

微量热法在土壤微生物研究中的应用进展^①

冯有智^{1,2}, 林先贵^{1,2*}

(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 中国科学院南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

摘要: 一切生命过程都伴随着热效应。微量热法可对这些热效应进行精确的跟踪, 并表征其过程。微量热法已广泛应用于医药、生化等研究领域, 但在土壤微生物研究中却鲜有应用。本文简要介绍微量热法的原理和实验方法, 综述其在土壤微生物研究中的应用现状并展望其应用前景, 以期土壤微生物研究提供新的思路和技术。

关键词: 微量热法; 土壤微生物; 代谢活性

中图分类号: X703

土壤微生物是使土壤具有生命力的主要成分, 与土壤肥力及土壤健康密切相关, 在土壤形成与发育、物质转化和能量传递等过程中发挥着重要作用, 是评价土壤生态系统的重要指标之一。土壤微生物学研究包含土壤中微生物的种类、数量、分布、生命活动规律及其与环境的关联, 可概括为土壤微生物多样性和生态功能两个方面。多样性研究针对土壤微生物遗传、结构和功能 3 个方面, 关键技术有基因指纹图谱(PCR-DGGE、T-RFLP 等), 磷脂脂肪酸图谱(PLFA)和单一碳源利用图谱(BIOLOG)等; 生态功能研究微生物在土壤中所行使的功能, 如有机质的降解、氮素的转化等, 主要以气体的通量、底物的转化率和土壤酶活性等为测定指标^[1]。土壤微生物代谢是多样性变化和生态功能发挥的基础。土壤微生物代谢研究可以更全面地评价土壤质量, 揭示微生物驱动的地球化学过程和外界对土壤生态系统的影响等。土壤微生物代谢过程中伴随着热量的变化, 微量热法可以敏锐地检测该变化。

微量热法是近年来发展起来的一种原位、实时、无破坏地研究生物/环境样品热力学与动力学的重要方法。所有化学、物理和生命过程都伴随着热效应。微量热法通过微量热仪对这些热效应进行精确的测定、合理的分析, 以表征其过程。研究已发现微量热法和土壤呼吸强度^[2]、土壤微生物生物量^[3]、微生物数量^[4]以及土壤酶活性^[5]有很高的相关性, 即微量热法可准确地表征土壤微生物生物学特性。微量热法虽已广泛应用于医药和生化等研究领域, 但在土壤微生物研

究中却鲜有报道。本文简述微量热法的原理, 综述其在土壤微生物研究中的应用现状, 展望其发展, 以期土壤微生物研究提供新的思路和技术。

1 微量热法的原理

1.1 微量热仪的工作原理

微量热法利用微量热仪灵敏、精确地监控样品的热效应。微量热仪主要由控温系统和测量系统组成(图1)。控温系统包括外水循环器、预加热器、精加热器和水浴温度调节器。测量系统包括测量腔、测量杯、安瓿系统、热电探头组件及电标定装置等组件。样品放入测量池后, 因某一过程的发生而产生热效应, 从而使其自身的温度发生改变。样品和散热片之间就存在一定的温差, 热量从样品流向散热片, 热量流动的



图1 微量热仪(TAM III 微热仪(TA Instrument, USA))原理图^[6]

Fig. 1 The principle of microcalorimetry

①基金项目: 国家自然科学基金项目(41071168, 41001142)资助。

* 通讯作者(xglin@issas.ac.cn)

作者简介: 冯有智(1978—), 男, 浙江宁波人, 博士, 副研究员, 主要研究方向为微生物生态与功能。E-mail: yzfeng@issas.ac.cn

速率与温差的大小成正比。高灵敏度的热电元件分布在反应容器的周围，将样品与环境之间传递的热量转化为电压，经放大后输出。待样品反应终止，与环境保持在相同温度，不再有热量输出，热电元件所产生的电压为零。

1.2 土壤微生物代谢活性的测定方法

以 TAM III 微量热仪 (TA Instrument, USA) 为例，原位测定土壤微生物代谢活性^[4]和细菌纯菌^[7]的方法简单介绍如下：先将待测样品于 28℃ 下预培养一天，活化微生物以及恒定样品温度；预培养结束后，取 1.2 g 土壤样品或 10⁶ cells/ml 的菌液放入灭菌的 4 ml 不锈钢安瓿瓶中，添加 0.2 ml 含有 5.0 mg 葡萄糖和 5.0 mg 硫酸铵溶液，以刺激和保证微生物生长；安瓿瓶用聚四氟乙烯封口，防止水分挥发和热量丢失；安瓿瓶置于微量热仪中 28℃ 培养，土壤微生物代谢活性以热功率值被计算机实时监控、记录，待信号终止即停止试验。

