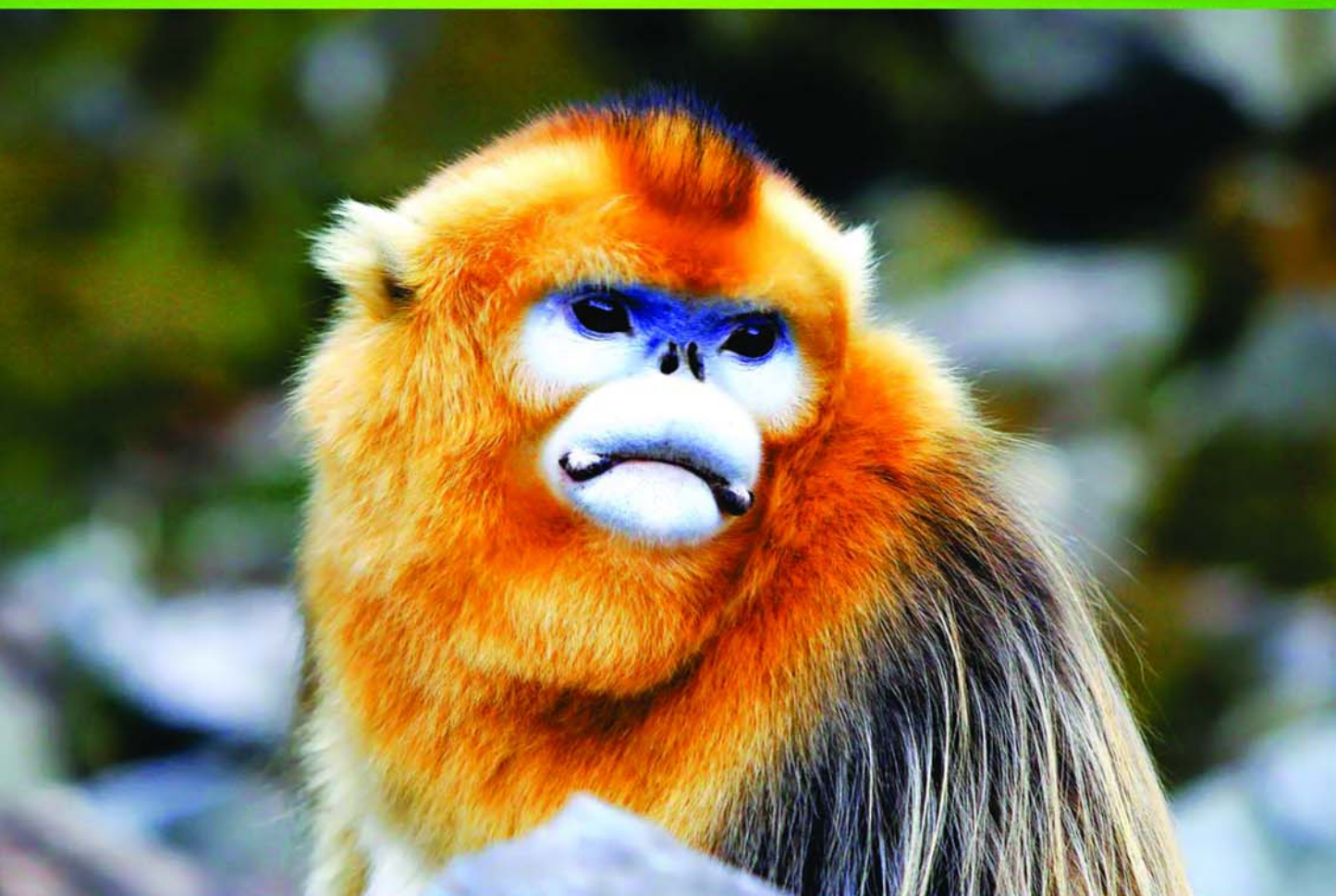


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

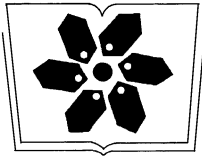
Acta Ecologica Sinica



第32卷 第2期 Vol.32 No.2 **2012**

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 32 卷 第 2 期

2012 年 1 月 (半月刊)

目 次

北部湾秋季底层鱼类多样性和优势种数量的变动趋势	王雪辉,邱永松,杜飞雁,等 (333)
中国大陆鸟类和兽类物种多样性的空间变异	丁晶晶,刘定震,李春旺,等 (343)
粉蝶盘绒茧蜂中国和荷兰种群学习行为及 EAG 反应的比较	王国红,刘 勇,戈 峰,等 (351)
君主绢蝶的生物学及生境需求	方健惠,骆有庆,牛 犇,等 (361)
西南大西洋阿根廷滑柔鱼生物学年间比较	方 舟,陆化杰,陈新军,等 (371)
城市溪流中径流式低坝对底栖动物群落结构的影响	韩鸣花,海燕,周 斌,等 (380)
沉积再悬浮颗粒物对马氏珠母贝摄食生理影响的室内模拟	栗志民,申玉春,余南涛,等 (386)
太平洋中西部海域浮游植物营养盐的潜在限制	徐燕青,陈建芳,高生泉,等 (394)
几株赤潮甲藻的摄食能力	张清春,于仁成,宋静静,等 (402)
高摄食压力下球形棕囊藻凝聚体的形成	王小冬,王 艳 (414)
大型绿藻浒苔藻段及组织块的生长和发育特征	张必新,王建柱,王乙富,等 (421)
链状亚历山大藻生长衰亡相关基因的筛选	仲 洁,隋正红,王春燕,等 (431)
太湖春季水体固有光学特性及其对遥感反射率变化的影响	刘忠华,李云梅,吕 恒,等 (438)
程海富营养化机理的神经网络模拟及响应情景分析	邹 锐,董云仙,张祯祯,等 (448)
沙质海岸灌化黑松对蛀食胁迫的补偿性响应	周 振,李传荣,许景伟,等 (457)
泽陆蛙和饰纹蛙蝌蚪不同热驯化下选择体温和热耐受性	施林强,赵丽华,马小浩,等 (465)
麦蚜和寄生蜂对农业景观格局的响应及其关键景观因子分析	赵紫华,王 颖,贺达汉,等 (472)
镉胁迫对芥蓝根系质膜过氧化及 ATPase 活性的影响	郑爱珍 (483)
生姜水浸液对生姜幼苗根际土壤酶活性、微生物群落结构及土壤养分的影响	韩春梅,李春龙,叶少平,等 (489)
九州虫草菌丝体对 Mn 的耐性及富集	罗 毅,程显好,张聪聪,等 (499)
土霉素暴露对小麦根际抗生素抗性细菌及土壤酶活性的影响	张 昊,张利兰,王 佳,等 (508)
氮沉降对杉木人工林土壤有机碳矿化和土壤酶活性的影响	沈芳芳,袁颖红,樊后保,等 (517)
火炬树雌雄母株克隆生长差异及其光合荧光日变化	张明如,温国胜,张 瑾,等 (528)
湖南乌云界自然保护区典型生态系统的土壤持水性能	潘春翔,李裕元,彭 亿,等 (538)
祁连山东段高寒地区土地利用方式对土壤性状的影响	赵锦梅,张德罡,刘长仲,等 (548)
沙质草地生境中大型土壤动物对土地沙漠化的响应	刘任涛,赵哈林 (557)
腾格里沙漠东南缘可培养微生物群落数量与结构特征	张 威,章高森,刘光琇,等 (567)
塔克拉玛干沙漠南缘玉米对不同荒漠化环境的生理生态响应	李 磊,李向义,林丽莎,等 (578)
内蒙古锡林河流域羊草草原 15 种植物热值特征	高 凯,谢中兵,徐苏铁,等 (588)
不同密度条件下芨芨草空间格局对环境胁迫的响应	张明娟,刘茂松,徐 驰,等 (595)
环境因子对巴山冷杉-糙皮桦混交林物种分布及多样性的影响	任学敏,杨改河,王得祥,等 (605)
海藻酸铈配合物对毒死蜱胁迫下菠菜叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响	栾 霞,陈振德,汪东风,等 (614)
城市化进程中城市热岛景观格局演变的时空特征——以厦门市为例	黄聚聪,赵小锋,唐立娜,等 (622)
基于遥感和 GIS 的川西绿被时空变化研究	杨存建,赵梓健,任小兰,等 (632)
亚热带城乡复合系统 BVOC 排放清单——以台州地区为例	常 杰,任 远,史 琰,等 (641)
研究简报	
不同水分条件下毛茛苔草枯落物分解及营养动态	侯翠翠,宋长春,李英臣,等 (650)
大山雀对巢箱颜色的识别和繁殖功效	张克勤,邓秋香,Justin Liu,等 (659)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 330 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-01	



