

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**

中国生态学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

中国科学院科学出版基金资助出版

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·····	王丽艳,韩有志,张成梁,等 (6429)
火烧对黔中喀斯特山地马尾松林分的影响·····	张喜,崔迎春,朱军,等 (6442)
内蒙古高原锦鸡儿属植物的形态和生理生态适应性·····	马成仓,高玉葆,李清芳,等 (6451)
古尔班通古特沙漠西部梭梭种群退化原因的对比分析·····	司朗明,刘彤,刘斌,等 (6460)
白石砬子国家级自然保护区天然林的自然稀疏·····	周永斌,殷有,殷鸣放,等 (6469)
黑龙江省东完达山地区东北虎猎物种群现状及动态趋势·····	张常智,张明海 (6481)
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·····	李超,张智,郭文超,等 (6488)
2010 年广西兴安地区稻纵卷叶螟发生动态及迁飞轨迹分析·····	蒋春先,齐会会,孙明阳,等 (6495)
B 型烟粉虱对寄主转换的适应性·····	周福才,李传明,顾爱祥,等 (6505)
利用 PCR-DGGE 方法分析不同鸡群的盲肠微生物菌群结构变化·····	李永洙,Yongquan Cui (6513)
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·····	张宏,沈章军,阳贵德,等 (6522)
铜绿微囊藻对紫外辐射的生理代谢响应·····	汪燕,李珊珊,李建宏,等 (6532)
10 种常见甲藻细胞体积与细胞碳、氮含量的关系·····	王燕,李瑞香,董双林,等 (6540)
冬季太湖表层底泥产毒蓝藻群落结构和种群丰度·····	李大命,孔繁翔,于洋,等 (6551)
城市机动车道颗粒物扩散对绿化隔离带空间结构的响应·····	蔺银鼎,武小刚,郝兴宇,等 (6561)
新疆城镇化与土地资源产出效益的空间分异及其协调性·····	杨宇,刘毅,董雯,等 (6568)
山东潍坊地下水硝酸盐污染现状及 $\delta^{15}\text{N}$ 溯源·····	徐春英,李玉中,李巧珍,等 (6579)
增温对宁夏引黄灌区春小麦生产的影响·····	肖国举,张强,张峰举,等 (6588)
一种估测小麦冠层氮含量的新高光谱指数·····	梁亮,杨敏华,邓凯东,等 (6594)
黄河上游灌区稻田 N_2O 排放特征·····	张惠,杨正礼,罗良国,等 (6606)
专论与综述	
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、蛙蚺、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

李永洙, Yongquan Cui. 利用 PCR-DGGE 方法分析不同鸡群的盲肠微生物菌群结构变化. 生态学报, 2011, 31(21): 6513-6521.

Li Y Z, Yongquan Cui. Structural change analysis of cecal bacterial flora in different poultry breeds using PCR-DGGE. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(21): 6513-6521.

利用 PCR-DGGE 方法分析不同鸡群的 盲肠微生物菌群结构变化

李永洙¹, Yongquan Cui²

(1. 临沂大学生命科学学院, 山东临沂 276005; 2. 国立冈山大学自然科学研究科, 日本冈山 700-8530)

摘要: 研究不同品种、饲养阶段的健康和不良鸡群对盲肠细菌种群结构和多样性的影响。使用基于 16S rDNA 的 PCR-DGGE 技术, 结合割胶回收 DNA 进行克隆和测序, 分别以 4、6、10、16、20、40 周龄蛋鸡及 1、2、4、6、7、8 周龄肉鸡健康、不良鸡群盲肠内容物为样本, 研究其中特定细菌类群的 16S rDNA 序列片段指纹图谱, 并进行聚类分析, 鉴定特异性和共性种群。在两品种健康鸡群盲肠内容物的细菌群落中, *Lactobacillus* 属菌株的相似性均高于不良鸡群, 并且在不同饲养阶段的健康、不良鸡群间指纹图谱平均条带数差异显著 ($P < 0.05$); 而 *Bacteroides* 属菌株在健康鸡群盲肠内容物细菌的相似性与不良鸡群较为相近, 健康、不良鸡群间平均条带数差异显著 ($P < 0.05$); *Clostridium* 属菌株在蛋鸡 20、40 周龄的平均条带数差异不显著 ($P > 0.05$), 但肉鸡各周龄健康、不良鸡群间的平均条带数差异显著 ($P < 0.05$)。序列测序结果, 在蛋鸡产蛋期健康、不良鸡群样本中均检测到能动乳杆菌 (*Lactobacillus agilis*), 而育雏和育成期中均检测到鸟乳杆菌 (*Lactobacillus aviaries*) 和不可培养细菌; 两品种的健康、不良鸡群样本中均检测到 *Bacteroides* 属的产酸拟杆菌 (*Bacteroides acidifaciens*)、不可培养物细菌 (Uncultured bacterium); 而健康、不良蛋鸡群样本中均检测到 *Clostridium* 属不可培养的变形菌 (Uncultured proteobacterium), 健康肉鸡群中检测到索氏志贺菌 (*Shigella sonnei*), 而两品种不良鸡群中均缺乏此类菌种。结果显示, 不同品种、饲养阶段的鸡群, 其盲肠细菌群落的组成差异显著, 并且细菌种群结构对鸡群的生长发育影响较大。

关键词: 蛋鸡; 肉鸡; 变性梯度凝胶电泳 (DGGE); 盲肠菌落

Structural change analysis of cecal bacterial flora in different poultry breeds using PCR-DGGE

LI Yongzhu¹, Yongquan Cui²

1 College of Life Science, Linyi University, Linyi 276005, China

2 Laboratory of Animal Genetics Okayama University, Okayama, 700-8530, Japan

Abstract: This study investigated the effects of normal and slow poultry development on the structural diversity of cecal bacterial flora using different chicken breeds and feeding stages. Cecal samples were collected from normal and slow developing, 4, 6, 10, 16, 20, and 40-week-old commercial layers, and 1, 2, 4, 6, 7, and 8-week-old broilers chickens. Polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) of bacterial 16S ribosomal deoxyribonucleic acid (rDNA) was used, in combination with cloning and sequencing of amplified fragments to produce bacterial flora DNA fingerprints. Cluster analysis was further used to identify the specific and common community members. *Lactobacillus* species were more similar in normal chickens of both breeds than in slow developing chickens. A significant difference ($P < 0.05$) in the average 16S rDNA PCR-DGGE fingerprint band number was observed between normal and slow

