

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

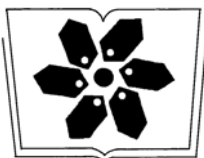
Acta Ecologica Sinica



第34卷 第11期 Vol.34 No.11 **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 11 期 2014 年 6 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

土壤大孔隙流研究现状与发展趋势..... 高朝侠,徐学选,赵娇娜,等 (2801)

能源基地生态修复

我国大型煤炭基地建设的生态恢复技术研究综述..... 吴 钢,魏 东,周政达,等 (2812)

国家大型煤电基地生态环境监测技术体系研究——以内蒙古锡林郭勒盟煤电基地为例.....

..... 魏 东,全 元,王辰星,等 (2821)

基于 DPSIR 模型的国家大型煤电基地生态效应评估指标体系 周政达,王辰星,付 晓,等 (2830)

西部干旱区煤炭开采环境影响研究..... 雷少刚,卞正富 (2837)

露天煤矿区生态风险受体分析——以内蒙古平庄西露天煤矿为例..... 高 雅,陆兆华,魏振宽,等 (2844)

草原区矿产开发对景观格局和初级生产力的影响——以黑岱沟露天煤矿为例.....

..... 康萨如拉,牛建明,张 庆,等 (2855)

三七对土壤中镉、铬、铜、铅的累积特征及健康风险评价 林龙勇,阎秀兰,廖晓勇,等 (2868)

某焦化场地土壤中多环芳烃分布的三维空间插值研究..... 刘 庚,毕如田,权 腾,等 (2876)

个体与基础生态

杉木人工混交林对土壤铝毒害的缓解作用 雷 波,刘 彬,罗承德,等 (2884)

基于 $\delta^{15}\text{N}$ 稳定同位素分析的人工防护林大型土壤动物营养级研究 张淑花,张雪萍 (2892)

铅镉抗性菌株 JB11 强化植物对污染土壤中铅镉的吸收 金忠民,沙 伟,刘丽杰,等 (2900)

陕北地区石油污染土壤中不动杆菌属的筛选、鉴定及降解性能 王 虎,吴玲玲,周立辉,等 (2907)

祁连山高山植物根际土放线菌生物多样性..... 马爱爱,徐世健,敏玉霞,等 (2916)

新疆沙冬青 AM 和 DSE 真菌的空间分布 姜 桥,贺学礼,陈伟燕,等 (2929)

聚糠茶水剂对不同积温带玉米花后叶片氮同化的影响..... 高 娇,董志强,徐田军,等 (2938)

内蒙古河套灌区玉米与向日葵霜冻的关键温度..... 王海梅,侯 琼,云文丽,等 (2948)

四种类型栓皮栎栲胶含量..... 尹艺凝,张文辉,何景峰,等 (2954)

食物胁迫对翅二型丽斗蟋飞行肌和繁殖发育的影响..... 吴红军,赵吕权,曾 杨,等 (2963)

颜色对梨小食心虫产卵选择性的影响..... 杨小凡,马春森,范 凡,等 (2971)

缓释单萜类挥发物对落叶松毛虫行为及落叶松主要防御蛋白的影响..... 林 健,刘文波,孟昭军,等 (2978)

种群、群落和生态系统

黄土丘陵沟壑区不同植被恢复格局下土壤微生物群落结构 胡婵娟,郭 雷,刘国华 (2986)

刺参池塘底质微生物群落功能多样性的季节变化..... 闫法军,田相利,董双林,等 (2996)

基于 DGGE 技术的茯砖茶发花过程细菌群变化分析 刘石泉,胡治远,赵运林 (3007)

景观、区域和全球生态

中国区域间隐含碳排放转移..... 刘红光,范晓梅 (3016)

西南地区退耕还林工程主要林分 50 年碳汇潜力 姚 平,陈先刚,周永锋,等 (3025)

青海湖流域草地植被动态变化趋势下的物候时空特征..... 李广泳,李小雁,赵国琴,等 (3038)

黑龙江省温带森林火灾碳排放的计量估算..... 魏书精,罗碧珍,孙 龙,等 (3048)

三峡库区森林植被气候生产力模拟..... 潘 磊,肖文发,唐万鹏,等 (3064)

三峡水库支流拟多甲藻水华的形成机制..... 朱爱民,李嗣新,胡 俊,等 (3071)

流域库坝工程开发的生物多样性敏感度分区..... 李亦秋,鲁春霞,邓 欧,等 (3081)

城乡与社会生态

基于集对分析的京津冀区域可持续发展协调能力评价..... 檀菲菲,张 萌,李浩然,等 (3090)

江西省自然保护区发展布局空缺分析 黄志强,陆 林,戴年华,等 (3099)

鄱阳湖生态经济区生态经济指数评价 黄和平,彭小琳 ,孔凡斌,等 (3107)

基于有害干扰的中国省域森林生态安全评价..... 刘心竹,米 锋,张 爽,等 (3115)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 328 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 35 * 2014-06



封面图说：三峡库区森林植被——三峡地区属亚热带区域,山高坡陡、地形复杂、物种丰富,森林是其最重要的自然资源之一,其面积占到库区总面积的 37%左右,库区内现有森林可初步分为 2 个植被型组,8 个植被型,18 个群系组,44 个群系,102 个群丛,主要树种有马尾松、杉树、柏树等,低海拔处多为落叶阔叶林、常绿阔叶林,较高海拔分布有针阔混交林、针叶混交林、灌木林等,人工林主要有经济林、竹林等。对三峡库区森林气候生产力进行模拟,分析库区森林植被的生产力并进行预测,可以为三峡库区的生态建设决策提供科学依据。

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/stxb201306101586

马爱爱,徐世健,敏玉霞,王鹏,汪亚娟,张新芳.祁连山高山植物根际土放线菌生物多样性.生态学报,2014,34(11):2916-2928.

Ma A A, Xu S J, Min Y X, Wang P, Wang Y J, Zhang X F. Phylogenetic and physiological diversity of actinomycetes isolated from plant rhizosphere soils in the Qilian Mountains. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(11): 2916-2928.

祁连山高山植物根际土放线菌生物多样性

马爱爱^{1,2}, 徐世健¹, 敏玉霞¹, 王 鹏¹, 汪亚娟¹, 张新芳^{1,*}

(1. 兰州大学生命科学学院细胞活动与逆境适应教育部重点实验室, 兰州 730000; 2. 西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730030)

摘要:从祁连山老虎沟不同海拔位点的 15 种植物根际土中培养得到 78 株特异表型放线菌,并结合菌体形态、生理代谢特征、抗菌活性及 16S rDNA 序列对其生理及系统发育多样性进行了研究。结果表明,分离菌株分属于链霉菌属(*Streptomyces* spp.) (73 株)、诺卡氏菌属(*Nocardia* spp.) (4 株),另有 1 株与 GenBank 中同源性最高的菌株 *Micromonospora saelicesensis* 相似性达 92%,为 1 潜在新种。链霉菌属为主要类群,占分离菌株的 93.6%,该属菌株在 5 个海拔位点的 15 种植物根际土中均有分布,但存在海拔位点、植物种类的差异性和特异性;诺卡氏菌属的菌株仅见于海拔 2200 m 的猪毛菜、海拔 2800 m 的钉柱菱陵菜和 3800 m 处的甘肃蚤缀根际土中;1 潜在新种分离自海拔 2200 m 处的沙生针茅根际土。次级代谢物产生和拮抗性筛选研究结果表明:H₂O₂酶、脂酶 2 (Tween-40)、脲酶、蛋白酶、脂酶 3 (Tween-80)、淀粉酶、H₂S、脂酶 1 (Tween-20)、可溶性色素及有机酸这 10 类次级代谢物产生菌分别占供试菌株的 89.7%、82.1%、70.5%、62.8%、53.8%、52.6%、48.7%、44.9%、32.1%和 17.9%,其中,淀粉酶、脂酶 1、色素和有机酸仅由链霉菌产生;有 29 株放线菌对参试人类病原菌具有抑制作用,占供试菌株的 37.2%,分布于 5 个海拔位点的 12 种植物根际土,其中,从药用植物甘肃黄芩和四裂红景天根际土中分离到的抗性菌株占拮抗性放线菌总数的 60%。研究表明,高山地区植物根际土放线菌资源丰富,菌株生理功能多样,是新放线菌种和生物活性物质的重要资源库。

关键词:放线菌;多样性;生理活性;植物根际土;祁连山

Phylogenetic and physiological diversity of actinomycetes isolated from plant rhizosphere soils in the Qilian Mountains

MA Aiai^{1,2}, XU Shijian¹, MIN Yuxia¹, WANG Peng¹, WANG Yajuan¹, ZHANG Xinfang^{1,*}

1 Key Laboratory of Cell Activities and Stress Adaptations, Ministry of Education, School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2 Life Science and Engineering College of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China

Abstract: Actinomycetes are important producers of bio-active metabolites, including antibiotics, plant growth factors, enzyme inhibitors and many other beneficial compounds. Alpine extreme habitats that contain low temperature-, anoxia-, and stress-adapted plants, and rhizosphere soils may harbor novel actinomycete strains with unique metabolic characteristics and new secondary metabolites. The Laohugou Valley of the Qilian Mountains, in the northeastern of the Tibetan Plateau, is characterized by its high elevation (>2000 m) and a distinct vertical distribution of vegetation types, ranging among desert steppe at 2200 m, mesophorbium at 2800 m, alpine shrub at 3350 m, alpine meadow at 3800 m, and alpine cold-desert at 4200 m. However, little is known about the diversity and distribution of actinomycetes in these habitats. Thus, we analyzed 15 rhizosphere soil samples from different vegetation types at increasing altitudes in Laohugou Valley to investigate the diversity and physiological characteristics of actinomycetes. We recovered 78 strains of actinomycetes with representative phenotype using glycerin arginine medium with potassium dichromate and penicillin. The morphology of colony hypha, small subunit 16S rRNA sequences, phylogenetic relationships, and physiological heterogeneity of these isolates were determined.

