

# 无机氮和葡萄糖添加对土壤微生物生物量和活性的影响\*

于跃跃<sup>1,2</sup> 赵炳梓<sup>1†</sup>

(1 封丘农田生态系统国家试验站,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)

(2 中国科学院研究生院,北京 100049)

**摘要** 以黄淮海平原潮土为研究对象,通过室内恒温恒湿培养方法,比较研究了土壤中纤维素是否存在时,外源无机氮和葡萄糖添加对土壤微生物生物量及其活性的影响变化。实验设 8 个处理,包括不加任何物质的对照(CK)、添加无机氮(N)、葡萄糖(G)、纤维素(C)处理及葡萄糖和无机氮同时添加(G+N)处理,以及在纤维素存在基础上添加无机氮(C+N)、葡萄糖(C+G)、葡萄糖和无机氮同时添加(C+G+N)处理。在 33 天培养时间内,分别在不同的时间间隔内测定了土壤 CO<sub>2</sub> 累积释放量、微生物生物量碳(Cmic)、及脱氢酶(DHD)、β-葡萄糖苷酶(GLU)、过氧化氢酶(CAT)、碱性磷酸酶(APH)活性。结果表明,所有测定的微生物性质在 CK 与 C 处理间均没有显著性差异。与 CK 和 C 处理相比,其他所有处理的土壤 CO<sub>2</sub> 累积释放量均显著增加,其中 C+G+N 处理达最大值;G、G+N、C+G、C+G+N 处理的土壤 Cmic 含量及 DHD 和 APH 活性显著提升,尤其在培养的前 14 天,而 N 和 C+N 处理则与 CK 处理相似,表示添加葡萄糖可显著增加上述处理生物活性水平,而添加无机氮则不能。添加无机氮和葡萄糖对 GLU 和 CAT 的影响不明显,大部分情况下它们在处理间没有表现出显著性差异。相关性分析表明,CO<sub>2</sub> 释放速率始终与 APH 活性成显著正相关,但与 Cmic 和其他酶活性之间的相关关系则随着培养时间的不同而发生变化,这可能与不同培养时间的微生物组成或微生物利用底物的模式发生改变有关。聚类分析结果进一步表明,8 个处理的土壤微生物活性水平可明显分成 3 组,其中活性水平最高的组只包含 C+G+N 处理,该结果提示在难分解纤维素存在时,无机氮和易利用有机碳的同时添加对提升土壤微生物活性的重要性。

**关键词** 纤维素;无机氮;葡萄糖;微生物生物量碳;酶活性;CO<sub>2</sub> 累积释放量

**中图分类号** S154.3 **文献标识码** A

已有研究表明,秸秆还田可改善土壤物理性质、增加土壤养分含量<sup>[1]</sup>,而秸秆在土壤中的腐解主要是在土壤微生物作用下进行的<sup>[2]</sup>。农作物秸秆是由大量的有机物和少量的无机物及水所组成的,其有机物的主要成分是纤维素类的碳水化合物,纤维素含量通常占植物体的 14.6% ~ 48.5%<sup>[3]</sup>,因而纤维素分解速度直接影响到秸秆进入土壤后的周转速度、微生物有效碳源的供应,同时可以指示植株残体的分解程度<sup>[4]</sup>。

近年来有许多学者的研究表明,无机氮素作为微生物氮源的来源之一,其存在可以促进秸秆分解和土壤原有有机质的矿化<sup>[5]</sup>,当土壤中加少量易利用物质(比如葡萄糖<sup>[6]</sup>)时,CO<sub>2</sub> 释放速率有可

能发生变化,这可能与土壤有机质(包括土壤微生物)周转速率发生变化导致的土壤激发效应有关。但主要是以研究单一底物为主<sup>[7-8]</sup>,对无机氮和葡萄糖相互作用的影响及其中各种酶活性变化状况的研究不多。Sinsa 等认为有机质的分解受到土壤酶的主导,土壤酶活性可以代表土壤中物质代谢的旺盛程度,反映微生物对养分的吸收利用状况等,是土壤肥力的一个重要指标<sup>[4]</sup>。

黄淮海平原是我国主要粮食产地,主产区土壤往往质地较轻、肥力低下,近几年来当地政府一直强调用秸秆还田方法提升土壤肥力,但秸秆还田后短期表现出的问题之一是作物减产,这可能与微生物降解秸秆速度过慢、释放养分不能及时满足作物

\* 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2011CB100506)和中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX2-EW-N-08)资助

† 通讯作者, E-mail: bzhao@issas.ac.cn

作者简介:于跃跃(1986—),男,内蒙古赤峰人,硕士研究生,主要研究方向为土壤生态环境。E-mail: yuyueyue1@126.com

收稿日期:2011-01-11;收到修改稿日期:2011-04-25

生长所需有关。因此,本研究以黄淮海平原的典型土壤(潮土)为研究对象,用纤维素代表秸秆主要物质,利用室内恒温恒湿培养方法,旨在探明土壤中纤维素存在时,外源无机氮和葡萄糖添加对土壤微生物生物量及其活性的影响。研究结果可望为秸秆还田条件下如何促进秸秆分解提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验土壤

