

¹⁵N-氨基糖探针技术新用法:区分和量化土壤真菌和细菌固持无机氮速率

李晓波^{1,2}, 张旭东³, 马倩倩^{2*}, 何红波^{3*}

(1. 仲恺农业工程学院 资源与环境学院 广东省普通高校农业产地污染综合防治工程技术研究中心, 广州 510225; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 3. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016)

摘要: 土壤微生物对无机氮的固持作用是构成土壤保氮机制的重要组成。作为土壤微生物的两大主要类群, 真菌和细菌是微生物固持无机氮作用的主要参与者。然而, 由于土壤微生物的高度复杂多变性, 如何有效区分和量化土壤中真菌和细菌各自对无机氮的固持作用是个难题。针对该问题, 本文采用“氨基糖稳定同位素探针 (AS-SIP)”技术来区分和表征土壤中真菌、细菌各自对无机氮的固持速率。基于此进一步揭示了农业利用和外源碳输入分别对土壤真菌、细菌各自固持硝态氮作用的影响及原因, 构建了土壤中真菌、细菌各自固持无机氮实际速率的估算模型, 为区分和量化土壤中真菌、细菌各自对无机氮的实际固持速率提供了更为可信的新方法。本文介绍了 AS-SIP 技术原理、主要技术优势、应用案例、不足之处以及改进对策, 以期推进该方法的应用和发展。

关键词: 微生物无机氮固持; 氨基糖稳定同位素探针; 真菌; 细菌

中图分类号: S154 **文献标识码:** A **文章编号:** 0564-3945(2021)06-1473-06

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2021090704

李晓波, 张旭东, 马倩倩, 何红波. ¹⁵N-氨基糖探针技术新用法: 区分和量化土壤真菌和细菌固持无机氮速率 [J]. 土壤通报, 2021, 52(6): 1473 - 1478

LI Xiao-bo, ZHANG Xu-dong, MA Qian-qian, HE Hong-bo. Disentangling Immobilization of Inorganic Nitrogen by Fungi and Bacteria in Soil with Adapting a Novel Amino Sugar-based Stable Isotope Probing Approach[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2021, 52(6): 1473 - 1478

无机氮在土壤中不稳定性高, 易于损失, 例如淋洗、氨挥发、反硝化等。因此, 农业土壤中无机氮 (尤其是硝态氮) 的过度累积是导致氮素损失风险提高、氮肥利用率低下的重要原因之一^[1-7]。无机氮的微生物固持作用指土壤微生物利用无机氮作为氮源并转化为自身有机体组成部分。该微生物有机体氮可以经短期储存后进行再矿化产生铵态氮或者进入土壤稳定有机氮库长期保存。因此, 微生物对无机氮的固持功能有助于减少土壤氮素损失, 是构成土壤保氮机制的重要组成^[8-13]。

真菌和细菌作为土壤微生物的两大主要类群, 是微生物固持无机氮作用的主要参与者^[14-16]。由于在土壤中的生理、形态、生存方式和数量等特性迥异^[17-20], 真菌、细菌固持无机氮作用对于环境条件改变的响应也可能有所不同^[14,16,21]。然而, 由于土壤微生物的高度复杂多变性, 如何真实有效地区分并量

化两者各自对无机氮的固持作用是个难题。

微生物选择性抑制剂法是传统用来区分真菌、细菌各自固持无机氮潜力的唯一方法^[16]。但是, 选择性抑制剂具有特异性不高、用量难以控制等缺陷, 直接导致该方法所获结果可信度低^[14,22]。近两年, “氨基糖稳定同位素探针”技术 (Amino Sugar-based Stable Isotope Probing, 简称 AS-SIP) 被用来区分和表征更加接近于真实情形的土壤中真菌、细菌各自对无机氮的固持速率, 有望在土壤微生物氮素利用领域引领出新的学科增长点^[21-24]。

本文介绍了 AS-SIP 新用法的技术原理、主要优势以及应用案例, 讨论了 AS-SIP 新用法的不足之处以及未来发展方向, 以期推进该方法的应用和发展。

1 AS-SIP 新用法的技术原理

氨基糖作为微生物细胞壁的重要组成物质, 是

收稿日期: 2021-09-09; 修订日期: 2021-09-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41977097, 31600392), 广东省自然科学基金 (2019A1515012067)。

作者简介: 李晓波 (1984-), 男, 河南焦作, 博士, 副教授, 主要从事氮素循环及其环境效应研究, E-mail: li.xb.sun@gmail.com, 1984lxb@163.com

