

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 32 卷 第 19 期 Vol.32 No.19 **2012**

中国生态学会
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 19 期

2012 年 10 月 (半月刊)

目 次

中国野生东北虎数量监测方法有效性评估	张常智, 张明海, 姜广顺 (5943)
城市居民食物氮消费变化及其环境负荷——以厦门市为例	于 洋, 崔胜辉, 赵胜男, 等 (5953)
珠江口水域夏季小型底栖生物群落结构	袁俏君, 苗素英, 李恒翔, 等 (5962)
2010 年夏季雷州半岛海岸带浮游植物群落结构特征及其与主要环境因子的关系	 (5972)
阿根廷滑柔鱼两个群体间耳石和角质颞的形态差异	龚玉艳, 张才学, 孙省利, 等 (5972)
黄河三角洲滨海草甸与土壤因子的关系	方 舟, 陈新军, 陆化杰, 等 (5986)
盘锦湿地净初级生产力时空分布特征	谭向峰, 杜 宁, 葛秀丽, 等 (5998)
菜豆根瘤菌对土壤钾的活化作用	王莉雯, 卫亚星 (6006)
花生植株和土壤水浸液自毒作用研究及土壤中自毒物质检测	张 亮, 黄建国, 韩玉竹, 等 (6016)
遮荫对金莲花光合特性和叶片解剖特征的影响	黄玉茜, 韩立思, 杨劲峰, 等 (6023)
火干扰对小兴安岭草丛、灌丛沼泽温室气体短期排放的影响	吕晋慧, 王 玄, 冯雁梦, 等 (6033)
古尔班通古特沙漠南部植物多样性及群落分类	顾 韩, 牟长城, 张博文, 等 (6044)
黄土高原樟子松和落叶松与其他树种枯落叶混合分解对土壤的影响	张 荣, 刘 彤 (6056)
长期集约种植对雷竹林土壤氨氧化古菌群落的影响	李 茜, 刘增文, 米彩红 (6067)
H ₂ O ₂ 参与 AM 真菌与烟草共生过程	秦 华, 刘卜榕, 徐秋芳, 等 (6076)
北京山区防护林优势树种分布与环境的的关系	刘洪庆, 车永梅, 赵方贵, 等 (6085)
旱直播条件下强弱化感潜力水稻根际微生物的群落结构	邵方丽, 余新晓, 郑江坤, 等 (6092)
不同森林类型根系分布与土壤性质的关系	熊 君, 林辉锋, 李振方, 等 (6100)
臭氧胁迫下硅对大豆抗氧化系统、生物量及产量的影响	黄 林, 王 峰, 周立江, 等 (6110)
垃圾填埋场渗滤液灌溉对土壤理化特征和草本花卉生长的影响	战丽杰, 郭立月, 宁堂原, 等 (6120)
稻麦轮作系统冬小麦农田耕作措施对氧化亚氮排放的影响	王树芹, 赖 娟, 赵秀兰 (6128)
不同施氮措施对旱作玉米地土壤酶活性及 CO ₂ 排放量的影响	郑建初, 张岳芳, 陈留根, 等 (6138)
北方农牧交错区农业生态系统生产力对气候波动的响应——以准格尔旗为例	张俊丽, 高明博, 温晚霞, 等 (6147)
.....	孙特生, 李 波, 张新时 (6155)
辽宁省能源消费和碳排放与经济增长的关系	康文星, 姚利辉, 何介南, 等 (6168)
基于 FARSITE 模型的丰林自然保护区潜在林火行为空间分布特征	吴志伟, 贺红士, 梁 宇, 等 (6176)
不同后作生境对玉米地天敌的冬季保育作用	田耀加, 梁广文, 曾 玲, 等 (6187)
云南紫胶虫种群数量对地表蚂蚁多样性的影响	卢志兴, 陈又清, 李 巧, 等 (6195)
阿波罗绢蝶种群数量和垂直分布变化及其对气候变暖的响应	于 非, 王 吟, 王绍坤, 等 (6203)
专论与综述	
海水养殖生态系统健康综合评价: 方法与模式	蒲新明, 傅明珠, 王宗灵, 等 (6210)
海草场生态系统及其修复研究进展	潘金华, 江 鑫, 赛 珊, 等 (6223)
水华蓝藻对鱼类的营养毒理学效应	董桂芳, 解绶启, 朱晓鸣, 等 (6233)
环境胁迫对海草非结构性碳水化合物储存和转移的影响	江志坚, 黄小平, 张景平 (6242)
生态免疫学研究进展	徐德立, 王德华 (6251)
研究简报	
喀斯特峰丛洼地不同森林表层土壤有机质的空间变异及成因	宋 敏, 彭晚霞, 邹冬生, 等 (6259)
准噶尔盆地东南缘梭梭种子雨特征	吕朝燕, 张希明, 刘国军, 等 (6270)



封面图说: 岸边的小白鹭——鹭科白鹭属共有 13 种, 其中有大白鹭、中白鹭、白鹭(小白鹭)、黄嘴白鹭等, 体羽皆是全白, 世通称白鹭。夏季的白鹭成鸟繁殖时枕部着生两条狭长而软的矛状羽, 状若双辫, 肩和胸着生蓑羽, 冬季时蓑羽常全部脱落, 白鹭虹膜黄色, 嘴黑色, 脚部黑色, 趾呈黄绿色。小白鹭常常栖息于稻田、沼泽、池塘水边, 以及海岸浅滩的红树林里。白天觅食, 好食小鱼、蛙、虾及昆虫等。繁殖期 3—7 月。繁殖时成群, 常和其他鹭类在一起, 雌雄均参加营巢, 次年常到旧巢处重新修葺使用。

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

DOI: 10.5846/stxb201109131338

张亮, 黄建国, 韩玉竹, 吴叶宽. 菜豆根瘤菌对土壤钾的活化作用. 生态学报, 2012, 32(19): 6016-6022.