基金项目:国家基础研究和发育计划(2013CB429904);国家自然科学基金(40871041,31170371);甘肃省科技支撑计划(2009GS03292)

收稿日期:2013-06-10; **网络出版日期:**2014-02-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangxinfang@lzu.edu.cn

The results revealed that 73 strains were closely related to *Streptomyces* spp. (93.6% of all isolates), which grouped into 21 species. *Streptomyces* spp. were found in all samples, where the abundance and diversity varied at different altitudes among rhizosphere soils. The highest diversity of *Streptomyces* spp. was found in the rhizosphere soil of *Astragalus licentianu* at 4200 m and the lowest in the rhizosphere soil of *Poa annua* at 3800 m. Four isolates (5.1% of all isolates) in the genus *Nocardia* were found in the rhizosphere soils of *Salsola collina* at 2200 m, *Potentilla saundersiana* at 2800 m and *Arenaria kansuensis* at 3800 m. We also isolated a strain from the rhizosphere soil of *Stipa glareosa* at 2200 m which shared 92% sequence similarity to its nearest match *Micromonospora saelicesensis* from database, indicating that it might be a new actinomycetes species. The physiological analyses of the isolates indicated that strains producing catalase, lipase 2 (Tween-40), urease, proteinase, lipase 3 (Tween-80), amylase, H_2S , lipase 1 (Tween-20), diffusible pigment and organic acids accounted for 89.7%, 82.1%, 70.5%, 62.8%, 53.8%, 52.6%, 48.7%, 44.9%, 32.1% and 17.9% of the total actinomycetes isolates, respectively. Amylase, lipase 1, pigments and organic acid were produced only by *Streptomyces* isolates. The antimicrobial resistant patterns of the isolates were tested with *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Candida albicans* (ATCC 66415), and a *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated from clinical sputum. The results showed that 29 strains isolated from the rhizosphere soils of 12 plants at different altitudes exhibited antimicrobial activity, i.e., 37.2% of the total isolates. The isolates from the rhizosphere soils of two medicinal plants (*Astragalus licentianu* and *Rhodiola quadrifida*) comprised 60% of the total antimicrobial strains. The distinct antibiotic resistant patterns and physiological traits were detected among strains within the identical species. Our results suggested that the rhizosphere soils of alpine plants in the Qilian Mountain may be potential sources of new actinomycetes strains with novel bioactive compounds.

Key Words: actinomycetes; diversity; physiological activity; plant rhizosphere soils; Qilian Mountain

微生物的次生代谢产物如色素、抗生素、胞外水解酶,包括脂酶、蛋白酶、淀粉酶、支链淀粉酶、木聚糖酶等在食品、医药、农业、化工等领域具有广泛的应用价值^[1-3]。在已被利用的微生物源活性物质中,放线菌来源的占 70%^[4],因而,放线菌是产生物活性物质的重要微生物类群。近年来,随着耐药病原菌增多、天然活性化合物发现速率不断降低,以及从特殊生境中寻找产新型生物活性化合物放线菌的兴起,对植物根际土放线菌多样性及其代谢产物的研究正逐渐受到人们的关注^[5]。

植物根际与其周围的土壤微域构成一个特殊的微生态环境^[6],在此环境中,根际土微生物与植物体进行着活跃的交流:一方面植物体通过产生根际分泌物来选择性保留一些微生物,如研究发现姜黄属植物根际可分泌一种抗菌活性物质,该物质能促进其根际土放线菌的生长,而对其它土壤细菌和真菌却具有抑制性^[7-8];另一方面根际土放线菌通过将游离态的氮硫化合物(如氨、 H_2S)转换为稳定的可被植物体吸收的形式,或合成一些分子物质如酶类、有机酸等,对植物体的生理代谢产生一定影响^[9]。此

外,Goodfellow 等^[10]研究发现,植物根际土中的放线菌可产生一些抗菌活性物质,如可降解真菌细胞壁的酶类,如几丁质酶、蛋白酶或其他抑菌化合物,从而保护植物免受病原菌的侵害;我国研究人员将从苜蓿根际土中分离获得的细黄链霉菌(*Streptomyces microflavus*)制成“5406”抗生素,用于保护棉花作物免受一些土壤真菌的侵害^[11]。Intra 等^[12]从果园植物根际土中分离到抗炭疽病菌的放线菌, Suzuki 等^[13]也发现植物根际土放线菌可产生生物活性化合物。研究还表明,植物根际土放线菌的数量是非根际土的 2 倍^[14],因此,植物根际土放线菌是新型抗生素或其它生物活性物质的重要来源。

高山植物根际土放线菌不仅与其所在植物密切相关,而且因长期处于高寒、低压、缺氧、强辐射等极端恶劣环境条件下,在适应环境的过程中形成独特的生理代谢机制,具有产生特殊生物活性化合物的潜能。如张新军等^[15]在研究藏东南色季拉山海拔 4000 多米的高寒植物长鞭红景天根际土微生物时发现,一些根际促生菌(包括放线菌)通过产生次生代谢物如几丁质酶、酸等,使长鞭红景天能够更好的适

应高海拔、低气压、高辐射、温差大的恶劣环境;在国外,有研究人员发现,美国西部高海拔 2273—2364 m 地区蒿属植物根际土中的一些放线菌具有广谱性抗菌活性,是新型生物活性化合物潜在产生菌^[16]。这些研究说明,高山植物根际土放线菌是特殊生物活性物质的重要来源。本文对采自祁连山老虎沟地区不同海拔的 15 种植物根际土样中的放线菌生态分布多样性及生理学特性进行了初步研究,其结果将为高山植物根际土放线菌资源的研究和开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样点和采样区域概况

本研究土壤样品于 2010 年 8 月采自祁连山脉西段老虎沟山区不同海拔、不同植被类型的植物根

际 (39° 44. 706′—39° 29. 958′ N, 96° 11. 394′—96° 31. 176′ E;海拔在 2200—4200 m)。研究区为典型大陆性气候,老虎沟内 12 号冰川是祁连山最大的复式山谷冰川,受冰川及高山环境的影响,该地区年均气温为-11.8 ℃,降水主要出现在 5—9 月;同时,受高海拔及地形的共同作用,老虎沟地区太阳总辐射年总量达 6937.9 MJ/m²,沟内为低温多年冻土^[17]。区域内植被类型按垂直带划分,主要有荒漠化草原带、高山草原带、高山灌丛带、高山草甸带和高山寒漠带。

在上述 5 个不同植被类型中,于各海拔采集 2—4 种、共 15 种植物根际土样(表 1),以供放线菌的分离分析。植物根际土样的采集参照文献^[8]进行,采用三点混合法,取样过程严格无菌操作,采样工具用过氧乙酸浸泡无菌处理,操作过程使用一次性无菌手套,并佩戴口罩以防口腔细菌污染。

表 1 采样点基本情况
Table 1 Description of sampling sites

植被类型 Vegetation type	样点位置 Location of plots		根际土来源 Rhizosphere soil source	土壤类型 Soil type
	纬/经度 Longitude/Latitude (N/E)	海拔 Altitude/m		
荒漠化草原 Desert steppe	39°44.706′ N/96°11.394′ E	2200	猪毛菜 <i>Salsola collina</i> 驼绒藜 <i>Ceratoides latens</i> 沙生针茅 <i>Stipa glareosa</i>	沙漠或荒漠灰钙土 Desert siegenite
高山草原 Mesophorbium	39°37.950′ N/96°24.984′ E	2800	甘肃黄芪 <i>Astragalus licentianu</i> 钉柱萎陵菜 <i>Potentilla saundersiana</i>	亚高山草原灰钙土 Subalpine steppe siegenite
高山灌丛 Alpine shrub	39°35.400′ N/96°26.100′ E	3350	凤毛菊 <i>Saussurea japonica</i> 金露梅 <i>Potentilla fruticosa</i> 火绒草 <i>Leontopodium leontopodioides</i> 四裂红景天 <i>Rhodiola quadrifida</i>	季节冻土区 Seasonal frozen soil
高山草甸 Alpine meadow	39°32.046′ N/96°30.282′ E	3800	蛱状点地梅 <i>Androsace umbellate</i> 甘肃蚤缀 <i>Arenaria kansuensis</i> 葶苈 <i>Draba nemorosa</i> 早熟禾 <i>Poa annua</i>	
高山寒漠 Alpine cold-desert	39°29.958′ N/96°31.176′ E	4200	甘肃黄芪 <i>Astragalus licentianu</i> 小甘菊 <i>Cancrinia discoicea</i>	多年冻土区 Permafrost soil

