

ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

# 生态学报

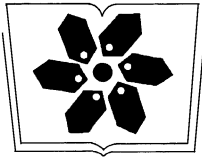
## Acta Ecologica Sinica



第32卷 第13期 Vol.32 No.13 **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



# 生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

中国科学院科学出版基金资助出版

第 32 卷 第 13 期

2012 年 7 月 (半月刊)

## 目 次

|                                                               |                         |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------|
| 砂质潮间带自由生活海洋线虫对缺氧的响应——微型受控生态系研究.....                           | 华 尔, 李 佳, 董 洁, 等 (3975) |
| 植物种群自疏过程中构件生物量与密度的关系 .....                                    | 黎 磊, 周道玮, 盛连喜 (3987)    |
| 基于景观感知敏感度的生态旅游地观光线路自动选址.....                                  | 李继峰, 李仁杰 (3998)         |
| 基于能值的沼气农业生态系统可持续发展水平综合评价——以恭城县为例.....                         | 杨 谨, 陈 彬, 刘耕源 (4007)    |
| 内蒙古荒漠草原植被盖度的空间异质性动态分析.....                                    | 颜 亮, 周广胜, 张 峰, 等 (4017) |
| 典型草地的土壤保持价值流量过程比较.....                                        | 裴 厦, 谢高地, 李士美, 等 (4025) |
| 长沙市区马尾松人工林生态系统碳储量及其空间分布.....                                  | 巫 涛, 彭重华, 田大伦, 等 (4034) |
| 厦门市七种药用植物根围 AM 真菌的侵染率和多样性 .....                               | 姜 攀, 王明元 (4043)         |
| Cd、低 Pb/Cd 下冬小麦幼苗根系分泌物酚酸、糖类及与根际土壤微生物活性的关系 .....               | 贾 夏, 董岁明, 周春娟 (4052)    |
| 凉水保护区土壤产类漆酶-多铜氧化酶细菌群落结构 .....                                 | 赵 丹, 谷惠琦, 崔岱宗, 等 (4062) |
| 盐渍化土壤根际微生物群落及土壤因子对 AM 真菌的影响.....                              | 卢鑫萍, 杜 茜, 闫永利, 等 (4071) |
| 菌丝室接种解磷细菌 <i>Bacillus megaterium</i> C4 对土壤有机磷矿化和植物吸收的影响..... | 张 林, 丁效东, 王 菲, 等 (4079) |
| 闽江河口不同河段芦苇湿地土壤碳氮磷生态化学计量学特征.....                               | 王维奇, 王 纯, 曾从盛, 等 (4087) |
| 高山森林三种细根分解初期微生物生物量动态.....                                     | 武志超, 吴福忠, 杨万勤, 等 (4094) |
| 模拟降水对古尔班通古特沙漠生物结皮表观土壤碳通量的影响 .....                             | 吴 林, 苏延桂, 张元明 (4103)    |
| 铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力的变化 .....                       | 濮晓珍, 尹春英, 周晓波, 等 (4114) |
| 不同产量水平旱地冬小麦品种干物质累积和转移的差异分析.....                               | 周 玲, 王朝辉, 李富翠, 等 (4123) |
| 基于作物模型的低温冷害对我国东北三省玉米产量影响评估.....                               | 张建平, 王春乙, 赵艳霞, 等 (4132) |
| 黄土高原 1961—2009 年参考作物蒸散量的时空变异.....                             | 李 志 (4139)              |
| 莫莫格湿地芦苇对水盐变化的生理生态响应.....                                      | 邓春暖, 章光新, 李红艳, 等 (4146) |
| 不同蚯蚓采样方法对比研究.....                                             | 范如芹, 张晓平, 梁爱珍, 等 (4154) |
| 亚洲玉米螟成虫寿命与繁殖力的地理差异.....                                       | 涂小云, 陈元生, 夏勤雯, 等 (4160) |
| 黑河上游天然草地蝗虫空间异质性与分布格局.....                                     | 赵成章, 李丽丽, 王大为, 等 (4166) |
| 苦瓜叶乙酸乙酯提取物对斜纹夜蛾实验种群的抑制作用.....                                 | 骆 颖, 凌 冰, 谢杰峰, 等 (4173) |
| 长江口中国花鲈食性分析.....                                              | 洪巧巧, 庄 平, 杨 刚, 等 (4181) |
| 基于线粒体控制区序列的黄河上游厚唇裸重唇鱼种群遗传结构.....                              | 苏军虎, 张艳萍, 娄忠玉, 等 (4191) |
| 镉暴露对黑斑蛙精巢 ROS 的诱导及其蛋白质氧化损伤作用机理 .....                          | 曹 慧, 施蔡雷, 贾秀英 (4199)    |
| 北方草地牛粪中金龟子的多样性.....                                           | 樊三龙, 方 红, 高传部, 等 (4207) |
| 合肥秋冬季茶园天敌对假眼小绿叶蝉和茶蚜的空间跟随关系.....                               | 杨 林, 郭 骅, 毕守东, 等 (4215) |
| 植被、海拔、人为干扰对大中型野生动物分布的影响——以九寨沟自然保护区为例.....                     | 张 跃, 雷开明, 张语克, 等 (4228) |
| 基于社会网络分析法的生态工业园典型案例研究.....                                    | 杨丽花, 佟连军 (4236)         |
| 基于生命周期的户用沼气系统可用能核算——以广西恭城瑶族自治县为例.....                         | 齐 静, 陈 彬, 戴 婧, 等 (4246) |
| <b>专论与综述</b>                                                  |                         |
| 水文情势与盐分变化对湿地植被的影响研究综述 .....                                   | 章光新 (4254)              |
| 松嫩碱化草甸土壤种子库格局、动态研究进展 .....                                    | 马红媛, 梁正伟, 吕丙盛, 等 (4261) |
| 一种新的景观扩张指数的定义与实现 .....                                        | 武鹏飞, 周德民, 官辉力 (4270)    |
| <b>研究简报</b>                                                   |                         |
| 华山新麦草光合特性对干旱胁迫的响应.....                                        | 李 倩, 王 明, 王雯雯, 等 (4278) |
| 美丽海绵提取物防污损作用 .....                                            | 曹文浩, 严 涛, 刘永宏, 等 (4285) |

期刊基本参数: CN 11-2031/Q \* 1981 \* m \* 16 \* 306 \* zh \* P \* ¥ 70.00 \* 1510 \* 37 \* 2012-07



**封面图说:** 涵养水源——在长白山南坡的峭壁上, 生长在坡面上的森林所涵养的水源还在汨汨地往下流个不停, 深红色的落叶掉在了苔藓上, 这里已经是长白山的深秋了。虽然雨季已经过去了很久, 但是林下厚厚的枯枝落叶层、腐殖质层、苔藓草本层所涵养的水分还在不间断地流淌, 细细的水线在壁下汇成了溪、汇成了河。涵养水源是森林的主要生态功能之一。

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



DOI: 10.5846/stxb201105250697

濮晓珍, 尹春英, 周晓波, 李娜, 刘庆. 铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力的变化. 生态学报, 2012, 32(13): 4114-4122.

Pu X Z, Yin C Y, Zhou X B, Li N, Liu Q. Changes in photosynthetic properties, ultrastructure and root vigor of *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings during transplantation. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(13): 4114-4122.