1.3 土壤微生物代谢活性的数学模型

微生物在生长和代谢过程中会发生热效应^[2]。在纯培养条件下，以时间为横坐标，以细菌数为纵坐标，根据不同培养时间细菌数量的变化，可以绘制出某个细菌生长曲线。假设一个细菌代谢放出的热功率为 p ，则 n 个细菌的热功率为 $P = n \cdot p$ 。根据每个时刻的热功率即可绘出细菌的生长产热曲线(生长热谱图)(图 2)。它们的停滞期、指数生长期、稳定期和衰亡期等均十分完整，与细菌生长曲线的各个阶段能很好地吻合。

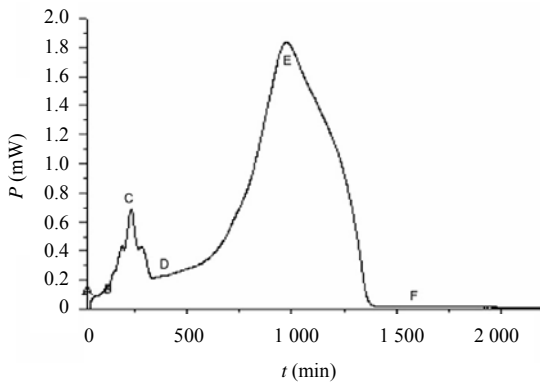


图 2 大肠杆菌在 37℃ 下的典型生长热谱图^[7]

Fig. 2 The power-time curve of *Escherichia coli* growth at 37℃

微生物在土壤中代谢的热动力学参数，如最大热功率 P_{max} ，最大热功率时间 t_{max} 和整体发热量 Q_T 都可以直接从测定的热功率 (P) - 时间 (T) 曲线获得 (图 3)。 P_{max} 和 Q_T 表征了土壤微生物最大和总热功率， t_{max}

表示达到 P_{max} 的时间。微生物活性越大， P_{max} 和 Q_T 值越高，而 t_{max} 值则越小^[4]。

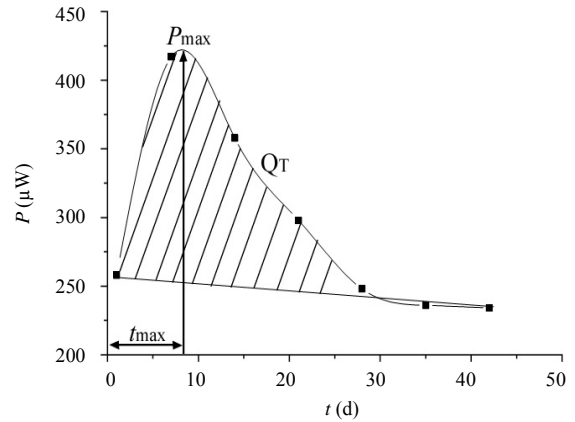


图 3 典型的 28℃ 下牛粪培育土壤释放的热动力学曲线^[8]

Fig. 3 The power-time curves obtained for soil amended with cattle manure at 28℃

细菌指数生长期内数量的变化遵循数学表达式^[9]:

$$n_t = n_0 e^{k(t-t_0)} \quad (1)$$

其中， n_0 是 t_0 时的细菌数量； n_t 是 t 时的细菌数量； k 是细菌在指数生长期时的生长速率常数。令每个细菌输出的热功率为 p ，则土壤微生物的总热功率为：

$$pn_t = pn_0 e^{k(t-t_0)} \quad (2)$$

$$\text{即 } P_t = P_0 e^{k(t-t_0)} \quad (3)$$

其中， P_0 为 t_0 时所测细菌的热功率； P_t 为 t 时所测细菌的热功率。微生物生长速率常数 k ，可以通过热力学动力方程：

$$\ln P_t = \ln P_0 + k(t-t_0) \quad (4)$$

计算获得。微生物活性越高、生长越快，则 k 值越大，反之亦然。

活化能 (E_a) 表征微生物生长需要的能量^[10]。利用阿列纽斯方程：

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (5)$$

$$\text{或 } \ln k = \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln A \quad (6)$$

