

水分和温度对旱地红壤硝化活力和反硝化活力的影响

王连峰^{1,2} 蔡祖聪¹

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所) 南京 210008;

2 大连交通大学环境科学与工程学院 辽宁大连 116028)

摘要 采集第四纪红色粘土发育和第三纪红砂岩发育的红壤,分别在 4°C 冰箱内保存(O),室温下湿润(M)和淹水(F)培养 110 天后测定硝化细菌、反硝化细菌、硝化势、反硝化势和反硝化酶活性。结果表明,低温有利于保持硝化细菌和反硝化细菌的数量,但显著抑制它们的硝化和反硝化活力。湿润有利于保持硝化细菌的硝化活力,而淹水则有利于保持反硝化细菌的反硝化活力,但均不利于硝化细菌和反硝化细菌的存活。由此说明,不同的研究目的和需要测定的项目,应采用不同的土壤样本保存方法。

关键词 红壤; 硝化细菌; 反硝化细菌; 硝化势; 反硝化势; 反硝化酶活性

中图分类号 S154.3

硝化作用和反硝化作用是土壤 N 素转化的两个重要过程。土壤硝化活性和反硝化活性的强弱,在某种程度上,反映土壤硝化和反硝化能力进行的强度。在研究土壤的硝化能力和反硝化能力时,通常要求将采集的新鲜土壤立即测定^[1],然而,在实践中,由于气候条件等对采样时间的限制,很难做到土壤采样和测定同步进行,一般将采集的新鲜土壤在低温(4°C)下保存,然后再进行测量^[1,2],这种保存方法有可能对土壤硝化能力和反硝化能力产生影响。

在生产实践中,当旱地改为水田后,土壤由好气至厌气,改变了微生物的生存环境,对微生物的数量和种类等都将产生影响,从而改变 N 素转化的途径和转化强度。为了探讨水分和温度对土壤 N 素转化的影响,本实验将采集的新鲜旱地红壤分别在 4°C 冰箱内保存(O),室温下淹水(F)和湿润(M)培养 110 天后测定硝化细菌、反硝化细菌、硝化势、反硝化势和反硝化酶活性,用以表征土壤硝化活力和反硝化活力的变化,结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 供试土壤及保存方法

新鲜土壤取自中国科学院鹰潭红壤生态试验站(116°55' E, 28°13' N)。该地区属亚热带季风气候,平均气温 17.8°C,年均降水量 1795 mm,50%左右

的降雨分布在 4~6 月,无霜期 261 天。采集第四纪红色粘土母质发育的红壤,土壤类型为粘化湿润富铁土(Argic-Udic Ferrosols,以下简称红粘土)和第三纪红砂岩发育的红壤,土壤类型为筒育湿润富铁土(Haplic-Udic Ferrosols,以下简称红砂土)^[3]。两种土壤的利用方式都为长期旱作;土壤相关理化性质见表 1。

采集的新鲜土壤,除去肉眼可见的植物残体后分成 3 份。其中 1 份不作任何处理,低温(4°C)保存,另 2 份,分别淹水和调节水分至 40% WHC 在室温(24°C~27°C)下培养 110 天。这 3 种处理分别用 O, F 和 M 表示。

1.2 分析测定

1.2.1 硝化细菌和反硝化细菌 最大或然计数法(MPN)^[4]。

1.2.2 硝化势 悬浮液培养法^[4]。培养液中加入(NH₄)₂SO₄,振荡培养,计算单位时间内 NO₃⁻-N 的产生量用以表示土壤的硝化势。

1.2.3 反硝化酶活性 泥浆培养法^[1]。为土壤泥浆提供充足的反硝化条件,加氯霉素抑制新酶的生成,通入纯 N₂ 创造厌氧环境和通入 C₂H₂ 抑制 N₂O 转化为 N₂,测定单位时间内 N₂O 的产生量来表征反硝化酶活性。

