

内蒙古地区亚洲小车蝗不同地理种群的 RAPD 分析*

李东伟¹ 高书晶^{2**} 庞保平¹ 刘爱萍² 闫志坚² 徐林波²

(1. 内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019; 2. 中国农业科学院草原研究所 呼和浩特 010010)

The genetic divergence of nine populations of *Oedaleus asiaticus* in Mongolia based on RAPD. LI Dong-Wei¹, GAO Shu-Jing^{2**}, PANG Bao-Ping¹, LIU Ai-Ping², YAN Zhi-Jian², XU Lin-Bo² (1. Inner Mongolia Agriculture University, Institute of Agriculture, Hohhot 010019, China; 2. Grassland Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010, China)

Abstract The genetic divergence of 9 natural populations of *Oedaleus asiaticus* (B.-bienko) was studied using the RAPD method. Genomic DNA of 90 individuals was amplified with eight random primers. A total of 78 clear and reproducible bands were generated, 62 of which were polymorphic, and Nei's index and a genetic distance matrix calculated. The gene differentiation coefficient between populations estimated by Nei's index was 0.2343, indicating that 23.43% of the variation occurred between populations. The gene differentiation coefficient within populations was 0.7657, indicating that 76.57% of all variation was within populations. The gene differentiation coefficient within populations was evidently higher than that between populations. A dendrogram based on Nei's genetic distance of RAPD markers was constructed using the NJ method. The results indicate that genetic divergence in populations of *O. asiaticus* corresponds to both geographic and genetic distance.

Key words *Oedaleus asiaticus*, RAPD, genetic divergence

摘 要 采用随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术对内蒙古地区亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* (B.-bienko) 9 个不同地理种群 90 个个体进行扩增, 8 条随机引物扩增共产生了 78 条带, 多态性片段为 62 条。对 Nei's 基因多样性指数和遗传距离进行分析, 结果表明: 种群间的遗传分化系数为 0.2343, 即 23.43% 的遗传变异存在于种群间, 种群内的遗传分化系数为 0.7657, 即 76.57% 的遗传多样性存在于种群内, 群体内遗传多样性大于群体间遗传多样性。用 NJ 法对这 3 个种群的 Nei's 遗传距离作聚类分析, 结果表明亚洲小车蝗不同种群的遗传分化程度与地理距离具有正相关关系。

关键词 亚洲小车蝗, RAPD, 遗传分化

现代分子生物技术的飞速发展, 为生物多样性研究提供了新的方法和手段, 在 DNA 水平上检测物种的遗传结构和遗传多样性, 越来越受到人们的重视。由于 RAPD 具有技术简单、对 DNA 纯度要求较宽松、不需要任何分子遗传背景、可用引物多等特点而广泛应用于昆虫遗传多样性检测、基因定位、品系鉴定、遗传图谱的构建和系统学等诸多领域^[1,2]。

亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* (B.-bienko) 是北方地区的优势蝗虫, 更是内蒙古草原的主

要优势种, 以禾本科植物为食, 在内蒙古地区严重年份发生面积可达 9 000 多万亩, 发生为害早, 发生数量大, 严重危害时可导致受害作物减产 50% 以上^[3], 不光造成农牧业产量的损失, 还加重了对草原、农田生态系统的破坏, 有效的

* 资助项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (中国农业科学院草原研究所)、公益性行业 (农业) 科研专项 (200803032)。

** 通讯作者, E-mail: shujinggao688@163.com

收稿日期: 2009-09-15, 修回日期: 2010-03-15

控制其发生和危害至关重要。亚洲小车蝗属土蝗,飞行能力很强,一般土蝗没用迁飞习性,目前也未见其他土蝗有聚集迁飞的报道。但近年来,亚洲小车蝗在大发生时常常有大量聚集取食并且集体转移的习性,曾有人观察到其有迁飞现象^[6],这更为它的防治工作带来困难。研究不同地理种群亚洲小车蝗的遗传差异是确定其是否迁飞的基础。目前国内对于亚洲小车蝗的研究大多集中于营养学、蛋白质水平及危害损失估计等方面^[5,6],分子系统学方面的研究尚未见报道。本文利用 RAPD 技术,从分子水平上探讨内蒙古地区 9 个地区的亚洲小车蝗种群间及种群内的遗传多样性及遗传分化,进而分析种群之间的遗传分化与地区生境的关系,为亚洲小车蝗防治提供重要基础数据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验所用蝗虫标本均为冷冻保存,标本来源见表 1 和图 1。

