

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第21期 Vol.32 No.21 2012

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32卷 第21期 2012年11月 (半月刊)

目 次

白洋淀富营养化湖泊湿地厌氧氨氧化菌的分布及对氮循环的影响.....	王衫允, 祝贵兵, 曲冬梅, 等 (6591)
造纸废水灌溉对滨海退化盐碱湿地土壤酶活性的响应.....	夏孟婧, 苗颖, 陆兆华, 等 (6599)
图们江下游湿地生态系统健康评价.....	朱卫红, 郭艳丽, 孙鹏, 等 (6609)
适应白洋淀湿地健康评价的 IBI 方法.....	陈展, 林波, 尚鹤, 等 (6619)
基于 MODIS 的洞庭湖湿地面积对水文的响应.....	梁婕, 蔡青, 郭生练, 等 (6628)
崇明东滩湿地不同潮汐带入侵植物互花米草根际细菌的多样性.....	章振亚, 丁陈利, 肖明 (6636)
中国东部亚热带地区树轮 $\delta^{13}\text{C}$ 方位变化的谐波分析.....	赵兴云, 李宝惠, 王建, 等 (6647)
甘肃臭草型退化草地优势种群空间格局及其关联性.....	高福元, 赵成章 (6661)
川西亚高山/高山森林土壤氧化还原酶活性及其对季节性冻融的响应	谭波, 吴福忠, 杨万勤, 等 (6670)
模拟分类经营对小兴安岭林区森林生物量的影响.....	邓华卫, 布仁仓, 刘晓梅, 等 (6679)
苹果三维树冠的净光合速率分布模拟.....	高照全, 赵晨霞, 张显川, 等 (6688)
拟茎点霉 B3 与有机肥配施对连作草莓生长的影响.....	郝玉敏, 戴传超, 戴志东, 等 (6695)
落叶松林土壤可溶性碳、氮和官能团特征的时空变化及与土壤理化性质的关系	苏冬雪, 王文杰, 邱岭, 等 (6705)
人工固沙区与流沙区准噶尔无叶豆种群数量特征与空间格局对比研究.....	张永宽, 陶冶, 刘会良, 等 (6715)
山地河流浅滩深潭生境大型底栖动物群落比较研究——以重庆开县东河为例.....	王强, 袁兴中, 刘红 (6726)
荣成俚岛人工鱼礁区游泳动物群落特征及其与主要环境因子的关系	吴忠鑫, 张磊, 张秀梅, 等 (6737)
北黄海秋、冬季浮游动物多样性及年间变化	杨青, 王真良, 樊景凤, 等 (6747)
鄂尔多斯市土地利用生态安全格局构建.....	蒙古军, 朱利凯, 杨倩, 等 (6755)
村落文化林与非文化林多尺度物种多样性加性分配	高虹, 陈圣宾, 欧阳志云 (6767)
不同生计方式农户的环境感知——以甘南高原为例	赵雪雁 (6776)
两种预测模型在地下水动态中的比较与应用.....	张霞, 李占斌, 张振文, 等 (6788)
四川黄龙沟少花鹤顶兰繁殖成功特征	黄宝强, 寇勇, 安德军 (6795)
硝化抑制剂对蔬菜土硝化和反硝化细菌的影响.....	杨扬, 孟德龙, 秦红灵, 等 (6803)
新疆两典型微咸水湖水体免培养古菌多样性.....	邓丽娟, 娄恺, 曾军, 等 (6811)
白洋淀异养鞭毛虫群落特征及其与环境因子的相关性.....	赵玉娟, 李凤超, 张强, 等 (6819)
双酚 A 对萼花臂尾轮虫毒性及生活史的影响	陆正和, 赵宝坤, 杨家新 (6828)
孵化温度对双斑锦蛇初生幼体行为和呼吸代谢的影响.....	曹梦洁, 祝思, 蔡若茹, 等 (6836)
黄码草蛉捕食米蛾卵的功能反应与数值反应	李水泉, 黄寿山, 韩诗畴, 等 (6842)
互惠-寄生耦合系统的稳定性	高磊, 杨燕, 贺军州, 等 (6848)
超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响.....	谭周进, 吴海, 刘富林, 等 (6856)
专论与综述	
氮沉降对森林生态系统碳吸存的影响.....	陈浩, 莫江明, 张炜, 等 (6864)
全球 CO ₂ 水平升高对浮游植物生理和生态影响的研究进展	赵旭辉, 孔繁翔, 谢薇薇, 等 (6880)
跨界自然保护区——实现生物多样性保护的新手段.....	石龙宇, 李杜, 陈蕾, 等 (6892)
研究简报	
会同和朱亭 11 年生杉木林能量积累与分配	康文星, 熊振湘, 何介南, 等 (6901)
退化草地阿尔泰针茅生殖株丛与非生殖株丛的空间格局	任珩, 赵成章, 高福元, 等 (6909)
期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 35 * 2012-11	



封面图说:白洋淀是华北地区最大的淡水湖泊湿地。淀区内沟壕纵横交织错落,村庄、苇地、园田星罗棋布,在水文、水化学、生物地球化学循环以及生物多样性等方面,具有非常复杂的异质性。随着上游城镇污水、农田径流进入水域,淀区富营养化日益加剧。复杂的水环境特点、高度的景观异质性和良好的生物多样性,使得该地区成为探索规模性厌氧氨氧化反应的良好研究地点(详见本期第 6591—6598 页)。

彩图提供: 王为东博士 中国科学院生态环境研究中心 E-mail: wdwangh@yahoo.com

DOI: 10.5846/stxb201109221396

邓丽娟, 娄恺, 曾军, 徐瀛华, 史应武, 张煜星. 新疆两典型微咸水湖水体免培养古菌多样性. 生态学报, 2012, 32(21): 6811-6818.

Deng L J, Lou K, Zeng J, Xu Y H, Shi Y W, Zhang Y X. Archaea diversity in water of two typical brackish lakes in Xinjiang. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(21): 6811-6818.

