



任智萌, 王超, 李孟奕, 龚培盼, 张云慧, 李祥瑞, 李强, 朱勋. 麦无网长管蚜不同地理种群遗传多样性的 ISSR 标记研究 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (5): 1218–1227.

麦无网长管蚜不同地理种群遗传多样性的 ISSR 标记研究

任智萌^{1,2}, 王超², 李孟奕², 龚培盼², 张云慧²,
李祥瑞², 李强^{1*}, 朱勋^{2*}

(1. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 为阐明麦无网长管蚜 *Metopolophium dirhodum* 不同地理种群的遗传多样性, 利用 ISSR 分子标记对 6 个地区 (河北保定、定州、石家庄、邢台、邯郸, 山东聊城) 的麦无网长管蚜种群进行了遗传多样性研究。23 条 ISSR 引物扩增出了 297 条清晰条带, 其中 172 条 (57.91%) 具有多态性。遗传多样性分析结果表明: 麦无网长管蚜群体间的遗传多样性 (57.91%) 高于群体内的遗传多样性 (26.24%), 其中河北保定种群和河北邯郸种群的种群内遗传变异最小 (24.92%), 河北石家庄种群的种群变异最大 (41.75%), 河北和山东地区的种群 (除河北石家庄) 之间没有显著遗传差异。根据种群变异来源分析, 有 26.44% 遗传变异来源于种群间, 73.56% 变异来自于种群内 ($G_{st}=0.2644$), 不同地理种群间并没有出现分化现象 ($N_m=1.3910$)。利用不加权算术平均法 (UPGMA) 对 6 个种群进行统计分析, 构建进化树, 发现 6 个种群分为了两大类, 而其地理距离与遗传距离并不存在相关性, 地理空间并未对其种群间的基因交流产生影响。麦无网长管蚜有较高的遗传多样性, 而各个种群间并没有明显遗传分化的趋势。本研究有关麦无网长管蚜不同地理种群基因流和遗传变异将为控制麦蚜危害和田间综合防治提供必要的数据支持。

关键词: 麦无网长管蚜; 地理种群; 遗传多样性; ISSR; 聚类分析

中图分类号: Q963; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 05-1218-10

Genetic diversity of different geographical populations of *Metopolophium dirhodum* based on ISSR analysis

REN Zhi-Meng^{1,2}, WANG Chao², LI Meng-Yi², GONG Pei-Pan², ZHANG Yun-Hui², LI Xiang-Rui², LI Qiang^{1*}, ZHU Xun^{2*} (1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650000, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to clarify the genetic diversity of geographic populations of *Metopolophium dirhodum*, the genetic diversity of six different geographical populations of *M. dirhodum* from Hebei Province and Shandong Province was investigated with the ISSR method. The results showed that a total of 297 ISSR loci, of which 57.91% were polymorphic, were obtained by using twenty-three selected primers. The genetic diversity among populations (57.91%) was higher than that within the population

基金项目: 国家自然科学基金 (32272604) 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-03)

作者简介: 任智萌, 女, 硕士, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究, E-mail: 1024589365@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 朱勋, 男, 博士, 副研究员, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究, E-mail: zhuxun@caas.cn; 李强, 博士, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究, E-mail: liqiangkm@126.com

收稿日期 Received: 2021-06-16; 接受日期 Accepted: 2021-09-22

(26.24%)。The intra-population genetic variation was highest in Shijiazhuang of Hebei, and lowest in Baoding and Handan of Hebei. The genetic variation of populations in Hebei (except Shijiazhuang) had no significant difference with that in Shandong. The genetic variations were 26.44% and 73.56% from the interpopulation and the intrapopulation ($G_{st} = 0.2644$), respectively. According to Gene flow ($N_m = 1.3910$), there was no obvious genetic differentiation among different geographic populations. A phylogenetic tree was constructed using MAGE 5.1 with the unweighted arithmetic average (UPGMA) method and the six different geographical populations of *M. dirhodum* was divided into two categories, which showed that there is no correlation between geographical distance and genetic distance. These combined results showed that there was a high degree of genetic diversity, and no obvious genetic differentiation among the six different geographical populations of *M. dirhodum*. The gene exchange among different geographical populations of *M. dirhodum* was not affected by geographical space, as it was showed no correlation between genetic distance and geographical distance. This study will provide necessary data and support for the integrative prevention and control of *M. dirhodum*.

Key words: *Metopolophium dirhodum*; geographical populations; genetic diversity; ISSR; cluster analysis

麦无网长管蚜 *Metopolophium dirhodum* (Walker) 是小麦、燕麦、黑麦等禾本科作物上的重要害虫 (杜予州和毛亚勋, 1997), 在我国的北京、河南、云南、西藏、陕西、甘肃、宁夏和内蒙古等地区均有为害发生, 是我国局部麦区的主要害虫, 但在英国、西班牙、德国等欧洲国家和南美洲阿根廷等国家的小麦上危害发生严重, 是欧洲中部地区禾本科作物中危害最重的蚜虫种类 (Dewar *et al.*, 1979; Pons *et al.*, 1989; Honek *et al.*, 2018)。麦无网长管蚜生长发育历期短、繁殖速率高、世代重叠, 几乎全年都进行孤雌生殖, 是翅二型昆虫, 具有迁飞性, 危害范围广。该虫刺吸式口器吸取汁液对小麦造成物理性损伤; 分泌蜜露, 招致灰尘污染叶面和霉菌寄生, 影响寄主植物的光合作用和呼吸作用; 传播大麦黄矮病病毒 (BYDV), 诱发小麦黄萎病, 并随着迁飞扩散导致病毒大范围传染 (李永平等, 1991; 白莉等, 2006; 张烨, 2011), 严重影响小麦的产量, 造成谷物损失产量 27% ~ 30% (Holt *et al.*, 1984), 给农业生产造成巨大的经济损失。

