

546.17
B22

NPo-forskning fra Miljøstyrelsen

Nr. B7 1990

Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. II



Miljøministeriet **Miljøstyrelsen**

Om NPo-forskningsprogrammet

NPo-forskningsprogrammet skal tilvejebringe viden om, hvordan kvælstof (N), fosfor (P) og organisk stof (o) omsættes i jord og påvirker søer, vandløb, fjorde, hav og grundvand.

Denne rapport er een af de ca. 50, der udsendes som et resultat af NPo-forskningsprogrammet. Med Miljøstyrelsen som ansvarlig for programmets gennemførelse er der sat ca. 70 NPo-projekter i gang ved 25-30 institutioner.

Op gennem 1970'erne og i 80'ernes begyndelse kom der en stigende erkendelse af, at udledninger af næringsstoffer kunne blive en trussel mod livet i vandløb m.v. – og af at der kunne ske en nitratforurening af grundvandet. Den eksisterende viden blev i 1984 samlet af Miljøstyrelsen i den såkaldte NPo-rapport.

Rapporten førte til, at Folketinget i 1985 vedtog de første indgreb for at begrænse forureningen med næringsstoffer – ved at stille krav om, hvordan landbruget skal opbevare og sprede husdyrgødningen.

For at skaffe en større viden om næringsstoffernes indvirkning på naturen afsatte Folketinget samtidig 50 mill. kr. til dette forskningsprogram – som løber fra 1985 og frem til udgangen af 1990.

NPo-forskningsprogrammet blev yderligere aktuelt med Folketingets vedtagelse af Vandmiljøplanen i 1987. Her vil NPo-programmets resultater indgå som et vigtigt baggrundsmateriale for vurderingen af Vandmiljøplanens virkninger.

Til at sikre den faglige og økonomiske afvejning af forskningen blev der nedsat en styringsgruppe, som således har haft det øverste ansvar for NPo-programmets gennemførelse. Desuden blev der nedsat tre koordinationsgrupper, som hver har haft det faglige ansvar for deres område: jord og luft, grundvand og overfladevand.

Rapporterne udsendes i serien »NPo-forskning fra Miljøstyrelsen« – som er opdelt i A, B og C publikationer:

- A er rapporter om jord og luft
- B er rapporter om grundvand
- C er rapporter om vandløb, søer og marine områder

Miljøstyrelsen har været sekretariat for arbejdet og har sammen med koordinationsgrupperne stået for redaktionen af denne rapportserie.

5817

**NPo-forskning fra Miljøstyrelsen
Nr. B7 1990**

Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. II

Mikrobiel nitratreduktion i umættet zone

Susanne B. Zeuthen
Finn P. Vinther
Finn Eiland

Statens Planteavlsvforsøg

MILJØSTYRELSEN
BIBLIOTEKET
Strandgade 29
1401 København K

**Miljøministeriet
Miljøstyrelsen**

Indholdsfortegnelse.

	<u>Sammendrag</u>	5
<u>1.</u>	<u>Indledning</u>	7
<u>2.</u>	<u>Materialer og metoder</u>	9
<u>3.</u>	<u>Resultater og diskussion</u>	12
3.1	Jordkemi.....	12
3.2	Mikrobiel biomasse.....	12
3.3	Aktuel denitrifikationsaktivitet..	17
3.4	Potentiel denitrifikations- aktivitet.....	19
<u>4.</u>	<u>Konklusion</u>	23
<u>5.</u>	<u>Referencer</u>	24
<u>6.</u>	<u>Appendix</u>	26
6.1	Resultater fra kemiske analyser...	26
6.2	Resultater fra inkubationsforsøg..	29

Sammendrag.

I Langvad Å's opland blev der foretaget 3 boringer indtil ca. 14 m's dybde. I jordprøver fra forskellige dybder blev der udført en række kemiske og mikrobiologiske undersøgelser for at klarlægge, om der findes en mulighed for mikrobiel nitratreduktion i umættede lerjordsprofiler.

Den mikrobielle biomasse udtrykt ved jordens ATP-indhold viste, at biomassen i de dybere jordlag udgjorde 3-5 % af biomassen i overfladejorden. På basis af pladespredninger blev den bakterielle biomasse i undergrunden bestemt til mellem 1-10 % af den bakterielle biomasse i overfladen. Ved MPN-metoden blev der fundet denitrificerende bakterier i alle undersøgte dybder ned til 14 m i antal fra 10^2 til 10^5 bakterier pr. g. jord. Antallet nede i dybderne var lavere end antallet i overfladen, men der var ellers ingen korrelation mellem antal og dybde.

Den aktuelle denitrifikationsaktivitet i de dybere jordlag var i de fleste tilfælde lavere end i overfladejorden.

Undersøgelser af den potentielle denitrifikationsaktivitet viste, at der i alle undersøgte dybder var mangel på en let omsættelig kulstof- og energikilde, og at der i flere af dybderne desuden var mangel på nitrat. Manglen

på let tilgængelige kulstofforbindelser i jorden under rodzonen vil således være begrænsende for en større mikrobiel reduktion af nitrat ned gennem den umættede zone. Hvis man tager det meget store jordvolumen i betragtning, er det dog muligt, at de lave aktiviteter, der blev målt, kan bidrage til at fjerne nedsivende nitrat. I boring IV blev der målt denitrifikationsaktiviteter, der svarer til, at mellem 5 og 10 kg $\text{NO}_3\text{-N/ha/}$ år reduceres i et jordlag på 1 m's tykkelse.

1. Indledning.

Nedsivning af nitrat i jord skyldes fortrinsvis, at denne kvælstofforbindelse, i modsætning til mange andre plantenæringsstoffer, ikke bindes til jordpartikler. Når nitrat først har forladt rodzonen, vil der være risiko for grundvandsforurening, medmindre der sker en kemisk eller mikrobiel reduktion i den umættede zone.

Sundhedsrisiko ved indtagelse af nitrat.

Nitrat i grundvandet er uønsket, da det kan udgøre en sundhedsrisiko for mennesker. I sig selv er nitrat kun toksisk ved høje koncentrationer, - en indtagelse i størrelsesordenen 10 g vil give en direkte giftvirkning. Til sammenligning kan nævnes, at grænseværdien for nitrat i drikkevandet herhjemme er sat til 50 mg/l, og den vejledende grænseværdi er på kun 25 mg/l. Indtagelse af nitrat i en størrelsesorden så det er direkte giftigt udgør således nok ikke en reel risiko. Men nitrat kan reduceres til nitrit, der er direkte toksisk ved langt lavere koncentrationer. Endvidere kan nitrit gå i forbindelse med amider og aminer i tarmsystemet og danne nitrosaminer, som man mener har carcinogene effekter.

Mikrobiel nitratreduktion

Formålet med dette projekt har været at undersøge mulighederne for mikrobiel nitratreduktion i umættede profiltyper i Langvad A's opland.

Mikrobielt kan nitrat ved dissimilatorisk reduktion blive omdannet til luftformige kvælstofforbindelser (denitrifikation) og til ammonium. Den dissimilatoriske reduktion af nitrat til ammonium kan have betydning i miljøer

med lavt redox potentiale og relativt højt indhold af organisk stof. Men i de fleste miljøer vil det være denitrifikationen, der er den alt dominerende proces, hvorfor vi kun har beskæftiget os med denne. Vi bruger derfor i det følgende denitrifikation synonymt med nitratreduktion.

Resultaterne fra dette projekt indgår i hovedprojektet "Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland", der tager sigte på at fastlægge typiske mønstre for vandbevægelse, nitratreduktion og relevante kemiske-biologiske forhold i den umættede zone, samt i grundvandszonen.

2. Materialer og metoder.

Jordprøver: Jordprøverne anvendt i denne undersøgelse stammer fra 3 boringer foretaget i Langvad Å's opland. I de 3 boringer kaldet Syv Bæk I, III og IV, blev der boret ned til henholdsvis ca. 10, ca. 5 og ca. 14 m. Der blev kun udtaget overfladejord på en lokalitet i området. For en nærmere beskrivelse af lokalitet, geologi og hydrologi henvises til rapport B6: "Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. I. Geologiske, geokemiske og hydrologiske undersøgelser."

Kemi: En række kemiske karakteristika for jordprøverne blev bestemt efter danske standardprocedurer (Landbrugsministeriet, 1988). Dette omfatter bestemmelse af: Tørstof, total-N, Pt (Fosfortallet, P ekstraheret med 0,5 N NaHCO₃), Ft (Fosforsyretallet, P ekstraheret med 0,2 N H₂SO₄), total-P, pH(CaCl₂) og CO₃-indhold. Desuden blev NO₃-N og NH₄-N bestemt ved ekstraktion med 2 M KCl og måling på Flow Injection Analysator (Tecator 5020 Analysator). Total organisk C blev bestemt efter Ter Meulen. Vandopløseligt organisk C på en Dohrmann Analyser ved oxidation med kaliumpermanganat efterfulgt af en måling af udskilt CO₂ på Infrarød Gas Analyser.

Mikrobiologi: Den totale mikrobielle biomasse blev bestemt ved at måle jordens indhold af adenosintrifosfat (ATP) som beskrevet af Eiland (1985). Den bakterielle biomasse (Colony Forming Units (CFU)) blev bestemt ved pladespredning på jordekstraktagar og på 100 gange

fortyndet jordekstraktagar. Antallet af nitrat-reducerende og denitrificerende bakterier blev estimeret ved Most Probable Number (MPN)-metoden (Alexander, 1965) i en nitratrig næringsopløsning (Vinther et al., 1982). Bakterier som er istand til at reducere nitrat til nitrit kaldes nitratreducerende bakterier, og bakterier som reducerer nitrat eller nitrit til luftformige kvælstofforbindelser kaldes denitrificerende bakterier.

