

基于 SSR 分子标记的辽宁地区甜菜夜蛾遗传变异与种群遗传结构*

王明明^{1**} 王思琦¹ 孟威² 姜策² 江幸福³
付晓伟⁴ 王小奇^{1***} 王兴亚^{1***}

(1. 沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866; 2. 辽宁省农业发展服务中心, 沈阳 110034;
3. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 4. 河南科技学院资源与环境学院, 新乡 453003)

摘要 【目的】甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 是我国重要的多食性害虫, 已在辽宁等东北农作物产区造成了严重的经济损失。为明确辽宁地区甜菜夜蛾种群遗传变异与遗传分化, 阐明其不同地理种群间的种群遗传结构。【方法】基于 8 对微卫星 (SSR) 引物对采自辽宁 6 县 (市) 的 160 头甜菜夜蛾样品进行测序与分析, 利用 GenAlEx 6.503、GENEPOP 4.0.1 及 STRUCTURE 2.3.4 软件分析其种群遗传变异与种群谱系遗传结构。【结果】辽宁不同地区甜菜夜蛾遗传多样性较高 ($H_o=0.549$, $N_e=3.431$, $H_e=0.608$), 其中, 沈阳 (SY) 种群遗传多样性最高 ($H_o=0.563$, $N_e=4.562$, $H_e=0.680$)。不同地理种群间甜菜夜蛾存在较低遗传分化 (global $F_{ST}=0.119$, $P<0.05$)。朝阳凌源 (LY) 与大连 (DAL) 种群间的遗传分化程度最高 ($F_{ST}=0.210$)。UPGMA 聚类树、PCoA 及 STRUCTURE 分析表明, 葫芦岛 (HLD) 和大连 (DAL) 种群聚为 1 支; 台安 (TIA)、阜新 (FX)、凌源 (LY) 及沈阳 (SY) 种群聚为另 1 支。此外, AMOVA 分析表明, 甜菜夜蛾遗传变异主要来自种群内 (78.0%), 种群间变异水平较低 (22.0%)。【结论】辽宁不同地区甜菜夜蛾具有较高遗传变异与较低种群遗传分化水平, 本研究为阐明该地区甜菜夜蛾虫源关系, 并对甜菜夜蛾化学防治具有指导意义。

关键词 甜菜夜蛾; 遗传变异; 遗传结构; 迁飞; 微卫星标记

Genetic variation and population genetic structure of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, (Lepidoptera: Noctuidae), in Liaoning, based on microsatellite marker variation

WANG Ming-Ming^{1**} WANG Si-Qi¹ MENG Wei² JIANG Ce² JIANG Xing-Fu³
FU Xiao-Wei⁴ WANG Xiao-Qi^{1***} WANG Xing-Ya^{1***}

(1. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Liaoning Agricultural Development Service Center, Shenyang 110034, China; 3. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 4. Department of Plant Protection, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the genetic diversity and population genetic structure of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), an important polyphagous pest in China, that causes serious economic losses in Liaoning province, Northeast China and other crop-producing areas. 【Methods】The genetic variation, genetic differentiation, gene flow and population genetic structure of 160 *S. exigua* specimens from 6 geographic populations in Liaoning province were investigated by analyzing the genetic variation among nine microsatellite (SSR) loci with GeneAlex 6.51, GENEPOP

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31871950); 辽宁省教育厅科学研究经费项目 (LSNJC202008); 辽宁省科学技术计划项目 (2019JH2/10200012)

**第一作者 First author, E-mail: wangmingming0202@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: wxq1120@sina.com; wangxingya20081@163.com

收稿日期 Received: 2020-09-23; 接受日期 Accepted: 2020-12-31

4.0.1 and STRUCTURE 2.3.4. **[Results]** Populations had a high overall level of genetic diversity ($N_a=6.104$, $H_o=0.549$, $N_e=3.431$, $H_e=0.608$); the population with the most diversity was the Shenyang (SY) population ($N_a=8.125$, $H_o=0.563$, $N_e=4.562$, $H_e=0.680$). There was a low level of genetic differentiation among populations; the greatest genetic differentiation ($F_{ST}=0.210$) was between the Lingyuan (LY) and Dalian (DAL) populations. UPGMA, PCoA and STRUCTURE analysis indicate that *S. exigua* populations in Liaoning can be divided into two groups; the first comprised of the Huludao (HLD) and Dalian (DL) populations and the second of the Tai'an (TIA), Fuxin (FX), Lingyuan (LY) and Shenyang (SY) populations. AMOVA analysis indicates that most (78.0 %) genetic variation in *S. exigua* in Liaoning was within populations and that inter-population variation was low (22.0 %). **[Conclusion]** There is relatively high genetic diversity and low level of genetic differentiation in geographical populations of *S. exigua* in Liaoning province. These findings help resolve the genetic structure of *S. exigua* in Liaoning and thereby contribute to the development of better management strategies for this pest.

