尿素向氨基糖的转化以及对土壤氨基糖库动态的影响*

李晓波[1,2] 张 威[1] 田秋香[1] 吕慧捷[1] 丁雪丽[1] 何红波[1†] 张旭东[1,3†]

（1 森林与土壤生态国家重点实验室（中国科学院沈阳应用生态研究所），沈阳 110164）

（2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室（中国科学院南京土壤研究所），南京 210008）

（3 辽宁沈阳农田生态系统国家野外科学观测研究站，沈阳 110016）

摘 要 采用$^{13}CO(NH_2)_2$为底物进行黑土培养实验，利用气相色谱/质谱技术测定土壤中三种氨基糖含量以及同位素富集比例，根据其微生物标识物作用探讨土壤中不同微生物群落对于尿素碳的同化利用特征及黑土氨基糖库对于尿素添加的响应。研究结果表明，尿素碳可以被土壤微生物同化利用，但是可利用性显著低于葡萄糖。氨基葡萄糖中^{13}C富集比例显著高于胞壁酸，表明真菌对尿素碳的同化能力高于细菌。尿素添加使土壤有机碳含量有所下降，同时土壤氨基糖总量及其与有机碳的相对比例也显著降低，说明在碳源严重受限条件下，氨基糖可被优先分解利用以补充碳源供给。胞壁酸含量虽低，但其调节并平衡碳氮元素的供给与需求的能力较强；氨基葡萄糖稳定性高于胞壁酸，但在碳源缺乏时也可部分分解。土壤氨基糖的动态与土壤碳氮的可利用性及其耦合作用密切相关，在平衡土壤碳氮需求方面具有一定的调节作用。

关键词 尿素碳；氨基糖；转化；微生物利用；黑土

中图分类号 S154 **文献标识码** A

陆地生态系统中土壤微生物通常处于养分受限状态，其活性受到能源和养分的强烈影响[1-2]。外源物质加入土壤后，会或多或少地改变原有的物质、能量循环特征和微生物代谢活性[3]，从而影响微生物残留物在土壤中的动态[4-5]。作为微生物细胞壁的组成物质，氨基葡萄糖(GluN)主要来源于真菌，大部分作为几丁质的单体，同时和胞壁酸(MurN)及部分 D-氨基酸形成细菌细胞壁的肽聚糖；胞壁酸唯一来源于细菌；氨基半乳糖(GalN)的来源并不十分明确，一般认为主要来自细菌的贡献[6-8]。由于氨基糖一方面作为微生物新陈代谢的副产物在土壤中积累[9]，另一方面又可进一步参与土壤碳氮循环[5]，底物活性对土壤氨基糖库动态有着显著的影响。而且，不同来源氨基糖可作为微生物标识物以研究来源于真菌和细菌的残留碳、氮的去向[10-11]以及不同微生物群落在土壤有机质循环中的相对贡献[11-12]。

尿素是农业生产中最重要的一种固体氮素肥料，其中碳氮含量分别为20%和50%。多年及大面积尿素施用对农业土壤生态，尤其是土壤碳氮循环具有重要的影响[13-15]。国内外关于尿素氮的去向的研究很多[16-18]，然而对于尿素碳的转化及去向及其对土壤碳库的影响却少有报道。相关研究表明：

*国家自然科学基金面上项目（40871149, 41071161）资助

†通讯作者，E-mail: hehongbo@iae.ac.cn, xdzhang@iae.ac.cn.

作者简介：李晓波（1984－），男，博士研究生，主要研究方向为陆地生态系统氮循环。E-mail: xbli@issas.ac.cn

收稿日期：2011-01-18；收到修改稿日期：2011-07-10

向黑土中添加尿素进行室内培养，土壤微生物生物量碳氮有较大幅度增加[19]，说明对微生物的生长具有一定的刺激作用。利用同位素示踪技术进一步发现：尿素碳氮均参与土壤微生物转化利用，并且在磷脂脂肪酸、土壤盐酸水解产物以及氨基酸中有所积累[18, 20,-21]。然而，不同群落土壤微生物对于尿素碳的同化利用特征仍然不得而知，尿素添加对土壤微生物残留物的动态的影响尚不清楚。

本研究利用$^{13}CO(NH_2)_2$进行黑土样品培养，采用气相色谱/质谱(GC/MS)测定土壤氨基糖含量以及同位素富集程度，根据其微生物标识物作用探讨土壤中不同微生物群落对于尿素碳的同化利用特征及黑土氨基糖库对于尿素添加的响应。该研究不仅有助于揭示尿素碳在土壤中的截获机制，而且有助于认识尿素施用对于农田土壤有机碳库的影响。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

