添加葡萄糖对不同肥力黑土氮素转化的影响*

贾俊仙[1,2,3]　李忠佩[1,3†]　车玉萍[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 山西农业大学文理学院,山西太谷　030801)

(3 中国科学院研究生院,北京　100049)

EFFECTS OF GLUCOSE ADDITION ON NITROGEN TRANSFORMATION IN BLACK SOILS DIFFERENT IN ORGANIC CARBON CONTENT

Jia Junxian[1,2,3]　Li Zhongpei[1,3†]　Che Yuping[1]

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

(2 *College of Art and Science*, *Shanxi Agricultural University*, *Taigu*, *Shanxi*　030801, *China*)

(3 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing*　100049, *China*)

关键词　添加葡萄糖;肥力水平;黑土;氮素转化

中图分类号　S154　　**文献标识码**　A

氮是作物生长必需的大量营养元素,增施化学氮肥,是农业生产采取的主要增产措施之一。我国的氮肥消费量已占世界总消费量的约 30%,但我国农业中氮素的生产效率趋于下降,而带来的农业环境污染则趋于加重[1-2]。提高氮素利用率,降低其对环境的负面影响,在保障粮食安全的同时兼顾生态效益,是当前我国土壤氮素研究的指导思想[3]。研究土壤中氮素的转化过程,明确其调控因素,对于合理施用氮肥,保护生态环境具有重要意义。

有机质是土壤氮素转化的重要影响因子[4-5],其对土壤氮素转化的作用受到了研究人员的普遍重视。有关土壤有机质含量、组成、生物有效性与氮素转化的关系及不同来源、不同质量的外源碳添加对氮素转化的影响研究已有大量报道[6-11]。添加外源碳后,不同肥力土壤中氮素转化作用的变化不同[12-13]。目前关于不同肥力土壤中由于自身可供微生物利用的碳源种类和数量不同,土壤微生物对碳源的利用情况各异[14],从而导致对添加的外源碳产生不同的响应,进而对氮素转化作用产生不同影响,这方面的研究较少。

本文选择 2 个肥力水平差异显著的黑土,通过室内培育试验,研究了添加和不添加葡萄糖的条件下土壤中氮素的矿化作用、硝化作用及反硝化作用变化特征,重点在于考察添加葡萄糖对氮素转化作用的影响在不同肥力黑土间的差异,结果有助于正确认识碳源对黑土氮素转化作用的影响机制,并为根据不同土壤条件制定合理的土壤氮素养分管理措施提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　土壤样品采集

采样区地处黑龙江省松嫩平原中北部的海伦市,海拔高度 240 m,气候条件属北温带大陆性季风气候区,冬季寒冷干燥,夏季高温多雨,雨热同季,年降水量 530 mm,年日照时数为 2 600 ~ 2 800 h,年有效积温 2 450 ℃,无霜期 125 d,土壤类型为中厚黑土(土种),母质为第四纪黄土。在地形、母质相对一致的一个区域内,选择肥力水平在黑土区相对较高和较低的 2 块典型黑土农田作为样地[15-16]。

* 国家重点基础研究发展计划"973"项目(2007CB109301)和山西农业大学科研启动基金资助

† 通讯作者,E-mail: zhpli@ issas. ac. cn

作者简介:贾俊仙(1973—),女,山西太谷人,副教授,博士,主要从事土壤生物化学与生态学研究。E-mail: jxjia@ issas. ac. cn

收稿日期:2009 - 10 - 14;收到修改稿日期:2009 - 12 - 18

在选定的样地内,采用多点混合采集 0 ~ 20 cm 土壤样品,样品风干,挑去肉眼可见的细根后磨细过 2 mm筛备用。供试土壤的基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质

土壤类型	有机碳 ($g\ kg^{-1}$)	全氮 ($g\ kg^{-1}$)	pH	颗粒组成($g\ kg^{-1}$)			
				>0.05 mm	0.05 ~ 0.02 mm	0.02 ~ 0.002 mm	<0.002 mm
低肥力黑土	16.0	1.55	5.53	146.4	250.9	295.8	306.9
高肥力黑土	60.9	5.40	6.36	121.4	233.1	450.1	195.4

