

## 双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土 $N_2O$ 排放的机制

马兰, 李晓波, 马舒坦

引用本文:

马兰, 李晓波, 马舒坦. 双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土 $N_2O$ 排放的机制[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(12): 2801-2808.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0459>

## 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

### 巢湖圩区再生稻田甲烷及氧化亚氮的排放规律研究

王天宇, 樊迪, 宋开付, 张广斌, 徐华, 马静

农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1829-1838 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0181>

### 九龙江河口养虾塘氧化亚氮排放通量及影响因素

金宝石, 谢建国, 闫鸿远, 杨平, 曾从盛

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 2031-2038 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0248>

### 添加生物炭对海南燥红壤 $N_2O$ 和 $CO_2$ 排放的影响

刘丽君, 朱启林, 李凯凯, 李淼, 孟磊, 伍延正, 汤水荣, 何秋香

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 2049-2056 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0187>

### 清液肥对滴灌棉田 $NH_3$ 挥发和 $N_2O$ 排放的影响

王方斌, 刘凯, 殷星, 廖欢, 孙嘉璘, 闵伟, 侯振安

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2354-2362 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0067>

### 有机无机肥配施对苹果园温室气体排放的影响

马艳婷, 赵志远, 冯天宇, SOMPOUVISETThongsouk, 孔旭, 翟丙年, 赵政阳

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 2039-2048 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1477>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马兰, 李晓波, 马舒坦. 双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土 N<sub>2</sub>O 排放的机制[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(12): 2801–2808.

MA L, LI X B, MA S T. Mechanisms of underpinning the dicyandiamide-induced N<sub>2</sub>O emissions reduction in a fluvo-aquic soil after ammonium nitrogen fertilization[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(12): 2801–2808.



开放科学 OSID

# 双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土 N<sub>2</sub>O 排放的机制

马兰<sup>1,3</sup>, 李晓波<sup>4,5</sup>, 马舒坦<sup>2\*</sup>

(1. 山东省蚕业研究所, 山东 烟台 264002; 2. 安徽师范大学生态与环境学院, 安徽 芜湖 241002; 3. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008; 4. 仲恺农业工程学院资源与环境学院, 广东省普通高校农业产地污染综合防治工程技术研究中心, 广州 510225; 5. 中国科学院华南植物园, 广州 510650)

**摘要:**为探讨双氰胺(DCD)减少铵态氮肥施用后氧化亚氮(N<sub>2</sub>O)的排放机制,通过开展好氧培养试验,研究 DCD 配施铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)或亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)对潮土土壤 N<sub>2</sub>O 排放的影响,同时添加不同浓度 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 模拟 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 累积对 N<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub> 排放的影响。结果表明:DCD 仅对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 氧化过程中 N<sub>2</sub>O 排放有抑制作用,对 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 还原过程中产生的 N<sub>2</sub>O 没有影响;培养前 7 d,DCD 显著抑制 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的氧化过程,降低净硝化速率,而在添加 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 土壤中加入 DCD 后净硝化速率显著增加,培养 30 d 后,DCD 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 氧化过程均没有影响;添加外源 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 明显促进了 N<sub>2</sub>O 排放,其排放通量显著高于不施肥的对照处理;N<sub>2</sub>O 累积排放量同 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度呈正相关,CO<sub>2</sub> 累积排放量同 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度呈显著负相关。研究表明,DCD 可以避免 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 大量累积而产生的毒害作用,但仅对氨氧化过程 N<sub>2</sub>O 减排有效果,因此亟待研发适于抑制 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 产生 N<sub>2</sub>O 的新型抑制剂。

**关键词:**氧化亚氮;双氰胺;亚硝态氮;硝化细菌反硝化

中图分类号:X71;X144 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)12-2801-08 doi:10.11654/jaes.2021-0459

## Mechanisms of underpinning the dicyandiamide-induced N<sub>2</sub>O emissions reduction in a fluvo-aquic soil after ammonium nitrogen fertilization

MA Lan<sup>1,3</sup>, LI Xiaobo<sup>4,5</sup>, MA Shutan<sup>2\*</sup>

(1. Shandong Institute of Sericulture, Yantai 264002, China; 2. School of Ecology and Environment, Anhui Normal University, Wuhu 241002, China; 3. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 4. Engineering and Technology Research Center for Agricultural Land Pollution Integrated Prevention and Control of Guangdong Higher Education Institutes, College of Resources and Environment, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; 5. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** This study explores the mechanisms underpinning the dicyandiamide (DCD)-reducing nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emissions. This was carried out using two aerobic incubation experiments to examine the effects of DCD on the production of N<sub>2</sub>O from NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N by adding DCD combined with NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N or NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N. Then, the effects of NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N accumulation on N<sub>2</sub>O emissions was determined by adding different amounts of NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N. The results showed that DCD only inhibited N<sub>2</sub>O emissions during the oxidation of ammonium nitrogen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) and had no effect on N<sub>2</sub>O emissions during the reduction of NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N. DCD significantly inhibited the oxidation of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and decreased the net

收稿日期:2021-04-17 录用日期:2021-07-07

作者简介:马兰(1988—),女,山东临沂人,助理研究员,主要研究碳氮循环与全球变化。E-mail:cysmalan@shandong.cn

\*通信作者:马舒坦 E-mail:mast@ahnu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41807083);土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所)开放基金(Y812000007);安徽省高校自然科学基金项目重点项目(KJ2019A0495);国家自然科学基金项目(41977097)

