

# 硝化细菌在 3 种沉积土壤中的变化规律研究:

## I 硝化细菌与土壤种类的关系

王艾荣<sup>1</sup>, 罗汉金<sup>1</sup>, 梁博<sup>1</sup>, 任源<sup>1</sup>, 罗凌峰<sup>2</sup>

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510640; 2. 广州市第一一三中学, 广东 广州 510630)

**摘要:** 硝化细菌在土壤氮素转化过程中起着重要的作用, 为了研究其规律性, 选用变质岩、沉积岩和花岗岩为母质的土壤为样品, 模拟珠江三角洲地区的年降雨量和施肥量, 用室内人工土柱法研究了 3 种土壤中硝化细菌的变化规律。整个模拟过程根据施肥和灌水频率的不同分为 3 个阶段。结果表明, 硝化细菌数量的增长有滞后性。NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 浓度高于 10 mg·L<sup>-1</sup> 会抑制亚硝酸细菌的生长, 但这个浓度对硝酸细菌没有抑制作用。在 3 种土壤中, 总体上亚硝酸细菌的数量一直比硝酸细菌数量高两到 3 个数量级, 亚硝酸细菌比硝酸细菌在数量上上升较快、下降较慢, 亚硝酸细菌比硝酸细菌提前 7 d 以上达到最大值。表层 (10 cm) 和深层 (110 cm) 处变质岩土壤的硝酸细菌比沉积岩土壤和花岗岩土壤都高约一个数量级。硝酸细菌的最后值的大小顺序为沉积岩 > 花岗岩 > 变质岩, 并呈现出深层比表层下降慢的趋势; 亚硝酸细菌最后值的大小顺序为花岗岩 > 变质岩 > 沉积岩, 并呈现出深层比浅层下降快的趋势。

**关键词:** 硝化细菌; 沉积土壤; 模拟; 施肥; 灌水

**中图分类号:** X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0665-05

## Variation of Nitrifier Populations in Three Sedimentary Soils:

### I Relationships Between Nitrifiers and Soil Kinds

WANG Ai-rong<sup>1</sup>, LUO Han-jin<sup>1</sup>, LIANG Bo<sup>1</sup>, REN Yuan<sup>1</sup>, LUO Ling-feng<sup>2</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. Guangzhou 113 High School, Guangzhou 510630, China)

**Abstract:** Nitrifiers (including ammonia oxidizing bacteria (AOB) and nitrite oxidizing bacteria (NOB)) play a significant role in soil nitrogen transformation. Soil columns were used with various water and fertilizer application amounts. The amounts were typical average annual rainfall and fertilizer application quantity in Pearl River Delta. Three kinds of sedimentary soils (including altered rock, granite, and sedimentary rock) were used to investigate the transformation of nitrifier populations. According to the different sampling and rainfall frequency, the experimental period was separated to three stages. The results indicated that there was a delay in nitrifier growth. AOB were inhibited by NH<sub>4</sub><sup>+</sup> at the concentration of 10 mg·L<sup>-1</sup>, but this did not inhibit NOB. AOB populations were about 100~1 000 times larger than those of NOB. AOB increased more quickly than NOB, but diminished more slowly than NOB. AOB reached their maximum population more than 7 days ahead of NOB. In both top soil (10 cm) and deep soil (110 cm), the AOB populations in altered rock were about 10 times larger than in soils from sedimentary rock or granite. The sequence of ultimate values for NOB populations among three soils was: sedimentary rock > granite > altered rock, and the rate of decrease in deep soil was smaller than in top soil. The sequence of ultimate values for AOB populations among the three soils was: granite > altered rock > sedimentary rock, and the rate of decrease in deep soil was larger than in top soil.

