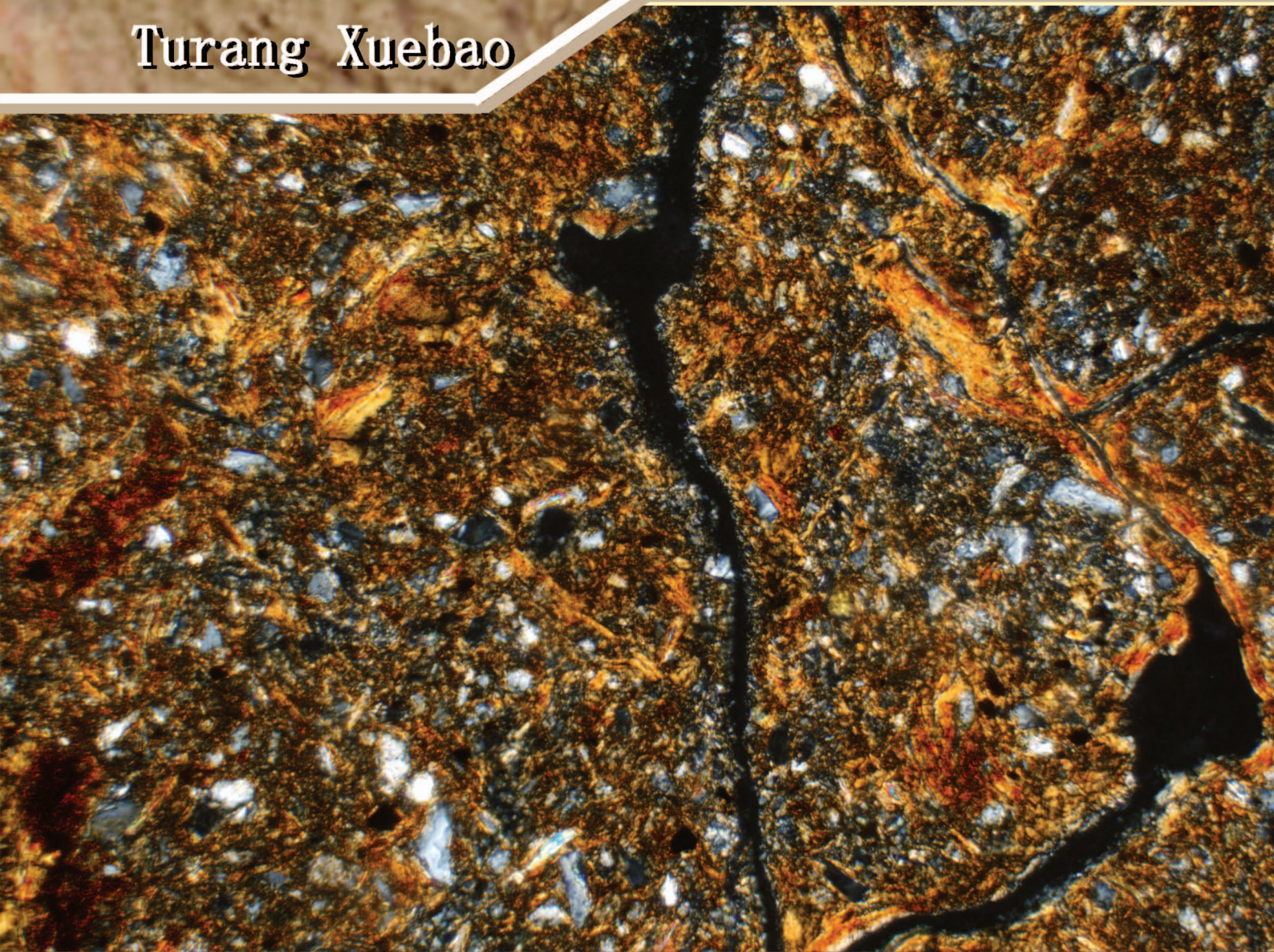


ISSN 0564-3929

# Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



中国土壤学会 主办  
科学出版社 出版

**2015**

第 52 卷 第 2 期

Vol.52 No.2

# 《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枏生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第52卷 第2期 2015年3月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 2 Mar., 2015

编 辑 《土壤学报》编辑委员会  
地址: 南京市北京东路71号 邮政编码: 210008  
电话: 025 - 86881237  
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica  
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China  
Tel: 025 - 86881237  
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史学正  
主 管 中国科学院  
主 办 中国土壤学会  
承 办 中国科学院南京土壤研究所

Editor-in-Chief Shi Xuezheng  
Superintended by Chinese Academy of Sciences  
Sponsored by Soil Science Society of China  
Undertaken by Institute of Soil Science,  
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社  
地址: 北京东黄城根北街16号 邮政编码: 100717

Published by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司  
总 发 行 科 学 出 版 社  
地址: 北京东黄城根北街16号 邮政编码: 100717  
电话: 010 - 64017032  
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company  
Distributed by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China  
Tel: 010 - 64017032  
E-mail: journal@mail.sciencep.com

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

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929



9 770564 392156

DOI: 10.11766/trxb201406050268

# 长期保护性耕作对纤维素降解基因 *cbh I* 多样性的影响\*

陈 坤<sup>1</sup> 李传海<sup>1</sup> 朱安宁<sup>2</sup> 彭文涛<sup>1</sup> 钱明媚<sup>1</sup> 曹 慧<sup>1†</sup>

(1 南京农业大学农业部农业环境微生物工程重点实验室, 南京 210095)

(2 封丘农田生态系统国家试验站, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

**摘 要** 研究了免耕秸秆覆盖( $C_m W_m S$ )、耕作秸秆覆盖( $C_m W_i S$ )、免耕秸秆不覆盖( $C_m W_m$ )和耕作秸秆不覆盖( $C_m W_i$ )四种保护性耕作措施对黄淮海平原典型潮土中纤维素降解菌多样性的影响。采用 PCR-RFLP 技术分别对纤维素降解菌 *cbh I* 基因进行多样性分析。结果表明,  $C_m W_m S$  与  $C_m W_m$  相比, 纤维素降解菌的数量增加了 148%, 而  $C_m W_i S$  与  $C_m W_i$  相比, 纤维素降解菌的数量也增加了 130%。纤维素降解菌 *cbh I* 基因分型在四个处理小区比较丰富, 共有 44 个 OTUs, 其中  $C_m W_m S$ 、 $C_m W_i S$ 、 $C_m W_m$ 、 $C_m W_i$  处理中分别有 35、34、30、30 个 OTUs。多样性指数分析显示, Shannon-Wiener 指数的数值范围为 3.09 ~ 3.36。系统发育分析表明, 文库中的纤维素降解菌分别属于 *Basidiomycota* (担子菌门) 和 *Ascomycota* (子囊菌门), 同时发现土壤中存在大量的未培养纤维素降解菌。因此, 免耕和秸秆覆盖等保护性耕作能够明显提高土壤中纤维素降解菌数量和 *cbh I* 基因多样性。

