

三种松毛虫不同地理种群遗传多样性

高宝嘉^{1,2}, 高立杰¹, 侯建华³, 商金杰⁴, 尤立权⁵

(1. 河北农业大学林学院, 保定 071000; 2. 河北北方学院, 张家口, 075000; 3. 河北农业大学动物科技学院, 保定 071000;
4. 山东省东营市林业局, 东营市 257091; 5. 河北省木兰围场国有林场管理局, 承德围场 068450)

摘要:运用 13 个 ISSR 引物对赤松毛虫 (*Dendrolimus spectabilis*)、油松毛虫 (*Dendrolimus tabulaeformis*)、落叶松毛虫 (*Dendrolimus superans*) 的种群遗传分化进行分析。13 个引物共产生 195 条带, 其中 184 条具多态性, 总的多态位点百分率为 94.36%, 扩增谱带具有明显的种间多态性。Shannon 信息指数和 Nei 信息指数均表明落叶松毛虫群体内的遗传多样性最高, 油松毛虫与赤松毛虫则相差不多。各种松毛虫的不同地理居群出现了遗传分化, 由 Nei 指数估计的群体间的遗传分化系数分别为 15.50%、32.57% 和 41.92%。用 UPGMA 法对 Nei's 遗传距离作聚类分析。聚类结果表明: 不同地域的油松毛虫遗传距离与地理距离呈一定程度的相关趋势。

关键词: 松毛虫; ISSR; 遗传变异

文章编号: 1000-0933(2008)02-0842-07 中图分类号: Q16, Q965, Q968 文献标识码: A

Genetic diversity of *Dendrolimus* (Lepidoptera) population from different geographic area

GAO Bao-Jia^{1,2}, GAO Li-Jie¹, HOU Jian-Hua³, SHANG Jin-Jie⁴, YOU Li-Quan⁵

1 Forestry College Agricultural University, Baoding 071000, China

2 Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

3 Animal Science and Technology College Agricultural University, Baoding 071000, China

4 Dongying Forestry Bureau of Shandong Province, Dongying 257091, China

5 State-Owned Forestry Administration Bureau MuLan Weichang Hebei, Chengde 068450, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(2): 0842 ~ 0848.

Abstract: Genetic divergence among four populations of *Dendrolimus spectabilis*, three populations of *Dendrolimus tabulaeformis* and two populations of *Dendrolimus superans* were investigated using Inter-simple Sequence Repeats Polymorphism (ISSR) markers. DNA extracted from 119 individuals were amplified using 13 ISSR primers with 14 to 17 nucleotides. The agarose gel electrophoresis revealed 195 clear and stable bands with the molecular weight ranging from 250—2500 bps. Each primer yields about 3 to 10 bands per individual. Shannon's index showed higher genetic diversity within *D. superans* and the genetic diversity of *D. tabulaeformis* was close to *D. spectabilis*, both of which had a lower diversity level. The clustering followed the order: first individuals within a population, then different populations of the same species. The four populations of *D. spectabilis* fell into three branches, and two geographically close populations from Shenyang and Jinzhou were clustered into one branch; the other branch was Tai'an population, and it was grouped to the third branch, Qingdao population. The two populations of *D. tabulaeformis* from Chengde and Pingquan counties were first clustered into a branch and then clustered

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30771739)

收稿日期: 2006-12-05; 修订日期: 2007-04-29

作者简介: 高宝嘉 (1958 ~), 男, 河北衡水人, 博士, 教授, 主要从事昆虫生态学研究. E-mail: baojiagao@163.com

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30771739)

Received date: 2006-12-05; **Accepted date:** 2007-04-29

Biography: GAO Bao-Jia, Ph.D., Professor, mainly engaged in insect ecology. E-mail: baojiagao@163.com

with Shenyang population. The left two populations of *D. superans* species were clustered into one branch.

