

基于 mtDNA *cox1* 和 *cox2* 基因的宽带果实蝇种群遗传结构分析*

刘晓飞^{1, 2**} 晋燕³ 施伟⁴ 叶辉^{5***}

(1. 云南大学国际河流与生态安全研究院, 昆明 650091; 2. 云南省国际河流与跨境生态安全重点实验室, 昆明 650091; 3. 云南农业大学经济管理学院, 昆明 650201; 4. 云南大学生命科学学院, 昆明 650091; 5. 云南大学农学院, 昆明 650091)

摘要 【目的】宽带果实蝇 *Zeugodacus scutellatus* (Hendel) 是我国分布范围最广的实蝇类昆虫之一, 掌握其入侵来源以及传播扩散模式是害虫防控的基本前提。【方法】本研究基于线粒体 DNA *cox1* 和 *cox2* 基因片段, 对我国宽带果实蝇的种群遗传结构进行了初步研究, 并以此为依据对其入侵扩散过程进行了分析。【结果】我国东部和西部宽带果实蝇种群单倍型多样性 (h)、核苷酸多样性 (π)、遗传分化系数 (F_{st})、基因流 (N_m) 均高于中部地区, 日本宽带果实蝇种群单倍型数量、单倍型百分比、遗传多样性等参数均高于我国宽带果实蝇种群。中性检验表明, 宽带果实蝇在我国经历过快速扩张事件, 地理隔离在种群遗传结构中并未产生关键作用。【结论】上海和重庆可能是其最早进入我国的地区, 该虫可能经由两条主要路径实现其在我国大范围扩张: 一条直接通过港口贸易登陆上海, 在长三角地区传播扩散, 依此基础沿长江水系迅速向内陆扩张; 另一路则以重庆为起点, 在云贵甘陕等西部地区迅速扩张, 并在此基础上借助长江沿线适宜的定殖区向南北传播扩散。

关键词 宽带果实蝇; 种群遗传; 扩散; 入侵历史

Genetic diversity and population structure of *Zeugodacus scutellatus* (Diptera: Tephritidae) inferred from variation in mtDNA *cox1* and *cox2*

LIU Xiao-Fei^{1, 2**} JIN Yan³ SHI Wei⁴ YE Hui^{5***}

(1. Asian International Rivers Center, Yunnan University, Kunming 650091, China; 2 Yunnan Key Laboratory of International Rivers and Transboundary Eco-Security, Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. College of Economics and Management, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 4. School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091, China; 5. School of Agriculture, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract 【Objectives】To establish effective management measures for the striped fruit fly, *Zeugodacus scutellatus* (Hendel) (Diptera: Tephritida), an important quarantine species in China, and prevent further expansion of its range by identifying its mode of expansion and historical expansion routes. 【Methods】The population genetic structure and contemporary gene flow of the striped fruit fly were assessed based on variation in the mtDNA *cox1* and *cox2* sequences. 【Results】Haplotype diversity (h), Nucleotide diversity (π), F_{st} and Gene flow (N_m) were higher in western populations than in eastern ones. These parameters are also higher in the Japanese population than in Chinese populations. Evaluation of haplotype phylogenetic structure indicates that all haplotypes from Japan clustered at the base of the phylogenetic tree, indicating that these haplotypes are more ancient than those found in China. The results of a Mantel Test indicate that *Z. scutellatus* populations have suffered bouts of high-speed expansion in China, and that geographical barriers have been no

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划 (2017YFC0505200); 国家自然科学基金项目 (41401065)

**第一作者 First author, E-mail: xfliu@ynu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yehui@ynu.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-04-02; 接受日期 Accepted: 2019-04-26

obvious impediment to their spread. **[Conclusion]** Our results indicate that Chinese populations of *Z. scutellatus* probably originated from Japan, and that Shanghai and Chongqing were the first two places in China to be colonized. *Z. scutellatus* probably arrived in two waves, one establishing in Shanghai simultaneously with imports from Japan, then, facilitated by trade along the Yangtze River, quickly colonizing the Yangtze Delta and inland regions. Another wave arrived in Chongqing, the commercial center of western China, including Yunnan, Sichuan, Gansu, Guizhou and Shaanxi provinces. Expansion north and south from Chongqing was also facilitated by the movement of produce and goods.

Key words *Zeugodacus scutellatus*; population structure; expansion; invasion history

宽带果实蝇 *Zeugodacus scutellatus* (Hendel, 1912) 属双翅目 (Diptera) 实蝇科 (Tephritidae), 主要分布于朝鲜、韩国、日本以及我国近 20 个省区, 是东亚地区分布范围最广的实蝇类害虫, 也是世界各国普遍关注的检疫性害虫 (Drew and Romig, 2013; 晋燕等, 2014, 2015)。

掌握外来入侵物种的入侵来源以及传播扩散模式是入侵生态学研究的重要问题之一 (Wan and Yang, 2016), 对于揭示外来入侵物种的入侵规律, 了解外来物种的生物学习性和发生特点, 寻找有效的天敌生物和控制方法等都具有重要的参考价值, 也是开展入侵生物管理和阻截的基本前提 (Wan and Yang, 2016; Wan *et al.*, 2017)。

一直以来, 世界范围内关于宽带果实蝇发生的历史资料记录非常有限, 该虫大范围分布扩张的路径也尚未明确, 我国的宽带果实蝇究竟属外来入侵抑或本地发生种类, 无明确定论 (晋燕等, 2014)。种群遗传分析是探索和推断入侵生物起源地及扩散路径的重要途径 (褚栋等, 2007)。本文以线粒体 *cox1* 和 *cox2* 基因为基础, 通过对宽带果实蝇的种群遗传结构分析, 探寻该虫在我国的来源、迁移、扩张等基本问题, 为全面认识宽带果实蝇的发生发展规律, 开展科学防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标本采集及鉴定

