

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第9期 Vol.32 No.9 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 9 期

2012 年 5 月 (半月刊)

目 次

不同土地覆被格局情景下多种生态系统服务的响应与权衡——以雅砻江二滩水利枢纽为例·····	葛 菁, 吴 楠, 高吉喜, 等 (2629)
放牧对小嵩草甸生物量及不同植物类群生长率和补偿效应的影响·····	董全民, 赵新全, 马玉寿, 等 (2640)
象山港日本对虾增殖放流的效果评价·····	姜亚洲, 凌建忠, 林 楠, 等 (2651)
城市景观破碎化格局与城市化及社会经济发展水平的关系——以北京城区为例·····	仇江啸, 王效科, 逯 非, 等 (2659)
江河源区高寒草甸退化序列上“秃斑”连通效应的元胞自动机模拟·····	李学玲, 林慧龙 (2670)
铁西区城市改造过程中建筑景观的演变规律·····	张培峰, 胡远满, 熊在平, 等 (2681)
商洛低山丘陵区农林复合生态系统光能竞争与生产力·····	彭晓邦, 张硕新 (2692)
基于生物量因子的山西省森林生态系统服务功能评估·····	刘 勇, 李晋昌, 杨永刚 (2699)
不同沙源供给条件下柽柳灌丛与沙堆形态的互馈关系——以策勒绿洲沙漠过渡带为例·····	杨 帆, 王雪芹, 杨东亮, 等 (2707)
桂西北喀斯特区原生林与次生林凋落叶降解和养分释放·····	曾昭霞, 王克林, 曾馥平, 等 (2720)
江西九连山亚热带常绿阔叶林优势种空间分布格局·····	范 娟, 赵秀海, 汪金松, 等 (2729)
秦岭山地锐齿栎次生林幼苗更新特征·····	康 冰, 王得祥, 李 刚, 等 (2738)
极端干旱环境下的胡杨木质部水力特征·····	木巴热克·阿尤普, 陈亚宁, 等 (2748)
红池坝草地常见物种叶片性状沿海拔梯度的响应特征·····	宋璐璐, 樊江文, 吴绍洪, 等 (2759)
改变 C 源输入对油松人工林土壤呼吸的影响·····	汪金松, 赵秀海, 张春雨, 等 (2768)
啮齿动物捕食压力下生境类型和覆盖处理对辽东栎种子命运的影响·····	闫兴富, 周立彪, 刘建利 (2778)
上海闵行区园林鸟类群落嵌套结构·····	王本耀, 王小明, 王天厚, 等 (2788)
胜利河连续系统中蜉蝣优势种的生产量动态和营养基础·····	邓 山, 叶才伟, 王利肖, 等 (2796)
虾池清塘排出物沉积厚度对老鼠簕幼苗的影响·····	李 婷, 叶 勇 (2810)
澳大利亚亚热带不同森林土壤微生物群落对碳源的利用·····	鲁顺保, 郭晓敏, 芮亦超, 等 (2819)
镜泊湖岩溶台地不同植被类型土壤微生物群落特征·····	黄元元, 曲来叶, 曲秀春, 等 (2827)
浮床空心菜对氮循环细菌数量与分布和氮素净化效果的影响·····	唐莹莹, 李秀珍, 周元清, 等 (2837)
促分解菌剂对还田玉米秸秆的分解效果及土壤微生物的影响·····	李培培, 张冬冬, 王小娟, 等 (2847)
秸秆还田与全膜双垄集雨沟播耦合对半干旱黄土高原玉米产量和土壤有机碳库的影响·····	吴荣美, 王永鹏, 李凤民, 等 (2855)
赣江流域底泥中有机氯农药残留特征及空间分布·····	刘小真, 赵 慈, 梁 越, 等 (2863)
2009 年徽州稻区白背飞虱种群消长及虫源性质·····	刁永刚, 杨海博, 瞿钰锋, 等 (2872)
木鳖子提取物对朱砂叶螨的触杀活性·····	郭辉力, 师光禄, 贾良曦, 等 (2883)
冬小麦气孔臭氧通量拟合及通量产量关系的比较·····	佟 磊, 冯宗炜, 苏德·毕力格, 等 (2890)
专论与综述	
基于全球净初级生产力的能源足迹计算方法·····	方 恺, 董德明, 林 卓, 等 (2900)
灵长类社会玩耍的行为模式、影响因素及其功能风险·····	王晓卫, 赵海涛, 齐晓光, 等 (2910)
问题讨论	
中国伐木制品碳储量时空差异分析·····	伦 飞, 李文华, 王 震, 等 (2918)
研究简报	
森林自然更新过程中地上氮贮量与生物量异速生长的关系·····	程栋梁, 钟全林, 林茂兹, 等 (2929)
连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响·····	华菊玲, 刘光荣, 黄劲松 (2936)
刈割对外来入侵植物黄顶菊的生长、气体交换和荧光的影响·····	王楠楠, 皇甫超河, 陈冬青, 等 (2943)
不同蔬菜种植方式对土壤固碳速率的影响·····	刘 杨, 于东升, 史学正, 等 (2953)
巢湖崩岸湖滨基质-水文-生物一体化修复····· 陈云峰, 张彦辉, 郑西强 (2960)	

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 336 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 36 * 2012-05



封面图说: 在交配的雨蛙——雨蛙为两栖动物, 世界上种类达 250 种之多, 分布极广。中国的雨蛙仅有 9 种, 除西部一些省份外, 其他各省(区)均有分布。雨蛙体形较小背面皮肤光滑, 往往雄性绿色, 雌性褐色, 其指、趾末端多膨大成吸盘, 便于吸附攀爬。多生活在灌丛、芦苇、高秆作物上, 或塘边、稻田及其附近的杂草上。白天匍匐在叶片上, 黄昏或黎明频繁活动, 捕食能力极强, 主要以昆虫为食。特别是在下雨以后, 常常 1 只雨蛙先叫几声, 然后众蛙齐鸣, 声音响亮, 每年在四、五月份夜间发情交配。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201103150321

李培培, 张冬冬, 王小娟, 王小芬, 崔宗均. 促分解菌剂对还田玉米秸秆的分解效果及土壤微生物的影响. 生态学报, 2012, 32(9): 2847-2854.

