

## 拟环纹豹蛛种群遗传多样性与其生境的关系\*

孙继英 彭光旭 胡波 付秀芹 颜亨梅\*\*

(湖南师范大学生命科学院, 长沙 410081)

**摘要** 对分布于我国中南、西南和海南岛 8 个不同生境的拟环纹豹蛛种群进行 RAPD 分析. 筛选出 10 对引物扩增出清晰稳定的 200~2 500 bp 片段 84 条, 其中多态性片段 62 条(占 73.8%). 表明种群存在明显多态现象. Shannon 指数、相似系数和遗传距离测定以及聚类分析的结果表明: 拟环纹豹蛛种群总的遗传多样性指数为 0.5177, 而且种群内遗传变异(64.24%) 大于种群间(35.76%); 8 个狼蛛种群平均遗传距离为 0.2426, 变异范围为 0.0753~0.3725, 表明 8 个种群由于所处生境条件不同而产生了一定的适应性变异. 多元回归统计结果表明, 制约拟环纹豹蛛成为稻田优势种的主要因子是年平均气温和农药的长期施用.

**关键词** 拟环纹豹蛛 RAPD 遗传多样性 环境因子

**文章编号** 1001-9332(2007)05-1081-05 **中图分类号** Q966, Q968 **文献标识码** A

**Genetic diversity of *Pardosa pseudoannulata* populations and its relationships with habitats.**

SUN Ji-ying, PENG Guang-xu, HU Bo, FU Xiu-qin, YAN Heng-mei (College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2007, 18(5): 1081-1085.

**Abstract:** A random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis was made on the *Pardosa pseudoannulata* populations collected from eight habitats in Central-south China, Southwest China, and Hainan Island. 10 from 50 primers were selected, and 84 bands of 200-2 500 bp fragments were amplified, among which, 62 bands (73.8%) were polymorphic, suggesting an obvious polymorphism of the populations. As estimated by Shannon index, genetic similarity index and genetic distance, the total genetic diversity index of the spider was 0.5177, with the genetic variation being 64.24% within the *P. pseudoannulata* populations and 35.76% among the populations. The genetic distance among the eight populations ranged from 0.0753 to 0.3725, with an average of 0.2426, indicating that the eight populations engendered adaptive variations with different habitats. Multiple regression analysis showed that annual mean air temperature and pesticide application were the main factors restricting *P. pseudoannulata* to be a dominant insect species in rice field.

**Key words:** *Pardosa pseudoannulata*; random amplified polymorphic DNA (RAPD); genetic diversity; environmental factor.

## 1 引言

拟环纹豹蛛(*Pardosa pseudoannulata*)隶属于蜘蛛目(Araneae)狼蛛科(Lycosidae),是世界性广布种,适应能力强,常年田间发生量大,是农田作物害虫最主要的捕食性天敌之一<sup>[12]</sup>. 由于人类长期对自然资源的过度开发利用,尤其是农事活动,使得狼蛛面临着极大的生存压力,种群数量和分布范围发生急剧变化<sup>[15,18]</sup>. 本文选用不同纬度、海拔和农

药施用条件下分布的 8 个拟环纹豹蛛种群为材料,利用 RAPD 技术<sup>[1,4,10]</sup>,从 DNA 水平上分析不同生境下拟环纹豹蛛种群的遗传变异及遗传分化程度,旨在探讨其成为优势种的适应性机理.

## 2 材料与方法

## 2.1 试验材料

试验用拟环纹豹蛛采集于海南、云南以及湖南省等地,以活体带回实验室进行鉴定后提取 DNA 待用. 表 1 为标本的采集时间、地点、地理位置、气候条件以及个体数量和雌雄比例.

\* 国家自然科学基金资助项目(30370208).

\*\* 通讯作者. E-mail: yanhengmei@yahoo.com.cn

2006-04-07 收稿,2007-02-08 接受.

