

土壤 pH 对硝酸根还原过程中 N<sub>2</sub>O 产生的影响\*

封 克 王子波 王小治 张素玲 汪晓丽

(扬州大学环境科学与工程学院, 江苏扬州 225009)

**摘 要** 采用氢氧化钠和盐酸将中性和碱性土壤分别分步调节成具有不同 pH 的系列土壤, 加入等量硝态氮后, 在添加易有效碳源葡萄糖和不添加葡萄糖的厌氧条件下进行培养, 测定不同处理条件下的 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 产生速率。结果表明, 不加碳源培养 24 h 后, 原中性土壤系列中 N<sub>2</sub>O 的最大产生速率位于 pH 5.25 左右, 碱性土壤系列的该值位于 5.90 左右; 加入葡萄糖后, 中性土壤系列中最大 N<sub>2</sub>O 产生速率的 pH 值不变, 但产生 N<sub>2</sub> 最大速率的 pH 已提高至 6.50。而碱性土壤系列中 N<sub>2</sub>O 产生最大速率时的 pH 值已移至 6.90 处, 即碳源的加入对产生 N<sub>2</sub>O 所需的最佳 pH 有所提高。试验还显示, 酸性条件可提高总还原气体中 N<sub>2</sub>O 所占的比例, 但就 N<sub>2</sub>O 产生速率的绝对值来说, 近中性条件仍然是最为有利的。

**关键词** 氧化亚氮; pH 变化; 反硝化; 土壤

中图分类号 O623.732, S153.4

文献标识码 A

氧化亚氮(N<sub>2</sub>O)同二氧化碳、甲烷一样同属温室气体, 尽管其绝对量比二氧化碳低得多, 但其单位分子的增温潜能却是二氧化碳的 250 倍<sup>[1]</sup>。此外, 它还可导致大气平流层中臭氧层的破坏<sup>[2]</sup>。已有的研究表明, 在由人类活动所造成的 N<sub>2</sub>O 浓度增加中, 农业生产占有 70% 以上的份额<sup>[3]</sup>, 且其中大部分是从土壤中产生并散发出来的<sup>[4, 5]</sup>。土壤中 N<sub>2</sub>O 的产生和散发受多种因素的影响, 其中土壤 pH 是最主要也是最复杂的因素之一, 它直接影响着参与土壤中氮转化过程的微生物种群以及不同反应阶段的酶活性。在农业土壤中, 大范围或微域内的 pH 变化是很经常的, 如酸性土壤施用石灰、尿素水解等均会提高土壤 pH, 而长期大量施用铵态氮肥和生理酸性肥料、酸雨等则会导致土壤 pH 的降低。

有关 pH 变化影响土壤中反硝化过程以及影响此过程中 N<sub>2</sub>O 产生的研究已有不少报道, 但结果颇不一致。如 Weier 和 Gilliam 认为<sup>[6]</sup>, 产生 N<sub>2</sub>O 最大值时的 pH ≤ 5.8, 而 Stevens 等在研究反硝化过程中发现<sup>[7]</sup>, N<sub>2</sub>O 的最大产生速率出现在 pH 6.5, 而最小产生速率分别位于 pH 6.0 和 pH 8.0 左右。这些报道之所以不一致, 其主要原因可能在于他们采用了不同的实验土壤, 而未考虑不同土壤在原始理化性

质特别是微生物种群等方面的差异。本文作者认为, 要明确 pH 变化与 N<sub>2</sub>O 产生之间的关系, 必须尽量排除所研究内容以外的其它因素的影响, 即应采用同一土壤, 在通过分步改变其 pH 后, 观察 pH 变化与 N<sub>2</sub>O 产生两者间的联系, 这样才能更科学地揭示出它们的内在联系。基于这种设想, 我们选用了两种原始 pH 不同的土壤, 进行了本文的研究。

