

# 云南西花蓟马 rDNA-ITS2 遗传多态性 及其种群扩张<sup>\*</sup>

沈登荣<sup>1 2 \*\*</sup> 张宏瑞<sup>1 2</sup> 李正跃<sup>1 2</sup> 董 坤<sup>1 3</sup> 和绍禹<sup>1 3 \*\*\*</sup>

(1. 云南农业大学农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室 昆明 650201;  
2. 云南农业大学植物保护学院 昆明 650201; 3. 云南农业大学东方蜜蜂研究所 昆明 650201)

**摘 要** 应用 rDNA-ITS2 基因序列对云南各地理种群西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) 的遗传结构和遗传分化程度进行初步研究。经过比对 112 条序列,共发现了 59 个变异位点,定义了 30 种单倍型。云南省西花蓟马的单倍型多态性较高 ( $Hd = 0.90219$ ),而核酸多态性较低 ( $Pi = 0.00891$ )。各地理种群西花蓟马的遗传分化指数  $Fst$  为 0.00810,基因流  $Nm$  为 30.61,表明各地理种群间遗传分化程度非常低,种群间存在充分的基因交流。对群体进行中性检验、错配分析表明西花蓟马群体曾经历过近期的种群扩张。分子方差分析 (AMOVA) 表明,云南西花蓟马的遗传变异主要来自于种群内部,种群间的遗传变异水平还非常低。从分子生物学的角度上也证实了西花蓟马近期入侵云南的事实。

**关键词** 西花蓟马,遗传分化,基因流,种群扩张

## Genetic diversity and population expansion in different geographic populations of *Frankliniella occidentalis* in Yunnan, China

SHEN Deng-Rong<sup>1 2 \*\*</sup> ZHANG Hong-Rui<sup>1 2</sup> LI Zheng-Yue<sup>1 2</sup> DONG Kun<sup>1 3</sup> HE Shao-Yu<sup>1 3 \*\*\*</sup>

(1. Ministry of Education Key Laboratory of Agriculture Biodiversity and Pest Management, Kunming 650201, China;  
2. Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;  
3. Eastern Bee Research Institute of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract** The rDNA-ITS2 gene was used to investigate genetic structure and differentiation among populations of Pergande, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in Yunnan Province. 112 rDNA-ITS2 sequences were analyzed, including 59 variable sites, defining 30 haplotypes. Haplotype diversity was quite high ( $Hd = 0.90219$ ) overall but nucleotide diversity was low ( $Pi = 0.00891$ ). The  $Fst$  value was 0.00809 and gene flow was  $Nm = 30.64$  among all populations. These results suggest that genetic differentiation was low and that gene flow between different geographic populations was sufficient. Neutral test and mismatch analysis indicate that *F. occidentalis* has undergone a recent population expansion. The results of AMOVA also suggest that observed genetic differences mainly originate from inter-population differences, with relative little genetic variation within populations. These molecular data are consistent with the recent invasion of Yunnan by *F. occidentalis*.

**Key words** *Frankliniella occidentalis*, genetic differentiation, gene flow, population expansion

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) 是世界性的农业和园艺害虫,对许多农业和园艺植物造成极其严重的危害 (Smith *et al.*, 1997; Krik and Terry 2003; Pappu *et al.* 2009)。欧洲及地中

海地区植物保护组织 (EPPO) 将其定为 A2 级的检疫性害虫 (吕要斌等, 2004)。西花蓟马食性较广,寄主植物包括重要的菊科、豆科、十字花科等作物,尤其温室中花卉、茄果类植物受害最重

\* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803025)、云南省自然科学基金面上项目(2007C054M)。

\*\*E-mail: ynshdr@126.com

\*\*\*通讯作者,E-mail: kmhsy@163.com

收稿日期:2011-02-28,接受日期:2011-04-28

(Parella and Jones, 1987)。除直接对植物造成危害外,西花蓟马还能传播多种植物病毒(Toshiro and Tamito, 2007),包括 2 种重要的植物病毒,即番茄斑萎病毒 TSWV、仙客来环斑坏死病毒 INSV(陈坤荣等, 2005;程晓非等, 2007)。