**Keywords:** nitrifiers; sedimentary soil; simulation; fertilization; irrigation

收稿日期: 2007-05-31

基金项目: 教育部留学归国人员项目基金 (2004 年)

作者简介: 王艾荣 (1982—), 女, 湖北钟祥人, 在读硕士, 主要从事水土污染环境研究。E-mail: war1003.student@sina.com.cn

通讯作者: 罗汉金 E-mail: luohj@scut.edu.cn

农业化肥的大量施用,造成了地下水硝态氮污染<sup>[1]</sup>,它是地下水污染中贡献最大、范围最广的污染物之一<sup>[2]</sup>。集约化农业生产施肥引起的  $\text{NO}_3^-$ -N 负荷量占硝态氮污染总量的 60% 以上。氨挥发和氮素淋失是土壤氮素损失最主要的两大途径<sup>[3]</sup>。硝化细菌促成了硝化反应的进行,而整个硝化作用的强度与硝化细菌的数量呈极大的正相关<sup>[4]</sup>,硝化细菌是一类具有硝化作用的化能自养细菌,包括亚硝酸细菌和硝酸细菌两个生理菌群,其主要的生理特性是生长速率低、自养性、好氧性、繁殖慢等<sup>[5]</sup>。因此研究土壤中硝化细菌在施肥条件下变化规律,对于弄清肥料在土壤中的硝化机理、减少氮损失及指导农业科学施肥都具有重要的意义。

珠江三角洲是我国改革开放的前沿地区,由于耕地资源大幅减少,耕地土壤集约化利用程度高,而过去对这一地区土壤硝化、反硝化过程的研究基本没有开展。为了研究在南方地区灌水和施肥条件下,硝化细菌在不同土壤中的变化规律以及地下水硝酸盐氮的污染状况,设计了室内土柱试验,供试土壤采自地下 3 m 处,为三大岩类的沉积土壤,几乎没有受到人类活动的影响,试验背景影响较小,设计试验周期较长,能够比较完整地了在施肥条件下硝化细菌含量的变化情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于 2006 年 4 月 14 日至 2006 年 8 月 10 日在华南理工大学环境科学与工程学院温室内进行。试验期间温度约为 20~33 °C, 适宜硝化细菌的生长。3 种供试土壤分别是花岗岩变质岩发育土壤(土壤 1)、沉积岩砂岩发育土壤(土壤 2)和花岗岩发育土壤(土壤 3),土壤 1 采自广州市宜和山庄 300 m 处;土壤 2 采自广州市江沟镇江春大桥河堤;土壤 3 采自广州市东圃科学城映日路。土料风干过 2 mm 筛,土壤 1、土壤 2 和土壤 3 的干容重与土壤加入量分别为 0.877

$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , 12.38  $\text{kg}$ ; 0.925  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , 13  $\text{kg}$ ; 0.949  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , 12.27  $\text{kg}$ 。

### 1.2 试验装置

试验土柱为有机玻璃土柱,共 3 个,高 150 cm (珠江三角洲地区平均地下 1.5 m 处出现地下水),土柱外侧分布着 9 个取样孔,用橡皮塞塞住,各取样孔位置分布如图 1 所示(单位 cm)。

### 1.3 试验方法

在土柱顶部以滴加蒸馏水的方式模拟自然降水。滴灌加水方式属于间歇式非淹水方式(土表无积水)。珠江三角洲地区年平均降雨量约 1 700 mm (降雨量是在 20 cm 直径的器皿中测得,渗出 30 g 水即相当于 1 mm 的降雨量),日最大暴雨量约为 200 mm,相当于在直径 10 cm 的器皿中日降雨量为 1 500 mL,所以本试验取一个日降雨量的平均值 500 mL (相当于日降雨量约为 67 mm)。模拟全年平均降雨量 1 700 mm,则需模拟降水 28 次,共加水 14 L。土柱表层铺有一土柱直径大小、有均匀微孔的滤纸,在滴灌时使水均匀地扩散到四周,防止形成径流。

2006 年 4 月 14 日取样测定背景值,之后施肥加水,每次取样后加水,取土壤样品的同时取土壤渗滤液(即地下水)。每次在取样孔 1、3、5、6、7、9 取土样约 2 g 用于离子浓度的测定;在 2 和 8 取土样约 0.5 g,用于硝化细菌含量的测定。研究在相同施肥条件不同灌水频率;以及不施肥增大灌水频率条件下,考察两种细菌的含量变化。与之相应的设定了 3 种取样频率,灌水和取样频率见表 1 所示。

