

采用 ^{15}N 同位素稀释法研究不同层次土壤氮素总转化速率^①兰 婷^{1,2}, 韩 勇¹, 唐昊治¹

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: 采用 ^{15}N 同位素稀释方法, 开展短期 (7 天) 室内培养实验, 估算了一水稻土 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤主要 N 素转化过程的总转化速率, 结果表明, 标记 N 溶液加入后 2 h 内各土层土壤的总矿化、硝化、固定速率显著高于其他时间段 ($p<0.01$)。2 h 后, 矿化速率在小范围内起伏。0~20 cm 土层土壤 N 素的硝化速率随培养时间延长而降低, 另外两层土壤则基本保持稳定, 硝化速率的变化与硝化作用底物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的变化呈显著正相关。值得注意的是, 外源无机 N 溶液加入后 2 h 内, 大量 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被固定, 并认为 N 素的非生物固定起主导作用。2 h 后, 出现了 N 素在固定与再矿化间反复转换的现象。实验结果表明, 与净转化速率相比总转化速率能更好地描述单个 N 素转化过程, 但由于外源 N 加入对 N 素转化的影响、再矿化作用以及忽略了 N 素转化过程中的气体损失、DNRA (硝态氮异化还原为铵) 过程等, 本研究结果与真实值间存在一定差异。

关键词: ^{15}N 同位素稀释法; 总转化速率; 矿化作用; 硝化作用; 固定作用; 水稻土

中图分类号: S153.6

氮 (N) 是土壤养分库的重要构成元素, 它不仅影响植物生长、产量及其品质, 也影响环境问题乃至全球变化。在土壤微生物等因子的作用下, N 在土壤中发生一系列复杂的转化, 了解其转化的全过程并进行定量描述是研究者们关注的热点。净转化速率是两个或多个转化过程共同作用的结果, 不能指示单独的转化过程, 总转化速率的研究更有意义。最初关于总转化速率的研究大多采用 ^{15}N 示踪方法, 该方法由于需要添加底物较多而对结果造成影响。与之相比, ^{15}N 同位素稀释法只需添加少量底物, 且能同时对多个 N 素转化过程进行定量描述^[1]。该方法于 1954 年由 Kirkham 和 Bartholomew 提出, 原理是: 当某无机 N 库被加入的高丰度 ^{15}N 标记溶液富集后, 其他非标记 N 库中的 N 素通过矿化或硝化作用等进入该富集 N 库后降低其 ^{15}N 丰度, 而认为富集 N 库 N 素的输出只改变该 N 库大小不改变其 ^{15}N 丰度, 因此, 可通过测定一定时间后 N 库 ^{15}N 丰度的变化估算相应转化过程的总转化速率^[2]。

50 多年来, 北美和欧洲一些国家的研究者采用 ^{15}N 同位素稀释法研究了肥料^[3-4]、温度^[5-6]以及氧气-水分条件^[7]等对 N 素总转化速率的影响, 但研究对象主要集中在森林和草地土壤, 较少针对水稻土。水稻土是水旱交替耕作条件下形成的人为土, 其土壤性质, 剖

面特征、水管理等都造成了水稻土中 N 素循环的特殊性, 且在我国水稻田占耕地总面积的 25%, 了解水稻土中 N 素转化过程并进行定量描述具有重要意义。为此, 本研究采用 ^{15}N 同位素稀释方法, 开展 7 天的室内培养实验, 初步估算了一水稻土 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤中 N 素总矿化、总硝化和总固定 (后称矿化、硝化和固定) 速率, 以期为深入研究水稻土 N 素转化过程提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

供试土壤为 2009 年 4 月采自江苏淮安的水稻土。供试土壤的有关性质见表 1。土壤采集后风干, 磨细, 过 2 mm 筛备用。

表 1 供试土壤的部分性质
Table 1 Properties of studied paddy soil

性质	0~20 cm	20~60 cm	60~90 cm
土壤 pH 值	8.3	8.4	8.4
全 N (g/kg)	1.5	0.6	0.5
有机质 (g/kg)	24.4	8.1	7.3
黏粒 <2 μm (g/kg)	241.0	246.5	224.3
粉粒 2~50 μm (g/kg)	623.7	638.7	628.5
砂粒 50~2 000 μm (g/kg)	135.5	115.0	147.1
CaCO_3 (g/kg)	128.9	166.5	161.0
CEC (cmol/kg)	22.2	18.2	17.5
C/N 比	9.7	8.2	8.3

①基金项目: 基金委国际合作项目 (2007DFA30850) 资助。

* 通讯作者 (hyong@issas.ac.cn)

作者简介: 兰婷 (1984—), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 主要从事土壤氮素循环过程方面的研究。E-mail: tlan@issas.ac.cn

