

# 肥际氮素浓度下添加不同碳源对水稻土微生物特性的影响\*

栗方亮<sup>1,2</sup> 李忠佩<sup>1,2†</sup> 刘明<sup>1</sup> 江春玉<sup>1</sup>

(1 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** 研究肥际氮素浓度下添加不同碳源后微生物的变化特征, 对于了解不同活性碳源对肥际养分浓度下氮素转化和调控作用以及提高氮素利用率等具有重要意义。采集我国亚热带地区典型的水稻土, 模拟肥际氮素浓度, 设置不同硫酸铵用量和葡萄糖、纤维素或木质素碳源添加处理, 进行室内培养试验, 研究了各处理土壤微生物生物量碳氮、矿化及微生物群落功能多样性的变化。结果表明, 在培养7天和35天, 高氮素用量下与不添加碳源处理相比, 添加葡萄糖、纤维素和木质素各处理土壤微生物生物量碳分别增加5.0%~126.8%、17.5%~210.9%和14.7%~210.0%, 微生物生物量氮分别增加-5.4%~109.3%、32.0%~173.1%和-14.2%~194.8% (负数表示减少)。而中等和常量氮素条件下添加这3种碳源, 土壤微生物生物量碳氮也呈增加趋势。肥际氮素各浓度下添加葡萄糖处理CO<sub>2</sub>释放量最多, 其次是添加纤维素, 最后是添加木质素。BIOLOG分析显示, 高、中氮素用量下, 平均吸光值(AWCD)、Shannon、Simpson和McIntosh指数都较低, 添加3种碳源处理后均有提高, 而单独添加不同碳源及添加常量氮素和碳源处理, AWCD值和微生物功能多样性指数水平较高。较高的肥际氮素浓度下添加葡萄糖、纤维素或木质素可提高土壤微生物活性。在当前大量施无机氮肥的条件下, 注重有机物的配合施用, 有利于减小氮素损失的风险。

**关键词** BIOLÓG; 碳源; 肥际; 水稻土; 微生物生物量

**中图分类号** S154 **文献标识码** A

近年来, 我国氮肥用量迅速增加, 但肥料不合理施用现象普遍存在<sup>[1-2]</sup>。鲁如坤<sup>[3]</sup>发现肥料在施入土壤后, 特别在集中施用(条施、穴施、带施等)时, 施肥点(区)周围会形成特殊的肥际养分环境, 养分浓度异常高, 其中肥料氮素转化有明显的特异性。肥际高养分浓度可能对土壤碳氮转化和微生物特性产生明显影响。氮素在土壤中转化程度除受土壤本身性质外, 还受外源物质尤其是碳源的影响<sup>[4]</sup>, 而碳源活性的不同对氮素的转化和调控也存在差异。因此探讨不同活性碳源对肥际氮素转化调控机制, 对于制定合理的农田氮素管理措施, 提高氮肥利用率, 降低其对环境的负面效应等均具有重要的意义。土壤中加入葡萄糖, 以外源方式提供了微生物可利用的碳源, 矿质氮的生物固持作用增强<sup>[4]</sup>。有研究证明, 添加外源碳刺激了异养微生物的活性<sup>[5-7]</sup>。Yoshitake等<sup>[8]</sup>发现添加葡萄糖和硝酸

微生物呼吸率约增加8倍, 磷脂脂肪酸(PLFA)总数约增加3倍。而Meidute等<sup>[9]</sup>研究表明, 单独添加葡萄糖细菌增加2倍, 添加葡萄糖和硝酸细菌增加10倍, 而添加纤维素则显著增加了真菌的生长。贾俊仙等<sup>[10]</sup>发现添加葡萄糖对不同肥力水平红壤水稻土和黑土氮素转化的影响有显著差异。上述研究主要是针对常规肥料用量下碳源对氮素的调控特征, 而肥际高浓度养分条件下碳源的作用与常规施肥有明显的特异性, 但目前对肥际高养分浓度条件下氮素转化过程认识仍较薄弱<sup>[11]</sup>。微生物可能会对不同活性的外加碳源产生不同的响应, 但目前有关这些方面的研究仍较少, 特别是肥际高养分浓度条件下添加不同活性碳源后微生物的响应方面并不清楚。本文采用室内培育试验, 研究了肥际氮素浓度下添加三种不同活性的碳源(葡萄糖、纤维素和木质素)后微生物特性变化, 结果为制定合理

\* 国家自然科学基金项目(40871122)和国家重点基础研究发展计划“973”项目(2007CB109301)资助

† 通讯作者, E-mail: zhpli@issas.ac.cn

作者简介: 栗方亮(1980—), 男, 山东高密人, 博士研究生, 研究方向为土壤生物化学与生态学。E-mail: fli@issas.ac.cn

收稿日期: 2011-10-29; 收到修改稿日期: 2012-02-21

的氮素养分管理措施提供理论参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤采自江西省鹰潭市中国科学院红壤生态实验站周围农户的水稻田。该站地处东经 116°55′, 北纬 28°15′, 属亚热带季风气候区, 年均气温 17.6℃, 年降雨量 1 785 mm, 年蒸发量 1 318 mm, 降雨集中于每年的 3~6 月, 无霜期 261 d。采样田块是该区域典型的稻田土壤类型, 发育于第四纪红色黏土。

