

不同氮肥对水稻根圈微生物生物量及硝化反硝化细菌的影响

李振高 俞 慎 吴胜春 王俊华 潘映华
(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 本文采用自行设计根箱,研究了不同形态 N 肥(硫铵、尿素)施用条件下,植稻模拟生态系统中水稻苗期根圈微生物生物量 C、N 和亚硝酸细菌及反硝化细菌的动态变化。结果表明:不同 N 肥处理的水稻根圈土壤中微生物生物量 C 和 N 均高于非根圈土壤,而尿素处理又高于硫铵。两组 N 肥处理的水稻根圈土壤中亚硝酸细菌和反硝化细菌数量也比非根圈土壤高。硫铵处理的根圈亚硝酸细菌数量在施肥后第 7 天达到高峰;反硝化细菌数量有随时间呈递增现象。而尿素处理的根圈亚硝酸细菌和反硝化细菌均在第 11 天出现数量高峰。说明水稻根圈有明显的根圈效应,亚硝酸细菌和反硝化细菌的存在,是引起土壤硝化、反硝化气态 N 损失的潜在动力;对 N 的生物有效性而言,施用尿素比硫铵具有明显滞后期,有利于土壤 N 素对植物生长的持续供应,减少 N 素损失和环境污染。

关键词 水稻根圈; N 肥; 微生物生物量; 硝化-反硝化细菌
中图分类号 S154.3

水稻是我国最主要的粮食作物之一,约占全国粮食总产量的 1/2,占世界种植面积的 1/5。在稻田生态系统中,N 素又是水稻生产的重要限制性大量元素,也是人类提高产量的巨大动力^[1]。但是,水稻对 N 肥的利用率一般在 30%~70%,平均为 30%~41%^[2],这主要是施入稻田的 N 肥大量损失的结果。近十几年来的研究结果表明,硝化-反硝化和氨挥发是稻田 N 肥损失的主要途径。据报道,稻田施用硫铵或尿素的 N 损失率一般在 10%~65%^[3],不但 N 肥利用率低,而且污染大气。

由于水稻根圈(rhizosphere)受根系的影响,与非根圈土壤相比,具有较高的微生物活性^[4],也是土壤微生物与作物进行养分和能量直接交换的一个微域。本文通过根箱栽培模拟试验,研究了水稻苗期土壤 N 素转化过程中微生物生物量和硝化-反硝化细菌的动态变化,以期进一步探讨微生物在稻田生态系统 N 素损失中的地位和作用。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

采用中国科学院常熟农业生态实验站,由湖积

物发育而来的潜育水耕土(俗称竖头乌栅土)0~20cm 耕层土壤,质地为重壤,其主要理化性质如表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质(mg/g)
Table 1 physical and chemical properteies of the tested soil

| 土壤 | 有机 C | 全 N | 碱解 N | 全 P | 速效 P | pH (H ₂ O) |
|-------|-------|------|-------|------|-------|-----------------------|
| 潜育水耕土 | 41.01 | 2.08 | 0.071 | 0.66 | 0.008 | 8.04 |

1.2 供试肥料

硫铵((NH₄)₂SO₄),尿素((NH₂)₂CO)。

1.3 培育试验

采用自行设计的根箱栽培法,根箱长 12cm,宽 6cm,高 15cm,中间用 320 目尼龙布隔开成根圈区和非根圈区,其上设有机玻璃罩,罩顶内装有微风电扇,模拟田间自然通风状况。

将经风干去杂,研磨过筛的土壤分别装入根圈区 300g,非根圈区 500g,2 个处理,3 个重复。

挑选饱满,无斑点的 8169-22 中稻种,先用 70%乙醇消毒后,经自来水冲洗,再用 3%的次氯酸钠液浸泡 20 分钟,充分水洗,在 28℃恒温箱中催芽露白,每天换水。将露白的稻种播入根箱的根圈区,

