

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 13 期 Vol.33 No.13 2013

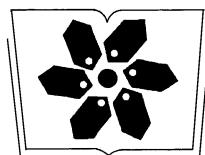
中国生态学学会

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33卷 第13期 2013年7月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

强度干扰后退化森林生态系统中保留木的生态效应研究综述 缪 宁, 刘世荣, 史作民, 等 (3889)

AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理 罗巧玉, 王晓娟, 林双双, 等 (3898)

个体与基础生态

东灵山不同林型五角枫叶性状异速生长关系随发育阶段的变化 姚 靖, 李 颖, 魏丽萍, 等 (3907)

不同温度下 CO₂ 浓度增高对坛紫菜生长和叶绿素荧光特性的影响 刘 露, 丁柳丽, 陈伟洲, 等 (3916)

基于 LULUCF 温室气体清单编制的浙江省杉木林生物量换算因子 朱汤军, 沈楚楚, 季碧勇, 等 (3925)

土壤逐渐干旱对菖蒲生长及光合荧光特性的影响 王文林, 万寅婧, 刘 波, 等 (3933)

一株柠条内生解磷菌的分离鉴定及实时荧光定量 PCR 检测 张丽珍, 冯利利, 蒙秋霞, 等 (3941)

一个年龄序列巨桉人工林植物和土壤生物多样性 张丹桔, 张 健, 杨万勤, 等 (3947)

不同饵料和饥饿对魁蚶幼虫生长和存活的影响 王庆志, 张 明, 付成东, 等 (3963)

禽畜养殖粪便中多重抗生素抗性细菌研究 郑诗月, 任四伟, 李雪玲, 等 (3970)

链状亚历山大藻赤潮衰亡的生理调控 马金华, 孟 希, 张 淑, 等 (3978)

基于环境流体动力学模型的浅水草藻型湖泊水质数值模拟 李 兴, 史洪森, 张树礼, 等 (3987)

种群、群落和生态系统

干旱半干旱地区围栏封育对甘草群落特征及其分布格局的影响 李学斌, 陈 林, 李国旗, 等 (3995)

宁夏六盘山三种针叶林初级净生产力年际变化及其气象因子响应 王云霓, 熊 伟, 王彦辉, 等 (4002)

半干旱黄土区成熟柠条林地土壤水分利用及平衡特征 莫保儒, 蔡国军, 杨 磊, 等 (4011)

模拟酸沉降对鼎湖山季风常绿阔叶林地表径流水化学特征的影响 丘清燕, 陈小梅, 梁国华, 等 (4021)

基于改进 PSO 的洞庭湖水源涵养林空间优化模型 李建军, 张会儒, 刘 帅, 等 (4031)

外来植物火炬树水浸液对土壤微生物系统的化感作用 侯玉平, 柳 林, 王 信, 等 (4041)

崇明东滩抛荒鱼塘的自然演替过程对水鸟群落的影响 杨晓婷, 牛俊英, 罗祖奎, 等 (4050)

三峡水库蓄水初期鱼体汞含量及其水生食物链累积特征 余 杨, 王雨春, 周怀东, 等 (4059)

元江鲤种群遗传多样性 岳兴建, 邹远超, 王永明, 等 (4068)

景观、区域和全球生态

中国西北干旱区气温时空变化特征 黄 蕊, 徐利岗, 刘俊民 (4078)

集水区尺度下东北东部森林土壤呼吸的模拟 郭丽娟, 国庆喜 (4090)

增氮对青藏高原东缘高寒草甸土壤甲烷吸收的早期影响 张裴雷, 方华军, 程淑兰, 等 (4101)

基于生态系统服务的广西水生态足迹分析 张 义, 张合平 (4111)

深圳市景观生态安全格局源地综合识别 吴健生, 张理卿, 彭 建, 等 (4125)

庐山风景区碳源、碳汇的测度及均衡 周年兴, 黄震方, 梁艳艳 (4134)

气候变化对内蒙古中部草原优势牧草生长季的影响 李夏子, 韩国栋, 郭春燕 (4146)

民勤荒漠区典型草本植物马蔺的物候特征及其对气候变化的响应 韩福贵, 徐先英, 王理德, 等 (4156)

血水草生物量及碳贮量分布格局 田大伦, 闫文德, 梁小翠, 等 (4165)

5种温带森林生态系统细根的时间动态及其影响因子 李向飞, 王传宽, 全先奎 (4172)

资源与产业生态

干旱胁迫下 AM 真菌对矿区土壤改良与玉米生长的影响 李少朋, 毕银丽, 陈畴圳, 等 (4181)

城乡与社会生态

上海环城林带保健功能评价及其机制 张凯旋, 张建华 (4189)

研究简报

北京山区侧柏林林内降雨的时滞效应 史 宇, 余新晓, 张佳音 (4199)

