

入侵江西赣州的草地贪夜蛾的分子鉴定*

李慧敏^{1,2**} 宋倩^{1,2} 罗素梅^{1,2} 熊春晖^{1,2} 扶京龙^{1,2}
周勇辉^{1,2} 梁玉勇³ 邹志华⁴ 钟秋瓚^{1,2***}

(1. 赣州市蔬菜花卉研究所, 赣州 341413; 2. 江西省设施蔬菜技术创新中心, 赣州 341413;
3. 江西省农业科学院植物保护研究所, 南昌 330200; 4. 赣州市职业技术学院, 赣州 341000)

摘要 【目的】江西省是我国草地贪夜蛾迁飞过渡区和高度适生区, 采用分子标记来鉴定江西赣州草地贪夜蛾的种群生物类型, 有利于明确入侵江西赣州的草地贪夜蛾的种群生物型并了解其发生及扩散规律。【方法】采用 *CO I* 和 *Tpi* 分子标记方法, 对江西赣州 32 个草地贪夜蛾样本进行扩增、测序和比对分析, 明确江西赣州的种群的生物型及遗传特征。【结果】通过 DNA 提取、PCR 扩增及测序, 在 32 份样品中获得了与预期片段大小一致的基因片段, *CO I* 基因片段长度为 713-779 bp, *Tpi* 基因片段长度为 383-395 bp。基于线粒体 *CO I* 基因分析结果表明, 玉米型占 62.5%, 水稻型占 37.5%; 基于 *Tpi* 基因分析结果表明, 所有样本均为玉米型, 且玉米型中又存在 3 种类型(*Tpi*-Ca1 型、*Tpi*-Ca2 型及杂合的 *Tpi*-Ca1/Ca2 型)。基于 *CO I* 基因构建的系统进化树, 江西赣州的草地贪夜蛾与中国的江苏、云南及江西等、美国的波多黎各和佛罗里达)、非洲的乌干达等的 *CO I* 序列一致, 与巴西的 *CO I* 序列存在一些差别。【结论】该研究有助于为分析江西赣州的草地贪夜蛾的来源、遗传特性、发生动态等提供更多的信息, 积累群体遗传理论数据, 提供科学信息。

关键词 草地贪夜蛾; 水稻型; 玉米型; 分子标记

Molecular identification of invasive *Spodoptera frugiperda* in Ganzhou, Jiangxi province

LI Hui-Min^{1,2**} SONG Qian^{1,2} LUO Su-Mei^{1,2} XIONG Chun-Hui^{1,2} FU Jing-Long^{1,2}
ZHOU Yong-Hui^{1,2} LIANG Yu-Yong³ ZOU Zhi-Hua⁴ ZHONG Qiu-Zan^{1,2***}

(1. Ganzhou Vegetable and Flower Research Institute, Ganzhou 341413, China; 2. Jiangxi Protected Vegetable Technology Innovation Center, Ganzhou 341413, China; 3. Institute of Plant Protection, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China; 4. Ganzhou Vocational and Technical College, Ganzhou 341000, China)

Abstract 【Objectives】To clarify the population biotype of invasive *Spodoptera frugiperda* in Ganzhou, Jiangxi province in order to better understand the occurrence and spread of this important, global agricultural pest. 【Methods】Molecular identification of 32 *S. frugiperda* specimens collected in Ganzhou, Jiangxi province was based on variation in the *CO I* and *Tpi* molecular markers. DNA was extracted from each specimen, amplified with PCR and sequenced using *CO I* and *Tpi* molecular markers, after which the *CO I* and *Tpi* gene fragment sequences obtained were analyzed. 【Results】Gene fragments of the expected fragment size were obtained from all 32 samples. The length of the *CO I* gene fragment was 713-779 bp, and that of *Tpi* gene fragment was 383-395 bp. Based on previous analysis of the *CO I* gene, the corn strain of *S. frugiperda* accounted for 62.5% of specimens and the rice strain for 37.5%. However, on the basis of *Tpi* gene variation, all specimens were of the corn-strain, of which there were three types (*Tpi*-Ca1, *Tpi*-Ca2 and hybrid *Tpi*-Ca1/Ca2). A phylogenetic tree of *CO I* gene variation indicates that *S. frugiperda* *CO I* sequences in Ganzhou, Jiangxi province are consistent with those elsewhere in China (Jiangsu, Yunnan and Jiangxi), in the United States (Puerto Rico and Florida), in

*资助项目 Supported projects: 江西省赣州市科技计划项目(赣市科发[2021]24号); 江西省科技创新平台组建项目(20202BCD43006); 江西省重点研发计划项目(20212BBF61004)和赣州市科技计划项目(赣市科发[2023]44号)

**第一作者 First author, E-mail: 2844181141@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhongqiuzan@126.com

收稿日期 Received: 2023-05-02; 接受日期 Accepted: 2023-06-03

Africa (Uganda), but differ from those in Brazil. **[Conclusion]** This study clarifies the genetics of *S. frugiperda* in Ganzhou, Jiangxi province, thereby increasing the available information on the population genetics of this important global pest.

Key words *Spodoptera frugiperda*; rice strain; corn strain; molecular marker

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), 俗称秋粘虫 (Fall armyworm, FAW), 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 灰翅夜蛾属 *Spodoptera*, 是起源于美洲热带和亚热带地区的重要农业害虫 (赵胜园等, 2019)。该虫具有很强的迁飞扩散能力, 2016 年从美洲入侵非洲的中西部 (Goergen *et al.*, 2016), 2018 年 12 月, 草地贪夜蛾首次入侵我国, 不到一年的时间, 就已经分布在我国粮食主产区的 26 省 (直辖市、自治区) (姜玉英等, 2019, 2021), 已经发展成为我国农业的重要害虫, 对我国的粮食安全造成重大威胁 (王翔等, 2021)。

