

# 不同利用年限茶园土壤矿化、硝化作用特性\*

薛冬 姚槐应<sup>†</sup> 黄昌勇

(浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

## CHARACTERISTICS OF MINERALIZATION AND NITRIFICATION IN SOILS OF TEA GARDENS DIFFERENT IN AGE

Xue Dong Yao Huaiying<sup>†</sup> Huang Changyong

(College of Environmental and Resource Sciences of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

关键词 茶园土壤; 矿化作用; 硝化作用

中图分类号 F301.24; S154.3

文献标识码 A

茶叶 (*Camellia sinensis*) 是重要的经济作物, 茶树具有耐酸耐铝毒等特性, 适合在热带亚热带的酸性土壤种植。由于茶园的施肥管理, 茶树凋落物归还土壤以及根系分泌物等原因, 茶园土壤随着植茶年龄的增加, 土壤理化性质会发生一系列变化。如土壤 pH 值下降, 钙、镁等盐基离子和微量元素相对缺乏<sup>[1~4]</sup>, 而铝、氟和多酚类物质逐渐在茶园土壤中富集<sup>[5,6]</sup>, 形成了非常独特的茶园土壤生态系统。

土壤碳、氮的矿化和硝化作用是土壤中碳、氮转化的两个重要的微生物学过程, 又是植物碳氮营养元素的活性库<sup>[7]</sup>。净氮矿化作用与净硝化作用通常被作为温带林地土壤生态系统供氮能力的评价指标<sup>[8]</sup>, 大量研究资料表明<sup>[9~11]</sup>, 在氮含量高的土壤中, 较强的硝化作用还能够导致土壤酸化、缓冲能力下降、硝酸根以及阳离子淋溶等土壤理化性质的变化。

于是, 生态性质独特的茶园土壤的矿化和硝化作用无疑与其他土壤生态系统存在不同特性, 然而在这方面缺少深入研究。本研究以杭州西湖梅家坞不同植茶年龄 (0、8、50、90 a) 土壤为研究对象, 探讨茶园土壤碳、氮的净矿化作用和净硝化作用特性及施尿素对茶园土壤 pH、脲酶活性和硝化作用的影响, 试图揭示茶园种植年龄对土壤矿化和硝化二个重要微生物学过程的影响, 为茶园土壤的科学利用

和管理、提高茶叶产量品质及促进茶园生态系统可持续发展提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样地点及土壤样品

土样取自浙江省杭州市西湖龙井名茶产区梅家坞谷内中段 (30°11' N, 120°05' E), 此区属中亚热带湿润季风气候, 年平均气温 15℃, 年平均降雨量大约 1500 mm。土壤为发育于石英砂岩 (薄层页岩相间) 母质上的红壤。为研究茶园植茶年龄对土壤生物化学过程的影响, 分别采取 0 a (荒地)、8 a、50 a 和 90 a 茶园土壤, 为比较茶园土壤与林地土壤的区别, 采集附近同一母质并具有相似地形地貌特征, 种植针阔混交林 90 a 的林地土壤样品。多点随机采集土样, 采样深度为 0~20 cm。采集的新鲜土样充分混匀过 2 mm 筛后, 一部分装入无菌塑料袋内, 贮存于 4℃ 的冰箱中, 经过 7 d 的活化后供微生物生物量碳、基础呼吸和培养试验用。另一部分于室内自然风干供土壤基本化学性质测定。

### 1.2 研究方法

1.2.1 土壤基本化学性质测定 参考文献 [12]。土壤 pH 以 1:2.5 土水比用复合电极测定; 全氮用浓硫酸消煮-氮磷流动分析仪定量法; 土壤有机碳用

\* 国家自然科学基金项目 (30200164, 40371063) 资助

† 通讯作者, E-mail: huaiyingyao@zju.edu.cn

作者简介: 薛冬 (1978~), 女, 河南鹿邑人, 博士, 主要从事土壤微生物生态、土壤生物化学方面的研究。E-mail: xuedong2004@zju.edu.cn

收稿日期: 2005-11-30; 收到修改稿日期: 2006-02-20

重铬酸钾容量法 - 外加热法;铵态氮和硝态氮采用  $1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl 提取,提取液中铵态氮和硝态氮用氮磷流动分析仪测定。