Key Words: pine caterpillars; ISSR; genetic diversity

松毛虫属 *Dendrolimus* (鳞翅目枯叶蛾科) 昆虫全世界共有 30 余种, 其中在中国有 27 种分布, 是针叶树种的重要害虫, 在我国北方发生较严重的主要有赤松毛虫 (*Dendrolimus spectabilis*)、油松毛虫 (*Dendrolimus tabulaeformis*) 和落叶松毛虫 (*Dendrolimus superans*)^[1]。目前, 对其形态特征、生理、生物学特性、种群的空间分布型与抽样技术以及综合防治等方面已进行了较深入的研究^[1~4], 张爱兵等用 RAPD 对中国松毛虫的八个种和亚种的亲缘关系进行了分析^[5], 但对不同地区松毛虫群体内的遗传结构、遗传分化及其生态学机制尚未见报道。长期以来, 分子生物学技术在昆虫遗传多样性的研究主要用于昆虫的系统学、分类学、种间亲缘关系鉴定等几个方面^[6], 但尚未见到研究松毛虫地理种群遗传多样性的变化规律的相关性文献。

ISSR (Inter-simple Sequence Repeats Polymorphism) 分子标记技术在昆虫方面现已广泛应用于检测遗传多样性、分析地理种群变异、研究种群间的亲缘关系等^[7~10]。本研究采用 ISSR 分子标记的方法, 旨在研究松毛虫不同地理种群的遗传变异和种群间的基因交流情况, 找出变异规律, 并探讨其变异的生态学机制。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

油松毛虫分别于 2005 ~ 2006 年 8 月采自河北承德市承德县、承德市平泉县, 沈阳凌源县; 赤松毛虫于 2006 年 8 月采自山东泰安、山东青岛、辽宁沈阳、辽宁锦州四个地区; 落叶松毛虫于 2006 年 8 月采自承德市围场县和张家口赤城县 (表 1)。以上所有松毛虫均采集蛹。待蛹羽化后各取 14 头雌虫 (除沈阳凌源油松毛虫因发生量少、羽化率低仅余 7 头外) 按采集地分别放入无水乙醇中于 4℃ 冰箱中保存。

表 1 用于 ISSR 研究的松毛虫标本

Table 1 Pine caterpillars populations sampled for the ISSR study

种名 Species	群体代码 Code	供试个体数 Number of incsets used	采集地点 Collection site	地理位置 Location	海拔高度 Elevation (m)	成虫繁殖期 平均气温 Average air temperature in adult period (°C)
油松毛虫 (承德县种群) <i>D. tabulaeformis</i>	CY	14	河北承德县 Chengde county	E118°21' N35°21'	920	24
油松毛虫 (平泉县种群) <i>D. tabulaeformis</i>	PY	14	河北平泉县 Pingquan county	E118°27' N41°15'	935	24
油松毛虫 (沈阳种群) <i>D. tabulaeformis</i>	SY	7	沈阳凌源 Shenyang, Lingyuan	E119°23', N41°11'	900	25
赤松毛虫 (青岛种群) <i>D. spectabilis</i>	QC	14	青岛胶南市 Qingdao, Jiaonan	E119°37' N36°30'	183.4	23
赤松毛虫 (泰安种群) <i>D. spectabilis</i>	TC	14	泰安徂徕山 Taian, Mt. Culai	E117°16' N36°02'	420	25
赤松毛虫 (沈阳种群) <i>D. spectabilis</i>	SC	14	沈阳凌源 Shenyang, Lingyuan	E119°23' N41°11'	900	25
赤松毛虫 (锦州种群) <i>D. spectabilis</i>	JC	14	锦州葫芦岛绥中 Jinzhou, Suizhong,	E119°51' N40°27'	380	24.5
落叶松毛虫 (张家口种群) <i>D. superans</i>	ZL	14	张家口赤城县 Zhangjiakou	E115°85' N40°85'	1000	30
落叶松毛虫 (围场种群) <i>D. superans</i>	WL	14	承德围场县 Weichang	E116°52' N42°05'	1230	28

1.2 研究方法

1.2.1 松毛虫基因组提取

取松毛虫胸部肌肉, 用无菌三蒸水浸泡 24h 以上, 弃水, 然后用眼科剪剪碎组织, 加入适量消化液, 56℃ 水

浴中消化 8 ~ 12h, 用酚/氯仿法抽提, 于 4℃ TE (pH8.0) 溶解后 -20℃ 保存备用。取 5 μl DNA 于含 0.5 μg/ml 溴化乙锭的 0.8% 琼脂糖凝胶中电泳检测 DNA 的纯度。

