

中哈边境区域黑腿星翅蝗遗传多样性与遗传分化研究*

麦季玮^{1**} 徐 叶² 施 焱¹ 王添歆¹
ROMAN Jashenko³ 赵 伟¹ 王 晗^{2***}

(1. 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000; 2. 中亚区域跨境有害生物联合控制国际研究中心, 新疆师范大学生命科学学院, 乌鲁木齐 830054; 3. 哈萨克斯坦阿勒法拉比大学, 阿拉木图 050038)

摘 要 【目的】为了明确中哈边境区域黑腿星翅蝗 *Calliptamus barbarus* Costa 的遗传多样性, 阐明其区域性发生的遗传机制。【方法】测定中哈边境新疆边境区域阿勒泰、塔城、博乐、伊犁等和哈萨克斯坦境内黑腿星翅蝗 5 个种群 100 个体的 CO₁ 基因全长序列(1 540 bp) 利用 DnaSP 5.0、MEGA 6.0 和 Arlequin 3.5 等软件分析种群遗传多样性与分化情况。【结果】共获得 100 条 CO₁ 基因序列, 在 5 个地理种群中发现 122 个变异位点, 包含 69 个单倍型, 其中 1 个单倍型为 4 个种群所共享。种群间的遗传距离范围为 0.001–0.086。总群体单倍型多样性指数 $H_d = 0.987$, 各地理种群单倍型多样性介于 0.973–0.995 之间, 总群体核苷酸多样性 $P_i = 0.0084$, 总群体的遗传分化系数 $G_{st} = 0.0045$, 总群体固定系数 $F_{st} = 0.0142$, 总基因流 $N_m = 4.61$ 。中性检验 (Tajima's $D = -1.5533$, $P > 0.05$; Fu's $F_s = -3.7324$, $P > 0.05$) 结果表明中哈边境黑腿星翅蝗种群在较近的历史上没有出现群体扩张。单倍型网络图和 NJ 单倍型系统树结果一致, 博乐种群与其他种群分化较明显, AMOVA 分子变异分析结果表明中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗的遗传分化主要来自种群内部 (98.56%), 种群间变异水平很低 (1.44%)。不同地理种群的遗传距离与地理距离间的相关性不显著。各单倍型散布在不同地理种群中, 未形成明显的系统地理结构。【结论】中哈边境区域不同地理种群黑腿星翅蝗基因交流频繁, 遗传分化程度低。

关键词 黑腿星翅蝗; 线粒体 DNA; 细胞色素氧化酶亚基 (CO₁); 地理种群, 基因流

Genetic diversity and genetic differentiation of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

MAI Ji-Wei^{1**} XU Ye² SHI Yi¹ WANG Tian-Xin¹
ROMAN Jashenko³ ZHAO Wei¹ WANG Han^{2***}

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

Abstract [Objectives] To investigate the genetic diversity of *Calliptamus barbarus* in the border area between China and Kazakhstan, and reveal the molecular mechanism underlying serious regional outbreaks of this pest. [Methods] Specimens of *C. barbarus* were collected from 5 different geographic populations (ALT, TC, BL, YL and Kazakhstan) on the border between China and Kazakhstan. A total of 100 full-length sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (CO₁) gene (1 540 bp) were obtained, sequenced, and compared, using DnaSP 5.0 and Arlequin 3.5 software. [Results] About 122 mutations were found, including 69 haplotypes, one of which was shared by all 4 populations. The genetic distance between populations ranged from 0.001 to 0.086 and the total haplotype diversity index (H_d) was 0.987. The diversity of haplotypes

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划 (2016YFE0203100); 兰州大学大创项目 (20180180060)。

**第一作者 First author, E-mail: maijw16@lzu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: 1045644792@qq.com

收稿日期 Received: 2018-12-19; 接受日期 Accepted: 2019-01-21

among different geographic populations ranged from 0.973 to 0.995. The total nucleotide diversity (P_i), total genetic differentiation coefficient (G_{st}), total fixed coefficient (F_{st}), and total gene flow (N_m) were 0.008 4, 0.004 5, 0.014 2 and 4.61, respectively. Neutrality test results (Tajima's $D=-1.553\ 3$, $P>0.05$; Fu's $F_s=-3.732\ 4$, $P>0.05$) indicated that *C. barbarus* populations on the border between China and Kazakhstan have not recently expanded. The information obtained from the haplotype network and a neighbour-joining phylogenetic tree were consistent, and the differentiation of the BL population from other populations was obvious. The genetic difference between populations (1.44%) is much less than the genetic variation within populations, indicating that geographic distance has no obvious effect on the genetic distance between different populations. No obvious geographic structure is apparent in a phylogenetic tree and a haplotype network based on haplotypes of the different geographic populations. [Conclusion] There is frequent gene exchange between different geographic populations of *C. barbarus* in the border area between China and Kazakhstan and genetic differentiation of this species in this region is consequently low.

