

有效碳源和氮源对黄土性土壤 N₂O 逸出量的影响*

梁东丽¹, 同延安¹, Ove Emteryd², 方日尧¹, 马林英¹

(1 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨陵 712100; 2 瑞典农业大学 森林生态系, 瑞典 宇默奥 90183)

[摘要] 用乙炔抑制原状土柱法, 就不同碳、氮质量分数对黄土性土壤水稻土和旱地农田土壤反硝化作用的影响进行了研究。结果表明, 在适宜的氮质量分数和水分条件下, 两种土壤的反硝化强度随碳质量分数的增大而增加, 在有效碳源最高加入量 200 mg/kg 时达到最大; 而在一定的碳质量分数和水分条件下, 供试土壤的反硝化强度并不随土壤 NO₃-N 质量分数的增加而增加, 在水稻土和农田土壤上最大反硝化作用的氮源加入量分别为 300 和 150 mg/kg; 当氮源为亚硝态氮时, 两种土壤反硝化强度均随加入土壤亚硝态氮质量分数的增加而增加。

[关键词] 黄土性土壤; 反硝化作用; N₂O 逸出

[中图分类号] S154.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)01-0043-06

N₂O 的产生不仅降低了肥料利用率^[1], 而且更为重要的是与全球变暖和溴氧层的破坏相关联^[2]。据统计, N₂O 在大气中的滞留时间约为 150 年, 即使不再进一步增加土壤中 N₂O 的排放量, 到 2040 年, 大气中 N₂O 的体积分数也将达到 340 μL/L。另外, N₂O 的红外吸收能力大约是 CO₂ 的 200 倍, CH₄ 的 4 倍^[3], 因此其增温潜势较高。从长远观点看, N₂O 产生的负效应要远远高于 CH₄, 大气中 N₂O 的年逸出量为 100~170 亿 kg N₂O-N^[4], 并以每年 0.2%~0.3% 的速度递增^[5], 农田土壤中施用氮肥引起 N₂O 的排放是大气中 N₂O 的主要来源, 农业的贡献占人类活动总贡献量的 81%^[6]。

土壤 N₂O 是受许多因子影响的土壤硝化作用和反硝化作用的产物^[7], 控制这些过程的主要物理化学因子有土壤硝态氮、有效碳、pH、温度以及土壤的厌氧程度等。土壤反硝化作用是土壤微生物利用 NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 代替 O₂ 作为电子供体进行呼吸代谢

的过程, 对给定的农业土壤, NO₃⁻ 通常是充足的^[8], pH 值通常取决于土壤母质和生产管理措施, 所以土壤的厌氧程度和有效碳水平决定了土壤的反硝化势^[9]。当土壤水分条件和有效碳供应充足时, 反硝化作用速率则取决于土壤 NO₃⁻ 的供给^[10]。本试验主要讨论了不同有效碳、氮质量分数对两种黄土性土壤反硝化产生 N₂O 气态损失的影响, 旨在为黄土性土壤反硝化气态损失的研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试土壤的农化性状

供试土壤分别为杨陵五星乡西卫殿村的旱地农田土和武功县大庄乡乞佬村的水稻土两种土壤, 以下分别简称为旱地农田土和水稻土。土壤经自然风干, 挑去残根、石块并过 2 mm 筛, 储存于塑料袋中备用。土壤的农化性状如表 1。

表 1 供试土壤的农化性状

Table 1 Characteristics of test soils

土样 Soil	pH	有机质/ (g · kg ⁻¹) Organic matter	速效 N/ (μg · g ⁻¹) Avail N	速效 P/ (μg · g ⁻¹) Avail P	速效 K/ (μg · g ⁻¹) Avail K	全 N/ (g · kg ⁻¹) Total N	全 P/ (g · kg ⁻¹) Total P	全 K/ (g · kg ⁻¹) Total K
农田土 Grain field	7.93	11.01	58.6	107.5	163.6	1.062	3.32	26.53
水稻土 Paddy soil	7.91	5.69	41.6	13.2	72.5	0.331	1.14	22.82