Zhang L, Huang J G, Han Y Z, Wu Y K. Mobilization of potassium from Soils by *rhizobium phaseoli*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(19): 6016-6022.

菜豆根瘤菌对土壤钾的活化作用

张 亮, 黄建国*, 韩玉竹, 吴叶宽

(西南大学 资源环境学院, 北碚 400716)

摘要:以土壤为钾源,通过液体培养试验研究了 8 株菜豆根瘤菌对土壤钾的活化作用。结果表明,菜豆根瘤菌能释放大量的氢离子,使液体培养基的 pH 值大幅度降低,氢离子的浓度至少提高 22 倍以上。根瘤菌分泌有机酸的种类与数量因菌株不同而异,这些有机酸包括甲酸、乙酸、草酸、丁二酸、柠檬酸、苹果酸和乳酸等,其中全部菌株均能分泌草酸和苹果酸,大部分菌株能分泌乙酸。在接种根瘤菌的液体培养基中,可溶性钾含量显著高于不接种的液体培养基,土壤矿物结构钾则显著降低。由于土壤是培养基钾的唯一来源,故根瘤菌可促进土壤无效钾的溶解。相关分析表明,土壤矿物结构钾与有机酸分泌总量呈极显著负相关($r=-0.878^{**}$, $n=9$),与培养液 pH 值呈极显著正相关($r=0.863^{**}$, $n=9$),说明根瘤菌分泌的有机酸和氢离子可能溶解土壤无效钾。考虑到根瘤菌草酸分泌量大,络合钙、镁、铁、铝的能力强,且与有机酸分泌总量呈极显著正相关($r=0.870^{**}$, $n=9$),推测草酸分泌在活化土壤无效钾的过程中起重要作用。此外,根瘤菌分泌的有机酸电离产生的氢离子仅占培养液氢离子的 4.15%—27.56%,推测根瘤菌直接分泌的氢离子可能是造成培养液 pH 值降低的主要原因之一。

关键词:菜豆根瘤菌;土壤;钾

Mobilization of potassium from Soils by *rhizobium phaseoli*

ZHANG Liang, HUANG Jianguo*, HAN Yuzhu, WU Yekuan

College of Resources of Environment, Southwest University, Beibei, Chongqing 400716, China

Abstract: Potassium (K) is one of the most important essential elements for plant growth and function. However, both the concentration and the availability of K are very low in most soils. The chemical K supplemented through fertilization is rapidly adsorbed by soil minerals resulting in a 20%—35% of K use efficiency. Studies have found that *rhizobia*, which have the capacity not only to fix nitrogen from the atmosphere to contribute plant nitrogen nutrition, but also to mobilize soil K for plant use. As a result, the improvement of plant K use efficiency through some specific *rhizobia* to mobilize soil K has attracted much attention around the whole world. However, less information is available to illustrate the mechanisms how *rhizobia* could directly mobilize K from the soil. Eight strains of *rhizobium* sp., which isolated from a gray brown purple soil in Chongqing, southern China and coded as R 01, R 02, R 03, R 04, R 05, R 06, R 07 and R 08, respectively, were grown a liquid medium to study their capacity to mobilize soil K. The medium contained 1L H₂O, 10 g mannitol, 1.0 g yeast powder, 0.5 g NaH₂PO₄, 0.2 g MgSO₄ · 7H₂O, 0.1 g NaCl, 0.1 g CaCl₂ · 6H₂O and 4.0 mL microelement solution (each 1 L contained 5.0 g H₃BO₃ and 5.0 g Na₂MoO₄ dH₂O). Compared to the non-*rhizobium* control, concentrations of proton in the liquid media under all eight *rhizobium* treatments were increased by 22 times at least leading a significant pH decrease after 7 days of incubation. All *rhizobium* strains exuded oxalic acid and malic acid and most of them exuded acetic acid, but varied their capacity to exude succinic acid, formic acid, citric acid and lactic acid. Soluble K in the liquid medium was significantly higher whilst mineral structure K was significantly lower in the soil in the *rhizobium*

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助 XDJK(2010D002);XDJK(2011C034)

收稿日期:2011-09-13; 修订日期:2012-01-10

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huang99@swu.edu.cn

treatments than in the non-*rhizobium* control. Mineral structure K in soil negatively correlated with total organic acids ($r = -0.878^{**}$, $n = 9$), but positively correlated with pH in the liquid medium ($r = 0.863^{*}$, $n = 9$). So, *rhizobia* could mobilize soil K through the exudation of organic acids and protons. Oxalic acid has a strong capacity to complex calcium, magnesium, iron and aluminum and positively correlated with total organic acids ($r = 0.870^{**}$, $n = 9$), which suggests that oxalic acid exuded by *rhizobia* might contribute directly in the mobilization of soil K. In addition, protons ionized from organic acids were from 4.15% to 27.56% of the total protons in liquid medium, which showed that *rhizobia* could exude directly protons and led pH reduction in liquid medium. Our results demonstrated an alternative pathway to enhance plant K nutrition through proton and organic acid exudation could offer a potential effective practice to increase crop productivity by intercropping or growing cereal crops with legumes, in which the latter could not only provide nitrogen, but also to meet the growth requirements of both nitrogen and K for the cereal crops. Nevertheless, more research on the capacity of *rhizobia* to mobilize soil K and to benefit to its host plants and neighbouring plants are further required.