1.2 处理

为估算土壤 N 素总转化速率, 进行两组实验。A 组: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 标记, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 用自然丰度, 加入 $^{15}\text{NH}_4^{14}\text{NO}_3$; B 组: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 用自然丰度, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 标记, 加入 $^{14}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ 。 $^{15}\text{NH}_4^+$ 和 $^{15}\text{NO}_3^-$ 的 ^{15}N 丰度及加入量均为 20% 和 50 mg/kg (烘干基重)。具体培养方法为: 40 g 备用土样 (烘干基重) 置于 250 ml 三角瓶中, 加蒸馏水至 40% WHC, 25℃ 黑暗条件下恒温培养一周后, 加入标记溶液并调节土壤含水量至 60%WHC (考虑标记溶液带入水分), 继续培养 7 天。分别在标记 N 溶液加入后的 2 h、1 d、2 d、4 d、7 d 取样测定土壤中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度及其 ^{15}N 丰度。

1.3 测定方法

按液土比为 5:1 加入 200 ml 2 mol/L KCl, 于 25℃、200 r/min 下震荡 1 h, 定量滤纸过滤, 流动分析仪测定浸提液中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度。浸提液中 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 丰度的测定采用 MgO 蒸馏产生 NH_3 后经硼酸溶液吸收、浓缩后同位素质谱测定的方法; $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 丰度的测定采用将 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 转化为 N_2O 后同位素质谱测定的方法^[8]。

1.4 土壤氮素转化速率的计算

采用以下方程估算土壤 N 素转化速率, 其中总转化速率的估算采用 Kirkham 和 Bartholomew^[12]最初建立, 由 Hart 等^[9]改进的方程:

$$m = \frac{\left(\left([\text{NH}_4^+]_0 - [\text{NH}_4^+]_t \right) / t \right) \log(\text{APE}_0 / \text{APE}_t)}{\log([\text{NH}_4^+]_0 / [\text{NH}_4^+]_t)} \quad (1)$$

$$c_a = m - \frac{([\text{NH}_4^+]_t - [\text{NH}_4^+]_0)}{t} \quad (2)$$

$$m_{\text{net}} = ([\text{NH}_4^+\text{-N}] + [\text{NO}_3^-\text{-N}])_t - ([\text{NH}_4^+\text{-N}] + [\text{NO}_3^-\text{-N}])_0 \quad (3)$$

$$n_{\text{net}} = [\text{NO}_3^-\text{-N}]_t - [\text{NO}_3^-\text{-N}]_0 \quad (4)$$

式中, m : 硝化速率 (mg/(kg·d)); c_a : $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的消耗速率 (mg/(kg·d)); t : 时间间隔; APE_0 : $t = 0$ 时 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 原子百分超; APE_t : $t = t$ 时 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 原子百分超; $[\text{NH}_4^+]_0$: $t = 0$ 时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量 (mg/kg); $[\text{NH}_4^+]_t$: $t = t$ 时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量 (mg/kg); m_{net} : 净硝化速率 (mg/(kg·d)); n_{net} : 净硝化速率 (mg/(kg·d))。N 素硝化速率 (n) 以及 NO_3^- 消耗速率 (c_n) 的计算是通过将 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度及原子百分超带入同样的公式计算得出; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的固定速率的计算是通过 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的消耗速率 (c_a) 减去硝化速率 (n) 获得, 并假设 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的氨挥发损失为 0; 忽略 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在

土壤水分含量为 60%WHC 时的反硝化损失, 认为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的固定速率等于消耗速率。

1.5 数据分析

数据分析在 SPSS15.0 上完成。

2 实验结果

2.1 培养期内土壤无机氮含量及其 ^{15}N 原子百分超的变化

2.1.1 培养期内土壤无机 N 含量的变化 图 1、图 2 分别是 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤中加入标记溶液后 0 h、2 h~1 d、2 d、4 d、7 d 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量。统计分析表明, 各土层土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量均随培养时间延长显著降低 ($p < 0.01$), 降低程度 0~20 cm (53.1~1.60 mg/kg) > 60~90 cm (55.6~5.6 mg/kg) > 20~60 cm (53.9~17.4 mg/kg)。但是, 与 20~60 和 60~90 cm 土层土壤不同, 标记无机 N 溶液加入后 2 h, 0~20 cm 土层土壤中的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量并没有增加, 反而降低, 说明此时 N 素的固定等作用强于硝化作用。2 h~4 d 间, 3 个土层土壤硝化作用明显增强, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著增加 ($p < 0.01$), 增加程度 0~20 cm (121.3~178.7 mg/kg) > 60~90 cm (69.5~105.0 mg/kg) > 20~60 cm (64.3~78.5 mg/kg)。值得注意的是, 与 4 d 相比, 7 d 时 3 个土层土壤中的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量都显著下降 ($p < 0.05$), 这可能是随着硝化作用底物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的消耗, 其他 N 素转化过程转而占优势。