Li P P, Zhang D D, Wang X J, Wang X F, Cui Z J. Effects of microbial inoculants on soil microbial diversity and degrading process of corn straw returned to field. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(9): 2847-2854.

促分解菌剂对还田玉米秸秆的分解效果及 土壤微生物的影响

李培培^{1,2}, 张冬冬¹, 王小娟¹, 王小芬¹, 崔宗均^{1,*}

(1. 中国农业大学生物质工程中心, 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193;

2. 河南农业大学资源与环境学院, 郑州 450002)

摘要:为了探明促分解菌剂的应用对还田玉米秸秆的促分解效果及对土壤微生物群落结构的影响, 选用 3 组促分解菌剂, 编号依次为 ND、NK 和 NS, 于 2009 年 10 月至 2010 年 4 月期间, 在河北省农林科学院辛集实验站冬小麦-玉米轮作田对玉米秸秆还田地进行了接种试验。在接种后的 15、25、145 和 160 d 分别测定秸秆残重率和秸秆残渣中 C/N, 结果表明与未施菌剂对照 (CK) 相比, 3 组菌剂均在一定程度上加快了玉米秸秆的分解, 其中以菌剂 ND 促分解效果最好, NK 次之, NS 较差, 三者的最高促分解效果分别比 CK 提高了 14.3%、7.7% 和 1.6%, 主要促分解效果都出现在早期 (前 25 d), 且菌剂促进秸秆残渣中 C/N 降低的效果也在早期明显。采用变性梯度凝胶电泳技术 (DGGE) 检测菌剂对玉米秸秆降解过程中土壤细菌和真菌群落结构的影响, 结果表明, 与不接种 CK 相比, 接种菌剂主要在早期对土壤细菌和真菌的群落结构产生较大的影响, 而后期对土壤微生物群的影响不明显。秸秆还田后接种促分解菌剂, 能在接种早期有效加快秸秆分解, 而随接种后时间的推进, 其促进效果逐渐减弱, 与之对应, 土壤微生物群落结构早期差异明显, 其后差异逐渐减小。

关键词: 促分解菌剂; 玉米秸秆; 秸秆残重率; 微生物群落

Effects of microbial inoculants on soil microbial diversity and degrading process of corn straw returned to field

LI Peipei^{1,2}, ZHANG Dongdong¹, WANG Xiaojuan¹, WANG Xiaofen¹, CUI Zongjun^{1,*}

1 Center of Biomass Engineering, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2 College of Resource and Environment, Henan Agricultural university, Zhengzhou 450002, China

Abstract: Returning crop straw to field is one of the common methods to improve soil organic matter and achieve sustainable development of agriculture. However, corn straw is composed mainly of highly polymerized lignocellulose with a high carbon to nitrogen (C:N) ratios, and it degrades slowly in the field. The difficulty of straw degradation in a short time hampers the seedling growth and farming operation. In some place farmers burn crop straw after harvest in order to immediately sow the next crop, which contributes to environmental pollution and greenhouse gas emissions. Acceleration of straw degradation in the field is urgently needed, and utilization of microbial inoculants is a safe and effective method. To reveal the effects of microbial inoculants on degrading process of corn straw and soil microbial diversity after straw was returned to the field, an incubation experiment was carried out in the field. The experiment was conducted in the winter Wheat-maize rotation of the high yield area located around Hebei Academy of Agriculture and forestry Sciences, North China Plain from Oct 2009 to Apr 2010, and three different microbial inoculants (ND, NK and NS) were used in this study. The residual weights and C/N

基金项目:“十一五”支撑计划“沃土工程”资助(2006BAD25B04);公益性行业科研专项(200803033)

收稿日期:2011-03-15; **修订日期:**2011-07-19

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: acuijz@cau.edu.cn

ratios of corn straw in different inoculated treatments were measured to estimate the degrading enhancement of the three inoculants at four different sampling times of 15d, 25d, 145d and 160d. The results showed that the degradation of corn straw could be enhanced by inoculation in early period (first 25d), and residual percentages of corn straw in ND, NK and NS were 14.3%, 7.7% and 1.6% lower than that in CK, respectively. C/N ratios of corn straw in inoculant treatments decreased more rapidly than that in CK, and the decreases were also showed up in early stage. In order to find the effects of microbial inoculants on soil microbial diversity, V3 region of bacterial 16S rDNA and D1 region of fungal 26S rDNA gene sequences were detected by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), and Cluster analyses based on the band similarity in migration and intensity between lanes were used to understand the distance of each lanes. Furthermore bands of the three inoculants were used to study the relationships between inoculation and soil microbial diversity, and dominant bands of bacteria and fungi were excised from DGGE gels and sequenced to get further microbial information. The results showed that most bands from inoculants, which matched to *Bacillus fusiformis* (97%), *Chloroflexus bacterium* (87%), Uncultured Clostridiales bacterium (99%) and Uncultured compost bacterium (92%) were detected in early stage and disappear in later stage, and some band from inoculants were not detected. Soil bacterial and fungal composition responded to each added microbial inoculants in early stage. Compared with CK, adding microbial inoculants after straw returning to the field could effectively accelerate corn straw degradation in early period, and soil microbial diversity was accordingly different in early period and gradually went to the same level in late stage of the inoculation.

