

基于线粒体 CO I 基因的荔枝蒂蛀虫 种群遗传多样性分析*

常虹** 高燕 王思威 王潇楠 刘艳萍***

(广东省农业科学院植物保护研究所, 农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640)

摘要 【目的】利用 CO I 基因片段揭示我国 13 个地理种群荔枝蒂蛀虫 *Conopomorpha sinensis* 的遗传结构及遗传多样性。【方法】对采自 13 个地理种群 258 个荔枝蒂蛀虫的 CO I 基因片段进行 PCR 扩增并测序, 利用生物信息学方法对种群的单倍型组成、遗传分化、基因流及遗传多样性等进行分析。【结果】经比对分析, 258 个样本扩增得到的 CO I 基因片段长度为 1 349 bp, 共分析出 56 种单倍型, 共享和特有单倍型的共存表明种群间既有基因交流又存在遗传分化; 其中 Hap_4 为各种群均存在的单倍型, 推测该单倍型是比较原始的, 且适应力强, 能在荔枝蒂蛀虫种群中稳定存在。遗传多样性结果显示其具有较高的单倍型多样性 (H_d) 和较低的核苷酸多样性 (P_i)。种群间总的固定系数 (F_{st}) 和基因流 (N_m) 分别为 0.085 和 5.382, 表明各地理种群间基因流水平较高。【结论】荔枝蒂蛀虫在各地理种群间具有较频繁的基因交流, 总群体在近期可能经历了快速的增长, 核苷酸突变累积时间不足, 导致其具有较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性。

关键词 荔枝蒂蛀虫; 地理种群; CO I 基因; 遗传多样性; 遗传分化

Genetic diversity of geographic populations of *Conopomorpha sinensis* based on the variation in the mitochondrial CO I gene

CHANG Hong** GAO Yan WANG Si-Wei WANG Xiao-Nan LIU Yan-Ping***

(Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China)

Abstract 【Objectives】To reveal the genetic structure and diversity of 13 geographical populations of *Conopomorpha sinensis* in China by analyzing variation in the CO I gene fragment. 【Methods】CO I gene fragments of 258 *C. sinensis* specimens from 13 geographical populations were amplified using PCR and sequenced. Based on the sequences obtained, haplotype composition, genetic diversity and genetic differentiation, of the geographic populations were analyzed with bioinformatic methods. 【Results】The length of the CO I gene fragment amplified from the 258 specimens was 1 349 bp. 56 haplotypes were identified, including 14 common haplotypes and 42 population-specific haplotypes, which indicates a relatively high level of gene flow and genetic differentiation among geographic populations. Haplotype 4 is a common haplotype among all 13 geographical populations, indicating that it is relatively primitive, adaptable and stable in *C. sinensis*. Genetic diversity analysis indicates that geographical populations of *C. sinensis* have high haplotype diversity (F_{st}) and low nucleotide diversity (N_m). The fixed coefficient (F_{st}) and gene flow (N_m) for all specimens were 0.085 and 5.382, respectively, indicating a high level of gene flow among populations. 【Conclusion】There is evidence of frequent gene exchange between different geographical populations of *C. sinensis*. The total population may have experienced rapid growth in the past, but

*资助项目 Supported projects: 广东省农业科学院院长基金项目 (202026); 广东省农业科学院青年导师制项目 (R2020QD-021)

**第一作者 First author, E-mail: changyan305@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuliuy@tom.com

收稿日期 Received: 2022-04-01; 接受日期 Accepted: 2022-07-28

there has been insufficient time to accumulate nucleotide mutations, resulting in a relatively high level of haplotype diversity, but a low level of nucleotide diversity.

Key words *Conopomorpha sinensis*; geographic populations; CO I gene; genetic diversity; genetic differentiation

荔枝蒂蛀虫 *Conopomorpha sinensis* Bradley 是为害荔枝龙眼的重大钻蛀性害虫, 主要分布在中国各荔枝龙眼主产区、印度、尼泊尔及东南亚等地 (李文景等, 2018; Yao *et al.*, 2021)。其主要以幼虫蛀食荔枝、龙眼的花穗、新叶、嫩梢和果实; 尤以危害果实为重, 一般年份蛀果率 10%-20%, 严重时高达 60%-90%, 显著降低果实品质甚至丧失经济价值, 对荔枝、龙眼产业造成巨大的经济损失 (Yao *et al.*, 2019; Vinod *et al.*, 2020)。然而, 由于荔枝蒂蛀虫在我国分布存在明显的地域性, 且其具有独特的生活习性, 难以饲养等因素, 使得对该虫的研究进展十分缓慢 (李文景等, 2018)。

目前, 荔枝蒂蛀虫的研究主要集中于生物学、生理生化、预测预报和防治技术等方面 (李文景等, 2018; Garima *et al.*, 2020; Srivastava *et al.*, 2020; Vinod *et al.*, 2020; Dalui and Sarkar, 2021; Yao *et al.*, 2021)。而有关荔枝蒂蛀虫种群遗传结构、各主要发生危害区的虫源关系及种群遗传多样性和进化关系等种群遗传学方面的研究较少, 仅基于转录组结果对该虫的 SSR 位点特征进行了分析, 并设计验证 4 对引物可用于扩增其 SSR 位点 (孟翔等, 2017)。对荔枝蒂蛀虫种群遗传结构进行分析, 不仅可为荔枝蒂蛀虫的进化关系及各发生危害区的虫源关系提供分子遗传学证据, 还可为掌握荔枝蒂蛀虫的发生规律, 对其进行有效的防治提供重要依据。

线粒体 DNA (mtDNA) 因其具有母系遗传、结构简单且高度保守、不易突变、进化速率较快等特点, 被广泛用于分子形态学、生物地理学和分子生物学等学科, 用以研究物种的分类鉴定及种群的地理隔离、系统发育和遗传进化等 (Cameron, 2014; Dong *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2022)。其中, 细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 是用于研究昆虫种群遗传学使用频率较高的线粒体分子标记之一, 已被用于

众多昆虫的种群遗传多样性和系统发育研究 (Kamal *et al.*, 2020; 李焱等, 2020; Iyiola *et al.*, 2021; 马琳等, 2021)。基于此, 本研究利用 CO I 基因片段对采自海南、福建、广东、广西等荔枝主产区的 13 个地理种群荔枝蒂蛀虫的单倍型组成、遗传多样性、遗传分化及基因流等进行研究, 依据不同地理种群间的亲缘关系和进化地位, 明确地理种群与地理分布间的相关性, 阐明其基因交流水平及种群间传播扩散的途径和机制; 为掌握荔枝蒂蛀虫的成灾规律, 进行有效防治提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

