

文章编号: 1008-2786-(2017)5-709-08

DOI: 10.16089/j.cnki.1008-2786.000270

贡嘎山酸性土壤微生物量磷紧密关联 碳酸氢钠提取态有机磷

孙宏洋^{1,2}, 吴艳宏^{1,2*}, 李娜³, 周俊^{1,2}, 邴海健^{1,2}

(1. 中国科学院、水利部成都山地灾害与环境研究所, 成都 610041;

2. 中国科学院山地表生过程与生态调控重点实验室, 成都 610041; 3. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘 要: 有效磷是土壤中最重要磷组分, 被广泛用于评估各种生态系统的土壤磷营养。然而, 很少有研究基于野外数据评估有效磷的来源。本研究通过野外调查和室内试验, 展示和评估了微生物量磷 (MBP) 和微生物群落对贡嘎山酸性土中有效磷组分的关联性。结果发现, 微生物功能组脂肪酸显著解释有效磷变异性, 尤其细菌脂肪酸强烈关联有效磷。与 Hedley 磷连续提取法中其他有效磷相比, 仅碳酸氢钠提取态有机磷 ($\text{NaHCO}_3\text{-Po}$) 强烈关联 MBP。本研究的数据分析、实验结果和以往的研究结果证明 MBP 与 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 之间的这种关联性直接的: 微生物死亡裂解释放有效磷是导致这种联系的主要原因。这些结果揭示了微生物量磷测定方法与 Hedley 磷连续提取法测定方法的关联性: 酸性土中 MBP 是 Hedley 磷连续提取法中 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的主要来源, 也强调了 Hedley 磷连续提取法在评估微生物对土壤磷有效性作用中的重要参考性。

关键词: 有效磷; Hedley 磷连续提取法; 微生物脂肪酸; 海拔

中图分类号: S154

文献标志码: A

磷是生物群落不可或缺的元素, 它的生物有效性在调节陆地生态系统生物生长中有关键作用^[1]。尽管土壤中磷含量很丰富, 但它的有效性非常低。这是因为磷与土壤其它组分 (如, 铁和铝氧化物) 容易产生反应而被固定^[2]。土壤有效磷的耗竭阻碍初级生产力的提高, 进而使得磷成为生态系统发育的限制性营养元素^[3]。因此, 为了更好地对陆地生态系统进行管理, 有必要理解土壤中有效磷的生物地球化学过程。

目前, 天然土壤中有效磷的来源是磷的生物地球化学过程中一个重要但缺乏理解的领域。Hedley 磷连续提取法已经广泛用于各种生态系统中土壤磷

有效性的评估。该提取方法把树脂提取态磷 (Resin-Pi)、碳酸氢钠提取态无机磷 ($\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$) 和碳酸氢钠提取态有机磷 ($\text{NaHCO}_3\text{-Po}$) 识别为土壤有效态磷^[4]。这些有效态磷组分与土壤其它组分有非常好的反应活性。这导致它们在土壤中有复杂的来源。例如, Resin-Pi 的形态虽然已经被确认为土壤中可以自由交换的正磷酸根离子, 但它的来源并不确切知道, 因为这种磷形态活性很高, 很容易被土壤中其它因素控制 (如, 土壤矿物的沉淀和溶解过程、生物吸收和释放过程等)。因此, 为了弄清有效磷的来源, 众多影响因素 (如, 植被、海拔和温度) 和土壤过程 (如, 磷溶解和沉淀, 铁和铝氧化物吸附和

收稿日期 (Received date): 2017-06-25; **改回日期** (Accepted date): 2017-09-27

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金项目 (41501281); 国家自然科学基金重点项目 (41630751); 中国科学院山地表生过程与生态调控重点实验室开放基金 [National Natural Science Foundation of China (41501281; 41630751); Open Foundation of Key Laboratory of Mountain Surface Process and Ecological Regulation, Chinese Academy of Sciences]

作者简介 (Biography): 孙宏洋 (1986-), 男, 四川峨眉人, 博士, 助研, 主要研究方向为微生物地球化学 [Sun Hongyang (1986-), male, born in Meizi, Sichuan province, Ph. D., research assistant, research on microbial geochemistry] E-mail: sunhongyang@imde.ac.cn

* **通讯作者** (Corresponding author): 吴艳宏 (1969-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 环境地球化学 [WU Yanhong (1969-), male, Ph. D., professor, specialized in environmental geochemistry] E-mail: yanhong_wu@yeah.net.