封面图说: 雄视——中国的金丝猴有川、黔、滇金丝猴三种,此外还有越南和缅甸金丝猴两种。金丝猴是典型的森林树栖动物,常年栖居于海拔 1500—3300m 的亚热带山地、亚高山针叶林、针阔叶混交林,常绿落叶阔叶混交林中,随着季节的变化,只在栖息的生境中作垂直移动。川金丝猴身上长着柔软金色长毛,十分漂亮。个体大,嘴角处有瘤状突起的是雄性金丝猴的特征。川金丝猴只分布在中国的四川、甘肃、陕西和湖北省。属国家一级重点保护、CITES 附录一物种。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201011301704

罗毅, 程显好, 张聪聪, 李维焕, 于德洋. 九州虫草菌丝体对 Mn 的耐性及富集. 生态学报, 2012, 32(2): 0499-0507.

Luo Y, Cheng X H, Zhang C C, Li W H, Yu D Y. Manganese tolerance and accumulation in mycelia of *Cordyceps kyuysuensis*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(2): 0499-0507.

九州虫草菌丝体对 Mn 的耐性及富集

罗毅, 程显好*, 张聪聪, 李维焕, 于德洋

(鲁东大学菌物科学与技术研究院, 生命科学学院, 烟台 264025)

摘要: 重金属耐性真菌的研究是生物修复的重要研究内容。研究了九州虫草(*Cordyceps kyuysuensis*)对于 Mn 的耐性及富集。在液体培养基中添加不同浓度(0—60 g/L)的 Mn 离子, 测定其菌丝生物量、菌丝 Mn 含量、菌丝抗氧化酶活性和过氧化水平以及菌体细胞离子交换量、Mn 在细胞中的分布的变化情况。实验结果表明九州虫草菌丝生物量与 Mn 浓度呈显著负相关, Mn 浓度 60 g/L 为九州虫草菌丝生长极限浓度。菌丝中 Mn 含量随培养基中 Mn 浓度的增大而显著升高, 10 g/L Mn 时, 菌丝细胞中 Mn 积累量达到细胞干重的 1.0013%。九州虫草菌丝中过氧化产物丙二醛(MDA)、可溶性蛋白(SP)含量、可溶性糖浓度与培养基中 Mn 浓度呈负相关, 实验组与对照组差异显著。抗氧化酶(过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD))活性随着培养基中 Mn 浓度增大而显著升高, 但变化趋势不同。九州虫草菌丝细胞不可溶性组分中 Mn 的量(91.51%—98.6%)显著高于可溶部分(1.40%—8.49%)。九州虫草菌丝细胞壁离子交换量(CEC)随着培养基中 Mn 浓度的升高变化不明显。说明在九州虫草菌丝对 Mn 的富集过程中, 其细胞壁、细胞膜和细胞器对于 Mn 结合发挥了主要作用, 细胞质中可溶性成分对 Mn 的结合发挥次要作用。在 Mn 的胁迫下, 增强抗氧化酶系统的协同作用以清除大量自由基是细胞对锰耐性的重要机制。

关键词: 生物修复; 抗氧化酶; 膜脂过氧化; 离子交换量; 超积累

Manganese tolerance and accumulation in mycelia of *Cordyceps kyuysuensis*

LUO Yi, CHENG Xianhao*, ZHANG Congcong, LI Weihuan, YU Deyang

Institute of Mycological Science and Technology, College of Life Science, Ludong University, Yantai, 264025, China

Abstract: The study of fungi resistance to heavy metals is a very important part in the bioremediation. In this paper we report the Mn resistance and hyperaccumulation in *Cordyceps kyuysuensis* in terms of mycelia biomass, manganese content in mycelia, antioxidant enzyme activities, peroxidation level, cation exchange capacity (CEC) of mycelia cells, and the distribution of manganese in cells in submerged culture supplemented with Mn^{2+} concentrations from 0 to 60 g/L. The results showed that the mycelia biomass of *C. kyuysuensis* was negatively correlated with manganese concentration, and the upper limit of Mn^{2+} concentration for mycelia growth was 60 g/L. At a Mn^{2+} concentration of 70 g/L or above, the mycelia growth was completely inhibited. The manganese content in mycelia increased significantly with the increase in Mn^{2+} concentration in the culture medium when the Mn^{2+} concentration in the culture medium was below 60 g/L, up to 1.0013% manganese content based on the dry weight of mycelia was approached when the manganese concentration in the culture medium was 10 g/L. The contents of malondialdehyde (MDA), soluble protein (SP) and soluble sugar in mycelia of *C. kyuysuensis* were negatively correlated with the Mn concentration in the culture media, which were significantly different between the control and the group treated with manganese in the culture medium. The activity of antioxidant enzymes including peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in mycelia of *C. kyuysuensis* all increased

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: 2010-11-30; **修订日期:** 2011-05-09

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

with the increase in the initial Mn concentration in the culture media, but the mode of change in those indices varied greatly. The manganese content in the insoluble components (91.51%—98.6%) were much higher than that (1.4%—8.49%) in the soluble part of the mycelia cells. The cation exchange capacity (CEC) in *C. kyusyuensis* mycelia did not show significant change with the increase in Mn concentration in the media. The cell wall, cell membrane and organelles of *C. kyusyuensis* played major roles in binding the manganese ions in manganese accumulation, while the soluble components in cytoplasm played a minor role. Under manganese stress, the joint action of antioxidant enzyme in removing the great amount of free radicals due to peroxidation and maintaining the normal metabolism of cells is important in the mechanisms of manganese resistance in *C. kyusyuensis*. Compared with other fungi, the resistance to manganese stress in *C. kyusyuensis* is relatively high with a threshold of 60 g/L, and its ability to hyperaccumulate manganese is also very high. Our experiments showed that the manganese accumulated in the mycelia on dry weight basis was 1.0013%, just approached 1%, the threshold of hyperaccumulation, this makes the macrofungi *C. kyusyuensis* a potential hyperaccumulator for manganese. The high resistance to manganese stress and the high ability to accumulate manganese under submerged culture suggest that *C. kyusyuensis* may be applied to the bioremediation of contaminated water and soil. On the other hand, manganese content in the mycelia should be monitored and proven safe when *C. kyusyuensis* is used for medical purposes due to the ability to hyperaccumulate manganese in this fungus.

