

# Study on Microbial Communities in the Intertidal Sediments of Marine Protected Areas

—A Case Study on Dalian Changhai Marine Precious Biological Nature

Jiawei Tang<sup>1</sup>, Bei Huang<sup>2\*</sup>, Peiwen Sun<sup>3</sup>, Mingxia Sun<sup>4</sup>, Zicheng Liu<sup>3</sup>, Xiangyu Li<sup>3</sup>, Cungen Yu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Fishery, Zhejiang Ocean University, Zhoushan Zhejiang

<sup>2</sup>Zhoushan Marine Ecological Environment Monitoring Station, Zhoushan Zhejiang

<sup>3</sup>Dalian Ecological Environment Monitoring Center of Liaoning Province, Dalian Liaoning

<sup>4</sup>Liaoning Provincial Dalian City Changhai County Environmental Monitoring Station, Dalian Liaoning

Email: \*bighb@163.com

Received: Feb. 19<sup>th</sup>, 2020; accepted: Mar. 6<sup>th</sup>, 2020; published: Mar. 13<sup>th</sup>, 2020

---

## Abstract

Marine protected areas (MPAs) are one of the most widely utilized marine management tools globally. Marine protected areas are essential for conservation of biodiversity by offering protection from major anthropogenic threats. Microbial community plays a key role in biogeochemical cycles of organic pollutants. Their community structure and diversity, and the changes reflect certain aspects of sediment quality. In order to study the microbial community structure in intertidal sediments of coastal area in Yellow Sea and to understand the differences in the structure of microbial communities between marine protected areas and adjacent areas, metagenomic analysis based on the Illumina Miseq high throughput sequencing technology was applied in Liaoning Dalian Changhai Marine Precious Biological Provincial Nature Reserve intertidal zone in September 2018. A total of 43 phyla of microorganisms were detected from the intertidal sediment samples. Proteobacteria was the dominant group, comprising 45.7% of the total sequences. Other abundant groups include phylum Acidobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Planctomycetes, Cyanobacteria and Verrucomicrobia. The Chao1, Shannon and Simpson diversity indexes were calculated using Mothur software. The average value of Chao1 index was 5493, Shannon diversity index was 9.71 for all the samples, and the Simpson index was 0.994. These indices indicated high microbial community diversity in the area. Through principal component analysis, it was found that the structure of microbial communities in the intertidal zone of MPAs and Dalian's estuarine rivers was quite different.

## Keywords

Marine Protected Areas, Microbial Community, Intertidal Zone, High Throughput Sequencing

---

\*通讯作者。

# 海洋保护区潮间带沉积物微生物群落的研究

## ——以大连长海珍稀海洋生物保护区为例

唐嘉威<sup>1</sup>, 黄 备<sup>2\*</sup>, 孙沛雯<sup>3</sup>, 孙明霞<sup>4</sup>, 刘子成<sup>3</sup>, 李翔宇<sup>3</sup>, 俞存根<sup>1</sup>

<sup>1</sup>浙江海洋大学水产学院, 浙江 舟山

<sup>2</sup>浙江省舟山海洋生态环境监测站, 浙江 舟山

<sup>3</sup>辽宁省大连生态环境监测中心, 辽宁 大连

<sup>4</sup>辽宁省大连市长海县环境监测站, 辽宁 大连

Email: \*bighb@163.com

收稿日期: 2020年2月19日; 录用日期: 2020年3月6日; 发布日期: 2020年3月13日

### 摘 要

海洋保护区是全球使用最广泛的海洋管理工具之一, 它对于保护生物多样性至关重要, 它可以提供保护, 使其免受人为活动的威胁。微生物群落在有机污染物生物地球化学循环中起着十分关键的作用。微生物群落结构和多样性及其变化在一定程度上反映了土壤的质量。为准确掌握我国黄海沿海潮间带沉积物微生物群落, 了解海洋保护区与相邻区域微生物群落结构差异, 于2018年9月对辽宁省大连长海珍稀海洋生物保护区及附近区域潮间带沉积物微生物开展了详细调查。应用Illumina MiSeq宏基因组高通量测序技术, 在调查区域潮间带共鉴定沉积物微生物43门类, 变形菌门为最主要的优势门类, 其序列数占总数的45.7%。其它较为丰富的门类包括酸杆菌门、拟杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、蓝细菌门和疣微菌门。采用Mothur软件计算Chao1、Shannon和Simpson多样性指数, 结果发现: 菌群丰度指数Chao1的均值为5493, Shannon菌群多样性的指数为9.71, Simpson指数0.994, 显示出海域沉积物中微生物多样性较高, 通过主成份分析发现, 保护区和大连入海河流潮间带微生物群落结构差异较大。

### 关键词

海洋保护区, 微生物群落, 潮间带, 高通量测序

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

由于人类活动导致的生境丧失等因素的影响, 全球范围内的生物多样性持续减少。由于在生物多样性保护上可投入的资源有限, 加上生物资源的分布本身存在地区差异, 集中力量优先保护一些重要的地区, 是目前较为现实和高效的途径[1]。建立海洋保护区(MPA)是保护栖息地、生物多样性和生态过程、并帮助维持渔业生产力的重要手段和措施。因此海洋保护区是全球使用最广泛的海洋管理工具之一, 旨在实现从生物多样性的恢复、渔业管理到旅游业的发展的众多目标[2] [3] [4] [5] [6]。海洋保护区对于保