培养实验所用土壤为黑土(0~20 cm)，系统分类名称简育湿润均腐土（Hap-udic Isohumisols）[22]，采自吉林省公主岭市国家黑土监测基地（北纬43°36′，东经124°40′），为低产旱田土壤，按照“Z”形采集5~7点混合样。土壤样品在室温下风干，过2 mm筛后备用。其基本理化性质为：有机碳16.15 gkg^{-1}，全氮1.51 gkg^{-1}，C/N为10.7，pH为6.1（土:水 = 1:2.5），碱解氮111.29 mg kg^{-1}，速效磷5.04 $mgkg^{-1}$，速效钾127.06 $mgkg^{-1}$。土壤质地为：砂粒（>53 μm）27.7%，粉粒（2～53 μm）50.1%，黏粒（<2 μm）22.2%[23]。

1.2 样品培养

称取10g风干土样，调整土壤水分至风干土重的20%，进行1~2周预培养，然后加入底物并置于恒温培养箱，恒温控湿培养(25±1℃)。实验设置两个处理：1）土壤+$^{13}CO(NH_2)_2$ (^{13}C 99%, 上海化学研究院)；2）土壤+U-^{13}C-Glucose (^{13}C 99%, Cambridge Isotope Laboratories, Inc. USA) +$(NH_4)_2SO_4$。底物以溶液形式在培养初始（计为0周）均匀加入，加入量均为C 1.0 mgg^{-1}、N 2.33 mgg^{-1}土。实验设3次重复，培养期间利用称重法每周定期补水，使水分保持在风干土重的20%。处理1取样时间为培养开始后1、2、4、6周；处理2在培养1周后取样。采集后的土样风干后，过60目筛，用于土壤总有机碳、全氮和氨基糖的含量及同位素比值测定。

1.3 样品测定

1.3.1 土壤有机碳、全氮含量以及同位素比值测定　风干土样过100目筛后，采用TruSpec CN元素分析仪(Leco. Co. Ltd., USA)测定土壤总碳及全氮含量。因为所用黑土样品pH＜7.0，无碳酸反应，所以土壤全碳可视作有机碳。

土壤样品中同位素比值（AT%）采用元素分析仪-同位素比例质谱（Thermo Electron Finnigan Co. Ltd., USA）测定。

1.3.2 氨基糖测定　土壤样品（＜0.25 mm）经水解、纯化、衍生后利用气相色谱-质谱联用仪(GC/MS,

Finnigan Trace, Thermo Electron Finnigan Co. Ltd., USA) 进行氨基糖测定。

土壤样品前处理采用文献[24]报道的方法，简述如下：土壤样品用 6 molL^{-1} HCl 水解 8h 后过滤。滤液调节 pH6.6~6.8 后离心。上清液用冷冻干燥机冻干，然后用无水甲醇溶解残留物中的氨基糖。纯化后的氨基糖经衍生转化成挥发性衍生物醛糖腈乙酸酯后利用二氯甲烷进行萃取。用 N_2 吹扫去除二氯甲烷后，将残留物溶于乙酸乙酯-正己烷混合溶剂（体积比 1:1）并转移至气相色谱测定瓶中便可上机测定。肌醇（内标 1）在水解前加入以进行各种氨基糖定量计算，N-甲基氨基葡萄糖（内标 2）在衍生前加入用来计算纯化过程的回收率。

氨基糖的 GC/MS 测定采用文献[25]报道的方法，具体如下：氨基糖衍生物的分离使用 DB-5MS 气相色谱毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)。以高纯度的氦气(He)作为载气，流量为 0.8 mlmin^{-1}。进样口温度 250℃，分流比 40:1，进样量为 1.0μl。色谱升温程序如下：初始温度 120℃，保持 4min；以 10℃min^{-1} 的速率升温至 230℃，保持 4min；再以 5℃min^{-1} 升至 250℃；最后以 40℃min^{-1} 升至 300℃，保持 5min。质谱利用化学电离源(CI)在负模式下检测。气相色谱和质谱接口温度为 250℃，CI 温度设为 180℃，电子能量为 70eV，反应气 CH_4 流速 1.5mlmin^{-1}。以质量扫描方式(全扫描模式)检测主要碎片离子(F)及相应同位素峰所对应的峰面积，扫描范围 40~500 质量数。

