

不同地理种群的亚洲小车蝗 mtDNA ND1 基因序列及其相互关系^{*}

高书晶^{1**} 刘爱萍¹ 韩静玲² 闫志坚¹ 徐林波¹ 李东伟³

(1. 中国农业科学院草原研究所 呼和浩特 010010; 2. 唐山市农业科学研究院 唐山 063001;

3. 内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019)

摘 要 测定了 7 个不同地理种群的亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* (Bienko)、1 个近缘种及 2 个外群种共 31 个样本的 mtDNA ND1 基因序列, 比较其同源性, 计算核苷酸组成, 并以槌角蝗科的宽须蚁蝗 *Myrmeleotettix palpalis* 和斑腿蝗科的鼓翅皱膝蝗 *Angaracris barabensis* 作外群构建 UPGMA 和 NJ 分子系统树。在获得的亚洲小车蝗 347 bp 的序列中, A + T 约占 76.6%, 其中 22 个核苷酸位点存在变异(约占所测核苷酸的 7.26%)。就每个氨基酸密码子来看, 第 3 位点的 A + T 含量最高。28 个个体共检测出 18 个单倍型, 单倍型多样性指数(H)为 0.218, 核苷酸多样性指数(P_i)为 0.0018。分化系数为 0.0128 ~ 0.1573, 基因流 N_m 均大于 1; AMOVA 分析显示种群间的差异有 72.36% 存在于群体内部, 27.64% 存在于群体之间。分子系统树显示, 亚洲小车蝗 mtDNA ND1 序列不同个体之间有一定的分歧, 形成不同的簇类关系, 其分枝与地理分布没有直接的对应关系, 但总体上看, 这种簇类关系基本上呈平行分布, 没有明显的地域性差别。

关键词 亚洲小车蝗, 地理种群, mtDNA, ND1 基因, 遗传关系

Sequence analysis of mtDNA ND1 gene and relationships of geographical populations of *Oedaleus asiaticus*

GAO Shu-Jing^{1**} LIU Ai-Ping¹ HAN Jing-Ling² YAN Zhi-Jian¹ XU Lin-Bo¹ LI Dong-Wei³

(1. Grassland Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010, China;

2. Tangshan Research Institute of Agricultural Science, Tangshan 063001, China;

3. Inner Mongolia Agriculture University, Institute of Agriculture, Hohhot 010019, China)

Abstract Mitochondrial DNA ND1 gene sequences were sequenced in 31 individuals of *Oedaleus asiaticus* (Bienko) from 7 geographical populations in Inner Mongolia, including 1 related species and 2 outgroup species (*Myrmeleotettix palpalis* and *Angaracris barabensis*). We compared homologous sequences, calculated nucleotide composition and constructed a molecular phylogenetic tree with the Neighbor-Joining and UPGMA method. In the sequences obtained, A + T was about 76.6% and 22 nucleotide sites (about 7.26%) were substituted. A + T was much higher at the third site than the other two sites in every amino acid code. 18 haplotypes were detected in 28 individuals; haplotype diversity index(H) and mean nucleotide diversity index(P_i) reached 0.218 and 0.0018 respectively. Genetic divergence F_{st} was 0.0128—0.1573 and gene flow N_m was greater than 1. An AMOVA test indicated that there was 72.36% genetic variation within, and 27.64% between, populations. The phylogenetic trees suggested that different individuals from the 7 areas in Inner Mongolia were located in different clusters, but no clear relationships between haplotypes and geographical regions could be inferred. Because the branches of each cluster are parallel there is no clear difference between the different areas.

