植物营养与肥料学报 2000,6(1):75～83
Plant Nutrition and Fertilizer Science

土壤微生物体氮测定方法的研究①

李世清　李生秀
(西北农业大学资源环境科学系,陕西杨陵 712100)

摘要:用熏蒸-0.5mol/L K_2SO_4 直接浸取 NH_4^+-N 法(简称熏蒸-铵态氮法),熏蒸-淹水培养法和熏蒸-通气培养法测定了有机质、全氮和 C/N 比差异较大的 15 种土壤的铵态氮增量(F_N)。结果表明,它们之间有极显著的正相关,在反映土壤微生物体氮上有相同趋势。两种培养方法测定的 F_N 近乎一致,由此而计算的微生物体氮也几乎相同。对红油土铵态氮法测定值仅为两种培养法的 1/10。把铵态氮法中的 F_N 校正后,其结果与 2 种培养法测定的微生物体氮同样近乎一致。用 3 种方法测定的微生物体氮均与土壤有机碳存在显著正相关性。淹水培养和铵态氮法水分条件易控制,又无 NH_3 的挥发损失,比通气培养法更加优越。对培养试验和长期肥料定位试验的土样测定结果表明,土壤中易矿化新鲜有机物料也会使熏蒸-淹水培养法测定的 F_N 显著下降,由此而计算的微生物体氮也显著减少,但熏蒸-铵态氮法测定的 F_N 不受新鲜有机物质的影响。与土壤微生物数目进行比较后发现,土壤中含易分解有机物质少或微生物体氮含量低时,选用熏蒸-淹水培养法测定误差小;当土壤中富含新鲜有机物质时,熏蒸-铵态氮法测定的结果更加可靠。用这两种方法在同类土壤上测定的 F_N 的比值相对稳定,微生物体氮(B_N)的平均比值为 0.98～1.01,不受施肥的影响。

关键词:土壤微生物体氮;测定方法;熏蒸-淹水培养法;熏蒸-铵态法
中国分类号:S154.3;S158.3

土壤微生物体氮是指存在于土壤活体微生物中的氮素,是植物营养的重要氮库[1]。为了有效地利用氮肥,查明氮肥在土壤中的归宿,就需要了解微生物体氮库的大小及变化。

确定土壤微生物体氮的测定方法是解决这一问题的前提。但是,由于土壤微生物体氮和其它土壤有机氮难以区分,微生物体氮测定方法的研究起步较晚。1976 年 Jenkinson 提出的用熏蒸-培养法测定土壤微生物体碳的方法[2],为这方面的研究奠定了基础。之后,测定土壤微生物体氮的方法相继问世[3~5],包括熏蒸-通气培养法[3],熏蒸-直接浸取法[4~5],直接镜检法[6],基质诱导呼吸法[7]和 ATP 法[8]等。ATP 法和镜检法操作复杂,且只能测定微生物量的多少;基质诱导呼吸只能测定微生物体碳,氯仿熏蒸-通气培养法和氯仿熏蒸-直接浸取法既能测定微生物体碳,也能测定微生物体氮。

但是,熏蒸-通气培养法并不完善,通气培养过程中,微生物体氮被矿化后的固定、挥发和反硝化损失难以避免[5];土壤中有大量新鲜易矿化非微生物体有机物质时,培养期间分解时会产生大量的矿质氮,掩蔽微生物残体分解时产生的氮增量,导致测定结果偏低[2]。采用化学浸取直接测定铵态氮法和淹水培养法在各种土壤上的效果仍然不知,与通气培养测定结果的相互比较更少进行。

① 国家自然科学基金资助项目(39770425;39770151)
作者简介:李世清(1964—　),男,博士,西北农业大学资源环境系副教授,现在兰州大学干旱农业生态国家重点实验室进行博士后研究工作。主要从事氮素在旱地土壤—作物系统中的内循环特征研究。
收稿日期:1998-09-14

