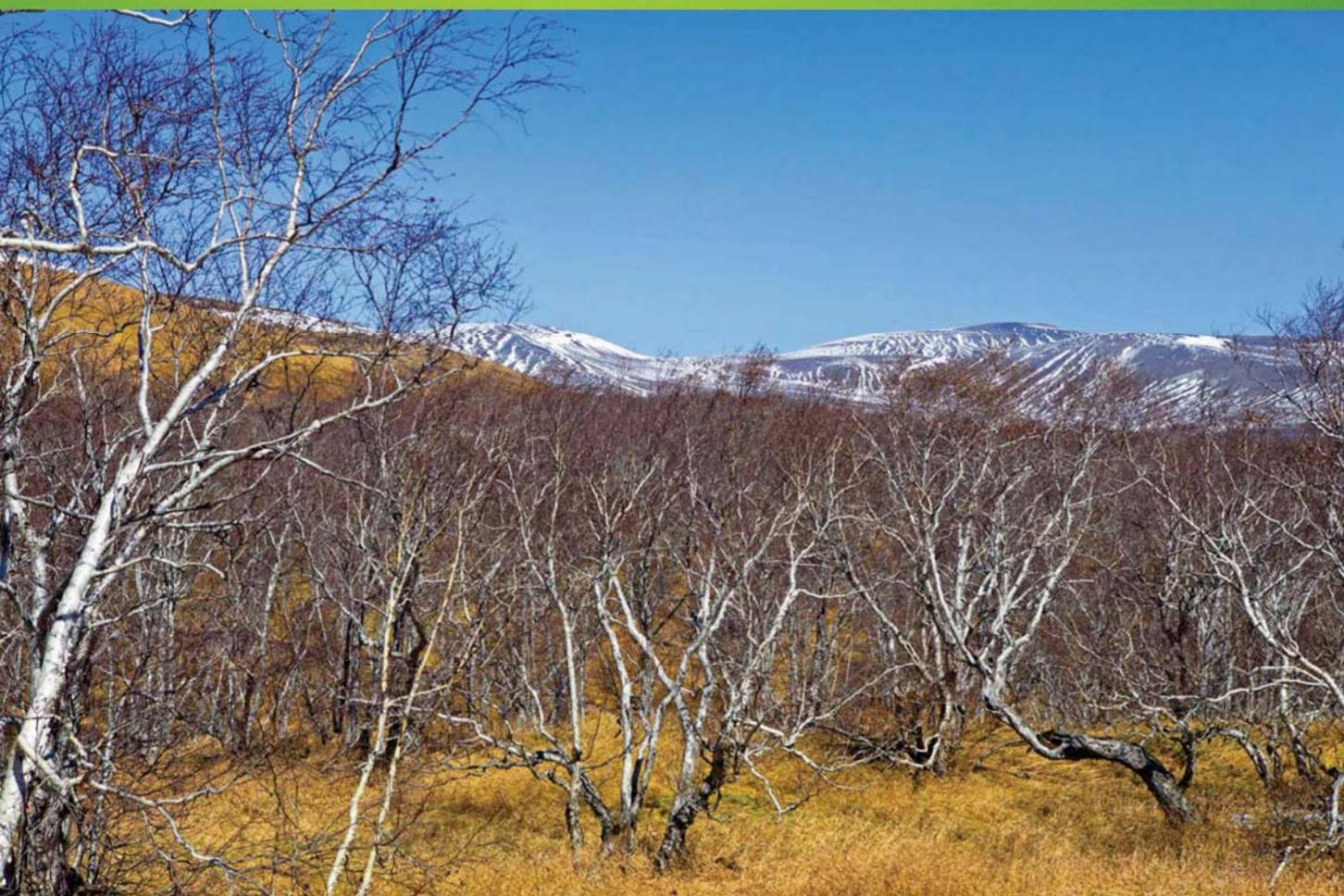


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第12期 Vol.33 No.12 **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

(SHENGTAI XUEBAO)

第33卷第12期 2013年6月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

森林低温霜冻灾害干扰研究综述..... 李秀芬,朱教君,王庆礼,等 (3563)

碱蓬属植物耐盐机理研究进展..... 张爱琴,庞秋颖,阎秀峰 (3575)

个体与基础生态

中国东部暖温带刺槐花期空间格局的模拟与预测..... 徐琳,陈效速,杜星 (3584)

长白山林线树种岳桦幼树叶功能型性状随海拔梯度的变化..... 胡启鹏,郭志华,孙玲玲,等 (3594)

油松天然次生林居群遗传多样性及与产地地理气候因子的关联分析..... 李明,王树香,高宝嘉 (3602)

施氮对木荷3个种源幼苗根系发育和氮磷效率的影响..... 张蕊,王艺,金国庆,等 (3611)

围封对内蒙古大针茅草地土壤碳矿化及其激发效应的影响..... 王若梦,董宽虎,何念鹏,等 (3622)

干热河谷主要造林树种气体交换特性的坡位效应..... 段爱国,张建国,何彩云,等 (3630)

生物降解对黑碳及土壤上苯酚脱附行为的影响..... 黄杰勋,莫建民,李非里,等 (3639)

3个树种对不同程度土壤干旱的生理生化响应..... 吴芹,张光灿,裴斌,等 (3648)

冬小麦节水栽培群体“穗叶比”及其与产量和水分利用的关系..... 张永平,张英华,黄琴,等 (3657)

不同秧苗素质和移栽密度条件下臭氧胁迫对水稻光合作用、物质生产和产量的影响.....

..... 彭斌,李潘林,周楠,等 (3668)

根域限制下水氮供应对膜下滴灌棉花叶片光合生理特性的影响..... 陶先萍,罗宏海,张亚黎,等 (3676)

光照和生长阶段对菖蒲根系泌氧的影响..... 王文林,王国祥,万寅婧,等 (3688)

植物病原菌拮抗性野生艾蒿内生菌的分离、筛选和鉴定..... 徐亚军,赵龙飞,陈普,等 (3697)

不同生物型棉蚜对夏寄主葫芦科作物的选择..... 肖云丽,印象初,刘同先 (3706)

性别和温度对中华秋沙鸭越冬行为的影响..... 曾宾宾,邵明勤,赖宏清,等 (3712)

种群、群落和生态系统

基于干扰的汪清林区森林生态系统健康评价..... 袁菲,张星耀,梁军 (3722)

洞庭湖森林生态系统空间结构均质性评价..... 李建军,刘帅,张会儒,等 (3732)

景观、区域和全球生态

川西米亚罗林区不同海拔岷江冷杉生长对气候变化的响应..... 徐宁,王晓春,张远东,等 (3742)

2001—2010年内蒙古植被净初级生产力的时空格局及其与气候的关系.....

