



中国土壤学会第十一届全国会员代表大会暨
第七届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会

论文集

土壤科学与社会可持续发展

(下)

土壤科学与生态安全和环境健康

中国土壤学会



中国农业大学出版社

ZHONGGUO NONGYE DAXUE CHUBANSHE

中国土壤学会第十一届全国会员代表大会暨
第七届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会 论文集

土壤科学与社会可持续发展 (下)

土壤科学与生态安全和环境健康

中国土壤学会

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

土壤科学与社会可持续发展(下)——土壤科学与生态安全和环境健康/中国土壤学会主编. —北京: 中国农业大学出版社, 2008. 9

ISBN 978-7-81117-271-3

I. 土… II. 中… III. 土壤科学-关系-可持续发展-研究 IV. S15 X22

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 137418 号

书 名 土壤科学与社会可持续发展(下)——土壤科学与生态安全和环境健康
作 者 中国土壤学会

策划编辑 孙 勇

责任编辑 晓 明

版式设计 郑 川

责任校对 李鸿洲

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62731190, 2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617, 2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月第 1 次印刷

规 格 889×1 194 16 开本 26 印张 782 千字

定 价 本册定价: 80.00 元(全套定价: 240.00 元)

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编辑委员会

主 编 李保国 张福锁

副主编 周健民 沈其荣 武志杰

编 委 (按姓氏笔画为序)

王 冲	王方浩	王敬国	任图生	刘 忠	刘宝存	吕贻忠
孙丹峰	朱永官	江荣风	何园球	张凤荣	张玉龙	张维理
张福锁	李保国	李彦明	李贵桐	沈其荣	苏德纯	陈 清
陈新平	周健民	林启美	武志杰	范明生	胡克林	赵小蓉
赵桂慎	贾小红					

序

土壤是最基本的和不可再生的重要自然资源,它的数量与质量直接影响人类的生存与发展,在粮食安全、环境保护和生态系统功能发挥等方面有着重要作用。

随着人们对土地持续高强度地利用,人地矛盾日趋尖锐。我国的问题尤其严重,一方面耕地资源数量匮乏,整体质量欠佳,土壤环境质量日趋恶化。另一方面耕地资源空间分布不均衡,水土资源匹配不协调;耕地后备资源不足,开发整理复垦难度大等危及资源、环境与粮食安全的严重问题。土壤科学作为解决上述问题的核心学科,既面临前所未有的挑战,同时也是难得的发展机遇。

土壤学在解决全球粮食问题和人类社会可持续发展中发挥了巨大作用。土壤资源保护与土壤肥力培育是现代土壤学的重要内容;土壤生态环境安全与农业可持续发展是现代土壤学的根本任务;土壤环境质量改善是我国农产品质量安全及人民健康的重要基础。这说明,土壤研究具有学科交叉性与综合性的特点,在解决国民经济的重大问题中,将更加注意土壤与环境、土壤质量和肥力、生态和健康之间的影响。从研究土壤本身转向研究土壤与人口、资源、生态、环境、社会经济发展相协调,在不断丰富和发展土壤学自身的研究内容的同时,使土壤学研究参与并服务于国家重大战略,保障我国人口—资源—环境—经济—社会这个大系统协调与可持续发展。

在这样的前提下,中国土壤学会决定在北京召开第十一次全国会员代表大会暨第七届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会,围绕土壤科学与农业可持续发展、土壤科学与资源可持续利用、土壤科学与生态安全和环境健康等三个方面进行研讨,并编辑出版《土壤科学与社会可持续发展》会议论文集。

该论文集的出版反映了我国土壤肥料科学的繁荣与进步,也体现了广大会员对学会的关心与支持!希望该文集能为全国广大土壤和肥料科学工作者提供借鉴,启迪创新思想,掌握新知识,促使土壤科学研究不断创新,为我国土壤科学与社会可持续发展贡献一份力量。

中国土壤学会理事长 周健民

2008年9月

前 言

2008 年是中国最不平凡的一年,从年初的南方冰雪灾害到 5 月 12 日的汶川大地震、从全民抗灾到北京奥运会,中国人民表现出了惊人的团结和坚强。与此同时,全球范围内暴发的粮食和能源危机影响世界各国的经济与社会发展,而中国却依然保持着经济的高速发展,为世人所瞩目。然而,中国做为人口与资源环境及经济发展矛盾最为突出的国家,只有通过全国人民的艰苦奋斗和共同努力,才能解决不断出现的比其他国家更为严峻的各种各样的问题,最终实现可持续发展。在这样一个对土壤科学工作者来说,既面临严峻挑战,又是大好机遇之际、在北京成功举办奥运会一个月之时,中国土壤学会第十一届全国会员代表大会暨第七届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会将于 2008 年 9 月 24—27 日在北京召开。这是中国土壤学会成立 60 年来第一次在北京召开的盛会,将会极大地促进土壤和肥料科学工作者在新的形势下为国家粮食安全、环境保护、资源高效利用做出更大的贡献。

土壤是陆地生态系统的基础、农业生产的基本资料、人类社会可持续发展的必备支撑条件。从人类的吃、穿、住、行到生产、生活的方方面面,人类的一切活动都要依靠土壤功能的发挥。为此大会确定的主题是“土壤科学与社会可持续发展”,会议将围绕土壤科学与农业可持续发展、土壤科学与资源可持续利用和土壤科学与生态安全和环境健康等三个方面,对土壤资源现状、土壤性质与演变过程、土壤与环境退化、土壤资源利用与粮食安全、肥料高投入对土壤质量与生态环境的影响、工业化和城市化对土壤资源变化的影响、农业与环境平衡的土地资源利用策略、生态环境协调与粮食安全保障、土地资源的保护与合理利用、土壤在社会、环境和农业可持续发展中的作用、土壤资源合理利用和提高土壤质量的政策与建议、土地资源利用—生态环境友好—粮食安全保障和谐的政策、措施与建议等具体内容展开学术交流和讨论。

