基于线粒体 COⅡ基因的大豆蚜不同地理种群遗传分化研究*

李 冉** 韩岚岚** 王 红 赵奎军*** 莽逸伦 张红玉 樊 东

（东北农业大学农学院，哈尔滨 150030）

摘 要 **【目的】** 大豆蚜 *Aphis glycines* 逐渐成为栽培大豆上的世界性重要害虫，为明确大豆蚜不同地理种群的遗传分化及遗传多样性，本研究探讨其在中国的种群遗传变异。**【方法】** 测定了采自 7 个省共 14 个地理种群 339 头大豆蚜的线粒体 COⅡ基因的 673 bp 序列，利用 DnaSP 5.0、Arlequin 3.5.1.2、Network 4.6.1.3 等软件对地理种群间的大豆蚜的遗传多样性、遗传分化程度及分子变异进行分析，并建立了单倍型网络图及单倍型系统进化树。**【结果】** 在所分析的 339 个 COⅡ序列中，共检测出 7 个单倍型，其中 H1 为各种群所共享。种群内遗传多样性较低（H_d=0.479±0.030，P_i=0.00166±0.00018），种群内遗传分化相对较大（F_{st}=0.1985），基因流水平较高（N_m=2.019）。中性检验结果不显著（Tajima's D=－0.931，P>0.10，Fu's F_s=0.220，P>0.10），说明中国地区大豆蚜在较近的历史时期内没有出现种群扩张现象。分子变异分析（AMOVA）结果表明，大豆蚜遗传变异主要来自种群内部（80.15%），而种群间未发生明显的遗传分化。根据各地理种群的单倍型建立的系统发育树、单倍型网络图表明，各单倍型散布在不同的地理种群中，无明显的地理分布格局。**【结论】** 大豆蚜不同地理种群的遗传多样性不高，各种群的遗传距离与地理距离之间没有显著线性相关性，各种群间的基因交流并未受到地理距离的影响。

关键词 大豆蚜，线粒体 COⅡ，地理种群，遗传分化，基因流（N_m）

Analysis of genetic differentiation among different geographic populations of *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) based on mtDNA COⅡ gene sequences

LI Ran** HAN Lan-Lan** WANG Hong ZHAO Kui-Jun*** MANG Yi-Lun ZHANG Hong-Yu FAN Dong

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate genetic variation among different geographic populations of soybean aphids, *Aphis glycines*, in China. **[Methods]** The genetic diversity, genetic differentiation, and molecular variance of 339 individual soybean aphids from 14 geographic populations in 7 Chinese provinces were analyzed based on 673 bp segments of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit Ⅱ (COⅡ) gene using DnaSP 5.0, Arlequin 3.5.1.2 and Network 4.6.1.3. Phylogenetic trees and the networks of COⅡ haplotypes were constructed from the resultant data. **[Results]** A total of 7 haplotypes were identified; haplotype No.1 (H1) was shared by all 14 populations. A low level of genetic diversity (H_d=0.479±0.030, P_i=0.00166±0.00018) in the total population was detected and higher genetic differentiation (F_{st}=0.1985) and a high level of gene flow (N_m=2.019) was apparent among different geographic populations. The results of a Neutral test (Tajima's D= － 0.931, P>0.10, Fu's F_s=0.220, P>0.10) were not significant, indicating that there is no evidence of recent population expansion. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed no obvious genetic differentiation among populations with a high proportion of the total genetic variance attributable to variation within populations (80.15%). A

* 资助项目 Supported projects：现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-04）；公益性行业（农业）专项基金（201103002）

**第一作者 First author，E-mail：lirannl@126.com；hanll_neau@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：kjzhao@163.com

收稿日期 Received：2015-02-11，接受日期 Accepted：2015-07-21

phylogenetic tree and a haplotype network based on haplotypes of the different geographic populations shows no obvious geographical structure in different clades. **[Conclusion]** Genetic diversity of different geographical populations of soybean aphids is low, and there is no significant linear correlation between geographic distance and genetic differentiation; gene flow between different geographic populations is not affected by geographic distance.

Key words *Aphis glycines*, mtDNA COⅡ, geographic population, genetic differentiation, gene flow (N_m)

大豆蚜 *Aphis glycines* 属半翅目（Hemiptera）、蚜科（Aphididae）、蚜属（*Aphis*），栽培大豆上的主要害虫之一，通过刺吸植物汁液从而引发叶片卷曲、节间缩短及植株矮化等症状（王素云等，1996），引起产量下降（Kim *et al.*，2008；Song and Swinton，2009；Ragsdale *et al.*，2011；Hopper and Diers，2014），严重时造成植株死亡（杨帅等，2010）。大豆蚜广泛分布于东北地区及黄淮海流域等大豆主产区（李云瑞，2006；程遥，2013；薛庆喜，2013）。此外，俄罗斯东部地区（CAB，2000）、韩国、日本、东南亚的菲律宾、印度尼西亚、泰国（Blackman and Eastop，2000）、马来西亚、越南、南亚的印度（Venette and Ragsdale，2004）、非洲的肯尼亚（Singh and Van Emden，1979）、美洲的加拿大、美国（Ragsdale *et al.*，2004，2011）等地均有分布，成为世界性害虫（刘健，2010）。

目前尚未见到利用分子标记研究不同地理种群大豆蚜遗传变异的相关报道。随着分子生物学的发展，利用分子标记研究昆虫遗传变异的报道较多（Li *et al.*，2014），在众多的分子标记中，线粒体 DNA 具有母系遗传、提取技术简单、进化速率较核基因快（Harrison，1989）等特点，因此 mtDNA 分子标记在昆虫系统进化、遗传变异中应用十分广泛，例如，用于物种鉴定（Lee and Lee，2013；Lee *et al.*，2014）、系统发育（Ren *et al.*，2013）、确定遗传多样性（Kim *et al.*，2010；王红等，2014）等。线粒体 COⅡ可解决昆虫较低分类阶元如属、种及种下水平的系统发育关系（马兰和黄原，2006），并且具有较高的多态性，被公认为适合作为研究种内分析的分子标记工具（卜云等，2005；李菁等，2010)。研究种群遗传结构是综合治理害虫的重要内容，利于探讨其种群间遗传进化关系，揭示其起源、扩散路线及发生趋势（Roderick and Navajas，2003；Miller *et al.*，2003；Timm *et al.*，2005），探究物种遗传变异对于研究物种起源与进化历史具有重要意义（Lohman *et al.*，2008）。本实验选用线粒体 COⅡ作为分子标记，对大豆蚜 14 个地理种群的遗传结构和基因交流模式进行研究，分析其不同地理种群的遗传多样性及系统进化，为防治大豆蚜提供依据。

