

茶园黑刺粉虱 (*Aleurocanthus spiniferus*) 种群的 RAPD 多样性

付建玉 韩宝瑜 *

(中国农业科学院茶叶研究所 ,农业部茶叶化学工程重点实验室 杭州 310008)

摘要 :用 RAPD 技术对华东地区 7 个茶园的黑刺粉虱种群进行遗传结构分析。从 40 个随机引物中筛选出 9 条具特异性的引物 ,扩增出 248 条长度约为 200 ~2000 bp 的 DNA 条带 ,其中 199 条多态性条带 ,多态性为 80.24 %。经 Popgene 软件分析 ,黑刺粉虱种群平均水平的多态位点百分比 (PPL) 为 48.33 % ,Nei 's 基因多样性 (HE) 为 0.2910 ,Shannon 's 多态性信息指数 (H) 为 0.4442 ,表明黑刺粉虱种群遗传多样性丰富 ,各种群间遗传分化程度 (G_{st}) 较高 ,达 0.3749 ,其中 PPL 以福建武夷山区的九龙山种群 (JLS) 最高 ,达 77.42 % ,其次为安徽九华山种群 (JHS) 的 65.73 % ,而且两种群的 HE , H 等遗传指标均较高。以 NTSYSpc 软件包 ,基于 Nei 's 遗传距离对昆虫个体进行 UPGMA 和 NJ 法聚类分析 ,构建分子系统树 ,并进行多维标度分析 (MDS) 。系统树显示 ,同一种群的个体优先聚类 ,遗传相似度高的种群依次聚类。多维标度分析也显示 ,浙江杭州、富阳和绍兴 3 种群集中分布 ,安徽宣城种群靠近该 3 种群 ,而九华山种群则与武夷山区的九龙山种群聚拢 ,福建金山种群独立成簇。多维标度分析与聚类分析结果一致。认为粉虱种群间的遗传距离与地理距离之间存在相关性 ,两个山地种群的多样性有别于其它种群 ,是因为山地环境和气候引起粉虱适应性的生态地理分化。

关键词 :RAPD ;黑刺粉虱 ;遗传多态性 ;种群 ;茶园

文章编号 :1000-0933 (2007) 05-1887-08 中图分类号 :Q786 .Q968 文献标识码 :A

A RAPD analysis on genetic diversity of populations of *Aleurocanthus spiniferus* from seven tea gardens in eastern China

FU Jian-Yu , HAN Bao-Yu *

Key Laboratory of Tea Chemical Engineering of Ministry of Agriculture , Tea Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences , Hangzhou 310008 , China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (5) 1887 ~ 1894.

Abstract : Nymphs of citrus spiny whitefly , *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) , were collected from seven tea gardens , located in Hangzhou , Fuyang and Shaoxing in Zhejiang Province , Xuancheng and Jiuhuashan in Anhui Province , and Jiulongshan of Wuyishan Mountains and Jinshan of Fuzhou in Fujian Province , respectively. The genetic diversity of the seven populations was assessed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) techniques. Genomic DNA of the samples was amplified by nine specific primers (10 bp) screened from 40 random primers , and the products were separated by polyacrylamide gel , resulting in 248 clear and stable bands ranging from 200 to 2000 bps , 199 of which were polymorphic bands , i. e. the polymorphism was 80.24 % . Analyzed by Popgene software , the average percentage of polymorphic loci

基金项目 :中国农业科学院首批杰出人才科研基金项目 (2002-382) 浙江省青年人才培养专项基金资助项目 (R304451)

收稿日期 2006-08-20 ;修订日期 2007-03-12

作者简介 :付建玉 (1978 ~) 男 ,山东青岛人 ,硕士 ,主要从事分子生物学研究。E-mail :mybatigoal@mail.tricaas.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail :han-insect@263.net

Foundation item :The project was financially supported by a grant from the research foundation for outstanding scholars of CAAS (No. 2002-382) , and a grant from youth talent training project of Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. R304451)

Received date 2006-08-20 ; **Accepted date** 2007-03-12

Biography :FU Jian-Yu , Master , mainly engaged in molecular biology. E-mail :mybatigoal@mail.tricaas.com

(*PPL*) in *A. spiniferus* was 48.33 % ,*Nei's* genetic diversity (*HE*) was 0.2910 , and *Shannon's* information index (*H*) was 0.4442 , which indicated a high level of genetic diversity in seven populations ; there was also a high value of differentiation (*Gst* = 0.3749) among the populations. The Jiulongshan population (JLS) had the greatest percentage of *PPL* , whose value is 77.42 % , followed by Jiuhuashan population (JHS) (65.73 %) ; furthermore , the two populations had greater *Nei's* genetic diversity (*HE*) , *Shannon's* information index (*H*) and other genetic indices than the other five populations. Using the software NTSYSpc , based on *Nei's* genetic distance , the cluster analysis , the dendrogram analysis and the multi-dimensional scaling analysis (MDS) for all of the sampled whitefly individuals and populations were constructed. The results showed that the individuals from the same population clustered together first , then the populations with high genetic similarity clustered in sequence. Multi-dimensional scaling analysis also showed that Hangzhou , Fuyang and Shaoxing populations mustered , and the Xuancheng population was close to them. Jiulongshan population and Jiuhuashan population composed a group , while the Jinshan population displayed as a separate group. This suggests that the genetic distance between whitefly populations may be related geographical distance. The genetic diversity of two mountainous populations differ from those of other populations , for the adaptive ecogeographic differentiation of whitefly populations that is brought by the mountainous environments and climate.