护生物多样性至关重要，它可以提供保护，使其免受人为威胁，例如化学污染，富营养化，过度开发和物种入侵[7]。根据 MPAtlas 的数据，目前全球有 11,169 个已确定的 MPA，它们覆盖了全球约 3.7% 的海洋[8]。

尽管 MPA 已在世界各地建立，但它们与其他生态系统之间的联系非常复杂，需要进行大量研究。许多海洋保护区靠近污染源，例如工业园区、港口码头、水产养殖场、石油码头和平台，市区和排污口等。由于海洋和河口的流动性使污染物可以长距离传输，因此陆上和海洋活动会持续对海洋生态系统产生负面影响，距污染源不同距离的 MPA 也可能受到威胁[9] [10]。由于生态过程的复杂性和量化此过程的难度，目前对海洋保护区的生态效应的知识仍然有限[11] [12]。

微生物群落是地球生命的基础，并通过催化驱动全球营养循环的生物地球化学反应以及与生物群落直接相互作用，提供基本的生态系统服务[13]。沉积物中的微生物是沿海生态系统过程的主要驱动力，不仅调节了许多生物地球化学过程，而且在有机污染物的矿化中也起着重要作用。分子生物学技术的快速发展极大地促进了人们对于自然界微生物多样性的认识，特别是近年来随着 DNA 高通量测序技术的发展，微生物全基因组水平的研究已经成为一种常规的实验手段。特别是 2008 年以来，DNA 测序技术取得了重大突破，基于不同原理的新一代高通量测序技术逐渐成为目前的主流平台，新一代测序技术的效率大幅提高，一次测序可以获得高达上百万的通量，单个碱基的测序成本也大幅下降。新一代测序技术的快速发展催生了 RNA-Seq (高通量测序)技术的出现，使复杂环境样品中微生物组学研究变得简单易行，在环境微生物学领域受到极大关注[14]。但是，到目前为止，我们对海洋保护区的微生物多样性的研究很少[15]，据我们所知，目前还没有关于黄海海洋保护区沉积物的微生物多样性的报道。

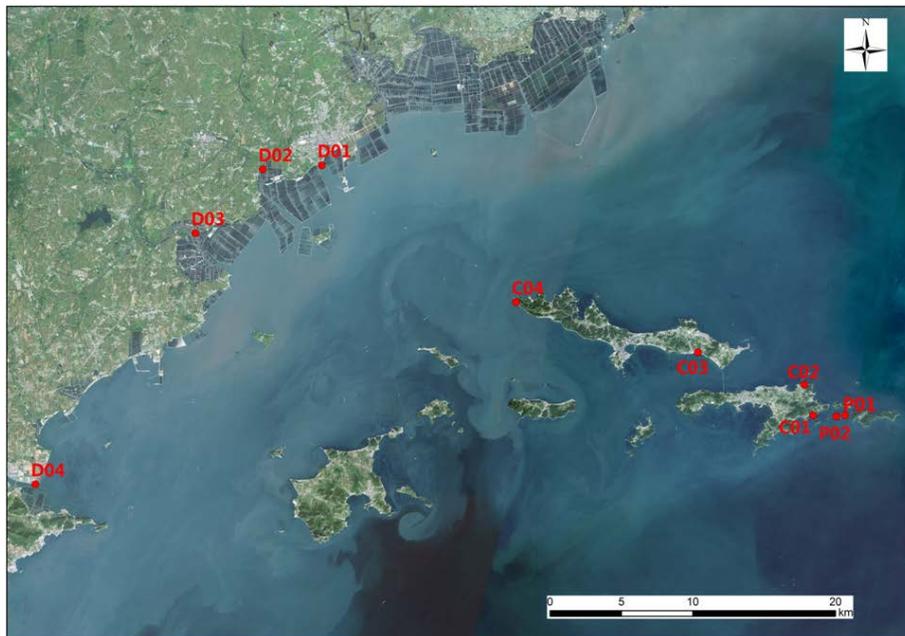
本文采用基于 Illumina MiSeq 高通量测序平台，对辽宁省大连市长海珍稀海洋生物保护区及相邻区域潮间带沉积物微生物多样性进行了深入的调查，通过分析沉积物微生物群落 16S rRNA 基因测序数据，探索并区分保护区与邻近区域之间微生物组成和多样性特征，讨论微生物群落与所处生境的关系，进一步评价人类活动对海洋保护区微生物群落的影响，以期为我国海洋生态和海洋生物多样性保护提供技术支撑。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 调查区域

大连长海珍稀海洋生物省级自然保护区位于辽宁省大连市长海县小长山镇东南部(122°44'02"~122°45'40"E, 39°12'49"~39°13'34"N)。保护区面积 220 公顷，其中海域面积 192.25 公顷，土地面积 27.75 公顷。长海县位于中纬度地带，属暖温带半湿润季风性气候。四季分明，冬暖夏凉，日照充足，温差较小，年平均气温 10°C 左右。夏季平均气温 25°C，是消夏避暑胜地。保护区位于中国黄海北部，是目前我国唯一的温带海洋珍稀生物自然保护区。保护区位于著名的海洋岛渔场，有近百种鱼类，二十多种贝类，数十种藻类。海参，鲍鱼，海胆，扇贝和其他海珍品在国内外都广为人知。保护区所在的长海县隶属于辽宁省大连市，位于辽东半岛东侧的黄海北部海域，全县共由 252 个海岛组成，海域面积 10,324 平方公里，海岸线总长 359 公里，全县植被茂密，绿树成荫，森林覆盖率达 44.4%，是国家级海岛森林公园。

