

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第31卷 第10期 Vol.31 No.10 **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 10 期

2011 年 5 月 (半月刊)

目 次

大熊猫取食竹笋期间的昼夜活动节律和强度·····	张晋东, Vanessa HULL, 黄金燕, 等 (2655)
高枝假木贼的胎生萌发特性及其生态适应·····	韩建欣, 魏 岩, 严 成, 等 (2662)
准噶尔盆地典型地段植物群落及其与环境因子的关系 ·····	赵从举, 康慕谊, 雷加强 (2669)
喀斯特山地典型植被恢复过程中表土孢粉与植被的关系·····	郝秀东, 欧阳绪红, 谢世友, 等 (2678)
青藏高原高寒草甸土壤 CO ₂ 排放对模拟氮沉降的早期响应·····	朱天鸿, 程淑兰, 方华军, 等 (2687)
毛乌素沙地南缘沙漠化临界区域土壤水分和植被空间格局·····	邱开阳, 谢应忠, 许冬梅, 等 (2697)
雪灾后粤北山地常绿阔叶林优势树种幼苗更新动态·····	区余端, 苏志尧, 解丹丹, 等 (2708)
四川盆地四种柏木林分类型的水文效应·····	龚固堂, 陈俊华, 黎燕琼, 等 (2716)
平茬对半干旱黄土丘陵区柠条林地土壤水分的影响·····	李耀林, 郭忠升 (2727)
连栽杉木林林下植被生物量动态格局·····	杨 超, 田大伦, 胡日利, 等 (2737)
近 48a 华北区太阳辐射量时空格局的变化特征·····	杨建堂, 刘 勤, 严昌荣, 等 (2748)
中型景观尺度下杨树人工林林分特征对树干病害发生的影响——以河南省清丰县为例·····	王 静, 崔令军, 梁 军, 等 (2757)
耕作措施对冬小麦田杂草生物多样性及产量的影响·····	田欣欣, 薄存瑶, 李 丽, 等 (2768)
官山保护区白颈长尾雉栖息地适宜性评价·····	陈俊豪, 黄晓凤, 鲁长虎, 等 (2776)
花椒园节肢动物群落特征与气象因子的关系·····	高 鑫, 张晓明, 杨 洁, 等 (2788)
沙漠前沿不同植被恢复模式的生态服务功能差异·····	周志强, 黎 明, 侯建国, 等 (2797)
大豆出苗期和苗期对盐胁迫的响应及耐盐指标评价·····	张海波, 崔继哲, 曹甜甜, 等 (2805)
不同耐盐植物根际土壤盐分的动态变化·····	董利苹, 曹 靖, 李先婷, 等 (2813)
短期 NaCl 胁迫对不同小麦品种幼苗 K ⁺ 吸收和 Na ⁺ 、K ⁺ 积累的影响 ·····	王晓冬, 王 成, 马智宏, 等 (2822)
套袋微域环境对富士苹果果皮结构的影响·····	郝燕燕, 赵旗峰, 刘群龙, 等 (2831)
畜禽粪便施用对稻麦轮作土壤质量的影响·····	李江涛, 钟晓兰, 赵其国 (2837)
土霉素胁迫下拟南芥基因组 DNA 甲基化的 MSAP 分析·····	杜亚琼, 王子成, 李 霞 (2846)
甲藻孢囊在长山群岛海域表层沉积物中的分布·····	邵魁双, 巩 宁, 杨 青, 等 (2854)
湖南省城市群生态网络构建与优化 ·····	尹海伟, 孔繁花, 祈 毅, 等 (2863)
基于多智能体与元胞自动机的上海城市扩展动态模拟 ·····	全 泉, 田光进, 沙默泉 (2875)
城市道路绿化带“微峡谷效应”及其对非机动车道污染物浓度的影响 ···	李 萍, 王 松, 王亚英, 等 (2888)
专论与综述	
北冰洋微型浮游生物分布及其多样性·····	郭超颖, 王桂忠, 张 芳, 等 (2897)
种子微生物生态学研究进展 ·····	邹媛媛, 刘 洋, 王建华, 等 (2906)
条件价值评估的有效性与可靠性改善——理论、方法与应用·····	蔡志坚, 杜丽永, 蒋 瞻 (2915)
问题讨论	
中国生态学期刊现状分析 ·····	刘天星, 孔红梅, 段 靖 (2924)
研究简报	
四季竹耐盐能力的季节性差异·····	顾大彤, 郭子武, 李迎春, 等 (2932)
新疆乌恰泉地震前后泉水细菌群落的变化·····	杨红梅, 欧提库尔·玛合木提, 曾 军, 等 (2940)
两种猎物对南方小花蝽种群增长的影响及其对二斑叶螨的控害潜能 ·····	黄增玉, 黄林茂, 黄寿山 (2947)
学术信息与动态	
全球变化下的国际水文学研究进展: 特点与启示 ——2011 年欧洲地球科学联合会会员大会述评·····	卫 伟, 陈利顶 (2953)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 302 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 34 * 2011-05



封面图说: 藏酋猴 (*Macaca thibetana*) 属猴科 (*Cercopithecidae*) 猕猴属 (*Macaca*) 又名四川短尾猴、大青猴, 为我国特有灵长类之一, 被列为国家二级保护野生动物; 近年来, 由于人类活动加剧, 栖息环境恶化, 导致藏酋猴种群数量和分布日趋缩小; 本照片摄于四川卧龙国家级自然保护区 (拍摄时间: 2010 年 3 月)。

彩图提供: 中国科学院生态环境研究中心张晋东博士 E-mail: zhangjd224@163.com

土霉素胁迫下拟南芥基因组 DNA 甲基化的 MSAP 分析

杜亚琼, 王子成*, 李霞

(河南大学生命科学学院/植物种植资源与遗传工程实验室, 河南开封 475004)

