

不同分子量壳聚糖对土壤碳、氮及呼吸的影响

张文清^{1,*}, 吕伟娇¹, 陈 强², 李辉信³

(1. 华东理工大学化学系, 2. 华东理工大学化工学院, 上海 200237; 3. 南京农业大学资环学院, 南京 210095)

摘要:考察了不同分子量壳聚糖对土壤微生物量 C、N、土壤呼吸及矿质 N 的影响。研究发现: 不同分子量的壳聚糖施入土壤后, 土壤的微生物量 C、N、呼吸及矿质 N 均明显提高。微生物量 C、N 及土壤呼吸有相似的变化趋势: 随壳聚糖用量的增加而增大。低分子量壳聚糖施入土壤后, 微生物量 C、N 及土壤呼吸均先快速增加, 然后下降; 中等及高分子量壳聚糖施入土壤后则是开始时变化较小, 第 14 天开始快速增加, 34d 后下降。研究还发现, NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 变化趋势不完全相同, NO_3^- -N 开始时变化较小, 第 14 天开始快速增加, 34d 后快速下降; 低分子量壳聚糖处理时, NH_4^+ -N 开始时快速增加, 之后缓慢下降; 中等分子量壳聚糖处理时, 因加入量不同而不同; 高分子量壳聚糖处理时则是从第 24 天开始变化显著。

关键词: 壳聚糖; 土壤微生物量碳、氮; 土壤呼吸

文章编号: 1009-0933(2006)04-1280-05 中图分类号: Q538 文献标识码: A

The effect of molecular weight of chitosan on soil's carbon, nitrogen and soil respiration

ZHANG Wen-Qing^{1,*}, LÜ Wei-Jiao¹, CHEN Qiang², LI Hui-Xin³ (1. Department of Chemistry, 2. School of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 3. School of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(4): 1280~ 1284.

Abstract: The molecular weight (MW) of chitosan added to the soil ecosystem has an apparent influence on the microbial biomass carbon and nitrogen (MBCN) from soil, soil respiration rate (SRR) and the mineral nitrogen e.g. NO_3^- -N and NH_4^+ -N in soil, all of which increase with the amount of chitosan used. In the case of chitosan with lower MW, the MBCN, SRR and the NH_4^+ -N increase rapidly first, and then gradually decrease. When chitosan with either medium or high MW was applied, no apparent change was observed on the MBCN and SRR at the initial period, starting from the 14th day they increase rapidly, followed by the decrease after 34 days. The changes of NO_3^- -N follow the same trend as that the MBCN and SRR exhibited. This is in contrast to the NH_4^+ -N. The latter increases significantly at the beginning of the addition of chitosan with lower molecular weight to the soil, and then slows down. When chitosan with medium MW was applied, the changes of NH_4^+ -N were directly associated with the concentration of chitosan. After chitosan with high MW was added to the soil, one cannot observe the considerable changes of NH_4^+ -N until the 24th day.

Key words: chitosan; microbial biomass carbons and nitrogens; soil respiration

壳聚糖(Chitosan)为甲壳素(Chitin)脱乙酰化产物, 学名为 β -1,4-2-氨基-2-脱氧-D-葡聚糖, 是天然糖中唯一大量存在的碱性多糖。它在医学、食品、化工、环保等方面用途十分广泛^[1,2]。在农业方面被用作植物生长调节剂、植物病害抑制剂、果蔬保鲜剂, 可以促进植物生长, 提高产品品质, 诱导植物的抗病性^[3,4]。在自然界

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关资助项目(农科攻字(2002)第4-3-2号)

收稿日期: 2004-11-15; 修订日期: 2005-12-10

作者简介: 张文清(1969~), 女, 山东淄博人, 博士, 副教授, 主要从事天然产物的研究与开发。E-mail: zhwqing@ecust.edu.cn

Foundation item: The project was supported by Shanghai key project of reinvigorate agriculture through science and technology(No. (2002)4.3.2)

Received date: 2004-11-15; **Accepted date:** 2005-12-10

Biography: ZHANG Wen-Qing, Ph. D., Associate professor, engaged in concerns the R & D of the natural products. E-mail: zhwqing@ecust.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

