

松毛虫属 (*Dendrolimus*) 部分种类亲缘关系与遗传分化的等位酶分析

南宫自艳¹, 高宝嘉^{2,*}, 杨 君³

(1. 河北农业大学植物保护学院, 保定 071001; 2. 河北农业大学林学院, 保定 071001; 3. 河北省农林科学院植物保护研究所, 保定 071000)

摘要: 采用等位酶聚丙烯酰胺凝胶电泳技术对松毛虫属 5 个种和亚种的野生种群进行了亲缘关系和遗传变异的研究。8 种等位酶系统 (乳酸脱氢酶 LDH、苹果酸脱氢酶 MDH、苹果酸酶 ME、乙醇脱氢酶 ADH、甲酸脱氢酶 FDH、谷氨酸脱氢酶 GDH、过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT) 共检测到 12 个基因位点, 其中 6 个位点为多态位点, 检测到 15 个等位基因。松毛虫属 5 个种和亚种的总体水平多态位点比率 $P = 50\%$, 平均有效基因数 $A = 1.917$, 平均期望杂合度 $He = 0.267$, 平均遗传距离为 $0.0730 \sim 0.5701$ 。遗传参数表明松毛虫属昆虫种间存在较高等度的遗传变异, 聚类图和遗传距离数据表明赤松毛虫与马尾松毛虫亲缘关系最近, 落叶松毛虫与思茅松毛虫亲缘关系最远。

关键词: 松毛虫属; 等位酶变异; 亲缘关系

文章编号: 1000-0933(2009)04-1661-07 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Allozyme analysis on the phylogenetic relationships and genetic differentiation of some species of *Dendrolimus* (Lepidoptera: Lasiocampidae)

NANGONG Zi-Yan¹, GAO Bao-Jia^{2,*}, YANG Jun³

1 College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China

2 College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China

3 Plant Protection Institute of Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Baoding 071000, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1661 ~ 1667.

Abstract: The genetic diversity among five species of *Dendrolimus*, i. e. *Dendrolimus punctatus punctatus* Walker, *D. punctatus spectabilis* Butler, *D. superans* Butler, *D. houi* Lajonquiere and *D. kikuchii* Matsumura was investigated using polyacrylamide gel electrophoresis. Eight allozymes, such as Lactate dehydrogenase (LDH), Malate dehydrogenase (MDH), Malic enzyme (ME), Alcohol dehydrogenase (ADH), Formic acid dehydrogenase (FDH), Glutamate dehydrogenase (GDH), Catalase (CAT) and Peroxidase (POD) were analyzed. Twelve loci and fifteen alleles were detected, among which six loci were polymorphic ($P = 50.0\%$). The average number of alleles per locus A was 1.917, and the expected heterozygosity He was 0.267, and their mean genetic distance was $0.0730 - 0.5701$. The results indicated that the genetic diversity of *Dendrolimus* was high among the five species. According to the hereditary parameters of the five species, *D. punctatus punctatus* Walker and *D. punctatus spectabilis* Butler had the closest genetic relationship, while *D. superans* Butler and *D. kikuchii* Matsumura had the most distant genetic relationship.

Key Words: *Dendrolimus*; allozyme variation; phylogenetic relationship

松毛虫属 (鳞翅目: 枯叶蛾科) 昆虫是我国林业上的重要害虫, 在我国有 27 种分布, 广泛分布于全国 28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30771739)

收稿日期: 2007-10-25; 修订日期: 2008-11-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: baojiagao@163.com

个省、市和自治区^[1]。其中马尾松毛虫 (*Dendrolimus punctatus punctatus* Walker)、赤松毛虫 (*D. punctatus spectabilis* Butler)、落叶松毛虫 (*D. superans* Butler)、云南松毛虫 (*D. houi* Lajonquiere) 和思茅松毛虫 (*D. kikuchii* Matsumura) 是松毛虫属昆虫中的典型代表。松毛虫属昆虫种类繁多,不同种在个体大小、外部形态特征及生物学特性等方面都有不同程度的差异,在松毛虫属某些种类的亲缘关系或分类地位划分等方面也一直存在不同的意见,诸多学者分别从形态学、遗传学和化学生态学等方面都给出了各自的证据来阐明它们之间的亲缘关系^[1-4]。其中,近期较为经典的研究成果是赵青山等利用杂交实验方法已经证实赤松毛虫和油松毛虫应是马尾松毛虫的地理亚种^[2,3]。同时,近年来人为干扰造成松毛虫生境恶化,势必会对松毛虫属昆虫的遗传分化造成明显的影响。所以明确不同种松毛虫之间的亲缘关系及遗传分化,对于阐明其分类地位以及多种松毛虫的综合治理都具有重要意义。

