



高尚, 蒋国芳, 范冰冰. 基于微卫星标记探讨同域分布竹蝗间的基因渐渗 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (3): 566–572.

## 基于微卫星标记探讨同域分布竹蝗间的基因渐渗

高尚<sup>1,2</sup>, 蒋国芳<sup>1,2\*</sup>, 范冰冰<sup>1</sup>

(1. 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建泉州 362000; 2. 南京师范大学生命科学学院, 南京 210023)

**摘要:** 竹蝗是我国竹林的重要害虫。同域分布物种间基因渐渗方面的研究较少, 针对竹蝗属的尚未见报道。本文应用 5 对微卫星标记检测了安徽金寨县青脊竹蝗和黄脊竹蝗同域分布种群的遗传多样性、遗传结构及种群间的渐渗。结果表明, 5 对微卫星引物检测到的等位基因共 60 个, 每个位点拥有等位基因 10~13 个, 平均为 12 个; 各位点的期望杂合度 ( $H_e$ ) 范围为 0.711~0.885, 观测杂合度 ( $H_o$ ) 均为 1。每个位点都具有较高的多态性, 平均多态信息含量 ( $PIC$ ) 为 0.799, 说明这些位点都存在着丰富的遗传信息。在整体水平上, 所有微卫星位点对之间为显著的连锁不平衡。同域分布的黄脊竹蝗和青脊竹蝗种群个体间发生了基因渐渗, 且基因流从黄脊竹蝗转移到青脊竹蝗。最后, 讨论并提出了对竹蝗属基因渐渗深入研究的建议。

**关键词:** 竹蝗; 微卫星标记; 遗传多样性; 基因渐渗; 同域分布

中图分类号: Q963; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 03-566-07

## Gene introgression between two species of sympatric bamboo locusts based on microsatellite markers

GAO Shang<sup>1,2</sup>, JIANG Guo-Fang<sup>1,2\*</sup>, FAN Bing-Bing<sup>1</sup> (1. College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, Fujian Province, China; 2. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** Bamboo locust is an important pest in bamboo forest in China. Few studies have been carried out on gene introgression among sympatric species, and there is no report on bamboo locust. In this paper, five pairs of microsatellite markers were used to detect the genetic diversity, genetic structure and interpopulation introgression of the bamboo locusts *Ceracris kiangsu* and *Ceracris nigricornis* in Jinzhai County, Anhui Province. The results showed that there were 60 alleles detected by five pairs of microsatellite primers, each locus had 10 to 13 alleles, with an average of 12, the expected heterozygosity ( $H_e$ ) range of each locus was 0.711~0.885, and the observed heterozygosity ( $H_o$ ) range was 1. Each locus had a high polymorphism and the average polymorphic information content ( $PIC$ ) was 0.799, indicating that these loci were rich in genetic information. At the overall level, there was a significant linkage disequilibrium among all microsatellite locus pairs. Gene introgression occurred between the populations of *C. kiangsu* and *C. nigricornis*, and the gene flow was transferred from *C. kiangsu* to *C. nigricornis*. Finally, some suggestions for further study on gene introgression of bamboo locust were discussed and put forward.

**Key words:** Bamboo locusts; microsatellites; genetic diversity; gene introgression; sympatry

基金项目: 国家自然科学基金 (31572246)

作者简介: 高尚, 男, 1989 年生, 内蒙古赤峰人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生态学方向, E-mail: 1241907494@qq.com

\* 通讯作者 Author for correspondence: 蒋国芳, 博士, 教授, 研究方向为昆虫分子生态学, E-mail: cnjgf1208@163.com

