

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

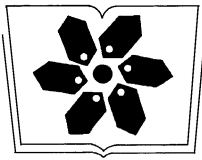
Acta Ecologica Sinica



第 31 卷 第 15 期 Vol.31 No.15 **2011**

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 31 卷 第 15 期

2011 年 8 月 (半月刊)

目 次

地面节肢动物营养类群对土地覆被变化和管理扰动的响应·····	李锋瑞,刘继亮,化伟,等 (4169)
两种书虱微卫星富集文库的构建及比较·····	魏丹丹,袁明龙,王保军,等 (4182)
菲律宾蛤仔 EST-SSRs 标记开发及不同地理群体遗传多样性·····	闫喜武,虞志飞,秦艳杰,等 (4190)
菲律宾蛤仔大连群体不同世代的遗传多样性·····	虞志飞,闫喜武,杨霏,等 (4199)
玻璃温室与田间栽培小麦幼穗分化的比较·····	姜丽娜,赵艳岭,邵云,等 (4207)
施用有机肥环境下盐胁迫小麦幼苗长势和内源激素的变化·····	刘海英,崔长海,赵倩,等 (4215)
黄土高原半干旱区气候变化对春小麦生长发育的影响——以甘肃定西为例·····	姚玉璧,王润元,杨金虎,等 (4225)
不同耕作模式下稻田水中氮磷动态特征及减排潜力·····	冯国禄,杨仁斌 (4235)
大田环境下转 Bt 基因玉米对土壤酶活性的影响·····	颜世磊,赵蕾,孙红炜,等 (4244)
短期淹水培养对水稻土中地杆菌和厌氧粘细菌丰度的影响·····	朱超,Stefan Ratering,曲东,等 (4251)
气候变化背景下广东晚稻播期的适应性调整·····	王华,陈新光,胡飞,等 (4261)
长期封育对不同类型草地碳贮量及其固持速率的影响·····	何念鹏,韩兴国,于贵瑞 (4270)
黄土丘陵区两种主要退耕还林树种生态系统碳储量和固碳潜力·····	刘迎春,王秋凤,于贵瑞,等 (4277)
植物叶表面的润湿性及其生态学意义·····	石辉,王会霞,李秧秧 (4287)
长白山北坡主要森林群落凋落物现存量月动态·····	郑金萍,郭忠玲,徐程扬,等 (4299)
古尔班通古特沙漠及周缘 52 种植物种子的萌发特性与生态意义·····	刘会良,宋明方,段士民,等 (4308)
吉首蒲儿根的繁殖生态学特性及其濒危成因·····	邓涛,陈功锡,张代贵,等 (4318)
栖息地永久性破坏的比例对物种多度稳定值影响的迭代算法·····	时培建,戈峰,杨清培 (4327)
喷施多效唑提高麻疯树幼苗耐盐性的生理机制·····	毛轶清,郑青松,陈健妙,等 (4334)
阿尔山落叶松主要蛀干害虫的种群空间生态位·····	袁菲,骆有庆,石娟,等 (4342)
2009 年云南省白背飞虱早期迁入种群的虫源地范围与降落机制·····	沈慧梅,吕建平,周金玉,等 (4350)
中华稻蝗长沙种群的生活史及其卵滞育的进化意义·····	朱道弘,张超,谭荣鹤 (4365)
“518”油桃主要害虫与其捕食性天敌的关系·····	施晓丽,毕守东,耿继光,等 (4372)
青藏东缘若尔盖高寒草甸中小型土壤动物群落特征及季节变化·····	张洪芝,吴鹏飞,杨大星,等 (4385)
青海可鲁克湖水鸟季节动态及渔鸥活动区分析·····	张国钢,刘冬平,侯韵秋,等 (4398)
排放与森林碳汇作用下云南省碳净排放量估计·····	刘慧雅,王铮,马晓哲 (4405)
北京城市生态占水研究·····	柏樱岚,王如松,姚亮 (4415)
专论与综述	
植物水分传输过程中的调控机制研究进展·····	杨启良,张富仓,刘小刚,等 (4427)
环境介质中的抗生素及其微生物生态效应·····	俞慎,王敏,洪有为 (4437)
自然生态系统中的厌氧氨氧化·····	沈李东,郑平,胡宝兰 (4447)
研究简报	
山东半岛南部海湾底栖动物群落生态特征及其与水环境的关系·····	张莹,吕振波,徐宗法,等 (4455)
新疆乌伦古湖浮游甲壳动物的季节演替及与环境因子的关系·····	杨丽丽,周小玉,刘其根,等 (4468)
不同施肥与灌水量对槟榔土壤氮挥发的影响·····	卢丽兰,甘炳春,许明会,等 (4477)
学术信息与动态	
水土资源保持的科学政策:全球视野及其应用——第 66 届美国水土保持学会国际学术年会述评·····	卫伟 (4485)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 320 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 34 * 2011-08



封面图说: 塞罕坝地处内蒙古高原南缘向华北平原的过渡带,地势分为坝上、坝下两部分。解放初期,这里是“飞鸟无栖树,黄沙遮天日”的荒原沙丘,自 1962 年建立了机械化林场之后,塞罕坝人建起了 110 多万亩人工林,造就了中国最大的人工林林场。这是让人叹为观止的落叶松人工林海。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

魏丹丹,袁明龙,王保军,朱礼明,王进军. 两种书虱微卫星富集文库的构建及比较. 生态学报, 2011, 31(15): 4182-4189.

Wei D D, Yuan M L, Wang B J, Zhu L M, Wang J J. Construction and comparative analysis of enriched microsatellite library from *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila* genome. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(15): 4182-4189.

两种书虱微卫星富集文库的构建及比较

魏丹丹,袁明龙,王保军,朱礼明,王进军*

(西南大学植物保护学院,昆虫学及害虫控制工程重庆市市级重点实验室,重庆 400716)

摘要:利用链霉亲和素与生物素之间的强亲和性原理,将链霉亲和素偶联的磁珠与微卫星探针 $(AC)_{12}$ 、 $(TC)_{12}$ 、 $(ATC)_8$ 、 $(ATG)_8$ 、 $(AAC)_8$ 、 $(ATAC)_6$ 及 $(GATA)_6$ 退火结合后,再亲和捕捉含接头和微卫星序列的单链书虱基因组 DNA 限制性酶切目的片段,经 PCR 扩增形成双链后进行克隆、建库。成功构建了嗜卷书虱和嗜虫书虱共 13 个微卫星富集文库,包括 6 个嗜卷书虱文库,7 个嗜虫书虱文库,其平均阳性克隆率为 71.17%。经检测发现共得到两种书虱 260 个微卫星位点。这两种书虱微卫星富集文库的建立和高多态性微卫星位点的筛选将为嗜卷书虱和嗜虫书虱的种群遗传与进化、基因连锁图谱构建、分子系统发育研究等提供大量分子遗传标记,对其在实仓中的持续控制提供遗传学信息。