解吸,生物吸收和有机质分解)已经被学者们广泛研究^[5-11]。尽管土壤微生物周转速率很快,微生物量磷是土壤磷重要的周转库^[12-13],但很少有研究从微生物的角度分析有效磷的来源。并且,氯仿熏蒸法测出的微生物量磷(MBP)指标也广泛用于土壤磷营养评价中,但这一指标与 Hedley 磷连续提取法测定的磷相关指标的关系尚未有研究报道。

近来,大量研究聚焦磷有效性对土壤微生物的效应。在农业生态系统中,有效磷的改变(如,施加磷肥)显著影响土壤微生物群落^[14-16]。除农业生态系统以外,其它野外生态系统也有许多关于磷有效性对土壤微生物效应的数据^[17-19]。相比之下,关于野外生态系统中微生物对土壤磷有效性效应的数据和研究相当有限。这些数据的获取对于完整理解土壤微生物与磷生物有效性关系相当必要。

本研究基于贡嘎山这一天然山地生态系统,利用 Hedley 磷连续提取法和微生物参数调查土壤有效磷和微生物之间的联系。本研究目的利用野外数据查明 MBP 对 Hedley 磷连续提取法中土壤有效磷组分的关联性和相对重要性。

1 材料与方法

1.1 研究区与采样

研究区(29°32'23"~29°36'26"N, 101°57'23"~102°3'42"E)位于青藏高原东南缘的贡嘎山海螺沟自然保护区(图1)。为使研究结果具有代表性,囊括贡嘎山不同植被类型下发育的酸性土壤,研究样地布设跨越贡嘎山东坡海拔2000~4300 m之间,具体布设方法如下(海拔从低到高描述):针阔混交林

带、针叶林带、灌草带,每个带布设2个样地(图1),每个样地9个样方,共54个样方,每个样方大小为:2×2 m。在每个样方中,沿对角线选三个采样点(点间距>0.4 m)清除地上凋落物层后收集每个采样点0~10 cm深度土样,并把这三个采样点收集的土样等量混匀,混匀后的土样作为这个样方的代表土样,共采集到54个代表土样,这些土样用于代表贡嘎山酸性土。土样被放入冰盒中带回实验室。土样中大石砾和肉眼可见的凋落物被清除后,土样通过2 mm孔径筛。取一部分土样冻干后,保存在-18℃条件下,以供微生物脂肪酸分析。剩下土样保存在4℃条件下,以供其它指标分析。

1.2 土壤有效磷组分测定

采用 Hedley 磷连续提取方法把土壤有效磷分为三种组分^[20]:依据土壤含水量,称取含0.5 g干土的鲜土放入离心管,加入两片树脂膜(膜尺寸:1×3.5 cm, Anion 204UZRA)和30 ml超纯水,振荡16小时后,取出树脂膜用0.5 M盐酸振荡洗涤1小时后,测定洗涤液中磷含量作为树脂态提取磷(Resin-P_i)。提取过 Resin-P_i的土样滤干后,加入NaHCO₃(0.5 mol/L, pH = 8.5)溶液,振荡过滤后测定碳酸氢钠提取态无机磷(NaHCO₃-P_i)和有机磷(NaHCO₃-P_o)。据此把土壤有效磷分为了 Resin-P_i, NaHCO₃-P_i 和 NaHCO₃-P_o 三种有效磷组分。

1.3 微生物量磷测定

采用氯仿熏蒸提取法^[21]测定土壤微生物量磷:取10.0 g鲜土用分析纯氯仿在密闭容器中熏蒸24小时,抽尽氯仿后,加200 ml碳酸氢钠溶液0.5 mol/L(pH=8.5)振荡浸提30分钟。浸提液离心过滤后,测定得出熏蒸土壤浸提液总磷含量。同时,称

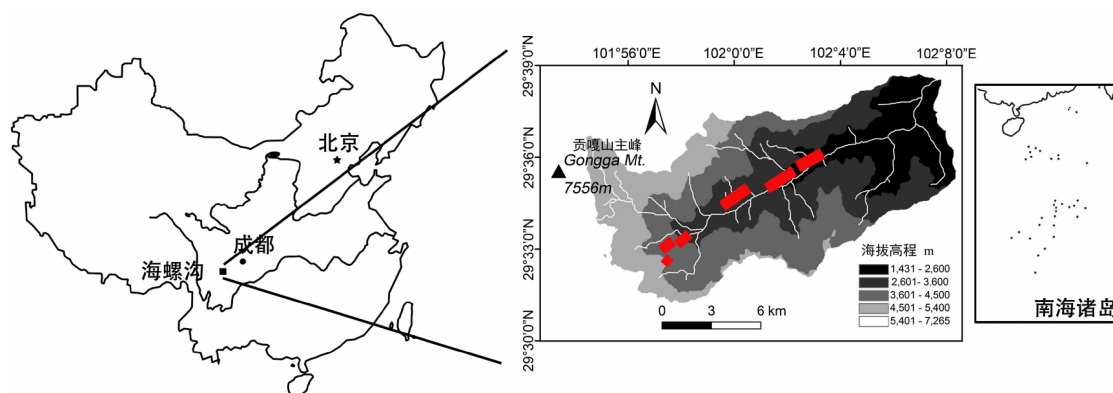


图1 研究区布设图。图中每个红色矩形代表9个样方布设的位置

Fig. 1 The location of study area. One red rectangle represents the distribution region of nine plots.

