

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

中国生态学学会 2013 年学术年会专辑



第 33 卷 第 19 期 Vol.33 No.19 **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19期 2013年10月 (半月刊)

目次

中国生态学会 2013 年学术年会专辑 卷首语

生态系统服务研究文献现状及不同研究方向评述	马凤娇,刘金铜,A. Egrinya Eneji (5963)
非人灵长类性打搅行为研究进展	杨斌,王程亮,纪维红,等 (5973)
密度制约效应对啮齿动物繁殖的影响	韩群花,郭聪,张美文 (5981)
食物链长度远因与近因研究进展综述	王玉玉,徐军,雷光春 (5990)
AM 真菌在植物病虫害生物防治中的作用机制	罗巧玉,王晓娟,李媛媛,等 (5997)
保护性耕作对农田碳、氮效应的影响研究进展	薛建福,赵鑫,Shadrack Batsile Dikgwatlhe,等 (6006)
圈养大熊猫野化培训期的生境选择特征	张明春,黄炎,李德生,等 (6014)
利用红外照相技术分析野生白冠长尾雉活动节律及时间分配	赵玉泽,王志臣,徐基良,等 (6021)
风速和持续时间对树麻雀能量收支的影响	杨志宏,吴庆明,董海燕,等 (6028)
白马雪山自然保护区灰头小鼯鼠的巢址特征	李艳红,关进科,黎大勇,等 (6035)
生境片段化对千岛湖岛屿上黄足厚结猛蚁遗传多样性的影响	罗媛媛,刘金亮,黄杰灵,等 (6041)
基于 28S, COI 和 Cytb 基因序列的薛荔和爱玉子传粉小蜂分子遗传关系研究	吴文珊,陈友铃,孙伶俐,等 (6049)
高榕榕果内 <i>Eupristina</i> 属两种榕小蜂的遗传进化关系	陈友铃,孙伶俐,武蕾蕾,等 (6058)
镉胁迫下杞柳对金属元素的吸收及其根系形态构型特征	王树凤,施翔,孙海菁,等 (6065)
邻苯二甲酸对萝卜种子萌发、幼苗叶片膜脂过氧化及渗透调节物质的影响	杨延杰,王晓伟,赵康,等 (6074)
极端干旱区多枝桧柳幼苗对人工水分干扰的形态及生理响应	马晓东,王明慧,李卫红,等 (6081)
贝壳砂生境酸枣叶片光合生理参数的水分响应特征	王荣荣,夏江宝,杨吉华,等 (6088)
陶粒覆盖对土壤水分、植物光合作用及生长状况的影响	谭雪红,郭小平,赵廷宁 (6097)
不同林龄短枝木麻黄小枝单宁含量及养分再吸收动态	叶功富,张尚炬,张立华,等 (6107)
珠江三角洲不同污染梯度下森林优势种叶片和枝条 S 含量比较	裴男才,陈步峰,邹志谨,等 (6114)
AM 真菌和磷对小马安羊蹄甲幼苗生长的影响	宋成军,曲来叶,马克明,等 (6121)
盐氮处理下盐地碱蓬种子成熟过程中的离子积累和种子萌发特性	周家超,付婷婷,赵维维,等 (6129)
CO ₂ 浓度升高条件下内生真菌感染对宿主植物的生理生态影响	师志冰,周勇,李夏,等 (6135)
预处理方式对香蒲和芦苇种子萌发的影响	孟焕,王雪宏,佟守正,等 (6142)
镉在土壤-金丝垂柳系统中的迁移特征	张雯,魏虹,孙晓灿,等 (6147)
马尾松人工林近自然化改造对植物自然更新及物种多样性的影响	罗应华,孙冬婧,林建勇,等 (6154)
濒危海草贝克喜盐草的种群动态及土壤种子库——以广西珍珠湾为例	邱广龙,范航清,李宗善,等 (6163)
毛乌素沙地南缘沙丘生物结皮对凝结水形成和蒸发的影响	尹瑞平,吴永胜,张欣,等 (6173)
塔里木河上游灰胡杨种群生活史特征与空间分布格局	韩路,席琳乔,王家强,等 (6181)
短期氮素添加和模拟放牧对青藏高原高寒草甸生态系统呼吸的影响	宗宁,石培礼,蒋婧,等 (6191)
松嫩平原微地形下土壤水盐与植物群落分布的关系	杨帆,王志春,王云贺,等 (6202)

广州大夫山雨季林内外空气 TSP 和 PM _{2.5} 浓度及水溶性离子特征	肖以华,李 炯,旷远文,等 (6209)
马鞍列岛岩礁生境鱼类群落结构时空格局	汪振华,赵 静,王 凯,等 (6218)
黄海细纹狮子鱼种群特征的年际变化	陈云龙,单秀娟,周志鹏,等 (6227)
三种温带森林大型土壤动物群落结构的时空动态	李 娜,张雪萍,张利敏 (6236)
笔管榕榕小蜂的群落结构与物种多样性	陈友铃,陈晓倩,吴文珊,等 (6246)
海洋生态资本理论框架下的生态系统服务评估	陈 尚,任大川,夏 涛,等 (6254)
中国地貌区划系统——以自然保护区体系建设为目标	郭子良,崔国发 (6264)
生态植被建设对黄土高原农林复合流域景观格局的影响	易 扬,信忠保,覃云斌,等 (6277)
华北农牧交错带农田-草地景观镶嵌体土壤水分空间异质性	王红梅,王仲良,王 堃,等 (6287)
中国北方春小麦生育期变化的区域差异性与气候适应性	俄有浩,霍治国,马玉平,等 (6295)
中国南方喀斯特石漠化演替过程中土壤理化性质的响应	盛茂银,刘 洋,熊康宁 (6303)
气候变化对东北沼泽湿地潜在分布的影响	贺 伟,布仁仓,刘宏娟,等 (6314)
内蒙古不同类型草地土壤氮矿化及其温度敏感性	朱剑兴,王秋风,何念鹏,等 (6320)
黑河中游荒漠绿洲区土地利用的土壤养分效应	马志敏,吕一河,孙飞翔,等 (6328)
成都平原北部水稻土重金属含量状况及其潜在生态风险评价	秦鱼生,喻 华,冯文强,等 (6335)
大西洋中部延绳钓黄鳍金枪鱼渔场时空分布与温跃层的关系	杨胜龙,马军杰,张 禹,等 (6345)
夏季台湾海峡南部海域上层水体的生物固氮作用	林 峰,陈 敏,杨伟锋,等 (6354)
北长山岛森林乔木层碳储量及其影响因子	石洪华,王晓丽,王 媛,等 (6363)
植被类型变化对长白山森林土壤碳矿化及其温度敏感性的影响	王 丹,吕瑜良,徐 丽,等 (6373)
油松遗传结构与地理阻隔因素的相关性	孟翔翔,狄晓艳,王孟本,等 (6382)
基于辅助环境变量的土壤有机碳空间插值——以黄土丘陵区小流域为例	文 雯,周宝同,汪亚峰,等 (6389)
基于生命周期视角的产业资源生态管理效益分析——以虚拟共生网络系统为例	施晓清,李笑诺,杨建新 (6398)
生态脆弱区贫困与生态环境的博弈分析	祁新华,叶士琳,程 煜,等 (6411)
“世博”背景下上海经济与环境的耦合演化	倪 尧,岳文泽,张云堂,等 (6418)



封面图说: 毛乌素沙地南缘沙丘的生物结皮——生物土壤结皮广泛分布于干旱和半干旱区,它的形成和发育对荒漠生态系统生态修复过程产生重要的影响。组成生物结皮的藻类、苔藓和地衣是常见的先锋植物,它们不仅能在严重干旱缺水、营养贫瘠恶劣的环境中生长、繁殖,并且能通过其代谢方式影响并改变环境。其中一个重要的特点是,生物结皮表面的凝结水显著大于裸沙。研究表明,凝结水是除降雨之外最重要的水分来源之一,在水分极度匮乏的荒漠生态系统,它对荒漠生态系统结构、功能和过程的维持产生着重要的影响。

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/stxb201306091500

吴文珊, 陈友铃, 孙伶俐, 毛建萍, 杨问新, 王爱芳. 基于 28S, COI 和 Cytb 基因序列的薜荔和爱玉子传粉小蜂分子遗传关系研究. 生态学报, 2013, 33(19): 6049-6057.