1.2 试剂

所用 Taq 酶、dNTP、RNA 酶 A、蛋白酶 K、DNA 标记(Marker)等均由宝生物工程(大连)有限公司提供;EDTA、溴酚蓝和琼脂糖购自 Sigma 公司;其它药品与试剂为国产或进口分装 AR 级产品。

1.3 试验方法

1.3.1 基因组 DNA 的提取 参照印红等^[7]、张民照等^[8]方法进行改进。取成年蝗虫后足,用三蒸水冲洗 3 遍以上,剪碎材料于装有 0.8 mL 匀浆液(200 mmol/L Tris-Cl, pH 8.0; 100 mmol/L EDTA; 1% SDS; 50 μg/mL 蛋白酶 K),于 37℃ 温育 4 h,再加入等量酚和酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)以后收集水相,加入 NaCl(150 mmol/L)及双倍乙醇,置 -20℃ 冰箱内过夜;经离心干燥后,在 DNA 沉淀块中加 0.4 mL TNE 缓冲液,并加 RNA 酶(50 μg/mL),于 37℃ 温育 5 h 后,加蛋白酶 K 120 μg,继续温育 5 h;再用上述方法重复抽提 DNA 1 次;然后用 100 μL TNE 溶解 DNA 并定量。

1.3.2 引物筛选 本试验共对 30 条随机引物进行筛选,引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。选取在多次扩增中多态性好且扩增稳定的引物用于 RAPD 分析,实验中共筛选出 8 条用于本试验中所有供试蝗虫组织的 DNA 扩增。引物号及序列见表 2。

表 1 用于 RAPD 研究的亚洲小车蝗标本

种群名称	采集地点	代码	个体数	采集时间(年·月)
乌兰察布市	四子王旗	WS	10	2008.8
巴彦浩特市	乌拉特前旗	BS	10	2008.8
呼伦贝尔	新巴尔虎左旗	HS	10	2008.8
赤峰市	阿鲁科尔沁旗	CFS	10	2007.8
通辽市	扎鲁特旗	TLS	10	2007.8
阿拉善盟	阿拉善左旗	AM	10	2008.8
兴安盟	乌兰浩特	XAM	10	2008.8
锡林浩特市	锡林浩特	XS	10	2009.7
包头市	达茂旗	BTS	10	2008.8

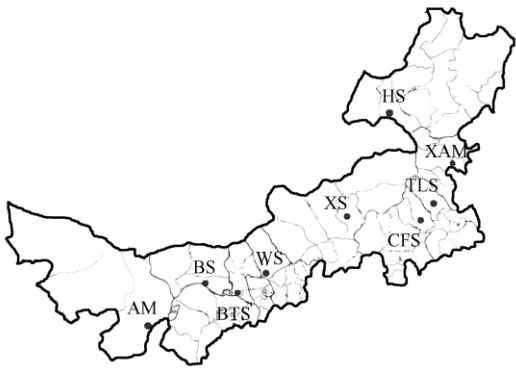


图 1 亚洲小车蝗采集地点(圆点所示)

1.3.3 PCR 扩增条件 反应总体积为 25 μL,包括:模板 DNA 20 ~ 50 ng,10 × 缓冲液 2.5 μL,Mg²⁺ 2.0 μL(25 mmol/L),dNTP 2.0 μL(2.5 mmol/L),引物 1.0 μL(10 μmol/L),TaqDNA 聚合酶 1 U。反应混合物用 20 μL 石蜡油覆盖以防蒸发。