采伐剩余物管理措施对二代杉木人工林土壤全碳、全氮含量的长期效应

..... 胡振宏, 何宗明, 范少辉, 等 (4205)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ¥ 90.00 * 1510 * 35 * 2013-07



封面图说: 岳阳附近的水源涵养林及水系鸟瞰——水源涵养林对于调节径流, 减缓水旱灾害, 合理开发利用水资源具有重要的生态意义。洞庭湖为我国第二大淡水湖, 南纳湘、资、沅、澧四水, 北由岳阳城陵矶注入长江, 是长江上最重要的水量调节湖泊。因此, 湖周的水源涵养林建设对于恢复洞庭湖调节长江中游地区洪水的功能, 加强湖区生物多样性的保护是最为重要的举措之一。对现有防护林采取人为干扰的调控措施, 改善林分空间结构, 将有利于促进森林生态系统的正向演替, 为最大程度恢复洞庭湖水源林生态功能和健康经营提供重要支撑。

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

DOI: 10.5846/stxb201210181450

张丽珍^{1,*}, 冯利利², 蒙秋霞³, 牛宇⁴, 牛伟⁵, 樊晶晶¹, 鹿茸¹. 一株柠条内生解磷菌的分离鉴定及实时荧光定量 PCR 检测. 生态学报, 2013, 33(13): 3941-3946.

Zhang L Z, Feng L L, Meng Q X, Niu Y, Niu W, Fan J J, Lu R. Isolation, identification, real-time PCR investigation of an endophytic phosphate-solubilizing bacteria from *Caragana korshinskii* Kom. roots. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(13): 3941-3946.

一株柠条内生解磷菌的分离鉴定及 实时荧光定量 PCR 检测

张丽珍^{1,*}, 冯利利², 蒙秋霞³, 牛宇⁴, 牛伟⁵, 樊晶晶¹, 鹿茸¹

(1. 山西大学生命科学院, 太原 030006; 2. 山西大学生物技术研究所, 太原 030006;
3. 山西省农业科学院环境与资源研究所, 太原 030006; 4. 山西省农业科学院农业资源与经济研究所, 太原 030006;
5. 山西省农业科学院, 太原 030006)

摘要:结合形态观察与 16S rDNA 序列测定对柠条根系内分离筛选得到的解磷细菌 C9 进行鉴定,Blast 比对结果表明 C9 为泛菌 (*Pantoea vagans*)。在无机磷液体培养基培养条件下,用钼锑抗比色法研究它的解磷能力。结果表明,随着时间的延长,培养液中速效磷含量逐渐增加到 4.45mg/L,溶液 pH 可降至 4.2。进一步利用实时荧光定量 PCR 检测柠条根系中、柠条根际土壤与柠条根围土壤中该细菌存在的相对基因拷贝数,结果发现该基因在 3 种样品中的数量为:柠条根系>柠条根际土壤>柠条根围土壤,表明泛菌解磷细菌能聚集生长在柠条根系内,随着与根系接触距离的增加而呈逐级递减趋势。

关键词:柠条;内生菌;解磷能力;实时荧光定量 PCR

Isolation, identification, real-time PCR investigation of an endophytic phosphate-solubilizing bacteria from *Caragana korshinskii* Kom. roots

ZHANG Lizhen^{1,*}, FENG Lili², MENG Qiuxia³, NIU Yu⁴, NIU Wei⁵, FAN Jingjing¹, LU Rong¹

1 College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2 Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3 Institute of Agricultural Environment and Resources, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030006, China

4 Institute of Agricultural Resources and Economy, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030006, China

5 Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030006, China

Abstract: The microbiota colonizing the rhizosphere (immediately surrounding the root) and the endophytic microbiota (within the root) contribute to plant growth, productivity and phytoremediation. The microbiota inhibiting the rhizosphere can both benefit and undermine the plant health, whereas mutualistic endophytic microbiota may provide physiologically accessible nutrients and phytohormones to improve the plant growth, or help the plant withstand salt and drought. In this study, one phosphate-solubilizing bacterium C9 was isolated from within the root system of *Caragana Korshinskii* Kom. It was identified by morphology and 16S rDNA sequencing. Using BLAST software, C9 was identified as *Pantoea*. The phosphate-solubilizing capacity of C9 was assayed by molybdenum-antimony-D-iso-ascorbic-acid-colorimetry (MADAC) in inorganic phosphorus liquid culture. The results showed that the available phosphorus content in culture increased to 4.45mg/L and the pH value dropped to 4.22. These data indicate that the strain C9 from *Caragana Korshinskii* Kom. root system is able to utilize the insoluble phosphate and transform insoluble phosphorus into available form for the plants. At the

基金项目:国家自然科学基金项目(31070555);山西省农业科技攻关项目(20100311001-7)

收稿日期:2012-10-18; 修订日期:2013-03-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lizhen@sxu.edu.cn

same time, the possible relationship among pH level and phosphate dissolving ability was discussed. Furthermore, real-time PCR method was developed for quantifying gene copy number of C9 in roots and soil. PCR results demonstrated that the copy number of C9 follows the sequence of *Caragana korshinskii* Kom. root > rhizosphere soil > soil around rhizosphere. Results indicate that *Caragana korshinskii* Kom. exerts positive effects on the existent environment of C9 and helps improve salinity-alkalinity ecological environment gradually.

