

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

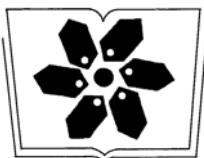
Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 21 期 Vol.33 No.21 **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 21 期 2013 年 11 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 生态系统生产总值核算:概念、核算方法与案例研究..... 欧阳志云,朱春全,杨广斌,等 (6747)
- 气候变化对传染病爆发流行的影响研究进展..... 李国栋,张俊华,焦耿军,等 (6762)
- 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展 负娟莉,王艳芬,张洪勋 (6774)
- 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响..... 张云海,何念鹏,张光明,等 (6786)
- 世界蜘蛛的分布格局及其多元相似性聚类分析..... 申效诚,张保石,张 锋,等 (6795)
- 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响..... 朱家林,贺 娟,牛建群,等 (6803)

个体与基础生态

- 长江口及东海春季底栖硅藻、原生动物和小型底栖生物的生态特点 孟昭翠,徐奎栋 (6813)
- 长江口横沙东滩围垦潮滩内外大型底栖动物功能群研究..... 吕巍巍,马长安,余 骥,等 (6825)
- 沔阳沿岸土壤和优势植物重金属富集特征和潜在生态风险..... 杨 阳,周正朝,王欢欢,等 (6834)
- 盐分和底物对黄河三角洲区土壤有机碳分解与转化的影响..... 李 玲,仇少君,檀菲菲,等 (6844)
- 短期夜间低温胁迫对秋茄幼苗碳氮代谢及其相关酶活性的影响..... 郑春芳,刘伟成,陈少波,等 (6853)
- 32 个切花菊品种的耐低磷特性 刘 鹏,陈素梅,房伟民,等 (6863)
- 年龄和环境条件对泥蚶富集重金属镉和铜的影响..... 王召根,吴洪喜,陈肖肖,等 (6869)
- 角倍蚜虫瘿对盐肤木光合特性和总氮含量的影响..... 李 杨,杨子祥,陈晓鸣,等 (6876)
- 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对草甘膦的降解特性 李冠喜,吴小芹,叶建仁 (6885)
- 金龟甲对蓖麻叶挥发物的触角电位和行为反应..... 李为争,杨 雷,申小卫,等 (6895)

种群、群落和生态系统

- 白洋淀生态系统健康评价..... 徐 菲,赵彦伟,杨志峰,等 (6904)
- 珠海鹤洲水道沿岸红树林湿地大型底栖动物群落特征 王 卉,钟 山,方展强 (6913)
- 典型森林和草地生态系统呼吸各组分间的相互关系..... 朱先进,于贵瑞,王秋凤,等 (6925)
- 抚育间伐对油松人工林下大型真菌的影响..... 陈 晓,白淑兰,刘 勇,等 (6935)
- 百山祖自然保护区植物群落 beta 多样性 谭珊珊,叶珍林,袁留斌,等 (6944)
- 土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响..... 陈智学,谷 洁,高 华,等 (6957)

景观、区域和全球生态

- 兴安落叶松针叶解剖结构变化及其光合能力对气候变化的适应性 季子敬,全先奎,王传宽 (6967)
- 盐城海滨湿地景观演变关键土壤生态因子与阈值研究..... 张华兵,刘红玉,李玉凤,等 (6975)

半干旱区沙地芦苇对浅水位变化的生理生态响应 马赞花,张铜会,刘新平 (6984)

SWAT 模型融雪模块的改进 余文君,南卓铜,赵彦博,等 (6992)

科尔沁沙地湖泊消涨对气候变化的响应..... 常学礼,赵学勇,王 玮,等 (7002)

贝壳堤岛 3 种植被类型的土壤颗粒分形及水分生态特征..... 夏江宝,张淑勇,王荣荣,等 (7013)

三峡库区古夫河着生藻类叶绿素 a 的时空分布特征及其影响因素..... 吴述园,葛继稳,苗文杰,等 (7023)

资源与产业生态

煤炭开发对矿区植被扰动时空效应的图谱分析——以大同矿区为例..... 黄 翌,汪云甲,李效顺,等 (7035)

学术信息与动态

《中国当代生态学研究》新书推介 刘某承 (7044)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 300 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 30 * 2013-11



封面图说: 百山祖保护区森林植物群落——百山祖国家级自然保护区位于浙西南闽浙交界处,由福建武夷山向东北伸展而成,主峰海拔 1856.7m,为浙江省第二高峰。其独特的地形和水文地理环境形成了中亚热带气候区中一个特殊的区域,保存着十分丰富的植物种质资源以及国家重点保护野生动植物种,尤其是 1987 年由国际物种保护委员会列为世界最濒危的 12 种植物之一的百山祖冷杉,是第四纪冰川的孑遗植物,素有“活化石”之称。随着海拔的升高,其植被为常绿阔叶林、常绿-落叶阔叶混交林、针阔混交林、针叶林、山地矮林和山地灌草丛。

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/stxb201302250296

李冠喜, 吴小芹, 叶建仁. 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对草甘膦的降解特性. 生态学报, 2013, 33(21): 6885-6894.

Li G X, Wu X Q, Ye J R. The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(21): 6885-6894.

多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对 草甘膦的降解特性

李冠喜^{1,2,3}, 吴小芹^{1,3,*}, 叶建仁^{1,3}

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; 2. 连云港市农业科学院, 连云港 222006;

3. 江苏省有害生物入侵预防与控制重点实验室, 南京 210037)

摘要:长期或不当施用草甘膦会对非靶标生物和环境造成破坏作用。微生物是生物修复的重要生物资源,利用微生物及其产生的降解酶处理环境中有机磷农药的方法,已显示出良好的应用前景,是近年来研究有机磷农药降解的主要发展方向。研究分离松树根际土壤的高效解磷细菌多噬伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia multivorans*) WS-FJ9 菌株对草甘膦的降解特性及其降解条件的优化。采用添加不同浓度草甘膦 NA 平板接种 WS-FJ9 菌株观察其对草甘膦的耐受性;分别以草甘膦为唯一碳源、氮源或磷源,探讨 WS-FJ9 菌株对草甘膦的利用状况;采用低进水量间歇式反应器法(FBR)测定了 WS-FJ9 菌株降解草甘膦动力学参数;利用 Plackett-Burman(PB)、Central Composite Design(CCD)试验设计及响应面分析法(RSM)筛选与优化影响 WS-FJ9 菌株降解草甘膦的主要因素。WS-FJ9 菌株有效降解草甘膦的最大耐受浓度为 0.4%; WS-FJ9 菌株在以草甘膦为唯一碳源、氮源或磷源培养基上均能正常生长; WS-FJ9 菌株对草甘膦的亲合性常数(K_s 值)为 65 $\mu\text{L}/\text{mL}$,对草甘膦降解的极限浓度($S_{\min}$)为 21.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$;通过 PB 试验,筛选出 3 个影响菌株降解草甘膦的关键因素为培养温度、葡萄糖及硫酸铵的加入量,通过 CCD 设计及响应面法优化分析得到影响草甘膦降解率的关键因素的二次模型,确定了 WS-FJ9 菌株降解草甘膦的最优实验操作条件为:培养温度 27.7℃,葡萄糖和硫酸铵的加入量分别为 0.67、0.50 g/L。实验条件下 WS-FJ9 菌株对草甘膦的降解率最高为 72.83%。

