

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 24 期 Vol.33 No.24 **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 24 期 2013 年 12 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 中国南方红壤生态系统面临的问题及对策 赵其国, 黄国勤, 马艳芹 (7615)
- 《生态学基础》: 对生态学从传统向现代的推进——纪念 E.P. 奥德姆诞辰 100 周年
..... 包庆德, 张秀芬 (7623)
- 食物链长度理论研究进展 张 欢, 何 亮, 张培育, 等 (7630)

个体与基础生态

- 天山盘羊夏季采食地和卧息地生境选择 李 叶, 余玉群, 史 军, 等 (7644)
- 松果梢斑螟对虫害诱导寄主防御的抑制作用 张 晓, 李秀玲, 李新岗, 等 (7651)
- 菹草附着物对营养盐浓度的响应及其与菹草衰亡的关系 魏宏农, 潘建林, 赵 凯, 等 (7661)
- 濒危高原植物羌活化学成分与生态因子的相关性 黄林芳, 李文涛, 王 珍, 等 (7667)
- 四年 O₃ 熏气对小麦根际土壤氮素微生物转化的影响 吴芳芳, 郑有飞, 吴荣军, 等 (7679)
- 重金属 Cd²⁺ 和 Cu²⁺ 胁迫下泥蚶消化酶活性的变化 陈肖肖, 高业田, 吴洪喜, 等 (7690)

种群、群落和生态系统

- 不同生境中橘小实蝇种群动态及密度的差异 郑思宁 (7699)
- 亚热带樟树-马尾松混交林凋落物量及养分动态特征 李忠文, 闫文德, 郑 威, 等 (7707)

景观、区域和全球生态

- 中国陆地生态系统通量观测站点空间代表性 王绍强, 陈蝶聪, 周 蕾, 等 (7715)
- 雅鲁藏布江流域 NDVI 变化与风沙化土地演变的耦合关系 李海东, 沈渭寿, 蔡博峰, 等 (7729)
- 高精度遥感影像下农牧交错带小流域景观特征的粒度效应 张庆印, 樊 军 (7739)
- 高寒草原土壤有机碳及土壤碳库管理指数的变化 蔡晓布, 于宝政, 彭岳林, 等 (7748)
- 芦芽山亚高山草甸、云杉林土壤有机碳、全氮含量的小尺度空间异质性
..... 武小钢, 郭晋平, 田旭平, 等 (7756)
- 湘中丘陵区不同演替阶段森林土壤活性有机碳库特征 孙伟军, 方 晰, 项文化, 等 (7765)
- 东北黑土区片蚀和沟蚀对土壤团聚体流失的影响 姜义亮, 郑粉莉, 王 彬, 等 (7774)
- 滇西北高原纳帕海湿地土壤氮矿化特征 解成杰, 郭雪莲, 余磊朝, 等 (7782)
- 红壤区桉树人工林炼山后土壤肥力变化及其生态评价 杨尚东, 吴 俊, 谭宏伟, 等 (7788)
- 2000—2010 年黄河流域植被覆盖的时空变化 袁丽华, 蒋卫国, 申文明, 等 (7798)
- 庐山森林景观格局变化的长期动态模拟 梁艳艳, 周年兴, 谢慧玮, 等 (7807)

暖温带-北亚热带生态过渡区物种生境相关性分析 袁志良,陈 云,韦博良,等 (7819)
不同生境和去趋势方法下的祁连圆柏径向生长对气候的响应 张瑞波,袁玉江,魏文寿,等 (7827)

资源与产业生态

大小兴安岭生态资产变化格局 马立新,覃雪波,孙 楠,等 (7838)
生态环境移动数据采集系统研究与实现 申文明,孙中平,张 雪,等 (7846)

城乡与社会生态

城市遥感生态指数的创建及其应用 徐涵秋 (7853)

研究简报

大明竹属遗传多样性 ISSR 分析及 DNA 指纹图谱研究 黄树军,陈礼光,肖永太,等 (7863)
干旱胁迫下 4 种常用植物幼苗的光合和荧光特性综合评价 卢广超,许建新,薛 立,等 (7872)
基于 ITS2 和 16S rRNA 的西施舌群体遗传差异分析 孟学平,申 欣,赵娜娜,等 (7882)
两种浒苔无机碳利用对温度响应的机制 徐军田,王学文,钟志海,等 (7892)
北京山区侧柏林冠层对降雨动力学特征的影响 史 宇,余新晓,张建辉,等 (7898)

学术信息与动态

景观生态学研究:传统领域的坚守与新兴领域的探索——2013 厦门景观生态学论坛述评
..... 杨德伟,赵文武,吕一河 (7908)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 296 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 33 * 2013-12



封面图说: 黄土丘陵农牧交错带——黄土丘陵是中国黄土高原的主要地貌形态,由于黄土质地疏松,加之雨季集中,降水强度较大,地表流水冲刷形成很多沟谷,斜坡所占的面积很大。这里千百年来的农牧交错作业,地表植被和生态系统均遭受了严重的破坏。利用高精度影像对小流域景观的研究表明,这里耕地、林地和水域景观相对比较规则简单,荒草地和人工草地景观比较复杂。农牧交错带小流域景观形态具有分形特征,各类景观斑块的分维数对粒度变化的响应不同,分维数随粒度的增大呈非线性下降趋势。

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/stxb201209041247

孟学平, 申欣, 赵娜娜, 田美, 曾云, 陈建安, 董志国, 程汉良, 阎斌伦. 基于 ITS2 和 16S rRNA 的西施舌群体遗传差异分析. 生态学报, 2013, 33(24): 7882-7891.

Meng X P, Shen X, Zhao N N, Tian M, Zeng Y, Chen J A, Dong Z G, Cheng H L, Yan B L. Stock difference of *Coelomaetra antiquata* based on nuclear (ITS2) and mitochondrial (16S rRNA) DNA sequence and secondary structure. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(24): 7882-7891.

基于 ITS2 和 16S rRNA 的西施舌群体遗传差异分析

孟学平^{1,*}, 申欣¹, 赵娜娜^{1,2}, 田美¹, 曾云¹, 陈建安¹,
董志国¹, 程汉良¹, 阎斌伦¹

(1. 淮海工学院海洋学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222005;
2. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省海洋生物重点实验室, 南京 210095)

摘要: 目前, 我国西施舌群体分子遗传差异研究结果存在争议。分析我国南北沿海(9 个群体)、与广西北海毗邻的越南(1 个群体)西施舌核 DNA 的内转录间隔区 2 (ITS2) 和线粒体 DNA 的 16S rRNA 基因(16S) 片段核苷酸序列及其二级结构, 为解决争议问题提供分子生物学资料。扩增获得西施舌 ITS2 片段和 16S 序列, 其长度分别为 389—402 bp 和 306 bp, 加之下游序列共 147 条; 序列分析显示, 74 个 ITS2 序列共有 17 种基因型, 73 个 16S 序列有 15 种单倍型, 其中, 长乐 (CL) 群体独享 9 种 ITS2 基因型和 5 种 16S 单倍型, 非长乐群体 (nCL) 多数为群体间交叉共享 1 种或几种基因 (单倍) 型; 基因 (单倍) 型核苷酸变异位点占 5.7% (ITS2) 和 11.8% (16S); 基于 ITS2 和 16S 的 CL 群体和 nCL 群体间的遗传距离与群体内遗传距离之比分别为 2.42 和 11.08, nCL 群体间的平均遗传距离均为 0.007; 二级结构显示 CL 群体 ITS2 的 9 种基因型和 16S 的 5 种单倍型均区别于 nCL 群体, nCL 的 ITS2 和 16S 二级结构分别相似; ITS2 和 16S 基因的系统发育分析显示, CL 西施舌形成支持率很高 (98, 96) 的单系支, 而 nCL 群体则交叉聚为另一支 (98, 96)。研究结果揭示, 福建西施舌是腔蛤属 (*Coelomaetra*) 的一个新种。

关键词: 西施舌; 群体; ITS2; 16S rRNA; 遗传差异; 二级结构

Stock difference of *Coelomaetra antiquata* based on nuclear (ITS2) and mitochondrial (16S rRNA) DNA sequence and secondary structure

