



基于线粒体 Cytb 基因的意大利蝗 遗传多样性分析*

徐 叶^{1**} 麦季玮² 李瑞雪¹ 徐礼锋¹ 于冰洁¹
袁 亮¹ ROMAN Jashenko³ 季 荣^{1***}

(1. 中亚区域跨境有害生物联合控制国际研究中心, 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 新疆师范大学生命科学学院, 乌鲁木齐 830054; 2. 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000; 3. 中国哈萨克斯坦阿勒泰国立大学, 阿拉木图 050038)

摘 要 【目的】分析新疆荒漠半荒漠草原意大利蝗 *Calliptamus italicus* 不同地理种群的遗传多样性, 探讨新疆意大利蝗持续严重发生的分子生物学机制。【方法】测定并获得意大利蝗 10 个不同地理种群的 100 条 Cytb 基因全长序列 (1 140 bp), 利用 DnaSP 5.0 和 Arlequin 3.5 软件分析种群遗传多样性、遗传结构、遗传分化与分子变异, 并构建了最大似然法系统发育树及单倍型中介网络图。【结果】在 100 个序列样本中, 共检测出 54 个单倍型。总群体单倍型多样性 H_d 为 0.890, 各地理种群单倍型多样性范围介于 0.818–1.000, 总群体固定系数 F_{st} 、遗传分化系数分别为 0.017 8、0.018 9, 总基因流 N_m 为 13.84, 种群间遗传差异 (3.31%) 远小于种群内的遗传变异 (96.69%), 结果表明, 意大利蝗群体稳定, 历史上未出现群体扩张, 地理距离可能不是影响种群间遗传距离的重要因素。【结论】新疆意大利蝗不同地理种群间基因交流频繁, 通过种群内遗传变异提高适应外界环境能力, 可能是其持续严重发生的重要原因之一。

关键词 意大利蝗; 线粒体 Cytb 基因; 地理种群; 遗传分化; 基因流

Analysis of genetic variation among geographic populations of *Calliptamus italicus* in Xinjiang based on mitochondrial Cytb gene sequences

XU Ye^{1**} MAI Ji-Wei² LI Rui-Xue¹ XU Li-Feng¹ YU Bing-Jie¹
YUAN Liang¹ ROMAN Jashenko³ JI Rong^{1***}

(1. International Research Center of Cross-border Pest Management in Central Asia, Key Laboratory of Conservation and Management of Species Diversity in Xinjiang, College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China; 2. School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Al-Farabi Kazakh National University, Almaty 050038, Kazakhstan)

Abstract [Objectives] To analyze the genetic variation among different geographic populations of *Calliptamus italicus* in desert and semi-desert steppe in Xinjiang, and to reveal the molecular and biological mechanisms underlying recent persistent and serious outbreaks of this pest. [Methods] Specimens of *C. italicus* were collected from 10 different geographic populations to obtain a total of 100 full-length sequences of the mitochondrial cytochrome b (Cytb) gene (1 140 bp). We then used DnaSP 5.0 and Arlequin 3.5 software to clarify the genetic structure, differentiation, and molecular variances, within and among populations. A Maximum Likelihood phylogenetic tree and a diagram of the haplotype network of Cytb were constructed. [Results] We detected 54 haplotypes among the 100 full-length sequences. The total haplotype diversity index

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划资助 (2016YFE0203100); 新疆高校科研创新团队项目 (XJEDU2017T007); 自治区研究生科研创新项目

**第一作者 First author, E-mail: 1543625120@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: jirong@xjnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2018-06-23; 接受日期 Accepted: 2018-12-05

(H_d) was 0.890 and haplotype diversity among the different geographical populations ranged from 0.818 to 1.000. The total fixed coefficient (F_{st}), total genetic differentiation coefficient (G_{st}), and total gene flow (N_m) were 0.0178, 0.0189 and 13.84, respectively. In addition, the genetic variation between populations (3.31%) was much less than that within each population. These results indicate that the *C. italicus* populations investigated in this study are stable in size and have not undergone recent population expansion. Geographic distance may not, therefore, be an important factor affecting the genetic distance between different populations. **[Conclusion]** Gene exchange occurs frequently between different geographical populations of *C. italicus* in Xinjiang, increasing the genetic variation within populations and thereby enhancing their ability to adapt to different environmental conditions. This situation may be related to recent persistent and serious outbreaks of *C. italicus* in Xinjiang.

