

DNA条形码在入侵昆虫中的应用

组号：G11&G12

汇报人：王玉生

组员：米丽拜尔、景誉庆、
吴洋、刘培、梁振

2014-06-19

报告内容

一

背景介绍

二

研究目的

三

介壳虫DNA条形码数据库

四

西花蓟马种群传播扩散

五

结论

六

致谢



1 背景介绍

1.1 生物入侵现状

我国的入侵物种已达**544**种

现状一：已入侵物种扩散蔓延，暴发成灾



2007年，B型烟粉虱导致江浙大棚番茄等蔬菜作物的毁灭性损失

1 背景介绍

1.1 生物入侵现状

现状二：危险性物种接连入侵，新疫情不断突发



红脂大小蠹	1998	山西
锈色棕榈象	1998	海南
李属坏死环斑病毒	1999	陕西
银合欢豆象	1999	海南
香蕉穿孔线虫	2000	广东
黄顶菊	2001	河北
水椰八角铁甲	2001	海南
褐纹甘蔗象	2002	广东
椰心叶甲	2002	海南
西花蓟马	2003	北京
红火蚁	2004	广东
刺桐姬小蜂	2005	广东
黄瓜绿斑駁病毒	2005	辽宁
螺旋粉虱	2006	海南
刺槐叶瘿蚊	2006	河北
番茄曲叶病毒	2006	江苏
悬铃木方翅网蝽	2007	湖北
桉树枝瘿姬小蜂	2007	广西
扶桑绵粉蚧	2008	广东

1 背景介绍

1.1 生物入侵现状

现状三：潜在入侵物种截获频次急剧增加

口岸截获：2008年截获外来种多达2856种，是2002年的3倍多。



1 背景介绍

1.2 重要入侵昆虫及鉴定



◆ 粉虱科 **161属1556种**



◆ 蓟马 **约5500种**



◆ 实蝇科 **450属 4300 余种**



◆ 介壳虫类 **1050属7500种**

1 背景介绍

1.2 重要入侵昆虫及鉴定

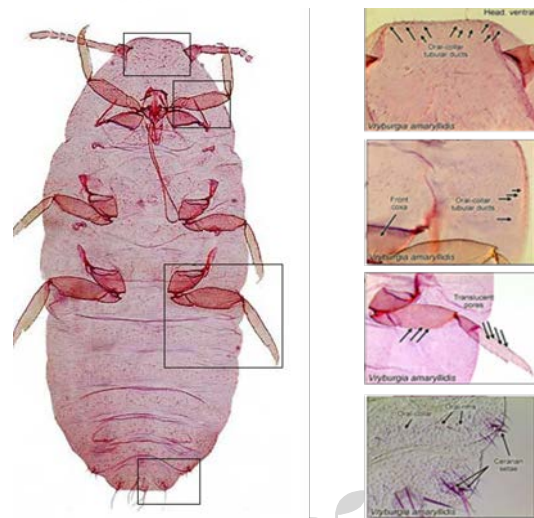
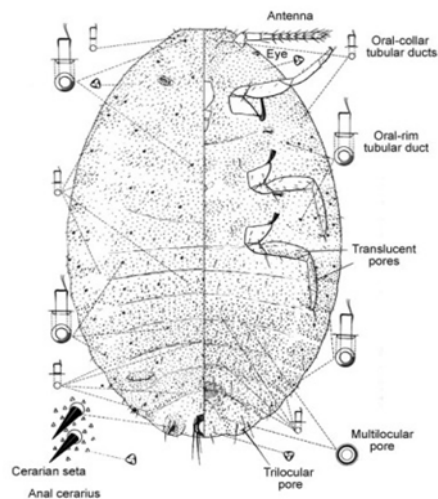
传统形态鉴定存在相当局限



