

## 较高浓度乙炔对秸秆还田土壤硝化作用的抑制

李贵桐\*<sup>1</sup> 李保国<sup>1</sup> 黄元仿<sup>1</sup> 陈德立<sup>2</sup>

(1 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100094)

(2 澳大利亚墨尔本大学土地和食品学院)

**摘要** 本研究探讨较高浓度乙炔对秸秆还田土壤硝化作用的抑制效果。在室内条件下, 2% 乙炔加入到施用尿素的土壤后好气培养 108 h, 其间测定 CO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub>O 释放量, 培养结束后测定土壤无机 N。在田间条件下, 2% 乙炔加入到不同含水量和矿化速率的原状土柱中, 培养 7 d 后测定土柱中无机 N 的变化量。结果表明, 室内条件下, 2% 乙炔可以完全抑制土壤的硝化作用, 对土壤有机 N 矿化作用的抑制作用为 19.2%, 并对土壤异养微生物的呼吸具有抑制作用。

**关键词** 乙炔; 硝化作用; 抑制效果

**中图分类号** S154.2

## Nitrification Inhibition by High Concentration Acetylene in Straw-amended Soil

Li Guitong<sup>1</sup> Li Baoguo<sup>1</sup> Huang Yuanfang<sup>1</sup> Chen Deli<sup>2</sup>

(1 College of Natural Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

(2 Institute of Land and Food Resources, University of Melbourne, Australia)

**Abstract** The aim of the study is to evaluate the inhibitory effect of higher concentration acetylene on soil nitrification under straw-amendment. In laboratory, the soil was added with 2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> and urea and incubated under aerobic condition for 108 h. CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O were measured periodically and soil inorganic N was analyzed at the end of incubation. In field, two percent of C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> was added into intact soil cores different in moisture and N mineralization rate. Change in soil inorganic N content of each soil core was determined after 7 d incubation. Under laboratory conditions, 2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> can completely inhibit soil nitrification. Also, 2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> can inhibit the mineralization of the soil organic nitrogen by 19.2% and the respiration of soil heterotrophic microorganisms to a great extent. Under field conditions, however, the effect of 2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> to inhibit nitrification of straw-amended soil could not be quantified in this study. The reasons for that un-success might be the large variability of soil moisture and the poor consistence between compared the soil core and the treated soil core at the beginning of each incubation. The importance of heterotrophic nitrification in straw-amended soil should be concerned.

**Key words** acetylene; nitrification; inhibition

收稿日期: 2001-10-22

国家重点基础研究发展规划资助项目(G1999011709), 中澳合作资助项目(ACIAR, LWR1/96/164)

\* 李贵桐, 博士, 研究方向为土壤生物学和农田养分循环。北京圆明园西路 2 号

土壤中各种来源的铵离子( $\text{NH}_4^+$ )经硝化作用转化为硝酸根( $\text{NO}_3^-$ ),增加了土壤氮(N)素的移动性,因此硝化作用处于土壤中N素流动、损失和被利用的中心环节<sup>[1]</sup>。深入理解土壤硝化作用发生的机理,对于提高N肥利用率和降低施用N肥对环境的不良影响(如温室效应、地表水富营养化、地下水 $\text{NO}_3^-$ 污染等)具有重要意义。尽管人们对土壤硝化作用进行了很多个例研究,但从整体上讲,人们对硝化作用的了解还远远不够<sup>[1, 2]</sup>。