MENG Xueping^{1,*}, SHEN Xin¹, ZHAO Nana^{1,2}, TIAN Mei¹, ZENG Yun¹, CHEN Jian'an¹, DONG Zhiguo¹, CHENG Hanliang¹, YAN Binlun¹

1 College of Marine Science, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Jiangsu Province; Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China

2 College of Resources and Environmental Sciences, Key Laboratory of Marine Biology of Jiangsu Province; Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: *Coelomaetra antiquata* (Bivalvia: Mactridae) is distributed widely in the western Pacific Ocean, along the coast of Indo-China Peninsula, Japan, Korea and China. *C. antiquata* has a wide but erratic distribution, and is one of the most critically endangered species in China. Background genetic data are critical to successful cultivation of *C. antiquata*. Mitochondrial DNA (mtDNA) is widely used for genetic difference analysis among closely related species, since it accumulates mutations more rapidly than most nuclear regions. The internal transcribed spacer 2 (ITS2) of the nuclear ribosomal repeat unit is one of the most commonly applied phylogenetic markers. It is a fast evolving locus, which makes it

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20131210); 江苏省海洋生物技术重点实验室开放课题资助项目 (2011HS009, 2009HS13); 国家自然科学基金资助项目 (40906067); 江苏省“青蓝工程”人才基金资助项目 (苏教师[2010]27 号); 中央财政支持地方高校发展专项资金资助项目 (CXTD01, CXTD04); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 江苏省海洋资源开发研究院科技开放基金资助项目 (JSIMR11B19)

收稿日期: 2012-09-04; 修订日期: 2013-02-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mxp2002@hotmail.com

appropriate for studies at low taxonomic levels. The present molecular study was conducted on partial sequences of the mitochondrial 16S rRNA genes (16S) and ITS2 sequence from nuclear DNA to assess genetic variations in *C. antiquata*. Nine wild stocks of *C. antiquata* were collected from Daliang (Liaonin Prov. DL), Jimo (Shandong Prov. JM), Jiaonan (Shandong Prov. JN, JD) and Rizhao (Shandong Prov. RZ), Lianyungang (Jiangsu Prov. LYG, X3) and Qidong (Jiangsu Prov. QD XM), Changle (Fujian Prov. CL, X1), Beihai (Guangxi Prov. BH) and Pingtan (Fujian Prov. X2) in China, and the coast next to China in Vietnam (YN). We analyzed 147 sequences in total: 74 from ITS2 (389—402bp) and 73 from 16S (306bp). Seventeen genotypes were detected from ITS2 sequences and 15 haplotypes were detected from 16S sequences. The Changle group (CL, YN, X2) has nine exclusive ITS2 genotypes and five 16S haplotypes. The majority of non-Changle (nCL) groups (DL, JM, JN, JD, RZ, LYG, QD, XM, BH) share one or several genotypes (or haplotypes) among groups. The ITS2 alignment for 17 genotypes contained 401 nucleotide positions (including indels) with 23 variable sites (5.7%), of which 16 (4.0%) were parsimony informative. The 16S alignment for 15 haplotypes contained 306 bp with 35 (11.4%) variable sites, of which 24 (7.8%) were parsimony informative. The average intergroup genetic distance of nCL group is 0.007. The secondary structures of 9 genotypes and 5 haplotypes of CL group were different from those of nCL group, whereas the secondary structures of ITS2 and 16S are quite similar in nCL group. The phylogenetic analysis of ITS2 and 16S gene showed that the group CL formed a monophyletic clade with a high support (BP=98, 96), whereas the group nCL formed a second separate clade also with a high support (BP=98, 96). The results of this study suggests that the *C. antiquata* from Fujian province may be a new species of genus *Coelomaetra*.

Key Words: *Coelomaetra antiquata*; stock; ITS2; 16S rRNA; genetic difference; secondary structure

ITS2(The internal transcribed spacer 2)是真核生物 5.8S 和 28S 核糖体 RNA(rRNA) 基因间的 DNA 序列, 此区转录产物可为 rRNA 前体正确有效加工提供结构元件和二级结构。通常 ITS2 二级结构 5'端的 2 个结构域非常保守,而 3'端的结构域变异较大。由于 ITS2 上述结构特点,常被用于鉴别相关的种或推断种内和科间甚至更高分类水平的系统关系^[1-3]。线粒体核糖体 16S rRNA 也适合解决双壳类近缘种或类群的系统关系^[4-6]。来自细胞核的 ITS2 和线粒体 DNA 的 16S 一级结构和二级结构相结合也被用来研究双壳类同科不同种类的遗传关系^[1] 或同属不同种的系统发生分析^[7]。西施舌(*Coelomaetra antiquata*)是双壳纲蛤蜊科(Mactridae)的一种海产名贵经济贝类,其肉质细腻,营养丰富^[8],具有极高经济价值^[9]。我国专家对西施舌群体形态^[10-12]、生化^[13-14]、分子遗传差异及系统发生关系进行了卓有成效的研究工作,但目前西施舌群体遗传背景尚不清晰,研究结果存在分歧:多数资料认为福建(长乐、漳州)西施舌发生了明显遗传分化,可能是一个亚种或隐种^[15-20];少数资料认为长乐西施舌与其它群体未达到种间差异的水平^[14];此外,一些研究认为广西北海西施舌与江苏、山东、辽宁西施舌群体亲缘关系近,与福建群体亲缘关系远^[15,17-18],另一些研究结果认为广西西施舌与福建西施舌遗传关系近^[12];要澄清上述分歧、确定福建西施舌是否是一个新种,需要更多的形态、生物和分子生物学资料佐证。本研究拟从核基因组 DNA 和线粒体基因组 DNA 两个方面研究我国不同地理群体西施舌遗传差异,从 ITS2 和 16S 一、二级结构 2 个层次分析群体间差异,为我国西施舌群体遗传关系和福建西施舌分类地位的确定提供更多分子生物学证据。对西施舌的增殖殖学和野生资源保护和科学利用具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 样本采集

本研究西施舌样本分别来自辽宁大连(DL)(样本数为 4)、山东胶南(JN,JD)(2)、江苏连云港(LYG)(32)、启东(QD, XM)(34),福建的长乐(CL)(35),广西北海(GX)(16)、越南(YN)(1)等海区,共 124 个;另一部分序列来源于 GenBank 中其他作者提交的序列,分别隶属 QD(3)、GX(1)、CL(7,包括 X1)、山东的日照

(RZ)(2)、即墨(JM)(4)和JN(4)、平潭(X2),LYG(X3)等海区,共计23个序列。样本信息见表1、表2,因提交的序列为单倍型或基因型,GenBank中未反映出每个单倍型或基因型的样本数,因此,本实验把每个单倍型或基因型作为1个个体对待。本实验所用实验样本在2005年12月到2011年12月采集。

表1 西施舌ITS2核苷酸序列信息

Table 1 The information of ITS2 nucleotide sequences of *Coelomaetra antiquata*

基因型 Gen.	基因型频数 Fre. of Gen.	GenBank 注册号 GenBank No.	群体(样本数) Population(sample No.)
Gen1	5	EU825722/FJ827075 / DQ875816	QD / GX/LYG(3)
Gen2	17	DQ232724 /DQ232725/ DQ232721 / DL3 */DL4 *	XM(5)/XM(9)/JN/DL/DL
Gen3	24	DQ232722 / DL14 * / EU825719 /DQ232719 / DQ875819 /DQ232720 /DQ232723 / EU825720 /DL2 *	QD /DL /GX /LYG(8)/QD /LYG /QD (9)/ GX /DL *
Gen4	1	FJ827076	RZ
Gen5	1	FJ827077	JM
Gen6	4	EU816367/DQ875818(3)	CL/CL(3)
Gen7	3	YN4 * /DQ523263	YN/CL(2)
Gen8	2	DQ523265	CL(2)
Gen9	1	FJ827078	CL
Gen10	4	EU816365 /DQ523262	CL/ CL(3)
Gen11	1	EU816366	CL
Gen12	2	DQ523264 /EU816364	CL/ CL
Gen13	4	DQ523266	CL(4)
Gen14	1	FJ827079	CL
Gen15	1	EU825721	GX
Gen16	2	DQ875817(2)	GX(2)
Gen17	1	EU183532	JN