中国与日本是宽带果实蝇的主要分布区, 本研究采用 Cue-lure 诱剂, 在我国的云南、重庆、贵州、陕西、山西、广西、广东、福建、湖南、湖北、安徽、河南、上海、浙江、江西、江苏

16 个省区以及日本京都 (Kyoto, Japan) 共采集宽带果实蝇 26 个地理种群, 共计 451 份样本。根据形态特征参照 Drew 和 Romig (2013) 的描述进行种类鉴定。用 95% 的无水乙醇浸泡, -20℃ 保存。

1.2 DNA 提取、扩增

本研究所有样本均采用昆虫 DNA 提取试剂盒 (E.Z.N.A., Omega Bio-Tek, USA) 进行总 DNA 提取。所获得的 DNA 样本经核酸蛋白定量检测后于 -20℃ 冻存。

PCR 反应扩散的片段为宽带果实蝇线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 上编码细胞色素 *c* 氧化酶 亚基 (Cytochrome oxidase 1, *cox1*) 和细胞色素氧化酶 亚基 (Cytochrome oxidase 2, *cox2*) 的部分片段, 采用通用引物进行扩增 (Shi *et al.*, 2010), *cox1* 目标片段长度大约为 800 bp, *cox2* 目标片段长度大约为 750 bp。PCR 反应采用 Taq PCR Master Mix Kit (QIAGEN China (Shanghai) Co., Ltd, China) 完成, 反应条件: 94℃ 预变性 3 min; 35 次循环包括 94℃ 1 min, 72℃ 延伸 1 min。PCR 扩增产物由赛因百奥生物技术有限公司完成纯化、测序。

1.3 数据分析

DNA 序列使用 BioEdit 7.09 中的 CLUSTAL W 插件进行编辑整理 (Hall, 1999), 采用 MEGA4.0 (Tamura *et al.*, 2007) 统计核苷酸组成、变异位点及简约信息。将所有联合 DNA 片段文件导入 DnaSP5.0 (Librado and Rozas, 2009) 中筛选并合并单倍型, 按共享单倍型 (Shared haplotypes) 数字命名单倍型, 统计其频率, 各

表 1 宽带果实蝇样本信息
Table 1 Information on sampling sites of *Zeugodacus scutellatus*

区域 Area	采样地点 Sampling site	代码 Code	海拔 (m) Altitude	经度 (°) Longitude	纬度 (°) Latitude	样本量 Sample size
广西 Guangxi	百色 Baise	GBS	263	106.37	23.53	20
广东 Guangdong	广州 Guangzhou	GGZ	305	113.15	23.61	19
贵州 Guizhou	贵阳 Guiyang	GGY	1 248	106.36	26.36	18
	赫章 Hezhang	GHZ	1 521	104.43	27.07	9
	兴义 Xaingyi	GXY	1 269	104.52	25.07	19
湖北 Hubei	武汉 Wuhan	HWH	23	114.18	30.35	20
	巴东 Badong	HBD	226	110.19	30.05	20
浙江 Zhejiang	嘉兴 Jiaxing	ZJX	8	120.45	30.45	18
	兰溪 Lanxi	ZLX	35	119.27	29.12	18
安徽 Anhui	阜阳 Fuyang	AFY	31	115.48	32.53	19
福建 Fujian	福州 Fuzhou	FFZ	360	119.15	26.29	14
湖南 Hunan	长沙 Changsha	HCS	51	112.56	28.13	18
山西 Shanxi	长治 Changzhi	SCZ	928	113.06	36.12	18
重庆 Chongqing	万州 Wanzhou	CWZ	299	108.24	30.48	17
	梁平 Liangping	CLP	483	107.48	30.40	20
江苏 Jiangsu	扬州 Yangzhou	JYZ	9	119.24	32.23	20
上海 Shuanghai	上海 Shanghai	SH	6	121.38	31.09	20
云南 Yunnan	永善 Yongshan	YYS	725	103.38	28.13	16
陕西 Shaanxi	汉中 Hanzhong	SHZ	535	107.13	33.04	20
	杨凌 Yangling	SYL	459	108.04	34.16	8
河南 Henan	郑州 Zhengzhou	HZZ	115	113.37	34.34	15
	信阳 Xinyang	HXY	111	114.05	32.08	19
江西 Jiangxi	余江 Yujiang	JYJ	475	116.48	28.12	14
	兴国 Xingguo	JXG	514	115.21	26.20	20
	九江 Jiujiang	JJJ	129	115.59	29.40	16
日本 Japan	京都 Kyoto	KY	59	135.45	35.01	10

种群中的独享单倍型 (Private haplotypes) 合并为总频率。采用 Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer , 2010) 对各种群的核苷酸多样性 (Nucleotide diversity)、单倍型多样性 (Haplotype diversity) 种群间 F_{st} 值、错配分布系数 (Mismatch distribution) 种群内 Nei's 平均差异数 (Nei's average number of pairwise differences) 和种群间基因流值、核苷酸差异平均数 (Average number of nucleotide defference)

各种群遗传距离等指标。其中 , Gamma 值由 jModelTest0.1.1 (Guindon and Gascuel , 2003 ; Posada , 2008) 检验获得。采用 Arlequin 3.5 对各种群进行中性检验 (Neutrality test) , 计算得出 Tajima's D (Tajima , 1989) 和 Fu's F_s (Fu , 1997) 值、种群间 Nei's 平均差异数、种群间 F_{st} 值。使用 Network 4.6 (Bandelt *et al.* , 1999) 构建单倍型中介网络图 (Median-joining network) , 以瓜实蝇 *Zeugodacus cucurbitae* 序列作为参照 ,

推断祖先单倍型和进化分支。

2 结果与分析

2.1 单倍型统计及地理空间分布

451 条序列经共鉴定出 207 个单倍型, 其中 44 个为共享单倍型 (Shared haplotype), 占单倍型总数的 21.3%; 163 个为独享单倍型 (Private haplotype), 占单倍型总数的 78.8% (表 2)。H2 共享的种群数量最多, 覆盖地理范围最广, 包括中国 25 个地理种群, 为全国共享单倍型; 其次为 H4, 包括东部沿海、中部和西部地区的 11 个种群, 无明显的区域差别; H35 多聚集在中西部种群, 包括长沙、河南、陕西、山西、重庆等 8

