

东湖螳状独缩虫(纤毛门:寡膜纲)的异质性

王爱芹^{1,2}, 余育和^{1*}, 张文静^{1,2}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:以螳状独缩虫(*Carchesium polypinum* Linne, 1785)为研究对象, 利用 RAPD 技术对武汉市南湖、沙湖和东湖 3 个湖区的螳状独缩虫样本进行了 DNA 多态性比较分析, 以确认种群并期望促进微生物种群生态学研究。结果如下: (1) 从 120 条随机引物中筛选到 31 条有清晰扩增条带的, 其中 20 条引物扩增出 172 条条带清晰、多态性高的条带, 片段大小为 100 ~ 1600bp, 而其余 11 个引物扩增出 59 条相对多态性差的清晰条带, 片段大小为 100 ~ 1500bp; (2) 扩增产物经 SPSS12.0 与 RAPDistance 1.04 分析显示, 东湖世纪钟(Z)、水果湖(H)和南湖(N) 3 个样点构成一个分支, 而东湖风光村样点(F)或独自形成一支, 或与沙湖样点(S)构成相对的姊妹分支。东湖 3 个样点样本被其它湖泊样本所分隔, 表明: 东湖水体中螳状独缩虫个体集合为多个种群。这一发现不仅将推动同一水体中微生物种群生态学研究, 更有意义的是可启动关于水体微生物种群间过渡区本质及物种扩散行为的研究, 以期阐明种群分化和物种形成的机制积累基础资料。

关键词: 螳状独缩虫; 种群; 种群生态学; RAPD; 东湖

文章编号: 1000-0933(2006)03-0895-06 **中图分类号:** Q143, Q157 **文献标识码:** A

Heterogeneity of *Carchesium polypinum* (Ciliophora: Peritrichida) in Donghu Lake

WANG Ai-Qin^{1,2}, YU Yu-He^{1*}, ZHANG Wen-Jing^{1,2} (1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(3): 895 ~ 900.

Abstract: Population biology, which has been mainly studying the terrestrial animals and plants, is an important branch of ecology. During these years, there are some researches extending to the hydrobiont populations, such as fish and shrimp populations and get many interesting results. However, because of the ambiguity of the definition of micro-hydrobiological populations and some hypotheses hold that all individuals of species in a lake belong to one population and free living species are cosmopolitan, the researches in this area lagged behind that of terrestrial populations; the studies of micro-hydrobiological population are rare in literature. In this research RAPD has been used to study the genetic diversity of *Carchesium polypinum* populations that have been sampled from three lakes that include Lake Donghu (D), Lake Nanhu (N) and Lake Shahu (S). The procured results have been used to deduce the definition of the *C. polypinum* populations. We used 120 arbitrary primers to amplify the DNA extracted from the five *C. polypinum* samples and from this 31 primers resulted in giving out positive bands. The result were as followed: (1) the 20 primers produced 172 clear bands with an average of 8.6 fragments, ranging from 100bp to 1600bp, . The other 11 primers produced 59 legible bands in an average of 5.4 fragments that ranged from 100bp to 1500bp; (2) Results of SPSS 12.0 and RAPDistance 1.04 that had similar trees were composed of two parallel main branches. Samples from Shijizhong (Z) of D, Shuiguohu (H) of D and N clustered into a branch and another sample from D-Fengguangcun(F) gathered with S or itself made another main branch. The result that the three samples of D were separated by the samples of other lakes suggested that the individuals of *C. polypinum* in D belong to several populations. This discovery will promote the population ecology researches of

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30490232); 淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题资助项目(2005FB13)

收稿日期: 2005-12-06; **修订日期:** 2006-01-17

作者简介: 王爱芹(1979~), 女, 山东文登人, 硕士生, 主要从事螳状独缩虫分子生态学研究. E-mail: clairetu0921@ihb.ac.cn

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yhyu@ihb.ac.cn

Foundation item: The project was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30490232); State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology (20052005FB13)

Received date: 2005-12-06; **Accepted date:** 2006-01-17

Biography: WANG Ai-Qin, Master candidate, mainly engaged in *Carchesium polypinum* molecular ecology. E-mail: clairetu0921@ihb.ac.cn

micro-hydrobiont, moreover, it will help study the essence of its transitional zone and the behavior of dispersal and vicariance. This report can dedicate to the investigations of population differentiation and the mechanism of speciation.

