

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第34卷 第5期 Vol.34 No.5 **2014**

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 34 卷 第 5 期 2014 年 3 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 干旱指标研究进展..... 李柏贞,周广胜 (1043)
- 气候变化对作物矿质元素利用率影响研究进展..... 李堃清,吴正云,张 强,等 (1053)
- 森林生态系统中植食性昆虫与寄主的互作机制、假说与证据 曾凡勇,孙志强 (1061)
- 线虫区系分析指示土壤食物网结构和功能研究进展..... 陈云峰,韩雪梅,李钰飞,等 (1072)
- 中国省际水足迹强度收敛的空间计量分析 赵良仕,孙才志,郑德凤 (1085)
- 高原河谷城市植被时空变化及其影响因素——以青海省西宁市为例..... 高 云,谢苗苗,付梅臣,等 (1094)
- 土地利用和环境因子对表层土壤有机碳影响的尺度效应——以陕北黄土丘陵沟壑区为例.....
..... 赵明月,赵文武,钟莉娜 (1105)
- 赤子爱胜蚓和毛利远盲蚓对添加造纸污泥土壤的化学和生物学特征的影响.....
..... 陈旭飞,张 池,戴 军,等 (1114)

个体与基础生态

- 钾与信号抑制剂对外生菌根真菌分泌乙酸的调控作用..... 杨红军,李 勇,袁 玲,等 (1126)
- 砷诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡的毒性效应..... 薛美昭,仪慧兰 (1134)
- 石油污染土壤中苯酚降解菌 ad049 的鉴定及降解特性..... 胡 婷,谷 洁,甄丽莎,等 (1140)
- 紫花苜蓿对铜胁迫生理响应的傅里叶变换红外光谱法研究..... 付 川,余顺慧,黄怡民,等 (1149)
- 播种期对晚季稻香气 2-乙酰-1-吡咯啉含量和产量的影响 杨晓娟,唐湘如,闻祥成,等 (1156)
- 外源钙(Ca)对毛葱耐镉(Cd)胁迫能力的影响 王巧玲,邹金华,刘东华,等 (1165)
- 基于植被指数的北京军都山荆条灌丛生物量反演研究..... 高明亮,官兆宁,赵文吉,等 (1178)
- 三种暖季型草坪草对二氧化硫抗性的比较..... 李 西,王丽华,刘 尉,等 (1189)
- 恩施烟区无翅桃蚜在烤烟田空间动态的地统计学分析..... 夏鹏亮,王 瑞,王昌军,等 (1198)
- 啮齿动物捕食和搬运蒙古栎种子对种群更新的影响..... 张晶虹,刘丙万 (1205)
- 高原鼠兔有效洞穴密度对高寒草甸优势植物叶片和土壤氮磷化学计量特征的影响.....
..... 李倩倩,赵 旭,郭正刚 (1212)
- 光、温限制后铜绿微囊藻和斜生栅藻的超补偿生长与竞争效应..... 谢晓玲,周 蓉,邓自发 (1224)

种群、群落和生态系统

- 人工巢箱繁殖鸟类主要巢捕食者及其影响因素..... 张 雷,李东来,马锐强,等 (1235)
- 泉州湾埭埔潮间带大型底栖动物群落的时空分布..... 卓 异,蔡立哲,郭 涛,等 (1244)

- 不同尺度因子对滦河流域大型底栖无脊椎动物群落的影响…………… 张海萍,武大勇,王赵明,等 (1253)
- 呼兰河湿地夏、秋两季浮游植物功能分组演替及其驱动因子…………… 陆欣鑫,刘 妍,范亚文 (1264)
- 江西桃红岭国家级自然保护区梅花鹿生境适宜性评价…………… 李 佳,李言阔,缪沪君,等 (1274)

景观、区域和全球生态

- 中国自然保护综合地理区划…………… 郭子良,崔国发 (1284)
- 近 10 年来蒙古高原植被覆盖变化对气候的响应 …………… 缪丽娟,蒋 冲,何 斌,等 (1295)
- 人类活动与气候变化对洪湖春旱的影响 …………… 刘可群,梁益同,周金莲,等 (1302)
- 2000—2010 年武汉市中心城区湖泊景观变化 …………… 淡永利,王宏志,张 欢,等 (1311)

资源与产业生态

- 三江源区冬虫夏草资源适宜性空间分布…………… 李 芬,吴志丰,徐 翠,等 (1318)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 282 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 30 * 2014-03



封面图说: 插秧季节的桂西——2009—2011 年,我国广西、云南、贵州、四川、重庆等西南地区遭受了百年不遇的特大旱灾,其中广西西北部、云南大部、贵州西部等石漠化地区最为严重,农作物大面积绝收,千百万人和大牲畜饮水困难,这种危害是巨大的、现实的。从对 2009—2011 年我国西南地区旱灾程度及其对植被净初级生产力影响结果显示:2009—2011 年西南地区年均降水量和湿润指数明显低于 1980—2008 年均值,植被净初级生产力低于 2001—2008 年均值,造成的碳损失约占我国总碳汇的 7.91%。全球气候变暖给大气环流提供了动力,也造成了许多极端灾害天气,因此如何应对气候变化形势显得更加紧迫。

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/stxb201306091528

胡婷,谷洁,甄丽莎,杨玖,史龙翔,王小娟,高华.石油污染土壤中苯酚降解菌 ad049 的鉴定及降解特性.生态学报,2014,34(5):1140-1148.

Hu T, Gu J, Zhen L S, Yang J, Shi L X, Wang X J, Gao H. Identification and characteristics of phenol degrading bacteria ad049 screened from oil contaminated soil. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(5): 1140-1148.

石油污染土壤中苯酚降解菌 ad049 的鉴定及降解特性

胡 婷¹, 谷 洁^{1,2,*}, 甄丽莎^{1,3}, 杨 玖¹, 史龙翔¹, 王小娟¹, 高 华^{1,2}

(1. 西北农林科技大学资源环境学院, 杨凌 712100; 2. 陕西省循环农业工程技术研究中心, 杨凌 712100;

3. 陕西省微生物研究所, 西安 710043)

摘要:以苯酚为唯一碳源,采用富集培养方法,从陕北靖边油田污染土壤中分离获得 1 株苯酚高效降解菌(ad049),对菌株进行形态观察、生理生化检验及 16S rDNA 序列分析,确定该菌株为红球菌(*Rhodococcus*)。采用摇瓶振荡培养方法,研究了接种量、pH 值、温度和底物浓度对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响,同时对该菌株脱氢酶和邻苯二酚双加氧酶活性进行了测定。结果表明,ad049 具有较强的苯酚降解能力;在苯酚浓度 1000 mg/L,温度 35 °C, pH 值 8,接种量 5% 的培养条件下,反应 24 h 后,苯酚降解率达 99% 以上,且整个降解过程符合零级动力学方程,速率常数 $k_0 = 41.51$, 相关系数 $R^2 = 0.96$ 。通过邻苯二酚双加氧酶活性的测定,推测出该菌株降解苯酚的途径可能是以邻苯二酚 1,2 双加氧酶为主要途径进行邻位开环,辅以邻苯二酚 2,3 双加氧酶进行间位开环。