长期以来,不同种昆虫之间亲缘关系的确定主要以形态学为依据,但对近缘种间关系和遗传分化的解释就会显示出方法的局限性。随着分子生物学技术的迅猛发展,分子遗传标记的方法已经在昆虫遗传变异和亲缘关系的研究中发挥出不可替代的作用^[5-10]。其中张爱兵、高宝嘉和袁一杨等人已经采用 RAPD-DNA 指纹图谱技术、ISSR 和 AFLP 技术研究了松毛虫属部分种类之间的亲缘关系和遗传分化,发现松毛虫属昆虫不同种及同种不同地理种群之间已经发生了明显的遗传分化,松毛虫该物种的遗传变异程度已经达到较高的水平^[11-13]。除广泛采用的 DNA 遗传标记外,等位酶作为同一位点上不同等位基因编码的同一种酶的不同形式,能够很好地表明等位基因位点的变化,为种下划分亚种、变种提供遗传学依据,也是一种经典的遗传标记方法^[14]。本实验采用等位酶的分析方法,以马尾松毛虫、赤松毛虫、落叶松毛虫、云南松毛虫和思茅松毛虫为研究对象,对松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的亲缘关系及遗传分化进行初步探讨,为松毛虫属昆虫分类学中有争议的问题提供分子生物学证据。

1 材料和方法

1.1 材料采集

赤松毛虫、马尾松毛虫、落叶松毛虫、云南松毛虫、思茅松毛虫均为在采集地随机采集虫蛹后室内羽化,成虫羽化后立即放入 -20℃ 低温保存。材料采集地资料如表 1。

表 1 松毛虫属昆虫材料的不同地理来源
Table 1 Origin of the tested *Dendrolimus* materials

代号 Code	种类 Species	采集地 Sites	海拔 Altitude (m)	降水量 Annual precipitation (mm)	年均气温 Annual mean temperature(℃)	纬度和经度 Latitude and Longitude
1	赤松毛虫 <i>Dendrolimus punctatus spectabilis</i> Butler	辽宁. 绥中县 Liaoning, Suizhong	380	640	24.5	41°07'N 121°05'E
2	马尾松毛虫 <i>D. punctatus punctatus</i> Walker	江西. 余江县 Jiangxi, Yujiang	310	1788.8	17.6	28°11'N 116°54'E
3	落叶松毛虫 <i>D. superans</i> Butler	河北. 赤城县 Hebei, Chicheng	1000	430	8.5	40°50'N 114°53'E
4	云南松毛虫 <i>D. houi</i> Lajonquiere	四川. 剑阁县 Sichun, Jiange	900	640	15.1	31°53'N 105°16'E
5	思茅松毛虫 <i>D. kikuchii</i> Matsumura	重庆. 梁平县 Chongqing, Liangping	730	1460	16.7	30°25'N 107°24'E

1.2 实验方法

(1) 样品处理 各种群分别选取 15 头雄虫,将每头雄虫的胸部切下,加入预冷的提取液 600μl (H₂O 30 ml; Tris 0.048 g; 巯基乙醇 30μl; 蔗糖 3.3g; pH = 7.0) 在冰浴条件下匀浆,4℃ 离心 10 min (8000 r/min), 取上清液分装后保存于冰箱 (-20℃) 中备用。

(2) 电泳及染色 制备 7.5% 聚丙烯酰胺线性梯度凝胶进行等位酶电泳,电极缓冲液为 Tris-甘氨酸 (pH = 8.3)。每个样品上样 10μl,加适量溴酚蓝,4℃ 条件下电泳。实验中等位酶选用的种类见表 2,等位酶的染