关键词:嗜卷书虱;嗜虫书虱;啮虫目;微卫星;富集文库

Construction and comparative analysis of enriched microsatellite library from *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila* genome

WEI Dandan, YUAN Minglong, WANG Baojun, ZHU Liming, WANG Jinjun*

Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering, College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: The psocids *Liposcelis bostrychophila* and *Liposcelis entomophila* are major pests of stored grain and commonly occur on a wide range of stored products. Their world-wide prevalence and increasing importance as pests contaminating food and agricultural commodities have been documented in recent years. Intensive use of chemical insecticides for pest control has facilitated resistance development in psocids, especially, resistance to PH_3 . Control of these pests has proven difficult because they do not respond to management tactics that have been developed for other stored-product pests. Previous research has focused on psocids physiology, biochemistry, and basic biology in grain storage systems. However, the population genetic structure has not been well categorized, which may be useful to understand the formation of resistance mechanisms of psocids to insecticides. Therefore, a detailed understanding of *L. bostrychophila* and *L. entomophila* gene flow patterns, determining the geographical origins and dispersal of source populations and the resultant genetic structure among populations within China is needed. Microsatellites or simple sequence repeats (SSRs) are tandemly repeated motifs of 1–6 genetic base pairs. Because of their ubiquity, neutrality, hyper-variability, co-dominance, sensitivity and high polymorphism, microsatellite markers have become a powerful tool for revealing genetic variation and subsequently the population structure in recent decades. Up to now, only 11 microsatellite loci have been isolated from *Liposcelis decolor* (Pearman).

In the present paper, microsatellite-enriched libraries of *L. bostrychophila* and *L. entomophila* were constructed utilizing methodologies that exploit the strong affinity between biotin (vitamin B7) and the protein streptavidin. We propose a fast and easy protocol which is combination of two different published methods. Briefly, high-quality genomic DNA was

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30871631, 31000860);国家教育部博士点基金资助项目(200806350009);国家教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-04-0584)

收稿日期:2010-07-06; 修订日期:2010-12-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangjinjun@swu.edu.cn

digested by the restriction enzyme *Mse*I and then ligated to designed adaptors. 250—1000 bp microsatellite-containing DNA fragments were captured by streptavidin-coated magnetic beads. The beads affinity capture of microsatellite repeats using biotinylated oligonucleotide probes $(AC)_{12}$, $(TC)_{12}$, $(ATC)_8$, $(ATG)_8$, $(AAC)_8$, $(ATAC)_6$, and $(GATA)_6$. Subsequently, PCR was used to amplify the captured molecules for transferring single strand DNA to double strand DNA. The PCR products (enriched microsatellite DNA fragments) were ligated to pGEM-T Easy vector and transformed into Trans5 α competent cells. In total, 13 microsatellite enriched libraries were constructed: 6 for *L. bostrychophila*, and 7 for *L. entomophila*.

A total of 5218 clones were PCR screened for microsatellite content. The clones of *L. bostrychophila* and *L. entomophila* were 2542, 2676, respectively. The percentage of the microsatellite positive clones ranged 9.38%—100%. The number of microsatellites detected for these two species was 260. In *L. bostrychophila*'s microsatellite-enriched libraries, the ratio of microsatellite positive clones ranked from the highest to lowest were tri-nucleotide libraries > di-nucleotide > tetra-nucleotide. Compared to *L. bostrychophila*'s microsatellite-enriched libraries, the ratio of microsatellite positive clones of *L. entomophila*'s enriched libraries ranked from the highest to lowest were di-nucleotide libraries > tri-nucleotide libraries > tetra-nucleotide libraries. Comparative analysis of microsatellite sequences for these two psocids revealed that the microsatellite sequences exist in multiple copies in the psocid genome. In addition, they were found to have similar or almost identical flanking regions. From our present study, the tri-nucleotide libraries yielded greater results for determining gene flow.

Accumulation of multiple polymorphic microsatellite loci will greatly facilitate studies of individual identification and they are crucial to investigations of population genetics and evolution, gene linkage mapping, and elucidating the molecular phylogeny of psocids in China and internationally.

Key Words: *Liposcelis bostrychophila*; *L. entomophila*; psocoptera; microsatellite; enriched library

嗜卷书虱 (*Liposcelis bostrychophila*) 和嗜虫书虱 (*L. entomophila*) 同属于啮虫目 (Psocoptera), 书虱科 (Liposcelididae), 书虱属 (*Liposcelis*), 是 2 种在世界范围内广泛发生为害的储藏物害虫。两种书虱形态相似, 其中前者营孤雌生殖, 后者营两性生殖, 常混合发生, 大量发生时可造成严重危害。在我国, 书虱已发展成为“双低 (低氧、低药剂)”和“三低 (低氧、低药剂、低温)”储粮中的害虫优势种群; 在澳大利亚, 目前注册的所有储藏物保护剂均不能有效控制书虱的为害, 其对熏蒸剂的抗性发展亦相当迅速^[1-2]。书虱不仅直接取食储藏物, 而且能携带病原菌并造成食品污染^[3-5]。微卫星又被称作短串连重复 (Short Tandem Repeats, STRs) 或简单重复序列 (Simple Sequence Repeats, SSRs), 每单元长度 1—6 bp, 重复次数约为 10—60 次, 在真核生物基因组中广泛存在。由于微卫星标记具有多态性和杂合度高、稳定性和重复性好、在不同种群中分布广、呈孟德尔共显性遗传等优点^[6-8], 且对于探究种群遗传结构、评估遗传多样性以及研究最近的种群历史等都有明显的优势, 因此其正受到昆虫学家的重视, 在昆虫学研究中扮演着日益重要的角色^[9]。

目前, 微卫星分子标记在书虱研究中应用还不多, 仅报道了 11 个无色书虱 (*L. decolor*) 的微卫星位点^[10], 并以此为分子标记解析了澳大利亚该书虱的种群遗传结构及其扩散途径^[11]。据此, 本研究成功构建了嗜卷书虱和嗜虫书虱的微卫星富集文库, 以期使用具有多态性的微卫星位点对这两种书虱进行种群遗传结构分析, 这有助于详细地分析不同种群以及同一种群不同个体之间的遗传多样性, 进而阐明书虱物种多样性的形成进化机制、书虱与环境之间的相互作用关系、书虱种群内部基因流动范围及方式, 为实仓中持续有效控制书虱的危害提供种群遗传学信息。