关键词:多噬伯克霍尔德氏菌;降解;草甘膦;优化

The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9

LI Guanxi^{1,2,3}, WU Xiaoqin^{1,3,*}, YE Jianren^{1,3}

1 College of Forest Resources and Environment Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

2 Lianyungang Municipal Academy of Agricultural Sciences, Lianyungang 222006, China

3 Jiangsu Key Laboratory for Prevention and Management of Invasive Species, Nanjing 210037, China

Abstract: Long-term or inappropriate use of glyphosate may damage the non-target organisms and environment. Microbes are important biological resources for bioremediation. In recent years, the method of using microbes and its catabolic enzymes to remediate organophosphorus pesticides in the environment has shown a promising potential in application. It is the main direction of research on organophosphorus pesticide degradation. This study aimed to investigate the degradation of glyphosate by an efficient phosphate solubilizing bacterium *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 which was isolated from pine rhizosphere. Strain WS-FJ9 was grown on the plates of nutrient agar (NA) with different concentrations of glyphosate to determine the tolerance of strain WS-FJ9 to glyphosate. Glyphosate can be used by strain WS-FJ9 as the sole sources of

基金项目:国家林业公益性行业科研专项(201004061);江苏省普通高校研究生科研创新计划(CXLX11-0552);江苏高校优势学科建设工程(PAPD)资助项目

收稿日期:2013-02-25; **修订日期:**2013-07-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xqwu@njfu.edu.cn

carbon, nitrogen and phosphorus, respectively. The degradation dynamical parameters of strain WS-FJ9 on glyphosate were determined using low flooding quantity batch reactor method (FBR). Plackett-Burman (PB) design, central composite design (CCD), and Response Surface Methodology (RSM) were employed to screen and optimize the main factors of strain WS-FJ9 degrading glyphosate. The maximum concentration of tolerance to glyphosate for strain WS-FJ9 to remain efficiently degrading glyphosate was 0.4%. The affinity constant (K_s) of strain WS-FJ9 to glyphosate was 65 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and the minimal concentration ($S_{\min}$) of glyphosate degraded by WS-FJ9 was 21.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Three key factors (cultural temperature, glucose and ammonium sulfate) for the glyphosate degradation by strain WS-FJ9 were selected using PB design. The quadratic model for the three significant factors was established using CCD design and RSM with glyphosate degradation rate as the target response. Under the optimal degradation conditions, the incubation temperature was 27.7°C, and the amount of glucose and ammonium sulfate supplemented were 9.67 g/L and 0.50 g/L, respectively. The degradation rate of glyphosate by strain WS-FJ9 reached 72.83%.

Key Words: *Burkholderia multivorans*; degradation; glyphosate; optimization

草甘膦 (Glyphosate, 简称 GPA) 又称农达, 学名 N-(磷酸甲基) 甘氨酸 ($\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$), 是由美国孟山都公司 (Monsanto) 开发的一种有机磷除草剂, 具有内吸作用, 杀草谱广, 主要用于果园、林地、农作物、免耕地等进行化学除草。尽管草甘膦具有高效、低毒、低残留等特点, 但长期或不当施用对非靶标生物和环境造成的破坏作用不容忽视^[1-2]。近年来对草甘膦安全性的研究已成为焦点。刘攀^[3]研究表明土壤环境中 50%—80% 的益虫死于残留的草甘膦污染。耿德贵等^[4]研究发现草甘膦能明显地诱发黄鳝染色体数目和结构畸变率上升。邓晓等^[5]研究发现草甘膦对土壤微生物的种群数量及土壤中细菌、放线菌和真菌生长速率均具有一定的抑制作用。Daruich 等^[6]、Fujii 等^[7]、Dallegrave 等^[8]分别以鼠类进行了草甘膦的毒性试验, 结果表明, 长期接触草甘膦可导致妊娠期雌鼠后代的大脑产生多功能性变异, 导致胎儿的骨骼无法正常发育。Poulsen 等^[9]研究表明草甘膦能够穿透人类胎盘障碍进入胎儿室继而对人类胎儿的发育造成伤害。

微生物是生物修复的重要生物资源, 利用微生物及其产生的降解酶处理环境中有机磷农药的方法, 已显示出良好的应用前景, 是近年来研究有机磷农药降解的主要发展方向。目前, 在我国已有高抗或降解草甘膦的菌株被分离筛选出来^[10-12], 大多属于假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、肠杆菌科菌 (*Enterobacteriaceae*)、根瘤菌科 (*Rhizobiaceae*) 等。多噬伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia multivorans*) WS-FJ9 菌株为本实验室在前期研究中从松树根际筛选获得的 1 株高效解磷细菌, 前期的研究表明, 该菌对哺乳动物安全可靠, 具有促进植物生长和生物防治的功能。为探讨该菌是否具有生物降解农药残留的功能以及该菌在试验条件下最大降解率究竟与哪些因素有关以及这些因素的水平对降解率的影响究竟有多大, 为今后深入研究草甘膦降解菌制剂做好前期的准备工作, 本研究采用添加草甘膦的 NA 平板接种该菌株观察其对草甘膦的耐受性; 分别以草甘膦为唯一碳源、氮源或磷源, 探讨其对草甘膦的利用状况; 采用低进水量间歇式反应器法 (FBR) 测定其降解草甘膦动力学参数; 在前期对该菌生长特性研究的基础上, 利用 Plackett-Burman (PB) 及 Central Composite Design (CCD) 试验设计对影响其降解草甘膦有关的 8 个因素进行筛选优化。研究结果可为开发草甘膦降解菌剂实现农药残留的生物修复提供菌种资源和参考依据, 对农林业的可持续发展及环境的保护具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试菌株、草甘膦及降解培养基

供试菌株为多噬伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia multivorans*) WS-FJ9 菌株由本实验室分离筛选所得, 已保藏于中国典型培养物保藏中心 CCTCC (No. CCTCC M2011435)^[13]。供试草甘膦为四川贝尔化工集团有限公司生产 (含量为 30%)。供试降解培养基为唯一磷源 (改良蒙金娜有机磷培养基)、唯一碳源和唯一氮源培养基^[12]。

1.2 WS-FJ9 菌株对草甘膦的耐受性检测

将 WS-FJ9 菌株分别接种于含草甘膦 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8% 的 NA 平板上, 28℃ 培养 3 d, 观察菌株的生长情况。

