

网络出版时间:2013-08-26 17:51

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130826.1751.018.html>

甘肃河西走廊苹果蠹蛾种群遗传分化研究

——基于 COI 基因序列分析

李玉婷¹, 王 康¹, 郑 燕¹, 门秋雷¹, 钱 路², 安榆林²,
冯纪年¹, 张雅林¹, 陈茂华¹

(1 西北农林科技大学 植物保护学院, 农业部西北黄土高原作物有害生物综合治理重点实验室,
植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 2 江苏出入境检验检疫局 动植物中心, 江苏 南京 210001)

【摘 要】 【目的】揭示河西走廊苹果蠹蛾不同地理种群间的联系, 分析地理种群间的序列变异、遗传多样性和遗传分化。【方法】采用 PCR 和基因测序技术, 扩增并分析了河西走廊 8 个地理种群 132 个苹果蠹蛾个体的线粒体细胞色素氧化酶 I 亚基(COD)基因片段, 应用 DnaSP 5.10 计算单倍型多样性指数(Hd)、核苷酸多样性指数(Pi)和 Tajima's D 值, 采用 ZT 软件包进行 Mantel 检验, 分析种群间遗传距离与地理距离的相关性, 利用软件 Arlequin 3.11 计算成对种群间的固定系数(Fst)。【结果】在获得的 132 条序列中共发现了 8 个变异位点和 5 个单倍型, 其中 3 个单倍型为种群共享单倍型。总体单倍型多样性指数为 0.578, 种群内单倍型多样性为 0.000~0.700。各种群的 Tajima's D 值中性检验符合中性突变, 说明河西走廊苹果蠹蛾在历史上没有出现群体扩张, 群体大小稳定。 Fst 值表明, 河西走廊苹果蠹蛾种群间具有一定程度的遗传分化, 而各地地理种群的遗传距离与地理距离无显著的相关性。【结论】河西走廊苹果蠹蛾遗传多样性较低, 且地理种群间有一定程度的遗传分化。

【关键词】 苹果蠹蛾; COI 基因; 地理种群; 遗传分化

【中图分类号】 S436.611.2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)09-0085-06

COI gene analysis based genetic differentiation of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) populations in Hexi Corridor

LI Yu-ting¹, WANG Kang¹, ZHENG Yan¹, MEN Qiu-lei¹, QIAN Lu²,
AN Yu-lin², FENG Ji-nian¹, ZHANG Ya-lin¹, CHEN Mao-hua¹

(1 College of Plant Protection, Key Laboratory of Crop Pest Integrated Pest Management on the Loess Plateau of Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management of Ministry of Education, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Animal Plant and Food Inspection Center, Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

Abstract: 【Objective】The aim of this study was to clarify the genetic relationship of *Cydia pomonella* populations collected from different geographic locations in Hexi Corridor, China, and to analyze their genetic diversity and genetic differentiation based on cytochrome oxidase subunit I (COI) gene fragments. 【Method】PCR and gene sequencing technology were used to obtain the COI gene sequences from 132 indi-

【收稿日期】 2012-11-19

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31071687, 31272036); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(博导类)(20110204110001); 教育部留学回国人员科研启动基金项目; 公益性行业(农业)科研专项(200903042-03); 国家科技支撑计划课题(2012BAK11B03); 陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项(2009ZDKG-06); 西北农林科技大学人才引进项目

【作者简介】 李玉婷(1989—), 女, 河南太康人, 在读硕士, 主要从事昆虫种群遗传学研究。E-mail: yutingli1989@163.com

【通信作者】 陈茂华(1971—), 男, 湖北武汉人, 教授, 博士生导师, 主要从事昆虫种群遗传学、分子生态学和分子毒理学研究。E-mail: maohua.chen@nwsuaf.edu.cn

viduals sampled in 8 geographic locations in Hexi Corridor. DnaSP 5. 10 was used to calculate the molecular genetics parameter. Mantel test was conducted by ZT software package was used to analyze the correlation between genetic distance and geographical distance. Arlequin 3. 11 was used to calculate the pairwise *Fst* value. 【Result】 Among the obtained 132 COI sequences, 8 variable sites and 5 haplotypes were observed, and 3 haplotypes were shared among the populations. The total haplotype diversity (*Hd*) was 0. 578, while it varied from 0. 000 to 0. 700 within populations. Tajima's D value neutrality test suggested that there was no population expansion for the codling moth in history. *Fst* value indicated that there was genetic differentiation among codling moth populations in Hexi Corridor. The genetic distance was not significantly correlated with the geographic distance between populations. 【Conclusion】 The genetic diversity of codling moth in Hexi Corridor was low, and there was a certain degree of genetic differentiation between populations.