2.1.2 培养期内土壤无机氮 ^{15}N 原子百分超的变化

图 3、图 4 分别是 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤中加入 $^{15}\text{NH}_4^{14}\text{NO}_3$ 溶液后 0 h、2 h、1 d、2 d、4 d、7 d $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的原子百分超, 以及加入 $^{14}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ 溶液后 0 h、2 h、1 d、2 d、4 d、7 d $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的原子百分超。统计分析表明, 由于 N 素快速的硝化、固定等作用, 加入 $^{15}\text{NH}_4^{14}\text{NO}_3$ 溶液后 2 h 三个土层土壤中的 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 原子百分超均显著降低 ($p < 0.05$)。2 h 后 0~20 cm 土层土壤 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的原子百分超继续降低, 而 20~60 和 60~90 cm 土层土壤则在 2 h~2 d 间保持稳定后开始显著降低 ($p < 0.01$)。虽然 7 d 与 4 d 相比, 3 个土层 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 原子百分超都有所上升, 但均未达到统计学上的显著性差异 ($p > 0.05$)。0~20 cm 土层土壤由于初始 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量 (77.0 mg/kg) 高于其余两个土层土壤, 因此当加入标记 N 溶液后, 其 $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 原子百分超明显低于另外两个土层土壤。整个培养期内各土层土壤中 $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 原子百分超均随培养时间显著降低 ($p < 0.05$)。

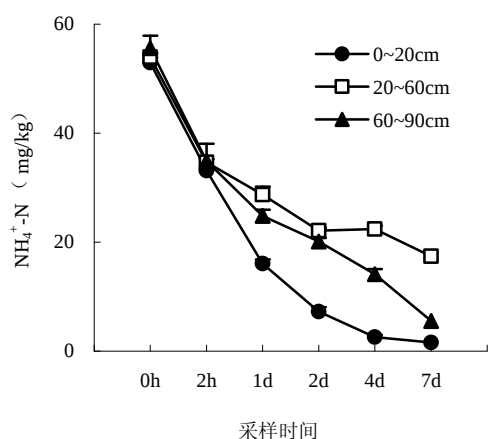


图 1 加入 $^{15}\text{NH}_4^{+14}\text{NO}_3$ 溶液后培养期内土壤 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 浓度随培养时间的变化

Fig.1 Changes of $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ concentration during soil incubation after addition of $^{15}\text{NH}_4^{+14}\text{NO}_3$

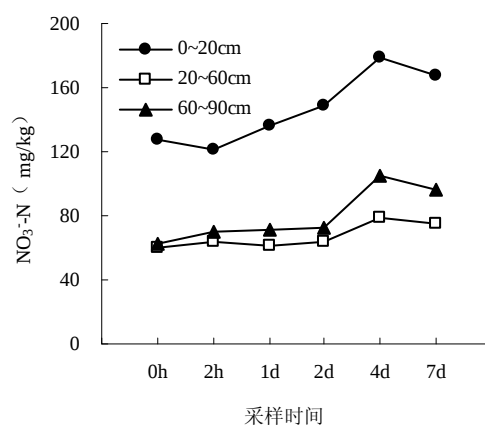


图 2 加入 $^{14}\text{NH}_4^{+15}\text{NO}_3$ 溶液后培养期内土壤 $\text{NO}_3^{+}\text{-N}$ 浓度随培养时间的变化

Fig.2 Changes of $\text{NO}_3^{+}\text{-N}$ concentration during soil incubation after addition of $^{14}\text{NH}_4^{+15}\text{NO}_3$

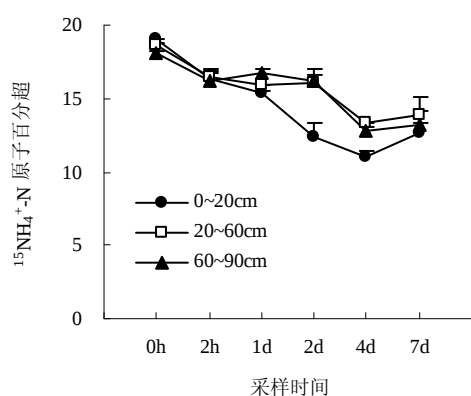


图 3 加入 $^{15}\text{NH}_4^{+14}\text{NO}_3$ 溶液后培养期内土壤 $^{15}\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 原子百分超随培养时间的变化

Fig. 3 Changes of $^{15}\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ atom% excess during soil incubation after addition of $^{15}\text{NH}_4^{+14}\text{N}$

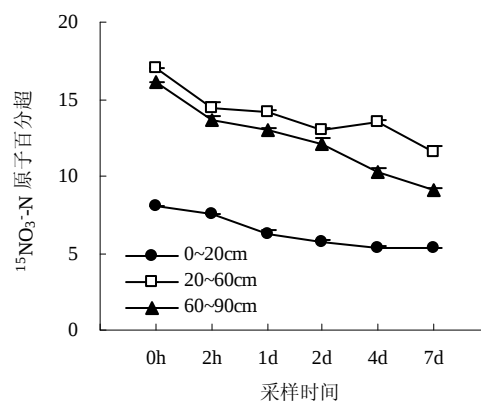


图 4 加入 $^{14}\text{NH}_4^{+15}\text{NO}_3$ 溶液后培养期内土壤 $^{15}\text{NO}_3^{+}\text{-N}$ 原子百分超随培养时间的变化

Fig. 4 Changes of $^{15}\text{NO}_3^{+}\text{-N}$ atom% excess during soil incubation after addition of $^{15}\text{NH}_4^{+14}\text{NO}_3$