1.3 WS-FJ9 菌株的唯一碳源、氮源和磷源试验

将 WS-FJ9 菌株活化后, 用接种环挑取少量菌体接种于装有 50 mL NB 液体培养基的 100 mL 三角瓶中, 28℃、200 r/min 振荡培养 48 h。发酵液(4℃, 4629×g) 离心 5 min, 无菌生理盐水润洗菌体 3 次后, 无菌生理盐水调节成浓度为 1×10^8 cfu/mL 的菌悬液。分别将 1 mL 菌悬液接种于 50 mL 唯一碳源、唯一氮源和唯一磷源培养基, 以不加碳源、氮源、或磷源的培养基为各自空白对照。28℃、200 r/min 摇床振荡培养 3 d, 离心后上清液采用 HWXIOSy 型分光光度计测定 600 nm 处的吸光度。

1.4 草甘膦降解率的测定

将 1 mL 菌悬液接种于含 50 mL 以草甘膦为唯一磷源培养基的 100 mL 三角瓶中(部分三角瓶中的装液量按试验要求进行), 28℃、200 r/min 摇床振荡培养 3 d 后, 降解发酵液转移至 50 mL 离心管中, 加入 0.5 g 无磷活性炭, 采用 SM-650D 型超声波细胞破碎仪进行细胞破碎 20 min 后离心(4℃, 4629×g) 10 min, 取上清液测定无机磷含量; 取 5 mL 草甘膦降解发酵液置于凯氏瓶中, 加入 9 mL 的浓硫酸和 1 mL 高氯酸, 用电炉消煮, 至消煮液呈现透明, 冷却后调节 pH 值至 7.0, 再定容至 50 mL, 测定总磷含量。磷含量的测定采用钼锑抗比色法^[14]。草甘膦降解率 = $(M_1 - M_2) / M_1 \times 100\%$ (M_1 : 培养前有机磷含量; M_2 : 培养后有机磷含量; 有机磷含量 = 总磷含量 - 无机磷含量)。

1.5 WS-FJ9 菌株降解草甘膦动力学参数的测定

将 WS-FJ9 菌株的菌悬液按 1% 接种量接种到 NB 液体培养基上 28℃、200 r/min 振荡培养 3 d 后, 取 2 L 发酵液(4℃, 4629×g) 离心 5 min 后, 菌体用无菌生理盐水润洗 3 次后加入含 2 L 灭菌的唯一磷源基础培养基的容器内制成生化反应器, 置于 28℃ 恒温培养箱中。动力学参数测定参照周军等^[15]的方法, 采用 FBR(低进水量间歇式反应器)法, 草甘膦含量的测定按 1.4 的方法进行, 将测定的动力学参数用下式计算极限浓度:

$$S_{\min} = K_s \times \frac{b}{y_{\max} q_{\max} - b}$$

式中, $S_{\min}$ 为极限浓度($\mu\text{L}/\text{mL}$); K_s 为细菌对基质的亲和性常数($\mu\text{L}/\text{mL}$); $y_{\max}$ 为细菌最大产率系数(mg/mg); $q_{\max}$ 为最大比基质利用速率(d^{-1}); b 为细菌衰减系数(d^{-1})。

1.6 WS-FJ9 菌株降解草甘膦 PB 试验设计

选取影响 WS-FJ9 菌株降解草甘膦的 8 个因素, 采用 Plackett-Burman (PB) 设计方案进行关键变量的筛选。试验设计如表 2 所示, 8 个变量分别通过 12 次实验进行评价分析, 每个变量通过两个水平(低水平-1 和高水平+1)来检测。响应值通过降解率来衡量。每个变量的显著性通过 P 值和显著水平确定。

1.7 WS-FJ9 菌株降解草甘膦中心复合试验及验证

采用中心复合试验设计(Central Composite Design, CCD)法对由 Plackett-Burman 筛选出的关键因素进行试验设计, 同时固定其他非关键因素。中心复合试验包括含 3 个关键变量的 20 组实验, 每个变量包含 5 个水平(表 4)。当确定一个关键变量的最优水平, 可以得到其它两个变量的等高线图和三维立体图, 而确定这两个关键变量的最优值。回归模型的可信度由决定系数(R^2)进行评估。以 PB 试验、CCD 试验确定的最佳降解因素, 进行 WS-FJ9 菌株降解草甘膦试验, 验证优化方案。

1.8 数据分析与处理

采用 Office 2003 和 Design Expert 8.07(Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) 软件进行 PB、CCD 试验设计、数据差异显著性检验($P < 0.05$)、回归分析及图表绘制。

2 结果与分析

2.1 WS-FJ9 菌株对草甘膦的耐受性

NA 平板上草甘膦含量从 0.1% 增加到 0.4% 的过程中, 菌株的生长状况没有明显的变化, 均表现为旺盛生

长;草甘膦含量继续增加,菌株的长势逐渐减弱;当草甘膦达到 0.8%时,菌株不能生长(表 1)。表明多噬伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia multivorans*) WS-FJ9 菌株对草甘膦有一定的耐受能力,当草甘膦含量为 0.4%时,菌株长势不减弱,说明菌株对草甘膦耐受的最大浓度为 0.4%。

表 1 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 菌株对草甘膦的耐受性

Table 1 The endurable ability of strain *B. multivorans* WS-FJ9 to GPA

	草甘膦含量 Content of GPA/%							
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
菌株生长状况 Growth status of strains	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	-

++++,生长旺盛;+++;生长较好;++;生长;+,生长很少;-:不生长

2.2 WS-FJ9 菌株在唯一碳源、氮源和磷源培养基上的生长状况

WS-FJ9 菌株在以草甘膦为唯一碳源、氮源和磷源培养基上均能正常生长。由图 1 可知,菌株在以草甘膦为唯一磷源的培养基上生长最好,唯一碳源培养基次之,唯一氮源培养基最差。因此,在后续试验中均采用以草甘膦为唯一磷源的培养基。

2.3 WS-FJ9 菌株降解草甘膦的动力学参数

反应器中草甘膦的浓度始终维持在较低的水平,有利于探明微量有机物污染生物修复的机制。测定结果如下: $K_s = 65 \mu\text{L}/\text{mL}$; $y_{\max} = 0.31 \text{ mg}/\text{mg}$; $q_{\max} = 1.625 \text{ d}^{-1}$; $b = 0.127 \text{ d}^{-1}$ 。把测定结果代入 1.5 的公式,经计算得到 *B. multivorans* WS-FJ9 降解草甘膦的极限浓度($S_{\min}$)的值为 $21.9 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。表明该菌可应用于微量有机物生物高度净化技术,对痕量农药的污染治理具有很好的应用潜力。