新疆两典型微咸水湖水体免培养古菌多样性

邓丽娟^{1,2}, 娄 恺¹, 曾 军¹, 徐瀛华¹, 史应武¹, 张煜星^{2,*}

(1. 新疆特殊环境微生物实验室, 乌鲁木齐 830091; 2. 石河子大学生命科学学院, 石河子 832003)

摘要:微咸水湖是湖泊演化过程中的一个重要中间状态,以新疆两典型微咸水湖-赛里木湖和柴窝堡湖水为研究对象,采用微孔滤膜收集菌体,SDS-酚-氯仿抽提法直接提取湖水总DNA,利用古菌16S rRNA基因通用引物进行PCR扩增,分别构建两湖古菌16S rRNA基因克隆文库。用限制性内切酶Hae III对随机挑选的阳性克隆子进行酶切分型,分别得到7个和8个可操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs),两文库覆盖率均大于98%。BLAST比对和系统发育分析表明赛里木湖全部克隆子归属于泉古菌门(Crenarchaeota),97%的克隆子与不同环境免培养氨氧化泉古菌有较高的序列相似性(>97%)。柴窝堡湖水古菌归为3个门:Thaumarchaeota(81.2%)、广古菌门(Euryarchaeota)(13%)和泉古菌门(Crenarchaeota)(5.8%),81.2%的克隆子与具有氮代谢功能的氨氧化古菌纯培养物具有较高的序列相似性(97%—98%),13%的克隆子与已分离到的产甲烷古菌序列同源性大于97%。研究发现新疆微咸水湖可能存有大量新划分的古菌Thaumarchaeota门类群、可培养氨氧化及产甲烷古菌类群,两典型微咸水湖泊中古菌类群多样性较低且群落组成差异大。

关键词:微咸水湖;古菌;16S rRNA基因

Archaea diversity in water of two typical brackish lakes in Xinjiang

DENG Lijuan^{1,2}, LOU Kai¹, ZENG Jun¹, XU Yinghua¹, SHI Yingwu¹, ZHANG Yuxing^{2,*}

1 Xinjiang Laboratory of Special Environmental Microbiology, Urumuqi 830091, China

2 College of Life Science of Shihezi University, Shihezi 832003, China

Abstract: Brackish lakes are important intermediate links in the evolution of lakes with water salinity between 1 and 35 g/L. The salt content of lacustrine water is gradually increased due to drought, and water salinity in the lakes is accelerating in recent years in northwest arid and semi-arid regions of China. Microbial diversity in freshwater and saline environments has been well studied, however, little is known about the microbial community composition and distribution in brackish lake. Sayram Lake and Chaiwopu Lake in Xinjiang are representative brackish lakes, and belonged to mountain lakes and mountain-basin lakes respectively, with low-salt, weakly alkaline, high altitude and other geological features. These conditions have a profound effect on the ecology of the lake, and may be expected to affect the composition and activity of the microbial community of the lake. In order to investigate the composition and diversity of archaea in Sayram Lake and Chaiwopu Lake water, in August 2010, water samples were collected and transported to the laboratory within 4 h to minimize changes in the microbial population. The water samples were divided into two parts, one was used to physicochemical analyses by physical and chemical test center (Xinjiang Academy of Agricultural Science, China). The rest of water samples (1000 mL) were pressure filtered through Millipore Sterivex filter cartridges (0.22 μm-pore size) to collect microbial biomass for subsequent DNA extraction. Environmental DNA was directly extracted with SDS-phenol-chloroform method from the water samples, and 16S rRNA gene was amplified by PCR with archaea-specific primers.

基金项目:新疆特殊环境微生物实验室开放课题(XJYS0203-2009-06)

收稿日期:2011-09-22; 修订日期:2012-02-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zyx2027193@163.com

Randomly selected positive clones were identified by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) with restriction endonuclease *Hae III*, and the unique RFLP patterns were used for sequencing, alignment and constructing 16S rRNA gene phylogenetic tree. In total, 72 and 69 positive clones were selected from the libraries of Sayram and Chaiwopu lake-water respectively, 7 and 8 Operational Taxonomic units (OTUs) were obtained. BLAST analysis indicated that all clones from Sayram were affiliated to the phylum Crenarchaeota, the 8 OTUs from Chaiwopu were classified into 3 phyla: Crenarchaeota (5.8%), Thaumarchaeota (81.2%), Euryarchaeota (13%). Of these, Thaumarchaeota was the dominant group. Additionally, most clones that derived from the two libraries showed high similarity to ammonia-oxidizing archaea with 97% to 98% of sequence identity. 81.2% of clones from Chaiwopu Lake are grouped into the phylum Thaumarchaeota, which are a newly-proposed phylum of the Archaea, containing so far four species and all of them are chemolithoautotrophic ammonia-oxidizers and may play important roles in biogeochemical cycles. 97% clones of Sayram Lake have high similarity to the uncultured ammonia-oxidizing Crenarchaeota from soil and underground radioactive hot springs. Besides, 13 percent of Chaiwopu Lake clones showed more than 97% of 16S rRNA gene sequences similarity to pure cultured methanogenic strains that isolated from Micro lagoons and lagoon sediments. Coverage C values of the two clone libraries were 99% and 98% respectively, indicating that most of the estimated archaeal diversity was sampled. Results of this study showed that the archaea diversity of the two lakes was comparatively low and archaea compositions are significantly different, but a large fraction of them might involve in nitrogen metabolism or methanogenesis.

Key Words: brackish lake; archaea; 16S rRNA gene

微咸水湖是指湖水矿化度介于1—35 g/L之间的湖泊^[1],中国的此类湖泊主要分布在干旱、半干旱的西部地区。内陆封闭型湖泊受无出流或出流量少及干旱气候等因素的影响,导致湖水盐分浓度逐步增高,总体上呈现由淡水湖、微咸水湖、咸水湖、盐湖、最终至干盐湖的演变规律^[2]。微咸水湖作为湖泊演化过程中一个重要中间状态,其微生物群落组成和分布与其它类型湖泊有何异同,目前知之甚少。因此,研究微咸水湖微生物多样性有助于全面了解湖泊演化过程中微生物群落演变规律。

目前关于湖泊微生物多样性的研究主要集中在淡水湖^[3]、咸水湖^[4]和盐湖^[5]等环境,涉及微咸水湖的较少,对其水体古菌多样性鲜有报道。Banning^[6]等利用构建产甲烷功能基因-甲基辅酶M还原酶(methyl coenzyme M reductase, mcrA)基因文库及末端限制性片段长度多态性(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP),对英国比尤利河口附近的一个小微咸水湖沉积物分析表明,大量能够利用H₂和CO₂产甲烷类群(甲烷微菌目和甲烷八叠球菌目)存在于其中;Jiang^[5]等对中国最大内陆微咸水湖青海湖(矿化度12.5 g/L)沉积物细菌和古菌多样性的研究表明,氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)在厌氧沉积物氮循环中起着十分重要的作用。国内关于微咸水湖水体古菌多样性的研究未见报道。