个种群; H15、H20、H50、H54-55、H71、H82 显示为 4-7 个地理种群之间无规律的共享单倍型; H6、H13、H26、H53、H74 则为 3 个地理种群间共享; 其余共享单倍型为 2 个地理种群间共享。日本种群所含单倍型均为独享单倍型, 没有与任何种群共享。

单倍型地理空间分析表明, 东部地区共享单倍型比例最高, 浙江嘉兴达到 71%。其次为沿海地区或是中部地区, 百色、广州、余江 3 个种群共享单倍型比例均大于 60%。再次是以西部种群居多的兴义、长沙、长治、云南、汉中、郑州、赫章、信阳、杨凌、上海、武汉和福建共 12 个种群, 共享单倍型比例皆大于 50%。共享比例较低的 3 个种群依次为扬州、兰溪和日本 (表 2)。

表 2 宽带果实蝇 207 个单倍型在 26 个地理种群间的分布统计
Table 2 The distribution of 207 haplotypes and related statistics among 26 *Zeugodacus scutellatus* geographical populations

种群 Population	单倍型 Haplotypes	共享 Number shared	独享 Number private	共享比例 Percentage Shared	独享比例 Percentage Private
GBS	H2, H3-4, H6-7, H9-10, H12-13	9	5	0.64	0.36
GGZ	H2-3, H7, H28, H33, H35-36	7	4	0.64	0.36
GGY	H2, H4, H13, H15, H20, H24, H26, H28	8	10	0.44	0.56
GXY	H2, H12, H26, H37, H39, H42	6	5	0.55	0.45
HWH	H2, H4, H9, H15, H37, H50, H53-55	9	7	0.56	0.44
ZJX	H2, H20, H50, H54, H56	5	2	0.71	0.29
ZLX	H2, H60, H71	3	11	0.21	0.79
AFY	H2, H15, H35, H74	4	5	0.44	0.56
FFZ	H2, H35, H79, H80, H82	5	4	0.56	0.44
HCS	H2, H4, H33, H35, H42, H87	6	6	0.50	0.50
SCZ	H2, H24, H35, H39, H50, H92, H99, H101	8	8	0.50	0.50
CWZ	H2, H4, H35, H55, H109-110	6	7	0.46	0.54
CLP	H2, H4, H26, H35, H56, H114	6	7	0.46	0.54
JYZ	H2, H10, H15, H53, H124	5	9	0.36	0.64
SH	H2, H20, H71, H80, H82, H99, H110, H132	8	7	0.53	0.47
YYS	H2, H6, H79, H139	4	4	0.50	0.50
HBD	H2, H4, H6, H54, H71	5	6	0.45	0.55
SHZ	H2, H4, H15, H35, H54-55, H71, H114, H149	9	7	0.56	0.44
HZZ	H2, H4, H10, H74, H109, H158, H161	7	5	0.58	0.42
GHZ	H2, H15, H24, H50, H158	5	4	0.56	0.44
JYJ	H2, H13, H55, H82, H92, H139	6	3	0.67	0.33

续表 2 (Table 2 continued)

种群 Population	单倍型 Haplotypes	共享 Number shared	独享 Number private	共享比例 Percentage Shared	独享比例 Percentage Private
JXG	H2 , H4 , H15 , H60 , H74 , H124	6	8	0.43	0.57
JJJ	H2 , H4 , H36 , H55	4	6	0.40	0.60
HXY	H2 , H20 , H35 , H53 , H82 , H101 , H132 , H149	8	6	0.57	0.43
SYL	H2 , H87 , H161	3	3	0.50	0.50
KY	0	0	14	0.00	1.00
合计 Total		152	163	0.48	0.52

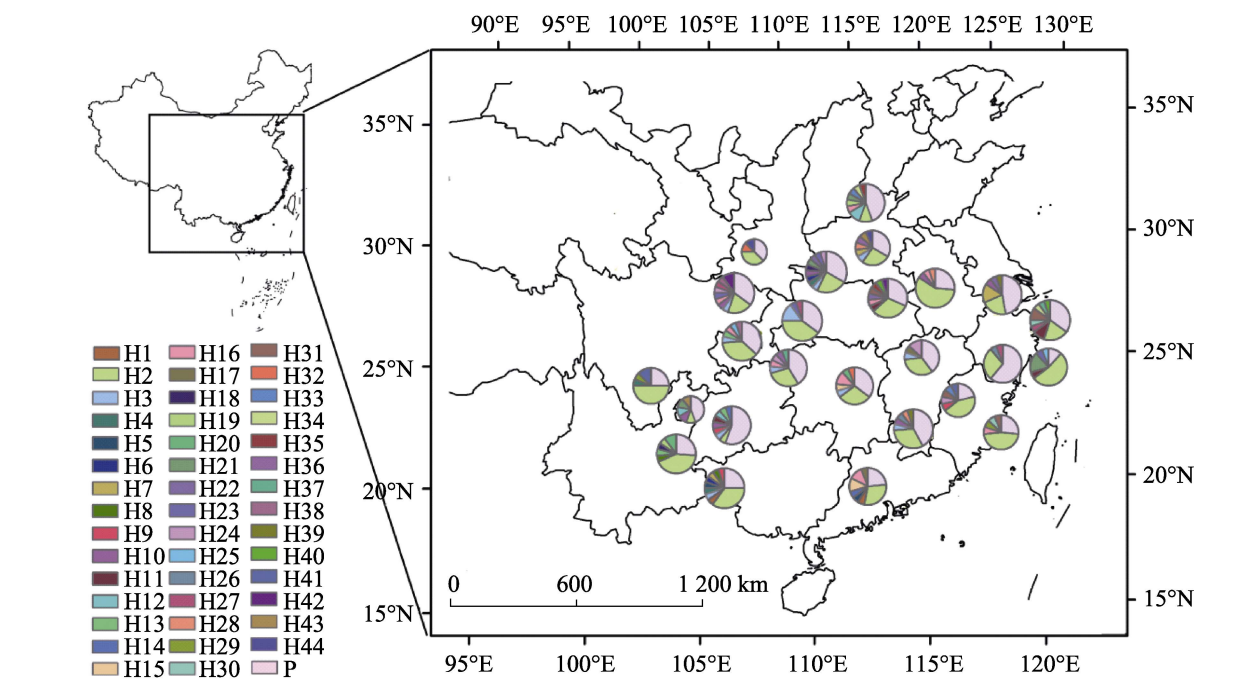


图 1 宽带果实蝇所有单倍型的空间分布 (P 为独享单倍型)