Key Words : RAPD ; *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) ; genetic diversity ; population ; tea garden

近些年对优势物种遗传多样性的研究增多 ,以便恰当地管理这些物种。黑刺粉虱 (*Aleurocanthus spiniferus*)是全国性重要茶树害虫 ,以幼虫定居于茶叶背面刺吸汁液 ,成、幼虫均排泄蜜露 ,落于下面的叶片上孳生茶霉病菌 ,影响光合作用。其繁殖力较强 ,栖息荫蔽 ,虫口累积至一定阈值时逢适宜的环境条件则骤增 , 20 世纪 60 年代以来间歇性在我国茶区暴发^[1] ,尚未明了其暴发机理。在我国茶区一般 1 年 4 代 ,在广东和福建省的部分地区 1 年 5 代。其生物生态学学习性、发生和防治等有较多报道 ,未见遗传多样性和遗传分化的研究。本研究采集我国主要产茶省浙江、安徽和福建 7 个黑刺粉虱茶园种群进行 RAPD 研究 ,比较不同地理种群的遗传多样性 ,剖析其适应特定生态地理条件的分子机理 ,为阐明黑刺粉虱遗传变异的成因提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 供试虫源

浙江、安徽和福建是我国传统产茶大省 ,茶园面积大、产值高 ,黑刺粉虱为害重 ,遂采样于该三省。其中 ,杭州是名茶西湖龙井原产地、富阳和绍兴皆是浙江省主要茶叶产区。安徽茶园主要分布在长江以南的丘陵地区和山区 ,宣城和九华山分别是丘陵和山区代表产地。福建省主产乌龙茶 ,武夷山区是主要产区之一 ,金山滨临东海 ,代表滨海茶区的一些特征 ,根据茶区分布特点选择了这 7 个地理种群。由于 89.19 % 的黑刺粉虱幼虫定居于茶丛中、下层叶背^[1] ,成虫纤弱 ,不善飞翔 ,种群扩散潜能弱 ,选此迁移能力弱小的茶园虫为供试昆虫 ,以探讨种群间遗传距离与地理距离的关系。

7 个采样点均属亚热带湿润气候 ,年平均气温 13 ~ 20℃ ,雨量丰富。茶树树龄皆 30a 左右 ,当地群体种 ,老茶园 ,单行条植 ,面积 0.5 ~ 1.0 hm² ,但茶园环境有差异。九华山种群、武夷山区的九龙山种群采自高山茶园 ,茶园四周林木环绕植被丰富 ,多雾 ,湿度大 ,光照时间短。杭州、富阳和绍兴种群都采自丘陵茶园 ,茶园四周种有行道树。宣城种群也采自丘陵茶园 ,茶园四周植物贫乏。福州市金山种群采于丘陵茶园 ,周围有热带林木 ,如桉树和相思树等。采样时间和地点如表 1 和图 1 ,粉虱样本浸泡于无水乙醇 , - 20℃ 保存备用。

1.2 仪器和试剂

德国 Biometra PCR 扩增仪 ,德国 Sigma 公司 3K-15 型高速冷冻离心机 ,美国 Bio-Rad 电泳仪和 Alpha 凝胶成像系统。随机引物由上海博亚公司合成 ,蛋白酶 K 由德国 Merck 公司提供 ,Taq DNA 聚合酶由上海赛百盛生物技术公司提供 ,dNTPS 为 Roche 公司产品 ,DNA Marker 由大连宝生物公司提供 ,RNaseA 为 Sigma 公司产

品 ,DNA 纯化试剂盒为安徽优晶生物工程公司产品 ,其他试剂为进口或国产 AR 级产品。

1.3 基因组 DNA 的提取和纯化

昆虫基因组 DNA 的提取采用基于 Skoda 改进的方法 [2]。具体过程如下 :将保存的单个黑刺粉虱虫体自然风干 ,用 tip 头捣碎后加入 0.5 ml 裂解缓冲液 [Lysis buffer (100 mmol/L Tris-HCl ,5 mmol/L EDTA ,0.5 (SDS 200 mmol/L NaCl ,pH 8.0)] ,再加入 5 μl 的蛋白酶 K (20 μg/μl) ,55℃ 水浴消化过夜。用等体积的酚 : 氯仿 : 异戊醇 (25 : 24 : 1) 和氯仿 : 异戊醇 (24 : 1) 各抽提一遍 ,4℃ 下 12000 r/min 离心 10 min 分层 ,上清液用 2 倍体积的无水乙醇并加入 1/10 体积的 NaAc (3 mol/L) 于 -20℃ 沉淀 30 min ,4℃ 下 12000 r/min 离心 10 min ,DNA 沉淀用 70 % 乙醇洗涤后干燥 ,加无菌去离子水 (含 RNaseA) 100 μl ,基因组 DNA 经试剂盒纯化后加入 60 μl TE 缓冲液 ,经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测后 ,于 -20℃ 保存。

