

迁飞性昆虫甜菜夜蛾遗传分化研究*

滕海媛** 袁永达 张天澍 常晓丽 王冬生***

(上海市设施园艺技术重点实验室, 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403)

摘 要 【目的】甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 逐渐成为世界性重要害虫, 为明确甜菜夜蛾不同地理种群的遗传分化及遗传多样性, 本研究探讨其在中国的种群遗传变异。【方法】测定了采自 15 个地理种群 154 个甜菜夜蛾的线粒体 CO I 基因的 547 bp 序列, 利用 DnaSP 5.0、Arlequin 3.5.1.2 等软件对甜菜夜蛾不同种群间的遗传多样性、遗传分化及分子变异进行分析, 并建立单倍型系统进化树。【结果】在所分析的 154 个 CO I 序列中, 共检测出 5 个单倍型, 其中 H1 为各种群所共享种群内遗传多样性较低 ($H_d = 0.172 \pm 0.041$, $P_i = 0.000\ 77 \pm 0.00\ 02$), 种群内遗传分化相对较大 ($F_{ST} = 0.318\ 2$), 基因流水平较高 ($N_m = 1.071$)。中性检验结果不显著 (Tajima's $D = -1.278$, $P > 0.10$, Fu's $F_s = -1.660$, $P > 0.10$), 说明中国地区甜菜夜蛾在较近的历史时期内没有出现种群扩张现象。分子变异分析 (AMOVA) 结果表明, 甜菜夜蛾遗传变异主要来自种群内部 (68.18%), 而种群间未发生明显的遗传分化。根据各地理种群的单倍型建立的系统发育树表明, 各单倍型散布在不同的地理种群中, 无明显的地理分布格局。【结论】甜菜夜蛾不同种群的遗传距离与地理距离间无显著线性相关性, 不同种群间的基因交流不受地理距离的影响。这些数据表明, 除了遗传因素之外, 不同因素的组合, 例如地理距离、环境条件和生理行为, 可能在甜菜夜蛾种群内和之间形成变异中起重要作用。

关键词 甜菜夜蛾; 线粒体 CO I; 遗传多样性; 遗传分化

Genetic differentiation among populations of the migratory insect *Spodoptera exigua*

TENG Hai-Yuan** YUAN Yong-Da ZHANG Tian-Shu CHANG Xiao-Li WANG Dong-Sheng***

(Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Institute of Eco-Environment and Plant Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

Abstract [Objectives] To investigate genetic variation among different populations of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, in China. [Methods] The genetic diversity, genetic differentiation, and molecular variance of 154 individual *S. exigua* from 15 populations were analyzed using DnaSP 5.0, Arlequin 3.5.1.2 based on variation in 547 bp segments of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (CO I) gene. Phylogenetic trees of CO I haplotypes were constructed from the resultant data. [Results] A total of 5 haplotypes were identified; haplotype No.1 (H1) was shared by all populations. A low level of genetic diversity ($H_d = 0.172 \pm 0.041$, $P_i = 0.000\ 77 \pm 0.000\ 2$) in the total population was detected and genetic differentiation ($F_{ST} = 0.3182$) and a high level of gene flow ($N_m = 1.0713$) was apparent among different populations. The results of a Neutral test (Tajima's $D = -1.278$, $P > 0.10$, Fu's $F_s = -1.660$, $P > 0.10$) were not significant, indicating that there is no evidence of recent population expansion. An analysis of molecular variance (AMOVA) found no obvious genetic differentiation among populations with a high proportion of the total genetic variance attributable to variation within populations (68.18%). A phylogenetic tree based on haplotypes of the different geographic populations indicates no obvious geographical structure in different clades. [Conclusion] Genetic diversity among different populations of *S. exigua* is low,

*资助项目 Supported projects: 农业生物灾害监测预警及防控技术研究 (沪农科攻字 (2012) 第 2-10 号); 上海市农业科学院卓越团队建设计划[农科创 2017 (A-03)]; 上海市农业科学院卓越团队建设计划[农科创 2017 (B-09)]

**第一作者 First author, E-mail: tenghaiyuan@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zb3@saas.sh.cn

收稿日期 Received: 2019-07-18; 接受日期 Accepted: 2019-12-28

and there is no significant linear correlation between geographic distance and genetic differentiation. Gene flow between different populations is therefore not affected by geographic distance. These data suggest that a combination of different factors, such as geographic distance, temperature, and physiological behavior, in addition to genetic factors, could play an important role in forming variation within and between *S. exigua* populations.

Key words *Spodoptera exigua*; mtDNA CO I; genetic diversity; genetic differentiation

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 属鳞翅目夜蛾科, 为害多种栽培作物。近年来随着设施栽培的发展, 甜菜夜蛾在我国的发生与危害越来越重。危害已遍及 20 多个省市, 其中以甘蓝等十字花科蔬菜受害较重, 已造成严重的经济损失。这种昆虫长距离迁移的高能力有利于种群的地理分布超出其分布范围, 导致种群广泛传播 (Burris *et al.*, 1994; Adamczyk *et al.*, 2003)。由于高迁移性传播和对农药的抗性的快速发展, 甜菜夜蛾的防治是非常困难的 (Adamczyk *et al.*, 2003; Che *et al.*, 2013)。

