ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

第34卷 第11期 Vol.34 No.11 **2014**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版

中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 34 卷 第 11 期 2014 年 6 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

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

能源基地生态修复

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

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

..... 魏 东,全 元,王辰星,等 (2821)

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

西部干旱区煤炭开采环境影响研究..... 雷少刚,卞正富 (2837)

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

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

..... 康萨如拉,牛建明,张 庆,等 (2855)

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

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

个体与基础生态

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

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

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

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

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

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

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

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

四种类型栓皮栎栲胶含量..... 尹艺凝,张文辉,何景峰,等 (2954)

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

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

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

种群、群落和生态系统

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

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

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

景观、区域和全球生态

中国区域间隐含碳排放转移..... 刘红光,范晓梅 (3016)

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

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

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

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

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

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

城乡与社会生态

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

江西省自然保护区发展布局空缺分析 黄志强,陆 林,戴年华,等 (3099)

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

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

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

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

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@ 163.com

DOI: 10.5846/stxb201211231655

闫法军, 田相利, 董双林, 阳钢, 刘瑞娟, 张凯. 刺参池塘底质微生物群落功能多样性的季节变化. 生态学报, 2014, 34(11): 2996-3006.

Yan F J, Tian X L, Dong S L, Yang G, Liu R J, Zhang K. Seasonal variation of functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) cultural ponds. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(11): 2996-3006.

刺参池塘底质微生物群落功能多样性的季节变化

闫法军, 田相利*, 董双林, 阳 钢, 刘瑞娟, 张 凯

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003)

摘要: 利用 BIOLOG 技术和冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 方法对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 养殖池塘底质环境 (底泥、附着基) 微生物群落功能多样性的季节变化及其与环境因子的关系进行了研究。结果表明: (1) 刺参池塘底泥和附着基微生物对碳源总量和单类碳源的利用均具有显著的季节变化, 总体表现为春、夏、秋季节高于冬季, 其中, 底泥微生物利用比例较高的碳源类型为聚合物、糖类、羧酸和氨基酸, 附着基微生物利用比例较高的碳源类型为聚合物、糖类、氨基酸和胺。 (2) 主成分分析表明, 刺参池塘底泥和附着基微生物碳代谢方式均具有显著的季节变化。底泥中, 与主成分显著相关的碳源有 18 种, 其中与主成分 1 显著相关的主要是糖类、羧酸和氨基酸, 与主成分 2 显著相关的主要是聚合物和糖类; 附着基中, 与主成分显著相关的碳源有 22 种, 其中与主成分 1 显著相关的主要是聚合物、糖类、羧酸和氨基酸, 与主成分 2 显著相关的是羧酸。 (3) 刺参池塘底泥和附着基微生物多样性指数 Shannon、McIntosh、Simpson 和 S-E 均匀度均存在显著的季节变化, 但不同指数之间的变化有较大差异。 (4) RDA 分析表明, TP、NO₃-N 和 PO₄-P 是影响底泥微生物功能多样性季节变化的主要因素, SOM、NO₃-N 和 TN 是影响附着基微生物功能多样性季节变化的主要因素。结论认为, 刺参池塘底泥和附着基微生物功能多样性具有显著的不同的季节变化, 这些变化与环境因子具有很好的相关性。

关键词: 微生物群落; 功能多样性; 季节变化; BIOLOG; RDA; 环境因子; 刺参池塘

Seasonal variation of functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) cultural ponds

YAN Fajun, TIAN Xiangli*, DONG Shuanglin, YANG Gang, LIU Ruijuan, ZHANG Kai

The Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: The functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) cultural ponds was examined in this paper. The BIOLOG method and redundancy analysis (RDA) were used to evaluate seasonal changes and their relationships with environmental factors. The results showed that both total amount and types of carbon sources utilized by sediment and shelter microbes in sea cucumber cultural ponds varied seasonally, and was higher in spring, summer and autumn as compared with those of winter. The main types of carbon sources utilized were polymers, carbohydrates, carboxylic acids and amino acids by sediment microbes, and polymers, carbohydrates, amino acids and amides by shelter microbes, respectively. Principal component analysis revealed that carbon metabolism functional diversity of sediment and shelter microbial communities in sea cucumber cultural ponds varied significantly over the seasonal courses. For sediment microbes, 18 categories of carbon sources were significantly related to the principal components, of which some related to principal component 1 were carbohydrates, carboxylic acids and amino acids, and others related to principal component 2 were polymers and carbohydrates. For shelter microbes, 22 categories of carbon sources were

基金项目: 国家“863”项目 (2006AA10Z409); 教育部新世纪优秀人才计划项目 (NCET-08-0503); 山东省杰出青年基金项目 (JQ201009); 国家“十二五”支撑计划课题 (2011BAD13B03); 青岛市关键技术重大攻关计划项目 (12-6-1-6-hy)

收稿日期: 2012-11-23; **网络出版日期:** 2014-02-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xianglitian@ouc.edu.cn

significantly related to the principal components, of which some related to principal component 1 were polymers, carbohydrates, carboxylic acids and amino acids, and others related to principal component 2 were carboxylic acids. Significant seasonal changes were detected for all microbial diversity indexes including Shannon, McIntosh, Simpson and S-E in sediment and shelter of sea cucumber cultural ponds, but differences were also observed in seasonal variations between microbial diversity indexes. RDA analysis revealed that TP, $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{PO}_4\text{-P}$ were the critical factors influencing seasonal changes in sediment microbial community functional diversity, while SOM, $\text{NO}_3\text{-N}$ and TN were the critical factors influencing seasonal changes in shelter microbial community functional diversity. In conclusion, seasonal changes in microbial community functional diversity were marked and different in sediment and shelter of sea cucumber cultural ponds, and this correlated well with environmental factors.