*通讯作者: E-mail: maqianqian@scbg.ac.cn; hehongbo@iae.ac.cn

土壤微生物同化碳、氮的储库^[25-26]。在可测的土壤氨基糖中，胞壁酸（MurN）唯一来源于细菌，氨基葡萄糖（GluN）主要来源于真菌^[25-27]。另外，氨基糖在土壤中较难分解，主要以微生物死亡残体的形式存在，一般与土壤有机碳、氮含量具有极强的正相关性^[28-30]。基于氨基糖的异源性和稳定性特点，国内外学者自 2000 年以来建立稳定同位素标记（¹⁵N 或 ¹³C）色谱/质谱联机测定技术（即氨基糖稳定同位素探针技术，AS-SIP）实现了对土壤中新合成和原有氨基糖的区分，从而使得微生物参与的土壤有机碳、氮周转研究取得突破性进展^[31-35]。

不同于以往把 AS-SIP 用于揭示土壤氨基糖库自身周转动态来反映土壤有机氮周转动态的常规用法，本文作者将 AS-SIP 发展来区分和表征土壤中真菌、细菌各自对无机氮的固持速率^[21-24]。方法原理：以土壤中氨基糖具有的异源性和稳定性两个基本特性为切入点，特别是稳定性特点（现有研究报道氨基糖在土壤中的平均周转时间至少大于 2 年，远长于活体微生物）^[36-38]，由此推知微生物新合成的氨基糖短期内大多积累在土壤中，包括活体微生物及其死亡残体中^[39-40]。基于此，利用添加¹⁵N 标记无机氮后短期培养内新合成真菌、细菌来源氨基糖（¹⁵N-GlcN 和 ¹⁵N-MurN）各自的累积速率来分别表征土壤真菌、细菌固持无机氮的速率。

AS-SIP 的新用法突破了常规采用选择性抑制剂的固有方法框架，开拓了一条探究土壤中真菌、细

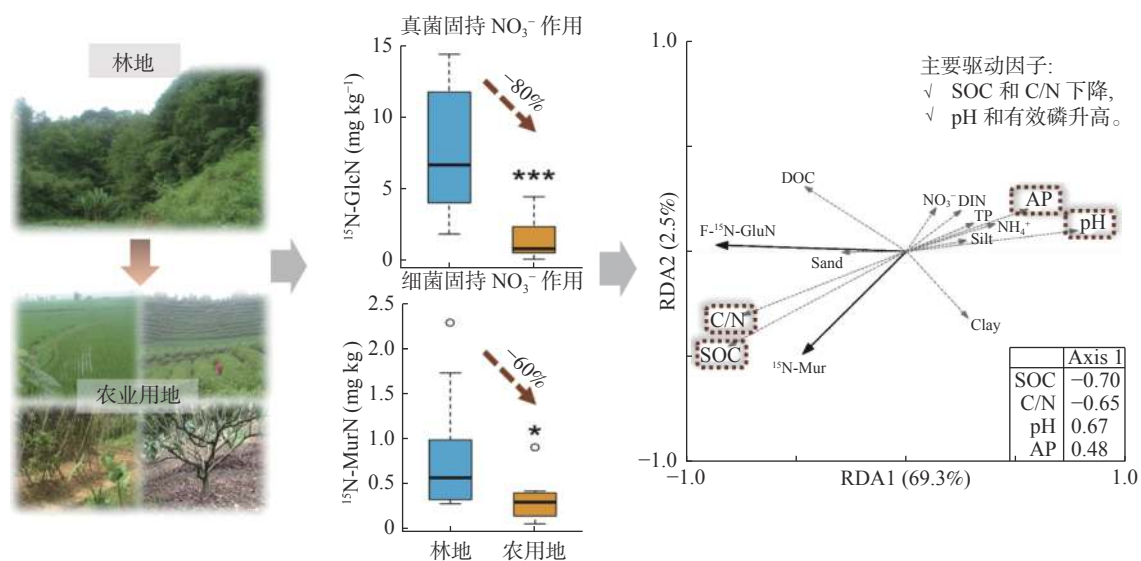
菌各自固持无机氮功能的新途径，赋予了 AS-SIP 技术一个新的研究应用领域，即区分和表征真菌、细菌固持无机氮的速率。与选择性抑制剂法相比，由于无需额外添加真菌或细菌选择性抑制剂，AS-SIP 新用法所获结果更加接近于实际情形。此外，由于氨基糖同时含碳原子，新方法对于研究土壤微生物对含碳底物的固持功能也具有重要借鉴意义。