1 材料和方法

1.1 供试虫源

嗜卷书虱和嗜虫书虱来自西南大学昆虫学及害虫控制工程重点实验室采集饲养的重庆北碚种群。在实

实验室 27.5℃、75%—80% RH、不予光照、不接触任何药剂的条件下以全麦粉、酵母粉及脱脂奶粉(10:1:1)混合而成的饲料饲养 100 代以上的敏感品系。

1.2 接头、引物和探针

采用 *MseI* AFLP 接头,序列为:*MseI*-A:5'-TACTCAGGACTCAT-3';*MseI*-B:5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'。而检测用的单链引物为 AFLP 专用接头引物 *MseI*-N:5'-GATGAGTCCTGAGTAAN-3'。用于磁珠亲和捕捉的微卫星寡核苷酸探针为:(AC)₁₂、(TC)₁₂、(ATC)₈、(ATG)₈、(AAC)₈、(ATAC)₆和(GATA)₆,并分别在其 3'端标记上生物素。以上接头、引物及探针均由上海英潍捷基(Invitrogen)生物技术有限公司合成。

1.3 主要试剂

DNA 胶回收试剂盒购于上海华舜生物技术有限公司。用于亲和捕捉的磁珠(Dynabeads M-280 Streptavidin)和磁力架(123.20D DynaMag-Spin)均购自北京思尔成生物技术有限公司;限制性内切酶为 *MseI*(New England Biolabs);*Taq* DNA 聚合酶、*T4* DNA 连接酶购自 TaKaRa 公司。DNA 片段连接载体为 Promega pGEM-T Easy,转化用的 *Escherichia coli* Trans5α 热感受态细胞购自 Transgen 公司。

1.4 微卫星富集文库的构建

采用 Zane^[12]的 FIASCO 法中的限制性内切酶 *MseI* 及相应的人工接头,磁珠捕捉微卫星片段的过程参照 Bloor^[13]的方法进行,整个微卫星富集文库的构建为两种方法的结合。

1.4.1 基因组 DNA 提取、酶切及接头连接

基因组 DNA 的提取参照龚鹏等^[14]的方法,并加以改进。用 Nanovue 超微量紫外分光光度计检测 DNA 纯度和浓度,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。提取的高质量基因组 DNA 于-20℃ 保存备用。

酶切体系 基因组 DNA 50—250 ng;10 × BSA:0.4 μL;10 × NEB buffer 4 μL;限制性内切酶 *MseI*:5 U;用 ddH₂O 补充酶切体系至 40 μL。37℃ 酶切 5 h 后,65℃ 灭活 15 min。在接头连接之前,首先进行人工接头的制备:取 *MseI*-A(20 pmol)和 *MseI*-B(20 pmol)各 10 μL,经过如下程序(95℃ 5 min,80℃ 10 min,65℃ 10 min,23℃ 60 min)即制备成 10 pmol/μL 的人工接头,-20℃ 保存备用。

人工接头连接体系 *MseI* 人工接头(10 pmol/μL)5 μL;酶切 DNA 40 μL;10 × *T4* ligase buffer 5.3 μL;*T4* 连接酶(350 U,TaKaRa)3 μL,16℃ 放置过夜。用 PCR 检测接头是否成功,反应体系为接头-酶切 DNA 10 μL,*MseI*-N(20 pmol/μL)4 μL,10 × PCR buffer 5 μL,Mg²⁺(25 mmol/L)4 μL,dNTP(10 mmol/L)5 μL,ddH₂O 21.2 μL,*Taq* 酶(5 U,TaKaRa)0.8 μL;反应程序为 94℃ 3 min,20 × (94℃ 30 s,53℃ 40 s,72℃ 2 min),72℃ 终延伸 10 min。PCR 产物用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,并对 250—750 bp 范围的片段纯化回收,回收产物(接头-酶切 DNA 片段)溶解于 25 μL Elution 中。

1.4.2 微卫星序列的富集及扩增

在 1.5 mL 的离心管中加入 50 μL 链亲和素磁珠(10 μg/μL),置于磁力架上,吸取上清液。用 100 μL 1 × W/B 缓冲液(1 mol/L NaCl;10 mmol/L Tris-Cl,pH 7.5;1 mmol/L EDTA,pH 8.0)洗涤链亲和素磁珠 3 次后,将磁珠重新悬浮于 200 μL 的 2 × W/B 缓冲液(2 mol/L NaCl;10 mmol/L Tris-Cl,pH 7.5;1 mmol/L EDTA,pH 8.0)。加入 5 μL 浓度为 50 pmol/L 的探针,用 ddH₂O 定容到 400 μL,室温下放置 30 min。依次用 400 μL 1 × W/B 和 6 × SSC 洗涤 2 次,将探针-磁珠悬浮于 50 μL 的 6 × SSC,然后将探针-磁珠混合物放在特定的水浴中保温。用一新的 1 mL 的 EP 管,在其中加入以下组分:250—750 bp 酶切-接头 DNA 10 μL,*MseI*-N(20 pmol/μL)1 μL,20 × SSC 15 μL,ddH₂O 24 μL。在以上混合物 95℃ 变性 5 min 后,当降温至各自预杂交温度时,迅速将预热的探针-磁珠混合液加入,预杂交 30 min,杂交 3 h。杂交即将结束时,将杂交混合物迅速置于磁力架上约 40 s,快速吸去上清液,将磁珠悬浮于 100 μL 的 2 × SSC 中,并移至 1.5 mL 的 EP 管中,室温下依次用 1 mL 2 × SSC 和 1 × SSC 各洗 3 次,将磁珠悬浮于 300 μL 的 1 × SSC 中,在不同探针特有的洗脱温度下孵育 10 min 后,室温下分别用 400 μL TE、50 mmol/L NaCl 孵育 30 s,最后将富集有微卫星的磁珠悬浮于 50 μL ddH₂O 中。预杂交、杂交及洗脱温度等如表 1 所示。

随后对磁珠捕获的单链 DNA 片段进行 PCR 扩增,反应体系 30 μ L 包括 10 $\times$ PCR buffer 3 μ L, $MgCl_2$ (25 mmol/L) 2 μ L, dNTP (10 mmol/L) 3 μ L, *MseI*-N (20 pmol/L) 1 μ L, 富集磁珠 15 μ L, ddH₂O 5.2 μ L, Taq 酶(5 U/ μ L, TaKaRa)0.8 μ L。反应条件是:95 $^{\circ}C$ 预变性 5 min;6 $\times$ (95 $^{\circ}C$ 30 s,57 $^{\circ}C$ 45 s,72 $^{\circ}C$ 45 s);14 $\times$ (95 $^{\circ}C$ 30 s,57 $^{\circ}C$ 55 s,72 $^{\circ}C$ 55 s);72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖电泳检测并回收 250—1000 bp 片段,回收步骤参照试剂盒说明书。