## 1 材料与方法

采用一种近中性(pH 6.50)和一种碱性旱地土壤(pH 7.75), 将采集后的土壤在 5~10℃ 的条件下轻微风干并过 5 mm 筛, 在小于 5℃ 的条件下储藏备用。中性土壤含全 N 0.8 mg kg<sup>-1</sup>, 有机质 13.6 mg kg<sup>-1</sup>, 粘粒 70 g kg<sup>-1</sup>, 粉粒 360 g kg<sup>-1</sup>, 砂粒 570 g kg<sup>-1</sup>, 最大持水量(WHC)283 g kg<sup>-1</sup>; 碱性土壤含全 N 1.0 mg kg<sup>-1</sup>, 有机质 15.2 mg kg<sup>-1</sup>, 粘粒 210 g kg<sup>-1</sup>, 粉粒 670 g kg<sup>-1</sup>, 砂粒 120 g kg<sup>-1</sup>, 最大持水量 525 g kg<sup>-1</sup>。

首先大致确定土壤 pH 变化与酸碱加入量之间的关系。分别将不等量的 1 mol L<sup>-1</sup> HCl 和 1 mol L<sup>-1</sup> NaOH 加入一系列等量土壤样品中, 并用去离子水将所有土壤样品水分含量均调至为最大持水量的 65%。

\* 联邦德国教研部(BMBF)项目(CHN 00/089)资助

作者简介: 封 克(1955~), 1995 年获联邦德国 Justus-Liebig 大学博士学位, 现任扬州大学教授, 南京农业大学博士生导师, 中国土壤学会理事。主要从事氮素植物营养与环境方面的研究。E-mail: fengke55@yahoo.com

收稿日期: 2002-12-09; 收到修改稿日期: 2003-01-08

将处理后的土壤置于 25℃ 下恒温培养。10 d 后, 土壤 pH 值趋于稳定。对所有土壤样品的 pH 值加以测定后, 得到酸碱加入量与培养后土壤 pH 之间的关系曲线, 并据此算出要获得一定 pH 值的土壤样品时所应加入的酸碱量。

然后进行土壤的预培养。按上述同样的培养方法, 在 250 ml 的磨口三角瓶中加入相当于 30 g 烘干土的新鲜潮湿土样(碱性土壤 35.3 g, 中性土壤 32.2 g)。根据前述培养试验所得到的酸碱加入量与土壤 pH 之间的关系, 分别滴入酸或碱, 将土壤调节成具有预期 pH 为 4.5、5.5、6.5、7.5 的系列样品。每个 pH 处理设 12 个重复。用粘性塑料薄膜封住三角瓶口, 并在每个薄膜上打 8 个直径为 0.5 mm 的针孔, 使瓶内气体可与外界大气进行交换, 同时阻止水分的过度蒸发以保持瓶内水分相对恒定。样品在 25℃ 恒温条件下培养 10 d, 此间每 2 d 称重一次并补充损失的水分。10 d 后土壤 pH 稳定时, 碱性土壤系列样品的实际 pH 值分别是 5.03、5.90、6.92、7.75; 中性土壤系列的 pH 值分别是 4.57、5.25、6.50、7.44。

考虑到许多微生物都需要有机碳作为能源, 因此在每个 pH 处理中再分设添加葡萄糖的处理, 以观察易有效碳源的加入对 N<sub>2</sub>O 产生和进一步还原成 N<sub>2</sub> 的影响。由于在测定 N<sub>2</sub>O 时需使用 N<sub>2</sub> 作为载气, 因此本试验中根据乙炔可阻止 N<sub>2</sub>O 进一步还原成 N<sub>2</sub> 的原理, 采用通入与不通入乙炔的方法来推算可被还原成 N<sub>2</sub> 的量。因此, 对每种土壤每个不同 pH 的 12 个重复而言, 又分设以下 4 个处理:

处理 I 土壤+KNO<sub>3</sub>; 处理 II 土壤+KNO<sub>3</sub>+乙炔; 处理 III 土壤+KNO<sub>3</sub>+葡萄糖; 处理 IV 土壤+KNO<sub>3</sub>+葡萄糖+乙炔。即每个处理具有 3 个重复。对于处理 I、II, 按照 NO<sub>3</sub>-N 40 mg kg<sup>-1</sup> 加入 KNO<sub>3</sub> 溶液, 对于 III、IV 处理, 则在此基础上再按照 C 300 mg kg<sup>-1</sup> 的量加入 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 溶液, 其后补加蒸馏水调节土壤含水量至 65% WHC。将三角瓶用特殊具孔玻璃瓶塞(玻璃塞中间的孔用橡胶垫封闭, 可将针穿透橡胶垫进行加入和抽取气体的操作)盖上, 并事先在瓶塞周围涂抹润滑油密封以防漏气。随之将三角瓶内原有空气抽去并充入 N<sub>2</sub> 以造成厌氧环境。所有三角瓶置于 25℃、120 r min<sup>-1</sup> 的恒温振荡机上晃动培养, 以便产生的 N<sub>2</sub>O 更易扩散。24 h 后, 将处理 I 和处理 III 瓶内的空气抽去再充入新的 N<sub>2</sub>。充入 N<sub>2</sub> 后立即用防漏气带阀门的针管从三角瓶中各抽取 2 ml 气样分析 N<sub>2</sub>O(t<sub>0</sub>)。60 min 时再从以上

各瓶中抽取 2 ml 气样分析 N<sub>2</sub>O(t<sub>60</sub>)。对于处理 II 和处理 IV, 处理方法与处理 I 和处理 III 相似, 只是在抽去空气并充入 N<sub>2</sub> 后, 再用注射器从三角瓶内抽出 30 ml N<sub>2</sub> 气, 另加入 30 ml 的乙炔气体。培养 24 h 后更换 N<sub>2</sub> 气, 同样补加乙炔气体, 并立即抽取 2 ml 气样作为 t<sub>0</sub> 值, 并于 60 min 时再从各瓶内抽取 2 ml 气样分析 N<sub>2</sub>O 作为 t<sub>60</sub>。将 t<sub>60</sub> 值减去 t<sub>0</sub> 值即代表此阶段该处理每小时释放 N<sub>2</sub>O 或 N<sub>2</sub>O+N<sub>2</sub> 的速率, 以 N<sub>2</sub>O+N mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> 表示。抽气后立即测定土壤的 pH, 无机氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) 和易有效碳(C<sub>org</sub>)。之所以确定加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 培养 24 h 后进行测定, 是因为在预备实验中发现, 培养一天左右是 N<sub>2</sub>O 产生的高峰期。

土壤 pH 测定采用 0.01 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>(W<sub>±</sub>: W<sub>水</sub>=1:2.5) 提取、玻璃电极测定法; 土壤无机氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) 和易有效碳(C<sub>org</sub>) 采用 0.01 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 提取、流动注射自动分析仪测定法; 所抽取气样中的 N<sub>2</sub>O、O<sub>2</sub> 用气相色谱仪分析(Gs perkin Elmer Autosystem XL, ARNE4), 其测定条件为: 前置柱和分离柱分别为 1 m 和 3 m 的填充柱(Porapak Q column), 用 N<sub>2</sub> 作为载气, 流速为 30 ml min<sup>-1</sup>, 柱温 50℃, 进样温度 50℃, N<sub>2</sub>O 用 ECD(350℃) 进行分析, O<sub>2</sub> 用 FID(230℃) 进行分析(监测 O<sub>2</sub> 含量主要是为了确证整个培养过程处于厌氧条件), 气相色谱仪自动进行转换测定, 并同时给出 N<sub>2</sub>O、O<sub>2</sub> 的浓度值。

## 2 结果

### 2.1 无碳源情况下 N<sub>2</sub>O 的产生与 pH 的关系

#### 2.1.1 无碳源情况下 N<sub>2</sub>O 的产生与 pH 的关系

表 1 显示, 不加乙炔时, pH 7.75 的原始土壤中 N<sub>2</sub>O 释放速率最小, 仅为 N 0.03 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。当 pH 调低后, N<sub>2</sub>O 的释放速率明显增加, 至 pH 5.90 时, N<sub>2</sub>O 的释放速率达最大值, 为 N 1.19 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。进一步降低 pH 至 5.03, N<sub>2</sub>O 的释放速率又明显减少, 仅为 N 0.31 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。N<sub>2</sub>O 的释放速率按大小排列为: V<sub>N<sub>2</sub>O, pH 5.90</sub> > V<sub>N<sub>2</sub>O, pH 6.92</sub> > V<sub>N<sub>2</sub>O, pH 5.03</sub> > V<sub>N<sub>2</sub>O, pH 7.75</sub>。对于原始 pH 6.50 的土壤, 不加乙炔, pH 调高至 7.44 时 N<sub>2</sub>O 释放速率最小, 仅为 N 0.01 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。调低 pH 至 5.25 时, N<sub>2</sub>O 的释放速率增加到 N 0.15 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, 达到最大值。进一步降低 pH 至 4.57 时, N<sub>2</sub>O 的释放速率又减至 N 0.07 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。N<sub>2</sub>O 的释放速率按大小排列为: pH 5.25 > pH 4.57 >

