

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

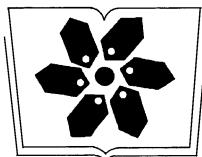
Acta Ecologica Sinica



第32卷 第11期 Vol.32 No.11 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 (SHENTAI XUEBAO)

第32卷 第11期 2012年6月 (半月刊)

目 次

黑龙江省大兴安岭林区火烧迹地森林更新及其影响因子.....	蔡文华, 杨健, 刘志华, 等 (3303)
基于 B-IBI 指数的温榆河生态健康评价	杨柳, 李泳慧, 王俊才, 等 (3313)
川西亚高山暗针叶林不同恢复阶段红桦、岷江冷杉土壤种子损耗特征	马姜明, 刘世荣, 史作民, 等 (3323)
老龄阔叶红松林下层木空间分布的生境关联分析.....	丁胜建, 张春雨, 夏富才, 等 (3334)
内蒙古高原荒漠区四种锦鸡儿属植物灌丛沙包形态和固沙能力比较.....	张媛媛, 马成仓, 韩磊, 等 (3343)
角果藜的生长动态及其生殖配置.....	全杜娟, 魏岩, 周晓青, 等 (3352)
基于 MODIS/NDVI 时间序列的森林灾害快速评估方法——以贵州省为例	侍昊, 王笑, 薛建辉, 等 (3359)
祁连山西水林区土壤阳离子交换量及盐基离子的剖面分布.....	姜林, 耿增超, 李珊珊, 等 (3368)
水分和温度对春玉米出苗速度和出苗率的影响.....	马树庆, 王琪, 吕厚荃, 等 (3378)
施氮对水稻土 N ₂ O 释放及反硝化功能基因 (narG/nosZ) 丰度的影响	郑燕, 侯海军, 秦红灵, 等 (3386)
中国西北潜在蒸散时空演变特征及其定量化成因	曹雯, 申双和, 段春锋 (3394)
基于植被降水利用效率和 NDVI 的黄河上游地区生态退化研究	杜加强, 舒俭民, 张林波 (3404)
异速生长法计算秋茄红树林生物量.....	金川, 王金旺, 郑坚, 等 (3414)
乌兰布和沙漠沙蒿与油蒿群落的物种组成与数量特征.....	马全林, 郑庆中, 贾举杰, 等 (3423)
不同光强下单叶蔓荆的光合蒸腾与离子累积的关系.....	张萍, 刘林德, 柏新富, 等 (3432)
浑善达克沙地沙地榆种子雨的扩散规律.....	谷伟, 岳永杰, 李钢铁, 等 (3440)
咸水灌溉对沙土土壤盐分和胡杨生理生长的影响.....	何新林, 陈书飞, 王振华, 等 (3449)
外源 NO 对 NaHCO ₃ 胁迫下黑麦草幼苗光合生理响应的调节	刘建新, 王金成, 王鑫, 等 (3460)
呼伦贝尔草地植物群落与土壤化学计量学特征沿经度梯度变化.....	丁小慧, 罗淑政, 刘金巍, 等 (3467)
海南稻田土壤硒与重金属的含量、分布及其安全性.....	耿建梅, 王文斌, 温翠萍等 (3477)
江苏省典型区农田土壤及小麦中重金属含量与评价.....	陈京都, 戴其根, 许学宏, 等 (3487)
应用稳定同位素研究广西东方洞食物网结构和营养级关系	黎道洪, 苏晓梅 (3497)
利用细胞计数手段和 DGGE 技术分析松花江干流部分地区的细菌种群多样性	屠腾, 李蕾, 毛冠男, 等 (3505)
中国主要入海河流河口集水区划分与分类	黄金良, 李青生, 黄玲, 等 (3516)
基于 VGPM 模型和 MODIS 数据估算梅梁湾浮游植物初级生产力	殷燕, 张运林, 时志强, 等 (3528)
低温胁迫下虎纹蛙的生存力及免疫和抗氧化能力	王娜, 邵晨, 颜志刚, 等 (3538)
转 Bt 水稻土壤跳虫群落组成及其数量变化	祝向钰, 李志毅, 常亮, 等 (3546)
尼日利亚非洲蜂和安徽意大利蜜蜂及其杂交二代形态特征与微卫星 DNA 遗传多样性	余林生, 解文飞, 巫厚长, 等 (3555)
北京城市公园湿地休憩功能的利用及其社会人口学因素	李芬, 孙然好, 陈利顶 (3565)
基于协整理论的经济增长与生态环境变化关系分析——以重庆市渝东南地区为例	肖强, 胡聃, 肖洋, 等 (3577)
感潮河网区环境合作博弈模型及实证	刘红刚, 陈新庚, 彭晓春 (3586)
专论与综述	
国内外生态效率核算方法及其应用研究述评	尹科, 王如松, 周传斌, 等 (3595)
全球变化背景下的现代生态学——第六届现代生态学讲座纪要	温腾, 徐德琳, 徐驰, 等 (3606)
问题讨论	
流域环境要素空间尺度特征及其与水生态分区尺度的关系——以辽河流域为例	刘星才, 徐宗学, 张淑荣, 等 (3613)
研究简报	
不同光照强度对兴安落叶松几种主要防御蛋白活力的影响	鲁艺芳, 石蕾, 严善春 (3621)
木荷种源间光合作用参数分析	熊彩云, 曾伟, 肖复明, 等 (3628)
基于能值分析的深圳市三个小型农业生态经济系统研究	杨卓翔, 高阳, 赵志强, 等 (3635)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 342 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-06



封面图说: 爬升樟木沟的暖湿气流——樟木沟是中国境内横切喜马拉雅山脉南坡的几条著名大沟之一, 它位于我国西藏聂拉木县境内的希夏邦马峰东南侧, 延绵 5400km 的 318 国道在此沟中到达其最西头。从聂拉木县城到樟木口岸短短的 30km 中, 海拔从 4000m 急降至 2000m。在大气环流作用下, 来自印度洋的暖湿气流沿樟木沟不断费力地往上爬升, 给该沟谷留下了大量的降水。尤其是在雨季到来时, 山间到处是流水及悬垂崖头的瀑布, 翠峰直插云霄, 森林茂密苍郁, 溪流碧澄清澈, 奇花异葩繁多, 风景美如画卷, 气势壮丽非凡。

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

DOI: 10.5846/stxb201105250686

郑燕,侯海军,秦红灵,朱亦君,魏文学. 施氮对水稻土 N₂O 释放及反硝化功能基因(*narG/nosZ*)丰度的影响. 生态学报, 2012, 32(11): 3386-3393.
Zheng Y, Hou H J, Qin H L, Zhu Y J, Wei W X. Effect of N application on the abundance of denitrifying genes (*narG/nosZ*) and N₂O emission in paddy soil. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(11): 3386-3393.