ISSR (Inter-simple sequence repeat), 又称简单重复序列区间扩增, 是一种新型分子标记技术, 由 Zietkiewicz 等 (1994) 提出的。ISSR 分子标记技术利用在简单重复序列的 3' 或 5' 端锚定寡聚核苷酸的通用引物进行基因组 DNA 的 PCR 扩增, 通过凝胶电泳分离获得扩增谱带, 揭示物种的遗传多样性 (尚海英等, 2004; 张颖娟和王斯琴花, 2004; 田源等, 2007)。ISSR 是一段位于相邻、相

反定向的微卫星区域之间约 100 ~ 3 000 bp 的 DNA 片段, 利用两个相邻微卫星互补序列作为 PCR 引物, 其中引物可以基于任何 SSR 基序 (双、三、四或五核苷酸) 设计。ISSR 标记主要依赖于微卫星的多样性, 并且随着微卫星和物种的变化而变化。ISSR 结合了 SSR 和 RAPD 的优点, 模板 DNA 用量少并且不需特异性, 标记呈显性遗传, 稳定性好, 操作简便、多态性高、检测灵敏方便 (王敬强, 2000)。ISSR 标记技术现已在群体间表征的遗传相关性、遗传指纹图谱、基因标记、克隆变异检测、品种鉴定、系统发育分析、检测基因组不稳定性等方面被广泛应用 (张力荣等, 2002)。

分子标记在蚜虫种群遗传学研究中应用广泛, 龚鹏等利用微卫星引物 PCR 对棉蚜 *Aphis gossypii* 不同蚜型的 DNA 多态性进行了研究, 证实棉蚜的有性蚜型和无性蚜型在遗传上有较大的差异 (龚鹏等, 2001)。刘永刚 (2010) 利用微卫星 DNA 标记研究了马铃薯桃蚜 *Myzus persicae* 不同地理种群的遗传分化。武强 (2009) 用微卫星标记分析了我国苹果棉蚜 *Eriosoma lanigerum* 不同地理种群的遗传结构。张琰 (2006) 利用 ISSR 分子标记研究了角倍蚜 *Schlechtendalia chinensis* 种群遗传多样性。在小麦蚜虫的遗传多样性研究方面, 姚建秀 (2001) 利用 RAPD-PCR 技术分析了麦长管蚜 *Sitobion avenae* 一代单克隆种群在环境因子诱导下的 DNA 分子变异与多态性。张烨等 (2011) 利用 ISSR 分子标记技术从群体遗传学角度研究了不同地理种群和不同色型之间麦长管蚜的遗传多样性

差异。Footitt 等 (1990) 用 RFLP 技术检测了包括麦无网长管蚜在内的多种蚜虫的多态性。研究麦蚜遗传多样性有利于明确其不同地理种群间是否存在遗传分化, 确定其亲缘关系, 为综合防治麦蚜提供科学依据。

本研究利用 ISSR 分子标记技术, 对 6 个不同地区的麦无网长管蚜进行遗传多样性分析, 研究其不同地理种群间的亲缘关系, 从成灾及适应机理上对其综合防治提供理论依据, 从而改进和提高对麦无网长管蚜的监测和防控效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本试验中 6 个麦无网长管蚜种群, 分别采至河北省保定市定兴县西靳村、河北省定州大渡河村、河北石家庄市栾城夏凉村、河北省邢台市河曲村、河北省邯郸市南泊村和山东省聊城市冠县呼家村 (表 1)。取无翅老熟幼虫于无水乙醇中, 4℃ 保存, 每个种群约 50 头。

表 1 用于 ISSR 分析的麦无网长管蚜种群

Table 1 *Metopolophium dirhodm* populations for ISSR analysis

种群代码 Population codes	采集地 Collecting location	样品量 Sample size	经度 Longitude	纬度 Latitude	采集时间 (yy-mm-dd) Collecting time
DX	河北省保定市定兴县西靳村 Hebei, Baoding, Dingxing, Xiji	50	115°47'9"E	39°12'56"N	2017-05-17
DZ	河北省定州大渡河村 Hebei, Dingzhou, Daduhe	50	115°4'9"E	38°36'9"N	2017-05-17
LC	河北省石家庄市栾城夏凉村 Hebei, Shijiazhuang, Luancheng, Xialiang	50	114°45'19"E	37°54'59"N	2017-05-17
XT	河北省邢台市河曲村 Hebei, Xingtai, Hequ	50	114°36'21"E	37°5'4"N	2017-05-18
HD	河北省邯郸市南泊村 Hebei, Handan, Nanbo	50	114°33'32"E	36°32'31"N	2017-05-18
GX	山东省聊城市冠县呼家村 Shandong, Liaocheng, Guanxian, Hujia	50	115°39'23"E	36°28'18"N	2017-05-18

1.2 DNA 提取

挑选麦无网长管蚜不同地理种群的老熟幼虫 (无翅) 进行基因组 DNA 提取 (参照 OMEGA biotec 公司 DNA 试剂盒说明书)。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 同时采用紫外分光光度计测定其浓度和纯度。将模板 DNA 放置冰箱 (-20℃) 下保存。每个种群选取 10 个 DNA 样品进行 ISSR 遗传多样性分析。