土壤中甘露糖胺含量极低且来源不明确。另外，甘露糖胺同位素富集特征较为杂乱，可信度低。因此，对于甘露糖胺的动态在本文中不作讨论。

1.4 相关指标计算

1.4.1 土壤尿素碳残留量 尿素碳残留量C_L (mgkg^{-1}) =TOC × (AT_{sa}% - AT_{st}%) ×1000，式中，TOC: 总碳含量, g kg^{-1}; AT_{sa}%: 土样同位素比值; AT_{st}%: 对照土样同位素比值。

1.4.2 氨基糖同位素比例 由于所添加的底物的碳原子数不同，培养中氨基糖碳同位素比例计算方法也有所不同，具体如下：

(1)根据文献[25]，对于U-^{13}C-Glucose培养样品，^{13}C掺入氨基糖的比例利用F+6与F强度的比值变化计算（F为氨基糖的质谱碎片）。以各原土为空白，培养样品中同位素比例变化可以用原子百分超(Atom percentage excess，APE)表示如下：

$$APE = (R_e - R_c)/[1 + (R_e - R_c)] \times 100 \quad (1)$$

式中，R_e 为培养样品同位素富集比例，R_e = [$A_{(F+6)}$/A_F] （A代表所选离子的峰面积）；R_c 为同一次测量中原土的同位素比例，计算方法同 R_e。

(2)当以$^{13}CO(NH_2)_2$为底物时，以原土为空白，培养样品中氨基糖的同位素比例计算如下：

$$APE = \sum APE_i \quad (2)$$

$$APE_i = (R_{ei} - R_{ci})/[1 + (R_{ei} - R_{ci})] \times 100$$

式中，i={1,2…,x}；x≤6，x代表掺入氨基糖衍生物碎片碳骨架的^{13}C个数；R_{ei} 为培养样品在同位素峰[F+i]的^{13}C同位素富集比例，R_{ei} = [$A_{(F+i)}$/A_F]）；R_{ci} 为原土中相应同位素峰的同位素比例。

1.4.3 利用尿素碳合成的氨基糖数量　由式(1)和式(2)可知，APE表示同位素标记的氨基糖数量占土壤氨基糖总量的比例(%)。因此，利用尿素碳合成的氨基糖数量参照文献[26]可以用以下公式计算：

$C_{13C} = C_{total} \times APE/100$，式中：$C_{13C}$ 为 ^{13}C 标记的氨基糖的数量，mg kg^{-1}；C_{total} 为每种氨基糖的浓度，mg kg^{-1}。

1.5 统计分析方法

不同培养时间土样有机碳、全氮含量、尿素碳残留量以及氨基糖含量之间的显著性检验采用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析(p<0.05)。

2 结果与讨论

2.1 尿素碳在土壤中残留以及土壤有机碳、全氮含量变化

当加入尿素培养后，土壤有机碳含量在第 1 周有所增加而后不断下降。至第 6 周培养结束时，土壤有机碳含量为 15.84 gkg^{-1}，较原土减少大约 2%，但差异未达到显著水平（图 1A，p>0.05）。但是，土壤全氮含量在培养过程中显著增加，增幅在第 1 周最高，约比原土增加 116%。而后，土壤氮含量基本保持不变，其数量约为原土氮含量与尿素氮之和的 71%（图 1B）。可见，尿素的添加增加了土壤氮素含量，但是，由于所加底物 C/N 比较低（C:N = 1:2.33），氮素的固持导致了土壤中有机碳的矿化，从而造成土壤有机碳含量下降[27]。

