

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

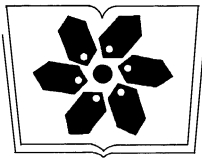
Acta Ecologica Sinica



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

闫喜武, 虞志飞, 秦艳杰, 杨霏, 王金海, 张跃环, 杨凤, 张国范. 菲律宾蛤仔 EST-SSRs 标记开发及不同地理群体遗传多样性. 生态学报, 2011, 31(15): 4190-4198.

Yan X W, Yu Z F, Qin Y J, Yang F, Wang J H, Zhang Y H, Zhang G F. Development of EST-SSRs markers and analysis of genetic diversities among different geographical populations of Manila clam *Ruditapes philippinarum*. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(15): 4190-4198.

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^{1,*}, 虞志飞¹, 秦艳杰¹, 杨 霏¹, 王金海¹, 张跃环¹, 杨 凤¹, 张国范²

(1. 大连海洋大学 生命科学与技术学院, 大连 116023; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要: 利用 13 对微卫星引物对大连、莆田、青岛 3 个地理群体蛤仔遗传多样性进行了检测。结果表明: 13 个基因座共检测到 154 个等位基因, 每个座位检测到的等位基因数在 2—7 个之间, 平均有效等位基因数为 2.7657; 3 个群体平均观测杂合度分别为 0.4387、0.4194、0.2383, 平均期望杂合度分别为 0.6488、0.6484、0.5526; 群体间的遗传多样性差异不显著 ($P > 0.05$)。NJ 聚类结果显示大连和莆田群体的蛤仔亲缘关系较近, 二者与青岛群体关系较远。3 个群体均有不同程度的偏离 Hardy-Weinberg 平衡现象, 表明各群体基因频率和基因型频率的稳定性相对较低。本研究所获得的微卫星标记的多态信息含量 (PIC) > 0.5 , 说明这些微卫星位点的多样性较高, 可为下一步遗传图谱构建研究提供参考。

关键词: 菲律宾蛤仔; 地理群体; 遗传多样性; 微卫星

Development of EST-SSRs markers and analysis of genetic diversities among different geographical populations of Manila clam *Ruditapes philippinarum*

YAN Xiwu^{1,*}, YU Zhifei¹, QIN Yanjie¹, YANG Fei¹, WANG Jinhai¹, ZHANG Yuehuan¹, YANG Feng¹, ZHANG Guofan²

1 The Institute of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

2 Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: To ascertain that genetic differences exist among different geographical populations of Manila clam *Ruditapes philippinarum*, 13 polymorphic microsatellite loci were isolated and characterized for three wild populations including the Dalian, Putian, and Qingdao populations. All samples were collected in March 2010. Among the three populations studied, 154 alleles were detected (there were 54, 51, and 49 alleles for the Dalian, Putian, and Qingdao populations, respectively). The number of alleles per locus ranged 2—7 and there were 1.2331—5.4568 effective alleles with an average of 2.7657. The observed heterozygosities for the Dalian, Putian and Qingdao populations were 0.4387, 0.4194, 0.2383, and the expected heterozygosities were 0.6488, 0.6484, 0.5526, respectively. The polymorphism information content (PIC) ranged 0.1778—0.7922 with an average of 0.5475, where the Rp-02, Rp-03, Rp-05, Rp-06, Rp-07, Rp-09, Rp-10, Rp-11, Rp-12 loci were considered highly polymorphic markers ($PIC > 0.5$), and the Rp-01, Rp-04, Rp-08, Rp-13 loci were moderate polymorphic markers ($PIC > 0.25$ and < 0.5). Genetic diversities among populations were not significantly different ($P > 0.05$). The genetic distance between the Dalian and Putian populations was only 0.1108 and they had the highest genetic similarity, whereas the genetic distance between the Dalian and Qingdao populations (0.4323) was farthest indicating that they were least genetically similar. The genetic distance between the

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项经费资助 (CARS-45)

收稿日期: 2010-11-15; 修订日期: 2011-04-26

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yanxiwu2002@163.com.

Putian and Qindao populations was intermediate. The genetic distances within a population were 0.5178 ± 0.1328 , 0.6592 ± 0.3291 , and 0.5480 ± 0.2759 for the Dalian, Putian, and Qindao populations, respectively. The genetic similarities within a population were 0.6930 ± 0.2708 , 0.5426 ± 0.1572 , and 0.5986 ± 0.1496 , respectively. The NJ dendrogram also showed that the Dalian and Putian populations were more closely related to each other than with the Qindao population. Most loci among the three populations deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium; only 33.4% of the loci did not. The multi-group test showed that among groups of multiple loci detected, only the Rp-10 locus maintained in an equilibrium state, whereas all other 12 loci did not. This indicates that these populations have relatively low gene stabilities and genotype frequencies. Based on the inbreeding coefficient (F_{is}) of each population, the Qindao population had only one locus that exhibited heterozygote excess, whereas two loci in the Dalian population and three loci in the Putian population showed heterozygote excess. Therefore, heterozygote deficiency is common in all three populations. The inter-population fixation index (F_{st}) was < 0.05 for the Rp-07 and Rp-11 loci, indicating that some degree of differentiation exists among the three geographical populations. We observed an average PIC of > 0.5 , indicating that the microsatellite loci were highly diversified. Information obtained from the present study should be useful for analysis of genetic diversities among geographical populations, future development of genetic linkage maps for different populations, and the culture and breeding of Manila clam.

