

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

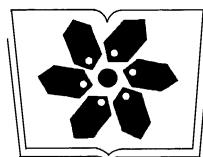
Acta Ecologica Sinica



第31卷 第21期 Vol.31 No.21 2011

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报 (SHENTAI XUEBAO)

第31卷 第21期 2011年11月 (半月刊)

目 次

基于景观格局理论和理想风水模式的藏族乡土聚落景观空间解析——以甘肃省迭部县扎尕那村落为例.....	史利莎, 严力蛟, 黄璐, 等 (6305)
武夷山风景名胜区景观生态安全度时空分异规律.....	游巍斌, 何东进, 巫丽芸, 等 (6317)
旅游地道路生态持续性评价——以云南省玉龙县为例	蒋依依 (6328)
城市空间形态紧凑度模型构建方法研究.....	赵景柱, 宋瑜, 石龙宇, 等 (6338)
丹顶鹤多尺度生境选择机制——以黄河三角洲自然保护区为例	曹铭昌, 刘高焕, 徐海根 (6344)
西南喀斯特区域水土流失敏感性评价及其空间分异特征.....	凡非得, 王克林, 熊鹰, 等 (6353)
流域尺度海量生态环境数据建库关键技术——以塔里木河流域为例	高凡, 闫正龙, 黄强 (6363)
雌雄异株植物鼠李的生殖分配.....	王娟, 张春雨, 赵秀海, 等 (6371)
长白山北坡不同年龄红松年表及其对气候的响应.....	王晓明, 赵秀海, 高露双, 等 (6378)
不同高寒退化草地阿尔泰针茅种群的小尺度点格局.....	赵成章, 任珩, 盛亚萍, 等 (6388)
残存银杏群落的结构及种群更新特征	杨永川, 穆建平, TANG Cindy Q, 等 (6396)
濒危植物安徽羽叶报春两种花型的繁育特性及其适应进化	邵剑文, 张文娟, 张小平 (6410)
神农架海拔梯度上4种典型森林的乔木叶片功能性状特征.....	罗璐, 申国珍, 谢宗强, 等 (6420)
不同植被恢复模式下煤矸石山复垦土壤性质及煤矸石风化物的变化特征.....	
火烧对黔中喀斯特山地马尾松林分的影响.....	王丽艳, 韩有志, 张成梁, 等 (6429)
内蒙古高原锦鸡儿属植物的形态和生理生态适应性.....	张喜, 崔迎春, 朱军, 等 (6442)
古尔班通古特沙漠西部梭梭种群退化原因的对比分析.....	马成仓, 高玉葆, 李清芳, 等 (6451)
白石砬子国家级自然保护区天然林的自然稀疏.....	司朗明, 刘彤, 刘斌, 等 (6460)
黑龙江省东完达山地区东北虎猎物种群现状及动态趋势.....	周永斌, 殷有, 殷鸣放, 等 (6469)
基于GIS的马铃薯甲虫扩散与河流关系研究——以新疆沙湾县为例	张常智, 张明海 (6481)
2010年广西兴安地区稻纵卷叶螟发生动态及迁飞轨迹分析	李超, 张智, 郭文超, 等 (6488)
B型烟粉虱对寄主转换的适应性	蒋春先, 齐会会, 孙明阳, 等 (6495)
利用PCR-DGGE方法分析不同鸡群的盲肠微生物菌群结构变化	周福才, 李传明, 顾爱祥, 等 (6505)
鸡粪改良铜尾矿对3种豆科植物生长及基质微生物量和酶活性的影响	李永洙, Yongquan Cui (6513)
铜绿微囊藻对紫外辐射的生理代谢响应	张宏, 沈章军, 阳贵德, 等 (6522)
10种常见甲藻细胞体积与细胞碳、氮含量的关系	汪燕, 李珊珊, 李建宏, 等 (6532)
冬季太湖表层底泥产毒蓝藻群落结构和种群丰度	王燕, 李瑞香, 董双林, 等 (6540)
城市机动车道颗粒污染物扩散对绿化隔离带空间结构的响应	李大命, 孔繁翔, 于洋, 等 (6551)
新疆城镇化与土地资源产出效益的空间分异及其协调性	蔺银鼎, 武小刚, 郝兴宇, 等 (6561)
山东潍坊地下水硝酸盐污染现状及 $\delta^{15}\text{N}$ 溯源	杨宇, 刘毅, 董雯, 等 (6568)
增温对宁夏引黄灌区春小麦生产的影响	徐春英, 李玉中, 李巧珍, 等 (6579)
一种估测小麦冠层氮含量的新高光谱指数	肖国举, 张强, 张峰举, 等 (6588)
黄河上游灌区稻田 N_2O 排放特征	梁亮, 杨敏华, 邓凯东, 等 (6594)
专论与综述	张惠, 杨正礼, 罗良国, 等 (6606)
植物源挥发性有机物对氮沉降响应研究展望	黄娟, 莫江明, 孔国辉, 等 (6616)
植物种群更新限制——从种子生产到幼树建成	李宁, 白冰, 鲁长虎 (6624)
研究简报	
遮荫对两个基因型玉米叶片解剖结构及光合特性的影响	杜成凤, 李潮海, 刘天学, 等 (6633)
学术信息与动态	
科学、系统与可持续性——第六届工业生态学国际大会述评	石海佳, 梁赛, 王震, 等 (6641)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 340 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2011-11	



封面图说: 鹤立——丹顶鹤是世界15种鹤数量极小的一种, 主要栖息在沼泽、浅滩、芦苇塘等湿地, 以捕食小鱼虾、昆虫、蛙蚧、软体动物为主, 也吃植物的根茎、种子、嫩芽。善于奔驰飞翔, 喜欢结群生活。丹顶鹤属迁徙鸟类, 主要在我国的黑龙江、吉林、俄罗斯西伯利亚东部、朝鲜北部以及日本等地繁殖。在长江下游一带越冬。在中国文化中有“仙鹤”之说。被列为中国国家一级重点保护野生动物名录, 濒危野生动植物种国际贸易公约绝对保护的CITES附录一物种名录。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

李大命, 孔繁翔, 于洋, 阳振, 史小丽. 冬季太湖表层底泥产毒蓝藻群落结构和种群丰度. 生态学报, 2011, 31(21): 6551-6560.
Li D M, Kong F X, Yu Y, Yang Z, Shi X L. The community structure and abundance of microcystin-producing cyanobacteria in surface sediment of Lake Taihu in winter. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(21): 6551-6560.

