

土壤硝化作用过程中亚硝态氮的累积研究*

冉 炜 沈其荣 郑金伟

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

曹志洪

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘 要 在实验室条件下比较了 9 种土壤硝化过程中 NO_2^- 的累积能力和 NO_2^- 在不同土壤中的稳定性, 并在 3 种代表性土壤上检测了 NO_2^- 累积的动态变化。结果表明, 红壤和黄棕壤在所有施铵氮 (NH_4^+-N) 水平下均未出现 NO_2^- 的累积; 但砂姜黑土、潮土、滨海盐土、潮棕壤、褐土、灌漠土和灰钙土等均出现不同程度的 NO_2^- 累积, 且随着施 NH_4^+-N 水平提高而增加 NO_3^- 在红壤和黄棕壤中的累积与施 NH_4^+-N 水平无关, 但在其它 7 种 pH 大于 7 的土壤中的累积受到高浓度 NH_4^+ 的抑制。此外, 试验还表明, NO_2^- 在红壤和黄棕壤中不稳定, 但在其它 7 种土壤中相当稳定。土壤硝化过程中产生 NO_2^- 累积的问题应引起重视。

关键词 亚硝酸盐累积, 硝化作用, 土壤

中图分类号 S158

长期以来, 人们普遍认为硝化过程的中间产物——亚硝态氮在陆地和水生生态系统中不会产生累积。但近年来不断有报道表明, 亚硝酸盐在河流、湖泊、海湾、河口和土壤中累积的数量相当可观(表 1), 农业生产中广泛大量使用化肥是导致环境中亚硝酸盐累积的主要原因。农业非点源氮磷排放对水域生态系统的影响已经引起国内外的广泛关注^[1]。研究土壤中亚硝酸盐的起源、累积和迁移特征, 对揭示水体中亚硝酸盐的累积机制及其控制途径具有十分重要的意义。本试验研究了我国 9 种典型农业土壤中亚硝酸盐累积的潜力和亚硝酸盐在土壤中的稳定性, 在此基础上又研究了 3 种土壤亚硝酸盐的累积过程, 探讨了亚硝酸盐在土壤中累积的机理。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

供试土壤均为长期旱作的农业土壤。红壤采自江西省临川县, 黄棕壤采自江苏省农科院, 砂姜黑土采自安徽省蚌埠市, 潮土采自江苏省宿迁市, 滨海盐土采自江苏省大丰市, 潮棕壤采自山东省泰安市, 褐土采自河南省汝州市, 灌漠土和灰钙土采自甘肃省兰州市。采样深度为 0~15cm, 采样时间为 1999 年, 土

* 国家重点基础研究发展规划项目(G1999011806)

收稿日期: 2000-03-29; 收到修改稿日期: 2000-06-15

表1 NO₂⁻在水体和土壤生态系统中的累积Table 1 NO₂⁻ accumulation in aquatic and soil ecosystems

生态系统 Ecosystems	NO ₂ ⁻ -N累积浓度 ¹⁾ NO ₂ ⁻ -N concentration
河流	
德国莱茵河 ^[2]	平均值100~200(μg/L)
北爱尔兰6条河流 ^[3]	平均值4~172(μg/L)
中国长江干流 ^[4]	年均值3~47(μg/L)
中国海滦河干流 ^[4]	年均值11~2365(μg/L)
地下水	
中国太湖流域76眼水井 ^[5]	平均值0~580(μg/L)
中国太湖流域地下水 ^[6]	最大值4000(μg/L)
湖泊	
中国22个主要湖泊和水库 ^[7]	平均值2~393(μg/L)
海湾	
中国胶州湾东部 ^[8]	年均值9.94(μg/L) 最高值76.44(μg/L)
河口	
长江口北支三和港 ^[9]	冬季表层月均值21.28(μg/L) 冬季底层月均值29.4(μg/L)
土壤	
美国草甸土田间抽滤液(施肥后7个月) ^[10]	平均值28~504(μg/L) 最大值7000(μg/L)
北爱尔兰田间土壤(pH6.0,施肥后1周) ^[3]	平均值0~2.747(μg/g)
美国实验室土壤(pH8.1,施肥后8天) ^[11]	检测值174(μg/g)

