

热带亚热带

土壤氮素反硝化及其环境效应

REDAI YAREDAI TURANG DANSU FANXIAOHUA
JIQI HUANJING XIAOYING

续勇波◎著



科学出版社

热带亚热带土壤氮素反硝化及其环境效应

续勇波 著

北 京

内 容 简 介

本书在综述国际上对土壤氮素反硝化,特别是全球热带亚热带土壤氮素反硝化研究现状的基础上,通过大样本调查采样,系统阐述了我国发育于不同成土母质和不同土地利用方式下的亚热带酸性红壤反硝化作用的特性、主要影响因素和影响机理。该研究成果具有较高的学术价值,对填补我国亚热带地区土壤反硝化的研究空白、丰富国际学术界氮素循环理论以及深化氮素基础研究具有重要的意义,也为氮素资源的有效开发、合理利用及其环境效应评价提供了理论依据和技术支持。

本书共分8章,内容包括土壤氮素反硝化研究概况、全球热带亚热带土壤氮素反硝化研究综述与展望、我国亚热带土壤氮素反硝化特性及其影响因素等,可供从事农学、生态学、环境科学等相关领域的科研、教学、管理和生产人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

热带亚热带土壤氮素反硝化及其环境效应/续勇波著. —北京:科学出版社, 2014.5

(农业环境污染治理研究系列丛书)

ISBN 978-7-03-040410-7

I. ①热… II. ①续… III. ①热带—土壤氮素—反硝化作用—研究
②亚热带—土壤氮素—反硝化作用—研究 IV. ①S153.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第072945号

责任编辑:杨 岭 刘 琳/责任校对:孙 艳

责任印制:余少力/封面设计:墨创文化

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

成都创新包装印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014年5月第 一 版 开本:B5 700×1000

2014年5月第一次印刷 印张:8.75

字数:175千字

定价:49.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

土壤反硝化作用是氮素生物地球化学循环的重要环节，是平衡生物固氮输入通量的主要途径和机制。然而，反硝化作用也是土壤和肥料氮素损失和温室气体 N_2O 产生的主要途径之一。因此，反硝化过程已经成为国内外土壤学家和环境学家研究的热点领域之一。对反硝化的深入认识有助于我们量化氮素周转，预测农田生态系统氮肥去向，制定合理施肥措施，以及评价反硝化过程产生的气态氮氧化物对全球变暖和臭氧层破坏的影响。

我国亚热带土壤占全国国土面积的 11.8%，其中湿润亚热带耕地面积约占我国耕地面积的 37%，在我国农业生产上占有重要地位。亚热带高温多雨的成土环境使得土壤具有一些特殊的理化性质，形成了亚热带土壤的特点。反硝化作用受土壤理化性质的深刻影响，这些土壤理化特点必将导致亚热带土壤反硝化特性有别于温带地区土壤反硝化特性。然而，在这样的气候环境和土壤背景条件下，加之人为土地利用和耕作管理措施，亚热带土壤氮素反硝化作用具有怎样的特点、影响因素和作用机理，其所具有的生态环境意义如何尚不十分清楚。

目前国内关于反硝化研究的专著主要针对污水废水处理中的反硝化脱氮工艺的研究，尚无针对土壤氮素反硝化，特别是我国亚热带地区土壤氮素反硝化的研究。国外尽管有若干此类专著，不仅出版年代较早（20 世纪 80~90 年代初），且绝大部分研究工作仅局限于欧美等温带国家。世界土壤的 51% 位于热带和亚热带，而针对该地区土壤的研究仅占很少部分，其中全世界亚热带地区反硝化研究占不到 20%，而针对诸如像我国夏季湿润型亚热带地区土壤反硝化的系统研究尚属空白。亚热带地区土壤所具有的特殊理化性质必然导致亚热带土壤反硝化特性有别于温带地区，温带地区有关反硝化的研究成果不能完全适用于亚热带地区的情况，因此有必要开展热带亚热带地区土壤反硝化的专门的、系统的研究。

本书利用亚热带地区丰富多样的成土母质和在多种利用方式下所提供的研究材料，通过大样本调查采样，系统深入地研究了亚热带土壤反硝化特性，明确了主要影响因素以及不同母质和利用方式对反硝化作用的影响机理。本书的研究成果对于认识土壤氮素转化规律、合理施用氮肥、评估氮肥的环境效应等具有重要