1 材料与方法

1.1 虫源采集

根据大豆种植和大豆蚜主要发生分布区域，本研究 2014 年 7—8 月间选择 14 个地理种群，分别是采自黑龙江、吉林、内蒙古、北京、山东、安徽、江西 7 个省份的部分地区（表 1）。采集地多为各地农科院育种试验田及农户栽培大豆田，采取随机取样法，在大豆叶片背面及茎部，观察选取成蚜，用蘸有蒸馏水的毛笔挑取大豆蚜单头分装于盛有无水乙醇的 200 μL 离心管中，各地区分装并记录采集时间，浸泡的第一个月更换无水乙醇 3~4 次（孙嵬等，2013），放于 -20℃的冰箱中。

1.2 基因组的提取

取浸泡在无水乙醇中的大豆蚜，双蒸水漂洗，吸水纸吸干，转至 1.5 mL 的离心管中，加入 50 μL DNA 缓冲液（Tris-Base 50 mmol/L，NaCl 100 mmol/L，EDTA 100 mmol/L，5%的 SDS，调节 PH 值为 8.0），用已处理的灭菌枪头充分捣碎，无可见虫体组织即可，继续加入 500 μL 匀浆液冲洗后加入蛋白酶 K，55℃水浴 1~3 h，中途取出混匀 2~3 次，直至混合液清亮为止。之后用酚/氯仿抽提法（Sambrook and Russell，2001；杨子祥等，2006）提取总 DNA。经琼脂

表 1　以大豆为寄主的大豆蚜不同地理种群样品信息

Table 1　The data of difference geographic populations of *Aphis glycines* on soybean

种群代码 Population code	采集地点 Collecting locality	样本数量 Number of individuals	经度（E） Longitude	纬度（N） Latitude	海拔（m） Elevation	采集时间 Collecting date
HRB	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	40	126°45′	45°43′	140	2014.7
HH	黑龙江黑河 Heihe, Heilongjiang	15	127°27′	50°15′	149	2014.7
BA	黑龙江北安 Beian, Heilongjiang	27	127°19′	49°25′	228	2014.7
HL	黑龙江海伦 Hailun, Heilongjiang	13	126°58′	47°27′	236	2014.7
MDJ	黑龙江牡丹江 Mudanjiang, Heilongjiang	39	129°38′	44°32′	244	2014.7
JMS	黑龙江佳木斯 Jiamusi, Heilongjiang	14	130°19′	46°48′	83	2014.7
JX	黑龙江鸡西 Jixi, Heilongjiang	38	132°42′	45°37′	79	2014.8
CC	吉林省长春 Changchun, Jilin	14	125°14′	43°56′	220	2014.7
CF	内蒙古赤峰 Chifeng, Neimenggu	14	118°52′	42°17′	610	2014.7
BJ	北京 Beijing	27	116°19′	39°57′	63	2014.7
JN	山东济南 Jinan, Shandong	14	117°08′	36°43′	34	2014.7
HZ	山东菏泽 Heze, Shandong	39	115°38′	35°11′	49	2014.8
HF	安徽合肥 Hefei, Anhui	28	117°13′	31°49′	38	2014.8
GZ	江西赣州 Ganzhou, Jiangxi	17	114°55′	25°51′	118	2014.9

糖凝胶电泳检测后，－20℃冰箱内保存。

1.3　目的片段 PCR 扩增及电泳

根据 Genbank 上已经公布大豆蚜 mtDNA 序列（NCBI 上已公布的登录号 KC840675.1），用 primer5.0 设计用于扩增 CO Ⅱ基因的特异性引物，该引物由哈尔滨博莱仕合生物科技有限公司合成，CO Ⅱ两个引物分别为上游：5'-CATT-CATATGCAGAATTACC-3'和下游：5'-GAGAT-CGTTACTTTGCTTTT-3'，PCR 扩增反应体系为 50 μL，其中 10×PCR buffer 5 μL、dNTPs 4 μL、DNA 模板 2 μL、0.01 mmol/L 的上游和下游引物各 1 μL、Taq DNA 聚合酶（5 U/μL）0.3 μL。扩增条件为 94℃预变性 5 min，之后共 35 个循环包括 94℃变性 50 s，49.2℃退火 50 s，72℃延伸 1 min；最后 72℃后延伸 10 min，4℃保存。PCR 产物 3 μL 采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测，然后在凝胶成像分析系统中观察并照相，记录结果。

1.4　PCR 产物的纯化回收及测序

PCR 产物纯化按照 DNA 凝胶回收试剂盒说明书（北京全式金生物技术有限公司提供）回收各样品 PCR 产物。回收产物委托北京华大基因研究中心进行 DNA 测序，以 PCR 引物作为测序引物进行双向测序。

1.5　序列处理与数据分析

应用序列综合分析软件 Vector NTI 11.0 对 339 条 CO Ⅱ序列的序列比对，利用软件 MEGA 5.2（Tamura *et al.*，2011）计算序列的碱基组成、变异位点、简约信息位点、转换和颠换的比值以及单倍型间的遗传距离，用 Kimura2-Parameter 模型计算各地理种群间的遗传距离。

应用 DnaSP 5.0（Librado and Rozas，2009）统计各地理种群出现单倍型数目、出现频率、单倍型多样度（H_d）、种群间遗传分化指数 F_{st} 和 G_{st} 等，并进行中性检验（Tajima，1989）。线粒体基因所特有根据固定系数（F_{st}）推算基因流（N_m）的公式：$F_{st}=1/(1+2N_m)$（Takahata and Palumbi，1985；Goldberg and Ruvolo，1997）。根据经纬度计算出各采集地之间的地理距离。采用 Kimura2-paramter 模型，邻位法（NJ）

（Felsenstein，1985）构建系统发育树。利用 TFPGA 根据不同地理种群的地理距离的自然对数和遗传距离进行 Mantel 检验。

利用 Arlequin 3.5.1.2 软件（Excoffier *et al.*，2005），用 Pairwise difference 模型，计算种群间的分化指数（F_{st}）和分子方差分析（AMOVA）以评估种群之间、种群内的遗传分化。采用 Network 4.6 程序（Bandelt *et al.*，1999）基于 Median-joining 构建种群内所有单倍型的中介网络关系图。

2 结果与分析

2.1 碱基组成及序列分析

用提取的总基因组 DNA 为模板扩增并测序得到 339 头大豆蚜的测序结果，截去误差较大区段得到序列信息准确的片段 673 bp 的 COⅡ基因序列（表 2）。

在所测 COⅡ基因片段序列中，保守位点 661 个，变异位点（Variable sites）12 个，其中简约信息位点（Parsimony informative sites）7 个，单一变异位点（Singleton variable sites）7 个，无碱基的插入和缺失，利用 MEGA 5.05 分析 COⅡ基因碱基组成 A 40.5%，T 39.8%，C 11.9%，G 7.8%，A+T 含量为 80.3%，G+C 含量为 19.7%，呈现较大的碱基 A/T 偏倚性。分析所有的测序的 COⅡ核苷酸序列片段表明，转换高于颠换，转换（Transition）占全部变异位点的 66.67%，其中 A 与 G 之间的转换占 25.00%，C 与 T 之间的转换占 41.67%；颠换（Transversion）发生频率为 33.33%；总体变异位点中转换与颠换的比值为 2∶1。