赛里木湖和柴窝堡湖是新疆较为典型的微咸水湖泊,分别隶属于山地湖泊和山地-盆地湖泊,具有低盐、弱碱、高海拔等地质特点,蕴藏着丰富的动物资源^[7],但其中微生物的群落组成和分布尚不清楚。本文通过构建16S rRNA基因克隆文库,对其水体古菌组成及多样性进行分析,揭示了两微咸水湖中古菌的系统发育多样性及主要类群丰度,为发掘新的可培养古菌资源、探索其代谢多样性及相关功能基因提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集及处理

赛里木湖位于天山西段,准噶尔盆地西南端,博尔塔拉蒙古自治州境内,是新疆最大的高山封闭湖泊,湖面海拔2073 m,平均深度46.6 m,湖年平均水温7.0 °C,最高19.3 °C,最低0.3 °C^[8],湖水透明度8—13 m,水质呈碱性(pH值9.0)。柴窝堡湖位于乌鲁木齐市区东南约45 km的博格达峰脚下的柴窝堡盆地,地理位置

为东经 $87^{\circ}54'$,北纬 $43^{\circ}30'$,湖面海拔1082 m,水深4—6 m,最高水温20 ℃,湖水浑浊不透明,平均pH值为9.0^[9]。于2010年7月至8月,分别于环赛里木湖($44^{\circ}36'10''N$, $81^{\circ}22'19''E$; $44^{\circ}34'31''N$, $81^{\circ}08'02''E$; $44^{\circ}36'54''N$, $80^{\circ}59'35''E$; $44^{\circ}29'33''N$, $81^{\circ}10'12''E$)和柴窝堡湖($43^{\circ}31'41''N$, $87^{\circ}53'25''E$; $43^{\circ}31'41''N$, $87^{\circ}54'12''E$; $43^{\circ}31'41''N$, $87^{\circ}54'16''E$; $43^{\circ}31'49''N$, $87^{\circ}54'26''E$)的4个位置采集水面下10—30 cm的湖水1000 mL,混合,密封放置于4 ℃暗处保存,并立即运回实验室。将样品分成两份,一份用于理化性质测定,另一份直接用于环境总DNA的提取。

1.1.2 湖水理化性质测定

Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 采用EDTA络合滴定法测定; K^+ 和 Na^+ 采用火焰光度计测定; SO_4^{2-} 采用二氧化钡滴定法测定; CO_3^{2-} 和 HCO_3^- 采用硫酸滴定法测定;总氮采用凯氏定氮法测定。

1.1.3 主要试剂和仪器

凝胶纯化试剂盒(OMEGA)、pMD18-T vector(Takara,大连)、PCR扩增仪(Biometra)、*Hae* III限制性内切酶(生工,上海)、凝胶成像仪(Bio-Rad)、电泳仪(Bio-Rad)、Top10感受态细胞(Tiangen)、恒温水浴锅(Julabo. UC)。

1.2 湖水总DNA的提取及纯化

总DNA提取参照Shaheen^[10]等的方法,并根据湖水特征稍作改动。具体步骤如下:取水样1000 mL于0.22 μm的无菌滤膜进行过滤,之后将滤膜放入50 mL无菌离心管中,加入4 mL洗脱液(GTE buffer),再分装到2 mL离心管中(每管750 μL),每管加入溶菌酶(20 mg/mL)约36 μL至终浓度1 mg/mL;37 ℃水浴2 h,再向每管加入蛋白酶K(20 mg/mL)10 μL至终浓度0.2 mg/mL,加入浓度为20%的SDS 17 μL和5 mol/L NaCl 10 μL;53 ℃水浴2 h;加入等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)抽提蛋白,10000 r/min离心5 min;吸取上清并加入2/3倍体积的氯仿抽提,10000 r/min离心5 min;吸取上清加入0.6倍体积异丙醇,4 ℃过夜沉淀;12000 r/min离心20 min,弃上清;加入提前预冷的乙醇(70%)1 mL,12000 r/min离心5 min,弃上清,将未倒净的液体12000 r/min离心30 s,用枪尖吸取残留液体,自然风干;加入20 μL TE缓冲液,-20 ℃保存。

1.3 PCR扩增古菌16S rRNA基因

使用古菌通用引物21F($5'-YGGTTGATCCTGCCRG-3'$)和958R($5'-YCCGGCGTTGAMT CCAATT-3'$)扩增湖水古菌的16S rRNA部分基因^[11];PCR反应体系(25 μL):2×Premix Taq(含Taq酶2.5 U)12.5 μL,Taq酶0.1 μL,上下游引物(10 μmol/L)各0.5 μL,模板DNA(100 ng)1 μL, MgCl_2 0.3 μL,ddH₂O 10.6 μL。PCR扩增程序:95 ℃ 5 min;95 ℃ 45 s,60 ℃→55 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min 30 s,10个循环;95 ℃ 45 s,55 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min 30 s,25个循环;72 ℃ 7 min。以无菌水为模板做空白对照,做4个PCR扩增平行试验。等量混合各平行扩增的产物,试剂盒纯化后备用。

1.4 16S rDNA克隆文库的构建和RFLP分析

将纯化的PCR产物与PMD18-T载体连接,连接产物转化到*E. coli* DH5α感受态细胞中。先以氨苄青霉素抗性初筛阳性转化子^[12],再用T载体通用引物M13-47和M13-48扩增外源插入片段,电泳检测筛选阳性克隆子。PCR扩增条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,53 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min 30 s,30个循环;72 ℃ 7 min。

以限制性内切酶*Hae* III,37 ℃过夜酶切各个克隆子扩增出的16S rRNA基因片断,酶切反应体系:PCR产物15 μL,*Hae* III 0.8 μL,10 mol/L的Buffer 2 μL,ddH₂O补至20 μL,2.5%的琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物,将电泳图谱中酶切带型相同的克隆子归为一类,送至上海生工测序,将不同带型序列相似性高于99%的归位一个分类操作单元(OTU, operational taxonomic unit)^[13],即每一个种系型作为一个OTU^[14]。

1.5 克隆文库多样性分析

以文库覆盖率(Coverage C)和稀有度曲线(Rarefaction curve)共同评价所构建的克隆文库库容。Coverage C理论上表示16S rRNA基因克隆文库中所包含的微生物种类(OTU)占样品中全部微生物种类的比例。 $C = 1 - n_1/N$ 。 N 代表克隆文库的库容, n_1 代表在文库仅出现一次OTU的数量。稀有度曲线分析采用EstimateS