**Project supported:** The National Natural Science Foundation of China(41807083); The Research Fund of State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Nanjing Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences(Y812000007); The Science Project for University of Anhui Province(KJ2019A0494); The National Natural Science Foundation of China(41977097)

nitrification rate at 7 d following incubation; however, the net nitrification rate increased significantly following the addition of DCD to  $\text{NO}_2^-$ -N soil. Following 30 d of culture, DCD had no effect on the oxidation of  $\text{NH}_4^+$ -N and  $\text{NO}_2^-$ -N. The addition of exogenous  $\text{NO}_2^-$ -N significantly promoted  $\text{N}_2\text{O}$  emissions, and these emission rates were significantly higher than those of the control treatment. Cumulative  $\text{N}_2\text{O}$  emissions were significantly positively correlated with the  $\text{NO}_2^-$ -N concentrations, whereas the cumulative  $\text{CO}_2$  emissions demonstrated the opposite relationship. These results indicate that DCD may eliminate the toxicity caused by the accumulation of  $\text{NO}_2^-$ -N, although it is only effective in reducing  $\text{N}_2\text{O}$  emissions during the oxidation of ammonia oxidation. Therefore, new inhibitors that restrict  $\text{N}_2\text{O}$  production from  $\text{NO}_2^-$ -N are urgently needed.

**Keywords:** nitrous oxide; dicyandiamide; nitrite nitrogen; nitrifier denitrification

20世纪末以来,由于温室气体导致的全球变暖问题引起了科学家的广泛关注。氧化亚氮( $\text{N}_2\text{O}$ )是一种重要的温室气体,不仅导致全球变暖,而且破坏平流层中的臭氧层<sup>[1-2]</sup>。在百年尺度内, $\text{N}_2\text{O}$ 的相对增温潜势是 $\text{CO}_2$ 的310倍,大气中的 $\text{N}_2\text{O}$ 浓度已由工业革命前的 $0.27 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到了 $0.32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[3]</sup>。农业土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 排放量约占全球人为活动排放总量的60%<sup>[4]</sup>。因此,减少农业源 $\text{N}_2\text{O}$ 排放是一项刻不容缓的任务。

目前,大量研究报道硝化抑制剂的施用可以有效减少 $\text{N}_2\text{O}$ 排放。AKIYAMA等<sup>[5]</sup>通过萘萃分析表明硝化抑制剂施用可显著减少 $\text{N}_2\text{O}$ 排放达38%。双氰胺(DCD)是最常用的一种硝化抑制剂,具有挥发性小、可降解、无毒性残留等优点。前期针对潮土的研究发现,DCD通过抑制氮肥施用后 $\text{NO}_2^-$ -N的大量累积来减少 $\text{N}_2\text{O}$ 的排放<sup>[6]</sup>。硝化作用和反硝化作用是土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 的主要产生过程<sup>[7]</sup>。 $\text{NO}_2^-$ -N不仅是硝化和反硝化过程的中间产物<sup>[8]</sup>,同时也是化学反硝化、硝化细菌反硝化和异养反硝化的底物<sup>[9]</sup>。在华北平原典型玉米-小麦轮作的潮土中,氮肥施用后 $\text{N}_2\text{O}$ 主要通过硝化作用产生<sup>[10]</sup>。前期通过高压灭菌试验证明了化学反硝化对潮土中 $\text{N}_2\text{O}$ 排放的贡献仅为1.1%<sup>[6]</sup>。HUANG等<sup>[11]</sup>的研究发现氨氧化过程是石灰性潮土中 $\text{N}_2\text{O}$ 产生的引擎。硝化过程产生 $\text{N}_2\text{O}$ 包括的氨氧化和硝化细菌反硝化两个途径,均由氨氧化细菌完成<sup>[9]</sup>。前人的研究表明,硝化抑制剂减少 $\text{N}_2\text{O}$ 排放的主要机制是其抑制了亚硝化单胞菌属的活性,同时延迟 $\text{NH}_4^+$ -N向 $\text{NO}_2^-$ -N转化,从而减少了硝化反硝化的底物<sup>[12-13]</sup>。DCD在抑制氨氧化细菌活性的同时,是否会间接影响 $\text{NO}_2^-$ -N相关的生物转化过程,从而

影响 $\text{N}_2\text{O}$ 的排放还未可知。

为此,本文选取典型旱地潮土作为研究对象,采用室内好氧培养方法,分别以氯化铵( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )和亚硝酸钠( $\text{NaNO}_2$ )作为 $\text{NH}_4^+$ -N和 $\text{NO}_2^-$ -N的氮源,研究DCD对 $\text{NH}_4^+$ -N和 $\text{NO}_2^-$ -N转化过程中 $\text{N}_2\text{O}$ 排放和无机氮含量的影响;同时设置不同 $\text{NO}_2^-$ -N添加量,模拟 $\text{NO}_2^-$ -N累积对土壤 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ 排放的影响,深化对DCD减少农田土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 排放机理的认识,以期对硝化抑制剂的推广应用提供重要的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤采自河南省封丘县中国科学院封丘农业生态试验站( $35^\circ 00' \text{N}$ ,  $114^\circ 24' \text{E}$ )的旱地土壤,土壤类型为黄河冲积物发育而成的砂质潮土,采样深度为0~20 cm。土样采集后于室温下风干,压碎过2 mm筛,剔除微小根系,于室温下保存。土壤的基本理化性质见表1。

### 1.2 试验设计

#### 1.2.1 DCD对 $\text{NH}_4^+$ -N和 $\text{NO}_2^-$ -N转化过程的影响

试验设置5个处理:CK为不施肥对照处理; $\text{NH}_4^+$ -N+DCD为添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和DCD处理; $\text{NH}_4^+$ -N为添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理; $\text{NO}_2^-$ -N+DCD为添加 $\text{NaNO}_2$ 和DCD处理; $\text{NO}_2^-$ -N为添加 $\text{NaNO}_2$ 处理。每个处理采气组设4次重复,采土组设3次重复。

称取相当于20 g烘干土的风干土于250 mL三角瓶中,加入蒸馏水调节土壤水分含量至最大持水量(WHC)的40%,盖上封口膜,于 $30^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中预培养一周,以激活土壤微生物。预培养后,不同形态