2.4 WS-FJ9 菌株降解草甘膦关键影响因素的筛选

Plackett-Burman 试验设计及结果见表 2。采用 Design Expert 8.07 软件对表 3 中的降解率数据进行回

归分析,得到各影响因素的偏回归系数(表 3)。由表 3 可看出, X_2 (初始 pH)、 X_5 (葡萄糖)、 X_6 ((NH_4) $_2\text{SO}_4$)表现为负效应,而其它因素表现为正效应。因素 X_1 (温度)、 X_5 (葡萄糖)、 X_6 ((NH_4) $_2\text{SO}_4$)为主要影响因子,其贡献值分别为 18.85%、39.09%和 29.01%,而其他因素对响应值降解率为低值影响。经影响因素筛选,得到以降解率为响应值的线性回归方程: $Y = 35.24 + 3.54X_1 - 4.07X_5 - 35.07X_6$,方程中 Y 为预测的降解率, X_i 为变量。方差分析模型的 P 值为 0.0007,决定系数(R^2)为 0.8705,调整系数(adj R^2)为 0.8220,变化系数(C_v)为 14.30%,精密度为 12.570,表明该数学模型能较好的表征实验的实际情况。

2.5 WS-FJ9 菌株降解草甘膦关键影响因素 CCD 试验结果及效应分析

中心组合设计及结果见表 4。通过对 X_1 (温度)、 X_5 (葡萄糖)、 X_6 ((NH_4) $_2\text{SO}_4$)进行中心组合设计,得到相应的二次方程模型: $Y = -284.45 + 24.50X_1 + 3.82X_5 + 53.16X_6 + 0.25X_1X_5 - 0.17X_1X_6 - 0.40X_5X_6 - 0.47X_1^2 - 0.54X_5^2 - 44.49X_6^2$,不同变量对回归模型中响应值影响的显著性通过 F 检验来确定。如表 5 所示,因素 X_5 对降解效果的线性效应显著,而因素 X_1 和 X_6 不显著;因素 X_1^2 、 X_5^2 、 X_6^2 对降解效果的曲面效应极显著; X_1X_5 对絮凝效果的交互影响显著,而 X_1X_6 和 X_5X_6 不显著。模型 P 值为 0.0001,决定系数(R^2)为 0.9363,调整系数(adj R^2)为 0.8790,变化系数(C_v)为 1.78%,精密度为 11.442,表明该模型拥有较高的可靠度,能较好的反应实际情况。因此,该模型能对降解率进行合理的预测。

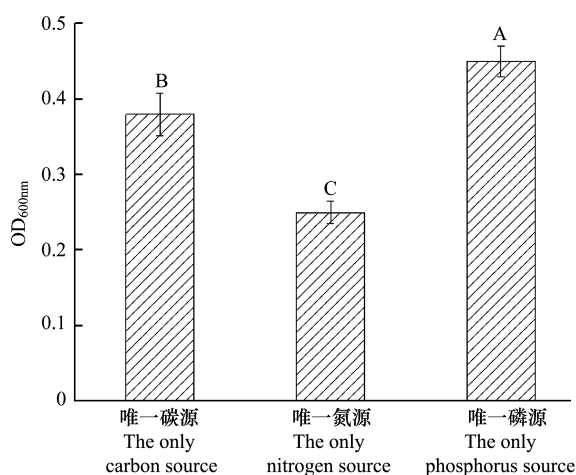


图 1 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 菌株在以草甘膦为唯一碳源、氮源和磷源培养基上的生长状况

Fig.1 The growth status of strain *B. multivorans* WS-FJ9 on the medium by glyphosate as the only carbon source, the only nitrogen source and the only phosphorus source

表 2 Plackett-Burman 试验设计及结果

Table 2 Plackett-Burman experiment design and response value

试验组合 Experimental group	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}	降解率/% Degradation rate
1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	27.04
2	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	25.4
3	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	63.38
4	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	40.27
5	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	23.59
6	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	49.43
7	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	63.09
8	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	59.54
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	69.92
10	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	67.32
11	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	60.53
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	52.46

X_1 : 温度, -1 为 24℃, 1 为 28℃; X_2 : 初始 pH 值, -1 为 6.0, 1 为 7.0; X_3 : 接种量, -1 为 1%, 1 为 5%; X_4 : 100 mL 三角瓶装液量, -1 为 50 mL, 1 为 75 mL; X_5 : 葡萄糖加入量, -1 为 10 g/L, 1 为 15 g/L; X_6 : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 加入量, -1 为 0.5 g/L, 1 为 1 g/L; X_7 : 转速, -1 为 160 r/min, 1 为 200 r/min; X_8 : GPA 加入量, -1 为 0.1%, 1 为 0.4%; X_9 , X_{10} , X_{11} : 虚拟因素

表 3 偏回归系数及影响因子的显著性分析

Table 3 Partial regression coefficients and analyses of their significance

因素 Factor	回归系数 Regression coefficient	效应值 Effect size	平方和 Sum of squares	贡献值/% Contribution value
截距	50.16			
X_1	7.09	14.17	602.51	18.95
X_2	-1.92	-3.83	44.05	1.39
X_3	1.53	3.05	27.94	0.88
X_4	1.16	2.33	16.26	0.51
X_5	-10.18	-20.36	1242.98	39.09
X_6	-8.77	-17.53	922.43	29.01
X_7	1.75	3.50	36.79	1.16
X_8	2.70	5.40	87.53	2.75
X_9	0.38	0.76	1.76	0.055
X_{10}	-0.099	-0.20	0.12	0.004
X_{11}	4.05	8.11	197.24	6.60

表 4 中心组合设计及结果

Table 4 CCD design and response values

实验组合号 Number of experimental group	编码值/实际值 Coding / actual value			实际值/% Actual value	预测值/% Predicted value
	$X_1/^\circ\text{C}$	$X_5/(\text{g/L})$	$X_6/(\text{g/L})$		
1	-1/26	-1/8	-1/0.3	68.36	68.66
2	1/30	-1/8	-1/0.3	64.94	66.04
3	-1/26	1/12	-1/0.3	64.55	65.86
4	1/30	1/12	-1/0.3	68.02	67.21
5	-1/26	-1/8	1/0.7	67.25	69.11
6	1/30	-1/8	1/0.7	66.48	66.23
7	-1/26	1/12	1/0.7	65.71	65.66
8	1/30	1/12	1/0.7	66.00	66.76

续表

实验组合号 Number of experimental group	编码值/实际值 Coding / actual value			实际值/% Actual value	预测值/% Predicted value
	$X_1/^{\circ}\text{C}$	$X_5/(\text{g/L})$	$X_6/(\text{g/L})$		
9	-2/24	0/10	0/0.5	67.25	66.07
10	2/32	0/10	0/0.5	64.41	64.54
11	0/28	-2/6	0/0.5	66.19	65.21
12	0/28	2/14	0/0.5	63.01	62.93
13	0/28	0/10	-2/0.1	66.06	65.64
14	0/28	0/10	2/0.9	66.27	65.64
15	0/28	0/10	0/0.5	73.81	72.76
16	0/28	0/10	0/0.5	73.62	72.76
17	0/28	0/10	0/0.5	71.39	72.76
18	0/28	0/10	0/0.5	72.64	72.76
19	0/28	0/10	0/0.5	72.87	72.76
20	0/28	0/10	0/0.5	73.26	72.76