的意义。

本书得到了国家自然科学基金项目（40471965、31101605、31260503）的资助及其他许多单位和个人的帮助，在此致以衷心感谢。

由于作者知识水平有限，书中难免有不妥和错误之处，敬请读者批评指正。

续勇波

2014 年 1 月

目 录

绪论	1
第 1 章 土壤氮素反硝化研究概况	4
1.1 土壤反硝化作用概述	4
1.2 影响土壤反硝化作用的因素	5
1.3 反硝化作用的定量研究方法	12
1.4 农田土壤氮素反硝化损失	14
1.5 反硝化作用的产物及其影响因素	15
1.6 反硝化和 CH_4 的关系	21
1.7 亚铁和反硝化的关系	24
第 2 章 全球热带亚热带土壤氮素反硝化研究综述与展望	27
2.1 研究热带亚热带土壤氮素反硝化的意义	27
2.2 热带亚热带土壤氮素反硝化的一般特性	28
2.3 热带亚热带土壤反硝化的主要影响因素	29
2.4 热带亚热带土壤反硝化的环境效应	33
2.5 热带亚热带地区土壤防止反硝化氮损失的策略	36
2.6 热带亚热带土壤反硝化研究现状与展望	39
第 3 章 我国亚热带土壤氮素反硝化特性及其影响因素	41
3.1 概述	41
3.2 材料和方法	42
3.3 结果与分析	46
3.4 讨论	56
3.5 本章小结	60
第 4 章 我国亚热带土壤氮素反硝化过程中 NO_2 的排放与还原	61
4.1 研究反硝化过程中 N_2O 排放和还原的方法	61
4.2 材料和方法	63
4.3 结果与分析	64

4.4	讨论	68
4.5	本章小结	71
第5章	关于我国亚热带土壤氮素反硝化培养	72
5.1	亚铁参与反硝化的可能性	72
5.2	亚热带土壤反硝化的产物问题	76
5.3	本章小结	82
第6章	我国亚热带土壤反硝化与 CH₄ 排放的关系	83
6.1	概述	83
6.2	材料和方法	84
6.3	结果与分析	84
6.4	讨论	89
6.5	本章小结	91
第7章	土样制备和保存方法对反硝化的影响	92
7.1	概述	92
7.2	材料和方法	92
7.3	结果和分析	93
7.4	讨论	97
7.5	本章小结	97
第8章	我国亚热带土壤氮素反硝化研究总结与展望	99
8.1	反硝化培养试验研究总结	99
8.2	我国亚热带土壤氮素反硝化研究主要结论	101
8.3	我国亚热带土壤氮素反硝化研究总结	104
8.4	本书的创新点	106
8.5	研究设想和展望	106
参考文献		108
索引		133

绪 论

尽管大气含氮量高达 78%，但是作物生产在很大程度上仍受限于土壤有效氮的供应，氮肥的投入是增加作物产量的重要因素。到 2009 年全球化肥施用量已经超过 164Mt（百万吨）（Zhang et al., 2012a），目前我国氮肥的生产、进口和施用总量均居世界前列。据报道，在过去的 20 年间（1990~2009 年），我国氮肥生产量和消费量分别占全球的 61% 和 52%（Zhang et al., 2012b）。2010 年我国氮肥年生产量已高达 37.1Mt（其中 28.1Mt 用于农业生产），占全球氮肥总产量的 30% 以上。然而氮肥利用率低是我国农业生产中一个日益突出的问题。近年来的研究资料表明，我国主要农作物的氮肥利用率平均只有 35% 左右。氮肥利用率不高，进一步加剧了氮素的直接损失。此外，每年由于人类活动造成的陆地固氮量约占总固氮量的 60%（Vitousek et al., 1997），如此高的氮输入造成森林生态系统氮饱和和水生生态系统的富营养化，加速了生物多样性的丧失（Vitousek et al., 1997）。

土壤反硝化作用是氮素生物地球化学循环的重要环节。反硝化作用是使含氮氧化物最终以 N_2 形态离开土壤、水体等内部生物循环回到大气的主要过程，这是平衡生物固氮输入通量的主要途径和机理（Murray and Knowles, 2003），是实现完整氮素循环不可缺少的重要环节。从生态学意义讲，反硝化过程可以看作是防止系统失稳的一种自平衡机理。从环境保护的角度考虑，反硝化通过移除水体中 $NO_3^- - N$ 或其他氮氧化物，对于调节水体质量具有重要作用。

