

土壤硝化—反硝化作用研究进展^{*}

李振高 俞 慎

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要

硝化—反硝化作用是氮素循环的重要环节,涉及到气态氮的损失和污染生态环境的问题,是当今氮素研究的热点之一。本文综述了近年来土壤硝化—反硝化作用的损失量、机理、研究方法与控制对策等方面的研究进展和展望。

关键词 硝化—反硝化作用;氮素循环;损失机理;调控措施

众所周知,硝化—反硝化作用是自然界氮素循环的重要环节,在其生物化学过程中产生的 NO_2^- 、 NO_3^- 和 N_2O 等氮氧化物,既导致肥料氮的损失,又污染水—土体系和大气层。然而,硝化—反硝化作用的末端产物为 N_2 ,又是治理含氮废水,防止氮富营养化的有效生物学途径之一。因此,硝化—反硝化作用的研究具有十分重要的理论和实际意义。尽管早在1886年盖伊昂等(Gayen & Oupetit)首先认定反硝化作用是生物学过程以来,迄今已有110年历史,但仍然是当今国内外在氮素研究领域的热点之一。现仅就土壤硝化—反硝化作用的损失程度、作用机理、研究方法和控制对策等方面的研究进展作一概述。

1 化肥氮的硝化—反硝化损失程度

近年来研究结果表明,氨挥发和硝化—反硝化作用是稻田氮素损失的主要途径,而且有一定的互补性。在有利于氨挥发的条件下,硝化—反硝化的损失量及其占总损失的比例都较低^[1,2]。由于 ^{15}N 示踪技术和微气象学方法的建立和应用,对稻田中化肥氮的氨挥发损失的观测和研究取得了重要进展^[1,3],但由于缺乏满意的直接测量方法,因而化肥氮的硝化—反硝化损失量,仍以氮素总损失与氨挥发之差计得。施入土壤中的化肥氮损失途径和数量因土壤类型、施肥方法和时间以及肥料品种等不同而异。据1985年朱兆良在总结了国内的有关研究结果后指出:在当前的施肥方法下,碳铵的氮素损失约为40—70%,尿素的氮素损失为30—55%,硫酸铵在石灰性土壤上约为30—50%,在非石灰性土壤上损失约为15—35%^[4]。1988年Simpson和Freney的田间试验结果:尿素的氮素总损失约为40—60%,其中氨挥发为2—47%,硝化—反硝化损失为百分之几到百分之三十几^[5]。朱兆良在太湖地区水稻土上,测得碳铵、尿素作水稻基肥与土混施时的硝化—反硝化损失分别达39%和37%^[1]。从全球范围来讲,因氨挥发而进入大气层的氮素只有15%左右,而主要的贡献者是因反硝化作用释放的 N_2

* 国家自然科学基金资助项目,编号39470025。

和 N_2O 。在农田土壤中,因反硝化作用引起的氮素损失量占施入量的7-64% (Broshare, 1971)。1992年,Zhu的研究结果表明,铵态氮和尿素的损失可高达施入量的60-80%^[6],当然,这并非完全是硝化-反硝化损失。氮肥以表施或混施作为基肥施用损失量最高,而粒肥深施损失量最低。在酸性土壤上施用碳铵的主要损失途径是硝化-反硝化作用,但在石灰性土壤上施用碳铵,则以氨挥发损失为主;在酸性土壤上碳铵和尿素混施,以及在石灰性土壤上混施硫酸铵和尿素时,则氨挥发和硝化-反硝化两种损失皆存在^[7]。一般稻田土壤中化肥氮损失大于旱地土壤,在作物生长旺盛期施肥可明显减少氮素损失。以上结果表明施入土壤中的氮肥损失是相当严重的,这不仅是氮肥有效利用的问题,而且涉及到生态环境污染问题。

