

3种标志方法在曼氏无针乌贼幼体中的应用效果比较

董智勇¹, 刘立芹¹, 龚理¹, 刘炳舰¹, 江丽华², 迟长凤¹, 吕振明^{1*}

(1. 浙江海洋大学海洋科学与技术学院, 海洋生物种质资源发掘利用国家地方联合工程实验室, 浙江舟山 316022; 2. 浙江海洋大学, 国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江舟山 316022)

摘要 采用茜素络合物、动物体内色素标签及玻璃管动物标签3种方法对养殖条件下的曼氏无针乌贼幼体进行标志, 探索其在今后乌贼野外标志放流中的应用可行性。结果表明, 3种标志方法均可有效运用于曼氏无针乌贼幼体的标志中。标志后, 茜素络合物、动物体内色素标签会在标记处留下清晰可见的紫色或蓝色斑块, 而玻璃管动物标签会在标记处形成突出的隆起, 3种标志可从幼体阶段一直持续到成体阶段, 标志保存率均达100%。3种标志对乌贼的活动、生长和存活均无显著影响($P>0.05$)。相对于茜素络合物、动物体内色素标签, 玻璃管动物标签具有更高效的标志效果, 在今后曼氏无针乌贼大规模标志放流中具有较大的应用潜力。

关键词 曼氏无针乌贼; 幼体; 标志方法

中图分类号 S917.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)15-0085-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.15.024

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Comparative Effects of Three Tagging Methods Applied in *Sepiella japonica* Juveniles**

DONG Zhi-yong, LIU Li-qin, GONG Li et al (National and Local Joint Engineering Laboratory of Exploration and Utilization of Marine Germplasm Resources, College of Marine Sciences and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022)

Abstract Alizarin complexone, animal pigment labeling and animal glass tube had been applied to tag *S. japonica* juveniles, to explore the feasibility of their application in future's tagging and releasing activity. The results showed that all three tagging methods could be effectively applied in *S. japonica* juveniles. Alizarin complexone, animal pigment labeling showed obvious purple or blue marks on tagged animals and animal glass tube tags resulted in an obvious back skin uplift that was easily recognized. All these markers lasted long from juvenile to adult stage after tagging, the tag retention rate was nearly 100% for all these three methods. Three tagging methods had no significant effect on the activity, growth and survival rate of *S. japonica* ($P>0.05$). Compared with other two tagging methods, animal glass tube tags seemed more effective in tagging, and it have greater potential of application in future's tagging and releasing activity of this species.

Key words *Sepiella japonica*; Juvenile; Tagging methods

曼氏无针乌贼(*Sepiella japonica*)是我国传统的海洋渔业资源, 广泛分布于黄渤海、东海和南海海域^[1]。在东海, 曼氏无针乌贼历史产量尤高, 仅浙江省历史最高年产量就超过6 t, 占当时浙江捕捞渔业总产量的9.3%, 因而被誉为东海区“四大海产”之一^[1]。但20世纪70年代末以来, 由于过度捕捞和水域条件的破坏, 我国曼氏无针乌贼渔业资源急剧衰退, 目前已接近枯竭^[2]。为快速恢复我国曼氏无针乌贼的自然资源, 21世纪初我国逐步突破了曼氏无针乌贼的人工繁育技术, 大规模的人工增殖放流和养护工作已在浙江、福建等省份逐步展开, 并取得初步成效^[3-4]。但由于缺乏有针对性的标志放流技术体系, 迄今我国仍未对多年来的增殖养护工作的实际效果进行有效、准确的评估, 更无法提出科学的增殖工艺的优化策略, 因此建立适于曼氏无针乌贼标志放流技术体系已势在必行。

建立适宜的幼体标志方法是构建曼氏无针乌贼标志放流技术体系的关键。目前, 国内在海洋头足类标志方法方面的研究还非常薄弱^[4-6], 但国外已在诸多海洋头足类种类上开展了许多卓有成效的研究, 建立了包括体外物理标志^[7-8]、化学标志^[9]、电子标签^[10-11]在内的多种头足类标志方法, 并在多个头足类种类的增殖群体跟踪及效果评估方面开展了