Key words *Oedaleus asiaticus*, geographical populations, mtDNA, ND1, genetic relationship

亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* (Bienko) 属直翅目 Orthoptera 蝗总科 Acridoidea 丝角蝗科

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

**E-mail: shujinggao688@163.com

收稿日期: 2010-06-23, 接受日期: 2011-02-28

Oedipodidae 小车蝗属 *Oedaleus* ,主要分布于河北、内蒙古、甘肃和青海省等地区,是我国北方草原的主要优势种害虫,也是农牧交错地带的重要经济害虫(蒋湘等,2003)。亚洲小车蝗主要以禾本科植物为食,在内蒙古地区发生危害极其严重(潘建梅,2002)。了解亚洲小车蝗不同地理种群间的系统进化关系,对于其利用和综合防治会起到重要作用。近年来,分子生物学技术和生化方法的不断发展和完善,为研究昆虫分类和系统演化提供了许多新的方法,为昆虫的系统进化研究开辟了广阔前景。线粒体 DNA 序列是研究属、种间系统发育很好的对象材料,国外不少学者成功地应用线粒体 DNA 序列研究昆虫的系统进化关系(Moritz *et al.*, 1987; Gray, 1989)。李伟丰等(2001)利用线粒体 DNA ND4 基因研究研究了 7 种长蠹科昆虫的系统进化关系。任竹梅等(2003)研究了不同地理区域小稻蝗 mtDNA 部分序列,在一定程度上为小稻蝗的系统演化提供了分子生物学方面的证据;杨凤霞等(2010)对不同地理种群二化螟 *Chilo suppressalis* COII 基因进行了遗传差异分析。

目前有关亚洲小车蝗的研究报道主要集中在食量、生活史及危害损失估计等方面(关敬群和魏增柱,1989;冯光翰等,1995;李广,2007),遗传多样

性研究较少,叶维萍(2004)和郑先云(2006)分别对斑翅蝗科部分种类包括亚洲小车蝗的遗传多样性进行了研究。本文应用线粒体 DNA 作为研究手段对不同地理种群的亚洲小车蝗进行分子系统进化方面的研究,以内蒙古地区亚洲小车蝗为研究对象,测定 7 个不同地理种群的亚洲小车蝗的线粒体 DNA 蛋白质编码基因 NADH 脱氢酶复合体亚基 ND1 基因(NADH-dehydrogenase subunit1),并用槌角蝗科的宽须蚁蝗 *Myrmeleotettix palpalis* 和斑腿蝗科的鼓翅皱膝蝗 *Angaracris barabensis* 作外群,构建分子系统树,探明亚洲小车蝗不同地理种群的遗传组成特点及它们的遗传变异大小和亲缘关系,以期从分子水平获得它们的系统进化关系,掌握亚洲小车蝗的发生与成灾机制,并为其利用与综合防治提供遗传学方面的依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

本实验所用蝗虫分别采自内蒙古地区的 7 个盟市,标本采集点及其地理位置等详见表 1。每种蝗虫在自然种群中随机取样,标本采集后活体带回实验室,并将每个个体分装于不同塑料管中进行标记,然后保存于 -70℃ 冰箱中备用。

表 1 用于 mtDNA 研究的亚洲小车蝗标本

Table 1 Specimens of *Oedaleus asiaticus* for mtDNA analysed

种群名称 Group	采集地点 Sites	代码 Code	个体数 Number	采集时间(年.月) Collection date(year. month)	地理位置 Location
乌兰察布市	四子王旗	S	5	2008. 8	E: 111°21' N: 41°22'
包头市	达茂旗	D	5	2007. 8	E: 109°16' N: 41°21'
呼伦贝尔	新巴尔虎左旗	H	4	2008. 8	E: 120°31' N: 49°51'
赤峰市	阿鲁科尔沁旗	C	5	2007. 8	E: 117°58' N: 42°26'
通辽市	扎鲁特旗	T	5	2007. 8	E: 121°14' N: 43°59'
阿拉善盟	阿拉善左旗	A	4	2008. 8	E: 103°10' N: 40°47'
兴安盟	阿尔山	Z	5	2008. 8	E: 120°51' N: 46°11'

1.2 总 DNA 提取

参照张民照和康乐(2001)、印红等(2002)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 TAE 缓冲液,并加 RNA 酶 A(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 μ L TE 溶解 DNA 并定量。

1.3 PCR 扩增及序列测定

PCR 扩增线粒体 DNA 蛋白质编码基因 NADH 脱氢酶复合体亚基 1 编码区部分序列, PCR 扩增的目的片段为线粒体 DNA ND1 编码区中 347

bp 的一段序列。扩增引物为昆虫通用引物, 其设计参考 Simon 等 (1994), 引物由上海生工生物工程有限公司合成。引物 1 和引物 2 的序列及在果蝇 mtDNA 中的位置见表 2。

