

# 利用 $^{15}\text{NO}_3^-$ 标记法研究土壤微生物量氮的化学及生物有效性\*

周建斌 李生秀 陈竹君 赵满兴

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要** 采用加入含 $^{15}\text{N}$  的硝态氮培养方法标记了土壤微生物量氮, 然后利用碱解扩散法测定了标记土壤有效氮含量, 温室培养法评价了小麦对标记的土壤微生物量氮的吸收情况。结果表明, 碱解扩散法对土壤微生物量固持的 $^{15}\text{N}$  的提取比率(即提取液中 $^{15}\text{N}$  原子百分超/土壤 $^{15}\text{N}$  原子百分超)在 147~ 283 之间(平均 201), 碱解氮中约有 30.1%~ 61.6% (平均 42.9%) 来自土壤微生物固持氮。植物体 $^{15}\text{N}$  丰度在 0.749%~ 1.162% 之间, 明显高于 $^{15}\text{N}$  的自然丰度, 表明土壤微生物固持的 $^{15}\text{N}$  在小麦生长期间发生释放, 为植物利用。土壤微生物固持氮对植物的有效性比率(植物地上部分 $^{15}\text{N}$  原子百分超/土壤 $^{15}\text{N}$  原子百分超)在 3.7~ 7.1 之间。可见, 土壤微生物量固持氮有较高的化学及生物有效性。

**关键词** 土壤微生物量氮,  $^{15}\text{NO}_3^-$  标记法, 养分有效性

**中图分类号** S154.1

土壤微生物生物量作为土壤养分转化的活性库或源, 在调节土壤养分供应方面的意义是近年来土壤生物化学、植物营养学和生态学等学科关注研究的问题。氮素在农业生产和环境保护中的重要意义, 使得土壤微生物生物量氮(Soil microbial biomass N, 简称土壤微生物量氮)在土壤氮素转化及供应中的作用成为土壤氮素研究的热点之一。土壤微生物量和微生物量氮等含量被越来越多的研究者用作评价土壤肥力和土壤质量的有效指标。国内外研究者对不同生态系统中土壤微生物量氮的含量及其变化规律, 不同耕作栽培措施对土壤微生物量氮含量的影响<sup>[1]</sup>, 土壤微生物量氮的转化速率<sup>[2]</sup>, 土壤微生物量氮与作物氮素吸收间的关系等方面<sup>[3, 4]</sup>, 已进行了不少研究。而关于土壤微生物量氮对植物有效性的研究尚十分有限, 对这一问题的认识还存在分歧<sup>[5]</sup>。

为研究土壤微生物量氮的有效性, 一些学者将室内培养的微生物杀死后, 施入土壤培养, 考察其养分释放及对植物的有效性<sup>[6]</sup>。该法存在的问题是, 加入微生物的种类、存在状态等与土壤原有微生物间会存在差异, 难于反映土壤微生物量氮的实际有效性。另一些学者通过给土壤中加入含 $^{15}\text{N}$  的铵态氮肥以标记土壤微生物量氮的方法, 研究土壤微生物量氮的有效性<sup>[3]</sup>。应该看到, 加入的 $\text{NH}_4^+-\text{N}$  同时可以被土壤中 2:1 型粘土矿物固定, 也可与土壤有机质发生反应而被固持, 这就使得要跟踪 $^{15}\text{N}$  去向问题复杂化。

本研究中我们采用施入含 $^{15}\text{N}$  的硝态氮肥方法标记土壤微生物量氮, 然后采用化学测定法和温室培养方法评价了土壤微生物量氮的化学及生物有效性。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤采自陕西安塞、永寿和杨凌, 分属黄绵土、黑垆土和土 3 个土壤类型, 每类土壤含高、低肥力等级各 1 个, 共 6 个土壤样品, 其基本理化性状见表 1。

\* 国家自然科学基金(49890330, 30070429, 30230230)和黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室基金项目资助