1.2.4 反硝化势 泥浆培养法^[5]。测定方法与反硝化酶活性的测定基本相同。不同之处在于; 培

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soil

土壤性质	红粘土			红砂土		
	低温 (O)	湿润 (M)	淹水 (F)	低温 (O)	湿润 (M)	淹水 (F)
pH _{kcl}	4.18	4.11	4.53	3.88	3.80	4.01
有机 C (g/kg)	8.53	8.41	8.47	4.35	4.70	4.58
全 N (g/kg)	0.75	0.81	0.79	0.39	0.45	0.41
NO ₃ ⁻ -N (mg/kg)	8.38	48.6	1.53	5.94	3.51	1.02
NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	7.18	1.87	36.2	2.44	6.06	20.5
含水量 (% WHC)	32.1	40	淹水	21.6	40	淹水
砂粒 (g/kg)		336			693	
粉砂粒 (g/kg)		265			155	
粘粒 (g/kg)		399			152	

养液不加氯霉素；在土壤厌氧培养后的 24 h、48 h 和 72 h 抽取瓶内气体测 N₂O，计算 N₂O 累积排放量表示土壤的反硝化势。

1.2.5 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 测定 2 mol/L 的 KCl 溶液提取处理后的土壤，提取液中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 的含量采用荷兰生产的 Skalar^{plus} San 流动分析仪测定，根据标准溶液和待测溶液的峰高计算待测液的浓度。

1.2.6 N₂O 测定 N₂O 的浓度用岛津气相色谱分析仪 (Shimadzu GC-14B) 分析，检测器为 ⁶³Ni 电子捕获检测器 (ECD)，色谱柱为 80/100 目 Porapak Q 的填充柱。高纯氮作反吹气，载气为氦甲烷 (95% 氦气 + 5% 甲烷)。由岛津 Shimadzu Chromatopac C-R8A 积分记录仪记录数据，通过标准气体和待测气体的峰面积计算待测气体的浓度。

2 结果与分析

2.1 硝化细菌和反硝化细菌数量变化

由图 1 可见，无论淹水 (F) 还是保持一定含水量湿润 (M) 处置，土壤的硝化细菌数量都较低温保存的土壤 (O) 有所减少。硝化细菌大多属于好氧细菌，良好的通气状况应有利于其生存^[6]。但是，淹水处理的土壤 (F) 硝化细菌数量反倒高于湿润处理的土壤 (M)，表明淹水条件下有利于硝化细菌存活。红砂土的硝化细菌数目远高于红粘土，低温保存的土壤尤其如此。

与硝化细菌变化相似，反硝化细菌的数量也是低温土壤 (O) 显著高于湿润土壤 (M) 和淹水土壤 (F)，而且变化更强烈 (图 2)。从表观上看，红粘土的反硝化细菌数量远高于红砂土。一般认为，质地较粘的土壤含有的反硝化细菌数量大于质地较砂的土壤^[7]。但是，由于分离方法和含水量的不同，对于荒地红壤，结果可能有所不同^[8]。