表 2 大豆蚜不同单倍型 COⅡ基因变异

Table 2 COⅡ gene sequence variations of different haplotypes of *Aphis glycines*

单倍型 Haplotypes	变异位点 Variable sites											
	0 5 9	1 4 9	1 8 2	2 4 2	2 7 9	3 4 2	4 1 0	5 1 8	6 0 3	6 5 7	6 5 8	6 6 2
H1	A	C	T	C	G	A	T	C	C	T	G	T
H2	.	T.	.	T	A	.	C	T	.	.	.	.
H3	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
H4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
H5	.	T	C	T	A	.	C	T	.	.	.	.
H6	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H7	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	A	.

H1~H7 为大豆蚜的 7 个单倍型，没有碱基的缺失和插入。“.”表示相同的碱基。

H1-H7 refer to the seven haplotypes of *Aphis glycines*; no deletion/insertion is found; identical bases are indicated by dot.

2.2 单倍型、遗传多样性和中性检验

2.2.1 单倍型分析 在 339 条大豆蚜 COⅡ序列中，共检测出 7 个单倍型 H1~H7（基因登录号为：KP757883-KP757889），各地理种群具有的单倍型不同（表 3）。各地理种群单倍型数量范围为 1~4 个，平均具有单倍型 2 个，其中，HRB 种群单倍型数量最丰富，在检测个体中共有 4 个单倍型。在所确定的 7 个单倍型中，包括 4 个共享单倍型（H1，H2，H3 和 H6），即 H1 广泛分布于所有 14 个种群的 238 个样本中；H2 分布于 3 个种群（BA，HRB，HF）的 10 个样本中，H3 分布于 5 个种群（BJ，HRB，HF，JX，MDJ）的 51 个样本中，H6 分布于 2 个种群（HRB，MDJ）的 24 个样本中。此外，还包括 3 个独有单倍型（H4，H5 和 H7），分别为 CF，GZ 和 HZ 种群所特有。

2.2.2 遗传多样性、中性检验分析 根据 DnaSP 5.0 软件分析结果显示（表 3），总种群单倍型多样度（Haplotype diversity，H_d）为 0.479±0.030，核苷酸多样度（Nucleotide diversity，P_i）（Smith *et al.*，2006）为 0.00166±0.00018，核苷酸平均差异数（Average number of nucleotide differences，K）为 1.1151。不同地理种群的单倍型多样度在 0~0.706 之间，核苷酸多样度在 0~0.00651 之间，其中 CC、HH、HL、JMS、JN 种群各项参数最低均为 0，而 HRB 地区 H_d=0.706±0.035，P_i=0.00374±0.00050 和 K=2.5167 值最高。从 Tajima's D 和 Fu's F_s 检测结果可以得出，总种群的 Tajima's D=－0.931，Fu's F_s=0.220，结果不显著（P>0.10）。

表 3　大豆蚜不同地理种群单倍型分布、遗传多样性分析及中性检验

Table 3　Distribution of haplotypes, genetic diversity and neutral test among different geographic populations of *Aphis glycines*

种群代码 Population code	单倍型数 Number of haplotypes (n)	单倍型及个体数 Haplotypes and number of individuals (h)	单倍型多样度 Haplotype diversity (H_d±SD)	核酸多样度 Nucleotide diversity (P_i±SD)	核酸平均差异度 Average number of nucleotide differences (K)	中性检验及显著性检验 Neutrality and statistical significance	
						Tajima's D	Fu's F_s
BA	2	H1(26) H2(1)	0.074±0.067	0.00055±0.00050	0.3704	－2.004*	1.028
BJ	2	H1(16) H3(11)	0.501±0.043	0.00075±0.00006	0.5014	1.506	1.582
CC	1	H1(14)	0	0	0	–	–
CF	2	H1(9) **H4(5)**	0.495±0.088	0.00073±0.00013	0.4945	1.212	1.139
GZ	2	H1(14) **H5(3)**	0.309±0.122	0.00275±0.00109	1.8529	0.148	4.724
HRB	4	H1(13) H2(3) H3(8) H6(16)	0.706±0.035	0.00374±0.00050	2.5167	0.554	3.935
HF	3	H1(7) H2(6) H3(15)	0.627±0.061	0.00336±0.00069	2.2619	1.356	4.344
HH	1	H1(15)	0	0	0	–	–
HL	1	H1(13)	0	0	0	–	–
HZ	2	H1(31) **H7(8)**	0.335±0.077	0.00050±0.00011	0.3347	0.597	1.032
JMS	1	H1(14)	0	0	0	–	–
JN	1	H1(14)	0	0	0	–	–
JX	2	H1(30) H3(8)	0.341±0.078	0.00051±0.00012	0.3414	0.629	1.054
MDJ	3	H1(22) H3(9) H6(8)	0.602±0.057	0.00203±0.00033	1.3684	1.072	2.852
合计	7	H1(238) H2(10) H3(51) **H4(5) H5(3)** H6(24) **H7(8)**	0.479±0.030	0.00166±0.00018	1.1151	－0.931	0.220

加粗单倍型表示为独有单倍型；*表示差异显著（P<0.50）。

Haplotype names in boldface are unique haplotypes. * indicate significantly different.

分析 14 个地理种群的遗传多样性，运用 Kimura2-Parameter 对已获得的 339 条 COⅡ基因序列进行不同单倍型之间的遗传距离分析（表 4），不同单倍型间遗传距离为 0.0015~0.0135 之间，平均遗传距离为 0.0066。

比较不同地理种群间大豆蚜的核苷酸平均

表 4　大豆蚜 COⅡ基因不同单倍型间的遗传距离

Table 4　Genetic distance of different haplotypes of COⅡ gene of *Aphis glycines*

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
H1							
H2	0.0075						
H3	0.0015	0.0090					
H4	0.0015	0.0090	0.0030				
H5	0.0090	0.0015	0.0105	0.0105			
H6	0.0045	0.0120	0.0060	0.0060	0.0135		
H7	0.0015	0.0090	0.0030	0.0030	0.0105	0.0060	

H1~H7 为大豆蚜的 7 个单倍型。H1-H7 refer to the seven haplotypes of *Aphis glycines*.