$\ln k$ 后对温度的倒数 $1/T$ 作图，从直线的斜率可求得 E_a 。微生物活化能越高则代谢越快。

ΔH_{met} 表征土壤微生物降解有机质而释放的能量^[11]。由于微生物降解有机质释放的热功率和土壤有机质呈正相关，因此可得到公式：

$$Q_t = \Delta H_{met}(S_0 - S_t) \quad (7)$$

Q_t 和 S_t 为 t 时刻土壤微生物释放的热功率和土壤有机质含量。当有机质完全代谢后，通过公式：

$$\Delta H_{met} = \frac{Q_T}{S_0} \quad (8)$$

计算出 ΔH_{met} 。其中 Q_T 为总热功率，由功率-时间曲线的面积积分得到。 ΔH_{met} 数值的增加与土壤微生物数量和生长速率常数的增加呈正相关。

2 微量热法在土壤微生物研究中的应用

众所周知，土壤微生物是土壤生态系统敏感的生物指标。土壤微生物多样性和功能的改变有助于揭示环境变化对土壤生态系统的影响，如不同农田管理措施、全球气候变化、土壤污染等；土壤微生物过程的认知有助于我们了解土壤物质和能源的循环。土壤微生物多样性和功能的改变源于其代谢反应的变化，而代谢热效应也随之发生变化；土壤微生物在驱动物质和能量循环过程中也会释放热量。这些热变化可由微量热仪测量出来，并通过热力学参数和模型量化^[2,9,12]。

2.1 微生物菌种鉴定

纯培养技术是土壤微生物研究的一个重要方面，获得菌种并对其进行生理生化鉴定，可更好地揭示微生物的生态学意义^[13]。微生物，特别是细菌生长曲线中还包含有丰富的热力学和动力学信息^[14]。生长热谱图可作为微生物的“指纹图谱”，对其进行物种鉴别。微量热法已绘制出大肠杆菌^[6]和金黄色葡萄球菌^[15]等细菌的生长热谱图，并发现细菌的生长热谱图具有良好的特征性与重现性。微量热法还可鉴别细菌的变异株^[16]，如在不同的外界胁迫下，微生物会产生不同的基因型和表型，以及相应的生长热谱图^[17]。此外，因测定条件不同，同一细菌的热谱图及产热量也会有不同的变化，如接种量、培养基的种类、温度、pH值、氧气供应等都会影响细菌的生长热谱图。

2.2 土壤微生物量测定

微生物生物量或数量的改变源于土壤微生物活性的变化，两者之间存在很高的正相关性。Raubuch 和 Beese^[18]对森林土壤微生物的研究发现用微量热值和氧气消耗量来表征土壤微生物生物量碳时，两者具有很高的正相关性（ $r = 0.931$ ， $P < 0.01$ ），可以很好地表征土壤微生物生物量碳。Crittter 等^[3]对巴西 3 种农田土壤、3 种施肥处理的研究发现，土壤微生物生物量碳的变化与微量热值的变化呈极大正相关（ $r = 0.7443$ ， $P < 0.0001$ ）。土壤细菌和真菌的平板计数也得到相同的结果^[19]，微生物数量的变化与其微量热值差异存在显著的正相关性（细菌： $r = 0.8181$ ， $P = 0.0131$ ；真菌： $r = 0.8134$ ， $P = 0.014$ ）。因此，微量热法可以很好地表征土壤微生物生物量或数量。实际上，已有研究者利用微量热和土壤微生物生物量的正相关性来研究土壤微生物多样性和功能^[20]。此外，由于微量热法原