肥料品种为  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (含 N 量 46.65%) 和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 按照目前国内土壤肥料中氮和磷的平均用量分别为 800  $\text{kgN}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$  以及 400  $\text{kgN}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ <sup>[6]</sup>,则本土柱面积上尿素和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的施加总量各为 1.360 6 g 和 1.387 4 g。将肥料埋在土柱顶部以下 2 cm 处,在滴灌条件下随着水的冲刷作用进入土壤。两种肥料都是分 4 次加到土柱中,每次施加量如表 2 所示。每次 3 种土壤中肥料的施加量都相同。

表 1 灌水和取样频率

Table 1 The frequency of rainfall and sampling

灌水时间	4月14日—5月2日	5月2日—6月26日	6月26日—8月10日
灌水频率	次/4 d	次/7 d	次/3 d
共降水28次	施肥时两种灌水频率对细菌含量的影响		不施肥时增大灌水频率对细菌含量的影响
取样时间	4月14日—5月2日	5月2日—7月3日	7月3日—8月10日
取样频率	次/4 d	次/7 d	次/9 d
共取样19次	不同取样频率下细菌含量的变化		

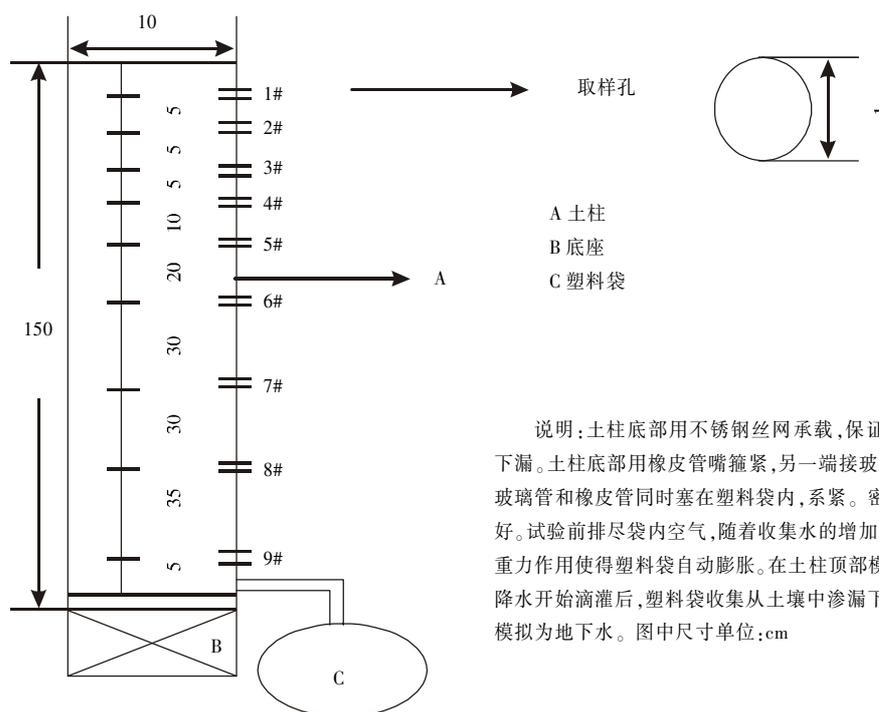


图 1 硝化反应装置图

Figure 1 Schematic diagram of nitrification system

表 2 两种肥料在不同时间的施肥量

Table 2 Dosage of two fertilizers at different times

肥料	2006年4月14日	2006年4月24日	2006年5月15日	2006年5月22日
Urea-N/g	0.40	0.28	0.40	0.28
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -K/g	0.40	0.294	0.40	0.294

硝化细菌的培养基为 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.0 g;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.25 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.75g;  $\text{CaCO}_3$  5 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.03 g;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.01 g;  $\text{NaCl}$  2 g; 蒸馏水 1 000 mL, pH 值在 7.1 左右。在 120 °C, 0.12 个大气压下, 将装有 9 mL 培养基溶液的试管以及装有 50 mL 0.9% 的 NaCl 溶液的锥形瓶灭菌, 将土样加入到灭过菌的 0.9% NaCl 溶液中, 在转速为  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下使得细菌从土壤中分散到溶液中, 经  $10 \sim 10^7$  倍稀释后接入灭菌培养基在 30 °C 培养 20~26 d。

