

基于线粒体 CO I 基因的番茄潜叶蛾 群体遗传结构分析*

袁伟宁^{1,2,3**} 魏玉红^{1,2,3} 郭致杰^{1,2,3} 罗进仓^{1,2,3***}

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 兰州 730070; 2. 甘肃省农业害虫天敌工程研究中心,
兰州 730070; 3. 农业部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘谷 741200)

摘要 【目的】番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick) 是番茄作物上的重大害虫, 自入侵我国以来, 已经造成了严重的经济损失, 因此为了追踪我国番茄潜叶蛾的遗传分化进程, 分析其与世界其它地理种群的遗传关系, 本研究对番茄潜叶蛾种群的遗传结构进行了分析。【方法】研究采用线粒体 CO I 基因作为分子标记, 分别对 CO I 基因同源性、遗传变异、遗传多样性、生物分子变异组成进行了分析, 最后构建了世界范围内的系统发育树。【结果】结果显示, 我国甘肃和宁夏地区的地理种群已经发生了可遗传变异, 其中甘肃出现了两种突变单倍型 (China: GSLZ; China: GSLZ), 宁夏为一种突变单倍型 (China: NXWZ); 全球番茄潜叶蛾地理种群共检测到 28 个多态位点, 存在 18 种单倍型, 以塞内加尔地理种群单倍型最丰富, 达 10 种, 其次为肯尼亚; 我国地理种群存在 2 个转换突变的简约信息位点, 共 3 种单倍型, 推测我国番茄潜叶蛾已经形成了一定的群体结构, 但仍然处于入侵“瓶颈期”; 总体而言, 非洲番茄潜叶蛾遗传多样性最高, 其次分别为南美洲和亚洲; 分子生物学方差分析显示, 引起种群变异的主要因素存在于种群内部, 变异率占 97.99%。系统发育分析表明, 全球番茄潜叶蛾总体可以分为 4 个类群, 以肯尼亚地理种群的变异种遗传距离较远, 但我国甘肃兰州和宁夏两个地理种群突变种与肯尼亚 KU565664.1 突变种为同一单倍型, 其它地理种群变异种均聚类在相同遗传发育节点之下。【结论】世界范围内番茄潜叶蛾单倍型多样性与核苷酸多样性等遗传多样性指标均较低, 种群遗传具有高度同质性, 但非洲番茄潜叶蛾的遗传多样性较高。在我国, 番茄潜叶蛾种群在线粒体 DNA 分子水平上已经发生了明显分化, 主要为 C/T (China: GSLZ) 和 A/G (China: GSZY) 转换突变。

关键词 番茄潜叶蛾; 遗传多样性; 遗传结构; 系统发育; 地理种群

Colonial genetic structure analysis of tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) based on mitochondrial CO I gene

YUAN Wei-Ning^{1,2,3**} WEI Yu-Hong^{1,2,3} GUO Zhi-Jie^{1,2,3} LUO Jin-Cang^{1,2,3***}

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Agricultural Pest Natural Enemy Engineering Research Center, Lanzhou 730070, China;

3. Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Tianshui, Ministry of Agriculture, Gangu 741200, China)

Abstract 【Aim】The tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick), is a major pest of tomato crops, causing significant economic losses since invading China. The genetic structure of the tomato leaf miner population in China was analyzed to trace its genetic differentiation process and analyze its genetic relationship with other geographic populations around the world. 【Methods】The study used the mitochondrial CO I gene as a molecular marker, and analyzed the CO I gene similarity, genetic variation, genetic diversity, and biomolecular variation composition. We then constructed a global phylogenetic tree. 【Results】Our results demonstrate that mutant individuals have developed in the Gansu and Ningxia regions of China. Two

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发 (2021YFD1400200); 甘肃省农业科学院重点研发 (2022GAAS44)

**第一作者 First author, E-mail: 505422473@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: jincang1964@sohu.com

收稿日期 Received: 2023-09-07; 接受日期 Accepted: 2023-11-28

mutant haplotypes were found in Gansu, and one mutant haplotype was found in Ningxia. A total of 28 polymorphic loci and 18 haplotypes were identified in the geographic populations of tomato leaf miners globally. Senegal had the most haplotypes with 10, followed by Kenya. In China, two parsimony-informative loci for the conversion mutation were present with a total of three haplotypes. Additionally, a Tajima's test indicated a post-invasion population expansion of the tomato leaf miner had occurred. Overall, the genetic diversity of the tomato leaf miner was relatively high in Africa, followed by South America and Asia. ANOVA analysis revealed that within population factors explained 97.99% of the population variation. Phylogenetic analysis showed that the Kenyan variant KP324753.1 was an independent taxon. The tomato leaf miner populations China: GSLZ in Lanzhou, Gansu, and China: NX in Ningxia, were the same taxon as the Kenyan variant KU565664.1. Furthermore, the genetic distance was similar to that of the China: GSZY Zhangye variant in Gansu Province, even though it was identified as a different taxon. **[Conclusion]** Globally, the tomato leaf miner moth exhibited low genetic diversity indices, and highly homogenous population genetics. The population of tomato leaf miners in China have undergone molecular differentiation, and the population may be currently expanding following the invasion bottleneck.

