

不同氮效率水稻生育后期根表和根际土壤硝化特征

李奕林^{1,2}, 黄启为¹, 王兴祥², 沈其荣^{1,*}

(1. 南京农业大学环境与科学学院, 南京 210095; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 通过田间试验研究了不同氮效率粳稻品种 4007 (氮高效) 和 Elio (氮低效) 生育后期在 N0 (0 kgN hm⁻²)、N180 (180 kgN hm⁻²) 和 N300 (300 kgN hm⁻²) 水平下根表、根际和土体土壤 pH 值、铵态氮 (NH₄⁺-N) 和硝态氮 (NO₃⁻-N) 含量、硝化强度和氨氧化细菌 (AOB) 数量。结果表明无论是齐穗期、灌浆期还是成熟期, 根表土壤 pH 值均显著低于根际和土体土壤。土壤 pH 值范围在 5.95 至 6.84 之间变化。土壤 NH₄⁺-N 含量随水稻生长显著下降, 且随施氮量增加而显著增加。根表土壤 NH₄⁺-N 有明显亏缺区, 且随距水稻根表距离增加, NH₄⁺-N 含量逐渐升高。土壤 NO₃⁻-N 含量随水稻生长显著增加, 施氮处理均显著高于不施氮处理, 但 N180 和 N300 处理差异不显著。NO₃⁻-N 含量表现为根际 > 土体 > 根表。水稻根表和根际土壤硝化强度随水稻生长显著下降, 而土体土壤硝化强度随时间延长小幅增加。施氮显著提高 4007 水稻根表土壤在齐穗和收获期硝化强度以及 Elio 在齐穗期根际硝化强度, 但在施氮处理 N180 和 N300 中无显著差异。在整个采样期间, 土壤硝化强度均表现为根际 > 根表 > 土体。水稻根表和根际 AOB 数量随水稻生长而显著降低, 而土体土壤 AOB 数量无显著变化。例如, 根表土壤 AOB 数量在齐穗期、灌浆期和收获期分别为 16.7 × 10⁵、8.77 × 10⁵ 个 g⁻¹ dry soil 和 8.01 × 10⁵ 个 g⁻¹ dry soil。根表和根际土壤 AOB 数量无显著差异, 但二者显著高于土体土壤 AOB 数量。

就两个氮效率水稻品种而言, 土壤 pH 值基本无差异。4007 土壤 NH₄⁺-N 含量均显著高于 Elio。在齐穗期水稻根表、根际和土体土壤 NO₃⁻-N 含量在 N180 水平下均表现为 Elio 显著高于 4007。而在灌浆期和收获期, 水稻根表、根际和土体土壤则表现为 4007 显著高于 Elio。在所有采样期, 两个水稻品种土体土壤硝化强度和 AOB 数量在 3 个施氮量下均无显著差异。Elio 根表和根际土壤硝化强度和 AOB 数量在水稻灌浆期之前一直显著高于 4007, 而在灌浆期之后则显著低于 4007, 且最终产量和氮素利用率 (NUE) 显著低于 4007, 这可能是由于 4007 灌浆期后硝化作用强, 根际产生的 NO₃⁻-N 含量高, 从而 4007 根吸收 NO₃⁻-N 的量也高造成的。因此水稻灌浆期和收获期根表和根际硝化作用以及 AOB 与水稻高产及氮素高效利用密切相关。

关键词: 硝化作用; 硝化微生物; 氮素利用率; 根表土壤; 根际土壤; 土体土壤

文章编号: 1000-0933(2009)02-0824-08 中图分类号: Q142, Q935, S154, S314, S511.2 文献标识码: A

Soil nitrification in root surface and rhizosphere at late growth stages of rice cultivars with different N use efficiency

LI Yi-Lin^{1,2}, HUANG Qi-Wei, WANG Xing-Xiang², SHEN Qi-Rong^{1,*}

1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 0824 ~ 0831.

Abstract: Nitrification characteristics in rice rhizosphere were studied using two Japonica rice cultivars with different nitrogen use efficiency (NUE), 4007 (high NUE) and Elio (low NUE). We determined pH, ammonium (NH₄⁺-N) and nitrate (NO₃⁻-N), nitrification and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) abundance in root surface, rhizosphere and bulk soil under the N0 (0 kgN hm⁻²), N180 (180 kgN hm⁻²) and N300 (300 kgN hm⁻²) levels at the late growth stages in the field conditions. The pH values in root surface soil were significantly lower than those in rhizosphere and bulk soil at heading, filling and harvesting stages, ranging from 5.95 to 6.84. NH₄⁺-N concentration decreased but NO₃⁻-N increased

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30671234, 30771290); 江苏省重大攻关项目 (BE2005369)