## 铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中叶片光合特性、 超微结构及根系活力的变化

濮晓珍<sup>1,2</sup>, 尹春英<sup>1</sup>, 周晓波<sup>3</sup>, 李娜<sup>1</sup>, 刘庆<sup>1,\*</sup>

(1. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

3. 四川阿坝理县林业局, 理县 623100)

**摘要:**研究了铁皮石斛(*Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.)组培苗在移栽驯化(即试管苗移栽大田)过程中,移栽0、1、2、4d和20d(已移栽成活)时叶片光合特征参数、叶绿素荧光特性及叶绿体超微结构,光合色素含量、可溶性糖含量、根系活力和硝酸还原酶活性等生理特征的变化,以阐明铁皮石斛组培苗在移栽驯化过程中发生的适应性变化。结果表明:铁皮石斛幼苗在移栽驯化过程中叶片表观量子效率、最大净光合速率、羧化速率以及PS II的最大光化学效率和表观光合电子传递速率均在移栽驯化过程中不断升高并于20d时达到最大;而暗呼吸速率和叶绿素b的含量在移栽20d时显著降低。驯化过程中叶片光合机构遭到破坏,但移栽20d时叶绿体内淀粉粒和嗜银小体体积变大,片层结构清晰、完整且有序。根系活力和硝酸还原酶活性均在移栽20d时显著增大。铁皮石斛组培苗在移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力都发生了一定的适应性变化,随着移栽时间的延长,石斛叶片的光合效率明显提高,并有大量的光合产物积累;同时根系吸收水分、养分的能力及抗逆能力都明显增强,到移栽20d时组培苗已完全适应大田环境。

**关键词:**铁皮石斛; 试管苗; 驯化; 光合特性; 超微结构; 根系活力; 硝酸还原酶

## Changes in photosynthetic properties, ultrastructure and root vigor of *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings during transplantation

PU Xiaozhen<sup>1,2</sup>, YIN Chunying<sup>1</sup>, ZHOU Xiaobo<sup>3</sup>, LI Na<sup>1</sup>, LIU Qing<sup>1,\*</sup>

1 Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

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

3 Aba Prefecture Li Xian Forestry Bureau in Sichuan Province, Lixian 623100, China

**Abstract:** *Dendrobium candidum* is one of the most valuable varieties in *Dendrobium* family, its wild resource has becoming extinct for slow growth, large market demand as well as excessive pick and destroyed habitat by human activities, and thus it is recommended to be one of the endangered medicinal plants under the national protection. In order to protect wild *D. candidum* resource and to carry out large-scale plantations, the relative researches were conducted from the 1970s. Owing to its high demand of growth environment, the survival rates of *D. candidum* tissue culture seedlings was very low after transplant to field. Therefore one of the key problems is to complete the transplant acclimation of the tissue culture seedlings and increase its survival rates. It is well known that the survival of seedlings depended on its carbon assimilation, root activity of absorbing water and nutrient, as well as the environmental stress tolerance. In this study, to explore the

**基金项目:**中国科学院知识创新工程领域前沿项目(Y0B2031100); 四川省科技支撑计划项目(2010SZ0001)

**收稿日期:**2011-05-25; **修订日期:**2011-10-09

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liuqing@cib.ac.cn

adaptation changes of *D. candidum* tissue culture seedlings to field environment, we investigated changes in photosynthesis parameters, chlorophyll fluorescence characteristics, ultrastructure, photosynthetic pigment and soluble sugar in leaves, as well as root vigor and nitrate reductase activity of *D. candidum* tissue culture seedlings in the course of transplant acclimation, including 0 day, 1 day, 2 days, 4 days and 20 days (had survived) after transplant. The results showed that the photosynthetic quantum yields, the maximum photosynthetic rate, carboxylation efficiency and dark respiratory rate gradually increased, the photosynthetic quantum yields, the maximum photosynthetic rate, carboxylation efficiency reached the maximum at 20 days after transplant among them, yet dark respiratory rate significantly reduced at 20 days after transplant. The general trend of the maximal photochemical efficiency of photosystem II and apparent photosynthetic electron transport rate gradually increased in the whole course of transplanting, and their value reached the maximum at 20 days after transplant. There was no significant difference in content of chlorophyll a, the carotenoid content and the solubility sugar content, but content of chlorophyll b reduced significantly when 20 days post-transplant, the carotenoid content and the solubility sugar content also showed an ascending tendency. On the other hand, internal structure of chloroplasts damaged distinctly in the process of transplant as the shape of chloroplast, lamellar structure and amount of photosynthate had obvious abnormal changes. Moreover, there were many mitochondrias emerging around the chloroplast. However, chloroplast gradually matured, the starch particles and plastoglobulis became big, lamellar structure were complete, clear and orderly at 20 days after transplant. Obviously, the study also stated clearly root vigor and nitrate reductase (NR) activities increased significantly after transplant 20 days. Photosynthetic properties, ultrastructure and root vigor of *D. candidum* tissue culture seedlings during transplantation have a certain change. Facing new environment, *D. candidum* tissue culture seedlings improved their photosynthetic capacity to the greatest degree in the process of adapting energetically to the external environment. With the extension of time, the photosynthetic efficiency increased obviously and the leaves accumulated a great quantity of photosynthesis product, and the capacity of roots absorbing water and nutrients, the adversity tolerance also increased significantly. Our results demonstrated that *D. candidum* tissue culture seedlings have fully adapt to the field environment when 20 days post-transplant. This study clarified the physiological base of survival after transplant, and would give strong theories for the scale and efficiency artificial cultivation of *D. candidum*.

**Key Words:** *Dendrobium candidum*; tube seedlings; acclimation; photosynthetic properties; ultrastructure; root vigor; nitrate reductase

石斛属 (*Dendrobium*) 为兰科 (*Orchidaceae*) 第二大属, 多年生草本植物, 我国有 76 种 (包括 74 个种和 2 个变种), 主要分布于华南及西南地区, 有近 40 种可作药用, 其主要成分为石斛多糖及石斛碱, 具有滋阴、益胃、生津止渴、润肺止咳、强壮及增强免疫活性的作用<sup>[1]</sup>。另外, 部分种还具有重要的观赏价值。铁皮石斛 (*Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.) 作为石斛中的珍品, 价格为石斛中最高<sup>[2]</sup> (干品石斛 3000—9000 元/kg<sup>[3]</sup>)。因其生长极为缓慢<sup>[4]</sup>, 而市场需求量大, 加之人为的过度采挖和破坏生境, 铁皮石斛野生资源已濒临灭绝, 被国家列为重点保护的药用植物之一<sup>[2]</sup>。

为了保护野生资源、实现铁皮石斛的规模化栽培, 自 20 世纪 70 年代我国便开始了相关的开发研究工作。但由于石斛属植物对生长环境要求苛刻, 当组培苗移栽到大田环境时, 茎细、苗弱, 脱瓶移栽成活率极低, 导致在大田环境中生长时成活率低、产量低、进入盛产期年限长, 因此铁皮石斛规模化栽培需解决的关键问题之一就是提高移栽苗的成活率, 而邵华等<sup>[2]</sup>认为解决这一问题的关键之一是做好出瓶后的移栽驯化工作。驯化期组培苗的成活率取决于其本身利用光能合成有机物的能力、根系吸收水分和矿质元素的能力及抗逆能力等。本试验通过对铁皮石斛组培苗移栽不同时间叶片光合特性及相关超微结构、根系活力等的观测, 研究铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中光合能力和根系活性的形成基础, 阐明铁皮石斛组培苗成活的生理基础, 为铁皮石斛的规模化高效人工栽培提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的铁皮石斛材料为来自成都双流万安镇成都石斛产业科技园无菌培养获得的组培苗,包括从培养瓶移栽到大田当天(第0天)、第1天、第2天、第4天和第20天(移栽成活)的铁皮石斛幼苗。

### 1.2 石斛幼苗光合特征参数的测定

2010年8月19日,测定时间为9:00—18:00。从供试铁皮石斛材料中取不同移栽时间的幼苗各5株,每株选择完全展开、健康的功能叶,每株重复测定5次。采用 Li-6400 便携式光合仪(Li-Cor, USA)进行气体交换测定,测定时叶室内温度 28—30℃,相对湿度 36%—55%。光响应曲线的测定参考 Gomes 等<sup>[5]</sup>的方法,CO<sub>2</sub> 浓度控制在 400 μmol/mol,经预实验证实,在确保达到完全光饱和的前提下,用 6400-02B LED 光源将光合有效辐射(PAR)从 1400 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 开始逐步降低,依次为 1200、1000、800、600、400、300、200、150、100、50 和 0 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。用 EXP 模型  $P_n = \{P_{\max} [1 - e^{-\frac{PAR}{P_{\max}}}] \} - R_d$  拟合光响应曲线,得到最大净光合速率( $P_{\max}$ );在光强为 0—200 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 范围内做直线回归<sup>[6]</sup>,计算表观量子效率(AQY)和暗呼吸速率( $R_d$ )。

