

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第6期 Vol.32 No.6 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 (SHENTAI XUEBAO)

第32卷 第6期 2012年3月 (半月刊)

目 次

高原草被退化程度的遥感定量监测——以甘肃省玛曲县为例.....	周坚华,魏怀东,陈芳,等(1663)
基于着生藻类的太子河流域水生态系统健康评价.....	殷旭旺,渠晓东,李庆南,等(1677)
哀牢山常绿阔叶林水源涵养功能及其在应对西南干旱中的作用.....	杞金华,章永江,张一平,等(1692)
青岛沿岸水体原生生物群落与水质状况的关系.....	杨金鹏,姜勇,胡晓钟(1703)
增温对青藏高原高寒草甸生态系统固碳通量影响的模拟研究.....	亓伟伟,牛海山,汪诗平,等(1713)
三峡水库消落带植物叶片光合与营养性状特征.....	揭胜麟,樊大勇,谢宗强,等(1723)
三峡库区澎溪河鱼类时空分布特征的水声学研究.....	任玉芹,陈大庆,刘绍平,等(1734)
强壮前沟藻化感物质分析.....	冀晓青,韩笑天,杨佰娟,等(1745)
饥饿对中间球海胆MYP基因转录表达的影响.....	秦艳杰,孙博林,李霞,等(1755)
贺兰山牦牛冬春季的生境选择.....	赵宠南,苏云,刘振生,等(1762)
利用元胞自动机研究一类捕食食饵模型中的斑块扩散现象.....	杨立,李维德(1773)
转Cry1Ab和Cry1Ac融合基因型抗虫水稻对田间二化螟和大螟种群发生动态的影响.....	李志毅,隋贺,徐艳博,等(1783)
光谱和光强度对西花蓟马雌虫趋光行为的影响.....	范凡,任红敏,吕利华,等(1790)
荧光素对舞毒蛾核型多角体病毒不同地理品系的增效与光保护作用.....	王树娟,段立清,李海平,等(1796)
不同利用强度下绿洲农田土壤微量元素有效含量特征.....	李海峰,曾凡江,桂东伟,等(1803)
稻田温室气体排放与土壤微生物菌群的多元回归分析.....	秦晓波,李玉娥,石生伟,等(1811)
黄土高原典型区域土壤腐殖酸组分剖面分布特征.....	党亚爱,李世清,王国栋(1820)
紫色土菜地生态系统土壤N ₂ O排放及其主要影响因素.....	于亚军,王小国,朱波(1830)
中国亚热带典型天然次生林土壤微生物碳源代谢功能影响因素.....	王芸,欧阳志云,郑华,等(1839)
基于K-均值算法模型的区域土壤数值化分类及预测制图.....	刘鹏飞,宋轩,刘晓冰,等(1846)
淹水条件下秸秆还田的面源污染物释放特征.....	杨志敏,陈玉成,张贊,等(1854)
推迟拔节水对小麦氮素积累与分配和硝态氮运移的影响.....	王红光,于振文,张永丽,等(1861)
江苏省冬小麦湿渍害的风险区划.....	吴洪颜,高苹,徐为根,等(1871)
草原植物根系起始吸水层深度测定方法及其在不同群落状态下的表现.....	郭宇然,王炜,梁存柱,等(1880)
亚热带6种树种细根序级结构和形态特征.....	熊德成,黄锦学,杨智杰,等(1888)
高寒草原植物群落种间关系的数量分析.....	房飞,胡玉昆,张伟,等(1898)
菊花近缘种属植物幼苗耐阴特性分析及其评价指标的确定.....	孙艳,高海顺,管志勇,等(1908)
南方菟丝子寄生对喜旱莲子草生长及群落多样性的影响.....	王如魁,管铭,李永慧,等(1917)
基于cDNA克隆的亚热带阔叶林和针叶林生态系统担子菌漆酶基因多样性及其群落结构研究.....	陈香碧,苏以荣,何寻阳,等(1924)
细柄阿丁枫和米槠细根寿命影响因素.....	黄锦学,凌华,杨智杰,等(1932)
基于TM遥感影像的森林资源线性规划与优化配置研究.....	董斌,陈立平,王萍,等(1943)
基于CFD的城市绿地空间格局热环境效应分析.....	刘艳红,郭晋平,魏清顺(1951)
专论与综述	
生态补偿效率研究综述.....	赵雪雁(1960)
研究简报	
黄河三角洲石油生产对东营湿地底栖动物群落结构和水质生物评价的影响.....	陈凯,肖能文,王备新,等(1970)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 316 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 34 * 2012-03



封面图说:植物生命演进石——这不是一块普通的火山岩,而是一块集中展示植物“原生演替”过程最有价值的石头。火山熔岩冷却后的玄武岩是无生命无土壤的真正“裸石”,风力使地衣的孢子传入,在一定温湿度环境下,开始出现了壳状地衣,壳状地衣尸体混合了自然风化的岩石碎屑提供的条件使叶状、枝状地衣能够侵入,接着苔藓侵入,是它们启动了土壤的形成,保持了土壤的湿度,并使营养物质反复循环。于是蕨类定居,草丛长了起来,小灌木出现,直到树木生长,最终形成森林。

彩图提供:陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201102230203

陈香碧, 苏以荣, 何寻阳, 吴金水, 梁月明, 冯书珍, 葛云辉, 肖伟. 基于 cDNA 克隆的亚热带阔叶林和针叶林生态系统担子菌漆酶基因多样性及其群落结构研究. 生态学报, 2012, 32(6): 1924-1931.

Chen X B, Su Y R, He X Y, Wu J S, Liang Y M, Feng S Z, Ge Y H, Xiao W. Diversity and community structure of basidiomycete laccase gene from subtropical broad-leaved and coniferous forest ecosystems based on cDNA cloning. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(6): 1924-1931.