1.2.2 ISSR-PCR 扩增

引物筛选: 对购自北京赛百盛公司的 50 条 ISSR 引物进行了筛选, 从中选取扩增条带清晰, 重复性较好的 13 条引物 (表 2) 进行 PCR 扩增。扩增反应在德国生产的 Biometra T3 型梯度 PCR 仪上进行。

扩增反应条件: 25 μl 反应体系含 5 μl 10 × Reaction Buffer、模板 DNA 20 ng、引物 0.2 mol/L, dNTPs 0.16 mmol/L, Taq 酶 0.5U (上海宝生物公司)。

扩增程序: 94℃ 预变性 5min; 94℃ 变性 50s, T_m 退火 1min, 72℃ 延伸 1.5min, 35 个循环; 72℃ 延伸 5min。

电泳检测: ISSR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 (含 0.5 μg 溴化乙锭), 电泳缓冲液为 1 × TAE, 用海泰克公司生产的 DL3000 为 Marker。电泳完毕于紫外透射反射仪下观察拍照保存。

1.2.3 数据统计与分析

电泳图谱中的每一条带均视为一个分子标记 (marker), 并代表一个引物的结合位点。按凝胶同一位置上 DNA 带的有无进行统计, 有带 (包括弱带) 的记为 1, 无带的记为 0。对群体遗传参数的统计基于以下两个假设: (1) 松毛虫群体处于哈迪-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡; (2) 统计条带时认为电泳迁移率相同的条带是扩增基因组上的相同 DNA 片段的产物, 采用 POPGENE 软件^[11] 对全部群体和个体分别进行遗传参数分析。分别计算了多态位点百分率 (PPB, percentage of polymorphic bands)、观测等位基因数 (A_o , number of alleles per locus)、有效等位基因数 (A_e , effective number of alleles per locus)、群体总基因多样性 (H_t , total gene diversity)、群体内基因多样性 (H_s , gene diversity within populations)、各群体间的遗传分化指数 (G_{st} , coefficient of population differentiation) ($G_{st} = 1 - H_s/H_t$)、Nei's 基因多样性 (H_o)^[12]、Nei's 遗传距离 (D , genetic distance)^[13] 和遗传一致度 (I , genetic identity)。Shannon's 信息指数 (H_o , Shannon's information index) 也被用来检测群体遗传多样性水平^[14], $H_o = -\sum P_i \log_2 P_i$, P_i 为第 i 条带的表型频率。根据 Nei's 遗传距离, 利用 NTSYS PC-22.10^[15] 软件对松毛虫群体和个体进行 UPGMA 聚类分析。

2 结果与分析

2.1 ISSR-PCR 扩增结果

从 100 个左右的引物中筛选出的 13 个 ISSR 引物 (表 2), 对 9 个群体的 119 个 DNA 样品进行 PCR 扩增。

表 2 13 条引物对 3 种松毛虫种群共 119 个雌成虫个体 DNA 进行扩增反应结果
Table 2 Result of ISSR on adults of 119 pine caterpillars in 3 populations with 13 primers

引物编号 Primer order	引物序列 (5'-3') Sequence of primer (5'-3')	总条带数 Total bands	多态带数 Polymorphic bands	多态带百分率 (%) Percentage of Polymorphic bands
1	AGAGAGAGAGAGAGAGG	11	9	81.82
2	GAGAGAGAGAGAGAGAC	17	16	94.12
3	ACCACCACCACCACCACC	14	13	92.86
4	AGCAGCAGCAGCAGCAGC	17	16	94.12
5	CACACACACACACACAG	11	11	100.00
6	ATGATGATGATGATGATG	16	14	87.50
7	GGATGGATGGATGGAT	14	13	92.86
8	VDVCTCTCTCTCTCTCT	14	14	100.00
9	CACACACACACAAC	16	15	93.75
10	AGAGAGAGAGAGAGAGTA	15	15	100.00
11	GTCGTCGTCGTCGTCGTC	17	16	94.12
12	GAGGAGGAGGAGGC	18	18	100.00
13	GTCCGTGCGTGCGTGC	15	14	93.33
总群体 all locus		195	184	94.36

简并碱基的代码 Code of incorporate base: V = (G/A/C)