收稿日期: 2002-07-22; 收到修改稿日期: 2002-11-29

## 1.2 土壤微生物量氮的 $^{15}\text{N}$ 标记

取预培养的湿润土样各 1 份(相当于 1000 g 风干土), 均匀加入 6.006 g 葡萄糖和 0.722 g  $\text{K}^{15}\text{NO}_3$ (上海化工研究院提供, 丰度为 51.29%), 加入葡萄糖与硝酸钾的 C/N 比约为 24:1。加水至土壤田间最大持水量的 60% 左右, 装入罐头瓶中在 25℃ 培养箱中培养 3 d。

## 1.3 土壤碱解氮含量的测定

取每种 $^{15}\text{N}$  标记土样各 150 g, 放入垫有滤纸的布氏漏斗, 用  $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ CaCl}_2$  溶液淋洗土壤, 以除去培养结束后土壤中可能残留的矿质氮, 然后立即将土样风干。用碱解扩散法测定土壤碱解氮含量<sup>[7]</sup>, 重复 6 次。收集滴定液, 用于 $^{15}\text{N}$  测定。考虑到吸收液中全氮含量低, 除将同一处理的两个重复测定合并外, 还给合并后的样品中加入含  $1 \text{ mg NH}_4^+-\text{N}$ (即,  $10 \text{ ml } 100 \text{ mg L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) 的成峰液<sup>[8]</sup>。将酸化后的溶液浓缩至 2~3 ml, 转移入小玻璃瓶中, 密封, 用质谱仪测定样品 $^{15}\text{N}$  丰度, 重复 3 次。计算碱解扩散法对土壤微生物固持 $^{15}\text{N}$  的提取比率, 即: 提取比率 = (提取的 $^{15}\text{N}$  量 / 提取液中全氮量) / (土壤 $^{15}\text{N}$  量 / 土壤全氮量), 或提取比率 = 提取液中 $^{15}\text{N}$  原子百分超 / 土壤 $^{15}\text{N}$  原子百分超<sup>[9]</sup>。

表 1 供试土壤的基本性状

Table 1 The basic properties of soils used

编号 No.	供试土壤 Soil	有机质 Organic matter ( $\text{g kg}^{-1}$ )	全氮 Total N ( $\text{g kg}^{-1}$ )	pH	碱解氮 NaOH hydrolyzable-N ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
1	黄绵土-L	2.84	0.256	7.69	8
2	黄绵土-H	8.81	0.547	7.57	18
3	黑垆土-L	10.46	0.754	7.57	31
4	黑垆土-H	14.72	1.023	7.57	31
5	土-L	13.38	0.970	7.58	31
6	土-H	20.36	1.320	7.46	47

注: L= 低肥力土壤, H= 高肥力土壤(下同)

## 1.4 小麦培养试验

称取每种 $^{15}\text{N}$  标记土样各 5 份, 每份 100 g, 置入垫有玻璃棉及少量石英砂的漏斗(直径 11 cm) 中, 用  $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ CaCl}_2$  溶液淋洗土壤, 以除去土壤中可能残留的矿质氮, 然后加入 25 ml 无氮营养液, 以补充植物生长所需的其他养分。每个漏斗中播种已发芽的小麦 50 粒, 覆土 20 g, 再盖一层石英砂。将漏斗置于盛有蒸馏水的棕色瓶上, 在漏斗孔中插入线绳, 以维持培养期间水分的供应, 漏斗外部用遮光纸包裹。温室中培养 45 d 后收获, 烘干后称重, 粉碎。采用  $\text{H}_2\text{SO}_4-\text{H}_2\text{O}$  法消解, 开氏法测定全氮含量, 收集滴定液, 酸化浓缩后用质谱仪测定 $^{15}\text{N}$  丰度, 重复 5 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤微生物对 $^{15}\text{N}$ 的固持

为评价培养过程中土壤微生物对加入 $^{15}\text{NO}_3^-$  的固持程度, 测定了加入 $^{15}\text{NO}_3^-$  培养 3 d, 再用  $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ CaCl}_2$  溶液淋洗前后土样的 $^{15}\text{N}$  丰度。由表 2 可以看出, 淋洗前后土样 $^{15}\text{N}$  丰度间相差无几, 说明加入的 $^{15}\text{NO}_3^-$  近乎完全为微生物所固持。有学者认为<sup>[5]</sup>, 微生物在其生命活动中优先利用  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ , 但当土壤中有有机碳源丰富时, 硝态氮也可被微生物固持。本研究结果支持了这一观点。其他一些研究也得到类似结果, 如 Zagal 等<sup>[10]</sup> 发现, 加入葡萄糖及  $\text{NO}_3^-$  培养, 1~3 d 内加入的  $\text{NO}_3^-$  全部被土壤微生物固持。Schnurer 等<sup>[11]</sup> 研究表明, 24℃ 下培养 1d, 或 5℃ 下培养 2d, 加入的  $\text{NO}_3^-$  即可被完全被土壤微生物固持。