Inkubationsforsøg: I udvalgte dybder ned gennem de tre profiler blev der udtaget jordprøver til inkubationsforsøg. Inkuberingen blev udført i 600 ml's laboratorieflasker med skruelåg, hvori der var sat en skotgennemføring med gummimembran til udtagning af luftprøver. En jordmængde svarende til 40 g tør jord blev afvejet i hver flaske, og vandindholdet blev justeret til 13 % . Fra hver dybde blev der afvejet jord i 10 flasker: Fire flasker blev efter to dages inkubering tilsat sterilfiltreret glukose og efter 6 dage sterilfiltreret nitrat - af disse fire blev de to inkuberet med 10 % (af luftvolumen i flasken) acetylen (C_2H_2) og de to uden. Fire andre flasker blev efter to dages inkubering tilsat nitrat og efter 6 dage glukose - af disse fire flasker blev de to ligeledes inkuberet med acetylen og de to uden. To flasker blev blot tilsat vand, når de andre blev tilsat glukose og nitrat - og disse blev begge inkuberet med acetylen. Nitrat blev tilsat som KNO_3 til en koncentration på 100 ppm N i jorden. Glukose blev tilsat til en koncentration på 0,1 %. Alle prøver blev inkuberet aerobt ved 10 °C, og der blev

løbende udtaget luftprøver til gaskromatografisk analyse for såvel kuldioxid (CO_2) som lattergas (N_2O).

Gaskromatografi: CO_2 -målingerne blev foretaget på en ML GC 82 gaskromatograf forsynes med en varmeledningsevnedetektor og en Poropak N kolonne (1,1 m x 0,6 cm). Detektor- og kolonne-temperatur var henholdsvis 150 og 60 °C. Som bæregas blev anvendt He, og gennemstrømnings-hastigheden for bæregassen var 60 ml/min.

N_2O -målingerne blev foretaget på en Varian-3300 gaskromatograf forsynes med ^{63}Ni elektron- capture detektor og en Poropak T kolonne (1 m x 0,3 cm). Detektor- og kolonne-temperatur var henholdsvis 350 og 45 °C. Som bæregas blev anvendt en gasblanding bestående af 95 % Ar og 5 % CH_4 , og gennemstrømningshastigheden for bæregassen var 25 ml/min.

3. Resultater og diskussion.

3.1. Jordkemi.

Resultaterne af de jordkemiske målinger er vist i appendix 6.1, og der vil i den efterfølgende gennemgang af de mikrobiologiske undersøgelser blive henvist hertil.

3.2. Mikrobiel biomasse.

Forudsætningen for mikrobiel aktivitet og dermed for mikrobiel reduktion af nitrat er selvsagt, at der er mikroorganismer tilstede.

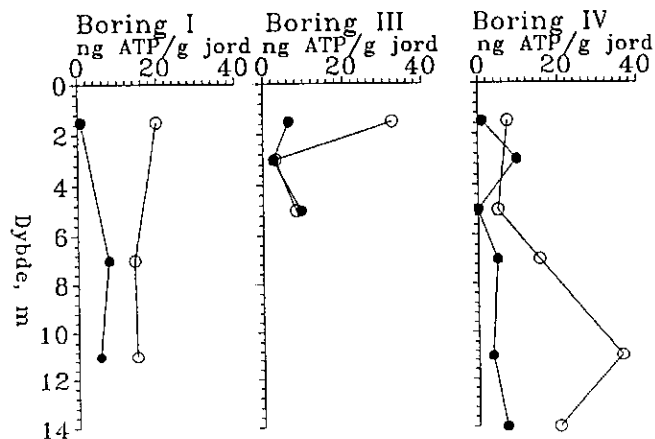


Fig. 1. ATP-indholdet i ubehandlede prøver (mørke symboler) og i prøver fra inkubationsforsøg med tilsætning af nitrat og glukose (åbne symboler).

Total
mikrobiel
biomasse

Indholdet af ATP i overfladejorden var på ca. 650 ng ATP/g jord (ikke vist i Fig. 1), og indholdet i prøver fra under rodzonen varierede fra næsten 0 til 10 ng ATP/g jord (Fig. 1). I Fig. 1 er der udover ATP-indholdet i ube-

handlede prøver også vist ATP-indholdet i de samme prøver inkuberet med glukose (0,1 %) og nitrat (100 ppm N). ATP-indholdet i de enkelte prøver var generelt fra 2-10 gange større i prøver efter tilførsel af glukose og nitrat end før. Dette skyldes nok, at der efter glukosetilsætningen er sket en mikrobiel vækst.

Bakteriel
biomasse

Resultaterne af tællinger af det totale antal bakterier (CFU) i de tre undersøgte profiler er vist i Fig. 2. Pladespredningerne blev udført på både et forholdsvis næringsrigt jordekstrakt-medium og på samme medium fortyndet 100 gange. Undersøgelser fra bl. a. Japan (Ohta & Hattori, 1983) har vist at bakterier fra dybere jordlag, grundvand og andre oligotrofe miljøer kan være så tilpassede til disse næringsfattige miljøer, at de ikke er i stand til at danne kolonier på et næringsrigt substrat.

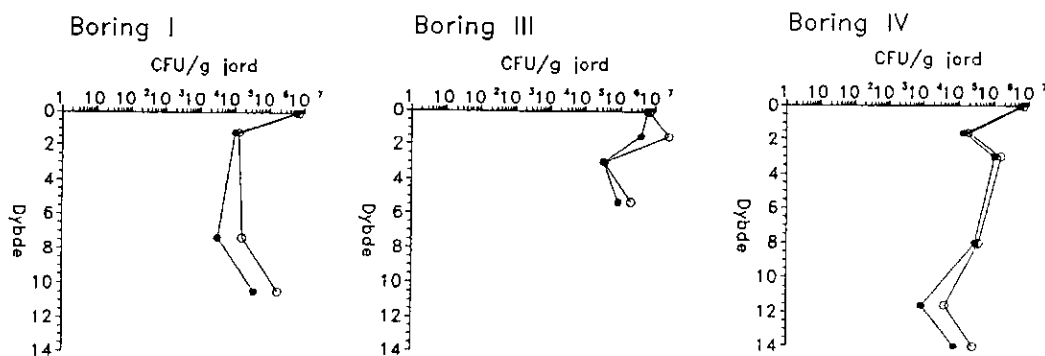


Fig. 2. Antallet af kolonidannende enheder (CFU) målt på henholdsvis ufortyndet substrat (udfyldte symboler) og 100 gange fortyndet substrat (åbne symboler).

Resultaterne fra pladespredningerne (Fig. 2) viser, at antallet af bakterier i overflade-

jorden var ca. 10^7 /g tør jord, hvilket er i god overensstemmelse med hvad der tidligere er fundet i en tilsvarende jordtype (Andersen et al., 1983). Antallet af bakterier faldt til omkring 10^5 /g jord i 2-3 m's dybde, hvorefter det forblev nogenlunde konstant indtil 14 m's dybde, når tællingerne blev foretaget på et forholdsvis næringsrigt substrat. Af Fig. 2 fremgår det ligeledes, at hvis tællingerne blev foretaget på samme substrat fortyndet 100 gange, blev der gennemgående fundet et højere antal bakterier. Antallet af bakterier var op til 10 gange højere i det fortyndede substrat end i det ufortyndede, næringsrige substrat.

Nitratredu-
rende og
denitrifice-
rende bakterier

Ikke alle bakterier er i stand til at reducere nitrat. Fig. 3 viser antallet af nitratreducerende og denitrificerende bakterier i de tre undersøgte profiler. Man kan skelne mellem bakterier, som reducerer nitrat til nitrit, - kaldet nitratreducerende bakterier, og bakterier som reducerer nitrat til luftformige kvælstofforbindelser, - kaldet denitrificerende bakterier. Antallet af nitratreducerende bakterier i overfladjorden udgjorde ca. 10^6 /g jord, eller ca. 10 % af det totale antal bakterier.

Denitrifice-
rende bakterier
indtil 14 m's
dybde.

Tilsvarende udgjorde de denitrificerende bakterier ca. 10 % af de nitratreducerende eller ca. 1 % af det totale antal bakterier i overfladjorden (0 - 20 cm). Tællinger af denitrificerende bakterier i rodzonen er tidligere foretaget i forskellige danske jordtyper (Lind, 1980; Vinther et al., 1982). Antallet fundet i denne undersøgelse er i god overensstemmelse med hvad der dengang blev fundet i en tilsvarende jordtype. I alle tre profiler

faldt antallet af både nitratreducerende og denitrificerende bakterier betydeligt fra overfladejorden til 1-2 m's dybde. I boring I faldt antallet yderligere indtil 3-4 m's dybde. I større dybder fandtes der enten en stigning i antallet af bakterier, eller antallet forblev mere eller mindre konstant omkring 10^3 - 10^4 /g jord for de nitratreducerende bakteriers vedkommende og omkring 10^2 - 10^3 /g jord for de denitrificerendes vedkommende. Bortset fra at antallet af denitrificerende bakterier var lavere under rodzonen end i overfladejorden, var der altså ingen korrelation mellem dybde og antal, og der blev fundet denitrificerende bakterier helt ned til 14 m's dybde.

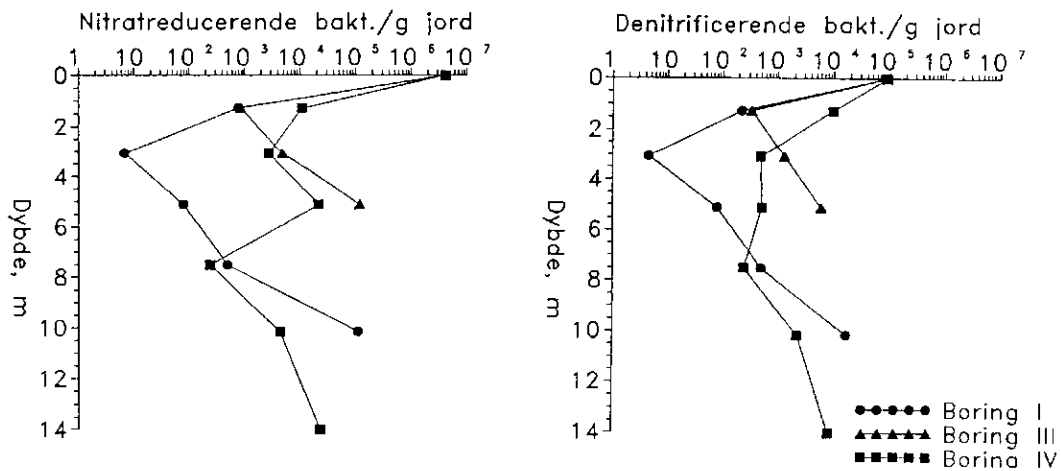


Fig. 3. Antallet af nitratreducerende og denitrificerende bakterier.