..... 穆少杰,李建龙,周伟,等 (3752)

地形因子对盐城滨海湿地景观分布与演变的影响..... 侯明行,刘红玉,张华兵,等 (3765)

毛乌素沙地南缘植被景观格局演变与空间分布特征..... 周淑琴,荆耀栋,张青峰,等 (3774)

贵州白鹇湖沉积物中孢粉记录的5.5 kaB. P. 以来的气候变化..... 杜荣荣,陈敬安,曾艳,等 (3783)

典型河谷型城市春季温湿场特征及其生态环境效应…………… 李国栋,张俊华,王乃昂,等 (3792)

秦岭南北近地面水汽时空变化特征…………… 蒋 冲,王 飞,喻小勇,等 (3805)

露天矿区景观生态风险空间分异…………… 吴健生,乔 娜,彭 建,等 (3816)

基于 Holdridge 和 CCA 分析的中国生态地理分区的比较 …………… 孔 艳,江 洪,张秀英,等 (3825)

资源与产业生态

中国农业生态效率评价方法与实证——基于非期望产出的 SBM 模型分析 …………… 潘 丹,应瑞瑶 (3837)

舟山市东极大黄鱼养殖系统能值评估…………… 宋 科,赵 晟,蔡慧文,等 (3846)

不同基因型玉米间混作优势带型配置…………… 赵亚丽,康 杰,刘天学,等 (3855)

气候与土壤对烤后烟叶类胡萝卜素和表面提取物含量的影响…………… 陈 伟,熊 晶,陈 懿,等 (3865)

城乡与社会生态

成都市沙河主要绿化树种固碳释氧和降温增湿效益 …………… 张艳丽,费世民,李智勇,等 (3878)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 33 * 2013-06



封面图说: 长白山南坡的岳桦林——长白山岳桦林位于海拔约 1700—2000m 之间的山坡。这种阔叶林分布在针叶林带的上面,成为山地森林的上缘种类,在世界山地森林中实属罕见。岳桦能够顽强地抗御长白山潮湿、寒冷、强风等恶劣气候因素,在严酷的环境条件下形成纯林,是与其独特的生长发育机理密切相关的。岳桦的枝干颇具韧性,在迎风处,由于风吹雪压,树干成片地向背风侧倾斜,这种特性使它能不畏风雪,顽强生存。随着海拔的升高,岳桦林也逐渐矮化,这是岳桦林保护自身生存,适应大自然的结果。

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/stxb201212061754

徐亚军, 赵龙飞, 陈普, 蒋晓瑞, 韦革宏. 植物病原菌拮抗性野生艾蒿内生菌的分离、筛选和鉴定. 生态学报, 2013, 33(12): 3697-3705.

Xu Y J, Zhao L F, Chen P, Jiang X R, Wei G H. Isolation, screening and characterization of phytopathogen antagonistic endophytes from wild *Artemisia argyi*. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(12): 3697-3705.

植物病原菌拮抗性野生艾蒿内生菌的 分离、筛选和鉴定

徐亚军¹, 赵龙飞^{1,*}, 陈 普¹, 蒋晓瑞¹, 韦革宏²

(1. 商丘师范学院生命科学学院, 河南省高校植物与微生物互作重点实验室, 河南省高校生物质降解与

气化工程技术研究中心, 商丘 476000; 2. 西北农林科技大学生命科学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 杨凌 712100)

摘要:从野生艾蒿的根茎叶部位分离出内生细菌共 68 株, 以棉花枯萎病、稻瘟病、烟草赤星为供试病原菌, 采用对峙法对内生菌分别进行抑菌试验, 对筛选出的菌株进行了 16S rDNA 序列测定和系统发育分析。结果表明: 从野生艾蒿分离到的内生菌经初筛、复筛, 获得抑制病原菌效果最明显的 3 株菌, 结合生理生化特性、菌落特征、细胞形态特征和 16S rDNA 测序分析结果, 菌株 L8、S11 和 R6 分别鉴定为 *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Paenibacillus polymyxa*。拮抗实验表明, 棉花枯萎病原菌菌丝发生弯曲、打结, 烟草赤星的受作用菌丝生长端分枝明显增多, 生长端边缘呈珊瑚状分枝, 并且出现明显的畸形和萎缩现象。分析表明, 可能是由于在培养过程中内生菌产生了化感物质, 对病原菌的菌丝产生抑制作用的结果。

关键词:野生艾蒿; 内生细菌; 植物病原菌; 抑菌作用; 芽孢杆菌属

Isolation, screening and characterization of phytopathogen antagonistic endophytes from wild *Artemisia argyi*

XU Yajun¹, ZHAO Longfei^{1,*}, CHEN Pu¹, JIANG Xiaorui¹, WEI Gehong²

1 College of Life Sciences, Shangqiu Normal University, Key Laboratory of Plant-Microbe Interactions of Henan, Engineering Technology Research Center of Biomass Degradation and Gasification of Henan University, Henan Shangqiu 476000, China

2 College of Life Sciences, State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China

Abstract: A total of 68 endophytes isolated from roots, stems and leaves of wild *Artemisia argyi* were used to study antagonistic effect against phytopathogens including *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe grisea* and *Alternaria alternata*, and characterized by 16S rDNA sequencing and phylogenies. The results indicated that three of the endophytes have the most obvious inhibitory effect by the first and the second screening. Combined with the physiological and biochemical characteristics, colony characteristics, cell morphological characteristics and 16S rDNA sequencing results, the three strains L8, S11 and R6 were identified as *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Paenibacillus polymyxa*, respectively. Antagonistic experiment showed that hyphae of *Fusarium oxysporum* became bending and knot while hyphae of *Alternaria alternata* grew more branches. The growth end appeared coralline branch with deformity and atrophy, suggesting that allelochemicals produced by endophytes in the development process, might be inhibit the development of pathogens hyphae.

Key Words: *Artemisia argyi*; endophytic bacteria; phytopathogen; antifungal activity; *Bacillus*

基金项目: 国家自然科学基金 (U1204301); 河南省教育厅科学技术研究重点项目 (12A210019); 河南省高等学校青年骨干教师资助项目 (2012GGJS166)

收稿日期: 2012-12-06; 修订日期: 2013-03-04

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hnzhaozlongfei@aliyun.com

野生艾蒿(*Artemisia argyi* Levl. et Vant) 是一种菊科(*Asteraceae*) 多年生半灌木状草本药用植物, 在我国的东北、华北、华东、华南、西南以及陕西及甘肃等地区都有广泛的分布。在干旱、半干旱的高温条件下, 由于艾蒿类植物有很强的适应性, 尤其具有耐风蚀、耐高温、抗严寒, 加之具有较高的生物量、根系粗壮、木质化、水平根系发达等特点, 是一种优良的水土保持植物, 对生态环境的保护和恢复起到非常重要的作用。

艾蒿中主要化学成分为挥发油类、黄酮类、桉叶烷类和三萜类等化合物, 对其活性研究表明, 艾蒿中的黄酮类化合物具有抗氧化、清除自由基、抗癌和抑菌等多种生物活性^[1]。对野生艾蒿资源开发已有许多研究, 孙天竹^[2]对野生艾蒿的色素提取方法、稳定性测试及提高色素稳定性进行了研究; 顾小卫^[3]研究了野生艾蒿中如何提取挥发油, 张玲春^[4]等测定了艾蒿粗提物对甜菜夜蛾的胃毒作用, 以及与其它药剂及几种增效剂的联合作用; 艾蒿茎、叶的水浸提液对冰草和披碱草幼苗芽长和根长具有显著的化感作用^[5]。利用水浸提法制得的艾蒿提取液对大肠杆菌^[6]、金黄色葡萄球菌^[7]进行试验, 结果表明对两种病原细菌都有很好的抑制活性。