将 2020-2021 年间采自我国广西、广东、海南、福建等地的 258 个荔枝蒂蛀虫样本分别浸泡于无水乙醇中并进行标记, -20 °C 冰箱保存待用。采集地点及日期等信息详见表 1。

1.2 基因组 DNA 的提取

将单头荔枝蒂蛀虫样本从离心管中取出, 使用无菌水清洗 2-3 次后, 用液氮研磨成粉末置于 1.5 mL 离心管中, 利用磁珠法 (动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒, 北京金麦格生物技术公司) 提取基因组 DNA, 具体过程参照试剂盒说明书步骤进行操作。

1.3 CO I 基因的扩增与测序

根据荔枝蒂蛀虫 CO I 基因全长序列 (Genebank 登录号: OK310517), 使用 Primer Premier 5 设计扩增引物, 引物序列为: 正向 CO I-F 5'-TAATCCAGGATCTTTAATCGGTGA-3'; 反向 CO I-R 5'-TATGAATGTTTCAGCAGGAGGGA-3', 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。采用 25 μ L 的 PCR 反应体系进行扩增, 包括 DNA 模板 1 μ L, 10 μ mol/L 的正反向引物各 1 μ L,

表 1 荔枝蒂蛀虫样本采集信息
Table 1 Sampling information of *Conopomorpha sinensis*

种群代码 Population code	采集地 Sampling sites	纬度/经度 Latitude/Longitude	采集时间 Sampling date	样本数量 Number of samples
BS	云南保山 Baoshan, Yunnan	25.11°/99.17°	2020.07	21
DG	广东东莞 Dongguan, Guangdong	23.05°/113.76°	2021.06	18
GZ	广东广州 Guangzhou, Guangdong	23.61°/113.15°	2021.07	25
HK	海南海口 Haikou, Hainan	20.03°/110.33°	2020.03	20
HZ	广东惠州 Huizhou, Guangdong	22.98°/114.72°	2021.06	20
LZ	四川泸州 Luzhou, Guangdong	28.89°/105.44°	2020.07	24
MM	广东茂名 Maoming, Guangdong	21.92°/110.86°	2021.05	22
QZ	广西钦州 Qinzhou, Guangxi	22.42°/109.29°	2020.07	19
SW	广东汕尾 Shanwei, Guangdong	22.77°/115.36°	2021.06	20
XX	广东新兴 Xinxing, Guangdong	22.70°/112.23°	2021.06	17
YX	广东阳西 Yangxi, Guangdong	21.75°/111.62°	2021.06	19
ZJ	广东湛江 Zhanjiang, Guangdong	21.20°/110.41°	2021.06	16
ZZ	福建漳州 Zhangzhou, Fujian	24.51°/117.66°	2020.07	17

种群代码为各采集地的首字母缩写。下同。
Population code is the acronym of each collection site. The same as below.

10 mmol/L 的 dNTPs 1 μL, 含 Mg²⁺ 的 10×buffer 2.5 μL, 5 U/μL 的 Taq 酶 0.2 μL, dd H₂O 18.3 μL。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 63 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 10 个循环, 每个循环退火温度降 0.5 °C; 95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 下修复延伸 10 min, 4 °C 保存。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成测序。

1.4 数据处理与分析

利用 mafft v7.475 软件进行序列比对, 并将 5'端和 3'端差异较大的部分修剪对齐 (Katoh and Standley, 2013)。将比对后的序列导入 DnaSP Ver. 6.12.03, 进行单倍型组成及遗传多样性分析, 包括分离位点数目、单倍型数目、单倍型多样性等遗传学系数, 并进行 Fu's Fs statistic 和 Tajima's 检验。基于单倍型序列, 使用 FastTree version 2.1.10 构建 ML 进化树, 参数为 Generalized Time-Reversible (GTR) 模型, Shimodaira-Hasegawa (SH) 检验 (Price *et al.*, 2010)。利

用 MEGA X 计算核苷酸组成及变异位点等信息 (Kumar *et al.*, 2018); 并采用最大似然法 (Maximuim likelihood, ML) 计算种群间遗传距离, Bootstrap 设置 1 000。用 PopART 基于 Median-joining 构建种群内所有单倍型的中介网络图 (Leigh and Bryant, 2015)。利用 Arlequin3.5 软件对不同种群的基因流和 FSTs 进行计算 (Excoffier and Lischer, 2010)。

2 结果与分析

2.1 CO I 基因序列的特征分析

利用设计的引物对不同地理种群荔枝蒂蛀虫的 CO I 基因进行扩增测序, 序列经 Blast 比对确认后, 去除引物, 得到的序列长度为 1 349 bp。将序列导入软件 Mega X 进行特征分析, 该段序列含有的保守位点和变异位点分别为 1 115 个和 1 219 个, 简约变异信息位点为 74 个, 自裔位点为 41 个; A、T、G 和 C 碱基在所有序列中的平均含量依次为 31.6%、41.4%、13.9%和 13.2%, A+T 含量明显高于 C+G 含量, 具有明

表 2 碱基替换值
Table 2 The value of base substitution

位点 Position	相同碱基对 Identical base pairs (ii)	转换碱基对 Transitional base pairs (si)	颠换碱基对 Transversional base pairs (sv)	转换/颠换 si/sv	TT	TC	TA	CT	CC	AT	AA	GG	总数 Total
平均频率 Average frequency	1 279	2	3	0.76	528	1	1	1	168	1	405	178	1 283
第 1 位点 The first position	427	0	0	0.93	162	0	0	0	58	0	123	84	428
第 2 位点 The second position	424	1	1	1.36	187	0	0	1	78	0	105	54	427
第 3 位点 The third position	427	0	1	0.28	178	0	0	0	31	0	177	40	428

显的 A 和 T 使用偏好性。同时，对其转换与颠换值进行分析，结果如表 2 所示。结果表明，在不同地理种群间，该段基因相当保守，其发生转换（si）与颠换（sv）的频率极低，占总位点数的比例分别为 0.16%和 0.23%。

