

麦长管蚜自然群体的遗传变异研究*

蔡凤环, 赵惠燕

(西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 以 8 个不同地区的麦长管蚜(*M. acrosiphum avenae*)种群为虫源, 每种群 10 个个体用 6 种随机引物进行 RAPD 分析。结果表明, 引物在 8 个种群间共产生 272 个 RAPD 标记, 种群内的相似度比种群间的高得多。利用 Nei 氏相似系数, 对 8 个种群的 RAPD-PCR 结果进行分析可知, 北京与山东试虫采集地种群遗传距离为 0.023 9, 在 8 个地区中最小, 山西试虫采集地种群与其他 7 个地区差异最大, 这说明不同地区的麦长管蚜(*M. avenae*)种群的确存在着遗传变异。用 UPGMA 法构建的聚类图发现, 麦长管蚜聚成 3 个群体: 山东和北京群体, 安徽、四川和陕西群体, 新疆群体, 呈梯度分布, 单纯以地理隔离不能解释麦长管蚜自然群体间的遗传变异。

[关键词] 麦长管蚜; RAPD 分析; 种群遗传变异

[中图分类号] S435.122+.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)02-0021-04

麦长管蚜(*M. acrosiphum avenae*)广泛分布于我国小麦主要产区, 严重危害小麦生产, 麦长管蚜(*M. avenae*)以刺吸式口器取食小麦汁液, 导致小麦产量、品质降低; 同时, 麦长管蚜在取食过程中能传播大麦黄矮病毒(BYDV), 并随着蚜虫的活动, 迁飞引起病毒病的大范围流行, 造成更大的危害^[1]。

据报道^[2,3], 麦长管蚜的遗传变异很大, 从体色上有绿、黄、红之分。姚建秀等^[4]研究了紫外线诱导下麦长管蚜 DNA 的变异; 李莉等^[5]对麦长管蚜地理差异显著的 5 个种群的遗传分化进行了研究。麦长管蚜是一种迁飞性害虫, 春、夏季(3~6 月)随小麦生育期由南向北逐渐推迟, 其亦由南向北迁飞^[6]。

一个物种的遗传多样性水平直接影响到物种的生存及进化潜力^[7], 因此, 研究麦长管蚜的地理分布状况, 探讨麦长管蚜的遗传多样性, 对研究麦长管蚜的迁飞以及种下变异起着重要作用。近年来, 国内外学者利用 RAPD 技术在昆虫遗传和分类方面进行了一些研究, 在蚜虫方面的研究也多见报道。赵惠燕等^[3](1996)研究了蚜虫体色变化的生态遗传基础; 杨效文等^[8,9](1999)应用 RAPD 技术分析了烟蚜在不同寄主植物及不同地理分布区的 DNA 多态性; Puterka^[10]对俄罗斯二尾蚜的遗传变异进行了 RAPD 分析, 揭示了世界范围内该蚜虫的亲缘关系。这些说明 RAPD 技术在对小型昆虫的研究上是有效的、可以信赖的方法。本研究针对麦长管蚜 8 个

种群的基因组 DNA 进行了 RAPD 分析, 并对我国不同地区麦长管蚜的自然群体进行了分子遗传多态性分析, 以期研究麦长管蚜的迁飞及遗传变异提供依据。

1 材料与方法

1.1 虫源

麦长管蚜分别采自山东济南、安徽合肥、北京、河北唐县、山西运城、四川雅安、陕西杨凌、新疆石子。采集无翅成蚜保存于无水酒精中, 带回实验室 -20℃ 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 参考安瑞生等^[11]的小型昆虫提取方法。

1.2.2 RAPD-PCR 反应体系的建立 用于 PCR 反应的 10 bp 随机引物(上海生物工程有限公司产品)28 条。PCR 总反应体积为 25 μL , 其中包含 10 倍的 buffer (2.25 mmol/L) 2.5 μL , MgCl₂ (2.25 mmol/L) 2.0 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 1.5 μL , 引物 (20 ng/ μL) 1.5 μL , Taq 酶 (0.5 U/ μL) 2 μL , 模板 DNA 2 μL , 加无菌水 13.5 μL 。