Key Words: microbial inoculants; corn straw; corn straw residue; soil microbial diversity

秸秆还田是增加土壤有机质含量,全面提升地力的有效途径,对促进农业的可持续发展起到重要作用^[1-2]。近几年,随着农业机械化程度的提高,秸秆直接还田因其省工省力日益为农民所接受。但是秸秆还田后,大量的秸秆被翻埋到土壤中,因分解速度慢而影响后季作物生根;秸秆降解时微生物与作物争夺养分,造成作物的氮饥饿现象等一系列问题^[3],不利于该技术的推广。因此加快秸秆在田间快速分解是目前面临的一个热点问题。秸秆在土壤中的降解主要是由微生物及其它因素共同作用下实现有机废弃物资源化、无害化的过程^[4]。为了加快秸秆在田间的降解速度,国内外学者对秸秆分解过程中的土壤微生物活动进行了一系列理论和实践研究^[4-6]。大量研究表明接种微生物菌剂于秸秆还田土壤中,能影响秸秆降解过程,加快秸秆的分解速度,提高秸秆中营养元素的释放并能增加作物产量^[7-8]。上述的还田秸秆促解促腐研究大多停留在养分供应和土壤物理化学性质的改变上,少有接种促分解菌剂后对土壤微生物影响的深入报道,尤其是未培养微生物群的变化。因此比较接种菌剂后不同时间段秸秆促进分解快慢变化等特征和揭示土壤微生物变化特征,为进一步提高菌剂的使用效果及研究土壤微生物生态系统都具有重要意义。本文对机械化玉米秸秆还田情况下,接种3种促分解菌剂后的秸秆分解情况进行比较研究,评价促解效果较好的菌剂和最佳分解的时期,并采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术研究接种菌剂对土壤细菌和真菌群落多样性的影响,为秸秆还田促分解菌剂在田间的使用及促分解技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌剂:本实验室制备(ND),中国农业科学院提供(NK),购买商业菌剂(NS),共3种菌剂。

1.2 试验地点

试验于2009年10月—2010年4月在河北省石家庄辛集市马庄试验站进行,该地区属于一年两熟常年小麦-玉米轮作。选择从未接种过微生物菌剂的田块作为试验地,土壤为潮土。当季玉米机械收割后,用秸秆还田机将秸秆打碎至5—20 cm左右。试验地土壤的基本理化性状为:pH值7.8,有机质15.3 g/kg,底肥为复合肥(N-P₂O₅-K₂O含量为13-18-0)1125 kg/hm²,返青后追尿素375 kg/hm²。

1.3 试验方法

1.3.1 田间实验设计

试验设置 3 种菌剂处理和一个不接菌空白对照,共 4 个处理,每个处理重复 3 次。小区面积 3 m×4 m,各个处理间随机排列,处理间间隔相同面积的保护区,防止菌剂间的污染。收集田间经粉碎机打碎后的玉米秸秆,在实验室内烘干备用。试验开始前先灌溉,保证土壤足够的水分含量。分别将 3 种菌剂按照约 10^{12} CFU/ m^2 的接种量将菌剂与土壤拌匀后,于 2009 年 10 月 13 日均匀撒施在划分好的小区内,然后旋耕机旋耕 10 cm 深度。小麦播种后,同一天于行间埋入装有 10 g 烘干玉米秸秆和 10 g 行间土壤的尼龙网袋(20 cm×20 cm),孔径为 20 目,袋中加入土壤以增加秸秆与土壤的接触,埋深为 8—10 cm,每个小区 4 个。试验开始后,共 4 次取样时间:接种的第 15 天、第 25 天、翌年春天天气温回升至 10 ℃ 以上后,第 145 天和第 160 天。每次取样从各个小区内取出一个尼龙小袋,并在 5—10 cm 左右深度取土壤样品,用于土壤微生物 DNA 提取。

1.3.2 土壤及秸秆样品理化性质的测定

全碳测定采用重铬酸钾湿氧化法;总氮测定采用凯氏定氮法;土壤 pH 值测定为水土比 2.5:1,应用 pH 计(HORIBA B2212, Japan)测定。

1.3.3 玉米秸秆残留量

在每个取样日将尼龙小袋从田间取出,带回实验室洗去泥土,60 ℃ 烘干称重,计算残留率。

1.3.4 DNA 的提取

将每次取得的土壤样品保存于-20 ℃。4 次取样结束后,应用土壤 DNA 提取试剂盒(MoBio PowerSoil™ DNA Isolation kit, MoBio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA)提取土壤样品及 3 种菌剂的总 DNA,具体操作参见试剂盒说明书。

1.3.5 PCR-DGGE 分析土壤微生物群落变化

引物对 357f-GC 和 517r^[9],用来扩增细菌的 16S rDNA 的 V3 区片段。PCR 反应体系和条件参考文献报道^[10];引物对 NL1-GC(5' GCACGGGGGGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3' 其中 GC-clamp 序列为 5' -CGCCCCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGCGGGG-3') 和 LS2(5' -TTCCCAAACAACCTCGACTC-3')^[11] 扩增真菌的 26S rDNA 的 D1 区,真菌 PCR 反应体系和细菌相同。PCR 反应条件为:95 ℃ 预变性 5 min, 95 ℃ 变性 1 min, 52 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 共 30 个循环,最后延伸 6 min。扩增产物用 2% 琼脂糖检测。

DGGE 条件及分析方法参见文献^[10,12]。其中细菌所用变性剂梯度为 35%—55% (100% 的变性剂组成为尿素 7 mol/L, 甲酰胺体积分数为 40%);真菌所用变性剂梯度为 20%—60%。测序工作委托上海生工生物工程技术有限公司完成。

1.4 DGGE 图谱分析及数据统计

使用 Quantity One 软件(version 4.6.2, Bio-Rad, USA)对 DGGE 条带进行识别,利用 UPGMA (非对称加权算术平均数)算法^[13]根据条带强度及位置进行处理间聚类分析。图谱中的每个条带代表了 1 种细菌或真菌类群,条带的明暗(光密度大小)反映该种群在样品中的相对丰度^[14]。秸秆分解残重数据用 SAS8.0 软件进行(ANVOA)显著性分析。

1.5 基因序列分析

根据测序获得的细菌 16S rDNA 和真菌 26S rDNA 基因片段,查询互联网数据库 BLAST(DDBJ)进行检索,获取序列登录号 and 对应最大相似菌株。

2 结果与分析

2.1 菌剂对玉米秸秆的分解效果

接种菌剂处理 ND、NS 和 NK 与不接菌对照 CK 在 15、25、145、160 d 的玉米秸秆残留率见图 1。总体上,和未使用菌剂的对照 CK 比,3 种菌剂处理的秸秆残留率均降低,表现一定的促分解效果。秸秆还田早期促分解效果比较明显,第 15 天取样,接种菌剂 ND、NK 和 NS 的秸秆残留率分别是 69.8% (初始添加 10g)、76.4%