1.4 PCR 反应体系与条件

扩增反应总体系 20 μl ,0.5 μl 模板 DNA ,1.5 μl Taq DNA 聚合酶 (1.5 U) ,2.0 μl PCR 10 × buffer (Mg²⁺) 0.5 μl dNTPS (10 mmol/L) ,随机引物 1 μl (5 μmol/L) ,加无菌去离子水至 20 μl。扩增反应的条件为 94℃ 下预变性 3 min ,然后 94℃ 变性 30 s ,37℃ 退火 1 min ,72℃ 延伸 90 s ,共进行 40 个循环 ,最后在 72℃ 再延伸 10 min ,每次 PCR 反应均设不含 DNA 模板的空白对照。PCR 产物取 8 μl 上样 ,经 6 % 聚丙烯酰胺电泳后银染 ,在凝胶成像仪中检测并拍照 ,记录电泳图谱。

1.5 随机引物的筛选

依据优化的 PCR 反应条件 ,将所有黑刺粉虱的混和 DNA 做模板 ,筛选出清晰稳定条带的随机引物 9 个 ,所选引物序列如表 2 所示。

1.6 数据处理和分析

所有随机引物均重复一次 ,只记录重复出现的条带 ,进行数据统计。在 RAPD 分析中 ,电泳图谱中的每一条带作为一个分子标记 (性状) ,它代表了模板上与引物互补的一对结合位点 ,迁移率相同的条带视为同源位点。所有模板都具有的带为公共带 ,表示无多态性 ,其余为多态性条带。对于扩增条带 ,强反应带记 “1” ,弱反应带重复出现记 “1” ,没有条带记 “0” ,将 0/1 矩阵输入计算机。运用 Popgen 3.2 软件分别对 7 个种群进行多态性位点百分比 (PPL)、观测等位基因数 (A_o)、有效等位基因数 (A_e)、Nei's 基因多样性 (H_E)、Shannon's 多态性信息指数 (H)、种群总基因多样性度 (H_t)、种群内基因多样性度 (H_s)、各种群间遗传

表 1 黑刺粉虱采样地

Table 1 Sample plots of <i>Aleurocanthus spiniferus</i>		
采样地点 Sample plots	经纬度 Longitude & latitude	取样时间 Sample time
浙江杭州 Hangzhou (HZ) , Zhejiang	E 120°19' , N 30°26'	2005-07
浙江富阳 Fuyang (FY) , Zhejiang	E 119°95' , N 30°07'	2005-09
浙江绍兴 Shaoxing (SX) , Zhejiang	E 120°88' , N 30°01'	2005-06
安徽宣城 Xuancheng (XC) , Anhui	E 118°73' , N 31°95'	2005-10
安徽九华山 Jiuhuashan (JHS) , Anhui	E 117°47' , N 30°29'	2005-10
福建九龙山 Jiulongshan (JLS) , Fujian	E 118°02' , N 27°46'	2005-04
福建金山 Fuzhou (JS) , Fujian	E 119°18' , N 26°05'	2005-11

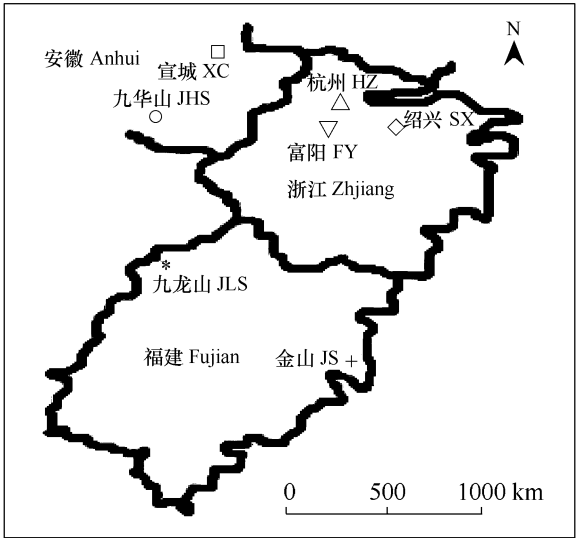


图 1 黑刺粉虱采样地点

Fig. 1 Map showing sample plots of *Aleurocanthus spiniferus*

表 2 所用 9 个随机引物的序列

Table 2 DNA sequence of nine random primers for RAPD			
引物 Primer	序列 Sequence (5'-3')	引物 Primer	序列 Sequence (5'-3')
OPD-03	GTCGCCGTCA	OPX-04	CCGCTACCGA
OPD-08	GTGTGCCCCA	OPX-06	ACGCCAGAGG
OPD-11	AGCGCCATTG	OPX-19	TGGCAAGGCA
OPP-08	ACATCGCCCA	S4	GGACTGGAGT
OPP-11	AACGCGTCGG		

分化指数 (G_{st})、Nei's 遗传距离 (D)和遗传一致度 (I)等各类遗传参数分析^[3-6];并根据 Nei's 总基因多样性 (H_t)和种群内基因多样性 (H_s)的分布,计算不同种群之间的遗传分化指数 G_{st} ($G_{st} = 1 - H_s / H_t$)^[7]。基于 Nei's 遗传距离,利用 NTSYSpc 2.1 软件包对分别进行 UPGMA 聚类分析,构建分子系统树,并进行多维标度分析 (Mult-dimensional scaling analysis, MDS)^[5]。

