

红壤微生物量氮的周转期及其研究意义*

姚槐应 何振立 黄昌勇

(浙江农业大学土化系, 杭州 310029)

摘 要 本文采用 ^{15}N 标记底物法测定了三种不同肥力水平的红壤中微生物量氮的周转速率, 结果表明三种红壤中微生物量氮的周转期分别为 63 天(3 年菜地红砂土), 89 天(4 年桔园黄筋泥)和 251 天(30 年茶园黄筋泥)。微生物量氮的周转期受土壤质地、利用方式等方面的影响, 较短的周转期能使土壤中的氮素更有效地通过微生物进行流通, 而长的周转期则有利于土壤养分积累和保蓄。根据周转期估算, 每年通过微生物周转的氮素可以达到土壤微生物量氮的 1.5 倍以上。由此可见, 微生物量氮周转对红壤氮素供应和循环具有着重要的意义。

关键词 红壤, 微生物量氮, 周转期

中图分类号 S154.36

土壤微生物量不仅自身含有一定数量的 C、N、P 和 S, 可看成是一个有效养分储备库, 而且通过其新陈代谢推动这些元素的周转和循环^[1]。微生物量完成自身全部物质更新所需的时间称为微生物物质的周转期, 单位时间内微生物更新自身物质的量称为微生物物质的周转速率。它们可作为反映土壤微生物同化-矿化活性的重要指标, 对研究生态系统中碳素循环及氮、磷、硫的植物有效性均有重要意义。对于我国南方广泛分布的红壤来说, 从矿物释放的养分十分有限, 植物生长所需的养料主要靠肥料的投入和有机质的矿化。因此, 微生物量的周转对红壤中养分元素的植物有效性及循环的影响更大。

目前, 有关土壤微生物量周转的研究还不太多, 并且其中绝大多数局限于先测定微生物量碳的周转期, 然后利用土壤微生物的平均 C/N 比来计算微生物量氮的周转速率, 这种间接方法在很大程度上影响了测定结果的准确性。为了更好地估价土壤微生物量在土壤氮素循环和肥力演变中的意义, 本文试图采用 ^{15}N 标记硫酸铵法直接测定微生物量氮的周转期, 并由此探讨微生物量氮周转在红壤肥力演化中的作用和意义。

1 材料与方 法

1.1 材料

土样采自浙江省龙游县, 1 号和 2 号土壤的母质为第四纪红土, 3 号土壤的母质为第三纪红砂岩。粘

* 国家自然科学基金、土壤圈物质循环开放实验室及欧共体资助项目

收稿日期: 1997-10-10; 收到修改稿日期: 1998-05-24

表1 土样基本性质

Table 1 Basic properties of the tested soils

土样号 Soil sample No.	土壤类型 Soil type	利用方式及年限 Land use history	有机质 O.M. (g/kg)	全氮 Total N (g/kg)	pH值 pH
1	黄筋泥	茶园(30年)	45.29	2.04	4.64
2	黄筋泥	桔园(4年)	8.58	0.48	4.96
3	红砂土	菜地(3年)	8.27	0.43	6.57

土样号 Soil sample No.	微生物量碳 SMB-C ¹⁾ (C μg/g soil)	微生物量氮 SMB-N ¹⁾ (N μg/g soil)	机械组成(%) Size composition		
			2~0.02mm	0.02~0.002mm	<0.002mm
1	447.2	66.7	29.39	38.47	32.14
2	61.3	9.1	28.80	37.93	33.27
3	80.1	11.5	68.34	18.72	12.94

1) SMB=Soil microbial biomass

粒矿物组成以高岭石、绿泥石和铁铝氧化物为主,基本性状见表1。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 采集新鲜土样,在25℃、100%湿度下培养3天,待微生物活化后,加入C 2500mg/kg土的葡萄糖,N 100mg/kg土的¹⁵N-标记硫酸铵(¹⁵N的原子百分超为11.385%)及P 50mg/kg土的磷酸二氢钾,同时设不加底物的对照。

1.2.2 测试方法 土壤微生物量碳、氮测定均采用氯仿熏蒸提取法^[2]。提取液中的有机碳用总有机碳自动分析仪测定(Shimazu, TOC-500)^[3]。提取液中的氮采用开氏消化、半微量蒸馏法,¹⁵N丰度采用质谱法测定。

1.2.3 土壤微生物周转期的计算方法 利用同位素标记底物法测定微生物量周转是实验技术的一大进步,由于¹⁵N标记微生物量氮与总微生物量氮的周转速率一致,因此可由¹⁵N-标记微生物氮的周转速率常数求出土壤微生物量氮的周转期。