**关键词** 保护性耕作; 纤维素降解菌; *cbh I* 基因多样性; PCR-RFLP 分析

**中图分类号** Q938.1 **文献标识码** A

土壤作为农业生产中物质交换和能量转化的场所, 在农业生态系统中处于核心地位。然而, 近年来由于全球气候变化, 环境污染等造成了土壤生物多样性降低、结构破坏和肥力降低, 土壤退化严重。保护性耕作是通过施行免耕、少耕和秸秆覆盖的方式, 以达到保护环境、提高土壤质量和节约成本的一种农田管理措施<sup>[1]</sup>。土壤微生物包括原核微生物如细菌、蓝细菌、放线菌和超显微结构微生物, 以及真核生物如真菌、藻类(蓝藻除外)和地衣等<sup>[2]</sup>, 它们既是土壤有机质和土壤养分转化与循环的动力, 又可作为土壤中有效养分的储备库<sup>[3]</sup>。不同的保护性耕作措施, 对土壤微生物多样性的影响已有报道<sup>[4-6]</sup>。土壤中有丰富的有机物质, 维持着种类繁多的纤维素降解菌。外切葡聚糖酶(exoglucanase)又被称为葡聚糖纤维二糖水解酶(cellobiohydrolase, CBH), 根据 CAZy 数据库(<http://www.cazy.org/>)分类, 外切葡聚糖酶分布于糖苷水解酶(Glycoside hydrolases, GH)家族的第 5、6、7、9

和 48 家族<sup>[7]</sup>。它是纤维素酶系中的重要组成成分, 在纤维素降解过程中起着重要的作用。通常将真菌中切割纤维素分子还原端糖苷键的外切葡聚糖酶称为 CBH I 酶, 其编码的基因称为 *cbh I* 基因。关于纤维素降解被普遍认同的是协同作用假说, 其中外切葡聚糖酶是主导纤维素分子第一步降解的关键酶之一, 因此, 研究 *cbh I* 基因既有利于完善纤维素降解机制, 又为以后纤维素降解基因多样性的研究提供科学依据<sup>[8]</sup>。目前国内外已对纤维素降解菌开展了大量的研究, 以对纤维素降解菌的分离筛选及其纤维素酶基因克隆的研究较多。其中对里氏木霉纤维素酶基因研究较为全面, 克隆了 *eg III*、*cbh IV*、*cbh III*、*cbh I*、*cbh II*、*eg I*、*bg* 共 7 个基因, 并测定了这些基因的核苷酸序列<sup>[9]</sup>。黄时海等<sup>[10-11]</sup>克隆了康氏木霉纤维素酶 *cbh I* 基因, 并且在毕赤酵母和大肠杆菌中得以表达。但是, 有关土壤中纤维素降解菌 *cbh I* 基因多样性的研究鲜有报道。因此, 土壤纤维素降解基因多样性需进行更深

\* 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB100504)和国家自然科学基金项目(42371262, 41471239)资助

† 通讯作者, E-mail: hcao@njau.edu.cn

作者简介: 陈 坤(1988—), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 主要从事微生物分子生态学研究

收稿日期: 2014-06-05; 收到修改稿日期: 2014-09-06

一步的研究。

我国农作物秸秆资源丰富,且秸秆中含有大量的纤维素,其中大部分没有被充分利用,造成了资源浪费和环境污染<sup>[12]</sup>。近几年关于秸秆还田的研究主要集中在秸秆还田后土壤物理化学性质、土壤肥力、土壤酶活性和农作物生长等方面<sup>[5, 13-16]</sup>,对秸秆还田后土壤纤维素酶基因多样性的研究少有报道。本研究以长期保护性耕作试验小区为基础,采用 PCR-RFLP 方法分析免耕和秸秆粉碎覆盖条件下的纤维素降解菌 *cbh I* 基因多样性,为阐明保护性耕作的微生物机理提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验区概况

保护性耕作长期试验于中国科学院南京土壤研究所封丘农业生态试验站内(35°00'N, 114°24'E)进行。该地区位于河南省封丘县,属于半干旱半湿润的

暖温带大陆性季风气候,1 月和 7 月的平均气温分别为 -1.0 ℃ 和 27.2 ℃,年平均气温 13.9 ℃;年平均降雨量 615 mm,主要集中在 7—9 月;无霜期 214 d。

长期试验始于 2006 年玉米季,实行冬小麦-夏玉米轮作的一年两熟制,试验设置了 4 个处理(表 1),每个处理设 4 个重复,小区面积为 14 m × 6.5 m。耕作处理采用人工翻地,耕作深度为 20 ~ 22 cm。秸秆还田处理是用粉碎机将作物秸秆粉碎(玉米秸秆 2 ~ 3 cm,小麦秸秆 6 ~ 7 cm),在耕作处理时将前茬作物秸秆均匀撒在地表,播种前翻地时混入土中;免耕处理时则在作物幼苗长出后将秸秆均匀覆盖在地表,作物施肥、灌溉等农事管理措施按当地常规方式进行。于 2013 年 4 月,采用五点取样法,除去表层土,采集 0 ~ 10 cm 层土壤,混匀放入取样袋中,带回实验室于 4 ℃ 和 -20 ℃ 储存备用。

供试土壤为潮土,耕层质地为砂壤土,土壤类型和耕作制度在黄淮海平原具有典型代表性。四个处理小区的土壤理化性质如表 2 所示。

表 1 试验设计

Table 1 Designing of the experiment

处理代号 Treatment code	试验处理 Experimental treatments
C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub> S	玉米、小麦播种前均免耕,秸秆粉碎覆盖还田
C <sub>nt</sub> W <sub>t</sub> S	玉米播种前免耕、小麦播种前耕作,秸秆粉碎覆盖还田
C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub>	玉米、小麦播种前均免耕,秸秆不还田
C <sub>nt</sub> W <sub>t</sub>	玉米播种前免耕、小麦播种前耕作,秸秆不还田(常规耕作模式)

注:C,玉米;W,小麦;nt,免耕;t,耕作;S,秸秆覆盖还田 Note: C, Corn; W, Wheat; nt, No-tillage; t, Tillage; S, Straw mulching

表 2 不同处理小区的土壤理化性质

Table 2 Physico-chemical properties of the soils in different treatments

处理代号 Treatment code	全氮 Total nitrogen (g kg <sup>-1</sup> )	有机碳 Organic carbon (g kg <sup>-1</sup> )	全磷 Total phosphorus (g kg <sup>-1</sup> )	全钾 Total potassium (g kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Alkalytic nitrogen (mg kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Readily available phosphorus (mg kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Readily available potassium (mg kg <sup>-1</sup> )	pH
C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub> S	0.91 ± 0.03a	8.14 ± 0.43a	0.90 ± 0.01a	22.98 ± 1.01a	66.92 ± 3.13a	18.31 ± 0.35a	123.1 ± 2.6a	8.35 ± 0.04a
C <sub>nt</sub> W <sub>t</sub> S	0.77 ± 0.03c	7.66 ± 0.12b	0.88 ± 0.03b	19.55 ± 0.92b	58.16 ± 3.29b	16.21 ± 0.44c	114.5 ± 1.9b	8.41 ± 0.05a
C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub>	0.81 ± 0.01b	8.32 ± 0.26a	0.83 ± 0.04b	20.47 ± 0.63b	63.43 ± 2.02b	17.74 ± 0.64b	103.6 ± 2.9c	8.26 ± 0.09b
C <sub>nt</sub> W <sub>t</sub>	0.73 ± 0.03c	6.85 ± 0.31c	0.77 ± 0.03b	18.58 ± 0.22b	54.17 ± 2.61b	14.50 ± 0.76d	84.7 ± 4.0d	8.26 ± 0.02b

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著( $p < 0.05$ )。下同 Note: Different lowercase letters in the same column mean significant difference between treatments at  $p < 0.05$ . The same as below

