

川渝稻区水稻螟虫种类组成及大螟不同地理种群遗传多态性的差异分析*

于文娟^{1**} 田 幸¹ 徐 志¹ 韩 喜¹ 姬红丽¹ 彭云良^{1,2***}

(1. 四川省农业科学院植物保护研究所, 农业部西南作物有害生物综合治理重点实验室, 成都 610066;

2. 中国水稻研究所, 水稻生物学国家重点实验室, 杭州 311401)

摘 要 【目的】通过对川渝稻区水稻孕穗灌浆期螟虫种类组成情况及大螟 *Sesamia inferens* 不同地理种群的遗传结构的分析, 了解各地区水稻孕穗灌浆期螟虫发生情况及大螟种群间的亲缘关系, 为水稻螟虫的区域治理对策提供新的依据。【方法】对川渝地区 13 个市县的水稻螟虫发生情况进行调查及采样, 利用 MEGA 等软件对采集到的大螟样本的线粒体 CO I 基因和 CO II 基因序列进行分析, 并构建分子系统发育树, 以获取样本群体遗传多样性信息。【结果】川渝稻区水稻孕穗灌浆期螟虫主要由二化螟 *Chilo suppressalis*、三化螟 *Tryporyza incertulas* 和大螟组成, 二化螟为优势种群, 其次为大螟; 而不同地区间螟虫种类和优势度存在差异, 其中川西稻区只有二化螟, 重庆地区有二化螟和大螟。大螟不同地理种群的遗传多样性分析结果表明, 大螟幼虫线粒体 CO I 基因序列在 627 bp 区段中共有 386 个多态性位点, 包含 16 个单倍型; 川东地区大螟种群的单倍型多样性为 0.910 57; 系统发育树显示, 川东地区 (除营山) 大螟地理种群聚合为一大分支, 其他大螟地理种群聚合为一个分支。而对同批大螟线粒体 CO II 基因序列分析结果表明, 在 363 bp 的区段中存在 228 个位点多态性, 有 10 个单倍型; 川东地区大化螟种群的单倍型多样性为 0.715 79; 在系统发育树中, 重庆地区种群、杭州地理种群和梓潼种群聚合为一支, 其余种群聚合为一支。【结论】川渝稻区螟虫主要由二化螟、三化螟和大螟组成, 二化螟为优势种群, 其次为大螟。川东地区大螟线粒体 CO I 和 CO II 基因多态性比其他地区丰富。川渝稻区大螟不同地理种群间的遗传分化距离不明显, 地理种群之间的遗传分化与分布之间的相关性不大。

关键词 螟虫; 大螟; 遗传多样性; CO II; CO I; 地理种群

Genetic diversity of different geographical populations of rice stem borers, *Sesamia inferens*, in the Sichuan-Chongqing rice region

YU Wen-Juan^{1**} TIAN Xing¹ XU Zhi¹ HAN Xi¹
JI Hong-Li¹ PENG Yun-Liang^{1,2***}

(1. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, MOA Key Laboratory of Integrated Management of Pests on Crops in Southwest China, Chengdu 610066, China; 2. China National Rice Research Institute, National Key Laboratory of Rice Biology, Hangzhou 311401, China)

Abstract [Objectives] To investigate the relative abundance of different species of rice stem borers and the genetic diversity of different geographical populations of the pink stem borer, *Sesamia inferens* (Walker) in rice growing regions of Sichuan-Chongqing, and provide suggestions for the regional management of borer populations. [Methods] We conducted a

*资助项目 Supported projects: 四川省“十四五”农作物及畜禽育种攻关项目 (2021YFYZ0021); 国家水稻产业技术体系专项经费 (CARS-01-41); 四川省财政自主创新专项 (2022ZZCX025)

**第一作者 First author, E-mail: ywj19830906@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: pengyunliang@aliyun.com

收稿日期 Received: 2022-06-09; 接受日期 Accepted: 2022-08-20

field survey during the rice grain-filling stage to determine the relative abundance of different species of rice stem borers in 13 cities in the Sichuan-Chongqing rice growing region and collected *S. inferens* specimens from 13 geographical populations for genetic analysis. We then sequenced the cytochrome oxidase subunit I (CO I) and cytochrome oxidase subunit II (CO II) of mitochondrial DNA (mtDNA) of *S. inferens* specimens from different populations and analyzed their genetic diversity sequence variation with MEGA and DNA Sequence Polymorphism. **[Results]** The species of rice stem borer identified in our survey were *Chilo suppressalis*, *Tryporyza incertulas* and *S. inferens*, and the dominant species were *C. suppressalis* and *S. inferens*. A 627 bp segment of CO I gene from 60 mature *S. inferens* larvae was sequenced and analyzed, resulting in the identification of 386 variable sites and 16 haplotypes. Haplotype diversity among different populations in eastern Sichuan was 0.910 57. A phylogenetic tree indicates that, with the exception of the YS population, all other populations from eastern Sichuan grouped into one great clade and all other geographic populations grouped into another great clade. Based on the same 60 DNA samples, the length of the CO II gene was 363 bp, and 228 variable sites and 10 haplotypes were identified. Haplotype diversity among different eastern Sichuan populations was 0.715 79. A phylogenetic tree showed that the Chongqing city population, Hangzhou population and ZY population grouped into one clade, whereas all other geographic populations grouped into another clade. **[Conclusion]** The dominant species of rice stem borer in the Sichuan-Chongqing rice growing region are *C. suppressalis* and *S. inferens*. Haplotype diversity based on both CO I and CO II sequences indicates that there is more haplotype diversity in eastern Sichuan than in other geographical areas. We found little correlation between genetic diversity and geographical populations.

