

山西不同地域菜粉蝶 RAPD 遗传多样性

曹天文^{1,*}, 张 敏², 王 瑞¹, 宣善宾¹, 王菊平¹, 郭亚平², 马恩波²

(1. 山西省农业科学院植物保护研究所, 太原 030031; 2. 山西大学生命科学与技术学院, 太原 030006)

摘要: 采用 RAPD 技术分析了山西省菜粉蝶 5 个地域种群间的遗传多样性和遗传关系, 用筛选出的 12 对引物扩增共得到 143 条带, 其中 127 (88.8%) 条带具有多态性, 5 个种群变异程度由大到小的顺序为: 大同的 (76.3%) > 太原的 (74.7%) > 长治的 (74.5%) > 代县的 (73.7%) > 夏县的 (70.7%)。Shannon's 信息指数分析结果显示大多数变异发生在种群内 (73.7%)。种群间的 Nei's 遗传距离较低 (均 < 0.1)。用 UPGMA 和 Neighbor-joining 做的基于 RAPD 标记的 Nei's 遗传距离的聚类图显示, 各种群内的个体首先聚在一起, 种群之间有一定分化, 5 个地域种群间较远距离的代县种群与夏县种群遗传关系最近并优先相聚。经过对试验结果的分析讨论认为: 环境类型及其生态条件对山西省菜粉蝶地域种群的遗传多样性和遗传变异产生了重要的影响, 其中农药的施用对菜粉蝶种群遗传结构的影响有可能是深刻的。

关键词: 遗传多样性; 种群; RAPD; 菜粉蝶

文章编号: 1000-0933(2009)07-3939-08 中图分类号: Q143 文献标识码: A

RAPD analysis of genetic diversity of five populations of *Pieris rapae* (L.) in Shanxi Province, China

CAO Tian-Wen^{1,*}, ZHANG Min², WANG Rui¹, XUAN Shan-Bin¹, WANG Ju-Ping¹, GUO Ya-Ping², MA En-Bo²

¹ Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agriculture Science, Taiyuan 030031, China

² College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(7): 3939 ~ 3946.

Abstract: RAPD markers were applied to analyze the genetic divergence of five populations of butterfly cabbage white (*Pieris rapae*) in Shanxi, China. The populations were sampled from vegetable farms at five representative basin areas from north to south of Shanxi, i. e. Youyu in Datong Basin, Daixian in Xinding Basin, Taiyuan in Taiyuan Basin, Zhangzi in Shangdang Basin, and Xiaxian in Yuncheng Basin. Genomic DNA of seventy-five individuals were extracted from leg muscle using Phenol-Chloroform method and then amplified using 12 pre-determined random primers (10 bp) which generated a total of 143 clear and reproducible bands. In terms of the number of polymorphic loci, the rank is as follows: Datong' (76.3%) > Taiyuan' (74.7%) > Changzhi' (74.5%) > Daixian' (73.7%) > Xiaxian' (70.7%). The analysis of Shannon's Index showed moderate polymorphism among the populations ($H_{sp} = 3.9507$; $H_{pop} = 2.9001$). The dendograms based on Nei's genetic distance using UPGMA and Neighbor-Joining showed high genetic similarity among the five populations. It is noted that Daixian population was closer with Xiaxian population in spite of large geographic distance. Considering the populations were from geographically distant basins the cluster analysis did not show distinct correlation trend between geographic and genetic distance, suggesting the likely gene flow among the populations. Moreover the frequent use of pesticides in farms may have also imposed pressure of artificial selection on the populations to evolve to a more uniform pattern in Shanxi Province.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40871034); 山西省自然科学基金资助项目 (2003-1087; 2007011095); 山西省农科院资助项目 (YGG0522)

收稿日期: 2008-10-22; 修订日期: 2009-04-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ctwen@126.com

