

# 基于<sup>15</sup>N示踪技术的植物-土壤系统氮循环研究进展

汪庆兵, 张建锋\*, 陈光才

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

**摘要:** 同位素示踪技术是指外源添加与生物体内的元素或物质完全共同运行的示踪物, 用来指示生物体内某元素或物质变化过程的一种方法。利用氮稳定同位素示踪技术, 能从本质上揭示生态学过程发生的机理, 从而成为生态学科研究工作十分重要的工具之一。对近年来<sup>15</sup>N示踪技术应用于土壤氮素固定、植物氮素营养和植物-土壤系统氮迁移的研究进展进行了综述, 并对稳定氮同位素技术在解决相关生态学难题可能的前景和不足方面进行了展望。

**关键词:** <sup>15</sup>N示踪技术; 植物-土壤系统; 氮循环; 研究进展

doi: 10.396/j.issn.1005-3395.2013.05.016

## Review of Nitrogen Cycle in Plant-soil System Based on Application of <sup>15</sup>N Tracer Technique

WANG Qing-bing, ZHANG Jian-feng\*, CHEN Guang-cai

(Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, China)

**Abstract:** The isotope tracer technology is a kind of method by adding exogenous elements or substance as a tracer co-operating in organism completely, which used to indicate the change process of elements or substance in organism. Nitrogen stable isotope tracer technology can reveal essentially the mechanism of ecological process, so it becomes one of important tools for ecology research. In order to understand the advances in application of nitrogen stable isotope technique in nitrogen cycle of plant-soil system, nitrogen cycle based on <sup>15</sup>N tracer technique was reviewed. The nitrogen stable isotope technique in solving ecology problems was prospected and some existing shortcomings are also discussed.

**Key words:** <sup>15</sup>N tracer technique; Plant-soil system; Nitrogen cycle; Review

氮(原子质量单位: 14.0067)共有 17 个同位素, 其中有两个是稳定的, 即 <sup>14</sup>N 和 <sup>15</sup>N。自然界中, <sup>14</sup>N 的丰度为 99.625%, <sup>15</sup>N 是一种罕见的氮稳定同位素, 常用于农业和医学研究。通常情况下, 稳定性同位素之间没有明显的化学性质差别, 但其物理性质诸如分子键能、分解速率和在气相中的传导率等会因其质量上的不同而有微小差异, 导致物质反应前后在同位素组成上有明显差异<sup>[1-4]</sup>。<sup>15</sup>N 示踪技术的应用, 加深了人们对生态系统氮素循环过

程的了解。过去的二、三十年中, 一些生态学与环境科学令人瞩目的进步依赖于稳定氮同位素技术, <sup>15</sup>N 示踪技术被用来解释生态学、环境科学的众多难题。例如, 生态系统中氮同位素的时空动态、植物通过氮固定或吸收土壤中不同形态氮素的相对比率, 以及确定水体与空气中污染物来源等<sup>[2,5-7]</sup>。

20 世纪 30 年代末 Rittenberg 等<sup>[8]</sup>首次应用 <sup>15</sup>N 示踪技术研究生物固氮; 40、50 年代是 <sup>15</sup>N 示踪技术的发展初期<sup>[9-10]</sup>, 以 <sup>15</sup>N<sub>2</sub> 添加法作为代表, 由于要

收稿日期: 2013-03-05 接受日期: 2013-06-06

基金项目: 林业公益性行业科研专项(201104055); 中央级公益性科研院所基金重点项目(RISF2013001)资助

作者简介: 汪庆兵(1988~), 男, 硕士生, 主要从事植物氮素营养研究。E-mail: wangqingbing116@163.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangk126@126.com

在实验中添加  $^{15}\text{N}$  富集的同位素,只能在密闭条件下进行,因而限制了其推广应用;50、60 年代是慢速发展期<sup>[11-12]</sup>,新兴的  $^{15}\text{N}$  稀释法,基于固氮植物和非固氮植物对土壤中  $^{15}\text{N}$  具有相同吸收模式的假设,通过定量测定植物体内的  $\delta^{15}\text{N}$  值,来确定大气中  $\text{N}_2$  对植物固氮量的贡献<sup>[13]</sup>;70、80 年代是发展中期<sup>[14-15]</sup>,丰富了  $^{15}\text{N}$  自然丰度法,以大气中  $^{15}\text{N}$  丰度作为  $^{15}\text{N}$  的标准自然丰度值,基于固氮植物和非固氮植物利用氮源的不同,导致植物  $^{15}\text{N}$  丰度产生差异,以此来测定生物固氮量。近年来逐渐成为一种使用范围广、被普遍接受的定量研究生物固氮的方法<sup>[16-19]</sup>;进入 21 世纪后,  $^{15}\text{N}$  技术作为一种了解生态系统中物质循环和能量转换过程的工具,在生态学、环境科学、林学和农学等相关领域得到了广泛应用,在研究食物链营养级评价、污染物来源、水体富营养化治理、植物氮素营养动态变化、森林生态系统氮素循环、大气氮沉降量估计和来源分析等方面发挥了重要作用<sup>[20-28]</sup>。

研究中,物质的同位素组成常使用同位素比率(Isotope ratio)或  $\delta$  单位(‰)来表示,它是样品中两种含量最多的同位素比率与国际标准中氮的相应比率之间的千分差。对于氮,以氮同位素的丰度值  $\delta^{15}\text{N}$  计算,  $\delta^{15}\text{N}$  是表征含氮物质同位素比值相对大小的参数,该丰度值是相对于大气中氮的同位素比值得到的,其标准物质为纯净大气氮,  $R_{\text{标准}} = 0.0036765$ <sup>[29-30]</sup>,样品中的  $\delta^{15}\text{N}$  值由如下公式得出:

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{样品}}(\text{‰}) = \left\{ \left( \frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{样品}}}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{标准}}} \right) - 1 \right\} \times 1000\text{‰}$$

通常情况下,由于同位素平衡分布引发的同位素交换反应,以及同位素分反应速率差异产生的动力学过程,会使得同位素比值不同的两种物质或同一物质具有不同同位素比值的两个相态之间发生同位素分配现象,即同位素分馏(Isotope fractionation)<sup>[31]</sup>。不同  $^{15}\text{N}$  丰度会引起氮元素原子量的变化,从而导致标记物摩尔质量和含氮量的变化<sup>[32]</sup>。当然,氮稳定同位素在土壤-植物以及二者之间也会发生复杂的分馏作用。此外,同位素比值的测定过程中也会因测试仪器的不同和标准物质选择的不同而造成  $\delta^{15}\text{N}$  的差异。实际工作中,研究人员通常忽略物质本身发生的同位素分馏效应,采用一致的量纲,根据同位素稀释原理,对标记物或样品的  $^{15}\text{N}$  丰度进行换算,减少计算方法本身带来的误差。

国际上,稳定氮同位素技术已经被广泛接受,通过  $^{15}\text{N}$  示踪等方法来了解不同空间和时间尺度上的生态学过程,以及生态系统生物要素对全球变化的响应、环境要素和生物之间的关系<sup>[2-3,25,30,33]</sup>。我国  $^{15}\text{N}$  示踪技术起步较晚,多集中在农业生态系统作物氮素营养吸收、利用和分配等方面的研究,对大尺度区域氮同位素动态和森林生态系统氮循环的研究较少。本文对近年来稳定氮同位素技术应用于土壤氮固定、矿化和植物氮素吸收利用、运输分配及损失,以及土壤-植物系统氮迁移的研究进行了综述,为利用  $^{15}\text{N}$  示踪技术研究土壤-植物系统氮循环和提高植物-土壤氮素利用效率提供参考。