1.2 培育试验

试验设 2 个处理:1)对照(不添加葡萄糖);2)添加葡萄糖(C 600 mg kg^{-1})。

矿化试验:风干后过 2 mm 筛的土样调水分至田间最大持水量的 30%,置于 25 ± 1 ℃恒温培养箱中预培养 10 d。称取相当于 15 g 干土的预培养后的土壤样品若干份于 250 ml 塑料培养瓶中,按试验设计用量添加碳源并与土壤混合均匀,添加蒸馏水至 60% 的田间最大持水量。塑料瓶用保鲜膜封口以保持水分不致快速蒸发,膜上针扎小孔若干以保证通气,然后置于 25 ± 1 ℃恒温培养箱中培养,培养期间定期补充水分以维持试验设定的 60% 的田间最大持水量。每处理 3 次重复。在培养的 7 d、14 d 取样,按液土比 10∶1 加入 2 mol L^{-1}的 KCl 溶液,振荡 1 h,过滤,测定滤液中的铵态氮和硝态氮含量。

硝化试验:培养和取样方法同矿化试验,但在添加碳源后加入硫酸铵溶液(相当于 N 120 mg kg^{-1})。同样在培养结束后测定铵态氮、硝态氮含量。

反硝化试验:风干后过 2 mm 筛的土样调水分至田间最大持水量的 30%,置于 25 ± 1 ℃恒温培养箱中预培养 10 d。称取相当于 15 g 干土的预培养后的土壤样品若干份于 250 ml 培养瓶中,按试验设计用量添加碳源并与土壤混合均匀,每瓶中添加一定浓度的硝酸钾溶液(相当于 N 120 mg kg^{-1}),加蒸馏水至 60% 的田间最大持水量。培养瓶用带丁基的橡皮塞塞紧并在瓶塞周围涂抹 704 胶密封瓶口,将培养瓶连接到真空泵及充氮气装置上,抽真空并通入高纯氮气,重复 3 次,每次 10 min,然后密封以保证厌氧培养环境,置于 25 ± 1 ℃恒温黑暗条件下培养。每处理 3 次重复。在培养的 7 d、14 d 取样,按液土比 10∶1 加入 2 mol L^{-1}的 KCl 溶液,振荡1 h,过滤,测定滤液中的铵态氮和硝态氮含量。

1.3 分析方法

参考文献[17],土壤有机碳用丘林法,全氮用半微量凯氏法,土壤 pH(水土比 2.5∶1)采用电位计法,颗粒组成用吸管法。

NH_4^+ - N、NO_3^- - N 用 2 mol L^{-1}KCl 溶液提取后,采用 Bran + Luebbe 流动分析仪测定。

1.4 结果计算

土壤氮素矿化量为土壤培育后与培育前的矿质氮量([NH_4^+ - N] + [NO_3^- - N])之差。硝化率为加硫酸铵培养后土壤中硝态氮占矿质态氮的百分含量,即:

硝化率(%) = [NO_3^- - N]/([NH_4^+ - N] + [NO_3^- - N]) × 100%。

反硝化速率为加硝酸钾培养后单位培养天数内硝态氮含量的降低值[18],即:

反硝化速率 = ([NO_3^- - N]$_{培育前}$ - [NO_3^- - N]$_{培育后}$)/培养时间。

数据处理采用 Excel 和 SPSS13.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 添加葡萄糖对不同肥力黑土氮素矿化的影响

2.1.1 不同肥力黑土的氮素矿化量变化 用培育试验研究土壤氮素矿化量时,一般以培养后土壤中矿质氮的增量作为矿化量的量度[19]。结果显示(表 2),培养至 7 d 时,高肥力黑土中矿质氮含量显著高于低肥力黑土($p < 0.05$),培养第一周(0 ~ 7 d)的土壤氮素矿化量是低肥力黑土的 1.8 倍,表明高肥力黑土氮素矿化作用大于低肥力黑土。培养至 14 d 时,土壤中矿质氮含量低于第 7 天,这可能是由于培养前期产生的高浓度的 NH_3 对氨化微生物产生了抑制作用及其他微生物对矿化产生的 NH_4^+ - N 的利用所导致[20]。