基于 cDNA 克隆的亚热带阔叶林和针叶林生态系统 担子菌漆酶基因多样性及其群落结构研究

陈香碧^{1,2,3}, 苏以荣^{1,3,*}, 何寻阳^{1,3}, 吴金水¹, 梁月明¹, 冯书珍¹, 葛云辉¹, 肖伟¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125;
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 中国科学院环江喀斯特农业生态试验站, 环江 547100)

摘要:作为木质素降解的关键酶之一, 漆酶在森林生态系统养分循环过程中占有重要的地位。通过构建 cDNA 克隆文库, 从 mRNA 水平上研究了亚热带喀斯特原生林(常绿落叶阔叶混交林)和红壤马尾松林(针叶林)凋落物层(O 层)及表土层(A 层, 0—20 cm)中担子菌漆酶基因多样性及其群落结构。结果发现, O 层担子菌漆酶基因多样性、丰富度和均匀度均以原生林远远高于马尾松林, 而 A 层与 O 层的趋势相反; 同一森林生态系统, 原生林土壤 O 层中担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度高于土壤 A 层, 而马尾松林则 O 层明显低于 A 层。“目”分类地位上, 伞菌目在两森林生态系统中占绝对优势, 且在马尾松林 O 层中比例高达 90.2%; 原生林 O 层和马尾松林 A 层中存在丰富的多孔菌目和钉菇目; 红菇目仅在原生林 A 层中检测到, 且比例为 12.4%。群落结构上, 与原生林 O 层和马尾松林 A 层相比, 原生林 A 层和马尾松林 O 层含漆酶基因的担子菌种群分布极不均匀, 分别存在 1 和 2 个绝对优势种群(克隆子数占各克隆库 20% 以上), 且分别与伞菌属、小菇属和侧耳属有较高的氨基酸相似性。此外, 两森林土壤中漆酶活性、碳、氮、木质素含量均以原生林显著高于马尾松林, 且 O 层显著高于 A 层。这些结果表明亚热带阔叶林和针叶林不同土壤层位中降解木质素的担子菌漆酶基因多样性和群落结构有着极大的差异, 而这种差异与微生物底物的可利用性、多样性以及土壤 pH 等因素的综合作用密切相关。

关键词:漆酶; 森林生态系统; 凋落物; cDNA; 基因多样性; 克隆

Diversity and community structure of basidiomycete laccase gene from subtropical broad-leaved and coniferous forest ecosystems based on cDNA cloning

CHEN Xiangbi^{1,2,3}, SU Yirong^{1,3,*}, HE Xunyang^{1,3}, WU Jinshui¹, LIANG Yueming¹, FENG Shuzhen¹, GE Yunhui¹, XIAO Wei¹

1 Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Huanjiang Observation and Research Station for Karst Eco-systems, Chinese Academy of Sciences, Huanjiang 547100, China

Abstract: Decomposition of forest litter regulates the cycling of nutrients in forest ecosystems and influences the net carbon storage for terrestrial ecosystems. Laccase enzyme mainly produced by basidiomycetes plays a central role in lignin degradation and thus contributes to the cycling of soil organic matter. Compared to many studies of basidiomycetous laccase gene diversity in pure broad-leaved or coniferous forests, comparative data on diversity of this gene from different forest

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-436, KZCX2-YW-JC403); 中国科学院战略性先导科技专项(XDA05070403); 国家自然科学基金资助(30970538)

收稿日期: 2011-02-23; 修订日期: 2011-06-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yrsu@isa.ac.cn

types are still rare, especially from forests exhibiting significant differences in vegetation and soil types. This study investigated the diversity and community structure the basidiomycete laccase gene in litter (O horizon) and surface soil (A horizon, 0 to 20 cm) from subtropical karst primeval forest (a mixed evergreen and deciduous broad-leaved forest) and artificial masson pine forest in red soil (a coniferous forest) by constructing cDNA libraries at mRNA level. The diversity, richness and evenness of the laccase gene were higher in the primeval forest than those in the masson pine forest for the O horizon, while the reverse trend in these indices was observed for the A horizon. For the same forest ecosystem, the values of the aforementioned indicators from O horizon were correspondingly higher, but apparently lower, than those from A horizon in the primeval forest and the masson pine forest, respectively. With regard to taxonomy at the order level, *Agaricales* accounted for 90.2% of the clone library for the O horizon of the masson pine forest, and dominated both horizons of the two forests. *Polyporales* and *Gomphales* were abundant in the O horizon of the primeval forest and A horizon of the masson pine forest. *Russulales* was only detected in the A horizon of the primeval forest, accounting for 12.4% of the clone library. Regarding the community structure, the distributions of basidiomycetous populations containing the laccase gene in the A horizon of the primeval forest and O horizon of the masson pine forest were more uneven than those in the O horizon of the primeval forest and A horizon of the masson pine forest. One and two absolutely dominant basidiomycetous species (accounting for $\geq 20\%$ of the total clones in each clone library), showing high amino acid similarity to *Agaricus* sp., *Mycena* sp. and *Pleurotus* sp., were found in the O horizon of the primeval forest and A horizon of the masson pine forest, respectively. Moreover, the laccase activity and the contents of carbon, nitrogen and lignin were significantly higher in the primeval forest than those in the masson pine forest, and were significantly higher in the O horizon than those in the A horizon of a same forest. These results indicate that there are great discrepancies in basidiomycetous laccase gene diversity and community structure in different soil horizons between subtropical broad-leaved forest and coniferous forest in China. These discrepancies may derive from intricate effects closely related to the availability and diversity of microbe-utilized substrates and soil pH.