## 1 $^{15}\text{N}$ 示踪技术在土壤-植物系统氮输入研究中的应用

### 1.1 生物固氮率的计算

氮素是生态系统中最重要、最活跃的营养元素之一<sup>[34]</sup>。氮循环是指自然界的氮及氮素化合物在生物作用下的一系列相互转化过程。生态系统中氮主要通过氨挥发、淋溶和反硝化作用丧失,通过固氮植物的生物固氮和施用氮肥等得到补充,以维持生态系统中氮素的动态平衡<sup>[18,35-36]</sup>。目前,研究土壤-植物生物固氮的传统方法有乙炔还原法、全氮差值法和酰脲估测法等<sup>[35]</sup>。一直以来,这些方法上有限的精度和难以持续野外原位应用等原因,以及自然条件下植物植株间固氮能力的差异,而且固氮植物和根瘤菌固氮能力存在时空变化,故限制了其推广使用<sup>[17]</sup>。生物固氮在全球氮循环和温室气体排放估算中的地位至关重要,但是由于传统测定方法的不足,过去对生物固氮和植株固氮率估算的定量研究开展较少。

生物固氮是指大气中的游离态氮分子在微生物体内还原为结合态的氨分子过程,其对植物和土壤的氮肥供应有重要作用。从空气中固定的氮素占固氮植物全部氮素的比例称为固氮率,运用不同的测试技术,测得的固氮率不尽相同。Nasr 等<sup>[37]</sup>采用  $^{15}\text{N}$  示踪法在对不同品系的澳洲金合欢(*Acacia cyanophylla*)在有土壤根瘤菌协同情况下的固氮率进行估算时,计算了植物体内各器官  $\delta^{15}\text{N}$  的含量和植株全氮含量,结果表明澳洲金合欢不同品系之间的固氮率没有明显差异,且与所拌有根瘤菌的量也无明显差异。McCauley 等<sup>[38]</sup>采用  $^{15}\text{N}$  自然

丰度法计算了豌豆(*Pisum sativum*)和小扁豆(*Lens culinaris*)的 $\delta^{15}\text{N}$ ,以考察半干旱农业生态区植物生长季和非生长季固氮率的差别,结果表明,作物固氮量在非生长季比生长季要多,非生长季的时间并不影响春季播种的豌豆固氮量,而且春季播种的豌豆和扁豆的固氮量比夏季播种的要多,该结果可以很好地引导种植者采用相应的管理措施。Vinther和Jensen<sup>[39]</sup>将 $^{15}\text{N}$ 稀释法和 $^{15}\text{N}$ 自然丰度法结合,在有机放牧耕作制度下,估测草地苜蓿混合系统中黑麦草(*Lolium perenne*)和白三叶草(*Trifolium repens*)的固氮效率,通过预先对土壤进行 $^{15}\text{N}$ 标记和对给予作物幼苗外源添加的铵盐做 $^{15}\text{N}$ 标记处理,分别计算了1994年到1996年各实验植物的 $^{15}\text{N}$ 同位素比率,结果表明固定的氮素中外源添加的 $^{15}\text{N}$ 铵盐与来自大气中的氮具有相似的百分比,而对土壤进行 $^{15}\text{N}$ 标记的前处理组与对照组差异显著,发现该系统每年总的固氮量为 $30.0 \sim 50.0 \text{ g m}^{-2}$ ,植物地上部分每年的固氮量为 $10.0 \sim 23.5 \text{ g m}^{-2}$ 。从第二年的生长季开始,每年植物固定的氮为 $19.6 \sim 29.6 \text{ g m}^{-2}$ ,固氮率为 $52\% \sim 66\%$ ,植物固氮量还跟当年的气候和降雨条件有关,土壤中 $\delta^{15}\text{N}$ 可能也会随着时间推移发生显著变化。随着全球变化和城市化进程加快的影响,生物固氮作用在维持生态系统氮素平衡中扮演的角色愈加重要。基于 $^{15}\text{N}$ 示踪技术,通过测定 $^{15}\text{N}$ 在植物各器官的富集量,同时结合 $^{15}\text{N}$ 自然丰度法,相对全氮差值法等传统固氮量的估算,该方法提高了生物固氮量的估算精度,对作物品种的选育和管理策略有指导性的作用<sup>[40-41]</sup>。但 $^{15}\text{N}$ 示踪技术并不是通用于所有的土壤、林分类型,由于 $\delta^{15}\text{N}$ 值的大小通常会受到氮循环过程、土壤氮形式、植物物候和土地使用历史等因素的影响,所以在运用 $^{15}\text{N}$ 示踪技术研究生物固氮相关问题时,必须选择适当的方法,明确土壤和植物的限制因子<sup>[19]</sup>。

## 1.2 大气氮沉降来源

氮沉降是指大气中的氮元素以 $\text{NH}_x$ (包括 $\text{NH}_3$ 、 $\text{RNH}_2$ 和 $\text{NH}_4^+$ )和 $\text{NO}_x$ 的形式,降落到陆地和水体的过程。进入20世纪50年代以来,大气氮素沉降呈现急剧增加的趋势。人为干扰下的大气氮素沉降已成为全球氮素生物化学循环的一个重要组成部分,作为营养源和酸源,大气氮沉降数量的急剧增加将严重影响陆地及水域生态系统的生产力和

稳定性,对土壤和水体环境、农业和森林生态系统以及生物多样性等方面的潜在影响不容忽视<sup>[42-43]</sup>。

传统研究方法,常通过植物叶片形态、生理特征和元素含量变化来指示氮沉降水平和评价其对植物个体、生态系统的影响。据Kuang等<sup>[27]</sup>的研究报道,当植物生长环境发生明显变化时,在大气污染和相对洁净的环境下,珠江流域城乡交接处土壤有机质层和马尾松(*Pinus massoniana*)针叶中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值分别为 $-5.51\% \sim 1.38\%$ 、 $-5.0\%$ 和 $1.43\% \sim 2.19\%$ 、 $1.0\%$ ,这与那些少受或不受空气污染的林地土壤和马尾松针叶中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值差异显著。而且研究结果还表明,在长期受到大气污染的马尾松林地中,马尾松针叶 $\delta^{15}\text{N}$ 值比未受大气污染的最大相差达 $4.06\% \sim 4.21\%$ 。同一叶片不同部位在同一空气污染强度下的 $\delta^{15}\text{N}$ 值也不同,而并非之前认为的叶片总体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值是均匀的,认为在今后评价植物对空气污染响应中需要将这种叶片不同部位的 $\delta^{15}\text{N}$ 值非匀质性考虑进去<sup>[28]</sup>。在空气污染严重区域, $^{15}\text{N}$ 示踪法可以很好地指示急剧增加的氮沉积对森林生态系统的定量影响。已有的研究表明,植物叶片氮同位素( $\delta^{15}\text{N}$ )可以在一定程度上反映大气氮沉降的情况,可以通过同种植物叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值组成特征判断不同地区的氮沉降形式或形态。但是,由于植物叶片在吸收氮的过程中会发生不同程度的同位素分馏等影响因素存在,难以保证十分准确的结果。苔藓植物(Bryophyta)因其独特结构,目前被普遍认为其 $\delta^{15}\text{N}$ 值是指示和评价大气氮沉降的可靠工具,可以利用已经建立的苔藓 $\delta^{15}\text{N}$ 值与大气氮沉降之间的定量关系来评价不同区域的大气氮沉降量<sup>[43-45]</sup>。运用 $^{15}\text{N}$ 示踪技术对大气氮污染的来源解析和示踪研究,可进一步了解大气氮沉降的内在机制,为研究酸雨问题提供新方向、新技术,对及时评价大气环境的影响预测有积极的作用,对更好地保护大气环境意义重大。同时,由于氮沉降过程影响因素较多,该方法得出的结果也存在不确定性,在应用时需明确这一点。