Key words: *Cydia pomonella*; COI gene; geographic population; genetic differentiation

苹果蠹蛾(*Cydia pomonella*)是一种重要的果树害虫,其寄主包括苹果、梨、沙果、桃、樱桃、杏以及核桃等^[1],目前广泛分布于世界各地的苹果种植区^[2]。该虫主要以幼虫蛀果危害,蛀果率普遍在50%以上,严重的蛀果率高达100%,常造成大量落果,严重影响果品的产量和品质,每年都给世界果品产业造成巨大的损失^[3-4]。我国于1957年首次报道了苹果蠹蛾在新疆的分布^[3],目前其已扩散至新疆全境。自1989年发现苹果蠹蛾从新疆传入甘肃省敦煌后,该虫一路向东入侵,在张掖、酒泉、武威等地严重发生,并且正沿着河西走廊向我国苹果优势产区陕西及其东部地区逼近,形势十分严峻^[5]。自2006年以来,黑龙江省牡丹江市和鸡西市的大部分地区也已成为苹果蠹蛾的普遍发生区,并可能威胁我国东部苹果优势产区^[6]。

动物线粒体DNA具有结构简单、进化快、单拷贝、母系遗传、含量丰富等特点,线粒体基因作为分子标记被广泛应用到昆虫分子生态学与分子系统学相关研究之中^[7-9]。线粒体细胞色素氧化酶I亚基

(Cytochrome oxidase I subunit, COI)基因具有相对的保守性,序列很少发生插入和缺失;而且又有足够的变异,多态性好,已被广泛用来研究种群遗传变异和分化^[10]。

研究不同地区苹果蠹蛾种群分子遗传学特性,可以探索各地区种群间的内在联系,从而为研究害虫扩散路径及害虫防治技术提供理论指导^[11-12]。河西走廊是我国苹果蠹蛾重要的入侵地区,也是我国西北地区苹果蠹蛾种群向东南扩散的前沿。本研究在河西走廊采集8个不同的苹果蠹蛾地理种群样本,采用PCR扩增和基因测序技术,分析这8个不同地区种群COI基因片段,以期为揭示河西走廊种群间的内在联系提供分子生物学依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

供试苹果蠹蛾于2010年苹果生长季节采自甘肃境内8个地点,各种群采集信息见表1。

表 1 供试苹果蠹蛾的采集信息

Table 1 Sample information of *Cydia pomonella*

种群代码 Population code	采集地点 Sampling location	地理坐标 Geo-coordinates	采集时间 Collection date	分析个体数 Number of individuals assayed
JQL	酒泉罗马村 Jiuquan, Luomacun	39°39' N, 98°28' E	2010-08	18
JQY	酒泉银达乡 Jiuquan, Yinda Township	39°48' N, 98°34' E	2010-08	18
JQZ	酒泉总寨乡 Jiuquan, Zongzhai Township	39°38' N, 98°39' E	2010-08	20
ZYDQ	张掖东泉五社 Zhangye, Dongquanwushe	38°58' N, 100°30' E	2010-08	20
ZYL	张掖李家园 Zhangye, Lijiayuan	39°01' N, 100°08' E	2010-08	17
ZYM	张掖明永乡 Zhangye, Mingyong Township	39°01' N, 100°18' E	2010-08	19
LZ	兰州 Lanzhou	36°17' N, 103°58' E	2010-05	5
WW	武威 Wuwei	37°55' N, 102°38' E	2010-05	15