色参考了王中仁的基本方法^[14]。

表 2 等位酶选用种类

Table 2 The kinds of allozymes be choosed

酶 Enzyme	名称缩写 Abbreviation	酶代号 E. C. code
乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase	LDH	E. C. 1. 1. 1. 27
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	MDH	E. C. 1. 1. 1. 37
苹果酸酶 Malic enzyme	ME	E. C. 1. 1. 1. 40
醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	ADH	E. C. 1. 1. 1. 1
甲酸脱氢酶 Formate dehydrogenase	FDH	E. C. 1. 2. 1. 2
谷氨酸脱氢酶 Glutamate dehydrogenase	GDH	E. C. 1. 4. 1. 2
过氧化氢酶 Catalase	CAT	E. C. 1. 11. 1. 6
过氧化物酶 Peroxidase	POD	E. C. 1. 1. 1. 1

1.3 电泳结果记录及数据分析

按王中仁《植物等位酶分析》^[14]中提供的酶谱分析方法对所测等位酶系统的酶谱及基因型进行判读:控制同一种酶的不同基因座(locus)按照从阳极到阴极的顺序依次标记为 1、2、3、...,同一基因座位的不同等位基因按照从阳极到阴极的顺序依次标记为 a、b、c、...。

数据处理和聚类运算应用 POPGENE-Version1.31 软件^[15],获得各位点的等位基因频率以及下列种群遗传学参数:(1)多态位点百分数 P 和 Shannon 信息指数 I ;(2)平均每个位点的等位基因数 A 和有效等位基因数 A_e ;(3)平均每个位点的观测杂合度 H_o 和预期杂合度 H_e ;(4)遗传距离和相似性系数;(5)根据遗传距离用算术平均的不加权对群法(UPGMA)构建系统树。

2 结果与分析

2.1 松毛虫属昆虫的等位基因位点及等位基因频率

共对 8 种等位酶(LDH、MDH、ME、ADH、FDH、GDH、CAT、POD)进行电泳检测,电泳结果见图 1。根据不同酶带在松毛虫属昆虫 5 个种和亚种中的分布,并参考鳞翅目其他昆虫等位酶研究的相关文献^[16,17],最终确定检测到 12 个基因位点:*Ldh-1*、*Ldh-2*、*Ldh-3*、*Me-1*、*Me-2*、*Mdh-1*、*Mdh-2*、*Adh-1*、*Fdh-1*、*Gdh-1*、*Cat-1*、*Pod-1*。其中 6 个位点为多态位点:*Ldh-2*、*Me-1*、*Mdh-1*、*Gdh-1*、*Cat-1*、*Pod-1*。

在松毛虫属昆虫 5 个种和亚种的等位酶检测结果中,各位点等位基因频率见表 3。对 12 个基因位点进行遗传学分析发现,其中 *Ldh-2* 和 *Pod-1* 含 4 个等位基因属于复等位基因,*Me-1*、*Mdh-1*、*Gdh-1*、*Cat-1* 含 2 个等位基因,其余单态位点各含一个等位基因。检测到的 15 个等位基因在 5 种松毛虫属昆虫的群体中均有分布,7 个基因属全域基因(其中包括 6 个单态位点基因),占总基因数的 46.67%;赤松毛虫含有一个特有基因 *Pod-1c*,云南松毛虫含有一个特有基因 *Ldh-2a*,思茅松毛虫包括四个特有基因 *Me-1a*、*Ldh-2d*、*Cat-1b*、*Pod-1d*。由此可见,由于种间地理隔离和生殖隔离限制了种间个体间的相互基因交流,在系统演化中那些适应了新环境的遗传变异得以保存下来,致使种间在酶谱上愈来愈发生分化,形成了较高水平的特有谱带。8 种等位酶在每个群体中检测到的等位基因数目亦不同,其中赤松毛虫、马尾松毛虫、云南松毛虫检测到的等位基因数最多(均为 15 个等位基因),等位基因数最少的群体为落叶松毛虫(13 个等位基因)。

2.2 松毛虫属昆虫的遗传变异分析

从表 4 可以看出:在松毛虫属昆虫的 5 个种和亚种中,平均每个位点等位基因数(A)的平均值为 1.200,其变动幅度从 1.083(落叶松毛虫)到 1.250(赤松毛虫、马尾松毛虫和云南松毛虫);平均每个位点等位基因的有效数目(A_e)的平均值为 1.135,其变动幅度从 1.083(落叶松毛虫)到 1.165(赤松毛虫); A 和 A_e 的数值差异不是很大。多态位点百分数(P)的平均值为 20%,其中赤松毛虫、马尾松毛虫和云南松毛虫为 25%,落叶松毛虫为 8.33%,变动幅度较大。平均每个位点实际杂合度(H_o)、预期杂合度(H_e)的平均值分别为 0.084

