

中国百种杰出学术期刊
中国精品科技期刊
中国科协优秀期刊
中国科学院优秀科技期刊
新中国 60 年有影响力的期刊
国家期刊奖

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

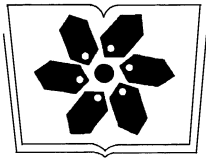
(Shengtai Xuebao)

第 31 卷 第 2 期
Vol.31 No.2
2011



中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 2 期 2011 年 1 月 (半月刊)

目 次

长白山山杨种群的性比格局及其空间分布	潘春芳, 赵秀海, 夏富才, 等 (297)
冬季融冻过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化与抗冻性的关系	赵 梅, 周瑞莲, 刘建芳, 等 (306)
黄土高原主要森林类型自然性的灰色关联度分析	王乃江, 刘增文, 徐 钊, 等 (316)
两种抗生素对龙须菜的光合生理效应	简建波, 邹定辉, 刘文华, 等 (326)
典型喀斯特峰丛洼地植被群落凋落物 C:N:P 生态化学计量特征	潘复静, 张 伟, 王克林, 等 (335)
塔里木河下游地下水埋深对胡杨气体交换和叶绿素荧光的影响	陈亚鹏, 陈亚宁, 徐长春, 等 (344)
基于 MODIS/NDVI 的陕北地区植被动态监测与评价	宋富强, 邢开雄, 刘 阳, 等 (354)
火因子对荒漠化草原草本层片植物群落组成的影响	贺郝钰, 苏洁琼, 黄 磊, 等 (364)
4 种阔叶幼苗对 PEG 模拟干旱的生理响应	冯慧芳, 薛 立, 任向荣, 等 (371)
城市带状绿地宽度与温湿效益的关系	朱春阳, 李树华, 纪 鹏, 等 (383)
西藏斧钯水鸟多样性及斑头雁繁殖活动区的变化	张国钢, 刘冬平, 钱法文, 等 (395)
王朗自然保护区大熊猫生境选择	康东伟, 康 文, 谭留夷, 等 (401)
东方田鼠警觉对其功能反应的作用格局	陶双伦, 杨锡福, 邓凯东, 等 (410)
台州市路桥区重金属污染对土壤动物群落结构的影响	白 义, 施时迪, 齐 鑫, 等 (421)
青岛湾小型底栖生物周年数量分布与沉积环境	杜永芬, 徐奎栋, 类彦立, 等 (431)
叉尾斗鱼种群遗传变异与亲缘地理	王培欣, 白俊杰, 胡隐昌, 等 (441)
C ₃ 和 C ₄ 植物寄主对华北地区棉铃虫越冬代和第一代的影响	叶乐夫, 付 雪, 戈 峰 (449)
3 种海拔高度茶园中 2 种害虫与其天敌间的数量和空间关系	毕守东, 柯胜兵, 徐劲峰, 等 (455)
坝上地区农田和恢复生境地表甲虫多样性	刘云慧, 宇振荣, 王长柳, 等 (465)
若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征	牛 佳, 周小奇, 蒋 娜, 等 (474)
红枣贮藏期果面微生物多样性	沙月霞 (483)
CO ₂ 和温度升高情况下白粉菌侵染对西葫芦生长特性的影响	刘俊稚, 葛亚明, Pugliese Massimo, 等 (491)
丛枝菌根真菌对中性紫色土土壤团聚体特征的影响	彭思利, 申 鸿, 袁俊吉, 等 (498)
新疆断裂带泉水中细菌群落结构的 PCR-DGGE 分析	吴江超, 高小其, 曾 军, 等 (506)
石油污染对海洋浮游植物群落生长的影响	黄逸君, 陈全震, 曾江宁, 等 (513)
不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应	何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等 (522)
基于 CLUE-S 模型的密云县面源污染控制景观安全格局分析	潘 影, 刘云慧, 王 静, 等 (529)
基于生态足迹的生态地租分析	龙开胜, 陈利根, 赵亚莉 (538)
深圳市植被受损分级评价及其与景观可达性的关系	刘语凡, 陈 雪, 李贵才, 等 (547)
专论与综述	
美国、加拿大环境和健康风险管理方法	贺桂珍, 吕永龙 (556)
植物蜡质及其与环境的关系	李婧婧, 黄俊华, 谢树成 (565)
油田硫酸盐还原菌酸化腐蚀机制及防治研究进展	庄 文, 初立业, 邵宏波 (575)
叶际微生物研究进展	潘建刚, 呼 庆, 齐鸿雁, 等 (583)

叶际微生物研究进展

潘建刚^{1,2,3}, 呼庆¹, 齐鸿雁^{1,*}, 张洪勋², 庄国强¹, 白志辉¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 中国科学院研究生院资源与环境学院, 北京 100049;

3. 内蒙古科技大学生物工程与技术研究所, 包头 014010)

摘要:植物的叶际是一个复杂的生态系统,微生物的生存环境条件严苛。其可被利用的营养成分较少,温湿度波动大。此外,较强的紫外线辐射对于叶际微生物的生存也有很大影响。但是植物叶际却有着丰富的微生物多样性,其中还有许多有益细菌和真菌。它们通过和植物寄主的互动,改善着叶际微生物的栖居环境;其对植物病原体的拮抗亦可提高植物的抗病性。植物叶际的微生物还可以产生激素以促进植物生长,还有一些微生物可以利用农药等污染有机物作为营养物质,在污染物的环境生物修复方面显示巨大的潜力。此外,叶际微生物作为一种生态学指标在生态稳定与环境安全评价中开始发挥显著的作用。

关键词:叶际;微生物多样性;16S rRNA;微生物生态;叶际生物修复

Advance in the research of phyllospheric microorganism

PAN Jiangang^{1,2,3}, HU Qing¹, QI Hongyan^{1,*}, ZHANG Hongxun², ZHUANG Guoqiang¹, BAI Zhihui¹

1 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China;

2 College of Resource and Environmental Science, Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Institute of Bioengineering & Technology, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014010, China

Abstract: The aerial portion of a plant colonized by microbes is known as a phyllosphere, which is a complex ecosystem that is hostile to microbial colonists. In Phyllosphere, there are wide temperature fluctuations; the humidity is changed repeatedly due to the presence and absence of free moisture from rain and dew. Under these conditions, the nutrient availability on the plant surface is also limited, and the dose of ultraviolet radiation is very strong. In addition, some foreign chemicals such as pesticides are sometimes located on the phyllosphere. Although all of these factors influence microbial communities, a large number of microbes, including bacteria, filamentous fungi, yeast and algae, in addition to a small quantity of wireworm and protozoa, still colonize this area. These colonizing microorganisms are known as phyllospheric microorganisms or epiphytes. Such organisms tend to colonize the lower leaf sides in the field, whereas colonization of upper leaf sides is greater on plants cultivated in the greenhouse. Some phyllospheric microorganisms are plant pathogens, but most are nonpathogenic microorganisms that are beneficial and have many important functions. Many studies have shown that phyllospheric microorganisms have close interactions with the host. For example, leaf-surface properties such as cuticular water permeability can be influenced by bacteria (for instance *Pseudomonas rhizosphaerae*), leading to improved colonial conditions on the phyllosphere. In addition, some phyllospheric microorganisms can promote the growth of plants, which leads to improved root and shoot growth by means of producing auxins, cytokinins and vitamin B₁₂. As a result, these organisms can increase the yield of some plant species. Moreover, biological control agents (BCAs), including bacteria, filamentous fungi and yeast, are currently being widely applied to control pests and plant diseases. These organisms have a positive impact because BCAs are able to colonize or compete with pathogens for nutrients and sites of interaction on the host, as well as to exert antagonism through antibiotics or hydrolytic enzymes, interfere with pathogen signals, or stimulate the induction of systemic resistance within the plant. Some phyllospheric microorganisms can also utilize organic

