ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

第 34 卷 第 10 期 Vol.34 No.10 2014

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 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 10 期　　2014 年 5 月　(半月刊)

目　　次

前沿理论与学科综述

景观可持续性与景观可持续性科学…… 赵文武,房学宁 (2453)

生态系统服务付费的诊断框架及案例剖析 …… 朱文博,王　阳,李双成 (2460)

湿地植物根表铁膜研究进展…… 刘春英,陈春丽,弓晓峰,等 (2470)

水生生态环境中捕食信息素的生态学效应…… 覃光球,卢豪良,唐振柱,等 (2481)

脊椎动物传播植物肉质果中的次生物质及其生态作用 …… 潘　扬,罗　芳,鲁长虎 (2490)

个体与基础生态

中亚热带天然林土壤 CH_4 吸收速率对模拟 N 沉降的响应 …… 陈朝琪,杨智杰,刘小飞,等 (2498)

塔里木盆地南缘旱生芦苇生态特征与水盐因子关系…… 贡　璐,朱美玲,塔西甫拉提·特依拜,等 (2509)

黄刺玫叶片光合生理参数的土壤水分阈值响应及其生产力分级…… 张淑勇,夏江宝,张光灿,等 (2519)

亚热带杉木和米老排人工林土壤呼吸对凋落物去除和交换的响应…… 余再鹏,万晓华,胡振宏,等 (2529)

施钾提高蚜害诱导的小麦茉莉酸含量和叶片相关防御酶活性…… 王　祎,张月玲,苏建伟,等 (2539)

高浓度 O_3 及太阳辐射减弱对冬小麦 PSⅡ光合活性及光能耗散的影响 ……

…… 孙　健,郑有飞,吴荣军,等 (2548)

蜡样芽孢杆菌 B3-7 在大田小麦根部的定殖动态及其对小麦纹枯病的防治效果 ……

…… 黄秋斌,张　颖,刘凤英,等 (2559)

有限供水下冬小麦全程耗水特征定量研究…… 张兴娟,薛绪掌,郭文忠,等 (2567)

抗真菌转基因水稻生态适合度评价…… 李　伟,郭建夫,袁红旭,等 (2581)

花生叶片蛋白组对 UV-B 辐射增强的响应 …… 杜照奎,李钧敏,钟章成,等 (2589)

南海南部悬浮颗粒物脂肪酸组成…… 刘华雪,柯常亮,李纯厚,等 (2599)

年龄、集群、生境及天气对鄱阳湖白鹤越冬期日间行为模式的影响…… 袁芳凯,李言阔,李凤山,等 (2608)

[树]麻雀羽再生的能量预算和水代谢散热调节 …… 杨志宏,吴庆明,杨　渺,等 (2617)

低剂量杀虫剂对星豹蛛捕食效应的影响及其机理 …… 李　锐,李　娜,刘　佳,等 (2629)

空心莲子草叶甲对越冬保护的响应与控害效能…… 刘雨芳,王秀秀,李　菲,等 (2638)

种群、群落和生态系统

气候变化对鄱阳湖白鹤越冬种群数量变化的影响…… 李言阔,钱法文,单继红,等 (2645)

不同退耕年限下菜子湖湿地土壤磷素组分特征变化…… 刘文静,张平究,董国政,等 (2654)

查干湖湿地浮游植物与环境因子关系的多元分析 …… 李然然,章光新,张 蕾 (2663)
闽江河口区淡水和半咸水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性…… 曾志华,杨民和,佘晨兴,等 (2674)
环境及遗传背景对延河流域植物叶片和细根功能性状变异的影响…… 郑 颖,温仲明,宋 光,等 (2682)
衡阳紫色土丘陵坡地植被恢复阶段土壤特性的演变…… 杨 宁,邹冬生,杨满元,等 (2693)
海平面上升影响下广西钦州湾红树林脆弱性评价…… 李莎莎,孟宪伟,葛振鸣,等 (2702)
中国南方 3 种主要人工林生物量和生产力的动态变化…… 杜 虎,曾馥平,王克林,等 (2712)
杉木人工林土壤真菌遗传多样性…… 何苑皞,周国英,王圣洁,等 (2725)
科尔沁固定沙地植被特征对降雨变化的响应…… 张腊梅,刘新平,赵学勇,等 (2737)
黄土丘陵区退耕还林地刺槐人工林碳储量及分配规律…… 申家朋,张文辉 (2746)

景观、区域和全球生态

南亚热带森林演替过程中小气候的改变及对气候变化的响应…… 刘效东,周国逸,陈修治,等 (2755)
黄淮海平原典型站点冬小麦生育阶段的干旱特征及气候趋势的影响…… 徐建文,居 辉,刘 勤,等 (2765)

资源与产业生态

基于 GIS 的山西省矿产资源规划环境影响评价 …… 刘 伟,杜培军,李永峰 (2775)
基于效益分摊的水电水足迹计算方法——以密云水库为例 …… 赵丹丹,刘俊国,赵 旭 (2787)

学术信息与动态

全球土地计划第二次开放科学大会(GLP 2nd Open Science Meeting)会议述评 …… 段宝玲,卜玉山 (2796)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 348 * zh * P * ￥90.00 * 1510 * 36 * 2014-05

封面图说:鄱阳湖越冬的白鹤群——白鹤为国家一级保护动物,世界上白鹤东部种群的迁徙路线是从俄罗斯西伯利亚的雅库特,向南迁飞 5100km 到中国长江下游的鄱阳湖越冬,其中途经俄罗斯的雅纳河、印迪吉尔卡河和科雷马河流域,进入中国后主要停歇地有扎龙、林甸、莫莫格以及双台河口、滦河口、黄河三角洲和升金湖等地。多年的监测表明,世界 90%以上的白鹤种群都在鄱阳湖越冬。越冬初期和末期是白鹤补充能量的关键阶段,因此,研究鄱阳湖国家级自然保护区越冬白鹤种群数量和当地气候变化的相关性具有重要意义。

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/stxb201307191916
曾志华, 杨民和,佘晨兴,仝川.闽江河口区淡水和半咸水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性.生态学报,2014,34(10):2674-2681.
Zeng Z H, Yang M H, She C X, Tong C.Diversity of methanogen communities in tidal freshwater and brackish marsh soil in the Min River estuary.Acta Ecologica Sinica,2014,34(10):2674-2681.