收稿日期: 2007-09-24; 修订日期: 2008-03-19

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shenqirong@njau.edu.cn

with the plant development. N application increased NH_4^+ -N and NO_3^- -N concentrations in all soil samples. Depletion sections of both NH_4^+ and NO_3^- were found in root surface soil. The NH_4^+ -N concentration increased with increasing distance from the root surface. The maximal NO_3^- concentration was in rhizosphere soil, then the bulk soil and the lowest was in root surface soil. Nitrification activities in both root surface and rhizosphere soils significantly decreased with the incubation time, but the reverse was true for the bulk soil. N application improved nitrification activities in root surface soil grown with 4007 both at heading and harvesting stages, and also improved nitrification activity in rhizosphere soil grown with Elio at heading stage. But there was no significant difference between N180 and N300 treatments. The nitrification activity showed such order as rhizosphere > root surface > bulk soil at the whole sampling stages. AOB abundance in both root surface and rhizosphere soils significantly decreased with the incubation time, while those in the bulk soil indicated no difference as the time passed. For example, the AOB abundances in root surface soil at heading, filling and harvesting stages were 16.7×10^5 , 8.77×10^5 and $8.01 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$ dry soil, respectively. There was no significant difference of AOB abundance between root surface soil and rhizosphere soil, but they were all significantly higher than those in the bulk soil.

As far as the two rice cultivars were concerned, there was no difference with the soil pH values. The 4007 grown soil NH_4^+ -N concentration was higher than Elio. NO_3^- -N concentrations in root surface, rhizosphere and bulk soils for Elio grown treatment under N180 level at heading stage were higher than those for 4007. But NO_3^- -N concentrations in root surface, rhizosphere and bulk soils for Elio grown treatment at filling and harvesting stages were significantly lower than those for 4007. Nitrification activities and AOB abundance in bulk soil had no difference among the three N treatments. Nitrification activity and AOB abundance in root surface and rhizosphere soil for Elio grown treatment were significantly higher than those for 4007 before filling stage, while the reverse was true after filling stage, and the rice yield and NUE for Elio were much lower than 4007. That might be due to the higher nitrification and higher NO_3^- -N concentration in rhizosphere soil for 4007 than Elio after filling stage, which caused more NO_3^- -N absorption by 4007 than Elio. We concluded that nitrification and AOB abundance in root surface and rhizosphere soil at filling and harvesting stages were important to a high rice yield and high NUE.

Key Words: nitrification; ammonia-oxidizing bacteria; nitrogen use efficiency; root surface soil; rhizosphere soil; bulk soil

根际是围绕于植物活根周围很小的土壤微域,受根系生理活动的影响,在物理、化学和生物特性上不同于原土体的特殊土区;是土壤-植物-微生物三者相互作用的场所。由于根际微域环境中的氮可以直接被水稻根系吸收利用,因此,研究根际氮的存在形态和转化特性对研究水稻对不同氮形态的吸收利用特性具有指导作用,从而达到调控水稻生长的目的^[1]。水稻水作条件下氮素养分在根际微域的变化已有大量的研究^[2-5],根际氮素养分的转化和形态已较为明确。但由于田间条件的复杂性与多变性,目前对水稻根际研究多采用温室盆栽试验,且对水稻的研究多集中在对其苗期的研究中。在田间条件下,即便是完全淹水,由于水稻根系的泌氧作用,水稻根表和根际存在着较强的硝化作用,其产生的硝态氮(NO_3^- -N)对水稻的N营养起着重要作用^[6]。

以往的盆栽研究结果表明不同氮效率水稻品种苗期根表、根际和土体土壤硝化强度存在显著性差异,且不同品种间差异显著^[7]。那么田间条件下,水稻生育后期根际土壤氮素养分形态及其与根际硝化作用之间的关系如何?不同水稻品种间是否存在差异?以往的田间试验研究表明水稻品种 Elio 最终产量和氮素利用率(NUE)显著低于水稻品种 4007^[8],因此选择了以往田间试验筛选的两个氮效率水稻品种 4007(氮高效品种)和 Elio(氮低效品种),来研究其在田间条件下生育后期(齐穗期、灌浆期和收获期)根表、根际和土体土壤氮素养分形态、转换及其硝化作用。

1 材料与方法

1.1 供试土壤及水稻品种

试验于2006年在常熟白茆镇进行。供试土壤为水稻土,其基本理化性状为:全氮 1.96 g kg^{-1} ,速效磷 72.4 mg kg^{-1} ,速效钾 11.7 mg kg^{-1} ,有机质 19.5 g kg^{-1} ,pH值(水土比2.5:1)为7.91。

在2004年田间筛选的3个粳稻品种的基础上选出了1个N高效(4007)和1个N低效(Elio)粳稻品种^[8]。

1.2 试验设计

试验为裂区设计,主处理为3个N水平处理,即无肥($\text{N}_0, 0 \text{ kg hm}^{-2}$)、中肥($\text{N}_{180}, 180 \text{ kg hm}^{-2}$)和高肥($\text{N}_{300}, 300 \text{ kg hm}^{-2}$)处理(表1)。N肥形态为尿素,根据施N量不同划分为3个大区,重复3次,各田埂之间用塑料布隔开。施氮处理分别在水稻移栽前、分蘖期(移栽后一周)、拔节期和抽穗前期施用。N肥的施用量按基肥:蘖肥:穗肥为3:3:4的比例分配,其中穗肥平均分为两次施用,分别在水稻孕穗期和水稻齐穗期前一周。所有处理的P、K肥用量一致,且均作为基肥施用。其中P肥(过磷酸钙)用量为 35 kg hm^{-2} ,K肥(氯化钾)用量为 130 kg hm^{-2} 。实验副处理为2个不同N效率的粳稻品种。