本研究旨在比较熏蒸-淹水培养法,熏蒸-0.5mol/L K_2SO_4 直接浸取 NH_4^+-N 法(简称熏蒸-铵态氮法)和熏蒸-通气培养法优劣的基础上,进一步明确熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法的应用条件和相互转化因子。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验分2次进行。试验1主要对3种测定方法进行比较。采用杨陵、永寿两地有机质、全氮、C/N比、硝态氮和铵态氮差异较大的15种红油土(表1)。土壤采回后,过3mm筛孔,4℃冰柜保存,用鲜(湿)土测定微生物体氮。各供试土壤在50%田间持水量(绝对含水量20%,W/W)和(25±1)℃下通气培养1周[9],以减少熏蒸后培养期间有机氮矿化的干扰,使各土壤微生物体氮的测定结果具有可比性。

试验2主要研究熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法的运用条件及相互转化。以杨陵和其它地方的3个长期肥料定位试验的土壤为供试土样(表1)。长期肥料定位试验分别简称田试1,田试2和田试3。

表1 供试土壤的一些理化性质

Tabel 1 Some physical and chemical properties of soils used

土壤编号 Soil No.	采样地点 Sample locality	深度 Layer (cm)	前茬 Precrops	质地 Texture	pH	NO_3^--N μg/g	NH_4^+-N μg/g	有机C Organie C g/kg	有机质 O.M. g/kg	全N Total N g/kg	C/N
				试验1土样							
1	西农蔬菜站	0~20	大豆	粘土	7.43	102.5	6.1	10.2	17.6	1.40	7.3
2	西农蔬菜站	20~40	大豆	粘土	7.41	26.1	5.1	9.0	15.5	1.20	7.5
3	农一站	0~20	果苗	粘土	7.58	8.1	5.6	7.6	13.1	1.00	7.6
4	农一站	20~40	果苗	粘土	7.56	13.0	6.1	6.7	11.6	0.95	7.1
5	农一站	0~20	玉米	粘土	7.53	19.7	7.3	6.0	10.3	0.87	6.9
6	农一站	0~20	玉米	粘土	7.55	21.8	6.3	7.8	13.4	1.12	7.0
7	农一站	20~40	玉米	粘土	7.56	13.0	6.2	7.3	12.6	1.03	7.1
8	穆家寨	0~20	休闲	砂土	7.58	49.5	6.6	7.2	12.4	0.91	7.9
9	穆家寨	0~20	莲菜	粘土	7.61	33.6	14.2	9.0	15.5	1.20	7.5
10	永寿	0~20	谷茬	壤土	7.66	11.5	6.4	5.3	9.1	0.72	7.4
11	永寿	0~20	糜茬	壤土	7.61	11.2	8.3	7.3	12.6	0.97	7.5
12	永寿	0~20	谷茬	壤土	7.63	14.5	6.8	7.6	13.1	0.90	8.4
13	永寿	20~40	谷茬	壤土	7.66	4.7	7.4	6.3	10.9	0.95	6.6
14	永寿	0~20	果园	壤土	7.51	18.5	7.6	6.1	10.5	0.86	7.1
15	永寿	20~40	果园	壤土	7.56	10.1	9.0	6.4	11.0	0.84	7.6
				试验2土样							
	培养试验										
16	农一站	0~20	玉米	粘壤				6.0	10.3	0.87	6.9
17	农一站	0~20	玉米	粘壤				7.8	13.4	1.12	7.0
	田间试验										
18	农一站	0~20	小麦	粘壤				8.1	14.0	0.89	9.1
19	安寨	0~20	谷子	沙壤				2.4	4.1	0.39	6.2
20	镇原	0~20	小麦	壤土				5.9	10.2	0.62	9.5

田试1:在西北农业大学农一站农化试验地,供试土壤为红油土(表1,No.18)。试验包括作物(种植与休闲)与施肥(施用化肥+有机物料与不施肥)2个因子,采用不完全方案。种植作物设不施肥(CK)、施用