2 反硝化损失的研究方法

关于硝化-反硝化损失的测定方法,一直是众多学者关注和致力研究的关键问题。由于硝化-反硝化损失的作用机理和影响因素很复杂,缺乏田间原位测定技术,因此这方面的研究进展不大^[8]。总的来说,可分为间接法和直接法,并已有不少综述^[9,10],各有其优缺点。常用的有:

2.1 ^{15}N 平衡差值法

将施入土壤的标记 ^{15}N 肥料的总量减去植物吸收的 ^{15}N 量、土壤残留的 ^{15}N 量和氨挥发的 ^{15}N 量之差,作为硝化-反硝化损失量,也称为表观反硝化损失量,已被广泛采用^[11-13]。其优点是 N^{15} 丰度和氨挥发可准确测定,在不存在淋洗和径流损失时结果可靠。缺点是施入的 ^{15}N 肥料与土壤原有的氮素之间的生物交换作用,使测得的总损失量偏低。

2.2 乙炔抑制法

利用乙炔抑制 N_2O 还原为 N_2 ,通过测定 N_2O 的释放量来计算反硝化损失而建立的方法。该法简单、直接、检测灵敏度高,可用于土壤氮等非标记的反硝化损失量的测定,尤其适宜于旱地土壤。其不足之处是乙炔又能抑制 NH_4^+ 的硝化作用^[14],当 NO_3^-N 是反硝化速率的限制因子时,将低估其损失量。另外,由于乙炔难以扩散到稻田的全土体中,抑制效果欠佳,加之微生物可利用乙炔作为碳源,而且反硝化作用所形成的 N_2O 易溶于水,因此不适用于稻田中化肥氮的硝化-反硝化损失的研究。

2.3 ^{15}N 示踪-气体直接法

该法是施用高丰度 ^{15}N 标记的肥料,定时采集土壤释放出的含有 $(N_2O + N_2)-^{15}N$ 气体样品,经前处理以后直接在高精度的质谱仪上测定。该方法在50年代末开始建立,80年代广泛应用于旱地。近年来才应用于稻田化肥氮的硝化-反硝化损失的研究。该方法灵敏度高,采气样时不破坏土壤与植物。李新慧等建立了进样系统,采用减压采气技术有效促进反硝化气体的逸出^[15,17]。这是国内目前较为理想的方法,但所得的硝化-反硝化气体 ^{15}N 量仍低于表观硝化-反硝化损失量,这有两种可能:一是由于土壤反硝化作用产生的气体绝大部分滞留在土壤空隙和土壤溶液(氧化亚氮在水中的溶解度较大)中,只有少量气体进入大气,尤其是在稻田生态系统中,所采集的气样,无法代表土壤的整个反硝化作用,但具有实际意义;二是平衡帐差减法包括了几个部分的测定结果,即使各部分是精确测定得到,但计算结果包含了多次误差,而土壤和植株的采样过程是造成误差的主要因素。近年来,国内外众多学者正在探讨和研

究造成这两种方法差异的原因。

总之,硝化一反硝化作用的原位测定方法正在逐步建立和完善中,目前,对其造成的损失尚不能进行准确定量评价。

3 硝化一反硝化的损失机理

关于稻田中化肥氮的硝化一反硝化损失机制已进行过大量研究,但仍然较为复杂。根据现有资料归纳如下。

3.1 土壤氧化层和还原层分异引起的硝化一反硝化损失

在淹水土壤中,由于表层氧化层和其下的还原层分异,影响到硝化和反硝化微生物的数量和活性,在氧化层发生的硝化作用所形成的 NO_2^- 和 NO_3^- 扩散或下移到还原层,通过反硝化作用而损失^[18]。这一机制已被人们广泛接受。

3.2 水稻根际一根外的氧化层-还原层导致的硝化一反硝化损失

由于水稻根系的泌氧作用,形成根际氧化层和根外还原层,根际土壤的 Eh 高于根外土壤^[19,20],反硝化细菌的 R/S 值也大, N_2O 还原酶活性也高于根外土壤,因此,根际一根外的硝化一反硝化损失可能很可观,而且可以在整个生育内进行,这一机制在氮肥深施或混施时显得更重要^[21]。1994 年李新慧^[22]的研究结果也表明水稻根际和根外土壤中都有较高的反硝化活性,但水稻根系对稻田中铵的硝化-反硝化损失无明显的促进作用。