Key words rice stem borer; *Sesamia inferens*; genetic diversity; cytochrome C oxidase subunit II; cytochrome C oxidase subunit I; geographical population

水稻螟虫是我国水稻生产上的重要害虫之一, 包括二化螟 *Chilo suppressalis*、三化螟 *Tryporyza incertulas*、大螟 *Sesamia inferens*、台湾稻螟 *Chilo auricilius* 和稻褐边螟 *Catagela adjurella*。幼虫以蛀茎方式危害水稻, 形成枯心、枯鞘、白穗和虫伤株等症状, 严重威胁着水稻生产(盛承发等, 2003; Tang et al., 2014)。我国螟虫灾害频繁发生, 发生面积也逐年扩大, 为害程度不断加重, 其主要原因是螟虫分布广泛, 寄主种类多, 食性杂, 并且一年发生多代, 时代重叠, 虫口密度高, 为害时间长, 为害范围广等(盛承发等, 2002; 刘杰等, 2021)。螟虫在川渝地区分布广泛且种群数量因地区不同而不同, 如二化螟在川西绝大部分稻区都是优势为害种群; 三化螟主要在龙泉和青白江及部分稻区有分布为害, 表现出扩散加重趋势; 大螟数量很少, 但在水稻生长后期为害较重(陈晓娟等, 2010)。四川水稻因螟虫为害造成的损失占水稻总病虫损失的 40%左右(陈晓娟等, 2011)。调查与明确川渝稻区不同地理区域内螟虫的组成情况, 对建立川渝地区水稻螟虫精准防治防控体系提供重要的依据。

水稻大螟, 又称稻蛀茎夜蛾, 隶属于鳞翅目 Lepidoptera, 夜蛾科 Noctuidae, 蛀茎夜蛾属 *Sesamia*。在中国原来只是一种常发性的次要害虫, 零星为害或常在田边危害; 然而, 近年来, 随着农田小生态环境的变化, 大螟的种群数量迅速上升, 发生与为害呈逐年上升的趋势, 尤其在水稻生长后期, 造成白穗率和虫伤数大幅上涨, 已成为水稻生产的主要害虫之一, 严重影响水稻的产量和质量(徐丽娜等, 2011; 吕亮等, 2018; 周操等, 2018)。

研究川渝稻区大螟地理种群的遗传关系, 了解不同地理种群的遗传分化趋势及分化特点, 明确各个地理种群间的亲缘关系, 探讨其内在的遗传因素, 分化成因及预防机制, 预测大螟发生发展动态, 推断大螟迁移扩散路径, 从而为制定大螟有效的区域综合防控策略提供科学依据。为此, 本研究运用线粒体 CO I 和 CO II 基因, 通过 PCR 扩增和 DNA 测序获得川渝稻区 10 个大螟地理种群的线粒体基因片段序列, 运用 MEGA 和 DNA Sequence Polymorphism 进行大螟种群的遗传多样性分析, 旨在探明川渝稻区大螟不同地理种群的遗传组成特点及亲缘关系。

1 材料与方法

1.1 螟虫种类的调查及供试昆虫的采集

2021 年 7-8 月, 选择四川省的川东地区 (大竹、渠县、营山和资中)、川西地区 (绵竹、邛崃和崇州)、川北地区 (安县、梓潼、江油和武都) 和重庆市 (万州和垫江) 的 4 个片区 13

个市县的水稻田 (表 1), 调查螟虫发生情况。每个地区选取水稻田 3 块, 采用平行跳跃式取样, 选取被害水稻株 (枯心株和白穗株) 100 丛, 连根拔取全部植株, 剥查茎干和根部内的螟虫种类和数量。将水稻植株中的大螟高龄幼虫, 浸泡于 75% 的酒精中保存备用。以浙江杭州大螟种群和湖南长沙大螟种群为外地对照种群。

表 1 川渝稻区螟虫调查采集分布地

Table 1 Distribution of different geographic populations of rice stem borer collected across the major distributing regions in Sichuan-Chongqing rice region

区域划分 Regional division	采集地点 Sampling site	种群名称* Population name	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 (m) Altitude (m)
川东地区 Eastern of Sichuan province	达州市大竹县	DZ	107°12'18"	30°35'53"	368
	Dazhu country, Dazhou city				
	达州市渠县	QX	106°51'45"	30°48'23"	319
	Qu country, Dazhou city				
	南充市营山县	YS	106°43'60"	31°04'42"	335
	Yingshan country, Nanchong city				
川西地区 Western of Sichuan province	内江市资中县	ZZ	104°40'10"	29°45'08"	400
	Zizhong country, Neijiang city				
	德阳市绵竹市	MZ	104°10'50"	31°14'27"	560
	Mianzhu city, Deyang city				
	成都市崇州市	CZ	103°41'54"	30°44'28"	560
	Chongzhou city, Chengdu city				
川北地区 Northern of Sichuan province	成都市邛崃市	QL	103°08'05"	30°13'42"	681
	Qionglai city, Chengdu city				
	绵阳市安县	AX	104°29'13"	31°33'11"	500
	An country, Mianyang city				
	绵阳市梓潼县	ZT	105°09'22"	31°39'05"	439
	Zitong country, Mianyang city				
重庆地区 Chongqing city	江油市武都镇	WD	104°48'09"	31°52'20"	573
	Wudu country, Jiangyou city				
	绵阳市江油市	JY	104°48'31"	31°42'05"	565
	Jiangyou city, Mianyang city				
	重庆市垫江县	DJ	107°24'10"	30°25'18"	401
	Dianjiang country, Chongqing				
其它地区 The other geographical population	重庆市万州区	WZ	108°34'44"	30°32'27"	921
	Wanzhou district, Chongqing				
	浙江省杭州市	HZ	119°55'55"	30°44'50"	12
	Hangzhou city, Zhejiang province				
	湖南省长沙市	CS	113°18'45"	28°18'57"	53
	Changsha city, Hunan province				

*县级市首字母缩写。

* The abbreviations of cities' initial.

1.2 大螟不同地理种群的遗传多态性分析

1.2.1 DNA 的提取 对采集到的川渝稻区 10 个地区的大螟高龄幼虫、浙江杭州大螟和湖南长沙大螟种群进行单头 DNA 提取, 每个种群随机抽取 5 头样本, 每头大螟基因组 DNA 的提取参照 *TreliefTM Animal Genomic DNA Kit* 动物基因组 DNA 提取试剂盒 (擎科生物, 中国) 操作说明进行。提取的基因组 DNA 的浓度和质量 (A_{260}/A_{280}) 分别采用分光光度计与琼脂糖凝胶电泳检测后, 20 °C 冰箱内保存备用。