基金项目:国家自然科学基金(20707035, 20777089, 20977106);国家高技术研究发展计划(2007AA06A407)

收稿日期:2009-11-23; **修订日期:**2010-06-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qihy@rcees.ac.cn

contaminants such as insecticides and lipophilic gaseous organic compounds, including phenol, as sources of nutrients. Organisms capable of utilizing such compounds have the potential for use in bioremediation of pollutants in the environment. Therefore, they can easily access and degrade organic pollutants from the air. Conversely some bacteria might serve as ideal microbial indicators of insecticides due to their sensitivity to specific compounds. Finally, phyllospheric microorganisms also have the potential for application in industrial biotechnology because some filamentous fungi isolated from olives have the ability to produce enzymes of industrial interest such as beta-glucosidase, CMCellulase, lipase and polygalacturonase, which are meaningful for the olive oil industry and have other industrial applications. Furthermore, phyllospheric microorganisms are beginning to play a conspicuous role as an index of ecological stability and environmental security. Using this index, some studies have revealed that photocatalytic nanomaterials have the potential to impact the environment. Here we review recent advances in the study of phyllospheric microorganisms.

Key Words: phyllosphere; microbial diversity; 16S rRNA; microbial ecology; phyllospheric bioremediation

近年来微生物在环境、能源和农业等领域的研究有了蓬勃发展,而这一切的取得在很大程度上源于对微生物分子生态学的深入研究^[1-3]。作为一种研究微生物群落结构和功能的新兴技术,其重要性日益突出。叶际微生物作为微生物分子生态学一个新兴的研究领域,已经引起人们的广泛关注。1956 年 Ruinen 首次从植物叶际分离到拜叶林克氏菌(*Beijerinckia*),此后众多学者纷纷致力于叶际微生物的研究,从而使叶际微生物的研究得到长足发展。它在促进植物生长、增强植物抗病性、降解环境污染物、生物传感监测等方面有重要作用^[4-5],而国内关于这方面的文献偏少,本文对叶际微生物研究的最新进展和面临的挑战作一综述。

1 叶际微生物的研究基础

1.1 叶际微生物的概念提出与分歧

关于叶际微生物的概念,一直存在分歧。1981 年,Blackman 首次提出叶际微生物的概念,他将其定义为附生或寄生于植物叶的直接表面生境(即叶面)的微生物^[6]。而 Lindow 等人认为叶、茎、花、果等都是植物的地上有效部分,其环境条件一致。由其组成的生境统称为叶际,而生存在其表面和内部的大量的各种类型的细菌、丝状真菌、酵母、藻类等微生物,则被称为叶际微生物^[7]。

1.2 叶际微生物分子生态学的主要研究方法

一直以来,人们对微生物的生物多样性的认识建立在纯种分离和纯培养技术发展的基础之上,对微生物多样性的认识浅显。但分子生态学研究技术的迅速发展,特别是通过对环境 16S rRNA 基因的研究发现,微生物的生物多样性要远高于用传统方法估算的数量^[8]。而其中未培养微生物占了绝大部分,且其与已培养的微生物种群在系统发育上差距很大^[9]。可见分子生态学方法的发展为探索叶际微生物的群落多样性和生态功能提供了有力的帮助。目前,国内外叶际微生物分子生态学研究常用的方法有以下几种:

(1) 磷脂脂肪酸图谱分析技术(phospholipid fatty acid, PLFA) 常用于研究根际和土壤中的活体微生物群落结构的分析^[10]。其优点在于能够检测微生物群落的动态变化,并对微生物生物量进行定量分析^[11-12]。目前,也是研究叶际微生物的主要技术之一。利用 PLFA 图谱分析技术,Zhang 等发现氯氰菊酯杀虫剂对辣椒和黄瓜叶际微生物群落有影响,结果表明,喷施氯氰菊酯可以增加叶际细菌的数量和整个叶际微生物的数量,但真菌数量有所下降。此外,细菌种类中革兰氏阳性细菌与革兰氏阴性细菌数量的比例也呈下降趋势,这表明真菌较细菌对氯氰菊酯敏感,而革兰氏阴性细菌数量的增多,说明它们对氯氰菊酯表现出较强的耐受性^[13-14]。

(2) 变性梯度凝胶电泳技术(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE) 是研究微生物分子生态学最常用的技术之一。它能很好地反映微生物群落的多样性。与其他技术相比,DGGE 的优势在于能同时分析大量的样品,既能分析不同环境中的微生物群落结构的差异,也能分析一个微生物群落随时间及外界环境压力的变化过程,另外,它可以方便研究者对胶中目标条带进行研究,通过测序获得其序列,从而获得与环境中生

态功能相关的微生物种群进化信息^[15]。Pedraza 等发现接种巴西固氮螺菌后影响旱稻叶际固有内生固氮细菌微生物群落的变化。DGGE 结果分析表明,接种的固氮螺菌基因型对旱稻叶际内生细菌的数量有影响,但是不会改变叶际内生优势菌群^[16]。Ibekwe 等人用被大肠埃希菌 O157:H7 污染的水灌溉莴苣,之后比较了莴苣在不同土壤中生长发育过程中根际和叶际微生物群落的变化。DGGE 结果表明,根际和叶际的细菌群落绝大多数是假单胞菌属、乳杆菌属、芽孢杆菌属和土壤杆菌属等。而且多数病原菌可能是在莴苣开始生长的 7—12d 内侵染植物。该时期土壤质地不同对根际和叶际细菌群落的多样性影响差异较大。粘质土壤条件下较沙土生长条件下表现出较高的多样性。但是之后变化不大^[17]。

(3) 末端限制性片段长度多态性 (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP) 技术 是源于 Cancilla 等人利用放射性元素 P^{32} 和荧光标记的任意引物聚合酶链式反应构建乳酸乳球菌菌株的遗传图谱的研究^[18],此后国内外学者纷纷就荧光标记探针方面展开研究。Liu WT 等首次利用 T-RFLP 技术对来自活性污泥、生物反应器中的污泥、地下水中的沉淀土和白蚁内脏等四种不同环境条件下的细菌的多样性进行鉴定,结果表明它能很好地评价复杂的细菌群落多样性,是一种能快速有效地分辨不同生态条件下细菌群落结构组成和多样性的方法^[19]。T-RFLP 技术首先是对两个引物中的其中之一的 5' 端用荧光物质标记该引物,然后从微生物群落的总 DNA 中扩增出编码 16S rRNA 的基因,之后再利用适当的限制性内切酶对 PCR 扩增产物进行酶切。最后通过测序胶对带有荧光的片段进行分离。与 DGGE 技术相比,T-RFLP 技术有更高的分辨能力。通过和 T-RFLP 数据库已有的末端片段长度对比,可以更容易地获得所扩增末端长度片段的系统进化信息。另外其电子形式的数据输出格式以及快捷的分析速度都有利于人们对其进行分析^[20]。基于这些优点,目前它已经广泛应用于微生物群落多样性的研究。Berg 等人就马铃薯抵抗植物病原真菌的内寄生和外寄生细菌群落的结构和拮抗作用进行了研究。T-RFLP 多态性结果分析表明,大田生长条件下马铃薯的根际、叶际和根系内球都形成特异的微环境,不同微环境下拮抗细菌都形成特定的菌落组成和多样性。根际和根系内球是拮抗细菌主要的栖息地,叶际次之,其每克鲜叶表面长有 1.1×10^6 — 9.4×10^4 个菌落,相对较少。但是 3 种微环境下都以恶臭假单胞菌最为突出^[21]。