Key words *Calliptamus italicus*; mitochondrial Cytb gene; geographic populations; genetic differentiation; gene flow

物种遗传多样性丰富程度可反映其适应外界不良环境的能力, 种群遗传多样性的研究对有害生物综合控制具有重要作用, 可为探讨其发展进化原因及过程、推断其未来发生发展动态提供重要理论基础(刘振国等, 2015; 李冉等, 2015; Men *et al.*, 2017)。线粒体 Cytb 基因是遗传进化标记基因中应用最为广泛的基因之一(张学卫等, 2010; Wang *et al.*, 2015), 也是昆虫 mtDNA 13 个蛋白质编码基因中结构及功能研究最为清楚的基因之一(Gray, 1989)。Cytb 基因进化速率适中, 适合研究地理种群的遗传变异与进化(戴金霞, 2005; Chen *et al.*, 2009)。利用线粒体 Cytb 基因对我国北方甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner 遗传多样性进行研究, 结果表明, 各地理种群间基因交流充分, 制约了地理种群间的遗传分化, 且其曾作为一个整体经历了种群扩张(王兴亚和周俐宏, 2016); 对二化螟 *Chilo suppressalis* 线粒体 Cytb 研究表明, 该物种具有较高的遗传多样性, 在不同种群之间已有明显的分化, 且中国中部区域是北部和南部的过渡带, 为探讨其发展进化原因及过程以及推断其未来发生发展动态提供了重要的理论基础(Tang *et al.*, 2014); 对黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* Saussure 线粒体 Cytb 研究表明, 其种群间具有较高的遗传多样性, 可能由于其迁移能力较强, 弱化了其种群间的遗传分化, 使其种群间基因交流频繁, 地理距离并未对其种群间的基因交流产生影响, 也不是造成其种群间遗传分化的主导因素(孙嵬等, 2013)。

意大利蝗 *Calliptamus italicus* L. 属直翅目(Orthoptera), 蝗总科(Acridoidea), 斑腿蝗科(Catantopidae), 星翅蝗属(*Calliptamus* Servill),

具有迁飞性和暴发性, 国内主要分布于新疆北部, 甘肃、青海、内蒙古、陕西、河北等地(陈永林和刘举鹏, 1979; 章士美和赵泳祥, 1996)。国外主要分布于地中海北部和东部边缘国家、中欧、中亚地区、北非以及蒙古和西西伯利亚平原(FAO Locust Watch Release, 2011)。意大利蝗是新疆北疆荒漠、半荒漠草原的重要害虫(陈永林, 2000; 哈玛尔和韩小虎, 2014), 对农牧业生产造成严重的经济损失。

意大利蝗在新疆持续严重发生, 除与气候条件有密切关系外(李培先等, 2017), 是否与其种群遗传多样性程度有关是本文关注的科学问题。本研究利用线粒体 Cytb 基因序列分析新疆意大利蝗的种群遗传多样性和遗传分化程度, 探讨其严重发生的内在遗传因素, 揭示其地理历史发生发展的规律和进化原因, 为新疆意大利蝗不同地理种群的分布动态和预测预报提供科学依据和参考。

1 材料与方法

1.1 样本来源

将采自新疆北疆 10 个不同地理种群的意大利蝗作为供试虫源, 采样信息及地理种群缩写见表 1。为确保样本的代表性和普遍性, 采集时考虑纬度、海拔及不同生境类型等因素, 包括新疆北部的阿勒泰哈巴河和吉木乃, 西北部的塔城和裕民, 西部的伊宁市、伊宁县和博乐, 东部的巴里坤, 南部的玛纳斯和南山蝗区(图 1)。10 个采集地点间的距离介于 47-1 000 km。将所集成虫带回实验室后用液氮冻死, 置于 - 80 °C 超低温冰箱中保存待用。

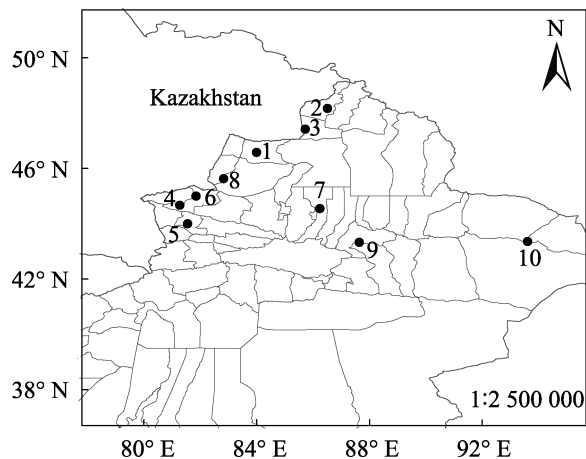


图1 意大利蝗10个地理种群在新疆的主要采集分布地
Fig. 1 Distribution map of 10 geographic populations of *Calliptamus italicus* collected across the major distributing regions in XinJiang

1. 塔城 (TC) 83°60'E, 46°35'N; 2. 哈巴河 (HBH) 86°31'E, 48°10'N; 3. 吉木乃 (JMN) 85°44'E, 47°25'N; 4. 伊宁市 (YNS) 81°16'E, 44°40'N; 5. 伊宁县 (YNX) 81°33'E, 44°00'N; 6. 博乐 (BL) 81°58'E, 45°60'N; 7. 玛纳斯 (MNS) 86°15'E, 43°93'N; 8. 裕民 (YM) 82°50'E, 45°38'N; 9. 南山 (NS) 87°39'E, 43°20'N; 10. 巴里坤 (BLK) 93°38'E, 43°22'N。

