

胡星云, 白军红, 温晓君, 等. 重金属镉添加对珠江河口农村和城市河流湿地土壤氮矿化过程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(3): 618-626.

HU Xing-yun, BAI Jun-hong, WEN Xiao-jun, et al. Effects of Cd addition on nitrogen mineralization processes of rural and urban river wetland soils in the Pearl River Estuary, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(3): 618-626.

重金属镉添加对珠江河口农村和城市河流湿地土壤氮矿化过程的影响

胡星云, 白军红*, 温晓君, 卢琼琼, 王伟, 王大伟

(水环境模拟国家重点实验室, 北京师范大学环境学院, 北京 100875)

摘要:以珠江河口农村河流湿地和城市河流湿地为研究对象,通过40 d室内培养实验研究了不同浓度的镉添加条件下(A:无添加;B:低浓度, $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;高浓度, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)两类湿地土壤中有机氮的矿化过程,探讨了土壤关键酶、微生物及环境因子对有机氮矿化过程的作用机理。结果表明,不同浓度镉添加条件下两类湿地土壤的矿化速率均表现为初期波动较大而后期趋于稳定的变化趋势,且在40 d培养期内城市河流湿地土壤有机氮的矿化速率总体上大于农村河流湿地土壤;镉添加对培养初期有机氮的矿化具有促进作用,随着培养时间的延长,镉浓度增加抑制了农村河流湿地土壤有机氮的矿化,而低浓度镉却有利于城市河流湿地土壤有机氮的矿化;在培养期内两类湿地土壤有机氮的矿化速率均出现负值。土壤有机氮矿化与脲酶活性具有显著相关性($P < 0.05$),重金属镉添加抑制了农村河流湿地土壤的脲酶活性,但在培养后期低浓度镉添加却促进了城市河流湿地土壤的脲酶活性。氨氧化古菌(AOA)在不同浓度镉添加下两种湿地土壤的氨氧化过程中都占据很高比例(农村:95.37%~97.86%;城市:52.13%~78.15%),表明其较氨氧化细菌(AOB)更能适应复杂的环境。随着珠江口工业化和城市化的快速发展,当镉污染超出了农村和城市河流湿地土壤的纳污能力时(尤其是农村),会抑制脲酶和硝化微生物活性,进而对有机氮的矿化过程造成不利影响。

关键词:有机氮矿化;镉;湿地土壤;脲酶;硝化细菌;珠江河口

中图分类号:S153.6 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)03-0618-09 doi:10.11654/jaes.2018-1532

Effects of Cd addition on nitrogen mineralization processes of rural and urban river wetland soils in the Pearl River Estuary, China

HU Xing-yun, BAI Jun-hong*, WEN Xiao-jun, LU Qiong-qiong, WANG Wei, WANG Da-wei

(State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: Organic nitrogen mineralization of rural and urban river wetland soils from the Pearl River Estuary under different concentrations of Cd solution (A: control; B: low concentration addition, $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; C: high concentration addition, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were investigated using a 40-day laboratory incubation experiment. Furthermore, the effects of urease enzymes, nitrification microorganisms, and environmental factors on organic nitrogen mineralization were also analyzed. Our results showed that the rates of nitrogen mineralization of rural and urban river wetland soils under different levels of Cd treatments showed large fluctuations at the initial stage but remained stable during the late stage, and the mineralization rates of urban river wetland soils were higher than those in rural river wetland soils over the 40 days of incubation. Cd addition exhibited a stimulating effect on nitrogen mineralization at the early stage. With increasing incubation time, nitrogen mineralization of rural river wetland soils was inhibited with increasing Cd levels, while low level addition of Cd improved the rates of nitrogen mineralization of urban river wetland soils. The mineralization rates of the two types of wetland soils decreased, or even exhibited negative values, during the incubation period, which was mainly associated with an insufficient supply of substrates and with microbial nitrogen fixation and denitrification. Nitrogen mineralization rates were significantly correlated with urease activities ($P < 0.05$). The addi-

收稿日期:2018-12-06 录用日期:2019-02-03

作者简介:胡星云(1992—),女,安徽黄山人,硕士,研究方向为湿地生物地球化学。E-mail:huxingyun1992@163.com

*通信作者:白军红 E-mail:junhongbai@163.com

基金项目:北京师范大学学科交叉建设项目

Project supported: The Interdiscipline Research Funds of Beijing Normal University

tion of Cd inhibited urease activity in rural river wetland soils, but low levels of Cd enhanced urease activity of urban river wetland soils during the late stages of incubation. Ammonia oxidizing Archaea (AOA) undertook a large proportion of ammonification in rural river wetland soils (95.37%~97.86%) and urban river wetland soils (52.13%~78.15%) under different levels of Cd addition, and these are more adaptable to a pollution-stressed environment than ammonia oxidizing bacteria (AOB). With rapid development of industrialization and urbanization in the Pearl River Estuary, once Cd pollution exceeds the capacities of rural and urban river wetland soils (especially in rural river wetlands), enzyme and microbial activities are inhibited, prohibiting nitrogen mineralization of wetland soils in the long term.

Keywords: Organic nitrogen mineralization; Cd; Wetland soils; Urease enzymes; nitrifiers; The Pearl River Estuary

湿地发挥着氮素的“源”、“汇”和转换器的功能。氮作为湿地营养水平的指示剂之一,常常是最主要的限制性养分,其含量高低直接影响着湿地生态系统的生产力^[1]。土壤中的氮主要以有机氮和无机氮形式存在,有机氮需要通过土壤动物和微生物的物理及生物化学作用转化为无机态氮,才能够被植物吸收利用。氮矿化过程是生态系统营养元素循环过程中最重要的过程之一,氮矿化速率作为衡量湿地生态系统现有供氮能力的重要指标,其大小和反应方向可以影响湿地生态系统氮的储存和供给能力^[2]。有机氮矿化过程包括氨化和硝化过程,该过程不仅受温度、盐度、水分、pH等环境因子的影响,还与土壤中微生物和酶活性密切相关^[3]。