Key words *Tuta absoluta*; genetic diversity; genetic structure; systemic development; geographic population

物种或居群的遗传多样性是生物长期进化的产物, 是其生存适应和发展进化的必要条件。一个物种遗传多样性越高或遗传变异越丰富, 则其对环境变化和逆境胁迫的适应能力越强, 越容易扩展分布范围 (Lei *et al.*, 2007)。例如桃蚜 *Myzus persicae* 能通过两性生殖将一些与逆境胁迫相关的基因进行组合, 进而扩展种群遗传结构, 提升蚜虫在次级寄主和不利环境中的适应性, 并在新侵入地成功建立种群 (Vorbürger *et al.*, 2010; Figueroa *et al.*, 2018)。在农业生态系统中, 害虫种群也可以通过基因突变改变自身表现型, 进而适应防治实践策略, 尤其在化学杀虫剂带来的高选择压力下, 许多害虫的作用受体可发生点位突变或删除, 这能有效降低其对杀虫剂的敏感性, 甚至演化出现免疫种群 (Zhang *et al.*, 2022; Renault *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023)。种内的遗传多样性是一个物种对人为干预或环境干扰进行成功反应的决定因素, 其变异程度更决定了物种的进化进程, 以及一个物种与其它物种及与环境相互作用的方式, 因此通过分析种群基因遗传变异, 可以推断出种群规模的波动、物种内在特征、栖息地和侵入扩散路径等信息。这些分析将有助于确定特定物种适应环境的程度, 进而指导害虫监测和治理决策制定 (Bourgeois and Warren, 2021)。例如, 基因组偏移方法可以帮助建立物种分布模型, 预测个体在特殊环境中的耐受性, 帮助提高我们预测未来害虫分布的能

力, 以及在监测适应性变化的同时跟踪抗逆性基因的变化, 并管理特定适应性变异的存在, 尤其是杀虫剂等防治阻截策略所涉及的变异阻力 (Rellstab *et al.*, 2021)。

番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick) 作为近年来在我国迅速蔓延的重大入侵性害虫之一, 2017 年首次传入我国新疆伊犁, 随后借助种苗调运在云南、山西、陕西等多地发生 (张桂芬等, 2020), 并造成严重经济损失。综合预测评估表明, 全国每年潜在的经济损失总量约达 822.62-4 190.34 亿元 (席曼姝等, 2022)。番茄潜叶蛾作为一种寄主广泛的多食性小型害虫, 其对气候的适应能力非常强, 并在我国具有广阔的适生区域, 潜在气候分布区覆盖了我国西部、中部和东部的大部分地区, 以及新疆、西藏和青海等高原寒旱地区 (罗恒毅等, 2022)。随着番茄潜叶蛾在我国的逐年蔓延, 以化学杀虫剂作为关键措施的防治技术实施经验已积累较长时间, 许多区域已经形成了防止干预下的稳定地理种群, 尤其在地理隔离、环境胁迫和防治选择等综合压力下, 将来势必发生遗传分化, 因此学者对侵入前期的番茄潜叶蛾种群进行了遗传多样性和系统发育分析, 但可能由于侵入时期较短, 研究结果并未发现种群内及种群间的遗传变异 (马琳等, 2021), 而后来李爱梅等 (2022) 通过 ISSR (简单重复序列区间 Inter simple sequence repeat) 分子标记发现番茄潜叶蛾种群内产生了遗传差异。

害虫遗传变异分析不仅对于我们深入了解害虫的种群结构、遗传多样性和适应性具有重要意义,而且能够帮助生产者制定科学有效的防治策略。例如通过害虫的遗传变异分析,可以预测害虫入侵的来源地、生态适应性和抗药性等,从而及时调整和优化防治策略,在提高防治效果的同时还可以减少不必要的防治筛选压力和资源浪费。因此本研究以番茄潜叶蛾为研究对象,对其线粒体 CO I 基因遗传多样性进行分析,旨在追踪我国番茄潜叶蛾的遗传分化进程,以及其与世界其它种群的遗传关系,挖掘入侵影响因子,追

溯侵入源头,了解入侵趋势,以期为探索番茄潜叶蛾的种群遗传动态和制定扩散途径中的阻截点位提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试虫采集

番茄潜叶蛾成虫分别采自云南盘龙、新疆伊犁、山西临汾、宁夏吴中、甘肃兰州和张掖的番茄上(表 1),用 95%无水乙醇在指形管中封存,置于 -20 °C 的条件下保存,用于 DNA 提取。

表 1 番茄潜叶蛾地理种群采集信息

Table 1 Geographic population collection information of *Tuta absoluta*

地区 Location	标签 Label	经度 (°) Longitude (°)	纬度 (°) Latitude (°)	采样时间 (年-月) Collection time (year-month)
甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	China: GSLZ	103.68	36.07	2022-6
甘肃张掖 Zhangye, Gansu	China: GSZY	100.53	39.01	2022-6
宁夏吴忠 Wuzhong, Ningxia	China: NX	106.58	37.82	2022-8
山西临汾 Linfen, Shanxi	China: SX	111.39	36.10	2022-8
新疆伊犁 Yili, Xinjiang	China: XJ	81.20	43.82	2022-8
云南盘龙 Panlong, Yunnan	China: YN	102.75	25.20	2022-8

1.2 DNA 提取

将采集保存的番茄潜叶蛾样本进行单头 DNA 提取。具体提取方法参照血液/组织、细胞基因组提取试剂盒 (DP304) 说明书 (天根生化科技 (北京) 有限公司), 最后将总 DNA 溶解于 50 μ L 无菌无酶去离子水中。用 NanoDrop 微量分光光度计测定 OD_{260/280} 值, 当值为 1.8-2.5 时则为合格。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 质量合格则置于 -80 °C 下保存备用。

1.3 目的基因扩增

以提取的总 DNA 样品为模板, 利用番茄潜叶蛾 CO I 基因通用引物进行 PCR 扩增, 所选引物为: LepF: 5'-ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG-3'; LepR: 5'-TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3'。扩增体系 (25 μ L): 12.5 μ L Taq PCR Master Mix (天根生化科技 (北京) 有限公司), 上下

游引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, DNA 模板 0.5 μ L, ddH₂O 10 μ L。扩增参数: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 54 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 循环 30 次, 72 °C 延伸 5 min。