Den totale mikrobielle biomasse udtrykt ved ATP-indholdet viste altså, at biomassen i de dybere jordlag udgjorde 3-5 % af biomassen i overfladejorden. På basis af pladespredningerne blev det fundet, at den bakterielle biomasse i undergrunden udgjorde mellem 1 og 10 % af den bakterielle biomasse i overfladejorden.

Selv om biomassen i de dybere jordlag var væsentlig mindre end biomassen i overfladejorden var der altså stadig tale om en stor biomasse. Spørgsmålet var så om der i jorde af denne art foregik en mikrobiel nitratreduktion af betydning i den umættede zone under rodzonen. For at undersøge dette spørgsmål nærmere blev der gennemført inkubationsforsøg med tilsætning af nitrat og/eller glukose, - nitrat som elektronacceptor for denitrifikationen og glukose som energi- og kulstofkilde.

Resultaterne af alle inkubationsforsøgene er vist i appendix 6.2, og i de efterfølgende afsnit er essensen af disse resultater gennemgået.

3.3. Aktual denitrifikationsaktivitet.

Tabel 1. Denitrifikationsaktivitet ($\mu\text{g N}_2\text{O-N/kg}$ jord/time) uden og efter tilsætning af 100 ppm $\text{NO}_3\text{-N}$.

	Dybde, m.	Uden $\text{NO}_3\text{-N}$	Med $\text{NO}_3\text{-N}$
Boring I	0	0,1	0,2
	1,2	0,0	0,0
	10,4	0,0	0,2
Boring III	0	0,1	0,2
	1,5	-	0,0
	3,0	0,0	0,0
	5,3	0,0	0,0
Boring IV	0	0,1	0,2
	1,5	0,0	0,0
	3,0	0,0	0,1
	8,0	0,0	0,1
	11,6	0,1	0,4
	14,0	0,1	0,1

- ikke målt.

Generel
mikrobiel
nitratreduktion

Ved aktual denitrifikationsaktivitet forstås her den aktivitet, der blev målt i inkubationsforsøgene inden tilsætning af glukose. Af tabel 1 fremgår det, at der i overfladejorden var en denitrifikationsaktivitet på 0,1 $\mu\text{g N}_2\text{O-N/kg/time}$ uden tilsætning af nitrat og 0,2 μg efter tilsætning af 100 ppm $\text{NO}_3\text{-N}$. Det kan til orientering oplyses, at 1 $\mu\text{g N/kg}$ jord/time svarer til ca. 20 kg N/ha/år i pløjelaget (0 - 20 cm). De målte aktiviteter er altså forholdsvis lave, hvilket bl. a. kan hænge sammen med at inkubationerne blev foretaget ved 10 °C. Den aktuelle aktivitet i de dybere jordlag var i flere af dybderne under detektionsgrænsen. Tilsætning af nitrat gav i nogle dybder en større aktivitet, hvorimod der i andre dybder ikke skete nogen aktivitetsstigning, hvil-

ket tyder på, at der i nogle af dybderne var mangel på nitrat, og i andre dybder var mangel på både nitrat og en let omsættelig energi- og kulstofkilde. Disse forhold omtales nærmere i det efterfølgende afsnit.

Lokal mikro-
biel nitrat-
reduktion.

De lave denitrifikationsaktiviteter, der her er fundet, tyder altså på, at den mikrobielle nitratreduktion ikke medvirker væsentligt til at reducere mængden af nitrat under rodzonen. Dog skal det bemærkes, at der i prøver fra de største dybder (Boring I 10,4 m og Boring IV 11,6 m) blev målt aktiviteter henholdsvis 0,2 og 0,4 $\mu\text{g N}_2\text{O-N/kg/time}$ efter tilsætning af nitrat, hvilket svarer til ca. 4 og 8 ppm N/år; samt, at der i boring IV var en målelig aktivitet i alle dybder undtagen i 1.5 m efter tilsætning af nitrat. Det blev ovenfor nævnt, at en aktivitet på 1 $\mu\text{g N}_2\text{O-N/kg jord/time}$ svarer til ca. 20 kg N/ha/år i et jordlag på 20 cm's tykkelse; dvs. at en aktivitet på 0,1 $\mu\text{g N}_2\text{O-N/kg jord/time}$ svarer til ca. 10 kg N/ha/år i et jordlag på 1 m's tykkelse. Der er her forudsat en konstant aktivitet over året, idet både temperatur og fugtighed i de dybere jordlag ikke er udsat for nogen væsentlig årstidsvariation. Denne ikke helt ubetydelige aktivitet tyder på, at der lokalt vil være en mulighed for at nedsivende nitrat bliver reduceret ad mikrobiel vej. Det har ikke været muligt at give nogen forklaring på, hvorfor der tilsyneladende er en større aktivitet i de største dybder end i de øvrige, idet alle undersøgte dybder havde samme lave indhold af kulstof. Dog kan det tænkes, at det organiske stof havde forskellig tilgængelighed som substrat for mikroorganismer.

3.4. Potentiel denitrifikationsaktivitet.

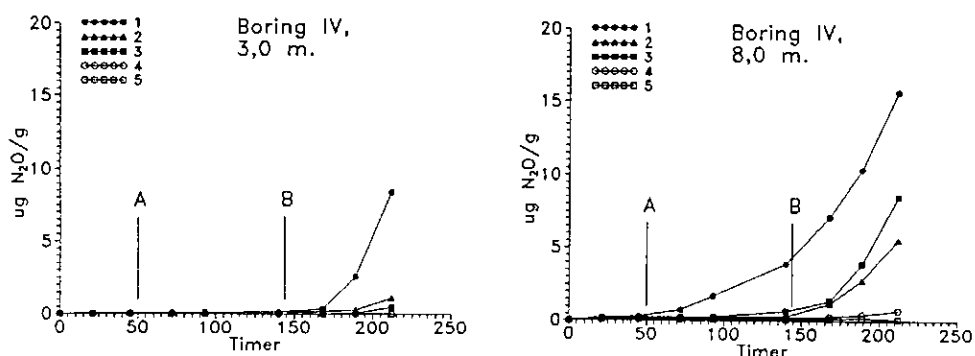


Fig. 4. Akkumuleret N₂O-udvikling i jordprøver fra boring IV i dybderne 3 og 8 m.

- Behandling 1 = glukose tilsat efter 48(A) timer og nitrat efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.
 Behandling 2 = nitrat tilsat efter 48(A) timer og glukose efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.
 Behandling 3 = glukose tilsat efter 48(A) timer og nitrat efter 140(B) timer. Inkuberet uden acetylen.
 Behandling 4 = nitrat tilsat efter 48(A) timer og glukose efter 140(B) timer. Inkuberet uden acetylen.
 Behandling 5 = kontrol. Vand tilsat efter 48(A) timer og vand tilsat efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.

Af resultaterne i Fig. 4 fremgår det, at Nitratreduktion der ikke var nogen målelig aktivitet i 3 m's ved tilsætning af nitrat og glukose. dybde før efter 140 timer, hvor prøverne havde fået tilsat både nitrat og glukose. Dette tyder på, at der i denne dybde var mangel på både nitrat og let omsætteligt organisk stof. I prøverne fra 8 m's dybde skete der en aktivitetsstigning allerede efter 48 timer i den ene behandling. I dette tilfælde (behandling 1) skete aktivitetsstigningen efter, at der var

blevet tilsat glukose, hvilket tyder på, at der har været nitrat tilstede, og at der kun har været mangel på let omsætteligt organisk stof. I Fig. 5 er kvælstofindholdet i de tre profiler vist, og det fremgår da også her, at der i boring IV blev målt en mindre mængde nitrat i 8 m's dybde.

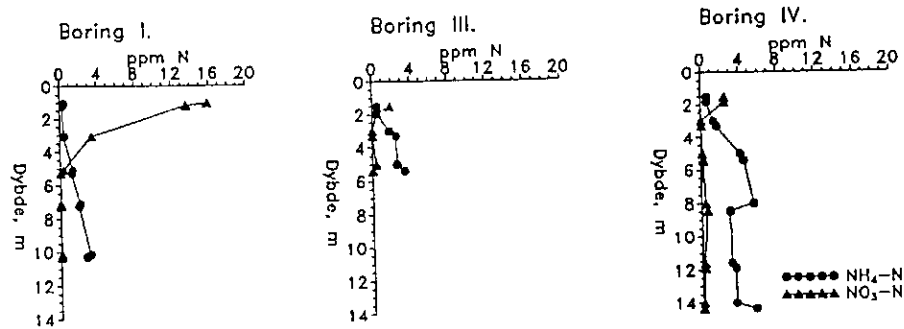


Fig. 5. Indhold af nitrat-N og ammonium-N.

Inkubering med og uden acetylen.

I inkubationsforsøgene blev der til behandling 1 og 3 tilsat acetylen for at blokere reduktionen af lattergas (N_2O) til frit kvælstof (N_2), hvorimod behandlingerne 2 og 4 blev inkuberet uden acetylen. Ved at sammenligne resultaterne fra disse behandlinger er det muligt at se om slutproduktet af nitratreduktionen var lattergas eller frit kvælstof. Da lattergasproduktionen i alle forsøgsrækker var højere i forsøgsled med acetylen end i forsøgsled uden, tyder det på, at nitraten blev reduceret fuldstændigt til frit kvælstof. Dette var især udpræget efter tilsætning af glukose, hvilket er i overensstemmelse med tidligere gennemførte undersøgelser (Vinther, 1990), hvor tilførsel af organisk stof medførte, at der blev produceret relativt mere N_2 i

forhold til N_2O .

I Fig. 6 er denitrifikationsaktiviteten i de tre profiler vist, efter at der blev tilført henholdsvis glukose, nitrat eller vand (kontrol).

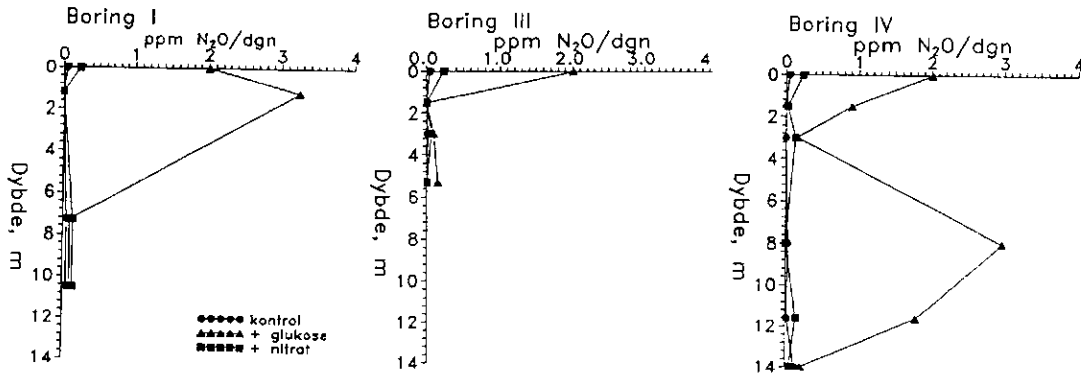


Fig. 6. Denitrifikationsaktivitet efter tilførsel af henholdsvis glukose, nitrat eller vand(kontrol).