于 2010 年 3 月早稻种植前, 在选定的田块上随机选择 5 个有代表性的样点, 采集表层 0~20 cm 土样。样品风干, 挑去肉眼可见的细根后磨细过 2 mm 筛用于培育试验。供试土壤的基本理化性质如下: 有机碳 21.3 g kg<sup>-1</sup>, 全氮 1.9 g kg<sup>-1</sup>, 全磷 0.6 g kg<sup>-1</sup>, 全钾 6.0 g kg<sup>-1</sup>, 碱解氮 160.6 mg kg<sup>-1</sup>, 速效磷 52.0 mg kg<sup>-1</sup>, 速效钾 175.0 mg kg<sup>-1</sup>, pH 4.5。

### 1.2 试验设计

试验设 CK、G、C、L、A1、A2、A3、GA1、GA2、GA3、CA1、CA2、CA3、LA1、LA2、LA3 共 16 个处理, 其中葡萄糖(G)、纤维素(C)、木质素(L)浓度均为 C 1 200 mg kg<sup>-1</sup> (Sigma 公司生产)。硫酸铵用量设低量(A1, N 120 mg kg<sup>-1</sup>)、中量(A2, N 600 mg kg<sup>-1</sup>)、高量(A3, N 1 200 mg kg<sup>-1</sup>)三个水平。根据以前得到的试验结果<sup>[11]</sup>, A3、A2 即为常规施肥量(A1)条件下距离肥土界面(肥际微域)0~1 cm、2~3 cm 处的无机氮含量水平。

分别称取 200 g 过 2 mm 筛的风干土, 置于 1 000 ml 塑料瓶中, 调节土壤水分为田间饱和持水量的 60%, 预培养后, 按照试验设计用量添加不同碳源和肥料, 并与土壤充分混匀。塑料瓶用保鲜膜封口以保持水分不致快速蒸发, 并针扎若干小孔以保证通气, 然后置于 25℃ 的恒温培养箱中培养, 培养期间定期补水以维持试验设定的水分含量。在培养过程中的第 7、35 天取样。样品于 4℃ 下冷藏保存, 并尽快进行相关指标的分析测定。取培养 35 d 的土壤样品用 BIOLOG 法测定土壤微生物群落功能多样性。

### 1.3 分析方法

土壤有机碳用丘林法; 全氮用半微量凯氏法; 全磷、速效磷用钼锑抗比色法; 全钾、速效钾采用火焰光度法; 土壤 pH (水土比 2.5:1) 采用电位

计法<sup>[12]</sup>。

土壤微生物生物量碳、氮采用氯仿熏蒸浸提取法: 用 0.5 mol L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 浸提经氯仿熏蒸和未熏蒸处理土样, 过滤后滤液采用 Multi N/C 3100 TOC/TN 分析仪(德国)测定, 微生物生物量碳、氮含量以提取液中有有机碳、全氮含量之差, 然后分别除以系数 0.45(微生物生物量碳)、0.54(微生物生物量氮)求得<sup>[13]</sup>。

采用室内恒温培养、碱液吸收法测定土壤有机碳的矿化量<sup>[14]</sup>。称取过 2 mm 筛的 50 g 土壤于 1 000 ml 培养瓶中平铺于瓶底部, 调节土壤含水量为土壤最大持水量的 60%。将盛有 5 ml 0.6 mol L<sup>-1</sup> NaOH 溶液的 10 ml 特制容量瓶小心地置于培养瓶内, 将培养瓶加盖密封, 于 28 ± 1℃ 的恒温箱中培养。在培养的第 1、2、3、5、7、14、21、28、35 天取出容量瓶, 洗至锥形瓶中, 加入 1 mol L<sup>-1</sup> BaCl<sub>2</sub> 溶液 2 ml, 加两滴酚酞指示剂, 用标准酸滴定至红色消失。根据 CO<sub>2</sub> 的释放量计算培养期内土壤有机碳的矿化量。以上试验均 3 次重复。

土壤微生物功能多样性采用 BIOLOG 微生物自动分析系统进行分析。称取 5 g 新鲜土样置于 50 ml 无菌 0.85% NaCl 溶液中, 在 175 r min<sup>-1</sup> 下振荡 30 min。用无菌 0.85% NaCl 溶液稀释至 200 倍后, 再用 8 通道加样器向 BIOLOG Eco 微孔板各孔分别添加 150 μl 稀释后的悬液。25℃ 恒温培养, 每隔 24 h 在 BIOLOG 自动读盘机上读取 590 nm 和 750 nm 波长下的吸光值。参照 Zhong 和 Cai<sup>[15]</sup> 的方法计算平均吸光度值和多样性指数。

### 1.4 数据统计

数据经 Excel 整理后, 用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不用氮素用量下添加不同碳源对土壤微生物生物量的影响

不同处理的土壤经培养之后, 微生物生物量碳、氮有明显的变化。在培养第 7 天或第 35 天时, 单独添加葡萄糖、纤维素和木质素碳源处理, 其微生物生物量碳分别较对照提高了 24.3%~32.1% ( $p < 0.05$ )、17.9%~26.8% 或 22.1%~25.3% ( $p > 0.05$ ); 而微生物生物量氮分别较对照提高了 25.8%~172.7% ( $p < 0.05$ )、2.7%~26.8% 或 2.9%~70.1% ( $p > 0.05$ )。高氮素用量下添加葡萄糖、纤