1.4 目的基因回收与测序

PCR 扩增目的基因后, 用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 目的条带 671 bp, 针对目标条带进行切胶回收, 得到纯化 DNA 样本 (AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, Axygen, AP-GX-500), 用 NanoDrop 微量分光光度计测定 OD_{260/280} 值, 当值为 1.8-2.5 时则为合格, 后送生物公司 (苏州帕诺米克生物医药科技有限公司 <https://www.panomix.com/>) 进行测序。

1.5 序列处理与数据分析

将测序所得序列在 NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 网站上进行 BLAST 比对,

确认扩增片段为目标基因。通过 MEGA 6.06 软件的 Clustal W 进行多重序列比对, 并将序列两端质量不高的碱基进行对齐处理, 后检索变异位点, 分析碱基组成。

1.6 全球番茄潜叶蛾种群遗传多样性与系统发育分析

从 GenBank 下载全球范围内 30 个国家的番茄潜叶蛾 CO I 基因序列, 共计 590 条 (表 1), 与本研究测序所得的序列进行系统发育分析 (表 2)。利用 MEGA 6.06 软件打开下载所得的全球序列, 并将本研究测序所得序列添加至全球序列, 后在软件中进行 Clustal W 比对, 以本研究测得的 CO I 序列为基准, 对所有序列进行对

齐处理, 两端 gaps 为 30 bp, 删除匹配率低于 85% 的序列, 设置麦蛾科马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* 为外群, 将处理后的数据输出为 meg 格式文件, 利用邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树, 系统发育测试选择自展法 (Bootstrap method), 重复监测 1 000 次。

应用 DnaSP 5.10 分析全球范围内各国番茄潜叶蛾种群 CO I 序列的多态性位点数量 (S)、突变总数 (η)、单倍型数 (H)、单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (Pi)、平均核苷酸差异数 (K)、自裔位点和简约信息位点等, 并进行 Tajima's D 中性检验。应用 Arlequin 3.11 进行 AMOVA 分子变异分析, 参数选择逐基因座分子生物学方差分析, 并计算遗传矩阵。

表 2 不同国家和地区的番茄潜叶蛾 CO I 基因序列
Table 2 CO I sequences of *Tuta absoluta* from different countries and regions

所属洲 Continent	国家和地区 Country and region	GenBank 登录号 GenBank accession no.	下载序列个数 Number of download sequences
北美洲 North America	美国 America	MT021750.1-MT021751.1	2
非洲 Africa	阿尔及利亚 Algeria	MK848296.1-MK848297.1, MN066580.1-MN066581.1, MZ475335.1-MZ475338.1	8
	贝宁 Benin	MH882429.1-MH882452.1	24
	布基纳法索 Burkina Faso	MN066582.1	1
	多哥 Togo	MN759250.1	1
	加纳 Ghana	OP413630.1-OP413633.1	4
	肯尼亚 Kenya	KP324752.1-KP324753.1, KU565521.1-KU565530.1, KU565536.1-KU565650.1, KU565661.1-KU565685.1, KU565691.1-KU565719.1	181
	南非 South Africa	KY212128.1	1
	尼日尔 Niger	MK848292.1-MK848295.1, MK848303.1-MK848315.1, MN066586.1-MN066587.1	19
	尼日利亚 Nigeria	MK189155.1-MK189162.1	8
	塞内加尔 Senegal	MK116924.1-MK117050.1, MK848316.1-MK848317.1, MN066588.1-MN066589.1	131
	塔桑尼亚 Tanzania	KU565496.1-KU565520.1, KU565656.1-KU565660.1, KU565686.1-KU565690.1, KU565720.1	36
突尼斯 Tunisia	MK848298.1-MK848302.1, MN066590.1-MN066591.1	7	
乌干达 Uganda	KU565651.1-KU565655.1	5	

续表 2 (Table 2 continued)

所属洲 Continent	国家和地区 Country and region	GenBank 登录号 GenBank accession no.	下载序列个数 Number of download sequences	
非洲、亚洲 Africa, Asia	埃及 Egypt	KY129655.1-KY129659.1	5	
南美洲 South America	阿根廷 Argentina	MK848320.1	1	
	巴西 Brazil	MG596129.1-MG596228.1	100	
	哥伦比亚 Colombia	MK848319.1	1	
	秘鲁 Peru	KU565531.1-KU565535.1	5	
欧洲 Europe	奥地利 Austria	KX443108.1-KX443111.1	4	
	波黑 Bosnia and Herzegovina	KC852871.1-KC852872.1	2	
	法国 France	HQ968678.1, MK848318.1, MN066583.1	3	
	塞尔维亚 Serbia	JN417242.1	1	
	希腊 Greece	MK848321.1, MN066584.1	2	
	意大利 Italy	MK848322.1, MN066585.1	2	
	亚洲 Asia	阿曼 Oman	KT452897.1	1
		巴基斯坦 Pakistan	OQ511270.1	1
尼泊尔 Nepal		KY619677.1-KY619680.1	4	
印度 India		MK000732.1, KY619681.1-KY619687.1, OM232041.1, MT516429.1, OM230185.1, MK639581.1, OM232057.1, MH337367.1, KP814055.1-KP814057.1, MH940244.1, MZ357191.1, OL601546.1, OM230176.1-OM230177.1, KY923648.1, KX467347.1, KY619673.1-KY619676.1	28	
中国 China		MT919642.1-MT919643.1	2	

