, **52**(1): 1-8
- [26] Papen H, Butterbach-Bahl K. 1999. A 3-year continuous record of N-trace gas fluxes from untreated and limed soil of a N-saturated spruce and beech forest ecosystem in Germany. I. N₂O emissions. *Journal of Geophysical Research*, **104**(D15): 18487-18503
- [27] Parsons JW. 1981. Chemistry and distribution of amino sugars in soils and soil organisms// Paul EA, Ladd JN, eds. *Soil Biochemistry*, Vol. 5. New York: Marcel Dekker: 197-227
- [28] Priem ÉA, Christensen S. 2001. Natural perturbations, drying-wetting and freezing-thawing cycles, and the emission of nitrous oxide, carbon dioxide and methane from farmed organic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**(15): 2083-2091
- [29] Puget P, Chenu C, Balesdent J. 1995. Total and young organic matter distributions in aggregates of silty cultivated soils. *European Journal of Soil Science*, **46**(3):

- 449-459
- [30] Radke JK, Berry EC. 1998. Soil water and solute movement and bulk density changes in repacked soil columns as a result of freezing and thawing under field conditions *Soil Science*, **163**(8): 611-624
- [31] Regina K, Syväsalo E, Hannukkala A, *et al* 2004. Fluxes of N₂O from fumed peat soils in Finland *European Journal of Soil Science*, **55**(4): 591-599
- [32] Richardson DJ, Wehrhritz JM, Keech A, *et al* 1998. The diversity of redox proteins involved in bacterial heterotrophic nitrification and aerobic denitrification *Biochemical Society Transactions*, **26**(3): 401-408
- [33] Robertson LA, Kuenen JG. 1990. Combined heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in *Thiophanes pantotropha* and other bacteria *Antonie van Leeuwenhoek*, **57**(2): 139-152
- [34] Röver M, Heinemeyer O, Kaiser EA. 1998. Microbial induced nitrous oxide emissions from an arable soil during winter *Soil Biology and Biochemistry*, **30**(14): 1859-1865
- [35] Sameshima-Saito R, Chiba K, Minamisawa K. 2004. New method of denitrification analysis of *Bandrhizobium* field isolates by gas chromatographic determination of ¹⁵N-labelled N₂. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**(5): 2886-2891
- [36] Schadt CW, Martin AP, Lipson DA, *et al* 2003. Seasonal dynamics of previously unknown fungal lineages in tundra soils *Science*, **301**(5638): 1359-1361
- [37] Shama S, Szele Z, Schilling R, *et al* 2006. Influence of freeze-thaw stress on the structure and function of microbial communities and denitrifying populations in soil *Applied and Environmental Microbiology*, **72**(3): 2148-2154
- [38] Sowden FJ, Ivarson KC. 1974. Effects of temperature on changes in the nitrogenous constituents of mixed forest litters during decomposition after inoculation with various microbial cultures *Canadian Journal of Soil Science*, **54**(3): 387-394
- [39] Stevens RJ, Laughlin RJ, Atkins GJ, *et al* 1993. Automated determination of nitrogen-15 labeled dinitrogen and nitrous oxide by mass spectrometry *Soil Science Society of America Journal*, **57**(4): 981-988
- [40] Teepe R, Brumme R, Beese F. 2001. Nitrous oxide emissions from soil during freezing and thawing periods *Soil Biology and Biochemistry*, **33**(9): 1269-1275
- [41] Teepe R, Vor A, Beese F, *et al* 2004. Emissions of N₂O from soils during cycles of freezing and thawing and the effects of soil water, texture and duration of freezing *European Journal of Soil Science*, **55**(2): 357-365
- [42] Tilman D, Cassman KG, Matson PA, *et al* 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices *Nature*, **418**(6898): 671-677
- [43] Tortoso AC, Hutchinson GL. 1990. Contribution of autotrophic and heterotrophic nitrifiers to soil NO and N₂O emissions *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(2): 1799-1805
- [44] van Bochove E, Prévost D, Pelletier F. 2000. Effects of freeze-thaw and soil structure on nitrous oxide produced in a clay soil *Soil Science Society of America Journal*, **64**(5): 1638-1643
- [45] Wagner-Riddle C, Thurtell GW, Kidd GK, *et al* 1997. Estimates of nitrous oxide emissions from agricultural fields over 28 months *Canadian Journal of Soil Science*, **77**(2): 135-144
- [46] Wang J (王晶), Zhang X-D (张旭东), Xie H-T (解宏图), *et al* 2003. New quantificational indexes in modern study of soil organic matter *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, **14**(10): 1809-1812 (in Chinese)
- [47] Wang LF, Cai ZC. 2005. Dynamics of denitrifying enzyme activity in red soils as affected by water treatment // Zhu ZL, Minami K, Xing GX, eds. 3rd International Nitrogen Conference Contributed Papers. New York: Science Press USA Inc: 174-177
- [48] Wang LF, Cai ZC, Yan H. 2004. Nitrous oxide emission and reduction in a laboratory-incubated paddy soil response to pretreatment of water regime *Journal of Environmental Sciences*, **16**(3): 353-357
- [49] Wang LF, Cai ZC, Yang LF, *et al* 2005. Effect of disturbance and glucose addition on nitrous oxide and carbon dioxide emissions from a paddy soil *Soil and Tillage Research*, **82**(2): 185-194
- [50] Wood PM. 1990. Autotrophic and heterotrophic mechanisms for ammonia oxidation *Soil Use and Management*, **6**(1): 78-79
- [51] Wage N, van Groenigen JW, Oenema O, *et al* 2005. A novel dual-isotope labelling method for distinguishing between soil sources of N₂O. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **19**(22): 3298-3306
- [52] Wage N, Velthof GL, van Beusichem ML, *et al* 2001. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide *Soil Biology and Biochemistry*, **33**(12/13): 1723-1732
- [53] Zhang X, Amelung W. 1996. Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, mannosamine, and galactosamine in soils *Soil Biology and Biochemistry*, **28**(9): 1201-1206
- [54] Zhao Q-G (赵其国), Wang H-Q (王浩清), Gu G-A (顾国安). 1993. Gelsoils of China *Acta Pedologica Sinica (土壤学报)*, **30**(4): 341-354 (in Chinese)
- [55] Zheng XQ, van Liew MW, Flerchinger GN. 2001. Experimental study of infiltration into a bean stubble field during seasonal freeze-thaw period *Soil Science*, **166**(1): 3-10

作者简介 王连峰,男,1974年生,博士,副教授.主要从事土壤碳、氮循环与全球环境变化关系研究,发表论文 10 余篇. E-mail: wanglfdl@yahoo.com.cn

责任编辑 杨弘