表 2 亚洲小车蝗线粒体 DNA ND1 区域 PCR 和测序的引物

Table 2 Primers used for PCR and sequencing of mtDNA ND1 of *Oedaleus asiaticus*

引物 Primers	序列 Sequences	位置 Position
N1 - J - 12248	5' - GTAGCATTTTAACTTTATTAGAACG - 3'	10213 - 16933
N1 - N - 12595	5' - AAGCTAATCTAACTTCATAAG - 3'	10925 - 20431

PCR 扩增实验在 0.2 mL PCR 反应管中进行, 反应总体积为 50 μ L, 包括: 模板 DNA 30 ~ 60 ng, 10 $\times$ 缓冲液 5 μ L, Mg^{2+} 3.0 μ L (25 mmol/L), dNTP 2.0 μ L (2.5 mmol/L), 上下游引物各 2.0 μ L (10 μ mol/L), TaqDNA 聚合酶 1.5 U, 反应混合物用 20 μ L 石蜡油覆盖防蒸发。反应均设置不含 DNA 模板的阴性对照, 以防止外源 DNA 污染造成的结果错误。

扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 48.6 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min, 37 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。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 $\times$ TAE, 标准分子量为 2 000 bp DNA Ladder, 凝胶成像系统观察拍照。选取亮度达到测序标准及无杂带 PCR 扩增产物, 委托上海生工生物工程技术服务有限公司进行纯化及测序。测序反应均在 ABI-PRISM3730 型全自动序列分析仪上进行。

1.4 DNA 序列数据的处理

得到的序列用 Dnastar Package 中的 Edit seq 软件进行编辑, 剪切掉引物部分, 经过核对校正得到的序列用 Dnastar Package 中的 Megalign (Clustal W 多序列) 进行排序、比较、保存, 在 Dnasp4.0 软件中经格式转换并统计序列的单倍型, 序列相同的视为同一单倍型。在 Mega (Version 2.1, 2001) 软件中计算核苷酸使用频率, 基于 Kimura-2-Parameter 双参数模型, 用 NJ 法和 UPGMA 法构建单倍型分子系统树, 并用 Boot-strap 1000 检验分子系统树各分枝的置信度, DNA 序列变异中的转换和颠换赋予相同的加权值。

2 结果与分析

2.1 ND1 区域 DNA 序列组成及变异

实验共获得亚洲小车蝗 7 个不同地理种群 28 个个体、1 个近缘种及 2 个外群种共 31 个样本的 mtDNA ND1 基因序列, mtDNA ND1 基因片段对果蝇序列位置为 12 248 ~ 12 595, 产物测序得到大约 347 bp 的序列, 由于两端的碱基存在错配, 不一定能够准确判读, 对序列进行剪切。经氨基酸转换分析, 确认所测序列第 1 位点为前一密码子的第 2 位点, 为便于软件分析从该片段第 2 核苷酸位点算起一共为 300 bp (图 1)。对得到的 31 条序列进行软件分析, 结果表明, 种群内的个体差异较小, 所测的 4 ~ 5 个个体变异位点差异不大。经比较共检测出 22 个变异位点, 约占核苷酸总数的 7.26%, 多数变异发生在密码子的第 3 位点上 (占 68.18%), 第 2 位点为 4.55%, 第 1 位为 27.27%。就每个氨基酸密码子来看, 第 3 位点 A + T 平均含量较高, 达 90.3%, 第 1 位点 A + T 平均含量 74.6%, 第 2 位点为 61%。没有发现任何碱基的缺失或插入, 计算得出它们的平均碱基含量为: A 25.8%, T 50.8%, C 12.5%, G 10.9%, A + T 平均含量较高为 76.6%。就每个氨基酸密码子来看, 第 3 位点的 A + T 平均含量较高。对得到的 28 个亚洲小车蝗 ND1 序列做相似性比较, 相似性达 96.48%, 与 GenBank 上已发表序列比对同源性最高达 95% (EU287446)。用 MEGA 软件统计两两序列之间的核苷酸替换数, 发现亚洲小车蝗 mtDNA ND1 基因部分序列不同个体间替换数最大为 9, 最小为 2, 其中转换数明显高于颠换数, 颠换