实际运用^[7,10]。大量研究表明, 物理标志法具有价格低廉、操作简单等特点, 适于头足类大规模标志放流, 但同时也存在对标志动物损伤较大、掉标率较高、尺寸较大不适合幼体标志等缺点, 限制了其在头足类上的应用^[12-13]。相对而言, 化学标志法具有低损伤、适于各个发育阶段的头足类、且一次性可大规模标志数量众多的个体^[12]; 电子标签法同样具有低损伤、可自动化识别、部分标志方法可实现实时跟踪等优点^[12,14], 因此是海洋头足类更为理想的标志方法。笔者尝试采用2种化学标志法和1种电子标签法对曼氏无针乌贼幼体进行标志, 分析和比较它们的标志效果及其对乌贼行为、生长、存活等的影响, 旨在探索建立一种适于曼氏无针乌贼的标志方法, 为今后建立较为完善的曼氏无针乌贼标志放流技术体系提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验用曼氏无针乌贼幼体采自浙江海洋大学东极苗种繁育基地的自培育乌贼苗种, 胴长为2.63~2.88 cm, 体重为3.47~4.69 g, 随机挑选健康苗种440尾, 用于后续的标志试验。标志用动物体内色素标签(HT202型)、玻璃管动物标签(HT157型, 1.5 mm×7 mm)及配套检测设备购于广州洪腾条码技术公司; 茜素络合物(Alizarin complexone, ALC)购于上海生工生物工程股份有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标志前处理。 为避免标志过程中乌贼幼体发生大批量应激喷墨死亡, 标记前参照 Wearmouth 等^[15]的方法用MgCl₂将乌贼幼体进行麻醉, 具体方法如下: 将乌贼幼体转移

基金项目 浙江省公益技术研究项目(2015C32027)。**作者简介** 董智勇(1982—), 男, 河北邯郸人, 硕士, 从事养殖生物学与养殖工程技术研究。*通信作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事水产动物遗传育种研究。**收稿日期** 2019-05-06

至 50 L 含 1.9% 的 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 海水溶液中, 3~5 min 后乌贼即麻醉失去平衡, 待乌贼完全丧失对外界刺激反应时即可进行后续的标志操作。

1.2.2 乌贼标志操作。采用背部注射法进行茜素络合物和动物体内色素标签 2 种荧光化学物的标志, 具体操作过程如下: 将注射器和标志化合物灭菌消毒后, 采用注射针头以 $15^\circ \sim 45^\circ$ 角从乌贼背部刺入内壳包膜下, 推动注射器将 0.1 mL 600 mg/L 的茜素络合物和稀释 7 倍的动物体内色素标签原液缓缓注入。同样, 采用背部内壳埋植法进行玻璃管动物标签的标志, 具体操作方法如下: 将标签装入配套的注射器针头内, 将针头从乌贼背部刺入内壳包膜下, 推动注射器将玻璃管动物标签植入, 缓慢拔出针头。标志过程最好在乌贼麻醉后 3~5 min 内迅速完成, 以免麻醉时间过长造成乌贼难以复苏, 每个试验组标志乌贼幼体 110 尾。试验同时设置对照组, 将另外 110 尾乌贼麻醉, 并用无标志物的空载注射针头扎入内壳膜下, 但无标志物注入, 其他操作过程同试验组。