关键词:石油污染土壤;苯酚;生物降解;红球菌

Identification and characteristics of phenol degrading bacteria ad049 screened from oil contaminated soil

HU Ting¹, GU Jie^{1,2,*}, ZHEN Lisha^{1,3}, YANG Jiu¹, SHI Longxiang¹, WANG Xiaojuan¹, GAO Hua^{1,2}

1 College of Natural Resources and Environment, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China

2 The Research Center of Recycle Agricultural Engineering and Technology of Shaanxi Province, Yangling 712100, China

3 Shaanxi Province Microbiology Institute, Xi'an 710043, China

Abstract: A bacterium strain, which prove to be highly effective in phenol degrading, was isolated from soil contaminated with oil in Jingbian oilfield of Northern Shaanxi by using enrichment culture method with phenol as a sole carbon source. The bacterium was named ad049 and identified as *Rhodococcus* on the basis of the morphological characterizations, physiological and biochemical identification, and alignment analysis of the 16S rDNA sequence. Effects of inoculation quantity of ad049, pH, temperature, and concentration of phenol as a substrate on bacterial growth and the efficiency of ad049 on phenol degradation were also investigated by shaker culture method, and dehydrogenase and catechol dioxygenase were determined as well. Results showed that the ad049 had a strong biodegradation capability for phenol. It degraded 99% of the phenol in a concentration of 1000 mg/L in 24 hours under the incubating condition of 30 °C, pH 8, and 5% of ad049 inoculation. The degradation process could be described with zero order kinetics equation with the k_0 and R^2 values of 41.51 and 0.96, respectively. The degradation of phenol by ad049 might be achieved largely by 1,2-dioxygenase for ortho ring opening of benzene, and partly by catechol 2,3-dioxygenase for meta-cleavage.

基金项目:国家自然科学基金(4087119,41171203);农业部“948”项目(2010-Z20);陕西省科学院青年人才项目(2012K-34)

收稿日期:2013-06-09; 修订日期:2013-09-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gujoyer@sina.com

Key Words: oil contaminated soil; phenol; biodegradation; *Rhodococcus*

苯酚是燃料、农药、医药、造纸等行业的重要生产原料,也是多种人工合成物如杀虫剂生物降解过程中产生的一种中间代谢产物,是工业废水中主要的污染物之一。苯酚由于其严重的危害性已被美国环保署列入优先污染物和 65 种有毒污染物名单,我国也把苯酚列入中国环境优先污染物名单^[1-3]。大量的苯酚及其衍生物在水体和土壤中排放,污染了水体和土壤,对农作物造成危害,导致生态环境日趋恶化,甚至严重威胁到人类的身体健康,影响社会的可持续发展。利用微生物降解苯酚的方法具有对环境友好,成本低廉等优点,已成为修复苯酚污染环境的最有效途径,高效降解菌的筛选是微生物修复苯酚污染环境的关键^[4]。

目前,国内外已从各种受苯酚污染的环境中分离出参与降解苯酚的微生物有假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)^[5-6],芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)^[7],微球菌(*Micrococcus* sp.)^[8-9],醋杆菌(*Acetobacter* sp.)^[10],节杆菌(*Arthrobacterium* sp.)^[11],克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.)^[12],丛毛单胞菌(*Comamonas* sp.)^[13-14]等。Gennaro 等^[15]分离出 1 株混浊红球菌 R7 (*Rhodococcus opacus* R7),可以分别通过龙胆酸途径和邻苯二酚途径降解萘和二甲苯,该菌株的发现使得人们对红球菌降解芳烃的理论有了进一步的研究。沈锡辉等^[16]分离到 1 株既能降解苯酚又能降解萘及其它多种芳烃的红球菌 PNAN5 菌株(*Rhodococcus* sp. Strain PNAN5),苯酚浓度在 2—10 mmol/L 范围内、温度 20—40 °C、pH 7.0—9.0,菌株 PNAN5 降解苯酚的效率保持在 80%—100% 之间^[17]。本研究以采自陕北靖边的石油污染土壤作为土样,由于石油中的芳香烃类物质比较难降解,所以依次选取单环到多环芳烃类物质模拟石油污染提供碳源筛选菌株,获得了 1 株既可高效降解苯酚,又可降解邻苯二酚和间苯二酚等酚类化合物的菌株 ad049,对其进行形态特征观察,生理生化检验和 16S rDNA 序列分析鉴定,确定其为红球菌。本文测定了菌株 ad049 的脱氢酶和邻苯二酚双加氧酶活性,研究了接种量、pH 值、温度和不同初始苯酚浓度对菌株生长量和苯酚降解率的影响,并且对菌株降解苯酚的过程进行了动力学分析,以期为微生物修复苯酚污染环境提供

技术支撑。

1 试验部分

1.1 试验材料

1.1.1 菌种来源

本课题组用五点法采集陕北靖边油田污染土壤中 0—20 cm 的土样,经过分离筛选,获得 1 株苯酚高效降解菌株命名为 ad049,供后续试验使用。

1.1.2 培养基

(1) LB 液体培养基(g/L):去离子水 1 L,酵母膏 3 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,pH 值 7.0—7.2。

(2) LB 固体培养基:LB 液体培养基中加入琼脂 15—20 g/L。

(3) 苯酚无机盐液体培养基(g/L):NH₄Cl 1.1 g,K₂HPO₄ 1 g,NaCl 0.5 g,KCl 0.2 g,MgSO₄·7H₂O 0.2 g,FeSO₄ 0.001 g,CaCl₂ 0.01 g,pH 值 7—8。微量元素 1 mL,苯酚按实验需要量添加,蒸馏水定容至 1 L。

微量元素溶液:H₃BO₃ 0.057 g,MnSO₄·7H₂O 0.043 g,ZnSO₄·7H₂O 0.043 g,CuSO₄·5H₂O 0.04 g,(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 0.037 g,蒸馏水定容至 1 L。

以上培养基均在 121 °C 高压蒸汽灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株 ad049 的生理生化及 16S rDNA 鉴定

菌株 ad049 的生理生化鉴定参考文献^[18]进行。

菌株 ad049 的 16S rDNA 序列分析参考文献^[19]进行。采用细菌通用引物 F27 (5'-GAGTTTG ATCATGGCTCAG-3') 及 R1492 (5'-GGTTACCTTG TTACGATC-3') 进行扩增。16S rDNA 测序工作由华大基因完成。将 16S rDNA 序列通过 Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>) 进行相似序列搜索,根据最相似序列确定其系统发育地位。用 Clust X 对序列进行对位排序,MEGA4.1 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 计算遗传距离,邻结法(Neighbor-joining) 构建系统发育树状图。