位测定的优势，能够获得比生物量碳的氯仿熏蒸法和微生物的可培养计数法更为准确的数值，能够更好地反映土壤微生物量上的变化^[11]。

2.3 典型环境因子影响分析

因人为活动的干预，如水旱轮作、全球变暖、长期不同施肥等，农田土壤理化性质等均发生变化。微量热法可以很好地揭示土壤微生物的响应，可以为农田生态系统资源的充分利用和可持续性发展提供科学依据和理论基础。水是微生物生长的重要因素。土壤含水量的变化不仅直接影响土壤微生物生长，还通过影响土壤物理化学性质，如氧化还原电势、pH值、 O_2 和 CO_2 等而间接地影响微生物多样性和功能^[21]。Barros 等^[22]研究了 5%、15%、29% 和 80% 土壤含水量对微生物活性的影响，发现土壤微生物总热功率（ Q_T ）和微生物生长速率常数（ k ）都同土壤含水量呈显著正相关（ $r = 0.984$ 、 0.992 ， $P < 0.01$ ）。该实验最终表明，田间持水量是测定微生物活性的最适含水量。Prado 和 Airoidi^[23]对红壤的研究也得到相同结果。

全球气候逐年升高，温度的改变对微生物生长也有很大影响。Barja 等^[10]研究温度对微生物活性影响时发现，微量热法通过微生物生长速率常数（ k ）可以计算出细菌生长所需的活化能（ E_a ），为 39.57 kJ/mol；随着环境温度的增加，微生物生长的活化能增加，即细胞更易于分裂，微生物生长加快。

微量热法还可以很好地表征不同植被和农田管理下土壤微生物的差异。Nunez-Regueira 等^[24]发现种植玉米的土壤微生物生长速率常数（0.641/h）要显著大于未种植作物的土壤微生物（0.126/h），即耕作土壤具有良好的物化性质和生物学特性，有助于农田生态系统质量和肥力的提升。Zheng 等^[25]对 7 种不同农业措施、不同植被的土壤微生物进行微量热法的研究发现，不同植被的土壤微生物热谱图首先分开，即植被对土壤微生物代谢的影响最大；其次，不同农业措施的土壤微生物热谱图也不相同。该研究为不同农业措施对农田生态系统影响的研究提供了科学数据。Zheng 等^[4]又利用中国科学院河南封丘长期野外台站 19 年长期不同施肥处理平台，发现均衡施肥土壤中微生物生长速率常数要大于非均衡施肥，但是单个微生物细胞的放热量要低于非均衡施肥，特别是在缺磷施肥情况下。该现象说明长期均衡施肥有助于农业土壤的“增汇减排”，并为潮土地区的合理施肥奠定了科学基础和提供了理论指导。

2.4 土壤物质循环研究

土壤微生物是土壤生态系统碳氮等循环的驱动

者。土壤微生物活性与土壤有机质含量紧密相关。Barros 等^[26]发现高有机质含量 (15.5%) 土壤中微生物生长速率常数高, 且土壤产生的热效应也高 (1.01 J/g), 这可能由于高含量的有机质刺激了土壤微生物生长而产生更多的热效应。Barja 和 Nunez^[27]也发现在添加有机质后, 土壤微生物生长速率常数增大。因此, 土壤微生物热效应可以很好地表征土壤有机质降解过程。虽然土壤微生物释放的 CO_2 速率常作为土壤有机质降解的测定指标, 但是 CO_2 数据却无法真实反映土壤有机质的变化^[28], 因为土壤有机质很多组成在微生物降解过程中并不会生成 CO_2 。而微量热法是测定土壤有机质降解的理想工具^[29-30], 因为土壤微生物参与土壤碳动力学中必然会释放热量, 而微量热仪可以方便、快捷地监测热量的变化, 建立热动力学模型, 揭示土壤碳动力学过程。Barros 等^[2]发现微生物微量热和 CO_2 数据结合可以更好地揭示土壤碳动力学过程, 并确信该方法必将成为今后土壤学研究的重要手段。

2.5 土壤污染研究

土壤是各种污染物的汇。土壤微生物作为土壤生态系统的生物指标, 由微量热仪检测的土壤微生物热谱图可以很好地反映出不同污染对土壤微生物活性的影响, 以及土壤微生物对部分污染物的降解和利用过程。

