

利用膜进样质谱法测定不同氮肥用量下反硝化氮素损失^①

王书伟^{1,2,3}, 颜晓元^{1,3*}, 单军^{1,3}, 夏永秋^{1,3}, 汤权^{1,2,3}, 林静慧^{1,3}

(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 中国科学院大学, 北京 100049;

3 中国科学院常熟农业生态实验站, 江苏常熟 215555)

摘要: 利用膜进样质谱仪(MIMS)测定了太湖流域典型稻田不同氮肥施用梯度下, 土壤反硝化氮素损失量, 同时也对氮挥发通量进行了观测。根据两年的田间试验结果得到: 在常规施氮处理(N300)下, 每年平均有 54.8 kg/hm² N 通过反硝化损失, 有约 54.0 kg/hm² N 通过氮挥发损失, 分别占肥料施用量的 18.3% 和 18.0%, 两者损失量相当。通过反硝化和氮挥发损失的氮素量随着氮肥用量增加而增加, 田面水的 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、DOC 和 pH 浓度影响稻田土壤反硝化速率。在保产增效施氮处理(N270)下, 氮肥施用量比常规减少 10%, 水稻产量增加了 5.5%, 而通过反硝化和氮挥发损失的氮素量分别下降了 1.1% 和 3.1%, 氮肥利用率提高了约 5.5%。在增施氮肥处理(N375)下, 因作物产量增加使得氮肥利用率比 N300 增加, 但通过氮挥发和反硝化的氮素损失量也最大。因此, 通过综合集约优化田间管理措施, 降低氮肥用量, 可实现增产增效的目的。

关键词: 反硝化; 膜进样质谱仪; N₂/Ar 技术; 氮挥发; 氮肥利用率

中图分类号: S158.2 **文献标识码:** A

水稻是人类重要的粮食作物, 全球大约 50% 的人口以稻米为主食, 在亚洲, 大约 95% 的人口以稻米为主食^[1]。中国是世界上最主要的稻米生产国, 水稻种植面积约 3 000 万 hm²^[2]。为了维持粮食产量或实现产量增加, 大量氮肥被施用, 据统计, 目前中国氮肥用量约占全球氮肥用量的 30%^[3]。氮肥的大量施用造成水体富营养化、土壤酸化、温室气体排放等一系列环境问题^[4], 也导致中国水稻田氮肥利用率比较低, 介于 30% ~ 40%^[5]。在水稻生长期, 氮肥主要通过氨挥发、硝化和反硝化等途径损失^[6]。反硝化过程能够把稻田土壤-田面水系统中的 NO₃⁻ 还原以 N₂ 形态返回到大气中, 是稻田淹水条件下重要的氮素损失过程^[7]。由于大气环境中高 N₂ 背景值和反硝化过程高时空变异性, 使得反硝化定量研究变得十分困难^[8]。当前对稻田原位状态下反硝化过程研究报道也很少。目前已建立的测定反硝化的方法包括乙炔抑制法、N₂ 通量法、质量平衡法、化学计量法和同位素法等, 但这些方法大多存在人为扰动大、操作繁琐、误差大等不足, 无法精确测定淹水环境反硝化速率^[8]。乙炔抑制法操作简单、成本较低, 但是乙炔对硝化-反硝化耦合作用的抑制以及由于乙炔扩散

不均匀对 N₂O 还原为 N₂ 抑制不完全等因素均会低估反硝化强度^[9-10]。¹⁵N 同位素示踪法被广泛用于直接测定反硝化速率, 然而过量外源 ¹⁵NO₃⁻ 的添加会增加土壤中有效态氮的含量, 因而可能高估土壤中反硝化速率, 尤其是对氮含量较低的土壤^[8]。近几年, 膜进样质谱仪(MIMS)结合 N₂/Ar 技术被广泛用于直接测定土壤反硝化速率^[11]。利用 MIMS 可以直接测定水体的 N₂/Ar 比值, 测定精度 < 0.03%, 每个样品测定时间 < 2 min, 相比于其他方法具有明显的优越性。该方法被认为是目前最具潜力的反硝化测定方法^[12]。

中国作为发展最快的发展中国家, 面临着既要保持粮食产量增加, 同时又要降低农业生产对生态环境压力的问题。因此, 如何进一步提高水稻产量的同时提高水稻氮肥利用率, 降低对生态环境的压力是当前农业生产过程中面临和必须要解决的问题。当前一系列农业生产措施, 诸如采用高产品种、优化氮肥施用量及施用时期、硝化抑制剂及缓控释肥等, 被用于增加水稻产量, 提高氮肥利用率同时减轻对生态环境的压力^[3,13-16]。通过综合集约优化氮肥施用量、施用时期、田间水分管理及水稻秧苗移

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2015CB150403)和国家自然科学基金项目(41425005)资助。

* 通讯作者(yanxy@issas.ac.cn)

作者简介: 王书伟(1983—), 男, 山东新泰人, 博士, 主要从事氮素循环转化过程研究。E-mail: swwang@issas.ac.cn

栽密度来实现水稻生产过程中高产高效。在太湖地区开展的相关研究表明,优化田间管理措施可提高20%左右水稻产量、50%左右氮肥利用率^[17]。在研究基于综合集约优化的稻田田间管理措施,采用稻田土壤原位培养,利用MIMS结合N₂/Ar技术来定量研究不同氮肥施用梯度下反硝化过程,同时对稻田氮挥发氮素损失进行了观测,以期水稻高产和氮肥高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地基本情况

试验于2015—2016年连续两年在中国科学院

常熟农业生态实验站开展,此实验站位于长三角江苏常熟市辛庄镇(31°32'93"N, 120°41'88"E),属于北亚热带季风气候,主要轮作制度为冬小麦和水稻,2015—2016年平均气温和降雨量分别为17.04和1344.8 mm,其中水稻生长季期间的日平均温度和降雨量见图1,表层土壤(0~10 cm)日平均土壤体积含水量和温度见图2;土壤类型为典型水稻土(系统分类名为:普通筒育水耕人为土),母质为湖积物,0~20 cm耕作层土壤有机碳含量为26.6 g/kg,全氮含量为2.83 g/kg,C:N为9.4,pH为6.99,NO₃⁻-N含量为4.48 mg/kg,NH₄⁺-N含量为0.62 mg/kg,土壤粒径百分含量为:黏粒31.9%、粉粒54.8%、砂粒13.3%。