1.2.2 苯酚含量的测定

采用 4-氨基安替比林直接分光光度法测定苯酚含量^[20]。

1.2.3 菌株 ad049 生长曲线的测定

按 1% 的接种量将菌悬液接入 LB 液体培养基

中 35 ℃, 180 r/min 振荡培养, 每 2 h 取一次样, 用分光光度计于 600 nm 处测定光吸收值 (OD_{600}), 试验做 3 个重复。以 OD_{600} 表示该菌株的生长量 (下同)。

1.2.4 菌株 ad049 降解特性的研究

将菌株 ad049 接种在 LB 液体培养基中培养 16 h (35 ℃, 180 r/min) 后, 用 0.85% 的无菌生理盐水稀释至 $OD_{600}=0.1$ 制成菌悬液, 接种于含有 1000 mg/L 苯酚的无机盐液体培养基中, 按设定的接种量、pH (用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节)、温度和初始苯酚浓度进行摇床振荡培养。24 h 后, 测定 OD_{600} 和培养液中苯酚的剩余含量, 计算苯酚的降解率, 试验做 3 次重复。

1.2.5 菌株 ad049 酶活性的测定

(1) 脱氢酶活性测定

将菌液于 10000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 收集菌体细胞, 用生理盐水反复冲洗 3 次, 用蒸馏水配成菌体湿重为 15 g/L 的细胞悬浮液。具体测定方法参考文献^[21]。

(2) 邻苯二酚双加氧酶活性的测定

将菌液于 10000 r/min 离心 30 min, 上清液用来测胞外酶活性。

将菌液于 10000 r/min 离心 15 min 收集菌体, 以 pH 为 8.0 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液洗涤细胞 2 次, 然后悬浮在相同的缓冲液中超声处理, 10000 r/min 离心 1 h, 其上清液即为细胞裂解液, 用于胞内酶活性测定^[16]。

C120 和 C230 的胞内酶活性参考文献^[22] 进行测定。一个酶单位 (U) 定义为 3 mL 测定体积中 1 min 内催化产生 1 μmol 粘糠酸和 2-羟基粘糠酸所需的酶量 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)。

1.2.6 菌株 ad049 降解苯酚的动力学分析

按 5% 的接种量将菌株 ad049 分别接种于苯酚浓度为 500、1000 和 1500 mg/L 的液体无机盐培养基中, 每隔 4 h 测定苯酚剩余含量, 构建菌株 ad049 降解苯酚的动力学模型, 试验做 3 个重复。

2 结果与讨论

2.1 菌株 ad049 生理生化特征及系统发育树构建

以苯酚为唯一碳源, 采用富集、驯化培养方法, 从陕北靖边油田污染土壤中分离得到一株苯酚降解

菌株, 命名为 ad049。该菌株在 LB 培养基上生长时为规则的圆形, 边缘整齐, 表面凸起, 易挑起, 菌落颜色呈粉红色, 革兰氏阳性。对菌株 ad049 进行生理生化鉴定, 其生理生化特征与嗜吡啉红球菌 (*Rhodococcus pyridinivoran*)^[23] 不完全一致 (表 1)。

将菌株 ad049 的 16S rDNA 测序结果提交到 NCBI 上进行 BLAST, 其核苷酸的序列同源性分析结果表明 ad049 和红球菌属 (*Rhodococcus*) 亲缘关系最近并聚为一簇, 其同源性高达 100%, 与 Genbank 发布的嗜吡啉红球菌序列的相似度达到 98% (图 1)。综合以上生理生化鉴定特征及 16S rDNA 基因序列同源性鉴定该菌株为红球菌属。

表 1 菌株 ad049 的生理生化鉴定特征

Table 1 The physiological characteristics of strain ad049			
测试项目 Test item	测试结果 Test result	测试项目 Test item	测试结果 Test result
革兰氏染色	+	甘露醇	+
硝酸还原	-	D-麦芽糖	+
产硫化氢	-	D-山梨醇	+
酯酶	-	蔗糖	+
V-P	-	果糖	+
脲酶	-	乳糖	+
氧化酶	-	木糖	+
过氧化氢	+	柠檬酸盐	+
淀粉	-	乙酸盐	+
明胶	-	琥珀酸盐	+
葡萄糖	+		

+: 阳性; -: 阴性

2.2 菌株 ad049 的常规生长曲线

如图 2, 测定了 ad049 在 LB 液体培养基中 72 h 内的生长量, 结果表明, 在培养前 14 h, 菌株呈对数生长, 14—68 h 之间进入生长稳定期, 从 68 h 开始进入衰亡期。菌株生长进入稳定期活性最高, 并可相对持续一定时间, 因此, 后期试验采用培养 16 h 的菌液。

2.3 菌株 ad049 降解特性的研究

2.3.1 接种量对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

接种量对处理体系处理效果及处理效率有直接的影响。按 1%、3%、5%、7%、9%、11%、13% 的接种量将菌悬液接入 1000 mg/L、pH=8 的苯酚无机盐液体培养基中, 35 ℃, 180 r/min 培养。如图 3, 接种量在 1%—5% 之间, 菌株 ad049 的生长量和苯酚降解