1) 中国地面水NO₂⁻-N环境标准为<60μg/L

表2 供试土壤部分理化性质

Table 2 Selected chemical and physical properties of soils

土壤 Soils	pH	有机质 Organic Matter (g/kg)	全氮 Total N (g/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N (g/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (g/kg)	颗粒组成 Particle composition (g/kg)		
						2~0.02mm	0.02~0.002mm	<0.002mm
红壤	5.06	8.5	0.7	1.2	8.1	145	462	393
黄棕壤	5.67	14.2	1.1	3.1	7.4	254	400	346
砂姜黑土	7.66	20.9	1.3	38.0	5.5	272	431	297
潮土	7.89	22.6	1.4	63.2	4.7	304	418	278
滨海盐土	8.36	7.0	0.5	15.7	5.3	696	192	112
潮棕壤	7.05	10.2	0.7	5.3	5.3	569	207	224
褐土	7.82	14.5	1.3	9.9	5.9	534	299	167
灌漠土	8.28	21.3	1.4	22.9	5.9	438	338	224
灰钙土	8.37	17.2	1.2	3.1	4.6	470	327	203

1.2 试验方法

1.2.1 土壤氨氧化潜力和亚硝酸盐氧化潜力测定 试验设 8 个施氮水平,重复 3 次。称取相当于烘干土重 10g 的风干土于 120ml 塑料瓶中,分别加入 0, 0.001, 0.002, 0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.1mol/L 的硫酸铵溶液 2ml, 相当于 0, 5.6, 11.2, 22.4, 56, 112, 224, 560mg/kg 的施氮水平。迅速将样品放入可控湿度的恒温箱中。在 35℃ 下培养 24h 后取出,立即加入 2mol/L 的氯化钾溶液 100ml, 振荡 1h, 过滤,测定滤液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量。

1.2.2 以 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 为底物的亚硝酸盐氧化潜力的测定 试验方法和条件同 1.2.1。即向样品中加入 0, 0.001, 0.002, 0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.1mol/L 的亚硝酸钠溶液 2ml, 相当于 0, 2.8, 5.6, 11.2, 28, 56, 112, 280mg/kg 的施氮水平。迅速将样品放入可控湿度的恒温箱中。在 35℃ 下培养 24h 后取出,立即加入 2mol/L 的氯化钾溶液 100ml, 振荡 1h, 过滤,测定滤液中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量。

1.2.3 土壤硝化作用的动态监测试验 根据试验 1.2.1 和 1.2.2 的试验结果,选取具有区域代表性的黄棕壤、潮土和灰钙土作为供试土壤。试验设 8 个施氮水平(同 1.2.1), 9 个监测时间(2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 192, 384h), 重复 3 次。试验方法和条件及测定项目同 1.2.1。

1.3 分析方法

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 用加 MgO 的蒸汽蒸馏法^[12]。 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量用 Griess-Ilosvay 法 (α -萘乙二胺盐酸盐比色法)直接测定^[12]。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 经 Cu-Cd 还原柱还原为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 后,用 Griess-Ilosvay 法测定 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量^[12], 此值为经 Cu-Cd 还原柱还原的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和样品中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 之和, 减去样品中的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 即为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量。 Griess-Ilosvay 法和 Cu-Cd 还原柱法测定 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的灵敏度高, 干扰少, 测定结果可比性强, 已在国内外广泛用于水体环境监测之中。

2 结果与讨论

2.1 NO_2^- 和 NO_3^- 在不同土壤中的累积作用

培养前在 9 种土壤中均未检测出 NO_2^- , 在加入 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 后经 35℃ 下 24h 培养, 红壤和黄棕壤仍未检出, 但其它 7 种土壤在所有施氮水平下均有 NO_2^- 累积, 并且随着施氮水平的提高而增加(图 1A)。其中潮土在 560mg N/kg 的水平下, 培养 24 小时后其 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 累积高达 34.7mg/kg。此外, pH 大于 7 的土壤中, 即使不外加氮, 经 35℃ 下 24 小时培养后也能检测到 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的累积, 累积量因土壤而异, 变化在 1.3~9.0mg/kg 之间, 潮棕壤最低, 灌漠土最高。表明氨氧化细菌能够氧化土壤中存在的氮或新矿化出的氮, 且氨氧化作用的强度大于 NO_2^- 氧化作用的强度。