1.3 ISSR 分析

1.3.1 引物的筛选

经预实验, 从 100 条引物中筛选出 23 条多态性好、条带清晰的引物用于 ISSR-PCR 扩增反应 (表 2)。

1.3.2 ISSR-PCR 扩增

PCR 反应体系 (15 μL): 1.0 μL 引物、7.5 μL Taq Mix、5.5 μL ddH₂O、1.0 μL 模板 (c = 40 ng/μL)。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 57 ~ 42℃ Touchdown 1.0 min, 72℃ 延伸 1.5 min; 30 个循环后, 94℃ 变性 45 s, 42℃ 变性 1.0 min, 72℃ 延伸 1.5 min; 15 个循环后, 72℃ 延伸 10 min。不同的 ISSR 引物最适退火温度不同, 根据所选引物 T_m 值的设定范围 (表 2), 用 PCR 仪自动生成温度梯度进行筛选。在最优的反应体系下, 对模板 DNA 进行扩增, 根据条带的清晰度以及稳定性的比较, 筛选出合适的温度作为该引物的最适 T_m 值。

表 2 ISSR-PCR 扩增中使用引物的最适 Tm 值
Table 2 Optimal Tm value of primers used in
ISSR-PCR amplification

引物 Primer	引物顺序 (5'-3') Primer sequences	退火温度 (℃) Annealing temperature
807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	54
808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52
809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	46
810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	45
811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	55
812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	49
825	ACACACACACACACACT	50
834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	55
835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	46
836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	52
841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	46
842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	52
855	ACACACACACACACACYT	50
856	ACACACACACACACACYA	52
864	ATGATGATGATGATGATG	49
868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	49
873	GACAGACAGACAGACA	50
874	CCCTCCCTCCCTCCCT	50
880	GGAGAGGAGAGGAGA	54
881	GGGTGGGTGGGGTG	59
885	BHBGAGAGAGAGAGAGA	49
886	VDVCTCTCTCTCTCTCT	45
887	DVDTCTCTCTCTCTCTC	50

1.4 数据统计与分析

将试验所有的原始图像用 Quantity One 凝胶分析软件进行分析。用 Image-Subtract background 和 Image-Filter Wizard 两个指令对原始图片的背景进行清理，完成第一步降噪；创建泳道，用 Lane-Lane Background 指令对每条泳道的背景进行排除，完成第二步降噪；创建条带，进行高斯建模处理，

区分相互重叠的条带，利用光密度曲线结合肉眼确定条带的有或无；用 Match 指令定义一条标准泳道，用 Band Set 调整等高线，完成所有条带的标记。

标记完成后，在同一位置并且有清晰带的记为“1”，无带的记为“0”，建立二元数据矩阵，使用 POPGEN32 软件分析数据，计算麦无网长管蚜的多态性位点比例，不同种群的遗传距离，遗传多样性参数，有效等位基因数 N_e (effective number of alleles per loci)、 H (gene diversity) 和 Shannon-s 信息指数 I (Shanon-s information index)。根据 $N_m = 0.5 (1 - G_{st}) / G_{st}$ 的关系，其中 G_{st} 值估计的迁移数是能够有效的反映种群间基因流的大小。当基因流 $N_m < 1$ 时，基因流就可以增加由遗传漂变引起的群体间的遗传分化的机率。根据 Nei-s 基因多样性指数的数据，对麦无网长管蚜不同地理种群进行聚类分析，按照不加权算术平均法 (UPGMA, Unweighted Pair Goup Method with Arithmetic Means Cluster Analysis) 对种群进行统计分析，利用 MEGA 5.1 软件构建麦无网长管蚜的进化树。

2 结果与分析

2.1 麦无网长管蚜种群 DNA 的 ISSR 扩增结果

利用筛选得到的 23 条 ISSR 引物分析了来自 6 个不同地区的麦无网长管蚜种群。23 条引物检测的位点数从 3 ~ 14 之间，共检测出了 297 条清晰可辨的条带，其中多态性条带有 172 条 (表 3)。引物 808 检测到的多态性位点数最多，为 14 个多态位点；引物 874 检测到的多态性位点数最少，为 3 个多态位点 (表 3)。

在物种水平上的多态性位点比例为 57.91%。各个地区的麦无网长管蚜有较为丰富的遗传变异，在单个种群水平上，河北省邢台市河曲村和河北省保定市定兴县西靳村种群的多态位点比例最低，为 24.92%，多态性条带有 74 条；河北省石家庄市栾城夏凉村种群最高，为 41.75%。各地理种群的多态性位点平均为 26.24%，多态性随种群以及引物的不同而不同，其中除河北省石家庄市栾城夏凉村种群较高外，河北省的其他地区和山东省的遗传多样性无显著差异 (表 3)。

表3 利用不同 ISSR 扩增引物扩增获得的麦无网长管蚜种群的多态性条带数

Table 3 Number of the amplified bands using ISSR different primers for *Metopolophium dirhodum* population in this study

引物 Primer	总谱条数 Total number of bands	多态性位点 Number of polymorphic bands	多态性条带 比例 (%) Population of polymorphic bands
807	12	7	58.33
808	18	14	77.78
809	13	4	30.77
810	13	12	92.31
811	12	9	75.00
812	10	5	50.00
825	16	11	68.75
834	14	8	57.14
835	10	5	50.00
836	11	6	54.55
841	15	8	53.33
842	15	8	53.33
855	17	10	58.82
856	13	8	61.54
864	9	4	44.44
868	14	10	71.43
873	14	5	35.71
874	6	3	50.00
880	14	9	64.29
881	15	11	73.33
885	15	7	46.67
887	10	4	40.00
平均 Mean	12.91	7.52	57.09
合计 Total	297	172	57.91