化肥(NP)、化肥+低量新鲜玉米茎叶(NP+9375kg/hm^2)、化肥+中量新鲜玉米茎叶(NP+18750kg/hm^2)、化肥+高量玉米茎叶(NP+37500kg/hm^2)、化肥+厩肥(NP+37500kg/hm^2)6个处理;休闲者仅有化肥+低量玉米茎叶(NP+9375kg/hm^2)1个处理。重复3次,随机区组排列。种植作物小区实行冬小麦-夏玉米轮作一年两熟。冬小麦每公顷施磷(P)23.6kg,相当于含P_2O_5 12%的过磷酸钙450kg,均作种肥,施氮(N)102.5kg,相当于尿素225kg(一半为种肥,另一半为追肥);夏玉米每公顷施103.5kg氮素的尿素,全为追肥,不施磷肥,玉米茎叶和厩肥于冬小麦播种前施入,夏玉米不施。试验从1977年开始,于1997年4月14日采取耕层土样。采回过筛后,置于4℃冰箱中,用于测定微生物体氮。

田试2:在陕西北部安塞县西北水土保持研究所试验站内,供试土壤为黄绵土(表1,No.19)。试验设不施肥;每年施尿素氮(N)114kg/hm^2;厩肥(M)7500kg/hm^2;磷(P)24.9kg/hm^2;氮磷(NP)和氮磷厩肥(NPM)7个处理。后两个处理氮、磷、厩肥用量同前。重复3次,随机区组排列。试验从1990年开始,1997年5月11日采样。样品采回后,处理如前,测定微生物体氮。

田试3:在甘肃省农科院镇原县试验站内,供试土壤为黑垆土(表1,No.20)。用以测定土壤微生物体氮的土样采自于不施氮和每季作物(春小麦一年一熟)每公顷施尿素氮(N)114kg,施普通过磷酸钙570kg,施厩肥7500kg,氮磷和氮磷厩肥6个处理,后两个处理氮、磷、厩肥用量同前。试验从1990年开始,于1997年6月1日采样。

1.2 培养试验

为研究新鲜易矿化有机物料对熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法测定的氮增量的影响,选用两种肥力的红油土为供试土样(表1),以绿豆茎叶(含C 372g/kg,含N 21.2g/kg,C/N=17.5)为易分解有机物料进行培养试验。每种土壤称取与100.00g烘干土相当的鲜土2份,一份与有机物料(加0.8g绿豆茎叶)充分混匀,另一份为对照。把土样装入150mL三角瓶中,瓶口用有微孔的农膜封闭后,在土壤含水量为17.53%和(25±1)℃下培养7d。培养结束后,充分混匀土壤,分别用熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法测定氮增量,并用平板稀释法测定微生物数目[10]。

1.3 土壤微生物体氮的测定

1.3.1 土壤样品熏蒸 每个土样各称取6.00g鲜土8份,分别置入100mL塑料塑中。4份土样不熏蒸,4份熏蒸。熏蒸采用Jenkinson & Powlson[2]法,将欲熏蒸土样置于内径29cm的与抽气装置相连的干燥器内隔板上。干燥器底部除置入装有30mL无乙醇氯仿和少许石英砂的100mL烧杯外,并加蒸馏水,使熏蒸时土壤含水量不变。随之抽气,直到氯仿出现气泡沸腾为止。接着密闭干燥器,并将其置于室温(14~16℃)和黑暗处24 h。取出土样后,在通气良好的地方放置2~3h,使残留在土壤中的氯仿尽可能挥发。不熏蒸的土样,置于另一干燥器中,使用蒸馏水代替氯仿,与用氯仿熏蒸一样处理,作为不熏蒸的对照。