在大连长海珍稀海洋生物省级自然保护区及附近区域设置潮间带采样点 10 个(图 1、表 1)，其中 P01 和 P02 测点位于保护区核心区核大坨子岛，C01~C04 位于相邻保护区的长海县潮间带，D01~D04 为大连市与长海县相邻区域入海河流入海口。2018 年 9 月 12~13 日，完成上述 10 个点位采样。每个测点取表层泥样于已灭菌的 50 mL 离心中，冷冻保存，带回实验室后保存于-80°C 超低温冰箱中。



**Figure 1.** Location of sampling sites in the study area  
**图 1.** 监测点位图

**Table 1.** Location of each sampling point  
**表 1.** 各采样点位置经纬度

采样点位	经度	纬度
C01	122.74	39.23
C02	122.73	39.25
C03	122.64	39.27
C04	122.49	39.30
D01	122.33	39.38
D02	122.29	39.38
D03	122.23	39.34
D04	122.10	39.18
P01	122.76	39.23
P02	122.76	39.23

## 2.2. 总 DNA 提取与测序

使用 TIANGEN TIANamp Soil DNA Kit 试剂盒提取泥样的总 DNA，根据规定实验步骤操作[16]。所有样品的宏基因组测序由杭州晶佰生物科技有限公司完成，根据标准流程构建测序文库，应用 Illumina MiSeq 测序平台完成序列测定，并对得到的原始数据进行一系列的质控措施，具体方法参照文献[17]。

## 2.3. 数据处理

微生物 OUT 的划分、Chao1、Shannon 和 Simpson 多样性指数的计算均使用 Mothur 软件进行；通过 R 语言绘制种类组成图和维恩图等。

潮间带沉积物微生物多样性通过 Chao1、Shannon 和 Simpson 多样性指数来表示，并根据 Coverage 计算结果评估测序深度。各指数的计算公式如下所示：

### 2.3.1. Chao1 指数

$S_{chao1} = S_{obs} + n_1(n_1 - 1)/2(n_2 + 1)$ ；其中  $S_{chao1}$  为估计的 OUT 数量， $S_{obs}$  为实际观察的 OUT 数量， $n_1$  为只含有一条序列的 OUT 数量， $n_2$  为只含有二条序列的 OUT 数量。

### 2.3.2. Shannon 指数

$$H' = -\sum_{i=1}^s \left( \frac{n_i}{N} \right) \text{Log}_2 \left( \frac{n_i}{N} \right)$$

式中： $S$  为观察到的 OUT 数量， $n_i$  为只含有  $i$  条序列的 OUT 数量， $N$  为样品中所有的序列数。

### 2.3.3. Coverage 指数

$$C = 1 - n_1/N$$

其中  $C$  为 Coverage 指数， $n_1$  为只含有一条序列的 OUT 数量， $N$  为样品中所有的序列数。

### 2.3.4. Simpson 指数

$$D_{simpon} = \frac{\sum_{i=1}^{S_{obs}} n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

其中  $S_{obs}$  为实际观察的 OUT 数量， $n_i$  为只含有  $i$  条序列的 OUT 数量， $N$  为样品中所有的序列数。

## 3. 结果与讨论

### 3.1. 序列统计

本调查共获得大连长海珍稀海洋生物保护区及相邻海域 10 个站位潮间带微生物原始序列 344,985 对，按照 2.2 步骤，筛选出高质量序列 330,369 条。原始序列通过预处理，按 97% 序列相似度进行 OTU 划分，其详细分布见表 2。

**Table 2.** Summary of sequence information of sediment microbes

**表 2.** 沉积物微生物序列信息统计

站位	原始序列	有效序列	优化序列	可操作分类单位(OTUs)
C01	31,369	31,099	30,072	3815
C02	32,549	32,304	30,874	2041
C03	34,205	33,936	32,623	3549
C04	37,058	36,728	35,452	5469
D01	36,881	36,395	35,997	4659
D02	31,646	31,288	29,808	4393
D03	37,919	37,455	36,183	3307
D04	31,618	31,251	30,050	4434
P01	33,614	33,221	32,558	4667
P02	38,126	37,744	36,752	5623

随机抽取经过优化的序列，用抽到的序列数与它们的 Chao1 指数构建稀释曲线。由图 2 可知，各站位曲线均趋向平坦，说明本实验测序数量合理，OTU 取样已达到或接近饱和，调查结果基本反映了研究海域潮间带微生物的多样性。