纤维素或木质素处理,微生物生物量碳分别较不加碳源(A3)处理提高了5.0%~126.8%、17.5%~210.9%或14.7%~210.0%且呈现极显著差异( $p < 0.01$ ),微生物生物量氮分别提高了-5.4%~109.3%、32.0%~173.1%或-14.2%~194.8%(负值代表减少,但差异不显著),表现出碳源的调控作用(图1,图2)。中氮素用量下添加葡萄糖、纤维素或木质素处理,其微生物生物量碳分别较不加碳源(A2)处理提高了-5.4%~4.9%、14.0%~27.7%或5.7%~34.2%( $p > 0.05$ );微生物生物量氮分别

提高了38.1%~93.8%、52.2%~106.1%或11.3%~96.8%( $p > 0.05$ )。常规氮素用量下添加葡萄糖、纤维素或木质素处理,其微生物生物量碳分别较不加碳源(A1)处理提高了-19.4%~5.8%、-15.6%~17.5%或-8.2%~7.9%( $p > 0.05$ );微生物生物量氮分别提高了18.9%~54.3%、-4.5%~68.3%或-20.2%~279.2%( $p < 0.05$ )。在高浓度氮素养分背景下,添加不同活性的碳源均可以缓和微生物活性,但是在常规施肥下添加碳源,虽然微生物生物量有所升高,但是差异并不显著。

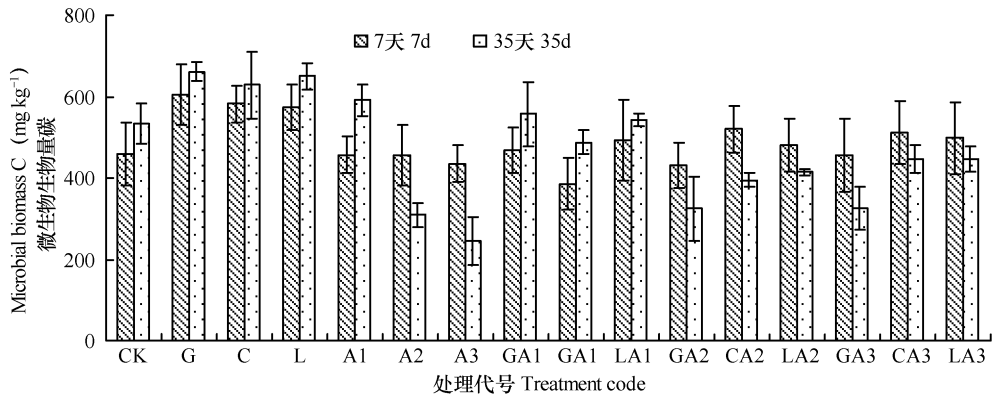


图1 不同氮素用量和不同碳源添加处理土壤微生物生物量碳的变化

Fig. 1 Changes in soil microbial biomass carbon in the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

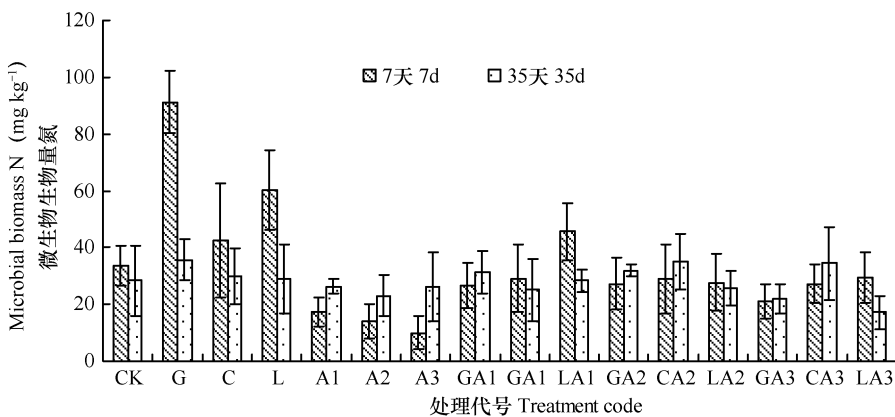


图2 不同氮素用量和不同碳源添加处理土壤微生物生物量氮的变化

Fig. 2 Changes in soil microbial biomass N in the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

## 2.2 不同氮素用量下添加不同碳源有机碳的矿化特征

不同氮素用量下添加不同碳源各处理  $\text{CO}_2$  释放速率呈现出比较明显的两个阶段:第一阶段为第0~7天左右,即在培养前期, $\text{CO}_2$  产生速率先升高至最大而后迅速下降,尤其是添加葡萄糖各处理  $\text{CO}_2$  产生速

率较高,第1天即大于  $\text{CO}_2\text{-C } 150.0 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ,而添加纤维素或木质素处理  $\text{CO}_2$  产生速率较小,第1天小于  $\text{CO}_2\text{-C } 50.0 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ;第二阶段为第7天至培养结束,各处理  $\text{CO}_2$  产生速率缓慢,且随培养时间的延长各处理下土壤的  $\text{CO}_2$  产生速率基本处于稳定(图3)。

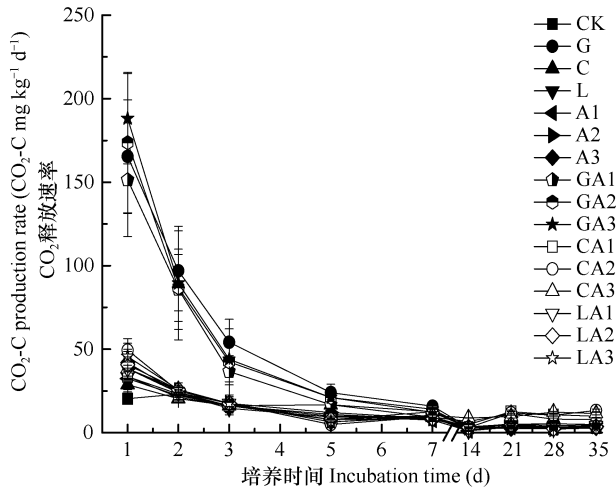


图3 不同氮素用量和不同碳源添加处理的  $\text{CO}_2\text{-C}$  释放速率的动态变化

Fig. 3 Dynamics of  $\text{CO}_2\text{-C}$  release rate in the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