8.0 (<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimateS>)。根据 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数、均匀度指数和 Margalef 物种丰富度指数评估基因克隆文库的多样性,具体计算方法参照文献^[15]。

1.6 系统发育分析及核酸序列收录号

所测序列去载体后在 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) 数据库中进行 BLAST 比对,选定其中同源性较高的相关菌株作参比,进行系统发育分析。运用 MEGA 4.0 软件进行多重比对, Neighbor-Joining 法构建系统发育树,使用 Bootstrap 重复 1000 次对系统发育树的稳定性进行评估。利用 RDP 8.1 (Ribosomal Database Project release 8.1) (<http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>) 在线进行归类。本研究得到的古菌 16S rRNA 基因序列已提交 GenBank 数据库,序列登录号:JN202405 至 JN202424。

2 结果和分析

2.1 湖水理化性质分析

赛里木湖和柴窝堡湖均属于微咸水湖(湖水矿化度分别为 2.7 g/L 和 4.4 g/L),两湖泊温度、pH 值、总氮和总磷含量较为相近。赛里木湖中占优势的阴离子是 HCO_3^- ,属于碳酸根水^[16],其含量是柴窝堡湖的 2 倍;而柴窝堡湖中占优势的阴离子为 Cl^- ,属于氯酸根水^[16],其含量也是赛里木湖的 2 倍;两湖泊中占优势的阳离子均为 Na^+ 和 Mg^{2+} ,但柴窝堡湖中 Na^+ 含量较高,约为赛里木湖的 4 倍;两湖泊中 SO_4^{2-} 和 K^+ 含量基本一致(表 1)。

表 1 赛里木湖和柴窝堡湖湖水理化性质

Table 1 Physiochemical parameters of the water from sayram Lake and chaiwopu Lake

样品 Samples	温度 Temp /°C	pH	矿化度 Total Salinity/ (mg/L)	总氮 Total Nitrogen/ (mg/L)	总磷 Total Phosphorus/ (mg/L)	质量浓度 c (Sample)/(mg/L)							
						主要阴离子 Main anions			主要阳离子 Main cations				
						SO_4^{2-}	CO_3^{2-}	HCO_3^-	Cl^-	Mg^{2+}	Ca^{2+}	K^+	Na^+
赛里木湖 Sayram lake	10.4—18.5	9.0	2714	2.98	0.015	1	83.6	605.5	360.8	387.5	12.9	24.4	346.5
柴窝堡湖 Chaiwopu lake	10.2—12.9	9.0	4383	1.7	0.034	0.9	26.1	371.8	689.6	67.7	60.1	21.1	1257.4

2.2 两微咸水湖水体古菌克隆文库覆盖率及多样性分析

赛里木湖和柴窝堡湖湖水古菌克隆文库的覆盖率分别为 99% 和 98% (表 2),结合稀有度曲线(图 1)可以看出两克隆文库已趋于饱和,涵盖了两湖湖水中绝大多数的古菌类群。赛里木湖和柴窝堡湖的古菌多样性指数差异较大(表 2),前者的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和均匀度指数均高于后者,而 Margalef 物种丰富度指数却低于后者。

表 2 两湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库多样性

Table 2 Archaea diversity index of two lakes in 16S rRNA gene clone library

样品 Samples	可操作分类单元 OTUs	文库覆盖率 C/%	香农指数 H'	辛普森指数 D	均匀度指数 E	物种丰富度指数 d_{Ma}
赛里木湖 Sayram lake	7	99	1.35	0.67	0.32	1.40
柴窝堡湖 Chaiwopu lake	8	98	1.05	0.44	0.25	1.65

2.3 两微咸水湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库系统发育分析

2.3.1 赛里木湖古菌多样性

赛里木湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库,共转化出 463 个克隆子,随机挑选 100 个进行菌液 PCR 鉴定,得到 72 个阳性克隆子(转化率为 72%),对其进行 Hae III 酶切分型,共获得 7 个 OUTs。对代表克隆子进行序列测定和系统发育分析,结果表明其全部归属于泉古菌门(Crenarchaeota)(图 2),结合 RDP 归类,可将其归为 2 个亚群 Group I 和 II,分别占整个文库的 90.2 和 9.8%。Group I 包括 5 种系型,系统发育分为 2 支,其中

克隆子 sh-gj7 (JN202405) 和 sh-gj17 (JN202407) 为优势类群, 包括 30 和 27 个克隆子数, 分别占整个克隆文库的 41.6% 和 37.5%, 与 sh-gj5 (JN202412) 和 sh-gj191 (JN202411) 聚为一支, 且都与免培养氨氧化古菌 (HQ678241) 有较高相似性(97%—98%)。克隆子 sh-gj113 (JN202409) 单独分为一支, 与贵州喀斯特地貌区免培养泉古菌 (JF737828) 具有 98% 序列相似性。Group II 包括两种种系型, 其序列相似性为 95%, 其中克隆子 sh-gj14 (JN202406) 与澳大利亚地下放射性温泉中的免培养氨氧化泉古菌 (AM039532) 有 98% 的序列相似性; 克隆子 sh-gj112 (JN202408) 与一污染土壤中的免培养泉古菌 (FM897354) 相似性最高(99%)。

2.3.2 柴窝堡湖古菌多样性

构建柴窝堡湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库, 共转化出 496 个克隆子, 随机挑选 100 个克隆子进行菌液 PCR 鉴定, 得到 69 个阳性克隆子, 再对其进行 *Hae* III 分型, 最终得到 8 个 OTUs, 归为古菌域的 3 个门, 分别是泉古菌门 (Crenarchaeota) (5.8%), Thaumarchaeota (81.2%), 广古菌门 (Euryarchaeota) (13%) (图 2)。克隆子 ch-gj26 独立分支, 与其它克隆子进化距离较远, 但与从新疆沙湾冷泉沉积物中得到的免培养泉古菌 (GQ302615) 序列相似性高达 99%。克隆子 ch-gj63 (JN202418)、ch-gj81 (JN202422)、ch-gj18 (JN202414) 和 ch-gj21 (JN202415) 聚类为一个分支, 全部归属于 Thaumarchaeota, 且与农田土壤中的 Nitrosopumilaceae archaeon (HQ331116) 序列相似性较高(97%—98%); 其中 ch-gj18 (JN202414) 为优势类群, 含 51 个克隆子。隶属于广古菌门 (Euryarchaeota) 的 OTUs 有 3 个, 代表克隆子为 ch-gj102 (JN202424)、ch-gj77 (JN202419) 和 ch-gj78 (JN202420), 系统发育分为两支, 其中克隆子 ch-gj102 (JN202424) 独立分支, 且与从一咸水湖沉积物中分离到的一株嗜盐产甲烷菌 *Methanoculleus* sp. MQ-4 (DQ518348) 序列相似性为 97%; 其余两个克隆子序列相似性较高(98%), 与从北京一厌氧分解池中分离到的专性厌氧甲烷菌 *Methanobacterium beijingense* (AY552778) 有 99% 的相似性。