表2 培养土壤淋洗前后<sup>15</sup>N丰度的变化Table 2 Changes of <sup>15</sup>N atom % in the incubated soils before and after leaching with 0.01 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> solution

编号 No.	供试土壤 Soil	淋洗前 <sup>1)</sup> Before leaching	淋洗后 <sup>1)</sup> After leaching
1	黄绵土-L	0.477±0.016	0.480±0.004
2	黄绵土-H	ND <sup>2)</sup>	0.482±0.001
3	黑垆土-L	0.488±0.010	0.477±0.007
4	黑垆土-H	0.482±0.003	0.471±0.010
5	土-L	0.470±0.005	0.477±0.004
6	土-H	0.472±0.007	0.472±0.006

1) 测定重复2次; 2) ND: 未测定

## 2.2 土壤微生物量氮的化学有效性

由表3可以看出, 碱解扩散法对土壤微生物量固持<sup>15</sup>N的提取比率(提取比率=提取液中<sup>15</sup>N原子百分超/土壤中<sup>15</sup>N原子百分超)在147~283之间, 平均为201。根据提取比率的概念, 若提取比率大于1, 说明所用方法可选择提取土壤中的<sup>15</sup>N; 若等于1, 表明方法无选择提取性<sup>[9]</sup>。由此可见, 碱解扩散法对土壤微生物量氮有较高的选择提取性。

根据加入的<sup>15</sup>N原子百分超及测定的碱解氮的<sup>15</sup>N原子百分超计算了碱解氮中来自于微生物量固持<sup>15</sup>N的比例(即NDFP%),  $NDFP\% = (\text{碱解氮的}^{15}\text{N原子百分超} / \text{施入肥料的}^{15}\text{N原子百分超}) \times 100$ 。结果表明, 测定的碱解氮中约有30.1%~61.6%(平均42.9%)来自土壤微生物固持态氮。显而易见, 碱解扩散法不但可以提取出土壤微生物量氮, 而且对其有较高的提取比例。

不同土壤微生物量氮的提取比率及NDFP%与土壤肥力水平高低有密切关系。同一土类, 高肥力土壤的提取比率及NDFP%小于低肥力土壤。相关分析表明, 碱解扩散法对土壤微生物量氮的提取比率及NDFP%与土壤全氮含量间呈显著负相关, 相关系数分别为-0.829和-0.817。原因可能有二: 一是高肥力土壤氮素含量高, 对施入的肥料<sup>15</sup>N的稀释作用大; 二是高肥力土壤对氮素具有更强的保蓄能力。

表3 碱解扩散法对土壤微生物量固持氮的提取比率及比例

Table 3 Extraction ratio of <sup>15</sup>N immobilized in soil microbial biomass by NaOH hydrolyzable-N method and its NDFP%

编号 No.	供试土壤 Soil	碱解氮 <sup>1)</sup> NaOH hydrolyzable-N (mg kg <sup>-1</sup> )	提取比率 Extraction ratio	NDFP% <sup>2)</sup>
1	黄绵土-L	29.8±2.37b	283	61.6
2	黄绵土-H	50.5±2.88d	184	39.0
3	黑垆土-L	39.2±0.95c	218	48.4
4	黑垆土-H	41.9±1.70c	203	43.8
5	土-L	53.1±3.36b	170	34.3
6	土-H	60.2±2.70a	147	30.1

1) 三次测定的平均值及标准差, 字母不同表示差异达5%显著水平; 2) NDFP% = (碱解氮的<sup>15</sup>N原子百分超/施入肥料的<sup>15</sup>N原子百分超) × 100