表 5 降解率优化的模型适配和方差分析结果

Table 5 Model-fitting and variance analysis results of degradation rate

方差来源 Sources of variance	平方和 Sum of squares	自由 df	均方 Mean square	F	$P(F > F_{\alpha})$
模型 Model	216.69	9	24.08	16.34	< 0.0001
X_1	2.33	1	2.33	1.58	0.2369
X_5	5.19	1	5.19	3.52	0.0901
X_6	6.250E-006	1	6.250E-006	4.241E-006	0.9984
X_1X_5	7.90	1	7.90	5.36	0.0431
X_1X_6	0.035	1	0.035	0.024	0.8804
X_5X_6	0.21	1	0.21	0.14	0.7150
X_1^2	87.30	1	87.30	59.24	< 0.0001
X_5^2	118.49	1	118.49	80.40	< 0.0001
X_6^2	79.63	1	79.63	54.03	< 0.0001
残差 Residual	14.74	10	1.47		
失拟项 Lack of fit	10.92	5	2.18	2.86	0.1368
纯误差 Pure error	3.82	5	0.76		
总离差 Cor total	231.42	19			

2.6 WS-FJ9 菌株降解草甘麟的响应面分析及验证

为进一步优化多噬伯克霍尔德氏菌(*B. multivorans*) WS-FJ9 菌株对草甘麟的降解率,等高线图和三维立体图被用于对实验数据进行分析。它们能更直观的显示不同变量以及它们的交互作用对响应值的影响。等高线的形状能够反应交互作用是否显著。椭圆表示交互作用显著,而非椭圆则相反。等高线图(图 2,图 3,图 4)清晰的表明,温度和葡萄糖加入量的交互作用显著,而温度和硫酸铵加入量,以及葡萄糖和硫酸铵加入量之间交互作用不显著。该结果和表 7 中的分析结果一致,表明这些结果真实反应了不同变量之间的相互作用。图 2 显示硫酸铵加入量在最佳值为 0.50 g/L 条件下,温度和葡萄糖加入量对降解率的交互影响;图 3 显示葡萄糖加入量在最佳值为 9.67 g/L 条件下,温度和硫酸铵加入量对降解率的交互影响;图 4 显示温度在最佳值为 27.7 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,硫酸铵和葡萄糖加入量对降解率的交互影响。由设计软件得到 WS-FJ9 菌株降解草甘麟最优条件为:固定其他因素,关键因素蒙金娜基础培养基中葡萄糖和硫酸铵的加入量分别为 9.67、0.50 g/L,温度控制在 27.7 $^{\circ}\text{C}$,理论计算草甘麟降解率达 72.83%。按照优化后的条件,蒙金娜基础培养基中葡萄糖

和硫酸铵的加入量分别为 9.67、0.50 g/L,其他成分按基础配方,草甘膦加入量 0.4%,100 mL 三角瓶装液量 50 mL,接种量 1%,初始 pH7.0,转速 200 r/min,温度控制在 27.7 °C。3 d 后实测草甘膦降解率为 71.98%,与预测值 72.83%较接近,证明了 WS-FJ9 菌株降解草甘膦优化处理时 PB 和 CCD 方法联用的可行性和准确性。

3 结论和讨论

近年来,利用微生物的降解功能处理环境中的草甘膦污染越来越受到人们的重视,将草甘膦降解菌制成生物菌剂用于草甘膦环境污染的生物修复已成为国内外研究热点。目前国内外已开发出的一系列处理草甘膦废水的工业方法^[16-18]的应用都存在一定的局限性,主要是施工量大、设备成本高、而且处理结果不理想易造成二次污染等。利用高效降解微生物来降解工业废水中的草甘膦具有处理方便、快捷、迅速,成本相对低廉等优点。

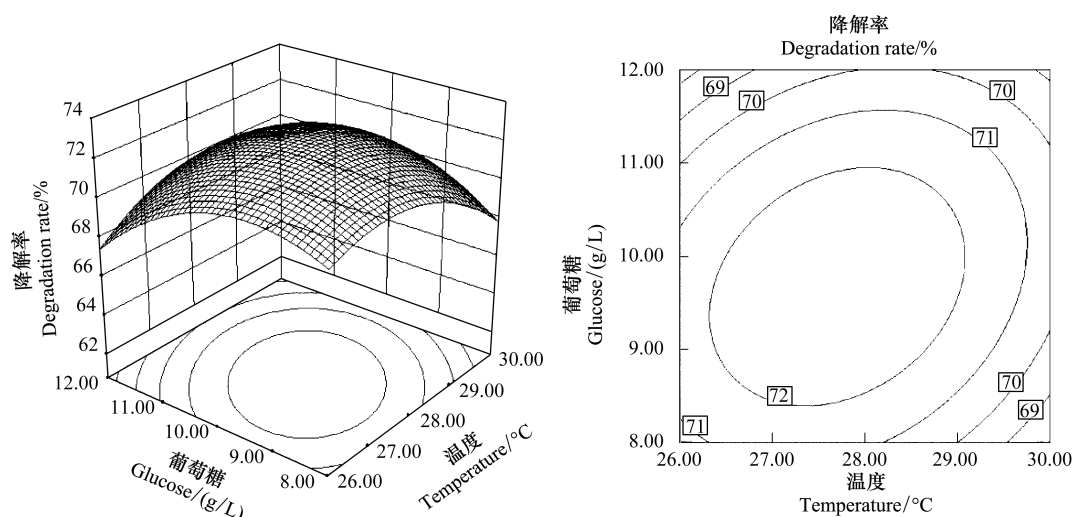


图2 温度和葡萄糖加入量对草甘膦降解率交互影响的三维曲面图和等高线图

Fig.2 Surface and contour plots of mutual effect for temperature and glucose quantity on the degradation rate of glyphosate

