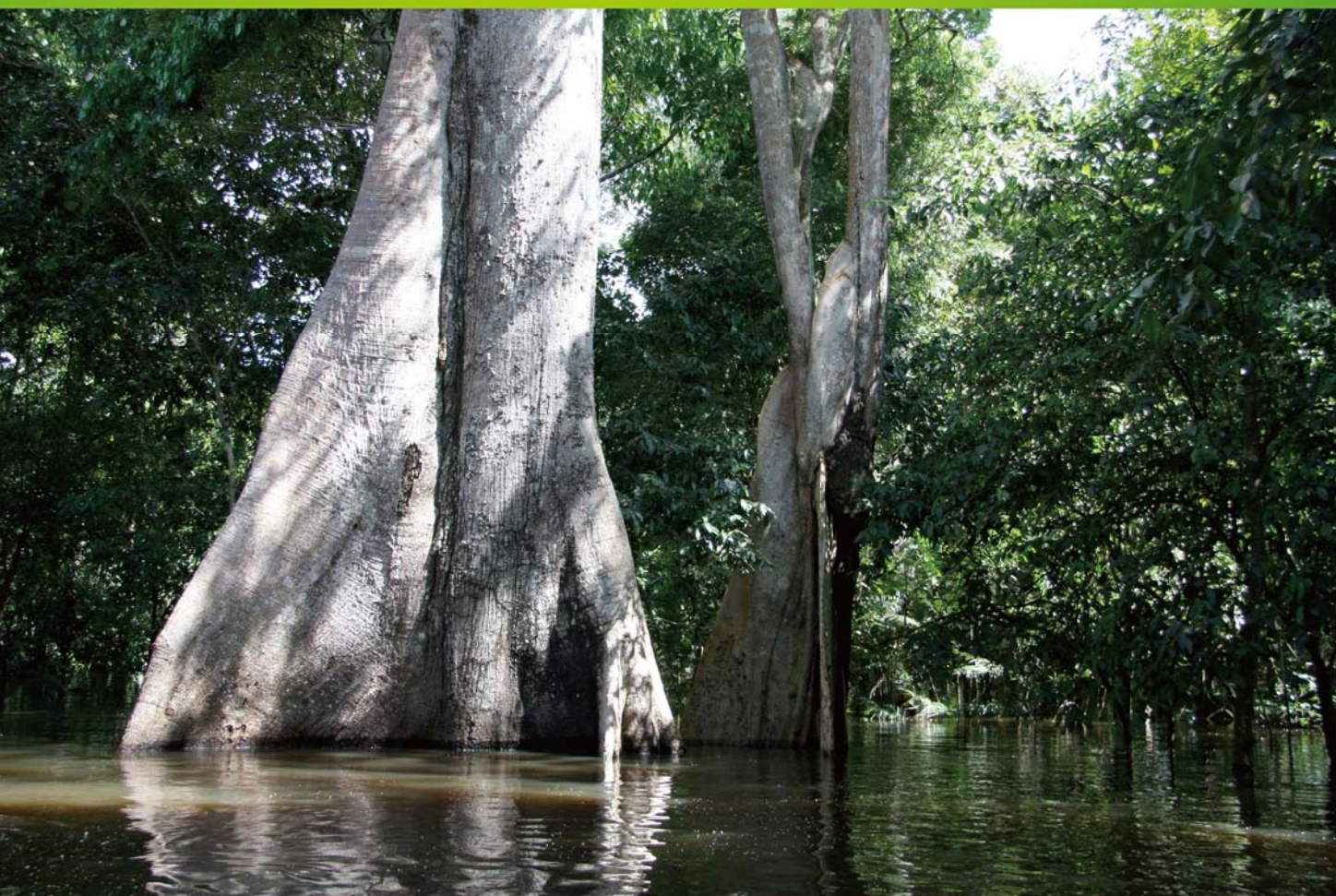


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

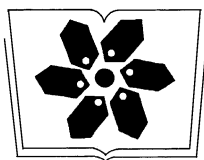
Acta Ecologica Sinica



第31卷 第8期 Vol.31 No.8 **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 8 期

2011 年 4 月 (半月刊)

目 次

塔里木河下游胡杨径向生长与地下水的关系·····	安红燕,徐海量,叶 茂,等 (2053)
冲积平原区高程因子对土壤剖面质地构型的影响——以封丘县为例·····	檀满枝,密术晓,李开丽,等 (2060)
臭氧胁迫对大豆叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响·····	王俊力,王 岩,赵天宏,等 (2068)
重要理化因子对小球藻生长和油脂产量的影响·····	张桂艳,温小斌,梁 芳,等 (2076)
北亚热带马尾松净生产力对气候变化的响应·····	程瑞梅,封晓辉,肖文发,等 (2086)
亚热带沟叶结缕草草坪土壤呼吸·····	李熙波,杨玉盛,曾宏达,等 (2096)
UV-B 辐射对马尾松凋落叶分解和养分释放的影响·····	宋新章,张慧玲,江 洪,等 (2106)
干旱胁迫下内生真菌感染对羽茅的生理生态影响·····	韩 荣,李 夏,任安芝,等 (2115)
蜜环菌对锌的耐性和富集特性·····	朱 林,程显好,李维焕,等 (2124)
干旱荒漠区狭叶锦鸡儿灌丛扩展对策·····	张建华,马成仓,刘志宏,等 (2132)
黄土高原区不同植物凋落物搭配对土壤微生物量碳、氮的影响·····	王春阳,周建斌,夏志敏,等 (2139)
内蒙古典型草原克氏针茅与冰草的生存策略·····	孙 建,刘 苗,李胜功,等 (2148)
荒漠沙柳根围 AM 真菌的空间分布·····	贺学礼,杨 静,赵丽莉 (2159)
开放式昼夜不同增温对单季稻影响的试验研究·····	董文军,邓艾兴,张 彬,等 (2169)
醉马草免培养内生细菌的多样性·····	张雪兵,史应武,曾 军,等 (2178)
河南生态足迹驱动因素的 Hi_PLS 分析及其发展对策·····	贾俊松 (2188)
禹城市耕地土壤盐分与有机质的指示克里格分析·····	杨奇勇,杨劲松,余世鹏 (2196)
旋覆花提取物对朱砂叶螨的生物活性及酶活性的影响·····	段丹丹,王有年,成 军,等 (2203)
白洋淀湖滨湿地岸边带氨氧化古菌与氨氧化细菌的分布特性·····	叶 磊,祝贵兵,王 雨,等 (2209)
干旱胁迫条件下 6 种喀斯特主要造林树种苗木叶片水势及吸水潜能变化·····	王 丁,姚 健,杨 雪,等 (2216)
桉树人工林物种多样性变化特征·····	刘 平,秦 晶,刘建昌,等 (2227)
海河流域湿地生态系统服务功能价值评价·····	江 波,欧阳志云,苗 鸿,等 (2236)
芦苇在微咸水河口湿地甲烷排放中的作用·····	马安娜,陆健健 (2245)
云南不同土壤铅背景值下大叶茶种群对铅的吸收积累特征及其遗传分化·····	刘声传,段昌群,李振华,等 (2253)
长江口和杭州湾凤鲚胃含物与海洋浮游动物的种类组成比较·····	刘守海,徐兆礼 (2263)
江西大岗山地区 7—9 月降水量的重建与分析·····	乔 磊,王 兵,郭 浩,等 (2272)
山核桃免耕经营的经济效益和生态效益·····	王正加,黄兴召,唐小华,等 (2281)
基于 GIS 的广州市中心城区城市森林可达性分析·····	朱耀军,王 成,贾宝全,等 (2290)
专论与综述	
土壤呼吸温度敏感性的影响因素和不确定性·····	杨庆朋,徐 明,刘洪升,等 (2301)
植物代谢速率与个体生物量关系研究进展·····	程栋梁,钟全林,林茂兹,等 (2312)
耕地生态补偿实践与研究进展·····	马爱慧,蔡银莺,张安录 (2321)
问题讨论	
元谋干热河谷三种植被恢复模式土壤贮水及入渗特性·····	刘 洁,李贤伟,纪中华,等 (2331)
研究简报	
中微量元素和有益元素对水稻生长和吸收镉的影响·····	胡 坤,喻 华,冯文强,等 (2341)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 296 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-04