分子遗传学方法被广泛应用于研究许多生物的分类、种群遗传学和系统发育关系 (Moritz and Hillis, 1996)。线粒体基因组 (mtDNA) 严格遵守母系遗传, 几乎不发生遗传重组, 全面反映种群内和种群间的遗传变异。DNA 标记因具有高度多态性而被认为是测量个体之间或相关物种或种群内部和之间遗传多样性的最常用工具 (Behura, 2006)。线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (mt CO I) 基因核酸序列进化较快, 有较多的变化区域, 可用于昆虫种、种群水平的系统发育和进化研究 (Collet *et al.*, 2006; Norgate *et al.*, 2009; 杨宝山等, 2009; 池宇等, 2010; 朱彦彬等, 2012; 王兴亚和许国庆, 2014)。已有利用分子标记研究甜菜夜蛾遗传结构的相关报道 (张艳, 2005; 牛成伟等, 2006)。王兴亚和许国庆 (2014) 利用 mt DNA CO I 基因序列作为分子标记研究了我国 19 个省 20 市的甜菜夜蛾的遗传分化与基因流。他们的研究表明群体间遗传分化较小, 基因流水平较高。其研究结果揭示了甜菜夜蛾各种群间的基因交流不受地理机距离的影响。王兴亚和周俐宏 (2016) 利用 mt DNA Cytb 基因序列作为分子标记研究了我国北方地区 8 省 17 县 (市) 的甜菜夜蛾种群的遗传多样性。结果表明总群体的遗传多样性较低及遗传分

化较小。但是他们只比较我国各地区的甜菜夜蛾的遗传结构的关系, 没有研究与其它国家的甜菜夜蛾遗传关系情况。

鉴于此, 本研究利用线粒体细胞色素 C 氧化酶 I (CO I) 基因作为分子标记研究我国不同地区及 4 个外国地区的甜菜夜蛾种群间遗传多样性及遗传分化, 从而为其区域性控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 甜菜夜蛾来源

本研究所用甜菜夜蛾共有 15 个种群样本, 分别来自我国北京南口、福建福州、上海金山、广东广州、海南海口、河南郑州、江苏淮安、辽宁葫芦岛、云南昆明、天津、江西南昌、湖北武汉、台湾台北、四川宜宾、陕西西安 (表 1), 采集地主要为蔬菜生产基地, 2009 年 6 月-2010 年 10 月通过性信息素诱捕技术采集甜菜夜蛾雄蛾, 记录采集地区及时间, 每个地理种群采集 50-100 只, 放入无水乙醇中, 置 -20℃ 冰箱保存, 待用。

1.2 基因组 DNA 的提取

实验中所用的 DNA 模板为单头甜菜夜蛾的基因组 DNA。研究方法参照滕海媛等 (2009), 提取的基因组 DNA 利用琼脂糖凝胶电泳检测, -20℃ 保存备用。

1.3 甜菜夜蛾 mt DNA CO I 基因 PCR 扩增

所用引物如表 2, 扩增产物大小为 600 bp 左右, PCR 扩增反应体系总体积 30 μL , 其中的 10 $\times$ PCR buffer 3 μL , DNA 3 μL , dNTPs 2 μL (2.5 mmol·L⁻¹), 引物 LCO1490 1 μL (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 引物 HCO2198 1 μL (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Taq 酶 0.6 μL (2.5 U/ μL), ddH₂O 19.4 μL 。反应程序如下: 94 5 min; 94 1 min, 55 1 min, 72 1 min,

扩增 30 个循环; 72 延伸 10 min。扩增反应物以 2.0%琼脂糖凝胶电泳分离, Gelview 染色后 2720 型 PCR 扩增仪上进行。扩增获得的 PCR 产物在 biorad 凝胶成像系统上拍照, 记录结果。

表 1 供试甜菜夜蛾种群采集信息及测序数量
Table 1 Data of the collection of *Spodoptera exigua* involved in this study

种群 Populations		代码 Code	测序数量 Numbers	采集地点 Location	经度 (N) / 纬度 (E) Latitude/longitude	单元型 Haplotypes	采集 时间 Time	登录号 Accession number
中国 China	北京 Beijing	BJ	12	南口 Nankou	39.55°/116.24°	H1	2009.8	
	福建 Fujian	FJ	12	福州 Fuzhou	26.08°/119.3°	H1, H2	2009.6	
	广东 Guangdong	GZ	10	广州 Guangzhou	23.16°/113.23°	H1	2009.6	
	海南 Hainan	HK	12	海口 Haikou	20.02°/110.35°	H1	2009.6	
	河南 Henan	ZZ	12	郑州 Zhengzhou	34.76°/113.65°	H1, H3	2009.9	
	江苏 Jiangsu	HA	10	淮安 Huaian	33.5°/119.15°	H1	2009.8	
	辽宁 Liaoning	HLD	6	葫芦岛 Huludao	40.45°/120.51°	H1	2009.9	
	江西 Jiangxi	NC	10	南昌 Nanchang	28.68°/115.89°	H1	2009.8	
	上海 Shanghai	SH	12	金山 Jinshan	31.22°/121.48°	H1	2009.7	
	四川 Sichuan	YB	10	宜宾 Yibin	29.77°/104.56°	H1	2009.6	
	台湾 Taiwan	TB	4	台北 Taibei	25.03°/121.30°	H1	2009.9	
	天津 Tianjin	TJ	12	天津 Tianjin	39.13°/117.2°	H1	2009.8	
	湖北 Hubei	WH	12	武汉 Wuhan	30.52°/114.31°	H1	2009.8	
	陕西 Shanxin	XA	12	西安 Xi'an	34.27°/108.95°	H1, H3, H4	2009.8	
	云南 Yunnan	KM	8	昆明 Kunming	25.04°/102.73°	H1,H5	2009.4	
美国 America		Florida1				H3		HM756077
美国 America		Florida2				H4		HM756078
美国 America		Florida3				H2		HM756079
美国 America		Florida4				H5		HM756080
西班牙 Spain		Spain				H3		FN908024
泰国 Thailand		Thailand				H1		FN908004
加拿大 Canada		Canada				H2		GU094753