## 1.2 培养基与试剂

CMC-Na 培养基: CMC-Na 10.0 g, NaCl 6 g, CaCl<sub>2</sub> 0.1 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.03 g, pH 7.0 ~ 7.4, 蒸馏水补至 1 L (固体培养基中添加 1.5% 的琼脂)。

Taq 聚合酶、pMD-19T 载体购自 Takara 公司, 其他生化试剂均为分析纯。土壤总 DNA 及 PCR 产物纯化试剂盒为 Biotake。PCR 引物由上海英骏生物技术有限公司合成。测序由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。

## 1.3 土壤中纤维素降解菌计数

对于不同秸秆耕作处理土壤中纤维素降解菌进行计数, 采取了传统平板菌落计数法。具体方法: 分别称取 10 g 土样置于含有 90 ml 灭菌水的三角瓶中, 于摇床上 120 r min<sup>-1</sup> 振荡 30 min 后进行梯度稀释, 取适当稀释度 (纤维素降解菌一般为 10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>) 的土壤悬液 0.1 ml 涂布于相应的培养基平板上, 在 30 °C 的恒温箱中倒置培养。纤维素降解菌采用 CMC-Na 培养基, 培养 4 ~ 6 d 计数为宜。理论上认为不具备纤维素降解能力的菌株不能在 CMC-Na 培养基上生长, 因此, 将平板上所有菌株均记为纤维素降解菌, 从而提供对土壤中纤维素降解菌数量关系的一个参考指标。

## 1.4 土壤纤维素降解基因多样性的 RFLP 分析

纤维素降解基因 *cbh I* 的 PCR 扩增: 以土壤微生物总 DNA 为模板, 用 *cbh I* 通用引物扩增 *cbh I* DNA 片段。引物序列为: *cbh I* F (5'-ACC AA [C, T] TGC TA [C, T] ACI [A, G] G [C, T] AA-3') 和 *cbh I* R (5'-GC [C, T] TCC CAI AT [A, G] TCCATC-3')<sup>[17]</sup>。扩增体系 (25 μl): 10 × Taq 缓冲液 2.5 μl, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol L<sup>-1</sup>) 2.5 μl, dNTP (25 mmol L<sup>-1</sup>) 2.5 μl, 引物 *cbh I* F (25 mmol L<sup>-1</sup>) 0.5 μl, 引物 *cbh I* R (25 mmol L<sup>-1</sup>) 0.5 μl, 土壤总 DNA 0.6 μl (约 6 ng), Taq DNA 聚合酶 1 U, 用无菌水补至 25 μl。扩增条件: 94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 50 °C 45 s, 72 °C 90 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 15 min。

*cbh I* rDNA 克隆文库的建立及其序列分析: 采用 DNA 凝胶纯化试剂盒 (TaKaRa Biotechnology) 纯化扩增后的 *cbh I* 基因片断, 将纯化后的 DNA 片断连接在 pMD-19T 载体上, 转化大肠杆菌 (*Esherichia coli* DH5α), 构建克隆文库。用 pMD-19T simple Vector 通用引物 M13F 和 M13R 扩增外源插入片段, 筛选阳性克隆子。核酸

*cbh I*-PCR 产物的 RFLP 分析: PCR 产物用 *Hha*

*I* 和 *Afa I* 两种限制性内切酶进行酶切。酶切体系为: PCR 产物 1.0 μl, 10 × TBuffer 0.5 μl, *Hha I* 0.2 μl, *Afa I* 0.2 μl, 0.1% BSA 0.5 μl, 灭菌双蒸水 2.6 μl。37 °C 水浴酶切过夜。酶切 DNA 片段用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (130 V、3 h) 分离后经 0.1% 硝酸银染色液染色和显色液显色, 用凝胶成像系统成像, 然后对所得 DNA 带型图谱比较分析。当几种酶切所获得的基因图像相同时, 则认为它们是相同的基因型。每一个基因型称为一个操作分类单元 (Operational Taxonomic Unit, OTU) 或称为唯一基因型。克隆子经 M13 通用引物 PCR 和 RFLP 鉴定后, 挑选一定基因型对应的克隆进行测序, 测序结果去载体序列处理后, 与 NCBI 网站中的 Blast 比对分析, 寻找同源性最高的序列, 采用 MEGA 5.0 软件 (邻接法) 构建系统发育树。

## 1.5 统计分析

采用 EXCEL 和 SPSS19.0 进行相关的数据处理与统计分析, 用 MEGA 5.0 进行系统发育树的构建。

## 2 结果

### 2.1 土壤中纤维素降解菌计数

采用稀释平板涂布法对采集的四种土壤样品中的纤维素降解菌群进行计数, 并计算每克土壤中所含的菌体数量。图 1 为土壤纤维素降解菌群的计数结果。

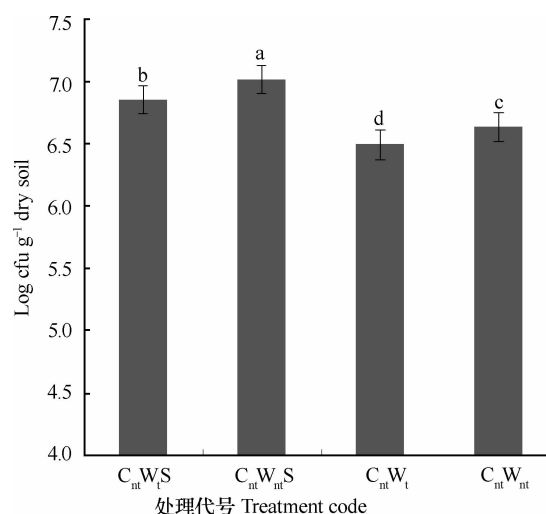


图 1 土壤样品纤维素降解菌计数

Fig. 1 Counts of cellulose degrading bacteria in the soil samples

总体而言, 秸秆还田处理土壤中纤维素降解菌数量均高于无秸秆还田处理, 免耕处理土壤中的纤维素降解菌数量均高于耕作处理, 这与土壤养分的

分布是一致的,也与其他研究报道相吻合<sup>[18-19]</sup>。秸秆粉碎还田处理与秸秆不还田处理相比,纤维素降解菌的数量大大提高。其中,C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>S 与 C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>相比,纤维素降解菌的数量增加了 148%,而 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>S 与 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>相比,纤维素降解菌的数量也增加了 130%。整体而言,秸秆还田处理较秸秆不还田处理纤维素降解菌数量增加了 141%。可见,农田土壤施入作物秸秆后,相应降解作物秸秆的功能微生物数量会大大提高,有助于作物秸秆的腐解和养分的释放。免耕处理与耕作处理相比,纤维素降解菌的数量也大大提高。其中,C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>S 与 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>S 相比,纤维素降解菌的数量增加了 47%,而 C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>与 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>相比,纤维素降解菌的数量也增加了 36%。整体而言,免耕处理较耕作处理纤维素降解菌数量增加了 44%,而秸秆还田处理比免耕更能影响纤维素降解菌的数量。

2.2 土壤纤维素降解 *cbh I* 基因文库多样性分析

采用试剂盒提取土壤总 DNA,经纯化回收大约在 23 kb 左右。直接以土壤总 DNA 为模板扩增的 *cbh I* rDNA 基因片段约为 650 bp,PCR 产物经限制性内切酶 *Hha I* 及 *Afa I* 酶切,酶切产物用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。