Key words *Spodoptera exigua*; genetic variation; population genetic structure; migration; microsatellite marker

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 是世界上具有高度迁飞习性的杂食性害虫 (Mikkola, 1970; Feng *et al.*, 2003)。该种害虫可为害玉米、棉花、大豆等 170 余种植物,并可造成严重的经济损失 (Burris *et al.*, 1994; Guo *et al.*, 2010)。甜菜夜蛾起源于南亚,广泛分布于亚洲、非洲、欧洲及美洲等地区 (Ehler, 2004)。近年来,甜菜夜蛾已在我国大部分农作物主产区普遍发生,并造成较为严重的经济损失。例如,1993-2003 年,甜菜夜蛾在天津地区大发生,导致大葱产量下降高达 30% (郑霞林等, 2009)。自 20 世纪 90 年代,该种害虫在辽宁地区为害明显加重,严重为害大葱、大豆及蔬菜等作物 (刘丽娟, 1998; 罗礼智等, 2000)。2000 年之后,在辽宁省各地区普遍暴发成灾。特别是,由于长期不合理的单一使用化学药剂,导致甜菜夜蛾对有机磷及拟除虫菊酯等化学药剂产生严重抗药性 (Chaufaux and Ferron, 1986; Lai and Su, 2011),给该种害虫防治带来更大困难。

目前,我国对甜菜夜蛾种群遗传变异、遗传结构及种群历史等方面研究已有少量报道。例如,张艳 (2005) 建立了甜菜夜蛾扩增片段长度多态性 (AFLP) 体系。牛成伟等 (2006) 利用 AFLP 方法明确了我国北方部分地区该种害虫的种群遗传多样性水平高于南方种群,但种群间遗传分化水平较低。一些学者利用 mtDNA *CO I* 和 mtDNA *Cytb* 基因序列确定了我国不同地理种群甜菜夜蛾具有较低的遗传变异与遗传分化 (王兴亚和许国庆, 2014; Wang *et al.*, 2014; 王兴

亚和周俐宏, 2016)。Zhou 等 (2017) 利用 mtDNA *Cytb* 基因序列发现我国 47 个地理种群的甜菜夜蛾具有较高遗传变异与较大遗传分化,我国甜菜夜蛾经历了种群近期扩张。Zhou 等 (2016) 基于 mtDNA *CO I* 和 *Cytb* 基因发现我国渤海湾地区甜菜夜蛾种群具有低到中等水平的遗传变异,种群间存在一定遗传分化。微卫星分子标记 (SSR) 具有多态性与突变率高、共显性遗传以及受自然选择压力较小等特点,而广泛应用于种群遗传学及分子谱系地理研究等领域研究 (Tang *et al.*, 2015; Duan *et al.*, 2017)。Kim 等 (2012) 筛选出 10 个具有多态性微卫星位点,可用于甜菜夜蛾种群遗传学研究。然而,由于传统分子标记分辨率低、样本量小或种群数量有限,这些研究未能解析甜菜夜蛾遗传变异与谱系遗传结构提供足够遗传信息。特别是,基于微卫星标记解析该种害虫种群遗传变异与种群结构尚缺乏研究。

鉴于此,本研究利用微卫星 (SSR) 对辽宁地区不同地理种群的甜菜夜蛾遗传变异与遗传结构进行研究,为明确该地区甜菜夜蛾遗传多样性,推测其不同地理种群间遗传进化关系以及虫源关系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2012 年 7-8 月,在辽宁省 6 个县 (市),利用性信息素诱捕器方法,结合实地采集法收集甜菜夜蛾样品。每头甜菜夜蛾幼虫采集时,保持一

定距离以避免采集来自同一父母本后代个体 (Wang *et al.*, 2014)。所有样品置于 95%乙醇中, - 20 ℃保存于沈阳农业大学植物保护学院, 收集的甜菜夜蛾样品信息见表 1。

表 1 辽宁省不同地理种群甜菜夜蛾采集样本信息
Table 1 Sampling information of *Spodoptera exigua* in six geographic populations of Liaoning