我国于 2003 年在北京首次报道西花蓟马的发生和为害(张友军等, 2003),之后云南、浙江、山东、贵州、湖南等省市也报道西花蓟马的分布(张友军等, 2003;吴青君等, 2007;郑长英等, 2007;袁成明等, 2008;刘佳等, 2010),但西花蓟马主要在我国北京和云南广泛分布(吴青君等, 2007)。目前认为西花蓟马分化为温室品系和羽扇豆品系。两个品系在抗药性上有显著差别(Martin and Workman, 1994)。除此以外,不同地理种群的西花蓟马在体色、抗寒性等方面也存在较大的差异(Felland *et al.*, 1993; Kirk and Terry, 2003; Tsumuki *et al.*, 2007)。目前,国内针对西花蓟马种群遗传的研究较少(武晓云等, 2009)。因此,有必要采用分子系统地理学对西花蓟马进行深入研究,探讨地理种群间的遗传结构及其分化。

核糖体 DNA 中的内转录间隔区 ITS2 作为非编码区,承受的选择压力较小,相对变化较大,并且能够提供详尽的系统学分析所需要的可遗传性状,是生物分子鉴定和系统发育中十分常用的分子标记(Gallego and Galian, 2001; Coleman, 2003; Hovmoller and Johansson, 2004)。本研究采用 rDNA-ITS2 基因作为分子标记,对云南不同地理种群西花蓟马的遗传结构和分化进行分析,探讨云南西花蓟马各地理种群之间遗传分化程度以及形成的原因,可为进一步研究我国其它地区西花蓟马的种群遗传结构及防治提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料和采集方法

云南是我国西花蓟马发生最为广泛和严重的地区之一。本研究中西花蓟马的采集地点均在云南省境内,采集信息及地理群体缩写详见表 1。野外采集的标本用 75% 酒精保存,带回实验室进行形态鉴定后放入 95% 酒精中, -20℃ 冰箱保存备用。

表 1 不同地理种群西花蓟马样本信息

Table 1 Sample information of *Frankliniella occidentalis* in different geographic populations

| 种群缩写<br>Population<br>abbreviations | 寄主植物<br>Host plants              | 经度<br>Longitude | 纬度<br>Latitude | 采集时间<br>Collection date |
|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------|----------------|-------------------------|
| 昆明 (KM)                             | 三叶草、白菜、洋葱、大叶黄杨、马蹄莲、葱、蒜、鱼眼草、菊花    | 102°47′         | 24°53′         | 2010. 4                 |
| 昭通 (ZT)                             | 茴香、萝卜、向日葵、金叶女贞、番茄、辣椒、马铃薯         | 103°42′         | 27°19′         | 2010. 6                 |
| 玉溪 (YX)                             | 茄子、梨、四季豆、三叶草、蜀葵、杜鹃、旱金莲           | 102°32′         | 24. 34′        | 2010. 4                 |
| 红河 (HH)                             | 南瓜、蒜、葱、辣椒、小蓟、茄子、番茄、月季            | 103°24′         | 23°30′         | 2010. 4                 |
| 丽江 (LJ)                             | 三叶草、马蹄莲、蒲公英、绣球花、萝卜、紫茎泽兰、草莓、青菜    | 100°03′         | 27°11′         | 2009. 4                 |
| 大理 (DL)                             | 仙人掌、酢浆草、辣椒、萝卜、紫茎泽兰、韭菜、接骨草、向日葵、扶桑 | 100°07′         | 25°41′         | 2010. 6                 |
| 楚雄 (CX)                             | 情人草、决明、牵牛花、蜀葵、曼陀罗、月季、油菜、马铃薯      | 101°61′         | 25°36′         | 2009. 4                 |
| 保山 (BS)                             | 茼蒿、紫茎泽兰、千层红、五色梅、桂花、石竹、茄子         | 99°14′          | 25°13′         | 2009. 5                 |
| 临沧 (LC)                             | 南瓜、四季豆、油菜、辣椒、苦瓜、马铃薯、葱、蒜          | 100°05′         | 23°51′         | 2008. 10                |
| 普洱 (PE)                             | 葱、蒜、红薯、牛皮菜、三叶草、番茄、辣椒             | 100°59′         | 22°45′         | 2009. 4                 |

### 1.2 基因组总 DNA 的提取

参照 Gomi 等(1997)的方法,并加以改进。具体步骤如下:(1)将待提取的蓟马样本置于无菌水

中浸泡 30 ~ 60 min,用滤纸吸干蓟马表面的多余水分,用镊子小心将蓟马虫体转移至 200 μL 离心管内;(2)加入 20 μL STE 缓冲液(100 mmol/L

NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl, 1.0 mmol/L EDTA, pH 8.0), 用烧融的塑料枪头对虫体进行研磨, 研磨完毕后用 20  $\mu$ L STE 冲洗研磨枪头; (3) 研磨后将离心管置于冰上, 重新挑取下一头蓟马放入另一个离心管内, 重复第 2 步; (4) 分别向离心管内加入 3  $\mu$ L 蛋白酶 K (10 mg/mL) 混匀, 58℃ 下孵育 1~2 h, 95℃ 变性 5 min; (5) 2 000 r/min 离心 1 min 弃去残渣, 上清液即可作为 PCR 扩增的模板, 模板保存在 -20℃ 下备用。

### 1.3 PCR 扩增及测定

rDNA-ITS2 基因片段的扩增所用引物为 52R (5'-GTTAGTTTCTTTTCCTCCCT-3') 和 P1 (5'-ATCACTCGGCTCGTGGATCG-3') (Moritz *et al.*, 2002; Glover *et al.*, 2009)。PCR 扩增反应体系为 50  $\mu$ L。体系包括: 2~3  $\mu$ L DNA 模板, 28.6  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O, 5  $\mu$ L 10 × Buffer (MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L), 4  $\mu$ L dNTPs (2.5 mmol/L), 0.5  $\mu$ L Taq DNA 聚合酶 (5 U/ $\mu$ L) (TaKaRa), 上游和下游引物各 1.0  $\mu$ L (10 pmol/ $\mu$ L), 加灭菌双蒸水至 50  $\mu$ L。

PCR 步骤如下: 94℃ 预变性 5 min; 接着 94℃ 变性 40 s, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72℃ 后延伸 10 min, 4℃ 保存。扩增产物的检测: 取 PCR 反应产物 2.0  $\mu$ L, 采用 1.0% 琼脂糖凝胶检测, 80V 电压电泳 50 min, 最后在凝胶成像系统下观察拍照。

### 1.4 序列处理 and 数据分析

用 DNASTar 5.0 (Librado and Rozas, 2009) 将 PCR 产物直接测序测出的序列进行双向拼接, 切除目的片段两端的上下游引物。将拼接矫正过的 DNA 序列在 NCBI 上进行 BLAST 相似性搜索, 以确保获得的序列为目的的基因片段。用 Clustal X 1.8 软件进行序列比对 (Thompson *et al.*, 1997)。使用 DnaSP 5.0 (Librado and Rozas, 2009) 统计核苷酸多态度 ( $P_i$ )、单倍型多态度 ( $H_d$ )、平均核苷酸差异数 ( $K$ ), 采用 Arlequin V3.01 对种群做分子方差分析 (AMOVA) 以及检测种群间遗传分化的显著性。用 MEGA 4.0 软件 (Tamura *et al.*, 2007) 分析核苷酸组成及统计单倍型、碱基的变异位点、简约信息位点, 同时采用 MEGA 4.0 软件的邻接法 (neighbor joining, NJ) 和最小进化法 (minimum evolution, ME) 构建不同单倍型及种间的系统发生树, 选用 Kimura-2-Parameter 模型, 系统树分支的

置信度采用自展法 (bootstrap analysis, BP) 重复检测 1 000 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 rDNA-ITS2 序列变异及遗传多样性

**2.1.1 rDNA-ITS2 序列变异分析** rDNA-ITS2 基因长度为 469~471 bp, 其中有 409 个碱基序列为保守位点 (conserved sites), 差异校正位点 (sites with alignment gaps) 2 个, 变异位点 59 个, 占序列长度的 12.53%, 其中包括 25 个单一变异位点 (singleton variable sites)、34 个简约信息位点 (parsimonious informative sites)。2 个插入/缺失 (deletion/insertion) 位点 (406、407)。序列 T、C、A、G 含量分别为: 24.07%、28.28%、21.55% 和 26.10%, A+T 含量 (45.62%) 稍低于 G+C 含量 (54.38%)。

通过统计云南省不同地理种群西花蓟马共 112 个个体 rDNA-ITS2 片段, 共检测出 30 个单倍型 (登录号: HQ890851-HQ890880), 各地理种群单倍型分布见表 2。包括 10 种共享单倍型, 分别记为 Hap1~Hap10; 20 种独有单倍型, 分别记为 Hap11~Hap30。通过比较各地理种群的单倍型及出现频次表明: 单倍型 Hap1、Hap2、Hap3、Hap4 的出现频次较高。其中, 单倍型 Hap1 为 10 个地理种群所共享, 出现 20 次, 占有所有样品的 17.86%; Hap2 为 9 个地理种群所共享, 出现 16 次, 占样本的 16.07%; Hap3、Hap4 所占比例分别为 11.61%、16.07%; 而所有的独有单倍型所占的比率为 17.86%。