Gen: 基因型 Genotype; DL:大连, JM:即墨, JN:胶南, RZ:日照, LYG:连云港, QD, XM:启东, GX:北海, YN:越南, 表中大写双(三)字母符号是样本来源缩写; *:已提交未释放序列

1.2 DNA 提取、扩增及序列测定

样本总 DNA 按 2010 年 Oliverio^[21] 的方法从闭壳肌或斧足肌肉中提取。纯化的 DNA 定量测定后作为 ITS2 和 16S 序列 PCR 扩增的模板。ITS2 PCR 引物(primer, P)为 ITS2-P1(5'GTTTCTTTTCCTCCGCTTACT3')和 ITS2-P2(5'CACTGAACATCGACAGCTT3'), 扩增产物 450bp 左右, 包括 5.8S 和 28S rRNA 基因部分序列以及 ITS2 全序列。16S 部分序列 PCR 引物为 16S3L(5' TGAGCGTGCTAAGGTAG3')和 16S4H(5' AGCCAACATCGAGGTCGC3')。扩增产物为 350 bp。在 25 μ L 反应体系中, ddH₂O 17.3 μ L, dNTP (10 mmol/L)0.5 μ L, 10 \times buffer 2.5 μ L, Mg²⁺ (10 mmol/L)2.5 μ L, 引物(25 μ mol/L)各 0.5 μ L, 模板(20—50 ng) 1 μ L, Taq 酶(5 U/ μ L)0.2 μ L。反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 然后 35 个循环:94 $^{\circ}$ C 变性 30', 52 $^{\circ}$ C 退火 30', 72 $^{\circ}$ C 延伸 50', 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 反应在 Bio-Rad C1000 PCR 仪上进行。PCR 产物用 ABI-PRISM3730 测序仪双向测序。

1.3 序列比对分析

DNA 序列用 DNASTar 软件组装, 结合测序峰图进行序列人工校对, 用 ClustalX^[22] 软件排序取齐, 通过 DnaSP 5.0 软件统计各群体的单倍型或基因型, 利用 MEGA 4^[23] 分析序列特征、计算遗传差异和遗传距离, 构建 NJ(Neighbor-joining) 和 MP(Maximum parsimony) 系统进化树; 用 The mfold Web Server(<http://mfold.rna.albany.edu/?q=mfold>)进行 DNA 和 RNA 二级结构预测。

表 2 西施舌 16S rRNA 基因片段信息

Table 2 The information of 16S rRNA gene fragments of *Coelomaetra antiquata*

单倍型 Hap.	单倍型频数 Fre. of hap.	GenBank 注册号 GenBank No.	群体(样本数) Population(sample.No)
Hap1	13	DQ523260/JN674572/JN674571/EF491887	CL (10)/X2/X1/CL
Hap2	25	DQ156169/DQ875815/DQ156170/DQ156173/JN674573/ FJ653657/EF491879/EF491884	LYG(18)/LYG1/JD/XM/X3/QD /JM/QD
Hap3	1	FJ653658	CL
Hap4	1	EF491889	CL
Hap5	1	EF491885	QD
Hap6	1	EF491883	JN
Hap7	1	EF491881	JN
Hap8	1	EF491888	CL
Hap9	6	DQ875813/EF491886	GX (5)/RZ
Hap10	2	EF491882/EF491880	JN/JM
Hap11	5	DQ156171/2EF491878	QD(4)/JM
Hap12	1	DQ875814	LYG
Hap13	6	DQ875812	GX (6)
Hap14	5	DQ523261	CL(5)
Hap15	4	DQ156172	QD(4)

Hap: 单倍型 Haplotype; JM: 即墨; JN: 胶南; RZ: 日照; LYG: 连云港; QD: 启东; GX: 北海, 表中大写双(三)字母符号是样本来源缩写

2 结果

2.1 ITS2 和 16SrRNA 基因序列信息

本研究西施舌样本来源于我国南北沿海的 9 个海区及邻近广西北海的越南海域, 共获得 147 条 DNA 序列, 其中 ITS2 序列 74 条, 16S 序列 73 条。本研究扩增获得西施舌 ITS2 序列 68 条, 16S 序列 56 条(表 2); 从 GenBank 下载的 ITS2 序列 6 条, 16S 序列 17 条。

用 DnaSPv5 分析 ITS2 获得 17 种基因型(genotype, Gen) (Gen1-17) (表 1), 每种基因型的出现频率不同, 其中 Gen3 出现频率最高, 为 32.4% (24/74), Gen2 出现频率次之, 为 23.0%, 频率为 5%—7% 的基因型有 4 种, 其余 11 种基因型出现频率分别为 1.4% 和 4.1%。CL(包括 YN 群体) 群体特有基因型有 9 种(Gen6—14), 不与其它群体共享。此外, GX、JM、JN 和 RZ 群体各有 1—2 个群体特有基因型。Gen1—Gen3 为非长乐群体交叉共享基因型, 其中 Gen3 为 GX、QD、LYG、DL 4 个群体共享; Gen1 为 GX、QD、LYG 3 个群体共享。广西北海群体的 ITS2 基因型与北方群体基因型有交叉共享现象, 与南方的长乐群体无共享。

16S 序列共有 15 个单倍型(haplotype, Hap) (表 2), 其中 Hap1、3、4、8、14 为 CL 群体特有单倍型, 有 4 种单倍型为 2 个以上群体交叉共享。如 Hap2 为胶南、即墨、连云港、启东和 X 群体共享; Hap9 为北海(GX) 和日照群体共享。QD、JM 2 个群体共享 Hap11, JN、JM 2 个群体共享 Hap10。胶南、连云港、启东、北海群体除具有共享单倍型外, 尚有 1—2 个群体特有的单倍型。Hap2 和 Hap1 出现频率较高, 分别为 34.2% 和 17.8%, 其余单倍型出现频率均低于 8%。

2.2 ITS2 和 16S rRNA 序列比对分析

本研究测得的西施舌 ITS2 全序列长度在 389—401 bp 之间, 有核苷酸的插入/缺失现象。

对 ITS2 序列两端取齐后获得 370—380 bp 片段用于序列比对。ITS2 序列分析显示, 17 种基因型有 23 个变异位点(图 1A), 占比对位点的 5.7% (23/401), 其中简约信息位点 16 个, 占 4.0% (16/401)。CL 群体 9 种基因型有 6 个共享变异位点, 分别是第 226 位的碱基 T, 273—275 位的 TCT, 317 位的 T 和 381 位的 G。而其它群体无共享变异位点。

根据 ITS2 17 种基因型核苷酸序列的变异, 计算了不同群体间遗传距离(考虑文章篇幅太大, 不同基因型间的遗传距离表格略), 结果发现, CL 群体与 nCL 群体间的遗传距离在 0.019—0.042 之间, 平均为 0.029, 群体内的遗传距离为 0.005—0.022, 平均为 0.012, CL 和 nCL 群体间与群体内遗传距离之比为 2.42 (0.029/

0.012), 而其余的 DL、JM、JN、RZ、LYG、QD 和 GX 群体间有交叉共享基因型, 因此, 将其列为一组, 组内遗传距离为 0.003—0.014, 平均为 0.007。由此可见, 西施舌 CL 群体与 nCL 群体遗传差异极为明显。

本研究所测定的 16S 片段多数为 306bp, GenBank 下载的其他作者提交的序列有的多于 360 bp, 序列比从前将两端多余序列去除取齐, 获得的比对序列长度均为 306 bp。对 15 种 16S 单倍型序列比对发现, 有 35 个变异位点(图 1B), 占比对位点的 11.40%(35/306), 其中简约信息位点 24 个, 占 7.84%。CL 群体 5 个单倍型变异位点 28 个(9.15%), 其中有 23(7.5%) 个变异位点为 5 种单倍型共享。