2 结果与分析

2.1 我国番茄潜叶蛾地理种群 CO I 基因同源性分析

通过基因测序获得我国 5 个省(自治区) 6 个地理种群的 180 条 CO I 基因序列, 修剪序列两端质量较低的片段, 最终 CO I 基因长度为 671 bp, 以此为标准片段在 NCBI 的 BLAST 模块中进行同源性检索, 结果显示目的基因与数据库中已公开的番茄潜叶蛾 CO I 基因序列同源性为 99%-100%, 表明所获得的番茄潜叶蛾 CO I 基因序列准确可靠。通过序列多重比对分析发现, 我国甘肃和宁夏地区的地理种群已经发生了可遗传变异(表 3), 其中甘肃出现了两种突变单倍型, 分别为 C/T(China: GSLZ)和 A/G(China: GSZY) 转换突变, 突变率为 10.00%和 13.33%,

宁夏(China: NXWZ)为一种突变单倍型, 点位突变与甘肃兰州地理种群(China: GSLZ)相同, 但突变率是甘肃兰州地理种群的 2.67 倍。

2.2 番茄潜叶蛾遗传变异分析

以 CO I 基因作为分子标记进行遗传变异分析(表 4), 结果显示全球地理种群共检测到 28 个变异位点, 转换突变为 10 个位点, 颠换突变为 18 个位点, 总突变位点数占序列总长的 4.26%, 其中包含了 13 个自裔位点和 15 个简约信息位点, 可见番茄潜叶蛾具有较高的遗传同质性; 在我国, 番茄潜叶蛾共有 2 个转换变异位点, 且均为简约信息位点, 说明我国地理种群的遗传突变可能已经形成了一定的群体结构。Tajima's D 中性检验表明, 全球番茄潜叶蛾地理种群中目前存在许多低频率等位基因, 说明群体规模处于放大过程中, 或种群发生了定向选择; 虽然入侵

表 3 我国番茄潜叶蛾地理种群 CO I 基因突变基本信息

Table 3 Basic information of CO I gene mutations in the geographical population of *Tuta absoluta* in China

地理种群 Geographic population	标签 Label	样本数 Number of samples	突变个体数 Number of mutant individuals	点位突变 Point mutation	突变率 (%) Mutation rate (%)
甘肃 Gansu	China:GSLZ	30	3	C→T	10.00
	China:GSZY	30	4	A→G	13.33
宁夏 Ningxia	China:NX	30	8	C→T	26.67
山西 Shanxi	China:SX	30	0	—	—
新疆 Xinjiang	China:XJ	30	0	—	—
云南 Yunnan	China:YN	30	0	—	—

— 表示该地理种群 CO I 基因没有突变或不存在该信息。

— means that the CO I gene in the geographic population has no mutation or does not contain this information.

表 4 不同地理种群番茄潜叶蛾 CO I 基因序列变异分析

Table 4 Results of CO I gene sequences of *Tuta absoluta* from different geographical populations

全球 Whole word		中国 China	
参数 Parameters	数值 Data	参数 Parameters	数值 Data
样本数量 Number of sequences	770	样本数量 Number of sequences	364
序列长度 (bp) Length of sequence (bp)	657	序列长度 (bp) Length of sequence (bp)	671
保守位点数 Number of conserved sites	629	保守位点数 Number of conserved sites	669
变异位点数 Number of variable sites	28	变异位点数 Number of variable sites	2
自裔位点 Number of singleton variable sites	13	自裔位点 Number of singleton variable sites	0
简约信息位点 Number of parsimony informative sites	15	简约信息位点 Number of parsimony informative sites	2
转换数 Number of transitions	10	转换数 Number of transitions	2
颠换数 Number of transversions	18	颠换数 Number of transversions	0
G+C 含量 G+C content (%)	0.324	G+C 含量 G+C content (%)	0.316
Tajima's D	- 2.319 22**	Tajima's D	- 0.616 59

**表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著 (中性检验)。

** means significant difference at $P < 0.01$ level by selective neutrality test.

我国的番茄潜叶蛾也存在类似的遗传进化方向 ($D < 0$), 但仍然服从中性检验的假说, 其种群处于入侵后的“瓶颈期”, 或者正在克服人为压力及自然环境压力的选择 ($P > 0.05$)。

2.3 世界范围内番茄潜叶蛾种群遗传多样性

将我国番茄潜叶蛾地理种群与其它国家地理种群进行遗传多样性分析, 结果显示, 世界范围内番茄潜叶蛾种群遗传多样性较低, CO I 基

因多态性位点 (S) 28 个, 突变序列总数 (η) 28, 单倍型数 (H) 18 种, 单倍型多样性 (Hd) 为 0.084, 核苷酸多样性 (Pi) 为 0.000 18, 平均核苷酸差异 (K) 为 0.119 (表 5)。在 18 种单倍型中 H1 单倍型占绝对优势, 其次依次为 H11、H18、H10 和 H15, 各国家中以塞内加尔地理种群单倍型最丰富, 达 10 种, 其次为肯尼亚 (5 种)。

中国和印度地理种群单倍型各为 3 种, 单倍型多样性和核苷酸多样性差异较小。秘鲁地理种群除 H1 单倍型外, 只有一种突变单倍型, 但该地理种群单倍型多样性、核苷酸多样性和平均核苷酸差异数均高于其它国家。总体而言, 非洲番茄潜叶蛾遗传多样性最高, 其次分别为亚洲和南美洲。

表 5 番茄潜叶蛾种群 CO I 基因遗传多样性
Table 5 Genetic diversity of CO I gene of *Tuta absoluta*