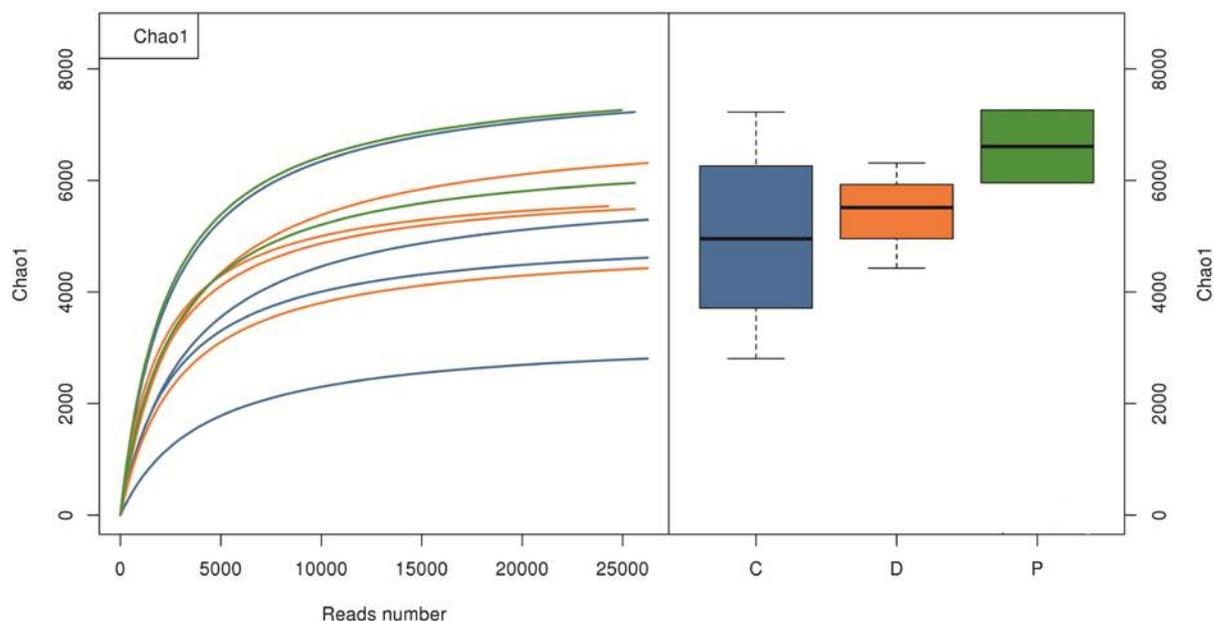


Figure 2. Rarefaction of marine sediment microbes

图 2. 微生物稀释曲线

### 3.2. 种类组成

本调查在大连市长海县附近区域潮间带沉积物中共鉴定微生物 43 门 302 科 647 属，微生物种类较多。从门水平上看，变形菌门(Proteobacteria)是第一优势菌，其相对丰度占总丰度的 45.7%。其它较为丰富的门类包括酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、蓝细菌(Cyanobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)。调查区域微生物门类组成详见图 3。从属水平上看，Gammar 变形菌在各站位中是最主要的优势菌，另外常见种类还有黄杆菌属(*Flavobacterium*)、黏球菌属(*Myxococcus*)和脱硫杆菌科(Desulfobacteraceae)、固氮菌科(Rhodobacteraceae)的未明确分类地位的属以及某些变形菌、酸杆菌、浮霉菌的属等。各站位主要种属组成详见图 4。

海洋沉积物是地球上最复杂的微生物栖息地，海洋沉积物中微生物在沉积环境和上覆水生态系统的能量与物质流动以及营养循环中都扮演着重要的角色[18]。针对我国近海及潮间带沉积物微生物群落已有不少研究成果，黄备等对浙江省潮间带微生物群落进行了调查研究，结果表明：变形菌门是最主要的优势菌，其序列数占总序列数的 62.4% [19]。在我国近海海域沉积物中变形菌门同样也是最主要的优势类群[20] [21] [22]。变形菌门代表了细菌域中最大的一门，其中包括很多病原菌，如大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、幽门螺杆菌等，变形菌门物种和遗传多样性极为丰富。变形菌门一直被认为是海洋表层沉积环境中的优势细菌类群，一般都超过微生物生物量的 50% 以上，但在不同海域表层沉积物基因文库中所占的比例差异较大[23]。本研究结果与多数学者一致，变形菌门也是第一优势菌，其余种类组成各海域有所不同。

本研究中不同区域微生物群落组成的差异情况见图 5 (门水平)和图 6 (属水平)。将样品分成保护区(P 组)、长海县(C 组)和大连入海河流(D 组)三组，从门水平上看，各区域微生物群落非常相似，总共 43 个