2 方法应用案例及发展

基于新的 AS-SIP 用法，作者进一步揭示了农业利用和外源碳输入对土壤真菌、细菌各自固持硝态氮作用的影响及原因^[21-24]。具体如下：

案例一：土壤微生物固持硝态氮作用下降是导致亚热带农业红壤硝酸盐累积、氮素损失风险提高的重要原因^[10-12]。然而，作为土壤微生物的主要类群，真菌、细菌各自固持硝态氮作用对于农业利用如何响应还未知。

基于 AS-SIP 新用法，比较了华南地区不同土地利用方式下红壤真菌、细菌各自固持硝态氮速率的表征值，同时结合土壤理化因子测定，发现：农业利用导致森林红壤真菌、细菌固持硝态氮作用均显著下降，并且真菌固持硝态氮作用的降幅（81%）高于细菌（61%）；与细菌相比，真菌固持硝态氮作用的下降不仅与农业利用所导致的土壤有机碳和碳氮比下降有关，而且还与 pH 和有效磷升高显著相关（图 1）。



注：短期培养内新合成真菌、细菌来源氨基糖（¹⁵N-GlcN 和 ¹⁵N-MurN）各自的累积速率分别表征土壤真菌、细菌固持 NO₃⁻ 的速率。

Note: The cumulative amounts of newly formed ¹⁵N-GlcN and ¹⁵N-Mur at the end of incubation were used as proxies of fungal and bacterial NO₃⁻ immobilization rates.

图 1 农业利用降低土壤微生物固持硝态氮功能的机制^[21]

Fig.1 Mechanisms of decreasing soil microbial nitrate immobilization in agricultural land-use^[21]

该工作的主要科学意义在于提出 AS-SIP 的新用法, 基于此区分并表征了农业利用对于土壤真菌、细菌各自固持硝态氮速率的影响, 进一步揭示了农业利用导致红壤微生物固持硝态氮作用下降的内在机制, 有助于认清农业土壤硝酸盐累积的原因, 进而制定合理应对措施^[21]。

案例二: 农作物秸秆作为农业生产中重要的副产品, 一般具有较高的碳、氮含量, 且碳氮比一般高于微生物体, 是重要的有机物料来源。施加具有较高碳氮比的有机物料被普遍认为可以有效提高土壤微生物固持硝态氮作用^[41-43]。这恰好与案例一所发现的有机碳和碳氮比下降可能是导致农业利用红壤真菌、细菌固持硝态氮作用下降的主要原因相互印证。然而, 真菌、细菌各自固持硝态氮作用对于外源碳添加的响应还未知。

同样基于 AS-SIP 新用法, 以南方典型坡地果园红壤为研究对象, 通过设置不同梯度的常见坡地覆盖植物残体添加实验, 同步结合土壤微生物群落组成测定。结果发现: 植物残体添加同时提高了土壤真菌、细菌固持硝态氮作用, 并且对于前者的提高作用更大; 真菌、细菌生物量分别可以解释各自固持硝态氮作用变化的 70% 和 32%; 真菌、细菌生物量比值可以解释真菌、细菌固持硝态氮作用相对变化的 49%。

该方法的主要科学意义在于最先区分并表征了外源碳输入对于土壤真菌、细菌各自固持硝态氮作用的影响, 在此基础上初步阐明了外源碳输入、微生物群落结构改变(即: 土壤真菌、细菌数量及真菌细菌比同时增加)、微生物固持硝态氮功能提升(即: 土壤真菌、细菌固持硝态氮功能及二者相对优势同时增加)和土壤持留硝态氮能力提高四者之间的内在关联, 进一步揭示了外源碳输入对于土壤微生物固持硝态氮作用的影响机制, 为合理利用氮肥及有机物料、解决农业土壤硝酸盐累积问题提供了科学依据(图 2)^[24]。

然而, 由于土壤微生物种类复杂多样且组分各异, 土壤中真菌、细菌有机体的氨基糖含量以及微生物体不同含氮组分(包括氨基糖)的周转速率难以测定^[40,44-45]。这导致无法由 AS-SIP 所获取的土壤真菌、细菌各自固持无机氮速率的表征值(即: 真菌、细菌来源新合成氨基糖的积累速率)来推知二者固持无机氮的实际速率, 也就无法比较两类微生