表 2 mt DNA 基因片段扩增引物
Table 2 Primers amplifying mt DNA gene fragment

基因 Gene	引物名称 Primer	引物序列 Sequence of primer	熔解温度 Melting temperature ()
mtDNA CO I	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	55
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	

1.4 PCR 扩增产物的纯化回收及测序

PCR 扩增所得产物利用天根生化科技有限

公司的 DNA 凝胶回收试剂盒进行回收。回收的产物由生工生物工程(上海)有限公司进行双向测序。

1.5 数据分析

采用软件 Vector NTI 11.0 对 154 条 CO 序列的序列进行比对, 利用软件 MEGA5.2 (Tamura *et al.*, 2011) 计算序列的碱基组成、变异位点、简约信息位点、转换和颠换的比值和单倍型间的遗传距离, 用 Kimura2-Parameter 模型计算甜菜夜蛾不同种群间的遗传距离。软件 DnaSP 5.0 (Librado and Rozas, 2009) 用来统计甜菜夜蛾不同种群的单倍型数目、出现频率、单倍型多样性 (H_d)、种群间遗传分化指数 F_{ST} 和 G_{ST} 等, 并进行中性检验 (Tajima, 1989)。基因流 (N_m) 计算公式: $F_{ST} = 1/(1+2N_m)$ (Takahata and Palumbi, 1985; Goldberg and Ruvolo, 1997)。甜菜夜蛾不同种群地点之间的地理距离由经纬度计算所得。利用 Kimura2-Paramter 模型和邻位法 (NJ) 构建系统发育树 (Felsenstein, 1985)。根据经度纬度计算不同种群间的地理距离, 并计算其自然对数。利用软件 TFGPA 对自然对数和遗传距离进行 Mantel 检验。利用 Arlequin 3.5.1.2 软件和 Pairwise difference 模型计算种群间的分化指数 (F_{ST}) 和分子方差分析 (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 2005)。

2 结果与分析

2.1 甜菜夜蛾不同种群 mt CO 序列分析

对甜菜夜蛾不同种群进行 mt CO 扩增, 测序获得 15 个种群的 154 条 CO 核心序列。共获得 5 个单倍型, 经 Clustal-X 联配后, 得到的 CO 基因片段序列的长度为 547bp (表 3)。在获得的 mt CO 基因 547 bp 的片段中, 有 541 个保守位点; 有 6 个变异位点 (Variable sites) 并且全部是简约信息位点 (Parsimony informative sites), 无碱基的插入和缺失。利用 MEGA5.2 分析 CO 基因碱基组成 A 31.1%, T 39.1%, C 15.5%, G 14.3%, A + T 含量为 70.2%, 碱基 A/T 偏向性较明显。分析 154 条 mt CO 片段表明, 该序列中碱基转换占 100%, 其中 A 与 G 之间的转换占 16.67%, C 与 T 之间的转换占 83.33%。

表 3 甜菜夜蛾不同单倍型 CO 基因变异

Table 3 Variation sites in CO haplotypes of *Spodoptera exigua*

单倍型 Haplotypes	变异位点 Variable sites					
	284	395	443	459	506	545
H1	C	T	T	T	C	A
H2	T			C		
H3				C	T	
H4				C		
H5		C	C	C		G

2.2 单倍型、遗传多样性和中性检验分析

2.2.1 单倍型 在 154 条甜菜夜蛾 CO I 基因序列中, 共检测到 5 个单倍型 H1-H5 (基因登录号为 KX533912-KX533916) (表 4)。甜菜夜蛾不同种群单倍型的数量不等, 例如 XA 种群有 3 个单倍型。在 5 个单倍型中, H1 为共享单倍型, 即 H1 在 15 个甜菜夜蛾不同种群中都有存在; H3 分布于 ZZ 和 XA 种群中, H2、H4 和 H5 为独有单倍型, 分别为 FZ、XA 和 KM 种群所拥有。

2.2.2 甜菜夜蛾不同种群遗传多样性和中性检验分析 15 个甜菜夜蛾不同种群总的单倍型多样性 (H_d) 为 0.172 ± 0.041 , 核苷酸多样性 (P_1) 为 0.00077 ± 0.0002 , 核酸平均差异度 (K) 为 0.4203 (表 4)。不同种群的单倍型多样性在 0-0.667 之间, 核苷酸多样性在 0-0.00418 之间, 其中各种群中有 11 个种群的所有参数均为 0, 包括 BJ、GZ、HK、HA、HLD、NC、SH、YB、TB、TJ、WH。XA 地区的单倍型多样性 $H_d = 0.667 \pm 0.091$ 为最高, KM 的 $P_1 = 0.00418 \pm 0.00069$, $K = 2.286$ 值最高。Tajima's D 和 Fu's F_s 检测结果显示, 云南昆明的种群 (KM) 表现显著, 而其他地理区域的种群表现均不显著, 说明所在的 15 个检测地区中, 仅有云南昆明的甜菜夜蛾在较近的历史时期种群发生了增长。但是总的种群的 Tajima's $D = -1.278$, $P > 0.10$, Fu's $F_s = -1.660$, $P > 0.10$ 结果不显著, 说明我国甜菜夜蛾种群在较近的历史时期未经历明显的种群扩张。

表 4 甜菜夜蛾不同种群单倍型分布、遗传多样性指数及中性检验
Table 4 Distribution of haplotypes, genetic diversity indexes and neutral test among different populations of *Spodoptera exigua*