反应条件为:94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 30 s,37℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 2 min,40 个循环后,72℃ 延伸 10 min,4℃ 保存。

1.3.4 扩增产物检测 扩增产物用含有核酸染料(0.005%)的质量浓度为 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,电泳缓冲液为 1 × TAE。取样品

DNA 5 μ L 加入 1 μ L 上样缓冲液,混匀后点入胶孔,标准分子量为2 000 bp DNALadder,凝胶成像系统观察拍照。

1.4 数据统计

RAPD 为显性标记,同一引物的扩增产物在琼脂糖凝胶电泳中迁移率相同的条带被认为是同源性的,属于同一位点的条带按清晰可见的强带或反复出现的弱带记为 1,无带记为 0,形成二元数据。

表 2 随机引物及其序列

引物	引物序列	引物	引物序列
S1	GTTTCGCTCC	S148	TGACCACGGT
S2	TGATCCCTGG	S283	ACAGCCTGCT
S3	CATCCCCCTG	S361	CATTGAGACC
S4	GGACTGGAGT	S823	CGCGTACTTC
S5	TGCGCCCTTC	S1416	CTCCTGAGGC
S8	GTCCACACGG	S1383	TTAGCGCCCC
S22	TGCCCAGCTG	S1387	CTACGCTCAC
S61	TTCGAGCCAG	S1395	ACGGAAGCCC
S72	TGTCATCCCC	S1396	GGAACCCACA
S74	TGCGTGCTTG	S1398	TGGTCCAGCC
S75	GACGGATCAG	S1401	CCGTCGGTAG
S124	GGTGATCAGG	S1406	GTGGCTTGGA
S125	CCGAATTCCC	S1407	GTAAACCGCC
S130	GGAAGCTTGG	S1410	TTCCCTCCCA
S1345	TGCTGCAGGT	S1415	CCTCCTTCTC

1.4.1 多态位点比率 在某一特定位点上,若扩增片段出现的频率小于 0.99,则此位点称为多态位点,多态位点比率即在所有检测位点中多态位点所占的比率。

1.4.2 Nei's 基因多样性指数、遗传距离和聚类分析 使用 POPGENE (version 1.31) 和 Phyltools 6.0,计算 Nei's 基因多样性指数、相似

系数、遗传距离和 F-statistics 分析,在 Mega 软件中用 NJ 法对距离矩阵作聚类分析,构建分子系统树。

1.4.3 遗传分化 利用软件软件 AMOVA v 1.5 进行分子方差分析,软件 AMOVA-PREP v 1.01 可将 RAPD 数据转化成被软件 AMOVA 识别的格式,用于处理^[9,10]。软件 MANTELTEST 进行 Mantel 测验^[11]。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 提取结果

对冷冻标本采用酚氯仿法进行了基因组 DNA 的提取,提取的样品经琼脂糖凝胶电泳检测,结果显示:DNA 带型整齐,无降解(图 2),说明此方法提取的 DNA 可满足 RAPD 研究的需要。

2.2 RAPD-PCR 扩增结果

用筛选的 8 条随机引物对亚洲小车蝗的 9 个种群 90 个个体进行扩增,共获得稳定、清晰可见的条带 78 条,各片段分子量大小在 3 00 ~ 2 500 bp 之间。平均每条引物扩增的条带数为 8 ~ 10 条,其中 S283 扩增条带数最多,为 11 条,而 S8 扩增条带数最少,为 3 条。部分引物扩增结果见图 3 和图 4。由图 3 和图 4 可见,同一种群的不同个体的扩增谱带存在一定程度的差异,差异的产生与物种及所使用的引物有关。

2.3 多态位点百分率

8 个寡核苷酸引物共扩增出 78 个 RAPD 位点,多态位点共计 62 个,总的多态位点百分率为 79.48%。不同引物在不同种群中所检测出的 RAPD 位点及多态位点百分率不同(表