pH 6.50 > pH 7.44, 总趋势与碱性土壤系列相似, 即最大 N<sub>2</sub>O 的释放速率位于 pH 5~6 之间, 而最高 pH

处理 N<sub>2</sub>O 释放速率最小。

表 1 无碳源情况下 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 的释放速率与土壤 pH 的关系 (N, mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>)

Table 1 Relationship between N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> emission rates and soil pH without glucose (means of 3 replicates)

土壤 Soil	pH	N <sub>2</sub> O - C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O + C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> <sup>d</sup>	N <sub>2</sub> O/(N <sub>2</sub> + N <sub>2</sub> O) (%)
碱性土壤 Alkaline soil series	5.03	0.31b	0.49b	0.18	63.3
	5.90	1.19a	1.41a	0.22	84.4
	6.92	0.37b	0.60b	0.23	61.7
(7.75)	7.75	0.03c	0.20c	0.17	15.0
中性土壤 Neutral soil series	4.57	0.07b	0.07b	0.00	100
	5.25	0.15a	0.22a	0.07	68.2
	6.50	0.03bc	0.08b	0.05	37.5
(6.50)	7.44	0.01c	0.06b	0.05	16.7

1) N<sub>2</sub> = N<sub>2</sub>O(有乙炔 with acetylene)-N<sub>2</sub>O(无乙炔 without acetylene)

加入乙炔后, 两种土壤 N<sub>2</sub>O 的释放速率从顺序上看基本没有变化, 碱性土壤上 pH 7.75 时依然最低, pH 5.90 时保持最高, 其最高与最低释放速率间相差超过 7 倍。中性土壤 pH 7.44 的处理依然最低, pH 5.25 时最高, 两者相差约 3.7 倍。由表 1 看, 同一土壤系列内部的不同 pH 样品之间, 在 N<sub>2</sub> 的生成速率方面没有太大的差异, 这与 N<sub>2</sub>O 的情况有所不同。但就 N<sub>2</sub>O 占总还原氮(N<sub>2</sub>O+ N<sub>2</sub>) 的比例看, 两土壤均在偏酸条件下较高, 在碱性条件下较低。这意味着不添加有效碳源时, 碱性条件更有利于 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 进一步还原成 N<sub>2</sub><sup>[8]</sup>。至于两土壤处于相同 pH 时在 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 产生量上的差异, 则很可能与土壤原初的微生物区组有关。这种差异对 N<sub>2</sub>O 产生的影

响可超出土壤内 pH 变化所造成的影响。

2.1.2 无碳源情况下土壤中的氮、碳动态 表 2 给出了无碳源情况下抽取气体样品时土壤中相应的无机 N 和 CaCl<sub>2</sub> 提取的有机碳 (C<sub>org</sub>) 的情况。与低 pH 处理相比, 两个土壤系列中高 pH 时的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量相对较高, C<sub>org</sub> 较低。高 pH 时较低的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 可由两个原因引起, 一是高 pH 可导致 NH<sub>3</sub> 的挥发损失, 二是好气预培养时, 高 pH 有利于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 氧化成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sup>[9]</sup>, 这从此时具有较高的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度上给予了证实。较低的 C<sub>org</sub> 可能是由于高 pH 有利于 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的还原<sup>[10-12]</sup>, 而参与此过程的异养微生物需消耗较多的碳源所造成<sup>[13]</sup>。

表 2 无碳源情况下土壤中氮、碳的动态变化

Table 2 Dynamic of inorganic N and C<sub>org</sub> in the soils amended with NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 40 mg kg<sup>-1</sup>, without C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> and anaerobically incubated at 25° C for 24 h (N, mg kg<sup>-1</sup>; C, mg kg<sup>-1</sup>) (means of 3 replicates)

