

拟环纹豹蛛不同地理种群遗传多样性的 AFLP 标记研究

付秀芹[#] 孙继英[#] 张志罡 胡 波 颜亨梅^{*}

(湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081)

摘要: 为查明拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* 不同地理种群的遗传多样性机制, 应用 AFLP 技术对 6 个拟环纹豹蛛地理种群的遗传多样性进行了研究分析。8 对引物组合扩增出 1 038 个 AFLP 条带, 其中多态性条带占 86.622%, 全部个体显示了各自独特的 AFLP 图谱。AFLP 标记的遗传多样性分析结果表明: 拟环纹豹蛛无论在物种水平 ($P = 86.62\%$, $H = 0.2622$, $I = 0.3101$) 还是在种群水平 ($P = 73.0\%$, $H = 0.2155$, $I = 0.2554$) 都表现出较高的遗传多样性。其中湖南长沙雷锋镇种群内遗传变异最大, 云南高黎贡山福贡种群内遗传变异最小, 华南北部(湖南、湖北、江西)地区拟环纹豹蛛遗传多样性明显高于华南南部(云南、海南)种群。据种群变异来源分析, 有 35.77% 的遗传变异来自种群间, 64.23% 的变异来源于种群内 ($N_m = 0.898$), 不同地理种群显示出一定的遗传分化。分析认为海拔是影响拟环纹豹蛛遗传分化的重要因素, 这为进一步明确我国稻田狼蛛优势种群在农药胁迫下的遗传适应性机制提供了实验依据。

关键词: 拟环纹豹蛛; 遗传多样性; AFLP; 聚类分析; 地理种群

中图分类号: 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)02-0190-07

Genetic diversity of different geographical populations of wolf spider (*Pardosa pseudoannulata*) based on AFLP analysis

FU Xiu-Qin, SUN Ji-Ying, ZHANG Zhi-Gang, HU Bo, YAN Heng-Mei (College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: To study the mechanism of the genetic diversity of different *Pardosa pseudoannulata* populations, six characteristic geographical populations from China were selected. With eight pairs of AFLP selective primers, 1 038 AFLP loci were recorded, of which 86.622% were polymorphic. All individuals showed unique AFLP patterns. Judged by the parameters of the percent of polymorphic bands (P), Shannon's index (I) and Nei's gene diversity index (H), *P. pseudoannulata* showed a high genetic diversity at the species level ($P = 86.62\%$, $H = 0.2622$, $I = 0.3101$) and the population level ($P = 73.0\%$, $H = 0.2155$, $I = 0.2554$), and had obvious genetic differentiation. The genetic diversity of *P. pseudoannulata* was higher in north of southern China (Hunan, Hubei and Jiangxi) than in south of southern China (Yunnan and Hainan). The intra-population genetic variation was largest in Leifeng town, Changsha of Hunan, and lowest in the Gaoligong Mountains of Yunnan. For the population variation source, 35.77% genetic variation came from intra-population and 64.23% from inter-population ($N_m = 0.898$). The results indicated that the altitude was one important factor affecting genetic variation of *P. pseudoannulata*. This offered evidence for further understanding the genetic mechanism of *P. pseudoannulata* diversification under the complicated environment.

Key words: *Pardosa pseudoannulata*; genetic diversity; AFLP; cluster analysis; geographical populations

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370208, 30570226)

作者简介: 付秀芹, 女, 1978 年生, 山东潍坊人, 博士, 研究方向为分子生态学, E-mail: fuxiuqinhh@163.com; 孙继英, 女, 1978 年生, 湖南长沙人, 博士, 现工作单位天津师范大学, 研究方向为分子生态学, E-mail: jysunsun@126.com

[#] 同为第一作者 Authors with equal contribution

^{*} 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: yanhm03@126.com

收稿日期 Received: 2007-07-02; 接受日期 Accepted: 2007-12-10

研究遗传多样性要求分子标记有高度的多态性,数量要丰富,而且能够均匀覆盖整个基因组。AFLP 技术(Zebeau and Vos ,1993)因其所需模板少,多态性和分辨率高,可靠性和重复性好而成为近年来最有效的研究遗传多样性的分子标记技术之一。广泛应用于物种地理种群(潘洁等,2002)、生态型鉴定(王利等,2006 ;张丽萍等,2004 ;司马杨虎等,2005)以及遗传图谱(赵爱春等,2004 ;刘勇等,2006)等方面的研究。如 Heckel 等(1998)应用 AFLP 技术建立了部分蛾类害虫的遗传连锁图谱,并对其抗性基因进行定位。Paola 等(2003)曾利用 AFLP 对分布于不同地点的一类蛾类害虫进行研究,发现其存在显著的遗传差异及雄雌扩散差异。

拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* 是一种在我国南方广泛分布的稻田优势蜘蛛(王洪全和石光波,2002 ;尹长民等,1997),在稻田及低洼潮湿的地带均有分布,常以飞虱和叶蝉等昆虫为食,捕食量大,抗逆性强。上世纪中后期,由于化学防治使得华南稻区的生态条件发生了很大变化,狼蛛的栖息环境也受到严重影响(胡自强等,2000),人为环境或景观环

境对狼蛛生存的影响及狼蛛对生态因子改变的适应性机制一直是当前研究的热点。但迄今为止,从微观角度对这方面的报道并不多见(罗育发和颜亨梅,2006 ;孙继英等,2007)。

本文应用 AFLP 技术对拟环纹豹蛛的遗传多样性进行分析,以期揭示不同环境压力下,狼蛛对其适应性响应的遗传变化,从而了解该种的遗传背景,为对其进行保护利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用拟环纹豹蛛采自湖南长沙、湖南湘西、云南福贡、湖北武汉、江西南昌、海南三亚的 6 个自然地理种群,每种群采集 30 个随机个体,分装于牙签盒中,活体带回实验室,根据其外生殖器结构进行分类鉴定。然后,每个种群基因池由 30 个个体混合成一个,每个种群另取 5 个个体进行种群内遗传多样性分析。

表 1 所测试拟环纹豹蛛的采集信息

Table 1 Collecting data of the populations of *Pardosa pseudoannulata*

采集点 Collecting location	种群代码 Population code	海拔(m) Altitude	经度 Longitude	纬度 Latitude	采集时间 Collecting date
湖南长沙 Changsha , Hunan	CS	27	112.59°E	28.12°N	2006.4
湖南湘西 Xiangxi , Hunan	XX	500	109.43°E	28.8°N	2006.8
湖北武汉 Wuhan , Hubei	WH	23	114.17°E	30.35°N	2006.5
江西南昌 Nanchang , Jiangxi	JX	46.7	115.27°E	28.9°N	2006.4
海南三亚 Sanya , Hainan	HN	20	109.31°E	18.14°N	2006.4
云南福贡 Fugong , Yunnan	YN	1 788	98.43°E	27.13°N	2006.5

1.2 DNA 提取

蜘蛛 DNA 的提取采用文菊华和颜亨梅(2005)的 CTAB 法,并略做改动。从蜘蛛附肢中分离提纯蜘蛛基因组模板 DNA。提取的 DNA 可满足 DNA 完全酶切的需要,用 RNA/DNA 浓度测量仪测得 DNA 的浓度。为便于进行 AFLP 扩增,对 DNA 的模板浓度调整至 100 ng/ μ L。

1.3 AFLP 分析

1.3.1 酶切与连接:在 0.5 mL 离心管中加入对照模板 DNA(100 ng/ μ L)2 μ L ,M-adapte(50 pmol/L)1 μ L E-adapte(50 pmol/L)1 μ L ,Mse I (1 U/ μ L)1 μ L ,EcoR I (1 U/ μ L)1 μ L ,10 $\times$ Reaction buffer 2.5 μ L ,T4 Ligase (0.5 U/ μ L)1 μ L ,ATP(10 mmol/L)2.5 μ L ,ddH₂O 8 μ L。混匀离心 30 秒,37℃ 保温 5 h。酶切连接产物用纯水稀释 20 倍后,-20℃ 保存备用。

1.3.2 预扩增反应:预扩增体系为 25 μ L,取 2 μ L 酶切连接产物,然后加入 Mse I Pre-primer (50 pmol/L)1 μ L ,EcoR I Pre-primer(50 pmol/L)1 μ L ,MgCl₂(25 mmol/L)1 μ L ,dNTPs 0.5 μ L ,10 $\times$ PCR buffer 2.5 μ L ,Taq DNA polymeas(5 U/ μ L)0.4 μ L ,ddH₂O 16.6 μ L 混匀。扩增程序为 94℃ 2 min,然后以 94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 80 s,重复 30 个循环,72℃ 延伸 5 min。

1.3.3 选择性扩增反应:选择性扩增反应体系按下面组分进行 PCR,预扩增稀释样品 2 μ L ,Mse I primer(50 pmol/L)1 μ L ,EcoR I primer(50 pmol/L)1 μ L ,MgCl₂(25 mmol/L)1 μ L ,dNTPs 0.5 μ L ,10 $\times$ PCR buffer 2.5 μ L ,Taq DNA polymeas(2 U/ μ L)0.5 μ L,用 ddH₂O 补充至 25 μ L,轻轻混匀,按下列参数进行 PCR 循环:94℃ 2 min,然后以 94℃ 30 s,65℃ 30 s