CO<sub>2</sub> 响应曲线参考 Herrick 和 Thomas<sup>[7]</sup>的方法测定,用 6400-02B LED 光源将 PAR 维持在 800 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,用 CO<sub>2</sub> 注入系统控制 CO<sub>2</sub> 浓度依次为 400、300、200、150、100、50、400、600、800、1000 和 1200 μmol/mol。在 CO<sub>2</sub> 浓度为 0—200 μmol/mol 范围内做直线回归<sup>[6]</sup>,计算羧化效率(CE)。

### 1.3 石斛幼苗叶绿素荧光参数的测定

光合特征参数测定完之后,用 PAM-2100 (WALZ,德国)测定相同位置叶片的叶绿素荧光参数,测定前叶片暗适应至少半小时,测得其初始荧光( $F_0$ )、最大荧光( $F_m$ )、PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )及 PS II 实际光化学效率(Yield) =  $(F_m' - F) / F_m'$ 、表观光合电子传递速率(ETR) = Yield × PAR × 0.5 × 0.84。叶绿素荧光参数测定后,根据 White 和 Critchley<sup>[8]</sup>的方法测定同一样株叶片的 ETR 随 PAR 变化的快速光响应曲线,PAR 设置为 0、100、200、300、400、600、800、1000、1200、1400、1600 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,每个梯度持续 10 s。测定重复 5 次,结果取平均值。

### 1.4 石斛幼苗叶片超微结构的观察

用不锈钢刀片将铁皮石斛叶片切为大小约 1 mm × 2 mm 小块,放入盛有 2.5% 戊二醛的清洁小瓶中进行前固定;3 h 后用 pH 值为 7.2 的缓冲液清洗 3 次,每次 10 min,再用 1.0% 四氧化锇后固定;样品变黑后 1.5 h 再用缓冲液清洗 3 次,每次 15 min;用丙酮进行系列脱水,每次 45 min;在装有样品的玻璃瓶里先倒入 1/5 的丙酮,再倒入 1/5 的环氧树脂,浸透 2 h;Epon812 包埋 72 h;对包埋好的样品进行修块,使组织暴露出来;在德国 Leica EM UC7 超薄切片机上将修好的组织作 1—2 μm 的半薄片;经 2% 乙酸双氧钼及 6% 柠檬酸铅染色;在日立 H-600IV 型透射电子显微镜下观察并拍照。

### 1.5 石斛幼苗光合色素含量、可溶性糖含量、根系活力和硝酸还原酶活性的测定

完成上述测定后的当天,采集不同移栽时间幼苗相同部位的叶片用冰盒带回实验室,叶绿素含量参照 Inskeep 和 Bloom<sup>[9]</sup>的方法测定;类胡萝卜素含量测定参照 Wellburn<sup>[10]</sup>的方法测定;叶片可溶性糖含量采用 Renaut 等<sup>[11]</sup>的方法测定;根系活力采用 TTC 法<sup>[12]</sup>测定;硝酸还原酶活性参照张志良和瞿伟菁<sup>[13]</sup>的方法测定。由于试验材料有限,只测得了移栽 0d 和移栽 20d 时幼苗的可溶性糖含量、根系活力和硝酸还原酶活性。

### 1.6 统计分析

数据的统计分析采用 SPSS13.0 统计分析软件对所得数据进行 One-Way ANOVA 方差分析,不同处理平均数间的比较采用邓肯氏新复极差法进行检验,快速光响应曲线通过 sigmaplot 软件来拟合。

## 2 结果与分析

### 2.1 移栽不同时间的铁皮石斛组培苗叶片光合特征

由表 1 可知,移栽驯化过程中 AQY 和 CE 的变化总体呈增加的趋势,移栽成活时显著升高并达到最大,说明移栽驯化过程中幼苗对外界光能和 CO<sub>2</sub> 的利用能力不断提高。 $P_{\max}$  从移栽 1d 开始不断升高,说明幼苗

潜在光合能力逐渐提高。将组培苗从培养瓶中移栽出来后  $R_d$  不断增加,可能是在移栽驯化过程中幼苗通过  $R_d$  的增加消耗掉大部分的光合产物以适应新环境;但移栽 20d 时  $R_d$  显著低于 4d 的值,说明成活时幼苗已经适应新环境,开始积累光合产物。

表 1 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片表观量子效率、暗呼吸速率、最大净光合速率和羧化效率的变化

Table 1 The changes of the photosynthetic quantum yields (AQY), dark respiration ( $R_d$ ), the maximum photosynthetic rate ( $P_{max}$ ) and carboxylation efficiency (CE) of the *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings leaves after transplant

| 移栽天数/d<br>Days after transplant | 表观量子效率 AQY<br>/ (mol/mol) | 暗呼吸速率 $R_d$<br>/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | 最大净光合速率 $P_{max}$<br>/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | 羧化效率 CE<br>/ (mol/mol) |
|---------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 0                               | 0.011 $\pm$ 0.003 c       | 0.33 $\pm$ 0.15                                                              | 3.27 $\pm$ 0.21                                                                    | 0.029 $\pm$ 0.004      |
| 1                               | 0.018 $\pm$ 0.003 c       | 0.89 $\pm$ 0.09                                                              | 2.13 $\pm$ 0.10                                                                    | 0.016 $\pm$ 0.005      |
| 2                               | 0.013 $\pm$ 0.003 c       | 0.87 $\pm$ 0.18                                                              | 2.37 $\pm$ 0.20                                                                    | 0.011 $\pm$ 0.003      |
| 4                               | 0.031 $\pm$ 0.004 b       | 1.28 $\pm$ 0.14                                                              | 2.59 $\pm$ 0.15                                                                    | 0.059 $\pm$ 0.004      |
| 成活 Life                         | 0.039 $\pm$ 0.003 a       | 1.10 $\pm$ 0.11                                                              | 3.05 $\pm$ 0.18                                                                    | 0.068 $\pm$ 0.005      |

数据以平均数 $\pm$ 标准差表示;同一列不同字母为差异显著( $P < 0.05$ )

## 2.2 移栽不同时间的铁皮石斛组培苗叶片叶绿素荧光参数及其光响应曲线

### 2.2.1 叶片叶绿素荧光参数

由图 1 可知,  $F_v/F_m$  和 ETR 在移栽驯化过程中均发生了不同程度的变化,但总体呈上升趋势并于移栽 20d 时达到最大,这说明在移栽驯化过程中叶片光活化酶的催化作用逐渐增强,PS II 反应中心的能量捕获效率不断提高,这将促进叶片光合能力的提高。

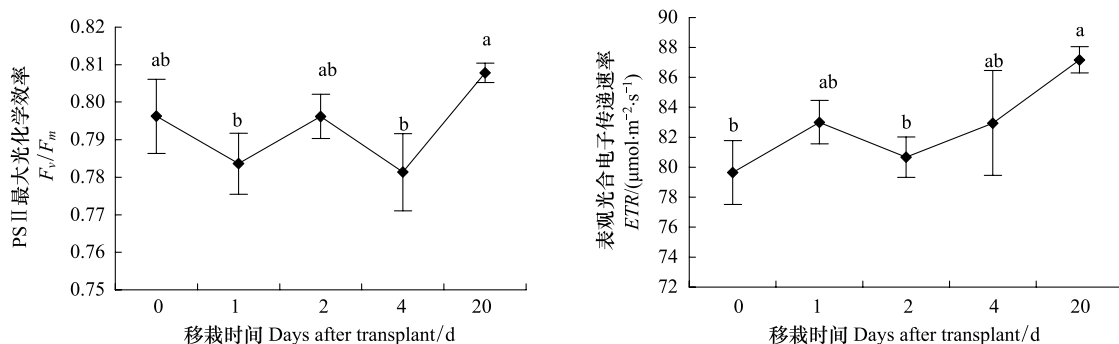


图 1 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片叶绿素荧光参数的变化

Fig. 1 The changes of chlorophyll fluorescent parameters of the *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings leaves after transplant

