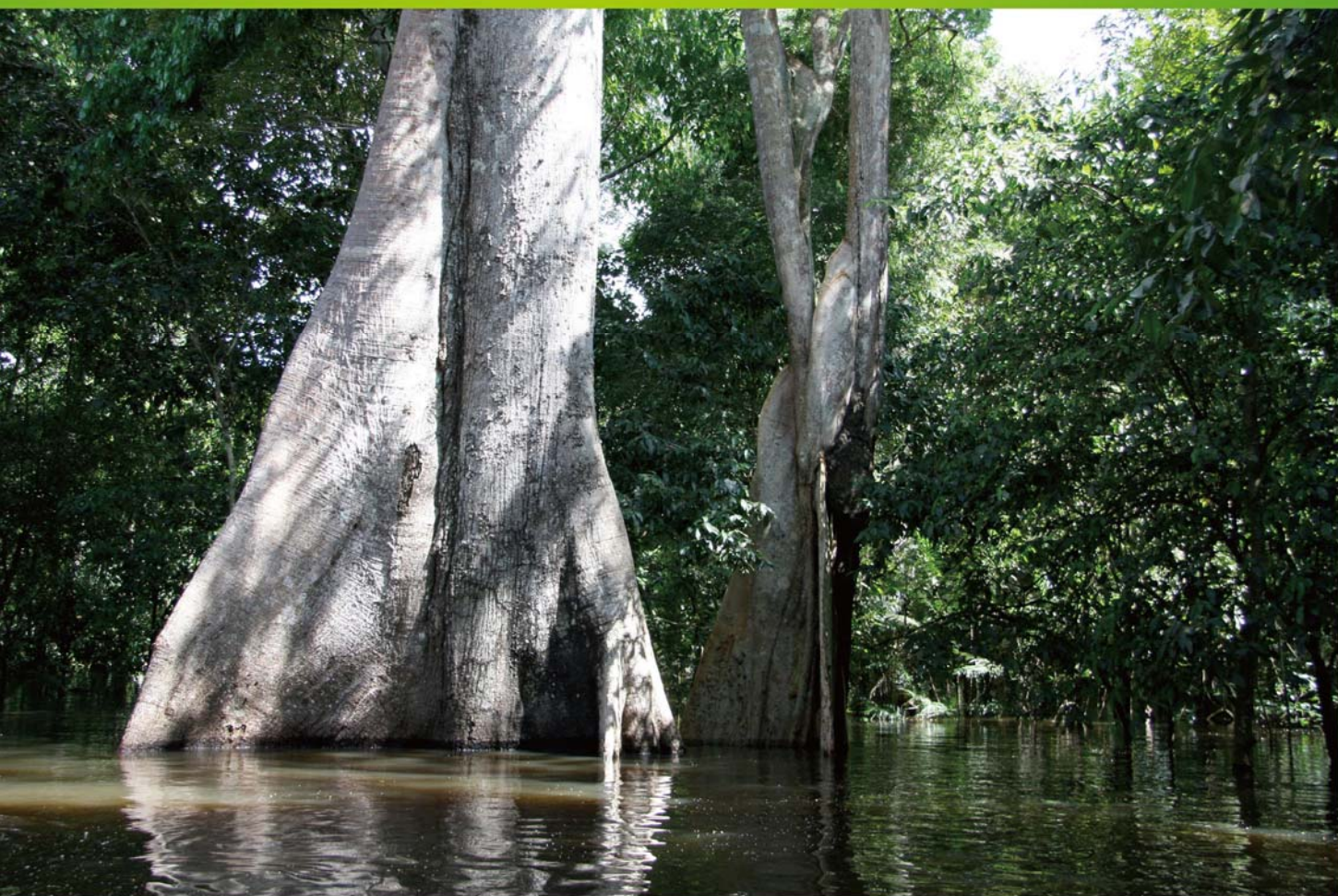


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

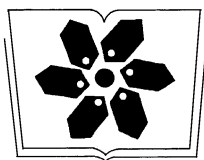
Acta Ecologica Sinica



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

蜜环菌对锌的耐性和富集特性

朱 林, 程显好*, 李维焕, 刘 静, 图力古尔

(鲁东大学菌物科学与技术研究院, 烟台 264025)

摘要:研究了锌对蜜环菌 *Armillaria mellea* 生长的影响, 蜜环菌对于锌的耐性和富集特性, 以及锌胁迫下蜜环菌的抗氧化酶的变化情况。结果表明, 锌浓度 45mg/L 下对于蜜环菌菌体的生长有显著促进作用 ($P < 0.05$), 锌浓度 90mg/L 以上时, 蜜环菌菌体的生长受到抑制 ($P < 0.05$)。蜜环菌的子实体萌发和子实体生物量在锌的浓度为 45mg/L 以下时与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$), 锌的浓度超过 90mg/L 后子实体不能萌发。培养基锌含量在 270mg/L 以下时, 皮壳状菌丝中锌的含量随培养基中锌浓度的增大而增大。培养基锌含量在 135mg/L 以下时, 菌索中锌的含量随培养基中锌浓度的增大而增大。随着培养基中锌浓度的提高, 菌丝和菌索 POD、CAT、SOD 活性都有增加, PPO 的活性则是先升高后降低, 而且菌丝与菌索之间抗氧化酶活力有显著差异 ($P < 0.05$)。

