

木瓜榕传粉榕小蜂与一种非传粉 榕小蜂核型比较分析*

武士波^{1,2,4**} 柳青^{3**} 杨培¹ 杨大荣^{1***} 彭艳琼^{1,2} 宋娟⁴

(1. 热带森林生态学重点实验室, 中国科学院西双版纳热带植物园, 昆明 650223; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 保山学院资源与环境学院, 云南省高校滇西昆虫资源保护与利用重点实验室 保山 678000;

4. 云南省野生资源植物研发重点实验室, 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650201)

摘要 【目的】为了明确木瓜榕传粉榕小蜂 *Ceratosolen emarginatus* Mayr 及另外一种寄生于木瓜榕雌果内的非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 染色体核型特征和差异。【方法】本研究采用小牛血清培养脑神经节的方法对寄生于木瓜榕 *Ficus auriculata* Loureiro 的两种小蜂进行了染色体核型比较分析。【结果】木瓜榕传粉小蜂的染色体数目为 $2n(\varphi) = 10$, 染色体臂指数 NF 值为 20, 整个染色体组包含 5 对端着丝粒染色体, 核型类别属 Stebbins-1A 型; 非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 的染色体数目为 $2n = 12$, 染色体臂指数 NF 值为 24, 染色体组全部为端着丝粒染色体, 核型类别属 Stebbins-1A 型。【结论】两种小蜂除染色体类型和核型类别相同, 在其他染色体特征方面均表现出差异。结合前人和本研究结果, 我们推测两种小蜂之间染色体核型可能发生了由传粉者向非传粉者的演化, 即发生了染色体数目由少到多的演化。

关键词 木瓜榕; 传粉榕小蜂; 非传粉小蜂; 染色体核型

Karyotype analysis of a pollinator, and a non-pollinator, of *Ficus auriculata* Loureiro

WU Shi-Bo^{1,2,4**} LIU Qing^{3**} YANG Pei¹ YANG Da-Rong^{1***}
PENG Yan-Qiong^{1,2} SONG Juan⁴

(1. Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences,

Kunming 650223, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Department of

Resources and Environmental Sciences, Baoshan College, Baoshan 678000, China; 4. Yunnan Key Laboratory for

Wild Plant Resources, Department of Economic Plants and Biotechnology, Kunming Institute of Botany,

Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract [Objectives] In order to investigate the chromosomal karyotypes of two fig wasps, *Ceratosolen emarginatus* Mayr, a pollinator of *Ficus auriculata* Loureiro, and a non-pollinating fig wasp *Platyneura* sp.. [Methods] The karyotype analysis of these species was performed using calf blood serum to culture cerebral ganglia of each species after dissection. [Results] Chromosomes of both wasps were metacentric and their karyotypes were Stebbins-1A. Some differences between the two species were apparent, for example, the diploid chromosome numbers of *C. emarginatus* and *Platyneura* sp. were $2n(\varphi) = 10$ and $2n(\varphi) = 12$, respectively, and the corresponding arm numbers (NF) were 20 and 24. [Conclusion] Although the two species share the same chromosome type and karyotype, they differ in some other chromosome features. Taking into consideration the results of previous studies, it is possible that the karyotype of these two fig wasps may have evolved from pollinator to non-pollinator, i.e. that the number of chromosomes increased rather than decreased.

Key words *Ficus auriculata*; *Ceratosolen emarginatus*; *Platyneura* sp.; karyotype

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31200292); 云南省应用基础研究项目 (2014FB183); 云南省高校滇西昆虫资源保护与利用重点实验室建设项目

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: wushibo@mail.kib.ac.cn; 675532427@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yangdr@xtbg.ac.cn

收稿日期 Received: 2018-09-12; 接受日期 Accepted: 2018-12-06

木瓜榕 *Ficus auriculata* Loureiro 隶属于荨麻目 (Urticales), 桑科 (Moraceae), 是榕属 (*Ficus*) 植物中较为常见的一个类群, 雌雄异株, 主要分布于中国、印度、巴基斯坦和越南 (吴征镒, 1995), 是典型的“老茎结果”榕树, 其果实直径可达 12.5 cm, 是目前已知榕属植物中果径最大的一种 (彭艳琼等, 2002)。

