

УДК 631.416.1:631.461.2

ПРЕВРАЩЕНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НИТРИФИКАЦИИ В ПОЧВЕ

В. В. КИДИН, П. М. СМИРНОВ, В. Н. НАЗАРОВА

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Газообразные потери азота из почвы являются основной причиной снижения коэффициентов использования и эффективности азотных удобрений.

Согласно современным представлениям о трансформации азота удобрений в почве, потери его в газообразной форме вызваны главным образом биологической и химической денитрификацией [4, 8].

В газообразных потерях азота процессу нитрификации отводилась косвенная роль, сводившаяся к образованию окисленных азотистых соединений — нитратов и нитритов, которые, диссимиляционно редуцируясь под влиянием гетеротрофной микрофлоры, являлись основным источником газообразных потерь азота почвы и удобрений.

В ряде теоретических работ [2, 5, 7, 10, 11], посвященных механизму нитрификации в чистых и накопительных культурах, высказывается предположение о возможности выделения газообразных азотистых соединений при окислении аммиачного азота. Однако лишь в последние годы с помощью хроматографических методов [1, 3, 6, 9] был определен количественный и качественный состав газообразных азотистых продуктов, образующихся в результате нитрификации. Поскольку превращение аммиачного и нитратного азота в почве под влиянием соответствующих микроорганизмов протекает с образованием ряда промежуточных соединений — гидросиламина, гипонитритов, нитритов и др. [2, 10, 11], представляло интерес изучить характер превращения последних в почве, а также вычлнить роль химических и биологических факторов в трансформации их в почве. С этой целью в лабораторных опытах исследовали влияние реакции среды и аэрации на превращение меченных ^{15}N гидросиламина и нитрита натрия в стерильной и нестерильной дерново-подзолистой почве.

Для опыта использовалась целинная и старопахотная почва учхоза «Дубки» Московской области: целинная почва — рН 4,0, H_Γ — 4,5 мэв, содержание гумуса — 2,2%, общего азота — 0,14%, P_2O_5 и K_2O — соответственно 0,8 и 2,5 мг на 100 г, старопахотная почва — рН 6,3, H_Γ — 1,5 мэв, содержание гумуса — 1,8%, общего азота — 0,11%, P_2O_5 и K_2O — соответственно 3,5 и 16,9 мг на 100 г.

Почву массой 40—50 г компостировали при температуре 25—28° в герметичных сосудах, что позволяло осуществлять газохроматографический контроль за качественным и количественным составом газообразных продуктов, образующихся в результате химической и биологической трансформации нитритов и гидросиламина.

Почву стерилизовали путем автоклавирования при температуре 125° в течение 4 ч. Стерильность контролировали по количеству выделя-

ющейся из почвы углекислоты с помощью газоадсорбционной хроматографии.

Результаты исследований

Исследования показали, что промежуточные продукты метаболизма аммиачного и нитратного азота в почве — нитриты и гидроксилламин — обладают высокой биологической и химической активностью. Так, при внесении меченого ^{15}N гидроксилламина в слабокислую (рН 6,3) стерильную почву (табл. 1) уже через сутки большая его часть (62%) трансформировалась в другие формы азотистых соединений, а в минеральной форме (в виде NH_2OH) оставалось лишь 38% внесенного количества азота гидроксилламина. При этом 43% меченого гидроксилламина закреплялось в почве в результате химического взаимодействия с органическим веществом почвы и 16% окислялось до газообразной закиси (N_2O) азота.

Таблица 1
Влияние стерилизации почвы на баланс меченого ^{15}N азота гидроксилламина (% от внесенного)

Статья баланса азота*	Экспозиция, дни					
	1	3	7	1	3	7
	нестерильная почва			стерильная почва		
N — $^{15}\text{NH}_2\text{OH}$	10,5	7,5	5,0	38,0	22,5	13,5
Закрепилось в почве в органической форме	23,5	27,0	28,0	43,0	52,5	49,0
Потери:						
всего	66,0	65,5	67,0	16,0	22,5	37,5
в виде $^{15}\text{N}_2\text{O}$	46,5	42,0	4,0	16,0	22,5	37,5
» » $^{15}\text{N}_2$	19,5	23,5	63,0	—	—	—

* Внесено 20 мг ^{15}N гидроксилламина на 100 г почвы.