Key Words: laccase; forest ecosystem; litter; cDNA; gene diversity; cloning

森林生态系统凋落物的分解是一个以生物为主要参与者的过程^[1-2]。作为森林凋落物主要组分之一的木质素难以被降解,是凋落物降解的限速步骤^[3],且只有部分微生物产生木质素降解酶^[4]。真菌和细菌对有机物质降解的贡献率分别为有机物总分解量的60%—80%和20%—40%^[5]。自然界参与降解木质素的微生物主要来自真菌,白腐菌被确证能产生彻底分解木质素为CO₂和水的酶系^[6],包括以O₂为电子受体的多酚氧化酶类—漆酶以及以H₂O₂为电子受体的木质素过氧化酶和锰过氧化酶^[7]。漆酶降解木质素的流程简单,不需要H₂O₂参与,克服了H₂O₂极易分解的难题,具有更大的科研和实际应用价值^[8]。目前已知的白腐菌有数千种,主要归属于担子菌门。目前,用于木质素分解研究的白腐菌主要通过传统培养方法获得,包括栓菌属、烟管菌属、平革菌属、侧耳属、香菇属等^[9]。

随着微生物分子生态学的发展,自然森林生态系统凋落物降解过程中功能微生物多样性的变化逐渐成为活跃的研究领域。研究表明,担子菌漆酶基因多样性在橡木—山毛榉混合林中随土壤深度的增加而降低,且季节变化明显(在2月、8月和10月丰富度较高)^[10],在挪威云杉、糖枫等阔叶林中不随氮沉降量的减少而改变^[11-12];此外,在盐沼土、泥沼质土中分别发现子囊菌和细菌中也具有很高的漆酶基因多样性^[13-14]。但是,大部分相关研究是基于DNA水平的单一生态系统,且对同一气候带不同森林生态系统之间的比较研究尚缺乏。

研究利用分子生物学技术,从mRNA水平上研究亚热带原生性常绿落叶阔叶林和人工马尾松针叶林凋落物层和表土层中担子菌漆酶基因多样性及其群落结构,旨在发掘亚热带典型森林生态系统凋落物层和表土层中,分解木质素的功能微生物的变化规律。其结果可为深入研究森林凋落物分解的微生物机制、养分释放和碳素循环奠定基础。

1 材料与方法

1.1 研究区自然概况与样品采集

研究区位于桂西北环江毛南族自治县($24^{\circ}44'—25^{\circ}33' N$, $107^{\circ}51'—108^{\circ}43' E$),属中亚热带季风气候区,年均气温 $16.5—19.9^{\circ}C$,年均降雨量 $1389—1750\text{ mm}$,温暖湿润,雨热同季。于2009年10月,在研究区选取不同土壤类型和不同植被群落的两种森林生态系统:喀斯特棕色石灰土发育的原生林—常绿落叶阔叶混交林(primeval forest, KPF)和飞播于红壤上的纯马尾松林(*masson pine*, RMP)。其中,原生林的林龄大于100a,无人为干扰,凋落物层厚1—3 cm,主要植物种类为,乔木层:灰岩棒柄花(*Cleidion bracteosum*)、平阳厚壳桂(*Cryptocarya chingii*)、润楠(*Machilus pingii*)、黔南厚壳桂(*Cryptocarya austrokweichouensis*)、云南厚壳桂(*Cryptocarya yunnanensis*),灌木层:野独活(*Miliusa chunii*)、九里香(*Murraya paniculata*)、茜树(*Aidia cochinchinensis*),草本层:冷水花(*Pilea notata*)、翠云草(*Selaginella uncinata*)、光茎钝叶楼梯草(*Elatostema obtusum* var. *trilobulatum* (Hayata) W. T. Wang);马尾松林为1978年飞机播种的产物,林间隙较少,凋落物层厚3—5 cm,主要为松针。两种生态系统中按上、中、下坡位各设置8—10块 $20\text{ m}\times20\text{ m}$ 的小样方,每个样方中沿“S”型路线分别采集6—10个点($10\text{ cm}\times10\text{ cm}$)的凋落物(O层)和0—20 cm表土(A层,0—20 cm)各1 kg,分别混匀。利用四分法将各样品分成两份,一份(约100 g)用灭菌锡箔纸包好放入灭菌布袋,立即投入液氮速冻,带回实验室经冷冻干燥、磨细分装后,置于 $-70^{\circ}C$ 保存,用于担子菌漆酶基因多样性分析;另一份自然风干用于样品酶活性及理化性质分析。

1.2 样品基本性质测定

以2,2'-连氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸,简称ABTS)为底物,用紫外分光光度计在 420 nm 下检测漆酶活性^[15];采用浓硫酸法^[16]测定木质素的含量;运用全自动碳氮分析仪测定碳和氮的含量;电极法测定pH值(水与样品比为2.5:1)。样品基本性质见表1。

表1 样品基本性质
Table 1 The basic properties of different samples

样品 No. of Sample	漆酶活性 Laccase activity (U/g 干物质($\times 10^{-2}$))	碳 Carbon /%	氮 Nitrogen /%	木质素 Lignin /%	木质素/氮 Lignin/ Nitrogen	碳/氮 Carbon/ Nitrogen	pH
KPFO	15.24a	31.73a	2.22a	0.28a	0.13c	14.33c	6.75b
KPFA	0.63c	6.35c	0.31c	0.06c	0.20b	20.36a	7.62a
RMPO	2.72b	20.01b	1.23b	0.20b	0.17bc	16.06b	3.82c
RMPA	0.11c	1.63d	0.10d	0.02d	0.25a	16.54b	3.77c

KPFO、KPFA分别代表原生林的O层和A层;RMPO、RMPA分别代表马尾松林的O层和A层;同一列中相同字母表示不同样品间该性质无差异($P<0.05$,邓肯法)