中只有 A 与 T、A 与 C 之间的颠换发生,没有 T 与 C、C 与 G 之间的颠换。遗传距离在不同亚洲小车蝗种群间最大是 2.3%,最小是 0,即序列相同,所有序列的平均遗传距离为 0.18%。

2.2 亚洲小车蝗的多态性和遗传结构

对 7 个地理种群的 mtDNA ND1 基因部分序列进行比较,结果表明 7 个地理种群间存在一定的遗传差异。7 个地理种群在序列碱基组成上有一定差别,遗传参数统计表明,7 个种群在多态位点比例、单倍型多样性指数(H)、核苷酸多样性指数(P_i)上也存在一定的差异。各种群多态位点比例在 0.42%~1.68% 之间;单倍型多样性指数在 0.116~0.312 之间;核苷酸多样性指数在 0.001~

0.004 之间(表 3)。对 7 个种群进行分化系数(F_{st})和基因流(N_m)检测,结果表明,7 个种群已产生一定程度的分化,分化系数为 0.0128~0.1573,除包头种群和乌盟种群间分化不显著外,其余分化均达到显著水平($P < 0.05$),基因流 N_m 也均大于 1;AMOVA 进一步分析显示种群间的差异有 72.36% 存在于群体内部,27.64% 存在于群体之间,进一步证实了种群间的分化。多态性遗传变异参数统计表明,28 个个体共检测出 18 个单倍型,单倍型多样性指数(H)为 0.218,核苷酸多样性指数(P_i)为 0.0018,显示出较丰富的遗传多样性(表 4)。

表 3 亚洲小车蝗 7 个地理种群的遗传变异参数

Table 3 Genetic variation parameters of seven *Oedaleus asiaticus* populations

参数 Parameter	乌兰察布市 (X)	包头市 (D)	呼伦贝尔市 (H)	赤峰市 (C)	通辽市 (T)	阿拉善盟 (A)	兴安盟 (Z)
个体数 Sample size	4	4	4	4	4	4	4
多态位点比率 Polymorphic locus rate	0.52	1.24	1.68	1.54	1.65	0.42	0.61
单倍型数 Haplotype number	3	2	3	2	3	3	2
单倍型多样性指数 Haplotype diversity	0.116 ± 0.027	0.287 ± 0.089	0.302 ± 0.054	0.215 ± 0.047	0.246 ± 0.052	0.216 ± 0.041	0.267 ± 0.068
核苷酸多样性指数 Nucleotide diversity	0.001 ± 0.0004	0.003 ± 0.0002	0.001 ± 0.0003	0.004 ± 0.0001	0.003 ± 0.0002	0.001 ± 0.0003	0.002 ± 0.0004

表 4 亚洲小车蝗 7 个地理种群间的遗传分化和基因流

Table 4 Genetic divergence and gene flow between seven *Oedaleus asiaticus* populations

种群 Population name	乌兰察布市 (X)	包头市 (D)	呼伦贝尔市 (H)	赤峰市 (C)	通辽市 (T)	阿拉善盟 (A)	兴安盟 (Z)
乌兰察布市(X)	—	0.9452	3.476	2.412	2.567	5.214	3.157
包头市(D)	0.0128($P > 0.05$)	—	3.018	2.514	2.367	5.017	3.984
呼伦贝尔市(H)	0.1021($P < 0.01$)	0.1226($P < 0.01$)	—	2.548	2.741	4.957	2.413
赤峰市(C)	0.0535($P < 0.05$)	0.0498($P < 0.05$)	0.0674($P < 0.05$)	—	1.028	3.781	2.045
通辽市(T)	0.0352($P < 0.05$)	0.0485($P < 0.05$)	0.0826($P < 0.05$)	0.0115($P < 0.05$)	—	2.156	2.846
阿拉善盟(A)	0.1573($P < 0.01$)	0.1575($P < 0.01$)	0.1382($P < 0.01$)	0.0845($P < 0.01$)	0.0679($P < 0.05$)	—	3.152
兴安盟(Z)	0.0342($P < 0.01$)	0.0278($P < 0.01$)	0.0154($P < 0.01$)	0.0356($P < 0.01$)	0.0447($P < 0.05$)	0.0575($P < 0.01$)	—