低浓度(0.1~10 Pa)(相当于体积分数 $10^{-7}$ ~ $10^{-5}$ )的乙炔( $\text{C}_2\text{H}_2$ )可以抑制硝化作用而不抑制反硝化作用中 $\text{N}_2\text{O}$ 的还原,高浓度(>1 kPa)(相当于体积分数 $1 \times 10^{-3}$ )的 $\text{C}_2\text{H}_2$ 则可抑制 $\text{N}_2\text{O}$ 还原为 $\text{N}_2$ 的过程<sup>[3]</sup>。乙炔抑制法与田间原位培养法相结合,可以测定田间条件下土壤的硝化作用和反硝化作用<sup>[4, 5]</sup>。然而在室内或田间试验中,土壤的操作单元往往在0.1 kg以下,培养的体积也只有1~2 L,此时若加入0.1~10 Pa的 $\text{C}_2\text{H}_2$ ,则加入的体积过小,在常规条件下较难实现。同时,培养过程中土壤微生物对 $\text{C}_2\text{H}_2$ 的消耗会导致 $\text{C}_2\text{H}_2$ 浓度不断下降,以至于不能完全抑制土壤硝化作用<sup>[6, 7]</sup>。因此,本研究通过室内试验和田间试验,探讨较高浓度 $\text{C}_2\text{H}_2$ 对土壤硝化作用的抑制效果。

## 1 材料与方 法

### 1.1 田间试验

试验布置在中国农业大学河北省曲周实验站冬小麦夏玉米试验田内,于2000-03—06进行。试验开始前,试验田已经进行了2次玉米秸秆翻埋(1998-10和1999-10)和1次冬小麦秸秆覆盖(1999-06),每次秸秆还田量见表1。试验地表层土壤基本性质见表2。

试验开始后,在600 m<sup>2</sup>处理区内,每次采样时,随机确定10个位点,在每一位点上,用特制钢钻(内径3.2 cm)依次并排取2个土柱(每个长15 cm)。一个土柱作为对照进行水分和无机N( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ )测定,另一土柱放入一塑料袋(最大容积600 mL)中,封口后,用带三通的20 mL注射器,从 $\text{C}_2\text{H}_2$ 气袋中取12 mL气体(体积分数,2%)注入其中,然后换用100 mL注射器注入空气,直至塑料袋内空气体积为600 mL,用透明胶布封住针眼。将塑料袋放回表层土壤(15 cm深),用土覆盖。7 d后取出测定水分和无机N。

在实验室内,将新鲜土壤过1 mm筛(土壤较湿时用2 mm筛),挑去筛下土壤中可见根系和秸秆残体,用烘干法测定土壤含水量。按液土比1:4用1.0 mol/L KCl浸提土壤无机N,振荡1 h(200 r/min),滤液冰冻存放。滤液中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 用自动连续流动分析仪(TRAACS2000)测定,其中 $\text{NH}_4^+$ 用水杨酸比色法测定, $\text{NO}_3^-$ 用磺胺比色法测定。土壤无机N为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 之总和。

表1 田间试验的秸秆还田情况

日期	秸秆还田量/ (t·hm <sup>-2</sup> )	秸秆含N量/ (kg·hm <sup>-2</sup> )
1998-10	8.95	40.5
1999-06	8.20	63.0
1999-10	8.55	37.9

表2 试验地0~20 cm土壤表层基本性质

项目	数值
土壤容重/(g·cm <sup>-3</sup> )	1.40
砂粒/(g·kg <sup>-1</sup> )	113.7
粘粒/(g·kg <sup>-1</sup> )	146.8
土壤有机质/(g·kg <sup>-1</sup> )	9.70
土壤全氮/(g·kg <sup>-1</sup> )	0.67
土壤全磷/(g·kg <sup>-1</sup> )	7.09
有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> )	11.5
pH	7.8
电导率/(mS·cm <sup>-1</sup> )	0.16

土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的数据,符合对数正态分布对其进行统计分析,最终结果为10次重复的平均值。不同时段土壤硝化作用的强度,依据下式计算:

$$\text{硝化作用强度} = \text{培养时段内NO}_3^-\text{-N 增长量/时段长}$$

## 1.2 室内试验

2000-07-19 施肥(表面撒施尿素(N)  $148 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ )后,从田间多点取0~5 cm 表层土壤,在实验室内过筛,充分混匀后,用于室内培养试验。该土壤含水量为19.6%, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度为  $114.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度为  $69.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