木瓜榕榕果中寄生有多种昆虫, 除专性传粉榕小蜂 *Ceratosolen emarginatus* Mayr 外, 还发现有 5 种非传粉小蜂 (Peng *et al.*, 2005)。传粉榕小蜂 *C. emarginatus* 在榕果进入雌花期时通过榕果顶端的苞片口进入果腔完成传粉和产卵, 而非传粉小蜂则在果外利用长长的产卵器刺穿木瓜榕果壁进行产卵, 它们与木瓜榕传粉小蜂在榕树雌花资源的利用上产生直接的竞争并对木瓜榕榕-蜂共生体系的稳定造成很大影响 (Kerdelhué *et al.*, 2000)。其中 *Platyneura* 属的一种非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 能够在木瓜榕传粉小蜂访果前找到榕果, 分别在木瓜榕的雌、雄果中产卵, 且单果内产卵量很大 (Peng *et al.*, 2005)。前期研究观察发现, *Platyneura* sp. 是一种造瘿类昆虫, 与传粉小蜂一样, 其发育和繁殖过程均在木瓜榕榕果内进行, 直至羽化为成虫随着传粉榕小蜂从榕果中扩散出去。它的生长发育过程与木瓜榕传粉小蜂协同进化, 在物候上表现出趋同现象。

榕小蜂是榕-蜂互利共生体系中不可缺少的参与者, 但不论是传粉榕小蜂还是非传粉小蜂, 人们更多关注的是它们在榕-蜂共生体系中所发挥的生态功能 (Chen *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2016), 而有关榕小蜂染色体方面的研究工作国内外均开展较少 (Liu *et al.*, 2011)。Gokhman 等 (2010) 在世界范围内首先报道了无花果 *Ficus carica* Linnaeus 传粉榕小蜂 *Blastophaga psenes* Linnaeus 的染色体核型, 但之后再未见有其他的研究成果发表。国内以中国科学院西双版纳热带植物园杨大荣研究员领导的团队最先开展榕小蜂染色体层面的研究, 柳青 (2011) 对我国西双版纳广泛分布的 10 种榕树传粉榕小蜂染色体核型进行了研究, 并结合染色体显带技术对 10 种传粉小蜂的染色体进行了 C 带、G 带及 Ag 染分

析, 结果发现 10 种传粉榕小蜂的染色体核型在属内具有高度的一致性, 而属间则在染色体数目和染色体类型两个方面表现出巨大差异。不论是 C 带还是 G 带, 10 种小蜂染色体带纹类型均呈现出多样性 (部分数据未发表)。此外, 武士波 (2012) 对西双版纳 8 种常见榕树的传粉榕小蜂和 2 种寄生性非传粉小蜂进行了染色体核型分析, 研究结果也进一步印证了榕树传粉榕小蜂染色体核型在属内具有非常稳定的属征 (部分数据未发表)。这些前期研究为系统开展榕小蜂科昆虫的染色体核型进化及演化关系提供了基础资料。截止目前, 有关榕树传粉榕小蜂染色体研究已经报道的有无花果传粉榕小蜂 *B. psenes*、对叶榕 *Ficus hispida* Linnaeus f. 传粉榕小蜂 *Ceratosolen solmsi* Mayr、鸡嗉子榕 *Ficus semicordata* Buchanan-Hamilton ex Smith 传粉榕小蜂 *Ceratosolen gravellyi* Grandi、苹果榕 *Ficus oligodon* Miquel 和木瓜榕传粉榕小蜂 *Ceratosolen emarginatus* Mayr、未知榕 *Ficus* sp. 传粉榕小蜂 *Ceratosolen* sp.、高榕 *Ficus altissima* Blume 传粉榕小蜂 *Eupristina altissima* Balakrishnan & Abdurahiman 6 个种 (Liu *et al.*, 2011; 武士波等, 2012; 陈辅铭等, 2018)。与同样依赖榕果作为繁衍场所的传粉榕小蜂相比, 非传粉榕小蜂类型复杂 (有造瘿者、寄居者和复寄生者三种)、数量众多, 并且会对榕-蜂互利共生系统产生多种影响, 但目前仅有寄生于高榕榕果内的一种欺骗性小蜂 *Eupristina* sp. 开展过类似的研究报道 (陈辅铭等, 2018)。因此, 本研究以木瓜榕专性传粉榕小蜂 *C. emarginatus* 和寄生于木瓜榕雌果内的一种造瘿类非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 为材料, 研究了两者的染色体特征, 并对两者的核型进行了初步比较分析, 为进一步丰富榕-蜂互利共生体系提供细胞学资料。