1. Tacheng (TC) 83°60'E, 46°35'N; 2. Habahe (HBH) 86°31'E, 48°10'N; 3. Jimunai (JMN) 85°44'E, 47°25'N; 4. Yining (YNS) 81°16'E, 44°40'N; 5. Yining country (YNX) 81°33'E, 44°00'N; 6. Bole (BL) 81°58'E, 45°60'N; 7. Manasi (MNS) 86°15'E, 43°93'N; 8. Yumin (YM) 82°50'E, 45°38'N; 9. Nanshan (NS) 87°39'E, 43°20'N; 10. Balikun (BLK) 93°38'E, 43°22'N。

1.2 基因组 DNA 的提取

取适量蝗虫股节肌肉, 用液氮研磨至粉末, 采用 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取全基因组 DNA (具体提取过程按照试剂盒说明书步骤进行操作)。提取的 DNA 用琼脂糖凝胶电泳及微量紫外可见光度计 (NanoDrop ND-2000) 测定其浓度与纯度, 于 -20 °C 保存备用。

1.3 Cytb 基因全长扩增和序列测定

线粒体 Cytb 基因上游引物为 5'-CTTGCATTATTGGCAGTAGTTA-3', 下游引物为 5'-TTTATTGATTTCATTATTAGTGA-3', 扩增片段的长度约为 1 220 bp。

PCR 反应体系总体积为 25 μ L, 含 3.0 μ L 的基因组 DNA 作为模板, 12.5 μ L 2 $\times$ Taq PCR MasterMix, 7.5 μ L ddH₂O, 上下游引物各 1 μ L。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 80 s, 30 个循环, 最后延伸 5 min。PCR 产物经电泳检测确认扩增成功后, 委托成都擎科梓熙生物技术有限公司测序。

1.4 数据整理与分析

测序结果采用 Chromas (Staden, 1996) 读取并观察峰值, 运用 DNASTar 拼接和校对所得

表1 意大利蝗10个地理种群样本信息

Table 1 Specimen date of 10 geographic population of *Calliptamus italicus*

种群代码 Population code	样本数 Number of specimens	采集地点 Collecting locality	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude	海拔 (m) Elevation	生境类型 Habitat types
TC	10	新疆塔城 Tachen, Xinjiang	83°60'	46°35'	470	荒漠半荒漠草原
HBH	10	新疆哈巴河 Habahe, Xinjiang	86°31'	48°10'	680	荒漠半荒漠草原
JMN	10	新疆吉木乃 Jimunai, Xinjiang	85°44'	47°25'	1 070	荒漠半荒漠草原
YNS	10	新疆伊宁市 Yining, Xinjiang	81°16'	44°40'	1 030	荒漠半荒漠草原
YNX	10	新疆伊宁县 Yining country, Xingjiang	81°33'	44°00'	1 020	荒漠半荒漠草原
BL	10	新疆博乐 Bole, Xinjiang	81°58'	45°60'	1 010	荒漠半荒漠草原
MNS	10	新疆玛纳斯 Manasi, Xinjiang	86°15'	43°93'	1 292	荒漠半荒漠草原
YM	10	新疆裕民 Yumin, Xinjiang	82°50'	45°38'	1 850	荒漠半荒漠草原
NS	10	新疆乌市南山 Nanshan, Xinjiang	87°39'	43°20'	1 930	荒漠半荒漠草原
BLK	10	新疆巴里坤 Balikun, Xinjiang	93°38'	43°22'	2 030	高山半高山草原

序列, 去除两端侧翼序列后在 NCBI 上进行 BLAST 比对、确认, 采用 DNAMAN 进行多重序列比对。应用 MEGA6.0 (Kimura, 1980; Tamura *et al.*, 2013) 计算遗传距离及用最大似然法 (Maximum likelihood, ML) 构建系统发育树。用 PopART (Leigh and Bryant, 2015) 基于 Median-joining 构建种群内所有单倍型的中介网络图。利用 DnaSP 5.0 (Rozas *et al.*, 2003) 分析种群内的单倍型多样性 H_d 、核苷酸多样性 P_i 等遗传学系数, 并进行中性检验 (Tajima, 1989)。采用 Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010) 进行 AMOVA 分子变异分析。利用经纬度信息计算出地理距离, 使用 TFGPA 检验种群间遗传距离和地理距离之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 意大利蝗不同地理种群单倍型及系统发育分析

在 100 条意大利蝗 Cytb 序列中, 共检测出

54 个单倍型 H1-H54, 其中包括 16 个共享单倍型 (H3, H4, H5, H8, H9, H10, H11, H13, H14, H15, H19, H21, H23, H44, H48 和 H51)。单倍型 H4 与其他单倍型关系紧密, 为 10 个地理种群的共享单倍型 (图 2)。

运用 Maximum likelihood (ML) 法, 以同属短星翅蝗 (*Calliptamus abbreviatus*) Cytb 基因序列 (GenBank 登录号: 28262458) 作为外群, 对 10 个地理种群意大利蝗 Cytb 基因进行聚类关系分析 (图 3)。结果显示, 新疆各地理种群聚为一大支, 且都与外群分开, 形成 2 个不同的大分支。伊宁市 (YNS)、裕民 (YM)、哈巴河 (HBH)、塔城 (TC)、吉木乃 (JMN)、博乐 (BL) 及伊宁县 (YNX) 种群先聚在一起, 再与南山 (NS) 种群、玛纳斯 (MNS) 种群聚为一支, 巴里坤 (BLK) 种群与其他种群相对独立, 在系统发育树中为孤立一支。有距离较近的地理种群聚在一起 (YNS 与 YM), 但也有距离较远的地理种群聚在一起 (JMN 与 BL), 各分支上的聚