然而，反硝化作用也是氮素损失最主要的途径之一，全球总输入氮量中有 52%~100% 通过反硝化作用进入再循环（Aulakh et al., 1992; Tiedje, 1988; FAO, 1986），而氮肥的反硝化损失则在 $0 \sim 100 kg N/hm^2$ 之间（Aulakh, 1986），占施入氮肥量的 12%~30%（Allison, 1955; Hauck, 1981）。由于反硝化极大的时空变异性，全球氮素反硝化年损失量为 83Tg/a（Stevenson, 1982）到 390 Tg/a（Hauck and Tanji, 1982）。

反硝化也是产生温室气体 N_2O 的主要途径之一。土壤硝化、反硝化过程释放的 N_2O 是全球 N_2O 的主要来源，约占生物圈释放到大气中 N_2O 总量的 90%。

每年全球土壤排放的 N_2O 为 $(9.5 \pm 4.5) \text{ Tg N}$, 约占土壤圈全部排放量的 65%。全球自然陆地生态系统和农业生态系统 N_2O 的排放量分别是 $9.7 \sim 12.0 \text{ Tg N/a}$ 和 $2.3 \sim 3.7 \text{ Tg N/a}$ (Bouwman, 1990a)。 N_2O 是重要的温室气体, 大气中 N_2O 浓度正以每年 0.25% 的速率上升 (Bouwman, 1990b)。目前空气中 N_2O 产生的温室效应约相当于人类活动带来温室效应的 5% (Watson et al., 1992)。每分子 N_2O 使全球变暖的潜力大约是每分子 CO_2 的 296 倍 (Robertson, 1993), 它在大气中可存留 120 年, 它的温室效应对于全球气候变化有着很大的影响。另外, N_2O 还参与大气中许多光化学反应, 破坏大气臭氧层 (Delgado and Mosier, 1996), 从而增加紫外线到地球表面的辐射量, 对地球生命产生多方面的伤害。

反硝化过程具有平衡氮通量、导致土壤和肥料氮素损失, 以及氮氧化物污染环境的多重意义, 因此, 反硝化过程已经成为国内外土壤学家和环境学家研究的热点领域之一。如何在维持正常生态平衡的基础上减少氮损失和温室气体排放, 对于环境健康维护、社会经济发展至关重要, 这些方面的研究也引起越来越多的国家的科学家、政府部分乃至普通民众的关注。对反硝化的深入认识有助于我们量化氮素周转、预测农田生态系统氮肥去向 (Payne, 1983; Robertson et al., 2000)、制定污水处理措施 (Schroeder, 1981) 以及评价反硝化过程产生的气态氮氧化物对全球变化和臭氧层破坏的贡献等 (Logan, 1983; McKenney and Drury, 1997; Crutzen and Ramanathan, 2000; Robertson et al., 2000)。

世界土壤的 51% 位于热带和亚热带 (Mosier et al., 2004), 而关于反硝化的研究绝大部分工作都局限于欧美等温带国家, 热带亚热带地区的研究仅占很少部分, 其中全世界亚热带地区反硝化研究占不到 20% (Hofstra and Bouwman, 2005), 而针对我国夏季湿润型亚热带地区土壤反硝化的系统研究尚属空白。我国亚热带土壤有 113 万 km^2 , 覆盖 11.8% 的国土面积, 其人口约占全国的 22.5% (赵其国等, 2000), 其中湿润亚热带耕地面积有 45 万 km^2 , 大约占全世界亚热带耕地面积的 4% 和我国耕地面积的 37%; 亚热带地区粮食生产、经济作物和肉类产品分别占我国总产量的 44.5%、93% 和 54.8%, 因此在我国农业生产上占有重要地位 (Xu et al., 2003)。亚热带地区得天独厚的气候、环境和自然资源孕育了多种成土母质, 也发展了多种多样的土地利用方式以满足对粮食、经济作物和工业原料的不断需求, 这些既是农业生产的宝贵资源, 也为我们研究土壤氮素反硝化作用提供了丰富的研究材料。

亚热带土壤为可变电荷土壤类型, 在我国南方亚热带高温多雨的气候条件下, 土壤有高度风化、脱硅富铝化程度高、继承性肥力较低、氧化铁和氧化铝含量丰富 (Qafoku et al., 2004)、土壤酸性强、氧化势高 (Bennema et al.,

