

日本稻蝗、中华稻蝗和赤胫伪稻蝗地理 种群的 RAPD 遗传分化研究

张建珍¹, 郭亚平¹, 段毅豪², 马恩波^{1*}

(1. 山西大学生命科学与技术学院, 太原 030006, 2. 山西大学环境与资源学院, 太原 030006)

摘要:运用 10 个 RAPD 引物对日本稻蝗 (*Oxya japonica*)、中华稻蝗 (*Oxya chinensis*) 和赤胫伪稻蝗 (*Pseudoxya diminuta*) 的种群遗传分化进行分析。10 个随机引物共产生 135 条带, 扩增谱带具有明显的属、种间多态性。Shannon 信息指数表明中华稻蝗遗传多样性水平较高 (2.693), 日本稻蝗次之 (2.319), 赤胫伪稻蝗最低 (1.042)。中华稻蝗和日本稻蝗的不同地理居群出现遗传分化, 由 Shannon 信息指数估算的种群间遗传分化系数分别为 20.7%, 42.4%。用 UPGMA 和 NJ 法对 Nei's 遗传距离作聚类分析, 构建分子系统树。系统树显示: 同一种群的不同个体优先相聚, 而后, 同一种的不同种群依次相聚; 日本稻蝗广西南宁种群和广东广州种群首先聚为一支, 陕西西安种群和浙江杭州种群聚为另一支, 两支相聚后与中华稻蝗聚在一起, 最后与赤胫伪稻蝗相聚。聚类结果表明: 不同地域日本稻蝗亲缘关系的远近与地理距离呈现一定的相关趋势, 日本稻蝗与中华稻蝗亲缘关系较近, Nei's 遗传距离平均为 0.142, 而赤胫伪稻蝗与它们关系较远, Nei's 遗传距离平均为 0.451。聚类图所显示的物种间亲缘关系的远近程度与形态分类学和细胞分类学结果相一致。

关键词: 日本稻蝗; 中华稻蝗; 赤胫伪稻蝗; RAPD 分析; 遗传分化

RAPD analysis of genetic divergence among populations of *Oxya japonica*, *O. chinensis* and *Pseudoxya diminuta*

ZHANG Jian-Zhen¹, GUO Ya-Ping¹, DUAN Yi-Hao², MA En-Bo^{1*} (1. College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(7): 1399~1405.

Abstract: The genetic divergence among 4 populations of *Oxya japonica*, 2 populations of *O. chinensis* and 1 population of *Pseudoxya diminuta* were analyzed using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. The modified saturated NaCl protocol was developed in this study to extract DNA from the tissue samples fixed in anhydrous ethanol and from dry specimens. Nucleic acids extracted from 60 individuals were then amplified using 10 oligonucleotide primers, each of 10 nucleotides in length. The agarose gel electrophoreses revealed 135 clear and stable bands with molecular weight ranging from 200 to 2500 bps. In average each primer yielded about 8 (3~9) bands per individual. The RAPD patterns demonstrated consistent polymorphisms according to population, species and genus. For *P. diminuta* 75% bands were commonly shared by the individuals within a population, suggesting the low genetic polymorphic level. Meanwhile, 7.5% bands were shared by the individuals among 4 populations of *O. japonica*. The percentage of the common bands among populations is much higher than the shared bands between *O. chinensis* and *O. japonica*, and no shared bands were observed among *P. diminuta*, *O. japonica* and *O. chinensis*. Shannon's index showed higher genetic diversity (2.693) within *O. chinensis*, and the genetic diversity of *O. japonica* (2.319) was close to *O. chinensis*, while *P. diminuta* had the lowest level (1.042). The dendrogram based on

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070112, 30170612); 山西省自然科学基金资助项目 (991096)

收稿日期: 2003-10-16; **修订日期:** 2004-03-20

作者简介: 张建珍 (1971~), 女, 山西五台人, 博士生, 讲师, 主要从事蝗虫分子系统学研究。E-mail: zjz@sxu.edu.cn

* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail: maenbo2003@sxu.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30070112, 30170612); Natural Science Foundation of Shanxi Province (No. 991096)

Received date: 2003-10-16; **Accepted date:** 2004-03-20

Biography: ZHANG Jian-Zhen, Ph. D. candidate, lecturer, mainly engaged in molecular systematics of Acridoidea. E-mail: zjz@sxu.edu.cn

Nei's genetic distance of RAPD markers was constructed using UPGMA and Neighbor-Joining, indicated high within-population similarities. The clustering followed the order of, first the individuals within a population, then the different populations of the same species, later the species of the same genus, and finally the species among genera. The four populations of *O. Japonica* fell into 2 branches, two geographically close populations both from Southern China were clustered into one branch, while the other two distant populations were grouped to another branch. The species of *O. japonica* then was clustered with *O. chinensis*, before clustered with *P. diminuta* finally. These data suggested that several implications. First RAPD is very useful as an effective molecular marker to distinguish the divergence in *Oxya* and its closed related genera. Second there seems to be a tendency of correlations between the genetic and geographic distance among the 4 different populations from the south to the north. Third, the RAPD similarity follows the order of individuals>populations>species>genera. Specifically, *O. chinensis* resembles more to *O. japonica* than to *P. diminuta*. The high uniformity in both RAPD and chromosomes in *P. diminuta*, along with its narrow distraction range, suggested the species a highly specialized group with close relationship to *Oxya*. The results of dendrogram based on RAPD markers are consistent with the previous conclusions of morphologic classification and cytotaxonomy.