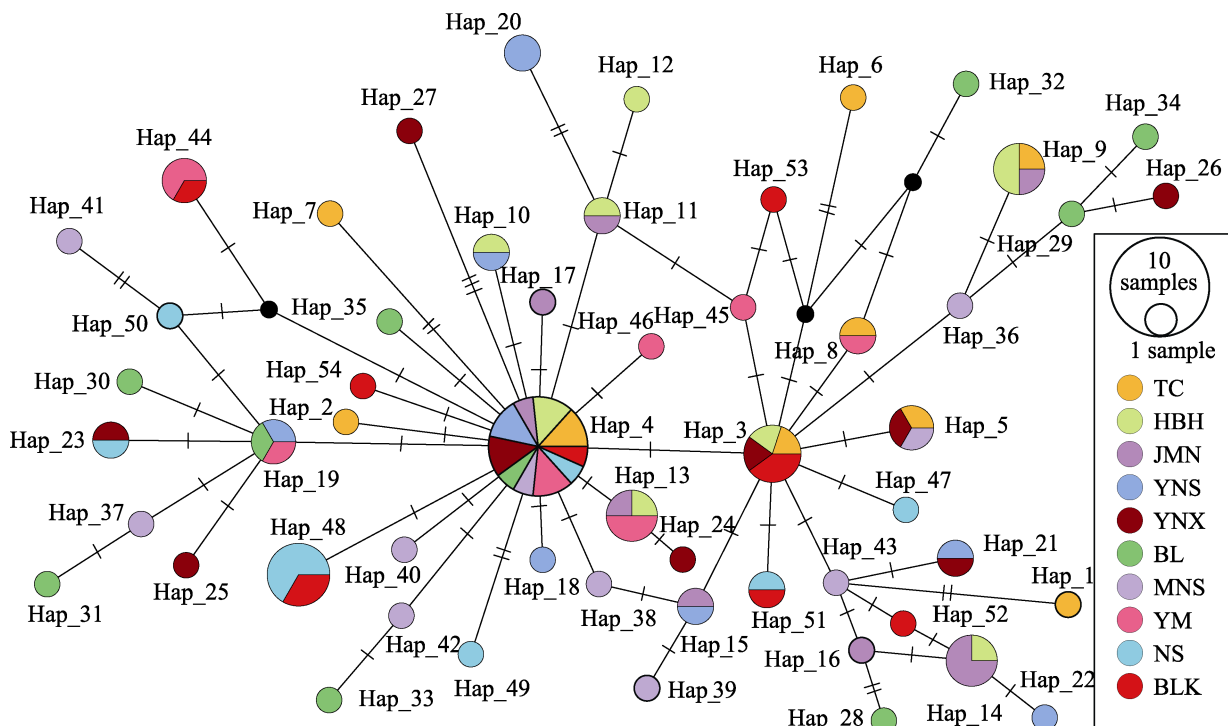


图 2 意大利蝗线粒体 Cytb 基因的单倍型中介网络图

Fig. 2 Median-joining network of haplotypes of *Calliptamus italicus* based on Cytb gene of mtDNA

圆面积代表单倍型出现频率, 彩色扇形面积代表各种群在同一单倍型中所占的比例。Circle areas are proportional to haplotype frequencies, while colored portions represent the proportions of the same haplotype that occurs in each region.

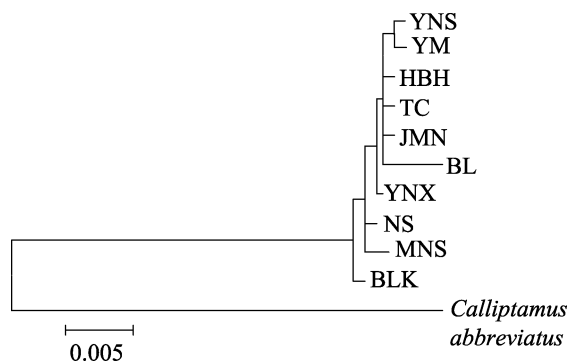


图3 意大利蝗 10 个地理种群 Cytb 基因 ML 系统发育树 (以短星翅蝗为外群)

Fig. 3 Maximum Likelihood phylogenetic tree of Cytb gene in 10 geographic populations of *Calliptamus italicus* based on nucleotide sequence (*Calliptamus abbreviatus* as the outgroup)

类和地理位置没有明显的关系, 未形成明显的系统地理格局。

2.2 遗传多样性分析

表 2 结果表明, 10 个地理种群的总群体单倍型多样性指数 H_d 为 0.890, 种间核苷酸多样性指数 P_i 为 0.002 2, 核苷酸平均差异数 K 为 2.000。各地理种群单倍型数量介于 3-9 个之间, 平均 5.4 个, 其中塔城 (TC) 种群单倍型最丰富, 10 个检验个体中共定义了 9 个单倍型。不同地理种群