土壤有机质采用重铬酸钾水合热法; pH 值用 pH 计测定 (1 mol/L H₂O 浸提); 速效氮用 1 mol/L KC₁ 浸提、流动注射分析仪测定; 速效磷为 Olsen P;

速效钾用 1 mol/L 醋酸铵浸提, 火焰光度计测定; 全氮用凯氏法测定; 全磷用钒钼蓝比色法测定; 用 NaOH 熔融-火焰光度计法测全钾^[11]。

* [收稿日期] 2002-01-28

[基金项目] 中国瑞典国际合作项目; 西北农林科技大学重点科研专项资助项目

[作者简介] 梁东丽(1963-), 女, 陕西铜川人, 副研究员, 在读博士, 主要从事旱地土壤氮素营养与氮素损失的研究。

1.2 试验设计

试验分3个小试验进行,每个试验共设5个处理,重复6次。旱地农田土壤和水稻土的田间持水量分别按28%和26%计,培养期间土壤水分均调节至田间持水量的80%(最适宜于反硝化作用进行的水分条件)^[12]。有效碳源为葡萄糖,有效氮源分为 $\text{NaNO}_3(\text{NO}_3^- - \text{N})$ 和 $\text{NaNO}_2(\text{NO}_2^- - \text{N})$ 。所有培养在实验室条件下进行,培养温度为18~20℃。

试验1(C处理) 在水分、氮素充足的条件下,确定不同碳质量分数对反硝化作用的影响,共设5个有效碳处理水平,分别加入碳源量为0, 25, 50, 100和200 mg/kg,依次计为C₀, C₂₅, C₅₀, C₁₀₀和C₂₀₀,全部处理的有效氮水平(N 300 mg/kg)。

试验2($\text{NO}_3^- - \text{N}$ 处理) 在一定的碳质量分数下确定不同质量分数 NO_3^- 对反硝化作用的影响,设5个水平,分别加入 NaNO_3 态氮量为0, 50, 150, 300和450 mg/kg,依次计为N₀, N₅₀, N₁₅₀, N₃₀₀和N₄₅₀,所有处理的有效碳水平(C 100 mg/kg)。

试验3($\text{NO}_2^- - \text{N}$ 处理) 在一定的碳质量分数下确定不同质量分数 NO_2^- 对反硝化作用的影响,除了施用的有效氮源为亚硝态氮外($\text{NaNO}_2 - \text{N}$),其余处理与试验2完全相同。

1.3 试验方法

试验方法为乙炔抑制土柱培养法,培养罐体积为384 cm³,土柱内径为7 cm,高度为10 cm,按容重1.30 g/cm³计算,每罐装土500 g,重复3次。具体操作步骤如下:先将土样按份称好装于塑料袋中,按对应处理用小型喷雾器加入有效碳、有效氮营养液,并调节水分使土壤水分含量控制在田间持水量的80%,将处理好的土壤均匀装入培养罐不锈钢内筒,

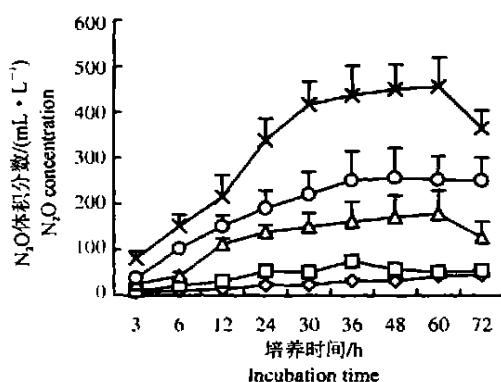


图1 旱地农田土反硝化量随碳质量分数的变化

Fig. 1 Denitrification changes with C content in the dryland of grain field

- - - . C₀; - - - . C₂₅; - - - . C₅₀; - - - . C₁₀₀; - * - . C₂₀₀

由图1,2可以看出,旱地农田土、水稻土 N_2O

一边装一边压实,注意土柱表面与筒的上下边缘齐平,将内筒置于PVC外筒中,然后旋紧带有橡皮塞的罐盖。每个罐中按其体积加入30 mL C_2H_2 气体,在室温下培养。分别在加入乙炔3, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 h(试验2,3仅培养为48 h)后,用2 mL气密性注射器抽取气体样品,在气相色谱仪上分析,每个试验全过程共取样8或10次。试验完毕,将每个土柱所有土样在105℃烘干48 h,并分别记录烘干前后土壤的重量,计算水分或者 N_2O 通量。