土壤 Soil	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	C <sub>org</sub>
碱性土壤 Alkaline soil series	5.03	11.1a	50.0b	51.4a
	5.90	8.10b	49.5b	48.5a
	6.92	0.50c	59.8a	17.8b
(7.75)	7.75	0.60c	57.5a	15.5b
中性土壤 Neutral soil series	4.57	6.71a	42.7b	12.0a
	5.25	2.45b	30.1c	8.65b
	6.50	0.69c	47.7a	6.77b
(6.50)	7.44	0.74c	52.5a	4.22c

## 2.2 有碳源情况下 $N_2O$ 的产生与 pH 的关系

### 2.2.1 有碳源情况下 $N_2O$ 的产生与 pH 的关系

表 3 显示,在提供葡萄糖后,无乙炔处理的碱性土壤系列中,最小  $N_2O$  释放速率( $N_2O-N$ ,  $0.03 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) 仍发生在最高的(pH 7.75)处理中(表 1),但最大释放速率发生在 pH 6.92,比无碳源时最大  $N_2O$  释放速率的相应 pH 值 5.90 提高了一个 pH 单位以

表 3 有碳源情况下  $N_2O$  和  $N_2$  的释放速率与土壤 pH 的关系( $N$ ,  $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )

Table 3 Relationship between  $N_2O$  and  $N_2$  emission rates and soil pH amended with glucose (means of 3 replicates)

土壤 Soil	pH	$N_2O$ - $C_2H_2$	$N_2O$ + $C_2H_2$	$N_2^D$	$N_2O/(N_2 + N_2O)$ (%)
碱性土壤 Alkaline soil series	5.03	0.33b	0.54c	0.21	61.1
	5.90	0.44b	2.62b	2.18	16.8
	6.92	0.63a	4.64a	4.01	13.6
(7.75)	7.75	0.03c	3.21b	3.18	0.93
中性土壤 Neutral soil series	4.57	0.26b	0.16c	-0.10	100
	5.25	0.77a	0.64b	-0.13	100
	6.50	0.19b	1.05a	0.86	18.1
(6.50)	7.44	0.08c	0.97a	0.89	8.2

1)  $N_2 = N_2O$ (有乙炔 with acetylene) -  $N_2O$ (无乙炔 without acetylene)

将有乙炔处理的情况加以对比,碱性土壤系列所有处理的  $N_2O$  释放速率均明显增加,在 pH 7.75 时,前者(3.21)已是后者(0.03)的 100 倍以上。由于乙炔处理中所测定到的  $N_2O$  释放速率的增量主要来自于本应还原成  $N_2$  的部分,因此该结果说明,提高 pH 有助于  $NO_3^-$  最终还原成  $N_2$ 。从  $N_2O$  还原成  $N_2$  气的量看,在提供有效碳源时,该土壤上最有利于形成  $N_2$  气的 pH 处于中性附近 (pH 6.92),其次是微碱性 (pH 7.75) 和微酸性 (pH 5.90),酸性条件 (5.03) 最不利于  $NO_3^-$  的还原。然而就还原气体中  $N_2O$  所占的比例而言,酸性条件下最高(61.1%),微碱性条件下最低(0.93%)。这与 Tidie 所得出的低 pH 可抑制反硝化作用但导致  $N_2O$  比例增加的结果相一致<sup>[14]</sup>。对于中性土壤,加入乙炔后,最大  $N_2O$  释放速率发生在 pH 6.50 的处理,意味着该土壤在 pH 6.5 左右时最有利于  $NO_3^-$  彻底还原成  $N_2$ 。与未加葡萄糖时最大  $N_2$  生成速率所处的 pH 5.25 (表 1) 相比,此时的 pH 已提高了 1.25 个单位,这与碱性土壤上发生的现象颇为一致,即加入碳源后,  $NO_3^-$  最大还原速率的所需的 pH 被明显提高了。