收稿日期 Received: 2020-03-19; 接受日期 Accepted: 2020-04-15

渐渗是指一个种的遗传物质通过杂交与反复回交穿越种间障碍转入到另一个物种内的现象, 又称渐渗杂交 (Introgressive hybridization) (Anderson, 1953)。自然界中 10% 的动物和 25% 的植物都存在着杂交现象 (Mallet, 2005), 而杂交常常会导致基因渐渗 (Bowley & Taylor, 1987)。国外对于蝗虫基因渐渗的研究已有一些报道。Arnold 等 (1987) 使用限制性酶切技术最早发现澳洲 1 种蝗虫 *Caledia captiva* 的 2 个亚种在 1 个狭窄的杂交区发生了 rDNA 渐渗。之后, 欧洲小翅雏蝗 *Chorthippus parallelus* 2 个邻接亚种在比利牛斯杂交区的核 DNA 渐渗 (Vazquez *et al.*, 1994) 及其比利牛斯山东部杂交区的基因渐渗 (Shuker *et al.*, 2005), 澳洲 Morabine 蝗虫 (Kawakami *et al.*, 2011) 和亚洲稻蝗 *Oxya hyla intricata* (Li *et al.*, 2011) 的基因渐渗, 瑞士 1 种小车蝗 *Oedaleus decorus* 的线粒体基因的历史性渐渗 (Kindler *et al.*, 2012) 以及新西兰蝗虫 1 个濒危属 *Sigaues* 2 个种间的基因渐渗 (Dowle *et al.*, 2014) 均有较为深入的研究, 至 2015 年 Pedraza-Lara 等人对墨西哥具有重要经济价值的 *Sphenarium* 属蝗虫线粒体

基因渐渗的情况进行了检测。在这些报道中, Kindler 等 (2012) 和 Dowle 等 (2014) 分别使用了 11 个和 3 个微卫星位点标记数据进行分析, 结果显示对渐渗现象有较好的分辨率。

竹蝗是我国竹林的重要害虫, 其中著名的有黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 和青脊竹蝗 *C. nigricornis* (图 1) (陈永林, 2007)。黄脊竹蝗和青脊竹蝗在我国主要分布于云南、广西、海南、广东、福建、浙江、安徽、河南、重庆、贵州、四川、陕西、甘肃和台湾等 14 个省, 同时前者在江苏省尚有分布 (郑哲民和夏凯龄, 1998)。多方面证据已表明, 黄脊竹蝗与青脊竹蝗并非姊妹种 (易传辉, 2003; 许升全等, 2005; 和秋菊等, 2011; Gao *et al.*, 2018)。不过, 有意思的是, 本课题组多年来野外采集发现, 这两种竹蝗在我国南方的大片竹林中常常是同时存在, 呈现出同域分布状态。

本文采用微卫星遗传标记法检测安徽金寨县青脊竹蝗和黄脊竹蝗之间是否发生基因渐渗事件, 明确这两种竹蝗基因的流动方向, 为今后竹蝗属物种形成和遗传分化的研究提供有效科学依据。



图 1 青脊竹蝗 (a) 和黄脊竹蝗 (b)

Fig. 1 *Ceracris nigricornis* (a) and *Ceracris kiangsu* (b)

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验所用的标本是 2014 年采集于安徽省金寨县张冲乡 (E 116. 0195, N 31. 4335) (图 2) 的青脊竹蝗和黄脊竹蝗各 16 头个体 (雌雄各 8 头), 共 32 头个体。所有标本采集后, 送回实验室鉴定物种完毕后, 使用液氮快速冷冻处理, 并保存于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中直到提取总 DNA。



图 2 竹蝗采样地点

Fig. 2 Sampling location for bamboo locusts

## 1.2 总 DNA 提取、引物选择、PCR 产物扩增和分型

利用本课题组改良的酚-氯仿法提取研究样品的总 DNA (Xuan *et al.*, 2009), 并将 DNA 稀释为 30 ~ 50 ng/ $\mu$ L 的终浓度用于后续的 PCR 反应。从上述 32 头标本的后足股节肌肉中提取总 DNA。本实验从 Xuan 等 (2009) 报道的 12 对引物中筛选出 5 对引物, 引物详细信息参见表 1。微卫星引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成, 荧光基团 (TAMRA, FAM, HEX) 在 PCR 加样操作过程中添加。

表 1 本研究中使用的微卫星引物

Table 1 Microsatellite loci and primer sequences in present study

Locus	Primer sequences (5'-3')	Dye	Tm type (°C)
WJ622	F: GCAGGATGACCTTTTGAG	FAM	55
	R: TGCTTCGAGTCACTGTTTC		
WJ623	F: CAGTCCTTGCTCAACCGT	FAM	64
	R: CAAAGGCGGTGGCATAAT		
WJ625	F: TCAATACATCTTGCTGCTACGCG	TAMRA	55
	R: GCCTATCAATCACTGCCCATC		
WJ626	F: CGGGTTTGTAAATAGATGGTTGTCC	HEX	59
	R: GCGTGGTCTGTAATTTTCAGAAG		
WJ630	F: CGCTTCTGTAGGAGCTTTCTAAC	HEX	60
	R: GTCAGTCTAGGGATCGATGACC		