1.2 放线菌分离及形态学初步鉴定

15 个土样风干后,于 120 ℃干热 1 h^[18-19],并在分离培养基中加入 75 μg/mL 重铬酸钾和 2 μg/mL 青霉素^[19]。采用甘油精氨酸培养基,稀释平板涂布法进行放线菌的分离培养,常规方法计数、纯化和保藏,以供后续分析研究。

根据形态和培养特征为主、生理生化特征为辅的原则将分离菌株鉴定至属^[20-21]。

培养特征:将菌株转接至高氏一号平板培养基上,培养 7、15、30 d 分别记录下述特征:菌落形态、孢

子堆颜色、可溶性色素颜色、气生和基内菌丝颜色。

形态特征:采用插片法,于培养 7、14、21 d,分别取出盖玻片镜检,观察记录菌丝体特征。

生理生化特性测定:参照阮继生、黄英的测定方法^[21],主要进行了明胶液化、淀粉水解、硫化氢产生等试验以对生理生化特征进行研究。

1.3 16S rRNA 基因片段扩增及序列分析

1.3.1 菌体 DNA 提取、PCR 扩增和测序

菌体总 DNA 的提取参照 Orsini 等^[22]和徐平等^[23]的方法进行,用通用引物 27 f (5'-

AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、1504 r (5'-TTAAGGATGGTGATGCCGCA-3') 扩增 16S rDNA 片段。PCR 扩增条件为:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 1 min,56 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 2 min,共 30 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min。16S rDNA 扩增产物的测序由北京华大基因生物公司完成。

1.3.2 数据分析

测序结果拼接后提交至美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) BLAST 在线比对,疑似嵌合的序列用 RDP (Ribosomal Database Project) 在线 Chimera Detection 程序检测 (<http://rep8.cme.msu.edu/cgis/chimera.cgi?su=SSU>)。获取的相似性较高的菌株序列采用 Clustal W 对序列进行遗传关系阵列比对后,使用 MEGA4.0 软件的邻近相连法 (Neighbor-joining method) 构建系统发育树。

1.3.3 序列登录号

本文所得到 16S rDNA 序列已提交至 GenBank 核酸序列库,登录号为 JQ838073-JQ838150。

1.4 分离菌次级代谢物产生及其拮抗活性测定

脂酶、脲酶、淀粉酶、H₂O₂ 酶、蛋白酶,以及 H₂S、有机酸的产生参照文献^[21]进行。此外,采用对峙培养法^[24]测定了 78 株放线菌对大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*, ATCC25922)、临床分离铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, ATCC25923) 及白色念珠菌 (*Candida albicans*, ATCC66415) 的拮抗性。上述 4 株病原菌中,前两株代表革兰氏阴性菌,后两株分别代表革兰氏阳性菌及真菌。若供试放线菌的琼脂块周围有抑菌圈产生,则表示该放线菌产生了抑制参试靶标菌生长的活性物质。

2 结果与分析

2.1 分离菌生态分布多样性分析

2.1.1 分离菌在不同海拔位点的分布

本研究从不同海拔位点的 15 种植物根际土中共得到 88 株放线菌,根据 16S rDNA 序列测定及菌体表型初步分析,选取 78 株代表性菌株进行研究。根据菌体表型及 16S rDNA 序列测定发现, *Streptomyces* spp. 为主要类群,占分离菌株的 93.6%,该属菌株在 5 个海拔位点的 15 种植物根际土中均

有分布,且所占各海拔位点分离菌总数的比例 ≥80%;*Nocardia* spp. 占分离菌株的 5.1%,仅见于海拔 2200 m 的猪毛菜 (QLS27 和 QLS44)、海拔 2800 m 的钉柱菱陵菜 (QLS42) 和 3800 m 处的甘肃蚤缀 (QLS54) 根际土中;1 株潜在新属 *Micromonospora* spp. 的菌株分离自海拔 2200 m 处的沙生针茅 (QLS96) 根际土 (图 1)。

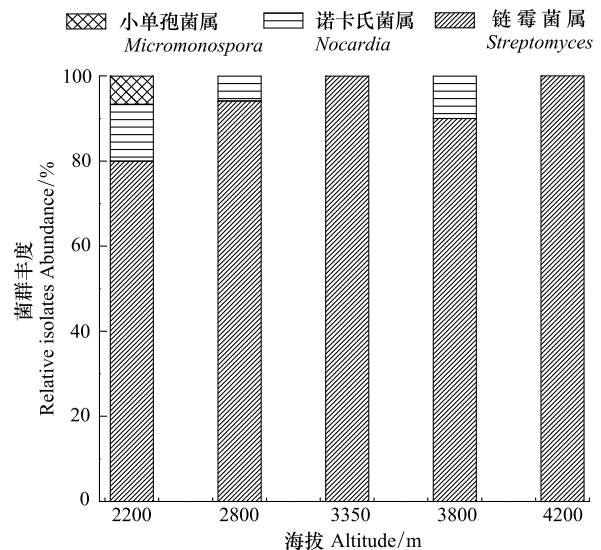


图 1 不同海拔位点分离菌群丰度变化

Fig.1 Relative abundance of three phylogenetic isolates at increasing altitudes

结合 16S rDNA 序列、菌体形态及生理特征,所分离 73 株链霉菌可归为 21 个种,其分布特点如图 2 所示:海拔 3350 m 处种类最多,为 9 种;3800 m 处最少,为 6 种;2200、2800、4200 m 居间,均为 8 种。链霉菌在不同植物根际土的分布为:4200 m 甘肃黄芪根际土中分离种类最多,为 6 种;3800 m 早熟禾根际土最少,仅 1 种。仅在海拔 2200 m 处的猪毛菜根际土中分离到的菌种有 *Streptomyces albolongus*,沙生针茅根际土中的分离菌种有 *Streptomyces rectiviolaceus*、*Streptomyces bottropensis*;2800 m 处钉柱菱陵菜根际土中分离到的有 *Streptomyces bobili*、*Streptomyces specialis*;3350 m 处凤毛菊根际土分离到的有 *Streptomyces cyaneofuscatus*、*Streptomyces goshikiensis*;3800 m 处葶苈根际土中分离到的有 *Streptomyces candidus*、*Streptomyces aurantiacus*;4200 m 处小甘菊根际土中分离到的有 *Streptomyces sporoverrucosus*、*Streptomyces nojiriensis*,甘肃黄芪根际土中的 *Streptomyces cyaneogriseus*。此外, *Streptomyces cavourensis* 在 5 个

海拔位点均有分布(图2)。

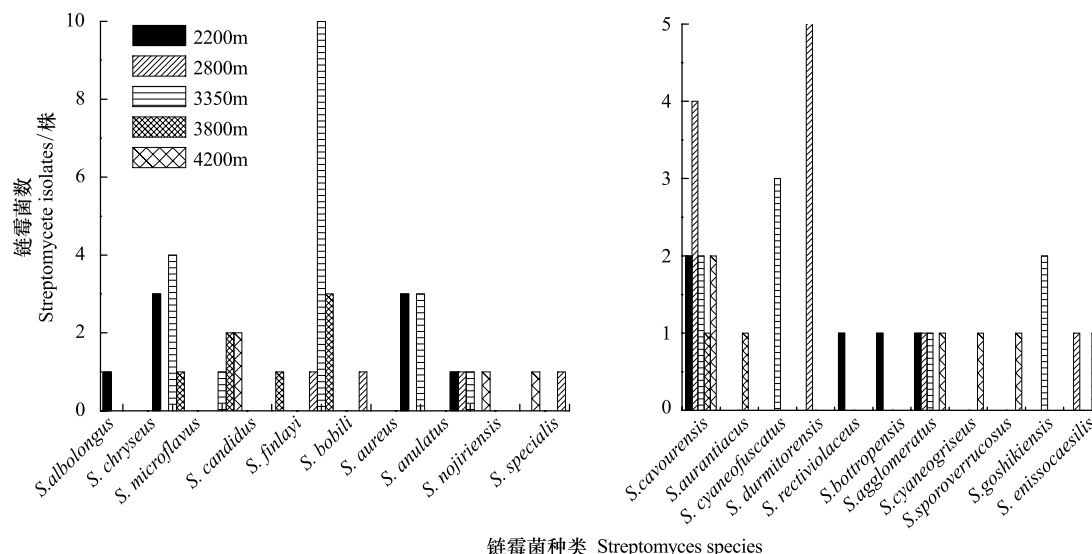


图2 不同海拔位点链霉菌菌种分布

Fig.2 Distribution of *Streptomyces* strains at increasing altitudes

S.; *Streptomyces* 链霉菌属; *S. albolongus* 白长链霉菌; *S. chryseus* 浅金链霉菌; *S. microflavus* 细黄链霉菌; *S. candidus* 纯白链霉菌; *S. finlayi* 芬莱链霉菌; *S. bobili* 包比利链霉菌; *S. aureus* 金色链霉菌; *S. anulatus* 环圈链霉菌; *S. nojiriensis* 野尻链霉菌; *S. cavourensis* 卡伍尔链霉菌; *S. aurantiacus* 橘橙链霉菌; *S. cyaneofuscatus* 蓝微褐链霉菌; *S. rectiviolaceus* 直丝紫链霉菌; *S. bottropensis* 波卓链霉菌; *S. agglomeratus* 团孢链霉菌; *S. cyaneogriseus* 蓝灰链霉菌; *S. sporoverrucosus* 孢疣链霉菌; *S. goshikiensis* 五色链霉菌; *S. enissocaesilis* 淡紫褐链霉菌; 另外, *S. specialis* 和 *S. durmitorensis* 未查到对应中文名