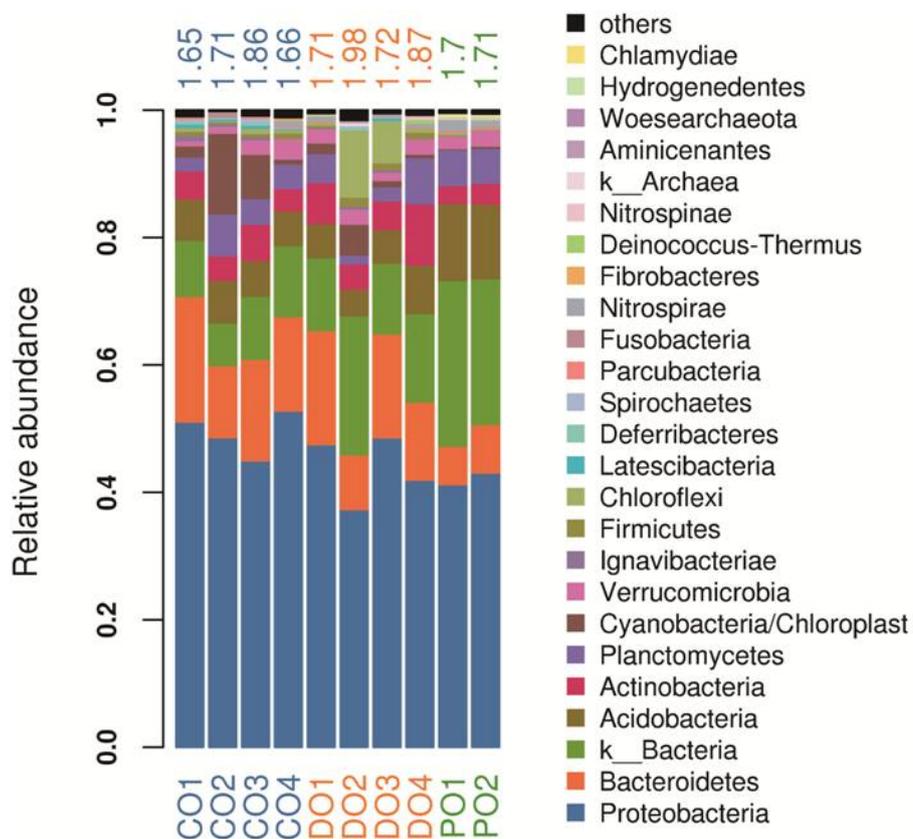


Figure 3. Microbial community composition of sediment at the phylum level

图 3. 潮间带微生物种类组成(门水平)

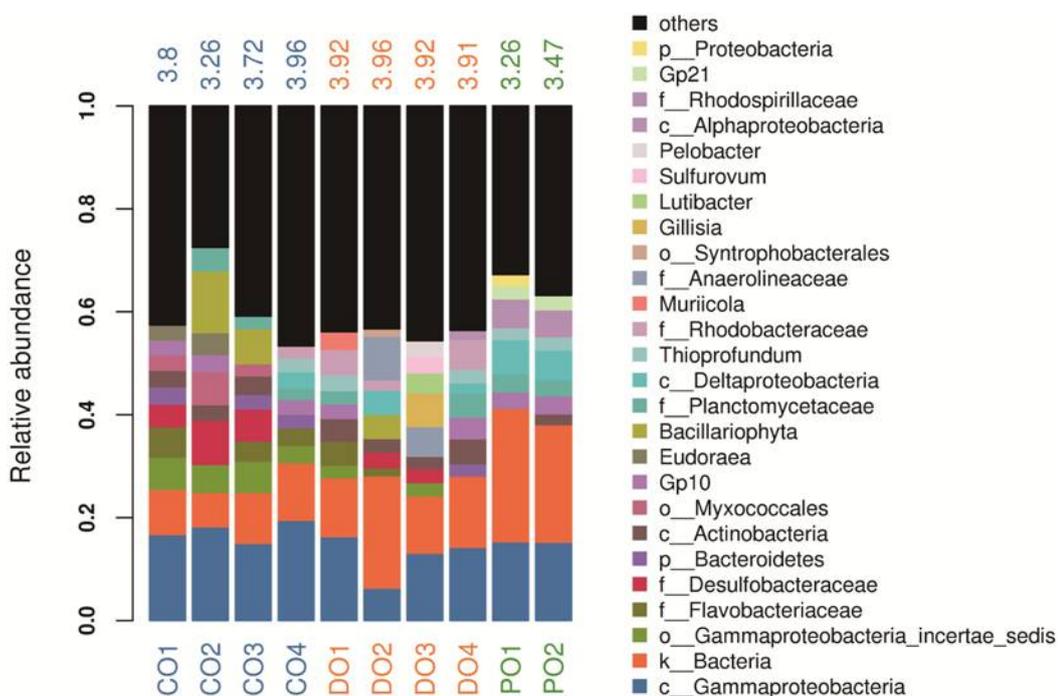
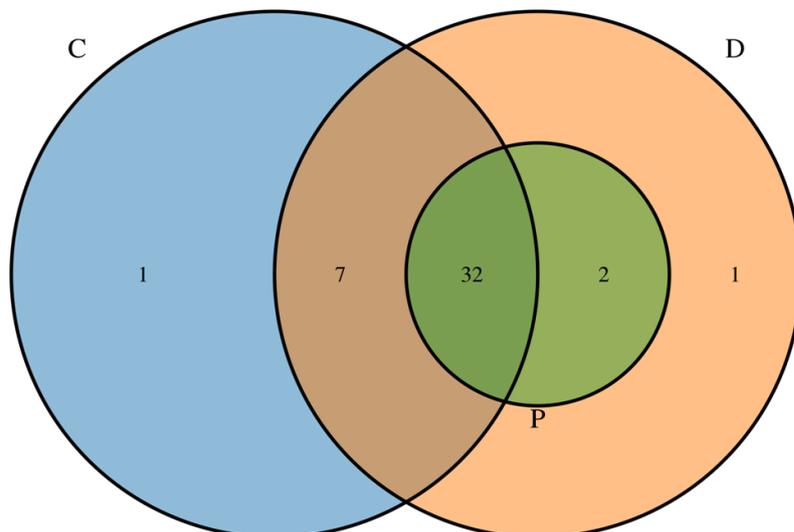