2.2 不同地理种群荔枝蒂蛀虫的遗传多样性分析

基于获得的 CO I 基因片段,对 13 个地理种群荔枝蒂蛀虫的遗传多样性进行分析,结果如表 3 所示。不同地理种群间多态性位点数及单倍型

数目略有差异,多态性位点数和单倍型数目最少的是 ZJ 种群,分别为 1 个和 2 个;HK 种群含有的多态性位点数最多,为 26 个;LZ 和 MM 种群含有的单倍型数目最多,均为 11 个。单倍型多样最高的是 QZ 种群,为 0.865 50,说明其具有较高的遗传多样性;而单倍型多样性值最低的是 XX 种群 (0.227 94),说明其遗传多样性较低。不同种群间核苷酸多样性变化较大,为 0.000 29 (XX 种群) - 0.003 04 (HK 种群),平均为 0.001 61。13 个地理种群间核苷酸差异平均数同核苷酸多样性有相似的趋势,其中 XX 种群

表 3 基于 CO I 基因的不同地理种群荔枝蒂蛀虫的遗传多样性分析
Table 3 Genetic diversity analysis of *Conopomorpha sinensis* in different geographical populations based on CO I gene

种群 Population	分离位点数目 Number of segregating sites (S)	单倍型数目 Number of haplotypes (h)	单倍型多样性 Haplotype diversity (Hd)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (Pi)	核苷酸多样性校正值 Nucleotide diversity (PiJC)	核苷酸差异平均数 Average number of nucleotide differences (K)
BS	12	9	0.847 62	0.002 06	0.002 07	2.509 52
DG	4	6	0.562 09	0.000 89	0.000 89	1.078 43
GZ	14	9	0.546 67	0.001 43	0.001 43	1.740 00
HK	23	10	0.863 16	0.003 04	0.003 05	3.700 00
HZ	6	8	0.589 47	0.000 85	0.000 85	1.036 84
LZ	13	11	0.786 23	0.001 77	0.001 77	2.152 17
MM	8	11	0.796 54	0.001 22	0.001 22	1.484 85
QZ	11	9	0.865 50	0.001 83	0.001 83	2.222 22
SW	7	5	0.600 00	0.001 48	0.001 48	1.800 00
XX	3	3	0.227 94	0.000 29	0.000 29	0.352 94
YX	5	6	0.695 91	0.000 98	0.000 98	1.192 98
ZJ	1	2	0.400 00	0.000 33	0.000 33	0.400 00
ZZ	13	5	0.647 06	0.002 79	0.002 80	3.397 06
Total	60	56	0.692 52	0.001 61	0.001 61	1.961 69

数值最小, 为 0.352 94, 而海口种群数值最大, 为 3.700 00, 种群间的平均值为 1.961 69。

基于 CO I 基因的各地理种群荔枝蒂蛀虫的单倍型组成及中性检验结果如表 4 所示, 不同地理种群单倍型组成差异较大。各地理种群间的 Tajima's 中性检验值为 - 1.943(XX 种群) - 0.838 (ZJ 种群), 除 GZ 和 XX 种群 ($P < 0.05$) 外, 其余种群 Tajima's 中性检验结果不显著 ($P >$

表 4 基于 CO I 基因的不同地理种群荔枝蒂蛀虫的单倍型分析及中性检验结果

Table 4 Haplotype analysis and neutral test results of *Conopomorpha sinensis* in different geographical populations based on CO I gene

种群 Population	单倍型组成 Haplotype composition	Tajima's 检验 Tajima's D test	显著性 Statistical significance	Fu's Fs 检验 Fu's Fs statistic	P 值 P-value
BS	Hap_1 (2), Hap_2 (6), Hap_3 (2), Hap_4 (6), Hap_5 (1), Hap_6 (1), Hap_7 (1), Hap_8 (1), Hap_9 (1)	- 0.981	$P > 0.10$	- 2.982	0.032*
DG	Hap_2 (1), Hap_3 (1), Hap_4 (12), Hap_10 (2), Hap_11 (1), Hap_12 (1)	- 0.549	$P > 0.10$	- 1.93	0.083
GZ	Hap_2 (1), Hap_4 (17), Hap_13 (1), Hap_14 (1), Hap_15 (1), Hap_16 (1), Hap_17 (1), Hap_18 (1), Hap_19 (1)	- 1.860	$P < 0.05^*$	- 3.388	0.022*
HK	Hap_2 (3), Hap_4 (7), Hap_11 (1), Hap_12 (2), Hap_20 (1), Hap_21 (2), Hap_22 (1), Hap_23 (1), Hap_24 (1), Hap_25 (1)	- 1.801	$0.10 > P > 0.05$	- 1.562	0.098
HZ	Hap_2 (1), Hap_4 (13), Hap_14 (1), Hap_26 (1), Hap_27 (1), Hap_28 (1), Hap_29 (1), Hap_30 (1)	- 1.566	$P > 0.10$	- 2.818	0.039*
LZ	Hap_2 (3), Hap_4 (11), Hap_5 (1), Hap_6 (2), Hap_11 (1), Hap_30 (1), Hap_31 (1), Hap_32 (1), Hap_33 (1), Hap_34 (1), Hap_35 (1)	- 1.186	$P > 0.10$	- 6.346	0.001*
MM	Hap_2 (1), Hap_4 (10), Hap_12 (2), Hap_21 (1), Hap_36 (1), Hap_37 (1), Hap_38 (1), Hap_39 (1), Hap_40 (2), Hap_41 (1), Hap_42 (1)	- 0.678	$P > 0.10$	- 9.008	0*
QZ	Hap_2 (2), Hap_4 (6), Hap_12 (4), Hap_39 (1), Hap_43 (1), Hap_44 (1), Hap_45 (1), Hap_46 (2), Hap_47 (1)	- 0.763	$P > 0.10$	- 3.388	0.023*
SW	Hap_2 (1), Hap_4 (12), Hap_48 (5), Hap_49 (1), Hap_50 (1)	- 0.150	$P > 0.10$	0.276	0.219
XX	Hap_2 (1), Hap_4 (15), Hap_17 (1)	- 1.943	$P < 0.05^*$	- 2.755	0.047*
YX	Hap_4 (10), Hap_11 (2), Hap_36 (1), Hap_40 (4), Hap_51 (1), Hap_52 (1)	- 0.789	$P > 0.10$	- 2.716	0.044*
ZJ	Hap_4 (12), Hap_12 (4)	0.838	$P > 0.10$	0.523	0.307
ZZ	Hap_4 (10), Hap_53 (2), Hap_54 (2), Hap_55 (2), Hap_56 (1)	- 0.636	$P > 0.10$	0.428	0.217

Hap_: Haplotype, 单倍型; Hap_1-Hap_56: 单倍型 1-单倍型 56; 括号内数字代表具有该单倍型的个数; *表示在 0.05 水平上差异显著 (Tajima's D 检验)。

The numbers in brackets show the number of haplotype; * indicates significantly different at the 0.05 level (Tajima's D test).