Key Words: bioremediation; antioxidant enzymes; lipid peroxidation; cation exchange capacity; hyperaccumulation

由于锰矿、电解锰废水和矿渣的排放,造成了世界各国水体、土壤及周围环境的锰污染。如何安全、高效地修复锰污染水源和土壤,是一项迫切需要解决的新课题^[1-2]。生物修复因具有费用低、操作简便和对环境影响小等优势,近些年来受到极大的关注^[3-6]。其取得的研究成果主要包括:Jan Borovicka 于 2007 年提出了重金属超富集大型真菌的概念^[7], Stijve 等发现紫星裂盘菌(*Sarcosphaera coronaria*)对砷具有超富集能力^[8],而 Jan Borovicka 等发现松果鹅膏菌(*Amanita strobiliformis*)和角鳞白鹅膏菌(*Amanita solitaria*)对银具有超富集能力^[9],程显好等发现蛹虫草(*Cordyceps militaris*)具有锌离子的超强耐性和富集能力^[10]。然而,近 10 a 的研究中还没有具有 Mn 超富集能力的大型真菌的报道,只有研究表明,欧洲未污染地区的野生蘑菇中 Mn 的含量都在 10—60mg/kg 干重范围内^[11]。

当前,重金属耐性菌株的选育及其富集、耐性机制研究已成为生物修复领域研究的热点。国内这方面的研究尚处于起步阶段。九州虫草(*Cordyceps kyusyuensis* A. Kawam.)是寄主为豆天蛾(*Clanis bilineata* Walker)幼虫的虫草真菌,无性型为九州轮枝菌(*Skyushuensis Verficillium kyushue*),是一种大型子囊真菌。九州虫草可以以菌丝体形态营养生长,也可以形成子座形式的子实体。本文以液体培养九州虫草菌丝体为研究对象,研究不同浓度 Mn 对九州虫草菌丝生长的影响,对菌丝过氧化程度和抗氧化酶活力的变化的影响,对菌丝体中对 Mn 的积累和在细胞中的分布的影响,以及对菌丝细胞壁吸附能力的影响,探讨了九州虫草对 Mn 的耐性和富集机制。研究作为获得有效治理 Mn 污染的微生物菌株提供候选资源,并可以为 Mn 污染水体、土壤的生物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

九州虫草(*Cordyceps kyusyuensis*) CFCC89250 购于中国林业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 菌种培养

菌株保存于马铃薯琼脂培养基试管斜面,试管斜面接种菌株后,于 25 ℃ 培养 6 d,然后置于 4 ℃ 下保存。

液体菌丝培养基配方:葡萄糖 20 g,蛋白胨 5 g,酵母浸粉 5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5 g, KH_2PO_4 5 g、蒸馏水 1000 mL, pH 值 7.0。取培养好的试管斜面菌株接种到三角瓶中,接种量 $5\text{mm}^3/\text{瓶}$ 。液体培养基中 Mn 浓度设定为 0、10、20、30、40、50、60 g/L $\text{Mn}(\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})$,每个浓度 4 个重复。于 25 ℃, 150 r/min 摇瓶培养 6 d。

1.3 菌丝生物量测定

菌丝生物量测定:液体培养基中培养了 6 d 的新鲜菌丝取出,用 200 目滤布过滤,去离子水冲洗 3 次,充分洗去附带的培养基成分,洗过的培养物于 105 °C 烘干至恒重,称重。

1.4 锰含量的测定

称取 0.1 g 烘干至恒重的菌丝样品,加入 10 mL 的浓硝酸/高氯酸(体积分数)为 4:1 的消化液在沸水浴中加热至澄清,用去离子水在 100 mL 容量瓶中定容后采用原子吸收分光光度计进行测定(AA800 型,美国 PE 公司,附带微机和打印机)^[12],重复 3 次。测试条件为:波长 285.2 nm,狭缝 3 mm,灯电流 5 mA,灯电压 170 V,空气流量 0.15 MPa/min,乙炔流量 0.05 MPa/min。

1.5 丙二醛(MDA)含量和可溶性糖(soluble sugars)浓度的测定

根据 Heath 和 Packer^[13]方法,测定脂质过氧化产物 MDA 含量。菌丝体培养物于 5000 r/min 离心 20 min,取 0.2 g 新鲜菌丝于 4 mL 0.3 mol/L 三氯乙酸(TCA)中充分研磨,12000 r/min 离心 10 min。取 2 mL 上清液,加入 0.3 mmol/L TCA,42 mmol/L 硫代巴比妥酸(TBA)。混合液 96 °C 加热 10 min,立即冰浴停止反应。10000 r/min 离心 15 min 后,分别在 532、600、450 nm 波长下测定吸光值,重复 3 次。MDA($\mu\text{mol/L}$)含量和可溶性糖浓度用 Heath 和 Packer 公式计算。脂质过氧化产物浓度单位为 $\mu\text{mol/g}$ (鲜重)。

1.6 抗氧化酶测定

1.6.1 酶液制备

菌丝体培养物于 5000 r/min 离心 20 min,取新鲜菌丝于预冷研钵中(4 °C),加入酶提取液(磷酸缓冲液,pH 值=6.0),冰浴充分研磨成匀浆,镜检至细胞完全破裂。在 4 °C 下以 15000 r/min 离心 15 min,取上清液进行抗氧化酶活性、可溶性蛋白含量的测定^[14],重复 3 次。

1.6.2 抗氧化酶活性的测定

SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[15]测定,以每克菌丝(鲜重)抑制 NBT 光化还原量为 1 个酶活单位。

POD 活性测定采用愈创木酚法^[16],以每克菌丝(鲜重)每分钟氧化 1 μmol 愈创木酚为 1 个酶活单位。

CAT 活性测定采用紫外吸收法^[17],以每克菌丝(鲜重)每分钟分解 1 $\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 为 1 个酶活单位。

1.6.3 可溶性蛋白(SP)含量的测定

可溶性蛋白含量的测定采用 Folin-lowry 法^[18]。

1.7 锰在细胞的可溶性组分与不可溶性组分中的分布

菌丝培养物以 50 μm 滤膜抽滤,再以去离子水冲洗菌丝 3 遍,3 g 菌丝加 30 mL 去离子水,在超声时间 30 s、超声次数 8 次、间隔时间 10 s、4 °C 条件下,破碎细胞。镜检,在细胞完全破碎时停止超声处理。细胞破碎液于 12000 r/min 离心 30 min,分离上清液和沉淀部分,为细胞的可溶性组分和不可溶性组分^[19]。可溶性组分直接以原子吸收分光光度计(AA800 型,美国 PE 公司,附带微机和打印机)测定 Mn 含量,不可溶性组分消化后测定 Mn 含量,重复 3 次。

1.8 菌丝细胞壁离子交换量(CEC)的测定

取菌丝体培养物,以 50 μm 滤膜抽滤,再用去离子水冲洗菌丝 3 遍,分离的菌丝依次经过 20 mL 的下列溶液,5 min,4 °C:①HCl(0.05 mol/L)、②Ca(NO₃)₂(0.04 mol/L)、③HCl(0.05 mol/L)、④PbCl₂(0.01 mol/L)、Ca(NO₃)₂(0.01 mol/L)、Mg(NO₃)₂(0.01 mol/L)、KNO₃(0.01 mol/L)、⑤HCl(0.05 mol/L)。把菌丝放在烘干恒重并称重的滤纸上,在 80 °C 干燥 12 h,测定干重。用原子吸收分光光度计测定在溶液⑤中 4 种重金属(Pb²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺)的浓度,其加和量为细胞壁离子交换量^[20],重复 3 次。测试条件同 1.4。