Key Words: *rhizobium phaseoli*; soil; potassium

钾是植物必需的大量营养元素之一。一般而言,土壤全钾含量较高,主要以铝硅酸盐含钾矿物的形式存在,难于被植物吸收利用。我国人多地少,复种指数高,土地利用强度大,有效钾含量普遍较低,需要施肥补充。但是,我国的钾肥资源贫乏,需大量进口才能满足农业生产的需要^[1]。

硅酸盐细菌(Silicate bacteria)具有活化土壤无效钾的作用^[2-3]。20世纪50年代,苏联学者亚历山大罗夫最先从土壤中分离获得了硅酸盐细菌,可释放铝硅酸盐矿物中的钾^[4]。盆栽试验表明,硅酸盐细菌的NTB菌株能将含钾矿物中的结构钾转化为速效钾,供棉花植株利用,促进它们的生长发育,提高产量^[5]。源于玉米地的胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*) H-3菌株,具有分解硅酸盐含钾矿物的能力,溶钾能力高达35.36 $\mu\text{g/mL}$ ^[6]。在土壤中,硅酸盐细菌是一种特殊的根际微生物,能够分泌草酸、乙酸、酒石酸、柠檬酸等有机酸,电离产生氢离子或直接络合长石、云母、花岗岩等硅酸盐含钾矿物中的铁、铝、钙、镁离子,使之分解释放钾离子,供植物吸收利用^[7-8]。

根瘤菌形成根瘤后,通过共生固氮向豆科植物提供氮素营养。研究表明,豆科植物利用难溶性磷的能力较强^[9-10],根瘤菌能够分泌氢离子和有机酸(如乙酸、草酸、柠檬酸、苹果酸等),活化土壤中的磷酸盐^[11-12]。由于氢离子和有机酸溶解含钾硅酸盐矿物的机理类似磷酸盐,推测根瘤菌可能也具有活化土壤无效钾的功能,但有关研究甚少。菜豆(如拉巴豆、四季豆和豇豆等)是重庆市的主要豆科蔬菜物,研究菜豆根瘤菌活化土壤钾的作用与机理可以全面了解它们的生物学功能。在微生物活化利用土壤无效钾方面,大多数研究都集中于硅酸盐细菌,对根瘤菌的研究甚少。为此,选用从当地土壤中分离获得的八株菜豆根瘤菌,研究了它们对紫色土钾的活化作用。

1 材料与方法

1.1 材料准备

菜豆根瘤菌[*Rhizobium* sp. (*Phaseolus*)]保存于西南大学资源环境学院微生物实验室,菌株是从菜豆属菜豆[*Phaseolus vulgaris* Linn.]植物根际周围分离获取。取其中的8株为供试菌株,代号分为R 01、R 02、R 03、R 04、R 05、R 06、R 07和R 08。先将根瘤菌固体培养基蒸汽灭菌($(121 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, 30 min),冷却后接种供试菌株, $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 斜面培养4 d。根瘤菌固体培养基组成为:蒸馏水1000 mL、琼脂20 g、甘露醇10 g、酵母粉1.0 g、 KH_2PO_4 0.5 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g、NaCl 0.1 g、 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g、微量元素液4 mL(每1000 mL含 H_3BO_3 5.0 g、 Na_2MoO_4 5.0 g、 dH_2O)、pH值6.8—7.2。然后,再将根瘤菌接种到盛有50 mL(NaH_2PO_4 代替 KH_2PO_4)液体培养基的250 mL三角瓶中,摇床培养($(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、60 r/min)3 d,获得菌悬液备用。

供试土壤为侏罗纪紫色砂泥岩发育的灰棕紫泥。蒸汽灭菌后的土壤pH值6.15、有机质14.96 g/kg、全氮1.07 g/kg、全磷0.59 g/kg、全钾16.32 g/kg、速效钾92.59 mg/kg。风干土壤,磨细过100目筛,取1.0000 g

土壤置于两端开口的塑料管(直径 $\times$ 长=1 cm $\times$ 2 cm)中部,然后两端塞入玻璃纤维,将土壤夹在中间,再用微孔滤膜密封两端,蒸汽 125 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌塑料管 150 min 备用。在振荡培养根瘤菌时,将盛有土壤的塑料管放入液体培养基中,水分子、无机离子、低分子有机酸等均可顺利进出而与土壤接触,但土壤又不会穿过玻璃纤维和滤膜而进入溶液。

试验中有机酸标准品为色谱纯,其余试剂均为分析纯。精确称取草酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸、乳酸、甲酸、乙酸各 100 mg,用流动相溶解并定溶于 100 mL 容量瓶中,配置成 1.0 g/L 的有机酸的标准混合溶液,再用流动相将标准溶液分别稀释至 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08 和 0.10 g/L。

1.2 试验设计

取 250 mL 三角瓶,加入 50 mL NaH_2PO_4 代替 KH_2PO_4 的供试培养基,蒸汽灭菌((121 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 30 min),冷却。接入 1 mL 1.1 中制备的菌悬液,再加 1 个装有土壤的灭菌塑料管;不接种的液体培养基为对照,余同接种处理,重复 3 次。摇瓶培养((28 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 60 r/min)7 d,备测有关项。

1.3 测定项目与方法

将液体培养基摇匀,用 PHS-3C 精密酸度计测定 pH 值;火焰光度计测定培养液中的钾离子;利用高效液相色谱仪(日本 HITACHI 公司生产)测定液体培养基中的有机酸含量。色谱条件为:Diode Array L-7455 紫外检测器,Ion-300 有机酸分析专用柱(Phenomenex, Torrance, CA, USA),流动相 2.5 mmol/L 硫酸,流速 0.5 mL/min,进样量 20 μL 样液(样液先经硫酸酸化),紫外检测波长 210 nm,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,压力 450 psi。测定的有机酸包括草酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、丁二酸、甲酸、乙酸,其出峰时间(min)依次是 9.57、11.52、13.31、14.53、15.95、17.47、20.72(图 1)。