封面图说:巴西热带雨林——美丽的巴西北部玛瑙斯热带雨林景观。位于南美洲的亚马逊河是世界上流域最广、流量最大的河流,孕育了世界面积最大的热带雨林,雨林中蕴藏着极丰富的生物资源。

彩图提供:中国科学院生态环境研究中心徐卫华博士 E-mail:xuweihua@rcees.ac.cn

云南不同土壤铅背景值下大叶茶种群对铅的吸收积累特征及其遗传分化

刘声传^{1,3}, 段昌群^{1,*}, 李振华¹, 梁名志², 罗显扬³

(1. 云南大学环境科学与生态修复研究所暨云南生物资源保护与利用国家重点实验室培育基地, 昆明 650091;

2. 云南省农业科学院茶叶研究所, 勐海 666201; 3. 贵州省农业科学院茶叶研究所, 贵阳 550006)

摘要: 在具有不同土壤铅(Pb)背景值的云南大叶茶主产区, 分析了 11 个大叶茶种群所在地的土壤 Pb 含量, 相应各种群的老、嫩叶 Pb 含量和富集系数, 并利用 ISSR 分子标记研究了这些种群的遗传特征, 以期认识不同大叶茶种群在不同 Pb 背景值下对 Pb 的吸收积累特征及其遗传分化状况。结果表明: (1) 在本研究区域内, 大叶茶种群间土壤 Pb 含量、老叶和嫩叶 Pb 含量、富集系数差异显著, 土壤有效 Pb、嫩叶 Pb 含量分别在 0.78—15.20 mg/kg 和 2.03—7.02 mg/kg 之间, 嫩叶 Pb 富集系数变化范围为 0.001—0.24; 种群内差异小, 例如 P6 种群内嫩叶 Pb 含量在 2.82—2.84 mg/kg 之间, 嫩叶 Pb 富集系数变幅为 0.09—0.10。(2) 筛选的 10 个 ISSR 引物扩增出 81 条带, 平均多态位点百分率(PPB)为 75.25%; Shannon's 指数(*I*)估算出种群间的变异为 34.28%, 利用 POPGENE 软件计算出种群间遗传分化系数 G_{ST} 为 0.3116, 分子方差分析(AMOVA)也显示种群间变异占 35.37% ($P < 0.001$), 表明不同种群的大叶茶出现了遗传分化。(3) UPGMA 聚类分析发现, 11 个种群可分为 5 个类群, 对 Pb 吸收累积能力高的与能力低的种群在聚类分析中存在明显分异; 相关性分析表明, 土壤有效 Pb 含量与 PPB、*I*、Nei's 基因多样性指数(*H*)的 Pearson 相关系数 *r* 分别为 -0.633, -0.786, -0.581 ($P < 0.05$), 土壤有效 Pb 含量与大叶茶种群遗传多样性水平程度不同呈负相关。讨论分析认为, 在土壤 Pb 高背景值条件下, 部分大叶茶种群遗传多样性水平降低, 不同种群对 Pb 的吸收累积能力存在明显差异, 种群间出现了显著的遗传分化。对低铅富集的遗传分化现象的深入研究将可能为遴选拒吸收污染物的洁净种质、在污染条件下进行无公害生产提供新途径。

关键词: 云南大叶茶; 铅; 吸收累积; ISSR; 遗传多样性; 遗传分化

Genetic differentiation and the characteristics of uptake and accumulation of lead among *Camellia sinensis* populations under different background lead concentrations of soils in Yunnan, China

LIU Shengchuan^{1,3}, DUAN Changqun^{1,*}, LI Zhenhua¹, LIANG Mingzhi², LUO Xianyang³

1 Institute of Environmental Sciences and Ecological Restoration & Yunnan Key Laboratory of Bio-Resource Conservation and Utilization, Yunnan University, Kunming 650091, China

2 Tea Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Menghai 666201, China

3 Tea Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China

Abstract: The elucidation of ecological characteristics of plants growing in the soils with high background concentration of lead (HBCL) is important for the breed selection of low Pb-accumulating cultivar. However, relatively little attention has been paid to the population differentiation of lead uptake and accumulation among cultivated plants growing in the HBCL soils. There are abundant broad-leaved tea plantations that are developed in HBCL area in southwest Yunnan, China. In order to investigate genetic differentiation and characteristics of lead (Pb) uptake and accumulation among different populations of Yunnan broad-leaved tea (*Camellia sinensis*) growing in the soils with different HBCL soils, we sampled 11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760049, 31070456); 云南省自然科学基金重点项目(2008GA018); 贵州省科技重大专项课题(2008-6015)

收稿日期: 2010-04-02; **修订日期:** 2010-09-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chqduan@ynu.edu.cn

Camellia sinensis populations from different sites, and analyzed Pb concentrations, Pb accumulation coefficients in old and young leaves, and Pb contents in the soils where the *Camellia sinensis* population samples were obtained. In addition, the inter-simple sequence repeat (ISSR) markers was used to reveal genetic characteristics of the different populations. The results showed that: (1) Pb concentrations in soils, Pb concentrations and accumulation coefficients of old and young leaves were significantly different among the *Camellia sinensis* populations. Available Pb concentrations ranged from 0.78 to 15.20 mg/kg in soils, and Pb concentrations in young leaves varied from 2.03 mg/kg to 7.02 mg/kg. Pb accumulation coefficients of young leaves were in a range of 0.001 – 0.24. However, few differences were observed from intra-population. For example, in P6 population, Pb concentrations in young leaves were from 2.82 to 2.84 mg/kg, and Pb accumulation coefficients of young leaves ranged from 0.09 to 0.10. (2) From 11 *Camellia sinensis* populations 81 bands were amplified with 10 selected ISSR primers, and average polymorphism bands (PPB) were 75.25%. According to the analysis of Shannon's information index (I), 34.28% of genetic variation was presented among populations. The genetic differentiation coefficient (G_{ST}) calculated by POPGENE software was 0.3116. The result was accord with estimation of genetic variation by the analysis of molecular variance (AMOVA), which showed 35.37% of the total genetic diversity ($P < 0.001$) among populations. These data demonstrated that a high proportion of the total genetic differentiation was partitioned among *Camellia sinensis* populations. (3) By means of unweighted pair group method using arithmetic averages (UPGMA), the 11 populations were clustered into 5 groups. The populations with different abilities of Pb uptake and accumulation could be classified into different groups. The Pearson correlation coefficient between available soil Pb concentrations and PPB, I , and Nei's genetic diversity index (H) were -0.633, -0.786 and -0.581, respectively, which indicated available Pb concentrations in soils were moderately or highly negatively correlated with genetic diversity. It was concluded that the genetic diversity in some *Camellia sinensis* populations growing in soils with HBCL decreased. The ability of Pb uptake and accumulation was significantly different in the different populations of *Camellia sinensis*. Significant genetic differentiation could be detected among the *Camellia sinensis* populations. The reduction of Pb uptake in plants caused by genetic differentiation may provide a promising pathway for safe food production when farming lands are polluted and have to be cultivated for food.