表 1 拟环纹豹蛛 8 个地理种群样地的自然概况

Tab. 1 Basic status of sampling site of eight *P. pseudoannulata* populations

采集地点 Site	缩写 Ab.	采集时间 Time	数量 Amount	海拔 Altitude (m)	纬度 Lat.	经度 Long.	年降水量 Annual precipitation (mm)	年均气温 Annual average temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	农药施用情况 Pesticide application
湖南天顶乡 Tianding Village, Hunan	TD	2004.3	8	27	28 $^{\circ}$ 12'	112 $^{\circ}$ 59'	1361	17.2	未施药 No pesticide
湖南雷锋镇 Leifeng Village, Hunan	LF	2004.3	8	27	28 $^{\circ}$ 12'	112 $^{\circ}$ 59'	1361	17.2	施药 Pesticide
海南南新农场 Nanxin Farm, Hainan	NX	2004.3	7	20	18 $^{\circ}$ 14'	109 $^{\circ}$ 31'	1279	25	施药 Pesticide
海南五指山 Wuzhi Mt., Hainan	WZ	2004.3	7	728	18 $^{\circ}$ 46'	109 $^{\circ}$ 31'	1430	22.5	未施药 No pesticide
海南儋州 Danzhou, Hainan	DZ	2004.3	7	45	19 $^{\circ}$ 31'	109 $^{\circ}$ 34'	1766	24	施药 Pesticide
云南上帕镇 Shangpa Village, Yunnan	SP	2004.4	6	1224	26 $^{\circ}$ 55'	98 $^{\circ}$ 52'	1380	19	施药 Pesticide
云南亚目河 Yamu River, Yunan	YM	2004.4	6	1788	27 $^{\circ}$ 13'	98 $^{\circ}$ 43'	1380	14	未施药 No pesticide
云南俄贡村 Egong Village, Yunan	EG	2004.5	6	1680	27 $^{\circ}$ 16'	98 $^{\circ}$ 37'	1380	15	未施药 No pesticide

## 2.2 DNA 的提取

参照文菊华等<sup>[14,17]</sup>提取蜘蛛基因组 DNA 的方法,并做部分修改,具体如下:取蜘蛛 1~4 对附肢,用 75% 的乙醇清洗后,再用双蒸水冲洗 2 次.加 600  $\mu\text{l}$  CTAB 提取液(CTAB 2 g, 1.4 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> NaCl, 0.1 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCL, pH 8.0, 0.02 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> EDTA, PVP 2 g)和 10  $\mu\text{l}$  4%  $\beta$ -巯基乙醇于离心管中研磨,65  $^{\circ}\text{C}$  水浴 3~5 h,其间不时轻轻上下颠倒.加入等体积的酚:氯仿:异戊醇颠倒混匀,10 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 5~10 min,取上清液.在上清液中加入等体积的氯仿,颠倒混匀,10 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 5 min,取上清液.重复氯仿抽提步骤.在上清液中加入 1/10 体积 NaCl 和预冷的 2.5 倍体积的无水乙醇沉淀 DNA,混匀,放入 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存 30 min 后,13 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 15 min,弃上清液.再加入 70% 乙醇漂洗,13 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 5 min,弃上清液,重复 1 次.自然干燥后加 100  $\mu\text{l}$  双蒸水或 1  $\times$  TE 缓冲液溶解 DNA,加入 2  $\mu\text{l}$  0.2 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> RNase 酶消化,于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用.

## 2.3 引物筛选

从 50 个 10 碱基寡聚核苷酸随机引物中经预试验筛选出对全部 DNA 样品均有清晰、稳定扩增产物并且重复性好的 10 条随机引物,引物均购自上海 Sangon 公司(表 2).

