

外来入侵种红脂大小蠹 CO I 基因分化的研究*

姚 剑 $^{1}**$ 温劲松 1 张龙娃 2 李云飞 1 陈雪娇 1 余晓峰 1

(1. 安徽出入境检验检疫局 合肥 230022; 2. 安徽农业大学 合肥 230036)

Differentiation of CO I gene of the exotic red turpentine beetle Dendroctonus valens. YAO Jian¹ ** , WEN Jin-Song¹ , ZHANG Long-Wa² , LI Yun-Fei² , CHEN Xue-Jiao¹ , YU Xiao-Feng¹ (1. Anhui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau , Anhui 230022 , China; 2. Anhui Agricultural University , Anhui 230036 , China)

Abstract The red turpentine beetle, Dendroctonus valens LeConte (Coleoptera: Scolytidae), is one of the most dangerous invasive insect species in China. The sequences of its mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) were determined (GenBank Accession No. GQ495096-GQ495128). Sequence analysis revealed 3 specific loci among 160 genetic codes that distinguish D. valens from other Dendroctonus species. Comparison of different geographic populations indicates that genetic differentiation in Chinese populations of D. valens is not obvious, suggesting that genetic variation in local populations of this invasive species will require a long period of time under different local conditions. By aligning the COI gene sequences, we found that the sequences of red turpentine beetles in China were homologous to those from parts of the United States and spread to China with the increase in the international trade in timber.

Key words Dendroctonus valens , CO I gene , genetic differentiation , phylogenetic analysis

摘要 红脂大小蠹 Dendroctonus valens LeConte 为近年来危害最为严重的外来入侵生物。本研究利用特异引物扩增出红脂大小蠹 CO I 基因序列(GenBank 登录号:GQ495096-GQ495128),在 160 个位点中发现 3 个该种与大小蠹属其他种不同的特异位点;比较不同地理种群的红脂大小蠹,发现中国种群间遗传分化不明显,说明入侵种的瓶颈效应,而遗传变异是入侵种与环境长期互作的结果;基于 CO I 基因序列比对的研究发现,入侵中国的红脂大小蠹与该虫原发生地北美洲部分种群具有同源性。

关键词 红脂大小蠹, CO I 基因, 遗传分化, 系统发育分析

生物入侵是影响生态平衡的重要因素。外来入侵种红脂大小蠹 Dendroctonus valens LeConte 是我国进境植物检疫有害生物名录上的重要种类 20 世纪末随木材贸易传入我国以后,1999 年在山西爆发成灾,随即蔓延至河北、河南、陕西[1],成为我国近年来危害最严重的外来入侵生物之一。该虫寄主范围广,适生性强,入侵风险大;而中国大面积的油松纯林和单一林份状况,粗放的林间管理均为该虫在中国的蔓延扩张提供了条件[2]。天敌的缺乏和其与真菌共生危害的特性有利于其侵害进程,而近年来山西省异常气候如暖冬和夏季的持续高

温更是加速了该虫种群密度的增加和松树抵抗力下降,促进该虫在中国爆发成灾,并且由次期性害虫;其寄主特性也发生变化^[3]。昆虫化学生态学的研究表明,寄主挥发物和小蠹信息素可以有效应用于红脂大小蠹的诱集、监测和防治^[4-6],实施工程治理也取得

收稿日期:2009-10-11,修回日期:2010-05-30

^{*} 资助项目:安徽省自然科学基金项目(070411029)、国家质 检总局科研项目(20091K268)、安徽检验检疫局科研项目 (AHKT-04-2008)。

^{**} E-mail: msyao@ 126. com

一定的成效[7];然而,随着近年来木材国际贸 易量的增长和该虫检疫截获频次的增加 其更 大范围入侵危害的风险依然存在。因此,研究 入侵种在新定殖地的遗传分化,比较其地理种 群的同源性,可为了解入侵种的传播和进化,以 及新发生的风险提供帮助。

