

# 由 12S rDNA 序列探讨中国狼蛛科主要类群的分子系统发育关系

罗育发<sup>1,2</sup>, 颜亨梅<sup>\*1</sup>

(1 湖南师范大学生命科学学院动物系, 长沙 410081; 2. 赣南师范学院化学与生命科学系)

**摘要:** 将自测的我国蜘蛛目狼蛛科 4 属 6 个种和从互联网 GenBank 中检索到相关物种的线粒体基因组 12S rDNA 的序列进行同源性比较, 计算核苷酸使用频率。然后据此进行分子分析, 利用 2 个外群 (漏斗蛛科的机敏漏斗蛛 *Agelena difficilis* 和缘漏斗蛛 *Agelena limbat*) 和 2 种建树方法 (邻近法 Neighbour Joining, NJ 和最大简约法 Maximum Parsimony, MP) 分析我国狼蛛科内的亲缘关系。获得平均为 291.6 bp 的序列中, A + T 平均含量为 78.13%, 而 G + C 含量只要 21.87%, 颠换取代 (transversion) 的速度多数大于或接近转换取代 (transition) 的速度, 其中 161 个核苷酸位点存在变异。研究结果表明: 在蜘蛛目狼蛛科有差异的 161 bp 中, 属内种间仅为 1.08%, 狼蛛科属间为 6.85% ~ 14.80%。所构建的分子系统树表明: 科内的属和属内的种均优先聚在一起; 狼蛛科现行分类系统中各亚科的演化关系顺序为: 马蛛亚科 → 狼蛛亚科 → 豹蛛亚科; 狼蛛科各属的演化关系顺序为: 水狼蛛属 → 马蛛属 (或水狼蛛属和马蛛属) → 獾蛛属 → 狼蛛属 → 豹蛛属; 水狼蛛属为最早分出的一支或者水狼蛛属和马蛛属最先聚为一族, 二者关系较近, 是较为原始的类群, 同为马蛛亚科。与传统的分类观点明显差别。所研究的豹蛛属的 4 个种在两种构树方法 (NJ 法和 MP 法) 下所获得的分子系统树中均优先聚为一支, 是较进化的类群。与传统形态分类结果一致。对于狼蛛亚科中的獾蛛属和狼蛛属, 本研究认为狼蛛属是比獾蛛属更为进化的一个类群。与传统形态分类研究明显不同。

**关键词:** 蜘蛛目; 狼蛛科; 12S rDNA; 分子系统发育

**中图分类号:** Q75; Q959.226 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083 (2006) 03-0445-06

## Molecular Phylogeny of Main Groups of Wolf Spiders (Lycosidae) in China from 12S rDNA

LUO Yu-fa<sup>1,2</sup>, YAN Heng-mei<sup>1\*</sup>

(1. Department of Zoology, College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081;

2. Department of Chemistry and Life Sciences, Gannan Teachers' College)

**Abstract:** A comparison of the homologous DNA-sequences of our 6 species (belonging to 4 genera of the family Lycosidae) to 2 relative Chinese species of Lycosidae from GenBank is depicted based on analysis of the 12S rDNA in this paper. The used frequency of nucleotide was calculated and 2 molecular phylogenetic trees constructed by Mega 2.0 and PAUP microsofts respectively. The evolutionary relationships of our 6 species wolf spiders were investigated by comparing the using two different analysed methods (Neighbor-Joining, NJ; and Maximum Parsimony, MP) and two different outgroups. In the mean 291.6 bp fragments of mitochondrial 12S rDNA, A + T was about 78.13% and G + C only 21.87%. The sequence data revealed considerable variation in 161 nucleotide sites among the analyzed individuals from 5 different genera. The most variation rate of transversion was larger than or approached to that of transition. The results showed that the ranges of the 12S rDNA nucleotide divergence within species, among species of a genus and among genera of a family were 1.08% and 6.85% ~ 14.80% respectively. The members of the same genus and family were grouped together. The phylogenetic relationship of 3 subfamilies Lycosinae was: Hippasinae → Lycosinae → Pardosinae. The phylogenetic relationship of 5 genera of Lycosidae was: *Pirata* → *Hippasa* (or *Pirata* and *Hippasa*) → *Trochosa* → *Lycosa* → *Pardosa*. *Pirata* was divided firstly, or *Pirata* and *Hippasa* were grouped together firstly as a subfamily (Hippasinae), which differs from the recent taxonomy distinctly. The 4 examined species of *Pardosa* was grouped together

