

· 综述 ·

根际反硝化作用与 N₂O 释放

邹国元^{1,2} 张福锁^{2*}

(1 北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100089)

(2 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100094)

摘要 对根际反硝化作用及 N₂O 的释放进行了综述。反硝化过程与 N₂O 的产生及释放有密切的关系。反硝化作用产生的 N₂O 量不仅取决于反硝化速率, 而且也取决于那些影响反硝化产物 N₂O/N₂ 比值的参数。在植物根际这一特殊土壤区域中, 反硝化作用受 NO₃⁻、C 及 O₂ 的综合影响。豆科作物根瘤是一个特殊的根际系统, 根瘤菌的反硝化作用及 N₂O 释放应引起更大的关注。植物根际不仅对反硝化作用产生影响, 而且对 N₂O 释放也起了重要的通道作用, 特别是对渍水土壤有重要的意义。文章最后指出了一些尚需深入研究的问题。

关键词 根际; 反硝化; N₂O

中图分类号 S153.61

Denitrification in Rhizosphere and N₂O Emission

Zou Guoyuan^{1,2} Zhang Fusuo²

(1 Institute of Plant Nutrition and Natural Resources, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science, Beijing 100089, China)

(2 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Progresses on denitrification in rhizosphere and N₂O emission were reviewed. N₂O is an important intermediate product of soil denitrification. N₂O production by denitrification not only depend on factors affecting denitrification rate, but also depend on factors affecting product ratio of N₂O/N₂. NO₃⁻, C supply and O₂ concentration in rhizosphere have complex effect on denitrification. Denitrification by rhizobium should be paid closer attention. N₂O dissolved in rhizosphere water will probably be absorbed by plant roots and then released into the atmosphere through plant. Finally, several aspects for further investigation were indicated.

Key words rhizosphere; denitrification; N₂O

1 反硝化作用与 N₂O 释放

目前有大量研究探讨大气中痕量气体浓度对全球气候变化的影响, 以及对人类健康和环境的影响, N₂O 是最受关注的气体之一。土壤生物反硝化过程是 N₂O 的主要来源。该过程是指微生物在无氧、或者微量氧供应条件下的硝酸呼吸过程, 是土壤中氮素转化的最主要过程之

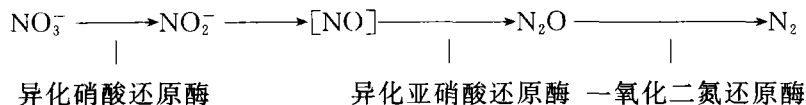
收稿日期: 2001-05-09

中国-德国政府合作项目(1998-11—2002-04), 北京市基金重大资助项目(6980001), 北京市科技新星资助项目(954813300)

* 张福锁, 教授, 博导, 研究方向为植物营养与施肥, 重点从事植物根际营养和推荐施肥理论与技术环境, 以及根际微生态系统物质循环、禾本科作物适应养分缺乏的机理。联系作者。

一。在这个过程中,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 。

土壤反硝化作用的产生需要以下几个条件: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)嫌气条件或 O_2 的有效性受到限制;4)N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,反硝化过程才能够进行。这些因素的相对重要性应生境而异,在土壤条件下氧的有效性通常是最关键的因素。



在上述反硝化过程中, NO_2^- 、 NO 、 N_2O 等中间产物以及最终产物 N_2 都有可能出现。生物反硝化过程产生 N_2O 的原因是部分反硝化微生物不具备进一步还原 N_2O 的能力,或者土壤条件抑制了反硝化过程的完成。一般而言,土壤反硝化微生物中,含有异化硝酸还原酶和异化亚硝酸还原酶活性的比例较高,而一氧化二氮还原酶较低。例如,大多数的反硝化微生物能够进行 NO_3^- 到 NO_2^- 的反应,而能够还原 N_2O 的微生物数量则相对较少,因而在反硝化过程中常有 N_2O 的释放。

不同微生物生成 N_2O 的能力有很大差异。土壤中微生物种群动态是影响 N_2O 生成的重要因素,在某种程度上比土壤物理条件或化学条件更为重要^[1~5]。例如有研究发现在沙质土壤上反硝化作用的主要产物是 N_2O ,是因为该土壤缺乏还原 N_2O 的细菌^[6]。但是研究土壤微生物种群动态有一定难度,同时在调查 N_2O 释放时这项工作也经常被人们所忽视。某些调查结果或结论与已有文献出现矛盾,有可能是因为微生物种群差异所致。