### 2.2.2 叶片叶绿素荧光-光响应曲线的变化

由图 2 可见,移栽不同时间的石斛幼苗 ETR-PAR 响应曲线的变化趋势基本一致。低光强下,不同移栽时间铁皮石斛幼苗叶片的 ETR 无明显差异,ETR 与 PAR 呈线性关系;但当光强超过  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  后,随着光强增加,ETR 渐渐达到饱和,不同移栽时间的幼苗 ETR 都在光辐射强度为  $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  时达到光饱和点,然后随着光辐射强度的增加而呈现逐渐降低的趋势。当 PAR 超过  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  后,相同 PAR 下移栽 20d 时的 ETR 均高于移栽其它时间的值,且整个驯化过程中移栽 20d 时的 ETR 饱和点最高,说明此时铁皮石斛幼苗的光合电子传递能力和抗光抑制能力最强。

### 2.3 移栽不同时间的铁皮石斛组培苗叶片超微结构

随着移栽时间的延长,铁皮石斛幼苗叶片叶绿体形状逐渐趋于丰满,这是叶绿体逐渐发育成熟的表现,其中移栽 20d 时叶绿体形状最饱满,此时叶绿体靠近细胞壁一面平直,面向中央液泡一面凸起,这将更有利于细胞进行气体交换(图 3E1、E2)。移栽 1d 和 2d 时叶绿体的片层结构由于受新环境的影响出现扭曲、断裂而变得模糊,淀粉粒和嗜锇小体变少、变小(图 3B1、B2、C1、C2),移栽 4d 时略有恢复(图 3D1、D2),移栽 20d 时片



层结构清晰、完整且有序,淀粉粒和嗜饿小体数量增多、体积变大(图 3E1、E2)。说明随着移栽时间的延长,叶绿体逐渐发育成熟,光合机构向着最有利于光合作用的方向变化,光合积累也逐渐增多。除此之外,移栽 1d 和移栽 2d 时,在叶绿体周围明显看到有线粒体出现(图 3B1、B2、C1、C2),说明此时植物通过增加线粒体数量来提供维持生命活动和抵抗环境胁迫所需的能量。

#### 2.4 移栽不同时间的铁皮石斛组培苗叶片光合色素及可溶性糖含量

由表 2 可知,移栽时间对铁皮石斛幼苗各光合色素含量的影响是不同的。叶绿素 a 和类胡萝卜素含量在移栽不同时间里均无显著变化,而叶绿素 b 和叶绿素总含量在移栽 20d 时显著降低,这说明幼苗在移栽驯化过程中,叶片的光传导能力没有发生变化,但捕光能力受到了影响,这样植物将吸收更少的太阳辐射,是植物对光的一种生态适应。另外,铁皮石斛组培苗在移栽驯化过程中,叶片的可溶性糖含量差异不显著,分别为 0.51 mg/g 鲜重、0.59 mg/g 鲜重(表 3),但移栽 20d 时略有升高,这不为呼吸作用提供了更多的基质而且提高了幼苗抵抗环境胁迫的能力。

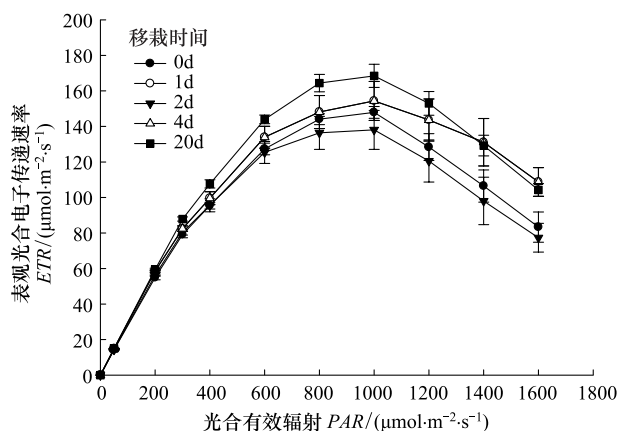


图 2 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片叶绿素荧光光响应曲线的变化

Fig. 2 The changes of chlorophyll fluorescent light response curve of the *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings leaves after transplant

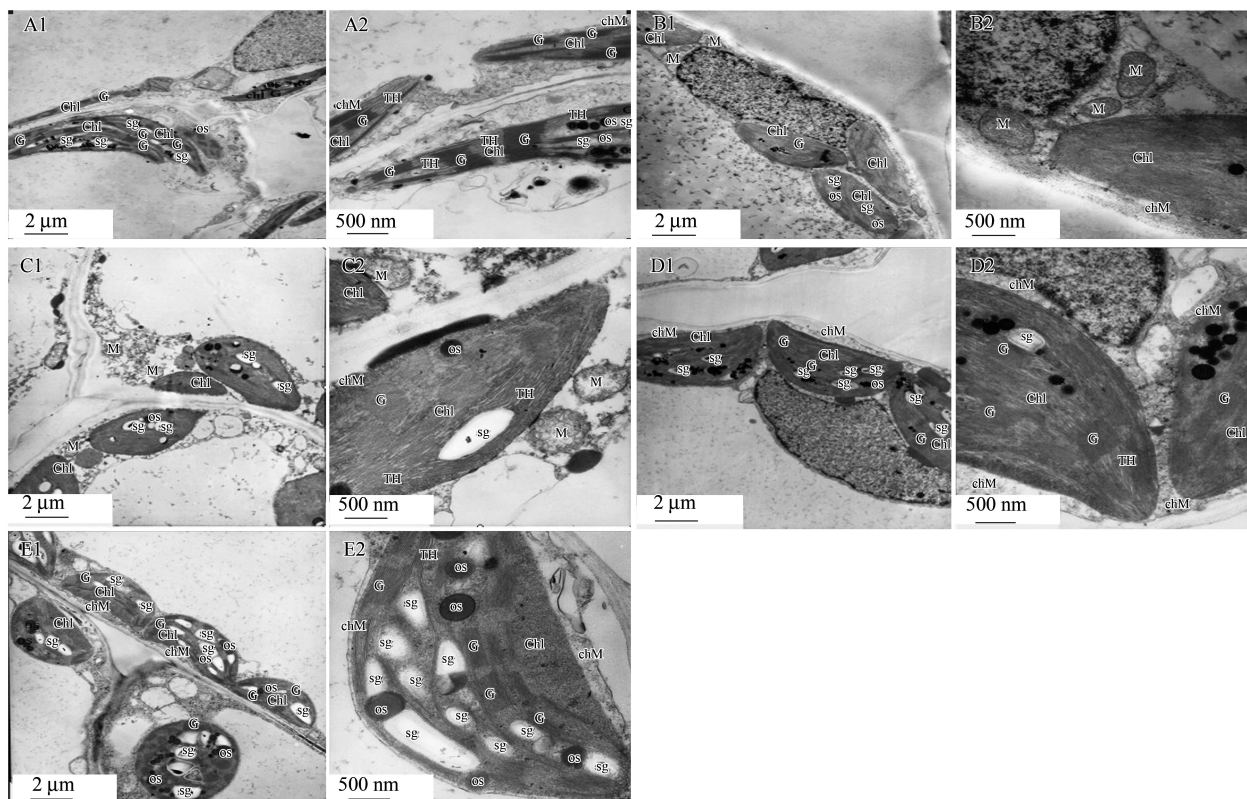


图 3 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片的超微结构

Fig. 3 The change of ultrastructure in *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings leaves after transplant