植物内生菌(Endophyte) 是指在其生活史的一定阶段或全部阶段生活于植物的各种组织和器官的细胞间隙或细胞内的微生物, 是一种重要的微生物资源, 也是新型天然活性物质的重要来源之一。目前, 已报道在各种农作物及经济作物中发现的植物内生细菌有革兰氏阳性菌和革兰氏阴性杆菌, 分属于 54 个属的 129 种, 除根瘤菌外, 大多为土壤微生物种类, 其中假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、肠杆菌属(*Enterobacter*) 以及土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、泛菌属(*Pantoea*)、固氮菌属(*Diazotrophicus*) 等最为常见, 这些内生菌几乎存在植物的所有组织中。植物内生菌侵入寄主植物后, 不易受环境条件的影响, 具有稳定的生存空间, 可在其中定殖和运转。其中, 一些植物内生菌是很好的生防资源, 它们的防病机理主要表现在通过产生抗生素类、水解酶类、植物生长调节剂和生物碱类物质, 与病原菌竞争营养物质或空间, 增强宿主植物的抵抗力以及诱导植物产生系统抗性途径抑制病原菌生长^[8]。

在特定的环境和生理条件下, 内生菌不仅能胁迫促进寄主植物体内次生代谢产物的形成和累积, 而且自身也可产生与宿主相同或不同的生理活性物质^[9]。然而, 目前国内外对药用植物艾蒿的研究多集中在生物学特性上^[10], 但对该植物内生细菌资源的研究相对较少。由于内生菌和宿主经长期的协同进化形成了互惠互利的关系, 二者在代谢和理化方面存在密切的合作。其内生菌的抑菌能力是否因为受到植物特殊营养成分刺激而加强, 目前相关报道还很有限, 因此系统地研究艾蒿内生菌资源, 探索其对当地植物病原真菌的拮抗作用, 筛选有抑菌活性的内生菌, 为进一步研发生物接菌剂、生物防治剂和维持生态平衡提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

野生艾蒿于 2012 年 5 月份采自河南省商丘市梁园区西部郊区荒地。植株处于营养生长期, 植株周围有杂草生长。采样地地理坐标为: N34°25—36'、E115°37—40', 海拔 52m, 地势平坦, 排水状况良好, 土壤干燥, 系沙壤土, pH7.8。

植物病原菌: 棉花枯萎病菌 FO101(*Fusarium oxysporum*)、稻瘟病菌 MG102(*Magnaporthe grisea*)、烟草赤星病菌 AA103(*Alternaria alternata*) 由西北农林科技大学生命科学院微生物学教研室惠赠, 以菌核的形式保存在-70℃冰箱中, 传代培养采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA), 28℃培养 2d。

1.2 方法

1.2.1 野生艾蒿内生菌的分离、纯化

组织表面消毒参考文献^[11-12], 内生菌分离和纯化采用平板涂布法, 平板上长出的单菌落经染色、镜检, 保藏于试管斜面中备用。

1.2.2 抑菌活性测定

对内生菌抑菌活性的初筛、复筛采用对峙法^[13]。抑菌率按照公式计算, 抑菌率 = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径] × 100%。初筛出优良菌株进行复筛, 过程如初筛, 每个处理 3 个重复。

1.2.3 微生物生理生化特性、菌落特征和细胞形态特征的测定

按照东秀珠^[14]方法对所分离的菌株进行生理生化特性、形态特征、革兰氏染色、芽孢染色和菌体大小等指标的测试。

1.2.4 16S rDNA 序列测定及系统发育分析

采用细菌基因组 DNA 试剂盒 OSR-M502 (天根生化科技有限公司生产)提取细菌基因组 DNA,并以之为模板,进行 16S rDNA 的扩增。所用引物、扩增体系、反应条件见参考文献^[13],扩增产物送上海生物工程技术服务公司测序,根据测序结果,将扩增得到的序列在 GenBank 中进行 BLAST 分析,用 DNAMAN6.0 进行序列相似性分析,通过 Clustal-X1.81 和 TREECONW 软件(version 1.3b),以 Neighbor-joining 方法构建系统发育树,用 Bootstrap(1000 次重复)进行检验。

1.2.5 病原菌菌丝的显微观察

把菌落直接放置于倒置显微镜的载物台,观察处理菌株和对照菌株菌丝体的形态变化,记录并拍照。

2 结果与分析

2.1 初筛实验结果分析

从根、茎、叶中分离到的内生菌,分别对棉花枯萎病菌、稻瘟病菌、烟草赤星病菌进行抑菌试验,初筛结果(表 1)表明:对 3 种植物病原菌具有抑制作用的内生菌的数量分布上差别不大,而野生艾蒿内生菌中对不同病原真菌有抑制作用的数量存在差异。由此可见,对不同植物病菌来说,同一种植物内有抑菌作用的内生菌的抑菌广谱性方面存在差异。

表 1 根茎叶部位对植物病原菌有抑菌作用内生菌的数量及所占比例

Table 1 The number and percent of inhibiting endophytes from different parts of plant to pathogenic bacteria

分离部位 Strains source	棉花枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	稻瘟病菌 <i>Magnaporthe grisea</i>	烟草赤星病菌 <i>Alternaria alternata</i>	总数(占比例%) Total number (proportion %)
根部 Root	14(32.56)	18(36.00)	6(25.00)	38(32.48)
茎部 Stem	15(34.88)	15(30.00)	9(37.50)	39(33.33)
叶片 Leaf	14(32.56)	17(34.00)	9(37.50)	40(34.19)
总数(个)Total	43(36.75)	50(42.74)	24(20.51)	117(100)

表中的数值为具有抑菌活性的内生菌数量,括号内的数值为具有抑菌作用的内生菌占总菌数的百分数

2.2 复筛实验结果分析

分别筛选出抑菌现象明显(抑菌率达 20% 以上)(图 1、图 2)的菌株进行复筛。每个平板做 3 个重复,培养 72h 后分别测定菌落直径大小,取 3 个重复的平均值,代入抑菌率计算公式,计算抑菌率的大小(表 2、表 3 和表 4)。

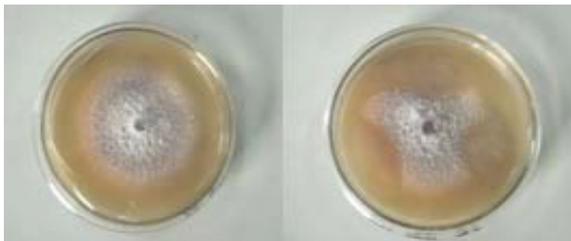


图 1 分离菌株 R6 对棉花枯萎病菌 FO101 的抑制作用(左图为对照)

Fig. 1 *Fusarium oxysporum* FO101 inhibited by endophyte R6 (Left: control)



图 2 分离菌株 S11 对烟草赤星病菌 AA103 的抑制作用(左图为对照)

Fig. 2 *Alternaria alternata* AA103 inhibited by endophyte S11 (Left: control)

表 2 内生菌对棉花枯萎病菌的抑菌效果

Table 2 Inhibition effect of endophytes to *Fusarium oxysporum*

菌株 Strains	处理菌落直径 Diameter of treatment colony/cm	对照菌落直径 Diameter of control colony /cm	抑菌率 Inhibition rate/%
R6	4.63±0.017	6.87±0.087	32.61±0.066a
S11	4.93±0.036	6.87±0.087	28.24±0.065b
L1	5.03±0.036	6.87±0.087	26.78±0.052c
S7	5.03±0.027	6.87±0.087	26.78±0.108c
S10	5.43±0.020	6.87±0.087	20.96±0.046d
L2	5.70±0.076	6.87±0.087	17.03±0.053e
S8	5.70±0.079	6.87±0.087	17.03±0.070e