### 2.3 土壤微生物量氮的生物有效性

种植在淋洗掉残留矿质氮的 $^{15}\text{N}$  标记土壤上的植物, 其吸收的 $^{15}\text{N}$  应主要来自微生物固持 $^{15}\text{N}$  的释放。因此, 植物体的 $^{15}\text{N}$  丰度若高于 $^{15}\text{N}$  的自然丰度 (0.365%), 高出部分的 $^{15}\text{N}$  应来自于土壤微生物固持的 $^{15}\text{N}$ 。从试验结果(表 4)看, 植物体 $^{15}\text{N}$  丰度在 0.749%~1.162% 之间, 明显高于 $^{15}\text{N}$  的自然丰度。表明土壤微生物固持的 $^{15}\text{N}$  在小麦生长期释放出来为植物吸收利用。

类似于提取比率, 可用有效性比率反映微生物固持氮与土壤固有氮对植物的相对有效性<sup>[9]</sup>。从表 4 可以看出, 供试土壤微生物量氮的有效性比率在 3.7~7.1 之间, 均大于 1, 说明微生物量氮比土壤固有氮有效性高。不同肥力相比, 土高、低肥力微生物量氮的有效性比率无差异, 黄绵土和黑垆土低肥力土壤的土壤微生物量氮的有效性均明显高于相应的高肥力土壤, 这可能与后者对 $^{15}\text{N}$  的稀释作用较高有关。

表 4 小麦地上部分吸氮量、 $^{15}\text{N}$  丰度与微生物固持氮间的有效性

Table 4 N uptake and its atom % of  $^{15}\text{N}$  in shoots of wheat grown on soils incubated with  $^{15}\text{N}$

编号 No.	供试土壤 Soil	干重 Dry weight (g pot <sup>-1</sup> )	吸氮量 N uptake (mg pot <sup>-1</sup> )	$^{15}\text{N}$ 丰度 Atom % of $^{15}\text{N}$ (%)	有效性比率 <sup>1)</sup> Availability ratio
1	黄绵土-L	0.978±0.122	9.69±2.06	1.152±0.067a	7.0
2	黄绵土-H	1.055±0.053	10.20±0.66	0.846±0.050b	4.4
3	黑垆土-L	1.090±0.129	10.41±0.73	1.162±0.083a	7.1
4	黑垆土-H	1.145±0.124	11.00±0.80	0.805±0.022bc	4.0
5	土-L	1.042±0.262	10.93±1.60	0.749±0.008c	3.7
6	土-H	1.169±0.100	11.52±1.96	0.756±0.008c	3.7

1) 有效性比率= 植物地上部分 $^{15}\text{N}$  原子百分超 / 土壤 $^{15}\text{N}$  原子百分超

### 3 讨论

早在 1968 年 Jenkinson<sup>[12]</sup> 就指出, 能选择提取土壤微生物量氮的化学方法是评价土壤有效氮水平理想的化学方法。近 10 余年来, 随着对土壤微生物量氮在土壤供氮方面作用的重视, 关于常用的测定土壤有效氮含量化学法对土壤微生物量氮提取程度和数量的研究成为土壤微生物量氮研究领域的热点之一。研究者从不同角度对这一问题进行了探讨, 结论不尽一致。Hutsch 等<sup>[13]</sup> 推测, EUF 法和 0.01 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 法提取的可溶性有机态氮的主要成分~ 蛋白质态氮和氨基糖类氮, 来自于土壤微生物量氮。Lin 等<sup>[14]</sup> 从 CaCl<sub>2</sub> 法提取氮与氯仿熏蒸土壤后提取氮含量的比较方面, 研究了这一化学方法对土壤微生物量氮的提取情况, 也认为 CaCl<sub>2</sub> 提取了部分微生物量氮。但有学者指出, 0.01 mol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 溶液提取的有机态氮主要为与粘土矿物结合较松的土壤有机氮, 并非土壤微生物量氮<sup>[15]</sup>。显而易见, 由于土壤中氮素存在的复杂性, 仅仅利用成分比较和相关分析等常规方法难于揭示这些化学方法对土壤微生物量氮的提取情况。