Key Words: *Camellia sinensis*; lead; uptake and accumulation; ISSR; genetic diversity; genetic differentiation

铅(Pb)作为一种有毒有害元素,在包括茶叶在内的植物产品中的含量及其对人群健康的影响长期以来广受关注^[1],我国部分茶区中的茶叶 Pb 超标已经对茶叶质量和出口贸易产生了不良影响^[2-3]。如何减少茶叶中 Pb 等重金属残留越来越成为茶叶无公害生产的关键问题^[4]。茶树具有高的遗传多样性,在不同生境下,尤其是长期生长在重金属高背景值条件下,可能会发生变异,在吸收积累有害元素的能力方面将会产生分化。因此,研究不同土壤重金属背景值条件下茶叶重金属含量、富集系数的变化及其与茶树遗传多样性和遗传分化的相关性,对挖掘茶树种质资源、选育具有低吸收积累重金属的洁净种质提供基础资料,具有重要意义。

已有研究表明,不同植物及农作物吸收积累重金属的能力在种间有很大的差异^[5-6],而且,在同一作物的不同品种间也可能有较大差异。如大白菜^[7]、番茄^[8]、水稻^[9]、大麦^[10]等作物的重金属积累量在种间和品种间具有明显差异。植物对重金属吸收累积差异可能是由于在不同环境条件下由外因引起的差异,也可能是由于长期应对重金属胁迫经过遗传变异和适应选择,从而形成了吸收积累重金属特性不同的基因型而导致的^[11]。虽然国内外不少学者研究了茶树对 Pb 的吸收累积特性^[12-14],但在不同土壤 Pb 背景值下,不同茶树种群对 Pb 的吸收累积差异性研究还少见报道;结合不同茶树种群土壤 Pb 背景值、茶树对 Pb 的富集系数和遗传分化进行分析,探讨茶树对 Pb 胁迫的遗传变异也少见研究。分子标记已经成为揭示和分析植物种群遗传变异的重要手段,ISSR 已成为在茶树上可以利用的一种较理想的分子标记方法^[15-17]。为此,本文通过野外调

查、样品分析及应用 ISSR 分子标记技术,研究了云南不同土壤 Pb 背景值下大叶茶(*Camellia sinensis*)种群对 Pb 的吸收积累差异特征,揭示其遗传多样性和遗传分化,为进一步认识大叶茶应对 Pb 污染的生态遗传特征和科学利用茶树资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以云南大叶茶为研究材料。云南大叶茶系原产于云南南部和西南部、树高叶大、多酚类物质含量高的一类茶树的统称,因适制普洱茶和红碎茶在云南具有很长的种植传统。野生种质和栽培种质都十分丰富。同时,云南还是我国“有色金属王国”,元素高背景值区域面积大,范围广,部分大叶茶的茶园就分布在这些 Pb 高背景值异常区中^[18]。

本研究选择云南不同土壤 Pb 背景值环境中的大叶茶种群为研究对象,11 个大叶茶种群的实验材料分别采自云南大叶茶连片分布的 11 个大叶茶茶园中,在每个茶园中心区域设一个采样点,各种群取样点分别编号为 P1, P2, ..., P11。鉴于 P1 和 P6 茶园面积较大,从而取样时按种群内的特点各布设了 3 个(P1-a、P1-b、P1-c)和 2 个(P6-a、P6-b)取样点。2008 年 4 月利用全球定位系统(GPS)布点采样,采样点基本情况见表 1。

表 1 研究材料取样及采集概况

Table 1 The description of sampling sites and studied *Camellia sinensis* populations

种群编号 Population code	采集地点 Sampling sites	北纬 /N	东经 /E	海拔 Altitude/m	ISSR 分析个体数 Individuals of samples for ISSR study
P1	西双版纳易武	22°00'08"	101°28'38"	1441	18
P2	西双版纳大渡岗	22°22'39"	100°57'31"	1380	15
P3	西双版纳南糯山	21°56'27"	100°36'44"	1633	14
P4	西双版纳布朗	21°35'07"	100°24'51"	1630	16
P5	西双版纳勐海	21°59'34"	100°25'19"	1177	14
P6	普洱景迈	22°12'47"	100°01'36"	1569	16
P7	普洱竹塘	24°44'08"	99°47'13"	1725	15
P8	临沧云县	24°19'27"	100°06'05"	1809	13
P9	临沧凤庆	24°33'56"	99°55'09"	1687	16
P10	保山昌宁	24°52'51"	99°36'53"	2028	16
P11	保山施甸	24°33'51"	99°10'33"	2088	17

在茶园中以 S 型布设 6—8 个土壤采样点,在茶树根际周围 60cm 土层中取混合土样。同时,在每个土壤采样点临近采集大叶茶老叶、新梢(主要一芽两叶)和生产枝(茎),分析 Pb 元素的含量。用于 ISSR 分析的 170 个个体分别取自这 11 个大叶茶种群,每个种群随机选择 13—18 个个体,每个个体取 10—15 个 1 芽 2 叶,用硅胶干燥,置于 4℃ 保存直至提取 DNA。

1.2 方法

1.2.1 茶树各器官样品制备

采取的茶树老叶、新梢和生产枝样品用自来水、蒸馏水和去离子水各洗涤 2 次。清洗干净的茶叶样品在室温下风干后在微波炉中杀青,并在 80℃ 的烘箱中烘干,粉碎后过 0.8 mm 孔径筛,保存在磨口瓶中备用。

1.2.2 土壤样品制备

土壤样品风干后,经磨碎后分别过 2mm 和 0.15mm 孔径筛,自封带标记、密封保存备用。

1.2.3 样品 Pb 含量测定

土壤全 Pb 用 HNO₃-HClO₄-HF 消煮法 AAS(原子吸收分光光度法)测定^[19];土壤有效 Pb 用 0.1 mol/L HCl 浸提法 AAS 测定^[19];茎叶 Pb 含量采用干灰化法 AAS 测定^[19]。为保证处理和测定数据的准确性,测定时采用国家一级标准物质茶叶标准样 GBW07605(GSV24)及土壤标准参考样(GBW207405)作为质控标准。

测定都做 3 次重复。

1.2.4 总 DNA 提取

取茶树嫩叶约 0.3g, 加液氮研磨, 采用改进的 CTAB^[20] 法提取 DNA, 风干后溶于 50 μ L TE 缓冲液中, RNA 酶 A 消化, 紫外分光光度计测定 260nm 和 280nm 下的光密度值, 稀释 DNA 浓度到 20ng/ μ L, 贮存于 -20℃ 冰箱中备用。

1.2.5 ISSR 反应体系和反应参数

扩增反应在 PTC-200 thermal cycler (MJ Research Waltham, Massachusetts, USA) 上进行。参照姚明哲等^[21-22]的方法, 经比较优化, 反应系统为: 50ng/ μ L DNA 模板, 10 $\times$ PCR buffer, 2.5 mol/L MgCl₂, 0.1 mmol/L dNTPs, 250nmol/L primer 和 1 U Taq polymerase, 每个引物均设一个空白对照。扩增程序为: 94℃ 预变性 5min; 94℃, 30s, 52℃, 30s, 72℃, 90s, 35 个循环; 最后 72℃ 延伸 15 min。PCR 扩增产物在含有 EB (Ethidium Bromide, 0.1 μ g/mL) 的 1.8% 琼脂糖凝胶上电泳, 0.5 $\times$ TAE 电泳缓冲液, GM335 作为分子量标准, 最后用紫外凝胶成像系统照相, 保存图像。取清晰且重复性好的条带用来分析。

1.2.6 数据处理和分析

(1) 富集系数

富集系数 = 地上部中植物元素含量 / 土壤中元素含量

数据用 SPSS15.0 进行方差、Pearson 相关性及多重比较 LSD 分析^[23]。其中: 0.7 < |r| < 1 表示高度相关; 0.4 < |r| < 0.7 表示中度相关; 0.05 < |r| < 0.4 表示低度相关; |r| < 0.05 表示不相关 (r 表示 Pearson 相关系数)。

(2) ISSR 分析

ISSR 产物按条带的有无分别赋值, 有带记为 1, 无带记为 0。把得到的 0、1 矩阵输入 POPGENE version 1.32^[24] 分析多态位点百分率 (PPB)、Nei's 基因多样性指数 (H)、Shannon 多样性指数 (I)、遗传分化系数 (Gst)、基因流 (N_m)。其中:

$$G_{st} = (H_T - H_{pop}) / H_T$$

式中, H_T 为总种群的平均多样性, H_{pop} 为各种群多样度的平均值。

$$N_m = 0.5(1 - G_{st}) / G_{st}$$

利用 WINAMOVA version 1.55 软件分析遗传变异在种群间和种群内的分布^[25], 利用 MEGA version 4.0 软件进行 UPGMA 聚类分析^[26]。