2.1.2 添加葡萄糖对不同肥力黑土氮素矿化量的影响 添加葡萄糖处理后,供试土壤中矿质氮含量与未添加葡萄糖的对照处理相比显著降低($p < 0.05$)。培养第一周,2 个供试黑土的氮素矿化量均为负值,表明添加葡萄糖抑制了土壤氮素的矿化。

培养的第二周,土壤氮素矿化量虽仍为负值,但相比第一周明显升高,表明添加葡萄糖对土壤氮素矿化的抑制作用主要发生在培养的第一周。因此采用培养第一周添加葡萄糖处理与对照相比土壤氮素矿化量的降幅作为抑制效果的指标进行评价,能够比较真实地反映添加葡萄糖对氮素矿化的抑制作用在不同土壤间的差异。结果表明,添加葡萄糖后,高肥力、低肥力黑土氮素矿化量与对照相比分别减少了 32.14 mg kg^{-1}、37.18 mg kg^{-1},降幅分别为 280.5%、582.8%,彼此间差异显著($p<0.05$),表明添加葡萄糖对土壤氮素矿化的抑制作用在不同肥力黑土间存在显著差异,在低肥力土壤中抑制作用大于高肥力土壤。

表 2　培养期间添加葡萄糖对黑土氮素矿化的影响

土壤类型	土壤矿质氮含量 (mg kg^{-1})					土壤氮素矿化量 (mg kg^{-1})			
	0 d	7 d		14 d		0 ~ 7 d		7 ~ 14d	
		对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖
低肥力黑土	39.73 ± 1.33A	46.25 ± 0.74aA	9.07 ± 0.54bA	38.78 ± 0.11aA	8.22 ± 0.45bA	6.38 ± 0.74aA	−30.80 ± 0.54bA	−7.47 ± 0.11aA	−0.85 ± 0.45bA
高肥力黑土	88.32 ± 1.48B	99.24 ± 0.07aB	67.10 ± 0.25bB	96.62 ± 0.12aB	62.47 ± 0.38bB	11.46 ± 0.07aB	−20.68 ± 0.25bB	−2.62 ± 0.12aB	−4.63 ± 0.38bB

注:表中数值为 3 个重复的平均值 ± 标准差,行中不同小写字母表示相同时间不同处理间差异显著 $p<0.05$,同列不同大写字母表示不同肥力土壤间差异显著 $p<0.05$

2.2　添加葡萄糖对不同肥力黑土硝化作用的影响

2.2.1　不同肥力黑土硝化率的变化　硝化作用是土壤中氮素转化的重要过程。结果显示(表 3),不同肥力水平黑土硝化率差异显著($p<0.05$)。培养至 7 d 时,低肥力黑土硝化率为 28.4%,而高肥力黑土则达 63.3%,高肥力黑土硝化率是低肥力黑土的 2.2 倍。随培养时间延长,黑土硝化率进一步增加,至 14 d 时,低肥力黑土硝化率增至 36.0%,而高肥力黑土增至 77.4%。上述结果表明高肥力黑土硝化作用强度大于低肥力黑土。

2.2.2　添加葡萄糖对不同肥力黑土硝化作用的影响　表 3 结果显示,添加葡萄糖后土壤硝化率低于对照处理,表明添加葡萄糖抑制了黑土硝化作用。从表 3 结果还可知,与培养至 7 d 时相比,培养至 14 d 时添加葡萄糖处理与对照间硝化率的差值减小,说明添加葡萄糖对黑土硝化的抑制作用主要发生在培养的第一周。因此以培养第一周的硝化率变化评价添加葡萄糖对不同肥力黑土硝化抑制作用的差异。结果表明,添加葡萄糖后,低肥力黑土硝化率为 13.9%,较对照处理降低了 50.9%,而高肥力黑土硝化率为 57.8%,仅较对照降低了 8.8%,表明添加葡萄糖对硝化的抑制作用在低肥力土壤上大于高肥力土壤。