草地贪夜蛾可分为玉米型和水稻型 (Pashley *et al.*, 1985; 张磊等, 2019a), 玉米型一般以玉米、棉花和高粱为食, 水稻型一般以水稻及各种牧草为食 (Nagoshi and Meagher, 2004)。除喜食寄主外, 2 个品系的性信息素、交配行为、抗药性等方面存在较大差异。但是, 两者的外部形态没有差异, 难以辨别 (江南纪和王琛柱, 2019)。采用分子标记可以辨别草地贪夜蛾的生物类型 (Pashley *et al.*, 2004)。线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因 (Cytochrome oxidase subunit I, CO I) 可以鉴定玉米型、水稻型的草地贪夜蛾, 但 CO I 基因位于线粒体, 受母系遗传影响, 在同一寄主中往往可能存在 2 种类型的草地贪夜蛾 (Murúa *et al.*, 2015)。因此, Nagoshi (2010) 及 Nagoshi 和 Meagher (2016) 开发出位于细胞核内的 Z 染色体磷酸甘油醛异构酶基因 (Triose-phosphate isomerase, *Tpi*)。采用 *Tpi* 分子标记基因在同一寄主中只存在一种基因型的草地贪夜蛾 (Nagoshi, 2010; Murúa *et al.*, 2015)。此外, Nagoshi 等 (2019a) 发现玉米中存在 *Tpi*-C/CO I -R 杂合的草地贪夜蛾, 因此, 同时采用 CO I 和 *Tpi* 分子标记鉴定, 能够更加准确地鉴定草地贪夜蛾的生物类型。

江西省为亚热带湿润气候区, 是我国草地贪

夜蛾迁飞过渡区和高度适生区 (姜玉英等, 2019), 对江西的玉米生产构成威胁。本研究采集了江西省赣州市 4 个县 32 个草地贪夜蛾样本, 采用 CO I 和 *Tpi* 分子标记对入侵江西赣州的草地贪夜蛾进行分子鉴定, 有利于了解江西赣州的草地贪夜蛾的虫源信息、扩散规律, 为监测预警草地贪夜蛾的虫情及精准防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫采集

于 2022 年 5-6 月采自江西省赣州市 4 个县 32 个草地贪夜蛾样品, 所有样品均采用性诱捕剂诱捕, 样品为成虫。样品采集后放入酒精中浸泡, 低温运送至实验室, 具体采集信息见表 1。

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 Ezup 柱式动物组织基因组 DNA 抽提试剂盒 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司] 单头提取草地贪夜蛾成虫 DNA, 取 5 μ L DNA 溶液, 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 并使用分光光度计 (SMA4000, Merinton) 检测 DNA 的浓度和纯度, 经检测后作为 PCR 扩增模板。CO I 基因和 *Tpi* 基因的引物序列采用张磊等 (2019a) 的公布序列进行 PCR 扩增, PCR 扩增引物见表 2。

PCR 反应体系 (25 μ L): DNA 模板 1 μ L, 上下游引物各 1 μ L, dNTP (mix) 1 μ L, Taq Buffer (with $MgCl_2$) 2.5 μ L, Taq 酶 0.2 μ L, ddH₂O 18.3 μ L。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}C$ 预变性 5 min, 10 个循环, 每个循环 94 $^{\circ}C$ 变性 30 s, 63 $^{\circ}C$ 退火 30 s (每循环降 0.5 $^{\circ}C$), 72 $^{\circ}C$ 延伸 30 s, 30 个循环, 每个循环 95 $^{\circ}C$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}C$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}C$ 延伸 30 s, 72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min。PCR 扩增结束后, 使用 1% 琼脂糖电泳检测扩增片段特异性后切胶, 使用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒对目的条带进行回收, 送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序。

表 1 草地贪夜蛾采集信息
Table 1 Information of *Spodoptera frugiperda* collection

样品编号 Sample code	发育阶段 Stage	采集地点 Collection site	采集时间 Collection date	数量 (头) Number of samples (ind.)	经纬度 Latitude and longitude
gzln	成虫 Adult	龙南市, 渡江镇, 岭下村 Lingxia, Dujiang Longnan	5 月 20-24 日 20-24 May	25	114.75° E, 24.88°N
gzxf	成虫 Adult	信丰县, 西牛镇, 曾屋村 Zengwu, Xiniu, Xinfeng	5 月 26 日 26 May	1	114.95°E, 25.49°N
gzhc	成虫 Adult	会昌县, 小密乡, 莲塘村 Liantang, Xiaomi, Huichang	5 月 18-21 日 18-21 May	2	115.71°E, 25.85°N
gzrj	成虫 Adult	瑞金市, 叶坪镇, 松坪村 Songping, Yeping, Ruijin	6 月 17-22 日 17-22 June	4	116.11°E, 25.93°N

表 2 CO I 基因和 *Tpi* 基因片段扩增引物信息
Table 2 Primers of CO I gene and *Tpi* gene
fragments used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	扩增区域 Target
CO I -F	TTCGAGCTGAATTAGGGACTC	CO I
CO I R	GATGTA AAATATGCTCGTGT	CO I
<i>Tpi</i> -F	GGTGAAATCTCCCCTGCTATG	<i>Tpi</i>
<i>Tpi</i> -R	AATTTTATTACCTGCTGTGG	<i>Tpi</i>

1.3 数据分析

由生工生物工程(上海)股份有限公司完成 CO I 和 *Tpi* 基因的序列测定, 并利用 SeqMan 和 BioEdit 软件对正反向测序序列进行人工拼接及峰图校正, 获取准确的 CO I 和 *Tpi* 基因片段序列。从 NCBI 数据库中下载相关草地贪夜蛾 CO I 及 *Tpi* 基因序列, 采用 DNAMAN 软件对

所获得的基因序列进行多重序列比对及差异位点分析, 将序列一致的样本归为一类, 并选取其中一条序列为代表。选代表性样本序列, 使用 MEGA 6 采用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建系统发育树, 设 bootstrap 值为 1 000 进行计算, 构建完成的系统发育树在 FigTree 1.4 中进行编辑。

2 结果与分析

2.1 CO I 和 *Tpi* 基因 PCR 扩增

通过 DNA 提取、PCR 扩增及测序, 在 32 份样品中获得了与预期片段大小一致的基因片段。CO I 基因片段长度为 713-779 bp(图 1: A), *Tpi* 基因片段长度为 383-395 bp (图 1: B)。