Key words: *Carchesium polypinum*; population; population ecology; RAPD; Donghu Lake

种群是指在一定时间和一定地点内,同一物种的个体集合,是物种存在和进化的基本单位,很早以来学者们就从不同视角对种群进行了广泛而深入的研究。Malthus 于 1798 年发表的《An Essay on the Principle of Population》是第 1 篇关于种群生态学的重要文献,论述了人口增长与食物供给之间的关系^[1]。Darwin《物种起源》^[2]也有诸多动物种群的内涵。嗣后对包括人类在内的动物进行了大量的种群生态学研究,并建立了生命表方法、关键因子分析、种群系统模型、控制作用的信息处理等研究方法。1977 年,Harper 在继承动物种群的一般原理基础上发展了植物种群生态学的基本理论和研究方法,他总结了当时植物种群几乎所有的工作,提出了以植物生活史为纲的植物种群生态模型,撰写的《The Population Biology of Plants》^[3]成为植物种群生态学研究划时代的标志。Silvertown^[4]的《Introduction to Plant Population Ecology》以及 Dirzo 和 Sarukhan^[5]的《Perspectives on Plant Population Ecology》则标志着植物种群研究的兴盛。

动植物种群生态学坚实的理论基础促进其种群研究蓬勃进展,相比之下,水生生物虾类^[6-10]与鱼类^[11-15]种群的研究报道就较少。微型生物是水体生态系统中的重要结构和功能类群,可关于水体中微型生物种群的研究就更为鲜见^[16-20]。究其原因,可能是自然环境中微型生物种群界定非常困难和接受自由生活微生物为世界性分布,连续水体内的同一物种属于同一个种群的假说^[21]。本文以原生动物螳状独缩虫(*Carchesium polypinum* Linne)为对象,以南湖和沙湖样本为参考系对武汉市东湖不同湖区样本进行了 RAPD 分析,判断同一湖泊中螳状独缩虫是否同质,以期促进微型生物种群生态学研究。

1 材料与方法

1.1 样本采集和处理

自 2004 年 12 月至 2005 年 3 月,从湖北省武汉市南湖、沙湖和东湖 3 个湖区采集螳状独缩虫样本,其中在东湖设有风光村(F)、世纪钟(Z)和水果湖(H) 3 个样点,作为参考系的女湖(N)和沙湖(S)各设一个样点(图 1)。采集的样本经清洗(去除杂质和附着的其它微型生物)后饥饿 3h(消化虫体内的食物),在解剖镜下收集虫体,无菌水离心洗涤 2 次(8000r/min, 1min)。

1.2 DNA 提取和 RAPD 扩增

DNA 提取方法参见缪炜等^[22]。自 Operon 公司购买的 120 条引物中筛选出 31 条扩增效果稳定、条带清晰的引物,其中 20 条引物(表 1)扩增多态效果较好,另外 11 条引物(表 2)扩增多态性效果稍差,用它们对 5 个样点的模板 DNA 进行扩增。25 μ l 的 RAPD 反应体系中含 1 $\times$ Taq buffer (MBI), 2mmol/L MgCl₂, 3mmol/L dNTPs (MBI), 1.5 unit Taq DNA Polymerase (MBI), 40ng 模板 DNA 和 0.15 μ m 引物。反应在 94 $^{\circ}$ C 变性 5min 后,开始以下 45 个热循环反应:94 $^{\circ}$ C, 40s; 38 $^{\circ}$ C, 50s; 72 $^{\circ}$ C, 90s。最后在 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5min,以 1.5% 琼脂糖凝胶(含 1 μ g/mL EB)电泳检验 PCR 扩增产物,Image UVP 凝胶处理系统观察并一次性成像。