快速准确鉴定



分子检测鉴定技术

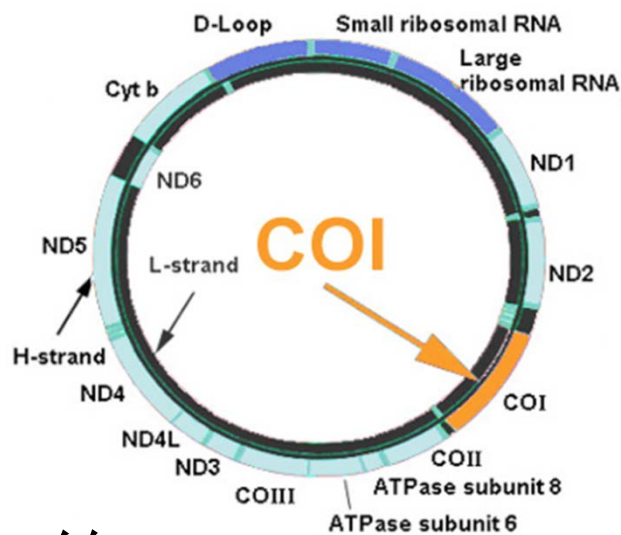


介壳虫背腹半分图鉴定法

1 背景介绍

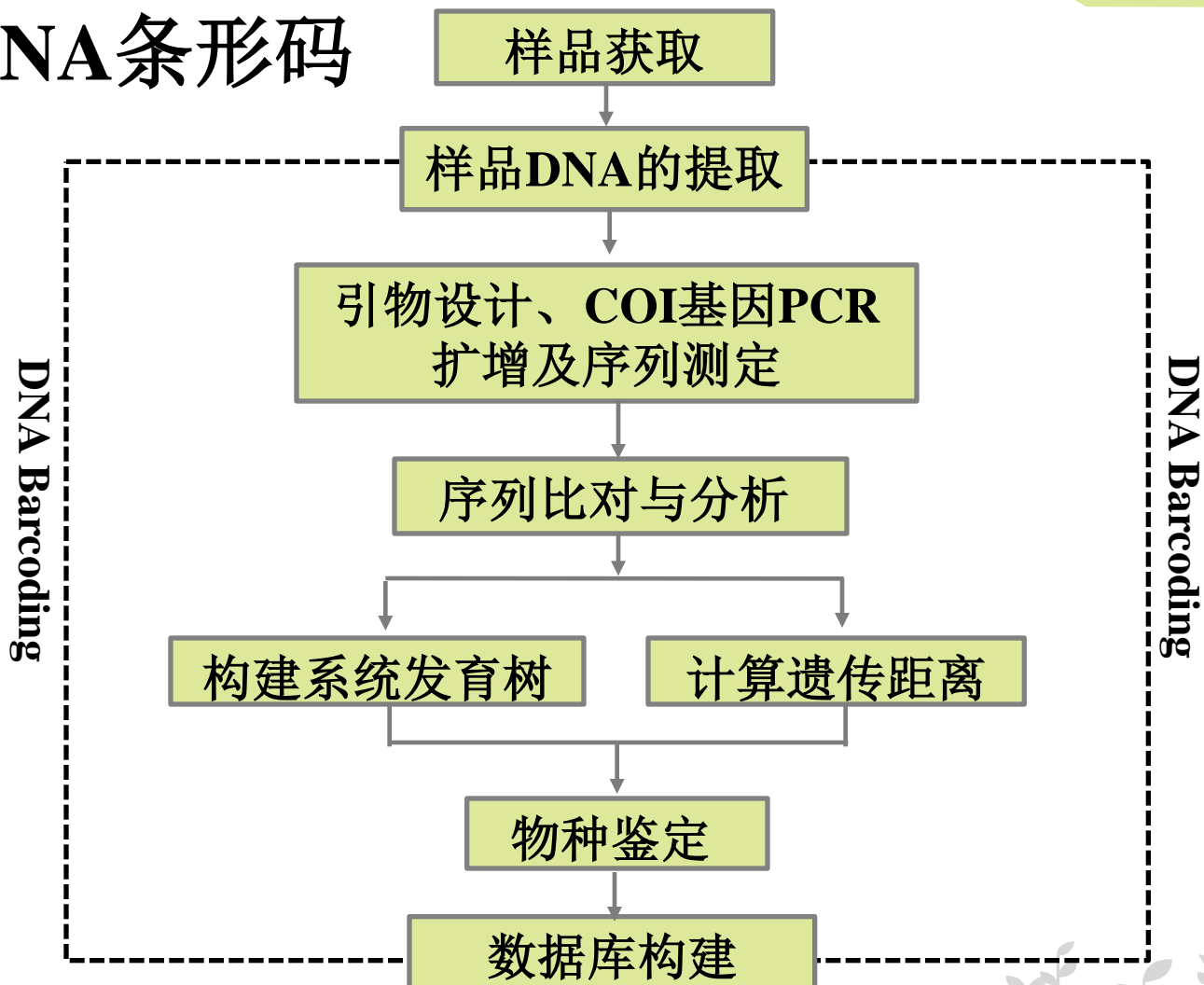
1.3 DNA条形码

- 2003年，Hebert提出比较物种间mtDNA COI基因的某特定序列进行物种分类鉴定，称为DNA Barcoding。
- 标准序列：靠近5'端约650 bp的序列；
- 长度适中、进化速度适宜。
- ITS、28S rRNA、18S rRNA等。



1 背景介绍

1.3 DNA条形码



DNA 条形码技术工作流程

1 背景介绍

1.3 DNA条形码

条形码
有效性
检验

种间遗传差异应远大于种内
两者之间形成一个明显的间隔区

每个物种具有独特的DNA条形码
物种间无共享型序列



1 背景介绍

1.4 昆虫DNA条形码数据库



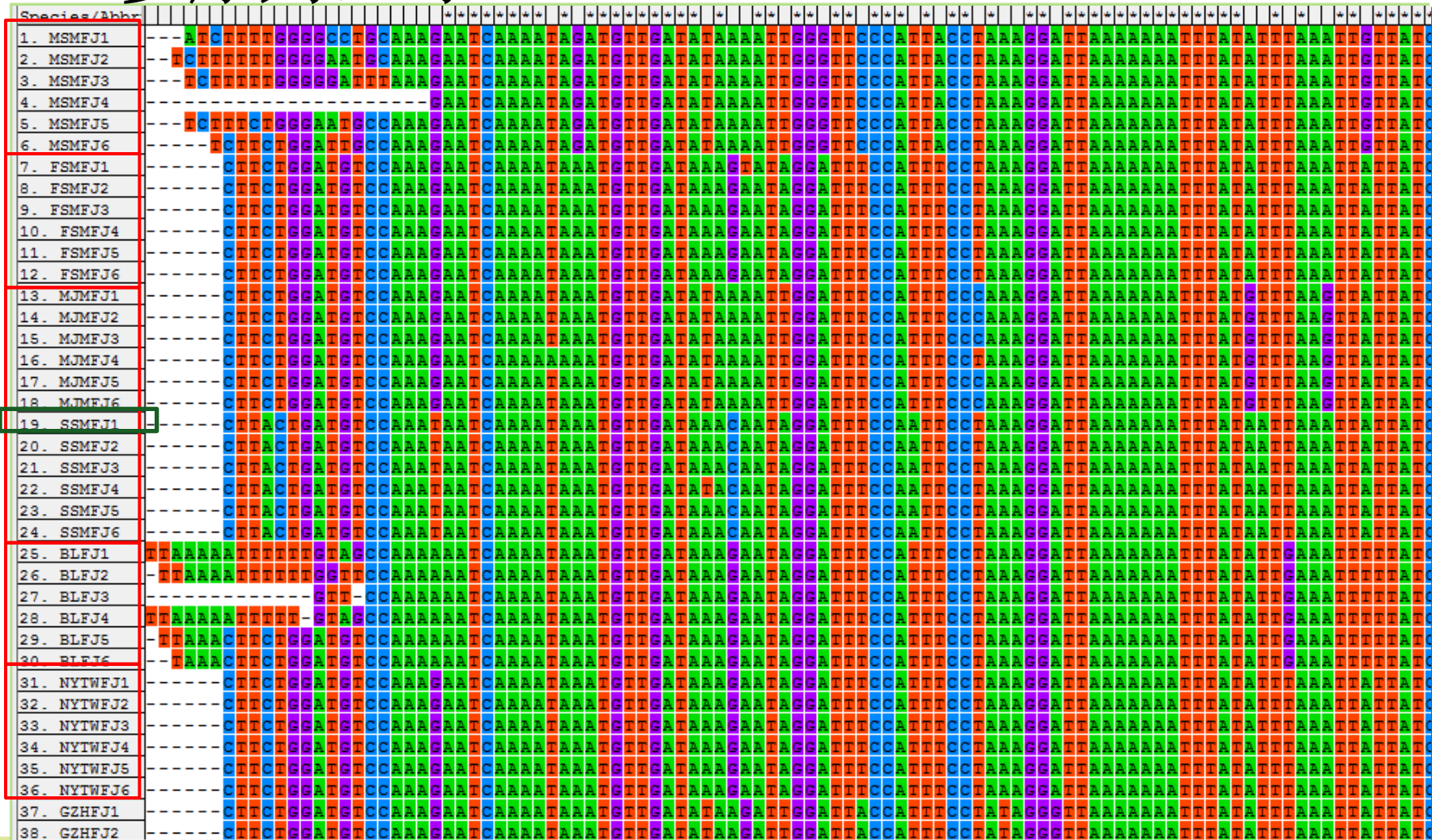
2 研究目的

- 构建粉蚧科昆虫双基因条形码鉴定技术；
- 针对重大危险性害虫木薯绵粉蚧开发基于COI的种特异性检测SS-COI技术；
- 重大入侵害虫扶桑绵粉蚧传播扩散分析。