1.4.3 微卫星富集 DNA 片段的克隆

将 PCR 胶回收片段连接到载体 pGEM-T Easy 中,再转化至 Trans5 α 高效感受态细胞。经过蓝白斑筛选,将所有阳性克隆于 96 孔培养板中培养,即组成两种书虱微卫星富集文库。

1.5 含有微卫星的阳性克隆的筛选及测序

微卫星阳性克隆的筛选中,TongF(5'-TAATACGACTCACTATAGGGC-3')和 TongR(5'-ATTTAGGTGACAC-TATAGAATAC-3')分别与引物 (AC)₁₂、(TC)₁₂、(ATC)₈、(ATG)₈、(AAC)₈、(ATAC)₆和 (GATA)₆微卫星探针配合,对文库进行菌液 PCR 检测。电泳检测出现两条或两条以上扩增带的克隆,则有可能含有相应探针核心重复的微卫星序列,将该含有微卫星的阳性克隆送往 Invitrogen 测序。

2 结果

2.1 基因组 DNA 提取

用经典的 SDS 法提取的嗜卷书虱和嗜虫书虱总基因组 DNA 浓度和纯度均较高,可满足实验的要求 ($OD_{260/280} = 1.8—2.1$)。琼脂糖凝胶电泳检测显示,基因组比较完整,没有降解,其大小在 23 kb 左右(图 1)。

2.2 基因组 DNA 酶切、人工接头连接及其 PCR 产物检测

基因组 DNA 经限制性内切酶 *MseI* 酶切 5h 后,酶切产物与 *MseI* 人工接头连接,并在 16 $^{\circ}C$ 下连接过夜。以连接产物为模板,用 *MseI*-N 作为引物进行 PCR 扩增,扩增结果如图 2,扩增产物主要集中于 250—550 bp,证明 DNA 酶切片段和接头连接成功。

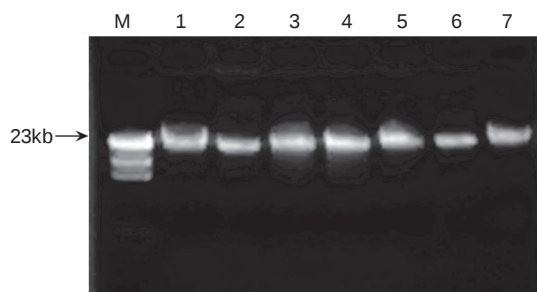


图 1 书虱基因组 DNA 提取结果

Fig. 1 Genomic DNA of *L. bostrychophila* and *L. entomophila*
M: λ DNA; 1, 2, 3, 4: 嗜卷书虱基因组 DNA; 5, 6, 7: 嗜虫书虱基因组 DNA

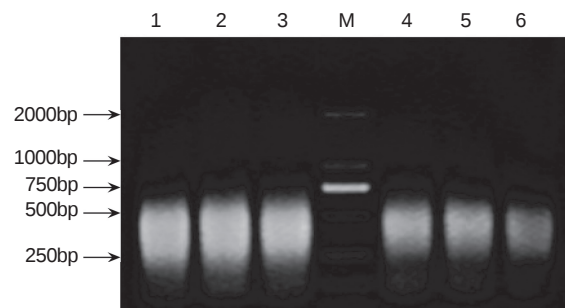


图 2 接头连接 PCR 检测结果

Fig. 2 PCR amplification of Adaptor-digested genomic DNA fragments
M: 分子量标准 DL2000; 1, 2, 3: 嗜卷书虱接头检测结果; 4, 5, 6: 嗜虫书虱接头检测结果

2.3 磁珠捕捉和 PCR 扩增

对接头连接成功的酶切 DNA 片段切胶回收纯化,经过磁珠链亲和素和探针生物素的亲和反应、探针和 DNA 片段杂交、带接头 DNA 片段的变性、高严谨洗涤至低严谨和热洗脱等过程,获得单链目的片段,再以

*Mse*I-N 为引物进行 PCR 扩增,即得双链微卫星富集目的片段。嗜卷书虱和嗜虫书虱微卫星富集片段 PCR 扩增电泳结果见图 3,扩增片段主要集中在 250—1000 bp 大小之间,适于微卫星文库的构建。

2.4 微卫星富集片段的克隆

将磁珠捕捉产物的 PCR 产物连接到载体 pGEM-T Easy 中,并转化至大肠杆菌,建立了嗜卷书虱 (AC)₁₂、(TC)₁₂、(ATC)₈、(ATG)₈、(AAC)₈和 (GATA)₆ 6 个和嗜虫书虱 (AC)₁₂、(TC)₁₂、(ATC)₈、(ATG)₈、(AAC)₈、(ATAC)₆和 (GATA)₆ 7 个微卫星富集文库。

2.5 微卫星富集文库的抽样检测和微卫星鉴别

从文库中随机抽取克隆,通过菌落 PCR 检测 (图 4),菌落 PCR 中含有 2 条或 2 条以上产物带即可能是含有微卫星的阳性克隆,选择实际插入片断 250—750 bp 的克隆进行测序。测序数据用 SSRHunter1.3 过滤微卫星位点。