中,壳聚糖的降解主要依赖于微生物的作用。土壤微生物是土壤中物质循环的调节者,在有机质的矿化、腐殖质的形成和分解、植物营养的转化等诸多过程中起着不可替代的作用^[5]。目前壳聚糖与微生物之间关系的报道主要集中在壳聚糖对动、植物致病菌的抑制方面,但将壳聚糖直接施入土壤,并研究其与土壤微生物之间的作用方面未见报道。由于不同分子量的壳聚糖其结构及 C/N 不同,对微生物影响也不同,因而本文研究了不同分子量壳聚糖对土壤微生物量 C、N、土壤呼吸及土壤矿质氮的影响,并对其作用机理进行了探讨,为壳聚糖在农业上的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤为江苏省南京市雨花台区板桥镇长江冲积性潮土,耕层土壤。土壤基本性状:土壤有机 C 为 $8.30\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全 N 为 $0.72\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,矿质 N 为 $52.55\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,速效 P 为 $27.55\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,速效 K 为 $49.50\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,砂粒 ($> 0.05\text{mm}$) 含量为 57.5%,粘粒 ($< 0.002\text{mm}$) 含量为 15.9%,pH 为 5.88。土壤采集后挑去石块、根系,风干后磨细。试验开始前 5d,将土壤复湿,调整其水分含量至最大田间持水量的 65%,室温下培养,并在培养期间不断加水保持这一水分含量。

供试壳聚糖 G-1, G-2, G-3 由上海伟康生物制品有限公司提供。壳聚糖 G-1, G-2, G-3 的分子量分别为: 3×10^3 , 1.85×10^4 , 9.61×10^5 。

1.2 试验处理

本试验共设 6 个处理,处理 2、4 和 6 加入相同比例但不同分子量的壳聚糖,处理 3、4 和 5 加入不同比例、同一分子量的壳聚糖,每个数据取 3 次重复:

- (1) 对照,即不加壳聚糖;
- (2) 加入壳聚糖 G-1(壳聚糖/鲜土= 1/100);
- (3) 加入壳聚糖 G-2(壳聚糖/鲜土= 0.2/100);
- (4) 加入壳聚糖 G-2(壳聚糖/鲜土= 1/100);
- (5) 加入壳聚糖 G-2(壳聚糖/鲜土= 2/100);
- (6) 加入壳聚糖 G-3(壳聚糖/鲜土= 1/100)。

1.3 培养采样与分析方法

按照试验处理中的比例,将壳聚糖与鲜土均匀混合,按 3kg/钵土装盆。将试验在第 1、3、7、14、24、34、44、54 天采样,共采样 8 次,每次均在不同钵中采土 250g。

土壤微生物量 C、N 用氯仿熏蒸 K_2SO_4 直接浸提法测定^[6]。浸提液中微生物量碳的测定用重铬酸钾-混酸(硫酸:磷酸= 2:1)消煮,硫酸亚铁铵滴定法。微生物量 N 的测定采用凯氏定氮法。

土壤呼吸采用 NaOH 吸收,标准酸滴定法^[6]:称取 20g 鲜土于 250ml 塑料瓶中,小心放入盛有 5ml NaOH 的 10ml 小玻璃瓶,塑料瓶加盖密封,于 28℃ 恒温培养 24h,取出小玻璃瓶,将 NaOH 溶液倒入 100ml 三角瓶中,加入 BaCl_2 溶液 2ml,酚酞指示剂 2 滴,用标准 HCl 滴定至红色消失。另设不加土壤的空白对照。以每小时所放出 CO_2 的量表示土壤的呼吸强度。

土壤 NO_3^--N , NH_4^+-N 采用 $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 溶液浸提,AutoAnalyzer3 流动分析仪(美国 BRAN+ LVEBBE 公司)测定。

2 结果与讨论

2.1 不同分子量壳聚糖对土壤微生物量 C、N 的影响

土壤微生物量的多少反映了土壤同化和矿化能力的大小,是土壤活性大小的标志^[7]。壳聚糖施入土壤后,在土壤微生物的作用下开始降解。微生物利用碳源及氮源物质进行大量繁殖,将壳聚糖中的碳、氮同化。从图 1、2 可知,微生物量 C、N 在整个培养过程中有相似的变化趋势,这一过程反映了随着壳聚糖的降解,土壤微生物利用有机碳、氮过程中的生物量的动态变化。处理 2 因壳聚糖分子量较小,土壤中一些能够利用小