差异数（K_{xy}）与核苷酸歧义度（D_{xy}）（表 5），结果表明，核苷酸平均差异数（K_{xy}）的变化范围为 0~3.0071，核苷酸歧义度（D_{xy}）变化范围为 0~0.00447。其中，HRB、HF、MDJ 和 GZ 种群分别与其他种群的核苷酸平均差异数（K_{xy}）与核苷酸歧义度（D_{xy}）差异相对较大。

2.3 大豆蚜不同地理种群的遗传分化与基因流

根据 DnaSP 5.0 计算的结果（表 6）表明，种群间固定系数（F_{st}）在 0~0.3846，平均值为 0.1843，遗传分化系数（G_{st}）在 0.0021~1.0000 之间，其平均值为 0.2179，14 个地理种群总 F_{st} 为 0.1985，G_{st} 为 0.2424，总基因流 N_m 为 2.019，各种群间的基因流大部分数值大于 1（表 7），种群间基因交流的水平相对较高，说明各地理种群间存在一定的基因交流。

采用软件 MEGA 5.05 中的 Kimura2-Paramter 模型分析不同地理种群的 COⅡ序列计算种群间遗传距离，不同地理种群遗传距离在 0~0.0045 之间（表 8）。根据经纬度计算各采样地点的地理距离，并计算其自然对数（表 8）。

用 TFPGA 软件进行 Mantel 相关性检验检测种群间遗传距离是否与地理距离有关。结果表明（图 1），R=0.1717，P>0.05，表明大豆蚜在 mtDNA COⅡ序列比较中遗传距离与地理距离之间无明显的相关性，大豆蚜的遗传分化没有一定的地域性差异，地理隔离对大豆蚜的遗传分化没有显著的影响。

应用 Arlequin 3.5.1.2 软件 AMOVA 分子变异分析（表 9），结果显示固定系数 F_{st} 为 0.1984，14 个地理种群间的遗传变异百分率为 19.85%，种群内的遗传变异百分率为 80.15%，14 个地理种群间的遗传变异百分率远小于种群内的遗传变异百分率，说明大豆蚜 14 个地理种群间的遗传变异主要来自种群内部，而种群间的遗传变异较低。

表 5 大豆蚜不同地理种群间的核苷酸平均差异数（K_{xy}）（上三角）与核苷酸歧义度（D_{xy}）（下三角）

Table 5 Pairwise average number of nucleotide difference K_{xy} (above the diagonal) and nucleotide divergence D_{xy} (below the diagonal) among different geographic populations of *Aphis glycines*

	BA	BJ	CC	CF	GZ	HRB	HF	HH	HL	HZ	JMS	JN	JX	MDJ
BA		0.5926	0.1852	0.5423	1.1786	1.9324	1.7130	0.1852	0.1852	0.3903	0.1852	0.1852	0.3957	1.0313
BJ	0.00088		0.4074	0.7646	1.4662	2.0194	1.5780	0.4074	0.4074	0.6125	0.4074	0.4074	0.4464	1.0655
CC	0.00028	0.00061		0.3571	1.0588	1.7750	1.6071	0	0	0.2051	0	0	0.2105	0.8462
CF	0.00081	0.00114	0.00053		1.4160	2.1321	1.9643	0.3571	0.3571	0.5623	0.3571	0.3571	0.5677	1.2033
GZ	0.00175	0.00218	0.00157	0.00210		2.7015	2.2878	1.0588	1.0588	1.2640	1.0588	1.0588	1.2694	1.9050
HRB	0.00287	0.00300	0.00264	0.00317	0.00401		3.0071	1.7750	1.7750	1.9801	1.7750	1.7750	1.9013	2.0365
HF	0.00255	0.00234	0.00239	0.00292	0.00340	0.00447		1.6071	1.6071	1.8123	1.6071	1.6071	1.5921	2.2060
HH	0.00028	0.00061	0	0.00053	0.00157	0.00264	0.00239		0	0.2051	0	0	0.2105	0.8462
HL	0.00028	0.00061	0	0.00053	0.00157	0.00264	0.00239	0		0.2051	0	0	0.2105	0.8462
HZ	0.00058	0.00091	0.00030	0.00084	0.00188	0.00294	0.00269	0.00030	0.00030		0.2051	0.2051	0.4157	1.051
JMS	0.00028	0.00061	0	0.00053	0.00157	0.00264	0.00239	0	0	0.00030		0	0.2105	0.8462
JN	0.00028	0.00061	0	0.00053	0.00157	0.00264	0.00239	0	0	0.00030	0		0.2105	0.8462
JX	0.00059	0.00066	0.00031	0.00084	0.00189	0.00283	0.00237	0.00031	0.00031	0.00062	0.00031	0.00031		0.9595
MDJ	0.00153	0.00158	0.00126	0.00179	0.00283	0.00303	0.00328	0.00126	0.00126	0.00156	0.00126	0.00126	0.00143	

BA, BJ, CC, CF GZ, HRB, HF, HH, HL, HZ, JMS, JN, JX, MDJ 代表 14 个采样地点。下表同。

BA, BJ, CC, CF GZ, HRB, HF, HH, HL, HZ, JMS, JN, JX, MDJ represent population codes of the fourteen sampling localities. The same below.

表 6　不同地理种群间的遗传分化指数（F_{st}）（下三角）与遗传分化系数（G_{st}）（上三角）

Table 6　Population pairwise F_{st} values (below diagonal) and pairwise G_{st} (above the diaognal) values among different populations

	BA	BJ	CC	CF	GZ	HRB	HF	HH	HL	HZ	JMS	JN	JX	MDJ
BA		0.1975	0.0027	0.1684	0.0439	0.2389	0.3604	0.0021	0.0035	0.0606	0.0027	0.0027	0.0637	0.1299
BJ	0.2644		0.1777	0.1006	0.1071	0.0865	0.0578	0.1839	0.1712	0.1179	0.1777	0.1777	0.0293	0.0175
CC	0	0.3846		0.1818	0.0609	0.1947	0.3184	1.0000	1.0000	0.0611	1.0000	1.0000	0.0637	0.1102
CF	0.2026	0.3487	0.3077		0.0802	0.1055	0.1772	0.1869	0.1763	0.0759	0.1818	0.1818	0.0757	0.0618
GZ	0.0568	0.1971	0.1250	0.1711		0.1405	0.2331	0.0629	0.0588	0.0327	0.0609	0.0609	0.0338	0.0648
HRB	0.2530	0.2527	0.2911	0.2939	0.1913		0.0852	0.2021	0.1871	0.1745	0.1947	0.1947	0.1436	0.0255
HF	0.2317	0.1244	0.2963	0.2984	0.1007	0.2055		0.3280	0.3081	0.2547	0.3184	0.3184	0.1787	0.0878
HH	0	0.3846	0	0.3077	0.1250	0.2911	0.2963		1.0000	0.0630	1.0000	1.0000	0.0658	0.1144
HL	0	0.3846	0	0.3077	0.1250	0.2911	0.2963	0		0.0591	1.0000	1.0000	0.0616	0.1060
HZ	0.0968	0.3175	0.1842	0.2626	0.1346	0.2800	0.2836	0.1842	0.1842		0.0611	0.0611	0.0485	0.0817
JMS	0	0.3846	0	0.3077	0.1250	0.2911	0.2963	0	0	0.1842		1.0000	0.0637	0.1102
JN	0	0.3846	0	0.3077	0.1250	0.2911	0.2963	0	0	0.1842	0		0.0637	0.1102
JX	0.1007	0.0560	0.1892	0.2637	0.1357	0.2484	0.1824	0.1892	0.1892	0.1867	0.1892	0.1892		0.0351
MDJ	0.1570	0.1226	0.1914	0.2259	0.1545	0.0462	0.1772	0.1914	0.1914	0.1900	0.1914	0.1914	0.1090	