苹果蠹蛾成虫利用诱捕器进行诱捕,诱捕器采用三角胶粘式(由北京中捷四方生物科技公司提供),诱芯的载体中空,由硅橡胶制成,每个质量 0.3~0.5 g,每个诱芯的性信息素含量不低于 0.001 g,纯度 90%~97%。将采集到的样本浸泡于无水乙醇中,带回实验室后保存于-80℃冰箱中备用。

1.2 基因组 DNA 的提取

利用 EasyPure™ Genomic DNA Kit(北京全式金生物技术有限公司)提取供试苹果蠹蛾样本基因组 DNA,具体提取过程按照试剂盒说明书步骤进行操作,提取的 DNA 样品通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 COI 基因的 PCR 扩增及序列测定

本研究用于扩增苹果蠹蛾线粒体 COI 基因的引物是昆虫线粒体 DNA 扩增的通用引物^[13],由上海桑尼生物科技有限公司合成。引物序列为:C1-J-1751 5'-GGATCACCTGATATAGCATTCCTCC-3'; C1-N-2191 5'-CCCGGTAAAATTAAAATATA-AACTTC-3',扩增目标片段长度为 495 bp。

PCR 反应总体积为 50 μL,其中含 2×PCR master mix 25 μL,正/反向引物各 3 μL,DNA 模板 2 μL(含 20~50 ng DNA),ddH₂O 为 17 μL。PCR 反应条件为:94℃预变性 2 min;94℃变性 30 s,48℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,35 个循环;最后 72℃延伸 5 min。PCR 产物用 1%琼脂糖电泳检测。

扩增的单一带 COI 基因经 DNA 纯化试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)纯化后,将纯化的 PCR 产物直接进行测序,测序由生工生物工程(上

海)有限公司完成。

1.4 数据统计分析

用 Clustal X 1.8 进行多序列同源比对,应用软件 DnaSP 5.10 计算种群内及种群间的变异百分比、单倍型多样性指数 *Hd*、核苷酸多样性指数 *Pi* 和 Tajima's *D* 值。种群间的遗传距离与地理距离的 Mantel 检验用 ZT 软件包进行分析。利用软件 Arlequin 3.11 计算成对种群间的固定系数(*Fst*)。

2 结果与分析

2.1 苹果蠹蛾不同地理种群 COI 基因序列的变异分析

PCR 扩增得到约 495 bp 的 COI 序列,去除上下游引物及附近 DNA 测序不准确序列,剩余 435 bp 序列用于进一步分析。分析结果显示,在 8 个种群 132 条序列中共发现变异位点 8 个,占分析总位点数的 1.84%,8 个位点均为简约信息位点,在所测序列中没有发现碱基缺失或者插入现象。序列中碱基 A、T、G、C 的含量分别为 27.6%,39.5%,14.7%和 18.2%,(A+T)含量明显高于(G+C),表现出明显的碱基偏倚。

表 2 表明,从 132 条 COI 序列中共鉴定出 5 个单倍型,其中 Hap2 为所有种群的共享单倍型,占所有序列的 53.79%;单倍型 Hap1 为 6 个种群的共享单倍型,占所有序列的 36.36%;Hap1 和 Hap2 2 个单倍型可能是原始的单倍型。单倍型 Hap3 为 5 个种群共享,而单倍型 Hap4 和 Hap5 分别为 ZYM(张掖明永乡)和 LZ(兰州)种群特有。

表 2 甘肃河西走廊苹果蠹蛾不同地理种群 COI 基因单倍型在群体中的分布
Table 2 Distribution of haplotypes in different geographic populations of *Cydia pomonella*

单倍型 Haplotype	种群代码 Population code								序列合计 Total sequences
	JQL	JQY	JQZ	ZYDQ	ZYL	ZYM	LZ	WW	
Hap1	14	12	17	1		3		1	48
Hap2	4	4	2	19	17	12	1	12	71
Hap3		2	1			2	1	2	8
Hap4						2			2
Hap5							3		3