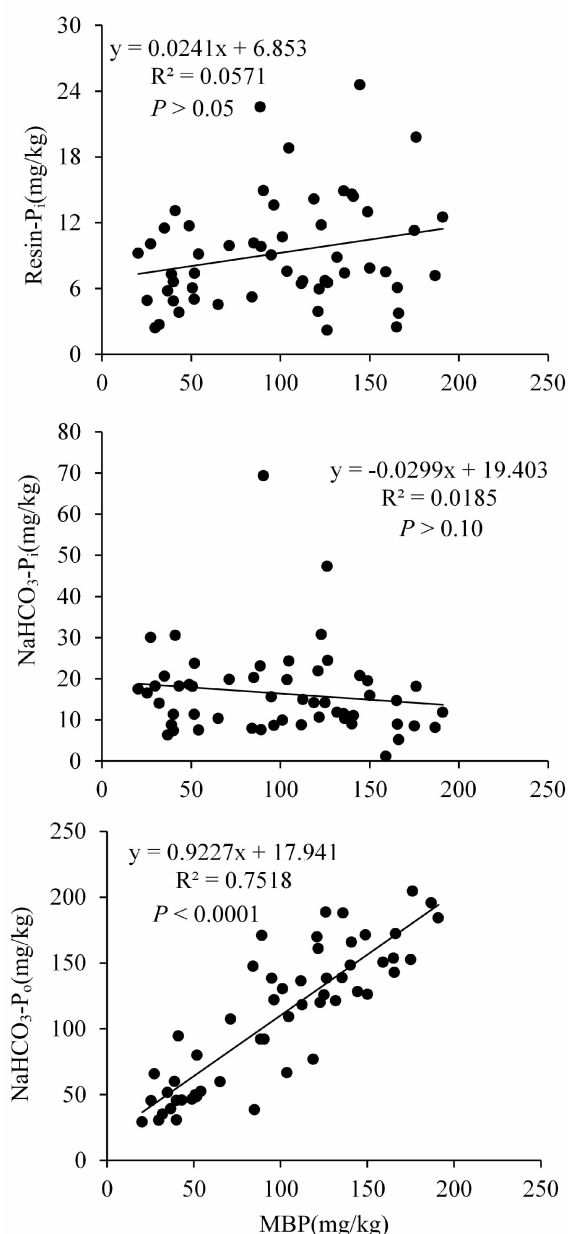


图2 MBP与三种有效磷组分的关系

Fig. 2 The relationships between MBP and available P fractions

取 10.0 g 鲜土不用氯仿熏蒸,其它处理同上,测定未熏蒸土壤浸提液总磷含量。微生物量磷(MBP) = (熏蒸土壤浸提液总磷含量 - 未熏蒸土壤浸提液总磷含量) / 0.4。并且,使用定量添加 KH_2PO_4 的对照处理计算本测定中的回收率,以校正样品测定值^[22]。

1.4 微生物脂肪酸测定

采用 Wu 等^[23]描述的方法测定微生物脂肪酸。大体步骤如下:称取 5 g 冻干土样,用柠檬酸缓冲液-甲醇-氯仿混合液(0.8 ml : 2 ml : 1 ml)浸提。浸

提液分层后,收集氯仿层,在 25 °C 下用氮气吹干。干燥的残余物质用 1 ml 甲醇转移到硅胶固相萃取柱,先后用 5 ml 氯仿和 10 ml 丙酮分别洗脱残余物中的中性脂和糖脂后,剩余的脂组分用 5 ml 甲醇洗脱,收集洗脱液,用氮气吹干。吹干的脂用甲醇甲苯溶液和氢氧化钾甲醇溶液进行甲基化后,再用正己烷萃取并用氮气吹干。吹干后残余物用 100 μl 正己烷溶解后,用菌种脂肪酸鉴定系统进行分析(装有 MIDI 脂肪酸识别软件的安捷伦 6890 N 气相色谱),使用脂肪酸 19:0 作为内标。结果中脂肪酸 14:0, 15:0, i14:0, a15:0, i15:0, i16:0, a17:0, i17:0, 16:1 ω 7c, cy17:0 和 cy19:0 作为细菌的特征脂肪酸^[24-26],脂肪酸 18:2 ω 6,9c 作为真菌的特征脂肪酸^[27]。脂肪酸 10me16:0, 10me17:0, 10me18:0 作为放线菌特征脂肪酸^[28],脂肪酸 i14:0, i15:0, i16:0, i17:0, a15:0 and a17:0 作为革兰氏阳性菌特征脂肪酸^[29-30],脂肪酸 14:0, 15:0, 16:1 ω 7c, cy17:0 和 cy19:0 作为革兰氏阴性菌特征脂肪酸^[31-32]。