1970)、土壤侵蚀严重导致有机碳含量低、养分贫瘠(赵其国等, 1988)等特点。在这样的气候环境和土壤背景条件下, 加上人为土地利用和耕作管理措施, 土壤氮素反硝化作用具有怎样的特点、影响因素和作用机理, 其所具有的生态环境意义如何尚不十分清楚。因此, 本书在综述土壤氮素反硝化研究以及全球热带亚热带土壤氮素反硝化研究现状的基础上, 针对我国亚热带土壤氮素反硝化开展了系统研究。

自然环境条件下, 影响反硝化作用的环境因素很多且相互联系, 难以进行概念上的区分并建立模型, 控制条件下进行培养试验研究土壤理化因素对土壤氮素反硝化的影响是行之有效的方法之一。为此, 本书研究选取江西红壤作为我国亚热带土壤典型代表, 采用实验室培养试验方法, 对发育于不同成土母质和不同土地利用方式下的土壤氮素反硝化作用进行系统研究。研究成果揭示了我国亚热带土壤氮素反硝化的特性及其影响因素, 成土母质和土地利用方式对反硝化的影响及其作用机理, 反硝化过程中 N_2O 的排放和还原及其影响因素, 厌氧条件下加入 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 对 CH_4 排放的影响及反硝化与 CH_4 排放之间的关系; 探讨了我国酸性亚热带土壤厌氧条件下 Fe^{2+} 参与反硝化的可能性及反硝化的产物问题。

第 1 章 土壤氮素反硝化研究概况

1.1 土壤反硝化作用概述

1.1.1 土壤反硝化作用的概念

土壤反硝化作用既包括生物反硝化过程，也包括化学反硝化过程。其中生物反硝化过程最为重要。该过程是指微生物在无氧或微量氧供应条件下的硝酸呼吸过程，其中，反硝化微生物将 NO_3^- 、 NO_2^- 或者 N_2O 作为呼吸过程的末端电子受体，并将其还原为 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 或者是 N_2 。而化学反硝化过程则为非生物还原剂所催化，但该过程似乎只在酸性土壤、冻土、海底沉积物、土壤深层中才有意义 (Christianson and Cho, 1983; Sørensen and Thorling, 1991)。通常所说的土壤反硝化作用主要是指土壤生物反硝化过程。反硝化的基本过程是：



反硝化作用发生的总的要求是：①存在具有代谢能力的反硝化微生物；②合适的电子供体；③厌氧条件或 O_2 的有效性受到限制；④N 的氧化物，如 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 或者 N_2O 作为末端电子受体。只有上述条件同时满足时，反硝化才能进行。反硝化通常在厌氧条件下发生，但在微厌氧条件下也能发生好氧反硝化，即异养硝化细菌利用 NH_4^+ 氧化而来的 NO_2^- 作为电子受体，将其还原为 N_2O 和 N_2 的过程，(Joo et al., 2006)，某些情况下可成为 N_2O 或 N_2 的主要产生途径。

1.1.2 土壤反硝化作用的分类

土壤反硝化作用分为生物反硝化和化学反硝化作用。生物反硝化中根据微生物的能量来源（碳源）分为异养反硝化和自养反硝化 (Pauwels, 1994)。异养反硝化微生物的能量来源为有机质，而自养反硝化微生物的能量来源为无机化合物，如 S^{2-} 、 Fe^{2+} 、 NH_4^+ (van de Graff et al., 1995)。化学反硝化指不需要微生物参与而通过化学反应实现的 NO_3^- -N 还原过程。

1.1.2.1 异养反硝化

异养反硝化是由异养细菌利用有机质氧化提供的电子还原 NO_3^- -N，同时产

生 CO_2 ，反应方程式如下：



其中 CH_2O 是有机质的简化形式。根据公式 (1-2) 0.04 mmol/L 的有机碳可以还原 0.03 mmol/L NO_3^- 。

1.1.2.2 自养反硝化

反硝化微生物除从有机碳氧化获得电子外，也能从还原态无机物氧化获得电子同化 CO_2 获得碳源，如 $\text{Fe}_2(\text{SiO}_3)_3$ 、硫化物、 Fe^{2+} 、 H_2S 、 CH_4 、 H_2 等 (Klüber and Conrad, 1998a, b; Postma, 1990; Hiscock et al., 1991; Mateju et al., 1992; Lampe and Zhang, 1994; Smith et al., 1994; Straub et al., 1996)，称为自养反硝化。影响自养反硝化的因素很多，如土壤电荷表面性质、结晶程度、电子供体浓度、某些金属元素（由黄铁矿氧化而来或由有机肥带入）等均有可能对微生物活性产生抑制或促进作用 (Pauwels et al., 2000)。铜和铅可作为自养反硝化的催化剂，催化 Fe^{2+} 和 NO_3^- 的氧化还原反应 (Ottley et al., 1997)。