2 结果与分析

2.1 DNA 多态性分析

所选 9 个引物对黑刺粉虱 7 个种群 35 份个体进行 RAPD-PCR 扩增,共扩增出 248 条 RAPD 谱带,其中共同带 49 条,多态位点 199 个,平均每个引物,扩增 DNA 条带 27.6 条,出现多态性条带 22.1 条,扩增的位点数最多时为 31 条,最少时为 25 条;多态性为 80.24%。部分引物扩增结果见 (图 2,3)。

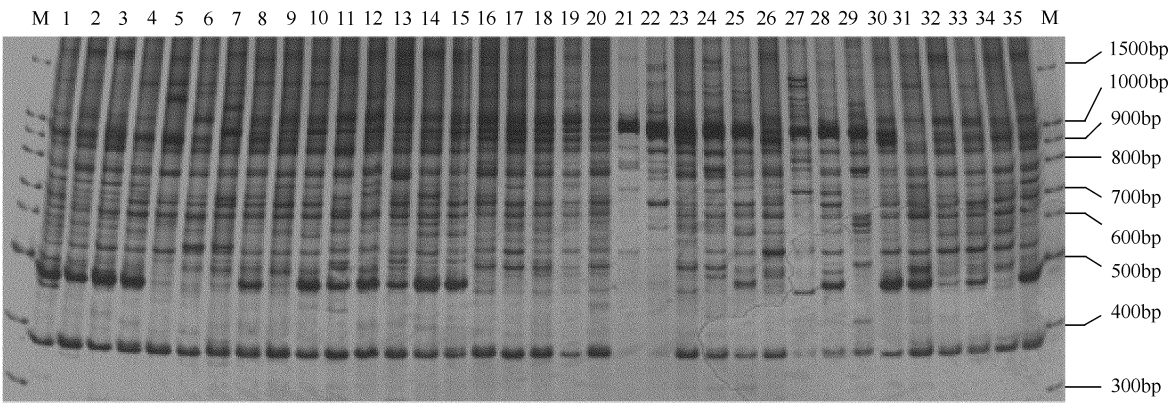


图 2 引物 OPD-03 扩增图谱

Fig. 2 RAPD profile of primer OPD-03

1~5: 杭州 HZ; 6~10: 富阳 FY; 11~15: 绍兴 SX; 16~20: 宣城 XC; 21~25: 九华山 JHS; 26~30: 九龙山 JLS; 31~35: 金山 JS;
M: 分子量标准 Molecular marker

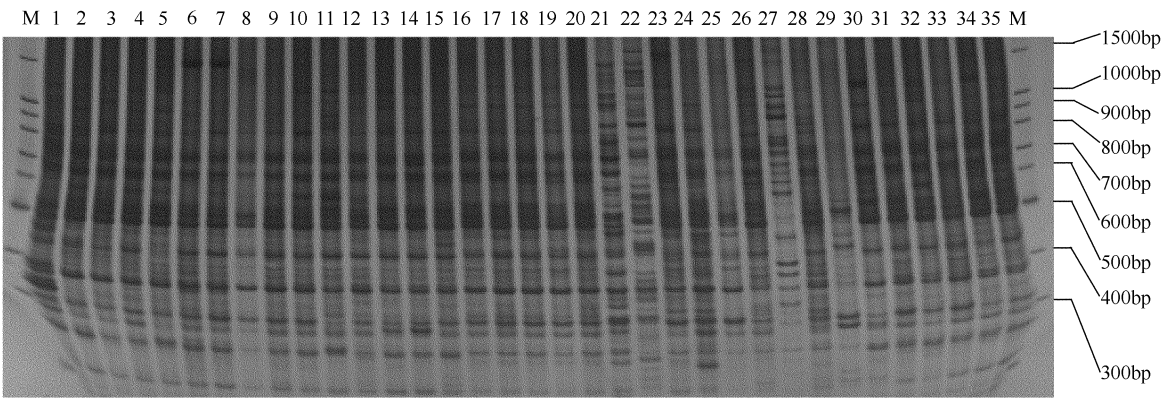


图 3 引物 OPD-08 扩增图谱

Fig. 3 RAPD profile of primer OPD-08

1~5 杭州 HZ; 6~10: 富阳 FY; 11~15: 绍兴 SX; 16~20: 宣城 XC; 21~25: 九华山 JHS; 26~30: 九龙山 JLS; 31~35: 金山 JS;
M: 分子量标准 Molecular marker

7 个黑刺粉虱种群各类遗传多样性参数平均水平为 $PPL = 48.33\%$, $A_o = 1.9597$, $A_e = 1.4879$, $HE = 0.2910$, $H = 0.4442$ (表 3)。福建九龙山种群 (JLS) 的多态位点百分比 PPL 最高, 达到 77.42%, 其次为安徽九华山种群 (JHS) 65.73%, 浙江富阳 (FY) 和安徽宣城 (XC) 居中, 而浙江杭州 (HZ)、福建金山 (JS) 和浙江绍兴 (SX) 的 PPL 最低, 36.29%~37.50%。Nei's 基因多样性和 Shannon's 信息指数以 JLS 种群最高, 分别

达 0.2859 和 0.4242 ;JHS 种群次之 ,分别为 0.2487 和 0.3674 ;JS 种群最低 ,仅为 0.1345 和 0.1992。其他各遗传多样性指标也均以福建九龙山种群 (JLS)和安徽九华山种群 (JHS)较高。Shannon 's 多态性信息指数 (H)与 Nei 's 遗传多样性 (HE)及 PPL 在各种群中的变化趋势一致。