洲 Continent	国家和地区 Country and region	S	η	H	单倍型 (个体数) Haplotype (number of individuals)	Hd	Pi	K
全世界 Worldwide	—	28	28	18	H1(737) H2(1) H3(1) H4(1) H5(1) H6(1) H7(1) H8(1) H9(1) H10(2) H11(12) H12(1) H13(1) H14(1) H15(2) H16(1) H17(1) H18(4)	0.084±0.010	0.000 18	0.119
北美洲 North America	美国 American	0	0	1	H1(2)	0	0	0
非洲 Africa	阿尔及利亚 Algeria	0	0	1	H1(8)	0	0	0
	贝宁 Benin	0	0	1	H1(24)	0	0	0
	布基纳法索 Burkina Faso	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	多哥 Togo	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	加纳 Ghana	0	0	1	H1(4)	0	0	0
	肯尼亚 Kenya	12	12	5	H1(177) H11(1) H12(1) H13(1) H14(1)	0.044 ± 0.015	0.000 22	0.143
	南非 South Africa	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	尼日尔 Niger	0	0	1	H1(19)	0	0	0
	尼日利亚 Nigeria	0	0	1	H1(8)	0	0	0
	塞内加尔 Senegal	10	10	10	H1(121) H2(1) H3(1) H4(1) H5(1) H6(1) H7(1) H8(1) H9(1) H10(2)	0.147 ± 0.030	0.000 28	0.182
非洲、亚洲 Africa, Asia	塔桑尼亚 Tanzania	0	0	1	H1(36)	0	0	0
	突尼斯 Tunisia	0	0	1	H1(7)	0	0	0
	乌干达 Uganda	0	0	1	H1(5)	0	0	0
	埃及 Egypt	0	0	1	H1(5)	0	0	0
南美洲 South America	阿根廷 Argentina	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	巴西 Brazil	0	0	1	H1(100)	0	0	0
	哥伦比亚 Colombia	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	秘鲁 Peru	1	1	2	H1(3) H15(2)	0.533 ± 0.095	0.000 81	0.533

续表 5 (Table 5 continued)

洲 Continent	国家和地区 Country and region	<i>S</i>	η	<i>H</i>	单倍型 (个体数) Haplotype (number of individuals)	<i>Hd</i>	<i>Pi</i>	<i>K</i>
欧洲 Europe	奥地利 Austria	0	0	1	H1(4)	0	0	0
	波黑 Bosnia and Herzegovina	0	0	1	H1(2)	0	0	0
	法国 France	0	0	1	H1(3)	0	0	0
	塞尔维亚 Serbia	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	希腊 Greece	0	0	1	H1(2)	0	0	0
	意大利 Italy	0	0	1	H1(2)	0	0	0
亚洲 Asia	阿曼 Oman	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	巴基斯坦 Pakistan	0	0	1	H1(1)	0	0	0
	尼泊尔 Nepal	0	0	1	H1(4)	0	0	0
	印度 India	3	3	3	H1(26) H16(1) H17(1)	0.138 ± 0.062	0.000 33	0.210
	中国 China	2	2	3	H1(167) H11(11) H18(4)	0.154 ± 0.025	0.000 23	0.157

S: 多态性位点数量; η : 突变总数; *H*: 单倍型数; *Hd*: 单倍型多样性; *Pi*: 核苷酸多样性; *K*: 平均核苷酸差异数。
S: Number of polymorphic sites; η : Total number of mutations; *H*: Number of haplotypes; *Hd*: Haplotype diversity; *Pi*: Nucleotide diversity; *K*: Average number of nucleotide differences.

2.4 番茄潜叶蛾系统发育分析

对世界范围内 30 个国家的番茄潜叶蛾 CO I 基因进行系统发育分析(图 1), 结果表明, 世界范围内番茄潜叶蛾总体可以分为 4 个类群, 其中肯尼亚 KP324752.1 和突变种 KP324753.1 分别聚类为一枝, 我国甘肃兰州 (China: GSLZ) 和宁夏 (China: NX) 的两个地理种群突变种与肯尼亚 KU565664.1 突变种聚类为一枝, 且为同一种单倍型。除以上地理种群外, 其它地理种群均聚类在同一遗传发育节点之下, 但部分突变单倍型在节点之下的遗传距离较远, 分别包括 MK116930.1、MK116931.1、MK116942.1、MK116977.1、MK116982.1、MK117003.1、MK117020.1、KU565581.1、MZ357191.1、KU565533.1、KU565535.1、KX467347.1 和 China: GSZY。

2.5 AMOVA 分子变异分析

分子生物学方差分析 (AMOVA) 显示 (表 6), 世界范围内番茄潜叶蛾地理种群间的遗传变异占总体变异的 2.01%, 同一种群内不同个体间

的变异占 97.99%, 表明引起种群变异的主要因素存在于种群内部, 为个体突变。

3 结论与讨论

番茄潜叶蛾侵入我国已有多年, 其种群遗传多样性分析对预测种群扩张机制和入侵后的适应发展等具有重要意义 (Crawford and Whitney, 2010), 因此本研究基于线粒体 CO I 基因对我国和全球范围内的番茄潜叶蛾种群进行了遗传结构分析。结果表明, 我国甘肃和宁夏地区的地理种群已经发生了可遗传变异, 突变率为 10.00%-26.67%, 共有 2 个转换突变的简约信息位点, 可见我国部分地理种群可能已经形成了突变种的群体结构, 但新疆和云南等地理种群没有突变个体, 这与马琳等 (2021) 的研究结果相同。Tajima's *D* 中性检验表明全球番茄潜叶蛾地理种群规模目前处于放大过程中, 或地理种群发生了定向选择, 但入侵我国的番茄潜叶蛾仍然处于入侵后的“瓶颈期” ($D = -0.62, P > 0.05$), 其正在克服影响成功入侵并建立稳定种群的环境适应限制、传播限制、生态位竞争和天敌压制等挑战