1.1.2.3 化学反硝化

化学反硝化是指硝酸盐经纯化学作用而产生 N_2 、 N_2O 、 NO 等气态氮的过程。如金属铁可催化以 H_2 为电子供体的反硝化过程 (Murphy, 1991; Huang et al., 1998)，金属铁也可将 NO_3^- 还原为 N_2O 等 (Sørensen and Thorling, 1991)，这些反应是不需要微生物参与的化学反硝化过程之一。

1.2 影响土壤反硝化作用的因素

凡是影响土壤微生物生存与活动的因素均会影响土壤反硝化作用。而这些因素本身之间也有错综复杂的关系。下面分别对各因素进行分析，然后进行初步比较与判断。

1.2.1 通气与水分状况

反硝化作用是一个在厌氧气条件下进行的微生物学过程，因而受到土壤水分和通气状况的制约。在旱地土壤中存在的局部或暂时性的厌氧微域环境是引起反硝化作用的条件，施有机肥因消耗了局部土壤中的氧而促进反硝化 (Aulakh and Rennie, 1987)。在田间条件下，灌水、降雨及土壤本身的机械组成都会影响旱地土壤的水分状况和通气状况，从而影响反硝化作用。

Aulakh 等 (1992) 认为土壤水分通过以下四个方面直接或间接地影响反硝化作用: ①提供微生物生长或活动的有利条件; ②占据土壤孔隙, 限制氧的供应; ③通过干湿交替, 促进有效碳或氮源的释放; ④为土壤微生物提供转运代谢产物或原料所需的扩散介质。

过去的许多研究均表明土壤中空气与水分的平衡是影响土壤好氧或厌氧微生物活动的重要因素, 对土壤硝态氮的形成与损失均有重要影响。实验室研究表明, 当土壤水分含量低于 60% 最大持水量时, 无论 NO_3^- 供应状况如何, 反硝化作用均是微不足道的 (Aulakh, 1986, 1989; Aulakh et al., 1984c, Aulakh and Rennie, 1987; Aulakh et al., 1991a, 1991b)。在田间研究中, Rolston 等 (1982) 用乙炔抑制方法测定了不同灌水条件下旱地土壤中的反硝化损失, 反硝化作用产生的 $(\text{N}_2\text{O} + \text{N}_2) - \text{N}$ 气体量随每周灌水次数的增多而增加。灌溉的这种影响受到土壤类型的制约。在砂土上灌水 2cm, 在灌后的 3~5h 内反硝化速率达到最大值, 在 12h 后则又恢复到灌前水平, 而在壤土上灌溉, 12h 后反硝化速率才达到最大值, 至 48h 后才恢复到灌前水平, 壤土中的反硝化损失量是砂土中的 2 倍 (Ryden, 1983)。Weier 等 (1993a, 1993b) 研究了土壤孔隙含水量 (WFPS) 对反硝化的影响, 结果表明, 当 WFPS 数值从 60% 增加到 90% 时, 砂土和壤土的反硝化速率分别增加了 6 倍和 14 倍。Aulakh 和 Rennie (1985) 发现, 当 WFPS 为 65%~75%, 反硝化速率很低, 但随含水量的增加呈显著增加趋势。Doran 等 (1990) 研究发现 18 种不同理化性状的土壤反硝化作用的临界值为 70%~80%。

Aulakh 等 (1983a, 1983b, 1984a) 及 Aulakh 和 Rennie (1985) 的田间研究发现, 与反硝化损失显著相关的因素是土壤体积含水量 (或 WFPS), 其次是温度, 然后是土壤硝态氮。在评估综合因素的影响时, 水分与温度的联合效应与反硝化作用呈高度相关, 而加入土壤硝态氮或铵态氮后并没有提高相关系数。这些结果表明, 在他们研究的田间土壤中或者是土壤硝态氮源没有限制反硝化作用, 或者是其他因素如 WFPS 和温度是限制反硝化作用更为重要的因素。