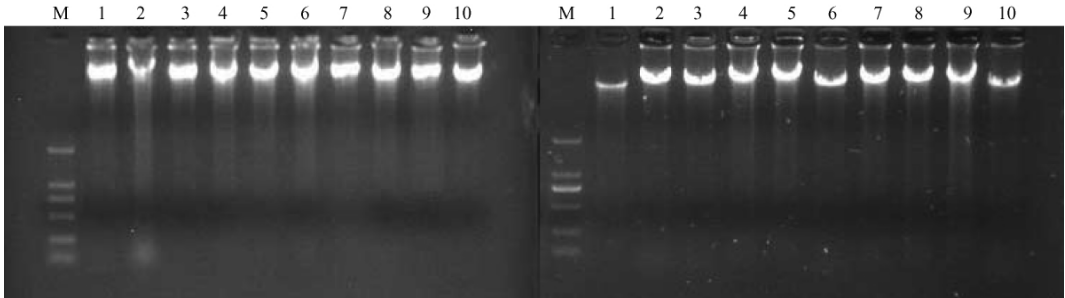


图 2 内蒙古地区蝗虫基因组 DNA(部分)的电泳检测图

3)。多态片段在不同种群中的分布也不同,内蒙古呼伦贝尔市和阿拉善种群由这 8 条引物检测出的多态位点数量较多为 52 和 51。内蒙古锡林浩特种群多态位点数最少为 30,这 9 个种群的多态位点百分率都在 0.6 以上。

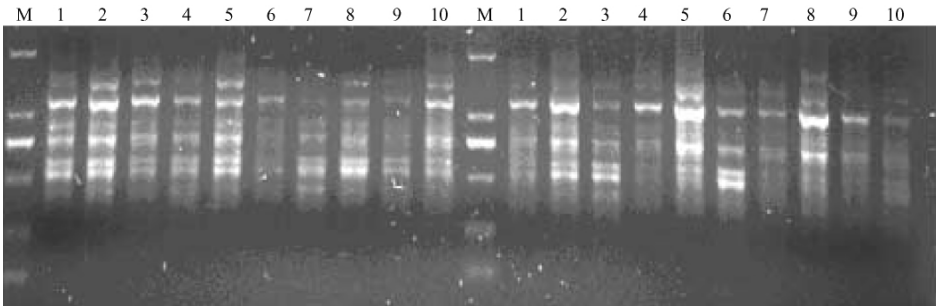


图 3 引物 S1406 对巴盟种群(左)和乌盟种群(右)10 个个体的扩增结果

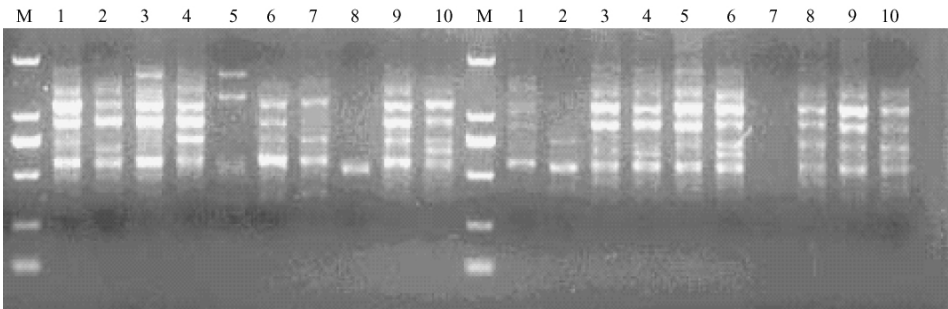


图 4 引物 S75 对呼盟种群(左)和兴安盟种群(右)10 个个体的扩增结果

表 3 9 个种群 8 个引物的 RAPD 位点数和多态位点比率

种群	样本数	位点数	多态位点数	多态位点比率(P)
WS	10	54	41	0.759 3
BS	10	55	43	0.763 6
HS	10	71	52	0.732 4
CFS	10	46	32	0.695 7
TLS	10	72	50	0.694 4
AM	10	68	51	0.750 0
XAM	10	52	34	0.653 8
XS	10	49	30	0.612 2
BTS	10	42	31	0.738 1
总计	90	78	62	0.794 8