2.2 CO I 基因序列比对与分析

对江西赣州 32 份草地贪夜蛾的 CO I 基因

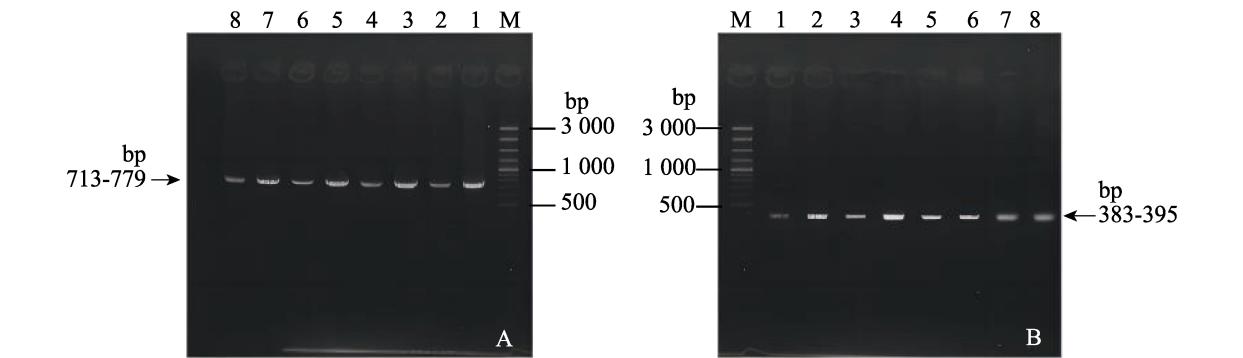


图 1 部分 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图
Fig. 1 Gel electrophoresis of partial PCR products

A. CO I 基因; B. *Tpi* 基因。M: 3 000 DNA Marker; 1-8: 江西样本。
A. CO I gene; B. *Tpi* gene. M: 3 000 DNA Marker; 1-8: Jiangxi samples.

序列比对之后发现,样本中存在 2 种序列,且同一类型的序列完全一致。从 2 种类型中选择一条样本作为代表[“龙南 10 号”(gzln10)为 strain1,“龙南 15 号”(gzln15)为 strain2],与已公布的 NCBI 上的序列比对,结果表明,样本中的 strain1 (玉米型)与 NCBI 上的 Corn strain(Sequence ID:

HM136592.1) 序列一致, strain2 (水稻型)与 NCBI 上的 Rice strain(Sequence ID: HM136602.1) 的序列一致,玉米型与水稻型之间存在 16 个 SNP 位点(图 2)。基于线粒体 CO I 基因分析结果表明,玉米型和水稻型在样本中的比例分别为 62.5%和 37.5%(表 3)。