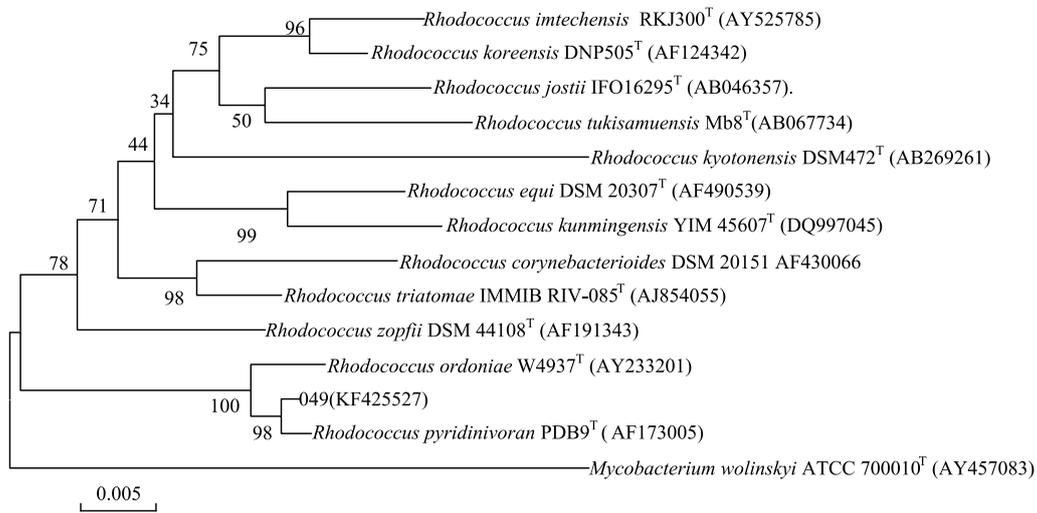


图 1 ad049 的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of ad049

括号内为 Genbank 登录号;分支点上的数字为自展值百分比;线段 0.005 为核苷酸替换率

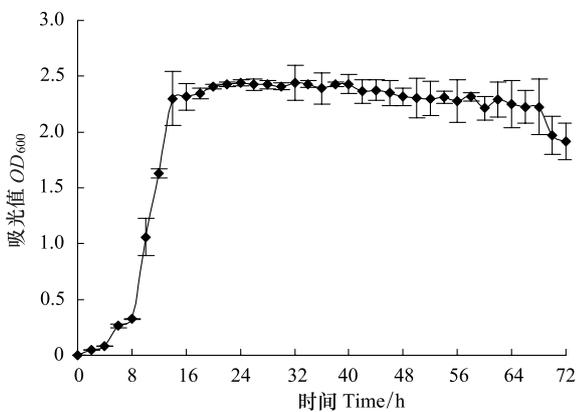


图 2 ad 049 的生长曲线

Fig.2 Growth curve of ad049

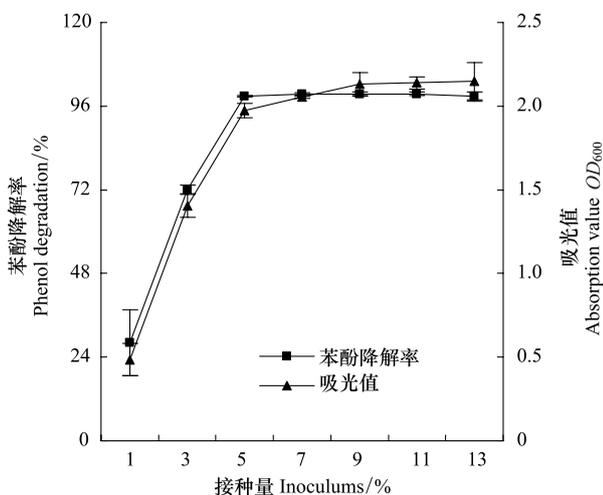


图 3 不同接种量对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

Fig.3 Effect of inoculums on the growth and phenol degradation of ad049

率均随接种量的增加而快速增大, OD_{600} 值从 0.49 增大到 1.97, 苯酚降解率从 28.21% 增大到 98.75%; 在接种量大于 5% 时, 菌的生长量和苯酚降解率基本稳定。这是由于接种量过小, 菌数量少, 不能充分利用营养物质和苯酚, 使得苯酚降解率偏低; 增大接种量, 菌有足够可以利用的营养物质进行生长, 因而菌对苯酚的降解率随之升高。结果表明, 适当的增加接种量有利于快速去除苯酚。

2.3.2 pH 对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

按 5% 的接种量将菌株 ad049 接种于初始苯酚浓度为 1000 mg/L 的无机盐液体培养

基中, 调节培养液的 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10、11 和 12, 35 °C, 180 r/min 培养, 来研究 pH 对菌株的生长量和苯酚降解率的影响。如图 4, 在初始 pH < 8 时, 菌株 ad049 的生长量和苯酚降解率随 pH 值的增大而增大; 在 pH = 8 时, 菌株的生长量 ($OD_{600} = 1.82$) 和苯酚降解率 (99.83%) 都达到了最大, 但是与 pH 值为 9、10、11 没有显著性的差异 ($P > 0.05$)。当 pH > 11 时, 随着 pH 值的增大, 菌株 ad049 的生长量和苯酚降解率迅速下降。结果表明稍偏碱性的环境更利于菌株 ad049 的生长, 其最佳生长和降解苯酚的 pH 为 8。有研究表明, 苯酚对微生物的毒性作用随 pH 值的增大而减小, 这是由于苯酚在水溶液中为酸性 (pH = 5.2), 碱性环境降低了苯酚本身的毒性从而加快了微生物的新陈代谢^[24]。在偏酸或偏碱的条件下, pH 可能通过影响

苯酚的离子化程度和苯酚降解过程中相关酶的活性,使得微生物对苯酚的利用能力下降,从而抑制了微生物对苯酚的降解。刘兴平^[25]研究表明,pH对苯酚的化学毒性有明显影响,当pH较低时,苯酚可能以化合态存在,pH较高时,以游离态存在,更易于苯酚的降解。

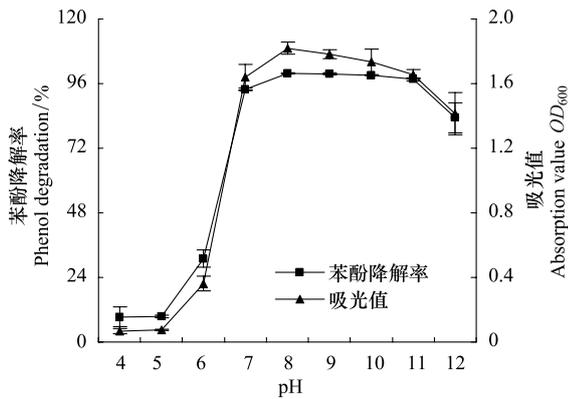


图4 不同 pH 对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

Fig.4 Effect of pH on the growth and phenol degradation of ad049

2.3.3 温度对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

按 5% 的接种量将菌株 ad049 接种于初始苯酚浓度为 1000 mg/L、pH=8 的无机盐液体培养基中,调节温度分别为 25、30、35、40、45 °C,180 r/min 培养来研究温度对菌株的生长量和苯酚降解率的影响。结果如图 5,菌株 ad049 的生长量和苯酚降解率是一致的。25—35 °C,菌株 ad049 的苯酚降解率以及生长量(OD_{600} 值)随温度的升高而增加,35—40 °C 比较适合菌株的生长,菌株在该温度范围内 OD_{600} 值达到了 1.8 以上,其中 35 °C 菌株 ad049 的苯酚降解

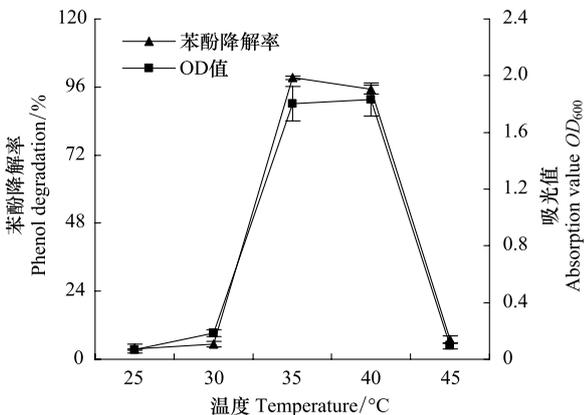


图5 不同温度对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

Fig.5 Effect of temperature on the growth and phenol degradation of ad049

率最高达到了 99.29%。继续升高温度,高温使得菌中降解苯酚的相关酶活性降低甚至失去,菌株 ad049 的生长量和苯酚降解率迅速减小。温度的变化直接影响酶促反应速率,从而影响细胞内部的物质合成及对苯酚的降解。因此,35—40 °C 比较适合菌的生长以及对苯酚的降解。