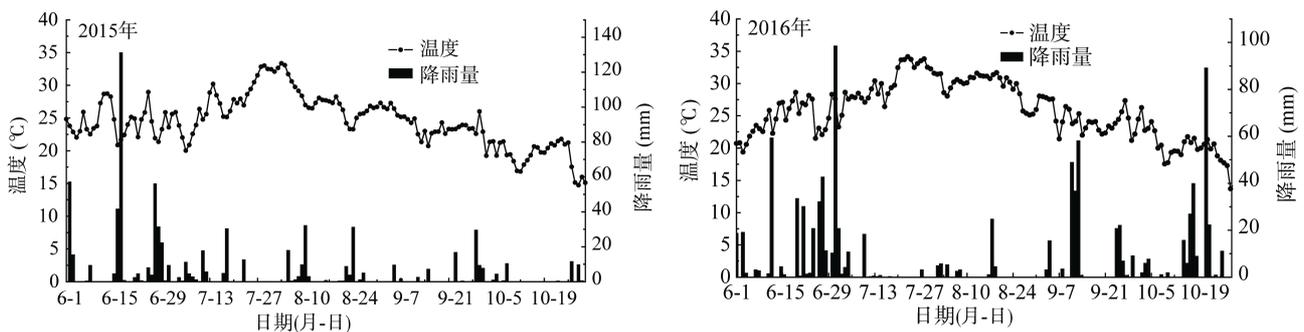


图1 2015—2016年水稻生长期平均气温和降雨量

Fig. 1 Seasonal variation in daily precipitation and temperature in rice-growing seasons of 2015 and 2016

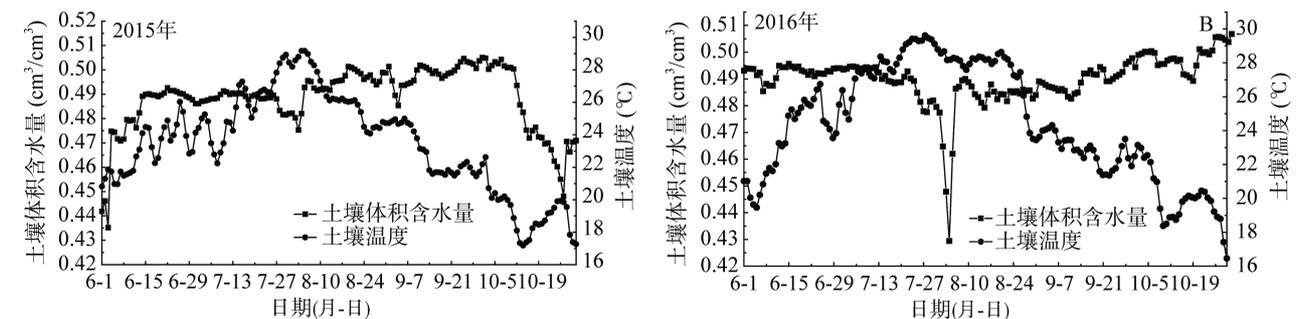


图2 2015—2016年水稻生长季土壤表层(0~10 cm)体积含水量及平均土壤温度

Fig. 2 Daily mean soil temperature and soil volume water content of soil layers of 0-10 cm in rice-growing seasons of 2015 and 2016

1.2 试验设计

试验共设计4个处理:不施氮肥处理(对照, N0),仅在移栽前作为基肥施磷肥(过磷酸钙,含P₂O₅ 13.5%)90 kg/hm²和钾肥(氯化钾,含K₂O 60%)120 kg/hm²,栽插株行距为20 cm × 20 cm;当地常规施氮处理(N300):总施氮量为300 kg/hm²(纯氮,下同),按基肥:分蘖肥:穗肥=6:2:2,种植密度为25穴/m²;保产增效施氮处理(N270):比当地常规施氮量减少10%,总施氮量为270 kg/hm²,按基肥:分蘖肥:拔节肥:穗肥=5:1:2:2,种植密度为33穴/m²;再高产处理(N375):较当地常规施氮量增加25%,总施氮量为375 kg/hm²,按基肥:分蘖肥:

拔节肥:穗肥=5:1:2:2,种植密度为25穴/m²。

各处理具体施肥时期和施肥量列于表1。各处理随机自由排列,重复4次,每个处理小区面积42 m²,小区之间筑30 cm宽田埂并用PVC板插入田埂土壤下30 cm,以防肥水串灌。在水稻生长季,田面水分管理采用淹水-烤田-淹水-湿润模式,即从每年的6月15日开始灌水,保持田面水在3~5 cm至7月24日开始烤田,每年的7月25日至8月4日为烤田期,田面水自然落干,8月5日重新灌水,保持田面水3~5 cm至9月20日,此后一直保持间歇灌溉,保持田面湿润,在收获前两个星期停止灌溉。

表 1 肥料施用量
Table 1 Rates of fertilizer application in rice growing-season

处理	肥料类型	基肥	分蘖肥	拔节肥	穗肥
N0	P ₂ O ₅ :K ₂ O (kg/hm ²)	90:120	—	—	—
N270	N:P ₂ O ₅ :K ₂ O (kg/hm ²)	135:90:60	27:0:0	54:0:60	54:0:0
N300	N:P ₂ O ₅ :K ₂ O(kg/hm ²)	180:90:120	60:0:0	—	60:0:0
N375	N:P ₂ O ₅ :K ₂ O(kg/hm ²)	187.5:126:90	37.5:0:0	75:0:90	75:0:0
	Si:Zn(kg/hm ²)	225:15	—	—	—
	有机肥(t/hm ²)	2.25	0	0	0

1.3 样品采集和处理

每次施肥后,进行采样,采样频率为每隔一天采样一次,共采样 5 次,非施肥期每周采样一次或者更长。用 PVC 采样器(内直径 7 cm,高 25 cm)采集 0~10 cm 表层原状土柱,柱底用橡胶塞密封,同时采集 5 L 田面水。为了尽可能维持田间原始的试验环境,样品采集完马上带回实验室用作培养。培养前把每个 PVC 采样器用对应处理的田面水充满,然后用气密性橡胶塞密封(保证没有顶空气体),马上放入培养装置中培养取样,装置中水温温度统一控制在 20℃,培养装置具体设计可以参照文献[18]。开始取样前要连接好进水管和出水管,进水管连接的对应田面水补给瓶要放置于可以在重力作用下流出的较高位置,其可以补充培养柱中上覆水由于取样损失的水量,然后打开培养装置的可调速电机旋转下部链接的磁棒,使沉积物培养柱顶部的磁转子以 14 r/min 转动,其可以混匀培养过程中产生的溶解性气体。取样时,需将出水管插至细长的螺口取样瓶(7 ml, Labco Limited, UK)底部,打开进水管的止水夹让水样在重力作用下缓慢注入直至溢出,同时将出水管缓慢抽出,立即拧紧盖子密封,避免空气污染水样,这即为 0 h 样品,之后分别在 2、4、6、8 h 取样,每次样品均取 4 个重复。取样瓶注满水样后立即用移液枪加入 20 μl 饱和 HgCl₂ 以终止微生物反应,然后马上密封。取好的样品放入 5℃ 冰箱保存待测。