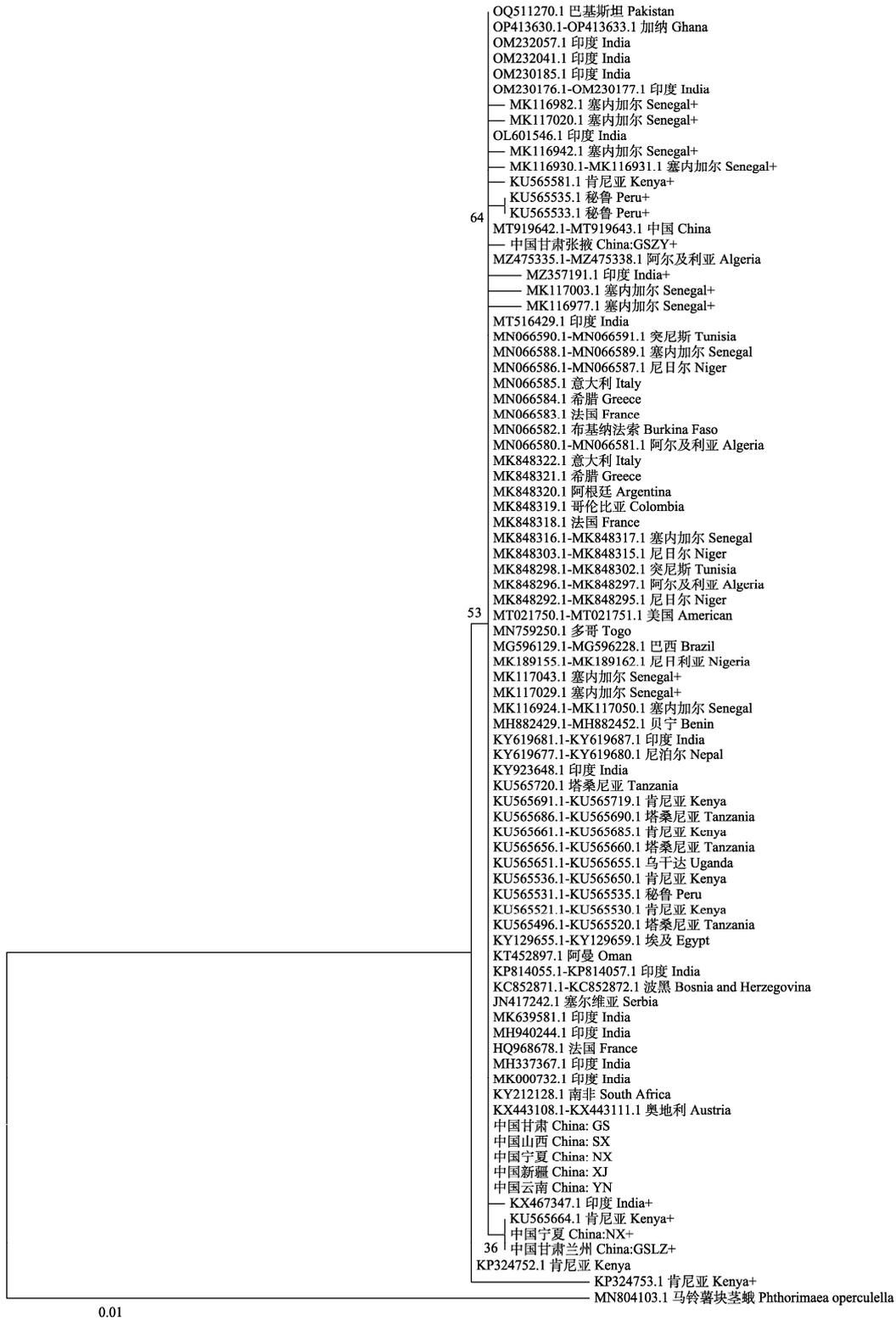


图 1 番茄潜叶蛾线粒体 CO I 基因系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Tuta absoluta* based on mitochondrial CO I gene

- 表示 CO I 基因序列号连续; + 表示该序列号对应的 CO I 基因存在点位突变。

- indicates that the CO I gene sequence number is continuous; + indicates that the CO I gene corresponding to the sequence number existssite mutation.

表 6 番茄潜叶蛾地理种群 CO I 基因序列间的分子变异分析

Table 6 Molecular variation analysis of CO I gene sequences in the geographic population of *Tuta absoluta*

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of square	变异组成 Variance components	变异百分率 (%) Variation (%)
种群间 Among populations	29	3.234	0.001 20	2.01
种群内 Within populations	740	88.251	0.058 52	97.99
合计 Total	769	91.485	0.059 72	100.00

(Thornton, 2005)。如果番茄潜叶蛾成功突破入侵后的瓶颈期,其种群遗传结构也可能发生变化,这种变化既可以表现为遗传突变,也可以表现为基因交流等。为了明确入侵我国的番茄潜叶蛾种群遗传背景,本研究采用分子生物学方差分析(AMOVA)评价种群变异的来源(李菁等, 2010)。研究结果显示,番茄潜叶蛾地理种群遗传变异主要来源于种群内部,变异百分率达97.99%;另外系统发育表明,我国除两个变异种外,其它地理种群均聚类在同一遗传发育节点之下,因此推测我国番茄潜叶蛾可能是由一较小的有效种群迅速增长而来,通过变异积累了一定的单倍型多样性,而地理隔离变异的可能性较小,这与我国西花蓟马的入侵过程相似(张桂芬等, 2014)。群体遗传多样性分析表明,世界范围内番茄潜叶蛾单倍型多样性与核苷酸多样性均较低,结果与地中海和南美洲(Cifuentes *et al.*, 2011)等诸多地理种群的报道相同,可见番茄潜叶蛾的遗传具有高度同质性,这虽然有利于入侵物种的成功入侵,但制约种群对环境变化和压力胁迫的适应能力及进化潜力(Jump *et al.*, 2008)。在世界范围内,番茄潜叶蛾种群总体可以分为4个类群,其中肯尼亚地理种群在四个类群中均有分布,尤其 KP324752.1 和突变种 KP324753.1 分别聚类为一枝,而我国甘肃兰州和宁夏变异种与肯尼亚 KU565664.1 变异种为同一类群,甘肃张掖变异种则与其它国家地理种群没有显著的遗传分化,可见我国和全球番茄潜叶蛾遗传分化潜能均较低。整体来看,虽然番茄潜叶蛾起源于南美洲(Terzidis *et al.*, 2014),但非洲国家番茄潜叶蛾种群具有相对较高的核苷酸多样性和单