中性土壤系列中 pH 4.57 和 5.25 的处理,在乙炔处理后,  $N_2O$  的释放速率反比未加乙炔时更小,即

上,释放速率的数值也从原来的  $N_2O-N$  0.37 增至  $0.63 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ,而 pH 5.90 处理的相应值则从原来的  $N_2O-N$  1.19 降至  $0.44 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。对于中性土壤系列,  $N_2O$  释放的最大与最小速率所处的 pH 未发生改变,与不加碳源时的情况相似(表 1)。但加入碳源后,  $N_2O$  释放速率比未加碳源时均有所增加。

从数值上看,  $N_2 + N_2O$  总量还低于不加乙炔时  $N_2O$  的释放速率。造成这种现象的原因很可能是加入的乙炔在低 pH 条件下,不仅抑制了  $N_2O$  向  $N_2$  的转化,而且同时抑制了在此之前的  $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O$  的某一转化过程。但在高 pH 情况下,这种抑制作用较小。此外,可能还与该种土壤的微生物组成有关,但这些猜测还需进一步的实验加以证实。

2.2.2 有碳源情况下土壤中的氮、碳动态 与无碳源时(表 2)相比,加葡萄糖后,碱性土壤系列中,除 pH 5.03 的土样仍具有较高的  $NH_4^+-N$  和  $NO_3^- - N$  外,其余 pH 处理中这三种形态的氮均降至很低的值,  $C_{org}$  的量也呈现同一趋势。联系表 3 数据可知,在加入碳源后,较高的 pH 处理具有较大的  $N_2O$  和  $N_2$  生成速率,这说明高 pH 时有效碳的减少是用于  $NO_3^-$  的还原。但在酸性较强的条件下 (pH 5.03),由于  $NO_3^-$  的还原过程可能受到抑制<sup>[6]</sup>,因而培养后期土样中仍可以积累较多的无机氮和易有效碳。中性土壤加葡萄糖后呈现了与碱性土壤同样的现象:高 pH 处理 (pH 6.50 和 pH 7.44) 的  $NO_3^-$  和  $C_{org}$  的量均降低很多,而在酸性较强的条件下 (pH 5.03 和 pH 4.57),  $NO_3^-$  的还原过程受抑,后期土样中仍可以积累较多的无机氮和易有效碳。

表 4 有碳源情况下土壤中氮、碳的动态变化

**Table 4** Dynamics of inorganic N and C<sub>org</sub> in the soils amended with NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 40 mg kg<sup>-1</sup> and C 300 mg kg<sup>-1</sup>, without C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> and anaerobically incubated at 25°C for 24 h (N, mg kg<sup>-1</sup>, C mg kg<sup>-1</sup>) (means of 3 replicates)

土壤 Soil	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	C <sub>org</sub>
碱性土壤 Alkaline	5.03	9.25a	43.8a	287.1a
soil series	5.90	1.36b	0.12b	73.5b
(7.75)	6.92	0.11c	0.29b	44.9d
	7.75	0.14c	0.13b	54.0c
中性土壤 Neutral	4.57	6.20a	36.4a	267.2a
soil series	5.25	2.25b	34.1a	232.9b
(6.50)	6.50	0.64c	12.2b	121.9c
	7.44	0.81c	1.19c	93.2d

### 3 讨 论

人们已知, 硝酸根在还原条件下的反硝化过程按 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup> → NO → N<sub>2</sub>O → N<sub>2</sub> 的次序分步进行<sup>[15]</sup>。参与各反应阶段的酶分别是硝酸还原酶, 亚硝酸还原酶, 一氧化氮还原酶, 氧化亚氮还原酶<sup>[16]</sup>。显然, 在不同的反应阶段, 参与作用的微生物区系组成也将发生变化。就不同土壤而言, 由于除 pH 以外其它理化性质上存在的较大差异, 土壤中原微生物区系组成就有所不同<sup>[17]</sup>。因此, 对不同土壤来说, 即使具有相似的 pH, 也很可能在微生物种群方面存在较大的原始差异<sup>[18]</sup>。这样, 如采用原始 pH 不同的土壤通过对比或统计的方法来寻求 N<sub>2</sub>O 的产生速率和 pH 之间的关系显然是不合适的。本研究将同一土壤调节成具不同 pH 的系列样品来研究此问题, 可以在一定程度上排除其它因素的干扰。由于在所有处理的培养过程中, 未检测到 O<sub>2</sub> 的存在, 因此可以确认, 培养过程始终处于完全厌氧条件。所得到的结果大致可分为两类, 一是不外加有效碳源时土壤 pH 变化与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 还原速率(包括还原成 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub>) 的关系, 二是外加有效碳源时两者间的关系。当不外加碳源时, 碱性和中性土壤系列中 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 最大生成速率的 pH 分别位于 5.90 和 5.25(表 1), 与 Weier 和 Gilliam<sup>[6]</sup> 的结果类似。而过酸或过碱均不利于它们的产生。但加入易有效碳源后, 除 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 的生成速率同时增加外, 更令人感兴趣的是最大 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 生成速率所需的 pH 值在两个土壤系