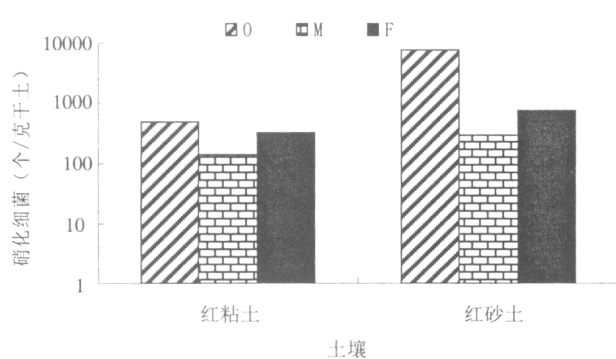


图 1 水分和温度对土壤硝化细菌数量的影响

Fig. 1 Effect of moisture and temperature on number of nitrifiers in soils

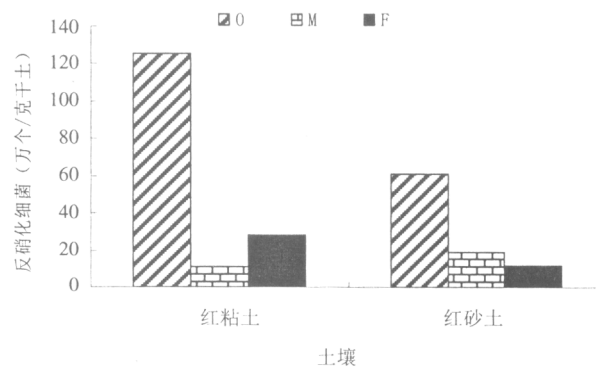


图 2 水分和温度对土壤反硝化细菌数量的影响

Fig. 2 Effect of moisture and temperature on number of denitrifiers in soils

表 2 水分和温度对土壤反硝化势的影响 (N₂O-N mg/kg)

Table 2 Effect of moisture and temperature on the denitrification potential of soils

土壤	24 h	48 h	72 h
红粘土			
低温土壤 (O)	0.90 ± 0.06 Aa	3.82 ± 0.19 A	6.24 ± 0.93 Aa
湿润土壤 (M)	1.66 ± 0.14 Ab	6.38 ± 0.28 B	8.57 ± 0.61 Aa
淹水土壤 (F)	6.74 ± 0.42 Bc	21.0 ± 1.34 C	31.0 ± 2.22 Bb
红砂土			
低温土壤 (O)	0.42 ± 0.04 A	2.89 ± 1.22 A	8.71 ± 1.49 Aa
湿润土壤 (M)	0.97 ± 0.11 B	5.12 ± 0.19 B	9.90 ± 0.97 Aa
淹水土壤 (F)	6.32 ± 0.08 C	18.2 ± 0.64 C	20.1 ± 0.27 Bb

2.2 硝化势和反硝化势变化

由图 3 可知,湿润红粘土 (M) 硝化能力比低温土壤 (O) 强。低温土壤 (O) 硝化能力为 NO₃⁻-N 2.6 mg/(kg·d),湿润土壤 (M) 达到 NO₃⁻-N 4.5 mg/(kg·d),差异显著 (p<0.05)。淹水土壤 (F) 硝

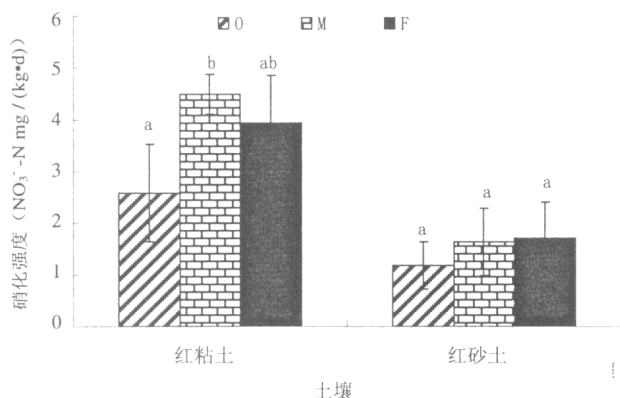


图 3 水分和温度对旱地红壤硝化势的影响

Fig. 3 Effect of moisture and temperature on the nitrification intensity of soils

化能力也比低温土壤 (O) 大 53%。水分和温度对红砂土硝化势无显著影响,其硝化势的变化范围为 NO₃⁻-N 1.2~1.8 mg/(kg·d)。总的来看,红粘土和红砂土的硝化势都很低,变化在 NO₃⁻-N 1.2 ~ 4.5 mg/(kg·d)之间,这一数值甚至都低于半干旱地区水稻土的硝化势 (NO₃⁻-N 3.6 ~ 10 mg/(kg·d))^[9]。已有的研究也表明红壤的硝化作用很微弱^[10]。