2.2 氮素转化速率

2.2.1 土壤 N 素总转化速率 通过方程(1)和(2)计算各时间段的氮素矿化、硝化、固定速率,结果见图 5~8。实验结果表明,外源 N 加入后的 0~2 h, 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤 N 素的矿化速率分别为 67.2、52.8 和 50.4 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, 极显著高于其余时间段 ($p<0.01$)。2 h 后矿化速率在小范围内起伏。2 h~7 d 的平均矿化速率分别为 0~20 cm: 0.4 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 、20~60 cm: 0.6 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 、60~90 cm 0.4 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, 统计学上差异不显著 ($p>0.05$), 说明土壤性质的不同未给矿化速率造成影响。

由于外源 N 素的加入为硝化作用提供了底物,因此,当标记溶液加入后土壤立即表现出较强的硝化作用。0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤在 0~2 h 间的硝化速率依次为: 52.2、100.5 和 113.5 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。2 h 后, 0~20 cm 土层土壤 N 素的硝化速率随培养时间延长显著降低, 由 2 h~1 d 的 25.1 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 降低至 4 d~7 d 的 0.7 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$; 20~60 和 60~90 cm 硝化速率在 2 h~7 d 间基本保持稳定。另外, 3 个土层土壤 2 h~7 d 的平均硝化速率 0~20 cm (6.9 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$) > 60~90 cm (4.6 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$) > 20~60 cm (2.2 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$), 且差异达到极显著水平 ($p<0.01$)。

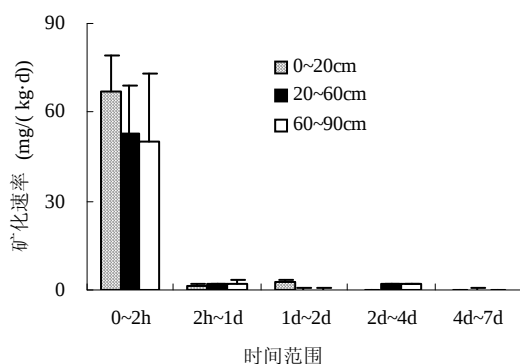


图 5 N 素矿化速率随培养时间的变化

Fig. 5 Changes of gross mineralization rates during soil incubation

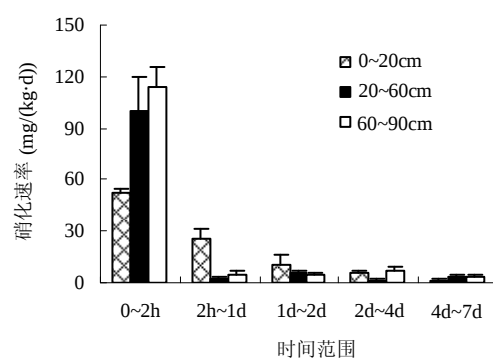
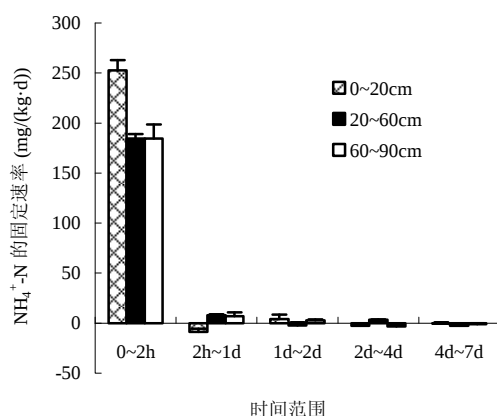
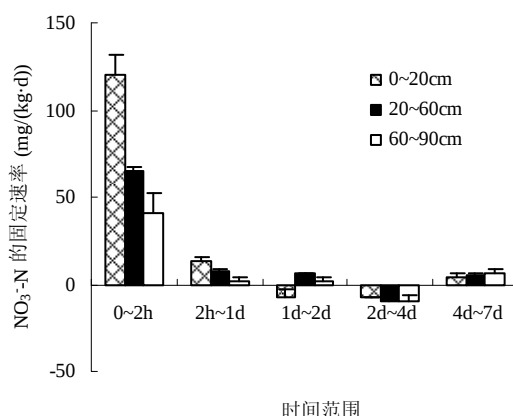


图 6 N 素硝化速率随培养时间的变化

Fig. 6 Changes of gross nitrification rates during soil incubation

图 7 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的固定速率随培养时间的变化Fig. 7 Changes of immobilization rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ during soil incubation图 8 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的固定速率随培养时间的变化Fig. 8 Changes of immobilization rates of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ during soil incubation

2 h 内, 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤分别有 41.0%、39.5% 和 36.1% 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被固定, 速率依次为 252.5、184.6 和 184.5 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$; 以及 7.9%、9.0% 和 5.5% 的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被固定, 速率依次为 120.2、64.6 和 41.0 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。2 h 后, 由于已固定的 N 素的再矿化, 部分时间段土壤 N 素的固定速率计算结果为负值。其中, 0~20、20~60 和 60~90 cm 土层土壤中新固定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的再矿化分别发生在 2 h、1 d 和 2 d 后。新固定的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 同样存在再矿化的情况, 但时间相对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 滞后。此外, 实验结果还表明, 培养期内 N 素在固定与再矿化作用间反复转换。