1.3.2 熏蒸-淹水培养法 熏蒸过程结束后,对2份熏蒸及2份未熏蒸的土样均加入0.024 g同一鲜土(接种)和12.5 mL蒸馏水,在40℃下培养7天[11]。培养结束后,加入0.625mol/L K_2SO_4 50mL(浸提液中K_2SO_4 0.5mol/L),振荡30min后过滤[3],用连续流动分析仪测定滤液中的铵态氮[8]。氯仿熏蒸以后,经过淹水培养,死亡微生物的氮就会矿化出来;而未经过氯仿熏蒸者,淹水培养过程中所矿化出来的氮素则不包括这部分。因此,熏蒸与不熏蒸的铵态氮之差,是熏蒸所造成的氮增量(F_N)[3],即由熏蒸后死亡微生物矿化的氮素。采取这种方法所矿化的微生物体氮并非是微生物氮的全部,而仅是其中一部分。根据研究[12],微生物体氮的矿化系数(K_N)为0.25,即矿化出来的微生物体氮(即氮增量,F_N)仅是微生物体总氮(B_N)的0.25倍。写成公式则为:

$$F_N = 0.25B_N$$

$$\text{即} \quad B_N = F_N/0.25 = 4F_N$$

1.3.3 熏蒸-铵态氮法 于另2份熏蒸(熏蒸结束后立即进行)及2份未熏蒸土样中加入50mL 0.5mol/L K_2SO_4溶液,振荡30分钟,过滤,即时用连续流动分析仪测定滤液中的铵态氮。氯仿熏蒸后,死亡微生物的部分氮素会以NH_4^+-N形式释放而被0.5mol/L K_2SO_4浸提出来[4];而未熏蒸者0.5mol/L K_2SO_4浸提的

NH_4^+-N 中不包括这部分,因此,熏蒸与不熏蒸的铵态氮之差,是熏蒸所造成的氮增量(F_N)[3]。根据淹水培养中的矿化系数($K_N = 0.25$)和校正因子 C(淹水培养测定的氮增量与铵态氮法测定的氮增量的比值)就可以计算出微生物体氮,写成公式则为:

$$F_N = 0.25B_N/C$$

$$即 \quad B_N = CF_N/0.25 = 4CF_N$$

1.3.4 熏蒸-通气培养法 通气培养采用 Keeney & Bremner 法[11]。熏蒸结束后,每份熏蒸与不熏蒸土样(每份鲜重 12.00g,相当于 10.00g 烘干土)与 30g 石英砂(过 0.25~0.7mm 筛)和 0.048g 预培后同一土壤(接种)混匀后,放入 500mL 塑料瓶中,加入 5mL 蒸馏水,在 30℃下培养 14d,培养期间,每天早、晚开盖通气一次(约 1min)。培养结束后,加入 100mL 0.5mol/L K_2SO_4,振荡 30min,过滤、测定滤液中的铵、硝态氮。在测定中发现,若不包括硝态氮,用通气培养法和淹水培养法测定的铵态氮增量非常接近,因而计算微生物体氮时所用公式与淹水培养法相同。

1.4 化学分析和土壤微生物数目的测定

土壤水分用烘干法;土壤有机质用重铬酸钾-外加热容量法;全氮用开氏法;铵、硝态氮用 0.5mol/L K_2SO_4 浸取,流动分析仪测定[13];pH 用玻璃电极法(土:0.01mol/L $CaCl_2$ = 1:1);土壤微生物体氮浸提液中的铵、硝态氮用流动分析仪测定;土壤微生物数目用稀释平板计数法测定[10]。