闽江河口区淡水和半咸水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性

曾志华[1], 杨民和[1],佘晨兴[2],仝 川[3,4,*]

(1. 福建师范大学生命科学学院, 福州 350007;2. 福建师范大学环境科学与工程学院, 福州 350007;
3. 湿润亚热带生态-地理过程教育部重点实验室, 福州 350007;4. 福建师范大学亚热带湿地研究中心, 福州 350007)

摘要:为认识盐度对河口潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌的影响,应用 PCR-RFLP 技术及测序分析对闽江河口区淡水-半咸水盐度梯度上分布的 4 个短叶茳芏潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌群落结构进行研究。闽江河口区短叶茳芏潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌群落结构受盐度影响明显,位于下洋洲和塔礁洲的短叶茳芏潮汐淡水沼泽湿地土壤产甲烷菌的香农-威纳多样性指数值分别为 2.81 和 2.65,位于蝙蝠洲和鳝鱼滩的短叶茳芏潮汐半咸水沼泽湿地土壤产甲烷菌香农-威纳多样性指数值分别仅为 2.33 和 2.27。系统发育分析表明:短叶茳芏沼泽湿地土壤产甲烷菌类群主要有甲烷杆菌目(Methanobacteriales),包括 *Methanobacterium*、*Methanobrevibacter* 和 *Methanobacteriaceae*;甲烷微菌目(Methanomicrobiales),主要有 *Methanoregula*,以及甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales),主要有 *Methanosarcina* 和 *Methanococcoides*。闽江河口区短叶茳芏潮汐淡水沼泽湿地土壤主要的优势产甲烷菌有 *Methanoregula*、*Methanosarcina* 和 *Methanobacterium*,而短叶茳芏潮汐半咸水沼泽湿地土壤主要的优势产甲烷菌则转化为仅以 *Methanoregula* 为主。

关键词:产甲烷菌;群落结构;淡水和半咸水;短叶茳芏沼泽;闽江河口

Diversity of methanogen communities in tidal freshwater and brackish marsh soil in the Min River estuary

ZENG Zhihua[1], YANG Minhe[1], SHE Chenxing[2], TONG Chuan[3,4,*]

1 *College of Life Sciences*, *Fujian Normal University*, *Fuzhou* 350007, *China*

2 *College of Environmental Science and Engineering*, *Fujian Normal University*, *Fuzhou* 350007, *China*

3 *Key Laboratory of Humid Subtropical Eco-geographical Process of Ministry of Education*, *Fuzhou* 350007, *China*

4 *Research Centre of Wetlands in Subtropical Region*, *Fujian Normal University*, *Fuzhou* 350007, *China*

Abstract: Methane is one of the main greenhouse gases and plays an important role in global climate change. Wetlands are the main source of global methane emission. Microbial communities inhabiting anoxic habitats such as freshwater wetlands and marine sediment are important for biological carbon cycling. Methanogenesis is the final step of degradation of organic substrates and mediated by methanogenic archaea. Rising sea levels and excessive water withdrawals upstream are making previously freshwater wetlands saline. Plant community responses to change in the freshwater-saline gradient have been well studied in the estuarine wetlands; however, microbial community structure response to salinity gradient remains relatively unexplored, including the methanogens in tidal marsh soil along salinity gradient in subtropical estuary are poorly characterized.It is essential to investigate the influence of salinity on the community structure of methanogen in tidal

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41371127, 41071148);福建省自然科学基金资助项目(2011J01143);福建师范大学校级创新团队项目
收稿日期:2013-07-19; **网络出版日期**:2014-03-13

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: tongch@fjnu.edu.cn

marshes. With the development of molecular biological techniques, molecular methods independent of culture techniques has vastly improved the potential to describe microbial diversity. Methyl-coenzyme M reductase is a critical enzyme in methanogenesis and the *mcrA* gene is a favorable functional gene and widely used to detect methanogens in soils of wetlands. Here, we determined the diversity of methanogen communities using molecular technique targeting the *mcrA* gene and restriction fragment length polymorphism (RFLP) from the soil of the tidal freshwater and brackish *Cyperus malaccensis* marshes in the Min River estuary, southeast China. The community structure of methanogen in the tidal *C. malaccensis* marshes changed with salinity. Values of Shannon-Weiner index of methanogen from the soil of tidal freshwater *C. malaccensis* marshes are 2.81 and 2.65 in the Xiayangzhou and Tajiaozhou wetlands, and 2.33 and 2.27 in the soil of tidal brackish *C. malaccensis* marshes in the Bianfuzhou and Shanyutan wetlands. The diversity of methanogen communities from the tidal *C. malaccensis* marshes decreased with increasing salinity in the Min River estuary. Phylogenetic analysis revealed that the communities of methanogens in the *C. malaccensis* marshes were mainly divided into three groups which were Methanomicrobiales, Methanosarcinales and Methanobacteriales. The freshwater *C. malaccensis* marshes were mainly dominated by *Methanoregula*, *Methanosarcina* and *Methanobacterium*. However, the brackish *C. malaccensis* marshes only dominated by *Methanoregula*. We conclude that methanogen diversity in estuarine tidal marshes is shaped by salinity conditions, suggesting an influence of impending sea level rise.

Key Words: methanogen; community structure; freshwater and brackish; *Cyperus malaccensis* marsh; Min River estuary

入海河口位于河流与海洋交汇处,河口区从上游段到下游段,根据盐度的不同,依次分布有潮汐淡水、潮汐半咸水(或微咸水)沼泽湿地以及潮汐咸水湿地(包括盐沼和红树林)[1]。潮汐沼泽湿地是全球天然湿地重要的组成部分,也是世界上初级生产力最高的植物群落类型之一。具有高热辐射吸收潜力的甲烷被认为是重要的温室气体之一[2],据估算天然湿地甲烷排放占全球甲烷排放总量的 21% 以上[3]。产甲烷菌是介导湿地土壤甲烷产生的功能菌群,对于不同湿地类型的土壤产甲烷菌群落结构的测定有助于正确认识湿地甲烷代谢的微生物学机制。

随着分子生物学技术在湿地土壤微生物种类与数量的测定方面的广泛应用,北方泥炭湿地等湿地类型土壤产甲烷菌群落结构的研究报道较多[4-7],近年来,关于河口潮汐淡水沼泽[8]和河口咸水沼泽湿地[9-10]土壤产甲烷菌群落结构的研究日益增多。盐度是入海河口区一个十分重要的环境因子,盐度变化对于河口潮汐沼泽湿地植物群落特征具有直接的影响[11-12]。盐度变化对于河口潮汐沼泽湿地甲烷代谢的影响也已引起科学家的关注[13-16]。Baldwin 等[17]采用微型实验生态系的方法,向淡水湿地土芯添加不同盐度的 NaCl 溶液,同时通过末端标记限制性片段长度多态性分析(T-RFLP)测定,结果表明随着盐度的增加,土壤产甲烷菌群落结构发生变化,一些产甲烷菌种消失。然而,目前还未见关于河口区从淡水到半咸水盐度梯度上分布的同一优势沼泽植物群落湿地土壤产甲烷菌群落结构变化的报道。本研究以闽江河口区为研究范围,运用 PCR-RFLP 技术和测序相结合的方法,测定和分析了从淡水到半咸水盐度梯度上分布的 4 个短叶茳芏潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌的群落结构和系统发育,研究结果为更深入地认识盐度变化对于河口区沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性的影响提供了基础数据。