2.1.2 分离菌在植物根际土中的分布及系统进化分析

图3显示 *Streptomyces* spp.、*Nocardia* spp. 和 1 潜在新种三者之间的进化关系。链霉菌属菌株的属内进化关系如图4所示,主要分为两大组(Group)。

组1:分离自钉柱委陵菜根际土的菌株 QLS81 与 *S. specialis* 聚为一支,相似性达 99%。

组2:有 52 株分离菌与其在 GenBank 中同源性最高的菌株形成独立分支,其中 42 株菌聚为 10 个主要类群(Cluster)。类群1,分离自甘肃黄芪根际

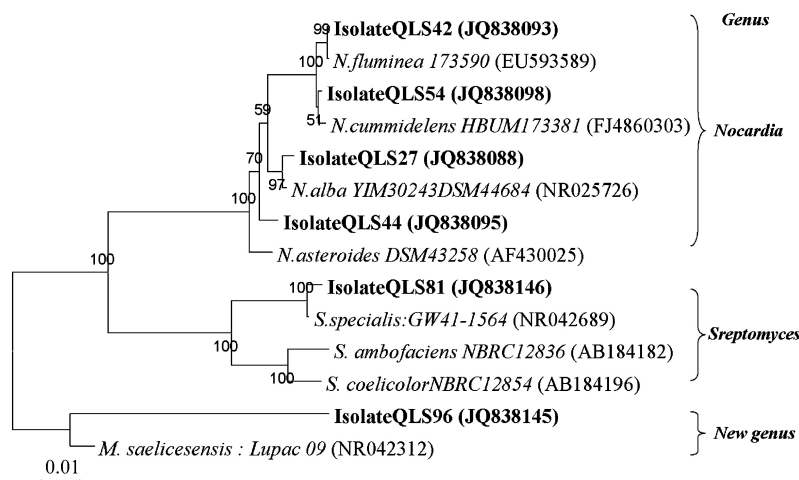


图3 祁连山老虎沟植物根际土放线菌系统进化树

Fig.3 Partial Neighbour-joining tree based on nearly complete 16S rDNA sequences showing relationships between selected isolates and the genera *Streptomyces*, *Nocardia* and *Micromonospora* 系统发育树节点数字代表基于邻接法用再抽样分析所得 bootstrap 值,仅显示 50% 以上值,比例尺代表每个碱基位置改变值; *S.*; *Streptomyces* 链霉菌属; *N.*; *Nocardia* 诺卡氏菌属; *M.*; *Micromonospora* 小单孢菌属

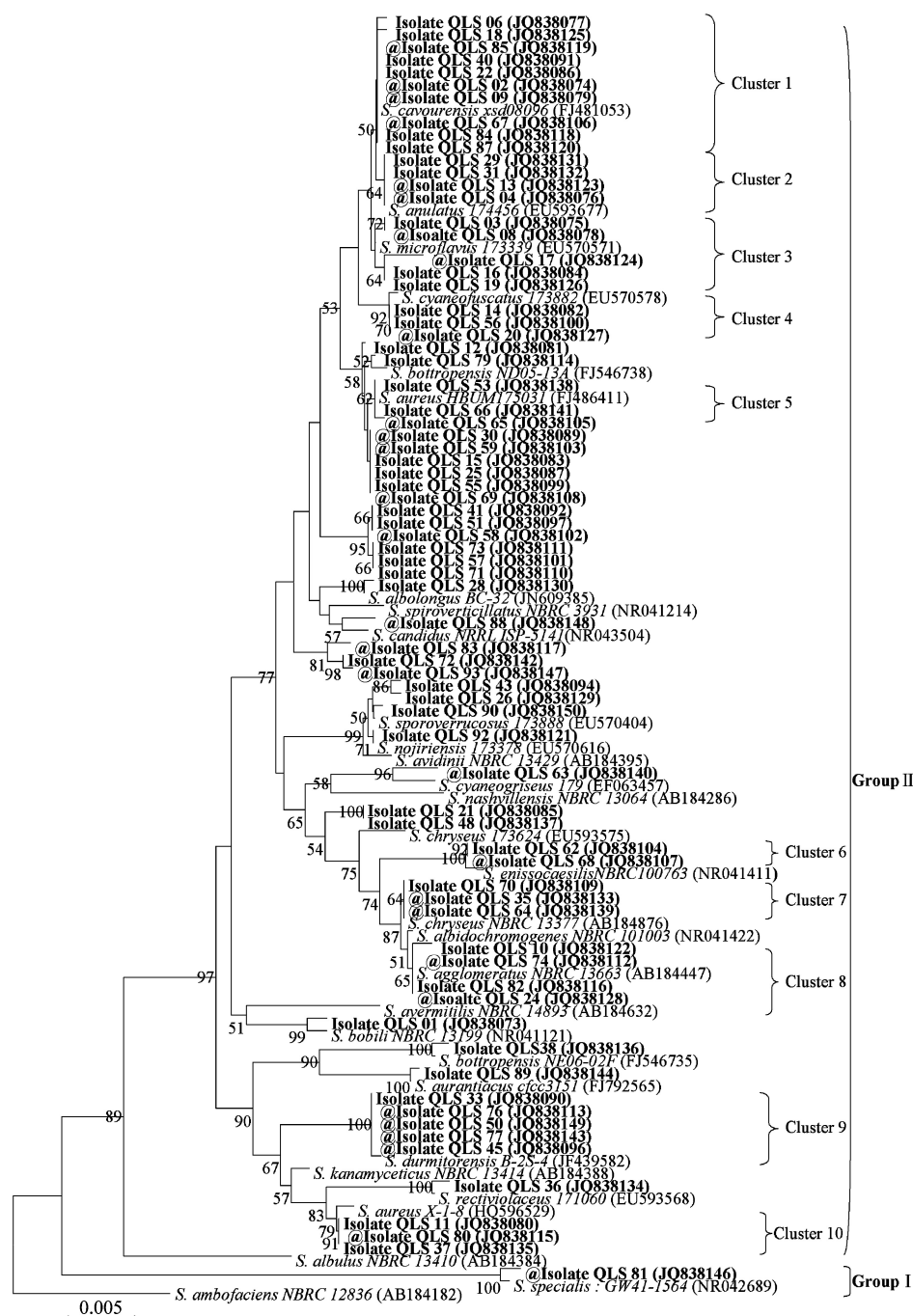


图4 祁连山老虎沟植物根际土链霉菌系统进化树(@表示筛选出的拮抗性菌株)

Fig.4 Phylogenetic relationship of nearly complete 16S rRNA gene sequences of members of the genus *Streptomyces* isolated from plant rhizosphere soils in the Laohugou of the Qilian Mountain, rooted using the 16S rDNA sequence of *Streptomyces ambifaciens*

系统发育树节点数字代表基于邻接法用再抽样分析所得 bootstrap 值,仅显示 50%以上值,比例尺代表每个碱基位置改变值; S.:*Streptomyces* 链霉菌属

土的 6 株菌和 4 株分别来自火绒草、驼绒藜、垫状点地梅和金露梅根际土的菌株,与 *S. cavourensis* 聚为一支,相似性达 100%;类群 2 包含 4 株分离菌,两株分离自甘肃黄芪根际土,菌株 QLS04 和 QLS13 分别分离自猪毛菜和金露梅根际土,与 *S. anulatus* 聚为一

支,相似性达 99.8%;类群 3 有 5 株分离菌,与 *S. microflavus* 聚为一支,相似性达 99.6%,其中菌株 QLS16、QLS17 和 QLS19 分别分离自甘肃蚤缀、凤毛菊及早熟禾根际土,聚为一个亚支,菌株 QLSQ03 和 QLSQ08 分离自甘肃黄芪根际土,聚为另一个亚支;

类群 4 的 3 株分离菌均分离自凤毛菊根际土,与 *S.cyaneofuscatus* 聚为一支,相似性达 99%;类群 5 包含 3 株分离菌,均分离自四裂红景天根际土,与 *S.aureus* 聚为一支,相似性达 100%;类群 6 包含 2 株分离菌,均分离自甘肃黄芪根际土,与 *S.enissocaesilis* 相似性达 99%,聚为一支;类群 7, 3 株分离菌 QLS70、QLS35、QLS64 分离自四裂红景天根际土,与 *S.chryseus* 聚为一支,相似性达 99%;类群 8, 2 株分离自甘肃黄芪根际土和另外 2 株分别分离自四裂红景天和驼绒藜根际土的菌株,与 *S.agglomeratus* 聚为一支,相似性达 99%;类群 9 包含 5 株分离菌,其中 4 株分离自甘肃黄芪根际土,1 株分离自钉柱委陵菜,与 *S.durmitorensis* 聚为一个分支,相似性达 100%;类群 10 包含 3 株分离菌,2 株分离自驼绒藜,1 株分离自沙生针茅,与 *S.aureus* 相似性达 99%,聚为一支。