同位素示踪法的不少缺点是因同位素本身性质造成的,如具有同位素效应、元素变换效应、辐射线效应和交换性等,所以必须十分注意。在整体示踪实验时,根据实验所需,选择合适的 $^{15}\text{N}$ 标记化合物的添加途径,且要求易吸收、操作简便。体外示踪实验是指在既定的实验步骤中的某个环节加入一定剂量的 $^{15}\text{N}$ 示踪物到反应系统中去,要求操



作准确、仔细,通常加入的 $^{15}\text{N}$ 示踪物数量少、体积小,在添加过程中,要求精确,需防止可能的损失和杂物的污染。

## 2 $^{15}\text{N}$ 示踪技术在土壤-植物系统氮转化研究中的应用

氮素会明显影响植物的生长发育,当氮素充足时,植物可合成较多的蛋白质,促进细胞的分裂和增长,植物叶面积增长加快,从而增加能进行光合作用的叶面积<sup>[34]</sup>。利用 $^{15}\text{N}$ 标记特性、可测定性及与普通氮素易于区别等特点,一直以来都被广泛用于植物氮素营养的机理研究<sup>[25]</sup>。采用对不同形态的氮素肥料进行 $^{15}\text{N}$ 标记,可以了解植物对不同形态氮的利用率,不同来源氮在植物体内的吸收利用、运输分配和损失的特征。

### 2.1 植物氮素的吸收利用

中国农业科学院原子能研究所是我国早期 $^{15}\text{N}$ 示踪技术应用的主要代表,采用 $^{15}\text{N}$ 和 $^{32}\text{P}$ 标记的氮、磷肥,按照肥料管理措施进行施肥处理,考察了复合肥和单肥处理对水稻(*Oryza sativa*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)和小麦(*Triticum aestivum*)等作物各项生长指标的影响,不同生长时期对肥料的吸收状况,不同时期施肥对产量和产量构成的影响以及掺和复合肥料的比例对作物吸收氮、磷营养的影响等<sup>[46-47]</sup>。进入21世纪以来,氮稳定同位素示踪技术逐渐的被广泛用于解决农作物和林木肥料吸收利用问题上。黄志群等<sup>[48]</sup>探讨了凋落物多样性和土壤有机碳等对杉木(*Cunninghamia lanceolata*)幼苗吸收 $^{15}\text{N}$ 标记的硫酸铵等其它形态氮素的影响;董雯怡等<sup>[49]</sup>研究了毛白杨(*Populus tomentosa*)幼苗对不同形态氮素的吸收、利用动态;Ebid等<sup>[50]</sup>开展了水稻等作物对 $^{15}\text{N}$ 标记肥料的利用率和恢复率的研究;Trépanier等<sup>[51]</sup>研究了蝴蝶兰属植物(*Phalaenopsis* spp.)根系吸收肥料的部位、吸收途径和吸收肥料的有效性。这些研究成果在一定程度上可以有效地指导农业、林业生产管理,为提高植物对土壤和外源添加氮素的利用效率提供理论支持。

近几年,由于 $^{15}\text{N}$ 等稳定同位素技术在我国生态学研究中的普遍应用,在生态学、林学和农学等相关领域掀起了一股稳定同位素技术应用研究的

热潮<sup>[33]</sup>。氮稳定同位素技术被应用于不同种类的农作物和林木上,如定量研究 $^{15}\text{N}$ 标记的不同形态的氮素在植株体内的吸收和利用动态;在不同的种植体系下,植物从肥料和土壤吸收的氮素占其生长期氮营养的比例和不同土层氮素对植物吸收氮的影响;另外,结合植物生理学和生态毒理学研究 $^{15}\text{N}$ 标记的不同形态氮素对植物的生理生态影响<sup>[52-54]</sup>。因此,作者认为今后可以将 $^{15}\text{N}$ 示踪技术应用于不同的自然、生态因子胁迫条件下,新型的种植方式,如垂直耕作和复合农林体系内,以揭示植物对不同环境条件的响应和氮素在植物体内的迁移、运输和分配动态问题。

### 2.2 植物氮素的运输分配

由于 $^{15}\text{N}$ 能够区别目标植物吸收利用的肥料氮和土壤氮,通过 $\delta^{15}\text{N}$ 来测定植物氮素利用率,能真实地反映植物实际利用肥料的状态<sup>[24]</sup>。Yun等<sup>[55]</sup>运用 $^{15}\text{N}$ 示踪法和 $^{15}\text{N}$ 自然丰度法,认为植物吸收的土壤无机氮和土壤中无机氮的含量直接相关,而当土壤中无机氮含量不足时,氮更趋向于转向植物新生长部分。董雯怡等<sup>[49]</sup>研究了毛白杨对 $^{15}\text{N}$ 标记的硝态氮和铵态氮的吸收能力,认为氮素在毛白杨器官中的分配趋势为叶>根>茎,且器官之间差异显著,叶中的 $\text{NO}_3^-$ - $^{15}\text{N}$ 的分配率显著高于 $\text{NH}_4^-$ - $^{15}\text{N}$ ,苗木主要通过茎将吸收的氮素输送到叶等生长旺盛的部位。赵登超等<sup>[56]</sup>报道,不同时期对冬枣(*Ziziphus jujuba* ‘Dongzao’)施 $^{15}\text{N}$ 尿素,翌年 $^{15}\text{N}$ 尿素的分配情况不同,认为施肥时期越迟,氮素越容易分配到根系,在果实硬核期施肥较有利于休眠期贮藏氮的积累和翌年春新器官的生长发育。周丕生等<sup>[57]</sup>用 $^{15}\text{N}$ 标记的肥料氮示踪郁金香(*Tulipa*)对氮素的吸收利用,结果表明生长初期郁金香种球以向根叶输送体内储存的氮为主,开花期后,才将吸收的氮素向新的种球转运,认为在出现花蕾期追施适量氮肥较合适。沈其荣和徐国华<sup>[58]</sup>报道小麦、玉米(*Zea mays*)在不同时期追施 $^{15}\text{N}$ 尿素,不仅可以改善所施肥料成分中相应元素的营养状况,而且能够促进植株对氮、磷的吸收和提高氮、磷转运到籽粒中去的比例。孟维伟等<sup>[59]</sup>报道不同灌水处理对小麦氮素的转运分配影响不一,成熟期肥料氮在植株器官的分配量为籽粒>茎秆+叶鞘>叶>穗轴+颖壳。 $\delta^{15}\text{N}$ 值可以作为氮素运输、氮素循环的综合指示因子,结合对生态过程的进一步研究,可