基金项目: 山东省教育厅科技计划项目 (J06K58); 临沂大学博士科研启动基金 (BS07011); 日本学生支援机构归国外国留学生短期研究制度基金项目 (JP22GR037)

收稿日期: 2011-01-28; **修订日期:** 2011-09-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ri Yongzhu@yahoo.com.cn

developed chickens of the same breed at different ages. *Bacteroides* fingerprints indicated similar cecal bacteria in the two breeds of normal and slow developing chickens. Average band numbers for the 16S rDNA PCR-DGGE fingerprints of the two breeds at different ages were not significantly different ($P>0.05$), while band numbers between normal and slow developed chickens was significant ($P<0.05$). *Clostridium* specific fingerprints were not significantly different between 20-week and 40-week-old commercial layers ($P>0.05$), and significantly different between healthy and poor broiler chickens of different ages ($P<0.05$). *Lactobacillus agilis* was most abundant in both normal and slow developing commercial layers during the laying period, while *Lactobacillus aviaries* and an unculturable bacteria were abundant during the brooding and rearing periods. *Lactobacillus animalis*, *Bacteroides acidifaciens* and an unculturable *Bacteroides* sp., along with unculturable *Clostridium* were common in both chicken breeds undergoing normal and slow development. Unculturable proteobacteria were also abundant in commercial layers. *Shigella sonnei* was prevalent in normal broiler chickens, but absent in the slow developing chickens. Substantial differences in the cecal bacterial community composition exist between different chicken breeds at different developmental stages. Furthermore, bacterial population structure potentially has a major influence on chicken growth.

Key Words: broiler; chicken; Denaturing Gradient Gel electrophoresis; cecal bacterial flora

家禽肠道是一个复杂而多样的生态环境,其体内微生物超过 400 种,这些微生物对宿主的正常发育和营养物质的消化吸收起着重要的作用。长期以来,由于微生物形态过于简单,缺乏明显的外部特征,随着基于 16S rDNA 分子技术发展,更全面更深入的了解微生物菌落结构,其中 DGGE/TGGE 技术被用于检测人类^[1]、猪^[2]、鸡^[3]等动物胃肠道主要细菌的结构和多样性,但 DGGE 方法只能检测到样品中含量在 1% 以上的细菌^[4]。目前,对宿主与肠道微生物之间相互作用的了解非常有限,对肠道微生物是否会导致动物肠道紊乱等相关研究十分迫切^[5]。肠道菌群失调会引发机体对营养物质的吸收,降低机体免疫力,削弱肠道的屏障功能,影响家畜的生长和健康。家禽品种、饲养环境以及饲养方式影响肠道菌群,使肠道菌群的研究很难标准化,倪学勤^[6]等利用 PCR-DGGE 技术分析蛋鸡 MHC 基因与商品蛋鸡对肠道细菌种群结构的影响,结果显示不同宿主基因影响蛋鸡不同周龄、不同肠段细菌种群的结构。Lovanh^[7]等运用 PCR-DGGE 技术对鸡舍中不同位置的 44 个鸡粪样本进行了分析,结果显示革兰氏阳性菌乳杆菌目、芽孢杆菌目和放线菌类在鸡粪微生物种群结构中占主导地位。但有关家禽健康、不良鸡群对肠道菌群的影响,未见相关报道。本文通过特定细菌物种专一性引物 PCR-DGGE 方法,对饲养管理和饲养条件相同的依莎褐蛋鸡和艾维茵肉鸡健康、不良鸡群盲肠内容物菌群 16S rDNA V₃ 区进行 PCR-DGGE 指纹图谱比较分析,研究不同品种、饲养阶段的健康和不良鸡群的盲肠细菌种群结构和多样性的变化,旨在为研制微生态制剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集和处理

试验利用饲养在山东省临沂某饲养场不同养殖分场依莎褐蛋鸡和艾维茵肉鸡(饲养环境、饲料条件相同),分别在无菌的状态下 4、6、10、16、20、40 周龄蛋鸡(育雏 4、6 周、育成 10、16 周、产蛋 20、40 周)及 1、2、4、6、7、8 周龄肉鸡(育雏 1、2 周、育成 4、6 周、育肥 7、8 周)健康、不良鸡群(体重与正常鸡群偏低 20% 以下)盲肠内容物为样本,并将相同 5 羽鸡的盲肠内容物均匀混合,然后按 0.2 g/管分装到 2 mL 离心管,置 -20 °C 保存备用。

1.2 主要试剂和仪器

Taq DNA 聚合酶及 PCR 反应缓冲液购自 Takara(Japan,Tokyo);PCR 引物由 Laboratory of Animal Genetics Okayama University of Guelph 合成;DGGE 成套试剂购自 Bio-Rad 公司(Japan Tokyo);QIAamp® DNA Stool Mini Kit 和 QIAprep® Spin Miniprep Kit 购自 QIAGEN 公司;TOPO TA Cloning® Kit 购自 Biodynamics Laboratory Inc 公司;银染药品和试剂购自 Thermo Fisher Scientific K. K 公司。310 型 DNA 测序仪(ABI PRISM® 310

Genetic Analyzer, Laboratory of Animal Genetics Okayama University Japan Okayama)。

1.3 细菌总 DNA 的提取

参照文献^[8],采用 QIAamp® DNA Stool MiniKit,按照操作手册提取细菌总 DNA。用核酸浓度测定仪测定总 DNA 浓度,置-20℃保存备用。

1.4 基因组总 DNA 16S rDNA V₃区特异性扩增片段

引物设计参照文献^[9](HDA1-GC 和 HDA2),PCR 反应体系参照文献^[10](50 μL):10×缓冲液 5 μL (15 mmol/L MgCl₂),dNTP(10mmol/μL) 4 μL,引物(10pmol/μL) 1 μL,模板 DNA1.0 μL,TaqDNA 聚合酶(5U/μL) 0.5 μL,ddH₂O 补足 50 μL。PCR 扩增条件(Touchdown)见表 2。PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测片段大小和浓度。