**收稿日期:** 2005-08-30 **基金项目:** 国家自然科学基金基金项目资助 (No: 30370208)、湖南省自然科学基金项目资助 (No: 01JJY2026) 和赣南师院自然科技基金资助

**作者简介:** 罗育发 (1975~), 男, 硕士, 从事动物生态学研究, E-mail: lyf223@sohu.com

**\* 通讯作者:** 男, 博士生导师, 湖南师范大学生科院教授, 从事蜘蛛区系和动物生态学研究, E-mail: yanhengmei@yahoo.com.cn

**致谢:** 本文研究中的 PAUP\* 软件承蒙中国科学院动物研究所的李枢强博士提供, 谨致诚挚的谢意!

between two methods of phylogenetic analysis (NJ and MP), which is the most evolutive group, as same as recent taxonomy. Lycosa was more evolutive than did *Trochosa*, as reverse as recent taxonomy

**Key words:** Araneae; Lycosidae; 12S rDNA; molecular phylogeny

狼蛛科是蜘蛛目 (Araneae) 中的一个 大科, 世界分布, 具有丰富的和对人类有重要经济价值的野生基因资源, 我国是狼蛛科动物的重要分布区。目前, 尹长民等<sup>[1]</sup>著的《中国狼蛛》就已记录了分布于我国古北界和东洋界的狼蛛 135 种, 分别隶属于 5 亚科, 13 属。现已查明, 在农田中狼蛛是作物害虫最主要的捕食性天敌, 如拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus*、拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* 等是稻田生态系统中蜘蛛类的优势类群<sup>[2]</sup>。狼蛛分类研究国内外学者做了大量的工作, 建立了不同的分类系统<sup>[1,3]</sup>。我国蜘蛛分类学工作者根据形态特征提出了新的分类系统, 但在分子系统发育研究方面尚缺乏报道。

线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 是动物体内唯一存在的核外遗传信息载体, 系共价闭环的环状分子, 分子量小, 基因组中一般没有间隔序列, 结构简单, 为严格的母系遗传, 几乎不发生倒位、易位等畸变与重组, 使之容易被检测。因此, mtDNA 越来越广泛地被应用于蜘蛛及其他动物类群的系统进化研究<sup>[6-10]</sup>。而 12S rDNA 基因是线粒体 DNA 上 2 个 rRNA 基因之一, 在结构上存在 4 个结构域 (domain), 第三结构域 (domain III) 是相当保守的<sup>[4]</sup>。该结构域包括 32 至 48 号茎 (stem), 高度保守的侧翼序列 (flanking sequence) 使它成为 12S rDNA 基因中最常被扩增的区域<sup>[5]</sup>。同时, 12S rDNA 基因进化速度较 16S、18S、28S rDNA 快。因此 12S rDNA 基因序列可用于研究生物类群的种属间系统发生关系。目前, 已有学者将 12S rDNA 作为标记用于蜘蛛系统学的研究, 如 Karl Zehethofer 和 Christian Sturmbauer<sup>[6]</sup>对欧洲中部狼蛛 (Araneae: Lycosidae) 及 Cor J. Vink 等<sup>[7]</sup>对 Australasian 狼蛛种群等的系统发育研究, 吴琛、宋大祥等<sup>[8]</sup>对蜘蛛若干重要类群亲缘关系的研究。本研究以室外采集的活体标本为材料, 测定了狼蛛科 3 亚科 4 属 6 种及漏斗蛛科 1 种的 12S rDNA 部分序列, 并从 GenBank 中检索到相关的中国狼蛛 2 物种和漏斗蛛科 1 种的 12S rDNA 序列片段进行同源性比较, 计算核苷酸使用频率, 并构建分子系统树, 从分子水平探讨了它们的系统进化关系。为今