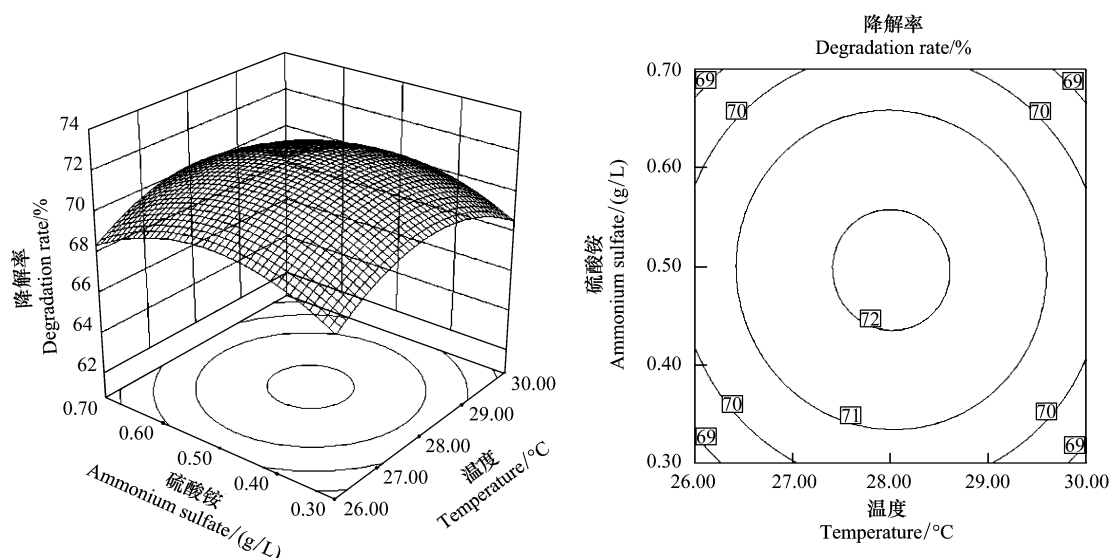


图3 温度和硫酸铵加入量对草甘膦降解率交互影响的三维曲面图和等高线图

Fig.3 Surface and contour plots of mutual effect for temperature and ammonium sulfate quantity on the degradation rate of glyphosate

本研究采用添加草甘膦的 NA 平板接种多噬伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia multivorans*) WS-FJ9 菌株,结果表明该菌对草甘膦具有较高耐受性(耐受浓度达 0.4%),可以应用于高含量草甘膦污染的治理。据报道,

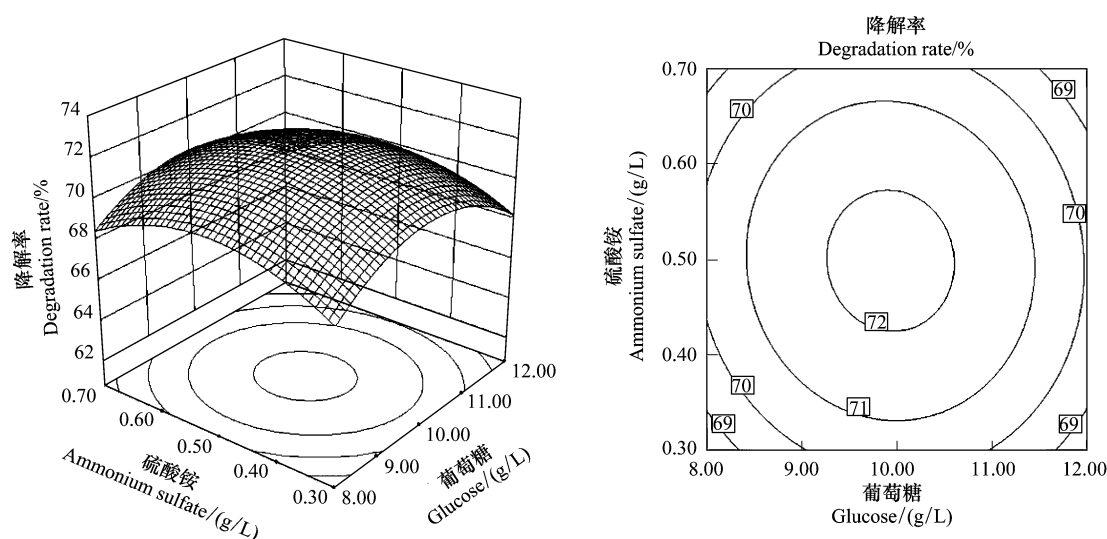


图4 葡萄糖和硫酸铵加入量对草甘膦降解率交互影响的三维曲面图和等高线图

Fig.4 Surface and contour plots of mutual effect for glucose and ammonium sulfate quantity on the degradation rate of glyphosate

草甘膦在其生产废水池中的含量在 0.1%—1% 之间,在长期使用草甘膦地区的地表水中的含量在 0.009%—0.86% 之间,不同地区草甘膦的含量不同是因为还与雨水径流及水流路径有关^[19-21]。因此,该菌可用于草甘膦生产废水的治理,同时由于该菌在以草甘膦为唯一碳源、唯一氮源或唯一磷源的培养基上均能正常生长,这将有利于在草甘膦污染的治理过程中进一步降低成本。

近年研究发现,许多化学物质即使在很低的浓度下对人体和生态环境仍然产生很大的危害,生物高度净化技术成为新的研究热点。该技术的理论关键点在于生物降解极限浓度($S_{\min}$)和基质亲和性常数(K_s)^[22-23],认为在低基质浓度情况下,降解速率同基质的浓度成正比关系,当基质浓度降至某一值时,微生物的生长速率与死亡速率达到了动态平衡,此时的浓度即为极限浓度($S_{\min}$);在微量化学物质高度净化过程中,净化速率主要取决于微生物对基质的亲和性, K_s 越低亲和性就越好,净化速率也就越高,而常量化学物质的一般净化主要取决于微生物的增殖量^[24]。周军等^[15]经过试验测定了苯胺的各降解动力学参数,其 $S_{\min}$ 和 K_s 值分别为 0.025 mg/L 和 0.077 mg/L。本研究所测定的 $S_{\min}$ 和 K_s 值分别为 65 μ L/mL 和 21.9 μ L/mL,因此,WS-FJ9 菌株可应用于痕量污染(农田及各种低草甘膦含量污染的水体)的治理,是生物高度净化技术中极有应用潜力的菌株。

本研究通过 PB 试验,筛选出 3 个影响 WS-FJ9 菌株降解草甘膦过程中影响降解率的关键因素为培养温度、葡萄糖及硫酸铵的加入量,通过 CCD 设计及响应面法优化分析得到影响草甘膦降解率的二阶模型: $Y = -284.45 + 24.50X_1 + 3.82X_5 + 53.16X_6 + 0.25X_1X_5 - 0.17X_1X_6 - 0.40X_5X_6 - 0.47X_1^2 - 0.54X_5^2 - 44.49X_6^2$;确定了 *B. multivorans* WS-FJ9 降解草甘膦实验的最优操作条件为培养温度为 27.7℃,葡萄糖和硫酸铵的加入量分别为 0.67、0.50 g/L。在试验条件下该菌株对草甘膦的降解率最高可达 72.83%。该结果高于王聪^[11]筛选的蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) CW-1(降解率为 65.3%)和康纪婷^[12]筛选的恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*) BR13(降解率为 60.20%)及肠杆菌科菌(*Enterobacteriaceae*) BR57(降解率为 57.67%)。综上所述可以看出,WS-FJ9 菌株不论应用于天然土壤环境中低残留的草甘膦降解还是应用于高含量草甘膦污染如生产废水等的治理,都是极有潜力的菌株。