表 3　培养期间添加葡萄糖对黑土硝化作用的影响

土壤类型	硝化率(%)			
	7 d		14 d	
	对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖
低肥力黑土	28.37 ± 0.71aA	13.93 ± 1.18bA	36.03 ± 2.62aA	29.66 ± 1.82aA
高肥力黑土	63.34 ± 0.68aB	57.75 ± 0.19bB	77.40 ± 1.11aB	73.30 ± 2.16bB

2.3　添加葡萄糖对不同肥力黑土反硝化作用的影响

2.3.1　不同肥力黑土的反硝化速率　不同肥力黑土的反硝化速率差异明显(表 4)。以培养第一周的反硝化速率评价不同土壤间反硝化作用强度的差异。由表 4 可知,培养第一周高肥力黑土的反硝化速率为 N 7.53 mg kg^{-1}d^{-1},而低肥力黑土为 N 4.19 mg kg^{-1}d^{-1},高肥力黑土反硝化速率是低肥力黑土的 1.8 倍,表明高肥力黑土反硝化作用强度大于低肥力黑土。

2.3.2 添加葡萄糖对不同肥力黑土反硝化作用的影响 添加葡萄糖促进了黑土反硝化作用。低肥力黑土中添加葡萄糖处理培养至 7 d 时土壤中硝态氮残留量仅有 1.17 mg kg^{-1},极显著低于对照处理 133.96 mg kg^{-1}的残留($p<0.01$),至 14 d 时土壤中未能检出硝态氮,说明硝态氮已全部消耗完,反硝化完全。高肥力黑土添加葡萄糖处理在 7 d 时硝态氮残留量也仅有 1.19 mg kg^{-1},远低于对照 158.85 mg kg^{-1}的残留($p<0.01$),至 14 d 时也基本反硝化完全。

同样以培养第一周的反硝化速率变化评价添加葡萄糖对不同肥力土壤反硝化作用促进效果的差异。结果表明,添加葡萄糖后,低、高肥力黑土反硝化速率分别为 N 22.14、30.05 mg $kg^{-1}d^{-1}$,其中低肥力土壤添加葡萄糖后反硝化速率与对照相比提高了 428.4%,高肥力土壤提高了 299.1%,彼此间差异显著,表明添加葡萄糖对反硝化作用的促进作用在低肥力土壤上显著大于高肥力土壤。

表 4 培养期间添加葡萄糖对黑土反硝化作用的影响

土壤类型	硝态氮残留量 (mg kg^{-1})				反硝化速率 (N mg $kg^{-1}d^{-1}$)	
	7 d		14 d		0~7 d	
	对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖	对照	添加葡萄糖
低肥力黑土	133.96±7.11a	1.17±0.05b	81.48±0.52a	0.00±0.00b	4.19±0.14aA	22.14±0.01bA
高肥力黑土	158.85±7.46a	1.19±0.17b	100.48±3.14a	0.19±0.19b	7.53±1.07aB	30.05±0.03bB

3 讨 论

研究结果显示,高肥力黑土氮素矿化量大于低肥力黑土,添加葡萄糖降低了土壤氮素矿化量。土壤氮素矿化量是土壤有机氮矿化与矿质氮微生物固持相对变化的结果[4]。土壤有机氮矿化大于矿质氮的微生物固持时,总体表现为土壤有机氮的净矿化,矿化量大于零;反之,则表现为矿质氮的净生物固持,矿化量小于零。而土壤有机氮的矿化和矿质氮的微生物固持的相对强弱是土壤中可矿化有机氮含量与可被微生物利用的碳源数量及二者的相对比例综合作用的结果。土壤肥力水平高,土壤中有机质含量高,微生物数量多,微生物活动剧烈,土壤有机氮矿化快,矿化量高;反之,土壤肥力水平低,养分元素含量也低,微生物数量少,活性低,导致矿化量也低,因此高肥力黑土氮素矿化量大于低肥力黑土。土壤中加入葡萄糖,以外源方式提供了微生物可利用的活性碳源,微生物对矿质氮的固持作用增强,矿化作用相对受到抑制,因此添加葡萄糖后土壤中矿质氮含量降低,黑土氮素矿化作用受到抑制,与张乐等[21]的研究结果一致。在不添加外源碳的情况下,高肥力黑土氮素矿化量大于低肥力黑土的结果也揭示,高肥力黑土中可矿化有机氮与可被微生物利用的活性碳的比例高于低肥力黑土,高肥力黑土中有机氮更易矿化为无机氮供作物吸收利用。因此,应保持较高的物质投入水平,不断提高土壤肥力,以提高土壤氮素供应能力及生产力。