**2.1.2 ITS-2 序列遗传多样性** 对云南省 10 个地理种群共 110 条西花蓟马 ITS-2 序列进行分析, 由表 3 可以看出, 10 个地理种群的单倍型多态度 ( $H_d$ ) 为 0.90219; 核苷酸平均差异数 ( $K$ ) 为 4.17712; 核苷酸多态度 ( $P_i$ ) 为 0.00891。各地理种群中, HH 种群的核苷酸多态度最高, 达到 0.01663, 而 CX 种群的核苷酸多态度最低, 仅为 0.00491。

通过比较种群间西花蓟马的核苷酸平均差异数 ( $K_{xy}$ ) 与核苷酸歧义度 ( $D_{xy}$ ) (表 4), 结果表明: HH、LJ 种群与其它 8 个地理种群的核苷酸歧义度和核苷酸平均差异数较大, 核苷酸歧义度变化范围在 0.00945~0.01334 之间; 核苷酸平均差异数变化范围 4.43333~6.25833; 说明 HH、LJ 种群的遗传多样性程度较高。

表 2 西花蓟马种群间的单倍型分布

Table 2 The distribution of haplotypes among populations of *Frankliniella occidentalis*

| 种群         | 样本数         | 单倍型及个体数                                                                          |
|------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Population | Sample size | Haplotypes and number of individuals                                             |
| BS         | 12          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap4 (3); Hap7 (3); H19 (1); H24 (1)                         |
| CX         | 12          | Hap1 (3); Hap2 (2); Hap3 (2); Hap5 (1); Hap6 (2); Hap10 (1); Hap14 (1)           |
| DL         | 10          | Hap1 (2); Hap4 (2); Hap6 (1); Hap10 (3); Hap17 (1); Hap21 (1)                    |
| HH         | 10          | Hap1 (1); Hap2 (3); Hap3 (3); Hap18 (1); Hap25 (1); Hap27 (1)                    |
| KM         | 12          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap3 (1); Hap4 (3); Hap15 (1); Hap20 (1); Hap22 (1); H28 (1) |
| LJ         | 12          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap4 (3); Hap9 (3); H29 (1); H30 (1)                         |
| LC         | 10          | Hap1 (2); Hap2 (1); Hap3 (2); Hap4 (3); Hap5 (1); Hap9 (1)                       |
| PE         | 10          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap3 (1); Hap4 (2); Hap8 (2); Hap12 (1)                      |
| YX         | 12          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap3 (2); Hap8 (3); Hap11 (1); Hap23 (1); Hap26 (1)          |
| ZT         | 12          | Hap1 (2); Hap2 (2); Hap3 (2); Hap4 (2); Hap5 (2); Hap13 (1); Hap16 (1)           |

表 3 西花蓟马种群间的核苷酸多态度

Table 3 The nucleotide diversity among populations of *Frankliniella occidentalis*

| 种群         | 单倍型多态度                             | 核苷酸多态度                             | 核苷酸平均差异数                                              |
|------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Population | Haplotypes diversity ( <i>Hd</i> ) | Nucleotide diversity ( <i>Pi</i> ) | Average number of nucleotide differences ( <i>K</i> ) |
| BS         | 0. 87879                           | 0. 01021                           | 4. 78788                                              |
| CX         | 0. 90909                           | 0. 00491                           | 2. 30303                                              |
| DL         | 0. 88889                           | 0. 00644                           | 3. 02222                                              |
| HH         | 0. 86667                           | 0. 01663                           | 7. 80000                                              |
| KM         | 0. 92424                           | 0. 01011                           | 4. 74242                                              |
| LJ         | 0. 87879                           | 0. 01370                           | 6. 42424                                              |
| LC         | 0. 88889                           | 0. 00507                           | 2. 37778                                              |
| PE         | 0. 91111                           | 0. 00611                           | 2. 86667                                              |
| YX         | 0. 90909                           | 0. 00950                           | 4. 45455                                              |
| ZT         | 0. 92424                           | 0. 00552                           | 2. 59091                                              |
| Total      | 0. 90219                           | 0. 00891                           | 4. 17712                                              |