Kelley 和 Farrell [8] 利用引物 J-1718 (5'-GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC-3) 和 C1-N-2962(5'-GG AAG TTC WGA ATA TCT ATG TTC WGC WGG WG-3') 研究了大小蠹属 不同种的 CO I 基因片段 揭示了其种间遗传分 化与不同种的寄主选择的关系; Cognato 等 [9]和 Cai 等[10]分别研究了中国种群和北美种群红脂 大小蠹的同源性,认为红脂大小蠹中国种群与 北美北太平洋沿岸尤其是加利福利亚种群有较 高的同源性。本实验利用不同的引物扩增红脂 大小蠹的 CO I 基因片断 ,比较其种间与种内地 理种群的遗传分化,以期发现其种的特异性和 种内的进化历程,进一步追溯其传播途径和进 化。

1 材料与方法

1.1 供试样本

供试红脂大小蠹采集自山西、陕西和河北 等省(表1)。

1.2 DNA 提取

取红脂大小蠹成虫1头,去鞘翅,加入 1 mL SDS 消化液(20 mmol/LTris-Cl,pH 7.4; 20 mmol/LEDTA ,pH 8.0;0.5% SDS) ,液氮研

磨。混合液加 30 μL 20 mg/mL 的蛋白酶 K ,在 50~55℃下消化 10 h; 12 000 r/min 离心 5~10 min;取上清,加入酚和氯仿/异戊醇各 0.5 mL, 12 000 r/min 离心 10 min ,取上清 ,重复此步骤 一次;加入 1 mL 的氯仿/异戊醇,摇匀,12 000 r/min 离心 10 min ,取上清;加入 2 倍体积的无 水乙醇及 0.1 倍体积的醋酸钠,轻轻摇匀, -20℃冰箱 2 h;12 000 r/min 离心 10 min ,去 水相 ,加 300 µL 70% 乙醇漂洗 ,12 000 r/min 离心 10 min ,去乙醇 ,晾干;加 1×TE (pH8.0) 或水,-20℃保存备用。

1.3 PCR 扩增

PCR 反应液 30 μL [0.1U Taq Polymerase/ μL 500 umol/L dNTP ,20 mmol/L Tris-Hcl (pH $8.\,3$) , 100 $\,$ mmol/L $\,$ KCL , 3 $\,$ mmol/L $\,$ MgCl, , TIANGEN 公司],上下游引物各 2 μL ,dd H₂O 21 μL ,模板 5 μL。

PCR 扩增条件:95℃ 4 min 后 ,按94℃ 0.5 min;58℃,0.5 min;72℃,1 min 进行40 个循 环 72℃保温 4 min。

本研究所用两对引物,由上海生物工程技 术服务有限公司合成。引物 I:J-1718(5'-GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC-3')和 N -2191 (5'-CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC-3′);引物Ⅱ:S1718(5′-GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC-3')和 A3018(5'-TCC ATT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3')[11]。

| | | | -CC - I/C | |
|----|-----|-----|-----------|-------|
| 本号 | 种群号 | 采集地 | 引物 |] 样本号 |

| 样本号 | 种群号 | 采集地 | 引物 | 样本号 | 种群号 | 采集地 | 引物 |
|-----------|------|-------|-----------|------------|-----|-------|----|
| Sax1 2 3 | Sax | 陕西 | I | SxK1 | SxK | 山西灵空山 | I |
| SaxH1 2 3 | SaxH | 陕西黄龙山 | I | SxG1 2 3 A | SxG | 山西古交 | I |
| SaxH4 5 6 | SaxH | 陕西黄龙山 | II | SxG8 | SxG | 山西古交 | II |
| SaxQ1 2 3 | SaxQ | 陕西桥山 | I | SxT1 2 | SxT | 山西太原 | I |
| SaxQ4 5 6 | SaxQ | 陕西桥山 | II | SxT4 | SxT | 山西太原 | II |
| SaxX1 2 3 | SaxX | 陕西旬邑 | I | HbS1 2 | HbS | 河北石家庄 | I |
| SaxX4 5 6 | SaxX | 陕西旬邑 | ${ m II}$ | HbS3 | HbS | 河北石家庄 | П |