种群代码 Populations code	单倍型数 Number of haplotypes	单倍型及个体数 Haplotypes and number of individuals (h)	单倍型多样性 Haplotype diversity ($H_d \pm SD$)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity ($P_i \pm SD$)	核酸平均差异度 Average number of nucleotide differences (K)	中性检验及显著性检验 Neutrality and statistical significance	
						Tajima's D	Fu's F_s
BJ	1	H1(12)	0	0	0	—	—
FZ	2	H1(10), H2(2)	0.303±0.147	0.001 11±0.000 54	0.606	− 0.248	1.384
GZ	1	H1(10)	0	0	0	—	—
HK	1	H1(12)	0	0	0	—	—
ZZ	2	H1(10), H3(2)	0.303±0.147	0.001 11±0.000 54	0.606	− 0.248	1.384
HA	1	H1(10)	0	0	0	—	—
HLD	1	H1(6)	0	0	0	—	—
NC	1	H1(10)	0	0	0	—	—
SH	1	H1(12)	0	0	0	—	—
YB	1	H1(10)	0	0	0	—	—
TB	1	H1(4)	0	0	0	—	—
TJ	1	H1(11)	0	0	0	—	—
WH	1	H1(12)	0	0	0	—	—
XA	3	H1(6), H3(4), H4(2)	0.667±0.091	0.001 88±0.000 25	1.303	1.624	0.747
KM	2	H1(4), H5(4)	0.571±0.094	0.004 18±0.000 69	2.286	2.101*	3.933
合计	5	H1(140), H2(2), H3(6), H4(2), H5(4)	0.172±0.041	0.000 77±0.000 2	0.420 3	− 1.278	− 1.660

表示差异显著 ($P<0.50$)。 indicates significant difference ($P<0.50$)。

运用 Kimura2-Parameter 对 154 条 CO I 基因的 547 bp 序列进行不同单倍型之间遗传距离分析,不同单倍型之间遗传距离为 0.001 8-0.007 4, 平均遗传距离为 0.004 4 (表 5)。

表 5 甜菜夜蛾 CO 基因不同单倍型间的遗传距离
Table 5 Genetic distance of different haplotypes of CO gene of *Spodoptera exigua*

	H1	H2	H3	H4	H5
H1					
H2	0.003 7				
H3	0.003 7	0.003 7			
H4	0.001 8	0.001 8	0.001 8		
H5	0.007 4	0.007 4	0.007 4	0.005 5	

H1-H5 为甜菜夜蛾的 5 个单倍型。
H1-H5 refer to the five haplotypes of *S. exigua*.

2.3 甜菜夜蛾不同种群的遗传分化与基因流

根据 DNAsp 5.0 软件计算的结果表明 (表 6), 甜菜夜蛾不同种群间的固定系数 F_{ST} 在 0-0.428 6 之间, 平均值为 0.115 6; 遗传分化系数 (G_{ST}) 在 0.004 2-1.000 0 之间, 平均值为 0.587 6, 15 个不同种群总的 F_{ST} 为 0.318 2, 总基因流 N_m 为 1.071 3, 种群间的基因流数值大部分为 5.001 (表 7), FZ 和 ZZ 种群的基因流最高 59.741, 说明基因交流水平非常高, 但是除了 XA、KM 和 FZ 相互之间的基因流较大外, XA、KM 与其他各种群的基因交流都小于 1, 表明基因交流较小。

利用 MEGA 5.2 软件的 Kimura2-Paramter 模型分析不同地理种群的 CO I 序列计算种群间的遗传距离, 从表 8 可以看出, 甜菜夜蛾不同种群

表 6 甜菜夜蛾不同种群间的遗传分化指数 F_{ST} (下三角) 与遗传分化系数 G_{ST} (上三角)
Table 6 Population pairwise F_{ST} values (below diagonal) and pairwise G_{ST} (above the diagonal) values among different populations of *Spodoptera exigua*

	BJ	FZ	GZ	HK	ZZ	HA	HLD	NC	SH	YB	TB	TJ	WH	XA	KM
BJ		0.047 6	1	1	0.047 6	1	1	1	1	1	1	1	1	0.200 0	0.311 3
FZ	0.090 9		0.043 8	0.047 6	0.004 2	0.043 8	0.038 7	0.043 8	0.047 6	0.043 8	0.043 8	0.045 7	0.047 6	0.092 2	0.147 5
GZ	0	0.090 9		1	0.043 8	1	1	1	1	1	1	1	1	0.185 4	0.294 5
HK	0	0.090 9	0		0.047 6	1	1	1	1	1	1	1	1	0.200 0	0.311 3
ZZ	0.090 9	0.008 3	0.090 9	0.090 9		0.043 8	0.038 7	0.043 8	0.047 6	0.043 8	0.043 8	0.045 7	0.047 6	0.042 4	0.147 5
HA	0	0.090 9	0	0	0.090 9		1	1	1	1	1	1	1	0.185 4	0.294 5
HLD	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0		1	1	1	1	1	1	0.147 9	0.244 1
NC	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0		1	1	1	1	1	0.185 4	0.294 5
SH	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0	0		1	1	1	1	0.200 0	0.311 3
YB	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0	0	0		1	1	1	0.185 4	0.294 5
TB	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0	0	0	0		1	1	0.127 3	0.206 6
TJ	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0	0	0	0	0		1	0.193 0	0.303 4
WH	0	0.090 9	0	0	0.090 9	0	0	0	0	0	0	0		0.200 0	0.311 3
XA	0.381 8	0.181 8	0.381 8	0.381 8	0.079 6	0.381 8	0.381 8	0.381 8	0.381 8	0.381 8	0.381 8	0.381 8	0.381 8		0.092 3
KM	0.428 6	0.332 7	0.428 6	0.428 6	0.332 7	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.428 6	0.289 4

种群代码同表 1。下表同。Population code is the same as table 1. The same below.