Key Words: microbial communities; functional diversity; seasonal variation; BIOLOG; RDA; environmental factors; sea cucumber cultural ponds

刺参(*Apostichopus japonicus*)养殖是我国水产养殖业的重要支柱之一,主要分布在山东和辽宁沿海^[1]。近年来,池塘养殖已经成为刺参人工养殖最主要的方式^[2]。但随着该产业的快速发展,刺参病害问题日益突出,成为该产业持续发展的瓶颈^[3]。研究表明,细菌性疾病在刺参养殖中非常普遍,如腐皮综合症等,它和养殖过程中的一些其他疾病都与养殖环境中的病原菌有关^[4]。细菌性疾病用药防治只是暂时性手段,生态防治才是解决问题的长久有效途径^[5]。微生物在养殖生态系统的物质循环和能量流动以及污染环境的改善修复中扮演了重要角色,它们和养殖生物有着密切的关系,常常也是养殖对象的病原或条件致病性病原^[6-7]。而微生物群落的生态功能特征能够反映环境的健康状况,因此,养殖生态系统中微生物群落的功能多样性研究具有十分重要的意义。

BIOLOG 技术通过测定微生物对不同碳源利用程度的差异来表征其功能多样性,是目前微生物功能多样性研究的常用方法,在研究空间及时间尺度上微生物群落变化方面有较好的应用,能够有效地评价不同环境区系微生物群落特征^[8-10]。近年来,BIOLOG 技术在研究水产养殖环境中微生物群落方面已有所报道^[11-12],但研究多集中于鱼、对虾等方面,对于刺参却报道甚少。刺参属于底栖低温生物,生长适宜温度范围为 12—20 ℃,因此具有在春秋两季活动生长、夏冬两季休眠的生理特性^[13-14];此外,刺参养殖过程中需在池塘底部设置大量人工附着基以供刺参附着栖息摄食^[15]。因此,刺参池塘底质生态系统不同于其他环境系统,刺参的季节性活动摄

食以及其主要活动场所-附着基的设置使其微生物群落特征具有特殊性。本研究利用 BIOLOG ECO 微平板培养法首次探讨了刺参养殖池塘底泥和附着基环境微生物群落功能多样性的季节变化及其与环境因子间的关系,以期对刺参池塘底质微生态调控模式的建立提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集方法

实验采样地为山东省青岛市胶南的 3 个刺参养殖池塘。分别于 2011 年 4 月(春季)、7 月(夏季)、10 月(秋季)和 2012 年 1 月(冬季)各季度月下旬用无菌器皿采集池塘底泥和附着基样品。用采泥器在各个池塘的 5 处不同位置采表层底泥(0—5 cm),放入已灭菌的样品袋中;将各个池塘 5 处不同位置的附着基(包括瓦片、地笼和水泥砖)取出水面,用已灭菌的刀片刮取附着基表面的泥,放入已灭菌的样品袋中。将各类样品用 4 ℃ 保温箱带回实验室分析。实验分析时每个池塘的每种样品均为随机采取的 5 个点的混合样。

1.2 环境因子指标测定

样品(包括底泥和附着基)测定的主要常规指标包括总有机碳(TOC)、总氮(TN)、总磷(TP)、有机质(SOM%)、氨态氮($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)和活性磷酸盐($\text{PO}_4\text{-P}$)。TOC 和 TN 采用元素分析仪同时测定,TP 采用过硫酸钾($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)氧化法测定^[16],SOM%采用马弗炉灼烧法测定^[17], $\text{NH}_4\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 以 2 mol/L KCl 溶液浸提后分别采用靛酚蓝法和镉

柱还原法测定^[18-19], $\text{PO}_4\text{-P}$ 用 0.5 mol/L NaHCO_3 溶液浸提、钼锑抗比色法测定^[18-19]。

1.3 微生物群落功能多样性测定

采用含有 31 种碳源底物的 BIOLOG-ECO 板 (Biolog Inc. Hayward, C. A., USA) 研究分析微生物群落的碳代谢特征, 即功能多样性。根据碳源的化学官能团及微生物生理代谢途径等可将 ECO 板上的 31 种碳源划分为 6 大类^[20]: 聚合物 4 种、糖类 10 种、羧酸 7 种、氨基酸 6 种、酚 2 种、胺 2 种。BIOLOG 实验在取样后 4 h 内进行。实验方法参照参考文献^[21]的方法并略作修改, 具体操作步骤如下: 称取相当于 10 g 干重的新鲜底泥或附着基样品置于 250 mL 的无菌三角瓶中, 加入 90 mL 灭菌的 0.85% (质量比) 生理盐水, 制成 10^{-1} 的样品悬浊液, 将此悬液在 4 °C 摇床上震荡 1 h, 静置 10 min 后取上清液进行 10 倍梯度稀释至 10^{-2} 或 10^{-3} (根据 BIOLOG-ECO 板的接种浓度要求, 使每个样品悬液里的细菌数量在 $(1-5) \times 10^4$ CFU/mL), 然后取 150 μL 样品悬液接种至 ECO 板的每一个孔中, 对照孔加入 150 μL 的无菌水, 将接种好的板置于 25 °C 恒温培养 7d, 于 0、24、48、72、96、120、144、168 时, 用酶标仪分别在 590 nm 和 750 nm 下测定光密度值。

1.4 数据处理

平均颜色变化率 (AWCD) 是反映微生物利用单一(类)碳源能力的重要指标, 其计算方法^[22]如下:

$$\text{AWCD} = \sum [(C_i - R)_{590} - (C_i - R)_{750}] / n$$

式中, C_i 为所测定的第 i 个碳源孔的光密度值, R 为对照孔的光密度值, n 为培养基碳源种类数。本研究 n 取值随所研究碳源种类数变化, 分别为 31 (全部碳源)、4 (聚合物)、10 (糖类)、7 (羧酸)、6 (氨基酸)、2 (酚)、2 (胺)。公式表示单个碳源孔在 590 nm 与 750 nm 的光密度差值, 即为单孔实际光密度值, 其中数值小于 0.06 时按 0 处理。

本研究用培养 72 h 的 BIOLOG 数据来计算微生物群落利用不同类型碳源的强度 (AWCD)、功能多样性指数、主成分分析 (PCA) 和冗余分析 (RDA)。其中, 多样性指数的计算参照植物生态学的方法^[23], 包括:

Shannon 指数 (H'), 用于评估微生物的丰富度和均度, 其计算公式为: $H' = -\sum P_i \ln P_i$, 式中, $P_i = n_i / N$, n_i 为第 i 种碳源孔的实际光密度值, N 为样品中所