表1 供试土壤基本理化性状

Table 1 Basic properties of the soils used in the experiment

pH (1:2.5, $\text{CaCl}_2$ )	亚硝态氮 $\text{NO}_2^-$ -N/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	硝态氮 $\text{NO}_3^-$ -N/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	铵态氮 $\text{NH}_4^+$ -N/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	全氮 Total N/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	全碳 Total C/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	砂粒 Sand/%	壤粒 Silt/%	黏粒 Clay/%
7.65	0.06	21.33	3.99	885.00	13.07	56.9	34.9	8.2

氮肥和DCD均以溶液的形式加入到土壤中,加入量为2 mL,其中含氮量均为100 mg·kg<sup>-1</sup>(以干土计),DCD的用量为施氮量的4%。同时加入蒸馏水调节水分含量至65% WHC,盖上封口膜,扎3个小孔保证通气,继续于30℃恒温培养箱中培养30 d,每隔2~3 d称质量补充一次水分。

气体样品于培养后的2 h和1、2、3、5、7、10、15、22、30 d采集。每次采集气样前先去掉三角瓶的封口膜,盖紧硅橡胶塞,于固定装置上抽真空1 min后充入室内空气1 min,反复3次,每次2 min,使N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>浓度与大气浓度平衡,并采集培养瓶上部空气气体样本,作为初始气体浓度,记录采样时间。将培养样品置于30℃恒温培养箱中培养4 h后用连有三通阀的10 mL一次性螺口式注射器采集第二针气体,并再次记录采样时间。每次抽取气样前用注射器反复抽提瓶内气体3次以混匀气体。

土壤样品于培养后的2 h和1、2、3、5、7、30 d采集,破坏性取样,随机从各处理中取出3个培养瓶(作为3次重复),按水土比5:1加入2 mol·L<sup>-1</sup> KCl溶液(已将加水量考虑在内),并于25℃、250 r·min<sup>-1</sup>恒温振荡1 h,定量滤纸过滤,收集滤液于塑料瓶中,以备测定NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量。

### 1.2.2 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N对土壤N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>排放的影响

试验设置6个NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N添加量处理:0、50、100、150、200 mg·kg<sup>-1</sup>和250 mg·kg<sup>-1</sup>,每个处理设4次重复。预培养后,每个处理依次加入0、2.46、4.93、7.39、9.86、12.32 g·L<sup>-1</sup>的NaNO<sub>2</sub>溶液2 mL,用移液枪逐滴加入,使其尽可能均匀地分布于土壤。继续于30℃恒温培养箱中培养14 d,每隔3~4 d称质量补充水分。分别在加入NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N后的2 h和1、3、5、7、10、14 d采集气体样品。培养结束后,三角瓶中土壤浸提后测定土壤浸提液中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量和pH值。气体采集和土壤浸提的方法同上。

### 1.3 分析测定方法

土壤pH值(水土比2.5:1)采用pH计(Sartorius, PB-10)测定。土壤全氮、全碳含量采用元素分析仪(Vario MAX)测定。土壤质地采用激光粒度仪(Beckman Coulter)测定。土壤浸提液中的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量采用全自动间断化学分析仪(Smartchem 200S/N1104238, WESTCO, France)测定。气体样品中N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>浓度用带电子捕获(ECD)和氢火焰离子化(FID)检测器的气相色谱(安捷伦7890A)测定。

### 1.4 数据处理

N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>排放通量根据密闭4 h前后三角瓶内N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>浓度差值计算。计算公式为:

$$F = \frac{dc}{dt} \times \frac{M}{V_m} \times V \times \frac{273}{273+T} \times \frac{1}{m} \quad (1)$$

式中:F为N<sub>2</sub>O-N或CO<sub>2</sub>的排放速率,μg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>或mg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>;dc/dt为单位时间内培养瓶内N<sub>2</sub>O-N或CO<sub>2</sub>浓度增加量,μg·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>或mg·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>;V<sub>m</sub>为气体的摩尔体积,22.4 L·mol<sup>-1</sup>;M为N<sub>2</sub>O中N或CO<sub>2</sub>的摩尔质量,28 g·mol<sup>-1</sup>或44 g·mol<sup>-1</sup>;V为培养瓶中气体的有效空间体积,L;T为培养时的温度,℃;m为培养瓶中烘干土质量,kg。

培养期间N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>累积排放量为前后2次采样测定的排放通量平均值与时间间隔乘积的累加,计算公式为:

$$S = \sum \frac{(F_{i+1} + F_i)}{2} \times (t_{i+1} - t_i) \times 24 \quad (2)$$

式中:S为N<sub>2</sub>O-N或CO<sub>2</sub>累积排放量,μg·kg<sup>-1</sup>或mg·kg<sup>-1</sup>;F为N<sub>2</sub>O-N或CO<sub>2</sub>的排放速率,μg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>或mg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>;t为培养后的天数,d;i为采样次数。

净硝化速率(Net nitrification rate)为单位培养天数内的净硝化量,计算公式为:

$$N_t = \frac{[\text{NO}_3^-]_t - [\text{NO}_3^-]_{t_0}}{t - t_0} \quad (3)$$

式中:N<sub>t</sub>为净硝化速率,mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;[NO<sub>3</sub><sup>-</sup>]为土壤中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量,mg·kg<sup>-1</sup>;t为培养时间,d;t<sub>0</sub>为培养初始时间,d。

试验所得的数据采用Excel整理计算,数据结果采用SPSS 16.0软件进行方差分析(One-way ANOVA)及多重比较,采用LSD法进行差异显著性检验(α=0.05),用Origin 9.0制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 DCD对NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N转化过程中N<sub>2</sub>O排放和无机氮含量的影响