1 材料与方法

1.1 研究地点及材料

研究地点设在中国科学院西双版纳热带植物园 (Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, XTBG)。该植物园位于云南省西双版纳傣族自

治州勐腊县勐仑镇, 在 $N 21^{\circ}09'-22^{\circ}36'$ 、 $E 99^{\circ}58'-101^{\circ}50'$ 之间。研究所用材料为寄生于木瓜榕榕果内的两种榕小蜂, 即木瓜榕专性传粉榕小蜂 *C. emarginatus* (图 1:C) 和一种寄生于木瓜榕雌果内的非传粉榕小蜂 *Platyneura* sp. (图 1:D)。

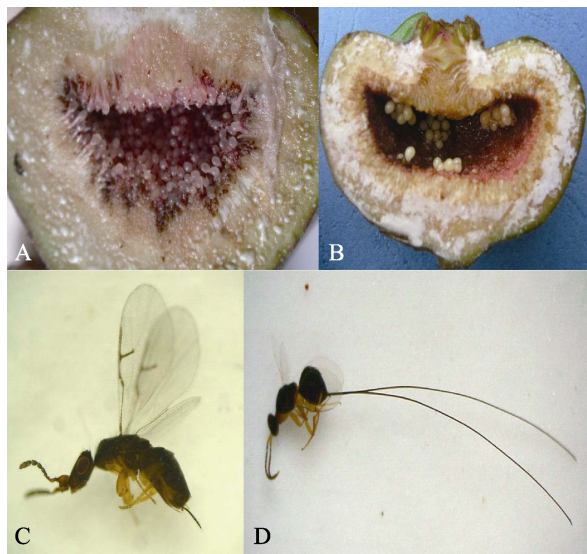


图 1 瘿花和榕小蜂形态
Fig. 1 Morphology of galls and wasps

A. *Ceratosolen emarginatus* 产卵的木瓜榕雄果间花期瘿花形态; B. *Platyneura* sp. 产卵的木瓜榕雌果间花期瘿花形态; C. *C. emarginatus* 雌虫; D. *Platyneura* sp. 雌虫。

A. The galls of male *F. auriculata* pollinated by *C. emarginatus* at post-receptive stage; B. The galls of female *F. auriculata* pollinated by *Platyneura* sp. at post-receptive stage; C. Female of *C. emarginatus*; D. Female of *Platyneura* sp.

1.2 实验样树

木瓜榕广泛分布于园内, 实验分别选择木瓜榕雌、雄树样树各一株, 前者位于在植物园榕树园内, 后者位于植物园电站附近。实验样树选定后进行挂牌标记, 连续观测, 待榕树开始结果时进行套袋, 以便进行后续的人工放蜂实验。

1.3 榕果套袋放蜂

木瓜榕雄树样树用于人工控制放入传粉小蜂 *C. emarginatus*。待样树刚刚萌发结果时, 选 50 个榕果用纱网袋 (20 cm×20 cm, 120 筛目) 进行套袋隔离。根据木瓜榕发育特征, 计算发育