1.3 数据处理

根据 200bp DNA Ladder (MBI)指示的标准分子量,对照反映产物在琼脂糖凝胶上的迁移率在 Lab work 软

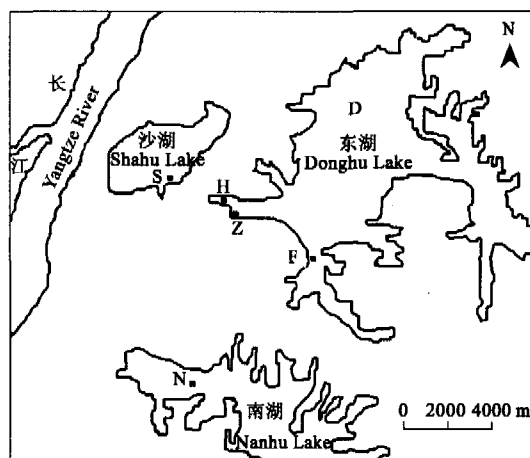


图 1 5 个采样点分布图

Fig. 1 Five sampling locations

南湖样点(N);沙湖样点(S);东湖(D)的风光村(F)、世纪钟(Z)和水果湖(H)样点 Nanhu Lake (N); Shahu Lake (S); Fengguangcun (F), Shijizhong (Z) and Shuiguohu (H) of Donghu Lake (D)

件的帮助下,依据统一标准确定片段大小,分别以 1、0 代表扩增位点的有、无,采用软件 SPSS12.0 (Ward's method)进行初步分析,专业软件 RAPDistance 1.04 进行 Neighbour-joining 聚类分析。

2 结果

筛选的 31 条引物对采自东湖等 3 个湖区共 5 个样点的螳螂状独缩虫种群均扩增出特异性产物,其中扩增多态效果较好的 20 条引物共扩增出 172 条片段大小为 100 ~ 1600bp 的清晰条带,平均每条引物扩增出 8.6 条片段,另外 11 条扩增多态效果稍差的引物扩增出 59 条片段大小为 100 ~ 1500bp 的清晰条带,平均每条引物扩增出 5.4 条片段。二者扩增出来的片段多态性差异较大,但扩增片段大小范围几乎没有区别。

采用软件 SPSS12.0 对 31 条引物扩增结果聚类分析显示(图 2),样点 Z 和样点 H 最先聚在一起,而同属于东湖湖区的样点 F 则远离它们,与作为参考系的另一个湖区——样点 S 聚在一起形成另一个分支。

RAPDistance 1.04 分析结果见表 3:采用 20 条引物分析得到的样点 Z 和样点 H 间的遗传相似值最高,为 0.6623;11 条引物扩增结果分析显示这两个样点间的遗传相似值也是最高的,为 0.6570,两个结果一致,说明 31 条引物的扩增结果都真实地反应了种群间的遗传关系,RAPD 分子标记不稳定性所造成的误差应该被避免了。此外,样点 Z 和样点 H 与同水域的样点 F 间的遗传相似值很低,20 条引物分析的结果中显示,它们间的遗传相似值分别为 0.3051 和 0.2980,仅高于样点 N 与样点 F 间的(0.2912);而采用 11 条引物分析得到的结果显示,样点 Z 和样点 H 与样点 F 间的遗传相似值分别为 0.2982 和 0.2878,在 5 个样点间相似性比较中最低。

采用邻接法,利用 20 条引物分析得到的聚类图(图 3)和采 SPSS 软件,利用 31 条引物分析得到的聚类图(图 2)结果相同:样点 Z 和样点 H 先聚在一起,相似性最高,它们相继又与样点 N 聚在一起形成一支,而与它们同一个水域的样点 F 是与样点 S 聚在一起,形成另一个姊妹支。采用 11 条引物分析的结果(图 4)与采用 20 条引物和 31 条引物分析的结果稍有差异,5 个样点分为两个大的支,一支中样点 Z 和样点 H 先聚在一起,相似性最高,它们相继与参照样点 N、样点 S 聚在一起,而同水域的样点 F 单独形成一支,它与样点 Z 和样点 H 间遗传相似性也最低。

采用 Jaccard 指数分析的结果与采用 Nei 指数分析得到的结果几乎相同,只是 Jaccard 指数分析得到的遗传相似值(表 4)比 Nei 指数分析得到的稍小,但差别不明显;但二者反映的 5 个样点间的遗传关系相同,分析得到的聚类图(图 3,图 5,图 4,图 6)完全一致:东湖样点 Z 和样点 H 首先聚在一起,而同水域的样点 F 单独或

表 1 20 条随机引物序列、扩增条带数及扩增片段大小范围

Table 1 20 random primer sequences, number of bands and size range of amplified fragments