供试土壤于2009年7月15日采集自河南省封丘县潘店乡的中国科学院封丘农业生态实验站内(114.35E/34.43N)的表层0~20 cm,土壤为潮土(新成土,中国土壤系统分类检索(2001))。该地长期耕作模式与当地一致,均为玉米-小麦轮作。采集样品运回实验室,避光风干,然后过2 mm筛,备用。培养实验前土壤基本理化性质为:有机质12.45 g kg<sup>-1</sup>,全氮0.93 g kg<sup>-1</sup>,碱解氮81.24 mg kg<sup>-1</sup>,速效磷22.21 mg kg<sup>-1</sup>,速效钾153.6 mg kg<sup>-1</sup>,微生物生物量碳113.5 mg kg<sup>-1</sup>,微生物生物量氮13.40 mg kg<sup>-1</sup>,可提取有机碳198.6 mg kg<sup>-1</sup>,可提取有机氮12.5 mg kg<sup>-1</sup>,pH(H<sub>2</sub>O)7.78。土壤质地为砂壤。

### 1.2 培养实验

实验开始之前将风干土含水量调节至田间持水量(FC)的40%,采用环刀法测定土壤田间持水量<sup>[9]</sup>,25℃避光预培养1周。

#### 1.2.1 无机氮和葡萄糖加入对CO<sub>2</sub>释放影响

称取预培养土36.58 g(相当于烘干土30 g)加入1 L广口瓶中,设以下8个处理:(1)对照(CK):不加任何材料,用蒸馏水调节土壤含水量至田间持水量的60%(60% FC);(2)加无机氮(N):用适量蒸馏水将硫酸铵完全溶解,施氮量相当于N 200 mg kg<sup>-1</sup>,补充水分至60% FC;(3)加葡萄糖(G):用适量蒸馏水将葡萄糖完全溶解,添加的葡萄糖碳量相当于C 500 mg kg<sup>-1</sup>,补充水分至60% FC;(4)加无机氮和葡萄糖(N+G):将处理2和处理3的无机氮和葡萄糖一起加入,然后补充水分至60% FC;(5)加纤维素(C):先在广口瓶中加入纤维素粉末(Sinopharm, (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>)0.135 0 g(相当于C 2 000 mg kg<sup>-1</sup>土),然后加土、混匀,用蒸馏水调节土壤含水量至60% FC;(6)加纤维素和无机氮(C+N):在添加纤维素(添加量与处理5相同)的基础上重复处理2;

(7)加纤维素和葡萄糖(C+G):在添加纤维素(添加量与处理5相同)的基础上重复处理3;(8)纤维素、无机氮、葡萄糖共同加入(C+N+G):在添加纤维素(添加量与处理5相同)的基础上重复处理4。然后在广口瓶中放入盛有5 ml 0.2 mol L<sup>-1</sup> NaOH溶液的小烧杯,瓶口密封25℃恒温培养,同时做空白实验。每个处理4个重复。分别于第2、4、7、10、14、18、23、28、33天时更换小烧杯,同时通入新鲜空气,以满足土壤好氧微生物的呼吸需要。检查土壤水分状况,根据两次测定之间的土壤水分变化进行适当调节。用0.05 mol L<sup>-1</sup>标准盐酸滴定,测定NaOH吸收的CO<sub>2</sub>量<sup>[10]</sup>。

**1.2.2 无机氮和葡萄糖加入对土壤微生物生物量和活性的影响** 称取预培养土243 g(相当于烘干土200 g)加入1 L广口瓶中,共设8个处理,每个处理的方式和过程与1.2.1部分描述的完全相同。上述所有处理在通气条件下25℃恒温培养33 d,定期补充水分以维持含水量恒定;在培养的第2、7、14、33天,每个处理分别取样3个重复,用来测定微生物生物量碳(Cmic)和4种不同酶活性(包括脱氢酶(dehydrogenase, DHD)、β-葡萄糖苷酶(β-glucosidase, GLU)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, APH))。每个时间段采样后样品放弃,因此共培养的样品数为96个(8处理×4采样时间×3重复)。

### 1.3 测定方法

**1.3.1 微生物生物量碳 Cmic 含量** 采用氯仿熏蒸浸提法<sup>[9]</sup>测定,浸提液中全碳采用重铬酸钾容量法。土壤微生物生物量碳含量以熏蒸和不熏蒸土壤浸提液中全碳的差值除以系数计算得到,转化系数为0.38。

**1.3.2 酶活性** DHD活性的测定采用三苯基四唑氯化物为底物<sup>[11]</sup>,以每24 h内单位干土(kg)产生的甲贲(TPF)量(mg)为酶活性单位。GLU活性测定采用对硝基苯酚-β-D-葡萄糖苷为底物<sup>[12]</sup>,以单位时间(h)单位干土(kg)产生的对硝基酚(pNP)量(mg)为酶活性单位。CAT活性测定采用高锰酸钾滴定法<sup>[13]</sup>,以单位时间(h)单位干土(kg)产生O<sub>2</sub>量(mg)为酶活性单位。APH活性的测定采用对硝基苯酚磷酸钠(PNPP)作为水解底物<sup>[14]</sup>,以单位时间(h)单位干土(kg)产生的pNP量(mg)为酶活性单位。