2.5.1 重金属污染 重金属污染是土壤污染的一个重要方面。多数重金属对微生物都具有很强的毒性, 微量热仪可以敏锐地测定并表征。Wang 等^[12]利用 ΔH_{met} 研究了 7 种重金属对土壤微生物活性的影响, 发现不同重金属对土壤微生物代谢活性的影响程度不等, 毒性由大到小分别是 $\text{Cr} > \text{Pb} > \text{As} > \text{Co} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Cu}$ 。Zhou 等^[31]对不同浓度的 Zn 对土壤微生物活性进行研究。由于 Zn 是生物生长所必需的元素之一, 低浓度 Zn 刺激了土壤微生物活性; 但当 Zn 浓度大于 1 920 $\mu\text{g/g}$ 后, 微生物活性开始受到抑制, 到达 6 000 $\mu\text{g/g}$ 时已无法检测出微生物代谢活性。与 Zn 不同, Yao 等^[32]发现随着 Cd 浓度增加, 土壤微生物热功率下降, t_{max} 增大, 即微生物代谢活性下降。Wang 等^[33]通过释放的热功率差异发现细菌和真菌协同比单菌种更易抵抗重金属的胁迫, 为不同生态位微生物的生态学意义研究提供了新的思路。

2.5.2 有机物污染 微量热法也已用于有机污染物对土壤微生物活性影响的研究。Chen 等^[34]对联苯酚 3 种同分异构体 (catechol, resorcinol 和 hydroquinone) 的研究发现, 联苯酚浓度的增加降低了土壤微生物生长速率常数, 使得微生物活性受到抑制, 数量减少;

且 3 种异构体的毒性依次为 hydroquinone > resorcinol > catechol。Wang 等^[9]对农药毒死蜱 (Chlorpyrifos (CPF)) 和其环境氧化降解产物 (Chlorpyrifos-Oxon (CPO)) 对土壤微生物活性的影响发现, CPO 的毒性是其母体 CPF 毒性的 26 倍。对 ΔH_{met} 和其他几个微量热值的分析发现土壤微生物在面对环境胁迫时, 能够将生命代谢活动消耗的能量 (比如繁殖或者生物体的生长) 转移为生存所需要的能量, 以抵抗这种胁迫。与重金属污染不同, 微生物还可以利用有机污染物为碳源, 最终降解此类污染物。Teeling 和 Cypionka^[35]发现有机污染的添加反而会一定程度上刺激土壤微生物的活性。对德国砂壤土的研究发现, 对照土壤热功率为 30.5 μW , 而添加了四乙基铅有机污染后, 土壤热功率超过了 150 μW ; 经灭菌土壤证实, 增加的热功率是由土壤微生物降解四乙基铅而生成的。

3 微量热法在土壤微生物研究中的展望

微量热法可以实时、原位和无干扰地检测土壤微生物活性变化, 可以定性、定量地表征土壤微生物代谢和生长。土壤微生物是土壤生态系统的敏感指标, 所有影响土壤微生物活性的因素都能够利用微量热法进行测定和分析。因此, 微量热法可以全面应用于土壤学研究中, 如土壤肥力的评价、土壤质量的评估、土壤微生物驱动的地球化学循环过程的揭示等。如全球气候正在变化, 大气中二氧化碳和臭氧浓度不断增加。不断变化的气候已给农田生态系统带来影响, 其中微生物多样性的改变虽已被发现, 但如果能从原位的微生物代谢活性角度出发可以更全面地揭示农田生态系统对全球气候变化的反应和反馈, 让我们更好地为未来的农业防灾和减灾工作做好准备。

虽然微量热法已用于土壤微生物活性和功能的研究, 但是如何利用该方法正确评价土壤微生物以及土壤生态系统却很少被探讨。目前的研究只是简单比较不同环境中土壤微生物的 P_{max} 、 Q_T 、 t_{max} 、 k 和 ΔH_{met} 等, 普遍认为 P_{max} 、 Q_T 、 k 和 ΔH_{met} 越大, t_{max} 越小越好。然而是否仅此就可以表征土壤生态系统的健康? 微生物产生的热功率和土壤肥力、土壤质量等是否完全正相关? 是否不同土壤生态系统的微生物热功率会有一个健康的上下阈值? 是否应该在某个参数或因子的前提下评价土壤微生物的热功率? 这些问题却还没有被提及。相信随着微量热法在土壤微生物研究中日益广泛的应用, 这些问题一定会迎刃而解。此外, 微量热法只是一种非特异性的检测手段, 要想在土壤这类复杂体系反应过程中获得更多的信息, 我们应将

微量热法和其他检测手段, 如高效液相色谱、质谱分析, 分子生物学方法如指纹图谱、高通量测序技术、实时定量 PCR 等结合起来; 并在实验方法上进一步优化, 使得微量热法更好地成为土壤微生物研究的重要手段和方法。