1.2.2 温度

反硝化作用可以在较宽的温度范围内进行。反硝化作用所需温度可以低至 -2°C (Dorland and Beauchamp, 1991) 到 -4°C (Malhi et al., 1990), 而要明显的反硝化作用往往需要大于 5°C 的条件 (Nommik 1956; Aulakh et al., 1983a; Benckiser et al., 1986; Vinther, 1990)。最佳温度是 $30\sim 67^\circ\text{C}$ (Nommik, 1956; Bremner and Shaw 1958; Keeney et al., 1979; Mancino et al., 1988; Malhi et al., 1990)。当温度大于 50°C 时化学反硝化作用将起主要作用 (Keeney et al.,

1979)。在 75~85℃ 时反硝化作用停止 (Nommik 1956; Bremner and Shaw, 1958; Keeney et al., 1979)。

在田间研究时, Aulakh 等 (1983a, 1983b, 1984a; Aulakh and Rennie, 1984) 发现作物生长期间当温度为 10~30℃ 时, 温度对反硝化作用的影响很小。不过在早春或晚秋, 当温度降至 5℃ 或者更低时, 事实上就测不到反硝化作用, 即使在土壤湿润、硝酸盐浓度较高时也是如此。

1.2.3 碳源

绝大多数反硝化细菌是异养的, 土壤有机质为参与这一过程的微生物提供了能源。同时有机物质本身是一种电子供体, 而且还是一种呼吸基质, 可引起氧胁迫。因此, 土壤有机质含量越高, 反硝化作用潜力越大 (Buresh and Bremner, 1975; Drury et al., 1991)。许多研究者对这种关系不仅在机理模型 (Grundmann and Rolston, 1987) 中有所描述, 而且在实验室及田间试验中均得到证实 (Limmer and Steele, 1982; Ottow et al., 1985; Bijay-singh et al., 1988; Lowrance and Smittle, 1988; Paul and Beauchamp, 1989; El-Habr and Golterman, 1990; Drury et al., 1991; Iqbal, 1992)。有些研究者认为土壤反硝化作用的空间变异性部分原因是有机碳的差异所致 (Burton and Beauchamp, 1985; Parkin, 1987; Seech and Beauchamp, 1988; Christensen et al., 1990; Fujikawa and Hendry, 1991)。

土壤反硝化潜势还与有机碳的形态有关, 水溶性碳或易矿化碳与反硝化活性的关系更为密切 (Reddy et al., 1982)。Bijay-Singh 等 (1988) 的研究发现, 农田或草地土壤风干后, 反硝化潜势与水溶性碳及好氧培养下的矿化态碳量高度相关; 而土样保持田间湿度时, 反硝化潜势则与厌氧培养下的矿化态碳量密切相关。他们认为, 在田间条件下, 反硝化作用通常受到厌氧易矿化态碳量的限制。

生物量碳与反硝化潜势高度相关, 在非风干土壤中尤其如此 (Myrold and Tiedje, 1985)。据 Bijay-Singh (1988) 推测, 厌氧下的可矿化态碳事实上极有可能与好氧条件下的生物量碳是同一组分。

由于绝大多数反硝化细菌是异养型的, 因此碳源的特性及有效性是影响反硝化作用的重要因素。在过去的一些纯培养、混合培养等研究中, 许多化合物如葡萄糖、蔗糖、甲酸盐、柠檬酸盐等都被用作碳源, 结果发现, 它们可以很有效地促进反硝化作用 (Beauchamp et al., 1989)。当然田间条件下, 植物残茬、根系分泌物、绿肥或圈肥等对反硝化作用往往有促进效果 (Avalakki et al., 1995), 但如果土壤供氮不足, 反硝化作用反而会下降, 因为作物残茬有较大的碳氮比, 在分解过程中易引起氮的固定 (Craswell, 1978; Fredrickson et al., 1981)。因

此在秸秆还田时如果配施氮肥,反硝化损失氮量应该是增加的(Aulakh et al., 1984b)。有机碳供应不足时, NO_3^- 浓度增加并不影响反硝化速率。

土壤有机碳数量、组成和有机碳库量变化受诸多因素影响,包括土地利用方式、施肥水平、耕轮作制度等(Chantigny, 2003)。由于人类活动改变植被类型和施肥管理水平,带来了物质进入量水平、水分状况、施肥管理等的明显差异,会导致土壤有机碳库的显著差别(李忠佩, 2004)。不同利用方式下土壤中有机物质的年进入量差异最大可达5倍,造成土壤有机质的形成和积累量显著不同。可溶性有机碳和水溶性有机碳含量水平也受利用方式的影响,如林地>草地>耕地(Saviozzi et al., 1994; Delprat et al., 1997; Ellert and Gregorich, 1995; Quideau and Bockheim, 1997; Haynes, 2000)。