引物 Primers	序列 5'-3' Sequence	有效条带数 Number of bands	扩增片段长度 范围(bp) Size range(bp)
OPE-04	GTGACATGCC	7	200 ~ 1000
OPE-16	GGTACTGTG	10	300 ~ 1400
OPE-19	ACGGCGTATG	10	200 ~ 1200
OPE-20	AACGGTGACC	9	200 ~ 1200
OPG-02	GGCACTGAGG	9	200 ~ 1000
OPG-04	AGCGTGTCTG	7	100 ~ 1000
OPG-06	GTGCCTAACC	8	300 ~ 1200
OPG-08	TCACGTCCAC	7	350 ~ 1000
OPH-04	GGAAGTCGCC	7	350 ~ 1000
OPH-05	AGTCGTCCCC	7	350 ~ 1200
OPM-06	CTGGGCAACT	10	200 ~ 1600
OPM-17	TCAGTCCGGG	7	450 ~ 1200
OPM-19	CCTTCAGGCA	7	300 ~ 1200
OPV-08	GGACGGCGTT	10	100 ~ 1200
OPV-14	AGATCCCGCC	9	150 ~ 1400
OPV-15	CAGTGCCGGT	11	100 ~ 1200
OPV-16	ACACCCACACA	11	100 ~ 1600
OPV-19	GGGTGTGCAG	8	150 ~ 1200
OPBA-03	GTCCGAGAAC	9	200 ~ 1300
OPBA-06	GGACGACCGT	9	300 ~ 1000
总量 Total 20	—	172	100 ~ 1600

表 2 11 条随机引物序列、扩增条带数及扩增片段大小范围

Table 2 11 random primer sequences, number of bands and size range of amplified fragments

引物 Primers	序列 5'-3' Sequence	有效条带数 Number of ban	扩增片段长度 范围(bp) Size range(bp)
OPE-02	GGTGCGGGAA	6	150 ~ 950
OPE-03	CCAGATGCAC	5	200 ~ 1500
OPE-07	AGATGCAGCC	5	200 ~ 1000
OPE-14	TGCGGCTGAG	4	150 ~ 750
OPG-03	GAGCCCTCCA	6	100 ~ 900
OPH-08	GAAACACCCC	6	250 ~ 900
OPM-01	GTTGGTGGCT	4	350 ~ 750
OPM-05	GGGAACGTGT	4	300 ~ 800
OPM-12	GGGACGTTGG	7	100 ~ 1500
OPM-13	GGTGGTCAAG	6	400 ~ 1000
OPM-16	GTAACCAGCC	6	500 ~ 1000
总量 Total 11	—	59	100 ~ 1500

与样点 S 聚成一支,样点 N 聚在样点 Z 和样点 H 一支,夹在东湖 3 个样点之间。

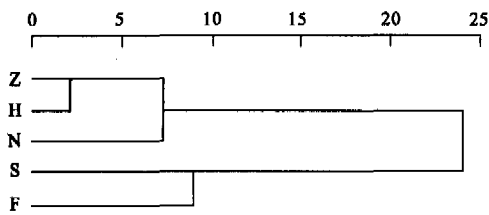


图 2 采用 SPSS 软件利用 Ward's 方法分析 31 条引物结果得到的 5 个样点的等级聚类图

Fig.2 Hierarchical analysis dendrogram of five assemblages with Ward's method using SPSS procedure, 31 primers

表 3 采用 20 条引物(右上角)和 11 条引物(左下角)结果,Nei 遗传指数分析的 5 个蟪状独缩虫样点间的遗传相似值

Table 3 Pairwise genetic similarity values with Nei's coefficient of five *C. polypinum* assemblages using 20 (above diagonal) and 11 (below diagonal) random primers

	N	S	F	Z	H
N		0.3637	0.2912	0.5607	0.5848
S	0.4970		0.3978	0.3974	0.3951
F	0.3675	0.4066		0.3051	0.2980
Z	0.5361	0.4655	0.2982		0.6623
H	0.5994	0.4226	0.2878	0.6570	

3 讨论

存在地理隔离的生物群体一般被看作两个或多个种群,因为通常认为他们之间由于地理原因阻断了基因流,造成种群的分化。但是在连续的水体内情况就比较复杂,一方面,由于没有明显的物理隔离,通常认为连续的水体内存在基因流,它们应该同属于一个种群,以往很多研究^[23~25]也与此吻合;但另一方面,由于不同小生境内生物所受的生存和环境等压力不同,种群内部可能存在分衍和发展,其本质与物种的系统发生过程相似,所以同一水体内的假定的一个种群可能衍化为不同的种群,在一些极端的情况下,同一水域内的物种由于