Wu W S, Chen Y L, Sun L L, Mao J P, Yang W X, Wang A F. The molecular genetic relationship between the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang*. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(19): 6049-6057.

基于 28S, COI 和 Cytb 基因序列的薜荔 和爱玉子传粉小蜂分子遗传关系研究

吴文珊, 陈友铃*, 孙伶俐, 毛建萍, 杨问新, 王爱芳

(福建师范大学生命科学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350117)

摘要: 薜荔和爱玉子均属于桑科榕属植物, 二者为同一物种的原变种与变种的关系, 早期研究认为这两种榕树与同一种传粉榕小蜂 (*Wiebesia pumilae* (Hill)) 建立了稳定的互利共生关系, 但近期在形态学、生态学、传粉生物学等方面对二者的研究表明, 薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂之间可能发生了遗传分化。实验用核糖体 28S rDNA D1-D3 区、线粒体 Cytb 及 COI 基因部分序列, 对采自福建 3 个不同样地的薜荔传粉小蜂和 3 个不同品系的栽培爱玉子的传粉小蜂进行分析, 结果表明: (1) 薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂的核糖体 28S 序列的碱基组成中 A, T, G, C 4 种含量较平均, C+G 的平均含量 (56%) 稍高于 A+T 的含量 (44%)。线粒体 Cytb 序列中 A+T 的含量 (76.1%) 明显高于 C+G 的含量 (23.9%), COI 序列中 A+T 的含量 (71.9%) 也明显高于 G+C 的含量 (28.1%), 这是膜翅目昆虫线粒体基因的普遍特征。在薜荔和爱玉子传粉小蜂的线粒体 Cytb 及 COI 基因中, 密码子第三位点 A+T 的含量最高。(2) 比较薜荔和爱玉子传粉小蜂的 3 种分子标记的变异范围显示, 28S 进化速度较 Cytb 及 COI 序列慢, 比较保守, 更适合科、亚科等较高分类单元的研究。薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间的亲缘关系较近, 采用 Cytb 与 COI 序列进行分析更为精确。(3) 用 Cytb 及 COI 序列对薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间的遗传距离进行分析显示, 薜荔传粉小蜂个体间 Cytb 序列平均遗传距离为 0.0054, 爱玉子传粉小蜂个体间的 Cytb 遗传距离为 0.0164; 薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂群体之间的 Cytb 序列平均遗传距离为 0.1385; COI 序列的薜荔传粉小蜂个体间遗传距离为 0.0048, 爱玉子传粉小蜂各样本间平均遗传距离为 0.0102; 薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂群体间 COI 序列平均遗传距离为 0.1896, 两群体间的遗传距离 (差异大于 10% 以上) 明显大于群体内各样本之间的遗传距离, 表明薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间已经发生了很大的遗传分化, 其变异水平达到了种间分化水平, 即薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂为两个不同的种。

关键词: 薜荔; 爱玉子; 榕小蜂; COI; Cytb; 28S

The molecular genetic relationship between the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang*

WU Wenshan, CHEN Youling*, SUN Lingli, MAO Jianping, YANG Wenxin, WANG Aifang

Provincial Key Laboratory for Developmental Biology and Neurosciences, College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China

Abstract: *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* are two varieties of the same species (Moraceae); one is the original variant while the other is a later variant and, they have long been considered to interact with the same species of pollinator. However, the recent studies in morphology, ecology and pollination biology suggest that a differentiation between the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* wasps may have occurred during the evolution. In the present studies, we used three molecular markers including 28S rDNA D1-D3, the mitochondrial Cytb and COI genes to investigate the genetic relationship of these two pollinators. The pollinator samples were collected from *Ficus pumila* var. *pumila* at three different locations as well as three cultivars of *Ficus pumila* var. *awkeotsang*.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31270440); 福建省科技厅重点资助项目 (2011N0014); 福建省高等学校学科带头人培养计划资助项目; 福建师范大学生命科学院生物学拔尖生培养计划资助项目

收稿日期: 2013-06-09; 修订日期: 2013-07-25

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chenyouling2000@126.com

The data are summarized as follows: (1) The distribution of the four bases including A, T, G, C in the 28SrDNA sequence from the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* is relatively akin. The average content of C + G (56%) is slightly higher than the average content of A+T (44%). The average content of A+T in the mitochondrial Cytb sequence is 76.1%, significantly higher than the average content of C+G (23.9%). The COI sequence analysis shows a similar result, with the A+T content (71.9%), higher than the G+C content (28.1%). This base composition pattern is consistent cross along hymenopteran mitochondrial sequences. Furthermore, in the Cytb and COI sequences, it appears to have the highest content of A/T base at the third position of a codon. (2) The 28SrDNA sequence evolution appears to be slower than the Cytb and COI gene sequences, is relatively conservative, and maybe more suitable for senior-order (family or subfamily) phylogenetic studies. In contrast, the Cytb and COI molecular markers may be more suitable for the genetic relationship analyses between the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* due to their close ties. (3) The results derived from genetic distance analyses show that the average distance of the Cytb sequence of each sample within *Ficus pumila* L. *pumila* pollinator or within *Ficus pumila* var. *awkeotsang* pollinator is 0.0054 or 0.0164. The average genetic distance of the Cytb sequence between the two pollinator groups is 0.1385. The average genetic distance of the COI sequence of each sample within *Ficus pumila* var. *pumila* or *Ficus pumila* var. *awkeotsang* is 0.0048 or 0.0102, while the average genetic distance between the two wasp populations is 0.1896. Since the genetic distance between the two wasp groups are significantly greater than the genetic distance within the respective group, these data suggest that the two groups of fig wasps have differentiated during the evolution and reached to the level of species identification, namely the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* are the two different wasp species.

Key Words: *Ficus pumila* var. *pumila*; *Ficus pumila* var. *awkeotsang*; fig wasps; COI; Cytb; 28S

薜荔 (*Ficus pumila* var. *pumila*) 隶属桑科榕属, 为攀援或匍匐灌木, 主要分布于福建、江西、浙江、安徽、江苏、台湾、湖南、广东、广西、贵州、云南东南部、四川及陕西等地, 被广泛用于园林的绿化^[1-2], 爱玉子 (*Ficus pumila* var. *awkeotsang*) 为薜荔的变种, 是我国特有的植物, 原产自台湾, 在福建、浙江等地少量的野生分布, 目前在台湾和大陆长江以南有广泛栽培^[1,3]。

薜荔和爱玉子在植株性状、茎叶形态、花与花序的形态结构等方面均十分相似, 二者究竟是原变种与变种的关系, 抑或为不同的两个种, 长期以来争论不休。李和惠用 tmT-tmL 序列和核内 NIA-i3 和 ITS2 序列对薜荔和爱玉子植株进行研究, 核内 NIA-i3 和 ITS2 序列两者之间不存在差异, tmT-tmL 序列上存在微小差异, 认为两者为同一个种^[4]。而林赞標的研究表明, 爱玉子瘦果中的果胶甲酯酶的活性 (95.8 活性单位) 比薜荔 (4.8 活性单位) 高很多, 且爱玉子果胶甲酯酶有两个亚型, 在薜荔果胶甲酯酶只有一个亚型^[5], 暗示薜荔和爱玉子可能是亲缘关系很近的两个不同的种。