2.2 种群间遗传分化

黑刺粉虱种群总基因多样性 (H_t)为 0.2910 ,种群内基因多样性 (H_s)为 0.1819 ,种群间遗传分化指数 ,即 37.49 % 的变异存在于种群之间 ,说明各黑刺粉虱种群间存在较大的遗传变异 ,种群内变异占 62.51 %。

2.3 种群间遗传距离与遗传相似性

7 个种群中 ,以富阳 (FY)和绍兴 (SX)种群间遗传相似性最大 ($I = 0.9103$) ,遗传距离就相应地最小 ($D = 0.0940$) (表 4)。九华山 (JHS)与金山 (JS)和绍兴 (SX)两种群间的遗传相似性最小 ($I = 0.8327$) ,遗传距离最大 ($D = 0.1830$,1831)。富阳和绍兴两地的距离相对较近 ,气候环境等因素也较一致 ,与遗传一致度呈正相关。九华山与福建金山和绍兴两地的距离差异大 ,遗传距离也大。

表 3 黑刺粉虱种群间遗传多态性
Table 3 Genetic diversity of various populations of *Aleurocanthus spiniferus*

种群 Population	多态位点百分比 PPL	观测等位基因数 A_o	有效等位基因数 A_e	Nei's 基因多样性 HE	Shannon's 信息指数 H
杭州 HZ	37.50	1.3750	1.2612	0.1461	0.2139
标准差 St. Dev		0.4851	0.3834	0.2031	0.2897
富阳 FY	41.53	1.4153	1.2876	0.1617	0.2372
标准差 St. Dev		0.4938	0.3893	0.2064	0.2948
绍兴 SX	36.69	1.4153	1.2876	0.1617	0.2372
标准差 St. Dev		0.4938	0.3893	0.2064	0.2948
宣城 XC	43.15	1.4315	1.2782	0.1601	0.2375
标准差 St. Dev		0.4963	0.3730	0.2002	0.2877
九华山 JHS	65.73	1.6573	1.4357	0.2487	0.3674
标准差 St. Dev		0.4756	0.3928	0.2037	0.2874
九龙山 JLS	77.42	1.7742	1.4980	0.2859	0.4242
标准差 St. Dev		0.4190	0.3765	0.1890	0.2613
金山 JS	36.29	1.3629	1.2364	0.1345	0.1992
标准差 St. Dev		0.4818	0.3657	0.1944	0.2788
平均水平 Pop. Mean	48.33	1.9597	1.4879	0.2910	0.4442
标准差 St. Dev		0.1971	0.3403	0.1646	0.2132

表 4 7 个黑刺粉虱种群的 Nei's 遗传相似性 (右上角)和遗传距离 (左下角)

Table 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of seven populations of <i>Aleurocanthus spiniferus</i>							
种群 Population	杭州 HZ	富阳 FY	绍兴 SX	宣城 XC	九华山 JHS	九龙山 JLS	金山 JS
HZ	* * * *	0.9018	0.8879	0.8562	0.8470	0.8734	0.8744
FY	0.1034	* * * *	0.9103	0.8723	0.8415	0.8697	0.8826
SX	0.1189	0.0940	* * * *	0.8652	0.8327	0.8440	0.8829
XC	0.1553	0.1366	0.1448	* * * *	0.8473	0.8731	0.8433
JHS	0.1661	0.1725	0.1830	0.1657	* * * *	0.8896	0.8327
JLS	0.1353	0.1396	0.1696	0.1357	0.1170	* * * *	0.8824
JS	0.1342	0.1249	0.1245	0.1705	0.1831	0.1251	* * * *

2.4 种群和个体间的聚类分析

系统树 (图 4)显示 ,富阳 (FY)和绍兴 (SX)两种群最先聚类 ,与杭州 (HZ)并为一支。同居一省的福建金

山和武夷九龙山则明显分为两支,分别并入浙江的3个种群和安徽的两个种群之中。黑刺粉虱种群间个体聚类图则利用 NTSYS 程序根据遗传相似性指数,基于 UPGMA 和 NJ 两种算法获得 (图 5,图 6),两种方法聚类结果基本一致。同一种群的个体率先聚类,之后与遗传相似度较大的种群个体再聚类,与种群聚类图有较好的一致性。同时从 35 个单体的二维分布图上清楚看到同种群个体和遗传相似性高的种群个体集中分布 (图 7)。对所有黑刺粉虱标本的多维标度分析 (MDS) 显示,浙江杭州、富阳和绍兴 3 种群分布密集,安徽宣城种群则靠近该 3 种群。九华山种群则与武夷九龙山种群聚拢,福建金山种群则独立成簇,多维标度分析与聚类分析、系统树分析结果一致。

3 讨论

3.1 RAPD 影响因素

以基因组或线粒体 DNA 为模本的随机引物扩增受诸多因素的影响,高质量的 DNA 和优化的反应条件等是必须的,完好地显示 PCR 扩增产物的差异性也至关重要。多态性研究多采用琼脂糖电泳显示条带差异 [8~12],当上样量不足或 PCR 产物的量不够时,常会造成差异 DNA 条带的湮没,难以保证试验的准确性;而且琼脂糖电泳可载样品数较少,扩增产物检测不能一次完成,给电泳图谱分析带来一定困难。本试验采用聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量的电泳优势可以同时在一张电泳图片中显示所有样品,简化了数据分析,提高了可信度。摒弃了 EB 染色,采用灵敏的银染方法, DNA 条带显示完全,差异性分析较直观可信。