Fig. 1 Spatial distribution of all haplotypes of *Zeugodacus scutellatus* (P indicate private haploatypes)

2.2 种群遗传多样性分析和中性检验

遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据,也是物种进化潜能的体现。分析结果显示,宽带果实蝇各种群有较高的单倍型多样性(表 3)。西部地区的贵阳、赫章 2 个种群单倍型多样性最高 ($h = 1.00$);日本种群与任何中国种群没有共享单倍型存在,遗传多样性为 0.99;扬州、上海、武汉、郑州、长治和汉中 6 个种群单倍型多样性在 0.94 以上;兰溪、广州、长沙、万州、兴国、信阳 6 个种群单倍型多样性均在

0.90 以上;百色、兴义、福建、梁平、巴东、余江、九江、杨凌 8 个种群单倍型多样性在 0.80 - 0.90 之间;嘉兴和云南单倍型多样性分别为 0.73 和 0.75;单倍型多样性最低的种群为阜阳(0.67)。核苷酸多样性可以划分出不同的梯度。大于 0.04 的 8 个种群具有较高的核苷酸多样性,分别是贵阳、兰溪、长治、万州、扬州、上海、赫章、兴国,其中长治达到 0.048 最高水平;广州、武汉、嘉兴、福建、长沙、永善、汉中、郑州、余江、信阳和杨凌 11 个种群大于 0.03;百色、阜阳、梁平、巴东、九江和日本 6 个种群大于 0.02。

表 3 宽带果实蝇 26 个种群的基因遗传多样性指数和中性检验
Table 3 Parameters and of genetic diversity and results of neutrality tests of
26 populations of *Zeugodacus scutellatus*

种群 Population	单倍型数量 Haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity(<i>h</i>)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)	种群内 Nei's 平均差异系数 Mean number of Nei's differences	中性检验		
					τ	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>
GBS	14	0.889 5	0.028 203	5.640 60	8.49	- 1.563 30*	- 4.588 71*
GGY	18	1.000 0	0.044 473	8.894 59	9.66	- 1.761 60*	- 11.566 60*
GGZ	11	0.912 3	0.030 388	6.077 59	8.92	- 1.074 76	- 1.393 39 *
GXY	11	0.830 4	0.031 877	6.375 32	8.75	- 1.144 99	- 1.232 39
HWH	16	0.941 5	0.039 496	7.899 16	8.87	- 1.230 43	- 4.676 77*
ZJX	7	0.738 6	0.037 727	7.545 35	13.36	- 0.222 09	2.614 25
ZLX	14	0.934 6	0.045 224	9.044 88	7.24	- 1.234 88	- 3.323 68
AFY	9	0.678 4	0.026 948	5.389 51	10.38	- 1.320 76	- 0.143 75
FFZ	9	0.800 0	0.031 944	6.388 78	12.47	- 1.234 04	- 0.527 06
HCS	12	0.921 6	0.039 925	7.985 09	17.92	- 0.794 39	- 1.703 25
SCZ	16	0.986 9	0.048 151	9.630 13	10.41	- 1.174 82	- 6.003 67*
CWZ	13	0.926 5	0.040 589	8.117 84	12.67	- 1.142 63	- 3.069 72
CLP	13	0.871 3	0.028 377	5.675 34	10.36	- 1.537 17*	- 2.608 89
JYZ	14	0.947 4	0.040 844	8.168 88	9.52	- 1.233 42	- 2.808 19
SH	15	0.947 7	0.042 377	8.690 59	10.90	- 1.344 16	- 3.671 20
YYS	8	0.758 3	0.038 990	7.798 06	12.69	- 0.523 17	1.215 27
HBD	11	0.836 8	0.026 307	5.261 32	2.56	- 1.098 14	- 1.683 82
SHZ	16	0.963 2	0.038 974	6.282 25	10.36	- 1.710 04*	- 5.606 96*
HZZ	12	0.942 9	0.031 411	8.409 62	8.40	- 1.021 85	- 3.914 02*
GHZ	9	1.000 0	0.042 048	7.756 77	9.88	- 0.801 72	- 3.389 21*
JYJ	9	0.835 2	0.038 784	8.738 89	10.32	- 0.560 96	- 0.286 75
JXG	14	0.915 8	0.043 694	4.755 64	10.77	- 1.267 10	- 2.541 68
JJJ	10	0.885 7	0.023 778	7.081 73	9.84	- 1.189 19	- 0.286 75
HXY	14	0.912 3	0.035 409	6.835 47	11.00	- 1.304 93	- 3.911 20*
SYL	6	0.892 9	0.035 840	17.147 15	4.70	- 1.069 66	0.130 87
KY	14	0.990 5	0.024 753	4.950 54	2.69	- 1.855 28*	- 9.206 10*

* 表示在 0.05 水平上显著, ** 表示在 0.01 水平上显著。

* indicates significantly different at the 0.05 level, ** indicates significantly different at the 0.01 level.