2.3.4 苯酚浓度对 ad049 生长量和苯酚降解率的影响

配制苯酚浓度为 500、750、1000、1250、1500 mg/L 的无机盐液体培养基,pH=8。按 5% 的接种量将菌悬液接入 50 ml 上述无机盐液体培养基中,35 °C、180 r/min 振荡培养。如图 6,菌株 ad049 在苯酚浓度为 500—1500 mg/L 的无机盐培养基中均能良好的生长,并且苯酚浓度越大,菌的延滞期越长。培养 8 h 后,菌株 ad049 在苯酚浓度为 500 mg/L 的无机盐液体培养基中 OD_{600} 达到了 1.16,而 750、1000、1250、1500 mg/L 苯酚浓度菌株的 OD_{600} 分别为 0.44、0.34、0.26、0.08。培养 24 h 以后,1000 mg/L 和 1250 mg/L 苯酚浓度菌株的 OD_{600} 分别为 1.73 和 1.33,而 1500 mg/L 的 OD_{600} 为 0.69。苯酚浓度为 1500 mg/L 的培养基中菌株生长的比较缓慢。这是由于一方面苯酚为菌株的生长提供唯一碳源,如果浓度太低,菌株不能获得充足营养,其生长将会受到抑制,另一方面苯酚的毒性较大,浓度超过一定值时就会对菌株的生长造成危害,抑制其生长。结果表明,1000 mg/L 的苯酚浓度比较适合该菌株的生长。

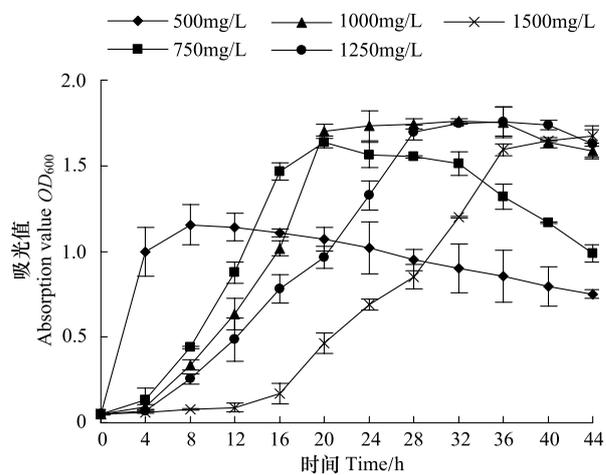


图6 不同苯酚浓度对 ad049 生长量的影响

Fig.6 Effect of phenol concentration on the growth of ad049

由图 7 可知,菌株 ad049 在苯酚浓度为 500—1500 mg/L 的无机盐培养基中均能良好的生长,利用

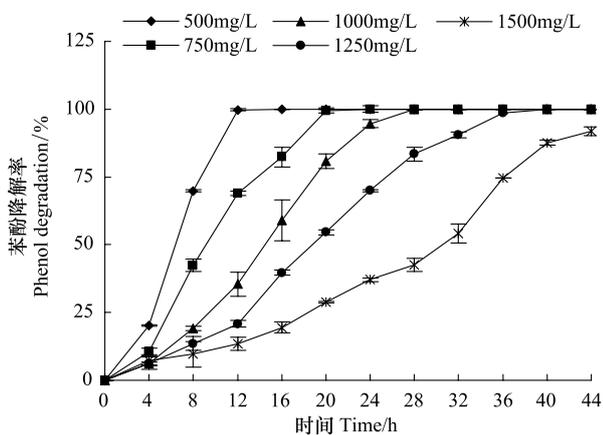


图7 不同苯酚浓度对 ad049 苯酚降解率的影响

Fig.7 Effect of phenol concentration on the phenol degradation of ad04

降解苯酚。培养 12 h 后,500 mg/L 苯酚浓度的降解率达到了 99.79%,而 750、1000、1250、1500 mg/L 苯酚浓度的降解率分别为 68.88%、35.43%、20.83%、13.45%。其中 750、1000、1250 mg/L 苯酚浓度的降解率达到 95% 以上分别需要 20、24、36 h,而 1500 mg/L 苯酚浓度培养 44 h 后苯酚降解率只达到了 91.92%。由图 6 和图 7 可以看出随着培养时间延长,菌株的生长量增大,菌株的苯酚降解率也增大,菌株的生长量和苯酚降解率表现出很好的一致性。以上结果说明,苯酚对该菌有一定的毒害抑制作用,1000 mg/L 最适合菌株的生长和对苯酚的降解,高浓度时苯酚抑制菌体的生长和繁殖,影响菌体对苯酚的降解。另外,在高浓度的条件下,延长培养时间会有效提高苯酚降解效率。晁群芳等^[26]从乌鲁木齐炼油厂活性污泥中分离出 1 株苯酚降解菌,在其最佳条件下,苯酚浓度为 300—500 mg/L 时降解良好,大于 1000 mg/L 时无明显降解效果。岳黎等^[27]从石油污染土壤中分离得到 1 株苯酚降解菌经鉴定为黏质沙雷氏菌,24 h 内 10 mmol/L 的苯酚降解率达到 99.29%。董小培等^[28]从兰州石化污水处理厂分离到两株苯酚降解菌 lsd03,lsd05 在 1000 mg/L 的苯酚无机盐培养基中达到对数生长期分别需要 80 h 和 60h。褚蓓等^[29]从钢铁焦化厂污水中分离到 4 株菌,72 h 可将 1500 mg/L 的苯酚完全降解,最高可耐受 3000 mg/L 的苯酚。与前人分离的菌株相比 ad049 的降解能力相对较强,由于与含酚废水相比,石油污染的土壤中苯酚含量较低,所以分离的菌株活性相对比较弱。因此,菌株 ad049 可以为微生物

修复苯酚污染提供高效菌源。

2.4 菌株 ad049 的酶活性

2.4.1 菌株 ad049 的脱氢酶活性

脱氢酶能使有机底物的氢原子活化并传递给特定的受氢体,在微生物降解有机物机制中起主要作用。脱氢酶的活性可以用来反映处理体系中活性微生物的量及其对有机物的降解能力。因此,可以通过测定菌液的脱氢酶活性来评价该菌对有机物的降解能力^[30]。

本研究通过 TTC 法测定了菌株 ad049 的脱氢酶活性为 $(71.07 \pm 9.01) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。宋广梅^[21]也研究测定了几株高效石油降解菌株的脱氢酶活性,其脱氢酶活性大小为 5—119 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,菌株 ad049 与其相比脱氢酶活性相对较高。因此,可以说明菌株 ad049 对于有机底物苯酚的降解能力相对比较高。