珠江河口湿地是由西江、北江和东江共同冲积形成的。改革开放以来,珠江三角洲地区的城市化得到迅猛发展,受工业发展、肥料和农药施用、化石燃料燃烧、污水灌溉和污泥处理等人类活动的影响,土壤重金属污染已经成为该地区最严重的环境问题之一^[4]。已有研究表明,珠江口湿地表层沉积物的重金属含量已明显超过广东省土壤环境背景值和国家一类沉积物质量标准^[5],特别是重金属镉含量的超标,已经造成农作物的严重污染^[4]。城市化的迅速推进也给珠江河口农村(Cd: $1.41 \pm 0.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与城市(Cd: $3.77 \pm 2.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)河流湿地土壤带来了不同程度的重金属镉污染。重金属污染不仅会影响湿地生态系统自身所达到的物质平衡^[6],且重金属的毒性效应以及有效性还会引起土壤微生物活性、微生物群落结构和功能、土壤酶活性、土壤呼吸等生态特征的变化^[7-9],从而影响湿地土壤氮矿化过程^[10],特别是重金属镉浓度的高低水平会对土壤氮矿化的功能微生物产生直接的影响^[13]。多数研究表明,微生物量和酶活性与受重金属镉污染的浓度呈负相关关系^[11-12],也有研究表明低浓度的镉会激发部分微生物的活性,但过高浓度的镉又会对微生物和酶活性产生明显抑制作用^[13]。

当前,国内外关于湿地土壤氮矿化的研究主要涉

及原生土壤矿化过程与特征、影响因素、温室气体排放以及外源物质(如氮)输入条件下湿地土壤氮矿化过程差异等方面^[14-18],但目前关于重金属污染影响下湿地土壤氮矿化过程及其特征的研究还十分薄弱。鉴于此,本研究选择城市化扩张影响下的珠江河口典型农村和城市河流湿地土壤为对象,开展室内氮矿化培养实验,研究不同浓度镉添加下两类湿地土壤的有机氮矿化特征,并探究土壤脲酶、硝化微生物及环境因子对有机氮矿化的作用机理。该研究有助于明确在城市化背景下珠江河口不同类型湿地土壤供氮能力,可为珠江三角洲地区污染控制及土壤环境质量管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于珠江三角洲广州市番禺区($22^{\circ}26' \sim 23^{\circ}05' \text{ N}$, $113^{\circ}14' \sim 113^{\circ}42' \text{ E}$)。属亚热带海洋性季风气候,夏季长而不酷热,冬季短而不严寒,年均气温 $21.3 \sim 22.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$,年均降水量 $1600 \sim 2300 \text{ mm}$,主要集中在4—9月。研究区濒珠江口海岸带,长 25.3 km ,区内河网纵横,湿地资源丰富。土壤类型主要有赤红壤、潯育型水稻土、盐渍型水稻土和滨海盐渍土等。

1.2 样品采集与分析

番禺区是近年来广州市工业化、城市化迅猛发展的一个区域。本研究于2014年7月在番禺区农村(RR)和城市河流湿地的土壤(UR)各采集3个混合土壤样品进行室内氮矿化培养实验,采样点位置见图1。培养之前先将土壤样品放入恒温培养箱 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下活化3 d。称取相当于 100 g 干土质量的农村和城市河流土壤样品各63份,随机分为3组,每组21份。根据珠江口土壤Cd污染的背景值(表1)以及文献对Cd浓度与微生物活性临界值的报道(土壤Cd浓度大于 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,微生物活性明显受到抑制)^[13],将 CdCl_2 溶液(按照A:无添加;B:低浓度镉添加, $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; C:高浓度镉添加, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)均匀加入其中,然后将

样品放入塑料培养罐中,用塑料膜封口。将处理好的样品放入恒温培养箱中,在25℃条件下进行恒温培养。用差重法进行水分添加以保持培养过程中土壤样品的含水率(WC)不变。在整个实验过程中分别于培养的第0、3、6、9、15、25 d和40 d随机取出不同Cd添加处理的3个重复样品,将每个样品分成两部分,一份风干后研磨过100目筛保存于自封袋中,用于测定土壤基本理化指标(表1);一份放入2~4℃冰箱保存,用于测定铵态氮和硝态氮浓度、脲酶活性及氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)。

土壤pH用pH计测定;土壤金属(Fe、Al)以及总磷(TP)采用电感耦合等离子体光谱仪(ICP-AES)测定(标准物质为GBW07401);土壤有机质(SOM)采用重铬酸钾容量法测定^[19];土壤全氮(TN)采用元素分析仪(CHNOS Elemental Analyzer, Vario EL, German)测定;

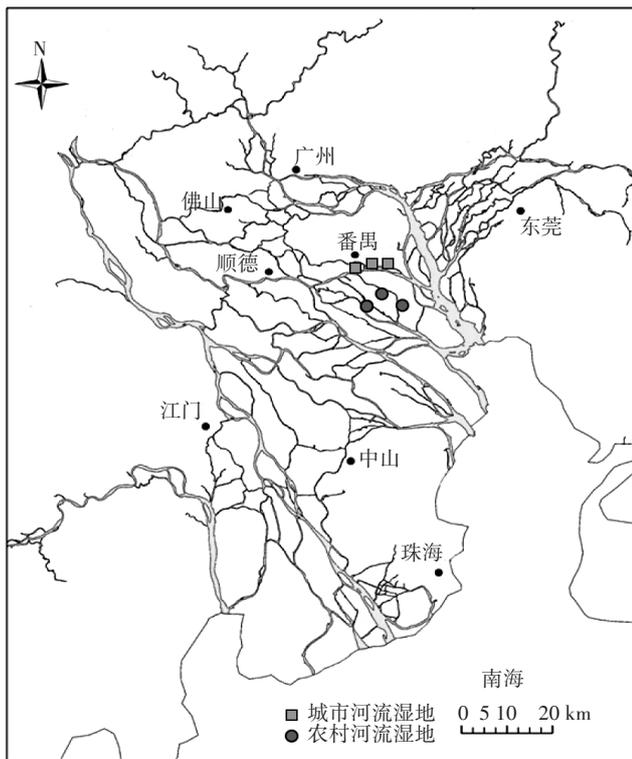


图1 采样点示意图

Figure 1 Schematic diagram of sampling points

表1 珠江河口农村和城市河流湿地土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of soils from urban and rural wetlands

