

# 不同氮肥对大豆根圈土壤酶活性和氮营养分布的影响<sup>\*</sup>

王光华 金 剑 潘相文 周克琴 刘晓冰

(中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150040)

**摘要** 氮是植物生长最重要的营养元素。本文报道了利用根箱系统, 5种不同的氮肥(硝酸钠、硫酸铵、尿素、LP-40和LP-70)处理对典型黑土条件下生长的大豆根圈3种土壤酶活性及 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{NH}_4^+$ -N含量分布的影响。结果表明, 除了长效缓释氮肥LP-70处理的亚硝酸还原酶活性表现为根圈亏缺外, 其它氮肥处理的硝酸还原酶、亚硝酸还原酶和脲酶活性在根圈土壤中要大于非根圈土壤。对 $\text{NO}_3^-$ -N含量在大豆根圈分布结果证明, 当硫酸铵、尿素、LP-40和LP-70处理时, 它在大豆根圈表现为亏缺效应, 而当供给硝酸钠处理时,  $\text{NO}_3^-$ -N含量在大豆根圈表现为强烈的累积效应。不同氮肥对 $\text{NH}_4^+$ -N含量分布的影响结果为: 当供给硫酸铵处理时,  $\text{NH}_4^+$ -N在根面区少量累积, 而当其它4种氮肥处理时,  $\text{NH}_4^+$ -N表现为亏缺。本试验结果证明不同氮肥对大豆根圈土壤酶活性及氮营养状况影响很大。

**关键词** 氮肥; 大豆; 土壤酶;  $\text{NO}_3^-$ -N;  $\text{NH}_4^+$ -N

**中图分类号** S 565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2003)03-0213-05

自从1904年Hiltner提出根圈(Rhizosphere)这一名词以来, 许多研究表明根圈的物理化学及生物学特性在植物的生长发育过程中起到重要的作用<sup>[2,5]</sup>。最早对根圈的研究主要是针对根圈的微生物种群结构及数量的空间分布, 即早期对根圈定义为微生物群体受到植物根系影响的那一部分土壤微区。后来随着研究的不断深入, 越来越多的研究证明, 许多营养元素和土壤酶等也表现出很强的根圈效应, 如Ca、Mg和S在根圈积累而P在根圈亏缺。对根圈尺度的衡量也因研究对象的不同而有所变化<sup>[3,6,7]</sup>。

N是植物生长发育重要的营养元素, 它可以 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{NH}_4^+$ -N的形式被植物吸收利用。许多研究表明施用不同形态的氮源对植物根圈的pH、 $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NH}_4^+$ -N和微生物分布影响显著<sup>[4,9]</sup>。大豆虽然是具有固氮作用的农作物, 但在播种期施用一定数量的氮肥已成为一项常规的生产措施。不同氮肥对小麦根圈微生态特征变化的影响已有报道<sup>[9,10]</sup>, 但对大豆根圈影响则尚未见报道, 本研究利用Youssef和Chino(1989)设计的根箱(Rhizobox)

系统<sup>[11]</sup>, 对硝酸钠、硫酸铵、尿素和两种缓释尿素LP-40、LP-70对大豆根圈几种土壤酶活性、 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{NH}_4^+$ -N含量的空间分布进行研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 根箱结构和大豆培养

本研究所用的根箱按Youssef和Chino(1989)设计制作而成。采用该根箱法来研究植物根圈效应可以比较精确地分离距离根面不同距离的土壤(见图1)。在根箱的中间包含许多用塑料框固定的尼龙网分割开的土壤微区(Compartment), 尼龙网孔径 $< 25\mu\text{m}$ , 可以阻止大豆根系及根毛的穿透, 而保证土壤水分、养分及微生物的在根箱中自由运移。该根箱结构中的中间层(Central Compartment), 即大豆根系生长的区域宽6mm, 在中间层左右两侧各安放宽度为2mm的微区框5个, 分别认定为距根面2、4、6、8和10mm的根圈土壤。

大豆种子(黑农35)在灭菌的细砂中萌发后, 选择4株生长均匀的幼苗移栽至中间层, 根箱放置在

\* 收稿日期: 2002-03-10

基金项目: 中科院东北地理与农业生态研究所所长基金和中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-SW-416)的一部分。