为了开好这次会议,在中国土壤学会的领导下,承办单位北京土壤学会、中国农业大学、中国科学院南京土壤研究所、中国农业科学院农业资源与农业区划研究所、中国科学院生态环境研究中心、北京市农林科学院、农业部种植业司、全国农业技术推广服务中心、北京市农业局和土肥站、中国科学院沈阳应用生态研究所、南京农业大学等单位及有关人员做了一年多辛苦的筹备工作,通过中国土壤学会各省分会和各专业委员会在全国范围内进行了论文征集,广大会员积极性高,踊跃投稿;台湾中华土壤肥料学会也积极组织会员投稿;为加强中国土壤科学家与国际土壤科学家的联系,组委会还邀请了国际知名土壤学家到会做土壤科学最新进展的学术报告并提交相应的论文。

会议共收到中英文论文全文、详细摘要、摘要共 245 篇,本着全面反映土壤和肥料科学近年来的研究进展,积极扩大此次会议学术交流成果的宗旨,经编辑委员会认真评审,选用了 225 篇论文和详细摘要,分上、中、下三册编辑出版。

上册“土壤科学与农业可持续发展”包括了土壤养分化学与土壤肥力、植物营养学、施肥科学与技术三方面内容;中册“土壤科学与资源可持续利用”包括了土壤物理与水分利用、土壤地理与土壤资源、水土保持、盐渍土资源利用、土壤计量学与信息技术应用、土地利用与耕地保护方面内容;下册“土壤科学与生态安全和环境健康”包括了土壤生物与生态、土壤环境化学、土壤科学与全球变化方面内容。每册当中文章的排序是按上述各方面内容顺序分类后,再按题目的汉语拼音为序进行排列。

由于时间紧、任务重,编辑水平有限,文集中不当之处,恳请广大会员和读者指正。

张福锁

2008 年 8 月

目 录

不同品种水稻的稻田氨氧化细菌和氨氧化古菌群落结构多样性·····	宋亚娜 林智敏 林 捷(1)
不同施肥处理对稻田土壤微生物群落结构的影响·····	张奇春 王光火 时亚南(9)
不同土地利用方式下的蚯蚓种群特征及与土壤肥力的关系·····	廖 燕 朱君君 孙振钧等(18)
长期缺施磷肥对潮土磷细菌及其磷转化强度的影响·····	胡君利 林先贵 王俊华等(25)
潮土区弃耕农田演替过程中土壤氮和植物群落变化的初步研究·····	李立平 王 君 彭文俊等(26)
丛枝菌根真菌对四种短命植物生长发育和种子生产的影响·····	张 涛 孙 羽 田长彦等(32)
稻草免耕稻田土壤的氮素形态及氮素生理群特征·····	顾明华 区惠平 刘昔辉等(39)
毒死蜱、马拉硫磷和氰戊菊酯对蚯蚓的毒性效应·····	刘 伟 朱鲁生 王 军等(47)
桂西北移民迁入区典型生态系统土壤微生物多样性·····	何寻阳 苏以荣 王克林等(51)
黑土区长期施肥细菌群落结构和功能多样性变化·····	魏 丹 杨 谦 张军政等(61)
解磷高效微生物最佳培养条件研究·····	周 成 荣湘民 刘 强等(70)
两株产纤维素酶芽孢杆菌的筛选及其纤维素酶部分特性·····	葛春辉 徐万里 邵华伟等(76)
农田生态系统微生物多样性研究方法及应用·····	毕明丽 宇万太(81)
生物有机肥生产中发酵菌剂的选择研究·····	高树清 王炳华 徐 静等(90)
兽药土霉素残留对土壤微生物功能的影响·····	王 燕 王鹭松 李芳柏等(95)
酸性土壤供氮力几种指标的综合评价·····	姜子绍 宇万太 周 桦(98)
土地管理方式对黑土酶活性的影响·····	侯雪莹 韩晓增 王树起(105)
土壤微生物分子生态学与经典生物学的和谐发展·····	林先贵(110)
外源四环素对菜田土壤酶活性的影响·····	刘吉强 诸葛玉平(111)
我国南方地区红黏土去除病毒能力研究·····	张 辉 赵炳梓 张佳宝(116)
新疆棉花黄萎病发病株根际土壤微生物生态特征研究·····	顾美英 徐万里 茆 军等(124)
淹水还原条件下不同类型土壤中 Cd 存在形态活性的变化·····	李义纯 周权锁 葛 滢(129)
一株具有偶氮染料还原活性的腐殖质还原菌·····	武春媛 李芳柏 周顺桂等(135)
Bt 毒蛋白在土壤表面吸附的动力学和热力学研究·····	付庆灵 邓雅丽 李慧姝等(142)
Interactions between Soil Biota and Soil Structure Influence Ecosystem Functioning·····	J. Six(150)
Laboratory Studies of Bioremediation of Pentaerythritol Tetranitrate Contaminated Soil·····	Zhuang Li(151)
Nitrogen and Sulphur Deposition to Soils and Their Impacts on Soil Processes·····	K. W. T. Goulding(153)
Roles of Soil Science for Mitigating Greenhouse Gas Emissions from Agriculture in Monsoon Asia·····	Kazuyuki Yagi(163)
不同氮源、光暗变化对分蘖期水稻叶际 NO _x (NO, NO ₂)交换的影响·····	徐胜光 陈能场 周建民等(165)
不同土地利用方式下棕壤胡敏素数量及结构特征研究·····	梁 尧 窦 森(174)
长期施肥下红壤磷素积累的环境风险分析·····	王艳玲 何园球(182)
城市污泥植物处理与农业利用研究进展·····	吴启堂 卫泽斌 丘锦荣等(188)
崇明岛农业立体污染防控模式研究与探讨·····	吕卫光 杨 捷 姚 政等(194)
二氧化钛胶体处理土壤对小麦积累铅铜锌的影响·····	刘义新 孟丽华 齐 帅等(197)