### 1.4 数据分析

采用一元方差分析进行不同处理间的差异显

著性分析;各培养阶段  $\text{CO}_2$  释放速率为  $\text{CO}_2$  释放总量与培养时间的比值; $\text{CO}_2$  释放速率和  $\text{C}_{\text{mic}}$  及不同酶活性之间相关关系利用 Pearson 相关性分析;对培养第 14 天的所有微生物性质(包括  $\text{CO}_2$  释放速率、 $\text{C}_{\text{mic}}$  和 4 种酶活性)结果标准化处理(Z 分数标准化法)后,采用类间平均法进行聚类,以欧式平方距离定义数据间距离,组间连线法划分类别。所有统计分析均采用 SPSS 15.0 进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 无机氮和葡萄糖加入对 $\text{CO}_2$ 累积释放量影响

图 1 表示在不同培养时间内,C 处理的  $\text{CO}_2$  累积释放量几乎与 CK 处理相同,说明添加纤维素对土壤微生物总体活性的影响很小。与 CK 处理相

比,N 处理的  $\text{CO}_2$  累积释放量显著升高,N 处理增加的  $\text{CO}_2$  累积释放量主要发生在前 14 天(图 1A),表明氮素有增加土壤土著微生物总体活性的趋势,但其增加趋势随着培养时间的进一步延长而逐渐消失,这可能由于土壤缺少氮素,氮素的加入暂时增加了微生物活性,随后由于有效碳源的限制,微生物活性迅速降低<sup>[2]</sup>;N 处理与 CK 处理间的累积释放量差值为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $67 \text{ mg kg}^{-1}$ ,而 C + N 处理与 C 处理的差值则为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $95 \text{ mg kg}^{-1}$ ,表示在纤维素存在的基础上添加无机氮时,纤维素与土壤本身有机质可能存在一定的互为激发作用,Cardenas 等发现无机氮的加入增加了土壤原有机质在短时间内的矿化<sup>[5]</sup>。因为本实验所用纤维素未标记同位素碳,因而无法区别加纤维素后多释放的  $\text{CO}_2$  来源。

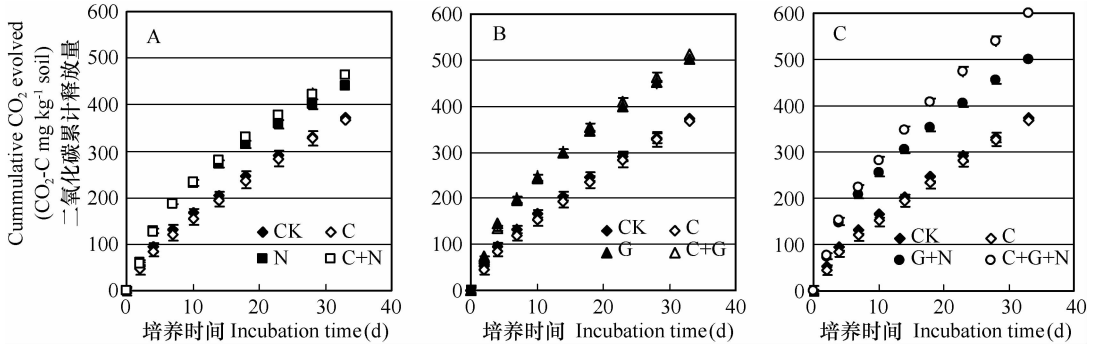


图 1 无机氮和葡萄糖添加对土壤  $\text{CO}_2$  累积释放量的影响(竖线表示标准差)

Fig. 1 Effect of addition of inorganic N and glucose on cumulative  $\text{CO}_2$  release during the incubation time (Bars represent standard deviations)

G 处理的  $\text{CO}_2$  累积释放量在培养时间内较 CK 处理持续显著升高,并且较 N 处理的提升趋势更为明显(图 1A,图 1B),表明添加葡萄糖增加的土壤微生物活性较添加无机氮持续更长时间,这可能与葡萄糖本身为易利用碳源有关<sup>[15]</sup>。C + G 处理的  $\text{CO}_2$  累积释放量变化模式与 G 处理几乎相同(图 1B),表明纤维素存在没有改变葡萄糖加入导致的  $\text{CO}_2$  释放模式;但 G 处理与 CK 处理间的累积释放量差值为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $129 \text{ mg kg}^{-1}$ ,C + G 处理与 C 处理间的差值为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $145 \text{ mg kg}^{-1}$ (图 1B),暗示着在 C + G 处理中,外源纤维素、添加葡萄糖、及土壤本身有机质间可能存在一定程度的互为激发作用。

G + N 处理对  $\text{CO}_2$  累积释放量的影响与 G 处理相似(图 1B,图 1C),但 C + G + N 处理  $\text{CO}_2$  释放速率和累积释放量达到所有处理的最大值,培养结束时的累积释放量为  $599 \text{ mg kg}^{-1}$ (图 1C),表明纤维素存在改变了葡萄糖(或无机氮和葡萄糖同时)添

