

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第9期 Vol.33 No.9 **2013**

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 33 卷 第 9 期 2013 年 5 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 可持续发展研究的学科动向 茶 娜, 邬建国, 于润冰 (2637)
- 代谢异速生长理论及其在微生物生态学领域的应用 贺纪正, 曹 鹏, 郑袁明 (2645)
- 植物内生菌促进宿主氮吸收与代谢研究进展 杨 波, 陈 晏, 李 霞, 等 (2656)
- 中国园林生态学发展综述 于艺婧, 马锦义, 袁韵珏 (2665)

个体与基础生态

- 基于最小限制水分范围评价不同耕作方式对土壤有机碳的影响 陈学文, 王 农, 时秀焕, 等 (2676)
- 草原土壤有机碳含量的控制因素 陶 贞, 次旦朗杰, 张胜华, 等 (2684)
- 外源钙离子与南方菟丝子寄生对喜旱莲子草茎形态结构的影响 车秀霞, 陈惠萍, 严巧娣, 等 (2695)
- 毛竹出笋后快速生长期茎秆色素含量与反射光谱的相关性 刘 琳, 王玉魁, 王星星, 等 (2703)
- 巴郎山异型柳叶片功能性状及性状间关系对海拔的响应 冯秋红, 程瑞梅, 史作民, 等 (2712)
- 外源磷或有机质对板蓝根吸收转运砷的影响 高宁大, 耿丽平, 赵全利, 等 (2719)
- 不同猎物饲喂对南方小花蝽捕食量和喜好性的影响 张昌容, 郅军锐, 莫利锋 (2728)
- 捕食风险对东方田鼠功能反应格局的作用 陶双伦, 杨锡福, 姚小燕, 等 (2734)
- 基于线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I 基因序列的帘蛤科贝类分子系统发育研究
..... 程汉良, 彭永兴, 董志国, 等 (2744)
- 不同实验生态环境对海刺猬遮蔽行为的影响 常亚青, 李云霞, 罗世滨, 等 (2754)

种群、群落和生态系统

- 基于 RS 与 GIS 的赣江上游流域生态系统服务价值变化 陈美球, 赵宝华, 罗志军, 等 (2761)
- 长江口及邻近海域富营养化指标响应变量参照状态的确定 郑丙辉, 朱延忠, 刘录三, 等 (2768)
- 长江口及邻近海域富营养化指标原因变量参照状态的确定 郑丙辉, 周 娟, 刘录三, 等 (2780)
- 鸭绿江口及邻近海域生物群落的胁迫响应 宋 伦, 王年斌, 杨国军, 等 (2790)
- 杭州西溪湿地大型底栖动物群落特征及与环境因子的关系 陆 强, 陈慧丽, 邵晓阳, 等 (2803)
- 生物土壤结皮对荒漠土壤线虫群落的影响 刘艳梅, 李新荣, 赵 昕, 等 (2816)
- 大棚模拟条件下角倍蚜春季迁飞数量动态及其与气象因子的关系 李 杨, 杨子祥, 陈晓鸣, 等 (2825)
- 宁南山区植被恢复对土壤团聚体水稳定及有机碳粒径分布的影响 程 曼, 朱秋莲, 刘 雷, 等 (2835)
- 1958—2008 年太白山太白红杉林碳循环模拟 李 亮, 何晓军, 胡理乐, 等 (2845)
- 不同干扰对黄土区典型草原物种多样性和生物量的影响 陈芙蓉, 程积民, 刘 伟, 等 (2856)
- 乌拉山自然保护区白桦种群的年龄结构和点格局分析 胡尔查, 王晓江, 张文军, 等 (2867)
- 西南干旱对哀牢山常绿阔叶林凋落物及叶面积指数的影响 纪金华, 章永江, 张一平, 等 (2877)
- 阿尔泰山小东沟林区乔木物种丰富度空间分布规律 井学辉, 曹 磊, 臧润国 (2886)

景观、区域和全球生态

太湖流域生态风险评价 许 妍,高俊峰,郭建科 (2896)

基于 GIS 的关中-天水经济区土地生态系统固碳释氧价值评价 周自翔,李 晶,冯雪铭 (2907)

资源与产业生态

淹水条件下控释氮肥对污染红壤中重金属有效性的影响..... 梁佩筠,许 超,吴启堂,等 (2919)

研究简报

高温强光对小麦叶绿体 Deg1 蛋白酶和 D1 蛋白的影响及水杨酸的调节作用 郑静静,赵会杰,胡巍巍,等 (2930)

不同 CO₂ 浓度变化下干旱对冬小麦叶面积指数的影响差异 李小涵,武建军,吕爱锋,等 (2936)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 308 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 32 * 2013-05



封面图说: 肥美的当雄草原——高寒草甸是在寒冷的环境条件下,发育在高原和高山的一种草地类型。其植被组成主要是多年生草本植物,冬季往往有冰雪覆盖,土壤主要为高山草甸土。当雄草原位于藏北高原,藏南与藏北的交界地带,海拔高度为 5200—4300m,受海洋性气候影响,呈现高原亚干旱气候,年平均降水量 293—430mm。主要有小嵩草草甸、藏北嵩草草甸和沼泽草甸等,覆盖度为 60%—90%,其中小嵩草草甸分布面积最大,连片分布于广阔的高原面上。高寒草甸草层低,草质良好,是畜牧业优良的夏季牧场。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201202030140

程汉良, 彭永兴, 董志国, 易乐飞, 孟学平, 申欣, 周旻纯, 陈冬勤. 基于线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I 基因序列的帘蛤科贝类分子系统发育研究. 生态学报, 2013, 33(9): 2744-2753.

Cheng H L, Peng Y X, Dong Z G, Yi L F, Meng X P, Shen X, Zhou M C, Chen D Q. Phylogenetic analysis of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) based on the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene fragment. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(9): 2744-2753.

基于线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I 基因序列的 帘蛤科贝类分子系统发育研究

程汉良*, 彭永兴, 董志国, 易乐飞, 孟学平, 申欣, 周旻纯, 陈冬勤

(淮海工学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222005)

摘要: 对 21 种帘蛤科贝类线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome c oxidase subunit I, *COI*) 基因核苷酸序列进行了分析, 以探讨这一序列在种质鉴定、分子系统发生研究中的应用价值。测序结果表明, 所有物种扩增片段长度均为 707 bp (含引物), 序列 A+T 含量 (62.4%—67.8%) 明显高于 G+C 含量。物种间共有变异位点 379 个, 其中简约信息位点 334 个; 此区段共编码 235 个氨基酸, 种间共有氨基酸变异位点 100 个。以 *COI* 基因片段序列为标记, 用中国蛤蜊 (*Macra chinensis*) 作外群, 构建了 35 种帘蛤科贝类 (其中 14 种贝类 *COI* 序列从 GenBank 下载) 的系统发生树, 结合拓扑结构分析和序列比对分析, 结果表明: 支持将短文蛤 (*Meretrix petechinalis*) 和丽文蛤 (*M. lusoria*) 订为文蛤 (*M. meretrix*) 的同物异名的观点, 建议将丽文蛤和短文蛤订为文蛤的地理亚种; 支持将薄片镜蛤 (*Dosinia corrugata*) 和 *D. angulosa* 订为 2 个独立种的观点; 认为将波纹巴非蛤 (*Paphia undulata*) 和织锦巴非蛤 (*P. textile*) 订为 2 个独立种是合适的。*COI* 基因序列含有丰富的遗传信息, 适合作为帘蛤科贝类种群遗传结构和系统发生研究的分子标记。

关键词: 帘蛤科; 线粒体 DNA; 细胞色素 c 氧化酶亚基 I; 系统发生

Phylogenetic analysis of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) based on the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene fragment