湿地类型 Wetland type	pH	SOM/ g·kg ⁻¹	WC/ %	TN/ g·kg ⁻¹	TP/ g·kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ -N/ mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ -N/ mg·kg ⁻¹	Al/ mg·kg ⁻¹	Fe/ mg·kg ⁻¹	Cd/ mg·kg ⁻¹
农村河流湿地 Rural river wetlands	6.44±0.67	39.76±11.73	65.18±18.85	2.07±0.49	0.86±0.10	8.96±0.08	25.01±0.19	89.76±5.86	45.74±6.16	1.41±0.53
城市河流湿地 Urban river wetlands	7.03±0.02	77.93±23.69	96.98±63.33	5.43±2.35	2.80±1.69	14.04±0.09	50.18±0.33	78.07±10.28	35.88±5.09	3.77±2.02

铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)使用流动分析仪(Bran+Luebbe, Germany)测定,称取鲜土5 g,加入25 mL的2 mol KCl溶液浸提鲜土中的无机态氮,过滤液上机测定。土壤脲酶活性测定采用比色法测定^[20];AOA和AOB的测定采用荧光定量PCR测定。

1.3 指标计算

土壤氮矿化速率通过培养前后土壤NH₄⁺-N和NO₃⁻-N含量的差值来计算。净氮矿化速率为单位时间内无机氮含量的变化(无机氮为铵态氮和硝态氮之和),具体计算公式为:

$$\Delta t = t_{i+1} - t_i$$

$$A_{\text{amm}} = C_{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]^{i+1}} - C_{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]^i}$$

$$A_{\text{nit}} = C_{[\text{NO}_3^- - \text{N}]^{i+1}} - C_{[\text{NO}_3^- - \text{N}]^i}$$

$$A_{\text{min}} = A_{\text{amm}} + A_{\text{nit}}$$

$$R_{\text{min}} = A_{\text{min}} / \Delta t$$

式中: t_i 为培养起始时间; t_{i+1} 为培养结束时间; Δt 为培养时间; $C_{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]^i}$ 和 $C_{[\text{NH}_4^+ - \text{N}]^{i+1}}$ 分别为培养前后土壤样品的NH₄⁺-N含量; $C_{[\text{NO}_3^- - \text{N}]^i}$ 和 $C_{[\text{NO}_3^- - \text{N}]^{i+1}}$ 分别为培养前后土壤样品的NO₃⁻-N含量; A_{amm} 、 A_{nit} 和 A_{min} 分别为一定培养时间内NH₄⁺-N、NO₃⁻-N和无机氮(NH₄⁺-N+NO₃⁻-N)的累积量; R_{min} 为净氮矿化速率,mg·kg⁻¹·d⁻¹^[21]。

1.4 制图与数据分析

实验数据通过Excel 2010进行计算处理,应用Origin Pro 9.2制图,应用SPSS 20.0进行相关分析和方差分析。

2 结果分析

2.1 有机氮矿化速率

重金属镉添加处理下农村和城市河流湿地土壤有机氮的矿化速率(R_M)、氨化速率(R_A)及硝化速率(R_N)表现出不同的变化特征(图2)。总体上,不同浓度镉添加处理下农村和城市河流湿地土壤的矿化速率均表现培养前期(0~15 d)波动较大而中后期(15~40 d)趋于平稳的变化特征,且城市河流湿地土壤氮矿化速率整体上大于农村河流湿地(图3)。具体而言,农村河流湿地土壤中氮矿化速率在无重金属镉添