表 1 特异性引物序列

Table 1 Specific sequence of primers

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	引物位置 Primer position	片段大小 Product size (bp)
HDA1-GC ^[9]	F:5'-CGCCCCGGGCGCGCCCCGGGCGGGCGGGGGCAGG GGGGACTCCTACGGGAGGCAGCAG T-3'	339—396(57 mer)	
HDA1 ^[9]	F:5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'	339—356(17 mer)	161-201
HDA2 ^[9]	R:5'-GTA TTA CCG CGGCTGCTG GCAC-3'	539—556(17 mer)	
<i>Lactobacillus</i> ^[11]	F:5'-GGAAACAGRTGCTAATACCG-3'	156—176(20 mer)	518—522
	R:5'-CACCGTACACATGGAG-3'	677-694(17 mer)	
<i>Bacteroides</i> ^[12]	F:5'-GAAGGTCCCCACATTG-3'	303—320(17 mer)	406—407
	R:5'-CAATCGGAGTTCTTCGTG-3'	708-726(18 mer)	
<i>Bifidobacterium</i> ^[13]	F:5'-GGGTGTAATGCCGGATG-3'	164—182(18 mer)	438—440
	R:5'-TAAGCCATGGACTTTACACACC-3'	601-622(21 mer)	
<i>Clostridium</i> ^[14]	F:5'-AAAGGRAGATTAATACCGCATAA-3'	150—173(23 mer)	538—541
	R: 5'-TTCTTCCTAATCTCTACGCA-3'	690-710(20 mer)	

表 2 PCR 反应程序

Table 2 PCR reaction program

名称 Name	预变性 Initial denaturation	变性 Denaturation	退火 Annealing	延伸 Extension	循环 Cycle	最后延伸 Last extension
Touchdown ^[10]	94℃ 10min	93℃ 30s	65℃ 30s	72℃ 1min	10	72℃ 1min
		93℃ 30s	60℃ 30s	72℃ 1min	10	72℃ 1min
		93℃ 30s	55℃ 30s	72℃ 1min	10	72℃ 1min
<i>Lactobacillus</i> ^[11]	94℃ 2min	94℃ 30s	61℃ 1min	68℃ 1min	35	68℃ 5min
<i>Bacteroides</i> ^[12]	94℃ 5min	95℃ 1min	56℃ 1min	72℃ 45s	35	72℃ 5min
<i>Bifidobacterium</i> ^[13]	94℃ 5min	95℃ 1min	59℃ 1min	72℃ 45s	35	72℃ 5min
<i>Clostridium</i> ^[14]	95℃ 3min	95℃ 45s	57℃ 45s	72℃ 2min	35	72℃ 3min
<i>Cloning</i>	95℃ 8min	95℃ 1min	55℃ 1min	72℃ 1min	30	72℃ 8min
ByeDye25	98℃ 2min	96℃ 10s	50℃ 5s	60℃ 4min	25	60℃ 2min

1.5 基因组总 DNA 16S rDNA V₃区扩增片段变性梯度凝胶电泳

利用已获得的 DNA 16S rDNA V₃区扩增片段产物,用相应的微卫星引物和 PCR 扩增条件^[11-14]进行 PCR 扩增。PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测片段大小和浓度。参照文献^[15],使用 Bio-Rad Dcode 进行 DGGE 凝胶电泳。8% 的聚丙烯酰胺胶上进行分离,变性剂梯度范围为 20%—60% (100% 的变性剂包含 7 mol/L 尿素和 40% 去离子甲酰胺)。电泳在恒温 60℃ 下 1×TAE 缓冲液中进行,电压 150V,时间 12 h。电泳结束后进行 SYBRgreen I(100×)染色,用 UVI 成像系统检测照相。将 DGGE 图谱上的差异条带和共性条带分

别回收,从凝胶上小心切下 DGGE 条带,放入 1.5 mL 灭菌离心管中,加入 10 μ L 无菌水,在暗处 4 $^{\circ}$ C 中放置过夜。用相应的微卫星引物(HDA1 和 HDA2)进行二次 PCR 扩增。PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测片段大小和浓度。

1.6 基因组总 DNA 16S rDNA V₃区扩增片段琼脂糖凝胶电泳回收、纯化与载体的连接、测序

用无菌手术刀将琼脂糖凝胶电泳回收。回收产物用 Wizard PCR Prep sDNA Purification System 进行纯化,纯化产物采用 DynaExpressTA PCR Cloning Kit (TaKaRa),构建克隆文库,用 QIAamp[®] DNA Stool MiniKit,抽提质粒,经 PCR 和电泳确证克隆片段的正确性。将筛选后的细菌 DNA 应用 PCR 的 ByeDye25 法全扩增。PCR 产物经处理后在 310 型 DNA 测序仪。所得结果在 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库中进行检索,确定细菌的种类和名称,寻找亲缘关系最近的细菌或克隆。

1.7 数据统计分析

盲肠微生物菌群的数据分析使用分析软件 BioNumerics 3.0 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) 对 PCR-DGGE 指纹图谱进行条带计数,用 Dice 方法计算相似性指数 Cs,用 UPGMA (unweighted pair group mean average) 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 蛋鸡和肉鸡盲肠内容物中的特定菌群分析

盲肠内容物的特定菌群分析表明,*Lactobacillus*、*Bacteroides* 特异引物扩增中 24 个样本中均得到 16S rDNA V₃区片段,但 *Bifidobacterium* 扩增中未获得 16S rDNA V₃区片段,*Clostridium* 扩增中 20、40 周龄蛋鸡和 4、6 周龄肉鸡发育不良鸡群以及 1、2、8 周龄健康肉鸡群共 7 个样本中获得 16S rDNA V₃区片段,利用上述已得到片段 16S rDNA V₃区进行 PCR-DGGE 指纹图谱和聚类分析。图 1 为 *Lactobacillus* 属菌株分析结果,尽管 2 个截然不同品种均有一些共性条带,在两品种健康鸡群盲肠内容物的细菌群落中,*Lactobacillus* 属菌株的相似性均高于不良鸡群;同一品种不同周龄的健康、不良鸡群间指纹图谱平均条带数差异显著 ($P < 0.05$)。两品种育雏期细菌种类均最丰富,分别为 14—18 和 9—14 条,育成期分别为 11—15 和 9—14 条,产蛋期(育肥)细菌种类比较少,分别为 7—11 和 7—12 条。