培养试验设2个处理,分别为不加 $\text{C}_2\text{H}_2$ 处理(CK)和加2%  $\text{C}_2\text{H}_2$ 处理,每个处理各设3个重复。即在6个容积为1300 mL 的玻璃广口瓶中,分别放入100 g 湿土,并用塑料薄膜和橡皮筋封口,其中3个注入26 mL  $\text{C}_2\text{H}_2$ 气并摇匀。6个广口瓶一同在25℃下避光培养。分别在36,72和108 h 时用注射器取其中气体,用气相色谱测定 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ 浓度,计算释放量。每次取气后,打开封口,使瓶内空气迅速与周围空气平衡,再封口和注 $\text{C}_2\text{H}_2$ 气。每次均采集周围空气,同样测定 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ 作为本底值,在计算时扣除。

气体样品处理步骤:向已抽真空的气袋中注入50 mL 5%的氩甲烷,从中抽出10 mL 测量本底浓度,再向气袋中注入3 mL 采集样品,充分混合均匀,采集稀释后的样品进行平行分析,并计算结果。

$\text{N}_2\text{O}$ 分析条件:柱箱温度50℃;FD温度200℃;ECD温度380℃;转化器温度375℃。

培养108 h后,将6个广口瓶中土壤分别无损地转入1个250 mL 三角瓶中,同上方法测定无机N。

## 2 结果与分析

### 2.1 室内培养试验

**2.1.1  $\text{C}_2\text{H}_2$  气的抑制效果** 在室内试验中,2%  $\text{C}_2\text{H}_2$ 抑制土壤硝化作用的效果非常理想。加入2%  $\text{C}_2\text{H}_2$ 培养108 h后,土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的数量基本上没有变化,表明土壤中硝化作用基本上被 $\text{C}_2\text{H}_2$ 抑制了;而不加 $\text{C}_2\text{H}_2$ 时(CK),土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的数量大幅度下降, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 数量大幅度增加(图1),表明硝化作用很明显。经计算,硝化作用强度达到  $0.85 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

$\text{C}_2\text{H}_2$ 气的存在,还对土壤有机N的矿化作用具有抑制效果。在图1中,对照土壤培养

108 h后,土壤无机N总量(图1中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 之和)为  $219 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,比培养开始时的  $184 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 增加了19.2%,土壤有机N发生了明显的净矿化作用;而加入 $\text{C}_2\text{H}_2$ 培养108 h后,土壤无机N总量与培养前基本一致,表明土壤有机N没有发生显著的净矿化作用。

**2.1.2  $\text{C}_2\text{H}_2$  对土壤 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ 释放的影响** 加入2%  $\text{C}_2\text{H}_2$ 后,土壤微生物的呼吸作用受到抑制,在前72 h内 $\text{CO}_2$ 释放量明显小于不加 $\text{C}_2\text{H}_2$ 的土壤(图2)。在108 h内, $\text{CO}_2\text{-C}$ 释放

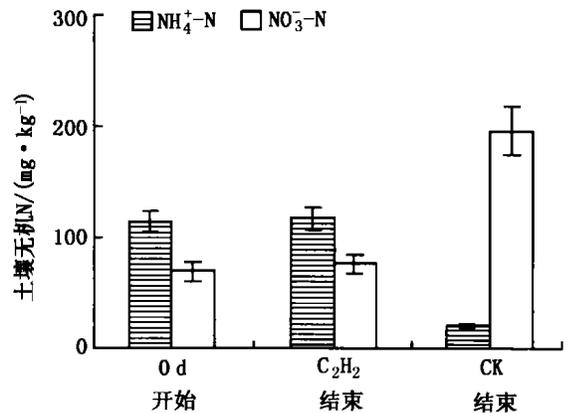


图1 室内培养过程土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的变化

量为  $47.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 比CK的  $90.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  减少了约50%。培养的108 h内, 土壤呼吸始终较低, 说明土壤微生物还不能适应  $\text{C}_2\text{H}_2$  的存在。在对照土壤中,  $\text{CO}_2$  释放速率随培养的进行而逐渐下降, 这种情形同时说明土壤有机质发生了矿化作用。根据  $\text{CO}_2\text{-C}$  释放量 ( $90.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和无机N净增加量 ( $35.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 计算, 这部分有机质的C/N为2.57, 明显低于土壤有机质一般值的范围10~15, 而与土壤微生物的C/N比(3~5)接近<sup>[8]</sup>, 说明这部分有机物质很有可能是土壤微生物的死亡组织。