后的分类研究及蜘蛛生态类型的演化关系 (结网型至游猎型的过度) 的研究提供了依据, 丰富蛛形学内容。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本研究所用蜘蛛标本来源见表 1, 材料分别取自蜘蛛活体标本的 1~4 对足。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取与纯化** 参照 Sambrook 等<sup>[11]</sup>, 部分步骤加以改进。

**1.2.2 供试标本基因组 DNA 的 PCR 扩增** 12S rDNA 具有多拷贝重复排列的特性, 使它便于直接从基因组中进行 PCR 扩增, 而 rDNA 表 1 供试样来源中的高度保守序列又为引物设计带来便利。经过查阅相关资料确定所需片段及其引物序列<sup>[12]</sup>, 本文所用引物为 12St-L-14503 (5'-GGTG-GCATT TTTATTTTATTAGAGC-3') 和 12Sbi-H-14214 (5'-AAGAGCGACGGGCGATGTGT-3')。引物由宝生物工程 (大连) 有限公司合成。

反应体系选用宝生物工程 (大连) 有限公司的试剂盒: 1  $\mu$ l 的 10 mmol/L dNTPs, 1.5  $\mu$ l 的 15  $\mu$ mol/L 引物, 4  $\mu$ l 的 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 5  $\mu$ l 的 10  $\times$  Buffer, 0.6  $\mu$ l 的 5U TaqDNA 聚合酶, 1  $\mu$ l 的 20 ng/ $\mu$ l 的基因组 DNA 模板, ddH<sub>2</sub>O 补齐反应总体积到 50  $\mu$ l, 包括以 PCR 反应在美国安普公司生产的 1605 型 PCR 仪上进行。扩增反应条件: 预变性 94 $^{\circ}$ C 5 min, 之后冰浴 3 min, 进入循环; 94 $^{\circ}$ C 变性 10 S, 45 $^{\circ}$ C 退火 10 S, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 S, 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

**1.2.3 测序** 扩增产物用紫外分光光度法定量, 对于扩增浓度在 100  $\mu$ g/ml 以上、背景干净的样品由宝生物有限公司合成的回收试剂盒进行回收, 回收产物的基因测序由上海生物工程有限公司完成, 序列测定仪为 ABI 377 型全自动序列分析仪。测序反应的引物为 PCR 反应时所用引物 (12St-L-14503 和 12Sbi-H-14214), 获得双链序列。之后用 Jellyfish 3.0 序列综合分析软件将双链序列进行