加导致的  $\text{CO}_2$  释放模式。G + N 处理与 CK 处理间的累积释放量差值为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $127 \text{ mg kg}^{-1}$ ,而 C + G + N 处理与 C 处理间的差值为  $\text{CO}_2 - \text{C}$   $231 \text{ mg kg}^{-1}$ ,暗示着在 C + G + N 处理中,外源纤维素、添加葡萄糖、及土壤本身有机质间可能存在比较强烈的互为激发作用。由于培养结束时 G + N 处理累积  $\text{CO}_2 - \text{C}$  释放量为  $500 \text{ mg kg}^{-1}$ ,这与添加的葡萄糖碳含量相当,是否表示 C + G + N 处理促进纤维素(或土壤本身有机质)的分解尚有待进一步采用标记碳同位素的实验方法进行证实。结果同时表明,当土壤中存在比较难分解的纤维素时,单独添加无机氮或易利用碳源,对微生物总体活性增加的影响不如将它们同时加入那样显著。

### 2.2 无机氮和葡萄糖加入对微生物生物量碳( $\text{C}_{\text{mic}}$ )的影响

本实验条件下 8 个处理的  $\text{C}_{\text{mic}}$  含量可明显分

成 2 组,第一组包含的 4 个处理为:CK、N、C、C + N;而第二组包含的 4 个处理为 G、G + N、C + G、C + G + N,总体上第一组的含量显著低于第二组含量(图 2),表明葡萄糖添加可增加 Cmic 含量。大多数

情况下,CK 与 N 处理、G 与 G + N 处理、C 与 C + N 处理、C + G 与 C + G + N 处理之间的 Cmic 之间均没有显著性差异,表明无机氮添加对 Cmic 含量影响很小。

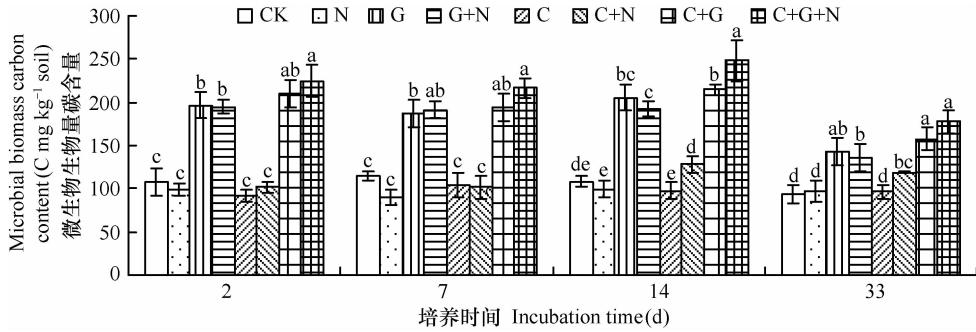


图 2 无机氮和葡萄糖添加对土壤微生物生物量碳含量的影响

(竖线表示标准差。同一培养时间不同字母代表处理间达 0.05 显著性差异, LSD 分析)

Fig. 2 Effect of addition of inorganic N and glucose on microbial biomass C during the incubation time (Bars represent standard deviations.

For each sampling time, same letters mean insignificant difference between treatments based on LSD test ( $p = 0.05$ ))

随着培养时间延长,第一组处理的 Cmic 含量变化不大,而第二组处理在培养的前 14 天间变化很小,但在第 33 天则显著降低,也就是说添加葡萄糖导致的 Cmic 含量升高现象有可能随着培养时间延长而消失。吴金水<sup>[15]</sup>和 Schneckenberger<sup>[16]</sup>的报道也表示加葡萄糖可增加土壤中 Cmic 含量,并维持 20 d 左右,氮素没有提高 Cmic 含量,主要原因在于有效碳的含量是控制 Cmic 的主要因素,而大部分葡萄糖用于呼吸代谢,所以只产生了少量的葡萄糖所引起的微生物生物量变化。

### 2.3 无机氮和葡萄糖加入对土壤酶活性的影响

#### 2.3.1 脱氢酶(DHD) DHD 主要存在于活细胞

中,作为氧化还原反应中氢的中间传递体,可以表征微生物整体活性<sup>[10]</sup>,因而 DHD 在处理间和不同培养时间的变化趋势与 Cmic 的变化趋势类似(图 2,图 3),在培养第 2、7、14 天,第一组处理(CK、N、C、C + N)间大部分均没有显著性差异,第二组处理(G、G + N、C + G、C + G + N)间也类似,但他们的总体含量显著高于第一组处理的量;只有在第 33 天获取的结果中,所有处理间没有呈现显著性差异(图 3)。也就是,添加葡萄糖导致的 DHD 活性水平随着培养时间延长有降低趋势。