土壤内标记微生物量氮的下降遵从一级动力学方程式,即有:

$Y_t = Y_0 \times e^{-kt}$ (Y_0 是在 $t=0$ 时的标记微生物量氮, Y_t 则是经过 t 时间后,原来的标记微生物量氮还剩下的部分, k 为该微生物量氮的周转速率常数)

对于该体系,周转期(T)可根据下式求得: $T = 1/k$

当含氮物质被土壤微生物利用后,一部分矿化成气态氮而散失,一部分被微生物合成为生物量氮,还有一部分成为微生物的代谢产物,后面两部分亦能相互转化或变成气态氮损失。因此,不能直接从标记微生物量氮的变化求出周转期,必须扣除由标记代谢物再度合成进入微生物体内的标记生物量氮,才能得到真正的周转速率常数。

为了测定和计算由标记代谢物重新合成进入微生物的¹⁵N-标记微生物量氮,须首先定义一些术语:

t : 培养时间(天)

(BN) o : 初始微生物量氮(取培养时间为22天时的微生物量氮,理由见结果与讨论)

(BN)*t*: *t* 天时的土壤微生物量氮

(BN)*s*: 由代谢物新近合成进入微生物体内的微生物量氮(从 22 天开始)

(BI)*o*: 初始 ¹⁵N - 标记微生物量氮(取培养时间为 22 天时的标记微生物量氮)

(BI)*t*: *t* 天时的 ¹⁵N - 标记微生物量氮

F_t: 从初始(培养时间为 22 天时)到 *t* 天期间, 初始微生物量氮下降后, 剩下的部分所占的比例

(PE)*m*: 从初始(培养时间为 22 天时)到 *t* 天期间, 能有效地重新合成进入微生物的标记代谢物的原子百分超。我们假定它等于未熏蒸土样 K₂SO₄ 提取氮的原子百分超。

(PE)*A*: 初始加入硫酸铵的 ¹⁵N 原子百分超

(BI)*s*: 由代谢物新近合成进入微生物体内的标记微生物量(从 22 天开始)*t* 天时, 初始微生物量氮剩下部分所占的比例 *F_t* 为:

$$F_t = \frac{(BN)_o - [(BN)_t - (BN)_s]}{(BN)_o} \quad (1)$$

因为标记微生物量氮与总微生物量氮的周转速率一致, 则有:

$$F_t = \frac{(BI)_o - [(BI)_t - (BI)_s]}{(BI)_o} \quad (2)$$

对于新近进入生物量的标记代谢物的原子百分超 (PE)*m*(取初始到 *t* 天期间, 未熏蒸土样 K₂SO₄ 提取氮原子百分超的加权平均值), 可由以下公式表示:

$$(BN)_s \times (PE)_m = (BI)_s \times (PE)_A \quad (3)$$

联立 (1), (2), (3) 可求得 (BI)*s*

$$(BI)_s = \frac{(PE)_m \times [(BN)_t(BI)_o - (BN)_o(BI)_t]}{(BI)_o(PE)_A - (BN)_o(PE)_m}$$

公式右边的未知量均可根据实验结果计算出来, 因此可求出 (BI)*s*

此外, 含氮底物的加入会加速土壤微生物氮的周转, 本研究通过加底物土壤与未加底物土壤在培养期间微生物量氮下降比例的差值对此进行了校正, 校正公式为:

$\Delta A = e^{-kt} - e^{-k_u t}$ (ΔA 是处理土壤与未处理土壤微生物量氮下降比例的差值, k 和 k_u 分别为处理土壤及未处理土壤微生物量氮的周转速率常数, t 为培养时间)

2 结果与讨论

2.1 土壤微生物量氮周转期的测定

2.1.1 初始时间的确定 为了使 ¹⁵N - 标记底物在短时间内能被微生物迅速同化利用, 本试验采用了一个较高的 C/N 比 (25:1)。添加硫酸铵能加速土壤微生物量氮的周转, 特别是刚加入的一段时间, 所以必须确定一个初始时间作为计算土壤微生物量氮周转期的起点。底物加入后微生物量碳、氮的测定数据见表 2。从中可以看出, 在培养 11 天时, 土壤微生物量碳、氮同加入底物前(具体数据见表 1)相比, 均有较大幅度上升, 这说明土壤微生物在短时间内同化利用了大量添加的底物。培养 22 天后, 土壤微生物量碳、氮及未熏蒸土壤能被 0.5mol/L K₂SO₄ 提取的氮均相对下降得比较缓慢, 因此, 本试验采用培养后第 22 天作为计算的初始时间。当然, 此时仍然有一部分氮素未被微生物完全利用, 我们假定这