水稻栽插规格为 $13 \text{ cm} \times 28.5 \text{ cm}$,每穴定值3株。小区面积 $6 \text{ m} \times 7 \text{ m} = 42 \text{ m}^2$ 。小区间田埂用防水布覆盖,隔离防渗,四周设保护行。重复3次,随机区组排列,常规田间管理。

1.3 采样时间及方法

本次试验于水稻齐穗期、灌浆期和收获期分别采集距水稻根不同距离土壤样品用于后续分析。在每次采样时,将水稻连根拔起后,用镊子小心将附着于根表的土壤剥离后收集,将这部分土壤定义为根表土壤;用土钻在水稻根系周围不同点采集0至20 cm土壤,这部分土壤定义为根际土壤;在各小区田埂附近采集的土壤定义为土体土壤。所采集的不同位置的土壤混合均匀后置于土袋中用于土壤pH值、铵态氮($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 、硝化强度及氨氧化细菌(AOB)数量的测定。

1.4 测定方法及统计分析

1.4.1 测定方法

土壤样品用 2 mol L^{-1} KCl溶液(水土比10:1)振荡浸提30 min后,用连续流动分析仪(AA3, Bran Luebbe公司)测定 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 及 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量。

短期硝化强度通常用于表征土壤硝化特征,参考 Berg 和 Rosswall^[9]的方法并改进,其简要步骤为:称取5 g鲜土样3份,分别置于100 ml三角瓶中,加2.5 ml NaClO_3 (抑制 NO_2^- 转换为 NO_3^- , 75 mmol L^{-1}), $170 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡30 min后,其中两份在25℃下培养24h,另一份置于-20℃冰箱中24 h作对照。培养结束后每份加5 ml去离子水、10 ml KCl (2 mol L^{-1}), $170 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡30 min后立即过滤;吸取5 ml滤液放入试管中,加3 ml NH_4Cl 缓冲溶液(0.19 mol L^{-1} , pH 8.5)、2 ml 磺胺试剂(见附录),摇匀后室温下放置15 min,520 nm波长下比色。硝化强度按下列公式计算:

$$\text{NO}_2^- \text{-N} (\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}) = \frac{(\text{滤液 } \text{NO}_2^- \text{-N 浓度} - \text{对照滤液 } \text{NO}_2^- \text{-N 浓度}) (\text{mg L}^{-1}) \times 12.5}{5 \times \text{dwt} \times 24}$$

式中,12.5为所加入试剂的体积,5为所称取土样的重量,dwt表示每克湿土的干重,24为土样培养时间。硝化强度用单位时间内产生的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的量表示。

土壤AOB数量采用最大或然数(most probable number, MPN)计数,简要步骤为:称取土壤样品10 g放入装有90 ml无菌水并放有小玻璃珠的250 ml三角瓶中, $170 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡20 min,使微生物细胞分散,静置30 s,及成 10^{-1} 稀释液;再用1 ml无菌吸管,吸取 10^{-1} 稀释液1 ml移入装有9 ml无菌水的试管中,吹洗3次,让菌液混合均匀,即成 10^{-2} 稀释液。以此类推,连续稀释,制成 10^{-1} 至 10^{-7} 一系列稀释度菌液。25℃培养14 d。培养结束后,从试管中吸取液体,滴3滴于比色盘小凹坑中后,加1滴 Griess 试剂1,然后再加1滴 Griess 试剂2,有红色表明有 NO_2^- 或 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 存在,为阳性反应。由4次重复中阳性反应试管数值查MPN指数表,再

换算成 1 ml 样品中含 AOB 数量,最后换算成每克干土中 AOB 数量。其中液体培养基为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g L⁻¹、NaCl 0.3 g L⁻¹、 $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g L⁻¹、 K_2HPO_4 1 g L⁻¹、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g L⁻¹和 CaCO_3 7.5 g L⁻¹、pH 7.8。具体方法见《农业微生物学实验技术》^[10]。

1.4.2 统计分析

试验结果用算术平均数和标准误表示测定结果的精密度 ($X \pm S. D.$)。利用 Microsoft Excel 软件、SPSS 11.0 数据分析软件进行试验数据的统计计算、统计检验和方差分析等工作。

