

# 无机氮对土壤氮矿化与固定的影响

## ——兼论土壤氮的“激发效应”\*

沈善敏

(中国科学院林业土壤研究所)

### 摘 要

用室内培养和<sup>15</sup>N技术研究了土壤氮的矿化和固定,结果表明:无机氮添加不能引起土壤有机氮的加速分解;无机氮添加可显著增强添加氮的生物固定,但以减弱对土壤氮的固定为交换,因此培养期的总固定氮量并无显著增长。

培养期间土壤净矿化氮因添加无机氮而有所增长,这一现象(时常被称为氮激发效应)看来主要是由于添加氮在土壤氮固定过程中替代了部分土壤氮之故。

土壤中氮的矿化与固定与土壤的氮素营养状况关系至为密切。在生产实践中,与土壤这一过程直接关联的问题之一是无机氮肥的施用是否会加速土壤有机氮的分解。若干用<sup>15</sup>N标记肥料进行的田间或盆栽试验结果表明,无机氮肥可导致施肥处理的作物较不施肥对照获得更多来自土壤释出的氮。这一现象时常被认为起因于无机氮肥加速了土壤有机氮的分解释放,并称之为激发效应<sup>[2,5]</sup>。对于激发效应是否存在、如何解释用<sup>15</sup>N标记技术进行田间或盆栽试验所出现的上述现象,自来有着不同的看法和分歧。其实, Jansson<sup>[3]</sup>早期的研究和以后所提出的解释<sup>[4]</sup>已精辟地阐明了这一现象的实质,可惜少为人所注意。Stevenson<sup>[9]</sup>最近在评论这一现象时,支持 Jansson 的见解,认为产生上述现象主要是由于一部分肥料氮置换了土壤氮的缘故。

然而至今尚无直接的实验结果以证明无机氮添加对土壤有机氮矿化速率的影响。这是由于土壤中氮素循环变化的复杂性使直接测算有机氮的矿化速率存在许多困难。

本工作试图借助一项培养实验技术,检查无机氮添加对土壤氮矿化—固定过程的影响,并测算土壤氮的矿化速率和固定速率。

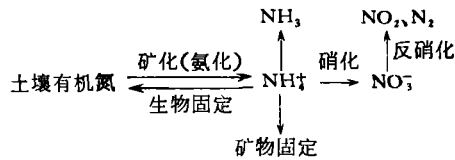
## 一、实验方法

供实验的土壤采自 Rothamsted 试验站 Broadbalk 试验地的 08 小区。土壤 pH7.6,有机碳含量 1.1%,氮含量 0.12%。培养试验设置三个培养时间(0天、10天和20天),三个加氮量处理,三个重复。三个加氮处理为无氮、低氮、高氮,用<sup>15</sup>N标记硫酸铵作为添加进土壤的无机氮,加入量经实际测算分别

\* 本工作是作者在英国 Rothamsted 试验站期间所做实验结果的一部分。工作中得到 Dr. Jenkinson 的指导, Mr. Pruden 代为作质谱分析,谨致谢意。

为 0、5.65、57.96 微克 N/克干土, 相当于每公顷耕层土壤施氮 0、15、150 公斤。低氮处理用超低剂量, 目的是使该处理土壤因无机氮添加而引起的影响缩减到最小程度, 以致近乎不施肥。实验中所用高、低两种剂量硫酸铵的  $^{15}\text{N}$  丰度分别为 19.73% 和 85.20%。

当土壤置于适宜的培养条件下, 土壤中除进行着氮的矿化—固定过程外, 还进行着土壤氮循环的其他过程, 如下图所示。



这些过程的存在, 不仅可使实验变得十分复杂, 而且带进一些可导致实验失败的因素, 以致最终无法对矿化和固定这两个主要过程的速率进行测算。为此, 在实验中采取了以下措施。

(1) 供试土壤用氯仿蒸汽灭菌, 在培养前再接种少量新鲜土壤。经氯仿处理的土壤中由于存在大量微生物尸体, 在培养期间氨化作用十分强烈, 但硝化作用却基本停止<sup>[7]</sup>, 这样便可将土壤有机氮的矿化过程限制在仅形成  $\text{NH}_4^+$ , 从而可避免土壤中  $\text{NO}_3^-$  积累以及氮的反硝化损失。同时, 也由于土壤微生物对  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的同化效率颇不相同, 硝化作用的存在将使土壤中无机氮的生物固定变得更加复杂。所以, 抑制硝化作用, 选择  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  作氮源, 实乃本实验的关键所在。