0.05)。各地理种群间的 Fu's F_s 中性检验值为 -9.008 (MM 种群) - 0.523 (ZJ 种群), 除 DG、HK、SW、ZJ 和 ZZ 种群中性检验结果不显著 ($P > 0.05$) 外, 其余种群结果显著 ($P < 0.05$)。GZ 和 XX 种群 Tajima's 和 Fu's F_s 检验结果均为负值, 且 $P < 0.05$, 说明这两个地区的荔枝蒂蛀虫经历过较为明显的种群扩张; 而其他地区 Tajima's 检验结果不显著, 表明这些地区的种群未经历明显的种群扩张。综合分析结果表明荔枝蒂蛀虫总体上在较短的一段时间内没有经历

明显的种群扩张。

2.3 单倍型系统发育分析

13 个地理种群的荔枝蒂蛀虫中共检测出 Hap_1-Hap_56 的 56 个单倍型, 其中共享单倍型有 14 个 (Hap_2、Hap_3、Hap_4、Hap_5、Hap_6、Hap_11、Hap_12、Hap_14、Hap_17、Hap_21、Hap_30、Hap_36、Hap_39 和 Hap_40)。单倍型 Hap_4 为 13 个地理种群的共享单倍型 (图 1)。

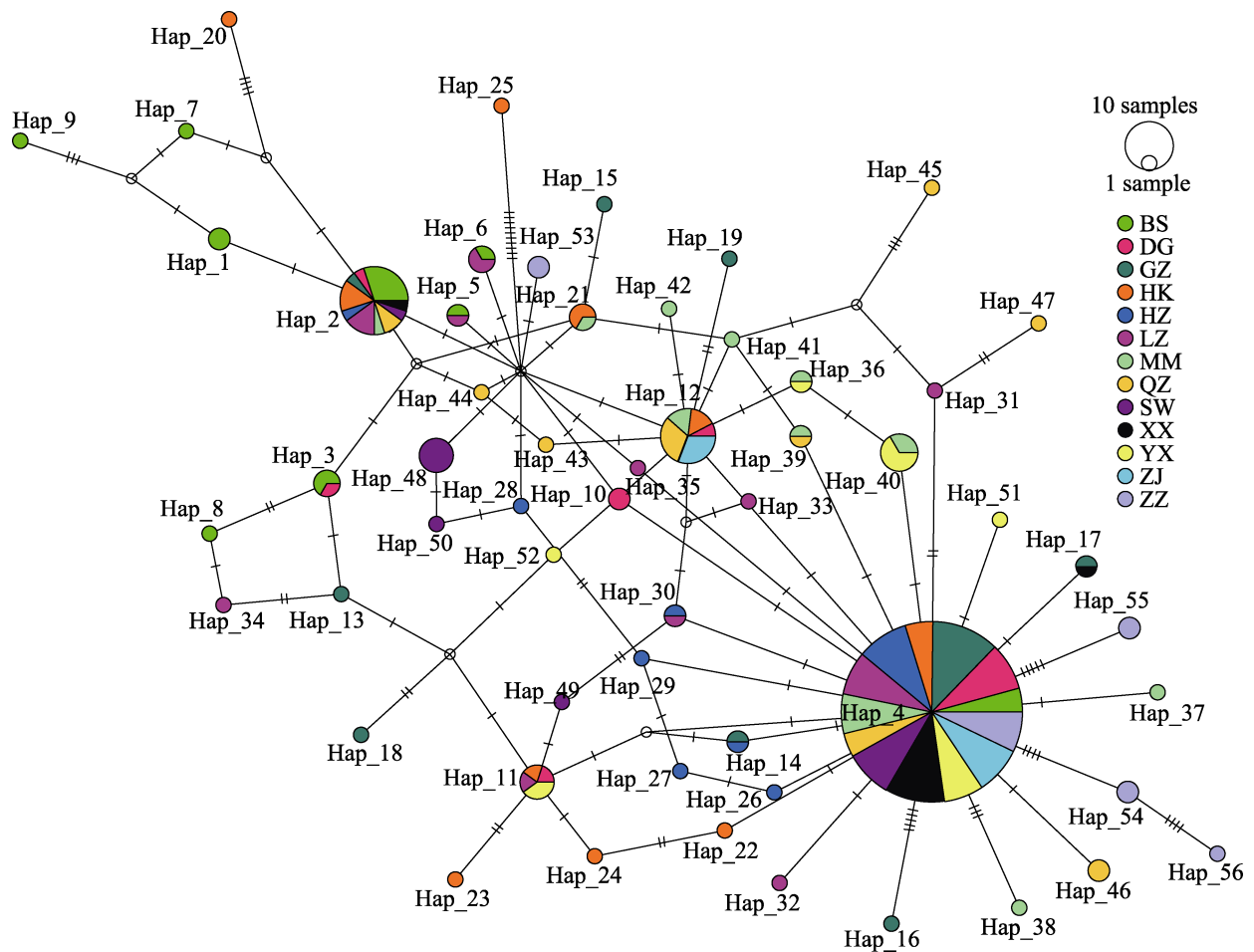


图 1 基于 CO I 基因的荔枝蒂蛀虫的单倍型中介网络图

Fig. 1 Median-joining haplotype network map of *Conopomorpha sinensis* based on CO I gene

圆形面积代表单倍型的数量, 圆内同一颜色的面积代表种群在该单倍型中所占的比例。

The circular area shows the number of haplotypes, the area of the same color in the circle shows the proportion of the population in the haplotype. Hap_: Haplotype, 单倍型; Hap_1-Hap_56: 单倍型 1-单倍型 56. 下图同。The same below.