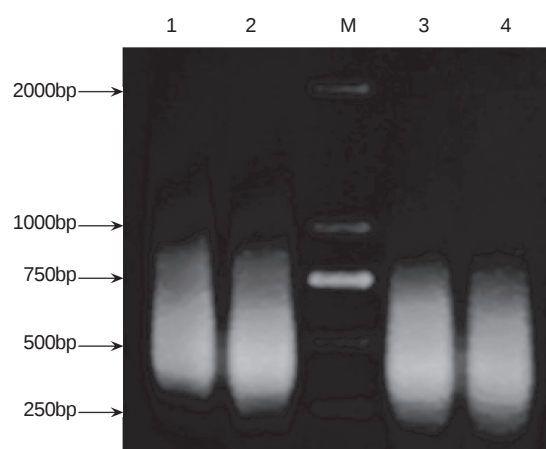


图 3 微卫星富集片段 PCR 扩增电泳结果

Fig. 3 Microsatellite-enriched DNA fragments from PCR products

M: 分子量标准 DL2000; 1, 2: 嗜卷书虱微卫星磁珠富集 PCR 电泳图; 3, 4: 嗜虫书虱微卫星磁珠富集 PCR 电泳图

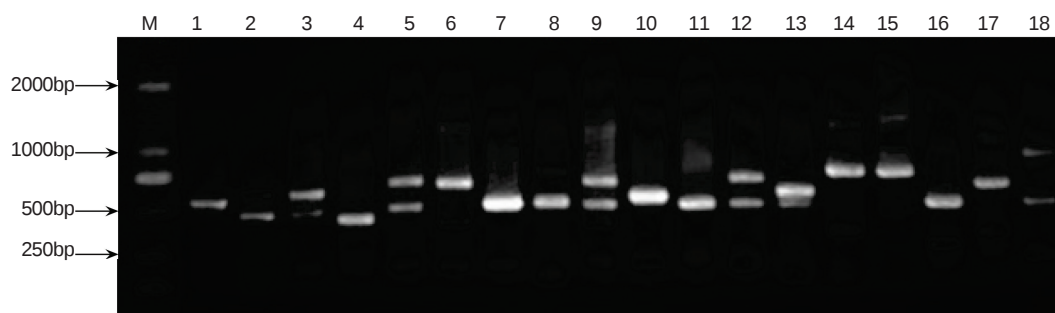


图 4 微卫星阳性克隆的 PCR 筛选

Fig. 4 PCR screening for identifications of positive clones with microsatellite

M: 为分子量标准 DL2000; 2, 3, 5, 9, 12, 13, 18 可能含有微卫星位点

两种书虱 13 个文库共随机检测 5218 个克隆,其中嗜卷书虱 2542 个克隆;嗜虫书虱 2676 个克隆。PCR 扫描微卫星文库发现其可能含有微卫星的克隆数占各自检测克隆总数的百分率分别依次为嗜卷书虱 AC 文库 14.06%、TC 文库 3.81%、ATC 文库 14.06%、ATG 文库 16.67%、AAC 文库 9.9%、GATA 文库 4.82%;嗜虫书虱 AC 文库 21.18%、TC 文库 15.89%、ATC 文库 52.08%、ATG 文库 39.58%、AAC 文库 15.56%、ATAC 文库 9.72%、GATA 文库 7.29%。从上述数据可以看出,嗜卷书虱三碱基重复微卫星与两碱基重复微卫星在基因组中出现的频率大致相等;而在嗜虫书虱中,三碱基重复的微卫星数量明显多于二碱基微卫星。随机抽样测序鉴定的微卫星统计结果见表 2,微卫星阳性克隆的标准是碱基核苷酸重复数 ≥ 5 ,单核苷酸重复不予统计。

从表 2 可以看出,微卫星阳性克隆率在 9.38%—100% 之间,平均阳性克隆率为 71.17%。嗜卷书虱中三碱基富集文库的阳性克隆率最高,二碱基次之,四碱基最低。而在嗜虫书虱中,除 ATC 富集文库的阳性克隆率达到了 100% 之外,二碱基微卫星富集文库的阳性克隆率高于三碱基,而四碱基最低。两种书虱富集文库的阳性克隆率比较发现嗜卷书虱 TC 文库显著低于嗜虫书虱 TC 文库。这从侧面表明嗜卷书虱基因组内 TC 核心重复的微卫星位点数量比嗜虫书虱的要少。此外,从测序的结果来看,微卫星测序结果重复率较高,且无论是嗜卷书虱还是嗜虫书虱,其两碱基微卫星测序结果重复率显著高于三碱基和四碱基微卫星。如嗜卷书虱

所得的两碱基微卫星中一个最多重复的微卫星序列就有 6 个,而三碱基中最多一个重复次数为 3 个。根据微卫星核心序列排列方式的不同,Weber 将微卫星分为完美型、不完美型和复合型微卫星^[15],对两种书虱测序所得微卫星序列进行分析可知,嗜卷书虱 108 个微卫星中,完美型占 31.48%、不完美型占 65.74%、复合型占 2.78%;在嗜虫书虱 152 个微卫星中,完美型占 23.03%、不完美型占 75%、复合型占 1.97%。此外,对所得微卫星序列的侧翼序列的长度进行了统计,当两侧翼序列均大于 30 bp 时才有可能较好地设计引物。因此,以 30 bp 为标准,两侧翼序列均大于 30 bp 的微卫星序列个数为 213 个,占全部微卫星序列的总数的 81.92%。部分书虱微卫星核心序列和侧翼序列及其类型如表 3 所示。

表 2 嗜卷书虱和嗜虫书虱微卫星富集文库随机抽样测序统计结果

Table 2 Statistical results of microsatellites from sequenced clones in <i>L. bostrychophila</i> and <i>L. entomophila</i> microsatellite enriched library						
试虫 Species	探针 Probe	PCR 检测克隆数 Number of clonesscreened	可能含有微卫星 的克隆数 Clones containing SSR	测序克隆 Number of clones sequenced	微卫星数量 Number of SSR identified	微卫星阳性 克隆比例/% SSR/ sequenced clones
嗜卷书虱 <i>L. bostrychophila</i>	AC	768	108	38	33	86.84
	TC	420	16	16	4	25.00
	ATC	192	27	23	22	95.65
	ATG	192	32	29	28	96.55
	AAC	202	20	20	18	90.00
	GATA	768	37	32	3	9.38
嗜虫书虱 <i>L. entomophila</i>	AC	576	122	54	45	83.33
	TC	384	61	26	23	88.46
	ATC	192	100	20	20	100.00
	ATG	288	114	32	23	71.88
	AAC	180	28	28	22	78.57
	ATAC	288	28	16	11	68.75
总计 Total		5218	749	360	260	72.22

表 3 嗜卷书虱和嗜虫书虱部分微卫星核心序列及其部分侧翼序列

Table 3 The core sequences and types of part microsatellites in psocid genome					
试虫 Species	克隆编号 Clone	5'侧翼序列 5'flanking sequence	核心序列 Core sequence	3'侧翼序列 3'flanking sequence	微卫星类型 Microsatellite Types
嗜卷书虱 <i>L. bostrychophila</i>	Lb160	GACTTGTAGG	(AC) ₁₂	CTGGCTTTTA	完美型
	Lb859	TAGTACATTA	(TC) ₂₃	AATCCAATAT	完美型
	Lb1301	ATTACGCCCC	(ATC) ₆ GTC(ATC) ₄	AAACCTTGGC	非完美型
	Lb1480	AACAGCATCG	(GCATCA) ₉	GCACCCACAC	完美型
	Lb1725	ACAGTTCAA	(CAG) ₄ (CAA) ₁₂ (CAG) ₂ (CAA) ₅	CAGCAACCAA	复合型
	Lb2211	TAGGTAGGTA	(GATA) ₁₄	TTTTGGGCAC	完美型
嗜虫书虱 <i>L. entomophila</i>	Le175	CTTTTAAATT	(CA) ₃₄	TAAGACTCCA	完美型
	Le633	TCAGAAAGTA	(TC) ₂₇	GTGATTAGTA	完美型
	Le1051	TAAAGTTGAC	(ATC) ₇ CCC(ATC) ₅	GACGCGATGA	非完美型
	Le1239	TGACAGTGGG	(ATG) ₁₅	ACGATGAACT	完美型
	Le1349	TTGTTACAGT	(ACA) ₁₉	ATTTCTCCAT	完美型
	Le1552	GCGTGTACAC	(ATAC) ₃ (AC) ₄ (ATAC) ₄	ATATTACGCG	复合型
	Le1996	ATGTTAACTA	GATAGACA(GATA) ₈	TGACGTTACA	非完美