从 4 种土壤样品中共随机挑选了 572 个阳性克隆,经特异性扩增后有 350 个克隆子。其中 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>分别有 100、96、88、66 个。有效扩增率分别为 69.93%、67.13%、61.54%、46.15%,平均扩增率为 61.19%。采用 *Hha I* 和 *Afa I* 联合酶切,经过归类,共得到了 44 个 OTUs,其中 C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>分别有 34、35、30、30 个 OTUs。玉米小麦播种前均免耕,秸秆还田处理中 OTUs 数量最多;玉米播种前免耕小麦播种前耕作,秸秆粉碎还田处理次之,其他两种处理 OTUs 差异不明显。因此,土壤中纤维素降解菌 *cbh I* 基因 OTUs 种类受耕作方式和秸秆是否还田的影响。

图 2 为四种土壤纤维素降解菌 *cbh I* 基因克隆文库的种系丰度曲线,由图可知四种文库的趋势线均趋于缓和,四种文库的库容量均比较饱和,其中,C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>S、C<sub>nt</sub>W<sub>1</sub>、C<sub>nt</sub>W<sub>nt</sub>基因文库库容值分别为 90.74%、93.39%、93.61%、87.84%(表 3),这表明所建立的基因文库能够较为完整地反映土壤中纤维素降解菌的群落结构。

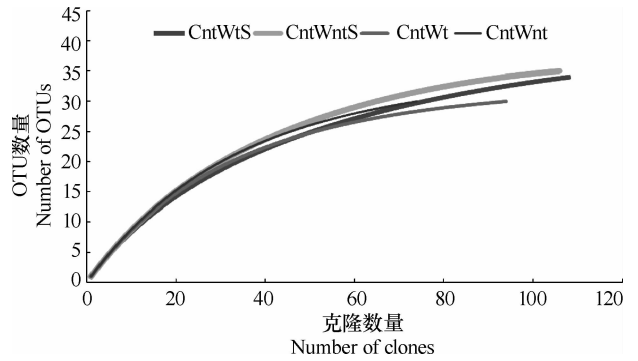


图 2 四种土壤纤维素降解菌 *cbh I* 基因克隆文库丰度曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of the *cbh I* gene clone libraries in the four soils

文库群落结构多样性指数分析如表 3 所示。4 个 *cbh I* 基因文库的各类多样性指数数值有一定的差异。Shannon-Wiener 指数的数值范围为 3.09 ~ 3.36。按照是否耕作来归类,免耕田的 *cbh I* 基因多样性指数略高于耕作田且差异著。在免耕田中秸秆还田明显高于无秸秆覆盖。这表明小麦是否耕作对土壤 *cbh I* 基因多样性影响显著。从均匀度和丰富度指数来看,四个 *cbh I* 基因文库的均匀度均较高,秸秆还田免耕处理的 *cbh I* 基因多样性指数均高于其他三种处理且差异显著。玉米播种前免耕小麦播种耕作秸秆还田处理均匀度明显低于其他三种处理,然而,丰富度大致呈相反趋势。这表明秸秆是否还田是否耕作对纤维素降解菌群多样性有一定影响。

表 3 四种土壤样品 *cbh I* 基因文库的群落多样性结构指数

Table 3 Community diversity structural indices of the *cbh I* gene libraries in the four soil samples

文库 Library	OUT 种类 Type of OTU	覆盖值 Coverage C	多样性指数 Diversity index			
			香农-威纳指数 Shannon-Wiener index	辛普森指数 Simpson index	均匀度 Evenness	丰富度 Richness
<i>cbh I</i> -C <sub>nt</sub> W <sub>1</sub> S	34	90.74%	3.09	0.964	0.817	7.05
<i>cbh I</i> -C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub> S	35	93.39%	3.36	0.959	0.888	7.28
<i>cbh I</i> -C <sub>nt</sub> W <sub>1</sub>	30	93.61%	3.24	0.955	0.856	6.39
<i>cbh I</i> -C <sub>nt</sub> W <sub>nt</sub>	30	87.84%	3.26	0.957	0.861	6.74

### 2.3 土壤纤维素降解 *cbh I* 基因的系统发育分析

选取 44 个 OTUs 进行测序,经 NCBI 比对后进行归类,并计算四个克隆文库所含 *cbh I* 类群的百分组成(图 3)。由图可知,四种处理中未培养的纤维素降解菌占 38.86%,表明土壤环境中存在很多未培养的纤维素降解菌,有待进一步挖掘。在已发现的菌群中,四个处理中共有的类群为 *Amanita*、*Russula*、*Phanerochaete*、*Trichoderma* 和 *Aspergillus*,约占总分型数的 37.9%,说明这些类群与耕作方式和秸秆覆盖还田无关。秸秆还田土壤中 *Russula*、*Phanerochaete* 和 *Trichoderma* 克隆子数量明显多于秸秆不还田处理的土壤,这说明秸秆覆盖还田有利于土壤中 *Russula*、*Phanerochaete* 和 *Trichoderma* 的生长繁殖,*Russula*、*Phanerochaete* 和 *Trichoderma* 在秸秆的降解过程中起着重要作用。秸秆不还田土壤 *Amanita* 克隆子数量明显多于秸秆还田,这说明秸秆覆盖还田不利于 *Amanita* 生长繁殖,也有可能阻碍秸秆的降解。*Humicola* 为秸秆不还田处理中独有的类群,说明秸秆的覆盖严重抑制了 *Humicola* 的生长。免耕土壤中 *Cyathus* 克隆子数量显著多于耕作土壤,可见免耕更有利于土壤中 *Cyathus* 的生长繁殖。*Pluteus* 为耕作土壤中独有的类群,说明 *Pluteus* 更适于在土壤质地疏松的环境中生存,免耕严重抑制 *Pluteus* 的生长繁殖。玉米播种前免耕、小麦播种前耕作,秸秆粉碎还田处理的土壤中的优势类群有 *Russula*、*Trichoderma*、*Amanita* 和 *Phanerochaete*,约占 54%;玉米、小麦均播种前免耕,秸秆粉碎还田的土壤中的优势类群有 *Chaetomium*、*Russula*、*Trichoderma* 和 *Amanita*,约占 41.7%;玉米播种前免耕、小麦播种前耕作,秸秆不还田的土壤中的优势类群有 *Chaetomium*、*Russula*、*Trichoderma* 和 *Amanita*,约占 34.1%;玉米、小麦均播种前免耕,秸秆不还田的土壤中的优势类群有 *Volvariella*、*Russula*、*Trichoderma* 和 *Amanita*,约占 39.4%。因此,四个处理之间纤维素降解菌群既有相似性又有差异性,秸秆还田和耕作均不同程度地影响土壤中纤维素降解菌群的多样性。

由系统发育树可知,所得 29 个序列分别属于 *Basidiomycota*(担子菌门)和 *Ascomycota*(子囊菌门)(图 4)。其中,17 个分型属于 *Basidiomycota*(担子菌门),包括 *Amanita*(鹅膏菌属)、*Phanerochaete*(平革菌属)、*Cyathus*(黑蛋巢菌属)、*Russula*(红菇属)、*Volvariella*(草菇属)、*Pluteus*(光柄菇属);12 个分型属于 *Ascomycota*(子囊菌门),包括 *Trichoderma*(木霉属)、*Chaetomium*(毛壳菌属)、*Aspergillus*(曲霉菌