关键词: 蜜环菌; 子实体; 菌丝体; 菌索; 抗氧化酶

Zinc Tolerance and Accumulation Characteristics of *Armillaria mellea*

ZHU Lin, CHENG Xianhao*, LI Weihuan, LIU Jing, BAU Tolgor

Institute of Fungi Science and Biotechnology, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: The growth, zinc tolerance, enrichment features and antioxidant enzyme activity of *Armillaria mellea* under zinc stress were investigated. Our results show that zinc at 45mg/L increased mycelia growth ($P < 0.05$), when higher than 90mg/L, zinc functions to inhibit mycelia growth ($P < 0.05$). Fruiting body formation and fruiting body biomass were not influenced by zinc when zinc content in media were less than 45mg/L ($P > 0.05$), but fruiting body formation was inhibited when zinc content in media were more than 90mg/L. Under the concentration of 270mg/L of supplemented zinc, the content of zinc in crustose aerial hypha of *A. mellea* elevated along with increasing amount of zinc in media, and under the concentration of 135mg/L of supplemented zinc, the content of zinc in rhizomorphs of *A. mellea* elevated along with increasing amount of zinc in media. The activity of antioxidative enzymes including peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in crustose aerial hypha and rhizomorphs of *A. mellea* elevated and the activity of polyphenoloxidase (PPO) increased earlier and depressed later along with increasing amount of zinc in media, but there were observable differences between crustose aerial hypha and rhizomorphs ($P < 0.05$).

Key Words: *Armillaria mellea*; fruiting body; mycelium; rhizomorph; antioxidative enzymes

对于大型真菌富集重金属现象的关注始于 20 世纪 70 年代。现已发现很多大型真菌具有较强的富集重金属的能力, 可以有效吸收并在子实体内积累重金属离子(如 Hg、Cd、Pb、Zn、Ba、As、Se、Ag、Cs、Rb)^[1-5], 以及镧系金属元素(La、Ce、Nd)与部分放射性核素^[6-7]。大型真菌积累重金属的能力首先是由其遗传特性决定的^[8]。许多野外采集大型真菌重金属含量测定的研究表明不同大型真菌重金属富集能力差别很大^[3,5,9-11]。子实体的不同部位对重金属的富集作用也存在差异, 金属元素在菌盖和菌柄中的分布不均衡^[12-13], 子实层内浓度最大, 菌盖其它部位较少, 菌柄最少。生境对于菌株的重金属元素的富集也有影响^[6]。

基金项目: 山东省食用菌技术“泰山学者”建设工程专项经费资助; 山东省自然科学基金联合专项资助(ZR2010CL005)

收稿日期: 2010-04-13; **修订日期:** 2010-12-06

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chengxianhao@sohu.com

对于野生大型真菌的锌含量的测定结果表明,野生大型真菌子实体中锌的含量大多在 50—150mg/kg 之间,和土壤中的锌含量接近或者稍微高与土壤锌含量^[14]。黑紫红菇 *Russula atropurpurea* 是野生条件下富集锌能力较高的大型真菌,子实体中锌的浓度可以达到 891mg/kg^[14-15]。程显好等发现蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 具有锌离子的超强耐受和富集能力^[16],对于锌的积累可以达到菌体干重的 2.85%,是锌积累能力相对较高的生物种类。国内近年来还报道了人工栽培的条件下大型真菌对重金属的生物富集特性,如雷敬敷和杨德芬和施巧琴等研究了香菇、双孢蘑菇、木耳和凤尾菇、金针菇栽培过程中,对培养料中添加的 Cu、Zn、Pb 和 Cd 后的重金属富集作用^[17-18],黄建成等研究了姬松茸生产栽培过程,重金属 Hg、As、Pb 和 Cd 在子实体中的富集规律^[19]。目前对于野生大型真菌锌含量的调查研究以及栽培过程中微量锌对子实体生长的促进作用研究较多^[9,20],但过量锌对于大型真菌生理生化影响以及大型真菌对于锌的耐受方面的研究很少。

蜜环菌是一种在世界范围内广泛分布的大型真菌,其生活型具有多样性,既可以与其它生物(天麻、猪苓)共生,也可以对林木寄生,引起森林病害,还可以腐生生活。对于野生蜜环菌的调查发现,蜜环菌中锌含量在 54.12—76.80 mg/kg 范围内^[21-23],而另一项对于锌污染地区蜜环菌的研究发现,蜜环菌子实体中锌浓度与土壤中锌浓度具有相关性,采集的样本中,土壤锌浓度达到 113.26 mg/kg 时,蜜环菌子实体中锌浓度可达到 158.20 mg/kg^[24]。蜜环菌至今还没有实现工业化栽培,人工培养条件下蜜环菌与锌离子之间关系的系统研究仍是空白,如子实体中锌积累和环境锌含量的关系如何、蜜环菌对于锌的耐受性及富集特性,以及锌对蜜环菌生理生化的影响等。鉴于此,以实验室已经建立的蜜环菌子实体培养模型^[25],对人工培养条件下蜜环菌对锌的耐性和富集特征,以及锌胁迫下蜜环菌的抗氧化酶的变化情况方面进行了探索。