反硝化作用产生 N_2O 的总量不仅取决于反硝化速率,而且也取决于反硝化产物中 $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ 比值。反硝化作用终产物是 N_2O 和 N_2 ,其中 N_2O 所占的比例可以低至于零,也可以成为主要产物,这受到下列因素的影响:氮氧化物浓度、 O_2 有效性、有效 C、土壤气体扩散速率、pH、温度、硫化物浓度、酶活等。上述参数绝大多数都影响到氧化剂或还原剂的有效性。当氧化物的有效性大于还原物的供应时,氮氧化物底物就不能完全还原,因而产物中 $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ 比值较高。与此相反,当反硝化作用速率受氧化物供应限制时,那么绝大多数氮氧化物都将转化为 N_2 。

2 根际反硝化作用与 N_2O 释放机制

植物根际的土壤物理、化学及生物学特性因受到根系的影响,而表现出其特殊性。因此作物根际的反硝化作用状况也有相应的变化,进而影响 N_2O 的产生与释放。

2.1 根际反硝化作用

植物是土壤有机质的最初来源。从根外土壤经根际到根表,土壤微生物数量迅速增加,达一个数量级以上^[7]。在这一微小区域内土壤微生物种群^[8,9]及反硝化能力^[10,11]均有显著变化,根际土壤有机质降解加速、土壤动物吞食微生物的量也大幅度增加^[12]。反硝化细菌作为根际微生物群体的一部分,其活性可能受到植物的显著影响。在研究中已发现无论是在农田土壤^[13~15]还是淹水土壤上^[16,17]植物对反硝化作用有影响。但也有报道认为影响甚微^[18,19]。

NO_2^- 、C 及 O_2 是反硝化作用的决定因素,植物直接或间接地通过这些因素对反硝化作用

产生影响。一方面植物通过吸收同化 NO_3^- 而抑制反硝化作用,另一方面植物提供根分泌物及残屑等有机物质,经矿化和硝化作用而供给 NO_3^- 来促进反硝化作用。同时植物根分泌物及残屑是反硝化细菌的主要碳源供给者。对 O_2 的影响要复杂些。一方面根系呼吸会消耗 O_2 ,根际有机物的微生物降解也是消耗 O_2 的重要过程。另一方面植物通过蒸腾作用及气体交换而提高土壤 O_2 的浓度。总而言之,耕地土壤上植物根际对反硝化作用的不利影响为降低土壤含水量并/或消耗 NO_3^- ;而有利效应则表现在植物根分泌物及残屑为微生物提供有机碳并在降解过程中降低 O_2 分压。

以上分析从微观的角度给出了根际土壤反硝化作用可能受到的影响。当然,在不同生态条件下,探讨植物各生育时期的根际反硝化作用,还应进行具体的、综合的分析。例如当土壤反硝化作用主要受到 NO_3^- 限制时,那么由于根系与微生物竞争 NO_3^- ,就会减弱反硝化作用,休闲土壤 N_2O 释放量低于栽培土壤^[20]说明了这一问题;相反,当 NO_3^- 供应有富余时,植物的存在,向根际提供了有机碳源以及根系呼吸耗 O_2 ,因而促进反硝化作用^[13]。另外土壤有机碳含量和水分含量均是应该考虑的重要因素。Bakken^[13]发现植物只有在水分含量较高时才促进反硝化作用,而在中等水分及低水分含量情况下,即使有较高的 NO_3^- 供应,植物促进效应也不显著甚至有负效应。而有研究进一步表明在低氧微区、供碳充足的条件下,植物促进反硝化作用的根际效应极为显著^[21]。

植被砍伐后,根际反硝化作用是个值得关注的问题。因为植物根系保留在土壤中,土壤反硝化作用往往增强^[22,23]。研究发现将草的地上部割去后,土壤 N_2O 释放量在其后较长的时间内保持较高值,尤其是在割后的最初时段内 N_2O 释放量增加特别显著^[24]。这是由于植物受伤后根系有效碳的释放造成的。森林砍伐后也发现了以上类似问题^[25~27]。

2.2 根瘤菌反硝化作用及 N_2O 释放

根瘤中的共生固氮菌进行着 2 个相反的生理过程: N_2 的固定和反硝化作用^[28~30]。尽管根瘤的反硝化作用对寄主植物来讲在能量上是一个很大的消耗,但已有报道表明,许多田间的豆科作物能够发生 N_2O 的损失。反硝化作用的优点可能是十分迅速地移走或消耗 NO_3^- 、 NO_2^- 和 N_2O ,因为这些物质的存在会抑制 N_2 的固定^[31]。因此,在自然和农业生态系统条件下,种植豆科作物时,土壤 NO_3^- 存在的数量一般不会太多。