2 结果与讨论

2.1 熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法与熏蒸-通气培养法的比较

在试验 1 中,经过熏蒸,无论是 0.5mol/L K_2SO_4 直接浸取,还是在 2 种情况下培养,15 种土壤的铵态氮均较未熏蒸土壤增加。

采用铵态氮法,由于熏蒸对土壤的"危害"(fumigation-damage)作用[14],硝态氮有所下降,如果按照 Shen 等[3]提出的包括硝态氮在内的方法计算 F_N,一些土壤出现负值,一些土壤未增,显然与实际不符。Brookes 等[4]认为,$CHCl_3$ 熏蒸实际上引起的是铵态氮的增加,因此,仅计算了铵态氮增量。采用通气培养法,培养后,大部分土壤的硝态氮显著下降,铵态氮大幅度增加;未熏蒸土壤,培养后硝、铵态氮增减甚微。可能原因一是在测定微生物体氮前进行了预培养,土壤中硝态氮已达到较高又稳定的水平;未熏蒸土壤经过培养,铵、硝态氮增减较少,相对稳定;熏蒸土壤接种少许未熏蒸土壤后,微生物大量繁殖,会消耗过多的硝态氮,导致硝态氮下降。二是熏蒸土壤虽然培养前在通风处放置,以排除 $CHCl_3$,但恐难净尽,而硝化细菌对 $CHCl_3$ 非常敏感,微量的 $CHCl_3$ 也会使硝化作用基本停止[14,15]。$CHCl_3$ 处理后的土壤中存在大量微生物残体,培养期间氨化作用十分强烈[15]。因此,熏蒸和不熏蒸土壤中硝化作用和硝态氮的动态不同。用铵、硝态氮之和计算 F_N 时[3],个别土壤出现负值,大部分土壤结果甚小。根据 Paul & Juma[12]的方法,仅用铵态氮计算 F_N,这样不仅可以排除硝态氮的干扰,又比较符合实际。淹水培养中抑制了硝化作用发生,创造了适于微生物残体有机氮氨化的条件,矿化的最终产物是铵态氮。矿化产物在密闭条件下又不挥发损失。因此,用淹水培养期间产生的铵态氮计算 F_N,比通气培养法更合理;而操作比较简单、方便。

根据以上分析,在比较 3 种方法测定的 F_N 时,均由铵态氮计算(表 2)。

表 2 表明,通气培养法和淹水培养法测得的氮增量非常接近,比值在 0.7~1.7 之间,平均 1.05±0.29,其中 4/5 以上的土壤变化在 0.7~1.3 之间,平均 0.96±0.18,这两种方法

间有高度正相关关系($r=0.88, P<0.001$)。看来,这两种培养法测定的 F_N 负载着相同信息。用铵态氮法计算出的 F_N 远比 2 种培养法的结果低。从 15 种土壤平均看,铵态氮法与通气、淹水培养法测定的 F_N 之比分别是 1:9.8(±2.4)和 1:10.0(±1.8),相差甚大,但与两种培养法间又有着极显著的正相关(r 分别为 0.849 和 0.861,$P<0.001$)。这表明铵态氮法在反映 F_N 上与两种培养法有着完全相同的趋势。

在计算氮增量时仅仅考虑了铵态氮的变化,故选用 Paul & Juma 在熏蒸-通气培养法中提出的矿化系数 K_N($K_N=0.25$[12])。由于淹水培养和通气培养 F_N 相当,因此,对淹水培养矿化系数,仍选用 0.25。铵态氮法为两种培养法的 1/10,故将其 F_N 乘以系数 10 后,K_N 仍可选用 0.25。知道了 F_N 和 K_N 后,根据公式 $B_N=F_N/K_N$ 计算出各种方法测定的微生物体氮(表 2)。

表 2　三种测定微生物体氮方法的比较(μg/g)

Table 2　Microbial biomass N measured by using three methods

土壤编号 Soil	铵态氮法 Ammonium N method		通气培养法 Aerobic incubation		淹水培养 Watelogged incubation	
	氮增量 (F_N)	微生物体氮 (B_N)	氮增量 (F_N)	微生物体氮 (B_N)	氮增量 (F_N)	微生物体氮 (B_N)
1	3.9	156.0	38.1	152.4	43.8	175.2
2	2.7	108.0	21.9	87.6	26.1	104.4
3	3.3	132.0	25.4	101.6	32.7	130.8
4	2.1	84.0	21.3	85.2	21.3	85.2
5	1.4	56.0	20.9	83.6	14.6	58.4
6	2.3	92.0	28.2	112.8	25.2	100.8
7	2.2	88.0	22.8	91.2	21.2	84.8
8	3.8	152.0	34.8	139.8	38.6	154.4
9	4.1	164.0	33.1	132.4	34.4	137.6
10	1.2	48.0	14.9	59.6	13.8	55.2
11	3.8	152.0	28.1	112.4	45.4	181.6
12	4.4	176.0	34.8	139.2	58.1	232.4
13	3.2	128.0	22.0	88.0	20.1	80.4
14	2.0	80.0	17.4	69.6	14.2	56.8
15	1.2	48.0	15.3	61.2	10.6	42.4
平均	2.8	110.3	25.3	101.1	28.0	112.0