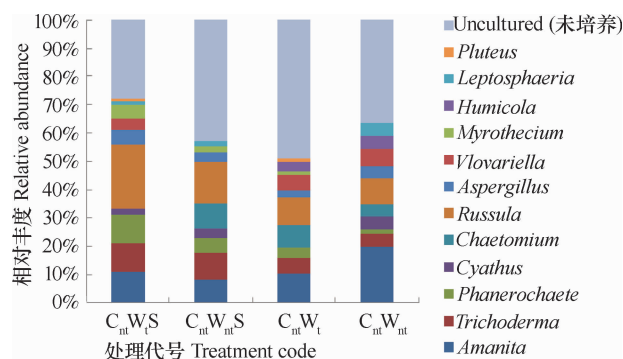


图 3 纤维素降解菌 *cbh I* 基因克隆文库所含类群百分比

Fig. 1 Percentage of each phylum contained in the *cbh I* gene clone libraries

属)、*Myrothecium*(漆斑菌属)、*Humicola*(腐质霉属)、*Leptosphaeria*(小球腔菌属)。担子菌门为优势菌群。其中与 *Amanita* 相似的分型有 B、P、L,其相似性为 75%;与 *Trichoderma* 相似的分型有 C、W,相似性为 83%;与 *Phanerochaete* 相似的分型有 D、X,相似性为 78%;与 *Cyathus* 相似的分型有 E、AM,相似性为 76%;与 *Chaetomium* 相似的分型有 G、R、AK,相似性为 86%;与 *Russula* 相似的分型有 H、J、Z,相似性为 86%;N 分型与 *Aspergillus* 相似性为 84%;T 分型与 *Volvariella* 相似性为 80%;Y 分型与 *Myrothecium* 相似性为 80%;AF 分型与 *Humicola* 相似性为 79%;AJ、AN 分型与 *Leptosphaeria* 相似性为 84%;AO 分型与 *Pluteus* 相似性为 72%。

### 3 讨论

对土壤纤维素降解菌计数发现,四种处理中  $C_m W_m S$  的纤维素降解菌的数量最多, $C_m W_t$  纤维素降解菌的数量最少。总体而言,秸秆还田处理中纤维素降解菌数量均高于秸秆不还田处理,免耕处理中纤维素降解菌数量均高于耕作处理,这说明外源纤维素的加入和保持原来生态系统的稳定能增加土壤中纤维素降解菌的数量<sup>[20]</sup>。这可能是由于秸秆覆盖增加了土壤有机质含量,减少了水分散失,从而有利于土壤微生物的生长<sup>[21]</sup>。

通过对四种不同处理土壤中纤维素降解基因 *cbh I* 多样性的研究发现,四种处理 OTUs 数量变化为  $C_m W_m S > C_m W_t S > C_m W_t = C_m W_m$ ,香农-威纳指数为  $C_m W_m S > C_m W_m > C_m W_t > C_m W_t S$ ,四个文库的均匀度指数均较高,变化顺序为  $C_m W_m S > C_m W_m > C_m W_t > C_m W_t S$ ,丰富度指数为  $C_m W_m S > C_m W_m > C_m W_t > C_m W_t S$ ,丰富度指数为  $C_m W_m S > C_m W_m > C_m W_t > C_m W_t S$ 。

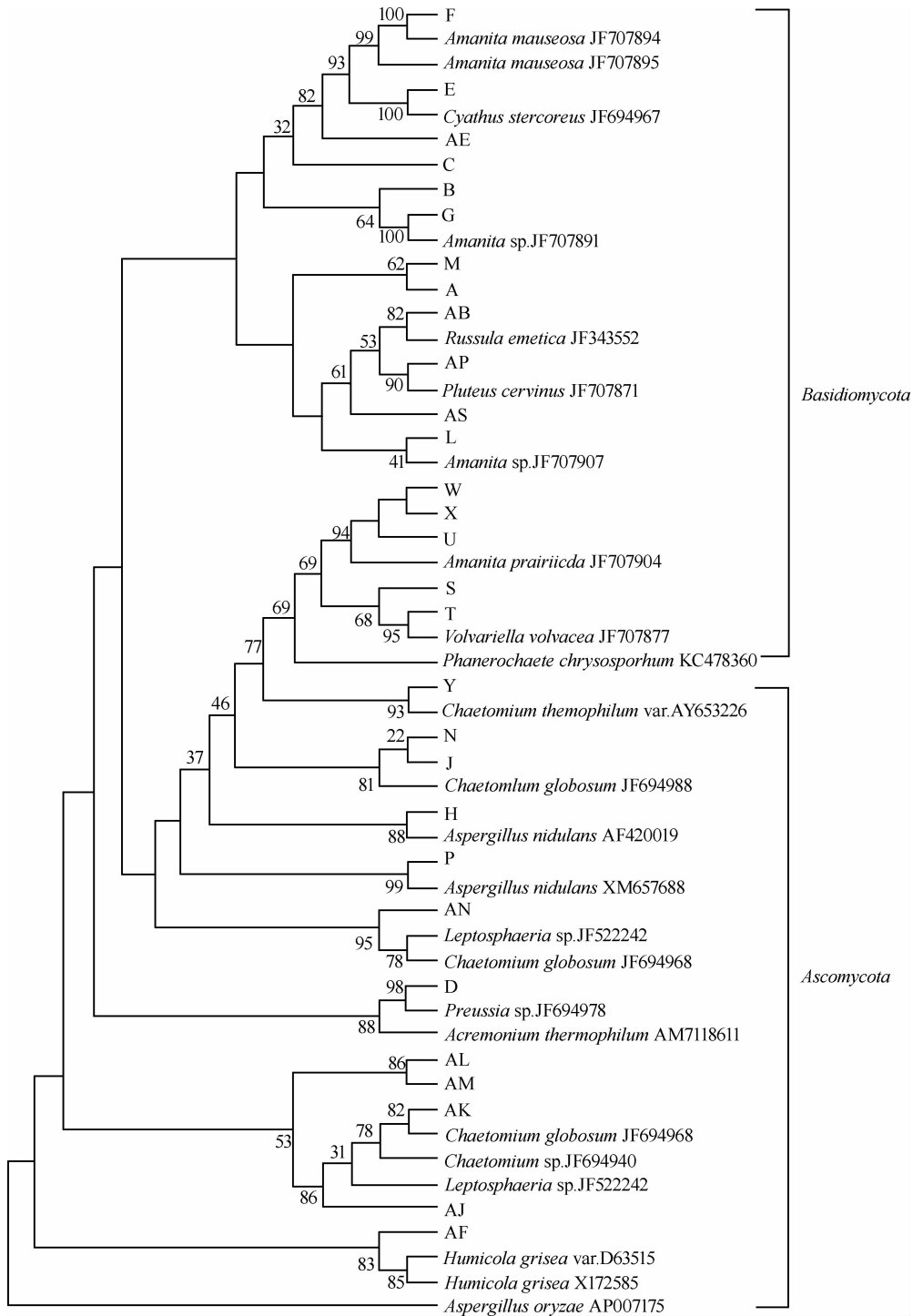


图 4 基于 *cbh I* 氨基酸序列的系统发育树  
 Fig. 4 Phylogenetic tree based on the *cbh I* amino acid sequence

$W_1S > C_{nt}W_{nt} > C_{nt}W_1$ 。总体而言,  $C_{nt}W_{nt}S$  各项多样性指标均大于其他三种处理。这表明秸秆还田免耕能显著提高土壤纤维素降解菌群的多样性。对于保护性耕作土壤中纤维素降解菌尤其是 *cbh I* 基因的研究报道较少, 其中张晶<sup>[22]</sup>对秸秆还田土壤中微生物尤其是纤维素降解菌多样性的研究发