Key Words: *Caragana korshinskii* Kom. ; endophytic bacteria; phosphate solubilization; real-time PCR.

磷是植物生长发育必需的矿质元素之一,以多种方式参与植物体内的光合作用和生理生化过程,对促进植物的生长发育和新陈代谢具有重要的作用。一般农田土壤中全磷含量很高,但是有效磷含量很低^[1]。解磷微生物产生的植酸酶、核酸酶和磷酸酶等加速了植酸、核酸、磷脂等含磷有机化合物的分解,促进了磷素释放,可以提高植物磷素营养;解磷微生物分泌的有机酸与 Ca-P、Fe-P 和 Al-P 等进行螯合^[2],使难溶磷转化成为有效磷。因此,利用微生物解磷作用弥补土壤磷素营养的不足,成为当前的一个研究热点。

紧贴根部定殖的根际菌和根系内的内生菌对植物的生长、生物量累积、碳汇、生物修复等功能发挥着重要作用^[3-5]。内生菌存在于植物的根茎叶果实和种子中,在长期生物进化过程中与宿主植物形成了互利共生,相互作用的关系。根际微生物可能促进植物的生长也可能损坏植物的健康。研究人员关于根际微生物对土壤养分的分解和转化作用以及促进植物生长和对植物病害的生防作用的研究较为深入^[6-7]。与植物互利共生的内生菌通过提供可利用的养分和生长激素来促进植物生长,帮助植物抵御高温、高盐和干旱等逆境胁迫。现有研究认为内生菌可通过自身的代谢产物或借助于信号传导作用对植物体施加影响^[8]。Márquez 等^[9]研究发现内生真菌能提高植物抗逆能力。目前关于植物内生解磷菌的报道还不多见。因此寻找发现并进一步探索植物内生解磷细菌在磷素循环吸收利用中的作用具有重要意义。

柠条是锦鸡儿属植物栽培种的通称,为豆科灌木类植物,具有抗盐碱、抗旱、耐寒、耐瘠薄等特点。本实验研究材料来源于山西大同,该地区土壤质地板结,环境条件恶劣,柠条在该地区的盐碱滩地改良中发挥了重要作用^[10]。前期研究^[16]发现柠条根围土壤分离获得的黑曲霉具有解磷能力,本文进一步探讨柠条根系内生细菌的解磷能力,为全面理解柠条增加贫瘠土壤环境的养分来源途径,具有重要意义。

实时荧光定量技术作为一种核酸定量的手段,以其高灵敏性、高特异性、高精确度、实时性、污染少等优点在微生物生态学中逐渐得到广泛的应用^[11]。本文采用 Real-time PCR 法对柠条根系组织及柠条根际土壤与柠条根围土壤中的特定解磷细菌存在的相对基因拷贝数进行相对定量检测,确定具有解磷生物学功能的泛菌属细菌的丰度,为探讨柠条内生解磷菌在盐碱土壤中的存在状态及在土壤生物改良中发挥的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料

柠条根系组织及土壤取自山西大同盆地的毛皂试验站柠条林。样品采集于 2009 年 9 月份,将柠条根样品装入保鲜袋,放入冰盒带回 4℃ 保藏。

无机磷培养基组份^[12]:葡萄糖 10g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, 蒸馏水 1000 mL, pH7.0—7.5, 121℃ 灭菌 30 min, 固体培养基中加入 20g/L 琼脂。

1.2 方法

1.2.1 柠条根系内生解磷细菌的分离和筛选

将柠条的主根和须根在自来水下冲洗干净,吸干表面的水分后,先使用 75% 的酒精冲洗 1min,然后用无

菌水冲洗,重复3次后用灭菌的滤纸吸干,最后剪成小段,放入研钵,加入适量的蒸馏水后用力研碎,系列稀释后涂布到无机磷固体培养基上,37℃,培养5d,选择在无机培养基出现透明圈的菌株进行纯化后接至斜面保存。

1.2.2 16S rDNA 序列测定

细菌基因组 DNA 提取:将保藏的 C9 菌株在 LB 培养基上活化后,接种于无机磷固体培养基上培养3—5d,按照试剂盒操作步骤提取基因组 DNA,取样进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,所得产物-20℃保存备用。