表 7　不同地理种群间的基因流 N_m

Table 7　Gene flow (N_m) between pairwise populations

	BA	BJ	CC	CF	GZ	HRB	HF	HH	HL	HZ	JMS	JN	JX	MDJ
BA														
BJ	1.391													
CC	Inf	0.800												
CF	1.968	0.934	1.125											
GZ	8.297	2.036	3.500	2.423										
HRB	1.476	1.478	1.218	1.201	2.114									
HF	1.658	3.518	1.187	1.176	4.465	1.934								
HH	Inf	0.800	Inf	1.125	3.500	1.218	1.187							
HL	Inf	0.800	Inf	1.125	3.500	1.218	1.187	Inf						
HZ	4.665	1.075	2.214	1.404	3.214	1.286	1.263	2.214	2.214					
JMS	Inf	0.800	Inf	1.125	3.500	1.218	1.187	Inf	Inf	2.214				
JN	Inf	0.800	Inf	1.125	3.500	1.218	1.187	Inf	Inf	2.214	Inf			
JX	4.468	8.433	2.143	1.396	3.186	1.513	2.241	2.143	2.143	2.178	2.143	2.143		
MDJ	2.684	3.579	2.112	1.713	2.736	10.33	2.322	2.112	2.112	2.132	2.112	2.112	4.086	

Inf: 无限大 Infinite.

表 8 大豆蚜各地理种群间的地理距离（K_m）的自然对数值（上三角）与遗传距离（下三角）

Table 8 The natural logarithm of geographical distance (K_m) (above the diagonal) and pairwise genetic distance (below the diagonal) among different geographic populations of *Aphis glycines*

	BA	BJ	CC	CF	GZ	HRB	HF	HH	HL	HZ	JMS	JN	JX	MDJ
BA		7.190	6.358	6.905	7.924	5.811	7.635	4.712	5.406	7.519	5.754	7.353	6.456	6.358
BJ	0.0009		6.765	5.818	7.353	7.017	6.797	7.249	7.073	6.334	7.222	5.844	7.312	7.122
CC	0.0003	0.0006		6.285	7.695	5.608	7.318	6.358	5.910	7.184	6.241	7.318	6.469	5.769
CF	0.0008	0.0011	0.0005		7.506	6.659	7.027	6.987	6.738	6.749	6.941	6.367	7.071	6.737
GZ	0.0018	0.0022	0.0016	0.0021		7.811	6.545	7.960	7.850	6.910	7.895	7.122	7.885	7.770
HRB	0.0029	0.0030	0.0026	0.0032	0.0040		7.484	6.099	4.712	7.370	5.543	7.171	6.176	5.608
HF	0.0026	0.0024	0.0024	0.0029	0.0034	0.0045		7.682	7.536	5.946	7.602	6.322	7.602	7.437
HH	0.0003	0.0006	0	0.0005	0.0016	0.0026	0.0024		5.811	7.567	5.993	7.411	6.574	6.529
HL	0.0003	0.0006	0	0.0005	0.0016	0.0026	0.0024	0		7.420	5.428	7.233	6.100	5.910
HZ	0.0006	0.0009	0.0003	0.0008	0.0019	0.0030	0.0027	0.0003	0.0003		7.512	5.657	7.574	7.353
JMS	0.0003	0.0006	0	0.0005	0.0016	0.0026	0.0024	0	0	0.0003		7.342	5.543	5.838
JN	0.0003	0.0006	0	0.0005	0.0016	0.0026	0.0024	0	0	0.0003	0		6.973	7.153
JX	0.0006	0.0007	0.0003	0.0008	0.0019	0.0028	0.0024	0.0003	0.0003	0.0006	0.0003	0.0003		5.955
MDJ	0.0015	0.0016	0.0013	0.0018	0.0029	0.0030	0.0033	0.0013	0.0013	0.0016	0.0013	0.0013	0.0014	

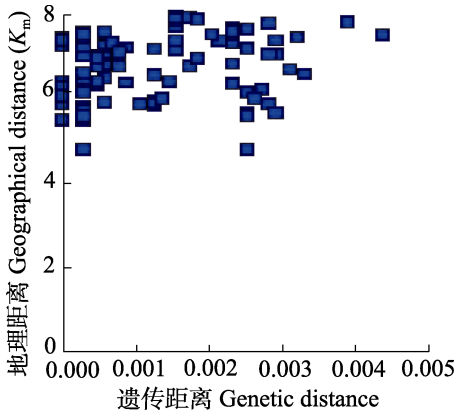

图 1 大豆蚜不同地理种群 mtDNA COⅡ序列的遗传距离与地理距离自然对数的相关性分析

Fig. 1 Correlation analysis between the natural logarithm of geographical distance (K_m) and the pairwise genetic distances for mtDNA COⅡ sequences of different geographic populations of *Aphis glycines*

2.4 单倍型系统发育分析及单倍型间的网络关系

运用 MEGA 5.05 分析软件，按照种内遗传差异以选择亲缘关系较近的种为外群的原则，并用 Kimura 2-Parameter 模型邻接法（Neighbor-joining, NJ），以棉蚜 *Aphis gossypii*（GenBank 登录号：KJ669654.1）为外群与 7 个单倍型构建系统发育树（图 2），结果显示，7 个单倍型均与外群分开，并且处于平行地位，每个单倍型均具有一个独立分支，其中 H1、H7、H4、H6、H3 聚为一支。根据单倍型的在不同地理种群中的分布，有距离较近的地理种群的单倍型聚为一支（CF 的 H4 与 HZ 的 H7），但也有距离较远的地理种群的单倍型聚为一支（HRB、MDJ 的 H6 和