扩增反应在 PCR 基因扩增仪(TwinBlock thermal cycler)上进行, 94℃ 1 min, 37℃ 1 min, 72℃ 2 min, 5 个循环; 然后 94℃ 30 s, 37℃ 90 s, 72℃ 90 s, 40 个循环; 最后在 72℃ 延伸 10 min。

* [收稿日期] 2003-01-15

[基金项目] 国家自然科学基金项目(39970112)

[作者简介] 蔡凤环(1977-), 女, 山东济宁人, 在读硕士, 主要从事昆虫生态学研究。

[通讯作者] 赵惠燕(1956-), 女, 陕西杨凌人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事昆虫生态学研究。

1.3 数据处理

1.3.1 条带分析、计算方法^[12] (1) 条带的确定。UVI 凝胶成像系统分析软件能够自动确定出现的条带数量, 通过与主观观察相结合, 即可准确界定条带, 确定条带数量。(2) 计算方法。根据 Takezaki 等^[13]的相似系数分析公式进行数据分析, 同一位置有带的记为 1; 无带的记为 0, 记录所有结果。为了提高该系统分析的精确性, 每次电泳都使用 1~2 个泳道添加 Marker, 以便校对。

1.3.2 聚类分析 用 UPGMA 法对 8 个种群的



图 1 S26 对安徽种群内的 RAPD-PCR 结果

Fig. 1 RAPD amplification with primer S26 to Anhui population

8 个种群内的 RAPD 扩增结果显示, 每一种引物在同一地理种群的个体之间可产生相同的带谱(或每个地理种群个体的基因型是相同的), 说明在同一地理种群中, 个体间的遗传特性相似程度很高, 保证了同一地理种群的遗传稳定性(图 1、图 2)。单独使用任何一种引物, 都不可能将同一地理种群中的全部个体区分出来(仅以 S26, S58 对安徽种群内的 RAPD-PCR 结果为例), 这说明同一地理种群内部仍然存在遗传变异, 而且发生变异的基因位点也有差别, 这保证了生物进化的遗传多样性, 为种群的生存进化提供了遗传物质基础。将 6 种引物所扩增的结果综合起来即可将全部个体区分出来, 说明虽

表 1 随机引物及扩增带数

Table 1 Primer and number of amplified chain

引物 Primer	引物序列 Sequence (5'-3')	RAPD 标记 Markers		多态性标记在种群中分布 Distribution of polymorphic marker in the population								多态性 带数 比例/% Polymor- phy bands ratio
		扩增数 TN	多态数 PN	1	2	3	4	5	6	7	8	
S26	GGTCCCTGAC	10	8	2	7	7	1	1	3	3	0	80.00
S66	GAACGGACTC	11	9	4	8	5	1	3	4	6	7	81.82
S88	TCA CGTCCAC	9	8	3	4	4	4	1	6	5	6	88.89
S214	AA TGCCGCA G	12	8	5	3	4	4	1	6	5	2	66.67
S315	CA GACAA GCC	11	7	4	6	2	3	1	5	5	5	63.64
S453	GTCA GA GTCC	10	7	5	4	4	4	2	4	5	4	70.00

注: 1~8 分别代表山东、安徽、北京、河北、山西、四川、陕西、新疆。下表同。

Note: 1-8 represents Shandong, Anhui, Beijing, Hebei, Shanxi, Sichuan, Shanxi, Xinjiang respectively. The following table is the same

RAPD 分析结果进行系统聚类分析。

2 结果与分析

2.1 种群内的 RAPD 结果

图 1、图 2 为安徽种群内 10 个不同个体的 RAPD 结果。从图 1、2 中可以看出, 与种群间共有条带数量相比, 种群内 10 个个体之间整体共有条带(指在实验中的全部 10 个个体的共有条带)数量较多, 同时有少数个体有少量的条带缺失, 如图 1 中的 8、9 号个体, 图 2 中的 3、10 号个体。