1.9 数据分析

采用 Excel 软件完成数据整理和计算,SPSS 11.5 软件进行单因素方差分析。采用 *t*-检验检验 pearson 相关系数是否有显著差异性。

2 结论

2.1 锰对九州虫草生长的影响及在菌丝细胞中的积累

不同浓度 Mn 影响九州虫草菌丝体的生长,如图 1。当低浓度 Mn 处理(0—20 g/L)时,菌丝生长没有受到显著影响,而当 Mn 浓度超过 30 g/L 时,菌丝生物量显著降低($P < 0.05$),菌丝生长受到抑制。Mn 浓度达到 70 g/L 时,菌丝生长完全抑制。由此可见,60 g/L 应当为九州虫草菌丝体的对 Mn 的极限生长耐性浓度。

培养基中添加 Mn 以后,九州虫草菌丝内的 Mn 含量与对照相比,都有显著增加($P < 0.05$)(图 2)。培养基中添加 Mn 10—40 g/L 时,九州虫草菌丝的 Mn 含量组间差异不显著($P > 0.05$),培养基中添加 Mn 达到 50 g/L 时,九州虫草菌丝内的 Mn 含量达到最高水平,可以达到菌丝体干重的 1.2%。

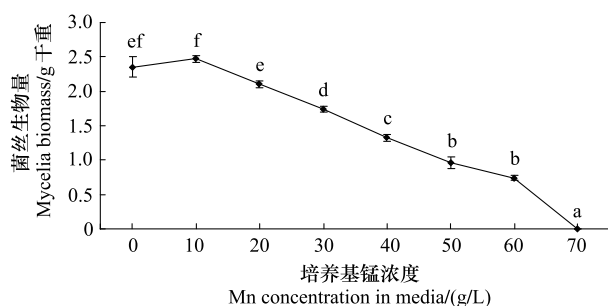


图 1 不同 Mn 浓度下培养 6 d 的九州虫草菌丝生物量

Fig. 1 Mycelia biomass of *C. kyusyuensis* exposed to different Mn concentrations after 6 days

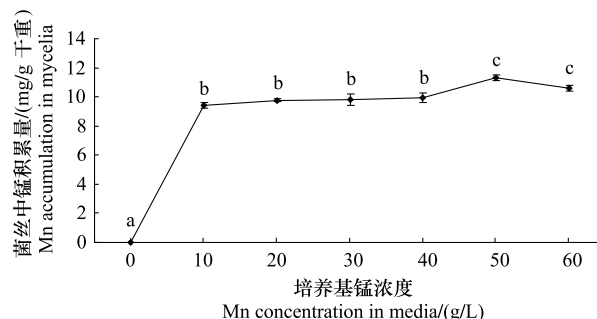


图 2 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝的 Mn 积累浓度

Fig. 2 Mn contents in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

2.2 锰对九州虫草菌丝过氧化水平的影响

在生物体内,自由基作用于脂质发生过氧化反应,氧化终产物为 MDA,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有细胞毒性^[21]。培养基中 Mn 浓度的变化显著影响九州虫草菌丝中 MDA 含量(图 3)。随着培养基中 Mn 浓度的增加,实验组九州虫草菌丝的 MDA 含量均较对照组显著减少。10、20 g/L Mn 处理组的菌丝 MDA 含量较对照分别减少了 47.5%、52.5%;20—60 g/L Mn 处理时,菌丝 MDA 含量的组间差异不显著($P > 0.05$);当 60 g/L Mn 时,菌丝 MDA 含量达到最小值。

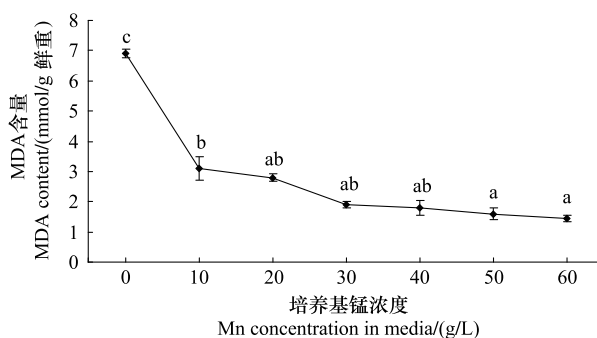


图 3 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体中 MDA 含量

Fig. 3 MDA contents in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

可溶性糖浓度变化趋势与图 3 一致(图 4)。随着培养基中 Mn 浓度的增加,实验组九州虫草菌丝中可溶性糖浓度较对照组均显著降低($P < 0.05$);10、20 g/L Mn 处理时可溶性糖浓度较对照组分别降低了 27.8%、37.0%;20—60 g/L Mn,菌丝可溶性糖浓度组间差异不显著($P > 0.05$);当 60 g/L Mn 时,菌丝可溶性糖浓度达到最小值。

不同 Mn 浓度对九州虫草菌丝中可溶性蛋白含量的影响,如图 5。随着培养基中 Mn 浓度的增加菌丝中可溶性蛋白的含量呈减少趋势。除 20 g/L Mn 时,菌丝中可溶性蛋白含量与对照组无显著差异,其余实验组的可溶性蛋白含量均显著低于对照组;当 60 g/L Mn 时,菌丝可溶性蛋白含量达到最小值($P < 0.05$)。

2.3 锰对九州虫草菌丝抗氧化酶活性的影响

过氧化氢酶(CAT)存在于过氧化物酶体中,CAT 是过氧化物酶体的标志酶,它的作用是将 H_2O_2 水解,清除细胞产生的毒性物质,对细胞起保护作用^[22]。九州虫草菌丝中 CAT 酶活随着培养基中 Mn 浓度的增加呈先升高后降低趋势(图 6),统计分析表明,两者呈显著负相关($r = -0.7155$)(表 1)。培养基中 Mn 浓度 0—

20 g/L 时, CAT 活力显著上升;培养基中 Mn 浓度 20 g/L 时活力最大,较对照升高 64.7%;之后随着培养基中 Mn 浓度继续升高, CAT 活力开始下降($P < 0.05$)。

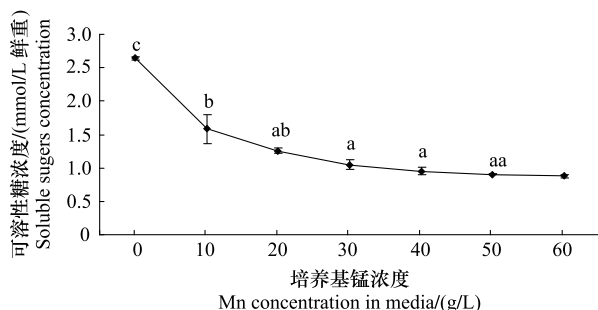


图4 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体中可溶性糖浓度

Fig. 4 Soluble sugars concentrations in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