Corn_strain	CCAGGATCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACTA	40	Corn_strain	CATTTGATCAAATACCTTTATTATTATTGAGCTGTAGGTAT	440
strain1	CCAGGATCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACTA	40	strain1	CATTTGATCAAATACCTTTATTATTATTGAGCTGTAGGTAT	440
Rice_strain	CCAGGATCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACTA	40	Rice_strain	CATTTGATCAAATACCTTTATTATTATTGAGCTGTAGGTAT	440
strain2	CCAGGATCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACTA	40	strain2	CATTTGATCAAATACCTTTATTATTATTGAGCTGTAGGTAT	440
Consensus	ccaggatctttaattggagatgatcaaatttataatacta		Consensus	catttgatcaaatacctttattattattgagctgtaggtat	
Corn_strain	TTGTAACAGCCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGT	80	Corn_strain	TACTGCATTCTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTATAGC	480
strain1	TTGTAACAGCCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGT	80	strain1	TACTGCATTCTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTATAGC	480
Rice_strain	TTGTAACAGCCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGT	80	Rice_strain	TACTGCATTCTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTATAGC	480
strain2	TTGTAACAGCCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGT	80	strain2	TACTGCATTCTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTATAGC	480
Consensus	ttgtaacagc ccatgcttttattataatTTTTTTATAGT		Consensus	tac gcaatt ttattattattatctttacctgTTTTAGC	
Corn_strain	TATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATTTGACTTTGTA	120	Corn_strain	GGAGCTATTACTATATTACTTACTGATCGAAATTTAAATA	520
strain1	TATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATTTGACTTTGTA	120	strain1	GGAGCTATTACTATATTACTTACTGATCGAAATTTAAATA	520
Rice_strain	TATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATTTGACTTTGTA	120	Rice_strain	GGAGCTATTACTATATTACTTACTGATCGAAATTTAAATA	520
strain2	TATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATTTGACTTTGTA	120	strain2	GGAGCTATTACTATATTACTTACTGATCGAAATTTAAATA	520
Consensus	tatacc attataattggaggatttggaaattgactttgta		Consensus	ggagctattactatattacttactgatcgaaat taata	
Corn_strain	CCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGTA	160	Corn_strain	CATCATTTCGATCCTGCAGGCTGGAGGTGATCCTATTCT	560
strain1	CCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGTA	160	strain1	CATCATTTCGATCCTGCAGGCTGGAGGTGATCCTATTCT	560
Rice_strain	CCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGTA	160	Rice_strain	CATCATTTCGATCCTGCAGGCTGGAGGTGATCCTATTCT	560
strain2	CCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGTA	160	strain2	CATCATTTCGATCCTGCAGGCTGGAGGTGATCCTATTCT	560
Consensus	cctttaaatattaggagc cctgatatagctttccacgta		Consensus	catcatttttcgatcctgcagg ggaggtgatcctattct	
Corn_strain	TAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCCCATCTTTAAC	200	Corn_strain	TTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGACATCTGGAAGTA	600
strain1	TAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCCCATCTTTAAC	200	strain1	TTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGACATCTGGAAGTA	600
Rice_strain	TAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCCCATCTTTAAC	200	Rice_strain	TTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGACATCTGGAAGTA	600
strain2	TAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCCCATCTTTAAC	200	strain2	TTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGACATCTGGAAGTA	600
Consensus	taataatataagtttttgacttttaccctcatctttaac		Consensus	ttatcaacattttatttttgatTTTTTggacatctggaagta	
Corn_strain	TTTATTAAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA	240	Corn_strain	TATATTTTAATTTTACCGGATTGGGTATAATTTCTCACA	640
strain1	TTTATTAAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA	240	strain1	TATATTTTAATTTTACCGGATTGGGTATAATTTCTCACA	640
Rice_strain	TTTATTAAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA	240	Rice_strain	TATATTTTAATTTTACCGGATTGGGTATAATTTCTCACA	640
strain2	TTTATTAAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA	240	strain2	TATATTTTAATTTTACCGGATTGGGTATAATTTCTCACA	640
Consensus	tttattaaatTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA		Consensus	tatatTTTAATTTTacc ggatttgggtataaTTCTCACA	
Corn_strain	ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCTCTAATATTG	280	Corn_strain	TTATTTCCCAAGAAAGAGGTAAAAAGGAAACATTGGGTG	680
strain1	ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCTCTAATATTG	280	strain1	TTATTTCCCAAGAAAGAGGTAAAAAGGAAACATTGGGTG	680
Rice_strain	ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCTCTAATATTG	280	Rice_strain	TTATTTCCCAAGAAAGAGGTAAAAAGGAAACATTGGGTG	680
strain2	ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCTCCTCTAATATTG	280	strain2	TTATTTCCCAAGAAAGAGGTAAAAAGGAAACATTGGGTG	680
Consensus	actggatgaacagtttaccCCCCCCTCTCCTCTAATATTG		Consensus	ttatttcc caagaaagaggtaaaaaggaaacatt gg tg	
Corn_strain	CTCATGGTGGTAGTTTCAGTAGATTTAGCTATTTTCTCACT	320	Corn_strain	TTTAGGTATAATTTTACGCTATATAGCAATTGGTTTATTA	720
strain1	CTCATGGTGGTAGTTTCAGTAGATTTAGCTATTTTCTCACT	320	strain1	TTTAGGTATAATTTTACGCTATATAGCAATTGGTTTATTA	720
Rice_strain	CTCATGGTGGTAGTTTCAGTAGATTTAGCTATTTTCTCACT	320	Rice_strain	TTTAGGTATAATTTTACGCTATATAGCAATTGGTTTATTA	720
strain2	CTCATGGTGGTAGTTTCAGTAGATTTAGCTATTTTCTCACT	320	strain2	TTTAGGTATAATTTTACGCTATATAGCAATTGGTTTATTA	720
Consensus	ctcatgggtgtagtttcagtagatttagctatTTTCTCACT		Consensus	tttaggtataatttta gctata tagcaattggtttatta	
Corn_strain	TCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTAGGAGCTATTAAC	360	Corn_strain	GGATTATTGTTTGAGCTCATCATATATTTTACTGTAGGAA	760
strain1	TCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTAGGAGCTATTAAC	360	strain1	GGATTATTGTTTGAGCTCATCATATATTTTACTGTAGGAA	760
Rice_strain	TCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTAGGAGCTATTAAC	360	Rice_strain	GGATTATTGTTTGAGCTCATCATATATTTTACTGTAGGAA	760
strain2	TCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTAGGAGCTATTAAC	360	strain2	GGATTATTGTTTGAGCTCATCATATATTTTACTGTAGGAA	760
Consensus	tcatttagctggaattttcatctatTTTAGGAGCTATTAAC		Consensus	ggatttattgTTTgagctcatcatatatttactgtaggaa	
Corn_strain	TTTATTACACTATTATTATAATACGATTAAATAAATTAT	400	Corn_strain	TAGATATTGATACA	774
strain1	TTTATTACACTATTATTATAATACGATTAAATAAATTAT	400	strain1	TAGATATTGATACA	774
Rice_strain	TTTATTACACTATTATTATAATACGATTAAATAAATTAT	400	Rice_strain	TAGATATTGATACA	774
strain2	TTTATTACACTATTATTATAATACGATTAAATAAATTAT	400	strain2	TAGATATTGATACA	774
Consensus	tttattac actattattataatACGATTAAATAAATTAT		Consensus	tagatattgataca	

图 2 江西赣州草地贪夜蛾 CO I 基因序列比对

Fig. 2 Alignment of CO I gene from *Spodoptera frugiperda* in Ganzhou, Jiangxi province

Corn strain(Sequence ID: HM136592.1)、Rice strain (Sequence ID: HM136602.1); strain1、strain2 分别为样本中的玉米型和水稻型的 CO I 基因序列代表。下图同。

Corn strain (Sequence ID: HM136592.1), Rice strain(Sequence ID: HM136602.1); strain1 and strain2 represent the CO I gene sequences of corn strain and rice strain in the sample, respectively. The same below.

表 3 基于 CO I 基因的玉米型占当地总样本量的百分比

Table 3 Corn strain as percentage of the total sample based on CO I gene markers

地点 Location	当地玉米型数量 (头) Number of corn strain (ind.)	当地总样本量 (头) Number of total local sample (ind.)	玉米型占当地总样本量的百分比 Corn strain as a percent of total local sample
龙南市 Longnan	15	25	60%
信丰县 Xinfeng	0	1	0
会昌县 Huichang	2	2	100%
瑞金市 Ruijin	3	4	75%

将所获得的 2 种草地贪夜蛾的 CO I 基因序列 strain1 (即 gzln10) 和 strain2 (即 gzln15) 在 NCBI 进行序列比对, 下载相似度较高的草地贪夜蛾 CO I 序列构建系统进化树 (图 3)。结果表明, 样本中的 strain1 与中国江苏南通、云南昆明、江西南昌及江西九江等、美国的波多黎各和佛罗里达、非洲的乌干达等的 CO I 序列一致, 与巴西的 CO I 序列存在一些差别, 但都属于玉米型。样本中的 strain2 与中国 (江苏、云南)、美国 (波多黎各、佛罗里达)、乌干达的 CO I 序列一致, 属于水稻型。

2.3 Tpi 基因序列比对与单倍型分析

分析表明, 本研究的 32 份 Tpi 序列均与玉米型草地贪夜蛾 (KT336237.1) 序列基本相符, 所有样品均属于玉米型。但是, 部分样品在 Tpi 基因第 3 个内含子的 173 和 174 碱基存在 “GA” 或 “AT” 2 种类型, 第 4 个外显子的 379、385 碱基存在 “TC”、“TT”、“CT” 和 “CC” 4 种类