1.3 RNA的提取、漆酶基因的扩增、克隆、测序

参考Griffiths等^[17]的方法提取样品中的微生物总核酸(DNA和RNA)。用RQ1 DNA酶(Promega)对总核酸中的DNA进行酶解,用RNeasy Mini kit试剂盒(QIAGEN)纯化RNA。运用反转录试剂盒(MBI),将mRNA反转录为cDNA,于 $-20^{\circ}C$ 保存。以cDNA为模板,利用担子菌漆酶基因特异性引物Cu1F和Cu2R^[18]扩增漆酶基因片段。扩增体系体积为 $25\text{ }\mu\text{L}$,其中含 $1\times$ Taq buffer, 5 nM dNTP(MBI),引物各 30 pmol , 2.5 U Taq酶(天根公司),模板 $20—40\text{ ng}$ 。反应条件: $94^{\circ}C$ 3 min; $94^{\circ}C$ 45 s, $58—49^{\circ}C$ 1 min(每循环降 $1^{\circ}C$), $72^{\circ}C$ 2 min, 10个循环; $94^{\circ}C$ 45 s, $54^{\circ}C$ 1 min, $72^{\circ}C$ 2 min, 30个循环; $72^{\circ}C$ 10 min。PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,用试剂盒(Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System, Promega)回收目的片段(约142 bp)。以PGEM-T载体试剂盒(Promega)对回收的产物进行克隆。挑取白斑,通过菌液PCR扩增,筛选有预期片断的克隆子,从各克隆库中挑取一定数目的克隆子进行测序(华大基因公司)。

1.4 数据分析

将所获得的序列按核苷酸相似性 $\geq 97\%$ 归为一个可操作单元(OTU,视为一般意义上的“种”^[19])。将含

克隆子数占各克隆库 $\geq 20\%$ 和 $3\%—20\%$ 的 OTU 分别定义为“绝对优势种群”和“优势种群”。将序列与 GenBank 数据库中漆酶基因序列比对,并进行遗传分类。以覆盖度(C)、OTUs 数目(S)、Shannon-Wiener 指数(H')^[20] 和 Evenness 指数(E)分别表征各克隆库的代表性、漆酶基因丰富度、多样性和均匀度。计算公式分别为: $C = 1 - \frac{n_1}{N}$, $H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$, $E = \frac{H'}{\ln S}$ 。式中, n_1 为各克隆库中仅出现过 1 次的 OTUs 数, N 为克隆库中总克隆子数, P_i 为第 i 个 OTU 在克隆文库中所占的比例。本研究获得的漆酶基因序列均已提交 GenBank 数据库,序列登录号为:HQ835757—HQ836152。

采用 SPSS 13.0 软件对样品基本理化性质作多重比较分析(Duncan 法, $P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 落物和土壤样品的基本性质

在同一生态系统中,O 层的漆酶活性、碳、氮、木质素含量均显著高于 A 层,且在同一土壤层位,原生林显著高于马尾松林(表 1)。木质素/氮的趋势则与漆酶活性、碳、氮、木质素含量的趋势刚好相反(表 1)。碳/氮的规律为:原生林 A 层>马尾松林 O 层和 A 层>原生林 O 层(表 1)。原生林土壤为中性偏弱碱性,且 A 层 pH 值显著高于 O 层,而马尾松林土壤为酸性,且 O 层与 A 层之间 pH 值无显著差异(表 1)。

2.2 漆酶基因多样性

4 个 cDNA 克隆文库中漆酶基因的多样性、丰富度(OTUs 数量)和均匀度的规律为:马尾松林 A 层>原生林 O 层和 A 层>马尾松林 O 层,且马尾松林 O 层中值极低,显著区别于其它克隆库(表 2)。种群丰富度曲线(图 1)与香农多样性指数显示的结果一致,且除马尾松林 O 层外,其余 3 个克隆库都远远未达到平台期,说明这 3 个克隆库的担子菌漆酶基因多样性高。此外,从马尾松林 O 层中仅随机挑取 51 个克隆子测序分析,发现其覆盖度高达 0.765,远高于分析 100 个以上克隆子的其它 3 个克隆库,这从另一方面显示马尾松林 O 层的漆酶基因多样性极低(表 2)。

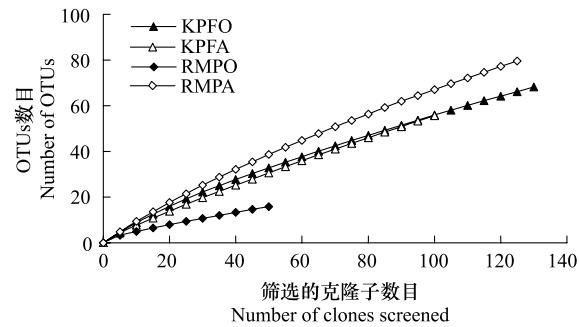


图 1 克隆文库的种群丰富度曲线

Fig. 1 The richness curves of the laccase gene in clone libraries

表 2 各克隆库漆酶基因多样性

Table 2 Laccase gene diversity in different clone libraries

样品 No. of Sample	克隆子数 Number of clones (N)	OTUs 数量 Number of OTUs (S)	覆盖度 Coverage (C)	香农多样性指数 Shannon-Wiener diversity index (H')	均匀度指数 Evenness (E)
KPFO	132	69	0.61	3.80	0.922
KPFA	105	58	0.53	3.32	0.818
RMPO	51	16	0.77	1.91	0.688
RMPA	128	81	0.52	4.13	0.941

2.3 担子菌漆酶基因的遗传分类及种群结构

4 个克隆库中含漆酶基因的担子菌在“目”地位上均以伞菌目占绝对优势,且在马尾松林 O 层中比例最高,达 90.2%,而其它 3 个克隆库中比例为 47.0%—59.1%(图 2)。多孔菌目和钉菇目在 4 个克隆库中均有分布,但在原生林 O 层和马尾松林 A 层中数量较丰富(图 2)。此外,红菇目仅在原生林 A 层中检测到,比例为 12.4%(图 2),且该克隆库中 19.0% 的克隆子无法确定其“目”地位上的分类。

4 个克隆库的含漆酶基因的担子菌种群结构差异明显:原生林 A 层中有 1 个占绝对优势的种群(OTU,图 3),其克隆子数占克隆库的 29.5%,与 GenBank 数据库中的伞菌属(登录号 Q12542)氨基酸相似性为 82%