2.2.2 土壤 N 素净转化速率 用单位时间 ($\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$) 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的变化分别表示净矿化和净硝化速率 (方程 (3) 和 (4)), 结果见图 9、10。结果表明, 净转化速率与总转化速率的估

算结果差异很大, 这是由于净转化速率是两个或多个 N 素转化过程共同作用的结果, 例如: 净矿化 = 总矿化 - ($[\text{NH}_4^+\text{-N}] + [\text{NO}_3^-\text{-N}]$ 的微生物固定等消耗); 净硝化 = 总硝化 - $[\text{NO}_3^-\text{-N}]$ 的微生物固定等消耗, 净转化指示的是一种表观结果, 而不是内在的具体某一转化过程, 因此当 N 素的微生物固定等作用强于矿化或者硝化作用时, 估算结果出现负值。值得注意的是, 估算结果中出现不少净转化速率大于总转化速率的情况, 这可能是由于本实验研究对象的特殊性: 土壤黏粒含量较高, 标记 N 溶液加入后被大量固定, 且发生了再矿化以及固定与再矿化作用间反复转化造成的。

3 讨论

3.1 关于利用 ^{15}N 同位素稀释方法估算土壤氮素总转化速率的假设

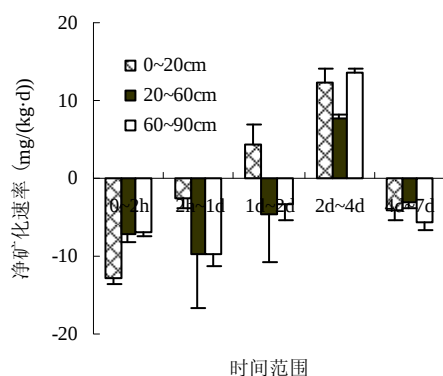


图 9 N 素净矿化速率随培养时间的变化

Fig. 9 Changes of net mineralization rates during soil incubation

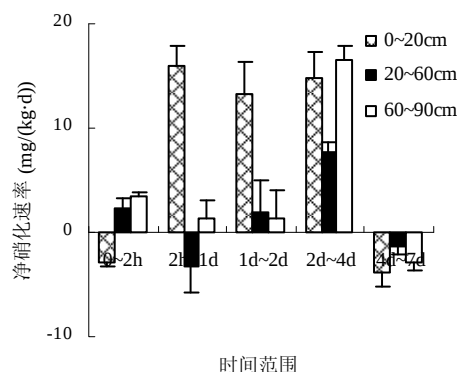


图 10 N 素总硝化速率随培养时间的变化

Fig. 10 Changes of net nitrification rates during soil incubation

采用 ^{15}N 同位素稀释方法估算土壤 N 素总转化速率通常基于以下假设: ①N 素的转化不存在同位素分馏效应; ②培养期内, 新固定的 N 素不会发生再矿化; ③N 素的转化速率保持稳定; ④加入的标记 N 与土壤本身的无机 N 均匀混合^[2,8]。严格来讲第一个假设不能成立, 但对于只有几天的培养实验而言, 同位素分馏效应带来的误差相对 N 素大规模转化而言可以忽略^[9]。新固定 N 素的再矿化一度被认为在长期实验中才会出现, 但与 Bjarnason 等人^[10]的研究结果相同, 本研究 7 天的培养过程中同样有再矿化作用发生。对于第三个假设, Kirkham 和 Bjarnason 等人^[10-11]都认为对短期培养实验而言造成的误差较小。第四个假设一直是研究者们讨论的热点。为确保外源 ^{15}N 与土壤本身的 ^{14}N 具有同样的生物效应, 二者混合均匀很关键, 否则将造成较大误差^[12], 例如 Watson 认为由于 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$ 与 $^{14}\text{NH}_4^+-\text{N}$ 间扩散的限制, 使得 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$ 更易发生硝化作用, 导致矿化速率估算偏高^[13]; 但也有学者持不同观点, 认为这种限制导致了矿化速率估算偏低^[14]。虽有研究表明适当的滴加方法 (如多孔注射) 可以降低误差^[15-17], 但由于土壤本身无机 ^{14}N 和微生物的分布就不是均匀的^[15], 因此很难达到目的。本实验采用移液管多点滴加标记 N 溶液, 可能会带来一定误差, 但是由于实验所用土壤本身 $^{14}\text{NH}_4^+-\text{N}$ 含量很低, 因此这种误差可以忽略^[15]。

3.2 氮素转化速率

3.2.1 土壤 N 素矿化速率 土壤 N 素的矿化作用受到土壤性质的影响是多方面的, 土壤有机 C 和黏土含量及其种类等都影响着土壤 N 素的矿化。土壤可矿化 N 主要贮存于粒径小的微团聚体中, 因此, 黏粒含量越高的土壤 N 素矿化的可能性越大。C/N 被认为是矿化差别的主要来源, 决定了矿化和固定的转化,