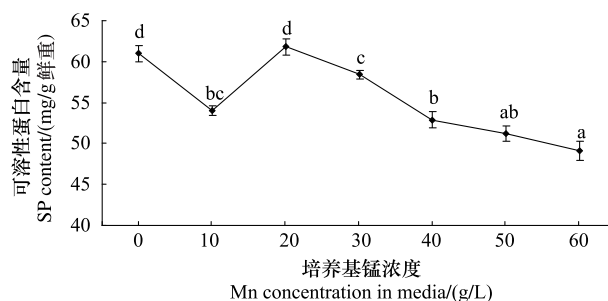


图5 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体中可溶性蛋白的含量

Fig. 5 SP contents in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

在生物体中有许多酶参与氧自由基的清除,其中超氧化物歧化酶(SOD)可将活性氧自由基歧化为 H_2O_2 [21-22]。九州虫草菌丝中 SOD 活力变化趋势随培养基中 Mn 浓度的增加逐渐增加,见图7,统计分析表明,菌丝中 SOD 活力的变化与 Mn 浓度的变化呈极显著正相关($r=0.9445$) (表1)。在培养基中 Mn 浓度 0—50 g/L 时, SOD 活力持续上升(1.9%—10.7%),且上升幅度显著($P < 0.05$)。这可能是由于 Mn 是 Mn-SOD 的必要组成成分,还是多种重要生物酶的活性中心、激活剂或辅基,参与蛋白质、合成和糖、脂肪等代谢,维持个体生理功能与生化过程所必需[22]。在 Mn 浓度增加过程中,诱导了 Mn-SOD 的活性升高。实验组的 SOD 活性均显著高于对照组,这说明在整个清除氧自由基过程中, SOD 一致保持了很高的活性,也说明九州虫草菌丝在抵御外界氧化胁迫中, SOD 活力的变化非常敏感。

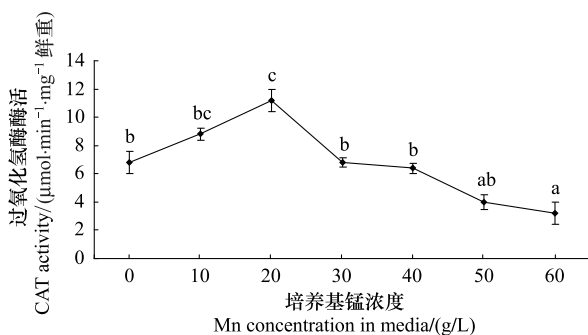


图6 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝中过氧化氢酶活力

Fig. 6 CAT activities in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

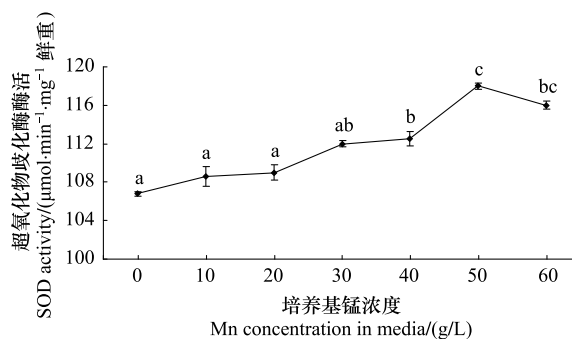


图7 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝中超氧化物歧化酶活力

Fig. 7 SOD activities in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

过氧化物酶(POD)由微生物或植物所产生的一类氧化还原酶,主要起到降解 H_2O_2 的作用,从而使生物机体消除在逆境胁迫下产生的有害物质而避免对其细胞的伤害[21,23]。随培养基中 Mn 浓度的增加,九州虫草菌丝细胞中 POD 活性变化趋势与 SOD 活性变化趋势基本一致(图8),统计分析表明,菌丝细胞内 POD 活力的变化与 Mn 浓度的变化呈显著正相关($r=0.8677$) (表1)。在培养基中 Mn 浓度 0—40 g/L 时, POD 活力持续上升,且上升幅度显著,在 40 g/L Mn 处理时达到最大值较对照组升高了 116.7%,培养基中 Mn 浓度超过 50 g/L 时 POD 活性不再升高。但所有实验组 POD 活性均高于对照组。原因可能是由于 POD 活性增加可以导致生长素氧化分解,而且 Mn 也是生长素氧化酶的激活剂,个体内 Mn 含量增加势必引起该酶活性的增加,同时生长素含量降低[24]。从以上结果发现,在抵抗外界 Mn 引起的氧化胁迫的过程中, POD 起到了重要作用。

2.4 锰在九州虫草菌丝细胞可溶性组分与不可溶性组分中的分布

通过超声波细胞破碎分离九州虫草菌丝细胞的可溶性组分和不可溶性组分,细胞的不可溶性组分成分主要是细胞壁、膜和细胞器,可溶性组分以细胞溶质为主。结果如表 2 所示。可溶性组分的 Mn 含量随着培养基中 Mn 浓度的升高呈升高趋势,培养基中 Mn 浓度达到 20 g/L 后,可溶性组分的 Mn 含量没有显著变化。实验组与对照组比较,可溶性组分的 Mn 含量均有显著增加。培养基中 Mn 浓度为 50 g/L 时,可溶性组分的 Mn 含量较对照组增加了 97.0%。除对照组之外,实验组中可溶性组分 Mn 的量占细胞中 Mn 的总量的 10% 以下。说明细胞质中可溶性成分络合或结合的 Mn 在菌丝细胞对于 Mn 的富集过程中起次要作用。随着 Mn 浓度升高,可溶性组分 Mn 的量占细胞中 Mn 的总量百分比升高(1.40%—8.49%),原因可能是培养基中 Mn 的浓度的增加,诱导产生了更多的金属硫蛋白等能够结合 Mn 离子的成分^[25]。

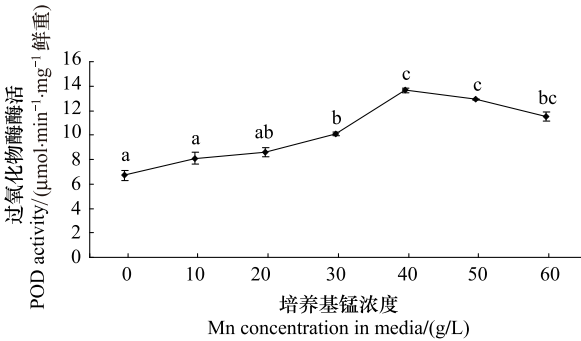


图 8 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体中过氧化物酶酶活
Fig. 8 POD activities in mycelia of *C. kyusyuensis* cultured in different Mn concentrations

表 1 CAT, SOD 和 POD 三种酶酶活和培养基中 Mn 浓度的相关系数

Table 1 Coefficient correlations of enzyme activities of CAT, SOD and POD between Mn concentrations in media			
酶活 Enzymes activities	CAT	SOD	POD
Mn	-0.7155 *	0.9445 **	0.8677 *

t 检验相关系数的显著差异性; * $P<0.05$, ** $P<0.01$

九州虫草菌丝细胞不可溶性组分 Mn 含量随着培养基中 Mn 浓度的升高呈先升高后降低的趋势,培养基中 Mn 浓度 10 g/L 时,不可溶性组分中 Mn 含量达到最大值,Mn 含量百分比为 98.60%,说明此时菌丝体内绝大部分的 Mn 离子被不可溶组分吸附。除对照组之外,实验组不可溶性组分 Mn 含量比例都占细胞中 Mn 的总量的 90% 以上,说明九州虫草菌丝细胞在富集 Mn 离子过程中,细胞壁、膜以及其它细胞器的表面吸附起主要作用。