摘要:以拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 为材料, 研究不同土霉素浓度下拟南芥幼苗生长发育及基因组 DNA 的甲基化水平和变化模式。结果表明, 3、5、7、9 $\mu\text{mol/L}$ 土霉素胁迫对拟南芥幼苗的根长和株高有显著抑制作用; 但对拟南芥幼苗的侧根数量有显著促进作用。甲基化敏感扩增多态性 (methylation-sensitive amplification polymorphism, MSAP) 分析表明, 经 3、5、7、9 $\mu\text{mol/L}$ 土霉素处理后基因组 DNA 甲基化比率分别为 17.91%、12.50%、11.81% 和 14.62%, 均低于对照 (18.18%)。结果表明, 拟南芥经土霉素胁迫后存在基于 DNA 甲基化水平和模式改变的表现遗传变异, 5-甲基胞嘧啶百分含量的变化无统一趋势或规律。与对照相比, 3、5、7、9 $\mu\text{mol/L}$ 土霉素胁迫下拟南芥幼苗基因组 DNA 的甲基化和去甲基化分别为 13.29%、9.22%、8.03%、12.59% 和 2.80%、4.26%、5.11%、4.90%。由此推测, DNA 甲基化可能是植物适应土霉素胁迫机制的机制之一。

关键词:拟南芥; DNA 甲基化; MSAP; 土霉素胁迫

MSAP analysis of DNA methylation in *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) under Oxytetracycline Stress

DU Yaqiong, WANG Zicheng*, LI Xia

College of Life Science, Henan University/Lab. of Plant Germplasm Resources & Genetic Engineering, Kaifeng Henan 475004, China

Abstract: The objectives of this research were to assess the effect of oxytetracycline stress on the development as well as genomic DNA methylation levels and patterns of *Arabidopsis thaliana* seedlings. Oxytetracycline at concentrations of 3, 5, 7, and 9 mol/L visibly inhibited root and stem elongation of *A. thaliana* seedlings, but significantly promoted lateral root proliferation. Methylation sensitive amplified polymorphism (MSAP) analysis showed that genomic DNA methylation levels of oxytetracycline stressed seedlings were lower than that of the untreated plants. The results indicated that oxytetracycline stress induced epigenetic variations in *A. thaliana* seedlings; no clear trend or pattern of 5-methylcytosine percentage change emerged. At oxytetracycline concentrations of 3, 5, 7, and 9 mol/L, methylation and demethylation of *A. Thaliana* seedling genomic DNA were respectively 13.29%, 9.22%, 8.03%, 12.59% and 2.80%, 4.26%, 5.11%, 4.90%. We suggest that DNA methylation might be one of the mechanisms used by plants to combat oxytetracycline stress.

Key Words: *Arabidopsis*; DNA methylation; MSAP; oxytetracycline stress

抗生素是某些微生物在代谢过程中产生的能抑制或杀灭其他病原微生物的化学物质。如果大量使用或滥用, 那么其代谢产物可能过量的蓄积、储存于动物的细胞、组织器官中, 人们通过食取可能会引起体内的病变^[1]。土壤 (或沉积物) 是抗生素等污染物质的最终归宿之地, 进入环境中的抗生素将在土壤/沉积物中积累, 对土壤生态系统产生一定的影响^[2]。抗生素的环境污染和生态毒性近年来已经引起极大的关注^[3]。土霉素 (oxytetracycline) 是目前使用量最大的四环素类抗生素, 具有广谱抗菌性, 化学结构稳定, 在环境中存在

基金项目: 国家自然科学基金 (30900973)

收稿日期: 2010-07-14; 修订日期: 2011-02-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wzc@henu.edu.cn

时间较长^[4],其环境行为和生态效应引起环境领域的广泛关注。在德国,Winckler 等人发现四环类抗生素在农田土壤中的浓度范围是 450—900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[5], Jacobsen 等人发现土霉素在水产养殖的底泥中的浓度介于 0.1—4.9 mg/kg (干重)之间^[6]。如此高浓度的土霉素,必将成为环境污染的潜在隐患。Kumar^[7]和 Boxall^[8]等人发现蔬菜可以选择性的从土壤中吸收部分抗生素。Bradel 等^[9]发现四环素可以通过抑制植原体的活性而影响幼芽分枝。因此,研究土霉素对环境和生态的影响具有重要的科学价值和现实意义。目前对土霉素在土壤及植物中的积累研究较多,而土霉素对植物本身,尤其是遗传的影响较为缺乏。近来有人发现,土霉素可以通过提高 DNA 甲基化水平对泡桐丛枝病产生一定的防治效果^[10],表明土霉素对植物的遗传也有一定的影响。

DNA 甲基化(DNA methylation)是真核生物基因组最常见的一种 DNA 共价修饰形式,广泛存在于各种有机体中。DNA 甲基化主要发生在 5'-CpG-3'二核苷酸序列(偶尔为 5'-CpNpG-3')上,产生 5-甲基脱氧胞嘧啶核苷酸(m5C)^[11]。DNA 甲基化特别是胞嘧啶的甲基化具有表观遗传效应和突变效应。作为一种表观遗传修饰,DNA 甲基化并不改变碱基的排列顺序,但是阻断了遗传信息的传递,从而引起形态性状的变化,是现代表观遗传学研究的主要内容和热点之一^[12]。

为了研究土霉素对植物表观遗传信息的影响,本文以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为材料,对其种子进行不同浓度土霉素处理,观察其生长发育的变化,并采用 MSAP 检测处理后材料的基因组 DNA 甲基化水平变异情况,为从分子水平上探讨土霉素对植物生长发育的影响提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)以 Col-0 生态型为实验材料。土霉素为分析纯,购于 Solarbio 公司。

1.2 实验材料的培养与土霉素胁迫处理

拟南芥干燥的种子经 75% 乙醇表面消毒 30 秒,移去乙醇,加入 0.1% 升汞表面消毒 5—8min,无菌水冲洗 6—8 次后,点种于 MS 固体培养基(MS 盐+3% 蔗糖+1.2% 琼脂,pH 5.8)上,于 4℃ 条件下春化 3d,放于培养间(光/暗为 16h/8h,温度 18—22℃,光照强度 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,相对湿度 80%)中培养 6d 后供实验用。将 MS 固体培养基(MS 盐+3% 蔗糖+1.2% 琼脂,pH 5.8)灭菌后,在超净台中凉至 50—60℃,分别加入 3、5、7、9 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的土霉素,挑选长势一致的幼苗移于含土霉素的培养基中进行处理,对照为无土霉素的普通 MS 培养基。土霉素处理 10d,每个处理 100 株拟南芥,重复 3 次。生长 16d 的幼苗从培养皿转移到蛭石:营养土=1:1 的土壤中继续于培养间培养,用透明塑料罩遮盖好,保持幼苗处于湿度较高的环境,大约两周后即可把罩子去掉,9 周后可以收获种子。