2.2 麦无网长管蚜不同地理种群的遗传多样性分析

2.2.1 Shannon 氏信息指数 (I) 分析

结果显示, 河北省石家庄市栾城夏凉村种群最大 ($I = 0.1934$), 河北省邢台市河曲村种群最小 ($I = 0.1207$), 物种水平的 I 为 0.1949, 种群

水平的平均值 I 为 0.2177, 两省的遗传多样性无显著差异 (表4)。

2.2.2 Nei 氏基因多样性指数 (H) 分析

据分析结果 (表4) 所示, Nei 氏基因多样性指数 (H) 在 0.0799 ~ 0.1261 之间, 物种水平为 0.1213, 种群水平平均值为 0.1386, 其中河北省邢台市河曲村种群 ($H = 0.0799$) 具有最小的 Nei 氏基因多样性。河北省石家庄市栾城夏凉村种群有最大的 Nei 氏基因多样性 ($H = 0.1261$), 遗传多样性较为丰富, 与 Shannon 氏信息指数 (I) 得出的结果一致, 本次试验中各地区的 Nei 氏基因多样性无显著差异。

2.3 麦无网长管蚜遗传分化和基因流结果

2.3.1 遗传分化分析

物种水平总的基因多样性 (H_t) 为 0.1386, 种群内遗传分化系数 (H_s) 为 0.1020, 遗传分化指数 (G_{st}) 为 0.2644, 总变异的 26.44% 来自不同种群间的差异, 其他的 73.56% 的变异来自于种群内个体间的遗传差异, 即种群间的遗传多样性比种群内遗传多样性小 (表5)。

2.3.2 基因流分析

本试验所得的麦无网长管蚜物种水平上的基因流 (N_m) 为 1.3910 (表5), 大于 1, 说明种群间存在一定的基因流, 但基因流并足以增加由遗传漂变引起的群体间的遗传分化, 因此麦无网长管蚜种群遗传变异并不存在较大的差异。

2.4 遗传距离和聚类分析

2.4.1 遗传距离

Nei-s 无偏遗传距离 (D) 计算结果显示: 各种群遗传距离在 0.0265 (样品河北省保定市定兴县西靳村种群 ~ 山东省聊城市冠县呼家村种群) ~ 0.0761 (样品河北省石家庄市栾城夏凉村种群 ~ 山东省聊城市冠县呼家村种群) 之间, 平均遗传距离为 0.0503。各个种群间的相似性遗传系数在 0.9267 ~ 0.9738 之间 (表6)。

2.4.2 聚类分析

6 个地理的麦无网长管蚜种群的进化树分析发现: 这 6 个地区分为两类, 从图 1 可以看出采自河北省保定市定兴县西靳村和山东省聊城市冠县呼家村的两个种群最为相似, 先聚成类; 然后和河北省邯郸市南泊村种群再聚为一类, 随后河北省定州大渡河村种群和河北省石家庄市栾城夏凉村种群汇聚, 与河北省邢台市河曲村种群聚为一类, 然后再与第一类聚合 (图1)。

表 4 麦无网长管蚜种群内的遗传多样性结果
Table 4 Inter-population genetic diversity of *Metopolophium dirhodum*

种群 Population	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei 基因多样性指数 Nei-s index <i>H</i>	Shannon 多样性指数 Shannon-s index <i>I</i>	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态性位点比 (%) Population of polymorphic loci
XT	1. 1367 ± 0. 2901	0. 0799 ± 0. 1597	0. 1207 ± 0. 2312	74	24. 92
LC	1. 2102 ± 0. 3256	0. 1261 ± 0. 1792	0. 1934 ± 0. 2594	124	41. 75
DZ	1. 1768 ± 0. 3246	0. 1016 ± 0. 1783	0. 1504 ± 0. 2570	83	27. 95
HD	1. 1933 ± 0. 3439	0. 1091 ± 0. 1853	0. 1604 ± 0. 2657	86	28. 96
DX	1. 1651 ± 0. 3287	0. 0925 ± 0. 1759	0. 1361 ± 0. 2516	74	24. 92
GX	1. 1816 ± 0. 3379	0. 1025 ± 0. 1808	0. 1518 ± 0. 2586	86	28. 96
平均值 Mean ± SD	1. 2276 ± 0. 3286	0. 1386 ± 0. 1775	0. 2177 ± 0. 2535	87. 83 ± 18. 55	26. 24 ± 6. 244
合计 Total	1. 1930 ± 0. 2978	0. 1213 ± 0. 1649	0. 1949 ± 0. 2379	172	57. 91

注：DX，河北省保定市定兴县西靳村；DZ，河北省定州大渡河村；LC，河北省石家庄市栾城夏凉村；XT，河北省邢台市河曲村；HD，河北省邯郸市南泊村；GX，山东省聊城市冠县呼家村。下同。Note：DX，Hebei Baoding Dingxing Xiji；DZ，Hebei Ddingzhou Daduhe；LC，Hebei Shijiazhuang Luancheng Xialiang；XT，Hebei Xingtai Hequ；HD，Hebei Handan Nanbo；GX，Shandong Liaocheng Guanxian Hujia. Same below.

表 5 麦无网长管蚜 6 个地理种群的遗传分化系数及基因流
Table 5 Coefficients of the genetic diversity and gene flow within and among the six geographical populations of *Metopolophium dirhodum*

地理种群总数 Total geographical populations	个体总数 Number of individuals	<i>H_t</i>	<i>H_s</i>	<i>G_{st}</i>	<i>N_m</i>
6	60	0. 1386 ± 0. 0315	0. 1020 ± 0. 0189	0. 2644	1. 3910

注：*H_t*，种群内总的遗传变异；*H_s*，各个种群内的遗传变异；*G_{st}*，种群间的遗传分化系数；*N_m*，种群间的基因流动系数。Note：*H_t*，Genetic diversity among populations；*H_s*，Genetic diversity within populations；*G_{st}*，Genetic diversity indexes with populations；*N_m*，Gene flow.