(2) 对培养期间氮的氨挥发损失、 $\text{NH}_4^+$  的矿物固定分别进行捕集和测定。由于土壤粘土矿物的  $\text{NH}_4^+$  固定作用, 一部分施入的  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  将迅速转入土壤的固相部分, 若不将此与生物固定氮相区别, 便可使氮的生物固定速率被估计过高。

实验的简要过程如下: 供试的新鲜土壤过 6 毫米孔径筛, 调节土壤湿度约为土壤持水量的 45%, 充分混匀后称取土壤每份 50 克(含干土 43.9 克), 置于 150 毫升烧杯中, 用氯仿蒸汽灭菌<sup>[6]</sup>。用反复抽真空法除去土壤中残留氯仿后, 将需添加标记氮的土壤平铺于聚乙烯薄膜上, 用微注射器滴加定量的标记氮液 1 毫升, 混匀, 将土倒回烧杯中, 接种 0.2 克新鲜土壤, 置于体积为 3.8 升的容器中, 同时置入分别存放 25 毫升 1 M NaOH 液和 3 毫升 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  液的小烧杯各一个以分别吸收排出的  $\text{CO}_2$  和  $\text{NH}_3$ , 然后加盖密封, 置于 25°C 下恒温培养 10 或 20 天。不作培养的土壤立即用 200 毫升 0.5 M  $\text{K}_2\text{SO}_4$  液浸提, 用蒸馏法分别测定浸提液中  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  及  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ <sup>[1]</sup>。浸提后土壤用硫酸钾液洗涤三次, 残土留待测  $\text{NH}_4^+$  固定氮<sup>[1]</sup>。培养结束后的土壤用硫酸钾液浸提如上, 洗涤后的残土用来测定标记的总氮和  $\text{NH}_4^+$  固定氮, 按减法法求算出标记的生物固定氮。一部分残土的硫酸钾洗涤液合并后测定  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  及  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量以检查因洗涤残土引起的氮损失, 得知其量约占加入氮量的 2—3%。

对所有氮测定项目均同时作  $^{15}\text{N}$  丰度测定。用蒸馏法收集各组分氮时, 为消除交叉污染, 每蒸馏一标记氮组分之前均先蒸馏一次非标记氮试样。所用冷凝器的内管则为不锈钢制成, 以降低管壁对  $^{15}\text{N}$  的所谓“记忆”效应。 $^{15}\text{N}$  丰度测定所用仪器为 MM602D 同位素质谱计。

## 二、结果与讨论

实验的主要结果列于表 1。从表中可见, 培养期间土壤中的硝化作用是微不足道的,  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的硝化率不超过 1%。氨挥发损失也有限, 但高氮处理的氨挥发损失明显高于低氮处理。土壤矿物固定  $\text{NH}_4^+$  约占加入氮量的 2%, 但可占土壤总固定加入氮量的 10—20%, 因此是必须将其与生物固定氮相区别的。

对实验结果的进一步计算和讨论是基于以下假设: (1) 在培养期间, 系统中加入的标

表 1 添加标记 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 土壤培养前后各组分氮含量分布 (单位: μg N/g soil)  
 Table 1 Distribution of N before and after the fumigated soils being incubated with <sup>15</sup>N labelled (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