Key Words: *Ruditapes philippinarum*; geographical populations; genetic diversity; microsatellite

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)是我国四大养殖贝类之一,广泛分布于我国南北沿海。生长迅速,养殖周期短,适应性强(广温、广盐、广布),是一种适合于人工高密度养殖的优良贝类。作为单产最高的经济软体动物,其2009年产量300多万吨,约占海水养殖贝类产量的30%,接近海水养殖总产量20%^[1]。随着蛤仔遗传改良研究工作的不断深入,对蛤仔分子标记的需求也越来越迫切,建立适宜的分子遗传标记技术,研究其遗传结构、检测遗传变异水平、建立分子标记辅助选育技术,对于种质遗传改良具有十分重要的意义。

微卫星(microsatellite)是指以少数几个核苷酸为单位多次串联重复的DNA序列,亦称简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)^[2]。不同生物其核心序列可能不同,或者相同核心序列在个体中的重复次数不同,因此造成多态性的产生,这种标记也被叫做简单长度多态性或序列标记的微卫星位点(Sequence-tagged microsatellite sites, STMS)^[3]。同其他分子标记相比,具有多态信息含量大、重复性好、共显性遗传、突变率高等优点,目前已广泛应用于皱纹盘鲍(*Haliotis discus hanai*)^[4]、魁蚶(*Scapharca broughtonii*)^[5]、虾夷扇贝(*Mizuhopecten yessoensis*)^[6]、西施舌(*Coelomactra antiquata*)^[7]及长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[8]等海洋生物的种质遗传多样性分析、遗传图谱构建、种质鉴定及辅助育种等方面研究。

近几年来,国内外对微卫星序列研究方面取得了较快进展。已将其应用于基因定位及克隆、疾病诊断、亲缘分析或品种鉴定、农作物育种、进化研究等领域^[9-15]。目前,尚未见使用微卫星标记分析蛤仔遗传多样性的报道。GeneBank中已有蛤仔EST序列相关报道,但几乎未见对其各种类型微卫星及相关报道。因此,开发蛤仔微卫星标记对其种质资源保护及合理开发利用具有重要意义。本研究开发了一批EST-SSR序列微卫星标记,分析了大连、莆田和青岛3个群体的遗传多样性,为蛤仔种质挖掘、利用和保护以及良种选育工作提供理论指导和技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用蛤仔采自大连(DL)、莆田(PT)、青岛(QD)沿海,每个群体随机取样36个。取活体斧足作为实验材料,保存在 -80°C 冰箱中备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组DNA的提取与检测

用常规的苯酚/氯仿/异戊醇法^[16]抽提DNA,挑选质量好的DNA用 ddH_2O 将浓度稀释至 $50\text{ng}/\mu\text{L}$,置于

-20 ℃ 保存备用。

表 1 蛤仔 3 个地理群体样品基础生物学参数

Table 1 Basic biological parameters of 3 Manila clam populations				
地理群体 Populations	壳长±标准差/mm Shell length ±S. D	壳宽±标准差/mm Shell width ±S. D	壳高±标准差/mm Shell height ±S. D	总重±标准差/g Total weight ±S. D
大连	28.51±2.44	20.60±1.53	13.29±1.24	4.96±1.33
莆田	38.26±2.65	25.73±1.67	16.80±1.24	10.11±2.00
青岛	33.36±5.60	23.15±3.27	14.89±2.17	7.43±3.09

1.2.2 菲律宾蛤仔 EST-SSR 序列的查找

菲律宾蛤仔的 EST 序列来源于 NCBI 的 EST 文库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucest/?term=Ruditapes+philippinarum>), 共获得 5658 个 EST 序列。利用 SSRHunter 软件^[17], 从目标 EST 中查找简单重复序列 ≥5 bp 的微卫星序列。

1.2.3 PCR 扩增与检测

从 Gene Bank 的 EST 中筛选出 13 个蛤仔的 SSR 序列, 在其核心序列的两侧利用 Primer premier 5.0^[18] 设计 PCR 引物, 其引物序列、微卫星特征、PCR 产物大小见表 2。引物由上海生工合成。PCR 扩增总体积为 25 μL, 其中模板 DNA 1 μL, 10×PCR Buffer 2.5 μL, Taq 酶(5 U/μL)0.2 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, dNTP 混合物(10 mmol/L)0.5 μL, Mg²⁺(25 mmol/L)1.5 μL, 用 ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min; 然后 94 ℃ 变性 1 min; 49—58 ℃ 退火 1 min; 72 ℃ 延伸 40 s; 30 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min; 4 ℃ 保存。得到的 PCR 产