1 材料与方法

1.1 菌种

蜜环菌 *Armillaria mellea* AS 5.146 购于中国普通微生物菌种保藏管理中心,保藏于 PDA 培养基。

1.2 培养基

采用半固体麦芽汁培养基^[25]。

1.3 培养方法

半固体麦芽汁培养基中,锌添加水平设 0、45、90、135、180、225、270 mg/L(以 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 加入,以 Zn^{2+} 计算)6 个实验组和一个空白对照组,每组至少 3 个重复。500mL 三角瓶中培养基装量 200mL。

在半固体培养基上接种直径 0.5cm 大小的蜜环菌菌种块,于 25℃ 的培养箱中暗培养 25d,然后于 18℃,光照周期 12h 的条件下诱导蜜环菌子实体的萌发^[26],培养时间 60d。

1.4 锌对蜜环菌菌丝体生物量、蜜环菌子实体形成及子实体生物量的影响

培养基表面生长的质地坚硬的皮壳状菌丝体,以及在半固体培养基内生长的蜜环菌菌索,取出后分别在 60 目不锈钢筛网上用自来水急水冲洗,充分洗去附带的半固体琼脂成分,洗过的培养物在 60℃ 烘干至恒重后称重。

观察记录各实验组子实体原基形成以及子实体形成的情况。子实体开伞成熟后,及时采集于 60℃ 下烘干至恒重后称重。

1.5 锌含量测定

称取 0.1g 烘干至恒重的子实体、皮壳状菌丝体或菌索样品,加入 10mL 的 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 的消化液(体积比为 4:2)在沸水浴下加热至澄清,用去离子水在 100mL 容量瓶中定容后采用原子吸收分光光度计(上海精密科学仪器有限公司,AA320N 型,附带微机和打印机)进行测定。测试条件为:波长 213.9nm,狭缝 3mm,灯电流 8mA,灯电压 180V,空气流量 0.15MPa/min,乙炔流量 0.05MPa/min。

1.6 皮壳状菌丝体和菌索中抗氧化酶的提取与活性测定

培养 50 天后的新鲜材料用于抗氧化酶的测定。

过氧化氢酶(CAT)的提取与测定:称取新鲜样品 5g 置于研钵中,加少许石英砂和预冷的 500mmol/L 磷酸

盐缓冲液 5mL (pH 7.5, 含 5mmol/L DTT 和 5% PVP), 在冰浴条件下研磨成匀浆, 4℃、1200×g 离心 30min, 收集上清液即为酶液。过氧化氢酶的活性以紫外吸收法测定^[27]。

过氧化物酶(POD)的提取与测定: 称取 1g 新鲜样品置于研钵中, 加少许石英砂和预冷的 10mL 20mmol/L KH_2PO_4 , 在冰浴条件下研磨成匀浆, 4℃、4000×g 离心 15min, 收集上清液即为酶液。过氧化物酶的活性以愈创木酚法测定^[27]。

超氧化物歧化酶(SOD)的提取与测定: 称取 5g 新鲜样品置于研钵中, 加少许石英砂和预冷的 500mmol/L 磷酸盐缓冲液 5mL (pH 7.8, 含 5mmol/L DTT 和 5% PVP), 在冰浴条件下研磨成匀浆, 4℃、1200×g 离心 30min, 收集上清液即为酶液。超氧化物歧化酶的活性以氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定^[27]。

多酚氧化酶(PPO)的提取与测定: 称取 1g 新鲜样品置于研钵中, 加少许石英砂和预冷的 0.1mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液 4mL, 冰浴研磨匀浆, 4℃、10000×g 离心 15min, 收集清液即为酶液。多酚氧化酶(PPO)活性的测定参照朱广廉等的方法进行^[28]。

碱性磷酸酶(AKP)的提取与测定: 将样品与预冷的 0.05mol/L Tris-HCL 缓冲液 (pH 7.5) 按 1:3 (W:V) 的比例混合。加入少许石英砂, 冰浴条件下研磨成匀浆, 将匀浆液 4℃ 离心, 10000×g, 离心 15min, 取上清即为酶液。碱性磷酸酶(AKP)活性的测定方法参照张洪渊等的方法略作改动^[29]: 向试管中分别加入酶液 0.1mL, 对照组加入 0.1mL 的纯水, 然后加 0.1mol/L 的碳酸盐缓冲液 (pH 10.0, 含 0.0065mol/L 的 4-氨基安替比林) 1.0mL, 置于 37℃ 水浴 5min 后, 加入预温至 37℃ 基质液 1.0mL, 混合均匀, 置于 37℃ 水浴 15min。加入铁氰化钾溶液 3.0mL, 立即混合均匀, 510nm 下测 OD 值。酶活力单位定义为, 在 37℃ 条件下, 以磷酸苯二钠为底物每分钟产生 1μg 酚所需酶量做为一个酶活力单位(U)。以 510nm 下测得 OD 值为 x , 酚含量为 y , 直线回归方程: $y = 51.9863x - 0.0242$, ($r = 0.9998$)

$$\text{AKP 活性(U)} = \frac{\text{产生酚微克数} \times 51.9863 - 0.0242}{15\text{min}}$$