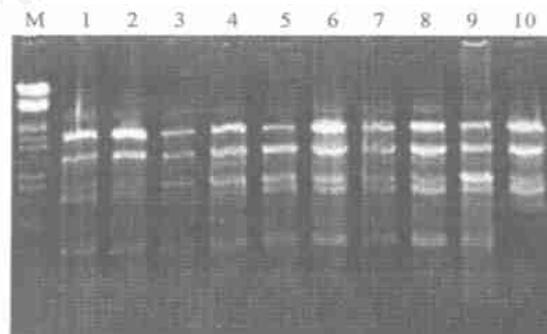


图 2 S58 对安徽种群内的 RAPD-PCR 结果

Fig. 2 RAPD amplification with primer S58 to Anhui population

然同一种群间的个体存在遗传变异, 但是这种变异仅仅体现在很少量的基因位点上, 再次说明同一种群中遗传的稳定性。

综上所述, 供试的 8 个种群内的 RAPD 多态性差异不显著, 也就是说, 当同一种群内的不同个体使用同一随机引物扩增时, 各个个体的多态性条带很相近。此结果显示, 在供试的种群内部遗传变异程度比较小, 个体之间 DNA 的相似程度比较高。

2.2 种群间的 RAPD 结果

在种群间的多态性鉴别试验中, 经过反复筛选, 从 28 个引物中筛选出了 6 种引物, 其引物名称及在各种种群间所产生的片段数目见表 1。

8 个种群中共产生了 272 个片段, 不同引物在不同种群中产生的片段数目不同。以 S214 和 S71 2 个引物为例, 对种群间的 RAPD 结果(图 3, 图 4)进行了分析。在图 3, 图 4 中, 总体共有条带数量比

种群内的总体共有条带数量少, 各种群的特有带数量增多。如图 4 中, 安徽种群条带数量多于其他种群, 河北种群条带数量少于其他种群; 图 3 中, 山西种群条带数量少于其他种群。

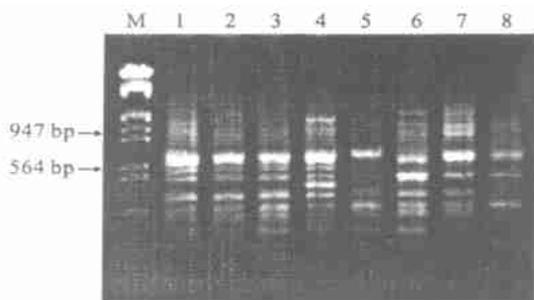


图 3 S214 对 8 个种群的 RAPD-PCR 结果
M. Marker; 1. 山东; 2. 安徽; 3. 北京; 4. 河北;
5. 山西; 6. 四川; 7. 陕西; 8. 新疆

Fig. 3 RAPD amplification with primer S214 to eight populations

M. Marker; 1. Shandong; 2. Anhui; 3. Beijing; 4. Hebei; 5. Shanxi; 6. Sichuan; 7. Shaanxi; 8. Xijiang

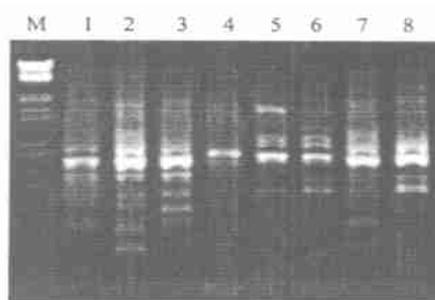


图 4 S71 对 8 个种群的 RAPD-PCR 结果
M. Marker; 1. 山东; 2. 安徽; 3. 北京; 4. 河北;
5. 山西; 6. 四川; 7. 陕西; 8. 新疆

Fig. 4 RAPD amplification with primer S71 to eight populations
M. Marker; 1. Shandong; 2. Anhui; 3. Beijing; 4. Hebei; 5. Shanxi; 6. Sichuan; 7. Shaanxi; 8. Xijiang