微卫星序列的 PCR 反应在 BIO-RAD S1000 PCR 仪上进行, 总反应体系为 15  $\mu$ L, 包括包括 2.5  $\mu$ L 10  $\times$  PCR buffer, 2  $\mu$ L dNTP mixture (2.5 mM), 0.2  $\mu$ L Taq polymerase (5 U/ $\mu$ L), 1  $\mu$ L 正反引物 (5  $\mu$ M/L), 1  $\mu$ L DNA 模板, 加水至 15  $\mu$ L。扩增反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火 30 s (不同的引物退火温度不同, 根据引物适当调整), 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 32 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

PCR 扩增产物首先用琼脂糖凝胶电泳检测是否有目标产物 (100 ~ 400 bp), 符合目标大小的产物可在 ABI 3500 XL 遗传自动分析仪上进行基因分型, 片段大小参照 GS 600 Tamara 荧光分子量标准 (ABI Inc., USA)。等位基因分型结果使用

GeneMarker V2.2.0 (Soft Genetics LLC, USA) 软件读取。每个结果均读取 2 次以上以防止人工误差, 并以双栏模式 (Two column format) 将扩增产物片段长度作为等位基因输入 Excel 电子表格。使用 Excel Microsatellite Tool kit 程序 (Park, 2001) 和 Convert version 1.31 (Glaubitz, 2004) 对结果进行整理和统计分析, 转化为其他各种遗传学分析软件所需要的格式。

## 1.3 数据分析

使用 CERVUS 2.0 (Marshall, 2001) 和 POPGENE version 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) 软件计算以下遗传多样性参数: 平均等位基因数目 ( $N_a$ ), 有效等位基因数目 ( $N_e$ ), 观测杂合度 ( $H_o$ ) 和期望杂合度 ( $H_e$ ), 多态信息含量 ( $PIC$ ) (Botstein *et al.*, 1980)。

用 GENEPOP version 3.4 (Raymond and Rousset, 2004) 通过马尔科夫链方法 (Markov chain method) 无偏  $P$  值估计, 设置 1000 dememorization number, 500 batches, and 1000 iterations per batch, 计算哈迪-温伯格平衡 (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE) 偏离测试以及位点间的连锁不平衡检验 (Linkage Disequilibrium, LD)。用 Bonferroni correction 进行微卫星位点偏离 HWE 显著性水平的检验 (Rice, 1989)。

对于遗传结构分析, 本研究使用 STRUCTURE 2.3.4 软件 (Pritchard *et al.*, 2000), 基于贝叶斯方法 (Bayesian), 使用混合祖先模型 (Admixture model) 和相关等位基因频率模型 (Allele frequencies correlated model) 对青脊竹蝗和黄脊竹蝗同域分布的地理种群 32 个体进行遗传聚类数  $K$  的估算, 将所有个体分别纳入相对应的分组之中, 并计算各推断聚类的成员系数比例 (proportion of membership coefficient)。设定聚类数  $K = 1 \sim 10$ , 100 万次 MCMC 重复运算, 丢弃前 10 万次不稳定的结果, 分别运行 10 次求平均值。根据 Evanno 等 (2005) 所提出的方法, 通过计算连续  $K$  值之间  $\ln P(D)$  变化率的大小 ( $\Delta K$ ) 来做折线图选择最佳  $K$  值, 即得群体遗传结构的分组数 (Evanno *et al.*, 2005)。在所有个体的分配中, 依据成员最高比例 (highest percentage of membership) 将所有个体分配到相应的分组。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性分析

本文采用 5 对微卫星引物对安徽金寨县的黄脊竹蝗和青脊竹蝗种群共 32 个样品进行了分析, 共检测到 60 个等位基因, 每个位点拥有等位基因 10~13 个, 平均为 12 个, 其中 WJ625 位点检测到等位基因数最少; 各位点的期望杂合度 ( $H_e$ ) 范围为 0.711~0.885, 平均预期杂合度为 0.833; 观测杂合度 ( $H_o$ ) 均为 1。每个位点都具有较高的多态性 (WJ625 最低为 0.661), 平均多态信息含量