1.7 统计分析

每组实验均至少设置了 3 个重复, 实验数据采用 SPSS 10.0 软件进行统计分析和显著性测验。

2 结果与分析

2.1 锌对蜜环菌生长的影响

培养基中加入不同浓度的锌, 培养过程中观察其形态变化情况, 发现 45、90mg/L 的实验组与对照组在外观形态上没有明显区别, 皮壳状菌丝都完全覆盖了培养基表面。但 135—270mg/L 的处理组与对照组有了差别, 这四组皮壳状菌丝未能长满培养基的表面, 其中 225、270mg/L 的实验组培养基表面裸露的更为严重, 表明锌达到一定浓度后, 抑制了蜜环菌皮壳状菌丝的生长。

从表 1 中可以看出, 随着培养基中锌的浓度增加, 菌体生物量先增大后减少。统计分析结果表明, 在 45mg/L 的锌浓度下, 蜜环菌菌体的量有显著的增加, 说明此浓度促进了菌体的生长。135—270mg/L 的锌浓度组, 菌体量显著小于对照组, 这和形态观察的结果一致, 说明锌浓度达到一定水平后, 开始抑制蜜环菌的生长。90mg/L 的锌浓度下, 菌体生物量与对照组无显著差异。

子实体萌发也受到了培养基内锌浓度的影响。当锌的浓度超过 135mg/L 时, 各实验组都没能萌发子实体, 说明高浓度的锌会抑制子实体的萌发。表 1 的统计结果表明在锌添加量 45mg/L 的实验组子实体产量与对照组并无明显差异, 即添加锌后并没有促进蜜环菌子实体的产量。在子实体形成时间上, 各组之间也是一致的。添加低浓度的锌影响了菌丝体产量, 而没有影响子实体的产量, 这一现象需要进一步研究。

2.2 锌在蜜环菌菌丝体、菌索和子实体中的富集规律

在一定锌浓度范围内 (小于 135mg/L), 随着培养基锌浓度的增加, 蜜环菌菌索中锌的含量也逐渐增加, 培养基锌浓度达到 135mg/L 以后, 菌索中锌含量都趋于恒定; 而蜜环菌皮壳状菌丝中锌的含量却随着培养基锌浓度的增加而增加, 见表 1。锌浓度达到 135mg/L 时, 菌索对锌的富集达到极限, 富集极限在 5mg/g (干质

量)左右,之后的 180—270mg/L 范围内的实验组的菌索含锌量之间没有显著性差异。皮壳状菌丝中锌的含量在一直增大,最高富集量为 9.49mg/g。表明蜜环菌的皮壳状菌丝较菌索有更强的锌富集能力。

表 1 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌菌体干重及菌体锌富集量的变化 (mean±SE) *

Table 1 The biomass and zinc contents in mycelia and fruiting body of *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean±SE)

Zn (mg/L)	生物量 Biomass/g		锌含量 zinc content (mg/g)		
	皮壳状菌丝和菌索 Crustose aerial hypha and rhizomorph	子实体 Fruiting body	皮壳状菌丝 Crustose aerial hypha	菌索 Rhizomorph	子实体 Fruiting body
0	4.61±0.24e	0.11±0.02b	0.81±0.05a	0.47±0.01a	0.09±0.01a
45	5.01±0.10d	0.10±0.01b	2.28±0.27b	1.51±0.06b	0.99±0.05b
90	4.42±0.12ce	0.05±0.01a	2.91±0.38b	3.51±0.14c	1.00±0.03b
135	4.07±0.07bc		4.68±0.65c	4.33±0.48cd	
180	3.96±0.05b		6.11±0.19d	5.17±0.32d	
225	3.36±0.11a		7.95±0.60e	4.89±0.47cd	
270	2.39±0.08f		9.49±0.28f	5.37±0.47d	

* 同列的不同字母表示在 0.05 水平的差异显著

而子实体中的锌的含量则受培养基中锌浓度变化的影响不大。值得注意的是子实体中锌的含量远远低于皮壳状菌丝和菌索。在培养基中锌的含量为 90mg/L 时,皮壳状菌丝和菌索中锌的含量分别是子实体中锌含量的 2.91 倍和 3.51 倍。大型真菌营养生长一般在达到一定时期后才可能形成子实体,子实体形成过程中大量的营养主要来自于营养生长的菌丝。本实验结果表明,在蜜环菌子实体形成过程中,营养物质由菌丝体向子实体流动时,对锌选择性阻挡,这一问题值得进一步研究和探讨。