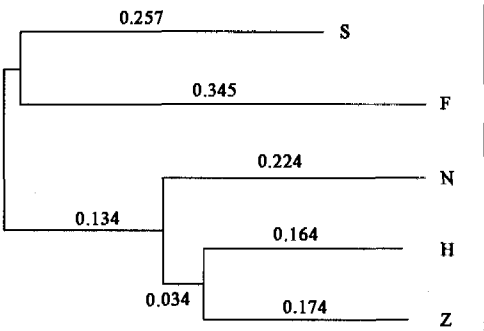


图 3 采用邻接法,Nei 遗传距离分析 20 条引物结果得到的 5 个样点的聚类图

Fig.3 Neighbor-joining dendrogram of five assemblages based on Nei's genetic distance using 20 primers

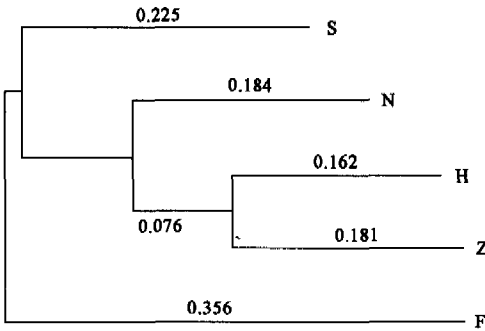


图 4 采用邻接法,Nei 遗传距离分析 11 条引物结果得到的 5 个样点的聚类图

Fig.4 Neighbor-joining dendrogram of five assemblages based on Nei's genetic distance using 11 primers

所受压力不同而分化成为不同的种^[26]。生物学家 Ehrlich 和 Raven 认为:当种群自由交换基因时,分化亦会发生,因为种群的各个部分经常受到不同的生态选择压力的影响,亦能成为种群内产生适应性和多样性的进化单位,在这种情况下就会发生本文以及很多研究中发现的现象——同一水域内的同种生物不属于同一个种群。

两种分析软件和 3 组引物数据分析得到的结果都显示:东湖内样点 Z 和样点 H 之间的遗传距离最

近,最先聚在一起,说明他们间存在比较经常的基因流,可能为同一种群。而同一个水域内的样点 F 与他们之间的遗传相似度竟然比样点 F 与不同水域的样点 N 及样点 S 间的相似度都要低。不清楚这是由于环境压力差异而产生的分化还是其它原因造成的,但可以肯定的是东湖 3 个样点的蟪状独缩虫不属于同一个种群。缪

表 4 采用 20 条引物(右上角)和 11 条引物(左下角)结果,Jaccard 遗传指数分析的 5 个蟪状独缩虫样点间的遗传相似值

Table 4 Pairwise genetic similarity values with Jaccard's coefficient of five *C. polypinum* assemblages using 20 (above diagonal) and 11 (below diagonal) random primers

N	S	F	Z	H	
N		0.2408	0.1822	0.4312	0.4577
S	0.3645		0.2704	0.2700	0.2681
F	0.2441	0.2783		0.1930	0.1874
Z	0.4049	0.3333	0.1876		0.5475
H	0.4741	0.2929	0.1796	0.5412	

炜等^[22]在采用 18S-ITS1 序列为分子标记研究中国 8 省市自治区的 19 个螅状独缩虫种群的地理分布格局的形成与演化时,采用邻接法和最大似然法构建的进化树都显示,东湖风光村样点(F)没有与东湖内其它 4 个样点聚在北方种群一支,而是聚在南方种群一支内。

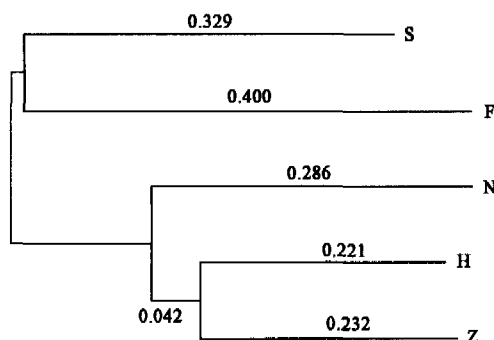


图 5 采用邻接法, Jaccard 遗传距离分析 20 条引物结果得到的 5 个样点的聚类图

Fig. 5 Neighbor-joining dendrogram of five assemblages based on Jaccard's genetic distance using 20 primers