1.2.2 PCR 扩增 大螟线粒体 DNA CO I 基因片段 PCR 扩增引物参照 Folmer 等 (1994) 的通用引物: 上游引物 mt-COI-F: 5'-GGTCAACA-AATCATAAAGATATTGG-3', 下游引物 mt-COI-R: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'。PCR 扩增体系为 20 μ L: 2 $\times$ Taq PCR MasterMix 10 μ L, 每个地理种群单头大螟基因组 DNA 模版 2 μ L (同一地理种群的 5 头大螟样本同一批次进行 PCR 扩增), 上下游引物 (10 mmol·L⁻¹) 各 1 μ L, ddH₂O 补足至 20 μ L。扩增反应程序为: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 50 s, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。取 5 μ L PCR 产物于 1.2% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测, 确定扩增成功的 PCR 产物送擎科生物技术有限公司进行测序。

大螟线粒体 DNA CO II 引物参照姚银花等 (2008) 的引物序列, 上游引物 mt-CO II -F: 5'-TAATATGGCAGATTAGTGCAATTGGA-3', 下游引物 mt-CO II -R: 5'-GAGACCATTACTTGCTTTCAGTCATCT -3'。PCR 扩增体系为 20 μ L, 同上。扩增反应程序为: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 2 min, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。取 5 μ L PCR 产物于 1.2% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测, 确定扩增成功的 PCR 产物送擎科生物技术有限公司进行测序。若测序峰图出现双峰或套峰, 将其连接到 pGEM-Teasy 载体进行纯化, 再进行测序。

1.2.3 数据分析 获得测序结果以后, 从 NCBI

网站中通过 BLAST 同源检索以确认所测样本为大螟的 CO I 和 CO II 基因序列; 用 DNASTAR 软件包中的 SeqMan 软件对 PCR 产物测序结果进行整理, 校对, 去除引物和低质量序列 25 bp 左右后, 得到长度一致的各地理种群大螟基因的 DNA 全长序列; 使用 ClustalX2 (Larkin *et al.*, 2007) 进行多序列比对, 确定存在多态的位点; 再采用 MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013) 软件进行序列多重比较, 取自展值 1 000 构建 NJ 聚类图; 最后利用 DNA Sequence Polymorphism (Version 5.10.01) 进行遗传多样性参数的统计和分析, 主要包括单倍型数量、分离位点数量、基因单倍型多样性及基因核苷酸多态性等。

2 结果与分析

2.1 川渝稻区螟虫种类组成情况

川渝稻区螟虫主要由二化螟、三化螟和大螟组成; 但螟虫种类和发生数量因地区不同而存在差异 (图 1)。川北地区稻区螟虫主要有二化螟、三化螟和大螟 3 种; 二化螟为优势种群, 每个调查地区都有二化螟, 且百株虫量最多 (123.25 头/百株), 占该地区调查总量的 78.64%; 其次为大螟, 每个调查地区均有, 但百株虫量均少于同地区的二化螟数量 (27.75 头/百株), 占总量的 20.83%; 三化螟仅在内江市资中县 (ZZ) 地区有, 且数量极少, 只有 4 头, 占总量的 0.53%。川西稻区螟虫组成比较单一, 每个调查地区都只有二化螟 1 种螟虫, 百株虫量为 141.67 头。川北稻区螟虫组成与川东稻区相似, 包括二化螟、三化螟和大螟 3 种螟虫, 二化螟和大螟在每个调查地区均有, 二化螟为优势种群, 二化螟百株虫量 (70.75 头/百株) 比大螟百株虫量 (33.5 头/百株) 稍高一些, 分别占该区域调查总量的 66.91% 和 32.57%, 三化螟只在江油市新安镇 (JY) 地区发现 3 头/百株, 占总量的 0.51%。重庆地区螟虫主要由二化螟和大螟组成, 且在每个调查地区均有, 大螟为优势种群, 百株虫量为 45.5 头, 二化螟为 25 头/百株; 分别占该区域调查总量的 69.7% 和 30.04% (表 2)。

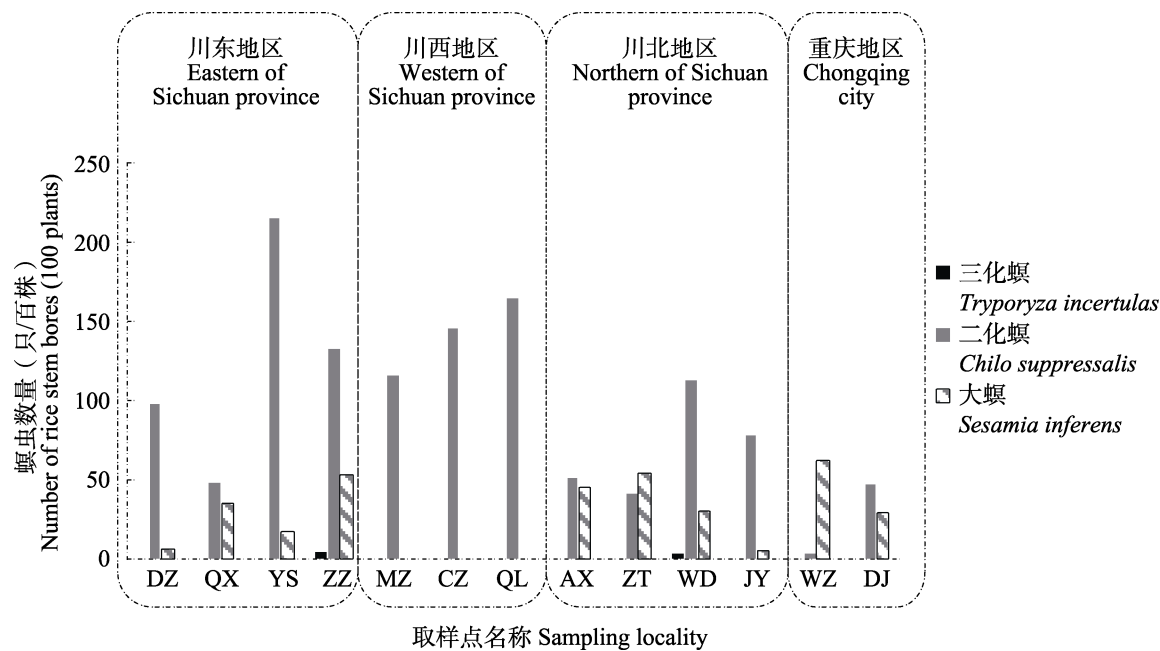


图 1 川渝稻区螟虫种类组成情况
Fig. 1 Component of rice stem borers in Sichuan-Chongqing rice region

DZ: 达州市大竹县; QX: 达州市渠县; YS: 南充市营山县; ZZ: 内江市资中市; MZ: 德阳市绵竹市; CZ: 成都市崇州市; QL: 成都市邛崃市; AX: 绵阳市安县; ZT: 绵阳市梓潼县; WD: 江油市武都镇; JY: 绵阳市江油市; WZ: 重庆市万州区; DJ: 重庆市垫江县。下图同。
DZ: Dazhu country, Dazhou city; QX: Qu country, Dazhou city; YS: Yingshan country, Nanchong city; ZZ: Zizhong country, Neijiang city; MZ: Mianzhu city, Deyang city; CZ: Chongzhou city, Chengdu city; QL: Qionglai city, Chengdu city; AX: An country, Mianyang city; ZT: Zitong country, Mianyang city; WD: Wudu country, Jiangyou city; JY: Jiangyou city, Mianyang city; WZ: Wanzhou district, Chongqing; DJ: Dianjiang country, Chongqing. The same below.