长期以来, 人们一直认为薜荔与爱玉子的传粉小蜂为同一种传粉榕小蜂 (*Wiebesia pumilae* (Hill))^[6-7]。1991 年何坤耀从台湾各地采集的爱玉子及薜荔的传粉小蜂进行研究, 也认为台湾地区的薜荔与爱玉子共享一种传粉小蜂, 并且与香港的模式标本无形态差异, 同时, 还观察到在台湾存在薜荔的雄株的地方, 栽培爱玉子均能成功繁殖^[8]。但近年来, 越来越多的证据表明爱玉子传粉小蜂与薜荔传粉小蜂之间可能已经发生了变异, 例如, Chen 等发现福建爱玉子栽培园内即使种植薜荔雄株 (有传粉小蜂), 却不能使爱玉子结实, 同时, 薜荔、爱玉子繁殖生物学的调查表明, 二者之间已经存在生殖隔离^[9]。江少华在台湾高雄地区开展的薜荔和爱玉子之间的人工辅助杂交实验结果表明: 1) 薜荔的传粉小蜂可以进入爱玉子的雌花期花序内授粉并能结实, 但无法进入爱玉子雄花序; 2) 爱玉子传粉小蜂可以进入薜荔的雌花期花序内授粉并能结实, 也可以进入雄花序产卵, 但幼虫的死亡率高, 小蜂发育与花序发育异步, 导致羽化的小蜂无法出飞^[10]。随着分子生物学的发展, 有关榕小蜂的分子生物学研究越来越多, 李和惠对两个来自台湾不同地区的薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂进行 COI 序列研究发现, 两者的遗传距离为 11.7%, 认为两种小蜂已经发生了很大的变异^[4]。同时, 陈艳对我国东南沿海及岛屿不同地理分布的薜荔榕小蜂进行研究, 发现薜荔榕小蜂存在 *Sp. A*、*Sp. B*、*Sp. C* 3 个隐存种^[11]。以上证据表明, 亲缘关系密切的薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂之间可能发生了遗传分化。

由于薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间的形态差异极其细微, 仅依赖传统的形态标记分类方法, 难以将它们区别开来。薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂究竟是同种? 还是两个不同的种? 或是互为隐种关系? 这一直是悬而未决的问题。分子标记技术的快速发展, 给这一难题的解决带来希望。本文用核糖体 28SrDNA D1-D3, 以及线粒体 COI 和 Cytb 三种分子标记对分类地位模糊的薜荔和爱玉子传粉小蜂进行鉴定, 明确薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间的分子遗传关系, 以期在爱玉子的经济栽培中起到指导性作用。

1 材料和方法

1.1 样本的采集及保存

从 2010 年 3 月至 2012 年 12 月间于福建省福州市、莆田市等地采集实验小蜂,样本及采集地点(表 1)。将采集来的榕小蜂放入含有无水乙醇保存液的 1.5 mL 的离心管中,使小蜂迅速死亡,置于-20 °C 保存。

表 1 实验材料及采集地及其登陆号

Table 1 Origin of the tested wasps materials

宿主 Ficus host	小蜂种类 Wasp Species	采集地点 Sampling locality	样品编码 Code	28S 登录号 Accession Number	Cytb 登录号 Accession Number	COI 登录号 Accession Number
爱玉子	<i>Wiebesia pumilae</i>	莆田	WiePum21	KC593620	KC593635	KC593629
爱玉子	<i>Wiebesia pumilae</i>	莆田	WiePum74	KC593621	KC593641	KC593630
爱玉子	<i>Wiebesia pumilae</i>	莆田	WiePum156	KC593622	—	KC593631
薜荔	<i>Wiebesia pumilae</i>	福州长安山	WiePumLQ	KC593623	KC593636	KC593632
薜荔	<i>Wiebesia pumilae</i>	福州坟嶂山	WiePumFT	KC593624	KC593637	KC593633
薜荔	<i>Wiebesia pumilae</i>	福州森林公园	WiePumSL	—	KC593638	—
黄葛树	<i>Platyscapha coronata</i>	福州旗山	PlaCorQS	—	KC593642	KC593634
高榕	<i>Eupristina altissima</i>	福州旗山	EupAltQS	KC593627	KC593639	KC593557
黄葛树	<i>Sycoscapter sp</i>	福州旗山	SycSpQS	KC593628	KC593640	—

爱玉子: *F. pumila* var. *aukeotsang*; 薜荔: *F. pumila* var. *pumila*; 黄葛树: *F. virens*; 高榕: *F. altissima*; “—”表示无此样本

1.2 基因组 DNA 的提取,PCR 及测序

取 95%的酒精-20 °C 下储存的榕小蜂样品,用酚氯仿抽提法进行基因组 DNA 提取。用提取的基因组 DNA 进行目的片段 PCR 扩增。

28S 序列上游引物 28S-F:5'-ACCCGCTGAATTTAAGCATAT-3'

28S 序列下游引物 28S-R:5'-TAGTTCACCATCTTTCGGGTC-3'

28S 序列扩增条件为:94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 60 s,60 °C 退火 50 s,72 °C 延伸 70 s,34 个循环后 72 °C 延伸 7 min 结束,4 °C 保温。

COI 序列上游引物 COI-F:5'CAACATTTATTTTGATTTTTGG3'

COI 序列下游引物 COI-R:5'TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA3'

COI 序列 PCR 扩增条件为:94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 60 s,54 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 80 s,34 个循环后 72 °C 延伸 7 min 结束,4 °C 保温。

Cytb 序列上游引物 Cytb-F:5'TATGTACTACCATGAG GACAAATATC3'

Cytb 序列下游引物 Cytb-R:5'ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT3'

Cytb 序列扩增条件为:94 °C 预变性 4 min,94 °C 变性 30 s,57 °C 退火 60 s,72 °C 延伸 60 s,34 个循环后 72 °C 延伸 5 min 结束,4 °C 保温。

对 PCR 扩增的产物直接进行测序,所有 PCR 产物均送至生工生物公司进行测序。将测序所得序列上传 GenBank 上。

1.3 数据处理

得到测序序列后,在 NCBI 上用 BLAST 进行相似性检索,确定所得的序列确实为目的片段。将这些片段用 CLUSTAL X 1.83 进行序列比对, BioEdit 3.3 校正比对结果,截取相同长度的序列进行分析,运用 MEGA 4.0 软件计算不同序列的碱基组成及碱基替换,用邻接法(Neighbor-Joining)构建系统进化树并进行系统进化分析,计算 K2P 遗传距离。

2 结果

2.1 榕小蜂核糖体 28S 序列分析

2.1.1 榕小蜂 28S 序列组成分析

对榕小蜂 28S 序列,用 CLUSTAL X 1.83 软件进行序列比对,截取对准的 941 pb 序列进行分析,用 Mega4.0 软件中的 Data explore 软件进行各小蜂的碱基组成分析。在 28S 序列中,不变位点 702 个,变异位点 233 个,简约信息位点 91 个,自裔位点 140 个,变异性为 24.8%。各样品的碱基组成分析见表 2,由表 2 可知,所有的小蜂样本碱基组成都比较平均,C+G 的含量在 55.7%—58.4%,C+G 的含量略大于 A+T 的含量。