1.3 土霉素处理拟南芥后的生长测定

将消毒后的拟南芥种子,点种于分别添加 3、5、7、9 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 土霉素的 MS 固体培养基(MS 盐+3% 蔗糖+0.6% 琼脂,pH 5.8)上,对照为无土霉素的普通 MS 培养基,统计对照和处理材料 1—6d 内的萌发率。土霉素处理 10d 后,测定幼苗每株主根长(cm)和侧根数量。根长和侧根数测定采用直接法^[13]。移苗后记录抽薹和开花时间以及种子成熟时株高等表型特征。每个处理 100 株,重复 3 次。

1.4 拟南芥 DNA 的提取

对照和处理的拟南芥幼苗培养 16d 后用于提取 DNA。每个处理的材料,分别取 30—40 株幼苗上的嫩叶混合。采用 CTAB 法^[14]提取 DNA。去除 RNA 纯化后的 DNA 质量和浓度检测采用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(北京普析,TU-1800)进行检测,于 4℃ 或 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.5 MSAP 分析

MSAP 分析操作过程均参照何艳霞等^[15]所述方法。分子标记检测所用的接头及引物均由上海生工公司合成。

2 结果与分析

2.1 土霉素胁迫对拟南芥的生长发育影响

土霉素处理影响植物的生长发育(图1)。统计不同浓度土霉素处理后拟南芥种子的萌发率。与对照相比,3 $\mu\text{mol/L}$ 处理组对种子萌发影响最小,而7—9 $\mu\text{mol/L}$ 土霉素处理显著抑制种子萌发,10 $\mu\text{mol/L}$ 以上土霉素处理时种子完全不能萌发(图2)。

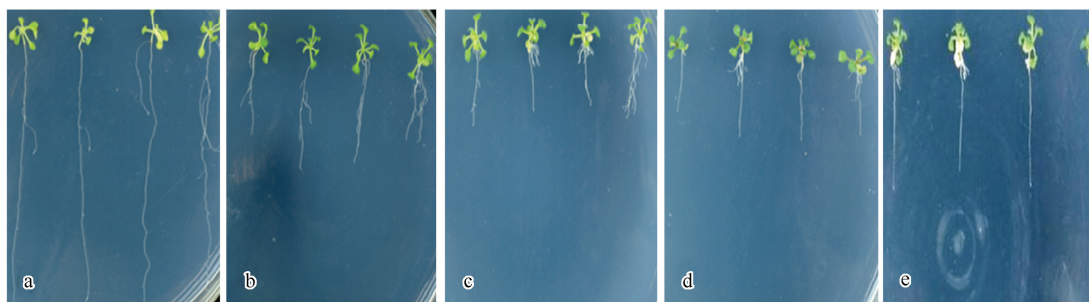


图1 土霉素处理影响植物的生长发育

Fig. 1 Oxytetracycline treatment affects plant growth and development

土霉素处理 10d 的拟南芥幼苗,土霉素浓度分别为(a)0 $\mu\text{mol/L}$, (b)3 $\mu\text{mol/L}$, (c)5 $\mu\text{mol/L}$, (d)7 $\mu\text{mol/L}$, (e)9 $\mu\text{mol/L}$

不同浓度土霉素处理均可促进拟南芥幼苗侧根的生长。与对照相比,处理 10d 时,5 $\mu\text{mol/L}$ 土霉素对侧根的促进作用最显著;土霉素对拟南芥幼苗根生长有明显的抑制作用,土霉素处理浓度越高,幼苗的根长越短。移苗于营养土后,待种子成熟时测量株高,与对照相比,经土霉素处理的拟南芥在解除胁迫生长 60d 后,株高均低于对照(图3)。

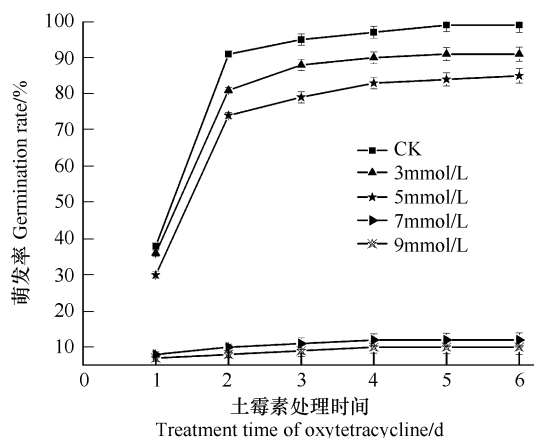


图2 不同浓度土霉素处理的拟南芥种子萌发率

Fig. 2 The germination rate of *Arabidopsis* seeds in different treatment concentrations of oxytetracycline

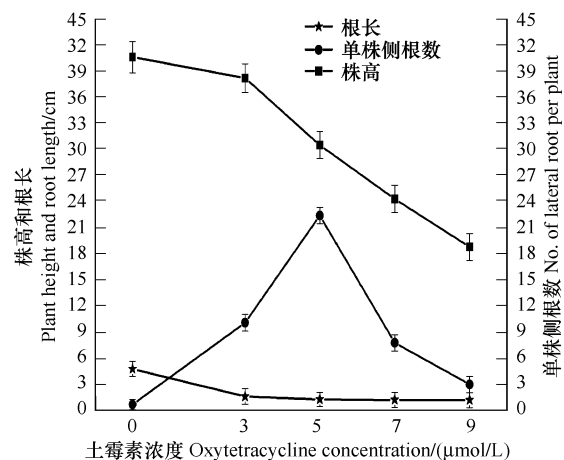


图3 土霉素对拟南芥生长的影响

Fig. 3 Effect of oxytetracycline on the growth of *Arabidopsis* seedlings

每个处理 100 株,重复 3 次

土霉素影响拟南芥抽薹和开花时间。当土霉素浓度为 3 $\mu\text{mol/L}$ 时,抽薹和开花时间均早于对照 1d;5 $\mu\text{mol/L}$ 时抽薹时间与对照一致,开花时间晚于对照 1d;而当浓度在 7 $\mu\text{mol/L}$ 以上时,抽薹和开花时间均晚于对照(图4)。