可以看出微生物分子生态学技术的应用,使我们认识到叶际微生物群落的多样性以及大量不可培养微生物的存在。但与对根际微生物生态的研究相比,对于叶际微生物在环境中的功能以及叶际微生物与植物互作机理仍然知之甚少。因此,这需要利用创新的分子生态学方法进行更加深入的探索。

2 叶际微生物的科学问题

2.1 叶际主要微生物的生物多样性和生态功能

对于微生物来说,植物叶际的生存环境条件严苛,可被利用的营养成分较少;昼夜温差大,温湿度波动大;此外,较强的紫外线辐射对于叶际微生物的生存也有很大影响^[22-23]。但即使在如此恶劣的条件下,叶际微生物的类群也十分丰富多样,主要有细菌、丝状真菌、酵母、藻类,此外还有少量的线虫和原生动物出现^[7]。

3.1 叶际细菌

3.1.1 叶际细菌的生物多样性

细菌是叶际环境中最主要的微生物类群,有研究表明每克鲜叶表面存在 9.4×10^4 — 1.1×10^6 个细菌。Lindow 等在叶际微生物学一书中写到,据估计地球上植物叶片的总面积可能为 $6.4 \times 10^8 \text{ km}^2$,而其上栖居的细菌总量可能达到 10^{26} 个^[24]。可见其生物量的庞大。

早期众多学者对叶际微生物的认识是建立在微生物可培养技术的基础上的,自从将分子生物学技术应用到微生物生态学研究领域以来,人们发现叶际微生物群落也非常丰富。Yang 等利用可培养方法和不可培养方法对甜橙叶际的微生物群落进行了研究,DGGE 结果表明,植物叶际微生物的数量要远比先前认识到的复杂。同一植物种类的叶际都有着较为相似的微生物群落,不同植物种类之间则菌落差异较大,说明每一植物种类的叶际都有着特定的微生物群落^[25]。高旭晖等报道茶树叶面存在的细菌主要是芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、短杆菌属 (*Curtobacterium*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、黄单孢菌属 (*Xanthomonas*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、

假单胞杆菌属 (*Pseudomonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacteria*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、微球菌属 (*Micrococcus*) 和红螺菌属 (*Rhodospirillum*) 等^[26]。Handschr 等利用不可培养微生物的分子生物学方法确证了假单胞菌 (*pseudomonadeceae*) 和肠杆菌 (*enterobacteriaceae*) 是叶类蔬菜 (例如生菜) 叶际最丰富的细菌类群^[27]。Zwiehler 等对莴苣叶际细菌群落结构的研究表明, 莴苣叶际除了有成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*)、浅黄假单胞菌 (*Pseudomonas flavescens*)、莫拉氏菌 (*Moraxella* spp.)、分枝杆菌 (*Mycobacterium* spp.) 等特有的细菌群落外, 还发现在所获得的基因序列有 71.8% 是至今仍未报道过的细菌类群。这说明莴苣叶际细菌群落的多样性非常丰富。但季节变化会影响莴苣叶际细菌群落的结构^[28]。Ursula 等发现草莓叶际主要以假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、狭长平胞属 (*Stenotrophomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和节杆菌属 (*Arthrobacter*) 居多, 且大量的细菌存在于叶子表皮的毛状体上 (图 1)^[29] 从而可以获得充足的营养物质。进一步的研究发现 *Pseudomonas rhizosphaerae* 的存在可以提高表皮角质蒸腾作用, 这表明叶际细菌和寄主的相互作用可以改变叶片表面的特性 (如表皮水分渗透力), 从而改善叶际细菌的栖居条件^[29]。Melotto 等就发现在开张的气孔周围, 大量细菌会自动聚集在其周围, 而在邻近的闭合气孔周围则几乎没有^[30]。大田条件下下部叶片的细菌定植数量要多于上部叶片, 而在温室条件下细菌倾向于定植于上部叶片^[29]。其原因是外界高强度辐射, 增加了水分的蒸发, 可以利用的水分少使得细菌定植在下部叶片更容易存活^[31], 而温室中植物上部叶片可获得更加稳定的温湿度生长条件, 所以大量细菌定植其上。

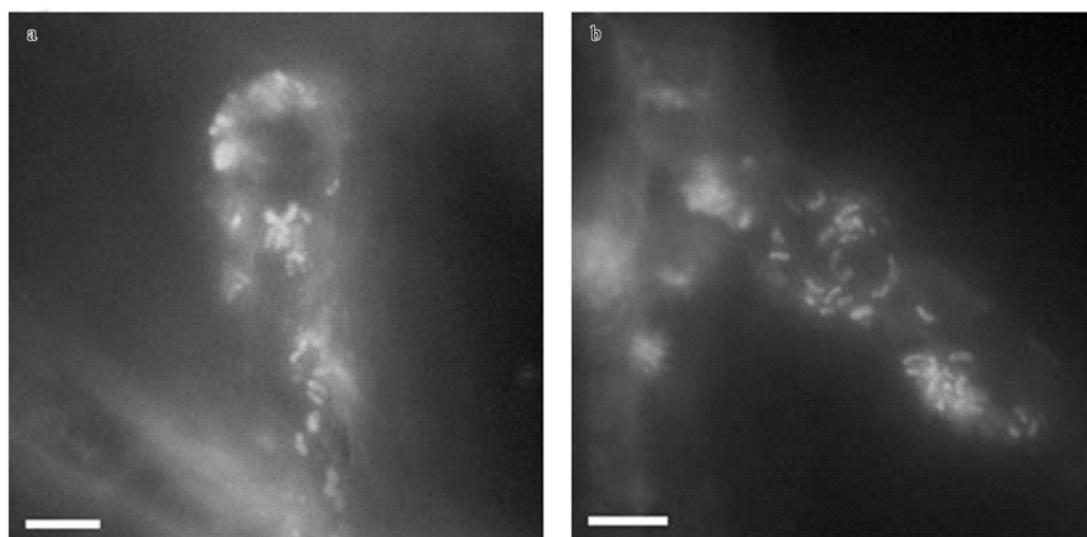


图 1 草莓叶片表皮毛状体上的附生菌^[29]

Fig. 1 Epifluorescence microscopy of *F. ananassa* on a trichome on leaf surfaces^[29]