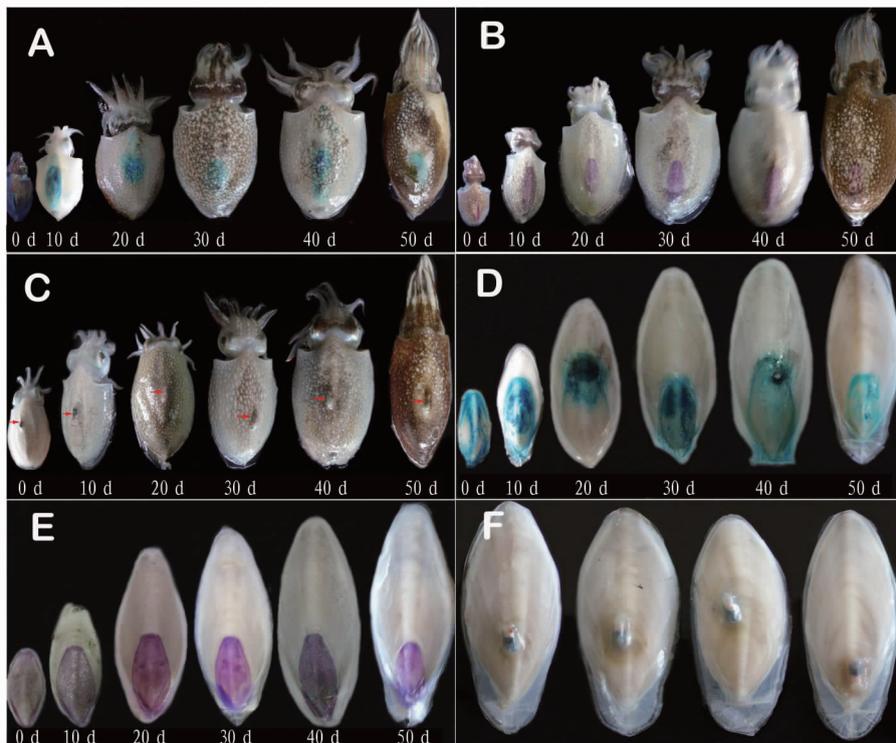
1.2.3 标志后养殖。将试验组和对照组乌贼幼体直接投入盛有清洁海水的室内养殖池中, 加大养殖水体的充氧量, 数分钟后乌贼幼体即能逐步复苏。将成功复苏的 97 尾对照组样本、98 尾茜素络合物标记组样本、101 尾动物体内色素标签标记组样本和 104 尾玻璃管动物标签标记组样本在同等条件下进行室内水泥池养殖, 养殖水温 $26 \sim 28^\circ C$, 盐度

$25\text{‰} \sim 32\text{‰}$, 以鲜活野杂鱼或杂虾为饵料进行投喂养殖, 日投喂量为乌贼体重的 20%, 每日投喂 2 次为宜, 正常进行吸污和日常管理。

1.3 数据分析与处理 养殖过程中每天记录各试验组和对照组乌贼的死亡情况, 统计累积死亡率, 检查各试验组乌贼标志的保持情况。同时, 在标志后 0、10、30、50 d (成体) 时分别测量试验组和对照组乌贼的全长、胴长、胴宽、体重等生长性状参数, 分析乌贼的生长情况, 使用 SPSS 19.0 统计软件比较试验组和对照组在死亡率和生长指标上的差异, 并采用 t 检验 (Student's t test, 生长指标) 和卡方检验 (死亡率) 进行差异显著性分析, $P \leq 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 标志效果与保持率 将茜素络合物和动物体内色素标签注入曼氏无针乌贼内壳包膜下, 注射部位旋即形成一肉眼可见的椭圆形紫色 (茜素) 或蓝色 (体内色素) 斑块, 斑块大小和形状恰与乌贼内壳大小和轮廓相一致。注入初期, 由于乌贼幼体皮肤薄而透明, 斑块尤为明显 (图 1A、B), 随着乌贼个体的生长, 尽管斑块大小和形状基本维持不变, 但逐渐被日益增厚的背部皮肤、肌肉组织掩盖而颜色变浅 (图 1A、B), 标志后 40~50 d 乌贼背部斑块仍依稀可见。剖开背部皮肤和肌肉组织, 取出乌贼内壳, 可见茜素络合物和动物体内色素已将乌贼内壳染成鲜明的紫色或蓝色 (图 1D、E), 内壳着