2.4.2 菌株 ad049 的邻苯二酚双加氧酶活性

邻苯二酚双加氧酶 (Catechol Dioxygenase) 是芳香族化合物代谢途径中的关键酶,存在于一些芳香族化合物的降解菌中。在已研究的苯酚降解菌中,苯酚的降解产物邻苯二酚或者通过邻苯二酚 1,2-双加氧酶 (C12O) 进行邻位开环,或者通过邻苯二酚 2,3-双加氧酶 (C23O) 在两个羟基之旁间位开环,然后通过不同的下游途径进入三羧酸循环^[23]。为了研究 ad049 菌株中苯酚的降解途径,测定了 C12O 和 C23O 的酶活性,测定结果如表 2 所示。

表 2 菌株 ad049 的 C12O 和 C23O 酶活性

Table 2 C12O and C23O enzyme of ad049

酶 enzyme	胞内 U / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) endoenzyme	胞外 U / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) exoenzyme
C12O	105.93±12.87	19.87±4.32
C23O	36.14±1.93	10.11±3.01

结果表明,在以苯酚为底物的情况下,菌株 ad049 的邻苯二酚 1,2-双加氧酶的胞内和胞外酶活分别为 $(105.93 \pm 12.87) \text{ U}$ 和 $(19.87 \pm 4.32) \text{ U}$,邻苯二酚 2,3-双加氧酶的胞内和胞外酶活分别为 $(36.14 \pm 1.93) \text{ U}$ 和 $(10.11 \pm 3.01) \text{ U}$ 。同一培养条件下该菌的细胞裂解液和培养上清液中酶活性有显著的差异,说明这株菌中的邻苯二酚酶是胞内酶,其酶蛋白绝大部分存在于细胞内,分泌到胞外的数量比较有限。根据以上结果可以推测出在该实验条件下,菌株 ad049 可能是先将苯酚降解为邻苯二酚,接

着以邻苯二酚 1,2 双加氧酶为主要途径进行邻位开环,辅助以邻苯二酚 2,3 双加氧酶进行间位开环,彻底降解苯酚。推测得出的菌株 ad049 苯酚降解途径与张瑾华^[31]等研究的红球菌 DF51 降解苯酚的途径相似,都是以邻苯二酚 1,2 双加氧酶为主要途径,辅助以邻苯二酚 1,2 双加氧酶进行降解。

2.5 菌株 ad049 动力学分析

为了研究菌株 ad049 降解苯酚的动力学,分别对菌株在 500、1000、1500 mg/L 苯酚浓度下的降解过程进行了分析。菌株 ad049 对苯酚的代谢动力学可以用零级动力学方程 $C = -k_0t + A$ 来描述,式中 C 为在时间 t 时的苯酚浓度 (mg/L), k_0 是速率常数 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), A 是常数。

表 3 菌株 ad049 的动力学模型

Table 3 Kinetic model of ad049

初始苯酚浓度 Initial phenol concentration /(mg/L)	动力学方程 Kinetic equation	速率常数 Rate constant /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	R^2
500	$C = -42.19t + 522.31$	42.19	0.99
1000	$C = -41.51t + 1122.40$	41.51	0.96
1500	$C = -32.32t + 1752.90$	32.32	0.95

如表 3 所示,在 500、1000、1500 mg/L 苯酚浓度下,零级动力学方程的速率常数分别为 42.19、41.51 和 32.32 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 相关系数 R^2 分别为 0.99、0.96 和 0.95, 相关系数比较大且接近于 1, 说明菌株 ad049 降解苯酚的过程能够很好地符合零级动力学模型。另外可以得出,随着苯酚浓度的增大,速率常数减小,降解速度减小,因此降解所需要的时间增大。Qiao Lin^[32]等在副球菌降解嘧啶的研究中也得出相似的结论,固定化菌和游离菌对于嘧啶的降解都很好的符合零级动力学方程。

3 结论

(1) 从陕北靖边油田污染土壤中筛选出了一株高效苯酚降解菌株命名为 ad049, 通过形态观察、生理生化检验和 16S rDNA 序列比对, 确定该菌株为红球菌属 (*Rhodococcus*)。

(2) 对菌株 ad049 降解特性进行了研究, 得到该菌株具有较强的苯酚降解能力, 在初始苯酚质量浓度为 1000 mg/L, 温度为 35 °C, pH 值为 8, 接种量为 5% 的条件下培养 24 h 后, 可使 1 000 mg/L 的苯酚

降解率达到 99% 以上。

(3) 测定了菌株 ad049 的脱氢酶活性和邻苯二酚双加氧酶活性, 与已研究的苯酚降解菌相比, 该菌株的酶活性相对较高, 说明该菌降解苯酚的效果比较好。并且推测菌株 ad049 降解苯酚的途径是以邻苯二酚 1,2 双加氧酶为主要途径进行邻位开环, 辅助以邻苯二酚 2,3 双加氧酶进行间位开环。

(4) 对菌株 ad049 在不同苯酚浓度下的降解过程进行动力学分析, 得到整个降解过程符合零级动力学方程。

References:

- [1] Zhu L Z, Xu X, Hu S, Zou Z L, Bao W M, Chen B L. Adsorption and Partition of Aniline and Phenol on West Lake's Sediments. *Environmental Science*, 2000, 21(2): 28-31.
- [2] Ramos A F, Gomez M A, Hontoria E, Gonzalez-Lopez J. Biological nitrogen and phenol removal from saline industrial wastewater by submerged fixed-film reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 142(2): 175-183.
- [3] Jin X C. *Organic Compound Pollution Chemistry-Toxic Organic Pollution Chemistry*. Beijing: Press of Qinghua University, 1990: 250-265.
- [4] Chapalmandugu S, Chaudjry G R. Microbial and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates. *Critical reviews in biotechnology*, 1992, 12(5/6): 357-389.
- [5] Paraskevi N, Euripides G. Effect of temperature and additional carbon source on phenol degradation by an indigenous soil *Pseudomonad*. *Biodegradation*, 2005, 16(10): 403-413.
- [6] Watanabe K, Teramoto M, Futamata H, Harayama S. Molecular detection, isolation, and physiological characterization of functionally dominant phenol-degrading bacteria in activated sludge. *Applied Environmental Microbiology*, 1998, 64(11): 4396-4402.
- [7] Tang Y, Liu M Z, Liang F L, Feng L, Liu R L. Identification and Characterization of a Novel Thermophilic *Geobacillus* Degrading Phenol. *Microbiology*, 2006, 33(5): 39-44.
- [8] Pan L H, Jiang S T, Liu P D, Li H X. Screening and Characterization of a phenol-degrading bacterium. *Microbiology*, 2003, 30(5): 78-81.
- [9] Zou K X, Wang G J, Zeng Z J. Screening and degrading characteristics of high efficiency phenol degrading bacteria under low temperature conditions. *Mineral Resources and Geology*, 2007, 21(3): 366-370.
- [10] Chen W B, Han L Z, Xie H, Ding P X, Liu X G. Study On Isolation, Domestication and Immobilization of Phenol-degrading Bacteria Strains. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2007, 35(3): 19-22.