参考文献:

- [1] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法. 北京: 高等教育出版社, 2010
- [2] Barros N, Feijoo S, Hansen LD. Calorimetric determination of metabolic heat, CO₂ rates and the calorespirometric ratio of soil basal metabolism. *Geoderma*, 2011, 160(3/4): 542-547
- [3] Critter SAM, Freitas SS, Airolidi C. Microbial biomass and microcalorimetric methods in tropical soils. *Thermochimica Acta*, 2002, 394(1/2): 145-154
- [4] Zheng SX, Hu JL, Chen K, Yao J, Yu ZN, Lin XG. Soil microbial activity measured by microcalorimetry in response to long-term fertilization regimes and available phosphorous on heat evolution. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(10): 2 094-2 099
- [5] Ahamadou B, Huang QY, Chen WL, Wen SL, Zhang JY, Mohamed I, Cai P, Liang W. Microcalorimetric assessment of microbial activity in long-term fertilization experimental soils of Southern China. *Fems Microbiology Ecology*, 2009, 70(2): 186-195
- [6] Kong WK, Zhao YL, Shan LM, Xiao XH, Guo WY. Thermochemical studies on the quantity - Antibacterial effect relationship of four organic acids from *Radix Isatidis* on *Escherichia coli* growth. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31(7): 1 301-1 305
- [7] Dai CM, Wang JB, Kong WJ, Peng C, Xiao XH. Investigation of anti-microbial activity of catechin on *Escherichia coli* growth by microcalorimetry. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2010, 30(3): 284-288
- [8] Critter SAM, Freitas SS, Airolidi C. Microcalorimetric measurements of the metabolic activity by bacteria and fungi in some Brazilian soils amended with different organic matter. *Thermochimica Acta*, 2004, 417(2): 275-281
- [9] Wang F, Yao J, Chen HL, Chen K, Trebse P, Zaray G. Comparative toxicity of chlorpyrifos and its oxon derivatives to soil microbial activity by combined methods. *Chemosphere*, 2010, 78(3): 319-326
- [10] Barja MI, Proupin J, Nunez L. Microcalorimetric study of the effect of temperature on microbial activity in soils. *Thermochimica Acta*, 1997, 303(2): 155-159
- [11] Barros N, Feijoo S, Simoni A, Critter SAM, Airolidi C. Interpretation of the metabolic enthalpy change, ΔH_{met} , calculated for microbial growth reactions in soils. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2000, 63(2): 577-588
- [12] Wang F, Yao J, Si Y, Chen HL, Russel M, Chen K, Qian YG, Zaray G, Bramanti E. Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 173(1/3): 510-516
- [13] Kalyuzhnaya MG, Lapidus A, Ivanova N, Copeland AC, McHardy AC, Szeto E, Salamov A, Grigoriev IV, Suci D, Levine SR, Markowitz VM, Rigoutsos I, Tringe SG, Bruce DC, Richardson PM, Lidstrom ME, Chistoserdova L. High-resolution metagenomics targets specific functional types in complex microbial communities. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(9): 1 029-1 034
- [14] von Ah U, Wirz D, Daniels A. Isothermal micro calorimetry - a new method for MIC determinations: results for 12 antibiotics and reference strains of *E. coli* and *S. aureus*. *BMC Microbiology*, 2009, 9: 1-14
- [15] Xu XJ, Xue Z, Xiao Q, Hou AX, Liu Y. Antibacterial activities of novel diselenide-bridged bis(Porphyrin)s on *Staphylococcus aureus* investigated by microcalorimetry. *Biological Trace Element Research*, 2008, 125(2): 185-192
- [16] 汤厚宽, 何佶, 刘义, 汪存信, 谢昌礼, 屈松生. 细菌变异株生长热谱研究. *物理化学学报*, 1999, 15(12): 1 112-1 114
- [17] Sandy EH, Yao J, Zheng SX, Gogra AB, Chen HL, Zheng H, Yormah TBR, Zhang X, Zaray G, Ceccanti B, Choi MMF. A comparative cytotoxicity study of isomeric alkylphthalates to metabolically variant bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 182(1/3): 631-639
- [18] Raubuch M, Beese F. Comparison of microbial properties measured by O₂ consumption and microcalorimetry as bioindicators in forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31(7): 949-956
- [19] Critter SAM, Freitas SS, Airolidi C. Comparison between microorganism counting and a calorimetric method applied to tropical soils. *Thermochimica Acta*, 2002, 394(1/2): 133-144
- [20] Levy W, Radl V, Ruth B, Schmid M, Munch JC, Schroll R. Harsh summer conditions caused structural and specific functional changes of microbial communities in an arable soil. *European Journal of Soil Science*, 2007, 58(3): 736-745
- [21] Liesack W, Schnell S, Revsbech NP. Microbiology of flooded rice paddies. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24(5): 625-645
- [22] Barros N, Gomezoellana I, Feijoo S, Balsa R. The Effect of