CHENG Hanliang*, PENG Yongxing, DONG Zhiguo, YI Lefei, MENG Xueping, SHEN Xin, ZHOU Minchun, CHEN Dongqin

Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China

Abstract: Sequence analysis based on the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (*COI*) gene fragment was conducted for 21 clam species belonging to the family Veneridae to determine the utility of this sequence in identifying phylogeographic and phylogenetic structure. The DNAs of 21 clam species were extracted and subjected to PCR using primers COI-F and COI-R. The resultant *COI* fragment was 707 bp in all species, with A+T contents ranging from 62.4%—67.8%. The *COI* gene sequences of all 21 species were analyzed using MEGA 5.0 software. Interspecific *COI* sequence divergences was very high, ranging from 7.2%—38.2%, mainly as a result of transitions and transversions. The minimum value of 7.2% was observed between *Meretrix meretrix* and *Meretrix lusoria*, and the maximum value of 38.2% was between *Tapes literata* and *Cyclina sinensis*. *M. lusoria* exhibited 0.4% intraspecific sequence divergence among three sequenced individuals. However, for other species, the *COI* sequences were identical among the three sequenced individuals for each species. An analysis of *COI* gene sequence variation among 21 species revealed 379 variable sites, of

基金项目: 江苏省自然科学基金项目资助 (BK2008191); 江苏省“六大人才高峰”项目资助 (07-G-015)

收稿日期: 2012-02-03; 修订日期: 2012-07-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: CHL3139@163.com

which 334 were parsimony-informative sites, with 72 transitions (*si*) and 93 transversions (*sv*) ($si/sv=0.8$). Meanwhile, no indels (insertions/deletions) were detected in the *COI* sequences from any samples. The percentage of interspecific sequence divergence within the same genus, intergeneric sequence divergence within the same subfamily, and those between subfamilies were analyzed. The mean values were 12.5%—27.3%, 19.7%—29.0% and 29.2%, respectively. The *COI* fragment encodes 235 amino acids, of which 100 sites were variable. A phylogenetic tree of 35 Veneridae clams was constructed based on the *COI* nucleotide sequences, with *Maetra chinensis* as an outgroup species. Tree topologies showed that all species of Veneridae are in the same group, forming a clade distinct from the outgroup species. Within Veneridae, six species of the subfamily Dosininae formed a clade with a bootstrap value of 75%. Two species of the subfamily Venerinae formed another clade with a bootstrap value of 93%. All species of the subfamily Meretricinae formed a monophyletic group with a bootstrap value of 70%, in which *M. meretrix*, *M. lusoria* and *Meretrix petechialis* were first clustered with a high bootstrap value of 99%. This result indicated that *M. meretrix*, *M. lusoria*, and *M. petechialis* have a closer relationship than other species. An analysis of tree topology and sequence alignment indicated that *M. lusoria*, *M. petechialis*, and *M. meretrix* are closely related species. The data support the viewpoint that *M. petechialis* and *M. lusoria* should be treated as synonymous with *M. meretrix*, and may be described as two geographical subspecies. The data also support the perspective that *Dosinia corrugata* and *Dosinia angulosa* are two distinct species. The validity of *Paphia undulata* and *Paphia textile* as different species is also supported. This result reveals that the *COI* gene is an appropriate marker for studies in phylogeny and phylogeography of the Veneridae clams.

Key Words: veneridae; mitochondrial DNA; cytochrome c oxidase subunit I; phylogeny

帘蛤科(Veneridae)贝类隶属于软件动物门(Mollusca)、双壳纲(Bivalvia)、帘蛤目(Venerioda)。该科是双壳类中最大的一个科,约有 500 多种,很多种类具有重要的商业价值^[1]。1951 年 Keen 发表的“双壳类帘蛤科建议分类大纲”和 1954 年发表的“双壳类帘蛤科的命名要点”2 篇文章初步构建了该科的分类系统^[2-3],尔后的学者虽有所修改和补充,但大都以此分类系统为基础。我国贝类学家庄启谦在其《中国动物志——软件动物门:双壳纲:帘蛤科》一书中,记载了中国沿海的 12 个亚科,28 属,17 个亚属共 88 种帘蛤科贝类,并参考 Fischer-Piette 等的系列著作,在属与亚属上进行了一些修正^[4]。由于帘蛤科种类多,形态变异大,不同学者对其分类系统的安排和演化等问题所持观点不尽相同,争议颇多,这些争议依靠传统的形态学方法难以解决。近几年分子生物学技术的发展为探讨帘蛤科贝类系统分类和演化等问题提供了一条新的途径。国内外基于 DNA 序列的帘蛤科分子系统学研究已做了一些工作,解决了一些问题^[1,5-14]。但对中国沿海帘蛤科的系统发育还缺乏全面、系统研究。

本文以中国沿海帘蛤科 8 个亚科,13 个属的 21 种贝类为研究对象,采用特异引物 PCR 扩增线粒体 DNA 的 *COI* 基因片段序列并测序,可望为解决帘蛤科传统分类的一些难点问题提供新的思路 and 理论依据。该研究不仅对于阐明帘蛤科的系统演化关系有基础性理论意义,而且对我国帘蛤种质资源保护与合理开发等具有实际指导意义。

1 材料与方法

1.1 样品收集

试验样品包括 21 种帘蛤科贝类,每物种至少采样 30 个个体。所有标本均保存于 95% 酒精中,样品的分类地位、采集地、凭证标本号和 GenBank 登录号等信息见表 1。此外,还从 GenBank 中下载了 15 种帘蛤科贝类的相关序列用于聚类分析(表 1)。

1.2 DNA 提取

每物种取 3 个个体用于 DNA 提取,方法是取后闭壳肌 50 mg 左右,参照 Winnepeenninckx 的方法提取总 DNA^[15],总 DNA 溶于 TE 中,−20 °C 保存备用。

表 1 本研究所用物种、凭证标本号、采样地点、缩写和 COI 基因片段 GenBank 登录号

Table 1 Species, specimen voucher, localities, abbreviations and GenBank access number of COI gene fragment in this study