以明确指导氮素肥料在植株体内被运输和分配动态,对适时采用追肥等措施具有指导性意义。

### 2.3 土壤氮矿化率的计算

准确计算土壤的可利用氮含量和氮矿化率,对于更好地了解生态系统的氮循环作用和指导相关农业生产具有重要意义。目前大多数学者采用 $^{15}\text{N}$ 和 $^{13}\text{C}$ 共同标记来计算土壤氮矿化率<sup>[41]</sup>。Hilscher和Knicker<sup>[60]</sup>在实验室进行微控制实验,模拟火灾过后土壤微环境的高温环境,经过长达28个月的土壤培养后,通过计算不同时间段 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的增加量来确定土壤微生物对发热有机材料(Pyrogenic organic material, PyOM)的抵制作用,为更好地理解火灾后土壤生态系统的氮循环过程提供了直接有力的证据。土壤氮素的主要来源为生物固氮、肥料氮和有机废弃物,大气氮沉降约占土壤氮素收入的10%左右。Zhang等<sup>[26]</sup>利用 $^{15}\text{N}$ 标记的氨态氮和硝态氮示踪,研究了我国东部不同气候条件下森林土壤氮的动态,结果表明土壤氮的总矿化率在 $0.915 \sim 2.718 \mu\text{g N d}^{-1}$ ;所有的土壤样品中,标记的有机氮对总氮矿化率的贡献率为58%~99%,针叶林土壤氮矿化率为 $0.915 \sim 1.228 \mu\text{g N d}^{-1}$ ,低于阔叶林中的土壤( $1.621 \sim 2.718 \mu\text{g N d}^{-1}$ ),其中优势植物种类可能是改变土壤氮矿化率的主要影响因素。在我国北方干旱平原地区,大气干沉降尤其明显。在大气污染日益严重的背景下,He等<sup>[61]</sup>通过在我国北方平原地区玉米-小麦轮作大田试验和室内模拟试验,采用 $^{15}\text{N}$ 同位素稀释法计算二者的氮矿化率,结果表明大田情况下植物可利用氮占总氮沉降的77%,该区域以干沉降为主导作用;相比而言,室内控制试验总的氮矿化率为42%,根据植株的种植密度,二者间相关系数为0.54。

研究表明,全球范围内影响 $\delta^{15}\text{N}$ 格局的因素主要有气候、时间、地形和土地利用方式。土壤中的氮矿化、硝化、反硝化和氨挥发作用,都会不同程度地改变 $\delta^{15}\text{N}$ 丰度值<sup>[62-64]</sup>。不同时间尺度具有不一样的土壤氮矿化率。Garten等<sup>[65]</sup>对美国田纳西州东部两种类型林地进行研究,以 $\text{NH}_4^+$ - $^{15}\text{N}$ 为示踪物,分别在第6、21和42周计算森林地被物、细根和土壤矿化物中 $^{15}\text{N}$ 丰度值,结果表明矿化态的氮大部分在浅土层(0~20 cm)中,认为森林地被物对大气氮进入土壤层具有很好的过滤作用。兰婷等<sup>[18]</sup>对不同水稻田土层进行为期7 d的室内培养,结果

表明,在0~2 h内,各土层土壤的总矿化、硝化和固定速率显著高于其它时间段,大部分 $\text{NH}_4^+$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N被固定,认为其中主导土壤矿化率的是氮素的非生物固氮作用;2 h后出现了氮素在固定与再矿化间反复转换的现象。

然而,以往的这些研究多是关注氮素在作物体内的运输和分配动态,对影响其动态分配的机理和内部分子机制研究较少。我们认为可以结合 $^{15}\text{N}$ 示踪法、 $^{15}\text{N}$ 稀释法和其它分子手段,找出影响植物-土壤系统中氮素运输和分配的因素,通过生态学措施或人为调控来维持生态系统的可持续发展。

## 3 $^{15}\text{N}$ 示踪技术在土壤-植物系统氮输出研究中的应用

### 3.1 土壤-植物系统氮素损失

近年来,植物对土壤和外源添加氮素的利用率普遍不高,同时植物本身也存在着氮素损失的情况,植物氮素损失的问题日益受到关注<sup>[25]</sup>。土壤-植物系统中,氮素易被植物吸收,也易从土壤中淋失进入湖泊和海洋。在无氧或缺氧条件下,土壤中的反硝化细菌可将硝酸盐还原,释放分子态氮或 $\text{N}_2\text{O}$ ,返回大气。这种反硝化作用,一方面造成土壤耕作层的氮肥损失,同时 $\text{N}_2\text{O}$ 还会造成环境污染。在氮素输出的过程中会发生同位素分馏作用,不同植物间可能会有较大差异<sup>[13,19]</sup>。Chen<sup>[66]</sup>和Zhang<sup>[26]</sup>的研究表明,土壤水势变化以及不同气候条件,影响森林土壤氮循环反硝化作用中的 $\text{NH}_3$ 挥发,不同的森林植被和土壤pH、温度等因子对其影响也有一定的贡献。此外,Matsushima等<sup>[36]</sup>采用 $^{15}\text{N}$ 示踪技术,在温室培养条件下研究了不同肥料组成在不同时间段的 $\text{NH}_3$ 挥发量,结果表明在开始的10 d内,高浓度的无机肥释放的 $\text{NH}_3$ 是低浓度的3倍多,后期随时间变化二者 $\text{NH}_3$ 的挥发量出现不同的变化趋势,得出不同的有机和无机肥对比对 $\text{NH}_3$ 挥发量的影响显著的结论。

有研究表明,氮肥施入水稻田土壤后,水稻能吸收其中的25%~50%,肥料中的 $^{15}\text{N}$ 在土壤中的残留比例为10%~35%,其余的 $^{15}\text{N}$ 亏损部分则可能是以氨挥发、地下水渗漏淋失或者反硝化形式损失<sup>[23,67-69]</sup>。不同形态的氮肥其挥发损失的情况不同,一般认为,碳铵的挥发损失最大,其次是硫铵和硝铵,尿素最低<sup>[70]</sup>。黄见良等<sup>[23]</sup>研究了水稻不同生育



期吸收的  $^{15}\text{N}$  在各器官中的分配和后期植物组织中的挥发损失情况,认为成熟期  $^{15}\text{N}$  有 46% 转运至水稻的籽粒中,水稻在分蘖期和幼穗分化期吸收的氮素在后期可以通过植株组织挥发损失,至成熟期损失的比例分别达 16.7% 和 13.4%。彭佩钦等<sup>[71]</sup> 采用  $^{15}\text{N}$  对尿素和水稻秸秆交叉标记,认为有机无机肥配施在提高化肥氮利用率的同时,也提高了有机形态氮的残留,降低了无机形态氮的残留。房祥吉等<sup>[72]</sup> 亦报道,适宜的沙土配比有利于植物的生长和氮素的吸收利用,较低沙土比对土壤氮素损失起保护作用。农林生产时,应全面考察土壤氮背景值、植物氮素吸收利用效率和植物氮素损失特性等问题,在生产和管理过程中,除大力增产氮肥外,还必须提高对氮素循环中各个环节的了解,提高土壤-植物系统氮的有效利用率,以便在氮肥的使用和管理上,采取科学合理的施肥、追肥措施。