其中,引物 8 对群体 SY 和 WL 共 28 个 DNA 样品扩增结果见图 1。13 条引物扩增出的条带数目从 3 至 10 不等,条带片段大小分布在 250 ~ 2500bp 之间,共扩增产生了 195 个可统计的条带,其中具有多态性的条带 184 个。

2.2 多态位点百分率

119 个个体共检测到 184 个多态位点,总多态位点百分率为 94.36%,不同种、不同种群中检测到的位点数及多态位点百分率不同(表 3)。13 条引物对落叶松毛虫围场种群检测出的位点数和多态位点百分率最多,分别为 84 和 43.08%;赤松毛虫沈阳种群的位点数和多态位点百分率最少,分别为 36 和 18.46%。9 个群体的多态位点百分率明显低于总的多态位点百分率。9 个群体多态位点百分率的大小顺序为:落叶松毛虫(围场) > 落叶松毛虫(张家口) > 赤松毛虫(锦州) = 油松毛虫(承德县) > 油松毛虫(沈阳) > 赤松毛虫(青岛) > 油松毛虫(平泉) > 赤松毛虫(泰安) > 赤松毛虫(沈阳)。

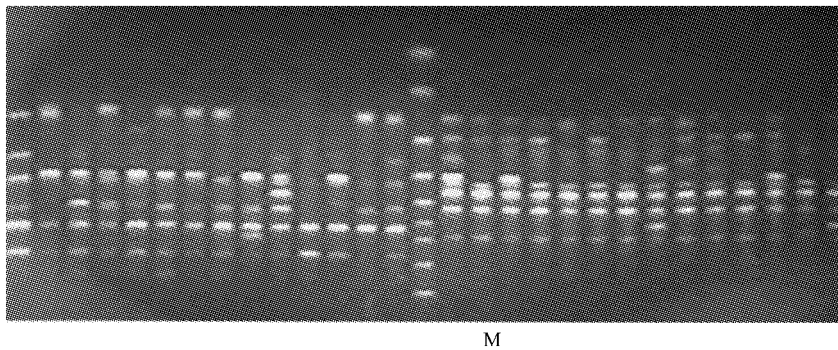


图 1 引物 8 对围场落叶松毛虫(WL)和沈阳赤松毛虫(SC)各 14 个个体的 ISSR-PCR 扩增结果

Fig. 1 ISSR-PCR fingerprints of 14 samples of *D. superans* from Weichang and *D. spectabilis* from Shenyang populations using primer 8

从左至右顺序 from left to right: WL1 - WL14, Marker, SC1 - SC14 Sequence

表 3 松毛虫群体间遗传变异统计

Table 3 The genetic variation statistics among populations of pine caterpillars

群体 Population	观测等位基因数 A_o	有效等位基因数 A_e	Nei 的基因多样性 H_e	Shannon 信息指数 H_o	多态位点数	多态位点百分率 PPB
TC	1.1949 ± 0.3971	1.0983 ± 0.2359	0.0605 ± 0.1371	0.0927 ± 0.2035	38	19.49
JC	1.2256 ± 0.4191	1.1383 ± 0.2989	0.0794 ± 0.1624	0.1182 ± 0.2345	44	22.56
SC	1.2051 ± 0.4048	1.0913 ± 0.2293	0.0565 ± 0.1310	0.0883 ± 0.1944	40	20.51
QC	1.2103 ± 0.4085	1.1158 ± 0.2647	0.0691 ± 0.1484	0.1047 ± 0.2176	41	21.03
ZL	1.3846 ± 0.4878	1.2055 ± 0.3245	0.1230 ± 0.1791	0.1873 ± 0.2608	75	38.46
WL	1.4308 ± 0.4965	1.2605 ± 0.3588	0.1518 ± 0.1959	0.2264 ± 0.2824	84	43.08
CY	1.2256 ± 0.4191	1.1287 ± 0.2805	0.0759 ± 0.1557	0.1143 ± 0.2271	44	22.56
PY	1.1846 ± 0.3890	1.1159 ± 0.2805	0.0662 ± 0.1517	0.0984 ± 0.2190	36	18.46
SY	1.2205 ± 0.4157	1.1561 ± 0.3244	0.0869 ± 0.1736	0.1268 ± 0.2482	43	22.05
平均 Average	1.2535 ± 0.4264	1.1456 ± 0.2886	0.0855 ± 0.1594	0.1286 ± 0.2319	49	25.35
总群体 All locus	1.9436 ± 0.2313	1.4926 ± 0.3278	0.2955 ± 0.1610	0.4495 ± 0.2127	184	94.36