种群代码 Population code	采集地点 Collecting locality	经度/纬度 Latitude/Longitude	供试样本数 Sample size	虫态 Insect stage	采集时间 Collecting date
HLD	葫芦岛市连山区 Lianshan district, Huludao	40°56'N/120°38'E	31	成虫 Adult	2012.08.20
TIA	鞍山市台安县 Taian county, Anshan	41°01'N/122°40'E	19	幼虫 Adult	2012.08.17
FX	阜新市新邱区 Xinqiu district, Fuxin	42°10'N/122°00'E	26	幼虫 Larvae	2012.08.22
DAL	大连市金州区 Jinzhou district, Dalian	39°04'N/122°19'E	30	成虫 Larvae	2012.08.18
LY	朝阳市凌源市 Lingyuan city, Chaoyang	40°35'N/119°37'E	9	幼虫 Larvae	2012.08.26
SY	沈阳市沈河区 Shenhe district, Shenyang	38°43'N/125°46'E	45	成虫 Larvae	2012.07.18

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

使用 TIANGEN DNA 提取试剂盒提取甜菜夜蛾总 DNA。利用 NanoDrop ND-2000 检测 DNA 浓度,并将合格甜菜夜蛾 DNA 样品置于 - 20 ℃条件保存。

1.3 微卫星位点扩增与基因分型

本研究利用 8 个甜菜夜蛾微卫星位点进行辽宁地区不同地理甜菜夜蛾微卫星位点扩增与基因分型 (Kim *et al.*, 2012)。PCR 反应体系包括 dNTP 0.2 μL, 10×Easy Taq Buffer 2 μL, TaqDNA 0.2 μL, 正反引物各 0.4 μL, DNA 模板 0.5 μL, ddH₂O 16.2 μL。94 ℃预变性 4 min, 94 ℃变性 30 s, 58 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 30 s, 35 个循环, 72 ℃终延伸 5 min, 4 ℃保存。扩增产物经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测后, 送上海生工生物技术有限公司完成毛细管电泳检测与基因分型, 并人工进行位点数据校对。

1.4 数据处理

利用 GENEPOP 4.0.9 对甜菜夜蛾各种群与位点进行 Hardy-Weinberg 平衡检测与连锁不平衡检测,结果经过 Bonferroni 校正(Raymond and

Rousset, 1995)。利用 GenAlex 6.51 软件统计各位点及各种群遗传参数, 包括等位基因数目 (N_a)、观察杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、Shannon 信息指数 (I)以及基因流(N_m)等(Peakall and Smouse, 2006)。使用 Arlequin 3.5.2.2 软件分析种群间遗传分化和基因流水平, (Excoffier *et al.*, 2005)。使用 MEGA7 基于 Nei 氏遗传距离运用 UPGMA 聚类法构建系统发生树(Kumar *et al.*, 2016)。利用 STRUCTURE 2.3.4 软件根据贝叶斯聚类方法分析种群遗传结构(Pritchard *et al.*, 2000)。有关数据设置为: burn in=1 000 000, iterations=100 000。对每个 K 进行 10 次重复计算, 利用 Evanno 的 ΔK 法确定最佳 K 值(Evanno *et al.*, 2005)。使用 CLUMPP1.1.2 软件进行比对与做图(Jakobsson and Rosenberg, 2007)。根据遗传距离矩阵进行主坐标(Principal coordinates analysis, PCoA)分析。使用 GenAEx 6.0(Peakall and Smouse, 2006)软件进行分子方差分析(AMOVA)。

2 结果与分析

2.1 种群微卫星位点的检测及遗传多样性分析

通过对 8 个位点进行 Hardy-Weinberg 平衡检

验,除 spe06 位点偏离平衡外,大多数种群符合 Hardy-Weinberg 平衡,所有位点都被用于后续分析。连锁不平衡性检测结果表明,各微卫星位点间无显著连锁 ($P < 0.05$)。

辽宁地区 8 个甜菜夜蛾微卫星位点的遗传参数统计见表 2。总体上,各位点的遗传多样性水平较高 ($N_a=6.104$, $H_o=0.549$, $N_e=3.431$,

$H_e=0.680$)。此外,8 个位点在 6 个甜菜夜蛾地理种群内近交系数较低 ($-0.568 < F_{IS} < 0.430$)。其中,spe06 位点的近交系数最低($F_{IS} = -0.568$),表现为杂合子过剩;群体总近交系数(F_{IT})范围为 -0.550 - 0.610 。其中,spe06 位点的 F_{IT} 最低($F_{IT} = -0.550$);此外,群体间分化系数较低 ($0.011 < F_{ST} < 0.315$) (表 3)。

表 2 辽宁地区 8 个甜菜夜蛾微卫星位点的遗传参数统计
Table 2 Genetic parameter statistics of *Spodoptera exigua* based on eight microsatellite loci in Liaoning