2 结果与分析

2.1 不同氮效率水稻根表、根际和土体土壤 pH

从表 1 可以看出,水稻根表土壤 pH 值在齐穗期、灌浆期和成熟期基本无变化;根际土壤在 N0 水平表现为齐穗期最高,其次为成熟期,灌浆期最低,而在 N180 和 N300 水平下随时间无显著变化;土体土壤在 3 个施氮水平下均表现为齐穗期最高,其次为成熟期,灌浆期最低。在 3 次采样期间,水稻土壤 pH 值范围在 5.95 至 6.84 之间变化。无论是齐穗期、灌浆期还是成熟期,根表土壤 pH 值均显著低于根际和土体土壤。例如,水稻根表、根际和土体土壤平均 pH 值分别为 6.15、6.49 和 6.57。土体土壤 pH 值在齐穗期显著高于根际土壤,而在灌浆和收获期与根际无显著差异。就两个水稻品种而言,4007 根表土壤 pH 值在 N180 水平下,在齐穗期显著高于 Elio,而在灌浆期显著低于 Elio,在收获期二者无显著差异;而在相同施氮水平下,4007 根际土壤除在齐穗期无显著差异外,在灌浆和收获期均表现为 4007 显著低于 Elio。其余时间和采样点二者土壤 pH 值基本无差异。

2.2 不同氮效率水稻根表、根际和土体土壤 NH_4^+ -N 含量

随水稻生长,水稻根表、根际和土体土壤 NH_4^+ -N 含量显著下降(表 1)。而且随施氮量增加,水稻根表、根际和土体土壤 NH_4^+ -N 含量显著增加。在整个采样期间,水稻根表土壤 NH_4^+ -N 出现明显亏缺区,除在 N300 水平下根际和土体土壤 NH_4^+ -N 含量差异不显著外,均表现为随距水稻根距离增加, NH_4^+ -N 含量逐渐升高。例如,在 N180 水平下,水稻根表、根际和土体土壤 NH_4^+ -N 含量分别为 0.75、2.31 mg kg⁻¹ dry soil 和 3.35 mg kg⁻¹ dry soil。就两个水稻品种之间的差异而言,除在 N300 水平下,根际和土体 NH_4^+ -N 含量二者无显著差异外(表 1),均表现为无论根表、根际还是土体土壤,4007 NH_4^+ -N 含量均显著高于 Elio。例如,4007 根际土壤(N180 水平下)在齐穗期、灌浆期和成熟期 NH_4^+ -N 含量分别比 Elio 高 23.5%、49.6% 和 43.8%。

2.3 不同氮效率水稻根表、根际和土体土壤 NO_3^- -N 含量

与水稻土壤 NH_4^+ -N 含量变化相反,随水稻生长,水稻根表、根际和土体土壤 NO_3^- -N 含量显著增加(表 1)。在 3 次采样期间,施氮处理 N180 和 N300 土壤 NO_3^- -N 含量均显著高于不施氮处理 N0,但 N180 处理和 N300 处理差异不显著。在整个采样期间,无论施氮量为多少,均表现为根际土壤 NO_3^- -N 含量最高,其次为土体土壤,根表土壤 NO_3^- -N 含量最低。例如,在 N180 水平下,水稻在收获期根表、根际和土体土壤 NO_3^- -N 含量分别为 1.03、4.22 mg kg⁻¹ dry soil 和 2.14 mg kg⁻¹ dry soil。就两个水稻品种差异而言,在齐穗期水稻根表、根际和土体土壤在 N180 水平下均表现为 Elio 显著高于 4007(表 1)。而在灌浆期和收获期,水稻根表、根际和土体土壤则表现为 4007 显著高于 Elio(表 1)。

2.4 不同氮效率水稻根表、根际和土体土壤硝化强度

与水稻土壤 NH_4^+ -N 含量随时间变化趋势相同,水稻根表和根际土壤硝化强度随水稻生长显著下降(表 1)。而土体土壤硝化强度随时间延长显著增加,但增加幅度较小。施氮显著提高 4007 水稻根表土壤在齐穗和收获期硝化强度以及 Elio 在齐穗期根际硝化强度,但在施氮处理 N180 和 N300 中无显著差异,因此过量施用氮肥并不能促进水稻根际土壤硝化作用,相反只能增加氮素在土壤中的残留量(表 1),从而大大降低氮肥利用率。水稻在整个采样期间,土壤硝化强度均表现为根际 > 根表 > 土体。例如,水稻在灌浆期根表、根际和土体土壤硝化强度分别为 40.6、56.6 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{dry soil h}^{-1}$ 和 3.43 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{dry soil h}^{-1}$ 。两个水稻品种根表和根

表 1 4007 和 Elio 在齐穗期、灌浆期和收获期土壤 pH 值、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 含量、硝化强度和 AOB 数量

Table 1 pH, NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, Nitrification activity and AOB abundance measured at different distance from the rice root in the flooded paddy soil grown with 4007 and Elio rice cultivars at heading, filling and harvesting stages