При дальнейшей инкубации почвы закрепление и особенно потери азота гидроксилламина значительно увеличивались, достигая к концу опыта (7 дней) соответственно 49 и 37,5%, количество NH_2OH снизилось до 13,5%.

Широкий спектр спонтанной микрофлоры в нестерильной почве оказывал большое влияние на интенсивность и характер превращения гидроксилламина. В нестерильной почве скорость трансформации была выше, чем в стерильной. Через сутки в нестерильной почве оставалось лишь 10,5% меченого $^{15}\text{NH}_2\text{OH}$, или почти в 4 раза меньше, чем в стерильной почве, а через неделю содержание его снизилось до 5% от внесенного количества.

Закрепление азота гидроксилламина в органической форме изменялось незначительно, составляя в 1-е сутки 23,5%, а в конце опыта — 28%. Потери азота в газообразной форме (66%) наблюдались в основном в 1-й день опыта, и в дальнейшем практически они не увеличивались.

Определение качественного и количественного состава газообразных продуктов, образующихся при трансформации гидроксилламина в почве, с помощью газоадсорбционной хроматографии показало, что по мере снижения уровня NH_2OH в почве усиливается выделение закиси азота (табл. 1). Причем из стерильной почвы газообразные потери происходили только в виде закиси азота (N_2O), количество которой постепенно возрастало до 37,5%.

В нестерильной почве закись азота не являлась терминальным продуктом превращения NH_2OH . Под влиянием микроорганизмов она быстро редуцировалась до наиболее устойчивого продукта трансформации гидроксилamina — молекулярного азота. Так, уже на 1-е сутки в виде молекулярного азота обнаружено 19,5% азота гидроксилamina, а 46,5% — в виде закиси азота. В дальнейшем доля последней снижалась до 4%, а доля молекулярного азота увеличивалась до 63%.

Следовательно, гидроксилamin, образующийся в процессе нитрификации аммиачного азота, может претерпевать в почве целый ряд сложных биологических и химических превращений, при этом образуются закись азота и молекулярный азот, что свидетельствует о возможных потерях азота в процессе нитрификации.

Таблица 2

Превращение в почве ^{15}N гидроксилamina (% от внесенного) при разных условиях аэрации

Условия аэрации	Минеральный			Органический			Потери			Содержание N_2O , % от внесенного азота		
	экспозиция, дни											
	7	15	21	7	15	21	7	15	21	7	15	21
O_2	—	—	—	19,0	19,5	20,0	81,0	80,5	80,0	8,7	—	—
20% O_2 и 80% He	5,0	4,0	—	22,0	23,0	27,0	73,0	73,0	73,0	16,5	8,1	3,0
He	9,0	7,0	6,0	22,5	23,0	23,5	68,5	70,0	70,5	9,8	—	—

Следует отметить, что, несмотря на исследования, проведенные с чистыми и накопительными культурами нитрификаторов [2, 10, 11], размер и механизм потерь азота в процессе нитрификации в естественных условиях остаются далеко не выясненными. Слабо изучено также влияние условий внешней среды на превращение в почве другого метаболита нитрификации — нитритов. По литературным данным [3, 8, 9], условия аэрации оказывают большое влияние на трансформацию метаболитов азота в почве, однако детально данный вопрос не исследован. В связи с этим представляло интерес изучить с помощью газовой хроматографии и масс-спектрометрии влияние условий аэрации на превращение в почве нитритов и гидроксилamina.

Опыты проведены в герметичных камерах, в которых в качестве газовой среды служили кислород, смесь гелия с кислородом и гелий. Навеска почвы 50 г, температура инкубации 26—28°.