分析仪器为美国Varian产GC3800气相色谱仪,检测器为含 ^{63}Ni 的电子捕获器(ECD),柱子为porapakR 80/100,并为 N_2O 测定专门配置一个气阀(以阻断2 min前和2.8 min后的气体进入检测器)。载气为高纯氮气,标准气为北京产9.6 mL/L N_2O ,用瑞典产体积分数为328.2 $\mu\text{L}/\text{L}$ 的标准气体进行校正,样品稀释用99.999%的高纯氮气。气相色谱测定 N_2O 的变异系数为5%。

2 结果与讨论

值得指出的是,因为试验中使用的氮源为 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ (或 $\text{NO}_2^- - \text{N}$),再加上乙炔抑制了 N_2O 还原和土壤硝化作用的发生^[13],故可认为,试验过程中测得的 N_2O 量均来源于土壤反硝化作用, N_2O 的体积分数或通量(单位时间的逸出量)代表了土壤反硝化作用的强度。

2.1 不同碳质量分数对 N_2O 损失量的影响

反硝化微生物利用含碳有机物作为能量的电子供体和细胞合成物质,因此土壤反硝化量在很大程度上取决于诸如土壤有机质、植物残渣、根系残留、根系分泌物、绿肥以及有机肥中碳的有效性。

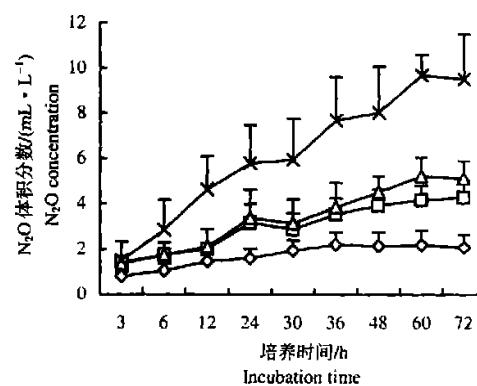


图2 水稻土反硝化量随碳质量分数的变化

Fig. 2 Denitrification changes with C content in the paddy soil

- - - . C₀; - - - . C₂₅; - - - . C₅₀; - - - . C₁₀₀; - * - . C₂₀₀

逸出量都有随有效碳质量分数增大而增加的趋势,

即在相同的水分和硝态氮含量条件下, 土壤反硝化作用随有效碳质量分数的增加而增加; 供试的两种土壤均以 C_0 处理的反硝化量最低, 在 72 h 培养时间内变化幅度很小; 以最高有效碳质量分数 C_{200} 处理反应最为显著。特别是水稻土, 与 C_{100} 处理相比 C_{200} 处理随培养时间延长 N_2O 产生量显著增加, 最高时 N_2O 质量分数可达 C_{100} 处理的 22.5 倍(因此图 2 中没有给出 C_{200} 处理)。

从培养时间上看, 旱地农田土壤前 36 h 变化幅度较大, 此后基本稳定, C_{200} 处理在 72 h 时反而出现 N_2O 体积分数下降的现象, 这可能是由于 C_2H_2 不足, 导致对 N_2O 还原为 N_2 的抑制不够所致^[14]; 而水稻土在培养期间, 除 C_{200} 处理中的 N_2O 体积分数一直随培养时间上升至 60 h 外, 其余处理均在 48 h 接近最大值。这也是试验 2, 3 中培养时间定为 48 h 的原因。

对培养过程中的 N_2O 通量进行计算, 结果进一步证实了上述的结论。即两种土壤的 N_2O 通量均随加入有效碳质量分数的增加而增大, 以 C_{200} 处理为最高, 亦即有效碳是影响黄土性土壤反硝化, 导致 N_2O 气态损失的一个决定因素; 培养超过 48 h 后,