(每循环降低 0.7℃),72℃ 80 s,重复 14 个循环,再以 94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 80 s 重复 26 个循环,72℃ 5min 4℃保存。*Mse* I primer 和 *Eco*R I primer 分别是用荧光标记后的引物,引物序列见表 2。

1.3.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳:将 PCR 扩增产物与甲

酰胺上样液(98% 甲酰胺,10 mmol/L EDTA,0.25% 溴酚兰)按 8:3 混合,95℃变性 5 min,然后立即冰浴备用。采用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(50 cm×30 cm),预电泳恒功率 60 W,30 min。上样 7 μL 样品,恒功率 100W,电泳至溴酚兰接近胶底后,停止电泳。

表 2 AFLP 分析选择性扩增引物序列
Table 2 Primer combinations used in the selective amplification

引物组合 Primer combination	序列 Sequence	引物组合 Primer combination	序列 Sequence
E-AAG/M-CAG	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'	E-ACA/M-CAG	5'-GACTGCGTACCAATTCACA-3'
	5'-GATGAGTCCTGAGTAACAG-3'		5'-GATGAGTCCTGAGTAACAG-3'
E-AAG/M-CTA	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'	E-ACC/M-CAG	5'-GACTGCGTACCAATTCACC-3'
	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTA-3'		5'-GATGAGTCCTGAGTAACAG-3'
E-AAG/M-CTC	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'	E-AGC/M-CAA	5'-GACTGCGTACCAATTCAGC-3'
	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTC-3'		5'-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
E-AAG/M-CTG	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'	E-AGC/M-CTC	5'-GACTGCGTACCAATTCAGC-3'
	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'		5'-GATGAGTCCTGAGTAACTC-3'

1.4 数据分析

用 GeneScan3.1 和 Binthere 软件分析处理胶图,峰值大于 200 的 50(500 bp 之间条带记为有效带。运用 NTSYSpc-2.11F 软件进行数据分析,Jaccard 的方法将电泳带矩阵转化为遗传相似性系数矩阵,用 SHAN 程序中的 UPGMA 方法进行聚类分析,并通过 Tree plot 模块生成系统图(周艺彪等,2005)。用 POPGENE1.32 软件计算遗传多样性参数:有效等位基因数 N_e (effective number of alleles per loci), N_e 's 基因多样性指数 H (gene diversity) 和 Shannon 's 信息指数 I (Shanon 's information index)。

2 结果与分析

2.1 AFLP 扩增结果

筛选所得的 8 组引物组合(E-AAG/M-CAG,E-AAG/M-CTA,E-AAG/M-CTC,E-AAG/M-CTG,E-ACA/M-CAG,E-ACC/M-CAG,E-AGC/M-CAA,E-AGC/M-CTC)对 6 个种群 30 头成雌蛛 DNA 进行扩增,共得到 1 038 条可分辨的 DNA 条带,平均每组引物组合扩增出 129 条带,其中扩增带数最多的是 E-AGC/M-CAA,为 173 条,最少的是 E-AAG/M-CTG,为 87 条;不同引物组合扩增出的多态性条带数和多态性比例有一定差异,最大的为 E-AAG/M-CTG,平均为 98.795%,最小的为 E-AAG/M-CAG,平均为 71.015%(表 3)。所有种群的每一个个体都呈现唯一的 AFLP 基因型,说明 AFLP 指纹对拟环纹豹蛛有很高

的鉴别效率,同时说明拟环纹豹蛛种群内个体间存在较大的遗传变异。这些位点在各种群中分布的不均衡,致使拟环纹豹蛛 6 个种群的总多态位点百分率很高,体现了拟环纹豹蛛遗传多样性比较丰富。

表 3 AFLP 选择性扩增引物产生的多态带
Table 3 Number of the amplified bands of *Pardosa pseudoannulata* populations collected in various locations of China with different primer combinations

引物组合 Primer combination	总谱带数 Total number of bands	多态带数 Number of polymorphic bands	多态带百分率 (%) Percent of polymorphic bands
E-AAG/M-CAG	138	98	71.015
E-AAG/M-CTA	153	139	90.850
E-AAG/M-CTC	139	117	84.173
E-AAG/M-CTG	83	82	98.795
E-ACA/M-CAG	117	113	96.581
E-ACC/M-CAG	128	112	87.500
E-AGC/M-CAA	173	140	80.925
E-AGC/M-CTC	107	93	86.920
平均 Mean	129.75	111.75	86.040
合计 Total	1038	899	86.622