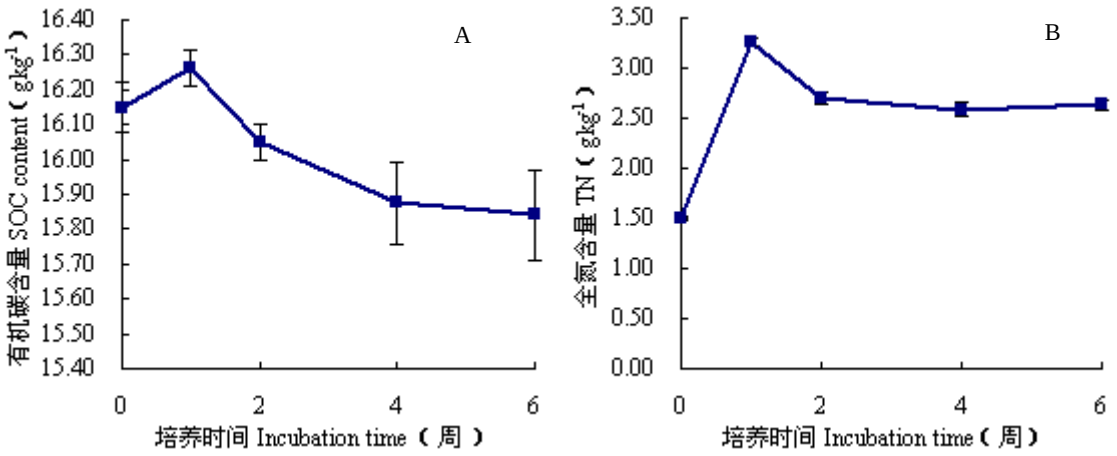


图 1 培养过程中土壤有机碳和全氮变化（A: 有机碳，B: 全氮）

Fig. 1 Dynamics of soil organic carbon and total nitrogen in the soil samples under incubation with urea (A: Soil organic carbon, B: Total nitrogen)

培养初始土壤中尿素碳（^{13}C）含量为 1000 $mgkg^{-1}$，1 周后下降为 400 $mgkg^{-1}$。而后，尿素碳在土壤中的残留量继续显著下降，最终残留不足 1%（图 2）。根据土壤氮含量变化和尿素碳动态可以看出，尿素加入土壤后其碳氮元素的去向显著不同，绝大部分尿素碳从土壤中损失，但部分尿素氮

则在土壤中积累下来，因而尿素的加入改变了土壤中原有的碳氮循环特征。

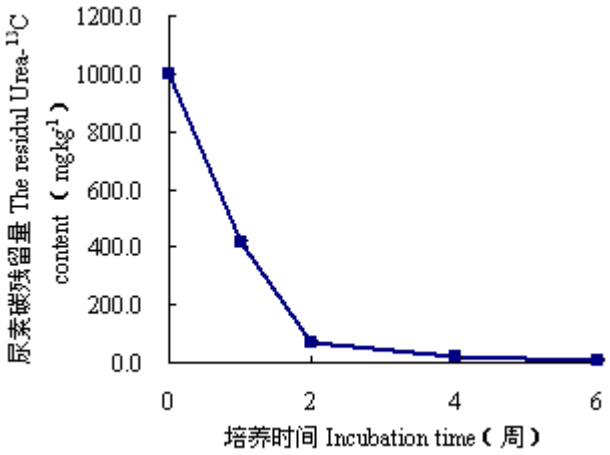


图 2 培养过程中尿素碳残留量变化

Fig. 2 Dynamics of urea-derived carbon in the soil samples under incubation

2.2 尿素碳向土壤氨基糖转化特征

土壤氨基糖作为微生物新陈代谢的副产物在土壤中积累，因而利用氨基糖中同位素富集比例的变化可以反映土壤微生物利用尿素碳合成氨基糖的速率与容量。向土壤中加入尿素后，GluN 的 APE 随培养时间的增加而增大，并在第 4 周达到最高值，而后变化不大；GalN 的 APE 显著低于 GluN，到培养第 6 周时 ^{13}C 的富集也仅有 0.55%。培养后第一周即可检测到 ^{13}C 在胞壁酸中的富集，但是数值显著低于 GluN。随着培养的进行，MurN 中 ^{13}C 富集程度无明显变化。对比不同底物培养（1 周）发现，尽管向土壤中加入的外源碳、氮数量相同，但是利用尿素培养后各土壤氨基糖的 APE 明显低于葡萄糖培养（表 1）。因而，尿素来源碳可以参与土壤微生物生物量的形成，并转化为土壤氨基糖积累下来[19]。但是，和高活性的葡萄糖相比，尿素碳的微生物可利用性较低，因而进入微生物代谢循环的程度较低。

尿素碳向土壤不同氨基糖的转化速率不同，表明土壤不同种类微生物对于尿素碳的转化利用存在明显差异。在土壤中，氨基葡萄糖主要来源于真菌；胞壁酸唯一来源于细菌，氨基半乳糖主要由细菌合成。施入尿素后，氨基葡萄糖中的 ^{13}C 富集程度明显高于氨基半乳糖和胞壁酸（表 1），表明黑土中真菌对尿素碳的利用能力显著强于细菌。Hamer 等[27]通过对土壤中磷脂脂肪酸组成变化的分析也发现，尿素施入土壤后，革兰氏阴性菌和真菌数量相对增加，革兰氏阳性菌数量则相对下降。