和豆科作物存在共生关系的根瘤菌对大气氮素向土壤输入起着十分重要的作用。但根瘤菌的反硝化作用对氮素的损失^[32],特别是造成 N_2O 的逸失^[33]也不可忽视,因为在农业和自然生态系统中,根瘤菌的分布是十分广泛的。因此近年来关于根瘤菌的反硝化作用研究也受到了一定程度的重视^[34~40],这些研究对根瘤菌的反硝化作用过程^[35,36]及贡献^[37~40]均开展了有意义的工作。不过其中有些研究发现,根瘤菌对反硝化作用的贡献较低^[40],与其他土壤微生物相比是微不足道的^[37],但是从总体而言,目前在这一方面开展的工作还相对较少,进一步深入研究是有必要的。

根瘤菌反硝化作用的损失将取决于与硝化作用产生 NO_3^- 有关的一些影响因素。在土壤 pH 值低于 5.5 时,硝化、化学反硝化作用的活性可以忽略不计,根瘤菌的反硝化作用也可能降至最低点,但在 pH 高于 5.5 时,硝化作用开始进行,而在这种土壤条件下,根瘤菌的反硝化作用也在持续地进行。

2.3 植物通道

N_2O 是土壤硝化-反硝化作用的重要中间产物。本文前半部分阐述了根际反硝化作用的特

点以及反硝化作用与 N_2O 产生的关系。下面将讨论根际土壤中 N_2O 的释放问题。

通常人们认为 N_2O 的释放是通过扩散进行的。但是在淹水土壤中,水稻植株很有可能是反硝化作用气体产物的释放通道。为了说明这一情况,首先让我们看看稻田甲烷的释放通道问题。有人发现稻田土壤中产生的甲烷几乎毫不例外地通过水稻植株释放到大气中^[41,42]。根据 Schutz 等^[43]的工作表明,在水稻不同生育阶段,稻田甲烷的气泡释放途径与植物释放途径的相对重要性是不同的。生育早期,水稻植株高 5~10 cm,此时淹水土壤中的甲烷全部通过气泡释放。一个月后,48%的甲烷通过植株通气组织释放。生长晚期,97%的甲烷通过植株通气组织释放。水饱和土壤甲烷与 N_2 释放的物理过程是相同的。因此有理由推测水稻生长期间反硝化作用产生的含氮气体不会总滞留在土壤中。在田间及温室条件下通过直接测定 N_2+N_2O 的释放发现,水稻植株可以促进 N_2+N_2O 从土壤向大气释放,植稻土壤含 N 气体在土壤中的滞留远低于未植稻土壤^[44]。另外,在研究水稻植株对稻田土壤 N_2O 释放的影响时发现,在土面无水层时, N_2O 主要通过土面释放,而当土面有水层时,通过植株的释放量占 87.3%^[45]。这一结果说明,同甲烷的释放一样,淹水时水稻是稻田土壤 N_2O 释放的主要通道。

陆生植物是否也存在 N_2O 释放的组织通道呢? Chang 等^[46]以油菜和大麦为供试植物,分别代表双子叶植物和单子叶植物,这 2 种植物均没有根通气组织。结果发现,在土壤田间持水量下,未测到 N_2O 通过植株释放。而当土壤水分饱和时,2 种植物均显著地促进了 N_2O 释放。同时发现土壤溶液中的 N_2O 浓度与通过植株的 N_2O 释放速率相关。他们认为,溶解在土壤溶液中的 N_2O 被植物根系随水吸收,并经蒸腾流到达叶面而释放到大气中。由此说明陆生植物也是 N_2O 释放的重要通道。

3 结 语

土壤生物反硝化是土壤中氮素转化最重要的过程之一。 N_2O 是反硝化作用的中间产物,其产生的量不仅取决于反硝化速率,而且也取决于那些影响反硝化产物 N_2O/N_2 比值的参数。植物根际是一个特殊的土壤区域,反硝化作用及 N_2O 的释放有其特殊性。耕地土壤上植物根际对反硝化作用的不利影响为降低土壤含水量并/或消耗 NO_3^- ;而有利效应则表现在根分泌物和残屑为微生物提供有机碳并在降解过程中降低 O_2 分压。植物根际在对反硝化作用产生影响的同时,对土壤 N_2O 释放也起了重要的通道作用,特别是在渍水土壤上有重要的意义。豆科作物根瘤是一个特殊的根际系统,根瘤菌的反硝化作用及 N_2O 释放应引起更大的关注。

根际是受植物根系影响的、特殊的土壤区域,根际土壤反硝化作用与 N_2O 的释放研究中存在着影响因素多、时空变异大、测定方法尚不完善等条件的限制,研究深度及系统性都还不够。目前的数据还不足以充分解释、说明这一过程。尤其是在下述领域需要加强研究:

- 1) 植物根际反硝化作用的机理研究中应当考虑更全面、细致的信息,如植物种类、植物生长状况、根系特点以及土壤理化性状等。
- 2) 豆科作物种植条件下根际土壤反硝化作用及 N_2O 释放情况,以及禾本科豆科作物轮作或间作条件下根际土壤 N_2O 释放状况。
- 3) 植被破坏时如森林砍伐、草原开荒等根际土壤反硝化作用及土壤 N_2O 释放。
- 4) 根瘤菌固氮、反硝化损失的定量研究及其环境效应。
- 5) 植物本身 N_2O 代谢及释放问题。

参 考 文 献

- 1 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
- 2 Powlson D S, Staffigna P G, Kragt-Cottaar M. Denitrification at sub-optimal temperatures in soils from different climatic zones. *Soil Biol Biochem*,1988,20:719~723
- 3 Schmidt J, Seiler W, Conrad R. Emission of nitrous oxide from temperate forest soils into the atmosphere. *J Atmos Chem*,1988,6:95~115
- 4 Munch J C. Organism specific denitrification in samples of an udifluent with different nitrate concentrations. *Z Pflanzenernahr Bodenk*,1989,152:395~400
- 5 Munch J C. Nitrous emissions from soil as determined by the composition of denitrifying microbial population. *Dev Geochem*,1991,6:309~316
- 6 Stepanov A L. Microbial transformation of nitrous oxide in external environment. Abstracts, 2nd session, 11th. International Symposium on Environmental Biogeochemistry, Salamanca. 1993
- 7 Brown M E. Rhizosphere microorganisms opportunists, bandits of benefactors. In: Walker N, ed. *Soil Microbiology*. London:Butterworth Scientific,1975,21~38
- 8 Rouatt J W, Katznelson H, Payne T M B. Statistical evaluation of the rhizosphere effect. *Soil Sci Soc Am Proc*,1960,24:271~273
- 9 李振高,万焕楣,吴留松,等. 水稻根际反硝化细菌生态分布的研究. *土壤学报*,1986,24:120~125
- 10 Smith M S, Tiedje J M. The effect of roots on soil denitrification. *Soil Sci Soc Am J*,1979,43:951~955
- 11 李新慧,朱兆良,蔡贵信. 硝化-反硝化损失中水稻根际效应的研究. *土壤学报*,1995,32(增刊 2):36~40
- 12 Clarholm M. Possible roles of roots, bacteria, protozoa and fungi in supplying nitrogen to plants. In: Fitter A H, ed. *Ecological Interactions in Soil*. Oxford:Blackwell Scientific Publications,1985
- 13 Bakken L R. Denitrification under different cultivated plants; effects of soil moisture tension, nitrate concentration, and photosynthetic activity. *Biol Fert Soils*,1988,6:271~278
- 14 Christensen S. Denitrification in an acid soil; effects of slurry and potassium nitrate on the evolution of nitrous oxide and on nitrate reducing bacteria. *Soil Biol Biochem*,1985,17:757~764
- 15 Klemendtsen L, Svensson B H, Rosswall T. Dinitrogen and nitrous oxide produced by denitrification and nitrification in soil with and without barley plants. *Plant Soil*,1987,99:303~319
- 16 Broadbent F E, Tusnem M E. Losses of nitrogen from some flooded soils in tracer experiments. *Soil Sci Soc Am J*,1971,35: 922~926
- 17 Reddy K R, Patrick W H. Fate of fertilizer nitrogen in the rice root zone. *Soil Sci Soc Am J*,1986,50:649~651
- 18 Haider K, Mosier A, Heinemeyer O. Phytotron experiments to evaluate the effect of growing plants on denitrification. *Soil Sci Soc Am J*,1985,49:636~641
- 19 Haider K, Mosier A, Heinemeyer O. The effect of growing plants on denitrification at high soil nitrate concentrations. *Soil Sci Soc Am J*,1987,51:97~102
- 20 Terry R E, Tate R L, Duxbury J M. Nitrous oxide emissions from drained, cultivated organic soils of south Florida. *J Air Pollut Control Assoc*,1981,31:1173~1176
- 21 Prade K, Trolldenier G. Effect of wheat roots on denitrification at varying soil air-filled porosity and organic-carbon content. *Biol Fert Soils*,1988,7:1~6
- 22 Robertson G P, Vitousek P M, Matson P A, et al. Denitrification in a clearcut Loblolly pine plantation in the southeastern US. *Plant Soil*,1987, 97: 119~129
- 23 Dutch J, Ineson P. Denitrification of an upland forest site. *Forestry*,1990,63:363~377
- 24 Beck H, Christensen S. The effect of grass maturing and root decay on nitrous oxide production in soil, *Plant Soil*,1987,103:269~273