Key words *Calliptamus barbarus*; mitochondrial DNA; CO gene; geographic population; gene flow

一个物种对环境变化的适应能力在一定程度上取决于其群体内部的遗传多样性和相应的遗传结构。物种或种群的遗传多样性越高或遗传变异度越大,表明其对环境变化适应能力越强。迁移扩散是昆虫种群内和种群间基因交流和遗传变异的重要途径,基因交流是种群遗传结构均质化的主要因素之一,具有高水平基因流的物种通常比有限基因交流的物种的遗传分化小(孙崑, 2013; Rouibah *et al.*, 2016)。因此,掌握物种的遗传多样性及分化方向,有助于阐明物种适应能力的遗传学基础,并可为制定种群控制策略提供科学决策(杨现明和陆宴辉, 2018; 张丽娟等, 2018)。

黑腿星翅蝗 *Calliptamus barbarus* Costa 广泛分布于北非和亚欧大陆(Sergeev, 1992),是中亚地区及其边境区域的重要害虫(Sergeev, 1992; Azhbenov *et al.*, 2015),尤其在中国与哈萨克斯坦(以下简称中哈)相邻边境区域以及新疆北部的荒漠半荒漠草原发生严重。黑腿星翅蝗具有迁飞能力,迁移扩散能力强,常常给扩散区域造成突发性危害(Baybussenov *et al.*, 2014, 2015; Azhbenov *et al.*, 2015; Rouibah *et al.*, 2016)。但针对中哈边境区域黑腿星翅蝗遗传多样性及遗传分化还未见报道。

线粒体 DNA 具有分子结构简单,母系遗传、重组几率小,高拷贝数量及进化速度快的特点。其中细胞色素氧化酶亚基(CO)基因作为研究昆虫系统发育、种群遗传结构与变异等最常

用的分子标记(Bensasson *et al.*, 2000; Ma *et al.*, 2012),已广泛用于不同分类阶元层次上蝗虫分子系统学和遗传多样性研究。例如应用线粒体 CO 基因序列研究了蝗总科、斑腿蝗科系统进化与发育(霍光明, 2006; 杨亮, 2008; 张陵, 2008; 徐森洋, 2009);应用线粒体 CO 基因序列研究黄脊竹蝗 *Rammeacris kiansu* (姜石生, 2011)、意大利蝗 *C. italicus* 及近缘种(Blanchet *et al.*, 2010, 2012a, 2012b)、黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* (孙崑等, 2013)、亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* (高书晶等, 2011; 李云龙等, 2013)、黑腿星翅蝗(Rouibah, *et al.*, 2016)不同地理种群的遗传多样性。

本研究采用线粒体 CO 作为分子标记,通过对中哈边境区域 5 个不同地点黑腿星翅蝗种群的遗传多样性进行分析,阐明不同种群间的遗传分化和基因交流,探讨中哈边境区域黑腿星翅蝗严重发生的遗传机制,为制定防控策略提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试虫采集

2017 和 2018 年 6-8 月于黑腿星翅蝗严重发生期,沿中哈边境新疆境内的阿勒泰、塔城、博乐、伊犁等边境区域采集,哈萨克斯坦境内的黑腿星翅蝗采自与中国新疆毗邻的阿拉木图州 Altyn-Emel 区域(图 1),共采集 5 个不同地理

种群黑腿星翅蝗 100 头。每个地理种群 20 头。新疆境内采集的黑腿星翅蝗活体带回实验室用液氮处死后放置于 - 70 ℃ 冰箱中保存待用, 哈萨克斯坦采集的黑腿星翅蝗单头短期存于无水乙醇的 1.5 mL 的离心管中。各地理种群采集的具体信息及群体缩写代码详见表 1。

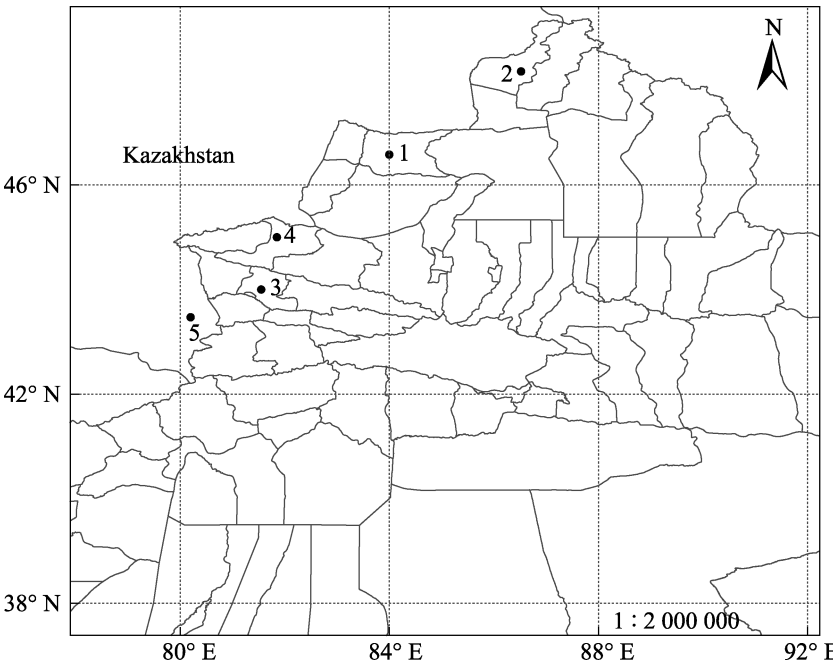


图 1 中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗的主要采集分布地
Fig. 1 Distribution map of different geographic population of *Calliptamus barbarus* collected in Sino-Kazakh border areas

表 1 中哈边境区域黑腿星翅蝗不同地理种群采样信息
Table 1 Specimen information of different geographic population of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