2.2 苹果蠹蛾不同地理种群的遗传多样性

苹果蠹蛾各种群 COI 单倍型多样性、核苷酸多样性及 Tajima's *D* 中性检验结果如表 3 所示。由表 3 可以看出,苹果蠹蛾 8 个地理种群的总体单倍型多样性指数 *Hd* 为 0.578,种群间核苷酸多样性指数 *Pi* 为 0.006 8。种群内单倍型多样性为 0.000~0.700,平均为 0.364,其中单倍型多样性最高的种群为 LZ(兰州),其次为 ZYM(张掖明永乡),

单倍型多样性最低的种群为 ZYL(张掖李家园)。种群内核苷酸多样性为 0.000 0~0.007 8,平均为 0.001 6,其中最高的种群为 LZ(兰州),最低的种群为 ZYL(张掖李家园)。说明在 8 个种群中,LZ(兰州)的遗传多样性相对较为丰富,而 ZYL(张掖李家园)的遗传多样性最低。

对河西走廊 8 个苹果蠹蛾地理种群 COI 基因序列进行 Tajima's *D* 中性检验(表 3),结果均不显

著,说明研究的苹果蠹蛾种群在过去没有出现群体 扩张和持续增长模式,群体大小保持相对稳定状态。

表 3 甘肃河西走廊苹果蠹蛾不同地理种群 COI 基因的遗传多样性分析

Table 3 COI haplotype diversity,nucleotide diversity and Tajima’s D neutrality test of *Cydia pomonella* in different geographic populations

种群代码 Population code	单倍型多样性(<i>Hd</i>) Haplotype diversity	核苷酸多样性(<i>Pi</i>) Nucleotide diversity	Tajima’s D	
			测定值 Tested value	中性检验显著性 Statistical significance
JQL	0.366	0.005 1	−0.534 0	ns($P>0.10$)
JQY	0.523	0.006 3	−1.173 7	ns($P>0.10$)
JQZ	0.279	0.003 5	0.742 1	ns($P>0.10$)
ZYDQ	0.100	0.001 4	1.447 0	ns($P>0.10$)
ZYL	0.000	0.000 0	−0.594 2	ns($P>0.10$)
ZYM	0.585	0.005 0	0.954 0	ns($P>0.10$)
LZ	0.700	0.007 8	0.220 6	ns($P>0.10$)
WW	0.362	0.002 3	−1.490 5	ns($P>0.10$)
合计 Total	0.578	0.006 8	2.388 4	ns($P>0.10$)

注:ns. 不显著。
Note:ns indicates no significance.

2.3 苹果蠹蛾种群的遗传分化分析

对河西走廊苹果蠹蛾的遗传分化进行分析,计算成对种群间的固定系数(*Fst*)并分析其显著性,结果见表 4。由表 4 可以看出,酒泉罗马村(JQL)与银达乡(JQY)和总寨乡(JQZ)的 *Fst* 值差异不显著;张

掖东泉五社(ZYDQ)与李家园(ZYL)和明永乡(ZYM)的 *Fst* 值差异不显著;兰州(LZ)与张掖东泉五社(ZYDQ)的 *Fst* 值差异不显著,其他种群间差异均达显著水平。

表 4 甘肃河西走廊苹果蠹蛾成对种群间的固定系数(*Fst*)与地理距离

Table 4 Pairwise *Fst* values and the geographical distances of *Cydia pomonella*

种群代码 Population code	JQL	JQY	JQZ	ZYDQ	ZYL	ZYM	LZ	WW
JQL		−0.028 6	−0.017 7	0.527 4 *	0.696 5 *	0.759 1 *	0.353 0 *	0.510 4 *
JQY	17.39		0.013 4	0.415 2 *	0.597 7 *	0.656 8 *	0.253 9 *	0.375 9 *
JQZ	16.32	18.76		0.630 9 *	0.780 3 *	0.833 7 *	0.461 1 *	0.593 2 *
ZYDQ	191.29	190.98	175.92		0.036 4	0.108 3	−0.009 9	0.412 0 *
ZYL	159.68	160.53	144.69	33.17		−0.008 4	0.130 4 *	0.691 0 *
ZYM	174.63	174.90	159.44	17.45	15.73		0.193 3 *	0.781 9 *
LZ	611.06	614.27	597.32	427.36	454.76	441.60		0.265 6 *
WW	409.79	410.29	394.80	219.39	250.13	235.42	217.41	

注:左下角为地理距离(km),右上角为固定系数(*Fst*)。* 表示差异显著。
Note:Geographical distances (km) are below the diagonal,and pairwise *Fst* values are above the diagonal. * means significant difference.