官厅水库周边土壤农药类 POPs 残留格局及对策研究	王铁宇 吕永龙(203)
硅、腐殖酸对铬污染土壤中小白菜生理的影响	林翠兰 罗小玲 李淑仪等(210)
海南省三亚市果蔬地重金属含量及其污染评价	李福燕 李许明 吴鹏飞等(215)
黑土农田不同土壤管理方式下肥料氮去向的研究	韩晓增 朱霞 王守宇等(222)
基于 CNKI 数据库的农业面源污染文献定量研究	李云霞(230)
几种人工湿地植物根系诱导生长试验初探	周德兴 丁芳 雷萍等(235)
晋中盆地发展无公害蔬菜的土壤环境质量分析	王曰鑫 吕晋晓(240)
纠正施肥模式遏止过量施肥的面源污染研究	吕基悟 唐晓平 罗明云等(247)
孔雀草、非洲凤仙及美女樱对污染土壤镉铅累积吸收之研究	林淳纯 陈尊贤(253)
辽宁省盘锦市稻田养蟹持续发展水平的能值分析	朱清海 魏德生 徐清云(259)
农田生态系统微量元素循环研究进展	朱先进 宇万太(264)
农田土壤重金属污染的生态效应影响及控制策略	杨捷 吕卫光(272)
山区生态果园建设对土壤铁锰铜锌含量的影响	张丹 陈红 高庭艳等(277)
施肥对水旱轮作田有机农作物生产之影响	蔡永暉(282)
施硅对污染土壤中铬形态及其生物有效性的影响	李淑仪 林翠兰 许建光等(292)
施硅和腐殖酸对蔬菜铬铅生物有效性影响	李淑仪 蓝佩玲 罗小玲等(299)
施用含洛克沙肿代谢物鸡粪对萝卜砷形态的影响	姚丽贤 李国良 党志(309)
食土蚯蚓对腐殖酸模型化合物降解转化的 ¹⁴ C示踪研究	单军 季荣(318)
蔬菜富集重金属 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的特征和规律研究	茹淑华 张国印 孙世友等(321)
水旱轮作体系中的钾素循环与平衡	李小坤 鲁剑巍 吴礼树(327)
台湾台北市关渡平原砷污染稻田土壤砷形态划分研究	蘇紹璋 陳尊賢(334)
臺灣有機農業二十年——研究與試驗	鍾仁賜(339)
铜污染土壤施加有机物料对微生物量碳的影响	姜燕宏 诸葛玉平 郭文文(347)
土壤重金属测试方法的研究进展	刘善江 高利娟 姚志东(353)
土壤重金属污染及其修复技术研究进展	刘永红 姜冠杰 杨海征等(356)
微波消解 ICP-AES 法测定土壤中稀土元素	陈万明 肖时运 周建成等(363)
污泥堆肥施用於不同質地土壤後對氮礦化之影響	黃正介 陳尊賢(367)
污泥水解残渣施用于金盏菊的实验研究	华佳 张林生 霍苗等(371)
硒钴配施对番茄幼苗生长及土壤微生物的影响	樊文华 李莉(376)
厌氧条件下五溴苯酚界面还原脱溴反应初探	陶亮 孙克文 李芳柏(381)
玉米种植条件下沸石对土壤 Cd、Pb 含量变化的影响	李鹏 安志装 赵同科等(387)
中国化肥分区土壤表观氮平衡研究	刘忠 李保国 段增强等(393)
中国化肥施用的环境成本估算	赖力 黄贤金 王辉等(401)

不同品种水稻的稻田氨氧化细菌和氨氧化古菌群落结构多样性

宋亚娜 林智敏 林 捷

(福建农科院生物技术研究所,福州 350003)

摘要:利用 PCR-DGGE 技术研究了不同品种水稻的稻田土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌的群落结构。结果表明:稻田土壤具有丰富的氨氧化细菌和氨氧化古菌,且氨氧化古菌种类更多;水稻品种与不同位置土壤对氨氧化细菌和氨氧化古菌群落结构组成均有一定影响,但前者对氨氧化细菌群落结构影响较大,而后者影响主要表现在氨氧化古菌群落结构上。证明了氨氧化微生物尤其是氨氧化古菌在稻田土壤生态系统中占有重要地位。

关键词:水稻;氨氧化细菌;氨氧化古菌;PCR-DGGE

农田生态系统中土壤生物多样性是物质和能量转化、循环、利用的基础,是生态系统稳定性和可持续性的保障。氨氧化细菌是执行硝化作用第一步,将氨氧化为亚硝酸盐即硝化速率限制性步骤的关键微生物^[1]。自养型氨氧化细菌可分为两大类,一类属于 γ -脲细菌(γ -proteobacteria)只存在于海洋和咸水中^[2],另一类属于 β -脲细菌(β -proteobacteria),土壤中的氨氧化细菌都属于这一类^[3, 4]。氨氧化细菌通过单加氧酶(amox)活性控制氨氧化成亚硝酸盐的速率。最新研究发现具有 amox 基因的泉古菌门的古细菌^[5, 6],进一步研究证实自然界中不仅存在具有氨氧化功能的氨氧化古菌,而且在陆地生态系统中氨氧化古菌的数量和分布都比氨氧化细菌更丰富^[7]。从而亟待对现有的基于氨氧化细菌活性的氨氧化过程对生态系统的影响作用进行重新评价。

虽然水稻淹水时土壤处于厌氧条件而抑制硝化作用,但由于水稻根系能够分泌 O_2 ,为水稻根表和根际提供充足的氧,足以支持非专一性的好氧微生物过程,而使水稻根际具有显著硝化作用的可能^[8]。但是,目前对水稻根际氨氧化微生物资源的组成、种类和数量及其与水稻根际硝化作用关联的研究报道还很少;对稻田氨氧化微生物在土壤硝化作用中所具有的功能及其对水稻生产中氮素循环的意义还认识不清。

基于上述问题,本研究以不同品种水稻的稻田土壤为供试材料,利用 PCR-DGGE 分子生物学技术初步研究了稻田氨氧化细菌和氨氧化古菌的群落结构组成,证实了稻田土壤中氨氧化古菌的存在,探明了不同品种水稻的土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌群落组成的多样性。为进一步深入研究稻田氨氧化微生物基因资源及其功能奠定理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试土壤来自福建农科院遗传重点实验室位于福州市郊的“吴风水稻试验基地”。选取了该试验基地同一田块上的 6 个不同品种水稻,于水稻抽穗期进行了根际土壤和表层土壤取样。采用 3 点取样方法,在每个品种中选均匀分布的 3 个点分别取土于 4℃ 冰盒保存,将冷藏保存的土样带回实验室后,除去可见根系、动物残体和石块等杂物后,将 3 个点的土样混合为一个样品。混合后的土样保存到 -20℃ 条件下用于土壤微生物群落结构的研究。具体取样品种、取样位置和样品编号见表 1。