不同种群间 RAPD 的扩增结果显示, 在不同的地理种群之间, 发生了较大的遗传变异(与种群内部相比), 并且各种群之间的变化方向是不同的(表现为条带既有缺失又有增加), 显示出遗传多态性。说明在不同的地理环境影响下, 各种群的基因水平确

实发生了变化。

2.3 聚类分析

根据表 2 数据, 用 KeyanSoft (基于 UPGMA 法) 聚类分析软件构建了聚类图(见图 5)。

表 2 8 个种群间的遗传距离(D)和相似系数(S)

Table 2 The genetic distance and the genenic similarity among eight populations

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	0.073	0.024	0.244	0.448	0.180	0.080	0.230
2	0.927	0	0.058	0.154	0.391	0.029	0.042	0.273
3	0.976	0.942	0	0.336	0.356	0.165	0.052	0.374
4	0.757	0.846	0.664	0	0.270	0.203	0.132	0.251
5	0.553	0.610	0.644	0.730	0	0.350	0.289	0.369
6	0.820	0.971	0.835	0.797	0.650	0	0.102	0.240
7	0.920	0.959	0.948	0.868	0.711	0.898	0	0.288
8	0.770	0.727	0.626	0.749	0.631	0.760	0.712	0

注: 上对角为遗传距离, 下对角为相似系数。

Note: The genetic distance in upper right corner, the genenic similarity in lower left corner

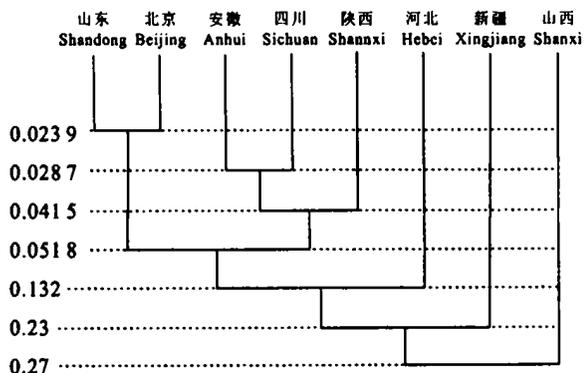


图 5 麦长管蚜自然种群聚类图

Fig. 5 The clustering of natural colony of *M. acrosiphum avenae*

由图 5 可知, 纬度偏南的安徽、四川和陕西种群聚为一支, 地理环境相似的山东和北京群体聚为一支, 而山西、新疆群体则明显表现出与其他群体的差异, 呈梯度分布。河北唐县与山西距离较近, 是否与山西群体一样, 种群遗传变异较大, 值得进一步研究。因此单纯以地理隔离不能解释麦长管蚜自然群体间的遗传变异。

3 讨论

RAPD 技术由于具有简便、快速、所能提供的信息丰富等优点, 已渗透到生命科学研究的各个领域^[14, 15]。本研究应用 RAPD-PCR 检测出麦长管蚜 (*M. acrosiphum avenae*) 自然群体中存在着广泛的遗

传多态性,各地理种群多态性条带比例较高,均在 60% 以上,而相同种群中的多态性则较低,均为 10% ~ 20% (图 1,图 2)。因此,可以初步得出结论:麦长管蚜 (*M. avenae*) 在各地理区域间,没有发生较大的基因交流,在同一地理分布的种群基因变异较小,相似性系数极高;麦长管蚜 (*M. acrosiphum avenae*) 的遗传多样性是广泛存在的,受地理条件的影响,出现了很高的变异,说明麦长管蚜 (*M. acrosiphum avenae*) 可能的潜在遗传变异能力很强,也就是在基因水平上的适应性很强。