位点 Locus	等位基 因数目 Number of alleles (N_a)	有效等位 基因数目 Number of effective alleles (N_e)	Shannon 信息指数 Shannon-Weiner index (I)	观察杂合度 Observed heterozygosity (H_o)	期望杂合度 Expected heterozygosity (H_e)	非偏差期望 杂合度 Unbiased expected heterozygosity (uH_e)	群体内近 交系数 Inbreeding coefficient within populations (F_{IS})	群体总近 交系数 Overall inbreeding coefficient (F_{IT})	群体间分 化系数 Genetic differentiation coefficient among populations (F_{ST})
spe06	4.000	2.672	1.092	0.975	0.622	0.637	- 0.568	- 0.550	0.011
spe11	3.667	2.063	0.905	0.361	0.509	0.540	0.290	0.333	0.060
spe08	8.000	5.464	1.789	0.640	0.787	0.805	0.187	0.245	0.072
spe09	9.333	5.033	1.793	0.567	0.775	0.794	0.268	0.309	0.057
spe15	8.333	5.537	1.782	0.845	0.783	0.805	- 0.080	- 0.015	0.060
spe07	5.167	1.763	0.813	0.218	0.383	0.392	0.430	0.610	0.315
spe12	4.833	1.771	0.856	0.451	0.424	0.436	- 0.063	0.002	0.061
spe10	5.500	3.147	1.214	0.336	0.580	0.601	0.420	0.602	0.313
Mean	6.104	3.431	1.280	0.549	0.680	0.626	0.110	0.192	0.119

表 3 辽宁地区 6 个甜菜夜蛾地理种群间的遗传多样性
Table 3 The genetic diversity among 6 populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning

种群 Population	等位基 因数目 Number of alleles (N_a)	有效等位 基因数目 Number of effective alleles (N_e)	Shannon 信息指数 Shannon-Weiner index (I)	观察杂合度 Observed heterozygosity (H_o)	期望杂合度 Expected heterozygosity (H_e)	非偏差期望 杂合度 Unbiased expected heterozygosity (uH_e)	固定指数 Fixation index (F)
HLD	6.375	3.310	1.341	0.540	0.632	0.655	0.131
TIA	6.625	3.790	1.403	0.635	0.645	0.662	- 0.010
FX	6.375	3.573	1.363	0.591	0.643	0.655	0.066
DAL	6.250	3.162	1.174	0.456	0.527	0.547	0.209
LY	2.875	2.190	0.852	0.510	0.519	0.550	0.120
SY	8.125	4.562	1.550	0.563	0.680	0.688	0.149
Mean	6.104	3.431	1.280	0.549	0.608	0.626	0.109

种群代码同表 1。下表同。The population code is the same as table 1. The same below.

从表 3 中可知, 辽宁 6 个甜菜夜蛾地理种群的遗传多样性较高($N_a=6.104$, $H_o=0.549$, $N_e=3.431$, $H_e=0.608$)。其中, 沈阳 (SY) 种群遗传多样性最高 ($N_a=8.125$, $H_o=0.563$, $N_e=4.562$, $H_e=0.680$)。凌源 (LY) 种群遗传多样性最低 ($N_a=2.875$, $H_o=0.510$, $N_e=2.190$, $H_e=0.519$)。

2.2 种群间遗传距离与遗传相似度

辽宁地区 6 个种群间遗传距离介于 0.030-0.534 之间。其中, 阜新 (FX) 和台安 (TIA) 种群之间的遗传距离最小 (0.030), 凌源 (LY) 和大连 (DAL) 种群之间遗传距离最大 (0.534)。

遗传相似度在 0.586-0.970 之间。阜新 (FX) 和台安 (TIA) 种群间的遗传相似度最大 (0.970), 凌源 (LY) 和大连 (DAL) 种群间的遗传相似度最小 (0.586) (表 4)。

2.3 种群遗传分化与基因流

辽宁省不同地理种群甜菜夜蛾遗传分化较低 ($0.014 < F_{ST} < 0.210$)。其中, 凌源 (LY) 和大连 (DAL) 种群间遗传分化程度最大 ($F_{ST}=0.210$, $P < 0.05$)。辽宁地区甜菜夜蛾各地理种群间基因流较小 ($0.940 < N_m < 17.607$)。其中, 凌源 (LY) 和台安 (TIA) 种群间的基因流水平最低 ($N_m=0.940$) (表 5)。

表 4 辽宁不同地理种群甜菜夜蛾遗传距离 (对角线下) 和遗传相似度 (对角线上)
Table 4 Genetic distance (below diagonal) and genetic similarity (above diagonal) among different populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning

种群 Population	HLD	TIA	FX	DAL	LY	SY
HLD	—	0.900	0.916	0.917	0.663	0.663
TIA	0.104	—	0.970	0.922	0.632	0.917
FX	0.087	0.030	—	0.948	0.684	0.951
DAL	0.086	0.080	0.053	—	0.586	0.898
LY	0.410	0.457	0.379	0.534	—	0.661
SY	0.090	0.086	0.049	0.106	0.413	—

表 5 辽宁不同地理种群甜菜夜蛾遗传分化 (F_{ST}) (对角线下) 与基因流 (N_m) (对角线上)
Table 5 Pairwise F_{ST} (below diagonal) and gene flow (above diagonal) among different populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning

种群 Population	HLD	TIA	FX	DAL	LY	SY
HLD		7.562	9.365	2.438	1.905	9.750
TIA	0.032*		17.607	2.467	1.643	9.365
FX	0.026*	0.014*		2.762	1.905	15.375
DAL	0.093	0.092	0.083		0.940	2.438
LY	0.116	0.132	0.116	0.210*		2.022
SY	0.025*	0.026*	0.016*	0.093	0.110	

*表示经多重假设检验种群间遗传分化指数 (F_{ST}) 差异显著 ($P < 0.05$)。
* indicates significant difference in population genetic differentiation index (F_{ST}) by multiple hypothesis testing at the 0.05 level.

2.4 种群遗传结构

2.4.1 UPGMA 聚类分析 采用遗传距离, 利用

UPGMA 法构建 6 个甜菜夜蛾种群进行 Nei 氏聚类分析, 这些种群被分为两支。第一支仅包括凌源 (LY) 种群, 第二支包括其他 5 个种群, 即

葫芦岛 (HLD)、大连 (DAL)、台安 (TIA)、阜新 (FX) 及沈阳 (SY) (图 1)。

2.4.2 STRUCTURE 聚类分析 应用 STRUCTURE 2.3.4 软件, 基于贝叶斯法对每个 K 值各运算 10 次。研究表明, 当 $K=2$ 时, 为最佳的种群分组方式。与此同时, 应用 CLUMPP1.1.2 软件对最佳 K 值进行聚类, 结果表明, 当 $K=2$ 时, 葫芦岛 (HLD) 和大连 (DAL) 聚为 1 分支。台安 (TIA)、阜新 (FX)、凌源 (LY) 和沈阳 (SY) 聚为另 1 分支 (图 2)。

2.4.3 PCoA 分析 基于 Nei 的遗传距离矩阵进行 PCoA 主坐标分析, 结果表明, 第一轴和第二轴分别占总方差的 54.74% 和 27.83%。第一支为凌源 (LY) 种群, 第二支为其他 5 个种群 (图 3)。此结果与 UPGMA 聚类树结果相一致。

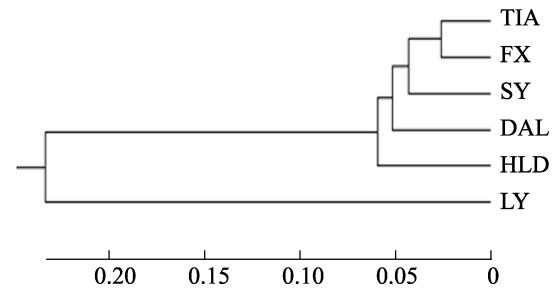


图 1 基于 Nei 氏遗传距离的辽宁不同地理种群甜菜夜蛾 UPGMA 聚类分析

Fig. 1 UPGMA cluster analysis of different populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning based on Nei's genetic distance

HLD: 葫芦岛种群; TIA: 鞍山种群; FX: 阜新种群; DAL: 大连种群; LY: 朝阳种群; SY: 沈阳种群。下图同。
HLD: Huludao; TIA: Anshan; FX: Fuxin; DAL: Dalian; LY: Chaoyang; SY: Shenyang. The same as below.