3.1.2 叶际细菌的生态功能

植物的叶际存在着许多对植物有益的细菌群落, 包括生防细菌、产植物生长激素细菌及固氮菌等。在农业生态系统中, 充分利用这些细菌的生物学潜力将有助于减少化肥和农药投入、促进植物生长、减轻环境污染, 实现农业可持续发展。

解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 是常见的生防细菌之一, 对芸薹属植物中由核盘菌引起的菌核病具有显著作用。它是一类能产生抗菌蛋白或脂肽的细菌, 不仅能够有效抑制核盘菌菌丝的生长, 而且具有抑制菌丝进一步形成菌核的能力^[32]。Fernando 等首次利用叶际有益细菌防治油菜菌核病, 结果表明解淀粉芽孢杆菌 BS6 可以在大田条件下对核盘菌引起的茎干枯萎病起到良好防治作用^[33]。

传统的生物杀虫剂—苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 也是常见的叶际附生菌。Fay 等发现阔叶酸模叶际定殖着大量的苏云金芽孢杆菌, 可高达 1.9×10^4 个/g^[34]。植物叶际苏云金芽孢杆菌的存在可以保护

植物免受草食昆虫的侵害^[35]。

菌株 D5/23T 是一种很好的促植物生长菌。1986 首次从冬小麦叶际分离,但人们对其的分类命名一直有误,Peter Kampfer 等首次证明它属于肠杆菌科肠杆菌属的一个新种别。将其命名为 *Enterobacter radicincitans* sp. nov.^[36]。能产生植物生长激素和细胞激动素,并且能固定大气中的氮气,促进植物根和茎干生长,最终使不同的作物增加产量^[37-39]。粉色色素兼性甲基营养菌 (pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria, PPFM) 也是叶际常见细菌。它具有广泛的碳源底物,能以甲酸盐、甲醛和甲醇作为唯一的碳源和能源;并能产生维生素 B₁₂、植物生长素和细胞激动素等代谢产物^[40-42];它还可以通过尿素酶参与植物的氮素代谢,最终促进植物生长和增强植物的抗病性和抗逆性;季节变化对其菌落的数量有较大影响,由春季向夏季过渡时呈减少趋势,而到收获季节又急剧增加^[4]。此外,假单胞菌和分枝杆菌的某些种类也能促进植物生长。例如从小黑麦叶际分离到得假单胞菌 030509 (*Pseudomonas agglomerans* 030509) 促生菌和从豌豆叶际分离到的慕赫堡分枝杆菌 44 (*Mycobacterium* sp. 44) 促生菌等,尤其在壤砂土条件下,慕赫堡分枝杆菌 44 能在低温下促进植物根和茎的生长^[43]。

植物叶际共生细菌也可以降解有机分子。Sandhu 等用 gfp 蛋白标记的荧光假单胞菌细胞传感器监测到叶际苯酚存在,进一步的研究结果表明定殖有苯酚降解菌 CF600 的叶片较对照 (无苯酚降解菌 CF600) 能释放出 8 倍多的 CO₂,证明假单胞菌株 CF600 能矿化叶际的苯酚污染物。这说明叶际微生物在大气有机污染物的自然降解中具有很大潜力^[5]。

植物叶际还有大量固氮细菌。柑橘和桑树叶际含有 1×10^6 个/cm² 个固氮细菌^[44-45],较棉花叶际的固氮细菌 (1×10^3 个/cm²) 要高很多。拜叶林克氏菌 (*Beijerinckia*) 是叶际主要的固氮细菌,有研究表明叶片浸出液中 C/N 只有大于 10 才具有固氮活性^[46],而 Murty 的研究表明,叶片浸出液中 C/N 低于 10 时,叶际仍然表现出较高固氮活性。³²P 放射性标记实验表明营养物质很可能是通过叶片表面的毛状体转移到拜叶林克氏菌而被吸收^[47]。

蕈状芽胞杆菌 (*Bacillus mycoides*) 于 1994 年在悉尼蒙大拿地区的甜菜叶际首次分离到,它能提高植物自身相关防御酶——壳多糖酶、 β -1,3-葡聚糖酶和过氧化物酶的活性,诱导甜菜产生系统抗性,从而对甜菜尾孢叶斑病起到防治作用^[48]。此外,植物叶际的病原细菌通过和寄主的相互作用也可诱导植物自身的免疫功能。气孔是植物进行蒸腾作用的结构,有研究发现拟南芥气孔保卫细胞通过其表面的识别受体 FLS2 识别病原体相关分子,诱导产生 NO 和保卫细胞特有的气孔开张蛋白激酶 OST1,介导气孔关闭阻止病原细菌侵染^[30]。

3.2 叶际真菌

3.2.1 叶际真菌的生物多样性

像细菌一样,真菌也是植物叶际主要的栖居者。植物种类的不同使得叶际真菌的数量和种类都有很大差别,甚至有些真菌还表现出定植的特异性。橄榄叶际的真菌有曲霉菌属 (*Aspergillus*)、青霉属 (*Penicillium*)、根毛霉菌属 (*Rhizomucor*)、毛霉菌属 (*Mucor*)、根霉菌属 (*Rhizopus*)、根霉菌属 (*Absidia*) 和 *Galactomyces* 等 7 种。其中烟曲霉菌、*Galactomyces geotrichum* 和 *enicillium comune* 是橄榄叶际最常见的真菌^[49]。而茶叶叶际真菌的种类要较橄榄叶际更为丰富,包括链格孢属 (*Alternaria*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、尾孢属 (*Cercospora*)、头孢属 (*Cephalosporium*)、枝孢属 (*Cladosporium*)、链孢属 (*Fusarium*)、长孺孢属 (*Helminthosporium*)、大茎点属 (*Macrophoma*)、青霉属 (*Penicillium*)、拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis*) 和茶叶点孢属 (*Phyllosticta*)^[26]。*Cryptococcus amylolyticus*, *Cryptococcus armeniacus*, *Cryptococcus cistialbidi*, *Dioszegia buhagiarrii*, *Dioszegia catarinonii*, *Dioszegia fristingensis* 和 *Dioszegia takashimae* 是 Inácio 等从地中海植物叶际分离到的 7 个迄今仍未报道过的酵母菌新种,表现出定植的特异性^[50]。Melissa 等人也从巴西观赏凤梨叶际分离到 1 个新的橙色酵母菌变种——*Cryptococcus bromeliarum* sp. nov.,隶属于伞菌亚门,担子菌纲,银耳目,银耳科。它和 *Cryptococcus armeniacus*, *C. amylolyticus*, *C. tibetensis* 和 *C. cistialbidi* 等 4 个橙色 *Cryptococcus* 种系统进化关系非常近,它们的不同在于仅有 6 个核苷酸发生置换。生理特性分析表明, *C. bromeliarum* 与 *C. armeniacus*, *C.*

amylyticus 和 *C. cistialbidi* 存在差异,它不能同化柠檬酸盐和形成淀粉类化合物。其与 *C. tibetensis* 的不同在于它能够同化乙胺^[51]。此外,植物的解剖结构和生理特性对其生物量有重要影响,低等的苔藓植物叶际要比维管植物的叶际真菌生物量要多,且衰老组织中真菌的生物量要较光合组织要多^[52]。