1　材料与方法

1.1　研究区和样地概况

闽江河口区气候暖热湿润,年均降水日数 153 d,年均降水量 1346 mm,降水多发生在 3—9 月。闽江河口区潮汐特征表现为口外正规半日潮,口内非正规半日浅海潮[18]。闽江河口区从河口海滨段向上至中游段依次分布有鳝鱼滩湿地、蝙蝠洲湿地、下洋洲湿地和塔礁洲湿地(图 1),其中下洋洲和塔礁洲为典型的淡水潮汐湿地,鳝鱼滩和蝙蝠洲受海水影响较大,近岸沼泽植被带属于半盐水沼泽湿地,4 个湿地上均分布有短叶茳芏(*Cyperus malaccensis* Lam. var. *brevifolius* Bocklr.)群落。短叶茳芏为多年生草本植物,耐盐碱性强,广泛分布于我

国的闽、粤等沿海省份和台湾地区。4 个湿地分布的短叶茳芏沼泽群落结构简单,多为单一种群落,短叶茳芏植株 3 月初进入生长期,6—9 月生长旺盛,花期较短, 7 月份植株高度 1.5—2 m。

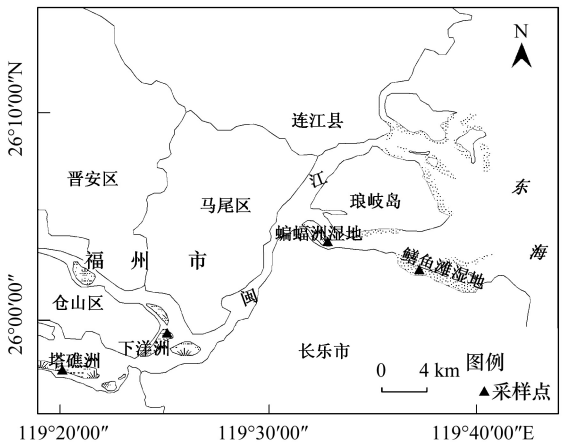

图 1 4 个研究样地在闽江河口区的分布

Fig.1 Spatial distribution of four sampling tidal marshes in the Min River estuary

1.2 土壤采集

2012 年 6 月 29—30 日,在 4 个湿地分别选择 1 个长势均匀的短叶茳芏群落为研究样地,在鳝鱼滩湿地,短叶茳芏群落集中分布于近堤岸的中高潮滩,在其他 3 个湿地短叶茳芏群落均分布在近河岸一侧。在与河岸线或海岸线平行的方向随机布设 3 个样点(样点间约 3—5 m 间距),用不锈钢采样器采集表层(0—10 cm)土样,采样均在落潮后时段进行,样品采集后迅速装入灭菌的封口聚乙烯袋中,并置于冰盒中尽快送至实验室,进行 DNA 提取和后续分析。

1.3 土壤理化指标的测定

土壤 pH 值原位采用 IQ150 便携式 pH/氧化还原电位/温度计(IQ Scientific Instruments, USA)测定,土壤电导率原位用 2265FS 便携式电导计(Spectrum Technologies Inc., USA)测定,并以此表征土壤盐度[19]。土壤含水量和容重采用环刀采样,105 ℃烘干直至恒重并测定。土壤质地采用激光粒度仪(Mastersizer- 2000, UK)测量。土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾氧化法测定。

1.4 土壤总 DNA 的提取

0.25 g 土样总 DNA 的提取使用 Power Soil DNA isolation kit (MO BIO Laboratories,USA),按照厂家说明书的方法对土样 DNA 的提取,并以 1%浓度的琼脂糖凝胶电泳检测、分析。提取好的 DNA 存于-20 ℃贮存备用。

1.5 *mcrA* 基因的 PCR 扩增和纯化

以土壤总 DNA 为模板,利用产甲烷菌的特异性引物 ME1(GCMATGCARATHGGWATGTC)和 ME2(TCATKGCRTAGTTDGGRTAGT)[20]进行扩增。扩增反应体系(50 μL):10× buffer 缓冲液 5 μL,dNTP 4 μL,引物 ME1 1 μL,引物 ME2 1 μL, DNA 模板 2 μL,Taq 酶 0.5 μL,加无菌去离子水至 50 μL。

PCR 反应程序:95 ℃预变性 5 min; 94 ℃变性 45 s,50 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 90 s,33 个循环;最后 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。在紫外灯下将扩增出的条带切下,用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒(sanggon),按照说明书进行 *mcrA* 基因回收。

1.6 *mcrA* 基因的 T-A 克隆及克隆文库的构建

回收后的 *mcrA* 基因与 PMD18-TVector(TaKaRa)根据载体说明书进行连接:连接体系(10 μL):PMD18-TVector 1 μL,PCR 产物 3 μL,灭菌的 ddH2O 1 μL,Solution Ⅰ 5 μL,将上述体系配好后轻轻混匀,16 ℃反应 3 h。连接结束后,将连接液转入 E.coli DH5α 感受态细胞,转化产物涂布到含有氨苄青霉素的 LB 固体培养基上,37 ℃培养 12—16 h。采用蓝白斑筛选挑取适量的阳性克隆构建克隆文库。在构建的文库中挑取 100 个阳性克隆进行菌落 PCR 的随机验证,根据扩增条带的大小鉴定重组子。

1.7 *mcrA* 基因克隆文库的 RFLP 分析,测序和系统发育分析

选择含有正确插入片段的阳性克隆并对其 PCR 产物进行酶切。酶切体系:菌落 PCR 产物 5 μL, 0.1%BSA 1 μL,10×T Buffer 1 μL,限制性内切酶 *MSP* Ⅰ 0.5 μL,加灭菌去离子水补充至 10 μL,37 ℃反应 3 h。酶切后产物用 2.0%的琼脂糖凝胶电泳分离酶切片段,比较分析酶切电泳图谱,将酶切谱型完全一致的归为 1 个操作分类单位(operational taxonomic unit, OTU),将不同的酶切谱型所对应的克隆子送上海英俊公司(Invitrogen)测序。得到序列与 GeneBank 数据库中已有的序列进行 Blast 比对,找到亲缘关系最近的种属,确定其分类地位。所有序列用 Cluster X Version 1.83 软件进行序列比对分析,利用 MEGA4 软件,采用 NJ 法,自展数 1000,建