有碳源孔实际光密度值的总和。

$S-E$ 均匀度指数 ($S-E$), 为通过 Shannon 指数计算出的均度, $S-E = H' / \ln S$, 式中 S 为颜色变化孔的数目。

McIntosh 指数 (U), 为基于群落物种多维空间上的多样性指数, 其计算公式为 $U = \sqrt{(\sum n_i^2)}$ 。

Simpson 指数 (D), 用于评估最常见种的优势度, 其计算公式为 $D = 1 - \sum (P_i)^2$ 。

采用主成分分析 (PCA) 和单因子方差分析 (One-way ANOVA) 确定不同季节期间微生物群落碳代谢特征是否有显著差异。主成分分析所用分析数据为各碳源孔的相对光密度值 P_i 。用主成分分析结果中各碳源光密度值与主成分得分系数的相关系数确定 31 种碳源与主成分的关系。应用冗余分析 (RDA) 确定不同季节微生物群落碳代谢功能多样性与环境因子间的相互关系。冗余分析所用数据均经过 $\lg(x+1)$ 转换。数据统计、主成分分析、方差分析采用 SPSS 13.0 软件进行, 绘图在 EXCELL 2010 中完成, 冗余分析及其排序图绘制采用 CANOCO 4.5 软件一并完成。数据显著性水平确定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 刺参池塘底质微生物利用全部碳源的季节变化

考察刺参池塘底质微生物利用 ECO 板上全部碳源的 AWCD 可知 (图 1), 底泥和附着基微生物利用碳源的总量均随着培养时间的延长呈现逐渐增加的趋势, 且具有明显的季节变化。具体表现为: 在培养 24 h 后, 各类微生物不同季节间的 AWCD 值开始出现分化, 之后差异愈明显。底泥微生物各培养阶段的 AWCD 值表现为春、夏、秋季节明显高于冬季, 而且从最终的培养结果来看夏季要较高于春、秋季节 (图 1); 附着基微生物各培养阶段的 AWCD 值为春、夏、秋季节明显高于冬季, 春、夏、秋季节之间差异不大, 但从总体表现以及最终的培养结果来看秋季要较高于春、夏季节 (图 1)。

2.2 刺参池塘底质微生物对不同类型碳源利用的季节变化

考察刺参池塘底质微生物利用 ECO 板上不同类型碳源的 AWCD 可以看出 (图 2), 底泥和附着基微生物对聚合物、糖类、羧酸、氨基酸、酚、胺的利用强度均存在显著的季节变化 ($P < 0.05$)。

图1 刺参池塘底质微生物利用全部碳源平均颜色变化率(AWCD)的季节变化

Fig.1 Seasonal variations of average well color development (AWCD) in all carbon sources utilized by soil microbial communities in sea cucumber cultural ponds

图2 刺参池塘底质微生物利用不同类型碳源平均颜色变化率(AWCD)的季节变化

Fig.2 Seasonal variations of average well color development (AWCD) in different types of carbon sources utilized by soil microbial communities in sea cucumber cultural ponds

图中同类型数据不同上标字母表示数据之间有显著差异($P < 0.05$)

底泥微生物在春、秋季节均以利用聚合物、糖类和羧酸为主,夏季以利用聚合物、糖类和氨基酸为主,冬季对各类碳源的利用强度均不高;比较发现,底泥微生物对各类碳源的利用强度均存在显著的季节变化($P < 0.05$)。对聚合物的利用强度在春、秋季节显著高于夏、冬季节;冬季显著低于夏季。对糖类的利用强度在春、夏、秋季节均显著高于冬季。对羧酸的利用强度在春、秋季节均显著高于夏季。对氨基酸的利用强度以夏季显著高于其他季节;春季显著高于秋、冬季节。对酚的利用强度以春、秋、冬季节均显著高于夏季。对胺的利用强度在春、夏季节均显著高于秋、冬季节(图2)。

附着基微生物对各类碳源的利用特征在春、夏、秋季节相似,均以利用聚合物、糖类和氨基酸为主,其中春、秋季节也对胺类物质有较高的利用,而冬季对各类碳源的利用强度均不高;比较发现,附着基微

生物对各类碳源(酚除外)的利用强度均存在显著的季节变化($P < 0.05$)。对聚合物的利用强度在秋季显著高于夏、冬季节;春、夏季均显著高于冬季。对糖类的利用强度在春、夏、秋季节均显著高于冬季。对羧酸的利用强度在春、夏、秋均显著高于冬季。对氨基酸的利用强度以春、秋季节均显著高于其他季节;夏季显著高于冬季。对胺的利用强度在春、秋季节均显著高于夏、冬季节;冬季显著低于夏季(图2)。

2.3 刺参池塘底质微生物碳源利用随季节变化的主成分分析

研究刺参池塘底质微生物群落对31种碳源利用的主成分分析结果(图3)表明:底泥和附着基微生物群落碳源利用方式均存在显著的季节变化($P < 0.05$)。主成分得分系数方差分析的结果发现:底泥和附着基微生物主成分1和主成分2得分系数差异均显著($P < 0.05$)。底泥微生物PC1得分系数差异

表现在夏季与其他季节之间有显著差异,PC2 得分系数差异表现在春、夏、冬季节之间以及秋季与冬季之间有显著差异(图3)。附着基微生物 PC1 得分系数差异表现在春季与冬季、秋季与冬季、夏季与秋季之间均有显著差异,PC2 得分系数差异表现在春、夏季节与冬季的差异均达到显著水平(图3)。

与主成分 1、2 具有较高相关系数($r > 0.6$)的碳源见表 1。底泥中,对 PC1 起分异作用的碳源主要有 13 种,分别属于糖类(5 种)、羧酸(3 种)、氨基酸(3 种)、酚(2 种),说明有 13 种碳源使不同季节底

泥微生物群落碳代谢功能多样性在 PC1 上差异显著($P < 0.05$);对 PC2 起分异作用的碳源主要有 5 种,分别属于聚合物(2 种)、糖类(2 种)、羧酸(1 种),说明有 5 种碳源使不同季节底泥微生物群落碳代谢功能多样性在 PC2 上差异显著($P < 0.05$)。同样,附着基上,决定 PC1 分异的碳源主要有 20 种,分别属于聚合物(4 种)、糖类(6 种)、羧酸(4 种)、氨基酸(4 种)、酚(1 种)、胺(1 种);决定 PC2 分异的碳源主要有 2 种,皆属于羧酸类(2 种)。