1.4 水溶性氮气测定及反硝化速率计算

样品中可溶性 N₂(N₂-N, μmol/L)用膜进样质谱仪测定^[11]。测样之前先配置标准水样,标准水样制备的方法是用去离子水配制与待测水样一致盐度的溶液约 600 ml,装入 1 L 圆底烧瓶后浸没与培养水温一致的恒温水浴中,用浸过去离子水的海绵塞住瓶口以维持 100%的湿度,然后调节转子搅拌标准水样使其达到完全气液平衡,一般约需 3 h,具体制备方法及其装置见文献[18]。开始测样时先连续测试标准水样约 1 h,目测信号稳定后,通过关/开蠕动泵记录一系列标准水样数据以评估重复性和漂移程度。若标准

样品的 N₂ Ar 3 次测量结果的变异系数<0.03% 即可测定样品,具体测定过程及注意事项见文献[18]。

水环境中 N₂ 源于生物过程(主要是反硝化)和物理过程(水气平衡),而 Ar 溶解度主要受温度、盐度条件控制(纯物理过程)。因此,可通过水样 N₂ Ar 计算其真实 N₂ 浓度^[11,19]。样品中水样可溶性 N₂ 浓度(μmol/L)如下:

$$[N_2] = Cf \times ([N_2]/[Ar])_{sa} \times [Ar]_T$$

式中: Cf 是校正因子, $Cf = ([N_2]/[Ar])_T / ([N_2]/[Ar])_{st}$; $([N_2]/[Ar])_{sa}$ 、 $([N_2]/[Ar])_{st}$ 分别表示样品、标准水样 N₂:Ar 的实测值; $([N_2]/[Ar])_T$ 、 $[Ar]_T$ 分别表示标准水样 N₂:Ar、Ar 浓度(μmol/L)的理论值,由标准水样温度和盐度值代入 Weiss 方程计算得到^[20]。

在密闭体系中,水溶性 N₂ 浓度应随采样时间呈现增加趋势,故用 0, 2, 4, 6, 8 h 采样点水溶性 N₂ 浓度与采样时间进行线性回归,当线性回归的 R² 大约 0.9 时,我们认为此次采样有效,其斜率可用来表示每小时 N₂ 浓度变化速率(μmol/(L·h));结合沉积物柱样横截面积(m²),上覆水体积(L)及氮原子摩尔质量,即可以得到反硝化速率 (N, kg/(hm²·d))。

1.5 氨挥发测定

NH₃ 挥发量测定采用密闭室法^[21-22]。真空泵、有机玻璃罩(内直径 20 cm,高 15 cm)、管子和多孔洗瓶共同组成了氨挥发测量系统。当氨挥发测定时,有机玻璃罩插入田面水下 8~10 cm 深,罩子顶部开有两个孔,其中一个为直径为 25 mm 进气孔,与 2.5 m 高的进气管相连,以减少田面交换空气对稻田 NH₃ 挥发测定的影响;另一个为采气孔,与盛有 60 ml 0.03 mol/L 稀硫酸的多孔洗瓶相连接,吸收瓶再与真空泵管道相连,调节真空泵抽气量,使密闭室的换气频率控制在每分钟 15~20 次。每次施肥后,氨挥发被连续监测 4~5 d,直至施氮处理与对照的氨挥发通量无差异时停止,每天分别于上午 7:00—9:00 和下午 3:00—5:00 进行 4 h 的连续抽气测定,其测定的氨挥发通量代表采样日期整天的氨挥发速率,其计算方法见文

献[23]。

1.6 其他土壤、田面水等环境因子测定

每天平均气温和降雨量来自常熟站自动气象站 (Vaisala, Finland), 土壤表层(0~10 cm)含水量及表层田面水温来自常熟站土壤水分实时观测系统(Stevens water monitoring system, Campbell Scientific Inc., USA)。田面水带回实验室过滤(0.45 μm), 用全自动化学分析仪分析(Smartchem140, AMS, Italy) NO₃⁻-N, NH₄⁺-N, 用 TOC 仪 (Analytik Jena AG, Germany) 分析水溶性有机碳(DOC); 土壤 pH(土:水, 1:2.5) 和田面水 pH 用便携式 pH 计测定; 土壤有机碳和全氮含量用 C/N 元素分析仪测定 (Vario Max CN, Elementar, Hanau, Germany); 土壤容重用环刀法测定;

土壤粒径分析用激光粒度仪测定(LS13320, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)。

2 结果与分析

2.1 不同施氮水平下土壤性质、水稻产量和氮肥利用率

每季水稻收割后, 采集收获期稻田土壤, 分析土壤 pH、容重、有机碳、全氮、C/N、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量, 结果如表 2。从表 2 可知, 不同氮肥的施入量对各处理土壤 pH、容重、有机碳和全氮含量变化没有显著性影响($P>0.05$)。在 N270 和 N375 处理下, 能显著提高土壤 NO₃⁻-N 含量(2015 年, $P<0.05$) 和 NH₄⁺-N 含量(2016 年, $P<0.05$)。

表 2 收获期表层土壤(0~20 cm)理化性质 ($n=4$)
Table 2 Topsoil (0-20 cm) physicochemical properties under different treatments in harvest stage

年份	处理	pH	容重(g/cm ³)	有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	C/N	NH ₄ ⁺ -N(mg/kg)	NO ₃ ⁻ -N(mg/kg)
2015	N0	7.01 ± 0.03 b	0.96 ± 0.04 a	26.4 ± 0.1 b	2.70 ± 0.08 a	9.77 ± 0.31 a	6.06 ± 0.22 a	3.12 ± 0.13 b
	N270	7.03 ± 0.01 b	0.98 ± 0.07 a	27.2 ± 0.4 ab	2.68 ± 0.21 a	9.80 ± 0.36 a	6.04 ± 0.15 a	4.69 ± 0.82 a
	N300	7.04 ± 0.04 b	1.03 ± 0.06 a	27.6 ± 1.2 ab	2.83 ± 0.26 a	9.79 ± 0.56 a	6.04 ± 0.26 a	3.77 ± 0.24 b
	N375	7.16 ± 0.06 a	0.96 ± 0.07 a	28.3 ± 1.4 a	2.80 ± 0.18 a	10.11 ± 0.65 a	6.06 ± 0.41 a	5.12 ± 0.48 a
2016	N0	6.98 ± 0.08 ab	0.85 ± 0.05 b	27.2 ± 0.9 a	2.80 ± 0.16 a	9.73 ± 0.47 a	7.90 ± 0.92 b	3.24 ± 0.37 b
	N270	6.95 ± 0.06 b	0.87 ± 0.02 b	26.5 ± 0.9 a	2.63 ± 0.21 a	10.13 ± 0.64 a	8.23 ± 0.82 ab	3.51 ± 0.32 ab
	N300	6.89 ± 0.11 b	0.87 ± 0.04 b	26.8 ± 0.4 a	2.68 ± 0.19 a	10.07 ± 0.74 a	7.52 ± 1.14 b	3.30 ± 0.11 ab
	N375	7.06 ± 0.04 a	0.88 ± 0.07 b	27.7 ± 0.9 a	2.85 ± 0.10 a	9.74 ± 0.13 a	9.33 ± 0.25 a	3.67 ± 0.21 a