F_N:氮增量 Nitrogen flush; B_N 微生物体氮 Microbial biomass nitrogen

由表 2 可以看出,用 3 种方法测定的微生物体氮比较接近,从 15 个土壤平均看,铵态氮法为 N 110.3μg/g,通气培养法为 N 101.13μg/g,淹水培养法为 N 112.03μg/g,铵态氮法与两种培养法之间高度正相关(表 3)。铵态氮法与淹水培养法间的回归系数(0.80)与 1.0 比较接近,而和通气培养法间的(1.48)与 1.0 差异较大。

用 3 种方法测定的微生物体氮和土壤有机碳有密切的正相关关系(表 4),表明土壤有机碳显著影响微生物体氮。土壤有机碳高的土壤,微生物数量大,微生物体氮所占分量相应增加[1,5]。由此可见,这 3 种方法在测定微生物体氮上具有共同的特点。

表 3 三种方法测定的微生物体氮之间的相关系数

Table 3 The Correlation coefficients between three methods

	好气培养法 Aerobic incubation	淹水培养法 Waterlogged incubation	铵态氮法 Ammonium N method
好气培养法	1	0.880***	0.879***
淹水培养法		1	0.908***
铵态氮法			1

$r_{0.001}(13)=0.760$

表 4 三种方法测定的微生物体氮与土壤有机碳之间的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between B_N obtained by using three methods and organic C

	好气培养法 Aerobic incubation	淹水培养法 Waterlogged incubation	铵态氮法 Ammonium N method
全部土壤	0.732**	0.599*	0.644*
除 3 号土壤	0.796**	0.618*	0.670*

$r_{0.05}(13)=0.514$, $r_{0.01}(13)=0.641$; $r_{0.05}(12)=0.532$, $r_{0.01}(12)=0.661$

2.2 新鲜易矿化有机物料对熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法的影响

培养试验表明(表 5),不管高肥力、还是低肥力土壤,用淹水培养法测定,加入有机物料后,熏蒸产生的氮增量比不加有机物料减少,平均减少 N 8.2μg/g(49.1%)。但用铵态氮法,两种土壤的氮增量(F_N)均较不加有机物料时增加,平均增加 N 1.9μg/g(126.7%)。加入有机物料后,丰富了能源物质,微生物数目明显高于对照(表 5)。以此比较,用淹水培养法测定的氮增量与微生物数目没有一致性,而铵态氮法与微生物数目的变化完全吻合。由此确定,土壤中新鲜易矿化有机物料仍然对淹水培养法测定氮增量有显著影响,表明这一方法同样不适合于测定富含易矿化有机物质土壤中的微生物体氮。铵态氮法快速又不受新鲜有机质的干扰,适合于易矿化有机物料较丰富的土壤,但当土壤微生物体氮含量较低时,由于浸提液中 NH_4^+-N 浓度低,测定误差较大,计算的微生物体氮与培养法有较大差异,在这种情况下,用淹水培养法似乎更加合理。

2.3 熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法的比较

从前面讨论看出,淹水培养法和铵态氮法有着各自的适用性,因此确定这 2 种方法测定的氮增量的相互转化系数,才能对微生物体氮进行相互比较。为了查明这一问题,同时用 2 种方法分别测定了从陕西杨陵、安塞和甘肃镇原采取的长期肥料定位试验耕层土样的氮增量。结果表明,用这 2 种方法测定的结果在相同土壤上的比值稳定(表 6),不受施肥的影响。红油土的比值为 10.1±0.8(n=7),黑垆土为 4.6±0.6(n=6),黄绵土为 4.1±0.6(n=7)。这种稳定的氮增量比值,为转化计算提供了基础。如红油土采取铵态氮法,则微生物体氮(B_N)可按下式计算:

表 5　易分解有机物料对氯仿熏蒸氮增量(F_N)和微生物体数目的影响

Table 5　Effects of easily decomposable organic material on both nitrogen flush fumigated with $CHCl_3$ and microorganism numbers