Cytb 基因的单倍型多样性 H_d 范围为 0.818-1.000, 平均值为 0.922, 种群内平均核苷酸多样性指数 P_i 为 0.002 5, 不同种群的 P_i 变化范围在 0.001 8-0.004 0 之间。各地理种群核苷酸平均差异数 K 的分布范围为 1.745-4.511, 均值为 2.804。单倍型多样性及 P_i 、 K 值最高、最低的分别是博乐 (BL)、玛纳斯 (MNS) 种群。总群体的 Tajima's D 值为 -2.315 7, 中性检验结果不显著 ($0.10 > P > 0.05$)。

2.3 基因流及遗传分化分析

种群间的核苷酸平均差异数 K_{xy} 在 2.380 0-4.300 0 之间, 均值为 3.225 2, 核苷酸歧义度 D_{xy} 在 0.002 1-0.003 8 之间, 均值为 0.002 8。博乐 (BL) 种群的核苷酸平均差异数 (K_{xy})、核苷酸歧义度 (D_{xy}) 与其他种群的差异较大 (表 3)。总体遗传分化系数 G_{st} 为 0.018 9, 总群体的固定系数 F_{st} 为 0.017 8, 种群间 F_{st} 值范围为 -0.039 9-0.142 4, 均值为 0.017 7; 遗传分化系数 G_{st} 值范围在 -0.019 7-0.058 8, 均值为 0.010 4 (表 4)。除南山 (NS) 种群外, 其他种群的 F_{st} 值均 < 0.05 , 表明遗传分化程度较弱。总基因流 N_m 为 13.84, 表明种群间的基因交流较充分。

AMOVA 分子变异分析结果显示, 意大利蝗

表 2 意大利蝗 10 个地理种群 Cytb 基因单倍型多样性、核苷酸多样性分析及 Tajima's D 中性检验

Table 2 Cytb haplotype diversity, nucleotide diversity and Tajima's D test in 10 geographic populations of *Calliptamus italicus*

种群代码 Population code	单倍型多样性 Haplotype diversity (H_d)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (P_i)	核苷酸平均差异数 Average number of nucleotide difference (K)	Tajima's D	中性检验显著性 Statistical significance
TC	0.945	0.002 6	2.909	- 1.724 8	$0.10 > P > 0.05$
HBH	0.927	0.002 3	2.582	- 1.037 8	$P > 0.10$
JMN	0.927	0.002 7	3.091	- 0.403 1	$P > 0.10$
YNS	0.927	0.002 8	3.164	- 0.989 3	$P > 0.10$
YNX	0.945	0.002 8	3.164	- 1.490 1	$P > 0.10$
BL	1.000	0.004 0	4.511	- 1.358 6	$P > 0.10$
MNS	0.818	0.001 8	1.745	- 1.493 4	$P > 0.10$
YM	0.909	0.001 9	2.036	- 1.052 7	$P > 0.10$
NS	0.873	0.002 2	2.509	- 0.770 9	$P > 0.10$
BLK	0.945	0.002 0	2.327	- 1.355 2	$P > 0.10$
Total	0.890	0.002 2	2.000	- 2.315 7	$0.10 > P > 0.05$

10 个地理种群间的遗传差异 (3.31%) 远小于种群内的遗传变异 (96.69%) (表 5), 表明意大利蝗的遗传变异主要来自种群内部, 种群间的遗传差异较低。Mantel 相关性分析表明, 意大利蝗种群间的遗传距离与地理距离之间无显著相关性 ($r = -0.310$, $P = 0.931 > 0.05$)。

表 3 意大利蝗种群间 Cytb 核苷酸平均差异数 K_{xy} (上三角) 与核苷酸歧义度 D_{xy} (下三角)

Table 3 Pairwise average number of nucleotide difference K_{xy} (above the diagonal) and nucleotide divergence D_{xy} (below the diagonal) of Cytb of *Calliptamus italicus* among different populations

	TC	HBH	JMN	YNS	YNX	BL	MNS	YM	NS	BLK
TC		2.920 0	3.360 0	3.400 0	3.240 0	4.011 1	3.140 0	2.820 0	3.140 0	2.760 0
HBH	0.002 6		3.060 0	3.080 0	3.040 0	3.822 2	3.000 0	2.560 0	2.920 0	2.620 0
JMN	0.003 0	0.002 7		3.460 0	3.520 0	4.300 0	3.400 0	3.200 0	3.400 0	3.040 0
YNS	0.003 0	0.002 7	0.003 0		3.440 0	4.255 6	3.260 0	2.920 0	3.240 0	3.000 0
YNX	0.002 8	0.002 7	0.003 1	0.003 0		4.033 3	3.200 0	2.860 0	3.160 0	2.960 0
BL	0.003 5	0.003 4	0.003 8	0.003 7	0.003 5		3.933 3	3.688 9	3.955 6	3.788 9
MNS	0.002 8	0.002 6	0.003 0	0.002 9	0.002 8	0.003 5		2.760 0	3.066 7	2.840 0
YM	0.002 5	0.002 3	0.002 8	0.002 6	0.002 5	0.003 2	0.002 4		2.600 0	2.380 0
NS	0.002 8	0.002 6	0.003 0	0.002 8	0.002 8	0.003 5	0.002 7	0.002 3		2.580 0
BLK	0.002 4	0.002 3	0.002 7	0.002 6	0.002 6	0.003 3	0.002 5	0.002 1	0.002 3	