### 3.2 土壤有机氮迁移特征

由于气候变化和人类活动对土壤和环境的影响加剧,土壤和外源添加的氮被植物有效利用的比率普遍不高,导致化肥施用量的不断增加,大量的养分累积在土壤中,土壤氮向水体释放的风险性大大增加。过剩的氮、磷营养进入到土壤和水体环境中,使得我国的河流、湖泊富营养化问题不断加剧<sup>[73]</sup>。氮素作为非点源污染重要的营养物质之一,其流失既可造成土壤生产力衰退,又可引起水体富营养化。为此关于土壤-植物氮素形态特征及其影响因素的研究十分活跃。

在植物体内,氮素主要以蛋白质形态存在,有机氮约占总氮量的 90% 以上。因此,有机肥施入土壤后有机氮素在土壤-植物系统的迁移转化显得尤为重要。Ju 等<sup>[74-75]</sup> 报道中国北方平原的作物对不同土壤深度的硝酸盐矿化率差别较大,同一深度,玉米对其矿化率均比茄子(*Solanum melongena*)的要高,植株垂直根系进入土壤的深度和土壤水势影响该过程;在冬小麦-夏玉米轮作系统中,通过施入不同氮肥水平来研究两种作物种植过程中不同土层有机氮和无机氮的矿化率,认为短期种植以低氮施入量为宜,需要长期种植时建议结合土壤矿化氮和植物器官氮测定,再确定氮肥的施入量。间作的植物间也存在氮素的双向转移,褚贵新等<sup>[76]</sup> 用叶片  $^{15}\text{N}$  富集标记法,认为盆栽花生(*Arachis hypogaea*)-水稻旱作间作系统中存在氮素的双向转移,水稻的

干物质生物量和氮素吸收量比单作时均有不同程度的增加,且系统的氮素净转移方向为花生→水稻。Hoekstra 等<sup>[77]</sup> 利用  $^{15}\text{N}$  标记技术研究表明,3 种肥料在不同时间段土壤的矿化率差异显著,并估算在该植物-土壤系统中总氮和有机氮的矿化率分别为 45% 和 72%。土壤-植物-大气连续体中,发生氮输入、输出作用更多,迁移情况相对复杂。Chalk 等<sup>[78]</sup> 结合  $^{15}\text{N}$  示踪法和  $^{15}\text{N}$  自然丰度法,研究了合成肥料和堆肥中 N 在土壤-植物-大气连续体中的迁移动态变化,结果表明堆肥与合成肥料结合使用能够降低使用单一合成肥料释放  $\text{NH}_3$  的风险。因此,我们认为将两种  $^{15}\text{N}$  方法结合使用,在研究生态学过程时更具说服力。

## 4 展望

无可否认,已有的室内和室外实验研究为我们更好地了解植物-土壤的氮循环过程提供了很多有力证据,氮稳定同位素技术在土壤氮、植物氮素和大气氮中的应用研究积累了很多基础资料,尤其是近些年稳定同位素技术在我国生态学、环境科学和农学的科学研究中得到普及应用,其研究深度和广度将随着稳定同位素分析仪器品种的增加、自动化程度的提高和方法的不断完善进一步扩展。今后将会有更多生态学和其它领域的科研工作者投入到稳定同位素技术的研究中,但目前国内能进行氮同位素测试工作的单位还较少,  $^{15}\text{N}$  的测试费用也相对  $^2\text{H}$  和  $^{18}\text{O}$  高,对  $^{15}\text{N}$  示踪实验的影响因素还不是很清楚,限制了  $^{15}\text{N}$  示踪技术在相关科学研究中的应用。在  $^{15}\text{N}$  测试方面,应加强在降低测试成本和提高测试精度上多下功夫。

学科间的研究方法和研究问题的重新组合,往往能产生很多新的发现以推动学科的发展。在稳定同位素技术应用的研究内容上,要在完善分析手段和测试方法的同时,将稳定氮同位素技术与碳、氧、硫等其它同位素技术联合使用;进一步阐明复合生态系统生态学过程机理、拓展到更广泛的时空尺度;建立和完善相关定量源解析模型应用到氮污染、氮沉降研究中;全球变暖和氮沉降的交互作用对生态系统的影响等问题的研究上。

目前,已有的研究只能反映区域或局部地区氮循环的动态变化,而且对同位素本身存在的分馏效应、植物种间同位素差异和影响同位素效应等过

程和机理了解得还不是很清楚。今后需要在更大的时空尺度,考察稳定同位素的分馏效应的变化情况;定量研究多种环境因子对植物体内和种间的影响情况。由此丰富稳定同位素本身的理论数据库,为以后的理论和应用研究奠定基础。