注:种群代号同表 1。(下表同)

2.4 遗传多样性

根据等位基因频率计算的 Nei's 基因多样性指数见表 4,各引物检测出的基因多样性中,阿拉善盟种群最高(0.3823),锡林浩特市种群最低(0.2378),种群间的遗传分化系数为

0.2343,即 23.43% 的遗传变异存在于种群间,种群内的遗传分化系数为 0.7657,即 76.57 % 的遗传多样性存在于种群内。根据等位基因频率计算的 Nei's 基因多样性指数在亚洲小车蝗各种群的遗传多样性顺序为阿盟种群>兴安盟种群>巴盟种群>呼盟种群>包头种群>赤峰种群>乌盟种群>通辽种群>锡盟种群。不同地理种群间的基因流用 N_m 值表示,通常 $N_m > 4$ 表明种群间的基因交流比较充分,若 $N_m < 1$ 则表明种群可能由于遗传漂变而发生了分化。本研究中 9 个地理种群间的 N_m 平均值为 4.406,表明各地理种群间都存在着一定程度的基因交流。

2.5 种群间的遗传结构

2.5.1 遗传一致度和遗传距离 由 Nei's 遗传一致度(表 5 上三角值)和遗传距离(表 5 下三角值)可以看出,亚洲小车蝗的 9 个种群的遗传一致度在 0.7736 ~ 0.9234 之间,锡盟种群

和兴安盟种群的相似度最低,为0.7736,为通辽种群和赤峰种群的相似度最高,为0.9234。遗传距离在0.0697~0.2514之间,赤峰市种群和

通辽市种群的遗传距离最小,为0.0697;阿拉善盟种群和呼伦贝尔市种群的遗传距离最大,为0.2514。

表4 由 Nei's 指数估计的亚洲小车蝗种群的遗传多样性和遗传分化

Primers	BS	HS	XS	CFS	AM	XAM	TLS	BTS	WS	H _s	H _T	G _{ST}	Nm*
S61	0.3439	0.3040	0.2164	0.2478	0.4152	0.2789	0.3246	0.2707	0.2847	0.2985	0.3599	0.1706	5.649
S75	0.0000	0.2635	0.2163	0.2317	0.3871	0.3871	0.1765	0.1480	0.1479	0.2176	0.2693	0.1919	3.822
S125	0.2516	0.2725	0.1186	0.1817	0.2660	0.3001	0.16228	0.1888	0.2357	0.2197	0.2721	0.1926	4.415
S134	0.4746	0.4392	0.3780	0.3732	0.4765	0.4291	0.2290	0.3061	0.3142	0.3799	0.4769	0.2034	3.270
S283	0.3939	0.2501	0.3381	0.3352	0.4342	0.3127	0.3712	0.3303	0.4199	0.3539	0.4212	0.1598	6.474
S361	0.4510	0.3399	0.2071	0.1239	0.4244	0.3871	0.1117	0.4025	0.2319	0.2977	0.4528	0.3425	5.283
S823	0.2982	0.2947	0.2244	0.4036	0.2792	0.3350	0.2846	0.3799	0.3309	0.3145	0.4942	0.3636	3.673
S1402	0.3563	0.2162	0.1239	0.3036	0.3157	0.3708	0.3399	0.3190	0.1236	0.2743	0.3618	0.2418	2.655
Mean	0.3322	0.3020	0.2378	0.2794	0.3823	0.3473	0.2567	0.2919	0.2726	0.2945	0.3885	0.2343	4.405