环境条件的改变对于叶际真菌的组成和数量也有一定影响。Ursula 等的研究发现,在温室条件下,所分离的草莓叶际真菌在总的微生物数量中占很大比例,而在大田条件下,草莓叶际的真菌数量却非常少,其原因可能是由于温室中高湿度和恒定的温度可以使其更易繁殖存活^[29]。

3.2.2 叶际真菌的生态功能

在植物的叶际也存在着大量的有益真菌,有些种类在碳素和氮素等营养物质的循环中起着重要作用。有的则可以增强植物的抗病性。Lindahl 等发现松柏类植物的落叶叶际真菌组成十分复杂。落叶初期主要是能以利用简单糖类碳源的子囊菌(*ascomycetes*)和短生型担子菌(*asidiomycetes*)为主,很快叶际真菌组成发生变化,具有强分解力的腐生真菌[诸如小菇(*Mycena species*)]寄居其上,以便能利用纤维素碳源,而且它可以从老化菌丝体中转移氮素营养来克服氮素缺乏。从而促进自身和植物的生长。其机理可能是真菌利用鲜叶中的已转化的碳水化合物作为协同底物去攻击多酚复合物,促使其降解来获得氮源的补偿^[53]。

白粉菌是一类重要的植物病原寄生菌,它可以侵染森林、作物、花卉、药材及牧草等多种植物,引起植物白粉病,造成巨大的经济损失。Avis 等发现 *Pseudozyma flocculosa* 对其有独特的杀灭效果。*Pseudozyma flocculosa* 是植物叶际天然的附生菌,其防护自身生态位的方式非常独特,它能产生罕见的对白粉菌有害的胞外脂肪酸,胞外脂肪酸能自然嵌入白粉菌体内,致使其细胞膜分解和细胞蜕变(图2)^[54]。因此是一种很有潜力的防治植物致病性真菌的生物控制剂。此外,对其突变株 *P. flocculosa* 的研究表明,突变虽然导致其丧失拮抗性但同时也使其生产一种新的抗真菌活性的代谢产物。可以看出它是一个很有价值的生物工具,能帮助我们更好地认识酵母的特性^[54]。

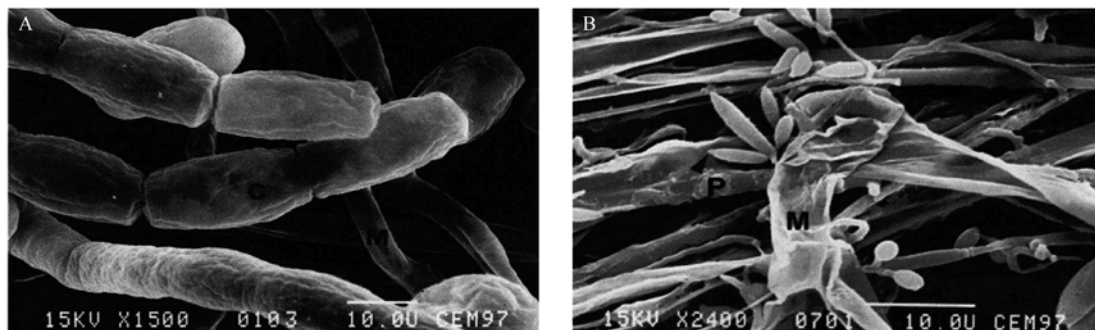


图2 *Pseudozyma flocculosa* 破坏白粉菌分生孢子链和菌丝体^[54]

Fig. 2 Collapse of powdery mildew conidial chains by *P. flocculosa*. Conidia (C) and mycelium (M) of *Sphaerotheca fuliginea* on a cucumber leaf surface. A: Unaffected structures of powdery mildew. B: Plasmolysed mycelium and conidia of the pathogen in response to the presence of *P. flocculosa* (P)^[54]

炭黑曲霉菌常见于葡萄中。它能使葡萄和葡萄酒含有其次生代谢产物赭曲霉毒素A,而赭曲霉毒素可引起肾脏损伤,大量的毒素也可能引起动物的肠黏膜炎症和坏死。一直以来对于这一病菌的防治采用化学杀霉菌剂来处理。从而造成了一定的污染。Dimakopoulou 从葡萄叶际分离到一株对炭黑曲霉菌具有很强拮抗作用的酵母菌-短梗霉 Y-1 (*Aureobasidium pullulans* Y-1),它能很好抑制黑曲霉的生长,其抑菌杀菌效果可与商业杀霉菌剂-咯菌酯和啞菌环胺相媲美。从而避免赭曲霉毒素A的污染及其对人类的危害^[55]。

此外,叶际微生物在工业生物技术产业中也有着潜在的前景。Baffi 等发现橄榄叶际的丝状真菌具有不同的 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、脂肪酶和多聚半乳糖醛酸酶活性,表明它们在工业酶生产方面具有巨大潜力^[49]。

4 叶际微生物生态效应及环境安全研究

4.1 植物叶际微生物与转基因植物的风险评价

自 20 世纪 80 年代世界首例抗棉铃虫转基因烟草成功培育以来,转基因植物技术得到了迅猛发展,至今已有 35 科 120 多种植物转基因获得成功。特别是在全球气候变暖环境日益恶化的今天,转基因技术的作用显得尤为突出。它在提高植物产量,改善植物品质,增强植物的抗盐、抗碱、抗旱等抗逆性,减少除草剂、杀虫剂等农药使用量以及环境生物修复等方面有着不可替代的作用。然而,人们一直对转基因植物是否会对生态环境和生物多样性造成危害存在疑问。目前关于转基因植物对植物和动物以及土壤微生物的影响有许多研究,但转基因植物对叶际微生物群体的影响却研究很少。其关注的焦点是转基因植物可能使叶际微生物群体结构发生变化并最终导致其生态系统功能的改变。

Cirvilleri 等研究了转光敏色素 A 基因樱桃叶际细菌群落的变化情况。发现转基因株系和非转基因植株之间叶际细菌群落的变化没有显著的差别。而且转基因株系较非转基因株系对丁香假单胞菌死李致病变种和丁香致病变种表现出较强的耐受性。转基因株系 PO1 对丁香致病变种表现出最强的耐受性,转基因株系 PO1 和 PD3 对丁香假单胞菌死李致病变种有一定抗性。说明转基因植株对由二者引起核果和仁果的细菌溃疡病有防治作用^[56]。Maureen 研究了转抗菌肽基因马铃薯和非转基因马铃薯品种的块茎表面、根际和叶际细菌群落的变化情况,其中利用 DGGE 对叶际不可培养微生物的群落多样性的研究表明,转基因马铃薯和非转基因马铃薯间真细菌群落结构非常相似^[57]。Holger 等人利用 Biolog-GN 板和 DGGE 指纹图谱技术对种植在大田和温室条件下的转 T4-溶菌酶基因马铃薯和对照品种(不含 T4-溶菌酶基因基因)叶际细菌群落进行了研究,结果表明转基因品种和对照品种的叶际细菌群落极为相似^[58]。上述结果表明了转基因植物对叶际微生物的多样性及叶际微生物生态功能的影响依赖于所转入基因的种类以及植物种类的不同而有所变化,具体机制尚需要更加深入的研究。