表 6 麦无网长管蚜不同地理种群基于 ISSR 的 Nei-s 遗传距离和平均相似性系数
Table 6 Genetic similarity index and Nei-s genetic distance of different geographical populations of *Metopolophium dirhodum* by ISSR

种群 Population	XT	LC	DZ	HD	DX	GX
XT	1. 0000	0. 9546	0. 9567	0. 9464	0. 9449	0. 9319
LC	0. 0464	1. 0000	0. 9609	0. 9320	0. 9447	0. 9267
DZ	0. 0443	0. 0399	1. 0000	0. 9533	0. 9577	0. 9450
HD	0. 0551	0. 0704	0. 0479	1. 0000	0. 9657	0. 9719
DX	0. 0567	0. 0569	0. 0432	0. 0350	1. 0000	0. 9738
GX	0. 0705	0. 0761	0. 0566	0. 0285	0. 0265	1. 0000

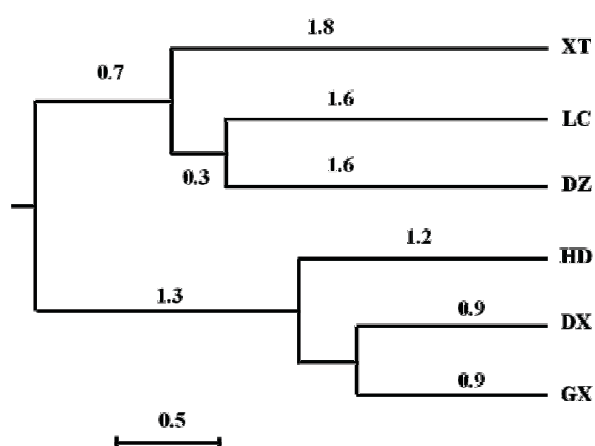


图1 利用 POPGEN 绘制的麦无网长管蚜 6 个地理种群间的 UPGMA 聚类分析图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of the six geographical populations of *Metopolophium dirhodum* produced by POPGEN soft

3 结论与讨论

麦无网长管蚜是禾本科作物上的重要害虫,在我国局部麦区危害严重,是欧洲中部地区禾本科作物中危害最重的蚜虫种类 (Dewar *et al.*, 1979; Pons *et al.*, 1989; 杜予州和毛亚勋, 1997; Honek *et al.*, 2018)。由于其体型小、生活史短、寄主丰富、迁飞能力强等因素,麦无网长管蚜具有一定的遗传多样性 (蔡青年等, 2004)。现代遗传学认为,物种的遗传变异是由基因决定的,外部形态的变异及体内蛋白质分子变化的根本原因是由于基因中 DNA 分子碱基序列发生了变化 (鲁亮和归鸿, 1995; 雷仲仁等, 1996; 陈乃中等, 1997; 王桂荣, 1999)。利用分子标记研究麦无网长管蚜的遗传多样性,是从物种本质上揭示其遗传变异特征 (康乐和张民照, 1995)。本研究利用 ISSR 技术对采自不同地区的麦无网长管蚜种群进行遗传多样性研究分析,结果显示麦无网长管蚜在物种水平上 ($P = 57.91\%$, $H = 0.1213$, $I = 0.1949$) 和在种群水平上 ($P = 26.24\%$, $H = 0.1386$, $I = 0.2177$) 都表现出一定的遗传多样性。遗传多样性是物种不断适应环境的一种方式。随着变异的增加,群体中的某些个体更有可能拥有适合环境的等位基因变异。这些个体更有可能存活下来,产生携带该等位基因的后代适应能力强 (Chang *et al.*, 1997, 胡志昂和王洪新, 1998; Gurdebeke *et al.*, 2003)。麦无网长管蚜种群遗传

多样性较高,说明麦无网长管蚜具有一定的环境适应能力。

遗传分化系数 (G_{st}) 能够反映麦无网长管蚜种群间的遗传分化程度。根据 Wright (1978) 遗传分化理论对种群间遗传分化程度的划分标准,遗传分化系数 (G_{st}) 值处于 0 ~ 0.05 表明遗传分化程度低,处于 0.05 ~ 0.15 表明遗传分化程度中等,处于 0.15 ~ 0.25 表明遗传分化程度高,当遗传分化系数 (G_{st}) 值 0.25 以上时表明其遗传分化程度极大。本研究中麦无网长管蚜的 G_{st} 平均值为 0.2644,表明 6 个麦无网长管蚜的遗传分化程度极大。另外,遗传分化系数种群内高于种群间,种群内变异较多,说明麦无网长管的遗传分化主要来源于其种群内部变异。张烨等 (2011) 研究也发现麦长管蚜的遗传多样性以种群内部为主导,段辛乐等 (2015) 在对禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 的研究中也得到类似的结论。麦长管蚜、禾谷缢管蚜和麦无网长管蚜是 3 种主要的小麦蚜虫,其远距离迁飞的特性在一定程度上促进了种群间的基因交流,因此各麦蚜种群即使相距遥远,其遗传分化程度也较低,各种群间的变异度差异对总的遗传变异贡献较小。种群基因流是影响其遗传分化的重要因素。一般情况下,越高的物种基因流水平会引起越小的物种遗传分化,而越低的物种基因流水平会引起越大的物种遗传分化。Wright (1950) 认为:当种群间基因流小于 1 ($N_m < 1$) 时,种群内因遗传漂变可以引起种群间遗传分化,基因流将成为种群遗传分化的主要诱因;当基因流大于 1 ($N_m > 1$) 时,均质化作用将在种群分化中起到一定作用,因此遗传分化较小的种群一般基因流较大;而当种群间基因流大于 4 ($N_m > 4$) 时,遗传漂变被种群间充分的基因交流所抵制,种群间遗传分化被削弱。本研究中,麦无网长管蚜的基因流为 1.3910 ($4 > N_m > 1$),不同种群间基因交流处于中等水平,可防止由遗传漂变引起的种群之间的遗传分化,而其遗传构造均质化作用能在一定程度上促进了种群的遗传分化。