立系统发育树。

1.8　多样性分析

根据酶切图谱信息,计算克隆文库的库容 C,计算公式[21]如下:

$$C=[1-(n_1/N)]\times 100\%$$

式中, n_1代表文库中仅出现 1 次的 OTU 数目,N 代表每个文库中的总阳性克隆数。利用 Bio-dap 软件对 Shannon-Weaver 指数(H)和 Simpson 指数(D)进行计算。

2　结果与分析

2.1　土壤理化特征

鳝鱼滩短叶茳芏样地土壤盐度显著高于下洋洲和塔礁洲的短叶茳芏样地。4 个短叶茳芏样地土壤容重及 DOC 含量均无显著性差异。鳝鱼滩短叶茳芏样地土壤 pH 值显著高于其它 3 个样地,而 SOC 含量显著小于其它 3 个样地。4 个样地土壤以粉粒为主,随着盐度的降低,短叶茳芏湿地土壤粉粒逐渐减少,而砂粒含量不断增加(表 1)。

2.2　产甲烷菌克隆文库的构建及多样性分析

通过 RFLP 方法,对下洋州、塔礁洲、蝙蝠洲和鳝鱼滩短叶茳芏沼泽湿地土壤分别获得的 95、97、94 和 98 个含有正确插入片段的阳性克隆进行单酶切分析,部分酶切图谱如图 2 所示。从所有酶切图谱看,不同文库间有一些相似的酶切类型,表现在酶切条带与 Marker 的相对位置上,这表明不同盐度短叶茳芏湿地土壤中可能有一定比例的共有类群,这些类群不受盐度变化的影响。4 个样点克隆文库分别获得 26、21、16 和 16 种不同的 RFLP 带型,克隆文库 RFLP 分析见表 2。从 RFLP 分析结果来看,半咸水的蝙蝠洲和鳝渔滩短叶茳芏沼泽湿地土壤的 2 个克隆文库相似,均与淡水的下洋洲和塔礁洲短叶茳芏沼泽湿地土壤存在很大的区别。从表 2 可以看出 4 个样点产甲烷菌克隆文库的覆盖率均较高,分别为 93.6%、93.8%、89.4%和 91.0%,可以说建立的文库已覆盖研究样地土壤产甲烷类群的 90%以上。塔礁洲和鳝鱼滩短叶茳芏沼泽湿地土壤克隆文库种类(部分未列出)较为丰富,在所有文库中,OTU-11、OTU-6、OTU-13和OTU-14是主要的优势

表 1　各样地土壤的理化性质

Table 1　Physicochemical property of four sampling sites

理化性质 Physicochemical property	鳝鱼滩 Shanyutan	蝙蝠洲 Bianfuzhou	下洋洲 Xiayangzhou	塔礁洲 Tajiaozhou
NaCl 溶液电导率/(mS/cm)	1.97±0.54 a	1.29±0.39 ab	0.42±0.03 b	0.46±0.01 b
pH	6.68±0.03 a	5.58±0.06 b	4.51±0.03 b	5.87±0.06 c
容重 Bulk density/(g/cm)	0.74±0.07 a	0.78±0.04 a	0.78±0.01 a	0.66±0.03 a
SOCSoil organic carbon/ (g/kg)	25.80±0.3 c	53.40±4.1 a	37.20±1.9 b	51.70±4.5 a
粘粒 Cosmid /%	13.40±1.80 ab	15.00±0.45 a	12.30±0.08 a	10.60±0.24 b
粉粒 Silt /%	70.20±1.86 a	67.00±0.57 a	63.00±0.63 b	49.40±0.74 c
砂粒 Sand/%	16.40±3.06 c	18.00±1.00 c	24.70±0.70 b	40.00±0.70 a

数据为平均值±标准误,同一行数据标注不同字母表示差异性显著,$P < 0.05$,$n = 3$

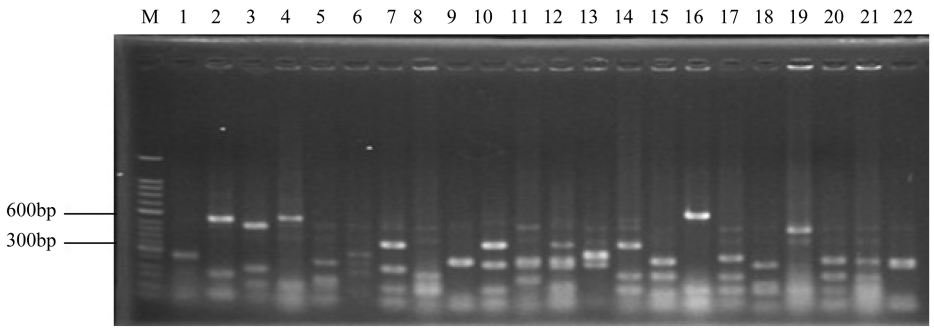

图 2　*mcrA* 基因插入片段的 *Msp* Ⅰ酶切图谱(部分)

Fig.2　Insert of *mcrA* genes digested by *Msp* Ⅰ (partial)

M: 50bp DNA Ladder

群,占整个 RFLP 类型的 34.90%(图 3)。OTU-14 存在于 4 个样地中,但在塔礁洲短叶茳芏沼泽样地中所占比例最高。蝙蝠洲和鳝鱼滩短叶茳芏沼泽土壤克隆文库主要的酶切类型是 OTU-6、OTU-8、OTU-13 和 OTU-4,下洋洲和塔礁洲短叶茳芏沼泽土壤克隆文库主要的谱型是 OTU-11、OTU-14 和 OTU-16。

4 个短叶茳芏沼泽湿地土壤产甲烷菌的 Simpson 指数值和 Shannon-Wiener 指数值如表 2,下洋洲和塔礁洲淡水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性指数 Shannon-Wiener 分别为 2.81 和 2.65,蝙蝠洲和鳝鱼滩半咸水潮汐沼泽湿地土壤 Shannon-Wiener 多样性指数分别为 2.33 和 2.27,2 个淡水沼泽多样性指数差别不大且均高于半咸水沼泽, Simpson 指数分析结果也与之类似。结果表明淡水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性高于半咸水潮汐沼泽湿地。