表 1 供试红脂大小蠹信息

1.4 测序

扩增结束后取 5 μL PCR 反应产物 ,以 1 ×

TAE 缓冲液、1.5 % 琼脂糖凝胶电泳,附带 Marker 检测。取扩增成功的产物约 500 ng 进 行 Bigdye 测序反应 并用 ABI 3700DNA 自动测序仪分析获取 DNA 序列结果(上海生物工程

技术服务有限公司),所有序列在 GenBank 登录(GQ495096-GQ495128 ,表 2)。

表 2 文中所用样本的基因序列号和采集地

| 样本号 | 采集地 | GenBank 号 | 样本号 | 采集地 | GenBank 号 | 样本号 | 采集地 | GenBank 号 |
|--------|-----|-----------|-------|--------|-----------|-----------------|-----|-----------|
| Sax1 | С | GQ495096 | SaxQ3 | С | GQ495100 | SxG1 | С | GQ495105 |
| Sax2 | C | GQ495108 | SaxQ4 | C | GQ495116 | SxG2 | C | GQ495106 |
| Sax3 | C | GQ495109 | SaxQ5 | C | GQ495117 | SxG3 | C | GQ495107 |
| SaxH1 | C | GQ495124 | SaxQ6 | C | GQ495123 | SxG4 | C | GQ495110 |
| SaxH2 | C | GQ495101 | SaxX1 | C | GQ495102 | SxG8 | C | GQ495121 |
| SaxH3 | C | GQ495128 | SaxX2 | C | GQ495103 | SxT1 | C | GQ495097 |
| SaxH4 | C | GQ495126 | SaxX3 | C | GQ495104 | SxT2 | C | GQ495111 |
| SaxH5 | C | GQ495114 | SaxX4 | C | GQ495118 | SxT4 | C | GQ495122 |
| SaxH6 | C | GQ495115 | SaxX5 | C | GQ495119 | HbS1 | C | GQ495127 |
| SaxQ1 | C | GQ495098 | SaxX6 | C | GQ495120 | HbS2 | С | GQ495112 |
| SaxQ2 | C | GQ495099 | SxK1 | C | GQ495125 | HbS3 | C | GQ495113 |
| CaiN10 | C | EU404099 | CogJ5 | M1 | AY724595 | CogW2 | A1 | AY724656 |
| CaiN2 | C | EU404096 | CogK | A1 | AY7245496 | CogW5 | M1 | AY724659 |
| CaiN7 | C | EU404097 | CogK2 | A1 | AY724597 | CogX | A1 | AY724660 |
| CaiN9 | С | EU404098 | CogK4 | M1 | AY724599 | CogX3 | N | AY724662 |
| CaiS47 | С | EU404100 | CogK5 | M1 | AY724600 | CogX5 | M1 | AY724664 |
| CogA2 | A2 | AY724545 | CogL4 | M2 | AY724604 | CogY2 | A1 | AY724666 |
| CogA3 | A2 | AY724546 | CogL5 | M1 | AY724605 | CogY3 | A1 | AY724667 |
| CogA5 | M1 | AY724548 | CogM | A2 | AY724606 | CogY5 | M2 | AY724669 |
| CogA6 | M2 | AY724549 | CogM2 | A2 | AY724607 | CogZ | A2 | AY724670 |
| CogB2 | A2 | AY724551 | CogM3 | A2 | AY724608 | CogZ2 | A2 | AY724671 |
| CogB5 | A1 | AY724554 | CogM4 | A1 ,M1 | AY724609 | CogZ3 | A2 | AY724672 |
| CogB6 | M2 | AY724555 | CogN | A2 | AY724611 | CogZ4 | M1 | AY724673 |
| CogC2 | N | AY724557 | CogN3 | A1 | AY724612 | CogZ5 | M2 | AY724674 |
| CogC4 | A1 | AY724559 | CogN5 | M1 | AY724614 | $D.\ armandi$ | С | AF067990 |
| CogC5 | M1 | AY724560 | CogO | A1 ,A2 | AY724615 | D. mexicanus | 墨西哥 | AF067988 |
| CogD2 | A1 | AY724562 | CogO2 | A2 | AY724616 | D. murrayanae | 加拿大 | AF067989 |
| CogD5 | M1 | AY724565 | CogO3 | A2 | AY724617 | D. ponderosae | 美国 | AF067987 |
| CogE2 | A2 | AY724567 | CogO5 | M1 | AY724619 | D. pseudotsugae | 美国 | AF067995 |
| CogE3 | A2 | AY724568 | CogP | M1 | AY724620 | D. punctatus | 加拿大 | AF067998 |
| CogE4 | A1 | AY724569 | CogP2 | A2 | AY724621 | D. rhizophagus | 墨西哥 | AF067993 |
| CogE5 | M1 | AY724570 | CogP5 | M1 | AY724624 | D. rufipennis | 美国 | AF067996 |
| CogF2 | A2 | AY724572 | CogQ | A1 | AY724625 | D. simplex | 加拿大 | AF067985 |
| CogF3 | M1 | AY724573 | CogR | A1 | AY724630 | D. terebrans | 美国 | AF068003 |
| CogF4 | A1 | AY724574 | CogR2 | A1 | AY724631 | D. adjunctus | 美国 | AF067992 |
| CogF5 | M1 | AY724575 | CogR5 | A3 | AY724634 | D. approximatus | 美国 | AF068000 |
| CogG3 | A2 | AY724578 | CogS | A1 | AY724635 | D. brevicomis | 美国 | AF068002 |
| CogI2 | A1 | AY724587 | CogS3 | A1 | AY724637 | D. frontalis | 美国 | AF067986 |
| CogJ | A1 | AY724591 | CogS5 | A3 | AY724639 | D. jeffreyi | 美国 | AF067994 |
| CogJ2 | A1 | AY724592 | CogU3 | A2 | AY724647 | D. micans | 法国 | AF067991 |
| CogJ3 | A1 | AY724593 | CogU5 | M1 | AY724649 | D. valens | 美国 | AF067997 |
| CogJ4 | A1 | AY724594 | CogW | A1 | AY724655 | | | |