培养结束后,单独添加葡萄糖、纤维素或木质素各处理其累积  $\text{CO}_2$  释放量分别较对照增加了 213.1% ( $p < 0.05$ )、110.3% ( $p < 0.05$ ) 或 14.9% (图 4)。高氮素处理下添加葡萄糖、纤维素或木质素各处理其累积  $\text{CO}_2$  释放量分别较不加碳源处理 (A3) 增加了 192.0%、120.4% 或 25.7%; 中氮素用量下添加葡萄糖、纤维素或木质素各处理其累积  $\text{CO}_2$  释放量分别较不加碳源处理 (A2) 增加了 176.0%、121.2% 或 13.3%; 低氮素用量下添加葡萄糖、纤维素或木质素各处理分别较不加碳源处理 (A1) 增加了 151.2% ( $p < 0.05$ )、124.2% ( $p < 0.05$ ) 或 20.3% (图 4)。

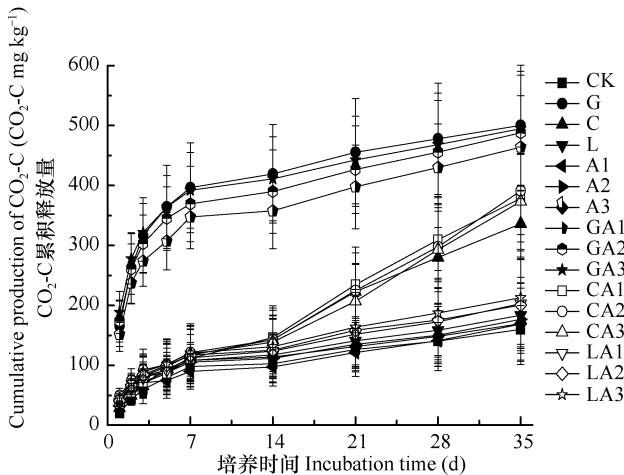


图4 不同氮素用量和不同碳源添加处理的  $\text{CO}_2\text{-C}$  累积释放量的动态变化

Fig. 4 Dynamics of cumulative  $\text{CO}_2\text{-C}$  release from the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

由于葡萄糖分解速度快,很容易被微生物所利用,而至第7天后,其  $\text{CO}_2$  产生速率迅速下降,说明第7天葡萄糖已经基本分解完全;而添加纤维素后,开始时  $\text{CO}_2$  释放量较少,这主要是由土壤基本呼吸所贡献,而从第14天开始  $\text{CO}_2$  释放量逐渐升高,主要是由于纤维素需要经过纤维素酶的分解才能够被微生物所利用,因此分解时间滞后;添加木质素在培养期间  $\text{CO}_2$  释放量一直处于较低水平,这可能是由于木质素相对比较稳定,难以被微生物分解所造成的。

### 2.3 不同氮素用量下添加不同碳源对土壤微生物群落功能多样性的影响

平均吸光值 (average well color development, AWCD) 可作为微生物整体活性的有效指标,反映微生物群落对碳源的利用能力。随着培养时间的延长,不同处理其微生物对碳源的利用量增加,在 48 h 内 AWCD 值很小 (图 5), 随后 AWCD 值急剧升高,但是不同处理土壤微生物群落反应速度和最终能达到的程度不同。经过 168 h 的培养,常规氮素浓度下添加纤维素 (CA1) 处理的 AWCD 值最大,其次为纤维素 C 处理,而 GA1、L、LA1 处理其 AWCD 值类似,其他处理 AWCD 值普遍较小。添加葡萄糖、纤维素、木质素碳源处理其 AWCD 值显著较不添加碳源要高。而氮素高肥际养分浓度下,由于 pH 降低和  $\text{NH}_4^+$  的大量聚集等因素影响了微生物对碳源的利用率,因此 AWCD 值较低。尤其是中高量氮素 (A3 和 A2) 各处理,其 AWCD 值一直处于较低的水平,经过 168 h 的培养以后,AWCD 值依然不超过 0.4,添加不同碳源后使 AWCD 值有所升高,但不显著。

不同的多样性指数可以用来分析土壤微生物群落的功能多样性,其反映了土壤微生物群落多样性的不同方面。Shannon 指数主要反映了群落中的物种丰富度, Simpson 指数较多的反映群落中最常见的物种,而 McIntosh 指数则是群落物种均一性的衡量<sup>[16]</sup>。本实验中采用 96 h 的数据计算 Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数 (表 1)。肥际氮素浓度下添加纤维素处理其 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数较其他处理要高。肥际氮素浓度下添加不同碳源处理其 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数均较单独施用相应浓度的氮素处理要高。但是中高量氮素 (A2 和 A3) 各处理其多样性普遍较小。

主成分分析 (principal component analysis, PCA) 是采取降维的方法,使用少数的相互无关的综合指

标反映原统计数据中所包含的绝大多数信息。应用主成分分析来分析肥际氮素浓度下添加不同碳源的土壤中微生物在不同培养时期对碳源的利用情况。选取 96 h 的 BILOG 测定结果,对数据进行标准化变换后,实施典型变量分析,提取 2 个主成分因子作载荷图,第 1 主成分(PC1)可以解释所有变