2.2 分离菌生理功能多样性分析

2.2.1 分离菌株次级代谢物的产生

78 株放线菌功能酶、有机酸和 H_2S 产生等结果显示(图 5), H_2O_2 酶、脂酶 2 (Tween-40)、脲酶、蛋白酶、脂酶 3 (Tween-80)、淀粉酶、 H_2S 、脂酶 1 (Tween-20)、可溶性色素及有机酸产生菌分别占供试菌株的 89.7%、82.1%、70.5%、62.8%、53.8%、52.6%、48.7%、44.9%、32.1% 和 17.9%。其中,淀粉酶、脂酶 1、色素和有机酸仅由链霉菌产生。

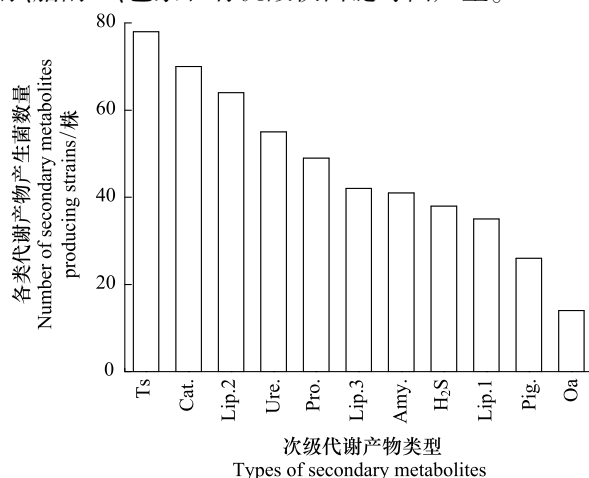


图 5 各类次级代谢产物产生菌数量

Fig. 5 The number of various secondary metabolites producing strains

Ts: Total strains 供试菌株总数; Cat.: Catalase H_2O_2 酶; Lip. 2: Lipase 2 脂酶 2; Ure.: Urease 脲酶; Pro.: Protease 蛋白酶; Lip. 3: Lipase 3 脂酶 3; Amy.: Amylase 淀粉酶; Lip. 1: Lipase 1 脂酶 1; Pig.: Pigment 色素; Oa: Organic acid 有机酸

10 类次级代谢物产生菌在 5 个海拔位点均有分布,但在不同海拔、不同植物根际土中呈差异性分布,具体分布信息如图 6、图 7 所示。 H_2O_2 酶、脲酶产生菌在 15 种植物根际土均有分布,脂酶 2、 H_2S 、蛋白酶产生菌在其中 14 种植物根际土中分布,淀粉酶、脂酶 1 产生菌则分布于 12 种植物根际土,色素、脂酶 3 产生菌在 11 种植物根际土中分布,而有机酸产生菌仅分布于 9 种植物根际土;此外,甘肃黄芪 (2800 m 和 4200 m)、四裂红景天、凤毛菊、钉柱委陵菜和金露梅根际土中 10 类代谢物产生菌均有分布,但在甘肃黄芪和四裂红景天根际土中各类代谢物产生菌数量相对偏多。

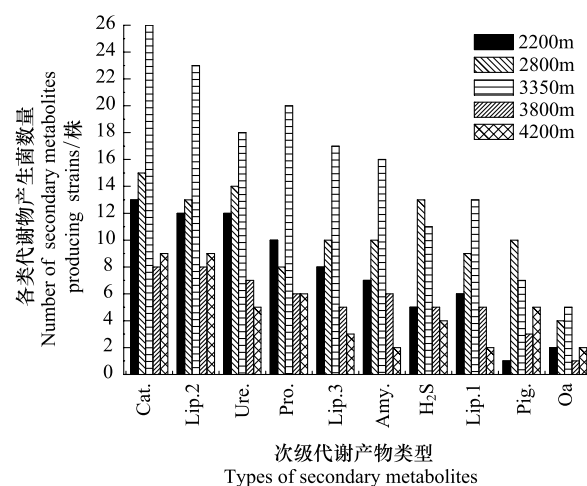


图 6 10 类代谢物产生菌在不同海拔位点的分布情况

Fig. 6 Distribution of secondary metabolites producing strains at increasing altitudes

Cat.: Catalase H_2O_2 酶; Lip. 2: Lipase 2 脂酶 2; Ure.: Urease 脲酶; Pro.: Protease 蛋白酶; Lip. 3: Lipase 3 脂酶 3; Amy.: Amylase 淀粉酶; H_2S : H_2S production 硫化氢产生; Lip. 1: Lipase 1 脂酶 1; Pig.: Pigment 色素; Oa: Organic acid 有机酸

研究发现,同一菌种的不同株之间,其生理功能也不尽相同,如菌株 QLS06、QLS87、QLS18、QLS85、QLS02 分离自不同海拔、不同植物根际土,与 *Streptomyces cavourensis* 相似性达 100%,聚为同一分支,属同一菌种,但其次级代谢产物的类型和抗菌活性各不相同;与 *Streptomyces durmitorensis* 聚为同一分支的 5 株菌分离自同一海拔的不同植物根际土,其中 4 株 (QLS45、QLS50、QLS76、QLS77) 分离自甘肃黄芪根际土,1 株 (QLS33) 分离自钉柱委陵菜根际土,其生理功能不尽相同,但黄芪根际土中的 4 株菌又具有一些相似的生理功能,如均产黄色素,都具有抗菌活性(表 2,图 4)。

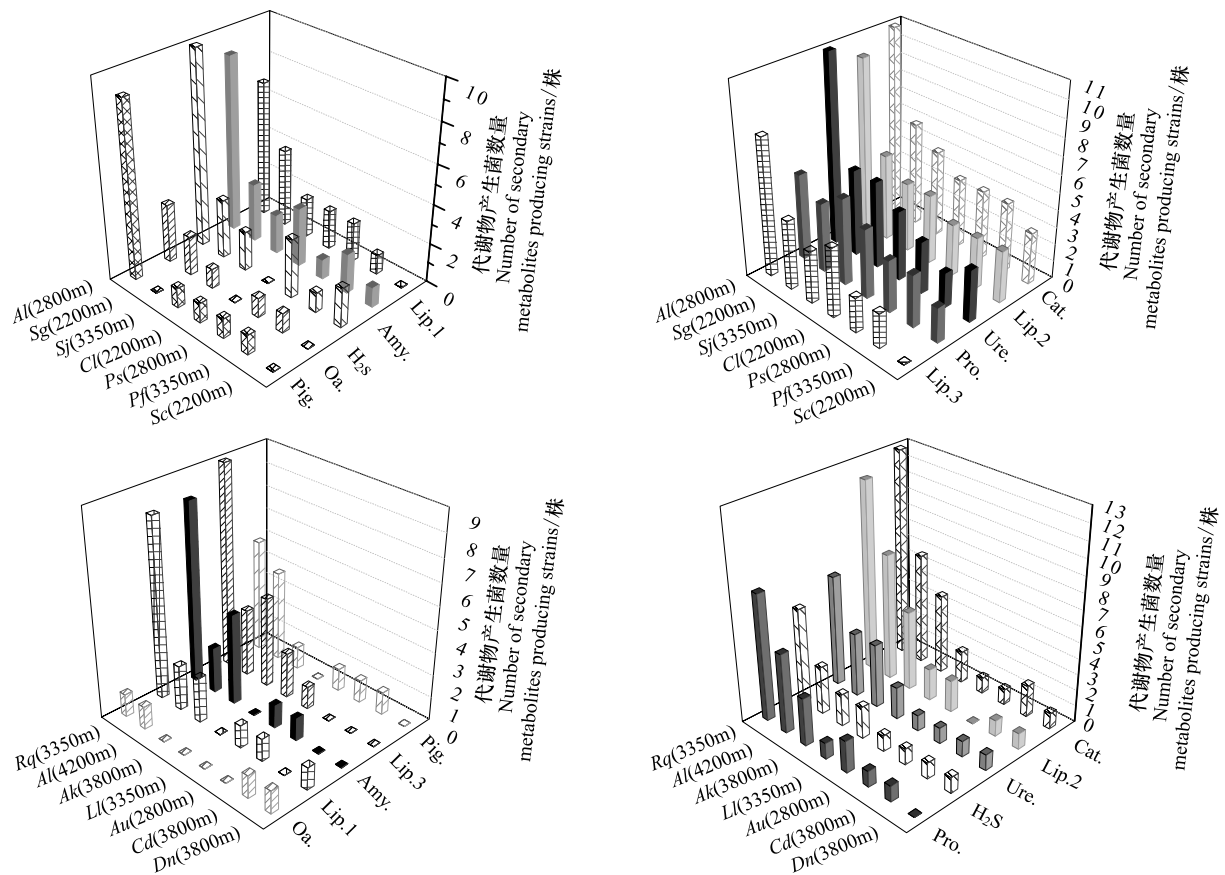


图 7 10 类代谢物产生菌在不同海拔位点植物根际土的分布情况

Fig.7 Distribution of secondary metabolites producing strains in rhizosphere soils of 15 plants on increasing altitudes