土壤的反硝化作用受氧气供应状况 (O₂ 含量)、NO₃⁻-N 和有效态有机 C 含量的影响^[11]。田间原位测定土壤的反硝化活性有很大的时空变异性^[5]。实验室中为土壤提供理想的反硝化条件下,测定的土壤反硝化能力称为土壤反硝化势。由表 2 可知,对于淹水土壤 (F),无论红粘土还是红砂土的反硝化势都显著强于低温土壤 (O)。湿润土壤 (M) 在不同时段的反硝化势也都高于低温土壤 (O),培养后

期 (72 h) 的反硝化势虽仍高于低温土壤 (O),但差异已不再显著。值得注意的是,淹水土壤 (F) 的反硝化势显著高于湿润土壤 (M),这种差异在红粘土上更为明显。

2.3 反硝化酶活性变化

Smith 和 Tiedje^[12]提出通过给土壤提供理想的反硝化条件,并且用氯霉素抑制土壤酶的再合成,来测定土壤现存的反硝化酶活性 (DEA),DEA 广泛地应用于测定土壤的反硝化作用潜力。

供试土壤 DEA 的变化范围为 N₂O-N 3.2 ~ 15.4 ng/(g·h)。由图 4 可见,不同的处置方法对土壤的 DEA 产生显著影响。淹水土壤 DEA 极显著地高于低温和湿润土壤。淹水红粘土 (F) 的 DEA 是低温土壤 (O) 的 4.3 倍,湿润土壤 (M) 的 1.6 倍;淹水红砂土 DEA 是低温土壤 (O) 的 3.4 倍,湿润土壤 (M) 的 4.1 倍。

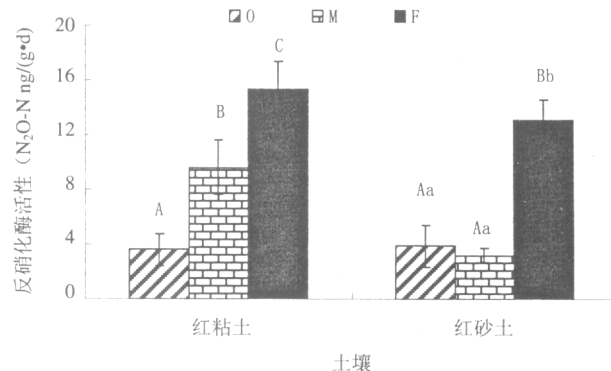


图 4 水分和温度对土壤反硝化酶活性的影响

Fig. 4 Effect of moisture and temperature on denitrifying enzyme activity of soils

2.4 水分和温度处理旱地红壤硝化菌和反硝菌活性的相对比较

计算硝化势、反硝化势 (48 h) 和反硝化酶活性与细菌数量的比值,并以新鲜土样低温保存为 1,经不同水分和温度处理后土壤硝化细菌的硝化势和

反硝化细菌的反硝化势和反硝化酶活性的相对值如表 3。从表 3 结果可以看出,无论是硝化细菌还是反硝化细菌,保存在室温下,其活性都高于低温保存的土壤。在室温保存时,湿润较淹水有利于硝化

细菌保持硝化活力;以反硝化势作为指标,淹水更有利于反硝化菌保持反硝化活力。但是,以反硝化酶活性为指标时,红粘土湿润处理的反硝化酶活性较淹水处理的高。

表 3 硝化细菌的硝化强度和反硝化细菌的反硝化势、反硝化酶活性的相对比较

Table 3 Nitrofication intensify of the nitrifiers in comparison with denitrification potential of the denitrifiers and activity of the denitrification enzymes

指标	红粘土			红砂土		
	低温 (O)	湿润 (M)	淹水 (F)	低温 (O)	湿润 (M)	淹水 (F)
硝化势/硝化细菌	1	6.1	2.3	1	36.0	14.4
反硝化势/反硝化细菌	1	18.4	24.5	1	5.6	32.4
反硝化酶活性/反硝化细菌	1	29.5	19.1	1	2.6	17.4