#### 1.4 测定项目和测定方法

土样用双蒸水浸提, 水土比 10:1 (质量比)。用 Dionex 离子色谱仪 ICS-90 测定土壤浸提液中  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$  和  $\text{NO}_3^-$  等离子含量。土壤水分用烘干法测定。pH 值采用 TPX-90Si 型 pH 计测定(电位测定法)<sup>[6]</sup>。亚硝酸细菌和硝酸细菌的数量采用最大或然数法。具体方法参照《土壤微生物分析方法》<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与分析

为研究硝化细菌数量和土壤深度的关系, 分别在 10 cm 和 110 cm (代表土壤表层和深层) 取样测定其中硝酸细菌和亚硝酸细菌数量的变化。试验结果如图 2 所示。从图中可知, 试验期间, 总体上亚硝酸细菌的数量一直比硝酸细菌数量高两到 3 个数量级。这可能是由于亚硝酸细菌的繁殖能力较强。Shilo and Rimon 也在研究中发现水体中硝酸细菌的倍增时间远高于亚硝酸细菌的倍增时间<sup>[8]</sup>。

从图 2(a)、(b) 和 (c) 中可以看出, 在 3 种土壤中硝酸细菌的背景值大小顺序为土壤 3 > 土壤 1 > 土壤 2。亚硝酸细菌的背景值大小顺序为土壤 1 > 土壤 2 > 土壤 3。4 月 24 日取样时, 水才流到 110 cm 处, 所以在 110 cm 处前 3 次取样的土壤没有受到污染, 细菌数量几乎不变。4 月 14 日第一次施肥之后, 土壤表层

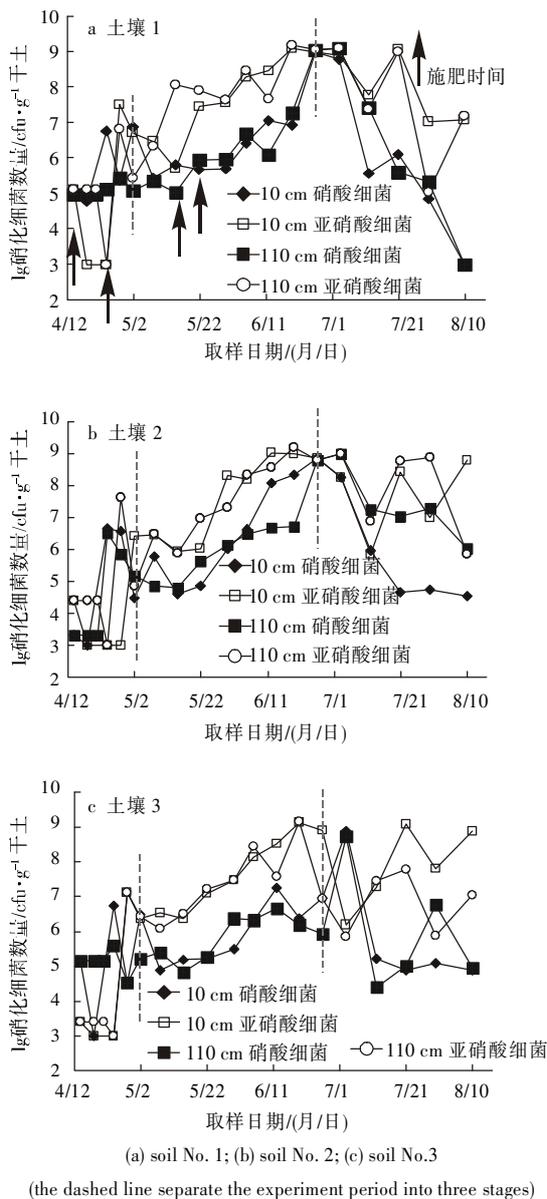


图2 3种土壤在10 cm和110 cm处硝化细菌含量随时间的变化(图中虚线将整个取样时间分为3个阶段)  
Figure 2 Changes of nitrifiers at the depth of 10 cm and 110 cm in three sediment soils during the experiment.