2.2 遗传多样性分析

衡量种群多样性最常用的指标有多态位点比例(P)、Shannon 信息指数(I)和 N_e 基因多样性指数(H)。从表 3 中看出,拟环纹豹蛛在物种水平上的多态性位点百分率高达 86.622%,从单个种群来看,不同种群多态位点百分率(P)最低为 70.51%(云南福贡种群 YN),多态性条带有 665 条;最高为 77.41%(湖南长沙雷锋镇种群 CS),多态性条带多

达 716 条,平均为 72.99%。从地理分布来看,华南地区北部种群(CS,XX,JX,WH)的多态位点百分率要高于华南地区南部的种群(YN,HN)。

Shannon’s 信息指数(I)分析结果表现出一样的模式,以云南福贡种群 YN 的最小($I = 0.2482$),湖南长沙雷锋镇种群 CS 最大($I = 0.2692$)。物种水平的 I 为 0.3101,种群水平的平均值 I 为 0.2554。从表 4 中仍能得出华南地区北部种群的 Shannon’s 信息指数要高于华南地区南部的种群,说明华南地区北部

的种群遗传多样性要比华南地区南部的种群丰富。也就是说,纬度相对偏高地区的种群遗传多样性比纬度偏低的种群的要丰富。

Nei 基因多样性指数(H)也是衡量种群多样性的常用指标。本研究结果显示,湖南长沙雷锋镇种群 CS($H = 0.2297$)具有最高的 Nei 基因多样性,云南福贡种群 YN 的最低($H = 0.2482$)(表 4),华南地区北部种群的 Nei 基因多样性指数要高于华南地区南部的种群。

表 4 拟环纹豹蛛种群内的遗传多样性结果

Table 4 The inter-population genetic diversity of <i>Pardosa pseudoannulata</i>				
种群代码 Population code	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei 基因多样性指数 Nei's index	Shannon 多样性指数 Shannon's index	多态性位点比例(%) Percent of polymorphic loci
WH	1.1954	0.2137	0.2527	72.37
HN	1.1898	0.2113	0.2518	71.01
CS	1.2246	0.2296	0.26917	77.41
XX	1.1928	0.2140	0.25407	72.99
YN	1.2048	0.2086	0.24816	70.51
JX	1.2083	0.2159	0.25651	73.69
Mean ± SD	1.2026 ± 0.01290	0.2155 ± 0.00738	0.2554 ± 0.00729	72.99 ± 2.927
Total	1.2936	0.2622	0.3101	86.62

2.3 拟环纹豹蛛种群遗传分化与基因流

在分析种群内总体的遗传分化时,物种水平总的基因多样度 H_t 为 0.2622,种群内遗传分化系数 H_s 为 0.1684。根据 Nei 基因多样度算法,6 个地理种群间的遗传分化指数为 0.3577,也就是说总变异的 35.77%来自不同种群间的差异,64.23%的变异来自于种群内个体间的遗传差异。根据 G_{st} 值估计的迁移数能有效的反映种群间基因流的大小。理论上,基因流 $N_m < 1$,说明种群有被强烈分化的趋势。本研究检测出拟环纹豹蛛物种水平上的基因流 N_m 为 0.898(表 5),说明种群间的基因流较小。据此作者认为所测试的拟环纹豹蛛种群间出现了一定程度的遗传分化。

表 5 6 个地理种群内的基因流

Table 5 Gene flow among six geographical populations					
地理种群总数 Total geographical populations	个体数量 Number of individuals	H_t^*	H_s^*	G_{st}^*	N_m^*
6	30	0.26216	0.168396	0.357652	0.898

H_t : 种群内总的遗传变异 Genetic diversity among populations; H_s : 各个种群内的遗传变异 Genetic diversity within populations; G_{st} : 种群间的遗传分化系数 Genetic diversity indexes with populations; N_m : 种群间的基因流动系数 Gene flow.

2.4 遗传距离及聚类分析

基因分化系数虽能对种群的分化程度做出有效评价,却不能判定种群间相互关系的远近,而遗传距离的度量则可以说明每个种群间彼此关系的远近。为确定拟环纹豹蛛 6 个地理种群之间的遗传关系,对 Nei's 无偏遗传距离 D 进行了计算(表 6)。各种群遗传距离在 0.1926(样品 C1 - C3)~ 0.4410(样品 C4 - C7)之间,平均遗传距离为 0.3221。利用 UPGMA 方法对拟环纹豹蛛不同地理种群进行聚类分析,WH 和 CS 种群最先聚为一支,然后和 JX 种群再聚为一类,随后依次和 XX,HN 聚类,最后和 YN 种群在 0.43 处聚合。一些学者认为遗传距离与空间距离之间的相关性很大(彭燕等,2006;牛成伟等,2006)。而根据 Mantel's test 结果显示,拟环纹豹蛛种群间地理距离和遗传距离没有明显相关性($r = 0.07104$, $P > 0.1$)。