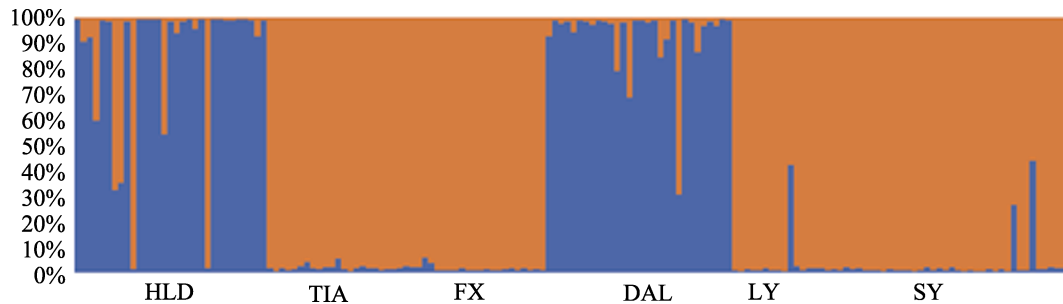


图 2 基于 8 个微卫星位点的辽宁不同地理种群甜菜夜蛾的 STRUCTURE 聚类分析

Fig. 2 STRUCTURE analysis of different populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning based on eight microsatellites loci

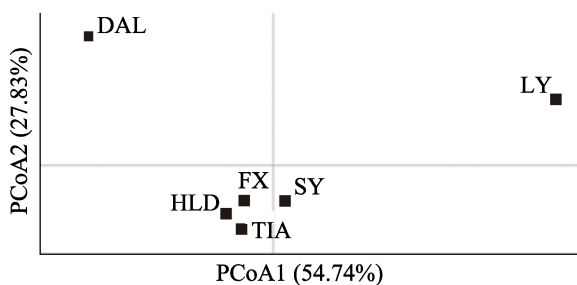


图 3 基于 F_{ST} 值的遗传距离矩阵的辽宁地区不同地理种群甜菜夜蛾主坐标分析

Fig. 3 Principal coordinate analysis (PCoA) analysis based on the genetic distance matrix of F_{ST} values of different populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning

2.4.4 AMOVA 分子方差分析 分子变异分析 (AMOVA) 研究表明, 种群内和种群间遗传变异分别为 78% 和 22%, 说明该地区甜菜夜蛾种群遗传变异主要来自种群内 (表 6), 与此同

时, 种群间存在一定遗传分化 ($F_{ST}=0.220$, $P=0.001$)。

3 讨论

等位基因数与杂合度水平是种群内遗传变异的重要指标, 前者更易受到样本量大小的影响 (Maudet *et al.*, 2002)。与此同时, 样本量多少与等位基因数存在正相关性, 等位基因数越多, 该位点遗传多样性水平越高 (杨君等, 2018)。期望杂合度 (H_e) 可反映种群遗传一致性程度。通常, 期望杂合度为 0.3-0.8 之间, 则可说明该群体遗传多样性较高 (Takezaki and Nei, 1996)。在本研究中, 8 个微卫星位点遗传多样性水平较高 ($H_o=0.549$, $H_e=0.680$), 不同地理种群甜菜夜蛾亦具有较高遗传多样性 ($H_o=0.549$, $H_e=0.608$),

表 6 辽宁地区 6 个甜菜夜蛾地理种群种的 AMOVA 分析
Table 6 AMOVA analysis of six populations of *Spodoptera exigua* in Liaoning

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of squares	方差分量 Variance components	变异百分比 (%) Percentage of variation	固定指数 (F_{ST}) Fixation index
种群间 Among pops	5	244.665	1.670	22.0	0.220***
种群内 Within pops	154	912.817	5.927	78.0	
Total 总量	159	1.000	7.597	100.0	
		157.482			

***表示种群固定指数 (F_{ST}) 差异显著 ($P<0.001$)。
***.indicate significant difference in fixation index (F_{ST}) at the 0.001 level.

此结果与牛成伟等 (2006) 的研究结果一致。沈阳 (SY) 种群的遗传多样性最高, 推测其对环境适应能力较强。种群内近交系数 (F_{IS}) 用来衡量非随机交配而导致亚种群内杂合度缺失情况, 总近交系数 (F_{IT}) 则反应总群体中杂合度的缺失程度 (Weir and Cockerham, 1984)。8 个微卫星位点在此 6 个甜菜夜蛾地理种群中的近交系数 (F_{IS}) 和群体总近交系数 (F_{IT}) 分别为 0.110 和 0.192, 表明, 各种群甜菜夜蛾个体纯合子较多, 杂合子相对缺失。遗传分化指数 (F_{ST}) 为 0.119, 分化程度较低, 说明不同群体间存在较为充分的基因流, 制约了不同地理种群间的遗传分化 (Whitlock and McCauley, 1999), 这与王兴亚和周俐宏 (2016) 研究结果一致, 体现了甜菜夜蛾具有较强的扩散能力。另外, 大部分甜菜夜蛾种群间的遗传分化不显著。凌源 (LY) 种群与其他种群分化程度相对较高。基因流结果显示, 凌源 (LY) 和大连 (DAL) 种群间基因流最小 ($Nm=0.940$), 这可能是由于凌源 (LY) 属丘陵山区的一部分, 从而制约了基因交流情况, 导致该地区甜菜夜蛾与辽宁省其他地区相对分化。