表2 土壤培养期间底物处理后土壤微生物量碳、氮的动态变化

Table 2 Dynamics of soil microbial biomass C and N during soil incubation

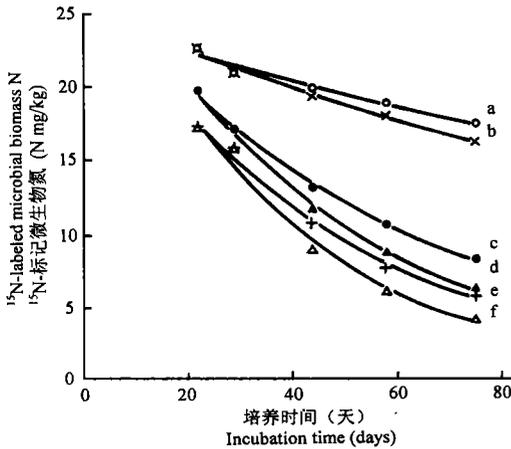
土壤	培养时间	土壤微生物量碳	未熏蒸土壤K ₂ SO ₄		熏蒸土壤K ₂ SO ₄	
			可提取N		可提取N	
Soils	Days of Incubation	Soil microbial biomass C	K ₂ SO ₄ -extractable N in soil not fumigated	K ₂ SO ₄ -extractable N in soil fumigated	Soil microbial biomass N	Soil microbial biomass N
		(C μg/g soil)	(C μg/g soil)	(N μg/g soil)	(N μg/g soil)	(N μg/g soil)
茶 园 黄筋泥	11	743.77±20.3	59.6	121.59	114.67±8.2	
	22	569.80±15.9	49.98	93.93	84.03±6.3	
	29	522.48±16.4	50.36	92.63	77.92±5.4	
	44	539.53±14.4	52.09	94.84	78.83±5.4	
	58	508.82±15.6	45.95	88.45	78.37±5.0	
	75	477.17±17.3	30.22	73.96	77.47±4.4	
桔 园 黄筋泥	11	227.12±10.1	50.99	71.79	38.52±2.5	
	22	176.92±8.3	45.15	61.00	29.36±2.1	
	29	146.61±6.4	48.40	62.23	25.61±1.6	
	44	149.28±6.8	44.96	57.07	22.43±1.4	
	58	136.66±7.1	29.48	40.29	19.93±1.1	
	75	121.29±4.5	27.52	37.07	17.68±1.2	
菜 地 红砂土	11	235.93±8.1	65.21	94.83	54.85±3.0	
	22	159.82±6.3	51.84	63.84	22.22±1.1	
	29	121.29±5.6	44.47	55.48	20.39±1.3	
	44	128.62±6.2	42.51	53.54	20.43±1.1	
	58	119.76±6.4	41.03	51.12	18.69±0.9	
	75	111.96±5.0	36.61	46.68	18.64±1.0	

部分残留氮在以后(22—75天)的培养期间内保持相对稳定。

2.1.2 表观周转速率常数(K')与实际周转速率常数(K) 用不同时期测定得到的¹⁵N-标记微生物量氮数据拟合一级动力学方程式,可以得到表观周转速率常数 K' 。显然,通过这种拟合方法获得的周转速率常数比根据一个简单时间间隔内微生物量氮的变化率求出的结果要精确得多。同理,可以根据表3的数据,求出标记代谢物新近合成进入微生物体内的¹⁵N-标记微生物量氮,扣除这部分标记生物量后拟合可以得到实际的周转速率常数 K (表4,图1)。

2.1.3 未加底物土壤的周转速率常数(K_u)及周转期 在培养22~75天期间,加入底物土壤的微生物量氮下降比例仍然大于未加底物土壤,说明此时微生物量氮周转速率仍受外加底物的影响。假定微生物量氮下降速率增大的原因是由于周转速率变快所致,则可用 $\Delta A = e^{-kt} - e^{-k_u t}$ 进行校正,由此求出未处理土壤的周转速率常数(K_u)及周转期(表5)。试验结果表明三种红壤在实验室条件下土壤微生物量氮的周转期分别为251天(30年茶园黄筋泥)、89天(4年桔园黄筋泥)和63天(3年菜地红砂土)。

显然,在实验室条件下(25℃、50%田间持水量及100%湿度)测得的微生物量氮周转



a $y = 24.397e^{-0.0046t}$ ($r = 0.9858$)
 b $y = 25.281e^{-0.0060t}$ ($r = 0.9941$)
 c $y = 27.591e^{-0.0164t}$ ($r = 0.9985$)
 d $y = 28.218e^{-0.0218t}$ ($r = 0.9965$)
 e $y = 31.791e^{-0.0221t}$ ($r = 0.9989$)
 f $y = 32.856e^{-0.0283t}$ ($r = 0.9948$)