倍型多样性,这有利于番茄潜叶蛾应对气候、食物来源和天敌等因素的胁迫(Singh *et al.*, 2021; Matthew *et al.*, 2023),尤其在农业生态系统中,遗传多样性越高则越容易使害虫产生药剂防治干预下的抗性个体(何月平和沈晋良, 2008)。例如噻虫嗪施用可导致 B 型烟粉虱“抗性品系”在 DNA 分子水平上发生明显分化,进而改变群体遗传结构(褚栋等, 2008),使抗性基因变异范围拓宽,增大害虫对杀虫剂选择压力的适应区间(张锐等, 2022)。

综上所述,遗传多样性直接或间接地从多方面影响着外来生物在侵入地建立种群的过程,而番茄潜叶蛾作为我国的一种恶性入侵害虫,其遗传变异分析对我们预测种群扩张,追溯侵入源头,设置合理的阻截位点,以及制定科学的防控策略等具有重要意义。例如新疆种群对高效氯氰菊酯具有高抗性(李晓维等, 2022),在其新侵入地区可以选用阿维菌素和甲维盐等高效杀虫剂(庾琴等, 2022),以避免因防治策略不合理而导致阻截失败,甚至造成严重经济损失。本研究仅基于 CO I 基因分析了番茄潜叶蛾的遗传结构,其可能经历较慢的进化,且种群之间的基因交流较少,这可能导致线粒体遗传多样性相对较低,为了更全面地了解物种或种群的遗传多样性,未来还需要进行更全面的基因组研究。另外由于入侵物种采集携带的安全性因素,应用于分析的地理种群相对较少,如果想要进一步明确番茄潜叶蛾的种群遗传多样性,挖掘遗传变异的诱导因子,需在增加地理种群样本的同时结合其它线粒体基因和其它分析方法(如微卫星位点 ISSR)进行综合分析。

参考文献 (References)

- Bourgeois YXC, Warren BH, 2021. An overview of current population genomics methods for the analysis of whole-genome resequencing data in eukaryotes. *Molecular Ecology*, 30(23): 6036–6071.
- Chu D, Xu BY, Wu QJ, Wan FH, Xiao LF, Zhu GR, Zhang YJ, 2008. Thiamethoxam application can decrease the genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B. *Acta Entomologica Sinica*, 51(2):150–154. [褚栋, 徐宝云, 吴青君, 万方浩, 肖利锋, 朱国仁, 张友军, 2008. 施用噻虫嗪可降低 B 型烟粉虱群体的遗传多样性. *昆虫学报*, 51(2): 150–154.]
- Cifuentes D, Chynoweth R, Bielza P, 2011. Genetic study of mediterranean and south American populations of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Povolny, 1994) (Lepidoptera: Gelechiidae) using ribosomal and mitochondrial markers. *Pest Management Science*, 67(9): 1155–1162.
- Crawford KM, Whitney KD, 2010. Population genetic diversity influences colonization success. *Molecular Ecology*, 19(6): 1253–1263.
- Figueroa CC, Fuentes-Contreras E, Molina-Montenegro MA, Ramírez CC, 2018. Biological and genetic features of introduced aphid populations in agroecosystems. *Current Opinion in Insect Science*, 26: 63–68.
- He YP, Shen JL, 2008. The genetic origin and molecular basic of the evolution of insect resistance to insecticides. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(2): 175–181. [何月平, 沈晋良, 2008. 害虫抗药性进化的遗传起源与分子机制. *昆虫知识*, 45(2): 175–181.]
- Jump AS, Marchant R, Penuelas J, 2008. Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science*, 14(1): 51–58.
- Lei FM, Wei GA, Zhao HF, Yin ZH, Lu JL, 2007. China subregional avian endemism and biodiversity conservation. *Biodiversity & Conservation*, 16(4): 1119–1130.
- Li AM, Fu KY, Ding XH, He J, Ahmat TEX, Feng HZ, Guo WC, 2022. Inter-simple sequence repeat analysis of the genetic diversity of *Tuta absoluta* (Meyrick) in Xinjiang. *Journal of Biosafety*, 31(2): 121–127. [李爱梅, 付开赞, 丁新华, 何江, 吐尔逊·阿合买提, 冯宏祖, 郭文超, 2022. 新疆地区番茄潜叶蛾遗传多样性的 ISSR 分析. *生物安全学报*, 31(2): 121–127.]
- Li J, Zhang Y, Wang ZY, He KL, Wang Q, 2010. Genetic differentiation and gene flow among different geographical populations of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guen é e) (Lepidoptera:Crambidae) in China estimated by mitochondrial COI gene sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 53(10): 1135–1143. [李菁, 张颖, 王振营, 何康来, 王强, 2010. 基于线粒体 DNA CO II 基因的亚洲玉米螟中国不同地理种群遗传分化及基因流研究. *昆虫学报*, 53(10): 1135–1143.]
- Li XW, Ma L, Lü YB, 2022. Susceptibility of Xinjiang and Yunnan populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) to six insecticides and its relationship with detoxification enzyme activities. *Acta Entomologica Sinica*, 65(8): 1010–1017. [李晓维, 马琳, 吕要斌, 2022. 新疆和云南番茄潜叶蛾种群对六种杀虫剂的敏感性及其与解毒酶活性的关系. *昆虫学报*, 65(8): 1010–1017.]
- Luo HY, Wang XS, Zhao XY, Jia D, 2022. Analysis of suitability of quarantine pest *Tuta absoluta* in China. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 50(4): 579–585. [罗恒毅, 王湘稣, 赵雪莹, 贾栋, 2022. 检疫害虫番茄潜叶蛾在中国的适生性分析. *山西农业科学*, 50(4): 579–585.]
- Ma L, Li XW, Guo WC, Wang SM, Wang TZ, Lü 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.]
- Matthew TW, Alexis B, Peter N, Eckart S, 2023. Population genomics for insect conservation. *Animal Biosciences*, 11: 115–140.
- Rellstab C, Dauphin B, Exposito-Alonso M, 2021. Prospects and limitations of genomic offset in conservation management. *Evolutionary Applications*, 14(5):1202–1012.
- Renault D, Elfiky A, Mohamed A, 2022. Predicting the insecticide-driven mutations in a crop pest insect: Evidence for multiple polymorphisms of acetylcholinesterase gene with potential relevance for resistance to chemicals. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(7): 18937–18955.
- Singh KS, Cordeiro EMG, Troczka BJ, Pym A, Mackisack J, Pym A, Mackisack J, Mathers TC, Duarte A, Legeai F, Robin S, Bielza P, Burrack HJ, Charaabi K, Denholm I, Figueroa CC, Ffrench-Constant RH, Jander G, Margaritopoulos JT, Mazzoni E, Nauen R, Ramírez CC, Ren GW, Stepanyan I, Umina PA, Voronova NV, Vontas J, Williamson MS, Wilson ACC, Gao XW, Young YN, Zimmer CT, Simon JC, Hayward A, Bass C, 2021. Global patterns in genomic diversity underpinning the evolution of insecticide resistance in the aphid crop pest *Myzus persicae*. *Communications Biology*, 4(1): 847.
- Terzidis AN, Wilcockson S, Leifert C, 2014. The tomato leaf miner (*Tuta absoluta*): Conventional pest problem, organic management solutions? *Organic Agriculture*, 4(1): 43–61.