物种 Species	凭证标本号 Specimen voucher	采样地点 Localities	缩写 Abbr.	亚科 Subfamily	GenBank 登录号 Accession No.
本研究 This study					
仙女蛤属 <i>Callista brevisiphonata</i>	Cheng200904LYG	连云港	CaCbr	仙女蛤亚科 Callistinae	JN898931
薄片镜蛤 <i>Dosinia (Dosinella) corrugata</i>	Cheng200805DL	大连	DoDeco	镜蛤亚科 Dosininae	JN898932
波纹巴非蛤 <i>Paphia undulata</i>	Cheng201005XT	汕头	TaPun	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898933
等边浅蛤 <i>Gomphina aequilatera</i>	Cheng201005NJD1	南麂岛	TaGae	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898934
丽文蛤 <i>Meretrix lusoria</i>	Cheng201005NJD2	南麂岛	MeMlu1 MeMlu2	文蛤亚科 Meretricinae	JN898935 JN898936
巧楔形蛤 <i>Sunetta concinna</i>	Cheng201005NJD3	南麂岛	SuSco	楔形蛤亚科 Sunettinae	JN898937
织锦巴非蛤 <i>Paphia textile</i>	Cheng200911HK1	海口	TaPte	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898938
裂纹格特蛤 <i>Marcia (Katelaysia) hiantina</i>	Cheng 200911HK2	海口	TaMhi	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898939
皱纹蛤 <i>Periglypta puerpera</i>	Cheng 200911HK3	海口	VePpu	帘蛤亚科 Venerinae	JN898940
缀锦蛤 <i>Tapes literata</i>	Cheng 200911HK4	海口	TaTli	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898941
钝缀锦蛤 <i>Tapes dorsatus</i>	Cheng 200911HK5	海口	TaTdo	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898942
棕带仙女蛤 <i>Callista erycina</i>	Cheng 200911HK6	海口	CaCer	仙女蛤亚科 Callistinae	JN898943
帘文蛤 <i>Meretrix lyrata</i>	Cheng 200911HK7	海口	MeMly	文蛤亚科 Meretricinae	JN898944
和葛巴非蛤 <i>Paphia (Paphia) amabilis</i>	Cheng 200911HK8	海口	TaPam	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898945
巴非蛤 <i>Paphia (Paphia) papilionacea</i>	Cheng200805LYG1	连云港	TaPpa	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898946
菲律宾蛤仔 <i>Ruditapes philippinarum</i>	Cheng200805LYG2	连云港	TaRph	缀锦蛤亚科 Tapetinae	JN898947
日本镜蛤 <i>Dosinia (Phacosoma) japonica</i>	Cheng200805LYG4	连云港	DoDja	镜蛤亚科 Dosininae	JN898948
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	Cheng200805LYG5	连云港	MeMme	文蛤亚科 Meretricinae	JN898949
硬壳蛤 <i>Mercenaria mercenaria</i>	Cheng200805LYG6	连云港	ChMme	雪蛤亚科 Chioninae	JN898950
紫石房蛤 <i>Saxidomus purpuratus</i>	Cheng200805LYG7	连云港	CaSpu	仙女蛤亚科 Callistinae	JN898951
青蛤 <i>Cyclina sinensis</i>	Cheng200805LYG8	连云港	CyCsi	青蛤亚科 Cyclininae	JN898952
GenBank 下载 Download from GenBank					
江户布目蛤 <i>Protothaca jedomensis</i>				雪蛤亚科 Chioninae	HM124607
<i>Dosinia (Dosinella) angulosa</i>				镜蛤亚科 Dosininae	HM124574
帆镜蛤 <i>Dosinia (Bonartemis) histrio</i>				镜蛤亚科 Dosininae	HQ703155
<i>Dosinia victoriae</i>				镜蛤亚科 Dosininae	DQ184801
射带镜蛤 <i>Dosinia (Phacosoma) troscheli</i>				镜蛤亚科 Dosininae	HM124576
扁皱纹蛤 <i>Periglypta compressa</i>				帘蛤亚科 Venerinae	HM124606
<i>Callista brevisiphonata</i>				仙女蛤亚科 Callistinae	HM124569
日本格特蛤 <i>Marcia japonica</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	HM124600
理纹格特蛤 <i>Marcia marmorata</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	HQ703298
真曲巴非蛤 <i>Paphia (Paphia) euglypta</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	DQ184827
沟纹巴非蛤 <i>Paphia (Paphia) exarata</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	EF367170
<i>Paphia (Paphia) vernicosa</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	DQ184828
杂色蛤 <i>Ruditapes variegata</i>				缀锦蛤亚科 Tapetinae	HM124604
斧文蛤 <i>Meretrix lamarchii</i>				文蛤亚科 Meretricinae	HM124579
短文蛤 <i>Meretrix petechialis</i>				文蛤亚科 Meretricinae	HM124583
外群 Outgroup					
中国蛤蜊 <i>Mactra chinensis</i>				帘蛤目, 蛤蜊科	EU118000

1.3 PCR 扩增及产物克隆测序

参考 Folmer^[16] 无脊椎动物 COI 通用引物并根据贝类 COI 基因序列进行适当调整, 设计了 1 对适用于双

壳贝类 COI 扩增的引物, COI-F 5' → AGDACHAATCATAAAGATATTGGHAC 和 COI-R 5' → TAMAC YTCWGGRTGACCAAAAAAYCA, 扩增片段长度预期 707 bp。PCR 反应体系为 50 μ L, 反应体系内含: 模板 DNA 2 μ L, 10 $\times$ buffer 5.0 μ L (含 20 mmol/L Mg^{2+}), dNTP 1.0 μ L (各含 10 mmol/L), 引物各 1.0 μ L (25 μ mol/L), Taq 酶 (MBI) 0.5 μ L (5 U/ μ L), 加 ddH₂O 至 50 μ L; PCR 反应在 Eppendorf 的热循环仪上进行, 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 然后是 30 个循环的 PCR 反应, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s; 最后 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 7 min。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 切取目的条带, 用 EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit (BBI) 按推荐方法胶回收, 将目的片段与 T 载体连接, 转化到感受态 DH5 α , 蓝白斑筛选, 挑白斑用原 PCR 引物进行验证, 送上海生工采用 M13 通用引物双向测序。

1.4 序列分析

使用 DNASTAR 5.01 软件包中的 SeqMan 对正反序列进行拼接, 当正反序列不配对时, 查阅荧光图进行校正。获得的一致序列用 EditSeq 进行编辑和分析, 采用无脊椎动物线粒体遗传密码把得到 COI 基因片段翻译成氨基酸序列; 用 MegAlign 对序列进行比对, 并计算差异百分比。用 MEGA 5.0 统计变异位点数 (同时统计发生在密码子第 1 位、第 2 位和第 3 位上的变异位点数)、替换 (si) 和颠换 (sv) 位点数, 以及简约信息位点 (parsim-informative site) 数, 采用相邻连接法 (Kimura 2-parameter 模型, 10000 次重复) 进行系统发生分析并构建基于 COI 片段序列的分子系统发生树^[17]。

2 结果

2.1 帘蛤科贝类 COI 基因片段序列分析

对隶属于 8 个亚科的 21 种帘蛤科贝类 COI 基因片段进行了 PCR 扩增并克隆测序, 所有序列已提交 GenBank 数据库 (表 1)。序列测定结果表明, COI 基因片段长度均为 707 bp, A+T 含量 62.4%—67.8%, 平均为 64.9%, A+T 含量明显高于 G+C 含量, 符合线粒体基因碱基组成特点。第一密码子位点的 A+T 平均含量为 57.7%, 第二密码子的 A+T 平均含量为 59.1%, 第三密码子的 A+T 含量最高为 78.2%。

用 MEGA 软件对 21 种贝类 COI 基因片段序列进行了分析, 序列差异百分比及碱基差异数见表 2。种间序列差异度 7.2%—38.2%, 其中文蛤属的文蛤 (MeMme) 与丽文蛤 (MeMlu) 最小为 7.2%; 缀锦蛤亚科的缀锦蛤 (TaTli) 与青蛤亚科的青蛤 (CyCsi) 最大为 38.2%。在 707 个位点中, 种间有变异位点 379 个, 其中转换 (si) 72 处, 颠换 (sv) 93 处, si/sv=0.8, 所有测序个体 COI 基因片段序列不存在插入/缺失 (indel); 种间简约信息位点 (parsim-informative site) 334 个。丽文蛤所测 3 个个体中, 发现有种内差异, 序列差异百分比为 0.4%, 并作为 2 个单倍型 (MeMlu1 和 MeMlu2) 提交 GenBank。

对 21 种帘蛤科贝类 COI 序列在属内种间、亚科内属间和亚科间差异进行了分析 (表 3)。属内不同种之间序列差异度平均为 12.5%—27.3%, 亚科内不同属之间序列差异度平均为 19.7%—29.0%, 不同亚科间序列差异度平均为 29.2%。

2.2 帘蛤科 COI 基因片段编码氨基酸序列分析

帘蛤科贝类 COI 基因片段共编码 235 个氨基酸, 其氨基酸序列比对见图 1。

用 MEGA 对 21 种帘蛤科贝类的 COI 氨基酸序列进行了比对和分析。碱基替换在氨基酸密码子的第一、二、三位上都存在, 但发生在第三位最多。种间有碱基变异位点 379 个, 其中 101 个发生在密码子第一位, 60 个发生在密码子第二位, 218 个发生在密码子第三位。由于密码子的兼并性, 一些碱基的替换并不引起氨基酸的改变。在 235 个氨基酸中共有 100 个变异位点, 其中 82 个是简约信息位点。最保守的氨基酸为精氨酸 (图 1), 在所有 21 种帘蛤科贝类中该氨基酸位点完全相同, 表明其对该蛋白功能的重要性。等边浅蛤 (TaGae) 与棕带仙女蛤 (CaCer), 以及缀锦蛤 (VePpu) 与仙女蛤 (CaChr) 种间分别有碱基变异位点 199 个和 201 个, 氨基酸的变异位点数最多均为 63 个, 氨基酸差异度最大均为 33.2%; 而文蛤与丽文蛤间虽有碱基变异位点 48 个, 但氨基酸的变异位点数仅为 1 个, 氨基酸差异度只有 0.4%。