型, 据此将所获得的 32 份草地贪夜蛾的 Tpi 基因序列分为 6 种不同类型, 分别命名为 gzln1、gzln2、gzln3、gzln4、gzln5 和 gzln6。根据 Nagoshi 等 (2018, 2019b) 将基于 Tpi 基因为玉米型的草地贪夜蛾细分为 “Tpi-Ca1 型” “Tpi-Ca2 型” 及杂合的玉米型草地贪夜蛾 “Tpi-Ca1/Ca2 型”。Nagoshi 等 (2019c) 在非洲草地贪夜蛾的杂合玉米型草地贪夜蛾 (Tpi-Ca1/Ca2 型) 中第 4 个外显子的 192、198 的碱基, 对应于本研究中第 4 个外显子的 379、385 碱基; 在非洲杂合玉米型草地贪夜蛾中第 4 个外显子的 192、198 的碱基为 “YY”, 而本研究的第 4 个外显子的 379、385 碱基存在 “TC”、“CT”、“TT” 和 “CC” 4 种不同类型。因此, 本研究中存在 3 种玉米型 (“Tpi-Ca1 型”、“Tpi-Ca2 型” 和 “Tpi-Ca1/Ca2 型”) 草地贪夜蛾。其中, 在赣州市龙南市渡江镇岭下村及瑞金市叶坪镇松坪村发现了杂合型玉米型草地贪夜蛾 (图 4)。

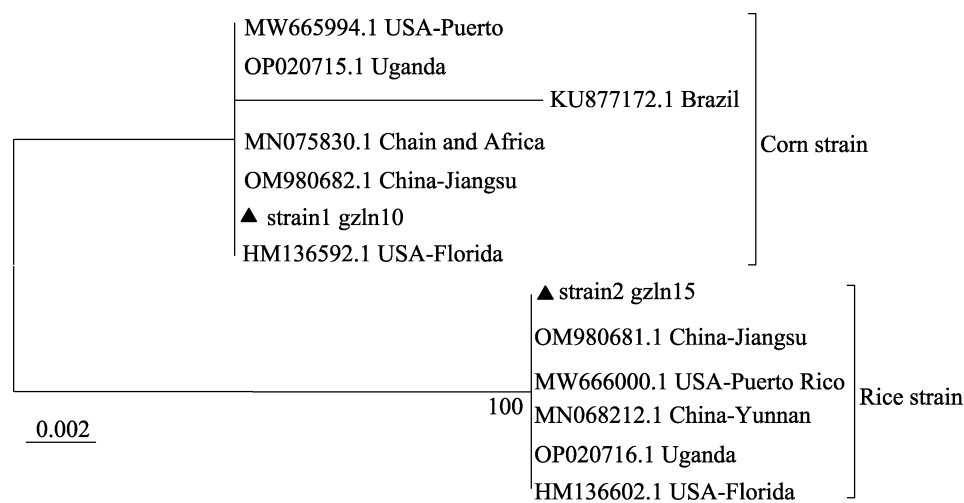
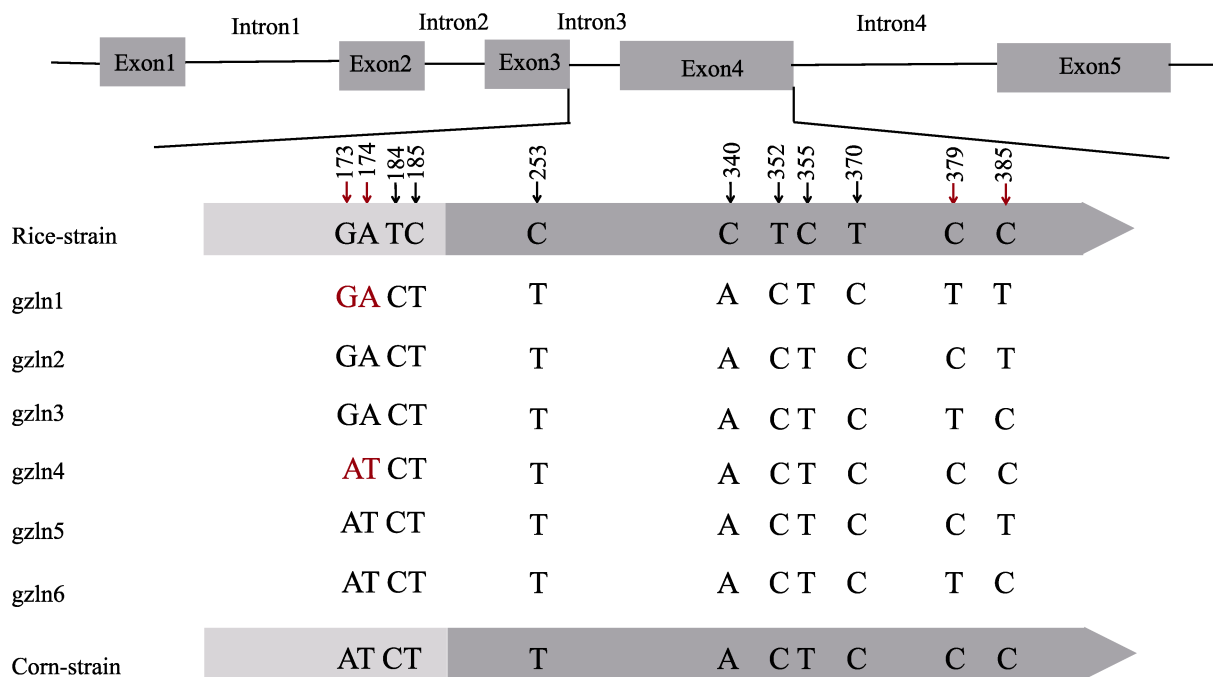


图 3 基于 CO I 序列构建的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on CO I gene fragments

图4 江西赣州草地贪夜蛾 *Tpi* 基因的多态性位点比较Fig. 4 Comparison of polymorphism sites of *Tpi* gene of *Spodoptera frugiperda* in Ganzhou, Jiangxi province