通过 Mantel 检验,检测苹果蠹蛾不同种群之间的遗传分化程度是否与地理隔离有关,计算成对种群间的遗传距离与各采集地地理距离之间的相关性,得到遗传距离与地理距离之间的相关系数 $r=0.108\ 071(P=0.297\ 227>0.05)$,显示两者之间无显著的相关性。

3 讨 论

苹果蠹蛾入侵至一新地区后,通过分化形成不同的种群或生态型(Ecotype)来适应新的环境条件^[14-16]。这些种群或生态型可在寄主植物嗜好性、活动能力、生殖能力、生长发育速度、发生季节和抗药性等方面显示出显著差异^[15,17-24],且部分生物学

特性可在种群内部稳定遗传^[17-18,23,25]。Meraner 等^[16]采用 3 个线粒体标记(COI、ND5 和 CR)研究了中欧地区的苹果蠹蛾种群,发现种群间存在高水平的遗传分化,分为两大遗传群。Espinoza 等^[26]和 Fuentes-Contreras 等^[27]用微卫星标记对智利中部苹果蠹蛾地理种群间的遗传多样性进行了分析,结果显示,种群间并未形成遗传分化。Chen 和 Dorn^[11]研究发现,瑞士的苹果蠹蛾因寄主不同而产生了显著的遗传分化,并且不同地理种群间显示高水平的遗传多样性。冯纪年等^[28]用线粒体 COI 标记研究了中国的 10 个苹果蠹蛾种群,显示不同种群间已存在一定程度的分化。Men 等^[29]用微卫星标记分析了苹果蠹蛾的 10 个中国种群和 2 个欧洲种

群,发现存在遗传多样性缺失和显著的遗传结构,且种群间遗传距离与地理距离无显著相关。

本研究对河西走廊苹果蠹蛾线粒体 COI 基因进行了相关分析,发现其碱基组成中,(A+T)含量高于(G+C)含量,该结果与前人研究结果^[28,30-31]相符。本研究中河西走廊苹果蠹蛾 mtDNA COI 基因存在 8 个多态位点共 5 个单倍型,总体单倍型多样性指数 H_d 为 0.578,种群内单倍型多样性平均为 0.364,表明河西走廊苹果蠹蛾线粒体基因多态性水平较低,分析其原因可能是苹果蠹蛾作为外来入侵种,20 世纪 80 年代末才传入甘肃,入侵时间短,并且可能经历了传入、选择或者线粒体基因的遗传漂变等遗传瓶颈效应。固定系数(F_{st})是表征遗传距离的一种常用参数,可反映出不同物种或种群间的遗传差异程度。通过分析发现,本研究中酒泉地区的 3 个种群之间、张掖地区的 3 个种群之间及兰州与张掖东泉五社种群间的 F_{st} 值差异不显著,而酒泉地区与张掖地区种群之间、兰州和武威种群间分化显著,说明不同地理种群间具有一定程度的遗传分化,而种群间遗传距离与地理距离之间无显著的相关性,显示地理隔离不是造成这种遗传分化的惟一因素。根据已有的报道,农药的使用、寄主分布以及苹果蠹蛾的扩散能力等诸多因素都影响苹果蠹蛾的遗传多样性,苹果蠹蛾在河西走廊为新入侵害虫,其种群在新的入侵地点可能会产生快速适应性微进化,因而导致不同地理种群在线粒体基因上的分化;兰州的苹果蠹蛾种群近几年才见报道,其线粒体基因与 1 个张掖种群差异不显著,说明兰州种群可能来自张掖地区,这 2 个种群的遗传关系有待采集更多样本进行深入研究。本研究结果为进一步探讨甘肃和其他疫区苹果蠹蛾的遗传变异、种群遗传结构、入侵来源和入侵路径奠定了基础。