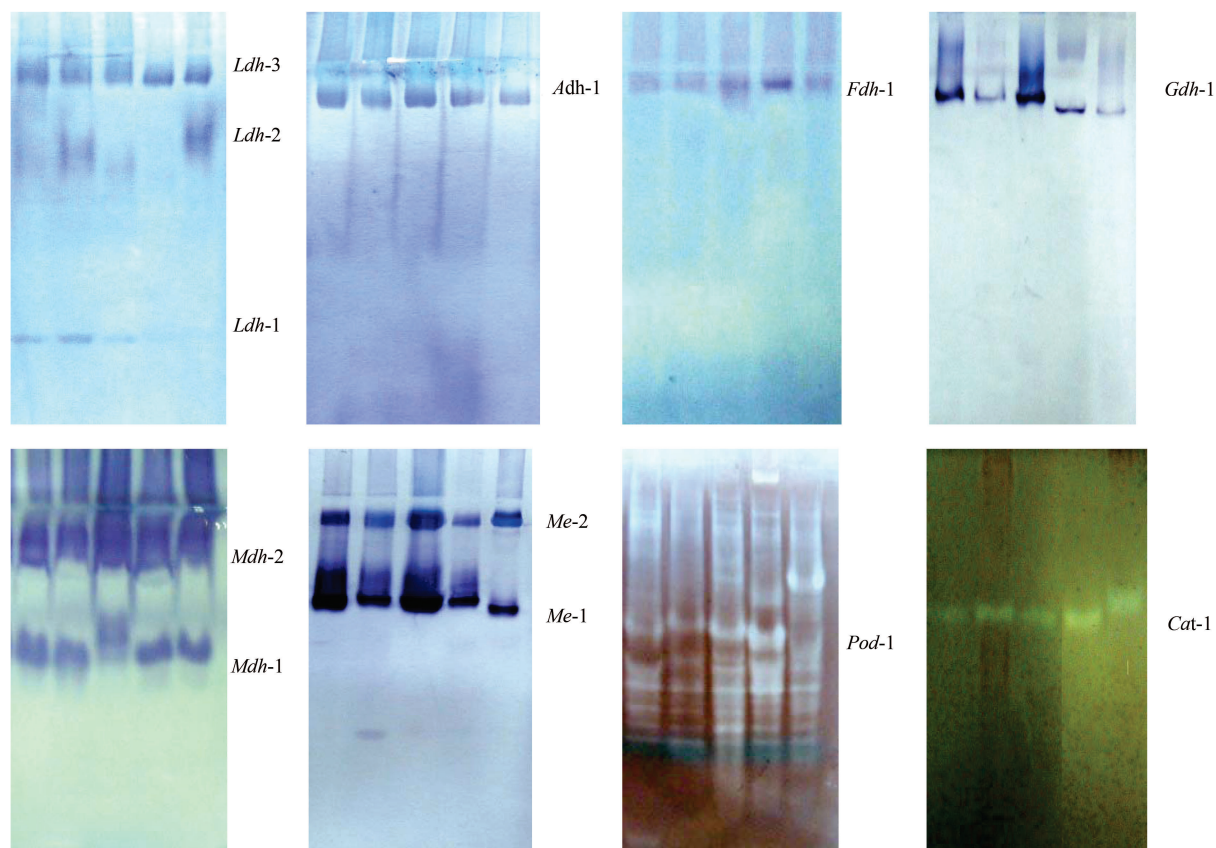


图 1 LDH、ADH、FDH、GDH、MDH、ME、POD、CAT 的等位酶电泳带型

Fig. 1 Electrophoretic forms of LDH、ADH、FDH、GDH、MDH、ME、POD、CAT

样品从左至右依次为: 1、2、3、4、5 From left to right: 1、2、3、4、5

表 3 松毛虫属昆虫 5 个种和亚种的等位基因频率

Table 3 Allele frequency of five species and subspecies of *Dendrolimus*

基因座 Locus	种类代号 Species code				
	1	2	3	4	5
<i>Me-1a</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.833
<i>Me-1b</i>	1.000	0.300	1.000	0.308	0.167
<i>Me-1c</i>	0.000	0.700	0.000	0.692	0.000
<i>Me-2</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Mdh-1a</i>	0.750	0.900	0.000	0.962	1.000
<i>Mdh-1b</i>	0.250	0.100	1.000	0.038	0.000
<i>Mdh-2</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Ldh-1</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Ldh-2a</i>	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000
<i>Ldh-2b</i>	0.167	0.000	1.000	0.000	0.000
<i>Ldh-2c</i>	0.833	1.000	0.000	0.000	0.000
<i>Ldh-2d</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
<i>Ldh-3</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Adh-1</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Fdh-1</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Gdh-1a</i>	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000
<i>Gdh-1b</i>	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000
<i>Cat-1a</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
<i>Cat-1b</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
<i>Pod-1a</i>	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
<i>Pod-1b</i>	0.000	0.500	0.500	0.500	0.000
<i>Pod-1c</i>	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pod-1d</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
等位基因数 Number of alleles	15	15	13	15	14