表 4 意大利蝗种群间 Cytb 遗传分化系数 G_{st} (上三角) 与固定系数 F_{st} (下三角)

Table 4 Pairwise G_{st} (above the diagonal) and F_{st} (below the diagonal) values of Cytb of *Calliptamus italicus* among different populations

	TC	HBH	JMN	YNS	YNX	BL	MNS	YM	NS	BLK
TC		- 0.019 3	0.007 5	- 0.003 5	- 0.019 7	0.005 7	- 0.009 6	- 0.002 9	0.046 5	- 0.003 5
HBH	- 0.016 0		- 0.018 6	- 0.002 9	- 0.008 7	0.001 1	0.001 1	- 0.002 4	0.052 6	0.002 3
JMN	0.047 6	0.008 7		0.013 4	0.012 6	0.017 1	0.011 9	0.014 1	0.058 8	0.023 6
YNS	0.032 7	- 0.013 7	0.030 2		- 0.008 7	0.005 8	0.001 1	0.002 9	0.052 6	0.012 6
YNX	- 0.015 1	- 0.027 1	0.046 7	- 0.001 3		0.005 7	- 0.009 6	0.002 3	0.041 5	- 0.003 5
BL	- 0.006 9	- 0.013 1	0.045 2	0.014 4	- 0.039 9		0.000 2	0.011 5	0.040 7	0.011 4
MNS	- 0.008 5	0.000 0	0.049 0	- 0.019 1	- 0.038 2	- 0.035 3		0.006 9	0.040 5	0.006 2
YM	0.050 4	0.019 1	0.142 4	0.029 7	0.009 3	0.028 6	0.017 7		0.058 8	0.008 2
NS	0.069 4	0.056 3	0.120 9	0.050 1	0.026 0	0.032 3	0.034 1	0.051 3		0.005 5
BLK	- 0.022 5	- 0.013 6	0.049 7	0.007 4	- 0.006 0	0.016 1	- 0.005 5	0.005 6	- 0.012 1	

表 5 意大利蝗 10 个地理种群线粒体 Cytb 基因的分子变异

Table 5 Molecular variance of mitochondrial Cytb gene in 10 geographic populations of *Calliptamus italicus*

变异来源	自由度	平方和	方差组分	变异百分率
Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variation components	Percentage of variation
种群间 Among populations	9	162.225	0.460 9Va	3.31
种群内 Within a population	90	1 198.189	13.462 8Vb	96.69
总变异 Total variance	99	1 360.414	13.923 7	

3 讨论

一个种群的遗传变异程度主要表现为遗传多样性水平的高低,且种群的遗传多样性越高,则该种群的进化潜力就越大(Lohman *et al.*, 2008)。本研究结果表明意大利蝗种群具有较高的单倍型多态性和总群体的遗传多样性,即具有较强的适应能力和遗传变异潜力,这也可能是构成意大利蝗在新疆持续严重发生的内在遗传基础。

意大利蝗种群的进化过程遵循中性进化模型,各地理种群在进化过程中没有出现群体扩张,且主要通过种群内部遗传变异提升适应外界环境能力,使其种群在自然选择作用下能够稳定存在。意大利蝗 10 个地理种群产生的 54 种单倍型中,单倍型 H4 是各种群共享的主体单倍型,可以推断其是较原始的、适应能力强,并能在意大利蝗种群中稳定存在的优势单倍型(李继变和任竹梅, 2009)。从 ML 系统发育树来看,伊宁市(YNS)、裕民(YM)、哈巴河(HBH)、塔城(TC)、吉木乃(JMN)、博乐(BL)及伊宁县(YNX)种群的亲缘关系较近,与玛纳斯(MNS)、南山(NS)和巴里坤(BLK)种群亲缘关系较远,伊宁市(YNS)等 7 个地理种群均分布在毗邻哈萨克斯坦的新疆西北边陲地区,可能是由于与跨境迁入的意大利蝗存在基因交流的原因,使各地理种群间遗传分化程度较小,关于这一问题有待于进一步增加国外不同地理种群样本来综合分析研究。巴里坤(BLK)种群聚类地位相对独立,推测可能与其分布的地理位置和海拔气候有关。巴里坤蝗区位于新疆最东部,与其他种群相距较远,且分布海拔较高,平均 2 000 m 左右,通常则为 800-2 300 m。

固定系数(F_{st})和基因流(N_m)通常作为判断遗传分化程度指标。固定系数在一定程度上揭示遗传漂变程度和种群间基因流(Rousset, 1997),基因流是种群遗传结构均质化的主要因素之一,基因流水平高的种群间比基因流有限的种群间遗传分化程度小。基因流 $N_m < 1$ 时,表明影响种群间遗传分化的主要因素是遗传漂变,

