

植物释放氧化亚氮的研究*

陈冠雄 商曙辉 于克伟 禹阿东 吴杰 王玉杰

(中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015)

Investigation on the emission of nitrous oxide by plant. Chen Guanxiong, Shang Shuhui, Yu Kewei, Yu Adong, Wu Jie and Wang Yujie (Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shenyang 110015). -J. Appl. Ecol., 1990, 1(1):94-96.

Studies of the different pathways of N loss from plant-soil system are highly important for increasing the efficiency of soil N and decreasing the environmental contamination. This paper is the first report on the N_2O emission from some plants (e. g. soybean, maize, rice and alder), and points out the emission rates of N_2O being related to the plant species or their organs. Possible implications of the N_2O emission from plants are discussed.

Key words: Nitrous oxide, Plant-soil system.

氧化亚氮(N_2O)是大气的微量成分之一。多年的测定表明,它在大气中的浓度正以0.2%左右的年增长率在增加^[1,2]。 N_2O 具有“温室效应”并能催化大气同温层中臭氧保护层的破坏,从而可能带来全球性生态环境的重大变化而受到世人的极大关注。各国科学家正在广泛研究不同生态系统 N_2O 的释放量、 N_2O 形成和消亡机制以及生态环境效应^[7,9]。

目前对 N_2O 的各种源和汇未能进行精确的定量测定,但现有的资料表明, N_2O 是由反硝化作用、硝化作用、燃烧和闪电等过程产生的,其中由微生物进行的反硝化作用是最主要的来源^[10]。迄今,对植物-土壤系统通过植物释放 N_2O 尚未见报道。在陆地生态系统氮循环研究中,我们观察到不少常见的植物(如大豆、玉米、水稻、赤杨等)能释放 N_2O 。本文报道我们的部分结果,并就它的意义进行讨论。

1 材料和方法

1.1 供试植物及样品处理

供试植物为大豆、玉米、水稻和日本赤杨(一种非豆科固氮树木)。除大豆外,其余植物只测定根系释放 N_2O 的能力。植株从田间取回后,用自来水充分洗净,剪下根系,用滤纸吸干,剪成约1.5cm长的根段,混匀,称取2g(3份重复)放入体积约80ml的小

瓶中,瓶内放入装有饱和NaOH的玻璃管(吸收 CO_2),塞上反口塞,抽出小瓶气相体积3%的空气后,注入等体积的乙炔(C_2H_2),28℃恒温水浴中振荡培养。用气相色谱仪测定 N_2O ^[2]。

大豆植株除根系外,还测定了茎、叶和整株植物释放 N_2O 的能力。在测定整株植物时,把充分洗净的植株放入一由有机玻璃制成的密闭容器内,容器内装有能没过根系的无氮营养液。容器上盖具有通气口和取样口。容器气相内乙炔浓度为3%(V/V)。自然光照。

1.2 根表灭菌和根表细菌总数测定

将充分洗净的根用滤纸吸干后,置于30W紫外灯下30cm处照射30分钟(中间将根翻转一次)进行根表灭菌。按平板稀释法测定根表细菌总数^[3]。

1.3 植物释放的气体的鉴定和测定

用红外光谱和气相色谱两种方法鉴定供试材料释放的气体的性质。所用红外光谱仪为日本岛津IR-27G型红外分光光度计。该仪器具1.5m长光程的气体吸收池。用干燥的高纯氮气(N_2)将吸收池冲洗干净,注入纯 N_2O 气体,进行全波段扫描,得到 N_2O 的红外吸收光谱图。再用高纯 N_2 冲洗吸收池,经重新扫描确证无 N_2O 残留后注入待鉴定的气体,扫描,得到其红外吸

*张丽珊先生帮助红外光谱分析,并进行有益的讨论,谨致谢意。

本文于1989年12月15日收到。

收光谱图。所用气相色谱仪为美国产 Nuclear-Chicago 5000型气相色谱仪。该仪器带有⁶³Ni 电子捕获检测器。色谱柱为2m长的Porapak Q (50—70目) 玻璃柱。用本实验室的方法^[2], 以纯净 N₂O 的出峰时间判定待鉴定气体的性质。