冬季太湖表层底泥产毒蓝藻群落结构和种群丰度

李大命^{1,2}, 孔繁翔^{1,*}, 于 洋¹, 阳 振¹, 史小丽¹

(1. 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:应用荧光定量 PCR 对冬季太湖不同湖区底泥表面有毒微囊藻和总微囊藻种群丰度进行调查, 同时基于 PCR-DGGE 技术对底泥中有毒微囊藻群落结构进行分析。结果表明:微囊藻在太湖底泥表面分布广泛,所有采样点都检测到有毒微囊藻存在,且不同湖区有毒微囊藻和总微囊藻种群丰度存在显著差异,有毒微囊藻和微囊藻基因型丰度范围分别为 1.23×10^4 — 3.75×10^6 拷贝数/g 干重和 2.56×10^4 — 1.07×10^7 拷贝数/g 干重,有毒微囊藻与微囊种群丰度的比例为 4.8%—35.2%;DGGE 指纹图谱显示,冬季太湖不同湖区表层底泥中有毒微囊藻群落结构相似性较高,相似性系数为 70.2%—96.0%。虽然不同湖区基因型组成存在差异,但所有样品中占优势的基因型是一致的。同时发现,优势基因型所占的比例与样品的香农多样性指数呈负相关。序列分析表明,*mcyA* 序列长度为 291bp,序列相似性超过 97%。综合定量 PCR 结果和底泥中叶绿素 a 和藻蓝素浓度的测定结果,可以得出 2010 年冬季太湖蓝藻越冬主要集中在梅梁湾、竺山湾、贡湖湾和湖心。通过建立荧光定量 PCR 分析方法,为研究湖泊底泥中蓝藻种群丰度动态变化奠定了基础。

关键词: 荧光定量 PCR; 有毒蓝藻; 群落结构; 变性梯度凝胶电泳; 太湖

The community structure and abundance of microcystin-producing cyanobacteria in surface sediment of Lake Taihu in winter

LI Daming^{1,2}, KONG Fanxiang^{1,*}, YU Yang¹, YANG Zhen¹, SHI Xiaoli¹

1 Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Lake Taihu is a large, shallow, eutrophic freshwater lake, which has frequently experienced cyanobacterial bloom in summer in the past decades. In winter, a large quantity of cyanobacterial cells sink on the sediment surface to overwinter. Therefore, it is important to quantify the biomass of cyanobacteria on the sediment to predict the location and the extent of water bloom in summer. However it is difficult to identify and to count cyanobacterial cells in sediment using microscopy method, and microscopic identification cannot differentiate between the toxicogenic and non-toxicogenic genotypes. In recent years, this problem has been resolved by using molecular techniques such as PCR and quantitative real-time PCR (*qPCR*) with primers targeting toxin-producing genes. The microcystin gene cluster which contains 10 genes, namely from *mcyA* to *mcyJ* has been widely used to reveal microcystin-producing species in genera *Anabaena*, *Microcystis* and *Planktothrix*. Detection of cyanobacteria and their toxin-producing ability using molecular methods has been successfully applied to a diverse range of water and sediment environments. In this study, we use quantitative real time PCR to quantify the abundance of microcystin-producing cyanobacteria and *Microcystis*, and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis technique to investigate the community structure of microcystin-producing cyanobacteria in surface sediment of Lake Taihu in winter. *qPCR* data showed that *Microcystis* and microcystin-producing cyanobacteria were present in all of sediment

基金项目:973 计划“大中型浅水湖泊蓝藻水华暴发机理研究”(2008CB418000); 中国科学院南京地理与湖泊研究所所长基金(07SL021001)

收稿日期:2010-09-03; 修订日期:2011-06-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fxkong@niglas.ac.cn

samples and their abundance varied significantly in different lake areas, ranging from 1.23×10^4 copies/g dry weight to 3.75×10^6 copies/g dry weight and from 2.56×10^4 to 1.07×10^7 copies/g dry weight, respectively. The proportion of microcystin-producing cyanobacteria to *Microcystis* ranged from 4.8% to 35.2%. DGGE patterns indicated that the composition of microcystin-producing cyanobacteria were very similar in surface sediments collected from different lake areas, and the similarity values were between 70.2% and 96.0%. Although the composition of genotypes of microcystin-producing cyanobacteria slightly varied among samples, the dominant band is same. The number of dominant band was negatively correlated with Shannon index. Taking into consideration of qPCR analysis and the concentration of Chlorophyll-a and Phycocyanin, we concluded that in the winter of 2010 cyanobacteria of Lake Taihu mainly overwinter in four lake areas, Mei liang bay, Zhu shan bay, Gong hu bay and center part of Lake Taihu. Our results showed that quantitative real time PCR is a feasible method to investigate the dynamics of toxic cyanobacteria in lake sediment.

Key Words: quantitative real time PCR; microcystin-producing cyanobacteria; community structure; denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE); Lake Taihu

微囊藻在温带浅水湖泊的生长规律具有明显的周年变化规律,一般是夏秋季节在水体中生长,冬季和春季下沉到底泥表面越冬,藻类生理特征伴随着环境条件的不同而变化,使得微囊藻种群得以生存^[1-4]。孔繁翔等根据太湖研究结果明确提出针对温带浅水湖泊蓝藻水华形成可分为4个连续而又相互区别过程:下沉和越冬、复苏、生物量积累、上浮聚集并形成水华,同时认为每个阶段的主导生态因子不同^[5]。越冬微囊藻下沉到底泥表面是躲避不良环境,保护种群生存的一种策略,同时可以为来年蓝藻水华提供种源^[2,5]。在不同湖泊中,底泥中蓝藻复苏对水柱中蓝藻的贡献量有所不同^[2],一般而言,浅水湖泊微囊藻复苏进入水柱中的微囊藻要超过深水湖泊,对蓝藻水华的贡献量也较大^[4]。因此,底泥中微囊藻种群的时空分布及其动态变化的研究越来越受到关注。

一般是通过显微观察法研究藻细胞数目表征微藻生物量生物量,但该方法在对底泥样品中藻细胞鉴别和计数受到了限制,无法对泥样中的微囊藻直接进行观察和计数^[6]。色素定量法是根据藻类的特征色素来表示藻类生物量,能够利用该方法对底泥中蓝藻相对含量变化进行研究^[7]。近年来,荧光定量PCR技术发展迅速,且已在蓝藻水华研究中广泛应用^[7-8]。与前2种方法相比,荧光定量法具有诸多优势,该方法灵敏度高、重复性好,对样品没有特殊要求,能够广泛应用于野外调查研究,同时,该方法特异性强,根据设计的引物,可以对样品中特定的种群动态变化进行研究^[9]。所以,荧光定量PCR已经成为蓝藻水华研究中最常用的工具之一。

太湖是我国第三大湖泊,也是一个典型的浅水湖泊,平均水深只有1.89m。是该地区重要的水源地,同时具有航运、旅游、灌溉等多种功能。太湖从20世纪80年代一些湖区已经处于富营养化状态,蓝藻水华开始出现。进入2000年以来,几乎每年夏季都暴发微囊藻水华,持续时间越来越长,发生区域已经向全湖蔓延。进入冬季后,水体中微囊藻下沉到底泥表面越冬,来年3月份开始底泥中微囊藻复苏进入水体,对水体中微囊藻水华有一定的贡献。因此,掌握越冬期间底泥中微囊藻种群分布对提高微囊藻水华预测的准确性有重要意义。到目前为止,对太湖越冬蓝藻在底泥中的时空分布研究比较少,仅见季健等利用色素定量法对太湖冬季蓝藻空间分布进行了初步分析^[10],本文利用微囊藻毒素合成酶家族基因成员 *mcyA* 和小核糖体亚基16S rDNA为定量PCR扩增对象,对太湖越冬蓝藻在底泥中的空间分布进行研究,同时借助PCR-DGGE分析技术,研究底泥中有毒微囊藻群落结构,以期为太湖蓝藻水华预测预警提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 采样点分布和样品采集

本研究设置了8个采样点,分别位于梅梁湾(N2)、竺山湾(N5),东太湖的贡湖湾(N4),西太湖(W2和W4),梅梁湾口(S5)、湖心(S4),南太湖(S2),如图1所示。利用GPS定位系统对采样点进行精确定位。