表 7 甜菜夜蛾不同种群间的基因流 N_m
Table 7 Gene flow (N_m) between different populations *Spodoptera exigua*

	BJ	FZ	GZ	HK	ZZ	HA	HLD	NC	SH	YB	TB	TJ	WH	XA	KM
BJ															
FZ	5.001														
GZ	Inf	5.001													
HK	Inf	5.001	Inf												
ZZ	5.001	59.741	5.001	5.001											
HA	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001										
HLD	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf									
NC	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf								
SH	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf	Inf							
YB	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf	Inf	Inf						
TB	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf					
TJ	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf				
WH	Inf	5.001	Inf	Inf	5.001	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf	Inf			
XA	0.809	2.250	0.809	0.809	5.781	0.809	0.809	0.809	0.809	0.809	0.809	0.809	0.809		
KM	0.667	1.003	0.667	0.667	1.003	0.667	0.667	0.667	0.667	0.667	0.667	0.667	0.667	1.228	

Inf: 无限大 Infinite.

表 8 甜菜夜蛾不同种群间的遗传距离(下三角)与地理距离的自然对数值(K_m)(上三角)
Table 8 The natural logarithm of geographical distance (K_m) (above the diagonal) and pairwise genetic distance (below the diagonal) among different populations of *Spodoptera exigua*

	BJ	FZ	GZ	HK	ZZ	HA	HLD	NC	SH	YB	TB	TJ	WH	XA	KM
BJ		7.331 0	7.521 0	7.717 0	6.364 0	6.582 0	5.822 0	7.099 0	6.949 0	7.329 0	7.429 0	4.553 0	6.928 0	6.774 0	7.626 0
FZ	0.000 6		6.544 0	7.037 0	7.010 0	6.717 0	7.380 0	6.096 0	6.414 0	7.317 0	5.448 0	7.290 0	6.544 0	7.207 0	7.419 0
GZ	0	0.000 6		6.130 0	7.164 0	7.161 0	7.622 0	6.507 0	7.100 0	7.034 0	6.740 0	7.505 0	6.717 0	7.174 0	6.991 0
HK	0	0.000 6	0		7.422 0	7.459 0	7.812 0	7.017 0	7.422 0	7.117 0	7.136 0	7.708 0	7.119 0	7.373 0	6.869 0
ZZ	0.000 6	0.001 1	0.000 6	0.000 6		6.265 0	6.775 0	6.564 0	6.722 0	6.927 0	7.178 0	6.363 0	6.165 0	6.074 0	7.319 0
HA	0	0.000 6	0	0	0.000 6		6.663 0	6.430 0	5.815 0	7.274 0	6.873 0	6.478 0	6.336 0	6.852 0	7.522 0
HLD	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0		7.227 0	6.938 0	7.535 0	7.449 0	5.765 0	7.122 0	7.116 0	7.775 0
NC	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0		6.411 0	7.009 0	6.512 0	7.064 0	5.544 0	6.809 0	7.221 0
SH	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0	0		7.396 0	6.536 0	6.870 0	6.536 0	7.107 0	7.582 0
YB	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0	0	0		7.458 0	7.350 0	6.848 0	6.477 0	6.322 0
TB	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0	0	0	0		7.388 0	6.825 0	7.361 0	7.534 0
TJ	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0	0	0	0	0		6.902 0	6.817 0	7.637 0
WH	0	0.000 6	0	0	0.000 6	0	0	0	0	0	0	0		6.483 0	7.164 0
XA	0.001 5	0.001 8	0.001 5	0.001 5	0.001 6	0.001 5	0.001 5	0.001 5	0.001 5	0.001 5	0.001 5	0.001 5	0.001 5		7.082 0
KM	0.003 7	0.004 0	0.003 7	0.003 7	0.004 0	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.003 7	0.004 3	

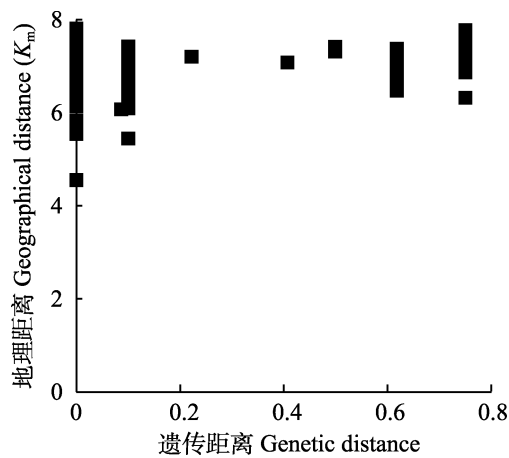


图 1 甜菜夜蛾不同种群 mt DNA CO₁ 序列的遗传距离与地理距离自然对数的相关性分析
Fig. 1 Correlation analysis between the natural logarithm of geographical distance (K_m) and the pairwise genetic distances from mt DNA CO₁ sequences of different geographic populations of *Spodoptera exigua*

间的遗传距离差异不大,在 0-0.004 3 之间,平均值为 0.000 8,最大值为 0.004 3(表 8)。
用 TFPGA 软件进行 Mantel 相关性检验,检

测甜菜夜蛾不同种群间遗传距离与地理距离的相关性。结果表明,甜菜夜蛾不同种群间遗传距离和地理距离之间没有显著相关性($R^2 = 0.208\ 9$, $P > 0.05$)(图 1)。说明我国甜菜夜蛾的遗传分化没有一定的地域性差异,地理隔离对甜菜夜蛾的遗传分化没有显著的影响。

15 个甜菜夜蛾不同种群的 AMOVA 分子变异分析,结果(表 9)显示,种群间的遗传分化程度 F_{ST} 为 0.318 2,说明种群间已具有明显的遗传分化。15 个不同种群间的遗传变异百分率为 31.82%,种群内的遗传变异百分率为 68.18%。种群内的遗传变异百分率大于种群间的遗传变异百分率。说明甜菜夜蛾 15 个种群的遗传变异主要来自于种群内部个体间的。结果说明我国甜菜夜蛾种群间的遗传分化是由于个体差异造成的,因而没有形成明显的地理格局分布。