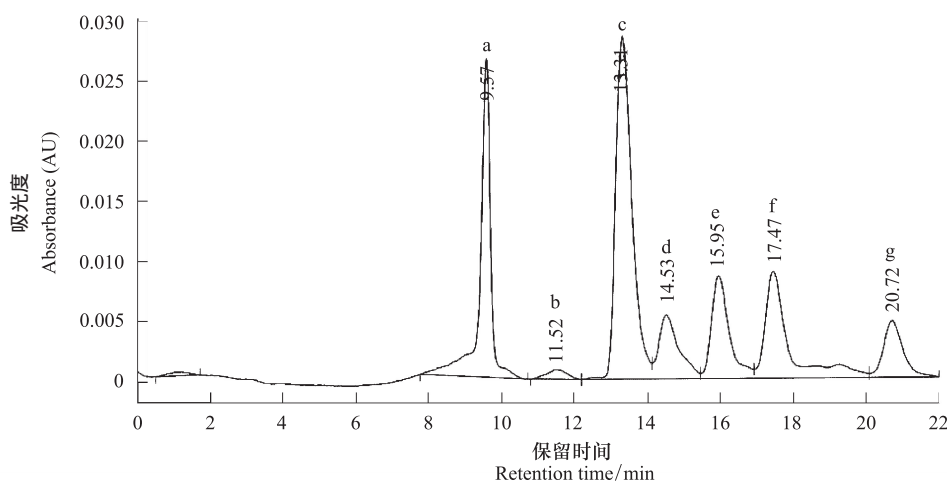


图 1 有机酸的标准色谱图

Fig. 1 Standard chromatogram of organic acids

a. 草酸;b. 柠檬酸;c. 苹果酸;d. 乳酸;e. 丁二酸;f. 甲酸;g. 乙酸

塑料管中的土壤样品风干,依次用蒸馏水、1 mol/L 醋酸铵和 1 mol/L 沸硝酸提取水溶性钾、交换性钾和缓效钾,经上述溶液提取后的土壤用氢氧化钠 450 $^{\circ}\text{C}$ 熔融,获得矿物结构钾,各提取溶液及土壤熔融液用火焰光度计测定钾^[13]。

1.4 数据处理

用 Excel2003 对试验数据进行基本计算,SPSS18.0 进行统计分析。

2 结果

2.1 根瘤菌对培养基 pH 值的影响

图 2 可见,培养根瘤菌 7 d 之后,液体培养基的 pH 值显著低于对照(不接种),但菌株不同,液体培养基的

pH 值降幅也不一样。其中,接种 R 01 的 pH 值仅 3.38,降幅最大;接种 R 07 的 pH 值为 4.23,降幅最小;其余菌株培养基的 pH 值介于 3.50 和 4.00 之间,均显著低于对照 pH 值(5.57)。

2.2 根瘤菌的有机酸分泌

试验检测了液体培养基中的甲酸、乙酸、草酸、乳酸、丁二酸、柠檬酸、苹果酸等 7 种有机酸(表 1)。在不接种的液体培养基中(对照),检测到草酸、苹果酸和柠檬酸,但浓度极低。根瘤菌不同菌株分泌有机酸的种类和数量也不一样。在接种根瘤菌的液体培养基中,均检测出草酸和苹果酸,其含量显著高于对照,说明它们均能分泌草酸和苹果酸,分泌能力因菌株异,高低相差 2.63(草酸)和 3.37 倍(苹果酸)。除 R 02、R 03 和

R 07 之外,供试根瘤菌能分泌柠檬酸,菌株之间相差 2.30 倍。此外,大多数根瘤菌能分泌乙酸(R 02 除外),R 01、R 02、R 08 能分泌丁二酸,菌株之间相差 1.79 倍;R 01、R 02、R 04、R 05 和 R 08 能分泌甲酸,菌株之间相差 1.65 倍;R 04、R 05、R 06 能分泌乳酸,菌株之间相差 2.58 倍。从 7 种有机酸的总浓度看,R 04 培养液中的含量最高,R 01 和 R 05 次之,R 06 和 R 08 居第三,R 02、R 03 和 R 07 最低,高低之间相差 3.78 倍。在根瘤菌培养液中,草酸和柠檬酸的浓度远远高于其它有机酸。

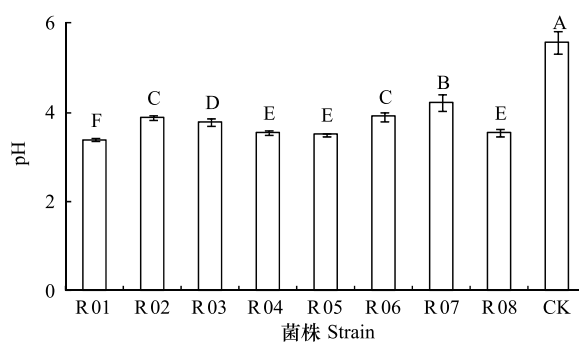


图 2 液体培养基的 pH 值变化(不同大写字母表示差异极显著, $P=0.01$)

Fig.2 The changes in pH in liquid culture mediums (Different letters indicate significant differences at $P=0.01$)

表 1 液体培养基中有机酸的含量

Table 1 Contents of organic acids in liquid culture mediums/(mg/L)

菌株 Strain	草酸 Oxalic acid	苹果酸 Malic acid	丁二酸 Succinic acid	甲酸 Formic acid	乙酸 Acetic acid	柠檬酸 Citric acid	乳酸 Lactic acid	总浓度 Total content
R 01	91.76a	40.12b	9.11a	13.21a	2.98b	49.09c	—	206.27b
R 02	39.12cd	15.35cd	13.93a	8.24a	—	—	—	76.64d
R 03	41.69c	15.17cd	—	—	18.93a	—	—	75.79d
R 04	76.89ab	50.58a	—	12.96a	3.01b	99.13a	20.08b	262.65a
R 05	64.98abc	43.11ab	—	13.56a	3.31b	43.16c	29.35a	197.47b
R 06	34.89cd	20.49c	—	—	1.12b	72.71b	11.38c	140.59c
R 07	40.11c	20.88c	—	—	8.49a	—	—	69.48d
R 08	51.42bc	14.99d	7.78a	12.44a	12.37a	64.79b	—	163.79bc
CK	10.65e	10.49e	—	—	—	10.48d	—	31.62e