表 2 帘蛤科贝类 COI 基因片段序列差异百分比和碱基差异数

物种 Species		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Table 2 Percentage of sequence divergences and base variation of COI gene fragment across 21 species of Veneridae																							
1. CaChr	* * *	63/81	52/33	75/116	56/87	55/104	61/117	59/71	60/71	59/72	61/75	61/79	75/113	81/109	81/111	71/116	65/112	69/115	73/113	73/122	83/118	61/112	61/112
2. CaCer	23.8	* * *	75/80	78/101	67/82	71/99	77/94	73/84	74/84	62/73	71/88	66/74	85/114	85/102	101/102	93/101	78/113	82/108	72/122	85/107	96/111	78/99	78/99
3. CaSpu	13.2	26.1	* * *	69/115	61/78	61/103	66/104	62/68	69/69	66/70	70/74	84/110	83/110	87/104	82/105	78/105	80/108	82/114	69/113	85/109	63/99	63/99	63/99
4. ChMme	33.5	31.0	32.0	* * *	74/97	61/78	67/67	66/109	67/109	69/96	64/107	73/115	82/85	81/95	91/97	86/96	70/114	61/103	67/83	64/100	82/120	61/64	61/64
5. CyCsi	23.6	24.8	22.9	29.3	* * *	61/101	70/88	66/68	69/68	57/67	61/64	47/72	78/116	78/112	91/100	80/107	74/115	66/116	65/118	75/119	88/123	64/101	64/101
6. DoDeco	26.7	29.1	27.8	22.9	27.4	* * *	52/49	58/101	61/101	52/92	55/103	61/99	72/75	60/89	77/89	73/90	66/90	65/87	66/77	59/90	67/104	52/68	52/68
7. DoDja	30.7	29.3	29.0	22.0	26.6	15.9	* * *	62/102	63/102	66/99	65/98	63/106	77/82	77/90	87/94	85/89	77/97	76/94	60/78	66/95	79/113	62/63	62/63
8. MeMlu1	21.2	26.5	21.2	30.1	22.0	26.7	27.8	* * *	3/0	58/41	42/6	63/70	80/108	87/106	93/96	68/109	70/97	77/96	66/106	59/107	87/107	58/97	58/97
9. MeMlu2	21.4	26.7	21.2	30.3	22.6	27.4	28.0	0.4	* * *	61/41	45/6	66/70	82/108	89/106	96/96	70/109	73/97	78/96	68/116	61/107	89/107	60/97	60/97
10. MeMly	21.3	22.1	22.7	28.0	20.0	23.8	28.0	15.6	16.2	* * *	55/45	64/71	76/109	69/95	91/91	85/100	72/100	68/95	73/117	72/104	85/116	60/88	60/88
11. MeMme	22.3	26.8	22.3	29.2	20.3	26.5	27.6	7.2	7.7	15.8	* * *	69/74	76/114	86/110	94/102	71/115	72/101	79/102	69/114	65/113	78/111	64/103	64/103
12. SuSco	23.0	23.1	23.9	32.9	19.1	27.0	28.8	21.7	22.3	22.1	23.7	* * *	77/104	88/102	91/102	82/105	79/105	73/102	64/116	75/107	88/109	60/105	60/105
13. TaGae	32.9	35.4	34.3	28.6	34.2	24.5	26.9	32.9	33.4	32.3	33.3	31.4	* * *	86/90	94/96	80/101	81/101	79/100	63/56	81/99	99/109	76/73	76/73
14. TaMhi	33.4	32.8	34.1	30.4	33.4	24.8	28.5	34.1	34.6	27.8	34.8	33.5	30.5	* * *	65/72	67/71	67/75	62/74	73/98	67/49	82/93	79/87	79/87
15. TaPam	33.8	36.6	33.7	33.1	33.8	28.3	31.6	33.4	34.1	31.8	34.9	34.2	33.6	22.5	* * *	72/27	76/55	80/60	76/100	73/61	95/79	82/93	82/93
16. TaPpa	32.6	34.5	32.8	31.7	32.7	27.7	30.1	30.5	30.9	32.4	32.4	32.8	31.4	22.7	15.8	* * *	65/58	72/61	79/107	60/62	84/90	79/96	79/96
17. TaPte	30.5	33.6	31.8	32.0	33.1	26.2	29.9	28.4	29.1	29.5	29.7	32.1	31.7	23.5	21.5	19.9	* * *	62/43	78/111	61/66	79/88	66/88	66/88
18. TaPun	32.0	33.4	32.9	27.8	31.5	25.4	29.1	29.7	30.0	27.6	31.4	30.1	31.0	22.3	23.3	21.9	16.7	* * *	71/112	77/67	84/101	67/91	67/91
19. TaRph	32.4	34.2	34.7	25.0	31.8	23.7	22.7	31.5	32.0	33.3	31.8	31.1	19.2	29.3	30.3	32.5	33.1	31.8	* * *	60/105	90/111	72/85	72/85
20. TaTdo	34.4	33.9	31.6	27.8	34.2	24.8	27.2	28.2	28.6	30.3	30.7	31.6	31.3	18.7	22.1	19.7	20.6	24.0	28.0	* * *	75/86	71/92	71/92
21. TaTti	35.8	37.4	34.3	36.1	38.2	29.2	33.8	34.3	34.8	35.9	33.1	35.0	37.7	30.2	30.3	30.0	28.5	32.4	35.9	27.3	* * *	88/112	88/112
22. VerPpu	29.6	30.6	27.4	20.3	28.0	19.3	20.3	25.9	26.4	24.6	28.4	28.0	24.9	28.3	30.2	30.2	25.8	26.6	26.4	27.6	35.7	* * *	* * *

对角线上为 si/sv, 对角线下为序列差异百分比(%)

表 3 帘蛤科贝类 *COI* 基因片段序列属内种间、属间和亚科间差异百分比/%Table 3 The interspecies, intergenus and intersubfamilies percentage of sequence divergences /% of *COI* gene fragment in Veneridae

亚科名 Subfamily	属名 Genus	种类数 Species	属内种间 Interspecies			亚科内属间 Intergenous			亚科间 Intersubfamilies		
			最小值 Min	最大值 Max.	平均值 Average	最小值 Min	最大值 Max.	平均值 Average	最小值 Min	最大值 Max.	平均值 Average
仙女蛤亚科 Callistinae	<i>Callista</i>	2	—	—	23.8	13.2	26.1	19.7	19.1	38.2	29.2
	<i>Saxidomus</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
雪蛤亚科 Chioninae	<i>Mercenaria</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
青蛤亚科 Cyclininae	<i>Cyclina</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
镜蛤亚科 Dosininae	<i>Dosinia</i>	2	—	—	15.9	—	—	—	—	—	—
文蛤亚科 Meretricinae	<i>Meretrix</i>	3	7.2	16.2	12.5	—	—	—	—	—	—
楔形蛤亚科 Sunettinae	<i>Sunetta</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
缀锦蛤亚科 Tapetinae	<i>Gomphina</i>	1	—	—	—	18.7	37.7	29.0	—	—	—
	<i>Marcia</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Paphia</i>	4	15.8	23.3	22.7	—	—	—	—	—	—
	<i>Ruditapes</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Tapes</i>	2	—	—	27.3	—	—	—	—	—	—
帘蛤亚科 Venerinae	<i>Periglypta</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—