2.1.2 榕小蜂核糖体 28S 序列的遗传距离分析

用 Mega4.0 软件中的 K2P 法计算遗传距离(表 3)。所有样品间的遗传距离在 0.0000—0.1503 之间,爱玉子传粉小蜂样品间的遗传距离为 0.0000;薜荔传粉小蜂样品间遗传距离为 0.0017;两群体间的平均遗传距离为 0.0043。

表 2 榕小蜂 28S 序列的碱基组成

Table 2 The base frequency of 28S sequence

小蜂种类 Wasp Species	A/%	G/%	T/%	C/%	C+G/%
WiePum21	21.5	30.4	22.7	25.4	55.8
WiePum74	21.6	30.3	22.7	25.4	55.7
WiePum156	21.4	30.5	22.7	25.3	55.8
WiePumLQ	21.4	30.6	22.6	25.4	56.0
WiePumFT	21.5	30.5	22.5	25.5	56.0
EupAltQS	22.1	30.5	22.0	25.4	55.9
SycSpQS	19.7	31.7	21.9	26.7	58.4
Average	21.5	30.6	22.6	25.4	56.0

表 3 基于 Kimura 双参数模型榕小蜂 28S 序列的遗传距离

Table 3 Genetic distances of 28S sequences banse on Kimura 2-parameter of fig wasps

	WiePum21	WiePum74	WiePum156	WiePumLQ	WiePumFT	EupAltQS	SycSpQS
WiePum21							
WiePum74	0.0000						
WiePum156	0.0000	0.0000					
WiePumLQ	0.0034	0.0034	0.0034				
WiePumFT	0.0051	0.0051	0.0051	0.0017			
EupAltQS	0.0798	0.0798	0.0798	0.0768	0.0779		
SycSpQS	0.1171	0.1171	0.1171	0.1160	0.1184	0.1503	

2.1.3 榕小蜂核糖体 28S 序列系统发育树的构建

在 NCBI 网站上对实验中的 28S 序列进行同源性检索,下载 4 种前人研究过的榕小蜂 28S 序列(表 4)进行分析。

表 4 GenBank 上下载的榕小蜂 28S 序列

Table 4 28S sequences of fig wasps download from GenBank

小蜂种类 Wasp species	代码 Code	登陆号 Accession number
<i>Eupristina verticillata</i>	EupVer	AY616558.1
<i>Eupristina koningsbergeri</i>	EupKon	HM802744.1
<i>Sycoscapter australis</i>	SycAus	AJ298400.1
<i>Sycoscapter roxburghi</i>	SycRox	HE793252.1

用 Mega4.0 软件对实验所得与 GenBank 中下载的榕小蜂 28S 序列用 NJ (Neighbor-joining) 法,同时用重复抽样 1000 次检验分子系统树各分支的置信值,建立系统发育树见图 1。图中显示,相同属的小蜂汇聚到一起,显示出较近的亲缘关系,爱玉子传粉小蜂 3 个样本和薜荔传粉小蜂两个样本各自先汇聚成一支,再汇聚到一起,表明薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂群体之间已经产生了一定的变异。图中显示每个属的小蜂都能够明显的区分开来,这说明 28S 序列可以做为小蜂分子分类的鉴定依据。

2.2 榕小蜂线粒体 Cytb 及 COI 序列分析

2.2.1 Cytb 与 COI 序列碱基组成及变异分析

(1) Cytb 序列组成及变异分析

对榕小蜂 Cytb 序列,用 CLUSTAL X 1.83 软件进行序列比

对,截取对准的 376pb 序列进行分析,用 Mega 4.0 软件中的 Data explore 软件进行各小蜂的碱基组成分析。在 Cytb 序列中,不变位点 243 个,变异位点 132 个,简约信息位点 73 个,自裔位点 59 个,变异率为 35.1%。A, T, G, C 四种碱基的平均含量为 32.9%, 43.2%, 9.7%, 14.1%, A+T 的平均含量为 76.1%,显著高于 G+C 的含量,符合膜翅目昆虫线粒体基因序列的共同特点。

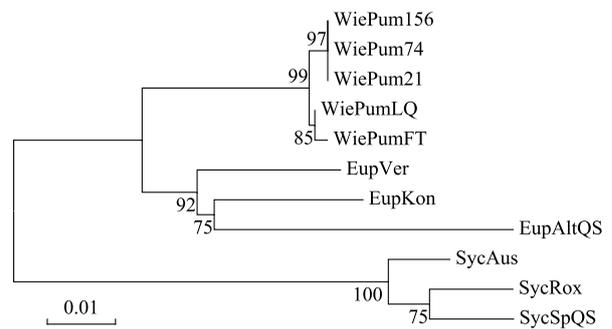


图 1 邻接法构建的榕小蜂 28S 序列系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree reconstructed using NJ based on 28S sequence of fig wasps

Cytb 密码子不同位点的核苷酸频率及碱基替换统计见表 5,表中可知,Cytb 序列密码子的各个位点上 A+T 含量均偏高,第三位点 A+T 的含量高达 92.3%,A+T 偏向尤为明显,其中 T 的使用最为频繁为 54.3%。说明 Cytb 基因在密码子使用上具有偏向性。实验样本中 Cytb 序列上核苷酸颠换数大于转换数。密码子第三位点的转换 (si) 和颠换 (sv) 发生的频率明显高于第一、二位点。

表 5 Cytb 密码子不同位点的碱基频率及碱基替换

Table 5 Nucleotide frequency and substitution of Cytb coden in vary site

密码子位点 Codon sites	T/%	C/%	A/%	G/%	A+T/%	si	sv	R (si/sv)
第一位 First	31.8	16.5	34.0	17.7	65.8	7	10	0.7
第二位 Second	43.6	20.5	26.7	9.2	70.3	3	4	0.7
第三位 Third	54.3	5.4	38.0	2.3	92.3	12	19	0.6
总碱基频率 Total	43.2	14.1	32.9	9.7	76.1	22	33	0.7

(2) COI 序列组成及变异分析

对榕小蜂 COI 序列,用 CLUSTAL X 1.83 软件进行序列比对,截取对准的 931pb 序列进行分析,用 Mega4.0 软件中的 Data explore 软件进行各小蜂的碱基组成分析,在 COI 序列中,有不变位点 641 个,变异位点 285 个,简约信息位点 99 个,自裔位点 186 个,总体变异性为 14.2%,较 Cytb 序列总体变异性低。A,T,G,C 四种碱基的平均含量为 32.5%,39.4%,16.8%,11.2%,A+T 的平均含量为 71.9%,显著高于 G+C 的含量,与 Cytb 序列一致符合膜翅目昆虫线粒体基因序列的共同特点。

COI 密码子不同位点的核苷酸频率及碱基替换统计见表 6,表中可知,与 Cytb 序列相似 COI 序列密码子的各个位点上 A+T 含量均偏高,第三位点 A+T 的含量为 86.2%,A+T 偏向最为明显。说明 COI 基因在密码子使用上也具有偏向性。

表 6 COI 密码子不同位点的碱基频率及碱基替换

Table 6 Nucleotide frequency and substitution of COI coden in vary site

密码子位点 Codon sites	T/%	C/%	A/%	G/%	A+T/%	si	sv	R (si/sv)
第一位 First	34.0	9.9	32.1	24.0	66.1	15	21	0.7
第二位 Second	41.7	17.8	21.7	18.8	63.4	8	13	0.6
第三位 Third	42.6	6.1	43.6	7.7	86.2	29	39	0.7
总碱基频率 Total	39.4	11.2	32.5	16.8	71.9	52	73	0.7