表 2 川渝稻区螟虫优势度指数
Table 2 Dominance index for the rice stem borers in Sichuan - Chongqing rice region

区域划分 Regional division	川渝稻区地区螟虫优势度指数 (%) Dominance index for the rice stem borers in Sichuan-Chongqing rice region (%)		
	二化螟 <i>Chilo suppressalis</i>	大螟 <i>Sesamia inferens</i>	三化螟 <i>Tryporyza incertulas</i>
川东地区 Eastern of Sichuan province	78.64	20.83	0.53
川西地区 Western of Sichuan province	100.00	0.00	0.00
川北地区 Northern of Sichuan province	66.91	32.57	0.51
重庆地区 Chongqing city	33.23	66.77	0.00
川渝地区 Sichuan-Chongqing rice region	69.70	30.04	0.26

2.2 川渝稻区不同地理种群大螟线粒体 mt CO I 基因序列的差异及系统发育分析

对采集到的川渝稻区 10 个大螟种群样本、浙江杭州大螟种群样本及湖南长沙大螟种群样本进行线粒体 mt CO I 序列测定, 共得到 60 个

测序结果。测序结果分析发现, 在川渝稻区大螟线粒体 mt CO I 基因扩增总长度为 627 bp 的片段中共发现 386 个多态位点, A+T 含量 (70.7%) 明显高于 G+C 含量 (29.3%); 群体遗传分化系数 (G_{st}) 和固定系数 (F_{st}) 均值分别为 0.407 75 和 0.770 19, 基因流 (N_m) 分别为 0.36 和 0.07。

进行单倍型分析发现,共确定 16 个单倍型: mt CO I 01-mt CO I 16, 其中, mt CO I 07 为优势单倍型 (29 条基因序列) (图 2)。

川东稻区大螟样本的 mt CO I 单倍型数量为 11, 分离位点数量为 342, 单倍型多样性 (H_d) 为 0.910 53, 核苷酸多态性 (p_i) 为 0.221 63。重庆稻区大螟样本的 mt CO I 单倍型数量为 3, 分离位点数量为 28, H_d 为 0.644 44, p_i 为 0.024 24。外省浙江杭州大螟样本的 mt CO I 测序基因单倍型数量为 2, 分离位点数量为 1, H_d

为 0.400 00, p_i 为 0.000 64。川北稻区和外省湖南长沙大螟样本的 mt CO I 单倍型数量均为 1, 分离位点数量为 0, H_d 为 0.000 00, p_i 为 0.000 00 (表 3)。单倍型多样性, 核苷酸多态性与单倍型分析结果都表明, 川东地区的大螟线粒体 mt CO I 基因存在更丰富的多态。总群体的 Tajima's D 和 Fu's F_s 值分别为 1.915 18 和 58.264 00 ($P>0.05$), 且均未达到显著水平, 表明大螟不同地理种群间的遗传分化不明显。

采用 MEGA 软件构建了川渝稻区不同地理

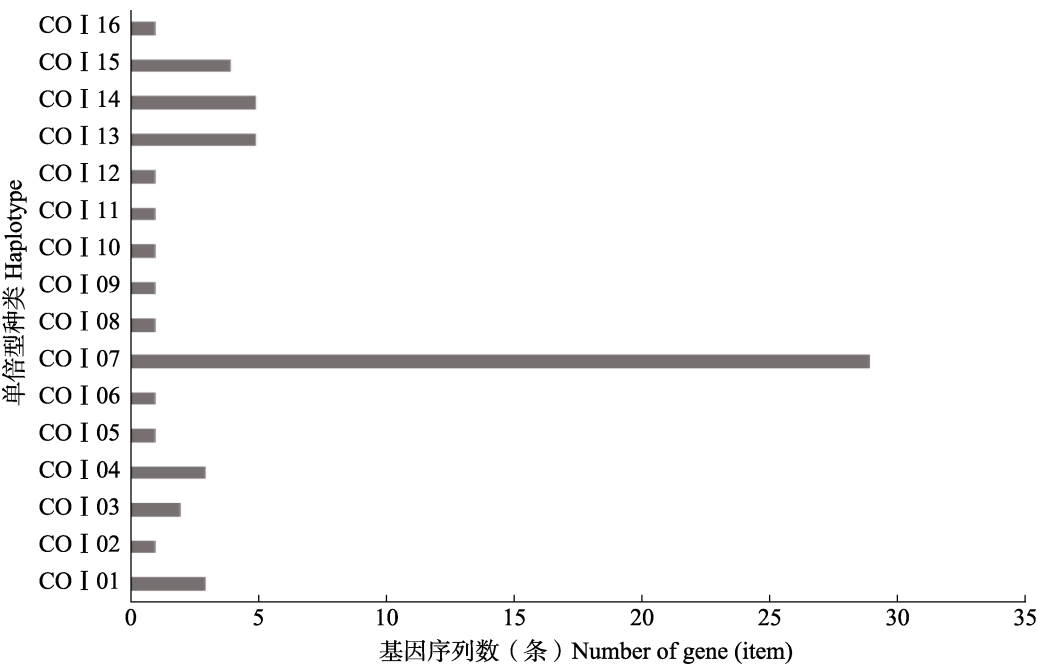


图 2 川渝稻区大螟线粒体 mt CO I 单倍型种类及分布
Fig. 2 Types and distribution of mitochondria mt CO I haplotype of *Sesamia inferens* in Sichuan - Chongqing rice region