表 2 短叶茳芏湿地表层土壤克隆文库的 RFLP 分析

Table 2 RFLP analysis of clone libraries obtained from four *C. malaccensis* marshes

克隆文库 Clone library	单一酶切克隆数 Number of single phylotype	酶切类型数 Total number of phylotype	阳性克隆数 Number of positive clones	香农-威纳指数 Shannon-Weiner index	辛普森指数 Simpson index	库容(C) Coverage(C)/%
鳝鱼滩 Shanyutan	6	16	98	2.27	0.125	93.8
蝙蝠洲 Bianfuzhou	6	16	94	2.33	0.114	93.6
下洋洲 Xiayangzhou	10	26	95	2.81	0.076	89.4
塔礁洲 Tajiaozhou	9	21	97	2.65	0.081	91.0

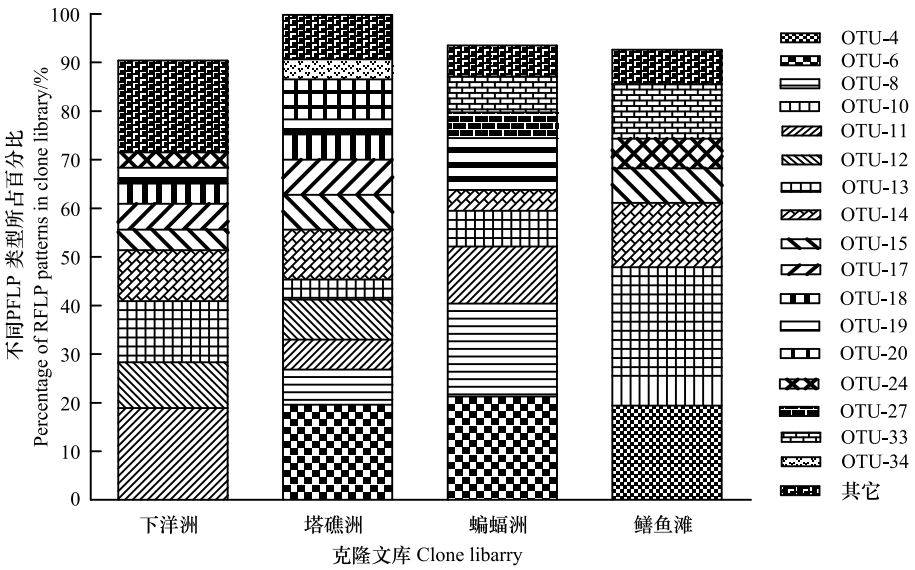

图 3 *mcrA* 基因克隆文库酶切类型百分比

Fig.3 Percentage of RFLP patterns of *mcrA* gene clone library

2.3 *mcrA* 基因系统发育分析

根据酶切分类结果,每一类型的分类操作单元中选取一个单克隆菌液进行 *mcrA* 序列测定,构建的 4 个克隆文库中总共 35 个克隆子被测序。将所测序结果用 Blast 在 GeneBank 数据库中进行比对,比对结果显示,不同的 RFLP 类型克隆子可能代表同 1 个属,4 个不同盐度土壤的克隆子与 GeneBank 数据中产甲烷菌的 *mcrA* 序列相似范围在 91%—99%,并且 90%以上都是不可培养的产甲烷古菌序列。将测序结果用 Cluster 进行序列比对,用 MEGA4 进行系统发育分析,结果如图 4。从图 4 可以看出闽江河口区短叶茳芏沼泽湿地土壤存在不同的产甲烷菌类群,总体看有甲烷杆菌目(Methanobacteriales),包括 *Methanobacterium*、*Methanobrevibacter* 和 *Methanobacteriaceae*;甲烷微菌目(Methanomicrobiales),主要有 *Methanoregula*,以及甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales),主要包括

Methanosarcina 和 *Methanococcoides*。淡水潮汐沼泽湿地土壤主要有 *Methanoregula*、*Methanosarcina* 和 *Methanobacterium*,半咸水潮汐沼泽湿地土壤则仅以 *Methanoregula* 为主,同样可以看出随着盐度的增加,产甲烷菌类群的生物多样性降低。