3.3 氧化层或还原层,根际或根外土壤中都可进行硝化一反硝化作用而导致氮素损失^[23,24]

我们的试验也表明了这一点。但是李新慧的试验未能证实在稻田氧化层或还原层中都可单独进行铵的硝化一反硝化作用从而导致氮素损失的论点^[25]。由于硝化细菌是严格的好氧微生物,所以还原层或根外土壤还原层中的硝化一反硝化损失可能是在还原层和氧化层界面上发生的,或者是氧化层的硝态氮扩散或淋移到还原层而造成的反硝化损失。

3.4 无定形铁、锰氧化物在嫌气条件下作为铵氧化时的电子受体,促进了硝化,进而导致反硝化损失

在无定型铁、锰氧化物与微生物的共同作用下,氮素损失量更大^[26,27]。但对氮素损失的贡献究竟有多大,有待进一步研究。

3.5 藻类生长过程中引起的硝化一反硝化损失

当藻类在光照下进行光合作用固定 CO_2 时,使田面水的 pH 上升,并提高了土壤表层的氧化程度;在无光照下进行呼吸作用,消耗 O_2 ,引起氧化还原条件的变化,促进了硝化一反硝化损失^[28]。但在这方面的报道还很少。

4 微生物在氮素损失中的作用

土壤中氮素损失的主要途径有氨挥发、淋失和生物的、化学的反硝化作用。除氨挥发外,其余与土壤微生物的活性都有密切的关系。施入土壤中的铵态氮肥,由于硝化微生物的作用转化为不易被土壤胶体吸收的阴离子 NO_2^- 和 NO_3^- ,造成氮素淋失;从根际土壤分离出来的细菌中 65% 具有反硝化能力,其中多半是 *Pseudomonas*、*Alcaligenes*、*Achromobacter*、*Bacillus*、*Micrococcus* 属的代表者^[29]。显然,土壤中反硝化微生物将 NO_3^- -N 还原为 N_2O 和 N_2 ,直接造

成氮素的气态损失。化学反硝化的反应物之一亚硝酸的形成也与微生物活性有关,因此在土壤中铵态氮的转化及其损失中,微生物也起了不可忽视的作用。

在一个理想封闭的土壤生态系统中,系统的氮素循环主要是由众多微生物构成的功能微生物群完成的。当系统内的植物残体、落叶和根系的分泌物进入土壤,首先是由氨化微生物群将有机物质分解,释放和吸收氮素和其他养分;然后,硝化微生物群将氨氧化成硝态氮,硝态氮淋移至还原层土壤,反硝化微生物群又将其还原成氮气和氧化亚氮释放入大气;土壤中的固氮微生物群又将大气中的氮气固定进入土壤,植物吸收利用,而后又进入下一轮循环。这一过程还包括了其他的物理吸附、解吸和化学转化过程,但微生物的作用是主要的,它是整个循环的动力和能量泵。

我们从1973年以来一直从事这一领域的研究,结果表明稻田土壤和作物根际中存在着大量的反硝化细菌,其数量根际又大于根外。就太湖地区主要水稻土而言,反硝化细菌占细菌总数的50-80%,R/S值一般为10-100以上,广泛分布于多个细菌属中。该地区水稻土中主要存在 *Pseudomonas*、*Bacillus*、*Micrococcus*、*Flavobacterium*、*Acinetobacter* 和 *Enterobacter* 等属,而且具有复杂的酶体系;当土壤中存在有机物质、硝酸盐和缺氧条件时,便引起强烈的反硝化作用,造成氮素气态损失,对大气污染也带来了潜在威胁^[19,20,26,27,30,31,32]。因此,在土壤和肥料氮素损失的几种途径中,反硝化作用具有最大的现实意义。目前我们正在进一步研究水稻根际硝化-反硝化过程中氮素损失的时空变异,进一步明确氨挥发与硝化-反硝化氮素损失的关系,建立根际微生物生物量与硝化-反硝化气体通量变化的数学模型,为减少水稻土氮素损失提供理论依据。