2 结果与分析

2.1 土壤、茶树茎、叶 Pb 含量

大叶茶种群及其所在地土壤中 Pb 元素含量分布情况见表 2。从表中可以看出, 11 个大叶茶种群立地环境中的土壤全 Pb 含量、有效 Pb 含量分别在 21.64—1497.10 mg/kg 和 0.78—15.20mg/kg 之间, 不同种群所在的立地环境中土壤 Pb 含量差异显著。大叶茶种群间茎、老嫩叶 Pb 累积量也存在显著差异: 茎 Pb 含量、老叶 Pb 含量分别在 9.45—27.99 mg/kg 和 2.89—9.03 mg/kg 之间; 嫩叶 Pb 含量变化范围为 2.03—7.02 mg/kg。在部分种群间, 土壤有效 Pb 含量接近的种群, 它们之间的茎、老叶及嫩叶 3 类器官 Pb 含量出现明显差异, 如 P1-c 种群土壤有效 Pb 含量为 4.45 mg/kg, 与 P10 种群土壤有效 Pb 含量 (4.21 mg/kg) 很接近, 但是 P1-c 种群嫩叶 Pb 含量 (2.03 mg/kg) 比 P10 种群嫩叶 Pb 含量 (4.01 mg/kg) 少了近一半。

LSD 多重比较结果表明, 云南大叶茶 Pb 含量在种群内差异小, 在种群间差异大, 部分种群间对 Pb 的积累能力差异显著。例如, 在 P1 (P1-a、P1-b 和 P1-c) 种群内嫩叶 Pb 含量在 2.03—2.61 mg/kg 之间, P6 (P6-a 和 P6-b) 种群内变幅为 2.82—2.84 mg/kg。

2.2 大叶茶种群间老、嫩叶 Pb 富集系数

富集系数是衡量植物对重金属积累能力大小的一个重要指标, 富集系数越大, 说明植物对重金属吸收转移能力越强^[27]。11 个大叶茶种群 Pb 富集系数见表 3。表中分析结果表明, 种群间老叶 Pb 富集系数、嫩叶 Pb

富集系数分别在 0.002—0.31 和 0.001—0.24 之间。在种群内,P1(P1-a、P1-b 和 P1-c)种群内个体的嫩叶 Pb 富集系数变化范围为 0.05—0.07;P6(P6-a 和 P6-b)种群内个体的嫩叶 Pb 富集系数变幅为 0.09—0.10;种群内老叶 Pb 富集系数变幅类似。结合 LSD 多重比较进一步表明:部分大叶茶种群间 Pb 富集系数差异显著,如嫩叶 Pb 富集系数达到 7 个等级(a—g),而种群内 Pb 富集系数无显著差异。

表 2 11 个大叶茶种群 Pb 元素含量情况*

Table 2 Pb concentrations in 11 *Camellia sinensis* populations

采样点 Sampling sites	Pb 含量 Pb concentration/(mg/kg)				
	土壤全 Pb 含量 Total Pb concentration in soils	土壤有效 Pb 含量 Available Pb concentration in soils	茎 Pb 含量 Pb concentration in stems	老叶 Pb 含量 Pb concentration in old leaves	嫩叶 Pb 含量 Pb concentration in young leaves
P1-a	38.66d ± 2.25	3.65cd ± 0.07	10.71e	3.06ef	2.54df
P1-b	39.67d ± 2.08	2.17e ± 0.04	13.69c	3.51e	2.61d
P1-c	40.36d ± 1.35	4.45bc ± 0.08	11.56de	2.89f	2.03f
P2	28.87e ± 1.99	1.43ef ± 0.06	27.99a	9.03a	7.02a
P3	39.33d ± 1.24	2.68de ± 0.03	12.60cd	3.50e	2.91cd
P4	21.64e ± 2.89	0.78g ± 0.01	12.32d	4.25d	3.01cd
P5	26.20e ± 1.62	2.10e ± 0.03	12.96cd	4.05de	3.03cd
P6-a	27.40e ± 1.12	1.38f ± 0.02	9.45f	3.35ef	2.82d
P6-b	30.76de ± 1.56	1.41f ± 0.03	10.01ef	3.41ef	2.84d
P7	1497.10a ± 30.66	15.20a ± 0.97	20.36b	7.12b	3.78bc
P8	65.49b ± 4.12	7.94b ± 0.72	21.94b	7.03 b	3.51bc
P9	51.47bc ± 2.34	6.94b ± 0.08	20.29b	7.02b	3.12c
P10	40.26d ± 3.44	4.21c ± 0.04	14.05c	6.11c	4.01b
P11	49.57c ± 3.65	6.30b ± 0.08	21.07b	6.02c	3.51bc

* 表中字母为差异水平, $P < 0.05$,字母相同为无差异

表 3 11 个大叶茶种群 Pb 富集系数

Table 3 Pb accumulation coefficients in 11 *Camellia sinensis* populations

采样点 Sampling sites	老叶 Pb 富集系数 Pb accumulation coefficient of old leaves	嫩叶 Pb 富集系数 Pb accumulation coefficient of young leaves	采样点 Sampling sites	老叶 Pb 富集系数 Pb accumulation coefficient of old leaves	嫩叶 Pb 富集系数 Pb accumulation coefficient of young leaves
P1-a	0.08d	0.07e	P1-b	0.09de	0.07e
P1-c	0.07d	0.05f	P2	0.31a	0.24a
P3	0.09de	0.07e	P4	0.20b	0.14b
P5	0.15c	0.12bc	P6-a	0.12cd	0.10cd
P6-b	0.11de	0.09d	P7	0.002e	0.001g
P8	0.11de	0.05f	P9	0.14c	0.06ef
P10	0.15c	0.10cd	P11	0.12cd	0.07e

2.3 大叶茶种群 ISSR 分析

2.3.1 ISSR 引物筛选结果

本实验对所获取的 DNA 进行电泳检测,所提取的茶叶 DNA 分子量约为 21Kb。根据引物筛选的原则,从 16 个 ISSR 引物中筛选出扩增效果好的引物共 10 个(表 4)。用这 10 个引物对所有个体和空白对照进行 PCR 扩增并进行统计分析。

2.3.2 大叶茶种群的遗传多样性

筛选的 10 个 ISSR 引物共扩增出可重复的 81 条带,平均每个引物扩增 8.1 条带,长度在 200—1500 bp 之间(其中用两对引物的扩增结果如图 1 所示),其中 66 条带为多态性条带(表 4),总多态条带百分率(PPB)为 81.48%。进一步统计分析结果见表 5,从表中可以看出,11 个种群的平均多态条带百分率(PPB)为 75.25%,最高的是 P2 种群($PPB=81.61\%$),最低的是 P7 种群($PPB=69.62\%$)。11 个大叶茶种群中,土壤

及茶叶 Pb 含量较高的 P7、P8、P9、P10 和 P11 种群的遗传多样性比其他土壤和茶叶 Pb 含量低的种群低。Pb 矿附近的 P7 种群 Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon's 信息指数(I)和多态条带百分率(PPB)最低,分别为 0.1808、0.2863 和 69.62%,说明 Pb 对大叶茶种群具有明显的选择作用。

表 4 11 个大叶茶种群 ISSR 分析中使用的 10 个引物
Table 4 Attributes of 10 ISSR primers used to generate ISSR markers in 11 *Camellia sinensis* populations

引物 Primer	序列(5' to 3') Sequence 5'to 3'	扩增条带总数 Total amount of bands	多态条带数 Polymorphic bands	多态条带百分率 Percentage of polymorphic bands/%
807	(AG)8T	7	6	85.71
808	(AG)8C	9	8	88.89
815	(CT)8G	7	5	71.43
835	(AG)8YC	9	7	77.78
840	(GA)7G	10	9	90.00
842	(GA)8YG	9	7	77.78
844	(CT)8RC	9	8	88.89
845	(CT)8RG	9	6	66.67
857	(AC)8YG	7	6	85.71
880	(GGAGA)3	5	4	80.00