施氮对水稻土 N₂O 释放及反硝化功能基因(*narG/nosZ*)丰度的影响

郑 燕^{1,2}, 侯海军^{1,2}, 秦红灵¹, 朱亦君¹, 魏文学^{1,*}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室及桃源农业生态试验站, 长沙 410125;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:以紫潮泥和红黄泥两种不同质地的水稻土壤作为研究对象,通过室内培养试验,分析施用硝态氮肥对 N₂O 释放和反硝化基因(*narG/nosZ*)丰度的影响,并探讨反硝化基因丰度与 N₂O 释放之间的关系。结果表明,施用硝态氮显著增加两种水稻土的 N₂O 释放量。在 72h 培养过程中,施氮改变了紫潮泥反硝化基因(*narG/nosZ*)的丰度,但并未明显影响红黄泥反硝化基因(*narG/nosZ*)丰度。通过双变量相关分析发现,除了紫潮泥 *narG* 基因外,其它的反硝化基因丰度和 N₂O 释放之间并没有显著相关性。

关键词:水稻土;施氮;N₂O 释放;反硝化基因丰度

Effect of N application on the abundance of denitrifying genes (*narG/nosZ*) and N₂O emission in paddy soil

ZHENG Yan^{1,2}, HOU Haijun^{1,2}, QIN Hongling¹, ZHU Yijun¹, WEI Wenxue^{1,*}

1 Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region and Taoyuan Agro-Ecological Experiment Station, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Nitrous oxide (N₂O) is a powerful greenhouse gas with a global warming potential 296 times higher than carbon dioxide over a 100-year time period. Most of N₂O is emitted from agricultural soils through microbial processes of nitrification and denitrification. In order to explore the relationship between N₂O emission and denitrifying processes in paddy soil, incubation experiment was performed with purple calcareous clayey soil (P) and reddish yellow loamy soil (R) with CK and N treatments. According to N₂O emission rate, soil samples were taken at 24, 48 and 72 hours which represented the growing, top and dropping periods, respectively. The abundances of *narG* and *nosZ* were analyzed using real-time PCR. The results showed that N₂O emission in N treatment was significantly higher than that in CK treatment in the two paddy soils, indicating that application of NO₃⁻ greatly contributed to N₂O emission. Compared the two soils treated with nitrogen, N₂O flux behaved differently, in the purple calcareous soil N₂O emission rates were significantly lower in 24th h in comparison with the incubation time at the 48th and 72th h which possessed similar flux rates. However, the reddish yellow loamy soil showed that the emission rate was the highest at 48th h, afterwards it dropped till 72th h the rate was significantly lower than that at 48th h. Compared to purple calcareous soil, the N₂O emission in N treatment was higher in reddish yellow loamy soil, which increased 26.9%, 38.7% and 17.0% in 24th h, 48th h and 72th h, respectively. After

基金项目:国家自然科学基金(41071181, 40801098); 中国科学院百人计划资助项目(ZCX2-YW-BR-01)

收稿日期:2011-05-25; 修订日期:2011-10-31

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wenxuewei@isa.ac.cn

72 h incubation, the content of NO₃⁻-N decreased 18% and 40% in purple calcareous soil and reddish yellow loamy, indicating more NO₃⁻-N was transformed in reddish yellow loamy than that in purple calcareous soil. The real-time PCR revealed that N application affected the abundance of the denitrifying genes in the purple calcareous clayey soil, but didn't obviously affect them in the reddish yellow loamy soil. For purple calcareous clayey soil, *narG* gene abundance in N treatment were significantly higher than that in its CK treatment at all the three incubation time points (24thh, 48thh, 72thh), while there was no significantly difference for reddish yellow loamy soil except for in 48thh with higher *narG* gene abundance in N treatment. Meanwhile, application of nitrogen induced a higher abundance of *nosZ* gene than that in the CK treatment only at 48thh for purple calcareous clayey soil and no significantly difference was detected for reddish yellow loamy soil. Bivariate correlation analysis showed that no significant correlations were found between abundance of denitrifying genes (*narG/nosZ*) and N₂O emission, except *narG* gene in purple calcareous clayey soil. The results suggested that studying correlation between gene abundance and N₂O emission from DNA level might have some limitations, because not all of DNA quantified in real-time PCR was expressed and the denetrifying DNA gene just represented the denetrifying bacterial potential physiological function. So it is more accurate to study correlation from RNA level as RNA translated denitrifying oxide-reductase is realtime correlation of N₂O emission.

Key Words: paddy soil; N application; N₂O emission; abundance of denitrifying genes

氧化亚氮(N₂O)是仅次于CO₂和CH₄的温室气体,全球人为释放的N₂O中有一半来自农田土壤,研究表明农田土壤对N₂O释放的贡献率可高达70%^[1]。农业土壤中N₂O主要来源于微生物活动引起的硝化和反硝化过程,当土壤中土壤充水孔隙度(Water filling pore space,WFPS)较高时,氧气受限,N₂O主要来自于反硝化作用^[2]。反硝化作用会导致农田中施入的氮肥流失^[3],造成氮肥利用率下降,因此研究和掌握土壤反硝化作用的内在机理将有助于减排N₂O和降低环境污染。

稻田在世界上分布很广,其中90%在亚洲地区,中国是世界上主要的水稻生产国,水稻田面积占世界的28%^[4]。稻田土壤以厌氧环境为主,因此反硝化作用是稻田氮素转化的主要途径^[5]。近年来,国内外在稻田土壤氮肥反硝化损失方面开展了大量研究,但是大多数研究都集中在土壤理化性质如氮源,碳源,水分,pH值等对反硝化作用的影响^[6-7],对微生物驱动机理了解很少。然而反硝化作用都是由土壤中的微生物所参与的生物化学过程,是由微生物机体所含的氧化还原酶催化的一系列反应,土壤理化性质只是间接的影响了微生物的生存环境,从而改变了这些微生物的作用^[8],因此了解微生物对反硝化过程的作用机理是研究氮素损失的关键。

反硝化过程中主要有4种酶主导:硝酸还原酶,亚硝酸还原酶,一氧化氮还原酶,氧化亚氮还原酶。硝酸还原酶将硝酸还原成亚硝酸,是反硝化作用第一步反应的酶,此酶在微生物分为两类:膜结合硝酸还原酶(Nar)和周质硝酸还原酶(Nap),研究最多的是膜结合硝酸还原酶(Nar)^[9],Nar的催化亚基由*narG*基因编码。氧化亚氮还原酶(Nos)是将氧化亚氮还原成氮气,是反硝化作用最后一步反应的酶,编码此酶的基因只有*nosZ*一种,*nosZ*也被广泛用作功能标志基因来研究环境样品中反硝化细菌^[10-11]。