Исследования показали, что условия аэрации не оказывали существенного влияния на превращение гидроксилamina в почве. Потери азота гидроксилamina в первые 7 дней независимо от содержания кислорода в среде достигали 68—81%. Отмечена лишь некоторая тенденция к их увеличению в кислородной среде (табл. 2). Так, в анаэробных условиях (в среде гелия) потери составляли 69,5%, при наличии в среде 20% O_2 и 80% He — 73%, а в аэробных условиях (в среде кислорода) они увеличились до 81%.

Из данных табл. 2 следует, что трансформация азота гидроксилamina, как и в предыдущем опыте, проходила весьма интенсивно и заканчивалась преимущественно в первые 7 дней. Большая скорость превращений гидроксилamina в почве, несомненно, свидетельствует о том, что в закреплении и потерях азота NH_2OH участвуют химические процессы взаимодействия гидроксилamina с органическим веществом почвы. Присутствие кислорода несколько активизировало протекающие в почве процессы превращения гидроксилamina. В аэробных условиях через 7 дней весь NH_2OH трансформировался в другие формы, в то время как

в анаэробных (в среде He) содержание его в почве равнялось 9%, а через 21 день — 6,0%.

Размер иммобилизации азота гидросиламина в зависимости от условий аэрации варьировал незначительно — в пределах 20—27% внесенного его количества.

Таким образом, превращение гидросиламина в почве мало зависит от условий аэрации, однако скорость редукции закиси азота, образующейся при окислении гидросиламина, определяется содержанием кислорода в среде (табл. 2).

В варианте с нитритом натрия аэрация оказывала большое влияние на потери азота. В анаэробных условиях они были в 2 раза выше, чем в аэробных (табл. 3).

Т а б л и ц а

Превращение $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ в почве (в числителе — мг/100 г, в знаменателе — % от внесенного) при разных условиях аэрации

Условия аэрации	Минеральный азот			Закрепилось в почве ^{15}N			Потери азота		
	экспозиция, дни								
	7	15	21	7	15	21	7	15	21
O_2	5,1	5,1	4,0	1,0	1,1	1,1	13,9	14,9	
	25,6	25,5	20,0	5,0	5,5	5,5	69,5	74,5	
20% O_2 и 80% He	14,4	14,0	13,4	1,3	1,7	2,0	4,3	4,3	4,6
	72,0	70,0	67,0	6,5	8,5	10,0	21,5	21,5	23,0
He	14,0	12,1	0,2	0,3	0,6	0,8	5,7	7,3	10,0
	70,0	60,5	46,0	1,5	3,0	4,0	28,5	34,5	50,0

В анаэробных условиях (в среде He) потери азота $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ уже через 7 дней составляли 28%, через 21 день — 50%, в аэробных (в среде He + O_2) — соответственно 21,5 и 23%. Иммобилизация азота нитритов, наоборот, была в 2,5 раза выше в условиях нормальной аэрации. Следовательно, нитриты в анаэробных условиях в большей степени подвергаются диссимиляционному восстановлению, чем в аэробных, ассимиляция азота нитритов микрофлорой была сильнее выражена в аэробных условиях.

На превращение нитритов большое влияние оказывают также стерилизация и реакция почвы. При реакции, близкой к нейтральной (рН 6,3), потери азота нитритов из стерильной почвы (табл. 4) составили всего 6,5% внесенного количества, а из нестерильной почвы — 21%, т. е. были в 3 раза больше. Однако при кислой реакции (рН 4,0) из стерильной почвы терялось 33% азота $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$, причем уже в 1-е сутки в этой почве потери составили 28%. Столь значительные потери азота нитритов в стерильной кислой почве обуславливались хемоденитрификацией, о чем свидетельствует также резкое уменьшение в 1-е сутки содержания азота в минеральной форме.