Key Words: genetic diversity; population; RAPD; *Pieris rapae*

随机引物扩增多态性 DNA 技术(RAPD)由 William 等^[1]第一次提出,自 20 世纪 90 年代发展以来,已成为检测 DNA 多态性的常规技术,应用于遗传多样性分析、物种进化和种群研究等领域^[2~11]。菜粉蝶 *Pieris rapae* (L.) 隶属鳞翅目 Lepidoptera 粉蝶科 Pieridae,是世界上广泛分布的重要害虫,其幼虫称为菜青虫,以十字花科植物叶为食,在山西省各地都有其为害^[12,13]。多少年来,人类为防治菜粉蝶付出了巨大代价^[14]。物种种群遗传结构的研究对于从遗传特性来揭示其种群发生机制及其有害控制或管理有重要的理论意义和参考价值^[15,16]。山西位于我国黄土高原的东部,属温带大陆性季风气候,大致以恒山为界,其北属中温带,其南属暖温带,境内多山,主要有大同、忻定、太原、晋中、上党、临汾、运城等几个盆地,这些盆地是山西省主要的农耕区,菜粉蝶是重要害虫之一。当前对山西省不同地域菜粉蝶种群遗传结构的研究还未见相关报道。我们初次对山西五个地域的菜粉蝶种群进行 RAPD 遗传多样性分析,以期初步了解山西省不同地域菜粉蝶种群的遗传结构信息,为今后进一步研究环境或农药对菜粉蝶遗传结构的影响以及菜粉蝶的有害控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料与取材地的生态环境

5 个地域种群(表 1,图 1)分别是:

①山西省大同市右玉大田地菜粉蝶种群(2004 年 8 月; $N=15$;简称大同种群,代码为 DT。实地是远离村庄的大田坡地,中等水肥条件。农作物有苜蓿、玉米、土豆、茴子白。茴子白上用氧化乐果和菊酯类农药防治害虫,喷药 3 至 4 次)。

②山西省代县传统菜地菜粉蝶种群(2004 年 7 月; $N=15$;简称代县种群,代码为 DX。实地是县城附近的传统菜地,地势平坦,高水肥条件。农作物有茴子白、辣椒、茄子、西红柿、玉米、土豆等。茴子白苗期用吡虫啉防治蚜虫、生长期用阿维菌素和菊酯类农药防治小菜蛾和菜青虫等,用药水平高,一周喷一次药)。

③山西省太原市山西农科院北营大院试验地菜粉蝶种群(2004 年 6 月; $N=15$;简称太原种群,代码为 TY。实地是逐渐被城市建筑包围已 10 多年的科研试验地,地势平坦,高水肥条件。农作物有玉米、棉花、大豆、茴子白、西红柿、茄子、辣椒等。茴子白上主要用氧化乐果、敌敌畏、菊酯类农药防治害虫,喷药 4 至 5 次)。

④山西省长治市长子大田地菜粉蝶种群(2004 年 8 月; $N=15$;简称长治种群,代码为 CZ。实地是远离村庄的大田坡地,旁边有大片荒地,中等水肥条件。农作物有玉米、谷子、大豆、茴子白等。茴子白上常用氧化乐果、菊酯类农药防治害虫,喷药 3 至 5 次)。

表 1 用于 DNA 抽提和 RAPD 研究的菜粉蝶标本及其采集实地的地理位置与生态条件(2004 年)

Table 1 The researched samples and the five sites of location and field condition for collecting material of *Pieris rapae* (2004)

种名 Species	采集地 Sites	种群代码 Population codes	地理位置 Location	气候类型 Climate types	实地类型 Land types	喷药次数 Spraying times	调查时间 Dates
菜粉蝶 <i>Pieris rapae</i>	大同 Datong city	DT	112.33E, 40.18N	中温带 Middle temperate zone	大田 Crops field	4 次左右 About 4 times	2004-08
	代县 Daixian city	DX	112.97E, 39.07N	暖温带 Warm temperate zone	菜地 Vegetable field	8 次左右 About 8 times	2004-07
	太原 Taiyuan city	TY	112.53E, 37.87N	暖温带 Warm temperate zone	试验地 Test field	4 次左右 About 4 times	2004-06
	长治 Changzhi city	CZ	112.87E, 36.13N	暖温带 Warm temperate zone	大田 Crops field	4 次左右 About 4 times	2004-08
	夏县 X iaxian city	XX	111.22E, 35.12N	暖温带 Warm temperate zone	菜地 Vegetable field	9 次左右 About 9 times	2004-08

⑤山西省夏县传统菜地菜粉蝶种群(2004 年 8 月; $N=15$;简称夏县种群,代码为 XX。实地是城镇附近的传统菜地,地势平坦,高水肥条件。农作物有茴子白、辣椒、豆角、西红柿、茄子、玉米、棉花等。茴子白上用吡虫啉、阿维菌素和菊酯类农药,用药水平高,5~7D 用 1 次药)。

1.1.2 引物

用 52 个 10bp 的随机引物对菜粉蝶总 DNA 进行 PCR 扩增以检测其有效性。其中 12 条引物可以产生可重复的清晰的多态电泳条带,因而被选择为做进一步分析的引物(表 2)。