来自 6 个不同地理种群的 30 号样品分析的遗传相似性指数分布在 0.5712 ~ 0.7680 之间,其中以样品 C2 和 C15 之间的相似性指数最低($D = 0.5712$),而以样品 C5 和 C11 之间的相似性指数最高($D = 0.7680$)。单个种群不同样品间的相似性指数最小的是 C27 和 C30($D = 0.5779$),相似性指数最大的为 C4 和 C5($D = 0.7507$)。据此应用 UPGMA 法

生成聚类图(图 1)。图中云南种群(样品 C6 – C10 , 海拔1 500 m)首先聚集在一起;在低海拔(50 m 左右)种群中,来自武汉(样品 C21 – C25)、江西南昌(样品 C1 – C5、除 C2 外)和长沙种群(样品 C26 – C30、C27 除外)的样品聚成一类,其中来自中低海拔(400 m)的湘西吉首(样品 C11 – C15)和低纬度的海南南新种群(样品 C16 – C20)聚成一支。由此可见,单从自然地理因素来考虑,海拔高低是影响种群遗传分化程度的主要因子。高海拔地区的种群与低海拔地区的种群已产生明显的遗传差异,所以云南种

群已经明显地独聚一支。

表 6 拟环纹豹蛛不同地理种群基于 AFLP 的 Nei' 遗传距离

Table 6 Nei' genetic distance of different geographical populations of *Pardosa pseudoannulata* by AFLP

	CS	JX	WH	XX	HN	YN
CS	1.0000					
JX	0.2128	1.0000				
WH	0.1926	0.2015	1.0000			
XX	0.2302	0.2659	0.2339	1.0000		
HN	0.3086	0.2788	0.2922	0.3374	1.0000	
YN	0.4369	0.4045	0.3932	0.4410	0.4078	1.0000