表 3 川渝稻区大螟种群的遗传多样性统计-线粒体 CO I
Table 3 Genetics diversity statistics of population of *Sesamia inferens*-mitochondria mt CO I in Sichuan-Chongqing rice region

采集地区 Sampling locality	mt CO I 测序数量 Number of mt CO I sequencing	单倍型数量 Number of haplotype	分离位点 数量 Number of segregating sites	线粒体 CO I 基因 单倍体多样性 (H_d) Haplotype diversity	mt CO I gene 核苷酸多态性 (p_i) Nucleotide diversity
川东地区 Eastern of Sichuan province	20	11	342	0.910 53	0.221 63
川北地区 Western of Sichuan province	20	1	0	0.000 00	0.000 00
重庆地区 Chongqing city	10	3	28	0.644 44	0.024 24
浙江杭州市 Hangzhou city, Zhejiang province	5	2	1	0.400 00	0.024 24
湖南长沙 Changsha city, Hunan province	5	1	0	0.000 00	0.000 00

种群大螟线粒体 mt CO I 基因的系统发育树, 并用 Bootstrap 方法进行校验。结果显示, 不同地理种群的大螟聚为两个大的分支, 其中川东地区的渠县 (QX)、大竹 (DZ) 和资中 (ZZ) 种群聚为一支; 其余种群聚为一支, 包括川北地区的

营山种群 (YS)、川北地区种群 (AX、ZT、WD、JY)、重庆地区种群 (DJ、WZ)、杭州种群 (HZ) 和长沙种群 (CS) (图 3)。说明川东地区种群 (除营山种群) 与其他种群相距较远; 其余各地理种群之间没有明显的遗传分化。

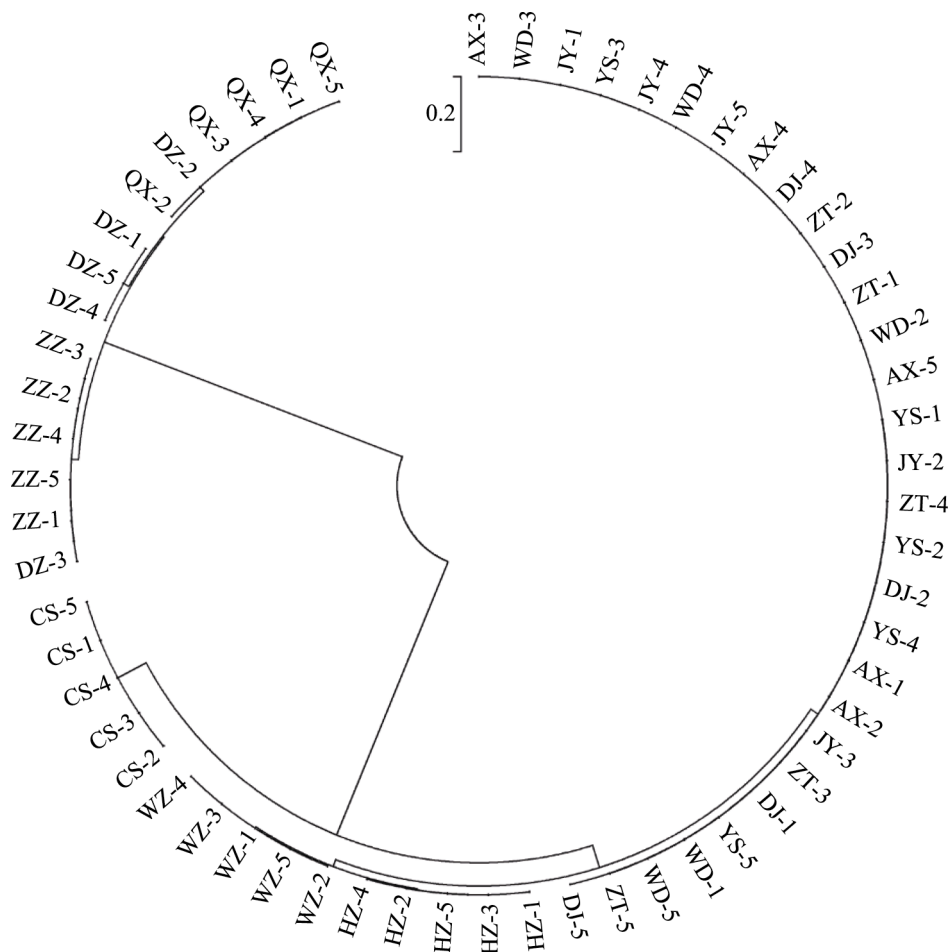


图 3 基于线粒体 mt CO I 基因序列构建的川渝稻区大螟不同地理种群的分子系统发育树
Fig. 3 Molecular phylogenetic tree of *Sesamia inferens* of different geographical populations in Sichuan-Chongqing rice region based on mitochondria mt CO I sequences

地理种群缩写后的数字表示同一地理种群大螟样本编号。图 5 同。

The number after population name: The number of *Sesamia inferens* samples in the same geographical populations. The same as Fig. 5.

2.3 川渝稻区不同地理种群大螟线粒体 mt CO II 基因序列的差异及系统发育分析

对采集到的川渝稻区 10 个大螟种群样本、浙江杭州大螟样本及湖南长沙大螟种群样本进行线粒体 mt CO II 序列测定, 共得到 60 个测序结果。测序结果分析发现, 在川渝稻区大螟线粒体 mt CO II 基因扩增总长度为 363 bp 的片段中

共发现 228 个多态位点, A+T 含量 (72.1%) 明显高于 G+C 含量 (27.9%); 群体遗传分化系数 (G_{st}) 和固定系数 (F_{st}) 均值分别为 0.399 18 和 0.855 99, 基因流 (N_m) 分别为 0.38 和 0.04。进行单倍型分析发现, 共确定 10 个单倍型: mt CO II 01-mt CO II 10, 其中, mt CO II 03 为优势单倍型 (23 条基因序列) (图 4)。