同对照处理相比,无论是否添加DCD,施用NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理均显著提高了N<sub>2</sub>O排放通量(P<0.05,图1a)。施用NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N的处理中,N<sub>2</sub>O排放通量均在培养初期最大,然后随着培养时间的延长逐渐降低。添加DCD处理中N<sub>2</sub>O排放通量最大值为1.60 μg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,而不添加DCD处理中的最大值为1.33 μg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,但是整个培养过程中两处理间的N<sub>2</sub>O总排放量差异不显著(P>0.05,表2)。施用NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N处理的土壤中

N<sub>2</sub>O 排放通量在培养的第 2 d 达到排放峰值,其中只加 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理的 N<sub>2</sub>O 排放峰值为 0.88 μg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,是同时添加 DCD 处理的 2.29 倍。与只施 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理相比,同时添加 DCD 的处理可以显著减少培养期间 N<sub>2</sub>O 累积排放量,其排放量约为施 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理的 41.5% (表 2)。

添加 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的土壤中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量并没有增加的趋势,随着培养时间的延长基本没有变化,并且与对照处理相比没有显著差异。但是,随着硝化作用的进行,添加 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量则逐渐下降,其中添加 DCD 后,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量的下降幅度变慢(图 1b)。各处理中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 含量的变化趋势与 N<sub>2</sub>O 排放通量变化呈现一致性(图 1c)。添加 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 处理中的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 含量随着培养时间延长逐渐降低,添加 DCD 对 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 含量变化没有显著影响。而在只施用 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理中,NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 含量在培养后的第 3 d 达到峰值,为 21.85 mg·kg<sup>-1</sup>,添加 DCD 的处理中没有观测到明显的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 峰值。在培养初期,各处理中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量均随着培养时间的延长逐渐增加,在培养的第 7 d 达到各自的峰值。其中,同时添加 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 DCD 的处理中,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N

含量显著低于其他各处理,比仅施 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理中少约 51 mg·kg<sup>-1</sup>(图 1d)。

培养 7 d 和 30 d 后土壤净硝化速率如图 2 所示。培养后第 7 d,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N+DCD 处理中土壤净硝化速率极显著低于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理(*P*<0.01),而 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N+DCD 处理中土壤净硝化速率显著高于 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 处理(*P*<0.05),NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 处理与 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 处理之间差异不显著。培养 30 d 后,DCD 添加对于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 处理的净硝化速率影响均不显著(*P*>0.05),但是施用 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N+DCD 处

表 2 不同施肥处理土壤的 N<sub>2</sub>O 累积排放量(μg·kg<sup>-1</sup>)  
Table 2 Cumulative N<sub>2</sub>O emissions in soil under different fertilization treatments(μg·kg<sup>-1</sup>)

处理 Treatment	N <sub>2</sub> O 累积排放量 Cumulative N <sub>2</sub> O emission
CK	25.93±5.44c
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N+DCD	38.92±1.93c
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	93.74±3.23b
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N+DCD	148.45±39.70a
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	133.25±2.36a

注:同一列不同小写字母代表处理间差异显著(*P*<0.05)。下同。  
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments at *P*<0.05. The same below.

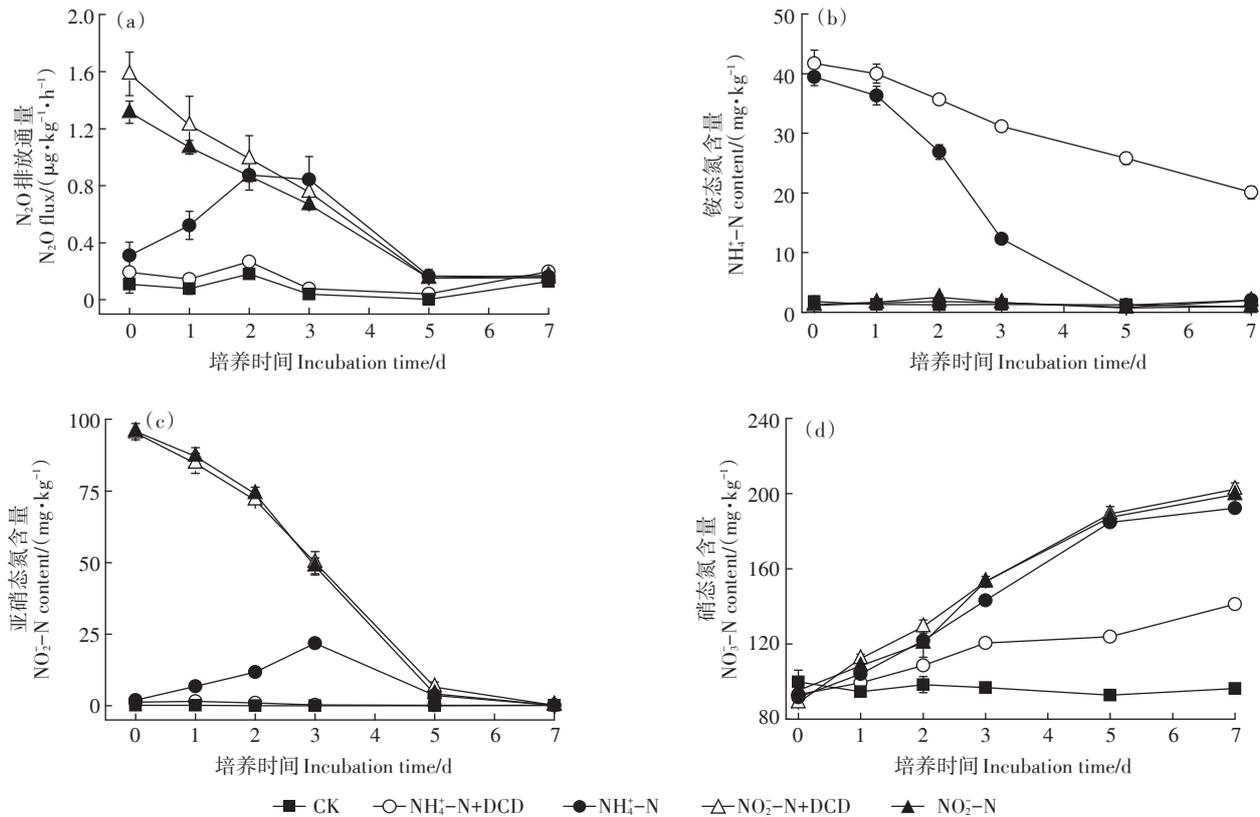
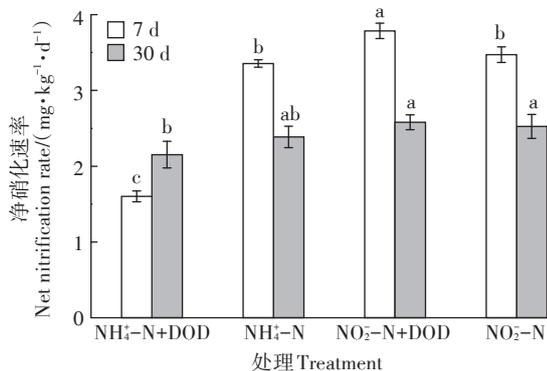