从宽带果实蝇不同地理种群的单倍型多样性和核苷酸多样性来衡量,其种群遗传变异水平都较高,西部贵州省、陕西省和重庆市,东部的江苏省、浙江省的种群各项指标高于其他地理种群。

中性检验结果显示(表 3),宽带果实蝇 26 个种群均不同程度地偏离中性,88%的种群 Fu's F_s 为负值,且 33%的种群中具有 0.05 水平上的显著度,贵阳种群的 Fu's F_s 值最小,为 - 11.56。Tajima's D 值在所有种群中均为负值,有 19%的

种群在 0.05 水平上显著。广西百色、贵州贵阳、陕西汉中和日本京都种群具有极显著的负 Tajima's D 和 Fu's F_s , 中部地区武汉、郑州、信阳 Fu's F_s 值在 0.05 水平上显著, 表明这些地区的宽带果实蝇种群经历过明显的种群扩张。不显著的 Tajima's D 和 Fu's F_s 值表明这些地区种群扩张事件不明显, 包括巴东、九江、长沙、兰溪等种群。

各种群的 Mismatch distribution 曲线图也表明(图 2), 61% 的种群呈明显的单峰型, 包括贵阳、兴义、扬州、汉中、长治、百色、广州、日本、武汉、兴国等种群, 单峰型错配分布进一步确证了种群扩张的推论。10 个种群呈下降或波浪形式, 表明大多数宽带果实蝇种群近期经历过快速扩张或增长事件, 少数种群经历瓶颈效应或奠基者效应而导致种群数量下降或未发生扩张事件。

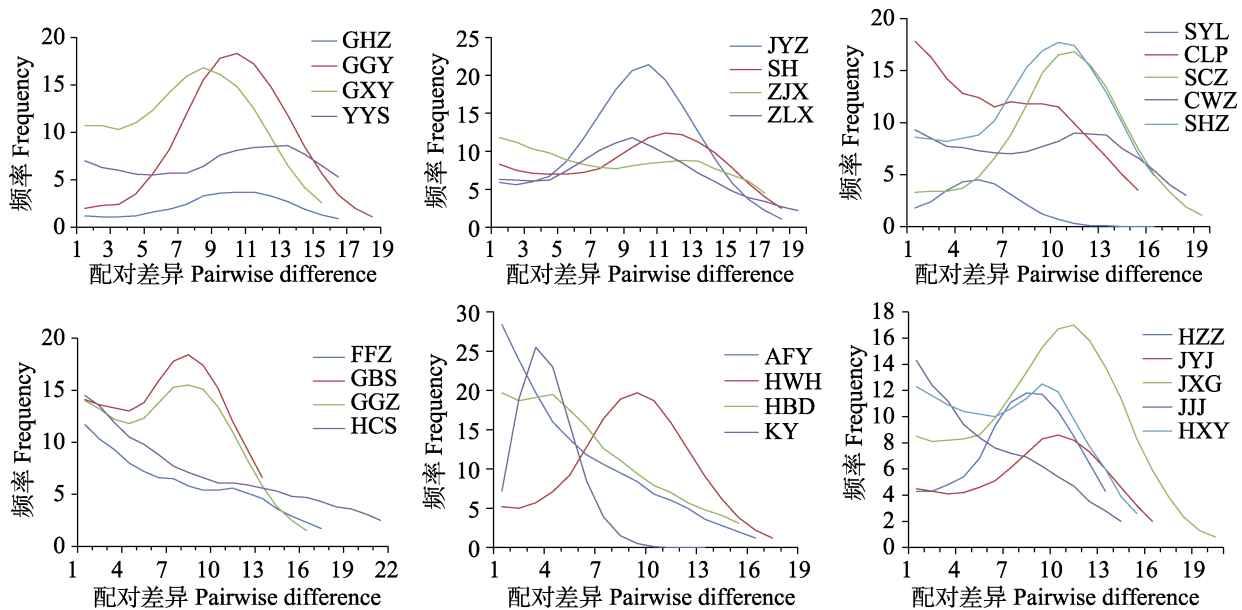


图 2 宽带果实蝇 26 种群错配分布曲线图

Fig. 2 The mismatch distribution of 26 populations of *Zeugodacus scutellatus*

图例中的种群代码见表 3。

The population code is the same as table 3.

从空间分布来看, 错配分布曲线为双峰或是下降的种群多分布于长江沿线, 包括上海、九江、长沙、巴东、万州、梁平、赫章等种群, 具有单峰型曲线的种群多分布于离水系较远的地区, 如余江、兴国、信阳、郑州、长治、汉中、贵阳等地区。

2.3 种群遗传分化和基因交流

日本种群与我国所有种群的 F_{st} 值在 0.57-0.74 之间, 分化程度极为显著。与阜阳、巴东和九江 3 个种群达 0.7 以上; 与兰溪、扬州、上海和长治 4 个种群之间的值大于 0.5; 与其余 19 个种群的值均在 0.6-0.7 之间, 表现出显著的差异,

且与所有种群均在 0.01 水平上显著, 据此表明日本种群与中国种群具有较远的亲缘关系。值得注意的是, 日本种群与浙江、江苏、上海种群的遗传分化系数相对其它地区要小, 地理距离较为接近, 为相对近的亲缘关系提供了可能。

国内 25 个种群之间的遗传分化系数不显著。我国以扬州为代表的东部沿海地区, 中部的九江和巴东地区, 西部的长治地区在种群遗传分化中与其它种群之间出现了中等遗传分化, 在 0.05 水平上显著。扬州与长治分化较大, 与九江、嘉兴、阜阳、福州、梁平、巴东和广州 7 个种群处于中等分化程度。长治与百色、广州、嘉兴、阜阳、福州、长沙 6 个沿海或中部种群处于中等