图 1 培养时间¹⁵N-标记微生物量氮及其模拟的回归方程

(a, c, e 分为 1 号、2 号、3 号土样表观周转速率常数的模拟方程, b, d, f 分为 1 号、2 号、3 号土样实际周转速率常数的模拟方程)

Fig.1 Amount of ¹⁵N-labelled nitrogen of microbial biomass in incubation time and its model regression curve (a, c and e are the model equation with a rate constant of apparent turnover and b, d and f the equation with a rate constant of actual turnover for the soil samples 1, 2 and 3)

期远远小于自然条件下的土壤。根据 Jenkinson 等人的研究, 实验室标准条件下测得的微生物量周转期比田间自然条件下要短 3.81 倍, 即实验室条件下的周转期乘以 3.81 方为田间条件下的周转期^[4]。如果用此系数, 本试验三种土壤的微生物量氮周转期则分别为 2.6, 0.93 和 0.66 年。必须指出, 该系数是在英国气候条件下得到的, 浙江省的气候比温带要暖和得多, 真实转换系数可能要比 3.81 小, 即实际田间的土壤微生物量氮周转期可能比上述计算值要短。

2.2 不同土壤中微生物量氮周转期的差异

对于 1 号和 2 号土壤, 虽然母质相同, 质地、pH 值均相似, 但微生物量氮的周转期却差异很大(表 5), 这可能是由于不同利用方式的土壤物质循环特点及腐殖质的质量差异而造成的。相对茶园来说, 桔园利用年限较短, 在土壤-植物系统中需要更有效地进行养分流通, 这些均可能影响了土壤腐殖质的质量及土壤微生物的组成, 加快了微生物量氮的周转速率。除以上因素之外, 该茶园土中微生物体外的有效氮水平及微生物代谢产物含量较高, 亦可能对微生物量氮的周转起了一定的阻碍作用。3 号红砂土与 2 号黄筋泥有着相近的有机质和全氮含量, 但质地相差较大, 试验结果表明, 红砂土中的微

表 5 培养期间加底物与未加底物土壤中微生物量氮下降比例的差异及校正后微生物量氮的周转期

Table 5 Differences of decline amounts of biomass N between the soil amended and unamended with substrate during incubation and the turnover time in soil unamended with substrate

土样号 Soil sample No.	微生物氮的下降比例(22~75天) Declines of SMB ¹⁾ -N(22~75 days) (%)			未加底物土壤微生物量氮的周转速率常数(Ku) Rate constant of turnover of SMB ¹⁾ -N in soil unamended with substrate	周转期(天) Turnover time (Day)
	加底物处理 Amended with substrate	未加底物处理 Unamended with substrate	差别 Differences		
1	16.3	8.1	8.2	3.99×10 ⁻³	251
2	31.4	7.1	24.3	11.2×10 ⁻³	89
3	29.9	9.2	20.7	15.9×10 ⁻³	63

¹⁾ SMB=Soil microbial biomass

生物量氮周转期短于黄筋泥,这与 Van Veen 等人的结果基本一致,他们认为粘性土壤对微生物量碳、氮有相对高的保持能力,微生物代谢产物比例较高,并在生化合成反应中更有效地利用葡萄糖或其它代谢物,从而使粘性土壤的周转期比砂性土壤要长^[5]。砂质土中相对较短的周转期使得氮素能更有效地通过微生物量进行流通,有利于养分的矿化和利用。该红砂土微生物的平均 C/N 比在底物加入初期下降迅速(培养 11 天时仅为 4.3),一定程度上也说明了砂质土对氮素有较高的同化-矿化能力,更能充分发挥土壤氮素的植物有效性。至于粘质土,长的周转期意味着能经常维持较大的微生物量氮,使很多养分长期处于生物固持状态,有利于土壤养分的积累和保蓄。

2.3 红壤微生物量氮及其周转在氮素循环中的意义

总的来说,土壤微生物量中的养分元素一般只占土壤中相应元素的极小部分。但因为土壤的养分贮备中绝大部分处于稳定和半稳定状态,活性和有效性均较低,而微生物量中的养分则非常活跃^[6]。对于热带和亚热带地区广泛分布的高度风化的红壤,从矿物释放的养料十分有限,植物生长所需的养料主要靠肥料的投入和有机质的矿化。因此,微生物量在红壤中的作用显得更为重要。盆栽试验表明,红壤微生物量氮与有效氮和植物吸氮量均有着良好的相关性,可以作为红壤的重要肥力指标^[7]。土壤微生物的平均 C/N 比一般小于土壤平均 C/N 比,一定程度上也说明土壤微生物量氮是植物有效氮的重要储备^[8]。