图3 刺参池塘底质微生物碳源利用类型季节变化的主成分分析

Fig.3 Principal components analysis (PCA) of seasonal variations of carbon utilization profiles of soil microbial communities in sea cucumber cultural ponds

表 1 与主成分 1、2 显著相关的主要碳源(取 $r > 0.6$)

Table 1 The main substrates significantly correlated with PC1 and PC2 in PCA

碳源类别 Carbon type	碳源 Carbon source	底泥 Sediment		附着基 Shelter	
		PC1	PC2	PC1	PC2
聚合物 Polymers	土温 40 Tween 40			0.666	
	土温 80 Tween 80			0.840	
	α-环式糊精 α-cyclodextrin		0.948	0.978	
	肝糖 glycogen		0.880	0.943	
糖类 Carbohydrates	D-纤维二糖 D-cellobiose	0.615		0.952	
	I-赤藻糖醇 I-erythritol	0.601			
	D-半乳糖内酯 D-galactonic acid lactone	0.673			
	N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-acetyl-D-glucosamine		0.699	0.965	
	葡萄糖-1-磷酸盐 glucose-1-phosphate			0.610	
	β-甲基-D-葡萄糖苷 β-methyl-D-glucoside	0.633		0.905	
	D, L-α-甘油 D, L-α-glycerol phosphate			0.754	
	α-D-乳糖 α-D-lactose	0.868			
	D-甘露醇 D-mannitol			0.954	
	D-木糖 D-xylose		-0.656		
羧酸 Carboxylic acids	丙酮酸甲酯 Pyruvatic acid methyl ester		0.785	0.860	
	D-半乳糖醛酸 D-galacturonic acid			0.721	
	γ-羟基丁酸 γ-hydroxybutyric acid			0.852	
	D-葡萄糖胺酸 D-glucosaminic acid	-0.649		0.618	
	甲叉丁二酸 itaconic acid	-0.743			
	D-苹果酸 D-malic acid				-0.695

续表					
碳源类别 Carbon type	碳源 Carbon source	底泥 Sediment		附着基 Shelter	
		PC1	PC2	PC1	PC2
氨基酸 Amino acids	α-丁酮酸 α-ketobutyric acid	-0.836			-0.804
	L-精氨酸 L-arginine	0.839			
	L-天冬酰胺酸 L-asparagine	0.755		0.926	
	甘氨酸-L-谷氨酸 glycyl-L-glutamic acid			0.840	
	L-苯基丙氨酸 L-phenylalanine				
	L-丝氨酸 L-serine				
酚 Phenolic acids	L-苏氨酸 L-threonine	0.869		0.8650.916	
	2-羟基苯甲酸 2-hydroxybenzoic acid	-0.749			
	4-羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid		-0.646		-0.642
胺 Amines	苯乙胺 Phenyl ethylamine				
	腐胺 Putrescine			0.853	

2.4 刺参池塘底质微生物利用碳源的多样性指数随季节变化

表 2 列出了刺参池塘底质微生物在培养 72 h 后所利用碳源的多样性指数,包括 Shannon 指数、McIntosh 指数、Simpson 指数、*S-E* 均匀度。结果表明,底泥和附着基微生物群落的多样性指数具有显著的季节变化($P<0.05$)。对于 Shannon 指数,底泥中,春、夏、秋、冬呈现依次递增的趋势,冬季显著高于其他季节;附着基中春、夏、秋季节差别不大($P>0.05$),但均显著低于冬季。而 McIntosh 指数的变化与 Shannon 指数正相反,显著性分析结果表明:底泥

中,冬季显著低于其他季节,且春季显著高于夏、秋季节;附着基中,冬季显著低于其他季节,且春、秋季节均显著高于夏季。对于 Simpson 指数而言,底泥中,春季最低,冬季最高,且冬季显著高于春季;附着基中,春、夏、秋季节差别不大($P>0.05$),但均显著高于冬季。*S-E* 均匀度的变化在各个季节差异很大,具体表现在:底泥中,以夏季显著低于其他季节,秋季显著高于其他季节;附着基中,春、夏、秋、冬呈现先降低后升高的趋势,以夏季最低,冬季最高,各个季节之间差异显著。

表 2 刺参池塘底质微生物多样性指数的季节变化

Table 2 Seasonal variations of diversity indices of soil microbial communities in sea cucumber cultural ponds					
样品 Sample	Shannon 指数 Shannon index	McIntosh 指数 McIntosh index	Simpson 指数 Simpson index	季节 Season	<i>S-E</i> 均匀度 Shannon evenness
底泥 Sediment	春	3.02±0.03a	3.14±0.02c	0.933±0.00a	1.16±0.05b
	夏	3.11±0.02a	2.41±0.20b	0.945±0.00ab	0.92±0.00a
	秋	3.12±0.04a	1.90±0.21b	0.939±0.01ab	1.43±0.04c
	冬	3.26±0.04b	1.21±0.18a	0.951±0.01b	1.23±0.01b
附着基 Shelter	春	3.18±0.02a	4.35±0.09c	0.953±0.00b	1.00±0.00c
	夏	3.19±0.01a	3.90±0.10b	0.951±0.00b	0.93±0.00a
	秋	3.20±0.01a	4.48±0.12c	0.951±0.00b	0.97±0.01b
	冬	3.33±0.01b	1.40±0.04a	0.939±0.01a	1.15±0.00d

同类样品中同列数据不同上标字母表示数据之间差异显著($P<0.05$)

2.5 刺参池塘底质微生物碳代谢功能多样性的季节变化与环境因子的关系

刺参池塘底质环境因子指标的季节变化结果(表 3)显示,底泥和附着基各环境因子指标具有显著的季节变化($P<0.05$)。TOC 含量在底泥中以春季显著高于其他季节,而在附着基中随春、夏、秋、冬

呈现显著升高的趋势。TN 含量在底泥和附着基中的季节变化与 TOC 基本相同。TP 含量在底泥和附着基中随春、夏、秋、冬均呈现显著升高的趋势。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量在底泥中以冬季显著高于其他季节,春季显著高于夏秋季节;而在附着基中呈现相反的季节变化,以秋季显著高于其他季节,夏季显著高于春