注: 表中同列数据小写字母不同表示同一年份不同处理间差异达到 $P<0.05$ 显著水平。

通过连续两年的田间试验得到, N0、N270、N300 和 N375 处理 2015 年和 2016 年水稻产量变化范围分别为 7.4~10.5 t/hm² 和 7.65~10.83 t/hm²(表 3)。与当地常规施氮及田间栽培管理相比, 减施氮肥 10%、增加栽培密度到 33 穴/m² 可以有效保持水稻产量并实

现增产, 2015—2016 年稻季, 产量分别增加了约 6% 和 5%。增加氮肥施用量到 375 kg/hm², 可以显著提高水稻产量($P<0.05$), 实现再高产的目的, 与 N300 处理相比, 2015—2016 年稻季, 水稻产量分别增加了约 13% 和 11%。

表 3 不同处理间作物产量、作物吸氮量、氮肥利用率、反硝化及氨挥发速率
Table 3 Grain yields, N uptake, NUE, weighted mean N₂-N fluxes and NH₃-N fluxes under different treatments

统计值	年份	N0	N270	N300	N375
产量(t/hm ²)	2015	7.34 ± 0.27 c	9.87 ± 0.35 ab	9.28 ± 0.25 b	10.5 ± 0.5 a
	2016	7.65 ± 0.17 c	10.22 ± 0.94 ab	9.75 ± 0.54 b	10.83 ± 0.74 a
作物吸氮量(N, kg/hm ²)	2015	125.8 ± 3.2 c	202.4 ± 12.4 b	201.9 ± 6.3 b	258.5 ± 17.0 a
	2016	135.3 ± 1.66 c	195.9 ± 15.9 b	207.6 ± 13.3 b	261.9 ± 11.7 a
氮农学利用率 (kg/kg)	2015		9.5 ± 1.2 a	7.1 ± 0.8 b	9.7 ± 0.9 a
	2016		9.47 ± 3.5 a	7.0 ± 1.8 a	8.4 ± 2.0 a
氮吸收利用率(%)	2015		22.1 ± 4.2 a	16.6 ± 1.2 b	21.1 ± 1.9 ab
	2016		22.36 ± 3.69 a	17.01 ± 2.76 b	19.70 ± 2.31 ab
反硝化速率(N, kg/(hm ² ·d))	2015	0.164 ± 0.040 c	0.269 ± 0.103 b	0.325 ± 0.003 b	0.428 ± 0.025 a
	2016	0.319 ± 0.010 c	0.422 ± 0.025 b	0.491 ± 0.052 b	0.593 ± 0.043 a
氨挥发速率(N, kg/(hm ² ·d))	2015	0.089 ± 0.007 d	0.233 ± 0.010 c	0.283 ± 0.027 b	0.336 ± 0.009 a
	2016	0.123 ± 0.009 d	0.364 ± 0.020 c	0.520 ± 0.038 b	0.606 ± 0.035 a

注: 表中同一行数据小写字母不同表示同一年份处理间差异达到 $P<0.05$ 显著水平; 氮农学利用率(kg/kg)=(施氮区产量-氮空白区产量)/施氮量; 氮吸收利用率(%)=(施氮区作物籽粒吸氮量-氮空白区作物籽粒吸氮量)/施氮量。

由表 3 可见,2015—2016 年稻季,4 种处理下,作物吸氮量变化范围分别为 125.8 ~ 258.5 kg/hm² 和 135.3 ~ 261.9 kg/hm²,氮农学利用率变化范围分别为 7.1~9.7 kg/kg 和 7.0~9.47 kg/kg,氮吸收利用率变化范围分别为 16.6% ~ 22.1% 和 17.0% ~ 22.4%。与 N300 处理相比,N270 处理下氮素吸收利用率显著增加了 24.9%~31.8%(*P*<0.05);N375 处理下由于作物生物量的增加,致使显著地提高了作物吸氮量(*P*<0.05),而大量氮肥的施用不能有效地提高田间氮肥利用率。

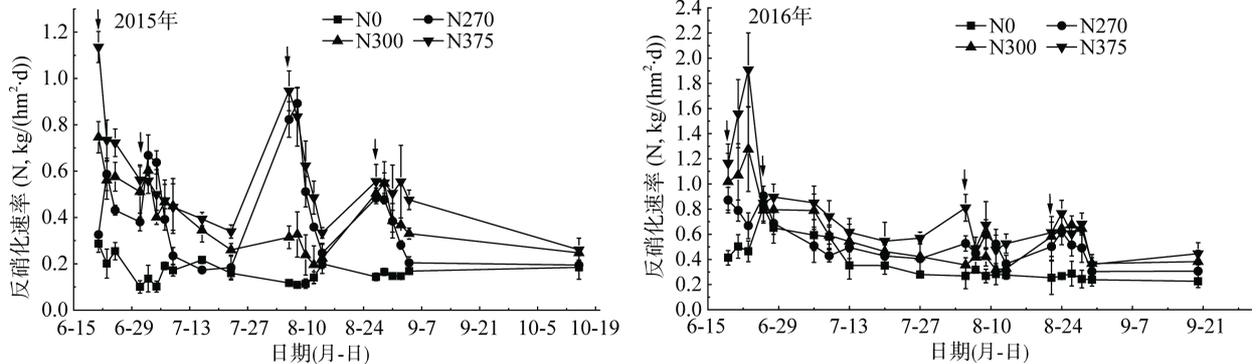
2.2 稻田土壤反硝化速率

图 3 为 2015—2016 年水稻生长季土壤反硝化变化。从图可知,N0、N270、N300 和 N375 处理土壤反硝化速率变化范围为 0.100 ~ 1.136 kg/(hm²·d)(2015 年) 和 0.227 ~ 1.908 kg/(hm²·d)(2016 年)。N0 处理反硝化速率变化波动不大,两个水稻生长季都维持在 0.100 ~ 0.818 kg/(hm²·d),2015 和 2016 年水稻生长季平均反硝化速率分别为 0.164 kg/(hm²·d) 和 0.319 kg/(hm²·d) (表 3)。N270、N300 和 N375 处理反硝化速率受氮肥施入影响明显,反硝化速率峰值大都出现在每次施肥后第 2 天,并且随后下降,到第 10 天后排放值接近平衡。2015 和 2016 年水稻生长季,N270、N300 和

N375 3 个处理平均反硝化速率分别为 0.269、0.325、0.428 kg/(hm²·d) 和 0.422、0.491、0.593 kg/(hm²·d) (表 3)。反硝化速率与氮肥施入量呈正比,与 N300 处理相比,N375 处理反硝化速率增加了 20.8% ~ 31.7%;N270 处理则降低了 14.1%~17.2%。