A: 移栽 0d; B: 移栽 1d; C: 移栽 2d; D: 移栽 4d; E: 移栽 20d; Chl: 叶绿体; M: 线粒体; G: 叶绿体类囊体; sg: 淀粉粒; os: 嗜饿颗粒; chM: 叶绿体质膜; TH: 基质类囊体

表2 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片的光合色素含量

Table 2 Effects of transplanting time on the photosynthesis pigments content in *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings leaves

| 移栽天数/d<br>Days after transplant | 叶绿素 a Chla<br>/(mg/g 鲜重) | 叶绿素 b Chlb<br>/(mg/g 鲜重) | 叶绿素 a+b Chla+b<br>/(mg/g 鲜重) | 类胡萝卜素 Car<br>/(mg/g 鲜重) |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------|
| 0                               | 0.39 ± 0.00 a            | 0.42 ± 0.03 a            | 0.81 ± 0.02 a                | 0.02 ± 0.01 a           |
| 4                               | 0.39 ± 0.02 a            | 0.33 ± 0.04ab            | 0.72 ± 0.04 ab               | 0.03 ± 0.02 a           |
| 20                              | 0.39 ± 0.01 a            | 0.28 ± 0.03 b            | 0.69 ± 0.04 b                | 0.04 ± 0.01 a           |

数据以平均数±标准差表示;同一列不同字母为差异显著 ( $P < 0.05$ )

## 2.5 移栽不同时间的铁皮石斛组培苗根系活力和硝酸还原酶活性

由表3可知,铁皮石斛组培苗根系活力在移栽0d时为 $37.19 \mu\text{gTTC} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ ,但20d后根系活力显著升高,达到 $75.55 \mu\text{gTTC} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ 。根系活力反映了根系代谢能力,其高低直接影响到地上部的生长和发育。本研究说明将铁皮石斛组培苗从培养瓶移栽出来直至移栽成活,根系的代谢能力显著提高,这将促进地上部分的生命活动。硝酸还原酶作为氮代谢过程中的关键酶,其活性的变化与根系活力相似,在移栽0天时较低,为 $4.88 \mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ ,20d后显著升高,为 $6.25 \mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ (表3),说明铁皮石斛幼苗经过移栽驯化后,对氮素的吸收、利用和同化能力有了显著的提高,进而间接促进了植物的光合作用、碳代谢和能量代谢。

表3 移栽不同时间铁皮石斛组培苗叶片可溶性糖含量和根系活力及硝酸还原酶活性

Table 3 Effects of transplanting time on the soluble sugar content in leaves, activity and NR activity in roots of *Dendrobium candidum* tissue culture seedlings

| 移栽天数/d<br>Days after transplant | 可溶性糖含量<br>The content of soluble sugar<br>/(mg/g 鲜重) | 根系活力<br>Root vigor<br>/( $\mu\text{gTTC} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ ) | 硝酸还原酶活性<br>Nitrate reductase (NR) activities<br>/( $\mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \text{鲜重} \cdot \text{h}^{-1}$ ) |
|---------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0                               | 0.51 ± 0.07 b                                        | 37.19 ± 2.93 b                                                                                | 4.88 ± 0.20 b                                                                                                         |
| 4                               | —                                                    | —                                                                                             | —                                                                                                                     |
| 20                              | 0.59 ± 0.03 b                                        | 75.55 ± 6.16 a                                                                                | 6.25 ± 0.20 a                                                                                                         |

数据以平均数±标准差表示;同一列不同字母为差异显著 ( $P < 0.05$ )

## 3 讨论

太阳辐射是植物进行光合作用的能源,是光合作用中最重要的环境因子。光响应曲线是理解光能驱动下光合有效辐射和净光合速率间关系的基础<sup>[14]</sup>。在一定条件下, $P_{\max}$ 反映了植物叶片的潜在光合能力。石斛幼苗出瓶后随着移栽时间的延长, $P_{\max}$ 不断升高,这与AQY和CE的变化趋势相似,说明在驯化过程中,铁皮石斛幼苗通过提高光能和 $\text{CO}_2$ 的利用效率来提高其潜在光合能力。另外,移栽成活后AQY和CE显著高于移栽0天的值,说明在开放的大田环境中,石斛幼苗能够忍受并充分利用外界充足的光能和 $\text{CO}_2$ ,使光合效率在移栽成活后显著提高。 $R_d$ 反映植物在没有光照条件下的呼吸速率,与叶片的生理活性有关。本研究中,随着移栽时间的延长 $R_d$ 不断升高,说明在移栽驯化过程中叶片的生理活性逐渐升高,这是幼苗适应新环境的表现。但成活后 $R_d$ 显著低于移栽第4天时的值,这表明移栽成活后幼苗已适应大田环境,开始积累光合产物来促进幼苗生长。

$F_v/F_m$ 是PSⅡ的最大光量子产量,是PSⅡ中心全部开放时的光量子效率;ETR反映了实际光强条件下的表观电子传递效率,这两个叶绿素荧光参数均是反映叶片光合性能的重要指标。从图1可以看出,随着移栽时间的延长,ETR和 $F_v/F_m$ 总体趋势为不断升高,说明叶片中的荧光量有所增加并在移栽20d达到最大,同时ETR-PAR响应曲线的分析结果显示,移栽20d时幼苗叶片ETR<sub>max</sub>也最高。这表明移栽成活后叶片中PSⅡ反应中心的能量捕获效率最高,能够保证吸收的光能最大程度地进入电子传递系统进行碳固定,此时幼苗具有很强的光合能力,同时又能忍受并充分利用较高的光强,光能利用效率很高。

叶绿体是植物叶片进行光合作用的场所,叶片光合功能的改变与叶绿体内部结构的变化有关<sup>[15]</sup>。在移



栽驯化过程中叶绿体逐渐发育成熟,并与外界进行有效的气体交换<sup>[16]</sup>,形状由靠近细胞壁一面凸起的狭长型逐渐变为面向中央液泡一面凸起的丰满型,在移栽驯化过程中叶绿体形状的这种改变为 CE 的增加提供了有力的保证。叶绿体完整的片层结构能够保证光反应及有关光合作用电子传递的正常进行<sup>[17]</sup>,并且使其有最大的光合作用面积<sup>[18]</sup>。石斛幼苗在移栽过程中片层结构遭到破坏,但移栽成活后,片层结构清晰完整且排列有序,这保证了光合电子传递能够正常有效的进行。该变化趋势与 AQY、ETR、 $F_v/F_m$ 、可溶性糖含量的变化相似,说明片层结构的破坏可能是 AQY、ETR、 $F_v/F_m$ 、可溶性糖含量变化的直接原因。通常认为嗜饿小体是类囊体降解以及脂质类降解物聚集的结果<sup>[19]</sup>,它的产生可提高细胞质浓度、降低渗透势、保证水分和无机盐类营养的吸收<sup>[20]</sup>。片层机构的破坏与构建,使叶绿体内嗜饿小体的体积和数量在移栽驯化过程中变小、变少,但成活后由于光合作用趋于稳定,大量的脂类物质合成并积累进而形成了体积较大的嗜饿小体,这不仅为代谢活动提供了充足的物质原料,还有效保证了细胞对水分和无机盐类营养的吸收。在移栽驯化过程中,铁皮石斛幼苗淀粉粒数目和体积也发生了明显的变化,但移栽 20d 时淀粉粒数量最多、体积最大,说明此时幼苗已经适应大田环境,光合作用较强,进入了同化产物的积累期。线粒体的活动是植物对环境适应的基础。移栽 1d 和 2d 时,在叶绿体周围明显看到了线粒体,呈圆形或椭圆形,膜清晰可见(图 3),线粒体作为细胞内能量代谢的中心,此时其数量的增多可能对单位线粒体活性降低的一种补偿。