土壤中微生物残留物对尿素添加的动态响应不同主要归功于土壤中不同微生物群落对底物的不同利用策略。细菌对活性高、可利用性强的 C 底物（如葡萄糖）的竞争能力显著高于真菌[28-29]，因此，来源于葡萄糖的 C 在胞壁酸中的富集程度显著高于氨基葡萄糖。但是，真菌能够分泌更多的胞

外酶，对于低活性的有机碳（如尿素来源碳）具有较强的矿化利用能力[30-32]。另外，过多外源氮素添加可能导致渗透胁迫以及土壤 pH 下降，对于细菌生长产生相对较强的抑制作用[32]，但对真菌的生长并不会产生显著影响[33]。

表 1 不同底物添加条件下不同氨基糖 APE 变化

Table 1 Variation of APE of amino sugars in soil samples under incubation with $^{13}CO(NH_2)_2$ or U-^{13}C-Glucose+NH_4^+

取样时间 Sampling time (周)	氨基葡萄糖 GluN		氨基半乳糖 GalN		胞壁酸 MurN	
	Urea	Glu	Urea	Glu	Urea	Glu
1	0.35	3.19	–	1.17	0.35	11.20
2	2.49		–		0.10	
4	3.42		0.20		0.06	
6	2.76		0.55		–	

注：Urea: 土壤+$^{13}CO(NH_2)_2$; Glu: 土壤+U-^{13}C-Glucose+$(NH_4)_2SO_4$; "-"表示无法计算。 Note: Urea: Soil + $^{13}CO(NH_2)_2$; Glu: Soil + U-^{13}C-Glucose + $(NH_4)_2SO_4$; "-" represents negligible

2.3 尿素施入对于黑土氨基糖库动态的影响

和原土相比，尿素加入后增加了土壤中胞壁酸的含量，但在第 2 周时即达到最大值 84.96 mgkg^{-1}，增幅达 70%。而后随着培养的进行其数量持续下降，至培养结束时，胞壁酸含量为 60.91 mgkg^{-1}，比原土含量高 22%，比最高值低 28%。（表 2）。土壤氨基葡萄糖含量也呈现先增加后下降的趋势，但其含量在第 1 周达到最高值，较原土增加 18%；在培养末期下降至 706.2 mgkg^{-1}，仅为原土含量的 92%，较最高值低 22%。与胞壁酸和氨基葡萄糖不同，尿素加入后，氨基半乳糖含量持续下降。 至培养结束时，氨基半乳糖含量为 430.6 mgkg^{-1}，降幅达 22%（表 2）。由此可见，尿素施入对土壤氨基糖库的动态有着强烈的影响，但由于自身稳定性和微生物来源不同，各氨基糖的动态特征不尽相同。细菌的 C/N 一般为 3~5:1，充足的氮素供给有利于细菌对养分的同化，从而以胞壁酸为代表的细菌细胞壁残留物在培养前期的积累显著高于真菌来源的氨基葡萄糖。但是，胞壁酸中低的 ^{13}C 富集比例表明，尿素碳的可利用性很低，在细菌对氮素利用过程中，其碳源和能源供给主要依赖于对土壤原有活性有机质的利用。

一般认为，细菌来源的胞壁酸自身循环较快，稳定性较低，因而不易在土壤中积累[8,10]，但是其调节并平衡碳氮元素供给与需求的能力较强。利用尿素为底物进行培养时，碳源供给不足是微生物生长的限制因子。培养后期 MurN 含量显著下降表明胞壁酸具有补偿土壤中碳素供给的能力，可作为碳源维持土壤微生物的机体代谢[34]。Solomon 等研究也发现在碳源和能源含量下降的情况下，细

菌残留物更容易被矿化分解[35]。土壤中 GluN 主要以抗分解的真菌细胞壁几丁质形态存在，并且由于黑色素的保护使其稳定性高于胞壁酸聚合物[9-10]。但是，在尿素添加条件下，GluN 含量也有所下降，表明 GluN 可部分发生分解以补充碳源供给。在本研究中，GalN 的动态表明该化合物在平衡碳源供给过程中也具有重要作用，但是，由于其动态变化特征与 MurN 和 GluN 均不尽相同，GalN 的功能与其微生物来源的关系仍具有一定的不确定性。