1.2.2 土壤微生物学性质测定 土壤微生物量碳采用氯仿熏蒸 -  $0.5 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{SO}_4$  提取<sup>[13]</sup>,提取液中可溶性有机碳用 TOC-500 有机碳自动分析仪测定;土壤基础呼吸采用室内密闭培养法测定<sup>[12]</sup>。

1.2.3 土壤碳矿化作用测定 称取新鲜土壤样品(相当于 25 g 烘干土重),调节土壤含水量至田间持水量的 45%,后装于具有橡皮塞的 500 mL 三角瓶中,内置装有 10 ml  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  浓度的 NaOH 溶液的小玻璃瓶,用以吸收有机碳分解释放出的  $\text{CO}_2$ ,每个处理 3 个重复。于 25 °C 的恒温培养箱内培养,分别在培养的第 0、5、15、35 和 45 天取出装有 NaOH 溶液小瓶,用 HCl 滴定。碳的净矿化量为 45d 的培养时间内释放出的  $\text{CO}_2$  总量。

1.2.4 土壤氮矿化、净硝化作用及脲酶活性的测定 称取新鲜土壤样品(相当于 300 g 烘干土重),调节土壤含水量至田间持水量的 45%,装于 500 ml 塑料烧杯中,用具有透气作用的薄膜封口,于恒温恒湿(25 °C, 95% 的相对湿度)的培养箱内培养。每个处理 3 个重复。分别在培养的第 0、5、15、35 和 45 天,同本文 1.2.1 节介绍的方法测定土壤 pH、 $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和  $\text{NO}_3^--\text{N}$  含量,调节土壤含水量后立即测定的值为第 0 天的测定值。氮矿化量为第 45 天的矿质态 N ( $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$ ) 与第 0 天的矿质

态 N ( $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$ ) 之差值,氮净硝化量为第 45 天的  $\text{NO}_3^--\text{N}$  与第 0 天的  $\text{NO}_3^--\text{N}$  之差值。脲酶活性测定采用靛酚蓝比色法<sup>[14]</sup>。

为测定施肥对 pH、脲酶活性和净硝化作用的影响,称取新鲜土壤样品(相当于 300 g 烘干土重),施入  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2-\text{N}$   $400 \text{ mg kg}^{-1}$  土壤,并充分混匀。与上述氮矿化、硝化作用完全相同条件培养,测定参数及方法也相同。

1.2.5 数据统计 采用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行处理,数据为 3 次重复的平均值,采用单因子方差分析,计算最小显著性差异(LSD),对不同样品平均值之间进行多重比较。

## 2 结果分析

### 2.1 茶园土壤的化学和生物学特性

从表 1 可见,从荒地到幼龄、中龄、老龄茶园的转变,土壤 pH 明显下降( $p < 0.05$ ),而土壤有机碳和全氮显著增加( $p < 0.05$ )。与林地比较,90 a 老龄茶园土壤有机碳比林地小,全氮比林地大。值得注意的是,茶园土壤的矿质态氮( $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$ )明显高于荒地和林地( $p < 0.05$ ),并以 50 a 中龄茶园土壤最高,其次为幼龄茶园土壤。其中主要以硝态氮的形态存在,其含量是铵态氮的 6~9 倍。50 a 中龄茶园土壤中积累的硝态氮也明显高于 8 a 和 90 a 茶园土壤。

表 1 不同茶龄土壤化学和微生物学性质的变化

| 土样编号 | 利用方式   | pH<br>( $\text{H}_2\text{O}$ ) | 有机碳<br>( $\text{g kg}^{-1}$ ) | 全氮<br>( $\text{g kg}^{-1}$ ) | 矿质态氮<br>( $\text{mg kg}^{-1}$ ) | 硝态氮<br>( $\text{mg kg}^{-1}$ ) | 微生物量碳<br>( $\text{C } \mu\text{g g}^{-1}$ ) | 基础呼吸<br>( $\text{CO}_2\text{-C } \mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) |
|------|--------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---|---|
| 1    | 荒地     | 5.16                           | 7.37                          | 0.85                         | 12.49                           | 6.61                           | 68.97                                       | 0.55  |
| 2    | 8a 茶园  | 4.22                           | 13.86                         | 1.35                         | 54.64                           | 46.62                          | 176.14                                      | 1.18  |
| 3    | 50a 茶园 | 4.01                           | 22.15                         | 2.05                         | 63.16                           | 56.11                          | 357.67                                      | 1.67  |
| 4    | 90a 茶园 | 3.71                           | 26.25                         | 2.29                         | 44.67                           | 40.26                          | 224.94                                      | 1.32  |
| 5    | 90a 林地 | 3.94                           | 27.47                         | 1.75                         | 22.68                           | 13.48                          | 260.55                                      | 1.42  |