Al; Astragalus licentianus 甘肃黄芪; Sg; Stipa glareosa 沙生针茅; Sj; Saussurea japonica 凤毛菊; Cl; Ceratoides latens 驼绒藜; Ps; Potentilla saundersiana 钉柱委陵菜; Pf; Potentilla fruticosa 金露梅; Sc; Salsola collina 猪毛菜; Rq; Rhodiola quadrifida 四裂红景天; Ak; Arenaria kansuensis 甘肃蚤缀; Ll; Leontopodium leontopodioides 火绒草; Au; Androsace umbellata 蛰状点地梅; Pa; Poa annua 早熟禾; Cd; Cancrinia discoidea 小甘菊; Dn; Draba nemorosa 葶苈; Cat.; Catalase H₂O₂ 酶; Lip. 2; Lipase 2 脂酶 2; Ure.; Urease 脲酶; Pro.; Protease 蛋白酶; Lip. 3; Lipase 3 脂酶 3; Amy.; Amylase 淀粉酶; H₂S; H₂S production 硫化氢产生; Lip. 1; Lipase 1 脂酶 1; Pig.; Pigment 色素; Oa.; Organic acid 有机酸

表 2 同一放线菌种不同株之间生理功能差异

Table 2 Physiological diversity between different strains of the same species

链霉菌种 Streptomycetes	卡伍尔链霉菌 <i>Streptomyces cavourensis</i>					<i>Streptomyces durmitorensis</i>				
菌株编号 Isolate no.	QLS06	QLS87	QLS18	QLS85	QLS02	QLS33	QLS45	QLS50	QLS76	QLS77
菌株来源	<i>Cl</i>	<i>Al</i>	<i>Ll</i>	<i>Au</i>	<i>Al</i>	<i>Ps</i>		<i>Al</i>		
Source of strains	(2200 m)	(2800 m)	(3350 m)	(3800 m)	(4200 m)	(2800 m)		(2800 m)		
次级代谢产物 Secondary metabolites										
脂酶 1 Lipase 1	—	+	—	+	—	+	+	—	+	+
脂酶 2 Lipase 2	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
脂酶 3 Lipase 3	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
淀粉酶 Amylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
蛋白酶 Protease	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+
脲酶 Urease	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
过氧化氢酶 Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
有机酸 Organic acid	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—

续表

链霉菌种 Streptomyces	卡伍尔链霉菌 <i>Streptomyces cavourensis</i>					<i>Streptomyces durmitorensis</i>				
	QLS06	QLS87	QLS18	QLS85	QLS02	QLS33	QLS45	QLS50	QLS76	QLS77
菌株编号 Isolate no.										
菌株来源 Source of strains	<i>Cl</i> (2200 m)	<i>Al</i> (2800 m)	<i>Ll</i> (3350 m)	<i>Au</i> (3800 m)	<i>Al</i> (4200 m)	<i>Ps</i> (2800 m)			<i>Al</i> (2800 m)	
H ₂ S 产生 H ₂ S production	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
色素 Pigment	棕色素 brown	棕色素 brown	-	棕色素 brown	黄色素 yellow	-	黄色素 yellow	黄色素 yellow	黄色素 yellow	黄色素 yellow
抗菌活性 Antimicrobial activity										
大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Cl: *Ceratoides latens* 驼绒藜; *Al*: *Astragalus licentianu* 甘肃黄芪; *Ll*: *Leontopodium leontopodoides* 火绒草; *Au*: *Androsace umbellata* 蛰状点地梅; *Ps*: *Potentilla saundersiana* 钉柱委陵菜; “+”为阳性,“-”为阴性

2.2.2 分离菌对病原菌的拮抗作用

78 株放线菌拮抗性筛选结果表明,共有 29 株放线菌具有抗菌活性,其中 2 株菌能够抑制 *Escherichia coli* 生长、19 株能抑制 *Staphylococcus aureus* 生长、1 株菌能抑制 *Pseudomonas aeruginosa*、14 株能抑制 *Candida albicans* 生长;能同时抑制两种病原指示菌

生长的放线菌有 7 株(表 3)。结合图 4 分析表明,拮抗性菌株均来自链霉菌属,在组 1 及组 2 的 10 个类群中都有分布;并广泛分布于 5 个海拔位点的 12 种植物根际土中。其中,从药用植物甘肃黄芪和四裂红景天根际土中分离到的抗性菌株分别占拮抗性放线菌总数的 40%、20%,共占 60%。

表 3 祁连山老虎沟植物根际土放线菌抑菌活性

Table 3 Antimicrobial activity of the actinomycetes isolated from rhizosphere soils of plants in the Laohugou of the Qilian Mountain

海拔/m Altitude	根际土来源 Rhizosphere soil source	菌株编号 Strain No.	抗菌活性 Antimicrobial activity			
			大肠埃希氏菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>	铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i>
2200	猪毛菜 <i>Salsola Collina</i>	QLS04	-	-	-	+
	驼绒藜 <i>Ceratoides lateens</i>	QLS80	-	-	+	-
	沙生针茅 <i>Stipa glareosa</i>	QLS83	-	-	+	-
2800	甘肃黄芪 <i>Astragalus licentianu</i>	QLS45	+	-	-	-
		QLS50	-	+	+	-
		QLS76	-	+	-	-
		QLS77	-	+	+	-
		QLS68	-	+	-	-
		QLS67	-	-	+	-
		QLS69	-	+	-	-
	钉柱委陵菜 <i>Potentilla saundersiana</i>	QLS81	+	-	+	-
	凤毛菊 <i>Saussurea japonica</i>	QLS17	-	-	+	-
		QLS20	-	+	-	-
3350	金露梅 <i>Potentilla fruticosa</i>	QLS13	-	+	-	-
	四裂红景天 <i>Rhodiola quadrifida</i>	QLS35	-	+	-	-
		QLS65	-	+	-	-
		QLS58	-	+	-	-

续表

海拔/m Altitude	根际土来源 Rhizosphere soil source	菌株编号 Strain No.	抗菌活性 Antimicrobial activity			
			大肠埃希氏菌 <i>E.coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>	铜绿假单胞菌 <i>P.aeruginosa</i>
3800	垫状点地梅 <i>Androsace umbellate</i>	QLS59	-	+	-	-
		QLS64	-	+	-	-
		QLS74	-	+	-	-
		QLS85	-	+	+	-
		QLS93	-	-	+	-
		QLS30	-	+	-	-
4200	甘肃蚤缀 <i>Arenaria gansuensis</i>	QLS88	-	+	+	-
	葶苈 <i>Draba nemorosa</i>	QLS02	-	+	+	-
	甘肃黄芪 <i>Astragalus licentianu</i>	QLS09	-	-	+	-
		QLS08	-	+	+	-
		QLS24	-	+	-	-
		QLS63	-	-	+	-
合计	12	29	2	19	14	1

E.coli: *Escherichia coli*; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; *C. albicans*: *Candida albicans*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*;“-”表示无拮抗性;“+”表示有拮抗性

3 讨论

链霉菌因代谢物丰富多样,具有很强的适应性而成为多种特殊生境的优势菌群^[4-5,8,25]。*Streptomyces* spp.仍为优势分离菌群,*Nocardia* spp.仅见于3个不同海拔位点的3种植物根际土,1潜在新种分离自2200 m处沙生针茅根际土。73株链霉菌在不同海拔位点、不同植物根际土中的分布具有一定的差异性和特异性。造成菌群差异或特异性分布的因素,一方面可能是这些稀有放线菌(*Nocardia* spp.、*Micromonospora* spp.)对各自生存环境的高度依赖性,所占生态位相对狭窄,加之地上不同植物类型所提供的脱落物、分泌物不同,使这些微生物所必须的碳源和能源物质存在差异,导致菌群的差异或特异性分布^[26];另一方面,严酷的高山环境对植物根际土链霉菌的分布具有选择作用。如研究发现,冰川细菌通过产生色素来对抗强烈的紫外辐射^[27];高山环境长鞭红景天根际土中约35%的细菌有较强的产酸能力,这可能与其吸收难溶矿质元素如磷密不可分^[15]。本研究的10类代谢产物中,色素、有机酸、淀粉酶和脂酶1仅由链霉菌产生,拮抗性菌株也均来自链霉菌属,说明多样的次级代谢物对链霉菌适应高山环境有重要意义。此外,为适应高寒、缺氧、强紫外辐射等极端逆境,链霉菌会产生适应性变异,正如青藏高原冻土环境中的*Streptomyces griseus*,

在不同冻土微环境中产不同代谢物,从而产生许多生理特异性菌株,广泛分布于冻土环境^[25],本研究中*Streptomyces cavourensis*也因代谢产物丰富多样,广泛分布于5个不同海拔位点不同植物根际土中,对高山环境表现出很好的适应性。Zhang等^[27]也发现,普若岗日冰芯(海拔5970 m)不同深度的一些细菌虽然16S rDNA序列相近或完全相同,但其生理特性却表现出一定的异质性。这些研究结果提示,高寒极端生境中放线菌会产生特殊的代谢产物来适应生存环境,是新型化合物的重要来源。

近年来,国内外学者对一些极端生境如低温、盐碱、海洋环境中的放线菌进行了工业酶类或其它代谢物产生菌的筛选。杨宇容等^[28]对分离自云南白芒雪山(3500—5137 m)和中甸保护区(3400—3500 m)土壤的60株代表性链霉菌进行产酶特性检测,发现脲酶、淀粉酶和H₂S产生菌分别占供试菌株的81%、12%和11%;曹兰兰等^[29]从新疆哈密地区的盐湖中分离到63株放线菌,其中淀粉酶、蛋白酶和脂酶产生菌分别占供试菌株的73%、4.7%和22%;有学者在孟加拉湾海域^[4]分离到208株海洋放线菌,其中脂酶、蛋白酶、淀粉酶产生菌分别占供试菌株的78%、58%、33%;从青藏高原多年冻土中分离到54株链霉菌,其中大部分菌株代谢物丰富多样^[25]。本研究中,H₂O₂酶产生菌数量居首位,与青藏高原多年冻土环境分离株类似,这可能与低温、缺氧、干燥、强