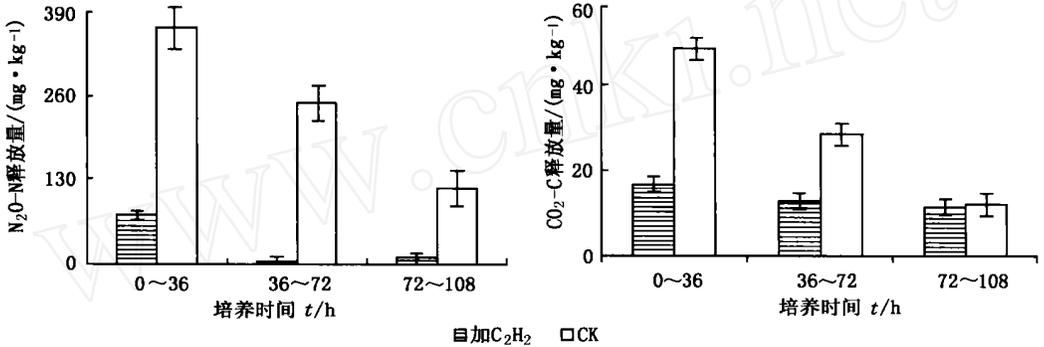


图2 室内培养过程中土壤N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>释放的影响

在本试验条件下, 对照土壤在108 h内N<sub>2</sub>O-N的释放量为  $721.4 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 占同期硝化作用形成NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N量的0.37%。加入2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>气的土壤, 释放N<sub>2</sub>O的数量与CK相比极低, 在36 h后则基本检测不到(图2)。上述结果证明了硝化作用过程的确产生N<sub>2</sub>O。

2.2 田间实验

在田间条件下, 2% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>抑制土壤硝化作用的效果不十分明确。在冬小麦返青至成熟期间进行的10次测定中, 约有8次培养7 d后NO<sub>3</sub><sup>-</sup>平均含量具有增加的趋势(图3), 其中还有2次增加的幅度较大, 但这些增加量均未达到95%显著水平, 因此在试验中无法证实C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>的抑制效果。而含水量较高时(04-08和05-15), 由于反硝化作用消耗NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的原因, 培养后NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量明显降低, 对评价C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>抑制硝化作用效果产生的影响更大。

利用C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>抑制法测定原状土壤硝化作用的困难在于: 1) 无法得到同一原状土柱用于比较培养前后NH<sub>4</sub><sup>+</sup>和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量的变化。具体操作中, 尽管取样时2个土柱的空间位置是紧紧相邻的, 但从试验测定的精度来讲, 这种空间变异是不能忽略的, 实际测定中出现的培养后NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量异常

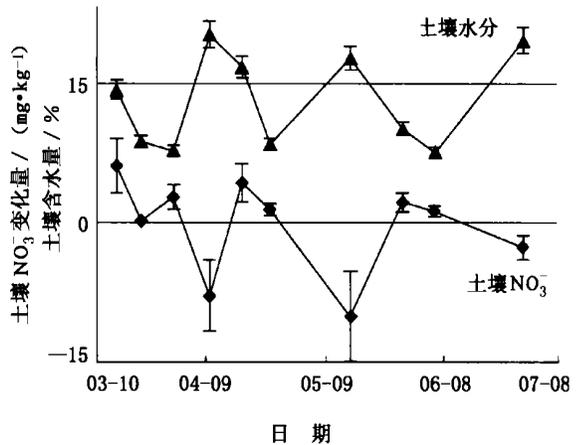


图3 田间条件下原状土柱培养7 d后土壤NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的变化情况和表层土壤含水量的变化情况