N_2O 通量随培养时间的延长而下降。两种土壤对相同有效碳质量分数反应的差异源于土壤本身的性质差异(见表 1)。也有研究者^[15]发现, 限制土壤反硝化的一个重要因子是土壤可溶性有机碳的有效性, 土壤微生物群体大小在很大程度上依赖于土壤有效碳含量, 在土壤中反硝化微生物与其他异养微生物争夺土壤中的有效碳, 因此土壤反硝化量的大小与碳含量相关^[16, 17]; Burton 和 Beauchamp^[18]研究发现, 反硝化持续活动所要求的有效碳质量分数为 60~80 mg/kg, 相反, van Kessel^[19]的研究认为, 碳质量分数低于 60 mg/kg 时仍可满足反硝化微生物对碳源的需求, 这与土壤长期形成适合于其生态环境的微生物种群有关。本试验也证实土壤有效碳质量分数是限制土壤反硝化作用的主要因子, 水稻土和农田土壤的反硝化强度均随有效碳质量分数的增大而增加。

2.2 不同 NO_3^- 浓度对 N_2O 量的影响

反硝化作用是酶调节过程, 底物质量分数是生成量的函数^[20]。图 3 和 4 是不同 NO_3^- - N 质量分数下反硝化作用的发生情况。

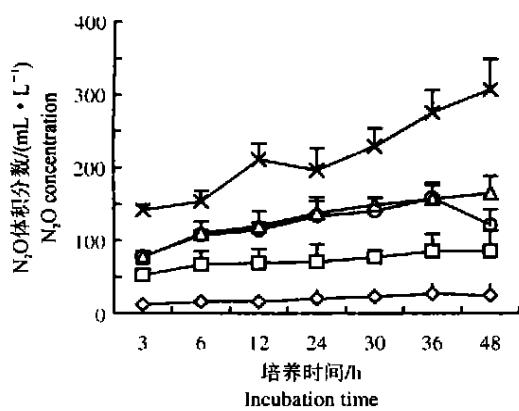


图 3 旱地农田土反硝化量随 NO_3^- 质量分数的变化

Fig. 3 Denitrification changes with NO_3^- concentration in the dryland of grain field

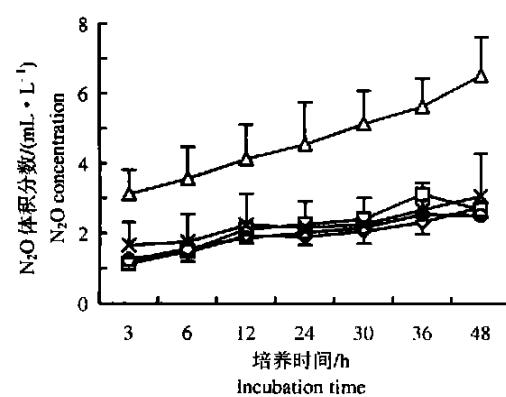


图 4 水稻土反硝化量随 NO_3^- 质量分数的变化

Fig. 4 Denitrification changes with NO_3^- concentration in the paddy soil

- - - . N0; - - - . N50; - - - . N150; - - - . N300; - * - . N450

土壤氮的反硝化量与施肥量无关, 这也与高质量分数 NO_3^- - N 反而抑制反硝化作用发生的研究结果相一致^[21]。两种土壤对不同 NO_3^- - N 质量分数反应的差异是笔者未曾想到的, 本试验本身也不能给出解释, 还需要进一步的试验验证。

已有试验表明, 在实验室条件下, 当土壤的 NO_3^- 含量低于 100 mg/kg 时, 反硝化速率取决于 NO_3^- 的质量分数(一级反应)^[22]; 也有研究^[23]报道, 当土壤 NO_3^- 质量分数在 40~600 mg/kg 时, 反