2010年2月采集样品,用柱状采泥器采集底泥,切下表层底泥(0—3 cm),放入冰盒内保存,每个采样点采集6个样品,混合均匀,于4 h内带回实验室做进一步分析。同步采集整水柱水样,混匀后带回实验室测定其营养盐浓度。同时利用YSI(YSI6600-V2)(Yellow Spring Instruments, USA)记录水质参数,包括溶解氧、温度、浊度、pH值、电导率等。

1.2 营养盐测定

GF/F滤膜过滤50 mL湖水,滤液用Skalar自动分析系统测定氨态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、亚硝态氮(NO₂⁻-N)和正磷酸盐(PO₄³⁻-P)。总氮(包含水体中的藻类)、总磷(包含水体中的藻类)和泥样总氮、总磷按照标准方法测定^[11]。

1.3 底泥中叶绿素a(Chl-a)和藻蓝素(PC)浓度

按照文献方法对泥样进行处理、提取和测定叶绿素a(Chl-a)和藻蓝素(PC)的浓度^[12]。

1.4 泥样基因组DNA提取

泥样DNA提取参照文献进行^[13],主要步骤如下:

称量0.8 g冻干泥样放入10 mL离心管中,加入2.0 mL裂解液(0.1 mol/L PBS缓冲液(pH=8.0),0.1 mol/L EDTA(pH=8.0),0.1 mol/L Tris(pH=8.0),1.5 mol/L NaCl,1.0% CTAB,5 mg/mL溶菌酶),充分震荡混匀后于37℃水浴1 h,每隔15 min上下颠倒数次。取出离心管,加入0.5 mL 10% SDS、20 μL 10 mg/mL protein K,颠倒混匀,65℃水浴2—3 h。冷却至室温,加入2.5 mL酚/氯仿/异戊醇(25:24:1),剧烈震荡10 s,13000 r/min离心10 min,将上清液转移到新离心管中,加入2 mL氯仿:异戊醇(24:1)。12000 r/min离心8 min。转移上清液,再次加入等体积的氯仿:异戊醇(24

:1)抽提1次,将水相转移到至新离心管,加入2倍体积无水乙醇和0.1倍体积10 mol/L醋酸氨,轻轻颠倒浑匀,-20℃放置过夜。13000 r/min离心15 min,弃上清液,2 mL 70%乙醇洗涤2次,13000 r/min离心10 min,小心倾弃上清液,室温晾干,加入TE缓冲液溶解,-20℃保存。用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测,凝胶成像系统检测(Bio-Rad)拍照。

1.5 泥样基因组DNA纯化

利用Mobio公司纯化试剂盒(Mobio-12877)对泥样基因组DNA进行纯化,纯化后基因组用于普通PCR扩增和定量PCR分析。

1.6 定量PCR

荧光定量PCR反应所应用的引物如表1所示,其中微囊藻毒素合成基因mcyA指示底泥样品中有毒微囊藻的丰度,小核糖体16S rDNA表示微囊藻种群丰度。室内纯培养产毒微囊藻株*Microcystis aeruginosa*(FACHB915)为标准DNA浓度构建标准曲线。离心收集处于对数生长期的藻细胞,按照文献方法^[14]提取基因组DNA,用BioPhotometer Plus(Eppendorf, German)测定DNA浓度(ABS₂₆₀)和纯度(ABS₂₆₀/ABS₂₈₀),该藻株基因组大小为5.2 MB,单个碱基的摩尔分子量是660 g/mol,标准DNA浓度中含有目的基因的拷贝数可以用下面的公式计算^[15]:微囊藻*M. aeruginosa*7806基因组DNA浓度(拷贝数/mL)=6.02×10²³(拷贝数/mol)×DNA浓度(g/mL)/基因组分子量(g/mol)。设置6个标准浓度梯度,每个梯度3个平行。qPCR反应体系25 μL,其中12.5 μL 2×SYBR premix Ex TaqTM混合液(TaKaRa, DRR041A),正反引物各1 pmol,2 μL模板,超纯水补足25 μL。PCR反应在Mastercycler ep realplex PCR仪完成(Eppendorf, German)。反应程序如下:95℃预变性2 min,95℃变性20 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,40个循环,最后进行溶解曲线(Melting curve)分

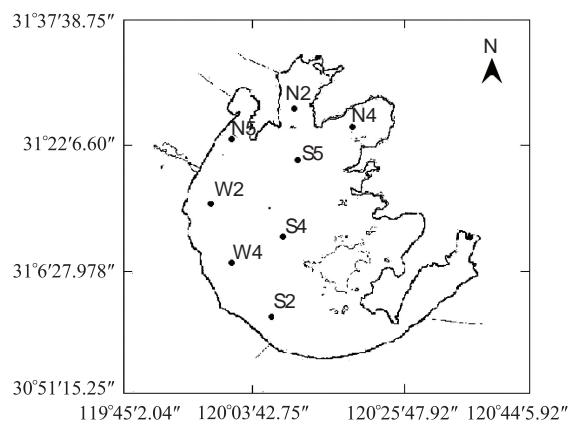


图1 采样点位置

Fig. 1 The location of sampling sites

析。泥样基因组 DNA 定量 PCR 反应设置 3 个平行,定量 PCR 反应体系为 25 μL ,引物 2 pmol,5 μL 纯化后基因组模板。样品定量 PCR 反应条件和构建定量 PCR 标准曲线一样。实验结果用定量 PCR 仪自带的 *Replex* 软件分析,根据标准曲线得出样品中有毒蓝藻和微囊藻种群丰度。荧光定量 PCR 反应扩增效率 $E=10^{-1/s}-1$, S 代表标准曲线斜率。

1.7 PCR 扩增和 DGGE 分析

选用引物 *mcyA*-Cd 1R 和 *mcyA*-Cd 1F 扩增 *mcyA* 基因片段(表 1),该对引物可以扩增所有有毒蓝藻 *mcyA* 基因片段,扩增产物长度为 291bp(微囊藻属)或 297bp(鱼腥藻属和浮丝藻属)^[16]。本实验 PCR 扩增体系为 25 μL ,其中含有 2×PCR 混合液 12.5 μL (上海博彩),上下游引物各 0.25 μL (10 $\mu\text{mol/L}$),5 μL DNA 模板,加超纯水补足 25 μL ,反应程序采用 touch down 模式:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 40 s,退火 40 s,从 62 °C 降低到 58 °C,每个反应降低 1 °C,72 °C 延伸 30 s,进行 6 个循环,然后 94 °C 变性 40 s,58 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 30 s,30 个循环,最后 72 °C 延伸 5 min,4 °C 保存。

DGGE 分采用 C. B. S DGGE-2001 型垂直凝胶电泳系统。凝胶浓度为 10%,变性剂梯度为 25%—45%(100% 变性胶含有 7 mol/L 尿素和 40% 去离子甲酰胺),缓冲液为 1×TAE,温度 60 °C,电压 75 V,连续电泳 16 h,电泳完毕后用 SYBR green I 染色 30 min,Bio-Rad 凝胶成像系统拍照并保存,DGGE 图谱利用 quantity one 4.62 分析,并用手工校正。产毒蓝藻多样性分析采用 Shannon 多样性指数评价,多样性指数 $H=-\sum_{i=1}^s P_i \log P_i = -\sum_{i=1}^s (n_i/N) \log(n_i/N)$, $P_i=n_i/N$, n_i 为条带的光密度值, N 泳道内所有条带的光密度值。

