

水稻根际硝化作用的生态与生物反硝化*

殷永娟 李玉祥 彭春华

(南京农业大学 南京 210095)

江 曙

(南京中医学院中医药研究所)

摘 要

本文研究了不同类型稻田及不同 NH_4^+ 浓度等生态因子对水稻根际硝化、反硝化作用的影响, 研究结果表明, 乌栅土的硝化细菌、硝化强度以及反硝化细菌、反硝化强度均大于黄泥土; 过高浓度(40mgN/100g 干土)的 NH_4^+-N 会抑制硝化细菌的生长繁殖, 从而降低了硝化活性, 造成 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 的积累, 这对微生物及水稻的生长发育均不利, 甚至还会造成农田、水域等环境污染。

关键词 水稻根际; 硝化作用; 生物反硝化

氮是水稻需求量最大的营养元素, 但是土壤中有效氮的含量常不能满足水稻生长发育的需求, 因此, 缺氮常成为农业生产的限制因素。现在, 尽管氮肥施用量逐年增加, 但由硝化一反硝化作用引起的氮素损失量也越来越大, 这不仅给农业生产带来了巨大的浪费, 而且还污染了环境: 过多的 NO_3^- 进入水体和食物中, 对人、畜造成危害, 导致水体富营养化, 从而危害鱼类和其他生物。而反硝化作用产物—— NO_2 , 能破坏大气中的臭氧层, 诱发皮肤癌。

基于以上原因, 适当控制土壤中硝化一反硝化作用的强度, 对提高氮肥利用率, 减少环境污染, 具有很重要的意义。本文研究了不同类型水稻土根际微域及不同 NH_4^+ 浓度对水稻根际硝化一反硝化作用的影响, 为不同类型稻田的合理施肥提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 供试土壤 土样 I 系采自常熟市辛庄乡生态试验站的竖头乌栅土; 土样 II 为采自吴县农科站的黄泥土。供试土壤的理化性状列于表 1。

表 1 供试土壤的性状及硝化反硝化细菌含量

土 壤 名 称	全氮 (g/kg)	速效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	有机质 (g/kg)	pH	水分 (g/kg)	亚硝酸细菌 (个/g 干土)	硝酸细菌 (个/g 干土)	反硝化细菌 (个/g 干土)
竖头乌栅土	2.37	2.04	80.5	32.7	7.58	26	7.0×10^3	1.2×10^3	3.3×10^5
黄 泥 土	2.14	8.45	62.4	32.7	5.68	33	2.2×10^3	0.6×10^3	1.2×10^5

1.1.2 试剂 格利斯试剂 I、II, 二苯胺试剂, 锌-硫酸亚铁还原剂, 酚二磺酸显色剂等。

* 自然科学基金资助项目(项目编号39170028); 本文得到李良谟、李振高研究员的帮助, 特此致谢。

1.1.3 仪器 半微量定氮蒸馏装置, 721 型分光光度计等。

1.1.4 培养基 亚硝酸细菌培养基, 硝酸细菌培养基, 硝酸柠檬酸反硝化培养基等。

1.2 方 法

1.2.1 土样处理及装置 供试土样经风干、磨细、过 5mm 筛后, 装袋备用。

每个土样称出 6 份土, 每份为 3000g 及 2.5g(NH₄)₂SO₄ 和 1.2gK₂HPO₄, 用逐步扩大法将肥料与土壤充分拌匀, 取出 500g 装入尼龙袋内(袋的孔径为 250—300 目)。将每个盆钵的底层装入 3—4cm 厚已拌均匀的土样, 然后将装有土样的尼龙袋放入盆钵中, 再将剩余的已拌均匀的土样全部装入盆钵内。灌水, 使土壤处于淹水状态。

1.2.2 播种 将催芽后稻种(武进 3 号)直接播入盆钵, 每盆播 8 粒, 均匀分布在尼龙袋所占具的范围内, 以保证日后稻根能伸入尼龙袋内。

1.2.3 采样时间和方法 每次两种土壤各取两个盆钵, 仔细将根际土、根外土(盆钵内土)分开, 制成根际、根外土壤样品, 其采样时间为 1994 年 4 月 22 日, 5 月 2 日, 5 月 12 日; 供分析 NH₄⁺ 浓度的样本采样时间为 1993 年 4 月 20 日, 5 月 1 日, 5 月 10 日, 5 月 20 日。