表 4 种群间的平均核苷酸差异数(上三角)与核苷酸歧义度(下三角)

Table 4 Average number of nucleotide differences (above the diagonal) and nucleotide divergence (below the diagonal) among populations

|    | BS       | CX       | DL       | HH       | KM       | LJ       | LC       | PE       | YX       | ZT       |
|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| BS |          | 3. 53472 | 3. 96667 | 6. 16667 | 4. 69444 | 5. 77778 | 3. 48333 | 3. 76667 | 4. 67361 | 3. 58333 |
| CX | 0. 00754 |          | 2. 60833 | 5. 11667 | 3. 45833 | 4. 65278 | 2. 33333 | 2. 58333 | 3. 46528 | 2. 38889 |
| DL | 0. 00846 | 0. 00556 |          | 5. 59000 | 3. 83333 | 5. 05833 | 2. 78000 | 3. 06000 | 3. 93333 | 2. 85833 |
| HH | 0. 01315 | 0. 01091 | 0. 01192 |          | 6. 25833 | 7. 24167 | 5. 16000 | 5. 34000 | 6. 04167 | 5. 21667 |
| KM | 0. 01001 | 0. 00737 | 0. 00817 | 0. 01334 |          | 5. 47222 | 3. 45000 | 3. 76667 | 4. 73611 | 3. 54167 |
| LJ | 0. 01232 | 0. 00992 | 0. 01079 | 0. 01544 | 0. 01167 |          | 4. 43333 | 4. 86667 | 5. 83333 | 4. 65278 |
| LC | 0. 00743 | 0. 00498 | 0. 00593 | 0. 01100 | 0. 00736 | 0. 00945 |          | 2. 54000 | 3. 61667 | 2. 31667 |
| PE | 0. 00803 | 0. 00551 | 0. 00652 | 0. 01139 | 0. 00803 | 0. 01038 | 0. 00542 |          | 3. 50000 | 2. 65000 |
| YX | 0. 00997 | 0. 00739 | 0. 00839 | 0. 01288 | 0. 01010 | 0. 01244 | 0. 00771 | 0. 00746 |          | 3. 68056 |
| ZT | 0. 00764 | 0. 00509 | 0. 00609 | 0. 01112 | 0. 00755 | 0. 00992 | 0. 00494 | 0. 00565 | 0. 00785 |          |



显示 DL、CX 和 ZT、KM、LC、LJ 6 个地理种群遗传关系较为接近,6 个地理种群聚为一个分支;而 YX、PE 2 个地理种群也聚为一支。从各地理种群的遗传距离可以看出,西花蓟马种群的遗传距离与地理系统存在较大出入。

#### 2.4 不同地理种群的遗传分化

遗传分化指数(F-statistic,  $F_{st}$ )可表示不同群体间等位基因频率的变异,是反映群体进化历史的重要参数,可在一定程度上揭示种群间基因流和遗传漂变的程度。而基因流则可以揭示出群体间可能的基因渗透及影响遗传分化的遗传现象。

Arlequin V3.01 计算结果显示,10 个地理种群间的遗传分化指数  $F_{st}$  为 0.00810,基因流  $N_m$  为 30.61,各地理种群间的遗传分化指数为 -0.07238 ~ 0.06753 之间(表 6),除 LJ 与 YX、LJ 与 DL 种群间的遗传分化程度中等( $P < 0.05$ ),其余地理种群间的遗传分化程度还较低。基因流显示各地理种群间存在较大的基因交流。对各种种群间进行 AMOVA 分析(表 7),结果显示:99.19% 的变异来自种群内,而种群间的变异仅占 0.81%,说明云南西花蓟马的遗传变异主要来自于种群内部,种群间的遗传变异水平还非常低。