- [11] Maria U, Karolina N, Cecilia J, John S, Janet K. J. Degradation of mixture of phenolic compounds by *Arthrobacter chlorophenolicus* A6. *Biodegradation*, 2008, 19(4):495-505.
- [12] Li J, Bai T, Rao J, Song C Q. Isolation and Degrading Characteristics of a Phenol-degrading Bacterial Strain with High Efficiency. *Microbiology*, 2007, 34(3):492-495.
- [13] Watanabe K, Hino S, Onodera K, Kajie S, Takahashi N. Diversity in kinetics of bacterial phenol-oxygenating activity. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 1996, 81(6):560-563.
- [14] Arm H, Akahiba S, Ohishi T, Maeda M, Kudo T. Adaptation of *Cornamonas testosteroni* TAM₁ to utilize phenol; organization and regulation of the genes involved in phenol degradation. *Microbiology*, 1998, 144(10):2895-2903.
- [15] Gennaro P D, Rescalli E, Galli E. Characterization of *Rhodococcus opacus* R7, a strain able to degrade naphthalene and o-xylene isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Research in Microbiology*, 2001, 152(7):641-651.
- [16] Shen X H, Liu Z P, Wang B J, Liu S J. Isolation, identification of phenol-degrading *Rhodococcus* sp. strain PNAN5 and characterization of its ring-cleavage dioxygenases. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24(3):482-486.
- [17] Sun Y, Yang X Q, Qian S J. Cloning and expression of polychlorobiphenyl / biphenyl degrading gene from *Rhodococcus pyridinivorans*. *China Environmental Science*, 2004, 24(6):734-737.
- [18] Dong X Z, Cai M Y. Common bacteria manual system identification. Beijing: Press of Science, 2001:370-399.
- [19] Yang X, Zang W, Li S W, Zhang M X, Liu X G, Chen T, Hu P, Wu X K, Tai X S, Chen W. Study on isolation, identification and physiological characteristics of PAHs-degrading bacteria. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2012, 32(5):1033-1040.
- [20] He X L. Screening, Identification and Degrading Characteristics of Phenol Degrading Bacterial Strain [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2009.
- [21] Song G M. Isolation, Identification and Community Construction of High Effective Petroleum-Degrading Bacteria [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2009.
- [22] Liu Z, Yang H, Huang Z, Zhou P, Liu S J. Degradation of aniline by newly isolated, extremely aniline-tolerant *Delfia* sp. AN₃. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2002, (58):679-682.
- [23] Yoon J H, Kang S S, Cho Y G. *Rhodococcus pyridinivorans* sp. nov., a pyridine-degrading bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(6):2173-2180.
- [24] Tang W, Sun X Y. Influence of PH Value to Biologic Toxicity of Phenol Compound. *Heilongjiang Environmental Journal*, 2005, 29(1):45-48.
- [25] Liu X P. Selection and Screening of Phenol Degrading Microorganism under Aerobic Conditions and Its Degrading Characteristics. *Environmental Protection Science*, 2008, 34(2):38-40.
- [26] Chao Q F, Zhou J, Fang X X, Lan Y, Lou K. Studies on Isolation and Degrading Characteristics of Phenol-degrading Bacteria ZJ-1. *Biotechnology*, 2009, 19(2):57-59.
- [27] Yue L, Tang Y, Yang Y, Liu L, Song Y, Tan H, Wang X Y. Screening and Identification of A High Efficiency Phenol Degrading Bacteria from Oil-contaminated Soil and Studying Its Characterization. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(20):12295-12300.
- [28] Dong X P, Zhao Z G, Zhang G S, Zhang W, Zhang M X. Identification and physiological characterization of strains isolated from petrochemical sludge. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 2010, 46(5):107-111.
- [29] Zhu B, Wang Y F, Wang H L, Ma N, Li B J, Liu G S. Screening of Phenol-Degrading Bacterial Strain. *Journal of Henan Normal University (Natural Science)*, 2008, 36(2):139-142.
- [30] Lu X, Chen L, Li J, Chen W L. Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil in Northwest of China by *Pseudomonas* sp. Nwu1-mu. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(5):910-917.
- [31] Zhang J H, Li P L, Wang J R, Li C H, Yang X Q. Isolation, Identification and Immobilization of *Rhodococcus* sp. DF51 and Its Characterization of Phenol Degradation. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(24):410-415.
- [32] Qiao Lin, Wen Donghui, Wang Jianlong. Biodegradation of pyridine by *Paracoccus* sp. KT-5 immobilized on bamboo-based activated carbon. *Bioresource Technology*, 2010, (101):5229-5234.

参考文献:

- [1] 朱利中,徐霞,胡松,邹忠利,鲍卫民,陈宝梁.西湖底泥对水中苯胺、苯酚的吸附性能及机理. *环境科学*, 2000, 21(2):28-31.
- [3] 金相灿. 有机化合物污染化学-有毒有机物污染化学. 北京:清华大学出版社, 1990:250-265.
- [7] 唐赞,刘沐之,梁风来,冯露,刘如林.一株嗜热菌的分离鉴定及其苯酚降解特性. *微生物学通报*, 2006, 33(5):39-44.
- [8] 潘利华,姜邵通,刘鹏达,李慧星.苯酚降解菌的筛选及其降解特性的初步研究. *微生物学通报*, 2003, 30(5):78-81.
- [9] 邹凯旋,王桂葵,曾志江.低温条件下高效苯酚降解菌的筛选及降解特性. *矿产与地质*, 2007, 21(3):366-370.
- [10] 陈文波,韩丽珍,谢和,丁朋晓,刘晓光.苯酚降解菌的分离、驯化与固定化研究. *贵州农业科学*, 2007, 35(3):19-22.
- [12] 李江,白涛,饶军,宋钞穷.苯酚高效降解菌的筛选和降解特性研究. *微生物学通报*, 2007, 34(3):492-495.
- [16] 沈锡辉,刘志培,王保军,刘双江.苯酚降解菌红球菌 PNAN5 菌株 (*Rhodococcus* sp. strain PNAN5) 的分离鉴定、降解特性及其开环双加氧酶性质研究. *环境科学学报*, 2004, 24(3):