表 1 *mcyA* 和 16S rDNA 基因片段引物

Table 1 Primers of *mcyA* and 16S rDNA gene fragments

目标 DNA Target DNA	引物 Primers	序列(5'-3') Sequence(5'-3')
微囊藻 16S rDNA	184F	GCCGCRAGGTGAAAMCTAA
	431R	AATCCAAARACCTTCCTCCC
微囊藻毒素合成基因 <i>mcyA</i>	<i>mcyA</i> -Cd1R	AAAAGTGTATTAGCGGCTCAT
	<i>mcyA</i> -Cd1F ⁽¹⁾	AAAATAAAAGCCGTATCAA

(1) 根据 PCR 产物进行 DGGE 分析的需要,上游引物 *mcyA*-Cd1F 前带有 40 个碱基的 GC 夾: CGCCCGCCGCCGCAGCCCCGGCGCCCCGCCCCGCC。

1.8 DGGE 条带测序及构建系统发育树

用灭菌手术刀切下 DGGE 图谱上的条带装入 1.5 mL 离心管,加入 30 μL 超纯水浸泡,4 °C 放置 24 h,并以此作为 DNA 模板用不带 GC 夾的 *mcyA*-Cd1R/Cd1F 进行 PCR 扩增,PCR 产物纯化后送英俊测序。测序结果在 GenBank 数据库中用 BLAST 进行检索和进行同源性比较。利用 CLUSTALX 程序对所有序列进行比对,软件 MEGA3.1 中的邻接法构建系统发育树。

2 结果

2.1 水体和底泥营养盐及理化指标

采样在 8:00—10:00 之间进行,水温平均值为 8.5 °C,pH 值范围为 7.50—8.24,浊度为 21.0—90.3 NTU,电导率为 0.66—1.68 ms/cm,溶解氧为 10.86—11.87 mg/L。营养盐浓度如表 2 所示,采样点间的营养盐浓差异比较大,其中采样点 W2、N2 和 N5 营养盐浓度较高,采样点 S4、S5 和 N4 营养盐浓度较低。底泥中总氮和总磷浓度范围分别 1.13—2.04 mg/g 和 0.23—0.40 mg/g。

2.2 底泥中叶绿素 a 和藻蓝素(PC)浓度

底泥中叶绿素 a 和藻蓝素(PC)浓度分布如图 2 所示。叶绿素 a 表征泥样中所有藻类的生物量,藻蓝素指示蓝藻生物量。可以看出,底泥中藻蓝素浓度和叶绿素 a 浓度变化趋势具有一致性,说明蓝藻是底泥中藻

类群落结构的重要组成部分。不同湖区底泥中藻类生物量分布具有空间差异性;其中梅梁湾(N2)、贡湖湾(N4)、竺山湾(N5)和梅梁湾口(S5)叶绿素a和藻蓝素浓度明显高于西太湖(W2和W4)和南太湖(S2)。

表2 冬季水体和底泥营养盐浓度

Table 2 Nutrient concentration of water body and surface sediment in winter

采样点 Sampling sites	TN / (mg/L)	TP / (mg/L)	PO ₄ ³⁻ -P / (μg/L)	NH ₄ ⁺ -N / (μg/L)	NO ₃ ⁻ -N / (μg/L)	NO ₂ ⁻ -N / (μg/L)	TN / (μg/g)	TP / (μg/g)
W2	5.26	0.04	53.91	1.83	3.30	0.03	1.67	0.36
W4	2.70	0.10	6.04	0.22	1.67	0.02	1.23	0.23
S2	4.91	0.14	6.10	0.56	3.43	0.04	1.13	0.32
S4	2.68	0.08	4.41	0.18	2.24	0.03	1.37	0.26
S5	1.96	0.06	5.81	0.07	1.77	0.01	1.38	0.27
N2	2.94	0.05	3.12	0.04	2.89	0.01	1.93	0.39
N4	1.91	0.06	3.08	0.06	1.58	0.01	1.38	0.30
N5	6.60	0.17	85.98	1.09	4.42	0.07	2.04	0.40

2.3 底泥样品基因组检测

8个不同湖区底泥样品基因组琼脂糖凝胶电泳检测如图3所示。可以看出,本实验采用的方法能够有效提取底泥基因组DNA,条带整齐,没有托尾现象。但是粗提物中杂质比较多,包括有机质、腐植酸、重金属离子等,能够严重干扰PCR反应,尤其对于定量PCR分析。因此,本文利用纯化试剂盒(Mobio1-2877)对基因组进行了纯化,能够有效除去各种杂质,用于后续PCR扩增和定量PCR分析。

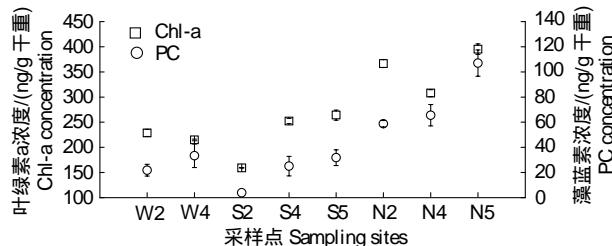


图2 底泥中叶绿素a和藻蓝素浓度空间分布

Fig. 2 The spatial distribution of chlorophyll a and PC concentrations

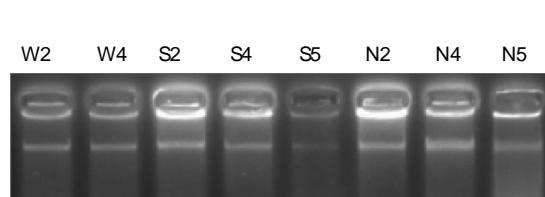


图3 底泥样品基因组DNA琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 3 Agarose electrophoresis of genomic DNA of surface sediment samples

2.4 荧光定量PCR标准曲线及产毒蓝藻和微囊藻基因型丰度

如图4所示,mcyA和16S rDNA基因荧光定量PCR标准曲线,可以得出,循环阈值Ct(Threshold cycle)和DNA浓度对数值(log₁₀基因组拷贝数)之间呈线性关系($R^2=0.99$)。定量PCR扩增效率为0.92,满足了实验要求。定量PCR产物溶解曲线分析显示(数据未给出),定量PCR扩增产物均为目的产物,野外样品定量PCR扩增效率和室内藻株*M. aeruginosa*扩增效率基本一致。如图5所示,底泥样品中有毒蓝藻和微囊藻种群丰度分布,可以看出,太湖冬季底泥中越冬蓝藻种群丰度差异显著,其中西太湖(W2和W4)和南太湖(S2)种

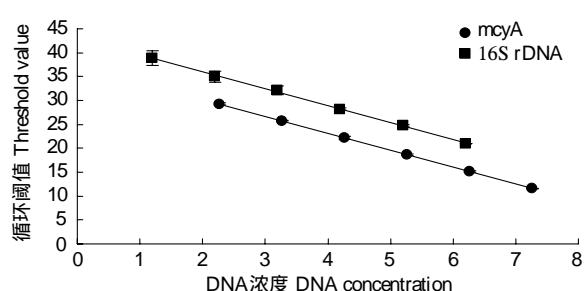


图4 mcyA 和 16S rDNA 基因定量 PCR 标准曲线

Fig. 4 Standard curve of qPCR for mcyA and 16S rDNA gene

群丰度较低,而北太湖的梅梁湾(N2)和竺山湾(N5)种群丰度较高,并且还发现有毒微囊藻占总微囊藻种群丰度的比例在不同湖区显著不同,其波动范围为4.8%—35.2%。