2.2.2 Cytb 与 COI 序列遗传距离分析

(1) Cytb 序列的遗传距离分析

运用 Mega 4.0 软件,基于 K2p 模型计算两两序列间的遗传距离,对各样品间遗传距离的统计见表 7。试验小蜂群体核苷酸遗传距离在 0—0.3322 之间,爱玉子传粉小蜂个体间的遗传距离为 0.0164,薜荔传粉榕小蜂个体间遗传距离为 0—0.0081,平均遗传距离为 0.0054。爱玉子与薜荔传粉小蜂之间的遗传距离为 0.1369—0.1416,平均遗传距离为 0.1385。

表 7 基于 Kimura 双参数模型榕小蜂 Cytb 序列的遗传距离

Table 7 Genetic distances of Cytbsequences banse on Kimura 2-parameter of fig wasps

	WiePum21	WiePum74	WiePumLQ	WiePumFT	WiePumSL	PlaCorQS	EupAltQS	SycSpQS
WiePum21								
WiePum74	0.0164							
WiePumLQ	0.1369	0.1374						
WiePumFT	0.1369	0.1374	0.0000					
WiePumSL	0.1412	0.1416	0.0081	0.0081				
PlaCorQS	0.3487	0.3506	0.3031	0.3031	0.3009			
EupAltQS	0.3816	0.3959	0.3206	0.3206	0.3186	0.2734		
SycSpQS	0.3235	0.3322	0.3173	0.3173	0.3153	0.2260	0.2584	

(2) COI 序列的遗传距离分析

运用 Mega 4.0 软件,基于 K2p 模型计算两两序列间的遗传距离,对各样品间遗传距离的统计见表 8。试验小蜂群体 COI 序列核苷酸遗传距离 0.0038—0.8707 在之间,爱玉子传粉小蜂个体间的遗传距离在 0.0038—0.0153,平均遗传距离为 0.0102。薜

荔传粉榕小蜂各样本间遗传距离为 0.0048。爱玉子与薜荔传粉小蜂之间的遗传距离为 0.1854—0.1938, 平均遗传距离为 0.1896。

表 8 基于 Kimura 双参数模型榕小蜂 COI 序列的遗传距离

Table 8 Genetic distances of COI sequences based on Kimura 2-parameter of fig wasps

	WiePum21	WiePum74	WiePum156	WiePumLQ	WiePumFT	PlaCorQS	EupAltQS
WiePum21							
WiePum74	0.0038						
WiePum156	0.0114	0.0153					
WiePumLQ	0.1938	0.1883	0.1936				
WiePumFT	0.1909	0.1854	0.1854	0.0057			
PlaCorQS	0.7705	0.7653	0.7653	0.7860	0.7753		
EupAltQS	0.8510	0.8456	0.8522	0.8707	0.8707	0.3591	

2.2.3 Cytb 及 COI 序列系统发育树的建立

实验所得序列在 NCBI 网站上进行 Blast 相似性检索, 下载得到 8 种有榕小蜂的 Cytb 序列 5 种 COI 序列(见表 9) 与实验所得序列一起建立系统发育树(图 2, 图 3), 来分析小蜂之间的系统发育情况。

表 9 GenBank 上下载的榕小蜂 Cytb 与 COI 序列

Table 9 Cytb and COI sequences of fig wasps download from GenBank

基因序列 Sequences	种属名 Wasp species	代码 Code	登录号 Accession number
Cytb	<i>Sycoscapter</i> sp.	SycSp1	AJ298410.1
	<i>Sycoscapter</i> sp.	SycSp2	FJ438147.1
	<i>Eupristina verticillata</i>	EupVer	GQ368000.1
	<i>Eupristina koningsbergeri</i>	EupKon	FJ438106.1
	<i>Platyscapha soraria</i>	PlaSor	AJ298440.1
	<i>Platyscapha ishiiana</i>	PlaIsh	HQ890654.1
	<i>Apocrypta</i> sp.	ApoSp	DQ873886.1
	<i>Ceratosolen</i> sp.	CerSp	DQ873816.1
COI	<i>Wiebesia punctatae</i>	WiePun	AF200414.1
	<i>Eupristina cyclostigma</i>	EupCyc	FJ619221.1
	<i>Eupristina verticillata</i>	EupVer	AF302053.1
	<i>Platyscapha corneri</i>	PlaCor	AF200405.1
	<i>Platyscapha</i> sp.	PlaSp	FJ619237.1

用 Mega4.0 软件对实验所得与 GenBank 中下载的榕小蜂 Cytb 与 COI 序列用 NJ(Neighbor-joining) 法, 同时用重复抽样 1000 次检验分子系统树各分支的置信值, 建立系统发育树见图 2、图 3。图中显示, 样本中属于同一个属的不同种的样本汇聚到一起, 显示出较近的亲缘关系。基于两种序列建立的系统发育树在薜荔与爱玉子小蜂上显示出相似的拓扑结构, 爱玉子传粉小蜂与薜荔传粉小蜂个体先分别汇聚成一支然后两群体再汇聚到一起, 这显示出两群体之间亲缘关系相对较近, 同时产生了一定的变异。每个属的小蜂都能够明显的区分开来, 这说明 Cytb 与 COI 基因为榕小蜂鉴别的良好分子标记。

3 讨论

3.1 3 种分子标记特征分析

很多学者认为, 如果用分子的手段进行种类鉴定时, 不能只用某一个基因, 因为一个基因所含有的基因数量有限, 只用一个基因来进行种类鉴定存在很大的风险。与用传统的形态学方法来进行鉴定物种一样, 很少只用某一个特征来鉴定物种, 因为这样往往使鉴定的结果不够准确^[12]。本研究用核糖体 28S, 线粒体 Cytb 及 COI 三个片段共同进行研究, 这样就避免了一个基因片段含有的信息量有限而给研究带来的误差。对 3 种遗传标记序列分析结果表明, 28S 序列中 4 种碱基的含量较为平均, G+C 碱基的平均含量为 56%, 比 A+T 的含量稍高, 符合 Campbell 小蜂总科 28SD2 序列对小蜂总科及各科间的系统发育关系进行研究时得出的 28SD2 序列 G+C 碱基的含量偏高的结论^[13]。而 Cytb 与 COI 基因片段的碱基组成都一致的显示出 A+T 含量明显较高的特点, 有研究显示榕小蜂线粒体基因有 A+T 含量偏高的特点^[11, 14]。并且 Cytb 及 COI 基因在密码子的不同位点上显示

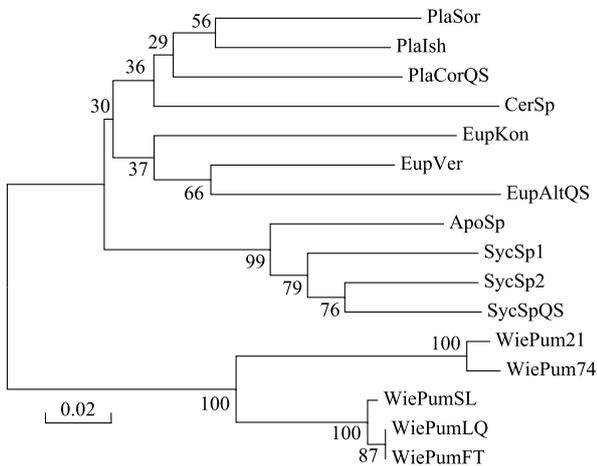


图 2 邻接法构建的榕小蜂 Cytb 序列系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree reconstructed using NJ based on Cytb sequence of fig wasps