参考文献

- [1] Barnes M M. Codling moth occurrence, host race formation and damage [C]//Van der Gueest L P S, Evenhuis H H. Tortricid pest: Their biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier, 1991: 313-328.
- [2] Willett M J, Neven L, Miller C E. The occurrence of codling moth in low latitude countries: Validation of pest distribution reports [J]. Hort Technology, 2009, 19: 633-637.
- [3] 张学祖. 苹果蠹蛾在我国的新发现 [J]. 昆虫学报, 1957, 7(4): 467-472.
Zhang X Z. The newly discovered of codling moth in China [J]. Acta Entomologica Sinica, 1957, 7(4): 467-472. (in Chinese)
- [4] 万方浩, 郭建英, 张 峰, 等. 中国生物入侵研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2009.
Wan F H, Guo J Y, Zhang F, et al. Chinese biology invasive analysis [M]. Beijing: Science Press, 2009. (in Chinese)
- [5] 秦晓辉, 马德成, 张 煜, 等. 苹果蠹蛾在我国西北发生危害情况 [J]. 植物检疫, 2006, 20(2): 95-96.
Qin X H, Ma D C, Zhang Y, et al. The occurrence and damage of codling moth (*Cydia pomonella*) in northwestern China [J]. Plant Quarantine, 2006, 20(2): 95-96. (in Chinese)
- [6] 赵星民. 北方寒地苹果蠹蛾发生规律及综合防治研究 [J]. 植物检疫, 2011, 25(1): 87-88.
Zhao X M. The occurrence and integrated control of codling moth in north cold area [J]. Plant Quarantine, 2011, 25(1): 87-88. (in Chinese)
- [7] 程家安, 唐振华. 昆虫分子科学 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
Cheng J A, Tang Z H. Insect molecular science [M]. Beijing: Science Press, 2001. (in Chinese)
- [8] Avise J C, Arnold J, Ball R M, et al. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematic [J]. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 1987, 18: 489-522.
- [9] Harrison R G. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology [J]. Trends in Ecology and Evolution, 1989, 4: 6-11.
- [10] 郭晓华, 孙 娜, 张 媛. 线粒体 COI 基因在昆虫分子系统学研究中的应用 [J]. 国际遗传学杂志, 2009, 32(5): 79-81.
Guo X H, Sun N, Zhang Y. Application of mitochondrial COI gene in insect molecular systematics research [J]. International Journal of Genetics, 2009, 32(5): 79-81. (in Chinese)
- [11] Chen M H, Dorn S. Microsatellites reveal genetic differentiation among populations in an insect species with high genetic variability in dispersal, the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) [J]. Bulletin of Entomological Research, 2009, 14: 1-11.
- [12] Loxdale H D, Lushai G. Use of genetic diversity in movement studies of flying insects [C]//Woiwod, Reynolds D R, Thomas C D. Insect movement: Mechanisms and consequences. Royal entomological society 20th international symposium volume. London, UK: Imperial College, 2001: 361-386.
- [13] Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers [J]. Annals of the Entomological Society of America, 1994, 87: 651-701.
- [14] Bues R, Toubon J F, Poitout H S. Variabilité écophysologique et enzymatique de *Cydia pomonella* L. en fonction de l'origine géographique et de la plante hôte [J]. Agronomie, 1995, 15: 221-231.
- [15] Timm A E, Geertsema H, Warnich L. Gene flow among *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) geographic and host populations in South Africa [J]. Journal of Economic Entomology, 2006, 99: 341-348.

[16] Meraner A,Brandstätter A,Thaler R,et al. Molecular phylogeny and population structure of the codling moth (*Cydia pomonella*) in Central Europe: I. Ancient clade splitting revealed by mitochondrial haplotype markers [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution,2008,48:825-837.

[17] Schumacher P,Weyeneth A,Weber D C,et al. Long flights in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: Influence of sex,mated status and age [J]. Physiological Entomology,1997a,22:149-160.

[18] Sauphanor B,Brosse V,Monier C,et al. Differential ovicidal and larvicidal resistance to benzoylureas in the codling moth, *Cydia pomonella* [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata,1998,88:247-253.

[19] Neven L G. Cold hardiness adaptations of codling moth,*Cydia pomonella* [J]. Cryobiology,1999,38:43-50.