Итак, промежуточные продукты превращения азота в почве — гидросиламин и нитриты — отличаются высокой химической активностью, они очень лабильны и могут служить источником значительных потерь азота удобрений.

Газообразные потери азота удобрений в виде закиси и молекулярного азота, отмечаемые многими авторами [1, 8, 9, 11], могут происходить уже по мере образования первичного промежуточного метаболита окисления аммония нитрификаторами — гидросиламина. Закись азота может выделяться и в результате химических реакций гидросиламина

Баланс $^{15}\text{N}-\text{NO}_2$ в почве (% от внесенного) в зависимости от реакции среды и ее стерилизации

Статьи баланса азота	Стерильная почва						Нестерильная почва		
	рН 4,0			рН 6,3			рН 6,3		
	экспозиция, дни								
	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Минеральный азот $\text{N}-\text{NO}_3^- + \text{N}-\text{NO}_2^-$	52,3	44,0	40,0	97,5	91,0	86,0	94,0	78,0	76,0
Закрепилось в почве в органической форме	19,7	23,3	26,7	2,5	5,5	7,5	—	3,0	3,0
Потери	28,0	32,7	33,0	—	3,5	6,5	6,0	19,0	21,0

Т а б л и ц а 5

Превращение закиси азота в почве при разных условиях аэрации (в числителе — мг/сосуд, в знаменателе — % от внесенного $\text{N}-\text{N}_2\text{O}$)

Условия аэрации	Экспозиция, дни								
	1	3	5	7	10	14	16	45	
20% O_2 +80% Ar	$\frac{5,1}{100}$	$\frac{4,0}{80}$	$\frac{3,0}{60}$	$\frac{2,5}{50}$	$\frac{2,3}{46}$	$\frac{2,1}{42}$	$\frac{2,0}{40}$	$\frac{0,7}{14}$	
Ar	$\frac{2,9}{58}$	$\frac{1,5}{30}$	$\frac{0,7}{14}$	$\frac{0,6}{12}$	$\frac{0,5}{10}$	$\frac{0,4}{8}$	—	—	

с нитритами, образующимися в почве как в процессе нитрификации, так и денитрификации.

При изучении превращения NH_2OH в почве было установлено, что закись азота, образующаяся при окислении гидроксиламина в нестерильных условиях, быстро редуцируется микроорганизмами до молекулярного азота, а в стерильных она не восстанавливается и в силу низкой реакционной способности по отношению к органическому веществу [3, 9] длительное время сохраняется в ней.

Влияние условий аэрации и наличия доступного для микроорганизмов энергетического материала на динамику превращения закиси азота изучалось в другом лабораторном опыте, условия проведения которого были аналогичны ранее описанным, но в качестве газовой срезы здесь для имитирования анаэробных условий использовали аргон (Ar), а естественных условий — смесь, состоящую из 20% O_2 и 80% Ar . Закись азота вводили из расчета 10 мг $\text{N}-\text{N}_2\text{O}$ на 100 г почвы, или 5 мг на сосуд. Анализ газового состава осуществляли при помощи газового хроматографа.

Исследования показали, что закись азота даже в условиях хорошей аэрации почвы (в среде 20% O_2 +80% Ar) довольно быстро редуцируется до N_2 (табл. 5). Так, в аэробных условиях через 5 суток в газообразной форме было обнаружено 60% закиси азота, через 16 суток количество ее в сосуде с почвой уменьшилось до 40%, а через 1,5 мес — до 14% от внесенного количества.

В анаэробных условиях (в среде аргона) редукция закиси азота проходила еще более интенсивно. В этом варианте уже в 1-е сутки ее содержание снизилось до 58%, а через 2 недели — до 8%. Закись азота в анаэробных условиях полностью восстанавливалась за 20—25 дней.