- Thornton K, 2005. Recombination and the properties of Tajima's D in the context of approximate likelihood calculation. *Genetics*, 171(4): 2143–2148.
- Vassilevska-Ivanova R, Naidenova N, Kraptchev B, 2008. Stability and adaptability in pea (*Pisum sativum* L.) mutant lines. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 61(7): 955–962.
- Vorburger C, Lancaster M, Sunnucks P, 2010. Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two 'superclones' in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*, 12(12): 3493–3504.
- Wang XL, Zhang JH, Yang YH, Wu YD, 2023. Equivalent intensity but differential dominance of sodium channel blocker insecticide resistance conferred by F1845Y and V1848I mutations of the voltage-gated sodium channel in *Plutella xylostella*. *Insect Science*, 30(1): 125–134.
- Xi MS, Wang ZL, Liu XX, Li ZH, Zhang X, Lü ZZ, Han P, 2022. Assessment of the economic loss to the tomato industry caused by *Tuta absoluta* in China based on @RISK. *Journal of Biosafety*, 31(4): 300–308. [席曼姝, 王振霖, 刘孝贤, 李志红, 张鑫, 吕昭智, 韩鹏, 2022. 基于@RISK 番茄潜叶蛾对我国番茄产业造成的经济损失评估. *生物安全学报*, 31(4): 300–308.]
- Yu Q, Guo XJ, Feng YT, Du EQ, Liu X, Zhang RX, Hao C, 2022. Toxicity of six insecticides on *Tuta absoluta* (Meyrick) and control efficacy in field trials. *Journal of Biosafety*, 31(4): 345–350. [庾琴, 郭晓君, 封云涛, 杜恩强, 刘新, 张润祥, 郝赤, 2022. 6 种杀虫剂对南美番茄潜叶蛾的毒力及田间防效. *生物安全学报*, 31(4): 345–350.]
- Zhang GF, Qiao WN, Gu JL, Min L, Wang FH, 2014. Genetic variability of mt DNA CO I and population structure of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in China. *Journal of Biosafety*, 23(3): 196–209. [张桂芬, 乔玮娜, 古君伶, 闵亮, 万方浩, 2014. 我国西花蓟马线粒体 DNA-CO I 基因变异及群体遗传结构分析. *生物安全学报*, 23(3): 196–209.]
- Zhang GF, Xian XQ, Zhang YB, Zhang R, Ma DY, Liu WX, Gao YH, Wang J, Yang ZL, Li QH, Wang YS, Xue YT, Wang FH, 2020. Warning of the dispersal of a newly invaded alien species, tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick), in China. *Plant Protection*, 46 (2): 281–286. [张桂芬, 洗晓青, 张毅波, 张蓉, 马德英, 刘万学, 高有华, 王俊, 杨子林, 李庆红, 王玉生, 薛延韬, 万方浩, 2020. 警惕南美番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick) 在中国扩散. *植物保护*, 46 (2): 281–286.]
- Zhang R, Li C, Zhang LN, Zhou BG, Xu DF, Pei ZY, Tang QF, 2022. Effects of chemical control on the diversity of spider community in tobacco-growing areas of south Anhui. *Plant Protection*, 48(5): 134–140, 166. [张锐, 李晨, 张丽娜, 周本国, 许大风, 裴洲洋, 唐庆峰, 2022. 化学防治对皖南烟区蜘蛛群落多样性的影响. *植物保护*, 48(5): 134–140, 166.]
- Zhang YC, Pei XG, Yu ZT, Gao Y, Wang LX, Zhang N, Song XY, Wu SF, Gao CF, 2022. Effects of nicotinic acetylcholine receptor subunit deletion mutants on insecticide susceptibility and fitness in *Drosophila melanogaster*. *Pest Management Science*, 78(8): 3519–3527.