#### 2.3.2 $\beta$ -葡萄糖苷酶(GLU) GLU 作为底物分解关键步骤的主要限制酶,在有机质分解初期起到

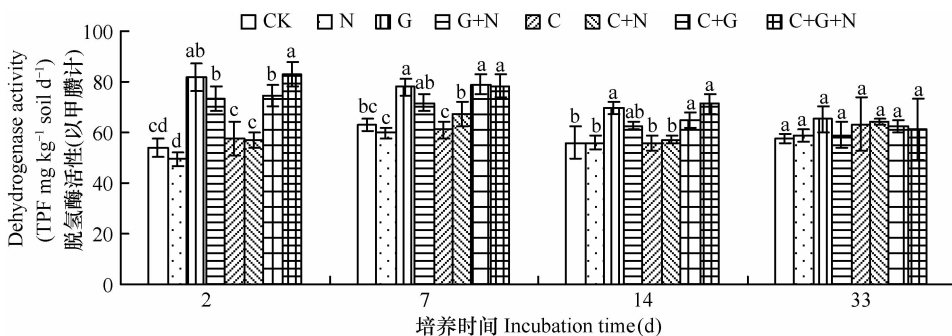


图 3 无机氮和葡萄糖添加对土壤中脱氢酶活性的影响

(竖线表示标准差。同一培养时间不同字母代表处理间达 0.05 显著性差异, LSD 分析)

Fig. 3 Effect of addition of inorganic N and glucose on dehydrogenase activity during the incubation time (Bars represent standard deviations. For each sampling time, same letters mean insignificant difference between treatments based on LSD test ( $p = 0.05$ ))

关键作用,是碳循环过程中重要指示指标<sup>[17]</sup>。图4清楚地表示所有处理的GLU值在培养的第2天最高,在随后的培养时间内迅速降低并维持相对稳定水平。在本实验的33天培养时间内,C+G+N处理始终位于所有处理的最高值,其次为C+G处理

(尽管该处理在培养的第7天和14天并没有持续显著高于其他处理),其他处理间的显著性差异则不是特别明显,表示较高的外源碳加入(比如纤维素和葡萄糖)有利于该酶活性的提高。

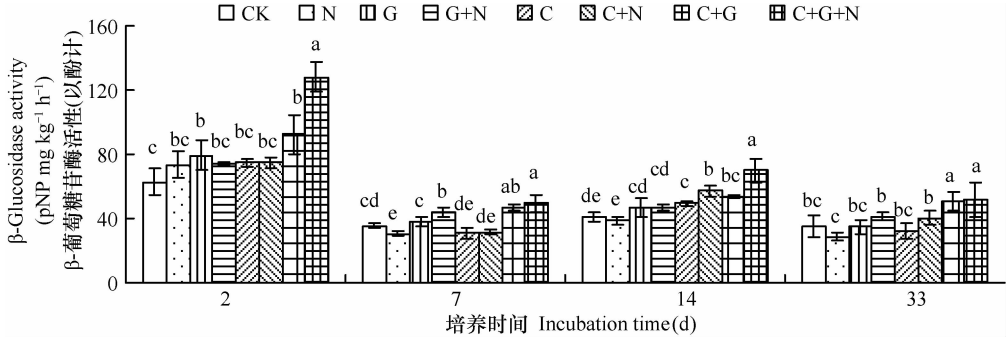


图4 无机氮和葡萄糖添加对土壤中 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性的影响

(竖线表示标准差。同一培养时间不同字母代表处理间达0.05显著性差异,LSD分析)

Fig. 4 Effect of addition of inorganic N and glucose on  $\beta$ -glucosidase activity during the incubation time (Bars represent standard deviations. For each sampling time, same letters mean insignificant difference between treatments based on LSD test ( $p = 0.05$ ))

**2.3.3 过氧化氢酶(CAT)** CAT通过表征氧的还原产物,可以表达微生物有氧呼吸的进程<sup>[18]</sup>。由于实验操作误差,本实验没有获取培养第7天的CAT结果。图5表示所有处理的CAT活性均随着

培养时间延长逐渐升高,但在同一培养时间,大部分情况下不同处理间的显著性差异不明显。表示在该研究土壤上无论是单独或同时添加无机氮和葡萄糖,均未显著影响CAT活性。

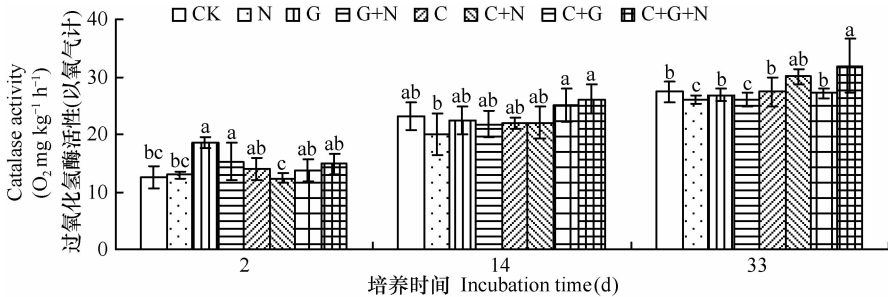


图5 无机氮和葡萄糖添加对土壤中过氧化氢酶活性的影响

(竖线表示标准差。同一培养时间不同字母代表处理间达0.05显著性差异,LSD分析)

Fig. 5 Effect of addition of inorganic N and glucose on catalase activity during the incubation time (Bars represent standard deviations. For each sampling time, same letters mean insignificant difference between treatments based on LSD test ( $p = 0.05$ ))