因此, 一些研究者引入了 $^{15}\text{N}$  的方法, 即用 $^{15}\text{N}$  标记微生物量氮, 然后研究其化学有效性。如 Kelley 等<sup>[16]</sup> 分别测定了不同化学法对加入 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$  培养以标记土壤微生物量氮土壤 $^{15}\text{N}$  的提取比率, 发现温和型浸提剂(如热水、0.01 mol L<sup>-1</sup> 热 CaCl<sub>2</sub> 溶液、0.005 mol L<sup>-1</sup> 热 NaHCO<sub>3</sub> 溶液等) 比强烈性浸提剂(如甲酸、酸性 KMnO<sub>4</sub> 溶液等) 提取的微生物固持氮的比例高。Stockdale 等<sup>[3]</sup> 的研究发现, 采用 2 mol L<sup>-1</sup> KCl 溶液回流 4 h 这种温和提取法提取氮量虽与测定的土壤微生物量氮水平间显著相关, 但其提取氮的 $^{15}\text{N}$  丰度与土壤微生物量氮的 $^{15}\text{N}$  丰度间无明显关系, 认为该法未能选择提取土壤微生物量氮。应该指出的是, 这些研究均以 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$  培养法标记土壤微生物量氮, 培养时加入土壤的 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$ , 在培养期间除可

以被土壤微生物固持外,还可以被土壤粘土矿物固定,或与土壤有机质发生反应而被固持。后两个途径固定的 $^{15}\text{N}$ 无疑会干扰通过测定 $^{15}\text{N}$ 丰度来评价土壤微生物固持 $^{15}\text{NH}_4^+-\text{N}$ 的提取或释放的测定结果。本研究采用的 $^{15}\text{NO}_3^--\text{N}$ 标记土壤微生物量氮方法,则可排除这些干扰,便于直接揭示所用方法对土壤微生物量氮的提取数量及比例。

碱解扩散法是国内使用较普遍的测定土壤有效氮含量的化学方法<sup>[7]</sup>。对该法提取土壤有效氮的形态尚不清楚。本研究首次查明了这一方法对土壤微生物量氮的提取数量及比例,平均来看,土壤微生物量氮约占供试土壤碱解氮量的1/3以上。需指出的是,供试土壤在测定碱解氮时,已将土壤中残留的矿质氮淋洗掉。对未淋洗矿质氮的土壤,土壤微生物量氮占土壤碱解氮的比例可能会低于这一数值。但可以肯定,碱解扩散法提取氮包括了部分土壤微生物量氮。

与Manumoto等<sup>[6]</sup>采用的将室内培养微生物杀死,然后施入土壤培养,考察其养分释放及对植物有效性的研究方法相比,本研究采用的评价土壤微生物量氮生物有效性方法,与实际情况更为接近,更具有实践意义。这一方法便于淋洗土壤中可能残留的矿质氮,并避免了种植作物时对淋洗的 $^{15}\text{N}$ 处理土壤的风干和扰动作用,排除了这些作用对微生物量氮转化的影响。由于选用的培养容器偏小,种植作物的量又偏多,限制了作物的生长期,造成植物干物质产量较低,从肥料中吸收的氮比例低,未能客观地评价土壤微生物量氮对植物的贡献,这是这一方法需完善之处。另外,加入葡萄糖和无机氮肥培养,土壤增加的微生物量氮属其新固持的氮,在土壤中的存在状态与土壤原有微生物量氮可能会有一定的差异,后者的有效性比前者可能会低一些。但土壤微生物量氮作为土壤养分的活性库或源,经常发生变化的还是那些较少受土壤保护的那一部分微生物量氮<sup>[10]</sup>。从这一意义上讲,了解微生物新固持氮的有效性仍具有积极的意义。