土壤处理 Soil treatment	标记氮加量 Rate of labelled N added	培养天数 Incubation period (days)	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 浸出氮 K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -extractable N				氨挥发氮 Volatilized N		矿物固定氮 Fixed NH <sub>4</sub> by minerals 标记 Labelled	生物固定氮 Immobilized N by organisms 标记 Labelled	洗涤液中氮 N in washings 标记 Labelled	标记氮回收率 Recovery of labelled N (%)
			NH <sub>4</sub> -N		NO <sub>3</sub> -N		标记 Labelled	非标记 Unlabelled				
			标记 Labelled	非标记 Unlabelled	标记 Labelled	非标记 Unlabelled						
无氮	0	0	-	3.57	-	3.25	-	-	-	-	-	
低氮	5.65	0	5.29	3.70	0.06	2.89	-	0.18	-	-	-	
高氮	57.96	0	56.22	2.98	0.14	3.14	-	0.74	-	1.44	101.0	
无氮	0	10	-	33.84	-	2.91	-	-	-	-	-	
低氮	5.65	10	3.99	35.03	0.06	2.60	0.03	0.12	1.26	-	-	
高氮	57.96	10	49.20	37.83	0.59	2.45	0.51	0.98	4.73	1.67	99.5	
无氮	0	20	-	40.47	-	3.26	-	-	-	-	-	
低氮	5.65	20	3.77	41.66	0.07	3.11	0.06	0.14	1.41	-	-	
高氮	57.96	20	47.04	45.54	0.68	2.86	0.91	1.09	6.02	1.36	98.5	

记氮只发生单方向的固定而不发生固定后被矿化释放; 对于土壤氮, 设被矿化的土壤氮可以立即被固定, 但固定后不再被矿化。简言之, 在培养期间, 标记氮只发生固定, 土壤氮既可发生矿化也可发生固定, 但固定后不再矿化。这一假设之可能成立是根据以下事实: 在通常的土壤环境条件下, 微生物的代谢过程和世代周转极为缓慢, 因而虽然存在于土壤中的无机氮随时可能被微生物同化利用, 但进入微生物体内的氮却不大可能在短时间内因微生物代谢或死亡而被矿化释出。根据作者在另一实验中的计算, 土壤微生物体氮的平均周转年龄在高肥条件下为 4—5 年, 低肥条件下的时间更长。Jenkinson 等<sup>[8]</sup>也计算得相似的结果, 根据他的计算, Broadbalk 土壤中微生物体的平均半衰期为 1.69 年。因此在短短的 20 天培养期间, 不大可能发生被固定氮再度矿化的情形。(2) 在培养期间不发生  $\text{NO}_3\text{-N}$  的生物固定。这是考虑到大多数土壤微生物不利用  $\text{NO}_3$  作氮源, 尤其是在土壤中富含  $\text{NH}_4\text{-N}$  的情况下。作者用标记  $\text{NO}_3\text{-N}$  进行的一组培养试验证实了这一假设, 这也和 Jansson<sup>[3]</sup>的研究结果相一致。

根据上述假设, 可将实验结果讨论如下:

1. 无机氮添加引起的土壤氮表观激发效应 根据表 1, 可计算出各处理土壤氮的净矿化量如表 2 所示。计算式为: 土壤净矿化氮 = 培养后非标记  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$  之和 - 培养前非标记  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$  之和 + 培养期间非标记氮挥发损失。

表 2 不同无机氮添加处理土壤净矿化氮量

Table 2 Net mineralized N of fumigated soils incubated with different amounts of N

培养天数 Incubation period (days)	无 氮 No N		低 氮 Low N		高 氮 High N	
	$\mu\text{g N/g soil}$	%	$\mu\text{g N/g soil}$	%	$\mu\text{g N/g soil}$	%
0—10	30.06	100	31.21	103.8	34.73	115.5
10—20	7.00	100	7.14	102.0	8.18	116.9

由表 2 可见, 土壤施用极低量氮, 依然可检测出微弱的所谓激发效应存在: 在最初 10 天中, 土壤净矿化氮比无氮处理增加了 1.15 微克 N/克土, 相当于每公顷 3 公斤氮, 或相当于施氮量的 20%。施用高量氮可引起相当明显的“激发效应”, 在培养的初 10 天和后 10 天中, 净矿化氮比对照分别增加了 4.67 和 1.18 微克 N/克土, 相当于每公顷 12 和 3 公斤氮; 20 天内共增加 15 公斤氮, 相当于施氮量的 10%。

表 2 的结果重现了某些用  $^{15}\text{N}$  标记肥料进行田间或盆栽试验所看到的现象——施用氮肥可使作物吸收更多的土壤氮。对于这一现象, 我们可称之为土壤氮矿化的表观激发效应, 因为仅根据这一现象并不能证明土壤有机氮的分解是否因施用无机氮而加速。