$N_m > 4$ 时,则说明种群间存在较强的基因流水平(Millar *et al.*, 1991; Boivin *et al.*, 2004)。本研究得出,除南山(NS)种群外,意大利蝗其他种群的 F_{st} 值均 < 0.05 ,表明不同地理种群间遗传分化程度较弱。南山(NS)种群的栖息地资源丰富、植被种类多样,环境异质程度高,可能是形成遗传分化程度相对较高的原因(郭选政, 1993)。意大利蝗总群体基因流 N_m 为 13.84,表明各地理种群间基因流水平高,分析这与意大利蝗较强的迁飞能力有关(黄辉和朱恩林, 2001; 窦洁等, 2017)。再者,采自新疆北疆意大利蝗 10 个地理种群有着较大的地理距离跨度,最大距离超过 1 000 km,但结果表明不同地理种群间的遗传距离与地理距离之间无显著相关性,表明地理距离不是意大利蝗地理种群间遗传分化的主要原因,再次证明了意大利蝗较强的迁飞能力是其基因交流频繁的主要原因。

本研究利用 Cytb 基因全长序列分析了意大利蝗持续严重发生的内在遗传因素,为其遗传多样性研究提供科学依据。使用 Cytb 基因全长序列分析种群间的遗传分化研究优点在于能够包含更丰富的信息,获得了充分的变异位点及较全面的遗传学数据。但若要全面深入揭示意大利蝗持续严重发生的分子机制,尚需配合使用包括线粒体的控制区及核基因上的分子标记;另一方面,意大利蝗在中哈边境及周边中亚国家或地区的边境区域发生严重,常有迁飞为害的报道(Kokanova, 2014; Azhbenov *et al.*, 2015),新疆与中亚及周边区域意大利蝗种群之间的遗传差异及关系值得探讨。

参考文献 (References)

- Azhbenov VK, Baybussenov KS, Sarbaev AT, Harizanov VB, 2015. Preventive approach of phytosanitary control of locust pests in Kazakhstan and adjacent areas. International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences. 33-37.
- Boivin T, Bouvier JC, Beslay D, Sauphanor B, 2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 83(3): 341-351.

- Chen QL, Tang XS, Yao WJ, Lu SQ, 2009. Bioinformatics analysis of the complete sequences of cytochrome b of *Takydromus sylvaticus* and modeling the tertiary structure of encoded protein. *International Journal of Biological Sciences*, 5(6): 596–602.
- Chen YL, Liu JP, 1979. The Control of Locust in Xinjiang. Urumqi: Volksverlag Xinjiang. 9–10. [陈永林, 刘举鹏, 1979. 新疆蝗虫及其防治. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社. 9–10.]
- Chen YL, 2000. Resurgent control and ecological management of locust. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, (5): 341–345. [陈永林, 2000. 蝗虫再猖獗的控制与生态学治理. 中国科学院院刊, (5): 341–345.]
- Dai JX, 2005. Cytochrome b gene and molecular systematology research of insects. *Sichuan Journal of Zoology*, 24(2): 222–225. [戴金霞, 2005. 线粒体 Cytb 基因与昆虫分子系统学研究. 四川动物, 24(2): 222–225.]
- Dou J, Zhang RY, Liu M, Qian X, Xiao HW, Roman J, Ji R, 2017. Comparison of flight muscle and energy consumption of pre-and post-flight in *Calliptamus italicus* (Orthoptera: Acrididae). *Pratacultural Science*, 34(8): 1721–1726. [窦洁, 张若燕, 刘敏, 钱雪, 肖宏伟, Roman Jashenko, 季荣, 2017. 飞行前后意大利蝗飞行肌及能源消耗比较. 草业科学, 34(8): 1721–1726.]
- Excoffier L, Lischer HEL, 2010. Arlequin suite ver 3.5. A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- FAO Locust Watch Release, 2011. <http://www.fao.org/ag/locusts-CCA/en/1010/1018/1075/>.
- Gray MW, 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annual Review of Cell Biology*, 5(5): 25.
- Guo XZ, 1993. Forage resources in the South Mountain area in Urumqi. *Xinjiang Animal Husbandry*, (4): 23–25. [郭选政, 1993. 乌鲁木齐南山地区的牧草资源. 新疆畜牧业, (4): 23–25.]
- Ha M, Han XH, 2014. The current situation of the grassland locusts and the strategies for prevention and treatment in the border area of Tacheng region, Xinjiang. *Journal of Agriculture*, 4(3): 7–10. [哈玛尔, 韩小虎, 2014. 新疆塔城地区边境草原蝗虫发生现状及防治对策. 农学学报, 4(3): 7–10.]
- Huang H, Zhu EL, 2001. The serious outbreak of locusts in Kazakhstan. *Word Agriculture*, (6): 46–47. [黄辉, 朱恩林, 2001. 哈萨克斯坦蝗灾严重发生. 世界农业, (6): 46–47.]
- Kimura M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2): 111–120.
- Kokanova EO, 2014. The current state of natural foci of swarming locusts (Orthoptera, Acrididae) in Turkmenistan. *Entomological Review*, 94(6): 826–828.
- Leigh JW, Bryant D, 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9): 1110–1116.
- Li JB, Ren ZM, 2009. Genetic diversity among *Schlechtendalia chinensis* individuals revealed by Cytb sequences. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 48(5): 680–686. [李继变, 任竹梅, 2009. 角倍蚜 mtDNA Cytb 基因遗传多样性分析. 复旦学报(自然科学版), 48(5): 680–686.]
- Li PX, Lin J, Mai D, Wu JG, Liu YQ, Zheng JH, 2017. Effects of future climate change on potential geographic distribution of *Calliptamus italicus* (L.) in Xinjiang. *Plant Protection*, 43(3): 90–96. [李培先, 林峻, 麦迪·库尔曼, 吴建国, 刘永强, 郑江华, 2017. 气候变化对新疆意大利蝗潜在分布的影响. 植物保护, 43(3): 90–96.]
- Li R, Han LL, Wang H, Zhao KJ, Mang YL, Zhang HY, Fan D, 2015. Analysis of genetic differentiation among different geographic populations of *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) based on mtDNA COII gene sequences. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(5): 1203–1214. [李冉, 韩岚岚, 王红, 赵奎军, 莽逸伦, 张红玉, 樊东, 2015. 基于线粒体 COII 基因的大豆蚜不同地理种群遗传分化研究. 应用昆虫学报, 52(5): 1203–1214.]
- Liu ZG, Ji T, Shen F, Liang Q, Luo YX, 2015. Genetic diversity of geographic populations of *Apis cerana cerana* estimated by mitochondrial COII gene sequences. *Journal of Environmental Entomology*, 37(3): 567–575. [刘振国, 吉挺, 沈芳, 梁勤, 罗岳雄, 2015. 基于线粒体 COII 基因序列的中华蜜蜂地理种群的遗传多样性研究. 环境昆虫学报, 37(3): 567–575.]
- Lohman DJ, Pegg D, Pierce NE, Meier R, 2008. Phylogeography and genetic diversity of a widespread Old World butterfly, *Lampides boeticus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Bmc Evolutionary Biology*, 8(1): 301.
- Men QL, Xue GX, Mu D, Hu QL, Huang MY, 2017. Mitochondrial DNA markers reveal high genetic diversity and strong genetic differentiation in populations of *Dendrolimus kikuchii* Matsumura (Lepidoptera: Lasiocampidae). *PLoS ONE*, 12(6): e0179706.
- Millar CI, Libby WJ, Falk DA, Holsinger KE, 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species // Falk DA, Holsinger KE (eds.). *Genetics and Conservation of Rare Plants*. England: Oxford University Press. 149–170.
- Rousset F, 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145(4): 1219–1228.
- Rozas J, Sánchez-Delbarrio JC, Messeguer X, Rozas R, 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18): 2496–2497.