Begrænsende
faktorer for
mikrobiel

nitratreduktion.

Det fremgår af Fig. 6, at denitrifikationsaktiviteten i overfladejorden var forholdsvis lav i kontrolbehandlingen. Efter tilsætning af nitrat steg aktiviteten lidt, hvorimod aktiviteten steg betydeligt efter tilsætning af glukose. I de øvrige dybder var tendensen den, at aktiviteten var lav i kontrolprøverne, at aktiviteten ikke blev påvirket væsentligt ved tilsætning af nitrat, hvorimod der i visse dybder skete en betydelig stigning i aktiviteten efter tilsætning af glukose. Sammenholdes disse resultater med nitratindholdet i profilerne (Fig. 5), vil man se, at tilsætning af

glukose bevirkede en aktivitetsstigning netop i de dybder, hvor der var nitrat tilstede. Da nitratindholdet var lavt i de fleste dybder kan det ikke undre, at langt de fleste af de undersøgte prøver skulle have tilført både nitrat og glukose, før der skete en stigning i denitrifikationsaktiviteten. Aktiviteten steg hurtigst i de prøver, der fik tilført glukose først. Dette kan enten direkte skyldes, at glukosetilsætningen øgede det mikrobielle metaboliske aktivitetsniveau i jorden, eller det kan mere indirekte skyldes, at en højere metabolisk aktivitet i jorden gav flere anaerobe mikrohabitater. Som det fremgår af CO₂-målingerne (Appendix 6.2) var den totale mikrobielle aktivitet i jorden meget lav inden tilsætning af glukose, og aktiviteten steg markant efter tilsætningen.

4. Konklusion.

I de fleste af de undersøgte dybder var denitrifikationsaktiviteten relativt lav. Dette skyldtes ikke en manglende tilstedeværelse af denitrificerende bakterier, men derimod de begrænsninger det oligotrofe miljø lagde på disses aktivitet: Denitrifikationen var i alle undersøgte dybder begrænset af tilgængeligt kulstof (og i visse tilfælde også af nitrat). På baggrund af inkubationsforsøg med nitrat- og glukosetilsætning kunne det konkluderes, at der var et potentiale for denitrifikation ned gennem hele profilen, og at de denitrificerende bakterier i de dybereliggende jordlag tilsyneladende var lige så effektive til at reducere nitrat som overfladeorganismer, hvis blot de fik tilført en tilgængelig kulstofkilde. På grund af manglen på tilgængelige kulstofkilder ned gennem profilen kan man generelt ikke forvente, at der vil ske en større mikrobiel reduktion af nitrat. Dog viste målingerne, at der lokalt kan foregå en ikke ubetydelig mikrobiel reduktion af nitrat. I en af prøverne (boring IV, 11.6 m) blev der således målt en aktivitet på $0,4 \mu\text{g N}_2\text{O-N/kg/time}$ efter tilsætning af nitrat. Hvis denne aktivitet er repræsentativ for et jordlag på 1 m's tykkelse, svarer det til at der vil kunne denitrificeres ca. 40 kg N/ha/år herfra.

5. Referencer.

Alexander, M. 1965. Most-probable number method for microbial populations. In: C. A. Black (ed.), Methods of soil analysis. Chemical and microbial properties. Amer. Soc. Agron., Madison, Wisc., pp. 1467-1472.

Andersen, C., Eiland, F. og Vinther, F. P. (1983). Økologiske undersøgelser af jordbundens mikroflora og fauna i dyrkningssystemer med reduceret jordbehandling, vårbyg og efterafgrøde. Tidsskr. for Planteavl 87, 257-296.

Eiland, F. (1985). Determination af adenosine triphosphate (ATP) and adenylate energy charge (AEC) in soil and use of adenine nucleotides as measures of soil microbial biomass and activity. Dissertation, Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.

Landbrugsministeriet (1988). Fælles arbejdsmetoder for jordbundsanalyser. København.

Lind, A.-M. (1980). Denitrification in the root zone. Tidsskr. f. Planteavl 84, 101-110.

Lind, A.-M. and Eiland, F. (1989). Microbiological characterization and nitrate reduction in subsurface soils. Biol. Fertil. Soils 8, 197-203.

Ohta, H. and Hattori, T. (1983). Oligotrophic bacteria on organic debris and plant roots in a paddy field soil. *Soil Biol. Biochem.* 15, 1-8.

Vinther, F. P., Memon, G. H. and Jensen, V. (1982). Populations of denitrifying bacteria in agricultural soils under continuous barley cultivation. *Pedobiologia* 24, 319-328.

Vinther, F. P. (1990). Temperatur og denitrifikation. NPO-forskning fra Miljøstyrelsen, Nr. A3.

6. Appendix.

6.1. Resultater fra kemiske analyser.

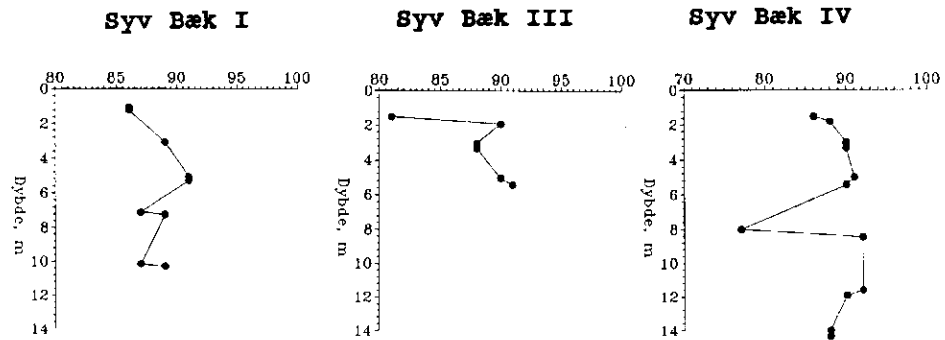


Fig. 6.1.1. Tørstof. Enhed = Vægtprocent af vådvægt.

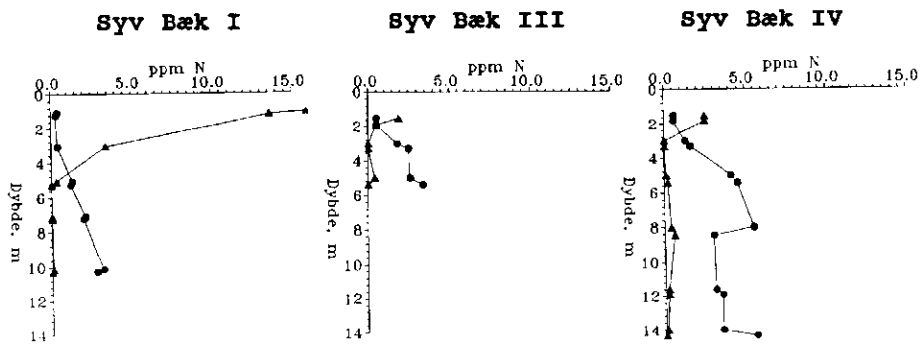


Fig. 6.1.2. Nitrat og ammoniumindhold. Enhed = ppm $\text{NO}_3\text{-N}$ og $\text{NH}_4\text{-N}$.

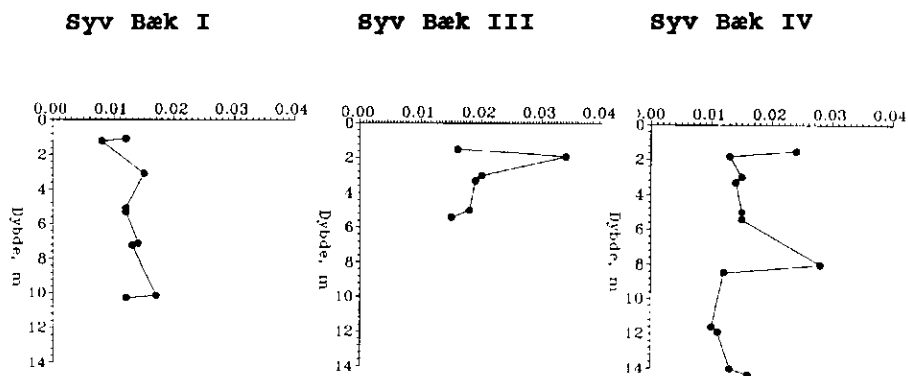


Fig. 6.1.3. Kvælstofindhold. Enhed = % total-N.

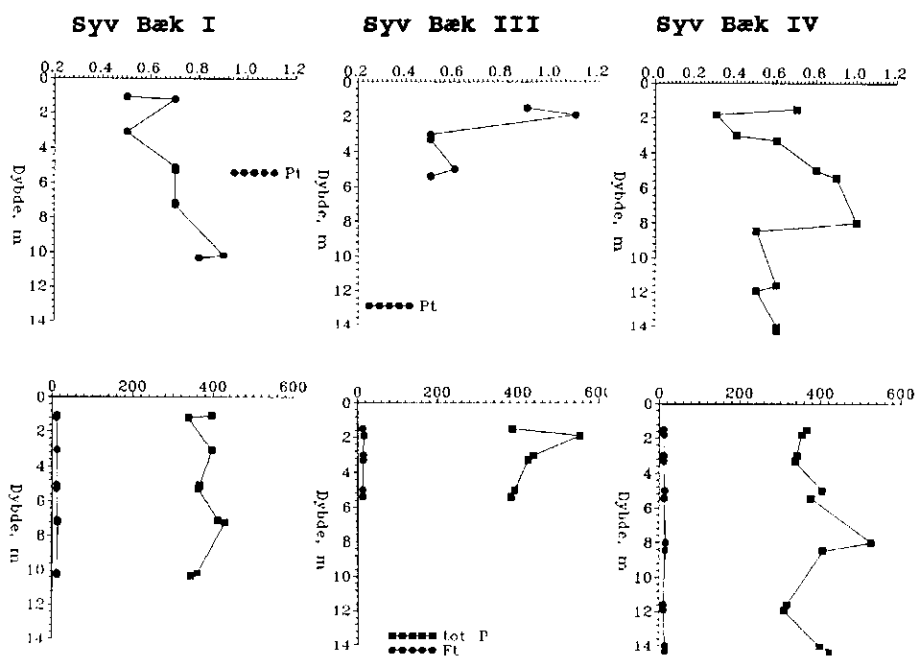


Fig. 6.1.4. Fosforindhold, Pt, Ft og total P.
 Enheder: Pt = 1 mg P/100 g jord.
 Ft = 3 mg P/100 g jord.
 Total P = mg P/kg jord.