2.5 DGGE 指纹图谱分析

如图6所示,基于mcyA基因片段的太湖冬季8个底泥样品的DGGE图谱。可以看出,底泥中产毒微囊藻多样性在不同湖区差异较小。对于DGGE图谱分析,泳道中的每个条带表示一个操作单元,条带的光密度值表示条带所代表的基因型的相对丰度,利用香农多样性指数评价样品的多样性。所有样品中,条带8是所有样品中的优势基因型,其在样品中所占的比例与香农多样性指数呈显著负相关(表3),样品中的条带丰富度基本一致。根据非加权组平均法(UPGMA)构建了UPGMA树状图来表示样品间的相关,树状图显示(图7),太湖8个底泥样品中有毒蓝藻群落结构相似性超过70%,其中距离位于西太湖的W2和W4采样点的样品间产毒蓝藻群落结构相似性最高,而距离较远的S4、N2和N4聚为一支,S2、S5和N5聚为一支,说明底泥中有毒微囊藻群落结构与空间距离并无直接关系。

2.6 DNA序列分析和系统进化树构建

在本研究中,共获得了12条mcyA序列,长度均为291bp,序列间的相似性超过97%。在GenBank数据库中用BLAST程序搜索同源性序列,构建了不同种属系统进化树,如图8所示。发现本研究中所得到的12条mcyA序列与微囊藻属聚为一类,说明太湖底泥有毒基因型属于微囊藻属(*Microcystis* spp.)。

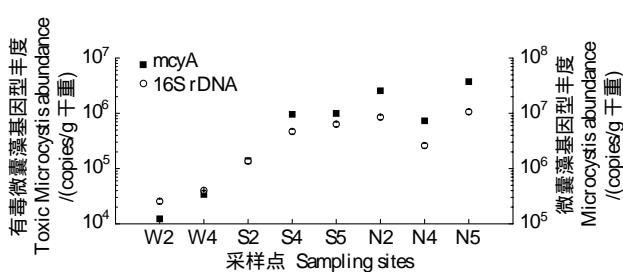


图5 *McyA* 和 *16S rDNA* 基因型丰度的空间分布

Fig. 5 The spatial distribution of *mcyA* and *16S rDNA* genotypes abundance

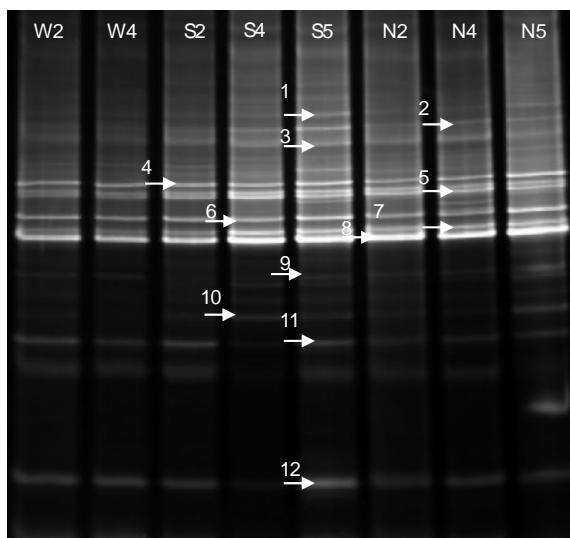


图6 表层底泥中有毒微囊藻DGGE图谱

Fig. 6 DGGE profiles of toxic *Microcystis* in surface sediment samples

表3 样品的香农多样性指数和条带丰富度

Table 3 The Shannon diversity index and Band richness in the DGGE analysis of eight sediment samples

	W2	W4	S2	S4	S5	N2	N4	N5
香农多样性指数 The Shannon diversity index	2.849	2.83	3.13	2.959	3.441	2.886	2.986	3.195
优势基因型占的比例 The ratio of dominant band	0.358	0.364	0.232	0.272	0.216	0.303	0.21	0.207
DGGE 条带数 Band richness	11	11	11	11	11	11	11	12

3 讨论

近年来,荧光定量PCR在蓝藻水华研究中广泛应用,该方法能够对样品中的目标生物精确定量,专一性强,灵敏度高,结果重复性强,对样品没有限制,能够应用于野外水样和泥样^[7-8]。Schober等通过比较相同样品在不同研究小组和不同定量PCR仪实验结果,发现结果误差率在10%以下。在对蓝藻水华样品的分析中,根据所设计的引物,可以对样品中的蓝藻、微囊藻和有毒微囊藻种群丰度分别进行研究,为更深入认识蓝藻水华动态变化提供了技术支持^[14]。应用荧光定量PCR分析样品中的目标生物首先需要构建标准曲线,一般是在室内纯培养藻株构建标准曲线,设置5—7个浓度梯度,同时要保证所要分析样品和标准品的扩增效率一

致。相对于水样而言,湖泊底泥样品成分更为复杂,含有多种PCR抑制剂,主要有腐质酸、有机化合物和重金属等^[17],均会对定量PCR结果产生影响。在实验中大多采用直接稀释法和基因组纯化法去除抑制剂对PCR扩增的影响^[18-20]。本文在比较2种方法后选择了对基因组直接进行纯化,因为发现稀释法的效果不理想,对基因组稀释50倍以后,还不能完全消除抑制剂的影响,样品间的定量PCR扩增效率误差很大,纯化后基因组定量PCR分析效果比较理想。需要注意的是,基于DNA水平的定量PCR可能会过高估计藻细胞种群丰度,因为藻细胞死亡后DNA会长时间留在底泥中,和底