但 Bengtsson 等^[18]的研究发现, C/N 能控制 N 素的固定、矿化和硝化速率, 不过矿化和固定速率同呼吸速率及 ATP 含量有关。本研究中, 外源 N 的加入立即激发了土壤 N 素的矿化, 表现为 0~2 h 间 3 个土层土壤的矿化速率显著高于其余时间段 ($p<0.01$)。但此时 3 个土层土壤的矿化速率无显著差异 ($p>0.05$)。2 h 后, 矿化速率在小范围内起伏。统计分析表明 3 个土层土壤 2 h~7 d 的平均总矿化速率也无显著性差异 ($p>0.05$), 因此, 黏粒含量、C/N 等土壤性质方面的差异并未对 N 素的矿化作用造成影响。此外, 由于外加 N 素对矿化作用的影响以及新固定 N 素的再矿化等原因, 矿化速率的估算结果与真实值间可能存在一定差异。

3.2.2 土壤 N 素硝化速率 硝化作用是土壤中普遍存在的重要的微生物过程, 它联系着矿化-生物固持等作用及 N 素损失, 因而是土壤 N 素转化中的一个重要环节。pH、温度、水分、硝化基质、土壤理化性质、光照等都会对硝化作用产生影响。土壤的硝化作用还有自养硝化和异养硝化之分, 其中异养硝化作用被认为多发生在酸性森林土壤中^[19], 但 Muller 等^[20]的研究发现它也是老草原土壤重要的 N 素转化过程。本研究土壤是在 25℃ 下恒温培养, 水分含量为 60% WHC, 且土壤本身系石灰性土壤, 这些条件都有利于自养硝化作用的进行。在此情况下, 当加入自养硝化底物 NH_4^+-N 后, 3 个土层土壤即表现出很强的硝化作用, 0~2 h 间 3 个土层土壤的硝化速率极显著高于其余时间段 ($p<0.01$)。此时 20~60 和 60~90 cm 土层土壤的硝化作用强于 0~20 cm, 统计分析表明此时的硝化速率跟初始 NH_4^+-N 含量呈极显著正相关 ($r=0.855$, $p<0.01$); 与初始 NO_3^+-N 含量呈极显著负相关 ($r=-0.899$, $p<0.01$)。2 h 后 0~20 cm 土层

土壤的硝化作用随培养时间延长而逐渐降低,而 20 ~ 60 和 60 ~ 90 cm 土层土壤的变化则相对稳定。相关分析表明,土壤硝化速率的变化与硝化作用底物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的变化呈显著相关 (0 ~ 20 cm: $r = 0.989$, $p < 0.01$; 20 ~ 60 cm: $r = 0.918$, $p < 0.05$; 60 ~ 90 cm: $r = 0.881$, $p < 0.05$)。且 2 h ~ 7 d 土壤的平均硝化速率与 C/N 呈正相关 ($r = 0.788$, $p < 0.05$)。此外,由于外加底物对硝化作用的刺激^[21],以及未考虑异养硝化作用或有机 N 直接转化为 NO_3^- 等过程,本研究中硝化速率的估算可能偏高,此硝化速率可被认为是土壤潜在的硝化速率。

3.2.3 土壤无机 N 的固定与再矿化 土壤中无机 N 的固定分为生物固定和非生物固定。生物固定主要是无机 N 被微生物所同化,转变为微生物组织中有机 N 的过程;非生物固定主要是土壤黏粒和有机质的化学固定。土壤质地,土壤 C、N 含量及其有效性,温度等都会对 N 素的固定造成影响,其中土壤质地对 N 素固定的影响主要取决于土壤黏粒含量。黏粒含量越高的土壤, N 素被固定的可能性越大。在应用 ^{15}N 同位素稀释方法研究土壤 N 素总转化速率过程中,不少研究者发现,标记 N 加入很短的时间内即有大量可提取态 ^{15}N “消失”,例如: Dail 等^[22]的研究发现,标记 N 加入后 15 min 内有 40% ~ 60% 可提取态 $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 损失掉,而 Compton 和 Boone 在研究一森林土壤 N 素转化过程中发现,标记无机 N 溶液加入 5 min 后,只有 8% ~ 16% 的 $^{15}\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 12% ~ 18% 的 $^{15}\text{NH}_4^+\text{-N}$ 可提取^[23]。大多数研究者认为这是加入标记无机 N 被快速的生物、非生物固定,或二者共同作用造成的,并且认为非生物固定是这种快速“消失”的主要原因^[24-26]。 NH_4^+ 的非生物固定包括黏土矿物固定或吸附、土壤有机质吸附以及胡敏化合物的缩合反应等。本研究中,加入 $^{15}\text{NH}_4^{14}\text{NO}_3$ 溶液后 2 h 内, 0 ~ 20、20 ~ 60 和 60 ~ 90 cm 土层土壤即有 41.0%、39.5% 和 36.1% 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被固定, 0 ~ 20 cm 土层土壤的固定量显著高于其余两层土壤 ($p < 0.01$), 统计分析表明这跟其 C/N 含量较高有关 ($r = 0.998$, $p < 0.05$), 而与黏粒含量相关性不大 ($r = 0.267$, $p > 0.05$)。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的固定需要先被还原为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 后才能合成氨基酸,该过程需要能量因此限制了异养细菌的活动,使得 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 成为细菌“喜欢”的 N 源^[27]。然而,有研究发现,即使在有较多 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 存在的情况下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 也可发生固定^[28-29],这便增加了 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被固定条件的不确定性。且越来越多的证据表明, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 也可被快速地非生物固定^[26]。本研究结果印证