种群代码 Population code	采集地点 Sampling site	样本量 Number	经纬 Longitude	纬度 Latitude	海拔 (m) Altitude
TC	塔城, 中国新疆 Tacheng, Xinjiang, China	20	83°60′	46°35′	470
ALT	阿勒泰, 中国新疆 Altai, Xinjiang, China	20	86°31′	48°10′	680
YL	伊犁, 中国新疆 Yili, Xinjiang, China	20	81°33′	44°00′	1 020
BL	博乐, 中国新疆 Bole, Xinjiang, China	20	81°58′	45°60′	1 010
KZ	Altyn-Emel, 哈萨克斯坦 Altyn-Emel, Kazakhstan	20	80°20′	43°47′	500

1.2 DNA 提取

取黑腿星翅蝗后足腿节肌肉, 用液氮研磨粉末, 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 用经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测和微量紫外可见光度计 (NanoDropND-2000) 测定浓度和纯度, 合格样

品保存于 - 20 ℃ 冰箱中备用。

1.3 PCR 扩增和产物测序

使用一对特异性引物从 NCBI 下载近缘种意大利蝗 *Calliptamus italicus* 线粒体 COⅡ 基因全长序列, 并设计引物。从黑腿星翅蝗线粒体 COⅡ 基因中扩增出 1 540 bp。线粒体 COⅡ 基因上、下游引物分别为 5'-CTAGAATTGCAGTCTAGA-

ATCAT-3', 5'-AGTGGTGAAGCTCCATCTTGTA-ATG-3'。引物由上海生工生物工程公司合成。

PCR 扩增采用 Taq PCR Master Mix 扩增试剂盒, 反应体系为 25 μL : 12.5 μL Taq PCR Master Mix, 7.5 μL ddH₂O, DNA 模板 3.0 μL , 上下游引物各 1 μL 。

扩增 PCR 反应条件: 94 预变性 3 min, 94 变性 30 s, 60 退火 30 s, 72 延伸 80 s, 30 个循环, 最后延伸 5 min。取 PCR 反应产物 3 μL 经 1.0% 琼脂糖凝胶 60 V 电压电泳 30 min, 在凝胶成像分析系统 (Gel Doc XR+, 美国伯乐 BIO-RAD) 下观察和拍照。扩增成功的 PCR 产物委托成都擎科梓熙生物技术有限公司测序。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 遗传多样性分析 将测序所得的 5 个黑腿星翅蝗种群的线粒体 CO 基因序列利用 Chromas 软件读取并观察峰值, 采用 DNASTar 软件对序列进行编辑、校正, 通过 DNAMAN 软件进行多重序列比对, 去除序列两端测序误差较大的区域, 将处理后的序列在 NCBI 网站上进行 BLAST 比对、确认。应用 MEGA6.0 (Tamura *et al.*, 2013) 软件分析碱基组成、保守位点、变异位点、简约信息位点、转换和颠换碱基对数等; 应用 DnaSP 5.0 (Rozas *et al.*, 2003; Librado and Rozas, 2009) 软件分析遗传多样性指数, 包括单倍型多样性、核苷酸多样性、核苷酸平均差异数、基因流、遗传分化系数、固定系数等。

1.4.2 遗传结构与系统发育分析 应用 Arlequin 3.5 (Schneider *et al.*, 2000) 软件计算种群间、种群内的遗传变异情况并进行中性检验 (Tajima, 1989) 分析检测群体是否经历扩张事件。采用 TFPGA 软件计算种群间遗传距离与地理距离的相关性, 显著性检验通过 1 000 次的重复取样实现。利用 Popart 1.7 (Leigh and Bryant, 2015) 构建单倍型网络图, 应用 MEGA6.0 邻接法 (Neighbour-joining, NJ) 以 Kimura-2-Parameter 模型构建单倍型系统发育树, 各支点的支持率采用 Bootstrap 法, 重复 1 000 次。

2 结果与分析

2.1 碱基组成和序列变异

CO 基因片段预期扩增长度为 1 664 bp, 经多重序列比对剪切后, 最终获得 5 个黑腿星翅蝗地理种群线粒体 CO 基因序列长度为 1 540 bp。本研究共获得 CO 基因序列 100 条, 存在碱基的缺失或插入, 保守位点 1 418 个 (92.08%); 变异位点 122 个 (7.92%), 其中简约信息位点 63 个 (51.64%)。核苷酸替换分析表明, 转换的位点数为 1 526 个, A 与 G 之间的转换为 755 个, C 与 T 之间的转换为 771 个。发生颠换的位点数为 12 个, 总体序列变异中转换多于颠换, 符合亲缘关系较近的分类阶元核苷酸替换的转换多于颠换的研究结果。所测序列 CO 基因片段组成中, A+T 平均含量分别为 65.80%, 明显高于 C+G 含量 (34.20%), 表现出明显的碱基偏向性, 符合昆虫线粒体基因序列碱基组成特点。

2.2 遗传多样性和单倍型分析

在 5 个黑腿星翅蝗地理种群 CO 基因序列中共获得 69 种单倍型, 分别记录为 H1-H69, 其中单倍型 H4 出现频率最多 8 次, 分布在所检测的 4 个种群中 (TC, YL, BL, KZ); 单倍型 H6、H9、H13、H17 分别出现 5 次, 分布在 3 个不同种群中; 单倍型 H7、H34、H44 分别为不同的 2 个种群共享, 61 种单倍型为独有单倍型。Kimura-2-Parameter 模型计算结果表明, 不同单倍型间遗传距离介于 0.001-0.086, 平均遗传距离=0.012。单倍型网络图显示, 各单倍型散布在不同地理种群中 (图 2)。