Key words:*Oxya japonica*; *Oxya chinensis*; *Pseudoxya diminuta*; RAPD; genetic divergence

文章编号:1000-0933(2004)07-1399-07 中图分类号:Q961 文献标识码:A

日本稻蝗(*Oxya japonica*)与中华稻蝗(*Oxya chinensis*)同属直翅目(Orthoptera),斑腿蝗科(Catantopidae)。此两种蝗虫在我国广泛分布,多栖息于稻田等湿度较大的地方,危害禾本科植物,是农业生产上的重要害虫。赤胫伪稻蝗(*Pseudoxya diminuta* Walk)体形与稻蝗相似,分布于我国东南部省份^[1]。

稻蝗属种类分布广泛,其外部形态差异在有些已定名的种间不十分显著,往往难以判断,给分类带来一定的困难,而且对部分物种的鉴定往往存在争议^[2],需要利用分子生物学方法对分子性状进行鉴别分析,以确定其进化与亲缘关系。RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA,随机引物扩增多态性 DNA)技术自 20 世纪 90 年代发展以来,目前已成为检测 DNA 多态性的常规技术^[3,4],广泛应用于生物类群种属分类鉴定、遗传图谱构建、物种亲缘关系和种群遗传学等领域的研究^[5~9],在昆虫分子系统学研究中也广泛采用^[10~14]。

稻蝗属昆虫是农业生产上的重要害虫,了解其种群与物种间亲缘关系不仅具有理论意义,还可为稻蝗防治提供重要基础数据。本实验室多年来一直开展稻蝗细胞及分子系统进化研究,本文采用 RAPD 技术,通过对日本稻蝗、中华稻蝗和赤胫伪稻不同地理种群的基因组 DNA 带型的比较研究,以期在分子水平上探讨这些近缘物种的亲缘关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试昆虫 本实验所用蝗虫种类见表 1,所有标本均为野外采集,除西安、杭州标本为干制保存外,其余均为无水乙醇浸泡保存。

表 1 用于 RAPD 研究的蝗虫标本
Table 1 Grasshopper samples for the RAPD study

种名 Species	个体数 Numbers	采集地点 Sites	地理位置 Location	采集时间 Date	保存方式 Storage
日本稻蝗 <i>O. japonica</i>	8	广西南宁 Nanning, Guangxi	E108°30' N 22°54'	2001-09	无水乙醇固定 100%ethanol-fixed
日本稻蝗 <i>O. japonica</i>	12	广东广州 Guangzhou, Guangdong	E 113°12' N 23°	2002-09	无水乙醇固定 100%ethanol-fixed
日本稻蝗 <i>O. japonica</i>	5	陕西西安 Xian, Shannxi	E 108°54' N 34°25'	1993-08	干制标本 dry specimens
日本稻蝗 <i>O. japonica</i>	7	浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	E 120°6' N 30°27'	1996-09	干制标本 dry specimens
中华稻蝗 <i>O. chinensis</i>	8	山西临猗 Linyi, Shanxi	E 110°42' N 35°21'	2001-09	无水乙醇固定 100%ethanol-fixed
中华稻蝗 <i>O. chinensis</i>	8	河北平山 Pingshan, Hebei	E 114°24' N 38°18'	2002-08	无水乙醇固定 100%ethanol-fixed
赤胫伪稻蝗 <i>P. diminuta</i>	12	广东广州 Guangzhou, Guangdong	E 113°12' N 23°	2002-08	无水乙醇固定 100%ethanol-fixed

1.1.2 引物 本实验所用引物由上海生工生物工程技术有限公司合成,引物号及序列见表 2。

1.1.3 试剂及仪器 实验中所用 *Taq* DNA 聚合酶、dNTP 均为华美生物工程公司产品。基因扩增仪:PTC-200 型(美国, MJ Research, INC),凝胶成像系统:TMW-20Transilluminator (美国, DELL)。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 取蝗虫后足股节肌肉,100%乙醇固定标本用无菌三蒸水浸泡 48 h 以上,弃水;对于标本,用浸泡液(10 mmol/L Tris-HCl, 200 mmol/L EDTA, 50 mmol/L NaCl pH 8.0)浸泡 48 h 以上,弃去浸泡液,剪碎材料,加适量消化液于 55℃消化 8~12 h 以上,加饱和 NaCl,涡旋 30 s,10000 r/min 离心 30 min,转移上清,异丙醇沉淀 DNA,TE(pH 8.0)溶解后,于-20℃保存备用。