基于遗传距离的 UPGMA 系统进化树将 6 个麦无网长管蚜种群聚为两个分支,定州、石家庄和邢台聚为一支 (分支 1),保定、邯郸和聊城聚为一支 (分支 2)。虽然分支 1 的定州、石家庄和邢台均在北纬 37 ~ 38 度之间,但是北纬 39 度的保定却与北纬 36 度的邯郸和聊城聚为分支 2。种群间的遗传距离分析也发现各个种群间的相似性遗传

系数在 0.9267 ~ 0.9738 之间, 各个麦无网长管蚜种群间没有分化的趋势。麦无网长管蚜各种群遗传距离与地理位置之间没有明显的相关性, 这就说明了地理空间并未对麦无网长管蚜种群间的基因交流产生影响。地理距离影响种群间的遗传分化的现象在多种昆虫中有所报道。洪波等 (2019) 研究发现地理环境和隔离是影响枣食蚜象甲 *Scythropus yasumatsui* 不同地理种群遗传分化的重要因素。王梦圆等 (2016) 研究发现伞裙追寄蝇 *Exorista civilis* 种群间的遗传分化与地理距离呈正相关关系。而在迁飞性昆虫中, 种群间的遗传分化与地理距离之间多表现为不相关。陈晓燕等 (2017) 研究发现云南粘虫各种群间的遗传距离与地理距离之间没有相关性。张烨等 (2011) 研究不同地理种群的麦长管蚜也发现即使距离遥远的种群之间的遗传分化程度也不高。因此对于像麦无网长管蚜这样的迁飞性昆虫的遗传多样性分析需要综合考虑其迁飞性、气候、地形地势等多种因素。对于迁飞性害虫的防治更要充分利用大尺度、大范围的监测预警技术网络, 注意加强系统化协同防治的能力。

本研究有关麦无网长管蚜不同地理种群基因流和遗传变异的研究将为控制麦蚜危害和田间综合防治提供必要的技术支持。但由于 ISSR 分子标记技术本身具有不能区分杂合体和纯合体等缺陷 (张民照, 2002), 本研究为麦无网长管蚜种群遗传结构分析所提供的信息量比较有限。在另一方面, 由于本试验存在涉及种群、个体数量和地区较为有限的问题, 因此不能够全面周到的反映全国的麦无网长管蚜的情况, 故而对麦无网长管蚜的地理种群相关方面还需更深入的进行研究。

参考文献 (References)

- Ammiraju JSS, Dholakia BB, Santra DK, *et al.* Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102 (5): 726 - 732.
- Arcade A, Anselin F, Rampant PF, *et al.* Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 299 - 307.
- Bai L, Zheng WY, Ren DZ, *et al.* Study on the damage and control threshold of *Sitobion avenae* [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2006, 34 (1): 61 - 64. [白莉, 郑王义, 任东植等. 麦长管蚜危害损失估计及防治阈值研究 [J]. 山西农业科学, 2006, 34 (1): 61 - 64]
- Blair MW, Panaud O, McCouch SR. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98 (5): 780 - 792.
- Cai QN, Hu MH, Wang Y, *et al.* Influence factors and molecular basis of the genetic diversity of aphid populations [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2004, 41 (4): 285 - 290. [蔡青年, 胡漫华, 王宇等. 蚜虫种群遗传多样性的影响因素及分子基础 [J]. 昆虫知识, 2004, 41 (4): 285 - 290]
- Casasoli M, Mattioni C, Cherubini M, *et al.* A genetic linkage map of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) based on RAPD, ISSR and isozyme markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102 (8): 1190 - 1199.
- Cekic C, Battey NH, Wilkinson MJ. The potential of ISSR-PCR primer-pair combinations for genetic linkage analysis using the seasonal flowering locus in *Fragaria* as a model [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103 (4): 540 - 546.
- Chang WXZ, Tabashnik BE, Artelt B, *et al.* Mitochondrial DNA sequence variation among geographic strains of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1997, 90 (5): 590 - 595.
- Chen NZ, Tang DL, Liu YP. Preliminary study on RAPD - PCR technique for the identification of four species of larvae of stored - grain beetles [J]. *Plant Protection*, 1997, 23 (3): 20 - 21. [陈乃中, 汤德良, 刘永平. 利用 RAPD - PCR 技术区分 4 种仓虫幼虫的初步研究 [J]. 植物保护, 1997, 23 (3): 20 - 21]
- Chen XY, Li YH, Hao RS. Genetic diversity of *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in Yunnan Province [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2017, 2: 204 - 211. [陈晓燕, 李亚红, 郝若诗. 云南省粘虫的遗传多样性 [J]. 云南农业大学学报 (自然科学版), 2017, 2: 204 - 211]
- Davila JA, Loarce Y, Ferrer E. Molecular characterization and genetic mapping of random amplified microsatellite polymorphism in barley [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98: 265 - 273.
- Dewar AM, Tachell GM, Turl LAD. A comparison of cereal - aphid migrations over Britain in the summers of 1979 and 1982 [J]. *Crop Protection*, 1984, 3 (3): 379 - 389.
- Ding W, Li Z, Du CH, *et al.* Optimization and primers screening of ISSR - PCR reaction system for *Ziziphi spinosae* semen [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 2: 1 - 8. [丁雯, 李泽, 杜晨晖等. 酸枣仁 ISSR - PCR 反应体系优化及引物筛选 [J]. 分子植物育种, 2020, 2: 1 - 8]
- Dirlewanger E, Pronier V, Parvery C, *et al.* Genetic linkage map of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using morphological and molecular markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97 (5 - 6): 888 - 895.
- Duan XL, Qiao XF, Peng X. Amplifying stability and genetic diversity of microsatellite loci in different *Rhopalosiphum padi* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2015, 3: 297 - 303. [段辛乐, 乔宪凤, 彭雄. 我国禾谷缢管蚜微卫星位点扩增稳定性及遗传多样性 [J]. 植物保护学报, 2015, 3: 297 - 303]