条播每箱 30 粒,最后定苗为 20 株。当水稻生长到三叶时期时,分别表施相当于 180mg N 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (56.5%) 和 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (53.0%),置于温室,常规管理。施肥后的 0、3、7、11 和 15 天; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 处理设有 13 天采样分析。

1.4 测定方法

土壤基本理化性质按常规分析^[5];土壤微生物生物量用氯仿熏蒸提取法^[6,7],亚硝酸细菌和反硝化细菌数量用 MPN 法^[8]。

2 结果与讨论

2.1 不同 N 肥对水稻根圈和非根圈土壤微生物生物量 C 的影响

水稻根圈和非根圈土壤中微生物生物量 C 的变化如图 1、2 所示。在两组不同形态 N 肥的处理中,根圈土壤的微生物生物量 C 均高于非根圈土壤的微生物生物量 C,而且都表现出随时间缓慢下降的趋势,这与刘生浩等的研究结果一致^[9]。通常认为微生物生物量 C 能表征土壤中微生物的数量,但在单追加 N 源的情况下,可能土壤中缺少微生物的能量,与 C/N 比失调有关,从而表现出在微生物生物量 C 上硫铵与尿素处理之间差异不明显。

2.2 不同 N 肥对水稻根圈和非根圈土壤微生物生物量 N 的影响

从土壤微生物生物量 N 来看,两组不同 N 肥处理中,根圈土显著高于非根圈土。在施 N 肥后第 3 天时,根圈土壤微生物生物量 N 明显增加,到第 7 天出现高峰,硫铵和尿素处理分别达到 86 g/g 干土和 91.9 g/g 干土,之后随时间延长而逐步下降;而非根圈土壤微生物生物量 N 随时间变化较小(图 3,4)。上述结果说明水稻根分泌物对微生物有富集作用^[10],施入 N 肥又刺激其增殖。随着时间的延长, NH_4^+ 被水稻利用,土壤固持,氮挥发和反硝化或被微生物同化吸收,使土壤有效 N 含量降低,C/N 比升高,水稻根系吸 N,抑制微生物的增殖,导致土壤微生物生物量 N 的下降。比较两组 N 肥处理,硫铵处理的土壤微生物生物量 N 的下降幅度较缓慢,尿素处理的水稻根圈微生物生物量 N 起伏较大,这可能因尿素需经脲酶水解所致有关。

2.3 不同 N 肥对水稻根圈和非根圈土壤亚硝酸细菌的影响

土壤中硝化作用分 2 个阶段完成,第 1 阶段由亚硝酸细菌参与将 NH_4^+ 氧化为 NO_2^- ;而第 1 和第 2

阶段是连续进行的,土壤中很少发现有亚硝酸盐的累积,所以通常只测定亚硝酸细菌的数量,即可反映硝化细菌的多寡^[11]。从图 5、6 看出,两组不同 N 肥处理中水稻根圈土壤亚硝酸细菌数量都高于非根圈土壤,而根圈的硝化作用强度与其菌数呈显著正相关^[12]。由于 N 肥的施入,给亚硝酸细菌提供了营养物质,促进其生长繁殖,随着时间的推移,水稻根圈土壤中的 N 素被利用或损失,土壤 NH_4^+ -N 浓度下降,使亚硝酸细菌数量下降。比较两组处理,硫铵处理的根圈土壤中亚硝酸细菌数量,在施肥后第 7 天达到高峰;而尿素处理都在第 11 天才达到高峰,它们分别为 $61 \times 10^3 \text{cfu/g}$ 干土和 $55.5 \times 10^3 \text{cfu/g}$ 干土。说明施硫铵,亚硝酸细菌能直接利用,而尿素需经脲酶水解后才能被利用,反映亚硝酸细菌数量高峰明显滞后于硫铵处理。