1.2.2 RAPD-PCR 扩增 本实验反应体系为 25 μl,其中模板 DNA 20~50 ng, 10×buffer 2.5 μl, Mg²⁺ 2~2.5 mmol/L, *Taq* DNA 聚合酶 1U, dNTP 0.2 mmol/L, 引物 0.4 μmol/L。反应条件为:94℃预变性 1 min 45 s;94℃变性 30 s,37℃退火 1 min 30 s,72℃延伸 2 min;45 个循环后,72℃延伸 10 min。

1.2.3 电泳检测 扩增产物用含有 EB(0.5 μg/ml)的 1.2%琼脂糖凝胶分离,电泳缓冲液为 0.5×TBE,取样品 DNA 10 μl 加入 2 μl 上样缓冲液,混匀后点入胶孔。标准分子量为 200 bp DNA Ladder (为华美生物工程公司提供),100V 恒压电泳 1.5 h,凝胶成像系统观察拍照。

1.2.4 数据分析 对凝胶成像系统记录的 RAPD 图片,根据 Marker 计算不同扩增片段的分子量大小。将每一引物扩增每一样品产生的每条带作为性状看待,当在某一样品中有该带出现时记为“1”,否则为“0”,形成二元数据。统计各引物的位点,应用 POPGENE (version 1.31)软件计算 Shannon 信息指数:

$$H = - \sum_{i=1}^k P_i \ln P_i$$

式中,*k* 为 RAPD 条带数,*P_i* 为第 *i* 条带在该种群出现的频率,*H* 为某引物的种群 RAPD 分化值。使用 Phyltools 6.0 计算 Nei's 相似系数和遗传距离,在 Mega 软件中分别用 UPGMA 和 NJ 法对距离矩阵作聚类分析,构建分子系统树。

2 结果

2.1 基因组 DNA 提取结果

本实验采用饱和氯化钠法,对无水乙醇浸泡保存标本和干制蝗虫标本进行了基因组 DNA 的提取。提取结果经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测显示 DNA 带型整齐,基本呈线形,无拖尾,说明 DNA 降解很少,较为完整;且 DNA 纯度和得率均较高(图 1)。

2.2 扩增结果

采用 10 条 10 bp 随机引物,对 3 种蝗虫不同种群个体的 DNA 进行扩增,共获得 135 条清晰、稳定的谱带。带型具有明显属种间多态性,扩增片段分子量大小为 200~2500bp,单个引物扩增的条带数在 11~16 之间,平均为 13 条。分析各物种带型特点发现,日本稻蝗和中华稻蝗种内共有带出现频率很低(分别为 7.5%和 9.8%),而赤胫伪稻蝗种内个体间共有带出现的频率较高(75%)。部分扩增结果见图 2、图 3。

2.3 遗传多样性

Shannon 信息指数显示:在同一物种中,不同种群由同一引物获得的遗传多样性(*H* 值)呈现差异(表 3),如中华稻蝗(引物 S823, *H*(山西临猗)=0.479, *H*(河北平山)=0),反映了引物对基因组 DNA 扩增片段的多态性,说明了不同种群基因组 DNA 的差异。若比较 3 个物种的平均遗传多样性,则发现中华稻蝗平均遗传多样性最高(2.693),日本稻蝗稍低(2.319),赤胫伪稻蝗最低(1.042)。由 Shannon 信息指数估算的种群间遗传分化指标见表 4,中华稻蝗 20.7%的变异存在于种群之间,79.3%的变异存在于种群之内,日本稻蝗 42.4%的变异存在于种群之间,57.6%的变异存在于种群之内。

2.4 遗传距离

Nei's 遗传距离(表 5)表明,中华稻蝗与日本稻蝗遗传距离较小(0.142),而它们与赤胫伪稻蝗的遗传距离最大(0.451)。在同一物种种群之间,遗传距离也有差异,如日本稻蝗的 Nei's 遗传距离为 0.08~0.16。

表 2 随机引物及序列

Table 2 List of sequence of arbitrary primers

引物号 Primer number	序列(5'-3') Sequence	引物号 Primer number	序列(5'-3') Sequence
S124	5'-GGT GAT CAG G-3'	S283	5'-ACA GCC TGC T-3'
S125	5'-CCG AAT TCC C-3'	S362	5'-GTC TCC GCA A-3'
S130	5'-GGA AGA TTG G-3'	S500	5'-TCG CCC AGT C-3'
S134	5'-TGC TGC AGG T-3'	S823	5'-CGC GTA CTT C-3'
S148	5'-TGA CCA CGG T-3	S960	5'-CTC CTG AGG C-3'

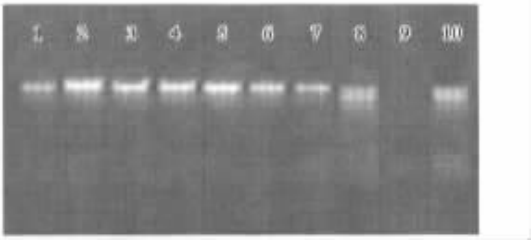


图 1 部分无水乙醇浸泡标本的总 DNA 凝胶电泳结果

Fig. 1 Agrose gel electrophoresis of genomic DNA of partial samples fixed in 100% ethanol