表2 尿素培养期间氨基糖含量及相对比例变化

Table 2 Variation of amino sugar contents and relative percentages in soil samples under incubation for 6 weeks

	培养期间氨基糖含量 Amino sugar contents				
	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周
氨基葡萄糖 GluN (mgkg^{-1})	769.16±37.48a	910.94±14.04b	828.09±66.09a	784.02±52.76a	706.16±43.57a
氨基半乳糖 GalN (mgkg^{-1})	552.96±14.71a	540.67±22.16ab	484.95±73.90abc	470.95±28.89bc	430.64±22.00c
胞壁酸 MurN (mgkg^{-1})	50.58±1.14a	74.46±12.94bc	84.96±13.78c	76.37±1.41bc	60.91±10.36ab
总量 Total (mg kg^{-1})	1372.70±45.88ab	1526.07±26.40a	1397.99±140.86ab	1331.34±89.52bc	1197.71±50.51c
氨基糖与有机碳相对比例 AS/SOC (mg g^{-1})	88.41±2.84b	99.23±1.67a	90.08±8.77b	86.33±6.37b	76.02±1.84c

注：表中数据均为平均数±标准差；同一行中不同字母代表的是在p<0.05的水平上同组数据间存在显著性差异，n=3; Note: The data are mean values ± standard errors. Different letters meant significant difference at 5% level between different treatments of the same soil type (p<0.05), n=3

总体来说，土壤氨基糖总量在培养过程中先上升而后不断下降。同时，氨基糖占土壤有机碳的比例也呈同样趋势。培养前期氨基糖相对土壤有机碳的积累以及培养后期的相对耗竭表明氨基糖不仅能够在土壤微生物同化利用营养物质的同时被快速合成[25,36]并在土壤中积累[9]，而且在土壤腐殖化过程仍具有相对较高的可利用性，可被降解矿化进一步参与土壤碳氮循环[5]，以满足微生物碳氮需求或者形成更加稳定的有机质[37]。作为含氮化合物，过去研究常认为氨基糖的分解主要在氮素缺乏条件下发生[38]。然而，利用尿素培养后发现，氨基糖也可作为碳源部分满足微生物代谢需求。因而，土壤氨基糖的动态与土壤碳氮的可利用性与耦合作用密切相关，在平衡土壤碳氮需求方面具有一定的调节作用。

3 结 论

尿素碳可以被土壤微生物同化利用，但是可利用性远低于葡萄糖。不同种类微生物对于尿素碳的同化利用能力不同，真菌强于细菌。在以尿素为底物培养过程中，微生物处于碳源受限状态，氮素的积累导致了土壤原有有机碳的矿化，使土壤有机碳含量有所下降。作为微生物细胞壁残留物，土壤氨基糖具有一定的可利用性，在碳源受限条件下能被微生物优先分解利用。胞壁酸含量虽低，但其含量变化对碳氮供给最为敏感，调节并平衡碳氮元素的供给与需求的能力较强；氨基葡萄糖稳定性高于胞壁酸，但在碳源缺乏条件下也可发生分解。因而，土壤氨基糖的动态与土壤碳氮的可利用性与耦合作用密切相关，在平衡土壤碳氮需求方面具有一定的调节作用。

参考文献

[1] Mondini C, Cayuela M L, Sanchez-Monedero M A, et al. Soil microbial biomass activation by trace amounts of readily available substrate. Biology and Fertility of Soils, 2006, 42: 542-549

[2] Hoyle F C, Murphy D V, Brookes P C. Microbial response to the addition of glucose in low-fertility soils. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44: 571-579

[3] Brant J B, Sulzman E W, Myrold D D. Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long-term carbon input manipulation. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 2219-2232

[4] Engelking B, Flessa H, Joergensena R G. Shifts in amino sugar and ergosterol contents after addition of sucrose and cellulose to soil. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39: 2111-2118

[5] Roberts P, Bol R, Jones D L. Free amino sugar reactions in soil in relation to soil carbon and nitrogen cycling. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39: 3081-3092

[6] Stevenson F J. Organic forms of soil nitrogen//Stevenson F J//Nitrogen in agricultural soils. Madison: American Society of Agronomy, 1982: 101-104

[7] Guggenberger G, Dfrey S, Six J, et al. Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. Soil Science Society of America Journal, 1999, 63: 1188-1198

[8] Amelung W. Nitrogen biomarkers and their fate in soil. Journal of Plant Nutrition and Science, 2003, 166: 677-686