冬季节,春季显著高于冬季。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量在底泥中以春、夏、秋均显著高于冬季;而在附着基中以冬季显著高于其他季节,夏季显著低于春、秋季节。 $\text{PO}_4\text{-P}$ 含量在底泥中以夏、冬季显著高于春、秋季节;而

在附着基中随春、夏、秋呈显著升高的趋势,至冬季降低,显著低于其他季节。 SOM 含量在底泥中无显著季节变化;而在附着基中随春、夏、秋、冬呈显著升高的趋势。

表 3 刺参池塘底质环境因子指标的季节变化

Table 3 Seasonal variations of soil environmental factors in sea cucumber cultural ponds

样品 Sample	季节 Season	总有机碳 TOC /(g/kg)	总氮 TN /(g/kg)	总磷 TP /(g/kg)	氨态氮 $\text{NH}_4\text{-N}$ /(mg/kg)	硝态氮 $\text{NO}_3\text{-N}$ /(mg/kg)	速效磷 $\text{PO}_4\text{-P}$ /(mg/kg)	有机质 SOM /%
底泥 Sediment	春	6.43b	1.42b	0.38a	8.26b	15.37b	7.85a	3.73
	夏	4.35a	1.02a	0.54b	5.66a	15.43b	11.75b	3.18
	秋	5.08a	1.27ab	0.64c	5.40a	15.59b	8.09a	3.27
	冬	4.32a	1.04a	0.69c	9.89c	14.49a	11.26b	3.47
附着基 Shelter	春	10.79a	2.06a	0.51a	21.75b	24.78b	23.83b	6.85a
	夏	12.51b	2.32a	0.67b	33.03c	20.55a	48.85c	7.56b
	秋	23.95c	3.61b	0.66b	65.47d	24.42b	112.35d	8.75c
	冬	35.57d	6.04c	0.77c	14.58a	33.65c	15.90a	13.22d

同类样品中同列数据不同上标字母表示数据之间差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 从整体上反映了刺参池塘底质微生物功能多样性(包括对全部和不同类型碳源的利用能力以及碳代谢多样性指数)的季节变化与 7 种环境因子变量之间的关系。底泥中,RDA 排序图(图 4)的两个主要轴(第一、第二排序轴)的特征值分别为 0.786 和 0.196;对于微生物功能多样性或者环境因子指标而言,第一、第二排序轴之间的相关系数均为 0,表明这 2 个轴相互垂直,这些说明 RDA 分析的排序结果是可信的^[24]。从排序结果可以得到,底泥微生物群落功能多样性的季节变化差异非常明显,冬、春两季分别位于第一排序轴的正端和负端,夏、秋分别位于第二排序轴的正端和负端。第一轴排序与 TP(相关系数为 0.904)、 $\text{PO}_4\text{-P}$ (0.570)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ (0.451)正相关,与 $\text{NO}_3\text{-N}$ (-0.805)、TOC(-0.760)、TN(-0.686)、SOM(-0.251)负相关;第二轴排序与 $\text{PO}_4\text{-P}$ (0.812)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ (0.008)正相关,与 TN(-0.661)、TOC(-0.464)、SOM(-0.280)、 $\text{NO}_3\text{-N}$ (-0.170)、TP(-0.149)负相关。这表明,底泥微生物功能多样性季节变化的主要影响环境因子为 TP、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 。其中,TP 主要对 Shannon(正相关)、AWCD(负相关)、McIntosh(负相关)、Carh(负相关)等表征微生物功能多样性的指标产生较高影响; $\text{NO}_3\text{-N}$ 主要对 AWCD(正相关)、McIntosh(正相关)、Shannon(负相

关)等产生影响; $\text{PO}_4\text{-P}$ 主要对 Simpson(正相关)、Poly(负相关)等产生影响。附着基中,RDA 排序图(图 4)第一、第二轴的特征值分别为 0.982 和 0.015,且两轴之间的相关系数均为 0,表明这 2 个轴相互垂直。从排序结果可以发现,附着基微生物群落功能多样性的季节变化表现为:春、秋两季相似,位于第一排序轴的负端,冬季位于第一排序轴的正端,夏季位于第二排序轴的正端。第一轴排序与 SOM(0.912)、 $\text{NO}_3\text{-N}$ (0.874)、TN(0.834)、TP(0.740)、TOC(0.731)正相关,与 $\text{NH}_4\text{-N}$ (-0.618)、 $\text{PO}_4\text{-P}$ (-0.576)负相关;第二轴排序与 TP(0.065)正相关,与 TOC(-0.496)、 $\text{NO}_3\text{-N}$ (-0.463)、TN(-0.416)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ (-0.358)、 $\text{PO}_4\text{-P}$ (-0.356)、SOM(-0.288)负相关。因此,附着基微生物功能多样性季节变化的主要影响环境因子为 SOM、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 TN。其中,SOM 主要影响 Carh(负相关)、McIntosh(负相关)、Poly(负相关)、AWCD(负相关)等功能多样性指标; $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 TN 均主要影响 Shannon(正相关)、Carh(负相关)、Carx(负相关)、Simpson(负相关)等指标。研究表明,底泥和附着基微生物群落功能多样性具有显著的不同的季节变化,与环境因子具有很好的相关性,但二者与环境因子(TP 除外)相关关系基本相反。

图 4 刺参池塘底质微生物碳代谢功能多样性季节变化与环境因子的 RDA 分析

Fig.4 Redundancy analysis (RDA) of seasonal variations of carbon metabolic function of soil microbial communities in sea cucumber cultural ponds with environmental factors

图中 AWCD, Poly, Carh, Carx, Amin, Phen, Amid 分别代表微生物对全部碳源、聚合物 (Polymers)、糖类 (Carbohydrates)、羧酸 (Carboxylic acids)、氨基酸 (Amino acids)、酚 (Phenolic acids)、胺 (Amides) 的利用能力