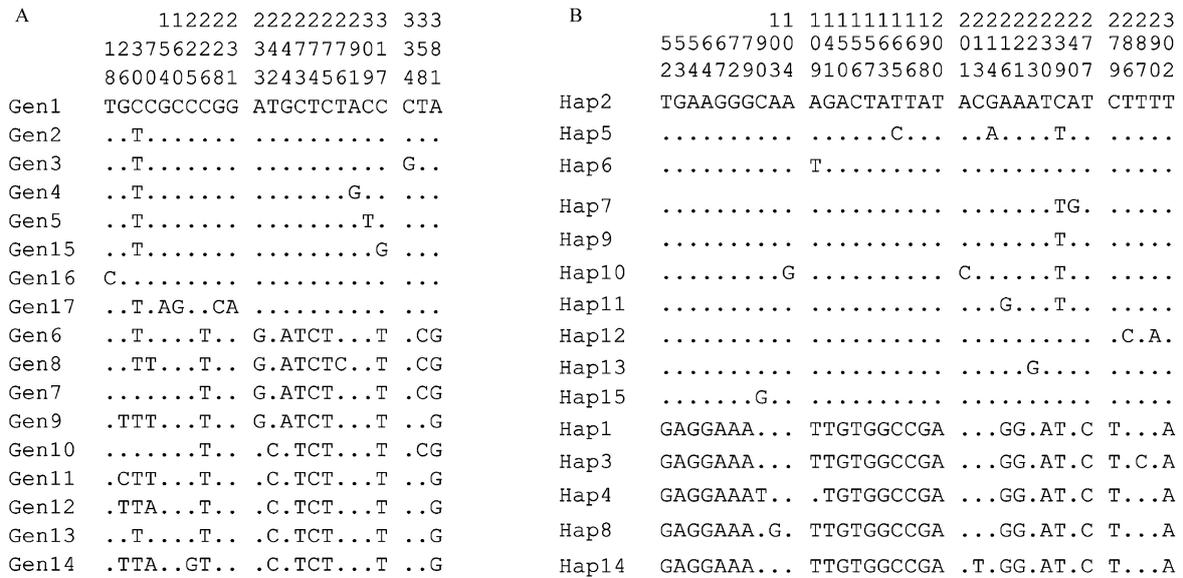


图 1 西施舌 ITS2(基因型)(A)和 16S rRNA 基因片段(单倍型)(B)变异位点

Fig.1 The ITS2 (genotype, Gen) (A) and 16S rRNA gene fragments (haplotype, Hap) (B) diversity sites of *Coelomacra antiquata*

Gen: 基因型简写; Hap: 单倍型简写

基于 16S 序列所得各单倍型间的遗传距离如表 3, 灰色背景里的数字为 CL 群体与 nCL 群体间的遗传距

表 3 西施舌 16S rRNA 基因片段的遗传距离

Table 3 The genetic distances based on 16S rRNA gene fragments of *Coelomacra antiquata*

单倍型 Hap.	遗传距离 Genetic distance													
	Hap1	Hap3	Hap14	Hap8	Hap4	Hap11	Hap5	Hap6	Hap9	Hap2	Hap7	Hap10	Hap13	Hap15
Hap1														
Hap3	0.003													
Hap14	0.003	0.007												
Hap8	0.003	0.007	0.007											
Hap4	0.007	0.010	0.010	0.010										
Hap11	0.077	0.080	0.080	0.080	0.076									
Hap5	0.080	0.084	0.084	0.084	0.080	0.010								
Hap6	0.080	0.084	0.084	0.084	0.088	0.010	0.013							
Hap9	0.080	0.084	0.084	0.084	0.080	0.003	0.007	0.007						
Hap2	0.084	0.088	0.088	0.088	0.084	0.007	0.010	0.003	0.003					
Hap7	0.084	0.088	0.088	0.088	0.084	0.007	0.010	0.010	0.003	0.007				
Hap10	0.088	0.092	0.092	0.092	0.088	0.010	0.013	0.013	0.007	0.010	0.010			
Hap13	0.088	0.091	0.091	0.091	0.087	0.010	0.013	0.007	0.007	0.003	0.010	0.013		
Hap15	0.088	0.092	0.092	0.092	0.084	0.010	0.013	0.007	0.007	0.003	0.010	0.013	0.007	
Hap12	0.092	0.095	0.095	0.095	0.091	0.013	0.017	0.010	0.010	0.007	0.013	0.017	0.010	0.010

表中灰色部分是长乐西施舌与其它群体西施舌间的遗传距离; Hap(haplotype) 1,3,4,8,14 为长乐群体特有

离,在 7.7%—9.5%之间,平均为 8.1%。长乐群体内个体间的遗传距离在 0.3%—1.0% 之间,平均为 0.7%,群体间遗传距离与群体内遗传距离之比为 11.6。长乐以外的 JM、JN、LYG、QD 和 GX 5 个群体 9 种单倍型间的遗传距离在 0.3%—1.7%之间,平均为 0.9%,远远小于长乐群体与非长乐群体之间的遗传距离。

2.3 基于 ITS2 和 16S 核苷酸序列的系统发育分析

基于 ITS2 和 16S 核苷酸序列,以与西施舌共属一个科的中国蛤蜊(*Macra chinensis*)和四角蛤蜊(*Macra veneriformis*)作为外群,用邻接法(NJ)和最大简约法(MP)分析了西施舌 9 个群体亲缘关系(图 2),两套 DNA 资料构建的系统进化树均显示 CL 群体(包括 YN 群体)均聚为支持率很高的单系支,在 ITS2 的 NJ 和 MP 树中支持率分别为 96 和 95;在 16S 的 NJ(图 2, B)和 MP(图略)树中,支持率分别为 100 和 99,而其余的 8 个群体无一个群体聚为单系支,只是交叉聚为支持率很高的一支[16S:支持率为 98/96(NJ/MP)]。因 ITS2 和 16S 资料之间不是对应关系,因此,未将两套资料排列在一起构建进化树,尽管如此,但分别聚类结果也高度一致。

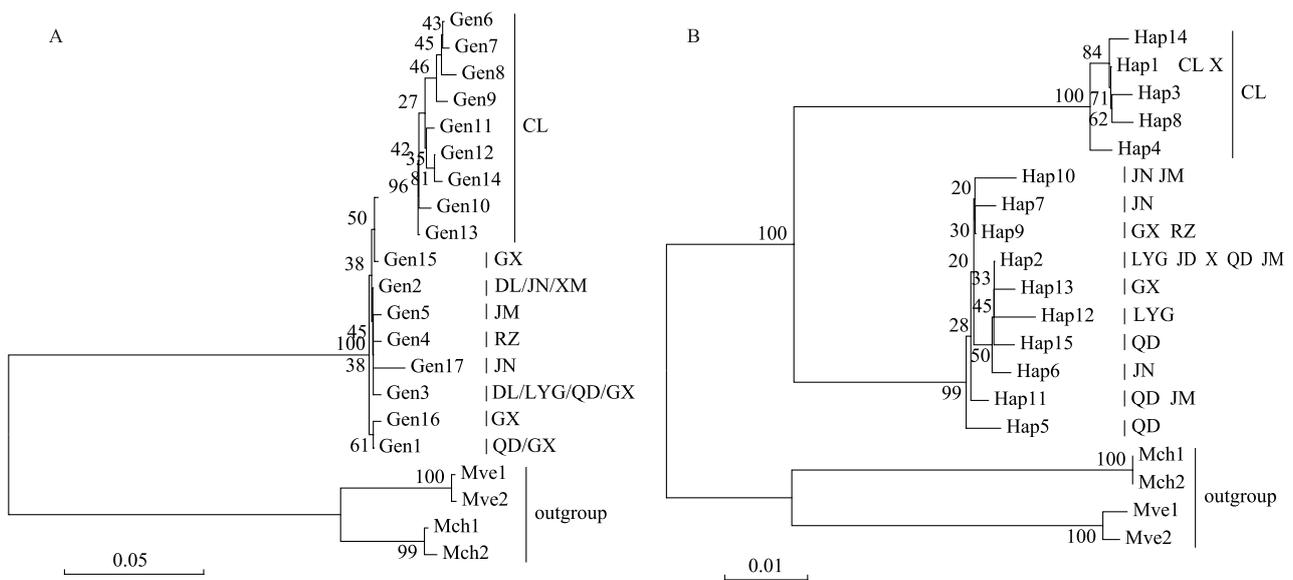


图 2 基于 ITS2 基因型(A)和 16S rRNA 基因单倍型(B)的西施舌不同群体 N-J 树

Fig.2 The N-J tree based on ITS2 (genotypic, Gen) (A) and 16S rRNA gene fragments (haplotype, Hap) (B) of *C. antiquata* different stocks