相关分析结果表明,高肥力黑土硝化作用大于低肥力黑土,添加葡萄糖抑制了黑土硝化作用。供试黑土 pH 分别为 6.36、5.53(表 1),在此 pH 下,硝化作用以自养硝化为主[22],而 pH 是影响自养硝化的主要因子,高肥力黑土 pH 大于低肥力黑土,硝化作用容易进行,因此硝化作用强度大于低肥力黑土。同时由于硝化作用以自养硝化为主,碳源通过对异养硝化作用的调节对整体硝化作用产生的影响可能较小,其对硝化作用的影响可能在于通过影响微生物对硝化作用的基质铵态氮的含量间接影响土壤的硝化作用[23]。添加葡萄糖微生物对矿质氮的固持增强,铵态氮含量降低,硝化作用的底物减少,不利于硝化作用的进行,因此添加葡萄糖抑制了黑土硝化作用。

研究结果还表明,黑土反硝化作用亦表现为高肥力大于低肥力,外源碳添加促进了黑土反硝化活性。反硝化细菌是土壤生物反硝化的主要作用者,绝大多数的反硝化细菌是化能异养型的,它们需要有机物质作为电子供体和细胞能源。因此,土壤中有机物质的生物有效性是调控土壤生物反硝化速率和作用强度的重要因子[24]。土壤有机质含量高,土壤中可供反硝化微生物利用的碳源多,反硝化活性高,因此高肥力黑土反硝化作用活性大于低肥力黑土。土壤中添加葡萄糖,加入了化能异养型反硝

化细菌所能利用的碳源,提高了土壤反硝化活性。

本项研究结果还显示,添加葡萄糖对土壤氮素矿化、硝化作用的抑制效果和反硝化作用的促进效果在不同肥力土壤间有显著差异,在低肥力土壤上的调控作用大于高肥力土壤。由于微生物是土壤生物化学过程的主要参与者和土壤养分循环的重要驱动力,微生物活性的高低对土壤氮素转化至关重要。同时,土壤微生物活性又会受到外加能源和养分供给的强烈影响。张乐等[21]的研究结果显示,土壤微生物活性受到能源和养分供给的显著影响,不同肥力的土壤中微生物对养分元素的转化能力和碳素需求有所不同,在低有机质含量的土壤中,碳源是微生物活性的限制因子,由于受到养分不足的严重限制,其微生物数量低于高肥力土壤,但对外加养分则更加敏感,碳源的输入可快速改变微生物的存在状态,增加其养分同化能力,使微生物群落增殖速度高于高肥力土壤。基于上述原因,低肥力土壤中添加葡萄糖后,土壤微生物对碳源的利用效率较高,微生物活性的增强幅度大于高肥力土壤,矿质氮的生物固持作用及反硝化作用的增强幅度较大,从而造成了添加葡萄糖对土壤氮素调控作用的效果在低肥力土壤上大于高肥力土壤。这一结果也启示,在低肥力土壤上大量施用秸秆等有机物,可能造成微生物对矿质氮的大量固持,更显著地影响氮素供应和作物的氮素利用。必须通过补充化学氮肥,以保证作物的养分需求。

总的来说,活性碳源对黑土矿化的抑制作用降低了土壤铵态氮含量,减小了氮素通过氨挥发损失的风险,对硝化作用的抑制降低了反硝化作用所需的底物,进而减小了氮素通过反硝化损失的风险。因此培肥黑土,提高其活性有机碳含量,对于减小氮素损失和降低对环境的负面效应具有积极意义。