2.4 不同 N 肥对水稻根圈和非根圈土壤反硝化细菌的影响

在适宜条件下,反硝化细菌数量变化,一般能反映反硝化作用强度。当施入 N 肥后,在亚硝酸细菌、硝酸细菌的作用下,将 NH_4^+ 氧化为 NO_2^- ,为反硝化细菌提供了电子受体。在两组不同 N 肥处理中,水稻根圈反硝化细菌数量显著高于非根圈土壤,表明根圈有很强的潜在反硝化作用。另外,从图 7、8 还可看出硫铵处理的水稻根圈反硝化细菌数量随时间呈递增现象,而尿素处理的水稻根圈反硝化细菌数量在第 11 天才出现峰值,进一步说明尿素在土壤中需先经脲酶水解后才具有生物有效性。

3 结论

综上所述,水稻根圈具有明显的根圈效应。亚硝酸细菌和反硝化细菌的大量存在,是引起土壤硝化作用和反硝化作用的动力。水稻根圈硝化作用与反硝化作用是同时存在同时发生的生物氧化还原过程,随着 N 肥和有机物质施入土壤,在淹水条件下将会引起强烈的反硝化作用,造成 N 素的气态损失。在农田中 N 肥施用后的 1~2 周内是土壤硝化-反硝化作用的关键期,也是 N_2O 的排放高峰期^[13]。对 N 的生物有效性而言,在比较两组不同形态 N 肥中,施尿素有明显的滞后期,而且尿素 N 的硝化淋失进程也较慢^[14],有利于土壤 N 素对作物的持续供给,减少 N 素损失和环境污染。综合说明水稻根圈土壤 N 素转化过程中功能性微生物数量的变化与 N 肥形态及其反硝化损失密切相关。从农业生产来说,防

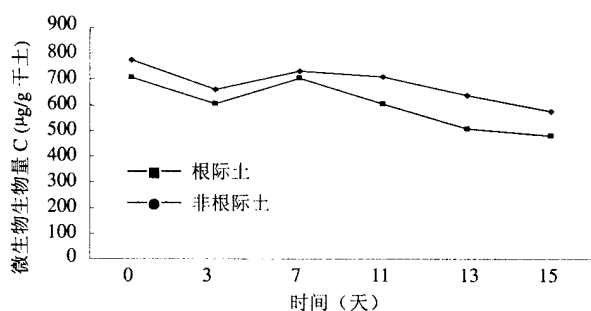


图1 施硫酸铵后水稻根际与非根际土壤中微生物量C的动态变化

Fig. 1 The variation of microbial biomass carbon in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after (NH₄)₂SO₄ treatment

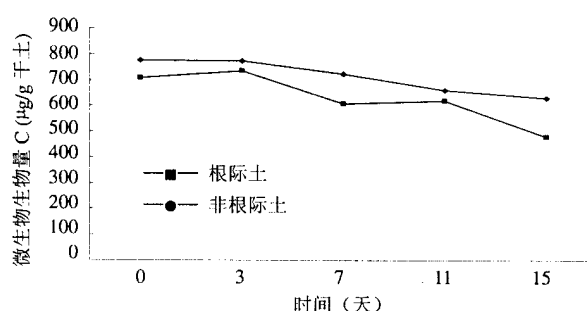


图2 施尿素后水稻根际与非根际土壤中微生物量C的动态变化

Fig. 2 The variation of microbial biomass carbon in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after urea treatment

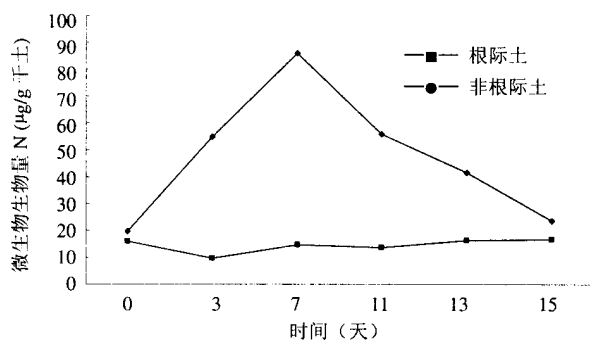


图3 施硫酸铵后水稻根际与非根际土壤中微生物量N的动态变化

Fig. 3 The variation of microbial biomass nitrogen in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after (NH₄)₂SO₄ treatment