辐射等逆境胁迫下自由基的清除有关;相对于云南白茫雪山和中甸保护区肥沃的土壤环境,盐湖和高山灰钙土、冻土环境均寡营养,因此其内大部分放线菌产淀粉酶,以提高营养物质利用率;海洋环境中存在大量多聚物,其脂酶产生菌数量也相对偏高^[4]。本研究脂酶、脲酶、蛋白酶、H₂S 产生菌数量均占分离菌的一半以上,可能与根际土多聚物或有机物的分解、养分循环利用有关^[5]。此外,各类代谢物产生菌在不同海拔、不同植物根际土中的分布也有所不同。研究表明^[30-31],绝大多数根际土放线菌能合成并分泌吡啶-3-乙酸,用以促进植物体的生长;另外,许多根系土微生物可大量分泌铁载体,用以结合环境中的 Fe³⁺,在满足自身生长需求的同时也促进了植物体对铁离子的吸收^[32]。因而,植物根际土放线菌代谢产物的种类、产量与其所依赖的植物体密不可分。本研究中,与 *Streptomyces durmitorensis* 相似性达 99% 的菌株有 5 株,分布于同一海拔位点,其生理特性各不相同,但黄芪根际土中的 4 株菌又表现出相似的生理特征,如都产黄色素、都有抗菌活性,而分离自钉柱委陵菜根际土的 QLS33 则无此特性。Germida 等^[33]的研究结果也表明植物对其根际土微生物的作用大于土壤本身对其微生物的影响。由此可见,高山植物根际土放线菌处于低温、缺氧、强辐射等极端逆境下,营养来源主要是一些根际凋落物或分泌物等^[5],独特的生存条件及营养利用方式决定了其代谢产物的特异性和多样性。

本研究用于拮抗性筛选的 4 株靶标菌均为临床致病菌,抗性结果表明,有 29 株放线菌对病原微生物表现出了抗菌活性,占供试菌株的 37.2%。其中,从药用植物甘肃黄芪和四裂红景天根际土中分离到的抗性菌株占拮抗性放线菌总数的 60%。10 类次级代谢物产生菌在这两种药用植物根系土中的数量也最多。研究发现^[14,34],根际土放线菌可利用一些植物的根际分泌物合成抗菌活性物质,抑制一些病原菌的生长。如 Ouhdouch 等^[35]从药用植物根际土中分离到 10 株对 *Candida albicans* 和 *Candida tropicalis* 有抗性的放线菌株;Thangapandian 等^[36]从药用植物根际土中得到 8 株对真菌有抗性的链霉菌。这些结果进一步说明,药用植物根系可能会分泌一些特殊的有机物或无机物,参与相关放线菌活性物质的合成。除受植物根际影响外,高山植物根

际土放线菌与海洋^[4]、冻土^[25]、盐碱^[29]等极端环境放线菌一样,处于极端恶劣的自然条件下,营养物质资源匮乏,它们通过合成一些抗性物质来抑制细菌、真菌甚至一些放线菌,从而在竞争中取得优势。因此,植物体的选择作用和土壤微环境的压力使高山植物根系土放线菌具有产新型生物活性化合物的潜力。

综上所述,祁连山老虎沟地区不同海拔植物根际土放线菌资源丰富,代谢产物多样,与不同植物种类以及海拔高度决定的生态环境密切相关;放线菌对临床致病菌具有拮抗作用。该结果将为开展以高山地区为代表的极端环境植物根际土放线菌多样性及其资源高效利用研究提供借鉴。

致谢:中国科学院寒区旱区环境与工程研究所陈拓研究员、秦翔研究员及祁连山冰川生态观测站在采样及野外调查工作中给予支持,李祥锴教授、Duncan E. Jackson 博士帮助修改文章,特此致谢。

References:

- [1] Kulkarni N, Shendye A, Rao M. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, 23(4): 411-456.
- [2] Niehaus F, Bertoldo C, Kahler M, Antranikian G. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, 51(6): 711-729.
- [3] Rao M B, Tanksale A M, Ghatge M S, Deshpande V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62(3): 597-635.
- [4] Ramesh S, Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(12): 2103-2111.
- [5] Zhao K. Study on Diversity and Antibiotic Activity of Endophytic and Rhizospheric Actinomycetes from Medicinal Plants in Panxi Region[D]. Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2010.
- [6] Mereckx R, Dijkstra A, Hartog A, Veen J A. Production of root-derived material and associated microbial growth in soil at different nutrient levels. *Biology Fertility Soils*, 1987, 5(2): 126-132.
- [7] Tewtrakul S, Subhadhirasakul S. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 109(3): 535-538.
- [8] Khamna S, Yokota A, Lumyong S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore

- production. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2009, 25(4): 649-655.
- [9] Katznelson H, Lochhead A G, Timonin M I. Soil microorganisms and the rhizosphere. The Botanical Review, 1948, 14 (9): 543-586.
- [10] Goodfellow M, Williams S T. Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology, 1983, 37(1): 189-216.
- [11] Yin S Y, Zhang J K, Xun P Q. Studies on the mechanisms of antagonistic fertilizer "5406"——Ⅲ. Analysis of the adaptability of antagonistic fertilizer "5406" in different types of soils and the conversion of Nitrogen and Phosphorus. Acta Microbiologica Sinica, 1965, 11(2): 275-280.
- [12] Intra B, Mungsuntisuk I, Nihira T, Igarashi Y, Panbangred W. Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum spp.*, the causative agent of anthracnose disease. BMC Research Notes, 2011, 4 (1): 98-106.
- [13] Suzuki S, Yamamoto K, Okuda T, Nishio M, Nakanishi N, Komatsubara S. Selective isolation and distribution of *Actinomyces* strains in soil. Actinomycetologica, 2000, 14(2): 27-33.
- [14] Crawford D L, Lynch J M, Whipps J M, Ousley M A. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59 (11): 3899-3905.
- [15] Zhang X J, Zheng W L, Lan X Z, Lu J, Zhaxiwangdui, Awangciren. The preliminary study on the rhizosphere microbes of *Rhodiola fastigiata* in Sehgya Mountains. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(28): 172-177.
- [16] Jimenez-Esquilin A E, Roane T M. Antifungal activities of actinomycete strains associated with high-altitude sagebrush rhizosphere. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2005, 32(8): 378-381.
- [17] Sun W J, Qin X, Xu Y T, Wu X P, Liu Y S, Ren J W. Annual variations of the components of radiation on the laohugou no.12 Glacier in the Qilian Mountains. Advances in Earth Science, 2011, 26(3): 347-354.
- [18] Xu L H, Li Q R, Jiang C L. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(1): 244-248.
- [19] Si M R, Xue Q H, Lai H X. Studies on selection of the isolation medium for actinomycetes and inhibition methods to miscellaneous microorganism. Microbiology, 2004, 31(2): 61-65.
- [20] Holt J A, Krieg N R, Sneath P H A. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: MD, 1994.
- [21] Ruan J S, Huang Y. Rapid Identification and Systematics of Actinobacteria. Beijing: Science Press, 2011.
- [22] Orsini M, Romano S V. A microwave-based method for nucleic acid isolation from environmental samples. Letters in Applied Microbiology, 2001, 33(1): 17-20.
- [23] Xu P, Li W J, Xu L H, Jiang C L. A microwave-based method for genomic DNA extraction from actinomycetes. Microbiology, 2003, 30(4): 82-84.
- [24] Si M R, Xue Q H, Chen Z Q, Yu B, Cai Y. Ecological distribution of soil antimicrobial actinomycetes of the Qinghai Plateau. Chinese Journal Applied and Environmental Biology, 2005, 11(1): 104-111.
- [25] Ma A A, Zhang X F, Zhao L, Xu S J, Min Y X, Wang P, Cheng G D. Diversity and physiological activity of *Streptomyces* spp. isolated from permafrost of the Qinghai-Tibetan Plateau. Journal of Glaciology and Geocryology, 2012, 34 (6): 1508-1516.
- [26] Horner-Devine M C, Lage M, Hughes J B, Bohannon B J M. A taxa-area relationship for bacteria. Nature, 2004, 432 (7018): 750-753.
- [27] Zhang X F, Yao T D, Tian L D, Xu S J, An L Z. Phylogenetic and physiological diversity of bacteria isolated from puruogangri ice core. Microbial Ecology, 2008, 55(3): 476-478.
- [28] Yang Y R, Xu L H, Li Q R, Jiang C L. A study on psychrophilic environment of actinomycetes. Journal of Yunnan University: Natural Sciences, 1997, 19(4): 397-402.
- [29] Cao L L, Wang Y, Tang S K. Biodiversity and enzyme screening of actinomycetes from Hami Lake. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 49(3): 287-293.
- [30] El-Tarabilya K A, Sivasithamparamb K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(7): 1505-1520.
- [31] Tsavkelova E A, Klimova S Y, Cherdynseva T A, Netrusov A I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. Applied Biochemistry Microbiology, 2006, 42 (2): 117-126.
- [32] Leong J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology, 1996, 24: 187-209.
- [33] Germida J J, Siciliano S D, Freitas J R, Seib A M. Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). FEMS Microbiology Ecology, 1998, 26(1): 43-50.
- [34] Yuan W M, Crawford D L. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. Applied Environmental Microbiology, 1995, 61 (8): 3119-3128.
- [35] Ouhdouch Y, Barakate M, Finance C. Actinomycetes of Moroccan habitats: isolation and screening for antifungal activities. European Journal of Soil Biology, 2001, 37(2): 69-74.
- [36] Thangapandian V, Ponnuragan P, Ponnuragan K. Actinomycetes diversity in the rhizosphere soils of different medicinal plants in

Kolly Hills Termilnadu, India, for secondary metabolite production. Asian Journal Plant Sciences, 2007, 6(1): 66-70.