2.3 帘蛤科贝类 *COI* 基因片段序列的聚类分析

以本研究 21 种和 GenBank 下载的 15 种帘蛤科贝类 *COI* 基因片段核苷酸序列为标记,用蛤蜊科 (Mactridae) 的中国蛤蜊 (*Mactra chinensis*) 作外群,采用 NJ 法构建了帘蛤科贝类的系统发生树 (图 2)。

由图 2 可见,基于 *COI* 基因片段核苷酸序列构建的 NJ 树拓扑结构显示:帘蛤科全部物种聚为一枝与外群分开;在帘蛤科贝类中,镜蛤亚科 (Dosininae) 的 6 个种首先聚为 1 个单元,其结点自展值 (bootstrap value, BPs) 为 75%,其中同属镜蛤属 (*Dosinia*) 圆镜蛤亚属 (*Dosinella*) 的薄片镜蛤 (*DoDco*) 与 *D. angulosa* 聚为一枝,同属扁镜蛤亚属 (*Phacosoma*) 的日本镜蛤 (*DoDja*) 与 *D. troscheli* 聚为一枝,同属南镜蛤亚属 (*Bonartemis*) 的 *D. histrio* 与 *D. victoriae* 聚在一起,聚类结果与传统分类一致。帘蛤亚科 (Venerinae) 的 2 个种单独聚为一枝, BPs 值为 93%。雪蛤亚科 (Chioninae) 的 2 个种未能聚在一起。缀锦蛤亚科 (Tapetinae) 的情况比较复杂,该亚科 15 个种未能聚为独立一枝,首先,蛤仔属 (*Ruditapes*) 的菲律宾蛤仔 (*TaRph*) 和杂色蛤 (*R. variegata*),以及浅蛤属 (*Gomphina*) 的等边浅蛤 (*TAGae*) 聚为一枝,在该枝中菲律宾蛤仔首先与等边浅蛤聚在一起, BPs 值为 95%,而不是先与同属的杂色蛤聚在一起;其次,巴非蛤属 (*Paphia*)、格特蛤属 (*Marcia*)、缀锦蛤属 (*Tapes*) 的种类聚为一枝, BPs 值为 89%,在该枝中 3 个属的种类互有交叉,不能单独聚在一起。青蛤亚科 (Cyclininae)、楔形蛤亚科 (Sunettinae)、仙女蛤亚科 (Callistinae) 和文蛤亚科 (Meretricinae) 的种类聚为一大枝, BPs 值为 96%,在该枝中,文蛤亚科的种类单独聚为一枝, BPs 值 70%,其中传统分类中的文蛤 (*MeMme*)、丽文蛤 (*MeMlu*) 和短文蛤 (*M. petechialis*) 首先聚在一起, BPs 值高达 99%;仙女蛤亚科的 4 个种有 3 个聚在一起, BPs 值 98%,其中 *CaCbr* 与 *Callista brevisiphonata* 序列差异度 2.8%,应属同一物种,但棕带仙女蛤 (*CaCer*) 未能与上述 3 个种聚在一起,而是与青蛤亚科和楔形蛤亚科的种类聚在一起,说明它们之间的亲缘关系较近。Shimamoto 通过对帘蛤科贝壳的细微结构的研究来推断其演化关系,认为文蛤亚科和楔形蛤亚科是从仙女蛤属的仙女蛤亚属类群发展而来^[18],本研究也说明他们之间分歧时间较晚。由此可见,基于 *COI* 序列的帘蛤科系统发育关系与传统形态分类既有一致之处,也存在一些分歧。

3 讨论

线粒体基因组具有分子量小、突变率高、无组织特异性等特点,被称为生物体种系发生的“分子钟”,常用于分子系统学研究。大量研究表明,在线粒体基因组中,16S rRNA 基因比较保守,适合属及以上阶元系统发育关系的探讨,而细胞色素 c 氧化酶 I (*COI*) 基因变异大于 16S rDNA,含有丰富的遗传信息,系统解析能力较强,被称为条形码基因 (barcoding gene),主要用于属、种级系统发育关系研究^[19-22]。对韩国海域鲍科

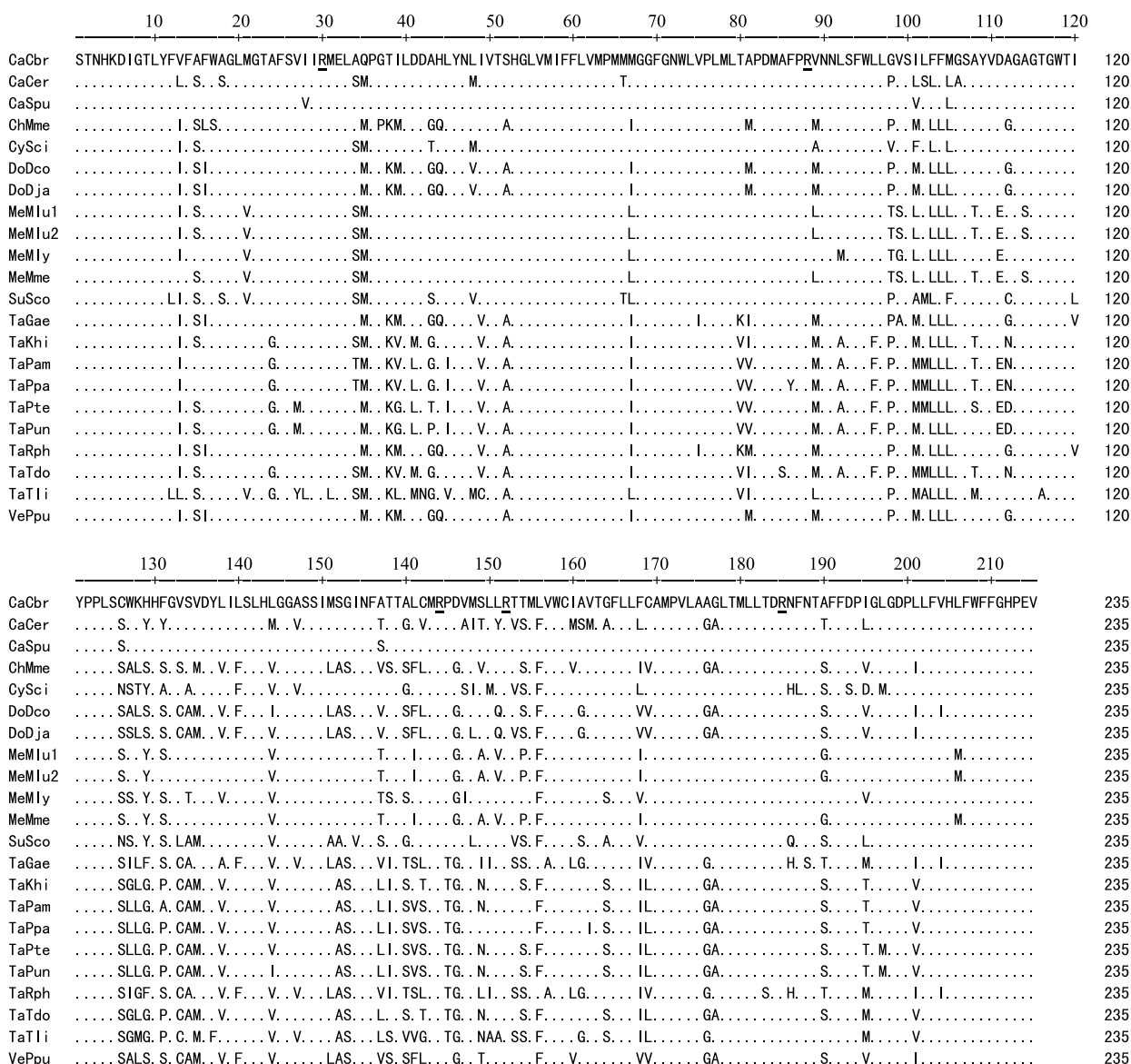


图1 帘蛤科21种贝类COI氨基酸序列比对

Fig. 1 Alignment of amino acid sequences coded by COI gene fragment across 21 species in Veneridae