3 讨论

BIOLOG 微平板培养法可以根据微孔颜色变化情况来评估微生物群落状况^[9]。本研究中刺参池塘底泥和附着基微生物群落对碳源总量和不同类型碳源的利用均存在显著的季节性变化(图 1, 图 2), 这说明它们的碳代谢能力存在季节性差异, 也进一步反映了它们微生物群落结构组成的季节性变动^[11]。BIOLOG 的主成分分析是反映微生物群落结构功能特征的有效手段^[25]。本研究对 31 种碳源利用的 PCA 分析发现底泥和附着基微生物群落碳源利用方式均存在显著性季节变化(图 3), 这充分证实了刺参池塘底质微生物群落在代谢功能和结构特征上的季节变动。微生物群落多样性指数是反映物种丰富度和均匀度的综合指标, 其变化能够准确反映群落功能多样性总体的动态变化, 但采用的多样性指数不同, 研究结果也存在较大差异^[26]。本研究中, Shannon 指数在冬季较高, 其他季节尤其是春、夏季节特别低, 而 McIntosh 指数的变化规律与此相反(表 2)。这可能是因为春、夏季节存在优势菌群从而使它们物种的丰富度或均匀度不高而导致 Shannon 指数较低, 但同时优势菌群的存在也能大大提高群落对某一(些)类碳源的利用喜好和利用程度, 从而导致 McIntosh 指数较高^[11, 27]。而 S-E 均匀度的季节变化也能在很大程度上推测到春、夏季节优势菌群的存在(表 2)。研究还发现, Simpson 指数不同于其他

多样性指数, 其在底泥和附着基中的季节变化具有较大差异(表 2)。同样, 微生物群落对碳源利用的季节变化在底泥和附着基中也存在较多差异(图 1—图 3), 这些说明底泥和附着基微生物群落功能多样性的不同。

微生物群落功能多样性是其环境因子的反映, 与环境理化性质紧密相关, 且相互影响^[28]。RDA 分析发现, 底泥和附着基微生物群落功能多样性的季节变化与环境因子的季节变化具有很好的相关性, 但二者与环境因子(TP 除外)具有完全相反的关系, 且影响它们的主要环境因子也不同, 这些进一步说明它们在功能多样性上的差异。本研究中 TP、NO₃-N 和 PO₄-P 三者与底泥微生物群落功能多样性指标呈现最大相关性, 是底泥微生物群落变化的主要影响因素, 这进一步证明了 N、P 是影响土壤微生物群落的重要因素^[29-30]; 而 SOM、NO₃-N 和 TN 是附着基微生物群落变化的主要影响因素, 这表明 C、N 对附着基微生物的重要性, 也进一步证明了 C 是影响底流微生物群落的重要因素^[31]。微生物生长对养分的需求趋向于有较高的 C、N、P 含量^[32]。本研究中 N 是影响底泥和附着基微生物群落季节变化的共同因素, 这可能是参与氮循环微生物群落对 N 的利用的结果, 这进一步表明微生物氮循环以及氮循环微生物群落在整个生态系统中的重要地位^[33]。

在对本实验刺参池塘的前期研究中发现, 附着基和底泥微生物群落结构区系组成具有不同的季节

变化^[34],这从根本上解释了它们的功能多样性季节变化的差异。而造成这些差异的原因可能在于池塘附着基和底泥自身环境的不同以及刺参摄食活动的影响等。具体表现在:(1)由于海水中营养物匮乏,而浸水固体表面粘附大量有机物,故许多海洋细菌都具有粘附在固体表面的特性。研究认为,具有鞭毛的细菌易于附着^[35],因此附着基上的细菌种类多是附着能力较强的种类,不同于底泥中的细菌组成^[34]。(2)附着基浸于水体中,处于池塘环境的底流区,其表面的透气性要远高于底泥,因此,附着基上的细菌种类可能以好氧性细菌种类居多,不同于底泥。(3)附着基是刺参主要的栖息地和摄食活动场所,刺参主要摄食附着基上繁生的底栖硅藻、原生动物、某些细菌等微小生物及附着其上的有机碎屑^[15]。这些生物与微生物群落之间具有复杂的关系,例如底栖硅藻与微生物之间对 N、P 等营养盐的竞争利用、原生动物与细菌之间摄食与被摄食,刺参对它们的大量摄食可能改变了这些关系进而对微生物群落结构功能产生直接或间接的影响;另外,生物死亡残骸也为微生物生长繁殖提供有机养料,因此刺参的摄食可能最终导致附着基上有机物相对缺乏,限制了微生物的代谢生长从而使 C 成为影响附着基微生物群落结构功能多样性的主要因素之一。另一方面,春、秋季节是刺参的摄食活动期,而本研究中春、秋季节附着基微生物群落功能多样性基本相似(图 4),不同于底泥,因此可推测刺参活动对附着基微生物群落功能产生了一定的影响。

微生物群落功能多样性的季节变化也会受温度等物理环境因子的影响,如本研究中春、夏、秋季节底泥和附着基微生物碳代谢活性差别不大,但均明显高于冬季(图 1),这很可能是由于冬季温度太低而导致其微生物整体代谢活性不高。但考虑到营养盐是微生物生长的物质基础,是养殖环境改善修复的主要对象,本研究重点考察了刺参池塘底质微生物功能多样性季节变化与化学环境因子间的关系。研究认为,刺参池塘底泥和附着基微生物功能多样性具有显著的季节变化,这些变化与环境因子具有很好的相关性;底泥和附着基微生物功能多样性季节变化差异可能与自身环境以及刺参的摄食活动有关;本研究为刺参池塘微生态调控模式的建立提供了基础资料。但是由于微生物群落结构与功

能多样性的复杂性,以及 BIOLOG 方法本身存在一定的缺陷^[8],今后还需结合分子生物学及其他方法进行才能更有效全面的揭示微生物的生态功能。

References:

- [1] Gu M, Ma H M, Mai K S, Zhang W B, Ai Q H, Wang X J, Bai N. Immune response of sea cucumber *Apostichopus japonicus* coelomocytes to several immunostimulants *in vitro*. *Aquaculture*, 2010, 306 (1/4): 49-56.
- [2] Chang Y Q, Sui X L, Li J. The current situation, problem and prospect on the *Apostichopus japonicus* aquaculture. *Fisheries Science*, 2006, 25 (4): 198-201.
- [3] Deng H, He C B, Zhou Z C, Liu C, Tan K F, Wang N B, Jiang B, Gao X G, Liu W D. Isolation and pathogenicity of pathogens from skin ulceration disease and viscera ejection syndrome of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture*, 2009, 287: 18-27.
- [4] Becker P, Gillanb D, Lanterbecq D, Jangoux M, Rasolofonirina R, Rakotovaod J, Eeckhauta I. The skin ulceration disease in cultivated juveniles of *Holothuria scabra*. *Aquaculture*, 2004, 242: 13-30.
- [5] Wang Y G, Rong X J, Zhang C Y, Sun S F. Main diseases of cultured *Apostichopus japonicus*: prevention and treatment. *Marine Science*, 2005, 29 (3): 1-7.
- [6] Lightner D V, Bell T A, Redman R M. A review of some major disease of economic significance in penaeid prawns/shrimps of the Americas and Indopacific. *Disease in Asian Aquaculture*, 1992, 57-80.
- [7] Yasuda K, Kitao T. Bacterial flora in the digestive tract of prawns, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*, 1980, 19: 229-234.
- [8] Wang Q, Dai J L, Wu D Q, Yu Y, Shen T L, Wang R Q. Statistical analysis of data from BIOLOG method in the study of microbial ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 (3): 817-823.
- [9] Chen C L, Liao M, Zeng L S. Methods to measure the microbial community structure and functional diversity in polluted soils. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (10): 3404-3412.
- [10] Ibekwe A M, Kennedy A C. Phospholipid fatty acid profiles and carbon utilization patterns for analysis of microbial community structure under field and greenhouse conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, 26 (2): 151-163.
- [11] Li Z J, Lin L, Yang Y Y, Lin X T. Influence of *Bacillus* on the microbial communities in shrimp ponds. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26 (3): 1183-1189.
- [12] Yuan C L, Li Z J, Yang Y Y, Lin X T. Effects of *Bacillus* preparation on metabolic function of microbial communities in tilapia ponds at early stock stage. *Chinese Journal of Ecology*, 2010, 29 (12): 2464-2470.

- [13] Yang H S, Yuan X T, Zhou Y, Mao Y, Zhang T, Liu Y. Effects of body size and water temperature on food consumption and growth in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) with special reference to aestivation. *Aquaculture Research*, 2005, 36 (11): 1085-1092.
- [14] Dong Y W, Dong S L, Tian X L, Zhang M Z, Wang F. Effects of water temperature on growth, respiration and body composition of young sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12 (1): 33-37.
- [15] Zhang H, Wang Y G, Rong X J, Cao S M, Chen X. Behavioral responses of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) to different light intensity and settlement substratum color. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28 (3): 477-482.
- [16] Hu C Y, Wang Z F, Lü H Y. A method of determination of total phosphate in the seawater and marine sediment. *Marine Environmental Science*, 1999, 18 (3): 48-52.
- [17] Qi Z X, Zhang M P, Li D S, Zhao L Y, Dong S L. Denitrification as a nitrogen output in experimental shrimp culture encloses. *Acta Oceanologica Sinica*, 1999, 21 (6): 130-133.
- [18] Lu R K. Analysis methods of Soil Agricultural Chemistry. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press, 1999: 156-160.
- [19] Lei Y Z. Experiment of water environmental chemistry in aquaculture. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 56-84.
- [20] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, 36(3): 203-213.
- [21] Zhan X Y, Wu D X, Zhang L, Zhang C J, Zhou S X, Yang Y X. Response of microbial community functional diversity in the rhizosphere of *Caragana microphylla* to environmental change. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 (12): 3087-3097.
- [22] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, Overby S T, Hart S C. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(3): 319-328.
- [23] Ma K P, Liu Y M. Measurement of biological community diversity II: α diversity (Part 2). *Chinese Biodiversity*, 1994, 2 (4): 131-239.
- [24] ter Braak C J F. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 1986, 67 (5): 1167-1179.
- [25] Li J, Zhao B Q, Li X Y, Jiang R B, So H B. Changes of soil microbial properties affected by different long-term fertilization regimes. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32 (4): 891-899.
- [26] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(2): 213-221.
- [27] Wang J J, Xu Q F, Jiang P K. Impacts of litter of *phyllostachy pubescens* on functional biodiversity of soil microorganisms communities in broad-leaved forest. *Scientia Silvae Sinicae*, 2008, 44 (9): 146-151.
- [28] Gomez E, Ferreras L, Toresani S. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technology*, 2006, 97: 1484-1489.
- [29] Manzoni S, Jackson R B, Trofymow J A, Porporato A. The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. *Science*, 2008, 321 (5889): 684-686.
- [30] Olav V, Olsen Y. Chemical composition and phosphate uptake kinetics of limnetic bacterial communities cultures in chemostats under phosphorus limitations. *Limnology and Oceanography*, 1989, 34 (5): 939-946.
- [31] Findlay S E G, Sinsabaugh R L, Sobczak W V, Hoostal M. Metabolic and structural response of hyporheic microbial communities to variations in supply of dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr*, 2003, 48(4): 1608-1617.
- [32] Chen F L, Zheng H, Yang B S, Ouyang Z Y, Zhang K, Xiao Y, Tu N M. The decomposition of coniferous and broadleaf mixed litters significantly changes the carbon metabolism diversity of soil microbial communities in subtropical area, southern China. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (11): 3027-3035.
- [33] Li S L, Liu C Q, Xiao H Y. Microbial effect on nitrogen cycle and nitrogen isotope fractionation on the earth's surface-a review. *Geology-Geochemistry*, 2002, 30 (4): 40-45.
- [34] Niu Y F. The primary studies on the bacteria flora in sea cucumber ponds [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [35] Gao Y H, Fu Y B. Composition and variation of bacterial-films on immerge-seawater-material-surfaces and their influences on attachment of halobios. *Marine Environmental Science*, 2001, 20 (2): 51-55.