增加或降低的现象, 说明这种情况的确存在, 并影响到对试验效果的评价; 2) 培养时间短(7 d), 土壤N净矿化的绝对数量较小, 硝化作用的底物NH<sub>4</sub><sup>+</sup>的供应量小, 硝化作用绝对量较

小,而土壤无机N 数量相对较大,因此比较 $\text{NH}_4^+$ 和 $\text{NO}_3^-$ 含量的变化量较困难;3)田间情况下,土壤含水量变化范围较大, $\text{C}_2\text{H}_2$ 在原状土柱中的扩散情况不同,每个微区与 $\text{C}_2\text{H}_2$ 接触的情况有差异,因此抑制效果差别很大<sup>[9]</sup>。故本研究认为,在田间条件下,仅依据 $\text{NH}_4^+$ 或 $\text{NO}_3^-$ 的变化情况来评价原状土壤中硝化作用的进行情况,是很困难的,结果也是很不准确的。

### 3 讨 论

在本研究的室内培养试验中,加入 2%  $\text{C}_2\text{H}_2$  培养 108 h 过程中,土壤  $\text{CO}_2$  的释放速率稳定在较低水平,释放总量比对照减少约 50% (图 2);同时,培养前后无机N 总量也无变化,而同样条件下不加 $\text{C}_2\text{H}_2$ 的土壤无机N 却增加约 20% (图 1)。这 2 点相互一致的结果表明,2%  $\text{C}_2\text{H}_2$  对土壤微生物的呼吸作用具有抑制效果,这与前人的研究结果相矛盾<sup>[10, 11]</sup>。这种矛盾似乎并不是由于 $\text{C}_2\text{H}_2$ 浓度不同引起的,因为 Klemedtsson 等发现 1 Pa (体积分数约为  $1 \times 10^{-5}$ ) 和 10 kPa (体积分数约为  $1 \times 10^{-2}$ ) 的  $\text{C}_2\text{H}_2$  都可以刺激森林土壤有机C 的矿化<sup>[11]</sup>。对上述矛盾,我们认为可能与不同的土壤微生物类群对 $\text{C}_2\text{H}_2$ 的反应不同有关。

土壤硝化作用中产生的 $\text{N}_2\text{O}$ ,可能是旱地土壤N 素气态损失的主要途径。在旱地土壤中,形成厌氧环境的微区毕竟很少(2%)<sup>[12]</sup>,大部分时间也都处于有氧状况,因此土壤硝化作用普遍存在。虽然硝化作用中形成 $\text{N}_2\text{O}$ 的强度较小,但与数量因素相综合后的整体效应并不一定很小,因此可能成为N 素气态损失的主要途径。

本研究中,田间试验的结果不如室内试验的结果明确,除了 2.2 部分所述的原因之外,还可能与异养硝化作用有关<sup>[13]</sup>。另外,秸秆还田导致土壤中易利用性碳的数量很大(数据未列出),因而土壤异养微生物的数量和活性,特别是土壤低等真菌的数量和活性大大增加,发生异养硝化作用的可能随之大大增加<sup>[8, 14]</sup>,而 $\text{C}_2\text{H}_2$ 气是不抑制异养硝化作用的<sup>[15, 16]</sup>,故土壤中 $\text{NO}_3^-$ 含量会增加。本研究的田间试验中是否确实存在明显的异养硝化作用,有待深入研究。

### 4 结 论

在室内条件下,较高浓度(2%)  $\text{C}_2\text{H}_2$  可以有效抑制施肥后土壤的硝化作用,而对 $\text{N}_2\text{O}$ 的还原无抑制作用,可以用于区分土壤释放 $\text{N}_2\text{O}$ 来源的研究。同时,2%  $\text{C}_2\text{H}_2$  还对土壤 $\text{CO}_2$ 释放和有机N 矿化具有抑制作用。在田间条件下,2%  $\text{C}_2\text{H}_2$  对秸秆还田土壤硝化作用的抑制效果有待进一步明确,对秸秆还田土壤中异养硝化作用的研究应加强。所以利用乙炔抑制法研究土壤硝化作用时,应十分慎重。