## 参考文献

- [1] Lin G H, Ke Y, Li B. Stable isotope technology and global change research [C]// Li B. International Symposium on Modern Ecology. Beijing: Science Press, 1995: 161–188.  
林光辉, 柯渊, 李博. 稳定同位素技术与全球变化研究 [C]// 李博. 现代生态学讲座. 北京: 科学出版社, 1995: 161–188.
- [2] Chen S P, Bai Y F, Han X G. Applications of stable carbon isotope techniques to ecological research [J]. Acta Phytoecol Sin, 2002, 26(5): 549–560.  
陈世苹, 白永飞, 韩兴国. 稳定性碳同位素技术在生态学中的应用 [J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 549–560.
- [3] Fry B. Stable Isotope Ecology [M]. New York: Springer Verlag, 2006: 40–66, 183–190.
- [4] Wang Y H, Jiang H, Yu S Q, et al. A review of applications of sulfur stable isotope technology in ecological studies [J]. Chin J Plant Ecol, 2010, 34(2): 179–185.  
王艳红, 江洪, 余树全, 等. 硫稳定同位素技术在生态学中的应用 [J]. 植物生态学报, 2010, 34(2): 179–185.
- [5] Wang J Z, Lin G H, Huang J H, et al. Applications of stable isotope in animals-plants correlation research of terrestrial ecosystems [J]. Chin Sci Bull, 2004, 49(21): 2141–2149.  
王建柱, 林光辉, 黄建辉, 等. 稳定同位素在陆地生态系统动-植物相互关系研究中的应用 [J]. 科学通报, 2004, 49(21): 2141–2149.
- [6] Bai Z P, Zhang L W, Zhu T, et al. The status of applying stable isotope in the studies of environmental science [J]. J Isotopes, 2007, 20(1): 57–64.  
白志鹏, 张利文, 朱坦, 等. 稳定同位素在环境科学研究中的应用进展 [J]. 同位素, 2007, 20(1): 57–64.
- [7] Cai D L, Zhang S F, Zhang J. Applications of stable carbon and nitrogen isotope methods in ecological studies [J]. J Qingdao Ocean Univ (Nat Sci), 2002, 32(2): 287–295.  
蔡德陵, 张淑芳, 张经. 稳定碳、氮同位素在生态系统研究中的应用 [J]. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 2002, 32(2): 287–295.
- [8] Rittenberg D, Keston A S, Rosebury F, et al. Studies in protein metabolism: II. The determination of nitrogen isotopes in organic compounds [J]. J Biol Chem, 1939, 127(1): 291–299.
- [9] Burris R H, Miller C E. Application of N<sup>15</sup> to the study of biological nitrogen fixation [J]. Science, 1941, 93(2405): 114–115.
- [10] Dugdale R, Dugdale V, Neess J, et al. Nitrogen fixation in lakes [J]. Science, 1959, 130(3379): 859–860.
- [11] Shearer G, Kohl D H. N<sub>2</sub>-fixation in field settings: Estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance [J]. Austr J Plant Physiol, 1986, 13(6): 699–756.
- [12] Gu B, Alexander V. Dissolved nitrogen uptake by a cyanobacterial bloom (*Anabaena flos-aquae*) in a subarctic lake [J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(2): 422–430.
- [13] Gu B H, Wu J G. Stable isotope labeling technique in the study of ecosystem ecology [C]// International Symposium on Modern Ecology. Beijing: Higher Education Press, 2007: 202–227.  
古滨河, 邬建国. 生态系统生态学研究中的稳定同位素标记技术 [C]// 现代生态学讲座. 北京: 高等教育出版社, 2007: 202–227.
- [14] McAuliffe C, Chamblee D, Uribe-Arango H, et al. Influence of inorganic nitrogen on nitrogen fixation by legumes as revealed by N<sup>15</sup> [J]. Agron J, 1958, 50(6): 334–337.
- [15] Mariotti A. Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural <sup>15</sup>N abundance measurements [J]. Nature, 1983, 303(5919): 685–687.
- [16] Su B, Han X G, Huang J H. Applications of <sup>15</sup>N natural abundance method to the research on nitrogen cycling in natural ecosystems [J]. Acta Ecol Sin, 1999, 19(3): 408–416.  
苏波, 韩兴国, 黄建辉. <sup>15</sup>N自然丰度法在生态系统氮素循环研究中的应用 [J]. 生态学报, 1999, 19(3): 408–416.
- [17] He D W, Sun H, Huang X J. A review on quantifying biological nitrogen fixation based on N-15 natural abundance method [J]. Agri Res Arid Areas, 2004, 22(1): 132–137.  
何道文, 孙辉, 黄雪菊. 利用 N-15 自然丰度法研究固氮植物生物固氮量 [J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(1): 132–137.
- [18] Lan T, Han Y, Tang H Y. Gross nitrogen transformation rates of a paddy soil in different layers by using <sup>15</sup>N isotopic dilution method [J]. Soils, 2011, 43(2): 153–160.  
兰婷, 韩勇, 唐昊冶. 采用<sup>15</sup>N同位素稀释法研究不同层次土壤氮素总转化速率 [J]. 土壤, 2011, 43(2): 153–160.
- [19] Yao F Y, Zhu B, Du E Z. Use of <sup>15</sup>N natural abundance in nitrogen cycling of terrestrial ecosystems [J]. Chin J Plant Ecol, 2012, 36(4): 346–352.  
姚凡云, 朱彪, 杜恩在. <sup>15</sup>N自然丰度法在陆地生态系统氮循环研究中的应用 [J]. 植物生态学报, 2012, 36(4): 346–352.
- [20] Han S Q, Yan S H, Chen K N, et al. <sup>15</sup>N isotope fractionation in an aquatic food chain: *Bellamyia aeruginosa* (Reeve) as an algal control agent [J]. J Environ Sci, 2010, 22(2): 242–247.
- [21] Tang Y L, Zhang G X. Identifying sources of particles organic matter in surface water based on stable isotope tracing on basin scale [J]. Chin Environ Sci, 2010, 30(9): 1257–1267.  
唐艳凌, 章光新. 基于稳定同位素示踪的流域颗粒有机物质来源辨析 [J]. 中国环境科学, 2010, 30(9): 1257–1267.
- [22] Chen X F, Yang L Y, Xiao L, et al. Nitrogen removal by

- denitrification during cyanobacterial bloom in Lake Taihu [J]. *J Freshwater Ecol*, 2012, 27(2): 243–258.
- [23] Huang J L, Zou Y B, Peng S B, et al. Nitrogen uptake, distribution by rice and its losses from plant tissues during [J]. *Plant Nutr Fert Sci*, 2004, 10(6): 579–583.  
黄见良, 邹应斌, 彭少兵, 等. 水稻对氮素的吸收、分配及其在组织中的挥发损失 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(6): 579–583.
- [24] Yang S G, Chen T, Wu X W, et al. Advances in utilization rate and distribution of nitrogen in crops plants with  $^{15}\text{N}$  tracing technique [J]. *Guangxi Agri Sci*, 2007, 38(3): 291–295.  
杨声激, 陈涛, 吴晓伟, 等. 应用  $^{15}\text{N}$  示踪技术测定作物氮素的利用率及分配研究进展 [J]. *广西农业科学*, 2007, 38(3): 291–295.
- [25] Wang Q L, Wu L S, Zhao Z Q. Advance and application of  $^{15}\text{N}$  tracer method on research of plant nitrogen nutrition [J]. *J Huazhong Agri Univ*, 2007, 26(1): 127–132.  
王巧兰, 吴礼树, 赵竹青.  $^{15}\text{N}$  示踪技术在植物N素营养研究中的应用及进展 [J]. *华中农业大学学报*, 2007, 26(1): 127–132.
- [26] Zhang J B, Zhu T B, Cai Z C, et al. Nitrogen cycling in forest soils across climate gradients in eastern China [J]. *Plant Soil*, 2011, 342(1/2): 419–432.
- [27] Kuang Y W, Sun F F, Wen D Z, et al. Nitrogen deposition influences nitrogen isotope composition in soil and needles of *Pinus massoniana* forests along an urban-rural gradient in the Pearl River Delta of south China [J]. *J Soils Sediment*, 2011, 11(4): 589–595.
- [28] Kuang Y W, Wen D Z, Li J, et al. Homogeneity of  $\delta^{15}\text{N}$  in needles of masson pine (*Pinus massoniana* L.) was altered by air pollution [J]. *Environ Pollut*, 2010, 158(5): 1963–1967.
- [29] Robinson D.  $\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen cycle [J]. *Trends Ecol Evol*, 2001, 16(3): 153–162.
- [30] Yi X F, Zhang X A. Application of stable isotopic approach in ecology: A review [J]. *Chin J Ecol*, 2005, 24(3): 306–314.  
易现峰, 张晓爱. 稳定性同位素技术在生态学上的应用 [J]. *生态学杂志*, 2005, 24(3): 306–314.
- [31] Jochen H. Translate by Li J, Li Z S, Wei X F, et al. *Stable Isotope Geochemistry* [M]. 6<sup>th</sup> ed. Beijing: Geological Publishing House, 2012: 5–30.  
Jochen H. 李剑, 李志生, 卫孝锋, 等. 译. *稳定同位素地球化学* [M]. 第6版. 北京: 地质出版社, 2012: 5–30.
- [32] Gao Z F, Fu C, Wang H Y, et al. Improvement of calculation methods in  $^{15}\text{N}$  tracer research [J]. *J Hebei Agri Univ*, 2011, 34(1): 105–110.  
高占锋, 付才, 王红云, 等.  $^{15}\text{N}$  同位素示踪计算方法的改进 [J]. *河北农业大学学报*, 2011, 34(1): 105–110.
- [33] Lin G H. Stable isotope ecology: A new branch of ecology resulted from technology advances [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2010, 34(2): 119–122.  
林光辉. 稳定同位素生态学: 先进技术推动的生态学新分支 [J]. *植物生态学报*, 2010, 34(2): 119–122.
- [34] Huang J G. *Plant Nutrition* [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2004: 82–106.  
黄建国. *植物营养学* [M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 82–106.
- [35] Chen C X, Xi L Q, Yao T, et al. A review of biological nitrogen fixation method [J]. *Grassl Turf*, 2005(2): 24–26.  
陈朝勋, 席琳乔, 姚拓, 等. 生物固氮测定方法研究进展 [J]. *草原与草坪*, 2005(2): 24–26.
- [36] Matsushima M, Lim S S, Kwak J H, et al. Interactive effects of synthetic nitrogen fertilizer and composted manure on ammonia volatilization from soils [J]. *Plant Soil*, 2009, 325(1/2): 187–196.
- [37] Nasr H, Ghorbel M H, Dommergues Y R. Symbiotic interactions of *Acacia cyanophylla* with soil indigenous rhizobia in a semiarid mediterranean site: implications of intraplant variation in  $^{15}\text{N}$  natural abundance on  $\text{N}_2$  fixation measurements [J]. *Amer J Plant Physiol*, 2006, 1(1): 54–64.
- [38] McCauley A M, Jones C A, Miller P R, et al. Nitrogen fixation by pea and lentil green manures in a semi-arid agroecoregion: effect of planting and termination timing [J]. *Nutr Cycl Agroecosys*, 2012, 92(3): 305–314.
- [39] Vinther F P, Jensen E S. Estimating legume  $\text{N}_2$  fixation in grass-clover mixtures of a grazed organic cropping system using two  $^{15}\text{N}$  methods [J]. *Agri Ecosyst Environ*, 2000, 78(2): 139–147.
- [40] Hounngandan P, Yemadje R G H, Oikeh S, et al. Improved estimation of biological nitrogen fixation of soybean cultivars (*Glycine max* L. Merrill) using  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique [J]. *Biol Fert Soils*, 2008, 45(2): 175–183.
- [41] Hosseini B S, Sun F F, Xu Z H, et al. Appraisal of  $^{15}\text{N}$  enrichment and  $^{15}\text{N}$  natural abundance methods for estimating  $\text{N}_2$  fixation by understorey *Acacia leiocalyx* and *A. disparimma* in a native forest of subtropical Australia [J]. *J Soil Sediment*, 2012, 12(5): 653–662.
- [42] Bergström A K, Jansson M. Atmospheric nitrogen deposition has caused nitrogen enrichment and eutrophication of lakes in the northern hemisphere [J]. *Global Change Biol*, 2006, 12(4): 635–643.
- [43] Li Q Q, Tang L. A mini-review on atmospheric nitrogen deposition [J]. *J Yunnan Agri Univ*, 2010, 25(6): 889–894,902.  
李欠欠, 汤利. 大气氮沉降的研究进展 [J]. *云南农业大学学报*, 2010, 25(6): 889–894,902.
- [44] Wang Y L, Xiao H Y, Xiao H W. *Platanus orientalis* foliar  $\text{N}\%$  and  $\delta^{15}\text{N}$  responses to nitrogen of atmospheric wet deposition in urban area [J]. *Chin J Environ Sci*, 2012, 33(4): 1080–1085.  
王燕丽, 肖化云, 肖红伟. 法国梧桐叶片氮含量及氮同位素对城市大气湿沉降氮的响应研究 [J]. *环境科学*, 2012, 33(4):