菌株编号前面的字母 S: 茎部 Stem, R: 根部 Root, L: 叶片 Leaf; 菌落直径为 72h 时测得的 3 个重复的平均值±标准差, 数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)

来自于茎部的内生菌有 4 株, 对棉花枯萎病有明显的抑制作用, 抑菌率均达到 17% 以上, 最大抑菌率为 28.24%; 叶片分离的内生菌有 2 株, 对棉花枯萎有明显的抑制作用, 最大达 26.78%; 根部分离的内生菌有 1 株, 对棉花枯萎的抑制作用最为明显, 抑菌率达到 32.61%。对比分离自根部、茎部和叶片的内生菌对棉花枯萎病菌的抑菌率发现, 在 $P<0.05$ 水平上存在明显的差异。由此可见, 不同部位内生菌对棉花枯萎病的抑菌效果表现为: 根部>茎部>叶片。

表 3 内生菌对稻瘟病菌的抑菌效果

Table 3 Inhibition effect of endophytes to *Magnaporthe grisea*

菌株 Strains	处理菌落直径 Diameter of treatment colony /cm	对照菌落直径 Diameter of control colony /cm	抑菌率 Inhibition rate /%	菌株 Strains	处理菌落直径 Diameter of treatment colony /cm	对照菌落直径 Diameter of control colony /cm	抑菌率 Inhibition rate /%
L8	4.05±0.027	6.67±0.027	39.28±0.017a	R8	4.23±0.044	6.82±0.056	37.98±0.099b
S1	4.30±0.062	6.75±0.036	36.30±0.020c	S7	4.16±0.046	6.45±0.030	35.50±0.092de
L2	4.11±0.046	6.39±0.092	35.68±0.115d	L4	4.22±0.043	6.52±0.056	35.28±0.026e
L5	4.32±0.036	6.49±0.080	33.44±0.070f	S10	4.34±0.027	6.47±0.036	32.92±0.053g
S11	4.50±0.053	6.50±0.066	30.77±0.056h	R7	4.15±0.017	5.87±0.035	29.30±0.217i
L3	4.70±0.062	6.48±0.066	27.47±0.066j	L9	4.28±0.102	5.76±0.062	25.69±0.128k
L6	4.70±0.062	6.26±0.070	24.92±0.070l	S2	4.90±0.036	6.38±0.062	23.20±0.132m
R4	4.40±0.036	5.70±0.099	22.81±0.062n	S4	5.19±0.027	6.76±0.044	23.22±0.125m
R5	4.50±0.017	5.71±0.027	21.19±0.096p	S9	5.25±0.063	6.7±0.099	21.64±0.085o
S6	5.27±0.087	6.72±0.066	21.58±0.115o	S3	5.02±0.027	6.34±0.030	20.82±0.061q

来自于茎部的内生菌有 9 株, 对稻瘟病有明显的抑制作用, 抑菌率均达到 20% 以上, 最大抑菌率为 36.30%; 叶片分离的内生菌有 7 株对稻瘟病有明显的抑制作用, 抑菌率达到 24% 以上, 最大抑菌率为 39.28%; 根部分离的内生菌有 4 株, 对稻瘟病有明显的抑制作用, 抑菌率达到 21% 以上, 最大抑菌率为 37.98%。对比分离自根部、茎部和叶片的内生菌对稻瘟病的抑菌率发现, 在 $P<0.05$ 水平上存在明显的差异。由此可见, 不同部位内生菌对稻瘟病的抑菌效果表现为: 叶片>根部>茎部。

来自于茎部的内生菌有 4 株, 对烟草赤星有明显的抑制作用, 抑菌率均达到 25% 以上, 最大抑菌率为 32.10%; 叶片分离的内生菌有 2 株, 对烟草赤星有明显的抑制作用, 抑菌率达到 27% 以上, 最大抑菌率为 31.20%; 根部分离的内生菌有 1 株, 对烟草赤星有明显的抑制作用, 最大抑菌率为 25.04%。对比根部、茎部和叶片的内生菌对稻瘟病的抑菌率发现, 在 $P<0.05$ 水平上存在明显的差异。由此可见, 不同部位内生菌对烟草赤星的抑菌效果表现为: 茎部>叶片>根部。

表 4 内生菌对烟草赤星的抑菌作用结果

Table 4 Inhibition effect of endophytes to *Alternaria alternata*

菌株 Strains	处理菌落直径 Diameter of treatment colony /(cm)	空白菌落直径 Diameter of control colony /cm	抑菌率 Inhibitory rates /%	菌株 Strains	处理菌落直径 Diameter of treatment colony /(cm)	空白菌落直径 Diameter of control colony /cm	抑菌率 Inhibitory rates /%
S11	5.27±0.056	7.43±0.050	32.10±0.027a	L7	5.33±0.076	7.43±0.061	31.20±0.085b
S8	5.40±0.017	7.42±0.035	30.06±0.178c	L4	5.57±0.104	7.42±0.061	27.53±0.061d
S5	5.62±0.072	7.43±0.036	26.89±0.087e	S1	5.71±0.061	7.41±0.062	25.34±0.061f
R1	5.73±0.061	7.41±0.053	25.04±0.096g				

对棉花枯萎病抑菌效果最为明显的是来自根部的菌株 R6(其抑制率为 32.61%),对稻瘟病抑菌效果最为明显的为分离自叶片的菌株 L8(其抑制率为 39.28%),对烟草赤星抑菌效果最为明显的是分离自茎部的菌株 S11(其抑制率为 32.10%)。可见,分离自野生艾蒿的内生菌对不同植物病原菌的抑菌效果存在差异,稻瘟病>棉花枯萎病>烟草赤星。

2.3 菌株的初步鉴定

复筛中对 3 种病原菌抑制作用较强的菌株 R6、L8 和 S11 进行平板培养,经 2d 培养,平板菌落特征为:菌落均湿润、不透明、易挑起、生长速度快,菌落正反面颜色一致,菌落边缘不整齐或呈缺刻状。其中,菌株 R6 和 L8 菌落外观呈扁平状,乳白色、表面有光泽;菌株 S11 外观平坦,白色、表面无光泽。3 株菌的菌落直径各异(R6:2.5mm、L8:3.0mm、S11:2.0mm)。根据细胞形态特征和生理生化特性试验结果(表 5),结合东秀珠等编的《常见细菌系统和鉴定手册》^[14],菌株 R6、L8 和 S11 均初步鉴定为芽孢杆菌属(*Bacillus*)菌株。

表 5 菌株 R6、L8、S11 的生理生化试验结果和细胞特征

Table 5 Physiological and biochemical test results and cell characteristics of strain R6, L8 and S11