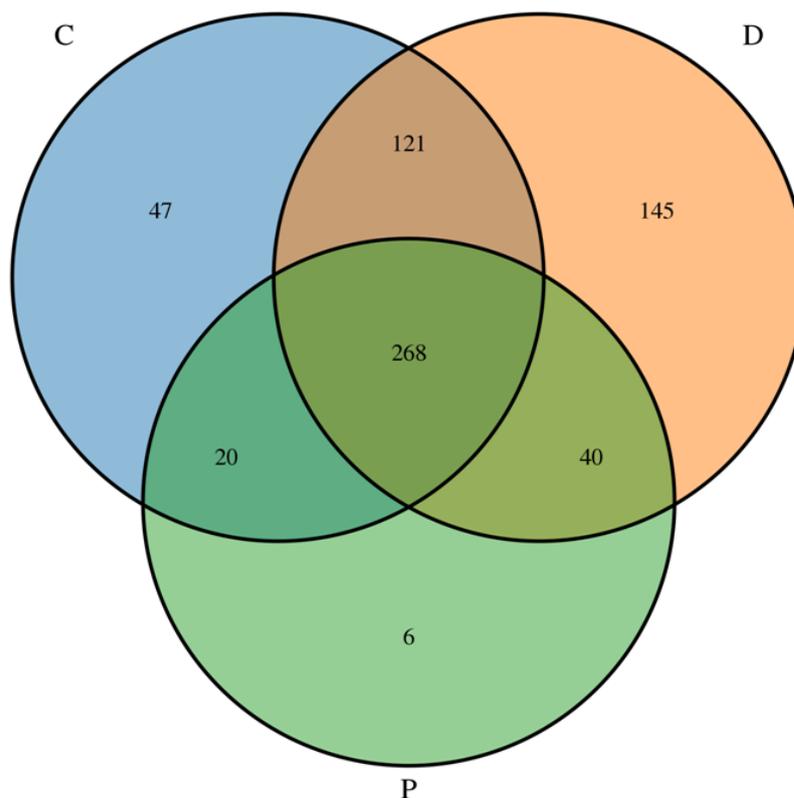
Figure 4. Microbial community composition of sediment at the genera level

图 4. 潮间带微生物种类组成(属水平)

门类中有 32 个是三组共有物种, 占 74.4%, 其中 D 组的物种完全包含了 P 组, 而 C 组也只有一个门类为其独有物种。从属水平上看, 各区域微生物总共 647 个属中有 268 个是三组共有物种, 占 41.4%, 其中 P 组的独有物种最少, 只有 6 个属; C 组次之, 有 47 属; D 组最多有 145 属(图 3~7)。由此可见, 在较高的分类等阶上(门水平)保护区和相邻海域的微生物群落差异并不大。



**Figure 5.** Differential analysis on sediment microbial community (phylum level)  
**图 5.** 微生物群落差异分析(门水平)



**Figure 6.** Differential analysis on sediment microbial community (genus level)  
**图 6.** 微生物群落差异分析(属水平)

### 3.3. 微生物多样性

大连市长海县附近区域潮间带沉积物微生物多样性指数见表 3。从表 3 中可以看出,各站位 Chao1 指数较高,均值为 5493,不过各站位间数值波动很大(最大值为 7227,最小值为 2806)。Chao1 在生态学中常用来估计物种总数,由 Chao (1984)最早提出。而反映菌群多样性的 Shannon 指数平均为 9.71, Simpson 指数平均为 0.994,显示微生物多样性非常高。各站位测序深度指数 coverage 平均为 0.916,说明各样品文库的覆盖率较高,样本中序列没有被测出的概率极低。