和 82.5%,而 CK 的秸秆残留率为 84.1%,菌剂处理的促分解效果分别比 CK 高出 14.3、7.7 和 1.6 个百分点。其中 ND、NS 和 CK 相比达到差异显著水平 ($P < 0.05$)。第 25 天取样,菌剂 ND、NK 和 NS 处理的秸秆残留量分别为 68.1%、68.8% 和 73.1%,CK 的残留量为 74.5%,促分解效果分别比 CK 高出 6.4、5.7 和 1.4 个百分点,但是仅有 ND 和 CK 比达到差异显著水平 ($P < 0.05$);翌年春天 145d 的第 3 次取样,菌剂处理 ND、NK 和 NS 的残重分别为 51.5%、53.7% 和 57.2%,CK 为 57.4%,并且它们之间并未达到差异显著水平 ($P > 0.05$),同样,第 4 次取样结果类似。3 种促分解菌剂中以 ND 效果最好;菌剂对玉米秸秆的促分解效果在施用菌剂的早期起作用,随接种后时间推移,促分解效果逐渐降低。

2.2 秸秆分解过程中 C/N 变化

由表 1 看出,总体上,随着秸秆的分解,C 含量逐渐减小,N 含量逐渐增加,C/N 逐渐减小。同一取样时间,菌剂处理的秸秆无论是碳含量的减小和氮含量的增加速度均比 CK 快。在第 15 天取样,CK 的 C/N 为 77.94,ND、NK 和 NS 分别比 CK 低 7.35、11.25、5.92,第 25 天取样时,CK 的 C/N 为 54.22,ND、NK 和 NS 分别比 CK 低-0.73、3.4、2.89。之后的取样处理间 C/N 差异也越来越小。施用促解菌剂对秸秆 C/N 的影响只是在 15d 比较明显,而且它们之间差异没有达到显著水平 ($P > 0.05$)。

2.3 土壤真菌多样性变化

对接种菌剂 ND、NS、NK 和未接种 CK 第 25 天和第 160 天的土壤样品提取 DNA,进行 PCR-DGGE 条带分析,同时将菌剂本身的 DGGE 图谱与之进行比较。DGGE 图谱的条带变化反映了微生物群落结构的改变。接种菌剂后第 25 天和 160 天的真菌 DGGE 图谱及聚类分析分别见图 2A 和图 2B,左侧为菌剂 ND 的条带。利用引物对 NL1 和 LS2 对真菌的 26S rDNA 进行扩增,菌剂 NK 和 NS 没有检测到 PCR 产物,因此它们很可能是完全由细菌组成的。

对较明亮的条带对应的优势菌进行测序分析,条带 1 对应的 *Chaetomium globosum* (98%) 只出现在接种 NS 的第 25 天;条带 2 对应的 *Fungal* sp. (97%) 只出现在接种 NK 的第 25 天;条带 3 和条带 5 对应的

Uncultured Sordariales(99%) 和 *Aporothielavia leptoderma* (95%) 在第 160 天的全部样品中检测到明亮条带,在接种 ND 和 CK 的第 25 天也能检测到;条带 4 为菌剂 ND 的主要条带,相似菌为 *Pseudacrobes* sp. (97%) 在接

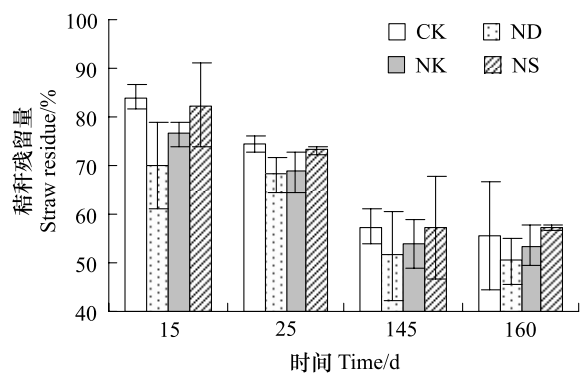


图 1 不同菌剂处理下,不同取样日期玉米秸秆降解残留率

Fig. 1 Percentage of corn straw residues of four inoculations in different sampling days

表 1 不同菌剂处理对玉米秸秆 C/N 的影响

Table 1 Effects of microbial inoculants on C/N of the corn straw residues

处理 Treatments	N/%	C/%	C/N
0 d	0.55(±0.019)	48.62(±2.98)	87.97
15d			
CK	0.59(±0.081)	46.04(±1.93)	77.94
ND	0.60(±0.002)	42.35(±3.00)	70.59
NK	0.62(±0.017)	41.320(±0.35)	66.69
NS	0.59(±0.001)	42.39(±0.37)	72.02
25d			
CK	0.79(±0.004)	42.83(±0.86)	54.22
ND	0.74(±0.001)	40.80(±2.31)	54.95
NK	0.77(±0.006)	39.09(±1.13)	51.06
NS	0.73(±0.007)	41.60(±0.83)	57.11
145d			
CK	0.85(±0.005)	37.85(±0.64)	44.62
ND	0.89(±0.005)	39.54(±0.52)	44.26
NK	0.93(±0.081)	37.91(±1.21)	40.85
NS	1.03(±0.066)	36.21(±0.34)	35.11
160d			
CK	1.01(±0.081)	34.65(±0.70)	34.19
NK	1.02(±0.033)	35.98(±1.24)	35.44
ND	1.06(±0.071)	34.90(±0.27)	33.06
NS	0.80(±0.034)	37.42(±0.73)	46.90

种 ND 的第 25 天比较明亮,其余处理中均没有明显检出,条带 7 对应的相似菌 *Ascobolus crenulatus* (98%) 和条带 4 类似;条带 6 对应的 *Uncultured Paecilomyces* (99%) 仅在接种 NS 的第 25 天检测到明亮条带;条带 8 对应的 *Fungal endophyte* (92%) 仅在接种 NS 的第 25 天检测到明亮条带,其余均呈现模糊条带。根据图 2B,第 25 天真菌聚类分析表明各处理间的相似度较低,差异较大,CK 和接种 3 种菌剂处理之间存在明显的微生物群落多样性差异。第 160 天,3 种菌剂接种处理与 CK 聚在一处,处理间真菌多样性差异逐渐缩小。