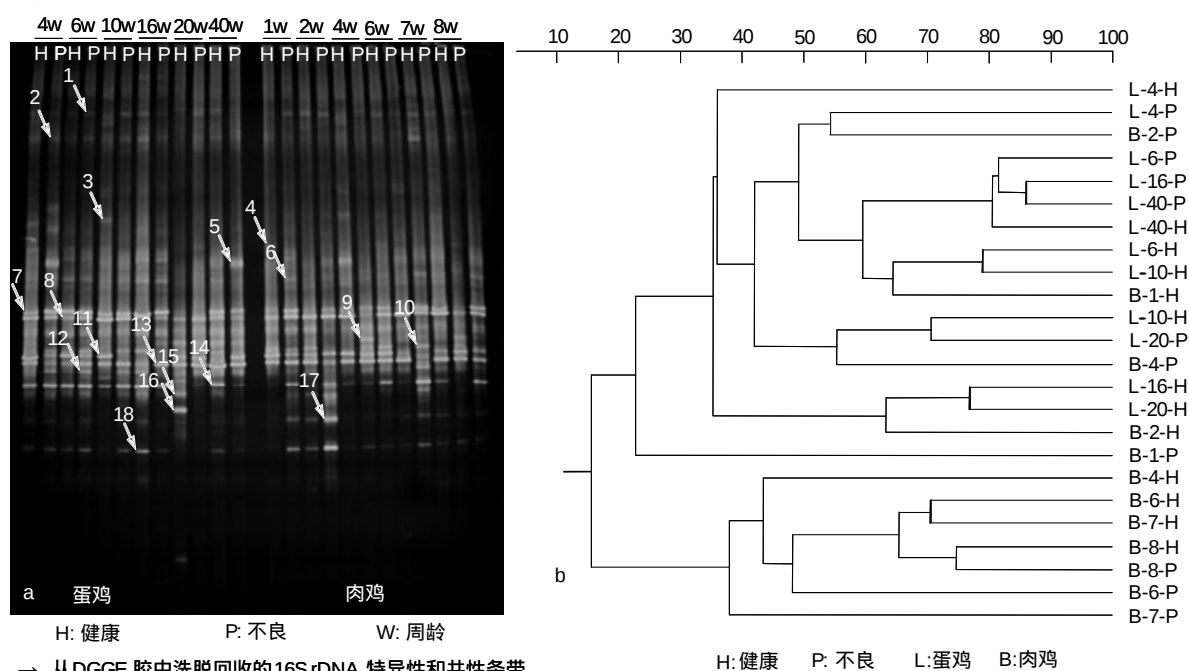


图1 不同周龄蛋鸡和肉鸡盲肠微生物细菌 16S rDNA V₃区 *Lactobacillus* 特异性 PCR-DGGE 指纹图谱(a)和聚类分析(b)

Fig. 1 *Lactobacillus* Specificity PCR- DGGE DNA profiles of the Caeca and dendrogram of the V₃ region of 16S rDNA (a) of bacteria in Cecal digesta obtained at different age(b)

图 2 为 *Bacteroides* 属菌株分析结果,健康、不良鸡群盲肠内容物的细菌群落中,*Bacteroides* 属菌株的相似性较为相近;两品种均具有较多共性条带,蛋鸡和肉鸡在不同周龄指纹图谱的平均条带数差异均不显著 ($P>0.05$),但健康、不良鸡群间平均条带数差异显著 ($P<0.05$)。

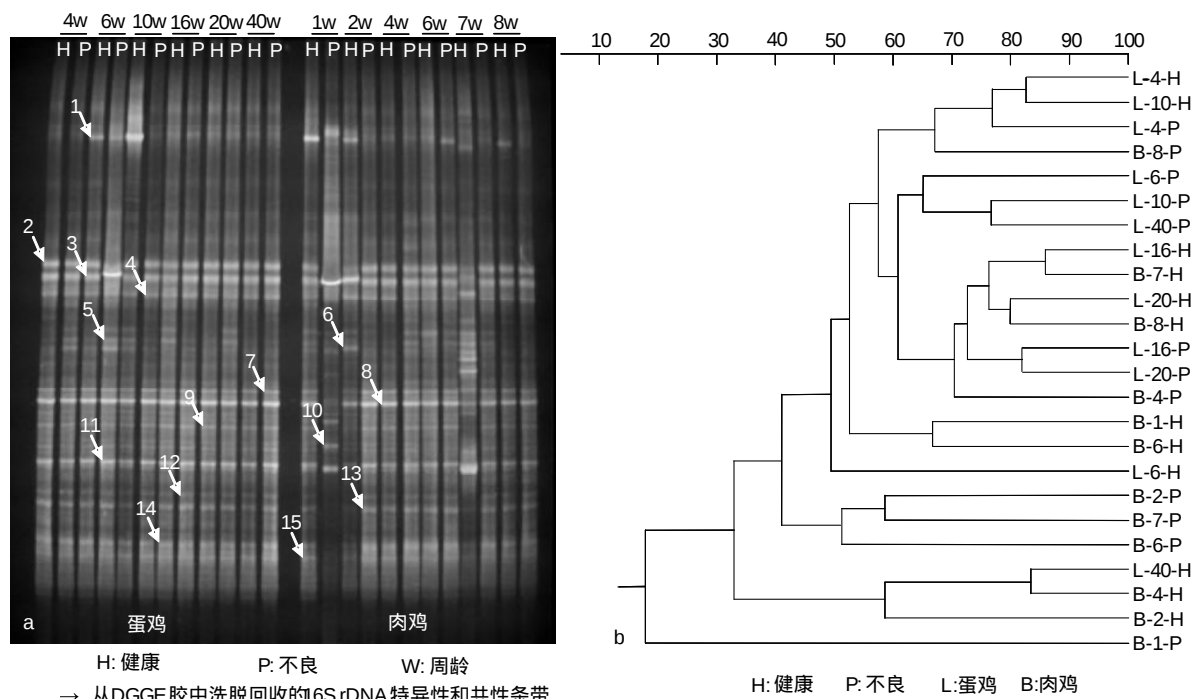


图 2 不同周龄蛋鸡和肉鸡盲肠微生物细菌 16S rDNA V3 区 *Bacteroides* 特异性 PCR-DGGE 指纹图谱 (a) 和聚类分析 (b)