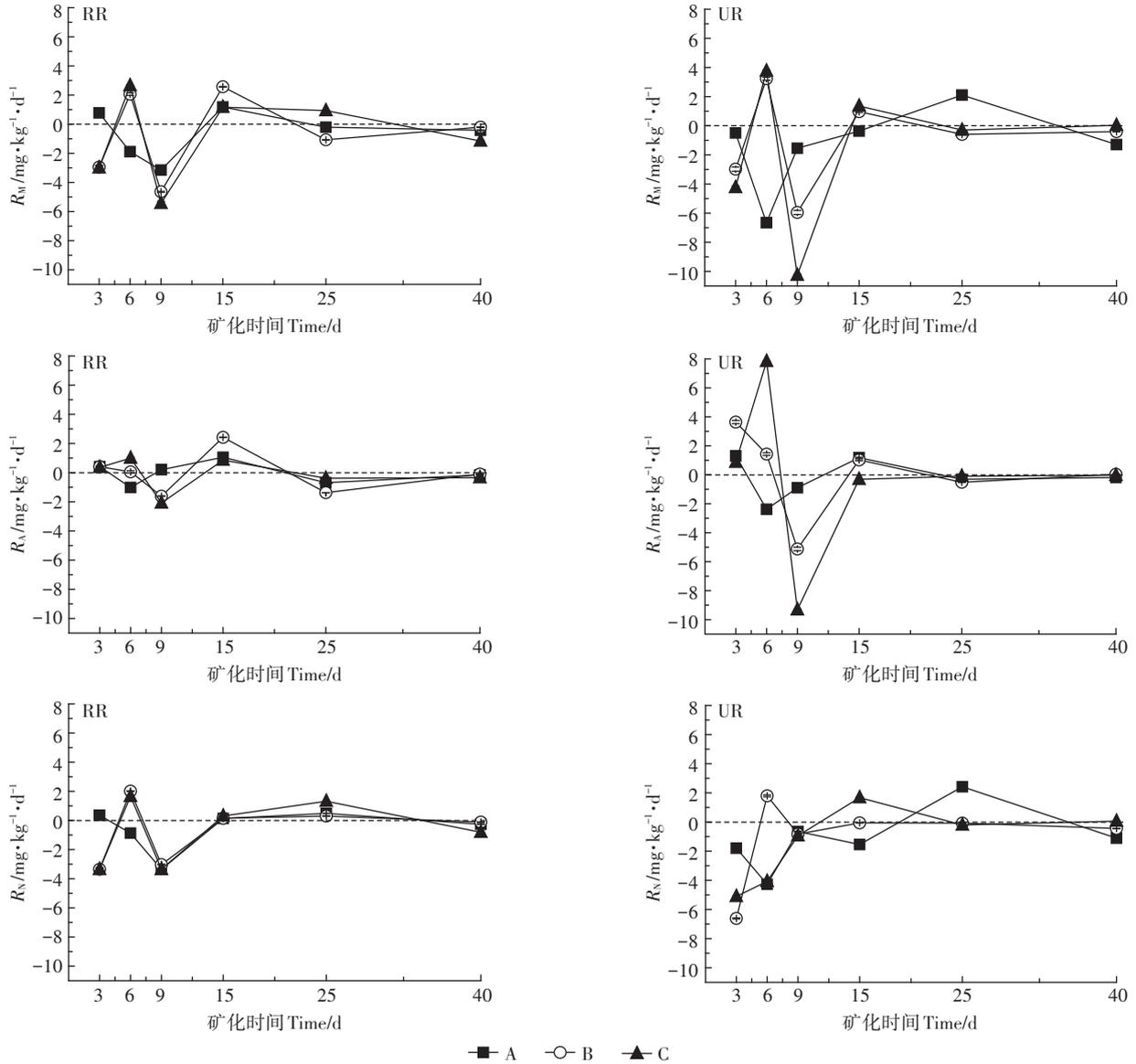


图2 不同浓度的Cd添加处理下城市和农村河流湿地土壤有机氮矿化速率的变化特征

Figure 2 Changes in mineralization rates of organic nitrogen in rural and urban river wetland soils under different levels of Cd addition

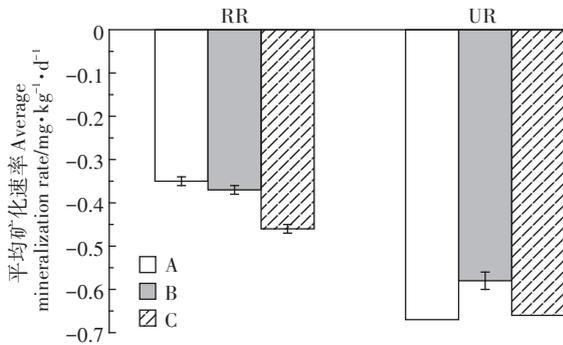


图3 40 d培养期内两类湿地土壤有机氮的平均矿化速率

Figure 3 Average mineralization rate of organic nitrogen in urban and rural wetland soils over 40 days of incubation

加下表现为先降低到负值再增加到正值,最后趋于平稳的变化规律。随着镉浓度的增加,土壤氮矿化速率增加且在0~6 d达到极显著差异($P < 0.05$)。与之相比,城市河流湿地土壤的矿化速率相对较低且波动更大,在0~6 d培养期内表现为低、高浓度镉添加明显大于对照,6~40 d培养期内则相反,在整个培养期间整体表现为低浓度镉添加处理下氮矿化速率最高,高浓度添加处理下则最低。就土壤的氨化速率和硝化速率而言,农村河流湿地土壤的氨化速率($-2.08 \sim 2.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和硝化速率($-3.36 \sim 2.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)波动较小,而城市河流湿地土壤的氨化速率($-9.32 \sim 7.83 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和硝化速率($-6.62 \sim 2.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)

d¹)波动较大。方差分析表明,在低浓度或高浓度镉添加处理下,农村和城市河流的氨化速率在试验初期(0~9 d)存在显著差异($P<0.05$);尽管不同浓度镉添加处理下农村和城市河流湿地的硝化速率没有明显差异($P>0.05$),但在培养前期高浓度镉添加下农村河流湿地土壤硝化速率表现为促进,而在城市河流湿地中则表现为抑制作用,且在培养后期无镉添加的城市河流湿地土壤硝化速率高于农村河流湿地。

2.2 土壤脲酶活性

不同浓度镉添加处理下城市与农村河流湿地土壤脲酶的活性表现出不同的变化规律(图4)。总体上,城市河流湿地土壤的脲酶活性高于农村河流湿地土壤,且波动变化范围更大。在低浓度镉添加处理下两种湿地土壤的脲酶活性达到显著差异($P<0.05$)。具体而言,在农村河流湿地中,无镉添加和低浓度镉添加处理下脲酶活性均表现为先小幅降低再呈波动变化的特征,而高浓度镉添加则使土壤脲酶活性呈先迅速下降后缓慢降低并趋于平稳的变化趋势。在0~6 d培养期内,在高浓度镉添加处理下土壤脲酶活性最高,在低浓度镉添加处理下则呈现最低水平;而在6~40 d的培养期内则正好相反。在城市河流湿地中,无镉添加处理下的培养初期(0~6 d)土壤脲酶活性呈现小幅下降,土壤脲酶活性随着添加的镉浓度的增加而增加;培养中期(6~25 d),三种浓度镉处理下土壤脲酶活性均迅速增加到最大值后再快速降低,但最大值出现的时间不同:高浓度镉添加处理下,土壤脲酶最大值出现的时间较无镉添加处理提前,随着镉浓度的增加,土壤脲酶活性也增加;培养后期(25~40 d),无镉添加和高浓度镉添加处理下土壤脲酶活性趋于稳定,而低浓度镉添加处理下土壤脲酶活性则快速升高并显著高于其他两种处理($P<0.05$)。

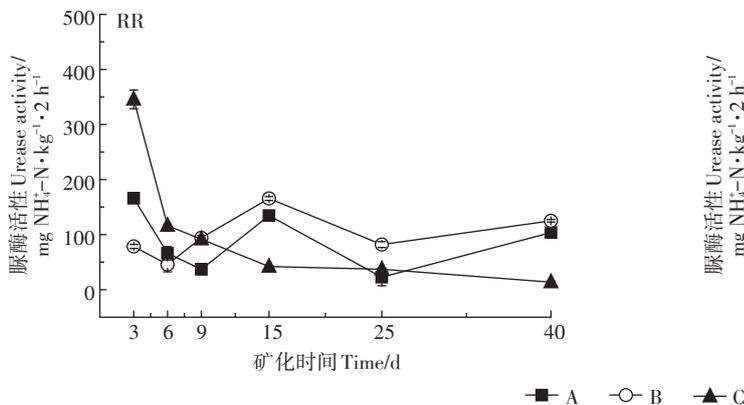
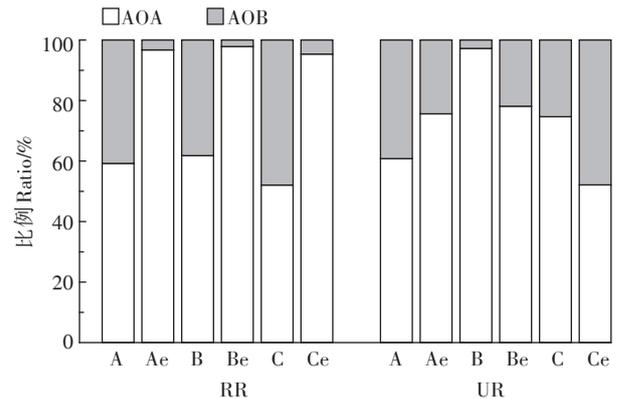