表 2 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体不可溶性组分和可溶性组分中 Mn 含量

Table 2 Mn contents in insoluble components and soluble components in mycelium of <i>C. kyusyuensis</i> cultured in different Mn concentrations				
组别 Groups/(g/L)	不可溶性组分中 Mn 含量 Mn content in insoluble components/(mg/g)	不可溶部分 Mn 含量 占总量的百分比 Percent of insoluble Mn/%	可溶性组分中 Mn 含量 Mn content in soluble components/(mg/g)	可溶部分 Mn 含量 占总量的百分比 Percent of soluble Mn/%
CK(0)	0.0443±0.0104a	58.70	0.0311±0.0177a	41.30
10	34.2347±13.5804c	98.60	0.4937±0.0876b	1.40
20	21.2113±9.7688bc	95.73	0.9457±0.1425c	4.27
30	22.5890±4.8545bc	95.90	0.9603±0.0864c	4.08
40	19.5790±8.2200bc	95.22	0.9833±0.0991c	4.78
50	11.3660±8.0534b	90.83	1.0417±0.0693c	8.40
60	11.0000±10.7270bc	90.72	1.0213±0.0993c	8.49

* 同列的不同字母表示在 0.05 水平的差异显著

2.5 锰对九州虫草菌丝细胞 CEC 的影响

菌丝细胞壁离子交换量反应了细胞壁上带负电离子基团的数量,这些离子基团可以有效吸附外界阳离子。九州虫草菌丝细胞壁离子交换量 CEC 随着培养基中 Mn 浓度的升高变化趋势不明显(图 9)。除了最高值(20 g/L)和最低值(60 g/L)外,其他组之间没有显著差异性,说明在各个 Mn 浓度下,九州虫草菌丝细胞壁

吸附重金属能力大致相当,即没有因为培养基中 Mn 离子浓度的提高而诱导菌丝细胞壁产生更多的阴离子基团来吸附 Mn 离子。

3 讨论

3.1 九州虫草菌丝生长及锰的耐性和积累

九州虫草菌丝在低浓度 Mn 条件下时,生长不受影响,但随着培养基中 Mn 浓度的继续增高,九州虫草菌丝生物量降低,二者呈显著负相关关系。说明培养基中 Mn 浓度的增大,引起细胞内 Mn 积累,会导致 H_2O_2 水平和氧化损伤程度升高,破坏了菌丝细胞膜系统、影响新陈代谢正常进行,这可能是九州虫草菌丝生长受到抑制的生理原因。

九州虫草对 Mn 的最大耐性浓度在 60 g/L 左右。和其它真菌相比,九州虫草菌丝对 Mn 离子有较高的耐性。本实验结果表明,九州虫草菌丝细胞具有较强的 Mn 吸收积累能力,10 g/L Mn 处理时,菌丝细胞中 Mn 积累量达到细胞干重的 1.0013%,超过了 Mn 超积累植物定义中 Mn 积累量 1% 的界限,所以九州虫草可能是一种潜在的 Mn 超积累大型真菌。

液体培养条件下九州虫草菌丝体对 Mn 的强耐性和富集能力,预示九州虫草菌丝体可能在受到 Mn 污染的水体、土壤修复上有应用前景。另一方面,九州虫草菌丝作为一种药用菌,具有较强富集重金属能力,在对其进行质量控制时,应当重视其 Mn 含量的检测,以防该项项目超标。

3.2 过氧化水平产物与抗氧化物酶关系

SOD、CAT、POD 能够有效地清除自由基,是酶促防御系统(即保护酶系统)的重要组成成分。SOD 能以 O_2^- 为基质进行歧化反应转化为 H_2O_2 ;CAT 可分解 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2 ;POD 也可清除细胞内有害自由基并能促化有毒物质^[25-26]。SOD、CAT、POD 这 3 种保护酶的活性变化在 Mn 积累过程中的前期和后期有所不同。在低浓度 Mn 处理时,CAT 活性明显提高,而在高浓度 Mn 处理时,SOD 和 POD 活性增高,表明在 Mn 积累过程中,低浓度时 CAT 在保护酶系统中起主要作用,在高浓度时 SOD 和 POD 起主要作用。SOD、CAT、POD 三者协同作用,使过氧化产物维持在一个低水平,从而防止氧自由基伤害。虽然 3 种抗氧化酶酶活变化趋势不同,但总体上,抗氧化体系保持高活性,这也是九州虫草能在极高 Mn 浓度下存活的原因。由上结果是否说明 CAT 较 POD 和 SOD 更容易受到过氧化产物激活还有待下一步研究。由 PEARSON 相关系数分析,说明 SOD 在抗氧化过程中为主导因子^[26]。

值得注意的是,MDA 含量从 Mn 浓度 20—60 g/L 无显著差异性,但同时起保护酶作用的 SOD 和 POD 却显著增加,说明此时,并非是图 3 直观显示出的 MDA 含量降低的结果,而是菌丝细胞体内实际上已有大量的过氧化产物产生,只是大部分被保护酶体系及时清除。但如果 Mn 浓度再持续加大(> 60 g/L)超过菌丝生长极限浓度,SOD 和 POD 会严重失活而不再能清除过氧化产物、生物膜受到严重破坏,这也是机体受 Mn 胁迫死亡的原因之一。

3.3 锰在九州虫草菌丝中的富集机制

测定菌丝细胞中 Mn 在可溶组分和不可溶组分分布情况以及测定菌丝细胞中细胞壁吸附重金属能力,可以探究九州虫草菌丝体富集重金属的机制^[27-28]。超声波破碎菌丝细胞,分离的上清部分即细胞可溶性组分为细胞溶质,沉淀部分即细胞不可溶性组分为细胞壁和细胞膜以及细胞器系统。细胞溶质大分子中的金属硫蛋白、小分子的有机酸等成分对重金属有高度亲和力,可以结合 Mn 离子;细胞不可溶性组分中的细胞壁是富集 Mn 的主要部分。

细胞壁是菌丝细胞的第一道屏障,遇到 Mn 胁迫时,可以在细胞表面大量吸附。10—40 g/L Mn 胁迫九州

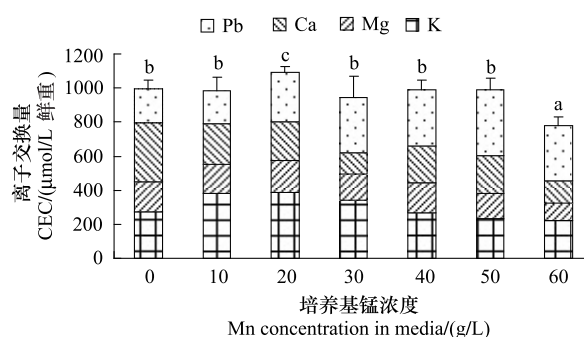


图9 不同 Mn 浓度下九州虫草菌丝体的离子交换量

Fig. 9 Mn contents of CEC of *C. kyuusyuensis* cultured in different Mn concentrations

虫草时,菌丝体的生长受到抑制,菌丝体内的锰离子含量基本稳定,细胞壁离子交换量变化不大,表明细胞壁作为保护细胞的第一道屏障起到了积极作用,保证了细胞内 Mn 胁迫在细胞器和细胞基质所能耐性的范围之内。但此浓度区间菌丝体生物量、胞内过氧化水平和可溶性蛋白含量均出现较大幅度的下降,细胞内过氧化酶系活性显著升高,即说明细胞已明显受到重金属胁迫,但由于细胞的自我保护机制,其仍可生长。而当受到高浓度(>50g/L Mn) Mn 胁迫时,细胞内各种生命活动因子均出现显著减低,九州虫草菌丝细胞壁、膜或细胞器合成也会受到影响,菌丝细胞壁、膜或细胞器结构受到一定程度的破坏。细胞已不能承受高浓度的金属离子的胁迫,细胞的各种自我保护因子的能力均下降、对于 Mn 的吸附量明显减少直至细胞无法进行新陈代谢,从而停止生长。