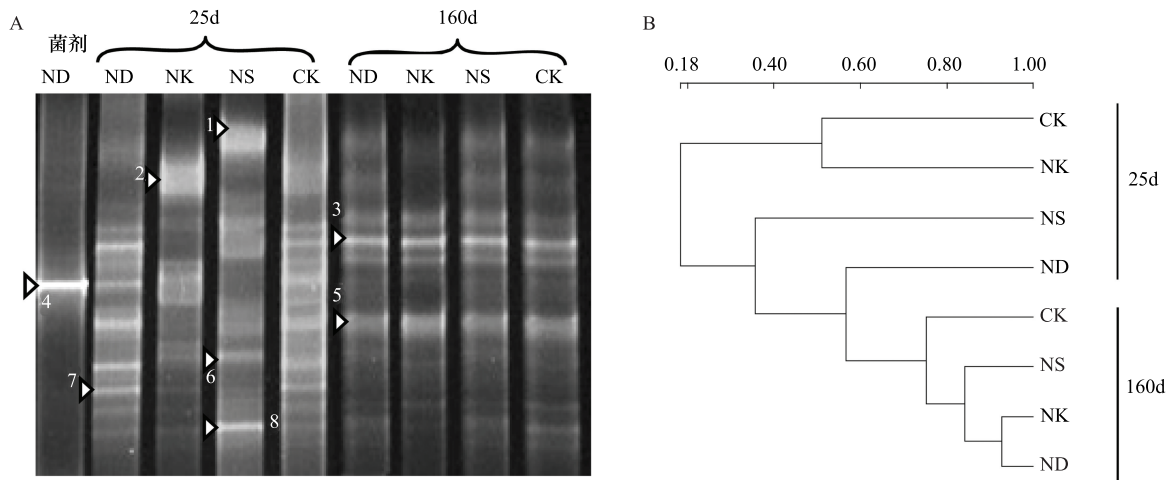


图 2 PCR-DGGE 技术检测接种 3 种菌剂 (ND、NK 和 NS) 后的土壤真菌结构变化及 DGGE 聚类分析

Fig. 2 Changes of fungal diversity after inoculating the three microbial inoculants (ND, NK and NS) by DGGE (A) and Clustering analysis result (B)

2.4 土壤细菌多样性变化

接种菌剂后第 25 天和 160 天的细菌 DGGE 图谱及聚类分析见图 3(A 和 B), 菌剂本身的 DGGE 图谱与之

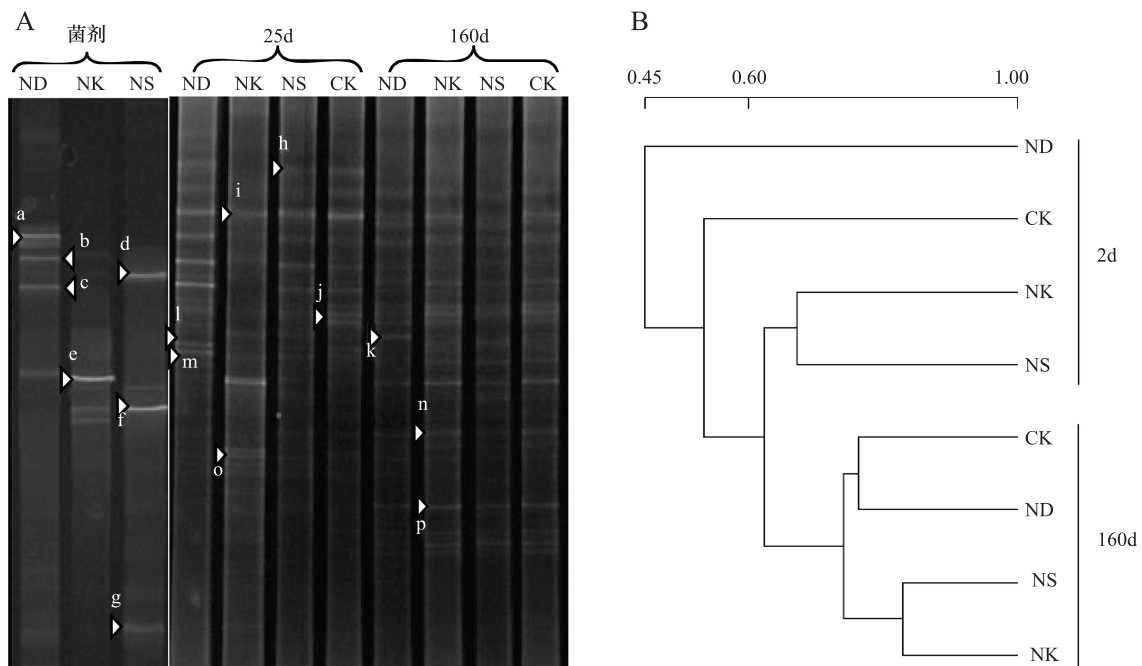


图 3 A PCR-DGGE 技术检测接种 3 种菌剂 (ND、NK 和 NS) 后的微生物变化

Fig. 3 Changes of bacteria diversity after inoculating the three microbial inoculants (ND, NK and NS) by PCR-DGGE (A) and Clustering analysis result (B)

比较。与真菌条带变化类似,在第 25 天,各个处理间土壤细菌的距离较远,微生物结构差异比较大。随着接种时间,在第 160 天时 3 种接种菌剂处理和 CK 聚在一起,细菌的多样性差异性变小。在细菌 DGGE 胶上回收 16 条比较明亮的条带进行基因序列分析,这些条带所代表的相似菌株见表 2。