3 讨论

微咸水湖是湖泊由淡水湖向盐湖演变过程中的一个重要环节, 过去的研究表明, 随着水体矿化度, 盐浓度的增加, 古菌类群呈现出一定的变化规律^[17]。如在淡水湖中以中温泉古菌类群和产甲烷类广古菌占优势^[18-19]; 咸水湖中除了中温泉古菌类群和产甲烷类广古菌类群, 还存在一些嗜盐碱的广古菌类群^[20-21]; 而演变至盐湖则为广古菌门类群占据绝对优势, 并且基本都为盐杆菌科中嗜盐或者极端嗜盐类群^[22-23]。本研究通过构建赛里木湖和柴窝堡湖古菌 16S rRNA 克隆文库, 发现这两个微咸水湖中古菌类群组成及多样性符合上述古菌类群变化趋势。如在较低矿化度的赛里木湖水体中古菌类群全部为泉古菌, 而在柴窝堡湖中(矿化度是前者的近 2 倍)检测到了古菌域的 3 个门, 分别为 Thaumarchaeota (81.2%)、泉古菌门 (Crenarchaeota, 5.8%) 和广古菌门 (Euryarchaeota, 13%)。与矿化度较高的微咸水湖相比(青海湖), 赛里木湖中和柴窝堡湖中泉古菌相似类群来自于农田土壤和淡水水体沉积物中中温泉古菌, 而青海湖中泉古菌相似类群基本来自于海底沉积物^[5]。另外, 柴窝堡湖中广古菌类群与青海湖中广古菌类群较为相似都为一些产甲烷古菌, 而这一类群广泛的存在于微咸水湖^[6]、咸水湖^[24]、厌氧消化池^[25]等高盐碱厌氧沉积物中, 这可能与柴窝堡湖区地处风口, 常年受大风的扰动, 加之湖水较浅(平均水深 4 m, 最深 7 m)和近年来水位下降, 导致水体与湖泊表层沉积物互相混合, 使其中的厌氧微生物可能扩散到水体中有关。

值得注意的是, 本文首次在微咸水湖环境中检测到 Thaumarchaeota 门, 并且其为柴窝堡湖中绝对优势类群。该门类群最早是划分为泉古菌门, 但 Hallam^[26], Walker^[27] 和 Hatzenpichler^[28] 等人, 对海洋和土壤中

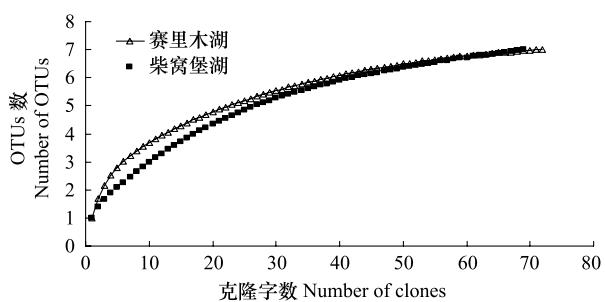


图 1 赛里木湖和柴窝堡湖湖水古菌克隆文库稀有度曲线

Fig. 1 Rarefaction curve for Sayram and Chaiwopu Lake-water archaea clone library

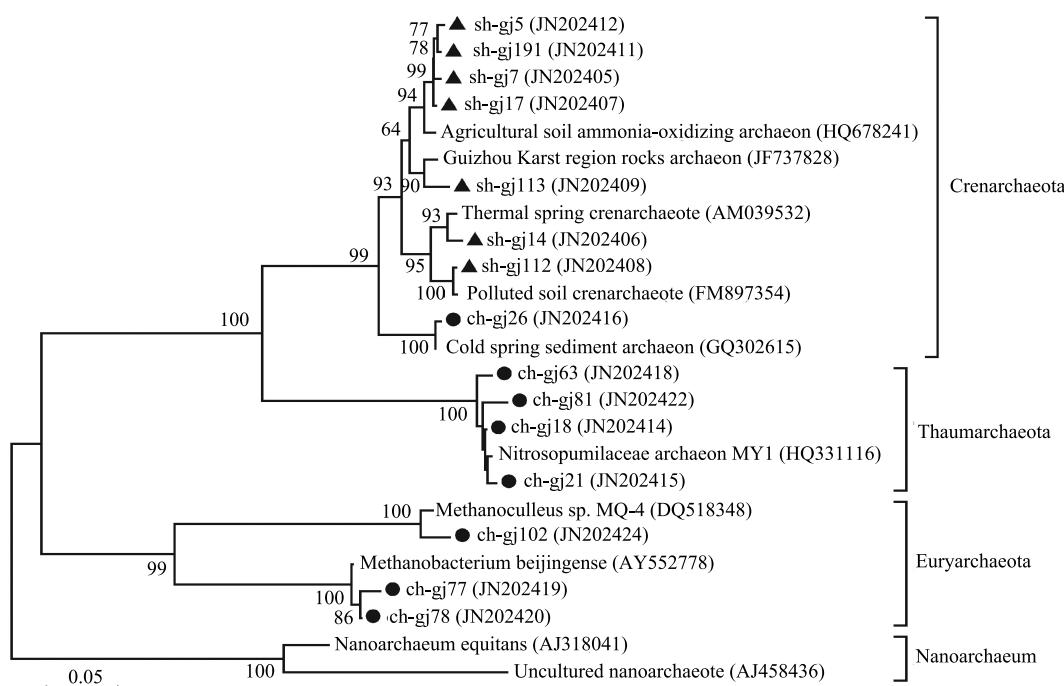


图2 Neighbor-joining 法构建新疆赛里木湖和柴窝堡湖湖水古菌 16S rRNA 部分序列系统发育树

Fig. 2 Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial archaea 16S rRNA gene sequence (accession number from JN202405 to JN202424) amplified from Xinjiang sayram and chaiwobao lake-water samples