3 介壳虫DNA条形码数据库

3.1 多序列比对



3 介壳虫DNA条形码数据库

NCBI中的BLAST程序进行同源性比对

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1175-3 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1199	1199	100%	0.0	100%	HM474264.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1175-2 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1199	1199	100%	0.0	100%	HM474265.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solenopsis mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds	1138	1138	94%	0.0	100%	AB858432.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1107 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1005	1005	100%	0.0	95%	HM474270.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1110-1 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1005	1005	100%	0.0	95%	HM474272.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1003	1003	99%	0.0	95%	GU936937.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1110-2 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	1000	1000	100%	0.0	94%	HM474271.1
<input type="checkbox"/>	Phenacoccus solani voucher P1107-1 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	985	985	98%	0.0	95%	HM474269.1



3 介壳虫DNA条形码数据库

种间																					种内
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1																					0.000
2	0.229																				0.002
3	0.228	0.153																			0.000
4	0.185	0.252	0.251																		0.002
5	0.224	0.148	0.144	0.250																	0.001
6	0.271	0.321	0.306	0.311	0.288																0.005
7	0.293	0.322	0.293	0.277	0.297	0.119															0.000
8	0.306	0.362	0.303	0.320	0.299	0.115	0.132														0.000
9	0.290	0.353	0.296	0.315	0.294	0.120	0.115	0.116													0.006
10	0.278	0.316	0.296	0.309	0.302	0.116	0.111	0.111	0.091												0.000
11	0.265	0.296	0.279	0.302	0.288	0.141	0.139	0.139	0.115	0.116											0.002
12	0.319	0.357	0.324	0.327	0.315	0.186	0.184	0.181	0.166	0.180	0.166										0.005
13	0.285	0.335	0.307	0.308	0.300	0.168	0.173	0.160	0.148	0.155	0.161	0.168									0.002
14	0.258	0.327	0.277	0.301	0.307	0.126	0.126	0.114	0.091	0.098	0.111	0.162	0.129								0.001
15	0.360	0.337	0.357	0.365	0.352	0.356	0.343	0.374	0.345	0.335	0.350	0.376	0.372	0.344							0.000
16	0.351	0.356	0.383	0.334	0.369	0.380	0.362	0.343	0.356	0.338	0.339	0.365	0.353	0.339	0.234						0.000
17	0.365	0.355	0.359	0.365	0.365	0.384	0.357	0.365	0.366	0.349	0.337	0.403	0.361	0.353	0.160	0.228					0.001
18	0.316	0.307	0.335	0.340	0.336	0.343	0.332	0.329	0.331	0.324	0.317	0.347	0.320	0.320	0.186	0.217	0.181				0.000
19	0.346	0.350	0.332	0.344	0.350	0.403	0.363	0.374	0.382	0.374	0.368	0.388	0.350	0.375	0.183	0.245	0.206	0.190			0.000
20	0.318	0.311	0.312	0.325	0.300	0.322	0.312	0.304	0.290	0.308	0.290	0.327	0.295	0.290	0.154	0.200	0.140	0.159	0.188		0.001
21	0.366	0.334	0.352	0.350	0.317	0.370	0.346	0.346	0.360	0.349	0.332	0.370	0.337	0.345	0.189	0.228	0.206	0.203	0.193	0.181	0.001