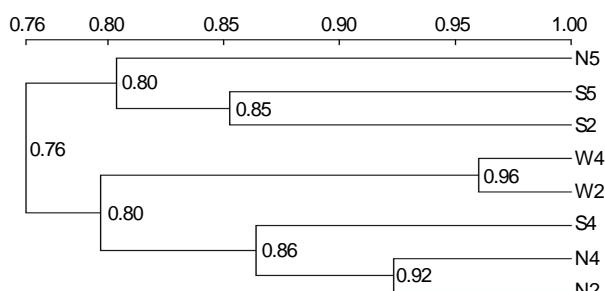


图7 不同湖区样品聚类分析

Fig. 7 Cluster analysis of sediment samples from different lake area

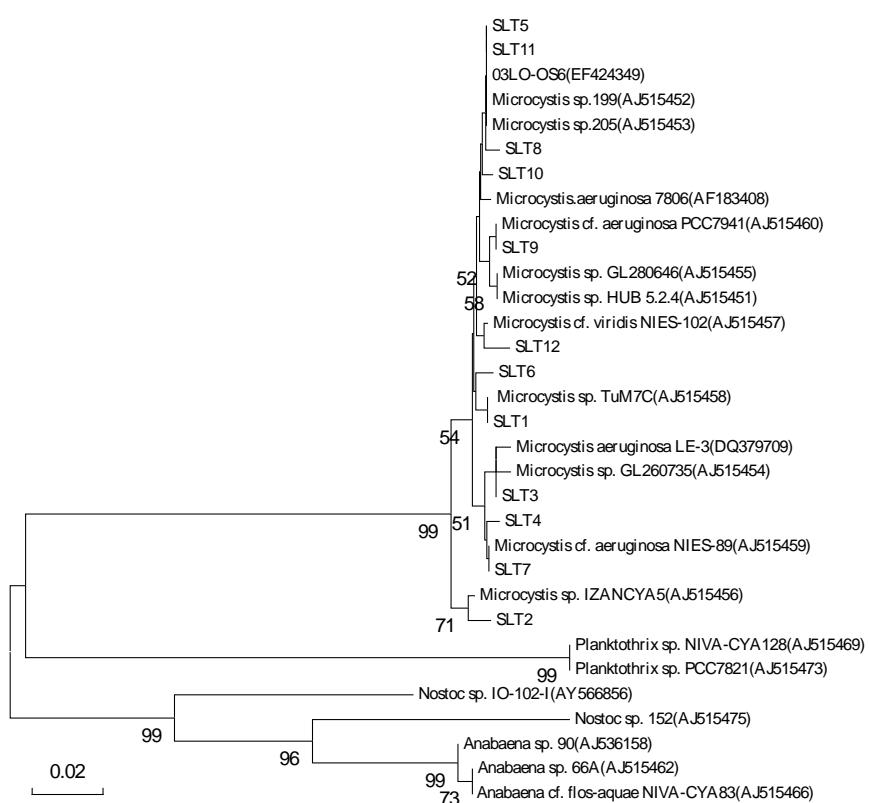


图8 基于mcyA序列的系统进化树,其中SLT(1—12)分别表示DGGE图谱中测序的条带

Fig. 8 Phylogenetic tree based on the partial mcyA sequences, SLT (1—12) obtained from excised gel bands in the DGGE Profiles of eight samples

泥中成分结合^[21]。因此,构建RNA特异性探针可以检测底泥中活细胞及其定量将是今后研究的重点^[9]。

蓝藻在底泥中越冬是躲避不良环境,保持种群生存的一种策略,同时也能够为来年蓝藻水华发生提供种源,具有双重效应。尤其是在一些浅水湖泊,底泥中的蓝藻能够持续为水体提供种源,对湖泊夏季蓝藻水华的形成具有重要影响^[2]。太湖是一个典型的大型浅水湖泊,平均水深仅有1.89m。张晓峰等对太湖梅梁湾水华复苏过程进行了研究,发现底泥底泥中蓝藻复苏对太湖水华形成具有很关键的作用^[22]。本实验室通过近2a的连续研究,发现冬季蓝藻越冬地和来年最先出现水体蓝藻水华的湖区之间有对应关系。因此,对越冬期间蓝藻在底泥中空间分布研究具有重要意义,可以为来年蓝藻水华预测、预警提供重要参考。

从mcyA定量PCR结果来看,有毒微囊藻在底泥中广泛分布,所有样品中都有检出,且不同湖区间种群丰

度差异显著(图5),其中梅梁湾(N2)、竺山湾(N5)、贡湖湾(N4)和湖心(S4)种群丰度都比较高,都超过了 10^5 拷贝数/g干重,而西太湖(W2和W4)和南太湖(S2)种群丰度较低;16S rDNA定量PCR结果表明微囊藻种群丰度分布与有毒蓝藻分布基本一致,但是不同湖区有毒蓝藻在微囊藻种群丰度中的比例有显著差异,其中采样点W2、W4、S2、S4和S5样品中有毒蓝藻的比例较低;而梅梁湾(N2)、竺山湾(N5)和贡湖湾(N4)较高,所有采样点的平均值为19.1%。与Rinta-Kanto等对伊犁湖底泥样品中的研究结果相比较,太湖底泥样品中产毒微囊藻所占的比例高于伊犁湖,伊犁湖有毒微囊藻的比例平均值为4.8%^[23],说明不同湖泊间微囊藻种群丰度及其组成存在差异。但总的看来,太湖底泥中的有毒微囊藻的比例相对较低,不超过50%,这与水体中得出的结论是一致的^[24]。在自然水体中,温度,营养盐和生物因子等均可以影响有毒微囊藻种群相对比例^[25-27]。但底泥中有毒微囊藻种群丰度的相对变化尚无见相关报道,需要进一步研究。综合考虑定量PCR结果和底泥中色素含量,可以得出2010年太湖蓝藻越冬地主要集中在梅梁湾(N2)、竺山湾(N5)、贡湖湾(N4)和湖心(S4),这和2008年越冬蓝藻在底泥中的空间分布有一定的差异,2008年太湖冬季底泥中的蓝藻主要分布于西南湖区,而梅梁湾浓度比较低^[13],且底泥中叶绿素a和藻蓝素浓度总体比本研究结果低,说明蓝藻在底泥中的分布具有一定的年季变化,同时,也说明了极端气候对藻类浓度的影响,在2008冬季出现了多年未见强降温降雪天气,太湖水体温度降至冰点以下,导致水体和底泥中藻类含量普遍偏低。这和文献报道的结果类似^[1]。所以,要充分考虑极端天气(降温、降雪和大风等)对蓝藻种群分布及其动态的影响。

PCR-DGGE技术广泛应用于藻类群落结构组成及时空变化研究^[28-29]。该技术具有灵敏度高,可靠性强、重复性好、方便快捷等优点。总的来说,研究者大多关注水体中藻类群落结构的动态变化,而对底泥中蓝藻群落结构研究相对较少。关于太湖蓝藻群落结构特征已有报道:谭啸等利用PCR-DGGE技术分析了太湖微囊藻群落组成的季节变化^[29]。Ye等研究了太湖梅梁湾有毒蓝藻群落结构的周年变化,发现水华期间有毒蓝藻基因型多样性高于非水华阶段,水华早期多样性高于水华后期,冬季(2月份)水体中仅有1条占优势的基因型条带出现^[30]。本文利用PCR-DGGE分析技术首次对太湖底泥中有毒微囊藻群落结构进行分析。从研究结果可以看出,太湖冬季底泥样品中有毒微囊藻基因型比较丰富,与Ye等人的研究结果相比较,太湖冬季底泥样品中有毒微囊藻基因型丰富度远远高于冬季水体,说明冬季蓝藻下沉到底泥表明越冬,水柱中仅有少量藻细胞存在。本研究的结果间接验证了孔繁翔等提出的温带浅水富营养化湖泊蓝藻水华形成的四阶段理论,该理论提出是基于水体和底泥中蓝藻生物量和生理指标的季节变化,本研究则从种群结构的变化验证了该理论的正确性^[5]。同样,与Ye等人的研究结果相一致,底泥样品中有毒基因型均属于微囊藻藻属,没有发现属于鱼腥藻属(*Anabaena*)和浮丝藻属(*Planktothrix*)有毒基因型,也没有检测到Hotto等报道的一类长度为297bp同样属于微囊藻属的mcyA片段^[31]。这说明太湖中微囊藻毒素是由微囊藻产生。尽管鱼腥藻属和浮丝藻属在太湖浮游植物群落中也有发现,推测它们可能不含有微囊藻毒素合成酶基因簇,因而也缺乏产生微囊藻毒素的能力。

总之,本研究利用建立的荧光定量PCR技术分析了太湖2010年冬季底泥样品中微囊藻和产毒蓝藻种群丰度,同时基于PCR-DGGE技术研究了底泥中有毒蓝藻群落结构,发现有毒基因型均属于微囊藻属,底泥样品中有毒微囊藻种群丰度及其相对比例在不同湖区差异显著,结合样品中色素含量,推测太湖2010年蓝藻水华最早可能出现在竺山湾(N5)、梅梁湾(N2)、和梅梁湾至湖心(S4)一带,需要对这些湖区加强监测力度。

References:

- [1] Brunberg A K, Blomqvist P. Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. *Journal of Plankton Research*, 2002, 24(11): 1247-1252.
- [2] Brunberg A K, Blomqvist P. Recruitment of *Microcystis* (cyanophyceae) from lake sediments: the importance of littoral inocula. *Journal of Phycology*, 2003, 39(1): 58-63.
- [3] Reynolds C S, Jaworski G H M, Cmiec H A, Leedale G F. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kutz. Emend. Elenkin. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B (Biological Sciences)*, 1981, 293(1068): 419-477.