不同土壤中 NO_3^- 的累积量也有较大差异(图 1B)。红壤和黄棕壤在培养时间内新产生的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 量极少, 最大值分别不超过 0.4 和 1.4mg/kg, 且 NO_3^- 累积量与施氮水平无关。其它 7 种土壤中 NO_3^- 的累积量在低施氮水平范围内 ($< 112\text{mg/kg}$) 随施氮水平的提高而增加, 但当施氮水平超 112mg/kg 时, 除潮棕壤外, NO_3^- 的累积量均随施氮水平的提高而下降。表明高浓度 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 直接或间接地抑制了土壤 NO_2^- 氧化反应。这与 NO_2^- 在高施氮水平下有较多累积的结果是一致的。

据研究, 氨氧化细菌细胞内单加氧酶的底物是游离氨 (NH_3) 而非离子态铵 (NH_4^+)^[13]。因此, 土壤硝化作用的第一步将 NH_4^+ 氧化为 NO_2^- 的过程与土壤将 NH_4^+ 转化为 NH_3 的能

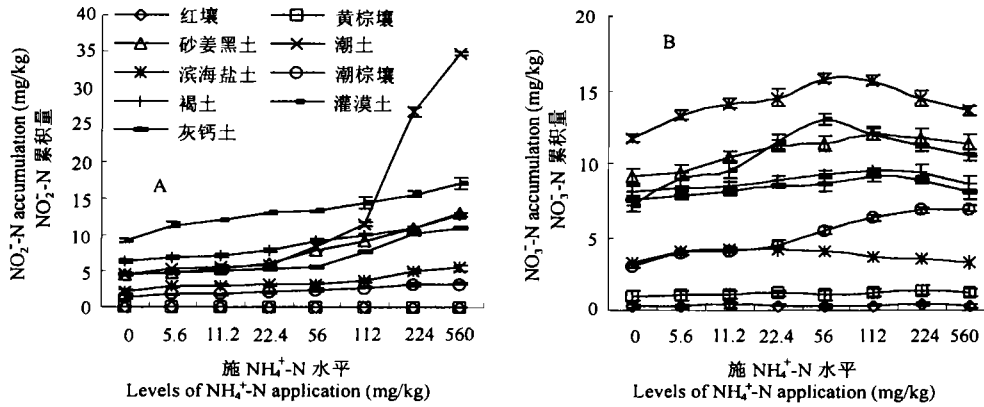


图1 土壤类型和施 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 水平对土壤中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (A) 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (B) 累积量的影响
Fig.1 Effect of soil types and levels of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ application on accumulation of $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (A) and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (B) in soil

力是紧密联系在一起的。pH低的酸性土壤,如红壤和黄棕壤中,硫铵转化为自由 NH_3 的量极少,这是其硝化作用微弱的主要原因之一。高pH、高含砂量和低阳离子代换量的土壤较容易释放出 NH_3 ^[14],因此,与酸性土壤相比,碱性土壤氨氧化作用较活跃。

由于有较大量的游离 NH_3 存在,亚硝化细菌的活性受到较强烈的抑制^[15,16],这是导致碱性土壤中 NO_2^- 累积的主要原因。早期的研究表明,在pH9.5时,1.4mg/L的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 所转化出的自由 NH_3 就可抑制亚硝酸盐氧化细菌的产能反应^[17]。本研究表明,随施氮水平的提高, NO_2^- 在 $\text{pH} > 7$ 的土壤中的累积量显著增加。