下划线氨基酸示保守的精氨酸位点

(Haliotidae)的研究表明:16S rDNA 比 COI 保守,但2个序列都能提供有效系统发育信息^[19]。对头足纲(Cephalopoda)的研究表明,COI 适合属内水平的系统关系的分析,而16S rDNA 则适合更高阶元^[20]。对7种饰贝科(Dreissenidae)贝类的研究发现:*Dreissena rostriformis* 和 *D. bugensis* 实际上是由于环境不同(淡水和盐水)而形成的2个亚种^[21]。对马蹄螺科(Trochidae)30个种的系统发育进行了研究,所揭示的种间关系完全支持传统分类^[22]。Park 和 Kim 采用 COI 序列对不同地理种群亚洲蚌(*Corbicula*)的系统学进行了研究,把 *Corbicula* 划分为河口和淡水两个分枝^[23]。

本研究对隶属8个亚科,13个属的21种帘蛤科贝类 COI 基因片段序列进行了PCR扩增,扩增片段长度均为707 bp(含引物),扩增片段A+T含量远高于G+C含量,符合线粒体基因的特点。该研究对于揭示帘蛤科的系统演化关系,解决传统分类的一些难点问题提供了新的思路和理论依据。

文蛤亚科文蛤属(*Meretrix*)的种类由于贝壳形态和壳面花纹、色彩变化较大,在种名的运用上存在许多不一致的看法。Fisher-Piette 把 *M. petechialis* 和 *M. lusoria* 订为 *M. meretrix* 的同种异名,甚至将众多学者认为

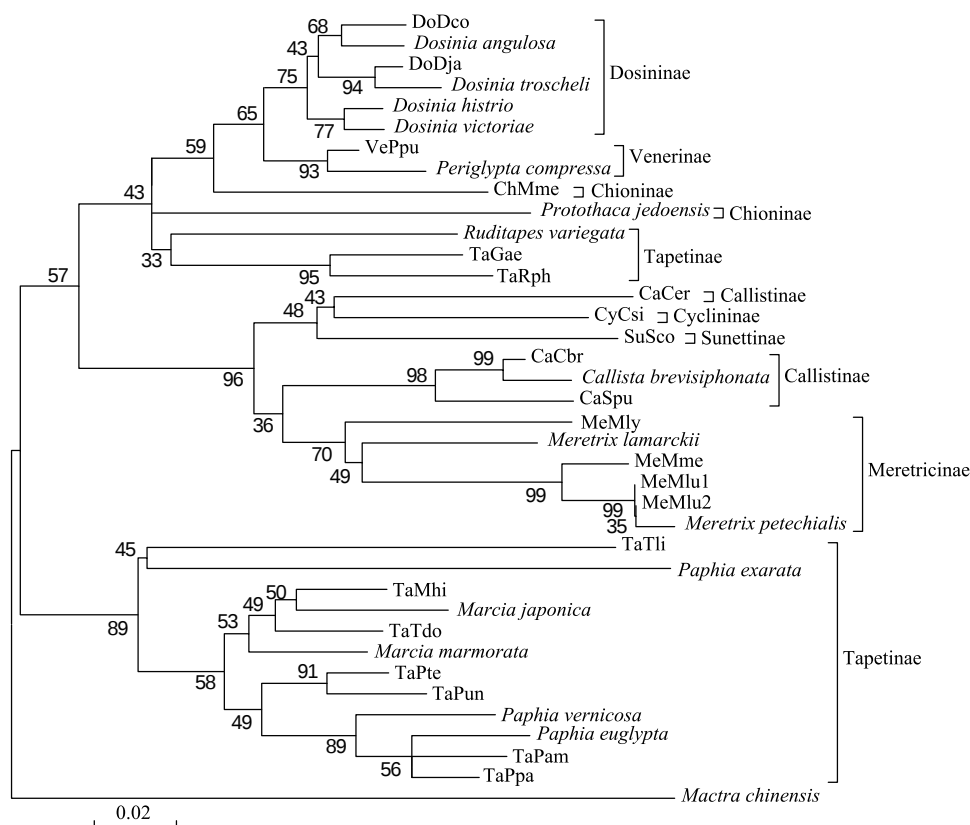


图2 基于 *COI* 基因核苷酸序列构建的帘蛤科贝类的系统发生树

Fig.2 Tree topology constructed in terms of *COI* gene fragment sequences of 36 species in Veneridae

以中国蛤蜊 (*M. chinensis*) 为外群

是独立种的 *M. lamarckii* 也并入其中。而 Habe 则持不同观点,他认为文蛤属有 5 个种:*M. meretrix* 产于日本冲绳、台湾以南和西太平洋;*M. lusoria* 产于日本北海道南部、朝鲜和中国;*M. lamarckii* 产于日本本州、朝鲜和中国;*M. petechialis* 产于朝鲜、中国沿海;*M. lyrata* 产于东南亚^[4]。本研究丽文蛤采自南麂岛,贝壳后缘大于前缘,后侧缘末端尖,文蛤采自连云港,贝壳前、后缘等长,后侧缘末端圆,其他形态特征极为相似,基于 *COI* 序列的聚类分析表明:丽文蛤 (*MeMlu*) 首先与短文蛤 (*M. petechialis*) 聚为一枝, BPs 值高达 99% (图 2), 而且序列差异度只有 0.9%, 因此, 可以确认它们是同种异名; 而文蛤 (*MeMme*) 随后与丽文蛤和 *M. petechialis* 聚在一起, BPs 值高达 99% (图 2), 虽然文蛤和丽文蛤 *COI* 核苷酸序列差异达 7.2% (表 2), 但 *COI* 氨基酸序列比对发现, 其氨基酸只有 1 个不同。Nikula 对鸟蛤科 (*Cardiidae*) 的 *Cerastoderma glaucum* 不同地理种群 *COI* 基因片段序列进行了研究, 在 129 个测序个体中发现 32 个单倍型, 并明显分为两组, 组间序列差异 6.2%^[24]。孔晓瑜的研究发现, 中华绒螯蟹和日本绒螯蟹 *COI* 基因片段序列差异为 4.51%, 并据此支持他们是同一种的两个地理亚种的观点^[25]。Avice 认为线粒体基因种内遗传距离大部分小于 1%, 只有极少数情况下会大于 2%^[26]。因此, 本研究结果认同潘宝平和 Chen 等^[7,8] 的观点, 支持将短文蛤和丽文蛤订为文蛤的同物异名, 鉴于它们的 *COI* 序列差异达 7.2%, 建议将丽文蛤和短文蛤订为文蛤的地理亚种。

镜蛤亚科形态特征的差异度小, 鉴定较困难。关于薄片镜蛤 (*Dosinia corrugata*) 和 *D. angulosa* 的关系, Habe 订为 2 个种, 但 Kuroda 和 Habe 随后又把 *D. angulosa* 合并到 *D. corrugata* 作为同种异名^[4]。基于 *COI* 序列的聚类分析表明两个种首先聚在一起, BPs 值 68% (图 2), 表明它们的亲缘关系较近, 但二者的序列差异度达 11.9%, 因此, 支持将它们定为 2 个种的观点。

缀锦蛤亚科中菲律宾蛤仔 (*R. philippinarum*) 和杂色蛤仔 (*R. variegata*) 作为两个独立的种, 国内对它们的识别鉴定混乱几十年, 往往把花色缤纷的菲律宾蛤仔订名为杂色蛤仔。同时, 这两个种的归属问题一直较