16S rDNA 序列分析参照 Toru Shigematsu^[13]等的方法进行。引物采用原核微生物 16S rDNA 序列通用引物:引物 A (5'-AGTTTGATCCTGGCTCA-3'),引物 B (5'-ATCCTTGTACGACTTGA-3')。PCR 扩增条件为:95℃预变性 5min,94℃下变性 30s,55℃退火 30s,72℃延伸 1min,循环 30 次,72℃延伸 10min。产物的纯化用 TAKARA 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒进行。PCR 产物经 pGEM-T Easy 载体连接到 JM109 感受态细胞上。挑取阳性克隆子,依据质粒提取试剂盒说明抽提重组质粒 DNA。

测序送华大基因公司进行。

1.2.3 柠条根系内生解磷细菌的解磷能力测定

对柠条根内生解磷细菌进行无机磷液体培养基培养,将加 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的液体培养基 50mL 分装于 100mL 的三角瓶中,121℃,灭菌 30min。将 C9 制成菌悬液,调节浓度约为 10^7 个/mL,取 1mL 接种,37℃160r/min,摇床培养,每隔 12h 周期取样,3 个重复,采用钼锑钪比色法测定解磷能力。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测

目的菌株 C9 的荧光定量 PCR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司设计并合成:引物 F (5'-GTTCCCTTGAGGAGTGGCTTC-3'),引物 R (5'-CGAATTAAACCACATGCTCCAC-3')。

柠条根系 DNA 提取,柠条根际土壤和柠条根围土壤总基因组 DNA 提取利用 Omega 总基因组 DNA 抽提试剂盒。将提取的 cDNA 稀释为 100ng/ μL ,取 2 μL 作为荧光定量 PCR 模板,荧光定量 PCR 的反应体系为:SybrGreen qPCR Master Mix 12.5 μL ,引物 F (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL ,引物 R (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.5 μL ,ddH₂O 9.5 μL ,样品 cDNA 2 μL ,总体积为 25 μL 。PCR 的反应程序设为:95℃ 预变性 10min,95℃ 变性 15s,60℃ 退火 1min,循环 40 次。

2 结果

2.1 内生解磷细菌的分离

无机磷固体培养基上分离筛选到的 C9 菌株为白色、表面光滑、半透明,边缘整齐。可以溶解培养基中的不溶性磷酸钙,菌落周围成透明圈(图 1),据此初步确定该菌株具有一定的解磷能力。

2.2 16S rDNA 序列测定

提取 C9 菌株的基因组 DNA,进行 PCR 扩增,1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测(图 2)。割胶回收目的基因片段后,将纯化后的产物与 pGEM-T Easy 载体连接,蓝白斑筛选得到重组克隆子,提取重组质粒,电泳检测连接效果,将目的质粒送至华大基因进行序列测定,将序列结果与 NCBI 数据库中已知序列进行 BLAST 比对分析,具体结果为:所获得的片段序列长度为 1532 bp,该片段与 *Pantoea vagans* 有 99% 的同源性,初步将其判断为泛菌(*Pantoea vagans*)。



图 1 内生解磷细菌 C9 的解磷效果

Fig. 1 Colonial morphology of the endogenous phosphate-solubilizing bacteria C9

2.3 内生解磷细菌的解磷能力

解磷标准曲线方程为 $y = 0.5245x - 0.0178$, $R^2 = 0.99$, 可以根据吸光度值来测定磷含量。

内生细菌 C9 的溶磷趋势是先升而后逐渐趋于平稳, 其 pH 值是先降后有波动最后趋于平稳。分析发现, 随着其解磷能力的提高, pH 先降后升, 当解磷能力最后趋于平稳的时候, pH 也趋于平稳。C9 菌株的解磷能力最高可达 4.45 mg/L , 其溶液 pH 可降至最低值为 4.2(图 3)。

2.4 荧光定量检测结果

利用实时荧光定量 PCR 对具有解磷功能细菌 C9 基因的检测显示, C9 在柠条根内的平均基因拷贝数为 9139883 个, 在柠条根际土壤中是 721399.7 个, 在柠条根围土中是 142815.5 个(图 4)。由图 4 可以看出, 目的基因在柠条根中的含量最多, 远远大于其在柠条根系土壤和多年生柠条根围土壤中的含量, 并且呈递减趋势, 从而可以说明, 本文中所得目的菌株在柠条根系内可以大量繁殖生长, 并形成一定的规模体系。