氮肥施入后迅速转化出的 NH_3 ,既是氨氧化细菌的底物,又是亚硝酸盐氧化细菌的抑制剂,从而导致 NO_2^- 在土壤中快速累积,这一机制对于进一步研究 NO_2^- 的环境影响具有重要的理论价值。由于我国人口密集的东部地区,化肥用量大^[1],旱地施肥方式仍以点施或条施为主,局部土壤中化肥浓度处于饱和状态,容易产生亚硝酸盐的累积。亚硝酸盐随灌溉水或降水进入水体生态系统的危险应引起足够的重视。

2.2 NO_2^- 和 NO_3^- 在土壤中累积的动态变化

通过对黄棕壤、潮土和灰钙土中硝化过程的动态检测,发现在384小时培养时间内黄棕壤中均没有 NO_2^- 累积,但在潮土和灰钙土中出现 NO_2^- 的大量累积(图2)。潮土在560mg/kg施氮水平下经96小时培养, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 累积达到52.0mg/kg的最大值,在同一施氮水平下,灰钙土经192小时培养, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 累积达到102.5mg/kg的最大值。两种碱性土壤中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 累积超过10mg N/kg的时间均超过了2周。当 NO_2^- 累积达到最大值后,随着培养时间的延长, NO_2^- 累积逐渐减少。

3种土壤在384小时的培养时间内 NO_3^- 的累积均不断提高,但不同土壤 NO_3^- 的累积有较大差别。黄棕壤的 NO_3^- 累积与施氮水平没有显著的相关关系,而潮土和灰钙土的 NO_3^- 累积随施氮水平的提高而增加,反映出弱酸性土壤与石灰性土壤硝化作用的本质区别。国外近年来对酸性森林土壤的研究表明,某些化能自养型氨氧化细菌可能存在于森林土壤中^[18,19],但在酸性农业土壤中还未见报道。由于黄棕壤中硝酸盐累积与施氮水平没