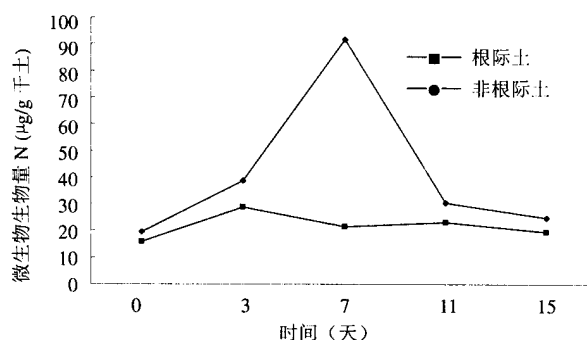


图4 施尿素后水稻根际与非根际土壤中微生物量N的动态变化

Fig. 4 The variation of microbial biomass nitrogen in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after urea treatment

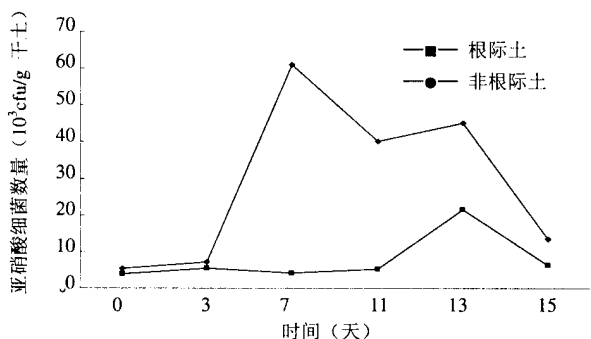


图5 施硫酸铵后水稻根际与非根际土壤中亚硝酸细菌的动态变化

Fig. 5 The variation of nitrifying bacteria in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after (NH₄)₂SO₄ treatment

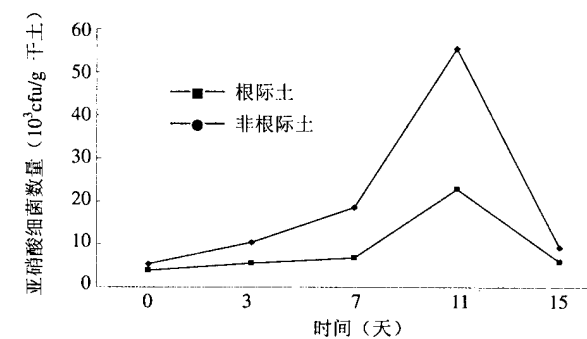


图6 施尿素后水稻根际与非根际土壤中亚硝酸细菌的动态变化

Fig. 6 The variation of nitrifying bacteria in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after urea treatment

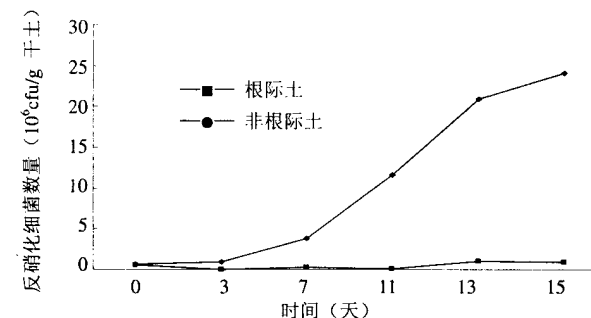


图7 施硫酸铵后水稻根际与非根际土壤中反硝化细菌的动态变化

Fig. 7 The variation of denitrifying bacteria in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after (NH₄)₂SO₄ treatment