图 1 不同施肥处理下 N<sub>2</sub>O 排放通量和无机氮含量的变化

Figure 1 Dynamics of N<sub>2</sub>O emissions and inorganic N contents in soil under different fertilization treatments



同一处理天数下不同小写字母表示不同处理间差异显著( $P<0.05$ )  
Different lowercase letters within the same number of days indicate significant differences among treatments at  $P<0.05$

图2 7 d和30 d培养期内不同施肥处理中土壤净硝化速率

Figure 2 The net nitrification rate in soil under different fertilization treatments during 7-day and 30-day incubation

理中的净硝化速率显著低于NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N+DCD处理( $P<0.05$ )。

## 2.2 不同NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N添加量对土壤N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>排放的影响

在不添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N的处理中,土壤N<sub>2</sub>O排放通量随培养时间几乎没有变化,而添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N的处理中,N<sub>2</sub>O排放通量均在培养后的2 h达到最大值(图3a)。在培养前7 d,土壤N<sub>2</sub>O排放通量在NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N施用量100 mg·kg<sup>-1</sup>以下时随培养时间的延长而逐渐下降,但是当施用量为150 mg·kg<sup>-1</sup>时,培养后的第1 d和第3 d N<sub>2</sub>O排放通量差异不显著,高于150 mg·kg<sup>-1</sup>时,第3 d N<sub>2</sub>O排放通量显著高于第1 d,并且施用250 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理下第3 d的N<sub>2</sub>O排放通量与第1 d之间的差异极显著( $P<0.01$ )。但从培养后3 d起,不同NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理的N<sub>2</sub>O排放通量开始逐渐下降,在培养第3 d时,50 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理N<sub>2</sub>O排放通量同对照处

理差异不显著,培养第5 d时,100、150 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理N<sub>2</sub>O排放通量同对照处理差异不显著,培养第7 d时所有处理间差异均不显著(图3a)。

同不添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理相比,添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N显著增加了土壤中N<sub>2</sub>O累积排放量,且随NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N添加量的增加而增加,其中250 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理中N<sub>2</sub>O累积排放量最大,达到230.07 μg·kg<sup>-1</sup>(表3)。

不同培养时间CO<sub>2</sub>排放通量见图3b,在培养2 h时,添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N的处理同不添加处理相比差异不显著。但培养1 d后,添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N的处理CO<sub>2</sub>排放通量显著高于不添加处理。培养5 d后250 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理的CO<sub>2</sub>排放通量显著低于其他处理( $P<0.05$ ),培养第5~10 d,添加NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理的CO<sub>2</sub>排放通量显著低于不添加处理( $P<0.05$ )。但在培养结束时,不同处理间差异不显著。

从整个培养期间CO<sub>2</sub>累积排放量来看,施用50、100、150 mg·kg<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理下CO<sub>2</sub>累积排放量同不添加处理差异不显著(表3),但是施用200、250 mg·

表3 添加不同量NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理的土壤CO<sub>2</sub>和N<sub>2</sub>O累积排放量  
Table 3 Cumulative CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions in different NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N fertilization treatments

NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N处理 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N treatment/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	CO <sub>2</sub> 累积排放量 Cumulative CO <sub>2</sub> emission/(mg·kg <sup>-1</sup> )	N <sub>2</sub> O累积排放量 Cumulative N <sub>2</sub> O emission/(μg·kg <sup>-1</sup> )
0	341.17±35.70a	6.33±1.50e
50	315.04±20.83ab	37.60±1.59d
100	324.31±20.11ab	98.77±16.12c
150	310.68±5.22ab	109.34±5.29c
200	296.04±15.92b	188.48±12.59b
250	251.08±15.99c	230.07±15.07a

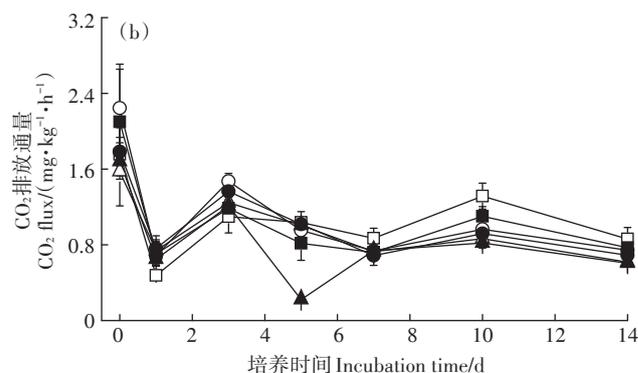
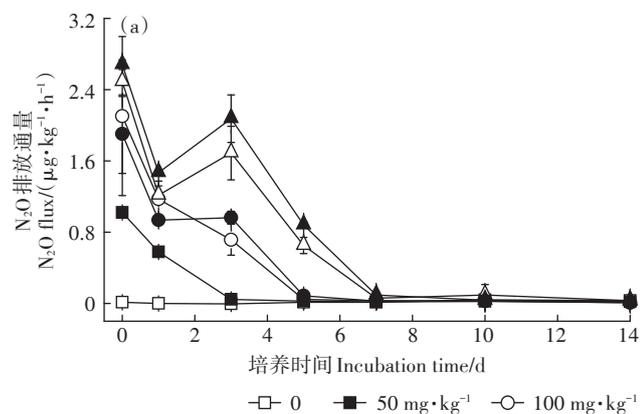