分化程度。其它种群间的 F_{st} 值不显著,存在较弱的遗传分化。总体看国内各种群之间具有非常近的亲缘关系,但是在种群间遗传距离也可以找

出具有代表性的几个种群,东部江苏省,中部江西省和湖北省,西部陕西省所包含的种群与各种群间遗传距离相对较远(图3)。

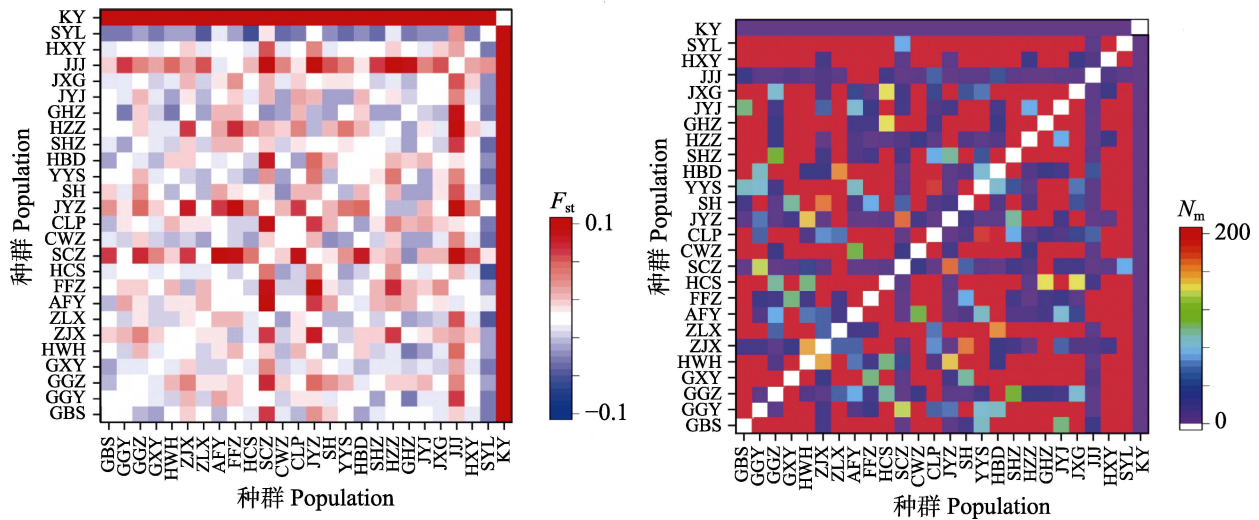


图3 宽带果实蝇种群遗传分化系数和基因流

Fig. 3 The heat maps of F_{st} and N_m of 26 populations of *Zeugodacus scutellatus*

基因流分析表明,25个国内种群间的基因流普遍较大,西部种群间的基因流值为正无穷比例最高,分别为杨凌种群、汉中种群、百色种群、兴义种群和万州种群。在非无穷基因流中,可以划分3个梯度:

第1梯度的 N_m 值均大于1000。兰溪种群与长治种群的 N_m 值达2750.219,百色种群与赫章种群间的 N_m 值为1236.918,贵阳种群与长沙种群的 N_m 值为1008.157。

第2梯度的 N_m 值均小于1000。巴东种群与汉中种群的 N_m 值为664.028,云南种群与信阳种群的 N_m 值为503.898、与福建种群的 N_m 值为522.511,杨凌种群与贵阳种群的 N_m 值为492.488、与广州种群的 N_m 值为467.182,余江种群和兴国种群的 N_m 值为487.583。

第3梯度的 N_m 值均小于400。日本种群与所有种群的 N_m 值均小于0.4,表明我国种群与日本种群间交流程度相对较低。

2.4 单倍型网络

单倍型中介网络图分析显示(图4),H208(蓝色)为瓜实蝇单倍型,靠近H208的单倍型

聚集在根部,序号为H194-H207,全部来自日本种群,经过一步突变与重庆万州、上海单倍型相连接,经过两条不同路径达到主单倍型H2。路径1:扬州单倍型(H126)与上海(H134)单倍型紧密相连,经湖北(H144)等种群继续扩散,在河南、江西等中部地区种群数量扩大,到达主单倍型H2。路径2:贵州赫章(H166)、湖北巴东单倍型与重庆单倍型紧密相连,在贵州兴义和贵阳、河南信阳进一步扩大,在H35共享单倍型种群数量增多,到达主单倍型H2。H20和H35是两个连接主单倍型的关键单倍型,H20以东部和西部种群为主,包括贵阳、嘉兴、上海、信阳;H35以西部和中部种群为主,包括长沙、河南、陕西、陕西和重庆8个地理种群。

3 讨论

出印度学说(Out-of-India hypothesis)是目前关于实蝇类昆虫传播起源被学术界广泛认可的一种观点,该观点认为实蝇类昆虫起源于原属冈瓦纳古陆的印度板块,随印度板块与亚欧板块的碰撞进入东南亚(Krosch *et al.*, 2012)。来自