表 9 大豆蚜 14 个地理种群 COⅡ的分子变异方差分析（AMOVA）

Table 9 Analysis of molecular variance (AMOVA) among 14 populations of *Aphis glycines*

变异来源 Source of variation	自由度 *d.f.*	平方和 Sum of sequences	方差组分 Variance components	变异百分率 Percentage of variation	F_{st} Fixation index
种群间	13	40.79	0.1125Va	19.85	
种群内	325	147.66	0.4543Vb	80.15	
总变异	338	188.45	0.5668		0.1985

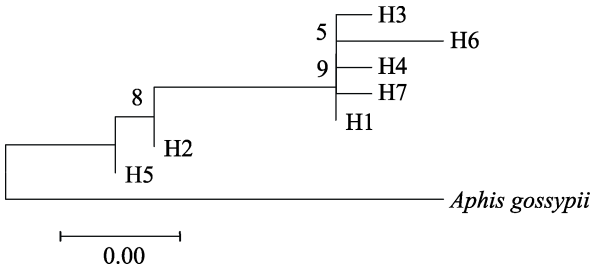

图 2　邻接法（Neighbor-joining，NJ）构建大豆蚜不同地理种群 CO Ⅱ 单倍型间系统树

Fig. 2　Neighbor–joining phylogenetic tree of haplotypes of different geographic populations of *Aphis glycines* based on CO Ⅱ gene sequence

HF 的 H3），单倍型之间未显示出明显的地理谱系，系统发育树并未反映出单倍型分布与地理位置相关的信息，未形成明显的谱系地理结构。

利用 Network 4.6.1.3 程序构建的单倍型网络中介图（图 3），能清晰地说明各单倍型之间的演化关系及各地理种群的分布情况，每个地理种群中都具有单倍型 H1，说明 H1 为 14 个地理种群的共享单倍型，H2 和 H5 与其他单倍型相对遗传距离较远，H5 与其他单倍型有明显分支，与建立的系统发育树结果吻合，其所在的地理种

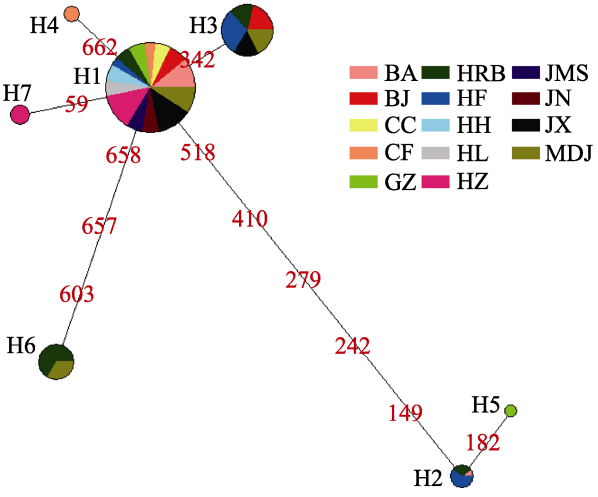

图 3　大豆蚜线粒体 CO Ⅱ 各单倍型中介网络图

Fig. 3　Median-joining network of haplotypes of *Aphis glycines* based on CO Ⅱ gene of mtDNA

圆面积代表单倍型出现频率，彩色扇形面积代表各样品种群在同一单倍型中所占的比例，红色数字代表变异位点。

Circle areas represent proportional to haplotype frequencies, colored portions represent the proportions of the same haplotype that occurs in each sampling region, red numbers represent variable sites.

群与单倍型的分布之间不存在明显的对应关系，大多数单倍型都处于较为混杂的分布格局中，其结果与分子变异方差分析结果吻合，同样说明种群间遗传分化主要来自种群内部，种群间遗传分化相对较小。

3　讨论

分析大豆蚜 CO Ⅱ 基因片段碱基组成，A+T 含量与 G+C 含量比为 4∶1，呈较大的碱基 A/T 偏倚性，该结果符合昆虫线粒体基因的序列碱基组成特点（Liu and Beckenbach，1992；Jermiin and Crozier，1994）。以不同地理种群的大豆蚜作为供试虫源，亲缘关系近，且在序列变异中转换值大于颠换值，符合亲缘关系较近的分类阶元中核苷酸替换的转换多于颠换，而远缘的分类阶元中颠换多于转换（Simon *et al.*，1994；李菁等，2010）。比对大豆蚜不同地理种群 CO Ⅱ 基因序列定义了 7 个单倍型，其中 H1 为所有单倍型所共有，推测此单倍型为较原始的单倍型，对环境的适应性较其他单倍型更强，一般认为是在种群中稳定存在的优势型。单倍型多样度高的群体说明其遗传多样性高，遗传资源丰富，而本研究单倍型多样度为 0.479±0.030，说明不同地理种群大豆蚜的遗传多样性较低，可能与大豆蚜尚未积累过多的遗传变异有关，种群间充分的基因交流是造成单倍型多样性贫乏的原因。而 HRB、HF、MDJ 和 GZ 种群的单倍型较高，比其他种群的 K_{xy} 和 D_{xy} 差异大，此 4 个种群遗传多样性相对较高，可能与该地区大豆蚜没有经过严重的瓶颈效应和奠基者效应有关，不同种群所处的自然生态环境不同，在自然选择及寄主植物的选择作用下，此 4 个种群遗传结构与其他种群相比发生了较大变异。

根据各地理种群中性检测结果，大多数地理种群无显著差异（P>0.05），表明大多地理种群内序列在进化上符合中性模型（王兴亚和许国庆，2014）。而作为整体进行分析，两个中性检验参数（Tajima's D 和 Fu's F_s）的 P>0.10，说明各个地理种群作为一个整体种群内无显著性差

异，推测我国大豆蚜在较近的历史时期内并没有种群扩张事件（Harpending *et al.*，1998），在短期内并没有大规模的朝某一方向迁飞趋势，暂处于较稳定状态，大豆蚜地理种群间未出见大量迁飞或扩散现象。本研究 Mantel 检验结果可知地理距离与遗传距离无显著相关性，大豆蚜各种群间的基因交流并未受地理隔离的影响，同样地理隔离与大豆蚜种群间遗传变异无关，直线地理距离不能解释种群间的遗传距离，从而推断大豆蚜的遗传距离与地理距离的远近无关。

大豆蚜单倍型网络图显示单倍型 H1 为 14 个地理种群的共享主体单倍型，从单倍型在中介网络图和邻接树（NJ 树）中的分布和各单倍型在实际地理种群中的分布情况来看，单倍型之间和其分布的地理单元之间并无明显对应关系，单倍型在不同地理种群的混杂分布，再次验证了不同地理种群大豆蚜间存在不同程度的迁飞和扩散，并且没有明显的迁飞规律和扩散方向。单倍型分布格局混杂，同样说明种群间遗传分化主要来自种群内部，种群间遗传分化相对较小，这与遗传距离与地理距离的相关性分析结果一致，可见地理隔离并不是造成大豆蚜种群间遗传分化的主导因素。