图4 不同浓度Cd添加处理下城市和农村河流湿地土壤脲酶活性的变化

Figure 4 Variations in urease activities in rural and urban river wetland soils under different levels of Cd addition

2.3 AOA和AOB功能基因比例变化特征

不同浓度镉添加处理下城市和农村河流湿地土壤的AOA和AOB功能基因比例在培养前后具有较大差异(图5)。农村河流湿地土壤中,各浓度镉添加处理下AOA比例均在培养后明显增加且增加幅度相近。与之相比,城市河流湿地土壤中,无镉添加处理的土壤AOA比例在培养后上升幅度不大,而镉添加培养后的AOA比例明显降低且随着镉浓度的增加而下降幅度也增加。对比两种氨氧化微生物,无论是农村河流湿地还是城市河流湿地,其土壤中的AOA在培养后始终占主导地位,在镉添加后AOA所占比例分别为95.37%~97.86%(RR)和52.13%~78.15%(UR)。



Ae, Be, Ce 分别表示无 Cd 添加、低浓度 Cd 添加和高浓度 Cd 添加培养后的土壤

Ae, Be and Ce represented the soil incubated without Cd, with low concentration of Cd and with high concentration of Cd addition, respectively

图5 不同浓度Cd添加处理下农村和城市河流湿地土壤AOA和AOB比例的变化

Figure 5 Ratio transformation of AOA and AOB in rural and urban river wetlands soils under the different Cd addition

3 讨论

3.1 重金属镉添加对城市和农村河流湿地土壤有机氮矿化速率的影响

不同浓度镉添加处理下,农村和城市河流湿地土壤氮矿化速率均表现为培养初期波动较大(出现负值)而中后期趋于稳定的变化规律。氮矿化速率在不同培养各阶段表现出不同的变化特征,可能与土壤微生物活性和底物消耗程度有关。矿化速率是由氨化速率和硝化速率共同决定的,从图1中可以看出,农村河流湿地土壤氮矿化速率前期受硝化作用影响较大而后期受氨化作用影响较大,城市河流湿地土壤氮矿化速率主要受氨化作用的影响。相关分析表明,除高浓度镉添加处理下农村河流湿地土壤氨化速率与脲酶活性没有显著相关性之外,其他处理下两种湿地的氨化速率均与脲酶活性呈显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)相关(表2)。由于在氮矿化初始阶段土壤中能被矿化的底物充足,但这一时期的酶活性(主要是脲酶活性,图4)不稳定,因此在这一阶段土壤氮矿化速率整体上呈现较大的波动。随着培养时间的推移,土壤中能被矿化的底物逐渐被消耗^[22],矿化出来的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 也逐渐降低,因此矿化速率减慢并趋于稳定。培养期间,不同镉添加处理下农村和城市河流湿地土壤的氮矿化速率均出现明显下降甚至出现负值。尽管这一研究结果与很多现有的研究结果不一致,即土壤氮的矿化速率通常为正值或零,然而通过对比国内外相关研究结果可知,无论是室内培养矿化实验还是野外原位培养矿化试验,都有相当一部分研究结果也出现了与本研究类似的情况(表3)。究其原因,可能与以下三个方面有关。一是与矿化有关的氮养分和碳能量供应不足有关。随着培养时间的延长,前期矿化阶段微生物消耗了大量底物,使得该时期土壤矿化所需要的氮基质和碳能量的供应相

表2 农村河流和城市河流湿地土壤矿化速率与脲酶活性的相关性

Table 2 Relationships between mineralization rates and urease activities in rural and urban wetland soils

湿地类型 Wetland type	重金属镉浓度 Cd concentration	R_M	R_A	R_N
农村河流湿地 Rural river wetland	A	0.653**	0.626**	0.415
	B	0.261	0.585*	-0.055
	C	-0.364	0.187	-0.563*
城市河流湿地 Urban river wetland	A	0.177	0.568*	-0.124
	B	-0.576*	-0.826**	0.202
	C	-0.820**	-0.64**	-0.226

注:A、B和C分别代表无镉添加、低浓度镉添加和高浓度镉添加。

Note: A, B and C represent the addition of no Cd, low Cd concentration and high Cd concentration, respectively.

对不足,由此导致矿化速率迅速降低。二是与脲酶活性降低以及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被微生物固持有关。不同浓度镉添加下农村河流湿地土壤脲酶活性在培养初期(0~6 d)均出现不同程度的降低(图4),因此各土壤的氨化速率也不断降低(图2)。同样,不同镉浓度添加处理下城市河流湿地土壤脲酶活性在培养初期(0~6 d)也大幅度下降(图4),其氨化速率在6~9 d培养期内也达到最低值,特别是镉添加处理下土壤脲酶活性较对照下降的幅度更为明显。同时,土壤微生物是一个多群体的组合,尽管氨化微生物的活性被抑制,但其他微生物仍然会以矿化的有机物为碳源,并利用已矿化出来的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为氮源进行繁殖,从而对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 产生固持作用,导致累积矿化量降低^[23]。牟晓杰等^[16]在黄河口的研究中也表明,芦苇和碱蓬湿地土壤的氮净矿化量在培养不同时期出现的负值是由于土壤微生物的固持作用高于矿化作用。三是与反硝化作用有关。已有研究表明,厌氧状态下的反硝化作用也是一个非常重要的过程^[24]。本研究中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在被微生物固持的同时,培养体系中反硝化作用的进行亦可导致脱氮

表3 国内外相关文献关于氮矿化速率出现下降或负值情况(部分)

Table 3 Mineralization rates of nitrogen showed a decline or negative values in domestic and abroad literatures (part of it)