▲为赛里木湖克隆子,●为柴窝堡湖克隆子,Crenarchaeota 泉古菌门;Euryarchaeota 广古菌门;Nanoarchaeum 纳古菌门

Cenarchaeum symbiosum, *Nitrosopumilus maritimus* 和 *Nitrososphaera gargensis* 纯培养菌的研究发现,其进化分支明显不同于泉古菌门和广古菌门^[29],因此将此类微生物重新划分为 Thaumarchaeota 门,后续的研究发现该类群广泛分布于土壤^[30]、沉积物^[31]、地下水^[32]和热泉^[33]等中温及高温环境中。由于柴窝堡湖中绝大多数类群与 *Nitrosopumilaceae archaeon* (HQ331116) 序列相似性达到了(97%—98%),因此在柴窝堡湖中可能含有大量该门中可培养新种。

过去普遍认为变形菌门的氨氧化细菌(AOB)是地球氮素循环过程中最主要的承担者^[34],但现有研究表明某些中温泉古菌同样具有氨氧化作用,且在部分环境中比 AOB 的数量多^[30],因此 AOA 在全球氮循环中的作用不可忽视。本研究发现两湖泊中绝大多数类群都与其它环境中可培养或免培养的 AOA 具有较高的相似性,但赛里木湖的 AOA 类群隶属于泉古菌门,柴窝堡湖则隶属于新近划分的 Thaumarchaeota,分析可能与两湖泊的地理环境和理化性质不同有关,海拔、湖水深度、总矿化度和 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 HCO_3^- 的等因素均可导致古菌多样性差异^[35-36],但由于 Thaumarchaeota 是最近才从泉古菌门中划分出来的新类群,相关研究较少,因此具体是何因素导致两湖泊 AOA 组成不同尚不清楚,仍需进一步研究。

对新疆两典型微咸水湖水体古菌类群多样性的研究发现,其多样性较低,群落组成差异较大,且可能存在大量参与氮代谢的氨氧化古菌和一些产甲烷古菌,这为进一步开发利用湖泊微生物资源提供了相应参考。

References:

- [1] Zheng X Y, Zhang M G, Xu X, Li B X. China Salt Lake Blog. Beijing: Science Press, 2002: 3-42.
- [2] Jiang J H, Huang Q. Analysis on utilization of the lacustrine water resources and the salinization of lacustrine water in West China. Arid Land Geography, 2004, 27(3): 300-304.
- [3] Wu Y C, Xiang Y, Wang J J, Zhong J C, He J Z, Wu Q L. Heterogeneity of archaeal and bacterial ammonia-oxidizing communities in Lake Taihu, China. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(4): 569-576.
- [4] Demergasso C, Casamayor E O, Chong G, Galleguillos P, Escudero L, Pedrós-Alió C. Distribution of prokaryotic genetic diversity in

- athalassohaline lakes of the Atacama Desert, Northern Chile. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(1) : 57-69.
- [5] Jiang H C. Geomicrobiological Studies of Saline Lakes on the Tibetan Plateau, NW China: Linking Geological and Microbial Processes [D]. Miami: Miami University, 2007.
- [6] Banning N, Brock F, Fry J C, Parkes R J, Hornbrook E R C, Weightman A J. Investigation of the methanogen population structure and activity in a brackish lake sediment. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(7) : 947-960.
- [7] Zhang B P, Yang W R, Zhang R M, Cai L G, Tursun, Liu K L, Liu P, Li H, Fu Y L, Guo Y. Growth and development of *Coregonus peled* in sailimu lake in xinjiang. *Freshwater Fisheries*, 2000, 30(6) : 3-5.
- [8] Ma D D, Zhang L P, Wang Q J, Zeng Q J, Jiang F Q, Wang Y J, Hu R J. Influence of the warm-wet climate on sailimu Lake. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2003, 25(2) : 219-222.
- [9] Wu X M, Sun J G. Assessment on water eutrophication level of Chai Wo-pu lake. *Arid Environmental Monitoring*, 2004, 18(1) : 26-29.
- [10] Humayoun S B, Bano N, Hollibaugh J T. Depth distribution of microbial diversity in Mono lake, a meromictic soda lake in California. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(2) : 1030-1042.
- [11] Bano N, Ruffin S, Ransom B, Hollibaugh J T. Phylogenetic composition of arctic ocean archaeal assemblages and comparison with Antarctic assemblages. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2) : 781-789.
- [12] Xu J H, Yang H M, Zeng J, Li Z, Lou K. Bacterial diversity in a hot gas spring soil of Manasi county, Xinjiang by culture-independent approach. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(5) : 568-573.
- [13] Xu Y H, Zhang T, Li Z, Xu J H, Mao P H, Jing X, Lou K. Rapid response of shrubbery soil archaeal communities to surface wildfire. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(24) : 6804-6811.
- [14] Hao X G, Sun Y J, Wang H Q. Application of PCR-ARDRA technology in screening and identifying oil degrading strains. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2010, 4(2) : 449-452.
- [15] Fan J F, Zhang L, Ming H X, Cheng L G, Wu L J, Ling F A, Cheng J P. PCR-RFLP analysis of bacteria 16S rDNA in marine sediment of Beidaihe. *Marine Environmental Science*, 2008, 27(5) : 409-413.
- [16] Wang S M. Physics and chemistry of saline lakes. *Journal of Lake Sciences*, 1993, 5(3) : 278-286.
- [17] Jiang H C, Dong H L, Yu B S, Liu X Q, Li Y L, Ji S S, Zhang C L. Microbial response to salinity change in Lake Chaka, a hypersaline lake on Tibetan plateau. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(10) : 2603-2621.
- [18] Llirós M, Casamayor E O, Borrego C. High archaeal richness in the water column of a freshwater sulfurous karstic lake along an interannual study. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66(2) : 331-342.
- [19] Ye W J, Liu X L, Lin S Q, Tan J, Pan J L, Li D T, Yang H. The vertical distribution of bacterial and archaeal communities in the water and sediment of Lake Taihu. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(2) : 263-276.
- [20] Cytryn E, Minz D, Oremland R S, Cohen Y. Distribution and diversity of archaea corresponding to the limnological cycle of a hypersaline stratified lake (solar lake, sinai, egypt). *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(8) : 3269-3276.
- [21] Swan B K, Ehrhardt C J, Reifel K M, Moreno L I, Valentine D L. Archaeal and bacterial communities respond differently to environmental gradients in anoxic sediments of a California hypersaline lake, the Salton Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(3) : 757-768.
- [22] Birbir M, Calli B, Mertoglu B, Bardavid R E, Oren A, Ogmene M N, Ogan A. Extremely halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey, and the adjacent Kaldirim and Kayacik saltmarshes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, 23(3) : 309-316.
- [23] Mwirichia R, Cousin S, Muigai A W, Boga H I, Stackebrandt E. Archaeal diversity in the haloalkaline lake Elmenteita in Kenya. *Current Microbiology*, 2010, 60(1) : 47-52.
- [24] Liu X F. Isolation of Halophilous Methanogen from the Yahu Lake, Its Biological Characteristic, Phylogenetic Analysis and Carbon Monoxide Conversion by Anaerobic Bioreactor Sludges [D]. Sichuan: Sichuan University, 2006.
- [25] Ma K, Liu X L, Dong X Z. *Methanobacterium beijingense* sp. nov., a novel methanogen isolated from anaerobic digesters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(1) : 325-329.
- [26] Hallam S J, Mincer T J, Schleper C, Preston C M, Roberts K, Richardson P M, DeLong E F. Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine *Crenarchaeota*. *PLoS Biology*, 2006, 4(4) : e95-e95.
- [27] Walker C B, de la Torre J R, Klotz M G, Urakawa H, Pinel N, Arp D J, Brochier-Armanet C, Chain P S G, Chan P P, Gollabgir A, Hemp J, Hügler M, Karr E A, Könneke M, Shin M, Lawton T J, Lowe T, Martens-Habbema W, Sayavedra-Soto L A, Lang D, Sievert S M, Rosenzweig A C, Manning G, Stahl D A. *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine Crenarchaeota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(19) : 8818-8823.
- [28] Hatzenpichler R, Lebedeva E V, Speck E, Stoecker K, Richter A, Daims H, Wagner M. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(6) : 2134-2139.