首先受到污染,尿素分解,较高的 $\text{NH}_4^+$ 浓度抑制了硝化细菌的生长,所以硝酸细菌和亚硝酸细菌数量都下降,3种土壤背景中细菌数量越多的,则施肥后细菌数量下降幅度越大。变化幅度大小顺序为土壤1>土壤2>土壤3。4月24日水流到110 cm处后,深层土壤被污染,此时下渗水中已经存在了 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 和 $\text{NO}_3^-$ 等多种离子, $\text{NH}_4^+$ 浓度约为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,当 $\text{NH}_4^+$ 的浓度超过 $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,将抑制亚硝酸细菌的生长<sup>[9]</sup>,使得其数量下降,而 $\text{NH}_4^+$ 在这个浓度对硝酸细菌没有

抑制作用,下渗液中 $\text{NO}_2^-$ 促进了硝酸细菌的生长,使其数量增加。

比较3种土壤的细菌数量随着时间的变化趋势表现一致。但在两个深度上,两种细菌数量差异很小。两种细菌的数量在整体上都是随着时间呈现先上升后下降的趋势,且细菌数量的最大值都是在6月底到7月初取得,而非立刻出现在施肥之后,这说明细菌的生长有一定的适应期,而且由于硝化细菌的世代周期长,细菌生长和温度密切相关,在6月底7月初时,温室内温度升高约 $6^\circ\text{C}$ ,进一步地促进了硝化细菌的生长。另外灌水使得土壤含水率增加,且之前施加的肥料被稀释, $\text{NH}_4^+$ 浓度降低不再抑制硝化细菌的活性,作为微生物的食物,使得细菌数量增加。所以细菌数量的明显增加是在停止施肥后1个月之后。

上述分析了硝化细菌在3种不同土壤的整个阶段的变化情况,接下来讨论硝化细菌在整个模拟过程中的变化强度。

对表3数据进行分析可以看出,在3种土壤中亚硝酸细菌比硝酸细菌提前达到最大值,其中在土壤表层提前7 d以上,在深层提前14 d。在表层土壤2的亚硝酸细菌比其他两种土壤提前7 d达到最大值,土壤3的硝酸细菌比其他两种土壤推迟7 d达到最大值。10 cm和110 cm处土壤1的硝酸细菌比土壤2和土壤3都高约一个数量级。产生上述差异性的原因在于土壤的种类、细菌的种类特性差异。

从图2中可知,在峰值过后至试验结束的灌水过程中,硝化细菌都逐渐降低,这除了与硝化细菌本身的特性、不同种类土壤的理化性质有关之外,更主要的是停止了肥料营养的供给,增加了灌水的频率,使硝化细菌的数量急剧减少。

综合比较土壤表层和深层两种硝化细菌的含量,得出硝酸细菌的最后值的大小顺序为土壤2>土壤3>土壤1,并呈现出深层比表层下降慢的趋势;而亚硝酸细菌比硝酸细菌在数量上下降较慢,土壤中亚硝酸细菌最后值的大小顺序为土壤3>土壤1>土壤2,并呈现出表层比深层下降慢的趋势。产生这种现象的原因可能是土壤表层氧化条件较好,亚硝酸细菌比硝酸细菌更具活性和好氧性,使之数量减少较慢。

### 3 结论

硝化细菌数量的增长有滞后性。 $\text{NH}_4^+$ 浓度高于 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 会抑制亚硝酸细菌的生长,但这个浓度对硝酸细菌没有抑制作用。试验期间,总体上亚硝酸细

表 3 整个模拟过程中硝化细菌数量的初始值、最大值和最后值及日期

Table 3 The initial, maximum, and ultimate nitrifier populations and corresponding dates during the entire simulation period