**Table 3.** Biodiversity of marine sediment microbes

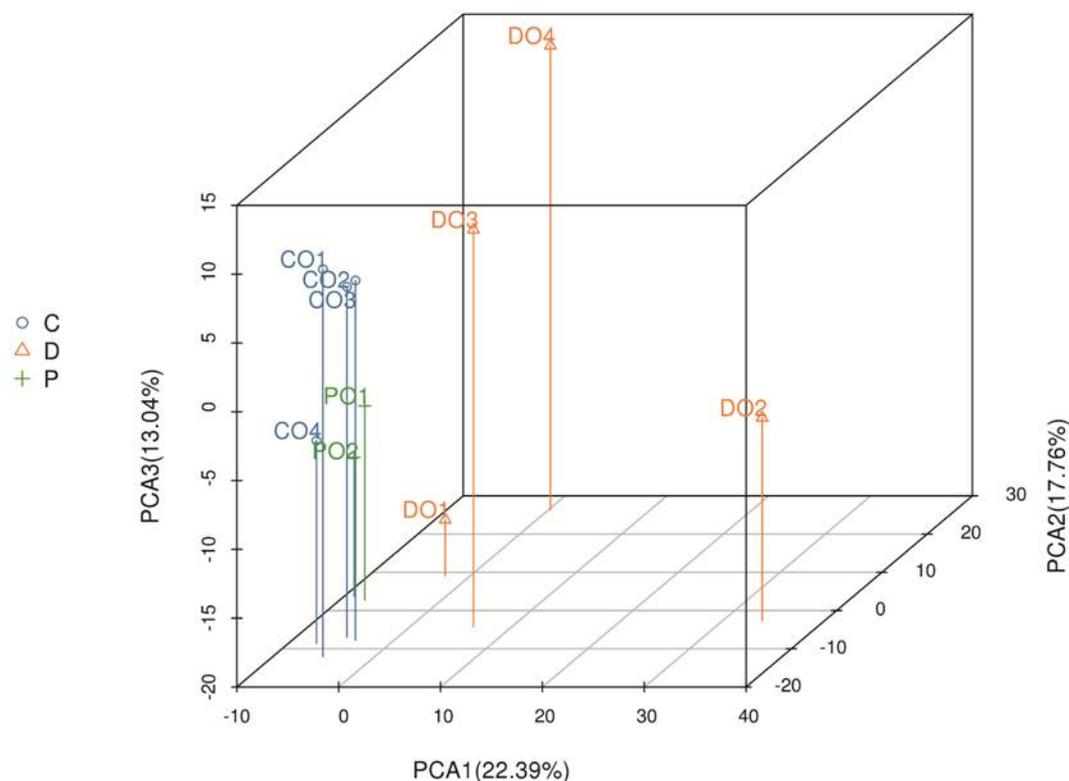
**表 3.** 沉积物微生物多样性指数

	Chao1 指数	Coverage 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
C01	5296	0.92	9.35	0.99
C02	2806	0.96	7.69	0.98
C03	4615	0.92	9.2	0.99
C04	7227	0.89	10.52	1
D01	6313	0.91	10.11	1
D02	5539	0.91	9.81	0.99
D03	4427	0.93	8.74	0.99
D04	5489	0.92	10.41	1
P01	5956	0.91	10.41	1
P02	7262	0.89	10.82	1

PCA 分析(主成分分析),是一种使用最广泛的数据降维算法。它能够将大量相关变量转化为一组很少的不相关变量,这些无关变量称为主成分。在数据压缩消除冗余和数据噪音消除等领域都有广泛的应用。通过分析不同样品 OTU 组成可以反映样品间的差异和距离。利用 R 语言 Scatterplot 3D 软件包绘制微生物群落 PCA3D 图(图 7),各个测点在图中的位置较好地反映了采样点地理环境差异。其中 C 组和 P 组各测点非常接近, D 组与它们相距较远且 D 组内各点之间距离也较远。说明大连入海河流(D 组)的潮间带微生物群落与保护区(P 组)及长海县(C 组)与差异较大,且组内各点也相距较远,说明各入海河流土壤微生物群落差异较大。沉积物的分布具有区域性特点,沉积环境的不同可能是导致微生物多样性差异的重要原因。沉积物的环境和菌群的类型之间是互相选择的,沉积物样品的微生物群落组成存在差别,这种差别可能与地理位置相关。很多实验证明,由于沉积物样品和土壤样品的复杂性,其中的菌群多样性远远高于水体等其他环境样品中微生物的多样性,沉积物和土壤样品中菌群微生物多样性所能够达到的范围一直以来备受争议[24]。本研究中三个调查区域中 D 组各测站是大连入海河流的河口潮间带区域,其上游密布着很多大连市的生活区和部分工业区;而长海县是一个人口密度较低的海岛县,全县以海水养殖、旅游及农业为主,没有重污染工业;保护区则是长海县的一个无人岛,受到严格保护,生境优良。采样点生境存在着较大差异,由此造成了沉积物微生物群落结构的不同。

## 4. 结论

1) 大连市长海县及附近区域潮间带沉积物中共鉴定微生物 43 门 302 科 647 属,微生物种类较多。变形菌门(Proteobacteria)是第一优势种类,其相对丰度占总数的 45.7%。其它主要门类包括酸杆菌门,拟杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、蓝细菌和疣微菌门等。



**Figure 7.** Principal component analysis of the microbial community for each sampling site

**图 7.** 潮间带沉积物微生物群落 PCA 图(属水平)

2) 各站微生物多样性非常高, 其中 Chao1 指数较高, 均值为 5493, Shannon 指数平均为 9.71, Simpson 指数平均接近 1。

3) 通过主成份分析发现, 保护区(P 组)和长海县(C 组)各测点微生物群落结构非常接近, 而大连入海河流(D 组)则差异较大, 且 D 组内各点之间也各不相同。