在不同土霉素浓度胁迫下,拟南芥种子萌发率,根伸长和侧根数量对土霉素的生态毒理性敏感顺序依次为:根伸长 > 萌发率 > 侧根数量。根伸长抑制率是此种抗生素最好的生态毒理性指标。这可能与拟南芥的根是土霉素的主要积累位置有关,这与前人的研究结果一致。Migliore 等^[16]发现生菜的根是恩诺沙星积累的主要位置。崔馨等^[17]发现土霉素抑制生菜根的生长,土霉素浓度越高抑制作用越显著。土霉素对拟南芥抽薹

和开花时间及株高均有的抑制作用,浓度越高抑制作用越显著。这可能是由于土霉素被植物吸收后在体内长期残留,随土霉素浓度的增加,拟南芥幼苗基因组 DNA 的去甲基化急剧降低,而甲基化显著升高,生长也受到抑制。

2.2 土霉素胁迫引起的甲基化水平变化

Hpa II 和 *Msp* I 是一组同裂酶,二者均识别并切割 5'-CCGG-3' 序列,但是, *Hpa* II 对胞嘧啶的甲基化极其敏感,它不能切割任何一个或两个胞嘧啶均甲基化的序列,也即 *Hpa* II 对 5'-CmCCGG-3'、5'-mCCGG-3' 和 5'-mCmCCGG-3' 都不能表现活性,但是若只在单链发生甲基化,它是能够识别并切割的。而 *Msp* I 只对外部胞嘧啶的甲基化敏感,即 *Msp* I 可以切割 5'-CmCCGG-3',但不能切割 5'-mCCGG-3'。样品 DNA 经 *Hpa* II/*Eco*R I (H) 和 *Msp* I/*Eco*R I (M) 酶切后的产物通常有 4 种甲基化类型,但在聚丙烯酰胺凝胶电泳分析胶上只能检测出 3 种甲基化类型。I 型带是在 *Eco*R I/*Hpa* II 和 *Eco*R I/*Msp* I 两种酶切组合中均出现的带,表明 CCGG 位点未发生甲基化(图 5a); II 型带是在 *Eco*R I/*Hpa* II 酶切中不出现但在 *Eco*R I/*Msp* I 中出现,表明 CCGG 位点发生全甲基化(图 5b); III 型带是在 *Eco*R I/*Hpa* II 酶切中出现但在 *Eco*R I/*Msp* I 中不出现的带,表明 CCGG 位点发生半甲基化(图 5c)。用 *Eco*R I 和 *Hpa* II-*Msp* I 的 10 对引物组合共扩增出 1138 条带型分布见表 1。

为了检测拟南芥在响应土霉素胁迫过程中的 DNA 甲基化模式,利用不同的引物组合对来自对照和土霉素处理的拟南芥基因组 DNA 进行 MSAP 分析。表 1 表明,不同浓度的土霉素胁迫能导致拟南芥幼苗全基因组 DNA 胞嘧啶甲基化水平的降低,而且 7 $\mu\text{mol/L}$ 以下土霉素胁迫时半甲基化率高于全甲基化率,9 $\mu\text{mol/L}$ 时半甲基化率低于全甲基化率。由此推测,拟南芥经土霉素胁迫后存在基于 DNA 甲基化水平和模式改变的表观遗传变异,对照和土霉素处理样品在所检测到的内侧 C 完全甲基化水平上有升有降,均表现出不同程度的变异,但无统一规律。而外侧 C 半甲基化水平随胁迫浓度的增加呈下降的趋势。在 7 $\mu\text{mol/L}$ 以下土霉素胁迫时拟南芥基因组 CCGG 位点发生甲基化的方式主要是以双链半甲基化(^mCCGG)为主;9 $\mu\text{mol/L}$ 时拟南芥基因组 CCGG 位点发生甲基化的方式以双链全甲基化(C^mCCGG)为主,10 $\mu\text{mol/L}$ 以上土霉素处理的幼苗全部死亡。

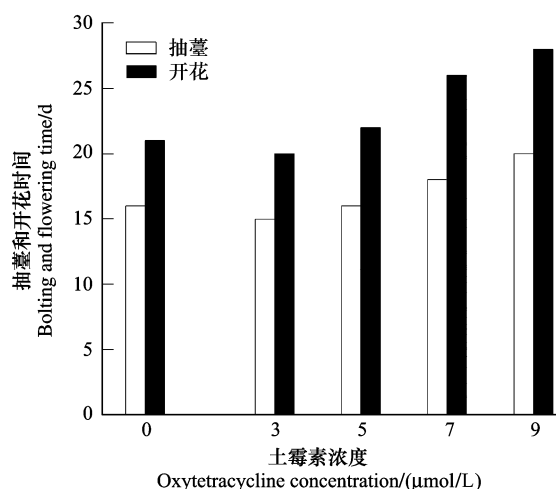


图 4 不同浓度土霉素处理对拟南芥抽薹和开花时期的影响

Fig. 4 The Bolting and Flowering time of Arabidopsis in different treatment concentrations of oxytetracycline

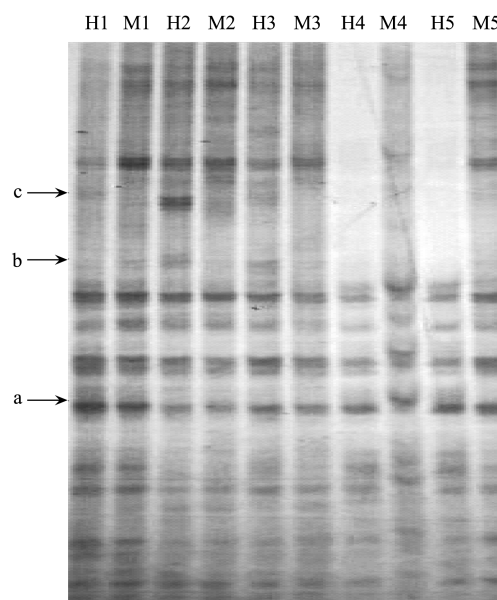


图 5 土霉素处理与对照之间拟南芥幼苗基因组的甲基化敏感性扩增结果

Fig. 5 Profiles of MSAP in Arabidopsis between control and oxytetracycline treatments

H1, H2, H3, H4, H5 为 *Hpa* II/*Eco*R I 酶切, M1, M2, M3, M4, M5 为 *Msp* I/*Eco*R I 酶切。H1 和 M1 泳道为对照组的 MSAP 带型。而 H2, H3, H4, H5 和 M2, M3, M4, M5 泳道为处理组的 MSAP 带型