注:采集地 C表示中国 其余字母含义见正文 2.3。(下同)

Cai 扩增的 5 个红脂大小蠹 CO I 基因序列 (GenBank: EU404096 ~ EU404100), Cognato 扩增的 70 个序列 (GenBank: AY724545 ~ AY724674) 和 Kelley 研究的大小蠹属 17 个种 (GenBank: AF067987 ~ AF068003)的 CO [基 因序列进行比对(multiple alignments),生成 NJ 系统树,同时将序列文件导至 MEGA4.1 进行 分析。

2 结果与分析

2.1 红脂大小蠹 CO I 基因的种间差异

DNAMAN 6 截取引物 I 扩增的 22 个、引物 Ⅱ 扩增的 17 个红脂大小蠹样本和大小蠹属 16 个其他种的 CO I 基因 160 bp 大小的序列片 断,比对分析结果表明,所有样本在67个位点 上存在差异,其中红脂大小蠹种内共有4个碱 基差异,表现为个别样本 A/G,T/C 和 A/T 间 的碱基变化;而在种间观察,可发现在第27位 点(以 Kelley 测序的 D. valens 为基准),红脂大 小蠹种内碱基都为 T,而大小蠹属其他种则表 现为 A 或 C;在第 156 位点 紅脂大小蠹种内均 表现为 C 而其他种则表现为 T 或 A;在第 9 位 点 除 Kelley 测序结果为 N 外 ,红脂大小蠹均 为 C, 而其他大小蠹则表现为 T。这 3 个位点 的红脂大小蠹种内一致(视 N = C),而其余各 种变化不一,但与红脂大小蠹均不相同。不同 引物扩增结果一致,可视为红脂大小蠹种的特 异位点。同时比较 D. rhizophagus 与红脂大小 蠹,发现在所有67个差异位点中,两者间有20 个碱基差异。DNAMAN6 生成的系统发育树 (图1)表明,所有红脂大小蠹的基因序列明显 聚集在一起 位于系统树的一端 与其他大小蠹 种相对;而 D. rhizophagus 与红脂大小蠹不能聚 类在一起。