条带 a、b、c 和 e 为菌剂 ND 本身的组成条带,条带 e 和 f 为菌剂 NK 的组成条带,条带 d、f 和 g 为 NS 的组成条带,对应的相似菌分别见表 2。其中,条带 a、b 和 c 在 25 d 的 ND 处理中十分明亮,但是除了 25 d 的 NK 处理没有对应条带出现外,在其它处理中也有比较明亮的条带出现;条带 e 在 25d 的 NK 处理中最明亮,条带 d 在早期的接种中并没有检测到,而 160 d 的处理中有条带出现,条带 f 仅在 160 d 的 NS 处理中出现。除了菌剂微生物自身条带外,土壤中出现的其它优势条带,如条带 h 出现在 25 d 的 ND、NS 和 CK 处理中,160 d 没有检测到;条带 i 在 25 d 的所有处理中表现明亮,在 160d 条带均模糊;条带 j 在 25 d 的 CK、160 d 的 NK、NS 和 CK 中出现;条带 k 只出现在 160 d 的 ND 中;条带 l 和 m 只在 25 d 的 ND 处理中条带明亮;条带 o 在 25 d 的 NK 处理中最亮;条带 n 和 p 在 160 d 出现,25 d 没有检测到。另外还有很多条带太过模糊而没有测序分析,条带的出现消失及明暗变化表示细菌群落结构的改变。

表 2 DGGE 条带对应的相似菌株

Table 2 Closest relatives of bacteria excised from DGGE gel

条带 Bands	登录号 Accession numbers	近缘种名称 Closest relatives	相似率 Similarity/%
a	GU645023	<i>Bacillus fusiformis</i> .	97
b	HM467203	<i>Chloroflexi bacterium</i>	87
c	AB198476	Uncultured Clostridiales bacterium	92
d	FJ693705	<i>Pseudomonas</i> sp.	100
e	HM467210	Uncultured compost bacterium	99
f	HM467204	Uncultured bacterium	91
g	GU971616	<i>alpha proteobacterium</i>	99
h	HM467200	<i>Flavobacterium</i> sp.	96
i	HM467201	Uncultured Flavobacterium sp.	92
j	HM467205	<i>Sphingomonas melonis</i>	94
k	HM467206	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	87
l	HM467207	Uncultured alpha proteobacterium	100
m	HM467208	Uncultured bacterium	87
n	HM467209	Uncultured Gemmatimonadetes bacterium	98
o	HM467211	Uncultured Bacteroidetes bacterium	90
p	HM467212	<i>Cellulosimicrobium</i> sp.	97

3 讨论与结论

通过本文的研究,秸秆促分解菌剂 ND、NK 和 NS 均表现一定的促分解效果,其中以 ND 菌剂的促分解效果最好。在 15 d 时它们的促分解效果最明显,比 CK 分别高出 14.3%、7.7% 和 1.6%,25 d 时候分别比 CK 高 6.4%、5.7% 和 1.4%,之后促分解效果逐渐减弱,秸秆残渣中的碳氮比含量比较也是菌剂促分解效果的佐证。ND 菌剂是本实验室研制的专门用于秸秆直接还田使用的复合菌群包含细菌和真菌,具有很好应用前景。3 种菌剂的促分解效果均表现在早期,后期不明显,推测这一原因是早期易于分解的碳水化合物成分多,微生物的分解活动旺盛^[15],而经过冬天低温的冲击或是菌剂微生物和土壤土著微生物间的一系列复杂的竞争演替等一系列人为不可控的因素,最终第二年春天,随着易于分解的降解底物的减少菌剂微生物逐渐失去促进效应。本试验证明接种秸秆还田促分解菌剂发挥功效有一定的时间限制,建议在秸秆促分解菌剂的利用上,抓住有利分解的早期,使用有效的菌剂,采取一些土壤调控措施加快分解。另外,在菌剂的开发上,建议根据菌剂使用的环境有针对性地选择效果持久、活性强的微生物菌种。

应用基于细菌 16S rDNA 基因片段的微生物分子生态学技术,在不同时间对接不同菌剂后的土壤微生物群落结构进行分析,结果表明菌剂的使用在一定程度上影响土壤微生物结构组成。应用基于 DNA 的分子方法不依赖于培养,有效避免了培养方法的这一缺陷^[16],最大限度的反映环境样品中微生物多样性。秸秆还田是一项重要的农业措施,对农田生态系统具有重要的影响,众多研究应用 DGGE 技术报道了秸秆还田后土壤细菌群落多态性的变化^[16-18]。本研究不但证明了秸秆还田对土壤微生物多样性的影响,并进一步指出接种促分解菌剂能对土壤细菌和真菌结构产生重要的影响。本文结合菌剂本身的 DGGE 图谱分析接种后土壤微生物的变化,接种早期检测出大部分菌种微生物出现在各自接种后的土壤中,芽孢杆菌(*Bacillus fusiformis*)、绿弯菌(*Chloroflexus bacterium*)、梭菌(*Uncultured Clostridiales bacterium*)和堆肥细菌(*Uncultured compost bacterium*)等,它们大部分都是和木质纤维素分解及产物代谢相关的微生物类型;但是还有部分菌种微生物没有检测到,如菌剂 NS 中的变形菌(*alpha proterobacterium*)和假单孢菌(*Pseudomonas sp.*)等,都没有在接种土壤中明显的检测到,这也可能是菌剂 NS 促分解效果较差的原因之一。因此,影响土著土壤微生物变化的因素一部分来自于菌种本身,但是尚存在有不可知的因素,需要进一步的研究。本文所用菌剂中,菌剂 NK 和 NS 并没有检测到真菌组成,但是在 25 天时其对应接种土壤的真菌组成和未接菌 CK 也不一致,这种变化可能是来自于菌剂中的细菌或其它接种因素,有报道表明土壤中细菌和真菌间存在着竞争或者合作的关系^[19]。

Zhao 等^[16]人接种微生物肥料到添加滤纸的土壤中发现接菌促进了滤纸的分解并明显影响了不同时期的细菌及真菌群落结构组成。也有研究表明^[20-21]接种菌剂对土壤土著微生物影响很小,但目前还没有报道证明引入外来有益微生物会对土壤原有种群产生负面影响。由于土壤环境是一个巨大的缓冲体系,生态系统复杂而稳定,土壤微生物活性与群落结构受各种因素影响,不易于外来菌种微生物的成功定殖并发挥功效,前人称土壤的这种抑制作用为土壤抑菌作用^[22]。因此在实践中不应盲目夸大秸秆还田促分解菌剂的接种效应。根据本实验结果,接种菌剂早期促分解效应明显,接种微生物菌剂对土壤细菌和真菌组成产生较大的影响,而且不同菌剂对土壤微生物的变化产生不同的影响,但是这种影响是暂时和局部的,随着时间及秸秆的逐渐分解,土壤微生物多样性趋于一致。