- Du YZ, Mao YX. Study on the life table of the experimental population of *Metopolophium dirhodum* (Walker) [J]. *Journal of the Guizhou University*, 1997, 16 (3): 16–21. [杜予州, 毛亚勋. 麦无网长管蚜实验种群生命表研究 [J]. 贵州农学院学报, 1997, 16 (3): 16–21]
- Ewa, Zietkiewicz, Antoni, *et al.* Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomics*, 1994, 20 (2): 176–183.
- Esselman EJ, Jianqiang L, Crawford DJ, *et al.* Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae): Comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8: 443–451.
- Fang DQ, Krueger RR, Roose ML. Phylogenetic relationships among selected citrus germplasm accessions revealed by inter – simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1998, 123 (4): 612–617.
- Fang DQ, Roose ML. Inheritance of intersimple sequence repeat markers in citrus [J]. *Journal of Heredity*, 1999, 90: 247–249.
- Footitt RG, Bonen L. Analysis of Aphid Species Using Mitochondrial DNA Techniques [M]. Stillwater: Oklahoma State University, 1990.
- Gilbert JE, Lewis RV, Wilkinson MJ, *et al.*, Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98 (6–7): 1125–1131.
- Godwin ID, Aitken EAB, Smith LW. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics [J]. *Electrophoresis*, 1997, 18 (9): 1524–1528.
- Gong P, Zhang XX, Yang XW, *et al.* Microsatellite DNA polymorphism in different forms of the cotton aphid [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2001, 44 (4): 416–421. [龚鹏, 张孝羲, 杨效文, 等. 用微卫星引物 PCR 分析棉蚜不同蚜型的 DNA 多态性 [J]. 昆虫学报, 2001, 44 (4): 416–421]
- Gurdebeke S, Maelfait JP, Backeljau T. Contrasting allozyme and RAPD variation in spider population from patchy forest habitats [J]. *Genetica*, 2003, 119 (1): 27–34.
- Hu ZA, Wang HX. Progress in molecular ecology [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1998, 15 (6): 565–574. [胡志昂, 王洪新. 分子生态学研究进展 [J]. 生态学报, 1998, 15 (6): 565–574]
- Huang JC, Sun M. Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) as revealed by inter – simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100 (7): 1050–1060.
- Hong B, Zhang F, Chen ZJ, *et al.* Analysis of the genetic diversity of *Scythropus yasumatsui* (Coleoptera: Curculionidae) populations [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62 (3): 381–390. [洪波, 张锋, 陈志杰, 等. 基于微卫星标记的中国枣食蚜象甲地理种群遗传多样性分析 [J]. 昆虫学报, 2019, 62 (3): 381–390]
- Joshi SP, Gupta VS, Aggarwal RK, *et al.* Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 1311–1320.
- Kang L, Zhang MX. The rise of Molecular Ecology, research hotspots and prospects [J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 1995, 4: 292–299. [康乐, 张民照. 分子生态学的兴起、研究热点和展望 [J]. 中国科学院院刊, 1995, 4: 292–299]
- Li YP, Li SL, Tao YM, *et al.* Effects of temperature on generation development and litter production of *Macrosiphum avenae* (F.) [J]. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 1991, 5: 18–20. [李永平, 李树莲, 陶耀明等. 温度对麦长管蚜世代发育与产仔的影响 [J]. 云南农业科技, 1991, 5: 18–20]
- Lei ZR, Guo YY, Li L, *et al.* Identification of 11 species of leaf miner on vegetables [J]. *Plant Protection*, 1996, 23 (2): 89–190. [雷仲仁, 郭予元, 李莉, 等. 蔬菜上 11 种潜叶蝇的鉴别 [J]. 植物保护学报, 1996, 23 (2): 89–190]
- Lu L, Gui H. Characteristics of RAPD technique and its application in insect taxonomy [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1995, 38 (1): 117–122. [鲁亮, 归鸿. RAPD 技术的特点及其在昆虫分类中的应用 [J]. 昆虫学报, 1995, 38 (1): 117–122]
- Liu YG. Genetic Divergence of Different Population of *Myzus persicae* on Potato Based on Microsatellite DNA Analysis [D]. Lanzhou: Gansu Agriculture University, 2010. [刘永刚. 基于微卫星 DNA 标记的马铃薯桃蚜不同种群遗传分化研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010]
- Moreno S, Martin JP, Ortiz JM. Inter – simple sequence repeats PCR for characterization of closely related grapevine germplasm [J]. *Euphytica*, 1998, 101 (1): 117–125.
- Nagaoka T, Ogiwara Y. Applicability of inter – simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFIP and RAPD markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 94: 597–602.
- Pons X, Albajes R, Avila S, *et al.* Spring population development of cereal aphids on durum wheat in Lleida, NE of Spain [J]. *Journal of Applied Entomology*, 1989, 107 (1–5): 203–210.
- Prevost A, Wilkinson MJ. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 98: 107–112.
- Ramesh VK, Xiaoping Z, Jeffery LB, *et al.* Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification [J]. *Molecular Breeding*, 1995, 1: 365–373.
- Ratnaparkhe MB, Santra DK, Tullu A, *et al.* Inheritance of inter-simpler-sequence-repeat polymorphisms and linkage with a fusarium wilt resistance gene in chickpea [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 96: 348–353.
- Ratnaparkhe MB, Tekeoglu M, Muehlbauer FJ. Inter-simpler-sequence-repeat (ISSR) polymorphisms are useful for finding markers associated with disease resistance gene clusters [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97 (4): 515–519.
- Sankar AA, Moore GA. Evaluation of inter-simple sequence repeat analysis for mapping in Citrus and extension of the genetic linkage