在同一列中,有不同字母者表示差异显著($P<0.05$)

2.3 培养液含钾量

图 3 可见,培养 7 d 之后,培养基中的可溶性钾含量因菌株不同而异。除接种 R 02 之外,培养液的含钾量显著高于对照组,比对照提高了 8.18%—14.05%。但是,不同菌株之间无显著差异。变化于 16.89 mg/L—18.26 mg/L 之间。

2.4 土壤钾的分级及含量变化

培养 7 d 之后,土壤中的水溶性、交换性、缓效钾和矿物结构钾的含量及变化见表 2。接种根瘤菌之后,土壤水溶性钾升高或无显著变化。接种 R 01、R 05 和 R 08,土壤交换性钾显著提高,比对照土壤增加 22.78%—37.38%,其余菌株与对照相似。接种 R 02、R 04、R 05 和 R 07,显著提高土壤中的缓效钾含量,比对照增加 8.18%—11.58%,其余菌株与对照相似。接种 R 01、R 04、R 05 和 R 08,土壤中的矿物结构钾含量显著降低,比对照降低 338.31—390.44 mg/kg,其余菌株对矿物结构钾无显著影响。

土壤中水溶性钾和交换性钾之和即为速效钾。全部接种菌株均增加土壤中速效钾含量,比对照增加 5.80%—36.85%。

2.5 各因素的相关性分析

表 3 可见,土壤矿物结构钾与土壤交换性钾、根瘤菌培养液中的草酸、有机酸总浓度和 pH 值呈显著或极显著相关,相关系数分别为 $r=-0.769^*$ 、 $r=-0.853^{**}$ 、 $r=-0.878^{**}$ 、 $r=0.863^{**}$ ($n=9$)。根瘤菌草酸分泌量与有机酸分泌总量呈极显著正相关($r=0.870^{**}$, $n=9$),与培养液 pH 值呈极显著负相关($r=-0.808^{**}$, $n=9$)。此外,根瘤菌分泌的有机酸总浓度与培养液 pH 值呈显著负相关($r=-0.733^*$, $n=9$)。

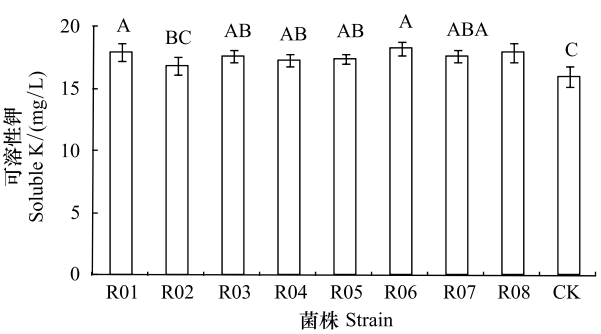


图 3 培养中可溶性钾含量
Fig.3 Contents of soluble K in liquid culture mediums

表 2 土壤中钾素含量变化

Table 2 The changes in K pools in soils /(mg/kg)

菌株 Strains	水溶性钾 Water-soluble K	交换性钾 Exchangeable K	缓效钾 Slow effective K	矿物结构钾 Mineral K
R 01	1.75a	157.92ab	347.69ab	15362.68b
R 02	1.52ab	138.31bcd	361.27a	15548.52ab
R 03	1.49b	130.53cd	339.11ab	15628.42ab
R 04	1.50b	128.11cd	355.12a	15414.81b
R 05	1.60ab	148.35abc	354.54a	15370.51b
R 06	1.69ab	145.55abcd	335.25ab	15517.33ab
R 07	1.49b	138.27bcd	350.25a	15584.57ab
R 08	1.65ab	166.00a	339.04ab	15368.06b
CK	1.68ab	120.83d	323.77b	15753.12a

表 3 试验各因素的相关系数

Table 3 Correlation coefficients among experimental factors

钾形态 Potassium Forms	水溶性钾 WSK	交换性钾 EK	缓效钾 SEK	矿物结构钾 Mineral K	草酸浓度 Oxalic acid	有机酸总浓度 TOA	pH
水溶性钾 WSK	1.000						
交换性钾 EK	0.479	1.000					
缓效钾 SEK	-0.500	0.163	1.000				
矿物结构钾 Mineral K	-0.219	-0.769 [*]	-0.523	1.000			
草酸浓度 Oxalic acid	0.103	0.486	0.576	-0.853 ^{**}	1.000		
有机酸总浓度 TOA	0.162	0.423	0.425	-0.878 ^{**}	0.870 ^{**}	1.000	
pH	0.098	-0.637	-0.635	0.863 ^{**}	-0.808 ^{**}	-0.733 [*]	1.000

WSK=Water soluble K; EK=Exchangeable K; SEK=Slow effective K; TOA =Total organic acids; *, ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上相关性达到显著水平

3 讨论

培养根瘤菌 7 d 之后,供试根瘤菌均显著降低液体培养基的 pH 值,至少降低了 1.34 个单位,即氢离子浓度增加了 22 倍以上。但菌株不同,pH 值的降幅也不一样。从有机酸的分泌情况看,全部根瘤菌能分泌草酸和苹果酸,大多数根瘤菌能分泌乙酸(R 02 除外),R 01、R 02、R 08 能分泌丁二酸,R 01、R 02、R 04、R 05 和 R 08 能分泌甲酸,R 04、R 05、R 06 能分泌乳酸,各有机酸的分泌能力和有机酸分泌总量也因菌株不同而异。统计分析表明,培养液的 pH 值与有机酸总浓度呈显著负相关($r=-0.733^*$, $n=9$),说明根瘤菌分泌的有机