表 1 不同浓度土霉素处理对拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化水平的影响

Table 1 Effects of different oxytetracycline concentrations on the levels of genomic DNA methylation in Arabidopsis seedlings									
土霉素浓度 (μmol/L) Oxytetra- cycline concentration	甲基化扩增类型 Types of amplified bands								
	未甲基化的 CCGG 位点 The CCGG loci of non-methylated		甲基化的 CCGG 位点 The CCGG loci of methylated				总扩增带数 ^a Total amplified bands ^a	总甲基化带数 ^b Total methylated bands ^b	甲基化带比 Methylated Bands ratio/%
			完全甲基化位点 Fully methylated loci		半甲基化位点 Half methylated loci				
	类型 I Type I	比例 Ratio /%	类型 II Type II	比例 Ratio /%	类型 III Type III	比例 Ratio /%			
CK	234	81.82	32	11.19	20	6.99	286	52	18.18
3	220	82.09	22	8.21	26	9.70	268	48	17.91
5	238	87.50	14	5.15	20	7.35	272	34	12.50
7	224	88.19	14	5.51	16	6.30	254	30	11.81
9	222	85.38	30	11.54	8	3.08	260	38	14.62

a:总扩增带数= I + II + III;b:总甲基化带数= II + III;完全甲基化比率=类型 II/总扩增带数;半甲基化比率=类型 III/总扩增带数;甲基化带比=总甲基化带数/总扩增带数

2.3 土霉素胁迫引起的甲基化状态变化

利用不同的引物组合在 4 个土霉素处理和对照样品 DNA 的 *Hpa* II/*Eco*R I (H) 和 *Msp* I/*Eco*R I (M) 酶切产物中进行选择性扩增。各引物组合检测到条带数目为 15—40,平均约 25 条。

土霉素处理与对照的甲基化敏感性扩增共出现 12 种带型(表 2)。甲基化带型主要有多态性和单态性 2 种。多态性即对照与处理在甲基化模式上不同,表明 CCGG 位点甲基化状态在土霉素处理后发生改变。该多态性又有 3 种状态即甲基化(A 型)、去甲基化(B 型)和不定类型(C 型)。其中,A 型中的 A1 和 A2 为重新甲基化(对照 H 和 M 泳道都有带,而处理仅 H 或 M 泳道有带),A3 和 A4 为超甲基化(对照仅 H 或 M 有一条带,而处理 H 和 M 泳道都没带)。A 型表明土霉素胁迫诱导拟南芥幼苗基因组 DNA 发生了甲基化水平增加的变化;B 型含 B1、B2、B3 和 B4,为去甲基化类型,甲基化状态与 A 型相反,表明土霉素胁迫后基因组 DNA 发生了甲基化水平下降的变化;C 型为不定类型,对照组与处理组中 DNA 甲基化程度的差异无法确定。单态性即对照与处理之间有相同的带型(D 型),表明土霉素处理后 CCGG 位点的甲基化状态没发生变化。其中,D1 型为未甲基化,D2 和 D3 为半甲基化。处理与对照的甲基化模式带型 A、B、C 和 D 及相应的位点数见表 2。

3、5、7、9 μmol/L 土霉素处理的拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化(A 型)位点数分别占总甲基化多态性扩增位点数的 13.29%、9.22%、8.03% 和 12.59%;去甲基化(B 型)位点数分别占总甲基化多态性扩增位点数的 2.80%、4.26%、5.11% 和 4.90%。与对照相比,3、5、7、9 μmol/L 土霉素处理后的总甲基化多态性分别为 16.08%、13.48%、13.87% 和 17.48%(表 3)。由此推测,土霉素处理后拟南芥幼苗基因组 DNA 的甲基化程度增加;在扩增的甲基化位点中,不同浓度土霉素胁迫均诱导甲基化的位点数高于发生去甲基化的位点数(图 6),同时基因组 DNA 甲基化多态性也随之有升有降。表明拟南芥幼苗基因组 DNA 的甲基化和去甲基化之比会随着土霉素胁迫的增强而发生不同程度的变异。

3 讨论

植物在生长发育过程中,DNA 甲基化水平的改变在调控重要功能基因表达、基因组防御以及细胞发育与分化等方面具有重要作用^[18-19]。植物基因中的启动子和编码区的过度甲基化能阻碍转录因子复合体与 DNA 的结合,抑制基因的表达,引起基因沉默;而去甲基化则有利于基因表达。因此,掌握基因组甲基化水平的变化有助于研究功能基因的表达调控以及植物适应逆境胁迫的分子机理。

表 2 土霉素处理与对照的甲基化状态
Table 2 Patterns of DNA methylation in oxytetracycline treatments and control

酶切 ^a Digestion ^a				甲基化状态变化 Changes of methylation status		对照与土霉素处理的比较 Comparison between the controls and oxytetracycline treatment				带型 Band Pattern
H	M	H	M	处理前 Before treatment	处理后 After treatment	CK-3	CK-5	CK-7	CK-9	
0	0	0	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	2	0	2	4	B3
0	0	1	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	1	2	2	0	B4
0	1	1	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	1	3	2	2	B1
1	0	1	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>GGCC</u>	0	1	1	1	B2
1	1	1	0	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>GGCC</u>	6	0	0	0	A2
1	1	0	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	1	0	0	5	A1
0	1	0	0	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	8	6	8	8	A3
1	0	0	0	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	4	7	3	5	A4
0	1	1	0	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>GGCC</u>	0	0	1	0	C
1	1	1	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	108	113	107	108	D1
1	0	1	0	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>CCGG</u>	<u>CCGG</u> <u>CCGG</u> <u>GGCC</u> <u>GGCC</u>	5	2	6	4	D2
0	1	0	1	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	<u>CCGG</u> <u>GGCC</u>	7	7	5	6	D3

a: H 和 M 分别代表 *Hpa* II/*Eco*R I 和 *Msp*I/*Eco*R I 酶切; C 和 CC 表示甲基化的胞嘧啶; 1: 有带, 0: 无带; ; CK-3, CK-5, CK-7, CK-9 分别表示拟南芥在 3, 5, 7 和 9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 土霉素处理后与对照之间的甲基化带型差异数量比较

表 3 土霉素处理对拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化状态的影响

Table 3 Effects of different oxytetracycline concentrations on the Patterns of genomic DNA methylation in Arabidopsis seedlings