随植茶年龄的增加,茶园土壤的微生物量碳和基础呼吸均发生明显变化(表 1),其变化趋势与土壤  $\text{NO}_3^--\text{N}$  的变化完全一致,即 50 a 中龄茶园土壤明显高于 8 a 和 90 a 茶园土壤( $p < 0.05$ )。与荒地和 90 a 林地比较,茶园土壤的微生物量碳和基础呼吸明显高于荒地,而与林地土壤的差异不明显。

### 2.2 茶园土壤矿化、硝化作用特性

在 45 d 培养期间内,土壤释放的  $\text{CO}_2\text{-C}$  总量随着培养时间线性增加(表 2),其线性回归方程的斜率在不同土壤中有明显差异,50 a 中龄茶园土壤显著高于其他供试土壤,荒地最低。三个茶园土壤的矿质态氮积累量(图 1a)随着培养时间的增加有明显

增加的趋势,其增加率显著大于荒地和林地,并且 50 a 茶园土壤矿质态氮的增加率显著高于 8 a 和 90 a 茶园土壤。在 45 d 培养时间内,随着茶园植茶年龄的增加,三个茶园土壤碳和氮的总净矿化量发

生明显的变化,从荒地到 8 a、50 a 茶园明显增加 ( $p < 0.05$ ),从 50 a 到 90 a 茶园又显著下降 ( $p < 0.05$ ),并且 50 a 中龄茶园土壤碳和氮的总净矿化量高于林地土壤。

表 2 培养 45 d 期间不同茶龄土壤释放的  $\text{CO}_2\text{-C}$  的积累量与培养时间的线性回归方程

| 土样编号 | 利用方式    | 方程式                    | $R^2$    |
|------|---------|------------------------|----------|
| 1    | 荒地      | $Y = 2.3319X + 15.385$ | 0.9446** |
| 2    | 8 a 茶园  | $Y = 19.010X + 24.038$ | 0.9911** |
| 3    | 50 a 茶园 | $Y = 30.213X + 31.810$ | 0.9924** |
| 4    | 90 a 茶园 | $Y = 25.084X + 35.233$ | 0.9910** |
| 5    | 90 a 林地 | $Y = 23.121X + 19.436$ | 0.9848*  |

注:  $Y$  表示在某一时间内土壤释放出的  $\text{CO}_2\text{-C}$  总量 ( $\text{CO}_2\text{-C } \mu\text{g g}^{-1}$ );  $X$  表示培养时间(d); \*\* 表示相关性在 1% 水平上极显著; \* 表示相关性在 5% 水平上显著

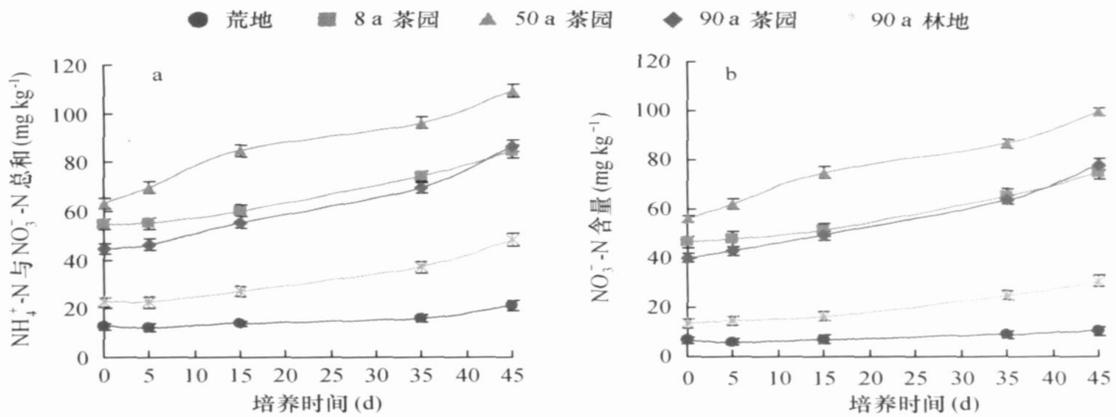


图 1 培养 45 d 期间土壤  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  与  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  总和(a)以及  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量(b)的变化