注: A 为动物体内色素标签标志结果; B 为茜素络合物标志结果; C 为玻璃管动物标签标志结果; D 为动物体内色素标签标志的内壳; E 为茜素络合物标志的内壳; F 为玻璃管动物标签标志的内壳 (50 d)

Note: A. The tagging results of animal pigment labeling; B. The tagging results of alizarin complexone; C. The tagging results of animal glass tube; D. The inner shell tagged by animal pigment labeling; E. The inner shell tagged by alizarin complexone; F. The inner shell tagged by animal glass tube (50 d)

图 1 3 种标志方法对曼氏无针乌贼幼体的标志效果

Fig. 1 The tagging effect of three tagging methods in *S. japonica* juveniles

色范围大致为标志初期乌贼内壳大小,但标志后新形成的内壳部分未见着色,标志后 40~50 d 时着色部位仅局限于内壳基部位置,但仍十分明显。将玻璃管动物标签注入乌贼内壳包膜下后,乌贼背部在标签注射部位旋即形成一突出隆起(图 1C),隆起大小与玻璃管动物标签大小一致,该隆起在标志后 40~50 d 时仍清晰可见,采用配套的扫描阅读器可在 7~12 cm 范围内准确读取玻璃管动物标签的编码。剖开背部皮肤和肌肉组织,取出乌贼内壳,可见玻璃管动物标签已被新形成的内壳组织所包裹,逐步嵌入内壳,成为内壳中的一部分(图 1F)。由于试验中所用标志物规格和注射剂量较小,未见标志对乌贼幼体活动及行为产生明显影响,试验组乌贼能正常活动、摄食和生长。试验结束时也未见各试验组

乌贼背部标志出现缺失现象,各组标签的保持率接近 100%。

2.2 不同标志方法对曼氏无针乌贼生长的影响 对各试验组和对照组曼氏无针乌贼的生长情况进行跟踪检测,共测定了标志后 0、10、30、50 d 时的乌贼全长、胴长、胴宽、体重 4 个生长性状,并计算了瞬时生长率。结果表明,标志后曼氏无针乌贼生长迅速,50 d 瞬时生长率为 5.93%/d~6.07%/d。对各试验组和对照组曼氏无针乌贼的生长参数进行比较,结果表明在 4 个生长性状参数上,除 10 d 时的体重外,各试验组和对照组乌贼在其他生长性状参数上均无显著差异($P>0.05$)(表 1),各试验组和对照组曼氏无针乌贼在标志 50 d 后均达到成体规格且性成熟。

表 1 不同标志方法对曼氏无针乌贼生长的影响($n=6$)

Table 1 The effects of different tagging methods on the growth of *S. japonica* ($n=6$)

标记后时间 Time after tagging//d	组别 Group	全长 Whole length cm	胴长 Mantle length cm	胴宽 Mantle width cm	体重 Body weight g	瞬时生长率 Instantaneous growth rate//%/d
0	对照组	4.66±0.34	2.76±0.11	2.21±0.15	4.07±0.56	—
	茜素络合物标志组	4.17±0.31	2.72±0.20	2.17±0.20	3.83±0.53	—
	动物体内色素标签组	4.52±0.58	2.68±0.26	2.16±0.30	3.85±1.48	—
	玻璃管动物标签组	4.68±0.41	2.75±0.38	2.14±0.32	4.05±1.38	—
10	对照组	7.19±0.65	4.50±0.51	3.19±0.47	17.17±3.40 a	14.40
	茜素络合物标志组	6.60±0.51	4.19±0.45	3.05±0.45	13.58±1.16 a	12.65
	动物体内色素标签组	7.01±0.45	3.94±0.33	2.94±0.30	11.82±1.21 b	11.22
	玻璃管动物标签组	6.40±1.03	3.91±0.57	3.04±0.72	12.72±4.61 ab	11.44
30	对照组	12.20±1.38	7.36±0.71	5.36±0.59	55.63±14.68	8.72
	茜素络合物标志组	11.53±0.87	7.14±0.56	5.23±0.34	53.83±14.54	8.81
	动物体内色素标签组	11.69±0.91	7.10±0.56	5.23±0.40	49.04±8.10	8.48
	玻璃管动物标签组	11.90±0.64	7.28±0.49	4.98±0.32	51.48±9.15	8.47
50	对照组	15.22±1.54	8.78±0.57	5.45±0.56	82.84±18.31	6.03
	茜素络合物标志组	14.65±0.81	8.56±0.33	5.37±0.21	76.98±6.38	6.00
	动物体内色素标签组	14.48±1.11	8.25±0.45	5.37±0.32	79.93±12.48	6.07
	玻璃管动物标签组	14.18±0.95	8.68±0.45	5.15±0.44	78.46±11.47	5.93