Fig. 2 *Bacteroides* Specificity PCR-DGGE DNA profiles of the Caeca and dendrogram of the V3 region of 16S rDNA (a) of bacteria in Cecal digesta obtained at different age (b)

图 3 中可知, *Clostridium* 属菌株在不良鸡群的 20、40 周龄间蛋鸡平均条带数差异不显著 ($P>0.05$), 但肉鸡不同周龄的健康、不良群间平均条带数差异显著 ($P<0.05$)。蛋鸡不良鸡群产蛋期细菌种类最丰富, 电泳条带分别为 12 和 14 条; 而育雏期和育肥期健康肉鸡群, 电泳条带数分别为 17—19 和 8 条, 生长期不良鸡群, 电泳条带数 11—24 条。

2.2 蛋鸡和肉鸡盲肠内容物中的菌群组成分析

图 4 中可知, 不同品种、饲养阶段的健康和不良鸡群对盲肠细菌群落的组成影响显著。即蛋鸡的育雏、育成期和产蛋期 *Lactobacillus* 属菌株相似性指数分别为 65.13%—67.50%、54.17%—64.17% 和 36.67%—43.56%; 而肉鸡育雏、生长期和育肥期分别为 50.48%—53.09%、42.22%—47.79% 和 55.00%—56.25%。菌群相似性指数是测量群落间或样方间相似程度指数指标。相似性指数的高低说明不同饲养阶段的健康、不良鸡群间群落相似程度。相似性指数的高低间接地说明共性菌群以外的菌群情况。上述结果中可知, 产蛋期对盲肠细菌组成的影响最大, 育雏期对盲肠细菌组成的影响较小; 而肉鸡生长期对盲肠细菌组成的影响最大, 育肥期对盲肠细菌组成的影响最小。 *Bacteroides* 属菌株相似性指数在蛋鸡育雏期对盲肠细菌组成的影响最大, 相似性指数为 41.05%—45.41%, 其次为育成期, 相似性指数为 48.68%—49.78%, 产蛋期对盲肠细菌的影响较小, 相似性 55.56%—56.45%; 而肉鸡生长期对盲肠细菌组成的影响最大, 相似性指数为 32.75%—48.68%, 其次育雏期, 相似性指数为 53.74%—56.86%, 育肥期影响最小, 相似性 57.78%—60.27%。

2.3 蛋鸡和肉鸡盲肠内容物中各细菌菌群的物种多样性分析

指纹图谱中分别割胶回收测序结果见表 3。 *Lactobacillus* 属在产蛋期健康、不良鸡群中均检测到 *Lactobacillus agilis*; 而育雏、育成期中检测到 *Lactobacillus aviaries*、Uncultured bacterium (第 8 条带)。在两品种健康、不良鸡群中均检测到 Uncultured Weissella sp、 *Lactobacillus animalis*。另外, 20、40 周龄蛋鸡和 4、6 周龄肉鸡的不

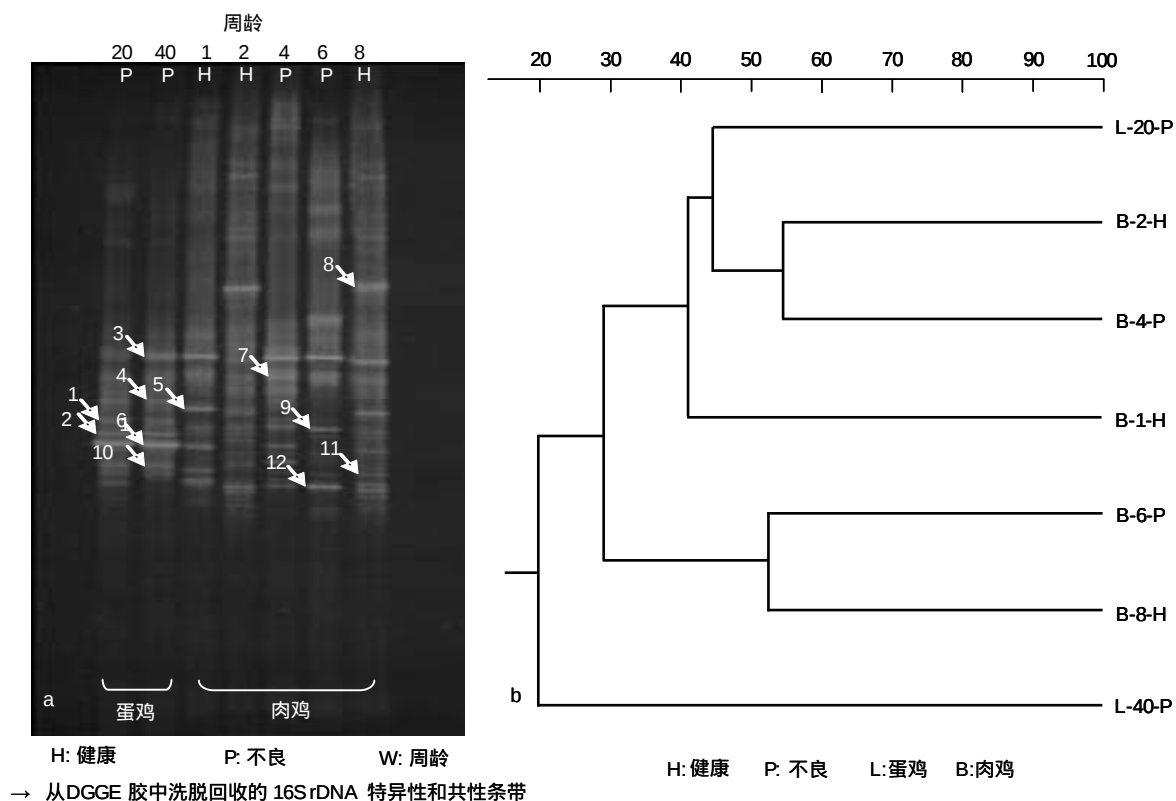


图3 不同周龄蛋鸡和肉鸡盲肠微生物细菌 16S rDNA V3 区 *Clostridium* 特异性 PCR-DGGE 指纹图谱(a)和聚类分析(b)