从图 1b 可见,三个茶园土壤硝态氮含量随培养时间有明显增加的趋势,而荒地和林地的增加趋势不明显,并且 50 a 茶园土壤硝态氮量的增加显著高于 8 a 和 90 a 茶园土壤。在 45 d 培养时间内,8 a 幼龄、50 a 中龄和 90 a 老龄茶园土壤的净硝化量分别是荒地的 7.38 倍、11.28 倍和 9.87 倍,以 50 a 茶园土壤的净硝化量最高,并且三个茶园土壤的净硝化量也远远高于林地土壤。

### 2.3 施肥对茶园土壤 pH、脲酶和硝化作用的影响

比较图 1、图 2 可知,三个茶园土壤在尿素施入后的第 5 天矿质态氮达到最大值,而后随着培养时间变化不明显。而荒地和林地,尿素施入 5 d 后矿质态氮继续增加,培养 15 d 后,矿质态氮量仍缓慢增加。而对硝化作用的影响却明显不同,8 a、50 a 和 90 a 三个茶园土壤中由施尿素引起的硝

态氮的增加量分别为: 305.11、374.02 和 260.75  $\text{mg kg}^{-1}$ ,荒地和林地土壤硝态氮的增加量相对较小,分别为 8.82、77.04  $\text{mg kg}^{-1}$ ,并且,50 a 茶园土壤中硝态氮的增加量明显大于 8 a 和 90 a 茶园土壤 ( $p < 0.05$ )。

比较图 3、图 4 可知,无论是施肥处理还是对照不施肥处理, pH 和脲酶活性的变化趋势很相似。对照不施肥处理,茶园土壤及荒地、林地土壤,随培养时间变化极小,而施肥能明显增加荒地及林地土壤的 pH 和脲酶活性,并在第 5 天达到最大值后随着时间增加趋向平缓。与荒地和林地相比,茶园土壤很特殊,施肥后在第 5 天达到最大值,而后有明显减小的趋势,在第 40 天后,三个茶园土壤的 pH 和脲酶活性均明显低于对照不施肥处理,并且 50 a 茶园由施肥引起的

pH和脲酶活性的降低值明显大于8a和90a茶园土壤。

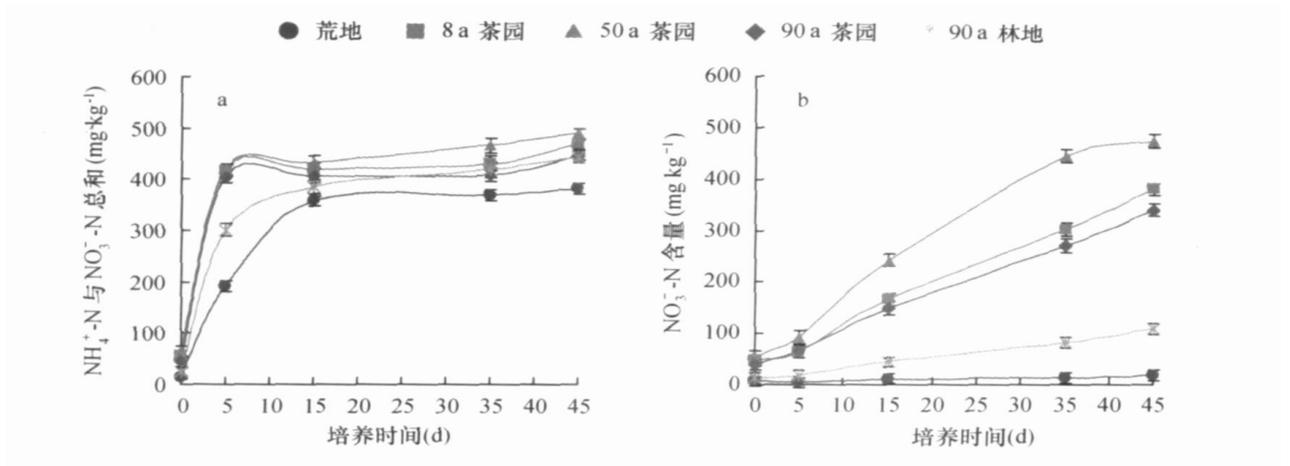


图2 培养45 d期间施肥处理土壤 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 与 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 总和(a)以及 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 含量(b)的变化