2.2 红脂大小蠹中国地理种群的遗传多样性

图 1 系统发育树表明红脂大小蠹 6 个有明 显地理区分的中国种群不能有效聚集在一起, 种群间的遗传分化与空间距离没有明显的相关 性。利用 DNAMAN 6 截取中国 4 省 8 地 38 个 红脂大小蠹个体(含 Cai 扩增的 5 个样本)的 CO I 基因 405 bp 大小的片断进行分析 ,结果表 明红脂大小蠹种内有23个位点存在差异,差异 率 5.68%。将所有序列引入 MEGA4.1,用最 大似然法进行计算,得出38个样本分化系数 (Estimates of the Coefficient of Evolutionary Differentiation) 为 1.904247E10; 平均进化趋异 指数 (Estimates of Evolutionary Divergence) 为 0.011 种群内分化偏离概率 (Estimates of Base Composition Bias Difference)从 0.003 到 0.011 不等 种群间则为 0.006 到 0.028 (表 3)。这 一方面可能是红脂大小蠹 CO I 基因序列区段 较为保守,不能有效区别中国地理种群的遗传 差异,另一方面可能是红脂大小蠹中国种群遗 传分化较小 遗传变异绝大部分来自群体内 群 体间表现出的遗传分化程度较低,地理区域的 遗传分化不明显。

| 种群间 |
|-----|

| 种群 - | 种群间 | | | | | | | | | - 种群内 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|----------|
| | SxG | Sax | SaxH | SaxQ | SaxX | SxT | HbS | SxK | Cai | 一 作品 173 |
| SxG | | | | | | | | | | 0. 01 |
| Sax | 0.007 | | | | | | | | | 0.003 |
| SaxH | 0.015 | 0.012 | | | | | | | | 0.015 |
| SaxQ | 0.011 | 0.008 | 0.010 | | | | | | | 0.006 |
| SaxX | 0.011 | 0.008 | 0.012 | 0.007 | | | | | | 0.010 |
| SxT | 0.011 | 0.006 | 0.014 | 0.010 | 0.010 | | | | | 0.012 |
| HbS | 0.010 | 0.006 | 0.012 | 0.008 | 0.009 | 0.009 | | | | 0.007 |
| SxK | 0.027 | 0.025 | 0.019 | 0.024 | 0.026 | 0.028 | 0.021 | | | |
| Cai | 0.015 | 0.012 | 0.012 | 0.009 | 0.011 | 0.015 | 0.009 | 0.016 | | 0.011 |

表 3 红脂大小蠹中国种群 CO I 基因序列遗传进化趋异概率

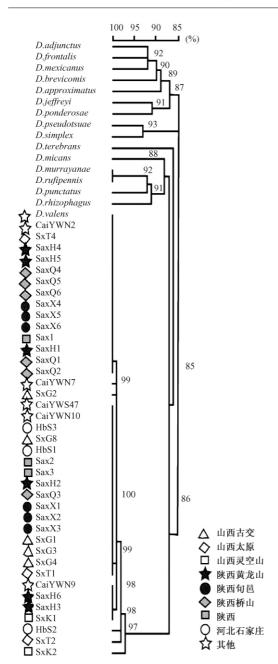


图 1 红脂大小蠹及大小蠹属不同种的系统树

2.3 红脂大小蠹传播途径的追溯

将引物 II 扩增的 17 个样本(含 Cai 扩增的 5 个样本)与 Cognato 扩增的 69 个样本的红脂大小蠹 CO I 基因序列导入 DNAMAN6 进行分析,以 Kelley 测序的 D. rhizophagus 为外群,对齐后截取 231 bp,导入 MEGA4.1 利用最大似然法计算各种群的遗传多样性,得出所有序列

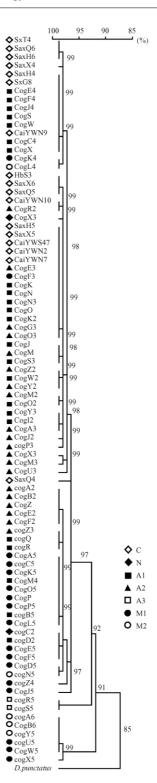


图 2 红脂大小蠹不同地理种群的 系统树(以 D. punctatus 为外群)