表 1 供试土样的采集

Table 1 Sampling of the study

样品编号 No.	水稻品种 Cultivars of rice	取样位置 Position
1	天 A/Km71	表土 Surface soil (0~5 cm)
2	天 A/Km71	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)
3	闽优 1027	表土 Surface soil (0~5 cm)
4	闽优 1027	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)
5	Km62/1027	表土 Surface soil (0~5 cm)
6	Km62/1027	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)
7	GB22	表土 Surface soil (0~5 cm)
8	GB22	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)
9	Zh870	表土 Surface soil (0~5 cm)
10	Zh870	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)
11	Z1	表土 Surface soil (0~5 cm)
12	Z1	根际土 Rhizosphere soil (10~20 cm)

1.2 方法

1.2.1 土壤微生物总 DNA 提取

采用 FastDNA® SPIN® Kit (For Soil) (Q. BIOgene)的试剂盒方法,称取 0.5 g, -20℃ 保存的土壤样品,按试剂盒的试验步骤进行土壤微生物总 DNA 的提取,DNA 样品 -20℃ 冰箱保存待用。

1.2.2 样品的 PCR 扩增

氨氧化细菌扩增采用属于 β -脲细菌(β -proteobacteria)的氨氧化细菌的 16S rDNA 特异引物对 CT-Of189GC/CTOr654^[9],氨氧化古菌扩增采用特异引物对: Arch-amoA-forGC/Arch-amoA-rev^[10](表 2)。引物 CTOf189 和 Arch-amoA-for 前分别加了一个 GC 夹用来防止 DNA 片段在进行变性梯度凝胶电泳时过早解链。氨氧化细菌和氨氧化古菌的 PCR 反应体系均是 50 μ L,其中 2 μ L 稀释 10 倍的 DNA 模板加反应液 48 μ L,反应液包括 1 μ L Taq DNA 聚合酶 (2.5 U $\cdot$ μ L⁻¹,天为时代,北京), 5.0 μ L dNTPs (2 mmol $\cdot$ L⁻¹ each, 生工,上海), 5.0 μ L 10 $\times$ PCR-buffer (天根,北京),前、后引物各 4 μ L (5 pmol $\cdot$ μ L⁻¹生工,上海)和 29 μ L 超纯水。氨氧化细菌 PCR 扩增程序为:93℃ 1 min,35 次循环;变性 92℃ 30 sec,退火 57℃ 1 min,延伸 68℃ 45 s(+1 s/循环),最后一步 68℃ 5 min。氨氧化古菌 PCR 扩增程序为:95℃ 1 min,35 次循环;变性 94℃ 30 s,退火 58℃ 40 s,延伸 72℃ 40 s,最后一步 72℃ 10 min。用 1.5% (W/V) 琼脂糖凝胶 EB (ethidium bromide 溴化乙锭)染色检查 PCR 扩增产物。

1.2.3 PCR 产物的 DGGE 分析

用 40 μ L 的 PCR 产物进行 DGGE,采用梯度为 35%~50%(氨氧化细菌)和 30%~55%(氨氧化古菌)的 8%的聚丙烯酰胺凝胶(化学变性剂为 100%尿素 7 mol $\cdot$ L⁻¹和 40%(V/V)的去离子甲酰胺)在 1 $\times$ TAE 缓冲液中 150 V 60℃ 下电泳 5 h。电泳后用 10 mL SyBR green I (Sigma) (1 $\times$ TAE 稀释 10 000 倍)核酸染料染色 45 min,然后用 Bio-Red 成像系统拍照。采用 Quantity One 软件(Bio-Red)对 DGGE 图谱条带进行数字化处理和聚类分析^[11]。

表 2 引物的碱基序列

Table 2 Sequences of primers used in this study

引物 Primers	碱基序列 Sequences
CTOf189GC	CGC CCG CCG CGC GGC GGG CGG GGC GGG GGC ACG GGG GGA GGA AAG TAG GGG ATC G

续表 2

引物 Primers	碱基序列 Sequences
CTOr654	CTA GCY TTG TAG TTT CAA ACG C
Arch-amoA-forGC	CGC CCG CCG CGC GGC GGG CGG GGC GGG GGC ACG GGG CTG AYT GGG CYT GGA CAT C
Arch-amoA-rev	TTC TTC TTT GTT GCC CAG TA

注:其中 Y=C/T

2 结果与分析

2.1 氨氧化细菌群落多样性

利用属于 β -脲细菌的氨氧化细菌 16S rDNA 特异引物对 CTOf189GC/CTOr654 对土壤微生物总 DNA 进行 PCR 扩增,及 PCR 产物的变性梯度(35%~50%)凝胶电泳得到不同品种水稻的稻田土壤氨氧化细菌群落组成的 DGGE 图谱(图 1)。

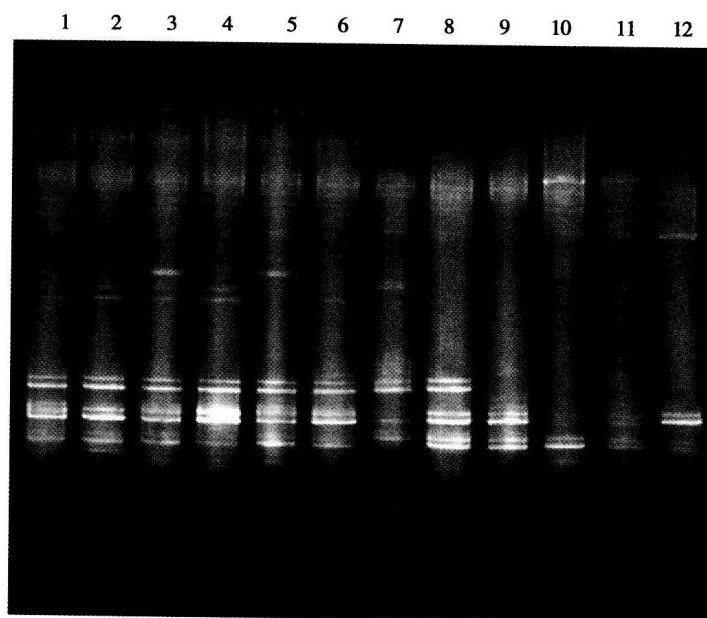


图 1 不同品种水稻土壤氨氧化细菌的 PCR-DGGE 图谱

Fig. 1 PCR-DGGE image of ammonia-oxidizing bacteria in paddy field soil from different cultivars of rice