土壤中的大部分微生物是不可培养的,因此以传统微生物分离培养方法研究微生物会有一定的局限性^[12]。随着分子生物学技术的发展,使人们从分子水平更全面地认识土壤微生物成为可能。本研究以*narG/nosZ*基因作为反硝化功能靶标基因,通过室内培养试验研究施氮(NO₃⁻-N)后水稻土反硝化功能基因丰度的变化,探讨施氮对N₂O释放和反硝化功能基因的影响,分析N₂O释放与反硝化基因丰度之间的关系,从而揭示反硝化过程中功能微生物与氮素损失的耦合机制。研究结果对控制和减少N₂O释放,提高稻田氮素利用率等方面具有重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

两个供试土样分别采自湖南省益阳市草尾镇(29°08'N, 112°27'E)和湖南省长沙县干杉乡(28°53'N,

113°14'E), 均为多年种植双季稻土壤, 土壤分别为紫潮泥(P)和红黄泥(R), 母质为湖积物和第四世纪红壤。紫潮泥的粘粒(<0.01 mm)含量约为90%, 质地为壤粘土; 红黄泥的粘粒(<0.01 mm)含量约为55%, 质地为壤土。土样采集时间为2008年11月, 此时土壤处于晚稻收割后的落干状态。按照S取样法取表层0—15 cm土壤并混匀, 风干后过2 mm筛, 放于4 °C保存。土壤样品的理化性状见表1。

表1 土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the soil samples

样品 Samples	pH (H ₂ O)	速效钾 Available K /(mg/kg)	速效磷 Available P /(mg/kg)	有机质 Organic matter /(g/kg)	全碳 Total C /(g/kg)	全氮 Total N /(g/kg)	NO ₃ ⁻ -N /(mg/kg)	NH ₄ ⁺ -N /(mg/kg)	容重 Bulk density /(g/cm ³)
紫潮泥(P)	7.74	98.02	10.72	55.70	32.90	3.20	33.23	44.82	1.02
红黄泥(R)	5.22	136.04	48.15	31.30	16.30	1.90	1.68	19.72	1.18

紫潮泥 Purple calcareous clayey soil; 红黄泥 Reddish yellow loamy soil

1.2 试验设计

供试土壤均设2个处理, 即不施氮对照(CK)和施氮处理(N), 氮源为KNO₃, NO₃⁻-N用量为200 mg/kg干土^[13]。取4kg风干后土放入塑料桶中, 加去离子水调至40%WFPS, 25 °C预培养5d, 激活土壤微生物。预培养后的土壤均分为两份, 一份只用去离子水调至80%WFPS, 另一份用含KNO₃溶液调至80%WFPS, 使施入氮量为200 mg NO₃⁻-N kg⁻¹干土。将处理好的土样分装到250 mL的广口瓶中, 每瓶土样200 g, 每个处理9瓶, 根据监测N₂O释放规律试验结果, 设置3个采气采样时间点(代表N₂O释放的上升区、高峰区和下降区), 分别为24, 48, 72 h, 重复3次, 25 °C条件下培养。培养过程中瓶口盖上多孔锡箔纸, 可以透气并能够减少水分蒸发^[14]。采气时瓶口用橡胶塞封口并在25 °C条件下培养2 h^[15], 用20 mL注射器抽推瓶中气体3次, 使其充分混匀, 采集瓶中气体10 mL于集气瓶中。同时收集瓶中土壤样品, 20 g土用于无机氮分析, 30 g土冷冻干燥后保存在-70 °C用于DNA提取, 剩余存放于-70 °C备用。

1.3 N₂O浓度, 硝态氮和铵态氮测定

采用气相色谱(Hewlett 5890; Packard Series II)测定N₂O浓度, 色谱柱为Porsplot Q(3 m×2 mm)。

称取10 g土样, 置于100 mL塑料振荡瓶中, 加入50 mL 2 mol/L氯化钾, 拧紧盖子, 在振荡机上振荡1 h。用滤纸过滤悬浊液, 将澄清滤液放入干净的试管中, 采用连续流动分析仪测定(Flastar 5000 Analyzer)硝态氮和铵态氮浓度。

1.4 DNA的提取及浓度测定

DNA提取方法参考Hurt等^[16]。土壤样品从-70 °C冰箱取出后, 冷冻干燥。取2 g冷冻干燥土和2 g烘干的无菌砂(粒径约为0.25 mm)放于预冷的研钵中。倒入液氮, 研磨约5 min, 将研磨后的样品放入50 mL离心管中, 加入15 mL提取液(100 mmol/L磷酸钠缓冲液pH值7.0, 100 mmol/L Tris-HCl pH值7.0, 100 mmol/L EDTA pH值8.0, 1.5 mmol/L NaCl, 1% CTAB pH值8.0, 2% SDS pH值7.2), 65 °C水浴30 min, 每隔10 min摇动1次。2000 r/min, 4 °C, 离心10 min。将上清转移至50 mL新离心管中, 加入20 mL预冷的氯仿/异戊醇(24:1)。原管中剩余上清与土样混匀后, 65 °C水浴5 min, 离心后第2次将上清移至50 mL离心管中。上清与氯仿/异戊醇轻柔混匀, 2000 r/min, 4 °C, 离心20 min。水相移至50 mL新离心管中, 加入0.6倍体积的异丙醇, 室温沉淀30 min。10800 r/min, 室温离心20 min。沉淀在无菌台干燥, 100 μL灭菌水溶解。

本方法是DNA和RNA共提取, 需要用无DNA酶的RNA酶(Fermentas)去除RNA, 然后用紫外分光光度计(Nanodrop ND1000)测定DNA的浓度。