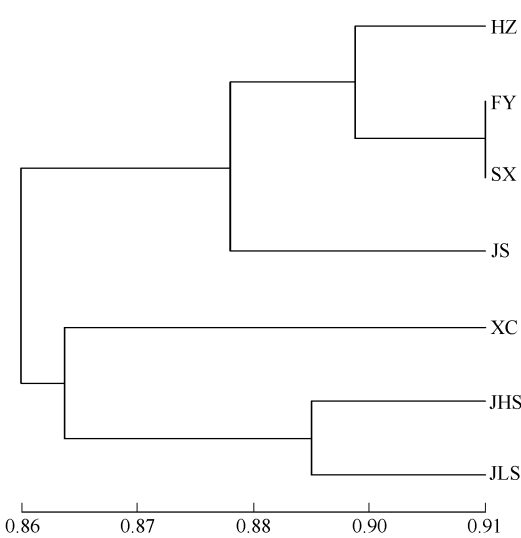


图 4 7 个黑刺粉虱种群的分子系统树

Fig. 4 DNA molecular dendrogram of seven populations of *Aleurocanthus spiniferus* based on Nei's genetic distance by UPGMA method

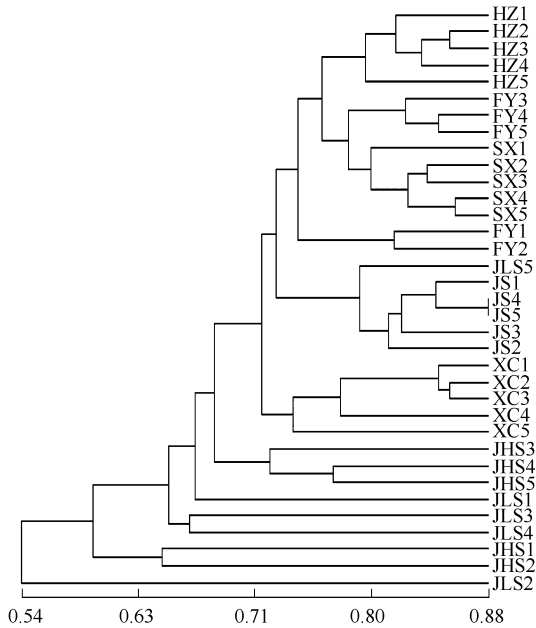


图 5 35 个黑刺粉虱个体的分子系统树

Fig. 5 DNA molecular dendrogram of 35 individuals of *Aleurocanthus spiniferus* based on Nei's genetic distance by UPGMA method

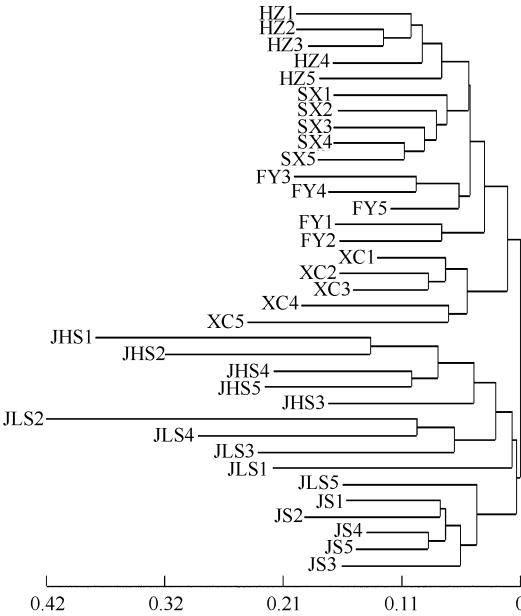


图 6 35 个黑刺粉虱个体的分子系统树

Fig. 6 DNA molecular dendrogram of 35 individuals of *Aleurocanthus spiniferus* based on Nei's genetic distance by NJ method

RAPD 技术现已成为检测 DNA 多态性的常规技术 ,广泛用于生物种属分类鉴定、遗传图谱构建、物种亲缘关系和种群遗传学的研究。在昆虫分子系统学研究中 RAPD 被用于探讨种群和近缘种属的遗传分化 [13~16]。

3.2 黑刺粉虱遗传多样性和种群间的遗传分化

本文目的是分析黑刺粉虱种群的 RAPD 多样性 ,探讨种群间遗传多样性、遗传距离与地理距离和环境之间的相关性。黑刺粉虱种群各类遗传多样性参数平均水平为 $PPL = 48.33\%$, $A_o = 1.9597$, $A_e = 1.4879$, $HE = 0.2910$,以及 $H = 0.4442$,表明黑刺粉虱种群遗传多样性丰富。黑刺粉虱种群间遗传分化明显 ,达 37.49% ,居于中华稻蝗 (20.17%) 和日本稻蝗 (42.14%) 之间 [3] ,这可能源于各种群的遗传背景、以及地理环境和相应的气候条件对遗传结构的影响。这些可能是黑刺粉虱种群部分遗传多样性特征。