图3 添加不同量NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处理的土壤N<sub>2</sub>O和CO<sub>2</sub>排放通量的变化

Figure 3 Dynamics of soil N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> flux in different NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N fertilization treatments

$\text{kg}^{-1}$   $\text{NO}_2\text{-N}$  处理显著降低了  $\text{CO}_2$  排放量,较不添加处理分别减少了 13.23% 和 26.41%(表 3)。

### 2.3 不同 $\text{NO}_2\text{-N}$ 添加量对土壤无机氮及全氮含量的影响

不同添加量的  $\text{NO}_2\text{-N}$  对好氧培养 14 d 后土壤无机氮含量的影响见图 4。培养结束后,250  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$   $\text{NO}_2\text{-N}$  处理下  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量显著高于其他处理,但其他处理间差异不显著(图 4a)。土壤中  $\text{NO}_2\text{-N}$  的残留量很低,低于 0.2  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,不同  $\text{NO}_2\text{-N}$  处理之间差异不显著(图 4b)。 $\text{NO}_3\text{-N}$  含量在不同  $\text{NO}_2\text{-N}$  处理间差异极显著( $P<0.01$ ),随  $\text{NO}_2\text{-N}$  添加量的增加而逐渐增加(图 4c)。除了添加 100、250  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$   $\text{NO}_2\text{-N}$  土壤浸提液的 pH 值显著高于不添加处理外,其他处理与不添加处理差异均不显著(图 4d)。

## 3 讨论

### 3.1 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生 $\text{N}_2\text{O}$ 的途径

添加外源  $\text{NO}_2\text{-N}$  显著增加了  $\text{N}_2\text{O}$  的排放,而且在培养 2 h 时  $\text{N}_2\text{O}$  排放通量最高, $\text{N}_2\text{O}$  排放量与  $\text{NO}_2\text{-N}$  含量之间呈现极显著的正相关关系( $r=0.96, P<0.01$ ),这与前人的研究结果一致<sup>[14]</sup>。硝化细菌反硝化、异养反

硝化以及化学反硝化都能产生  $\text{N}_2\text{O}$ ,作为这些过程的反应底物, $\text{NO}_2\text{-N}$  添加促进了土壤  $\text{N}_2\text{O}$  排放的增加。在本研究中,硝化细菌反硝化很可能是  $\text{NO}_2\text{-N}$  产生  $\text{N}_2\text{O}$  的主要途径,原因如下:一是有研究指出<sup>[15]</sup>亚硝酸盐不稳定,容易分解,但  $\text{NO}_2\text{-N}$  只有在酸性条件下才会通过化学反硝化等途径损失,在本研究中同土壤原 pH 值相比,添加  $\text{NO}_2\text{-N}$  培养 14 d 后的土壤 pH 并没有降低,仍保持在碱性范围内(7.46~7.59),因此在本土壤中  $\text{NO}_2\text{-N}$  通过化学反硝化途径损失的可能性较小。前期研究发现灭菌处理的  $\text{N}_2\text{O}$  排放约占非灭菌处理的 1.1%,进一步说明化学反硝化的贡献量可以忽略;二是在土壤中添加不同量  $\text{NO}_2\text{-N}$  后,在培养结束时  $\text{NO}_2\text{-N}$  转化为  $\text{NO}_3\text{-N}$  的比例达到 106%~113%(图 4),这部分多出的  $\text{NO}_3\text{-N}$  可能是通过土壤的矿化作用产生的,因为在不加氮的对照土壤中,培养结束时  $\text{NO}_3\text{-N}$  含量达到 39.36  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,外来氮的加入还能够激发土壤矿化作用,从而使土壤中的全氮含量大于添加的  $\text{NO}_2\text{-N}$  量。土壤中残留的  $\text{NO}_2\text{-N}$  很少而  $\text{NO}_3\text{-N}$  大量累积,并且与  $\text{NO}_2\text{-N}$  的添加量呈现极显著的正相关关系( $r=0.9997, P<0.01$ ),说明该土壤反硝化作用较弱,可能与土壤含碳量较低有关<sup>[6]</sup>,因此,  $\text{NO}_2\text{-N}$