## 2.4 RAPD-PCR 反应体系的建立

实验优化了适合本研究的扩增和电泳条件,并获得丰富的较可重复的 DNA 片段图谱.反应体系总体积 25  $\mu\text{l}$ ,包括 25 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> 2.0  $\mu\text{l}$ , 10 mmol L<sup>-1</sup> dNTP 1.0  $\mu\text{l}$ , 10  $\times$  PCR 缓冲液 2.5  $\mu\text{l}$ , 5  $\mu\text{g}$

表 2 随机引物及其序列

Tab. 2 Random primers and their sequences

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
S1	5' GTTTCGCTCC 3'	S62	5' GTGAGGCCTC 3'
S3	5' CATCCCCCTG 3'	S92	5' CAGCTCACGA 3'
S21	5' CAGGCCCTTC 3'	S112	5' ACGGCATGA 3'
S23	5' AGTCAGCCAC 3'	S175	5' TCATCCGAGG 3'
S60	5' ACCCGTCCAC 3'	S179	5' AATGCGGGAG 3'

$\mu\text{l}$  Tag 酶 0.3  $\mu\text{l}$ , 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  随机引物 1.0  $\mu\text{l}$ , 20~50 ng 模板 DNA(约为 1.0  $\mu\text{l}$ ), 灭菌双蒸水 17.2  $\mu\text{l}$ . 扩增程序为 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 90 s 后进行 40 个循环,每个循环包括 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 40 s, 36  $^{\circ}\text{C}$  退火 60 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s, 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  下延伸 5 min, 并且每次 PCR 反应均设不含模板 DNA 的空白对照.

## 2.5 电泳检测及成像

扩增产物经 2% 的琼脂糖凝胶(含 0.5  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  溴化乙锭)电泳分离,恒压 3 V  $\cdot$  cm<sup>-1</sup> 电泳 1 h, 紫外投射仪上观察、拍照.统计时仅记录清晰稳定重复性好的扩增条带.对于不同个体同一引物所扩增出的 RAPD 带,在同一电泳迁移位置上,有扩增条带的记为 1,没有出现扩增条带的记为 0.

## 2.6 数据处理

**2.6.1 种群遗传特征分析** 分别计算各种群不同位点上的扩增频率,采用 Shannon 信息指数<sup>[3,8,13]</sup>和 Nei 遗传距离公式<sup>[11]</sup>计算拟环纹豹蛛种群内的遗传多样性和拟环纹豹蛛种群间的遗传距离.运用 SPSS 13 分析软件的欧氏距离和皮尔森相关指数构建聚类图.

**2.6.2 遗传多样性与环境因子的相关性分析** 在 SPSS 及 SAS 6.12 统计软件上进行简单相关性分析及多元回归分析,计算相关系数  $r$  并进行显著性检验.

### 3 结果与分析

#### 3.1 各种群的多态位点比率

利用 10 个随机引物对 8 个拟环纹豹蛛地理种群共 55 个个体的 DNA 样本进行了 RAPD 分析,每个引物检测到的位点在 4~13 之间,55 个个体共检测到 84 个位点,大小在 200~2 500 bp 之间,平均每条引物扩增出 8.4 个位点,其中多态性位点有 62 个,占 73.8%。在 8 个种群中,湖南天顶乡种群的多态位点比率最大(38.7%),海南南新农场种群的多态位点比率最小(17.7%)。各种群的多态位点百分率介于 17.7%~38.7% 之间(表 3),平均多态位点百分率为 22.9%。这些位点在各种群中分布的不均衡,致使拟环纹豹蛛 8 个种群的总多态位点百分率高。供试样本的 RAPD 带型差异表明拟环纹豹蛛自然种群具有丰富的遗传多样性。

表 3 RAPD 引物及其扩增结果

Tab.3 Amplification results of RAPD primers

种群 Popul- ation	多态性		种群 Popul- ation	多态性	
	位点数 Polymorphic loci	位点频率 Polymorphic loci frequency		位点数 Polymorphic loci	位点频率 Polymorphic loci frequency
TD	24	38.7	DZ	14	22.6
LF	15	24.2	SP	19	30.6
NX	11	17.7	YM	18	29.0
WZ	18	29.0	EG	23	37.0

TD: 湖南天顶乡 Tianding Village, Hunan; LF: 湖南雷锋镇 Leifeng Village, Hunan; NX: 海南南新农场 Nanxin Farm, Hainan; WZ: 海南五指山 Wuzhi Mt., Hainan; DZ: 海南儋州 Danzhou, Hainan; SP: 云南上帕镇 Shangpa Village, Yunnan; YM: 云南亚目河 Yamu River, Yunan; EG: 云南俄贡村 Egong Village, Yunan.