分子有机物的微生物首先进行分解和同化作用,微生物数量快速增加,第3天微生物量C就达到最大值;随着壳聚糖的降解,壳聚糖数量的减少,微生物量C也随着下降。处理4、5、6微生物量C、N刚开始变化不大,说明此时能够分解和利用大分子壳聚糖的微生物较少,随着大分子壳聚糖的逐渐降解,微生物量C、N也随之增加,之后随壳聚糖量的减少,微生物量C、N减少。处理3(添加壳聚糖的比例为1/500)的微生物量C、N与处理1(空白对照)变化趋势基本相似,却显著低于壳聚糖以1/100比例加入的其它处理,说明按1/500比例加入壳聚糖对土壤微生物量C、N影响较小。比较处理3、4、5可以发现,随壳聚糖用量的增加,微生物量C、N增加,说明壳聚糖用量增加,微生物可利用的C、N源增加,微生物数量增加。

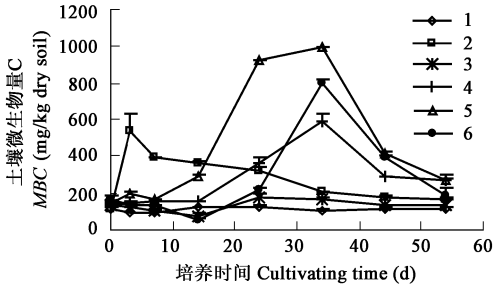


图1 不同分子量壳聚糖对土壤微生物量C(MBC)的影响

Fig. 1 Effect of different molecular weight chitosan on soil MBC

1:CK, 2: G-1(1%), 3: G-2(0.2%), 4: G-2(1%), 5: G-2(2%), 6: G-3(1%)

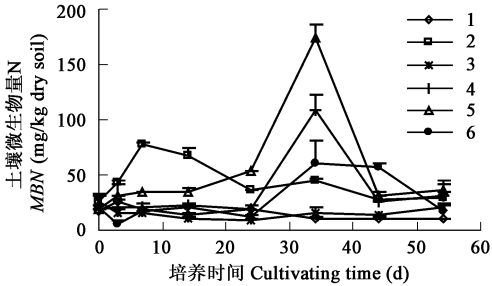


图2 不同分子量壳聚糖对土壤微生物量N(MBN)的影响

Fig. 2 Effect of different molecular weight chitosan on soil MBN

1:CK, 2: G-1(1%), 3: G-2(0.2%), 4: G-2(1%), 5: G-2(2%), 6: G-3(1%)

2.2 不同分子量壳聚糖对土壤呼吸的影响

土壤的呼吸作用是指土壤微生物活动中释放CO₂的过程,可用来衡量土壤微生物的总活性,能反映土壤有机质的分解,以及土壤有效养分的状况^[6,8,9]。土壤呼吸与微生物量C具有相似的变化趋势(图3),加入壳聚糖的土壤,土壤呼吸均比空白强烈,部分处理甚至达到极显著水平($p < 0.01$)。处理2因壳聚糖分子量小极易被微生物分解利用,其呼吸强度迅速增加,之后由于壳聚糖量减少,微生物数量随之减少,呼吸强度逐渐减弱。处理3、4、5的呼吸强度数据显示,随壳聚糖用量的增加,除壳聚糖分子量小的处理2在前期土壤呼吸强度大外,其它时间土壤呼吸强度随壳聚糖分子量的增加而增大。上述土壤呼吸的变化趋势与土壤微生物量C的趋势基本一致。

2.3 不同分子量壳聚糖对土壤矿质氮的影响

土壤N素的释放是通过微生物对土壤有机物质的矿化进行的,微生物将有机态氮矿化为矿质氮(硝态氮与铵态氮之和),而伴随着矿化土壤微生物本身也对土壤N素进行生物固持作用,同时它们所固定的N素随着微生物的死亡又会释放到土壤中,供作物吸收利用^[10]。由图4可以清楚地看出,各处理土壤矿质氮先增加

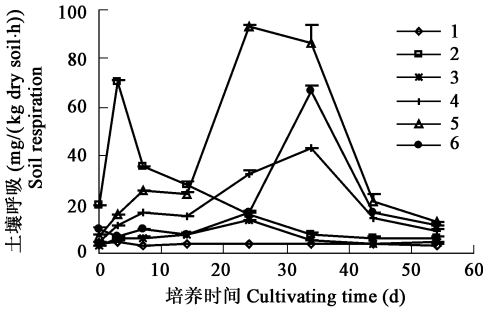


图3 不同分子量壳聚糖对土壤呼吸的影响

Fig. 3 Effect of different molecular weight chitosan on soil respiration

1:CK, 2: G-1(1%), 3: G-2(0.2%), 4: G-2(1%), 5: G-2(2%), 6: G-3(1%)