1.2.4 氮源

在实验室条件下,反硝化速率随土壤 NO_3^- 浓度的增加而增加,但在土壤 NO_3^- 浓度增加到较高的数值后,反硝化速率稳定在较高的水平,不再增加。由于 NO_3^- 到 NO_2^- 的还原酶系表观 K_m 值极低,一般为 $5\sim 290\mu\text{mol/L}$ (Luo et al., 1996; Yoshinari et al., 1977),当土壤 NO_3^- 浓度达到 $25\sim 100\text{mg/kg}$ 时,反硝化潜势与土壤 NO_3^- 浓度无关,即呈零级反应(Limmer and Steele, 1982)。当土壤 NO_3^- 浓度低于 $40\mu\text{g N/g}$ 时,土壤反硝化反应呈一级反应,此时土壤生物反硝化速率完全取决于 NO_3^- 在土壤溶液中的扩散速率(Bouwman and Focht, 1974; Starr and Parlange, 1975; Kohl et al., 1976; Knowles, 1981)。在自然条件下,水分含量、有效碳、硝态氮源等因素间相互作用,因而硝酸盐浓度与反硝化损失之间通常没有表现出显著的相关关系(Aulakh et al., 1983a, 1983b, 1984a)。这是由于硝酸盐浓度、有效碳、通气状况及微生物分布的不均一性造成的,所以在自然土壤中要解释反硝化作用动力学是有困难的,尤其田间条件下频繁而严重的干湿交替等过程使问题变得更加复杂。而实验室条件下,当反硝化不受有机碳供应和水分含量限制时, NO_3^- -N浓度是反硝化速率的主要限制因素(Cai, 2001; Aulakh and Rennie, 1987)。当 NO_3^- -N不成为反硝化的限制因素时,碳的供应就成为限制反硝化强弱的主要因素。碳/氮比值较大可能会降低反硝化的氮损失(Aulakh et al., 1991a, b)。

1.2.5 土壤 pH

土壤 pH 对反硝化的影响目前还无一定论。反硝化作用的最佳 pH 值取决于土壤中微生物的种类以及 NO_3^- 的浓度状况(Delwiche and Bryan, 1976),绝大多数反硝化微生物生长的最佳 pH 范围为 $6\sim 8$,因此通常认为适宜反硝化进行的

土壤 pH 范围是 6~8。反硝化速率随 pH 的升高而升高 (Hofstra and Bouwman, 2005)。虽然弱碱性环境有利于反硝化过程, 但研究也发现在自然的酸性土壤上即使 pH 低至 3.5 时, 仍有明显的反硝化损失 (Gilliam and Gambrell, 1978; Knowles 1981, 1982; Waring and Gilliam, 1983; Parkin et al., 1985; Weier and Gilliam, 1986)。长期的酸性土壤环境使一些反硝化微生物适应了这种低 pH 环境 (Parkin et al., 1985)。Klemetsson 等 (1977) 和 Muller 等 (1980) 发现在瑞典和芬兰的酸性土壤上反硝化速率与土壤 pH 值之间呈现正相关关系。

关于酸性条件下反硝化作用减弱的机理问题至今还不清楚。其原因可能在于: ①氢离子直接影响了反硝化细菌的活性; ②低 pH 引起养分的缺乏或中毒而间接影响反硝化作用。例如, pH 降低会引起铝有效性的下降, 从而减弱硝酸还原酶的合成, Bremner 和 Shaw (1958) 在研究中发现向 pH 为 3.6 的土壤中加入铝并没有促进反硝化作用。Koskinen 和 Keeney (1982) 报告认为 pH 没有直接控制反硝化作用而是通过控制反硝化微生物碳的有效性来间接影响反硝化作用, 他们推测低 pH 下, 碳的有效性可能限制了酸性土壤中反硝化微生物种群的大小, 因而间接影响反硝化作用。但这种假设无法支持 Parkin 等 (1985) 在农田土壤上的观察结果。另外, Firestone (1982) 推测降低 pH, 会引起硝酸盐还原中间产物 NO_2^- 的累积及铝与锰的溶解而导致毒害效应。