表 4 遗传多样性指数在群体内和群体间的分布

Tab.4 Partition of genetic diversity within and between populations

引物 Primer	种群 Population								Hsp	Hpop	Hpop/ Hsp	(Hsp-Hpop) /Hsp
	TD	LF	NX	WZ	DZ	SP	YM	EG				
S1	0.5802	0.4615	0.3579	0.3952	0.2781	0.3519	0.5181	0.5802	0.7287	0.4396	0.6034	0.3966
S3	0.7728	0.3325	0.2631	0.3781	0.1321	0.3688	0.4505	0.5728	0.6460	0.4088	0.6329	0.3671
S21	0.2157	0.2937	0.3198	0.2781	0.1321	0.2986	0.3038	0.2157	0.4174	0.2683	0.6428	0.3572
S23	0.3767	0.2599	0.3198	0.3412	0.4519	0.3505	0.3038	0.3767	0.4068	0.3568	0.8770	0.1230
S60	0.3727	0.1168	0.1321	0.1321	0.1321	0.2703	0.3662	0.3727	0.3713	0.2092	0.5634	0.4366
S62	0.3325	0.3783	0.2631	0.4952	0.2781	0.1038	0.3648	0.3325	0.4838	0.3393	0.7013	0.2987
S92	0.5482	0.2157	0.1321	0.2321	0.2781	0.3466	0.3519	0.5482	0.4761	0.2969	0.6236	0.3764
S112	0.2157	0.2937	0.3579	0.2781	0.2781	0.1519	0.2703	0.2157	0.4513	0.2688	0.5956	0.4044
S175	0.2599	0.2599	0.2198	0.3412	0.4102	0.1622	0.3406	0.2599	0.6971	0.3288	0.4717	0.5283
S179	0.3094	0.3251	0.3321	0.2724	0.3198	0.5128	0.4222	0.3094	0.4985	0.3550	0.7121	0.2879
平均 Average	0.3984	0.2937	0.2698	0.3144	0.2710	0.2917	0.3692	0.3784	0.5177	0.3277	0.6424	0.3576

Hsp: 总种群遗传多样性 Total genetic diversity; Hpop: 种群内遗传多样性 The average genetic diversity within populations; Hpop/Hsp: 种群内遗传多样性所占的比例 Proportion of genetic diversity within populations; (Hsp-Hpop)/Hsp: 种群间遗传多样性所占的比例 Proportion of genetic diversity among populations.

#### 3.2 不同种群的遗传多样性指数

从表 4 可以看出,8 个种群的平均遗传多样性最高的为湖南天顶乡种群(0.3984),最小的为海南南新种群(0.2698),按照多样性大小顺序排列为 TD > EG > YM > WZ > LF > SP > DZ > NX。拟环纹豹蛛种群总的遗传多样性平均为 0.5177,在总遗传变异中,大部分存在于群体内(64.24%),群体间占 35.76%。群体间的遗传变异程度相对较低,在一定意义上反映了不同群体遗传分化和群体内基因交流的程度,与动植物方面的其它报道相似<sup>[1,11,18]</sup>,比较符合实际情况。值得注意的是,其中湖南雷锋镇种群与天顶乡种群、海南五指山种群与儋州种群尽管处于同一地区,但它们的多样性差别较大。究其原因,可能与样地的农药施用水平有密切关系。