量方差的 28.4%,第 2 主成分(PC2)可以解释所有变量方差的 17.3%(图 6)。肥际氮素浓度下添加不同碳源后(图 6),GA2 处理投射点分布在 PC1 的正端,C、LA1、L、CA1 处理投射点分布在 PC2 的正端,而其余处理主要分布在原点附近,表现出中低水平、稳态的土壤微生物群落结构特征。

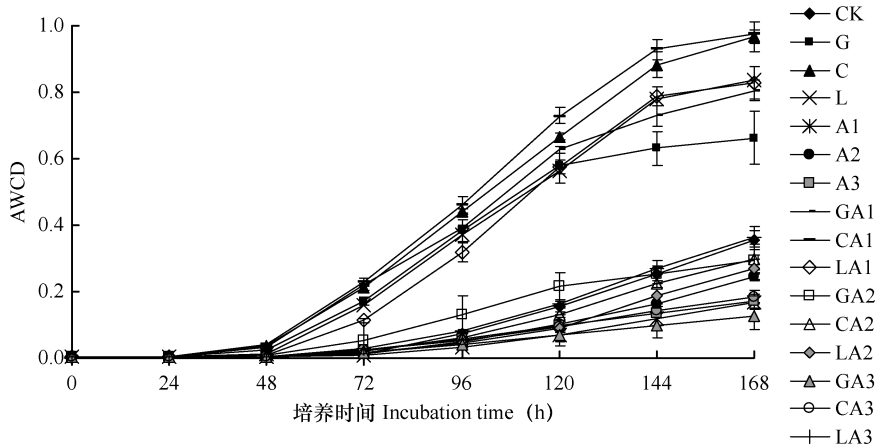


图 5 不同氮素用量和不同碳源添加处理的土壤微生物 AWCD 值的变化

Fig. 5 Changes in AWCD of soil microbes in the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

表 1 不同氮素用量和不同碳源添加处理的土壤微生物群落多样性指数变化

Table 1 Changes in soil microbial diversity indices in the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources

处理代号 Treatment code	Shannon 指数 Shannon indices	Simpson 指数 Simpson indices	McIntosh 指数 McIntosh indices
CK	2.15 ± 0.70def	0.76 ± 0.23cd	0.36 ± 0.39j
G	2.55 ± 0.20cd	0.88 ± 0.04abc	1.11 ± 0.49ef
C	3.05 ± 0.03a	0.95 ± 0.00a	3.19 ± 0.07b
L	2.94 ± 0.04ab	0.94 ± 0.00a	2.80 ± 0.20c
A1	2.25 ± 0.29cdef	0.81 ± 0.08bcd	0.45 ± 0.21hij
A2	2.07 ± 0.07ef	0.81 ± 0.02bed	0.66 ± 0.21ghij
A3	2.36 ± 0.18cde	0.86 ± 0.04abcd	0.68 ± 0.13ghij
GA1	2.49 ± 0.20cd	0.87 ± 0.04abc	0.82 ± 0.21fgh
CA1	2.92 ± 0.01ab	0.93 ± 0.00a	3.68 ± 0.17a
LA1	2.96 ± 0.03ab	0.94 ± 0.00a	2.45 ± 0.00d
GA2	2.63 ± 0.02bc	0.91 ± 0.00ab	1.24 ± 0.06e
CA2	2.35 ± 0.08cde	0.84 ± 0.01abcd	0.76 ± 0.04fghi
LA2	1.95 ± 0.05f	0.74 ± 0.01d	0.71 ± 0.04ghij
GA3	2.48 ± 0.02cd	0.88 ± 0.00abc	0.42 ± 0.03ij
CA3	2.43 ± 0.07cde	0.86 ± 0.02abc	0.60 ± 0.03ghij
LA3	2.45 ± 0.07cde	0.87 ± 0.01abc	0.91 ± 0.06efg

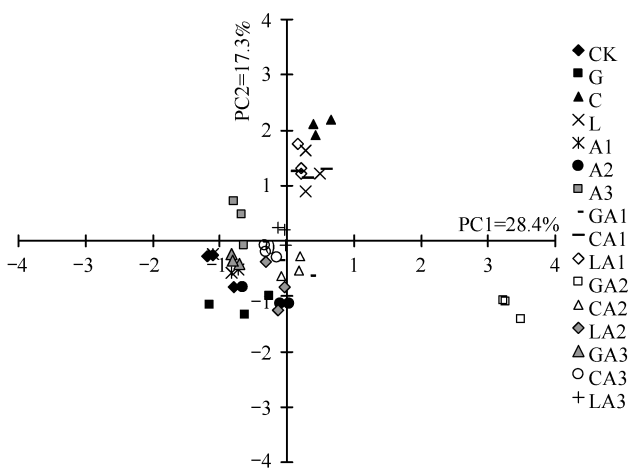


图6 不同氮素用量和不同碳源添加处理培养 96 h 的主成分分析因子载荷图

Fig. 6 Loading of factors in principal component analysis of the soils treated with nitrogen different in application rate and carbon of different sources after 96 hours of incubation