1.5 实时PCR

DNA样品进一步利用“总DNA纯化回收试剂盒”(天根)纯化后用于实时PCR扩增。本研究采用的实时PCR引物见表2。

表 2 反硝化基因引物信息

Table 2 Primer sequences of denitrifying genes used for real time PCR

引物 ^a Primer	引物序列 ^b (5'-3') Primer sequence	扩增片段长度 The length of amplified fragment/bp	参考文献 References
<i>narG</i> -1960m2F	TAY GTS GGG CAG GAR AAA CTG	110	[17]
<i>narG</i> -2050m2R	CGT AGA AGA AGC TGG TGC TGTT		
<i>nosZ</i> 1126F	GGGCTBGGGCCRTTGCA	256	[18]
<i>nosZ</i> 1381R	GAAGCCGRTCCCTSGARAACCTTG		

a: 上下游引物分别标注为 F 和 R; b: W=AT, S=GC, Y=CT, M=AC, R=AG, K=GT, V=AGC

实时 PCR 扩增所用的仪器为 ABI PRISM 7900(Applied Biosystems), 所用反应体系及反应条件如下:*narG* 基因 10 μ L 反应体系含有 0.2 μ L(10 μ mol/L) 上游引物, 0.2 μ L(10 μ mol/L) 下游引物, 5 μ L SYBR Premix Ex Taq (Takara), 0.2 μ L ROX Reference Dye (Takara), 1 μ L(5 ng/ μ L) DNA 模板。扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环。*nosZ* 基因 10 μ L 反应体系含有 0.35 μ L(10 μ mol/L) 上游引物, 0.35 μ L(10 μ mol/L) 下游引物, 5 μ L SYBR Premix Ex Taq (Takara), 0.2 μ L ROX Reference Dye (Takara), 1 μ L(5 ng/ μ L) DNA 模板。降落 PCR 扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 65—61 $^{\circ}$ C 30 s(每个循环下降 1 $^{\circ}$ C); 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 30 个循环。标准曲线分别用含 *narG* 和 *nosZ* 基因的质粒为模板。

1.6 数据分析

数据均使用 SPSS13.0 分析, 各处理 N_2O 释放量的差异和反硝化基因丰度的差异用单向方差分析(One-Way ANOVA, LSD 检验), 反硝化基因丰度与 N_2O 释放量间之间的关系用双变量相关分析(Bivariate)。

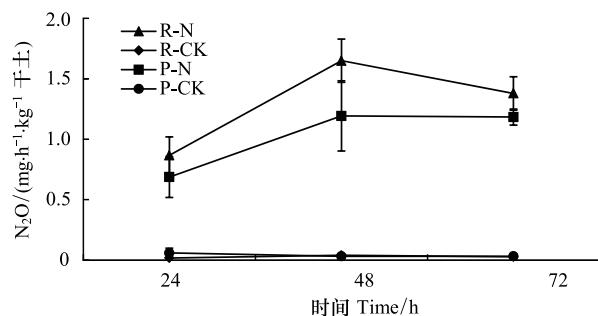
2 结果与分析

2.1 N_2O 释放规律

施氮后两种供试土壤的 N_2O 释放量短期内显著提高(图 1)。紫潮泥不施氮对照(P-CK)和红黄泥不施氮(R-CK)的 N_2O 释放量随时间没有发生明显变化, 平均值分别为 0.04 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土和 0.02 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土。紫潮泥施氮处理(P-N)的 N_2O 释放量呈显著上升趋势, 48 h(1.19 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土)和 72 h(1.18 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土)的 N_2O 释放量显著高于 24 h(0.69 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土), 48 h 和 72 h 两个时期的释放量没有显著差别; 红黄泥施氮处理(R-N)释放在 48 h(1.65 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土)上升到最高峰, 显著高于 24 h(0.87 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土)和 72 h(1.38 mg N_2O $h^{-1}kg^{-1}$ 干土)。红黄泥施氮处理的 N_2O 释放量高于紫潮泥施氮处理, 3 个时期分别高出 26.9%(24 h), 38.7%(48 h) 和 17.0%(72 h)。

2.2 硝态氮、铵态氮测定

预培养结束后, 红黄泥 NO_3^- -N 浓度为 1.31 mg/kg 干土, 紫潮泥 NO_3^- -N 浓度为 33.23 mg/kg 干土(表 1)。进一步不施氮培养 72 h 后, 红黄泥 NO_3^- -N 浓度降到了 <2 mg/kg 干土, 随着时间并未发生显著变化, 平均值为 0.76 mg/kg 干土。紫潮泥不施氮对照的 NO_3^- -N 浓度在 24 h 时降低至 8.46 mg/kg 干土, 24 h 后未发生显著变化。红黄泥施氮处理 NO_3^- -N 浓度从 145.47 mg/kg 干土(24 h)下降到 86.71 mg/kg 干土(72 h), 降低了 40%; 紫潮泥施氮处理的 NO_3^- -N 浓度从 195.78 mg/kg 干土(24 h)下降到 160.62 mg/kg 干土(72 h), 降低了 18%。

图 1 N_2O 释放量动态变化过程Fig. 1 The change of N_2O emission in soils over incubation

紫潮泥不施氮对照(P-CK), 紫潮泥施氮处理(P-N), 红黄泥不施氮对照(R-CK), 红黄泥施氮处理(R-N); 数值代表平均值($n=3$) \pm 标准误

红黄泥施氮处理72 h内消耗的 NO_3^- -N多于紫潮泥施氮处理。

土壤的 NH_4^+ 的浓度随时间没有发生明显变化(表3),平均值分别为:紫潮泥不施氮对照43.98 mg/kg干土,紫潮泥施氮处理57.00 mg/kg干土,红黄泥不施氮对照22.10 mg/kg干土,红黄泥施氮处理24.35 mg/kg干土,两种土壤施氮处理的平均 NH_4^+ 浓度稍高于不施氮对照。

表3 硝态氮、铵态氮浓度测定

Table 3 NO_3^- -N concentration and NH_4^+ -N concentration

	紫潮泥 Purple calcareous clayey soil		红黄泥 Reddish yellow loamy soil		
	CK	N	CK	N	
硝态氮	24h	8.46±1.14	195.78±1.44	1.78±0.47	145.47±4.40
NO_3^- -N concentration (mg NO_3^- -N kg ⁻¹ 干土)	48h	6.24±0.68	180.92±4.10	0.23±0.08	107.55±6.21
	72h	8.68±1.24	160.62±4.93	0.27±0.07	86.71±4.06
铵态氮	24h	45.45±1.58	57.18±5.86	19.80±1.44	23.38±1.29
NH_4^+ -N concentration (mg NH_4^+ -N kg ⁻¹ 干土)	48h	46.09±7.25	54.18±8.56	20.14±0.68	23.14±2.95
	72h	40.40±3.43	59.66±3.55	25.36±0.69	26.74±1.36

2.3 反硝化功能基因(*narG/nosZ*)丰度

2.3.1 *narG* 基因丰度

施氮使紫潮泥*narG*基因丰度发生了显著变化(图2),紫潮泥施氮处理3个时期的*narG*基因丰度显著高于同时期的未施氮对照。紫潮泥未施氮对照的*narG*基因丰度未随时间发生显著变化,平均值为 1.26×10^8 拷贝/g干土;施氮处理的基因丰度随时间有显著上升趋势,72 h的*narG*基因丰度(1.94×10^8 拷贝/g干土)显著高于24 h(1.55×10^8 拷贝/g干土)。施氮未使红黄泥*narG*基因丰度发生显著变化(图2),红黄泥不施氮对照与同时期的施氮处理相比,*narG*基因丰度无显著差异。红黄泥不施氮对照和施氮处理的基因丰度均随时间有所上升,但并未达到显著差异,平均值分别为 2.05×10^7 拷贝/g干土和 2.18×10^7 拷贝/g干土。