平均进化趋异指数为 0.010 ,而中国种群平均 分化偏离概率为 0.002 ,明显低于原发地种群 的 0.012。将北美原发地的红脂大小蠹种群分 为 6 个区 ,分别为 N: 加拿大不列颠哥伦比亚 省; A1:美国西部太平洋沿岸地区,从 Washington ,Origon 至 Califorlinia; A2:美国内陆 地区,含 Nevada, Utah, New Mexico, South Dakota, Montana 等州; A3:美国内陆地区,如 Michigan; M1:墨西哥西部太平洋沿岸地区如 Michoacan, Chihuahua, Diatrito Federal, Mexico State ,Durango; M2:墨西哥东部地区 ,如 Chiaps , Neuvo ,Guatemala 等。DNAMAN6 建立的系统 发育树(图2)表明,红脂大小蠹中国种群与美 国太平洋沿岸 Califorlinia、Nevada ,美国内陆地 区如 Utah、New Mexico 以及墨西哥西北部 Chihuahua 等地区种群同源性较高。

3 讨论

3.1 大小蠹属昆虫世界范围内已报道有 19 种,其中美洲发生17种,欧洲1种,中国3种。 随着贸易和物流的发展,自然屏障的隔绝作用 越来越小,生物入侵的风险不断增大[12]。由于 该属昆虫检疫对象的地位和分布,目前国内开 展大小蠹属生物学的研究还存在一定的困难。 从形态研究来讲, $Wood^{[13,14]}$ 不能确定 D. rhizophagus 与红脂大小蠹是否为同一种,而 Furniss 和 Campos [15]则认为二者在形态上存在 明显区别(如触角棒的形状等)。本研究通过 CO I 基因序列比对和系统发育树,可支持二者 为不同种。由此可见,深化对大小蠹种间遗传 分化的研究,继续采用更为灵敏的分子标记如 微卫星等进行分析,形成快速检疫鉴定的方法, 代替常规的形态鉴定,可以有效加快口岸通关 验放速度 在促进贸易和经济发展的同时 維护 我国森林安全。

3.2 生物入侵种的遗传变异是一个长期的过程,它来自于新的生存环境带来的适应性进化动力,也来自种群的基因漂变等非适应性进化动力^[16-19]。红脂大小蠹入侵中国并定殖、蔓延的时间相对较短,其入侵种的种群遗传分化性

活习性在入侵后已发生变化:它在原产地一般 为次期性害虫,不造成松树的死亡,而在中国则 入侵活立木,引起大面积松树死亡;同时,该虫 食性的变化也不可忽视,其在原产地几乎危害 松属(Pinus)所有树种,云杉属(Picea)、黄杉属 (Pseudotsuga)、冷杉属(Abies)和落叶松属 (Larix)的部分树种,但是在中国迄今为止仅发 现其大量为害油松(Pinus tabulaeformis),在白 皮松(P. bungeana)、云杉(P. meyeri)和华山松 (P. armandii)上仅发现少量侵害现象[20]。这 与外来入侵生物福寿螺在新栖息地食性的变化 非常相似[21]。这是否是该物种入侵后适应入 侵地生境所表现出的可塑性? 亦或是入侵种 "奠基者效应"(founder effect)的表现?这些与 其遗传特征的变异关系均有待进一步的论证。 3.3 Cognato 等和 Cai 等均通过 CO I 基因序 列的比对分别分析了红脂大小蠹入侵中国的来 源。前者认为红脂大小蠹是由美国太平洋西北 岸多次传入中国^[9],而 Cai 等研究则认为红脂 大小蠹是由美国加利福尼亚传入[10]。本研究 结果表明中国的红脂大小蠹种群除与以上两地 同源性较高,还与原发地北美洲其他种群具有 一定的同源性,由此推测红脂大小蠹除了从美 国西部太平洋沿岸如加利福尼亚传入中国外, 其传播途径已扩大至美国的内陆地区和墨西哥 西部太平洋沿岸,而后者可能是近年来随着频 繁的木材贸易传入中国。2006年以后美国的 木材尤其是针叶树的进出口差额在逐渐减小, 其对中国的出口额呈增长趋势 2007 年提高了 1倍,达到27万立方米;而随着中国消费市场 需求的增大,美洲南部国家对中国的木材出口