进化树中分支后的 Gen 和 Hap 分别为基因型和单倍的简写;图右侧竖线后的大写双字母符号为西施舌群体名的缩写;Outgroup 为外群, *M. chinensis*: 中国蛤蜊, *M. veneriformis*: 四角蛤蜊

2.4 ITS2 和 16S 二级结构分析

根据 ITS2 和 16S 的序列进行二级结构预测。对基因型 Gen3 (DL、LYG、QD、GX 群体共享)、Gen6 (CL 群体的一种基因型,命名为 CL12⁻)和 Gen10 (CL 群体的另一种基因型,命名为 CL12⁺)3 个有代表性的 ITS2 二级结构进行详细分析(图 3)。结果显示 nCL 群体 ITS2 二级结构高度相似,几乎无差异。CL 群体与 nCL 群体 ITS2 二级结构的 a、b 2 个结构域相同,但位于 a、b 区之间的 c、d、e 三个区域有明显的差异,c、d 区是 CL 群体特有区域,而 e 区是 nCL 区域特有。根据 c 区的差异又可将 CL 群体的 ITS2 二级结构分为 CL12⁻(图 3B-c)和 CL12⁺(图 3C-c)2 种类型。CL12⁻型和 CL12⁺型二级结构极为相似,但结构域 c 有差异,结构域 c 的茎环结构中茎部结构完全相同,但是环状结构差异很大,B-c 中的环由 ACTCGTT 共 7 个碱基组成,而 C-c 比 B-c 环大,由 19 个碱基组成,在 B-c 中环的 G 与 T 之间插入一个 12 个核苷酸(CTTTACCGCTTG)序列;之外,图 3B-c 和 C-c 茎环结构的 3'侧翼碱基组成也不同,B-c 中 3'侧翼只有一个碱基 T,而 C-c 中 3'侧翼为 TCGC,比 B-c 多 3 个核苷酸(CGC)。上述结果证实 ITS2 基因型 Gen3 与 Gen6、Gen10 二级结构形态明显不同,极易区分。而 CL 群体与非长乐群体 ITS2 二级结构 a、b 区相同,难以区别。长乐群体的 CL12⁻和 CL12⁺2 种类型与生理或其它形态性状有什么关系,深入研究。

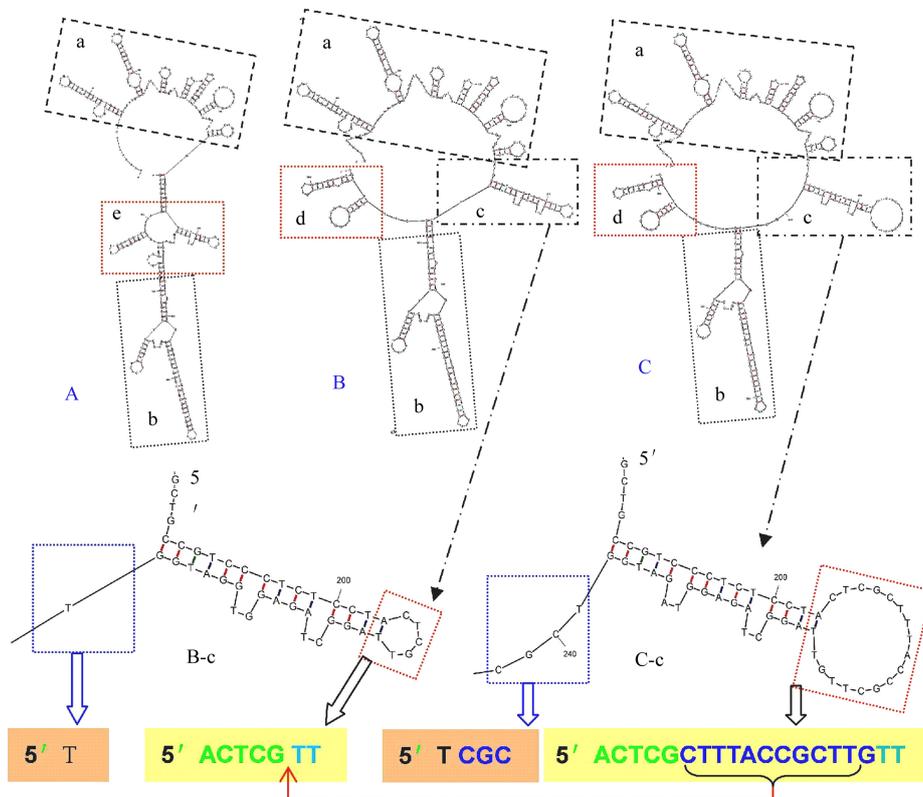


图3 西施舌 ITS2 二级结构比较

Fig.3 Comparison of the ITS2 secondary structure of *Coelomactra antiquata*

A: 基因型 (Gen)3, (DL、LYG、QD、GX 群体共享基因型); B: Gen6, (CL 群体特有); C: Gen10: (CL 群体特有); 图 A 中无 c 区, 图 B、C 中的 c 区有 2 处差异: C-c 环大, 3' 侧翼多 3 个碱基; Gen3 中有 e 区, Gen6、10 中有 d 区

根据二级结构形状, 可将 16S 片段 15 个单倍型分为 2 大类, 第一类包括 5 种单倍型 (Hap1, 3, 4, 8, 14) (图 4A), 这一类 16S 二级结构的共同特点是主干茎环区较短, 5 种二级结构中的 DI 和 DII 区均相同 (图 4A-DI, A-DII), DIV 区在其中的 2 种 (Hap1, 14) 二级结构中相同; 第二类包括 10 种单倍型 (Hap2, 5-7, 9-13, 15), 其共同的二级结构特点是主干茎环区较长 (图 4B), 有 2 个区域 (B-DI, B-DII) 在 10 种单倍型中相同, 且这两个区域碱基所占比例较大。有趣的是第一类 16S 二级结构中包含的单倍型均为 CL 群体所有, 第二类二级结构中全部为 nCL 群体所有。A-DI、A-DII 为第一类二级结构特有结构域, B-DI、B-DII (多数) 是第二类二级结构所特有, 通过这四个结构域极易将西施舌 CL 群体和 nCL 群体区别开来。

3 讨论

3.1 ITS2 和 16S 资料支持福建西施舌是腔蛤属的一个新种

一直以来, 中国南北沿海西施舌被认为是一个种, 无人置疑过。近年来, 一部分分子生物学和形态学的资料认为福建群体与其它群体间的差异达到了种间差异水平, 福建漳州或长乐西施舌是西施舌的一个亚种或隐种。但是要确定长乐西施舌的分类地位, 仅现有的资料还不够充分, 还需更多的生物学和分子生物学资料的支持。本研究用核 DNA (ITS2) 和线粒体 DNA (16S) 序列资料对我国南北沿海 9 个群体西施舌遗传差异分析结果显示, 基于 16S 核苷酸序列的 CL 群体与 nCL 群体间遗传距离平均为 8.1%, 而 nCL 群体间的遗传距离平均为 0.7%。与西施舌同属帘蛤目 (Veneroida) 的文蛤属的文蛤 *Meretrix meretrix* (GQ463598)、丽文蛤 *Meretrix lusoria* (GQ903339) 和中华文蛤 *Meretrix petechialis* (EU145977) 3 种贝类间 (基于 16S) 遗传距离为 0.5%—6.7%; 蛤目贻贝属 (*Mytilus*) 的紫贻贝 *Mytilus galloprovincialis* (AY363687), 贻贝 *Mytilus edulis* (AY823623) 和油黑壳菜蛤 *Mytilus trossulus* (DQ198225) 3 种贝类 (基于 16S) 的遗传距离为 0.2%—0.7%。均小于西施舌 CL