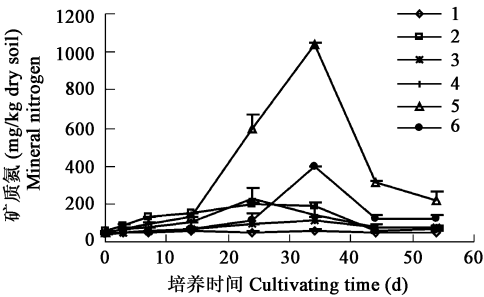


图4 不同分子量壳聚糖对土壤矿质氮的影响

Fig. 4 Effect of different molecular weight chitosan on soil mineral nitrogen

1:CK, 2: G-1(1%), 3: G-2(0.2%), 4: G-2(1%), 5: G-2(2%), 6: G-3(1%)

后减少,且不同处理间差异显著($p < 0.05$),这与不同分子量壳聚糖的降解机理不同有关。不同分子量壳聚糖对土壤 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 的影响见图 5、6。处理 2 前 4 次采样 NH_4^+ -N 的变化明显高于 NO_3^- -N, 主要是由于壳聚糖分子量小,微生物大量繁殖矿化作用强烈,产生大量的 NH_4^+ -N, 又因为土壤微生物常明显表现出对 NH_4^+ -N 的偏爱,因而增加的 NH_4^+ -N 大部分为微生物所固持,微生物量 N 含量增高(图 2),而 NO_3^- -N 因没有更多的 NH_4^+ -N 提供氮源,含量变化较小。处理 5、6 NH_4^+ -N 在第 34 天达到最大值,此时 NO_3^- -N、微生物量 N 也达到最大值,这一结果反映了从开始培养到第 34 天期间,大量繁殖的微生物导致了土壤中 NH_4^+ -N 的增加,而 NH_4^+ -N 的增加又促进了土壤有机氮的转化,即使氨化作用受到“催化”,从而生成更多的 NH_4^+ -N, 增加的 NH_4^+ -N 又为硝化作用和微生物的繁殖提供了更多的氮源,使 NO_3^- -N 和微生物量 N 增加^[11]。处理 3、4 NH_4^+ -N 变化不若处理 5、6 明显可能是因为生成的 NH_4^+ -N 大部分被微生物所固持及为硝化作用提供了氮源。随土壤中壳聚糖量的减少,微生物量减少, NH_4^+ -N 逐渐下降。而 NO_3^- -N 第 34 天后快速下降可能是由于反硝化作用强烈的缘故。

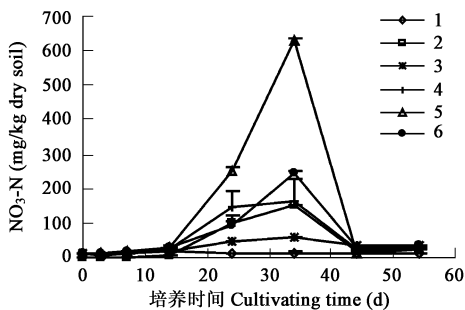


图 5 不同分子量壳聚糖对土壤 NO_3^- -N 的影响

Fig. 5 Effect of different molecular weight chitosan on soil NO_3^- -N

1: CK, 2: G-1 (1%), 3: G-2 (0.2%), 4: G-2 (1%), 5: G-2 (2%), 6: G-3 (1%)

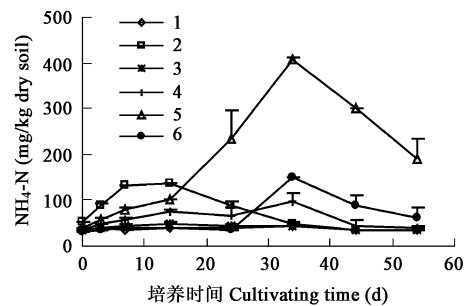


图 6 不同分子量壳聚糖对土壤 NH_4^+ -N 的影响

Fig. 6 Effect of different molecular weight chitosan on soil NH_4^+ -N

1: CK, 2: G-1 (1%), 3: G-2 (0.2%), 4: G-2 (1%), 5: G-2 (2%), 6: G-3 (1%)