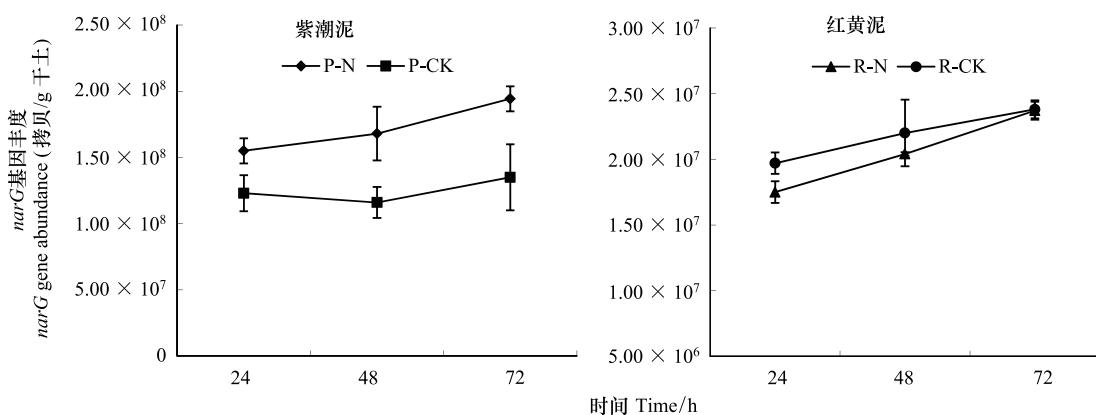


图2 *narG* 基因的丰度在72 h培养过程中的变化

Fig. 2 The change of *narG* gene over 72 h incubation

紫潮泥不施氮对照(P-CK),紫潮泥施氮处理(P-N),红黄泥不施氮对照(R-CK),红黄泥施氮处理(R-N);数值代表平均值($n=3$)±标准误;
标准曲线的描述为: $R^2=0.989$, $y=-3.31x+42.89$, $E=100.50\%$

2.3.2 *nosZ* 基因丰度

施氮使紫潮泥*nosZ*基因在48 h时发生显著升高(图3)。施氮处理48 h的*nosZ*基因丰度(8.29×10^6 拷贝/g干土)显著高于不施氮对照,24 h和72 h两个处理的基因丰度没有显著差别。不施氮对照的3个时期基因丰度没有发生显著变化,施氮处理的基因丰度随时间发生了明显变化,48 h的基因丰度显著高于24 h和72 h两个时期。施氮未使红黄泥*nosZ*基因丰度发生显著变化(图3),不施氮对照和施氮处理的基因丰度在3个

时期均无显著差别,但是两个处理的基因丰度均随时间提高,72 h 的基因丰度显著高于其他两个时期。

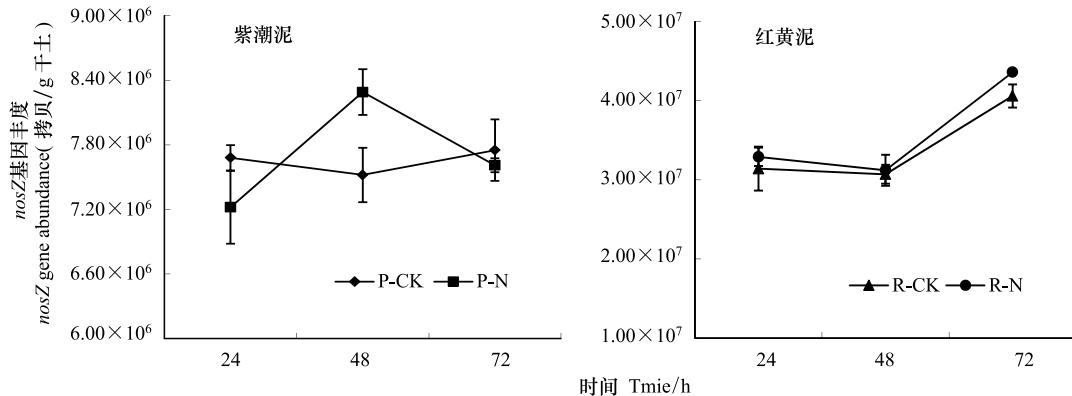


图 3 nos Z 的丰度在 72 h 培养过程中的变化

Fig. 3 The change of nosZ gene over a 72 h incubation

紫潮泥不施氮对照(P-CK),紫潮泥施氮处理(P-N),红黄泥不施氮对照(R-CK),红黄泥施氮处理(R-N);数值代表平均值($n=3$)±标准误差;标准曲线的描述为: $R^2=0.999, y=-3.32x+34.59, E=100.08\%$

2.3.3 *narG, nosZ* 的基因丰度与 N₂O 释放之间的关系

通过双变量相关分析发现,除了紫潮泥的 *narG* 基因丰度与 N₂O 的释放存在显著相关性($R^2=0.81, P=0.00$)外,其它反硝化基因丰度与 N₂O 的释放均不存在显著相关性。反硝化基因丰度(*narG/nosZ*)与 N₂O 释放之间的关系见表 4。

表 4 反硝化基因丰度与 N₂O 释放之间的相关性

Table 4 The Correlationship Between Denitrification Gene Abundance And N₂O Emission

紫潮泥 Purple calcareous clayey soil		红黄泥 Reddish yellow loamy soil	
	<i>narG</i>	<i>nos Z</i>	<i>narG</i>
<i>P</i>	0.00	0.92	0.16
<i>R</i> ²	0.81	-0.24	0.11
			-1.27