和 0.119, 其中落叶松毛虫的 H_o 和 H_e 最小, 分别为 0.083 和 0.043, 云南松毛虫的 H_o 和 H_e 最大, 分别为 0.090 和 0.288; 赤松毛虫、马尾松毛虫和云南松毛虫中实际杂合度均低于预期杂合度, 说明这 3 个野生群体中存在不利于杂合子的自然选择; 落叶松毛虫和思茅松毛虫中实际杂合度均高于预期杂合度, 说明这 2 个野生群体中存在有利于杂合子的自然选择。松毛虫属昆虫种群总体水平 $P = 50.0\%$, $A = 1.917$, $H_e = 0.267$ 。

表 4 松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的遗传多样性参数

Table 4 Genetic diversity parameters of five species and subspecies of *Dendrolimus*

POP	1	2	3	4	5	平均 Mean	Overall loci
A	1.250	1.250	1.083	1.250	1.167	1.200	1.917
Ae	1.165	1.162	1.083	1.152	1.115	1.135	1.676
I	0.142	0.136	0.058	0.123	0.095	0.111	0.441
P(%)	25	25	8.33	25	16.67	20	50
H_o	0.083	0.083	0.083	0.090	0.083	0.084	0.085
H_e	0.100	0.097	0.043	0.288	0.068	0.119	0.267

A 为平均每位点等位基因数目; Ae 为平均每位点等位基因有效数目; I 为 Shannon 信息指数; P 为多态点比率; H_o 为平均每位点预期杂合度; H_e 为平均每位点期望杂合度 A: Number of alleles per locus; Ae: Effective number of alleles per locus; I: The Shannon information index; H_o : Observed heterozygosity; H_e : Expected heterozygosity; P: Percentage of polymorphic loci

2.3 松毛虫属昆虫的亲缘关系分析

松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的 Nei 遗传距离和遗传一致度如表 5 所示。5 个种和亚种之间的遗传一致度范围为 0.6508 ~ 0.9206, 遗传距离范围为 0.0730 ~ 0.5701。亲缘关系最近的是赤松毛虫与马尾松毛虫, 亲缘关系最远的是落叶松毛虫与思茅松毛虫。与赤松毛虫亲缘关系远近依次为: 马尾松毛虫、落叶松毛虫、云南松毛虫和思茅松毛虫。

表 5 松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的遗传相似性及遗传距离

Table 5 Nei's Genetic identity and Genetic distance of five species and subspecies of *Dendrolimus*

Pop	1	2	3	4	5
1	* * * *	0.9296	0.8669	0.7603	0.6508
2	0.0730	* * * *	0.7963	0.8188	0.6523
3	0.1429	0.2278	* * * *	0.6985	0.5655
4	0.2740	0.1999	0.3588	* * * *	0.7449
5	0.4296	0.4272	0.5701	0.2945	* * * *

对角线以下为 Nei 的遗传距离, 对角线以上为遗传一致度 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