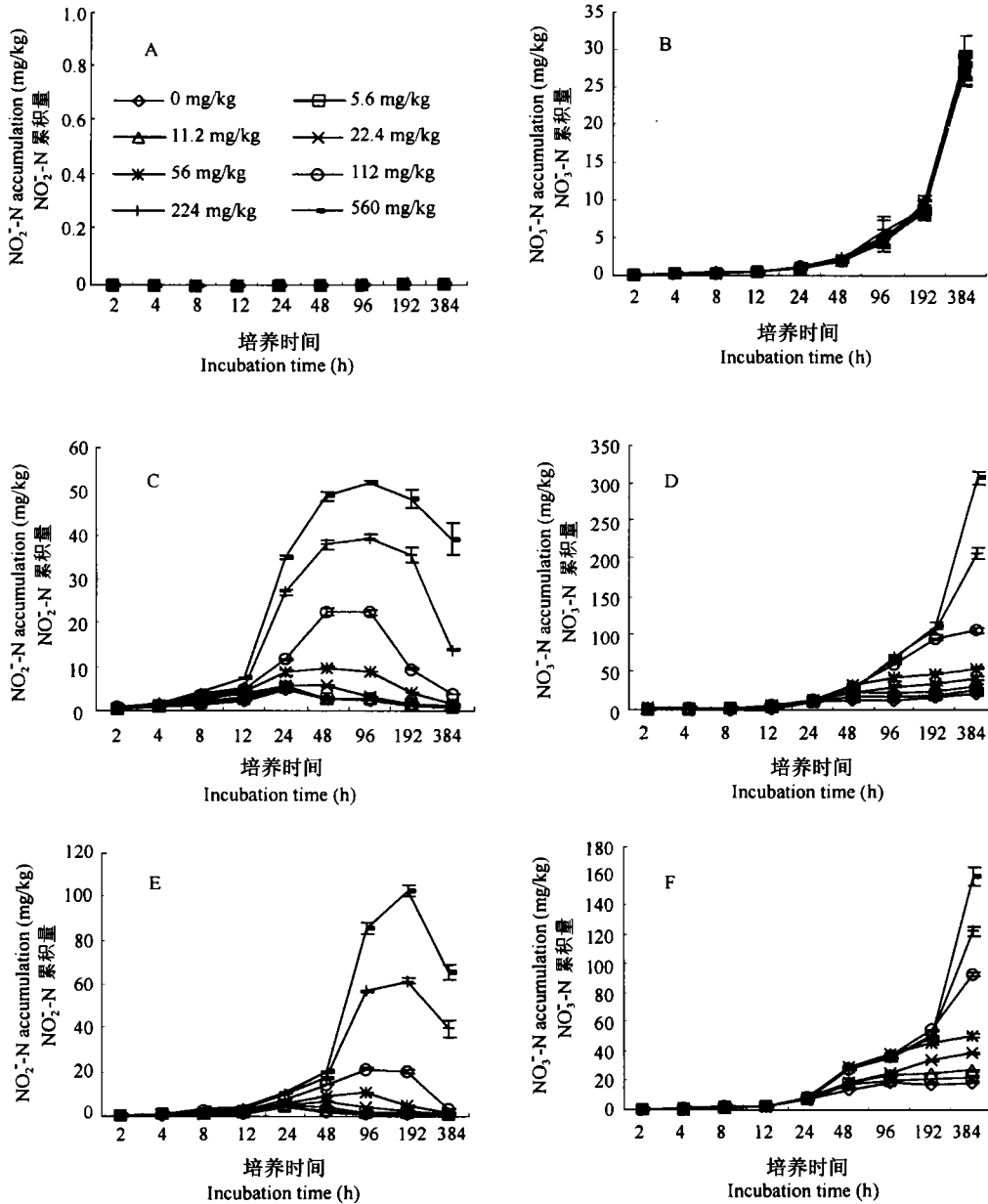


图2 在不同施 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 水平下黄棕壤 (A, B)、潮土 (C, D) 和灰钙土 (E, F) 中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (A, C, D) 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 累积量的动态变化

Fig.2 Dynamic changes of $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (A, C, and E) and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (B, D, and F) in Yellow-brown earth (A and B), Fluvo-aquic soil (C and D), and Sierozems (E and F) with addition of different $\text{NH}_4^+\text{-N}$ rates

有关系,因此本研究结果表明,酸性农业土壤中硝化作用可能是在异养型微生物参与下进行的。而化能自养型细菌则主导了石灰性和碱性土壤中的氨氧化过程,而且这些土壤中亚硝酸盐氧化细菌的活性明显受到了施氮后产生的 NH_3 的抑制。当 NO_2^- 累积达到最大值后, NO_2^- 累积逐渐减少这一现象与 NH_3 的不断消耗和土壤 pH 在硝化进程中的逐渐降低有

关^[15]。我国北方地区以石灰性和碱性土壤为主,土壤硝化过程中产生的亚硝酸盐特别是在没有作物吸收或吸收量较少时对生态系统的影响是一个值得进一步研究的问题。

2.3 NO_2^- 在不同土壤中的稳定性

以不同浓度的 NaNO_2 为底物,在 35°C 下培养 24 小时后,不同土壤中 NO_2^- 的残留量(图 3A)和转化为 NO_3^- 的量(图 3B)有较大的差异。加入到红壤中的 NO_2^- 几乎没有残留下来,加入到黄棕壤中的 NO_2^- 残留较少,而加入到 $\text{pH} > 7$ 的土壤中的 NO_2^- 残留量较大。例如,当施 NO_2^- -N 水平为 $280\text{mg}/\text{kg}$ 土时,培养 24 小时后平均有 93.5% 的 NO_2^- 残留在 $\text{pH} > 7$ 的土壤中,而红壤和黄棕壤中 NO_2^- 的残留量分别只占加入 NO_2^- 量的 0.3% 和 19.2%。进一步分析表明,损失的 NO_2^- 转化为 NO_3^- 的比例在红壤中只有 5.9% ($280\text{mg}/\text{kg}$ 水平)~29.7% ($2.8\text{mg}/\text{kg}$ 水平),在黄棕壤中有 9.5%~44.9%,而在 $\text{pH} > 7$ 的土壤中平均高达 88.6%~99.4%。 NO_2^- 在红壤和黄棕壤中的低残留率和低转化率表明 NO_2^- 在酸性土壤中是不稳定的。相反,在 $\text{pH} > 7$ 的土壤中的高残留率和高转化率表明 NO_2^- 在石灰性和碱性土壤中较稳定。