- 1080–1085.
- [45] Xie Z Y, Xiao H Y, Luo L, et al. Nitrogen concentrations and stable isotope in mosses to investigate atmospheric nitrogen deposition in rural areas [J]. *China Environ Sci*, 2011, 31(7): 1128–1133.  
谢志英, 肖化云, 罗笠, 等. 基于苔藓氮含量及  $\delta^{15}\text{N}$  分析探讨农村大气氮沉降状况 [J]. *中国环境科学*, 2011, 31(7): 1128–1133.
- [46] Zhang X Z, Wen X F, Chen Y Z. A study of the efficiency of blending fertilizer based on <sup>15</sup>N and <sup>32</sup>P [J]. *J Nucl Agri Sci*, 1989, 10(1): 24–28.  
张希忠, 温贤芳, 陈一珠. 利用同位素 <sup>15</sup>N和 <sup>32</sup>P研究掺合肥料的肥效 [J]. *核农学通报*, 1989, 10(1): 24–28.
- [47] Wen X F, Zhang X Z, Chen Y Z. Study on absorption and utilization of nitrogen and phosphorus from blended fertilizers by using <sup>15</sup>N and <sup>32</sup>P in rice [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 1988, 9(4): 42–47.  
温贤芳, 张希忠, 陈一珠. 应用 <sup>15</sup>N和 <sup>32</sup>P研究水稻对掺合肥料氮磷的吸收利用 [J]. *质谱学报*, 1988, 9(4): 42–47.
- [48] Huang Z Q, Wang S L, Liao L P, et al. Effects of plant foliar litter diversity on the growth of Chinese fir seedling and the absorption of (<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2002, 13(10): 1287–1290.  
黄志群, 汪思龙, 廖利平, 等. 凋落叶多样性对杉木幼苗生长及吸收 <sup>15</sup>N标记硫酸铵的影响 [J]. *应用生态学报*, 2002, 13(10): 1287–1290.
- [49] Dong W Y, Nie L S, Li J Y, et al. Effects of nitrogen forms on the absorption and distribution of nitrogen in *Populus tomentosa* seedlings using the technique of <sup>15</sup>N tracing [J]. *J Beijing For Univ*, 2009, 31(4): 97–101.  
董雯怡, 聂立水, 李吉跃, 等. 应用 <sup>15</sup>N示踪研究毛白杨苗木对不同形态氮素的吸收及分配 [J]. *北京林业大学学报*, 2009, 31(4): 97–101.
- [50] Ebid A, Ueno H, Ghoneim A, et al. Recovery of <sup>15</sup>N derived from rice residues and inorganic fertilizers incorporated in soil cultivated with Japanese and Egyptian rice cultivars [J]. *J Appl Sci*, 2008, 8(18): 3261–3266.
- [51] Trépanier M, Lamy M P, Dansereau B. Phalaenopsis can absorb urea directly through their roots [J]. *Plant Soil*, 2009, 319(1/2): 95–100.
- [52] Wang X T, Suo Y Y, Feng Y, et al. Recovery of <sup>15</sup>N-labeled urea and soil nitrogen dynamics as affected by irrigation management and nitrogen application rate in a double rice cropping system [J]. *Plant Soil*, 2011, 343(1/2): 195–208.
- [53] Jia S L, Wang X B, Yang Y M, et al. Fate of labeled urea-<sup>15</sup>N as basal and topdressing applications in an irrigated wheat-maize rotation system in North China Plain: I. winter wheat [J]. *Nutr Cycl Agroecosys*, 2011, 90(3): 331–346.
- [54] Yang Y M, Wang X B, Dai K, et al. Fate of labeled urea-<sup>15</sup>N as basal and topdressing applications in an irrigated wheat-maize rotation system in North China plain: II. Summer maize [J]. *Nutr Cycl Agroecosys*, 2011, 90(3): 379–389.
- [55] Yun S, Ro H. Natural <sup>15</sup>N abundance of plant and soil inorganic-N as evidence for over-fertilization with compost [J]. *Soil Biol Biochem*, 2009, 41(7): 1541–1547.
- [56] Zhao D C, Jiang Y M, Peng F T, et al. Storage and remobilization of nitrogen by Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. var. *inermis* Rehd) seedling as affected by timing of <sup>15</sup>N supply [J]. *Sci Agri Sin*, 2006, 39(8): 1626–1631.  
赵登超, 姜远茂, 彭福田, 等. 不同施肥时期对冬枣 <sup>15</sup>N贮藏及翌年分配利用的影响 [J]. *中国农业科学*, 2006, 39(8): 1626–1631.
- [57] Zhou P S, Pei B, Shi Y M, et al. Study on the accumulation & distribution of nutrition on <sup>15</sup>N-labeled tulips [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Agri Sci)*, 2003, 21(4): 309–312,330.  
周丕生, 裴蓓, 史益敏, 等. 应用核素 <sup>15</sup>N研究郁金香氮素的累积与分配 [J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2003, 21(4): 309–312,330.
- [58] Shen Q R, Xu G H. Foliar absorption and translocation of labelled urea-<sup>15</sup>N corn and wheat [J]. *Acta Pedol Sin*, 2001, 38(1): 65–74.  
沈其荣, 徐国华. 小麦和玉米叶面标记尿素态 <sup>15</sup>N的吸收和运输 [J]. *土壤学报*, 2001, 38(1): 65–74.
- [59] Meng W W, Wang D, Yu Z W, et al. Effects of irrigation on nitrogen uptake and distribution of wheat using the <sup>15</sup>N tracer technique [J]. *Plant Nutr Fert Sci*, 2011, 17(4): 831–837.  
孟维伟, 王东, 于振文, 等. <sup>15</sup>N示踪法研究不同灌水处理对小麦氮素吸收分配及利用效率的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(4): 831–837.
- [60] Hilscher A, Knicker H. Carbon and nitrogen degradation on molecular scale of grass-derived pyrogenic organic material during 28 months of incubation in soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 2011, 43(2): 261–270.
- [61] He C E, Liu X J, Zhang F S. Determining total N deposition using <sup>15</sup>N dilution technique in the North China Plain [J]. *J Res Ecol*, 2010, 1(1): 75–82.
- [62] Amundson R, Austin A T, Schuur E A G, et al. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen [J]. *Glob Biogeochem Cycl*, 2003, 17(1): 1031–1041.
- [63] Choi W J, Han G H, Lee S M, et al. Impact of land-use types on nitrate concentration and  $\delta^{15}\text{N}$  in unconfined groundwater in rural areas of Korea [J]. *Agric Ecosyst Environ*, 2007, 120(2/3/4): 259–268.
- [64] Wu T X, Huang J H. Effects of grazing on the  $\delta^{15}\text{N}$  values of foliage and soil in a typical steppe ecosystem in Inner Mongolia, China [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2010, 34(2): 160–169.