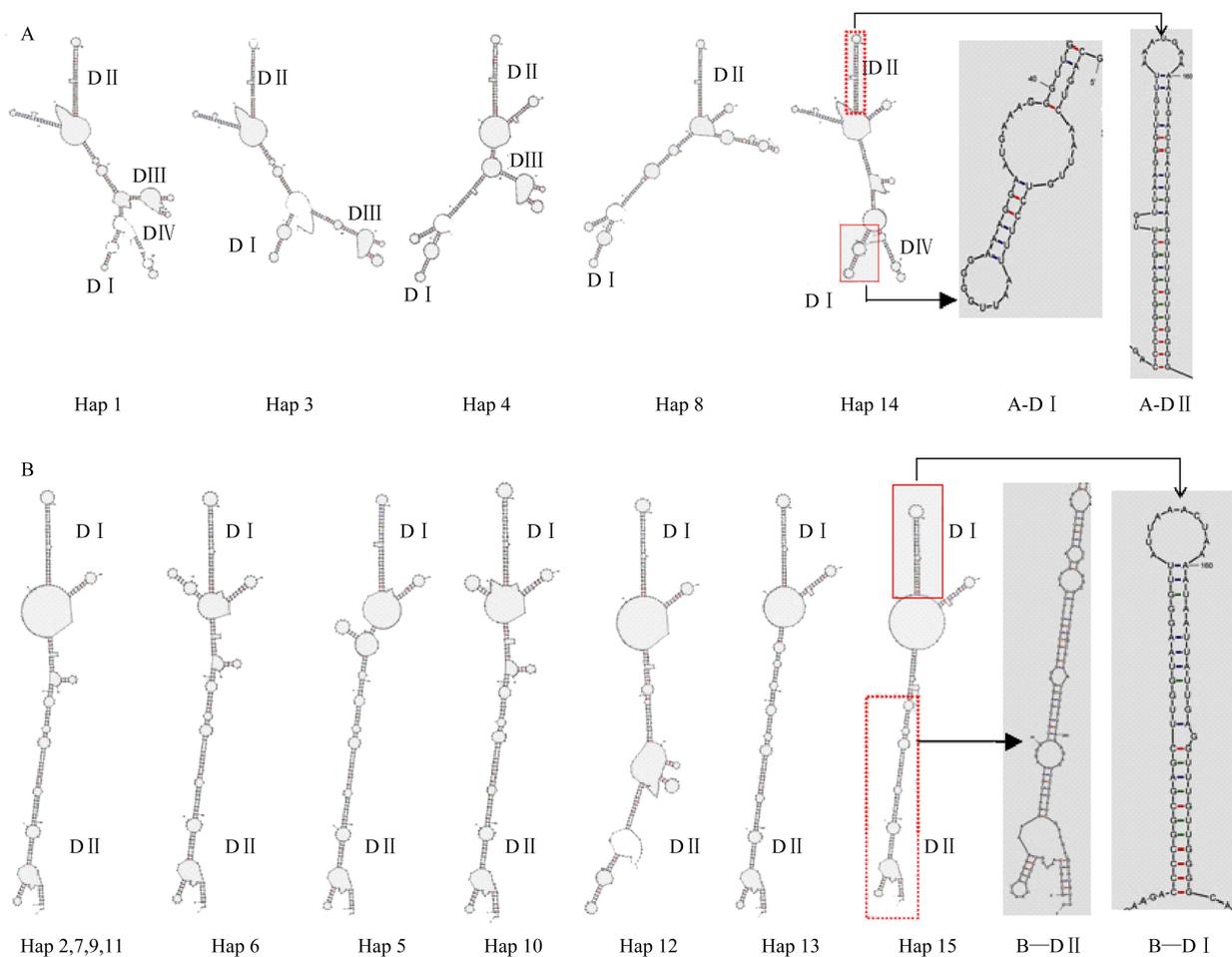


图 4 西施舌 16S rRNA 基因单倍型二级结构比较

Fig.4 Comparison of the 16S rRNA gene hypotype secondary structure of *Coelomaetra antiquata*

图 A 中包括 5 种单倍型,主茎环区短,有相同的 A-DI、A-DII 区,5 种单倍型均属于 CL 群体;图 B 中包括 10 种单倍型,主茎环区长,有相同的 B-DI 区,除 Hap12 外,均有相同的 B-DII 区;10 种单倍型均属于非长乐群体

群体与 nCL 群体间的遗传距离,这些资料从侧面证实 CL 群体与 nCL 群体的差异达到了种间差异水平。ITS2、16S 二级结果显示 CL 群体内不同基因(单倍)型结构相似,nCL 群体内各群体间二级结构相似(图 3,图 4),但 CL、nCL 群体间的二级结构明显不同。ITS2 和 16S 二级结构比较结果提示中国西施舌存在新种,即福建西施舌可能是腔蛤蜊属的一个新种。这个结果与 ITS1^[15]、COX1^[18]、cytb^[17]、AFLP^[19]、形态学分析^[10, 11]结果一致。

Hebert 等^[24]基于细胞色素 C 氧化酶亚基 3(*cox3*)核苷酸序列,计算了软体动物的 1155 个同属内物种对的遗传距离,平均为 11.1%。此外,Hebert 等^[25]提出群体间差异若为群体内个体间差异的 10 倍,则认为这种差异达到种的水平,即“10×”规则。日照西施舌与漳州(同长乐西施舌的差异属种内差异)^[18]西施舌 *cox1* 全序列核苷酸差异(divergence)为 14.5%,大于软体动物同属不同种间的差异水平,也达到“10×”规则的水平。Ni 等^[26]对蛤蜊科 11 种贝类 *cox1* 和 16S 序列差异分析显示,*cox1* 的种内遗传距离低于 2.5%,而属内种间遗传距离为 8.2%—28.4%,是种内遗传距离的 3.2—11.4 倍,最小种间(*M. coralline* 和 *M. lignaria*)遗传距离为 8.5%—9.3%。由此可见,CL 和 nCL 群体西施舌遗传差异也达到蛤蜊科同属不同种间差异水平;11 种贝类 16S 的种内和种间遗传距离分别为 0—0.9%,1.4%—27.1%,种间遗传距离是种内的 1.6—30.1 倍。本研究结果显示西施舌 16S 的 CL 与 nCL 群体间遗传距离为 8.1%,是 CL 群体内(0.7%)的 11.6 倍,此差异水平在蛤蜊科 11 种贝类种间差异水平范围内。孟学平比较漳州与日照西施舌线粒体全基因组显示,两者的主非编码区

(MNR)所在位置虽然相同,但大小和序列存在明显差异,前者无串联重复序列,而后者有 11 个拷贝的 99 个核苷酸的串联重复序列,且两者的 MNRs 无可比性^[27]。Xu 等^[28]对巴非蛤属(*Paphia*)4 种不同贝类线粒体全基因组比较研究显示,*Paphia undulata* 和 *P. textile* 的 MNR 所在位置相同,均有串联重复区,只是串联重复单位大小和的拷贝数不同。同种不同个体 mtDNA MNR 若存在串联重复区,其拷贝数可能有变化(异质性),但同种不同个体 MNR 的有和无的现象目前在双壳类中尚未发现。因此,mtDNA MNR 的差异也强有力地支持漳州西施舌与日照西施舌的差异达到种的水平,这与本研究的结果一致。