作者简介: 王光华(1966-), 男, 副研究员, 主要从事大豆生理生态和环境微生物研究。

室外自然光照下生长 50 天, 在生长期每天向根箱补给蒸馏水保持土壤正常含水量的 60% 左右。

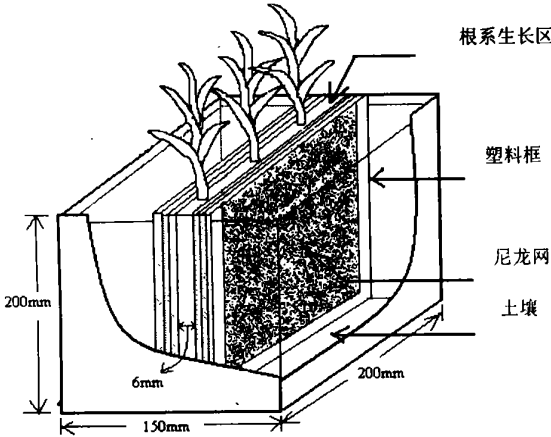


图 1 本研究根箱结构示意图

Fig 1 Schematic diagram of rhizobox used in the experiment

### 1.2 土壤及氮肥处理

供试土壤取自中国科学院海伦农业生态实验站 17 年长期不施肥处理, 该土壤的基本形状为: 有机质含量  $35.8\text{ g kg}^{-1}$ , 全磷含量  $1.8\text{ g kg}^{-1}$ , 全氮含量  $2.9\text{ g kg}^{-1}$ , 全钾含量  $23.0\text{ g kg}^{-1}$ ,  $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$  6.0。供试的土样风干后, 过 1mm 筛, 然后每箱装土 5kg, 每箱土均匀添加 0.8g 的  $\text{K}_2\text{SO}_4$  和 1.01g 的  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  作为 K 和 P 肥。实验设氮肥处理 5 个, 每箱分别添加硝酸钠 3.64g, 硫酸铵 2.83g, 尿素 1.30g, LP-40 和 LP-70 各 2.40g, 折合每箱添加等量 0.6g 的氮营养。所有氮肥均匀加到根箱塑料框外侧土壤(bulk soil), 每种氮肥处理重复 3 次。

### 1.3 取样及分析

大豆生长 50 天后进行土壤取样。小心地拆除根箱中的各层塑料框, 左右两侧距中间层相同距离的土样混合作为一个样品进行分析。植株样品经烘干后测定地上和地下部生物量; 土样经风干后, 测定各层土壤中硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、尿酶活性及  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的含量。

三种土壤酶测定采用关松荫等所著方法进行<sup>[1]</sup>。  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的含量测定采用离子液体色谱法进行(Model IC-100, Yokogawa Denki Co., Japan)<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同氮肥对大豆植株生长的影响

大豆植株经过 50 天生长后, 拆除塑料框, 发现

大豆根系受尼龙网的限制固定生长在中间层(Central Compartment), 沿尼龙网两侧形成均匀的根系垫, 达到了预先实验设计的结果。对不同氮肥处理下的大豆生长情况调查表明, 以长效缓释氮肥 LP-70 处理下的大豆植株地上和地下部生物量最高, 而硝酸钠处理最低, 但对各处理间方差分析表明处理间差异不显著(图 2)。

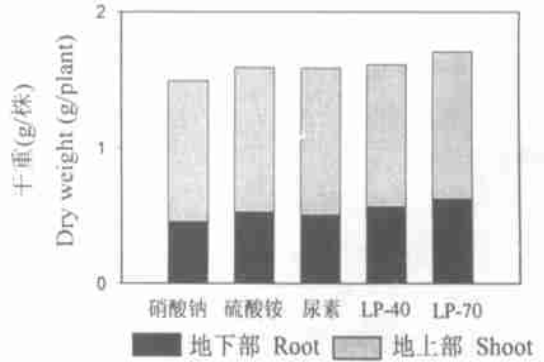


图 2 不同氮肥对根箱系统大豆生长的影响

Fig 2 Effect of different N fertilizers on soybean growth in this rhizobox soybean study

### 2.2 不同氮肥对大豆根圈土壤酶活性的影响

土壤酶是土壤中植物、动物和微生物活动的产物。土壤酶参与土壤中许多重要的生物化学过程, 对土壤中多种营养元素的形态转化及供给起到重要的作用。可以说土壤酶活性是评价土壤肥力重要指标之一。图 3、4、5 表示了不同氮肥对大豆根圈参与氮素形态转化的三种主要土壤酶活性的影响。