以单倍型构建的系统发育树如图 2 所示, 因 56 个单倍型中, 有 42 个单倍型为种群特有, 占有单倍型种类的 75.0%, 故单倍型构建的

系统进化树未形成明显的类群分支, 但仍具有一定的进化关系, 如 Hap 1 和 Hap 9 为 BS 种群的特有单倍型, 聚类成一个小的分支; Hap

枝蒂蛀虫聚类为一大的分支, 且与外种群分开。惠州 (HZ) 和汕尾 (SW) 种群先聚类成一小的分支, 再与海口 (HK) 种群聚类。东莞 (DG) 和泸州 (LZ) 种群聚类成一小的分支, 再与湛江 (ZJ) 和漳州 (ZZ) 种群聚类。结合各种群包含的单倍型组成进行分析, 发现聚类的各种群间均含有相同的单倍型, 如 HZ 和 SW 种群均含

有单倍型 Hap_2 和 Hap_4; DG 和 LZ 种群均含有单倍型 Hap_2、Hap_4 和 Hap_11。结合地理距离进行分析, 存在距离较近的地理种群聚类在一起 (如 HZ 和 SW); 但也存在距离较远的种群聚在一起的 (如 DG 和 LZ), 表明种群聚类分析同地理位置不存在明显的相关性, 荔枝蒂蛀虫未形成明显的系统地理格局。

表 5 基于 CO I 基因的不同地理种群荔枝蒂蛀虫的遗传距离

Table 5 Genetic distance of *Conopomorpha sinensis* in different geographical populations based on CO I gene

种群 Population	BS	DG	GZ	HK	HZ	LZ	MM	QZ	SW	XX	YX	ZJ	ZZ
BS		0.001 0	0.001 2	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 1	0.001 0	0.001 7
DG	0.002 8		0.000 7	0.000 8	0.000 6	0.000 8	0.000 6	0.000 7	0.000 8	0.000 6	0.000 6	0.000 5	0.001 1
GZ	0.003 5	0.002 0		0.001 0	0.000 7	0.000 9	0.000 7	0.000 8	0.000 9	0.000 6	0.000 7	0.000 6	0.001 3
HK	0.003 6	0.002 5	0.003 2		0.000 9	0.001 0	0.000 9	0.000 9	0.001 0	0.000 9	0.000 9	0.000 8	0.001 5
HZ	0.003 2	0.001 7	0.002 2	0.002 9		0.000 8	0.000 7	0.000 8	0.000 8	0.000 5	0.000 6	0.000 5	0.001 3
LZ	0.003 4	0.002 2	0.002 7	0.003 2	0.002 4		0.000 8	0.000 9	0.000 9	0.000 7	0.000 7	0.000 7	0.001 4
MM	0.003 0	0.001 6	0.002 2	0.002 7	0.001 7	0.002 1		0.000 7	0.000 8	0.000 6	0.000 7	0.000 6	0.001 0
QZ	0.003 2	0.002 0	0.002 5	0.003 0	0.002 2	0.002 7	0.001 9		0.000 9	0.000 7	0.000 7	0.000 6	0.001 4
SW	0.003 1	0.001 9	0.002 5	0.003 0	0.002 0	0.002 4	0.001 9	0.002 3		0.000 7	0.000 8	0.000 7	0.001 3
XX	0.002 9	0.001 3	0.001 8	0.002 6	0.001 3	0.001 9	0.001 4	0.001 8	0.001 7		0.000 5	0.000 5	0.001 1
YX	0.003 1	0.001 5	0.002 0	0.002 7	0.001 6	0.002 1	0.001 5	0.002 0	0.001 9	0.001 2		0.000 5	0.001 1
ZJ	0.002 6	0.001 0	0.001 7	0.002 3	0.001 2	0.001 6	0.001 1	0.001 4	0.001 5	0.000 9	0.001 1		0.001 0
ZZ	0.006 2	0.004 3	0.005 1	0.005 7	0.004 8	0.005 5	0.003 5	0.005 1	0.004 5	0.004 1	0.004 0	0.003 5	

上三角为标准误, 下三角为遗传距离。

The upper triangle is the standard error and the lower triangle is the genetic distance.

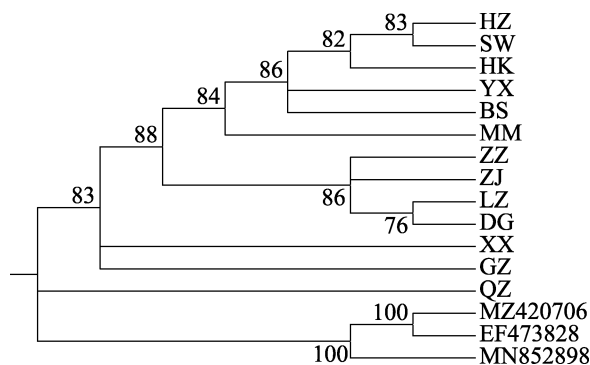


图 3 基于 CO I 基因的荔枝蒂蛀虫不同地理种群间的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree among different geographical populations of *Conopomorpha sinensis* based on CO I gene

种群代码同表 1。

The population code is the same as table 1.

基于 CO I 基因序列对不同地理种群间荔枝蒂蛀虫的遗传分化指数 (F_{st}) 和基因流 (N_m) 进行分析, 结果如表 6 所示。荔枝蒂蛀虫各种群间的遗传分化指数 (F_{st}) 为 -0.025-0.286。两两地理种群间共形成 78 组比较, 其中 22 组的 F_{st} 值极显著高于其余 56 组 ($P < 0.01$), F_{st} 值为 0.062-0.286; 12 组的 F_{st} 值显著高于其余 44 组 ($P < 0.05$), F_{st} 值为 0.062-0.180。此外, 11 组数据的 F_{st} 值小于 0 (- 0.025- - 0.007), 表明两个种群间具有频繁的基因交流; 21 组数据的 F_{st} 值大于 0 且小于 0.05 (0.004-0.049), 表明两个种群间不存在遗传分化或遗传分化的程度较低; 29 组数据的 F_{st} 值大于 0.05 且小于 0.15 (0.051- 0.143), 表明两个种群间存在中度