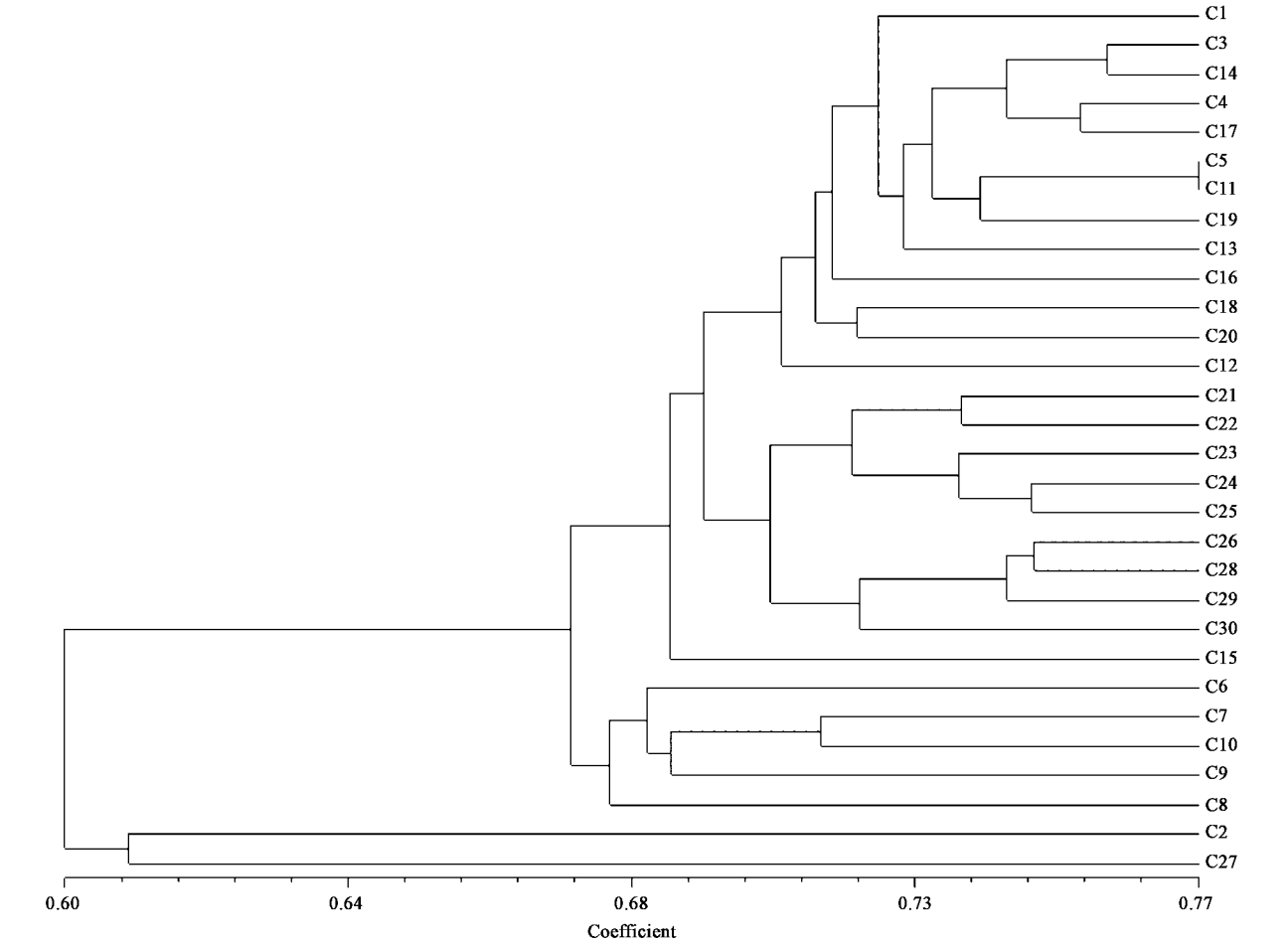


图 1 30 头拟环纹豹蛛个体样品间的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 The dendrogram of cluster analysis of 30 individual samples of *Pardosa pseudoannulata* based on AFLP markers C1 – C5 为南昌样品; C6 – C10 为云南福贡样品; C11 – C15 为湘西样品; C16 – C20 为海南南新样品; C21 – C25 为武汉样品; C26 – C30 为长沙样品。C1 – C5 stand for the samples from Nanchang; C6 – C10 stand for the samples from Yunnan; C11 – C15 stand for the samples from Xiangxi; C16 – C20 stand for the samples from Hainan; C21 – C25 stand for the samples from Wuhan; C26 – C30 stand for the samples from Changsha.

3 讨论

蜘蛛是稻田生态系统中重要的天敌之一。目前,对蜘蛛的研究主要集中在系统学、生态学、行为

学和发育生物学等方面,有关蜘蛛遗传多样性的研究仅见于利用 RAPD 技术对狼蛛与其生境的关系进行探讨(孙继英等 2007)。本研究首次利用 AFLP 技术对拟环纹豹蛛种群的遗传多样性进行检测,结果显示拟环纹豹蛛无论在物种水平上($I = 0.3101$)还

是在种群水平上($I = 0.2554$)都表现出较高的遗传多样性,且供试种群的每个样品都呈现唯一的 AFLP 基因型。30 头成蛛不同个体间的遗传相似性指数分布在 0.5712 ~ 0.768 之间,单个种群不同个体间的遗传相似性指数位于 0.5779 ~ 0.7507 之间,种群内不同个体间的遗传相似性指数有许多小于不同种群个体间的。这些结果表明,拟环纹豹蛛的遗传多样性十分丰富,这与先前利用 RAPD 技术进行检测的结果类似(孙继英等,2007)。

一个物种的进化潜力和适应不同环境的能力取决于遗传多样性水平的高低(Black *et al.*, 1992; 胡志昂和王洪新,1998; Gurdebeke *et al.*, 2003),比较高的遗传多样性是物种适应环境胁迫的基础。拟环纹豹蛛种群丰富的遗传多样性说明其对环境变化有潜在的高抗能力,具备成为优势种的遗传基础。这进一步从分子遗传学角度解释了拟环纹豹蛛为何能成为华南稻区的优势种群。

UPGMA 聚类分析结果显示拟环纹豹蛛不同地理种群间表现出一定程度的遗传分化($N_m = 0.898 < 1$),尤其是处于高海拔地区的云南种群整体分化更为明显。研究显示环境的异质性已经深刻影响了拟环纹豹蛛种群的分化程度,即拟环纹豹蛛种群 AFLP 多态性是与其对环境的适应性密切相关的。云南种群所出现的整体遗传分化程度高,但种群内个体遗传多样性低,这一现象说明处于低纬度高海拔地区的蜘蛛种群已对具有特质的生境产生了高度适应性的 DNA 变化。生活在不同环境条件下的狼蛛种群,直接面临着环境的选择压力。同时,高海拔的种群难以和低海拔的种群进行遗传物质的交流,逐渐形成与同种狼蛛其他种群的遗传分化,这种分化是种或亚种产生的基础。

经 Mantel's test 检验,拟环纹豹蛛种群间的遗传距离与地理距离之间无显著相关性($r = 0.07104$; $P > 0.1$),这说明地理隔离并未对种群间的基因交流产生明显的影响。海南作为一个岛屿,与大陆隔海相望,在 6 个种群中具有天然的海峡隔离,但在样品的 UPGMA 聚类图中,海南种群的样品并没能集中聚在一起,而是与其它种群的样品聚集在一起,表明海南种群没有因为海南独特的地理环境条件而影响到其与内地种群的基因频率的同质性,也就是说,地理隔离并没有阻碍海南岛与大陆的拟环纹豹蛛之间进行基因交流,从而未形成生殖隔离,作者认为隔离时间的长短是一个重要因素。这点与部分昆虫基因频率同质性的产生原因有所不同,昆虫有翅,具有