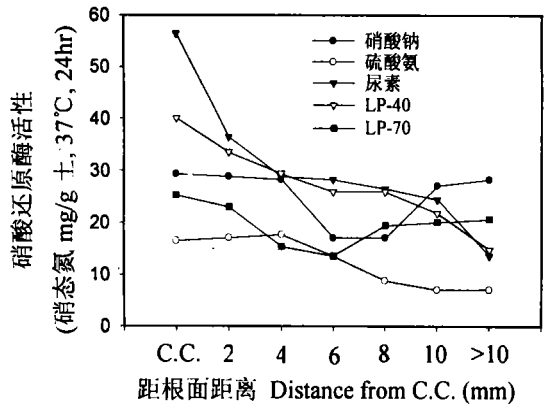


图 3 不同氮肥对大豆根圈硝酸还原酶活性的影响

Fig 3 Effect of different N fertilizers on nitrate reductase activity across soybean rhizosphere

由图 3 可知, 供试 5 种氮肥对大豆根圈硝酸还原酶活性的影响具有相同的规律, 即硝酸还原酶表现为在大豆根面区活性最高, 从根面向外层逐渐降低的趋势。在供试的 5 种氮肥中, 尿素处理根面区酶活性最高, 其不同层之间酶活性变化也最大, 从根

面区至> 10mm 的非根圈土壤, 硝酸还原酶活性降低了 42.93 个酶活单位, 降幅达 76.05%, 表现出很强的根圈效应。而硫酸铵处理根面区的酶活性相对其它氮肥处理较低, 只有 16.46 个酶活单位, 在该处理下, 硝酸还原酶活性在大豆根圈不同距离变化不大, 非根圈土壤酶活性较根面区酶活性只降低了 9.4 个酶活单位, 降幅为 57.14%。其它 3 种氮肥对根面区硝酸还原酶活性的影响介于两者之间, 酶活性 LP-40> 硝酸钠> LP-70, 随着距根面距离的增加, LP-40 的酶活性呈现单边下降, 而 LP-70 和硝酸钠的酶活表现为单谷曲线。

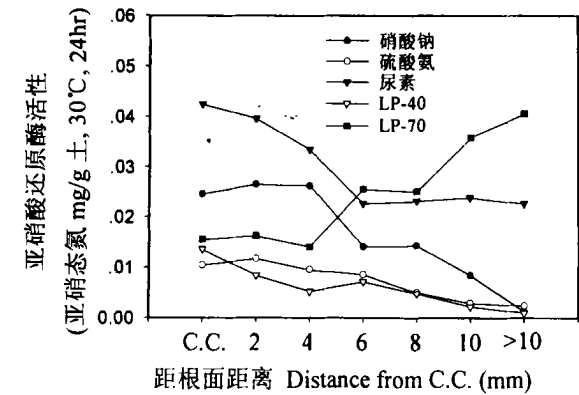


图 4 不同氮肥对大豆根圈亚硝酸还原酶活性的影响  
Fig. 4 Effect of different N fertilizers on nitrous reductase activity across soybean rhizosphere

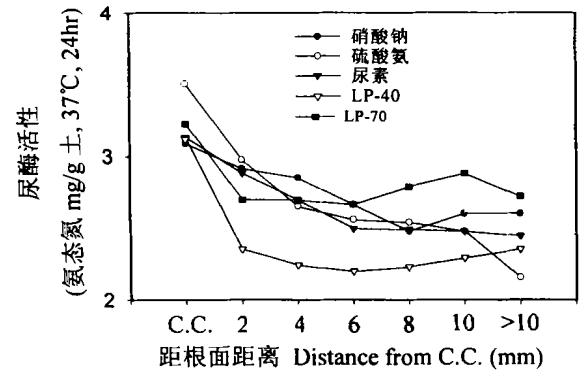


图 5 不同氮肥对大豆根圈尿酶活性的影响  
Fig. 5 Effect of different N fertilizers on urease activity across soybean rhizosphere