Fig. 3 *Clostridium* Specificity PCR- DGGE DNA profiles of the Caeca and dendrogram of the V3 region of 16S rDNA (a) of bacteria in Cecal digesta obtained at different age (b)

良鸡群以及 1、2、8 周龄健康肉鸡群共 7 个样本中均检测到 *Uncultured bacterium* (第 12 条带), 而未检测到 *Lactobacillus johnsonii* (第 14 条带)。*Clostridium* 属在两品种健康、不良鸡群中均检测到 *Uncultured bacterium* (第 3 条带); 其中蛋鸡中检测到 *Uncultured proteobacterium* (第 1 条带), 而肉鸡群检测到 *Uncultured bacterium* (第 9 条带); 健康肉鸡群中检测到 *Shigella sonnei* (第 5 条带), 而两品种不良鸡群均缺乏此类菌种。两品种健康、不良鸡群中均检测到 *Bacteroides* 属的 *Bacteroides acidifaciens*、*Uncultured bacterium*。在 45 个测序结果中, 与 GenBank 数据库中微生物的同源性绝大多数均大于

98%, 有的同源性甚至达到 100%, 但是 *Lactobacillus* 属条带 8 和 14 与已鉴定物的相似性仅为 93% 和 90%, 而与之亲缘关系最近的已鉴定的微生物的同源性仅为 90% 和 84%, 因此该序列所代表的微生物为新的不可培养微生物; 条带 2 和 17 与已鉴定的菌中相似性仅为 95% 和 94%, 而同源性仅为 91% 和 89%, 说明该条带代表的微生物是加氏乳杆菌 (*Lactobacillus gasseri*) 和德氏乳杆菌 (*Lactobacillus delbrueckii*) 的新种。*Bacteroides* 属条带 7、9、13、14 与已鉴定的菌中相似性仅为 94%、90%、94%、91%, 而同源性仅为 90%、85%、91%、87%, 因此该序列所代表的微生物为新的不可培养微生物; 条带 10 和 12 与已鉴定的菌中相似性仅为 92% 和 91%, 而同源性仅为 86% 和 83%, 说明该条带代表的微生物是溃疡拟杆菌 (*Bacteroides helcogenes*) 和卵形拟杆菌 (*Bacteroides ovatus*) 的新种。*Clostridium* 属条带 1 与已鉴定的菌中相似性仅为 92%, 而同源性仅为 86%, 因此该序

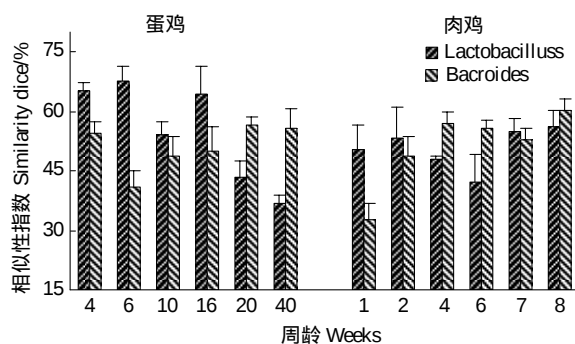


图4 盲肠微生物 DNA-DGGE 的相似性指数分析

Fig. 4 Similarity Profiles of the cae ca

列所代表的微生物为新的不可培养微生物。

表3 PCR-DGGE 共性条带和特异性条带的基因片段序列的比对结果

Table 3 Comparison of genomic sequences in common bands and special bands by sequencing and BLAST analysis

条带 Band	相近菌种 Similar lactic acid bacteria species	碱基数 (bp) Number of bases (bp)	相似率/% Similarity	GenBank 登记号 Registration number
<i>Lactobacillus</i> Specific PCR-DGGE				
1	Uncultured bacterium	710	98	FJ836331
2	<i>Lactobacillus gasseri</i>	684	95	GU417927
3	Uncultured bacterium	194	99	HQ396113
4	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	543	99	HQ384286
5	Uncultured bacterium	747	100	HM575083
6	Uncultured bacterium	223	99	HQ314997
7	<i>Weissella. Cibaria</i>	560	100	GU369787
8	Uncultured <i>Weissella</i> sp	198	93	AB536789
9	<i>Lactobacillus agilis</i>	508	98	AB300519
10	<i>Lactobacillus salivarius</i>	534	99	HQ384292
11	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	966	100	GU344709
12	<i>Lactobacillus aviaries subsp</i>	691	99	AB289044
13	<i>Lactobacillus animalis</i>	1360	99	HQ293062
14	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	747	99	HQ384294
15	Uncultured bacterium	187	90	GU578810
16	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	1471	100	HM162410
17	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	192	94	EF015468
18	Uncultured bacterium	702	99	FJ834503
<i>Bacteroides</i> Specific PCR-DGGE				
1	Uncultured bacterium	571	97	EU506108
2	Uncultured bacterium	781	95	HQ321794
3	Uncultured bacterium	545	98	HQ320782
4	Uncultured bacterium	1495	100	EU791191
5	Uncultured bacterium	547	98	AY668237
6	<i>Bacteroides ovatus</i>	1459	98	AB510705
7	Uncultured bacterium	700	94	FJ557165
8	<i>Bacteroides acidifaciens</i>	1490	99	AB510696
9	Uncultured Bacteroidales bacterium	461	90	HM079683
10	<i>Bacteroides helcogenes</i>	1473	92	AB510707
11	Uncultured bacterium	499	95	AJ419037
12	<i>Bacteroides ovatus</i>	1459	91	AB510705
13	Uncultured bacterium	699	94	HQ321414
14	Uncultured Bacteroidales bacterium	805	91	MH104791
15	<i>Bacteroides</i> sp. S-17	1487	91	AB470334
<i>Clostridium</i> Specific PCR-DGGE				
1	Uncultured proteobacterium	636	92	EF697608
2	<i>Erwinia</i> sp. 728MF	722	100	DQ904614
3	Uncultured bacterium	1407	100	FJ683891
4	Uncultured bacterium	745	99	FJ163926
5	<i>Shigella sonnei</i>	1224	100	HQ407271
6	Uncultured <i>Escherichia</i> sp.	717	99	DQ856885
7	Uncultured bacterium	1515	98	AB506188
8	Uncultured bacterium	877	100	GU171201
9	Uncultured bacterium	884	100	GU060393
10	<i>Clostridium sartagoforme</i>	1420	100	FJ384380
11	<i>Clostridium</i> sp. CM-C81	1420	100	EU869238
12	<i>Swine fecal bacterium RF3E-Xyl6</i>	1431	100	FJ753844