2. 无机氮添加对土壤氮矿化和氮固定速率的影响 由于净矿化氮是同期内土壤矿化氮和固定氮之间的差额, 因此, 仅根据净矿化氮在土壤中的积累并不能反映出土壤氮矿化的实际速率。根据表 1 的实验结果估测土壤氮矿化和固定的速率尚需作进一步计算, 较为简便的计算方法如下:

(1) 培养期间添加氮(标记氮)和土壤氮的生物固定量。添加氮生物固定量: 可根据

土壤固相部分标记氮含量或经减差获得。例如高氮处理在培养初 10 天内的添加氮生物固定量为 4.73 微克 N/克土 (表 1), 在培养后 10 天内的生物固定量即为  $6.02 - 4.73 = 1.29$  微克 N/克土。

土壤氮生物固定量: 设想添加氮(标记氮)被同化的同时, 土壤无机氮将以相同的机率被同化。后者的同化量应决定于标记氮和土壤无机氮在培养期间的平均浓度比。据此, 高氮处理在培养初 10 天内的土壤氮固定量根据表 1 便可计算如下:

$$\text{土壤氮生物固定量} = 4.73 \frac{2.98 + 37.83}{56.22 + 49.20} = 1.83 \text{ 微克 N/克土}$$

计算中仅用土壤  $\text{NH}_4\text{-N}$  的浓度比而不计  $\text{NO}_3\text{-N}$ , 其理由已如上述。

(2) 培养期间土壤有机氮矿化量。有机氮矿化量为同期内氮的生物固定量和净矿化量之和, 于是可计算得高氮处理初 10 天内的有机氮矿化量为:  $1.83 + 34.73 = 36.56$  微克 N/克土。所有处理的计算结果列于表 3。

表 3 不同无机氮添加处理土壤总生物固定氮量和矿化氮量(单位:  $\mu\text{gN/g soil}$ )

Table 3 Total immobilized and total mineralized N by organisms in fumigated soils incubated with different amounts of N

培养天数 Incubation period (days)	土壤总固定氮量 Total immobilized N						土壤总矿化氮量 Total mineralized N	
	总量 Total		来自添加氮 From added N		来自土壤氮 From soil N		低氮 Low N	高氮 High N
	低氮 Low N	高氮 High N	低氮 Low N	高氮 High N	低氮 Low N	高氮 High N		
0—10	6.52	6.56	1.26	4.73	5.26	1.83	36.47	36.56
10—20	1.63	2.41	0.15	1.29	1.48	1.12	8.26	9.30

由表 3 的计算结果可见:

I. 无机氮添加几乎不影响土壤有机氮的矿化速率, 低氮和高氮处理的土壤总矿化氮量几乎是相同的。

II. 土壤对添加氮的生物固定明显随氮用量增加而增加, 但这是以减少对土壤氮的固定为交换, 因此, 氮用量增加并不能明显改变土壤的总固定氮量。这可能是由于土壤中氮的生物固定时常受土壤中有限碳源限制的缘故。

III. 若比较添加氮生物固定量和土壤氮净矿化量的增加量, 则可见两者具有极好的

表 4 添加氮生物固定量与土壤净矿化氮增加量比较(单位:  $\mu\text{gN/g soil}$ )

Table 4 A comparison of immobilized N from the N added and the increment of net mineralized N from soil-N

培养天数 Incubation period (days)	低 氮 Low N		高 氮 High N	
	添加N固定量 Immobilized N from added N	净矿化N增加量 Increment of net mineralized N	添加N固定量 Immobilized N from added N	净矿化N增加量 Increment of net mineralized N
0—10	1.26	1.15	4.73	4.67
10—20	0.15	0.14	1.29	1.18

一致性,如表 4 所示。

由此可以判断,培养中土壤净矿化氮因添加无机氮而有所增加,实乃由于添加氮在土壤氮固定过程中替代了部分土壤氮之故。

3. 无机氮添加对土壤有机质分解速率的影响——对土壤有机氮矿化速率影响的间接证据 土壤有机氮的加速矿化必然伴随以较多的二氧化碳排出。但表 5 的结果并未显示出处理之间的明显差异。尤其是培养最初 10 天内的二氧化碳排出量三者几乎是完全等同的。这也可以表明,无机氮的添加并未能引起土壤有机氮的加速分解。