注: 对角线以下代表分化系数 F_{st} 及显著性检验结果($P < 0.05$ 为显著分化; $P < 0.01$ 为极显著分化); 对角线以上代表基因流 N_m 。

Figures below diagonal represent genetic divergence(F_{st}) and corresponding significance test of divergence between populations ($P < 0.05$ means statistical significance; $P < 0.01$ means extreme significance); while figures above diagonal represent gene flow (N_m) between populations.

```

1111111111222222222233333333334444444444555555555566666666667777777777
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678
Z-1 TTAGGTATTCTCAACCTTTTAGAGATGCTATTAAATTAATTTGTAAGGAACAGCCAATTCCTTTTATATCAAATTAT
Z-2 .....G.....
Z-3 .....
Z-4 .....
A-1 .....G..G.....G.....A.....
A-2 .....G.....G.....A.....
A-3 .....G..G.....G.....A.....
A-4 .....G..G.....G.....A.....
C-1 .....
C-2 .....
C-3 .....
C-4 .....
D-1 .....G..G.....G.....A.....
D-2 .....G..G.....G.....A.....
D-3 .....G..G.....G.....A.....
D-4 .....G..G.....G.....A.....
H-1 .....
H-2 .....
H-3 .....A.....
H-4 .....
T-1 ..T.....
T-2 .....
T-3 .....
T-4 .....
X-1 .....G..G.....G.....A.....
X-2 .....G.....G.....A.....
X-3 .....G..G.....G.....A.....
X-4 .....G..G.....G.....A.....
HJ-2 A.....G.....T.....A.....A.....A.....
G-2 .....G.....T.....G.....T.....
K-2 A.....G.....T.....A.....A.....A.....T.....

```

```

1111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111
7888888888899999999999999999999999999999999999999999999999999999999999
90123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456
Z-1 TTTTGTATTATTTTCCCTGTTTTAAATTTAATGATTTCCTTATTAGTTTGAATTATTTTCCCTTATATAACTTAT
Z-2 .....
Z-3 .....
Z-4 .....
A-1 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....
A-2 .....A.....T.....A.....A.....G..G.....
A-3 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
A-4 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
C-1 .....
C-2 .....A.....
C-3 .....
C-4 .....
D-1 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
D-2 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
D-3 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
D-4 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
H-1 .....
H-2 .....
H-3 .....
H-4 .....
T-1 .....
T-2 .....
T-3 .....
T-4 .....
X-1 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
X-2 .....T.....T.....A.....TA.....A.....T.....
X-3 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
X-4 .....A.....T..A.....A.....A.....G..G.....C.....
HJ-2 ..AC..T.....T.....A.....A..TA.....A.....T.....
G-2 ..A..A.....A.....G..G..TA.....TC.....C.....
K-2 ..AC..T.....T..A.....G..A.....A..TA.....A.....T.....

```

[illegible]

图1 亚洲小车蝗 28 个个体及 2 个外群种 mtDNA ND1 基因 303 bp 序列

Fig.1 303 bp DNA fragments of mitochondrial ND1 gene of *Oedaleus asiaticu* and two outgroup species

2.3 系统进化树

以宽须蚁蝗、鼓翅皱膝蝗为外群,采用 UPGMA 和 NJ 法构建 7 个不同地理种群的亚洲小车蝗 28 个个体的分子系统树,系统树各分支的置信度以自引导值来表示。Boot-strap 1000 循环检验结果表明最高和最低置信度分别为 100 和 64(图 2)。聚类分析显示,所有个体大体上分别聚在 4 个主要族群中,通辽种群的 1 个个体 T-1 与赤峰种群、阿拉善盟种群、呼伦贝尔种群构成聚类簇 I; 锡林浩特种群、阿尔山种群和达茂旗种群构成聚类簇 II; 宽须蚁蝗种群和鼓翅皱膝蝗种群作为外缘种各成一簇,构成聚类簇