离子交换量是生物细胞壁吸附作用的一个很重要的指标,它的测定过程一般是通过细胞壁对阳离子 Mg、K、Pb、Ca 的吸附量来估算。离子交换量反映了细胞壁上负电位的多少,以及生物单位重量的表面积的大小,是生物对重金属吸附能力的重要参考指标。一般情况下,植物根的离子交换量介于 100—700 $\mu\text{mol/g}$ 之间。在本实验中,九州虫草的离子交换量在 781.232—1094.509 $\mu\text{mol/g}$,显著大于植物的离子交换量。这一方面是九州虫草菌丝细胞有更大的比表面积,具有更强的 Mn 离子吸附能力,另一方面菌丝表面负电位是否也多于植物细胞,需要进一步探讨。

References:

- [1] Li J, Liu Y G, Peng H B. Assessment on heavy metal pollution in soil of abandoned Mn mines and its remediated measures discussion. *Environmental Protection Science*, 2009, 35(2): 63-65.
- [2] Fang X, Tian D L, Xie R X. Soil physical and chemical properties of the wasteland in Xiangtan manganese mine. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1494-1501.
- [3] Caille N, Swanwick S, Zhao F J, McGrath S P. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilisation. *Environmental Pollution*, 2004, 132(1): 113-120.
- [4] Wei S H, Ma L Q, Saha U, Mathews S, Sundaram S, Rathinasabapathi B, Zhou Q X. Sulfate and glutathione enhanced arsenic accumulation by arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution*, 2010, 158(5): 1530-1535.
- [5] Xue S G, Ye S, Zhou F, Tian S X, Wang J, Xu S Y, Chen Y X. Identity of *Phytolacca americana* L. (*Phytolaccaceae*) Pokeweed: a manganese hyperaccumulator plant. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(12): 6344-6347.
- [6] Wang H, Tang S M, Liao X J, Cao Q M, Yang A F, Wang T Z. A new manganese-hyperaccumulator: *Polygonum hydropiper* L. *Ecology and Environment*, 2007, 16(3): 830-834.
- [7] Reeves R D, Brooks R R. European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as a indicators of nickel and zinc. *Journal of Geochemical Exploration*, 1983, 18(3): 275-283.
- [8] Stijve T, Vellinga EC, Hermann A. Arsenic accumulation in some higher fungi. *Persoonia*, 1990, 14(2): 161-166.
- [9] Borovicka J, Randa Z, Jelinek 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.
- [10] 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.
- [11] Kalač P. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000—2009. *Food Chemistry*, 2010, 122(1): 2-15.
- [12] Lu R K. *Analytical Methods of Soil and Agricultural Chemistry*, Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 46-47.
- [13] Aldrich M V, Gardea-Torresdey J L, Peralta-Videa J R, Parsons J G. Uptake and reduction of Cr (VI) to Cr (III) by mesquite (*Prosopis* spp.): chromate-plant interaction in hydroponics and solid media studies using XAS. *Environ. Science Technology*, 2003, 37(9): 1859-1864.
- [14] Mishra S, Srivastava S, Tripathi R D, Govindarajan R, Kuriakose S V, Prasad M N V. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44(1): 25-37.
- [15] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 1971, 44(1): 276-287.
- [16] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 1981, (22): 867-880.

- [17] Aebi H. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121-126.
- [18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding, Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [19] Shan Z X, Jiang L, Li H. Study on method of cell wall disruption of fungal with hexavalent chromium resistance. Mining Safety and Environmental Protection, 2008, 35(5): 10-11.
- [20] Huang Z J, Huang Y, Peng B. Influence of copper, cadmium on growth and cation exchange capacity of two kinds of ectomycorrhizal funguses. Chinese Journal of Environmental Science, 2006, 27(8): 1654-1658.
- [21] Smirnov N T. The role of active oxygen in the response of plant to water deficit and desiccation. New Phytologist, 1993, 125(1): 27-58.
- [22] Wang H W, Cai D B, Huo Y G, Chen L J. Effects of dietary Mn supplementation on the superoxide dismutase (SOD) of *Caridina denticulate sinensis* exposed to parathion. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2009, 29(1): 81-84.
- [23] Luo Q L, Ren J, Tao L, Yang Q. Hyperaccumulation of heavy metals in plant research. Energy and Environment, 2008, (6): 17-18.
- [24] Zeng Q, Geng M J, Zhang Z J, Zhou W B, Zhu D W. Effects of Mn toxicity on the content of Mn, Ca, Fe and the activities of POD and CAT in *Brassica napus* L. at seeding stage. Journal of Huazhong Agriculture, 2004, 23(3): 300-303.
- [25] An J P, Wang Y P, Zou Y L, Jiao C J, Zhang C C, Liu H X, Quan Y N. Isolation, purification and identification of cucumbers metallothionein induced by cadmium. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(18): 7514-7515, 7742-7742.
- [26] Hu W H, Ma T W, Yi L B, He X B. Biological enrichment characteristics of heavy metals in lotus root in polluted lotus ponds. Guizhou Agricultural Sciences, 2010, 38(3): 229-231.
- [27] Yang X E, Feng Y, He Z L, Peter J S. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and Phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2005, (18): 339-353.
- [28] Y. B. Sun, Q. X. Zhou, L. Wang, W. T. Liu. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulator. Journal of Hazardous Materials, 2009, 161: 808-814.

参考文献:

- [1] 李军, 刘云国, 彭晖冰. 锰矿废弃地重金属污染土壤的评价及修复措施探讨. 环境生态, 2009, 35(2): 63-65.
- [2] 方晰, 田大伦, 谢荣秀. 湘潭锰矿渣废弃地植被修复前得土壤诊断. 生态学报, 2006, 26(5): 1494-1501.
- [5] 薛生国, 叶晟, 周菲, 田守祥, 王钧等, 徐圣友, 陈英旭. 锰超富集植物垂序商陆(*Phytolacca americana* L.) 的认定. 生态学报, 2008, 28(12): 6344-6347.
- [6] 王华, 唐树梅, 廖香俊, 曹启民, 杨安富, 王汀忠. 锰超积累植物——水蓼. 生态环境, 2007, 16(3): 830-834.
- [10] 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.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000: 46-47.
- [19] 单振秀, 江澜, 李宏. 抗 Cr⁶⁺ 真菌细胞壁破碎方法的研究. 矿业安全与环保, 2008, 35(5): 10-11.
- [20] 黄志基, 黄艺, 彭博. 铜胁迫对 2 种菌根真菌生长和细胞壁离子交换量的影响. 环境科学, 2006, 27(8): 1654-1658.
- [22] 王宏伟, 蔡端波, 霍艳高, 陈立军. 对硫磷胁迫下锰对中华米虾 SOD 活性的影响. 河北大学学报(自然科学版), 2009, 29(1): 81-84.
- [24] 曾琦, 耿明建, 张志江, 周文宾, 朱端卫. 锰毒害对油菜苗期 Mn、Ca、Fe 含量及 POD、CAT 活性的影响. 华中农业大学学报, 2004, 23(3): 300-303.
- [25] 安建平, 王廷璞, 邹亚丽, 焦成瑾, 张春成, 刘海霞, 权永妮. 镉诱导黄瓜金属硫蛋白的分离、纯化和鉴定. 安徽农业科学, 2008, 36(18): 7514-7515, 7742-7742.
- [26] 胡文勇, 马陶武, 易浪波, 何兴兵. 受污藕塘中莲藕对重金属的生物富集特征. 贵州农业科学, 2010, 38(3): 229-231.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.32 ,No.2 January ,2012(Semimonthly)