光合色素能够客观反映植物利用光照的能力,往往可以作为判断植物光合生理能力、反映环境胁迫状况的重要指标<sup>[21-23]</sup>。叶绿素在植物光合作用中对光能的吸收、传递和转化起着极为重要的作用。由表 2 可以得出,叶片的光传导能力在移栽驯化过程中没有发生变化,类胡萝卜素的含量变化不显著但有增加的趋势,说明石斛幼苗抗氧化能力不断增强。从叶绿素 b 和总叶绿素含量的变化可以看出石斛幼苗光吸收能力下降了,这可能是因为在大田环境的高光强下,植物通过降低叶绿素 b 的含量来避免吸收过多光子,同时增加类胡萝卜素的含量来耗散掉过多的光能,以减小植物光合机构的损伤使其在高光强下能够顺利进行光合作用<sup>[24]</sup>。光合作用的主要产物是可溶性糖,可溶性糖含量的高低反映了植株体内可利用营养物质和能量的供应基础。由表 3 可知,移栽 0d 到 20d,可溶性糖含量的变化不显著但移栽 20d 时略有升高,这说明移栽驯化过程中光合作用逐渐趋于稳定,可溶性糖积累有所增加,这不仅为呼吸作用提供了基质,而且增加了细胞渗透压,在抵抗环境胁迫中起了一定的保护作用<sup>[25]</sup>,但由于呼吸消耗过大使其积累并不多。

根系活力反映根系的生长发育状况,能够从本质上反映苗木根系生长与栽培基质水分及其环境之间的动态关系。它的提高保证了根对水分、无机养分的吸收能力以及对氨基酸、一些植物激素的合成能力<sup>[26]</sup>。本研究中,铁皮石斛幼苗根系活力在移栽 20d 时明显增强(表 3),说明此时根系发达,侧根数及根质量增加,有助于养分吸收和生物量的合成,间接推动了地上部分的生命活动。硝酸还原酶(NR)是氮代谢过程中的关键酶,不仅能反映植物利用硝酸根吸收和转化氮素能力的强弱,而且对植物的光合作用、碳代谢和能量代谢也有重要的影响<sup>[27]</sup>。本研究中,移栽 20d 时铁皮石斛幼苗根系的硝酸还原酶活性明显增强(表 3),说明移栽成活后幼苗对氮素的利用率提高,这将促进植物氨基酸和蛋白质的合成,更有利于幼苗的生长。

Molas 等<sup>[28]</sup>指出光合能力的变化可能是光合作用的光化学反应、生物化学反应或者整个器官水平上光合结构的变化所导致的。应对移栽后的新环境,石斛幼苗在积极适应的同时最大程度的提高其光合能力。在移栽驯化过程中铁皮石斛组培苗 AQY、CE、 $P_{max}$ 、 $F_v/F_m$ 、ETR、ETR<sub>max</sub>、光合机构的完整性以及类胡萝卜素含量、可溶性糖含量、根系活力和硝酸还原酶活性都不同程度的增加并在成活时达到最大,而  $R_d$  和叶绿素 b 含量在移栽成活时显著降低,说明移栽驯化过程中叶片的光合能力和抗逆能力都不断提高且成活时达到最高。光作为光合作用最重要的影响因子,幼苗出瓶移栽后,外界光强明显增强,这时 AQY、 $F_v/F_m$ 、ETR、ETR<sub>max</sub> 也随之增强,说明石斛幼苗能够不断适应外界光环境并保证最大程度的利用光能;同时通过降低叶绿素 b 和升高类胡萝卜素的含量来减少过多的光能对植物光合机构的损伤,这是幼苗对光环境的适应。这些表明铁皮石斛幼苗叶绿体色素分子具有较高的 PS II 活性(光能转化效率、电子传递速率),可以形成较多的活跃化学能(ATP 和 NADPH),为光合碳同化提供充分的能量和还原能力。而 CE 的增加保证了植物对 CO<sub>2</sub> 的利用效

率,加之光合机构的不断完善,为光合作用提供了坚实的结构基础,这些都保证了光合作用能够正常、有效的进行,并使光合效率不断提高。移栽驯化过程中  $R_d$  的升高、 $F_v/F_m$  的降低、线粒体数量的增加以及叶绿素 b 含量降低、类胡萝卜素含量和可溶性糖含量的升高都是幼苗积极适应新环境的表现,表明石斛幼苗在移栽驯化过程中抗逆性不断增强,这与光合能力的提高密切相关。光合机构和可溶性糖含量的变化可以直观的表现移栽驯化过程中幼苗光合能力的动态变化,其中片层结构的破坏与恢复,淀粉粒、嗜银小体数量与体积的变化以及光合产物可溶性糖含量的变化都与光合特征参数、叶绿素荧光参数以及各生理指标等的变化相一致,说明移栽驯化过程中幼苗在结构上、生理上都发生了一定的适应性变化,且二者是紧密联系的。根系活力和硝酸还原酶活性的变化表明移栽驯化过程中铁皮石斛幼苗对水分和养分的吸收能力、氮素的利用能力不断增强,这为叶片光合能力的提高提供了强有力的保证。植株的生长和产量等指标是植物受自身特性和环境因子综合作用的最终表现。铁皮石斛自身对生境要求苛刻,受小环境相对湿度、温度、光照等因子影响较大,因此要提高驯化期幼苗的成活率重在控制好大田环境因子。通过本研究发现铁皮石斛组培苗在移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力都发生了一定的适应性变化,随移栽驯化时间的延长,石斛幼苗叶片光合能力、根系吸收水分和养分的能力以及抗逆能力进一步增强,到移栽 20d 后能够很好的适应大田环境。据调查,在本石斛产业科技园,石斛组培苗移栽后成活率可达 95% 以上,说明目前设置的大田环境因子能够适合铁皮石斛幼苗的生长。这将为石斛的规模化高效人工栽培提供有力的理论支撑。

**致谢:**感谢中国科学院山地生态恢复与生物资源利用重点实验室和生态恢复与生物多样性保育四川省重点实验室的支持。

## References:

- [ 1 ] Zhao P, Wang W, Feng F S, Wu F, Yang Z Q, Wang W J. High-frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum* Wall Ex Lindl. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2007, 90(2): 131-139.
- [ 2 ] Shao H, Zhang L Q, Li J M, Wei R C. Advances in research of *Dendrobium officinale*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2004, 35(1): 109-112.
- [ 3 ] Chen L Q, Wang X M, Pei Z D. Tissue structure of aerial orchidaceous mycorrhiza and its effect on drought resistance of *Dendrobium*. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(1): 160-164.
- [ 4 ] Su W H, Zhang G F. The photosynthesis pathway in leaves of *Dendrobium officinale*. *Acta Phytoecologica Sinica*, 2003, 27(5): 631-637.
- [ 5 ] Gomes F P, Olive M A, Mielke M S, de Almeida A A F, Leite H G. Photosynthetic irradiance-response in leaves of dwarf coconut palm (*Cocos nucifera* L. 'nana', Arecaceae); comparison of three models. *Scientia Horticulturae*, 2006, 109(1): 101-105.
- [ 6 ] Shi S B, Li H M, Wang X Y, Yue X G, Xu W H, Chen G C. Comparative studies of photosynthetic characteristics in typical alpine plants of the qinghai-tibet plateau. *Journal of Plant Ecology*, 2006, 30(1): 40-46.
- [ 7 ] Herrick J D, Thomas R B. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on the photosynthetic light response of sun and shade of canopy sweetgum trees (*Liquidambar styraciflua*) in a forest ecosystem. *Tree Physiology*, 1999, 19(12): 779-786.
- [ 8 ] White A J, Critchley C. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynthesis Research*, 1999, 59(1): 63-72.
- [ 9 ] Inskeep W P, Bloom P R. Extinction coefficients of chlorophyll *a* and *b* in *n,n*-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiology*, 1985, 77(2): 483-485.
- [ 10 ] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophyll-a and chlorophyll-b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144(3): 307-313.
- [ 11 ] Renaut J, Lutts S, Hoffmann L, Hausman J F. Responses of poplar to chilling temperatures: proteomic and physiological aspects. *Plant Biology*, 2004, 6(1): 81-90.
- [ 12 ] Zou Q. Guide for Plant Physiological Experiment. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 173-174.
- [ 13 ] Zhang Z L, Qu W Q. Guide for Plant Physiological Experiment. Beijing: High Education Press, 2003: 41-67.
- [ 14 ] Jiao J Y, Chen K, Yin C Y. Effects of moisture water content on growth, physiological and biochemical characteristics of *Jatropha curcas* L. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(16): 4460-4466.
- [ 15 ] Jiang H M, Yang J C, Zhang J F. Effects of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and