根据遗传距离用算术平均的不加权对群法(UPGMA)构建松毛虫属昆虫 5 个种和亚种的聚类图, 见图 2。从图可以看出 5 个种和亚种大致可以分为 4 支: 赤松毛虫和马尾松毛虫相聚为一支, 落叶松毛虫、云南松毛虫和思茅松毛虫各分为一支。赤松毛虫和马尾松毛虫分布区虽然一南一北, 但等位酶分析结果表明二者亲缘关系最近, 支持赤松毛虫是马尾松毛虫的地理亚种这一昆虫分类学上的新观点^[2,3]。

3 讨论

本文就等位酶技术在松毛虫属昆虫亲缘关系及遗传变异中的应用进行了初步摸索, 并就该方法在应用过程中一些需要特别注意的问题进行了探讨。有文献表明在昆虫不同的器官或不同的发育阶段, 等位酶表达的种类及含量是不尽相同的^[18,19]。在本实验的前期摸索中也发现松毛虫的雌、雄虫体所做出的等位酶图谱是不同的, 但作者在 DNA 分子标记(RAPD, SSR) 实验中未

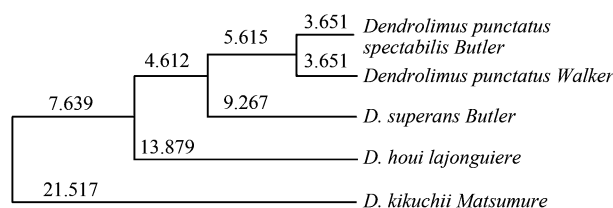


图 2 松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的聚类图

Fig.2 UPGMA dendrograms based on Nei's genetic distance of five species and subspecies of *Dendrolimus*

发现因试虫取样部位不同或者性别不同而出现的结果差异。所以,实验材料取材部位严格一致是等位酶技术与其他分子标记技术的不同之处,在实际操作中需要重点考虑。另外,DNA 分子标记所揭示的物种遗传多样性要远高于等位酶分析方法的结果^①。这种差异是与标记方法不同的检测原理直接相关的,很多研究者在研究其它昆虫、植物和家禽种群遗传多样性时也有同样的结论^[20~22]。在 DNA 标记中所检测到的位点包括基因组 DNA 序列中的任何区域,包括编码区和非编码区、单拷贝和重复的 DNA 序列,能够检测到更多的遗传信息,且不受发育阶段、生理状态的影响;而等位酶作为某一种有特殊功效的酶系统,主要反映该种酶基因编码区的变异,并且等位酶的变异仅反映出物种居群在某一时期某一阶段的多样性水平。当然,等位酶也有自己的优点,它是共显性标记,可以区分纯合体和杂合体,而某些 DNA 分子标记是显性标记(如 RAPD 和 AFLP),无法做到这一点。

等位酶标记在松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的检测结果显示在总体水平上 $P = 50.0\%$, $He = 0.267$, $A = 1.197$, 遗传参数表明松毛虫属昆虫存在较高水平的遗传变异。郝纪华等在研究 5 个粘虫种群遗传结构时得出平均杂合度 $He = 0.138$ ^[16];徐广等发现棉铃虫不同地理种群遗传结构的平均杂合度 $He = 0.116$ ^[17];Vandewoestijne S 在研究发生在酸果蔓植物上的一种濒危蛱蝶——*Boloria aquilonari* 时得出该种群的平均杂合度 $He = (0.188 \pm 0.029)$ ^[20]。与以上报道的鳞翅目其他昆虫种类的等位酶分析结果相比,可以看出在本研究中松毛虫属昆虫的平均杂合度属于较高水平。在繁茂、复杂的林地环境中,近年来人为干扰(封山育林、化学防除)对松毛虫种群生境造成严重的影响。但该物种通过其本身高繁殖力、高适应力及高度遗传多样性已经适应了周围生态环境的改变,较高水平的遗传变异更有利于其适应变化的生境,正是其自身的遗传变异与外界环境互动,经稳定遗传后逐渐形成不同的种和地理亚种。除此之外,松毛虫属昆虫在食料充足的情况下,一般不作远距离的迁飞^[1],这一生物学特性也有助于种与种之间的隔离,从而降低了基因交流的水平,促进了特定环境条件下的物种分化。