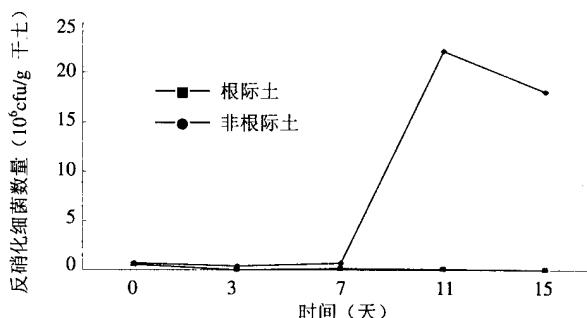


图8 施尿素后水稻根际与非根际土壤中反硝化细菌的动态变化

Fig. 8 The variation of nitrifying bacteria in the rhizospheric and nonrhizospheric soil of rice after urea treatment

止反硝化作用引起土壤气态 N 的损失，关键在于抑制硝化作用。

致 谢 南京农业大学周保华、徐武林同学在毕业实习期间参加了工作，谨表谢意。

参考文献

- 1 张国梁, 章申. 农田氮素淋失研究进展. 土壤, 1998, 30 (6): 291~297
- 2 朱兆良. 农田中氮肥的损失与对策. 土壤与环境, 2000, 9 (1): 1~6
- 3 Vlek PLG and Byrnes BH. The Efficacy and Loss of Fertilizer N in Lowland Rice. Fertilizer research. 1986, 9: 131~147
- 4 Rovia AD and Davey CB. Biology of the Rhizosphere. In: The Plant Root and its Environment. Virginia: University Press. 1974, 153~204
- 5 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999, 146
- 6 Brookes PC, Andrea Landman, Pruden G, Jenkinson DS. Chloroform Fumigation and the Release of Soil Nitrogen: A Rapid Direct Extraction Method to Measure Microbial Biomass Nitrogen in Soil. Soil Biol. Biochem., 1985, 12 (6): 837~842
- 7 Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An Extraction Method for Measuring Soil Microbial Biomass C. Soil Biol. Biochem., 1987, 19 (6): 703~707
- 8 中国科学院南京土壤研究所微生物室编著. 土壤微生物研究法, 北京: 科学出版社, 1985, 49~58
- 9 刘生浩, 丸本卓哉, 姜无忌, 樊庆笙, 沈其荣. 根际微生物生物量及其供氮作用的研究. 南京农业大学学报, 1995, 18 (增刊): 51~57
- 10 李振高, 万焕楣, 吴留松, 乔风珍. 水稻根际反硝化细菌生态分布的研究. 土壤学报, 1987, 24 (2): 120~125
- 11 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986, 114
- 12 朱兆良, 文启孝主编. 中国土壤氮素. 南京: 江苏科学技术出版社, 1992, 94~120
- 13 邹国元, 张福锁, 陈新平, 李新慧. 农田土壤硝化-反硝化作用与 N_2O 的排放. 土壤与环境, 2001, 10 (4): 273~276
- 14 王家玉, 王胜佳, 陈义. 稻田土壤中 N 素淋失的研究. 土壤学报, 1996, 33 (1): 28~35

EFFECTS OF DIFFERENT NITROGEN FERTILIZERS ON THE MICROBIAL BIOMASS AND THE POPULATION OF NITRIFYING-DENITRIFYING BACTERIA IN THE RICE RHIZOSPHERE

Li Zhengao Yu Shen Wu Shengchun Wang Junhua Pan Yinghua

(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008)