时间, 待榕果进入接收期解开纱网袋实施人工放蜂。放蜂前一天用纱网袋收集木瓜榕的传粉榕小蜂, 在第 2 天太阳出来前进行人工放蜂, 单果放蜂 2-4 头。放完蜂后继续套上纱网袋以隔离其他非传粉小蜂产卵, 直至榕果发育至间花期进行后续试验。

木瓜榕雌性样树用于人工控制非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 产卵。*Platyneura* sp. 能够在木瓜榕传粉小蜂访果前找到榕果, 野外持续观察当其在雌树榕果上完成产卵后立即套上纱网袋以隔离传粉小蜂和其他非传粉小蜂产卵, 共套袋隔离 50 个榕果, 直至榕果发育至间花期进行后续试验。

1.4 榕小蜂染色体制备

将发育至间花期合适取材的榕果采摘回实验室并切开, 从瘿花中剥离出榕小蜂幼虫, 迅速用昆虫针挑取放入 Ringer 液或蒸馏水中冲洗 2-3 次, 然后再放入 Ringer 液中, 用昆虫针在解剖镜下解剖出脑组织, 并迅速挑入含秋水仙素浓度为 0.07-0.08 mg/mL 的小牛血清培养液中, 置 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱进行培养, 经 3-4 h 后将材料放入浓度为 1% 的柠檬酸钠溶液在 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 下低渗 30-50 min, 加入新配制的卡诺氏固定液 (甲醇: 冰醋酸=3:1) 置 4°C 冰箱处理 1-3 h, 之后将材料移至滴有 60% 冰醋酸的干净载玻片上处理 30-60 min, 使组织充分软化, 然后用解剖针充分撕碎材料, 自然条件下晾干, 5% Giemsa 染色, 运用 ZEISS Discovery V12 显微拍照, 用 Image J 软件进行显微测量。

1.5 核型分析

每种榕小蜂选取 30 个良好的有丝分裂中期细胞, 统计细胞的染色体数目, 并从中选取 5 个染色体分散程度好的细胞, 进行染色体数目统计以及相关核型参数的测量和计算。核型类别参照 Stebbins (1971) 的分类原则, 核型相关参数分析按照 Levan 等 (1964) 的方法计算, 核型不对称系数 (As.k %) 采用 Arano (1963) 的方法计算。

2 结果与分析

2.1 *C. emarginatus*

C. emarginatus 的染色体数目为 $2n(\text{♀})=10$, 染色体臂指数 NF 值为 20, 全部为中着丝粒染色体 (图 2)。染色体组实际测量的总长度为 $190.24\ \mu\text{m}$ 。染色体相对长度变化范围为 23.09-17.67, 都属于大型染色体, 最长与最短染色体的比值为 1.31, 未发现臂比大于 2:1 的染色体, 因此 *C. emarginatus* 核型属 Stebbins-1A 型 (表 1), 核型

不对称性系数为 53.92 %。

2.2 *Platyneura* sp.

Platyneura sp. 的染色体数目为 $2n(\text{♀})=12$, 染色体臂指数 NF 值为 24, 全部为中着丝粒染色体 (图 3)。染色体组实际测量的总长度为 $123.56\ \mu\text{m}$ 。染色体相对长度变化范围为 19.42-13.89, 都属于大型染色体, 最长与最短染色体的比值为 1.40, 未发现臂比大于 2:1 的染色体, 因此 *Platyneura* sp. 核型属 Stebbins-1A 型 (表 1), 核型不对称性系数为 54.21%。