(表3);马尾松林O层中有2个绝对优势的种群(图3),分别占克隆库39.2%和29.4%,且分别与侧耳属和小菇属的氨基酸序列相似性为78%和74%(表3);原生林O层和马尾松林A层中,含漆酶基因的担子菌种群分布相对均一,无绝对优势种群。原生林O层、A层和马尾松林O层、A层中分别有7、2和2、4个优势种群(各种群克隆子数分别占克隆库的3.8%—8.3%)(图3)。原生林O层中的优势种群分别与侧耳属、*Tinctoporellus* sp.、枝瑚菌属、栓菌属、口蘑属相似性较高;原生林A层中的优势种群分别与*Peniophora* sp.和小菇属相似性较高;马尾松林O层中的优势种群分别与小菇属和侧耳属相似性较高;马尾松林A层中的优势种群分别与枝瑚菌属、鬼伞属和小菇属相似性较高(表3)。

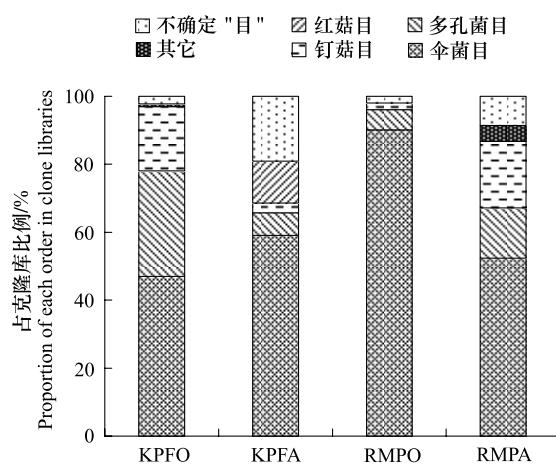


图2 各克隆库漆酶基因在“目”地位上的分类情况

Fig. 2 Proportional distribution of different orders of laccase gene in clone libraries

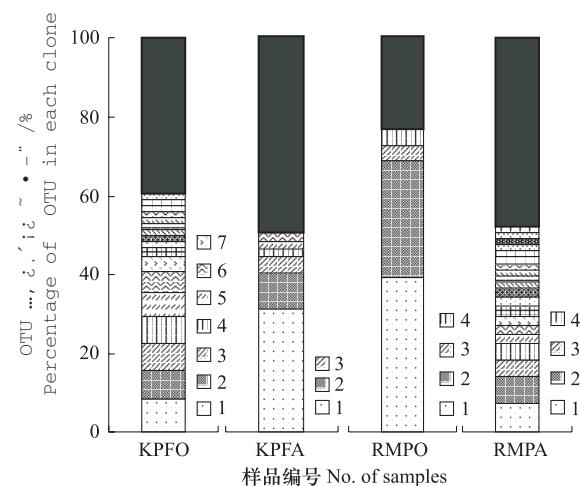


图3 各克隆库中优势种群分布情况

Fig. 3 The distribution of the detected basidiomycetous laccase OTUs in each clone library

纯黑色的图标表示各克隆库中所有单克隆OTU占克隆库比例

表3 各克隆库中优势种群(OTUs)的遗传分类*

Table 3 The genetic classification of dominant OTUs in clone libraries*

OTUs 编号(占克隆库百分比/%) No. of OTUs (Percentage in clone library)				与 GenBank 数据库中漆酶基因序列比较 Comparison of laccase gene sequences with those in GenBank		
KPFO	KPFA	RMPO	RMPA	最相似的序列登录号 Accession number	遗传分类 Genetic classification	氨基酸相似性/% Similarity of amino acid
1(8.3)				AAX40732	侧耳属 <i>Pleurotus</i> sp.	80
2(7.6)				ADD54658	<i>Tinctoporellus</i> sp.	70
3(6.8)		2(7.0)		ACN22969	枝瑚菌属 <i>Ramaria</i> sp.	78
4(6.8)		4(3.9)		ACN22969	枝瑚菌属 <i>Ramaria</i> sp.	76
5(6.1)				ACN22970	枝瑚菌属 <i>Ramaria</i> sp.	82
6(5.3)				BAD98306	栓菌属 <i>Trametes</i> sp.	89
7(3.8)				ABS10992	口蘑属 <i>Tricholoma</i> sp.	87
1(29.5)				Q12542	伞菌属 <i>Agaricus</i> sp.	82
2(8.6)				ADO14331	<i>Peniophora</i> sp.	70
3(3.8)	2(29.4) 3(3.9)			CAD65820	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	74
1(39.2) 4(3.9)				CAJ00406	侧耳属 <i>Pleurotus</i> sp.	78
1(7.0)				AAR01244	鬼伞属 <i>Coprinopsis</i> sp.	89
3(4.7)				CAD65820	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	95

* OTU 编号与图3一致*

3 讨论

两森林生态系统不同土壤层位担子菌漆酶基因的多样性和丰富度存在明显差异。在同一森林生态系统中,原生林凋落物层碳、氮养分浓度显著高于表土层(表1),且一般情况下,微生物多样性随底物浓度降低而降低^[21],因此,前者漆酶基因多样性高于后者。马尾松林中,尽管凋落物层碳、氮养分浓度高于表土层(表1),但凋落物中松针表面有较厚的蜡质与角质^[22],使微生物无法直接利用这些养分,需经过缓慢的物理化学过程,才能形成微生物可利用的底物^[23],而表土层中微生物可利用的底物除来自凋落物分解外,还有来自马尾松的根系分泌物及死亡的根系^[24]。因此,马尾松林表土层微生物可利用底物的多样性比凋落物层更高,造成前者漆酶基因多样性和丰富度较高。凋落物层,原生林漆酶基因多样性、丰富度及其酶活性比马尾松林高,主要原因是:①原生林植被物种丰富、多样性高,因此凋落物层养分充足,组分复杂、多样,有利于利用不同底物组分的微生物生长^[25];②原生林凋落物层碳/氮显著低于马尾松林(表1),而碳/氮与微生物多样性呈负相关^[26];③马尾松林的木质素/氮以及萜类物质和酚类物质含量较高,不利于微生物群落生长和繁衍^[27]。对于表土层,马尾松林的土壤类型为红壤,其pH值显著低于原生林的棕色石灰土,而大部分真菌适合生存于酸性环境^[28],这可能是马尾松林表土层漆酶基因多样性比原生林高的一个重要原因之一。此外,对含漆酶基因的担子菌的遗传分类表明,原生林表土层和马尾松林凋落物层均存在绝对优势种群,这明显降低了漆酶基因的均匀度(表2),从而降低了其多样性^[29-30],而原生林凋落物层和马尾松林表土层中含漆酶基因的担子菌种群分布相对均匀(表2),因此漆酶基因多样性高。