从本文松毛虫属昆虫 5 个种和亚种之间的树状聚类图上可以看出,赤松毛虫和马尾松毛虫首先相聚成第一大类,而分布在我国北方的落叶松毛虫、来自四川盆地的思茅松毛虫和云南松毛虫各自独立分为一支。赤松毛虫和马尾松毛虫虽然分布区距离很远,气候环境差异也较大,但等位酶聚类结果表明二者亲缘关系很近,所以,本文研究结果支持赵清山和张爱兵的研究结论^[2,3,11]。由此对于松毛虫属昆虫 5 个种和亚种的形成可以从时间和空间上做一个初步推测:思茅松毛虫与马尾松毛虫分化时间最久,与马尾松毛虫分离向我国西南部扩展;然后是云南松毛虫与马尾松毛虫分离;落叶松毛虫与马尾松毛虫分离后向我国北部扩展,在北方干燥寒冷的气候条件下逐渐形成稳定的新种;而赤松毛虫是马尾松毛虫向北方沿海地区扩展的一支,与马尾松毛虫分化时间最短,在环渤海湾地区湿润的气候条件下形成稳定的地理亚种,但与马尾松毛虫不存在生殖隔离。对于松毛虫属昆虫各个种的具体分化和形成时间,目前的分子遗传标记技术还不能准确界定,还有待进一步研究。

Dasmahapatra K. K. 在研究鳞翅目蛱蝶科近缘种 *Anartia fatima* 和 *Anartia amathea* 种群遗传结构时发现二者常在分布交界区形成杂交带,并且杂交带有逐年扩展的趋势^[23]。不同种松毛虫在其分布区的交界地带常混合发生,并发现有杂交种存在,天然杂交种具有抗逆性强、生存率高等杂种优势,这些都成为松毛虫危害严重和难以根除的重要原因^[2,3]。本研究从等位基因酶的角度初步探讨在我国发生最为严重的 5 种松毛虫的亲缘关系,为研究松毛虫物种的系统发育及遗传进化提供生化信息参考。

References:

- [1] Hou T Q. Pine caterpillars in China. Beijing Science Press, 1987. 29—78.
- [2] Zhao Q S, Wu W B, Lv G P, et al. Hybridization experiments with two species of *Dendrolimus*. Acta Entomologica Sinica, 1992, 35(1): 28—32.