1.5 土壤的高温灭菌实验

为了验证微生物细胞死亡后释放的 MBP 与土壤有效磷的关系,每个鲜土样取 20 g 进行高温灭菌,温度 125 °C,灭菌时间 30 min。高温灭菌后的土壤按照上述“土壤有效磷组分测定”方法进行有效磷分析测定 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 。并把未经高温灭菌处理的鲜土作为对照处理。

1.6 土壤其它理化性质分析

总有机碳(TOC)用重铬酸钾氧化法测定,土壤总氮(TN)采用凯氏定氮法测定^[33]。土壤 pH 使用 pH 计测定(土水比为 1:5)。

1.7 统计方法

如果数据满足方差齐次性,则用 Tukey 多重比较法比较不同植被带之间数据的差异性,否则用 Games-Howell 法。采用多元线性回归分析磷组分与微生物特征脂肪酸之间的关系。采用 t 检验法比较高温灭菌土壤样与空白对照样中 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 差异性。线性回归分析用于分析 MBP 与有效磷组分之间的关联程度。冗余分析(RDA)用于分析微生物群落对有效磷组分的解释程度,采用 CANOCO 软件完成^[34],微生物功能组脂肪酸作为解释变量,磷组分(Resin-Pi、 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 、 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 和 MBP)作为被解释变量。

表 1 不同植被带土壤性质、有效磷组分和微生物脂肪酸
Tab.1 Soil properties, available P fractions, and microbial lipids in elevation groups.

指标	植被带		
	针阔混交林带	针叶林带	灌草带
海拔 (m)	2100 ~ 2800	3000 ~ 3600	3700 ~ 4300
土壤类型	棕壤	暗棕壤	草甸土
TOC (mg/g-soil)	^a 27.6 ± 2.6ab	35.3 ± 2.9b	24.6 ± 3.2a
TN (mg/g-soil)	2.1 ± 0.2b	1.7 ± 0.1b	1.2 ± 0.1a
土壤湿度 (%) ^β	174.9 ± 23.7ab	207.4 ± 16.7b	136.8 ± 20.5a
pH	5.6 ± 0.2c	3.9 ± 0.1b	4.7 ± 0.1a
MBP (mg/kg)	56.8 ± 7.6a	139.8 ± 7.3c	100.3 ± 10.3b
Resin-Pi (mg/kg)	7.5 ± 0.8a	12.2 ± 1.4b	8.1 ± 1.0a
NaHCO ₃ -Pi (mg/kg)	15.5 ± 1.2a	12.5 ± 1.3a	21.3 ± 3.9a
NaHCO ₃ -Po (mg/kg)	62.5 ± 7.5a	149.3 ± 6.6b	116.0 ± 12.3b
真菌脂肪酸 (nmol/g)	0.93 ± 0.05a	1.01 ± 0.06a	0.94 ± 0.07a
细菌脂肪酸 (nmol/g)	6.66 ± 0.18a	7.59 ± 0.14b	6.85 ± 0.19a
Gm + (nmol/g)	4.48 ± 0.29ab	4.89 ± 0.13a	4.10 ± 0.18b
Gm - (nmol/g)	1.94 ± 0.15ab	1.96 ± 0.12b	2.32 ± 0.08a
Acti (nmol/g)	1.13 ± 0.05a	1.34 ± 0.04b	1.22 ± 0.05ab

^a 值 = 均值 ± 标准误。 ^β 土壤湿度 = 含水量/干土重 × 100% ; Gm + 、Gm-和 Acti 分别表示革兰氏阳性菌脂肪酸、革兰氏阴性菌脂肪酸和放线菌脂肪酸;不同的字母表示在 0.05 水平上有显著差异。

2 结果

首先,土壤 pH 都低于 7,不同植被带土壤有显著差异,说明采集的土壤为多种 pH 水平的酸性土壤。不同植被带之间,土壤 TOC、TN 和土壤湿度也有显著差异 ($P < 0.05$, 表 1)。Resin-Pi、NaHCO₃-Po、MBP、细菌脂肪酸、革兰氏阳性菌脂肪酸 (Gm +)、革兰氏阴性菌脂肪酸 (Gm-) 以及放线菌脂肪酸 (Acti),在不同植被带之间也有明显的差异 ($p < 0.05$, 表 1)。这些结果表明不同植被带之间土壤有明显的异质性。这暗示土壤微生物参数和磷组分参数在不同水平上形成多种组合,将有利于分析微生物与有效磷之间的关系。

MBP 与三种有效磷组分的线性回归分析表明 (图 2):土壤 NaHCO₃-Po 与 MBP 拟合程度最高, R^2 为 0.75,达极显著水平 $P < 0.0001$ 。相比之下, Resin-Pi 和 NaHCO₃-Pi 对 MBP 的拟合程度很差, R^2 分别为 0.057 和 0.0185,显著水平分别为 $P > 0.05$ 和 $P > 0.1$ 。