硝化速率不受 NO_3^- 质量分数的影响;而Burton等^[18]认为,土壤 NO_3^- 质量分数和反硝化速率间不相关^[18]。以上报道说明,土壤硝态氮含量通常高于反硝化作用对有效氮临界水平的要求,当 NO_3^- 质量分数较高时, NO_3^- 还原为 NO_2^- 而与生成的 N_2O 争夺电子,使得细胞质膜内 NO_2^- 大量积累,对土壤的反硝化微生物产生毒害作用,因而影响了反硝化作

用的发生^[24]。

2.3 不同 NO_2^- -N质量分数对 N_2O 产生的影响

土壤反硝化微生物也可利用 NO_2^- -N作为电子供体,从而产生反硝化作用生成 N_2O 或者 N_2 。图5和6是两种供试土壤对不同体积分数 NO_2^- -N的反硝化反应。

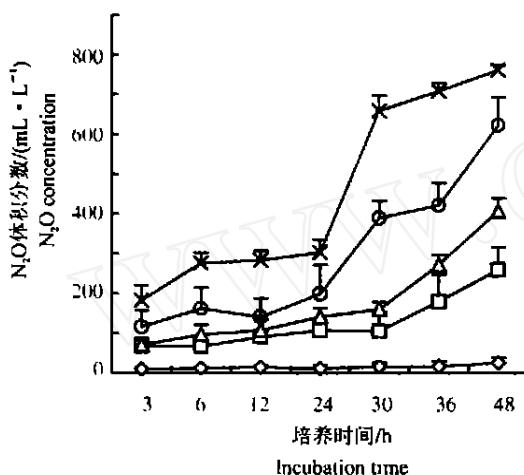


图5 干旱农田土反硝化量随 NO_2^- 质量分数的变化

Fig. 5 Denitrification changes with NO_2^- concentration in the dryland of grain field

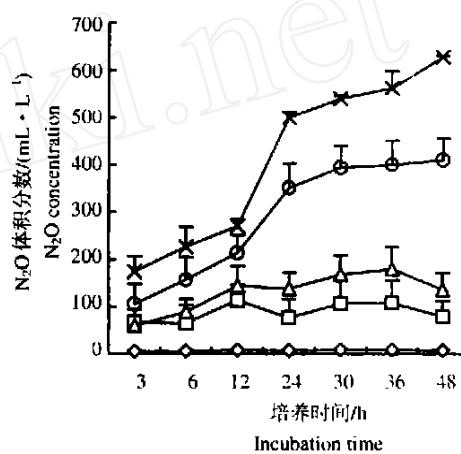


图6 水稻土反硝化量随 NO_2^- 质量分数的变化

Fig. 6 Denitrification changes with NO_2^- concentration in the paddy soil

化作用产生的 N_2O 多来源于 NO_2^- 而不是 NO_3^- 。

计算不同培养阶段的 N_2O 通量,结果列于图7、8。图7、8的结果说明,两种土壤 N_2O 通量均随 NO_2^- 质量分数的增加而上升,以 N_{300} 的反硝化通量最高。对所有处理,培养6 h的 N_2O 逸出量最高,培养30 h时累积量基本达到最大,而后累积量基本稳定在一定水平。