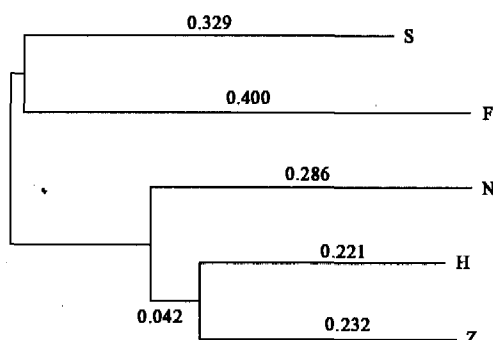


图 6 采用邻接法, Jaccard 遗传距离分析 11 条引物结果得到的 5 个样点的聚类图

Fig. 6 Neighbor-joining dendrogram of five assemblages based on Jaccard's genetic distance using 11 primers

很多学者通过对海洋对虾种群大地理范围取样^[8]以及如 mtDNA^[9]和 RAPD^[10]等分子遗传标记应用的研究显示,样点间均存在明显的遗传差异和遗传斑片化现象。鱼类种群分化也相当明显, Mamuris 等^[11]采用同工酶标记对红鲢研究观察到明显的差异,他们认为具有不同同工酶频率海洋生物种群混合生存是很正常的。Jone^[12]采用 RAPD 分子标记发现,加拿大 Fundy 国家公园湖区的溪红点鲑样本与其上游河流内的样本间基因流非常有限,甚至是不存在。这些结果与 Hébert 等^[13]提出的假说相近:河流内的种群可能是由很多亚种群组成,这些亚种群间潜在的基因流所包含的遗传变异比随机交配种群产生的变异还要大。

有限的微生物种群研究表明,在微生物中分化情况更为突出。Hellsten 等^[18]在分析两个分布区重叠的象鼻蚤种群得出:在一个很大的湖内,它们通常是分化成许多克隆,这与 Jacobs^[19]和 Mori^[20]研究水蚤得到的结论一致。更有甚者, Baratti 等^[26]研究非洲和美洲红树林生态系统的等足动物钻孔团水虱时发现,不但种群间存在很大差异,种群内部的个体也可能由于对环境和繁殖策略的适应机制不同而发生了分化,经过长期积累而形成了不同的基因库。

微生物中出现如此大的分化现象与他们繁殖快的特点密切相关,而原生动物代时更短,有的只需数小时,因此相同时间内可获得更多的变异机会。而且,作为单细胞真核生物的原生动物个体微小,纤薄的细胞膜直接与环境相接触,对环境变化更为敏感。本文所采用的螅状独缩虫是一种营群居的世界性分布的原生动物,游泳体可自由迁移,可作为“原位”种群分化研究很好的模式生物,对于微生物的分类和起源进化研究具有事半功倍的作用。

水体从大型鱼虾集群到微生物的集群,从存在遗传差异到种质发生分化,最终形成不同的克隆,甚至形成新基因库,可见水体生物种群划分相当复杂,存在很多亟待解决的问题,应尽早启动关于水体微生物种群生态学的研究,而利用分子生物手段和遗传学方法对水体微生物种群生态学问题讨论也将为种群分化和物种形成等系统学研究提供新的视角。

References:

- [1] Malthus T R. An Essay on the Principle of Population. London, 1798.
- [2] Darwin C. The origin of species, by means of natural selection. London, 1859.
- [3] Harper J L. The Population Biology of Plants. Academic Press, London, UK., 1977.
- [4] Silvertown J W. Introduction to Plant Population Ecology. Longman, London, England, 1982.