对位排列, 辅以手工校正。最后得到长期施用农药 因第三结构域的完整序列。  
和未施用农药区域内狼蛛优势种群的 12S rDNA 基

表 1 标本来源  
Table 1 Original of the examined specimen

科名 Families	亚科名 Subfamilies	属名 Genera	缩写 Abbr.	种名和采集地 Species and sites	作者 Authors	GenBank 登录号 Accessions of GenBank
狼蛛科 Lycosidae	狼蛛亚科 Lycosinae	獾蛛属 <i>Trochsa</i>	<i>T. w.</i>	武昌獾蛛 (湖南省 长沙) <i>Trochsa wuchangensis</i> (Changsha, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2004	DQ173436
		豹蛛属 <i>Pardosa</i>	<i>Pa. p.</i>	拟环纹豹蛛 (湖南省 岳阳) <i>Pardosa pseudoannulata</i> (Yueyang, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2004	DQ173431
	豹蛛亚科 Pardosinae	豹蛛属 <i>Pardosa</i>	<i>Pa. l.</i>	沟渠豹蛛 (湖南省 石门) <i>Pardosa laura</i> (Shimen, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2004	DQ173432
		豹蛛属 <i>Pardosa</i>	<i>Pa. a.</i>	星豹蛛 (湖南省 石门) <i>Pardosa astrigera</i> (Shimen, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2004	DQ173433
	豹蛛亚科 Pardosinae	豹蛛属 <i>Pardosa</i>	<i>Pa. t.</i>	沙地豹蛛 <i>Pardosa takahashii</i>	Fang K <i>et al.</i> , 1999	AF145032
	马蛛亚科 Hippasinae	马蛛属 <i>Hippasa</i>	<i>H. h.</i>	猴马蛛 (湖南省 耒阳) <i>Hippasa holmerae</i> (Leiyang, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2005	DQ173434
	狼蛛亚科 Lycosinae	狼蛛属 <i>Lycosa</i>	<i>L. c.</i>	黑腹狼蛛 <i>Lycosa coelestis</i>	Fang K <i>et al.</i> , 1999	AF145030
	马蛛亚科 Hippasinae	水狼蛛属 <i>Pirata</i>	<i>Pi. s.</i>	拟水狼蛛 (湖南省 岳阳) <i>Pirata subpiraticus</i> (Yueyang, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2005	DQ173435
漏斗蛛科 Agelenidae		漏斗蛛属 <i>Agelena</i>	<i>A. l.</i>	缘漏斗蛛 (湖南省 望城) <i>Agelena limbata</i> (Wangcheng, Hunan Province)	Luo YF <i>et al.</i> , 2005	DQ173430
		漏斗蛛属 <i>Agelena</i>	<i>A. d.</i>	机敏漏斗蛛 <i>Agelena difficilis</i>	Wu CH <i>et al.</i> , 2002	AF466987

#### 1.2.4 数据的分析处理—序列比对 (Alignment)

由于 rDNA 基因缺乏象蛋白质编码基因那样的三联体密码结构, 所以很难确定同源位点。Hichson 等<sup>[13]</sup>研究发现当结合二级结构信息时, 比对的可靠程度明显提高。本文用 Jellyfish 3.0 序列综合分析软件进行序列比对, 辅以手工校对。然后根据动物 12S rDNA 基因第三结构域的二级结构模型<sup>[11]</sup>推断插入/缺失的位置, 所有序列均被视为无序特征, 最后得到基于二级结构的序列比对。用分子进化遗传分析软件 Mega 2.0 和 PAUP\* 分析各物种间 DNA 序列差异, 计算核苷酸使用频率。基于 Kimura - 2 - Parameter 模型, 用 NJ (Neighbour Joining) 法构建分子系统树, 得到图 2。同时用 MP (Maximum Parsimony) 法构建分子系统树, 得到图 3。图 2 和图 3 均显示了 1000 次循环所得的系统树中节点在 50% 以上的自举置信水平

(Bootstrap Confidence Level, BCL)。

## 2 结果

### 2.1 12S rDNA 序列组成及变异

本研究测定了狼蛛科 4 属 6 个种和漏斗蛛科 1 种的 12S rDNA 序列, 并与 GenBank 中的狼蛛科 2 属 2 个种及漏斗蛛科 1 种的 12S rDNA 序列相比较。序列将间隔 (Gaps) 的数目包括起来, 测序的长度为 299 bp, 在 2 科共 10 个种中有 161 bp 存在差异。

通过这些相关物种序列的比较, 同亚科不同属 (如狼蛛亚科的獾蛛属与穴狼蛛属) 的碱基相似率为 88.44%, 同属不同的种 (如豹蛛属的沟渠豹蛛与星豹蛛) 的碱基相似率为 98.02%。PCR 扩增总是产生大小相同的一条带, 大约为 300 bp, 没有其他条带的干扰 (图 1), 说明不存在假基因的干扰。