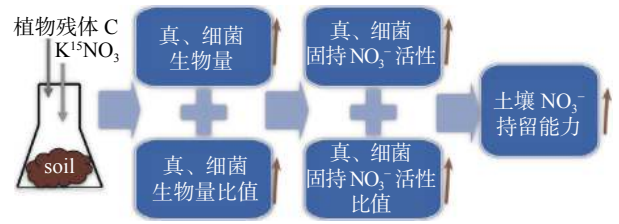


图 2 植物残体添加增加土壤微生物固持硝态氮功能的作用机制^[24]

Fig.2 Mechanisms of plant residue incorporation improving soil microbial nitrate immobilization^[24]

物对于无机氮固持作用的实际贡献大小。

针对该问题, 作者采用逆向思维模式绕开了 AS-SIP 的上述方法瓶颈, 结合可以通过实验测定的真菌、细菌各自固持无机氮速率的表征值(采用 AS-SIP 测定)和土壤微生物无机氮固持初级速率(例如采用 ^{15}N 稀释技术测定), 构建出线性回归估算模型, 利用最小二乘法原理反推出土壤中真菌、细菌各自固持无机氮速率的表征值和各自实际固持速率之间的转换系数, 最终估算出真菌、细菌各自固持无机氮实际速率^[23]。

作者利用公开发表数据对估算模型的应用进行了演示^[23]。具体而言: 土壤微生物固持硝态氮初级速率和真菌、细菌各自固持硝态氮速率的表征值分别源于 Zhang et al. (2013)^[10] 和 Li et al. (2019)^[21]。该两项研究均报道了我国亚热带地区森林转变为农田对红壤微生物固持硝态氮作用的影响, 发现农业利用导致微生物固持硝态氮作用下降, 且真菌、细菌固持作用均下降, 前者降幅大于后者。然而, 真菌、细菌固持硝态氮的相对贡献及其对于土地利用方式改变的响应还未知。基于新的估算模型, 利用以上发表数据计算得出: 真菌不仅在不同土地利用方式下红壤微生物固持硝态氮作用中起主导作用, 而且对农业利用所导致的红壤微生物固持硝态氮作用下降也负主要责任。

3 问题与展望

同位素示踪技术在土壤学研究中的应用需要注意示踪元素(例如 ^{15}N)的微生物循环再利用问题, 这可能导致测定结果与实际情形产生偏差。以 AS-SIP 技术为例, 特定类群微生物同化利用 ^{15}N 标记无机氮生成的化合物可能快速被其他土壤生物所同化利用^[46], 最终影响测定结果的可信性。鉴于该不足之处, 未来可以考虑结合现有相关方法的优缺点, 联

合运用多种方法来提高结果的可信度,例如基于 AS-SIP 技术结合估算模型获得的真菌、细菌固持无机氮速率可以与同步采用¹⁴C 标记前体分子结合微生物标识物分析法测定的真菌、细菌生长速率进行互相对比及验证^[47]。

AS-SIP 的新用法为区分和量化土壤中真菌、细菌各自对无机氮的固持功能提供了更加可信的解决途径,有望初步定量揭示土壤微生物群落结构和无机氮固持功能之间的内在关联,从而显著推进微生物介导的土壤氮素保蓄研究。同样,由于氨基糖同时包含碳元素,新方法对于量化土壤微生物对含碳底物的固存功能也具有重要借鉴意义。因此,AS-SIP 新用法有望催生土壤微生物碳、氮利用研究领域新的学科增长点。

参考文献:

- [1] Huddell A M, Galford G L, Tully K L, et al. Meta-analysis on the potential for increasing nitrogen losses from intensifying tropical agriculture[J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(3): 1668 – 1680.
- [2] Yang S, Wu H, Dong Y, et al. Deep nitrate accumulation in a highly weathered subtropical critical zone depends on the regolith structure and planting year[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(21): 13739 – 13747.
- [3] Zhou J, Gu B, Schlesinger W H, et al. Significant accumulation of nitrate in Chinese semi-humid croplands[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25088.
- [4] Zhu X, Fu W, Kong X, et al. Nitrate accumulation in the soil profile is the main fate of surplus nitrogen after land-use change from cereal cultivation to apple orchards on the loess plateau[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 319: 107574.
- [5] 蔡祖聪, 赵 维. 土地利用方式对湿润亚热带土壤硝化作用的影响[J]. *土壤学报*, 2009, 46(5): 795 – 801.
- [6] 巨晓棠, 张福锁. 中国北方土壤硝态氮的累积及其对环境的影响[J]. *生态环境*, 2003, (1): 24 – 28.
- [7] 吴萍萍, 刘金剑, 周 毅, 等. 长期不同施肥制度对红壤稻田肥料利用率的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2008, 14(2): 277 – 283.
- [8] Davidson E A, Hart S C, Firestone M K. Internal cycling of nitrate in soils of a mature coniferous forest[J]. *Ecology*, 1992, 73(4): 1148 – 1156.
- [9] Stark J M, Hart S C. High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests[J]. *Nature*, 1997, 385(6611): 61 – 64.
- [10] Zhang J, Zhu T, Meng T, et al. Agricultural land use affects nitrate production and conservation in humid subtropical soils in china[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 62: 107 – 114.
- [11] Zhang W, Zhang X, Bai E, et al. The strategy of microbial utilization of the deposited n in a temperate forest soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2019: 1 – 9.
- [12] Zhu T, Zhang J, Meng T, et al. Tea plantation destroys soil retention of NO₃⁻ and increases N₂O emissions in subtropical china[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 73(0): 106 – 114.
- [13] 程 谊, 黄 蓉, 余云飞, 等. 应重视硝态氮同化过程在降低土壤硝酸盐浓度中的作用[J]. *土壤学报*, 2017, 54(6): 1326 – 1331.
- [14] Bottomley P J, Taylor A E, Myrold D D. A consideration of the relative contributions of different microbial subpopulations to the soil N cycle[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 373 – 373.
- [15] Boyle S A, Yarwood R R, Bottomley P J, et al. Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under douglas fir and red alder at two sites in oregon[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(2): 443 – 451.
- [16] Myrold D D, Posavatz N R. Potential importance of bacteria and fungi in nitrate assimilation in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(7): 1737 – 1743.
- [17] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407 – 2415.
- [18] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. Fungal and bacterial growth responses to N fertilization and pH in the 150-year ‘park grass’ uk grassland experiment[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2011, 76(1): 89 – 99.
- [19] Six J, Frey S D, Thiet R K, et al. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70(2): 555 – 569.
- [20] Waring B G, Averill C, Hawkes C V. Differences in fungal and bacterial physiology alter soil carbon and nitrogen cycling: Insights from meta-analysis and theoretical models[J]. *Ecology Letters*, 2013, 16(7): 887 – 894.
- [21] Li X, He H, Zhang X, et al. Distinct responses of soil fungal and bacterial nitrate immobilization to land conversion from forest to agriculture[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 134: 81 – 89.
- [22] Anderson J P E, Domsch K H. Measurement of bacterial and fungal contributions to respiration of selected agricultural and forest soils[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1975, 21(3): 314 – 322.
- [23] Li X, He H, Zhang X, et al. Calculation of fungal and bacterial inorganic nitrogen immobilization rates in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 153: 108114.
- [24] Li X, Li Z, Zhang X, et al. Disentangling immobilization of nitrate by fungi and bacteria in soil to plant residue amendment[J]. *Geoderma*, 2020, 374: 114450.
- [25] Methods using amino sugars as markers for microbial residues in soil//Amelung W Assessment methods for soil carbon. Lewis Publishers Boca Raton, 2001: 233-272
- [26] Stevenson F J. Isolation and identification of amino sugars in soil[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1983, 47: 61 –

