

薰蒸直接提取法测定生物量碳的研究

刘生浩

丸本卓哉

(南京农业大学)

(日本国山口大学农学部)

摘 要

本文用薰蒸直接提取法(FE法)测定了包括火山灰土在内的15种日本土样的生物量碳(BC)。经与薰蒸培养法(FI法)相比较,证实了FE法测定生物量碳的可靠性。对FE法提出了一些改进,并对 K_{EC} 的校正和使用进行了讨论。

在土壤微生物生物量的研究中,研究方法一直受到各国研究者的重视。薰蒸培养法^[1]的提出推动了微生物生物量的研究,并成为一种最为常用的方法^[2,3]。由于这一方法在应用上的某些局限^[3-5],加之测定所需时间太长,Brookes等人^[6]提出了一个新的生物量氮(B_N)测定方法——薰蒸直接提取法。1987年,Vance等^[7]提出用FE法测定BC,但这一方法仍需进一步完善。本研究的目的在于对FE法测定BC的一些条件和过程进行改进,从而提出一个简单可行的测定程序。

一、材料和方法

(一)供试土壤

供试的15种日本土壤的基本理化性质列于表1。

(二)生物量碳的测定

1. 薰蒸培养法:根据 Jenkinson 和 Powelson^[1]的方法并略加修改^[8]。薰蒸土壤培养10天后,培养过程中释放的 CO_2 采用重量法测定,生物量碳根据下式计算:生物量碳 = [(薰蒸土壤释放的 $CO_2 - C$) - (未薰蒸土壤释放的 $CO_2 - C$)]/ K_c , K_c 取0.45^[1]。

2. 薰蒸直接提取法:参照 Vance 等人的方法^[7]。生物量碳根据 $B_c = E_c \times 2.64$ 计算, E_c 为薰蒸土壤的有机碳减去未薰蒸土壤的有机碳量。

(三)土壤全氮测定 采用开氏法。

表1 供试土样的采集地及特性

土 号	采集地点	pH(H ₂ O)	全C(g/kg)	全N(g/kg)
1	宫崎A	6.8	7.5	0.8
2	炼早	7.1	12.2	1.4
3	秋吉A	5.9	20.4	2.2
4	山大	6.5	13.2	1.2
5	山口A	6.3	16.6	1.8
6	山口B	6.7	88.9	2.8
7	山口C	6.2	16.3	1.5
8	池田	5.9	52.4	4.1
9	秋吉B	6.1	103.2	6.5
*10	北海道	5.6	8.4	0.9
*11	千石台A	5.3	8.1	1.0
*12	宫崎B	5.9	10.3	1.1
*13	西台	6.3	20.4	2.3
*14	千石台B	6.1	80.3	5.4
*15	熊本	5.8	56.0	3.1

* 火山灰土

表2 土样用量对生物量碳测定影响

土样用量 (g)	生物量C(mg/100g±)				平均	标准差
	重		复			
	1	2	3	4		
50	33.3	33.5	35.9	34.6	34.3	±1.2
20	31.7	32.7	35.1	34.5	33.5	±1.6
15	37.2	39.3	35.9	39.6	37.9	±1.8
10	34.8	39.1	35.4	42.5	36.7	±3.6

二、结果与讨论

(一)土样用量对生物量碳测定结果的影响

响

采用山口 B 土样进行了不同用量的试验。分别采用 50g, 20g, 15g 和 10g 土壤进行 B_c 测定, 其结果没有太大差别(表 2), 分别为 34.3、33.5、37.9 和 36.7mg/100g 干土。使用 10g 土壤时, 标准误差稍大, 使用 20g 土和 50g 土时结果没有差别, 因此, FE 法测定 B_c 时使用 20 克土样比较合适。

(二)HgO 有无试验

根据 Vance 等的方法, 用 FE 法测定 B_c 时, 在测定过程中需加入 HgO。由于 HgO 具有毒性, 因此考虑能否不加 HgO 而准确测定 B_c 。试验采用 10 种不同土壤, 进行了加 HgO 和 不加 HgO 的对比试验, 结果表明加 HgO 和 不加 HgO 所测得结果没有差异(表 3)。 B_c (加 HgO) 和 B_c (不加 HgO) 之间具有显著的相关性, 其相关方程为: $y(\text{加HgO}) = 0.8667x(\text{不加HgO}) + 2.6350$, 相关系数 $r = 0.9895$ 。这表明用 FE 法测定生物量碳时, 不加 HgO 并不影响测定结果。

表 3 FI 法与 FE 法所测得生物量 C (mg/100g 土)