① 另文发表

- [3] Zhao Q S, Wu W B, Lv G P, *et al.* Study on cross heredity of pine caterpillars, *Dendrolimus* spp. *Scientia Silvae Sinicae*, 1999, 35(4): 45 — 50.
- [4] Kong X B, Zhao C H, Gao W. Identification of sex pheromones of four economically important species in genus *Dendrolimus*. *Chinese Science Bulletin*, 46(17):1435 — 1439.
- [5] Shi W, Ye H. Genetic structure in four geographic populations of the oriental fruitfly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) located in the seasonal occurrence zone in Yunnan Province. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(6): 2477 — 2482.
- [6] Fu J Y, Han B Y. A RAPD analysis on genetic diversity of populations of *Aleurocanthus spiniferus* from seven tea gardens in eastern China. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(5): 1887 — 1894.
- [7] Martel C, Re jasse A, Rousset F, *et al.* Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity*, 2003, 90: 141 — 149.
- [8] Jane K H, Clare L H, Calvin D *et al.* Genetic diversity in butterflies: interactive effects of habitat fragmentation and climate-driven range expansion. *Biology Letter*, 2006, 2: 152 — 154.
- [9] Han Q, Caprio M. A. Temporal and spatial patterns of allelic frequencies in cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 2002, 31(3): 462 — 468.
- [10] Pichon A, Arvanitakis L, Roux O, *et al.* Genetic differentiation among various populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Bull Entomology Research*, 2006, 96(2): 137 — 144.
- [11] Zhang A B, Kong X B, Li D M, *et al.* DNA fingerprinting evidence for the phylogenetic relationship of eight species and subspecies of *Dendrolimus* (Lepidoptera: Lasiocampidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 2004, 47(2): 236 — 242.
- [12] Gao B J, Gao L J, Hou J H, *et al.* Genetic diversity of *Dendrolimus* (Lepidoptera) population from different geographic area. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(2): 842 — 848.
- [13] Yuan Y Y, Gao B J, Li M, *et al.* The genetic diversity of *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu in forests of different stand types. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(5): 2099 — 2106.
- [14] Wang Z R. Allozyme analysis in studies of plant. Scientific Publishing House, 1998.
- [15] Yeh F C, Yang R C, Boyle T. POPGENE version 1.31-microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999, 11 — 23.
- [16] Hao J H, Li S W, Lin C S. Isozyme variation in different local populations of *Mythimna separate*. *Acta Entomologica Sinica*, 1992, 35(1): 33 — 39.
- [17] Xu G, Guo Y Y, Wu K M. Allozyme variation within and among five geographic populations of *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Acta Entomologica Sinica*, 2004, 3 suppl: 64 — 69.
- [18] Guo X X, Zheng Z M. Studies on esterase isoenzyme of *Pieris rapae* at different developmental stages. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45(3): 401 — 403.
- [19] Fisk J H, Daly J C. Electrophoresis of *Helicoverpa armigera* (Hubner) and *H. punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae): genotype expression in eggs and allozyme variations between life stages. *Australian Entomological Society*, 1989, 28: 191 — 192.
- [20] Vandewoestijne S, Baguette M. The genetic structure of endangered populations in the Cranberry Fritillary. *Boloria aquilonaris* (Lepidoptera, Nymphalidae): RAPDs VS allozymes. *Heredity*, 2002, 89: 439 — 445.
- [21] Zhang X, Leung F C, Chan D K, *et al.* Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism on Chinese native chickens. *Poultry Science*, 2002, 81: 1093 — 1098.
- [22] Zhang J Y, Yuan Q H, Meng Y Q, *et al.* A genetic diversity analysis of wild *Lespedeza* populations based on morphological characters, allozyme and RAPD methods. *Plant Breeding*, 2007, 126: 89 — 94.
- [23] Dasmahapatra K K, Blum M J, Aiello A, *et al.* Inferences from a rapidly moving hybrid zone. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 2002, 56(4): 741 — 753.

参考文献:

- [1] 侯陶谦. 中国松毛虫. 北京: 科学出版社, 1987. 29 ~ 78.
- [2] 赵青山, 鄢文波, 吕国平, 等. 松毛虫的种间杂交遗传实验. *昆虫学报*, 1992, 35(1): 28 ~ 32.
- [3] 赵青山, 鄢文波, 吕国平, 等. 松毛虫种间杂交及其遗传规律的研究. *林业科学*, 1999, 35(4): 45 ~ 50.
- [4] 孔祥波, 赵成华, 高伟. 4 种松毛虫性信息素成分及在近缘种生殖隔离中的作用. *科学通报*, 46(17): 1435 ~ 1439.
- [5] 施伟, 叶辉. 云南桔小实蝇 (*Bactrocera dorsalis*) 季节性分布区 4 个地理种群遗传结构. *生态学报*, 2007, 27(6): 2477 ~ 2482.
- [6] 付建玉, 韩宝瑜. 茶园黑刺粉虱 (*Aleurocanthus spiniferus*) 种群的 RAPD 多样性. *生态学报*, 2007, 27(5): 1887 ~ 1894.
- [11] 张爱兵, 孔祥波, 李典谟, 等. 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.
- [12] 高宝嘉, 高立杰, 侯建华, 等. 三种松毛虫不同地理种群遗传多样性. *生态学报*, 2008, 28(2): 842 ~ 848.
- [13] 袁一杨, 高宝嘉, 李明, 等. 不同林分类型下油松毛虫 (*Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu) 种群遗传多样性. *生态学报*, 2008, 28(5): 2099 ~ 2106.
- [14] 王中仁. 植物等位酶分析. 北京: 科学出版社, 1998.
- [16] 郝纪华, 李绍文, 林昌善. 不同地区粘虫群体的同工酶变异. *昆虫学报*, 1992, 35(1): 33 ~ 39.
- [17] 徐广, 郭予元, 吴孔明. 棉铃虫地理种群的等位酶变异. *昆虫学报*, 2000, 43(增刊): 64 ~ 69.
- [18] 郭晓霞, 郑哲民. 菜粉蝶不同发育期酯酶同工酶的比较研究. *昆虫学报*, 2002, 45(3): 401 ~ 403.