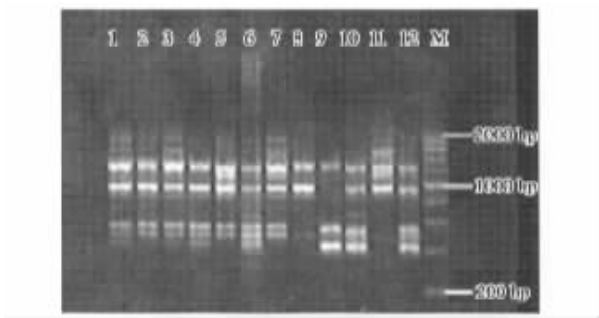


图 2 引物 S823 的扩增图谱

Fig. 2 RAPD profile of primer S823

1~12: 赤胫伪稻蝗 *P. diminuta*; M: 分子量标准 (200 bp DNA Ladder) Molecular marker(200 bp DNA Ladder)

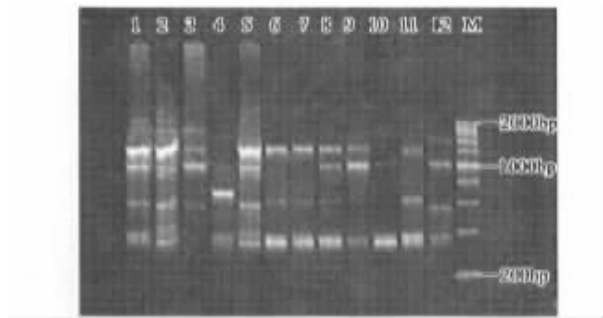


图 3 引物 S283 的扩增图谱

Fig. 3 RAPD profile of primer S283

1~5: 陕西西安日本稻蝗 *O. japonica* from Xi'an, Shaanxi 6~12: 浙江杭州日本稻蝗 *O. japonica* from Hangzhou, Zhejiang M: 分子量标准 (200 bp DNA Ladder) Molecular marker(200 bp DNA Ladder)

表 3 各种群各引物的 Shannon 信息指数

Table 3 Shannon's index detected with 10 primers for 7 populations

引物 Primer	中华稻蝗 <i>O. chinensis</i>			日本稻蝗 <i>O. japonica</i>				赤胫伪稻蝗 <i>P. diminuta</i>
	A	B	E	F	C	D		P
S124	5.748	3.909	2.840	1.638	1.208	1.173		0.0693
S283	1.118	1.906	1.267	3.099	2.216	1.076		0.394
S362	1.411	1.733	0.753	0.995	1.221	2.067		1.814
S960	0.479	1.96	2.208	4.399	2.597	2.939		1.023
S500	0.992	1.78	2.353	2.707	1.686	3.379		0
S823	0.479	0	0.788	1.068	0	0.862		2.368
S125	2.447	4.028	0.907	4.377	4.586	2.68		0
S134	4.241	4.199	2.729	3.606	2.664	2.865		1.476
S148	4.895	5.094	4.672	4.094	0.658	2.819		2.652
S130	3.525	3.928	2.44	1.87	3.467	3.778		0
Mean	2.533	2.854	2.096	2.785	2.03	2.364		1.042
	2.693			2.319				1.042

A 中华稻蝗(山西临猗)*O. chinensis* from Linyi, Shanxi; B 中华稻蝗(河北平山)*O. chinensis* from Pingshan, Hebei; C 日本稻蝗(陕西西安)*O. japonica* from Xi'an, Shaanxi; D 日本稻蝗(浙江杭州)*O. japonica* from Hangzhou, Zhejiang; E 日本稻蝗(广西南宁)*O. japonica* from Nanning, Guangxi; F 日本稻蝗(广东广州)*O. japonica* from Guangzhou, Guangdong; P 赤胫伪稻蝗(广东广州)*P. diminuta* from Guangzhou, Guangdong

2.5 聚类分析

基于 Nei's 遗传距离, 分别用 UPGMA 和 NJ 法对所有个体之间的关系进行聚类分析, 得出的聚类图基本相符(图 4, 图 5)。聚类结果显示同一种群的个体优先相聚, 然后 4 个不同种群的日本稻蝗分为两支, 广西南宁种群和广东广州种群聚为一支, 陕西西安种群和浙江杭州种群聚为另一支, 两支相聚后再与中华稻蝗聚在一起, 最后与赤胫伪稻蝗相聚。这些结果说明日本稻蝗种群间存在一定程度的分化, 且亲缘关系与地理距离呈现一定的相关趋势。同时, 稻蝗属的日本稻蝗、中华稻蝗种群差异小于种间差异, 与伪稻蝗属的赤胫伪稻蝗相比, 同属种间差异明显小于属间差异。表明 RAPD 是一种有效的遗传标记, 可用于稻蝗属及其近缘属种间亲缘关系的探讨。