3 讨论

解磷微生物的分离与研究覆盖了多个类群, 包括细菌^[14], 真菌^[15-16]。本文研究的这株解磷细菌分离自柠条根系内部。内生菌作为植物的共生体, 对植物的生长发育和功能效应有一定的潜在影响。研究认为^[17-18]植物内生菌可以通过溶磷能力而促进植物在逆境中的生长。植物内生菌可以通过调节细胞渗透压, 改变气孔响应机制, 调节根的形态和长短, 影响氮素累积和代谢过程, 增加矿物质的吸收等机制来促进植物的生长^[19]。本研究获得的这株解磷细菌在实验室离体条件下具有较强的解磷能力。在自然生态条件下, 内生解磷细菌能否促进柠条吸收磷元素, 以及如何促进都需要进一步的研究探索。Son^[20]等从大豆根际分离得到的解磷泛菌, 其可溶性磷含量可达 900 mg/L 。Chung^[21]等从朝鲜农作物根际分离到的解磷泛菌, 其可溶性磷含量为 113.7 mg/L 。姚庆智^[22]等人从油松菌根根际筛选出的优良解磷细菌可使培养基中可溶性磷增量达 591.82 mg/L 。解磷能力均强于本研究获得的 C9, 这可能需要进一

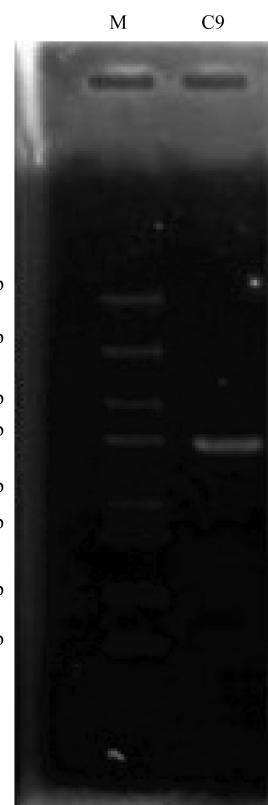


图 2 内生解磷细菌 C9 的 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification of the endogenous phosphate-solubilizing bacteria C9

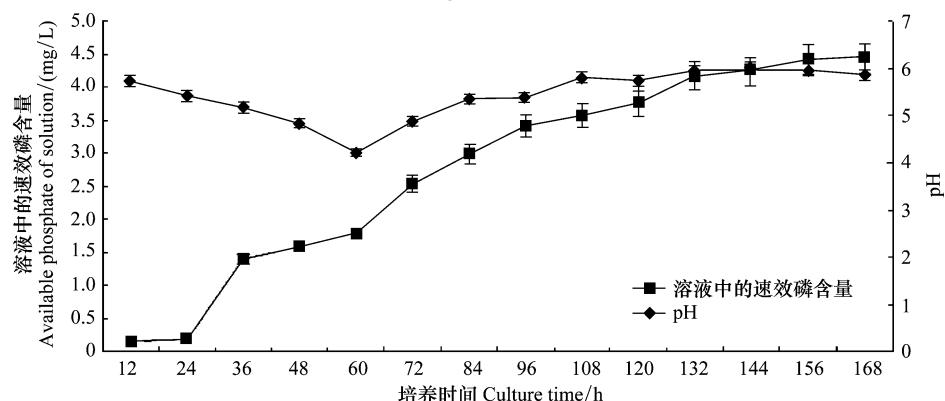


图 3 C9 的解磷曲线和溶液 pH

Fig. 3 Phosphate solubilization capacity and pH of C9

步从柠条根系的生存环境和生理功能来探究它们的差异，并从定殖能力和田间实际解磷效果来比较它们的应用潜力。

解磷菌的解磷机制是多样的，Rashid 等^[23] 和 Ponmurugan 等人^[24]对此作过探讨。其中解磷菌通过产生有机酸来溶解难溶磷是最常见的一种机制。本文通过对 C9 菌株解磷能力的研究发现该菌株的解磷能力与菌株生长过程中酸性物质的产生有关。C9 菌株影响培养基质中有机酸的生产能力,进而影响培养基 pH 大小,最终影响难溶性磷酸盐的溶解量。

Fenchel^[27]认为可以单纯从栖息的生境来理解微生物的分布。植物根系生活在植物-土壤-微生物组成的生态系统中。根系内生菌在植物体内的定殖是一个主动过程,其长期生活在根系内的特殊环境中并与宿主协同进化,可以通过自身的代谢产物或借助于信号转导对植物体产生作用。在植物代谢过程中有部分物质以根系分泌物的形式释放到根系根际,根系分泌物为土壤微生物提供大量的营养和能源物质,因而根际微生物的种类和数量均高于非根际土壤,而且代谢活性也比非根际微生物高^[26]。本研究应用实时荧光定量 PCR 定量检测了柠条内生菌株 C9 在柠条根系内及柠条根际和根围土壤中的数量。结果显示柠条根系内部含量远远大于根际和根围的数量,随着与根系接触距离的增加而呈逐级递减趋势。Hallmann^[28]等人的研究表明根际微生物群落能通过渗透作用与寄主相互作用从而影响寄主体内的内生菌组成,部分微生物甚至能进入寄主体内成为暂时的内生菌。内生菌如何从根内扩散到柠条根际土壤再到柠条根围土壤,需要进一步通过标记技术来跟踪研究内生菌的生态行为。从泛菌 C9 的数量变化来看,表明植物内生菌在植物-土壤反馈机制中扮演着重要的角色。其本身又具有解磷能力,在一定程度上可以驱动对盐碱土壤的改良,为理解柠条改良盐碱土壤提供了理论依据。柠条内生菌株 C9 如何逐级定殖到周围土壤环境,发挥改善盐碱生态环境的作用将是下一步研究的方向。