[20] Boivin T,Bouvier J C,Chadoeuf J,et al. Constraints on adaptive mutations in the codling moth *Cydia pomonella* (L.): Measuring fitness trade-off and natural selection [J]. Heredity,2003b,90:107-113.

[21] Boivin T,Chabert d'Hieres C,Bouvier J C,et al. Pleiotropy of insecticide resistance in the codling moth, *Cydia pomonella* [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata,2001,99:381-386.

[22] Boivin T,Chadoeuf J,Bouvier J C,et al. Modeling the interactions between phenology and insecticide resistance genes in the codling moth [J]. Pest Management Science,2005,61:53-67.

[23] Keil S,Gu H N,Dorn S. Response of *Cydia pomonella* to selection on mobility:laboratory evaluation and field verification [J]. Ecological Entomology,2001,26:495-501.

[24] Gu H N,Huhges J,Dorn S. Trade-off between mobility and fitness in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera:Tortricidae) [J]. Ecological Entomology,2006,31:68-74.

[25] Reuveny H,Cohen E. Evaluation of mechanisms of azinphos-methyl resistance in the codling moth *Cydia pomonella* (L.) [J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology,2004,57:92-100.

[26] Espinoza J L,Fuentes-Contreras E,Barros W,et al. Utilización de microsatélites para la determinación de la variabilidad genética de la polilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) en Chile central [J]. Agricultura Técnica (Chile),2006,67:244-252.

[27] Fuentes-Contreras E,Espinoza J L,Lavandero B,et al. Population genetic structure of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from apple orchards in Central Chile [J]. Journal of Economic Entomology,2008,101:190-198.

[28] 冯纪年,门秋雷,董 昆. 基于 COI 基因的苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.) 地理种群遗传差异及扩散路径研究 [C]//第三届全国生物入侵大会论文摘要集. 海口:出版者不详,2010:55.

Feng J N,Men Q L,Dong K. Genetic differentiation and expansive route of codling moth *Cydia pomonella* (L.) in geographic population based on COI gene [C]//The Third National Congress on Biological Invasions. Haikou: [s. n.], 2010:55. (in Chinese)

[29] Men Q L,Chen M H,Zhang Y L,et al. Genetic structure and diversity of a newly invasive species,the codling moth,*Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) in China [J]. Biology Invasions,2013,15:447-458.

[30] 施 伟,叶 辉. 云南桔小食蝇五个地理种群的遗传分化研究 [J]. 昆虫学报,2004,47(3):384-388.

Shi W,Ye H. Genetic differentiation in five geographic populations of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera:Tephritidae) in Yunnan province [J]. Acta Entomologica Sinica,2004,47(3):384-388. (in Chinese)

[31] 杨宝山,侯庆君,王 欢,等. 不同地理种群银杏大蚕蛾 COI 基因序列变异与遗传分化 [J]. 昆虫学报,2009,52(4):406-412.

Yang B S,Hou Q J,Wang H,et al. Sequence variability of COI gene and genetic differentiation among the geographic populations of *Caligula japonica* (Lepidoptera: Saturniidae) in China [J]. Acta Entomologica Sinica,2009,52(4):406-412. (in Chinese)

(上接第 84 页)

[15] 王 涛,王占利,李术娜,等. 棉花黄萎病拮抗细菌 DS45-2 菌株在土壤和棉花根内的定殖 [J]. 棉花学报,2010,22(2):169-174.

Wang T,Wang Z L,Li S N,et al. Colonization of antagonistic strain DS45-2 against *Verticillium dahliae* in soil and cotton roots [J]. Cotton Science,2010,22(2):169-174. (in Chinese)

[16] 梁军锋,薛泉宏,牛小磊,等. 7 株放线菌在辣椒根部定殖及对辣椒叶片 PAL 与 PPO 活性的影响 [J]. 西北植物学报,2005,25(10):2118-2123.

Liang J F,Xue Q H,Niu X L,et al. Root colonization and effects of seven strains of actinomycetes on leaf PAL and PPO activities of capsicum [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin,2005,25(10):2118-2123. (in Chinese)