1.2 方法

1.2.1 酚-氯仿法抽提 DNA

用酚-氯仿法提取基因组 DNA:取出 -20°C 冷冻保存的菜粉蝶标本,取其胸部和足在浸泡液中浸泡 5 min,弃去浸泡液;分别剥取其胸部及中后足肌肉,剪碎。于 10mg/ml 蛋白酶 k 溶液(0.5mg/ml in $1\times\text{TES}$,1% SDS)中,在 56°C 下消化 8~12h。混合物由酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)抽提。随后,无水乙醇沉淀 DNA 后用被 75%乙醇进行洗涤,烘干后溶于 30 ml TE 溶液($\text{pH}8.0$),于 -20°C 保存备用。

1.2.2 RAPD-PCR 扩增与检测

PCR 扩增反应的反应体系总体积为 $25\mu\text{l}$,其中包括 $2.5\mu\text{l}$ $10\times\text{buffer}$,2 mmol/L MgCl_2 、dNTP 各 0.2 mmol/L,引物 0.4 mmol/L,模板总 DNA 20~50 ng,1U Taq DNA 聚合酶(Sino-American Biotechnology Company, China)。RAPD 反应于 PTC-200(美国, MJ Research, INC) DNA Thermocycler 中进行。首先 92°C ,2 min 预变性;然后 92°C 热变性 1 min, 35°C 1min, 72°C 1 min,进行扩增循环 44 次;最后一步 72°C 6 min。随后,保存于 4°C 。反应产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离,选用 200bp 的 DNA marker 作为标记,并用溴化乙锭(EB)染色, TMW-20Transilluminator(美国, UVP)凝胶成像系统观察拍照。

1.2.3 数据分析

扩增的 DNA 片段出现频率小于 0.99 的位点为多态位点。多态位点比率 $P = \text{具有多态的位点数} / \text{检测到的位点数}$ 。Shannon 信息指数是度量物种多样性的最常用方法,对凝胶成像系统记录的 RAPD 图片,参照 Marker 计算扩增条带的分子量。每条引物扩增各个样品会产生不同的带型。当在某一样品中出现某条带时,将此带记为“1”;反之记为“0”,形成二元数据。统计各条引物的位点,应用 POPGENE(version 1.31)软件计算 Shannon 信息指数。所推算的各种群

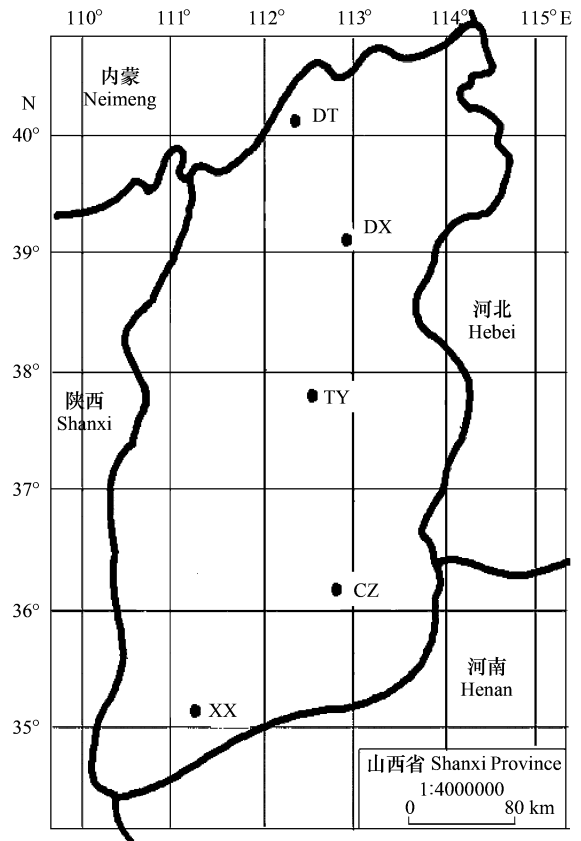


图 1 山西菜粉蝶标本采集实地的地理位置

Fig. 1 The five sites of location for collecting samples of *Pieris rapae* in Shanxi

DT:菜粉蝶山西大同种群 Datong Population; DX:菜粉蝶山西代县种群 Daixian Population; TY:菜粉蝶山西太原种群 Taiyuan Population; CZ:菜粉蝶山西长治种群 Changzhi Population; XX:菜粉蝶山西夏县种群 Xiaoxian Population