Abstract The rhizosphere is a micro-zone near the plant root surfaces where the microbial activity is much higher than non-rhizospheric soil. In this paper, the Rhizobox technology was employed to study the effect of application of nitrogen fertilizers (urea and $(NH_4)_2SO_4$) on the variation of microbial biomass C and N, and the chronic changes of population size of nitrifiers and denitrifiers in soil. The key result indicated that the microbial biomass C and N in rhizosphere were greater than those in non-rhizospheric soil and declined gradually with the experiment lasting. The urea treatment resulted in a higher microbial biomass compared to ammonia sulfate treatment. In general, a similar trend of the change of microbial biomass N was observed: the biomass N began to rise from the 3rd day after the addition of nitrogen fertilizers and got the peak value at the 7th day and then decreased gradually while the biomass N in non-rhizospheric soil did not change significantly. A larger population of nitrifiers and denitrifiers was detected in the rhizosphere than non-rhizosphere. The population of nitrifier achieved the peak value at the 7th and 11th day with urea or $(NH_4)_2SO_4$ addition respectively and then declined rapidly. The denitrifier propagated chronically with the

application of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. In the contrast, the largest population of denitrifier appeared at the 11th day. The results manifested that the rice root exhibited an obvious rhizospheric effect on the growth of nitrifier and denitrifiers in soil, which might be regarded as a great potential for resulting in nitrogen loss from soil, especially during fertilization period. Urea showed a hysteresis effect anseemed to be able to supply nitrogen to plant constantly and lastingly comparing to the $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. It was suggested that the application of urea lead to a higher fertilizer utilization ratio and a smaller risk to the ambient environment.

Key words Rice rhizosphere; Nitrogen fertilizers; Microbial biomass; Nitrifying-denitrifying bacteria

“土地资源退化及其可持续利用研讨会”在广州召开

由广东省科学基金、美国国际基金联合资助，由华南农业大学和广东省生态学会共同举办的“土地资源退化及其可持续利用研讨会”于 2003 年 11 月 10~16 日在广州召开。有 50 多名来自全国 15 个省、市、自治区的代表以及 6 名来自美国、尼日利亚、厄瓜多尔、埃塞俄比亚的外国专家和留学生出席了这次会议。其中有 13 位从事环境保护的中国民间组织（NGO）成员应邀参加了会议。这次会议的目的是通过构建一个平台，让科学家、政府官员、民间环保组织成员和农民一起共同探讨和交流生态环境建设的经验与教训。

这次会议包括 1 天的大会学术报告和 6 天的野外考察活动。在大会报告期间（11 月 10 日），华南农业大学校长骆世明教授作了“热带亚热带地区丘陵坡地的退化及其治理和利用”的报告，Walter Parham 教授作了题为“中国退化土地：挑战、机遇和未来”的发言，四川省雅安市畜牧局蒲朝龙局长、浙江大学王根轩教授、华南农业大学特聘教授林初夏博士、广东省生态环境与土壤研究所副所长吴志峰博士、以及来自美国 James Parham 博士和 Michelle Steinauer 女士、来自尼日利亚的留学生

Egbuche Chris Tooichi 等也分别作了学术报告。同时，来自陕西省妈妈环保志愿者协会的副总干事班理女士、河北绿色知音的张忠民先生、太平洋环境组织主管温波先生、新疆自然保育基金的程芸女士等在大会上分别介绍了其所在的环保组织及近年来开展的环境保护活动。11 月 11~16 日，与会代表先后到广东省肇庆、鹤山、高州、化州、茂名、电白、珠海、深圳等地进行了参观考察。

通过 7 天的学术交流和野外考察，与会代表围绕“土地资源退化及其可持续利用”主题，对土地退化的原因、过程、阶段、生态系统功能恢复、生物多样性与稳定性关系、外来物种盲目引进与生物入侵、生态恢复标准、生态管理以及土地可持续利用的自然、生物、经济、技术、社会、文化因素以及环境教育和全面参与性等各个层面的问题展开了广泛而又深入的交流和探讨。这次会议将对我国土地可持续利用和生态环境建设的理论与实践起到一定的推动作用。与会代表一致建议，今后要进一步加强联系，加强合作，以共同推动我国生态环境建设与环保事业的发展。

（章家恩供稿）