采样期 Sampling stage	采样点 Sampling site	品种 Variety	pH	NH ₄ ⁺ -N (mg kg ⁻¹ dry soil)			NO ₃ ⁻ -N (mg kg ⁻¹ dry soil)			硝化强度 Nitrification activity (μg kg ⁻¹ dry soil h ⁻¹)			AOB 数量 AOB abundance (10 ⁵ g ⁻¹ dry soil)				
				N0	N180	N300	N0	N180	N300	N0	N180	N300	N0	N180	N300		
齐穗期 Heading stage	根表 Root surface	4007	6.10 ^{gh}	6.32 ^f	6.19 ^f	1.32 ^d	1.98 ^g	3.40 ^g	0.02 ^g	0.07 ^h	0.10 ^h	34.5 ^e	60.2 ^c	70.2 ^c	8.47 ^{ef}	12.0 ^{cd}	20.5 ^b
		Elio	6.17 ^{fg}	6.21 ^g	6.32 ^e	0.91 ^{ef}	1.06 ⁱ	2.30 ^{gh}	0.04 ^g	0.02 ^h	0.08 ^h	68.0 ^b	73.4 ^b	87.0 ^b	13.6 ^c	19.2 ^b	26.4 ^a
		4007	6.60 ^b	6.48 ^{de}	6.57 ^{cd}	2.56 ^b	3.66 ^{bc}	19.7 ^b	0.78 ^e	1.50 ^{ef}	1.29 ^g	1.29 ^g	72.2 ^b	71.5 ^b	89.2 ^b	23.7 ^b	22.9 ^a
灌浆期 Filling stage	土体 Bulk soil	Elio	6.57 ^b	6.45 ^e	6.53 ^d	2.16 ^c	2.96 ^d	16.7 ^c	1.36 ^d	1.80 ^{de}	1.87 ^{ef}	87.4 ^a	124 ^a	112 ^a	27.4 ^a	24.2 ^a	26.9 ^a
		4007	6.80 ^a	6.84 ^a	6.76 ^a	2.92 ^a	4.65 ^a	23.1 ^a	0.04 ^g	0.08 ^h	0.12 ^h	1.18 ^h	2.23 ^b	4.28 ^b	0.24 ^h	0.43 ^g	1.14 ^b
		Elio	6.80 ^a	6.81 ^a	6.72 ^{ab}	2.77 ^{ab}	3.16 ^{cd}	18.8 ^b	0.05 ^g	0.04 ^h	0.11 ^h	1.37 ^h	2.20 ^b	4.34 ^b	0.26 ^h	0.68 ^g	1.34 ^b
收获期 Harvesting stage	根表 Root surface	4007	6.09 ^{gh}	6.07 ^h	6.07 ^g	0.25 ^g	0.87 ⁱ	1.17 ^{hi}	0.12 ^g	0.23 ^h	0.18 ^h	52.2 ^c	42.0 ^d	57.8 ^{de}	10.2 ^{de}	9.61 ^{de}	12.0 ^{ef}
		Elio	6.07 ^h	6.21 ^g	6.31 ^e	0.11 ^g	0.19 ^j	0.49 ^{hi}	0.09 ^g	0.13 ^h	0.17 ^h	31.4 ^{ef}	26.4 ^{ef}	34.0 ^f	7.18 ^f	6.74 ^f	6.89 ^g
		4007	6.08 ^h	6.43 ^e	6.60 ^{cd}	2.03 ^c	2.58 ^{de}	19.8 ^b	2.47 ^b	4.56 ^a	4.71 ^b	56.0 ^c	71.5 ^b	73.4 ^c	13.6 ^c	18.2 ^b	16.0 ^{cd}
齐穗期 Heading stage	土体 Bulk soil	Elio	6.37 ^{de}	6.61 ^{bc}	6.60 ^{cd}	0.89 ^{ef}	1.72 ^{gh}	13.8 ^d	1.77 ^c	2.12 ^d	2.79 ^d	42.3 ^d	39.4 ^d	56.3 ^{de}	12.2 ^{cd}	9.64 ^{de}	12.8 ^{de}
		4007	6.17 ^{fg}	6.34 ^f	6.66 ^{bc}	2.62 ^{ab}	4.17 ^{ab}	18.7 ^{bc}	0.52 ^f	1.81 ^{de}	2.00 ^e	2.28 ^h	3.86 ^h	4.34 ^h	0.25 ^h	0.41 ^g	1.05 ^h
		Elio	6.24 ^f	6.45 ^e	6.52 ^d	2.59 ^b	2.67 ^{de}	13.5 ^{de}	0.55 ^f	1.39 ^{ef}	1.44 ^{fg}	2.06 ^h	3.89 ^h	4.13 ^h	0.28 ^h	0.52 ^g	1.05 ^h
灌浆期 Filling stage	根表 Root surface	4007	5.95 ⁱ	6.17 ^g	6.12 ^{fg}	0.09 ^g	0.26 ^j	0.36 ^{hi}	0.85 ^e	1.25 ^f	2.02 ^e	24.6 ^f	35.1 ^{de}	45.2 ^{ef}	7.89 ^f	10.4 ^{cd}	11.2 ^{ef}
		Elio	6.04 ^h	6.17 ^g	6.14 ^{fg}	0.06 ^g	0.14 ^j	0.18 ⁱ	0.50 ^f	0.81 ^f	1.22 ^g	14.0 ^g	16.2 ^{fg}	31.2 ^g	4.65 ^f	5.40 ^f	8.53 ^{fg}
		4007	6.42 ^{cde}	6.47 ^c	6.52 ^d	0.87 ^{ef}	1.74 ^g	12.0 ^{def}	2.71 ^a	4.85 ^a	5.31 ^a	43.4 ^d	43.8 ^d	64.5 ^{cd}	8.63 ^{ef}	12.8 ^c	12.9 ^{de}
收获期 Harvesting stage	土体 Bulk soil	Elio	6.49 ^c	6.56 ^{cd}	6.53 ^d	0.62 ^f	1.21 ^{hi}	11.6 ^{ef}	1.25 ^d	3.58 ^b	3.98 ^c	33.7 ^e	35.1 ^{de}	38.4 ^{fg}	5.01 ^g	7.97 ^{ef}	8.76 ^{fg}
		4007	6.34 ^c	6.47 ^c	6.72 ^{ab}	1.47 ^d	3.02 ^d	11.1 ^f	1.18 ^d	2.54 ^c	2.64 ^d	3.71 ^h	7.36 ^{gh}	6.45 ^h	0.23 ^h	0.42 ^g	1.32 ^h
		Elio	6.43 ^{cd}	6.65 ^b	6.64 ^{bc}	0.99 ^e	2.44 ^{ef}	12.3 ^{def}	0.94 ^e	1.74 ^e	1.95 ^e	3.13 ^h	6.29 ^{gh}	5.60 ^h	0.30 ^h	0.54 ^g	1.41 ^h