3 讨论

家禽的生长发育受遗传、营养、饲养管理和疾病等因素的影响,许多疾病会导致饲料利用效率下降,使之正常发育受阻。肠道微生物可通过养分的利用和胃肠道系统的发育来影响宿主的营养、健康和生长性能。肠道微生物菌群的组成,会对宿主的健康和生长产生积极或消极的影响^[16]。对人类^[1]、猪^[2]、鸡^[3]等的研究结果均证实不同个体肠道菌群指纹图谱有差异,即使是饲养于相同环境,饲喂相同饲料,相互接触的同龄肉鸡,都会表现出不同的带谱,说明宿主因素对肠道菌群的组成影响很大^[17]。本试验结果显示,*Lactobacillus* 菌属在产蛋期健康鸡群盲肠内容物的细菌种类比不良鸡群丰富;肉鸡育成末期后健康鸡群的细菌种类比不良鸡群丰富。*Bacteroides* 菌属在两品种具有较多的共性条带,健康与不良鸡群盲肠内容物的细菌菌株的相似性较为相近,育雏期健康鸡群与不良比较细菌种类较少。本结果证实 *Lactobacillus* 菌属在不同宿主的健康、不良鸡群在相同饲养环境条件下影响盲肠细菌种类,特别在育成后期开始尤为明显,说明肠道内环境(如 pH 值、营养、氧气含量等)的影响逐渐增强。

光冈知足^[18]等对家禽盲肠内的正常菌群和优势菌群进行过研究。研究证明,正常情况下,成年鸡肠道内正常菌群是处于生态平衡状况,肠道内各菌类间也有稳定的比例关系,这种生态平衡能抑制外界病原菌的入侵。新生雏鸡 4 日龄后卵黄抗体逐渐消失,肠内细菌群尚未形成稳定的区系、可能是造成 9—21 日龄雏鸡消化道疾病高发期的原因。因而,尽早确立肠道优势菌群的优势地位,建立平衡的肠道菌群,是预防雏鸡消化道疾病的重要条件。Vaahtovuori 等采用气液色谱法测定鼠粪样菌群,发现 4 个品种小鼠的粪样菌群有差异,尤其是在 17—19 周龄,菌群差异最明显,证实基因型的作用与年龄有关^[19]。本试验中蛋鸡和肉鸡不同饲养阶段对盲肠细菌种群的影响均存在年龄(周龄)效应。本试验结果显示,*Lactobacillus* 属菌株在蛋鸡幼雏、育成期细菌种类比产蛋期丰富;而肉鸡幼雏期比育成、育肥期细菌种类丰富。*Bacteroides* 属菌株在蛋鸡产蛋期盲肠细菌种类比育雏期丰富;而肉鸡育雏期与育成、育肥期比较细菌种类较少。本试验结果与倪学勤^[6]等研究结果相同,证实基因型对菌群的影响与年龄有关。

Ley R E^[20]等研究证明宿主基因型可影响肠道主要正常菌群,宿主因素决定细菌在不同个体中的定植能力,肠内正常菌群平衡是相对的。饲料种类、抗菌药物、疾病、气候变化以及日龄等因素,均可影响菌群数量和种类的变动,研究比较雏鸡、育成鸡和成年鸡肠道后段菌群变化,发现雏鸡随日龄增长双歧杆菌与大肠杆菌明显增加。本试验测序的盲肠优势菌群与前者研究结果相似,但本试验无法鉴定双歧杆菌,原因尚不清楚,还有待深入研究。另外,倪学勤^[21]等研究证明蛋鸡消化道前段的优势细菌三得利乳杆菌、索氏梭菌和大肠杆菌等在盲肠中没有相应条带,说明它们在盲肠中的含量比较少或不能在盲肠定植。本试验结果,索氏梭菌(*Clostridium*) 仅在 7 个样品中所取得扩增片段,说明其他个体中肠中的含量比较少或不能在盲肠内容物样本中检测。*Lactobacillus*、*Clostridium* 属菌株盲肠内的特异性条带很多,*Bacteroides* 属菌株共性条带很多,而测序结果也证实大多数是至今尚不可培养的细菌。Ley R E^[22]等研究显示,肥胖和瘦弱寄主拥有不同结构的微生物群系,对微生物发酵的效率和微生物的组成结构进行对比分析,可建立最佳的可促进人类健康的微生物群系模型;而在畜牧养殖方面,可建立育肥微生物群系和提高瘦肉率的微生物群系模型等,从而根据畜禽的特点进行投喂,以提高畜禽的生产性能。至于本研究中发现的 *Lactobacillus johnsonii* (第 14 条带)未出现指纹图谱的 20、40 周龄蛋鸡和 4、6 周龄肉鸡的不良鸡群以及 1、2、8 周龄健康肉鸡群共 7 个样本与 *Clostridium* 属 *Shigella sonnei* (第 5 条带)间菌种互作作用以及其菌种对家禽生长发育作用,提取菌种后需要进一步添加验证,筛选有利于促进健康生长的优势菌群,为研制微生态制剂提供理论依据。

4 结论

利用 PCR-DGGE 指纹图谱技术分析健康和不良的蛋鸡、肉鸡的盲肠部位决定菌群结构和多样性。该研究结果对特异引物定向分离培养蛋鸡、肉鸡盲肠优势细菌,调控盲肠菌群平衡,提高家禽生长发育以及生产性能提供科学依据,为家禽微生态制剂的研究开辟了一条更为有效的途径。

致谢:感谢 Nishino naoki 教授及 Wang Chao 博士对本研究给予的帮助。

References:

- [1] Nadal I, Donant E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *Journal of Medical Microbiology*, 2007, 56(12): 1669-1674.
- [2] Konstantinov S R, Zhu W Y, Williams B A, Tamminga S, de Vos W M, Akkermans A D L. Effect of fermentable carbohydrates on piglet faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 43(2): 225-235.
- [3] van Der Wielen P W J J, Keuzenkamp D A, Lipman L J A, Knapen F, Biesterveld S. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microbial Ecology*, 2002, 44(3): 286-293.
- [4] Zoetendal E G, Collier C T, Koike S, Mackie R I, Gaskins H R. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(2): 464-472.
- [5] Flórez A B, Mayo B. PCR-DGGE as a tool for characterizing dominant microbial populations in the Spanish blue-veined Cabrales cheese. *International Dairy Journal*, 2006, 16(10): 1205-1206.
- [6] Ni X Q, Gong J S, Yu H, Sharif S, Zeng D. Influence of *MHC* genotype on the bacterial community in the layer gastrointestinal tract analyzed by PCR-DGGE. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(7): 2564-2571.
- [7] Lovanh N, Cook K L, Rothrock M J, Miles D M, Sistani K. Spatial shifts in microbial population structure within poultry litter associated with physicochemical properties. *Poultry Science*, 2007, 86(9): 1840-1849.
- [8] Sakai M, Matsuka A, Komura T, Kanazawa S. Application of a new PCR primer for terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the bacterial communities in plant roots. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 59(1): 81-89.
- [9] Walter J, Hertel C, Tannock G W, Lis C M, Munro K, Hammes W P. Detection of *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Weissella* species in human feces by using group-specific PCR primers and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(6): 2578-2585.
- [10] Matsuka A, Sakai M, Kanazawa S. Application of T-RFLP analysis for bacterial community structure of colonies grown on agar plates. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, 2003, 48(1/2): 107-112.
- [11] Heilig H G H J, Zoetendal E G, Vaughan E E, Marteau P, Akkermans A D, de Vos W M. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(1): 114-123.
- [12] Bartosch S, Fite A, Macfarlane G T, McMurdo M E. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(6): 575-581.
- [13] Hopkins M J, Macfarlane G T, Furie E, Fite A, Macfarlane S. Characterisation of intestinal bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 54(1): 77-85.
- [14] Hunga C H, Chenga C H, Cheng L H, Liang C M, Lin C Y. Application of *Clostridium*-specific PCR primers on the analysis of dark fermentation hydrogen-producing bacterial community. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2008, 33(5): 1586-1592.
- [15] Hecker K H, Roux K H. High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR. *BioTechniques*, 1996, 20(3): 478-85.
- [16] Sakai J S, Kleckner N, Yang X, Guhathakurta A. *Tn10* transposome assembly involves a folded intermediate that must be unfolded for target capture and strand transfer. *The EMBO Journal*, 2000, 19(4): 776-785.
- [17] van der wielen P W J J, Keuzenkamp D A, lipman L J A, Knapen F, Biesterveld S. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microbial Ecology*, 2002, 44(3): 286-293.
- [18] Mitsuoka T. Cross-Talk Between Intestinal Flora and Host. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 2004.
- [19] Vahtovuo J, Toivanen P, Eerola E. Bacterial composition of murine fecal microflora is indigenous and genetically guided. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(1): 131-136.
- [20] Ley R E, Peterson D A, Gordon J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [21] Ni X Q, Gong J S, Yu H, Zeng D, Sharif S, Zhou X Q. The bacterial community and diversity in the layer gastrointestinal tract: from crop to cecum analyzed by PCR-DGGE. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2008, 39(7): 955-961.
- [22] Ley R E, Bäckhed F, Turnbaugh B, Lozupone C A, Knight R D, Gordon J I. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(31): 11070-11075.

参考文献:

- [6] 倪学勤, Gong J S, Yu H, Sharif S, 曾东. PCR-DGGE 技术分析蛋鸡 MHC 基因对肠道细菌种群结构的影响. *中国农业科学*, 2009, 42(7): 2564-2571.
- [18] 光岡知足. 腸内フローラ・宿主・細菌間の相互作用. 东京: 学会出版センタ, 2004.
- [21] 倪学勤, Gong J S, Yu H, 曾东, Sharif S, 周小秋. 采用 PCR-DGGE 技术分析蛋鸡肠道细菌种群结构及多样性. *畜牧兽医学报*, 2008, 39(7): 955-961.

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, <i>Rhamnus davurica</i>	WANG Juan, ZHANG Chunyu, ZHAO Xiuhai, et al (6371)
Age-dependent growth responses of <i>Pinus koraiensis</i> to climate in the north slope of Changbai Mountain, North-Eastern China	WANG Xiaoming, ZHAO Xiuhai, GAO Lushuang, et al (6378)
Fine-scale spatial point patterns of <i>Stipa krylovii</i> population in different alpine degraded grasslands	ZHAO Chengzhang, REN Heng, SHENG Yaping, et al (6388)
Community structure and population regeneration in remnant <i>Ginkgo biloba</i> stands	YANG Yongchuan, MU Jianping, TANG Cindy Q., et al (6396)
Reproductive characteristics and adaptive evolution of pin and thrum flowers in endangered species, <i>Primula merrilliana</i>	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 <i>Pinus massoniana</i> in a karst mountain area of central Guizhou province	ZHANG Xi, CHUI Yingchun, ZHU Jun, et al (6442)
Morphological and physiological adaptation of <i>Caragana</i> species in the Inner Mongolia Plateau	MA Chengcang, GAO Yubao, LI Qingfang, et al (6451)
A comparative study on reasons of degenerated of <i>Haloxylon ammodendron</i> 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, <i>Leptinotarsa decemlineata</i> , 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 <i>Cnaphalocrocis medinalis</i> Guenée in Xing'an Guangxi Municipality in 2010	JIANG Chunxian, QI Huihui, SUN Mingyang, et al (6495)
Adaptability of B-biotype <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) to Host Shift	ZHOU Fucui, LI Chuanming, 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 <i>Microcystis</i> 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 Guoju, 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)
Recruitment limitation of plant population: from seed production to sapling establishment	LI Ning, BAI Bing, LU Changhu (6624)
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
(SHENGTAI 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@csppg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@csppg.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 70.00 元