表 6 西花蓟马种群间的遗传分化指数

Table 6 The  $F_{st}$  value among populations of *Frankliniella occidentalis*

|    | BS       | CX       | DL       | HH       | KM       | LJ       | LC       | PE       | YX      | ZT |
|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|----|
| BS |          |          |          |          |          |          |          |          |         |    |
| CX | -0.00034 |          |          |          |          |          |          |          |         |    |
| DL | 0.01553  | -0.02082 |          |          |          |          |          |          |         |    |
| HH | -0.02064 | 0.01273  | 0.03200  |          |          |          |          |          |         |    |
| KM | -0.01506 | -0.01862 | -0.01278 | -0.00206 |          |          |          |          |         |    |
| LJ | 0.02972  | 0.06214  | 0.06625* | 0.01789  | -0.02030 |          |          |          |         |    |
| LC | -0.02856 | -0.00303 | 0.02878  | 0.01378  | -0.03191 | 0.00729  |          |          |         |    |
| PE | -0.01609 | -0.00059 | 0.03776  | 0.00125  | -0.01006 | 0.04545  | -0.03237 |          |         |    |
| YX | 0.01121  | 0.02496  | 0.04956  | -0.01417 | 0.02906  | 0.06753* | 0.05544  | -0.04589 |         |    |
| ZT | -0.02960 | -0.02431 | 0.01811  | 0.00407  | -0.03529 | 0.03121  | -0.07238 | -0.02973 | 0.04288 |    |

注:表中\* 表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同。

Data with\* indicate significantly different at 0.05 level. The same below.

表 7 西花蓟马种群间的分子方差分析

Table 7 Analysis of molecular variance among populations of *Frankliniella occidentalis*

| 变异来源<br>Source of variation | 自由度<br>$df$ | 平方和<br>Sum of squares | 变异组成<br>Variance components | 变异比例<br>Percentage variation |
|-----------------------------|-------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 种群间<br>Among populations    | 9           | 20.364                | 0.01693                     | 0.81                         |
| 种群内<br>Within populations   | 102         | 211.467               | 2.07320                     | 99.19                        |
| 总变异<br>Total                | 111         | 231.830               | 2.09013                     | 100.00                       |

遗传分化指数  $F_{st}$ : 0.00810

#### 2.5 西花蓟马的种群历史分析

分别采用 Tajima's Test、Fu and Li's Test 对各地地理种群进行中性检测(Neutral test)(表 8),检测结果表明各地理种群无显著差异( $P > 0.05$ ),表明大多数地理种群内的序列在进化上遵循中性

模型。而将所有个体作为一个整体进行分析,发现 Tajima's D 值为负值(-2.12486),达到差异水平( $P < 0.05$ );Fu and Li's F 值也为负值(-3.17641),达到差异水平( $P < 0.02$ )。说明云南西花蓟马作为一个整体在进化上不遵循中性模

型,因此推测云南西花蓟马可能受到正向选择,群体在逐年扩大。通过采用 DnaSP 5.0 对所有地理种群序列的单倍型错配进行分析(图 3),所有的 ITS-2 单倍型呈现为一条虽不完整平滑但只有一个明显顶峰的单峰型曲线,表明西花蓟马曾作为一个整体经历过种群扩张(population expansion)。

表 8 西花蓟马种群间的中性检测  
Table 8 Neutral test among populations of *Frankliniella occidentalis*

| 种群 Population | Fu and Li's F            | Tajima's D                     |
|---------------|--------------------------|--------------------------------|
| BS            | -1.76553 ( $P > 0.10$ )  | -1.21699 ( $P > 0.10$ )        |
| CX            | -1.49970 ( $P > 0.10$ )  | -1.25278 ( $P > 0.10$ )        |
| DL            | -1.05072 ( $P > 0.10$ )  | -0.99742 ( $0.10 > P > 0.05$ ) |
| HH            | -1.76196 ( $P > 0.10$ )  | -1.49471 ( $P > 0.10$ )        |
| KM            | -1.86946 ( $P > 0.10$ )  | -1.40159 ( $P > 0.10$ )        |
| LJ            | 0.17410 ( $P > 0.10$ )   | -0.33570 ( $P > 0.10$ )        |
| LC            | 0.31041 ( $P > 0.10$ )   | 0.50103 ( $P > 0.10$ )         |
| PE            | 1.35555 ( $P > 0.10$ )   | 0.67147 ( $P > 0.10$ )         |
| YX            | -1.41953 ( $P > 0.10$ )  | -1.10127 ( $P > 0.10$ )        |
| ZT            | -0.47350 ( $P > 0.10$ )  | -0.08774 ( $P > 0.10$ )        |
| Total         | -3.17641* ( $P < 0.02$ ) | -2.12486* ( $P < 0.05$ )       |