表 2 用于 RAPD 分析的引物号及其序列

Table 2 The random premiers and sequences

引物 Primer number	序列 Sequence (5'-3')	引物 Primer number	序列 Sequence (5'-3')
S128	GGG ATA TCG G	S1396	GGA ACC CAC A
S129	CCA AGC TTC C	S1398	TGG TCC AGC C
S130	GGA AGA TTG G	S1399	TGA GGC GTG T
S134	TGC TGC AGG T	S1406	GTG GCT TGG A
S1383	TTA GCG CCC C	S1409	GGG CGA CTA C
S1390	TGG TCG GGT G	S1410	TTC CCT CCC A

的遗传多样性数据,用于以 Chalmer 和 Gauer 提出的以 RAPD 标记为基础的数据分析^[17,18]。应用 Phyltools 6.0 计算 Nei's 遗传距离,在 Mega 软件中分别用 UPGMA 和 NJ 法对所有个体聚类,构建分子系统树。

2 实验结果

2.1 基因组 DNA 的提取

菜粉蝶为中等大小的蝶类,可获得中后足肌肉量较其胸部少,因而采用酚-氯仿法可从活体冷冻标本胸部肌肉中提取得到较高质量的基因组 DNA,有利于后续 PCR 扩增。

2.2 RAPD 图谱和多态性

试验中获得了较好的 RAPD 图谱(图 2),山西 5 个地域种群,共 75 个个体,用 12 条随机引物扩增获得 143 个位点,每条引物平均可以得到 11.9 个位点,其长度从 220bp 至 2000bp 不等,扩增统计结果(表 3)表明:其中 127 个位点为多态位点,占 88.8%。其中大同种群内多态位点百分率最高,为 76.3%,太原、长治、代县种群内多态位点百分率分别为 74.7%,74.5%,73.7%,夏县种群内多态位点百分率最低,为 70.7%。5 个种群变异程度由大到小的顺序为:DT > TY > CZ > DX > XX。

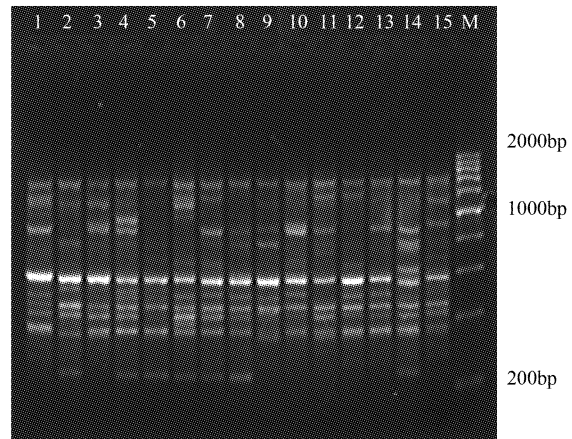


图 2 引物 S1409 扩增的图谱

Fig. 2 RAPD profile of primer S1409

1 ~ 15: 长治产菜粉蝶 Lane 1 ~ 15: *Pieris rapae* from Changzhi city; M: Molecular marker (200 bp DNA ladder)

表 3 不同种群 12 个引物的 RAPD 位点数和多态位点比率

Table 3 Proportion of polymorphic loci to total RAPD loci in each population detected with 12 primers

种群 Population	种群代码 Population codes	样本数 Sample size	位点数 Total loci	多态位点数 Polymorphic loci	多态位点比率 Proportion of polymorphic loci (P)
Changzhi City	CZ	15	94	70	0.745
Xiaxian City	XX	15	92	65	0.707
Taiyuan City	TY	15	91	68	0.747
Daixian City	DX	15	95	70	0.737
Datong City	DT	15	93	71	0.763
总计 Total	-	75	143	127	0.888

2.3 遗传多样性分析

由 Shannon's 信息指数(表 4)显示,5 个种群的平均遗传多样性在 2.6571 至 3.2965 之间变化,其中大同 2.9078、代县 2.8987、太原 2.7403、长治 3.2965,夏县 2.6571。5 个种群平均遗传多样性由高到低的顺序为: CZ > DT > DX > TY > XX,长治的最高,夏县的最低。由 Shannon's 信息指数估算的种群间遗传分化数据(表 5)显示,总体遗传多样性(H_{sp})为 3.9507。种群平均遗传多样性(H_{pop})为 2.9001。种群间遗传多样性($H_{sp-Hpop}$)占总体遗传多样性(H_{sp})的 26.3%。种群内平均遗传多样性(H_{pop})占总体遗传多样性(H_{sp})的 73.7%。

2.4 Nei's 遗传距离

Nei's 遗传距离数据结果(表略)显示,菜粉蝶 5 个种群的遗传距离差异较小,在 0.0484 至 0.0916 之间,均小于 0.1。其中代县和长治菜粉蝶的遗传距离最大(0.0916),代县和夏县种群的遗传距离最小(0.0484),种群遗传距离与种群地理距离之间无明显相关趋势。