同列中不同字母表示 LSD 检验 5% 水平差异显著 n = 3 Means followed by different letters on the same column indicate significant difference at 5% level by LSD test

际土壤硝化强度之间差异显著,表现为在齐穗期,Elio 根表和根际土壤硝化强度显著高于 4007(表 1);而在灌浆和收获期则相反,4007 根表和根际土壤硝化强度均显著高于 Elio,且在 3 个施氮处理中均存在这种差异(表 1)。在所有采样期,两个水稻品种土体土壤在 3 个施氮量下均无显著差异。

2.5 不同氮效率水稻根表、根际和土体土壤 AOB 数量

从表 1 可以看出,水稻根表和根际 AOB 数量随水稻生长时间延长而显著降低,而土体土壤 AOB 数量则随时间无显著变化。例如,根表土壤 AOB 数量在齐穗期、灌浆期和收获期分别为 16.7、8.77 个每克干土和 8.01×10^5 个每克干土。随施氮量增加,水稻齐穗期根表 AOB 数量显著增加,而根际土壤 AOB 数量随施氮量增加无显著变化。土体土壤 AOB 数量均随施氮量增加而显著增加。除在齐穗期水稻根际土壤 AOB 数量在 N0 和 N180 处理中显著高于根表土壤,其余皆表现为根表和根际土壤 AOB 数量无显著差异,但二者显著高于土体土壤 AOB 数量。就两个水稻品种土壤 AOB 数量差异而言,除在 N180 水平下,二者根际土壤 AOB 数量无差异外,与水稻土壤硝化强度相类似,也表现为在水稻齐穗期 Elio 根表和根际土壤 AOB 数量显著高于 4007(表 1);而在灌浆期,除在 N0 和 N300 处理中二者根际土壤 AOB 数量无显著差异外,均表现为 4007 根表和根际土壤 AOB 数量显著高于 Elio(表 1);而在成熟期则仍是 4007 根表和根际土壤 AOB 数量显著高于 Elio(表 1)。二者土体土壤 AOB 数量在 3 次采样中均无显著差异。

3 讨论

3.1 水稻生育后期土壤 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 形态及转化

长期淹水条件下,稻田土壤硝化作用被强烈抑制,因此水稻田氮素形态以 NH_4^+ -N 为主^[11, 12]。但水稻通过贯穿于植株茎部和根部的通气组织将氧气从地上部向根部运输^[13~15],并将其中一部分氧气释放到根际土壤中^[16],硝化作用在根际和根表立即发生。因此,水稻仍是处于铵硝混合营养中。