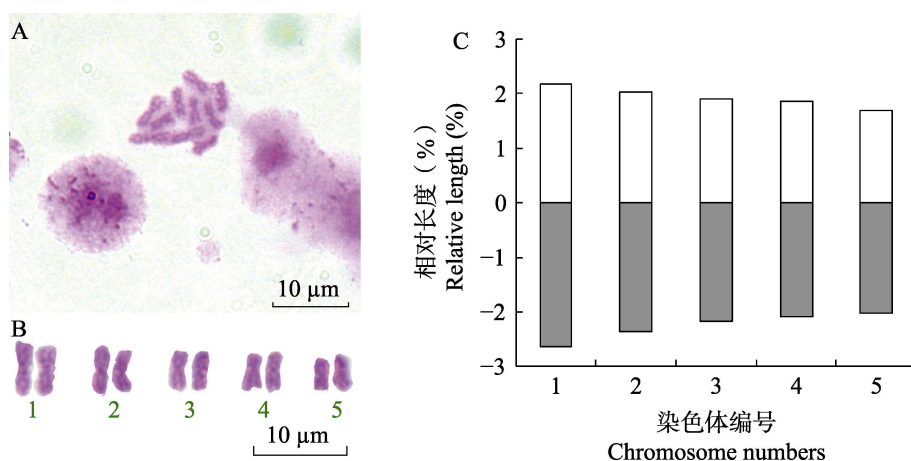


图 2 *Ceratosolen emarginatus* 有丝分裂中期染色体核型及核型模式图
Fig. 2 Karyotype and ideogram of *Ceratosolen emarginatus* at mitosis metaphase

A. *C. emarginatus* 有丝分裂中期染色体; B. *C. emarginatus* 染色体核型; C. *C. emarginatus* 染色体核型模式图。
A. The chromosomes of *C. emarginatus* at mitosis metaphase; B. Karyotype of *C. emarginatus*;
C. Ideogram of *C. emarginatus*.

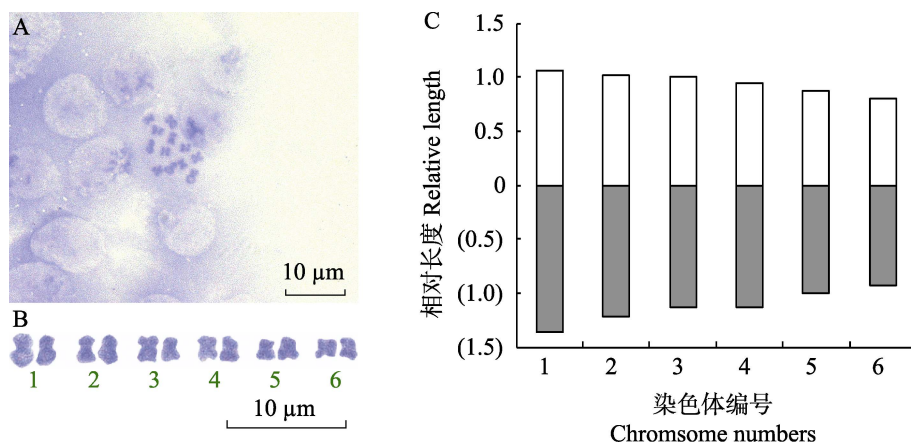


图 3 *Platyneura* sp. 有丝分裂中期染色体核型及核型模式图
Fig. 3 Karyotype and ideogram of *Platyneura* sp. at mitosis metaphase

A. *Platyneura* sp. 有丝分裂中期染色体; B. 染色体核型; C. 染色体核型模式图。
A. The chromosomes of *Platyneura* sp. at mitosis metaphase; B. Karyotype of *Platyneura* sp.; C. Ideogram of *Platyneura* sp.