对黑刺粉虱所有供试标本的多维标度分析 (MDS) 显示 ,浙江省杭州 (HZ) 、富阳 (FY) 和绍兴 (SX) 3 个丘陵种群分布密集 ,地处丘陵的安徽宣城 (XC) 种群靠近这 3 个种群。高海拔的福建武夷山区的九龙山 (JLS) 种群中有 4 个个体与高海拔的安徽九华山 (JHS) 种群聚拢 ,两种群表现出很大的遗传相似度 ;另 1 个个体则完全趋近于福建金山 (JS) 种群 ,同时表明 JLS 种群存在着遗传变异 ,遗传多样性丰富。MDS 图还显示 ,JLS、JHS 两种群个体分布不紧密 ,散布区域大 ,两种群遗传跨度大 ,多样性比较丰富。JS 种群密布于右下角 ,与其它种群有着明显的遗传差异。揭示了丘陵种群、高海拔山区种群、滨海种群的遗传分化趋势。

本文所采用的 3 个主要遗传多样性指标 ,即多态位点百分比 PPL 、Shannon 's 多态性信息指数 (H) 和 Nei's 遗传多样性 (HE) 均以武夷山区的 JLS 种群最高 ,分别为 77.42%、0.4242 和 0.2859 ,安徽省 JHS 种群次之 ,分别为 65.73%、0.3674 和 0.2487 ,其他几个种群均远低于此水平。 A_o 和 A_e 等遗传多样性指标也以福建 JLS 种群和安徽 JHS 种群较高。从黑刺粉虱种群和个体分子系统树显示的结果 ,也可看出 JHS 和 JLS 种群尽管分居两省 ,但聚为一类。浙江境内的 HZ、FY 和 SX 3 种群聚为一类。

所以 ,HZ、FY、SX 以及 XC 种群地理距离近 ,遗传距离也近 ;JS 种群与这 4 个种群地理距离远 ,遗传距离也远 ,地理距离与遗传距离有一定相关性。浙江、安徽和福建为我国主要产茶省 ,茶树栽培历史悠久 ,主栽品种为当地的群体种 ,种苗对外交流的可能性很小。加之 90% 黑刺粉虱幼虫定居茶叶叶背 ,成虫飞翔力很弱。迁移 (migration) 或者基因流 (gene flow) 不是影响粉虱种群遗传分化的主要因素。九龙山属武夷山区 ,山势高大 ,雨量充沛 ,湿度高 ,植被繁盛 ,茶园就建立这些崇山峻岭中 ,黑刺粉虱世代繁衍在与林木间作的茶园中。九华山山区山高湿度大 ,日平均相对湿度通常 >85% ,植被状况好 ,林茶混植 ,黑刺粉虱生息的茶园环境与九龙山的茶园环境类似。黑刺粉虱与外界的基因交流极少 ,长时期以来在山区环境中进行着自然选择 ,以致于 JLS 和 JHS 种群间的遗传多样性相似度高。HZ、FY、SX 和 XC 都是少林木的小丘陵 ,自然环境相似 ,这 4 个种群的遗传多样性也有类似之处。自然选择引起种群适应性的 RAPD 生态地理分化 (adaptive RAPD ecogeographic differentiation) 。Fahima 等 [7] 对土耳其和以色列境内的野生二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*) 11 个种群进行 RAPD 分析时 ,就发现 RAPD 多态性与小麦种群所在生境的海拔、温度和可利用水分之间存在显著的相关性 ,也说明了自然选择引起了 RAPD 多样性的生态地理分化。

References :

[1] Han B Y , Cui L. Natural population life table of citrus spiny whitefly (*Aleurocanthus spiniferus*) in tea garden. *Acta Ecologica Sinica* , 2003 , 23

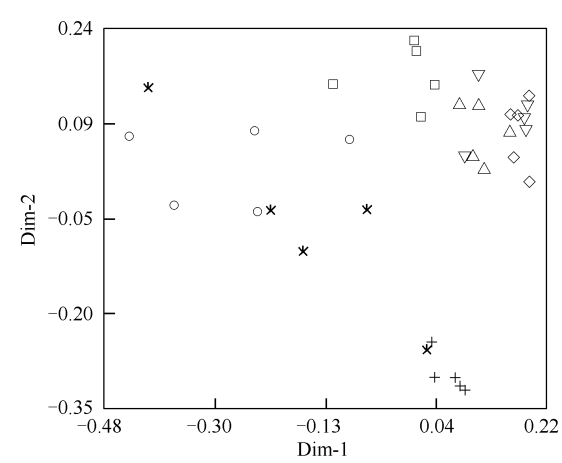


图 7 黑刺粉虱个体二维分布

Fig. 7 Multidimensional scaling analysis of all *Aleurocanthus spiniferus* samples
△ : 杭州 HZ ; ▽ : 富阳 FY ; ◇ : 绍兴 SX ; □ : 宣城 XC ; ○ : 九华山 JHS ; * : 九龙山 JLS ; + : 金山 JS

Q) : 1781 — 1790.

[2] Skoda S R , Pornkulwat S , Foster J E. Random amplified polymorphic DNA markers for discriminating *Cochliomyia hominivorax* from *C. macellaria* (Diptera : Calliphoridae). Bulletin of Entomological Research , 2002 , (2) : 89 — 96.

[3] Zhang J Z , Guo Y P , Duan Y H , *et al.* RAPD analysis of genetic divergence among populations of *Oxya japonica* , *O. chinensis* and *Pseudoxya diminuta*. Acta Ecologica Sinica , 2004 , 24 (7) : 1399 — 1405.