- [4] Tsujimura S, Tsukada H, Nakahara H, Nakajima T, Nishino M. Seasonal variations of *Microcystis* population in the sediments of Lake Biwa, Japan. *Hydrobiologia*, 2000, 434(1/3) : 183-192.
- [5] Kong F X, Gao G. Hypothesis on cyanobacteria bloom-forming mechanism in large shallow eutrophic lakes. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (3) : 589-595.
- [6] Tao Y, Kong F X, Cao H S, Zhang X F. Simulative recruitment of *Microcystis* from the surface sediment in Taihu lake. *Journal of Lake Sciences*, 2005, 17(3) : 231-236.
- [7] Zhang T, Fang H H P. Applications of real-time polymerase chain reaction for quantification of microorganisms in environmental samples. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 70(3) : 281-289.
- [8] Schober E, Werndl M, Laakso K, Korschineck I, Sivonen K, Kurmayer R. Interlaboratory comparison of Taq Nuclease Assays for the quantification of the toxic cyanobacteria *Microcystis* sp. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, 69(1) : 122-128.
- [9] Park T G, Park Y T. Detection of *Cochlodinium polykrikoides* and *Gymnodinium impudicum* (Dinophyceae) in sediment samples from Korea using real-time PCR. *Harmful Algae*, 2010, 9(1) : 59-65.
- [10] Ji J, Kong F X, Yu Y, Zhang M, Yang Z, Qian S Q, Wu X D. Spatial variations of the over-winter cyanobacterial in Lake Taihu. *Journal of Lake Sciences*, 2009, 21(4) : 490-494.
- [11] Jin X C, Tu Q Y. Guidelines of Investigation of Lake Eutrophication. 2nd ed. Beijing: Environmental Science Press, 1990; 240-240.
- [12] Yan R, Kong F X, Han X B. Analysis of the recruitment of the winter survival algae on the sediments of lake Taihu by fluorometry. *Journal of Lake Sciences*, 2004, 16(2) : 163-168.
- [13] Sheng H Y, Li S J. Extraction and PCR amplification of DNA from lake sediments. *Advances in Earth Science*, 2008, 23(4) : 433-438.
- [14] Rinta-Kanto J M, Ouellette A J A, Boyer G L, Twiss M R, Bridgeman T B, Wilhelm S W. Quantification of toxic *Microcystis* spp. during the 2003 and 2004 blooms in western Lake Erie using quantitative real-time PCR. *Environmental Science and Technology*, 2005, 39(11) : 4198-4205.
- [15] Vaitomaa J, Rantala A, Halinen K, Rouhiainen L, Tallberg P, Mokelke L, Sivonen Kaarina. Quantitative real-time PCR for determination of microcystin synthetase E copy numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (12) : 7289-7297.
- [16] Hisbergues M, Christiansen G, Sivonen K, Börner T. PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Archives of Microbiology*, 2003, 180(6) : 402-410.
- [17] Wilson I G. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(10) : 3741-3751.
- [18] Coyne K J, Hare C E, Popelsb L C, Hutchins D A, Cary S C. Distribution of *Pfiesteria piscicida* cyst populations in sediments of the Delaware Inland Bays, USA. *Harmful Algae*, 2006, 5(4) : 363-373.
- [19] Bowers H A, Trice T M, Magnien R E, Goshorn D M, Michael B, Schaefer E F, Rublee P A, Oldach D W. Detection of *Pfiesteria* spp. by PCR in surface sediments collected from Chesapeake Bay tributaries (Maryland). *Harmful Algae*, 2006, 5(4) : 342-351.
- [20] Lin S J, Zhang H, Dubois A. Low abundance distribution of *Pfiesteria piscicida* in pacific and western Atlantic as detected by mtDNA-18S rDNA real-time polymerase chain reaction. *Journal of Plankton Research*, 2006, 28(7) : 667-681.
- [21] England L S, Lee H, Trevors J T. Persistence of *Pseudomonas aureofaciens* strains and DNA in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(9/10) : 1521-1527.
- [22] Zhang X F, Kong FX, Cao H S, Tan J K, Tao Y, Wang M L. Recruitment dynamics of bloom-forming cyanobacteria in Meiliang Bay of Taihu Lake. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16 (7) : 1346-1350.
- [23] Rinta-Kanto J M, Saxton M A, DeBruyn J M, Smith J L, Marvin C H, Krieger K A, Sayler G S, Boyer G L, Wilhelm S W. The diversity and distribution of toxigenic *Microcystis* spp. in present day and archived pelagic and sediment samples from Lake Erie. *Harmful Algae*, 2009, 8 (3) : 385-394.
- [24] Li D M, Kong F X, Yu Y, Zhang M, Shi X L. The abundance of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* populations in the water column and sediment during a water bloom in Lake Taihu. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(2) : 292-298.
- [25] Yoshida M, Yoshida T, Takashima Y, Hosoda N, Hiroishi S. Dynamics of microcystin-producing and non-microcystin producing *Microcystis* populations is correlated with nitrate concentration in a Japanese lake. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 266(1) : 49-53.
- [26] Joung S H, Oh H M, Ko S R, Ahn C Y. Correlations between environmental factors and toxic and non-toxic *Microcystis* dynamics during bloom in Daechung Reservoir, Korea. *Harmful Algae*, 2011, 10 (1) : 188-193.
- [27] Yoshida T, Takashima Y, Tomaru Y, Shirai Y, Takao Y, Hiroishi S, Nagasaki K. Isolation and Characterization of a Cyanophage Infecting the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(2) : 1239-1247.
- [28] Kardinaal W E A, Janse I, van Agterveld M K, Meima M, Snoek J, Mur L R, Huisman J, Zwart Gabriel, Visser P M. *Microcystis* genotype succession in relation to microcystin concentrations in freshwater lakes. *Aquatic Microbial Ecology*, 2007, 48(1) : 1-12.

- [29] Tan X, Kong F X, Zheng Q F, Qian S Q, Zhang M. Seasonal variation of *Microcystis* community in Taihu Lake. Journal of Ecology and Rural Environment, 2009, 25 (1) : 47-52.
- [30] Ye W J, Liu X L, Tan J, Li D T, Yang H. Diversity and dynamics of microcystin-producing cyanobacteria in China's third largest lake. Harmful algae, 2009, 8(5) : 637-644.
- [31] Hotto A M, Satchwell M F, Berry D L, Gobler C J, Boyer G L. Spatial and temporal diversity of microcystins and microcystin-producing genotypes in Oneida Lake, NY. Harmful Algae, 2008, 7(5) : 671-681.