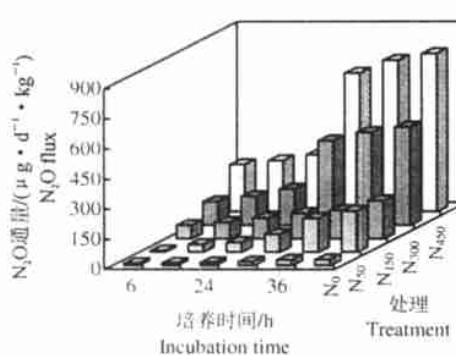


图7 干旱农田土不同 NO_2^- 体积分数时 N_2O 的累积量

Fig. 7 N_2O accumulation with NO_2^- concentration in dryland of grain field

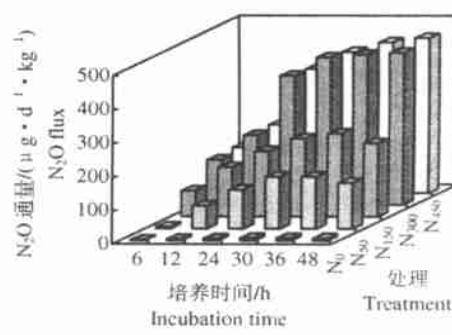


图8 水稻土不同 NO_2^- 体积分数时 N_2O 的累积量

Fig. 8 N_2O accumulation with NO_2^- concentration in paddy soil

3 结 论

对水稻土和旱地农田土壤而言,有效碳是影响反硝化作用或者说是N₂O产生的重要因子,土壤N₂O通量或者说土壤的反硝化作用强度随土壤中有效碳质量分数的增加而增大。土壤硝态氮对土壤N₂O的影响在两种土壤上表现不一致,对旱地农田土壤反硝化强度影响最大的NO₃₋-N加入量为300 mg/kg,而水稻土则在有效氮源加入量150 mg/kg

时反硝化量达到最大值;在达到反硝化强度的最高值后,土壤N₂O逸出量因受到高质量分数NO₃₋-N的抑制而出现下降趋势。亚硝态氮对土壤N₂O的影响与硝态氮完全不同,表现为土壤中产生的N₂O通量随加入亚硝态氮质量分数的升高而增大。两种供试土壤相比,水稻土壤的反硝化量小于旱地农田土壤,这与旱地农田土壤较肥沃、不同土壤条件下特定的微生物种群和土壤微生物长期形成的适应性有关。

[参考文献]

- [1] William R R, Gordon V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production [J]. Agronomy Journal, 1999, 91: 357- 363.
- [2] Kamp T, Steindl H, Hantschel R. Nitrous oxide emission from a fallow and wheat field as affected by increased soil temperatures[J]. Biol Fertil Soils, 1998, 27: 307- 314.
- [3] 陈冠寻, 黄国宏, 黄斌等. 稻田CH₄和N₂O排放及养萍和施肥的影响[J]. 应用生态学报, 1995, 6(4): 378- 382.
- [4] Houghton J T, Meara Fillo L G, Callander B A, et al. Climate Change 1995—the science of climate change[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1996 1- 25.
- [5] Badr O, Probert S D. Nitrous oxide in the earth's atmosphere[J]. Appl Energy, 1992, 41: 177- 200.
- [6] Iseman K. Agriculture's share in the emission of trace gases affecting the climate and some cause-orientated proposals for reducing this share[J]. Environ Pollut, 1994, 83: 95- 111.
- [7] Axelsson S R J, Lundin B. Experimental results on soil moisture correlation with thermal infrared data[J]. Soil Sci, 1985, 1: 11- 22.
- [8] Tiedje J M, Simkins S, Groffman P M. Perspective on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene base methods[J]. Plant and Soil, 1989, 115: 261- 284.
- [9] Beauchamp E G, Trevors J T, Paul J W. Carbon sources for bacterial denitrification[J]. Adv Soil Sci, 1989, 10: 113- 142.
- [10] Aulakh M S, Doran J W, Moiser A R. In-field evaluation of four methods for measuring denitrification[J]. Soil Sci Soc Am J, 1991, 55: 1332- 1338.
- [11] 李酉升, 蒋柏沈, 袁可能. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983. 67- 73; 79- 92; 95- 101; 109- 116; 166- 168.
- [12] Aulakh M S, Doran J W, Moiser A R. Soil denitrification—significance, measurement, and effects of management[J]. Advances in Soil Science, 1992, 18: 2- 57.
- [13] Malone J P, Stevens R J. Combining the ¹⁵N and acetylene inhibition techniques to examine the effect of acetylene on denitrification[J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30(1): 31- 37.
- [14] Tiedje J M, Sexstone A J, Myrold D D, et al. Denitrification: ecology niches competition and survival[J]. J Microbiol Serol, 1982, 48: 569- 583.
- [15] Katz R, Hagin J, Kurtz L T. Participation of soluble and oxidizable soil organic compounds in denitrification[J]. Biol Fertil Soils, 1985, 1: 209- 213.
- [16] Myrold D D, Tiedje J M. Establishment of denitrification capacity in soil: effect of carbon, nitrate and moisture[J]. Soil Biol Biochem, 1985, 17: 819- 822.
- [17] Drury C F, McKenna D J, Findlay W I. Relationship between denitrification, biomass and indigenous soil properties[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1991, 23: 751- 755.
- [18] Burton D L, Beauchamp E G. Denitrification rate relationships with soil parameters in the field. Commun [J]. Soil Sci Plant Anal, 1985, 16(5): 539- 549.
- [19] van Kessel C, Pennick D J, Farrell R E. Seasonal variation in denitrification and nitrous oxide evolution at the landscape scale[J]. Soil Sci Soc Am J, 1993, 57: 988- 995.
- [20] Paul E A, Clark F E. Reduction and transport of nitrate[A]. Paul E A eds. Soil Microbiology and Biochemistry[C]. New York: Academic Press, 1989. 147- 159.
- [21] 梁东丽, 同延安, Ove Emteryd, 等. 菜地不同施氮量下N₂O逸出量的研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(2): 73- 77.
- [22] Yoshimura T, Hynes R, Knowles R. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil[J]. Soil Biology Biochem, 1977, 9: 177- 183.
- [23] Knowles R. Denitrification[J]. Microbiol Rev, 1982, 46: 43- 70.
- [24] Nommik H. Investigations on denitrification in soil[J]. Acta Agric Scand, 1956, 6: 195- 228.