DnaSP5.0 软件分析结果表明, 黑腿星翅蝗 5 个地理种群存在一定程度的遗传差异 (表 2)。总群体单倍型多样性 (Haplotype diversity, H_d) = 0.987, 核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, P_i) = 0.008 4, 核苷酸平均差异数 (Average number of nucleotide differences, K) = 12.939。各地理种群单倍型介于 15-18 种。其中 TC、KZ 种群的单倍

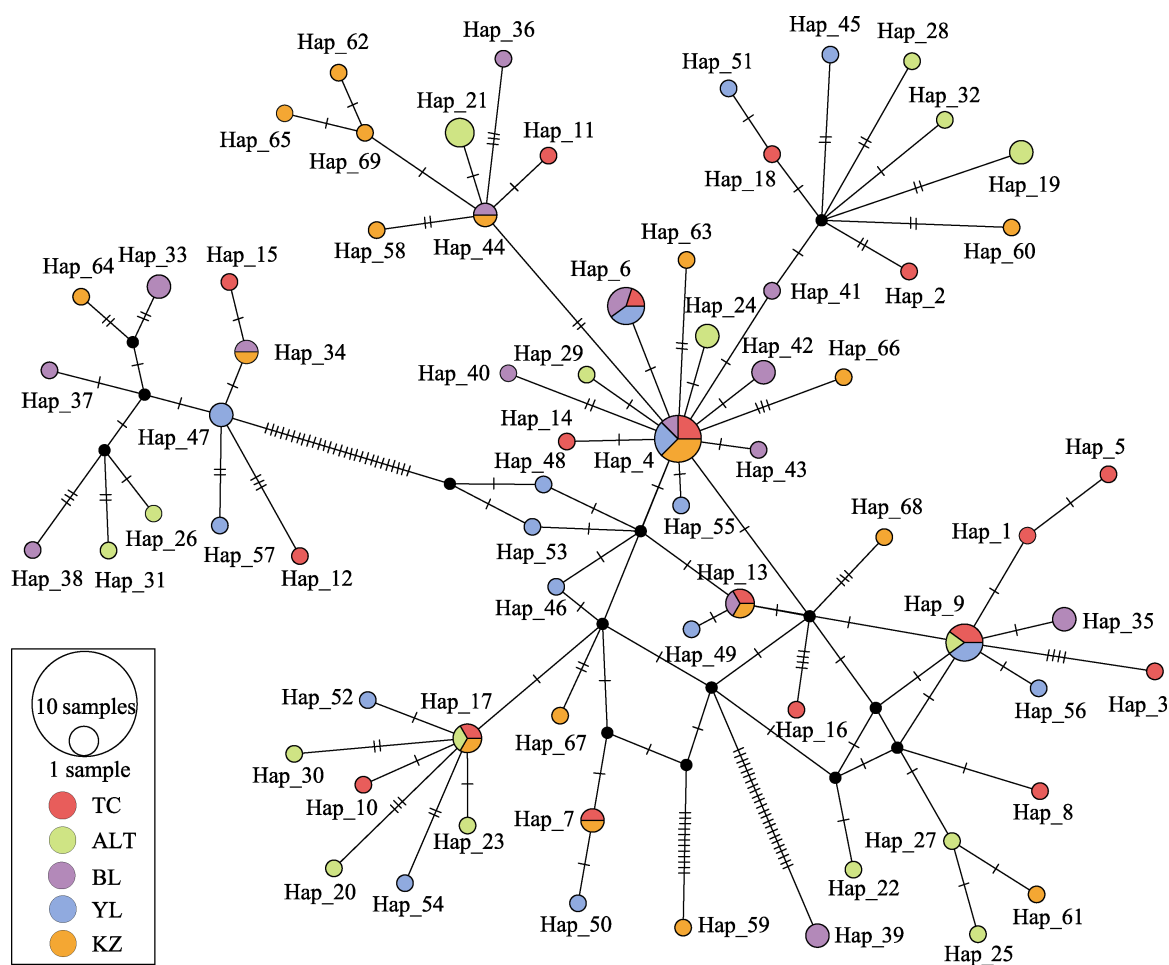


图 2 中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗 CO 基因单倍型网络图

Fig. 2 Haplotype network based on mitochondrial CO gene among different geographic populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

圆面积代表单倍型出现频率, 彩色扇形面积代表不同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 sampling region.

表 2 中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗 CO 基因单倍型分布、遗传多样性及中性检测

Table 2 Distribution of CO haplotypes, genetic diversity and neutral test among different geographic populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

种群 Population	H_d	P_i	K	中性检验及显著性 Neutrality test and significance test			
				Tajima's D 值 Tajima's D value	Tajima's D value	Fu's Fs 检验 Fu's Fs value	Fu's Fs value
TC	0.973	0.006 9	10.568	- 1.233 8	$P=0.090\ 0$	- 11.930 4	$P=0.000\ 0$
ALT	0.990	0.007 3	11.190	- 1.176 7	$P=0.116\ 0$	- 11.455 2	$P=0.000\ 0$
BL	0.995	0.012 3	18.990	- 0.497 7	$P=0.769\ 0$	- 7.686 9	$P=0.005\ 0$
YL	0.979	0.007 6	11.690	- 0.105 1	$P=0.595\ 0$	- 9.936 7	$P=0.001\ 0$
KZ	0.984	0.007 5	11.516	- 1.468 4	$P=0.490\ 0$	- 11.221 2	$P=0.000\ 0$
Total	0.987	0.008 4	12.939	- 0.655 2	$P=0.323\ 8$	- 10.446 1	$P=0.001\ 2$

TC、ALT、BL、YL、KZ 分别代表塔城种群、阿勒泰种群、博乐种群、伊犁种群、哈萨克斯坦种群。TC、ALT、BL、YL、KZ indicate *Calliptamus barbarus* collected from Tacheng, Altai, Bole, Yili, Kazakhstan, respectively.