( $PIC$ ) 为 0.799, 说明这些位点都存在着丰富的遗传信息。在哈迪-温伯格平衡检测中, 2 个种群在所有位点上均显著偏离哈迪-温伯格平衡 (以下简称哈温平衡) ( $P < 0.01$ ) (表 2)。在整体水平上, 所有微卫星位点之间为显著的连锁不平衡 (LD)。

### 2.2 哈迪温伯格平衡检测

在本研究使用的 5 个微卫星位点, 用 Bonferroni 校正后, 根据第一种假设 ( $H_1$ ): 杂合子缺乏, 黄脊竹蝗 3 个位点 (WJ623, WJ625 和 WJ630) 显示出显著偏离哈温平衡 (表 3)。

表 2 本研究中微卫星位点的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity for five microsatellite loci in this study

位点 Locus	观测等位 基因数 $N_o$	观测杂合度 $H_o$	期望杂合度 $H_e$	多态信息 含量 $PIC$	无效频率 Null freq	哈迪温伯格 平衡 HW
WJ622	13	1	0.862	0.894	-0.0868	**
WJ623	11	1	0.885	0.870	-0.0714	**
WJ625	10	1	0.711	0.661	-0.2213	**
WJ626	13	1	0.849	0.839	-0.0998	**
WJ630	13	1	0.857	0.869	-0.0917	**
Mean	12	1	0.833	0.799		

注: \*\*,  $P < 0.01$ 。

表 3 哈迪温伯格平衡检测 ( $H_1$  = Heterozygote deficiency)

Table 3 Results of Hardy-Weinberg Equilibrium test

A. 黄脊竹蝗种群 <i>Ceracris kiangsu</i> population					B. 青脊竹蝗种群 <i>Ceracris nigricornis</i> population				
Locus	$P$ -val	SE	W&C	R&H	Locus	$P$ -val	SE	W&C	R&H
WJ622	0.1836	0.0261	0.0051	0.0525	WJ622	1.0000	-0.0690	-0.0690	-0.0356
WJ623	0.0115	0.0013	0.4611	0.3778	WJ623	1.0000	0.0000	-0.1060	-0.0462
WJ625	0.0000	0.0000	0.2929	0.2090	WJ625	0.9933	0.0051	-0.2245	-0.0325
WJ626	0.2412	0.0397	0.0714	0.0166	WJ626	0.9980	0.0016	-0.2162	-0.0413
WJ630	0.0000	0.0000	0.6575	0.5213	WJ630	1.0000	0.0000	-0.3793	-0.0815

注:  $P$ -val, 检验的  $P$  值; SE, 标准误; W&C, Weir & Cockerham's (1984) 估计; R&H, Robertson & Hill's (1984) 估计。下表同。Note:  $P$ -val,  $P$  value of the test; SE, standard error; W&C, Weir & Cockerham's (1984) estimate; R&H, Robertson & Hill's (1984) estimate. Same below.

根据第二种假设 ( $H_2$ ): 杂合子过量, 青脊竹蝗部分位点 (WJ630) 显示出显著偏离哈温平衡 (表 4)。

通过比较上述  $P$  值, 本研究发发现黄脊竹蝗种群有 3 个微卫星位点显著偏离哈温平衡, 其中 WJ625 和 WJ630 极显著 (表 3), 而青脊竹蝗种群

表 4 哈迪温伯格平衡检测 (H2 = Heterozygote excess)

Table 4 Results of Hardy – Weinberg Equilibrium test

A. 黄脊竹蝗种群 *Ceracris kiangsu* population

Locus	P-val	SE	W&C	R&H
WJ622	0.8830	0.0151	0.0051	0.0525
WJ623	0.9891	0.0007	0.4611	0.3778
WJ625	1.0000	0.0000	0.2929	0.2090
WJ626	0.7381	0.0298	0.0714	0.0166
WJ630	1.0000	0.0000	0.6575	0.5213