列中均提高了一个单位以上, 处于近中性的范围(6.50 和 6.92)。

已有的研究表明, 在参与生成 N<sub>2</sub>O 的微生物中, 异氧微生物起着最重要的作用<sup>[19]</sup>。葡萄糖作为一种易分解的碳源, 它的加入除为异氧微生物提供所需的碳源外, 还为 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的还原提供电子, 因而可促进反硝化作用的进行<sup>[20]</sup>。本实验中, 加入葡萄糖后碱性土壤在 pH 6.92, 中性土壤在 pH 6.50 时最有利于 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 的生成。该结果与 Stevens 等<sup>[7]</sup> 提出的反硝化过程中 N<sub>2</sub>O 的最大产生速率在 pH 6.5 左右相一致, 而与 Weier 和 Gilliam<sup>[6]</sup> 所认为的 N<sub>2</sub>O 产生最大值时的 pH ≤ 5.8 的结论不相符合。本实验中, 低 pH 时 N<sub>2</sub>O 所占总还原气体(N<sub>2</sub>O + N<sub>2</sub>) 的比例最大, 说明低 pH 可能对 N<sub>2</sub>O 进一步还原成 N<sub>2</sub> 的过程有一定的抑制作用。然而就绝对量来说, 真正对 N<sub>2</sub>O 的产生作出较大贡献的 pH 还是位于近中性附近。作者在另一篇文章中曾报道, pH 的提高可增加硝酸还原酶的活性<sup>[21]</sup>, 即从理论上讲, pH 的提高至少可为 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 的产生提供更多的反应物 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。从这个角度出发, 作者认为 Stevens 等<sup>[7]</sup> 的结论更为可靠。

### 4 结 论

在不加入有效碳源时, 最大 N<sub>2</sub>O 产生速率所处的 pH 值处于微酸性范围; 一旦加入易有效碳源后, 产生 N<sub>2</sub>O 和 N<sub>2</sub> 最大速率的 pH 则上升一个 pH 单位以上, 处于近中性范围(pH 6.50~ pH 6.92)。

酸性条件提高了还原气体中 N<sub>2</sub>O 所占有的比例, 但就 N<sub>2</sub>O 产生速率的绝对值来说, 近中性条件仍然是最为有利的。

### 参 考 文 献

- [1] IPCC. Climate change 1992. The supplement reports to the IPCC scientific assessment. In: Houghton J.T., Callander B.A., Vaney S.K. eds. Greenhouse Sources and Sinks. Cambridge: Cambridge Uni. Press, 1992. 24~ 25
- [2] Crutzen P.J. Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen, including nitrous oxide. In: Delwiche C.C. ed. Denitrification, Nitrification and Atmospheric N<sub>2</sub>O. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 1981. 17~ 44
- [3] Mosier A.R. Nitrous oxide emissions from agricultural soils. Fertil. Res., 1994, 37: 191~ 200
- [4] Bouwman A.F. Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. In: Bouwman A.G. ed. Soils and the