## 3 讨论

### 3.1 肥际氮素浓度下添加不同碳源对土壤微生物生物量的影响

由于微生物是土壤生物化学过程的主要参与者和土壤养分循环的重要驱动力,土壤微生物活性会受到外加能源和养分供给的强烈影响<sup>[4]</sup>。在许多自然土壤中,活性碳源是主要的限制因子<sup>[17]</sup>。例如 Jonasson 等<sup>[18]</sup>研究发现,当添加额外的碳源/能源(葡萄糖)时,其微生物生物量碳在不同的土壤中增加了 15%~37%。而 De Nobili 等<sup>[19]</sup>发现添加葡萄糖 5 000 mg kg<sup>-1</sup>时,24 h 内其微生物生物量碳即快速增加至 200~800 mg kg<sup>-1</sup>,但却忽视了部分微生物生物量碳是来自于葡萄糖的衍生物<sup>[20]</sup>。

在本研究中,高氮素浓度下添加葡萄糖、纤维素或木质素处理其微生物生物量碳、氮均较不添加碳源处理增大且差异显著,说明碳源对微生物的调节作用。而中低氮素用量下添加葡萄糖、纤维素或木质素虽然增加了微生物的活性,但是其微生物生物量碳、氮与对应氮素浓度处理相比并未显著增加,与 Stenger 等<sup>[21]</sup>研究的结果一致。原因可能如下:(1)虽然添加碳源后微生物增加了呼吸活性(图 3,图 4),然而大多数碳作为能源被用来合成诱导酶和一些其他利于其微生物生长的化合物<sup>[22]</sup>,很少进行生物合成或进入细胞结构<sup>[23]</sup>。(2)微生物生物量的增加需要有足够的碳源和足

够的时间来刺激微生物的生长<sup>[23]</sup>。(3)在大量碳源和氮源条件下由于高有机碳背景、裂解细胞的效率、碳释放化学组成的改变等因素而使氯仿熏蒸法有所限制<sup>[6]</sup>。

土壤氮素的转化离不开土壤微生物的参与,而微生物的生命活动除了需要营养物质氮素外,还需要能源物质碳的参与,含碳量丰富的有机物料施入土壤中必然对土壤微生物的生命活动产生影响,进而影响土壤对氮素的转化。

### 3.2 肥际氮素浓度下添加不同碳源对矿化的影响

与以往研究一致<sup>[24]</sup>,无论有无氮素,研究发现添加葡萄糖后 CO<sub>2</sub> 释放率迅速增加,同样 Yoshitake 等<sup>[8]</sup>发现单独添加葡萄糖显著增加了 CO<sub>2</sub> 释放率,添加葡萄糖和硝铵 8 倍增加微生物呼吸率。而添加相对较复杂的基质(纤维素)后,CO<sub>2</sub> 释放率存在滞后时间<sup>[9]</sup>。这主要是由于纤维素溶解性差,结构相对复杂,并且首先要分解为葡萄糖后才能被微生物所利用,且利用率相对低<sup>[25]</sup>,而诱导纤维素酶也需要一定的时间,因此纤维素分解有迟滞期,本实验中迟滞期大约为 14 d。添加纤维素处理其累积呼吸量开始时与对照相似,这主要是由于开始加入纤维素时,主要是细菌分解,随着培养时间的延长,真菌群落受到刺激从而开始分解纤维素,从而纤维素得以利用(第 35 d 时,纤维素处理 AWCD 高),原因可能是由于初始细菌分解易利用的碳和氮,从而使真菌纤维素酶活性增强<sup>[26]</sup>。Meidute 等<sup>[9]</sup>发现,除纤维素外,添加明胶后也有类似的迟滞期。

研究发现,添加木质素后微生物呼吸量一直很小,只较对照稍高。这可能是由于:(1)木质素比较稳定、溶解性低阻碍了微生物的利用;(2)分解木质素的细菌在本实验中尚未出现;(3)固有的微生物群落已经适应了木质素碳源的环境,因此增加木质素不影响微生物群落<sup>[26]</sup>。

已有研究证明,添加例如 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 或 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 等无机肥料会抑制土壤呼吸或微生物生物量<sup>[27-29]</sup>。而本研究发现,当单独添加 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 时,对微生物呼吸没有显著影响,与 Sánchez-Martín 等<sup>[30]</sup>结果一致,但是却抑制微生物生物量碳、氮。

### 3.3 肥际氮素浓度下添加不同碳源对土壤微生物功能多样性的影响

BIOLOG 分析中平均吸光值(AWCD)表征微生物群落碳源利用率,是土壤微生物群落利用单一碳源能力的一个重要指标,反映了土壤微生物活性、微生物群落生理功能多样性<sup>[31]</sup>。本研究发现,添加

葡萄糖、纤维素、木质素碳源处理其 AWCD 值显著较不添加碳源要高。而硫酸肥际氮素浓度下, 由于导致 pH 降低和  $\text{NH}_4^+$  的大量聚集等因素影响了微生物对碳源的利用率, 因此 AWCD 值较低。尤其是肥际高中浓度 A3/A2 各处理, 其 AWCD 值一直处于较低的水平(图 5)。

添加纤维素处理其 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数较其他处理要高, 说明培养期间微生物活性增长效率较高<sup>[24,26]</sup>。肥际氮素浓度下添加不同碳源处理其 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数均较单独施用相应浓度的氮素处理高。添加不同碳源虽有一定的调节作用, 但是差异不显著, 肥料养分浓度过高, 对微生物生长的影响是非常显著的<sup>[27-29]</sup>。