- 吴田乡, 黄建辉. 放牧对内蒙古典型草原生态系统植物及土壤  $\delta^{15}\text{N}$  的影响 [J]. 植物生态学报, 2010, 34(2): 160–169.
- [65] Garten J C T, Brice D J, Todd J D E. Short-term recovery of ammonium- $^{15}\text{N}$  nitrogen applied to a temperate forest inceptisol and ultisol in east Tennessee, USA [J]. Commun Soil Sci Plan, 2007, 38(19/20): 2693–2704.
- [66] Chen Y T, Borken W, Stange C F, et al. Effects of decreasing water potential on gross ammonification and nitrification in an acid coniferous forest soil [J]. Soil Biol Biochem, 2011, 43(2): 333–338.
- [67] Fillery I R P, de Datta S K. Ammonia volatilization from nitrogen sources applied to rice fields: I. Methodology, ammonia fluxes, and nitrogen-15 loss [J]. Soil Sci Soc Amer J, 1986, 50(1): 80–86.
- [68] Li S X, Li Z R, Tian X H, et al. Nitrogen loss from above-ground plants by volatilization [J]. Plant Nutr Fert Sci, 1995, 1(2): 18–25.  
李生秀, 李宗让, 田霄鸿, 等. 植物地上部分氮素的挥发损失 [J]. 植物营养与肥料学报, 1995, 1(2): 18–25.
- [69] Bronson K F, Hussain F, Pasquin E, et al. Use of N-labeled soil in measuring nitrogen fertilizer recovery efficiency in transplanted rice [J]. Amer J Soil Sci Soc, 2000, 64(1): 235–239.
- [70] Schnier H, Dingkuhn M, Datta S, et al. Nitrogen-15 balance in transplanted and direct-seeded flooded rice as affected by different methods of urea application [J]. Biol Fert Soils, 1990, 10(2): 89–96.
- [71] Peng P Q, Qiu S J, Hou H B, et al. Nitrogen transformation and its residue in pot experiments amended with organic and inorganic  $^{15}\text{N}$  cross labeled fertilizers [J]. Acta Ecol Sin, 2011, 31(3): 858–865.  
彭佩钦, 仇少君, 侯红波, 等.  $^{15}\text{N}$ 交叉标记有机与无机肥料氮的转化与残留 [J]. 生态学报, 2011, 31(3): 858–865.
- [72] Fang X J, Jiang Y M, Peng F T, et al. Effects of different sand/soil ratio on growth and  $^{15}\text{N}$  absorption, utilization and loss of potted *Malus hupehensis* [J]. J Soil Water Conserv, 2011, 25(4): 131–134.  
房祥吉, 姜远茂, 彭福田, 等. 不同沙土配比对盆栽平邑甜茶的生长及  $^{15}\text{N}$  吸收、利用和损失的影响 [J]. 水土保持学报, 2011, 25(4): 131–134.
- [73] Yang L X, Yang G S, Yuan S F, et al. Analysis of the factors affecting soil nitrogen loss through runoff [J]. Chin J Eco-Agri, 2007, 15(6): 190–194.  
杨丽霞, 杨桂山, 苑韶峰, 等. 影响土壤氮素径流流失的因素探析 [J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(6): 190–194.
- [74] Ju X T, Gao Q, Christie P, et al. Interception of residual nitrate from a calcareous alluvial soil profile on the North China Plain by deep-rooted crops: A  $^{15}\text{N}$  tracer study [J]. Environ Pollut, 2007, 146(2): 534–542.
- [75] Ju X T, Liu X J, Pan J R, et al. Fate of  $^{15}\text{N}$ -labeled urea under a winter wheat-summer maize rotation on the North China Plain [J]. Pedosphere, 2007, 17(1): 52–61.
- [76] Chu G X, Shen Q R, Li Y L, et al. Researches on Bi-directional N transfer between the intercropping system of groundnut with rice cultivated in aerobic soil using  $^{15}\text{N}$  foliar labelling method [J]. Acta Ecol Sin, 2004, 24(2): 278–284.  
褚贵新, 沈其荣, 李奕林, 等. 用  $^{15}\text{N}$  叶片标记法研究旱作水稻与花生间作系统中氮素的双向转移 [J]. 生态学报, 2004, 24(2): 278–284.
- [77] Hoekstra N J, Lalor S T J, Richards K, et al. The fate of slurry-N fractions in herbage and soil during two growing seasons following application [J]. Plant Soil, 2011, 342(1/2): 83–96.
- [78] Chalk P M, Magalhães A M T, Inácio C T. Towards an understanding of the dynamics of compost N in the soil-plant-atmosphere system using  $^{15}\text{N}$  tracer [J]. Plant Soil, 2013, 362(1/2): 373–388.