参 考 文 献

[1] 张福锁, 王激清, 张卫峰, 等. 中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径. 土壤学报, 2008, 45(5): 915—924

[2] LIN D X, FAN X H, HU F, et al. Ammonia volatilization and nitrogen utilization efficiency in response to urea application in rice fields of the Taihu Lake region, China. Pedosphere, 2007, 17 (5): 639—645

[3] 朱兆良. 中国土壤氮素研究. 土壤学报, 2008, 45(5): 778—783

[4] 朱兆良, 文启孝. 中国土壤氮素. 南京: 江苏科学技术出版社, 1992

[5] 范晓晖, 朱兆良. 旱地土壤中的硝化-反硝化作用. 土壤通报, 2002, 33(5): 385—391

[6] Stanford G, Vander Pol R A, Dzienia S. Denitrification rates in relation to total and extractable soil carbon. Soil Science Society of America, 1975, 39: 284—289

[7] Colbourn P, Lqbal M M, Harper I W. Estimation of the total gaseous nitrogen losses from clay soils under laboratory and field conditions. European Journal of Soil Science, 1984, 35: 11—22

[8] Bijay-Singh J C, Ryden J C, Whitehead D C. Some relationships between denitrification potential and fractions of organic carbon in air-dried and field-moist soils. Soil Biology and Biochemistry, 1988, 20: 737—741

[9] Noé M M, Felipe G O, Victor J J. Dissolved organic carbon affects soil microbial activity and nitrogen dynamics in a Mexican tropical deciduous forest. Plant Soil, 2007, 295: 265—277

[10] 吕殿青, 张树兰, 杨学云. 外加碳、氮对土壤氮矿化、固定与激发效应的影响. 植物营养与肥料学报, 2007, 13 (2): 223—229

[11] Gentile R, Vanlauwe B, Chivenge P, et al. Interactive effects from combining fertilizer and organic residue inputs on nitrogen transformations. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40: 2 375—2 384

[12] Han K H, Choi W J, Han G H, et al. Urea-nitrogen transformation and compost – nitrogen mineralization in three different soils as affected by the interaction between both nitrogen inputs. Biol Fertil Soils, 2004, 39: 193—199

[13] 李辉信, 胡锋, 郭和生, 等. 添加碳源、磷和石灰对红壤氮素矿化和硝化作用的影响. 土壤, 2001, 32(3): 135—137

[14] Murray P J, Hatch D J, Dixon E R, et al. Denitrification potential in a grassland subsoil: effect of carbon substrates. Soil Biology & Biochemistry, 2004, 36: 545—547

[15] 赵丽娟, 韩晓增, 王守宇, 等. 黑土长期施肥及养分循环再利用的作物产量及土壤肥力变化 Ⅳ. 有机碳组分的变化. 应用生态学报, 2006, 17(5): 817—821

[16] 解宏图, 郑立臣, 何红波, 等. 东北黑土有机碳、全氮空间分布特征. 土壤通报, 2006, 37(6): 1 058—1 061

[17] 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

[18] Lang M, Cai Z C. Effects of chlorothalonil and carbendazim on nitrification and denitrification in soils. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21: 458—467

[19] 李辉信, 胡锋, 刘满强, 等. 红壤氮素的矿化和硝化作用特征. 土壤, 2000, 32(4): 194—197

[20] 李紫燕, 李世清, 李生秀. 黄土高原典型土壤有机氮矿化过程. 生态学报, 2008, 28(10): 4 940—4 950

[21] 张乐, 何红波, 章建新, 等. 不同用量葡萄糖对土壤氮素转化的影响. 土壤通报, 2008, 39(4): 775—778

[22] 金雪霞, 范晓晖, 蔡贵信, 等. 菜地土壤氮素矿化和硝化作用的特征. 土壤, 2004, 36(4): 382—386

[23] 钱琛. 亚热带红壤的硝化作用及其对 NO_3-N 淋溶和土水酸化的影响. 南京: 中国科学院南京土壤研究所, 2008

[24] 俞慎, 李振高. 稻田生态系统生物硝化-反硝化作用与氮素损失. 应用生态学报, 1999, 10(5): 630—634