2.3 稻田土壤氮挥发通量

图 4 是 2015—2016 年水稻生长季氮挥发排放通量变化。与反硝化变化速率相似,氮挥发排放通量也受氮肥施用影响明显,每次氮肥施用后第一天氮挥发会出现一个排放峰,随后排放通量迅速下降,大约第 4 天后施肥处理的氮挥发排放通量接近背景值。2015 和 2016 年水稻生长季,N270、N300 和 N375 3 个处理平均氮挥发通量为 0.233、0.283、0.336 kg/(hm²·d) 和 0.364、0.520、0.606 kg/(hm²·d)(图 4)。非氮肥施用处理,氮挥发排放通量一直维持在一个非常小的排放值,变化范围在 0.006 ~ 0.387 kg/(hm²·d),2015 和 2016 年平均氮挥发通量分别为 0.089 kg/(hm²·d) 和 0.123 kg/(hm²·d)。氮挥发也与氮肥施用量呈正比,与当地常规施氮量相比,增加氮肥施用量 25%,可增加氮挥发排放通量约 16.5%~18.7%;相反,降低氮肥施用量 10%,可减少氮挥发排放通量约 17.7%~30%。



(图中向下箭头表示施肥日期,下同)

图 3 2015—2016 年水稻生长季不同处理反硝化速率

Fig. 3 Daily variations of dissolved N₂-N fluxes from different plots over rice growing seasons in 2015 and 2016

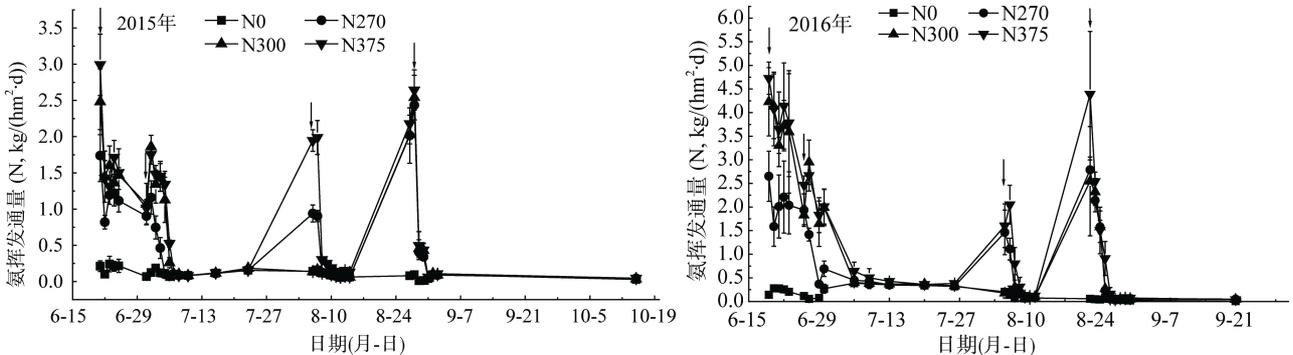


图 4 2015—2016 年水稻生长季氮挥发通量

Fig. 4 Daily variations of NH₃-N volatilization fluxes from different plots over rice growing seasons in 2015 and 2016

2.4 稻田氮素损失——反硝化和氨挥发

图 5 是稻田土壤通过反硝化和氨挥发损失的氮素量。由图可知,未施用氮肥情况下,2015 和 2016 年水稻生长季,稻田土壤通过氨挥发损失的氮素量分别为 11.9 kg/hm^2 (纯氮,下同) 和 16.5 kg/hm^2 ,通过反硝化损失的氮素量分别为 21.9 kg/hm^2 和 43.1 kg/hm^2 ,可见在没有化学氮肥人为施用的影响下,稻田土壤氮素的主要损失途径是反硝化。化学氮肥的施用能明显地增加稻田土壤氨挥发和反硝化氮素损失(图 5)。2015 和 2016 年水稻生长季,在 N300 处理下,通过氨挥发

损失的氮素量达到 37.7 kg/hm^2 和 70.2 kg/hm^2 ,分别占氮肥施用量的 12.6% 和 23.4%;通过反硝化损失的氮素量为 43.2 kg/hm^2 和 66.3 kg/hm^2 ,分别占氮肥施用量的 13.3% 和 22.1%。可见,在人为化学氮肥施用影响下,可明显地增加氨挥发氮素损失量。在本次研究中,减少常规氮肥施用量的 10%,每年可减少氨挥发氮素损失 $6.7 \sim 21.0 \text{ kg/hm}^2$,减少反硝化氮素损失 $7.4 \sim 9.3 \text{ kg/hm}^2$ 。相反,增加常规氮肥施用量的 25%,每年可增加氨挥发和反硝化氮素损失 $7.0 \sim 11.7 \text{ kg/hm}^2$ 和 $11.7 \sim 13.7 \text{ kg/hm}^2$ 。

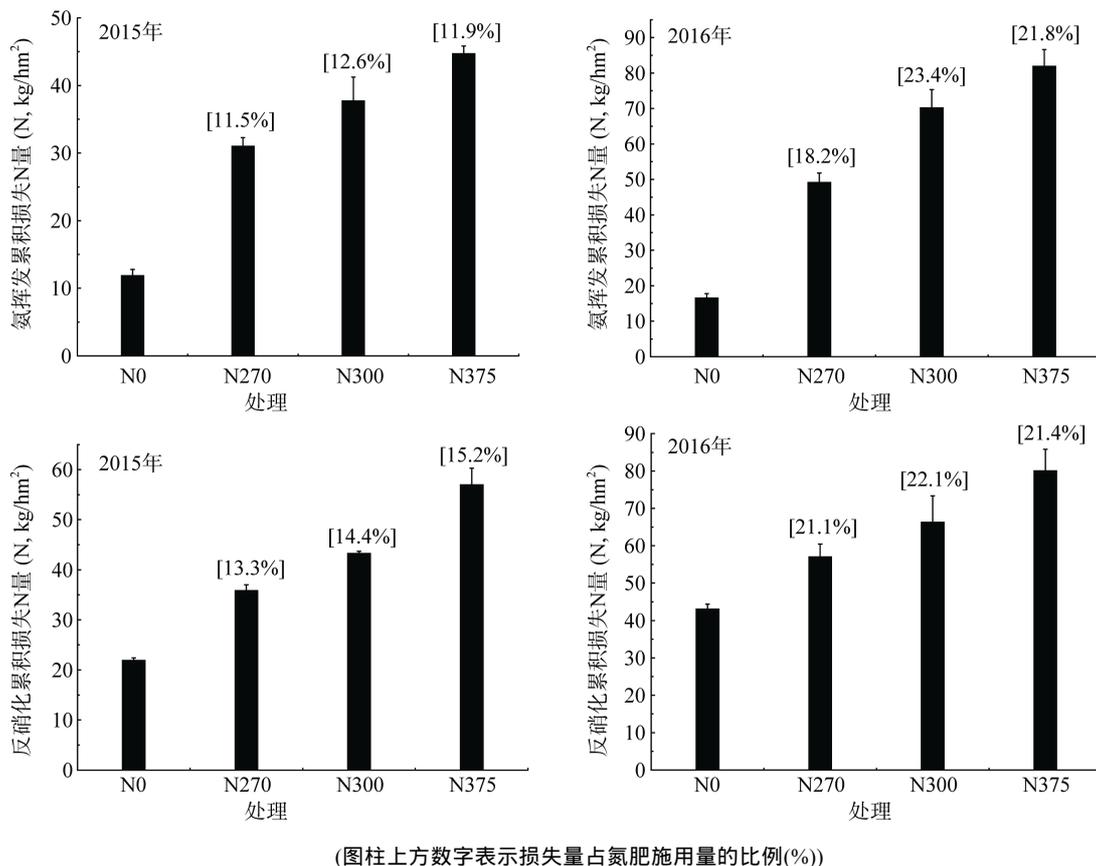


图 5 2015—2016 年水稻生长季反硝化和氨挥发氮素损失量

Fig. 5 Cumulative N₂-N losses and NH₃-N losses from different plots over 2015 and 2016 rice growing seasons