注:H_s:种内遗传多样性;H_T:种群遗传多样性;G_{ST}:种群间基因分化系数;Nm*:基因流。

表5 亚洲小车蝗9个地理种群的遗传一致度和遗传距离

种群	BS	HS	XS	CFS	AM	XAM	TLS	BTS	WS
BS	****	0.8442	0.9415	0.8432	0.8785	0.8399	0.8301	0.9021	0.8789
HS	0.1894	****	0.8190	0.9096	0.8769	0.8281	0.9272	0.8720	0.8173
XS	0.1603	0.1396	****	0.8354	0.8731	0.7736	0.8151	0.8885	0.8427
CFS	0.1705	0.0948	0.1799	****	0.8793	0.8172	0.9234	0.8691	0.8487
AM	0.1295	0.2514	0.1857	0.1286	****	0.8385	0.8309	0.8846	0.8901
XAM	0.1745	0.0886	0.1767	0.2019	0.1762	****	0.7949	0.8057	0.8980
TLS	0.1863	0.0756	0.2045	0.0697	0.1853	0.2295	****	0.8399	0.7967
BTS	0.0930	0.1370	0.1582	0.1404	0.1227	0.2161	0.1745	****	0.8833
WS	0.1291	0.2017	0.1712	0.1640	0.1464	0.1076	0.2273	0.1240	****

2.5.2 种群间遗传结构的 AMOVA 分析 用软件 AMOVA-PREP v 1.0 进行数据转换,然后用软件 AMOVA v 1.5 进行分子方差分析,对种群内变异和种群间变异计算,内蒙古地区的9个种群作为1组处理。从表6结果表明:亚洲

小车蝗种群间的变异为1.697,占总变异的20.97%;种群内的变异为6.395,占总变异的79.03%,说明种群内的遗传差异显著高于种群间的($P < 0.0001$,置换数为9999)。

表6 9个亚洲小车蝗地理种群间的 AMOVA 分析

方差来源	自由度 df	离差平方和 SS	离均差平方和 MS	方差分量	占总方差 百分率(%)	概率 p 值
种群间	8	125.33	15.667	1.697	20.97	< 0.0001
种群内	81	461.30	5.695	6.395	79.03	< 0.0001
总和	89	586.63	21.362	8.092	100	< 0.0001

2.6 聚类分析

选取 RAPD 图片中清晰可辨的 DNA 带纹,以标准分子量为参考,进行0、1数据的转换,使用 POPGENE(version 1.31) 计算 Nei's 相似系

数和遗传距离,在 Mega 软件中用 NJ 法对距离短阵作聚类分析,构建分子系统树(图5)。聚类结果表明:地理距离较近的种群首先聚为一类,如赤峰种群和通辽种群,而地理距离较远的

包头种群和呼盟种群则分别居在 2 类,说明遗传距离与地理距离有一定相关性。用 Nei's 遗传距离与空间距离进行 Mantel 测验,结果表明,亚洲小车蝗种群间的遗传距离随空间距离的增加而有增大的趋势,两对矩阵存在极显著的正相关性($R = 0.3742, P = 0.005$)。Nei's 距离用空间距离可表示为 $Y_1 = 2.016 \times 10^{-5} X_1 - 0.06$ 。遗传距离和空间距离的显著相关说明空间地理隔离在亚洲小车蝗地理种群分化的过程中起比较重要的作用。遗传距离和空间距离呈线性正相关,空间距离越大遗传距离越大,种群间分化程度越高。

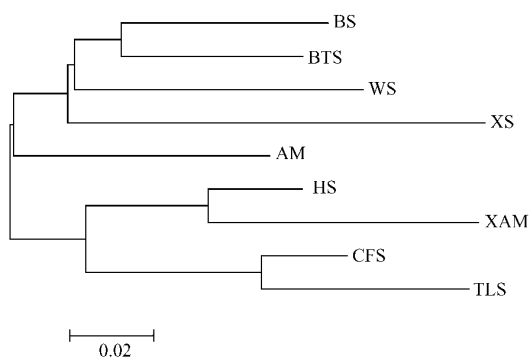


图 5 用 NJ 法构建的群体间分子系统树

3 结论与讨论

RAPD 技术自 1990 年问世以来,由于其存在的稳定性问题,不少学者对该技术的可靠性提出过质疑,但由于 RAPD 技术的简单、快速、对 DNA 模板质量相对要求不高,且不需要了解所研究对象的背景等诸多优势,在种群遗传分化及物种特异分子标记的建立等领域仍发挥重要作用^[2]。在 RAPD 分析中,扩增区域随机分布于整个染色体基因组中,运用大量引物可对整个基因组进行地毯式多态性分析,2 个基因组之间的微小差异也能被反映出来,因此, RAPD 技术在种下不同种群及近缘种亲缘关系的研究中具有突出的优势^[3-15]。目前在国内外仍然是研究遗传分化的重要手段^[4]。