B. 青脊竹蝗种群 *Ceracris nigricornis* population

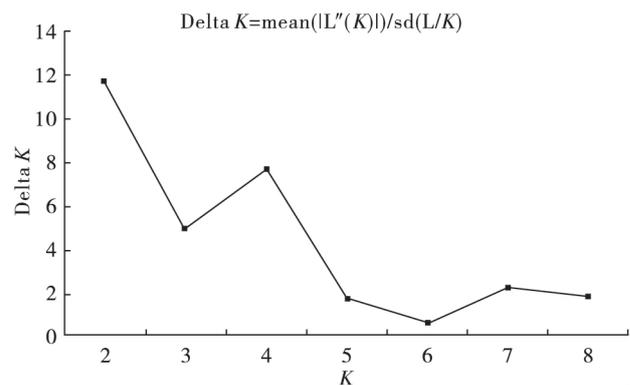
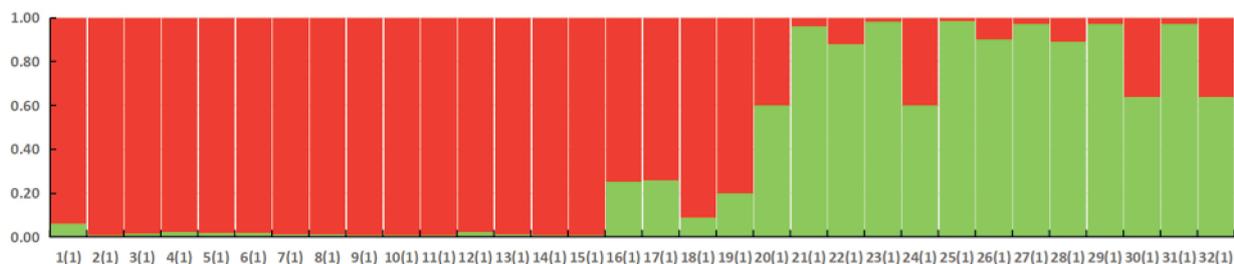
Locus	P-val	SE	W&C	R&H
WJ622	0.3420	0.0538	-0.0690	-0.0356
WJ623	0.2236	0.0386	-0.1060	-0.0462
WJ625	0.0265	0.0187	-0.2245	-0.0325
WJ626	0.0234	0.0138	-0.2162	-0.0413
WJ630	0.0000	0.0000	-0.3793	-0.0815

也有 3 个位点显著偏离哈温平衡, 但只有 1 个位点 (WJ630) 极显著, 说明 2 种竹蝗的群体结构均不稳定, 且黄脊竹蝗更甚。

## 2.3 遗传结构与关系

当  $K=2$  时,  $L(K)$  和  $\Delta K$  值均为最大值, 表明  $K=2$  为最佳分组 (图 3)。

STRUCTURE 的聚类分析表明 (图 4), 当  $K=2$  时, 黄脊竹蝗种群个体聚为一组 (红色), 青脊竹蝗种群聚为另一组。青脊竹蝗种群的部分样品包含黄脊竹蝗的遗传物质, 而黄脊竹蝗种群的遗传背景比较一致。

图 3 基于  $\Delta K$  最大时的最合适  $K$  值Fig. 3 Optimum  $K$  value when  $\Delta K$  is the largest图 4 基于贝叶斯分析的黄脊竹蝗种群和青脊竹蝗种群聚类结果 ( $K=2$ )Fig. 4 Bayesian inference of the number of clusters ( $K=2$ ) for the *Ceracris kiangsu* and *Ceracris nigricornis* populations analyzed by STRUCTURE

注: 编码 1–16 为 1 号种群黄脊竹蝗个体, 编码 17–32 为 2 号种群青脊竹蝗个体。Note: Codes 1–16 are individuals of *Ceracris kiangsu* and codes 17–32 are *Ceracris nigricornis*.

## 3 讨论与结论

在群体遗传学研究中, 物种变异程度和群体适应性随着观测杂合度增大而增大。从本研究结果来看, 黄脊竹蝗和青脊竹蝗的物种变异程度和群体适应性均很大。不过, 各微卫星位点的观测杂合度均为 1, 处于最大值, 可能与观测杂合度受

样本量大小的变化而出现明显变异有很大的关系 (李鸥等, 2009; 杨君等, 2018), 因此该结果的参考价值并不大。而期望杂合度 ( $He$ ) 则是判断遗传多样性的重要指标, 它用于辨别群体中杂合度比率偏离的情况。本研究中各位点的期望杂合度 ( $He$ ) 均大于 0.70, 表明这些种群属于高度多态, 遗传多样性水平较高。