- 65.
- [27] Chemistry and distribution of amino sugars in soils and soil organisms//Parsons J W Soil biochemistry. New York: Marcel Dekker, 1981: 197-227
- [28] Amelung W, Zhang X, Zech W, et al. Amino sugars in native grassland soils along a climosequence in north america[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, 63(1): 86 – 92.
- [29] Zhang X, Amelung W. Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, mannosamine, and galactosamine in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(9): 1201 – 1206.
- [30] Zhang X, Amelung W, Zech W. Can amino sugars serve as indicators of climate variations and land use on soil organic matter[J]? *Advances in Geocology*, 1998, 31: 225-230
- [31] He H, Xie H, Zhang X. A novel GC/MS technique to assess ^{15}N and ^{13}C incorporation into soil amino sugars[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 1083 – 1091.
- [32] He H, Zhang W, Zhang X, et al. Temporal responses of soil microorganisms to substrate addition as indicated by amino sugar differentiation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(6): 1155 – 1161.
- [33] Liang C, Balsler T C. Mass spectrometric characterization of amino sugar aldonitrile acetate derivatives used for isotope enrichment assessment of microbial residues[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(6): 904 – 909.
- [34] Reay M K, Knowles T D J, Jones D L, et al. Development of alditol acetate derivatives for the determination of ^{15}N -enriched amino sugars by gas chromatography–combustion–isotope ratio mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(5): 3397 – 3404.
- [35] 李晓波, 张 威, 田秋香, 等. 尿素向氨基糖的转化以及对土壤氨基糖库动态的影响[J]. *土壤学报*, 2011, 48(6): 1189 – 1195.
- [36] Derrien D, Amelung W. Computing the mean residence time of soil carbon fractions using stable isotopes: Impacts of the model framework[J]. *European Journal of Soil Science*, 2011, 62(2): 237 – 252.
- [37] Glaser B, Millar N, Blum H. Sequestration and turnover of bacterial- and fungal-derived carbon in a temperate grassland soil under long-term elevated atmospheric pCO_2 [J]. *Global Change Biology*, 2006, 12(8): 1521 – 1531.
- [38] Liu X, Hu G, He H, et al. Linking microbial immobilization of fertilizer nitrogen to in situ turnover of soil microbial residues in an agro-ecosystem[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2016, 229: 40 – 47.
- [39] Glaser B, Turrión M a-B, Alef K. Amino sugars and muramic acid —biomarkers for soil microbial community structure analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(3): 399 – 407.
- [40] Gunina A, Dippold M, Glaser B, et al. Turnover of microbial groups and cell components in soil: ^{13}C analysis of cellular biomarkers[J]. *Biogeosciences*, 2017, 14(2): 271 – 283.
- [41] Cao Y, He Z, Zhu T, et al. Organic-C quality as a key driver of microbial nitrogen immobilization in soil: A meta-analysis[J]. *Geoderma*, 2021, 383: 114784.
- [42] Chen Z, Zhang H, Tu X, et al. Characteristics of organic material inputs affect soil microbial NO_3^- immobilization rates calculated using different methods[J]. *European Journal of Soil Science*, 2020, n/a(n/a)
- [43] Cheng Y, Wang J, Wang J, et al. The quality and quantity of exogenous organic carbon input control microbial NO_3^- immobilization: A meta-analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115(Supplement C): 357 – 363.
- [44] Appuhn A, Joergensen R G. Microbial colonisation of roots as a function of plant species[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 1040 – 1051.
- [45] Engelking B, Flessa H, Joergensen R G. Shifts in amino sugar and ergosterol contents after addition of sucrose and cellulose to soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(8): 2111 – 2118.
- [46] Neufeld J D, Dumont M G, Vohra J, et al. Methodological considerations for the use of stable isotope probing in microbial ecology[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 53(3): 435 – 442.
- [47] Rousk J, Bååth E. Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2007, 62(3): 258 – 267.

Disentangling Immobilization of Inorganic Nitrogen by Fungi and Bacteria in Soil with Adapting a Novel Amino Sugar-based Stable Isotope Probing Approach

LI Xiao-bo^{1,2}, ZHANG Xu-dong³, MA Qian-qian^{2*}, HE Hong-bo^{3*}

(1. *Engineering and Technology Research Center for Agricultural Land Pollution Integrated Prevention and Control of Guangdong Higher Education Institutes, College of Resources and Environment, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, P. R. China*; 2. *South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China*; 3. *Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016*)

Abstract: Microbial inorganic nitrogen (N) immobilization is an important mechanism in the retention of N in soils. Due to the high diversity and complexity of soil microorganisms, how to distinguish and quantify the inorganic N immobilization by fungi and bacteria is a challenging issue. The amino sugar-based stable isotope probing (AS-SIP) approach has been used to indicate the respective inorganic N immobilization rates of fungal and bacterial communities in soils. The effects of agricultural land-use and exogenous organic carbon input on the respective fungal and bacterial nitrate immobilization in soil were unraveled for the first time. Furthermore, a mathematical framework, combining the experimentally measurable gross inorganic N immobilization rate and proxies for fungal and bacterial inorganic N immobilization rates, was proposed to quantify the respective immobilization rates of inorganic N by fungal and bacterial communities in soil. This paper introduces the principle, advantages, case studies, limitations, and coping strategies of this novel AS-SIP approach, aiming to promote its development and application.

Key words: Inorganic nitrogen immobilization; Amino sugar-based stable isotope probing; Fungi; Bacteria

[责任编辑: 刘轶飞]