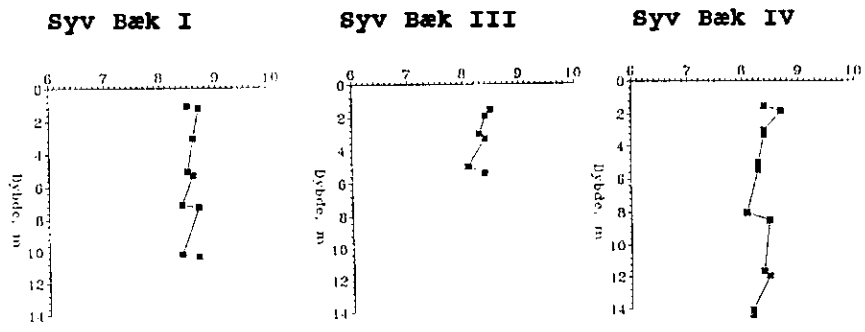


Fig. 6.1.5. pH(CaCl₂).

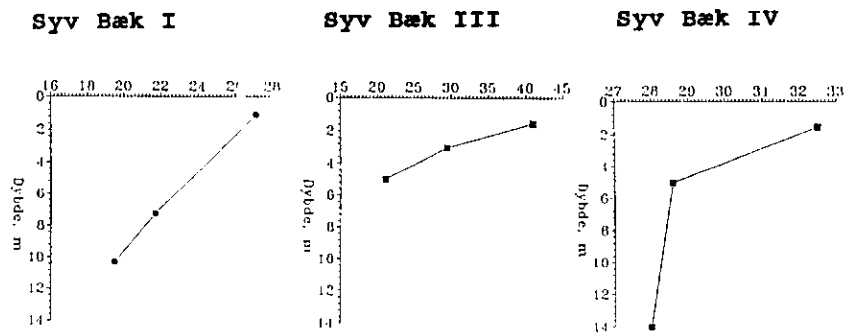


Fig. 6.1. CaCO₃-indhold, %.

6.2. Resultater fra inkubationsforsøg.

På de følgende sider er resultaterne af N_2O - og CO_2 -målinger fra inkubationsforsøgene vist.

Alle prøver, undtagen overfladejorden, er målt med følgende behandlinger:

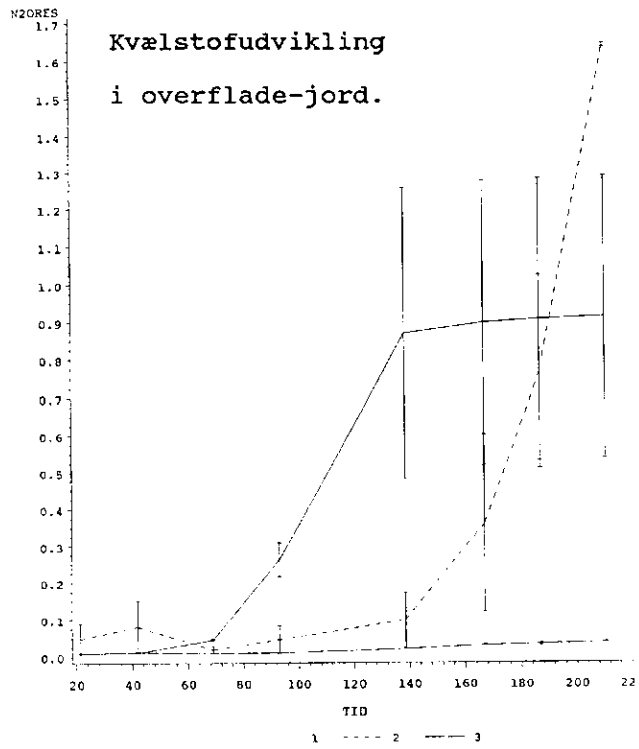
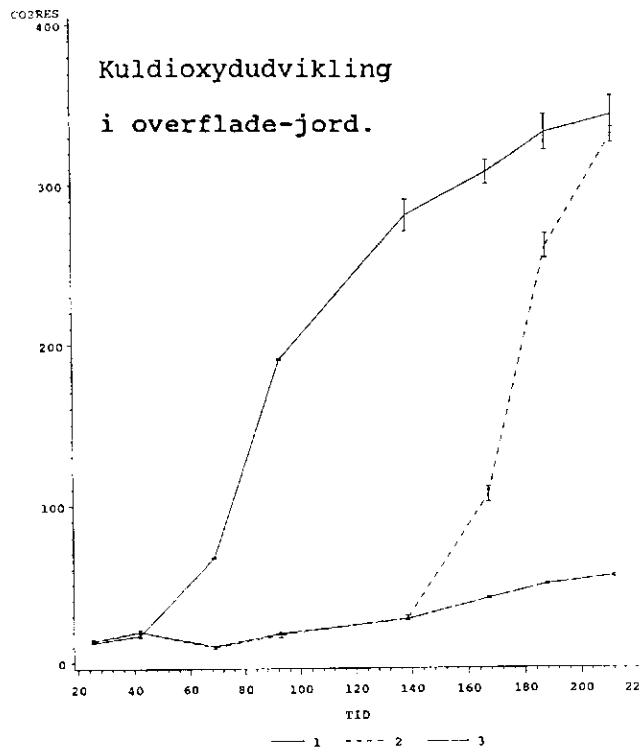
- Behandling 1 = glukose tilsat efter 48(A) timer og nitrat efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.
- Behandling 2 = nitrat tilsat efter 48(A) timer og glukose efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.
- Behandling 3 = glukose tilsat efter 48(A) timer og nitrat efter 140(B) timer. Inkuberet uden acetylen.
- Behandling 4 = nitrat tilsat efter 48(A) timer og glukose efter 140(B) timer. Inkuberet uden acetylen.
- Behandling 5 = kontrol. Vand tilsat efter 48(A) timer og vand tilsat efter 140(B) timer. Inkuberet med acetylen.
- Behandling 1, 2 og 3 i overfladejorden svarer til behandlingerne 1, 2 og 5 ovenfor.

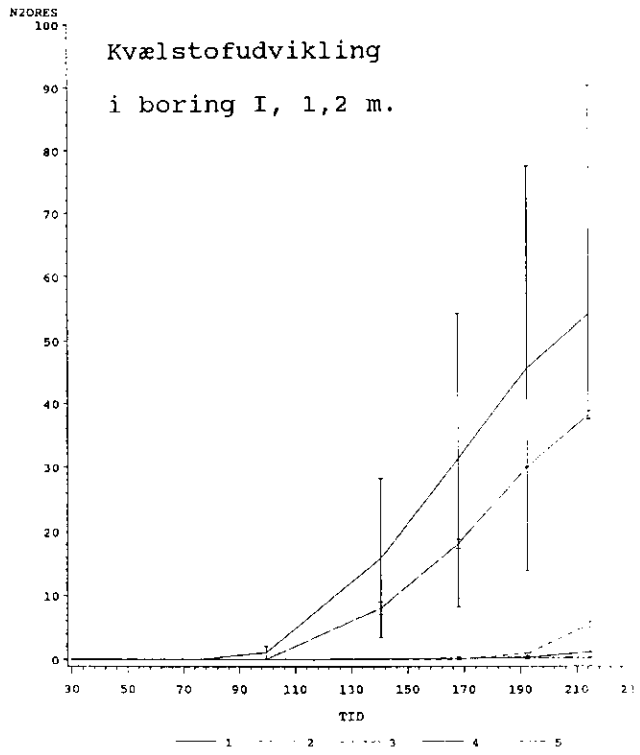
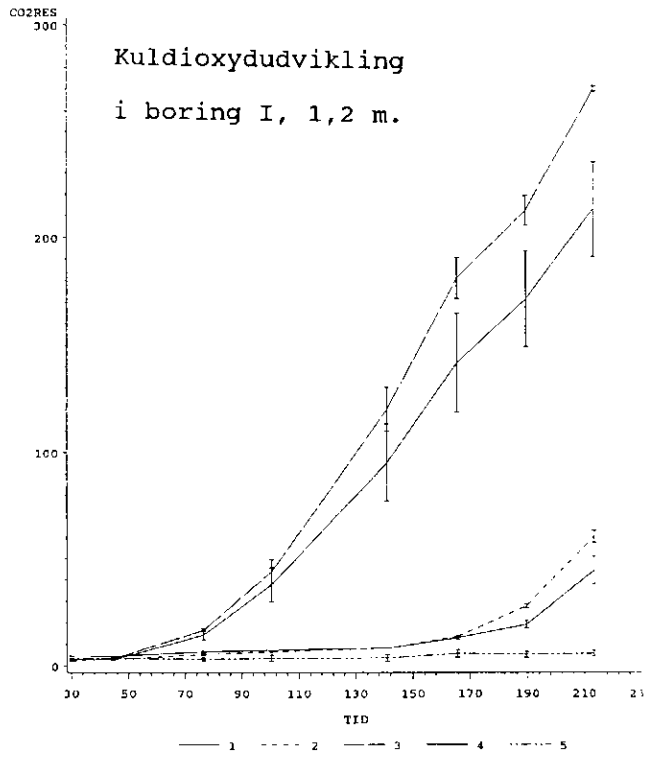
Enheder på X-akser: Timer efter inkubationsstart.