注:同一时间同一指标各组间标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters among different groups of the same index at the same time indicated significant differences ($P<0.05$)

2.3 不同标志方法对曼氏无针乌贼死亡率的影响 对各试验组和对照组曼氏无针乌贼存活情况进行跟踪检测,结果表明不同标志方法对标志后乌贼的死亡率均未产生明显影响。从表 2 可以看出,50 d 动物体内色素标签组、茜素络合物标志组和玻璃管动物标签组的死亡率分别为 22.77%、18.37%、21.15%,而对照组死亡率为 17.53%,各试验组与对照组相比没有显著差异($P\geq 0.05$);从阶段性死亡率来看,标志后短期损伤可能较大的 10 d 时死亡率也与 30、50 d 死亡率相当。这些数据均表明标志未对乌贼的存活产生短期或长期的不良影响,各试验组曼氏无针乌贼的死亡可能多为养殖过程中的自然死亡。

3 讨论

目前,国内对海洋头足类标志方法的研究尚处于起步阶段,仅见 Jiang 等^[5]、梁君等^[3]采用四环素和茜素络合物对曼氏无针乌贼的研究以及郝振林等^[6]采用茜素络合物对金乌贼的标志等。该研究首次系统采用茜素络合物、动物体内色素标签 2 种化学标志法和玻璃管动物标签的电子标志法对养殖条件下的曼氏无针乌贼幼体进行标志,并比较 3 种标志

表 2 不同标记方法对曼氏无针乌贼死亡率的影响

Table 2 The effects of different tagging methods on the death rate of *S. japonica* %

组别 Group	标记后时间 Time after tagging//d			
	0	10	30	50
对照组 Control group	0	6.19	11.34	17.53
茜素络合物标志组 Alizarin complexone group	0	7.14	14.29	18.37
动物体内色素标签组 Animal pigment labeling group	0	6.92	13.86	22.77
玻璃管动物标签组 Animal glass tube group	0	5.77	13.46	21.15

方法的有效性。结果表明,3 种标志方法均能较好地标志曼氏无针乌贼。从标志效果来看,标志后 3 种标记均可在乌贼体内从幼体阶段一直保持至成体阶段,标志的保持率也很高,均接近 100%。从标志后成活率及对动物生长的影响来看,3 种标志方法标志的乌贼 50 d (已达成体)成活率为 77.23%~81.63%,与对照组无显著差异($P>0.05$),且与平洪领等^[6]、郑小东等^[17]在室内正常养殖条件下获得的曼氏无针乌贼的成活率大致相当,这表明标志后乌贼的死亡多为养

殖过程中的自然死亡。3种方法标志后乌贼仍保持较高的生长速度,50 d即可达到成体规格,且达到性成熟,各试验组与对照组除少数指标外,在各主要生长性状参数上也无显著差异($P \geq 0.05$);较高的成活率和生长速度在标志后的真蛸(*Octopus vulgaris*)^[18]、银磷乌贼(*Sepioteuthis sepioidea*)^[19]等头足类中也多有发现,其原因可能一方面是由于该研究均以乌贼内壳作为标志靶点,乌贼内壳是由钙及其他有机质构成的乌贼内骨骼系统,将标志物着色或标记到钙质的内壳上可能对乌贼的影响较小;另一方面,也可能与该研究中所采用的标志物损伤力较低有关。茜素络合物、动物体内色素标签为2种无毒的液体染色剂,而玻璃管动物标签为规格较小(1.5 mm×7 mm)的电子标志,这些标志物进入乌贼体内后对乌贼活动、摄食、生长等也均不会产生显著影响。该研究结果表明,3种标志方法均适用于曼氏无针乌贼幼体的标志,在今后乌贼的大规模标志放流中具有较大的潜在应用价值。