1.2.4 硝化率测定方法 采用土培法^[1], 将混匀后的根际、根外土壤样品分别分装于 150ml 三角瓶中(但分装不同 NH₄⁺ 浓度土样时, 在分装前将根际、根外土壤样品各分为两部分, 其中一部分按含 20mgN/100g 干土的量加入硫酸溶液, 另一部分按含 40mgN/100g 干土的量加入硫酸溶液), 每只三角瓶中称入 30g 湿土, 瓶口盖上塑料薄膜, 置 28℃ 恒温箱中培养 0, 4, 8, 12, 16 天, 按时每处理取出 3 瓶, 用半微量蒸馏法及锌—硫酸亚铁在碱性介质中还原硝态氮的方法^[1,2], 分析土样中 NH₄⁺-N 及(NO₂⁻+NO₃⁻)-N 的含量, 再根据公式计算硝化作用率。

1.2.5 反硝化强度的测定 采用酚二磺酸比色法。

1.2.6 亚硝酸、硝酸和反硝化细菌的测定 用 MPN 法, 本次试验采用 5 个稀释度(10⁻³—10⁻⁷), 4 个重复, 在 28℃ 培箱中培养 16 天后, 用格利斯试剂 I、II 及二苯胺试剂来检测 NO₂⁻、NO₃⁻ 的产生, 以此作为确定亚硝酸、硝酸细菌以及反硝化细菌存在的指标。

2 结果与讨论

2.1 影响水稻根际硝化作用的因子

2.1.1 NH₄⁺ 浓度的影响 稻田在施肥后, 虽然硝化活性是随着水稻生育期的延长而增强, 但在不同的施肥水平上, NH₄⁺-N 的减少量, NO₃⁻-N 的增加量及硝化活性的强弱都各不相同。表 2 是采用 Duncan's 新复极差法进行的统计结果。结果表明, 不论是根际还是根

表 2 NH₄⁺ 浓度对水稻根际根外土壤硝化率的影响 (%)

采样日期 日/月	20/4		1/5		10/5		20/5	
NH ₄ ⁺ 浓度	根际	根外	根际	根外	根际	根外	根际	根外
20mgN/100g 干土	22.9A*	17.7A	22.9A	20.7A	24.2A	23.3A	22.8A	19.6A
40mgN/100g 干土	9.92B	8.29B	14.3B	12.0B	11.7B	11.7B	15.1B	11.1B

*字母相同者为差异不显著(p=0.01)

外土壤，不同浓度的硫铵加入后，两者的硝化活性存在极显著的差异。这是由于高浓度的 NH_4^+-N 加入后，植株不能很快吸收，硝化细菌也不能完全转化，因而导致 NH_4^+ 的积累，游离出来的 NH_3 抑制了硝化作用，同时也导致了 NO_2^- 的积累，而 NO_2^- 是可移动的，对植物和微生物具有高毒，因此它的存在抑制了硝化细菌的生长繁殖，降低了硝化细菌的硝化活性；相反，低浓度的 NH_4^+-N 很快被微生物所消耗和转化，从而促进了硝化细菌的生长繁殖，也就提高了硝化作用率。

2.1.2 不同类型水稻土的影响

(1)不同类型水稻土根际根外硝化活性的比较: 在培养初期，乌栅土根际的硝化活性比根外低，但很快就超过根外，而黄泥土变化稍慢。这是由于采回的土样中，根外的水分大于根际的，因而加入的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液经受了稀释过程，使根外的硫铵浓度低于根际，造成根际游离 NH_3 的浓度大于根外，有资料证明，游离的 NH_3 对硝化作用有抑制，在本实验中也得到了证实。其次是水稻生长初期，根系的泌氧功能及分泌物均不能满足硝化细菌的生长，故而根际的硝化活性低弱，从图 1 和图 2 可以看出，随着培养时间的延长，根际根外的硝化作用都呈递增趋势，但乌栅土至第 8 天后硝化作用开始下降，使曲线呈 S 型。而黄泥土的硝化作用在测定时期内一直呈增长趋势。