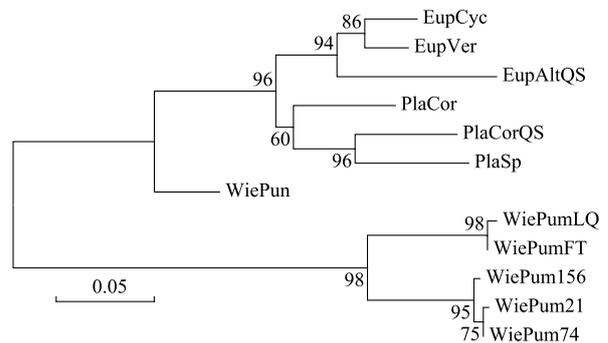


图 3 邻接法构建的榕小蜂 COI 序列系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree reconstructed using NJ based on COI sequence of fig wasps

出了对碱基的不同偏好,特别是第三位点,Cytb 基因密码子的第三位点上 A+T 的含量高达 92.7%,COI 基因该位点 A+T 的平均含量为 86.2%。这种偏好性产生的原因可能是因为密码子第三位点产生的突变多为同义突变,发生该突变不会影响基因编码的蛋白质序列,对榕小蜂的影响较小,受到自然选择的压力较小,突变容易被保留下来^[15-16]。

3.2 3 种分子标记适用性分析

选择合适的分子标记,是用 DNA 序列进行准确分析的前提,不同的 DNA 序列在生物体中行使不同的功能,所承受的环境的选择压力不同,因而在序列的进化速度上存在差异。对生物不同分类阶元进行鉴定时,对所选择的分子标记的变异速度有不同的要求。在对亚种、种、属等较低的分类阶元进行研究时,要求所选择的分析标记要有较快的变异速度,这样才能确保在亲缘关系较近的不同个体之间存在足够的变异能够将它们区别开来。但是当研究样本之间是科、目等较高的分类群体时,由于较高的分类阶元之间产生分化的时间比较久远,在不同的群体之间不仅在形态上往往存在较大的差异外,在分子水平上也已经形成了稳定而显著的差异,因此在分析时要选择进化速度较慢,相对保守的分子标记进行分析。对实验中 3 种序列进行 K2P 遗传距离分析显示,28S 序列小蜂群体的遗传距离为 0—0.1503,Cytb 序列小蜂遗传距离为 0—0.3322,COI 序列分析小蜂遗传距离为 0.0038—0.8707,这说明 Cytb 与 COI 基因进化速度较快,而 28S 序列相对比较保守。有研究认为 28S 片段非常保守,更适合高级阶元(属、亚科)系统发育的研究^[13, 17]。薜荔传粉榕小蜂与爱玉子传粉榕小蜂之间的亲缘关系很近,甚至被认为是同一个种,所以用进化速度相对较快的 Cytb 及 COI 序列对两者进行系统发育分析较为妥当。

3.3 薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂分子遗传关系确定

对一些动物的 Cytb 基因序列分析表明,种内个体间的差异一般在 0%—4.06%,当个体差异超过 6%时就说明个体间已有亚种或种的分化^[18-19]。Xiao 等研究显示榕小蜂 Cytb 基因序列种间差异一般在 11%—22%之间^[20],本实验中爱玉子传粉小蜂个体间的 Cytb 遗传距离为 0.0164,薜荔传粉榕小蜂个体间 Cytb 序列平均遗传距离为 0.0054;爱玉子传粉小蜂与薜荔传粉小蜂群体之间的 Cytb 序列遗传距离为 0.1385,两群体间的遗传距离明显大于群体内部各样本之间的遗传距离,表明薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间的变异已达到了种间分化的水平。

Herbert 利用 COI 序列对鳞翅目分属 5 个科的 200 个近缘种昆虫进行 K2P 遗传距离的研究显示,其种内平均差异仅为 0.25%,属内种间差异在 5.8%—9.1%之间,种间平均差异为 6.8%^[21]。目前关于榕小蜂种间、种内差异的标准还比较少,姜自锋(2005)利用 COI 基因开展榕小蜂分子系统学研究时,将遗传距离 3%的差异水平作为区分种间和种内关系的界限^[22]。李艳伟对 189 种榕小蜂进行 COI 序列分析显示,约 123 个种(65%)的种内差异小于 2%,32 个种(17%)的种内差异在 2%—5%之间,即共有 155 个种(82%)的种内差异小于 5%;约 132 个种(70%)的种间差异在 10%—15%之间,有 32 个种(17%)的种间差异大于 20%^[12]。Zhou 等在对 *Philotrypesis* 小蜂进行分子鉴定时,显示榕小蜂的 COI 序列差异达到 5.8%—6.0%时可以鉴定成不同的种^[23]。本实验中薜荔传粉榕小蜂个体间 COI 序列遗传距离为 0.0048,爱玉子传粉小蜂各样本间 COI 序列平均遗传距离为 0.0102;爱玉子传粉小蜂与薜荔传粉小蜂群体间 COI 序列平均遗传距离为 0.1896,两榕小蜂群体间的遗传距离明显大于群体内部各样本之间的遗传距离,实验中所研究的爱玉子传粉小蜂与薜荔传粉小蜂之间已经发生了很大的分化,其变异水平已经达到了种的分异水平。

综上所述,基于 28S,Cytb 及 COI 序列所得的结果显示,福建地区的薜荔传粉小蜂和爱玉子传粉小蜂各自群体内部的遗传

距离都很小,没有隐存种的分化,Cytb 与 COI 序列分析结果一致表明二者群体之间的遗传距离达到了种间分异的水平,加之 Chen 等人研究显示福建地区的薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂之间已存在生殖隔离^[9],因此薜荔传粉小蜂与爱玉子传粉小蜂可以被认为是两个不同的种。

致谢:感谢福建师范大学南方生物医学研究中心陈骥教授对写作的帮助。

References:

- [1] Zhang X S, Wu Z Y, Cao Z Y. Flora of China. Vol. 23, No. 1. Beijing: Science Press, 1998: 205-206.
- [2] Wu W S, Chen Y L. Comparison of reproduction ecology of different *Ficus awkeotsang* strains. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(10): 4692-4702.
- [3] Chen Y L, Wu W S. Volatile compounds from the syconia of *Ficus awkeotsang* Makino and their attractiveness to pollinator wasps. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(8): 2212-2219.
- [4] Lee H H. Genetic Differentiation between *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *awkeotsang* and Their Pollinators [D]. Taipei: Department of Entomology College of Bioresources and Agriculture National Taiwan University, 2009.
- [5] Lin T-P, Liu C-C, Yang C-Y, Huang R-S, Lee Y-S, Chang S-Y. Morphological and biochemical comparison of syconium of *Ficus awkeotsang* and *Ficus pumila*. Research Report Quarterly of Taiwan Forestry Research Institute, 1990, 5(1): 37-43.
- [6] Chen Y, Li H Q, Ma W L. The reproductive character of *Ficus pumila* var. *pumila*, *F. pumila* var. *awkeotsang* and their pollinators. Acta Phytocologica Sinica, 2002, 26(1): 58-63.
- [7] Chen Y, Li H Q, Ma W L. Pollination ecology of cultivated *Ficus pumila* var. *awkeotsang*. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(12): 2403-2407.
- [8] He K Y. The Pollinators of *Ficus pumila* var. *Awkeotsang* // Lin T P, ed. *Ficus pumila* var. *awkeotsang* Monograph. Taipei: Taiwan Forestry Research Institute, 1991: 83-96.
- [9] Chen Y, Liu H Q, Ruan S J, Ma W L. Pollination of a cultivated fig, *Ficus pumila* var. *awkeotsang*, in South China. Symbiosis, 2008, 45(1/3): 33-36.
- [10] Jiang S H. Morphological Differences between Pollinating Fig Wasps of *Ficus pumila* L. var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *Awkeotsang* (Makino) Corner and Their Asymmetric Host Specificity [D]. Taipei: Department of Entomology College of Bioresources and Agriculture National Taiwan University, 2011.
- [11] Chen Y. The Pollinating Fig Wasps of *Ficus pumila* [D]. Shanghai: East China Normal University, 2009.
- [12] Li Y W. DNA Barcoding in Chinese Fig Wasps [D]. Shandong: College of Plant Protection Shandong Agricultural University, 2009.
- [13] Campbell B C, Steffen-Campbell J D, Werren J H. Phylogeny of the *Nasonia* species complex (Hymenoptera: Pteromalidae) inferred from an internal transcribed spacer (ITS2) and 28S rDNA sequences. Insect Molecular Biology, 1994, 2(4): 225-237.
- [14] Lopez-Vaamonde C, Rasplus J Y, Weiblen G D, Cook J M. Molecular phylogenies of fig wasps: partial cladogenesis of pollinators and parasites. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 21(1): 55-71.
- [15] Gao J B, Zhang X W, Zhou G N, Liu J X. Genetic structure of *Pine caterpillars* (*Dendrolimus*) populations based on the analysis of Cyt b gene sequences. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(6): 1727-1734.
- [16] Zhou J L, Zhang Y P, Huang M H, Chen Y J, Chen X Q, Yao G D. Phylogenetic relationships among Crotalinae based on mitochondrial cytochrome B gene sequence variations. Acta Zoologica Sinica, 2001, 47(4): 361-366.
- [17] Downton M, Austin A D. Simultaneous analysis of 16S, 28S, COI and morphology in the Hymenoptera: Apocrita-evolutionary transitions among parasitic wasps. Biological Journal of the Linnean Society, 2001, 74(1): 87-111.
- [18] Yang X G, Wang Y Q, Zhou K Y, Liu Z Q. Phylogenetic relationships of Chinese brown frogs (*Rana*) based on sequence of mitochondrial cytochrome b gene. Zoological Research, 2001, 22(5): 345-350.
- [19] Yang X G, Wang Y Q, Zhou K Y, Liu Z Q. Authentication of oviductus ranae and its original animals using molecular marker. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2002, 25(8): 1035-1039.
- [20] Xiao J H, Wang N X, Li Y W, Murphy R W, Wan D G, Niu L M, Hu H Y, Fu Y G, Huang D W. Molecular approaches to identify cryptic species and polymorphic species within a complex community of fig wasps. PLoS One, 2010, 5(11): e15067.
- [21] Hebert P D, Penton E H, Burns J M, Janzen D H, Hallwachs W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(41): 14812-14817.
- [22] Jiang Z F. Molecular Systematics of Fig Wasps [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2005.
- [23] Zhou M J, Xiao J H, Bian S N, Li Y W, Niu L M, Hu H Y, Wu W S, Murphy R W, Huang D W. Molecular approaches identify known species, reveal cryptic species and verify host specificity of Chinese *Philotrypesis* (Hymenoptera: Pteromalidae). Molecular Ecology Resources, 2012, 12(4): 598-606.

参考文献:

- [1] 张秀实, 吴征镒, 曹子余. 中国植物志 (第二十三卷, 第一分册). 北京: 科学出版社, 1998: 205-206.
- [2] 吴文珊, 陈友铃. 爱玉子 (*Ficus avkeotsang*) 不同品系的繁殖生态学比较. 生态学报, 2008, 28(10): 4692-4702.
- [3] 陈友铃, 吴文珊. 爱玉子花序挥发物成分以及对其传粉小蜂的吸引作用. 生态学报, 2010, 30(8): 2212-2219.
- [4] 李和惠. 薜荔和爱玉子及其授粉小蜂之遗传分化 [D]. 台北: 台湾大学昆虫学研究所, 2009.
- [5] 林赞标, 刘哲政, 杨居源, 黄瑞祥, 李永生, 张森永. 爱玉与薜荔隐花果形态与其生化特性比较. 林业试验所研究报告季刊, 1990, 5(1): 37-43.
- [6] 陈勇, 李宏庆, 马炜梁. 薜荔和爱玉及其传粉昆虫繁殖特性. 植物生态学报, 2002, 26(1): 58-63.
- [7] 陈勇, 李宏庆, 马炜梁. 栽培爱玉的传粉生态. 应用生态学报, 2006, 17(12): 2403-2407.
- [8] 何坤耀. 爱玉子授粉小蜂 // 林赞标. 爱玉子专论. 台北: 台湾林业实验所, 1991: 83-96.
- [10] 江少华. 薜荔及爱玉子授粉榕小蜂之形态差异及其寄主专一性的不对称性 [D]. 台北: 台湾大学昆虫学研究所, 2011.
- [11] 陈艳. 薜荔之传粉小蜂 [D]. 上海: 华东师范大学, 2009.
- [12] 李艳伟. DNA 条形码在中国榕小蜂中的应用研究 [D]. 山东: 山东农业大学农业昆虫与害虫防治专业, 2009.
- [15] 高宝嘉, 张学卫, 周国娜, 刘军侠. 基于 Cyt b 基因序列分析的松毛虫种群遗传结构研究. 生态学报, 2011, 31(6): 1727-1734.
- [16] 周继亮, 张亚平, 黄美华, 陈永久, 陈小青, 姚耿东. 蝮亚科蛇线粒体细胞色素 b 基因序列分析及其系统发育. 动物学报, 2001, 47(4): 361-366.
- [18] 杨学干, 王义权, 周开亚, 刘中权. 从细胞色素 b 基因序列探讨我国林蛙属动物的系统发生关系. 动物学研究, 2001, 22(5): 345-350.
- [22] 姜自锋. 榕小蜂分子系统学研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2005.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33 ,No.19 Oct. ,2013(Semimonthly)