3 讨论

3.1 不同氮肥施用梯度对水稻产量和氮肥利用率的影响

本研究中,根据水稻种植栽培实际情况,设置了 3 种氮肥施用梯度,通过降低氮肥用量,同时通过综合集成优化田间施肥管理措施来实现保产增效(N270 处理),还设置一个比常规氮肥用量增加 25% 的处理(N375)用来对比分析,综合评估 3 种施肥梯度下通过氨挥发和反硝化损失的氮素量。根据两年的实验结果发现,与常规处理(N300)相比,减少氮肥施用量的

10%,水稻产量增加了 4.8% ~ 6.3%,实现了保产的目的,同时可显著提高氮素吸收利用率 31.8% ~ 33.1%(表 3),实现增效的目的,这与以前研究结论一致^[17,24]。通过栽培技术的集成和优化可以有效地提高作物产量和氮肥利用率^[4],本研究中通过增加 N270 处理水稻秧苗移栽密度至合理大小^[25],并且根据作物的养分需求在施肥总量不变的情况下增加一次施肥次数^[26],通过这两种措施实现了在氮肥用量减少的情况下水稻产量和氮肥利用率的提高。增加氮肥用量到 375 kg/hm^2 ,并配施有机肥、锌肥和硅肥,与常规处理相比,能实现产量和氮肥利用率的相对增加

(表 3), 但大量氮肥施用下, 通过氨挥发和反硝化损失的氮素总量也是最大的, 每年分别比 N300 处理排放量增加 9.4 kg/hm² 和 13.7 kg/hm², 大量氮肥的损失不仅造成土壤酸化、水体富营养化等一系列环境问题, 并且增加了农业生产成本^[27-30]。因此, N270 处理下化肥施用量及管理栽培模式是一种环境友好可持续农业生产模式。

3.2 不同氮肥施用梯度对反硝化速率影响

本次研究中, 反硝化速率与氨挥发通量随着氮肥施用量的增加而显著增加(图 6, $P < 0.01$), 这与以前的研究结果一致^[31]。氮肥的施入主要通过影响田面

水性质(NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, DOC, pH)来影响土壤反硝化。尿素施入稻田后进行迅速水解生产 NH₄⁺-N^[32], 它是硝化过程和氨挥发的底物。已有研究表明, 稻田土壤反硝化速率取决于硝化速率, 因为反硝化过程底物 NO₃⁻主要来源于硝化过程的产物, 硝化细菌反硝化可能是稻田氮素损失的主要途径^[33-34]。在本研究中, 从图 7 可知, 反硝化速率与田面水 NH₄⁺-N 浓度呈显著相关关系($P < 0.05$), 虽然也与田面水 NO₃⁻-N 浓度有很好的相关性, 但前者更优于后者。高梯度尿素的施入, 增加了田面水中尿素水解产物 NH₄⁺-N 浓度, 从而促进了氨挥发排放和反硝化速率^[21,35]。从图 3 反

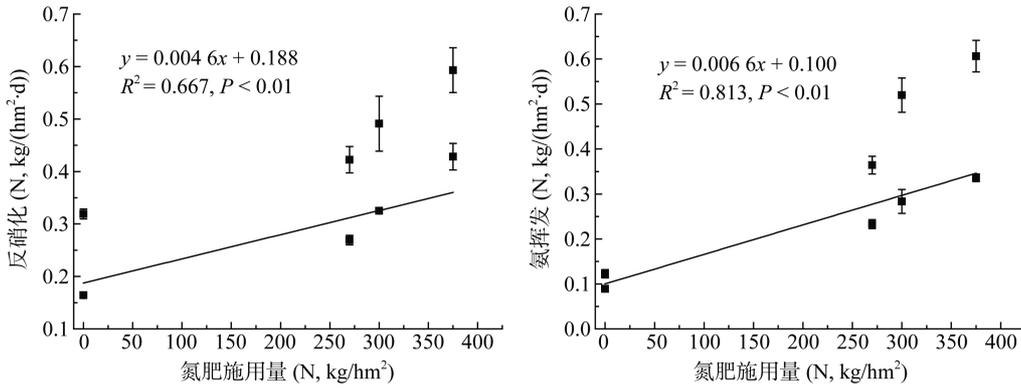


图 6 氮肥施用梯度与反硝化速率及氨挥发关系

Fig. 6 Correlation between N application amount with denitrification rate and ammonia volatilization