表 1 两种榕小蜂核型参数
Table 1 Karyomorphological parameters of the two fig wasps

榕小蜂种类 Fig wasps	染色体编号 Chromosome numbers	臂比值 <i>r</i> Arm ratio	差值 <i>d</i> Difference between the long and short arms	着丝粒点指数 CI (%) Centromeric index	相对长度 RL(%) Relative length	染色体类型 Chromosome type
木瓜榕 传粉小蜂 <i>C. emarginatus</i>	1	1.163±0.049	0.299±0.071	48.507±0.357	23.090±0.002	m
	2	1.159±0.057	0.288±0.094	48.562±0.468	21.320±0.002	m
	3	1.071±0.024	0.122±0.040	49.393±0.199	19.748±0.002	m
	4	1.230±0.053	0.336±0.060	48.319±0.301	18.172±0.001	m
	5	1.365±0.099	0.506±0.123	47.469±0.613	17.668±0.001	m
木瓜榕雌果内一 非传粉小蜂 <i>Platyneura</i> sp.	1	1.285±0.091	0.290±0.100	48.548±0.498	19.420±0.002	m
	2	1.219±0.085	0.195±0.067	49.024±0.333	17.950±0.002	m
	3	1.132±0.034	0.127±0.031	49.366±0.154	17.108±0.001	m
	4	1.202±0.048	0.185±0.051	49.076±0.255	16.470±0.002	m
	5	1.130±0.051	0.122±0.052	49.390±0.262	15.172±0.001	m
	6	1.450±0.288	0.169±0.046	49.154±0.223	13.882±0.002	m

图中数据为平均值±标准误。臂比=长臂/短臂；差值 *d*=长臂-短臂；着丝粒点指数=短臂/染色体长度×100%；染色体相对长度=每条染色体实测长度/染色体组总实测长度×100%。
Data are mean±SE. Arm ratio = Length of long arm /Length of short arm; Difference between long arm and short arm = Length of long arm - Length of short arm; Centromeric index= Length of short arm /Length of chromosome×100%; Relative length = The absolute length of each chromosome /The total length of chromosome set ×100%.

3 讨论

和前人的研究结果相似 (Liu *et al.*, 2011 ; 武士波等, 2012), 木瓜榕传粉榕小蜂 *C. emarginatus* 染色体组包含 10 条中着丝粒染色体, 核型类型属于属 Stebbins-1A 型, 这一结果支持 Liu 等 (2011) 的观点, 即榕树传粉榕小蜂染色体核型在属内具有较高的保守性。此外, 本文第一次研究了寄生于木瓜榕雌果的非传粉小蜂 *Platyneura* sp. 的染色体核型, 从结果来看, *C. emarginatus* 和 *Platyneura* sp. 的染色体核型存在较多异同, 相同之处在于两者的染色体类型都为中部着丝粒、大型染色体, 核型都属于 Stebbins-1A 型; 但两者在染色体数目上明显不同, *C. emarginatus* 的染色体数目为 2*n* (♀) = 10, 而 *Platyneura* sp. 的染色体数目为 2*n* (♀) = 12。除此之外, *Platyneura* sp. 的染色体相对长度变化范围比 *C. emarginatus* 大。核型不对称性系数两者也有不同, *C. emarginatus* 的为 53.92 %, *Platyneura* sp. 的为 54.21 %。

非传粉小蜂不仅种类多而且生活史复杂 (Bronstein, 1991 ; Compton and Hawkins, 1992 ; Cook and Power, 1996)。在自然条件下, 榕果中普遍寄生有多种非传粉小蜂, 这些非传粉小蜂多数在果外产卵繁殖, 但也有少数能够进入果腔中产卵繁殖 (Zhang *et al.*, 2008), 并能为榕树传粉 (Jousselin *et al.*, 2001 ; Zhang *et al.*, 2008), 它们在形态和物候上已经与传粉榕小蜂发生趋同 (van Noort and Compton, 1996 ; Jousselin *et al.*, 2001 ; Zhang *et al.*, 2008)。但目前人们对传粉小蜂和非传粉小蜂之间的系统发育及演化仍然存在争议 (Cruaud *et al.*, 2010)。虽然近年来有学者运用形态或分子手段对榕小蜂科的昆虫系统发育关系进行了研究, 但对于一些主要类群的系统地位仍然未得到解决 (Cruaud *et al.*, 2010)。染色体核型研究做为一个不同的研究手段可以弥补形态和分子研究的不足, 以辅助解决这些问题。