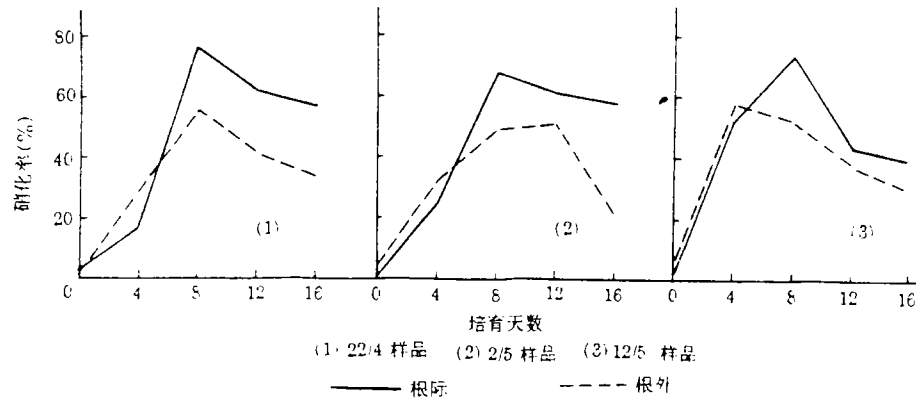


图 1 乌栅土根际根外硝化活性的比较

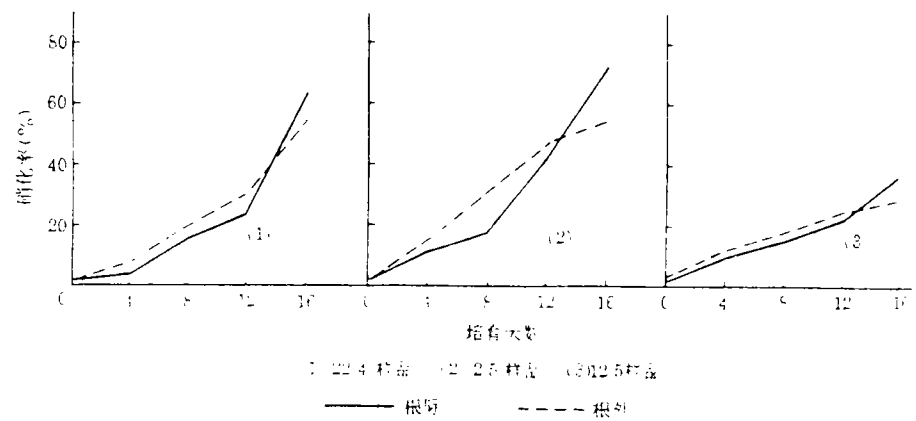


图 2 黄泥土根际根外硝化活性的比较

(2)水稻不同生育期硝化作用的比较:从图 3 可以看出,随着水稻不断的生长,两种水稻土的硝化作用均呈增长趋势,由于不断生长的根系数量逐渐增多,根系分泌的有机物质增加,泌氧功能增强,为好气性硝化细菌的生长提供了丰富的营养和能源条件,促使硝化细菌迅速增长,硝化作用则大大增强。统计分析表明,两种水稻土根际硝化细菌数与硝化作用率呈显著正相关($r_{\text{乌}} = 0.9667$, $r_{\text{黄}} = 0.9655$)。

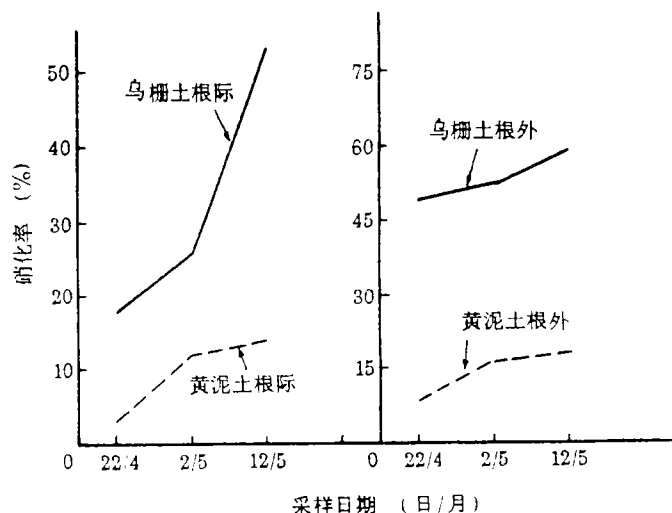


图 3 两种水稻土的根际根外硝化率

图 3 的结果还表明,乌栅土的硝化作用率明显大于黄泥土。这是因为低 pH 值是硝化细菌生长的限制因子之一。一般亚硝酸细菌和硝酸细菌的合适 pH 为 7.9-9.0,当 pH 低于 5.6 时硝化率很低,在 pH 5.6-8.0 范围内,硝化率随土壤 pH 上升而增大^①。由表 1 可知,乌栅土的 pH 为 7.58,黄泥土的 pH 为 5.68,所以在水稻各生育期乌栅土根际根外的硝化率均明显高于黄泥土。