RDA 分析表明第一轴 (RDA1) 对磷组分变异的解释是显著的 ($P < 0.01$),解释了总变异的 51.8% (图 3)。RDA 分析也表明 MBP 与 NaHCO₃-Po 有更为紧密的相关性,并且与 Resin-Pi 或 NaHCO₃-Pi 相

比,它们在第一轴上有更高的载荷 (图 3)。对比其它微生物功能组脂肪酸,细菌脂肪酸与 NaHCO₃-Po (和 MBP) 有更好的相关性。基于 RDA 分析结果,磷组分与微生物脂肪酸进行多元线性回归分析,结果表明 (表 2): NaHCO₃-Po 和 MBP 能被微生物功

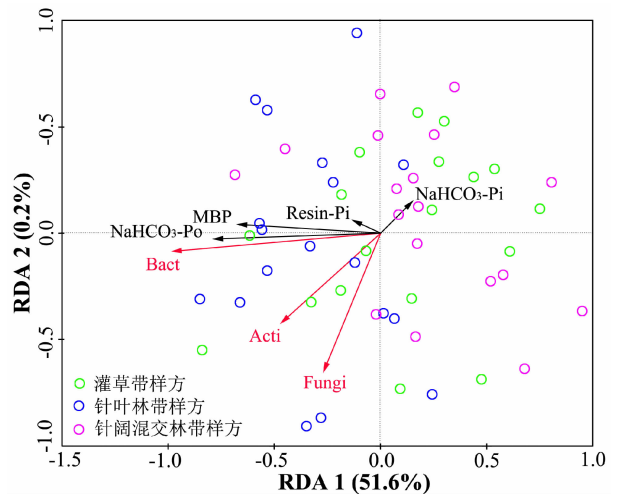


图 3 微生物功能组脂肪酸与有效磷组分的冗余分析 (RDA)。Fungi、Bact、Acti 分别表示真菌脂肪酸,细菌脂肪,放线菌脂肪酸。

Fig.3 Redundancy analysis (RDA) of the available P fractions abundances using microbial functional group lipids as explanatory variables. Fungi: fungal PLFA, Bact:bacterial PLFA, Acti: actinomycete PLFA.

表 2 有效磷组分多元回归分析
Tab.2 Multiple linear regression coefficients of models predicting available P factions.

磷组分	自变量 (脂肪酸)					模型调整 R ²
	细菌	真菌	Gm +	Gm-	Acti	
MBP	0.837 * * *	-0.178	-0.159	-0.072	0.007	0.409
Resin-Pi	0.134	-0.237	0.007	-0.430 *	0.164	0.057
NaHCO ₃ -Pi	-0.102	-0.208	0.015	-0.038	-0.033	-0.032
NaHCO ₃ -Po	0.856 * * *	-0.098	-0.098	0.072	0.04	0.569

所有系数已标准化; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Gm +、Gm-和 Acti 分别表示革兰氏阳性菌脂肪酸、革兰氏阴性菌脂肪酸和放线菌脂肪酸。

能组更好的预测,其中细菌是最显著的预测因子($P < 0.001$)。我们没发现微生物功能组对 NaHCO₃-Pi 的显著效应。

以上野外土壤样测得的数据分析结果,显示 MBP 与土壤 NaHCO₃-Po 有极为紧密的关联性,暗示了 MBP 贡献于土壤 NaHCO₃-Po。为了证实这一暗示,高温灭菌控制实验被进行(图 4),结果表明:高温灭菌后,微生物细胞死亡后释放的 MBP 显著增加了土壤 NaHCO₃-Po ($P < 0.05$),增加百分比范围 31% ~ 57%。

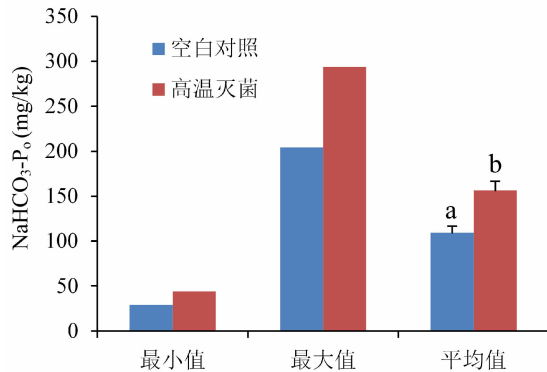


图 4 高温灭菌处理后土壤 NaHCO₃-Po 增加
Fig.4 The NaHCO₃-Po increased after autoclaving treatment

3 讨论

本研究采用的土壤样品不是单一种类的酸性土,有利于得出普适规律。本研究按照海拔梯度采样,表 1 中各项指标的差异表明土壤样品性质受到植被带、气候等环境条件变化的影响,这极有可能导致了土壤微生物参数和磷组分参数在不同水平上形成多种组合,这有利于通过统计分析手段得出微生物与有效磷之间的关系。