## 基金项目

浙江省生态环境厅科研项目(2016A012; 2017A011; 2018A022 及 2019A001)。

## 参考文献

- [1] 林金兰, 陈彬, 黄浩, 俞炜炜, 马志远, 陈光程. 海洋生物多样性保护优先区域的确定[J]. 生物多样性, 2013, 21 (1): 38-46.
- [2] McClanahan, T.R., Graham, N.A.J., Wilson, S.K., Letourneur, Y. and Fisher, R. (2009) Effects of Fisheries Closure Size, Age, and History of Compliance on Coral Reef Fish Communities in the Western Indian Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, **396**, 99-109. <https://doi.org/10.3354/meps08279>
- [3] Barr, L.M., Pressey, R.L., Fuller, R.A., Segan, D.B., McDonald-Madden, E. and Possingham, H.P. (2011) A New Way to Measure the World's Protected Area Coverage. *PLoS ONE*, **6**, e24707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024707>
- [4] Jones, P.J.S. (2014) *Governing Marine Protected Areas: Resilience through Diversity*. Taylor and Francis, Hoboken, NJ. <https://doi.org/10.4324/9780203126295>
- [5] Jupiter, S.D., Cohen, P., Weeks, R., Tawake, A. and Govan, H. (2014) Locally Managed Marine Areas: Multiple Objectives and Diverse Strategies. *Pacific Conservation Biology*, **20**, 165. <https://doi.org/10.1071/PC140165>
- [6] Jupiter, S.D., Epstein, G., Natalie, C.B., Mangubhai, S., Fox, M. and Cox, M. (2017) A Social-Ecological Systems Approach to Assessing Conservation and Fisheries Outcomes in Fijian Locally Managed Marine Areas. *Society and Natural Resources*, **30**, 1096-1111. <https://doi.org/10.1080/08941920.2017.1315654>

- [7] Fraschetti, S., Terlizzi, A., Micheli, F., Benedetti-Cecchi, L. and Boero, F. (2002) Marine Protected Areas in the Mediterranean Sea: Objectives, Effectiveness and Monitoring. *Marine Ecology*, **23**, 190-200. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2002.tb00018.x>
- [8] MPAtlas (2018) <http://www.mpatlas.org/explore/#>
- [9] Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steeneck, R. and Watson, R. (2008) A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems. *Science*, **319**, 948-952. <https://doi.org/10.1126/science.1149345>
- [10] Halpern, B.S., Longo, C., Hardy, D., McLeod, K.L., Samhuri, J.F., Katona, S.K., Kleisner, K., Lester, S.E., O'Leary, J., Ranalletti, M., Rosenberg, A.A., Scarborough, C., Selig, E.R., Best, B.D., Brumbaugh, D.R., Chapin, F.S., Crowder, L.B., Daly, K.L., Doney, S.C., Elfes, C., Fogarty, M.J., Gaines, S.D., Jacobsen, K.I., Karrer, L.B., Leslie, H.M., Neeley, E., Pauly, D., Polasky, S., Ris, B., St Martin, K., Stone, G.S., Sumaila, U.R. and Zeller, D. (2012) An Index to Assess the Health and Benefits of the Global Ocean. *Nature*, **488**, 615-620. <https://doi.org/10.1038/nature11397>
- [11] Jameson, S.C., Tupper, M.H. and Ridley, J.M. (2002) The Three Screen Doors: Can Marine "Protected" Areas Be Effective? *Marine Pollution Bulletin*, **44**, 1177-1183. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00258-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00258-8)
- [12] La Manna, G., Donno, Y., Sara, G. and Ceccherelli, G. (2015) The Detrimental Consequences for Seagrass of Ineffective Marine Park Management Related to Boat Anchoring. *Marine Pollution Bulletin*, **90**, 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.001>
- [13] Bodelier, P.L. (2011) Toward Understanding, Managing, and Protecting Microbial Ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, **25**, 2-80. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00080>
- [14] 蔡元锋, 贾仲君. 基于新一代高通量测序的环境微生物转录组学研究进展[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 401-410.
- [15] Yeung, C.W., Lee, K., Whyte, L.G. and Greer, C.W. (2010) Microbial Community Characterization of the Gully: A Marine Protected Area. *Canadian Journal of Microbiology*, **56**, 421-431. <https://doi.org/10.1139/W10-028>
- [16] 黄备, 邵君波. 填海工程对海洋沉积物微生物群落的影响[J]. 水生态学杂志, 2020, 41(1): 60-70.
- [17] 黄备, 邵君波, 周斌, 孟伟杰, 罗韩燕. 椒江口海域沉积物微生物群落及其对环境因子的响应[J]. 中国环境监测, 2017, 33(6): 87-94.
- [18] 吕晓霞, 宋金明, 袁华茂. 南黄海表层沉积物中氮的潜在生态学功能[J]. 生态学报, 2004, 24(8): 1635-1643.
- [19] 黄备, 孟伟杰, 罗韩燕, 唐静亮. 椒江化工园区附近潮间带沉积物中微生物群落结构及其对环境因子的响应[J]. 湿地科学, 2018, 16(2): 1-8.
- [20] 张健, 赵阳国, 李海艳, 白洁, 田伟君. 黄海西北近岸沉积物中细菌群落空间分布特征[J]. 海洋学报, 2010, 32(2): 118-127.
- [21] 刘欣, 肖天, 张文燕, 董逸, 岳海东. 胶州湾海域表层沉积物细菌多样性[J]. 海洋科学, 2010, 34(10): 1-6.
- [22] 宋志刚, 许强芝, 鲁心安, 焦炳华, 艾峰. 中国东海海洋微生物种群多样性初步研究[J]. 微生物通报, 2006, 33(1): 63-67.
- [23] 刘明华, 王健鑫, 俞凯成. 东海陆架表层沉积物细菌群落结构及地理分布研究[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5): 1119-1131.
- [24] Gans, J., Wolinsky, M. and Dunbar, J. (2005) Computational Improvements Reveal Great Bacterial Diversity and High Metal Toxicity in Soil. *Science*, **309**, 1387-1390. <https://doi.org/10.1126/science.1112665>