$R=(A,G); Y=(C,T)$

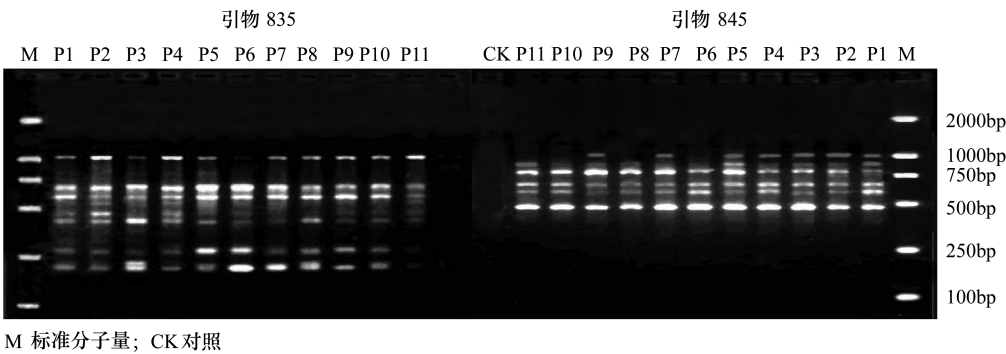


图 1 2 对 ISSR 引物对 11 个大叶茶种群个体基因组 DNA 的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of 11 individuals from *Camellia sinensis* populations isolated by 2 ISSR primer pairs

2.3.3 大叶茶种群的遗传分化

根据表 4、表 5 所呈现的种群内和种群间的遗传分化特征参数可以看出,种群间的 Shannon's 信息指数(I)平均值是 0.3428,说明有 65.72% 的遗传变异存在于种群内,34.28% 的遗传变异存在于种群间。种群间的遗传分化系数 G_{ST} 为 0.3116,表明在总的遗传变异中,31.16% 的遗传分化位于种群间,11 个种群间的基因流 N_m 为 1.1046。

AMOVA 分析结果见表 6,从表中可以看出,35.37% 的遗传变异发生在种群间,64.63% 的遗传变异位于种群内($P < 0.001$)。以上 3 种分析结果表明长期在 Pb 胁迫下大叶茶种群间发生了较高的遗传分化。

为了进一步分析大叶茶种群间的遗传分化关系,应用 MEGA version 4.0 软件,基于种群间的 Nei's 遗传距离,利用 UPGMA 聚类法对 11 个大叶茶种群进行聚类分析(图 2)。

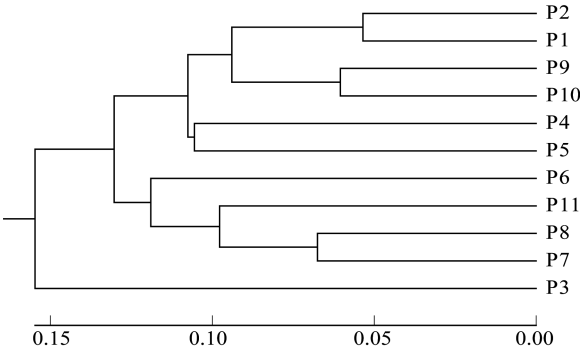


图 2 11 个大叶茶种群的 UPGMA 聚类图
Fig. 2 UPGMA dendrogram among 11 *Camellia sinensis* populations

表 5 11 个大叶茶种群的遗传多样性分析

Table 5 Analysis of genetic diversity of 11 <i>Camellia sinensis</i> populations using ISSR					
种群 Population	多态条带百分率 Polymorphism bands/%	观测等位基因数 Observed number of alleles/ <i>N_a</i>	有效等位基因数 Effective number of alleles/ <i>N_e</i>	Nei's 基因多样性指数 Nei's genetic diversity index (<i>H</i>)	Shannon's 信息指数 Shannon's information index (<i>I</i>)
P1	80.08	1.8608±0.3484	1.4236±0.3741	0.2495±0.1860	0.3839±0.2453
P2	81.61	1.8861±0.3197	1.4306±0.3700	0.2549±0.1815	0.3933±0.2370
P3	75.01	1.8101±0.3947	1.3256±0.3499	0.1983±0.1832	0.3123±0.2498
P4	77.54	1.8354±0.3731	1.3893±0.3491	0.2356±0.1819	0.3642±0.2477
P5	77.54	1.8354±0.3731	1.3856±0.3730	0.2346±0.1861	0.3635±0.2472
P6	78.81	1.8481±0.3612	1.4152±0.3412	0.2519±0.1767	0.3877±0.2402
P7	69.62	1.6962±0.4628	1.2888±0.3240	0.1808±0.1763	0.2863±0.2481
P8	71.15	1.7215±0.4511	1.3930±0.3664	0.2340±0.1885	0.3560±0.2640
P9	70.01	1.8101±0.3947	1.3435±0.3783	0.2289±0.1887	0.3027±0.2548
P10	72.68	1.7215±0.4511	1.3260±0.3699	0.1949±0.1874	0.3031±0.2598
P11	73.75	1.7975±0.4045	1.3203±0.3380	0.1991±0.1736	0.3173±0.2361
平均值 Mean	75.25	1.8021±0.626	1.3674±0.048	0.2238±0.0260	0.3428±0.039
总值 Total	81.48	2.6228±0.3843	2.5674±0.3202	0.3251±0.1640	0.4442±0.2258

表 6 大叶茶种群间和种群内的遗传变异

Table 6 Analysis of molecular variance (AMOVA) respectively from <i>Camellia sinensis</i> intra- and inter-populations						
变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom/ <i>Df</i>	方差总和 Sum of squared differences/SSD	平均平方差 Mean squared deviations/MSD	变异组分 Variance component	变异百分率 Percentage of total variance/%	<i>P</i>
种群间 Inter-populations	10	1590.55	122.35	6.23	35.37	<0.001
种群内 Intra-populations	160	2242.85	11.38	11.38	64.63	<0.001

根据树状聚类图,当以遗传距离为 0.105 左右时,11 个种群可以分为 5 个类群,5 个类群是彼此相异的类元,其中 2 个独立组,3 个复合组,在复合组中又汇集了彼此相似的小群。土壤、茶叶 Pb 含量较低的 P4、P5 两个种群聚为一组,P3、P6 两个种群独自一组;土壤、茶叶 Pb 含量较高的 P7、P8 两个种群聚为一组,P9、P10 两个种群聚为一组;但出现土壤 Pb 含量接近、茶叶中 Pb 含量差异很大的 P1、P2 两个种群聚为一组。

2.4 土壤 Pb、茶叶 Pb、富集系数与大叶茶种群遗传多样性的相关性分析

Pearson 相关性分析结果见表 7。结果表明大叶茶种群遗传多样性分别与土壤全 Pb 含量中度负相关,土壤有效 Pb 含量中度或高度负相关,嫩叶 Pb 含量中度或高度负相关,嫩叶 Pb 富集系数中度正相关,老叶 Pb 含量中度或高度负相关,老叶 Pb 富集系数中度或低度正相关。因 P2 种群紧邻公路、居民区,在分析富集系数、

表 7 土壤 Pb 含量、茶叶 Pb 含量、富集系数与大叶茶种群遗传多样性的相关性分析

Table 7 Correlatation analysis of total and available Pb concentrations in soil, Pb contents and accumulation coefficients of young and old leaves and genetic diversity in <i>Camellia sinensis</i> populations			
变量 Variables	多态条带百分率 Polymorphism bands/%	Nei's 基因多样性指数 Nei's genetic diversity index (<i>H</i>)	Shannon's 信息指数 Shannon's information index (<i>I</i>)
土壤全 Pb 含量 Total Pb concentrations in soil	-0.486	-0.564 *	-0.496
土壤有效 Pb 含量 Available Pb concentrations in soil	-0.633 *	-0.581 *	-0.786 *
嫩叶 Pb 含量 Pb concentrations in young leaves	-0.694 *	-0.736 **	-0.756 *
嫩叶 Pb 富集系数 Accumulation coefficients of young leaves	0.544	0.485	0.662 *
老叶 Pb 含量 Pb concentrations in old leaves	-0.668 **	-0.487	-0.930 **
老叶 Pb 富集系数 Accumulation coefficients of old leaves	0.337	0.428	0.317