3 结论与讨论

本研究成功构建了两种书虱的 13 个微卫星富集文库,其微卫星阳性克隆率为 9.38%—100%。传统的从基因组文库直接杂交筛选微卫星的方法效率很低^[16],节肢动物一般平均阳性克隆率为 2%^[10]。对于微卫星相对缺乏的节肢动物来说^[17],采用高效的富集方法分离微卫星位点显得更为必要。磁珠富集法是近年来国内外广泛采用的分离微卫星位点的方法,如人行道蚂蚁 *Tetramorium* spp. 和 *T. tsushimae*^[18],中华按蚊

(*Anopheles sinensis*)^[19], 东方粘虫 (*Pseudaletia separate*)^[20] 等。在多种不同物种应用中, 筛选 2—4 核苷酸基序的微卫星, 其富集效率达到 20%—90%^[21], 而本研究中微卫星阳性克隆率最高的达到 100%。我们也采用此种方法对柑橘全爪螨 (*Panonychus citri*) 进行微卫星富集文库的构建, 阳性克隆率在 60%—80% 之间。本研究的微卫星富集文库构建过程如图 5 所示, 是 Zane 的 FI-ASCO 法和 Bloor 的微卫星磁珠富集法的结合。使用 *Mse*I AFLP 接头代替 Bloor 方法中所使用的限制性内切酶 *Sau*3AI 使用的接头 oligo A 和 oligo B, 将大大提高酶切和接头连接的效率。利用这种方法, 我们发现嗜卷书虱和嗜虫书虱基因组内二碱基微卫星是比较丰富的, 这与人利用尼龙膜法筛选无色书虱微卫星时二碱基微卫星的阳性克隆率极低的结果有所差异^[10]。该方法不用进行酶切产物胶回收纯化, 避免使用放射性的实验步骤, 一般的分子实验室均可开展。

在本研究的基础上, 结合前人在对昆虫基因组中微卫星的研究来看, 书虱基因组内三碱基微卫星的丰度最高, 这与褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*)^[22] 和赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*)^[23] 相似。在对所得微卫星序列分析时发现, 与鳞翅目昆虫微卫星的基本特征一样^[24], 书虱两碱基微卫星多以多拷贝微卫星位点存在, 且其中有相当一部分是以基因家族的形式存在, 有许多不同的位点的侧翼序列 (一侧) 极为相似 (最高达 63.64%), 这也造成后续因 PCR 效果不好而不适于用作分子标记而被淘汰。研究结果表明三碱基重复微卫星在最终得到的单拷贝多态性位点中所占的比例要远高于二碱基微卫星, 并具有较高的优化率。因此在以筛选微卫星 DNA 标记为目的的嗜虫目基因组 DNA 文库构建过程中, 更宜以三碱基重复作为微卫星探针。

在微卫星建库时, 微卫星探针类型的选择直接关系到文库成败和优劣。据真核生物或昆虫微卫星不同重复类型在基因组出现频率的研究发现, 两碱基 AC 和 TC 重复比较丰富, 三碱基 AAC、ATG 较为丰富, 四碱基重复微卫星在真核生物中出现的频率比两碱基和三碱基低得多^[25-26]。基因组酶切时采用合适的限制性内切酶和相关接头以及提高人工接头和酶切 DNA 片段的连接效率也是文库优劣的关键^[7]。

此外, 本研究中微卫星测序结果重复率很高, 这是由于在磁珠富集法的过程中, 经历了两次 PCR 扩增; 同时, 使用多头虫体提取总基因组 DNA 也导致了测序结果重复率增加。Zane 的研究表明, 富集文库中约有 50% 的阳性克隆重复出现了 5—20 次^[12], 因此完全避免测序结果的重复率是不现实的。通过从不同的文库板中挑取阳性克隆、电泳检测其插入片段大小以及减少 PCR 时的循环数来降低测序结果重复率。

书虱微卫星位点筛选为构建书虱遗传图谱及全基因组图谱提供定位标记; 对书虱物种多样性的形成进化机制、书虱与环境之间的相互作用关系及其微卫星分布、核心序列和侧翼序列的变异等进行深入研究提供理

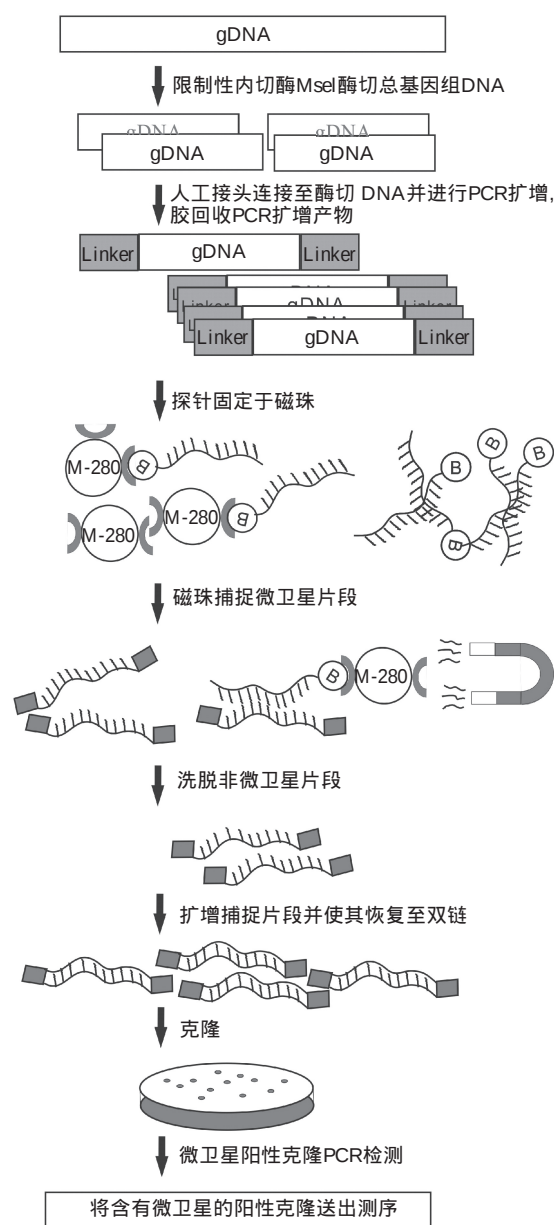


图 5 书虱微卫星富集文库构建过程

Fig. 5 Overview of genomic DNA SSR-enriched library protocol for psocids

论基础,也可以为比较基因组学和生物进化的研究提供证据;利用微卫星位点的多态性可研究书虱不同自然种群的微卫星多态性特征,期望能够为目的书虱抗药性治理方案的制定提供遗传学信息。