尽管本研究采集的土壤异质性较高(表 1),但

有效磷组分中,仅 NaHCO₃-Po 能得到 MBP 最显著解释。这暗示了 MBP 是 Hedley 磷提取法中 NaHCO₃-Po 的主要来源。首先,MBP 是微生物生物量的基本成分。MBP 中主要的磷形态包括核酸(约 60%)、磷酯类有机磷和酸溶性无机磷(约 20%)以及磷脂类有机磷(<10%)^[12]。这些 MBP 可以占到土壤总磷的 0.4% ~ 7.5%^[35]。可见微生物体含有丰富的磷,当微生物细胞死亡破裂后,这些封存在微生物组织中的磷就会释放到土壤中成为土壤生物可以利用的有效磷^[36]。这一点是理解 MBP 与 NaHCO₃-Po 有直接关系的关键。

其次,本研究和其它控制实验研究也支持 NaHCO₃-Po 的微生物来源。Anderson 和 Magdoff^[37]对 23 种土壤的灭菌实验表明高压蒸汽处理过的土壤有更高的可溶性磷浓度,与对照土壤相比,磷酸单酯增加了 78%,磷酸二酯增加了 60%,可溶性无机磷增加 54%。在另外一个研究中,在高压蒸汽处理后,土壤中 NaHCO₃-Po 提高了 32% ~ 55%^[38],这一结果非常相似于本研究进行灭菌实验结果(图 4)。除了灭菌实验,土壤干湿交替实验也表明微生物死亡后明显提高土壤有效磷^[39]。这是因为快速的干湿交替产生渗透压震扰使微生物细胞破裂而向土壤释放 MBP^[40-41]。此外,冻融实验也表明在冻与融两种处理的对比中,土壤 NaHCO₃-Po 和 MBP 都不会有明显的改变,这暗示这两种磷有同步变化的迹象。

事实上,MBP 和 NaHCO₃-Po 的测定方法也表明土壤微生物是 MBP 和 NaHCO₃-Po 共有的来源。像氯仿(MBP 测定中杀死微生物的熏蒸剂)一样,NaHCO₃ 溶液(测定 NaHCO₃-Po 中的提取剂)也能起到灭菌剂的作用破坏微生物细胞^[42]。尤其,当高浓度的 NaHCO₃(碱性)加入到酸性土中,pH 剧烈变

化使适应了酸性环境的微生物细胞更容易受到破坏,从而把部分微生物体内的 MBP 释放到土壤环境中。

此外,微生物功能组脂肪酸在 RDA 分析中对有效磷组分变异显著影响也是表明了微生物是 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的来源(图 3)。尤其,RDA 分析中细菌脂肪酸对有效磷组分的强烈影响暗示了微生物中细菌是 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的主要贡献者。虽然真菌也是主要微生物类群,能提供 MBP 影响土壤有效磷,但在我们的研究中真菌对 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的影响低于细菌。微生物脂肪酸与 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的这种紧密联系部分证明了 Turner 的观点^[36]:微生物生物量在决定磷有效性上起了中心作用。

Resin-Pi 和 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 作为反应活性很高的无机磷,与 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 相比,它们可能更容易受到多种因素的影响,例如,含磷矿物种类、土壤颗粒吸附、氧化还原过程、根系分泌有机酸以及根际吸收等因素,都能明显影响它们在土壤中的浓度^[43-46]。因此,在我们结果中,Resin-Pi(和 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$)与 MBP 的关联性很弱。这也表明土壤微生物不是影响这些磷组分的主要因素。

4 结论

本研究揭示出贡嘎山酸性土壤中 MBP 是 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 的主要来源,揭示出两种广泛使用的测定方法,即 Hedley 磷连续提取法和氯仿熏蒸法之间的紧密关联性。同时,我们的结果也强调 Hedley 磷连续提取法在评估微生物对土壤磷生物有效方面是有参考价值的。

参考文献(References)

- [1] WU Y, ZHOU J, BING H et al. Rapid loss of phosphorus during early pedogenesis along a glacier retreat chronosequence, Gongga Mountain (SW China) [J]. *PEERJ*, 2015, 3.
- [2] YANG X, POST W M. Phosphorus transformations as a function of pedogenesis: A synthesis of soil phosphorus data using Hedley fractionation method [J]. *Biogeosciences*, 2011, 8: 2907–2916.
- [3] VITOUSEK P M, PORDER S, HOULTON B Z et al. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions [J]. *Ecological Applications*, 2010, 20: 5–15.
- [4] CROSS A F, SCHLESINGER W H. A literature-review and evaluation of the Hedley fractionation-applications to the