本文中用 8 个寡核苷酸引物共扩增出 78 个 RAPD 位点,多态位点共计 62 个,总的多态

位点比率为 79.48%。RAPD 谱带的统计结果表明:共有带在种群间有一定的规律可循,种群内不同个体间的共有片段明显高于种群间。在所研究的亚洲小车蝗 9 个种群中,种群内的共有片段数为 10~12 条,种群间的共有片段数为 6 条。共有带数目的多少与聚类图中所显示的种群间遗传距离存在一定的正相关关系($R = 0.3742, P = 0.005$)。张建珍等在研究中华稻蝗 5 种群的 RAPD 遗传分化时也认为种群间共有片段的多少与分化程度相关^[6]。本文的结果与上述观点相一致。

由 Nei's 基因多样性指数计算的亚洲小车蝗 9 个种群的遗传多样性顺序为:阿盟种群 > 兴安盟种群 > 巴盟种群 > 呼盟种群 > 包头种群 > 赤峰种群 > 乌盟种群 > 通辽种群 > 锡盟种群。种群间遗传分化系数为 0.2343,即 23.43% 的遗传变异存在于种群之间,种群内遗传分化系数为 0.7657,即 76.57% 遗传多样性存在于种群内部。AMOVA 分析结果也表明,亚洲小车蝗种群间的变异为 1.697,占总变异的 20.97%;种群内的变异为 6.395,占总变异的 79.03%,说明种群内的遗传差异显著高于种群间的。结果表明,亚洲小车蝗绝大部分的遗传变异存在于种群内部。亚洲小车蝗喜食禾本科植物,多分布于植被稀疏、地面裸露的向阳坡地、丘陵等地,体中型,飞翔能力较强,蒋湘等人就观察到其迁飞习性^[8]。亚洲小车蝗自然种群的栖息地和活动范围较大,可以在种群内部进行较为广泛的自由交配, N_m 结果也表明,不同地理种群间存在基因交流,而同一栖息环境种群内部可以进行较为广泛的自由交配,有利于种群内部遗传多样性的产生和维持。具有迁飞或一定飞翔能力的蝗虫在遗传变异水平上一般高于非迁飞性、活动能力较弱甚至完全不能飞翔的蝗虫^[7]。蝗虫的频繁飞翔和迁飞增加了基因交流,导致种群内产生较高程度的遗传多态性。飞翔能力在蝗虫种群之间的遗传分化中具有极为重要的作用。亚洲小车蝗不同种群之间的遗传分化系数(G_{st})表明种群之间有一定程度的遗传分化。飞翔能力强,活动范

围大,这些生物学特性促进了该种群之间的基因交流,降低了种群之间的遗传分化程度。聚类分析结果显示,亚洲小车蝗 9 个地理种群聚为 3 支,处于中西部地区的巴盟种群、包头种群、乌盟种群和锡盟种群聚为一类,处于东部地区的呼盟种群、兴安盟种群、赤峰种群和通辽种群聚为另一类,处于内蒙古最西部阿拉善盟种群单独为一类。聚为一类的地理种群生态条件有较高的相似性,加之地理距离较近,增加了基因交流机会,降低了遗传差异。阿拉善盟种群的采集地区为荒漠草原,其余采集地区多为典型草原,加之地理距离较远有一定地理隔离,可能是其单独为一类的原因。环境、气候、地理的差异、生活习性的不同都可能导致蝗虫出现遗传分化^[6]。本文研究表明种群之间的遗传分化与地理距离呈正相关,这与前人的研究结果一致^[8~22]。