- zinc stress. *Environmental Pollution*, 2007, 147(3): 750-756.
- [16] Du K B, Xu L, Tu B K, Shen B X. Influences of soil flooding on ultrastructure and photosynthetic capacity of leaves of one-year old seedlings of two poplar clones. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010, 46(6): 58-64.
- [17] Yuan Z L, Ma X M, Han J F, Li C M, Wu B C. Effect of Cd Contamination on ultramicroscopic structure and some elements content of tobacco leaves. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(11): 2919-2927.
- [18] Li D H, Shi G X. Effects of  $\text{Cd}^{2+}$  or  $\text{Hg}^{2+}$  water pollution on the ultrastructure of nuclei and chloroplasts in somatic cells of *Trapa bicornis* Osbeck. *Journal of Plant Resources and Environment*, 1999, 8(2): 43-48.
- [19] Smith M, Butler R D. Ultrastructural aspects of petal development in *Cucumis sativus* with particular reference to the chromoplasts. *Protoplasma*, 1971, 73(1): 1-13.
- [20] Wei C X, Wang J J, Wang J B, Zhou W D, Sun G R, Liang J S. Effects of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  stress on the ultrastructure of mesophyll cells in *Puccinellia tenuiflora*. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(1): 108-114.
- [21] Martinezabaigar J, Nunezolvera E, Sanchezdiaz M. Seasonal changes in photosynthetic pigment composition of Aquatic Bryophytes. *Journal of Bryology*, 1994, 18(2): 97-113.
- [22] Barsig M, Schneider K, Gehrke C. Effects of UV-B radiation on fine structure, carbohydrates, and pigments in *Polytrichum commune*. *The Bryologist*, 1998, 101(3): 357-365.
- [23] Martinez-Abaigar J, Nunez-Olivera E, Sanchez-Diaz M. Effect of organic pollution on transplanted Aquatic Bryophytes. *Journal of Bryology*, 1993, 17(4): 553-566.
- [24] Ishii Y, Sakamoto K, Yamanaka N, Wang L, Yoshikawa K. Light acclimation of needle pigment composition in *Sabina vulgaris* seedlings under nurse plant canopy. *Journal of Arid Environments*, 2006, 67(3): 403-415.
- [25] Yang C L, Duan R J, Li R M, Hu X W, Fu S P, Guo J C. The physiological characteristics of salt-tolerance in *Sesuvium portulacastrum* L. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(17): 4617-4627.
- [26] Fan J B, Sheng Q R, Tan J Z, Ye L T, Song W J, Zhang Y L. Difference of root physiological and ecological indices in rice cultivars with different N use efficiency. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(6): 3052-3058.
- [27] Gu C B, Qiu D W, Yang X F, Li X F. Study on effects of new fungal activator protein on physiological characteristics of pea seedlings. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2006, 8(3): 275-278.
- [28] Molas J. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni( II ) complexes. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, 47(2): 115-126.

#### 参考文献:

- [2] 邵华, 张玲琪, 李俊梅, 魏蓉城. 铁皮石斛研究进展. *中草药*, 2004, 35(1): 109-112.
- [3] 陈连庆, 王小明, 裴致达. 石斛气生的兰科菌根组织结构及其对御旱研究. *生态环境学报*, 2010, 19(1): 160-164.
- [4] 苏文华, 张光飞. 铁皮石斛叶片光合作用的碳代谢途径. *植物生态学报*, 2003, 27(5): 631-637.
- [6] 师生波, 李惠梅, 王学英, 岳向国, 徐文华, 陈桂琛. 青藏高原几种典型高山植物的光合特性比较. *植物生态学报*, 2006, 30(1): 40-46.
- [12] 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000: 173-174.
- [13] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003: 41-67.
- [14] 焦娟玉, 陈柯, 尹春英. 土壤含水量对麻疯树幼苗生长及其生理生化特征的影响. *生态学报*, 2010, 30(16): 4460-4466.
- [16] 杜克兵, 许林, 涂炳坤, 沈宝仙. 淹水胁迫对2种杨树1年生苗木叶片超微结构和光合特性的影响. *林业科学*, 2010, 46(6): 58-64.
- [17] 袁祖丽, 马新明, 韩锦峰, 李春明, 吴葆存. 镉污染对烟草叶片超微结构及部分元素含量的影响. *生态学报*, 2005, 25(11): 2919-2927.
- [18] 李大辉, 施国新.  $\text{Cd}^{2+}$  或  $\text{Hg}^{2+}$  水污染对菱体细胞的细胞核及叶绿体超微结构的影响. *植物资源与环境学报*, 1999, 8(2): 43-48.
- [20] 韦存虚, 王建军, 王建波, 周卫东, 孙国荣, 梁建生.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  胁迫对星草叶肉细胞超微结构的影响. *生态学报*, 2006, 26(1): 108-114.
- [25] 杨成龙, 段瑞军, 李瑞梅, 胡新文, 符少萍, 郭建春. 盐生植物海马齿耐盐的生理特性. *生态学报*, 2010, 30(17): 4617-4627.
- [26] 樊剑波, 沈其荣, 谭炯壮, 叶利庭, 宋文静, 张亚丽. 不同氮效率水稻品种根系生理生态指标的差异. *生态学报*, 2009, 29(6): 3052-3058.
- [27] 顾成波, 邱德文, 杨秀芬, 李学锋. 新型真菌源激活蛋白对豌豆幼苗生理特性影响的初步研究. *农药学报*, 2006, 8(3): 275-278.