2.5 聚类分析

用 MEGA 和 NJ 两种聚类方法对菜粉蝶 5 个种群所有个体的聚类分析结果基本一致。只是在 NJ(图 3)聚类方法中有 XX 种群的一个个体聚在 DX 种群内。结果显示,每个种群的个体基本先聚在一起,种群之间

是距离较远的 DX 和 XX 两种群首先被聚,这两种群依次又与 TY 种群和 DT 种群相聚,最后与 CZ 种群相聚。表明山西省 5 个菜粉蝶种群的遗传距离与地理距离之间的相关趋势不明显。

表 4 各种群各引物的 Shannon's 信息指数

Table 4 Shannon's index detected with 12 primers for 5 populations

引物 Primer	CZ	XX	TY	DX	DT
S128	3.6392	3.1830	2.371	1.3502	3.4320
S129	3.8893	2.2876	2.2511	2.1239	2.8544
S130	3.5817	2.0546	1.3374	2.2926	2.9384
S134	2.3271	2.5527	1.5164	2.0075	2.5522
S1383	2.8983	1.7625	2.1912	2.3225	2.2754
S1390	6.6160	4.0801	7.3395	5.0947	5.9294
S1396	3.9556	3.9552	3.0637	4.3732	3.9409
S1398	3.1259	3.2885	1.3556	1.7257	2.6548
S1399	1.1643	1.6244	1.9400	2.6443	1.1585
S1406	2.1338	2.3881	3.8742	4.4341	2.3909
S1409	3.8573	3.6393	4.4217	5.1457	3.8703
S1410	2.3697	1.0691	1.2217	1.2695	0.8968
平均 Mean	3.2965	2.6571	2.7403	2.8987	2.9078

表 5 由 Shannon's 信息指数估算的种群间遗传分化

Table 5 Partitioning of the genetic diversity between and within populations with 12 primers estimated by Shannon's diversity index

引物 Primer	H_{pop}	H_{sp}	H_{pop}/H_{sp}	$(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$
S128	2.7951	4.4213	0.6322	0.3678
S129	2.6813	4.3966	0.6099	0.3901
S130	2.4409	3.6403	0.6705	0.3295
S134	2.1912	2.4810	0.8832	0.1168
S1383	2.2900	3.1569	0.7254	0.2746
S1390	5.8119	7.5816	0.7666	0.2334
S1396	3.8577	4.9871	0.7735	0.2265
S1398	2.4301	3.1285	0.7768	0.2232
S1399	1.7063	2.1981	0.7763	0.2237
S1406	3.0442	4.0581	0.7502	0.2498
S1409	4.1869	5.4324	0.7707	0.2293
S1410	1.3654	1.9269	0.7086	0.2914
平均 Mean	2.9001	3.9507	0.7370	0.2630

3 讨论

RAPD 技术在许多昆虫种类的研究中已经得到广泛应用^[5,8,11],但在菜粉蝶种群的研究中未见报道。本试验通过筛选出适合的 PCR 反应体系,使用同一批引物,具有较好的重复性,并严格控制好实验条件,固定专人操作完成整个试验流程,所获得的 RAPD 图谱都清晰可靠。结果(表 3)显示,12 条引物共获得 143 个位点,其中 127 个位点为多态位点,占 88.8%。较高的多态位点比率说明菜粉蝶有丰富的遗传多态性,对环境的适应能力强,这符合广泛分布物种的遗传特点。5 个地域种群的多态位点比率(P)在 70.7%(XX)至 76.3%(DT)之间,差异不是很大,但实地类型(表 1)是大田和试验地的大同种群、长治种群和太原种群相对较高,而菜地类型的代县种群和夏县种群相对较低。5 个种群中,大田实地类型的大同种群(DT)最高,高于其它种群 1.6~5.6 个百分点,菜地实地类型的夏县种群(XX)最低,低于其它种群 3~5.6 个百分点。如果按实地类型分组的话,大田环境组高于菜地环境组,在同一环境组内高纬度种群比低纬度种群的多态位点的比率(P)高。本次实验的数据结果是对实地环境类型和地理差异的综合反映,例如:大同种群多态位点比率高除与大田环境有关系外,该种群位于恒山以北,属中温带气候,而其它种群均位于恒山以南,属暖温带气候也有一定的关系。大同盆地的气候相对较冷,环境条件与恒山以南已有明显的不同,在适应这一相对较冷环境的过程中,大同种群在遗传多态性上也得以较多的积累和保存变异。