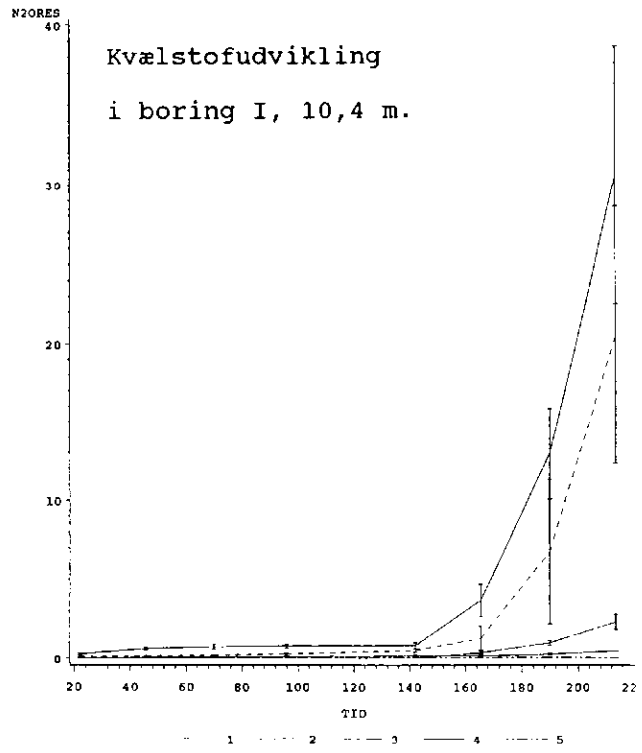
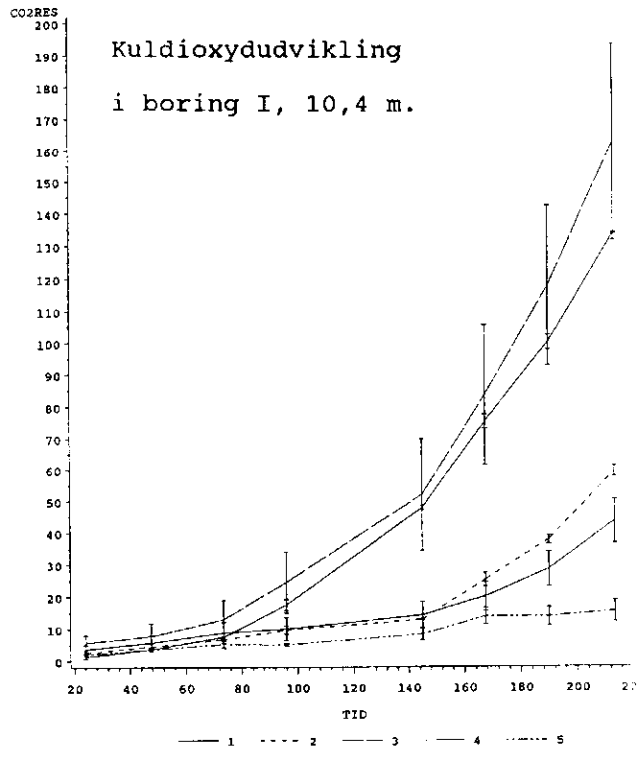
Enheder på Y-akser:

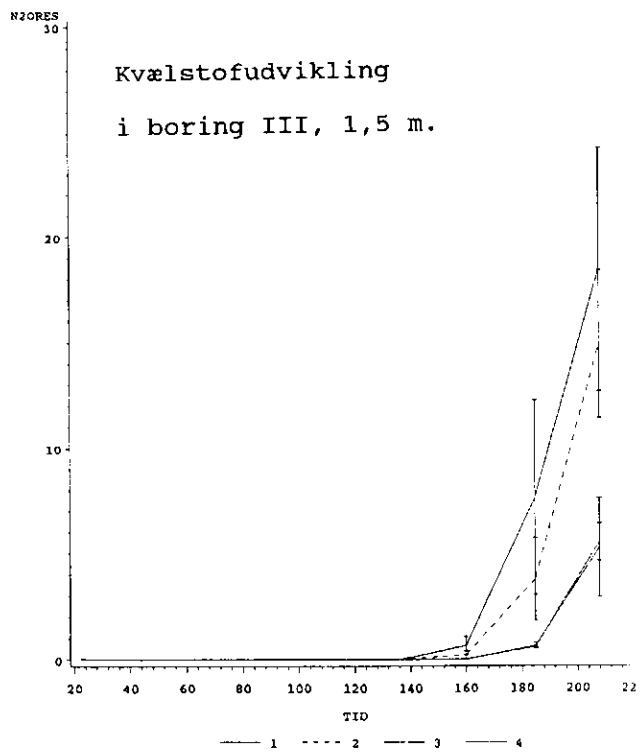
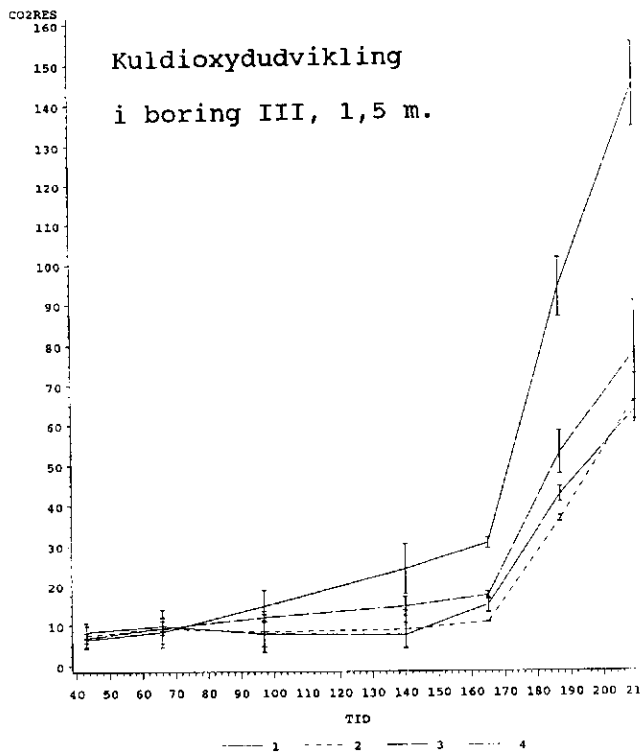
N_2O -målinger: μg N/g jord.

CO_2 -målinger: μg C/g jord.

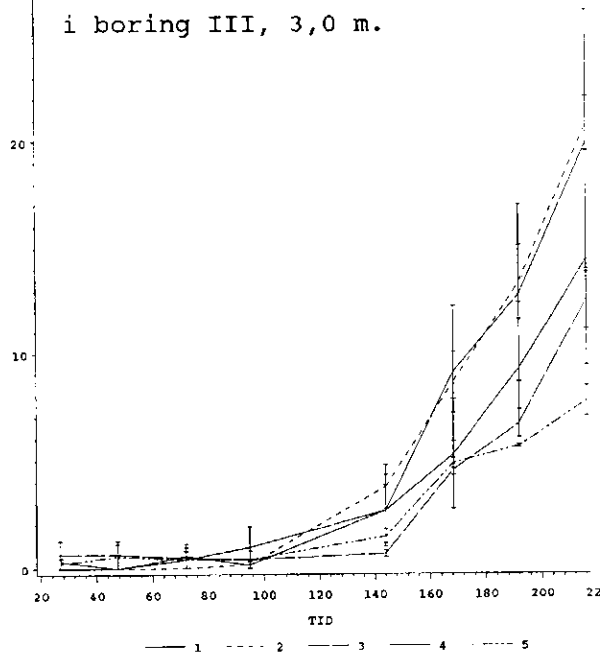




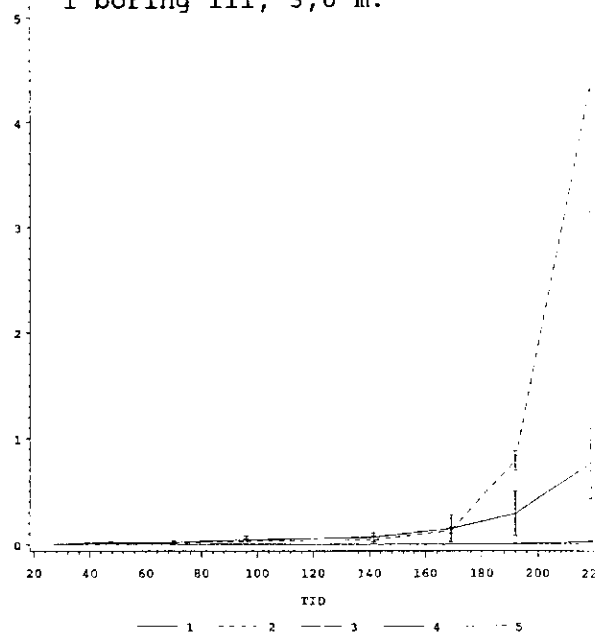


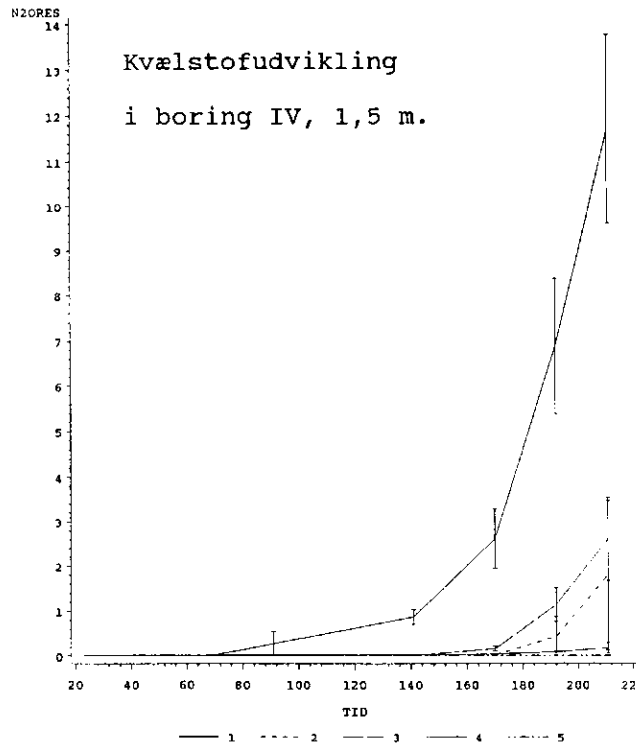
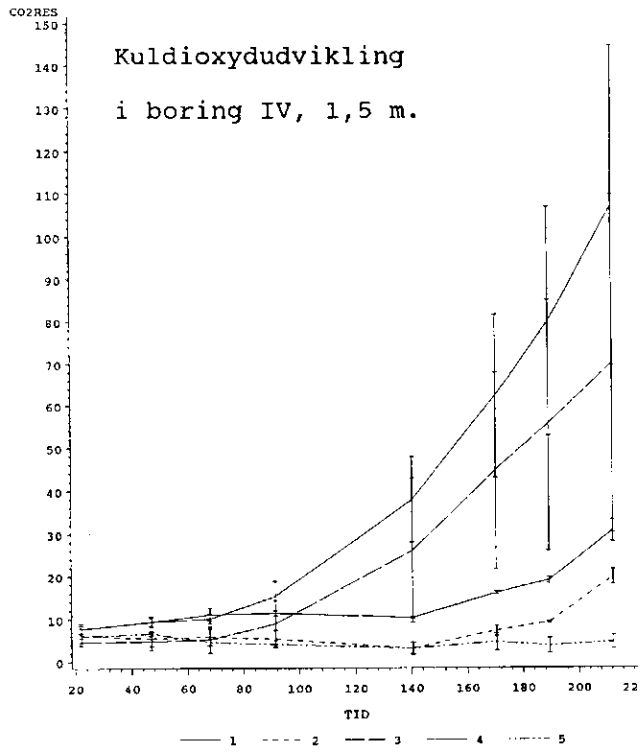