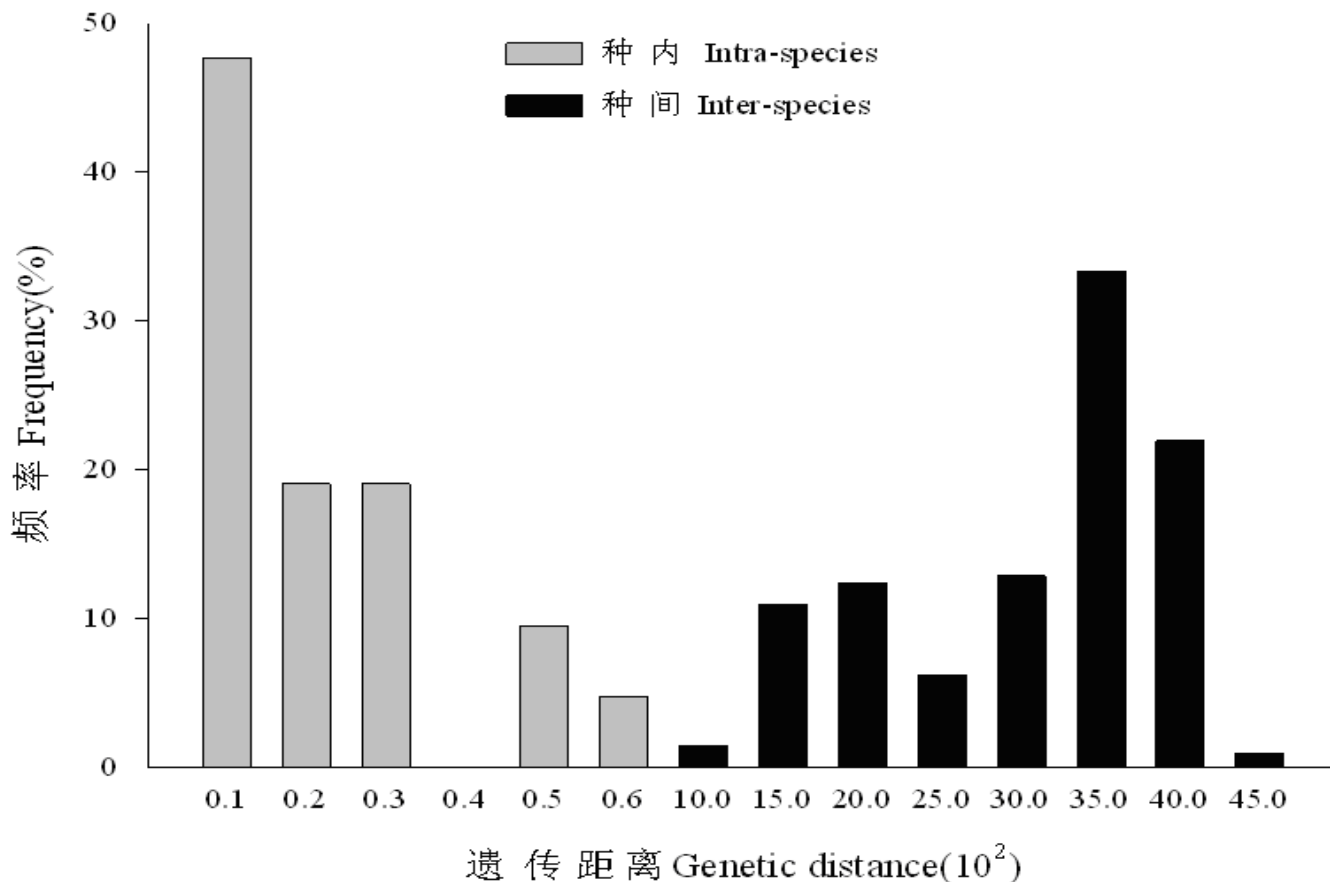
种内遗传距离 **0.0000~0.0059**，平均 **0.0014**；

种间遗传距离**0.0906~ 0.4031**，平均 **0.2794**；

种间遗传距离是种内遗传距离的 **199.6倍**

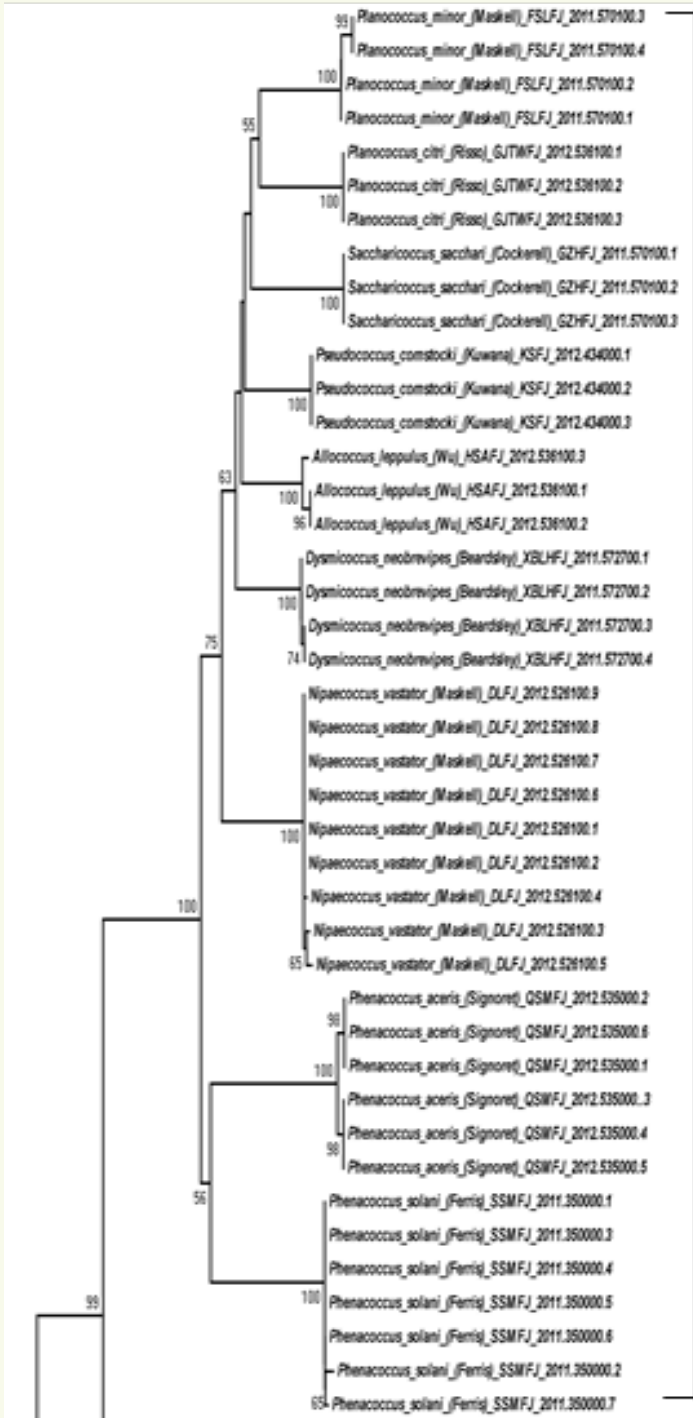


3 介壳虫DNA条形码数据库

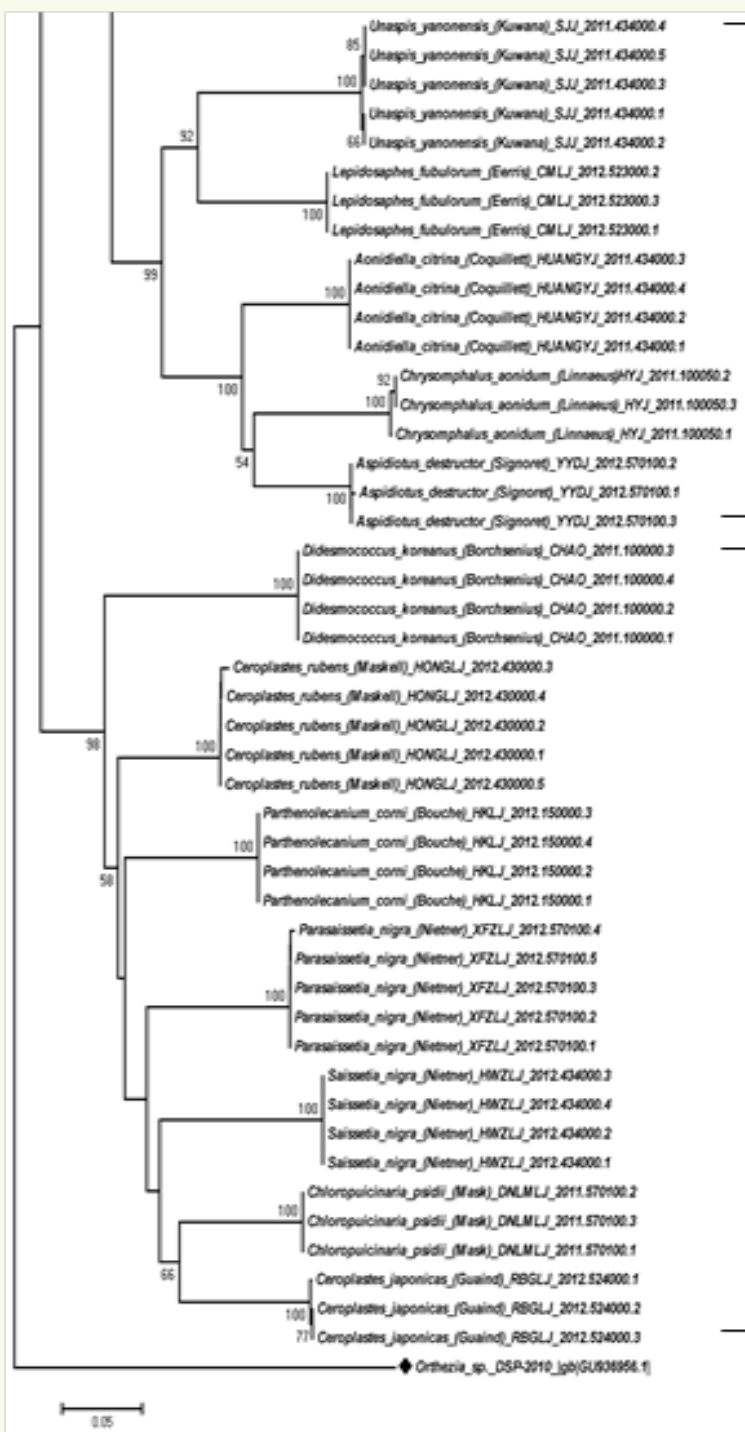


遗传距离频率分布分析：种内种间遗传距离不存在重叠区





粉蚧科: pseudococcidae



盾蚧科: Diaspididae

蜡蚧科: Coccidae

3 介壳虫DNA条形码数据库



中国外来入侵物种数据库
Database of Invasive Alien Species in China

[首页](#) | [新闻](#) | [物种信息](#) | [物种空间分布](#) | [物种调查](#) | [多媒体库](#) | [安全性评价](#) | [远程监控](#) | **DNA条形码** | [联系我们](#)

中国主要外来入侵昆虫DNA条形码识别系统

CO I 条形码识别 | [序列查询](#) | [序列提交](#) | [我的序列](#)

物种名称

或者

显示方法: 排序字段 排序方式 列表条数

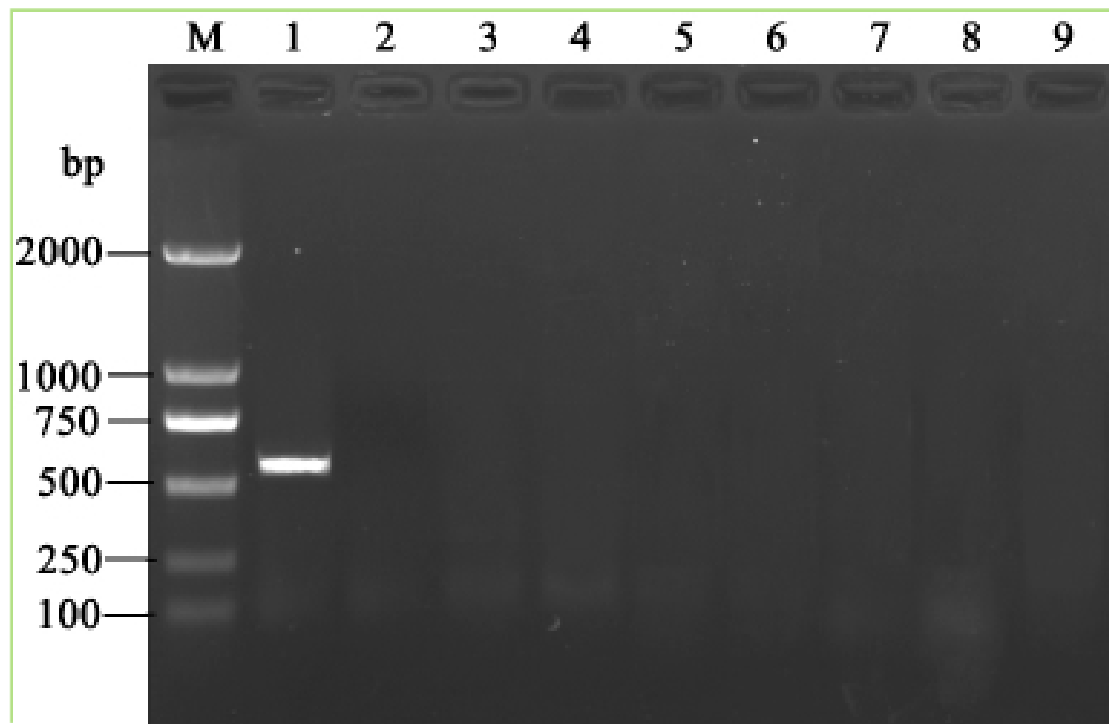
物种统计	类型	种数(种)	条码统计	
			来源	数量(条)
	蓟马类	43	NCBI	4786
	实蝇类	30	BOLD	955
	介壳虫类	29	CMIAS	699
	粉虱类	0	其他	0
	合计	102	合计	6440

序列ID	序列来源	序列名称	物种中文名称	物种拉丁学名	序列内容
seq6588	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 6	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	TTTTGGAITT...
seq6592	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 10	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	TTTTGGAITT...
seq6593	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 11	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	TTTTGGAITT...
seq6624	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 1	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	CTTTGGTCAG...
seq6625	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 2	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	TAAAAATTTT...
seq6626	CMIAS	KSFJ. 2012. 443311. 3	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	TTTTGGTCAG...
seq6627	CMIAS	KSFJ. 2012. 266003. 5	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	ATGATCAGTT...
seq6629	CMIAS	KSFJ. 2012. 266003. 4	康氏粉蚧	<i>Pseudococcus comstocki</i> <i>Kuwana</i>	CTTTGGTCAG...