2.4 单倍型系统发育分析

运用 MEGA5.2 软件,并用 Kimura 2-Parameter 模型邻接法(Neighbor joining, NJ),以海灰翅

表 9 甜菜夜蛾不同种群 CO 的分子变异方差分析 (AMOVA)
Table 9 Analysis of molecular variance (AMOVA) among different population of *Spodoptera exigua*

变异来源 Source of variation	自由度 <i>d.f.</i>	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	变异百分率 Percentage of variation	<i>F</i> _{ST} Fixation Index
种群间 Among populations	14	11.823	0.068 3Va	31.82	0.318 2
种群内 Within populations	139	20.333	0.146 3Vb	68.18	
总变异 Total	153	32.156	0.214 6		

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

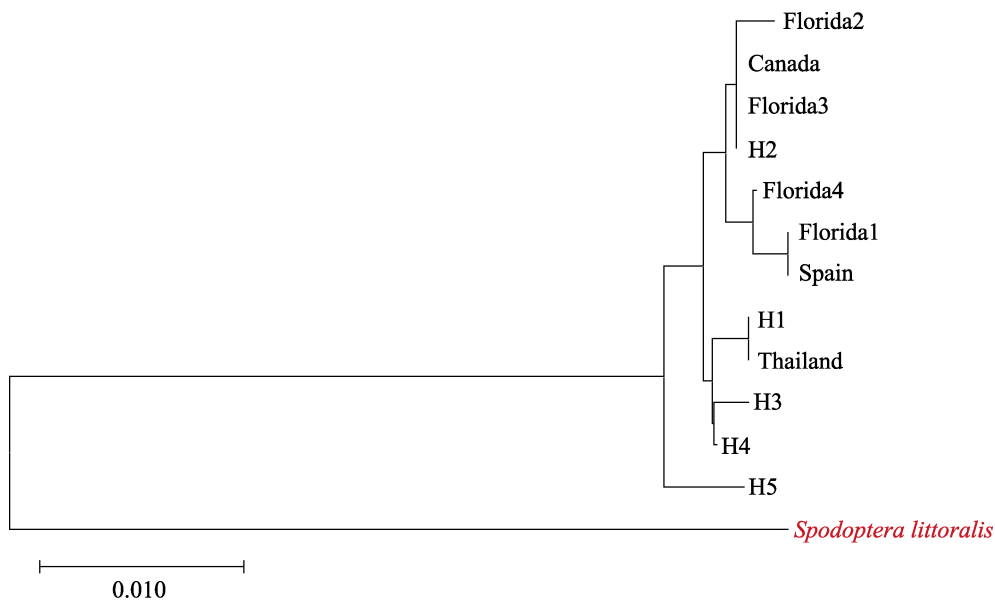


图 2 邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建甜菜夜蛾不同种群 CO 单倍型间系统树
Fig. 2 Neighbor-joining phylogenetic tree of haplotypes of different populations of *Spodoptera exigua* based on CO gene sequence

夜蛾 *Spodoptera littoralis* (GenBank 登录号: FN908019) 为外群与 5 个单倍型及 6 个国外种群构建系统发育树, 结果显示, 5 个单倍型和 6 个国外种群聚在一起与外群分开。其中 H2 单倍型与欧洲的 Spain 和北美的 Canada、美国的 Florida1、Florida2、Florida3、Florida4 聚为一支; H1, H3, H4 与亚洲的 Thailand 聚为一支。说明甜菜夜蛾没有按地理位置形成一定的地理格局。

3 讨论

在本研究中, 我们对来自 15 个甜菜夜蛾种群 (表 1) 的 154 个个体进行了线粒体 CO I 基因分析, 以估计遗传变异性。在获得的 5 个单倍

型中除了福建福州 FZ、陕西西安 XA、云南昆明 KM、河南郑州 ZZ 外, 其他 11 个种群单倍型都为 H1。单倍型 H1 是各种群所共享的单倍型, 对生态环境的适应性较其他单倍型强, 是甜菜夜蛾种群中稳定存在的优势单倍型。而陕西西安 XA 的单倍型更具有多样化。

*F*_{st} 的值表示群体遗传分化的程度, 其反过来是群体分离的总遗传多样性(杂合性)的比例。根据 Wright (1977), *F*_{st} 的值低于 0.05 表明低遗传分化, 0.05 和 0.15 之间的值显示中度分化, 0.15 和 0.25 表示高分化, 高于 0.25 的值显示非常高的分化。本研究的 *F*_{st} 为 0.318 2, 说明其的遗传多样性相对较高。

AMOVA 评估种群结构和确定种群间分化

和遗传相似性的合适方法 (Grassi *et al.*, 2004)。本研究中计算出种群内遗传变异比种群间更高。该结果也已在其他昆虫研究中得到证实 (Sluss and Graham, 1979; Timm *et al.*, 2006; Mozaffarian *et al.*, 2008; Golikhajeh *et al.*, 2018)。由于所有样品为性信息素诱集而来, 所以不能确定其来自的寄主植物, 种群差异可能由于寄主植物的原因。阻止种群间基因流动的任何障碍定义为地理障碍, 种群差异也可能由于地理障碍导致的 (Mayr and Ashlock, 1991)。已有研究表明 (Golikhajeh *et al.*, 2016a, 2016b), 由于植物、环境条件和地理起源的差异可以影响甜菜夜蛾种群增长、营养指数和消化生理学。Bale 等 (2002) 研究表明温度可以影响昆虫的生活史, 种群密度, 遗传组成, 寄主植物开发的程度和地理分布。