1:天 A/Km71 表土 Surface soil of TianA/Km71,2:天 A/Km71 根际土 Rhizosphere soil of TianA/Km71,3:闽优 1027 表土 Surface soil of Minyou1027,4:闽优 1027 根际土 Rhizosphere soil of Minyou1027,5:Km62/1027 表土 Surface soil of Km62/1027,6:Km62/1027 根际土 Rhizosphere soil of Km62/1027,7:GB22 表土 Surface soil of GB22,8:GB22 根际土 Rhizosphere soil of GB22,9:Zh870 表土 Surface soil of Zh870,10:Zh870 根际土 Rhizosphere soil of Zh870,11:Z1 表土 Surface soil of Z1,12:Z1 根际土 Rhizosphere soil of Z1

利用 Quantity One 软件(Bio-Red)对 DGGE 图谱条带进行数字化处理分析。结果显示不同土壤样品可检测到的 DGGE 条带数量存在明显差异(表 3)。就水稻品种而言,天 A/Km71、闽优 1027 和 Km62/1027 三个品种水稻的根际土及表土中可检测到的 DGGE 条带数量都较高,在 15 条左右;而 GB22、Zh870 和 Z1 三个品种水稻的根际土及表土中可检测到的 DGGE 条带数量明显减少,只有 11 条左右(表 3)。说明前 3 个品种的稻田土壤氨氧化细菌种类明显多于后 3 个品种。就不同位置的土壤而言,有些品种水稻的根际和表土土壤中氨

氧化细菌种类数量存在明显差异,闽优 1027 和 Z1 两个品种水稻表土中可检测到的 DGGE 条带数量均比根际土中可检测到的条带数多 5 条;其余品种水稻根际土和表土间没有明显差异(表 3)。

表 3 氨氧化细菌和氨氧化古菌 DGGE 图谱中可检测的条带数量

Table 3 Number of DGGE bands detected in DGGE profiles of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea

样品 Sample	氨氧化细菌 Ammonia-oxidizing bacteria	氨氧化古菌 Ammonia-oxidizing archaea
天 A/Km71 表土 Surface soil of TianA/Km71	15	18
天 A/Km71 根际土 Rhizosphere soil of TianA/Km71	14	19
闽优 1027 表土 Surface soil of Minyou1027	17	17
闽优 1027 根际土 Rhizosphere soil of Minyou1027	12	19
Km62/1027 表土 Surface soil of Km62/1027	16	18
Km62/1027 根际土 Rhizosphere soil of Km62/1027	16	19
GB22 表土 Surface soil of GB22	12	17
GB22 根际土 Rhizosphere soil of GB22	11	17
Zh870 表土 Surface soil of Zh870	11	17
Zh870 根际土 Rhizosphere soil of Zh870	11	16
Z1 表土 Surface soil of Z1	11	14
Z1 根际土 Rhizosphere soil of Z1	6	16

进一步依据 DGGE 条带的 Rf 值和密度值数字化结果进行聚类分析,如图 2 所示。由此可见,天 A/Km71、闽优 1027 和 Km62/1027 三个品种水稻的根际土及表土中的氨氧化细菌群落组成相似性较高,且明显不同于 GB22、Zh870 和 Z1 三个品种水稻,单独聚为一大类。而在这一聚类中,天 A/Km71 根际土和表土氨氧化细菌群落组成相似性最高,首先聚类,这与其可检测到的 DGGE 条带数量几乎没有差异相一致。闽优 1027 和 Km62/1027 两个品种的根际土与表土氨氧化细菌群落组成都有一定差异,未能首先聚类,且以闽优 1027 的根际土与表土的差异较大,这也与其 DGGE 可检测条带数量差异明显的结果相一致。在 GB22、Zh870 和 Z1 三个品种水稻中,Zh870 的根际土和表土氨氧化细菌群落组成相似性最高,首先聚类,且与 GB22 根际土和 Z1 表土氨氧化细菌群落组成有一定相似性,可以聚为一类。GB22 表土和 Z1 根际土氨氧化细菌群落组成与其他样品的差异较大,分别单独聚类;尤其以 Z1 根际土的差异最大,这与其 DGGE 可检测条带数最少相一致。

2.2 氨氧化古菌群落多样性

利用针对古细菌的单加氧酶基因(amoA)的特异引物对 Arch- amoA- forGC/ Arch- amoA-rev 对土壤微生物总 DNA 进行 PCR 扩增,及 PCR 产物的变性梯度(30%~55%)凝胶电泳得到不同品种水稻的稻田土壤氨氧化古菌群落组成的 DGGE 图谱(图 3)。

不同土壤样品氨氧化古菌的 DGGE 图谱可检测到条带数量基本没有明显差异(表 3)。就水稻品种而言,GB22、Zh870 和 Z1 三个品种水稻的根际土及表土中可检测到的 DGGE 条带数量略少于天 A/Km71、闽优 1027 和 Km62/1027 三个品种,相差 2~3 条(表 3)。就不同位置的土壤而言,仅 Z1 的根际土比表土中可检测到的 DGGE 条带数量多 2 条,其余品种水稻根际土和表土间几乎没有差异(表 3)。此外,与不同土壤样品氨氧化细菌的 DGGE 图谱可检测条带数量相比较,不同土壤样品的氨氧化古菌可检测条带较多,尤其是在 GB22、Zh870 和 Z1 三个品种水稻中差异明显,一般可多检测到 5~6 条(表 3)。说明土壤样品中氨氧化古菌种类明显多于氨氧化细菌种类。