- 25 Matson P A, Vitousek P M, Livingstone G P, et al. Sources of variation in nitrous oxide flux from amazonian ecosystems. *J Geophys Res*,1990,95: 16789~16798
- 26 Keller M, Jacob D J, Wofsy S C, et al. Effects of tropical deforestation on global and regional atmospheric chemistry. *Climatic Change*,1991,19:139~158
- 27 Steudler P A, Melillo J M, Bowden R D, et al. The effects of natural and human disturbances on soil nitrogen dynamics and trace gas fluxes in a Puerto Rican wet forest. *Biotropica*,1991,23:356~363
- 28 Rajagopalan T. Studies on groundnut nodule organism: V. Physiology of the organism: intermediary metabolism. *Indian J Agric Sci*,1938,8:379~402
- 29 Zablotowicz R M, Eskew D L, Focht D D. Denitrification in *Rhizobium*. *Can J Microbiol*,1978,24:757~760
- 30 Neyra C A, Dobereiner J, Lalonde R, et al. Denitrification by N_2 -fixing *Spirillum lipoferum*. *Can J Microbiol*,1977, 23:306~310
- 31 Munns D N. Mineral nutrition and the legume symbiosis. In: Hardy R W F, Gibson A H, eds. *A Treatise on Dinitrogen Fixation. Section IV, Agronomy and Ecology*, Wiley, New York. 1977,353~392
- 32 Casella G, Leporini C, Nuti M P. Denitrification by fast-growing rhizobia. In: Veeger C, Newton W E, eds. *Advances in Nitrogen Fixation Research* Martinus. Hijhoff/Junk/Pudoc, The Hague. 1984,250
- 33 Knowles R. Denitrification. *Microbiological Reviews*. 1982,46:43~70
- 34 Garcia P J I, Becerril J M, Arrese I C, et al. Denitrifying ability of thirteen *Rhizobium meliloti* strains. *Plant-and-Soil*. 1993, 149(1):43~50
- 35 Rosen A, Lindgren P E, Ljunggren H. Denitrification by *Rhizobium meliloti*: I. Studies of free-living cells and nodulated plants. *Sw J Agri Res*,1996,26(3):105~113
- 36 Rosen A, Ljunggren H. Denitrification by *Rhizobium meliloti*: II. Field and laboratory studies with soil. *Sw J Agri Res*,1996, 26(4):153~160
- 37 Garcia P J I, Becerril J M, Arrese I C, et al. The contribution of *Rhizobium meliloti* to soil denitrification. *Plant-and-Soil*,1993, 157(2):207~213
- 38 Bertelsen F. Reduction of nitrate to nitrous oxide or dinitrogen by *Rhizobium leguminosarum*. In: *Proceedings, International Workshop on Denitrification-Soil, Rhizosphere and Aquifer*,1990, 60:391~396
- 39 Arrese I C, Aparicio T P M. Denitrification and respiration in *Rhizobium meliloti* bacteroids and lucerne nodules as affected by nitrate supply. *J Plant Physiol*, 1992, 139(3):373~378
- 40 Garcia P J I, Arrese I C, Langara L, et al. Denitrification in intact lucerne plants. *J Plant Physiol*, 1995, 146(4):563~565
- 41 Cicerone R J, Shetter J D. Sources of atmospheric methane: Measurements in rice paddies and a discussion. *J Geophys Res*,1981, 86: 7203~7209
- 42 Seiler W, Holzapfel-Pschorn A, Conrad R, et al. Methane emission from rice paddies. *J Atmos Chem*, 1984,(1): 241~268
- 43 Schutz H, Seiler W, Conrad R. Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. *Biogeochem*,1989, 7: 33~53
- 44 Mosier A R, Mohanty S K, Bhadrachalam A, et al. Evolution of dinitrogen and nitrous oxide from the soil to the atmosphere through rice plants. *Biol Fertil Soils*,1990,9:61~67
- 45 施书莲, 杜丽娟, 邢光熹. 水稻植株对稻田土壤 N_2O 排放的影响. 见:李振生 主编 挖掘生物高效利用土壤养分潜力 保持土壤环境良性循环论文集,1999, 274~279
- 46 Chang C, Janzen H H, Cho C M, et al. Nitrous oxide emission through plants. *Soil Sci Soc Am J*,1998, 62:35~38