References:

-
- | Sample | Gene copy number (approx.) |
|--------|----------------------------|
| 柠条根系 | 900 |
| 柠条根际土壤 | 10 |
| 柠条根围土壤 | 5 |
- [1] Peix A, Rivas R, Mateos P F. *Pseudomonas rhizospaerae* sp. nov, a novel species that actively solubilizes phosphate in vitro. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53:2067-2072.
- [2] Lin Q M, Zhao X Y, Sun Y X, Yao J. Community characters of soil phosphobacteria in four ecosystems. Soil and Environmental Sciences, 2000, 9 (1):34-37.
- [3] Rodriguez R J, Henson J, Volkenburgh E V, Hoy M, Wright L, Beckwith F, Kim Y O, Redman R S. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. ISME J, 2008, 2, 404-416.
- [4] de Deyn G B, Cornelissen J H C, Bardgett R D. Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. Ecology Letters, 2008, 11, 516-531.
- [5] van der Lelie D, Taghavi S, Monchy S, Schwender J, Miller L, Ferrieri R, Rogers A, Wu X, Zhu W, Weyens N, Vangronsveld J, Newman L. Poplar and its bacterial endophytes: coexistence and harmony. Critical Reviews in Plant Sciences, 2009, 28, 346-358.
- [6] Mendes, R, Kruyt M, de Bruij I, Dekkers E, van der Voort M, Schneider J H M, Piceno Y M, DeSantis T Z, Andersen G L, Bakker P A H M, Raaijmakers J M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. Science, 2011, 332, 1097-1100.
- [7] Firáková S, Šturdíková M, Múčková M. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. Biologia, 2007, 62, 251-257.
- [8] Behie S W, Zelisko P M, Bidochka M J. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. Science, 2012, 22: 1576-1577.
- [9] Márquez L M, Redman R S, Rodriguez R J, Roossinck M J. A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. Science, 2007, 315:513-515.
- [10] Zhang L Z, Niu W, Niu Y, Niu X W. Impact of *Caragana Fabr.* plantation on plant community and soil properties of saline-alkali wasteland. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29 (9): 4693-4699.

- [11] Zhang J, Zhang H W, Zhang C G. Real-time fluorescent quantitative PCR and its application in microbial ecology. *Acta Ecologica Sinica*. 2005, 25(6):1445-1449.
- [12] Shi J, Liu Z H, Jiang L H, Qiu H Z, Wang L, Zheng F L, Lin H T. Study on phosphate-dissolving ability of one phosphate solubilizing fungi and its growth curve. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(22):9363-9364.
- [13] Toru S, Yueqin T, Hiromi K. Effect of dilution rate on structure of a mesophilic acetate-degrading methanogenic community during continuous cultivation. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 6(96): 6488-6496.
- [14] Zhao X R, Lin Q M, Li B G. Community characters of soil phosphobacteria in four ecosystems. *Soil and Environmental Scieces*, 2002, 42(2): 36-241.
- [15] Kang Y J, Hu J, Shan J, He F, Pu Z, Yin S X. Solubilization capacity of insoluble phosphates and its mechanism by two phosphate solubilizing fungi. *Microbiology*, 2006, 33:22-27.
- [16] Zhang L Z, Fan J J, Niu W, Li T, Wu R H, Jing Y J, Lu R. Isolation of phosphate solubilizing fungus (*Aspergillus niger*) from *Caragana* rhizosphere and its potential for phosphate solubilization. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(24): 7571-7578.
- [17] Verma S C, Ladha J K, Tripathi A K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 2001, 91, 127-141.
- [18] Wakelin S A, Warren R A, Harvey P R, Ryder, M H. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40, 36-43.
- [19] Rashid S, Charles T C, Glick B R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61:217-224.
- [20] Son H J, Park G T, Cha M S, Heo M S. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresource Technology*, 2006, 2(97): 204-210.
- [21] Chung H Y, Park M, Madhaiyan M, Seshadri S, Song J, Cho H, Sa T. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 10(37): 1970-1974.
- [22] Yao Q Z, Yan W, Gao X L, Hou T. Study on culture characteristics of an effective phosphobacteria Isolated from Chinese pine mycorrhizal rhizosphere. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 17(18):8337-8340.
- [23] Rashid M, Khalil S, Ayub N. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2004, 7(2):187-196.
- [24] Ponmurgan P, Gopi C. In vitro production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 2006, 5(4):348-350.
- [25] Guo H, Mao Z Q, Liu X L. Research progress of interaction between plant and microorganism. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(9): 28-33.
- [26] Xiong M B, He J P, Song G Y. Effect of root exudations on ecological distribution of rhizospheric microorganisms. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(2):145-148.
- [27] Fenchel, T. Biogeography for bacteria. *Science*, 2003, 301: 925-926.
- [28] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W F, Kloepper J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 1997, 43, 895-914.