2.3 Shannon 信息指数与 Nei 指数估计的遗传多样性

由表 3 可知,9 个群体 Shannon 信息指数的变化范围在 0.0883 ~ 0.2264 之间,平均值为 0.1286。落叶松毛虫(围场)的 Shannon 信息指数最高,赤松毛虫(沈阳)最低。9 个群体 Nei 基因多样性(H_e)变化范围在 0.0565 ~ 0.1518 平均值为 0.0855。落叶松毛虫(围场)的基因多样性最高,赤松毛虫(沈阳)最低,这与 Shannon 信息指数估计的遗传多样性结果是一致的。

2.4 松毛虫群体间的遗传分化

为了进一步分析各群体间的遗传分化程度,计算了遗传相似度与遗传距离(表4)。从表中可知,群体间遗传距离变化范围为0.0230~0.4936,遗传相似度的变化范围为0.6104~0.9772。

根据 Nei's 遗传距离利用 UPGMA 法所构建的群体遗传关系聚类图(图2)。总体上,油松毛虫首先与落叶松毛虫聚在了一起,最后才与赤松毛虫相聚,说明松毛虫各群体间存在一定程度的遗传分化,同时,松毛虫属的种群差异明显小于种间差异,表明 ISSR 是一种有效的遗传标记,可用于松毛虫属种和亚种间亲缘关系的探讨。

3 种松毛虫不同的群体间出现了不同程度的遗传分化(表5),赤松毛虫 41.92 % 的变异存在于群体间,58.09% 的变异存在于群体内;油松毛虫 32.60 % 的变异存在于群体间,67.40% 的变异存在于群体内;落叶松毛虫 15.50% 的变异存在于群体间,84.50 % 的变异存在于群体内。

表4 9个松毛虫群体间的遗传相似度与遗传距离

Table 4 Genetic identity and genetic distance among nine populations of pine caterpillars

群体 Populations	TC	JC	SC	QC	ZL	WL	CY	PY	SY
TC	* * * *	0.9492	0.9293	0.9305	0.6429	0.6434	0.6729	0.6735	0.6501
JC	0.0521	* * * *	0.9512	0.9219	0.6104	0.6239	0.6833	0.6839	0.6654
SC	0.0733	0.0500	* * * *	0.9224	0.6446	0.6535	0.7072	0.7071	0.6967
QC	0.0720	0.0813	0.0808	* * * *	0.6154	0.6209	0.6648	0.6605	0.6510
ZL	0.4418	0.4936	0.4392	0.4855	* * * *	0.9473	0.6970	0.6872	0.6784
WL	0.4410	0.4717	0.4254	0.4766	0.0541	* * * *	0.6969	0.6954	0.7076
CY	0.3961	0.3808	0.3464	0.4083	0.3609	0.3612	* * * *	0.9772	0.9259
PY	0.3952	0.3799	0.3466	0.4147	0.3751	0.3632	0.0230	* * * *	0.9292
SY	0.4306	0.4074	0.3614	0.4292	0.3880	0.3459	0.0769	0.0735	* * * *

* 对角线上方为 Nei 遗传相似度,对角线下方为遗传距离 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

表5 由 Nei 指数估计的3种松毛虫各种群间的遗传分化

Table 5 Genetic differentiations among pine caterpillar populations

种类 Species	总的基因多样性 Total gene diversity, Ht	群体内的基因多样性 Within population gene diversity, Hs	遗传分化系数 Genetic differentiation among populations, Gst	从 Gst 估计的基因流 Estimate of gene flow from Gst, Nm
赤松毛虫 <i>D. spectabilis</i>	0.1143	0.0664	0.4192	0.6927
油松毛虫 <i>D. tabulaeformis</i>	0.1132	0.0763	0.3257	1.0351
落叶松毛虫 <i>D. superans</i>	0.1626	0.1374	0.1550	2.7265