较低,有明显的瓶颈效应。根据研究报道,其生

由此,加强进境木材针对性检疫更显得重要。

也在增加,巴西30%的木材流向中国,墨西哥

粗放的林业管理和落后的林业加工技术等可能

都是更多原发地红脂大小蠹传入中国的原因。

- 1 宋玉双 杨安隆 何嫩江. 森林有害生物红脂大小蠹的危险性分析.森林病虫通讯 2000 **,19**(6): 34~37.
- 2 姚剑,张龙娃,余晓峰,等.入侵害虫红脂大小蠹的研究进

- 展. 安徽农业大学学报 2008 35(3): 416~420.
- 3 陈辉 袁锋. 树木抗性与小蠹虫生存策略的进化. 林业科学 2002 38(5): 147~151.
- 4 Sun J. H., Gillette N. E., Miao Z. W., et al. Verbenone interrupts attraction to host volatiles and reduces attack by Dendroctonus valens LeConte (Coleoptera: Scolytidae) on Pinus tabuliformis in China. Can. Entomol., 2003, 135: 721 ~732.
- 5 Sun J. H., Miao Z. W., Zhang Z., et al. Red turpentine beetle, Dendroctonus valens LeConte (Coleoptera: Scolytidae), response to host semiochemicals in China. Environ. Entomol., 2004, 33: 206 ~ 212.
- 6 张龙娃,刘柱东,姚剑.油松萜烯成分变化与红脂大小蠹 反应特性研究.昆虫知识 2009 **46**(2): 249~255.
- 7 李计顺,常国彬,宋玉双,等.实施工程治理控制红脂大小 蠹虫灾. 中国森林病虫 2001 20(4):41~44.
- 8 Kelley S. T. , Farrell B. D. Is specialization a dead end? The phylogeny of host use in *Dendroctonus* bark beetles (Scolytidae). *Evolution*, 1998, 52: 1,731 ~ 1,743.
- 9 Cognato A. I., Sun J. H., Anducho-Reyes M. A., et al. Genetic variation and origin of red turpentine beetle (Dendroctonus valens LeConte) introduced to the People's Republic of China. Agricultural and Forest Entomology, 2005. 7: 87 ~ 94.
- 10 Cai Y. W., Cheng X. Y., Xu R. M., et al. Genetic diversity and biogeography of red turpentine beetle Dendroctonus valens in its native and invasive regions. Insect Science, 2008, 15: 291 ~ 301.
- Simon C., Frati F., Beckenbach A., et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Annals of the Entomological Society of

- America , 1994 , 87: 651 ~ 701.
- 12 万方浩,郭建英,王德辉.中国外来入侵生物的危害与管理对策.生物多样性,2002,10(1):119~125.
- 13 Wood S. L. New synonymy and records of North American bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). Great Basin Nat. Mem., 1974, 34: 277 ~ 290.
- 14 Wood S. L. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. Great Basin Nat. Mem., 1982 6: 151 ~ 203.
- 15 Furniss M. M., Campos B. R. Anatomia comparativa de adultos de poblaciones simpatricas de *Dendroctonus* rhizophagus Thomas and Bright, *Dendroctonus valens* LeConte, en Chihuahua, Mexico, 1984. 97 ~ 105.
- 16 陈毅峰, 严云志. 生物入侵的进化生物学. 水生生物学报 2005 **29**(2): 220~224.
- 17 Bradshaw W. E. , Holzapfel C. M. The evolution of genetic architectures and the divergence of natural populations. In: Wolf J. B. , Brodie E. D. , Wade M. J. (eds.). Epistasis and the Evolutionary Process , Oxford University Press , Oxford. 2000. $245 \sim 263$.
- Bryant E. H., Meffert L. M. Nonadditive genetic structuring of morphometric variation in relation to a population bottleneck. *Heridity*, 1996, 77: 168 ~ 176.
- 19 Cheverud J. M., Routman E. J. Epistasis as a source of increased additive genetic variance at population bottlenecks. *Evolution*, 1996 50: 1 042 ~ 1 051.
- 20 张历燕,陈庆昌,张小波.红脂大小蠹形态学特征及生物学特性研究. 林业科学,2002,38(4):95~99.
- 21 Lach L. Britton D. K., Rundell R. J. Food preference and reproductive plasticity in an invasive freshwater snail. Biological Invasion, 2000, 2: 279 ~ 288.