3 讨论

对入侵江西赣州的4个县32份草地贪夜蛾进行分子鉴定。基于线粒体 *CO I* 基因分析结果表明,32份样本中玉米型占62.5%,水稻型占37.5%;基于 *Tpi* 基因分析结果表明,所有样本均为玉米型。2种分子鉴定结果不一致,与前人研究结果相同(王佳丽等,2020;王亚如等,2020;张子腾等,2021)。由于 *CO I* 基因为母系遗传,而 *Tpi* 基因标记的是性染色体 Z (草地贪夜蛾雌性为 ZW,雄性为 ZZ),因此水稻型母本与玉米型父本杂交之后,进化形成 *Tpi*-C/*COI*-R 杂合型的草地贪夜蛾(徐丽娜等,2019;黄兰兰,2022;李大琪,2022;Nagoshi *et al.*, 2022;翟颖妍等,2022;王国迪,2023)。草地贪夜蛾具有很强的迁飞扩散能力,而江西位于我国华东地区,是草地贪夜蛾的迁飞过渡区(吴秋琳等,2019b)及高度适生区(秦誉嘉等,2019),江西地区的迁入种群很可能源于云南、广西、广东、福建等地(Zhou *et al.*, 2021)。基于前人研究,对云南、广西、广东、福建的草地贪夜蛾进行分子鉴定,基于 *CO I* 基因对草地贪夜蛾进行分析结果表明,云南均为水稻型;广西的4.55%为玉米型,

95.45%为水稻型;广东的2.92%为玉米型,97.08%为水稻型;福建的3.57%为玉米型,96.43%为水稻型;基于 *Tpi* 基因分析结果表明,云南、广西、广东、福建的草地贪夜蛾均为玉米型(张磊等,2019a, 2019b;王亚如,2020)。此外,张磊等(2019b)分析发现,江西省的17个样本均属于杂合型(*Tpi*-C/*CO I*-R)的草地贪夜蛾,而本研究中,玉米型(*Tpi*-C/*CO I*-C)占比多于杂合型(*Tpi*-C/*CO I*-R),其原因可能是样本少,也有可能是入侵的草地贪夜蛾在繁殖过程中逐渐被纯化,具体原因尚不明确,需进一步进行研究证实。

基于 *CO I* 基因构建的系统进化树,江西赣州的草地贪夜蛾与美国、非洲的为同类序列。原产于美洲热带及亚热带地区的草地贪夜蛾(Sparks, 1979)从美洲入侵非洲(Goergen *et al.*, 2016),之后再入中国(吴秋琳等,2019a)。入侵中国的草地贪夜蛾具备美国玉米型的遗传背景(Zhang *et al.*, 2020),而进化树中江西赣州的 *CO I* 基因序列与美国的完全一致。中国与非洲的草地贪夜蛾 *CO I* 基因序列相同(Nagoshi *et al.*, 2019b;张磊等,2019b),本研究中江西赣州的草地贪夜蛾也与非洲草地贪夜蛾完全相

同, 这与人关于草地贪夜蛾迁入我国的路径(张磊等, 2019b; 吴秋琳等, 2019a)研究结果一致。

基于 *Tpi* 基因鉴定结果显示, 入侵赣州的草地贪夜蛾有 6 种单倍亚型, 在第 3 个内含子的 173 和 174 碱基存在“GA”或“AT”2 种类型, 第 4 个外显子的 379、385 碱基存在“TC”、“TT”、“CT”和“CC”四种类型。根据 *Tpi* 基因的第 4 个外显子(第 4 个外显子的 379、385 碱基), 可对玉米型草地贪夜蛾的亚群进行细分为“*Tpi*-Ca1 型”“*Tpi*-Ca2 型”及杂合的玉米型草地贪夜蛾“*Tpi*-Ca1/Ca2 型”(Nayyar *et al.*, 2021)。*Tpi* 基因的玉米型亚型中, 广州、福建、重庆和北京等地的部分草地贪夜蛾在第 3 个内含子的 173 和 174 碱基存在“GA”或“AT”两种基因型的草地贪夜蛾(唐运林等, 2019; 陈冬平等, 2020; 王亚如等, 2020; 张子腾等, 2021), 而在 2019 年云南样本中只存在与玉米型完全相同的一种基因型的草地贪夜蛾(张磊等, 2019a)。草地贪夜蛾可能在传播过程中存在遗传杂交现象。此外, 本研究第 4 个外显子的 379、385 碱基存在“TT”“TC”“CT”“CC”4 种不同的碱基序列。而 Zhang 等(2020)对中国 103 个草地贪夜蛾 *Tpi* 基因进行扩增, 分析发现在第 4 个外显子的 379、385 碱基存在“TT”“CC”2 种不同的碱基序列。但在非洲(南非、刚果、多哥等)、印度、韩国均存在杂合的玉米型(*Tpi*-Ca1/ Ca2 型)草地贪夜蛾(Nagoshi *et al.*, 2019c; Acharya *et al.*, 2021; Nayyar *et al.*, 2021), 说明入侵江西赣州的草地贪夜蛾为可能是杂合群体, 非单一性虫源。

本研究中, 基于 *CO I* 基因结果显示, 玉米型草地贪夜蛾多于水稻型, 出现这个现象的原因尚不明确, 需要进一步深入研究; 基于 *Tpi* 基因鉴定, 出现了杂合的玉米型的草地贪夜蛾, 这个现象说明入侵江西赣州的草地贪夜蛾为杂合群体, 是非单一性虫源。本研究为分析江西赣州的草地贪夜蛾的来源、遗传特性、发生动态等提供更多的信息, 积累群体遗传理论数据, 提供科学信息。

参考文献 (References)