[9] Paul E A, Clark F E. Methods for studying soil microorganisms//Paul E A, Clark F E. Soil Microbiology and Biochemistry. San Diego, USA: Academic Press, 1996: 48-50

[10] Parsons J W. Chemistry and distribution of amino sugars in soils and soil organisms// Paul E A, Ladd J N. Soil Biochemistry. New York: Marcel Dekker, 1981

[11] Amelung W. Methods using amino sugars as markers for microbial residues in soils// Lal R, Kimble J M, Follett R F, et al. Assessment Methods for Soil Carbon. Boca Raton: Lewis Publishers, 2001

[12] Zhang X, Amelung W, Yuan Y, et al. Land-use effects on amino sugars in particle size fractions of an Argiudoll. Applied Soil Ecology, 1999, 11: 271-275

[13] 陈涛, 郝晓晖, 杜丽君, 等. 长期施肥对水稻土土壤有机碳矿化的影响. 应用生态学报, 2008, 19(7): 1494-1500. Chen T, He X H, Du L J, et al. Effects of long-term fertilization on paddy soil organic carbon mineralization (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(7): 1494-1500

[14] 李新爱, 童成立, 蒋平, 等. 长期不同施肥对稻田土壤有机质和全氮的影响. 土壤, 2006, 38(3): 298-303. Li X A, Tong C L, Jiang P, et al. Effects of long-term fertilization on soil organic matter and total nitrogen in paddy soil (In Chinese). Soils, 2006, 38(3): 298-303

[15] 周萍, 张旭辉, 潘根兴. 长期不同施肥对太湖地区黄泥土总有机碳及颗粒态有机碳含量及深度分布的影响. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(6): 765-771. Zhou P, Zhang X H, Pan G X. Effect of long-term fertilization on content of total and particulate organic carbon and their depth distribution of a paddy soil: An example of huangnitu from the Tai Lake region, China (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2006, 12(6): 765-771

[16] 曹兵, 贺发云, 徐秋明, 等. 南京郊区番茄地中氮肥的效应与去向. 应用生态学报, 2006, 17(10): 1839-1844. Cao B, He F Y, Xu Q M, et al. Use efficiency and fate of fertilizer N in tomato field of Nanjing suburb (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(10): 1839-1844

[17] 阮云泽, 唐树梅, 何秋香, 等. 海南花岗岩砖红壤 ^{15}N 示踪尿素氮的去向. 热带作物学报, 2005, 26(3): 103-108. Ruan Y Z, Tang S M, He Q X, et al. Study on the behaviors of urea-N in latosol from granite in Hainan with isotope ^{15}N (In Chinese). Chinese Journal of Tropical Crops, 2005, 26(3): 103-108

[18] Marsh K L, Sims G K, Mulvaney R L. Availability of urea to autotriphic ammonia-oxidizing bacteria as related to the fate of ^{14}C- and ^{15}N-labeled urea added to soil. Biology and Fertility of Soils, 2005, 42: 137-145

[19] 向光明. 东北黑土氮素固持的微生物调控研究. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007. Xiang G M. Microbial regulation on the nitrogen retention in mollisol (In Chinese). Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2007

[20] Smith J L, Bell J M, Bolton J H, et al. The initial rate of C substrate utilization and longer-term soil C storage. Biology and Fertility of Soils, 2007, 44: 315-320

[21] Søren O P, Roslev P, Roland B. Dynamics of a pasture soil microbial community after deposition of cattle urine amended with [^{13}C] urea. Applied And Environmental Microbiology, 2004, 70(11): 6363-6369

[22] 中国科学院南京土壤研究所土壤系统分类课题组,中国土壤系统分类课题研究协作组. 中国土壤系统分类检索(第3版) . 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2001. Chinese Soil Taxonomy Research Group, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Cooperative Research Group on Chinese Soil Taxonomy. Keys to Chinese Soil Taxonomy (In Chinese) .3rd ed. Hefei: University of Science and Technology of China Press, 2001

[23] 闫颖. 长期施肥对两种土壤碳水化合物粒级库特性的影响. 沈阳: 中国科学院沈阳应用生态研究所, 2007. Yan Y. Effect of long-term fertilization on soil carbohydrates in two kinds of soil and particle-size fractions (In Chinese)**.** Shenyang**:** Institute of Applied Ecology**,** Chinese Academy of Sciences**,** 2007

[24] Zhang X, Amelung W. Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, galactosamine, and mannosamine in soils. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28: 1201-1206