参考文献:

- [2] 常亚青,隋锡林,李俊. 刺参增殖养殖现状、存在问题与展望. *水产科学*, 2006, 25(4): 198-201.
- [5] 王印庚,荣小军,张春云,孙素凤. 养殖海参主要疾病及防治技术. *海洋科学*, 2005, 29(3): 1-7.
- [8] 王强,戴九兰,吴大千,余悦,申天琳,王仁卿. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析. *生态学报*, 2010, 30(3): 0817-0823.
- [9] 陈承利,廖敏,曾路生. 污染土壤微生物群落结构多样性及功能多样性测定方法. *生态学报*, 2006, 26(10): 3404-3412.
- [11] 李卓佳,林亮,杨莺莺,林小涛. 芽孢杆菌制剂对虾池环境微生物群落的影响. *农业环境科学学报*, 2007, 26(3): 1183-1189.
- [12] 袁翠霖,李卓佳,杨莺莺,林小涛. 芽孢杆菌制剂对养殖前期罗非鱼池塘微生物群落代谢功能的影响. *生态学杂志*, 2010, 29 (12): 2464-2470.
- [14] 董云伟,董双林,田相利,张美昭,王芳. 不同水温对刺参幼参

- 生长、呼吸及体组成的影响. 中国水产科学, 2005, 12(1): 33-37.
- [15] 张辉, 王印庚, 荣小军, 曹善茂, 陈霞. 刺参的趋光性以及附着基颜色的感应行为. 生态学杂志, 2009, 28(3): 477-482.
- [16] 扈传昱, 王正芳, 吕海燕. 海水和海洋沉积物中总磷的测定. 海洋环境科学, 1999, 18(3): 48-52.
- [17] 齐振雄, 张曼平, 李德尚, 赵丽英, 董双林. 对虾养殖实验围隔中的解氮作用氮输出. 海洋学报, 1999, 21(6): 130-133.
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 156-160.
- [19] 雷衍之. 养殖水环境化学实验. 北京: 中国农业出版社, 2006: 56-84.
- [21] 展小云, 吴冬秀, 张琳, 张灿娟, 周双喜, 杨云霞. 小叶锦鸡儿根际微生物群落功能多样性对环境变化的响应. 生态学报, 2010, 30(12): 3087-3097.
- [23] 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法 II: α 多样性的测度方法. 生物多样性, 1994, 2(4): 231-239.
- [25] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, So H B. 长期不同施肥制度下几种土壤微生物学特征变化. 植物生态学报, 2008, 32(4): 891-899.
- [27] 王纪杰, 徐秋芳, 姜培坤. 毛竹凋落物对阔叶林土壤微生物群落功能多样性的影响. 林业科学, 2008, 44(9): 146-151.
- [32] 陈法霖, 郑华, 阳柏苏, 欧阳志云, 张凯, 肖赓, 屠乃美. 中亚热带几种针、阔叶树种凋落物混合分解对土壤微生物群落碳代谢多样性的影响. 生态学报, 2011, 31(11): 3027-3035.
- [33] 李思亮, 刘丛强, 肖化云. 地表环境氮循环过程中微生物作用及同位素分馏研究综述. 地质地球化学, 2002, 30(4): 40-45.
- [34] 牛宇峰. 刺参养殖池塘异养菌数量变动及区系组成的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [35] 高运华, 付玉斌. 浸海材料表面细菌粘膜组成和变化及其对海洋生物的附着影响. 海洋环境科学, 2001, 20(2): 51-55.

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

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

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

Ecological Restoration

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

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

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

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

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

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

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

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

Autecology & Fundamentals

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Effect of colours on oviposition preference of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* Busck YANG Xiaofan, MA Chunsen, FAN Fan, et al (2971)
- Monoterpene volatiles affecting host selection behavior of *Dendrolimus superans* and the activities of defense protein in larch needles LIN Jian, LIU Wenbo, MENG Zhaojun, et al (2978)
- Population, Community and Ecosystem**
- Soil microbial community structure under different vegetation restoration patterns in the loess hilly area HU Chanjuan, GUO Lei, LIU Guohua (2986)
- Seasonal variation of functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) cultural ponds YAN Fajun, TIAN Xiangli, DONG Shuanglin, et al (2996)
- Analysis of bacterial flora during the fahua-fermentation process of fuzhuan brick tea production based on DGGE technology LIU Shiquan, HU Zhiyuan, ZHAO Yunlin (3007)
- Landscape, Regional and Global Ecology**
- CO₂ emissions transfer embedded in inter-regional trade in China LIU Hongguang, FAN Xiaomei (3016)
- Carbon sequestration potential of the major stands under the Grain for Green Program in Southwest China in the next 50 years YAO Ping, CHEN Xiangang, ZHOU Yongfeng, et al (3025)
- Characteristics of spatial and temporal phenology under the dynamic variation of grassland in the Qinghai Lake watershed LI Guangyong, LI Xiaoyan, ZHAO Guoqin, et al (3038)
- Estimates of carbon emissions caused by forest fires in the temperate climate of Heilongjiang Province, China, from 1953 to 2012 ... WEI Shujing, LUO Bizhen, SUN Long, et al (3048)
- Simulation of the climatic productivity of forest vegetation in Three Gorges Reservoir area PAN Lei, XIAO Wenfa, TANG Wanpeng, et al (3064)
- The mechanism for occurrence of *Peridiniopsis* blooms in the tributaries of Three Gorges Reservoir ZHU Aimin, LI Sixin, HU Jun, et al (3071)
- Biodiversity sensitivity zoning of river dam and reservoir engineering development ... LI Yiqiu, LU Chunxia, DENG Ou, et al (3081)
- Urban, Rural and Social Ecology**
- Assessment on coordinative ability of sustainable development of Beijing-Tianjin-Hebei Region based on set pair analysis TAN Feifei, ZHANG Meng, LI Haoran, et al (3090)
- Vacancy analysis on the development of nature reserves in Jiangxi Province HUANG Zhiqiang, LU Lin, DAI Nianhua, et al (3099)
- Evaluation of ecological economy index in the poyang lake ecological economic zone HUANG Heping, PENG Xiaolin, KONG Fanbin, et al (3107)
- Research on China's provincial forest ecological security appraisal based on the detrimental interferences LIU Xinzhu, MI Feng, ZHANG Shuang, et al (3115)

《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 34 卷 第 11 期 (2014 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 34 No. 11 (June, 2014)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@ cspg. net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@ cspg. net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发刊

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元