- Greenhouse Effect. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 1990. 61~128
- [5] Smith K A, Thomson P E, Clayton H, *et al.* Effects of temperature, water content and nitrogen fertilization on emissions of nitrous oxide by soils. *Atmos Environ.*, 1998, 32: 3301~3309
- [6] Weier K L, Gilliam W. Effect of acidity on denitrification and nitrous oxide evolution from Atlantic Coastal Plain soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1986, 50: 1202~1205
- [7] Stevens A F, Laughlin R J, Malone J P. Soil pH affects the processes reducing nitrate to nitrous oxide and di-nitrogen. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, 30: 1119~1126
- [8] Wijler J, Delwiche C C. Investigations on the denitrifying process in soil. *Plant and Soil*, 1954, 5: 155~169
- [9] Feng K. Dynamik von Zwischenschicht-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in ueberfluteten Chinesischen Reisboeden. Germany: Shaker Press, 1996. 61~70
- [10] Bremner J M, Shaw K. Denitrification in soil. II. Factors affecting denitrification. *J. Agric. Sci.*, 1958, 51: 40~52
- [11] Focht D D. The effect of temperature, pH and aeration on the production of nitrous oxide and gaseous nitrogen - a zero order kinetic model. *Soil Sci.*, 1974, 118: 173~179
- [12] Bryan B A. Physiology and biochemistry of denitrification. *In: Delwiche C C. ed. Denitrification, Nitrification and Atmospheric N<sub>2</sub>O.* New York, NY: John Wiley & Sons Ltd., 1981. 67~84
- [13] McCarty G W, Bremner J M. Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoil. *Biol. Fertil. Soils*, 1992, 14: 219~222
- [14] Tiedje J M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *In: Zehnder A J B. ed. Biology of Anaerobic Microorganisms.* New York: Wiley, 1988. 179~244
- [15] Granli T, Bockman O C. Nitrous Oxide from Agriculture. *Norwegian J. Agric. Sci.*, 1994, 12(Suppl.): 18~19
- [16] Ellis S, Howe M T, Goulding K W T, *et al.* Carbon and nitrogen dynamics in a grassland soil with varying pH: Effect of pH on the denitrification potential and dynamics of the reduction enzymes. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, 30(3): 359~367
- [17] Matikainen P J, De B W. Nitrous oxide production and nitrification in acidic soil from a Dutch coniferous forest. *Soil Biol. Biochem.*, 1993, 25: 343~347
- [18] Martin K, Parsons L L, Murray R E, *et al.* Dynamics of soil denitrifier populations: Relationships between enzyme activity, most probable number counts and actual N gas loss. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, 54: 2711~2716
- [19] Granli T, Bockman O C. Nitrous Oxide from Agriculture. *Norwegian J. Agric. Sci.*, 1994, 12(Suppl.): 19~20
- [20] Granli T, Bockman O C. Nitrous Oxide from Agriculture. *Norwegian J. Agric. Sci.*, 1994, 12(Suppl.): 62~63
- [21] 封克, 王小治, 张素玲, 等. 施用石灰对酸性土壤中氧化亚氮形成的影响. *土壤与环境*, 1999, 8(3): 198~202. Feng K, Wang X Z, Zhang S L, *et al.* Effect of liming acid soil on the production of nitrous oxide (In Chinese). *J. Soil and Envir.*, 1999, 8(3): 198~202

## EFFECT OF SOIL pH ON N<sub>2</sub>O PRODUCTION IN NITRATE REDUCTION

Feng Ke Wang Zibo Wang Xiaozhi Zhang Suling Wang Xiaoli

(*Institute of Resource and Environment, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China*)

**Abstract** By adding NaOH or HCl, one neutral soil and one weakly alkaline soil was respectively adjusted to a series of samples with different pH. After addition of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> the soil samples were anaerobically incubated with or without glucose for 24 h. After that N<sub>2</sub>O production rate was measured. The results show that without glucose the optimum pH for the greatest N<sub>2</sub>O production rate is about 5.25 for the neutral soil series, and 5.90 for the weakly alkaline soil series. With glucose, however, the optimum pH for N<sub>2</sub>O production is different, at about 6.50 and 6.90 for the neutral soil series and the weakly alkaline soil series, respectively, demonstrating that the addition of easily available carbon source has raised the optimum pH for N<sub>2</sub>O production. The experiment results also show that acidic condition could increase the ratio of N<sub>2</sub>O to total reduced gas, as for the absolute value of N<sub>2</sub>O production, however, the neutral condition is still more favorable.

**Key words** Nitrous oxide; Soil pH; Denitrification; Soil