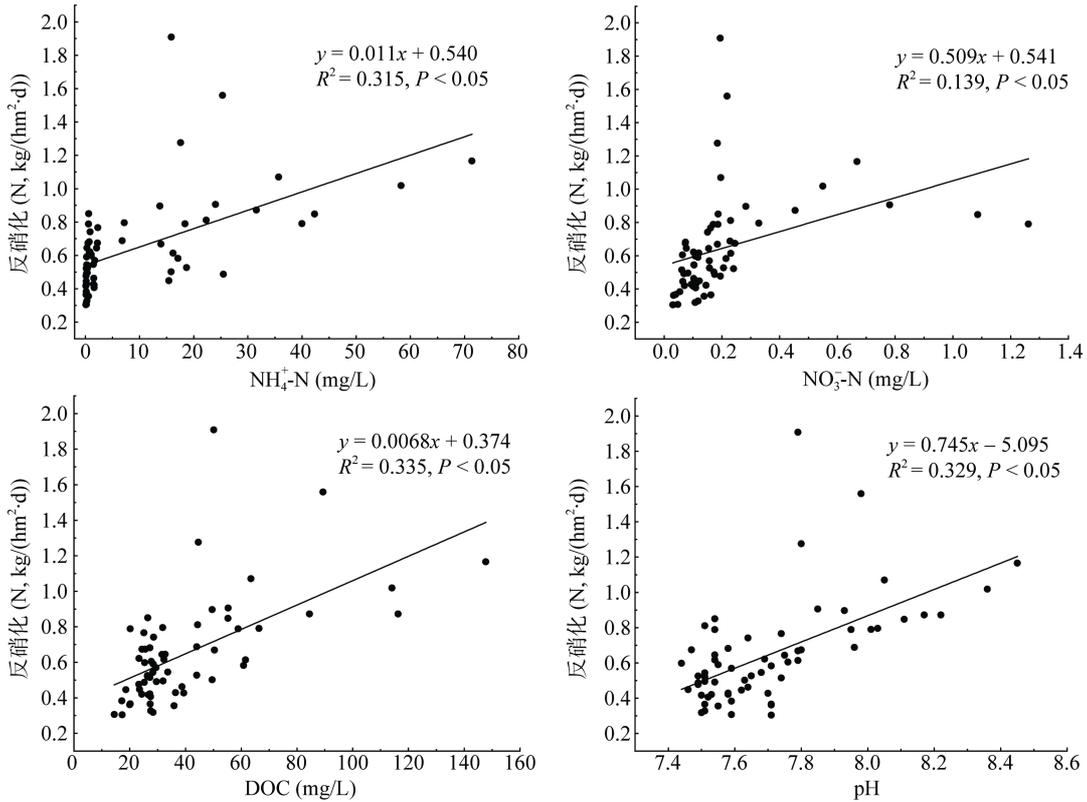


图 7 反硝化速率与田面水相关分析

Fig. 7 Correlation between chemical properties of surface water and denitrification rate

硝化速率日变化和图 4 氨挥发排放通量日变化可知,反硝化和氨挥发呈现“trade-off”关系,施入稻田中的尿素氮首先以氨挥发的形式损失掉,其次再以反硝化形式损失掉,这与田间试验观测的结果一致(图 3,图 4),氨挥发的峰值在尿素氮施入的第一天就出现峰值,而反硝化峰值一般比氨挥发峰值晚一天出现。高梯度氮肥的施入不仅增加了田面水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度^[23],同时也提高了田面水的 pH^[31]。高的田面水 pH 不仅有利于氨挥发^[35],同时也有利于反硝化(图 7)。已有研究表明,田面水的 pH 可能是水田厌氧条件下反硝化作用增强的主要因素^[36]。高浓度氮肥施入增加了田面水 pH,刺激了反硝化酶活性,从而增加了反硝化脱氮速率^[37]。在本研究中,田面水的 DOC 含量也显著影响反硝化速率(图 7, $P < 0.05$),与以前研究结果一致^[38],DOC 在氧化过程中可作为反硝化细菌的电子供体,从而有利于反硝化过程^[39]。总之,与 N_0 相比,施用氮肥能明显提高稻田土壤反硝化速率,增加反硝化过程中的氮素损失(表 3,图 5),而随着氮肥施用梯度的增加,反硝化速率也呈现增加趋势(图 6)。

3.3 不同施肥时期对反硝化速率影响

在本次研究中,施肥的时间点与水稻生长的物候期相一致。从图 3 可知,除 2015 年拔节肥施用外,反硝化速率最高值出现在基肥施用后的移栽期,因为基肥的施用量至少占总施肥量的 50%(表 1),大量氮肥施用导致了反硝化速率和氨挥发通量都高于其他水稻生长期,并且在此阶段水稻秧苗还处于比较小的生长阶段,对氮素吸取能力较弱,因而在一定程度上加剧了氮素损失。与 2016 年烤田过后拔节肥施用后相比,2015 年此时期的平均空气温度 > 30 (图 1),高的温度可能促使即使在氮肥用量不高的情况下出现高的反硝化速率(图 3)。水稻分蘖期施肥量最少,占总施氮量的 10%,而呈现相对比较高的反硝化速率,这可能是由于基肥施用时间间隔较短,大量氮素还存在土壤中,进而影响此时期土壤反硝化速率。除 N_{300} 处理外,拔节肥和穗肥施用的氮肥量一致,占总施肥量的 20%,而这两个施肥时期的反硝化和氨挥发呈现两种不同的结果,拔节期的反硝化大于促花期的,而氨挥发呈现相反现象,促花期的氨挥发大于拔节期的(图 4),这可能与促花期水稻根系生物量增加,其根系会分泌一种生物硝化抑制剂,抑制硝化过程,减少了反硝化底物 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,从而抑制了反硝化速率,增加了田面水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度,促进了氨挥发排放^[40]。

4 结论

1)氨挥发和反硝化是稻田土壤氮素损失的两个重要过程。由于两者过程原理不同,氮肥施用后,首先以氨挥发损失,然后再以反硝化损失为主。

2)反硝化和氨挥发速率随氮肥施用量增加而增加,氮肥通过影响田面水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DOC 含量和 pH 来作用于反硝化。

3)在综合集约优化的田间管理措施下,降低氮肥的施用量不仅能保持产量增加,并且还能降低反硝化和氨挥发氮素损失量,增加稻田氮肥利用率,实现增产增效的目的。

参考文献：

- [1] Frolking S, Qiu J, Boles S, et al. Combining remote sensing and ground census data to develop new maps of the distribution of rice agriculture in China[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16 (4) : 1091
- [2] Chen G Q, Zhang B. Greenhouse gas emissions in China 2007: Inventory and input-output analysis[J]. *Energy Policy*, 2010, 38(10): 6180-6193
- [3] 彭少兵, 黄见良, 钟旭华, 等. 提高中国稻田氮肥利用率的研究策略[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(9): 1095-1103
- [4] Chen X, Cui Z, Fan M, et al. Producing more grain with lower environmental costs[J]. *Nature*, 2014, 514(7523): 486-489
- [5] Xia L L, Xia Y Q, Ma S T, et al. Greenhouse gas emissions and reactive nitrogen releases from rice production with simultaneous incorporation of wheat straw and nitrogen fertilizer[J]. *Biogeosciences*, 2016, 13(15): 4569-4579
- [6] Xing G X, Zhu Z L. An assessment of N loss from agricultural fields to the environment in China[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2000, 57(1): 67-73
- [7] Verhoeven J T, Arheimer B, Yin C, et al. Regional and global concerns over wetlands and water quality[J]. *Trends in ecology and evolution*, 2006, 21(2): 96-103
- [8] Groffman P M, Altabet M A, Böhlke J, et al. Methods for measuring denitrification: Diverse approaches to a difficult problem[J]. *Ecological Applications*, 2006, 16(6): 2091-2122
- [9] Berg P, Klemedtsson L, Rosswall T. Inhibitory effect of low partial pressures of acetylene on nitrification[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(3): 301-303
- [10] Wrage N, Lauf J, Prado A, et al. Distinguishing sources of N_2O in European grasslands by stable isotope analysis[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18(11): 1201-1207