参 考 文 献

- Welsh J., McClelland M. Fingerprinting genome using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.*, 1990, **18**: 7 213 ~ 7 218.
- Williams J. G., Kublik A. R., Livak K. J. *et al.* DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 1990, **18**: 6 531 ~ 6 535.
- 潘建梅. 内蒙古草原蝗虫发生原因及防治对策. *中国草地*, 2002, **24**(6): 66 ~ 69.
- 蒋湘, 买买提明, 张龙. 夜间迁飞的亚洲小车蝗. *草地学报*, 2003, **11**(1): 75 ~ 77.
- 关敬群, 魏增柱. 亚洲小车蝗 (*Oedaleus asiaticus* B. - bienko) 食量测定. *昆虫知识*, 1989, **26**(1): 8 ~ 10.
- 李广. 亚洲小车蝗为害草场损失估计分析的研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- 印红, 刘晓丽, 王彦芳, 等. 一种改进的昆虫基因组 DNA 的提取方法. *河北大学学报 (自然科学版)*, 2002, **22**(1): 80 ~ 83.
- 张民照, 康乐. 飞蝗总 DNA 的提取及其 RAPD 分析条件的摸索. *动物学研究*, 2001, **22**(1): 20 ~ 26.
- Miller M. P. AMOVA-PREP 1.01: A Program for the Preparation of the AMOVA Input Files from Dominant-Marker Raw Data, Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ. 1998.
- Excoffier L. AMOVA: Analysis of Molecular Variance (Version 1.55). Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva. 1993.
- Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.*, 1967, **27**: 209 ~ 220.
- Nkongolo K. K., Michael P., Gratton W. S. Identification and characterization of RAPD makers inferring genetic relationships among Pine species. *Genome*, 2002, **45**: 51 ~ 58.
- Ma R., Yli-Mattila T., Pulli S. Phylogenetic relationships among genotypes of worldwide collection of spring and winter ryes (*Secale cereale* L.) determined by RAPD-PCR markers. *Hereditas*, 2004, **140**(3): 210 ~ 221.
- Birmeta G., Nybom H., Bekele E. Distinction between wild and cultivated enset (*Ensete ventricosum*) gene pools in Ethiopia using RAPD markers. *Hereditas*, 2004, **140**(2): 139 ~ 148.
- 赵锦, 刘孟军. 枣树品种、品系及其近缘种的 RAPD 分析. *中国农业科学*, 2003, **36**(5): 590 ~ 594.
- 张建珍, 郭亚平, 段毅豪, 等. 日本稻蝗和赤胫伪稻蝗地理种群的 RAPD 遗传分化研究. *生态学报*, 2004, **7**(24): 1 339 ~ 1 405.
- Zheng X. Y., Zhong Y., Duan Y. H., *et al.* Genetic variation and population structure of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis*, in China by Allozyme, SSRP-PCR, and AFLP markers. *Biochem. Genet.*, 2006, **44**(8): 333 ~ 347.
- 张德兴, 闰路娜, 康乐, 等. 对中国飞蝗种下阶元划分和历史演化过程的几点看法. *动物学报*, 2003, **49**(5): 675 ~ 681.
- 郑先云, 段毅豪, 李春选, 等. 华北 2 蝗区东亚飞蝗种群遗传结构的比较研究. *遗传学报*, 2002, **29**(11): 966 ~ 971.
- 李春选, 马恩波, 郭亚平. 中国东亚飞蝗两个种群遗传分化的研究. *遗传学报*, 2003, **30**(11): 1 027 ~ 1 033.
- 李春选, 马恩波, 郑先云, 等. 中国东亚飞蝗四个地理种群遗传结构的比较研究. *昆虫学报*, 2004, **47**(1): 73 ~ 79.
- 张民照, 康乐. 飞蝗 (*Locusta migratoria*) 地理种群在中国的遗传分化. *中国科学 C 辑 生命科学*, 2005, **35**(3): 220 ~ 230.