3.2 西施舌广西北海群体与辽宁、山东和江苏群体差异用 ITS2、16S 标记不易区分

广西北海大陆海岸线离北方沿海(如江苏启东)最近也有 7000 多公里,本研究 ITS2 和 16S 资料证实西施舌北海群体(GX)与北方群体(JM、JN、RZ、LYG、QD 和 DL)亲缘关系近,基于 16S 和 ITS2 的遗传距离分别为 0.005—0.010 和 0.005—0.016,与福建群体遗传关系远(遗传距离 16S/ITS2:0.080—0.088/0.022—0.036)。此外,广西群体 16S 和 ITS2 均有与北方群体共享单倍型或基因型,与 CL 群体无共享单倍型或基因型。这充分说明广西群体与北方群体的遗传关系近,与福建群体遗传关系远。*cox1*^[18]、*cob*^[17]、*ITS1*^[15]资料也与本研究结果一致。这种现象与地理距离与遗传关系远近的一般规律不相符。此种现象在巴非蛤^[29]和青蛤^[30]不同群体中也存在。造成这种现象的原因之一可能是人为因素造成。尤仲杰对山东胶南、江苏南通、浙江台州、福建福州、广西北海 5 个群体的 RAPD 分析证实广西北海西施舌分化最大,可能形成了一个地理种群,而福州西施舌未形成地理种群^[12];等位酶的研究也认为北海西施舌形成了地理种群^[14]。本研究结果与 RAPD^[12]、等位酶的研究结果有分歧。因此,关于广西西施舌与其它群体的遗传关系需要用更有说服力的生物及分子生物学资料作深入研究。

致谢:感谢东华大学孟清教授、意大利博洛尼亚大学 Plazzi 博士和美国北卡罗来纳州立大学 Raley 博士对本文英文摘要的修改润色。

References:

- [1] Salvi D, Bellavia G, Cervelli M, Mariottini P. The analysis of rRNA sequence-structure in phylogenetics: An application to the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 56(3): 1059-1067.
- [2] Salvi D, Mariottini P. Molecular phylogenetics in 2D: ITS2 rRNA evolution and sequence-structure barcode from Veneridae to Bivalvia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, 65(2): 792-798.
- [3] Yu D H, Chu K H. Species identity and phylogenetic relationship of the pearl oysters in *Pinctada* Röding, 1798 based on ITS sequence analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2006, 34(3): 240-250.
- [4] Barucca M, Olmo E, Schiaparelli S, Canapa A. Molecular phylogeny of the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial 16S and 12S rRNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31(1): 89-95.
- [5] Tao Y, He M X, Huang L M. Intraspecific genetic variation in mitochondrial 16S rRNA and COI genes in domestic and wild populations of Huaguizhikong scallop *Chlamys nobilis* Reeve. *Aquaculture*, 2009, 289(1/2): 19-25.
- [6] Puslednik L, Serb J M. Molecular phylogenetics of the Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) and effect of increased taxon sampling and outgroup selection on tree topology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2008, 48(3): 1178-1188.
- [7] Wood A R, Apte S, MacAvoy E S, Gardner J P A. A molecular phylogeny of the marine mussel genus *Perna* (Bivalvia: Mytilidae) based on nuclear (ITS1&2) and mitochondrial (COI) DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2007, 44(2): 685-698.
- [8] Meng X P, Gao R C, Dong Z G, Cheng H L, Yan B L. Analysis and evaluation of nutritive composition in edible part of *Coelomastra antiquata*. *Marine Sciences*, 2007, 31(1): 17-22.
- [9] Wu J F, Chen L X, Chen S W. Current status, and prospects for culture and proliferation of *Coelomastra antiquata* in China. *Journal of Dailian Fisheries University*, 2005, 20(2): 137-141.
- [10] Liu D J, Zhu S Y. Study of morphological difference of *Coelomastra antiquata* in Fujian and Jiangsu coasts. *South China Fisheries Science*, 2010, 6(2): 29-34.
- [11] Kong L F, Li Q, Qiu Z X. Genetic and morphological differentiation in the clam *Coelomastra antiquata* (Bivalvia: Veneroidea) along the coast of China. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 343(1): 110-117.
- [12] You Z J, Bao Y B, Zhang A J. Morphological and RAPD variation among five populations of *Coelomastra antiquata*. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 29(3): 98-104.
- [13] Li Z B, Wang Z L, Zhang G L, Chen J, Zhao B L, Wu N, Lin X Y. Genetic diversity and differentiation of *Coelomastra antiquata* (spengler)

- population. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2009, 40(30): 302-306.
- [14] Bao Y B, Yu D D, You Z J, Lin Z H. Allozyme analysis of genetic diversity in five natural populations of *Coelomastra antiquata* from coast of China. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(3): 76-79.
- [15] Meng X P, Gao R C, Shen X, Wang S, Cheng H L, Dong Z G, Yan B L. ITS1 sequences variation and phylogenetic analysis on five geographical stocks of *Coelomastra antiquata*. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(20): 5555-5561.
- [16] Meng X P, Wang S, Gao R C, Shen X, Cheng H L, Tian M. RAPD analysis of genetic structure and differentiation of *Coelomastra antiquata*. *Marine Sciences*, 2010, 35(2): 6-10, 43-43.
- [17] Meng X P, Shen X, Zhang B, Cheng H L, Tian M, Zheng W W. Divergences in cyt b gene nucleotides in clam *Coelomastra antiquata*. *Fisheries Science*, 2010, 29(9): 537-542.
- [18] Meng X P, Gao R C, Shen X, Zheng W W, Zhao N N, Cheng H L, Tian M. DNA barcodes of clam *Coelomactata antiquata* Bivalvia; Veneroida) in China based on COI gene. *Fisheries Science*, 2011, 30(10): 626-630.
- [19] Kong L F, Li Q. Genetic comparison of cultured and wild populations of the clam *Coelomastra antiquata* (Spengler) in China using AFLP markers. *Aquaculture*, 2007, 271(1/4): 152-161.
- [20] Kong L F, Li Q. Genetic evidence for the existence of cryptic species in an endangered clam *Coelomastra antiquata*. *Marine Biology*, 2009, 156(7): 1507-1515.
- [21] Oliverio M, Mariottini P. A molecular framework for the phylogeny of *Coralliophila* and related muricoids. *Journal of Molluscan Studies*, 2001, 67(2): 215-224.
- [22] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, Chenna R, McGettigan P A, McWilliam H, Valentin F, Wallace I M, Wilm A, Lopez R, Thompson J D, Gibson T J, Higgins D G. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947-2948.
- [23] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [24] Hebert P D N, Ratnasingham S, de Waard J R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2003, 270(Suppl.1): S96-S99.
- [25] Hebert P D N, Stockle M Y, Zemplak T S, Francis C M. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology*, 2004, 2(10): e312.
- [26] Ni L H, Li Q, Kong L F, Huang S Q, Li L J. DNA barcoding and phylogeny in the family Mactridae (Bivalvia; Heterodonta): Evidence for cryptic species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 44: 164-172.
- [27] Meng X P, Shen X, Zhao N N, Tian M, Liang M, Hao J, Cheng H L, Yan B L, Dong Z G, Zhu X L. Mitogenomics reveals two subspecies in *Coelomastra antiquata* (Mollusca; Bivalvia). *Mitochondrial DNA*, 2012; Early Online: 1-3.
- [28] Xu X D, Wu X Y, Yu Z N. Comparative studies of the complete mitochondrial genomes of four *Paphia* clams and reconsideration of subgenus *Neotapes* (Bivalvia; Veneridae). *Gene*, 2012, 494(1): 17-23.
- [29] Liu J Y, Wu J X, Shong C B. Morphological variations of different geographic populations of *Paphia undulata* off southeast China. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2010, 41(1): 114-120.
- [30] Gu H G, Liu J Y, Yang G H. Analysis on morphological variations of four wild populations of *Cyclina sinensis* from the South China Sea. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2010, 33(3): 1-5.