不同土地利用方式对土壤 pH 有显著影响。种植茶树通常使土壤的 pH 显著降低, 交换性铝的含量则将不同程度升高。但受施用石灰的影响土壤交换性铝的含量将降低 (郭荣发和杨杰文, 2004)。种植水稻将提高土壤的 pH 和交换性铝的含量。造成这种现象的原因有: ①对于酸性土壤, 渍水后 pH 迅速上升; ②淹水条件下, 有机质分解时产生的还原性物质使土壤中的铁、锰氧化物等被还原, 在此过程中消耗了溶液中的氢离子, 使土壤 pH 升高; ③一般情况下灌溉用水是中性的 (郭荣发和杨杰文, 2004)。

1.2.6 土壤质地

土壤质地对反硝化的影响主要是通过土壤结构、孔隙大小、团粒及导水速率等物理因素的变化状况而产生的。通常质地较重的黏壤反硝化强于质地较轻的砂壤, 即随着土壤质地变细反硝化作用增强 (砂壤 < 壤土 < 黏壤) (Chaterpaul et al., 1980; van Cleemput, 1998)。在这些研究中土壤水分含量与质地细度直接相关, 而土壤通气状况与质地细度呈负相关关系。排水不良的土壤反硝化氮素损失可达施入氮量的 50% (van Cleemput, 1998)。

土壤质地和结构受母质类型的深刻影响, 以花岗岩、第四纪红土和红砂岩三种母质为例, 由于脱硅化成土过程的原因, 土壤黏粒含量第四纪红土 > 红砂岩 >

花岗岩 (Zhao, 2002)。

1.2.7 植物根系

植物根系分泌物和根系脱落物进入土壤增加了碳源,同时植物根系的活动使根系周围土壤的通气状况、水分条件及 pH 与根外土壤不同,因此植物根系能提高反硝化作用 (Klemetsson et al., 1987; Bakken, 1988)。Wheatley 等 (1991) 研究了马铃薯生长对土壤反硝化的影响,发现反硝化活性有两个高峰,第一个高峰在新根生长长期,第二个高峰在侧根生长长期;并指出植物根系对反硝化的影响的机理与加入有机碳有所不同,除作为能源物质外,前者可能还包含根系分泌物或其代谢产物对反硝化的促进作用。而 Firestone 和 Davidson (1989) 认为在陆地生态系统中,植物根系具有以下作用:①由于根系及根际微生物的呼吸降低 O_2 的有效性;②通过土壤水的吸收运移促进气体扩散而增加 O_2 的有效性;③通过根分泌物增加碳的有效性;④根系吸收 NO_3^- 而降低氮氧化物的有效性。因此植物根系对反硝化的影响情况复杂,应根据具体的土壤条件进行深入分析,有利于加深对反硝化作用机理的认识。

1.2.8 耕作制度

免耕土壤比常规耕作土壤有较多的土壤水分和较小的孔隙度,生物反硝化作用强于耕作土壤。免耕也比传统耕作导致更高的土壤表层碳累积,从而增强反硝化作用。Staley 等 (1990) 发现,免耕条件下,表层土壤的反硝化潜势是常规耕作的 2 倍,但对下层土壤反硝化潜势的影响不大。Rice 和 Smith (1984) 研究玉米地在免耕和常规耕作条件下的反硝化速率,二者之比都大于 1,最高的达到 77。这主要是因为免耕条件下表层土壤含水量因有作物残茬覆盖而较高,从而促进了反硝化。Parkin 等 (1987) 的研究也表明玉米地免耕处理的土壤反硝化活性显著高于常规耕作处理。一般认为,作物残茬的覆盖有利于土壤保持较多的水分,同时覆盖物提供了能源物质,因此免耕可以促进反硝化损失。

1.2.9 微生物

反硝化作用受土壤微生物的调控,而微生物种群组成和活性是由土壤理化性质(如土壤水分、质地、结构、pH、 NO_3^- 、 NH_4^+ 、 O_2)和土地利用与管理方式共同决定的。土地利用方式通过影响土壤理化性质而在微生物的数量、区系组成和多样性方面起决定作用,进而影响和调控反硝化过程。

不同土地利用方式能显著影响微生物多样性。碳素利用 (BIOLOG) 及磷脂脂肪酸分析方法 (PLFA) 的研究结果表明,不同利用方式具有不同的微生物群