如表 8 所示, TB-TJ 地区之间的低遗传距离和 XA-KM 地区之间的高遗传距离表明地理距离不是地区之间遗传距离的主要因素。在 Mantel 测试中, 地理距离和成对遗传距离两者之间没有相关性, 表明甜菜夜蛾种群在距离上没有差异。已有研究通过 Mantel 检验和聚类分析的结果表明小菜蛾、甜菜夜蛾种群的遗传和地理距离之间没有相关性, 表明这两种害虫种群之间没有地理分化 (Wei *et al.*, 2015; Golikhajeh *et al.*, 2018)。Arunkumar 等 (2012) 通过 Mantel 检验发现现有证据不能表明不同种群的琥珀蚕的遗传和空间距离之间存在关联。

种群的高度变异和迁移使种群可能对防治策略产生了适应性, 导致种群之间的抗性传播。许多研究证明, 甜菜夜蛾具有显著的环境耐受性、生态可塑性和化学农药抗性 (Jiang *et al.*, 1999, 2000, 2002, 2010; Che *et al.*, 2013)。表明甜菜夜蛾具有抗各种压力的潜力。

本研究从国外和国内的不同国家的角度, 比较甜菜夜蛾单倍型系统发育, 结果说明甜菜夜蛾没有按地理位置形成一定的地理格局。根据该研究的数据, 从不同地区采集的甜菜夜蛾的遗传距离不受其地理距离的影响。本研究 Mantel 相关性分析结果表明, 甜菜夜蛾各地种群间的遗传距离与地理距离之间无明显的相关性, 同时本研究

中距离最远的 2 个种群 TW (台湾) 种群和 LN (辽宁) 种群共享单倍型, H2 单倍型与欧洲的 Spain 和北美的 Canada、美国的 Florida1、Florida2、Florida3、Florida4 聚为一支, 说明甜菜夜蛾各地种群间的基因交流没有受到地理距离的影响。

由于采样方案是在我国的某些地区进行的, 因此可能没有考虑到其他区域种群中存在的遗传多样性。需要在其他地区进行取样工作, 以便清楚地了解我国甜菜夜蛾的种群结构和遗传变异的其他细节。此外, 可以通过新的分子标记来研究甜菜夜蛾的遗传多样性, 可以更全面的了解甜菜夜蛾种群遗传结构以及种内和种间多样性的情况。

致谢: 感谢中国农科院蔬菜花卉研究所张友军研究员、湖北武汉市蔬菜科学研究所司升云研究员、华南农业大学许再福教授、南京农业大学杨奕桦教授、湖南省农科院植保所陈浩涛副研究员和海南省农科院植保所吉训聪副研究员、辽宁省农业科学院植物保护研究所许国庆, 台湾中兴大学昆虫学系齐心教授、四川宜宾县农业局植保植检站刘燕强等在甜菜夜蛾标本采集中给予的帮助。

参考文献 (References)

- Adamczyk JJ, Williams MR, Reed JT, Hubbard DW, Hardee DD, 2003. Spatial and temporal occurrence of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) moths in Mississippi. *Florida Entomologist*, 86(3): 229–232.
- Arunkumar KP, Sahu AK, Mohanty AR, Awasthi AK, Pradeep AR, Urs SR, 2012. Genetic diversity and population structure of Indian golden silkmoth (*Antheraea assama*). *PLoS ONE*, 7: e43716.
- Bale JS, Masters GJ, Hodkinson ID, Awmack C, Bezemer TM, Brown VK, Butterfield J, Buse A, Coulson JC, Farrar J, 2002. Herbivory in global climate change research: direct effect of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, 8(1): 1–16.
- Behura SK, 2006. Molecular marker systems in insects: Current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, 15(11): 3087–3113.
- Burris E, Graves J, Leonard B, White C, 1994. Beet armyworms (Lepidoptera: Noctuidae) in northeast Louisiana: Observations on an uncommon insect pest. *Florida Entomologist*, 77(4): 454–459.