3 讨论

3.1 遗传多样性

多态位点百分率可以作为衡量遗传多样性高低的标志。本文研究结果显示,落叶松毛虫围场群体的多态位点百分率(43.08)最高,赤松毛虫沈阳群体的多态位点百分率(18.46)最小。而总的群体多态位点百分率(94.36)明显高于各群体的多态位点百分率,这是由于有些位点仅在个别群体中表现出多态或只在个别群体中能检测到而使这些位点在各群体中分布不均衡所致。9个群体的多态位点百分率大小顺序与 Shannon 信息指数和 Nei 指数估计的基因多样性顺序基本一致。

总体来说,在9个松毛虫群体中,落叶松毛虫群体遗传多样性远大于油松毛虫和赤松毛虫群体,后两者相差不多,这与种群之间本身的遗传差异有关。落叶松毛虫(围场)的遗传多样性高于张家口群体,可能是由于这个群体的松毛虫均采集于围场县海拔高度为1230m 山坳的东南坡,在中国动物地理区划上属于东北区、华北区、蒙新区的交界地带,生境复杂,林型为华北落叶松、樟子松、黑松混交林,Valentine 认为专食性物种将会

有较低的遗传变异^[16],这个地区的松毛虫取食不同寄主,使得这一地区的松毛虫频繁地暴露于各种生境中,是其遗传多样性较高的原因之一。而张家口地区的落叶松毛虫采集地为油松纯林,故遗传多样性相对较低。赤松毛虫与油松毛虫群体遗传多样性相差不多。

3.2 遗传分化

3 种松毛虫在食料充足的情况下,不作远距离的迁飞^[11],这个习性有助于种群间的隔离,因而产生种群的差异。SC(赤松毛虫)与 SY(油松毛虫)同来自沈阳凌源的同一一片赤松、油松混交林,虽然有实验证明这两种松毛虫能进行杂交产生正常子代^[17],但从聚类的结果来看,两群体的所有个体均无交叉现象,说明在采集地未发现这两种松毛虫的杂交种。赤松毛虫由 *Gst* 估计的基因流较小,为 0.6927,低水平的基因流可能造成群体对局部生态环境的适应,进而促使群体间的遗传隔离。落叶松毛虫两地区地理距离虽然较远,群体间的基因流较大,高水平的基因流可以防止种群的分化。

从群体间的分子系统树来看,整个系统树分为 3 个大的分支:油松毛虫、落叶松毛虫、赤松毛虫。油松毛虫与落叶松毛虫首先聚为一簇,然后与赤松毛虫聚在一起,落叶松毛虫与油松毛虫的遗传相似度高于赤松毛虫,这与张爱兵等^[5]用 RAPD 方法聚类的结果一致。在赤松毛虫种群中,锦州与沈阳地理位置相距较近,首先聚在一起;泰安地理位置与前者相距较远,而青岛群体采自青岛市胶南市琅牙镇,三面环水,与其它 3 个地区有基因交流障碍;其次,青岛松毛虫的寄主为黑松,而其它 3 个地区的松毛虫的寄主均为赤松和油松,故亲缘关系较远。油松毛虫种群中,承德县群体与平泉群体相距很近,首先聚在一起,然后与地理位置较远的沈阳群体聚在一起。总体上看,在同一种群内部遗传距离与地理距离有一定的相关性。

本文对 3 种松毛虫的遗传多样性进行了分析和探讨,为松毛虫部分种群遗传结构的研究提供了分子水平的实验证据和基础资料。由于松毛虫在发生量小的情况下很难采到,因此本试验的取样范围和取样量较少,在以后的研究中应扩大取样范围。

References:

- [1] Hou T Q. Pine caterpillars in China. Beijing: Science Press, 1987. 29—78.
- [2] Wen D Y, Ding C H. Study on individual variation and species with hazy swarm method. Journal of South China Forestry College, 1991, (2): 182—186.
- [3] Chen C J. Integrated Management of Pine Caterpillars in China. Beijing: China Forestry Publishing House, 1990. 5—25.
- [4] Zhou X Q, Zhang Z Z, Li Z Y. Study on lymphatic albumen of some species Dendrolimus. Journal of Beijing Forestry University, 1989, (4): 113—117.
- [5] Zhang A B, Kong X B, Li D M, Liu Y Q. DNA fingerprinting evidence for the phylogenetic relationship of eight species and subspecies of Dendrolimus. Acta Entomol. Sin., 2004, 47(2): 236—242.
- [6] Cheng X Y, et al eds. Perspective of molecular biological techniques applied in insect systematics. Acta Zootaxonomica Sinica, 2000, 25(2): 121—129.
- [7] Kumars, Sawantas, Guptavs, et al. Comparative analysis of genetic diversity among Indian population sof Scir popha gain certulas by ISSR PCR and RAPD-PCR. Biochem Genet, 2001, 39: 297—309.
- [8] Reddy K D, Abraham E G, Nagaraju, J O. Genetic characterization of the silkworm, Bombyx mori by inter-simple sequence repeat (ISSR) - anchored PCR. Heredity, 1999, 83: 681—687.
- [9] Abbot P. Individual and population variation in invertebrate srevealed by inter simple sequence repeats (ISSR). Insect Science, 2001, 1—3.
- [10] C. Luque. ISSR as genetic markers in Noctuids (Lepidoptera). Hereditas, 2002, 136: 251—253.

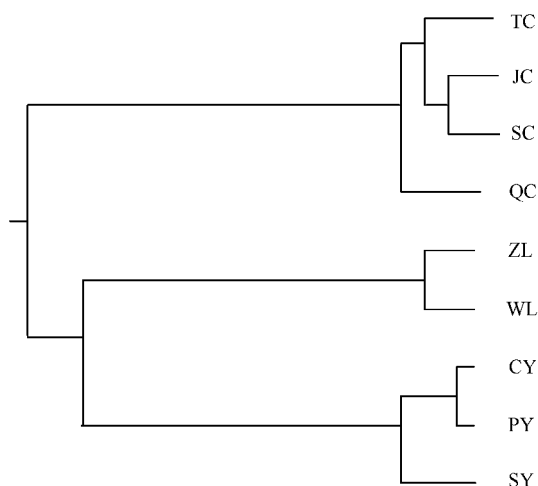


图 2 9 个松毛虫种群间的聚类图

Fig. 2 The dengrogram produced by POPGENE soft for 9 populations of pine caterpillars

- [11] Yeh F C, Yang R C, Boyle T, *et al.* POPGENE version 1.31. University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999.
- [12] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70: 3321—3323.
- [13] Nei M. Genetic distance between populations. *Amer Naturalist*, 1972, 106: 283—292.
- [14] Lewontin R C. Apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, 1972, 6: 381—398.
- [15] Rohlf F J. NTSYS-P C. Version2.10. NewYork: Applied Biostatistics Inc, 1994.
- [16] Valentine J W. Genetic strategies of adaptation. In: Ayala F J, ed. *Molecular Evolution*. Sunderland: Sinauer Associates, 1976.
- [17] Zhao Q S, Wu W B, Lu G P, Chen T F, Lin Q Y. Study on cross heredity of pine carterpillars, *Dendrolimus* spp. *Sci. Sil. Sin.*, 1999, 35(4): 45—50.

参考文献:

- [1] 侯陶谦. 中国松毛虫. 北京: 科学出版社, 1987, 29~78.
- [2] 文定元, 丁成会. 用模糊聚类法分析松毛虫个体变异及种类. *中南林学院学报*, 1991, (2): 182~186.
- [3] 陈昌洁主编. 松毛虫综合管理. 北京: 中国林业出版社, 1991. 5~25.
- [4] 周学权, 张执中, 李振宇. 松毛虫属一些种类血淋巴蛋白的研究. *北京林业大学学报*, 1989, (4). 113~117.
- [5] 张爱兵, 孔祥波, 李典谟, 刘友樵. 中国松毛虫属八个种和亚种亲缘关系的 DNA 指纹证据. *昆虫学报*, 2004, 47(2): 236~242.
- [6] 成新跃, 等. 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): 121~129.
- [17] 赵青山, 邬文波, 吕国平, 陈泰峰, 林庆源. 松毛虫种间杂交及其遗传规律的研究. *林业科学*, 1999: 45~50.