迁飞习性(牛成伟等,2006),故未形成隔离;部分蜘蛛虽然可以利用自身产出的蛛丝进行与昆虫的迁飞相似的飞航行为,但本研究中的拟环纹豹蛛不结网,多游猎于地面,且其个体大,不易进行飞航,其基因频率产生同质性的其它原因还有待于在以后的研究中进行探索。罗育发和颜亨梅(2006)应用 12S rRNA 基因序列分析探讨了狼蛛优势种群对长期农药胁迫的分子响应机制,发现长期农药胁迫下拟环纹豹蛛 12S rRNA 基因第三结构域序列发生了明显改变,本文有关蜘蛛生态地理分化机制的研究结论为进一步阐明农药胁迫下狼蛛优势种群遗传适应性变化机理提供了初步但有力的实验依据。但是,由于 AFLP 技术本身具有一些缺点,其主要标记是显性的,同其他显性标记一样,不能区分杂合体和纯合体,因而不能更好地估算种群遗传的变异,对种群遗传结构的分析不能提供更多的统计信息(张民照和康乐,2002),再加上本文所涉及的种群和个体数量还比较少,故拟环纹豹蛛地理种群的形成机制仍需进一步研究确定。

参 考 文 献 (References)

- Black IV WC, Duteau NM, Puterka GJ, Nichols JR, Pettorini JM. 1992. Use of the random amplified polymorphic dna polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphism in Aphids (Homoptera: Aphididae). *Bull. Entomol. Res.*, 82: 151 - 159.
- Gurdebeke S, Maelfait JP, Backeljau T. 2003. Contrasting allozyme and RAPD variation in spider populations from patchy forest habitats. *Genetica*, 119: 27 - 34.
- Hu ZA, Wang HX. 1998. Advances in molecular ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 15(6): 565 - 574. [胡志昂,王洪新,1998. 分子生态学研究进展生态学报, 15(6): 565 - 574]
- Heckel DG, Gahan LJ, Daly JC, Trowell S. 1998. A genomic approach to understanding *Heliothis* and *Helicoverpa* resistance to chemical and biological insecticides. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 353(1376): 1713 - 1722.
- Hu ZQ, Wang HQ, Lu ZY. 2000. Killing capability of some pesticides on dominant species spiders in rice fields. *Acta Arachnologica Sinica*, 9(2): 112 - 115. [胡自强,王洪全,吕志跃,2000. 几种化学农药对稻田优势蜘蛛杀伤力的研究. 蛛形学报, 9(2): 112 - 115]
- Liu Y, Zhou Q, Liu DC, Wu B, Sun ZH. 2006. A study on the ecological distribution of Pummelo in China by means of AFLP. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 28(3): 332 - 335. [刘勇,周群,刘德春,吴波,孙中海,2006. 中国柚类生态分布多样性研究. 江西农业大学学报, 28(3): 332 - 335]
- Luo YF, Yan HM. 2006. Molecular(12S rRNA) response of the wolf spider (Araneae: Lycosidae) populations under long-period pesticide stress. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 12(1): 55 - 58. [罗育发,颜亨梅,2006. 狼蛛优势种群的 12S rRNA 对长期农药