3 结论

(1) 不同分子量壳聚糖施入土壤后,能促进土壤微生物的快速繁殖,使微生物量 C、N、土壤呼吸及土壤矿质氮大量增加。通过微生物的生命活动可加快土壤中有机物的矿化速度,从而增加土壤养分的有效性。在壳聚糖的降解过程中,随着微生物群落的更替,微生物量 C、N、土壤呼吸及土壤矿质氮呈现出不同的变化。

(2) 不同壳聚糖由于分子量和 C/N 的差异,降解速率不同,对微生物活动所产生的影响亦不同,从而引起微生物量 C、N 及土壤呼吸的差异。微生物量 C、N 及土壤呼吸均随壳聚糖用量的增加而增大。微生物量 C 及土壤呼吸随分子量递增,微生物量 N 则不同。

(3) 土壤 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 的变化不完全相同。 NO_3^- -N 开始时变化较小,然后快速增加,之后快速下降。 NH_4^+ -N 低分子量壳聚糖开始时快速增加,之后缓慢下降;中等分子量壳聚糖,因壳聚糖加入量不同而不同;高分子量壳聚糖则是从第 24 天开始变化才显著。 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 及微生物量 N,三者变化密切相关。

References:

- [1] Li Z H. Application Foreground of Chitosan. Bulletin of Biology, 1995, 9: 47~ 48.
- [2] Qi Y, Hong B G, Li H D, *et al.* Application of Chitin and its Derivatives. Natural Product Research and Development, 1991, 3(2): 100~ 106.
- [3] Hu W Y, Wu J L. Character and Uses of Chitosan and Application Foreground in Agriculture. Plant Physiology Communications, 1994, 30(4): 294~ 296.
- [4] El Ghaouth A, Anul J, Grenier J, *et al.* Effect of chitosan on cucumber plant: Suppression of pythium aphanidematum and induction of defense reactions. Phytopathology, 1994, 84: 313~ 320.
- [5] Zheng H Y, Zhang D S. Soil Dynamic biochemical research. Beijing: Science Press, 1982.
- [6] Lu B K. Method of Soil Agrochemistry Analysis. China Agricultural Science and Technology Press, 1999, 231~ 240.

- [7] Valsecchi G, Gigliotti C, Farini A, *et al.* Microbial biomass, activity and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, (20): 253~ 259.
- [8] Wardle D A, Parkinson D. Effect of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil*, 1990, 122: 21~ 28.
- [9] Zelles L, Bahig M E, Scheunert I, *et al.* Measurement of bioactivity based on CO₂ release and ATP content in soil after different treatments. *Chemosphere*, 1984, 13(8): 899~ 913.
- [10] Shen Q R, Wang Y, Shi R H. Changes of Soil Microbial Biomass N and Soil Fixed Ammonium during Rice Growth and Use Efficiency of Residual N by Rice. *Acta Pedologica Sinica*, 2000, 37(3): 330~ 338.
- [11] Gan J M, Meng Y, Zheng Z, *et al.* Effects of Fertilization on Mineralization and Nitrification of Nitrogen in Soil Grown Amomum under Tropical Rainforest. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(2): 174~ 177.

参考文献:

- [1] 李泽浩. 甲壳素的利用前景. *生物学通报*, 1995, 9: 47~ 48.
- [2] 奇云, 洪国宝, 李怀顶, 等. 甲壳素及其衍生物的应用. *天然产物研究与开发*, 1991, 3(2): 100~ 105.
- [3] 胡文玉, 吴姣莲. 壳聚糖的性质和用途及其在农业上应用前景. *植物生理学通讯*, 1994, 30(4): 294~ 296.
- [5] 郑洪元, 张德生. *土壤动态生物化学研究*. 北京: 科学出版社, 1982.
- [6] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 231~ 240.
- [10] 沈其荣, 王岩, 史瑞和. 土壤微生物量和土壤固定态铵的变化及水稻对残留 N 的利用. *土壤学报*, 2000, 37(3): 330~ 338.
- [11] 甘建民, 孟盈, 郑征, 等. 施肥对热带雨林下种植砂仁土壤氮矿化和硝化作用的影响. *农业环境科学学报*, 2003, 22(2): 174~ 177.