Effects of available carbon and nitrogen concentration on the N₂O flux of the Loessal soil

L IANG Dong-li¹, TONG Yan-an¹, Ove Emteryd², FANG Ri-yao¹, MA LIN-ying¹

(1 College of Resources and Environment, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå, 90183, Sweden)

Abstract By using C₂H₂ inhibition soil cores, these experiments studied the effects of available carbon and nitrogen concentration on the denitrification loss of normal grain field and paddy soil field of loessal soil. The results showed that: the denitrification loss increased with the available carbon concentration increased for both soils under the suitable nitrate nitrogen concentration and moisture content. Whereas the denitrification loss decreased with the NO₃⁻-N content reaching a certain level under the suitable available carbon and water content, the highest denitrification loss took place when available nitrogen content was N₃₀₀ and N₁₅₀ for the paddy soil and the dryland of grain field, respectively. However, when we used nitrate nitrogen as the nitrogen sources, the denitrification loss raised with the NO₃⁻ concentration increased.

Key words: loess soil; denitrification; N₂O flux

(上接第38页)

PCR-detection of high molecular weight glutenin subunit Dx5 gene in wheat

ZHANG Xiao-ke¹, WEI Yimin², WANG Xin-zhong¹, LI Xiao-jun¹,
WEILING-jif³, LIU Bin¹, GAO Yun-cum¹, LIYI⁴

(1 College of Agronomy; 2 College of Food Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 College of Agronomy, Shihexi University, Shihexi City, Xinjiang 843300, China;

4 College of Life Science, Beijin University, Beijing 100871, China)

Abstract A pair of Dx5 gene primers were designed on the basis of difference between the Dx5 gene and the Dx2 gene. The 22 materials whose HMW-GS Glu-Dx1 locus was known were detected with PCR-based approach in this paper. The results showed that the degree of accuracy was 100% using the primers designed for Dx5 gene. It is useful for the primers designed for the primers of Dx5 gene to detect Dx5 gene in wheat lines. The Dx5 genes of 40 Chinese strains were detected with PCR based on the primers above. The results showed the Dx5 gene was found in 8 strains included 9860-5, Shaan 253, Zhengzhou 891, 97-2143, Mianyang 96171-10, Mianyang 19, Zheng 1813-1, Mianyang 11. The probability of the Dx5 gene that is 20.0% in Chinese wheat lines is far lower than in North America wheat lines. This easy, quick PCR-based approach is proposed as a very efficient and safe alternative to standard procedures for selecting breadwheat genotypes with good breadmaking properties.

Key words: wheat; polymerase chain reaction (PCR); Dx5 gene