- biogeochemical cycle of soil-phosphorus in natural ecosystems [J]. *Geoderma*, 1995, 64: 197–214.
- [5] FROSSARD E, CONDRON L M, OBERSON A et al. Processes governing phosphorus availability in temperate soils [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29: 15–23.
- [6] GIESLER R, SATOH F, ILSTEDT U et al. Microbially available phosphorus in boreal forests: Effects of aluminum and iron accumulation in the humus layer [J]. *Ecosystems*, 2004, 7: 208–217.
- [7] REDEL Y, RUBIO R, GODOY R et al. Phosphorus fractions and phosphatase activity in an Andisol under different forest ecosystems [J]. *Geoderma*, 2008, 145: 216–221.
- [8] SMITS M M, JOHANSSON L, WALLANDER H. Soil fungi appear to have a retarding rather than a stimulating role on soil apatite weathering [J]. *Plant and Soil*, 2014, 385: 217–228.
- [9] VINCENT A G, SUNDQVIST M K, WARDLE D A et al. Bioavailable Soil Phosphorus Decreases with Increasing Elevation in a Subarctic Tundra Landscape [J]. *Plos One*, 2014, 9.
- [10] MORAIS F A, GATIBONI L C. Phosphorus availability and microbial immobilization in a Nitisol with the application of mineral and organo-mineral fertilizers [J]. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 2015, 87: 2289–2299.
- [11] COSTA M G, GAMA-RODRIGUES A C, DE MORAES GONCALVES J L et al. Labile and Non-Labile Fractions of Phosphorus and Its Transformations in Soil under Eucalyptus Plantations, Brazil [J]. *Forests*, 2016, 7.
- [12] OEHL F, OBERSON A, PROBST M et al. Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 31–41.
- [13] GEORGE T S, TURNER B L, GREGORY P J et al. Depletion of organic phosphorus from Oxisols in relation to phosphatase activities in the rhizosphere [J]. *European Journal of Soil Science*, 2006, 57: 47–57.
- [14] FERREIRA A S, DOS SANTOS M A, CORREA G F. Soil microbial response to glucose and phosphorus addition under agricultural systems in the Brazilian Cerrado [J]. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 2013, 85: 395–403.
- [15] SHI Y, LALANDE R, HAMEL C et al. Seasonal variation of microbial biomass, activity, and community structure in soil under different tillage and phosphorus management practices [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49: 803–818.
- [16] TAN H, BARRET M, MOOIJ M J et al. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the phoD phosphorus mineraliser group in pasture soils [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49: 661–672.
- [17] THIRUKKUMARAN C M, PARKINSON D. Microbial activity, nutrient dynamics and litter decomposition in a Canadian Rocky Mountain pine forest as affected by N and P fertilizers [J]. *Forest Ecology and Management*, 2002, 159: 187–201.
- [18] GROFFMAN P M, FISK M C. Phosphate additions have no effect