3 讨论

3.1 RAPD 影响因素的分析讨论

随机引物扩增的稳定性和重复性受诸多因素的影响^[15], 其中 DNA 的质量对获得可靠的实验结果起着重要的作用^[16], 若 DNA 出现降解, 直接影响 PCR 扩增的稳定性和可重复性。实验中, 为获得高分子量 DNA, 作者在以往方法的基础上^[17, 18], 采用饱和 NaCl 法从蝗虫标本中提取 DNA 取得了很好的效果。该方法步骤简单, 提取过程便捷, 所提 DNA 完整、纯度高。对保存近 10a 的干标本, 首先采用高浓度 EDTA 软化, 后用饱和 NaCl 法同样获得了高分子量 DNA。为减少扩增过程中 Mg²⁺, Tag DNA 聚合酶等对结果的影响, 实验前, 首先确定各引物最优扩增体系, 在随后的检测中获得稳定结果。

3.2 遗传多样性与种群分化

Shannon 信息指数显示, 不同蝗虫在种群遗传分化上存在明显的差异, 这可能起因于各自所具有的遗传背景、生物学特性

表 4 由 Shannon 信息指数估算的种群间遗传分化

Table 4 Partitioning of the diversity among populations with 10 primers estimated by Shannon's diversity index								
引物 Primer	中华稻蝗 <i>O. chinensis</i>				日本稻蝗 <i>O. japonica</i>			
	H_{pop}	H_{sp}	H_{pop}/H_{sp}	$(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$	H_{pop}	H_{sp}	H_{pop}/H_{sp}	$(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$
S124	4.828	5.625	0.858	0.142	1.715	2.477	0.692	0.308
S283	1.512	2.192	0.690	0.310	1.914	3.529	0.542	0.458
S362	1.572	2.014	0.781	0.219	1.259	1.996	0.631	0.369
S960	1.219	1.559	0.782	0.218	3.036	4.507	0.674	0.326
S500	1.386	1.545	0.897	0.103	2.531	4.804	0.527	0.473
S823	0.239	0.285	0.839	0.161	0.680	1.392	0.488	0.512
S125	3.237	5.165	0.627	0.373	3.137	5.549	0.565	0.435
S134	4.220	5.705	0.740	0.260	2.966	6.394	0.464	0.536
S148	4.994	5.762	0.867	0.133	3.061	5.996	0.510	0.490
S130	3.726	4.398	0.847	0.153	2.889	4.304	0.671	0.329
Mean	2.693	3.425	0.793	0.207	2.319	4.095	0.576	0.424

H_{pop} : 种群内遗传多样性 The average genetic diversity within-population; H_{sp} : 总种群遗传多样性 Total genetic diversity; H_{pop}/H_{sp} : 种群内遗传多样性所占的比例 Proportion of genetic diversity within-population; $(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$: 种群间遗传多样性所占的比例 Proportion of genetic diversity among populations

表 5 种群间的遗传距离

Table 5 Nei's genetic distance(below diagonal) of populations							
种群 Population	A	B	E	F	C	D	P
A	* * * *	0.9471	0.8642	0.8695	0.8435	0.8666	0.684
B	0.0543	* * * *	0.8629	0.8881	0.8608	0.8864	0.6504
E	0.1459	0.1475	* * * *	0.8928	0.8556	0.8827	0.6248
F	0.1399	0.1186	0.1134	* * * *	0.8704	0.898	0.6151
C	0.1702	0.1499	0.1559	0.1388	* * * *	0.923	0.6329
D	0.1432	0.1206	0.1248	0.1075	0.0802	* * * *	0.6181
P	0.3798	0.4302	0.4703	0.486	0.4574	0.4811	* * * *

* 种群代号同表 3 See table 3 for explanation of population code

以及生态环境条件对其遗传结构的影响。本文研究的 3 种蝗虫中,赤胫伪稻蝗为我国伪稻蝗属中仅有的一种,主要分布于我国长江以南地区,分布范围较窄,其种群遗传多样性在 3 种蝗虫中最低(1.042);中华稻蝗种群多样性最丰富(2.693),中华稻蝗在我国分布广泛,除新疆、西藏等少数省区外,大多数地区均有分布,由于生态和地理环境的不同,生活于不同地区的中华稻蝗在形态上具有不同程度的差异,中华稻蝗自然种群内的高度变异已用等位酶为标记进行分析,该种内多数位点等位基因分布丰富,多态位点百分率和平均杂合度观测值普遍偏高^[19]。中华稻蝗、日本稻蝗种内不同种群间出现明显的遗传分化,分化系数分别为 20.7%,42.4%,即中华稻蝗 20.7%的变异存在于种群之间,79.3%的变异存在于种群之内,日本稻蝗 42.4%的变异存在于种群之间,57.6%的变异存在于种群之内。中华稻蝗,日本稻蝗的分布依赖于有水的栖息环境,且飞翔能力较弱,不作远距离迁飞,这些生态习性有助于种群间的隔离,因而产生种群差异^[20]。