然而,相对于2种化学标志法,玻璃管动物标签可能更适于曼氏无针乌贼幼体的标志,这是因为玻璃管动物标签标志后,标签从幼体到成体阶段均清晰可见,且可通过配套的扫描阅读器准确读取玻璃管动物标签编码信息,可实现标记个体的自动化、准确识别;茜素络合物和动物体内色素标签在幼体阶段较为明显,但在成体阶段色素斑块会被增厚的肌肉或皮肤掩盖,因此在实际回捕过程中可能会因标志变淡而发生漏检或错检等情况,因而玻璃管动物标签等电子标志可能具有更大的潜在应用价值。但考虑到玻璃管动物标签可能在价格方面要明显高于茜素络合物和动物体内色素标签,因此在实际标志放流过程中价格因素可能是限制其大规模使用的主要因素,特别是针对部分回捕率相对较低的头足类种类而言,因此如何将玻璃管动物标签等电子标志法和茜素络合物和动物体内色素标签等化学标志法有机结合是今后研究的重点内容。近年来,将多种标志方法结合使用,共同评估增殖放流的整体效果已在澳大利亚拟乌贼(*Sepioteuthis australis*)等^[20]头足类中得到了良好应用,因此可能在今后曼氏无针乌贼大规模标志放流中也具有广阔的潜在应用价值。

4 结论

茜素络合物、动物体内色素标签和玻璃管动物标签均可有效运用于曼氏无针乌贼幼体的标志中。标志后,茜素络合物、动物体内色素标签会在乌贼背部标记处留下明显的椭圆形紫色或蓝色斑块,而玻璃管动物标签会在标记处形成突出的隆起,肉眼清晰可辨,标志后3种标志均可从幼体阶段一直保持至成体阶段,50 d内的标志保存率均接近100%。3种标志对乌贼的活动、生长和存活均无显著影响($P \geq 0.05$)。相对于茜素络合物、动物体内色素标签等化学标志,玻璃管