对照与土霉素 处理的比较 Comparison between the controls and oxytetracycline treatment	甲基 化带 ^a Methylated bands ^a	总甲基化多态性带型 Polymorphism Bands								单态性带型 Monomorphism Bands	
		A 型 Type A	比率 Ratio /%	B 型 Type B	比率 Ratio /%	C 型 Type C	比率 Ratio /%	多态 性带 ^b Polymorphism bands	比率 Ratio /%	D 型 Type D	比率 Ratio /%
CK-3	143	19	13.29	4	2.80	0	0	23	16.08	120	83.92
CK-5	141	13	9.22	6	4.26	0	0	19	13.48	122	86.52
CK-7	137	11	8.03	7	5.11	1	0.73	19	13.87	118	86.13
CK-9	143	18	12.59	7	4.90	0	0	25	17.48	118	82.52

a: 甲基化带数 = A+B+C+D; b: 多态性带数 = A+B+C; 总甲基化多态性比率 = 类型 A+B+C / 总甲基化带数; 单态性比率 = 类型 D / 总甲基化带数; CK-3, CK-5, CK-7, CK-9 分别表示拟南芥在 3, 5, 7 和 9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 土霉素处理后与对照之间的甲基化带型差异数量比较

通常高等植物 DNA 被甲基化的碱基是胞嘧啶,不同植物及不同组织 DNA 甲基化不完全一致^[18]。另外,在植物基因组中,CAG、CTG 和 CCG 位点也经常发生甲基化,但 MSAP 方法只能检测 CG 和部分 CCG 的甲基化情况且对于双链内外胞嘧啶甲基化无法检测,因此整个基因组中胞嘧啶的实际甲基化率可能高于本实验的结果。逆境胁迫能够提高 DNA 甲基化水平,如重金属 (Cd、Pb) 可以引起水稻、小麦、油菜等幼苗基因组中的总甲基化水平升高^[20-21]。但在本研究中,拟南芥在土霉素处理下存在基于 DNA 甲基化水平和模式改变的表

观遗传变异。土霉素胁迫浓度与拟南芥基因组 DNA 甲基化水平变化无线性相关性,但土霉素胁迫下的拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化水平平均低于对照。不同土霉素浓度胁迫下,DNA 甲基化模式的变异有明显差异;甲基化变异模式以甲基化为主(8.03%—13.29%),去甲基化变异较少(2.80%—5.11%)。这与在砒污染胁迫浓度与水稻叶片基因组 DNA 甲基化水平变化无线性相关性结果相一致^[22]。土霉素胁迫下的拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化水平平均低于对照,推测是由于胁迫引起低甲基化与基因表达有关。研究表明,低甲基化被认为是一种简单且间接影响逆境胁迫的方式或者是一种准确调控基因表达的防御机制,因此特异序列的甲基化变异经常与基因表达改变有关^[23]。

对不同浓度土霉素胁迫下拟南芥基因组 DNA 甲基化模式的分析表明,随着土霉素浓度的增加,拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化的比率均高于去甲基化比率(图

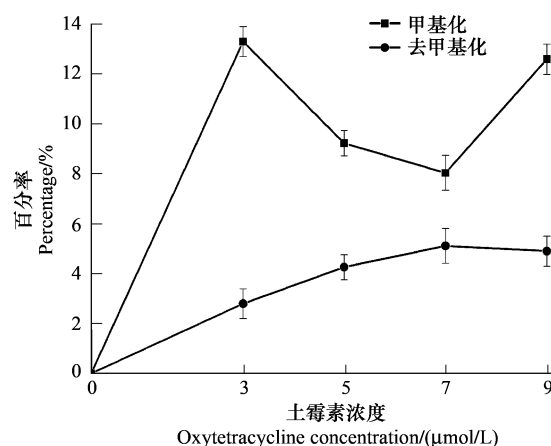


图6 土霉素胁迫引起的拟南芥幼苗基因组 DNA 甲基化和去甲基化的变化趋势

Fig. 6 Trends of DNA methylation and demethylation changes in Arabidopsis under oxytetracycline stress

6)。这与其它逆境胁迫下 DNA 甲基化模式变化趋势一致。另外,土霉素胁迫下拟南芥基因组 DNA 的甲基化模式变化趋势也与其生长趋势相似。土霉素浓度在 3—9 μmol/L 时拟南芥基因组 DNA 的去甲基化比率均低于甲基化比率,生长受到抑制;浓度越高,抑制作用越显著。由此推测,拟南芥经土霉素处理后基因组 DNA 某些位点的甲基化状态发生变化而使基因表达发生了改变,产生或启动对土霉素胁迫的能动应激机制,当胁迫持续增强时利用甲基化关闭相关基因而终止其表达,以减少消耗来维持最低的生长发育。这与生长在高电离辐射区的松树基因组 DNA 发生甲基化程度升高的变异,构建基因组防御体系以维持基因组稳定的机制相似^[20]。表观遗传的改变如降低 DNA 甲基化水平可能对植物生态上重要性状的基因型,可变性和重塑性有极为重要的影响。在植物群体的进化生态上,表观遗传变异可能是一个被忽视的因素^[24]。植物在应对环境刺激时甲基化水平的改变是动态的,环境刺激比如铝^[25],重金属^[26]和水胁迫^[27]也造成了全基因组和特定位点胞嘧啶甲基化水平的增加和降低^[28]。

通过 MSAP 检测到在不同浓度土霉素胁迫下拟南芥基因组中的胞嘧啶甲基化存在差异,这些差异的片段与拟南芥响应土霉素胁迫是否有关,具体涉及哪些基因,尚需进一步研究证实。需要许多含甲基化修饰的 5'-CCGG-3'序列的分离和基因功能的研究才能更深入地理解土霉素胁迫下基因组 DNA 的甲基化和逆境适应的机制。

致谢:河南大学植物逆境实验室武桂丽、戚欢欢对实验提供支持,河南大学生态科学与技术研究所王晓辉老师对论文写作给予帮助。

References:

- [1] Jiang X S, Wang J P, Ying Y B, Li Y B. Recent advances in biosensors for food safety detection. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2007, 23(5): 272-277.
- [2] Jemba P K. The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on plants grown on arable land; a review. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2002, 93(2): 267-278.
- [3] Huang P P, Zhou Q X, Dong L X. Antibiotics on pollution of the soil environment and research and prospects of phytoremediation. Science and Technology Information, 2010, (11): 795-796.
- [4] Liguoro M D, Cibin V, Capolongo F. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming; evaluation of transfer to manure and soil. Chemosphere, 2003, 52(1): 203-212.
- [5] Winckler C, Grafe A. Use of veterinary drugs in intensive animal production Evidence for persistence of tetracycline in pig slurry. Journal of Soil and Sediments, 2001, 1(2): 66-70.