CONTENTS

|                                                                                                                                                                                                                      |                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Responses of sandy beach nematodes to oxygen deficiency: microcosm experiments .....                                                                                                                                 | HUA Er, LI Jia, DONG Jie, et al (3975)                  |
| Allometric relationship between mean component biomass and density during the course of self-thinning for <i>Fagopyrum esculentum</i> populations .....                                                              | LI Lei, ZHOU Daowei, SHENG Lianxi (3987)                |
| Automatic site selection of sight-seeing route in ecotourism destinations based on landscape perception sensitivity .....                                                                                            | LI Jifeng, LI Renjie (3998)                             |
| Emergy evaluation for sustainability of Biogas-linked agriculture ecosystem: a case study of Gongcheng county .....                                                                                                  | YANG Jin, CHEN Bin, LIU Gengyuan (4007)                 |
| Spatial heterogeneity of vegetation coverage and its temporal dynamics in desert steppe, Inner Mongolia .....                                                                                                        | YAN Liang, ZHOU Guangsheng, ZHANG Feng, et al (4017)    |
| Soil conservation value flow processes of two typical grasslands .....                                                                                                                                               | PEI Sha, XIE Gadi, LI Shimei, et al (4025)              |
| Spatial distribution of carbon storage in a 13-year-old <i>Pinus massoniana</i> forest ecosystem in Changsha City, China .....                                                                                       | WU Tao, PENG Chonghua, TIAN Dalun, et al (4034)         |
| Colonization rate and diversity of AM fungi in the rhizosphere of seven medicinal plants in Xiamen .....                                                                                                             | JIANG Pan, WANG Mingyuan (4043)                         |
| Effects of Cd, Low Concentration Pb/Cd on the contents of phenolic acid and simple glucides exuding from winter wheat seedlings root and the relationship between them and rhizosphere soil microbial activity ..... | JIA Xia, DONG Suiming, ZHOU Chunjuan (4052)             |
| The community structure of laccase-like multicopper oxidase-producing bacteria in soil of Liangshui Nature Reserve .....                                                                                             | ZHAO Dan, GU Huiqi, CUI Daizong, et al (4062)           |
| Effects of soil rhizosphere microbial community and soil factors on arbuscular mycorrhizal fungi in different salinized soils .....                                                                                  | LU Xinping, DU Qian, YAN Yongli, et al (4071)           |
| The effects of inoculation with phosphate solubilizing bacteria <i>Bacillus megaterium</i> C4 in the AM fungal hyphosphere on soil organic phosphorus mineralization and plant uptake .....                          | ZHANG Lin, DING Xiaodong, WANG Fei, et al (4079)        |
| Soil carbon, nitrogen and phosphorus ecological stoichiometry of <i>Phragmites australis</i> wetlands in different reaches in Minjiang River estuary .....                                                           | WANG Weiqi, WANG Chun, ZENG Congsheng, et al (4087)     |
| Dynamics of soil microbial biomass during early fine roots decomposition of three species in alpine region .....                                                                                                     | WU Zhichao, WU Fuzhong, YANG Wanqin, et al (4094)       |
| Effects of simulated precipitation on apparent carbon flux of biologically crusted soils in the Gurbantunggut Desert in Xinjiang, Northwestern China .....                                                           | WU Lin, SU Yangui, ZHANG Yuanming (4103)                |
| Changes in photosynthetic properties, ultrastructure and root vigor of <i>Dendrobium candidum</i> tissue culture seedlings during transplantation .....                                                              | PU Xiaozhen, YIN Chunying, ZHOU Xiaobo, et al (4114)    |
| Analysis of dry matter accumulation and translocation for winter wheat cultivars with different yields on dryland .....                                                                                              | ZHOU Ling, WANG Zhaohui, LI Fucui, et al (4123)         |
| Impact evaluation of low temperature to yields of maize in Northeast China based on crop growth model .....                                                                                                          | ZHANG Jianping, WANG Chunyi, ZHAO Yanxia, et al (4132)  |
| Spatiotemporal variations in the reference crop evapotranspiration on the Loess Plateau during 1961—2009 .....                                                                                                       | LI Zhi (4139)                                           |
| Eco-physiological responses of <i>Phragmites australis</i> to different water-salt conditions in Momoge Wetland .....                                                                                                | DENG Chunnuan, ZHANG Guangxin, LI Hongyan, et al (4146) |
| Comparative study of different earthworm sampling methods .....                                                                                                                                                      | FAN Ruqin, ZHANG Xiaoping, LIANG Aizhen, et al (4154)   |
| Geographic variation in longevity and fecundity of the Asian corn borer, <i>Ostrinia furnacalis</i> Guenée (Lepidoptera: Crambidae) .....                                                                            | TU Xiaoyun, CHEN Yuansheng, XIA Qinwen, et al (4160)    |
| Analysis on grasshopper spatial heterogeneity and pattern of natural grass in upper reaches of Heihe .....                                                                                                           | ZHAO Chengzhang, LI Lili, WANG Dawei, et al (4166)      |
| Inhibition effects of ethyl acetate extracts of <i>Momordica charantia</i> leaves on the experimental population of <i>Spodoptera litura</i> .....                                                                   | LOU Ying, LING Bing, XIE Jiefeng, et al (4173)          |
| Feeding habits of <i>Lateolabrax maculatus</i> in Yangtze River estuary .....                                                                                                                                        | HONG Qiaoqiao, ZHUANG Ping, YANG Gang, et al (4181)     |
| Genetic structure of <i>Gymnodontichus pachycheilus</i> from the upper reaches of the Yellow River as inferred from mtDNA control region .....                                                                       | SU Junhu, ZHANG Yanping, LOU Zhongyu, et al (4191)      |
| Toxicity mechanism of Cadmium-induced reactive oxygen species and protein oxidation in testes of the frog <i>Rana nigromaculata</i> .....                                                                            | CAO Hui, SHI Cailei, JIA Xiuying (4199)                 |
| The diversity of scarab beetles in grassland cattle dung from North China .....                                                                                                                                      | FAN Sanlong, FANG Hong, GAO Chuanbu, et al (4207)       |
| Spatial relationships among <i>Empoasca vitis</i> (Gothé) and <i>Toxoptera aurantii</i> (Boyer) and natural enemies in tea gardens of autumn-winter season in Hefei suburban .....                                   | YANG Lin, GUO Hua, BI Shoudong, et al (4215)            |
| Effects of vegetation, elevation and human disturbance on the distribution of large- and medium-sized wildlife: a case study in Jiuzhaigou Nature Reserve .....                                                      | ZHANG Yue, LEI Kaiming, ZHANG Yuke, et al (4228)        |
| Research of typical EIPs based on the social network analysis .....                                                                                                                                                  | YANG Lihua, TONG Lianjun (4236)                         |
| Exergy-based life cycle accounting of household biogas system: a case study of Gongcheng, Guangxi .....                                                                                                              | QI Jing, CHEN Bin, DAI Jing, et al (4246)               |
| <b>Review and Monograph</b>                                                                                                                                                                                          |                                                         |
| The effects of changes in hydrological regimes and salinity on wetland vegetation: a review .....                                                                                                                    | ZHANG Guangxin (4254)                                   |
| Advances in research on the seed bank of a saline-alkali meadow in the Songnen Plain .....                                                                                                                           | MA Hongyuan, LIANG Zhengwei, LÜ Bingsheng, et al (4261) |
| A new landscape expansion index: definition and quantification .....                                                                                                                                                 | WU Pengfei, ZHOU Demin, GONG Huili (4270)               |
| <b>Scientific Note</b>                                                                                                                                                                                               |                                                         |
| Response of photosynthetic characteristics of <i>Psathyrostachys huashanica</i> Keng to drought stress .....                                                                                                         | LI Qian, WANG Ming, WANG Wenwen, et al (4278)           |
| The antifouling activities of <i>Callyspongia</i> sponge extracts .....                                                                                                                                              | CAO Wenhao, YAN Tao, LIU Yonghong, et al (4285)         |

# 《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 13 期 (2012 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA  
(Semimonthly, Started in 1981)  
Vol. 32 No. 13 (July, 2012)

|               |                                                                                                                    |                 |                                                                                                                                                                                 |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 编 辑           | 《生态学报》编辑部<br>地址:北京海淀区双清路 18 号<br>邮政编码:100085<br>电话:(010)62941099<br>www.ecologica.cn<br>shengtaixuebao@rcees.ac.cn | Edited by       | Editorial board of<br>ACTA ECOLOGICA SINICA<br>Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China<br>Tel:(010)62941099<br>www.ecologica.cn<br>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<br>中国科学院生态环境研究中心<br>地址:北京海淀区双清路 18 号<br>邮政编码:100085                                                        | Sponsored by    | Ecological Society of China<br>Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS<br>Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China                                 |
| 出 版           | 科 学 出 版 社<br>地址:北京东黄城根北街 16 号<br>邮政编码:1000717                                                                      | Published by    | Science Press<br>Add:16 Donghuangchenggen North Street,<br>Beijing 100717, China                                                                                                |
| 印 刷           | 北京北林印刷厂                                                                                                            | Printed by      | Beijing Bei Lin Printing House,<br>Beijing 100083, China                                                                                                                        |
| 发 行           | 科 学 出 版 社<br>地址:东黄城根北街 16 号<br>邮政编码:100717<br>电话:(010)64034563<br>E-mail:journal@cspg.net                          | Distributed by  | Science Press<br>Add:16 Donghuangchenggen North<br>Street, Beijing 100717, China<br>Tel:(010)64034563<br>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<br>地址:北京 399 信箱<br>邮政编码:100044                                                                         | Foreign         | China International Book Trading<br>Corporation<br>Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China                                                                                      |
| 广告经营<br>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