从分子系统树中可以看出,采自 4 个不同地区的日本稻蝗被分为两个聚类簇,广西南宁日本稻蝗与广东广州日本稻蝗亲缘关系最近,优先聚为一簇,陕西西安种群与浙江杭州种群聚为另一簇。从所处的地理位置看,广东广州和广西南宁处于中国的最南部,分别位于北纬 23°和 22°54',陕西西安与浙江杭州位于北纬 34°25'和 30°27',广东、广西与陕西、浙江在地理距离上存在较大跨度,生态环境也有较大差异,导致它们在遗传结构上发生相应的变化,说明不同地域日本稻蝗之间的遗传距离与地理距离之间存在相关趋势。这种趋势与以往用等位酶^[21]、RAPD^[22]为分子标记分析山西省不同居群中华稻蝗得出的结果相似,用 RAPD 为标记分析植物种群的遗传结构中也曾发现遗传距离与地理距离之间的这种相关趋势^[23]。

3.3 种间关系

本文研究的 3 种蝗虫中,日本稻蝗和中华稻蝗同属于稻蝗属,赤胫伪稻蝗属于伪稻蝗属。就形态特点来看,日本稻蝗和中华稻蝗极为相似,均为稻蝗属中体型较大的个体。伪稻蝗属形态上与稻蝗属相似,1910 年曾有学者将其归入稻蝗属,1975 年, Hollis 根据其相似于卵翅蝗的若干特点,将其归入卵翅蝗属中。印象初等^[24]根据其本身形态特点将其独立为一属,该属蝗虫体型较小,雄性腹部末节板具小尾片,阳具基背片具锚状突,而稻蝗属昆虫雄性腹部末节板无尾片,阳具基背片不具锚状突。伪稻蝗属在我国已知 1 种,即赤胫伪稻蝗,后足胫节珊瑚红色为该种蝗虫的一大特征。染色体带型分析显示日本稻蝗 L2 染色体具亚端部居间带及端带,而中华稻蝗该染色体仅具端带^[24],赤胫伪稻蝗 L2 染色体具一强染近着丝粒居间带^[25]。从核仁组成区(NOR)定位情况来看,伪稻蝗属 NOR 定位于 M8 染色体居间区,稻蝗属 NOR 定位于 M8 染色体近着丝粒处和 S10 染色体居间区^[26]。分析 RAPD 图谱发现,中华稻蝗和日本稻蝗的种间共有带出现的频率较低(2.5%),种间 Nei's 遗传距离平均为

0.142,而赤胫伪稻蝗与中华稻蝗、日本稻蝗之间无共有条带出现,属间遗传距离平均为 0.451,聚类结果显示中华稻蝗的两个种群与日本稻蝗的 4 个种群首先各自相聚,而后,同一属的中华稻蝗、日本稻蝗相聚,最后与近缘属种赤胫伪稻蝗相聚,表明日

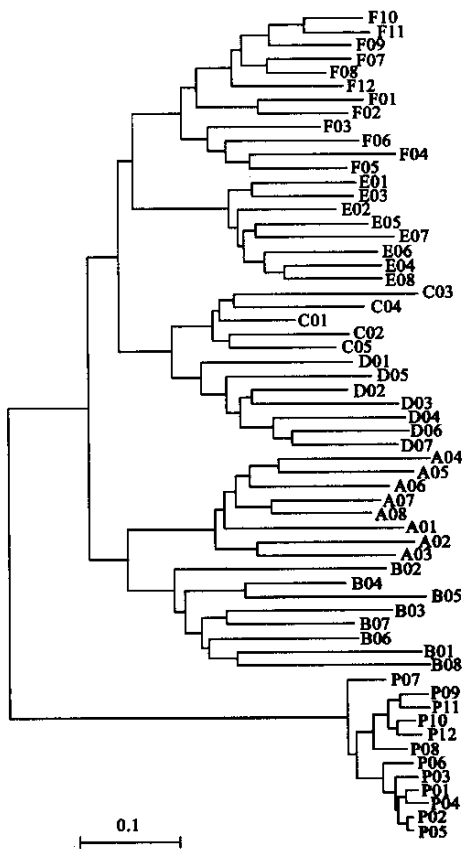


图 4 用 NJ 法构建中华稻蝗,日本稻蝗和赤胫伪稻蝗所有个体间的遗传关系(种群代号同表 3)

Fig. 4 Dendrogram of *O. japonica*, *O. chinensis* and *P. diminuta* based on a pair-wise distance matrix formed using Nei's distance of RAPD marker and clustered using neighbor-joining(See table 3 for explanation of population code)

本稻蝗和中华稻蝗亲缘关系较近,而它们与赤胫伪稻蝗相距较远,基于 RAPD 标记的聚类分析基本符合形态学、细胞学等的研究结果:即属间遗传距离大于种间遗传距离,种间遗传距离又大于同一种不同种群间的遗传距离。