生态系统类型 Ecosystem type	研究区域 Study area	土壤类型 Soil type	培养方法 Method	培养时间 Time	参考文献 References
湿地	三江平原	沼泽土	PVC顶盖原位培养	12个月	孙志高等 ^[25]
湖泊	北京后海	潮褐土	连续淹水培养	3周	金相灿等 ^[26]
农田(水稻)	浙江宁波	水稻土	连续淹水培养	100 d	曹竟雄等 ^[27]
河口湿地	黄河口	潮滩土	PVC顶盖原位培养	30 d	牟晓杰等 ^[16]
河口湿地	闽江口	潮滩土	连续淹水培养	28 d	李家兵等 ^[28]
河谷湿地	比利时中部山谷	粉沙壤土	PVC顶盖原位培养	11个月	Steven等 ^[29]
松林湿地	美国新泽西州	沙壤土	原位培养	13周	Ehrenfeld等 ^[30]

作用。一部分 NH_4^+-N 参与了硝化-反硝化作用而被还原为 N_2 和 N_2O , 从而使得此间的累积矿化量出现下降甚至表现为负值。孙志高和刘景双^[25]在三江平原对沼泽湿地原位培养的研究中也发现, 小叶章湿草甸以及小叶章沼泽化湿地土壤的氮净矿化速率在培养期间均出现下降和负值的情况^[16, 25-30], 其原因可能与土壤中发生的反硝化作用以及微生物对氮的固持作用有关。Steven 等^[29]对比利时中部河谷湿地土壤氮矿化的原位观测中也发现, 氮的净矿化速率出现下降和负值与反硝化作用密切相关。

本研究表明, 城市河流湿地土壤氮矿化速率整体上高于农村河流湿地但波动较大(图2、图3), 这主要是由于两种湿地类型土壤的理化性质不同。从表1中可知, 城市河流湿地土壤中的养分(TC、TN、TP和SOM)均高于农村河流湿地, 养分条件更好, 底物供应更为充足, 因此整体上土壤氮矿化速率要高于农村河流湿地。然而, 由于城市河流湿地土壤含水率远大于农村河流湿地, 厌氧状态下导致在培养中期反硝化作用更加强烈, 使这一时期的氮矿化速率明显低于农村河流湿地, 而且随着Cd添加浓度的升高, 氮矿化速率下降更为明显, 导致整体上城市河流湿地土壤氮矿化速率要低于农村河流湿地。此外, 在培养初期镉添加处理较对照土壤氮矿化速率变化更大, 且随着Cd浓度的增加, 农村河流湿地土壤氮矿化速率递减, 而城市河流湿地土壤氮矿化速率在低浓度Cd添加处理下表现为最高值。一方面, 这说明了重金属镉对培养初期湿地土壤微生物和酶活性产生了刺激作用。另一方面, 说明农村河流湿地土壤较城市河流湿地土壤的矿化能力更容易受到重金属镉污染的影响。相关研究也表明, 一定范围内的重金属镉对土壤氮矿化具有刺激作用, 但超过一定范围就会起到抑制作用^[13]。本研究中的农村河流湿地显然不在镉添加的刺激范围内, 一旦受到重金属污染, 其土壤内的微生物和酶活性就会受到抑制。而城市河流湿地土壤实际上已经受到工业重金属镉的污染, 其土壤中与矿化有关的微生物和酶可能已经对重金属镉产生了抗逆性^[31], 因此低浓度的重金属镉添加反而能够提高土壤氮的矿化速率, 但镉浓度过高也会对其氮矿化产生抑制。

3.2 重金属镉添加对农村和城市河流湿地土壤氨氧化微生物组成的影响

土壤重金属污染与微生物群落之间的关系一直是土壤污染评价和修复中的热点。已有研究表明, 重金属能明显地影响微生物群落的结构、活性和组

成^[32]。硝化作用是有机氮矿化的一个重要环节, 其对重金属污染特别是镉污染非常敏感^[33]。硝化过程离不开氨氧化过程的发生, 目前研究的参与氨氧化过程的微生物有氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)。相关研究表明 AOA 和 AOB 虽然代谢机理过程不同, 但是在利用 NH_3 的途径中都是首先在氨单加氧酶(AMO)的参与下 NH_3 被氧化为 NH_2OH , 然后 NH_2OH 在羟胺氧化酶(HAO)的参与下被氧化为亚硝酸(HNO_2)^[34]。本研究中, 无论是在培养前还是在培养后, 两类湿地土壤中 AOA 都占有绝对优势(特别是在培养后)。这主要是与两种氨氧化菌类的能量来源和适应性存在差异有关。AOA 和 AOB 的生长繁殖和生命活动受土壤 pH、含水率、基质浓度(NH_4^+-N 浓度)等多方面因素的影响, AOA 更能适应酸性环境和地基质环境^[35-36]。且 AOB 是以氨氮为唯一能量来源的化能自养微生物, 而 AOA 的能量来源则包括异养和兼养多种类型^[37], 丰富的营养来源使其在土壤中更易生存和繁殖。不同 Cd 浓度添加处理下, 农村河流湿地土壤中 AOA 的比例在培养后均明显升高, 而城市河流湿地土壤中 AOA 的比例均小幅降低, 且其降低幅度随着重金属浓度的增加而加大。这主要有以下两点原因: 一是与两种湿地土壤的 pH 存在差异有关。由于 AOA 更能适应酸性环境, 本研究中农村河流湿地土壤的 pH 低于城市河流湿地土壤(表1), 因此在这种环境下农村河流湿地土壤中的 AOA 比例总体上较城市河流湿地土壤更大。二是与两种湿地土壤中 AOA 对重金属镉的响应不同有关。由于城市河流湿地的原状土较农村受污染程度高, 当其再添加重金属镉时, 已经超过了 AOA 所能承受的范围, 故比例降低。而重金属镉添加对农村河流湿地的 AOA 影响不大, 这可能是在其耐受范围之内。

本研究中, 除了低、高浓度镉添加处理下城市河流湿地土壤中 AOB 的比例在培养后升高外, 不同镉浓度添加处理下农村河流湿地土壤以及无添加处理下城市河流湿地土壤中 AOB 的比例下降, 且在农村河流湿地土壤中下降的幅度较城市河流湿地更为明显, 这可能主要与土壤中的铵态氮含量变化有关。由于 AOB 是以铵态氮为唯一能量来源的化能自养微生物, 因此其数量变化与铵态氮浓度有着直接的关系。本研究中除了低浓度 Cd 添加处理下城市河流湿地土壤铵态氮浓度在培养后增加了 10.12% 外, 其他处理下土壤铵态氮的浓度在培养后均表现为下降(农村河流湿地: 无添加处理降低 45.34%、低浓度添加处理