H_d : 单倍型多样性 Haplotype diversity; P_i : 核苷酸多样性 Nucleotide diversity; K : 核苷酸平均差异数 Average number of nucleotide difference.

型数量最丰富,在 20 个检验个体中均定义了 18 种单倍型;BL 种群单倍型数量最少,在 20 个检验个体中定义了 15 种单倍型。各地理种群单倍型多样性 H_d 介于 0.973-0.995,平均值=0.984,核苷酸多样性 P_i 介于 0.006 9-0.012 3,平均值=0.008 3,核苷酸平均差异数 K 介于 10.568-18.990,平均值=12.791。BL 种群的单倍型多样性 H_d 、 P_i 及 K 值最高,TC 种群的最低。总群体中性检验结果均不显著 ($P > 0.10$),表明 5 个黑腿星翅蝗种群在较近的历史时期种群稳定,未经历明显的种群扩张。

2.3 系统发育和遗传分化分析

以近缘种意大利蝗 *C. italicus* 和短星翅蝗 *C. abbreviatus* CO 基因序列 (GenBank 登录号分

别为 6947227 和 28262466) 作为外群构建黑腿星翅蝗 CO 基因单倍型的 NJ 系统发育树 (图 3)。结果显示,绝大多数分支间置信度较低,说明单倍型之间差异较小,不能形成可靠的分支。仅有一组置信度较高 (86%),由 H7 和 H50 组成,其中 H7 为 TC 种群和 KZ 种群共享单倍型, H50 为 YL 种群独有单倍型,结果与单倍型网络图结果一致,表明 3 个地理种群间存在一定程度的基因交流。

黑腿星翅蝗 CO 基因序列总群体遗传分化系数 $G_{st}=0.004 5$,总群体固定系数 $F_{st}=0.014 2$,总群体基因流 $N_m=4.61$ 。各地理种群间 G_{st} 值介于 -0.004 8-0.013 3,平均值=0.004 0;各地理种群间 F_{st} 值介于 -0.030 7-0.057 8,平均值=0.008 9;核苷酸平均差异数 K_{xy} 介于 10.735 0-16.015 0,

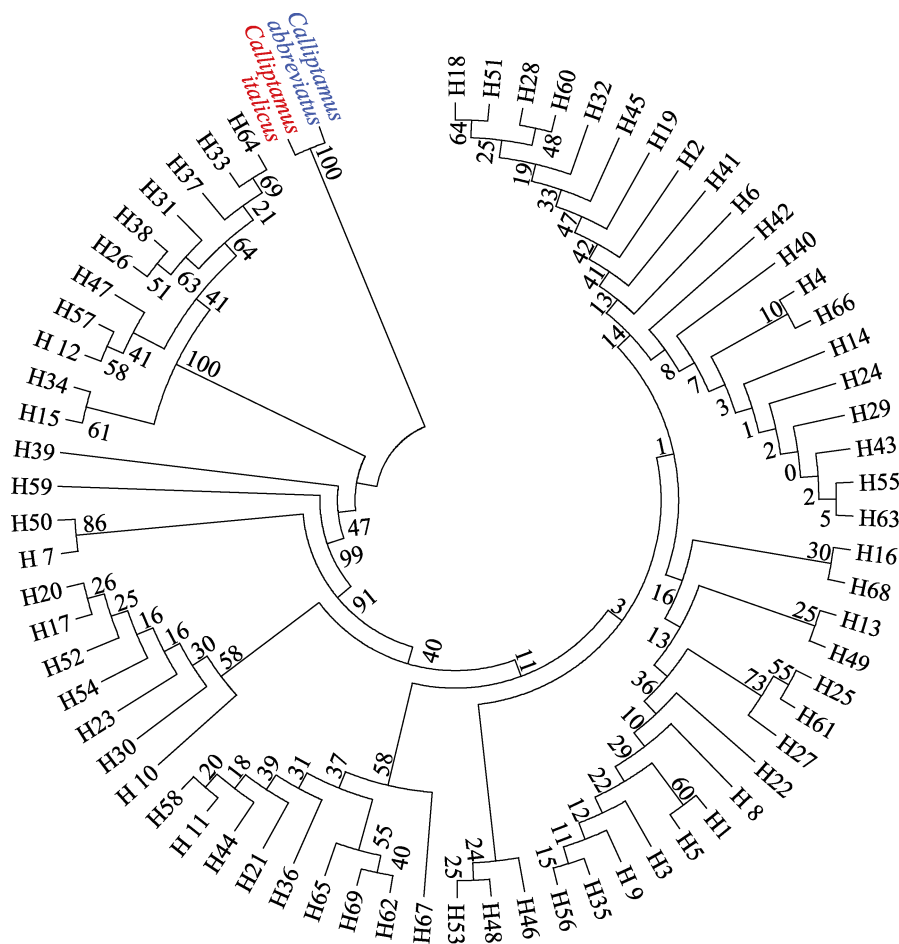


图 3 邻接法构建中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗 CO 基因单倍型系统发育树 (以意大利蝗和短星翅蝗为外群)

Fig. 3 Neighbour-joining phylogenetic tree of CO gene haplotypes among different geographic populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas (*Calliptamus italicus* and *Calliptamus abbreviatus* as the outgroup)