- 482-486.
- [17] 孙艳,杨秀清,钱世钧. 嗜吡啶红球菌多氯联苯降解基因的克隆与表达. 中国环境科学, 2004, 24(6): 734-737.
- [18] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 370-399.
- [19] 杨轩,张威,李师翁,张满效,刘光锈,陈拓,胡平,伍修锟,台喜生,陈伟. 多环芳烃降解菌的分离鉴定及其生理特性研究. 环境科学学报, 2012, 32(5): 1033-1040.
- [20] 何小丽. 苯酚降解菌的筛选、鉴定及其降解特性的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2009.
- [21] 宋广梅. 高效石油降解细菌的筛选鉴定和菌群构建[D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- [24] 唐伟,孙晓怡. pH 值对酚类化合物生物毒性的影响. 黑龙江环境通报, 2005, 29(1): 45-48.
- [25] 刘兴平. 苯酚降解菌的分离及降解特性研究. 环境保护科学, 2008, 34(2): 38-40.
- [26] 晁群芳,周俊,方新湘,兰雁,娄恺. 苯酚降解菌 ZJ-1 的分离及降解特性研究. 生物技术, 2009, 19(2): 57-59.
- [27] 岳黎,唐赟,杨艳,刘亮,宋嫣,谭洪,王晓玉. 石油污染土壤中高效苯酚降解菌的分离鉴定及特性研究. 安徽农业科学, 2011, 39(20): 12295-12300.
- [28] 董小培,赵志光,章高森,张威,张满效. 石化污泥分离、筛选菌株的鉴定及生理特性. 兰州大学学报(自然科学版), 2010, 46(5): 107-111.
- [29] 褚蓓,王艳芬,王海磊,马宁,李冰洁,刘国生. 降解苯酚类污染物细菌的分离筛选. 河南师范大学学报(自然科学版), 2008, 36(2): 139-142.
- [30] 陆昕,陈立,李娟,陈五岭. 假单胞菌 *Nwul-mu* 对陕北石油污染土壤的生物修复作用研究. 农业环境科学学报, 2010, 29(5): 910-917.
- [31] 张谨华,李鹏丽,王婧人,李彩虹,杨秀清. 苯酚降解菌 DF51 的分离鉴定、降解特性及其固定化的研究. 中国农学通报, 2009, 25(24): 410-415.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.34, No.5 Mar., 2014 (Semimonthly)
CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Advance in the study on drought index LI Bozhen, ZHOU Guangsheng (1043)
- State-of-the-art review of the impact of climatic change on bioavailability of mineral elements in crops
..... LI Longqing, WU Zhengyun, ZHANG Qiang, et al (1053)
- Mechanism, hypothesis and evidence of herbivorous insect-host interactions in forest ecosystem
..... ZENG Fanyong, SUN Zhiqiang (1061)
- Approach of nematode fauna analysis indicate the structure and function of soil food web
..... CHEN Yunfeng, HAN Xuemei, LI Yufei, et al (1072)
- A spatial econometric analysis of water footprint intensity convergence on a provincial scale in China
..... ZHAO Liangshi, SUN Caizhi, ZHENG Defeng (1085)
- Pattern dynamics of vegetation coverage of Plateau Valley-City in the Western China; a case study in Xining
..... GAO Yun, XIE Miaomiao, FU Meichen, et al (1094)
- Scale effect analysis of the influence of land use and environmental factors on surface soil organic carbon; a case study in the
hilly and gully area of Northern Shaanxi Province ZHAO Mingyue, ZHAO Wenwu, ZHONG Lina (1105)
- Effects of *Eisenia foetida* and *Amyntas morrisi* on the chemical and biological properties of soil amended with the paper mill
sludge CHEN Xufei, ZHANG Chi, DAI Jun, et al (1114)

Autecology & Fundamentals

- Regulation of potassium supply and signal inhibitors on acetate effluxes by ectomycorrhizal fungi
..... YANG Hongjun, LI Yong, YUAN Ling, et al (1126)
- Arsenic induces guard cell death in leaf epidermis of *Vicia faba* XUE Meizhao, YI Huilan (1134)
- Identification and characteristics of phenol degrading bacteria ad049 screened from oil contaminated soil
..... HU Ting, GU Jie, ZHEN Lisha, YANG Jiu, et al (1140)
- Physiological response of *Medicago sativa* L. to copper stress by FTIR spectroscopy
..... FU Chuan, YU Shunhui, HUANG Yimin, et al (1149)
- Effects of sowing date on 2-acetyl-1-pyrroline content and yield of late season aromatic rice
..... YANG Xiaojuan, TANG Xiangru, WEN Xiangcheng, et al (1156)
- Effects of exogenous calcium (Ca) on tolerance of *Allium cepa* var. *agrogarum* L. to cadmium (Cd) stress
..... WANG Qiaoling, ZOU Jinhua, LIU Donghua, et al (1165)
- The study of *Vitex negundo* shrubs canopy biomass inversion in Beijing Jundu mountainous area based on vegetation indices
..... GAO Mingliang, GONG Zhaoning, ZHAO Wenji, et al (1178)
- Comparison study of sulfur dioxide resistance of three warm-season turf grasses LI Xi, WANG Lihua, LIU Wei, et al (1189)
- Geostatistical analysis on spatial dynamics of the apterous *Myzus persicae* in flue-cured tobacco fields of Enshi tobacco area, China ...
..... XIA Pengliang, WANG Rui, WANG Changjun, et al (1198)
- Patterns of seed predation and removal of Mongolian oak (*Quercus mongolica*) by rodents
..... ZHANG Jinghong, LIU Bingwan (1205)
- Effect of available burrow densities of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) on leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry of dominant
plants and soil in alpine meadow LI Qianqian, ZHAO Xu, GUO Zhenggang (1212)

Overcompensation and competitive effects of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* after low temperature and light stresses XIE Xiaoling, ZHOU Rong, DENG Zifa (1224)

Population, Community and Ecosystem

The main nest predators of birds breeding in artificial nest-boxes and its influencing factors ZHANG Lei, LI Donglai, MA Ruiqiang, et al (1235)

Temporal and spatial variation of macrobenthic communities in the intertidal zone of Xunpu, Quanzhou Bay ZHUO Yi, CAI Lizhe, GUO Tao, et al (1244)

The influence of variables at different scales on stream benthic macroinvertebrates in Luanhe River Basin ZHANG Haiping, WU Dayong, WANG Zhaoming, et al (1253)

Relationships between environmental variables and seasonal succession in phytoplankton functional groups in the Hulan River Wetland LU Xinxin, LIU Yan, FAN Yawen (1264)

Habitat assessment of sika deer (*Cervus nippon*) in the Taohongling National Nature Reserve, Jiangxi Province, China LI Jia, LI Yankuo, MIAO Lujun, et al (1274)

Landscape, Regional and Global Ecology

The comprehensive geographical regionalization of China supporting natural conservation GUO Ziliang, CUI Guofa (1284)

Response of vegetation coverage to climate change in Mongolian Plateau during recent 10 years MIAO Lijuan, JIANG Chong, HE Bin, et al (1295)

Impact analysis of human activities and climate change on Honghu lake's spring drought LIU Kequn, LIANG Yitong, ZHOU Jinlian, et al (1302)

Lakes evolution of central Wuhan during 2000 to 2010 DAN Yongli, WANG Hongzhi, ZHANG Huan, et al (1311)

Resource and Industrial Ecology

The spatial distribution of *Ophiocordyceps sinensis* suitability in Sanjiangyuan Region LI Fen, WU Zhifeng, XU Cui, et al (1318)

《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 象伟宁 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 34 卷 第 5 期 (2014 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 34 No. 5 (March, 2014)

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