参考文献:

- [5] 赵珂. 攀西地区药用植物内生及根际放线菌的多样性与抗菌活性研究[D]. 四川: 四川农业大学, 2010.
- [11] 尹莘耘, 张均康, 苟培琪. 5406 抗菌素肥料作用机制的研究 III. 抗菌素在不同土类中的适应性及其转化氮、磷元素的分析. 微生物学报, 1965, 11(2): 275-280.
- [15] 张新军, 郑维列, 兰小中, 卢杰, 扎西旺堆, 阿旺次仁. 色季拉山长鞭红景天根际微生物初步研究. 中国农学通报, 2011, 27(28): 172-177.
- [17] 孙维君, 秦翔, 徐跃通, 吴秀平, 刘宇硕, 任贾文. 祁连山老虎沟 12 号冰川辐射各分量年变化特征. 地球科学进展, 2011, 26(3): 347-354.
- [19] 司美茹, 薛泉宏, 来航线. 放线菌分离培养基筛选及杂菌抑制方法研究. 微生物学通报, 2004, 31(2): 61-65.
- [21] 阮继生, 黄英. 放线菌快速鉴定与系统分类. 北京: 科学出版社, 2011.
- [23] 徐平, 李文均, 徐丽华, 姜成林. 微波法快速提取放线菌基因组 DNA. 微生物学通报, 2003, 30(4): 82-84.
- [24] 司美茹, 薛泉宏, 陈占全, 余博, 蔡艳. 青海高原土壤拮抗性放线菌的生态分布. 应用与环境生物学报, 2005, 11(1): 104-111.
- [25] 马爱爱, 张新芳, 赵林, 徐世健, 敏玉霞, 王鹏, 程国栋. 青藏高原冻土链霉菌分离菌株多样性及其生理活性的研究. 冰川冻土, 2012, 34(6): 1508-1516.
- [28] 杨宇容, 徐丽华, 李启任, 姜成林. 低温环境中放线菌的研究. 云南大学学报: 自然科学版, 1997, 19(4): 397-402.
- [29] 曹兰兰, 王芸, 唐蜀昆. 新疆哈密地区盐湖放线菌的多样性及其功能酶的筛选. 微生物学报, 2009, 49(3): 287-293.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.34, No.11 June, 2014 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

Review on macropore flow in soil GAO Zhaoxia, XU Xuexuan, ZHAO Jiaona, et al (2801)

Ecological Restoration

A summary of study on ecological restoration technology of large coal bases construction in China
..... WU Gang, WEI Dong, ZHOU Zhengda, et al (2812)

The ecology and environment monitoring technical systems in national large-scale coal-fired power base: a case study in Xilingol
League, Inner Mongolia WEI Dong, QUAN Yuan, WANG Chenxing, et al (2821)

Evaluation index system on ecological effect of national large-scale coal-fired power base based on the dpsir conceptual model
..... ZHOU Zhengda, WANG Chenxing, FU Xiao, et al (2830)

Research progress on the environment impacts from underground coal mining in arid western area of China
..... LEI Shaogang, BIAN Zhengfu (2837)

Ecological risk receptors analysis of pingzhuang western open-cut coal mining area in inner mongolia
..... GAO Ya, LU Zhaohua, WEI Zhenkuan, et al (2844)

Impacts of mining on landscape pattern and primary productivity in the grassland of Inner Mongolia: a case study of Heidaigou
open pit coal mining KANG Sarula, NIU Jianming, ZHANG Qing, et al (2855)

Accumulation of soil Cd, Cr, Cu, Pb by *Panax notoginseng* and its associated health risk
..... LIN Longyong, YAN Xiulan, LIAO Xiaoyong, et al (2868)

3D interpolation of soil PAHs distribution in a coking contaminated site of China ... LIU Geng, BI Rutian, QUAN Teng, et al (2876)

Autecology & Fundamentals

Catabatic effect from artificial mixed plantation of *Cunninghamia lanceolata* on soil aluminum toxicity
..... LEI Bo, LIU Bin, LUO Chengde, et al (2884)

Study on the trophic levels of soil macrofauna in artificial protection forests by means of stable nitrogen isotopes
..... ZHANG Shuhua, ZHANG Xueping (2892)

Lead- and cadmium-resistant bacterial strain JB11 enhances lead and cadmium uptake in the phytoremediation of soils
..... JIN Zhongmin, SHA Wei, LIU Lijie, et al (2900)

Identification and oil-degrading performance of *Acinetobacter* sp. isolated from North Shaanxi oil-contaminated soil
..... WANG Hu, WU Lingling, ZHOU Lihui, et al (2907)

Phylogenetic and physiological diversity of actinomycetes isolated from plant rhizosphere soils in the Qilian Mountains
..... MA Aiai, XU Shijian, MIN Yuxia, et al (2916)

Spatial distribution of AM and DSE fungi in the rhizosphere of *Ammopiptanthus nanus*
..... JIANG Qiao, HE Xueli, CHEN Weiyan, et al (2929)

Effects of PASP-KT-NAA on maize leaf nitrogen assimilation after florescence over different temperature gradients
..... GAO Jiao, DONG Zhiqiang, XU Tianjun, et al (2938)

Key temperatures of corn and sunflower during cooling process in Hetao irrigation district, Inner Mongolia
..... WANG Haimei, HOU Qiong, YUN Wenli, et al (2948)

The content of tannin extract in four types of *Quercus variabilis* YIN Yining, ZHANG Wenhui, HE Jingfeng, et al (2954)

Effect of food stress on flight muscle and reproduction development in a wing dimorphic cricket, *Velarifictorus ornatus*
..... WU Hongjun, ZHAO Lüquan, ZENG Yang, et al (2963)

- Effect of colours on oviposition preference of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* Busck
..... YANG Xiaofan, MA Chunsen, FAN Fan, et al (2971)

- Monoterpene volatiles affecting host selection behavior of *Dendrolimus superans* and the activities of defense protein in larch needles
..... LIN Jian, LIU Wenbo, MENG Zhaojun, et al (2978)

Population, Community and Ecosystem

- Soil microbial community structure under different vegetation restoration patterns in the loess hilly area
..... HU Chanjuan, GUO Lei, LIU Guohua (2986)

- Seasonal variation of functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)
cultural ponds YAN Fajun, TIAN Xiangli, DONG Shuanglin, et al (2996)

- Analysis of bacterial flora during the fahua-fermentation process of fuzhuan brick tea production based on DGGE technology
..... LIU Shiquan, HU Zhiyuan, ZHAO Yunlin (3007)

Landscape, Regional and Global Ecology

- CO₂ emissions transfer embedded in inter-regional trade in China LIU Hongguang, FAN Xiaomei (3016)

- Carbon sequestration potential of the major stands under the Grain for Green Program in Southwest China in the next 50 years
..... YAO Ping, CHEN Xiangang, ZHOU Yongfeng, et al (3025)

- Characteristics of spatial and temporal phenology under the dynamic variation of grassland in the Qinghai Lake watershed
..... LI Guangyong, LI Xiaoyan, ZHAO Guoqin, et al (3038)

- Estimates of carbon emissions caused by forest fires in the temperate climate of Heilongjiang Province, China, from 1953 to 2012 ...
..... WEI Shujing, LUO Bizhen, SUN Long, et al (3048)

- Simulation of the climatic productivity of forest vegetation in Three Gorges Reservoir area
..... PAN Lei, XIAO Wenfa, TANG Wanpeng, et al (3064)

- The mechanism for occurrence of *Peridiniopsis* blooms in the tributaries of Three Gorges Reservoir
..... ZHU Aimin, LI Sixin, HU Jun, et al (3071)

- Biodiversity sensitivity zoning of river dam and reservoir engineering development ... LI Yiqiu, LU Chunxia, DENG Ou, et al (3081)

Urban, Rural and Social Ecology

- Assessment on coordinative ability of sustainable development of Beijing-Tianjin-Hebei Region based on set pair analysis
..... TAN Feifei, ZHANG Meng, LI Haoran, et al (3090)

- Vacancy analysis on the development of nature reserves in Jiangxi Province
..... HUANG Zhiqiang, LU Lin, DAI Nianhua, et al (3099)

- Evaluation of ecological economy index in the poyang lake ecological economic zone
..... HUANG Heping, PENG Xiaolin, KONG Fanbin, et al (3107)

- Research on China's provincial forest ecological security appraisal based on the detrimental interferences
..... LIU Xinzhu, MI Feng, ZHANG Shuang, et al (3115)

《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

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 11 期 (2014 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 34 No. 11 (June, 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

国内外公开发刊

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元