- map [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102: 206–214.
- Shang HY, Zheng YL, Wei YM, *et al.* Genic diversity of *Secale L.* based on ISSR and RAMP markers [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2004, 17 (3): 273–277. [尚海英, 郑有良, 魏育明, 等. 应用 ISSR 标记研究黑麦属植物遗传多样性 [J]. 西南农业学报, 2004, 17 (3): 273–277]
- Tao JX. RAPD – PCR Analysis of English Grain (*Macrosiphum avenae*) under the Induced Condition [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2001. [姚建秀. 诱导条件下麦长管蚜的 RAPD 分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2001]
- Tian Y. Genetic Diversity and Relationship Analysis of *Brassica oleracea L.* by RAPD, SSR [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2007. [田源. 甘蓝类蔬菜遗传多样性及亲缘关系 RAPD、SSR 分析 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007]
- Wang MY, Han HC, Wang HP, *et al.* Genetic diversity of *Exorista civilis* from different geographical populations based on ISSR marker [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2016, 38 (4): 805–812. [王梦圆, 韩海斌, 王惠萍, 等. 伞裙追寄蝇不同地理种群遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 环境昆虫学报, 2016, 38 (4): 805–812]
- Wei Q, Huang SN, Fan XL, *et al.* Study on the resistance of *Macrosiphum avenae* (F) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1988, 31 (2): 148–156. [魏岑, 黄绍宁, 范贤林, 等. 麦长管蚜的抗药性研究 [J]. 昆虫学报, 1988, 31 (2): 148–156]
- Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Nature*, 1951, 15 (4): 323–354.
- Wright S. Evolution and the Genetics of Populations, Volume 4: Variability Within and Among Natural Populations [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978.
- Wu Q. Genetic Structure Analyses of Woolly Apple Aphid (*Eriosoma lanigerum hausmann*) Population in China Studied Using Microsatellite Markers [D]. Taian: Shandong Agriculture School, 2009. [武强. 用微卫星标记分析我国苹果绵蚜不同地理种群的遗传结构 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2009]
- Wang JQ. Genetic Analyzing and SSR & ISSR Molecular of Gene Conferring Resistance to Race 4 of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*) in Soybean *Glycine max* (L.) Merr [D]. Beijing: School of CAAS, 2000. [王敬强. 大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗性基因的遗传分析及 SSR 和 ISSR 分子标记 [D]. 北京: 中国农业科学研究院, 2000]
- Wang GR. RAPD technique and its application in entomology [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 1999, 36 (3): 184–188. [王桂荣. RAPD 技术及其在昆虫学研究中的应用 [J]. 昆虫知识, 1999, 36 (3): 184–188]
- Zhang LR, Xu DQ, Liu DQ. SSR marker, ISSR marker and their application to plant genetics and breeding [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2002, 1: 95–99. [张立荣, 徐大庆, 刘大群. SSR 和 ISSR 分子标记及其在植物遗传育种研究中的应用 [J]. 河北农业大学学报, 2002, 1: 95–99]
- Zhu X, Yang JQ, Wu QJ, *et al.* Genetic diversity of different geographical populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutell) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2012, 55 (8): 981–987. [朱勋, 杨家强, 吴青君等. 小菜蛾不同地理种群遗传多样性的 ISSR 标记研究 [J]. 昆虫学报, 2012, 55 (8): 981–987]
- Zhang MZ, Kang L. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) and its applications in entomological research [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2002, 45 (4): 538–543. [张民照, 康乐. AFLP 标记的特点及其在昆虫学研究中的应用 [J]. 昆虫学报, 2002, 45 (4): 538–543]
- Zhang YJ, Wang SQH. ISSR analysis and genetic diversity research of different alfalfa materials [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2014, 36 (3): 35–39. [张颖娟, 王斯琴花. 不同苜蓿种质材料的 ISSR 分析及遗传多样性研究 [J]. 中国草地学报, 2014, 36 (3): 35–39]
- Zhang Y. Population Genetic Polymorphism of Chinese Sumac Aphid *Schlechtendalia chinensis* Based on ISSR Markers [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2006. [张琰. 基于 ISSR 分子标记的角倍蚜种群遗传多态性 [D]. 太原: 山西大学, 2006]
- Zhang Y, Yin J, Cao YZ, *et al.* Genetic diversity of different geographic populations and body color types of *Sitobion avenae* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48 (6): 1602–1607. [张烨, 尹娇, 曹雅忠, 等. 不同地理种群和红色及绿色麦长管蚜遗传多样性分析 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48 (6): 1602–1607]