[25] He H B, Xie H T, Zhang XD. A novel GC/MS technique to assess N-15 and C-13 incorporation into soil amino sugars. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 1083-1091

[26] He H B, Li X B, Zhang W, et al. Differentiating the dynamics of native and newly immobilized amino sugars in soil frequently amended with inorganic nitrogen and glucose. European Journal of Soil Science, 2011, 62: 144-151

[27] Hamer U, Potthast K, Makeschin F. Urea fertilisation affected soil organic matter dynamics and microbial community structure in pasture soils of Southern Ecuador. Applied Soil Ecology, 2009, 43: 226-233

[28] Rinnan R, Bååth E. Differential utilization of carbon substrates by bacteria and fungi in tundra soil. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75: 3611-3620

[29] Ziegler S E, White P M, Wolf D C, et al. Tracking the fate and recycling of C-13-labeled glucose in soil. Soil Science, 2005, 170: 767-778

[30] Schimel J P, Bennett J. Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. Ecology, 2004, 85: 591-602

[31] Rousk J, Baath E. Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios. FEMS Microbiol Ecology, 2007, 62: 258-267

[32] Yevdokimov I, Gattinger A, Buegger F, et al. Changes in microbial community structure in soil as a result of different amounts of nitrogen fertilization. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44: 1103-1106

[33] Rousk J, Baath E, Brookes PC, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. ISME

Journal, 2010, 4 (10): 1340-1351

[34] 何红波，李晓波，张威，等. 葡萄糖和不同数量氮素供给对黑土氨基糖动态的影响. 土壤学报，2010，47(4): 760-766. He H B, Li X B, Zhang W, et al. Effect of glucose and nitrogen supply on dynamics of amino sugars in mollisol (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(4): 760-766

[35] Solomon D, Lehmann J, Zech W. Land use effects on amino sugar signature of chromic Luvisol in the semi-arid part of northern Tanzania. Biology and Fertility of Soils, 2001, 33: 33-40

[36] Decock C, Denef K, Bode S, et al. Critical assessment of the applicability of gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry to determine amino sugar dynamics in soil. Rapid Communication in Mass Spectrometry, 2009, 23: 1201-1211

[37] Paul C L, Clark S J. Cytosine methylation: Quantitation by automated genomic sequencing and GENESCAN(TM) analysis. Biotechniques, 1996, 21: 126-133

[38] Amelung W, Kimble J M, et al. Restoration of microbial residues in soils of the Conservation Reserve Program. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65(6): 1704-1709

TRANSFORMATION OF UREA TO AMINO SUGAR AND ITS EFFECT ON DYNAMICS OF SOIL AMINO SUGAR POOL

Li Xiaobo[1, 2] Zhang Wei[1] Tian Qiuxiang[1] Lv Huijie[1] Ding Xueli[1] He Hongbo[1†] Zhang Xudong[1, 3†]

(1 State Key Laboratory of Forest and Soil Ecology, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110164, China)

(2 State Key laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 National Field Observation and Research Station of Shenyang Agro-Ecosystems, Shenyang 110016, China)

Abstract Mollisol samples were incubated indoors with $^{13}CO(NH_2)_2$ as substrate to investigate transformation of urea-carbon into soil amino sugar and its effect on dynamics of amino sugar pool. Contents of the three types of amino sugars (glucosamine, galactosamine and muramic acid) and their enrichments of ^{13}C were measured with gas chromatography/mass spectrometry. On such a basis, specific utilization of urea-carbon by different microbial communities was evaluated. Results show that urea-carbon might be assimilated by soil microorganisms, but was significantly lower in availability than glucose-carbon. A higher amount of ^{13}C was found in glucosamine than in muramic acid, suggesting that fungi are more capable of assimilating urea-carbon than bacteria. Application of urea decreased soil organic carbon content to some extent and at the same time significantly lowered the total amino sugar and its relative proportion in soil organic carbon, indicating that in severe shortage of carbon sources, amino sugars would be the priority carbon source to be decomposed to make up the carbon supply. Although muramic acid was very low in concentration, it was highly capable of regulating and balancing carbon budget. Glucosamine was more stable than muramic acid, but decomposition of some of it was found in shortage of other carbon sources. As a whole, the dynamics of amino sugars is closely associated

with the availability of soil carbon sources and their coupling effect, thus playing an important role in regulating supply and requirement of carbon and nitrogen in soil.

Key words Urea-carbon ; Amino sugars ; Transformation; Microorganism utilization; Mollisol