基于 Gokhman 等 (2010) 对无花果传粉榕小蜂 *B. psenes* 的染色体研究结果及 Cruaud 等

(2010) 对榕小蜂科的系统发育研究结果, Liu 等 (2011) 提出传粉榕小蜂的染色体可能发生了染色体数目从少到多、核型由对称向不对称的演化过程。而至于传粉榕小蜂和非传粉小蜂之间是否也存在类似的演化过程尚不清楚, 但结合本研究, *C. emarginatus* 和 *Platyneura* sp. 在核型不对称性方面两者存在差异, 前者的不对称性系数为 53.92 %, 后者为 54.21 %, 若按照核型对称性演化趋势 (Stebbins, 1971), 可以推测两者之间应该是发生了由传粉者向非传粉者的演化, 即发生了染色体数目由少到多的演化 (发生了染色体的断裂)。比较两者染色体组实测长度发现, *C. emarginatus* 染色体组实测总长度为 190.24 μm , 而 *Platyneura* sp. 的染色体组实测总长度只有 123.56 μm , 这也符合染色体由少到多染色体组长度的变化。因此, 可以推测传粉者向非传粉者演化的一条途径: 传粉榕小蜂在与榕树的协同进化过程中, 有些个体或者群体不给榕树传粉也能产生后代 (起初寄主惩罚效应尚不明显), 并且这些类群在自然选择时也获得了长期的遗传上成功, 即现在发现的欺骗者 (Compton *et al.*, 1991; 管俊明等, 2007; Peng *et al.*, 2008; Jander and Herre, 2010) 和进果产卵的非传粉者, 接着这部分类群又逐渐演化成为在果外产卵的非传粉榕小蜂类群。值得一提的是高山榕上的欺骗者 *Eupristina* sp. 与传粉者 *C. emarginatus* 有着极为相近的染色体核型 (陈辅铭等, 2018), 从而也佐证了我们的推测。

当然, 仅仅依据现有的结果难以确定榕树传粉者与非传粉者之间的染色体核型演化情况, 需要更加广泛而全面的涉及更多的属、种并采用各种最新的染色体研究手段如荧光原位杂交 (FISH) 技术等以便对榕小蜂科昆虫细胞遗传学进行更加精细和深入的研究。

参考文献 (References)

- Arano H, 1963. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan. IX. The karyotype analysis and phylogenetic consideration of *Pertya* and *Ainsliaea*. *Botanical Magazine Tokyo*, 76(895): 32–39.
- Bronstein JL, 1991. The non-pollinating wasp fauna of *Ficus pertusa*: exploitation of a mutualism? *Oikos*, 61: 175–186.
- Chen FM, Zhang XM, Liu Q, 2018. Comparison study on the chromosome of two *Eupristina* species from *Ficus altissima* Blume. *Journal of Environmental Entomology*, 40(1): 193–198. [陈辅铭, 张晓明, 柳青, 2018. 高榕果内两种共存榕小蜂染色体比较研究. 环境昆虫学报, 40(1): 193–198.]
- Chen HH, Yang DR, Gu D, Compton SG, Peng YQ, 2013. Secondary galling: a novel feeding strategy among ‘non-pollinating’ fig wasps from *Ficus curtipes*. *Ecological Entomology*, 38(4): 381–389.
- Compton SG, Hawkins BA, 1992. Determinants of species richness in southern African fig wasp assemblages. *Oecologia*, 91: 68–74.
- Compton SG, Holton KC, Rashbrook VK, van Noort S, Vincent SL, Ware AB, 1991. Studies of *Ceratosolen galili*, a non-pollinating Agaonid fig wasp. *Biotropica*, 2: 188–194.
- Cook JM, Power SA, 1996. Effects of within-tree flowering asynchrony on the dynamics of seed and wasp production in an Australian fig species. *Journal of Biogeography*, 23: 487–493.
- Cruaud A, Jabbour-Zahab R, Genson G, Cruaud C, Couloux A, Kjellberg F, van Noort S, Rasplus JY, 2010. Laying the foundations for a new classification of Agaonidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), a multilocus phylogenetic approach. *Cladistics*, 26(4): 359–387.
- Gokhman VE, Mikhailenko AP, Fursov VN, 2010. Chromosomes of *Blastophaga psenes* (Hymenoptera: Agaonidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 1: 187–188.
- Guan JM, Peng YQ, Yang DR, 2007. Host sanctions in fig-fig wasp mutualism. *Biodiversity Science*, 6: 626–632. [管俊明, 彭艳琼, 杨大荣, 2007. 榕-蜂互惠关系中榕树对未传粉榕小蜂的惩罚效应. 生物多样性, 6: 626–632.]
- Jander KC, Herre EA, 2010. Host sanctions and pollinator cheating in the fig tree-fig wasp mutualism. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 1687: 1481–1488.
- Jousselin E, Rasplus JY, Kjellberg F, 2001. Shift to mutualism in parasitic lineages of the fig/fig wasp interaction. *Oikos*, 94: 287–294.
- Kerdelhué C, Rossi JP, Rasplus JY, 2000. Comparative community ecology studies on Old World figs and fig wasps. *Ecology*, 81: 2832–2849.
- Levan AK, Fredga K, Sandberg AA, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2): 201–220.
- Liu Q, 2011. Methods of chromosome preparation and karyotype evolution of pollinating fig wasps. Doctor's dissertation. Kunming: Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences. [柳青, 2011. 榕树传粉榕小蜂染色体制备技术及其