5 氮素损失的控制对策

为了减少氮素损失和防止大量施用化肥造成的氮污染,国内外进行了大量研究,措施很多。

5.1 改进施肥方法

(1) 深施或混施 通过减少表层土壤或田面水中肥料氮的浓度来减少氮素损失,尤其是粒肥深施效果最好^[33];

(2) 以水带氮法 将氮肥表施后,再灌水,使氮肥随水下移到土层中而达到部分深施的目的^[34];

(3) 分次施肥 尤其是作物生长旺盛时期追施氮肥,有利于作物的吸收作用,减少氮素的损失^[35];

(4) 平衡施肥 配合施用磷钾肥和微量元素,保持养分平衡,能有效地促进作物对氮肥的吸收^[36]。

5.2 改进肥料剂型

施用缓效性氮肥,使氮素缓慢释放供给植物吸收,以减少氮的损失。这方面的研究主要集中在包膜肥料上,如钙镁磷肥包膜碳酸氢铵,硫衣尿素等粒肥、球肥^[37,38]。日本曾用高分子树脂材料包膜,但成本高,难以推广应用。故尚需要寻找理想的包膜材料和合适的包膜方法。

5.3 添加生物抑制剂

(1) 硝化抑制剂 以抑制硝化微生物的繁殖及其活性,延缓铵态氮转化为硝态氮的速度。国内外研制和筛选的硝化抑制剂品种很多,有汞衍生物、吡啶衍生物、苯酚衍生物、苯胺衍生物、噻唑衍生物、硫脲衍生物等,其中常用的有2-氯-6-(三氯甲基)吡啶(CP)、双氰胺(DCD)、硫脲(Asu)、叠氮化钠(钾)、N-Serve等。它们都能在一定时间内抑制或削弱铵的硝化作用,对防止和减少土壤氮素损失和地下水污染有一定的作用,但效果不一^[36,39]。值得进一步研制新的硝化抑制剂,并明确其有效应用条件。

(2) 脲酶抑制剂 以延缓尿素水解,并易于随水下移到深层土壤中,从而降低土壤表层和水面中铵态氮浓度,减少氮素损失,国内外已进行了大量研究^[40-43],常用的有氢醌(HQ)、苯基磷酸二酰胺(PPD)、N-丁基硫代磷酸三亚胺(NBPT)等。但总的来看应用效果似乎不大或不稳定^[36,44],因而选择效果稳定、持效期适中的脲酶抑制剂是研究关键所在。

(3) 杀藻剂 通过抑制藻类的生长,以降低田面水的pH在一定程度上能减少氨挥发损失^[45,46],但只能作为一种辅助措施。

5.4 应用表面膜技术

近年来,我国和澳大利亚有关学者都在探索施用十六烷醇($C_{16}H_{33}OH$)和十八烷醇($C_{18}H_{37}OH$)的乙醇溶液于稻田水面,形成单分子膜,能有效地减少氨挥发损失^[47-49]。但十六烷醇表面膜易被微生物分解,而且也易被大风吹向一边,所以需要定期加入表面膜物质,其覆盖效果才能长期维持。看来,进一步研究更加稳定、廉价的有机化合物表面膜,除减少氨挥发外,还可能因阻碍水-土体系与大气中氧的交换,而减弱硝化-反硝化作用。

总之,农业生产中,化肥氮利用率低,损失量大,是一个世界性问题。硝化-反硝化作用研究进展很大程度上有赖于研究方法的突破。因此,硝化-反硝化作用的原位测定法在有所进展的基础上,仍需不断改进和完善。建立一个定量直接测定方法,是对硝化-反硝化损失深入研究的必要条件。对氮素硝化-反硝化损失的发生部位、各种机理、影响因子、反硝化微生物的生理学、酶学、分子遗传学及有效防止对策等,都需继续加强基础研究和应用研究才能制定新的有效措施以减少氮素的硝化-反硝化损失。