表 2 微卫星标记核心序列、引物序列及其退火温度

Table 2 Core sequences, primer sequences and annealing temperatures of microsatellite DNA marker					
微卫星位点 Loci	GenBank 注册号 Registration No.	引物序列(5'→3') Primer Sequence(5'→3')	核心序列 Core sequence	片段长度/bp fragment length	退火温度 T _m /℃
Rp-01	AM873704	F: 5' GTTTATTTACCAACGCTCCT 3' R: 5' TTCCCATTCACATTCCAG 3'	(AT) ₅	165—205	51
Rp-02	AM873695	F: 5' ACCAGCACCCCTTAGCATC 3' R: 5' ACCAGCACCCCTTAGCATC 3'	(ATC) ₉	218—256	53
Rp-03	AM873616	F: 5' CCGCTGTGAGGAGACCAA 3' R: 5' CCGCCTATGTGACAAAATGA 3'	(TTG) ₆	168—203	58
Rp-04	AM872070	F: 5' GATACTGGCTGGACTTCGG 3' R: 5' GGAGAATCATCGGTGTAGAAA 3'	(TGG) ₅	213—237	49
Rp-05	AM872674	F: 5' GGATCATAGCGTTGTTTG 3' R: 5' TAGTATTTCTCCGCCACC 3'	(AC) ₅	100—142	54
Rp-06	AM877258	F: 5' TGTCACTAGTGGTTTCAGG 3' R: 5' ATTTTCATTTATTGGAGGC 3'	(TC) ₅	114—155	52
Rp-07	AM874000	F: 5' TATGGCTGGTTTGGACTG 3' R: 5' TCCCGTTACACTTACTTTCA 3'	(AT) ₇	113—132	51
Rp-08	AM873997	F: 5' AAGGTTTGGCTGTGAGGA 3' R: 5' TCCCGTTACACTTACTTTTCATC 3'	(AT) ₇	153—180	54
Rp-09	AM875328	F: 5' TGACAGCACTACAGAAAC 3' R: 5' AGAGGGCTTATACCTATA 3'	(TA) ₅	118—141	52
Rp-10	AM875256	F: 5' TCTCCTGCCTTAACCACA 3' R: 5' AGTACCGACAGTTTCCAC 3'	(TGTA) ₅	176—219	55
Rp-11	AM873203	F: 5' CAAATGAAGTTGGGAAGT 3' R: 5' GCCTGGCTAAATAAGTAA 3'	(TA) ₅	206—246	50
Rp-12	AM875824	F: 5' TTTATTTACCAACGCTCCT 3' R: 5' TCCCCTATTTTCCATTCA 3'	(AT) ₅	175—208	50
Rp-13	AM874836	F: 5' ACAAGGTGATGTGAGGTG 3' R: 5' TCTGTCATCAGTGAAGGC 3'	(AT) ₅	139—168	55

F: 上游引物; R: 下游引物

物在 8% 非变性聚丙烯凝胶下电泳, 160 V 恒压 3h。0.1% 硝酸银染色, 用美国 UVP 凝胶成像系统 (BioSpectrum® AC Imaging System, USA) 成像。

1.3 统计分析

电泳凝胶经美国 UVP 凝胶成像系统成像, 结合凝胶电泳分析软件 Gel-Pro Analyzer 4.0 根据标准 Marker (DL100) 读出扩增片段长度的大小, 确定个体的基因型。利用 POPGENE 1.31 软件进行数据处理^[19]。计算 3 个群体每个标记位点的多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC)^[20], 以及各个群体样本的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)^[21]、观察杂合度 (H_o) 和预期杂合度 (H_e)^[22] 等参数, 并计算群体间和群体内的遗传相似性系数^[21]、遗传距离和遗传分化系数。聚类关系图由 NJ 法构建。具体参数的计算方法如下:

$$\text{多态信息含量} \quad PIC = 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n P_i P_j (1 - P_i P_j) \quad (1)$$

式中, P_i 、 P_j 分别为群体中第 i 、 j 个等位基因频率, n 为等位基因数。

$$\text{有效等位基因数} \quad N_e = 1 / \sum_{i=1}^n P_i^2 \quad (2)$$

式中, P_i 为该位点上第 i 个等位基因的频率。

$$\text{观察杂合度} \quad H_o = \text{杂合子观察数} / \text{观察个体总数} \quad (3)$$

$$\text{期望杂合度} \quad H_e = 1 - \sum P_i^2 \quad (4)$$

式中, P_i 为该位点上第 i 个等位基因的频率。

$$\text{群体间的相似性指数:} \quad I = \sum (X_i Y_i) / \{ \sum (X_i)^2 \sum (Y_i)^2 \}^{1/2}, X_i \quad (5)$$

式中, Y_i 分别为 X 和 Y 群体第 i 个等位基因的频率。

$$\text{群体间遗传距离} \quad D = -\ln I \quad (6)$$

2 结果

2.1 EST-SSR 标记开发

NCBI 中现共有蛤仔 EST 序列 5658 个, 从中筛选微卫星重复序列 ≥ 5 bp 的序列 202 个, 除了一部分因本身结构或两端太短不能设计引物外, 其余都可以根据微卫星的侧翼序列设计引物。用 Primer premier5 软件设计引物 96 对, 合成 44 对。通过优化 PCR 扩增条件, 从中筛选出 13 对扩增稳定且条带清晰的引物, 筛选结果见表 1。PCR 产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳区分不同基因型。

2.2 PCR 扩增结果

13 个微卫星标记在群体中经 PCR 扩增和聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后均表现出清晰的片段大小和稳定的多态性。部分标记聚丙烯酰胺凝胶电泳结果见图 1。