理化特征 Physiological and biochemical characteristics	<i>P. p</i>	<i>B. s</i>	<i>B. c</i>	R6	L8	S11	理化特征 Physiological and biochemical characteristics	<i>P. p</i>	<i>B. s</i>	<i>B. c</i>	R6	L8	S11
接触酶 Catalase test	+	+	+	+	+	+	酪氨酸水解 Tyrosine hydrolysate	+	+	+	+	+	+
V-P 试验 V-P test	+	+	+	+	+	+	4℃	-	-	-	-	-	-
D-葡萄糖产酸 D-glucose acid yield	+	+	+	+	+	+	10℃	+	+	-	+	+	-
L-阿拉伯糖产酸 L-Arab sugar acid yield	+	+	-	+	-	-	30℃	+	+	+	+	+	+
D-甘露醇 D-mannitol	+	+	-	+	+	+	40℃	+	+	-	+	+	+
木糖 Xylose	+	+	-	+	+	-	50℃	-	-	-	-	+	-
肉汤 Broth (pH5.0)	+	+	+	+	+	+	5% NaCl	-	+	+	+	+	+
淀粉 Starch	+	+	+	+	-	+	7% NaCl	-	+	-	+	+	+
苯丙氨酸脱氨酶 Phenylalanine deaminase	+	-	-	+	-	-	10% NaCl	-	-	-	-	-	-
卵黄磷脂酶 Lecithinase	-	-	+	+	-	+	革兰氏染色 Gram stain	+	+	+	+	+	+
硝酸还原酶 Nitrate reductase	+	+	+	-	+	+	有无芽孢 Spore	+	+	+	+	+	+
酪素分解 Casein decomposition	+	+	+	+	+	+	菌体大小 Bacterial size (μm)	0.8×3	0.7×2	1.1×4	1.2×3	0.7×2	1.2×4
柠檬酸盐利用 Citrate utilization	-	+	+	+	+	+	菌体形状 Bacterial shape	杆状	细杆状	杆状	杆状	细杆状	杆状

+表示阳性;-表示阴性; *P. p*: *Paenibacillus polymyxa*, *B. s*: *Bacillus subtilis*, *B. c*: *Bacillus cereus* 这 3 株菌为芽孢杆菌属的对照菌株

2.4 菌株 16S rDNA 序列扩增及系统发育学分析

筛选出 3 株菌的 16S rDNA 序列经 PCR 扩增表明,扩增产物长度大约为 1.5kb。其在 GenBank 中的序列登记号为 KC245140-KC245142。将菌株的序列与模式菌种序列进行比对,结果表明,菌株 L8 与枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)菌株 NRRL NRS-744^T 的序列 EU138520 相似率最大,达 98.7%,该菌株与菌株 *Bacillus subtilis* NRRL NRS-744^T 位于同一系统发育分支上,结合其生理生化特性和培养特征,该菌株属于芽孢杆菌属

的枯草芽孢杆菌。菌株 S11 与模式菌株 *Bacillus cereus* ATCC14579^T (AF290547) 位于同一发育分支上,二者具有最大的相似率,达 99.3%;菌株 R6 与模式菌株 *Paenibacillus polymyxa* IAM13419^T (D16276) 同一发育分支上,且二者间相似率最大,达 99.1% (图 3)。结合菌株 S11 和 R6 的生理生化特征以及培养特征,这两个菌株分别属于蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 和多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*)。

表 6 测序菌株的分类鉴定结果

Table 6 Classification and Identification of the tested strains

菌株 Strain	菌株所属属种 Genus affiliation	16S rDNA 序列登记号 Accession No. of 16S rDNA sequence	最相似菌株 The most colsest match	相似率/% Similarity
L8	<i>Bacillus subtilis</i>	KC245141	<i>Bacillus subtilis</i> NRRL NRS-744	98.7
S11	<i>Bacillus cereus</i>	KC245140	<i>Bacillus cereus</i> ATCC14579	99.3
R6	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	KC245142	<i>Paenibacillus polymyxa</i> IAM13419	99.1

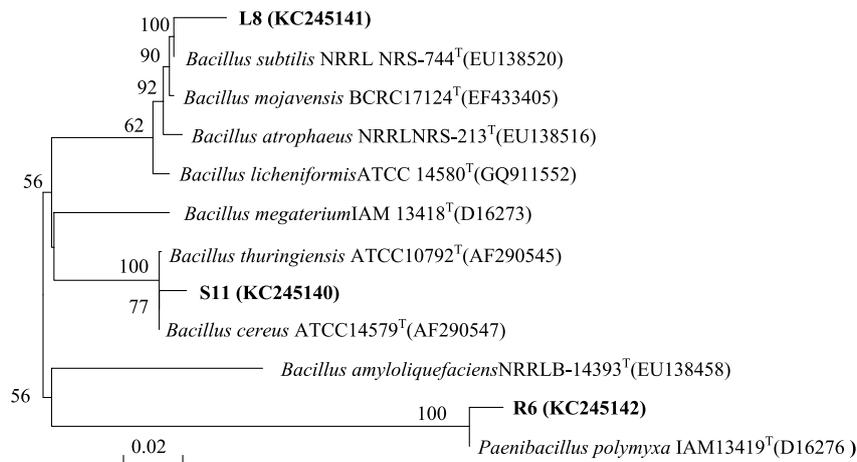


图 3 筛选菌株的 16S rDNA 序列的系统发育树(系统发育树分支上的数值表示大于 50% 的自举值,括号里是 GenBank 登陆号,粗体是待测菌株,标尺指核苷酸替代数)

Fig. 3 Phylogenetic tree generated by the neighbor-joining method based on 16S rDNA sequences of selected strains. Bootstrap values (1000 replicates) are indicated above the branches. Strains obtained are labeled in bold. Bar: 0.02 sequence divergence

2.5 病原菌菌丝的被抑制作用

内生菌与病原菌的拮抗培养中,两菌的菌落从未接触,而病原菌靠近内生菌的菌落边缘部分不但有萎缩现象,而且出现黑色坏死部分,镜检结果显示,正常生长的植物病原菌菌丝粗细均匀一致、粗壮、光滑,生长端菌丝舒展(图 4A, D)。棉花枯萎病菌的受作用菌丝(图 4B, C)可以看出:有的菌丝发生波浪形扭曲、畸变(图 4B-g),有的菌丝打结(图 4C-h)。可能是内生菌 R6 通过分泌某种活性物质对菌丝发挥作用,一方面溶解病原菌的细胞壁;一方面抑制病原菌的正常生长、代谢以致萎缩、畸变。烟草赤星病原菌的受作用菌丝生长端分枝明显增多、分枝间隔变短(图 4F),菌丝扭曲(图 4F-c),生长边缘呈珊瑚状枝(图 4F-d),并且有的菌丝断裂,在断裂处出现了明显的球状膨大现象(图 4E-b;图 4F-e);有的菌丝因细胞壁被消解而变得透明(图 4E-a),还有些菌丝变细、变暗,原生质浓缩(图 4F-f)

3 结论和讨论

3.1 通过显微观察发现,不同菌株对病原菌的抑制情形各异。稻瘟病菌和烟草赤星病菌受到抑制后有明显的抑菌区域,但内生菌和病原菌均未接触,可能是由于内生菌的生长速度快,占据营养空间,对病原菌形成营养上的竞争,使病原真菌因缺乏营养而萎缩、畸变^[15];也可能是在培养的过程中内生菌产生的水解酶类^[15](细胞壁水解酶、几丁质酶、蛋白酶等)降解了病原真菌细胞壁,或产生了其他致病因子如毒素等,对病原真菌