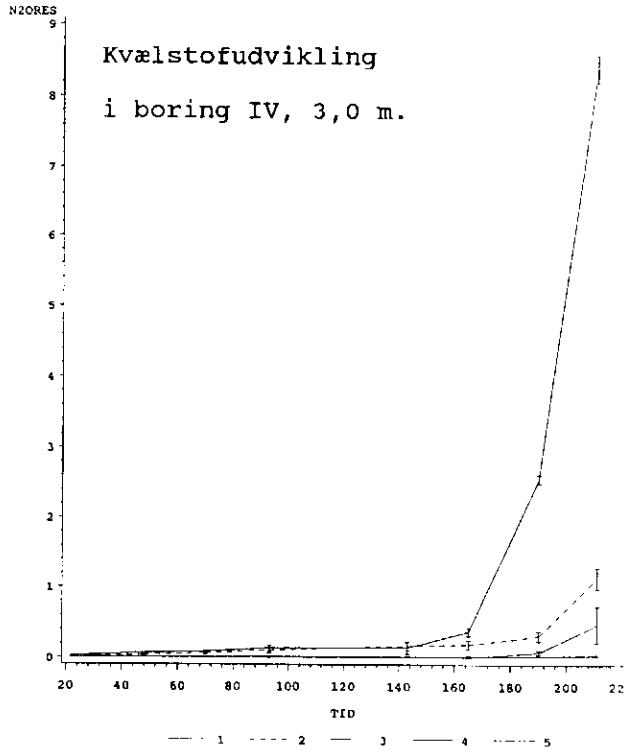
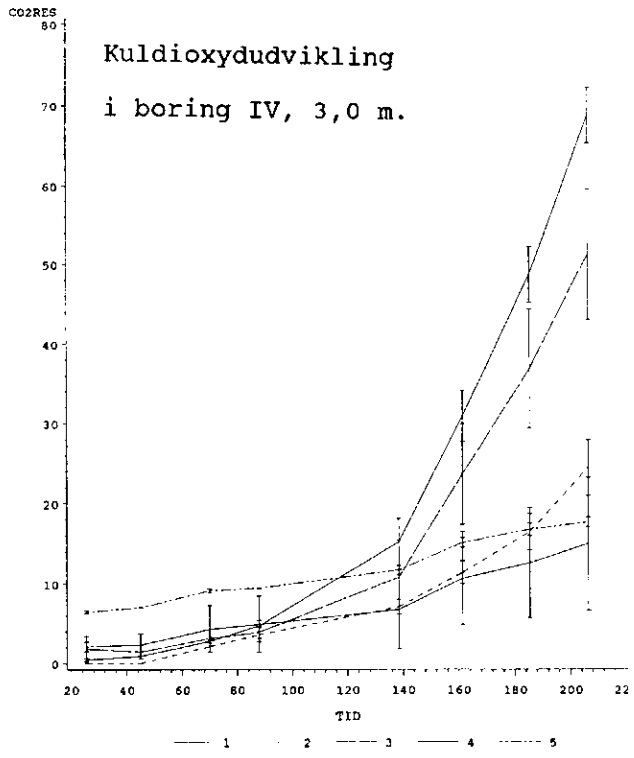
Kuldioxydudvikling i boring III, 3,0 m.

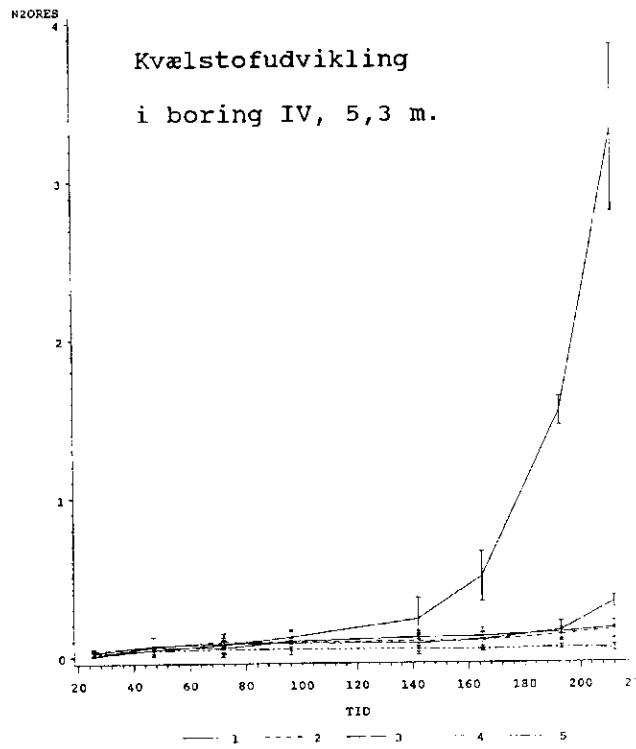
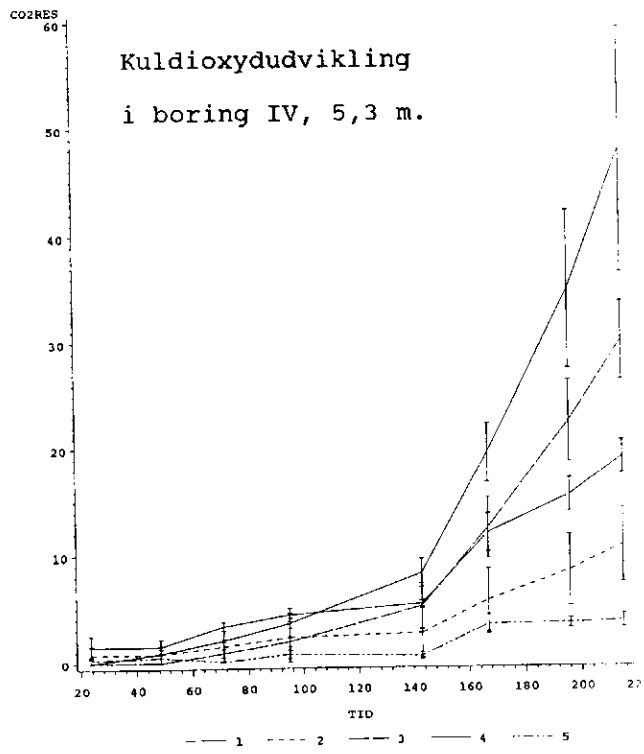


Kvælstofudvikling i boring III, 3,0 m.







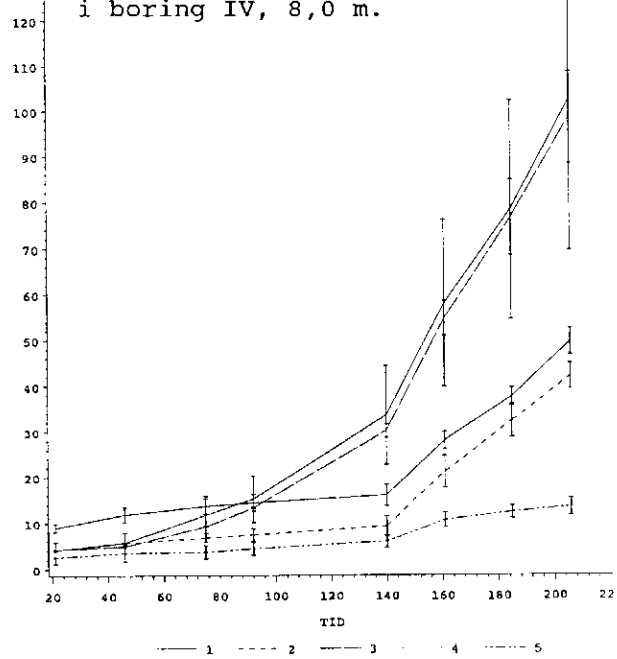


CO2RES

140

Kuldioxydudvikling

i boring IV, 8,0 m.