参考文献：

- [5] 孔繁翔, 高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考. 生态学报, 2005, 25(3) : 589-595.
- [6] 陶益, 孔繁翔, 曹焕生, 张晓峰. 太湖底泥水华蓝藻复苏的模拟. 湖泊科学, 2005, 17(3) : 231-236.
- [10] 季健, 孔繁翔, 于洋, 张民, 阳振, 钱善勤, 吴晓东. 太湖越冬蓝藻空间分布的初步研究. 湖泊科学, 2009, 21(4) : 490-494.
- [11] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范. 第二版. 北京: 环境科学出版社, 1990: 240-240.
- [12] 阎荣, 孔繁翔, 韩小波. 太湖底泥表层越冬藻类群落动态的荧光分析法初步研究. 湖泊科学, 2004, 16(2) : 163-168.
- [13] 申慧彦, 李世杰. 湖泊沉积物中 DNA 提取与 PCR 扩增. 地球科学进展, 2008, 23(4) : 433-438.
- [22] 张晓峰, 孔繁翔, 曹焕生, 谈健康, 陶益, 王美林. 太湖梅梁湾水华蓝藻复苏过程的研究. 应用生态学报, 2005, 16 (7) : 1346-1350.
- [24] 李大命, 孔繁翔, 于洋, 张民, 史小丽. 太湖蓝藻水华期间水体和底泥中产毒微囊藻与非产毒微囊藻种群丰度研究. 环境科学学报, 2011, 31(2) : 292-298.
- [29] 谭啸, 孔繁翔, 曾庆飞, 钱善勤, 张民. 太湖中微囊藻群落的季节变化分析. 生态与农村环境学报, 2009, 25 (1) : 47-52.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 21 November, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

- Landscape spatial analysis of a traditional tibetan settlement based on landscape pattern theory and feng-shui theory: the case of Zhagana, Diebu, Gansu Province SHI Lisha, YAN Lijiao, HUANG Lu, et al (6305)
Temporal-spatial differentiation and its change in the landscape ecological security of Wuyishan Scenery District YOU Weibin, HE Dongjin, WU Liyun, et al (6317)
Evaluation of eco-sustainability of roads in a tourism area: a case study within Yulong County JIANG Yiyi (6328)
Study on the compactness assessment model of urban spatial form ZHAO Jingzhu, SONG Yu, SHI Longyu, et al (6338)
A multi-scale analysis of red-crowned crane's habitat selection at the Yellow River Delta Nature Reserve, Shandong, China CAO Mingchang, LIU Gaohuan, XU Haigen (6344)
Assessment and spatial distribution of water and soil loss in karst regions, southwest China FAN Feide, WANG Kelin, XIONG Ying, et al (6353)
Construction of an eco-environmental database for watershed-scale data: an example from the Tarim River Basin GAO Fan, YAN Zhenglong, HUANG Qiang (6363)
Reproductive allocation in dioecious shrub, *Rhamnus davurica* WANG Juan, ZHANG Chunyu, ZHAO Xiupei, et al (6371)
Age-dependent growth responses of *Pinus koraiensis* to climate in the north slope of Changbai Mountain, North-Eastern China WANG Xiaoming, ZHAO Xiupei, GAO Lushuang, et al (6378)
Fine-scale spatial point patterns of *Stipa krylovii* population in different alpine degraded grasslands ZHAO Chengzhang, REN Heng, SHENG Yaping, et al (6388)
Community structure and population regeneration in remnant *Ginkgo biloba* stands YANG Yongchuan, MU Jianping, TANG Cindy Q., et al (6396)
Reproductive characteristics and adaptive evolution of pin and thrum flowers in endangered species, *Primula merrilliana* SHAO Jianwen, ZHANG Wenjuan, ZHANG Xiaoping (6410)
Leaf functional traits of four typical forests along the altitudinal gradients in Mt. Shennongjia LUO Lu, SHEN Guozhen, XIE Zongqiang, et al (6420)
Reclaimed soil properties and weathered gangue change characteristics under various vegetation types on gangue pile WANG Liyan, HAN Youzhi, ZHANG Chengliang, et al (6429)
Influence of fire on stands of *Pinus massoniana* in a karst mountain area of central Guizhou province ZHANG Xi, CHUI Yingchun, ZHU Jun, et al (6442)
Morphological and physiological adaptation of *Caragana* species in the Inner Mongolia Plateau MA Chengcang, GAO Yubao, LI Qingfang, et al (6451)
A comparative study on reasons of degenerated of *Haloxylon ammodendron* population in the western part of Gurbantunggut desert SI Langming, LIU Tong, LIU Bin, et al (6460)
Self-thinning of natural broadleaved forests in Baishilazi Nature Reserve ZHOU Yongbin, YIN You, YIN Mingfang, et al (6469)
Population status and dynamic trends of Amur tiger's prey in Eastern Wandashan Mountain, Heilongjiang Province ZHANG Changzhi, ZHANG Minghai (6481)
The relationship between the occurrence of Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and rivers based on GIS: a case study of Shawan Country LI Chao, ZHANG Zhi, GUO Wenchao, et al (6488)
Occurrence dynamics and trajectory analysis of *Cnaphalocrois medinalis* Guenée in Xing'an Guangxi Municipality in 2010 JIANG Chunxian, QI Huihui, SUN Mingyang, et al (6495)
Adaptability of B-biotype *Bemisia tabaci* (Gennadius) to Host Shift ZHOU Fucai, LI Chuanning, GU Aixiang, et al (6505)
Structural change analysis of cecal bacterial flora in different poultry breeds using PCR-DGGE LI Yongzhu, Yongquan Cui (6513)
Effect of chicken manure-amended copper mine tailings on growth of three leguminous species, soil microbial biomass and enzyme activities ZHANG Hong, SHEN Zhangjun, YANG Guide, et al (6522)
Physiological response of *Microcystis* to solar UV radiation WANG Yan, LI Shanshan, LI Jianhong, et al (6532)
Relationship between cell volume and cell carbon and cell nitrogen for ten common dinoflagellates WANG Yan, LI Ruixiang, DONG Shuanglin, et al (6540)
The community structure and abundance of microcystin-producing cyanobacteria in surface sediment of Lake Taihu in winter LI Daming, KONG Fanxiang, YU Yang, et al (6551)
Influence of green belt structure on the dispersion of particle pollutants in street canyons LIN Yinding, WU Xiaogang, HAO Xingyu, et al (6561)
Spatio-temporal variation analysis of urbanization and land use benefit of oasis urban areas in Xinjiang YANG Yu, LIU Yi, DONG Wen, et al (6568)
Nitrate contamination and source tracing from NO_3^- - $\delta^{15}\text{N}$ in groundwater in Weifang, Shandong Province XU Chunying, LI Yuzhong, LI Qiaozhen, et al (6579)
The impact of rising temperature on spring wheat production in the Yellow River irrigation region of Ningxia XIAO Guojun, ZHANG Qiang, ZHANG Fengju, et al (6588)
A new hyperspectral index for the estimation of nitrogen contents of wheat canopy LIANG Liang, YANG Minhua, DENG Kaidong, et al (6594)
The feature of N_2O emission from a paddy field in irrigation area of the Yellow River ZHANG Hui, YANG Zhengli, LUO Liangguo, et al (6606)
Review and Monograph
Research perspective for the effects of nitrogen deposition on biogenic volatile organic compounds HUANG Juan, MO Jiangming, KONG Guohui, et al (6616)
Scientific Note
Response of anatomical structure and photosynthetic characteristics to low light stress in leaves of different maize genotypes DU Chengfeng, LI Chaohai, LIU Tianxue, et al (6633)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

*《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次, 全国排名第 1; 影响因子 1.812, 全国排名第 14; 第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊; 中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生态学报
(SHENTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 21 期 (2011 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 21 2011

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	冯宗炜	Editor-in-chief FENG Zong-Wei
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	