不同氮肥对大豆根圈亚硝酸还原酶活性分布变化的影响也是不同的(图 4)。在以硝酸钠和硫酸铵为氮肥时, 亚硝酸还原酶活性从根面区至 2mm (硫酸铵)和 4mm (硝酸钠)略有升高, 然后至外层土壤非根圈土壤呈现急剧下降的趋势。而当以尿素和 LP-40 处理时, 亚硝酸还原酶活性从根面至 4mm (LP-40)和 6mm (尿素)范围内急剧下降后, 至非根圈土壤变化较平缓。值得注意的是, 当供给长效缓

释氮肥 LP-70 时, 亚硝酸还原酶活性分布变化表现为相反的趋势, 即从根面至 4mm 距离内酶活性变化不大, 而从 4mm 至外层土壤酶活性急剧增加, LP-70 处理下亚硝酸还原酶活性的这种变化可能与其缓释时间长, 氮肥损失低有关。

5 种氮肥对大豆根圈土壤尿酶活性分布的影响见图 5。从图中可以看出尿酶活性在大豆根圈的分布表现出很强的根圈效应, 既酶活性在根面区最高, 从根面区至外层非根际土壤酶活逐渐降低。从图中尿酶活性空间分布曲线还可以看出, 5 种氮肥的尿酶根圈效应距离相似, 都为具根面 2mm 范围之内, 且根面区各处理之间尿酶活性变化不大, 只有硫酸铵处理的尿酶活性大于其它 4 种氮肥处理。

2.3 不同氮肥对大豆根圈氨态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)和硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量分布的影响

不同氮肥对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 在大豆根圈分布的影响见图 6、7。从图中可以看出不论何种氮肥处理, 在距离大豆根面不同层土壤中的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量都明显地高于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量, 这表明 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 在大豆根圈中是一种主要的氮素形态供给大豆生长。

在以硫酸铵、尿素、LP-40 和 LP-70 为氮肥时, 大豆生长 50 天后, 大豆根面区的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量最低, 分别只有 9.04、14.69、15.82 和 6.78mg kg<sup>-1</sup> 土, 只占非根圈土壤的 25.8%、34.2%、28.0% 和 19.4%。随着距根面距离的增加, 上述 4 种氮肥处理的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量略有上升, 但变化不显著。从图 6 中还可以看出, 虽然就上述 4 种氮肥的某一种而言, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量在 2-10mm 范围差异不显著, 但 LP-40 缓释尿素处理的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量在 2-10mm 范围内明显地高于硫酸铵、尿素和 LP-70 的处理, 差异达极显著水平(p<0.01)。导致这种差异的原因可能与大豆经过 50 天生长后, LP-40 中所含的营养完全释放, 较尿素处理损失少, 较 LP-70 处理释放大量的原故(LP-40 为在 25℃水中, 全氮量释放 80% 时所需时间为 40 天)。与上述 4 种氮肥处理的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量在大豆根圈分布不同, 硝酸钠处理的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 在根圈中表现出累积效应, 即在大豆根面区含量最高, 达到 176.3mg kg<sup>-1</sup> 土, 分别是同层 LP-40、尿素、LP-70 和硫酸铵处理的 11、12、19 和 26 倍。该实验结果表明, 不同的氮肥对大豆根圈中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量分布影响很大, 硝态氮肥可以导致 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 在大豆根圈的累积, 而其它氮肥, 如尿素和硫酸铵可以引起 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 在根圈中的少

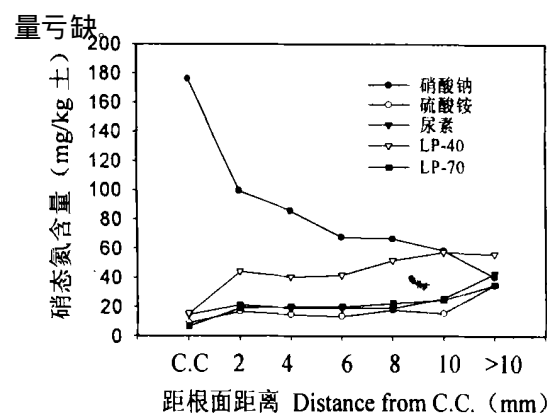


图6 不同氮肥对大豆根圈 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 分布的影响

Fig. 6 Effect of different N fertilizers on the  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  distribution across soybean rhizosphere