4.2 农药的叶际微生物生态效应

农药在保障农业高产稳产方面起到了巨大作用。但是大量施用农药,在杀灭害虫或植物病原菌同时,对其他叶际非靶向微生物的影响也是非常直接的。目前关于农药胁迫对植物叶际微生物多样性影响的研究还很少。

Zhang 等人研究了不同类型、不同剂量的农药对植物叶际微生物群落的影响。结果表明,高效氯氰菊酯农药即使在推荐使用剂量也会引起黄瓜和辣椒叶际微生物群落结构发生显著变化^[13-14]。说明高效氯氰菊酯农药对叶际微生物多样性的负面影响很大。另外的研究表明微生物农药苏云金杆菌(Bt)的施用对辣椒叶际细菌和真菌的数量影响不显著;在施用 Bt 农药 2d 后,G+菌和 G-菌之比略有增加,进一步的 PLFA 主成分效应分析表明,它能改变叶际微生物的群体结构^[59]。而阿维菌素农药对甘蓝叶际微生物群落结构影响的结果则有所不同,高剂量阿维菌素农药处理后甘蓝叶际上有些细菌数量显著增加,但在推荐使用剂量对甘蓝叶际微生物群落结构影响不明显,这说明阿维菌素农药的生态安全性较高^[60]。经高剂量阿维菌素农药和氯氰菊酯农药处理后,有些革兰氏阴性菌的生物量增加。表明这些革兰氏阴性菌能以阿维菌素农药和氯氰菊酯农药作为营养物质来促进自身生长。它们可能对氯氰菊酯和阿维菌素农药有降解作用。而另外一些细菌的消失,说明而这些细菌对氯氰菊酯和阿维菌素农药比较敏感,但可用作氯氰菊酯和阿维菌素农药残留的指示菌^[13-14,59]。说明叶际微生物在农药降解和农药的风险评价方面有着潜在的应用价值。

4.3 纳米材料的环境安全

纳米材料作为一种新型产品已经广泛应用到日常生活中,其所带来的生态效应以及环境安全问题亦成为研究热点。目前,关于纳米材料对叶际微生物的影响还鲜有报道。Wang 等就纳米材料二氧化钛(TiO₂)对黄瓜叶际微生物群落的影响做了细致的研究。PCR-DGGE 结果显示,TiO₂可以导致黄瓜叶际微生物群落结构的改变。sodA-1 和 sodA-2 是编码超氧化物歧化酶的两个不同基因,在含有 sodA-1 和 sodA-2 基因的野生型蜡状芽孢杆菌 905 体内,二氧化钛通过光催化氧化可以使诱导 sodA-1 和 sodA-2 表达,其中 sodA-2 基因表现出

较高的表达量。此外,经 TiO_2 喷施后,与野生型蜡状芽孢杆菌 905 相比,黄瓜叶际的蜡状芽孢杆菌突变菌株 KOS(不含有 *sodA-1* 和 *sodA-2* 基因)细菌数量较野生型蜡状芽孢杆菌 905 有较大减少。这说明光催化纳米材料对环境有着潜在的影响^[61]。

5 结论

叶际作为一个独特的生境,显示了丰富的微生物多样性。叶际微生物作为一种生态学指标在生态稳定与环境安全评价中开始发挥显著的作用。随着分子生态学的发展,对于叶际少数有益细菌和真菌在整个叶际生态环境中的功能也有了一定的认识。但是叶际还有大量的未培养微生物存在,对于它们在整个叶际生态环境中的功能及其和植物的相互作用的关系还不清楚。特别是叶际环境是一个非常不稳定的环境,各种气候因子的变化、植物种类和发育阶段的不同都会造成叶际环境的改变,因此,叶际微生物的生物多样性和功能也受多重因子的影响。这为原位测定叶际微生物生物多样性、揭示叶际微生物生物多样性与生态功能的关系以及植物-微生物的互作关系带来了巨大的挑战。相信随着分子生物学技术的快速发展,叶际微生物生态的研究一定会取得突破性进展。

References:

- [1] Johnson D B. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. *Hydrometallurgy*, 2001, 59:147-157.
- [2] White D C, Flemming C A, Leung K T, Macnaughton S J. In situ microbial ecology for quantitative appraisal, monitoring, and risk assessment of pollution remediation in soils, the subsurface, the rhizosphere and in biofilms. *Journal of Microbiological Methods*, 1998, 32(2): 93-105.
- [3] Jonas F J, Leslie R P, Roger D F. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(1): 1-13.
- [4] Zahra S O, Riccardo T, Berndt G. Plant colonization by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria (PPFMs). *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47(3):319-326.
- [5] Sandhu A, Halverson L J, Beattie G A. Bacterial degradation of airborne phenol in the phyllosphere. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(2): 383-392.
- [6] Blackman J P. *Microbial Ecology of the Phylloplane*. London: Academic Press, 1981: 520.
- [7] Lindow S E, Brandl M T. Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(4): 1875-1883.
- [8] 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.
- [9] Pace N R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 1997, 276: 734-740.
- [10] Tunlid A, Baird B H, Trexler M B. Determination of phospholipid ester-linked fatty acid and poly B-hydroxybutyrate for the stimulation of bacterial biomass and activity in the rhizosphere of the rape plant *Brassica napus* (L.). *Canadian Journal of Microbiology*, 1985, 31: 1113-1119.
- [11] Vestal J R, White D C. Lipid analysis in microbial ecology-quantitative approach to the study of microbial communities. *BioScience*, 1989, 39(8): 535-541.
- [12] Albers B P. *Mikrobiologie von Bodenaggregaten eines Pelosols: Abhängigkeit von Aggregatgröße, Wasserpotential und Substratverfügbarkeit*. Shaker, Aachen: Bayreuth University, 1994.
- [13] Zhang B G, Bai Z H, Hoefel D, Tang L, Wang X Y, Li B J, Li Z M, Zhuang G Q. The impacts of cypermethrin pesticide application on the non-target microbial community of the pepper plant phyllosphere. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(6): 1915-1922.
- [14] Zhang B G, Zhang H X, Jin B, Tang L, Yang J Z, Li B J, Zhuang G Q, Bai Z H. Effect of cypermethrin insecticide on the microbial community in cucumber phyllosphere. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(11): 1356-1362.
- [15] Muyzer G, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1998, 73(1): 127-141.
- [16] Pedraza R O, Bellone C H, Bellone S C, Sorte P M F B, Teixeira K R D S. Azospirillum inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. *European Journal of Soil Biology*, 2009, 45(1): 36-43.
- [17] Ibekwe A M, Grieve C M. Changes in developing plant microbial community structure as affected by contaminated water. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48: 239-248.
- [18] Cancilla M R, Powell I B, Hillier A J, Davidson B E. Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with ³²P and Fluorescent Labels. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(5): 1772-1775.