**2.3.4 碱性磷酸酶(APH)** APH参与土壤磷素的转化,并可以指示微生物活性变化<sup>[19]</sup>。图6表示各处理的APH水平随着培养时间延长持续降低。在培养的第2、7、14天,C+G+N处理的APH水平始终显著高于其他所有处理,并且G、C+G、G+N处理间差异不显著,而上述4个处理的APH水平又高于CK、C、N、C+N处理,说明添加葡萄糖可显著

提升APH活性水平;另一方面,G、C+G、G+N、C+G+N处理随培养时间下降的剧烈程度超过CK、C、N、C+N处理,并在本实验培养的结束时间(即第33天),所有处理间差异的显著性程度不像培养起始时那样明显,这可能由于随着培养时间延长,易利用碳源(即葡萄糖)的快速消耗有关。

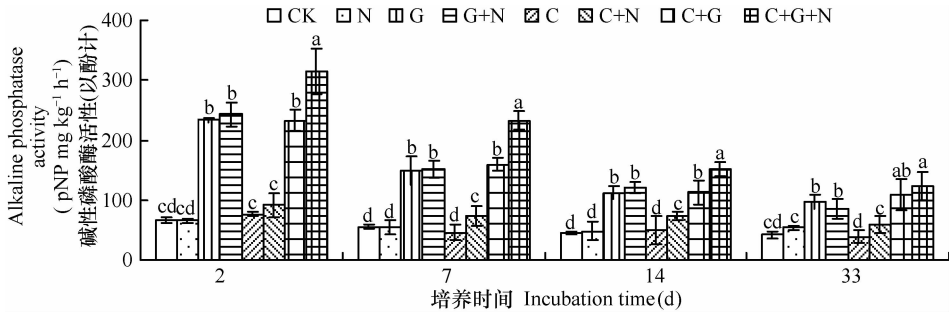


图6 无机氮和葡萄糖添加对土壤中碱性磷酸酶活性的影响

(竖线表示标准差。同一培养时间不同字母代表处理间达 0.05 显著性差异, LSD 分析)

Fig. 6 Effect of addition of inorganic N and glucose on alkaline phosphatase activity during the incubation time (Bars represent standard deviations. For each sampling time, same letters mean insignificant difference between treatments based on LSD test ( $p = 0.05$ ))

大多数情况下, CK 与 N 处理及 G 与 G + N 处理间的 APH 活性没有显著性差异, 但 C + N 和 C + G + N 处理均显著高于 C 处理(图 6), 表明在没有外源纤维素存在时, 单纯添加氮素没有显著改变 APH 活性, 但当存在外源纤维素时, 单纯添加氮素或氮素与葡萄糖同时添加则可显著提升 APH 活性。

#### 2.4 CO<sub>2</sub> 释放速率和土壤微生物生物量及不同酶活性之间的相关性

除了 APH 外, CO<sub>2</sub> 释放速率与 Cmic 和酶活性之间的相关关系均随着培养时间的不同而发生变化, 而与 APH 活性之间始终呈显著正相关关系(表 1), 这可能与不同培养时间的微生物组成或微生物

利用底物的模式发生改变有关。Cayuela 报道认为在环境因素稳定的条件下, 土壤 CO<sub>2</sub> 释放量的改变主要取决于土壤微生物活性和微生物酶活性的改变<sup>[20]</sup>。随着土壤中易利用底物的消耗, 微生物利用底物的策略可能由 R-策略为主向 K-策略为主转变(R-策略指快速吸收易利用物质并迅速生长, 以细菌为主; K-策略是指可以利用难利用物质, 且生长缓慢, 以真菌为主)<sup>[21]</sup>。CO<sub>2</sub> 释放速率与 APH 活性之间的持续显著正相关关系可能表达了磷素在微生物生长代谢过程中的重要角色<sup>[3]</sup>。磷素是微生物结构膜系统的主要构成元素, 其与微生物体内高能磷酸化合物的合成有关<sup>[22]</sup>。

表 1 不同培养时间 CO<sub>2</sub> 释放速率与土壤微生物生物量及酶活性之间的相关系数

Table 1 Correlation coefficients of CO<sub>2</sub> release rate with microbial biomass and enzyme activities at different sampling times

培养时间 Incubation time (d)	微生物生物量碳 Cmic	脱氢酶 DHD	β-葡萄糖苷酶 GLU	过氧化氢酶 CAT	碱性磷酸酶 APH
2	0.913 **	0.835 **	0.606	0.585	0.906 **
7	0.692	0.719 *	0.652	—	0.800 *
14	0.830 **	0.778 **	0.575	0.426	0.860 **
33	0.941 **	0.198	0.766 *	0.488	0.948 **

注: \* 和 \*\* 代表在  $p < 0.05$  和  $p < 0.01$  水平显著性相关 Note: \* and \*\* stand for significance at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively

#### 2.5 聚类分析

培养 14 天后测定的 6 种土壤微生物性质 (CO<sub>2</sub> 释放速率、Cmic、DHD、GLU、CAT、APH) 聚类全过程的系统树图结果表示, 将研究的 8 个处理分成 3 组时, 组间距离较大, 说明各组的特点比较突出, 不同组间土壤生物性质差异比较明显, 而组内则较为相似(图 7)。图 7 表示第一组包含 4 个处理 (CK、C、N、C + N), 该组的微生物活性指标处于较低水平; 第二组包含 3 个处理 (G、G + N、C + G), 微生物活性指标水平高于第一组而低于第三组, 而 C + G + N 处

理为第三组, 该组微生物活性水平在所有处理中处于最高水平。上述结果同时说明, 在本实验条件下, 在潮土上单独添加无机氮素 (无论是否存在纤维素) 对微生物活性的影响不大; 添加葡萄糖可显著提升土壤微生物活性, 其中在纤维素存在基础上以无机氮与葡萄糖共同添加的提升效果最为显著。上述结果同时表示, 在秸秆还田的基础上同时添加无机氮和一些易利用碳源有可能可以全面提升土壤的微生物活性, 从而可能加速秸秆分解, 因而进一步研究有待继续。

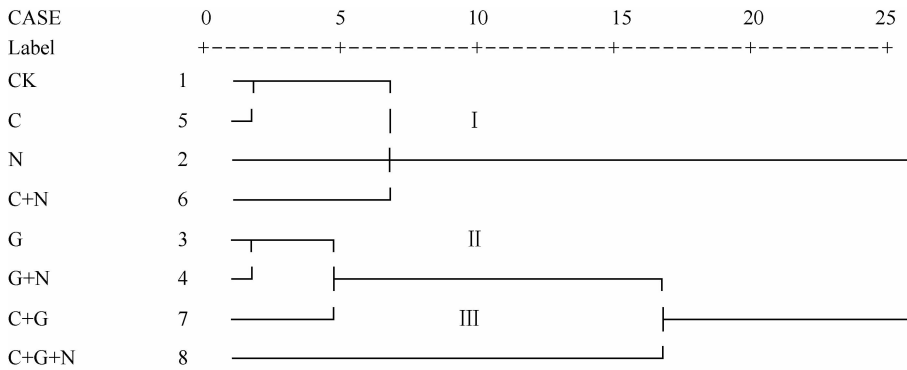


图7 土壤微生物性质(CO<sub>2</sub>释放速率、Cmic及4种酶活性)聚类分析系统树图

(X轴表示欧式平方距离)

Fig. 7 Dendrogram obtained by hierarchical cluster analysis based on data of six biological properties (CO<sub>2</sub> evolution rate, Cmic, and 4 enzyme activities). The X-axis represents the Square Euclidean distance

### 3 结论

通过实验室 33 天的恒温恒湿培养试验结果表明,在黄淮海平原的潮土上单独添加无机氮和葡萄糖均可增加土壤 CO<sub>2</sub> 累积释放量,而在纤维素存在的基础上将它们同时添加其释放量达所有处理最大值。比较处理间的微生物生物量碳(Cmic)含量及不同酶活性的差异发现,添加葡萄糖显著提升土壤 Cmic 含量及脱氢酶和碱性磷酸酶活性,尤其在培养的前 14 天,而添加无机氮则对其没有影响;但 β-葡萄糖苷酶和过氧化氢酶活性在不同处理间的差异不像其他性质那样明显。将测定的 6 种土壤微生物性质进行聚类分析后表示,在潮土上单独添加无机氮素(无论是否存在纤维素)对微生物活性的影响不大;添加葡萄糖可显著提升土壤微生物活性,其中在纤维素存在基础上以无机氮与葡萄糖共同添加的提升效果最为显著。

### 参考文献

[ 1 ] 窦森,张晋京, Lichtfouse E, 等. 用 δ<sup>13</sup>C 方法研究玉米秸秆分解期间土壤有机质数量动态变化. 土壤学报, 2003, 40(3): 328—334. Dou S, Zhang J J, Lichtfouse E, et al. Study on dynamic change of soil organic matter during corn stalk decomposition by δ<sup>13</sup>C method (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(3): 328—334

[ 2 ] Kuzyakov Y. Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2002, 165: 382—396

[ 3 ] Abbadié L, Nacro H, Gignoux J. Soil carbon and organic matter dynamics. Lamto, Springer New York, 2006, 179: 219—234

[ 4 ] Sinsa Baugh R L, Antibus R K, Linkins A E, et al. Wood decomposition over a first-order watershed: Mass loss as a function

of lingo-cellulase activity. Soil Biology and Biochemistry, 1992, 24: 743—749

[ 5 ] Conde E, Cardenas M, Ponce-Mendoza A, et al. The impacts of inorganic nitrogen application on mineralization of <sup>14</sup>C-labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 681—691

[ 6 ] Hoyle F C, Murphy D V, Brookes P C. Microbial response to the addition of glucose in low-fertility soils. Biol Fertil Soils, 2008, 44: 571—579

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

[ 8 ] Blagodatskaya E V, Blagodatsky S A, Anderson T-H, et al. Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. Applied Soil Ecology, 2007, 37: 95—105