- Acharya R, Akintola AA, Malekera MJ, Kamulegeya P, Nyakunga KB, Mutimbu MK, Shrestha YK, Hemayet JSM, Hoat TX, Dao HT, Park JH, Kim I, Nam M, Lee SJ, Kim SM, Hwang HS, Lee KY, 2021. Genetic relationship of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) populations that invaded Africa and Asia. *Insects*, 12(5): 439.
- Chen DP, Chen ZT, Xu HH, Lin F, 2020. Host type identification of *Spodoptera frugiperda* invading in Guangzhou by different molecular markers. *Journal of South China Agricultural University*, 41(1): 17–21. [陈冬平, 陈志廷, 徐汉虹, 林菲, 2020. 应用不同分子标记鉴别入侵广州草地贪夜蛾的寄主型. 华南农业大学学报, 41(1): 17–21.]
- Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamò M, 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. *PLoS ONE*, 11(10): e0165632.
- Huang LL, Jiang JX, Wang JY, Zhang H, 2022. Molecular identification of *Spodoptera frugiperda* population in Shanghai. *Acta Agriculturae Shanghai*, 38(5): 59–64. [黄兰兰, 蒋杰贤, 王金彦, 张浩, 2022. 上海地区草地贪夜蛾种群的分子鉴定. 上海农业学报, 38(5): 59–64.]
- Jiang NJ, Wang CZ, 2019. Progress in sex pheromone communication of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(8): 993–1002. [江南纪, 王琛柱, 2019. 草地贪夜蛾的性信息素通讯研究进展. 昆虫学报, 62(8): 993–1002.]
- Jiang YY, Liu J, Xie MC, Li YH, Yyang JJ, Zhang ML, Qiu K, 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. *Plant Protection*, 45(6): 10–19. [姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤, 2019. 2019 年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护, 45(6): 10–19.]
- Jiang YY, Liu J, Wu QL, Ciren ZG, Zeng J, 2021. Investigation on winter breeding and overwintering areas of *Spodoptera frugiperda* in China. *Plant Protection*, 47(1): 212–217. [姜玉英, 刘杰, 吴秋琳, 次仁卓嘎, 曾娟, 2021. 我国草地贪夜蛾冬繁区和越冬区调查. 植物保护, 47(1): 212–217.]
- Li DQ, Ren MF, Wang SC, Jiang XL, Long JM, Zhang DX, Lu JJ, 2022. Molecular identification of *Spodoptera frugiperda* invading Shanxi province. *China Plant Protection*, 42(10): 5–8, 19. [李大琪, 任美凤, 王升琛, 蒋晓玲, 龙佳敏, 张东霞, 陆俊姣, 2022. 山西省草地贪夜蛾的生物型鉴定. 中国植保导刊, 42(10): 5–8, 19.]
- Murúa MG, Nagoshi RN, Dos Santos DA, Hay-Roe MM, Meagher RL, Vilardi JC, 2015. Demonstration using field collections that

- Argentina fall armyworm populations exhibit strain-specific host plant preferences. *Journal of Economic Entomology*, 108(5): 2305–2315.
- Nayyar N, Gracy RG, Ashika TR, Mohan G, Swathi RS, Mohan M, Chaudhary M, Bakthavatsalam N, Venkatesan T, 2021. Population structure and genetic diversity of invasive fall armyworm after 2 years of introduction in India. *Scientific Reports*, 11(1): 7760.
- Nagoshi RN, 2010. The fall armyworm triose phosphate isomerase (*Tpi*) gene as a marker of strain identity and interstrain mating. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2): 283–292.
- Nagoshi RN, 2019a. Evidence that a major subpopulation of fall armyworm found in the Western Hemisphere is rare or absent in Africa, which may limit the range of crops at risk of infestation. *PLoS ONE*, 14(4): e0208966.
- Nagoshi RN, Dhanani I, Asokan R, Mahadevaswamy HM, Meagher RL, 2019b. Genetic characterization of fall armyworm infesting South Africa and India indicate recent introduction from a common source population. *PLoS ONE*, 14(5): e0217755.
- Nagoshi RN, Goergen G, Tounou KA, Agboka K, Meagher RL, 2018. Analysis of strain distribution, migratory potential, and invasion history of fall armyworm populations in northern Sub-Saharan Africa. *Scientific Reports*, 8(1): 3710.
- Nagoshi RN, Goergen G, Plessis HD, van den Berg J, Meagher R Jr, 2019c. Genetic comparisons of fall armyworm populations from 11 countries spanning sub-Saharan Africa provide insights into strain composition and migratory behaviors. *Scientific Reports*, 9(1): 8311.
- Nagoshi RN, Goergen G, Koffi D, Agboka K, Adjevi AKM, Du Plessis H, Van den Berg J, Tepa-Yotto GT, Winsou JK, Meagher RL, Brévault T, 2022. Genetic studies of fall armyworm indicate a new introduction into Africa and identify limits to its migratory behavior. *Scientific Reports*, 12(1): 1941.
- Nagoshi RN, Meagher RL, 2004. Behavior and distribution of the two fall armyworm host strains in Florida. *Florida Entomologist*, 87(4): 440–449.
- Nagoshi RN, Meagher RL, 2016. Using intron sequence comparisons in the triose-phosphate isomerase gene to study the divergence of the fall armyworm host strains. *Insect Molecular Biology*, 25(3): 324–337.
- Pashley DP, Johnson SJ, Sparks AN, 1985. Genetic population structure of migratory moths: The fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 1985(6): 756–762.
- Pashley PD, McMichael M, Silvain JF, 2004. Multilocus genetic analysis of host use, introgression, and speciation in host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 97(5): 1034–1044.
- Qin YJ, Lan S, Zhao ZH, Sun HY, Zhu XM, Yang PY, Li ZH, 2019. Potential geographical distribution of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in China. *Plant Protection*, 45(4): 43–47. [秦誉嘉, 蓝帅, 赵紫华, 孙宏禹, 朱晓明, 杨普云, 李志红, 2019. 迁飞性害虫草地贪夜蛾在我国的潜在地理分布. 植物保护, 45(4): 43–47.]
- Sparks AN, 1979. A review of the biology of the fall armyworm. *The Florida Entomologist*, 62(2): 82–87.
- Tang YL, Gu RC, Wu YY, Zou XM, Zhang Z, Niu XH, Wang ZL, Chen J, Li T, Li CF, Wei JH, Pan GQ, Zhou ZY, 2019. Identification of the population biotype of *Spodoptera frugiperda* migrated to Chongqing area. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 41(7): 1–7. [唐运林, 顾偕铖, 吴燕燕, 邹祥明, 张祯, 牛小慧, 王泽乐, 陈洁, 李田, 李春峰, 韦俊宏, 潘国庆, 周泽扬, 2019. 入侵重庆地区的草地贪夜蛾种群生物型鉴定. 西南大学学报(自然科学版), 41(7): 1–7.]
- Wang GD, Feng HL, Wu TQ, Wang YX, Wu HM2, Rao Q, Zhang LL, 2023. Field population dynamics analysis and biotype identification of *Spodoptera frugiperda* in Hangzhou, China. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 35(5): 1116–1122. [王国迪, 冯行利, 吴涛起, 汪彦欣, 吴慧明, 饶琼, 张莉丽, 2023. 杭州地区草地贪夜蛾田间动态分析与生物型鉴定. 浙江农业学报, 35(5): 1116–1122.]
- Wang JL, Wei JQ, Sun ZX, Xu HH, Lin F, 2020. Haplotype and genetic diversity analysis of *Spodoptera frugiperda* invading in three provinces of central and southern China. *Journal of South China Agricultural University*, 41(1): 9–16. [王佳丽, 韦加奇, 孙志秀, 徐汉虹, 林菲, 2020. 入侵我国中南三省(区)草地贪夜蛾的单倍体型和群体遗传结构分析. 华南农业大学学报, 41(1): 9–16.]
- Wang X, Wang LM, 2021. Analysis on the potential effect of *Spodoptera frugiperda* on agricultural production in China. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 42(4): 229–236. [王翔, 王利民, 2021. 草地贪夜蛾对我国农业生产潜在影响程度的分析. 中国农业资源与区划, 42(4): 229–236.]
- Wang YR, Cai XY, Zhuang JX, Hou YM, 2020. Molecular identification of *Spodoptera frugiperda* invaded in Fujian province. *Plant Protection*, 46(4): 189–193. [王亚如, 蔡香云, 庄家祥, 侯有明, 2020. 入侵福建的草地贪夜蛾的分子鉴定. 植物保护, 46(4): 189–193.]
- Wu QL, Jiang YY, Wu KM, 2019a. Analysis of migration routes of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) from