微生物通过驯化筛选可以增强某一特定功能。汤鸣强等^[10]采用培养基中添加不同浓度梯度的草甘膦对从耕作土壤中分离到草甘膦降解菌进行驯化培养与筛选,获得一株对草甘膦具有高耐受性、高降解能力的菌株胶红酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* ZM-1(降解率为 85.38%)。本研究所采用的 *B. multivorans* WS-FJ9 适应能力强,耐受力已达 0.4% 草甘膦含量的浓度。如果进行定向驯化筛选,相信其对草甘膦的耐受性及降解能力会有较大的提高,这有待于进一步研究。另外,本研究采用 PB 和 CCD 试验设计连用及 RSM 分析法进行了实

验条件优化,相对于传统的单因素实验和正交实验,具有试验次数少、周期短,求得的回归方程精度高等优点,并能通过图形分析较直观地寻求最优考察因素值、确定试验因素及其交互作用在试验过程中对指标响应值的影响^[25]。

References:

- [1] Busse M D, Ratcliff A W, Shestak C J, Powers R F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(12/13): 1777-1789.
- [2] Koger C H, Shaner D L, Krutz L J, Walker T W, Buehring N, Henry W B, Thomas W E, Wilcut J W. Rice (*Oryza sativa*) response to drift rates of glyphosate. *Pest Management Science*, 2005, 61(12): 1161-1167.
- [3] Liu P. Effects of Glyphosate on the Soil Microecosystem and Research of Glyphosate-degradation and Glyphosate-resistance Fungi [D]. Changchun: Jilin University, 2009.
- [4] Geng D G, Chen G, Han Y, Pan S Y, Zhao R J. The studies on the mutagenesis of the herbicide glyphosate in cells of *Monopterus albus*. *Journal of Xuzhou Normal University: Natural Sciences*, 2000, 18(2): 59-61.
- [5] Deng X, Li Y Q. Effect of glyphosate on soil microorganisms. *Chinese Journal of Pesticides*, 2005, 44(2): 59-62.
- [6] Daruich J, Zirulnik F, Gimenez M S. Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environmental Research*, 2001, 85(3): 226-231.
- [7] Fujii T. Transgenerational effects of maternal exposure to chemicals on the functional development of the brain in the offspring. *Cancer Causes and Control*, 1997, 8(3): 524-528.
- [8] Dallegre E, Mantese F D G, Coelho R S, Pereira J D, Dalsenter P R, Langeloh A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters*, 2003, 142(1/2): 45-52.
- [9] Poulsen M S, Rytting E, Mose T, Knudsen L E. Modeling placental transport: Correlation of *in vitro* BeWo cell permeability and *ex vivo* human placental perfusion. *Toxicology in Vitro*, 2009, 23(7): 1380-1386.
- [10] Tang M Q, You M S. Isolation and identification of a glyphosate-resistant yeast strain (ZM-1) and its optimal growth and degradation traits. *Microbiology China*, 2010, 37(9): 1402-1409.
- [11] Wang C. Preliminary Studies on Glyphosate-degradation by *Bacillus cereus* [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2012.
- [12] Kang J T. Study on Screening, Isolation and Identification of the Glyphosate Methylparathion-Degrading Bacterium [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010.
- [13] Hou L. Studies on Screening of Efficient Phosphate-solubilizing Bacteria in the Rhizosphere of Pine Trees and on Their Characteristics [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2012.
- [14] Zhang X S. Analysis of the factors affecting the available P content in the fermentation liquid of P bacteria determined by Mo-Sb colorimetry. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(12): 4822-4823.
- [15] Zhou J, Zhao Q X, Jin X B. Threshold of aniline biodegradation. *Environmental Pollution & Control*, 2004, 26(6): 401-403, 414-414, 395-395.
- [16] Peng B, Wang L, Li Y R. Research on adsorption of glyphosate from wastewater by active aluminum oxide. *Journal of Chemical Industry & Engineering*, 2007, 28(1): 44-48.
- [17] Huang J, Hu X, Li Y, Wei J. Treatment of high salinity organic wastewater by iron-carbon microelectrolysis process. *Environmental Protection of Chemical Industry*, 2007, 27(3): 250-252.
- [18] Huang Y M, Li Q H, Zhou X B, Yu Z H, Huang Q L. Treatment of glyphosate wastewater by Fenton reagent oxidation-magnesium salt precipitation process. *Environmental Protection of Chemical Industry*, 2007, 27(2): 156-159.
- [19] Hua X M, Jiang X L. Characteristics and control countermeasures of pesticide pollution and its damage on environment in China. *Research of Environmental Sciences*, 2000, 13(3): 40-43.
- [20] Chang F C, Simcik M F, Capel P D. Occurrence and fate of the herbicide glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in the atmosphere. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(3): 548-555.
- [21] Coupe R H, Kalkhof S J, Capel P D, Gregoire C. Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest Management Science*, 2011, 68(1): 16-30.
- [22] Ribes J, Keesman K, Spanjers H. Modelling anaerobic biomass growth kinetics with a substrate threshold concentration. *Water Research*, 2004, 38(20): 4502-4510.
- [23] Schmidt S K, Scow K M, Alexander S M. Kinetics of P-nitrophenol mineralization by a *Pseudomonas* sp.: effects of second substrates. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53(11): 2617-2623.

- [24] Li J Y, Zhao Q X, Sun X B, Li D. Factors affecting kinetic threshold concentration of biodegradation. *Journal of East China University of Science and Technology: Natural Science Edition*, 2006, 32(3): 309-312.
- [25] Wang F H, Liu L, Wang Y H, Yang B. Optimization of protease activity from *Bacillus subtilis* GS-1 and potential applications in protein hydrolysis. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2012, 51(4): 79-86.