平均值=12.974 8 ,核苷酸歧义度 D_{xy} 介于 0.007 0-0.010 4 , 平均值=0.008 4。博乐种群与塔城、阿勒泰、哈萨克斯坦种群间的 F_{st} 值 > 0.05 , 表明群体间存在中等水平的遗传分化 ,其他 4 个种群间 F_{st} 值在 - 0.030 7-0.017 6 之间 ,遗传分化程度较低 (表 4 , 表 5)。

种群间 AMOVA 分析结果表明 (表 6) , 种群间遗传差异 (1.44%) 远小于种群内的遗传变异 (98.56%) , 表明黑腿星翅蝗的遗传变异主要来自种群内部 , 种群间未发生明显的遗传分化。

Mantel 检测结果表明 ,种群间的遗传距离与地理距离无显著相关性 ($r= - 0.357$, $P=0.872$) , 即各地理种群间基因交流受地理距离的影响较小。

3 讨论

3.1 中哈边境区域黑腿星翅蝗种群的遗传多样性与遗传分化

一个种群或物种的遗传多样性越高或遗传变异度越大 , 则其对环境变化的适应能力就越

表 4 中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗 CO 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 CO gene among different geographic populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

	TC	ALT	BL	YL	KZ
TC		0.005 5	0.003 0	- 0.004 7	- 0.004 8
ALT	- 0.013 4		0.013 3	0.009 5	0.009 4
BL	0.051 9	0.057 8		0.004 4	0.003 1
YL	- 0.030 7	- 0.011 0	0.017 6		0.001 7
KZ	- 0.006 1	- 0.020 9	0.050 9	- 0.007 4	

TC、ALT、BL、YL、KZ 分别代表塔城种群、阿勒泰种群、博乐种群、伊犁种群、哈萨克斯坦种群。下表同。
TC, ALT, BL, YL, KZ indicate *Calliptamus barbarus* collected from Tacheng, Altai, Bole, Yili, Kazakhstan, respectively. The same as follows.

表 5 中哈边境黑腿星翅蝗种群间 CO 基因核苷酸平均差异数 K_{xy} (上三角) 与核苷酸歧义度 D_{xy} (下三角)
Table 5 Pairwise average number of nucleotide difference K_{xy} (above the diagonal) and nucleotide divergence D_{xy} (below the diagonal) of CO gene among different populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

	TC	ALT	BL	YL	KZ
TC		10.735 0	15.587 5	10.797 5	10.975 0
ALT	0.007 0		16.015 0	11.315 0	11.120 0
BL	0.010 1	0.010 4		15.615 0	16.070 0
YL	0.007 0	0.007 4	0.010 1		11.517 5
KZ	0.007 1	0.007 2	0.010 4	0.007 5	

表 6 中哈边境不同地理种群黑腿星翅蝗 CO 基因遗传分子变异
Table 6 AMOVA analysis of CO gene among different geographic populations of *Calliptamus barbarus* in Sino-Kazakh border areas

变异来源	自由度	平方和	方差组分	变异百分率
Source of variation	df	Sum of squares	Variation components	Percentage of variation
种群间 Among populations	4	34.020	0.095 96Va	1.44
种群内 Within a population	95	625.650	6.585 79Vb	98.56
总变异 Total variance	99	659.670	6.681 75	

Va , Vb : 方差组分的数量 Number of variance components.

强。种群间的遗传变异主要是突变、遗传漂变、选择和基因交流等因素相互作用的结果,其中突变、遗传漂变和选择压力是促进遗传分化的产生,而基因交流则通过配子、个体或整个群体的迁移,使种群间保持遗传上的相似性(Bensasson *et al.*, 2000; Burgov *et al.*, 2006; Rouibah *et al.*, 2016)。本研究我们测定了黑腿星翅蝗线粒体 CO₁ 基因全长序列(1 540 bp)中有 122 个变异位点,5 个种群间的平均遗传距离为 0.012,共获得 69 种单倍型,总群体单倍型多样性 H_d 为 0.987,具有较高的单倍型多样性。单倍型 H4 被 4 个种群共享,单倍型 H6、H9、H13、H17 分别为不同的 3 个种群所共享;单倍型 H7、H34、H44 分别为不同的 2 个种群所共享,独有单倍型 61 种。通常认为共享单倍型源于共同的祖先,是一种较为稳定、能够适应环境选择的单倍型;独有单倍型和共享单倍型并存表明中哈边境黑腿星翅蝗不同地理种群有一定基因交流的同时,也出现了一定的遗传分化,而且在较近的历史时期范围内,黑腿星翅蝗种群未经历明显的种群扩张,这与多数蝗虫的研究结果一致(霍光明等, 2006; 杨亮, 2008; 张陵, 2008; 徐淼洋, 2009; 姜石生, 2011; 孙崑等, 2013; 李云龙等, 2013)。

孙崑等(2013)研究认为,栖息环境多样性是黄胫小车蝗 *O. infernalis* 种群内具有丰富多样性的原因;黄脊竹蝗 *R. kiangsu* 遗传多样性水平较低与其局限分布在一定生态区域有密切关系(姜石生, 2011);迁移扩散能力强、各种群间基因交流频繁等是造成亚洲小车蝗 *O. asiaticus* (高书晶等, 2011; 李云龙等, 2013)、意大利蝗 *C. italicus* (Blanchet *et al.*, 2010, 2012a, 2012b)不同地理种群遗传分化程度低的原因。本研究得出中哈边境黑腿星翅蝗总群体基因流 $N_m > 4$,表明各种群间基因交流充分,群体间发生了遗传物质交换和传递,遗传分化程度较低,分析这与黑腿星翅蝗较强的迁移扩散能力有关。研究结果与 Rouibah 等(2016)对阿尔及利亚黑腿星翅蝗不同地理种群遗传多样性的研究结果一致。中国新疆北部和哈萨克斯坦东部都处在中亚干旱区,在