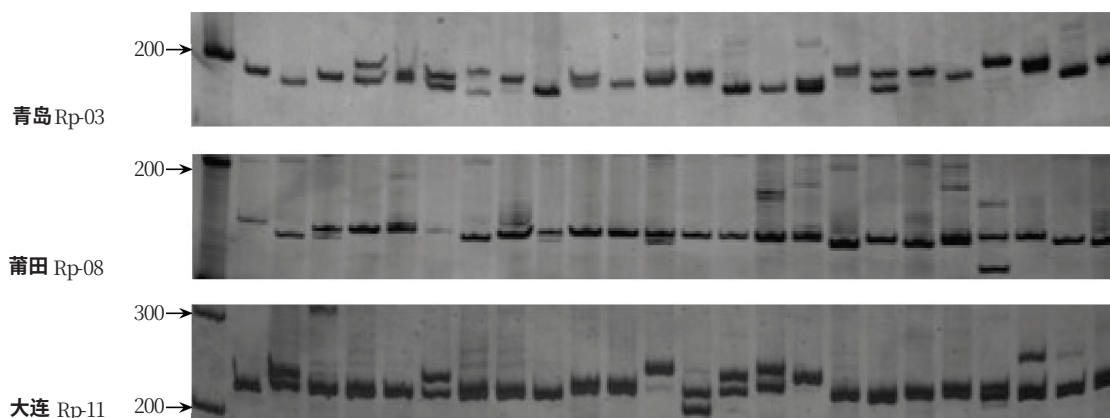


图 1 微卫星位点 Rp-03、Rp-08、Rp-11 在 3 个地理群体中的扩增结果

Fig. 1 Expansion results of Microsatellite loci Rp-03, Rp-08, Rp-11 in 3 geographic Manila clam population

2.3 地理群体遗传多样性

对 3 个不同地理群体样本 13 个微卫星位点进行分析,结果见表 3。3 个群体分别检测到 54、51 和 49 个等位基因,每个群体检测到的等位基因不完全一致,每个位点观察到的等位基因数 2—7 个不等。有效等位基因数在 1.2331—5.4568 之间,平均值为 2.7657;观测杂合度在 0—0.9722 之间,平均值为 0.3640;无偏期望杂合度在 0.1918—0.9498 之间,平均值为 0.6166;多态信息含量 (PIC) 在 0.1778—0.7922 之间,平均值为 0.5475,其中 Rp-02、Rp-03、Rp-05、Rp-06、Rp-07、Rp-09、Rp-10、Rp-11、Rp-12 位点的 $PIC > 0.5$,为高度多态标记;Rp-01、Rp-04、Rp-08、Rp-13 位点 $0.25 < PIC < 0.5$,为中度多态标记。

表 3 蛤仔不同地理群体的遗传多态性及 Hardy-Weinberg 平衡检验
Table 3 Genetic diversity and P -values of each Manila clam population

项目 Items	Rp-01	Rp-02	Rp-03	Rp-04	Rp-05	Rp-06	Rp-07
大连 PIC	0.5246	0.6216	0.5682	0.5555	0.4671	0.6639	0.5430
N_a	3	4	4	3	4	5	4
N_e	2.3978	3.1459	2.7012	2.7253	2.2837	3.4767	2.4330
H_o	0.4772	0.1562	0.4857	0.2286	0.3056	0.7647	0.2571
H_e	0.5912	0.6930	0.6389	0.6422	0.5700	0.7230	0.5975
P	0.0026 **	0.0000 **	0.0918	0.0000 **	0.0216	0.1241	0.0000 **
莆田 PIC	0.4486	0.5792	0.6667	0.5585	0.6212	0.6883	0.5432
N_a	3	4	4	3	4	5	4
N_e	2.2249	2.7735	3.5354	2.7042	3.1695	3.7617	2.5547
H_o	0.1389	0.1333	0.5714	0.3429	0.4857	0.6970	0.3143
H_e	0.5583	0.6503	0.7275	0.6393	0.6944	0.7455	0.6174
P	0.0000 **	0.0000 **	0.4484	0.0001 **	0.0000 **	0.0018 **	0.0000 **
青岛 PIC	0.1778	0.4200	0.7922	0.3221	0.5796	0.5444	0.6180
N_a	3	3	7	3	4	4	4
N_e	1.2331	2.0719	5.4568	1.5401	2.8455	2.6172	3.0502
H_o	0.1471	0.0278	0.5000	0.0833	0.2857	0.3333	0.2593
H_e	0.1918	0.5246	0.8282	0.3556	0.6580	0.6330	0.6848
P	0.0000 **	0.0000 **	0.0004 **	0.0000 **	0.0000 **	0.01210	0.0000 **
项目 Items	Rp-08	Rp-09	Rp-10	Rp-11	Rp-12	Rp-13	平均值 Mean
大连 PIC	0.6073	0.6424	0.4704	0.6667	0.6172	0.6118	0.5815
N_a	5	4	5	5	4	4	4.1538
N_e	2.8555	3.3149	2.0109	3.4839	3.1380	3.0566	2.8479
H_o	0.2571	0.1000	0.6111	0.5000	0.9722	0.5926	0.4387
H_e	0.6592	0.7102	0.5098	0.7230	0.6906	0.6855	0.6488
P	0.0000 **	0.0000 **	0.5601	0.0922	0.0208	0.1394	
莆田 PIC	0.5885	0.5326	0.6860	0.5271	0.5806	0.4351	0.5737
N_a	5	3	5	4	4	3	3.9231
N_e	2.7819	2.5579	3.7634	2.5288	2.7841	2.0227	2.8587
H_o	0.3846	0.0357	0.8000	0.5833	0.8056	0.1600	0.4194
H_e	0.6531	0.6201	0.7499	0.6131	0.9498	0.5159	0.6484
P	0.0009 **	0.0000 **	0.4247	0.5599	0.4632	0.0000 **	
青岛 PIC	0.2037	0.4436	0.6948	0.5956	0.5711	0.3701	0.4872
N_a	3	3	6	4	3	2	3.7692
N_e	1.2731	2.0317	3.7674	2.9965	2.8299	1.9621	2.5904
H_o	0.1176	0.0000	0.8611	0.1111	0.1765	0.1944	0.2383
H_e	0.2177	0.5161	0.7449	0.6757	0.6563	0.4973	0.5526
P	0.0002 **	0.0000 **	0.8011	0.0000 **	0.0000 **	0.0002 **	