3 讨论

3.1 施氮对 N₂O 释放的影响

本研究结果表明,NO₃⁻-N 的施入显著提高 N₂O 释放量(图 1)。Bateman^[2] 和 Mille^[19] 等研究发现,当土壤 WFPS>70% 时,土壤释放的 N₂O 基本上全部来自于反硝化作用。前人的研究^[8, 20-21] 证明 NO₃⁻-N 的浓度是影响反硝化速率和 N₂O 释放的重要因素,提高 NO₃⁻-N 浓度会显著提高 N₂O 释放量。当 NO₃⁻-N 的浓度<10 mg/kg 干土,NO₃⁻-N 浓度会成为限制 N₂O 释放的因素^[19, 22]。红黄泥预培养结束后 NO₃⁻-N 浓度很低(<2 mg/kg 干土),因此红黄泥不施氮对照的 N₂O 排放量也一直很低;紫潮泥不施氮对照的 NO₃⁻-N 浓度 24h 后一直小于 10 mg/kg 干土,NO₃⁻-N 浓度成为限制 N₂O 排放的因素,N₂O 浓度在 24 h 后就一直维持在很低水平。在施氮处理中,红黄泥施氮处理的 N₂O 释放量在 48 h 达到最大值,72 h 显著降低;而紫潮泥施氮处理在 48 h 和 72h N₂O 释放水平没有显著差别,原因可能是其中高 NO₃⁻-N 的浓度抑制了 N₂O 还原酶(*nosZ*)的活性,使 N₂O 还原成 N₂ 的速率过慢^[23],从而使 N₂O 释放量在 72 h 没有显著下降。图 1 结果表明,红黄泥施氮处理 3 个时期 N₂O 释放量均高于紫潮泥施氮处理,这和红黄泥施氮处理 NO₃⁻-N 消耗量较多有关(表 3),此结果可能与土壤质地有关。前人研究发现,土壤质地会影响土壤通透性,因而影响反硝化作用的相对强弱及 N₂O 在土壤中的扩散速率,土壤质地还影响土壤有机碳的分解速率,进而影响产 N₂O 微生物的基质供应^[24]。徐华等^[25] 的试验表明,壤质土壤释放的 N₂O 高于砂质和粘质土壤。

3.2 施氮对 *narG*, *nosZ* 的基因丰度的影响

已有研究结果表明,施氮(NO_3^- -N)没有对红黄泥(R)的 *nosZ* 基因和 *narG* 基因丰度产生显著影响(图2,图3),这与^[8, 21, 26]相似。Dandie 等^[21]在利用实时 PCR 技术研究不同季节土豆地反硝化基因(*nirK*, *nosZ*, *cnoR*)丰度变化的试验中发现, NO_3^- -N 是影响 N_2O 释放和反硝化速率的重要因素,但是却对反硝化基因丰度影响很小;Mergel 等^[26]也通过基因探针试验证明土壤反硝化基因丰度并不受 NO_3^- -N 浓度的影响;Wallenstein 等^[8]指出 NO_3^- -N 的浓度并不是影响反硝化基因丰度的主要因素,基因丰度会受到 NO_3^- -N 以外的其它环境因素如水分、碳含量、pH 值等的影响。在本试验中,施氮显著改变了紫潮泥(P)的反硝化基因 *narG* 和 *nosZ* 的丰度,原因可能与紫潮泥(P)中较高的碳含量(表1)有关。Miller 等^[19]在研究短期内(72 h)碳源对小麦地反硝化基因丰度影响的试验发现,施入 250 mg 葡萄糖-C/kg 土后,如果同时施入 50 mg NO_3^- -N/kg 土,其反硝化基因 *cnoR* 丰度显著高于只施碳不施氮的处理,说明在碳含量较高的情况下,充足的氮施入可以提高反硝化微生物丰度。由此推测,在较高碳含量条件下,氮的施入增加了反硝化活性^[27],刺激紫潮泥中含有反硝化功能基因(*narG/nosZ*)菌群生长,使其基因丰度得到显著提高。

3.3 *narG*, *nosZ* 的基因丰度与 N_2O 释放之间的关系

本试验中,除了紫潮泥的 *narG* 基因外,反硝化功能基因丰度与 N_2O 的释放量不相关。众多的试验结果表明,反硝化基因丰度和 N_2O 释放之间无明显相关性。Dandie 等^[21]利用实时 PCR 研究不同季节土豆地反硝化基因(*nirK*, *nosZ*, *cnoR*)丰度变化的试验中发现,反硝化基因的丰度与 N_2O 释放量无关;Henderson 等^[28]利用实时 PCR 技术研究短期内(72 h)农田土壤反硝化基因(*nosZ*, *nirS*)丰度变化的结果表明,反硝化基因丰度和 N_2O 释放量之间没有相关性;Ma 等^[29]在研究湿地反硝化基因丰度与 N_2O 释放之间的关系发现,70% WFPS 条件下,*nosZ* 基因丰度与 N_2O 释放之间并没有明确的相关性。本研究中紫潮泥(P)的 *narG* 基因与 N_2O 释放之间的显著相关性,可能与紫潮泥(P)本身有较高的碳含量(表1)有关。从 DNA 水平研究反硝化基因与 N_2O 释放之间的关系有一定的局限性^[8],因为靶标基因可能并不全部参与表达,反硝化基因丰度仅仅代表了反硝化微生物的潜在生理功能,与 N_2O 释放实时相关的表达能力需要通过 RNA 水平,对其深入研究。

4 结论

本研究表明施氮(NO_3^- -N)显著增加了两种水稻土 N_2O 的释放量,但是施氮只提高了紫潮泥反硝化基因的丰度。紫潮泥基因丰度变化可能和本身较高的碳含量有关,表明土壤有机碳含量可能是影响反硝化微生物的重要因素,未来进一步研究土壤有机质对反硝化过程的影响具有重要意义。除了紫潮泥的 *narG* 基因外, N_2O 的释放量和其它反硝化基因丰度间没有统计相关性,表明在 DNA 水平研究稻田土壤 N_2O 排放的微生物调控机制具有一定的局限性,进一步在 mRNA 水平系统研究 N_2O 释放量与水稻土反硝化基因之间的关系,将能为制定合理的农田管理措施减少稻田氧化亚氮释放量,有效应对全球气候变化提供一定的科学依据。

References:

- [1] Mosier A, Kroeze C, Neivison C, Oenema O, Seitzinger S, van Cleemput O. Closing the global N_2O budget: nitrous oxide emissions through the agricultural nitrogen cycle-OECD/IPCC/IEA phase II development of IPCC guidelines for national greenhouse gas inventory methodology. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 1998, 52(2/3) : 225-248.
- [2] Bateman E J, Baggs E M. Contributions of nitrification and denitrification to N_2O emissions from soils at different water-filled pore space. Biology and Fertility of Soils, 2005, 41(6) : 379-388.
- [3] Khalil K, Mary B, Renault P. Nitrous oxide production by nitrification and denitrification in soil aggregates as affected by O_2 concentration. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(4) : 687-699.
- [4] Chen Z, Luo X Q, Hu R G, Wu M N, Wu J S, Wei W X. Impact of long-term fertilization on the composition of denitrifier communities based on nitrite reductase analyses in a paddy soil. Microbial Ecology, 2010, 60(4) : 850-861.
- [5] Cai Z C, Xing G X, Yan X Y, Xu H, Tsuruta H, Yagi K, Minami K. Methane and nitrous oxide emissions from rice paddy fields as affected by nitrogen fertilisers and water management. Plant and Soil, 1997, 196(1) : 7-14.
- [6] Huang S H, Pant H K, Lu J. Effects of water regimes on nitrous oxide emission from soils. Ecological Engineering, 2007, 31(1) : 9-15.
- [7] Hwang S J, Hanaki K. Effects of oxygen concentration and moisture content of refuse on nitrification, denitrification and nitrous oxide production.