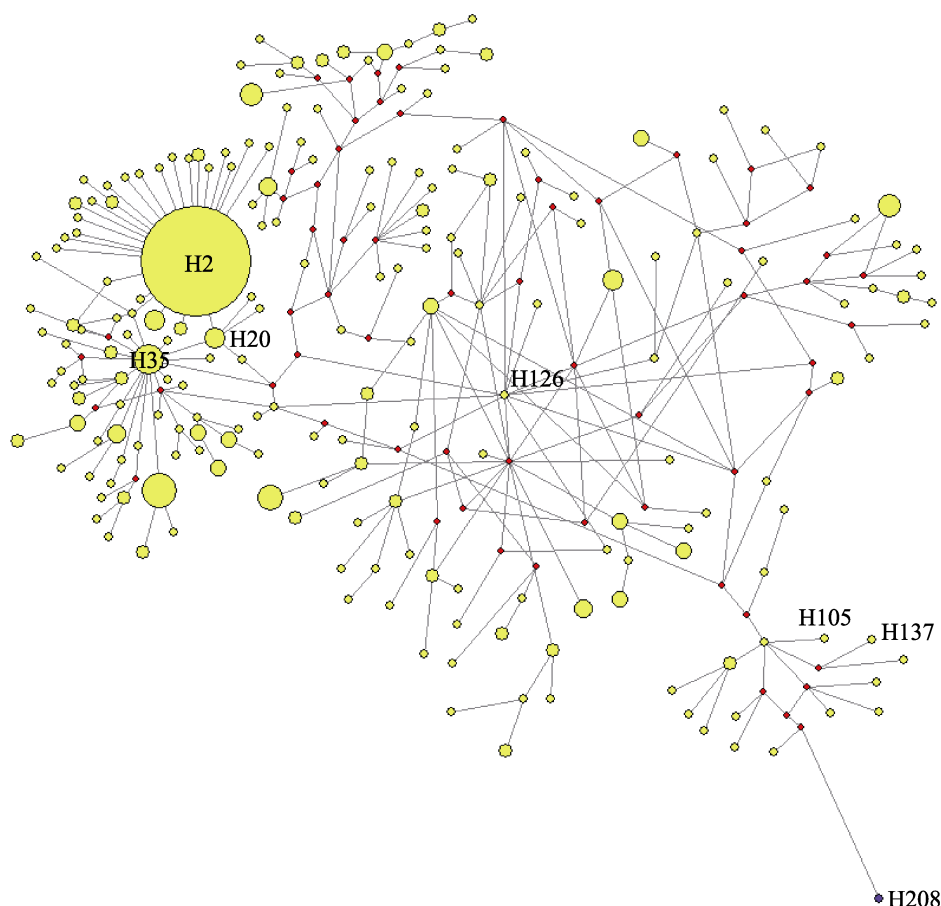


图 4 宽带果实蝇单倍型网络图

Fig. 4 Median-joining network of *Zeugodacus scutellatus* haplotypes

蓝色：瓜实蝇；黄色：宽带果实蝇；红色：中介点。

Blue: *Zeugodacus cucurbitae*; yellow: *Zeugodacus scutellatus*; red: median vector.

分子系统学的证据显示果实蝇属 *Bactrocera* 和 锯果实蝇属 *Zeugodacus* 具有共同的祖先，在 6 000 万年前出现分化。古地理学研究证实大约 5 700 万年前印度板块与欧亚大陆的苏门答腊岛和婆罗洲曾出现了首次接触，此后又出现分离，直至 3 500 万年前与亚欧大陆最终缝合为一体 (Ali and Aitchison, 2009)。据此推断，果实蝇属和锯果实蝇属很可能是在印度板块与欧亚大陆出现首次接触的过程中出现分化的，在那个时期，锯果实蝇属即已进入东南亚岛屿，而果实蝇属是在 3 500 万年前，印度板块与亚欧板块充分接触之后进入亚洲并在亚洲广阔的热带雨林中大规模繁衍分化的。近年来以橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 及其复合种为代表的大量种群遗传学研究已经清楚地证明了果实蝇属是经由中南半岛

以及中国云南南部的纵向岭谷区向亚洲内陆进行扩散 (Shi *et al.*, 2010)。而锯果实蝇属经由东南亚岛屿扩张的可能性却一直未能得到证实。

本研究通过宽带实蝇种群遗传特征初步揭示锯果实蝇属具有与果实蝇亚属截然不同的传播路线，主要表现在以下两个方面：

第一，宽带果实蝇向日本的传播未经由中国大陆。地处东亚地区的日本与韩国是宽带果实蝇的主要发生区。从实际记录的时间序列来看，宽带果实蝇于 1912 年纪录于中国台湾，1919 年在日本本州、九州相继被发现，我国大陆地区在 1923 年首次在江苏省记录有该虫的发生 (晋燕等, 2014)。

从种群遗传分析结果来看，日本宽带果实蝇种群无论是遗传多样性水平还是古老程度均高

于中国大陆地区。单倍型分析表明,在日本的 15 个样本中,共检测到 14 个独享单倍型(H194-H207),独享单倍型比例高达 93%,未检测到中国大陆地区广泛分布的 H2 单倍型,且与我国任何种群皆无共享单倍型。基因流分析表明,日本种群与我国大陆所有种群的 N_m 值均小于 0.4,与我国所有种群的 F_{st} 值在 0.57-0.74 之间,分化程度极为显著。日本种群与我国大陆种群间最大的 F_{st} 值和最小的 N_m 值表明日本种群和我国种群有较远的亲缘关系,并且基因交流并不频繁。单倍型网络显示,日本宽带果实蝇的所有单倍型均聚集在靠近外群的根部,显示其古老程度高于中国大陆地区。

第二,宽带果实蝇在中国西南地区的定殖时间晚于其他地区。云南南部的纵向岭谷区(Longitudinal range-Gorge region, LRGR)纵贯我国西南与中南半岛,是我国连接东南亚的重要生态廊道。在这一地区,南北向的高大山系与深切峡谷相间排列,特殊的地理地貌使得生物扩散在南北方向上具有明显的通道效应,为东南亚生物物种向中国大陆的扩散提供了重要环境基础。针对橘小实蝇的研究显示,缅甸、泰国、老挝等中南半岛国家的橘小实蝇正是经由纵向岭谷区进入我国西南地区的,而后以此为跳板,向我国内陆地区扩散(Liu *et al.*, 2013)。

然而本研究中针对宽带果实蝇的分析显示,地处西南地区的云南永善和广西百色种群,其遗传多样性水平与我国其它地区相比相对较低。一般认为,与衍生群相比,一个物种的祖先群总是能够表现出更高的遗传多样性水平(Qin *et al.*, 2018)。根据 Vavilov 和 Freier (1926) 的起源中心理论,遗传多样性越丰富的地方,越可能是物种较早的定殖区,据此可以判断,宽带果实蝇在云南的定殖时间晚于其它地区。

印度板块与欧亚板块的碰撞及随之而来的大规模物种交流对于亚洲热带亚热带生物区系的构成具有深远的影响,近年来大量研究针对这一事件进行了论证和解读。树蛙科 Rhacophoridae 溪树蛙属 *Buergeria* 同样也是一种起源于印度大陆并随板块漂移进入亚洲的热带物种,目前主要