由 Shannon's 信息指数(表 4)显示:大田环境组的长治种群(CZ)和大同种群(DT)的遗传多样性也相对较高,而菜地环境组的夏县种群(XX)和代县种群(DX)相对较低。Shannon's 信息指数与多态位点比率(P)的数据分析结果基本一致。

本实验聚类分析中基于 RAPD 标记采用 UPGMA 和 NJ 法构建的两个聚类图的结果(图 3 仅显示 NJ 图)显示,山西不同地域的 5 个种群中,每个种群的个体首先聚在一起;基于 Shannon's 信息指数估算的种群间遗传分化(表 5)显示,菜粉蝶种群内的遗传变异(0.7370)较其种群间遗传变异(0.2630)高;Nei's 遗传距离揭示种群间的遗传距离较小(均 <0.1)。这几项数据结果综合表明,山西菜粉蝶 5 个种群之间有一定的遗传分化,但种群间遗传关系很近,种群之间保持着一定水平的基因交流,这也符合菜粉蝶是广泛分布物种的遗传特点。山西虽然地形复杂,高山纵横,并没能完全阻断菜粉蝶种群间的基因交流。事实也是如此,在山西多年的蝶类考察中发现,从海拔几百米的盆地平原到海拔 2000 多米的高山林地草甸,均有菜粉蝶的踪影^[12,13],因为

野外广布而丰富的十字花科植物已为菜粉蝶种群的繁衍和扩展提供了食料保证,山西的高山峻岭并没能完全阻断菜粉蝶分布的连续性。

聚类分析结果(图3)显示,山西5个地域种群之间的聚类关系为地理距离较远但同是菜地环境组的代县种群(DX)与夏县种群(XX)首先相聚。按地理位置来说,代县种群(DX)与太原种群(TY)和大同种群(DT)距离较近,但由于种群环境类型的差异,在遗传关系上受环境因素的影响聚在了代县种群(DX)和夏县种群(XX)形成的聚类簇之外,4个种群最后与长治种群(CZ)相聚。聚类分析与 Nei's 遗传距离数据分析结果均表明,地理距离较远且同是大田环境组的代县种群(DX)和夏县种群(XX)在遗传关系上最近,而地理距离较远且不是同一个环境类型的代县种群(DX)和长治种群(CZ)在遗传关系上较远。结果再次表明,实地环境类型对菜粉蝶种群遗传结构产生了相对重要的影响。

可以注意到,菜地环境年年种菜,地势平坦,水肥条件好,农事管理程度高,同时为控制害虫为害,在苗子白上高水平施用杀虫剂。如夏县苗子白菜地每周喷1次农药。可以理解,除具备水肥条件好,管理水平高的环境条件外,严重的农药污染是菜地生态环境中最显著的特点。因此推测,菜地环境组的多态位点比率(P)和 Shannon's 遗传多样性信息指数较低,以及菜地环境组内远距离的 DX 和 XX 两种群优先相聚等可能与农药的严重污染有重要关系。尤其是施用农药最严重的夏县种群(XX),其 Shannon's 信息指数最低,多态位点比率(P)低于其它种群 3~5.6 个百分点,这可能是由于农药的大量使用必然会导致菜粉蝶抗药性的产生,同时也可能会引起菜粉蝶种群遗传结构的改变。这一点与褚栋等对 B 型烟粉虱群体遗传多样性研究中得出的结果类似^[19],他们在选育的第 18 代 B 型烟粉虱抗性种群研究中发现其遗传结构发生了明显的改变,施用噻虫嗪降低了 B 型烟粉虱群体的遗传多样性,因此推论化学农药对昆虫种群的遗传结构可能有重要的影响。山西省菜粉蝶 5 个地域种群之间存在着一定水平的基因交流,化学农药对遗传结构的影响可能有减弱,但实验分析数据反映出,5 个地域种群中,用药水平较低的大同种群遗传多样性较高;而常年用药水平较高的其它 3 个种群的遗传多样性就较低,对褚栋等的推论是一个有力的支持。