分化; 12 组数据的 F_{st} 值大于 0.15 且小于 0.25 (0.153-0.236), 表明两个种群间存在高度分化; 12 组数据的 F_{st} 值大于 0.25 (0.254-0.286), 表明两个种群间出现极度分化 (Rousset, 1997)。在 13 个地理种群中, BS 种群同其他种群相比, 遗传分化程度较高, F_{st} 值为 0.068-0.286; DG 种群遗传分化程度最低, 除与 BS 种群 (F_{st} = 0.166)、MM 种群 (F_{st} = 0.127) 和 YX 种群间 (F_{st} = 0.082) 存在较大的遗传分化外, 与其他种群基因间 (F_{st} 值为 - 0.016-0.042) 交流较频繁, 遗传分化较低或未出现遗传分化。不同群体间总的 F_{st} 值为 0.085, 表明总群体间存在中度的遗传分化。同时, 总的基因流 N_m 为 5.382, 表明各地理种群间存在较高水平的基因流。除 11 组 N_m 为正无限大外, 其余组间 N_m 为 1.251-128.785 (表 6)。

表 6 基于 CO I 基因的不同地理种群荔枝蒂蛀虫的遗传分化指数和基因流
Table 6 Population pairwise genetic fixation index (F_{st}) and gene flow (N_m) of *Conopomorpha sinensis* between different geographical populations based on CO I gene

	BS	DG	GZ	HK	HZ	LZ	MM	QZ	SW	XX	YX	ZJ	ZZ
BS		2.517	1.944	6.900	1.287	4.910	1.377	2.770	1.799	1.467	1.428	1.251	2.027
DG	0.166**		inf	inf	15.105	inf	3.440	43.084	11.319	inf	5.595	11.996	12.248
GZ	0.205**	- 0.016		17.709	inf	128.785	2.200	9.743	3.945	inf	3.190	6.314	7.523
HK	0.068**	- 0.011	0.027		5.698	inf	4.405	inf	14.693	10.608	5.896	10.829	7.407
HZ	0.280**	0.032	- 0.009	0.081**		15.420	1.615	4.156	2.282	inf	2.086	2.691	5.806
LZ	0.092**	- 0.010	0.004	- 0.007	0.031		2.277	12.241	4.320	25.695	2.993	4.248	7.524
MM	0.266**	0.127	0.185**	0.102	0.236**	0.180**		8.120	21.398	2.510	inf	10.217	3.856
QZ	0.153**	0.011	0.049	- 0.012	0.107**	0.039	0.058		64.547	9.774	8.565	inf	6.997
SW	0.217**	0.042	0.113*	0.033	0.180*	0.104*	0.023	0.008		4.167	23.137	45.961	5.525
XX	0.254**	- 0.011	- 0.025	0.045	- 0.017	0.019	0.166*	0.049	0.107		3.549	7.400	9.291
YX	0.259**	0.082	0.136*	0.078*	0.193**	0.143**	- 0.019	0.055	0.021	0.123		13.760	5.685
ZJ	0.286**	0.040	0.073	0.044	0.157*	0.105**	0.047	- 0.019	0.011	0.063	0.035		6.075
ZZ	0.198**	0.039	0.062**	0.063**	0.079*	0.062*	0.115*	0.067*	0.083	0.051	0.081*	0.076	

*和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上差异显著 (AMOVA 检验)。Inf: 无限大 Infinite.
* and ** show significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$ level (AMOVA test), respectively.

3 结论与讨论

线粒体 CO I 基因已被广泛应用于昆虫种群遗传结构及多样性分析的研究, 如利用 CO I 基因对宽带果实蝇 *Zeugodacus scutellatus*(Hendel) (刘晓飞等, 2019)、番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (马琳等, 2021)、东方蜜蜂 *Apis cerana* (Khan, 2021) 和辣椒象甲 *Anthonomus eugenii* (Fernández *et al.*, 2022) 等昆虫的种群遗传分化进行研究。本研究利用 CO I 基因部分序列对采自 13 个地理种群的荔枝蒂蛀虫的遗传结构及多样性进行了研究, 获得的序列片段长度为

1 349 bp。该段序列具有明显的 A/T 碱基偏好性, 符合昆虫典型线粒体基因组碱基组成的特点 (Liu and Beckenbach, 1992; Dong *et al.*, 2021), 与鳞翅目昆虫的线粒体基因碱基组成结果相一致, 如大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella*(史树森等, 2018) 和草地螟 *Loxostege sticticalis*(呼晓庆和杨兆富, 2019) 的 AT 含量明显高于 CG 含量。
遗传多样性是由于核苷酸序列发生变化引起的, 其中单倍型多样性 (Hd) 和核苷酸多样性 (Pi) 是评价物种遗传多样性的重要指标。本研究对荔枝蒂蛀虫种群的 Hd 和 Pi 进行了分析,

结果表明该虫具有较高的单倍型多样性 ($Hd = 0.692\ 52$) 和较低的核苷酸多样性 ($Pi = 0.001\ 61$), 与黑唇苜蓿盲蝽 *Adelphocoris nigritylus* (张利娟等, 2018; 王梦琦等, 2020)、烟盲蝽 *Nesidiocoris tenuis* (Xun *et al.*, 2016) 和草地螟 (呼晓庆和杨兆富, 2019) 种群的遗传多样性结果相一致。通常认为, 种群经历了瓶颈效应后迅速膨胀使得 $Hd \geq 0.5$ 且 $Pi < 0.005$ (Cook *et al.*, 1997; Grant and Bowen, 1998)。据此推测荔枝蒂蛀虫总群体在近期可能经历了快速的增长, 核苷酸突变累积时间不足, 导致其具有较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性。

13 个地理种群的荔枝蒂蛀虫共产生 56 种单倍型, 共享和特有单倍型的共存表明种群间既有基因交流又存在遗传分化 (谢艳兰等, 2019; 徐叶等, 2019); 其中 Hap_4 为各种群均存在的单倍型, 推测该单倍型是比较原始的, 且适应力强能在荔枝蒂蛀虫种群中稳定存在 (徐叶等, 2019)。单倍型中介网络图结合单倍型系统发育树分析得出, 所有单倍型没有按照地理种群进行排列, 是混杂排列的。尽管如此, 部分种群特有的单倍型, 还是形成了独立的分支, 如 Hap_54 和 Hap_56 为 ZZ 种群所特有, 它们形成了独立的一分支; Hap_20、Hap_23 和 Hap_25 为 HK 种群特有, 分别独立形成一小分支; Hap_45 和 Hap_47 为 QZ 种群所特有, 分别独立形成一小分支, 结合地理距离进行分析, 这些种群间地理距离较远, 各地理种群形成了其特有的单倍型, 推断地理隔离可能是其产生遗传分化的主要原因 (谢艳兰等, 2019)。