- Che W, Shi T, Wu Y, Yang Y, 2013. Insecticide resistance status of field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *Journal of Economic Entomology*, 106(4): 1855–1862.
- Chi Y, Wang SD, Zhang CT, 2010. Advance of Diptera based on mitochondrial COI gene. *Entomotaxonomia*, 32 (Suppl.): 71–78. [池宇, 王诗迪, 张春田, 2010. 基于线粒体 COI 基因的双翅目昆虫研究进展. 昆虫分类学报, 32(增刊): 71–78.]
- Collet T, Ferreira KM, Arias MC, Soares AEE, Del Lama MA, 2006. Genetic structure of Africanized honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from Brazil and Uruguay viewed through mitochondrial DNA COI-COII patterns. *Heredity*, 97(5): 329–335.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S, 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47–50.
- Felsenstein J, 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4): 783–791.
- Goldberg TL, Ruvalo M, 1997. The geographic apportionment of mitochondrial genetic diversity in East African chimpanzees, *Pan troglodytes schweinfurthii*. *Molecular Biology and Evolution*, 14(9): 976–984.
- Golikhajeh N, Naseri B, Razmjou J, 2016a. Effect of geographic population and host cultivar on demographic parameters of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(3): 743–751.
- Golikhajeh N, Naseri B, Razmjou J, 2016b. Effect of geographic origin of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and sugar beet cultivar on nutritional indices of this pest. *Invertebr. Surviv. J.*, 13: 221–228.
- Golikhajeh N, Naseri B, Razmjou J, Hosseini R, Aghbolaghi MA, 2018. Genetic variation of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) populations detected using microsatellite markers in Iran. *Journal of Economic Entomology*, 111(3): 1404–1410.
- Grassi F, Imazio S, Gomarasca S, Citterio S, Aina R, Sgorbati S, Sala F, Patrignani G, Labra M, 2004. Population structure and genetic variation within *Valeriana wallrothii* Kreyer in relation to different ecological locations. *Plant Science*, 166(6): 1437–1441.
- Jiang XF, Luo LZ, Hu Y, 2000. The effect of compensatory nutrition condition on flight ability of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Acta phytophysiologia Sinica*, 27(4): 327–332. [江幸福, 罗礼智, 胡毅, 2000. 成虫期营养对甜菜夜蛾生殖和飞行的影响. 植物保护学报, 27(4): 327–332.]
- Jiang XF, Luo LZ, Li KB, Cao YZ, Hu Y, Liu YQ, 2002. Influence of temperature on flight capacity of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(2): 275–278. [江幸福, 罗礼智, 李克斌, 曹雅忠, 胡毅, 刘悦秋, 2002. 温度对甜菜夜蛾飞行能力的影响. 昆虫学报, 45(2): 275–278.]
- Jiang XF, Luo LZ, Sappington TW, 2010. Relationship of flight and reproduction in beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), a migrant lacking the oogenesis-flight syndrome. *Journal of Insect Physiology*, 56(11): 1631–1637.
- Jiang XF, Luo LZ, Hu Y, 1999. Influence of larval diets on development, fecundity and flight capacity of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Acta Entomologica Sinica*, 42(3): 270–276. [江幸福, 罗礼智, 胡毅, 1999. 幼虫食物对甜菜夜蛾生长发育、繁殖及飞行的影响. 昆虫学报, 42(3): 270–276.]
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Mayr E, Ashlock PD, 1991. Principles of Systematic Zoology. New York: McGrawHill, Inc. 475.
- Mozaffarian F, Mardi M, Sarafrazi A, Ganbalani GN, 2008. Assessment of geographic and host-associated population variations of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, on pomegranate, fig, pistachio and walnut, using AFLP markers. *Journal of Insect Science*, doi:10.1673/031.008.0601.
- Moritz C, Hillis DM, 1996. Molecular systematics: Context and controversies//Hillis DM, Moritz C, Mable BK(eds.). Molecular Systematics. Sunderland: Sinauer Associates. 1–13.
- Niu CW, Zhang QW, Ye ZH, Luo LZ, 2006. Analysis of genetic diversity in different geographic populations of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) with AFLP technique. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 867–873. [牛成伟, 张青文, 叶志华, 罗礼智, 2006. 不同地区甜菜夜蛾种群的遗传多样性分析. 昆虫学报, 49(5): 867–873.]
- Norgate M, Chamings J, Pavlova A, Bull JK, Murray ND, Sunnucks P, 2009. Mitochondrial DNA indicates late Pleistocene divergence of populations of *Heteronympha merope*, an emerging model in environmental change biology. *PLoS ONE*, 4(11): e7950.
- Sluss TP, Graham HM, 1979. Allozyme variation in natural populations of *Heliothis virescens*. *Annals of the Entomological Society of America*, 72(2): 317–322.
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- Takahata N, Palumbi SR, 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island model. *Genetics*, 109(2): 441–457.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S, 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using

- maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731–2739.
- Teng HY, Wu QJ, Xu BY, Zhu GR, Wang SL, Zhang YJ, 2009. Polymorphism analysis of *Bemisia tabaci* by SRAP markers. *Chinese Bulletin of Entomology*, 46(1): 139–144. [滕海媛, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁, 王少丽, 张友军, 2009. SRAP 技术研究烟粉虱遗传多样性. 昆虫知识, 46(1): 139–144.]
- Timm AE, Geertsema H, Warnich L, 2006. Gene flow among *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) geographic and host populations in South Africa. *Journal of Economic Entomology*, 99(2): 341–348.
- Wang XY, Xu GQ, 2014. Genetic differentiation and gene flow among geographic populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 57(9): 1061–1074. [王兴亚, 许国庆, 2014. 中国甜菜夜蛾地理种群的遗传分化与基因流. 昆虫学报, 57(9): 1061–1074.]
- 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 Entomologica 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.]
- Wei SJ, Cao LJ, Gong YJ, Shi BC, Wang S, Zhang F, Guo XJ, Wang YM, Chen XX, 2015. Population genetic structure and approximate Bayesian computation analyses reveal the southern origin and northward dispersal of the oriental fruit moth *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) in its native range. *Molecular Ecology*, 24(16): 4094–4111.
- Wright S, 1977. Evolution and the genetics of populations, volume 3: experimental results and evolutionary deductions. *Systematic Botany*, 59(6): 815–826.
- Yang BS, Hou QJ, Wang H, Li XS, Jiang DF, Liu YQ, Qin L, 2009. Sequence variability of COI gene and genetic differentiation among the geographic populations of *Caligula japonica* (Lepidoptera: Saturniidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 52(4): 406–412. [杨宝山, 侯庆君, 王欢, 李喜升, 姜德富, 刘彦群, 秦利, 2009. 不同地理种群银杏大蚕蛾 COI 基因序列变异与遗传分化. 昆虫学报, 52(4): 406–412.]
- Zhang Y, 2005. Studies on the inheritance and construction of AFLP analysis system in *Spodoptera exigua*. Master thesis. Changchun: Jilin Agricultural University. [张艳, 2005. 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 抗性遗传研究及 AFLP 体系的建立. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学.]
- Zhu YB, Ma JF, Dong L, Li LT, Jiang JY, Li ZH, Dong ZP, Dong JG, Wang QY, 2012. Analysis of genetic polymorphism of *Aethis lepigone* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from China based on mtDNA COI gene sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 55(4): 457–465. [朱彦彬, 马继芳, 董立, 李立涛, 姜京宇, 李智慧, 董志平, 董金皋, 王勤英, 2012. 基于线粒体 COI 基因序列的中国二点委夜蛾遗传多态性分析. 昆虫学报, 55(4): 457–465.]