* 表示显著相关($P<0.05$), ** 表示极显著相关($P<0.01$)

嫩叶 Pb 含量与大叶茶种群遗传多样相关性时,没有包括 P2 种群。相对于富集系数与大叶茶种群遗传多样的相关性,老嫩叶 Pb 含量、土壤 Pb 含量与大叶茶种群遗传多样的相关性更大。而不少研究表明茶叶铅含量与土壤铅含量正相关^[2,12],表明土壤 Pb 含量对大叶茶遗传多样性的影响更为显著。

3 讨论

3.1 不同云南大叶茶种群对 Pb 的吸收累积性能存在差异性

本研究表明,大叶茶对 Pb 的吸收累积能力在种群间差异显著,在种群内差异较小。这些变化除了与土壤全 Pb、有效 Pb 和土壤理化性质等相关外,更重要的是,长期生长在土壤 Pb 高背景值区的大叶茶种群,在选择作用下对 Pb 的吸收积累作用出现了分化,有的吸收积累 Pb 的能力增强,有的则相反,出现了拒吸收或少吸收 Pb 的现象。这种分化,主要发生在种群间,从而使不同大叶茶种群间对 Pb 的吸收累积能力发生显著性差异。

以往研究人员研究了不同生物对镍(Ni)、镉(Cd)、砷(As)和 Pb 的吸收积累特性^[11,28],发现了种间的差异性,但对物种内吸收积累有害元素的性能存在的分化的报道还不多见。其实,出现这种现象的主要原因可能与植物个体间 Pb 等重金属转运基因的变异有关。植物对 Pb 的富集能力取决于根系对 Pb 的吸收、Pb 从根系向地上部运输、Pb 在地上部的再分配这一系列过程中的多个环节,在这个过程中 Pb 转运基因起关键作用。长期适应不同 Pb 环境胁迫的植物,Pb 转运基因发生了变异^[29],分化出具有不同 Pb 转运能力的基因型。如叶芽拟南芥(*Arabidopsis halleri*)具有多版本 Pb 转运基因 HMA4(Heavy metal ATPases 4),并且能够随着这些基因的调控元件发生改变,以适应 Pb 等重金属胁迫^[30]。笔者曾对这 11 个大叶茶种群个体的 HMA4 基因片段测序分析,发现有 1%—2% 的差异性^[31]。在本研究中部分大叶茶种群间,土壤有效 Pb 含量接近的种群,它们之间的茎、老叶及嫩叶 3 类器官 Pb 累积量、富集系数出现明显差异,表明这种功能基因的差异可能不仅存在个体间,还可能在不同组织器官间存在差异。

3.2 土壤 Pb、茶叶 Pb、富集系数与云南大叶茶种群遗传多样性和遗传分化的关系

本研究表明,云南大叶茶种群的遗传多样性比较高。11 个种群的多态位点百分率(PPB)的变化范围在 69.62%—81.61%,平均为 75.25%,高于常规植物的种群遗传多样性水平。一般认为,物种的进化潜力和抵抗外界不良环境的能力在很大程度上取决于遗传多样性水平的高低。对于一个物种来说,其种群的遗传多样性越丰富,对环境变化的适应能力就越强^[32]。也因为云南大叶茶种群具有较高遗传多样性,从而使该茶树类型成为云南分布最广的茶叶品系。

在本研究中,土壤、茶叶 Pb 含量与大叶茶种群遗传多样性呈一定的负相关性。一般来看,土壤、茶叶 Pb 含量高的种群,遗传多样性往往小于土壤及茶叶 Pb 含量低的种群,其中,土壤 Pb 含量对大叶茶遗传多样性的影响更为突出。例如,生长在土壤 Pb 高背景值异常区的 P7 种群,相比于本研究的另外 10 个大叶茶种群,其老嫩叶 Pb 含量高,种群的遗传多样性最低(PPB 为 69.62%)。从种群生态学的角度来看,植物应对污染或不利环境是一个群体行为,其中总有一些敏感的个体难以适应而被淘汰,伴随这些个体的消失,其蕴涵的、具有特质性的遗传基因也将消失,从而整个种群的遗传多样性水平可能降低。类似的研究如,李钧敏等研究发现受重金属污染的芒萁(*Dicranopteris pedat*)种群的遗传多样性略低于没有被污染的对照种群^[33],田胜尼等对白茅(*Imperata cylindrica*)研究也得出类似结果^[34]。虽然污染会增加少数耐污物种及其种群的遗传多样性,但大多数情况下污染的选择作用会对一般物种及其种群产生选择作用,从而降低遗传多样性,有时形成的小种群还因为遗传漂变更进一步导致遗传多样性减少^[35]。本研究中土壤 Pb 含量高的云南大叶茶种群遗传多样性较低与此密切相关。

本研究的 11 个大叶茶种群间遗传分化系数 G_{ST} 达到 0.3116,表明这些大叶茶种群在 Pb 高背景值条件下发生了一定程度的分化,这种遗传分化还与茶树吸收积累 Pb 的性能具有一定的关联度。在 11 个大叶茶种群中,P1 种群和 P3 种群较其他 9 个种群对 Pb 的吸收累积量和富集系数小,而这两个大叶茶种群与土壤有效 Pb 含量相近,但茶叶 Pb 累积量多的种群在遗传距离上存在显著差异。如 P1-c 种群与 P10 种群的土壤有效 Pb 非常接近,约为 4.45mg/kg,但两个种群嫩叶 Pb 含量相差却很大,P10 种群嫩叶 Pb 含量(4.01 mg/kg)约为

P1-c 种群(2.03 mg/kg)的 2 倍,两个种群存在一定遗传距离,没有聚为一类。此前的相关研究表明,在重金属胁迫环境选择下,植物种群可能发生分化与微进化^[33-34,36]。如前文所述,长期在 Pb 胁迫的环境中,植物种群内将出现不同的适应方式,有的吸收累积 Pb 能力增强成为耐受型,有的减少吸收而成为回避型。在自然种群中,完全的耐受型或回避型可能都不多见,大多数是介入二者之间,可能只是程度不同,在性状特征上可能是数量性状。

如果把不同大叶茶种群对 Pb 的吸收累积特性和遗传分化状况进行综合比较分析,发现 P1、P3 种群在吸收累积 Pb 的能力方面显著低于其他种群,具有低积累 Pb 潜力,且两者遗传多样性高,与其他种群的遗传距离大,尤其是 P3 种群的分化水平更高。这种现象将为未来筛选拒吸收或少吸收 Pb 的洁净种质显示了很好的前景。

在土壤高背景值 Pb 环境的选择作用下,有的大叶茶种群表现出拒吸收或少吸收 Pb 的遗传分化,这对未来茶叶的无公害生产具有积极意义。土壤 Pb 污染一旦发生是难以去除的,而选用不吸收或少吸收 Pb 的清洁种质可以在即使受 Pb 污染的环境中仍然还能生产出符合食品安全标准的茶叶来,这样将给茶叶及相关农业发展带来新途径。但目前有关茶树对 Pb 转运的分子机制还不清楚,对拒吸收或少吸收 Pb 的性状特点及其相关基因的了解还很少,要遴选或培育出拒吸收、少积累 Pb 等重金属的洁净种质还有很长的路要走。

致谢:云南大学环境科学与生态修复研究所张国盛、于福科和刘嫦娥老师,任佳、韩金宝同学,云南省茶叶研究所何青元高级工程师等在取样和室内分析方面给予帮助,熊华斌在分子标记及数据分析上给予帮助,厦门大学严重玲教授、桂林理工大学刘杰博士对写作给予帮助,在此一并致谢。

References:

- [1] Meyer P A, Brown M J, Falk H. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutation Research*, 2008, 659(1/2): 166-175.
- [2] Han W Y, Yang Y J, Liang Y R, Shi Y Z, Ma L F, Ruan J Y, Tang J Y. Pb absorption and accumulation in tea plants. *Journal of Tea Science*, 2009, 29(3): 200-206.
- [3] Cao J, Zhao Y, Li Y, Deng H J, Yi J, Liu J W. Fluoride levels in various black tea commodities: measurement and safety evaluation. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, 44(7): 1131-1137.
- [4] Chen Z M, Ruan J Y, Cai D X, Zhang L J. Tri-dimension pollution chain in tea ecosystem and its control. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(5): 948-958.
- [5] Yan M L, Liu L L, Wang H H, Xiang Y C, Feng T. Accumulation characteristics of cadmium for three plants in red soil. *Journal of Agroenvironment Science*, 2009, 28(1): 72-77.
- [6] Arthu E, Crews H, Morgan C. Optimizing plant genetic strategies for minimizing environmental contamination in the food chain. *International Journal of Phytoremediation*, 2000, 2(1): 1-21.
- [7] Liu W T, Zhou Q X, Sun Y B, Liu R. Variety difference of lead accumulation and translocation in Chinese cabbage(*Brassica pekinensis* L.). *China Environmental Science*, 2009, 29(1): 63-67.
- [8] Zhu F, Fang W, Yang Z Y. Variations of Cd absorption and accumulation of 36 *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(12): 4072-4081.
- [9] Liu J G, Li K Q, Zhang Z J, Lu X L, Yu B Y, Cai Y X, Yang J C, Zhu Q S. Difference of lead uptake and distribution in rice cultivars and its mechanism. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(2): 291-294.
- [10] Tiryakioglu M, Eker S, Ozkutlu F, Husted S, Cakmak I. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2006, 20(3): 181-189.
- [11] Simonsen V, Klok C. Genetic and ecological impacts of heavy metal and flooding stress on the earthworm *Lumbricus rubellus* in floodplains of the Rhine river. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(2): 270-275.
- [12] Shi Y Z, Ma L F, Han W Y, Ruan J Y. Studies of the absorption and accumulation of lead in tea plant. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(11): 1272-1278.
- [13] Han W Y, Zhao F J, Shi Y Z, Ma L F, Ruan J Y. Scale and causes of lead contamination in Chinese tea. *Environmental Pollution*, 2006, 139(1): 125-132.
- [14] Mohammad A Z, Anoshiravan M B, Mohammad S. Cadmium and lead content in Iranian consumed tea(*Camellia sinensis*) and in differently prepared tea infusions. *Toxicology Letters*, 2008, 180(6): 253-256.
- [15] Yao M Z, Chen L, Liang Y R. Genetic diversity and relationship among tea cultivars(*Camellia sinensis*) from China, Japan and Kenya revealed by ISSR markers and its implication for parental selection in tea breeding programs. *Plant Breeding*, 2008, 127(2): 166-172.
- [16] Borchetta S, Das S C, Handique P J, Das S. High multiplication frequency and genetic stability for commercialization of the three varieties of micropropagated tea plants(*Camellia* spp). *Scientia Horticulturae*, 2009, 120(4): 544-550.
- [17] Thomas J, Vijayan D, Joshi S D, Lopez S J, Kumar R R. Genetic integrity of somaclonal variants in tea(*Camellia sinensis*(L.) O Kuntze) as

- revealed by inter simple sequence repeats. *Journal of Biotechnology*, 2006, 123(2): 149-154.
- [18] Duan C Q, Wang H H, Yang S L. *Pollution-free Vegetable Production Theory and Control Technology*. Beijing: Science Press, 2006: 275-293.
- [19] Liu G S. *Soil Physical and Chemical Analysis and Profile Description*. Beijing: Standards Press of China, 1996.
- [20] Doyle J J. DNA protocols for plants-CTAB total DNA isolation // Hewitt G M, Johnston A, eds. *Molecular Techniques in Taxonomy*. Berlin: Springer-Verlag, 1991: 283-293.
- [21] Yao M Z, Huang H T, Yu J Z, Chen L. Analysis on applicability of ISSR in molecular identification and relationship investigation of tea cultivars. *Journal of Tea Science*, 2005, 25(2): 153-157.
- [22] Yao M Z, Chen L, Wang X C, Zhao L P, Yang Y J. Genetic diversity and relationship of clonal tea cultivars in China revealed by ISSR markers. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(4): 598-604.
- [23] Li C X, Wang Z H, Wang W L. *Biostatistics*. Beijing: Science Press, 2003: 86-90.
- [24] Yeh F C, Jang R C, Boyle T B J, Yeh Z H, Mao J X. POPGENE version 1.32, The User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999.
- [25] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 1992, 131(2): 479-491.
- [26] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis(MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [27] Hao X Z, Zhou D M, Huang D Q, Cang L, Zhang H L, Wang H. Heavy metal transfer from soil to vegetable in southern Jiangsu Province, China. *Pedosphere*, 2009, 19(3): 305-311.
- [28] Shi Y Z, Ruan J Y, Ma L F, Han W Y, Wang F. Absorption and accumulation of As and Cd in tea. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22(3): 70-75.
- [29] Colangelo E P, Gueriot M L. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Plant Biology*, 2006, 9(3): 322-330.
- [30] Hanikenne M, Talke I N, Haydon M J, Lanz C, Nolte A, Motte P, Kroymann J, Weigel D, Kramer U. Evolution of metal hyperaccumulation required cis-regulatory changes and triplication of HMA4. *Nature*, 2008, 453(7193): 391-395.
- [31] Liu S C. Ecological differentiation and molecular ecological analysis of *Camellia sinensis* under different background values of toxic elements (MI). Kunming: Yunnan University, 2009.
- [32] Wang Z J, Huang Y J, Guo C Y, Huang J Q, Wang H F. RAPD analysis on genetic diversity of *Carya dabieshanensis* populations. *Journal of Plant Ecology*, 2006, 30(3): 534-538.
- [33] Li J M, Jin Z X, Zhu H C, Ke S S. RAPD analysis on the genetic differentiation of *Dicranopteris pedata* population exposed to heavy metals pollution. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(2): 171-176.
- [34] Tian S N, Wang Z F, Gao S H, Hao Y R, Peng S L. Genetic diversity of *Imperata cylindrica* populations colonizing on the metal tailings waste lands by ISSR technique. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2006, 45(4): 87-92.
- [35] Bickham J W, Sandhu S, Hebert P D, Chikhi L, Athwal R. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation Research*, 2000, 463(1): 33-51.
- [36] Wen C H, Duan C Q, Chang X X, Wang H B, Wang H X. Differentiation in *Datura stramonium* L. populations exposed to heavy-metal pollution at different durations: RAPD analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(8): 1239-1245.

参考文献:

- [2] 韩文炎, 杨亚军, 梁月荣, 石元值, 马立峰, 阮建云, 唐嘉义. 茶树体内铅的吸收累积特性研究. *茶叶科学*, 2009, 29(3): 200-206.
- [4] 陈宗懋, 阮建云, 蔡典雄, 章力建. 茶树生态系中的立体污染链与阻隔. *中国农业科学*, 2007, 40(5): 948-958.
- [5] 严明理, 刘丽莉, 王海华, 向言词, 冯涛. 3种植物对红壤中镉的富集特性研究. *农业环境科学学报*, 2009, 28(1): 72-77.
- [7] 刘维涛, 周启星, 孙约兵, 刘睿. 大白菜对铅积累与转运的品种差异研究. *中国环境科学*, 2009, 29(1): 63-67.
- [8] 朱芳, 方炜, 杨中艺. 番茄吸收和积累 Cd 能力的品种间差异. *生态学报*, 2006, 26(12): 4072-4081.
- [9] 刘建国, 李坤权, 张祖建, 陆小龙, 余碧玉, 蔡一霞, 杨建昌, 朱庆森. 水稻不同品种对铅吸收、分配的差异及机理. *应用生态学报*, 2004, 15(2): 291-294.
- [12] 石元值, 马立峰, 韩文炎, 阮建云. 铅在茶树中的吸收累积特性. *中国农业科学*, 2003, 36(11): 1272-1278.
- [18] 段昌群, 王红华, 杨双兰. *无公害蔬菜生产理论与调控技术*. 北京: 科学出版社, 2006: 275-293.
- [19] 刘光崧. *土壤理化分析与剖面描述*. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [21] 姚明哲, 黄海涛, 余继忠, 陈亮. ISSR 在茶树品种分子鉴别和亲缘关系研究中的适用性分析. *茶叶科学*, 2005, 25(2): 153-157.
- [22] 姚明哲, 陈亮, 王新超, 赵丽萍, 杨亚军. 我国茶树无性系品种遗传多样性和亲缘关系的 ISSR 分析. *作物学报*, 2007, 33(4): 598-604.
- [23] 李春喜, 王志和, 王文林. *生物统计学*. 北京: 科学出版社, 2003: 86-90.
- [28] 石元值, 阮建云, 马立峰, 韩文炎, 王方. 茶树中镉、砷元素的吸收累积特性. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(3): 70-75.
- [31] 刘声传. 不同土壤有害元素背景值条件下云南大叶茶(*Camellia sinensis*)的生态分化及其分子生态分析. 昆明: 云南大学硕士学位论文, 2009.
- [32] 王正加, 黄有军, 郭传友, 黄坚钦, 王华芳. 大别山山核桃种群遗传多样性研究. *植物生态学报*, 2006, 30(3): 534-538.
- [33] 李钧敏, 金则新, 朱慧慈, 柯世省. 重金属污染芒其居群遗传分化的 RAPD 分析. *生态学杂志*, 2007, 26(2): 171-176.
- [34] 田胜尼, 王峥峰, 高三红, 郝艳茹, 彭少麟. 用 ISSR 分子标记检测不同尾矿废弃地白茅居群的遗传多样性. *中山大学学报*, 2006, 45(4): 87-92.
- [36] 文传浩, 段昌群, 常学秀, 王宏斌, 王焕校. 重金属污染下曼陀罗种群分化的 RAPD 分析. *生态学报*, 2001, 21(8): 1239-1245.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 8 April, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

The relationship between <i>Populus euphratica</i> 's radial increment and groundwater level at the lower reach of Tarim River	AN Hongyan, XU Hailiang, YE Mao, et al (2053)
Influence of elevation factor on soil profile texture configuration: a case study of the alluvial plain of Fengqiu County	TAN Manzhi, MI Shuxiao, LI Kaili, et al (2060)
Effects of ozone on AsA-GSH cycle in soybean leaves	WANG Junli, WANG Yan, ZHAO Tianhong, et al (2068)
The effects of physical and chemical factors on the growth and lipid production of <i>Chlorella</i>	ZHANG Guiyan, WEN Xiaobin, LIANG Fang, et al (2076)
Response of net productivity of masson pine plantation to climate change in North Subtropical Region	CHENG Ruimei, FENG Xiaohui, XIAO Wenfa, et al (2086)
Soil respiration of <i>Zoysia matrella</i> turfgrass in subtropics	LI Xibo, YANG Yusheng, ZENG Hongda, et al (2096)
Effect of UV-B radiation on the leaf litter decomposition and nutrient release of <i>Pinus massoniana</i>	SONG Xinzhang, ZHANG Huiling, JIANG Hong, et al (2106)
Physiological ecological effect of endophyte infection on <i>Achnatherum sibiricum</i> under drought stress	HAN Rong, LI Xia, REN Anzhi, et al (2115)
Zinc Tolerance and Accumulation Characteristics of <i>Armillaria mellea</i>	ZHU Lin, CHENG Xianhao, LI Weihuan, et al (2124)
Expansion strategies of <i>Caragana stenophylla</i> in the arid desert region	ZHANG Jianhua, MA Chengcang, LIU Zhihong, et al (2132)
Effects of mixed plant residues from the Loess Plateau on microbial biomass carbon and nitrogen in soil	WANG Chunyang, ZHOU Jianbin, XIA Zhimin, et al (2139)
Survival strategy of <i>Stipa krylovii</i> and <i>Agropyron cristatum</i> in typical steppe of Inner Mongolia	SUN Jian, LIU Miao, LI Shenggong, et al (2148)
Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in <i>Salix psammophila</i> root-zone soil in Inner Mongolia desert	HE Xueli, YANG Jing, ZHAO Lili (2159)
An experimental study on the the effects of different diurnal warming regimes on single cropping rice with Free Air Temperature Increased (FATI) facility	DONG Wenjun, DENG Aixing, ZHANG Bin, et al (2169)
Endophytic bacterial diversity in <i>Achnatherum inebrians</i> by culture-independent approach	ZHANG Xuebing, SHI Yingwu, ZENG Jun, et al (2178)
Hierarchical Partial Least Squares (Hi_PLS) model analysis of the driving factors of Henan's Ecological Footprint (EF) and its development strategy	JIA Junsong (2188)
Evaluation on spatial distribution of soil salinity and soil organic matter by indicator Kriging in Yucheng City	YANG Qiyong, YANG Jinsong, YU Shipeng (2196)
The toxicity of lupeol of <i>Inula britannica</i> on <i>Tetranychus cinnabarinus</i> and its effects on mite enzyme activity	DUAN Dandan, WANG Younian, CHENG Jun, et al (2203)
Abundance and biodiversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in littoral wetland of Baiyangdian Lake, North China	YE Lei, ZHU Guibing, WANG Yu, et al (2209)
Changes of leaf water potential and water absorption potential capacities of six kinds of seedlings in Karst mount area under different drought stress intensities: Taking six forestation seedlings in karst Mountainous region for example	WANG Ding, YAO Jian, YANG Xue, et al (2216)
Comparison of structure and species diversity of <i>Eucalyptus</i> community	LIU Ping, QIN Jing, LIU Jianchang, et al (2227)
Ecosystem services valuation of the Haihe River basin wetlands	JIANG Bo, OUYANG Zhiyun, MIAO Hong, et al (2236)
Effects of <i>Phragmites australis</i> on methane emission from a brackish estuarine wetland	MA Anna, LU Jianjian (2245)
Genetic differentiation and the characteristics of uptake and accumulation of lead among <i>Camellia sinensis</i> populations under different background lead concentrations of soils in Yunnan, China	LIU Shengchuan, DUAN Changqun, LI Zhenhua, et al (2253)
Comparison of zooplankton lists between <i>Coilia mystus</i> food contents and collections from the Yangtze River Estuary & Hangzhou Bay	LIU Shouhai, XU Zhaoli (2263)
Reconstruction and analysis of July-September precipitation in Mt. Dagangshan, China	QIAO Lei, WANG Bing, GUO Hao, et al (2272)
Analysis on economic and ecological benefits of no-tillage management of <i>Carya cathayensis</i>	WANG Zhengjia, HUANG Xingzhao, TANG Xiaohua, et al (2281)
GIS-based analysis of the accessibility of urban forests in the central city of Guangzhou, China	ZHU Yaojun, WANG Cheng, JIA Baoquan, et al (2290)
Review and Monograph	
Impact factors and uncertainties of the temperature sensitivity of soil respiration	YANG Qingpeng, XU Ming, LIU Hongsheng, et al (2301)
The advance of allometric studies on plant metabolic rates and biomass	CHENG Dongliang, ZHONG Quanlin, LIN Maozi, et al (2312)
Practice and the research progress on eco-compensation for cultivated land	MA Aihui, CAI Yinying, ZHANG Anlu (2321)
Discussion	
Soil water holding capacities and infiltration characteristics of three vegetation restoration models in dry-hot valley of Yuanmou	LIU Jie, LI Xianwei, JI Zhonghua, et al (2331)
Scientific Note	
Effects of secondary, micro- and beneficial elements on rice growth and cadmium uptake	HU Kun, YU Hua, FENG Wenqiang, et al (2341)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 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 8 期 (2011 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 8 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		



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