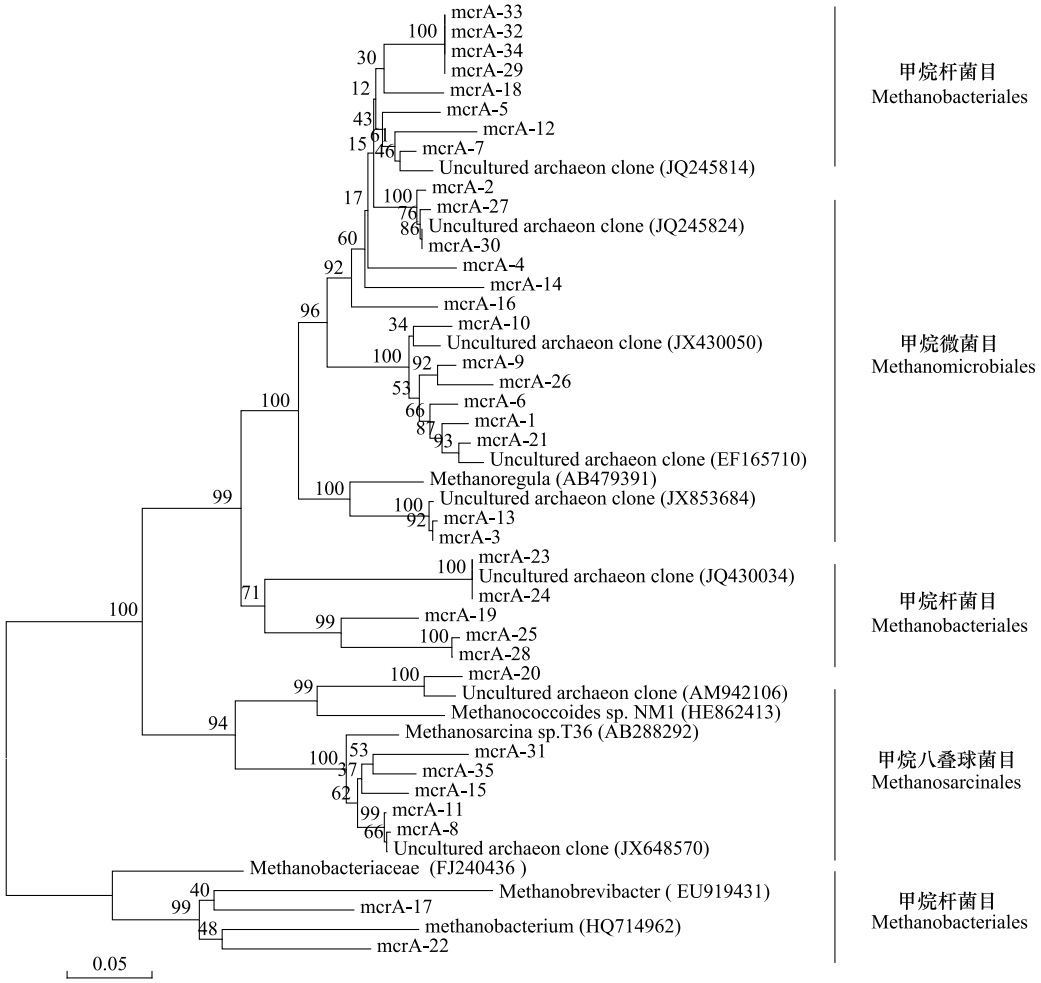

图 4　短叶茳芏湿地土壤产甲烷菌 *mcrA* 基因系统发育树

Fig. 4　Phylogenetic tree based on *mcrA* sequence of methanogens obtained from *C. malaccensis* marshes

Methanobacteriales 代表甲烷杆菌目,Methanomicrobiales 代表甲烷微菌目,Methanosarcinales 代表甲烷八叠球菌目

3　讨论与结论

本研究通过 PCR-RFLP 技术对闽江河口区短叶茳芏沼泽湿地土壤产甲烷菌群落结构进行了分析,结果表明闽江河口区淡水-半咸水短叶茳芏潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌主要有 3 大类群:甲烷微菌目(Methanomicrobiales)、甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales)和甲烷杆菌目(Methanobacteriales),这与国外许多报道[4,7,22-20]一致,也与佘晨兴和仝川对闽江口鳝鱼滩芦苇潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌的研究结果[24]一致。但是,本研究中的淡水和半咸水短叶茳芏潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌群落类型有较大的差异,淡水短叶茳芏沼泽湿地土壤产甲烷菌主要类群以 *methanoregula*、*methanobacterium* 和 *methanosarcina* 为主,而半咸水短叶茳芏湿地主要类群则转化为以 *methanoregula* 为主。随着盐度的增加,产甲烷菌群落多样性降低,这可能与半咸水短叶茳芏湿地产甲烷菌单一种和偶见种数减少有关。

Baldwin 等[17]等研究发现,随着盐度的增加,产甲烷菌群落多样性降低,一些乙酸型产甲烷菌种类只在低盐度添加土壤中出现,而在高盐度添加土壤中未检测到,当 NaCl 溶液的电导率达到 μS/cm 时,原存在于低盐度添加土壤中的甲烷八叠球菌(*methanosarcina*)消失。Mishra 等[25]等向洪水淹湿

地中添加 Cl^-、SO_4^{2-} 和 HCO_3^-,结果发现产甲烷菌群落结构发生改变,其中添加 Cl^- 的变化最显著,其次是 SO_4^{2-},而添加 HCO_3^-,产甲烷菌群落结构无变化。Smith 等[26]以 *mcrA* 基因为引物开展的自然盐田研究发现,高盐度和低盐度的土壤中产甲烷菌群落结构不一样,随着盐度的逐渐降低,甲烷微菌目成为主要的产甲烷菌类群。在本研究中,随着盐度的增加,位于蝙蝠洲和鳝鱼滩的半咸水短叶茳芏沼泽湿地土壤中甲烷八叠球菌数量减少,甲烷微菌目的 *methanoregula* 同样成为主要的产甲烷菌群。一些研究表明,钠盐、硫酸盐和硝酸盐对微生物的活动具有抑制作用,盐度越高,对微生物的抑制作用越强[27-30],盐度的增大还可能影响厌氧发酵过程中电子受体的供应[31],导致产甲烷菌可利用底物发生变化从而影响产甲烷菌群落结构。在闽江河口区,与淡水潮汐沼泽相比,半咸水潮汐沼泽具有相对高的盐度,土壤中 Na^+、Cl^- 和 SO_4^{2-} 等离子浓度增大,从而抑制了某些产甲烷菌的活性。虽然多数研究表明盐度对湿地土壤产甲烷菌群落结构造成影响,但是,Jenifer 等[32]对美国 Altamaha River 淡水湿地添加海水处理,采集土样实验室分析发现,细菌和古菌的群落结构均没有随着盐度的增加而发生改变。作为影响河口湿地土壤产甲烷菌群落结构的重要因素,关于盐度的影响还需更多的研究,由于海水成分的复杂性,产甲烷菌群落多样性具体与哪一种盐离子或多个盐离子有密切关系,有待进一步研究。

虽然分子生物学技术克服了产甲烷菌难培养的缺点,但是依然有一定的局限性。从酶切分析结果来看,得到的 OTU 数目不是很多,这可能会影响多样性的分析结果,在以后的实验中可以采用双酶切,得到更多的 OTU,对产甲烷菌进行更精确的分类。PCR 的偏好性可能会导致测定的产甲烷菌比实际的低,今后可通过增加取样地点、同时使用不同的引物对闽江口河口区短叶茳芏湿地土壤产甲烷菌群落结构开展更准确的研究。

References:

[1] Odum W E. Comparative ecology of tidal freshwater and salt marshes. Annual Review of Ecology and Systematics, 1988, 147-176.

[2] Segers R. Methane production and methane consumption: a review of process underlying wetland methane fluxes. Biogeochemistry, 1998, 41(1):23-51.

[3] Bartlett K B, Harris R C. Review and assessment of methane emissions form wetlands. Chemosphere, 1993, 26(14):261-320.

[4] Galand P E, Saarnio S, Fritze H, Yrjälä K. Depth related diversity of methanogen Archaea in Finnish oligotrophic fen. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(3): 441-449.

[5] Zhang G, Tian J, Jiang N, Guo X, Wang Y, Dong X. Methanogen community in Zoige wetland of Tibetan plateau and phenotypic characterization of a dominant uncultured methanogen cluster ZC-I. Environmental Microbiology, 2008, 10(7): 1850-1860.

[6] Freitag T E, Toet S, Ineson P, Prosser J I. Links between methane flux and transcriptional activities of methanogens and methane oxidizers in a blanket peat bog. FEMS Microbiology Ecology, 2010,73(1): 157-165.

[7] Narihiro T, Hori T, Nagata O, Hoshino T, Yumoto I, Kamagata Y.The Impact of aridification and vegetation type on changes in the community structure of methane-cycling microorganisms in Japanese wetland soils. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2011,75(9):1727-1734.