大豆根圈中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量分布变化受不同氮肥影响也很大(图7)。当以硝酸钠、尿素、LP-40和LP-70为氮肥处理时,大豆根面区的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量最低,随着距根面距离的逐渐增加,各层土样中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量也随之提高,至非根圈土壤( $>10\text{mm}$ )达到最大值。该结果表明上述4种氮肥处理导致了 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 在大豆根圈的亏缺。与上述4种氮肥处理的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量在大豆根圈分布不同,硫酸铵处理下的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量在大豆根面区含量最高,从根面区至6—8mm范围内逐渐下降后,至外层非根圈土壤又略有回升,呈现单谷曲线变化。这表明硫酸铵处理可引起 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 在大豆根圈中的积累。从图中还可以看出,尽管等量的氮添加到每个根箱系统中,但不同氮肥处理的同层土壤中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量是不一样的,说明不同氮肥不仅影响大豆根圈氮素形态的分布走向,而且对不同距离氮形态含量变化影响也较大。

### 3 结论与讨论

从本实验可以看出,虽然不同的氮肥对根箱系统下生长的大豆影响不显著,但对大豆根圈几种土壤酶活性和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 与 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量的空间分布影响较大。图3、4、5的结果表明,不同氮肥对大豆根圈土壤硝酸还原酶、亚硝酸还原酶和尿酶活性都有不同程度的影响,在测试的3种酶中,除了LP-70处理的亚硝酸还原酶活性空间分布表现为非根圈效应外,其它处理的酶活性具表现出不同程度的根圈效应。在根面区硝酸还原酶活性为:尿素 $>$ LP-40 $>$ 硝酸钠 $>$ LP-70 $>$ 硫酸铵;亚硝酸还原酶活性为:尿素 $>$ 硝酸钠 $>$ LP-70 $>$ LP-40 $>$ 硫酸铵;

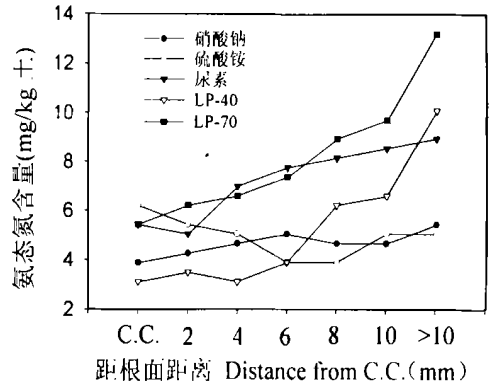


图7 不同氮肥对大豆根圈 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 分布的影响

Fig. 7 Effect of different N fertilizers on the  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  distribution across soybean rhizosphere

而根面区尿酶活性以硫酸铵处理较高外,其它处理相差不显著。土壤酶表现出很强的根圈效应可能与微生物的根圈效应有关,因为大多数土壤酶是有微生物代谢产生的,根圈土壤微生物数量大,则土壤酶活性也高。LP-70是一种长效缓释尿素,其全N含量在25℃条件下,经过70天释放率达到80%,故在本实验结束时采样(大豆生长50天),LP-70中的氮尚有很多没有释放出来,导致非根圈土壤氮含量要高于根圈土壤,这可能是引起亚硝酸还原酶活性在根圈外层土壤高于内层土壤的原因(图4)。由于在根圈土壤中的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 被土壤微生物和植物吸收利用,所以一般认为在根圈土壤 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量要比非根圈土壤低,表现为亏缺效应(Marschner, 1995),但也有一些研究证明,由于 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的易移动性,导致非根圈土壤中的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 大量向根圈汇集而表现为在根圈中累积效应(Youssef和Chino, 1987; Miah等, 2000)。在实验中,作者发现当供给硫酸铵、尿素、LP-40和LP-70时,大豆根圈的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量表现为亏缺,而供给硝酸钠时,表现为累积效应。产生这种结果的原因可能与 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 在土壤中的运移有关, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 相比不易被土粒吸附,所以从实验开始时,硝酸钠处理的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 便大量向根圈运动,导致在根圈中累计。与硝酸钠处理相反,其它4种氮肥中的氮要经过尿酶的作用转化成 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ,然后才能转化成 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 。由于 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 易被土粒吸附,在土壤中运移很慢,从而导致上述4种氮肥处理的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 在大豆根圈中表现为亏缺效应(图6、7)。

Miah等(1998)报道,当用硫酸铵处理小麦时, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 在小麦根圈中表现为累积效应,以在根面