参考文献:

- [2] 林启美,赵小蓉,孙炎鑫,姚军.四种不同生态系统的土壤解磷细菌数量及种群分布. *土壤与环境*,2000,9(1):34-37.
- [10] 张丽珍,牛伟,牛宇,牛西午.柠条对盐碱地植被组成及土壤特性的影响. *生态学报*,2009,29(9):4693-4699.
- [11] 张晶,张惠文,张成刚.实时荧光定量PCR 及其在微生物生态学中的应用. *生态学报*,2005, 25(6): 1445-1449.
- [12] 石璟,刘兆辉,江丽华,邱慧珍,王舵,郑福丽,林海涛.一株解磷真菌的解磷能力及其生长曲线研究. *安徽农业科学*,2008, 36(22): 9363-9364.
- [14] 赵小蓉,林启美,李保国.溶磷菌对4种难溶性磷酸盐溶解能力的初步研究. *微生物学报*,2002,42(2):236-241.
- [15] 康贻军,胡健,单君,何芳,朴哲,殷士学.两株解磷真菌的解磷能力及其解磷机理的初步研究. *微生物学通报*,2006,33(5):22-27.
- [16] 张丽珍,樊晶晶,牛伟,李涛,吴荣海,金益杰,鹿茸.盐碱地柠条根围土中黑曲霉的分离鉴定及解磷能力测定. *生态学报*, 2011, 31(24): 7571-7578.
- [22] 姚庆智,闫伟,高学良,侯婷.油松菌根根际一株高效磷细菌培养条件的研究. *安徽农业科学*,2009,17(18):8337-8340.
- [25] 国辉,毛志泉,刘训理.植物与微生物互作的研究进展. *中国农学通报*,2011,27(9):28-33.
- [26] 熊明彪,何建平,宋光煜.根分泌物对根际微生物生态分布的影响. *土壤通报*,2002,33(2):145-148.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 13 Jul. ,2013 (Semimonthly)
CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- A review of ecological effects of remnant trees in degraded forest ecosystems after severe disturbances MIAO Ning, LIU Shirong, SHI Zuomin, et al (3889)

- Mechanism and application of bioremediation to heavy metal polluted soil using arbuscular mycorrhizal fungi LUO Qiaoyu, WANG Xiaojuan, LIN Shuangshuang, et al (3898)

Autecology & Fundamentals

- Changes of allometric relationships among leaf traits in different ontogenetic stages of *Acer mono* from different types of forests in Donglingshan of Beijing YAO Jing, LI Ying, WEI Liping, et al (3907)

- The combined effects of increasing CO₂ concentrations and different temperatures on the growth and chlorophyll fluorescence in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) LIU Lu, DING Liuli, CHEN Weizhou, et al (3916)

- Research on biomass expansion factor of chinese fir forest in Zhejiang Province based on LULUCF greenhouse gas Inventory ZHU Tangjun, SHEN Chuchu, JI Biyong, et al (3925)

- Influence of soil gradual drought stress on *Acorus calamus* growth and photosynthetic fluorescence characteristics WANG Wenlin, WAN Yingjing, LIU Bo, et al (3933)

- Isolation, identification, real-time PCR investigation of an endophytic phosphate-solubilizing bacteria from *Caragana korshinskii* Kom. roots ZHANG Lizhen, FENG Lili, MENG Qiuxia, et al (3941)

- Plant's and soil organism's diversity across a range of *Eucalyptus grandis* plantation ages ZHANG Danju, ZHANG Jian, YANG Wanqin, et al (3947)

- Effects of diet and starvation on growth and survival of *Scapharca broughtonii* larvae WANG Qingzhi, ZHANG Ming, FU Chengdong, et al (3963)

- Multidrug-resistant bacteria in livestock feces QI Shiyue, REN Siwei, LI Xueling, et al (3970)