III 和 IV。除通辽种群的 1 个个体 T-1 和锡林浩特种群的 1 个个体 X-2 与该种群其他个体表现差异较大,种群内的个体间差异不明显,结果表明,相同地域的个体之间相聚的几率相对较大,跨地域不同个体之间也可以很高的置信度相聚。空间距离和聚类结果没有明显的相关性,地理距离远的群体间遗传距离不一定大,而地理距离较近种群间和同一种群内也有可能存在较大的遗传距离,总之,亚洲小车蝗不同地理种群呈现出一种平行式的分布关系。亚洲小车蝗不同地理种群个体与 2 个外群种的遗传差异较大。

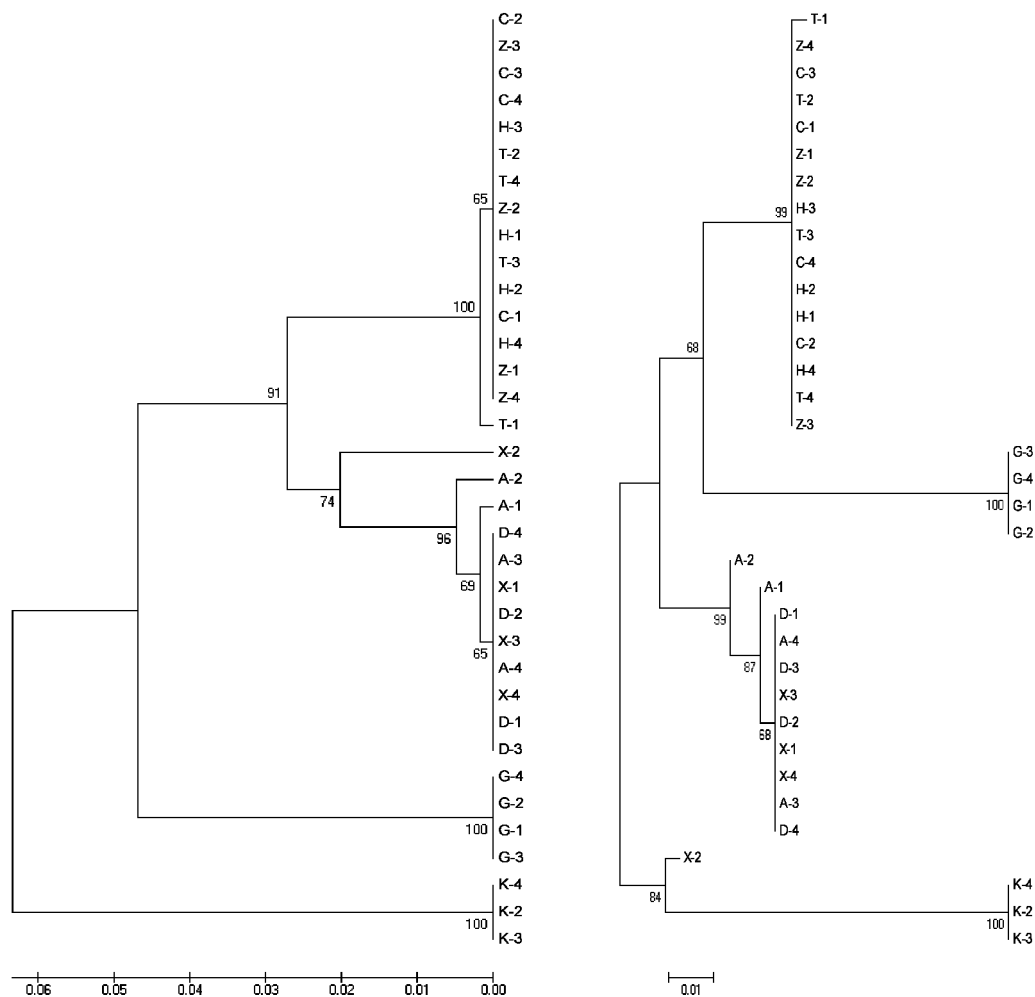


图 2 亚洲小车蝗及外群种 ND1 部分序列 UPGMA 和 NJ 分子系统树

Fig. 2 UPGMA and NJ tree of mitochondrial ND1 gene of *Oedaleus asiaticus* and two outgroup species