区含量最高。在研究中也发现当供给硫酸铵时, 大豆根区  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量最高, 表现出累计效应, 这与 Miah 等人的报道相一致。与硫酸铵处理结果相反, 当供给其它 4 种氮肥时,  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  在大豆根圈中的含量要小于非根圈土壤, 产生这种结果的原因也可能与  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  在土壤中运移较慢有关。考虑到  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  是由尿素在尿酶的作用下转化而来的, 而这个转化过程非常快, 所以从实验开始时, 尿素处理的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  从非根圈土壤向根圈中移动强度要大于 LP-40 和 LP-70 处理, 从而导致在实验结束时, 非根圈土壤的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量小于 LP-40 和 LP-70 处理。同理, 经过 50 天的大豆生长, LP-70 处理尚有许多氮肥不断的释放出来, 转化成  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  向根圈运移, 所以此时测得的非根圈土壤中的 LP-70 处理的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量最高。

## 参 考 文 献

- 1 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- 2 Bowen, G. D., Rovira, A. D. The rhizosphere and its management to improve plant growth. In Advances in Agronomy [M]. Volume 66. Academic Press, 1999, pp 1—102.
- 3 Fried, M., Shapiro R. E. Soil plant relationships in ion uptake [J]. Ann. Rev. Plant Physiol. 1961, 12: 91—112.
- 4 Gahoonia, T. S., Claassen, N., Jungk, A. Mobilization of phosphate in different soil by ryegrass supplied with ammonium or nitrate [J]. Plant and Soil 1992, 140: 241—248.
- 5 Hinsinger, P. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. In Advances in Agronomy [M]. Volum 64. 1999, Academic Press. pp. 225—265.
- 6 Hinsinger, P., Gilkes R. J. Mobilization of phosphate from phosphate rock and alumina-sorbed phosphate by the roots of ryegrass and clover as related to rhizosphere pH [J]. Eur. J. Soil Sci. 1996, 47: 533—544.
- 7 Kraus M., Fusseder, A., Beck, E. In situ determination of the phosphate-gradient around a root by radioautography of frozen soil sections [J]. Plant and Soil. 1987, 97: 407—418.
- 8 Marschner, H. Nutrient availability in soil. In Mineral nutrition of higher plants [M]., Academic Press, London, 1995. 506.
- 9 Miah, M. Y., Kanazawa S., Chino M. Nutrient distribution across wheat rhizosphere with oxamide and ammonium sulfate as N source [J]. Soil Sci. Plant Nutr. 1998, 44: 579—587.
- 10 Miah, M. Y., Kanazawa, S., Chiu, Ch-Y. et al., Microbial distribution and function across wheat rhizosphere with oxamide and ammonium sulfate as N sources [J]. Soil Sci. Plant Nutr., 2000, 46: 787—796.
- 11 Youssef, R. A., Chino, M. Root induced changes in the rhizosphere of plants. I—pH changes in relation to bulk soil [J]. Soil. Sci. Plant Nutr. 1989, 35: 461—468.

## EFFECT OF DIFFERENT N FERTILIZERS ON SOIL ENZYME ACTIVITY AND N NUTRITION DISTRIBUTION ACROSS SOYBEAN RHIZOSPHERE

Wang Guanghua Jin Jian Pan Xiangwen Zhou Keqin Liu Xiaobing

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin, 150040)

**Abstract** Nitrogen is the most important nutrient for plant growth. The effects of sodium nitrate, ammonium sulfate, urea, and two slow-releasing urea fertilizers (LP-40, LP-70) on the  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ,  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ , and soil enzymes activity distribution across soybean (*Glycine max* L. Merrill, Variety of Heinnong 35) rhizosphere were investigated in the research. The results showed that excepted nitrous reductase activity was lower in the rhizosphere of LP-70 treatment, all soil enzymes including nitrate reductase, nitrous reductase and urease activity was higher in soybean rhizosphere than that in non-rhizosphere.  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  was the main source of nitrogen, which was depleted in the rhizosphere in the treatments of ammonium sulfate, urea, LP-40 and LP-70, but greatly accumulated in the sodium nitrate treatment.  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  concentration increased slightly in the rhizosphere in the ammonium sulfate treatment, and decreased in the rhizosphere when supplying with the other four kinds of N fertilizers. From this experiment we concluded that the different N fertilizers had great effect on soil enzyme activity and N nutrition distribution across soybean rhizosphere.

**Key words** N fertilizer; Soybean; Soil enzyme;  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ;  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$