为混乱,早期分类学者把它们列入 *Venus* 属。1951 年 Keen 把 *Ruditapes* 作为 *Tapes* 的亚属,1971 年 Fischer-Piette 对缀锦蛤亚科进行订正,把 *Ruditapes* 提升为属^[4]。通过 *COI* 序列聚类分析,菲律宾蛤仔和杂色蛤仔不但未能与 *Tapes* 属聚在一起,甚至也未能与缀锦蛤亚科聚为一枝(图 2),同时,菲律宾蛤仔并不是首先与同属的杂色蛤聚在一起,而是先与等这浅蛤(*Gomphina aequilatera*)聚在一起,BPs 值高达 95%,菲律宾蛤仔与等边浅蛤的序列差异度 19.2%,也要小于它与杂色蛤的序列差异度 28.1%。本研究结果说明:菲律宾蛤仔和杂色蛤仔是两个独立种;等边浅蛤的分类地位需要重新考订;蛤仔属(*Ruditapes*)和浅蛤属(*Gomphina*)归属亚科也需重新考订。潘鹤婷等采用 16S 和 *COI* 对缀锦蛤亚科的系统学分析也发现浅蛤属与蛤仔属聚类关系和属间划分出现交错现象^[9],因此,浅蛤属与蛤仔属的种间关系及其归属亚科问题有待今后更深入研究。波纹巴非蛤(*P. undulata*)和织锦巴非蛤(*P. textile*)这 2 个种在形态上十分近似,是否同物异名存在争议,庄启谦根据分布上的不同和个体大小、壳的薄厚等差异,将福建采集的样本暂命名为 *P. undulata*,把海南采集到的样本暂命名为 *P. textile*^[4]。本研究波纹巴非蛤采自汕头,个体小,壳较薄,织锦巴非蛤采自海口,个体大,壳较厚,二者形态上接近,通过 *COI* 序列聚类分析,波纹巴非蛤(TaPun)和织锦巴非蛤(TaPte)聚为一枝,BPs 值为 91%(图 2),说明它的亲缘关系较近,但经序列比对分析,2 个物种间序列差异度达 16.7%(表 2),因此,将它们订为两个独立的种是合适的。

基于 *COI* 基因序列的帘蛤科贝类分子系统发生研究,为解决帘蛤科传统分类的一些难点问题提供新的思路 and 理论依据。研究表明 *COI* 基因片段序列适合帘蛤科贝类种群、种间,甚至属上阶元分子系统学研究,在帘蛤科贝类系统重建中具有重要意义。

References:

- [1] Canapa A, Schiaparelli S, Marota I, Barucca M. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Veneridae (Mollusca: Bivalvia). *Marine Biology*, 2003, 142(6): 1125-1130.
- [2] Keen A M. Outline of a proposed classification of the pelecypod family Veneridae. *Conchological Club of Southern California, Minutes*, 1951, 113: 1-10.
- [3] Keen A M. Nomenclatural notes on the pelecypod family Veneridae. *Conchological Club of Southern California, Minutes*, 1954, 139: 50-55.
- [4] Zhuang Q Q. *Fauna Sinica Phylum Mollusca Class Bivalvia Family Veneridae*. Beijing: Science Press, 2001, 39-40.
- [5] Kappner I, Bieler R. Phylogeny of *venus* clams (Bivalvia: Venerinae) as inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 40(2): 317-331.
- [6] Kim J J, Kim S C, Hong H C. Molecular phylogeny of veneridae (Bivalvia: Heteroconchia) on the basis of partial sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I. *Korean Journal of Malacology*, 2004, 20(2): 171-181.
- [7] Pan B P, Wu Q, Zhang S P, Song L S, Bu W J. Molecular phylogeny of *Meretrix* (Mollusca, Bivalvia) based on 16S rRNA genes and ITS1 sequences. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2006, 37(4): 342-347.
- [8] Chen A H, Li Z X, Feng G N. Phylogenetic relationships of the genus *Meretrix* (Mollusca: Veneridae) based on mitochondrial *COI* gene sequences. *Zoological Research*, 2009, 30(3): 233-239.
- [9] Pan H T, Yuan Y, Wu Q, Zhang S P, Pan B P. Molecular phylogeny of Tapetinae (Mollusca, Bivalvia) based on mtDNA sequence. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2008, 39(3): 284-290.
- [10] Chen J, Li Q, Kong L F, Zheng X D. *COI*-based DNA barcoding in Tapetinae species (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) along the coast of China. *Zoological Research*, 2010, 31(4): 345-352.
- [11] Li T W, Zhang A G, Su X R, Li C H, Lu B Z, Lin Z H, Chai X L. The analysis of ITS2 in *Meretrix meretrix* with different stripes. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2006, 37(2): 132-137.
- [12] Cheng H L, Meng X P, Ji H J, Dong Z G, Chen S Y. Sequence analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacers and 5. 8S ribosomal RNA gene in representatives of the clam family Veneridae (Mollusca: Bivalvia). *The Journal of Shellfish Research*, 2006, 25(3): 833-840.
- [13] Cheng H L, Xia D Q, Wu T T, Meng X P, Ji H J, Dong Z G, Chen S Y. Sequence analysis of mitochondrial *COI* gene fragment of six Veneridae clams (Mollusca: Bivalvia) and four populations of *Meretrix meretrix*. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 29(5): 109-116.
- [14] Cheng H L, Peng Y X, Wang F, Meng X P, Yan B L, Dong Z G. Sequence analysis of 18S rRNA gene of six Veneridae clams (Mollusca: Bivalvia). *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(4): 559-567.

- [15] Winnepeninckx B, Backeljau T, De Wachter R. Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genet*, 1993, 9 (12): 407-407.
- [16] Folmer O, Black M, Hoeh W. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3(5): 294-299.
- [17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [18] Shimamoto M. Shell microstructure of the Veneridae (Bivalvia) and its phylogenetic implications. *Tohoku University, Science Reports Second Series (Geology)*, 1986, 56: 1-39.
- [19] An H S, Jee Y J, Min K S, Kim B L, Han S J. Phylogenetic analysis of six species of pacific abalone (Haliotidae) based on DNA sequences of 16S rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. *Marine Biotechnology*, 2005, 7(4): 373-380.
- [20] Lin X Z, Zheng X D, Xiao S, Wang R C. Phylogeny of the cuttlefishes (Mollusca: Cephalopoda) based on mitochondrial *COI* and 16S rRNA gene sequence data. *Acta Oceanologica Sinica*, 2004, 23(4): 699-707.
- [21] Theriault T W, Docker M F, Orlova M I, Heath D D, MacIsaac H J. Molecular resolution of the family Dreissenidae (Mollusca: Bivalvia) with emphasis on Ponto-Caspian species, including first report of *Mytilopsis leucophaea* in the Black Sea basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 30(3): 479-489.
- [22] Donald K M, Kennedy M, Spencer H G. The phylogeny and taxonomy of austral monodontine topshells (Mollusca: Gastropoda: Trochidae), inferred from DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, 37(2): 474-483.
- [23] Park J K, Kim W. Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, 29(3): 529-539.
- [24] Nikula R, Väinölä R. Phylogeography of *Cerastoderma glaucum* (Bivalvia: Cardiidae) across Europe: a major break in the Eastern Mediterranean. *Marine Biology*, 2003, 143(2): 339-350.
- [25] Kong X Y, Yu Z N, Lu Y J, Gao T X, Wu Y F. Comparative study of mitochondrial *COI* gene fragment between Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and Japanese mitten crab (*Eriocheir japonica*). *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2001, 31(6): 861-866.
- [26] Avise J C. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Cambridge: Harvard University Press, 2000.