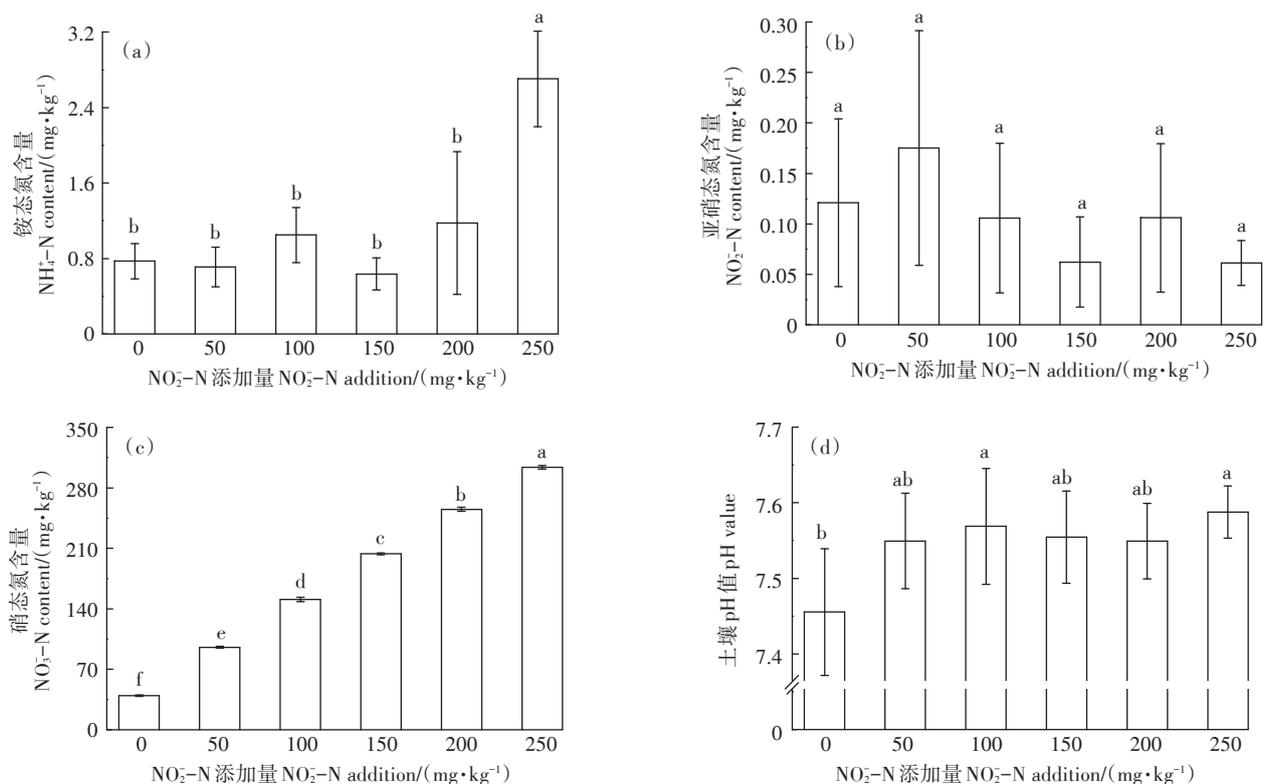


图 4 培养结束时添加不同量的  $\text{NO}_2\text{-N}$  处理的土壤无机氮含量及 pH 值

Figure 4 Contents of inorganic nitrogen and pH value in soils treated with different amounts of nitrite at the end of incubation

通过异养反硝化途径产生 $N_2O$ 的可能性也比较小;三是 $250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ NO}_2\text{-N}$ 处理中的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量显著高于其他处理,这部分 $\text{NH}_4\text{-N}$ 可能来源于硝酸盐异化还原成铵的途径,但是 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量仅有 $2.71\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,说明即使本途径存在,对 $N_2O$ 的贡献也很小;四是DCD显著降低了 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的硝化速率而对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 没有影响(图2),说明硝化作用对 $N_2O$ 排放的贡献远大于反硝化作用;五是本试验是在好氧条件下进行的,土层较薄( $<1\text{ cm}$ )且均匀分布在 $250\text{ mL}$ 的三角瓶底部,而且水分含量设置在 $65\%\text{ WHC}$ ,有利于硝化作用的进行。氨氧化过程中产生的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 在自养硝化细菌作用下进一步还原为 $N_2O$ 和 $N_2$ 的过程即为硝化细菌反硝化,在本研究土壤中添加外源 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生的大量 $N_2O$ 很有可能是硝化细菌反硝化占主导,未来的研究中需要使用直接测定的方法,进一步明确硝化反硝化的贡献。

### 3.2 DCD对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生 $N_2O$ 的影响

$\text{NH}_4\text{Cl}$ 施用于土壤后,随着硝化作用的不断进行, $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量逐渐下降( $P<0.01$ ),而硝化反应过程的中间产物( $\text{NO}_2\text{-N}$ )在土壤中不断积累。这可能与高铵、高pH值条件有利于 $\text{NO}_2\text{-N}$ 累积有关<sup>[6]</sup>。施用DCD后,在培养初期, $\text{NO}_2\text{-N}$ 排放通量的峰值显著低于 $\text{NH}_4\text{-N}$ 处理(图1a),同SHEN等<sup>[17]</sup>的研究结果相一致。在本研究中,培养后第7d,DCD仅降低了施用 $\text{NH}_4\text{-N}$ 土壤中的净硝化速率,而对施用 $\text{NO}_2\text{-N}$ 土壤没有影响(图2),说明DCD对硝化反应的第一步有抑制作用<sup>[18]</sup>,从而推迟了 $\text{NH}_4\text{-N}$ 向 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的氧化,使得土壤中的氮以 $\text{NH}_4\text{-N}$ 形式存在,促进了 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的累积。虽然高铵有利于 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的积累,但由于参与硝化反应的底物 $\text{NH}_4\text{-N}$ 减少,致使产生的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 减少。施用于土壤中的铵态氮肥,除作物吸收和损失以外,最终都应被硝化和反硝化。培养30d后, $\text{NH}_4\text{-N}+\text{DCD}$ 处理中土壤净硝化速率与 $\text{NH}_4\text{-N}$ 处理没有显著差异(图2),说明DCD施入土壤后会被逐步降解,这与前人的研究结果一致<sup>[19]</sup>。在培养后期,不同处理间 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量差异不显著,均达到相对稳定的最大值,而且 $\text{NH}_4\text{-N}$ 也降到最低,说明土壤中的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 最终都转化为 $\text{NO}_3\text{-N}$ ,但 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的产生量在培养后期并没有显著增加,原因可能是随着硝化反应的进行, $\text{NH}_4\text{-N}$ 不断消耗,高 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 向 $\text{NO}_3\text{-N}$ 转化的抑制作用逐渐下降甚至消失,生成的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 很快转化为 $\text{NO}_3\text{-N}$ 。