综上所述:山西省 5 个菜粉蝶地域种群之间保持着

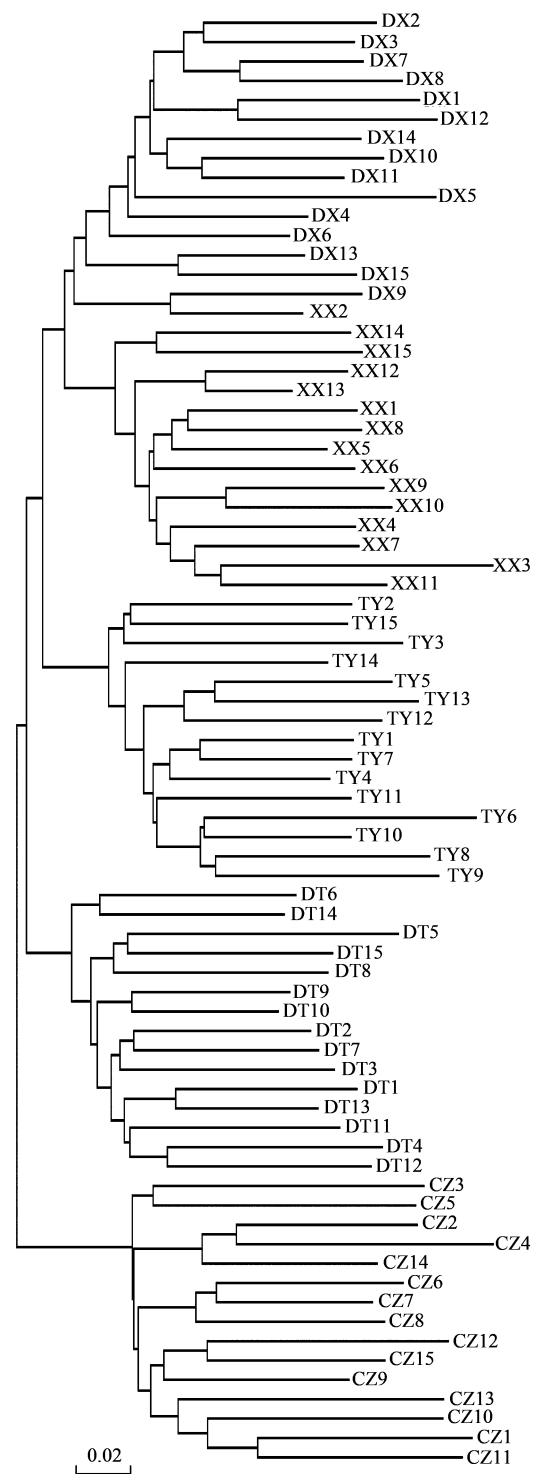


图3 用NJ法构建菜粉蝶5种群所有个体间的遗传关系(种群代号同表1)

Fig. 3 Dendrogram of *Pieris rapae* based on Nei's distance of RAPD marker clustered using neighbor-joining (See table 1 for explanation of population code)

不同程度的基因交流,种群内具有较高的遗传多样性,种群间遗传距离较小,体现了菜粉蝶是广泛分布物种的遗传结构特点。由于不同种群地域环境综合因素的作用,各种群之间有不同程度的遗传分化,实地环境类型及其生态条件对山西菜粉蝶地域种群的遗传多样性和遗传变异产生了重要的影响,其中农药的施用对菜粉蝶种群遗传结构的影响有可能是深刻的。本试验虽在取材数量、取材范围上有局限性,但试验结果在一定程度上已反映了山西菜粉蝶不同地域种群的遗传关系,在此希望能起到抛砖引玉的作用,同时也将在今后研究工作中得以充实和改进。关于农药施用会对菜粉蝶种群遗传结构产生那些影响需深入研究。

References:

- [1] Williams J G K, Kubelik A R, Livak J, Rafalski J A, Tingey S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18: 6531—6535.
- [2] Wolf H D, Blust R, Backeljau T. The use of RAPD in ecotoxicology. *Mutation Research*, 2004, 566: 249—262.
- [3] Volis S, Yakubov B, Shulgina I, Ward D, Zur V, Mendlinger S. Tests for adaptive RAPD variation in population genetic structure of wild barley, *Hordeum spontaneum* Koch. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2001, 74: 289—303.
- [4] Sheng Y, Zheng W H, Pei K Q, Ma K P. Population Genetic Structure of a Dominant Desert Tree, *Haloxylon ammodendron* (*Chenopodiaceae*), in the Southeast Gurbantunggut Desert Detected by RAPD and ISSR Markers. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(6): 675—681.
- [5] Cao L J, Yang B S, Li J, Li M, Wang Z, Yang R S, Qin L. Analysis of the *Dictyoploca japonica* With RAPD Technique. *Canye Kexue*, 2007, 33(2): 293—296.
- [6] Liu Z Z, Cai W Q, Li S F. Analysis of genetic variations of five population in *Trionyx sinensis* by RAPD. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(2): 119—126.
- [7] 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.
- [8] Cao T W, Zhang M, Zhang J Z, Guo Y P, Ma E B. RAPD analysis of genetic diversity among three populations of *Sasakia charonda*. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2005, 30(1): 1—9.
- [9] Chen X, Liao Z L, Li G H, Zhang Y, Jian C S, Wei H, Li H. RAPD Analysis on Guizhou Native Goat Breeds. *Zoological Research*, 2004, Apr, 25(2): 141—146.
- [10] Zhao J, Liu M J. RAPD analysis on the cultivars, strains and related species of Chinese Jujube (*Ziziphus jujube* Mill). *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(5): 590—594.
- [11] Zhang J Z, Zhang M, Guo Y P, Ma E B. Analysis on genetic relationship of *Oxya chinensis* and *O. japonica* from Xuzhou and Pingshan. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(1): 70—75.
- [12] Cao T W, Wang R, Dong J M, Xuan S B, Zhao F, Li J, Zhao J S. The diversity and zonal distribution of butterflies in Shanxi Province. *Acta Entomologica Sinica*, 2004, 47(6): 793—802.
- [13] Cao T W, Lou J X. Studies on the Fauna of the Butterflies in Shanxi Province. *The Advance of Entomologica*. Beijing: China Forestry Press, 1997. 313—322.
- [14] 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.
- [15] Suarez A V, Tsutsui N D, Holway D A, Case T J. Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. *Biological Invasions*, 1999, 1: 43—53.
- [16] Tsutsui N D, Suarez A V, Grosberg R K. Genetic diversity, asymmetrical aggression, and recognition in a widespread invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003, 100: 1078—1083.
- [17] Chalmers K J, Waugh R, Sprent J I, Simons A J, Powell W. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculate* using RAPD markers. *Heredity*, 1992, 69: 465—472.
- [18] Gauer L, Cavalli-Molina S. Genetic variation in natural populations of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using RAPD markers. *Heredity*, 2000, 84: 647—656.
- [19] Chu D, Xu B Y, Wu Q J, Wan F H, Xiao L F, Zhu G R, Zhang Y J. Thiamethoxam application can decrease the genetic diversity of *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) biotype B. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51(2): 150—154.

参考文献:

- [4] 盛岩, 郑蔚虹, 裴克全, 马克平. 用 RAPD 和 ISSR 标记研究古尔班通古特沙漠东南缘梭梭种群的遗传结构. 植物学报, 2004, 46(6): 675 ~ 681.
- [5] 曹兰娟, 杨宝山, 李俊, 李敏, 王卓, 杨瑞生, 秦利. 不同地区栗蚕 (*Dictyoploca japonica*) 的 RAPD 分析. 蚕业科学, 2007, 33(2): 293 ~ 296.
- [6] 刘至治, 蔡完其, 李思发. 中华鳖五群体遗传变异的 RAPD 分析. 水产学报, 2004, 28(2): 119 ~ 126.
- [7] 张颖娟, 扬持. 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.
- [8] 曹天文, 张敏, 张建珍, 郭亚平, 马恩波. 大紫蛱蝶三个地理种群的 RAPD 遗传多样性分析. 动物分类学报, 2005, 30(1): 1 ~ 9.
- [9] 陈祥, 廖正录, 李国红, 张芸, 简承松, 魏泓, 李虹. 贵州地方山羊品种的 RAPD 分析. 动物学研究, 2004, 25(2): 141 ~ 146.
- [10] 赵锦, 刘孟军. 枣树品种、品系及其近缘种的 RAPD 分析. 中国农业科学, 2003, 36(5): 590 ~ 594.
- [11] 张建珍, 张敏, 郭亚平, 马恩波. 徐州、平山两地中华稻蝗和日本稻蝗的群体遗传关系分析. 中国农业科学, 2005, 38(1): 70 ~ 75.
- [12] 曹天文, 王瑞, 董晋明, 宣善滨, 赵飞, 李捷, 赵俊生. 山西省蝶类多样性与地带分布. 昆虫学报, 2004, 47(6): 793 ~ 802.
- [13] 曹天文, 娄巨贤. 山西蝶类区系的研究. 昆虫学研究进展, 北京: 中国林业出版社, 1997. 313 ~ 322.
- [14] 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.
- [19] 褚栋, 徐宝云, 吴青君, 万方浩, 肖利锋, 朱国仁, 张友军. 施用噻虫嗪可降低 B 型烟粉虱群体的遗传多样性. 昆虫学报, 2008, 51(2): 150 ~ 154.