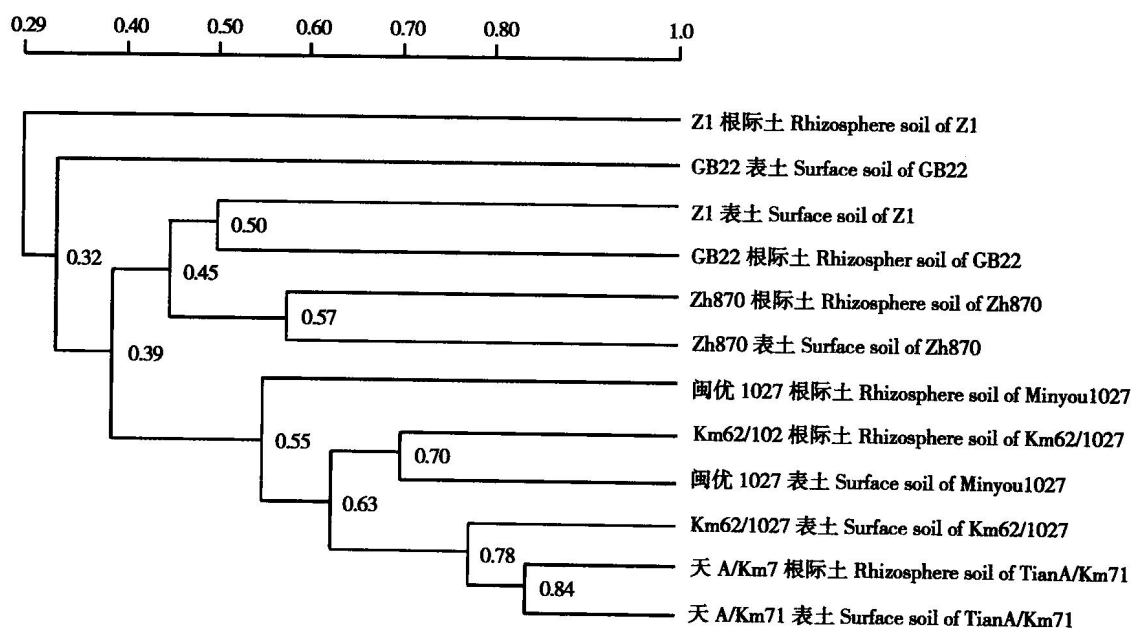


图 2 不同品种水稻土壤氨氧化细菌群落组成的聚类分析 (UPGAMA)

Fig. 2 The clustering analysis (UPGAMA) of ammonia-oxidizing bacteria composition of paddy field soil from different cultivars of rice

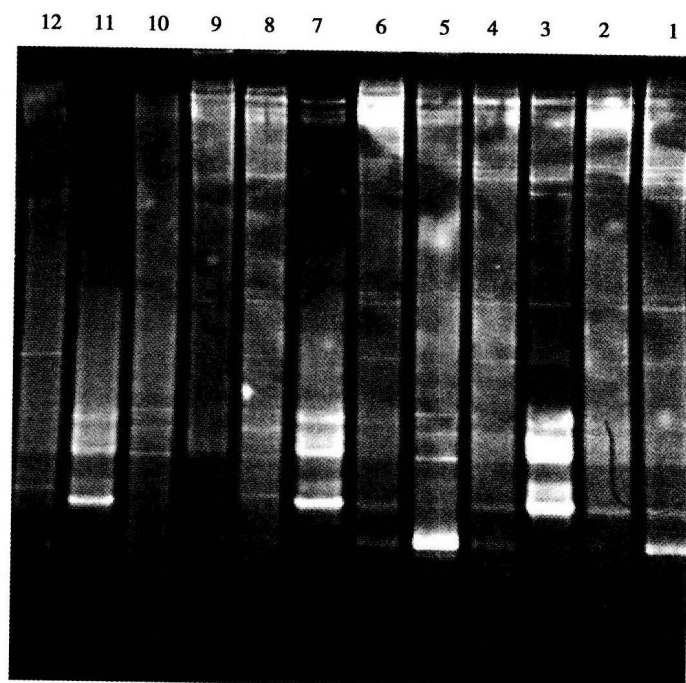


图 3 不同品种水稻土壤氨氧化古菌的 PCR-DGGE 图谱

Fig. 3 PCR-DGGE image of ammonia-oxidizing archaea in paddy field soil from different cultivars of rice

1-12 样品同图 1 1-12 Samples same to Fig 1

不同品种水稻土壤氨氧化古菌群落组成的聚类分析结果如图 4 所示。天 A/Km71 和 Km62/1027 两个品种及闽优 1027 和 GB22 两个品种的根际土和表土的氨氧化古菌群落组成分别首先聚类,表明无论是根际

土还是表土,氨氧化古菌群落组成在天 A/Km71 和 Km62/1027 两个品种间,或闽优 1027 和 GB22 两个品种间的相似性均较高。但是,就不同位置土壤而言,天 A/Km71 和 Km62/1027 的表土氨氧化古菌群落组成与其根际土氨氧化古菌群落组成差异显著,聚类距离最远;闽优 1027 和 GB22 的表土与根际土的氨氧化古菌群落组成也具有一定的聚类距离,差异明显。品种 Z1 表土和根际土的氨氧化古菌群落组成差异明显,没有首先聚类;但 Z1 的表土和根际土分别与闽优 1027 和 GB22 两个品种的表土和根际土聚类,表明 Z1 土壤中氨氧化古菌群落组成与闽优 1027 和 GB22 两个品种具有一定相似性。而品种 Zh870 的根际土、表土的氨氧化古菌群落组成依次与天 A/Km71 和 Km62/1027 两个品种根际土聚类,表明 Zh870 的根际土和表土氨氧化古菌群落组成相似性较高,且与天 A/Km71 和 Km62/1027 的根际土氨氧化古菌群落组成较为相似。