川东稻区大螟样本的 mt CO II 测序基因单

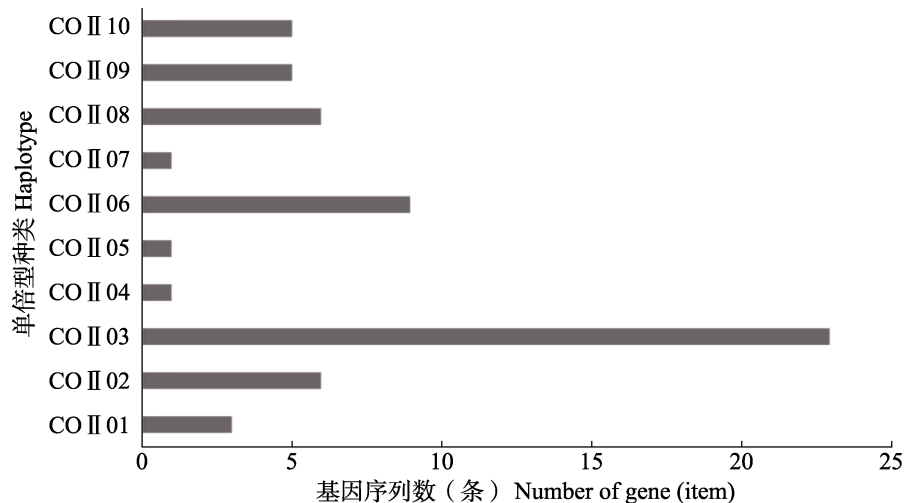


图 4 川渝稻区大螟线粒体 mt CO II 单倍型种类及分布

Fig. 4 Types and distribution of mitochondria mt CO II haplotype of *Sesamia inferens* in Sichuan-Chongqing rice region

倍型数量为 5, 分离位点数量为 30, 单倍型多样性 (H_d) 为 0.715 79, 核苷酸多态性 (p_i) 为 0.030 46。川北稻区大螟样本的 mt CO II 测序基因单倍型数量为 3, 分离位点数量为 188, H_d 为 0.468 42, p_i 为 0.203 02。重庆稻区大螟样本的 mt CO II 测序基因单倍型数量为 2, 分离位点数量为 15, H_d 为 0.533 33, p_i 为 0.022 04。外省浙江杭州和湖南长沙大螟样本的 mt CO II 测序基因单倍型数量均为 1, 分离位点数量为 1, H_d 为 0.000 00, p_i 为 0.000 00 (表 4)。单倍型多样性, 核苷酸多态性与单倍型分析结果都表明, 川东稻区的大螟线粒体 mt CO II 基因存在更丰富的多态。总群体的 Tajima's D 和 Fu's F_s 值分别为

2.492 48 和 63.779 ($P>0.05$), 且均未达到显著水平, 表明大螟不同地理种群间的遗传分化不明显。

采用 MEGA 软件构建了川渝稻区不同地理种群大螟线粒体 mt CO II 基因的系统发育树, 并用 Bootstrap 方法进行校验。结果显示, 不同地理种群的大螟聚为两个大的分支, 其中重庆地区种群 (WZ、DJ)、川北地区的梓潼种群 (ZT) 和杭州种群 (HZ) 聚为一支; 其余种群聚为一支, 包括川东地区种群 (DZ、QX、YS、ZZ)、川北地区种群 (AX、WD、JY) 和长沙种群 (CS) (图 5)。说明重庆种群、梓潼种群和杭州种群与其他种群相距较远, 其他地理种群之间没有明显的遗传分化。

表 4 川渝稻区大螟种群的遗传多样性统计-线粒体 CO II

Table 4 Genetics diversity statistics of population of *Sesamia inferens*-mitochondria mt CO II in Sichuan-Chongqing rice region

采集地区 Sampling locality	mt CO II 测序数量 Nmber of mt CO II sequencing	单倍型数量 Number of haplotype	分离位 点数量 Number of segregating sites	线粒体 CO II 基因 mt CO II gene	
				单倍体多样性 (H_d) Haplotype diversity	核苷酸多态性 (p_i) Nucleotide diversity
川东地区 Eastern of Sichuan province	20	5	30	0.715 79	0.030 46
川北地区 Western of Sichuan province	20	3	188	0.468 42	0.203 02
重庆地区 Chongqing city	10	2	15	0.533 33	0.022 04
浙江杭州市 Hangzhou city, Zhejiang province	5	1	0	0.000 00	0.000 00
湖南长沙 Changsha city, Hunan province	5	1	0	0.000 00	0.000 00