3 介壳虫DNA条形码数据库

预期结果



4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

NCBI中的BLAST程序进行同源性比对

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate 1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1500	1500	100%	0.0	100%	HQ697596.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate 2 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1500	1500	100%	0.0	100%	HQ697597.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis mitochondrion, complete genome	1478	1478	100%	0.0	99%	JN835456.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate Fo-104 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1216	1216	81%	0.0	100%	HM246176.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds: mitochondrial	1133	1133	75%	0.0	100%	KC008075.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate S23 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1131	1131	75%	0.0	100%	JX235930.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate S1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1131	1131	75%	0.0	100%	JX235929.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate 9 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1086	1086	72%	0.0	100%	HQ605956.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis voucher UCD 206042 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1085	1085	72%	0.0	100%	GU980348.1
<input type="checkbox"/>	Frankliniella occidentalis isolate 7 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds: mitochondrial	1079	1079	72%	0.0	99%	HQ605958.1



4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

各单倍型在不同地理种群中的分布

种群	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13
FT	3	4	13										
SJZ		6		1	1								
TY		4	2			1							
BT		2	5										
SY		2	3										
SP		1	3				1						
HEB		6	7	6				1					
QD		14				5			6	2			
LY		4	3								1		
KM		12	9			4							
BJ		5	2										
LZ		12	3									1	
YC		8	3	8									1

FT: 北京丰台; SJZ: 石家庄; TY: 太原; BT: 包头; SY: 沈阳; SP: 四平; HEB: 哈尔滨;
QD: 青岛; LY: 洛阳; KM: 昆明; BJ: 宝鸡; LZ: 兰州; YC: 银川



4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

Number of sequences: 65 Number of sequences used: 65
Selected region: 1-706 Number of sites: 706
Total number of sites (excluding sites with gaps / missing data): 627

Sites with alignment gaps or missing data: 79
Invariable (monomorphic) sites: 405
Variable [polymorphic] sites: 222 (Total number of mutations: 266)
Singleton variable sites: 1
Parsimony informative sites: 221

Singleton variable sites (two variants): 1

Site positions: 571

Parsimony informative sites (two variants): 180

Site positions: 32 34 44 50 53 60 62 65 67 68 71 86 87
91 92 101 103 104 112 113 119 121 125 128 130 131 133
134 140 143 145 149 152 154 155 157 158 159 161 167 169
179 180 183 187 188 189 190 191 193 200 210 218 226 227
228 229 233 238 239 242 245 247 248 251 254 275 280 281
284 286 287 290 293 294 295 302 307 308 309 311 313 314
315 321 323 329 331 336 337 338 341 342 343 344 347 350
358 366 370 371 373 385 386 387 388 391 392 397 398 400
401 402 404 410 412 413 415 421 431 437 440 443 455 456
457 461 462 464 466 467 470 473 476 478 481 486 488 491
494 497 500 506 509 515 518 535 543 545 548 557 569 575
576 581 582 583 584 596 597 598 599 604 607 614 617 620
622 623 624 626 629 635 640 641 643 644 647 648 651

Singleton variable sites (three variants): 0

Parsimony informative sites (three variants): 38

Site positions: 23 46 47 56 89 95 151 173 198 209 216 236 237
263 266 269 271 299 332 335 353 368 374 376 395 407 409
446 458 463 479 524 533 539 547 595 625 636

Singleton variable sites (four variants): 0

Parsimony informative sites (four variants): 3

Site positions: 202 272 369

Protein Coding Region assignment: No

4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

mtDNA 基因变异分析	COI基因
分析样本数Number of sequences	175
分析序列长度Length of sequence analyzed	631
保守位点数Number of conserved sites	596
变异位点数Number of variable sites	35
自裔位点Singleton variable sites	12
简约信息位点Parsimony informative sites	22
总突变数 Total number if mutations	70

不同地理种群西花蓟马的COI基因序列变异分析



4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

Number of sequences: 65 Number of sequences used: 65
Selected region: 1-706 Number of sites: 706
Total number of sites (excluding sites with gaps / missing data): 627

Number of polymorphic (segregating) sites, S: 222
Total number of mutations, Eta: 266

Number of Haplotypes, h: 36
Haplotype (gene) diversity, Hd: 0.963
Variance of Haplotype diversity: 0.00012
Standard Deviation of Haplotype diversity: 0.011

Nucleotide diversity, Pi: 0.12015
Theta (per site) from Eta: 0.08943

Theta (per site) from S, Theta-W: 0.07464
Variance of theta (no recombination): 0.0003995
Standard deviation of theta (no recombination): 0.01999
Variance of theta (free recombination): 0.0000251
Standard deviation of theta (free recombination): 0.00501

Finite Sites Model
Theta (per site) from Pi: 0.14307
Theta (per site) from S: 0.09311
Theta (per site) from Eta: 0.10009

Average number of nucleotide differences, k: 75.333
Stochastic variance of k (no recombination), Vst(k): 1046.287
Sampling variance of k (no recombination), Vs(k): 33.433
Total variance of k (no recombination), V(k): 1079.720
Stochastic variance of k (free recombination), Vst(k): 25.111
Sampling variance of k (free recombination), Vs(k): 0.785
Total variance of k (free recombination), V(k): 25.896

Theta (per sequence) from S, Theta-W: 46.797
Variance of theta (no recombination): 157.056
Variance of theta (free recombination): 9.865

4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

Number of polymorphic (segregating) sites, S: 222
Total number of mutations, Eta: 266

Average number of nucleotide differences, k: 75.33269

Nucleotide diversity, Pi: 0.12015

Theta (per sequence) from Eta: 56.07212

Theta (per site) from Eta: 0.08943

Tajima's D: 1.20826 Statistical significance: Not significant, $P > 0.10$

===== Synonymous and NonSynonymous Substitutions =====

No coding region defined

Calculated using the total number of mutations

4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

种群	单倍型数量	单倍型多样性 Hd	核苷酸多样性 π	Tajima's D
FT	3	0.542	0.00096	0.02839
SJZ	3	0.464	0.00792	-1.83149**
TY	3	0.667	0.00121	-0.27492
BT	2	0.476	0.00075	0.55902
SY	2	0.600	0.00095	1.22474
SP	3	0.700	0.00444	-1.16172
HEB	4	0.732	0.01506	2.60706**
QD	4	0.667	0.00132	1.2766
LY	3	0.679	0.00170	-0.30441
KM	3	0.640	0.00070	1.02588
BJ	2	0.476	0.00075	0.55902
LZ	3	0.425	0.00131	-1.49119
YC	4	0.689	0.01594	2.97956**
Total	13	0.691	0.00652	-1.00687

单倍型多样性、核苷酸多样性分析及中性检验

4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

Sites with alignment gaps are: Excluded
Total sites (excluding alignment gaps): 769