#### 3.3 农药对拟环纹豹蛛种群扩增片段多态性的影响

为了测定农药对蜘蛛种群遗传多样性的影响,采用配对数据的  $t$  检验法对 10 种引物在这两个种群扩增出来的 RAPD 多态片段进行了显著性检验,发现  $t = 2.862 > t_{9,0.05}$  (双侧) = 2.201,但是  $t < t_{9,0.01}$  (双侧) = 3.250,即  $0.05 > P > 0.01$ ,可见长沙 2 个种群的 RAPD 扩增片段差异显著。供试材料来自同一地区(相距约 1.5 km),海拔一致,生境相似,气候相同,为何差异显著? 主要原因在于两种群是否受长期农药胁迫。天顶乡稻区为省无公害水稻试验基地,数十年未施用农药,而雷锋镇稻区则常年施用大量的有机磷农药。可见,长期农药胁迫可导致种群遗传多样性降低。

表 5 各群体之间的平均遗传距离和平均相似性系数

Tab. 5 Genetic similarity index and genetic distance among the eight populations

种群 Population	TD	LF	NX	WZ	DZ	SP	YM	EG
TD	-	0.8110	0.7607	0.7379	0.7484	0.7171	0.7942	0.7348
LF	0.1890	-	0.7081	0.7106	0.7184	0.7065	0.7552	0.7395
NX	0.2393	0.2919	-	0.8937	0.9247	0.7357	0.7614	0.6424
WZ	0.2621	0.2894	0.1063	-	0.9136	0.7228	0.7508	0.6275
DZ	0.2516	0.2816	0.0753	0.0864	-	0.7576	0.7730	0.6402
SP	0.2829	0.2935	0.2643	0.2772	0.2424	-	0.8662	0.7682
YM	0.2058	0.2448	0.2386	0.2492	0.2270	0.1338	-	0.8149
EG	0.2652	0.2605	0.3276	0.3725	0.3598	0.2318	0.1581	-

### 3.4 拟环纹豹蛛种群间的遗传距离与聚类分析

从表 5 可以看出, 8 个种群间遗传距离变异范围较小, 为 0.0753 ~ 0.3725, 平均遗传距离为 0.2426, 其中南新种群和儋州种群的遗传距离最近, 而俄贡种群与五指山种群的遗传距离最远. 根据遗传距离指数得到的系统聚类图表明(图 1), 8 个地理种群依据地理距离和大陆与岛屿的位置由近及远依次聚类, 湖南 2 个种群与云南 3 个种群先聚在一起, 再和海南 3 个种群聚类. 可见, 种群间的遗传距离与地理空间距离基本一致<sup>[9,16]</sup>.

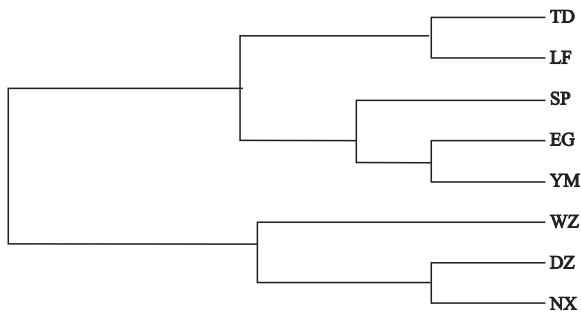


图 1 8 个拟环纹豹蛛群体间的聚类分析图

Fig. 1 The dendrogram produced by POPGENE soft for 8 populations of *P. pseudoannulata*.

TD: 湖南天顶乡 Tianding Village, Hunan; LF: 湖南雷锋镇 Leifeng Village, Hunan; NX: 海南南新农场 Nanxin Farm, Hainan; WZ: 海南五指山 Wuzhi Mt., Hainan; DZ: 海南儋州 Danzhou, Hainan; SP: 云南上帕镇 Shangpa Village, Yunnan; YM: 云南亚目河 Yamu River, Yunan; EG: 云南俄贡村 Egong Village, Yunan.