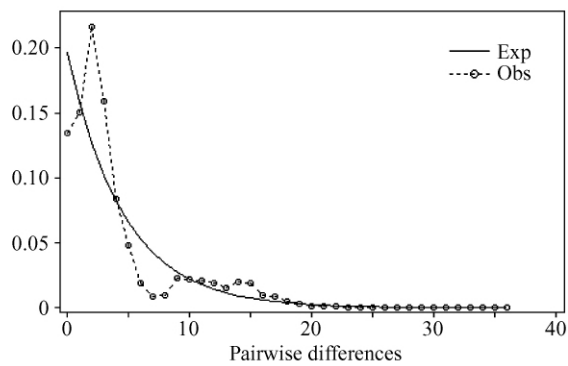


图 3 西花蓟马 ITS-2 序列单倍型错配分布图  
Fig.3 Mismatch distribution of ITS-2 haplotypes of *Frankliniella occidentalis*

3 讨论

3.1 西花蓟马种群的遗传多样性

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分。遗传多样性不仅是形成生物多样性的基础,也是物种进化潜能的保证。遗传多样性的下降,可能导致物种对环境适应能力的降低(Frankham *et al.* 2002)。通过分析西花蓟马各地理种群的 rDNA-ITS2 基因片段,呈现出较高的单倍型多态性,但核酸多态性却较低。可能由以下原因引起:(1)西花蓟马作为一种外来入侵害虫,在云南发展的时间相对较短,还不足以积累更多的遗传变异。

(2)西花蓟马远距离扩散主要依靠人为因素。不同地区的种苗、花卉及其它农产品的调运可能导致同一地区存在多个西花蓟马的入侵来源。(3)群体的分化程度主要是对所在的生态条件相适应的结果,如果环境作用强度及方向大体相同,则各分布区内的种群在遗传上将难以形成显著的分化(Kelley 2000)。因此推测入侵时间短、种群间充分的基因交流是造成西花蓟马遗传多样性贫乏的原因。

3.2 西花蓟马种间遗传分化及种群扩张

群体遗传结构是指遗传变异在物种或群体中的一种非随机分布。这种非随机分布是由不同过程共同作用产生的,包括物种长期的进化历史、分布区改变、生境破碎、群体隔离、突变、遗传漂变、繁育系统、基因流与选择等。在西花蓟马分子遗传方面,国内外已有相关的研究报道。Rugman-Jones 等(2010)利用 mtDNA-CO I 和 rDNA-28S 基因片段区分了西花蓟马的 2 个品系。武晓云等(2009)用 mtDNA-CO I 对我国西花蓟马的构成进行分析,表明入侵我国的西花蓟马以温室系为主体,并存在一定数量的羽扇豆系。通过采用 rDNA-ITS2 对西花蓟马各单倍型分析表明,各进化枝之间分歧度很低,bootstrap 检验的支持度均低于 60%,没有形成明显的聚类分支。表明西花蓟马在 rDNA-ITS2 水平上仍然处于一个单系群,

rDNA-ITS2 基因片段可能无法对西花蓟马的温室品系和羽扇豆品系进行区分。

云南省 10 个地理种群间的遗传分化指数  $F_{st}$  为 0.00809, 基因流  $N_m$  为 30.61。从  $N_m$  值来看, 通常  $N_m > 1$ , 表明群体间的基因流的水平较高, 群体间遗传分化较小; 当  $N_m > 4$  时, 种群间的基因交流就更为充分, 遗传分化更小;  $N_m < 1$  说明群体可能由于遗传漂变而发生了分化 (Millar and Libby, 1991)。因此, 表明各地理种群间存在较为充分的基因交流, 制约了地理种群间的遗传分化; 通过总群体进行中性检验、错配分析也表明西花蓟马群体曾有过种群扩张历史, 种群间的 AMOVA 显示云南西花蓟马的遗传变异主要来自于种群内部, 种群间的遗传变异水平还非常低, 导致云南各地理种群之间的遗传距离很小, 没有形成明显的地理分布格局, 这也符合西花蓟马近期入侵云南的事实。