森林土壤凋落物层与表土层的物理、化学、生物学性质均存在较大的差异^[31],使分解存在于地表和表土层中有机质的功能微生物群落结构不同。对漆酶基因“目”地位上的遗传分类结果表明,与凋落物层比较,阔叶林(原生林)表土层中含漆酶基因的多孔菌目和钉菇目明显减少,伞菌目略有增加,且出现了特殊类群—红菇目,而针叶林(马尾松林)的趋势与阔叶林刚好相反。特别值得一提的是,伞菌目在两森林生态系统,尤其是马尾松林凋落物中占绝对优势(图2),而伞菌目中既有腐生菌又有外生菌根真菌,因而既能降解凋落物,又能与林木根系形成结构致密的菌丝体,为植物提供土壤中的养分^[32]。据此,伞菌目在这两种森林生态系统养分转化和循环过程中的作用不可低估。此外,对含漆酶基因的担子菌种群结构分析表明,原生林表土层和马尾松林凋落物层中的绝对优势种群分别与具有高效分解凋落物能力的伞菌属、小菇属和侧耳属^[33-34]的漆酶基因氨基酸相似性较高(表3),且这3个种群均未在原生林凋落物层和马尾松林表土层中出现或极少出现,被认为是分解相应环境中木质素所特有的担子菌。原生林凋落物层和马尾松林表土层中无绝对优势的种群,说明这两个样品中底物组分可能更为复杂,从而具有较高的担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度。由于本研究绝大部分含漆酶基因的优势担子菌种群与已知分类的担子菌氨基酸序列相似性小于95%,因此无法获知其“属”、“种”分类信息。

总之,从微生物DNA的转录产物——mRNA水平上,研究揭示了亚热带两种典型森林(原生阔叶林与马尾松针叶林)土壤凋落物层和表土层中降解木质素的担子菌漆酶基因多样性、群落组成及其变化规律,并认为,由植被和土壤层位引起的微生物可利用底物和土壤pH值的不同可能直接驱动了这种变化。未来研究重点将围绕森林土壤漆酶基因多样性和群落结构的差异引发的凋落物降解、固碳减排和养分释放等生态效应展开。

References:

- [1] Yang Z J, Zeng J, Xu D P, Li S J, Lu J. The processes and dominant factors of forest litter decomposition: A review. *Ecology and Environment*, 2007, 16(2): 649-654.
- [2] Li Z A, Zhou B, Ding Y Z, Cao Y S. Key factors of forest litter decomposition and research progress. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, 23(6): 77-83.
- [3] Berg B, Meentemeyer V. Litter quality in a north European transect versus carbon storage potential. *Plant and Soil*, 2002, 242: 83-92.
- [4] Guo J F, Yang Y S, Chen G S, Lin P, Xie J S. A review on litter decomposition in forest ecosystem. *Scientia Silvae Sinicae*, 2006, 42(4):

93-100.

- [5] Wilhelm V, Rotke G M. The effect of acid rain, soil temperature and humidity on C-mineralization rates in organic soil layers under spruce. *Plant and Soil*, 1990, 121(2): 197-202.
- [6] Levin L, Forchiassin F. Ligninolytic enzymes of the white rot basidiomycete *Trametes trogii*. *Acta Biotechnologica*, 2001, 21(2): 179-186.
- [7] Li X F, He X S. Microbial hydrolyzing of lignin. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2004, 12(2): 41-46.
- [8] Zeng T, Chen H Q, Zeng H C. Screening and breeding of ligninolytic enzyme system and its producers. *Genomics and Applied Biology*, 2009, 28(3): 578-582.
- [9] Wang R Y, Zeng G M, Yu H Y, Huang G H, Huang H L, Chen F R. Lignin degradation mechanism by microbes. *Journal of Microbiology*, 2008, 28(3): 59-63.
- [10] Kellner H, Luis P, Schlitt B, Buscot F. Temporal changes in diversity and expression patterns of fungal laccase genes within the organic horizon of a brown forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(7): 1380-1389.
- [11] Theuerl S, Dörr N, Guggenberger G, Langer U, Kaiser K, Lamersdorf N, Buscot F. Response of recalcitrant soil substances to reduced N deposition in a spruce forest soil: integrating laccase-encoding genes and lignin decomposition. *FEMS Microbial Ecology*, 2010, 73(1): 166-177.
- [12] Hassett J E, Zak D R, Blackwood C B, Pregitzer K S. Are basidiomycete laccase gene abundance and composition related to reduced lignolytic activity under elevated atmospheric NO_3^- deposition in a northern hardwood forest? *Microbial ecology*, 2009, 57(4): 728-739.
- [13] Lyons J I, Newell S Y, Buchan A, Moran M A. Diversity of ascomycete laccase gene sequences in a southeastern US Salt Marsh. *Microbial Ecology*, 2003, 45(3): 270-281.
- [14] Ausec L, van Elsas J D, Mandic-Mulec I. Two- and three-domain bacterial laccase-like genes are present in drained peat soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(5): 975-983.
- [15] Luis P, Kellner H, Zimdars B, Langer U, Martin F, Buscot F. Patchiness and spatial distribution of laccase genes of ectomycorrhizal, saprotrophic, and unknown basidiomycetes in the upper horizons of a mixed forest Cambisol. *Microbial Ecology*, 2005, 50(4): 570-579.
- [16] Попинок Х Н. Plant Biochemistry Analytical Method//Jing J H, Ding Z R, Translated. Beijing: Science Press, 1981.
- [17] Griffiths R I, Whiteley A S, O'Donnell A G, Bailey M J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(12): 5488-5491.
- [18] Luis P, Walther G, Kellner H, Martin F, Buscot F. Diversity of laccase genes from basidiomycetes in a forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(7): 1025-1036.
- [19] Xia B C, Zhou J, Tiedje J M. Structures of bacteria cloning communities in the soil environment and their ecological characteristics. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(4): 574-578.
- [20] Shannon C E, Weaver W. The Mathematical Theory of Communication. Urbana: University of Illinois Press, 1949; 117.
- [21] Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(6): 837-843.
- [22] Shao L X, Zhang F J. SEM observation on leaf epidermis of 6 species in Pinaceae. *Bulletin of Botanical Research*, 2005, 25(3): 281-285.
- [23] Wang X H, Huang J J, Yan E R. Leaf litter decomposition of common trees in Tiantong. *Acta Phytocologica Sinica*, 2004, 28(4): 457-467.
- [24] Zhou J, Lei T. Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity. *Biodiversity Science*, 2007, 15(3): 306-311.
- [25] Zhou P, Liu G B, Hou X L. Study on vegetation and soil nutrient characters of *Artemisia sacrorum* communities in hilly gully region of the loess plateau. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(2): 9-18.
- [26] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [27] Yang W Q, Deng R J, Zhang J. Forest litter decomposition and its responses to global climate change. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(12): 2889-2895.
- [28] Yang S S, Zhou J C. Microbiology. Beijing: Science Press, 2004: 181.
- [29] Ma K P, Liu Y M. Methods of measure the bio-communities biodiversity I. α -diversity (Part 2). *Biodiversity Science*, 1994, 2(4): 231-239.
- [30] Upchurch R, Chiu C Y, Everett K, Dyszynski G, Coleman D C, Whitman W B. Differences in the composition and diversity of bacterial communities from agricultural and forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(6): 1294-1305.
- [31] Zhao Q G, Wang M Z, He Y Q. Litters of tropical and subtropical forests in China and their effects on soil. *Soil*, 1991, (1): 8-15.
- [32] Yamashita S, Hijii N. Spatial distribution of the fruiting bodies of *Agaricales* in a Japanese red pine (*Pinus densiflora*) forest. *Journal of Forest Research*, 2006, 11(3): 181-189.
- [33] Newell K. Interaction between two decomposer basidiomycetes and a collembolan under Sitka spruce: grazing and its potential effects on fungal