2.2 水稻根际土壤的反硝化作用

2.2.1 水稻根际根外反硝化作用强度 由表 3 可以看出,水稻根际的反硝化率大多弱于根外。这是因为根际、根外反硝化作用的优势菌种类不同,根际的反硝化优势菌种是脱 N 副球菌和脱 N 假单胞菌,其反硝化率不及根外的反硝化优势菌种芽孢菌强,根外的反硝化细菌数量虽小于根际,但其反硝化率却大于根际,对这一结果,我们通过实验进行了验证。即将根际、根外的优势反硝化菌以相同接种量分别接种于等量的反硝化培养液中,置 28℃ 下培养 7 天,用格利试剂检测,以颜色深浅判断如下(表 4)。其中,2 号、5 号菌为根外土中分离出的反硝化优势菌——芽孢杆菌属 S.P. 故最终在反硝化作用强度上表现为根外大于根际。

2.2.2 不同类型水稻土对根际反硝化作用强度的影响 不同类型水稻土间的反硝化作用差异很大(图 4),从图 4 可见乌栅土的根际反硝化作用强度大于黄泥土。这一结果的出现也与黄泥土的 pH 呈酸性有关。

^①李良谟等著,农田生态系统中硝化反硝化作用与氮素损失的研究,资料,1989。

表 3 水稻根际根外反硝化作用强度 (%)

采样时间	施 肥 后 (天)					
	18	25	30	35	40	45
根 际	19.7	23.4	34.8	46.5	52.8	60.5
根 外	17.8	29.2	59.9	71.2	90.4	91.3

表 4 不同优势反硝化菌种反硝化作用影响比较

菌 号	1	2	3	4	5
颜色深浅	++	++++	+++	+	++++

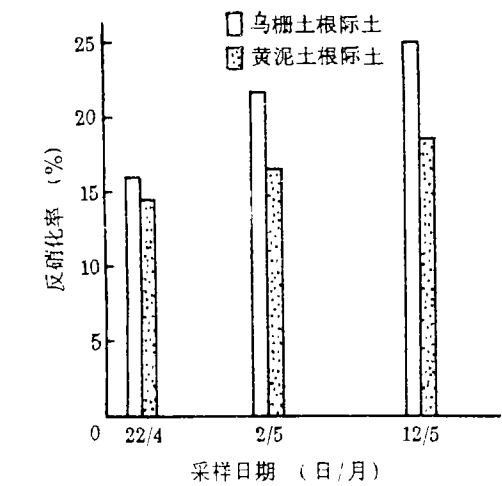


图 4 两种水稻土根际反硝化活性比较

3 小 结

水稻根际的硝化与反硝化作用的强弱与其生态环境密切相关。上述结果表明，过高浓度(40mgN / 100g 干土)的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 会抑制硝化细菌的生长繁殖，从而降低了硝化活性，造成 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 的积累，这对微生物、水稻的生长发育都是不利的，甚至还会造成农田、水域的污染；不同类型水稻土壤对根际的硝化作用影响也较大，首先，不管哪种土壤，随着水稻生育期的延长均表现出根际的硝化作用大于根外的硝化作用，其次是乌栅土的硝化细菌及硝化强度均大于黄泥土。在对水稻根际反硝化作用的

研究中发现根际、根外的反硝化细菌也随着水稻生育期延长其菌量呈增长趋势，且根际 > 根外，但由于反硝化作用的优势菌种类不同，根际的反硝化优势菌为脱 N 副球菌和脱 N 假单胞菌，根外的反硝化优势菌为芽孢杆菌，因后者的反硝化作用强度大，故反硝化作用强度表现为根外 > 根际。不同类型水稻土对反硝化作用强度的影响与其对硝化作用强度的影响相一致，仍然表现为乌栅土 > 黄泥土。

参 考 文 献

[1] 南京土壤研究所微生物室编著，土壤微生物研究法，科学出版社，1989，49，225-228，231-133。
[2] 南京土壤研究所编著，土壤理化分析，上海科技出版社，1981，72-78。
[3] 陈文新主编，土壤与环境微生物学，北京农业大学出版社，1989，133-151。
[4] 〔美〕M·亚历山大著，土壤微生物学导论，科学出版社，1983，156-158，174-175。
[5] 王家玲主编，环境微生物学，高等教育出版社，1985，81，171-173。