现秸秆还田能丰富纤维素降解菌多样性。秸秆还田处理中 *cbh I* 基因多样性的研究尚未见报道, 本文推测秸秆的大量覆盖富集了纤维素降解菌, 使纤维素降解加快, 同时由于外切葡聚糖酶在纤维素降解过程中的重要作用, 因此, *cbh I* 基因的多样性增加。四个文库之间的相似性存在一定差别。  $C_{nt}W_{nt}S$  和



$C_{nt}W_iS$  相似度最大,  $C_{nt}W_{nt}S$  和  $C_{nt}W_i$  相似度最小, 可见秸秆是否还田对纤维素降解菌群多样性影响显著。系统发育分析表明, 所测序列归为 *Basidiomycota* (担子菌门)、*Ascomycota* (子囊菌门)。其中 *Basidiomycota* (担子菌门) 为四个样品的优势类群。 *Chaetomium* 为秸秆还田免耕处理中独有的类群, *Humicola* 和 *Leptosphaeria* 为秸秆不还田处理中独有的类群, 可见秸秆还田与否显著影响了土壤类群的分布。 *Phanerochaete* 为耕作土壤中独有的类群, 属于担子菌门, 这说明耕作和免耕对担子菌门有一定的影响, 对子囊菌门几乎无影响。因此, 秸秆还田有利于土壤中担子菌门的生长繁殖, 丰富担子菌门的多样性。

通过对纤维素降解菌数量和 *cbh I* 基因 RFLP 分析可知, 秸秆还田免耕处理在各项分析中均占据优势。秸秆还田免耕能提高土壤中有机质的含量, 提高微生物的生物活性, 提高土壤质量, 维持土壤生态平衡。秸秆的大量还田既减少了对农作物秸秆资源的浪费, 同时还避免了秸秆的焚烧, 减少环境污染, 保护环境。秸秆还田免耕对于提高土壤地力、减少化肥的投入使用、减少土壤面源污染具有重要意义, 是发展可持续农业的一个有效手段。

## 4 结 论

与常规耕作相比, 秸秆还田免耕能显著增加土壤中有机质和 N、P、K 的含量和纤维素降解菌群的数量, 提高纤维素降解基因 *cbh I* 基因的多样性。秸秆是否还田是影响纤维素降解菌数量和群落多样性的关键因素, 耕作对土壤中纤维素降解菌群数量和多样性有一定影响。因此, 秸秆还田和免耕耕作对提高土壤地力和微生物活性具有重要意义。

## 参 考 文 献

[ 1 ] Kennedy A, Smith K. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil*, 1995, 170 ( 1 ): 75—86

[ 2 ] 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

[ 3 ] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳氮磷的影响. *土壤学报*, 2002, 39 ( 1 ): 89—96. Xu Y C, Shen Q R, Ran W. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N, and P after sixteen years of cropping ( In Chinese ). *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39 ( 1 ): 89—96

[ 4 ] 向新华, 魏巍, 张兴义, 等. 保护性耕作对大豆生长发育及土壤微生物多样性影响. *大豆科学*, 2013, 32 ( 3 ): 321—327. Xiang X H, Wei W, Zhang X Y, et al. Effect of conservation tillage systems on soybean growth and soil microbial diversity ( In Chinese ). *Soybean Science*, 2013, 32 ( 3 ): 321—327

[ 5 ] 杨江山, 张恩和, 黄高宝, 等. 保护性耕作对麦药轮作土壤酶活性和微生物数量的影响. *生态学报*, 2010, 30 ( 3 ): 824—829. Yang J S, Zhang E H, Huang G B, et al. Effects of conservation tillage on soil microbes quantities and enzyme activities in wheat-herb rotation system ( In Chinese ). *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 ( 3 ): 824—829

[ 6 ] 董立国, 袁汉民, 李生宝, 等. 玉米免耕秸秆覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态环境学报*, 2010, 19 ( 2 ): 444—446. Dong L G, Yuan H M, Li S B, et al. Influence on soil microbial community functional diversity for maize no-tillage with straw mulch ( In Chinese ). *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19 ( 2 ): 444—446

[ 7 ] Cantarel B L, Coutinho P M, Rancurel C, et al. The Carbohydrate-Active EnZymes database ( CAZy ): An expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37 ( Database issue ): 233—238

[ 8 ] Imai M, Ikari K, Suzuki I. High-performance hydrolysis of cellulose using mixed cellulase species and ultrasonication pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 17 ( 2 ): 79—83

[ 9 ] 汪天虹, 吴静. 瑞氏木霉分子生物学研究进展. *菌物系统*, 2000, 19 ( 1 ): 147—152. Wang T H, Wu J. Advances of molecular biology of *Trichoderma reesei* ( In Chinese ). *Mycosystema*, 2000, 19 ( 1 ): 147—152

[ 10 ] 黄时海, 康超, 黄飞, 等. 康氏木霉纤维素酶 *CBHI* 基因克隆及在大肠杆菌中的表达. *中国酿造*, 2011 ( 2 ): 76—80. Huang S H, Kang C, Huang F, et al. Cloning of *CBHI* gene of *Trichoderma koningii* cellulase and expression in *Escherichia coli* ( In Chinese ). *China Brewing*, 2011 ( 2 ): 76—80

[ 11 ] 黄时海, 李湘萍, 康超, 等. 康氏木霉纤维素酶 *CBHI* 基因克隆及在毕赤酵母中的表达研究. *酿酒科技*, 2011 ( 1 ): 24—27. Huang S H, Li X P, Kang C, et al. Study on the cloning of *Trichoderma koningii* cellulase *CBHI* & its expression in *Pichia pastoris* ( In Chinese ). *Liquor-Making Science & Technology*, 2011 ( 1 ): 24—27

[ 12 ] Wang T, Liu X M, Yu Q, et al. Directed evolution for engineering pH profile of endoglucanase III from *Trichoderma reesei*. *Biomolecular Engineering*, 2005, 22 ( 1/3 ): 89—94

[ 13 ] Staley T E, Edwards W M, Scott C L, et al. Soil microbial biomass and organic component alterations in a no-tillage chronosequence. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, 52 ( 4 ): 998—1005

[ 14 ] 翟瑞常, 张之一. 耕作对土壤生物碳动态变化的影响. *土壤学报*, 1996, 33 ( 2 ): 201—210. Zhai R C, Zhang Z Y. Effects of tillage on dynamics of soil biomass carbon ( In Chinese ). *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 33 ( 2 ): 201—210

[ 15 ] Balesdent J, Mariotti A, Boissongotier D. Effect of tillage on soil organic carbon mineralization estimated from  $^{13}C$  abundance in maize fields. *Journal of Soil Science*, 1990, 41 ( 4 ): 587—596