前人研究发现高浓度 $\text{NO}_2\text{-N}$ 对微生物有毒害作

用<sup>[15]</sup>, $\text{CO}_2$ 排放速率通常用来表征土壤微生物活性,本研究发现 $\text{CO}_2$ 排放量与 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量之间存在显著的负相关关系( $r=-0.84, P<0.05$ ),当 $\text{NO}_2\text{-N}$ 添加量高于 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, $\text{CO}_2$ 累积排放量显著低于不添加处理,说明 $\text{NO}_2\text{-N}$ 对微生物活性的抑制作用有临界值。目前世界上施用的全部氮肥中,铵态氮肥和酰胺态氮肥数量占90%以上,施用DCD有效避免了 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的积累,不仅可以减少 $N_2O$ 排放,还能缓解 $\text{NO}_2\text{-N}$ 引发的毒害作用。但是DCD对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 处理中 $N_2O$ 减排效果不显著,而硝化细菌反硝化在 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生 $N_2O$ 的过程中扮演着重要角色,因此亟需研发能够同时抑制氨氧化和硝化细菌反硝化过程的产品,从而更大程度地减少石灰性土壤 $N_2O$ 排放,并改善高浓度 $\text{NO}_2\text{-N}$ 对土壤微生物活性及植物的毒害作用。

## 4 结论

(1)短期好氧培养条件下添加外源 $\text{NO}_2\text{-N}$ 明显促进了 $N_2O$ 排放,而且 $\text{NO}_2\text{-N}$ 施用量与 $N_2O$ 排放量呈显著正相关。硝化细菌反硝化很可能是 $\text{NO}_2\text{-N}$ 添加下 $N_2O$ 产生的主要途径。

(2)双氰胺通过抑制氨氧化过程避免 $\text{NO}_2\text{-N}$ 累积,减少硝化细菌反硝化的底物,从而在减少 $N_2O$ 排放的同时避免高浓度 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生的毒害作用,但对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生 $N_2O$ 没有影响,因此亟待研发适于抑制 $\text{NO}_2\text{-N}$ 产生 $N_2O$ 的新产品。

### 参考文献:

- [1] RAVISHANKARA A R, DANIEL J S, PORTMANN R W. Nitrous oxide( $N_2O$ ): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21<sup>st</sup> Century[J]. *Science*, 2009, 326(5949): 123-125.
- [2] WUEBBLES D J. Atmosphere nitrous oxide: No laughing matter[J]. *Science*, 2009, 326(5949): 56-57.
- [3] IPCC. Climate change (2013) The physical science basis: Working Group I contribution to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.
- [4] SYAKILA A, KROEZE C. The global nitrous oxide budget revisited[J]. *Greenhouse Gas Measurement and Management*, 2011, 1(1): 17-26.
- [5] AKIYAMA H, YAN X Y, YAGI K. Evaluation of effectiveness of enhanced-efficiency fertilizers as mitigation options for  $N_2O$  and  $\text{NO}$  emissions from agricultural soils: Meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(6): 1837-1846.
- [6] MA L, SHAN J, YAN X Y. Nitrite behavior accounts for the nitrous oxide peaks following fertilization in a fluvo-aquic soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51: 563-572.
- [7] BUTTERBACH-BAHL K, BAGGS E M, DANNENMANN M, et al. Ni-

- trous oxide emissions from soils: How well do we understand the processes and their controls?[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2013, 368(1621):20130122.
- [8] BURNS L C, STEVENS R J, LAUGHLIN R J. Production of nitrite in soil by simultaneous nitrification and denitrification[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(4/5):609-616.
- [9] WRAGE N, VELTHOF G L, VAN BEUSICHEM M L, et al. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(12/13):1723-1732.
- [10] CUI F, YAN G X, ZHOU Z X, et al. Annual emissions of nitrous oxide and nitric oxide from a wheat-maize cropping system on a silt loam calcareous soil in the North China Plain[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 48:10-19.
- [11] HUANG T, GAO B, HU X K, et al. Ammonia-oxidation as an engine to generate nitrous oxide in an intensively managed calcareous fluvo-aquic soil[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4:3950.
- [12] MCCARTY G W. Modes of action of nitrification inhibitors[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29:1-9.
- [13] 武志杰, 史云峰, 陈利军硝化抑制作用机理研究进展[J]. 土壤通报, 2008, 39:962-970. WU Z J, SHI Y F, CHEN L J. Research progress of the mechanisms of nitrification inhibition[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39:962-970.
- [14] VENTEREA R T. Nitrite-driven nitrous oxide production under aerobic soil conditions: Kinetics and biochemical controls[J]. *Global Change Biology*, 2007, 13:1798-1809.
- [15] VAN CLEEMPUT O, SAMATER A H. Nitrite in soils: Accumulation and role in the formation of gaseous N compounds[J]. *Fertilizer Research*, 1996, 45:81-89.
- [16] JU X T, LU X, GAO Z L, et al. Processes and factors controlling N<sub>2</sub>O production in an intensively managed low carbon calcareous soil under sub-humid monsoon conditions[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159:1007-1016.
- [17] SHEN Q R, RAN W, CAO Z H. Mechanisms of nitrite accumulation occurring in soil nitrification[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(6):747-753.
- [18] ZHOU X, WANG S W, MA S T, et al. Effects of commonly used nitrification inhibitors—dicyandiamide (DCD), 3, 4-dimethylpyrazole phosphate(DMPP), and nitrapyrin—on soil nitrogen dynamics and nitrifiers in three typical paddy soils[J]. *Geoderma*, 2020, 380:114637.
- [19] LAN T, HAN Y, ROELCKE M, et al. Effects of the nitrification inhibitor dicyandiamide(DCD) on gross N transformation rates and mitigating N<sub>2</sub>O emission in paddy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 67:174-182.