CONTENTS

- A review of ecosystem services and research perspectives MA Fengjiao, LIU Jintong, A. Egrinya Eneji (5963)
- Sexual interference in non-human primates YANG Bin, WANG Chengliang, JI Weihong, et al (5973)
- Density-dependent effect on reproduction of rodents; a review HAN Qunhua, GUO Cong, ZHANG Meiwen (5981)
- Proximate and ultimate determinants of food chain length WANG Yuyu, XU Jun, LEI Guangchun (5990)
- Mechanism of biological control to plant diseases using arbuscular mycorrhizal fungi
..... LUO Qiaoyu, WANG Xiaojuan, LI Yuanyuan, et al (5997)
- Advances in effects of conservation tillage on soil organic carbon and nitrogen
..... XUE Jianfu, ZHAO Xin, Shadrack Batsile Dikgwatlhe, et al (6006)
- Habitat selection of the pre-released giant panda in Wolong Nature Reserve
..... ZHANG Mingchun, HUANG Yan, LI Desheng, et al (6014)
- Activity rhythm and behavioral time budgets of wild Reeves's Pheasant (*Syrnaticus reevesii*) using infrared camera
..... ZHAO Yuze, WANG Zhichen, XU Jiliang, et al (6021)
- The energy budget of tree sparrows *Passer montanus* in wind different speed and duration
..... YANG Zhihong, WU Qingming, DONG Haiyan, et al (6028)
- Nest site characteristics of *Petaurista caniceps* in Baima Snow Mountain Nature Reserve
..... LI Yanhong, GUAN Jinke, LI Dayong, HU Jie (6035)
- Effects of habitat fragmentation on the genetic diversity of *Pachycondyla luteipes* on islands in the Thousand Island Lake, East
China LUO Yuanyuan, LIU Jinliang, HUANG Jieliang, et al (6041)
- The molecular genetic relationship between the pollinators of *Ficus pumila* var. *pumila* and *Ficus pumila* var. *aukeotsang*
..... WU Wenshan, CHEN Youling, SUN Lingli, et al (6049)
- The genetic evolutionary relationships of two *Eupristina* species on *Ficus altissima*
..... CHEN Youling, SUN Lingli, WU Leilei, et al (6058)
- Metal uptake and root morphological changes for two varieties of *Salix integra* under cadmium stress
..... WANG Shufeng, SHI Xiang, SUN Haijing, et al (6065)
- Effects of phthalic acid on seed germination, membrane lipid peroxidation and osmoregulation substance of radish seedlings
..... YANG Yanjie, WANG Xiaowei, ZHAO Kang, et al (6074)
- The morphological and physiological responses of *Tamarix ramosissima* seedling to different irrigation methods in the extremely
arid area MA Xiaodong, WANG Minghui, LI Weihong, et al (6081)
- Response characteristics of photosynthetic and physiological parameters in *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* seedling leaves to soil
water in sand habitat formed from seashells WANG Rongrong, XIA Jiangbao, YANG Jihua, et al (6088)
- Effects of ceramsite mulching on soil water content, photosynthetic physiological characteristics and growth of plants
..... TAN Xuehong, GUO Xiaoping, ZHAO Tingning (6097)
- Dynamics of tannin concentration and nutrient resorption for branchlets of *Casuarina equisetifolia* plantations at different ages
..... YE Gongfu, ZHANG Shangju, ZHANG Lihua, et al (6107)
- Sulfur contents in leaves and branches of dominant species among the three forest types in the Pearl River Delta
..... PEI Nancai, CHEN Bufeng, ZOU Zhijin, et al (6114)
- Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth dynamics of *Bauhinia faberi* seedlings
..... SONG Chengjun, QU Laiye, MA Keming, et al (6121)
- Characteristics of ion accumulation and seed germination for seeds from plants cultured at different concentrations of nitrate
nitrogen and salinity ZHOU Jiachao, FU Tingting, ZHAO Weiwei, et al (6129)
- Physio-ecological effects of endophyte infection on the host grass with elevated CO₂
..... SHI Zhibing, ZHOU Yong, LI Xia, et al (6135)
- Effects of pretreatment on germination of *Typha domingensis* and *Phragmites australis*
..... MENG Huan, WANG Xuehong, TONG Shouzheng, et al (6142)
- Transfer characteristics of cadmium from soil to *Salix × aureo-pendula* ZHANG Wen, WEI Hong, SUN Xiaocan, et al (6147)
- Effect of Close-to-Nature management on the natural regeneration and species diversity in a masson pine plantation
..... LUO Yinghua, SUN Dongjing, LIN Jianyong, et al (6154)
- Population dynamics and seed banks of the threatened seagrass *Halophila beccarii* in Pearl Bay, Guangxi
..... QIU Guanglong, FAN Hangqing, LI Zongshan, et al (6163)
- Effects of biological crusts on dew deposition and evaporation in the Southern Edge of the Mu Us Sandy Land, Northern China
..... YIN Ruiping, WU Yongsheng, ZHANG Xin, et al (6173)
- Life history characteristics and spatial distribution of *Populus pruinosa* population at the upper reaches of Tarim River
..... HAN Lu, XI Linqiao, WANG Jiaqiang, et al (6181)
- Interactive effects of short-term nitrogen enrichment and simulated grazing on ecosystem respiration in an alpine meadow on the
Tibetan Plateau ZONG Ning, SHI Peili, JIANG Jing, et al (6191)

- The correlation between soil water salinity and plant community distribution under micro-topography in Songnen Plain YANG Fan, WANG Zhichun, WANG Yunhe, et al (6202)
- Comparison of TSP, PM_{2.5} and their water-soluble ions from both inside and outside of Dafushan forest park in Guangzhou during rainy season XIAO Yihua, LI Jiong, KUANG Yuanwen, et al (6209)
- Fish community ecology in rocky reef habitat of Ma'an Archipelago II. Spatio-temporal patterns of community structure WANG Zhenhua, ZHAO Jing, WANG Kai, et al (6218)
- Interannual variation in the population dynamics of snailfish *Liparis tanakae* in the Yellow Sea CHEN Yunlong, SHAN Xiujuan, ZHOU Zhipeng, et al (6227)
- Spatial and temporal variation of soil macro-fauna community structure in three temperate forests LI Na, ZHANG Xueping, ZHANG Limin (6236)
- Community structure and species biodiversity of fig wasps in syconia of *Ficus superba* Miq. var. *japonica* Miq. in Fuzhou CHEN Youling, CHEN Xiaoqian, WU Wenshan, et al (6246)
- Marine ecological capital: valuation methods of marine ecosystem services CHEN Shang, REN Dachuan, XIA Tao, et al (6254)
- Geomorphologic regionalization of China aimed at construction of nature reserve system GUO Ziliang, CUI Guofa (6264)
- Impact of ecological vegetation construction on the landscape pattern of a Loess Plateau Watershed YI Yang, XIN Zhongbao, QIN Yunbin, et al (6277)
- Spatial heterogeneity of soil moisture across a cropland-grassland mosaic: a case study for agro-pastoral transition in north of China WANG Hongmei, WANG Zhongliang, WANG Kun, et al (6287)
- The regional diversity of changes in growing duration of spring wheat and its correlation with climatic adaptation in Northern China E Youhao, HUO Zhiguo, MA Yuping, et al (6295)
- Response of soil physical-chemical properties to rocky desertification succession in South China Karst SHENG Maoyin, LIU Yang, XIONG Kangning (6303)
- Prediction of the effects of climate change on the potential distribution of mire in Northeastern China HE Wei, BU Rencang, LIU Hongjuan, et al (6314)
- Soil nitrogen mineralization and associated temperature sensitivity of different Inner Mongolian grasslands ZHU Jianxing, WANG Qiufeng, HE Nianpeng, et al (6320)
- Effects of land use on soil nutrient in oasis-desert ecotone in the middle reach of the Heihe River MA Zhimin, LÜ Yihe, SUN Feixiang, et al (6328)
- Assessment on heavy metal pollution status in paddy soils in the northern Chengdu Plain and their potential ecological risk QIN Yusheng, YU Hua, FENG Wenqiang, et al (6335)
- Relationship between the temporal-spatial distribution of longline fishing grounds of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the thermocline characteristics in the Central Atlantic Ocean YANG Shenglong, MA Junjie, ZHANG Yu, et al (6345)
- Biological nitrogen fixation in the upper water column in the south Taiwan Strait during summer 2011 LIN Feng, CHEN Min, YANG Weifeng, et al (6354)
- Storage and drivers of forests carbon on the Beichangshan Island of Miaodao Archipelago SHI Honghua, WANG Xiaoli, WANG Ai, et al (6363)
- Impact of changes in vegetation types on soil C mineralization and associated temperature sensitivity in the Changbai Mountain forests of China WANG Dan, LÜ Yuliang, XU Li, et al (6373)
- Analysis of relationship between genetic structure of Chinese Pine and mountain barriers MENG Xiangxiang, DI Xiaoyan, WANG Mengben, et al (6382)
- Soil organic carbon interpolation based on auxiliary environmental covariates: a case study at small watershed scale in Loess Hilly region WEN Wen, ZHOU Baotong, WANG Yafeng, et al (6389)
- Eco-management benefit analysis of industrial resources from life cycle perspective: a case study of a virtual symbiosis network SHI Xiaoqing, LI Xiaonuo, YANG Jianxin (6398)
- The game analysis between poverty and environment in ecologically fragile zones QI Xinhua, YE Shilin, CHENG Yu, et al (6411)
- The coupling development of economy and environment under the background of World Expo in Shanghai NI Yao, YUE Wenzhe, ZHANG Yuntang, et al (6418)

《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,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 陈利顶 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 19 期 (2013 年 10 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 33 No. 19 (October, 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