在土壤生态系统中,微生物时刻进行着活跃的新陈代谢,它的生长同化与死亡矿化构成了土壤养分内循环的“流”。对于土壤氮素来说,平时绝大部分是以有机氮的形式存在。在作物生长季节,其中一部分有机氮可被矿化供作物利用,因此,微生物的矿化-同化作用是土壤氮素库-源调节的重要机制^[9],直接研究微生物量氮的周转显得十分必要。高云超等人根据微生物量周年内动态减少量之和及微生物量中的 C/N 比估算,微生物量年周转的氮素超过作物吸收量^[10]。测出周转期后,我们可以根据其微生物量氮的周转期,求出每年微生物量氮周转的速率,本试验的三种红壤年周转次数分别为 6、4 和 1.5,即每年通过微生物周转的氮素可达到土壤微生物量氮含量的 1.5 倍至数倍,这无疑会对氮素作物利用和红壤肥力的持续性起着积极的作用。即使考虑到田间实际情况,每年土壤微生物量氮也可更新 0.3—2 次。所以,土壤微生物量不仅自身是一个有效氮的储备库,而且还是一个通过微生物量周转不断向土壤提供有效氮素的“源”^[10]。

参 考 文 献

1. Smith J L, Paul E A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: Bollag J, Stotzky G. ed. Soil Biochemistry. New York: Marcel Dekker, USA. 1991. 359~396
2. Brookes P C, Landman A, Pruden G. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biol. Biochem., 1985, 17(6): 837~842
3. Wu J, Joergensen R G, Pommerening B. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation extraction—an automatic procedure. Soil Biol. Biochem., 1990, 22(8): 1167~1169
4. Jenkinson D S, Hart P B S, Payner J H. Modelling the turnover of organic matter in long-term experiments at Rothamsted. In: Cooley J H ed. Soil Organic Matter Dynamics and Soil Productivity, Intercol Bulltion 15, 1987. 1~8
5. Van Veen J A, Ladd L N, Amato M. Turnover of carbon and nitrogen through the microbial biomass in a sandy loam and a clay soil incubated with [¹⁴C] glucose [¹⁵N] (NH₄)₂SO₄ under different moisture

- regimes. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, 17(j): 747~757
6. 殷士学. 土壤微生物生物量及其与养分循环关系的研究进展. *土壤学进展*, 1993, 21(4): 1~8
 7. He Z L, Yao H Y, Chen G C. Relationship of crop yield to microbial biomass in highly - weathered soils of China. In: Ando T et al. ed. *Plant Nutrition - for Sustainable Food Production and Environment*, Kokyo: Kluwer Academic Publishers, Japan. 1997. 751~752
 8. Joergensen R G, Anderson T H, Wolters V. Carbon and nitrogen relationships in the microbial biomass of soils in beech forests. *Biol. Fertil. Soils*, 1995, 19(2): 141~147
 9. 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义. *土壤*, 1997, 29(2): 61~69
 10. 高云超, 朱文珊, 陈文新. 土壤微生物生物量周转的估算. *生态学杂志*, 1993, 12(6): 6~10

TURNOVER PERIOD OF MICROBIAL BIOMASS NITROGEN IN RED SOILS AND ITS SIGNIFICANCE IN SOIL FERTILITY EVALUATION

Yao Huai-ying He Zhen-li Huang Chang-yong

(Department of Soil Science and Agricultural Chemistry, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

Summary

An isotope (^{15}N) labelling technique was used to estimate the turnover of soil nitrogen through microbial biomass in red soils. The turnover times of soil nitrogen in microbial biomass were 251, 89, and 63 days, for the long-term cultivated red clayey soil (30 years of tea orchard), mid-term cultivated red clayey soil (4 years citrus orchard) and short-term cultivated red sandy soil (3 years upland), respectively. The annual fluxes of soil nitrogen through microbial biomass were 1.5 to 6 times of the microbial biomass nitrogen itself. The microbial turnover rate of soil nitrogen was closely related to the soil organic matter, and it was higher in sandy soil than in clayey soil. Obviously, microbial biomass turnover of soil nitrogen plays an important role in the availability, retaining and accumulation of soil nitrogen in red soils.

Key words Red soils, Microbial biomass nitrogen, Turnover time