动物标签等电子标志具有更好的标志效果,在今后曼氏无针乌贼大规模标志放流中具有较大的潜在应用价值。

参考文献

- [1] 董正之. 中国动物志:软体动物门头足纲[M]. 北京:科学出版社,1988.
- [2] WU C W, CHI C F, HE G Y, et al. Isolation via enrichment and characterization of ten polymorphic Microsatellite loci in the cuttlefish, *Sepiella maindroni* de Rochebruns[J]. Acta Oceanol Sin, 2010, 29(6): 121-124.
- [3] 梁君, 王伟定, 徐汉祥, 等. 曼氏无针乌贼荧光染色标志方法研究[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 864-870.
- [4] 李继姬, 郭宝英, 吴常文. 浙江海域曼氏无针乌贼资源演变及修复路径探讨[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2011, 30(5): 381-385, 396.
- [5] JIANG L H, ZHU A Y, WU C W, et al. Tetracycline Immersion tagging of cuttlefish, *Sepiella japonica*, larvae[J]. J World Aquacult Soc, 2014, 45(3): 342-349.
- [6] 郝振林, 张秀梅, 张沛东, 等. 金乌贼荧光标志方法的研究[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 577-583.
- [7] SAUER W H H, LIPINSKI M R, AUGUSTYN C J. Tag recapture studies of the chokka squid *Loligo vulgaris* reynaudii d'Orbigny, 1845 on inshore spawning grounds on the south-east coast of South Africa[J]. Fish Res, 2000, 45: 283-289.
- [8] MARKAIDA U, ROSENTHAL J J C, GILLY W. Tagging studies on the Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the Gulf of California, Mexico[J]. Fish Bull, 2005, 103(1): 219-226.
- [9] FUENTES L, IGLESIAS J, MOXICA C. Marking octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae statoliths with alizarin complexone[J]. J Mar Biol Assoc UK, 2000, 80(3): 553-554.
- [10] AITKEN J P, O' DOR R K, JACKSON G D. The secret life of the giant Australian cuttlefish *Sepia apama* (Cephalopoda): Behaviour and energetics in nature revealed through radio acoustic positioning and telemetry (RAPT)[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2005, 320(1): 77-91.
- [11] ANDERSON T J, BABCOCK R C. Subcutaneous electromagnetic tagging of benthic octopus: A preliminary evaluation[J]. Mar Freshwater Res, 1999, 50(3): 225-227.
- [12] NAGAWASA K, TAKAYANAGI S, TAKAMI T. Cephalopod tagging and marking in Japan, a review [M]//OKUTANI T, O' DOR R K, KUBODERA T. Recent advances in cephalopod fisheries biology. Tokai: Tokai University Press, 1993.
- [13] SEMMENS J M, PECL G T, GILLANDERS B M, et al. Approaches to resolving cephalopod movement and migration patterns[J]. Rev Fish Biol Fisheries, 2007, 17: 401-423.
- [14] GILLY W F, MARKAIDA U, BAXTER C H, et al. Vertical and horizontal migrations by the jumbo squid *Dosidicus gigas* revealed by electronic tagging[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2006, 324: 1-17.
- [15] WEARMOUTH V J, DURKIN O C, BLOOR I S M, et al. A method for long-term electronic tagging and tracking of juvenile and adult European common cuttlefish *Sepia officinalis*[J]. J Exp Mar Bio Ecol, 2013, 447: 149-155.
- [16] 平洪领, 王天明, 刘立芹, 等. 光照周期对曼氏无针乌贼(*Sepiella japonica*)繁殖、性类固醇激素系统及生长性能的调控作用[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(3): 577-584.
- [17] 郑小东, 林祥志, 王昭凯, 等. 日本无针乌贼全人工养殖条件下生活史研究[J]. 海洋湖沼通报, 2010(3): 24-28.
- [18] ESTEFANELL J, SOCORRO J, AFONSO J M, et al. Evaluation of two anaesthetic agents and the passive integrated transponder tagging system in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797)[J]. Aquac Res, 2011, 42(3): 399-406.
- [19] ZEEH K M, WOOD J B. Impact of visible implant elastomer tags on the growth rate of captive Caribbean reef squid *Sepioteuthis sepioidea*[J]. Fish Res, 2009, 95(2/3): 362-364.
- [20] PECL G T, TRACEY S R, SEMMENS J M, et al. Use of acoustic telemetry for spatial management of southern calamary *Sepioteuthis australis*, a highly mobile inshore squid species[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2006, 328: 1-15.
- [12] 冯珊珊, 樊风雷. 基于不透水面的粤港澳大湾区景观格局时空变化[J]. 应用生态学报, 2018, 29(9): 2907-2914.
- [13] 刘亚文, 阿不都沙拉木·加拉力丁, 阿拉努尔·艾尼瓦尔, 等. 1989-2016年吐鲁番高昌区绿洲时空格局变化及其驱动因素[J]. 干旱区研究, 2018, 35(4): 945-953.
- [14] 高鹏, 徐志刚, 黄金华, 等. 基于 ArcGIS 的龙岩市城市绿地信息系统的建立[J]. 江西理工大学学报, 2015, 36(1): 74-80.
- [15] 周亚东, 周兆德. 基于 GIS 与 Fragstats 的海南岛森林景观格局研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2015, 35(5): 78-83.
- [16] 刘凌霄. 基于 GIS 和 Fragstats 的城市郊区大地景观生态规划研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017: 146.

(上接第 77 页)