参考文献:

- [3] 刘攀. 草甘膦对土壤微生态的影响及其抗性和降解真菌的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [4] 耿德贵, 陈刚, 韩燕, 潘沈元, 赵荣军. 除草剂农达对黄鳝致突变性研究. *徐州师范大学学报: 自然科学版*, 2000, 18(2): 59-61.
- [5] 邓晓, 李雅琦. 草甘膦对土壤微生物影响的研究. *农药*, 2005, 44(2): 59-62.
- [10] 汤鸣强, 尤民生. 抗草甘膦酵母菌 ZM-1 的分离鉴定及其生长降解特性. *微生物学通报*, 2010, 37(9): 1402-1409.
- [11] 王聪. 蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 对草甘膦降解作用的初步研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2012.
- [12] 康纪婷. 有机磷农药草甘膦降解菌的筛选、分离及其鉴定 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- [13] 侯亮. 松树根际高效解磷细菌的筛选及其解磷特性的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2012.
- [14] 张祥胜. 钼锑抗比色法测定磷细菌发酵液中有效磷含量测定值的影响因素分析. *安徽农业科学*, 2008, 36(12): 4822-4823.
- [15] 周军, 赵庆祥, 金雪标. 苯胺生物降解极限的研究. *环境污染与防治*, 2004, 26(6): 401-403.
- [16] 彭波, 王黎, 李艳荣. 活性氧化铝吸附法处理草甘膦生产废水的研究. *化学工业与工程技术*, 2007, 28(1): 44-48.
- [17] 黄瑾, 胡翔, 李毅, 魏杰. 铁碳微电解法处理高盐度有机废水. *化工环保*, 2007, 27(3): 250-252.
- [18] 黄燕梅, 李启辉, 周锡波, 余在华, 黄庆莉. Fenton 氧化-镁盐沉淀法处理草甘膦废水. *化工环保*, 2008, 27(2): 156-159.
- [19] 华小梅, 江希流. 我国农药环境污染与危害的特点及控制对策. *环境科学研究*, 2000, 13(3): 40-43.
- [24] 李娟英, 赵庆祥, 孙贤波, 李丹. 有机物生物降解动力学极限浓度的影响因素. *华东理工大学学报: 自然科学版*, 2006, 32(3): 309-312.
- [25] 王方华, 刘亮, 王永华, 杨博. 产蛋白酶菌株 *Bacillus subtilis* GS-1 发酵条件优化及蛋白酶水解应用初步研究. *中山大学学报: 自然科学版*, 2012, 51(4): 79-86.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.21 Nov., 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Gross ecosystem product: theory framework and case study OUYANG Zhiyun, ZHU Chunquan, YANG Guangbin, et al (6747)
- Advances in impacts of climate change on infectious diseases outbreak LI Guodong, ZHANG Junhua, JIAO Gengjun, et al (6762)
- Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs) YUN Juanli, WANG Yanfen, ZHANG Hongxun (6774)
- Nitrogen deposition and *Leymus chinensis* leaf chlorophyll content in Inner Mongolian grassland
..... ZHANG Yunhai, HE Nianpeng, ZHANG Guangming, et al (6786)
- Worldwide distribution and multivariate similarity clustering analysis of spiders
..... SHEN Xiaocheng, ZHANG Baoshi, ZHANG Feng, et al (6795)
- The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton
..... ZHU Jialin, HE Juan, NIU Jianqun, et al (6803)

Autecology & Fundamentals

- Ecological characteristics of benthic diatoms, protozoa and meiobenthos in the sediments of the Changjiang Estuary and East China
Sea in spring MENG Zhaoxui, XU Kuidong (6813)
- Macrobenthic functional groups at the reclamation and natural tidal flats of Hengsha East Shoal, the Estuary of Changjiang River
..... LV Weiwei, MA Chang'an, YU Ji, et al (6825)
- Enrichment and ecological risk of heavy metal in soils and dominant plants in the riparian of the Fenghe River
..... YANG Yang, ZHOU Zhengchao, WANG Huanhuan, et al (6834)
- Effects of salinity and exogenous substrates on the decomposition and transformation of soil organic carbon in the Yellow River
Delta LI Ling, QIU Shaojun, TAN Feifei, et al (6844)
- Effects of short-term dark chilling on leaves carbon and nitrogen metabolism and involved activities of enzymes in mangrove *Kandelia
obovata* seedling ZHENG Chunfang, LIU Weicheng, CHEN Shaobo, et al (6853)
- Preliminary evaluation on tolerance to phosphorous deficiency of 32 cultivars of cut chrysanthemum
..... LIU Peng, CHEN Sumei, FANG Weimin, et al (6863)
- Effects of age and environmental conditions on accumulation of heavy-metals Cd and Cu in *Tegillarca granosa*
..... WANG Zhaogen, WU Hongxi, CHEN Xiaoxiao, et al (6869)
- Effects of Chinese gallnut on photosynthetic characteristics and total nitrogen content of *Rhus chinensis*
..... LI Yang, YANG Zixiang, CHEN Xiaoming, et al (6876)
- The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 LI Guanxi, WU Xiaoqin, YE Jianren (6885)
- Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles
..... LI Weizheng, YANG Lei, SHEN Xiaowei, et al (6895)

Population, Community and Ecosystem

- Ecosystem health assessment in Baiyangdian Lake XU Fei, ZHAO Yanwei, YANG Zhifeng, et al (6904)
- Characteristics of macrobenthic communities in mangrove wetlands along the waterways of North Hezhou, Zhuhai, South China
..... WANG Hui, ZHONG Shan, FANG Zhanqiang (6913)
- The interaction between components of ecosystem respiration in typical forest and grassland ecosystems
..... ZHU Xianjin, YU Guirui, WANG Qiufeng, et al (6925)
- Effects of thinning on macro fungi and their relationship with litter decomposition in *Pinus tabulaeformis* plantations
..... CHEN Xiao, BAI Shulan, LIU Yong, et al (6935)

- Beta diversity of plant communities in Baishanzu Nature Reserve TAN Shanshan, YE Zhenlin, YUAN Liubin, et al (6944)
- Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting
 CHEN Zhixue, GU Jie, GAO Hua, et al (6957)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Variations in leaf anatomy of *Larix gmelinii* reflect adaptation of its photosynthetic capacity to climate changes
 JI Zijing, QUAN Xiankui, WANG Chuankuan (6967)
- The studying of key ecological factors and threshold of landscape evolution in Yancheng Coastal wetland
 ZHANG Huabing, LIU Hongyu, LI Yufeng, et al (6975)
- Eco-physiological response of *Phragmites communis* to water table changes in the Horqin Sand Land
 MA Yunhua, ZHANG Tonghui, LIU Xinping (6984)
- Improvement of snowmelt implementation in the SWAT hydrologic model ... YU Wenjun, NAN Zhuotong, ZHAO Yanbo, et al (6992)
- Responses of lake fluctuation to climate change in Horqin Sandy Land
 CHANG Xueli, ZHAO Xueyong, WANG Wei, et al (7002)
- Water ecology and fractal characteristics of soil particle size distribution of three typical vegetations in Shell Island
 XIA Jiangbao, ZHANG Shuyong, WANG Rongrong, et al (7013)
- Spatio-temporal distribution of epilithic algal chlorophyll a in relation to the physico-chemical factors of Gufu River in Three Gorges Reservoir WU Shuyuan, GE Jiwen, MIAO Wenjie, et al (7023)

Resource and Industrial Ecology

- Graphic analysis of spatio-temporal effect for vegetation disturbance caused by coal mining: a case of Datong Coal Mine Area
 HUANG Yi, WANG Yunjia, LI Xiaoshun, et al (7035)

《生态学报》2014 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,280 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 余新晓

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 21 期 (2013 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 21 (November, 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 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 90.00 元