日期	土壤 1			土壤 2			土壤 3		
	Initial	Max	Ultimate	Initial	Max	Ultimate	Initial	Max	Ultimate
AOBT10 cm	4/14	6/19	8/10	4/14	6/19	8/10	4/14	6/19	8/10
数量	$1.34 \times 10^5$	$1.31 \times 10^9$	$1.30 \times 10^7$	$2.45 \times 10^4$	$1.09 \times 10^9$	$6.27 \times 10^8$	$2.57 \times 10^3$	$1.37 \times 10^9$	$7.40 \times 10^8$
NOBT10 cm	4/14	6/26	8/10	4/14	6/26	8/10	4/14	7/3	8/10
数量	$1 \times 10^5$	$1.04 \times 10^9$	$1.00 \times 10^3$	$2.05 \times 10^3$	$7.11 \times 10^8$	$3.42 \times 10^4$	$1.51 \times 10^5$	$7.33 \times 10^8$	$7.93 \times 10^4$
AOBT110 cm	4/14	6/19	8/10	4/14	6/19	8/10	4/14	6/19	8/10
数量	$1.34 \times 10^5$	$1.36 \times 10^9$	$1.10 \times 10^7$	$2.45 \times 10^4$	$1.57 \times 10^9$	$7.20 \times 10^5$	$2.57 \times 10^3$	$1.44 \times 10^9$	$1.09 \times 10^7$
NOBT110 cm	4/14	7/3	8/10	4/14	7/3	8/10	4/14	7/3	8/10
数量	$1 \times 10^5$	$1.36 \times 10^9$	$1.00 \times 10^3$	$2.05 \times 10^3$	$9.72 \times 10^8$	$1.08 \times 10^6$	$1.51 \times 10^5$	$5.20 \times 10^8$	$9.00 \times 10^4$

注:细菌数量单位为(cfu·g<sup>-1</sup>干土)Initial, Max, Ultimate 分别是指硝化细菌含量取得背景值、最大值以及最后值的日期。日期以月/日的形式表示。AOBT 和 NOBT 分别表示亚硝酸细菌和硝酸细菌达到相应数量值的日期。

菌的数量一直比硝酸细菌数量高 2~3 个数量级,亚硝酸细菌比硝酸细菌在数量上上升较快,下降较慢。土壤物化性质的不同,两种细菌数量的变化也有差异。10 cm 和 110 cm 处土壤 1 的硝酸细菌比土壤 2 和土壤 3 都高约一个数量级。在土壤表层和深层,硝酸细菌的最后值的大小顺序为土壤 2>土壤 3>土壤 1,并呈现出深层比表层下降慢的趋势;土壤中亚硝酸细菌最后值的大小顺序为土壤 3>土壤 1>土壤 2,并呈现出深层比浅层下降快的趋势。

#### 参考文献:

- [1] 徐 谦.我国化肥和农药非点源污染状况综述[J].农村生态环境, 1996, 12(2): 39-43.  
XU Q. A review on the status of non-point source pollution or chemical fertilizers and pesticides in China[J]. *Rural Eco-Environment*, 1996, 12 (2): 39-43.
- [2] Keeney D. Sources of nitrate to groundwater [J].*CRC Crit Rev in Environ Control*, 1986, 16(3): 257-304.
- [3] Davies D M, Williams P J. The effect of the nitrification inhibitor dicyanamide on nit rate leaching and ammonia volatilization:A U. K. nitrate sensitive areas perspective[J]. *Journal of Environmental Management*, 1995, 45 (3): 263-272.
- [4] 贺 锋,吴振斌,陶 菁,等.复合垂直流人工湿地污水处理系统硝化与反硝化作用[J].*环境科学*, 2005, 26(1): 47-50.  
HE F, WU Z B, TAO J, et al. Nitrification and Denitrification in the Integrated vertical flow constructed wetlands[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(1): 47-50.
- [5] 屈计宁,金志刚,何群彪,等.高效硝化细菌的富集技术研究[J].*同济大学学报*, 1999, 27(3): 351-354.  
QU J N, JIN Z G, HE Q B. Research on enrichment and cultivation technology[J]. *Journal of Tongji University*, 1999, 27(3): 351-354.
- [6] 中国土壤学会农业化学专业委员会编.土壤化学常规分析方法[M].北京:科学出版社, 1983.  
Agricultural Chemical Committee, Soil Science Society of China. Soil chemistry standard analysis methods[M]. Beijing: Science Press, 1983.
- [7] 中国科学院南京土壤研究所微生物室主编.土壤微生物研究方法[M].北京:科学出版社, 1985. 49-58.  
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Microbe Room. Soil microbes analysis methods[M]. Beijing: Science Press, 1985. 49-58.
- [8] Shilo M, Rimon A. Factors which affect the intensification of fish breeding in Israel.2.Ammonia transformation in intensive fish ponds [J].*J Aquaculture Bamidgeh*, 1982, 34(3): 101-114.
- [9] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid[J]. *Water Pollut Control Fed*, 1976, 48: 835-852.