[4] Wang Z S , An S Q , Leng X , *et al.* Population genetic diversity of the insular plant *Neolitsea sericea* based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). Acta Ecologica Sinica , 2004 , 24 (3) : 414 — 422.

[5] Margaritopoulos J T , Bacandritsos N , Pekas A N , *et al.* Genetic variation of *Marchalina hellenica* (Hemiptera : Margarodidae) sampled from different hosts and localities in Greece. Bulletin of Entomological Research , 2003 , (3) : 447 — 453.

[6] 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.

[7] Zhang J Z , Ren L , Guo Y P , *et al.* Genetic relationships among five populations of *Oxya chinensis* in Shanxi Province and adjacent region based on RAPD. Acta Genetica Sinica , 2004 , 31 (2) : 159 — 165.

[8] Guan X J , Fu Q , Wang G R , *et al.* The DNA polymorphism of host-associated populations of *Nilaparvata lugens* (Stål) with different virulence. Acta Entomologica Sinica , 2004 , 47 (2) : 152 — 158.

[9] Jiang G F , Lu G , Huang K , *et al.* Studies on genetic variations and phylogenetic relationships among five species of *Tetrix* using RAPD markers. Acta Entomologica Sinica , 2002 , 45 (4) : 499 — 502.

[10] Shi Y T , Bian H W , Han B , *et al.* Genetic variation analysis by RAPD of some barley cultivars in China. Acta Agronomic Sinica , 2004 , 30 (3) : 258 — 265.

[11] Zhao Z M , Lu J , Dai Z H. Genetic differentiation within *Drosophila auraria* species complex revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD). Acta Zoologica Sinica , 2001 , 47 (6) : 625 — 631.

[12] Zhang S F , Cheng J A , Yang X W. RAPD analysis of different forms of the green peach aphid. Acta Entomologica Sinica , 2002 , 45 (6) : 764 — 769.

[13] Xavier L , Bernard L , Judith C , *et al.* Characterization and authentication of insect cell lines using RAPD markers. Insect Biochemistry and Molecular Biology , 2003 , 33 : 1035 — 1041.

[14] Zhang Y , Yang J , Rao G Y. Genetic diversity of an amphicarpic species , *Amphicarpaea edgeworthii* Benth. (Leguminosae) based on RAPD markers. Biochemical Systematics and Ecology , 2005 , 33 : 1246 — 1257.

[15] Cheng X Y , Zhou H Z , Zhang G X. Perspective of molecular biological techniques applied in insect systemics. Acta Zootaxonomica Sinica , 2000 , 25 (2) : 121 — 133.

[16] Hu Y H , Chi D F. Research advance in application of RAPD techniques in entomology. Chinese Journal of Applied Ecology , 2004 , 15 (8) : 1481 — 1486.

[17] Fahima T , Sun G L , Beharav A , *et al.* RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations , *Triticum dicoccoides* , in Israel. Theoretical and Applied Genetics , 1999 , 98 : 434 — 447.

参考文献：

[1] 韩宝瑜 , 崔林. 茶园黑刺粉虱自然种群生命表. 生态学报 , 2003 , 23 (9) : 1781 ~ 1790.

[3] 张建珍 , 郭亚平 , 段毅豪 , 等. 日本稻蝗、中华稻蝗和赤腥伪稻蝗地理种群的 RAPD 遗传分化研究. 生态学报 , 2004 , 24 (7) : 1399 ~ 1405.

[4] 王中生 , 安树青 , 冷欣 , 等. 岛屿植物舟山新木姜子居群遗传多样性的 RAPD 分析. 生态学报 , 2004 , 24 (3) : 414 ~ 422.

[6] 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.

[7] 张建珍 , 任俐 , 郭亚平 , 等. 山西省及邻近地区中华稻蝗 5 个种群 RAPD 分析及其亲缘关系. 遗传学报 , 2004 , 31 (2) : 159 ~ 165.

[8] 关秀杰 , 傅强 , 王桂荣 , 等. 不同致害性褐飞虱种群的 DNA 多态性研究. 昆虫学报 , 2004 , 47 (2) : 152 ~ 158.

[9] 蒋国芳 , 陆敢 , 黄琨 , 等. 用 RAPD 标记研究蚱属五个种间的亲缘关系. 昆虫学报 , 2002 , 45 (4) : 499 ~ 502.

[10] 施永泰 , 边红武 , 韩凝 , 等. 中国江、浙地区栽培大麦遗传资源的 RAPD 研究. 作物学报 , 2004 , 30 (3) : 258 ~ 265.

[11] 赵中明 , 陆剑 , 戴灼华. 用 RAPD 标记探讨金色果蝇复合种内的遗传分化. 动物学报 , 2001 , 47 (6) : 625 ~ 631.

[12] 张素方 , 程家安 , 杨效文. 桃蚜不同蚜型 DNA 多态性的 RAPD 研究. 2002 , 昆虫学报 , 45 (6) : 764 ~ 769.

[15] 成新跃 , 周红章 , 张广学. 分子生物学技术在昆虫系统学研究中的应用. 动物分类学报 , 2000 , 25 (2) : 121 ~ 133.

[16] 胡艳红 , 迟德富. RAPD 技术在昆虫学研究中的进展. 应用生态学报 , 2004 , 15 (8) : 1481 ~ 1486.