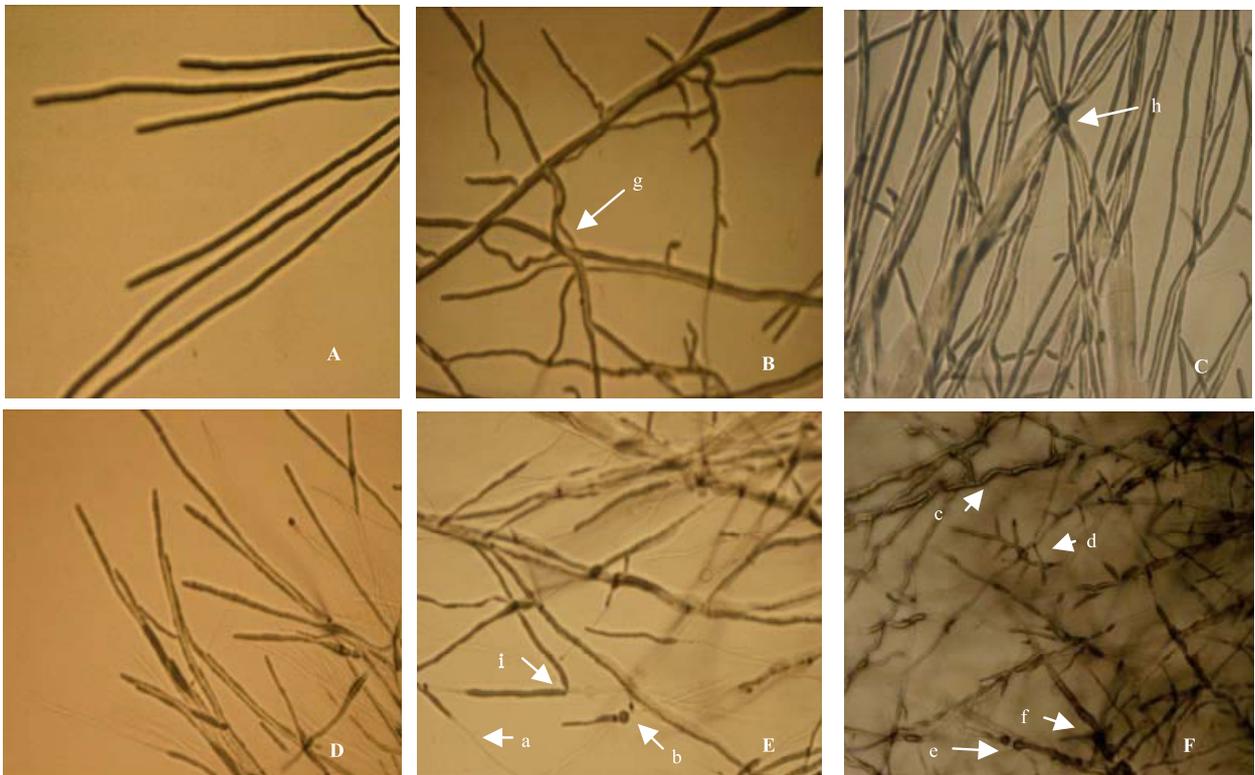


图4 艾蒿内生菌 R6、S11 对植物病原菌发生抑制作用时菌丝的变化(A. 棉花枯萎病菌 FO101 的正常菌丝; B,C. 棉花枯萎病菌 FO101 菌丝的畸形、弯曲打结菌丝; D. 烟草赤星病菌 AA103 的正常菌丝; E,F. 烟草赤星病菌 AA103 菌丝的自溶、断裂萎缩)

Fig. 4 Mycelia change of plant pathogenic fungi under inhibition of *Artemisia argyi* endophytes A. Normal mycelia of *Fusarium oxysporum* FO101; B,C. Deformity, bending knot mycelia of *Fusarium oxysporum* FO101; D. Normal mycelia of *Alternaria alternata* AA103; E,F. Autolysis, fracture and atrophy of *Alternaria alternata* AA103

发挥作用的结果^[16]。棉花枯萎病受到抑制后菌丝发生扭曲和贴壁现象(图4B,C),可能是在培养的过程中内生菌产生了化感物质^[15],如螯合型铁载体、抗生素、杀菌性挥发物、溶菌酶和解毒酶等。如果产生铁载体可夺取生长于同一培养基上病原菌生长必需的铁元素,有效阻碍了病原菌菌丝的正常生长和发育;也许是内生菌产生抗生素类物质^[15]如寡霉素A、卡那霉素水解物、双效菌素A等对病原菌菌丝发生抑制作用、导致菌丝畸形发展,前端变得萎缩、基部多呈珊瑚状分枝(图4F);若是产生溶菌酶如胞外几丁质酶和昆布糖酶对病原菌丝消化、溶解,导致菌丝外壁因部分溶解而发生打折、透明(图4E-i,a),抑制病菌的正常生长^[17]。易龙等^[18]研究支持了这个解释,烟草内生细菌Ib162对烟草赤星病原菌菌丝生长有明显的抑制作用,主要是拮抗菌使病原菌菌丝形成膨胀泡,破裂、消解,致使菌丝停止生长。蛋白酶和其他生物控制特性也参与对菌核病以及灰霉病菌生长的抑制作用^[19]。类芽孢杆菌也可产生的 β -1,3-葡聚糖酶可酶解枯萎病菌的细胞壁,导致菌丝自溶、断裂^[20];也可能是多种机制的结合。但具体抑制机理仍在进一步研究之中。

3.2 本研究中从艾蒿植株不同部位分离的对病原菌具有较强抑制活性的3株内生菌,结合生理生化特性和培养特征,经16S rRNA基因测序、比对,菌株L8、S11、R6分别属于枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)。芽孢杆菌属菌株是最普遍被报道的植物生长促生根际细菌(PGPR),芽孢杆菌属的一些种能够产生次生代谢产物(如多肽类物质),对植物病原菌(细菌、真菌、线虫等)具有较强的抑菌活性^[17],可用于生物防治。如多粘类芽孢杆菌在厌氧条件下,大多数菌株能固定氮气,对人和动植物没有致病性,是重要的生防微生物,越来越多的拮抗性多粘类芽孢杆菌被分离筛选出来,能够产生抗菌素、抗菌蛋白、多粘菌素羊毛硫抗生素、多肽类gavaserin和saltavalin等多种生物活性物质^[21],以及产生多种水解酶类(如 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶)对病原真菌表现出较好的抑菌活性。已有试验

表明,多粘类芽孢杆菌对小麦全蚀病、由真菌尖孢镰刀菌引起的植物枯萎病都表现出很好的抑制效果,并且,也能对芝麻出苗前后易出现的立枯病、丝核菌引起的大豆碳腐病也有控制效果。显微镜研究表明,对病原菌的控制效应主要表现在对菌丝的腐蚀、溶解,抑制孢子萌发和产生分子量 4517Da 的抗真菌蛋白^[22]。枯草芽孢杆菌也是一种重要的内生细菌,用其来防治真菌病害已有很多报道。如利用枯草芽孢杆菌防治立枯丝核菌、腐霉菌、镰刀菌等引起的病害,对水稻纹枯病、白叶枯病、条斑病、稻瘟病和恶苗病均有显著的防治效果^[23]。由于芽孢杆菌属菌株具有芽孢特性,对外界有害因子抵抗力强,把枯草芽孢杆菌和其他芽孢杆菌属的菌株用于种子包衣来防治植物疾病的发生,用于生物肥料和生物菌剂均具特殊的稳定性。因此,利用野生艾蒿植株的内生芽孢杆菌开发生物防治剂,抑制植物病原菌、维持生态平衡具很大的应用潜力。