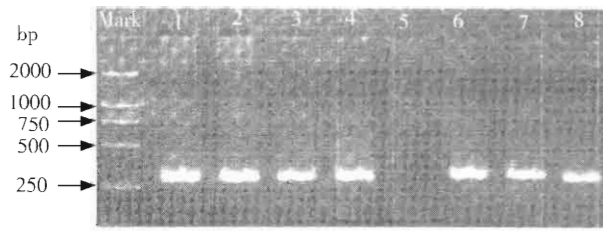


图 1 所测序样品 PCR 扩增检测结果

Fig.1 PCR results of sequenced samples

1. 武昌獾蛛 *T. wuchangensis*; 2. 拟环纹豹蛛 *P. pseudoannulata*; 3. 沟渠豹蛛 *P. laura*; 4. 星豹蛛 *P. astrigera*; 5. 空白 *Blank*; 6. 拟水狼蛛 *P. subpiraticus*; 7. 缘漏斗蛛 *A. limbata*; 8. 马蛛 *H. holmerae*; M.DL 2000 markers

利用 Mega 2.0 软件分析碱基的转换及序列差异, 碱基的转换及序列差异百分比率见表 2。A、T、C 和 G 的碱基含量分别为 42.77%、35.36%、10.61%、11.26%。A + T 平均含量为 78.13%, 而 G + C 含量只有 21.87%, 与前人文献记载的“节肢动物 12S rDNA 富含 A 及 T, 而 C 的含量最少”的结论相一致。

表 2 狼蛛科及外类群 (漏斗蛛科) 的 12S rDNA 部分序列的碱基取代 (对角线以上是转换/颠换, 对角线以下是序列差异百分比)

Table 2 The base substitutes and for 12S rDNA sequences in wolf spiders Lycosidae and spiders Agelenidae (below diagonal, different percentage; above diagonal, transition/transversion)

种名 Species	1 <i>T. w.</i>	2 <i>Pa. p.</i>	3 <i>Pa. l.</i>	4 <i>Pa. a.</i>	5 <i>P. l.</i>	6 <i>L. c.</i>	7 <i>H. h.</i>	8 <i>Pi. s.</i>	9 <i>A. l.</i>	10 <i>A. d.</i>
1		0.5498	0.8051	0.6306	0.8897	0.4806	0.5174	0.8203	0.6454	0.6869
2	8.51		1.0229	0.7899	2.6413	0.2497	0.5194	0.5194	0.9044	0.8456
3	8.51	2.93		3.0987	2.0869	0.5284	0.5586	0.6380	1.0278	0.9226
4	8.09	3.31	1.08		1.3871	0.3819	0.4293	0.5760	0.9786	0.8187
5	7.68	2.18	2.18	3.31		0.5259	0.8203	1.0468	1.1026	0.9862
6	11.56	7.26	7.26	6.85	8.09		0.5720	0.9001	1.0889	1.0211
7	13.39	11.56	11.56	12.92	10.67	12.92		0.4044	0.6090	0.5539
8	10.67	11.56	11.56	12.01	10.67	10.23	14.80		0.9938	0.8350
9	15.28	12.46	12.46	12.01	11.56	10.23	19.83	12.92		2.2702
10	14.32	13.39	13.39	13.85	12.46	12.01	19.83	12.92	2.18	

## 2.2 系统进化树

以漏斗蛛科的缘漏斗蛛 *Agelen limbata* 和机敏漏斗蛛 *Agelena difficilis* 为外群, 用邻近法 (NJ) 构建了狼蛛科 3 亚科 5 属 8 种的分子进化树 (图 2), 并用 PAUP\* 软件中的最大简约法 (MP) 构建分子进化树 (图 3)。Bootstrap 1000 给出了各分支的置信度 (只显示 50% 以上的置信度), 最高值为 93%。

从分子系统树图 2 可以看出, 漏斗蛛科 2 个种首先与狼蛛科各类群分离出, 似为不同的科。我们研究的 8 种狼蛛中, 马蛛亚科中的拟水狼蛛、马蛛和狼蛛亚科中的武昌獾蛛、黑腹狼蛛各代表一个