2.3 锌对蜜环菌抗氧化酶的影响

锌添加量对蜜环菌 POD 活性的影响如图 1。从图 1 中可以看出,随着锌浓度的增加,皮壳状菌丝和菌索中的 POD 活性呈增加的变化趋势。菌丝中的 POD 活性要高于菌索中的 POD 活性,由表 1 也可以看出,菌丝中富集的锌要远远高于菌索中的锌含量,这可能是其 POD 活性高于菌索中的 POD 活性的原因。

锌添加量对蜜环菌 SOD 活性的影响如图 2。锌对蜜环菌 SOD 活性的影响也是随着锌浓度的增加,皮壳状菌丝和菌索中的 SOD 活性呈增加趋势。皮壳状菌丝中 SOD 的活性远高于菌索中 SOD 的活性,这与 POD 活性特点一样,可能其原因也是菌丝所受到的锌氧化胁迫高于菌索中所致。

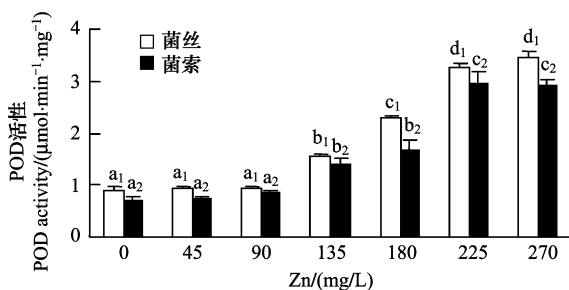


图 1 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌过氧化物酶活性的变化 (mean±SE)

Fig. 1 The changes of peroxidase activity (mean ± SE) in *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean ± SE)

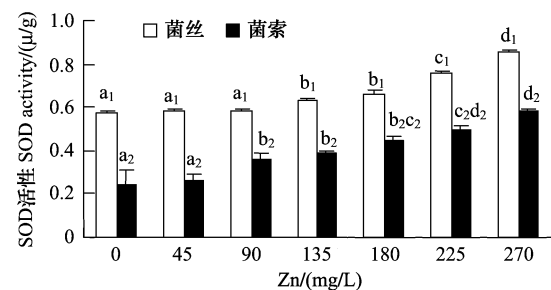


图 2 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌超氧化物歧化酶活性的变化 (mean±SE)

Fig. 2 The change of superoxide dismutase activity (mean ± SE) in *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean ± SE)

锌对蜜环菌 CAT 活性的影响如图 3 所示,随着锌浓度的增加,皮壳状菌丝和菌索中的 CAT 活性随着增加。但是和对于 POD、SOD 影响的情况有所不同,皮壳状菌丝中的 CAT 比菌索中的 CAT 活性更低。菌索

生长在皮壳状菌丝之下,与空气不直接接触,二者的环境不同。导致皮壳状菌索中的 CAT 比菌索中的 CAT 活性低的原因还需要进一步分析。

锌添加量对蜜环菌 PPO 活性的影响如图 4。随着锌浓度的增加,皮壳状菌丝和菌索中的 PPO 活性均呈先上升后下降的趋势。但是菌丝的 PPO 活性要远远高于菌索的 PPO 活性,其原因可能也是菌丝所受到的氧化胁迫高于菌索所导致的,即可以多酚氧化酶被氧诱导产生。

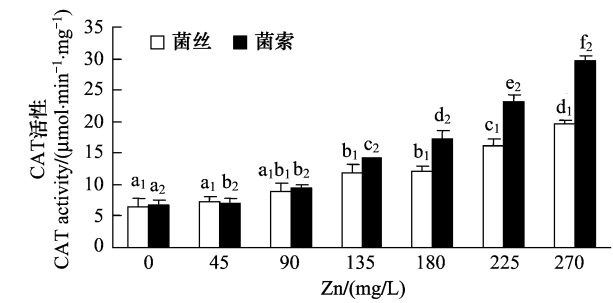


图 3 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌过氧化氢酶活性的变化 (mean±SE)

Fig.3 The change of catalase activity (mean±SE) in *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean±SE)

锌添加量对蜜环菌 AKP 活性的影响如图 5。随着锌浓度的增加,皮壳状菌丝和菌索中的 AKP 活性均呈先上升后下降的趋势。锌浓度低于 180mg/L 时,菌丝的 AKP 活性较菌索的要高,而锌浓度高于 180mg/L 时,菌丝的 AKP 活性低于菌索的 AKP 活性。

2.4 培养基中不同锌浓度与生物量、锌含量、酶活性之间的相关性分析

通过 SPSS 统计软件计算培养基中不同锌浓度与菌体生物量、锌含量、酶活性之间的 Pearson 相关系数,结果(表 2)表明,皮壳状菌丝、菌索、子实体干重,以及皮壳状菌丝、菌索和子实体中锌富集量与培养基中锌浓度显著相关,抗氧化酶中,超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶 3 种酶的活性与培养基中锌浓度显著相关,而多酚氧化酶活性与培养基中锌浓度相关性不显著。碱性磷酸酶活性与培养基中锌浓度相关性也不显著。可见抵抗高浓度锌引起的氧化胁迫,超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶 3 种酶发挥了主要作用。