- on microbial biomass and activity in a northern hardwood forest [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, **43**: 2441–2449.
- [19] DEFOREST J L, SMEMO K A, BURKE D J et al. Soil microbial responses to elevated phosphorus and pH in acidic temperate deciduous forests [J]. *Biogeochemistry*, 2012, **109**: 189–202.
- [20] TIESSEN H, MOIR J. Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter M (ed) *Soil sampling and methods of analysis*. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, Boca Raton, 1993: 75–86.
- [21] BROOKES P C, POWLSON D S, JENKINSON D S. Measurement of Microbial Biomass Phosphorus in Soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1982, **14**: 319–329.
- [22] LUKITO H P, KOUNO K, ANDO T. Phosphorus requirements of microbial biomass in a regosol and an andosol [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, **30**: 865–872.
- [23] WU Y P, DING N, WANG G et al. Effects of different soil weights, storage times and extraction methods on soil phospholipid fatty acid analyses [J]. *Geoderma*, 2009, **150**: 171–178.
- [24] FEDERLE T. Microbial distribution in the soil-new techniques. In: Megusar F & Gantar M (eds) *Perspectives in Microbial Ecology*. Slovene Society for Microbiology, Ljubljana, Slovenia, 1986: 493–498.
- [25] FROSTEGARD A, BAATH E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, **22**: 59–65.
- [26] TUNLID A, HOITINK H A J, LOW C, et al. Characterization of Bacteria That Suppress Rhizoctonia Damping-Off in Bark Compost Media by Analysis of Fatty-Acid Biomarkers [J]. *Appl Environ Microb*, 1989, **55**: 1368–1374.
- [27] BERTRAM J E, ORWIN K H, CLOUGH T J, et al. Effect of soil moisture and bovine urine on microbial stress [J]. *Pedobiologia*, 2012, **55**: 211–218.
- [28] LIANG C, DUNCAN D S, BALSER T C et al. Soil microbial residue storage linked to soil legacy under biofuel cropping systems in southern Wisconsin, USA [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, **57**: 939–942.
- [29] O'LEARY W, WILKINSON S. Gram-positive bacteria. In: Ratledge C & Wilkinson S (eds) *Microbial Lipids*. 1st edn. London: Academic Press, 1988: 117–202.
- [30] ZOGG G P, ZAK D R, RINGELBERG D B et al. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, **61**: 475–481.
- [31] DJUKIC I, ZEHEITNER F, MENTLER A et al. Microbial community composition and activity in different Alpine vegetation zones [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, **42**: 155–161.
- [32] KOURTEV P S, EHRENFELD J G, HAGGBLOM M. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 2002, **83**: 3152–3166.
- [33] [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 106–108, 147–150] LU Rukun. Methods for agricultural chemical analysis of soil [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 106–108, 147–150.
- [34] TER BRAAK C J F (1998). *CANOCO Reference Manual and User's Guide to CANOCO for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4)*. Microcomputer Power, Ithica, NY.
- [35] BÜNEMANN E K, PRUSISZ B, EHLERS K. Characterization of Phosphorus Forms in Soil Microorganisms. In: Bünemann EK, Oberson A, Frossard E (Editors), *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*. Springer, Berlin/Heidelberg, 2011: 37–57.
- [36] TURNER B L, LAMBERS H, CONDRON L M et al. Soil microbial biomass and the fate of phosphorus during long-term ecosystem development [J]. *Plant and Soil*, 2013, **367**: 225–234.
- [37] ANDERSON B H, MAGDOFF F R. Autoclaving soil samples affects algal-available phosphorus [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2005, **34**: 1958–1963.
- [38] LOUCHE J, ALI M A, CLOUTIER-HURTEAU B et al. Efficiency of acid phosphatases secreted from the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* to hydrolyse organic phosphorus in podzols [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, **73**: 323–335.
- [39] TURNER B L, HAYGARTH P M. Changes in bicarbonate-extractable inorganic and organic phosphorus by drying pasture soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2003, **67**: 344–350.
- [40] TURNER B L, HAYGARTH P M. Biogeochemistry-Phosphorus solubilization in rewetted soils [J]. *Nature*, 2001, **411**: 258–258.
- [41] TURNER B L, DRIESSEN J P, HAYGARTH P M et al. Potential contribution of lysed bacterial cells to phosphorus solubilisation in two rewetted Australian pasture soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, **35**: 187–189.
- [42] MALIK Y S, GOYAL S M. Virucidal efficacy of sodium bicarbonate on a food contact surface against feline calicivirus, a norovirus surrogate [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, **109**: 160–163.
- [43] PANT H K, REDDY K R. Phosphorus sorption characteristics of estuarine sediments under different redox conditions [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, **30**: 1474–1480.
- [44] LIU Q, LOGANATHAN P, HEDLEY M J et al. Root processes influencing phosphorus availability in volcanic soils under young *Pinus radiata* plantations [J]. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere*, 2006, **36**: 1913–1920.
- [45] XU G, SHAO H B, XURONGFU et al. The role of root-released organic acids and anions in phosphorus transformations in a sandy loam soil from Yantai, China [J]. *African Journal of Microbiology*

Research, 2012, **6**: 674 – 679.

[46] GERARD F. Clay minerals, iron/aluminum oxides, and their

contribution to phosphate sorption in soils-A myth revisited [J].

Geoderma, 2016, **262**: 213 – 226.

Microbial Biomass Phosphorus is Closely Linked to Sodium Bicarbonate Extractable Organic P in Acid Soil of Mt. Gongga

SUN Hongyang^{1,2}, WU Yanhong^{1,2}, LI Na, ZHOU Jun^{1,2}, BING Haijian^{1,2}

(1. Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Chengdu 610041, China;

2. Key Laboratory of Mountain Surface Processes and Ecological Regulation, Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Chengdu 610041, China.

3. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China.)

Abstract: The available phosphorus (P) is the most important component of soil P, which is widely used for assessing the nutrition of soil P in various ecosystems. However, few studies had been done for evaluation of its source in terms of field observation. Through field investigation and laboratory test, this study presented and evaluated the relation between available P fractions and soil microbial biomass P (MBP) in acidic soils of Mt. Gongga. It showed that microbial functional group lipids could be used to explain the variations of available P profiles across all plots. More importantly, it exhibited a close connection between bacterial lipids and available P. Compared with other available P fractions determined by modified Hedley sequential method, only the sodium bicarbonate extractable organic P ($\text{NaHCO}_3\text{-Po}$) strongly related to MBP. Previous researches and our analysis can prove that the relation between MBP and $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ was direct; microbial cells cracking was the main reason for the relation. The results also revealed the relation between two methods (i. e. , MBP determination method and Hedley sequential-P-fractionation method): the MBP was a major component of $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ through Hedley sequential-P-fractionation method in the acid soil. It also highlighted reference values of Hedley sequential-P-fractionation method in assessing the role of soil microorganism in bioavailability of P.

Key words: available P; Hedley sequential-P-fractionation; microbial lipids; elevation