N_a : 等位基因数 Number of alleles; N_e : 有效等位基因数 Number of effective alleles; H_o : 观察杂合度 Observed heterozygosity; H_e : 期望杂合度 Expected heterozygosity; P : 哈德-温格平衡 χ^2 检验, ** : $P < 0.01$

2.4 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 检验

应用 POPGEN1.31 数据分析软件,基于马可夫链模型对各群体每个位点 Hardy-Weinberg 偏离情况估计,结果 3 个地理群体均表现出不同程度的平衡偏离,仅有 33.4% 的位点未偏离 Hardy-Weinberg 平衡(表 3)。对各位点进行多群体检测发现,3 个地理群体在位点 Rp-10 处处于平衡状态,其他 12 个位点均表现处不同程度的偏离。

2.5 群体间遗传变异与分化

计算 3 个群体样本之间和群体内的遗传距离和遗传相似性(表 4 和表 5)。莆田群体和大连群体的遗传距离最近(0.1108),遗传相似性最高;和青岛群体的遗传距离次之,大连群体和青岛群体的遗传距离最远(0.4323),遗传相似性指数最低。大连、莆田、青岛群体内的遗传距离和遗传相似性分别为 0.5178 ± 0.1328 、 0.6930 ± 0.2708 、 0.6592 ± 0.3291 、 0.5426 ± 0.1572 、 0.5480 ± 0.2759 、 0.5986 ± 0.1496 。通过比较群体间和群体内遗传距离和遗传相似性可知,遗传距离群体内均大于群体间,遗传相似性群体间小于群体内。

表 4 3 个地理群体间的遗传距离(下三角)及相似性系数(上三角)

Table 4 Genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) between 3 geographical Manila clam population			
地理群体 Population	大连	莆田	青岛
大连	* * * *	0.8952	0.6490
莆田	0.1108	* * * *	0.6998
青岛	0.4323	0.3569	* * * *

表 5 3 个地理群体内的遗传距离及相似性系数

Table 5 Genetic distance and genetic identity within 3 geographical Manila clam population			
项目 Item	地理群体 Population		
	大连	莆田	青岛
遗传距离 Genetic distance	0.5178 ± 0.1328	0.6592 ± 0.3291	0.5480 ± 0.2759
遗传相似性 Genetic identity	0.6930 ± 0.2708	0.5426 ± 0.1572	0.5986 ± 0.1496

根据表 4 中的遗传距离数值用 NJ 法构建聚类图,青岛群体单独成一支,大连群体和莆田群体先聚合后,再与青岛群体聚在一起,直观的显示出各群体之间的遗传相似性(图 2)。这在一定程度上反应了群体间亲缘关系的远近,该结果与群体之间遗传距离远近相一致。

应用 POPGENE1.31 对 3 个群体蛤仔各位点进行 F -检验(表 6)。由 F_{is} 值可知,青岛群体有 1 个位点处于杂合子过剩状态,莆田群体有 2 个位点处于杂合子过剩状态,而大连群体有 3 个位点处于杂合子过剩状,由此可见各群体大部分位点均表现出一定程度的杂合子缺失。位点 Rp-09 所有群体的 F_{is} 值最高为 0.9252,而 Rp-10 最低为-0.1525;Rp-09 位点的所有群体 F_{it} 值最高,Rp-10 的最低。如所有群体间 F_{st} 值所示(表 6),13 个位点中只有 Rp-07 和 Rp-11 低于 0.05,表明 3 个地理群体间存在一定程度的分化。

3 讨论

3.1 EST-SSR 标记的开发

我国已先后对水产动物进行了大量的种质资源评估和研究工作,但是对蛤仔所做的工作不多,从分子水平进行的研究较少。挑选出一种合适的分子标记对蛤仔进行种质资源评估对其种质的鉴定和保护都有重要意义。本实验结果表明:EST-SSRs 标记可用来评价菲律宾蛤仔的遗传多样性。Weber^[23]认为,只有在双碱基重复序列重复次数大于 12 次时,微卫星标记才有可能表现出较高的多态性信息含量。当 $n\geq 16$ 时,可提供的 PIC 在 0.5 以上^[24]才可以进行相应的多态性分析。本研究筛选的微卫星标记碱基重复次数在 5—9 次之间,多态信息含量

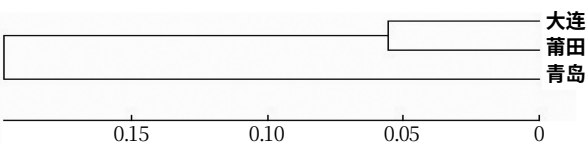


图 2 菲律宾蛤仔 3 个群体的 NJ 聚类图
Fig. 2 NJ dendrogram among 3 Manila clam populations

(*PIC*) 在 0.1778—0.7922 之间, 平均值为 0.5475。实验结果检测到了丰富的多态位点, 这不同于 Weber 的观点, 造成这种结果的原因可能是由于物种种间遗传结构不同, 基因组成差异较大导致的。