害虫种群遗传结构是遗传变异在物种或群体中的一种非随机分布，是经过长时间的进化而形成的，可反映迁飞规律、地理变异格局及进化历史中的一些特殊事件（Timm *et al.*，2005）。分子变异分析（AMOVA）是基于单倍型组分或频率，通过分析不同种群基因分化水平，考虑序列间的差异，来研究种群遗传结构。根据分子变异分析结果，表明大豆蚜的遗传变异主要来自种群内部而非种群间，说明不同种群间存在基因交流，固定系数 F_{st}=0.1985，在 0.15~0.25 之间，说明种群内部的遗传分化比较大（Weight，1978）。基因流（N_m）可揭示种群间可能的基因渗透及影响遗传分化的遗传现象，其基本作用是消弱种群间的遗传差异，N_m=2.019>1，表明种群间基因流水平高（Millar and Libby，1991；Boivin *et al.*，2004；张利娟等，2012），说明各种群间可通过迁飞或其他因素发生基因交流，从而造成种群间遗传变异低，遗传多样性低。总体上，在我国大豆主产区，大豆蚜没有明显的栖息地丢失和寄主不连续分布，不存在明显的地理隔离来阻碍基因交流，因此，我国不同地理种群大豆蚜表现出较小的遗传分化和较低的遗传变异，表明不同地理种群的大豆蚜存在不同程度的迁飞和扩散，但无明显的迁飞方向。综合上述结果可知，不同地理种群间大豆蚜的基因交流并未受到地理距离的影响，具有较小的遗传分化，较低的遗传变异。本研究在一定程度上为大豆蚜系统进化研究，为进一步揭示其起源、扩散路线及发生规律，为将来根据不同地理种群大豆蚜的单倍型及遗传多样性研究害虫防治工作提供分子水平上的理论依据。本研究工作采集地选择大豆主产区，若要全面了解大豆蚜的遗传变异和地理种群分化格局，需要进一步扩大采样范围和样本量，用更长、更多的基因序列或是进化更快的分子标记基因进行验证和深入探讨。

致谢：感谢黑龙江省农业科学院黑河分院鹿文成、张武，长春市农业科学院程延喜，内蒙古自治区赤峰市农牧科学研究院丁素容、张学超，河北省沧州市农业科学院卢思慧，山东省农业科学院作物研究所徐冉、张彦威等在采集大豆蚜供试虫源过程中给予的帮助。

参考文献 (References)

Bandelt HJ, Forster P, Rohl A, 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol*., 16(1): 37–48.

Blackman RL, Eastop VF, 2000. Aphids on the World'S Crops: An Identification and Information Guide. 2nd ed. New York: Wiley, 5–8.

Boivin T, Bouvier JC, Beslay D, Suphanor B, 2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biol. J. Linn. Soc.,* 83(3): 341–351.

Bu Y, Zheng ZM, Guo K, 2005. Sequence analysis of mtDNA-COⅡ gene and molecular phylogeny on five species of *Pehtatoma* (Hemiptera: Pentatomidae). *Entomotaxonomia*, 27(2): 90–96. [卜云, 郑哲民, 郭昆, 2005. 五种真蝽（*Pehtatoma* Olivier）mtDNA-COⅡ基因序列分析及系统发育关系初探. 昆虫分类学报, 27(2): 90–96.]

CAB. International. Crop Protection. Ompendium. CD-ROM. http: //www. *Aphis*. usda. gov/ npb/ soybean/ *Aphis glycines*.

Cheng Y, 2013. Consideration on the development of China soybean industry. *Soybean Science*, 32(5): 711–713. [程遥, 2013. 中国大豆种植业发展的思考. 大豆科学, 32(5): 711–713.]

Excoffier L, Laval G, Schneider S, 2005. Arlequin (version 3. 0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.,* (1): 47–50.

Felsenstein J, 1985. Confidence limits on phylogenies, an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4): 783–791.

Goldberg TL, Ruvolo M, 1997. The geographic apportionment of mitochondrial genetic diversity in east African chimpanzees, *Pan troglodytes schwein furthii*. *Mol. Biol. Evol.,* 14(9): 976–984.

Harpending HC, Batzer MA, Gurven M, Jorde LB, Rogers AR, Sherry ST, 1998. Genetic traces of ancient demography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 95(4): 1961–1967.

Harrison RG, 1989. Animal mtDNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends Ecol. Evol*., 4(1): 6–11.

Hopper KR, Diers BW, 2014. Parasitism of soybean aphid by *Aphelinus* species on soybean susceptible versus resistant to the aphid. *Biol. Control*, 76: 101–106.

Jermiin LS, Crozier RH, 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufoniger*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *J. Mol. Evol*., 38(3): 282–294.

Kim CS, Schaible G, Carrett L, Lubowski R, Lee D, 2008. Economic impacts of the US soybean aphid infestation: a multi-regional competitive dynamic analysis. *Agric. Res. Econ. Rev*., 37(2): 227–242.

Kim H, Hoelmer KA, Lee W, Kwon YD, Lee S, 2010. Molecular and morphological identification of the soybean aphid and other *Aphis* Species on the primary host *Rhamnus davurica* in Asia. *Ann. Entomol. Soc. Am.,* 103(4): 532–543.

Lee W, Lee S, 2013. Molecular and morphological characterization of two aphid genera, *Acythosiphon* and *Aulacorthum* (Hemiptera: Aphididae). *J. Asia-Pacific Entomol*., 16(1): 29–35.

Lee W, Lee Y, Kim H, Alcimoto SI, Lee S, 2014. Developing a new molecular marker for aphid species identification: Evaluation of eleven candidate genes with species-level sampling. *J. Asia-Pacific Entomol*., 17(3): 617–627.

Li D, Qin JC, Zhou CF, 2014. The phylogeny of Ephemeroptera in Pterygota revealed by the mitochondrial genome of *Siphluriscus chinensis* (Hexapoda: Insecta). *Gene*, 545(1): 132–140.

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* (Lepidoptera: Crambidae) in China estimated by mitochondrial COⅡ 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 COⅡ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 YR, 2006. The Agricultural Entomology. Beijing: Higher Education Press. 212–216. [李云瑞主编, 2006. 农业昆虫学. 北京：高等教育出版社. 212–216.]

Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.

Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase Ⅱ gene among 10 orders of insects. *Mol. Phylgenet. Evol*., 1(1): 41–52.

Liu J, 2010. Studies on the Effects of Natural Enemies on the Predation of Soybean Aphid. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. 2–4. [刘健主编, 2010. 天敌昆虫对大豆蚜捕食作用的研究. 北京：中国农业科学技术出版社. 2–4.]