各分类单元 12S rDNA 序列差异显示: 碱基序列差异百分比狼蛛科属内种间仅为 1.08% ~ 8.51%, 狼蛛科属间为 6.85% ~ 14.80%。受 A、T、C、G 比例显著不同的影响, 不同属间的转换和颠换的取代方向也不同。A、T 的相互取代方向明显高于其他形式的取代。一般认为, 节肢动物的 mtDNA 富含 A 和 T, 碱基组成与各类节肢动物间无差异。本研究通过对所测得的序列进行分析, 结果表明: 12S rDNA 富含高比例的 A 和 T, 但 DNA 碱基组成在各类蜘蛛间还是有差异的, 其中在豹蛛属中 A 的含量为 40.92% ~ 44.13%, T 的含量在 35.23% ~ 37.01%, 因此, 可以认为基因碱基的变化在蜘蛛的属以上的分类单元应当具有方向性。但总体看, A + T 平均为 78.13%, 明显高于 G + C 平均含量 (21.87%), 这与其他的节肢动物相似, 如昆虫纲中的蜉蝣 (mayfly) A + T 的含量为 66.3%, 鳞翅目 A + T 含量为 78.8%, 鞘翅目 A + T 含量为 78.4%。

属, 其余的 4 个种则代表豹蛛亚科的一个属 (豹蛛属), 见图 (I、II、III、IV、V)。在豹蛛亚科中豹蛛属的 4 个种聚在一起, 是较为进化的类群。在狼蛛亚科中狼蛛属和獾蛛属各为一分支, 似为不同的属。在马蛛亚科中马蛛属和水狼蛛属各为一分支, 似为不同的属。而图 3 中, 马蛛亚科中的马蛛属和水狼蛛属单独聚为一支构成聚类族 (iv), 豹蛛属的 4 个种单独聚在一起 (i), 狼蛛亚科 2 属 (狼蛛属和獾蛛属) 各产生一个分支 (ii、iii)。因此, 狼蛛科各亚科的演化关系顺序为: 马蛛亚科 → 狼蛛亚科 → 豹蛛亚科; 狼蛛科各属的演化关系顺序为: 水狼蛛属 → 马蛛属 (或水狼蛛属和马蛛属) →

獾蛛属→狼蛛属→豹蛛属。

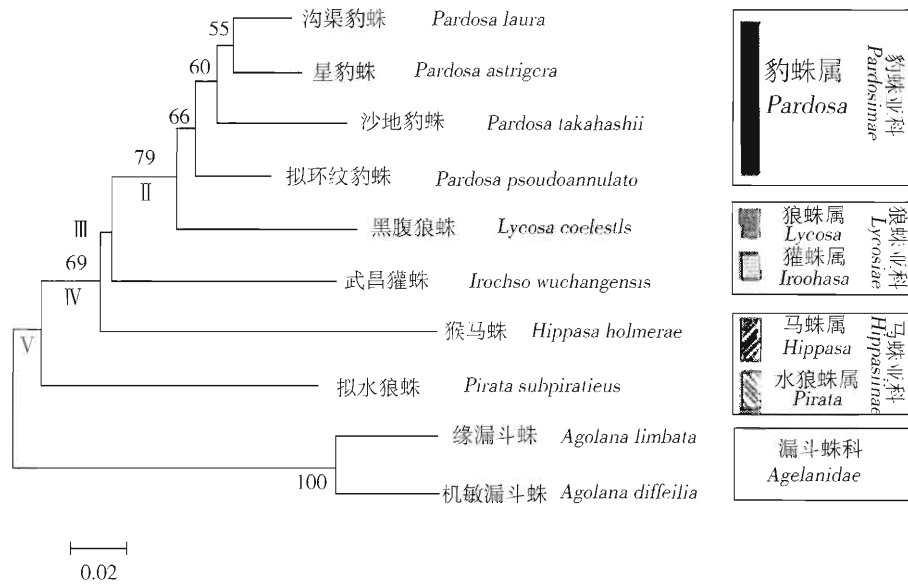


图 2 狼蛛科 3 亚科 5 属 8 个种的 NJ 分子系统树 (图中数字表示置信度)