- [19] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, Forney L J. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(11): 4516-4522.
- [20] Marsh T L. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Current Opinion in Microbiology*, 1999, 2(3): 323-327.
- [21] Berg G, Annette K, Michaela D, Sikora R A, Ulrich A, Hallmann J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 51(2): 215-229.
- [22] Beattie G A, Lindow S E. Bacterial colonization of leaves: A spectrum of strategies. *Phytopathology*, 1999, 89: 353-359.
- [23] Kadivar H, Stapleton A E. Ultraviolet Radiation Alters Maize Phyllosphere Bacterial Diversity. *Microbial Ecology*, 2003, 45(4): 353-361.
- [24] Morris C E, Monier J M, Jacques M A. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. Lindow S E, Hecht-Poinar E I, Elliott V J. *Phyllosphere Microbiology*. St. Paul, Minn: APS Press, 2002.
- [25] Yang C H, Crowley D E, Borneman J, Keen N T. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(7): 3889-3894.
- [26] Gao X H, Gao S H. Pathology analysis about leaves surface of teas. *Chinese Journal of Tea Processing*, 2000, (4): 34-37.
- [27] Handschur M, Pinar G, Gallist B, Lubitz W, Haslberger A G. Culture free DGGE and cloning based monitoring of changes in bacterial communities of salad due to processing. *Food and Chemical Toxicology*, 2005, 43(11): 1595-1605.
- [28] Zwielenhner J, Handschur M, Michaelsen A, Irez S, Demel M, Denner E B, Haslberger A G. DGGE and real-time PCR analysis of lactic acid bacteria in bacterial communities of the phyllosphere of lettuce. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2008, 52(5): 614-623.
- [29] Ursula K, Daniel A N, Wilfried S, Lukas S. Epiphytic microorganisms on strawberry plants (*Fragaria ananassa* cv. *Elsanta*): identification of bacterial isolates and analysis of their interaction with leaf surfaces. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 53(3): 483-492.
- [30] Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, He S Y. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 2006, 126(5): 969-980.
- [31] Andrews J H, Harris R F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, 2000, 38, 145-180.
- [32] Chen S Y, Yang B Y, Gao M Y, Dai S Y. Inhibition of *Sclerotinia* formation of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2005, 11(3): 373-376.
- [33] Fernando W G D, Nakkeeran S, Zhang Y, Savchuk S. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. *Crop Protection*, 2007, 26(2): 100-107.
- [34] Fay A C, Sam L E, Richard J E. Spatial variation in *bacillus thuringiensis cereus* populations within the phyllosphere of broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius*) and surrounding habitats. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 54(3): 417-425.
- [35] Smith R A, Couche G A. The phylloplane as a source of *Bacillus thuringiensis* variants. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(1): 311-315.
- [36] Kampfer P, Ruppel S, Remus R. *Enterobacter radicincitans* sp. nov., a plant growth promoting species of the family *Enterobacteriaceae*. *Systematic and Applied Microbiology*, 2005, 28(3): 213-221.
- [37] Ruppel S, Hecht-Buchholz C, Remus R, Ortmann U, Schmelzer R. Settlement of diazotrophic, phytoeffective bacterial strain *Pantoea agglomerans* on and within winter wheat: an investigation using ELISA and transmission electron microscopy. *Plant Soil*, 1992, 145(2): 261-273.
- [38] Ruppel S, Merbach W. Effect of ammonium and nitrate on $^{15}\text{N}_2$ -fixation of *Azospirillum* spp. and *Pantoea agglomerans* in association with wheat plants. *Microbiological Research*, 1997, 152, 377-383.
- [39] Scholz C, Remus R, Zielke R. Development of DAS-ELISA for some selected bacteria from the rhizosphere. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 1991, 146(3): 197-207.
- [40] Koenig R L, Morris R O, Polacco J C. tRNA Is the Source of Low-Level *trans*-Zeatin Production in *Methylobacterium* spp. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(7): 1832-1842.
- [41] Doronina N V, Ivanova E G, Trotsenko I. New evidence for the ability of methylobacteria and methanotrophs to synthesize auxins. *Microbiology*, 2002, 71(1): 116-118.
- [42] Basile D V, Basile M R, Li Q Y, Corpe W A. Vitamin B₁₂ stimulated growth and development of *Jungermannia leiantha* Grolle and *Gymnocolea inflata* Dum. (Hepaticae). *The Bryologist*, 1985, 88, 77-81.
- [43] Egamberdiyeva D, H flich G. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(7): 973-978.
- [44] Ruinen J. Nitrogen fixation in the phyllosphere//W. Stewart D. P. ed. *Nitrogen Fixation by Free-living Microorganisms*. International Biological Programme 6. London: Cambridge University Press, 1975: 85-100.

- [45] Vasantharajan V N, Bhat J V. Interrelations of microorganisms and mulberry. II. Phyllosphere microflora and nitrogen fixation in leaf and root surfaces. *Plant Soil*, 1968, 28: 258-267.
- [46] Bessems E P M. Nitrogen fixation in the phyllosphere of Gramineae. Agricultural research report. Wageningen: Bibliolife Press, 1973: 786.
- [47] Murty M G. Phyllosphere of cotton as a habitat for diazotrophic microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984, 48(4): 713-718.
- [48] Bargabus R L, Zidack N K, Sherwood J E, Jacobsen B J. Characterisation of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phyllosphere-colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2002, 61(5): 289-298.
- [49] Baffi M A, Sanchez S R, Iranzo J B U, Pérez A M B. Molecular identification of filamentous fungi from olive phyllosphere and investigation of their biotechnological properties. *New Biotechnology*, 2009, 25(Supplement 1): 66.
- [50] Inácio J, Portugal L, Spencer-M I. Phylloplane yeasts from Portugal: seven novel anamorphic species in the Tremellales lineage of the Hymenomycetes (*Basidiomycota*) producing orange-coloured colonies. *FEMS Yeast Research*, 2005, 5(12): 1167-1183.
- [51] Melissa F L, João I, Álvaro F, Vainstein M H, Valente P. *Cryptococcus bromeliarum* sp. nov., an orange-coloured basidiomycetous yeast isolated from bromeliads in Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59, 910-913.
- [52] Davey M L, Nybakken L, Kauserud H, Ohlson M. Fungal biomass associated with the phyllosphere of bryophytes and vascular plants. *Mycological Research*, 2009, 113(11): 1254-1260.
- [53] Lindahl B, Boberg J, Chapter 10 distribution and function of litter basidiomycetes in coniferous forests. Lynne B, Juliet C F, van West P. *British Mycological Society Symposia Series*. Oxford: Academic Press, 2008, 28: 183-196.
- [54] Avis T J, B langer R R. Mechanisms and means of detection of biocontrol activity of *Pseudozyma* yeasts against plant-pathogenic fungi. *FEMS Yeast Research*, 2002, 2(1): 5-8.
- [55] Dimakopoulou M, Tjamos S E, Antoniou P P, Pietri A, Battilani P, Avramidis N, Markakis E A, Tjamos E C. Phyllosphere grapevine yeast *Aureobasidium pullulans* reduces *Aspergillus carbonarius* (sour rot) incidence in wine-producing vineyards in Greece. *Biological Control*, 2008, 46(2): 158-165.
- [56] Cirvilleri G, Spina S, Iacona C, Catara A, Muleo R. Study of rhizosphere and phyllosphere bacterial community and resistance to bacterial canker in genetically engineered phytochrome A cherry plants. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(10): 1107-1119.
- [57] O'Callaghan M, Gerard E M, Bell N L, Waipara N W, Aalders L T, Baird D B, Conner A J. Microbial and nematode communities associated with potatoes genetically modified to express the antimicrobial peptide magainin and unmodified potato cultivars. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(6): 1446-1459.
- [58] Holger H, Kornelia S. Bacterial phyllosphere communities of *Solanum tuberosum* L. and T4-ysozyme-producing transgenic variants. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 28: 357-371.
- [59] Zhang B G, Bai Z H, Hoefel D, Tang L, Yang Z G, Zhuang G Q, Yang J Z, Zhang H X. Assessing the impact of the biological control agent *Bacillus thuringiensis* on the indigenous microbial community within the pepper plant phyllosphere. *Fems Microbiology Letters*, 2008, 284(1): 102-108.
- [60] Zhang B G, Tang L, Li Z M, Wang H L, Xu W T, Zhang H X, Zhuang G Q, Bai Z H. Effect of abamectin insecticide on the microbial community in Broccoli phyllosphere. *Journal of Environmental Science*, 2009, 30(5): 1292-1297.
- [61] Wang S, Chang L Y, Wang Y J, Wang Q, Yang C H, Mei R H. Nanoparticles affect the survival of bacteria on leaf surfaces. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 68(2): 182-191.