- Excoffier L, Lischer HE, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Staden R, 1996. The Staden sequence analysis package. *Molecular Biotechnology*, 5(3): 233–241.
- Sun W, Zhang ZT, Lei CP, Dong H, Qian HT, Cong B, 2013. Genetic diversity and genetic differentiation among different geographic populations of *Oedaleus infernalis* Saussure (Orthoptera : Acridoidea). *Journal of Shenyang Agricultural University*, 44(6): 748–753. [孙嵬, 张柱亭, 类成平, 董辉, 钱海涛, 丛斌, 2013. 不同地理种群黄胫小车蝗的遗传多样性及遗传分化研究. 沈阳农业大学学报, 44(6): 748–753.]
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Tang XT, Zheng FS, Lu MX, Du YZ, 2014. New ideas about genetic differentiation of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae) populations in China based on the mtDNA cytochrome b gene. *Mitochondrial DNA*. Doi: 10.3109/19401736.2014.958670.
- Wang H, Han LL, Xu ZX, Ye LF, Wang L, Zhao KJ, Wang KQ, 2015. Absence of geographic population structure in the soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* (Tortricidae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 69(3): 173–182.
- Wang XY, Zhou LH, 2016. Genetic diversity and population history among geographic populations of *Spodoptera exigua* in North China based on mtDNA Cytb gene sequences. *Acta Ecologica Sinica*, 36(8): 2337–2347. [王兴亚, 周俐宏, 2016. 基于 mtDNA Cytb 基因序列的我国北方地区甜菜夜蛾遗传多样性与种群历史分析. 生态学报, 36(8): 2337–2347.]
- Zhang SM, Zhao YX, 1996. The Geographical Distribution of Agricultural and Forest Insects in China. Beijing: China Agriculture University Press. 23–24. [章士美, 赵泳祥, 1996. 中国农林昆虫地理分布. 北京: 中国农业出版社. 23–24.]
- Zhang XW, Zhang ZT, Yuan ZG, Zhang QM, Gao BJ, 2010. Mitochondrial DNA Cytb gene of insect. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*, 25(2): 173–176. [张学卫, 张智婷, 原占国, 张清敏, 高宝嘉, 2010. 昆虫线粒体 DNA Cytb 基因研究进展. 河北林果研究, 25(2): 173–176.]