本次试验最后一次施肥是在齐穗期前一周,因此可以基本忽略施肥对土壤 N 素形态和硝化强度的影响。从表 1 可以看出,水稻在齐穗期根际根、表和土体土壤均以 NH_4^+ -N 为主,且 $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ 比值较高;而在灌浆期根表和土体土壤以及 N300 处理中的根际土壤以 NH_4^+ -N 为主,而根际土壤在 N0 和 N180 处理中以 NO_3^- -N 为主;在收获期 N300 处理中的根际土壤和土体土壤以 NH_4^+ -N 为主,而根表土壤和根际土壤在 N0 和 N180 处理中以 NO_3^- -N 为主。由以上结果可以看出土体土壤在所有采样期以及 3 个施氮处理中均以 NH_4^+ -N 为主,这主要是由于土体土壤长期处于低氧状态中,其中的 AOB 数量较少(表 1),导致其硝化作用很弱(表 1),因此由硝化作用转化的 NO_3^- -N 含量就很低(表 1)。而且可以看出高氮肥处理(N300)中大量 NH_4^+ -N 残留在土体当中(表 1),因此过量施用氮肥不仅降低氮肥利用率,而且造成大量氮在土壤中的残留,同时也对地下水污染造成隐患。由于水稻根表和根际土壤 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 浓度的变化主要受到水稻根系吸收、土壤转化及 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 向根迁移机理等多个方面的综合作用的影响。Itoh^[17]通过数学模型对水稻根际氮素转运研究表明,土壤有机氮的矿化是限制根际 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 浓度变化的限速因子。石英等^[1]研究结果表明旱作水稻引起根际氮素养分形态变化的主要因素是根系的吸收能力。在齐穗期水稻根表和根际土壤 NO_3^- -N 浓度在 N180 水平下表现为 Elio 显著高于 4007(表 1)。而在灌浆期和收获期则表现为 4007 显著高于 Elio(表 1)。与土壤 NO_3^- -N 浓度变化趋势相同,Elio 根表和根际土壤硝化强度在齐穗期显著高于 4007(表 1);而在灌浆和收获期则相反(表 1)。根据本试验结果可以看出,发生在根表和根际的硝化作用强弱是水稻根表和根际 NO_3^- -N 浓度变化的主导因子。

3.2 水稻生育后期根表、根际和土体土壤硝化作用和硝化微生物特征

以往的盆栽试验表明,水稻苗期根表、根际和土体土壤硝化强度和 AOB 数量差异显著,且不同水稻品种之间也存在显著性差异,表现为扬稻 6 号(常规籼稻)和农垦 57(常规粳稻)根际土壤硝化强度和 AOB 数量最大、土体土壤次之、根表土壤最小^[7]。而在本次田间试验中 4007 和 Elio 土壤硝化强度在生育后期均表现为根际 > 根表 > 土体(表 1),根表和根际土壤 AOB 数量无显著差异,但二者显著高于土体土壤 AOB 数量(表 1)。因此我们可以看出水稻苗期根际土壤硝化作用和 AOB 与水稻氮高效关系密切,而在水稻生育后期根表和

根际土壤硝化作用和 AOB 与水稻氮高效关系密切。根表土壤硝化强度始终低于根际土壤,而根表与根际土壤 AOB 数量却无显著性差异,主要是因为水稻根系吸收 NH_4^+ -N,因此根表 pH 值迅速降低^[18],而且水稻根表 NH_4^+ -N 严重亏缺(表 1),在本次田间试验中根表 pH 值显著低于根际和土体土壤(表 1),这与前人的研究结果相一致,上述原因使得根表硝化强度比根际土壤低(表 1)。

水稻生育后期不同阶段 N 素形态、硝化强度和 AOB 数量是存在差异的,一方面是由于水稻生长引起的,另一方面水分也是影响因素之一。由于水稻生长后期(齐穗期、灌浆期、成熟期)水分状况会有所不同,导致土壤氧化还原状况改变,从而影响 N 素形态、硝化强度和 AOB 数量。但不同生育期之间的差异究竟是什么引起的,还有待于进一步的研究。

3.3 根际土壤硝化作用与水稻 NUE 的关系

氮高效水稻品种指的是在任何供氮水平下均有较高的产量;氮低效水稻品种则指的是在任何供氮水平下其产量均较低。因此根据以往的试验结果^[8]定义 4007 为氮高效品种,而 Elio 为氮低效品种。之所以 Elio 会出现后期产量和 NUE 低于 4007,可能是由于其后期土壤 NH_4^+ -N 含量显著低于 4007 引起的(表 1),由于 NH_4^+ -N 存在亏缺,导致其在灌浆期硝化强度显著低于 4007。因此根际土壤硝化作用强可导致根际 NO_3^- -N 含量较高,从而水稻根吸收 NO_3^- -N 的量也高,由于水稻对 NO_3^- -N 吸收量的差异最终导致水稻生长及 NUE 的差异,即根际硝化作用越强,水稻吸收的 NO_3^- -N 越多,水稻 NUE 越高。

杨肖娥和孙羲^[19]利用盆栽试验研究了不同 N 源对杂交稻和常规稻的生理效应。结果表明,生育后期追施 NO_3^- -N 比 NH_4^+ -N 更能提高稻叶的叶绿素、可溶性蛋白质和核糖核酸的含量;增加光合磷酸化活力和¹⁴C₂同化速率;提高内源细胞分裂素含量,降低脱落酸的水平。试验结果还表明,追施 NO_3^- -N 比 NH_4^+ -N 更能提高灌浆谷粒中 ATP 水平,推迟谷粒中脱落酸出现的高峰期,促进¹⁴C 同化物向穗部运输,从而提高结实率。Elio 根际土壤硝化强度在水稻灌浆期之前一直显著高于 4007,而在灌浆期之后则显著低于 4007,且最终产量和 NUE 显著低于 4007,这可能是由于 4007 灌浆期后硝化作用强,根际产生的 NO_3^- -N 含量高,从而 4007 根吸收 NO_3^- -N 的量也高造成的。因此水稻灌浆期和收获期根际硝化作用与水稻高产及氮素高效利用关系密切。