- [5] Dirzo R, Sarukhan J. Perspectives on Plant Population Ecology. Sinauer Associates INC. Publishers, Sunderland, England, 1984.
- [6] Lester L J. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico. Journal of Heredity, 1979, 70: 175 ~ 180.
- [7] Harris S E G, Dillion R T J, Sandifer P A, et al. Electrophoresis of isozyme in cultured *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 1990, 85: 330.
- [8] Brooker A L, Benzie J A H, Blair D, et al. Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters determined using microsatellite markers. Marine Biology, 2000, 136(1): 149 ~ 157.
- [9] Benzie J A H, Ballment E, Frusher S. Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes. Aquaculture, 1993, 111(1-4): 89 ~ 93.
- [10] Tassanakajon A, Pongsomboon S, Jarayabnand P, et al. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Marine Biotechnol, 1998, 6(4): 249 ~ 254.
- [11] Mamuris Z, Apostolidis A P, Triantaphyllidis C. Genetic protein variation in red mullet (*Mullus barbatus*) and striped red mullet (*M. surmuletus*) populations from the Mediterranean Sea. Marine Biology, 1998, 130(3): 353-360.
- [12] Jones M W, Mcparland T L, Hutchings J A, et al. Low genetic variability in lake population of brook trout (*Salvelinus fontinalis*): A consequence of exploitation? Conservation Genetics, 2001, 2(2): 145 ~ 156.
- [13] Hébert C, Danzmann R G, Jones M W, et al. Hydrography and population genetic structure in brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Mitchell) from eastern Canada. Molecular Ecology, 2000, 9(7): 971 ~ 982.
- [14] Beacham T D, Susan P, Khai D L. Microsatellite DNA population structure and stock identification of Steelhead Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Nass and Skeena river in Northern British Columbia. Marine Biotechnology, 2000, 2(6): 587 ~ 600.
- [15] Beacham T D, Withler R E, Wood C C. Stock identification of sockeye salmon by means of minisatellite DNA variation. North American Journal of Fisheries Management, 1995, 15(2), 249 ~ 265.
- [16] Xing D F, Ren N Q, Song Y Y, et al. Application of DG-DGGE to analyze microbial community diversity and population dynamics in fermentative hydrogen-producing system. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(7): 1818 ~ 1823.
- [17] Chen M, Zhao L P. Biodiversity of bacterial isolates on three different media from coking wastewater treatment system. Acta Microbiologica Sinica, 2003, 43(3): 366 ~ 371.
- [18] Hellsten M E, Sundberg P. Genetic variation in two sympatric European populations of *Bosmina* spp. (Cladocera) tested with RAPD markers. Hydrobiologia, 2000, 421(1): 157 ~ 164.
- [19] Jacobs J. Microevolution in predominantly clonal populations of pelagic *Daphnia* (Crustacea: Phillopoda): Selection, exchange, and sex. Journal of Evolutionary Biology, 1990, 3(3): 257 ~ 282.
- [20] Mort M A. Bridging the gap between ecology and genetics: the case of Freshwater Zooplankton. Trends in Ecology and Evolution, 1991, 6(2): 41 ~ 45.
- [21] Kim E, Wilcox L, Graham L, et al. Genetically distinct populations of the *Dinoflagellate peridinium limbatum* in neighboring Northern Wisconsin Lakes. Microbial Ecology, 2004, 48(4): 521 ~ 527.
- [22] Miao W, Yu Y H, Shen Y F, et al. Intraspecific phylogeography of *Carchesium polypinum* (Peritrichia, Ciliophora) from China, inferred from 18S-ITS1-5.8S ribosomal DNA. Science in China Series C-Life Science, 2003, 47(1): 11 ~ 17.
- [23] Baranyi C, Gollmann G, Bobin M. Genetic and morphological variability in roach *Rutilus rutilus*, from Austria. Hydrobiologia, 1997, 350: 13 ~ 23.
- [24] Gollmann G. Biochemical markers in the population genetics of *Chondrostoma nasus*. Folia Zoologica, 1995, 44: 83 ~ 89.
- [25] Takahashi D, Ohara K. Genetic variations estimated from PCR-RFLP analysis of two morphs of the freshwater goby *Rhinogobius* in the Lake Biwa water system. Ichthyological Research, 2004, 51(2): 99 ~ 105.
- [26] Baratti M, Goti E, Messana G. High level of genetic differentiation in the marine isopod *Sphaeroma terebrans* (Crustacea Isopoda Sphaeromatidae) as inferred by mitochondrial DNA analysis. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2005, 315(2): 225 ~ 234.

参考文献:

- [16] 邢德峰, 任南琪, 宋业颖, 等. DG-DGGE 分析产氢发酵系统微生物群落动态及种群多样性. 生态学报, 2005, 25(7): 1818 ~ 1823.
- [17] 陈敏, 赵立平. 焦化废水处理系统中不同培养基分离的细菌种群多样性. 微生物学报, 2003, 43(3): 366 ~ 371.
- [22] 缪炜, 余育和, 沈韞芬, 张锡元. 蛭状独缩虫种内分子系统地理学的研究. 中国科学(C 辑), 2003, 133 (2): 151 ~ 159.