参 考 文 献

- [1] 蔡贵信、朱兆良、朱家武等,水稻田中碳铵和尿素的氮素损失的研究,土壤,1985,17(5):225-229.
- [2] De Datta S.K., Advances in Soil Fertility Research and Nitrogen Fertilizer Management for Lowland Rice. In: IIRRI (ed.) Efficiency of Nitrogen Fertilizers for Rice. Los Banos, The Philippines, 1987, pp27-41.
- [3] Denmead O.T., Simpson J.R. and Freney J.R., Soil Sci. Soc. Am. J., 1977, 41:1000-1004.
- [4] 朱兆良,我国土壤供氮和化肥氮去向研究的进展,土壤,1985,17(2):2-9.
- [5] Simpson J.R. and Freney J.R., Interacting Processes in Gaseous Nitrogen Loss from Urea Applied to Flooded Rice Field. In: Proc. Symp. on Urea Technology and Utilization, 1988, pp285-290.
- [6] Zhu Z.L., Pedosphere, 1992, 2:97-114.
- [7] 朱兆良、蔡贵信、徐银华、张绍林, 种稻下氮肥的氨挥发及其在氮素损失中的重要性的研究,土壤学报,1995,22:320-328.
- [8] 朱兆良,稻田氮肥的损失和化肥氮去向的研究,见:中国土壤学会主编,中国土壤科学的现状与展望,江苏科技出版社,1991,111-117.
- [9] Buresh R.J. and De Datta S.K., Biol Fert. Soil, 1990, 9:1-13.
- [10] Aulakh M.S., Doran J.W. and Mosier A.R., Adv. Soil Sci., 1992, 18:1-67.
- [11] 朱兆良、张绍林、陈德立等,黄淮海地区石灰性稻田土壤不同施用方法下氮肥的去向和增产效果,土壤,1988,20:

- 121-125.
- [12] Cai G. X., Gaseous Loss of Nitrogen from Fertilizers Applied to Flooded Rice. Thesis for Ph.D. degree, University of Queensland, 1988, pp275.
- [13] Simpson J.R. and Freney J.R., Interacting Processes in Gaseous Nitrogen Loss from Urea Applied to Flooded Rice Fields. In: Proc. Symp. on Urea Technology and Utilization. 1988, pp281-284.
- [14] Walter H.M., Keeney D.R. and Fillery I.R., SSSAJ., 1979, 43:195-196.
- [15] Siegel R.S., Hauck R.D. and Kurtz L., SSSAJ., 1982, 46:68-72
- [16] Mosier A.R., Guenzi W.D. and Schwes E.E., SSSAJ., 1986, 50:831-833.
- [17] Buresh R.J. and De Datta S.K., Bio Fert. Soil, 1990, 9:1-13.
- [18] 李良谟, 我国土壤硝化反硝化作用研究概况与展望, 见:中国土壤学会土壤农业化学专业委员会、土壤生物和生物化学委员会编:我国土壤氮素研究工作的现状与展望, 科学出版社, 1986, pp68-81.
- [19] 李振高、万焕桐、吴留松、乔凤珍, 水稻根际反硝化细菌生态分布的研究, 土壤学报, 1986, 24:120-125.
- [20] 李良谟、臧双、周秀如、潘映华, 水稻根系对氮素损失的影响, 土壤, 1984, 16:5-10.
- [21] Savant N.K. and De Datta S.K., Adv in Agron., 1982, 35:241302.
- [22] 李新慧、朱兆良、蔡贵信, 硝化一反硝化损失中水稻根际效应的研究, 土壤学报, 1995, 32(增刊2):36-40.
- [23] 陈华癸、周启, 水稻土壤中硝化作用和硝化微生物的研究 I. 水稻田土壤中的硝化作用, 土壤学报, 1961, 9:56-63.
- [24] Zhou Q. and Chen H.K., Soil Sci., 1983, 135:531-534.
- [25] 李新慧、朱兆良、蔡贵信, 不同氧化还原条件下淹水土壤中氮的硝化和反硝化损失, 土壤学报, 1995, 32(增刊2):1-6.
- [26] 李良谟、潘映华、伍期途等, 无定型氧化铁作为嫌气下 NH_4^+ 氧化时电子受体的研究, 土壤学报, 1988, 25:184-190.
- [27] Li Liangmo and Wu Qitu, Pedosphere, 1991, 1(1):83-92.
- [28] Kimura M., Yoshioka L., Wada H. and Rakai Y., JSSPNJ., 1986, 57:365-370.
- [29] Куракова Н.Г., Умаров м.м., агро химия, 1984, 5:118-127.
- [30] 李振高、潘映华、伍期途、李良谟, 太湖地区水稻土中优势反硝化细菌的数量、组成与酶活性, 土壤学报, 1989, 26:79-86.
- [31] 李良谟、伍期途、李振高、潘映华, 原位土壤中 N_2O 释放量的测定方法, 土壤学报, 1989, 26:305-308.
- [32] 李良谟, 硝化作用;反硝化作用, 见:朱兆良、文启孝主编, 中国土壤氮素, 江苏省科学技术出版社, 1992, pp 94-120, 145-170.
- [33] 曹志洪, De Datta S.K., 深施氮肥(^{15}N 标记尿素)对稻田水层化学性质的影响及水稻对深施氮肥的回收率, 土壤学报, 1983, 20:253-261.
- [34] 陈荣业、张建才、郭望模、陈葦, 稻田以水带肥(尿素)深施技术研究, 中国水稻科学, 1987, 1:184-191.
- [35] Bigenigo M., Hauck R.D. and Olson R.A., SSSAJ., 1979, 43:533-538.
- [36] 朱兆良, 农田生态系统中化肥氮的去向和氮素管理, 见:朱兆良、文启孝主编, 中国土壤氮素, 江苏省科学技术出版社, 1992, pp213-249.
- [37] Craswell E. T. and Vlek P.L.G., Nitrogen management for submerged rice soils, Trans. 12th Congr. Int. Soc. Soil Sci. 1982, Vol. II, pp158-181, New Delhi.
- [38] Yangdehl L. T., Lupin N.S. and Craswell E. T., Fert. Res., 1986, 9:149-160.
- [39] 李良谟、臧双、周秀如、潘映华, 西吡对抑制硝化过程和其他微生物活性的影响, 土壤学报, 1981, 18:58-70.
- [40] 关松荫, 土壤脲酶抑制剂应用效果的研究, 土壤通报, 1985, 16:232-234.
- [41] 周礼恺、武冠云、张志明等, 脲酶抑制剂氢醌在提高尿素肥效中的作用, 土壤学报, 1988, 25:191-198.
- [42] Broadbent F.E., Nakashima T. and Chang G.Y., SSSAJ., 1985, 49:348-351.
- [43] Fillery I.R.P., De Datta S.K. and Craswell E.T., Fert. Res., 1986, 9:251-263.
- [44] Bremner J.M., Blackmer A.M. and Bundy L.G., Soil Biol. Biochem., 1978, 10:441-442.
- [45] Bowmer K.H. and Muirhead W.A., Fert Res., 1987, 13:13-29.
- [46] Simpson J.R., Muirhead W.A., Bowmer K.H. et al., Fert. Res., 1988, 18:31-47.
- [47] Frenkiel J., Evaporation Reduction, UNESCO., Paris, 1965.
- [48] Cai G.X., Freney J.R., Humphreys E. et al, Aust. J. Agric. Res., 1987, 39:177-186.
- [49] 杨震、朱兆良、蔡贵信、张宇, 表面膜物质抑制水稻田中氮挥发的研究, 土壤学报, 1995, 32:(增刊2):160-166.