### 参 考 文 献

- 1 Jarvis S C, Stockdale E A, Shepherd M A, et al Nitrogen mineralization in temperate agricultural soils: processes and measurement *Advances in Agronomy*, 1996, 57: 187~ 283
- 2 Prosser J. Nitrification. Oxford: IRL Press, 1986
- 3 Knowles R. Denitrification. *Microbiology Reviews*, 1982, 46: 43~ 70
- 4 Muller C, Sherlock R R, Williams P H. Field method to determine  $\text{N}_2\text{O}$  emission from nitrification and denitrification. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 28: 51~ 55
- 5 Mahmood T, Ali R, Azam F, et al Comparison of two versions of the acetylene inhibition soil core method for measuring denitrification loss from an irrigated wheat field. *Biology and Fertility of Soils*,

- 1999, 29: 328~ 331
- 6 Watanabe I, de Guzman M R. Effects of nitrate on acetylene disappearance from anaerobic soil. *Soil Biol Biochem*, 1980, 12: 193~ 194
- 7 Yeomans J C, Beauchamp E G. Acetylene as a possible substrate in the denitrification process. *Can J Microbiol*, 1982, 28: 334~ 340
- 8 Paul E A, Clark F E 著. 土壤微生物学与生物化学. 顾宗廉, 李振高, 林先贵, 等译. 北京: 科学技术文献出版社, 1993. 159
- 9 Haider K, Mosier A R, Heinemeyer O. Side effects of acetylene on the conversion of nitrate in soil. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd*, 1983, 146: 623~ 633
- 10 Klemetsson L, Sevansson B H, Rosswall T. A method of selective inhibition to distinguish between nitrification and denitrification as sources of nitrous oxide in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1988, 6: 112~ 119
- 11 李良谟. 土壤硝化作用研究概况. *土壤学进展*, 1984, 5: 1~ 10
- 12 Garrido F, Henault C, Gaillard H, et al. Inhibitory capacities of acetylene on nitrification in two agricultural soils. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32: 1799~ 1802
- 13 Parkin T B, Tiedje J M. Application of a core method to investigate the effect of oxygen concentration on denitrification. *Soil Biol Biochem*, 1984, 16: 331~ 334
- 14 Killham K. Heterotrophic nitrification. In: Prosser J I, Ed. *Nitrification*. Oxford: IRL Press, 1986, 117~ 126
- 15 Hynes R K, Knowles R. Effect of acetylene on autotrophic and heterotrophic nitrification. *Can J Microbiol*, 1982, 28: 334~ 340
- 16 Pedersen H, Dunkin K A, Firestone M K. The relative importance of autotrophic and heterotrophic nitrification in a conifer forest soil as measured by  $^{15}\text{N}$  tracer and pool dilution techniques. *Biogeochemistry*, 1999, 44: 135~ 1509

## 2001 年全国高校重点学科评选中国农大位居第八名

根据《教育部关于公布高等学校重点学科点名单的通知》(教研函[2001]2号)文件,在去年底结束的全国高等学校重点学科评选中,我校以入选 19 个重点学科的好成绩在全国高校中位居第八名。它们分别是:

植物学、微生物学\*、生物化学与分子生物学\*、农业机械化工程、农业电气化与自动化\*、农产品加工与贮藏工程、作物栽培与耕作学、作物遗传育种学\*、果树学\*、土壤学、植物营养学\*、植物病理学、农业昆虫与害虫防治、农药学、动物遗传育种与繁殖、动物营养与饲料科学\*、预防兽医学、基础兽医学、农业经济管理\*。( \* 原为农业部重点学科)。

此次评选出来的重点学科将成为国家“211 工程”第二期的重点支持对象。