## 4 结 论

肥际氮素浓度下添加不同碳源(葡萄糖、纤维素或木质素), 土壤微生物生物量碳显著提高, 微生物生物量氮变化不显著, AWCD 值和多样性指数也有所提高。肥际氮素各浓度下添加葡萄糖处理  $\text{CO}_2$  释放量最多, 其次是添加纤维素。虽然肥际氮素浓度下添加不同活性碳源能够调控氮素转化作用的程度不同, 但是却一定程度上提高了土壤微生物的活性。因此, 在当前大量施用无机氮肥的背景下, 尤其要注重有机无机的配合, 调控氮素转化的过程, 从而降低氮素损失, 提高氮肥利用率。

## 参 考 文 献

[1] 庞桂斌, 彭世彰. 中国稻田施氮技术研究进展. 土壤, 2010, 42(3): 329—335. Pang G B, Peng S Z. Research advances of nitrogen fertilizer application technologies in Chinese rice field (In Chinese). Soils, 2010, 42(3): 329—335

[2] Min J, Zhao X, Shi W M, et al. Nitrogen balance and loss in a greenhouse vegetable system in southeastern China. Pedosphere, 2011, 21(4): 464—472

[3] 鲁如坤. “微域土壤学”——一个可能的土壤学的新分支. 土壤学报, 1999, 36(2): 287—288. Lu R K. Microzone soil science—A possible new branch of soil science (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1999, 36(2): 287—288

[4] 张乐, 何红波, 章建新, 等. 不同用量葡萄糖对土壤氮素转化的影响. 土壤通报, 2008, 39(4): 775—778. Zhang L, He H B, Zhang J X, et al. Effect of glucose addition with different amount on extraneous nitrogen transformation in soil (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2008, 39(4): 775—778

[5] Joergensen R G, Scheu S. Response of soil microorganisms to the addition of carbon, nitrogen and phosphorus in a forest rendzi-

na. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 859—866

[6] Joergensen R G, Raubuch M. Adenylate energy charge of a glucose-treated soil without adding a nitrogen source. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34: 1 317—1 324

[7] Müller C, Stevens R J, Laughlin R J. Evidence of carbon stimulated N transformations in grassland soil after slurry application. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35: 285—293

[8] Yoshitake S, Sasaki A, Uchida M, et al. Carbon and nitrogen limitation to microbial respiration and biomass in an acidic solfatara field. European Journal of Soil Biology, 2007, 43: 1—13

[9] Meidute S, Demoling F, Bååth E. Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 2 334—2 343

[10] 贾俊仙, 李忠佩, 车玉萍. 添加葡萄糖对不同肥力红壤性水稻土氮素转化的影响. 中国农业科学, 2010, 43(8): 1 617—1 624. Jia J X, Li Z P, Che Y P. Effects of glucose addition on N transformations in paddy soils with a gradient of organic C content in subtropical China (In Chinese). Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(8): 1 617—1 624

[11] 张朝, 车玉萍, 李忠佩. 模拟土柱条件下黑土中肥料氮素的迁移转化特征. 中国生态农业学报, 2010, 18(4): 683—688. Zhang C, Che Y P, Li Z P. Migration and transformation of fertilizer nitrogen in a simulated black soil column (In Chinese). Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2010, 18(4): 683—688

[12] 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. Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000

[13] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19: 703—707

[14] 李忠佩, 吴晓晨, 陈碧云. 不同利用方式下土壤有机碳转化及微生物群落功能多样性变化. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1 712—1 721. Li Z P, Wu X C, Chen B Y. Changes in transformation of soil organic carbon and functional diversity of soil microbial community under different land use patterns (In Chinese). Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(8): 1 712—1 721

[15] Zhong W H, Cai Z C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. Applied Soil Ecology, 2007, 36: 84—91

[16] Staddon W J, Duchesne L C, Trevors J T. Microbial diversity and community structure of postdisturbance forest soils as determined by sole-carbon-source utilization patterns. Microbial Ecology, 1997, 34: 125—130

[17] Ohlson M, Grønli K E. Recruitment and growth in *Aconitum septentrionale* and *Actaea spicata* in relation to microbial soil communities manipulated by additions of glucose and nutrients. Flora, 2006, 201: 215—226

[18] Jonasson S, Michelsen A, Schmidt I K, et al. Microbial biomass C, N and P in two arctic soils and responses to addition of NPK

- fertilizer and sugar; implications for plant nutrient uptake. *Oecologia*, 1996, 106: 507—515
- [19] De Nobili M, Diaz-Raviña M, Brookes P C, et al. Adenosine 5'-triphosphate measurements in soils containing recently added glucose. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28: 1 099—1 104
- [20] Chander K C, Joergensen R G. Decomposition of <sup>14</sup>C labeled glucose in a Pb-contaminated soil remediated with synthetic zeolite and other amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 643—649
- [21] Stenger R, Barkle G F, Burgess C P. Mineralization and immobilization of C and N from dairy farm effluent (DFE) and glucose plus ammonium chloride solution in three grassland topsoils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33: 1 037—1 048
- [22] Blagodatsky S A, Heinemeyer O, Richter J. Estimating the active and total soil microbial biomass by kinetic respiration analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32: 73—81
- [23] Bremer E, Kessel C V. Extractability of microbial <sup>14</sup>C and <sup>15</sup>N following addition of variable rates of labeled glucose and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22: 707—713
- [24] Dilly O. Effects of glucose, cellulose, and humic acids on soil microbial ecophysiology. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2004, 167: 261—266
- [25] Chowdhury M A H, Kouno K, Ando T. Critical sulphur concentration and sulphur requirement of microbial biomass in a glucose and cellulose-amended regosol. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32: 310—317
- [26] Schutter M, Dick R. Shift in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33: 1 481—1 491
- [27] Smolander A, Kurka A, Kitunen V, et al. Microbial biomass C and N, and respiratory activity in soil of repeatedly limed and N- and P-fertilized Norway spruce stands. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 957—962
- [28] Arnebrant K, Bååth E, Söderström B, et al. Soil microbial activity in eleven Swedish coniferous forests in relation to site fertility and nitrogen fertilization. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 1996, 11: 1—6
- [29] Thirukkumaran C M, Parkinson D. Microbial respiration, biomass, metabolic quotient and litter decomposition in a lodgepole pine forest floor amended with nitrogen and phosphorous fertilizers. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32: 59—66
- [30] Sánchez-Martín L, Vallejo A, Dick J, et al. The influence of soluble carbon and fertilizer nitrogen on nitric oxide and nitrous oxide emissions from two contrasting agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40: 142—151
- [31] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities. *Environmental Management*, 1997, 21(2): 233—238