References:

- [1] Shi Y, Shen Q R, Mao Z S, *et al.* Time and horizontal spatial variations of NH_4^+ -N and NO_3^- -N of rhizospheric soil with rice cultivation on upland condition mulched with half-decomposed rice straw. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35: 520—524.
- [2] Smith C J, Delaune R D. Effect of rice plant on nitrification loss of nitrogen under greenhouse conditions. *Plant and Soil*, 1984, 79: 287—290.
- [3] Qin S W, Liu Z Y. The nutrient status of soil-root interface III. Variation of fertilizer nitrogen in rice rhizosphere. *Acta Pedologica Sinica*, 1984, 21(3): 238—245.
- [4] Kakuda K, Ando H, Harayma M. Effect of rice plant growth on denitrification in rhizosphere soil. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1999, 45(3): 599—607.
- [5] Li Z G, Yu S, Pan Y H, *et al.* Spatial variations of ecological factors for rice rhizosphere nitrification-denitrification. *Acta Pedologica Sinica*, 1999, 36(1): 111—116.
- [6] Duan Y H, Zhang Y L, Shen Q R. Nitrification in rice rhizosphere and the nitrate nutrition of rice. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(5): 803—809.
- [7] Li Y L, Zhang Y L, Hu J, *et al.* Spatiotemporal variations of nitrification in rhizosphere soil for two different rice cultivars at the seedling stage growing under waterlogged conditions. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1461—1467.
- [8] Li Y L, Zhang Y L, Zhang Y H, *et al.* Effect of N application on fertilizer-N use efficiencies, nitrification and nitrifying microorganisms in rhizosphere soil growing with different lowland rice cultivars. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(6): 2507—2515.
- [9] Berg P, Rosswall T. Ammonium oxidizer numbers, potential and actual oxidation rates in two Swedish arable soils. *Biology and Fertility of Soils*, 1985, 1: 131—140.
- [10] Li F L, Yu Z N, He S J. *Agricultural microbiological experimental technique*. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1996. 34—36.
- [11] Rubinigg M, Stulen I, Elzenga J T M, *et al.* Spatial patterns of radial oxygen loss and nitrate net flux along adventitious roots of rice raised in aerated or stagnant solution. *Functional Plant Biology*, 2002, 29: 1475—1481.

- [12] Aurelio M B J, Satoshi O, Yoshiaki U, *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria on root biofilms and their possible contribution to N use efficiency of different rice cultivars. *Plant and Soil*, 2003, 250: 335—348.
- [13] Armstrong W. Radial oxygen losses from intact rice roots as affected by distance from the apex, respiration and water-logging. *Physiologia Plantarum*, 1971, 25: 192—197.
- [14] Justin S H F W, Armstrong W. The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New Phytologist*, 1987, 106: 465—495.
- [15] Blom C W P M, Voeselek L A C J. Flooding: the survival strategies of plants. *Tree*, 1996, 11: 290—295.
- [16] Frenzel P, Rothfuss F, Conrad R. Oxygen profiles and methane turnover in a flooded rice microcosm. *Biology and Fertility of Soils*, 1992, 14: 84—89.
- [17] Itoh S. Study of nitrogen transport around rice root by numerical model. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1992, 63(6): 652—657.
- [18] Colmer T D, Bloom A J. A comparison of NH_4^+ and NO_3^- net fluxes along roots of rice and maize. *Plant, Cell and Environment*, 1998, 21: 240—246.
- [19] Yang X E, Sun X. Physiological effects of application of NO_3^- -N and NH_4^+ -N on rice at the late growth stages. *Chinese Journal of Soil Science*, 1990, 3: 110—114.

参考文献:

- [1] 石英, 沈其荣, 菲泽圣, 等. 旱作水稻根际土壤铵态氮和硝态氮的时空变异. *中国农业科学*, 2002, 35(5): 520~524.
- [3] 钦绳武, 刘芷宇. 土壤-根系微区养分状况的研究 III. 水稻根际氮素的变化. *土壤学报*, 1984, 21(3): 238~245.
- [5] 李振高, 俞慎, 潘映华, 等. 水稻根际硝化-反硝化作用生态因子的水平空间变异. *土壤学报*, 1999, 36(1): 111~116.
- [6] 段英华, 张亚丽, 沈其荣. 水稻根际的硝化作用与水稻的硝态氮营养. *土壤学报*, 2004, 41(5): 803~809.
- [7] 李奕林, 张亚丽, 胡江, 等. 淹水条件下籼稻与粳稻苗期根际土壤硝化作用的时空变异. *生态学报*, 2006, 26(5): 1461~1467.
- [8] 李奕林, 张亚丽, 张耀鸿, 等. 施 N 对不同水稻品种 N 肥利用率及根际硝化作用和硝化微生物的影响研究. *生态学报*, 2007, 27(6): 2507~2515.
- [10] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 1996. 34~36.
- [19] 杨肖娥, 孙羲. 水稻生育后期追施 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 对水稻的生理效应. *土壤通报*, 1990, 3: 110~114.