表 6 菲律宾蛤仔 3 个地理群体 13 个微卫星位点的 *F*-检验

Table 6 *F*-statistics for 3 Manila clam populations on 13 microsatellite loci

微卫星位点 Loci	近交系数 F_{is}			近交系数 F_{is}	总近交系数 F_{it}	F -统计量 F_{st}
	大连群体	莆田群体	青岛群体	所有群体 All populations	所有群体 All populations	所有群体 All populations
Rp-01	0.1899	0.7477	0.4688	0.4267	0.5033	0.1336
Rp-02	0.7709	0.7915	0.9463	0.8274	0.8511	0.1086
Rp-03	0.2288	0.2032	0.3878	0.2803	0.3395	0.0803
Rp-04	0.6389	0.456	0.7624	0.5943	0.6312	0.0877
Rp-05	0.4564	0.2904	0.5595	0.4317	0.4779	0.0806
Rp-06	-0.0735	0.0507	0.4606	0.1305	0.1678	0.1029
Rp-07	0.5634	0.4836	0.6143	0.5557	0.5564	0.0135
Rp-08	0.6043	0.3995	0.4516	0.4954	0.6284	0.2339
Rp-09	0.8568	0.9414	1.0000	0.9252	0.9308	0.0692
Rp-10	-0.2157	-0.0895	-0.1723	-0.1525	-0.0386	0.0989
Rp-11	0.2987	0.0351	0.8332	0.3979	0.408	0.0168
Rp-12	-0.4270	-0.2571	0.7271	0.0074	0.0469	0.0533
Rp-13	0.1193	0.6835	0.6035	0.4325	0.5781	0.2341
平均值 Mean	0.3086	0.3643	0.5879	0.3979	0.4589	0.1022

3.2 群体的遗传多样性

遗传多样性可衡量生物所携带遗传信息的变异程度, 而 DNA 是遗传信息的载体, 所以 DNA 的变化直接反映了物种遗传变异的程度。群体的遗传多样性每丧失 10%, 就会对其繁育能力、存活率、生长等重要性状产生很大的负面影响^[25]。群体的遗传多样性主要表现在杂合度和等位基因数两个方面^[26]。杂合度是群体在随机交配情况下, 一个个体的两个等位基因处于杂合状态的概率。杂合度期望越高, 群体的遗传结构越复杂^[27]。本实验中得到各群体平均观测和期望杂合度分别为 0.2383—0.4387 和 0.5526—0.6488, 虽然大连群体的平均杂合度最高, 青岛群体最低, 但 3 个群体之间的差异并不显著 ($P < 0.05$)。各群体每个位点的杂合度期望值也无明显差异, 说明各群体内遗传结构的复杂程度差别不大。从等位基因数来看, 每个位点的等位基因数 3—17 个, 而各群体每个位点的等位基因数从 2—7 不等, 各群体间的差异也不明显; 每个位点的有效等位基因数反映了在群体中起作用的等位基因数目, 大连群体较其他群体略高些, 差异亦不显著, 这与期望杂合度的检测结果基本一致。

最大限度地维持种内遗传多样性水平, 是持续利用种质资源的前提和基础。 N_a 、 H_o 和 H_e 等都是反映群体遗传多样性的度量, 其数值越大, 说明基因丰富度越高。本研究中蛤仔地理群体表现出较高的遗传多样性水平, $N_a = 3.8—4.2$, $H_o = 0.3640$, $H_e = 0.6266$ 。这与 Yasuda 等^[28]报道的蛤仔群体中 $H_o = 0.136—0.909$, $H_e = 0.553—0.954$ 的结果相差不大。与常亚青等^[29]报道的几个虾夷扇贝群体 $H_o = 0.2708—0.3292$, $H_e = 0.3620—0.4595$ 的结果相比, 遗传多样性水平较高。与 Sato 等^[30]报道的几个日本虾夷扇贝群体 $H_o = 0.6471—0.7604$, $H_e = 0.7011—0.7531$ 相比, 多态性水平略低。究其原因, 一方面可能是蛤仔与扇贝虽同为贝类, 但属于不同种, 种质资源必然存在一定的差异, 生存环境的不同, 导致不同海区的群体遗传结构的差异; 另一方面可能检测方法不同, 实验中所取样本数量有限等也导致实验结果的差异。

3.3 种群间的遗传与分化

本实验的 3 个地理群体都保持了一定的多态性水平, 群体内和群体间均产生了遗传分化。3 个群体内均表现出一定水平的近交, 造成不同程度的杂合子缺失, 显著的杂合子缺失情况在很多海洋生物中都有报道^[30-32]。通过 Hardy-Weinberg 平衡检验, 66.6% 的位点发生显著偏离 ($P < 0.01$), 而且在繁殖过程中发生了某些基因位点的丢失, 说明种质资源受到一定程度的破坏。微卫星 DNA 本身的进化是中性的, 在一个理想群体中, 各等位基因在群体中的分布频率相对稳定。由于本研究所用所有 EST 序列微卫星位点都来自核基因组中的编码区序列