在本研究中, UPGMA 聚类树、PCoA 分析及基于贝叶斯聚类分析结果表明, 葫芦岛 (HLD) 和大连 (DAL)、台安 (TIA)、阜新 (FX) 及沈阳 (SY) 聚为一支, 凌源 (LY) 为另一分支。并且, 凌源 (LY) 种群与其他种群遗传分化较大, 可能是由于凌源种群处于辽宁西部, 而大连 (DAL) 种群处于沿海地区, 气候和地理条件可能影响了甜菜夜蛾迁飞与扩散。AMOVA 分子变

异分析说明辽宁地区不同地理种群甜菜夜蛾的遗传变异主要来自种群内, 此结果与王兴亚和许国庆 (2014) 研究结果一致。此外, 由于本研究所采集的辽宁地区甜菜夜蛾种群数量较少, 并且辽西地区凌源种群 (LY) 的样本量较少, 仅为 9 头。如需更明晰该地区甜菜夜蛾种群遗传结构, 需要增加更多的种群数量及每个种群的个体数量。

目前, 甜菜夜蛾广泛分布于我国各蔬菜主产区, 具有地理分布广泛, 为害作物种类多, 发生世代多、抗药性强以及迁飞扩散能力强等特点, 这些因素皆加大了甜菜夜蛾的防治难度。本研究对辽宁地区 6 个甜菜夜蛾种群的遗传变异与种群遗传结构进行系统研究, 可为其化学防治提供指导。不同地理种群间甜菜夜蛾遗传距离较小, 且分化程度较低, 说明该种害虫的虫源相似。因此, 尽量避免施用与虫源地相同化学农药, 减少抗药性的产生, 提供防治效果。例如, 葫芦岛 (HLD) 和大连 (DAL) 种群的甜菜夜蛾亲缘关系较近, 并且, 葫芦岛地区甜菜夜蛾对拟除虫菊酯类药剂产生了较强的抗药性, 因此, 大连地区在防控该种害虫时, 要尽量减少此类化学药剂的使用而提高防控效果。针对遗传多样性高的辽宁各甜菜夜蛾发生区, 通常认为甜菜夜蛾具较高的环境适应力。因此, 采用轮换施药的方式来降低该种害虫抗药性的快速上升。此外, 在未来的工作中, 我们将利用微卫星及基因组水平上探讨我国大尺度甜菜夜蛾种群遗传分化和种群遗传结构, 揭示其种群进化历史, 推测甜菜夜蛾在我国的迁飞路线及虫源关系。与此同时, 利用雷达监

测、花粉判别及稳定同位素示踪等技术开展我国不同地理种群甜菜夜蛾的虫源性质和虫源关系研究, 将为该种害虫的有效防控提供理论依据。

参考文献 (References)