3 讨论

实验室测定结果表明,新鲜土壤样本在低温下保存,硝化细菌和反硝化细菌的活性都很弱。新鲜红粘土样本的水分含量低于湿润土壤,其 NO_3^- -N 也低于湿润处理的土壤,但 NH_4^+ -N 高于湿润处理土壤。这一结果虽然不能完全排除低温下 (4°C) 仍然进行 N 转化的可能,但 N 转化过程即使在进行,其强度也很低。

虽然用最大或然计数法 (MPN) 测得的细菌数量值得商榷^[13],但低温处理的硝化和反硝化细菌都高于室温处理 (图 1 和图 2) 的事实说明,低温处理较室温保存更有利于硝化细菌和反硝化细菌的存活,对于维持反硝化细菌存活的作用特别明显。所以,如果以测定细菌数量为目的,新鲜土样低温保存是一种可取的方法,但如果以测定酶活力为目的,低温保存并不可取。低温降低土壤的硝化势^[2]。

反硝化细菌是异养细菌,其生长繁殖需要有机 C 源^[11]。本试验中,土壤处理前,未添加有机 C 且去除了残根等,所以与低温处理的新鲜土样相比,淹水处理的反硝化细菌不但未增加,相反显著减少 (图 2)。但淹水处理的土壤反硝化细菌的反硝化能力显著提高 (表 3)。对于硝化细菌,淹水处理后,其活力显著低于湿润处理 (表 3)。红粘土和红砂土淹水处理土壤的硝化细菌硝化活力分别为湿润处理的 38% 和 40%。由此可见,旱地红壤即使只有 110 天的淹水处理,反硝化细菌的反硝化活力已经有了大幅度的提高,但硝化细菌的硝化能力则大幅度下降。比较红砂土和红粘土的硝化细菌数量和硝化势可以发现,红砂土虽然在硝化细菌数量上与红粘土不相上下,甚至大于红粘土 (图 1),但硝化势则明显低于红粘土 (图 3),这进一步证明用最大或然计

数法测定硝化细菌数量与土壤悬液培养法测定的硝化势之间并不一致。红砂土在湿润和室温 ($24^\circ\text{C} \sim 27^\circ\text{C}$) 条件下培养 110 天,土壤中无机 N 仍以 NH_4^+ -N 为主。而红粘土经过室温 110 天培养后,无机 N 主要以 NO_3^- -N 为主, NH_4^+ -N 很少 (表 1)。这一比较证明红砂土的硝化能力确实低于红粘土。另一方面,虽然已有的研究^[10]和本试验都表明,无论是红砂土还是红粘土,它们的硝化作用都很微弱,但红粘土经过 110 天湿润、室温培养后,绝大部分无机 N 已经转化为 NO_3^- -N,说明对于红粘土,硝化作用对于无机 N 转化的作用仍然是不可忽视的。

参考文献

- Šimek M, Webster EA. Persistence of denitrifying enzyme activity in refrigerated and air-dried Cambisol. *Soil Use Manage.*, 2000, 16: 232 ~ 233
- Verchot LV. Cold storage of a tropical soil decreases nitrification potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1999, 63: 1942 ~ 1944
- Cooperative Research Group on Chinese Soil Taxonomy. *Chinese Soil Taxonomy*. Beijing · New York: Science Press, 2001, 123 ~ 146
- 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999, 256 ~ 262
- Šimek M, Kalcík J. Carbon and nitrate utilization in soils: the effect of long-term fertilization on potential denitrification. *Geoderma*, 1998, 83: 269 ~ 280
- Watanabe I, Padre BC Jr, Satiago ST. Quantitative study on nitrification in flooded rice soil. *Soil Sci. Plant Nutri.*, 1981, 27: 373 ~ 382
- Mancino CF, Torello WA. Enumeration of denitrifying