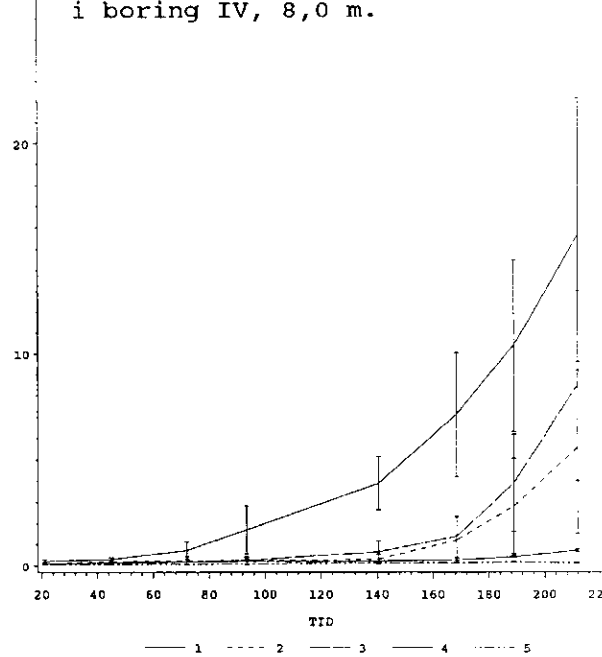


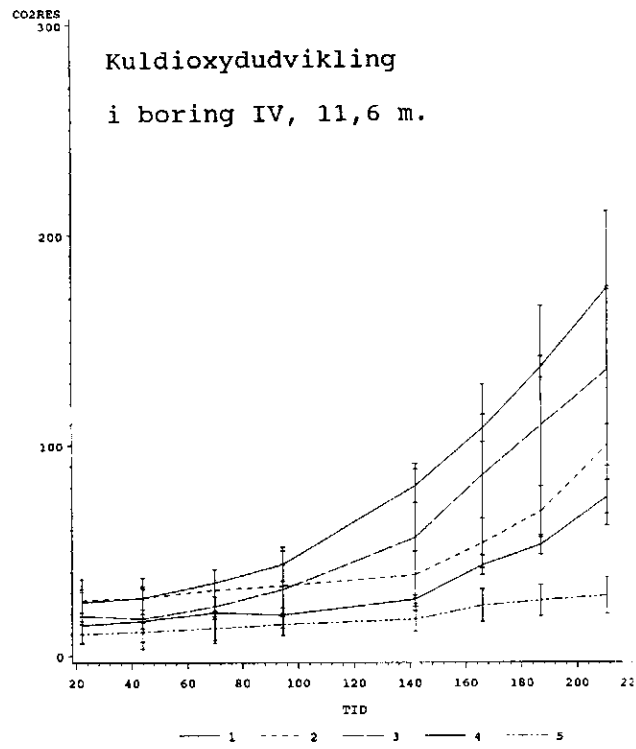
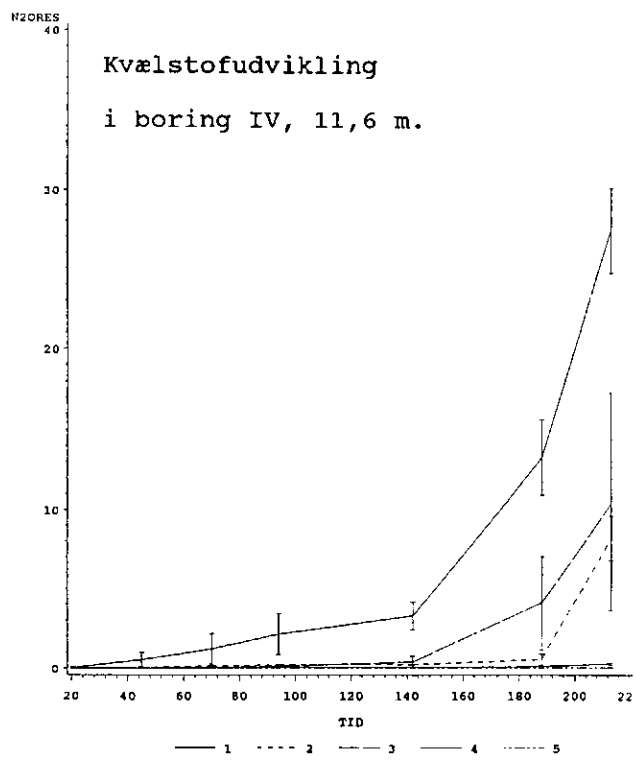
N2ORES

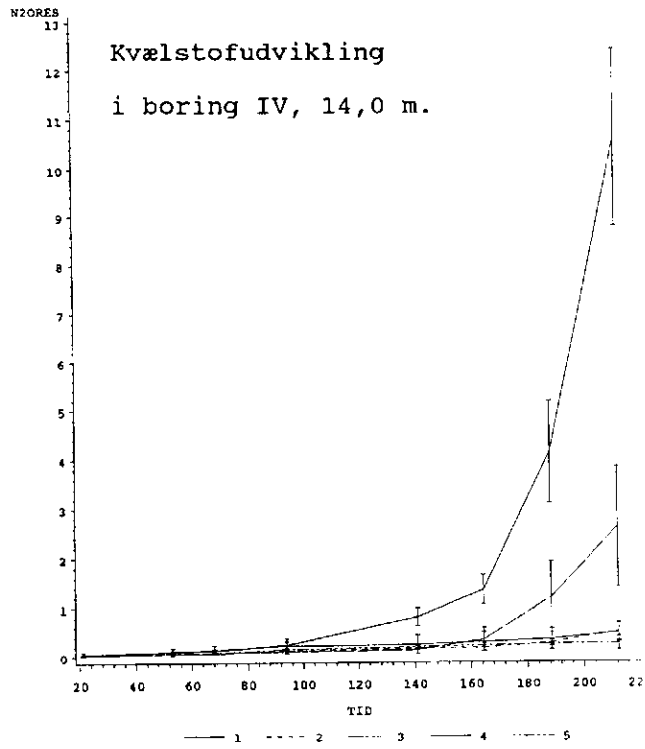
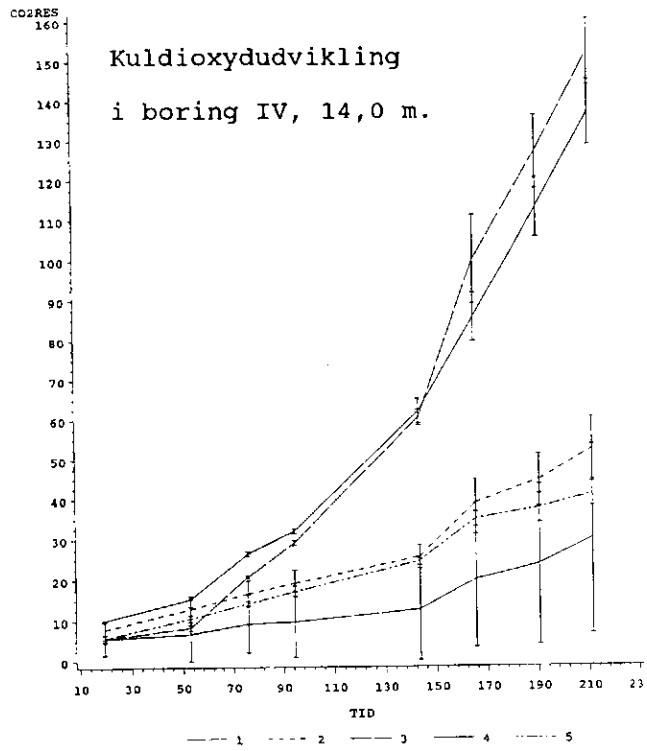
30

Kvælstofudvikling

i boring IV, 8,0 m.







Registreringsblad

Udgiver: Miljøstyrelsen, Strandgade 29, 1401 København K.

Serietitel, nr.: NPo-forskning fra Miljøstyrelsen, B7

Udgivelsesår: 1990

Titel:

Transport og omsætning af N og P i Langvad Ås opland – 2

Undertitel:

Mikrobiel nitratreduktion i umættet zone

Forfatter(e):

Zeuthen, Susanne B.; Vinther, Finn P.; Eiland, Finn

Udførende institution(er): Statens Planteavlsvforsøg

Resumé:

Den mikrobielle biomasse og aktivitet samt nitratreduktion er undersøgt i lerjordsprofiler ved Langvad Å. Denitrificerende bakterier blev fundet i alle dybder, men deres aktivitet var lav på grund af manglende tilgængelig kulstofkilde. Mikrobiel aktivitet i det store jordvolumen i undergrunden må dog antages at bidrage væsentligt til fjernelse af nitrat. Dybereliggende jordlags bakterier var lige så effektive til at reducere nitrat som overfladeorganismer efter tilførsel af en tilgængelig kulstofkilde.

Emneord:

vandløb; denitrifikation; analysemetoder; ler; jord;
nitrogen CAS 7727-37-9; fosfor CAS 7723-14-0

ISBN: 87-503-8604-2

ISSN:

Pris: 55,- (inkl. 22 % moms)

Format: A5

Sideantal: 44 s.

Md./år for redaktionens afslutning: juni 1990

Oplag: 450

Andre oplysninger:

Rapport fra koordinationsgruppe B for grundvand

Tryk: Luna-Tryk ApS, København

NPo-forskning fra Miljøstyrelsen

Rapporter fra koordinationsgruppe B for grundvand

- Nr. B 1 : Kemisk nitratreduktion med jern(II)forbindelser
- Nr. B 2 : Nitratreduktion i moræner
- *Nr. B 3 : Nitratreduktion og organisk stof i grundvandsmagasiner
- *Nr. B 4 : Nitrat og fosfat i grundvand/drikkevand fra områder i Danmark
- *Nr. B 5 : Transport og omsætning af N og P i Rabis Bæks opland
- *Nr. B 6 : Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. I
- Nr. B 7 : Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. II
- *Nr. B 8 : Processes of nitrate reduction in a sandy aquifer
- *Nr. B 9 : Afstrømning og transport til Rabis og Syv Bæk
- *Nr. B10 : Geokemiske processer i et grundvandsmagasin
- *Nr. B11 : Grundvandsbelastning fra to landbrug på sandjord
- *Nr. B12 : Fluktuationer i grundvandets nitratindhold
- *Nr. B13 : Flow and transport modelling - Rabis field site
- *Nr. B14 : Drainage flow modelling - Syv field site
- *Nr. B15 : Regional model for næringssalttransport - og omsætning
- *Nr. B16 : Kortlægning af potentialet for nitratreduktion
- *Nr. B17 : Klimastationer i NPo-værkstedsområder
- *Nr. B18 : Grundvandsmoniteringsnet i Danmark

De med * mærkede titler er ikke trykt på udgivelsesdagen for denne rapport, men forventes trykt i løbet af 1990.

Transport og omsætning af N og P i Langvad Å's opland. II

Den mikrobielle biomasse og aktivitet samt nitratreduktion er undersøgt i lerjordsprofiler ved Langvad Å. Denitrificerende bakterier blev fundet i alle dybder, men deres aktivitet var lav på grund af manglende tilgængelig kulstofkilde. Mikrobiel aktivitet i det store jordvolumen i undergrunden må dog antages at bidrage væsentligt til fjernelse af nitrat. Dybereliggende jordlags bakterier var lige så effektive til at reducere nitrat som overfladeorganismer efter tilførsel af en tilgængelig kulstofkilde.



Miljøministeriet **Miljøstyrelsen**

Strandgade 29, 1401 København K, tlf. 31 57 83 10

Pris kr. 55.- inkl. 22% moms

ISBN nr. 87-503-8604-2