而非非编码序列,因此这些位点不能肯定是否选择中性,这也可能是造成大部分位点存在偏离的原因之一。不管怎样,都应及时采取有效措施保护种质资源,建立种质资源库。

通过构建 3 个地理群体的 NJ 聚类图可知,青岛群体单独成一支,大连群体和莆田群体先聚合后,再与青岛群体聚在一起。莆田群体和大连群体的遗传相似性最大,遗传距离最小(0.1108),说明两群体间遗传分化较小;莆田和青岛群体的遗传距离次之;大连群体和青岛群体的遗传相似性指数最小,遗传距离最大(0.4323),反映出两群体间遗传分化较大,但二者地理位置却相对较近,未显现出群体间遗传差异大小与其地理分布距离远近呈正相关。一方面,对于菲律宾蛤仔而言,由于其生活史要经历幼虫浮游期,在浮游幼虫阶段,基因交流是很广泛的,存在着一定程度的遗传漂变及基因渐渗^[14, 33-35]。另一方面,南方每年土池培育蛤仔苗种高达数千亿粒,几乎全部运往北方,在北方海区养成。根据作者的调查,在北方几乎不存在野生种群,即使是野生种群也已经遭到了不同程度南方苗种的杂交污染,对北方野生群体菲律宾蛤仔的遗传结构产生了一定影响^[1]。

3.4 种质资源开发与保护

不同技术方法对蛤仔的种质资源进行分析^[36-38],其结果都一致表明:到目前为止,我国的菲律宾蛤仔种质资源现状还保持良好;但是在蛤仔人工增养殖过程中,若不注意亲本选择、累代人工繁殖,可能会导致群体内部基因杂合度下降、遗传多样性降低等一系列种质退化后遗症的发生。因此,平时应该注意避免养殖群体的蛤仔对天然群体的污染,及早建立蛤仔的保护区与原种场,加强对蛤仔的遗传资源的保护与合理的可持续利用。

当前对蛤仔资源分析评估工作还未见报道,只有零星报道其形态、人工育苗和核型等,因此无法将本研究结果予以对比,以确认蛤仔种质资源现状。因此采用其他分子标记手段进一步分析其种质资源十分必要。到目前为止,随着滩涂养殖规模的不断扩大,野生蛤仔的资源面积不断减少,可能导致资源量以及遗传丰富度下降,所以从长期效益考虑建议对其加强保护,以保证蛤仔种质资源的可持续利用。

References:

- [1] Zhang G F, Yan X W. Clam Aquaculture Study. Beijing: Science Press, 2010.
- [2] Hu B, Zhou X. Research development on microsatellite DNA. foreign medical sciences: Section of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, 2000, 21(2): 88-90.
- [3] Shan X, Wang X L, Qiu X M. Molecular genetic markers and their application in marine animal genetics. Letters in Biotechnology, 2005, 16(4): 463-466.
- [4] Wan J F. The Application of Molecular Markers in Genetic Breeding of *Abalone* and *Scallop*. Qingdao: Ocean University of China, 2003.
- [5] Li J J. Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in two Species of Bivalve and Sea Urchin *Strongylocentrotus nudus*. Qingdao: Ocean University of China, 2008.
- [6] Hedgecock D, Hubert S, Li G. A genetic linkage map of 100 microsatellite markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Shellfish Research, 2002, 21(1): 381-381.
- [7] Zhao C. Population Genetic Studies in Zhikong Scallop (*Chlamys farreri*) and Xishishe Clam (*Coelomactra antiquata*). Qingdao: Ocean University of China, 2008.
- [8] An H S, Park J Y, Lee Y G, Lee D S, Lee C. Ten polymorphic microsatellite loci in the giant scallop (*Mizuhopecten yessoensis*). Molecular Ecology Notes, 2005, 5(4): 806-808.
- [9] Sugiyama M, Suzuki Y, Abe N, Masaki T, Mori T, Atomi Y. Endoscopic retreatment of recurrent choledocholithiasis after sphincterotomy. Gut, 2004, 53(12): 1856-1859.
- [10] Sekino M, Hamaguchi M, Aranishi F, Okoshi K. Development of novel microsatellite DNA markers from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biotechnology, 2003, 5(3): 227-233.
- [11] Sodhi M, Mukesh M, Mishra B P, Mitkari K R, Prakash B, Ahlawat S P. Evaluation of genetic differentiation in *Bos indicus* cattle breeds from Marathwada region of India using microsatellite polymorphism. Animal Biotechnology, 2005, 16(2): 127-137.
- [12] Domingo-Roura X, López-Giráldez F, Saeki M, Marmi J. Phylogenetic inference and comparative evolution of a complex microsatellite and its flanking regions in carnivores. Genetical Research, 2005, 85(3): 223-233.
- [13] Cruz P, Ibarra A M, Mejia-Ruiz H, Gaffney P M, Pérez-Enríquez R. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Marine Biotechnology, 2004, 6(2): 157-164.
- [14] Kanno M, Li Q, Kijima A. Isolation and characterization of twenty microsatellite loci in Japanese sea cucumber (*Stichopus japonicus*). Marine Biotechnology, 2005, 7(3): 179-183.
- [15] Narasimhamoorthy B, Gill B S, Fritz A K, Nelson J C, Brown-Guedira G L. Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat × synthetic wheat population. Tag Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(5): 787-796.