### 3.5 拟环纹豹蛛种群遗传多样性与环境因子的相关性

从表 6 可以看出, 拟环纹豹蛛种群内的遗传多样性与纬度高低呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与年平均气温显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 而与其它生态因子相关关系不显著 ( $P > 0.05$ ). 表明种群遗传多样性随纬度的降低呈递减趋势. 利用 SAS 6.12 统计软件以遗传多样性系数为自变量, 以海拔、纬度、年降水量和年平均气温为因变量, 做多元回归分析, 结果只有年平均气温的回归系数  $R = 0.5950$ , 达到显著水

表 6 8 个拟环纹豹蛛群体内的遗传多样性与各环境因子的相关性

Tab. 6 Correlation of the genetic diversities within 8 populations of *P. pseudoannulata* and the environmental factors

环境因子变量 Environmental variable	Shannon 信息指数估算的遗传多样性 Genetic diversity estimated by Shannon index of phenotypic diversity
海拔 Altitude	0.4742
纬度 Latitude	0.6326 *
年降水量 Annual precipitation	-0.2846
年平均气温 Annual average temperature	-0.8093 *

\*  $P < 0.05$ .

平 ( $P < 0.05$ ). 其余 3 个因子对遗传多样性系数的回归系数均未达到显著水平 ( $P > 0.05$ ). 可见, 在 4 个因子中, 年平均气温应是对拟环纹豹蛛种群遗传多样性影响最大的气候因子.

## 4 结 论

1) 多态位点比率、Shannon 多样性指数显示, 不同采集地的拟环纹豹蛛种群遗传多样性有明显差异 (51.77%). 群体内变异 (64.24%) 大于群体间 (35.76%), 说明狼蛛个体之间差异大, 种群的适应能力强, 使拟环纹豹蛛成为我国南方的优势种类.

2) 长期农药胁迫导致狼蛛优势种群遗传多样性降低. 湖南天顶乡和雷锋镇两地相距不到 2 km, 采集稻田的气候等环境因素均较为相似, 天顶乡稻区为省无公害水稻试验基地, 数十年未施用农药, 而雷锋镇稻区则常年施用大量的有机磷农药. 雷锋镇种群遗传多样性显著低于天顶乡种群, 可见农药施用在较小的地理范围内影响种群遗传组成, 产生遗传分化, 迫使种群对局部环境产生适应性变异, 以保持其优势种地位<sup>[2,5,7]</sup>.

3) 拟环纹豹蛛种群遗传变异与年平均气温呈显著负相关, 也就是说, 随着纬度降低及环境温度的升高, 拟环纹豹蛛种群遗传多样性呈递减趋势. 这表明温度在维持拟环纹豹蛛种群遗传多样性中可能起

着较为重要的作用. 这与我们实地调查中发现拟环纹豹蛛分布在我国南方的大部分地区这一结论相吻合. 几处采集生境虽然各异, 但都处在我国热带和亚热带气候区域内, 实验种群研究结果表明: 拟环纹豹蛛的最适生长温区为 20 ~ 30 °C, 湿度为 75% ~ 85%, 温度超过 30 °C 或低于 15 °C 时活动减退直至死亡<sup>[12]</sup>, 说明年平均气温是影响该物种分布范围和形成优势种群的主要因素.

4) 种群间的遗传距离与空间距离存在一定的相关性, 空间距离越远, 基因频率的差异和遗传距离越大<sup>[6, 13, 16]</sup>. 本实验对远距离范围的种群进行聚类结果符合这一观点. 由于高山和海峡等多方面因素阻碍了群体间的有效基因交流, 聚类结果显示地理隔离的作用明显.

综上所述, 栖息地的年平均气温和长期农药施用是影响该物种成为优势种的主要因子.