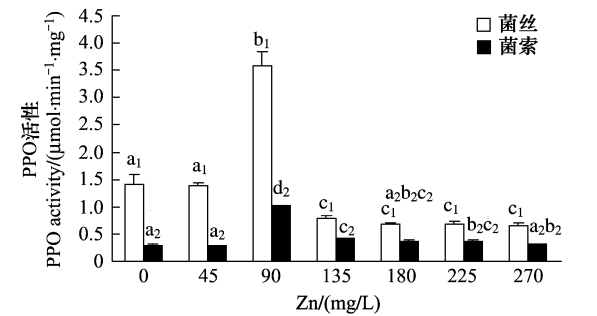


图 4 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌多酚氧化酶活性的变化 (mean±SE)

Fig.4 The change of polyphenoloxidase activity (mean±SE) in *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean±SE)

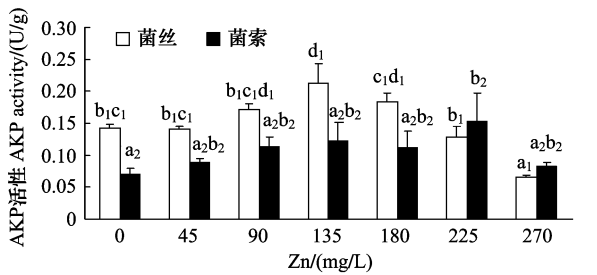


图 5 培养基添加不同量的锌引起的蜜环菌碱性磷酸酶活性的变化 (mean±SE)

Fig.5 The changes of alkaline phosphatase activity (mean±SE) in *Armillaria mellea* in different zinc concentrations in media (mean±SE)

表 2 培养基中不同锌浓度与菌体生物量、锌含量、酶活性之间的 Pearson 相关系数

项目 Items	干重 Biomass	锌富集量 Zinc content	超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	过氧化物酶 Peroxidase	多酚氧化酶 Polyphenoloxidase	过氧化氢酶 Catalase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase
菌丝体 Crustose aerial hypha	0.9087 *	0.9765 *	0.9143 *	0.9470 *	0.4768	0.9321 *	0.3518
菌索 Rhizomorphs	0.9086 *	0.9005 *	0.9277 *	0.9198 *	0.1201	0.9231 *	0.2777
子实体 Fruiting body	0.9070 *	0.9035 *	—	—	—	—	—

* :显著相关

3 讨论

从锌在皮壳状菌丝、菌索和子实体中的含量分析发现,随着锌浓度的增加蜜环菌的皮壳状菌丝、菌索和子实体中含锌量出现了较大的差异。子实体中锌的含量最低,其次是菌索。菌索锌含量在培养基锌的浓度为 135mg/L 时趋于饱和,而皮壳状菌丝中的锌含量随着培养基中锌的浓度的增加而增大。这说明在子实体生长发育过程中,所需要的营养物质是从营养菌丝中有选择性的吸收利用,而不是简单的营养流动。就锌元素而言,子实体只是从营养菌丝中获取了够用的锌,采取一定的机制阻止了营养菌丝中大量的锌进入到子实体的细胞中。这说明蜜环菌在有性生殖形成的子实体和无性的营养繁殖形成的内皮壳状菌丝、菌索之间存在一个屏障,有性系统之间与无性系统之间虽然存在物质交换,但不是简单交换,而是有选择的物质交换。以前的研究表明,在蜜环菌产生的次生代谢产物蜜环菌素成分方面,菌索与皮壳状菌丝的成分接近,而与子实体之间则有较大差别^[26],这一点和锌的分配上有共同之处。

自然界采集的野生大型真菌中,报道的子实体中锌含量最高的黑紫红菇 *Russula atropurpurea* 能达到 891mg/kg。在未污染环境采集的蜜环菌样本中,锌含量报道最高的为 76.80 mg/kg^[21-23],而受锌污染环境下采集的蜜环菌样本中,锌含量报道最高的为 158.20 mg/kg^[24]。本实验发现,蜜环菌中子实体中锌含量最多可以在培养基中添加 90mg/L 锌时,达到 1000mg/kg。统计分析表明,菌体中锌的含量与环境中锌的含量显著相关。证实了野生环境中,蜜环菌子实体内锌含量的主要影响因素是生长环境中的锌浓度大小。

生物对逆境的反应涉及到生物体内一系列生理生化变化。在高锌浓度的氧化胁迫下,细胞内自由基的产生和清除平衡会受到破坏,细胞内活性氧水平大幅度提高可造成氧化胁迫,并引起脂质过氧化、蛋白质与核酸的氧化修饰。而生物在长期的进化过程中也形成了一系列的抗氧化酶和抗氧化剂来对抗与清除活性氧^[30-31]。超氧化物歧化酶(SOD)是一种能消除生物体内过剩的超氧阴离子自由基的酶,从而保护生物免受活性氧伤害。SOD 的活性决定了 $O_2 \cdot$ 和 H_2O_2 的含量,而 $O_2 \cdot$ 和 H_2O_2 是 Haber Weiss 反应的底物,SOD 酶活力与生物的抗逆性关系密切,因此它可能是膜防护中心^[32]。