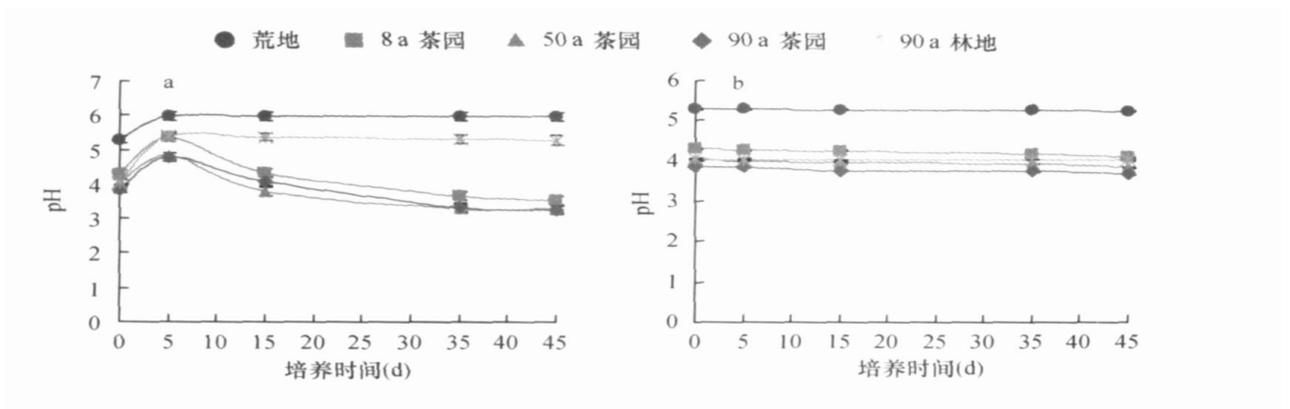


图3 培养45 d期间施肥处理(a)与未施肥处理(b)土壤pH的变化

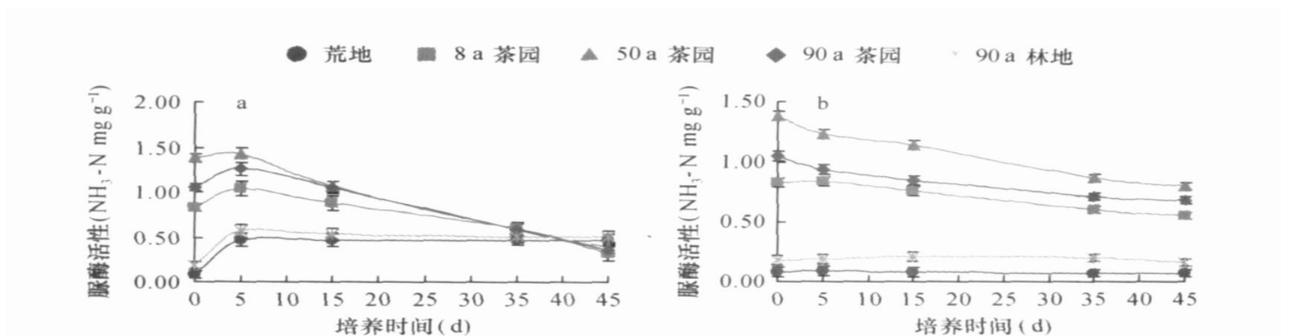


图4 培养45 d期间施肥处理(a)与未施肥处理(b)土壤脲酶活性的变化

### 3 讨论

随着茶树凋落物、根系分泌物归还土壤及长期施用氮肥,茶园土壤有机碳和全氮逐年增加(表1),

但土壤碳、氮的净矿化作用和净硝化作用并不总是与有机碳同步增加,而是与微生物量碳和基础呼吸有相似的变化趋势,由8a幼龄茶园到50a中龄茶园,有明显增加的趋势( $p < 0.05$ ),由50a中龄茶园到90a老龄茶园,有明显减小的趋势( $p < 0.05$ ).这