(下转第 560 页)

ASSESSMENT OF HEAVEY METAL POLLUTION OF SOILS IN A VEGETABLE PRODUCTION BASE IN JIANGJIAWAN, LIUHE

ZHENG Hai-long¹ CHEN Jie¹ DENG Wen-jing²

(1 *Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008;*

2 *School of Environmental Sciences & Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275*)

Abstract A vegetable production base in the periurban region of Nanjing was chosen for assessment of soil pollution by hazardous metals, totally 23 topsoil samples were collected and analyzed for heavy metal contents. The data obtained indicated that the contents of Cu, Pb, Zn, Cr, Cd, and As in the soils were lower than their regional background values. However, Hg content in the studied soils greatly exceeded its background value, demonstrating significant soil pollution. It was thought that Hg pollution resulted from intensive application of Hg-containing agrochemicals during long-term vegetable planting in this area.

Key words Periurban, Vegetable soil, Heavy metals, Pollution

(上接第 546 页)

- | | |
|---|---|
| <p>microbial populations in turf. <i>Plant Soil</i>. 1986, 96: 149 ~ 151</p> <p>8 李振高, 李良谟, 潘映华, 伍期途. 红壤区土壤的反硝化细菌. 见: 石华主编. 红壤生态系统研究(第 1 集). 北京: 科学出版社, 1993, 196 ~ 203</p> <p>9 Bhupinderpal S, Bijay S, Yadvinde S. Potential and kinetics of nitrification in soils from semiarid regions of northwestern India. <i>Arid Soil Res. Rehab.</i>, 1993, 7: 39 ~ 50</p> <p>10 李辉信, 胡锋, 刘满强, 蔡贵信, 范晓晖. 红壤氮素的矿化作用和硝化作用特征. <i>土壤</i>, 2000, 32 (4): 194 ~ 197</p> | <p>11 Tiedje JM. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: Zehnder AJB. ed. <i>Biology of anaerobic microorganisms</i>. John Wiley and Sons, New York, 1988, 179 ~ 244</p> <p>12 Smith MS, Tiedje JM. Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. <i>Soil Biol. Biochem.</i>, 1979, 11: 261~267</p> <p>13 Davidson EA, Strand MK, Galloway LF. Evaluation of the most probable number method for enumerating denitrifying bacteria. <i>Soil Sci. Soc. Am. J.</i>, 1985, 49: 642~645</p> |
|---|---|

EFFECTS OF TEMPERATURE AND WATER REGIME ON NITRIFICATION AND DENITRIFICATION ACTIVITY OF UPLAND RED SOILS

WANG Lian-feng^{1,2} CAI Zu-cong¹

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008;*

2 *College of Environmental Science and Engineering, Dalian Jiaotong University, Dalian, Liaoning 116028*)

Abstract Two red soils derived from the quaternary red clay and the tertiary red sandstone, respectively, were used to investigate effects of moisture and temperature on nitrification and denitrification activities of the soils. Nitrifiers, denitrifiers, nitrification intensity, denitrification potential and denitrifying enzyme activity were determined of the fresh soil samples having been kept placed at 4°C (O), moistened to 40% in water holding capacity at room temperature (24°C ~ 27°C) (M) and flooded (F) at room temperature (24°C ~ 27°C), separately for 110 days. The results indicate that low temperature helped keep the number of nitrifiers and denitrifiers, but significantly inhibited nitrification and denitrification activities of the bacteria. Moistening contributed to maintenance of nitrification activity of the nitrifiers. Flooding, though, favored denitrification activity of the denitrifiers, it made against survival of both the nitrifiers and denitrifiers. Therefore, the appropriate way to store soil samples depends on what they will be used for.

Key words Red soil, Nitrifiers, Denitrifiers; Nitrification intensity, Denitrification potential, Denitrifying enzyme activity