了这点:在加入 $^{14}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ 溶液后 2 h 内, 0 ~ 20、20 ~ 60、60 ~ 90 cm 土层土壤被固定的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 分别占初始 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的 7.9%、9.0%、5.5%。且此时 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的固定与土壤 C/N ($r = 0.938$, $p > 0.05$) 和黏粒含量 ($r = 0.534$, $p > 0.05$) 无显著相关。对于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 快速的非生物固定, Dail 等^[22]、Davidson 等^[25]认为这很可能是 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被转化成了可溶性有机 N,但是这个过程机理尚不清楚。

此外,本实验在估算 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的总固定速率过程中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的固定量是通过总消耗量减去硝化作用消耗量得来,而认为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的固定量等于其消耗量,忽略的 N 素转化过程中的氨挥发、硝化和反硝化等过程中的气体损失以及 DNRA 等过程,因此固定速率的估算结果可能偏高。而实验过程中出现的再矿化以及固定与再矿化间反复转化的现象也可能会给 N 素总转化速率的估算造成一定误差。

4 结论

本研究结果表明, 2 h ~ 7 d, 0 ~ 20、20 ~ 60 和 60 ~ 90 cm 土层土壤的平均矿化速率相近,依次为 0.4、0.6 和 0.4 mg/(kg·d),土壤性质上的差异没有给矿化速率造成影响。0 ~ 20 cm 土层土壤的硝化速率随培养时间显著降低 ($p < 0.01$),其余两层土壤的变化相对稳定。2 h ~ 7 d 的平均硝化速率为 0 ~ 20 cm (6.9 mg/(kg·d)) > 60 ~ 90 cm (4.6 mg/(kg·d)) > 20 ~ 60 cm (2.2 mg/(kg·d))。土壤 N 素的固定作用明显,外源无机 N 溶液加入 2 h 后, 0 ~ 20、20 ~ 60 和 60 ~ 90 cm 土层土壤分别有 41.0%、39.5%、36.1% 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被固定,以及 7.9%、9.0%、5.5% 的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被固定,并认为其中 N 素的非生物固定起主要作用。与净转化速率相比,总转化速率能更好地描述单独的 N 素转化过程,但由于外加 N 对 N 素转化的影响、再矿化作用以及忽略了 N 素转化过程中的气体损失, DNRA 过程等原因,使得 N 素总转化速率的估算结果与真实值间存在一定差异。此外还必须指出,本研究水稻土采自江苏淮安,其碳酸钙和黏粒含量及 pH 值较高, N 素总转化速率是否与其他土壤存在不同还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Nishio T, Kanamori T, Fujimoto T. Nitrogen transformation in an aerobic soil as determined by a $^{15}\text{NH}_4^+$ dilution technique. *Soil Biology & Biochemistry*, 1985, 17(2): 149-154
- [2] Kirkham, Bartholomew. Equations for following nutrient transformations in soil, utilizing tracer data: I. *Soil Science*