RAPD 技术多用于探讨居群和近缘属种的遗传分化^[8,9,11,23],本研究通过对稻蝗属及其近缘的伪稻蝗属基因组 RAPD 带型的比较分析,结果表明 RAPD 可以作为有效的遗传标记用于稻蝗属与近缘属间、稻蝗属种间及种下(种群之间)遗传结构分析和亲缘关系的探讨。通过研究更多的种群和物种,可以获得更多的分子水平的数据,对研究中国稻蝗的种群和种间分化具有理论意义,同时了解不同种群遗传结构特点的基础上,对稻蝗防治有指导作用。

References:

[1] Zheng Z M. *Taxonomy of Acridoidea*. Xi'an: Shaanxi Normal University Press, 1993.
[2] Hollis D. A Preliminary Revision of the Genus *Oxya* Audient-Serville (Orthoptera: Acridoidea). *Bulletin of British Museum (Natural History) Entomology*, 1971, **26**: 269~343.
[3] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful Genetic markers. *Nucl. Acids Res.*, 1989, **17**: 6531~6535.
[4] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.*, 1990, **18**: 7214~7218.

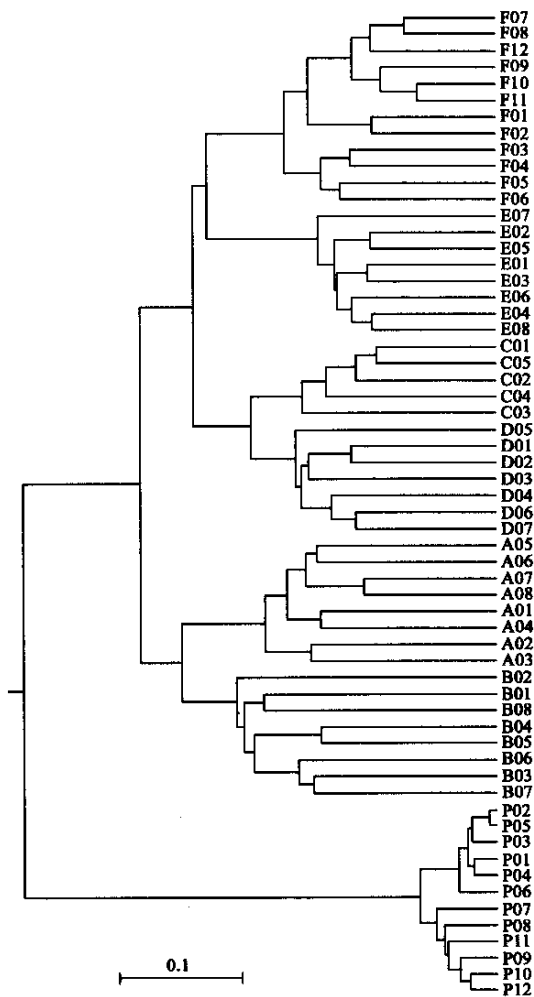


图 5 用 UPGMA 法构建中华稻蝗,日本稻蝗和赤胫伪稻蝗所有个体间的遗传关系(种群代号同表 3)

Fig. 5 Dendrogram of *O. japonica*, *O. chinensis* and *P. diminuta* based on a pair-wise distance matrix formed using Nei's distance of RAPD marker and clustered using UPGMA (See table 3 for explanation of population code)