表 5 不同无机氮添加处理土壤 CO<sub>2</sub> 排出量(单位:  $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g soil}$ )

Table 5 CO<sub>2</sub> evolution of fumigated soils incubated with different amounts of N

培养天数 Incubation period (days)	无 氮 No N	低 氮 Low N	高 氮 High N
0—10	175.8	171.3	178.2
10—20	55.8	47.1	50.5

### 三、结 语

1. 选择适宜的培养实验方法,可以重现以往为某些田间或盆栽试验所发现的所谓土壤氮激发效应。这一效应的由来,看来并非是由于土壤有机氮矿化速率改变所致,而只是简单的肥料氮和土壤氮之间置换作用的结果。在用标记氮进行肥料试验时,忽视上述作用的存在,将低估肥料氮的利用效率而高估土壤的供氮能力。

2. 土壤对肥料氮的生物固定,随肥料氮用量增加而增加,但这是以减少对土壤氮的固定为交换。土壤总固定氮能力不大可能随施肥增多而增强,其限制因素可能是土壤中有限的有效碳源,但对于富含新鲜有机质的土壤情况可能例外。

3. 推论:用  $\text{NH}_4\text{-N}$  作为供试验的肥料氮源将比用  $\text{NO}_3\text{-N}$  作氮源显示较强的表现激发效应。这是由于  $\text{NH}_4\text{-N}$  较之  $\text{NO}_3\text{-N}$  更易于为土壤微生物同化利用,因而可能增强对肥料氮而减少对土壤氮的生物固定作用的缘故。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Bremner, J. M., 1965: Inorganic forms of nitrogen, in "Method of Soil Analysis" (Black C. A. et al ed.), part 2, Am. Soc. Agron., Inc., Madison, Wis., USA.
- [ 2 ] Hauck R. D. and Bremner, J. M., 1976: Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research, Adv. Agro. 26: 219—266.
- [ 3 ] Jansson S. L., 1958: Tracer Studies on Nitrogen Transformations in Soil, Ann. Roy. Agric. Coll., Sweden.
- [ 4 ] Jansson, S. L., 1971: Use of <sup>15</sup>N in studies of soil nitrogen, in "Soil Biochemistry II" (McLaren A. D. and J. Skujins ed.), Marcel Dekker Inc., New York.
- [ 5 ] Jansson, S. L. and Persson, J., 1982: Mineralization and immobilization of soil nitrogen, in "Nitrogen in Agricultural Soils" (Stevenson, F. J. ed.), Am. Soc. Agron., Madison, Wis., USA.
- [ 6 ] Jenkinson, D. S., 1966: Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. J. Soil Sci. 17: 280—302.
- [ 7 ] Jenkinson, D. S. and Powlson, D. S., 1976: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. Soil Biol. Biochem., 8: 167—177.

- [ 8 ] Jenkinson, D. S. and Rayner, J. H. 1977: The turnover of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. *Soil Sci.*, 123: 298—305.
- [ 9 ] Stevenson F. J., 1982: Organic matter and nutrient availability, in Symposia papers I of The 12th International Congress of Soil Science, New Delhi, India.

## THE EFFECT OF MINERAL NITROGEN ON THE MINIERALIZATION AND IMMOBILIZATION OF SOIL NITROGEN

Shen Shanmin

*(Institute of Forestry and Soil Science, Academia Sinica, Shenyang)*

### Summary

Mineralization and immobilization of soil nitrogen were studied by incubation methods with labelled nitrogen. Results showed that decomposition of organic nitrogen in soil was not accelerated by the mineral nitrogen added; however, the mineral nitrogen added in soil accelerated the biological immobilization of the nitrogen added, and, at the same time, lowered the immobilization of soil nitrogen. Therefore, there was no distinct fluctuation of the total immobilization nitrogen in soil in the whole period of incubation.

It seems that the increase of the net mineralized nitrogen in soil induced by mineral nitrogen added, which is generally known as the priming effect, is mainly because part of soil nitrogen to be immobilized is replaced by mineral nitrogen added in soil.