## EFFECTS OF ADDITION OF CARBON ON MICROBIAL PROPERTIES AS AFFECTED BY SOURCE OF CARBON AND N CONCENTRATION AT FERTISPHERE IN PADDY SOIL

Li Fangliang<sup>1,2</sup> Li Zhongpei<sup>1,2†</sup> Liu Ming<sup>1</sup> Jiang Chunyu<sup>1</sup>

(1 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** The study on changes in microbial properties as affected by addition of carbons of different sources and N concentration at the fertisphere is of great significance to understanding of effects of carbons of different sources regulating nitrogen transformation in fertispheres different in concentration and improving nitrogen use efficiency. Samples of paddy soils typical of the subtropical region of China were collected and treated with ammonium sulphate at different rates and carbons of different sources, separately to simulate different fertispheric nitrogen concentrations. The treated soil samples were then incubated in lab and analyzed for changes in biomass carbon and nitrogen of the soil microbes, nitrogen mineralization and functions of the microbial communities. It was found that after 7 or 35 days of incubation, in treatments high in N application rate, addition of glucose, cellulose and lignin separately increased microbial biomass carbon by 5.0% ~ 126.8%, 17.5% ~ 210.9% and 14.7% ~ 210.0%, respectively, and microbial biomass nitrogen by -15.4% ~ 109.3%, 32.0% ~ 173.1% and -34.2% ~ 194.8%, respectively, and in treatments, medium or low in N application rate addition of any of the three types of carbon also stimulated somewhat increase of microbial biomass carbon and nitrogen. Regardless of fertispheric N concentrations, the treatments with glucose were the highest in CO<sub>2</sub> emission, those with cellulose came the next and those with lignin the last. BIOLOG analysis showed that AWCD value and Shannon, Simpson and McIntosh indices were all quite low in treatments either high or medium in N application rate, and they were increased after addition of



carbon. In treatments with carbon added alone or treatments with carbon and N fertilizer added at a normal rate, AWCD value, Shannon, Simpson and McIntosh indices were all relatively high. In treatments high in fertilispheric N concentration, addition of any of the three, glucose, cellulose or lignin increased soil microbial activity. So, in the current condition of using large volumes of inorganic N fertilizer, it is advisable to use organic manual in addition, which helps reduce the risk of nitrogen loss.

**Key words** BIOLOG; Carbon source; Fertilisphere; Paddy soil; Microbial biomass

## 2010 年农业科学领域高被引期刊和高被引论文

根据 2005 — 2009 年发表的论文在 2010 年被引用情况统计, 在农业科学领域, 《土壤学报》期刊的五年影响因子位居首位(表 1); 在排名前 10 位的高被引论文中, 《土壤学报》有 2 篇论文入选, 其中位居首位的是 2008 年发表在《土壤学报》中的 1 篇论文, 其总被引频次远超过其他论文(表 2)。

表 1 农业科学领域高被引期刊基本指数

序号	期刊名称	五年载文量	2010 年被引频次	被引率(%)	五年影响因子
1	土壤学报	834	1780	67.27	2.134
2	中国农业科学	2289	4238	66.49	1.851
3	水土保持学报	1388	2395	63.76	1.726
4	中国农业气象	520	776	60.19	1.492
5	土壤	776	1044	57.73	1.345
6	中国生态农业学报	1403	1795	57.59	1.279
7	核农学报	804	981	57.84	1.220
8	华北农学报	1875	2261	58.83	1.206
9	土壤通报	1425	1671	50.60	1.173
10	中国土壤与肥料	601	692	49.75	1.151

表 2 农业科学领域高被引论文 TOP 10

序号	第一作者	论文题名	期刊名称	年份	总被引频次
1	张福锁	中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径	土壤学报	2008	52
2	张海林	保护性耕作研究现状、发展趋势及对策	中国农业大学学报	2005	29
3	文雁成	用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础	中国农业科学	2006	28
4	刘宇锋	非直线双曲线模型在光合光响应曲线数据分析中的应用	中国农学通报	2005	28
5	宋开山	1954 年以来三江平原土地利用变化及驱动力	地理学报	2008	27
6	李方敏	控释肥对水稻产量和氮肥利用效率的影响	植物营养与肥料学报	2005	25
7	张树清	规模化养殖畜禽主要有害成分测定分析研究	植物营养与肥料学报	2005	24
8	李秀英	不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系	中国农业科学	2005	24
9	陈欢	烟气脱硫废弃物在碱化土壤改良中的应用及效果	干旱地区农业研究	2005	22
10	朱兆良	中国土壤氮素研究	土壤学报	2008	22