土壤 Soil	处理 Treatment		氮增量 F_N (N μg/g)	微生物数目 Microorganism numbers(×10^4/g) 细菌 Bacteria	放线菌 Actinomycetes	真菌 Fungi	总和 Total
16	对　照	淹水培养法	13.0	705.2	1.2	5.2	711.6
		铵态氮法	1.2				
	加茎叶	淹水培养法	8.1	3290.8	3.3	12.0	3306.1
		铵态氮法	2.4				
17	对　照	淹水培养法	20.1	2820.7	2.9	10.9	2834.5
		铵态氮法	1.8				
	加茎叶	淹水培养法	8.6	28207.2	1.2	90.5	28298.9
		铵态氮法	4.3				

表 6　熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法测定的氮增量

Table 6　N-flush measured by fumigation-waterlogged incubation method and fumigation-ammonium N method

	红油土 Manual loessial soil			黑垆土 Dark loessial soil			黄绵土 Loessial soil		
	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②
	66.3	6.3	10.5	15.9	3.1	5.1	4.9	1.1	4.5
	71.6	7.1	10.1	17.4	3.6	4.8	5.3	1.6	3.3
	40.6	4.6	8.8	18.5	3.8	4.9	9.6	2.0	4.8
	36.8	3.3	11.2	13.3	2.6	5.1	5.5	1.4	3.9
	36.3	3.7	9.8	18.2	4.4	4.1	4.6	1.0	4.6
	27.6	2.6	10.6	17.1	4.5	3.8	13.0	3.5	3.7
	25.6	2.6	9.8				12.5	3.5	3.6
平均			10.1±0.8			4.6±0.6			4.1±0.6

表 7　熏蒸-淹水培养法和熏蒸-铵态氮法测定的微生物体氮

Table 7　Microbial biomass nitrogen measured by fumigation-waterlogged incubation method and fuumigation-ammonium nitrogen method

	红油土 Manural loessiall soil			黑垆土 Dark loessial soil			黄绵土 Loessial soil		
	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②	培养法① Incubation	铵态氮法② AmmoniumN	①/②
	265.2	252.0	1.05	62.3	57.0	1.09	19.6	18.8	1.04
	286.4	284.0	1.01	69.6	66.2	1.05	21.2	26.2	0.81
	162.4	184.0	0.88	74.0	69.9	1.06	38.4	32.8	1.17
	147.2	132.0	1.12	53.2	47.8	1.11	22.0	23.0	0.96
	145.2	148.0	0.98	72.8	81.0	0.90	18.4	16.4	1.12
	110.4	104.0	1.06	68.4	82.8	0.83	52.0	57.4	0.91
	102.4	104.0	0.98				50.0	57.0	0.88
平均	174.2	172.6	1.01±0.08	66.7	67.5	1.01±0.11	31.7	33.1	0.98±0.13

$$B_N = 10F_N/K_N \quad 或 \quad B_N = 40F_N$$

式中 K_N 为矿化系数,取 0.25; F_N 为 NH_4^+-N 增量。

采用上述校正因数,用氮增量计算了长期肥料定位试验土样的微生物体氮(表 7),结果表明,两种方法测定的微生物体氮的比值平均为 1.0,用配对法 t 检验,两者之间无显著差异,计算的微生物体氮有相同结果。

参考文献

1 Smith, JL. Cycling of nitrogen through microbial activity. *In*: Hatfield JL, Stewart BA(eds.), Soil biology: Effect on soil quality, CRC Press, Inc., USA. 1994, 911~920.

2 Jennkinson DS. and Powlson DS. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil: V. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. Biochem., 1976, 8:209~213.

3 Shen SM, Pruden G and Jenkinson PS. Mineralization and immobilization of nitrogen in fumigated soil and the measurement of microbial biomass nitrogen. Soil Biol. Biochem., 1984, 16:437~444.

4 Brookes PC, Aader Landman, Pruden G and Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen. Soil Biol. Biochem., 1985, 17:837~842.