我国从地理分布上划分为 3 个阶梯,本研究从 3 个阶梯的不同地区分别采样,进行扩增,根据计算结果得到聚类图(图 5),从所做聚类分析图上来看,

不同的栖息环境对基因组 DNA 形成不同的选择效应,从而阻隔了 DNA 的基因流,导致群体的遗传分化^[16],使得我国麦长管蚜的分布基本上呈现了依照地理阶梯分别聚类的结果。初步说明,我国的麦长管蚜分布基本上依照我国地理阶梯而分布。由于采样数量的限制,该结论还需要进一步扩大抽样范围,进行更深入研究才能确定。另外,物种生存取决于多种生态因子(气候、竞争者、捕食者等)的影响,人为原因也不可以忽略,这些都要求扩大采样规模,并增加试验个体数目,同时应进行 mtDNA 的 RFLP 分析,以便对麦长管蚜的自然群体遗传变异的相关因素、远距离迁飞及传毒提供有用的数据。

[参考文献]

- [1] 张向才,周广和,史明,等. 麦蚜远距离迁飞和传毒规律的研究[J]. 植物保护学报, 1985, 12(1): 9- 15
- [2] 赵惠燕,袁锋. 棉蚜体色变化的生态遗传及 DNA 分子证据[J]. 中国科技文摘, 1996, (1): 109
- [3] 赵惠燕,张改生. 棉蚜体色变化的生态遗传学研究[J]. 昆虫学报, 1993, 36(3): 282- 289
- [4] 姚建秀,赵惠燕. 紫外条件诱导下麦长管蚜 DNA 的变异研究[J]. 西北农业学报, 2001, 10(1): 33- 36
- [5] 李莉,周广和,杜志强,等. 不同地区麦长管蚜的 RAPD 分析[A]. 植物保护 21 世纪展望暨全国青年植物保护科技工作者学术研讨会论文集[C]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001. 457- 460
- [6] 袁锋. 农业昆虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [7] 叶镇清,乔传令. 四个不同地理区域的库蚊复合组居群的遗传多样性研究[J]. 昆虫知识, 2002, 39(1): 53- 57
- [8] 杨效文,张孝羲,陈晓峰,等. 我国烟蚜种群分化的 RAPD 分析[J]. 昆虫学报, 1999, 42(4): 337- 380
- [9] 杨效文,张孝羲,陈晓峰,等. 不同寄主植物上烟蚜的染色体组型研究[J]. 应用与环境生物学报, 2000, (1): 27- 31
- [10] Puterka G J, Black W C, Steiner W M, et al. Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of Russian wheat aphid, *Duraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and directly RAPD-PCR markers[J]. Heredity, 1993, 70: 604- 618
- [11] 安瑞生,谭声江,陈晓峰. 小型昆虫 DNA 提取时匀浆方法的改进[J]. 昆虫学报, 2002, 39(4): 311- 312
- [12] William J G K, Kublik A R, Livak K J. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers and useful as genetic markers[J]. Nucleic Acids Res, 1990, 44: 6531- 6535
- [13] Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. Genetic, 1996, 144: 389- 399
- [14] Mark Benecke. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) typing of necrophagous insects (Diptera, Coleoptera) in criminal studies: validation and use in practice[J]. Forensic Science International, 1998, 98: 157- 168
- [15] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. Nucleic Acids Res, 1990, 18: 7213- 7218
- [16] 郑向忠,洪伟,俞海菁,等. 黑果蝇 (*D. virilis*) 自然群体遗传多态性研究[J]. 遗传学报, 1999, 26(3): 198- 202

Genetic polymorphism in natural populations of *M. acrosiphum avenae*

CAI Feng-huan, ZHAO Hui-yan

(College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Random amplified polymorphic (RAPD) techniques were applied to characterize genetic variations in eight natural populations of *M. acrosiphum avenae*. Six primers are selected from 28 primers. The result showed that the six primers produced 272 RAPD markers, and similarity in geographic populations was higher than that among different geographic populations. RAPD data were used to analyze the genetic similarity of *M. avenae*, the result showed that mean divergence between Beijing and Shandong was only 0.0239. The cluster analysis showed that geographical seclusion couldn't explain genetic distance, natural condition's influence was important to DNA gene flow of the natural population genetic variation of *M. avenae*. We suggest that there exists a latitudinal genetic variation in natural populations of *M. avenae*.

Key words: *M. acrosiphum avenae*; RAPD analysis; population genetic variation