致谢:感谢四川大学生命科学学院岳碧松教授和张修月博士在微卫星建库过程中给予的帮助;感谢 Helen Hull-Sanders 博士对英文摘要的润色。

References:

- [1] Nayak M K, Collins P J, Peid S R. Efficacy of grain protectants and phosphine against *Liposcelis bostrychophila*, *L. entomophila*, and *L. paeta* (Psocoptera: Liposcelidae). *Journal of Economic Entomology*, 1998, 91(5): 1208-1212.
- [2] Nayak M K, Daglish G J. Combined treatments of spinosad and chlorpyrifos-methyl for management of resistant psocid pests (Psocoptera: Liposcelidae) of stored grain. *Pest Management Science*, 2007, 63(1): 104-109.
- [3] Wang J J, Zhao Z M, Li L S. Induced tolerance of the psocid, *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelidae), to controlled atmosphere. *International Journal of Pest Management*, 1999, 45(1): 75-79.
- [4] Ding W, Wang J J, Zhao Z M, Tsai J H. Effects of controlled atmosphere and DDVP on population growth and resistance development by the psocid, *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelidae). *Journal of Stored Products Research*, 2002, 38(3): 229-237.
- [5] Nayak M K. Potential of piperonyl butoxide-synergised pyrethrins against psocids (Psocoptera: Liposcelidae) for stored-grain protection. *Pest Management Science*, 2009, 66(3): 295-300.
- [6] Wu Y, Li Z H, Wu J J. Polymorphic microsatellite markers in the Melon Fruit Fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9(5): 1404-1406.
- [7] Tachen N, Arias R S, Glynn N C, Pan Z Q, Khan I A, Scheffler B E. Optimized construction of microsatellite-enriched libraries. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 508-515.
- [8] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(16): 6463-6471.
- [9] Behura S K. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, 2006, 15(11): 3087-3113.
- [10] Mikac K M. Isolation and characterization of the first microsatellite loci from the order Psocoptera in the economically important pest insect *Liposcelis decolor* (Pearman) and cross-species amplification. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6(4): 1102-1104.
- [11] Mikac K M, FitzSimmons N N. Genetic structure and dispersal patterns of the invasive psocid *Liposcelis decolor* (Pearman) in Australian grain storage systems. *Bulletin of Entomological Research*, 2010, 100(5): 521-527.
- [12] Zane L, Bargelloni L, Patarnello T. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 2002, 11(1): 1-16.
- [13] Bloor P A, Barker F S, Watts P C, Noyes H A, Kemp S J. Microsatellite libraries by enrichment. 2001. [2010-06-20]. <http://www.genomics.liv.ac.uk/animal/Protocol1.html>.
- [14] Gong P, Yang X W, Zhang X X, Liu X D, Chen X F. Microsatellite primer-PCR studies on the population differentiation of *Aphis gossypii* in relation to host plants and seasons. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(5): 765-771.
- [15] Weber J L. Informativeness of human (dC-dA)_n · (dG-dT)_n polymorphisms. *Genomics*, 1990, 7(4): 524-530.
- [16] Rassmann K, Schlötterer C, Tautz D. Isolation of simple-sequence loci for use in polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *Electrophoresis*, 1991, 12(2/3): 113-118.
- [17] Fagerberg A J, Fulton R E, Black W C IV. Microsatellite loci are not abundant in all arthropod genomes: analyses in the hard tick, *Ixodes scapularis* and the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Molecular Biology*, 2001, 10(3): 225-236.
- [18] Steiner F M, Arthofer W, Schlick-Steiner B C, Crozier R H, Stauffer C. Twenty four new microsatellite markers in two invasive pavement ants, *Tetramorium* sp. E and *T. tsushimae* (Hymenoptera: Formicidae). *Conservation Genetics*, 2008, 9(3): 757-759.
- [19] Fan Y, Ma Y J. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite DNA markers of *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Fourth Military Medical University*, 2008, 29(17): 1537-1539.
- [20] Zhang G Y, Zhai B P. Construction and identification of enriched microsatellite library from *Pseudaletia separata* genome. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3860-3867.
- [21] Santana Q C, Coetzee M P A, Steenkamp E T, Mlonyeni O X, Hammond G N A, Wingfield M J, Wingfield B D. Microsatellite discovery by deep sequencing of enriched genomic libraries. *BioTechniques*, 2009, 46(3): 217-223.
- [22] Liu Y D, Hou M L. Analysis of microsatellite information in EST resource of *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 2010, 53(3): 239-247.
- [23] Zhang L L, Wei Z M, Lian Z M, Kong G Y. Abundance of microsatellites in the entire genome and EST of *Tribolium castaneum*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2008, 45(1): 38-42.
- [24] Zhang D X. Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. *Trends in Ecology and Evolution*, 2004, 19(10): 507-509.
- [25] Katti M V, Ranjekar P K, Gupta V S. Differential distribution of simple sequence repeats in eukaryotic genome sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 2001, 18(7): 1161-1167.
- [26] Tóth G, Gáspári Z, Jurka J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research*, 2000, 10(7): 967-981.