参考文献:

- [26] 高旭晖,高曙晖. 茶树叶面微域环境的病理剖析. *中国茶叶加工*, 2000, (4): 34-37.
- [32] 陈士云,杨宝玉,高梅影,戴顺英. 一株抑制油菜核盘菌菌核形成的解淀粉芽孢杆菌. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(3): 373-376.
- [60] 张保国,唐玲,李祖明,王会利,许雯婷,张洪勋,庄国强,白志辉. 阿维菌素杀虫剂对甘蓝叶际微生物群落结构的影响. *环境科学*, 2009, 30(5): 1292-129.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 2 January, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Sex ratio and spatial pattern in <i>Populus davidiana</i> in Changbai Mountain	PAN Chunfang, ZHAO Xiuhai, XIA Fucui, et al (297)
The relationship between freeze-tolerance and changes in activities of antioxidant enzymes and osmolyte content in the leaves of white clover during early winter freeze-thaw cycles	ZHAO Mei, ZHOU Ruilian, LIU Jianfang, et al (306)
Gray correlation analysis on naturalness of the primary forest types on the Losses Plateau	WANG Naijiang, LIU Zengwen, XU Zhao, et al (316)
Photosynthetic responses of <i>Gracilaria lemaneiformis</i> to two antibiotics	JIAN Jianbo, ZOU Dinghui, LIU Wenhua, et al (326)
Litter C:N:P ecological stoichiometry character of plant communities in typical Karst Peak-Cluster Depression	PAN Futing, ZHANG Wei, WANG Kelin, et al (335)
Effects of groundwater depth on the gas exchange and chlorophyll fluorescence of <i>Populus euphratica</i> in the lower reaches of Tarim River	CHEN Yapeng, CHEN Yaning, XU Changchun, et al (344)
Monitoring and assessment of vegetation variation in Northern Shaanxi based on MODIS/NDVI	SONG Fuqiang, XING Kaixiong, LIU Yang, et al (354)
Effects of fire on the structure of herbage synusia vegetation in desertified steppe, North China	HE Haoyu, SU Jieqiong, HUANG Lei, et al (364)
Physiological responses of four broadleaved seedlings to drought stress simulated by PEG	FENG Huifang, XUE Li, REN Xiangrong, et al (371)
Effects of the different width of urban green belts on the temperature and humidity	ZHU Chunyang, LI Shuhua, JI Peng, et al (383)
Diversity of waterbirds and change in home range of bar-headed geese <i>Anser indicus</i> during breeding period at Hangcuo Lake of Tibet, China	ZHANG Guogang, LIU Dongping, QIAN Fawen, et al (395)
The habitat selection of Giant panda in Wanglang Nature Reserve, Sichuan Province, China	KANG Dongwei, KANG Wen, TAN Liuyi, et al (401)
Effects of vigilance on the patterns of functional responses of foraging in voles (<i>Microtus fortis</i>)	TAO Shuanglun, YANG Xifu, DENG Kaidong, et al (410)
Influence of heavy metal pollution on soil animal community in Luqiao, Taizhou City	BAI Yi, SHI Shidi, QI Xin, et al (421)
Annual quantitative distribution of meiofauna in relation to sediment environment in Qingdao Bay	DU Yongfen, XU Kuidong, LEI Yanli, et al (431)
Population genetic variations and phylogeography of <i>Macropodus opercularis</i>	WANG Peixin, BAI Junjie, HU Yinchang, et al (441)
Contribution of C ₃ and C ₄ host plants for the overwintering and 1 st generation of <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner) in Northern China ..	YE Lefu, FU Xue, GE Feng (449)
Relationships between two species of insect pests and their natural enemies in tea gardens of three different altitudes	BI Shoudong, KE Shengbing, XU Jinfeng, et al (455)
The diversity of ground-dwelling beetles at cultivated land and restored habitats on the Bashang plateau	LIU Yunhui, YU Zhenrong, WANG Changliu, et al (465)
Characteristics of soil microbial communities under dry and wet condition in Zoige alpine wetland	NIU Jia, ZHOU Xiaoqi, JIANG Na, et al (474)
Microbial diversity of the jujube (<i>Zizyphus jujuba</i> Mill.) fruits surface during harvesting and storage stages	SHA Yuexia (483)
Effects of powdery mildew infection on zucchini growth under elevated CO ₂ and temperature	LIU Junzhi, GE Yaming, Pugliese Massimo, et al (491)
Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi on soil aggregation dynamics of neutral purple soil	PENG Sili, SHEN Hong, YUAN Junji, et al (498)
The bacterial community structures in Xinjiang fault belt spring analyzed by PCR-DGGE	WU Jiangchao, GAO Xiaoqi, ZENG Jun, et al (506)
The impact of oil pollution on marine phytoplankton community growth change	HUANG Yijun, CHEN Quanzhen, ZENG Jiangning, et al (513)
Root morphological and physiological responses of rice seedlings with different tolerance to cadmium stress	HE Junyu, REN Yanfang, WANG Yangyang, et al (522)
Non-point pollution control for landscape conservation analysis based on CLUE-S simulations in Miyun County	PAN Ying, LIU Yunhui, WANG Jing, et al (529)
Analysis on ecological land rent based on ecological footprint	LONG Kaisheng, CHEN Ligen, ZHAO Yali (538)
Relationship of vegetation degradation classification and landscape accessibility classification in Shenzhen	LIU Yufan, CHEN Xue, LI Guicai, et al (547)
Review and Monograph	
Risk management approaches for environmental and human health risks in the United States and Canada	HE Guizhen, LÜ Yonglong (556)
Plant wax and its response to environmental conditions: an overview	LI Jingjing, HUANG Junhua, XIE Shucheng (565)
Acid corrosion mechanism of the sulfate-reducing bacteria and protecting studies in oilfield	ZHUANG Wen, CHU Liye, SHAO Hongbo (575)
Advance in the research of phyllospheric microorganism	PAN Jiangang, HU Qing, QI Hongyan, et al (583)

2009 年度生物学科总被引频次和影响力因子前 10 名期刊*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响力因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响力因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

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 31 卷 第 2 期 (2011 年 1 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 2 2011

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:100717	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		