- Bioresource Technology, 2000, 71(2): 159-165.
- [8] Wallenstein M D, Myrold D D, Firestone M, Voytek M. Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: insights from molecular methods. Ecological Applications, 2006, 16(6): 2143-2152.
- [9] Philippot L. Denitrifying genes in bacterial and Archaeal genomes. Biochimica et Biophysica Acta-Gene Structure and Expression, 2002, 1577(3): 355-376.
- [10] Stres B, Mahne I, Avguštin G, Tiedje J M. Nitrous oxide reductase (*nosZ*) gene fragments differ between native and cultivated Michigan soils. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(1): 301-309.
- [11] Rich J J, Heichen R S, Bottomley P J, Cromack K Jr, Myrold D D. Community composition and functioning of denitrifying bacteria from adjacent meadow and forest soils. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(10): 5974-5982.
- [12] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiological Reviews, 1995, 59(1): 143-169.
- [13] Xu Y B, Cai Z C. Nitrous oxide emission and reduction during denitrification in subtropical soils. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(4): 731-737.
- [14] Aulakh M S, Khera T S, Doran J W. Mineralization and denitrification in upland, nearly saturated and flooded subtropical soil: II. Effect of organic manures varying in N content and C:N ratio. Biology and Fertility of Soils, 2000, 31(2): 168-174.
- [15] Huang Y, Zou J W, Zheng X H, Wang Y S, Xu X K. Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(6): 973-981.
- [16] Hurt R A, Qiu X Y, Wu L Y, Roh Y, Palumbo A V, Tiedje J M, Zhou J Z. Simultaneous recovery of RNA and DNA from soils and sediments. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4495-4503.
- [17] López-Gutiérrez J C, Henry S, Hallet S, Martin-Laurent F, Catroux G, Philippot L. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. Journal of Microbiological Methods, 2004, 57(3): 399-407.
- [18] Chen Z, Hou H J, Zheng Y, Qin H G, Zhu Y J, Wu J S, Wei W X. Influence of fertilisation regimes on a *nosZ*-containing denitrifying community in a rice paddy soil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, JSFA-10-1611. R1.
- [19] Miller M N, ZebARTH B J, Dandie C E, Burton D L, Goyer C, Trevors J T. Crop residue influence on denitrification, N₂O emissions and denitrifier community abundance in soil. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(10): 2553-2562.
- [20] Ciarlo E, Conti M, Bartoloni N, Rubio G. Soil N₂O emissions and N₂O/(N₂O+N₂) ratio as affected by different fertilization practices and soil moisture. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44(7): 991-995.
- [21] Dandie C E, Burton D L, ZebARTH B J, Henderson S L, Trevors J T, Goyer C. Changes in bacterial denitrifier community abundance over time in an agricultural field and their relationship with denitrification activity. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(19): 5997-6005.
- [22] Ryden J C. Denitrification loss from a grassland soil in the field receiving different rates of nitrogen as ammonium nitrate. Journal of Soil Science, 1983, 34(2): 355-365.
- [23] Weier K L, Doran J W, Power J F, Walters D T. Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. Soil Science Society of America Journal, 1993, 57(1): 66-72.
- [24] Jiang Y J. Study on Methane and Nitrous Oxide Emission from Cropland [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2001.
- [25] Xu H, Xing G X, Cai Z C, Tsuruta H. Effect of soil texture on N₂O emissions from winter wheat and cotton fields. Agro-Environmental Protection, 2000, 19(1): 1-3.
- [26] Mergel A, Schmitz O, Mallmann T, Bothe H. Relative abundance of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in layers of a forest soil. Fems Microbiology Ecology, 2001, 36(1): 33-42.
- [27] Chen Z, Yuan H Z, Wu J S, Wei W X. Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(11): 5923-5929.
- [28] Henderson S L, Dandie C E, Patten C L, ZebARTH B J, Burton D L, Trevors J T, Goyer C. Changes in denitrifier abundance, denitrification gene mRNA levels, nitrous oxide emissions, and denitrification in anoxic soil microcosms amended with glucose and plant residues. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 76(7): 2155-2164.
- [29] Ma W K, Bedard-Haughn A, Siciliano S D, Farrell R E. Relationship between nitrifier and denitrifier community composition and abundance in predicting nitrous oxide emissions from ephemeral wetland soils. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(5): 1114-1123.

参考文献:

- [13] 续勇波, 蔡祖聪. 亚热带土壤氮素反硝化过程中 N₂O 的排放和还原. 环境科学学报, 2008, 28(4): 731-737.
- [24] 蒋静艳. 农田土壤甲烷和氧化亚氮排放的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2001.
- [25] 徐华, 邢光熹, 蔡祖聪, 鹤田治雄. 土壤质地对小麦和棉花田 N₂O 排放的影响. 农业环境保护, 2000, 19(1): 1-3.
- [27] 陈哲, 袁红朝, 吴金水, 魏文学. 长期施肥制度对稻田土壤反硝化细菌群落活性和结构的影响. 生态学报, 2009, 29(11): 5923-5929.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32 ,No. 11 June ,2012(Semimonthly)
CONTENTS