参考文献

- [14] 龚鹏, 杨效文, 张孝羲, 刘向东, 陈晓峰. 棉蚜 (*Aphis gossypii*) 种群寄主分化和季节分化的微卫星引物 PCR 研究. *生态学报*, 2001, 21(5): 765-771.
- [19] 樊勇, 马雅军. 中华按蚊多态微卫星 DNA 位点的筛选和特征研究. *第四军医大学学报*, 2008, 29(17): 1537-1539.
- [20] 张国彦, 翟保平. 东方粘虫 (*Pseudaletia separata* (Walker)) 微卫星富集文库的构建与分析. *生态学报*, 2008, 28(8): 3860-3867.
- [22] 刘玉娣, 侯茂林. 褐飞虱 EST 资源的微卫星信息分析. *昆虫学报*, 2010, 53(3): 239-247.
- [23] 张琳琳, 魏朝明, 廉振民, 孔光耀. 赤拟谷盗全基因组和 EST 中微卫星的丰度. *昆虫知识*, 2008, 45(1): 38-42.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.31 ,No.15 August ,2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Trophic group responses of ground arthropods to land-cover change and management disturbance	LI Fengrui, LIU Jiliang, HUA Wei, et al (4169)
Construction and comparative analysis of enriched microsatellite library from <i>Liposcelis bostrychophila</i> and <i>L. entomophila</i> genome	WEI Dandan, YUAN Minglong, WANG Baojun, et al (4182)
Development of EST-SSRs markers and analysis of genetic diversities among different geographical populations of Manila clam <i>Ruditapes philippinarum</i>	YAN Xiwu, YU Zhifei, QIN Yanjie, et al (4190)
Genetic diversity of different generations of the Dalian population of Manila clam <i>Ruditapes philippinarum</i> through selective breeding	YU Zhifei, YAN Xiwu, YANG Fei, et al (4199)
Comparative study of spike differentiation in wheat in the glasshouse and field	JIANG Lina, ZHAO Yanling, SHAO Yun, et al (4207)
Effects of organic fertilizer on growth and endogenous hormone contents of wheat seedlings under salt stress	LIU Haiying, CUI Changhai, ZHAO Qian, et al (4215)
Impacts of climatic change on spring wheat growth in a semi-arid region of the Loess Plateau: a case study in Dingxi, Gansu Province	YAO Yubi, WANG Runyuan, YANG Jinhu, et al (4225)
Dynamic changes in nitrogen and phosphorus concentrations and emission-reduction potentials in paddy field water under different tillage models	FENG Guolu, YANG Renbin (4235)
Effects of planting and straw returning of transgenic Bt maize on soil enzyme activities under field condition	YAN Shilei, ZHAO Lei, SUN Hongwei, et al (4244)
Effects of short-term flooding on <i>Geobacteraceae</i> spp. and <i>Anaeromyxobacter</i> spp. abundance in paddy soil	ZHU Chao, Stefan Ratering, QU Dong, et al (4251)
Adaptive adjustments of the sowing date of late season rice under climate change in Guangdong Province	WANG Hua, CHEN Xinguang, HU Fei, et al (4261)
Carbon and nitrogen sequestration rate in long-term fenced grasslands in Inner Mongolia, China	HE Nianpeng, HAN Xingguo, YU Guirui (4270)
Ecosystems carbon storage and carbon sequestration potential of two main tree species for the Grain for Green Project on China's hilly Loess Plateau	LIU Yingchun, WANG Qiufeng, YU Guirui, et al (4277)
Wettability on plant leaf surfaces and its ecological significance	SHI Hui, WANG Huixia, LI Yangyang (4287)
Seasonal dynamics of litter accumulation in major forest communities on the northern slope of Changbai Mountain, Northeast China	ZHENG Jinping, GUO Zhongling, XU Chengyang, et al (4299)
A comparative study of seed germination traits of 52 species from Gurbantunggut Desert and its peripheral zone	LIU Huiliang, SONG Mingfang, DUAN Shimin, et al (4308)
The reproductive ecological characteristics of <i>Sinosenecio jishouensis</i> (Compositae) and its endangerment mechanisms	DENG Tao, CHEN Gongxi, ZHANG Daigui, et al (4318)
Iterative algorithm for analyzing the influence of the proportion of permanently destroyed sites on the equilibrium abundances of species	SHI Peijian, GE Feng, YANG Qingpei (4327)
Physiological mechanism of foliage spraying paclobutrazol on increasing salt tolerance of <i>Jatropha curcas</i> seedlings	MAO Yiqing, ZHENG Qingsong, CHEN Jianmiao, et al (4334)
Spatial ecological niche of main insect borers in larch of Aershan	YUAN Fei, LUO Youqing, SHI Juan, et al (4342)
Source areas and landing mechanism of early immigration of white-backed planthoppers <i>Sogatella furcifera</i> (Horváth) in Yunnan, 2009	SHEN Huimei, LÜ Jianping, ZHOU Jinyu, et al (4350)
Life history and the evolutionary significance of egg diapause in Changsha population of the rice grasshopper, <i>Oxya chinensis</i> (Orthoptera: Catantopidae)	ZHU Daohong, ZHANG Chao, TAN Ronghe (4365)
Relationships between main insect pests and their predatory natural enemies in "518" nectarine orchard	SHI Xiaoli, BI Shoudong, GENG Jiguang, et al (4372)
Dynamics of soil meso- and microfauna communities in Zoigê alpine meadows on the eastern edge of Qinghai-Tibet Plateau, China	ZHANG Hongzhi, WU Pengfei, YANG Daxing, et al (4385)
Seasonal changes in waterbirds population and movements of Great Black-headed Gull <i>Larus ichthyaetus</i> at Keluke Lake of Qinghai, China	ZHANG Guogang, LIU Dongping, HOU Yunqiu, et al (4398)
Predictions of net carbon emissions based on the emissions and forest carbon sinks in Yunnan Province	LIU Huiya, WANG Zheng, MA Xiaozhe (4405)
Ecological water depletion by human use in Beijing City	BAI Yinglan, WANG Rusong, YAO Liang (4415)
Review and Monograph	
Research progress on regulation mechanism for the process of water transport in plants	YANG Qiliang, ZHANG Fucang, LIU Xiaogang, et al (4427)
Antibiotics in environmental matrices and their effects on microbial ecosystems	YU Shen, WANG Min, HONG Youwei (4437)
Anaerobic ammonium oxidation in natural ecosystems	SHEN Lidong, ZHENG Ping, HU Baolan (4447)
Scientific Note	
Ecological characteristics of macrobenthic communities and their relation to water environmental factors in four bays of southern Shandong Peninsula	ZHANG Ying, LÜ Zhenbo, XU Zongfa, et al (4455)
Seasonal succession of crustacean zooplankton in relation to the major environmental factors in Lake Ulungur, Xinjiang	YANG Lili, ZHOU Xiaoyu, LIU Qigen, et al (4468)
Effect of different fertilization and irrigation practices on soil ammonia volatilization of Arecanut (<i>Areca catechu</i> L.)	LU Lilan, GAN Bingchun, XU Minghui, et al (4477)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

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 31 卷 第 15 期 (2011 年 8 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 15 2011

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	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
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

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元