2 结 果

2.1 植物释放N₂O的确定

同纯净N₂O气体的红外光谱和气相色谱的图谱比较都确定, 供试材料释放的气体是N₂O。纯净N₂O气体和供试材料释放的气体在2200cm⁻¹和1285cm⁻¹均有特征红外吸收峰; 它们的气相色谱的出峰时间完全相同, 在本实验室使用的色谱条件下, 出峰时间为50秒左右。

2.2 不同处理的大豆根释放N₂O的速率

植物根表面含有大量的微生物。为了说明N₂O的释放是植物组织本身而非微生物所为, 我们对未根表除菌的(根只用自来水洗净)、根表除菌的(根用无菌水充分漂洗)和紫外线灭菌的大豆根释放N₂O的速率进行比较测定, 同时测定根表细菌总数, 结果见表1。

表1 不同处理的大豆根释放N₂O的速率
Tab.1 Emission rates of N₂O from differently treated soybean roots

| 样 品 Sample | 释放 N ₂ O 速率 ($\mu\text{g N}_2\text{O/g 干根} \cdot \text{天}$) Emission rate ($\mu\text{g N}_2\text{O/g dry weight} \cdot \text{day}$) | 根表细菌总数 (个/g 干根) Numbers of bacteria/g dry weight |
|---|--|--|
| 紫外灭菌大豆根 Soybean roots sterilized with U.V. | 1243.04 | 3.01×10^7 |
| 根表除菌大豆根 Soybean roots washed with sterilized water | 652.57 | 1.34×10^9 |
| 未根表除菌大豆根 Soybean roots washed with water | 1081.14 | 9.38×10^{11} |

从表1结果可以看出, 虽然紫外线照射未能使根表完全灭菌, 但细菌总数已大为减少, 而其释放N₂O的速率都比根表细菌总数大出几十倍到几万倍的根还要大, 说明释放的N₂O是来自植物组织。

2.3 不同植物释放N₂O速率的比较

从1989年6月下旬至10月上旬, 对大豆、玉米、水稻和日本赤杨等植物的根系(或其他组织)释放N₂O的速率进行了多次采样测定。结果表明, 在采样测定的3个多月的时间里, 大豆根和玉米根释放N₂O

的速率都相当高。表2是7月20日采样测定的结果。

表2 植物释放N₂O的速率
Tab.2 Emission rates of N₂O from the plants

| 样 品 Sample | 释放N ₂ O速率($\mu\text{g N}_2\text{O/g 鲜重} \cdot \text{天}$) Emission rate ($\mu\text{g N}_2\text{O/g fresh weight day}$) |
|-------------------------------------|---|
| 大豆根 Soybean root | 249.92 |
| 大豆茎 Soybean stem | 388.66 |
| 大豆叶 Soybean leaf | 103.48 |
| 大豆根瘤 Soybean nodule | 36.57 |
| 整株大豆 Intact soybean plant | 60.00 |
| 玉米根 Maize root | 199.58 |
| 水稻根 Rice root | 2.98 |
| 日本赤杨根 Root of <i>Alnus japonica</i> | 17.52 |
| 日本赤杨根瘤 Nodule of <i>A. japonica</i> | ~0 |

*在含2g样品的小瓶内加了5ml 2%的葡萄糖溶液

3 讨 论

研究植物-土壤系统氮素损失的途径, 对提高土壤氮素利用率、减少环境污染具有重要意义。在过去相当长的一段时间里, 对通过植物这条途径引起的氮素损失曾被忽略或认为是很少的。但 Wetselaar 和 Farquhar最近指出, 通过某些作物地上部损失的氮素, 10周内可达75kgN/ha, 同时他们还指出, 这一损失过程主要发生在开花期至成熟期之间, 而且与植物的含氮量有关, 含氮量越高, 损失的氮素越多^[5]。通过植物损失的气态氮素, 已经证实的有NH₃和NO等, 但植物在正常生理条件下是否释放N₂O, 迄今未见报道, 本文首次报道, 包括常见的农作物大豆、玉米和水稻在内的许多植物能释放N₂O; 不同种植物或同种植物的不同部位具有不同的释放N₂O的能力(表1、表2)。