种群遗传分化的程度常用 F_{st} 和 N_m 值进行判断。 F_{st} 值介于 -1-1 之间, 其数值越大代表种群间的遗传分化程度越高 (Hudson *et al.*, 1992)。依据表 6 中 F_{st} 值计算可得, 41.03% 的 F_{st} 值小于 0.05, 表明两个种群间无遗传分化; 30.77% 的 F_{st} 值大于 0.15, 表明两个种群间遗传分化的程度高 (Wright, 1978)。基因流是导致种群遗传结构均质化的主要原因, N_m 值高的种群间比 N_m 值低的种群间遗传分化程度要低。若 $N_m < 1$, 代表影响遗传分化的主要因素是遗传漂变; 若 $N_m > 4$ 则代表种群间基因交流频繁 (Millar *et al.*,

1991; Boivin *et al.*, 2004)。荔枝蒂蛀虫总群体 N_m 为 5.382, 说明总群体具有较高的基因交流, 而该虫飞行能力一般 (Zhang *et al.*, 2016; 李文景等, 2018), 推测荔枝蒂蛀虫通过飞行进行不同地理种群间基因交流的可能性较小。随着物流业的快速发展, 交通运输成为昆虫进行长距离基因交流的一种重要途径 (Tuda *et al.*, 2014), 推测快速的交通运输可能是荔枝蒂蛀虫群体基因交流水平较高的主要原因, 该结果同葱斑潜蝇 *Liriomyza chinensis* 研究结果相似 (钟裕俊等, 2020), 需要进一步研究证实。

本研究仅利用线粒体 CO I 基因部分片段对采自我国广东、海南、广西等地的荔枝蒂蛀虫进行种群遗传结构及遗传多样性分析, 还需验证其他基因是否适合作为分子标记研究荔枝蒂蛀虫种群的遗传多样性。此外, 还需扩大样品量, 深入研究荔枝蒂蛀虫种群的遗传变异及其地理种群分化格局产生的具体原因。

参考文献 (References)

- 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.
- Cameron SL, 2014. Insect mitochondrial genomics: Implications for evolution and phylogeny. *Annual Review of Entomology*, 59: 95–117.
- Cook RM, Sinclair A, Stefánsson G, 1997. Potential collapse of North Sea cod stocks. *Nature*, 385(6616): 521–522.
- Dalui T, Sarkar SK, 2021. Seasonal incidence and damage potentiality of litchi fruit borer (*Conopomorpha sinensis* Bradley, 1986) in relation to major abiotic environmental factors. *Ecology, Environment and Conservation*, 27(Feb Suppl. Issue): S302–S307.
- Dong ZK, Wang YZ, Li C, Li LL, Men XY, 2021. Mitochondrial DNA as a molecular marker in insect ecology: Current status and future prospects. *Annals of the Entomological Society of America*, 114: 470–476.
- 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.
- Fernández DC, VanLaerhoven SL, Rodríguez-Leyva E, Zhang YM, Labbé R, 2022. Population structure and genetic diversity of the

- Pepper Weevil (Coleoptera: Curculionidae) using the CO I barcoding region. *Journal of Insect Science*, 22(1): 25.
- Garima V, Kiran K, Tamoghna S, 2020. Identification and behavioural pattern of litchi fruit borer *Conopomorpha sinensis* Bradley. *Indian Journal of Entomology*, 82(1): 167–169.
- Grant W, Bowen BW, 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5): 415–426.
- Hu XQ, Yang ZF, 2019. Analysis of the genetic differentiation among different geographic populations of *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Crambidae) in China based on mitochondrial *CO I*, *Cytb* and *CO II* genes. *Acta Entomologica Sinica*, 62(6): 720–733. [呼晓庆, 杨兆富, 2019. 基于线粒体 *CO I*、*Cytb* 和 *CO II* 基因的中国草地螟不同地理种群遗传分化分析. 昆虫学报, 62(6): 720–733.]
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP, 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, 132(2): 582–589.
- Iyiola OA, Kamaldeen-Ibrahim AT, Shaibu RD, Shittu O, Fadipe TO, Adelaja OJ, Tijani MK, Afolabi HA, 2021. Molecular characterization and phylogenetic analysis of collected mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Northcentral Nigeria using mitochondrial *COI* and ribosomal *IGS* gene regions. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 82: 59.
- Jiang Y, Yue L, Yang F, Gillung JP, Winterton SL, Price BW, Contreras-Ramos A, Hayashi F, Aspöck U, Aspöck H, Yeates DK, Yang D, Liu X, 2022. Similar pattern, different paths: Tracing the biogeographical history of Megaloptera (Insecta: Neuropterida) using mitochondrial phylogenomics. *Cladistics*, 38(3): 374–391.
- Kamal N, Dangnga MS, Irmayani, Naim DM, 2020. Species identification and genetic diversity of *Aedes* in penang (malaysia) based on cytochrome oxidase subunit I. *Nusantara Bioscience*, 12(1): 6–12.
- Katoh K, Standley DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772–780.
- Khan KA, 2021. Genetic diversity and phylogenetic relationship among the western and the Asian honey bees based on two mitochondrial gene segments (COI and ND5). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12): 6853–6860.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Leigh JW, Bryant D, 2015. POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9): 1110–1116.
- Li WJ, Dong YZ, Yao Q, Chen BX, 2018. Research progress in the litchi fruit borer, *Conopomorpha sinensis* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Acta Entomologica Sinica*, 61(6): 721–732. [李文景, 董易之, 姚琼, 陈炳旭, 2018. 荔枝蒂蛀虫研究进展. 昆虫学报, 61(6): 721–732.]
- Li Y, Wang XB, Wu SA, 2020. Phylogeny of the Pseudococcidae based on CO I gene sequence variation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(6): 1362–1374. [李焱, 王戌勃, 武三安, 2020. 不同 CO I 基因序列区域在粉蚧科物种识别和系统发育研究中的应用比较. 应用昆虫学报, 57(6): 1362–1374.]
- Lin AL, Cao LJ, Wei SJ, Liu XY, 2021. Phylogeography of the oriental dobsonfly, *Neoneuromus ignobilis* (Navás), suggests pleistocene allopatric isolation and glacial dispersal shaping its wide distribution. *Systematic Entomology*, 47: 65–81.
- Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among 10 orders of insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1(1): 41–52.
- Liu XF, Jin Y, Shi W, Ye H, 2019. Genetic diversity and population structure of *Zeugodacus scutellatus* (Diptera: Tephritidae) inferred from variation in mtDNA *cox1* and *cox2*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(3): 433–443. [刘晓飞, 晋燕, 施伟, 叶辉, 2019. 基于 mtDNA *cox1* 和 *cox2* 基因的宽带果实蝇种群遗传结构分析. 应用昆虫学报, 56(3): 433–443.]
- Ma L, Li XW, Guo WC, Wang SM, Wang TZ, Lv YB, 2021. Genetic diversity of newly established, invasive *Tuta absoluta* populations in China based on mitochondrial CO I gene variation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 58(6): 1356–1364. [马琳, 李晓维, 郭文超, 王树明, 王田珍, 吕要斌, 2021. 基于 CO I 基因的新入侵害虫番茄潜叶蛾遗传多样性分析. 应用昆虫学报, 58(6): 1356–1364.]
- Meng X, Hu JJ, Li YH, Ouyang GC, 2017. Analysis of SSR loci in transcriptome database of *Conopomorpha sinensis* Bradley (Lepidoptera: Gracillariidae). *Journal of Environmental Entomology*, 39(6): 1219–1224. [孟翔, 胡俊杰, 李艳华, 欧阳革成, 2017. 基于转录组数据的荔枝蒂蛀虫 SSR 位点信息分析. 环境昆虫学报, 39(6): 1219–1224.]
- 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.
- Price MN, Dehal PS, Arkin AP, 2010. FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE*, 5(3): e9490.