- [16] 晋凡生, 张宝林. 免耕覆盖玉米秸秆对旱源地土壤环境的影响. 生态农业研究, 2000, 8(3): 47—50. Jin F S, Zhang B L. The effects of no-tillage with maize stalk mulched on soil environment in dryland (In Chinese). *Eco-agriculture Research*, 2000, 8(3): 47—50
- [17] Edwards I P, Upchurch R A, Zak D R. Isolation of fungal cellobiohydrolase I genes from sporocarps and forest soils by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74 (11): 3481—3489
- [18] Zhang X J, Liu J H, Li L J. Effects of different conservation tillage on soil microbes quantities and enzyme activities in dry cultivation. *Journal of Maize Sciences*, 2008, 16(1): 91—95, 100
- [19] 陈蓓, 张仁陟. 免耕与覆盖对土壤微生物数量及组成的影响. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(6): 634—638. Chen B, Zhang R Z. Effects of no-tillage and mulch on soil microbial quantity and composition (In Chinese). *Journal of Gansu Agricultural University*, 2004, 39(6): 634—638
- [20] 顾爱星, 张艳, 石书兵, 等. 秸秆覆盖法对土壤微生物区系的影响. 新疆农业大学学报, 2006, 28(4): 64—68. Gu A X, Zhang Y, Shi S B, et al. Influence of straw mulch on soil microorganism flora (In Chinese). *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2006, 28(4): 64—68
- [21] 沈宝明, 肖嫩群, 杨春晓, 等. 保护性耕作方式对土壤微生物的影响研究进展. 湖南农业科学, 2010(1): 22—25. Shen B M, Xiao N Q, Yang C X, et al. Effect of conservation tillage on soil microorganism (In Chinese). *Hunan Agricultural Sciences*, 2010(1): 22—25
- [22] 张晶. 秸秆还田土壤中与纤维素降解相关的微生物的分子生态学研究. 上海: 上海交通大学, 2007. Zhang J. Study on molecular ecology of microbe related with cellulose decomposition in straw-amended soil (In Chinese). Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2007

## EFFECTS OF LONG-TERM CONSERVATION TILLAGE ON DIVERSITY OF CELLULOSE DEGRADATING GENE *CBH I* IN FLUVO-AQUIC SOIL

Chen Kun<sup>1</sup> Li Chuanhai<sup>1</sup> Zhu Anning<sup>2</sup> Peng Wentao<sup>1</sup> Qian Mingmei<sup>1</sup> Cao Hui<sup>1†</sup>

(1 Key Laboratory of Agricultural Environmental Microbiology, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 State Experimental Station for Agro-Ecology in Fengqiu, Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China)

**Abstract** Conservation tillage, a new kind of cultivation technique or agricultural practice includes no-till, reduced tillage and straw mulching. The aim of conservation tillage is to protect the environment, improve soil quality and save farming cost. Straw degradation plays a very important role in implementation of conservation tillage. Therefore, it is of great significance to study diversity of cellulose degrading bacteria in the soils different in conservation tillage practice. Currently, scholars at home and abroad have been doing a lot to study cellulose degrading bacteria, focusing mainly on screening and isolating of cellulose degrading bacteria and cloning of cellulose degrading gene. But little has been reported on diversity of cellulose degrading gene *cbh I*. It is, therefore, necessary to do something in depth on diversity of cellulose degrading gene *cbh I* in soils under different conservation tillage practices. Hence, effects of four conservation tillage practices, i. e.  $C_m W_t S$  (tillage with mulching),  $C_m W_{nt} S$  (no-tillage with mulching),  $C_{nt} W_t$  (tillage without mulching) and  $C_{nt} W_{nt}$  (no-tillage without mulching) were explored on diversity of cellulose-degrading bacteria in typical fluvo-aquic soil in the Huang-Huai-Hai Plain. Cellulose degradation bacteria in soils of different treatments were counted using the traditional plate colony counting method, and diversity of cellulose-degrading gene *cbh I* was analyzed using the PCR-RFLP technique (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism). Results show that Treatment  $C_{nt} W_{nt} S$  was 148% higher than Treatment  $C_m W_{nt}$  in population of cellulose-degrading bacteria, and Treatment  $C_{nt} W_t S$  was 130% higher than Treatment  $C_{nt} W_t$ , too. And the four treatments were all quite rich in *cbh I* genotyping, amounting to 44 OTUs in total. Treatment  $C_{nt} W_{nt} S$  was found to have 35 OTUs, Treatment  $C_{nt} W_t S$  34 OTUs, Treatment  $C_{nt} W_{nt}$  30 OTUs and Treatment  $C_{nt} W_t$  30 OTUs, indicating that straw mulching could increase the number of cellulose-degrading bacteria that can decompose the straw, releasing nutrients into the soil. Analysis of diversity index shows that Shannon-Wiener index varied in the range between 3.09 and 3.36, and that straw mulching and no-tillage improved the diversity of cellulose degradation bacteria. Phylogenetic analysis shows that the cellulose-degrading bacteria in the libraries mainly belong mainly to *Basidiomycota* and *Ascomycota*. And *Basidiomycota* is the dominant phylum. Tillage and no-tillage have some influence on *Basidiomycota*, but almost none on *Ascomycota*. Meanwhile, a large number of uncultured cellulose-degrading bacteria

were found living in the soils. Therefore, it can be concluded that conservation tillage, like no-tillage and straw mulching, can significantly increase the number of cellulose-degrading bacteria and enrich its *cbh I* gene diversity.

**Key words** Conservation tillage; Cellulose degradation bacteria; The diversity of *cbh I* gene; PCR-RFLP

(责任编辑:陈德明)

---

## 第 20 届国际土壤与耕作研究组织大会

会议名称:第 20 届国际土壤与耕作研究组织大会

英文名称:The 20th International Soil Tillage Research Organization (ISTRO) Conference

会议时间:14-18 Sep. 2015

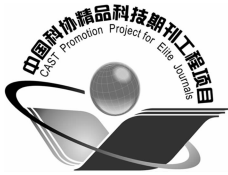
会议地点:南京

会议网址:<http://istro2015.csp.escience.cn/>

会议邮箱:[istro2015@issas.ac.cn](mailto:istro2015@issas.ac.cn)

第 20 届国际土壤与耕作研究组织大会(The 20th International Soil Tillage Research Organization (ISTRO) Conference)将于 2015 年 9 月 14—18 日在南京召开。本次会议由国际土壤与耕作研究组织主办,中国科学院南京土壤研究所承办。会议得到中国科学院、国家自然科学基金委员会、中国土壤学会土壤物理专业委员会、土壤与农业可持续发展国家重点实验室等单位的支持。届时将来自世界各国的土壤学和耕作学的科学家们围绕“Sustainable Intensification for increased Food and Energy”展开广泛的学术讨论。

国际土壤与耕作研究组织(International Soil & Tillage Research Organization(ISTRO)成立于 1973 年,是一个非盈利的科教组织。该组织致力于促进土壤、耕作、环境、土地利用和作物生产等各方面科学的交流,鼓励土壤与耕作相关方面的科学研究,并推动相关科研成果应用于农业生产。其主办的《Soil & Tillage Research》,是国际土壤与耕作领域较为知名的期刊之一(ISTRO website: <http://www.istro.org>)。ISTRO 大会每三年举办一次,至今已成功召开 19 届。中国科学院南京土壤研究所将主办第 20 届 ISTRO 大会,目前,会议网站(<http://istro2015.csp.escience.cn/>)已正式开通并已开放注册,欢迎广大土壤耕作及相关领域的科技工作者和研究生积极参加。



# 土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 2 期 2015 年 3 月

## 目 次

### 综述与评论

- 理论施氮量的改进及验证——兼论确定作物氮肥推荐量的方法 ..... 巨晓棠(249)
- 森林土壤氧化亚氮排放对大气氮沉降增加的响应研究进展 ..... 方华军 程淑兰 于贵瑞等(262)