降低45.87%、高浓度添加处理降低66.65%;城市河流湿地:无添加处理降低33.96%、高浓度添加处理降低36.61%),这与本研究中AOB的变化情况一致(高浓度镉添加处理下的城市河流湿地土壤除外)。由脲酶活性变化也可以看出(图4),低浓度镉添加处理下城市河流湿地土壤脲酶活性在培养中后期快速上升且远大于无镉添加和高浓度镉添加处理下的土壤脲酶活性,因此能够产生更多的 NH_4^+ 为AOB的增长提供能量。而高浓度Cd添加处理下城市河流湿地土壤中AOB变化与铵态氮变化不一致,这有可能是在Cd浓度过高的环境下,AOB为了维持自身的生存而消耗了大量的铵态氮,使得培养后期铵态氮的浓度明显降低。

4 结论

(1)不同浓度重金属镉添加处理下农村和城市河流湿地土壤的有机氮矿化速率均表现为初期波动而后期趋于稳定的变化特征,随着镉浓度的增加培养前期矿化速率波动更大;城市河流湿地土壤的矿化速率整体上高于农村河流湿地土壤的矿化速率且波动更明显。

(2)重金属镉添加对培养初期的氮矿化均起到了一定的刺激作用,但随着时间的推移,镉浓度增加抑制了农村河流湿地土壤的氮矿化,而低浓度镉则有利于城市河流湿地土壤的氮矿化。

(3)两类湿地土壤氮矿化速率均受到脲酶活性的显著影响,在培养后期低浓度镉添加处理在一定程度促进了城市河流湿地土壤脲酶活性的增加,但随着镉浓度的增加,农村河流湿地土壤脲酶活性受到了明显抑制;AOA较AOB更能适应Cd污染环境,并且对氨氧化过程具有主要贡献。

(4)随着珠江口工业化和城市化的发展,当镉污染持续加重时,将会对农村和城市河流湿地土壤(特别是农村河流湿地)参与有机氮过程的土壤脲酶和硝化微生物活性造成不利影响,长期以来将不利于维持土壤的供氮水平。

参考文献:

- [1] Mistch W J, Gosselin J G. Wetlands[M]. New York: Van Nostrand Reinhold Company Inc, 2000: 89-125.
- [2] Koblberg R L, Rouppe B, Westfall D G, et al. Evaluation of an in situ net soil nitrogen mineralization method in dryland agroecosystems[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 504-508.
- [3] 李贵才, 韩兴国, 黄建辉, 等. 森林生态系统土壤氮矿化影响因素研究进展[J]. *生态学报*, 2001(7): 1187-1195.
- [4] LI Gui-cai, HAN Xing-guo, HUANG Jian-hui, et al. A review of affecting factors of soil nitrogen mineralization in forest ecosystems. *Acta Ecologica Sinica*, 2001(7): 1187-1195.
- [5] Li Q S, Wu Z F, Chu B, et al. Heavy metals in coastal wetland sediments of the Pearl River Estuary, China[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 149(2): 158-164.
- [6] 朱永官, 陈保冬, 林爱军, 等. 珠江三角洲地区土壤重金属污染控制与修复研究的若干思考[J]. *环境科学学报*, 2005(12): 3-7.
- [7] ZHU Yong-guan, CHEN Bao-dong, LIN Ai-jun, et al. Heavy metal contamination in Pearl River Delta - Status and research priorities[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005(12): 3-7.
- [8] 胥正钢, 赵运林, 周晓梅, 等. 重金属污染对土壤微生物影响的研究进展[J]. *江西农业学报*, 2014, 26(4): 53-55, 60.
- [9] XU Zheng-gang, ZHAO Yun-qiu, ZHOU Xiao-mei, et al. Research progress in influence of heavy metal pollution on soil microorganisms[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2014, 26(4): 53-55, 60.
- [10] Kene G, Ernst W, Stepev M G. Heavy metals and soil microbes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(10): 2031-2037.
- [11] Wang C, Lo W, Guo M X, et al. Ecological risk assessment on heavy metals in soils: Use of soil diffuse reflectance mid-infrared Fourier-transform spectroscopy[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40709.
- [12] 韩文辉, 党晋华, 赵颖. 污灌区重金属和多环芳烃复合污染及其对农田土壤微生物数量的影响[J]. *生态环境学报*, 2016, 25(9): 1562-1568.
- [13] HAN Wen-hui, DANG Jin-hua, ZHAO Ying, et al. Compound pollution of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage irrigation area and its effect on soil microbial quantity[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25(9): 1562-1568.
- [14] Guntiñasaaba M E. Effects of moisture and temperature on net soil nitrogen mineralization: A laboratory study[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2012, 48(1): 73-80.
- [15] 赵牧秋, 车志伟, 史云峰. 外源重金属Cu、Cd对红树林沉积物酶活性的影响[J]. *环境科学与管理*, 2016, 41(7): 42-46.
- [16] ZHAO Mu-qiu, CHE Zhi-wei, SHI Yun-feng. Effects of exogenous heavy metals Cu and Cd on sediment enzyme activities on Magrove forest[J]. *Environmental Science and Management*, 2016, 41(7): 42-46.
- [17] Li Y, Li H G, Liu F C. Pollution in the urban soils of Lianyungang, China, evaluated using a pollution index, mobility of heavy metals, and enzymatic activities[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2017, 189(1): 34.
- [18] 滕应, 黄昌勇, 骆永明, 等. 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化[J]. *土壤学报*, 2005, 42(5): 819-828.
- [19] TENG Ying, HUANG Chang-yong, LUO Yong-ming, et al. Changes in microbial activities and its community structure of red earths polluted with mixed heavy metals[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42(5): 819-828.
- [20] Bedardhaughn A, Matson A L, Pennock D J. Land use effects on gross nitrogen mineralization, nitrification, and N_2O emissions in ephemeral wetlands[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(12): 3398-