3.3 植物内生菌由于长期与植物共生,相互间存在密切的联系。野生艾蒿浸提物对病原菌如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌^[5]的抑制作用得以证实,但对不同植物病原真菌来说,艾蒿内生菌所产生的抑菌作用广谱性和抑菌效果方面存在差异,此外,分离自野生艾蒿不同部位的内生菌对不同植物病原菌的抑制效果间也存在差异。这可能与药用植物艾蒿不同组织部位的内含化学成分^[2](挥发油、黄酮、桉叶烷和三萜类化合物等)的含量有关,植株不同部位的内生菌受其内含成分的影响,内生菌产生的次生代谢产物的量和种类可能存在差异。但具体的机制有待进一步的研究。

致谢:感谢商丘师范学院赖心河博士和张富强博士对写作给予的帮助。

References:

- [1] Sun F, Zhang K C. Study on total content and antioxidation property of flavone in agrestal *Artemisia argy*. *Chinese Wild Plant Resources*, 2009, 28 (3): 58-61.
- [2] Sun T Z, Bai R X, Hai H. The extraction and the stability of natural pigment from Mugwort. *Journal of Dalian Nationalities University*, 2004, 6 (5): 43-45.
- [3] Gu X W, Lv Z Y, Guo P, Xu W. Analysis of the chemical constituents of the volatile oil of *Artemisia Argyi* Levl. et Vant in Jiangsu. *Journal of Beijing Union University (Natural Sciences)*, 2010, 24(2): 35-39.
- [4] Zhang L C, Li G Q, Liu Z W. The influence of extracts from *Artemisia argyi* Levl. et Vent on the oviposition of *Spodoptera exigua* Hübner. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2002, 25(4): 110-112.
- [5] Liu G X, Wang J, Wang Q Q, Ma Y Y. Allelopathic effects of *Artemisia argyi* water extracts on the seed germination and seedling growth of *Agropyron cristatum* and *Elymus dahuricus*. *Journal of Hebei University (Natural Science Edition)*, 2012, 32(1): 81-86.
- [6] Xu Y J, Zhao L F. Study on inhibitory activities of the extract from field *Artemisia argyi* to *Escherichia coli*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2012, 40(4): 306-308.
- [7] Zhao L F. Study on inhibitory activities of the extract from field *Artemisia Argyi* to *Staphylococcus Aureus*. *The Food Industry*, 2011, 32(6): 7-8.
- [8] Shi J Y, Chen W X, Liu A Y. Advances in the study of endophytes and their effects on control of plant diseases. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (7): 2395-2401.
- [9] Liu J H, Wu L F, Zhang H W. Isolation and preliminary identification of endophytes from *Artemisia Annu* Linn. *Amino Acids & Biotic Resources*, 2011, 33(4): 27-3.
- [10] Wang H, Xie Y S, Yang Y L, Chuai J F. Allelopathic effect of extracts from *Artemisia sacrorum* leaf and stem on four dominant plants of enclosed grassland on Yunwu Mountain. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (20): 6013-6021.
- [11] Ma Ying, Mani Rajkumar, Yong M L, Helena Freitas. Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants Effects on plant growth and Ni uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 195: 30-237.
- [12] Miller K I, Chen Q, Man-Yuen S D, Roufogalis B D, Neilan B A. Culturable endophytes of medicinal plants and the genetic basis for their bioactivity. *Microbial Ecology*, 2012, 64(2): 431-449.
- [13] Zhao L F, Xu Y J, Sun R, Deng Z S, Yang W Q, Wei G H. Identification and characterization of the endophytic plant growth promoter *Bacillus cereus* strain MQ23 isolated from *Sophora alopecuroides* root nodules. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2011, 42(2): 567-575.
- [14] Dong X Z, Cai M Y. *Manual of systematic determination of common bacteria*. Beijing: Science Press, 2001.
- [15] Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka E A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (9): 4951-4959.
- [16] Velazhahan R, Samiyappan R. Relationship between antagonistic activities of *Pseudomonas fluorescens* isolates against *Rhizoctonia solani* and their

- production of lytic enzymes. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 1999, 106(3): 244-250.
- [17] Lim H S, Kim Y S and Kim S D. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and antifungal mechanism against *Fusarium solanum* agent of plant root rot. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(2): 510-516.
- [18] Yi L, Xiao C G, Ma G H, Wang W N, Long L K. Inhibition and screening of beneficial endophytic bacteria to control tobacco brown spot. *Acta Microbiologica Sinica*, 2004, 4(1): 19-22.
- [19] Kamensky M, M Ovadis, Chet I, and Chernin L. Soil-borne strain IC14 of *Serratia plymuthica* with multiple mechanisms of antifungal activity provides biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* diseases. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35(2): 323-331.
- [20] Singh P P, Shin Y C, Park C S, and Chung Y R. Biological control of *Fusarium wilt* of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology*, 1999, 89(1): 92-99.
- [21] Lai K P, Chen S H, Hu M Y, Hu Q B, Geng P, Weng Q F, Jia J W. Control of postharvest green mold of citrus fruit by application of endophytic *Paenibacillus polymyxa* strain SG-6. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 69(7): 40-48.
- [22] Dinesh K Maheshwari. *Plant growth and health promoting bacteria*. Berlin: Springer Press, 2010.
- [23] Gao L L, Chen X L, Jiang T, Jiang W N, Huang Q. Isolation and identification of endophytic nitrogen-fixing bacteria in rice with antipathogenic functions. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2012, 31(5): 553-557.

参考文献:

- [1] 孙锋, 张宽朝. 野生艾草黄酮的含量及抗氧化性研究. *中国野生植物资源*, 2009, 28(3): 58-61.
- [2] 孙天竹, 白日霞, 海华. 艾蒿色素的提取方法及其稳定性研究. *大连民族学院学报*, 2004, 6(5): 43-45.
- [3] 顾小卫, 吕宗友, 郭鹏, 徐伟. 江苏野生艾叶挥发油成分的分析. *北京联合大学学报: 自然科学版*, 2010, 24(2): 35-39.
- [4] 张玲春, 李国清, 刘泽文. 艾蒿抽提物对甜菜夜蛾产卵的影响. *南京农业大学学报*, 2002, 25(4): 110-112.
- [5] 刘桂霞, 王静, 王谦谦, 马妍妍. 艾蒿水浸提液对冰草和披碱草种子萌发及幼苗生长的化感作用. *河北大学学报: 自然科学版*, 2012, 32(1): 81-86.
- [6] 徐亚军, 赵龙飞. 野生艾蒿浸提物对大肠杆菌的抑制作用. *江苏农业科学*, 2012, 40(4): 306-308.
- [7] 赵龙飞. 野生艾蒿浸提物对金黄色葡萄球菌的抑制作用. *食品工业*, 2011, 32(6): 7-8.
- [8] 石晶盈, 陈维信, 刘爱媛. 植物内生菌及其防治植物病害的研究进展. *生态学报*, 2006, 26(7): 2395-2401.
- [9] 刘金花, 吴玲芳, 章华伟. 黄花蒿内生菌的分离与初步鉴定. *氨基酸和生物资源*, 2011, 33(4): 27-30.
- [10] 王辉, 谢永生, 杨亚利, 揣峻峰. 云雾山铁杆蒿茎叶浸提液对封育草地四种优势植物的化感效应. *生态学报*, 2011, 31(20): 6013-6021.
- [14] 东秀珠, 蔡妙英. *常见细菌系统和鉴定手册(第一版)*. 北京: 科学出版社, 2001.
- [18] 易龙, 肖崇岗, 马冠华, 王万能, 龙良鲲. 防治烟草赤星病有益内生细菌的筛选及抑菌作用. *微生物学报*, 2004, 4(1): 19-22.
- [23] 高玲玲, 陈小龙, 蒋涛, 姜伟娜, 黄琼. 具有拮抗作用的水稻内生固氮菌的分离与鉴定. *华中农业大学学报*, 2012, 31(5): 553-557.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 12 Jun. ,2013 (Semimonthly)
CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Research on the disturbance of frost damage to forests LI Xiufen, ZHU Jiaojun, WANG Qingli, et al (3563)
Advances in salt-tolerance mechanisms of *Suaeda* plants ZHANG Aiqin, PANG Qiuying, YAN Xiufeng (3575)

Autecology & Fundamentals

- Simulation and prediction of spatial patterns of *Robinia pseudoacacia* flowering dates in eastern China's warm temperate zone
..... XU Lin, CHEN Xiaoqiu, DU Xing (3584)
Response of leaf functional traits of *Betula ermanii* saplings to the altitudinal Variation
..... HU Qipeng, GUO Zhihua, SUN Lingling, et al (3594)
Analysis of genetic diversity of chinese pine (*Pinus tabulaeformis*) natural secondary forest populations and correlation with theirs
habitat ecological factors LI Ming, WANG Shuxiang, GAO Baojia (3602)
Nitrogen addition affects root growth, phosphorus and nitrogen efficiency of three provenances of *Schima superba* in barren soil
..... ZHANG Rui, WANG Yi, JIN Guoqing, et al (3611)
Effect of enclosure on soil C mineralization and priming effect in *Stipa grandis* grassland of Inner Mongolia
..... WANG Ruomeng, DONG Kuanhu, HE Nianpeng, et al (3622)
Effects of slope position on gas exchange characteristics of main tree species for vegetation restoration in dry-hot valley of Jingsha
River DUAN Aiguo, ZHANG Jianguo, HE Caiyun, et al (3630)
Impacts of biodegradation on desorption of phenol adsorbed on black carbon and soil
..... HUANG Jiexun, MO Jianmin, LI Feili, et al (3639)
Physiological and biochemical responses to different soil drought stress in three tree species
..... WU Qin, ZHANG Guangcan, PEI Bin, et al (3648)
The ear-leaf ratio of population is related to yield and water use efficiency in the water-saving cultivation system of winter wheat
..... ZHANG Yongping, ZHANG Yinghua, HUANG Qin, et al (3657)
Effects of ozone stress on photosynthesis, dry matter production and yield of rice under different seedling quality and plant density ...
..... PENG Bin, LI Panlin, ZHOU Nan, et al (3668)
Effects of water and nitrogen under root restriction on photosynthetic characters of cotton plants grown with under-mulch drip
irrigation TAO Xianping, LUO Honghai, ZHANG Yali, et al (3676)
The influence of light and growth stage on oxygen diffusion capacity of *Acorus calamus* roots
..... WANG Wenlin, WANG Guoxiang, WAN Yinjing, et al (3688)
Isolation, screening and characterization of phytopathogen antagonistic endophytes from wild *Artemisia argyi*
..... XU Yajun, ZHAO Longfei, CHEN Pu, et al (3697)
Performance of the two host-biotypes of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on different cucurbitaceous host plants
..... XIAO Yunli, YIN Xiangchu, LIU Tongxian (3706)
The effects of gender and temperature on the wintering behavior of Chinese merganser
..... ZENG Binbin, SHAO Mingqin, LAI Hongqing, et al (3712)

Population, Community and Ecosystem

- Assessment indicators system of forest ecosystem health based on the disturbance in Wangqing forestry
..... YUAN Fei, ZHANG Xingyao, LIANG Jun (3722)
Heterogeneity evaluation of forest ecological system spatial structure in Dongting Lake
..... LI Jianjun, LIU Shuai, ZHANG Huiru, et al (3732)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Climate-growth relationships of *Abies faxoniana* from different elevations at Miyaluo, western Sichuan, China
..... XU Ning, WANG Xiaochun, ZHANG Yuandong, et al (3742)

- Spatial-temporal distribution of net primary productivity and its relationship with climate factors in Inner Mongolia from 2001 to 2010 MU Shaojie, LI Jianlong, ZHOU Wei, et al (3752)
- Influences of topographic features on the distribution and evolution of landscape in the coastal wetland of Yancheng HOU Minghang, LIU Hongyu, ZHANG Huabing, et al (3765)
- Vegetation landscape pattern change and characteristics of spatial distribution in south edge of Mu Us Sandy Land ZHOU Shuqin, JING Yaodong, ZHANG Qingfeng, et al (3774)
- Climate change recorded mainly by pollen from baixian lake during the last 5.5kaB. P. DU Rongrong, CHEN Jing'an, ZENG Yan, et al (3783)
- Characteristics of temperature field, humidity field and their eco-environmental effects in spring in the typical valley-city LI Guodong, ZHANG Junhua, WANG Naiang, et al (3792)
- Spatial and temporal variation of surface water vapor over northern and southern regions of Qinling Mountains JIANG Chong, WANG Fei, YU Xiaoyong, et al (3805)
- Spatial variation of landscape eco-risk in open mine area WU Jiansheng, QIAO Na, PENG Jian, et al (3816)
- The comparison of ecological geographica regionlization in China based on Holdridge and CCA analysis KONG Yan, JIANG Hong, ZHANG Xiuying, et al (3825)
- Resource and Industrial Ecology**
- Agricultural eco-efficiency evaluation in China based on SBM model PAN Dan, YING Ruiyao (3837)
- The emergy analysis of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) aquaculture system around Dongji island in Zhoushan SONG Ke, ZHAO Sheng, CAI Huiwen, et al (3846)
- Optimum stripe arrangement for inter-cropping and mixed-cropping of different maize (*Zea mays* L.) genotypes ZHAO Yali, KANG Jie, LIU Tianxue, et al (3855)
- Effects of climate and soil on the carotenoid and cuticular extract content of cured tobacco leaves CHEN Wei, XIONG Jing, CHEN Yi, et al (3865)
- Urban, Rural and Social Ecology**
- Carbon sequestration and oxygen release as well as cooling and humidification efficiency of the main greening tree species of Sha River, Chengdu ZHANG Yanli, FEI Shimin, LI Zhiyong, et al (3878)

《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

本期责任副主编 吴文良 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33卷 第12期 (2013年6月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 12 (June, 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

主编 王如松
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:100717

印刷 北京北林印刷厂
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@espg.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 WANG Rusong
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@espg.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
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