### 研究论文

- 商丹盆地黄土母质发育土壤的微形态特征及其诊断意义 ..... 庞奖励 黄春长 查小春等(272)
- 基于土壤氮素平衡的氮肥推荐方法——以水稻为例 ..... 宁运旺 张永春(281)
- 三峡库区紫色土的碎石分布特征 ..... 王小燕 王天魏 蔡崇法等(293)
- 黄土区坡耕地土壤结皮对入渗的影响 ..... 吴秋菊 吴 佳 王林华等(303)
- 基于局部加权回归的土壤全氮含量可见-近红外光谱反演 ..... 陈颂超 冯来磊 李 硕等(312)
- 五价砷在中国南方两类典型土壤中的迁移特征 ..... 李璐璐 张 华 周世伟等(321)
- 柠檬酸盐对黑云母表面溶解及微结构变化的影响 ..... 李继福 张文君 鲁剑巍等(329)
- 活化过硫酸钠氧化土壤对挥发性有机污染物吸附特性的影响 ..... 丁浩然 王 磊 龙 涛等(336)
- 退化喀斯特森林植被自然恢复中土壤有机碳  $\delta^{13}\text{C}$  值特征 ..... 黄宗胜 喻理飞 符裕红等(345)
- 缓释复合肥对茄子产量和不同采果期品质的影响 ..... 王 菲 李银科 王正银等(355)
- 氮肥和秸秆施用对稻麦轮作体系下土壤剖面  $\text{N}_2\text{O}$  时空分布的影响 ..... 潘晓健 刘平丽 李 露等(364)
- 应用  $^{15}\text{N}$  示踪法研究咸水滴灌棉田氮肥去向 ..... 张 文 周广威 闵 伟等(372)
- 中国南方基础工程建设中土壤生态修复技术体系与实践 ..... 徐国钢 程 睿 赖庆旺等(381)
- 黑土农田施加 AM 菌剂对大豆根际菌群结构的影响 ..... 宋福强 程 蛟 常 伟等(390)
- 自生固氮菌对土壤钾的活化作用 ..... 张 亮 袁 玲 黄建国(399)
- 长期保护性耕作对纤维素降解基因 *cbh 1* 多样性的影响 ..... 陈 坤 李传海 朱安宁等(406)
- 模拟条件下土壤硝化作用及硝化微生物对不同水分梯度的响应 ..... 刘若萱 张丽梅 白 刃等(415)
- 水力侵蚀影响下土壤有机碳和微生物数量动态变化特征 ..... 喻 为 李忠武 黄金权等(423)

### 研究简报

- 土壤制图中土壤类型配色模型构建与应用 ..... 徐爱国 张维理 张怀志等(431)
- 土壤专题图中采样点点位标识模型的构建 ..... 张怀志 张维理 徐爱国等(440)
- 非对称混合电解质体系中恒电荷颗粒表面与 Stern 电位的测定 ..... 樊会敏 赵 艳 刘新敏等(446)
- 植被重建下露天煤矿排土场边坡土壤碳储量变化 ..... 李俊超 党廷辉 薛 江等(453)
- 滨海盐渍化土壤理化性质与小麦生产间的关系 ..... 谢文军 张衍鹏 张 森等(461)

### 信息

- 第 20 届国际土壤与耕作研究组织大会 ..... (414)
- 《土壤学报》2014 年度审稿专家名录 ..... (467)

封面图片: 陕西丹凤盆地土壤黏化层典型微形态(由庞奖励提供)

CONTENTS

Reviews and Comments

- Improvement and validation of theoretical N rate (TNR)—Discussing the methods for N fertilizer recommendation ..... Ju Xiaotang(261)
- Study on the responses of nitrous oxide emission to increased nitrogen deposition in forest soils; A review ..... Fang Huajun, Cheng Shulan, Yu Guirui, et al. (270)

Research Articles

- Micromorphological features of soils derived from loess in Shangdan Basin and their significance in soil diagnosis ..... Pang Jiangli, Huang Chunchang, Zha Xiaochun, et al. (279)
- Soil nitrogen balance based recommendation of nitrogen fertilization; A case study of rice ... Ning Yunwang, Zhang Yongchun(292)
- Spatial distribution of rock fragments in purple soil in Three Gorges Reservoir Area ..... Wang Xiaoyan, Wang Tianwei, Cai Chongfa, et al. (301)
- Effects of soil crusts on infiltration in slope land in the Loess Area ..... Wu Qiuju, Wu Jia, Wang Linhua, et al. (311)
- Vis-NIR spectral inversion for prediction of soil total nitrogen content in laboratory based on locally weighted regression ..... Chen Songchao, Feng Lailei, Li Shuo, et al. (319)
- Migration of pentavalent antimony in two types of soils typical to South China ..... Li Lulu, Zhang Hua, Zhou Shiwei, et al. (327)
- Effects of citrate dissolving surface and altering microstructure of biotite ..... Li Jifu, Zhang Wenjun, Lu Jianwei, et al. (335)
- Effect of soil oxidation with reactivated sodium persulfate on sorption of volatile organic contaminants ..... Ding Haoran, Wang Lei, Long Tao, et al. (343)
- Characteristics of  $\delta^{13}\text{C}$  value of soil organic carbon under naturally restoring degenerative karst forest ..... Huang Zongsheng, Yu Lifei, Fu Yuhong, et al. (353)
- Effects of slow-release compound fertilizer on yield and quality of eggplant relative to timing of harvest ..... Wang Fei, Li Yinke, Wang Zhengyin, et al. (362)
- Spatial and temporal distributions of soil profile  $\text{N}_2\text{O}$  as affected by N fertilization and straw incorporation in the rice-wheat rotation system ..... Pan Xiaojian, Liu Pingli, Li Lu, et al. (371)
- Fate of fertilizer N in saline water drip-irrigated cotton field using  $^{15}\text{N}$  tracing method ..... Zhang Wen, Zhou Guangwei, Min Wei, et al. (379)
- Soil ecology remediation technical system and its practice in infrastructure construction in South China ..... Xu Guogang, Cheng Rui, Lai Qingwang, et al. (389)
- Impact of inoculation with AM fungi on microbial community structure in soybean rhizosphere in farmland of black soil ..... Song Fuqiang, Cheng Jiao, Chang Wei, et al. (397)
- Mobilization of potassium in soils by *Azotobacter* ..... Zhang Liang, Yuan Ling, Huang Jianguo(404)
- Effects of long-term conservation tillage on diversity of cellulose degradating gene *cbh I* in Fluvo-aquic soil ..... Chen Kun, Li Chuanhai, Zhu Anning, et al. (413)
- Response of nitrification and nitrifier to change in soil moisture content under simulated conditions ..... Liu Ruoxuan, Zhang Limei, Bai Ren, et al. (421)
- Dynamics of soil microbial population and organic carbon under water erosion ..... Yu Wei, Li Zhongwu, Huang Jinquan, et al. (430)

Research Notes

- Construction of a color matching model for soil types and its application to soil mapping ..... Xu Aiguo, Zhang Weili, Zhang Huaizhi, et al. (439)
- Development of soil sampling point labeling model for the matic soil maps ..... Zhang Huaizhi, Zhang Weili, Xu Aiguo, et al. (445)
- Principle for determination of surface potential and Stern plane potential of constant charged particles in asymmetric mixed electrolyte solutions ..... Fan Huimin, Zhao Yan, Liu Xinmin, et al. (452)
- Variability of soil organic carbon storage in dump slope of opencast coal mine under revegetation ..... Li Junchao, Dang Tinghui, Xue Jiang, et al. (460)
- Relationships between soil physicochemical properties and wheat production in coastal saline soil ..... Xie Wenjun, Zhang Yanpeng, Zhang Miao, et al. (466)

Cover Picture: Typical micromorphological photos in Horizon Bt of the soil profile in Danfeng Basin, Shaanxi Province, China (by Pang Jiangli)