参考文献:

- [8] 孟学平, 高如承, 董志国, 程汉良, 阎斌伦. 西施舌营养成分分析与评价. *海洋科学*, 2007, 37(1): 17-22.
- [9] 吴进锋, 陈利雄, 陈素文. 西施舌增养殖的研究现状与展望. *大连水产学院学报*, 2005, 20(2): 137-141.
- [10] 刘德经, 朱善央. 福建与江苏西施舌群体形态差异研究. *南方水产*, 2010, 6(2): 29-34.
- [12] 尤仲杰, 包永波, 张爱菊. 中国沿海西施舌 5 个自然群体形态差异和 RAPD 分析. *海洋学报*, 2007, 29(3): 98-104.
- [13] 黎中宝, 王展林, 张桂玲, 陈锦, 赵斌丽, 吴宁, 林小云. 西施舌 (*Coelomastra antiquata*) 群体遗传多样性与分化的研究. *海洋与湖沼*, 2009, 40(30): 302-306.
- [14] 包永波, 余冬冬, 尤仲杰, 林志华. 中国沿海 5 个自然西施舌群体等位酶的遗传变异研究. *水生态学杂志*, 2010, 3(3): 76-79.
- [15] 孟学平, 高如承, 申欣, 王帅, 程汉良, 董志国, 阎斌伦. 西施舌 5 个地理群体 ITS1 序列变异及系统发生分析. *生态学报*, 2010, 30(20): 5555-5561.
- [16] 孟学平, 王帅, 高如承, 申欣, 程汉良, 田美. 西施舌群体遗传结构及分化的 RAPD 分析. *海洋科学*, 2011, 35(2): 6-10, 43-43.
- [17] 孟学平, 申欣, 张波, 程汉良, 田美, 郑雯雯. 西施舌 Cyt b 基因核苷酸差异分析. *水产科学*, 2010, 29(9): 537-542.
- [18] 孟学平, 高如承, 申欣, 郑雯雯, 赵娜娜, 程汉良, 田美. 基于 COI 的中国西施舌 DNA 条形码. *水产科学*, 2011, 30(10): 626-630.
- [29] 刘建勇, 吴继兴, 孙成波. 我国东南沿海 5 个波纹巴非蛤 (*Paphia undulata*) 地理群体的形态差异分析. *海洋与湖沼*, 2010, 41(1): 114-120.
- [30] 古恒光, 刘建勇, 杨国宏. 我国南海 4 个青蛤野生群体的形态差异分析. *广东海洋大学学报*, 2010, 33(3): 1-5.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.24 Dec., 2013 (Semimonthly)
CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

The problems in red soil ecosystem in southern of China and its countermeasures ZHAO Qiguo, HUANG Guoqin, MA Yanqin (7615)

Fundamentals of Ecology: promoting ecology from tradition to modern; To Commemorate The 100th Anniversary of E. P. Odum's Birthday BAO Qingde, ZHANG Xiufen (7623)

Food chain length theory: a review ZHANG Huan, HE Liang, ZHANG Peiyu, et al (7630)

Autecology & Fundamentals

Foraging and bed site selection of Tianshan argali (*Ovis ammon karelini*) in Central Tianshan Mountains in Summer LI Ye, YU Yuqun, SHI Jun, et al (7644)

Inhibition of pine coneworm, larvae *Dioryctria pryeri*, on herbivore-induced defenses of *Pinus tabulaeformis* ZHANG Xiao, LI Xiuling, LI Xingang, et al (7651)

Response of periphyton to nutrient level and relationships between periphyton and decay degree of *Potamogeton crispus* WEI Hongnong, PAN Jianlin, ZHAO Kai, et al (7661)

Correlative study between chemical constituents and ecological factors of *Notopterygii Rhizoma* Et Radix of endangered plateau plant HUANG Linfang, LI Wentao, WANG Zhen, et al (7667)

Induced changes in soil microbial transformation of nitrogen in maize rhizosphere by 4-year exposure to O₃ WU Fangfang, ZHENG Youfei, WU Rongjun, et al (7679)

Changes of digestive enzyme activity of *Tegillarca granosa* exposed to cadmium and copper CHEN Xiaoxiao, GAO Yetian, WU Hongxi, et al (7690)

Population, Community and Ecosystem

Population dynamics and density of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in different habitats ZHENG Sining (7699)

Litter fall production and nutrient dynamic of *Cinnamomum camphora* and *Pinus massoniana* mixed forests in subtropics China LI Zhongwen, YAN Wende, ZHENG Wei, et al (7707)

Landscape, Regional and Global Ecology

Assessing the spatial representativeness of eddy covariance flux observation stations of terrestrial ecosystems in China WANG Shaoqiang, CHEN Diecong, ZHOU Lei, et al (7715)

The coupling relationship between variations of NDVI and change of aeolian sandy land in the Yarlung Zangbo River Basin of Tibet, China LI Haidong, SHEN Weishou, CAI Bofeng, et al (7729)

Effects of higher resolution image and spatial grain size on landscape pattern in a small watershed of the farming-pastoral zone ZHANG Qingyin, FAN Jun (7739)

The changes of soil organic carbon and carbon management index in alpine steppe CAI Xiaobu, YU Baozheng, PENG Yuelin, et al (7748)

Spatial heterogeneity of soil organic carbon and total nitrogen at small scale in subalpine meadow and *Picea meyeri* forest in Luya Mountain WU Xiaogang, GUO Jinping, TIAN Xuping, et al (7756)

Active pools of soil organic carbon in subtropical forests at different successional stages in Central Hunan, China SUN Weijun, FANG Xi, XIANG Wenhua, et al (7765)

The impact of sheet and gully erosion on soil aggregate losses in the black soil region of Northeast China JIANG Yiliang, ZHENG Fenli, WANG Bin, et al (7774)

Net nitrogen mineralization in soils of Napahai wetland in Northwest Yunnan XIE Chengjie, GUO Xuelian, YU Leichao, et al (7782)

- Variation of soil fertility in *Eucalyptus robusta* plantations after controlled burning in the red soil region and its ecological evaluation YANG Shangdong, WU Jun, TAN Hongwei, et al (7788)
- The spatio-temporal variations of vegetation cover in the Yellow River Basin from 2000 to 2010 YUAN Lihua, JIANG Weiguo, SHEN Wenming, et al (7798)
- Long-term dynamic simulation on forest landscape pattern changes in Mount Lushan LIANG Yanyan, ZHOU Nianxing, XIE Huiwei, et al (7807)
- Species habitat correlation analysis in temperate-subtropical ecological transition zone YUAN Zhiliang, CHEN Yun, WEI Boliang, et al (7819)
- Responses of Qilian junipers radial growth of different ecological environment and detrending method to climate change in Qinghai Province ZHANG RuiBo, YUAN Yujiang, WEI Wenshou, et al (7827)
- Resource and Industrial Ecology**
- The pattern of ecological capital in Daxiaoxinganling, Heilongjiang Province, China MA Lixin, QIN Xuebo, SUN Nan, et al (7838)
- Research and implementation of mobile data collection system for field survey of ecological environment SHEN Wenming, SUN Zhongping, ZHANG Xue, et al (7846)
- Urban, Rural and Social Ecology**
- A remote sensing urban ecological index and its application XU Hanqiu (7853)
- Research Notes**
- Genetic diversity and DNA fingerprint of *Pleioblastus* by ISSR HUANG Shujun, CHEN Liguang, XIAO Yongtai, et al (7863)
- Comprehensive evaluation on photosynthetic and fluorescence characteristics in seedlings of 4 drought resistance species LU Guangchao, XU Jianxin, XUE Li, et al (7872)
- Stock difference of *Coelomactra antiquata* based on nuclear (ITS2) and mitochondrial (16S rRNA) DNA sequence and secondary structure MENG Xueping, SHEN Xin, ZHAO Nana, et al (7882)
- The mechanism of the characters of inorganic carbon acquisition to temperature in two *Ulva* species XU Juntian, WANG Xuwen, ZHONG Zhihai, et al (7892)
- Research on changes of dynamic characteristics of rainfall though *Platyclusus Orientalis* plantation canopy in Beijing Mountain Area SHI Yu, YU Xinxiao, ZHANG Jianhui, et al (7898)

《生态学报》2014 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,探索生态学奥秘,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,280 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 丁 平 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 24 期 (2013 年 12 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 24 (December, 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

主 编 王如松
主 管 中国科学技术协会
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

出 版 科 学 出 版 社
地址:北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:100717

印 刷 北京北林印刷厂
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

订 购 全国各地邮局
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

广告经营 京海工商广字第 8013 号
许 可 证

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

Editor-in-chief WANG Rusong
Supervised by China Association for Science and Technology
Sponsored by Ecological Society of China
Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS
Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China

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

Domestic All Local Post Offices in China
Foreign China International Book Trading
Corporation
Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China



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