Fig. 2 NJ phylogenetic tree of 8 species of 5 genera of wolf spiders Lycosidae (Integer indicates Bootstrap confidence value)

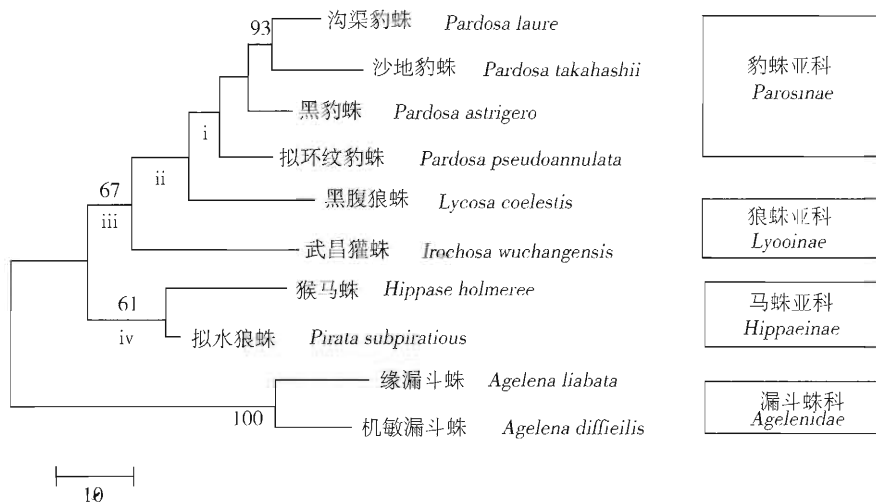


图 3 狼蛛科 3 亚科 5 属 8 个种的 MP 分子系统树 (图中数字表示置信度)

Fig.3 MP phylogenetic tree of 8 species of 5 genera of wolf spiders Lycosidae (Integer indicates Bootstrap confidence value)

### 3 讨论

本研究对我国狼蛛科主要类群线粒体 12S rDNA 部分序列进行了初步比较, 结果表明各亚科间的亲缘关系与现有的分类系统有同有异: (1) 水狼蛛属最早分出一支或者水狼蛛属和马蛛属最先聚为一族, 二者关系较近, 是较为原始的类群, 为马蛛亚科, 与传统的分类观点<sup>[1,3,14,15]</sup>有所差别。在传统的形态分类中, 同为马蛛亚科的马蛛属较水狼蛛属原始, 而本研究显示马蛛属是比水狼蛛属更为进

化的一个类群。从蜘蛛的生态类型<sup>[2,16]</sup>来讲, 马蛛属是典型的地面结网类型, 相对水狼蛛属而言, 应与结网的漏斗蛛科有更近的亲缘关系, 也与本研究的结果相反。因此, 这两个属的分类地位还需进一步的探讨。(2) 所研究的豹蛛属的 4 个种在两种构树方法 (NJ 法和 MP 法) 下所获得的分子系统树中均优先聚在一起, 是最进化的类群, 与传统的形态<sup>[1,3,14,15]</sup>分析结果相一致。(3) 对于狼蛛亚科中的獾蛛属和狼蛛属, 传统的形态分类<sup>[1,13]</sup>研究认为獾蛛属是比狼蛛属更为进化的一个类群, 但本

研究结果与其相反。(4) 本文得到的狼蛛科各亚科的演化关系和各属的演化关系与传统的形态分类结果基本一致。

本研究显示, 科中的亚科首先分开, 其次是亚科中的属分开; 同属不同的种(4 种豹蛛) 均优先相聚, 在一定程度上说明了将 12S rDNA 序列片段作为遗传标记, 运用于系统分类研究是值得考虑的方法之一。