- [11] Yang W H, Silve W L. Application of the N₂/Ar technique to measuring soil atmosphere N₂ fluxes[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, 26(4): 449–459
- [12] 陈能汪, 吴杰忠, 段恒轶, 等. N₂: Ar 法直接测定水体反硝化产物溶解 N₂[J]. *环境科学学报*, 2010, 30(12): 2479–2483
- [13] Zhang W, Dou Z, He P, et al. New technologies reduce greenhouse gas emissions from nitrogenous fertilizer in China[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(21): 8375–8380
- [14] 刘立军, 徐伟, 桑大志, 等. 实地氮肥管理提高水稻氮肥利用效率[J]. *作物学报*, 2006, 32(7): 987–994
- [15] 凌启鸿, 张洪程, 戴其根, 等. 水稻精确定量施氮研究[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(12): 2457–2467
- [16] 陈贵, 施卫明, 赵国华, 等. 太湖地区主栽高产水稻品种对土壤和肥料氮的利用特性研究[J]. *土壤*, 2016, 48(2): 241–247
- [17] Zhang X, Xu X, Liu Y, et al. Global warming potential and greenhouse gas intensity in rice agriculture driven by high yields and nitrogen use efficiency[J]. *Biogeosciences*, 2016, 13(9): 2701–2714
- [18] 李晓波, 夏永秋, 郎漫, 等. N₂: Ar 法直接测定淹水环境反硝化产物 N₂ 的产生速率[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(6): 1284–1288
- [19] Kana T M, Darkangelo C, Hunt M D, et al. Membrane inlet mass spectrometer for rapid high-precision determination of N₂, O₂, and Ar in environmental water samples[J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66(23): 4166–4170
- [20] Weiss R F. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater[J]. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 1970, 17(4): 721–735
- [21] Tian G, Gao J, Cai Z, et al. Ammonia volatilization from winter wheat field top-dressed with urea[J]. *Pedosphere*, 1998, 8(4): 331–336
- [22] Zhao M, Tian Y, Ma Y, et al. Mitigating gaseous nitrogen emissions intensity from a Chinese rice cropping system through an improved management practice aimed to close the yield gap[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2015, 203: 36–45
- [23] 赵淼, 田玉华, 张敏, 等. 改善农学管理措施减少太湖稻麦轮作 NH₃ 和 NO 排放[J]. *土壤*, 2015, 47(5): 836–841
- [24] 薛亚光, 王康君, 颜晓元, 等. 不同栽培模式对杂交粳稻常优 3 号产量及养分吸收利用效率的影响[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(23): 4781–4792
- [25] 吴春赞, 叶定池, 林华, 等. 不同叶龄移栽对水稻产量及品质的影响[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(3): 172–173
- [26] 刘立军, 薛亚光, 孙小淋, 等. 水分管理方式对水稻产量和氮肥利用率的影响[J]. *中国水稻科学*, 2009, 23(3): 282–288
- [27] 宋大平, 陈巍, 高彦征. 淮河流域氮肥农药施用的合理性及其环境影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(6): 1144–1151
- [28] 薛利红, 俞映惊, 杨林章. 太湖流域稻田不同氮肥管理模式下的氮素平衡特征及环境效应评价[J]. *环境科学*, 2011, 32(4): 1133–1138
- [29] 刘兆辉, 薄录吉, 李彦, 等. 氮肥减量施用技术及其对作物产量和生态环境的影响综述[J]. *中国土壤与肥料*, 2016(4): 1–8
- [30] 王敬, 程谊, 蔡祖聪, 等. 长期施肥对农田土壤氮素关键转化过程的影响[J]. *土壤学报*, 2016, 53(2): 292–304
- [31] 田光明, 蔡祖聪, 曹金留, 等. 镇江丘陵区稻田化肥氮的氨挥发及其影响因素[J]. *土壤学报*, 2001, 38(3): 324–332
- [32] Stevens R J, Laughlin R J, Kilpatrick D J. Soil properties related to the dynamics of ammonia volatilization from urea applied to the surface of acidic soils[J]. *Fertilizer Research*, 1989, 20(1): 1–9
- [33] Zhou S, Sakiyama Y, Riya S, et al. Assessing nitrification and denitrification in a paddy soil with different water dynamics and applied liquid cattle waste using the ¹⁵N isotopic technique[J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 430: 93–100
- [34] Ishii S, Ikeda S, Minamisawa K, et al. Nitrogen cycling in rice paddy environments: Past achievements and future challenges[J]. *Microbes and Environments*, 2011, 26(4): 282–292
- [35] Whitehead D C, Raistrick N. Effects of some environmental factors on ammonia volatilization from simulated livestock urine applied to soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 11(4): 279–284
- [36] Peterjohn W T. Denitrification: Enzyme content and activity in desert soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1991, 23(9): 845–855
- [37] Xu H, Wang X, Li H, et al. Biochar impacts soil microbial community composition and nitrogen cycling in an acidic soil planted with rape[J]. *Environmental Science and Technology*, 2014, 48(16): 9391–9399
- [38] Shan J, Zhao X, Sheng R, et al. Dissimilatory nitrate reduction processes in typical Chinese paddy soils: Rates, relative contributions, and influencing factors[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(18): 9972–9980
- [39] Cayuela M L, Sánchez-Monedero M A, Roig A, et al. Biochar and denitrification in soils: When, how much and why does biochar reduce N₂O emissions[J]? *Scientific Reports*, 2013, 3: 1732
- [40] Subbarao G V, Yoshihashi T, Worthington M, et al. Suppression of soil nitrification by plants[J]. *Plant Science*, 2015, 233: 155–164

Quantitative Determination of N Loss Through Denitrification Under Different N Fertilizer Application Rates by Membrane Inlet Mass Spectrometry (MIMS)

WANG Shuwei^{1,2,3}, YAN Xiaoyuan^{1,3*}, SHAN Jun^{1,3}, XIA Yongqiu^{1,3}, TANG Quan^{1,2,3}, LIN Jinghui^{1,3}

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*; 2 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*; 3 *Changshu Agro-ecological Experimental Station, Chinese Academy of Sciences, Changshu, Jiangsu 215555, China*)

Abstract: In this study, using membrane inlet mass spectrometry (MIMS), the impacts of different rates of N fertilizer application on denitrification, as well as ammonia (NH₃) volatilization, were investigated over two rice-growing seasons in the Taihu Lake region of China. In N300 treatment, N loss through denitrification and NH₃ volatilization were 54.8 kg/hm² and 54.0 kg/hm² per year, respectively, and were 18.3% and 18.0% of N fertilizer application, respectively. The amount of N loss through denitrification and NH₃ volatilization were increased as the N fertilizer application increasing, and were significantly affected by NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, DOC and pH of surface water. In N270 treatment, compared with N300, the rate of N fertilizer application was reduced by 10%, but the rice yield approximately increased by 5.5%, N losses through denitrification and NH₃ volatilization were decreased by 1.1% and 3.1%, respectively, and agronomic nitrogen efficiency (NUE) was increased by 5.5%. In N375 treatment, compared with N300, NUE was increased due to increased grain yield, but the amount of N losses through NH₃ volatilization and denitrification was also the largest. Thus, the aim to reduce N fertilizer application and increase rice yield and NUE could be achieved through integrated soil-crop system management (ISSM).

Key words: Denitrification; Membrane inlet mass spectrometry (MIMS); N₂/Ar technique; NH₃ volatilization; Agronomic nitrogen efficiency