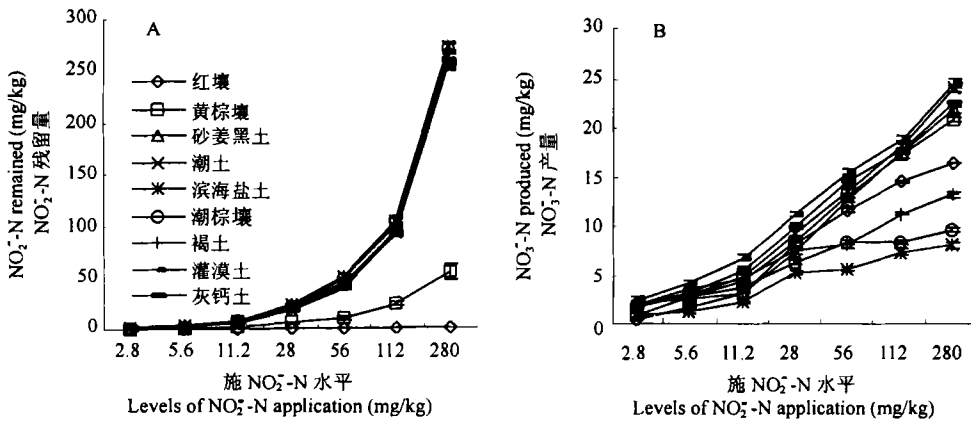


图 3 土壤类型和施 NO_2^- -N 水平对土壤 NO_2^- -N 残留量 (A) 和 NO_3^- -N 产量 (B) 的影响

Fig. 3 Effect of soil types and levels of NO_2^- -N application on residues of NO_2^- -N (A) and production of NO_3^- -N (B) in soil

本试验的结果与前人的研究是相符合的。Nelson 等^[20]认为, NO_2^- 在土壤中的分解率随土壤 pH 的降低而增加, 随温度和土壤有机质含量的增加而增加, 但随土壤水分含量的提高而降低。 NO_2^- 在土壤中的稳定性差异是 NO_2^- 在石灰性和碱性土壤中易累积的另一个重要原因。 NO_2^- 在酸性土中转化的其他途径, 如气态损失, 尚需进一步研究。

3 结论

土壤硝化过程中 NO_2^- 的累积量因土壤类型而异, 并且受土壤产生 NH_3 的能力控制。高的土壤 pH 和高的 NH_4^+ -N 水平是导致土壤中 NO_2^- 累积的主要因素。根据本试验的结果, 可以预期施氨水或尿素的土壤在硝化过程中 NO_2^- 累积要比施硫酸铵的土壤更加显著; 石灰性和碱性旱地土壤上化肥条施和点施方式可能会导致土壤局部区域 NO_2^- 大量累