References:

- [1] Wang X B, Cai D X, Zhang J Q, Gao X K. Effects of corn stover incorporated in dry farmland on soil fertility. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(4): 54-61.
- [2] Lu P, Shan Y H, Yang L Z, Han Y. Effect of wheat straw incorporation into paddy soil on dissolved organic matter in soil solution. *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(5): 736-741.
- [3] Wang J G, Bakken L R. Competition for nitrogen during decomposition of plant residues in soil: effect of spatial placement of N-rich and N-poor plant residues. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(2): 153-162.
- [4] Shi Y, Jiang A Q, Dai C C, Lu L. Advanced in microbiological mechanism and application of straw degradation. *Journal of Microbiology*, 2002, 22(1): 47-50.
- [5] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, Landi L, Pietramellara G, Renella G. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 655-670.
- [6] Zhao Y, Li W, Zhou Z H, Zhang X J, Pan Y J, Zhao L P. Changes of microbial community structure in straw amended soil. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(6): 1114-1118.
- [7] Zhang D X, Han Z Q, Liu W, Gao S G, Hou D J, Li G F, Chang L S. Biological effect of maize stalk return to field directly under different accretion decay conditions. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6): 742-749.
- [8] Li Q K, Wang Z Z, Gu Z Q, Zhang Y C, Pan Y M, Zhao Q J. Effect of straw return to soil by effective microorganisms on rice and wheat growth and their straw decay. *Soil and Environmental Sciences*, 2001, 10(2): 124-127.
- [9] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 59(3): 695-700.
- [10] Wang X F, Haruta S, Wang P, Ishii M, Igarashi Y, Cui Z J. Diversity of a stable enrichment culture which is useful for silage inoculant and its

- succession in alfalfa silage. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 57(1): 106-115.
- [11] Cocolin L, Bisson L F, Mills D A. Direct profiling of the yeast dynamics in wine fermentations. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 189(1): 81-87.
- [12] Wang X F, Wang W D, Gao L J, Cui Z J. Protocols of application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in studies of environmental microorganism. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(5): 1-7.
- [13] Yang Y J, Dungan R S, Ibekwe A M, Valenzuela-Solano C, Crohn D M, Crowley D E. Effect of organic mulches on soil bacterial communities one year after application. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 38(5): 273-281.
- [14] Wu J C, Gao X Q, Zeng J, Xu J H, Yang X F, Lou K. The bacterial community structures in Xinjiang fault belt spring analyzed by PCR-DGGE. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2): 506-512.
- [15] Cleveland C C, Nemergut D R, Schmidt S K, Townsend A R. Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry*, 2007, 82(3): 229-240.
- [16] Zhao Y, Li W, Zhou Z H, Wang L H, Pan Y J, Zhao L P. Dynamics of microbial community structure and cellulolytic activity in agricultural soil amended with two biofertilizers. *European Journal of Soil Biology*, 2005, 41(1/2): 21-29.
- [17] Dilly O, Bloem J, Vos A, Munch J C. Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(1): 468-474.
- [18] Asakawa S, Kimura M. Comparison of bacterial community structures at main habitats in paddy field ecosystem based on DGGE analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(6): 1322-1329.
- [19] de Boer W, Folman L B, Summerbell R C, Boddy L. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(4): 795-811.
- [20] Kozdroj J, Trevors J T, van Elsland J D. Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(11): 1775-1784.
- [21] Kokalis-Burelle N, Kloepper J W, Reddy M S. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology*, 2006, 31(1/2): 91-100.
- [22] Ho W C, Ko W H. Soil microbiostasis: effects of environmental and edaphic factors. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(2): 167-170.

参考文献:

- [1] 王小彬, 蔡典雄, 置镜清, 高绪科. 旱地玉米秸秆还田对土壤肥力的影响. *中国农业科学*, 2000, 33(4): 54-61.
- [2] 卢萍, 单玉华, 杨林章, 韩勇. 秸秆还田对稻田土壤溶液中溶解性有机质的影响. *土壤学报*, 2006, 43(5): 736-741.
- [4] 史央, 蒋爱芹, 戴传超, 陆玲. 秸秆降解的微生物学机理研究及应用进展. *微生物学杂志*, 2002, 22(1): 47-50.
- [6] 赵勇, 李武, 周志华, 张晓君, 潘迎捷, 赵立平. 秸秆还田后土壤微生物群落结构变化的初步研究. *农业环境科学学报*, 2005, 24(6): 1114-1118.
- [7] 张电学, 韩志卿, 刘微, 高书国, 侯东军, 李国舫, 常连生. 不同促腐条件下玉米秸秆直接还田的生物学效应研究. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(6): 742-749.
- [8] 李庆康, 王振中, 顾志权, 张永春, 潘玉梅, 赵强基. 秸秆腐解剂在秸秆还田中的效果研究初报. *土壤与环境*, 2001, 10(2): 124-127.
- [12] 王小芬, 王伟东, 高丽娟, 崔宗均. 变性梯度凝胶电泳在环境微生物研究中的应用详解. *中国农业大学学报*, 2006, 11(5): 1-7.
- [14] 吴江超, 高小其, 曾军, 徐建华, 杨晓芳, 娄恺. 新疆断裂带泉水中细菌群落结构的 PCR-DGGE 分析. *生态学报*, 2011, 31(2): 506-512.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 9 May, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Responses and weigh of multi-ecosystem services and its economic value under different land cover scenarios: a case study from Ertan water control pivot in Yalong River	GE Jing, WU Nan, GAO Jixi, et al (2629)
Influence of grazing on biomass, growth ratio and compensatory effect of different plant groups in <i>Kobresia parva</i> meadow	DONG Quanmin, ZHAO Xinquan, MA Yushou, et al (2640)
Stocking effectiveness of hatchery-released kuruma prawn <i>Penaeus japonicus</i> in the Xiangshan Bay, China	JIANG Yazhou, LING Jianzhong, LIN Nan, et al (2651)
The spatial pattern of landscape fragmentation and its relations with urbanization and socio-economic developments: a case study of Beijing	QIU Jiangxiao, WANG Xiaoke, LU Fei, et al (2659)
Cellular automata simulation of barren patch connectivity effect in degradation sequence on alpine meadow in the source region of the Yangtze and Yellow rivers, Qinghai-Tibetan Plateau, China	LI Xueling, LIN Huilong (2670)
Evolution law of architectural landscape during the urban renewal process in Tiexi District	ZHANG Peifeng, HU Yuanman, XIONG Zaiping, et al (2681)
Competition for light and crop productivity in an agro-forestry system in the Hilly Region, Shangluo, China	PENG Xiaobang, ZHANG Shuoxin (2692)
Evaluation of forest ecosystem services based on biomass in Shanxi Province	LIU Yong, LI Jinchang, YANG Yonggang (2699)
Research on the morphological interactions between <i>Tamarix ramosissima</i> thickets and Nebkhas under different sand supply conditions; a case study in Cele oasis-desert ecotone	YANG Fan, WANG Xueqin, YANG Dongliang, et al (2707)
Litter decomposition and nutrient release in typical secondary and primary forests in karst region, Northwest of Guangxi	ZENG Zhaoxia, WANG Kelin, ZENG Fuping, et al (2720)
Spatial patterns of dominant species in a subtropical evergreen broad-leaved forest in Jiulian Mountain Jiangxi Province, China	FAN Juan, ZHAO Xiuhai, WANG Jinsong, et al (2729)
Characteristics of seedlings regeneration in <i>Quercus aliena</i> var. <i>acuteserrata</i> secondary forests in Qinling Mountains	KANG Bing, WANG Dexiang, LI Gang, et al (2738)
Xylem hydraulic traits of <i>Populus euphratica</i> Oliv. in extremely drought environment	AYOUPU Mubareke, CHEN Yaning, HAO Xingming, et al (2748)
Response characteristics of leaf traits of common species along an altitudinal gradient in Hongchiba Grassland, Chongqing	SONG Lulu, FAN Jiangwen, WU Shaohong, et al (2759)
Changes of carbon input influence soil respiration in a <i>Pinus tabulaeformis</i> plantation	WANG Jinsong, ZHAO Xiuhai, ZHANG Chunyu, et al (2768)
Effects of different habitats and coverage treatments on the fates of <i>Quercus wutaishanica</i> seeds under the predation pressure of rodents	YAN Xingfu, ZHOU Libiao, LIU Jianli (2778)
Nested analysis of urban woodlot bird communities in Minhang District of Shanghai	WANG Benyao, WANG Xiaoming, WANG Tianhou, et al (2788)
Production dynamics and trophic basis of three dominant mayflies in the continuum of Shenglihe Stream in the Bahe River Basin	DENG Shan, YE Caiwei, WANG Lixiao, et al (2796)
Effects of sedimentation thickness of shrimp pond cleaning discharges on <i>Acanthus ilicifolius</i> seedlings	LI Ting, YE Yong (2810)
Utilization of carbon sources by the soil microbial communities of different forest types in subtropical Australia	LU Shunbao, GUO Xiaomin, RUI Yichao, et al (2819)
Soil microbial community characteristics under different vegetation types at the Holocene-basalt Platform, Jingpo Lake area, Northeast China	HUANG Yuanyuan, QU Laiye, QU Xiuchun, et al (2827)
Effect of <i>Ipomoea aquatica</i> Floating-bed on the quantity and distribution of nitrogen cycling bacteria and nitrogen removal	TANG Yingying, LI Xiuzhen, ZHOU Yuanqing, et al (2837)
Effects of microbial inoculants on soil microbial diversity and degrading process of corn straw returned to field	LI Peipei, ZHANG Dongdong, WANG Xiaojuan, et al (2847)

Effects of coupling film-mulched furrow-ridge cropping with maize straw soil-incorporation on maize yields and soil organic carbon pool at a semiarid loess site of China	WU Rongmei, WANG Yongpeng, LI Fengmin, et al (2855)
Residues and spatial distribution of OCPs in the sediments of Gan River Basin ...	LIU Xiaozhen, ZHAO Ci, LIANG Yu, et al (2863)
Analysis on population fluctuation and properties of the white-backed planthopper in Huizhou in 2009	 DIAO Yonggang, YANG Haibo, QU Yufeng, et al (2872)
Evaluation acaricidal activities of <i>Momordica cochinchinensis</i> extracts against <i>Tetranychus cinnabarinus</i>	 GUO Huili, SHI Guanglu, JIA Liangxi, et al (2883)
Stomatal ozone uptake modeling and comparative analysis of flux-response relationships of winter wheat	 TONG Lei, FENG Zongwei, Sudebilige, et al (2890)

Review and Monograph

Calculation method of energy ecological footprint based on global net primary productivity	 FANG Kai, DONG Deming, LIN Zhuo, et al (2900)
Behavioral patterns, influencing factors, functions and risks of social play in primates	 WANG Xiaowei, ZHAO Haitao, QI Xiaoguang, et al (2910)

Discussion

Spatio-Temporal changing analysis on carbon storage of harvested wood products in China	 LUN Fei, LI Wenhua, WANG Zhen, et al (2918)
---	---

Scientific Note

Variations in allometrical relationship between stand nitrogen storage and biomass as stand development	 CHENG Dongliang, ZHONG Quanlin, LIN Maozi, et al (2929)
Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities	 HUA Juling, LIU Guangrong, HUANG Jinsong (2936)
Effects of clipping on the growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence of invasive plant, <i>Flaveria bidentis</i>	 WANG Nannan, HUANGFU Chaohe, CHEN Dongqing, et al (2943)
Influence of vegetable cultivation methods on soil organic carbon sequestration rate	 LIU Yang, YU Dongsheng, SHI Xuezheng, et al (2953)
Integrated matrix-hydrology-biological remediation technology for bank collapse lakeside zone of Chaohu Lake	 CHEN Yunfeng, ZHANG Yanhui, ZHENG Xiqiang (2960)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 32 卷 第 9 期 (2012 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 9 (May, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100071	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元