- 胁迫的分子响应. 应用与环境生物学报, 12(1): 55 – 58]
- Niu CW, Zhang QW, Ye ZH, Lou LZ, 2006. Analysis of genetic diversity in different geographic populations of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) with AFLP technique. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 867 – 873. [牛成伟, 张青文, 叶志华, 罗礼智, 2006. 不同地区甜菜夜蛾种群的遗传多样性分析. 昆虫学报, 49(5): 867 – 873]
- Pan J, Bao ZM, Zhao Y, Hu XL, Wan JF, Li Z, 2002. The genetic diversity of different geographical Zhikong Scallop (*Chlamys farreri*) populations. *High Technology Letters*, 12(12): 78 – 82. [潘洁, 包振民, 赵洋, 胡晓丽, 王俊芬, 李桢, 2002. 栉孔扇贝不同地理群体的遗传多样性分析. 高技术通讯, 12: 78 – 82]
- Paola S, Andrea B, Silvia C, Luigi M, Tomaso P, Lorenzo Z, 2003. Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa-wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology*, 11(11): 2 435 – 2 444.
- Peng Y, Zhang XQ, Liu JP, Yi YJ, 2006. AFLP analysis on genetic diversity of wild *Dactylis glomerata* L. germplasm resources. *Hereditas*, 28(7): 845 – 850. [彭燕, 张新全, 刘金平, 易扬杰, 2006. 野生鸭茅种质遗传多样性的 AFLP 分析. 遗传, 28(7): 845 – 850]
- Sima YH, Li B, Chen DX, Sun DB, Zhao AC, Zhang L, Lu C, He SM, Xiang ZH, 2005. Construction of a highly dense amplified fragment length polymorphism linkage map of the silkworm (*Bombyx mori*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 13(3): 353 – 359. [司马杨虎, 李斌, 陈大霞, 孙德斌, 赵爱春, 张烈, 鲁成, 何斯美, 向仲怀, 2005. 家蚕 AFLP 分子连锁图谱的构建及其分析. 农业生物技术学报, 13(3): 353 – 359]
- Sun JY, Peng GX, Hu B, Fu XQ, Yan HM, 2007. Genetic diversity of *Pardosa pseudoannulata* populations and its relationship with habitats. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(5): 1 081 – 1 085. [孙继英, 彭光旭, 胡波, 付秀芹, 颜亨梅, 2007. 拟环纹豹蛛种群遗传多样性与其生境的关系. 应用生态学报, 18(5): 1 081 – 1 085]
- Wang L, Xing SY, Yang KQ, Wang ZH, Guo YY, Shu HR, 2006. Genetic relationships of ornamental cultivars of *Ginkgo biloba* analyzed by AFLP techniques. *Acta Genetica Sinica*, 33(11): 1 020 – 1 026. [王利, 邢世岩, 杨克强, 王正华, 郭彦彦, 束怀瑞, 2006. 银杏观赏品种遗传关系的 AFLP 分析. 遗传学报, 33(11): 1 020 – 1 026]
- Wang HQ, Shi GB, 2002. Studies on the dominant species and the contributing factors of paddy field spiders in China. *Acta Arachnologica Sinica*, 11(2): 86 – 94. [王洪全, 石光波, 2002. 中国稻田蜘蛛优势种及其成因探讨. 蛛形学报, 11(2): 86 – 94]
- Wen JH, Yan HM, 2005. An improved method for extraction of spiders' genomic DNA. *Acta Arachnologica Sinica*, 14(2): 126 – 128. [文菊华, 颜亨梅, 2005. 一种蜘蛛基因组 DNA 的简易提取方法. 蛛形学报, 14(2): 126 – 128]
- Yin CM, Peng XJ, Xie LP, Bao YH, Wang JF, 1997. Lycosids in China. Hunan Normal University Press, Changsha. [尹长民, 彭贤锦, 谢莉萍, 鲍幼慧, 王家福, 1997. 中国狼蛛. 长沙: 湖南师范大学出版社]
- Zebeau M, Vos P, 1992. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European patent application: 924026297.
- Zhao AC, Lu C, Li B, PU XY, Zhou ZY, Xiang ZH, 2004. Construction of AFLP molecular markers linkage map and localization of green cocoon gene in silkworm (*Bombyx mori*). *Acta Genetica Sinica*, 31(8): 787 – 794. [赵爱春, 鲁成, 李斌, 普孝英, 周泽扬, 向仲怀, 2004. 家蚕 AFLP 分子连锁图谱的构建及绿茧基因定位. 遗传学报, 31(8): 787 – 794]
- Zhang LP, Zhang YZ, Zhang WJ, Xu BY, Wu QJ, Xiao LF, Zhu GR, 2004. Genetic differentiation in the thiamethoxam-resistant strain of *Bemisia tabaci* B-biotype. *Acta Entomologica Sinica*, 47(6): 754 – 759. [张丽萍, 张友军, 张文吉, 徐宝云, 吴青君, 肖利峰, 朱国仁, 2004. B 型烟粉虱抗噻虫嗪品系的遗传分化. 昆虫学报, 47(6): 754 – 759]
- Zhang MZ, Kang L, 2002. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) and its applications in entomological research. *Acta Entomologica Sinica*, 45(4): 538 – 543. [张民照, 康乐, 2002. AFLP 标记的特点及其在昆虫学中的应用. 昆虫学报, 45(4): 538 – 543]
- Zhou YB, Jiang QW, Zhao GM, Wei JG, 2005. Linking quantitation of electrophoresis pattern and data analysis in AFLP for *Oncomelania hupensis*. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 23(6): 396 – 400. [周艺彪, 姜庆五, 赵根明, 韦建国, 2005. 钉螺 AFLP 分子标记电泳图谱信息数量化数据的分析. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 23(6): 396 – 400]

(责任编辑: 袁德成)