- 核型进化研究. 博士学位论文. 昆明: 中国科学院西双版纳热带植物园.]
- Liu Q, Ou XH, Compton SG, Yang DR, 2011. Chromosome numbers are not fixed in Agaonidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Symbiosis*, 3: 131–137.
- Peng YQ, Duan ZB, Yang DR, Rasplus JY, 2008. Co-occurrence of two *Eupristina* species on *Ficus altissima* in Xishuangbanna, SW China. *Symbiosis*, 45: 9–14.
- Peng YQ, Yang DR, Duan ZB, 2005. The population dynamics of a non-pollinating fig wasp on *Ficus auriculata* at Xishuangbanna, China. *Journal of Tropical Ecology*, 21: 581–584.
- Peng YQ, Yang DR, Wang QY, Zhou F, Luo JR, 2002. On the structure and distribution of the insect communities of *Ficus auriculata*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(5): 629–635. [彭艳琼, 杨大荣, 王秋艳, 周芳, 罗进荣, 2002. 木瓜榕上昆虫群落结构及分布特征. *昆虫学报*, 45(5): 629–635.]
- Stebbins GL, 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold, London, (Chapter 5: Morphological, Physiological, and Cytogenetic Significance of Polyploidy). 124–154.
- van Noort S, Compton SG, 1996. Convergent evolution of agaonine and sycoecine (Agaonidae, Chalcidoidea) head shape in response to the constraints of host fig morphology. *Journal of Biogeography*, 23: 415–424.
- Wang G, Cannon CH, Chen J, 2016. Pollinator sharing and gene flow among closely related sympatric dioecious fig taxa. *Proceedings of the Royal Society B*, 283: 20152963.
- Wu SB, 2012. Karyotype analysis on the pollinators (Hymenoptera: Agaonidae) of eight fig trees. Master thesis. Kunming: Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences. [武士波, 2012. 八种榕树传粉榕小蜂染色体核型分析. 硕士学位论文. 昆明: 中国科学院西双版纳热带植物园.]
- Wu SB, Liu Q, Yang P, Yang DR, 2012. Karyotype analysis of pollinating wasps (Hymenoptera: Agaonidae) of three *Ficus* species. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(5): 1314–1320. [武士波, 柳青, 杨培, 杨大荣, 2012. 大果榕亚组三种榕树传粉榕小蜂核型研究. *应用昆虫学报*, 49(5): 1314–1320.]
- Wu ZY, 1995. Yunnan Plant Flora. Vol. 6. Beijing: Science Press. 595–675. [吴征镒, 1995. 云南植物志 (第六卷). 北京: 科学出版社. 595–675.]
- Zhang FP, Peng YQ, Guan JM, Yang DR, 2008. A species of fig tree and three unrelated fig wasp pollinators. *Evolutionary Ecology Research*, 10: 1–10.