烟粉虱 B 型与 Q 型种群遗传多样性的 AFLP 分析 *

刘国霞^{12**} 褚 栋¹² 高长牛¹²³

- (1. 山东省农业科学院高新技术研究中心 山东省作物与畜禽品种改良生物技术重点实验室 济南 250100;
 - 2. 农业部黄淮海作物遗传改良与生物技术重点开放实验室 济南 250100;
 - 3. 青岛农业大学农学与植物保护学院 青岛 266109)

Analysis of genetic diversity of Bemisia tabaci biotypes B and Q using AFLP. LIU Guo-Xia^{1,2} ***, CHU Dong^{1,2}, GAO Chang-Sheng^{1,2,3} (1. High-Tech Research Center Shandong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory for Genetic Improvement of Crop Animal and Poultry of Shandong Province Jinan 250100, China; 2. Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Biotechnology, Huanghuaihai, Ministry of Agriculture, the People's Republic of China, Jinan 250100, China; 3. Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Shandong 266109, China)

Abstract Bemisia tabaci (Gennadius) is a species complex comprised of many biotypes. Biotype Q is replacing biotype B to become the predominant biotype in parts of China. The comparison of genetic diversity between biotypes B and Q is important to comprehend the genetic basis of the two biotypes' competition. The AFLP method was used to study the population genetic diversity of the Q1 ,Q2 and B biotype. The results show that the genetic diversity of biotype Q is higher than that of B, and that of Q1 similar to that of Q2. Finally, the characteristics of AFLP and SSR are discussed.

Key words Bemisia tabaci , genetic diversity , AFLP

摘 要 烟粉虱 $Bemisia\ tabaci(\ Gennadius)$ 是由多种生物型或物种组成的复合种。Q 型烟粉虱在我国部分地区正在取代 B 型烟粉虱成为优势生物型。烟粉虱 Q 型与 B 型遗传多样性比较研究为解析这 2 种生物型入侵的遗传学基础具有重要的意义。本文利用 AFLP 技术研究了 Q 型(包括 Q1 型、Q2 型)、B 型烟粉虱种群的遗传多样性。结果表明:Q 型烟粉虱遗传多样性高于 B 型烟粉虱;Q1 型烟粉虱各项遗传多样性指数均接近于 Q2 型。最后探讨了 AFLP 与 SSR 分子标记的各自特点。

关键词 烟粉虱,遗传多样性,AFLP

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 是一种世界性分布的农业害虫,它可取食植物汁液、分泌蜜露影响光合作用,传播 110 多种植物病毒,给蔬菜、花卉和棉花等造成严重的经济损失^[1]。目前,烟粉虱被认为是一个由多种生物型或物种组成的复合种^[2,3],其中烟粉虱 B 型和 Q 型是分布较广、入侵性较强的 2 种生物型,受到人们的普遍重视^[3]。

20 世纪 90 年代中期,烟粉虱在我国广东、 上海等地发生严重。随后的研究表明,在我国 多个省市发生的烟粉虱是 B 型烟粉虱[4~6]。而 Q型烟粉虱于 2003 年首次在云南被发现 ,随后在北京、河南、浙江、山东等地发现 ^[7 8]。近几年对山东省烟粉虱生物型调查发现 ,在部分地区 Q型正取代 B型成为烟粉虱的优势生物型 ^[9]。物种的遗传多样性水平不仅为适应环境变化提供了更多的遗传学基础 ,而且在种群、

收稿日期:2010-01-15,修回日期:2010-08-03

^{*} 资助项目:山东省农科院青年基金项目(2005YQ032)、山东省自然科学基金(Q2006B05)、农业部公益性行业科研专项(200803005)。

^{**}通讯作者 ,E-mail:girlgx@ sina. com