distribution and litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 1984, 16(3): 235-239.

- [34] Osono T, Fukasawa Y, Takeda H. Roles of diverse fungi in larch needle-litter decomposition. *Mycologia*, 2003, 95(5): 820-826.

参考文献:

- [1] 杨曾奖, 曾杰, 徐大平, 李尚均, 卢建. 森林枯枝落叶分解及其影响因素. *生态环境*, 2007, 16(2): 649-654.
- [2] 李志安, 邹碧, 丁永祯, 曹裕松. 森林凋落物分解重要影响因子及其研究进展. *生态学报*, 2004, 23(6): 77-83.
- [4] 郭剑芬, 杨玉盛, 陈光水, 林鹏, 谢锦升. 森林凋落物分解研究进展. *林业科学*, 2006, 42(4): 93-100.
- [7] 黎先发, 贺新生. 木质素的微生物降解. *纤维素科学与技术*, 2004, 12(2): 41-46.
- [8] 曾涛, 陈汉清, 曾会才. 木质素酶及其生产菌的筛选育种. *基因组学与应用生物学*, 2009, 28(3): 578-582.
- [9] 王仁佑, 曾光明, 郁红艳, 黄国和, 黄红丽, 陈芙蓉. 木质素的微生物降解机制. *微生物学杂志*, 2008, 28(3): 59-63.
- [16] 波钦诺克 XH. 植物生物化学分析方法//荆家海, 丁钟荣, 译. 北京: 科学出版社, 1981.
- [19] 夏北成, Zhou J, Tiedje J M. 土壤细菌类克隆群落及其结构的生态学特征. *生态学报*, 2001, 21(4): 574-578.
- [22] 邵邻相, 张凤娟. 6种松科植物叶表皮的扫描电镜观察. *植物研究*, 2005, 25(3): 281-285.
- [23] 王希华, 黄建军, 闫恩荣. 天童国家森林公园常见植物凋落叶分解的研究. *植物生态学报*, 2004, 28(4): 457-467.
- [24] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望. *生物多样性*, 2007, 15(3): 306-311.
- [25] 周萍, 刘国彬, 侯喜禄. 黄土丘陵区铁杆蒿群落植被特性及土壤养分特征研究. *草业学报*, 2008, 17(2): 9-18.
- [27] 杨万勤, 邓仁菊, 张健. 森林凋落物分解及其对全球气候变化的响应. *应用生态学报*, 2007, 18(12): 2889-2895.
- [28] 杨苏声, 周俊初. 微生物生物学. 北京: 科学出版社, 2004: 181.
- [31] 赵其国, 王明珠, 何园球. 我国热带亚热带森林凋落物及其对土壤的影响. *土壤*, 1991, (1): 8-15.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 6 March, 2012 (Semimonthly)
CONTENTS