酸是造成培养液 pH 值降低的原因之一。但是,7 种有机酸电离累计产生的氢离子浓度,仅占 pH 值降低的 4.15%—27.56%,推测根瘤菌还可以直接分泌氢离子。因此,培养液的 pH 值降低是根瘤菌分泌有机酸和氢离子共同作用的结果。在分泌的有机酸中,绝大部分菌株分泌的草酸数量最多。

土壤中的钾素主要以无机态存在,包括速效钾(水溶性钾和交换性钾)、缓效钾和无效钾(矿物结构钾),它们之间互相转化。根瘤菌培养液的含钾量显著高于不接种(接种 R 02 除外,与对照相似),由于土壤是培养液钾离子的唯一来源,说明培养液含钾量的增加必然来自于土壤钾的溶解,根瘤菌具有活化土壤中无效钾的能力。有研究者对桑树根际解钾菌进行鉴定时,发现了两株具有较强解钾能力的根瘤菌(FK11 和 FK8)^[14]。此外,在根瘤菌培养液中,部分菌株提高土壤交换性钾含量,同时降低土壤结构钾,二者之间呈显著负相关(-0.769^* , $n=9$)。说明在根瘤菌的作用下,土壤矿物中的结构钾可能转化成为交换性钾,根瘤菌具有活化溶解土壤无效钾的能力。盛下放等对硅酸盐细菌活化土壤中矿石钾时发现,土壤中速效钾的增加量达到 25.4%。在本试验中,土壤中的速效钾含量比对照增加 5.80%—36.85%^[5]。由此认为,部分根瘤菌的解钾能力可能强于之前报道的钾细菌,只是溶钾能力因菌株不同而异。另外,有研究表明,接种根瘤菌对相思苗木的生长有显著的促进作用,并显著提高土壤有效钾的含量^[15]。因此,在田间接种根瘤菌形成根瘤之后,可以活化土壤无效钾,提高其生物有效性,改善土壤供钾能力。

Podgorskii 等指出,钾细菌分解岩石的作用与其代谢产物有关^[16],它们通过分泌有机酸,尤其是高分子的有机酸与矿物中的铁、铝、钙、镁发生络合作用,分解矿物释放钾离子^[17]。Malinovskaya 等认为,钾细菌的解钾作用与其细胞外多糖和一些小分子的有机酸(甲酸、草酸、乙酸和乳酸等)有关^[18]。Welch 和 Ullman 曾发现同一 pH 值条件下,有机酸溶液比无机酸溶液更易溶解硅酸盐矿物^[19],这是因为溶钾菌在溶解硅酸盐矿物时既有酸溶作用也有络合作用^[20-21]。因此,钾细菌在溶解硅酸盐类矿物时,能分泌甲酸、乙酸、草酸、柠檬酸、乳酸等多种有机酸,从而溶解土壤中的难溶性钾,供植物吸收利用,增强土壤供钾能力^[22]。在本试验中,土壤矿物结构钾与根瘤菌草酸分泌量和有机酸分泌总量呈显著负相关($r=-0.853^{**}$, $r=-0.878^{**}$, $n=9$),说明草酸和有机酸分泌可以促进矿物钾溶解。在根瘤菌培养液中,草酸和柠檬酸的浓度远远高于其它有机酸。由于 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 与草酸能络合成稳定的 Ca-草酸、Mg-草酸、Fe-草酸和 Al-草酸,它们的络合稳定常数($\log K_{\text{稳}}$)最大值分别为 3.00、4.38、20.20 和 16.30^[23-24],草酸可能与含钾矿物中的钙、镁、铁、铝发生络合作用而使之分解,释放钾离子。故有理由认为,根瘤菌分泌的草酸在活化土壤钾的过程中至关重要,类似外生菌根真菌^[25]。此外,矿物结构钾与培养液 pH 值呈显著正相关($r=0.863^{**}$, $n=9$),根瘤菌还可直接分泌氢离子,所产生的酸溶作用也可能有益于矿物结构钾的活化。

总之,根瘤菌除具有固氮能力,某些菌株还可以活化土壤中的无效钾,从而提高土壤钾的生物有效性。根瘤菌分泌氢离子和有机酸可能是溶解土壤钾的原因之一。

References:

- [1] Tang L, Zhang J Z, Yu P P, Sun P. Isolation, purification and identification of silicate-dissolving bacterial strains and studies of their biological characteristics. *Shandong Agricultural Sciences*, 2008, (1): 71-73.
- [2] Xu D Y, Li F, He X L. Isolation of silicate bacteria and their capacities of releasing potassium. *Journal of HuaiBei Coal Industry Teachers College*, 2007, 27(4): 42-44.
- [3] Zhong D M, Ma G T. The study dynamics of silicate bacteria applied to agriculture. *Journal of Guangxi Agriculture*, 2009, 23(3): 32-35.
- [4] Alexandrov B T. Silicate Bacteria. Ye W Q, Transl. Beijing: Science Press, 1955: 1-65.
- [5] Sheng X F, Huang W Y, Yin Y X. Effects of application of silicate bacterium fertilizer and its potassium release. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2000, 23(1): 43-46.
- [6] Wang W, Li J, Liu J S, Zhu B C. Isolation of the silicate bacteria strain and determination of the activity of releasing silicon and potassium. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(17): 7889-7891.
- [7] Niu X G, Hua X Y, He S C. Studies on the potassium-dissolving ability of silicate bacteria. *Chinese Journal of Soil Science*, 2005, 36(6): 950-953.
- [8] Monib M, Zahra M K, Abdel-Al S I, Heggo A. Role of silicate bacteria in releasing K and Si from biolite and orthoclase. *Soil Biology and*

Conservation of the Biosphere, 1984, 2: 733-743.