- Burris E, Graves JB, Leonard BR, White CA, 1994. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in northeast Louisiana: Observations on an uncommon insect pest. *Florida Entomologist*, 77(4): 454–459.
- Chaufaux J, Ferron P, 1986. Sensibilite differente de deux populations de *Spodoptera exigua* Hub. (Lepidoptera, Noctuidae) aux baculovirus et aux pyrethrinoides de synthese. *Agronomie*, 6(1): 99–104.
- Duan XL, Peng X, Qiao XF, Chen MH, 2017. Life cycle and population genetics of bird cherry-oat aphids *Rhopalosiphum padi* in China: An important pest on wheat crops. *Journal of Pest Science*, 90(1): 103–116.
- Ehler LE, 2004. An evaluation of some natural enemies of *Spodoptera exigua* on sugar beet in northern California. *Biocontrol*, 49(2): 121–135.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simuion study. *Molecular Ecology*, 14(8): 2611–2620.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S, 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Biology*, 5(1): 47–50.
- Feng HQ, Wu KM, Cheng DF, Guo YY, 2003. Radar observation of the autumn migration of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, and other moths in northern China. *Bulletin of Entomological Research*, 93(2): 115–124.
- Guo JY, Wu G, Wan FH, 2010. Activities of digestive and detoxification enzymes in multiple generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), in response to transgenic Bt cotton. *Journal of Pest Science*, 83(4): 453–460.
- Jakobsson M, Rosenberg NA, 2007. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14): 1801–1806.
- Kim M, Kim H, Kwon DH, Lee S, 2012. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 47(2): 149–152.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. Mega7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.
- Lai T, Su J, 2011. Assessment of resistance risk in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole. *Pest Management Science*, 67: 1468–1472.
- Liu LJ, 1998. Occurrence of noctuid beet in Huludao area. *Liaoning Agricultural Sciences*, (2): 51. [刘丽娟, 1998. 葫芦岛地区甜菜夜蛾大发生. 辽宁农业科学, (2): 51.]
- Luo LZ, Cao YZ, Jiang XF, 2000. Damaging characteristics of *Spodoptera exigua* and analysis of its outbreak trend. *Plant Protection*, 26(3): 37–39. [罗礼智, 曹雅忠, 江幸福, 2000. 甜菜夜蛾发生危害特点及其趋势分析. 植物保护, 26(3): 37–39.]
- Maudet C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Obexer-Ruff G, Michallet J, Taberlet P, Luikart G, 2002. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wild conservation management: Applications in *Alpine ibex* [*Capra ibex*(ibex)]. *Molecular Ecology*, 11(3): 421–436.
- Mikkola K, 1970. The interpretation of long-range migration of *Spodoptera exigua*. *Journal of Animal Ecology*, 39(3): 593–598.
- Niu CW, Zhang QW, Ye ZH, Luo LZ, 2006. Analysis of genetic diversity in different geographic populations of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) with AFLP technique. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 867–873. [牛成伟, 张青文, 叶志华, 罗礼智, 2006. 不同地区甜菜夜蛾种群的遗传多样性分析. 昆虫学报, 49(5): 867–873.]
- Peakall R, Smouse PE, 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288–295.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945–959.
- Raymond M, Rousset F, 1995. GENEPOP (version 1. 2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3): 248–249.
- Takezaki N, Nei M, 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144(1): 389–399.
- Tang XT, Tao HH, Du YZ, 2015. Microsatellite-based analysis of the genetic structure and diversity of *Aleurocanthus spiniferus* (Hemiptera: Aleyrodidae) from tea plants in China. *Gene*, 560(1): 107–113.
- 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.]
- Wang XY, Zhou LH, 2016. Genetic diversity and population history

- among geographic populations of *Spodoptera exigua* in North China based on mtDNA Cytb gene sequences. *Acta Ecologica Sinica*, 36(8): 2337–2347. [王兴亚, 周俐宏, 2016. 基于 mtDNA Cytb 基因序列的我国北方地区甜菜夜蛾遗传多样性与种群历史分析. *生态学报*, 36(8): 2337–2347.]
- Wang XY, Zhou LH, Zhong T, Xu GQ, 2014. Genetic variation, phylogeographic structure of *Spodoptera exigua* in the welsh onion-producing areas of North China. *Journal of Applied Entomology*, 138(8): 612–622.
- Weir BS, Cockerham CC, 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6): 1358–1370.
- Whitlock MC, McCauley DE, 1999. Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \neq 1/(4Nm+1)$. *Heredity*, 82(2): 117–125.
- Yang J, Shang XP, Yao YX, Zhao WX, 2018. Correlation between sample size and *Obolodiplosis robiniae* genetic diversity index based on microsatellite DNA data. *Forest Research*, 31(5): 118–124. [杨君, 尚兴朴, 姚艳霞, 赵文霞, 2018. 基于微卫星 DNA 标记分析刺槐叶瘿蚊遗传多样性指数与样本量的相关性. *林业科学研究*, 31(5): 118–124.]
- Zhang Y, 2005. Studies on the inheritance and construction of AFLP analysis system in *Spodoptera exigua*. Master thesis. Changchun: Jilin Agricultural University. [张艳, 2005. 甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 抗性遗传研究及 AFLP 体系的建立. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学.]
- Zheng XL, Wang P, Wang XP, Lei CL, 2009. Main biological habits, occurrence reason analyses and control of *Spodoptera exigua* in welsh onion. *Journal of Changjiang Vegetables*, (18): 4–7. [郑霞林, 王攀, 王小平, 雷朝亮, 2009. 大葱甜菜夜蛾主要生物学习性、暴发成因及防治. *长江蔬菜*, (18): 4–7.]
- Zhou LH, Wang XY, Lei JJ, 2016. Population genetic diversity and genetic structure of *Spodoptera exigua* around the Bohai Gulf area of China based on mitochondrial DNA signatures. *Genetics and Molecular Research*, 15(3): 1–18.
- Zhou LH, Wang XY, Xu GQ, Lei J, 2017. Mitochondrial DNA phylogeography of *Sodoptera exigua* across a broad geographic area in China. *Journal of Applied Entomology*, 141(7): 527–539.