- [5] Puterka G J, Black W C, Steiner W M, *et al.* Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. *Heredity*, 1993, **70**: 604~618.
- [6] Apostol B I, Black W C, Reiter P. Population genetics with RAPD-PCR markers: the breeding structure of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. *Heredity*, 1996, **76**:325~334.
- [7] Richie M G, Racey S N, Gleason J M. Variability of the bushcricket *Ephippiger ephippiger*: RAPD and song races. *Heredity*, 1997, **79**: 286~294.
- [8] Zhang Y J, Yang C. An analysis of the genetic diversity of populations endemic species *Tetraena mongolica* maxim. (Zygophyllaceae) by RAPD in ORDS plateau, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **22**(11):1917~1922.
- [9] Cui J Z, Zu Y G, Nie J C. Genetic differentiation in *Leymus chinensis* populations revealed by RAPD marker II. Statistics analysis, *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **22**(7):982~989.
- [10] Chapco W, Ashton N W, Martel R K B, *et al.* A feasibility study of the use of random amplified polymorphic DNA in the population genetics and systematics of grasshoppers. *Genome*, 1992, **35**:569~574.
- [11] Chu J, Howard D J. Gene exchange in a ground cricket hybrid zone. *Journal of Heredity*, 1995, **86**:17~21.
- [12] Tian Y F, Zheng Z M. Genomic DNA polymorphisms in seven species of crickets. *Acta Entomological Taxonomy Sinica*, 2001, **23**(4): 248~252.
- [13] Zheng Z M, Wang G L, Huang Y. Comparison of RAPD patterns variations in 11 species of Catantopidae. *Acta Zoologica Sinica*, 2001, **47**(4):367~370.
- [14] Zhang J Z, Ma E B, Guo Y P. Molecular phylogenetic relationships among species in *Oxya* Serville(Orthoptera: Catantopidae) based on random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Acta Genetica Sinica*, 2003, **30**(6):533~539.
- [15] Black IV W C, Dutear N M, Puterka G J. Use of random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphisms in aphids. *Bull. Ent. Res.*, 1992, **82**:151~159.
- [16] Micheli M R, Bova R, Pascate E, *et al.* Reproducible DNA fingerprinting with the amplified polymorphic DNA (RAPD) method. *Nucl. Acids Res.*, 1994, **22**(10):1921~1922.
- [17] Wang Y Q, Wang X G, Xu L X, *et al.* A New Rapid Method for Extraction of High Quality of Genomic DNA from Animal Tissues. *Chinese Journal of Zoology*, 2001, **36**(1):27~29.
- [18] Salah M A, Iciar M. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucl. Acid. Res.*, 1997, **25**(22):4692~4693.
- [19] Li C X, Ma E B, Zheng XY. Genetic differentiation of different populations of four locust species in China. *Acta Genetica Sinica*, 2003, **30**(3): 234~244.
- [20] Wang H C, Wang Q C. Comparison of *O. chinensis* from Changan and Hanzhong Shaanxi. *Acta Entomologica Sinica*, 1997, **40**(4):374~378.
- [21] Han Y, Duan Y H, Ma E B, *et al.* Genetic structure of three populations of *Oxya chinensis* in Shanxi, China. *Zoological Research*, 2002, **23**(1):76~80.
- [22] Zhang J Z, Ren L, Guo Y P, *et al.* Genetic relationships of five populations of *Oxya chinensis* in Shanxi Province and adjacent region based on RAPD. *Acta Genetica Sinica*, 2004, **31**(2):159~165.
- [23] Gauer L G, Cavalli-Molina S. Genetic variation in natural populations of maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Aquifoliaceae) using RAPD markers. *Heredity*, 2000, **84**:647~656.
- [24] Yin X C, Liu Z W. A new subspecies and a new genera of Catantopidae. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 1987, **12**(1):66~72.
- [25] Ma E B, Guo Y P, Ren Z M, *et al.* The chorosomal C-banding karyotype in different populations of *Oxya agavisa* in China. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2002, **27**(2):252~59.
- [26] Ma E B, Guo Y P. The cytotaxonomy of *Pseudoxya* and its relative genera. *Acta Entomologica Sinica*, 1995, **38**(1):54~60.

参考文献:

- [1] 郑哲民. 蝗虫分类学. 西安:陕西师范大学出版社, 1993.
- [8] 张颖娟, 杨持. 中国特有种四合木种群遗传多样性的 RAPD 分析. 生态学报, 2002, **22** (11): 1917~1922.
- [9] 崔继哲, 祖元刚, 聂江城. 羊草种群遗传分化的 RAPD 分析 II. RAPD 数据的统计分析. 生态学报, 2002, **22** (7): 982~989.
- [12] 田英芳, 郑哲民. 七种蟋蟀基因组 DNA 的 RAPD 多态性研究. 昆虫分类学报, 2001, **23** (4): 248~252.
- [13] 郑哲民, 汪桂玲, 黄原. 斑腿蝗科 11 种蝗虫 RAPD 带型的变异. 动物学报, 2001, **47** (4): 367~370.
- [14] 张建珍, 马恩波, 郭亚平. 稻蝗属部分种类 RAPD 及其分子系统学关系. 遗传学报, 2003, **30** (6): 533~539.
- [17] 汪永庆, 王新国, 徐来祥, 等. 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进. 动物学杂志, 2001, **36** (1): 27~29.
- [19] 李春选, 马恩波, 郑先云. 中国 4 种蝗虫不同种群的遗传分化. 遗传学报, 2003, **30** (3): 234~244.
- [20] 王海川, 王清川. 陕西长安和汉中两地中华稻蝗比较. 昆虫学报, 1997, **40** (4): 374~378.
- [21] 韩焱, 段毅豪, 马恩波, 等. 中华稻蝗三种群遗传结构分析. 动物学研究, 2002, **23** (1): 76~80.
- [22] 张建珍, 任俐, 郭亚平, 等. 山西省及邻近地区中华稻蝗五种群 RAPD 及其亲缘关系. 遗传学报, 2004, **31** (2): 159~165.
- [24] 印象初, 刘志伟. 中国斑腿蝗科一新亚种及一新属新种记述. 动物分类学报, 1987, **12** (1): 66~72.
- [25] 马恩波, 郭亚平, 任竹梅, 等. 山稻蝗不同地域种群染色体 C 带核型研究. 动物分类学报, 2002, **27** (2): 252~259.
- [26] 马恩波, 郭亚平. 中华稻蝗及其近缘属的细胞学分类. 昆虫学报, 1995, **38** (1): 54~60.