Lohman DJ, Peggie D, Pierce NE, Meier R, 2008. Phylogeography and genetic diversity of a wider spread Old World butterfly, *Lampides boeticus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *BMC Evol. Biol.,* 8(1): 301.

Ma L, Huang Y, 2006. Molecular phylogeny of some subfamilies of Catantopidae (Orthoptera: Caelifera: Acridoidea) in China based on partial sequence of mitochondrial COⅡ gene. *Acta Entomologica Sinica*, 49(6): 982–990. [马兰, 黄原, 2006. 基于 COⅡ基因序列的斑腿蝗科部分亚科的分子系统学研究. 昆虫学报, 49(6): 982–990.]

Millar CL, Libby WJ, 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species// Falk DA, Holsinger KE (eds.). Genetics and Conservation of Rare Plants. New York : Oxford University Press. 149–170.

Miller NJ, Birley AJ, Overall AD, Tatchell GM, 2003. Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage. *Heredity*, 91(3): 217–223.

Ragsdale DW, Landis DA, Brodeur J, Heimpl GE, Desneux N, 2011. Ecology and management of soybean aphid in North America. *Annu. Rev. Entomol*., 56: 375–399.

Ragsdale DW, Voegtlin DJ, Oneil RJ. 2004. Soybean aphid biology in North America. *Ann. Entomol. Soc. Am*., 97(2): 204–208.

Ren ZM, Zhong Y, Kurosu U, Aoki S, Ma E, Dohlen CD, Wen J, 2013. Historical biogeography of Eastern Asian-Eastern North American disjunct Melaphidina aphids (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae) on Rhus hosts (Anacardiaceae). *Mol. Phylogenet. Evol*., 69(3): 1146–1158.

Roderick GK, Navajas M, 2003. Genes in new environments: genetics and evolution in biological control. *Nat. Rev. Genet.,* 4(11): 889–899.

Sambrook J, Russell DW, 2001. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, third ed. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press. 15–20.

Simon C, Frati F, Beckenbach AT, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction. primers. *Ann. Entomol. Soc. Am*., 87(6): 651–701.

Smith MA, Woodley NE, Janzen DH, Hallwachs W, Hebert PDN, 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 103(10): 3657–3662.

Singh SR, Van Emden HF, 1979. Insect pests of grain legumes. *Annu. Rev. Entomol*., 24: 255–278.

Song F, Swinton SM, 2009. Returns to integrated pest management research and outreach for soybean aphid. *J. Econ. Entomol.*, 102(6): 2116–2125.

Sun W, Zhang ZT, Dong H, Qian HT, Shi Y, Xie LN, Cong B, 2013. Analysis of genetic differentiation and gene flow among different geographic populations of *Oedaleus infernalis* (Orthoptera: Acrididae) based on mtDNA CO I gene sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 56(8): 907–916. [孙嵬, 张柱亭, 董辉, 钱海涛, 石玉, 谢丽娜, 丛斌, 2013. 基于线粒体 COI 基因序列的黄胫小车蝗不同地理种群的遗传分化及基因流分析. 昆虫学报, 56(8): 907–916.]

Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.

Takahata N, Palumbi SR, 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island modal. *Genetics*, 109(2): 441–457.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S, 2011. MEGA 5, molecular evolutionary genetics analysis using maximum Likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol*., 28(10): 2731–2739.

Timm AE, Pringle KL, Wamich L, 2005. Genetic diversity of woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* (Hemiptera: Aphididae) populations in the Western Cape, South Africa. *Bull. Entomol. Res.,* 95(3): 187–191.

Venette RC, Ragsdale DW, 2004. Assessing the invasion by soybean aphid (Homoptera: Aphididae) where will it end? *Ann. Entomol. Soc. Am*., 97(2): 219–226.

Wang H, Xu ZX, Han LL, Wang KQ, Zhao KJ, 2014. Analysis of the genetic diversity in geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Olethreutidae) from northeastern China based on mitochondrial DNA COI gene sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 57(9): 1051–1060. [王红, 徐忠新, 韩岚岚, 王克勤, 赵奎军, 2014. 基于线粒体 COI 基因序列的大豆食心虫中国东北地理种群遗传多样性分析. 昆虫学报, 57(9): 1051–1060.]

Wang SY, Bao SZ, Chen RK, Zhai BP, 1996. Study on effect of population dynamics of soybean aphid (*Aphis glycines*) on both growth and yield of soybean. *Soybean Science*, 15(3): 245–247. [王素云, 暴祥致, 孙雅杰, 陈瑞鹿, 翟保平, 1996. 大豆蚜对大豆生长和产量影响的试验. 大豆科学, 15(3): 245–247.]

Wang XY, Xu GQ, 2014. Genetic differentiation and gene flow among geographic populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 57(9): 1061–1074. [王兴亚, 许国庆, 2014. 中国甜菜夜蛾地理种群的遗传分化与基因流. 昆虫学报, 57(9): 1061–1074.]

Weight S, 1978. Evolution and the genetics of population // Wright S (ed.). Variability Within and Among Natural Populations. Chicago : University of Chicago Press. 10–15.

Xue QX, 2013. Analysis on the change of 30 year's soybean areas, production and yield in China and Northeast China. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 29(35): 102–106. [薛庆喜, 2013. 中国及东北三省 30 年大豆种植面积、总产、单产变化分析. 中国农学通报, 29(35): 102–106.]

Yang S, Liu J, Dai CC, Zhao KJ, 2010. Morphological variation for growth and development of soybean aphid collected from different geographical zones. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(1): 67–71. [杨帅, 刘健, 戴长春, 赵奎军, 2010. 不同地理种群大豆蚜生长发育的形态指标. 昆虫知识, 47(1): 67–71.]

Yang ZX, Feng Y, Chen XM, 2006. An effective method for extraction genomic DNA from aphids. *Forest Research*, 18(5): 641, Cover three. [杨子祥, 冯颖, 陈晓鸣, 2005. 一种有效的蚜虫基因组 DNA 提取方法. 林业科学研究, 18(5): 641, 封三.]

Zhang LJ, Shen DR, Sun YX, Li ZY, Zhang HR, 2012. Analysis of genetic differentiation among geographic populations of *Gynaikothrips ficorum* (Marchal) (Thysanoptera: Phlaeothripidae) in Yunnan, southwestern China, based on mtDNA CO I gene equences. *Acta Entomologica Sinica*, 55(2): 199–207. [张利娟, 沈登荣, 孙跃先, 李正跃, 张宏瑞, 2012. 基于 mtDNA CO I 基因序列的云南榕母管蓟马不同地理种群的遗传分化分析. 昆虫学报, 55(2): 199–207.]