Controls of post-fire tree recruitment in Great Xing'an Mountains in Heilongjiang Province	CAI Wenhua, YANG Jian, LIU Zhihua, et al (3303)
The assessment of river health using Benthic-Index of biotic integrity for Wenyu River	YANG Liu, LI Yonghui, WANG Juncai, et al (3313)
Consume of soil seeds of <i>Betula albo-sinensis</i> and <i>Abies faxoniana</i> in different natural successional stages of subalpine dark coniferous forest in western Sichuan, China	MA Jiangming, LIU Shirong, SHI Zuomin, et al (3323)
Habitat associations of understorey species spatial distribution in old growth broad-leaved Korean pine (<i>Pinus koraiensis</i>) forest	DING Shengjian, ZHANG Chunyu, XIA Fucai, et al (3334)
Nabkha morphology and sand-fixing capability of four dominant <i>Caragana</i> species in the desert region of the Inner Mongolia Plateau	ZHANG Yuanyuan, MA Chengcang, HAN Lei, et al (3343)
Growth dynamics, biomass allocation and ecological adaptation in <i>Ceratocarpus arenarius</i> L.	QUAN Dujuan, WEI Yan, ZHOU Xiaoqing, et al (3352)
A rapid assessment method for forest disaster based on MODIS/NDVI time series: a case study from Guizhou Province	SHI Hao, WANG Xiao, XUE Jianhui, et al (3359)
Soil cation exchange capacity and exchangeable base cation content in the profiles of four typical soils in the Xi-Shui Forest Zone of the Qilian Mountains	JIANG Lin, GENG Zengchao, LI Shanshan, et al (3368)
Impact of water and temperature on spring maize emergence speed and emergence rate	MA Shuqing, WANG Qi, LÜ Houquan, et al (3378)
Effect of N application on the abundance of denitrifying genes (<i>narG/nosZ</i>) and N ₂ O emission in paddy soil	ZHENG Yan, HOU Haijun, QIN Hongling, et al (3386)
Temporal-spatial variations of potential evapotranspiration and quantification of the causes in Northwest China	CAO Wen, SHEN Shuanghe, DUAN Chunfeng (3394)
Analysis of ecosystem degradation and recovery using precipitation use efficiency and NDVI in the headwater catchment of the Yellow River basin	DU Jiaqiang, SHU Jianmin, ZHANG Linbo (3404)
An assessment method of <i>Kandelia obovata</i> population biomass	JIN Chuan, WANG Jinwang, ZHENG Jian, et al (3414)
Quantitative characteristics and species composition of <i>Artemisia sphaerocephala</i> and <i>A. ordosica</i> communities in the Ulanbu Desert	MA Quanlin, ZHENG Qingzhong, JIA Jujie, et al (3423)
Photosynthesis and transpiration in relation to ion accumulation in <i>Vitex trifolia</i> under varied light intensity	ZHANG Ping, LIU Linde, BAI Xinfu, et al (3432)
Diffusion of elm seed rain in Otindag Sand Land	GU Wei, YUE Yongjie, LI Gangtie, et al (3440)
Effect of saline water irrigation on sand soil salt and the physiology and growth of <i>Populus euphratica</i> Oliv.	HE Xinlin, CHEN Shufei, WANG Zhenhua, et al (3449)
Regulation of exogenous nitric oxide on photosynthetic physiological response of <i>Lolium perenne</i> seedlings under NaHCO ₃ Stress	LIU Jianxin, WANG Jincheng, WANG Xin, et al (3460)
Longitude gradient changes on plant community and soil stoichiometry characteristics of grassland in Hulunbeir	DING Xiaohui, LUO Shuzheng, LIU Jinwei, et al (3467)
Concentrations and distributions of selenium and heavy metals in Hainan paddy soil and assessment of ecological security	GENG Jianmei, WANG Wenbin, WEN Cuiping, et al (3477)
Heavy metal contents and evaluation of farmland soil and wheat in typical area of Jiangsu Province	CHEN Jingdu, DAI Qigen, XU Xuehong, et al (3487)
The studies on the food web structures and trophic relationships in Guangxi Dongfang Cave by means of stable carbon and nitrogen isotopes	LI Daohong, SU Xiaomei (3497)
Analysis of bacterial diversity in the Songhua River based on nested PCR and DGGE	TU Teng, LI Lei, MAO Guannan, et al (3505)

Preliminary delineation and classification of estuarine drainage areas for major coastal rivers in China	HUANG Jinliang, LI Qingsheng, HUANG Ling, et al (3516)
Estimation of spatial and seasonal changes in phytoplankton primary production in Meiliang Bay, Lake Taihu, based on the Vertically Generalized Production Model and MODIS data	YIN Yan, ZHANG Yunlin, SHI Zhiqiang, et al (3528)
Viability and changes of physiological functions in the tiger frog (<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>) exposed to cold stress	WANG Na, SHAO Chen, XIE Zhigang, et al (3538)
Community structure and abundance dynamics of soil collembolans in transgenic Bt rice paddyfields	ZHU Xiangyu, LI Zhiyi, CHANG Liang, et al (3546)
Morphological characteristics and microsatellite DNA genetic diversity of Nigeria African honey bee, Anhui <i>Apis mellifera</i> and theirs hybrid generation II	YU Linsheng, XIE Wenfei, WU Houchang, et al (3555)
Effects of social-demographic factors on the recreational service of park wetlands in Beijing	LI Fen, SUN Ranhai, CHEN Liding (3565)
Co-integration theory-based analysis on relationships between economic growth and eco-environmental changes: taking the south- east district in Chongqing city as an example	XIAO Qiang, HU Dan, XIAO Yang, et al (3577)
The cooperative environmental game model in the Tidal River Network Regions and its empirical research	LIU Honggang, CHEN Xingeng, PENG Xiaochun (3586)

Review and Monograph

Review of eco-efficiency accounting method and its applications	YIN Ke, WANG Rusong, ZHOU Chuanbin, et al (3595)
Overview on the 6th international symposium on modern ecology series of 2011	WEN Teng, XU Delin, XU Chi, et al (3606)

Discussion

Scale analysis of environmental factors and their relationship with the size of hierarchical aquatic ecoregion: a case study in the Liao River basin	LIU Xingcai, XU Zongxue, ZHANG Shurong, et al (3613)
---	--

Scientific Note

Effects of different light intensities on activities of the primary defense proteins in needles of <i>Larix gmelinii</i>	LU Yifang, SHI Lei, YAN Shanchun (3621)
An analysis of photosynthetic parameters among <i>Schima superba</i> provenances	XIONG Caiyun, ZENG Wei, XIAO Fuming, et al (3628)
Research on three small-scale agricultural ecological-economic systems in Shenzhen City based on energy analysis	YANG Zhuoxiang, GAO Yang, ZHAO Zhiqiang, et al (3635)

《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

(SHENTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 11 期 (2012 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 11 (June, 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
主 管 中国科学技术协会
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

Editor-in-chief FENG Zong-Wei
Supervised by China Association for Science and Technology
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:1000717

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 1000717, China

印 刷 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

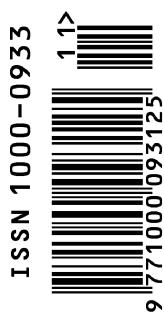
Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China

订 购 国 外 发 行
全国各 地邮局
中国国际图书贸易总公司
地址:北京 399 信箱
邮政编码:100044

Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North
Street, Beijing 1000717, China
Tel: (010) 64034563
E-mail: journal@cspg.net

广 告 经 营 许 可 证
京海工商广字第 8013 号

Domestic All Local Post Offices in China
Foreign China International Book Trading
Corporation
Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China



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