- [16] Wang Z Y, Tsoi K H, Chu K H. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004, 32(4): 399-407.
- [17] Li Q, Wan J M. SSRHunter: development of a local searching software for SSR sites. *Hereditas*, 2005, 27(5): 808-810.
- [18] Lalitha S. Biotech Software and Internet Report, 2000: 270-272.
- [19] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, Ye Z H, Mao J X. POPGENE: the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular and Biotechnology Center, Edmonton: University of Alberta, 1997.
- [20] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Animal Genetics*, 1980, 32(3): 314-331.
- [21] Kimura M, Crow J F. the number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 1964, 49(4): 725-738.
- [22] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89(3): 583-590.
- [23] Weber J L. Informativeness of human $(dC-dA)_n \cdot (dG-dT)_n$ polymorphisms. *Genomics*, 1990, 7(4): 524-530.
- [24] Ortí G, Pearse D E, Avise J C. Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1997, 94(20): 10745-10749.
- [25] Allendorf F W, Ryman N. Genetic management of hatchery stocks//Ryman N, Utter F, eds. *Population Genetics and Fishery Management*. Seattle: University of Washington Press, 1987: 141-159.
- [26] Senanan W, Kapuscinski A R, Na-Nakorn U, Miller L M. Genetic impacts of hybrid catfish farming (*Clarias macrocephalus* $\times$ *C. gariepinus*) on native catfish populations in central Thailand. *Aquaculture*, 2004, 235(1/4): 167-184.
- [27] Yang M S, Hertel H, Schneck V. Genetic diversity and population structure of *Robinia pseudoacacia* provenances from middle Europe. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2700-2706.
- [28] Yasuda N, Nagai S, Yamaguchi S, Lian C L, Hamaguchi M. Development of microsatellite markers for the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Molecular Ecology Notes*, 2007, 7(1): 43-45.
- [29] Chang Y Q, Chen X X, Ding J, Cao X B, Li R L, Sun X W. Genetic diversity in five scallop populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*). *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(3): 1145-1152.
- [30] Sato M, Kawamata K, Zaslavskaya N, Nakamura A, Ohta T, Nishikiori T, Brykov V, Nagashima K. Development of microsatellite markers for Japanese scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) and their application to a population genetic study. *Marine Biotechnology*, 2005, 7(6): 713-728.
- [31] Addison J A, Hart M W. Analysis of population genetic structure of the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) using microsatellites. *Marine Biology*, 2004, 144(2): 243-251.
- [32] Valles-Jimenez R, Cruz P, Perez-Enriquez R. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Marine Biotechnology*, 2004, 6(5): 475-484.
- [33] Wang Z S, An S Q, Leng X, Ding F M, Zheng J W, Zhao L. Population genetic diversity of the insular plant *Neolitsea sericea* based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 414-422.
- [34] Li G, Hubert S, Bucklin K, Ribes V, Hedgecock D. Characterization of 79 microsatellite DNA markers in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Ecology Notes*, 2003, 3(2): 228-232.
- [35] Elfstrom C M, Smith C T, Jones K C, Seeb J E. Characterization of 16 polymorphic microsatellite loci in weathervane scallop *Patinopecten caurinus*. *Molecular Ecology Notes*, 2005, 5(3): 514-516.
- [36] Li X G, Xu G P, Yan B L, Yang J X, Zhao Y J, Xu J R, Xu P. Biochemical genetic structure and variation in different populations of *Ruditapes philippinarum*. *Marine Sciences*, 2009, 33(4): 61-65.
- [37] Liu X Q, Bao Z M, Hu J J, Wang S, Zhan A B, Liu H, Fang J G, Wang R C. AFLP analysis revealed differences in genetic diversity of four natural populations of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in China. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 26(1): 150-158.
- [38] Lu S M, Bao Z M, Zhang L L, Meng Q L, Hu J J, Hu X L, Liu H, Fang J G. Physical mapping of reiterated gene families 28S rRNA and histone H₃ DNA in Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*). *Chinese High Technology Letters*, 2007, 17(9): 974-978.

参考文献:

- [1] 张国范, 闫喜武. 蛤仔养殖学. 北京: 科学出版社, 2010.
- [2] 胡波, 周新. 微卫星 DNA 的研究概况. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2000, 21(2): 88-90.
- [3] 单雪, 王秀利, 仇雪梅. 分子标记及其在海洋动物遗传研究中的应用. 生物技术通讯, 2005, 16(4): 463-466.
- [4] 万俊芬. 鲍与扇贝遗传育种中的分子标记研究. 青岛: 中国海洋大学, 2003.
- [5] 李晶晶. 两种双壳贝类和光棘球海胆微卫星标记的分离及特性研究. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [7] 赵翠. 栉孔扇贝与西施舌的群体遗传学研究. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [29] 常亚青, 陈晓霞, 丁君, 曹学彬, 李润玲, 孙效文. 虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 5 个群体的遗传多样性. 生态学报, 2007, 27(3): 1145-1152.
- [33] 王中生, 安树青, 冷欣, 丁方明, 郑建伟, 赵琳. 岛屿植物舟山新木姜子居群遗传多样性的 RAPD 分析. 生态学报, 2004, 24(3): 414-422.
- [36] 李旭光, 许广平, 阎斌伦, 杨家新, 赵艳景, 徐建荣, 许璞. 菲律宾蛤仔不同地理群体生化遗传结构与变异的研究. 海洋科学, 2009, 33(4): 61-65.
- [38] 卢素敏, 包振民, 张玲玲, 孟庆磊, 胡景杰, 胡晓丽, 刘慧, 方建光. 菲律宾蛤仔重复序列 28S rRNA 及组蛋白 H₃ 基因的染色体定位. 高技术通讯, 2007, 17(9): 974-978.

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@csppg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@csppg.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