[ 9 ] 中国科学院南京土壤研究所土壤物理室. 土壤物理性质测定法. 北京: 科学出版社, 1978. Department of Soil Physics, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Measurements of soil physical properties (In Chinese). Beijing: Science Press, 1978

[ 10 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 13—169. Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 13—169

[ 11 ] Chu H Y, Hosen Y, Yagi K, et al. Soil microbial biomass and activities in a Japanese Andisol as affected by controlled release and application depth off urea. Biol Fertil Soils, 2005, 42: 89—96

[ 12 ] Murwira H K, Kirchmann H, Swift M J. The effect of moisture on the decomposition rate of cattle manure. Plant and Soil, 1990, 122: 197—199

[ 13 ] Dick W A, Tabatabai M A. Potential uses of soil enzymes, soil microbial ecology: Application in agriculture and environment management. New York: Marcel Dekker, 1992: 95—127

[ 14 ] Tabatabai M A, Bremner J M. Use of p-nitrophenyl phosphate in assay of soil phosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry, 1969, 1: 301—307

- [15] 吴金水, 肖和艾. 土壤微生物生物量碳的表观周转时间测定方法. 土壤学报, 2004, 41(3): 401—407. Wu J S, Xiao H A. Measuring the gross turnover time of soil microbial biomass C under incubation (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 401—407
- [16] Schneckenberger K, Demin D, Stahr K, et al. Microbial utilization and mineralization of [<sup>14</sup>C] glucose added in six orders of concentration to soil. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 1 981—1 988
- [17] Mathew E D. Grasses, litter, and their interaction affect microbial biomass and soil enzyme activity. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39: 2 241—2 249
- [18] 万忠梅, 宋长春. 三江平原不同类型湿地土壤酶活性及其与营养环境的关系. 水土保持学报, 2008, 22(5): 158—161. Wan Z M, Song C C. Soil enzyme activity and its relationship with the soil nutrient environment of different types wetland in Sanjiang Plain (In Chinese). Journal of Soil and Water Conservation, 2008, 22(5): 158—161
- [19] Lagomarsino A, Moscatelli M C, Tizio A D, et al. Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. Ecological Indicators. ECOIND-402: 1—10
- [20] Cayuela M L, Sinicco T, Mondini C. Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. Applied Soil Ecology, 2009, 41: 118—127
- [21] Fontaine S B, Bardoux G, Benest D, et al. Mechanisms of the priming effect in a Savannah soil amended with cellulose. Soil Sci Soc Am J, 2004, 68: 125—131
- [22] 周德庆. 微生物学教程. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2002. Zhou D Q. Essential microbiology (In Chinese). 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2002

## EFFECT OF AMENDMENT OF INORGANIC NITROGEN AND GLUCOSE ON SOIL MICROBIAL BIOMASS AND ACTIVITY

Yu Yueyue<sup>1,2</sup> Zhao Bingzi<sup>1†</sup>

(1 State Experimental Station of Agro-Ecosystem in Fengqiu, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** Changes in soil microbial biomass carbon and enzyme activity in fluvo-aquic soil of the North China Plain were investigated after the soil, with or without cellulose, was amended with inorganic nitrogen and glucose in the experiment of incubation under constant temperature and humidity. The experiment was designed to have 8 treatments, i. e. control (CK), addition of inorganic nitrogen (N), addition of glucose (G), addition of cellulose (C), addition of glucose and inorganic nitrogen (C + N), addition of inorganic nitrogen in soil with cellulose (C + N), addition of glucose treatment in soil with cellulose (C + G), and addition of glucose and inorganic nitrogen in soil with cellulose (C + G + N). Cumulative soil carbon dioxide release, microbial biomass carbon and activities of dehydrogenase,  $\beta$ -glucosidase, catalase, and alkaline phosphatase were measured, separately at various intervals during the 33 days of incubation. Results show that in all microbial parameters no significant difference existed between CK and Treatment C. As against Treatments CK and C, all the treatments displayed a significant increase in cumulative carbon dioxide release, with Treatment C + G + N listed on the top-most. Treatments G, G + N, C + G, and C + G + N all showed an obvious increment in  $C_{mic}$  content and DHD, APH activity, particularly during the first two weeks of the incubation, while Treatments N and C + N displayed similarly like CK result. The findings implied that glucose could significantly increase microbial activity, but inorganic nitrogen could not. The effects of glucose and inorganic nitrogen on GLU and CAT were not obvious and in most cases no significant difference was found between different treatments. Correlation analysis demonstrates that carbon dioxide release rate was always positively related to APH activity, but not to  $C_{mic}$  and other enzymes activities and their relationships varied with the time of incubation, which was probably due to variation of the composition of soil microbial community or the way soil microbes utilize the substrates with the time of incubation. Cluster analysis further indicates that the 8 treatments could be sorted into three groups according to their soil microbial activity. Treatment C + G + N was the only one in the group of the highest activity, which suggests that it is important to amend the soil containing hard-to-decompose cellulose with inorganic nitrogen and readily available organic carbon at the same time for improving its soil microbial activity.

**Key words** Cellulose; Inorganic nitrogen; Glucose; Microbial biomass carbon; Enzyme activity; Cumulative CO<sub>2</sub> release