3 讨论

本实验以采集的亚洲小车蝗冷冻标本为材

料,对 7 个地理种群亚洲小车蝗、1 个近缘种及 2 个外群种 mtDNA ND1 基因 347 bp 的序列进行测定。前人研究表明,许多生物类群包括昆虫在内

的细胞核基因组中有线粒体假基因的存在 (Zhang and Hewitt, 1996; Michael *et al.*, 2000)。作者的扩增结果显示, PCR 扩增总是得到 378 bp (包括引物长度) 的条带, 谱带清晰、稳定、无杂带, 而且经序列核对及氨基酸转换, 没有缺失、插入或终止密码子出现。因此, 作者所得到的序列是 NADH 脱氢酶复合体亚基 ND1 基因的部分序列。测序得到 7 个地理种群亚洲小车蝗 28 个个体、1 个近缘种及 2 个外群种的共 31 个个体的序列, 每条序列 347 个碱基。分析结果表明, 该标记片段在种内较为保守, 种内平均遗传距离在 0 ~ 0.018 之间, 核苷酸突变均为同义突变, 多发生于密码子的第 3 位, 转换数明显高于颠换数, 这与其它昆虫类群研究的结果基本相同 (陈永久等, 1999; 罗晨等, 2002)。本实验扩增目的片段的 A + T 含较高 (76.6%), 昆虫的线粒体 DNA 具有较高的 A + T 含量, 其与进化间的关系已被很多人研究过 (Crozier and Crozier, 1992; Hugall, 1997), 但并没有得到一致的结论。各种群多态位点比例在 0.42% ~ 1.68% 之间; 单倍型多样性指数在 0.116 ~ 0.312 之间; 核苷酸多样性指数在 0.001 ~ 0.004 之间。分化系数 (F_{st}) 为 0.0128 ~ 0.1573, 分化均达到显著水平 ($P < 0.01$), 基因流 N_m 也均大于 1; AMOVA 进一步分析显示种群间的差异有 72.36% 存在于群体内部, 27.64% 存在于群体之间, 结果得出种群内的个体差异较小。这种结果也可能是由于实验所测个体较少的原因, 今后应增加种群内个体数量深入研究。从聚类结果也可看出, 空间距离和遗传距离没有明显的相关性, 地理距离远的群体间遗传距离不一定大, 而地理距离较近种群间和同一种群内也有可能存在较大的遗传距离, 这与前人的研究结果一致 (任竹梅等, 2002a, 2002b)。

本实验结果表明, 内蒙古地区 7 个不同地理区域的亚洲小车蝗并没有受到地理环境的影响, 遗传距离与地理距离没有显著相关性, 不同的群体之间的遗传差异不大。这可能是由以下几个因素造成的: 第一, NADH 脱氢酶复合体亚基 ND1 基因由于在遗传上相对较为保守, 进化较慢, 在不同地理区域的亚洲小车蝗间没有达到足够的变异, 需选择进化速率更快的线粒体基因来研究各种群的演化; 第二, 蝗科的进化呈现出一种简单的爆炸式的辐射状态 (Flook *et al.*, 1995), 各种群间存在

着广泛的基因交流和融合, 亚洲小车蝗飞翔能力较强, 有报道表明该种蝗虫一晚上可以迁飞 350 km (Cheke, 1990); 第三, 亚洲小车蝗作为一种分布比较局限的物种, 其遗传结构及其差异的分布具有一定的独特性。内蒙古地区 7 个不同地理种群的亚洲小车蝗的遗传分化程度不高, 地理隔离可能并不是形成这种分布格局的 1 个主导因素, 2 个相距较远的地理种群可能来自于 1 个大的种群。主动扩散和人为、自然 (风力和水流等) 因素是亚洲小车蝗扩散出其生态环境的主要原因, 由于有限的数据库很难估计其起源种群以及确定外来种群的扩散途径和扩散方式, 所以在将来的研究中有必要分析更多的种群来说明这个问题。