- [6] Jacobsen P, Berglund L. Persistence of oxytetracycline in sediments from fish farms. *Aquaculture*, 1988, 70(4): 365-370.
- [7] Kumar K, Gupta S C, Baidoo S K, Rosen C J. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *Journal of Environmental Quality*, 2005, 34(6): 2082-2085.
- [8] Boxall A B A, Johnson P, Smith E J, Sinclair C J, Stutt E, Levy L S. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(6): 2288-2297.
- [9] Bradel B G, Preil W, Jeske H. Remission of the free-branching pattern of *Euphorbia puleherrima* by tetracycline treatment. *Journal of Phytopathology*, 2000, 148(11/12): 587-590.
- [10] Li M, Zhai X Q, Fan G Q, Zhang B L, Liu F. Effect of oxytetracycline on the morphology of seedling with witches' broom and DNA methylation level of *Paulownia tomentosa* × *P. fortunei*. *Scientia Silvae sinicae*, 2008, 44(9): 152-155.
- [11] Saze H, Scheid O M, Paszkowski J. Maintenance of CpG methylation is essential for epigenetic inheritance during plant gametogenesis. *Nature Genetics*, 2003, 34(1): 65-69.
- [12] Yi Z B, Sun Y, Niu T T, Ling X H, Liu L L, Yan M, Zho W J. Genomic DNA cysteine methylations of corn hybrids and their parents. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2005, 25(12): 2420-2425.
- [13] Li X L, Lin Z X, Nie Y C, Guo X P, Zhang X L. MSAP analysis of epigenetic changes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(4): 588-596.
- [14] Micheli M R, Bova R, Pascale E, D'Ambrosio E. Reproducible DNA fingerprinting with the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(10): 1921-1922.
- [15] He Y X, Wang Z C, Cao H P, Zhang C W. Initial study of DNA methylation difference of garlic (*Allium sativum* L.) growing in light and darkness. *Plant Physiology Communications*, 2007, 43(1): 85-88.
- [16] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere*, 2003, 52(7): 1233-1244.
- [17] Cui X, Qiao X L, Han C W, Wang Z. Uptake of oxytetracycline and its phytotoxicity to lettuce. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3): 1038-1042.
- [18] Richards E J. DNA methylation and plant development. *Trends in Genetics*, 1997, 13(8): 319-323.
- [19] Yoder J A, Walsh C P, Bester T H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends in Genetics*, 1997, 13(8): 335-340.
- [20] Ge C L, Yang X Y, Liu X N, Sun J H, Luo S S, Wang Z G. Effect of heavy metal on the DNA methylation level in rice and wheat. *Plant Physiology and Molecular Biology*, 2002, 28(5): 363-368.
- [21] Labra M, Ghiani A, Citterio S, Sgorbati S, Sala F, Vannini C, Ruffini-Castiglione M, Bracale M. Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. *Plant Biology*, 2002, 4(6): 694-699.
- [22] Fan J C, Liu B, Wang J Y, Sheng L X. Effect of naphthalene on the DNA methylation patterns and level in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science*, 2010, 31(3): 793-799.
- [23] Kovalchuk O, Burke P, Arkhipov A, Kuchma N, James S J, Kovalchuk I, Pogribny I. Genome hypermethylation in *Pinus silvestris* of Chernobyl — a mechanism for radiation adaptation?. *Mutation Research*, 2003, 529(1/2): 13-20.
- [24] Bossdorf O, Arcuri D, Richards C L, Pigliucci M. Experimental alteration of DNA methylation affects the phenotypic plasticity of ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Evolutionary Ecology*, 2010, 24(3): 541-553.
- [25] Choi C S, Sano H. Abiotic-stress induced demethylation and transcriptional activation of a gene encoding a glycerophosphodiesterase-like protein in tobacco plants. *Molecular Genetics and Genomics*, 2007, 277(5): 589-600.
- [26] Aina R, Sgorbati S, Santagostino A, Labra M, Ghiani A, Citterio S. Specific hypomethylation of DNA is induced by heavy metals in white clover and industrial hemp. *Physiologia Plantarum*, 2004, 121(3): 472-480.
- [27] Labra M, Ghiani A, Citterio S, Sgorbati S, Sala F, Vannini C, Ruffini-Castiglione M, Bracale M. Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. *Plant Biology*, 2002, 4(6): 694-699.
- [28] Zhao Y L, Yu S X, Ye W W, Wang H M, Wang J J, Fang B X. Study on DNA cytosine methylation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Genome and its implication for salt tolerance. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9(6): 783-791.

参考文献:

- [1] 蒋雪松, 王剑平, 应义斌, 李延斌. 用于食品安全检测的生物传感器的研究进展. *农业工程学报*, 2007, 23(5): 272-277.
- [3] 黄盼盼, 周启星, 董璐玺. 抗生素对土壤环境的污染与植物修复的研究与展望. *科技信息*, 2010, (11): 795-796.
- [10] 黎明, 翟晓巧, 范国强, 张变莉, 刘飞. 土霉素对豫杂一号泡桐丛枝病幼苗形态和 DNA 甲基化水平的影响. *林业科学*, 2008, 44(9): 152-155.
- [12] 仪治本, 孙毅, 牛天堂, 梁小红, 刘龙龙, 闫敏, 赵威军. 玉米杂交种及其亲本基因组 DNA 胞嘧啶甲基化水平研究. *西北植物学报*, 2005, 25(12): 2420-2425.
- [13] 李雪林, 林忠旭, 聂以春, 郭小平, 张献龙. 盐胁迫下棉花基因组 DNA 表观遗传变化的 MSAP 分析. *作物学报*, 2009, 35(4): 588-596.
- [15] 何艳霞, 王子成, 曹红平, 张成婉. 光暗条件下大蒜 DNA 甲基化差异的初步研究. *植物生理学通讯*, 2007, 43(1): 85-88.
- [17] 崔馨, 乔显亮, 韩成伟, 王震. 生菜对土霉素的吸收及其植物毒性. *农业环境科学学报*, 2008, 27(3): 1038-1042.
- [22] 范建成, 刘宝, 王隽媛, 盛连喜. 茶胁迫对水稻基因组 DNA 甲基化模式及水平的影响. *环境科学*, 2010, 31(3): 793-799.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 10 May, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Circadian activity pattern of giant pandas during the bamboo growing season	2655
..... ZHANG Jindong, Vanessa HULL, HUANG Jinyan, et al	
The vivipary characteristic of <i>Anabasis elatior</i> and its ecological adaptation	2662
..... HAN Jianxin, WEI Yan, YAN Cheng, et al	
Relationships between plant community characteristics and environmental factors in the typical profiles from Dzungaria Basin	2669
..... ZHAO Congju, KANG Muyi, LEI Jiaqiang	
The relationship between pollen assemblage in topsoil and vegetation in karst mountain during different restoration period of typical vegetation community	2678
..... HAO Xiudong, OUYANG Xuhong, XIE Shiyong, et al	
Early responses of soil CO ₂ emission to simulating atmospheric nitrogen deposition in an alpine meadow on the Qinghai Tibetan Plateau	2687
..... ZHU Tianhong, CHENG Shulan, FANG Huajun, et al	
Spatial pattern of soil moisture and vegetation attributes along the critical area of desertification in Southern Mu Us Sandy Land	2697
..... QIU Kaiyang, XIE Yingzhong, XU Dongmei, et al	
Dynamics of dominant tree seedlings in montane evergreen broadleaved forest following a snow disaster in North Guangdong	2708
..... OU Yudian, SU Zhiyao, XIE Dandan, et al	
A comparative analysis of the hydrological effects of the four cypress stand types in Sichuan Basin	2716
..... GONG Gutang, CHEN Junhua, LI Yanqiong, et al	
Effect of cutting management on soil moisture in semi-arid Loess Hilly region	2727
..... LI Yaolin, GUO Zhongsheng	
Dynamics of understory vegetation biomass in successive rotations of Chinese fir (<i>Cunninghamia lanceolata</i>) plantations	2737
..... YANG Chao, TIAN Dalun, HU Yueli, et al	
Spatial and temporal variation of solar radiation in recent 48 years in North China	2748
..... YANG Jianying, LIU Qin, YAN Changrong, et al	
Impact of stand features of short-rotation poplar plantations on canker disease incidence at a mesoscale landscape: a case study in Qingfeng County, Henan Province, China	2757
..... WANG Jing, CUI Lingjun, LIANG Jun, et al	
Effects of different soil tillage systems on weed biodiversity and wheat yield in winter wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) field	2768
..... TIAN Xinxin, BO Cunyao, LI Li, et al	
Habitat suitability evaluation of Elliot's pheasant (<i>Syrnaticus ellioti</i>) in Guanshan Nature Reserve	2776
..... CHEN Junhao, HUANG Xiaofeng, LU Changhu, et al	
Relationships between arthropod community characteristic and meteorological factors in <i>Zanthoxylum bungeanum</i> gardens	2788
..... GAO Xin, ZHANG Xiaoming, YANG Jie, et al	
The differences of ecosystem services between vegetation restoration models at desert front	2797
..... ZHOU Zhiqiang, LI Ming, HOU Jianguo, et al	
Response to salt stresses and assessment of salt tolerability of soybean varieties in emergence and seedling stages	2805
..... ZHANG Haibo, CUI Jizhe, CAO Tiantian, et al	
Dynamic change of salt contents in rhizosphere soil of salt-tolerant plants	2813
..... DONG Liping, CAO Jing, LI Xianting, et al	
Effect of short-term salt stress on the absorption of K ⁺ and accumulation of Na ⁺ , K ⁺ in seedlings of different wheat varieties	2822
..... WANG Xiaodong, WANG Cheng, MA Zhihong, et al	
Effects of the micro-environment inside fruit bags on the structure of fruit peel in 'Fuji' apple	2831
..... HAO Yanyan, ZHAO Qifeng, LIU Qunlong, et al	
Enhancement of soil quality in a rice-wheat rotation after long-term application of poultry litter and livestock manure	2837
..... LI Jiangtao, ZHONG Xiaolan, ZHAO Qiguo	
MSAP analysis of DNA methylation in <i>Arabidopsis</i> (<i>Arabidopsis thaliana</i>) under Oxytetracycline Stress	2846
..... DU Yaqiong, WANG Zicheng, LI Xia	
Distribution of dinoflagellate cysts in surface sediments from Changshan Archipelago in the North Yellow Sea	2854
..... SHAO Kuishuang, GONG Ning, YANG Qing, et al	
Developing and optimizing ecological networks in urban agglomeration of Hunan Province, China	2863
..... YIN Haiwei, KONG Fanhua, QI Yi, et al	
Dynamic simulation of Shanghai urban expansion based on multi-agent system and cellular automata models	2875
..... QUAN Quan, TIAN Guangjin, SHA Moquan	
"Micro-canyon effect" of city road green belt and its effect on the pollutant concentration above roads for non-motorized vehicles	2888
..... LI Ping, WANG Song, WANG Yaying, et al	
Review and Monograph	
The abundance and diversity of nanoplankton in Arctic Ocean	2897
..... GUO Chaoying, WANG Guizhong, ZHANG Fang, et al	
Advances in plant seed-associated microbial ecology	2906
..... ZOU Yuanyuan, LIU Yang, WANG Jianhua, et al	
Improving validity and reliability of contingent valuation method through reducing biases and errors: theory, method and application	2915
..... CAI Zhijian, DU Liyong, JIANG Zhan	
Discussion	
The analysis of Chinese ecological academic journals	2924
..... LIU Tianxing, KONG Hongmei, DUAN Jing	
Scientific Note	
Seasonal variations in salt tolerance of <i>Oligostachyum lubricum</i>	2932
..... GU Daxing, GUO Ziwu, LI Yingchun, et al	
Variation of a spring bacterial community from Wuqia Sinter in Xinjiang during the pre- and post-earthquake period	2940
..... YANG Hongmei, OTKUR Mahmut, ZENG Jun, et al	
Comparison of the effect of two prey species on the population growth of <i>Orius similis</i> Zheng and the implications for the control of <i>Tetranychus urticae</i> Koch	2947
..... HUANG Zengyu, HUANG Linmao, HUANG Shoushan	

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 10 期 (2011 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 10 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