- 3406.
- [15] Sleutel S, Moeskops B, Huybrechts W, et al. Modeling soil moisture effects on net nitrogen mineralization in loamy wetland soils[J]. *Wetlands*, 2008, 28(3):724-734.
- [16] 牟晓杰, 孙志高, 刘兴土. 黄河口典型潮滩湿地土壤净氮矿化与硝化作用[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(5):1466-1473.
MOU Xiao-jie, SUN Zhi-gao, LIU Xing-tu. Net nitrogen mineralization and nitrification in the tidal marsh soils of the Yellow River Estuary[J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(5):1466-1473.
- [17] Bai J H, Gao H F, Xiao R, et al. A review of soil nitrogen mineralization as affected by water and salt in coastal wetlands: Issues and methods[J]. *Clean: Soil, Air, Water*, 2012, 40(10):1099-1105.
- [18] Gao H F, Bai J H, Xiao R, et al. Soil net nitrogen mineralization in salt marshes with different flooding periods in the Yellow River Delta, China[J]. *Clean: Soil, Air, Water*, 2012, 40(10):1111-1117.
- [19] 章家恩. 生态学常用实验研究方法与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
ZHANG Jia-en. Experimental research methods and techniques are commonly used in ecology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [20] Schinner F, Oehlinger R, Kandeler E, et al. Methods in soil biology [M]. Berlin: Springer-verlag, 1996.
- [21] 朱剑兴, 王秋风, 何念鹏, 等. 内蒙古不同类型草地土壤氮矿化及其温度敏感性[J]. *生态学报*, 2013, 33(19):6320-6327.
ZHU Jian-xing, WANG Qiu-feng, HE Nian-peng, et al. Soil nitrogen mineralization and associated temperature sensitivity of different Inner Mongolian grasslands[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(19):6320-6327.
- [22] 李生秀, 艾绍英, 何华. 连续淹水培养条件下土壤氮素的矿化过程[J]. *西北农业大学学报*, 1999, 27(1):1-5.
LI Sheng-xiu, AI Shao-ying, HE Hua. Soil's nitrogen mineralization processes under continuously waterlogged incubation conditions[J]. *Journal of Northwest Agricultural University*, 1999, 27(1):1-5.
- [23] 艾绍英, 李生秀. 不同培养条件下土壤及有机物料的氮素矿化过程[J]. *西北农业学报*, 1995, 4(增刊):73-76.
AI Shao-ying, LI Sheng-xiu. Nitrogen mineralization of soil and organic materials under different culture conditions[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 1995, 4(Suppl):73-76.
- [24] Eriksson P G, Svensson J M, Carrer G M. Temporal changes and spatial variation of soil oxygen consumption, nitrification and denitrification rates in a tidal salt marsh of the Lagoon of Venice, Italy[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2003, 58(4):861-871.
- [25] 孙志高, 刘景双. 三江平原典型小叶章湿地土壤氮素净矿化与硝化作用[J]. *应用生态学报*, 2007(8):1771-1777.
SUN Zhi-gao, LIU Jing-shuang. Soil nitrogen mineralization and nitrification in typical *Calamagrostis Angustifolia* wetlands in Sanjiang Plain[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007(8):1771-1777.
- [26] 金相灿, 崔哲, 王圣瑞. 连续淹水培养条件下沉积物和土壤的氮素矿化过程[J]. *土壤通报*, 2006, 37(5):909-915.
JING Xiang-can, CUI Zhe, WANG Sheng-rui. Nitrogen mineralization processes of sediments and soil under continuously waterlogged incubation conditions[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(5):909-915.
- [27] 曹竞雄, 韦梦, 陈孟次, 等. 温度对厌氧条件下不同pH水稻土氮素矿化的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2014, 22(10):1182-1189.
CAO Jing-xiong, WEI Meng, CHEN Meng-ci, et al. Effects of temperature on soil nitrogen mineralization in different pH paddy soils under anaerobic condition[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2014, 22(10):1182-1189.
- [28] 李家兵, 陈庆燎, 张丽烟, 等. 闽江河口互花米草入侵过程对短叶茳芩湿地土壤氮矿化的影响[J]. *水土保持学报*, 2016, 30(4):242-248.
LI Jia-bing, CHEN Qing-liao, ZHANG Li-yan, et al. Effect of *Spartina Alterniflora* invasion process on spatial and temporal distribution of soil nitrogen mineralization in *Cyperus Malaccensis* wetland of the Min River estuary[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2016, 30(4):242-248.
- [29] Steven S, Bram M, Willy H, et al. Modeling soil moisture effects on net nitrogen mineralization in loamy wetland soils[J]. *Wetlands*, 2008, 28(3):724-734.
- [30] Ehrenfeld J G, Shen Y U. Patterns of nitrogen mineralization in wetlands of the New Jersey Pinelands along a shallow water table gradient [J]. *American Midland Naturalist*, 2012, 167(2):322-335.
- [31] 杨元根, Paterson E, Campbell C. 城市土壤中重金属元素的积累及其微生物效应[J]. *环境科学*, 2001, 22(3):44-48.
YANG Yuan-gen, Paterson E, Campbell C. Accumulation of heavy metal elements in urban soils and their microbial effects[J]. *Environmental Science*, 2001, 22(3):44-48.
- [32] Han X M, Guo W H, Wang M C. Microbial communities in microcosm soils treated with batter waste[J]. *Progress in Natural Science: Materials International*, 2007, 17(9):29-36.
- [33] Hassen A, Jedidi N, Cherif M, et al. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd[J]. *Bioresource Technology*, 1998, 64(1):39-45.
- [34] Giesecke A, Purkhold U, Wagner M, et al. Community structure and activity dynamics of nitrifying bacteria in a phosphate-removing biofilm[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(3):1351-1362.
- [35] Wei Q, Shady A A, Willm M H, et al. Marine ammonia-oxidizing archaeal isolates display obligate mixotrophy and wide ecotypic variation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(34):12504-12509.
- [36] Kim J G, Jung M Y, Park S J, et al. Cultivation of a highly enriched ammonia-oxidizing archaeon of thaumarchaeotal group I. 1b from an agricultural soil[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(6):1528-1543.
- [37] 刘晶静, 吴伟祥, 丁摇颖, 等. 氨氧化古菌及其在氮循环中的重要作用[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(8):2154-2160.
LIU Jing-jing, WU Wei-xiang, DING Yao-ying, et al. Ammonia oxidizing archaea their important roles in nitrogen biogeochemical cycling: A review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(8):2154-2160.