本研究只选择的内蒙古地区的亚洲小车蝗 7 个种群, 今后还应增加国内其他地区的种群数量及利用其他线粒体基因序列进行深入探讨。

参考文献 (References)

- 陈永久, 张亚平, 沈发荣, 1999. 中国 5 种珍稀绢蝶非损伤性取样的 mtDNA 序列及进化. 遗传学报, 26(3): 203—207.
- Cheke RA, 1990. A migrant pest in the Sahel: the Senegalese grasshopper *Oedaleus senegalensis*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 328(1251): 539—553.
- Crozier RH, Crozier YC, 1992. The cytochrome b and ATPase genes of honeybee mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.* 9: 474—482.
- 冯光翰, 樊树喜, 刘秋芳, 杨延彪, 马隆喜, 曹国顺, 1995. 室外罩笼条件下几种草原蝗虫的食量测定. 草地学报, 3(3): 230—235.
- Flook PK, Rowll GHF, Gellissen G, 1995. The sequence, organization, and evolution of the locusta migratoria mitochondrial genome. *J. Mol. Evol.* 41: 928—941.
- Gray MW, 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Cell Biol.* 5: 25—50.
- 关敬群, 魏增柱, 1989. 亚洲小车蝗 (*Oedaleus asiaticus* B.-bienko) 食量测定. 昆虫知识, 26(1): 8—10.
- Hugall A, 1997. Evolution of the AT-rich mitochondrial DNA of the root knot nematode *Meloidogyne hapla*. *Mol. Biol. Evol.* 14(1): 40—48.
- 蒋湘, 买买提明, 张龙, 2003. 夜间迁飞的亚洲小车蝗. 草地学报, 11(1): 75—77.
- 李广, 2007. 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.

- 李伟丰, 黄永成, 陈邦禄, 陈永久, 张亚平, 2001. 7 种长蠹科昆虫的线粒体 DNA ND4 基因序列比较分析. 植特检疫, 15(5): 257—262.
- 罗晨, 姚远, 王戎疆, 闫凤鸣, 张芝利, 胡敦孝, 2002. 利用 mtDNA COI 基因序列鉴定我国烟粉虱的生物型. 昆虫学报, 45(6): 759—762.
- Moritz C, Dowling TE, Brown WM, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 18: 269—292.
- Michael SC, Soowon C, Felix AHS, 2000. The current state of insect molecular systematics: A thriving tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 1—54.
- 潘建梅, 2002. 内蒙古草原蝗虫发生原因及防治对策. 中国草地, 24(6): 66—69.
- 任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2003. 不同地域小稻蝗 mtDNA 部分序列及其相互关系. 昆虫学报, 46(1): 51—57.
- 任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2002a. 不同区域日本稻蝗 Cytb 基因序列及相互关系. 山西大学学报, 25(3): 244—248.
- 任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2002b. 山稻蝗及相关物种 Cytb 基因序列及其遗传关系. 遗传学报, 29(6): 507—513.
- Simon C, Frati E, Bechenbach A, Crespi B, Liu H, Rlook RE, 1994. Volition, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87: 651—701.
- 杨凤霞, 谢霖, 王利华, 方继朝, 2010. 二化螟不同地理种群遗传差异分析. 江苏农业学报, 26(3): 493—498.
- 叶维萍, 2004. 中国斑翅蝗科部分种类线粒体 12S rRNA 基因的分子进化与系统学研究. 硕士学位论文. 陕西: 陕西师范大学.
- 印红, 刘晓丽, 王彦芳, 张道川, 赵晓瑜, 2002. 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), 22(1): 80—83.
- 张民照, 康乐, 2001. 飞蝗总 DNA 的提取及其 RAPD 分析条件的摸索. 动物学研究, 22(1): 20—26.
- Zhang DX, Hewitt GM, 1996. Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *TREE*, 11(6): 247—251.
- 郑先云, 2006. 斑翅蝗科部分种群遗传结构研究. 博士学位论文. 山西: 山西大学生命科学与技术学院.