5 Brookes PC, Kragt JF, Powlson DS and Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: The effects of fumigation time and temperature. Soil Biol.Biochem., 1985, 17:831~835.

6 Jenkinson DS, Powlson DS and Wedderburn RWM. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil: Ⅲ. The relationship between soil biovolume, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation. Soil Biol. Biochem., 1976, 8:189~202.

7 Anderson JPE and Domsch KH. A physiologcal method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem., 1978, 10:215~221.

8 Paul EA, and Johnson RL. Microscopic counting and adenosine 5'—triphosphate measurement in determining microbial growth in soil. Appl. Environ. Microbiol., 1997, 34:263~269.

9 Ross DJ. Measurement of microbial biomass C and N in grassland soils by fumigation-incubation procedures: Influence of inoculum size and control. Soil Biol. Biochem., 1990, 22:289~294.

10 程丽娟.微生物学实验技术.杨陵:天则出版社,1993,111~116.

11 Keeney DR, and Bremner JM. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availabitity. Agron. J., 1996, 58:498~503.

12 Paul EA and Juma NG. Mineralization and immobilization of soil nitrogen by microorgamisms. *In*: Clark FE and Rosswall T (eds.), Terrestrial nitrogen cycles Ecological Bulletins (Stockholem). 1981, 33:179~195.

13 Smith KA and Scott A. Continuous-flow and discrete analysis. *In*: Smith KA (ed.). Soil analysis, Marcel Dekker, Inc. New York. 1983, 115~169.

14 Jenkinson DS and Powlson DS. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil: I. Fumigation with chloroform. Soil Biol. Biochem., 1976, 8:167~177.

15 沈善敏.无机氮对土壤矿化与固定的影响—兼论土壤氮的"激发效应".土壤学报,1986,23:10~16.

STUDY ON THE METHODS FOR MEASURING MICROBIAL BIOMASS NITROGEN IN SOILS

Li Shiqing　　Li Shengxiu

(*Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi* 712100)

Abstract: Fumigaton－0.5mol/L K_2SO_4 extracting NH_4^+-N directly (named briefly as NH_4^+-N method), fumigation-waterlogged incubation and fumigation-aerobic incubation methods were used to measure the NH_4^+-N flush(F_N) in 15 soils with a wide range of the organic matter, total nitrogen and C/N ratio. Results showed that there existed significant positive correlation and similar tendency in reflecting soil microbial biomass nitrogen among three methods. The nitrogen flush (F_N) measured by 2 incubation methods was almost the same, and microbial biomass nitrogen calculated from their F_N was also the same. To the manual loessial soils, the nitrogen flush measured by NH_4^+-N method was only one-tenth of that of 2 incubation methods. NH_4^+-N methods was almost equal to these measured by 2 incubation methods. The significant positive correlation existed between the soil microbial biomass nitrogen measured by three methods and soil organic carbon. The moisture condition was easily controlled and there was no ammonia volatilization loss in waterlogged incubatuon, and NH_4^+-N method had such advatages as simple and rapid, so both of the two methods were superior to the aerobic incubation method. Incubation experiment and results obtained by analysising soils collected from long-term experiments showed that nitrogen flush(F_N) and microbial biomass nitrogen calculated from F_N obtained from waterlogged incubatin decreased significantly when easily decomposable organic material being contained in the soil. However, the F_N measured with NH_4^+-N method was not affected by easily decomposable organic material. By comparing with microorganism numbers, the results indicated that the waterlogged incubation method was more suitable for soils with little easily decomposable organic material or with small microbial biomass nitrogen amount as the measurement error was smaller and the results were more reliable; vice versa, the NH_4^+-N method was more reliable for soils with rich easily decomposable organic material. The ratios of nitrogen flush in the same soils determined by the two methods is relatively stable and the ratios of microbial biomass nitrogen measured by two methods was 0.98～1.01, and the average ratio was 1.0, and was not affected by fertilization.

Key words: soil microbial biomass nitrogen; measuring method; fumigation-waterlogged incubation method; fumigation-ammonium nitrogen method