本研究结果表明,POD、CAT、SOD 三种抗氧化酶活性变化在锌胁迫的进程中总体趋势一致,但具体变化不同。随着锌胁迫加重,SOD、POD 活性随着锌浓度的增加呈现升高趋势,锌浓度超过 225mg/L 后,不再升高。而 CAT 活性变化随着锌浓度的升高一直升高,说明细胞对于 CAT 活性的调节能力更强。PPO 的活性变化与其他 3 个抗氧化酶不同,呈现先升高后降低的趋势,细胞在锌胁迫超过一定限度后,反而引起 PPO 的活性的下降,这一现象的原因有待于进一步探讨。

碱性磷酸酶是一种对底物专一性较低的磷酸单酯水解酶,在生物体内直接参与磷酸基团转移和代谢过程,在生物体内的物质代谢中具有重要的作用^[33]。锌浓度 135mg/L 时,菌丝的 AKP 活性较对照组有所增加,锌浓度 270mg/L 时,菌丝的 AKP 活性较对照组有所降低;锌浓度 225mg/L 时,菌索的 AKP 活性较对照组有所增加,其他实验组较对照组无明显差别。虽然碱性磷酸酶不是一种直接的抗氧化胁迫的酶,但锌引起的氧化胁迫同样引起了该酶活性的变化。说明生物体内对外界氧化胁迫的抵御是一个十分复杂的生理生化过程。

References:

- [1] Borovička J, Řanda Z, Jelínek E, Kotrba P, Dunn C E. Hyperaccumulation of silver by *Amanita strobiliformis* and related species of the section *Lepidella*. *Mycological Research*, 2007, 111(11): 1339-1344.
- [2] Purchase D, Scholes L N L, Revitt D M, Shutes R B E. Effects of temperature on metal tolerance and the accumulation of Zn and Pb by metal-tolerant fungi isolated from urban runoff treatment wetlands. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(4): 1163-1174.
- [3] Cocchi L, Vescovi L, Petrini L E, Petrini O. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. *Food Chemistry*, 2006, 98(2): 277-284.
- [4] Gas M I, Segovia N, Morton O, Cervantes M L, Godinez L, Peña P, Acosta E. ¹³⁷Cs and relationships with major and trace elements in edible mushrooms from Mexico. *The Science of The Total Environment*, 2000, 262(1/2): 73-89.
- [5] Demirba A. Accumulation of heavy metals in some edible mushrooms from Turkey. *Food Chemistry*, 2000, 68(4): 415-419.
- [6] Aruguete D M, Aldstadt J H III, Mueller G M. Accumulation of several heavy metals and lanthanides in mushrooms (Agaricales) from the Chicago