#### 参考文献

- [1] An Y-L (安榆林), Wang B-D (王保德), Yang X-J (杨晓军), et al. 2004. Characterizing populations of *Anoplophora glabripennis* and related taxa with RAPD. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), **47**(2): 229–235 (in Chinese)
- [2] Black WC IV, DuTear NM, Puterka GJ, et al. 1992. Use of the random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphism in aphids. *Bulletin of Entomological Research*, **82**(2): 151–159
- [3] Hong Y (红雨), Wang L-H (王林和), Zhang G-S (张国盛), et al. 2006. Genetic diversity of *Sabina vulgaris* populations at different succession stages. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **17**(11): 2006–2010 (in Chinese)
- [4] Hu Y-H (胡艳红), Chi D-F (迟德富). 2004. Research advance in application of RAPD techniques in entomology. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **15**(8): 1481–1486 (in Chinese)
- [5] Hu Z-A (胡志昂), Wang H-X (王洪新). 1998. Advances in molecular ecology. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **15**(6): 565–574 (in Chinese)
- [6] Gauer LG, Cavalli-Molina S. 2000. Genetic variation in natural populations of maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Aquifoliaceae) using RAPD markers. *Heredity*, **84**: 647–656
- [7] Gurdebeke S, Maelfait JP, Backeljau T. 2003. Contrasting allozyme and RAPD variation in spider populations from patchy forest habitats. *Genetica*, **119**: 27–34
- [8] Li J-M (李均敏), Jin Z-X (金则新). 2005. Genetic diversity of *Hepatocodium miconioides* natural populations in Zhejiang Province. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **16**(5): 795–800 (in Chinese)
- [9] Liu H-F (刘惠芬), Gao Y-B (高玉葆), Ruan W-B (阮维斌), et al. 2004. Genetic differentiation within and between *Leymus chinensis* populations from different zones of mid-eastern Inner Mongolia steppe. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **24**(10): 2157–2164 (in Chinese)
- [10] Liu Y-B (刘延滨), Chi D-F (迟德富), Yan S-C (严善春). 2006. Consanguinity of sixteen olethreutid moth species in northeast China based on RAPD-PCR analysis. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **17**(5): 899–902 (in Chinese)
- [11] Nei M. 1978. The theory of genetic distance and evolution of human races. *Journal of Human Genetics*, **23**(4): 341–369
- [12] Wang H-Q (王洪全), Zhou J-Y (周家友), Liu G-Y (刘贵匀). 1982. Studies on the biology of the pseudoannulate wolf spider, *Lycosa pseudoannulata* Boes. et Str. *Acta Zoologica Sinica* (动物学报), **28**(1): 69–79 (in Chinese)
- [13] Wang L (王丽), Yang J (杨娟), Guo J (郭晶), et al. 2005. Genetic structure and differentiation of *Psathyrostachys huashanica* populations detected with RAPD markers. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **25**(4): 719–726 (in Chinese)
- [14] Wen J-H (文菊华), Yan H-M (颜亨梅). 2005. An improved method for extraction of spiders' genomic DNA. *Acta Arachnologica Sinica* (蛛形学报), **14**(2): 126–128 (in Chinese)
- [15] Wen L-Y (文隽英). 2006. The effects of genetic diversity from habitat fragment. *Science, Economy & Society* (科学·经济·社会), **24**(1): 70–72 (in Chinese)
- [16] Xiao T-F (肖天放), Zeng X-C (曾显成), Wu Q-W (吴其文). 2004. Genetic diversity of Fujian local duck populations in different ecological type. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **15**(5): 879–882 (in Chinese)
- [17] Xu X (徐湘), Tang G (唐果), Wang Z (王智), et al. 1999. Preliminary study on the systematic evolution of spider using RAPD technique. *Life Science Research* (生命科学研究), **3**(4): 304–307 (in Chinese)
- [18] Yan H-M (颜亨梅), Wang H-Q (王洪全), Yang H-M (杨海明). 1996. Species diversity of spiders in rice fields in China. *Research Progress of Biodiversity* (生物多样性研究进展), **1**(2): 440–445 (in Chinese)

作者简介 孙继英,女,1978年生,博士研究生.主要从事动物生态研究,发表论文4篇. Tel: 0731-8872726; E-mail: jy-sunsun@126.com

责任编辑 肖红