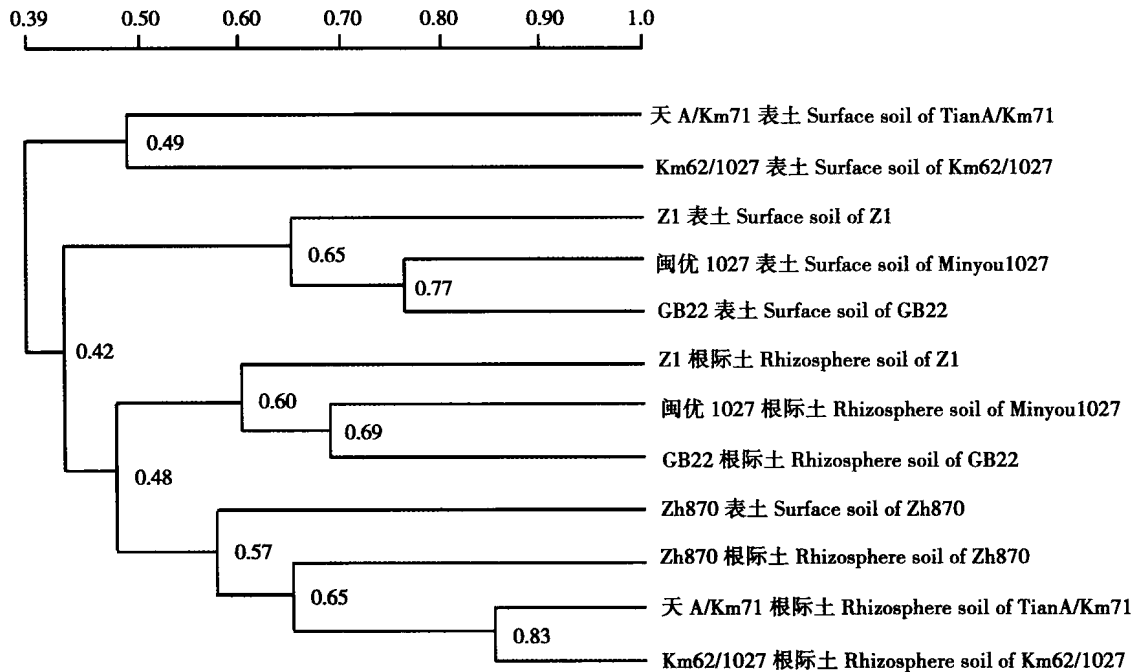


图 4 不同品种水稻土壤氨氧化古菌群落组成的聚类分析 (UPGAMA)

Fig. 4 The clustering analysis (UPGAMA) of ammonia-oxidizing archaea composition of paddy field soil from different cultivars of rice

3 讨论

利用 PCR-DGGE 技术分析了不同品种水稻的稻田土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌群落组成多样性。结果表明在稻田土壤中存在着丰富的氨氧化细菌和氨氧化古菌基因资源,而且通过对 DGGE 图谱条带的检测分析,表明稻田土壤中氨氧化古菌的种类比氨氧化细菌更为丰富。该结果再次验证了土壤中氨氧化古菌资源比氨氧化细菌更为丰富的研究结论^[7],从而也进一步说明土壤氨氧化古菌资源研究利用的重要性和迫切性。

作物种类是影响土壤微生物群落结构的重要因素之一^[12]。就本研究而言,不同品种的水稻对稻田土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌群落结构均有一定的影响。但总体上对氨氧化细菌的影响程度大于对氨氧化古菌的影响。6 个品种水稻的稻田土壤氨氧化细菌群落组成均有一定差异,而其中又以天 A/Km71、闽优 1027 和 Km62/1027 三个品种相似性较高,且明显不同于其余 3 个品种。无论是 DGGE 图谱可检测条带数量还是聚类分析结果都表明天 A/Km71、闽优 1027 和 Km62/1027 三个品种土壤氨氧化细菌群落组成明显不

同于其他品种。而对于土壤氨氧化古菌而言,在不同品种水稻的稻田土壤中虽有所不同,但大部分品种间的相似性较高。首先,不同品种水稻的土壤氨氧化古菌可检测条带数量没有明显差异;其次,品种天 A/Km71 和 Km62/1027 及品种闽优 1027 和 GB22 间的氨氧化古菌群落组成无论在根际土还是表土中都表现出高度的相似性;品种 Z1 和 Zh870 的土壤氨氧化古菌群落组成虽差异较大,但又分别与天 A/Km71 和 Km62/1027 及闽优 1027 和 GB22 较相似。

由于受到根系分泌物等根际作用的影响,通常作物根际与非根际土壤中微生物群落组成有所不同^[13]。本研究中氨氧化细菌群落组成未在所有品种水稻的根际土和表土间表现出明显差异,天 A/Km71 和 Zh870 两个品种的根际土和表土氨氧化细菌群落组成高度相似。而氨氧化古菌群落组成在所有供试品种的根际与表土间都表现出了明显差异。即使各个品种的根际土与表土氨氧化古菌可检测条带数量没有明显差异,但所有品种的根际土与表土氨氧化古菌群落组成都未能首先聚类。这也表明土壤微生物群落结构不仅与微生物种类而且与各类微生物的数量及活性等因素密切相关。

综上所述,稻田土壤中存在丰富的氨氧化细菌和氨氧化古菌基因资源,且水稻品种对土壤氨氧化细菌群落组成影响较大,而不同位置的土壤对氨氧化古菌群落组成影响较大。同时氨氧化古菌种类比氨氧化细菌种类更丰富,表明了氨氧化古菌在稻田氨氧化微生物组成中占有重要地位。