Population 1: h1
Number of sequences: 2
Number of segregating sites, S: 0
Number of haplotypes, h: 1
Haplotype diversity, Hd: 0.00000
Average number of differences, K: 0.00000
Nucleotide diversity, Pi: 0.00000
Nucleotide diversity with JC, PjC: 0.00000

Population 2: h2
Number of sequences: 2
Number of segregating sites, S: 0
Number of haplotypes, h: 1
Haplotype diversity, Hd: 0.00000
Average number of differences, K: 0.00000
Nucleotide diversity, Pi: 0.00000
Nucleotide diversity with JC, PjC: 0.00000

Population 3: h3
Number of sequences: 2
Number of segregating sites, S: 0
Number of haplotypes, h: 1
Haplotype diversity, Hd: 0.00000
Average number of differences, K: 0.00000
Nucleotide diversity, Pi: 0.00000
Nucleotide diversity with JC, PjC: 0.00000

Population 4: h4
Number of sequences: 2
Number of segregating sites, S: 0
Number of haplotypes, h: 1
Haplotype diversity, Hd: 0.00000
Average number of differences, K: 0.00000
Nucleotide diversity, Pi: 0.00000
Nucleotide diversity with JC, PjC: 0.00000

Population 5: h5
Number of sequences: 4
Number of segregating sites, S: 0

Genetic Differentiation Among Populations

Export Genetic Distances...

POPULATION 1	POPULATION 2	Hs	Ks	Kxy	Gst	DeltaSt
h1	h2	0.00000	0.00000	445.00000	1.00000	0.28934
h1	h3	0.00000	0.00000	445.00000	1.00000	0.28934
h1	h4	0.00000	0.00000	445.00000	1.00000	0.28934
h1	h5	0.00000	0.00000	445.00000	1.00000	0.25719
h1	h6	0.90000	204.14290	267.60000	0.20278	0.08136
h1	h7	0.66667	199.11110	224.00000	0.40741	0.06473
h1	h8	0.81818	219.38960	223.25000	0.16209	0.03374
h1	h9	0.00000	1.50000	1.50000	0.00000	0.00049
h1	h10	0.78571	175.97140	334.12500	0.23178	0.09899
h1	h11	0.64444	152.01850	356.30000	0.26768	0.09905
h1	h12	0.66667	1.20000	2.00000	0.28994	0.00083
h1	h13	0.00000	0.00000	445.00000	1.00000	0.25719
h2	h3	0.00000	0.00000	89.00000	1.00000	0.05787
h2	h4	0.00000	0.00000	89.00000	1.00000	0.05787
h2	h5	0.00000	0.00000	89.00000	1.00000	0.05144