	FI 法		FE 法				Ec/Fc
	Fc	Bc	+HgO		-HgO		
非火山灰土			Ec	Bc	Ec	Bc	
1	2.6	5.8	2.0	5.2	2.5	6.8	0.96
2	5.8	12.9	2.7	7.1	4.8	12.7	0.83
3	6.9	15.4	5.6	14.8	5.5	14.5	0.79
4	8.2	18.2	10.8	28.5	9.6	24.4	1.17
5	16.6	36.8	15.2	40.2	14.3	37.7	0.86
火山灰土							
10	5.2	11.4	5.0	13.1	3.7	9.9	0.67
11	6.8	15.0	5.0	13.1	5.0	13.1	0.74
12	9.6	21.3	6.5	17.2	5.8	15.4	0.60
13	22.6	50.2	14.6	38.6	14.8	39.1	0.65
14	36.1	80.1	31.2	82.3	36.1	95.3	1.00

a 根据 $B_c = F_c/K_c$, $K_c = 0.45$; b 根据 $B_c = E_c/K_{ec} = 2.64E_c$

(三)薰蒸前的土壤含水量

所有供试土样经调节为 A、B 两种含水量后, 测定其生物量碳, 结果列于表 4。A、B 的原始含水量分别为 18% 和 25%。A、B 样品的含水量分别从 18% 调至 66%, 以及 25% 调至 70% 时所测 B_c 的结果没有太大的变化。也就是说, 测定 B_c 时调节含水没有实际意义。Vance 等人^[7] 曾指出, 在薰蒸前要将土壤含水量调到 50%。根据本试验结果, 作者认为, 对于新鲜土样无需调节含水量, 但对于风干土样则要调节含水量, 以便获得可靠的结果^[8]。

(四) 薰蒸培养法(FI法)和FE法所测BC的相关分析

自从1976年FI法问世以来,一直被广泛用于研究微生物生物量。除某些酸性较强的土壤和淹水的土壤外,FI法的可靠性已为大家所公认。我们选用5种火山灰土和5种非火山灰土,用FI法和FE法两种不同的方法进行了 B_C 测定。对两种方法所得结果进行回归分析后得到了 $y(\text{FI法}) = 0.8486x(\text{FE法}) + 3.3827$ 的回归方程,其相关系数 $r = 0.967$ 。结果表明二者之间存在着显著的相关性。因此,改进后的FE法是 B_C 测定的一种可靠的方法。

(五) 关于 K_{EC} 的选用

表3中列出了 E_C 和 F_C 的比值,其平均值为 $0.82 + 0.17$ 。这就是说,用氮仿薰蒸后,土壤中 K_2SO_4 溶液抽提的有机碳增量(E_C)比起土壤在10天培养过程中无机化的碳量(F_C)要小。如果我们把土壤中微生物生物量所拥有的碳量中,可被FE法直接提取出的比例用常数 K_{EC} 来表示的话,那么,生物量碳就可以用 $B_C = E_C/K_{EC}$ 来表示。对于 K_{EC} 值大多采用别的方法如ATP法、基质诱导呼吸法等来进行校正的。本试验用FI法对 K_{EC} 进行校正。根据 $B_C = E_C/K_{EC}$ 和 $B_C = F_C/K_C$,可以得出 $K_{EC} = E_C/F_C \times K_C$,取 $K_C = 0.45$ 时,

可求得 $K_{EC} = 0.37$ 。这与Vance等人^[7]求得的0.38非常近似。Sparling和West^[9]采用基质诱导呼吸法以及Tate等^[10]采用 ^{14}C 标记结合FI法都得出, $K_{EC} = 0.33$,而Sparling等^[11]对大量新西兰土壤究研后又提出了一个适用于新西兰土壤的 K_{EC} 值为0.35。这表明对于不同的土壤其 K_{EC} 值虽不完全相同,但也非常近似,表明微生物生物量具有一定的共性。虽然Ross^[12]认为不同的土壤应采用不同的 K_{EC} 值来计算BC值,但作者认为,为了便于常规应用,可以采用一个相对准确通用的 K_{EC} 值来计算生物量碳。

表4 薰蒸前土壤含水量对BC值的影响

土壤	含水量%	生物量C(mg/100g±)
A	18	23.8
	32	23.3
	44	24.9
	52	24.2
	66	23.8
B	25	33.2
	35	33.6
	48	34.2
	53	35.1
	61	35.8
	70	34.3

参 考 文 献

- [1] Jenkinsen, D. S. and D.S. Powlsen, soil Biol. Biochem., 8: 167—177, 1976.
- [2] Andersen, J.P.E. and K.H. Domsch, Soil Biol. Biochem., 10: 215—221, 1978.
- [3] Shen, S. M. et al., Soil Biol. Biochem., 19: 153—158, 1987.
- [4] Sparling, G. P. and B. L. Williams. Soil Biol. Biochem., 18: 507—513, 1986.
- [5] Inubushi, I. et al., Soil Biol. Biochem., 21: 741—742, 1989.
- [6] Brookes, P. C. et al., Soil Biol. Biochem., 17: 837—842, 1985.
- [7] Vance, E. D. et al., Soil Biol. Biochem., 19: 703—707, 1987.
- [8] Marumoto, T. Plant and Soil, 76: 165—173, 1984.
- [9] Sparling, G. P. and A. W. West, Soil Biol. Biochem., 20: 337—343, 1988.
- [10] Tate, K. R. et al., Soil Biol. Biochem., 20: 329—335, 1988.
- [11] Sparling, G. P. et al., Soil Biol. Biochem., 20: 301—307, 1990.
- [12] Ross, D. J. Soil Biol. Biochem., 22: 295—300, 1990.