在假设杂合子缺乏情形下, 黄脊竹蝗种群部

分位点显著地偏离哈迪温伯格平衡。这可能是由于黄脊竹蝗的种群结构更加不稳定, 更容易受到突变、选择、杂交和遗传漂变等因素的影响, 及受近交和无效等位基因等因素的影响。造成偏离哈温平衡的原因有很多, 一方面可能是存在无效等位基因 (Pemberton *et al.*, 1995), 而被误认为纯合子, 因而导致偏离哈温平衡; 另一方面也可能是由于本研究的样本数量不够大 (李鸥等, 2009; 牛东红等, 2010)。同时, 本研究在局域水平展示了维持或者强化遗传结构的多态性证据。本研究检测到了同域分布物种间的基因流。贝叶斯聚类分析结果显示, 基因流是从黄脊竹蝗种群到青脊竹蝗种群的。也可能是因为黄脊竹蝗种群多分布于竹林郁闭度较高的区域, 青脊竹蝗多分布于郁闭度较低的竹林外缘区域, 而黄脊竹蝗雄性要比雌性更加具有扩散能力 (Bailey *et al.*, 2007; Ortego *et al.*, 2011), 所以黄脊竹蝗雄性个体由竹林深处向外缘扩散, 从而可能与青脊竹蝗雌性个体发生交配。

最后, 本研究聚焦于地理种群水平上的遗传差异基因渐渗事件, 检测了种群内的差异。这显示同域分布的黄脊竹蝗和青脊竹蝗种群间发生了基因渐渗, 但本研究目前不能确定其是不是来自遗传漂变和瓶颈期的信号。竹蝗属于植食性昆虫, 影响其种群分化的原因有很多, 如迁移能力和地理隔离, 寄主植物的选择以及生境片段化等。一般情况下, 基因流受到地理距离阻碍, 导致遗传分化。一些迁飞能力较强的物种分布区较广如东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis*, 增加了基因交流, 从而削弱了种群间分化, 一般有比较弱的地理格局。此外, 频繁、强烈的基因流能够影响遗传变异的均质化、选择、突变以及遗传漂变等 (Slatkin, 1987)。然而, 青脊竹蝗和黄脊竹蝗种群间遗传和种群动力的相互作用仍需要继续深入探索。对于竹蝗这样的非模式生物物种, 目前尚无其全基因组数据可利用。不过, 新近开发的简化基因组技术 (reduced representation genome sequencing, RRGs) (魏书军等, 2016) 可以通过对某物种大量个体的基因组进行测序而满足此目的, 并具有较高的可靠度, 可用于进一步研究同域分布物种间的基因渐渗现象。

致谢: 南京师范大学生命科学学院研究生李冉同学跟随本文通讯作者前往安徽金寨县采集竹

蝗标本, 泉州师范学院李明杰同学协助绘制插图, 特此致谢!

## 参考文献 (References)

- Anderson E. Introgressive hybridization [J]. *Biological Review*, 1953, 28 (3): 280 - 307.
- Bailey NW, Gwynne DT, Ritchie MG. Dispersal differences predict population genetic structure in Mormon crickets [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16 (10): 2079 - 2089.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32 (3): 314 - 331.
- Bowley SR, Taylor NL. Introgressive hybridization, In: Christie ER, eds. *CRC Handbook of Plant Science in Agriculture*, vol. 1 [C]. Boca Raton: CRC Press, 1987: 23 - 59.
- Chen YL. Major Grasshoppers and Ecological Management of Locust Plague in China [M]. Beijing: Science Press, 2007. [陈永林. 中国主要蝗虫及蝗灾的生态学治理 [M]. 北京: 科学出版社, 2007]
- Dowle EJ, Morgan-Richards M, Trewick SA. Morphological differentiation despite gene flow in an endangered grasshopper [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2014, 14 (1): 216.
- Gao S, Chen JJ, Jiang GF. Complete mitochondrial genome of bamboo grasshopper, *Ceracris fasciata*, and the phylogenetic analyses and divergence time estimation of Caelifera (Orthoptera) [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2018, 108 (3): 321 - 336.
- Glaubitz JC. CONVERT: A user - friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4 (2): 309 - 310.
- He QJ, Yi CH, Ou XH. Phylogenetic analysis of *Ceracris* Walker [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38 (19): 135 - 137. [和秋菊, 易传辉, 欧晓红. 竹蝗属昆虫系统发育分析 [J]. 广东农业科学, 2011, 38 (19): 135 - 137]
- Kindler E, Arlettaz R, Heckel G. Deep phylogeographic divergence and cytonuclear discordance in the grasshopper *Oedaleus decorus* [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, 65 (2): 695 - 704.
- Li O, Zhao YY, Guo N, *et al.* Effects of sample size and loci number on genetic diversity in wild population of grass revealed by SSR [J]. *Zoological Research*, 2009, 30 (2): 121 - 130. [李鸥, 赵莹莹, 郭娜, 等. 草鱼种群 SSR 分析中样本量及标记数量对遗传多样性的影响 [J]. 动物学研究, 2009, 30 (2): 121 - 130]
- Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2005, 20 (5): 229 - 237.
- Marshall T. CERVUS Version 2.0 [M]. Edinburgh: University of Edinburgh, 2001.
- Niu DH, Chen H, Lin GW, *et al.* Effects of sample size on genetic diversity index for population of *Sinonovacula constricta* in use of microsatellite DNA marker [J]. *Advances in Marine Science*, 2010, 28 (2): 203 - 208. [牛东红, 陈慧, 林国文, 等. 缢蛏群体微卫星分析中样本量对遗传多样性指标的影响 [J]. 海洋科学进