- Myanmar to China. *Plant Protection*, 45(2): 1–6. [吴秋琳, 姜玉英, 吴孔明, 2019a. 草地贪夜蛾缅甸虫源迁入中国的路径分析. 植物保护, 45(2): 1–6.]
- Wu QL, Jiang YY, Hu G, Wu KM, 2019b. Analysis on spring and summer migration routes of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) from tropical and southern subtropical zones of China. *Plant Protection*, 45(3): 1–9. [吴秋琳, 姜玉英, 胡高, 吴孔明, 2019b. 中国热带和南亚热带地区草地贪夜蛾春夏两季迁飞轨迹的分析. 植物保护, 45(3): 1–9.]
- Xu LN, Hu BJ, Su XY, Qi RD, Su WH, Qiu K, Zhou ZY, Zheng ZY, Zheng QY, Hu F, Wang ZY, 2019. Genetic analysis of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* invaded in Anhui province. *Plant Protection*, 45(5): 47–53. [徐丽娜, 胡本进, 苏贤岩, 戚仁德, 苏卫华, 邱坤, 周子燕, 郑兆阳, 张启勇, 胡飞, 王振营, 2019. 入侵安徽省草地贪夜蛾的遗传分析. 植物保护, 45(5): 47–53.]
- Zhai YY, Yuan DZ, Zhao SL, Bai YW, Chen ZJ, Qian F, Zhu LX, Hong B, 2022. Biotypic identification of *Spodoptera frugiperda* populations invaded in Shaanxi province based on molecular markers. *Journal of Environmental Entomology*, 44(4): 784–791. [翟颖妍, 袁冬贞, 赵世磊, 白应文, 陈志杰, 钱丰, 朱陵侠, 洪波, 2022. 基于分子标记的入侵陕西草地贪夜蛾种群生物型分析. 环境昆虫学报, 44(4): 784–791.]
- Zhang L, Jin MH, Zhang DD, Jiang YY, Liu J, Wu KM, Xiao YT, 2019a. Molecular identification of invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in Yunnan province. *Plant Protection*, 45(2): 19–24, 56. [张磊, 靳明辉, 张丹丹, 姜玉英, 刘杰, 吴孔明, 萧玉涛, 2019. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定. 植物保护, 45(2): 19–24, 56.]
- Zhang L, Liu B, Jiang YY, Liu J, Wu KM, Xiao YT, 2019b. Molecular characterization analysis of fall armyworm populations in China. *Plant Protection*, 45(4): 20–27. [张磊, 柳贝, 姜玉英, 刘杰, 吴孔明, 萧玉涛, 2019b. 中国不同地区草地贪夜蛾种群生物型分子特征分析. 植物保护, 45(4): 20–27.]
- Zhang ZT, Xie AT, Dong J, Yang JG, Zhang AH, Wang SY, 2021. Identification of *Spodoptera frugiperda* host strains in Beijing and other regions. *China Plant Protection*, 41(10): 9–15. [张子腾, 谢爱婷, 董杰, 杨建国, 张爱环, 王帅宇, 2021. 北京等地区草地贪夜蛾种群生物型鉴定. 中国植保导刊, 41(10): 9–15.]
- Zhang L, Liu B, Zheng W, Liu C, Zhang D, Zhao S, Li Z, Xu P, Wilson K, Withers A, Jones CM, Smith JA, Chipabika G, Kachigamba DL, Nam K, d'Alençon E, Liu B, Liang X, Jin M, Wu C, Chakrabarty S, Yang X, Jiang Y, Liu J, Liu X, Quan W, Wang G, Fan W, Qian W, Wu K, Xiao Y, 2020. Genetic structure and insecticide resistance characteristics of fall armyworm populations invading China. *Molecular Ecology Resources*, 20(6): 1682–1696.
- Zhao SY, Luo QM, Sun XX, Yang XM, Jiang YY, Wu KM, 2019. Comparison of morphological and biological characteristics between *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera litura*. *China Plant Protection*, 39(5): 26–35. [赵胜园, 罗倩明, 孙小旭, 杨现明, 姜玉英, 吴孔明, 2019. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的形态特征和生物学习性比较. 中国植保导刊, 39(5): 26–35.]
- Zhou Y, Wu QL, Zhang HW, Wu KM, 2021. Spread of invasive migratory pest *Spodoptera frugiperda* and management practices throughout China. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(3): 637–645.