地理位置上是相邻的两个区域,地理位置相距较近,海拔高度和小气候相似,在区域盛行西北气流的作用下,黑腿星翅蝗常因种群密度、食物或生理因素等发生迁飞扩散,这必然与相邻区域的种群之间发生基因交流,因此,遗传漂变引起的种群分化在一定程度上被基因交流所稀释,这也是中哈边境黑腿星翅蝗遗传分化水平较低,表现出均质性的原因。另一方面,研究发现博乐种群与塔城、阿勒泰、哈萨克斯坦种群的 F_{st} 值达到 0.05 以上,遗传分化程度处于中等水平,究其原因可能与博乐地区特殊的地形地貌有关,其南、西、北三面环山,仅东面毗邻准噶尔盆地,“暖湿型”气候对植被生长非常有利,植被种类丰富(陈涛等, 2013),导致黑腿星翅蝗种群生境异质程度高,促进了群体内遗传分化的产生。

3.2 研究结果对中哈边境区域黑腿星翅蝗防控实践的意义

中哈边境区域时常发生害虫跨境迁飞严重危害事件(王磊等, 2006; 芦屹等, 2013; Azhbenov *et al.*, 2015),并逐渐成为国际区域间重要的生态问题之一。黑腿星翅蝗有较强的迁移扩散能力,这种非远距离的扩散在外部因素如气流、食物的作用下,连续或渐次发生经过若干代(年)后则有可能使相邻区域种群间发生基因交流。研究结果亦证实中哈边境区域黑腿星翅蝗不同地理种群基因交流频繁,弱化了群体间的遗传差异,种群间遗传距离小,使种群间始终保持遗传上的相似性。针对虫源相似,群体遗传结构相近,在进行化学防治时,应尽量避免施用与虫源地使用相似的药剂类型,以避免产生抗药性而影响防治效果。研究结果在一定程度上可为区域性综合防治提供参考。

自 2013 年以来中哈边境区域未发生蝗虫跨境迁飞事件,这确保了所采集的蝗虫样本均为当地种群而非当年境外迁入虫源,但整体而言,采样点较少。研究报道当遗传分化程度较弱时,需要更多的样本量或基因来保证分析结果的可靠性(Kalinowski *et al.*, 2005)。

参考文献 (References)

- Azhbenov VK, Baybussenov KS, Sarbaev AT, Harizanova VB, 2015. Preventive approach of phytosanitary control of locust pests in Kazakhstan and adjacent areas. International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences. Pengang, Malaysia. 33–37.
- Baybussenov KS, Sarbaev AT, Azhbenov VK, Harizanova VB, 2014. Environmental features of population dynamics of hazard nongregarious locusts in northern Kazakhstan. *Life Science Journal*, 11(10s): 277–281.
- Baybussenov KS, Sarbaev AT, Azhbenov VK, Harizanova VB, 2015. Predicting the phase state of the abundance dynamics of harmful non-gregarious locusts in Northern Kazakhstan and substantiation of protective measures. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2): 1535–1543.
- Bensasson D, Zhang DX, Hewitt GM, 2000. Frequent assimilation of mitochondrial DNA by grasshopper nuclear genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 17(3): 406–415.
- Blanchet E, Blondin L, Gagnaire PA, Foucart A, Vassal JM, Lecoq M, 2010. Multiplex PCR assay to discriminate four neighbour species of the *Calliptamus* genus (Orthoptera: Acrididae) from France. *Bulletin of Entomology and Research*, 100(6): 701–706.
- Blanchet E, Lecoq M, Sword GA, Pages C, Blondin L, Billot C, Rivallan R, Foucart A, Vassal JM, Risterucci AM, Chapuis MP, 2012a. Population structures of three *Calliptamus* spp. (Orthoptera: Acrididae) across the Western Mediterranean Basin. *European Journal of Entomology*, 109(3): 445–455.
- Blanchet E, Lecoq M, Pages C, Rivallan R, Foucart A, Billot C, Vassal JM, Risterucci AM, Chapuis MP, 2012b. A comparative analysis of fine-scale genetic structure in three closely related syntopic species of the grasshopper genus *Calliptamus*. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, 90(1): 31–41.
- Burgov A, Novikova O, Mayorov V, Adkison L, Blinov A, 2006. Molecular phylogeny of Palearctic genera of *Gomphocerinae* grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Systematic Entomology*, 31(2): 362–368.
- Chen T, Chen HW, Yang L, 2013. The Climate productivity response to the regional climate changes in Bortala Mongol Autonomous Prefecture of China. *Desert and Oasis Meteorology*, 7(3): 57–61. [陈涛, 陈洪武, 杨辽, 2013. 博州地区气候生产力对区域气候变化的响应. *沙漠与绿洲气象*, 7(3): 57–61.]
- Gao SJ, Li DW, Liu AP, Yan ZJ, Xu LB, 2011. Sequence analysis of mtDNA CO gene and relationships of geographical populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia. *Acta Agrestia Sinica*, 19(5): 846–857. [高书晶, 李东伟, 刘爱萍, 闫志坚, 徐林波, 2011. 不同地理种群的亚洲小车蝗 mtDNA CO 基因序列及其相互关系. *草地学报*, 19(5): 846–857.]
- Huo GM, 2006. Molecular phylogenetic analysis of acridoidea from CO and Cytb gene sequences. Master thesis. Nanjing: Nanjing Normal University. [霍光明, 2006. 应用 CO 和 Cytb 基因序列研究蝗总科昆虫的系统进化. 硕士学位论文. 南京: 南京师范大学.]
- Jiang SS, 2011. Study on genetic diversity of *Rameacris kiangsu* of 5 geographical populations based on partial sequences of 16S rRNA gene, CO gene, and CO gene. Master thesis. Changsha: Central South University of Forestry and Technology. [姜石生, 2011. 基于线粒体 DNA 的 16S rRNA、CO 和 CO 基因的黄脊竹蝗 5 地理种群遗传多样性研究. 硕士学位论文. 长沙: 中南林业科技大学.]
- Kalinowski ST, 2005. Do polymorphic loci require large sample sizes to estimate genetic distances? *Heredity*, 94(1): 33–36.
- 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 YL, Li X, Liang TS, Zhang LG, Li DD, 2013. Sequence analysis of mtDNA CO gene of 7 geographical populations of *Oedaleus asiaticus* in Beijing and surrounding regions. *Plant Protection*, 39(5): 117–222. [李云龙, 李霞, 梁铁双, 张立国, 李冬冬, 2013. 北京及周边地区 7 个地理种群的亚洲小车蝗 mtDNA CO 基因序列分析. *植物保护*, 39(5): 117–222.]
- Lu Y, Wang HQ, Wei XZ, Chen R, Han ST, Li J, 2013. Characteristics and causes of *Loxostege sticticalis* reappearing in Xinjiang in 2012. *China Plant Protection*, 33(12): 47–51. [芦屹, 王惠卿, 魏新政, 陈蓉, 韩顺涛, 李晶, 2013. 2012 年新疆草地蝗重发特点及原因分析. *中国植保导刊*, 33(12): 47–51.]
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Ma C, Yang PC, Jiang F, Marie-Pierre C, Yasen S, Gregory AS, Kang L, 2012. Mitochondrial genomes reveal the global phylogeography and dispersal routes of the migratory locust. *Molecular Ecology*, 21(17): 4344–4358.
- Rouibah M, López-López A, Presa JJ, Doumandji SA, 2016. Molecular phylogenetic and phylogeographic study of two forms of *Calliptamus barbarus* (Costa 1836) (Orthoptera: Acrididae, Calliptaminae) from two regions of Algeria. *International*