[8] Morrissey E M, Berrier D J, Neubauer S C, Franklin R B. Using microbial communities and extracellular enzymes to link soil organic matter characteristics to greenhouse gas production in a tidal freshwater wetland. Biogeochemistry, 2013, doi: 10.1007/s10533-013-9894-5.

[9] Yuan J J, Ding W X, Liu D Y, Xiang J, Lin Y X. Methane production potential and methanogenic archaea community dynamics along the *Spartina alterniflora* invasion chronosequence in a coastal salt marsh. Applied Microbiology Biotechnology, 2013, doi: 10.1007/s00253-013-5104-6.

[10] Zeleke J, Sheng Q, Wang J G, Huang M Y, Xia F, Wu J H, Quan Z X. Effects of Spatina alterflora invasion on the communities of methanogens and sulfate-reducing bacteria in estuarine marsh sediments. Frontiers in Microbiology, 2013, doi: 10.3389/fmicb.2013.00243.

[11] McKee K L, Mendelssohn I A. Response of a freshwater marsh plant community to increased salinity and increased water level. Aquatic Botany,1989,34(4):301-316.

[12] Gough L, Grace J B.Effects of flooding, salinity and herbivory on coastal plant communities, Louisiana, United States. Oecologia, 1998,117(4):527-535.

[13] DeLaune R D, Smith C J, Patrick W H.Methane release from Gulf coast wetlands.Tellus B,1983,35B(1): 8-15.

[14] Bartlett K B, Bartlett D S, Harris R C, Sebacher D I. Methane emission along a salt marsh salinity gradient. Biogeochemistry, 1987,4(3):183-202.

[15] Sotomayor D, Corredor J E, Morell J M. Methane flux from mangrove sediments along the southwestern coast of Puerto Rico. Estuaries,1994,17(1):140-147.

[16] Poffenbarger H, JNeedelman B A, Megonigal J P. Salinity influence on methane emissions from tidal marshes. Wetlands, 2011, 31(5):831-842.

[17] Baldwin D S, Rees G N, Mitchell A M, Watson G, Williams J. The short-term effects of salinization on anaerobic nutrient cycle and microbial community struture in sediment from a freshwater wetland. Wetlands, 2006, 26(2): 455-464.

[18] Liu J Q, Zeng C S, Chen N. Wetlands Research in Min River Estuary. Beijing: Science Press, 2006.

[19] Tamn F Y, Wong Y S. Variations of soil nutrient and organic matter content in a subtropical mangrove ecosystem. Water, Air and Soil Pollution, 1998, 103(1/4): 245-261.

[20] Hales B A, Edwands C, Ritchie D A, Hall G, Pickup R W, Saunder J R. Isolation and identification of methanogen-specific DNA from blanket bog peat by PCR amplification and sequence analysis. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(2): 668-675.

[21] Hill T C J, Walsh K A, Harris J A, Moffett B F. Using ecological diversity measure with bacterial communities. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(1): 1-11.

[22] Emerson D, Bellows W, Keller J K, Moyer C L, Sutton-Grier A, Megonigal J P. Anaerobic metabolism in tidal freshwater wetlands: Ⅱ. Effects of plant removal on archaeal microbial communities. Estuaries and Coasts, 2013, 36(3): 471-481.

[23] Utsumi M, Belova S E, King G M, Uchiyama H. Phylogenetic comparison of methanogen diversity in different wetland soils. The Journal of General and Applied Microbiology, 2003, 49(2): 75-83.

[24] She C X, Tong C. Vertical distribution of methanogen community structures in Phragmites australis marsh soil in the Min river estuary. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(17): 5299-5308.

[25] Mishra S R, PattnaiK P, Sethunathan N, Adhya T K. Anion-mediated salinity affecting methane production in a flooded alluvial soil. Geomicrobiology Journal, 2003, 20(6): 579-586.

[26] Smith J M, Green S J, Kelley CA, Prufer-Bebout L, Bebout BM. Shifts in methanogen community structure and function associated with long-term manipulation of sulfate and salinity in a hypersaline microbial mat. Environmental Microbiology, 2008, 10 (2): 386-394.

[27] Wang S Y, Tanf B, Ye L, Peng Y Z. Influence of NaCl salinity on nitrogen removal of activated sludge system. Journal of Beijing University of Technology, 2008, 34(6): 631-635.

[28] Vallcro M V G, Hulshoff Pol L W, Lettinga G, Lens P N L. Effect of NaCl on thermophilic (55℃) methane degradation in sulfate reducing granular sludge reactors. Water Research, 2003, 37 (10): 2269-2280.

[29] Manuel C, Nicolas B, Jean P D, Rene E M. Effects of nitrogen oxides and denitrication by Pseudomonas stutzeri on acetotrophic methano nogenesis by Methanosarcina mazei. FEMS Microbiology Ecology, 1998, 25(3): 25: 271-276.

[30] Li B L, Wang M M, Wei G Q, Zhang D W, Wang J P. Lateral migration and accumulation of biogenic gas in the Sanhu area, Qaidam basin. Geological Review, 2003, 49(1): 93-100.

[31] Kang Y, Wang W C, Ren J H. Review of the geochemical factors effecting biogeneic gas prodution. Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry, 2004, 23(4): 350-354.

[32] Edminds J W, Weston N B, Joye S B, Mou X Z, Moran M A. Microbial community response to seawater amendment in low-salinity tidal sediments. Microbial Ecology, 2009, 58 (3): 558-568.

参考文献:

[18] 刘剑秋,曾从盛,陈 宁.闽江河口湿地研究.北京:科学出版社,2006.

[24] 佘晨兴,仝川.闽江口芦苇沼泽湿地土壤产甲烷菌群落结构的垂直分布.生态学报,2012,32(17):5299-5308.

[27] 王淑莹,唐冰,叶柳,彭永臻.NaCl 盐度对活性污泥系统脱氮性能的影响.北京工业大学学报,2008,34(6):631-635.

[30] 李本亮,王明明,魏国齐,张道伟,王金鹏.柴达木盆地三湖地区生物气横向运聚成藏研究.地质论评,2003,49(1):93-100.