分布于中国的台湾及日本,研究认为这样的起源与分布格局极有可能是源于 6 000 万年前印度板块与亚欧板块的初次接触(Li *et al.*, 2013),上述研究与宽带果实蝇有一定的相似性。由于本研究样本采集的局限,尚不能对宽带果实蝇在东亚和东南亚的传播历史进行重溯,相关研究值得进一步深入。

在生物入侵过程中,入侵种往往首先建立稳定的入侵种群,并以此为基础实现更大范围的扩张,这一现象被称为生物入侵的桥头堡效应(Invasive bridgehead effect)(Wan *et al.*, 2012),构成“桥头堡”的种群对于入侵种的定殖、适应与爆发起着重要作用。本研究中宽带果实蝇单倍型中介网络分析显示,日本所有单倍型聚集为一支,通过 1 步中介点突变,与上海 H137 和重庆(H105)单倍型连接,之后通过两条路径达到 H2 主单倍型,来自于江苏扬州的单倍型 H126 居于整个网络较为核心的位置。上述结果显示长江三角洲地区和重庆地区可能是宽带果实蝇最早登陆我国的地区。

进一步分析发现,分布于长江沿线的宽带果实蝇种群,其错配曲线大多呈现多峰分布,并不符合泊松分布, Fu's F_s 为正值或并不显著的负值, Tajima's D 为不显著的负值,据此可以推断,沿长江流域种群在较长时间内保持了相对稳定的状态。而远离长江流域的大多数地区,如江西余江和兴国、河南信阳和郑州、山西长治、陕西汉中、贵州贵阳等地,其错配曲线大多呈现单峰分布,结合较显著的 Tajima's D 和 Fu's F_s ,表明这些地区的宽带果实蝇在近期出现过明显扩张。宽带果实蝇在我国的早期登陆地点可能集中在上海和重庆,这里可能是宽带果实蝇沿长江航道传播扩张的重要依托。长江沿线为宽带果实蝇早期定殖提供了稳定的环境条件,并以此为基础向南北两个方向扩张,最终形成全国大范围分布的基本格局,因此,长江流域可能是未来我国宽带果实蝇防控的主要区域。

参考文献 (References)

Ali J, Aitchison JC, 2009. Kerguelen plateau and the late cretaceous

- southern-continent bioconnection hypothesis: tales from a topographical ocean. *Journal of Biogeography*, 36(9): 1778–1784.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohlf A, 1999. Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 19(1): 37–48.
- Chu D, Zhang YJ, Wan FH, 2007. Application of molecular marker techniques in invasion ecology. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(6): 1383–1387. [褚栋, 张友军, 万方浩, 2007. 分子标记技术在入侵生态学中的应用. 应用生态学报, 18(6): 1383–1387.]
- Drew RAI, Romig MC, 2013. Tropical fruit flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia. Oxfordshire: CAB International. 231–237.
- Excoffier L, Lischer HEL, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Fu YX, 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2): 915–925.
- Guindon S, Gascuel OA, 2003. simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology*, 52(5): 696–704.
- Hall TA, 1999. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41): 95–98.
- Jin Y, Liu XF, Ye H, 2014. Research overview on *Bactrocera (Zeugodacus) scutellata* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Biological Disaster Science*, 37(3): 191–197. [晋燕, 刘晓飞, 叶辉, 2014. 具条实蝇研究综述. 生物灾害科学, 37(3): 191–197.]
- Jin Y, Liu XF, He XC, Ye H, 2015. Reproductive biology of *Bactrocera (Zeugodacus) scutellata* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(5): 1161–1166. [晋燕, 刘晓飞, 何兴财, 叶辉, 2015. 宽带果实蝇繁殖生物学研究. 应用昆虫学报, 52(5): 1161–1166.]
- Krosch MN, Schutze MK, Armstrong KF, Graham GC, Yeates DK, Clarke AR, 2012. A molecular phylogeny for the tribe Dacini (Diptera: Tephritidae): Systematic and biogeographic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64(3): 513–523.
- Li JT, Li Y, Klaus S, Rao DQ, Hillis DM, Zhang YP, 2013. Diversification of rhacophorid frogs provides evidence for accelerated faunal exchange between India and Eurasia during the Oligocene. *PNAS*, 110(9): 3441–3446.
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Liu XF, Jin Y, Ye H, 2013. Recent spread and climatic ecological niche of the invasive guava fruit fly, *Bactrocera correcta*, in mainland China. *Journal of Pest Science*, 86(3): 449–458.
- Posada D, 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1253–1256.
- Qin YJ, Krosch MN, Schutze MK, Zhang Y, Wang XX, Prabhakar CS, Susanto A, Hee AKW, Ekesi S, Badji K, Khan M, Wu JJ, Wang QL, Yan G, Zhu LH, Zhao ZH, Liu LJ, Clarke AR, Li ZH, 2018. Population structure of a global agricultural invasive pest, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Evolutionary Applications*, 11(10): 1990–2003.
- Shi W, Kerdelhué C, Ye H, 2010. Population genetic structure of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) from Yunnan province (China) and nearby sites across the border. *Genetica*, 138(3): 377–385.
- 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.
- Tajima F, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- Vavilov N, Freier F, 1926. Studies on the origin of cultivated plants. Lening rad: Bulletin of the Bureau of Applied Botany and Plant Breeding. Buenos Aires: Acme Agency. 150.
- Wan FH, Jiang MX, Zhan AB, 2017. Biological Invasions and Its Management in China. Dordrecht: Springer. 3–19.
- Wan FH, Yang NW, 2016. Invasion and management of agricultural alien insects in China. *Annual Review of Entomology*, 61(1): 77–98.
- Wan XW, Liu YH, Zhang B, 2012. Invasion history of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in the Pacific-Asia region: Two main invasion routes. *PLoS ONE*, 7(5): e36176.