## 参考文献 (References)

- 陈坤荣, 许泽永, 晏立英, 王国平. 2005. 番茄斑萎病毒属 (*Tospovirus*) 病毒研究进展. 中国油料作物学报, 27 (3): 91—96.
- 程晓非, 武晓云, 李凡, 李正跃, 董家红, 张仲凯. 2007. 番茄斑萎病毒属病毒的多样性. 云南农业大学学报, 22 (4): 495—502.
- Coleman AW, 2003. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends in Genetics*, 19 (7): 370—375.
- Felland CM, Hull LA, Teuon DAJ, Alan Cameron E, 1993. Overwintering of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Pennsylvania. *The Canadian Entomologist*, 125: 971—973.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA, 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge: Cambridge University Press. 5—30.
- Gallego D, Galian J, 2001. The internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) of the rDNA differentiates the bark beetle forest pests *Tomicus destruens* and *T. piniperda*. *Insect Mol. Biol.*, 10 (5): 415—420.
- Gomi K, Gotoh T, Noda H, 1997. Wolbachia having no effect on reproductive incompatibility in *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 32: 485—490.
- Hovmoller R, Johansson FA, 2004. Phylogenetic perspective on larval spine morphology in *Leucorrhinia* (Odonata: Libellulidae) based on ITS1, 5.8S, and ITS2 rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30 (3): 653—662.
- Kelley ST, Farrell BD, Mitton JB, 2000. Effects of specialization on genetic differentiation in sister species of bark beetles. *Heredity*, 84 (14): 218—272.
- Kirk WDJ, Terry LI, 2003. The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Agric. For. Entomol.*, 5: 301—310.
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451—1452.
- 刘佳, 张林, 卢焰梅, 张宏瑞. 2010. 湖南外来入侵害虫西花蓟马初步调查. 安徽农业科学, 38 (25): 13800—13801.
- 吕要斌, 贝亚维, 林文彩, 章金明. 2004. 西花蓟马的生物学特性、寄主范围及危害特点. 浙江农业学报, 16 (5): 317—320.
- Martin NA, Workman PJ, 1994. Confirmation of a pesticide-resistant strain of western flower thrips in New Zealand. *Proceedings of the Forty Seventh New Zealand Plant Protection Conferences*. 144—148.
- Millar CL, Libby WJ, 1991. Strategies for conserving clinal, Cootypic, Ana disjunct population diversity in widespread species // Fald DA, Holsinger KE (eds.). *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York: Oxford University Press. 149—170.
- Pappu HR, Jones RA, Jain RK, 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. *Virus Res.*, 141: 219—236.
- Parella MP, Jones VP, 1987. Development of integrated pest management strategies in floriculture crops. *Bull. Entomol. Soc. Am*, 33: 28—34.
- Rugman-Jones PF, Hoddle MS, Stouthamer R, 2010. Nuclear-mitochondrial barcoding exposes the global pest western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as two sympatric cryptic species in its native California. *Molecular Entomology*, 103 (3): 877—886.
- Slatkin M, 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457—462.
- Smith I M, McNamara DG, Scott PR, Holderness M, 1997. *Quarantine Pests for Europe* (2nd Edition). Wallingford, UK: CABI. 267—272.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA 4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software

- version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24 (8): 1596—1599.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25 (24): 4876—4882.
- Toshiro I, Tamito S, 2007. The phylogeny of thrips (Thysanoptera: Thripidae) based on partial sequences of cytochrome oxidase I, 28S ribosomal DNA and elongation factor-1a and the association with vector competence of tospoviruses. *Appl. Entomol. Zool.*, 42 (1): 71—81.
- Tsumuki H, Ishida H, Yoshida H, Sonoda S, Izumi Y, Muria T, 2007. Cold hardiness of adult western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Applied Entomology and Zoology*, 42: 223—229.
- Weight S, 1978. *Evolution and The Genetics of Population Variability Within and Among Natural Population*. Chicago: University of Chicago Press. 10—15.
- 吴青君, 徐宝云, 张治军, 张友军, 朱国仁. 2007. 京、浙、滇地区植物蓟马种类及其分布调查. *中国植保导刊*, 27 (1): 32—34.
- 武晓云, 程晓非, 张仲凯, 桂富荣, 李正跃. 2009. 西花蓟马 (*Frankliniella occidentalis*) rDNA ITS2 和 CO I 基因 5' 末端序列的克隆与比较分析. *浙江大学学报*, 35 (4): 355—364.
- 袁成明, 鄧军锐, 李景柱, 张勇. 2008. 贵州省蔬菜蓟马的种类、分布及综合防治. *湖北农业科学*, 47 (12): 1442—1444.
- 张友军, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁. 2003. 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生危害. *植物保护*, 29 (4): 58—59.
- 郑长英, 刘云虹, 张乃芹, 赵希丽. 2007. 山东省发现外来入侵有害生物——西花蓟马. *青岛农业大学学报*, 24 (3): 172—174.