- Physiological regulation related to the decline of *Alexandrium catenella* MA Jinhua, MENG Xi, ZHANG Shu, et al (3978)

- Numerical simulation of water quality based on environmental fluid dynamics code for grass-algae lake in Inner Mongolia LI Xing, SHI Hongsen, ZHANG Shuli, et al (3987)

Population, Community and Ecosystem

- Influence of enclosure on *Glyeyrrhiza uralensis* community and distribution pattern in arid and semi-arid areas LI Xuebin, CHEN Lin, LI Guoqi, et al (3995)

- The interannual variation of net primary productivity of three coniferous forests in Liupan Mountains of Ningxia and its responses to climatic factors WANG Yunmi, XIONG Wei, WANG Yanhui, et al (4002)

- Soil water use and balance characteristics in mature forest land profile of *Caragana korshinskii* in Semiarid Loess Area MO Baoru, CAI Guojun, YANG Lei, LIU Juan, et al (4011)

- Effect of simulated acid deposition on chemistry of surface runoff in monsoon evergreen broad-leaved forest in Dinghushan QIU Qingyan, CHEN Xiaomei, LIANG Guohua, et al (4021)

- A space optimization model of water resource conservation forest in Dongting Lake based on improved PSO LI Jianjun, ZHANG Huiru, LIU Shuai, et al (4031)

- Allelopathic effects of aqueous extract of exotic plant *Rhus typhina* L. on soil micro-ecosystem HOU Yuping, LIU Lin, WANG Xin, et al (4041)

- The impact of natural succession process on waterbird community in a abandoned fishpond at Chongming Dongtan, China YANG Xiaoting, NIU Junying, LUO Zukui, et al (4050)

- Mercury contents in fish and its biomagnification in the food web in Three Gorges Reservoir after 175m impoundment YU Yang, WANG Yuchun, ZHOU Huaidong, et al (4059)

- Microsatellite analysis on genetic diversity of common carp, *Cyprinus carpio*, populations in Yuan River YUE Xingjian, ZOU Yuanchao, WANG Yongming, et al (4068)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Research on spatio-temporal change of temperature in the Northwest Arid Area HUANG Rui, XU Ligang, LIU Junmin (4078)
- Simulation of soil respiration in forests at the catchment scale in the eastern part of northeast China GUO Lijuan, GUO Qingxi (4090)

- The early effects of nitrogen addition on CH₄ uptake in an alpine meadow soil on the Eastern Qinghai-Tibetan Plateau ZHANG Peilei, FANG Huajun, CHENG Shulan, et al (4101)

- Analysis of water ecological footprint in guangxi based on ecosystem services ZHANG Yi, ZHANG Heping (4111)
- The integrated recognition of the source area of the urban ecological security pattern in Shenzhen WU Jiansheng, ZHANG Liqing, PENG Jian et al (4125)

- Carbon sources and storage sinks in scenic tourist areas: a Mount Lushan case study ZHOU Nianxing, HUANG Zhenfang, LIANG Yanyan (4134)

- Impacts of climate change on dominant pasture growing season in Central Inner Mongolia LI Xiaizi, HAN Guodong, GUO Chunyan (4146)

- Phenological Characteristics of Typical Herbaceous Plants(*Lris lacteal*) and Its Response to Climate Change in Minqin Desert HAN Fugui, XU Xianying, WANG Lide, et al (4156)

- Biomass and distribution pattern of carbon storage in *Eomecon chionantha* Hance TIAN Dalun, YAN Wende, LIANG Xiaocui, et al (4165)

- Temporal dynamics and influencing factors of fine roots in five Chinese temperate forest ecosystems LI Xiangfei, WANG Chuankuan, QUAN Xiankui (4172)

Resource and Industrial Ecology

- Effects of AMF on soil improvement and maize growth in mining area under drought stress LI Shaopeng, BI Yinli, CHEN Peizhen, et al (4181)

Urban, Rural and Social Ecology

- Health function evaluation and exploring its mechanisms in the Shanghai Green Belt, China ZHANG Kaixuan, ZHANG Jianhua (4189)

- Time lag effects of rainfall inside a *Platycladus Orientalis* plantation forest in the Beijing Mountain Area, China SHI Yu, YU Xinxiao, ZHANG Jiayin (4199)

- Long-term effects of harvest residue management on soil total carbon and nitrogen concentrations of a replanted Chinese fir plantation HU Zhenhong, HE Zongming, FAN Shaohui, et al (4205)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于1981年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科研工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科研人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的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;新书评价和学术、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,300页,国内定价90元/册,全年定价2160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

本期责任编辑 彭少麟

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33卷 第13期 (2013年7月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 13 (July, 2013)

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	王如松	Editor-in-chief WANG Rusong
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	京海工商广字第8013号	
许 可 证		

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 90.00 元