- Soil-Moisture on Soil Microbial Activity Studied by Microcalorimetry. *Thermochimica Acta*, 1995, 249: 161-168
- [23] Prado AGS, Airoidi C. The influence of moisture on microbial activity of soils. *Thermochimica Acta*, 1999, 332(1): 71-74
- [24] Nunez-Regueira L, Nunez-Fernandez O, Anon JAR, Castineiras JP. The influence of some physicochemical parameters on the microbial growth in soils. *Thermochimica Acta*, 2002, 394(1/2): 123-131
- [25] Zheng SX, Yao J, Zhao B, Yu ZN. Influence of agricultural practices on soil microbial activity measured by microcalorimetry. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43(3): 151-157
- [26] Barros N, Feijoo S, Balsa R. Comparative study of the microbial activity in different soils by the microcalorimetric method. *Thermochimica Acta*, 1997, 296(1/2): 53-58
- [27] Barja I, Nunez L. Microcalorimetric measurements of the influence of glucose concentration on microbial activity in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31(3): 441-447
- [28] Knorr W, Prentice IC, House JI, Holland EA. Long-term sensitivity of soil carbon turnover to warming. *Nature*, 2005, 433(7023): 298-301
- [29] Barros N, Salgado J, Feijoo S. Calorimetry and soil. *Thermochimica Acta*, 2006, 458(1/2): 11-17
- [30] Plante AF, Fernandez JM, Leifeld J. Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma*, 2009, 153(1/2): 1-10
- [31] Zhou Y, Yao J, Choi MMF, Chen YJ, Chen HY, Mohammad R, Zhuang RS, Chen HL, Wang F, Maskow T, Zaray G. A combination method to study microbial communities and activities in zinc contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1/3): 875-881
- [32] Yao J, Xu CQ, Wang F, Tian L, Wang YX, Chen HL, Yong Z, Choi MMF, Bramanti E, Maskow T. An in vitro microcalorimetric method for studying the toxic effect of cadmium on microbial activity of an agricultural soil. *Ecotoxicology*, 2007, 16(7): 503-509
- [33] Wang F, Yao J, Chen HL, Zhou Y, Chen YJ, Chen HY, Gai N, Zhuang RS, Tian L, Maskow T, Ceccanti B, Trebse P, Zaray G. Microcalorimetric measurements of the microbial activities of single- and mixed-species with trivalent iron in soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72(1): 128-135
- [34] Chen HL, Yao J, Wang F, Choi MMF, Bramanti E, Zaray G. Study on the toxic effects of diphenol compounds on soil microbial activity by a combination of methods. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1/3): 846-851
- [35] Teeling H, Cypionka H. Microbial degradation of tetraethyl lead in soil monitored by microcalorimetry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1997, 48(2): 275-279

Advances in the Application of Microcalorimetry in Soil Microbiology Research

FENG You-zhi^{1,2}, LIN Xian-gui^{1,2}

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences)*, Nanjing 210008, China;

2 *Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences*

and *Hongkong Baptist University, Nanjing 210008, China*)

Abstract: All life processes are associated with heat effect. Microcalorimetry can sensitively track this heat effect and quantitatively characterize life processes. Though microcalorimetry has been extensively and intensively applied in medical and biochemical researching fields, it is hardly used in soil microbiology research yet. This article briefly introduced the principle and the protocol of microcalorimetry, reviewed advances in its application and prospects its development in soil microbiology research, in order to provide new technique and idea for soil microbiology research.

Key words: Microcalorimetry, Soil microbiology, Metabolic activity