表明随着茶园种植年龄的增加,茶园土壤生态系统不断演化,在土壤理化性质发生变化的同时,土壤微生物的数量和活性也发生明显的变化,但其生物学特性的变化并不总是与化学性质的变化同步。茶树种植及施肥管理对土壤微生物生态有积极和消极二方面的影响:积极的方面是能够增加土壤有机碳和养分供应能力,进而增强微生物活性;消极的方面是随茶园种植年龄的增加,土壤严重酸化、Al 毒和抗菌性物质积累,又可能导致微生物数量和活性的下降。本试验中龄茶园土壤的微生物生态指标明显优于幼龄茶园和老龄茶园,显然是微生物对茶园生态的正负两方面反馈效应的综合反映。

一般认为土壤微生物将铵态氮转化为硝态氮在 pH 小于 5 的情况下是不能进行的<sup>[15]</sup>。然而本研究结果(表 1、图 1b)表明,尽管茶园土壤 pH 小于 5 (3.71~4.22),但它有很强的净硝化作用。可能原因有:(1)茶园土壤可能含有一定的耐酸性自养硝化细菌。如 Walker 和 Wickramasinghe 等<sup>[16]</sup>从孟加拉国的强酸性(pH 4.0~4.5)茶园土壤中分离到了 *Nitrosospora* spp 耐酸性菌株。其耐酸的机理可能为,它们本是酸敏感的菌株已经变得能够适应低 pH 环境,或者硝化细菌本身所内含的胞外物质可能提供低 pH 下硝化作用所需要的合适条件。(2)茶园土壤长期施用氮肥刺激了土壤的硝化作用。大量的研究证明<sup>[17~19]</sup>,施入土壤的氮肥释放出大量的铵,对硝化细菌群落和硝化作用有刺激作用,长期施肥的土壤都表现出较高的硝化活性。本研究施尿素的试验结果(图 1、图 2)也表明施尿素能够刺激土壤的硝化作用。(3)土壤团聚体结构非常复杂,可能含有 pH 中性的微域环境。

本研究选取的茶园和林地土壤都是典型的酸性土壤,pH 相似,研究结果表明,茶园土壤的净硝化作用却显著高于林地( $p < 0.05$ ),这显然与茶园土壤长期施用氮肥,大量的铵态氮底物刺激了参与硝化作用的微生物活性有关。另一方面,由于植被类型被认为是决定微生物群落的最关键因子<sup>[20]</sup>,茶园和林地土壤微生物群落间的差异也很可能会影响硝化细菌活性和硝化作用强度。此外,微生物对硝态氮的同化作用也可能是导致林地土壤净硝化速率较低的原因之一,已有研究表明<sup>[21]</sup>,在铵缺少的土壤微域环境,硝酸盐会被微生物同化,林地土壤铵态氮经过硝化作用转变成硝态氮后很容易被微生物同化。

脲酶参与尿素类物质的水解,在调节氮素循环以及施入的尿素对植物的有效性方面发挥重要

作用。研究结果表明(图 3、图 4),脲酶活性与 pH 有相同的变化趋势,在荒地和林地土壤中,因尿素水解,pH 和脲酶活性都迅速增加到最大值,而后二者均维持不变。然而,在三个茶园土壤中,pH 和脲酶活性达到最大值后又减小到明显低于未施肥的对照,这可能由于茶园土壤较强的硝化作用导致土壤 pH 明显下降,而 pH 下降降低了脲酶活性,施肥后茶园土壤硝态氮迅速增加的变化趋势支持了这个推测。并且 50 a 茶园由施肥引起的 pH 和脲酶活性的降低值明显大于 8 a 和 90 a 茶园土壤,这与 50 a 茶园土壤的硝化作用明显大于 8 a 和 90 a 茶园土壤是一致的。

## 4 结 论

1) 随着茶园植茶年龄的增加,茶园土壤有机碳逐年增加,土壤碳、氮的净矿化作用和净硝化作用与微生物量碳和基础呼吸有相似的变化趋势,其中中龄(50 a)茶园显著大于幼龄(8 a)和老龄(90 a)茶园,但土壤矿化和硝化作用并不总是与有机碳同步增加,而与土壤微生物学性质有密切联系。