- [29] Spang A, Hatzenpichler R, Brochier-Armanet C, Rattei T, Tischler P, Speck E, Streit W, Stahl D A, Wagner M, Schleper C. Distinct gene set in two different lineages of ammonia-oxidizing archaea supports the phylum Thaumarchaeota. *Trends in Microbiology*, 2010, 18(8) : 331-340.
- [30] Gubry-Rangin C, Nicol G W, Prosser J I. Archaea rather than bacteria control nitrification in two agricultural acidic soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 74(3) : 566-574.
- [31] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing *Archaea* and *Bacteria* in sediments of the Westerschelde estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64(2) : 175-186.
- [32] Rogers D R, Casciotti K L. Abundance and diversity of archaeal ammonia oxidizers in a coastal groundwater system. *Applied Environmental Microbiology*, 2011, 76(24) : 7938-7948.
- [33] Wang S F, Xiao X, Jiang L J, Peng X T, Zhou H Y, Meng J, Wang F P. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea in hydrothermal vent chimneys of the Juan de Fuca Ridge. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(12) : 4216-4220.
- [34] Liu J J, Wu W X, Ding Y, Shi D Z, Cheng Y X. Ammonia-oxidizing archaea and their important roles in nitrogen biogeochemical cycling: a review. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(8) : 2154-2160.
- [35] Pagaling E, Wang H Z, Venables M, Wallace A, Grant W D, Cowan D A, Jones B E, Ma Y H, Ventosa A, Heaphy S. Microbial biogeography of six salt lakes in Inner Mongolia, China, and a salt lake in Argentina. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(18) : 5750-5760.
- [36] Wu Q L, Chatzinotas A, Wang J J, Boenigk J. Genetic diversity of eukaryotic plankton assemblages in Eastern Tibetan Lakes differing by their salinity and altitude. *Microbial Ecology*, 2009, 58(3) : 569-581.

参考文献:

- [1] 郑喜玉, 张明刚, 徐旭, 李秉孝. 中国盐湖志. 北京: 科学出版社, 2002; 3-42.
- [2] 姜加虎, 黄群. 我国西部地区湖泊水资源利用与湖水咸化状况分析. 干旱区地理, 2004, 27(3) : 300-304.
- [7] 张北平, 杨文荣, 张人铭, 蔡林钢, 吐尔逊, 刘昆仑, 刘萍, 李红, 付雅丽, 郭焱. 高白鲑在赛里木湖的生长发育观测. 淡水渔业, 2000, 30(6) : 3-5.
- [8] 马道典, 张莉萍, 王前进, 曾庆江, 姜逢清, 王亚俊, 胡汝骥. 暖湿气候对赛里木湖的影响. 冰川冻土, 2003, 25(2) : 219-222.
- [9] 吴新敏, 孙建国. 柴窝堡湖富营养化水平评价. 干旱环境监测, 2004, 18(1) : 26-29.
- [12] 徐建华, 杨红梅, 曾军, 李智, 娄恺. 新疆玛纳斯热气泉免培养土壤细菌多样性分析. 微生物学报, 2010, 50(5) : 568-573.
- [13] 徐赢华, 张涛, 李智, 徐建华, 毛培宏, 金湘, 娄恺. 灌木林土壤古菌群落结构对地表野火的快速响应. 生态学报, 2010, 30(24) : 6804-6811.
- [14] 郝旭光, 孙寓蛟, 王红旗. PCR-酶切技术在石油烃降解菌筛选鉴定中的应用. 环境工程学报, 2010, 4(2) : 449-452.
- [15] 樊景凤, 张兰, 明红霞, 陈立广, 吴利军, 林凤翱, 陈吉平. 北戴河近岸沉积物中微生物 16S rDNA 的 PCR-RFLP 分析. 海洋环境科学, 2008, 27(5) : 409-413.
- [16] 王苏民. 世界咸水湖的物理与化学特性. 湖泊科学, 1993, 5(3) : 278-286.
- [24] 刘晓凤. 一株嗜盐产甲烷菌的分离、生物学特性、系统发育分析及产甲烷活性污泥利用 CO 的初步研究 [D]. 四川: 四川大学, 2006.
- [34] 刘晶静, 吴伟祥, 丁颖, 石德智, 陈英旭. 氨氧化古菌及其在氮循环中的重要作用. 应用生态学报, 2010, 21(8) : 2154-2160.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 21 November, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Widespread of anaerobic ammonia oxidation bacteria in an eutrophic freshwater lake wetland and its impact on nitrogen cycle	WANG Shanyun, ZHU Guibing, QU Dongmei, et al (6591)
Responds of soil enzyme activities of degraded coastal saline wetlands to irrigation with treated paper mill effluent	XIA Mengjing, MIAO Ying, LU Zhaohua, et al (6599)
Wetland ecosystem health assessment of the Tumen River downstream	ZHU Weihong, GUO Yanli, SUN Peng, et al (6609)
An index of biological integrity: developing the methodology for assessing the health of the Baiyangdian wetland	CHEN Zhan, LIN Bo, SHANG He, et al (6619)
MODIS-based analysis of wetland area responses to hydrological processes in the Dongting Lake	LIANG Jie, CAI Qing, GUO Shenglian, et al (6628)
The diversity of invasive plant <i>Spartina Alterniflora</i> rhizosphere bacteria in a tidal salt marshes at Chongming Dongtan in the Yangtze River estuary	ZHANG Zhengya, DING Chengli, XIAO Ming (6636)
Analyzing the azimuth distribution of tree ring $\delta^{13}\text{C}$ in subtropical regions of eastern China using the harmonic analysis	ZHAO Xingyun, LI Baohui, WANG Jian, et al (6647)
In the process of grassland degradation the spatial pattern and spatial association of dominant species	GAO Fuyuan, ZHAO Chengzhang (6661)
Activities of soil oxidoreductase and their response to seasonal freeze-thaw in the subalpine/alpine forests of western Sichuan	TAN Bo, WU Fuzhong, YANG Wanqin, et al (6670)
Simulating the effects of forestry classified management on forest biomass in Xiao Xing'an Mountains	DENG Huawei, BU Rencang, LIU Xiaomei, et al (6679)
The simulation of three-dimensional canopy net photosynthetic rate of apple tree	GAO Zhaoquan, ZHAO Chenxia, ZHANG Xianchuan, et al (6688)
The effect of <i>Phomopsis</i> B3 and organic fertilizer used together during continuous cropping of strawberry (<i>Fragaria ananassa</i> Duch)	HAO Yumin, DAI Chuanchao, DAI Zhidong, et al (6695)
Temporal and spatial variations of DOC, DON and their function group characteristics in larch plantations and possible relations with other physical-chemical properties	SU Dongxue, WANG Wenjie, QIU Ling, et al (6705)
Comparisons of quantitative characteristics and spatial distribution patterns of <i>Eremosparton songoricum</i> populations in an artificial sand fixed area and a natural bare sand area in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China	ZHANG Yongkuan, TAO Ye, LIU Huiliang, et al (6715)
Comparison study on macroinvertebrate assemblage of riffles and pools:a case study of Dong River in Kaixian County of Chongqing, China	WANG Qiang, YUAN Xingzhong, LIU Hong (6726)
Nekton community structure and its relationship with main environmental variables in Lidao artificial reef zones of Rongcheng	WU Zhongxin, ZHANG Lei, ZHANG Xiumei, et al (6737)
Zooplankton diversity and its variation in the Northern Yellow Sea in the autumn and winter of 1959, 1982 and 2009	YANG Qing, WANG Zhenliang, FAN Jingfeng, et al (6747)
Building ecological security pattern based on land use;a case study of Ordos, Northern China	MENG Jijun, ZHU Likai, YANG Qianet al (6755)
Additive partition of species diversity across multiple spatial scales in community culturally protected forests and non-culturally protected forests	GAO Hong, CHEN Shengbin, OUYANG Zhiyun (6767)
Environmental perception of farmers of different livelihood strategies: a case of Gannan Plateau	ZHAO Xueyan (6776)
Application and comparison of two prediction models for groundwater dynamics	ZHANG Xia, LI Zhanbin, ZHANG Zhenwen, et al (6788)
Pollination success of <i>Phaius delavayi</i> in Huanglong Valley, Sichuan	HUANG Baoqiang, KOU Yong, AN Dejun (6795)
Mechanism of nitrification inhibitor on nitrogen-transformation bacteria in vegetable soil	YANG Yang, MENG Denglong, QIN Hongling, et al (6803)
Archaea diversity in water of two typical brackish lakes in Xinjiang	DENG Lijuan, LOU Kai, ZENG Jun, et al (6811)
Abundance and biomass of heterotrophic flagellates in Baiyangdian Lake, as well as their relationship with environmental factors	ZHAO Yujuan, LI Fengchao, ZHANG Qiang, et al (6819)
Effects of bisphenol A on the toxicity and life history of the rotifer <i>Brachionus calyciflorus</i>	LU Zhenghe, ZHAO Baokun, YANG Jiaxin (6828)
Effect of incubation temperature on behavior and metabolism in the Chinese cornsnake, <i>Elaphe bimaculata</i>	CAO Mengjie, ZHU Si, CAI Ruoru, et al (6836)
Functional and numerical responses of <i>Mallada besalis</i> feeding on <i>Corypha cephalonica</i> eggs	LI Shuiquan, HUANG Shoushan, HAN Shichou, et al (6842)
Stability analysis of mutualistic-parasitic coupled system	GAO Lei, YANG Yan, HE Junzhou, et al (6848)
Effect of ultra-micro powder qiweibaishusan on the intestinal microbiota and enzyme activities in mice	TAN Zhoujin, WU Hai, LIU Fulin, et al (6856)
Review and Monograph	
The effects of nitrogen deposition on forest carbon sequestration:a review	CHEN Hao, MO Jiangming, ZHANG Wei, et al (6864)
Effect of enhanced CO ₂ level on the physiology and ecology of phytoplankton	ZHAO Xuhui, KONG Fanxiang, XIE Weiwei, et al (6880)
Transboundary protected areas as a means to biodiversity conservation	SHI Longyu, LI Du, CHEN Lei, et al (6892)
Scientific Note	
The energy storage and its distribution in 11-year-old chinese fir plantations in Huitong and Zhuting	KANG Wenxing, XIONG Zhengxiang, HE Jienan, et al (6901)
Spatial pattern of sexual plants and vegetative plants of <i>Stipa krylovii</i> population in alpine degraded grassland	REN Heng, ZHAO Chengzhang, GAO Fuyuan, et al (6909)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究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;新书评介和学术、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,300 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

(SHENTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 21 期 (2012 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 21 (November, 2012)

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

主 编 冯宗炜
主 管 中国科学技术协会
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

出 版 科 学 出 版 社
地址:北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:1000717

印 刷 北京北林印刷厂
行 销 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

订 购 全国各地邮局
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

广 告 经 营 京海工商广字第 8013 号
许 可 证

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

Editor-in-chief FENG Zong-Wei
Supervised by China Association for Science and Technology
Sponsored by Ecological Society of China
Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS
Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China

Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North
Street, Beijing 100717, China
Tel: (010) 64034563
E-mail: journal@cspg.net

Domestic All Local Post Offices in China
Foreign China International Book Trading
Corporation
Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q
2.1>

9 771000093125