Добавление молочной кислоты в почву в качестве энергетического материала для микроорганизмов в дозе 1% от массы почвы (0,5 г молочной кислоты на 50 г) вызывало резкое увеличение скорости редукации закиси азота. В присутствии легкодоступного для микроорганизмов органического вещества как в аэробных, так и анаэробных условиях (таблица не приводится) закись азота полностью восстанавливалась до N_2 в 1-е сутки.

Выводы

1. В серии лабораторных опытов, проведенных в герметичных сосудах со стерильной и нестерильной дерново-подзолистой почвой, установлена высокая химическая активность метаболитов нитрификации — гидроксилamina и нитритов.

2. В слабокислой почве за сутки 62% меченного ^{15}N азота гидроксилamina трансформировалось в другие формы, при этом 43% азота закреплялось в почве в органической форме и 16% его терялось в виде закиси азота.

В дальнейшем закрепление и потери азота гидроксилamina в почве резко возрастали, достигая к концу опыта соответственно 49 и 37%. В нестерильной почве скорость трансформации гидроксилamina была значительно выше, чем в стерильной.

3. Превращение нитрита натрия в почве зависело от условий аэрации, кислотности почвы и ее стерилизации. При реакции, близкой к нейтральной (рН 6,3), из стерильной почвы потери меченного ^{15}N азота нитритов составляли 6,5% внесенного количества, а из нестерильной почвы — 21%. В кислой почве (рН 4,0) потери в стерильных условиях за сутки равнялись 28%, а в конце опыта — 33%.

4. Закись азота, образующаяся в результате химических и биологических превращений азотистых соединений в почве, не является терминальным продуктом трансформации азота в почве. Скорость редукации закиси азота до N_2 варьировала в широких пределах в зависимости от степени аэрации, рН и наличия легкодоступного для микроорганизмов органического вещества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова Н. И., Родионов В. Н. Определение микроконцентраций закиси азота в почвенном воздухе методом газодсорбционной хроматографии. «Почвоведение», 1972, № 7, с. 123—126. — 2. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. М., «Наука», 1972. — 3. Кидин В. В., Смирнов П. М. Превращение продуктов метаболизма азота удобрений в почве. «Изв. ТСХА», 1974, вып. 6, с. 93—98. — 4. Кореньков Д. А. Агрохимия азотных удобрений. М., «Наука», 1976. — 5. Корсакова М. И. Денитрифицирующие микроорганизмы. «Микробиология», 1953, вып. 2, с. 215—227. — 6. Макаров Б. Н. Газообразные потери азота. В сб.: Баланс азота в дерново-подзолистых поч-

вах. М., «Наука», 1966. — 7. Русакова Г. С., Буткевич В. С. Денитрификация без использования нитратов в качестве источника азота. «Микробиология», 1941, вып. 2, т. 10, с. 3—18. — 8. Смирнов П. М. Вопросы агрохимии азота. М., ТСХА, 1977. — 9. Смирнов П. М., Кидин В. В., Педишюс Р. К., Назарова В. Н. Потери азота удобрений из почвы и снижение их с помощью ингибиторов нитрификации. «Изв. ТСХА», 1977, вып. 6, с. 58—70. — 10. Alexander M. Nitrification. In: Soil Nitrogen. USA, Madison, 1965. — 11. Campbell N. F., Lees H. The nitrogen cycle. In: Soil Biochemistry. N.-Y., 1967.

Статья поступила 20 марта 1978 г.

SUMMARY

Laboratory experiments with hydroxylamine and sodium nitrite have shown that in week acid soddy-podzolic sterile soil 43—49% of hydroxylamine nitrogen labelled by ^{15}N was fixed in the soil, and 16—37% was lost as gaseous nitrous oxide. In non-sterile soil less of hydroxylamine nitrogen was fixed, while gaseous losses mainly as molecular nitrogen were higher.

Transformation of sodium nitrite nitrogen both in sterile and non-sterile soil depended to a considerable extent on its acidity. Nitrous oxide which was formed as a result of chemical and biological transformations of nitrogenous compounds in the soil was rapidly reduced to N_2 .