[31] 康晏,王万春,任军虎.生物气生成的地球化学因素分析.矿物岩石地球化学通报,2004,23(4):350-354.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.34, No.10 May, 2014 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

Landscape sustainability and landscape sustainability science ····· ZHAO Wenwu, FANG Xuening (2453)

A diagnostic framework of payments for ecosystem services and associated case studies ····· ZHU Wenbo, WANG Yang, LI Shuangcheng (2460)

Progress in research of iron plaque on root surface of wetland plants ····· LIU Chunying, CHEN Chunli, GONG Xiaofeng, et al (2470)

Ecological effects of predator chemical cues in aquatic ecosystem ····· QIN Guangqiu, LU Haoliang, TANG Zhenzhu, et al (2481)

Secondary substances and their ecological effects on seed dispersal in vertebrate-dispersed fleshy fruit plants ····· PAN Yang, LUO Fang, LU Changhu (2490)

Autecology & Fundamentals

Responses of CH_4 uptake rates to simulated N deposition in a nature forest in mid-subtropical China ····· CHEN Chaoqi, YANG Zhijie, LIU Xiaofei, et al (2498)

Ecological characteristics of *Phragmites australis* and their relationship to water-salt indicators in dry habitats of the southern marginal zones of the Tarim Basin, China ····· GONG Lu, ZHU Meiling, TASHPOLAT·Tiyip, et al (2509)

Threshold effect of soil moisture on photosynthetic and physiological parameters in *Rosa xanthina* L. and its photosynthetic productivity classification ····· ZHANG Shuyong, XIANG Jiangbao, ZHANG Guangcan, et al (2519)

Contrasting responses of soil respiration to litter manipulation in subtropical *Mytilaria laosensis* and *Cunninghamia lanceolata* plantations ····· YU Zaipeng, WAN Xiaohua, HU Zhenhong, et al (2529)

Potassium application for increased jasmonic acid content and defense enzyme activities of wheat leaves infested by aphids ····· WANG Yi, ZHANG Yueling, SU Janwei, et al (2539)

Combined effects of elevated O_3 concentration and reduced solar irradiance on photosynthetic activity and energy dissipation of winter wheat ····· SUN Jian, ZHENG Youfei, et al (2548)

Colonization dynamics of *Bacillus cereus* B3-7 on wheat roots and control efficiency against sharp eyespot of wheat ····· HUANG Qiubin, ZHANG Ying, LIU Fengying, et al (2559)

Quantitative study of water consumption characteristics of winter wheat under deficit irrigation ····· ZHANG Xingjuan, XUE Xuzhang, GUO Wenzhong, et al (2567)

Assessment on the ecological fitness of anti-fungal transgenic rice ····· LI Wei, GUO Jianfu, YUAN Hongxu, et al (2581)

A proteomic analysis of *Arachis hypogaea* leaf in responses to enhanced ultraviolet-B radiation ····· DU Zhaokui, LI Junmin, ZHONG Zhangcheng, et al (2589)

Composition of fatty acids from suspended particulate matter in southern South China Sea ····· LIU Huaxue, KE Changliang, LI Chunhou, et al (2599)

The influence of age, flock size, habitat, and weather on the time budget and the daily rhythm of wintering Siberian Cranes in Poyang Lake ····· YUAN Fangkai, LI Yankuo, LI Fengshan, et al (2608)

The energy budget and water metabolism heat regulation of tree sparrows *Passer montanus* of toba compensatory regeneration ····· YANG Zhihong, WU Qingming, YANG Miao, et al (2617)

The effect of low-dose of pesticide on predation of spider and its preliminary mechanisms ····· LI Rui, LI Na, LIU Jia, et al (2629)

Response of the alligator weed flea beetle, *Agasicles hygrophila* (Coleoptera: Chrysomelidae) to overwintering protection and its controlling effect on alligator weed *Alternanthera philoxeroides* (Amaranthacese: Alternanthera) ····· LIU Yufang, WANG Xiuxiu, LI Fei, et al (2638)

Population, Community and Ecosystem

The effect of climate change on the population fluctuation of the Siberian crane in Poyang Lake ····· LI Yankuo, QIAN Fawen, SHAN Jihong, et al (2645)

Characteristics of soil phosphorus fractions in wetlands with various restoration age in caizi lake, Anhui Province ····· LIU Wenjing, ZHANG Pingjiu, DONG Guozheng, et al (2654)

Multivariate analysis of the relations between phytoplankton assemblages and environmental factors in Chagan Lake Wetland ····· LI Ranran, ZHANG Guangxin, ZHANG Lei (2663)

Diversity of methanogen communities in tidal freshwater and brackish marsh soil in the Min River estuary ····· ZENG Zhihua, YANG Minhe, SHE Chenxing, et al (2674)

The influence of environment and phylogenic background on variation in leaf and fine root traits in the Yanhe River catchment, Shaanxi, China ····· ZHENG Ying, WEN Zhongming, SONG Guang, et al (2682)

Changes of soil properties in re-vegetation stages on sloping-land with purple soils in hengyang of Hunan Province, South-central China ····· YANG Ning,ZOU Dongsheng,YANG Manyuan,et al (2693)

Vulnerability assessment on the mangrove ecosystems in qinzhou bay under sea level rise ····· LI Shasha, MENG Xianwei, GE Zhenming, et al (2702)

Dynamics of biomass and productivity of three major plantation types in southern China ····· DU Hu, ZENG Fuping, WANG Kelin, et al (2712)

Fungal diversity in *Cunninghamia lanceolata* plantation soil ····· HE Yuanhao, ZHOU Guoying,WANG Shenjie,et al (2725)

Response of sandy vegetation characteristics to precipitation change in Horqin Sandy Land ····· ZHANG Lamei, LIU Xinping, ZHAO Xueyong, et al (2737)

Characteristics of carbon storage and sequestration of *Robinia pseudoacacia* forest land converted by farmland in the Hilly Loess Plateau Region ····· SHEN Jiapeng, ZHANG Wenhui (2746)

Landscape, Regional and Global Ecology

Forest microclimate change along with the succession and response to climate change in south subtropical region ····· LIU Xiaodong, ZHOU Guoyi, CHEN Xiuzhi, et al (2755)

Drought variations of winter wheat in different growth stages and effects of climate trend in Huang-Huai-Hai Plain, China ····· XU Jianwen,JU Hui,LIU Qin,et al (2765)

Resource and Industrial Ecology

A method of environment assessment of mineral resources planning for shanxi provinces base on GIS ····· LIU Wei, DU Peijun,LI Yongfeng (2775)

A new approach to assess the water footprint of hydropower: a case study of the Miyun reservoir in China ····· ZHAO Dandan, LIU Junguo,ZHAO Xu (2787)

《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研工作者,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研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

本期责任副主编　祖元刚　　**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 10 期　(2014 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 34　No. 10 (May, 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
主　　编	王如松
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:100717
印　　刷	北京北林印刷厂
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
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
广告经营许可证	京海工商广字第 8013 号

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

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 90.00 元