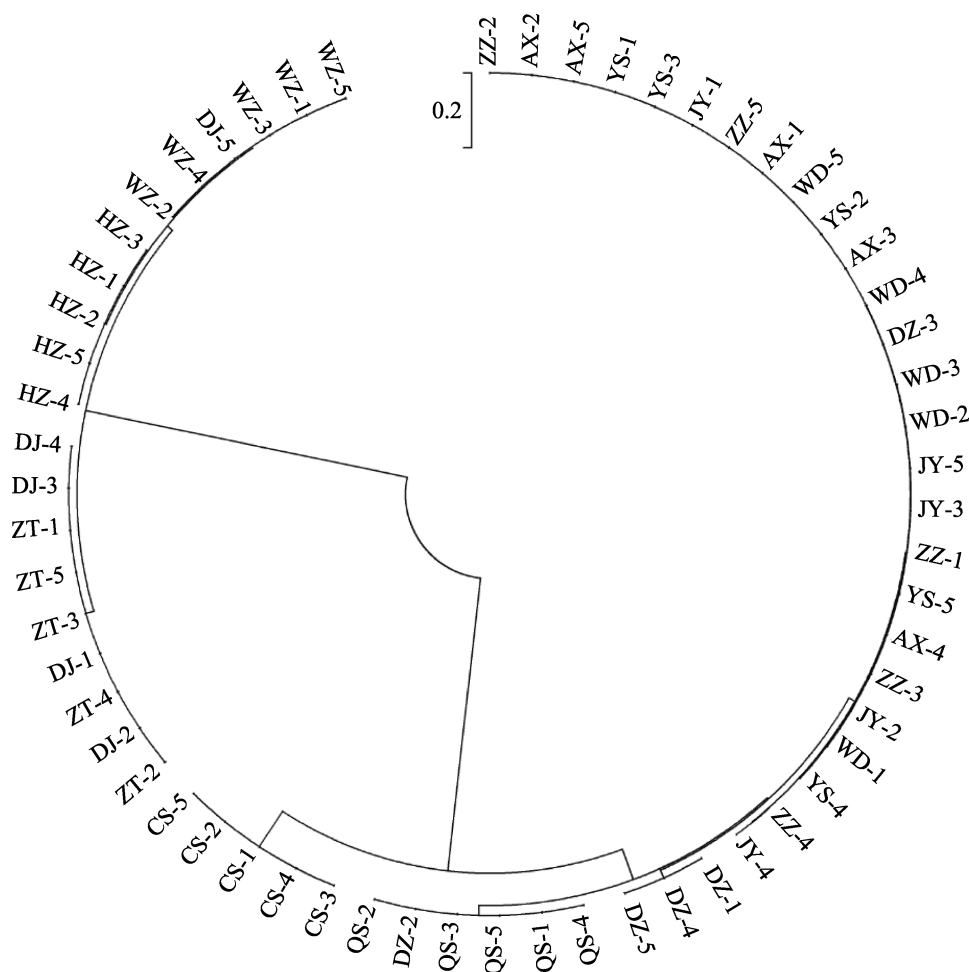


图 5 基于线粒体 mt CO II 基因序列构建的川渝稻区大螟不同地理种群的分子系统发育树
Fig. 5 Molecular phylogenetic tree of *Sesamia inferens* of different geographical populations in Sichuan-Chongqing rice region based on mitochondria mt CO II sequences

3 讨论

川渝稻区螟虫的种类主要有二化螟、三化螟和大螟。其中二化螟为优势种群, 在调查的 13 个县市地区均有发生且数量较多; 其次为大螟, 在 10 个县市地区采集到, 数量稍少于二化螟, 主要分布在川东地区、川北地区和重庆地区; 只在 2 个县市 (ZZ 和 WD) 发现有三化螟, 且数量极少。川渝稻区螟虫的组成与陈晓娟等 (2010, 2011) 报道的螟虫组成情况相似; 但是, 优势种群存在差异。近年来, 由于水稻耕作制度、作物种类和品种的改变, 不仅改变了农田的小生态环境, 也改变了螟虫的生存环境, 如水旱轮作, 给螟虫提供了很好的越冬场所和食料, 免耕田和冬

闲田的越冬代螟虫基数显著增高等, 这就使区域内螟虫的发生种类和数量发生了变化 (盛承发等, 2002; Sun *et al.*, 2014; 吕亮等 2018; 周操等, 2018), 川渝稻区大螟为害逐渐加剧, 由次要害虫逐渐发展成次级优势种群。主要是因为大螟寄主广泛, 禾本科和莎草科杂草, 食性杂, 并且大螟可以在玉米、小麦-玉米轮作的条件下顺利完成生活史 (金翠霞和吴亚, 1986; 黄建荣等, 2017)。

线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA) 在昆虫体内高度保守, 具有母系遗传特性, 并以单拷贝形式存在; 其因受环境选择压力较小而具有中性进化性及相对较快的进化速率, 且基因重组率低, 缺失和插入很少发生, 即使发生也很容

易被淘汰 (Brower *et al.*, 1996)。因此, 细胞色素氧化酶亚基 I 基因 (Cytochrome c oxidase subunit I, CO I) 和细胞色素氧化酶亚基 II 基因 (Cytochrome c oxidase subunit II, CO II) 作为生物多样性、种群遗传结构及分子系统进化研究中的分子标记被广泛应用 (Avisé, 1987; Behura, 2006)。本研究以 2 个线粒体基因 CO I 和 CO II 作为研究对象, 对川渝稻区 10 个大螟地理种群进行了遗传分化研究。对获得的 60 个大螟样品的基因序列分析结果表明, 2 个线粒体基因 CO I 和 CO II 核苷酸组成具有较高的 AT 偏向性, 与鳞翅目昆虫的线粒体基因碱基的组成结果一致 (Liu and Beckenbach, 1992)。

本文对 10 个川渝稻区不同地理种群大螟线粒体 CO I 和 CO II 基因测序比较分析分别得到 363 个和 228 个多态性位点, 因此这 2 个基因适合进行大螟种群多样性分析。与其他标记基因相比, 线粒体 CO I 和 CO II 基因常被用来研究种下分类单元以及地理种群之间的系统关系 (王备新和杨莲芳, 2002; 于文娟等, 2021)。害虫的种群遗传结构是能够表现其地理变异格局的, 大螟群体的固定系数 F_{st} 和遗传分化系数 G_{st} 都较低, 说明各地理种群之间的遗传分化程度较低, 种群间还没有发生明显的遗传分化现象 (Rousset, 1997; Timm *et al.*, 2005)。大螟总种群中性检验结果显示 Tajima's D 和 Fu's F_s 检查结果均未达到显著水平 ($P > 0.05$), 表明在较近的历史上川渝稻区大螟种群未经历过群体扩张事件, 近几年川渝稻区大螟的发生和为害加重很可能是当地种群积累的结果 (Tajima, 1989)。单倍型多样性、核苷酸多态性与单倍型分析结果都表明, 川东地区的大螟线粒体 mt CO I 基因和 mt CO II 基因存在更丰富的多态。但是通过构建系统发育树发现, 两种基因得出的结果略有差异, mt CO I 基因分析表明川东地区种群 (除营山种群) 与其他种群相距较远; 其余各地理种群之间没有明显的遗传分化; 而 mt CO II 基因分析表明重庆种群和杭州种群与其他种群相距较远, 其他地理种群之间没有明显的遗传分化。这可能是 CO II 和 CO I 的进化速率不同造成的 (Dickey

et al., 2015; Tyagi *et al.*, 2017)。川渝稻区大螟不同地理种群间的遗传分化距离不明显, 尤其是外省大螟种群 (浙江杭州和湖南长沙) 没有跟川渝稻区的大螟种群产生明显的遗传分化现象。综上所述, 川渝稻区大螟地理种群之间的遗传分化与分布之间的相关性不大。

虽然选取了进化速率较快的基因序列进行分析, 但是要深入了解川渝稻区大螟不同地理种群之间的内在联系及遗传特性, 需要在今后的试验中增加地理种群的采集点, 增加样本量, 辅以其他分子标记, 以期获得全面的遗传学数据。这将为更好的阐明川渝稻区大螟种群之间的亲缘关系和遗传分化程度提供依据。

参考文献 (References)

- Avisé JC, 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489–522.
- Behura SK, 2006. Molecular marker systems in insects: Current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, 15(11): 3087–3113.
- Brower AVZ, DeSalle R, Vogler A, 1996. Gene trees, species trees, and systematics: A cladistic perspective. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 27: 423–450.
- Chen XJ, He SL, Xia Q, 2010. Study on hibernation of rice stem borers in Sichuan province. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 23(1): 83–86. [陈晓娟, 何树林, 夏琼, 2010. 四川省水稻螟虫的越冬研究. 西南农业学报, 23(1): 83–86.]
- Chen XJ, He SL, Yang YZ, 2011. Composition of rice stem borers in Sichuan basin and new characteristics of their occurrence and damage. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 39(19): 11459–11461. [陈晓娟, 何树林, 杨运忠, 2011. 川西水稻螟虫组成及发生危害新特点. 安徽农业科学, 39(19): 11459–11461.]
- Dickey AM, Kumar V, Hoddle MS, Funderburk JE, Morgan JK, Jara-Cavieses A, Shatters RJ, Osborne LS, McKenzie CL, 2015. The *Scirtothrips dorsalis* species complex: Endemism and invasion in a global pest. *PLoS ONE*, 10(4): e0123747.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299.