- Quantitatively monitoring undergoing degradation of plateau grassland by remote sensing data: a case study in Maqu County, Gansu Province, China ZHOU Jianhua, WEI Huaidong, CHEN Fang, et al (1663)
Using periphyton assemblages to assess stream conditions of Taizi River Basin, China YIN Xuwang, QU Xiaodong, LI Qingnan, et al (1677)
Water-holding capacity of an evergreen broadleaf forest in Ailao Mountain and its functions in mitigating the effects of Southwest China drought QI Jinhua, ZHANG Yongjiang, ZHANG Yiping, et al (1692)
The relationship between protistan community and water quality along the coast of Qingdao YANG Jinpeng, JIANG Yong, HU Xiaozhong (1703)
Simulation of effects of warming on carbon budget in alpine meadow ecosystem on the Tibetan Plateau QI Weiwei, NIU Haishan, WANG Shiping, et al (1713)
Features of leaf photosynthesis and leaf nutrient traits in reservoir riparian region of Three Gorges Reservoir, China JIE Shenglin, FAN Dayong, XIE Zongqiang, et al (1723)
Spatio-temporal distribution of fish in the Pengxi River arm of the Three Gorges reservoir REN Yuqin, CHEN Daqing, LIU Shaoping, et al (1734)
Analysis on allelochemicals in the cell-free filtrates of *Amphidinium carterae* JI Xiaoqing, HAN Xiaotian, YANG Baijuan, et al (1745)
Effect of starvation on expression patterns of the MYP gene in *Strongylocentrotus intermedius* QIN Yanjie, SUN Bolin, LI Xia, et al (1755)
Habitat selection of feral yak in winter and spring in the Helan Mountains, China ZHAO Chongnan, SU Yun, LIU Zhensheng, et al (1762)
Using cellular automata to study patchy spread in a predator-prey system YANG Li, LI Weide (1773)
Effects of insect-resistant transgenic Bt rice with a fused *Cry1Ab+Cry1Ac* gene on population dynamics of the stem borers, *Chilo suppressalis* and *Sesamia inferens*, occurring in paddyfield LI Zhiyi, SUI He, XU Yanbo, et al (1783)
Effect of spectral sensitivity and intensity response on the phototaxis of *Frankliniella Occidentalis* (Pergande) FAN Fan, REN Hongmin, LU Lihua, et al (1790)
The synergistic action and UV protection of optical brightener on three different geographic isolates of Asian Gypsy Moth Nucleopolyhedrovirus (LdMNPV) WANG Shujuan, DUAN Liqing, LI Haiping, et al (1796)
The availability of trace elements in an oasis soil under different utilization intensity in an arid area in China LI Haifeng, ZENG Fanjiang, GUI Dongwei, et al (1803)
Multivariate regression analysis of greenhouse gas emissions associated with activities and populations of soil microbes in a double-rice paddy soil QIN Xiaobo, LI Yu'e, SHI Shengwei, et al (1811)
Distribution characteristics of humus fraction in soil profile for the typical regions in the Loess Plateau DANG Ya'ai, LI Shiqing, WANG Guodong (1820)
N₂O emissions from vegetable farmland with purple soil and the main factors influencing these emissions YU Yajun, WANG Xiaoguo, ZHU Bo (1830)
Relationships between carbon source utilization of soil microbial communities and environmental factors in natural secondary forest in subtropical area, China WANG Yun, OUYANG Zhiyun, ZHENG Hua, et al (1839)
Numerical soil classification using fuzzy K-means algorithm and predictive soil mapping at regional scale LIU Pengfei, SONG Xuan, LIU Xiaobing, et al (1846)
Releasing characteristics of nonpoint source pollutants from straws under submerging condition YANG Zhimin, CHEN Yucheng, ZHANG Yun, et al (1854)
Effects of delayed irrigation at jointing stage on nitrogen accumulation and its allocation, and NO₃-N migration in wheat WANG Hongguang, YU Zhenwen, ZHANG Yongli, et al (1861)
Risk division on winter wheat suffering from spring wet damages in Jiangsu Province WU Hongyan, GAO Ping, XU Weigen, et al (1871)
Determination of the initial depth of water uptake by roots of steppe plants in restored and overgrazed communities, Inner Mongolia, China GUO Yuran, WANG Wei, LIANG Cunzhu, et al (1880)
Fine root architecture and morphology among different branch orders of six subtropical tree species XIONG Decheng, HUANG Jinxue, YANG Zhijie, et al (1888)
Numerical analysis of inter-specific relationships in Alpine steppe community in Bayanbulak FANG Fei, HU Yukun, ZHANG Wei, et al (1898)
Analysis of shade-tolerance and determination of evaluation indicators of shade-tolerance in seedlings of *Chrysanthemum grandiflorum* and its closely related genera SUN Yan, GAO Haishun, GUAN Zhiyong, et al (1908)
Effect of the parasitic *Cuscuta australis* on the community diversity and the growth of *Alternanthera philoxeroides* WANG Rukui, GUAN Ming, LI Yonghui, et al (1917)
Diversity and community structure of basidiomycete laccase gene from subtropical broad-leaved and coniferous forest ecosystems based on cDNA cloning CHEN Xiangbi, SU Yirong, HE Xunyang, et al (1924)
Fine root longevity and controlling factors in subtropical *Altingia grililipes* and *Castanopsis carlesii* forests HUANG Jinxue, LING Hua, YANG Zhijie, et al (1932)
Linear programming and optimal distribution of the forest resources based on TM remote sensing images DONG Bin, CHEN Liping, WANG Ping, et al (1943)
Urban green space landscape patterns and thermal environment investigations based on computational fluid dynamics LIU Yanhong, GUO Jinping, WEI Qingshun (1951)
Review and Monograph
Review of the ecological compensation efficiency ZHAO Xueyan (1960)
Scientific Note
The effects of petroleum exploitation on water quality bio-assessment and benthic macro-invertebrate communities in the Yellow River Delta wetland, Dongying CHEN Kai, XIAO Nengwen, WANG Beixin, et al (1970)

《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

(SHENTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 6 期 (2012 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 6 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

主 编 冯宗炜
主 管 中国科学技术协会
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

出 版 科 学 出 版 社
地址:北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:1000717

印 刷 北京北林印刷厂
行 销 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

订 购 全国各地邮局
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
广告经营 京海工商广字第 8013 号
许 可 证

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

Editor-in-chief FENG Zong-Wei
Supervised by China Association for Science and Technology
Sponsored by Ecological Society of China
Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS
Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China

Published by Science Press
Add:16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China

Distributed by Science Press
Add:16 Donghuangchenggen North
Street, Beijing 100717, China
Tel:(010)64034563
E-mail:journal@cspg.net

Domestic All Local Post Offices in China
Foreign China International Book Trading
Corporation
Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China

ISSN 1000-0933
9 771000093125

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