CONTENTS

Dynamics of demersal fish species diversity and biomass of dominant species in autumn in the Beibu Gulf, northwestern South China Sea	WANG Xuehui, QIU Yongsong, DU Feiyan, et al (333)
Spatial variation in species richness of birds and mammals in mainland China	DING Jingjing, LIU Dingzhen, LI Chunwang, et al (343)
Comparative study on learning behavior and electroantennogram responses in two geographic races of <i>Cotesia glomerata</i>	WANG Guohong, LIU Yong, GE Feng, et al (351)
Biological characteristics and habitat requirements of <i>Parnassius imperator</i> (Lepidoptera: Parnassidae)	FANG Jianhui, LUO Youqing, NIU Ben, et al (361)
Annual variability in biological characteristics of <i>Illex argentinus</i> in the southwest Atlantic Ocean	FANG Zhou, LU Huajie, CHEN Xinjun, et al (371)
The impact of run-of stream dams on benthic macroinvertebrate assemblages in urban streams	HAN Minghua, YU Haiyan, ZHOU Bin, et al (380)
Effect of suspended sediment on the feeding physiology of <i>Pinctada martensii</i> in laboratory	LI Zhimin, SHEN Yuchun, YU Nantao, et al (386)
Potential nutrient limitation of phytoplankton growth in the Western and Central Pacific Ocean	XU Yanqing, CHEN Jianfang, GAO Shengquan, et al (394)
Ingestion of selected HAB-forming dinoflagellates	ZHANG Qingchun, YU Rencheng, SONG Jingjing, et al (402)
Formation of aggregation by <i>Phaeocystis globosa</i> (Prymnesiophyceae) in response to high grazing pressure	WANG Xiaodong, WANG Yan (414)
Growth and reproduction of the green macroalga <i>Ulva prolifera</i>	ZHANG Bixin, WANG Jianzhu, WANG Yifu, et al (421)
Screening of growth decline related genes from <i>Alexandrium catenella</i>	ZHONG Jie, SUI Zhenghong, WANG Chunyan, et al (431)
Analysis of inherent optical properties of Lake Taihu in spring and its influence on the change of remote sensing reflectance	LIU Zhonghua, LI Yunmei, LU Heng, et al (438)
Neural network modeling of the eutrophication mechanism in Lake Chenghai and corresponding scenario analysis	ZOU Rui, DONG Yunxian, ZHANG Zhenzhen, et al (448)
The compensatory growth of shrubby <i>Pinus thunbergii</i> response to the boring stress in sandy coast	ZHOU Zhen, LI Chuanrong, XU Jingwei, et al (457)
Selected body temperature and thermal tolerance of tadpoles of two frog species (<i>Fejervarya limnocharis</i> and <i>Microhyla ornata</i>) acclimated under different thermal conditions	SHI Linqiang, ZHAO Lihua, MA Xiaohao, et al (465)
Effects of landscape structure and key landscape factors on aphids-parasitoids-hyper parasitoids populations in wheat fields	ZHAO Zihua, WANG Ying, HE Dahan, et al (472)
Effects of cadmium on lipid peroxidation and ATPase activity of plasma membrane from Chinese kale (<i>Brassica alboglabra</i> Bailey) roots	ZHENG Aizhen (483)
Effects of ginger aqueous extract on soil enzyme activity, microbial community structure and soil nutrient content in the rhizosphere soil of ginger seedlings	HAN Chunmei, LI Chunlong, YE Shaoping, et al (489)
Manganese tolerance and accumulation in mycelia of <i>Cordyceps kyusyuensis</i>	LUO Yi, CHENG Xianhao, ZHANG Congcong, et al (499)
Influence of oxytetracycline exposure on antibiotic resistant bacteria and enzyme activities in wheat rhizosphere soil	ZHANG Hao, ZHANG Lilan, WANG Jia, et al (508)
Effects of elevated nitrogen deposition on soil organic carbon mineralization and soil enzyme activities in a Chinese fir plantation	SHEN Fangfang, YUAN Yinghong, FAN Houbao, et al (517)
Differences in clonal growth between female and male plants of <i>Rhus typhina</i> Linn. and their diurnal changes in photosynthesis and chlorophyll fluorescence	ZHANG Mingru, WEN Guosheng, ZHANG Jin, et al (528)
Soil water holding capacity under four typical ecosystems in Wuyunjie Nature Reserve of Hunan Province	PAN Chunxiang, LI Yuyuan, PENG Yi, et al (538)
The effect of different land use patterns on soil properties in alpine areas of eastern Qilian Mountains	ZHAO Jinmei, ZHANG Degang, LIU Changzhong, et al (548)
Responses of soil macro-fauna to land desertification in sandy grassland	LIU Rentao, ZHAO Halin (557)
Characteristics of cultivable microbial community number and structure at the southeast edge of Tengger Desert	ZHANG Wei, ZHANG Gaosen, LIU Guangxiu, et al (567)
Physiological and ecological responses of maize to different severities of desertification in the Southern Taramakan desert	LI Lei, LI Xiangyi, LIN Lisha, WANG Yingju, et al (578)
Characterization of caloric value in fifteen plant species in <i>Leymus chinensis</i> steppe in Xilin River Basin, Inner Mongolia	GAO Kai, XIE Zhongbing, XU Sutie, et al (588)
Spatial pattern responses of <i>Achnatherum splendens</i> to environmental stress in different density levels	ZHANG Mingjuan, LIU Maosong, XU Chi, et al (595)
Effects of environmental factors on species distribution and diversity in an <i>Abies fargesii</i> - <i>Betula utilis</i> mixed forest	REN Xuemin, YANG Gaihe, WANG Dexiang, et al (605)
Effects of alginate cerium complexes on ascorbate- glutathione cycle in spinach leaves under chlorpyrifos stress	LUAN Xia, CHEN Zhende, WANG Dongfeng, et al (614)
Analysis on spatiotemporal changes of urban thermal landscape pattern in the context of urbanisation: a case study of Xiamen City	HUANG Jucong, ZHAO Xiaofeng, TANG Lina, et al (622)
The analysis of the green vegetation cover change in western Sichuan based on GIS and Remote sensing	YANG Cunjian, ZHAO Zijian, REN Xiaolan, et al (632)
An inventory of BVOC emissions for a subtropical urban-rural complex: Greater Taizhou Area	CHANG Jie, REN Yuan, SHI Yan, et al (641)
Scientific Note	
Litter decomposition and nutrient dynamics of <i>Carex lasiocapa</i> under different water conditions	HOU Cuicui, SONG Changchun, LI Yingchen, et al (650)
Nest-box color preference and reproductive success of great tit	ZHANG Keqin, DENG Qiuxiang, Justin Liu, et al (659)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

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 32 卷 第 2 期 (2012 年 1 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 2 2012

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