- 展, 2010, 28 (2): 203–208]
- Ortego J, Aguirre MP, Cordero PJ. Fine-scale spatial genetic structure and within population male-biased gene flow in the grasshopper, *Mioscirtus wagneri* [J]. *Evolutionary Ecology*, 2011, 25 (5): 1127–1144.
- Park SDE. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [D]. Ireland: University of Dublin, 2001.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. *Genetics*, 2000, 155 (2): 945–959.
- Rice WR. Analyzing tables of statistical tests [J]. *Evolution*, 1989, 43 (1): 223–225.
- Shuker David M, Underwood K, King TM, et al. Patterns of male sterility in a grasshopper hybrid zone imply accumulation of hybrid incompatibilities without selection [J]. *Proceedings of the Royal Society B – Biological Sciences*, 2005, 272: 2491–2497.
- Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural [J]. *Science*, 1987, 236: 787–792.
- Wei SJ, Li BY, Cao LJ, et al. RAD-seq and its application in entomological research [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2016, 59 (7): 767–774. [魏书军, 李冰艳, 曹利军, 等. RAD-seq 技术及其在昆虫学研究中的应用 [J]. 昆虫学报, 2016, 59 (7): 767–774]
- Xu SQ, Jiang GF, Zheng ZM. Phylogenetic and biogeographic studies of branches of the genus *Ceracris* Walker [J]. *Journal of Shaanxi Normal University* (Natural Science Edition), 2005, 33 (2): 115–118. [许升全, 蒋国芳, 郑哲民. 竹蝗属 (*Ceracris* Walker) 的支序系统学和生物地理学研究 [J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 2005, 33 (2): 115–118]
- Xuan WJ, Zhang YY, Liu NN, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the bamboo locust *Rammecris kiangsu* (Orthoptera: Acrididae) [J]. *European Journal of Entomology*, 2009, 106 (4): 663–665.
- Yang J, Shang XP, Yao YX, et al. Correlation between sample size and *Obolodiplosis robiniae* genetic diversity index based on microsatellite DNA data [J]. *Forest Research*, 2018, 31 (5): 118–124. [杨君, 尚兴朴, 姚艳霞, 等. 基于微卫星 DNA 标记分析刺槐叶瘿蚊遗传多样性指数与样本量的相关性 [J]. 林业科学研究, 2018, 31 (5): 118–124]
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ. POPGENE version 1.32, Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis [M]. Edmonton: University of Alberta, 1999.
- Yi CH. Study on Biogeography of Genera *Ceracris* Walker and *Conophymacris* Willemse [D]. Kunming: Southwest Forestry College Doctoral Thesis, 2003. [易传辉. 竹蝗属和拟裸蝗属昆虫生物地理研究 [D]. 昆明: 西南林学院博士论文, 2003]
- Zheng ZM, Xia KL. *Fauna Sinica, Insecta Vol. 10, Orthoptera, Acridoidea: Oedipodidae and Arcypteridae* [M]. Beijing: Science Press, 1998. [郑哲民, 夏凯龄. 中国动物志: 昆虫纲 (第十卷), 直翅目, 蝗总科 (斑翅蝗科和网翅蝗科) [M]. 北京: 科学出版社, 1998]