2) 施用尿素明显提高茶园土壤的硝化作用,幼龄、中龄和老龄茶园土壤及荒地和林地土壤因施尿素增加的硝态氮量分别为 305.11、374.02、260.75、8.82 和 77.04  $\text{mg kg}^{-1}$ ,中龄茶园明显大于幼龄、老龄茶园及荒地和林地( $p < 0.05$ )。

3) 施用尿素起初 5 d,茶园土壤 pH 和脲酶活性迅速上升到最大值,而后下降,并渐降至低于对照不施尿素,其中中龄茶园 pH 和脲酶活性的降低值明显大于幼龄和老龄茶园。而荒地和林地土壤 pH 和脲酶活性各有增加,变化较平稳,这与茶园土壤形成明显的反差。

## 参 考 文 献

- [1] 石锦芹,丁瑞兴,刘友兆,等. 尿素和茶树落叶对土壤的酸化作用. 茶叶科学,1999,19(1):7~12
- [2] Chenery E.M. A preliminary study of aluminium and the tea bush. Plant and Soil,1995,6:174~200
- [3] Konishi S. Chemistry of tea (In Japanese). In:Muramatsu K. ed. Tea Science. Tokyo: Asakura-Shoten,1991.21~32
- [4] Tachibana N, Yoshikawa S, Ikeda K. Influences of heavy application of nitrogen on soil acidification and root growth in tea fields (In Japanese with English summary). Japanese Journal of Crop Science, 1995,64:516~522
- [5] 丁瑞兴,黄晓. 茶园—土壤系统铝和氟的生物地球化学循环及其对土壤酸化的影响. 土壤学报,1991,28(3):229~236

- [ 6 ] 俞慎,何振立,陈国潮,等. 不同树龄茶树根层土壤化学特性及其对微生物区系和数量的影响. 土壤学报,2003,40(3):433~439
- [ 7 ] 李忠佩,林心雄. 瘠薄红壤中有机物质的分解特征. 生态学报,2002,22(8):1224~1230
- [ 8 ] Robertson G P, Wedin D, Goffman P M, *et al.* Soil carbon and nitrogen availability: Nitrogen mineralization, nitrification and carbon turnover. *In*: Robertson G P, Bledsoe C S, Coleman D C. eds. Standard Soil Methods for Long Term Ecological Research. New York: Oxford University Press, 1999. 258~271
- [ 9 ] Abeliovich A. Transformations of ammonia and the environmental impact of nitrifying bacteria. Biodegradation, 1992, 3:255~264
- [ 10 ] Aber J D. Nitrogen cycling and nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. Trends in Ecology and Evolution, 1992, 7:220~223
- [ 11 ] van Breemen N, van Dijk H F G. Ecosystem effects of atmospheric deposition of nitrogen in the Netherlands. Environmental Pollution, 1988, 54:249~274
- [ 12 ] 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
- [ 13 ] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D C. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19:703~707
- [ 14 ] Keeney D R, Nelson D W. Nitrogen-inorganic forms. *In*: Page A L, Miller R H, Keeney D R. eds. Methods of Soil Analysis, Part 2. Wisconsin, USA: Am. Soc. Agro., 1982. 643~698
- [ 15 ] Stein L Y, Arp D J, Hyman M R. Regulation of the synthesis and activity of ammonia monooxygenase in *Nitrosomonas europaea* by altering pH to affect NH<sub>3</sub> availability. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63:4588~4592
- [ 16 ] Walker N, Wickramasinghe K N. Nitrification and autotrophic nitrifying bacteria in acid tea soils. Soil Biology and Biochemistry, 1979, 11:231~236
- [ 17 ] Aarnio T, Martikainen P J. Mineralization of carbon and nitrogen, and nitrification in Scots pine forest soil treated with fast and slow-release nitrogen fertilizers. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22:214~220
- [ 18 ] Mendum T A, Sockett R E, Hirsch P R. Use of molecular and isotopic techniques to monitor the response of autotrophic ammonia-oxidizing populations of the subdivision of the class Proteobacteria in arable soils to nitrogen fertilizer. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 66:4155~4162
- [ 19 ] Martikainen P J. Numbers of autotrophic nitrifiers and nitrification in fertilized forest soil. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17:245~248
- [ 20 ] Waid J S. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? Applied Soil Ecology, 1999, 13:151~158
- [ 21 ] Stark J M, Hart S C. High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. Nature, 1997, 385(6611):61~64