参考文献:

- [4] 庄启谦. 中国动物志-软件动物门: 双壳纲: 帘蛤科. 北京: 科学出版社, 2001, 39-40.
- [7] 潘宝平, 吴琪, 张素萍, 宋林生, 卜文俊. 文蛤属 (*Meretrix*) 16S rRNA 基因及 ITS1 序列的系统学分析. *海洋与湖沼*, 2006, 37(4): 342-347.
- [9] 潘鹤婷, 袁媛, 吴琪, 张素萍, 潘宝平. 缀锦蛤亚科 (Tapetinae) 贝类线粒体 DNA 序列的系统学分析. *海洋与湖沼*, 2008, 39(3): 284-290.
- [10] 陈军, 李琪, 孔令锋, 郑小东, 于瑞海. 基于 *COI* 序列的 DNA 条形码在中国沿海缀锦蛤亚科贝类中的应用分析. *动物学研究*, 2010, 31(4): 345-352.
- [11] 李太武, 张安国, 苏秀榕, 李成华, 刘保忠, 林志华, 柴雪良. 不同花纹文蛤 (*Meretrix meretrix*) 的 ITS2 分析. *海洋与湖沼*, 2006, 37(2): 132-137.
- [13] 程汉良, 夏德全, 吴婷婷, 孟学平, 吉红九, 董志国, 陈淑吟. 6 种帘蛤科贝类及 4 个地理种群文蛤线粒体 *COI* 基因片段序列分析. *海洋学报*, 2007, 29(5): 109-116.
- [14] 程汉良, 彭永兴, 王芳, 孟学平, 阎斌伦, 董志国. 6 种帘蛤科贝类 18S rRNA 基因全序列比较分析. *中国水产科学*, 2008, 15(4): 559-567.
- [25] 孔晓瑜, 喻子牛, 刘亚军, 高天翔, 武云飞. 中华绒螯蟹与日本绒螯蟹线粒体 *COI* 基因片段的序列比较研究. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2001, 31(6): 861-866.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 9 May, 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Analysis of subject trends in research on sustainable development CHA Na, WU Jianguo, YU Runbing (2637)
- Metabolic scaling theory and its application in microbial ecology HE Jizheng, CAO Peng, ZHENG Yuanming (2645)
- Research progress on endophyte-promoted plant nitrogen assimilation and metabolism
..... YANG Bo, CHEN Yan, LI Xia, et al (2656)
- Review on the development of landscape architecture ecology in China YU Yijing, MA Jinyi, YUAN Yunjue (2665)

Autecology & Fundamentals

- Evaluating tillage practices impacts on soil organic carbon based on least limiting water range
..... CHEN Xuewen, WANG Nong, SHI Xiuhuan, et al (2676)
- Controls over soil organic carbon content in grasslands TAO Zhen, CI Dan Langjie, ZHANG Shenghua, et al (2684)
- Antagonistic interactive effects of exogenous calcium ions and parasitic *Cuscuta australis* on the morphology and structure of
Alternanthera philoxeroides stems CHE Xiuxia, CHEN Huiping, YAN Qiaodi, et al (2695)
- Correlation between pigment content and reflectance spectrum of *Phyllostachys pubescens* stems during its rapid growth stage
..... LIU Lin, WANG Yukui, WANG Xingxing, et al (2703)
- Response of leaf functional traits and the relationships among them to altitude of *Salix dissa* in Balang Mountain
..... FENG QiuHong, CHENG Ruimei, SHI Zuomin, et al (2712)
- Effects of phosphate and organic matter applications on arsenic uptake by and translocation in *Isatis indigotica*
..... GAO Ningda, GENG Liping, ZHAO Quanli, et al (2719)
- Effect of different preys on the predation and prey preference of *Orius similis* ... ZHANG Changrong, ZHI Junrui, MO Lifeng (2728)
- Effects of predation risk on the patterns of functional responses in reed vole foraging
..... TAO Shuanglun, YANG Xifu, YAO Xiaoyan, et al (2734)
- Phylogenetic analysis of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) based on the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene fragment ...
..... CHENG Hanliang, PENG Yongxing, DONG Zhiguo, et al (2744)
- Effects of different ecological environments in the laboratory on the covering behavior of the sea urchin *Glyptocidaris crenularis*
..... CHANG Yaqing, LI Yunxia, LUO Shibin, et al (2754)

Population, Community and Ecosystem

- The ecosystem services value change in the upper reaches of Ganjiang River Based on RS and GIS
..... CHEN Meiqiu, ZHAO Baoping, LUO Zhijun, et al (2761)
- The reference condition for Eutrophication Indicator in the Yangtze River Estuary and adjacent waters — response variables
..... ZHENG Binghui, ZHU Yanzhong, LIU Lusan, et al (2768)
- The reference condition for eutrophication Indicator in the Yangtze River Estuary and adjacent waters — Causal Variables
..... ZHENG Binghui, ZHOU Juan, LIU Lusan, et al (2780)
- The stress response of biological communities in China's Yalu River Estuary and neighboring waters
..... SONG Lun, WANG Nianbin, YANG Guojun, et al (2790)
- Ecological characteristics of macrobenthic communities and its relationships with environmental factors in Hangzhou Xixi Wetland
..... LU Qiang, CHEN Huili, SHAO Xiaoyang, et al (2803)
- Effects of biological soil crusts on desert soil nematode communities LIU Yanmei, LI Xinrong, ZHAO Xin, et al (2816)
- Associations between weather factors and the spring migration of the horned gall aphid, *Schlechtendalia chinensis*
..... LI Yang, YANG Zixiang, CHEN Xiaoming, et al (2825)
- Effects of vegetation on soil aggregate stability and organic carbon sequestration in the Ningxia Loess Hilly Region of northwest
China CHENG Man, ZHU Qiulian, LIU Lei, et al (2835)

- Simulation of the carbon cycle of *Larix chinensis* forest during 1958 and 2008 at Taibai Mountain, China LI Liang, HE Xiaojun, HU Lile, et al (2845)
- Effects of different disturbances on diversity and biomass of communities in the typical steppe of loess region CHEN Furong, CHENG Jimin, LIU Wei, et al (2856)
- Age structure and point pattern of *Butula platyphylla* in Wulashan Natural Reserve of Inner Mongolia HU Ercha, WANG Xiaojiang, ZHANG Wenjun, et al (2867)
- The impacts of the Southwest China drought on the litterfall and leaf area index of an evergreen broadleaf forest on Ailao Mountain ... QI Jinhua, ZHANG Yongjiang, ZHANG Yiping, et al (2877)
- Spatial distribution of tree species richness in Xiaodonggou forest region of the Altai Mountains, Northwest China JING Xuehui, CAO Lei, ZANG Runguo (2886)
- Landscape, Regional and Global Ecology**
- The ecological risk assessment of Taihu Lake watershed XU Yan, GAO Junfeng, GUO Jianke (2896)
- The value of fixing carbon and releasing oxygen in the Guanzhong-Tianshui economic region using GIS ZHOU Zixiang, LI Jing, FENG Xueming (2907)
- Resource and Industrial Ecology**
- Effect of different controlled-release nitrogen fertilizers on availability of heavy metals in contaminated red soils under waterlogged conditions LIANG Peijun, XU Chao, WU Qitang, et al (2919)
- Research Notes**
- Effect of heat and high irradiation stress on Deg1 protease and D1 protein in wheat chloroplasts and the regulating role of salicylic acid ZHENG Jingjing, ZHAO Huijie, HU Weiwei, et al (2930)
- The difference of drought impacts on winter wheat leaf area index under different CO₂ concentration LI Xiaohan, WU Jianjun, LÜ Aifeng, et al (2936)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索自然奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 欧阳志云

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 33 卷 第 9 期 (2013 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 9 (May, 2013)

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	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
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 90.00 元