- Rousset F, 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145(4): 1219–1228.
- Shi SS, Cui J, Zhu SY, Xu W, Wang XQ, 2018. Genetic differentiation among geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Olethreutidae) based on mitochondrial *CO I* gene sequences. *Journal of Plant Protection*, 45(2): 214–222. [史树森, 崔娟, 朱诗禹, 徐伟, 王小奇, 2018. 基于线粒体 *CO I* 基因序列的大豆食心虫不同地理种群遗传分化. 植物保护学报, 45(2): 214–222.]
- Srivastava K, Patel RK, Pandey SD, Kumar A, Singh SK, Nath V, 2020. Management of litchi fruit and shoot borer, *Conopomorpha sinensis* using organic pesticides. *Acta Horticulturae*, 1293(30): 213–218.
- Tuda M, Kagoshima K, Toquenaga Y, Arnqvist G, 2014. Global genetic differentiation in a cosmopolitan pest of stored beans: Effects of geography, host-plant usage and anthropogenic factors. *PLoS ONE*, 9(9): e106268.
- Vinod G, Kumari K, Saha T, 2020. Identification and behavioural pattern of litchi fruit borer *Conopomorpha sinensis* Bradley. *Indian Journal of Entomology*, 82(1): 167–169.
- Wang MQ, Zhang LJ, Zhang HR, Sun YX, 2020. Genetic diversity and genetic differentiation of *Adelphocoris nigritylus* (Hemiptera: Miridae) populations in North China. *Acta Entomologica Sinica*, 63(12): 1516–1524. [王梦琦, 张利娟, 张宏瑞, 孙跃先, 2020. 中国北方黑唇苜蓿盲蝽种群遗传多样性和遗传分化分析. 昆虫学报, 63(12): 1516–1524.]
- Wright S, 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Chicago and London: University of Chicago Press. 79–103.
- Xie YL, Zhang HR, Li ZY, 2019. Analysis of the genetic differentiation among geographic populations of *Heliothrips mube* (Thysanoptera: Thripidae) in southwestern China based on mitochondrial *CO I* genes. *Acta Entomologica Sinica*, 62(3): 370–380. [谢艳兰, 张宏瑞, 李正跃, 2019. 基于线粒体 *CO I* 基因的中国西南地区木领针蓟马地理种群的遗传分化分析. 昆虫学报, 62(3): 370–380.]
- Xu Y, Mai JW, Li RX, Xu LF, Yu BJ, Yuan L, Roman J, Ji R, 2019. Analysis of genetic variation among geographic populations of *Calliptamus italicus* in Xinjiang based on mitochondrial *Cytb* gene sequences. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(3): 508–516. [徐叶, 麦季玮, 李瑞雪, 徐礼锋, 于冰洁, 袁亮, Roman J, 季荣, 2019. 基于线粒体 *Cytb* 基因的意大利蝗遗传多样性分析. 应用昆虫学报, 56(3): 508–516.]
- Xun HZ, Li H, Li SJ, Wei SJ, Zhang LJ, Song F, Jiang P, Yang HL, Han F, Cai WZ, 2016. Population genetic structure and post-LGM expansion of the plant bug *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) in China. *Scientific Reports*, 6(1): 26755.
- Yao Q, Dong YZ, Li WJ, Chen BX, 2019. The effects of non-host plant extracts on the oviposition deterrent and ovicidal activity of *Conopomorpha sinensis* bradley (Lepidoptera: Gracillariidae). *Florida Entomologist*, 102(2): 298–302.
- Yao Q, Quan LF, Xu S, Dong YZ, Chen BX, 2021. Effect of diflubenzuron on the chitin biosynthesis pathway in *Conopomorpha sinensis* eggs. *Insect Science*, 28(4): 1061–1075.
- Zhang K, Fu HH, Zhu SW, Li ZB, Weng QF, Hu MY, 2016. Influence of gamma-irradiation on flight ability and dispersal of *Conopomorpha sinensis* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Florida Entomologist*, 99(Suppl.1): 79–86.
- Zhang LJ, Luo JY, Zhang S, Ma Y, Wang XY, Lv LM, Zhu XZ, Cui JJ, 2018. Population genetic structure and genetic diversity of *Adelphocoris nigritylus* based on mtDNA *CO I* gene sequence variation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(4): 667–678. [张利娟, 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 *CO I* 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.]
- Zhong YJ, Du SJ, Pan LT, Wang YS, Wang FL, Liu WX, 2020. Analysis of the genetic diversity of geographic populations of *Liriomyza chinensis* (Diptera: Agromyzidae) in China based on mtCO I gene sequence. *Acta Entomologica Sinica*, 63(6): 769–778. [钟裕俊, 杜素洁, 潘立婷, 王玉生, 王福莲, 刘万学, 2020. 基于 mtCO I 基因序列的中国葱斑潜蝇不同地理种群遗传多样性分析. 昆虫学报, 63(6): 769–778.]