- Journal of Entomology*, 52(2): 77–87.
- 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.
- Schneider S, Roessli D, Exco EL, 2000. Arlequin (version 2000): A software for population genetic analysis. Geneva: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.
- Sergeev MG, 1992. Distribution patterns of Orthoptera in North and Central Asia. *Journal of Orthoptera Research*, 182(1): 14–24.
- 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. [孙巍, 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.]
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725–2729.
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- Wang L, Xu GQ, Liu DF, Han XL, 2006. A study of the relation between a siatic migratory locust and meteorological factors. *Xinjiang Meteorology*, 29(5): 25–27. [王磊, 徐光青, 刘大锋, 韩晓玲, 2006. 迁入性亚洲飞蝗与气象因子关系的研究. 新疆气象, 29(5): 25–27.]
- Xu MY, 2009. Molecular phylogeny of Acridoidea based on 18S rRNA, 16S rRNA, CO₁, CO₂ genes. Master thesis. Baoding: Hebei University. [徐森洋, 2009. 基于 18S rRNA、16S rRNA、CO₁、CO₂ 基因的蝗总科系统发育研究. 硕士学位论文. 保定: 河北大学.]
- Yang L, 2008. Molecular evolution and phylogeny of mitochondrial CO₁ and CO₂ genes in Catantopidae. Master thesis. Xi'an: Shanxi Normal University. [杨亮, 2008. 斑腿蝗科部分种的线粒体 CO₁ 与 CO₂ 基因分子进化与系统学研究. 硕士学位论文. 西安: 陕西师范大学.]
- Yang XM, Lu YH, 2018. Population genetic structure of *Helicoverpa armigera* in Ningxia, Inner Mongolia and neighboring areas. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(1): 25–31. [杨现明, 陆宴辉, 2018. 基于线粒体 DNA 的宁夏、内蒙古及周边地区棉铃虫种群遗传结构. 应用昆虫学报, 55(1): 25–31.]
- Zhang L, 2008. Molecular phylogeny of Catantopidae of CO₁ and Cytb sequences. Master thesis. Xi'an: Shanxi Normal University. [张陵, 2008. 基于 CO₁ 与 Cytb 基因序列的斑腿蝗科部分种类的分子系统学研究. 硕士学位论文. 西安: 陕西师范大学.]
- Zhang LJ, Luo JY, Zhang S, Ma Y, Wang CY, Lv LM, Zhu CZ, Cui JJ, 2018. Population genetic structure and genetic diversity of *Adelphocoris nigritylus* based on mtDNA CO₁ gene sequence variation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(4): 667–678. [张丽娟, 雒珺瑜, 张帅, 马妍, 王春义, 吕丽敏, 朱香镇, 崔金杰, 2018. 基于线粒体 CO₁ 基因黑唇苜蓿盲蝽种群遗传结构与遗传多样性分析. 应用昆虫学报, 55(4): 667–678.]