致谢 中国科学院水土保持研究所张卫研究员、王百群副研究员和刘耀宏高级工程师协助测定了 $^{15}\text{N}$ 样品,特此致谢。

#### 参考文献

1. 沈其荣,余玲,刘兆普,等. 有机无机肥料配合施用对滨海盐土土壤微生物态氮及土壤供氮特性的影响. 土壤学报, 1994, 31(3): 287~ 294
2. 姚槐应,何振立,黄昌勇. 红壤微生物量氮的周转期及其研究意义. 土壤学报, 1999, 36(3): 387~ 394
3. Stockdale E A, Rees R M. Relationships between biomass nitrogen and nitrogen extracted by other nitrogen availability methods. *Soil Biol Biochem.*, 1994 26: 1213~ 1220
4. Zhou J B, Li S X. Relationships between soil microbial biomass C and N and hydrolysable nitrogen in some arable soils on Loess Plateau. *Pedosphere*, 1998, 8(4): 349~ 354
5. Alexander M. *Introduction to Soil Microbiology*. John Wiley & Sons Inc. 1977
6. Marumoto T, Anderson J P E, Domsch L H. Decomposition of  $^{14}\text{C}$ - and  $^{15}\text{N}$ - labeled microbial biomass cells in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1982, 14: 461~ 467
7. 严昶升主编. 土壤肥力研究方法. 北京: 农业出版社, 1988, 172~ 174
8. IAEA/FAO编, 中国农业科学院土壤肥料研究所等译. 作物和土壤示踪教程. 北京: 原子能出版社, 1980
9. Legg J O, Chichester F W, Standford G, *et al.* Incorporation of  $^{15}\text{N}$ -tagged mineral nitrogen into stable forms of soil organic nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 1971, 35: 375~ 376
10. Zagal E, Persson J. Immobilization and remineralization of nitrate during glucose decomposition at four rates of nitrogen addition. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, 26(10): 1313~ 1321
11. Schnurer J, Rosswall T. Mineralization of nitrogen from  $^{15}\text{N}$  labeled fungi, soil microbial biomass and roots and its uptake by barley plants. *Plant and Soil*, 1987, 102: 71~ 78
12. Jenkinson D S. Studies on the decomposition of plant material in soil III, Partial sterilization of soil and soil biomass. *J. Soil Sci.*, 1968, 19: 25~ 39
13. Hutsch B, Mengel K. Effect of different soil cultivation system, including no-tillage, on electro-ultrafiltration extractable organic nitrogen. *Biol. Fert. Soils*, 1993, 16: 233~ 237

14. Lin S, Mühling K H, Sattelmacher B. Soil nitrogen fractions as influenced by sample preparation and extraction. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 1997, 28: 551~ 559
15. Appel T, Mengel K. Importance of organic nitrogen fraction in sandy soils obtained by electro-ultrafiltration and nitrogen uptake of rape. *Biol. Fert. Soil*, 1990, 10: 97~ 101
16. Kelley K R, Stevenson F J. Characterization and extractability of immobilized  $^{15}\text{N}$  from the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, 17: 517~ 523

## EVALUATING THE CHEMICAL AND BIOLOGICAL AVAILABILITIES OF SOIL MICROBIAL BIOMASS NITROGEN WITH THE $^{15}\text{NO}_3^-$ -LABELED METHOD

Zhou Jian-bin Li Sheng-xiu Chen Zhu-jun Zhao Ma-xing

(*Faculty of Resource and Environmental Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry,  
Yangling, Shaanxi 712100, China*)

### Summary

In this study soil microbial biomass nitrogen (SMBN) in 6 soil samples were initially labelled with the  $^{15}\text{NO}_3^-$  in the incubation experiment. Then the NaOH hydrolyzable method was adopted to measure the alkali hydrolyzable-N in the soils, and winter wheat was grown on the soils in a greenhouse to evaluate the availability of SMBN to plants. It found that the extractability ratios of the NaOH hydrolyzable-N to the SMBN were in the range of 147 to 283, with an average of 201; there was about 30.1% ~ 61.6% (averaging 42.9%) of NaOH hydrolyzable-N in the soils derived from SMBN. The atom % of  $^{15}\text{N}$  in the plant shoots grown on the soils ranged from 0.749% to 1.162%, which were higher than the natural atom % of  $^{15}\text{N}$  in soil, indicating the release of  $^{15}\text{N}$  immobilized by SMBN in soils. Therefore, it is concluded that the chemical and biological availabilities of SMBN are high.

**Key words** Soil microbial biomass nitrogen,  $^{15}\text{NO}_3^-$ -labelled method, Nutrient availability