4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.1 遗传多样性分析

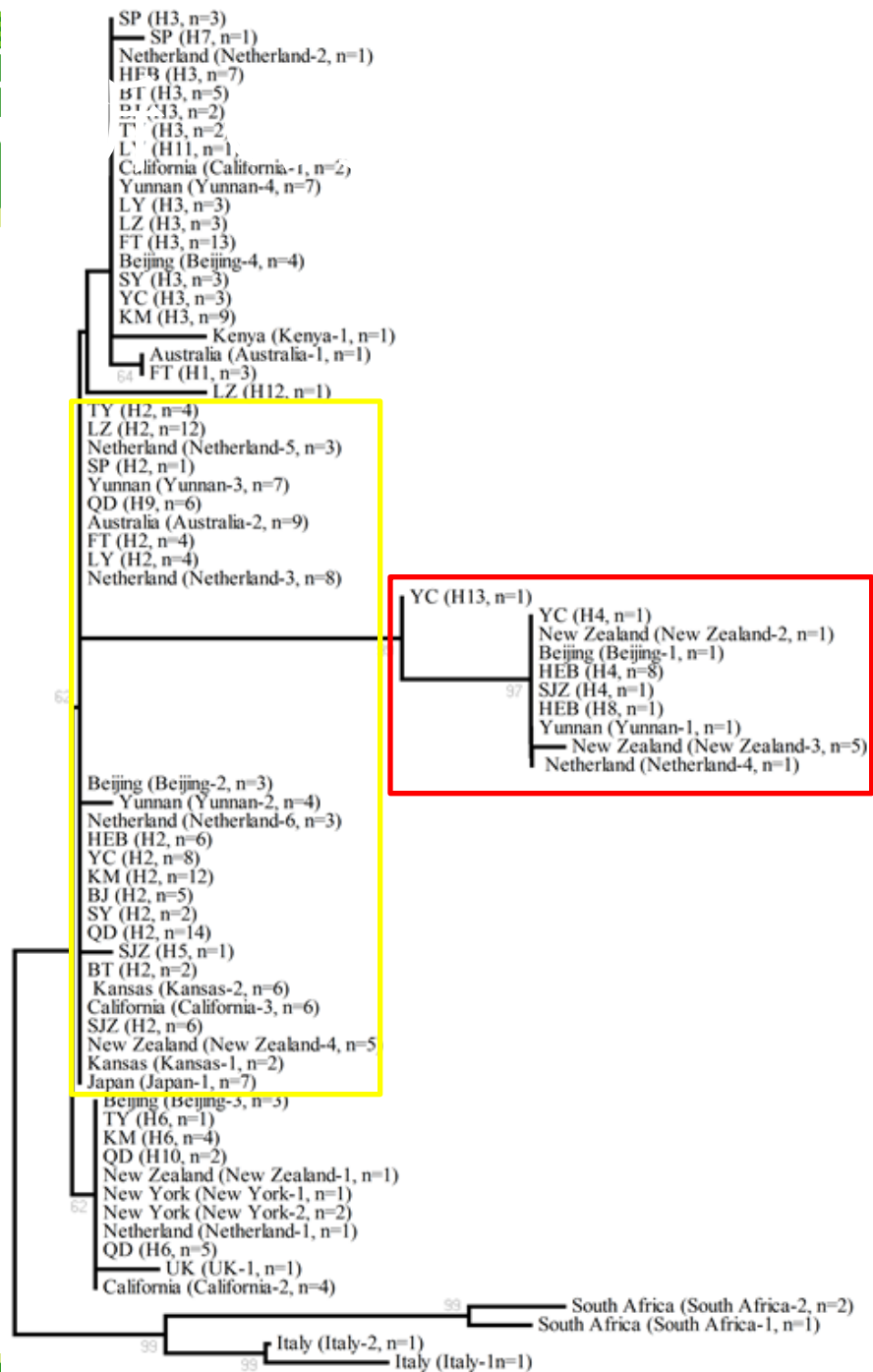
固定指数 F_{st} 为0.24359，基因流 N_m 为0.78

	FT	SJZ	TY	BT	SY	SP	HEB	QD	LY	KM	BJ	LZ	YC
FT		1.08	0.72	-7.00	-11.93	-13.04	0.57	0.23	3.40	0.81	0.57	0.49	0.36
SJZ	0.18764		15.13	1.44	2.33	1.63	3.56	5.22	3.54	5.14	14.38	29.12	1.48
TY	0.25813	0.01626		1.34	35.75	2.34	0.64	1.76	-9.63	-2.98	-2.28	-5.75	0.41
BT	-0.03701	0.14815	0.15741		-1.66	-6.14	0.59	0.27	-8.13	1.52	1.03	0.70	0.37
SY	-0.02141	0.09677	0.00694	-0.17708		-7.08	0.62	0.41	-2.44	21.25	28.25	1.78	0.39
SP	-0.01954	0.13333	0.09662	-0.04242	-0.03659		0.70	0.61	33.87	2.71	2.15	1.39	0.44
HEB	0.30655	0.06568	0.27986	0.29849	0.28635	0.26227		0.57	0.66	0.63	0.63	0.63	-8.25
QD	0.52271	0.04569	0.12433	0.48494	0.38042	0.28941	0.30675		0.67	1.01	0.87	1.26	0.39
LY	0.06850	0.06593	-0.02667	-0.03175	-0.11429	0.00733	0.27557	0.27106		-40.06	-8.13	1.58	0.41
KM	0.25643	0.04636	-0.09153	0.14153	0.01163	0.08436	0.28395	0.19811	-0.00628		-8.54	6.60	0.40
BJ	0.30549	0.01709	-0.12346	0.19540	0.00877	0.10417	0.28558	0.22254	-0.03175	-0.03016		-4.71	0.40
LZ	0.33669	0.00851	-0.04549	0.26397	0.12308	0.15205	0.28324	0.16575	0.05179	0.03647	-0.05604		0.41
YC	0.41153	0.14444	0.37766	0.40485	0.39237	0.36410	-0.03127	0.38859	0.37825	0.38268	0.38397	0.37678	

西花蓟马种群间固定指数 F_{st} (下三角形)和基因流 N_m (上三角形)

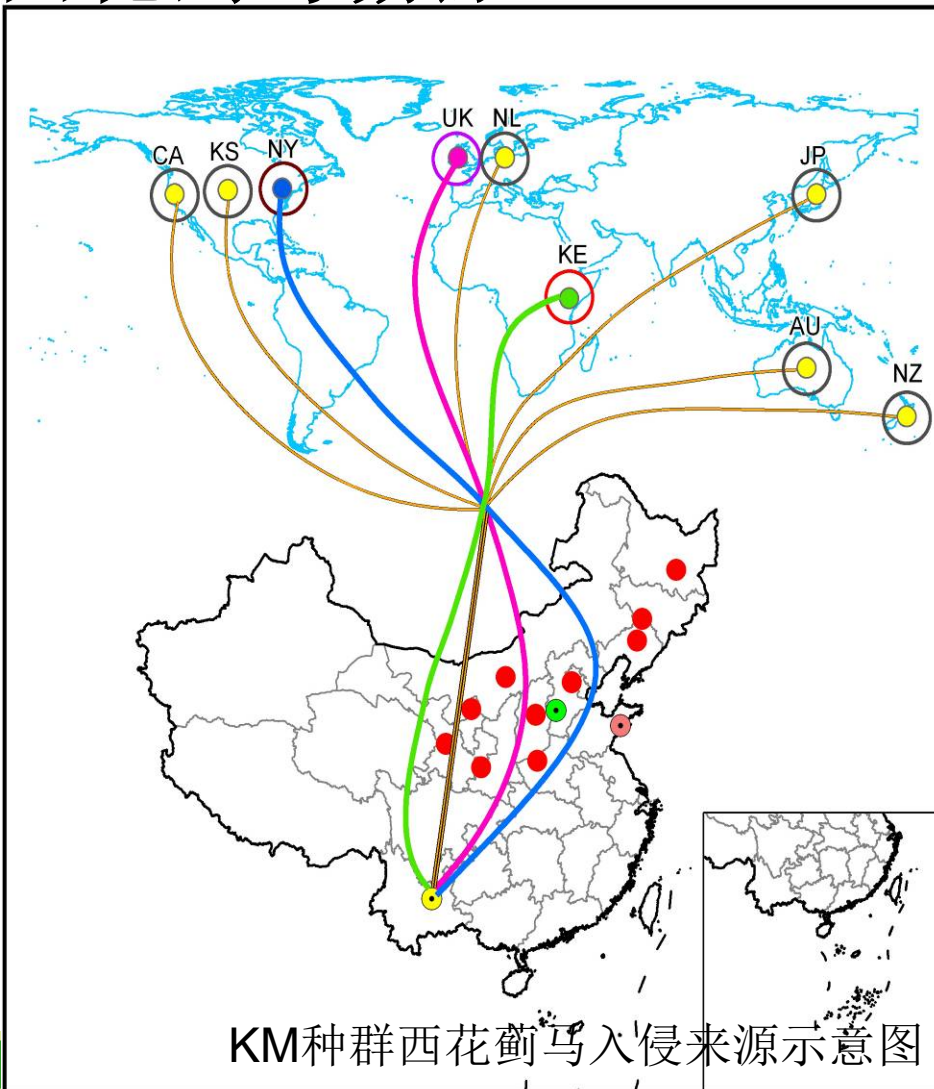
4 传播扩散趋势分析

4.2 西花蓟马溯源



4 传播扩散趋势分析（西花蓟马）

4.2 西花蓟马溯源



KM种群西花蓟马入侵来源示意图

推测我国云南昆明种群的西花蓟马可能来源于荷兰、澳大利亚、美国加利福尼亚、美国堪萨斯、新西兰、日本、肯尼亚、美国纽约或者英国。



5 结论

- 构建了介壳虫类害虫DNA条形码系统;
- 设计出针对重大危险性害虫木薯绵粉蚧SS-COI引物; (待验证)
- 重大入侵害虫西花蓟马传播扩散分析。



致谢

- 感谢罗静初教授！
- 感谢导师万方浩研究员、张桂芬研究员！
- 感谢师兄师姐！
- 感谢同学们！



谢谢！