- [9] Jiao R Z, Peng Y H. Phosphate solubilization by rhizobia isolated from woody legume plants in Hainan island. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010, 46(10): 1-5.
- [10] Han M, Yu F, Xiao Y N, Huang Y Q, Han X R. Isolation and screening of a phosphate dissolving *Rhizobium japonicum* strain and its characterization by back inoculation. *Journal of Microbiology*, 2010, 30(2): 51-56.
- [11] Zhang X T, Kang L H, Ma H B, Jiang Y G. Selection of acacia rhizobium which have the ability to dissolve phosphorus. *Forest Research*, 2008, 21(5): 619-624.
- [12] Whitelaw M A, Harden T J, Helyar K R. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(5): 655-665.
- [13] Bao S D. *Soil Agro-Chemistry Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [14] Wu F, Liu X L, Zhang N, Zhang S S, Guo H, Zhang B F, Qiu N Q. Isolation and identification of mulberry rhizospheric silicate bacteria and determination of their potassium-releasing activities. *Science of Sericulture*, 2010, 36(2): 323-329.
- [15] Zhang H, Yu Y C, Huang B L, Lü C Q, Wei L X, Wei Y L. Effects of rhizobia inoculation on the growth of straight-stem *Acacia auriculaeformis* seedlings and the contents of soil nutritive elements. *Journal of Northeast Forestry University*, 2005, 33(5): 47-48, 50-50.
- [16] Podgorskii V S. Leaching of silicon-containing rock using *Bacillus mucilaginosus*. *Mikrobiologicheskii zhurnal*, 1988, 50(5): 25-30.
- [17] Welch S A, Barker W W, Banfield J F. Microbial extracellular polysaccharides and plagioclase dissolution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1999, 63(9): 1405-1419.
- [18] Malinovskaya I M, Kosenko L V, Votselko S K, Podgorskii V S. The role of *Bacillus mucilaginosus* polysaccharide in the destruction of silicate minerals. *Mikrobiologiya*, 1990, 59(1): 70-78.
- [19] Welch S A, Ullman W J. The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1993, 57(12): 2725-2736.
- [20] Zhang H L, Bloom P R. Dissolution kinetics of hornblende in organic acid solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, 63(4): 815-822.
- [21] Jones D L, Dennis P G, Owen A G, van Hees P A W. Organic acid behavior in soils-misconceptions and knowledge gaps. *Plant and Soil*, 2003, 248(1): 31-41.
- [22] Friedrich S, Platonova N P, Karavaiko G I, Stichel E, Glombitza F. Chemical and microbiological solubilization of silicates. *Acta Biotechnologica*, 1991, 11(3): 187-196.
- [23] Fox T R, Comerford N B, McFee W W. Phosphorus and aluminum release from a spodic horizon mediated by organic acids. *Soil Science Society of America Journal*, 1990, 54(4): 1763-1767.
- [24] Gadd G M. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology*, 1999, 41: 47-92.
- [25] Dutton M V, Evans C S. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, 42(9): 881-895.

参考文献:

- [1] 唐亮, 张进忠, 于萍萍, 孙萍. 硅酸盐细菌的分离、纯化、鉴定及生物学特性研究. *山东农业科学*, 2008, (1): 71-73.
- [2] 徐大勇, 李峰, 贺雪丽. 硅酸盐细菌的分离及其解钾活性的初步比较. *淮北煤炭师范学院学报: 自然科学版*, 2007, 27(4): 42-44.
- [3] 钟冬梅, 马光庭. 硅酸盐细菌在农业中应用的研究动态. *广西农学报*, 2009, 23(3): 32-35.
- [4] 亚历山大罗夫. 硅酸盐细菌. 叶维青, 译. 北京: 科学出版社, 1955: 1-65.
- [5] 盛下放, 黄为一, 殷永娟. 硅酸盐菌剂的应用效果及其解钾作用的初步研究. *南京农业大学学报*, 2000, 23(1): 43-46.
- [6] 王伟, 李佳, 刘金淑, 朱宝成. 硅酸盐细菌菌株的分离及其解钾解硅活性初探. *安徽农业科学*, 2009, 37(17): 7889-7891.
- [7] 钮旭光, 华秀英, 何随成. 硅酸盐细菌解钾活性的研究. *土壤通报*, 2005, 36(6): 950-953.
- [9] 焦如珍, 彭玉红. 海南岛热带木本豆科植物根瘤菌的溶磷作用. *林业科学*, 2010, 46(10): 1-5.
- [10] 韩梅, 于芳, 肖亦农, 黄玉茜, 韩晓日. 一株具解磷特性大豆根瘤菌的分离筛选与回接鉴定. *微生物学杂志*, 2010, 30(2): 51-56.
- [11] 张希涛, 康丽华, 马海宾, 江业根. 具有解磷能力的相思根瘤菌的筛选. *林业科学研究*, 2008, 21(5): 619-624.
- [13] 鲍士旦. *土壤农化分析*. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [14] 吴凡, 刘训理, 张楠, 张莎莎, 国辉, 张本峰, 仇念全. 桑树根际硅酸盐细菌的分离鉴定及解钾能力测定. *蚕业科学*, 2010, 36(2): 323-329.
- [15] 张慧, 余永昌, 黄宝灵, 吕成群, 韦立秀, 韦原莲. 接种根瘤菌对直杆型大叶相思幼苗生长及土壤营养元素含量的影响. *东北林业大学学报*, 2005, 33(5): 47-48, 50-50.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 19 October, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Assessment of monitoring methods for population abundance of Amur tiger in Northeast China	5943
..... ZHANG Changzhi, ZHANG Minghai, JIANG Guangshun (5943)	
Changes of residents nitrogen consumption and its environmental loading from food in Xiamen	5953
..... YU Yang, CUI Shenghui, ZHAO Shengnan, et al (5953)	
Analysis of the meiobenthic community in the Pearl River Estuary in summer	5962
..... YUAN Qiaojun, MIAO Suying, LI Hengxiang, et al (5962)	
Community characteristics of phytoplankton in the coastal area of Leizhou Peninsula and their relationships with primary environmental factors in the summer of 2010	5972
..... GONG Yuyan, ZHANG Caixue, SUN Xingli, et al (5972)	
Morphological differences in statolith and beak between two spawning stocks for <i>Illex argentinus</i>	5986
..... FANG Zhou, CHEN Xinjun, LU Huajie, et al (5986)	
Relationships between coastal meadow distribution and soil characteristics in the Yellow River Delta	5998
..... TAN Xiangfeng, DU Ning, GE Xiuli, et al (5998)	
Variation analysis about net primary productivity of the wetland in Panjin region	6006
..... WANG Liwen, WEI Yaxing (6006)	
Mobilization of potassium from Soils by <i>rhizobium phaseoli</i>	6016
..... ZHANG Liang, HUANG Jianguo, HAN Yuzhu, et al (6016)	
Autotoxicity of aqueous extracts from plant, soil of peanut and identification of autotoxic substances in rhizospheric soil	6023
..... HUANG Yuqian, HAN Lisi, YANG Jinfeng, et al (6023)	
Effects of shading on the photosynthetic characteristics and anatomical structure of <i>Trollius chinensis</i> Bunge	6033
..... LV Jinhui, WANG Xuan, FENG Yanmeng, et al (6033)	
Short-term effects of fire disturbance on greenhouse gases emission from sedge and shrubs forested wetland in Lesser Xing'an Mountains, Northeast China	6044
..... GU Han, MU Changcheng, ZHANG Bowen, et al (6044)	
Plant species diversity and community classification in the southern Gurbantunggut Desert	6056
..... ZHANG Rong, LIU Tong (6056)	
Effects of mixing leaf litter from <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongolica</i> and <i>Larix principis-rupprechtii</i> with that of other trees on soil properties in the Loess Plateau	6067
..... LI Qian, LIU Zengwen, MI Caihong (6067)	
Effects of long-term intensive management on soil ammonia oxidizing archaea community under <i>Phyllostachys praecox</i> stands	6076
..... QIN Hua, LIU Borong, XU Qiufang, et al (6076)	
Hydrogen peroxide participates symbiosis between AM fungi and tobacco plants	6085
..... LIU Hongqing, CHE Yongmei, ZHAO Fanggui, et al (6085)	
Relationships between dominant arbor species distribution and environmental factors of shelter forests in the Beijing mountain area	6092
..... SHAO Fangli, YU Xinxiao, ZHENG Jiangkun, et al (6092)	
Analysis of rhizosphere microbial community structure of weak and strong allelopathic rice varieties under dry paddy field	6100
..... XIONG Jun, LIN Huifeng, LI Zhenfang, et al (6100)	
Root distribution in the different forest types and their relationship to soil properties	6110
..... HUANG Lin, WANG Feng, ZHOU Lijiang, et al (6110)	
Effect of silicon application on antioxidant system, biomass and yield of soybean under ozone pollution	6120
..... ZHAN Lijie, GUO Liye, NING Tangyuan, et al (6120)	
Effect of landfill leachate irrigation on soil physiochemical properties and the growth of two herbaceous flowers	6128
..... WANG Shuqin, LAI Juan, ZHAO Xiulan (6128)	
Nitrous oxide emissions affected by tillage measures in winter wheat under a rice-wheat rotation system	6138
..... ZHENG Jianchu, ZHANG Yuefang, CHEN Liugen, et al (6138)	
Effects of different fertilizers on soil enzyme activities and CO ₂ emission in dry-land of maize	6147
..... ZHANG Junli, GAO Mingbo, WEN Xiaoxia, et al (6147)	
The response of agro-ecosystem productivity to climatic fluctuations in the farming-pastoral ecotone of northern China: a case study in Zhunger County	6155
..... SUN Tesheng, LI Bo, ZHANG Xinshi (6155)	
The relationship between energy consumption and carbon emission with economic growth in Liaoning Province	6168
..... KANG Wenxing, YAO Lihui, HE Jienan, et al (6168)	
Spatial distribution characteristics of potential fire behavior in Fenglin Nature Reserve based on FARSITE Model	6176
..... WU Zhiwei, HE Hongshi, LIANG Yu, et al (6176)	
Chill conservation of natural enemies in maize field with different post-crop habitats	6187
..... TIAN Yaojia, LIANG Guangwen, ZENG Ling, et al (6187)	
Effect of population of <i>Kerria yunnanensis</i> on diversity of ground-dwelling ant	6195
..... LU Zhixing, CHEN Youqing, LI Qiao, et al (6195)	
Response of <i>Parnassius apollo</i> population and vertical distribution to climate warming	6203
..... YU Fei, WANG Han, WANG Shaokun, et al (6203)	
Review and Monograph	
Integrated assessment of marine aquaculture ecosystem health: framework and method	6210
..... PU Xinming, FU Mingzhu, WANG Zongling, et al (6210)	
Seagrass meadow ecosystem and its restoration: a review	6223
..... PAN Jinhua, JIANG Xin, SAI Shan, et al (6223)	
Nutri-toxicological effects of cyanobacteria on fish	6233
..... DONG Guifang, XIE Shouqi, ZHU Xiaoming, et al (6233)	
Effect of environmental stress on non-structural carbohydrates reserves and transfer in seagrasses	6242
..... JIANG Zhijian, HUANG Xiaoping, ZHANG Jingping (6242)	
Advances in ecological immunology	6251
..... XU Deli, WANG Dehua (6251)	
Scientific Note	
The causes of spatial variability of surface soil organic matter in different forests in depressions between karst hills	6259
..... SONG Min, PENG Wanxia, ZOU Dongsheng, et al (6259)	
Characteristics of seed rain of <i>Haloxylon ammodendron</i> in southeastern edge of Junggar Basin	6270
..... LÜ Chaoyan, ZHANG Ximing, LIU Guojun, et al (6270)	

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,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,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 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 19 期 (2012 年 10 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 19 (October, 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:1000717	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