作者首次对我国狼蛛科进行了分子系统发育研究, 并依据系统发育结果提出一些不同于传统形态分类的分类系统。由此可以看出, 在研究某一特定类群的详细系统亲缘关系时, 单凭某一种或某几种手段是不够的, 至少在目前的水平上是达不到的, 必须综合各方面资料, 包括形态、比较解剖、生理、生化、古生物、动物地理等方面的资料进行全面的考查。DNA 序列所得出的结果应视为研究中的证据之一, 对该证据的意义也要根据不同情况和所研究的种类特点进行具体分析。只有将各种手段结合起来, 取长补短, 相互印证, 方可得出符合客观规律的结论, 从而为物种系统发育、生态学和生物地理学研究提供重要的信息。

综上所述, DNA 序列数据已广泛应用于蜘蛛系统学研究中, 并取得了一定的结果。在进一步的研究中, 应增加样本的种类和数量, 使分类单元更具代表性, 同时延长核酸序列的长度, 使其包含更大的遗传信息。随着分子生物学的发展, DNA 序列分析技术将更加完善, 人们对 DNA 进化机制的了解将越来越全面, 为分类学提供一种新的佐证。

#### 4 参考文献

- [1] 尹长民, 等. 中国狼蛛[M]. 湖南师范大学出版社, 1997: 163~168
- [2] 尹长民. 中国蜘蛛生态学研究概况[J]. 蛛形学报, 1999, 8(2): 43~49
- [3] 宋大祥. 中国蜘蛛[M]. 河北科学技术出版社, 1999: 116~

231

- [4] 张亚洲, 张亚平, 栾云霞, 等. 12S rRNA 基因序列变异与六足总纲高级单元系统分类[J]. 科学通报, 2000, 45(22): 2434~2438
- [5] Hickson RE, Simon C & Cooper A, *et al*. Conserved sequence motifs, alignment and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA[J]. Mol Biol Evol, 1996, 13(1): 150~169
- [6] Zehethofer K, Sturmbauer C. Phylogenetic relationships of Central European wolf spiders (Araneae: Lycosidae) inferred from 12S ribosomal DNA sequences[J]. Mol Phylogenet Evol, 1998, 10(3): 391~398
- [7] Cor J Vink, Anthony D Mitchell and Adrian M Paterson. A preliminary molecular analysis of phylogenetic relationships of Australasian wolf spider genera (Araneae, Lycosidae) [J]. J Arachnology, 2002, 30: 227~237.
- [8] 吴琛, 宋大祥, 朱明生. 从 12S rRNA 基因第三结构域序列分析探讨蜘蛛若干重要类群的亲缘关系[J]. 蛛形学报, 2002, 11(2): 65~73
- [9] 陈学新, 朴美花, JB Whitfield, 何俊华. 基于 28S rRNA D2 序列的 Rogadinae 的分子系统发育[J]. 昆虫学报, 2003, 46(2): 209~217.
- [10] 印红, 张道川, 毕智丽. 蝗总科部分种类 16S rDNA 的分子系统发育关系[J]. 遗传学报, 2003, 30(8): 766~772
- [11] Sambrook, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning a laboratory manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989: 154~172
- [12] Croom HB, RG Gillespie & SR Palumbi. Mitochondrial DNA sequences coding for a portion of the RNA of the small ribosomal subunits of *Tetragnatha mandibulata* and *Tetragnatha hawaiiensis* (Araneae, Lycosidae) [J]. J Arachnology, 1991, 19(2): 210~214
- [13] Hickson RE, Simon C & Cooper A, *et al*. Conserved sequence motifs, animal and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA[J]. Mol Biol Evol, 1996, 13(1): 150~169
- [14] 宋大祥. 蜘蛛目的系统分类和演化[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 1993, 15(2): 185~192
- [15] 宋大祥, 朱明生, 陈军. 河北动物志(蜘蛛类)[M]. 河北科学技术出版社, 2001: 98~112
- [16] 李剑泉, 沈佐锐, 赵志模, 等. 拟水狼蛛的生物学生态学特性[J]. 生态学报, 2002, 9(9): 1478~1484