自发现低浓度乙炔能抑制反硝化作用中的N₂O还原成N₂这一反应^[4,6,12]以来, 乙炔抑制技术在实验室和田间反硝化作用的测定中得到广泛的应用, 在测定原位土壤释放N₂O的通量时, 目前通常的做法是用一密闭体系把一定面积的土壤封闭起来, 测定一定时间内密闭面积内的土壤释放的N₂O量, 然后计算出每公顷或单位面积释放N₂O的通量^[7,8], 即使某些把植物也密闭起来的原位测定^[1], 由于密闭容器的高度和体积有限, 只能在植株较小时应用。本研究的结果表明, 许多植物即使在生育阶段后期, 植株很大时,

其根系仍具有很强的释放 N_2O 的能力。因此,在估测植物-土壤系统的 N_2O 释放通量时,植物这个释放源是不容忽视的。由植物释放的 N_2O 对大气化学可能具有重要意义。

此外,我们还在乙炔不存在情况下,在培育的早期阶段检测到了植物根系释放 N_2O ,说明乙炔不是诱导物,只是阻断 N_2O 的转化。同时还观测到在乙炔不存在时,加入外源的 N_2O 逐渐消失,说明植物还具有转化 N_2O 的能力。

在现行的估计根瘤菌-豆科植物(如大豆)共生固氮体系的固氮量的方法中,有一种叫“参比法”,这种方法假定,用作“参比”的植物(通常是不固氮的禾本科植物)与固氮的豆科植物,从土壤中吸收氮素的能力相同。因此,在生长季节结束时从固氮植物的总含氮量中减去不固氮植物的总含氮量,即为该固氮植物的共生固氮量。从本文的结果可以看出,这一方法的缺陷是未考虑到不同作物通过根系等组织释放 N_2O 的能力可能有很大差别,因而从生长季节结束后两种植物总含氮量的差值得出固氮量的估算可能偏低(当固氮植物释放 N_2O 的能力大于参比植物时)或偏高(当固氮植物释放 N_2O 的能力小于参比植物时)。

植物释放 N_2O 速率不仅与植物的种类、部位、植物所处的生理阶段有关(表1、表2),而且与其自身的 NO_3^- 含量及所处环境中的氧浓度等因素有关(陈冠雄等,未发表资料)。关于植物形成 N_2O 的机制及影响其释放速率的因素有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 李良谟等。1989。原位土壤中 N_2O 释放量的测定方法。土壤学报, 26(3):305—308。
- 2 陈冠雄等。1990。土壤释放的 N_2O 的原位测定。生态学杂志(待出版)。
- 3 [日]土壤微生物研究会编(叶维青等译)。1983。土壤微生物实验法。科学出版社,北京,568。
- 4 Balderston, W.L., et al. 1976. Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in *Pseudomonas perfectomarinus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31: 504—508.
- 5 Farquhar, G. D., et al. 1983. Gaseous nitrogen losses from plants. In: *Gaseous Loss of Nitrogen from Plant-Soil Systems* (Eds. J.R. Freney and J.R. Simpson), Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/Lancaster, pp. 159—180.
- 6 Federova, R. I., et al. 1973. Evaluation of the method of “gas metabolism” for detecting extra-terrestrial life. Identification of nitrogen fixing organisms. *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. [Biol.]*, 6: 797—806.
- 7 Goodroad, L. C. and Keeney, D.R. 1984. Nitrous oxide emission from forest, march, and prairie ecosystems. *J. Environ. Qual.*, 13(3):448—452.
- 8 Hauck, R.D. 1986. Field Measurement of Denitrification, An Overview In: *Field Measurement of Dinitrogen Fixation and Denitrification* (Eds. R.D. Hauck and R.W. Weaver), Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 59—72.
- 9 Knowels, R. 1982. Denitrification. *Microbiological Reviews*, 46:43—70.
- 10 Rosswall, T. 1980. Microbiological nitrous-oxide production: Implications for the global nitrogen cycle. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Environmental Biogeochemistry and Conference on Biogeochemistry in Relation to the Mining Industry and Environmental Pollution*, Springer-verlag.
- 11 Weiss, R.F. 1981. The temporal and spatial distribution of tropospheric nitrous oxide. *J. Geophys. Res.*, 86:7185—7195.
- 12 Yoshinari, T. and Knowles, R. 1976. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 9:177—183.