- region. *The Science of the Total Environment*, 1998, 224(1/3): 43-56.
- [7] Baeza A, Hernández S, Guillén F J, Moreno G, Manjón J L, Pascual R. Radiocaesium and natural gamma emitters in mushrooms collected in Spain. *The Science of The Total Environment*, 2004, 318(1/3): 59-71.
- [8] Vetter J. Data on arsenic and cadmium contents of some common mushrooms. *Toxicon*, 1994, 32(1): 11-15.
- [9] Demirba A. Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*, 2001, 75(4): 453-457.
- [10] García M Á, Alonso J, Melgar M J. Lead in edible mushrooms: levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1/3): 777-783.
- [11] Vetter J. Data on sodium content of common edible mushrooms. *Food Chemistry*, 2003, 81(4): 589-593.
- [12] Vaaramaa K, Solatie D, Aro L. Distribution of ^{210}Pb and ^{210}Po concentrations in wild berries and mushrooms in boreal forest ecosystems. *The Science of the Total Environment*, 2009, 408(1): 84-91.
- [13] Rudawska M, Leski T. Macro-and microelement contents in fruiting bodies of wild mushrooms from the Notecka forest in west-central Poland. *Food Chemistry*, 2005, 92(3): 499-506.
- [14] Borovička J, Řanda Z. Distribution of iron, cobalt, zinc and selenium in macrofungi. *Mycological Progress*, 2007, 6(4): 249-259.
- [15] Vetter J, Siller I, Horváth Z. Zinc content of sporocarps of basidiomycetous fungi. *Mycologia*, 1997, 89(3): 481-483.
- [16] Cheng X H, Gai Y P, Sun H Y, Bai X F, Zhang Q S. Zinc tolerance and accumulation characteristics of *Cordyceps militaris*. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(6): 1449-1455.
- [17] Lei J F, Yang D F. Contents of heavy metals in edible fungi and its enrichment. *Edible Fungi of China*, 1990, 9(6): 14-17.
- [18] Shi Q Q, Lin L, Chen Z C, Chen S S, Xie B F, Wu S G, Chen J Y, Ke Y L, Li X M, Lin Y. Studies on the accumulation of heavy metals and their effect on the growth and metabolism in edible fungi. *Mycosystema*, 1991, 10(4): 301-311.
- [19] Huang J C, Ying Z H, Yu Y R, Li K B. Accumulation rule of heavy metal and the controlling technique by *Agaricus blazei* Murrill. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(3): 406-409.
- [20] Liu W Q, Xu E N, Li M, Zheng H. Study on bioconcentrating action of Iron, Zinc and Selenium ions by fungus. *Environment and Development*, 2000, 15(3): 3-4.
- [21] Demirbas A. Metal ion uptake by mushrooms from natural and artificially enriched soils. *Food Chemistry*, 2002, 78(1): 89-93.
- [22] Isildak Ö, Turkekul I, Elmastas M, Tuzen M. Analysis of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms from the middle black sea region, Turkey. *Food Chemistry*, 2004, 86(4): 547-552.
- [23] Ouzouni P K, Petridis D, Koller W D, Riganakos K A. Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 2009, 115(4): 1575-1580.
- [24] Radulescu C, Stih C, Busuioc G, Gheboianu A I, Popescu I V. Studies concerning heavy metals bioaccumulation of wild edible mushrooms from industrial area by using spectrometric techniques. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, 84(5): 641-646.
- [25] Cheng X H, Guo S X. The inducement and fruiting condition of fruit body of *Armillaria mellea*. *Mycosystema*, 2006, 25(2): 302-307.
- [26] Cheng X H, Wang C L, Guo S X. Comparison of the sesquiterpene ester profiles of different specialized *Armillariella mellea* mycelia using HPLC/DAD chromatography. *Edible Fungi Bulletin*, 2006, 13(4): 39-43.
- [27] Li L. *Plant Physiology Module Experimental Guide*. Beijing: Science Press, 2009: 95-100.
- [28] Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. *Experiments of Botanic physiology*. Beijing: Press of Beijing University, 1991: 37-39.
- [29] Zhang H Y, Liu K W, Gong Y B, Hu M, Luo S Q. Effect of metal ions and urea on the alkaline phosphatase from *Anodonta woodiana*. *Sichuan University: Natural Science Edition*, 1996, 33(1): 100-105.
- [30] Li C Z, Jiao J, Wang G X. The important roles of reactive oxygen species in the relationship between ethylene and polyamines in leaves of spring wheat seedlings under root osmotic stress. *Plant Science*, 2004, 166(2): 303-315.
- [31] Jiao J, Li C Z, Huang G B. Protective effects and their mechanisms of cobalt on soybean seedling's leaf under drought stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(5): 796-800.
- [32] Bowler C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 1992, 43(1): 83-116.
- [33] Chen Q X, Yan S X. Substrate specificity of *Amphioxus* ALPase and on the influence of some effectors on the enzyme. *Xiamen University: Natural Science Edition*, 1989, 28(1): 92-93.

参考文献:

- [16] 程显好, 盖宇鹏, 孙慧涌, 柏新富, 张秋胜. 蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 对锌的耐性与富集特征. 生态学报, 2010, 30(6): 1449-1455.
- [17] 雷敬敷, 杨德芬. 食用菌的重金属含量及食用菌对重金属富集作用的研究. 中国食用菌, 1990, 9(6): 14-17.
- [18] 施巧琴, 林琳, 陈哲超, 陈松生, 谢必峰, 吴松刚, 陈静仪, 柯毅龙, 李贤明, 林园. 重金属在食用菌中的富集及对其生长代谢的影响. 菌物学报, 1991, 10(4): 301-311.
- [19] 黄建成, 应正河, 余应瑞, 李开本. 姬松茸对重金属的富集规律及控制技术研究. 中国农学通报, 2007, 23(3): 406-409.
- [20] 刘文群, 徐尔尼, 李曼, 郑辉. 真菌对微量元素铁、锌、硒生物富集作用的研究. 环境与开发, 2000, 15(3): 3-4.
- [25] 程显好, 郭顺星. 蜜环菌子实体的诱导和发生条件. 菌物学报, 2006, 25(2): 302-307.
- [26] 程显好, 王春兰, 郭顺星. 蜜环菌不同特化菌体的 HPLC-DAD 图谱比较. 食用菌学报, 2006, 13(4): 39-43.
- [27] 李玲. 植物生理学模块实验指导. 北京: 科学出版社, 2009: 95-100.
- [28] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1991: 37-39.
- [29] 张洪渊, 刘克武, 龚由彬, 胡梅, 罗胜清. 金属离子和脲对背角无齿蚌碱性磷酸酶的影响. 四川大学学报: 自然科学版, 1996, 33(1): 100-105.
- [31] 焦健, 李朝周, 黄高宝. 钴对于干旱胁迫下大豆幼苗叶片的保护作用及其机理. 应用生态学报, 2006, 17(5): 796-800.
- [33] 陈清西, 颜思旭. 文昌鱼 ALPase 底物特异性及其效应物对酶活力的影响. 厦门大学学报: 自然科学版, 1989, 28(1): 92-93.

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 Chengchang, 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 Shengcong, 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 Aixin, 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