参考文献

- [1] Phillips C J, Harris D, Dollhopf S L, et al. Effects of agronomic treatments on structure and function of ammonia-oxidizing communities. *Appl Environ. Microbiol.*, 2000, 66:5410~5418
- [2] Woese C R, Weisburg W G, Paster B J, et al. The phylogeny of the purple bacteria: the gamma subdivision. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1985, 6:25~33
- [3] Woese C R, Weisburg W G, Paster B J, et al. The phylogeny of the purple bacteria: the beta subdivision. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1984, 5:327~336
- [4] Stephen J R., McCaig A E, Smith Z, et al. Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to γ -subgroup ammonia-oxidizing bacteria. *Appl Environ. Microbiol.*, 1996, 62: 4147~4154
- [5] Treusch A H, Leininger S, Kletzin A, et al. Novel genes for nitrite reductase and amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(12): 1985~1995
- [6] Schleprdt C, Jurgens G, Jongschaap M. Genomic studies of uncultivated archaea. *Nature review of Microbiology*, 2005, 3: 479~488
- [7] Leininger S, Urich T, Schlöter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soil. *Nature*, 2006, 442: 806~809
- [8] Briones A M, Okabe S, Umekiya Y, et al. Influence of different cultivars on populations of ammonia-oxidizing bacteria in the root environment of rice. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 3067~3075
- [9] Song Y N, Mrschner P, Li L, et al. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria in the rhizosphere of intercropped wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) *Bio. Fertil. Soils*, 2007, 44 (2):307~314
- [10] Wuchter C, Abbas B, Marco J L, et al. Archaeal nitrification in the ocean. *PNAS*, 2006, 103(33): 12317~12322
- [11] 罗青, 宋亚娜, 郑伟文. PCR-DGGE 法研究福建省稻田土壤微生物地区多态性. *中国生态农业学报*,

2008, 16(3):669~674

- [12] Marschner, P. , Yang, C. H. , Lieberei, R. Crowley, D. E. , 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 33:1437~1445
- [13] Altieri, M. A. , 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture Ecosystems and Environment* 74:19~31

Diversity of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in paddy soil from different Cultivars of rice

Song Yana, Lin Zhimin, Lin Jie

(Institute of Biological Technologies, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003)

Abstract: Community structures of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea were studied by denaturing gradient gel electrophoresis in paddy soil from different cultivars of rice. The results showed that ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in paddy soil were richness, and the sort of ammonia-oxidizing archaea was more than ammonia-oxidizing bacteria. Different cultivars of rice and position of soil all influenced the community structures of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea. Effect of different cultivars of rice on ammonia-oxidizing bacteria was stronger, and effect of position of soil on ammonia-oxidizing archaea was more obvious. The results demonstrated that ammonia-oxidizer especially ammonia-oxidizing archaea was important in the ecosystem of paddy soil.

Key words: Rice; ammonia-oxidizing bacteria; ammonia-oxidizing archaea; DGGE

不同施肥处理对稻田土壤微生物群落结构的影响

张奇春 王光火 时亚南

(浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

摘要:采用 BIOLOG 微平板和磷酸脂肪酸(PLFA)测试方法,研究了不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响。发现不同施肥处理使土壤微生物群落功能多样性发生明显改变,施用有机肥的土壤微生物活性强、代谢快,对各类碳源的利用能力相对较高,PM 和 RS 处理的 AWCD 值要高于 CF 和 CK。与不施肥对照相比,施肥可以显著提高 Shannon 指数、McIntonch 指数(U),但在一定程度上减少了微生物群落功能多样性的丰富度。对 AWCD 值进行主成分分析,发现不同施肥处理土壤微生物对碳源的利用选择性发生了明显变化。各个单体磷脂脂肪酸的相对含量在不同的施肥处理中差别很大,具有多样性,土壤微生物群落结构发生了改变。进一步分析发现 15:1 ω 6c、17:0 3OH 这两种脂肪酸仅出现在施有机肥的处理中,表征细菌、真菌、放线菌的磷脂脂肪酸其相对含量在各个施肥处理中也明显不同。CK 和 CF 处理的 G^+/G^- 值显著高于 PM 和 RS 处理($P<0.05$)。经过主成分分析,发现不饱和、环状等脂肪酸在 RS 和 PM 处理土壤中含量丰富,而在 CK 和 CF 处理土壤中构成微生物细胞膜的磷脂大多数是饱和直链脂肪酸。

关键词:施肥;水稻土;酶活性;微生物

土壤微生物是土壤的重要组成部分,参与 C、N、P、S 等元素的周转与循环,因此微生物群落的数量、组成以及活性与土壤肥力有密切的联系。通过对微生物群落结构的研究,可以揭示土壤中微生物种类和功能的差异,反映生态功能和环境胁迫等方面的影响,土壤微生物群落结构已经被作为评估土壤质量的微生物指标之一。

本文研究了不同施肥处理微生物群落结构的变化,试图揭示土壤微生物群落的生态学特征及其与土壤养分供应状况的关系。

1 材料与方法

1.1 供试土壤及培养实验

供试土壤采自浙江省金华市石门农场的河流冲积型水稻土,其基本理化性质见表 1。培养试验设不施肥(CK),施化肥(CF),施秸秆(RS)和施厩肥(PM)4 个处理。施肥处理的施肥量为 $N\ 89\ mg \cdot kg^{-1}$ 土, $P\ 22\ mg \cdot kg^{-1}$ 土, $K\ 67\ mg \cdot kg^{-1}$ 土,相当于每 hm^2 施 $N\ 200\ kg$, $P\ 50\ kg$, $K\ 150\ kg$ 。化肥处理中氮肥为尿素,磷肥为磷酸二氢钙,钾肥为氯化钾。秸秆处理使用水稻秸秆粉末,施用量为 $10\ g \cdot kg^{-1}$ 土,厩肥处理使用猪栏粪,施用量为 $4.3\ g \cdot kg^{-1}$ 土,最后按照施肥处理 N、P、K 施用量相等的原则,秸秆和厩肥两处理的肥料养分不足部分用化肥补足。取土壤 500 g,按照上述施肥方案分别加入不同种类、不同数量的肥料,充分搅拌均匀后,置于塑料烧杯中在 $25^\circ C$ 下进行淹水培养。在培养第 9 周后用特制的注射器多次、多点分别抽取待测土样后,集中在烧杯中,用玻璃棒搅匀,制成混合土样,进行 Biolog 分析和磷脂脂肪酸分析。

* 国际肥料协会(IFA)、磷钾研究所(PPI)和国际钾研究所(IPI)资助项目