积。对这些问题以及 NO_2^- 在田间土壤中发生、累积、转化和迁移过程应进一步深入研究。

参 考 文 献

1. Cao Z H, Cai Z C. Options for inorganic fertilizer consumption and environment conservation in China. In Cao Z H, Pawlowski L. ed. Chemistry for Protection of the Environment. Nanjing: Nanjing University Press, 1999. 20~27
2. Smith RV, Foy R H, Lennox C D, Jordan C, *et al.* Occurrence of NO_2^- in the Lough Neagh river system. J. Environ. Qual., 1995, 24:952~959
3. Burns L C, Stevens R J, Smith R V, Cooper J E. The occurrence and possible sources of NO_2^- in a grazed, fertilized, grassland soil. Soil Biol. Biochem., 1995, 27:47~59
4. 中国环境统计年鉴编委会. 中国环境统计年鉴. 北京: 中国环境统计年鉴社, 1990~1998
5. 马立珊, 钱敏仁. 太湖流域水环境硝态氮和亚硝态氮污染的研究. 环境科学, 1987, 8(2): 60~65
6. 黄家柱. 苏锡常地区地下水资源开发利用与环境保护. 农村生态环境, 1998, 14(1): 10~13
7. 金相灿, 朱莹. 我国主要湖泊和水库水体的营养特征及其变化. 环境科学研究, 1991, 4: 11~20
8. 赵夕旦, 祝陈坚, 举鹏等. 胶州湾东部海水中氮的含量和分布. 海洋科学, 1998, 1: 40~43
9. 何国喻, 赵尧鑫. 硝酸盐和亚硝酸盐. 江苏省海岛资源综合调查领导小组办公室编. 江苏省海岛资源综合调查报告. 北京: 科学技术文献出版社, 1996. 124~128
10. Jones R D, Schwab A P. NO_3^- leaching and NO_2^- occurrence in a fine-textured soil. Soil Sci., 1993, 155: 272~281
11. Bundy L G, Bremner J M. Effects of nitrification inhibitors on transformations of urea nitrogen in soils. Soil Biol. Biochem., 1974, 6:369~376
12. Mulvaney R L. Nitrogen-Inorganic forms. In Bigham J M. ed. Methods of Soil Analysis. Part 3, Chemical Methods. SSSA, ASA, Madison, Wisconsin, USA. 1996. 1123~1184
13. Suzuki I, Dular U, Kwok S C. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. J. Bacteriol., 1974, 120:556~558
14. Martens D A, Bremner J M. Soil properties affecting volatilization of ammonia from soils treated with urea. Commun. in Soil Sci. Plant Anal., 1989, 20(15&16):1645~1657
15. Alexander M. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons., 1977. 251~272
16. Smith R V, Burns L C, Doyle R M, *et al.* Free ammonia inhibition of nitrification in river sediments leading to NO_2^- accumulation. J. Environ. Qual., 1997, 26:1049~1055
17. Aleem M I H, Alexander M. Nutrition and physiology of *Nitrobacter agilis*. Appl. Microbiol., 1960, 8:80~84
18. De Boer W, Tietema A, Gunnewiek P J A K, Laanbroek H J. The chemolithotrophic ammonium-oxidizing community in a nitrogen-saturated acid forest soil in relation to pH-dependent nitrifying activity. Soil Biol. Biochem., 1992, 24:229~234
19. Zhu W X, Carreiro M M. Chemoautotrophic nitrification in acidic forest soils along an urban-to-rural transect. Soil Biol. Biochem., 1999, 31:1091~1100
20. Nelson D W. Gaseous losses of nitrogen other than through denitrification. In Stevenson F J. ed. Nitrogen in Agricultural Soils. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 1982. 327~363

NITRITE ACCUMULATION IN THE PROCESS OF NITRIFICATION IN DIFFERENT AGRICULTURAL SOILS OF CHINA

Ran Wei Sheng Qi-rong Zheng Jin-wei

(College of Natural Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University,

Nanjing 210095, China)

Cao Zhi-hong

(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Summary

Laboratory work had been conducted to evaluate NO_2^- and NO_3^- accumulation capacity in the process of nitrification in 9 Chinese agricultural soils, and to investigate stability of NO_2^- in the 9 soils. Dynamic procedure was also done to observe the duration of NO_2^- in 3 soils of different properties and locations at the same NH_4^+ levels. Results showed that acid and fine-textured soils, Red earth and Yellow-brown earth, had no NO_2^- accumulation at all NH_4^+ levels, while alkaline or calcareous soils, such as Sajiang black soil, Fluvo-aquic soil, Coastal solonchaks, Cinnamon soil, Irrigated desert soil, and Sierozem had significant NO_2^- accumulation. NO_2^- accumulation in each soil of $\text{pH} > 7$ increased with the elevation of NH_4^+ levels. NO_3^- in 2 acid soils was independent of the NH_4^+ levels, but in the other 7 soils inhibited by high NH_4^+ input. It was found that NO_2^- was unstable in acid soils, but durable in alkaline soils or even in neutral soils. The results obtained in the study showed that NO_2^- accumulation in the process of nitrification in soils with pH more than 7 should attract more attention.

Key words Nitrite accumulation, Nitrification, Soil