- Huang JR, Huang B, Li GP, Tian CH, Feng HQ, 2017. Preliminary study on the occurrence of pink stem borer, *Sesamia inferens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in northern Henan province. *Plant Protection*, 43(2): 156–162. [黄建荣, 黄博, 李国平, 田彩红, 封洪强, 2017. 河南北部稻区蛀茎夜蛾的发生规律研究初报. *植物保护*, 43(2): 156–162.]
- Jin CX, Wu Y, 1986. Relations between *Sesamia inferens* (Walker) and its host plant. *Journal of Plant Protection*, 13(4): 259–265. [金翠霞, 吴亚, 1986. 大螟与寄主植物关系的研究. *植物保护学报*, 13(4): 259–265.]
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG, 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948.
- Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among 10 orders of insects. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 1(1): 41–52.
- Liu J, Jiang YY, Huang C, Wu QL, Zhang T, Zeng J, 2021. Occurrence trend forecast of the major disease and insect pests of in China in 2020. *China Plant Protection*, 41(1): 37–39, 42. [刘杰, 姜玉英, 黄冲, 吴秋琳, 张涛, 曾娟, 2021. 2020 年全国粮食作物重大病虫害发生趋势预报. *中国植保导刊*, 41(1): 37–39, 42.]
- Lv L, Chang XQ, Yang XL, Yuan B, Zhang S, 2018. Biological survey on the overwintering larvae of rice borer in Hubei province. *Journal of Environmental Entomology*, 40(5): 1051–1057. [吕亮, 常向前, 杨小林, 袁斌, 张舒, 2018. 湖北水稻蛀秆螟虫越冬情况调查. *环境昆虫学报*, 40(5): 1051–1057.]
- Rousset F, 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145(4): 1219–1228.
- Sheng CF, Wang HT, Sheng SY, Gao LD, Xuan WJ, 2003. Pest status and loss assessment of crop damage caused by the rice borers, *Chilo suppressalis* and *Tryporyza incertulas* in China. *Entomological Knowledge*, 40(4): 289–294. [盛承发, 王红托, 盛世余, 高留德, 宣维健, 2003. 中国稻螟灾害的现状与损失估计. *昆虫知识*, 40(4): 289–294.]
- Sheng CF, Xuan WJ, Jiao XG, Su JW, Shao QC, Song FB, 2002. Causes, trend and control strategies of disaster of rice borers in China. *Journal of Natural Disasters*, 11(3): 103–108. [盛承发, 宣维健, 焦晓国, 苏建伟, 邵庆春, 宋凤斌, 2002. 我国稻螟暴发成灾的原因、趋势及对策. *自然灾害学报*, 11(3): 103–108.]
- Sun M, Tang XT, Lu MX, Yan WF, Du YZ, 2014. Cold tolerance characteristics and overwintering strategy of *Sesamia inferens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 97(4): 1544–1553.
- Tajima F, 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 597–601.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Tang H, Li JM, Wu JQ, Gao HQ, Zhang SG, 2014. Development characteristics and controlling countermeasures of rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *Agricultural Science and Technology*, 15 (5): 843–845, 849.
- Timm AE, Pringle KL, Warnich L, 2005. Genetic diversity of woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* (Hemiptera: Aphididae) populations in the Western Cape, South Africa. *Bulletin of Entomological Research*, 95(3): 187–191.
- Tyagi K, Kumar V, Singha D, Chandra K, Laskar BA, Kundu S, Chakraborty R, Chatterjee S, 2017. DNA barcoding studies on thrips in India: Cryptic species and species complexes. *Science Report*, 7(1): 4898.
- Wang BX, Yang LF, 2002. Phylogenetic utilities of mitochondrial DNA sequences in the study of insect systematics. *Entomological Knowledge*, 39(2): 88–92. [王备新, 杨莲芳, 2002. 线粒体 DNA 序列特点与昆虫系统学研究. *昆虫知识*, 39(2): 88–92.]
- Xu LN, Li CC, Hu BJ, Zhou ZY, Li XX, 2011. Review of history, present situation and prospect of pink stem borer in China. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(24): 244–248. [徐丽娜, 李昌春, 胡本进, 周子燕, 李晓霞, 2011. 中国大螟研究历史、现状与展望. *中国农学通报*, 27(24): 244–248.]
- Yao YH, Du YZ, Zheng FS, Wang LP, 2008. The variation of mtDNA COII sequences in 9 geo-populations of rice stem borer, *Sesamia inferens*. *Journal of Environmental Entomology*, 30(1): 39–43. [姚银花, 杜予州, 郑福山, 王莉萍, 2008. 大螟不同地理种群 CO II 基因序列分析. *环境昆虫学报*, 30(1): 39–43.]
- Yu WJ, Chen D, Luo H, Ji HL, Peng YL, 2021. Genetic diversity of geographical populations of *Chilo suppressalis* (Walker) in Sichuan province. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 58(1): 124–131. [于文娟, 陈丹, 罗涵, 姬红丽, 彭云良, 2021. 四川省二化螟不同地理种群遗传多样性的差异分析. *应用昆虫学报*, 58(1): 124–131.]
- Zhou C, Wang Z, Yang Y, Long GY, Jin DC, 2018. Occurrence of stem borers in rice field of central Guizhou. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 37(4): 18–24, 94. [周操, 王召, 杨洪, 龙贵云, 金道超, 2018. 贵州中部稻区大螟和二化螟发生规律初探. *山地农业生物学报*, 37(4): 18–24, 94.]