- Society Proceedings, 1954, 18: 33–34
- [3] Flavel TC, Murphy DV, Lalor BM. Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37: 1 397–1 400
- [4] Sørensen P. Short-term nitrogen transformations in soil amended with animal manure. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 1 211–1 216
- [5] Hoyle FC, Murphy DV, Fillery IRP. Temperature and stubble management influence microbial $\text{CO}_2\text{-C}$ evolution and gross N transformation rates. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38: 71–80
- [6] Cookson WR, Osman M, Marschner P. Controls on soil nitrogen cycling and microbial community composition across land use and incubation temperature. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 744–756
- [7] Choia WJ, Roa HM, Lee SM. Natural ^{15}N abundances of inorganic nitrogen in soil treated with fertilizer and compost under changing soil moisture regimes. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35: 1 289–1 298
- [8] Stevens RJ, Laughlin RJ. Determining nitrogen-15 in nitrite or nitrate by producing nitrous oxide. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58: 1108–1116
- [9] Hart SC, Stark JM, Davidson EA, Firestone MK. Nitrogen mineralization, immobilization and nitrification. *Methods of Soil Analysis // Weaver R. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties*. Madison Wisconsin: Soil Science Society of America, 1994: 985–1 018
- [10] Bjarnason S. Calculation of gross nitrogen immobilization and mineralization in soil. *Soil Science*, 1988, 39: 393–406
- [11] Kirkham, Bartholomew. Equations for following nutrient transformations in soil utilizing tracer data: II. *Soil Science Society Proceedings*, 1955, 19: 189–192
- [12] Murphy DV, Recous S, Stockdale EA, Fillery RP, Jensen LS, Hatch DJ, Goulding KWT. Gross nitrogen fluxes in soil: Theory, measurements and application of ^{15}N pool dilution techniques. *Advances in Agronomy*, 2003, 79: 69–118
- [13] Watson CJ, Travers G, Kilpatrick DJ, Laidlaw AS and Riordan EO. Overestimation of gross N transformation rates in grassland soils due to non-uniform exploitation of applied and native pools. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 2 019–2 030
- [14] Cliff JB, Bottomley PJ, Haggerty R, Myrold DD. Modeling the effects of diffusion limitations on nitrogen-15 isotope dilution experiments with soil aggregates. *Soil Science Society of America Journal*, 2002, 66: 1 868–1 877
- [15] Luxhøi J, Nielsen NE, Jensen LS. Effect of soil heterogeneity on gross nitrogen mineralization measured by ^{15}N -pool dilution techniques. *Plant and Soil*, 2004, 262: 263–275
- [16] Andersen MK, Jensen LS. Low soil temperature effects on short-term gross N mineralization-immobilization turnover after incorporation of a green manure. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 511–521
- [17] Murphy DV, Fillery IRP, Sparling GP. Method to label soil cores with $^{15}\text{NH}_3$ gas as a prerequisite for ^{15}N isotopic dilution and measurement of gross N mineralization. *Soil Biology & Biochemistry*, 1997, 29: 1 731–1 741
- [18] Bengtsson G, Bengtson P, Katarina F. Gross nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification rates as a function of soil C/N ratio and microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35: 143–154
- [19] Barraclough D, Puri G. The use of ^{15}N pool dilution and enrichment to separate the heterotrophic and autotrophic pathways of nitrification. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27: 17–22
- [20] Muller C, Stevens RJ, Laughlin RJ. A ^{15}N tracing model to analyse N transformations in old grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 619–632
- [21] Recous S, Aita C, Mary B. In situ changes in gross N transformations in bare soil after addition of straw. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31: 119–133
- [22] Dail DB, Davidson EA, Chorover J. Rapid abiotic transformation of nitrate in an acid forest soil. *Biogeochemistry*, 2001, 54: 131–146
- [23] Compton JE, Boone RD. Soil nitrogen transformations and the role of light fraction organic matter in forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34: 933–943
- [24] Accoe F, Boeckx P, Videla X, Pino I, Hofman G and Cleemput OV. Estimation of gross nitrogen transformations and nitrogen retention in grassland soils using FLUAZ. *Soil Science*, 2005, 69: 1 967–1 976
- [25] Davidson EA, Chorover J, Dail DBA. Mechanism of abiotic immobilization of nitrate in forest ecosystems: The ferrous wheel hypothesis. *Global Change Biology*, 2003, 9: 228–236
- [26] Berntson GM, Aber JD. Fast nitrate immobilization in N saturated temperate forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 151–156
- [27] Myrold DD, Tiedje JM. Simultaneous estimation of several nitrogen cycling rates using ^{15}N : Theory and application. *Soil Biology & Biochemistry*, 1986, 18: 559–568

- [28] Zak DR, Groffman PM, Pregitzer KS, Christensen S and Tiedje JM. The vernal dam: Plant-microbe competition for nitrogen in northern hardwood forests. *Ecology*, 1990, 71: 651-656
- [29] Kaye JP, Hart SC. Ecological restoration alters nitrogen transformations in a ponderosa pine-bunchgrass ecosystem *Ecological*, 1998, 8: 1 052-1 060
- [30] Mary B, Recous S, Robin D. A model for calculation nitrogen fluxes in soil using ^{15}N tracing. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30: 1 963-1 979

Gross Nitrogen Transformation Rates of a Paddy Soil in Different Layers By Using ^{15}N Isotopic Dilution Method

LAN Ting^{1,2}, HAN Yong¹, TANG Hao-ye¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The ^{15}N isotope dilution method was used in a short-term (7 days) incubation experiment to quantify gross nitrogen transformation rates of three layers of 0-20cm, 20-60cm and 60-90cm in a paddy soil. The results indicated that, 2h after the addition of ^{15}N solution, the gross mineralization, nitrification and immobilization rates of all layers were significantly higher than other time periods ($p < 0.01$). After 2h, the mineralization rates were fluctuant within a small range. Nitrification rate of 0-20cm layer decreased significantly with time, however, the rate of other two layers changed little. According to the statistical analysis, the changes of the nitrification rates were positively correlated with the changes of soil $\text{NH}_4^+\text{-N}$ content. Besides, it is worth to notice that 2h after the addition of ^{15}N solution, a large amount of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ were immobilized, and it might be mainly contributed to abiotic immobilization. Furthermore, the turnover between immobilization and re-mineralization happened in the 7 days incubation experiment. The results showed that gross nitrogen transformation rate was more useful to quantitatively describe a single nitrogen transform process compared with net rate, but for the reason of irritant effort of the addition of ^{15}N solution, re-mineralization, and the neglect of gas loss, as well as DNRA (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium) in this research, there was a difference between the true transformation rates and the estimated ones.

Key words: ^{15}N isotopic dilution, Gross transformation rate, Mineralization, Nitrification, Immobilization, Paddy soil