

基于线粒体 CO I 基因的上海地区橘小实蝇种群遗传关系研究

吴广超^{1,2} 李云龙^{2,3} 李志红^{2*} 柳丽君²

(1. 上海市林业病虫害防治检疫站, 上海 200072; 2. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193;
3. 北京市植物保护站, 北京 100029)

摘要 利用线粒体 DNA(mtDNA)序列分析技术, 选用长为 690 bp 的 CO I 基因序列作为目的基因, 通过对福建厦门、海南儋州、四川攀枝花、广东肇庆、云南思茅和上海宝山、嘉定、浦东、青浦、松江在内的共 10 个地理种群的 122 条橘小实蝇线粒体 CO I 基因序列和单倍型网络进化分析, 揭示上海地区橘小实蝇的种群遗传结构和扩散规律。结果表明: 橘小实蝇松江种群主要来自于云南思茅种群, 另一部分来自于广东肇庆种群和上海嘉定种群, 还有一部分来源于较云南思茅种群和海南儋州种群等更为原始的其他种群; 青浦种群主要来源于云南思茅种群, 另一部分来源于福建厦门种群和上海嘉定种群; 宝山种群主要来源于云南思茅种群, 另一部分可能来自于上海松江和广东肇庆; 嘉定种群主要来源于云南思茅种群, 另一部分可能来自于上海宝山; 浦东种群主要来自于云南思茅种群和上海嘉定种群。

关键词 橘小实蝇; 线粒体 DNA; CO I 基因; 种群遗传

中图分类号 S 436.661.29

文章编号 1007-4333(2012)02-0094-08

文献标志码 A

The genetic relation of the population of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in Shanghai District based on mtDNA CO I gene

WU Guang-chao^{1,2}, LI Yun-long^{2,3}, LI Zhi-hong^{2*}, LIU Li-jun²

(1. Forest Pest Management and Quarantine Station of Shanghai, Shanghai 200072, China;

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agriculture University, Beijing 100193, China;

3. Beijing Plant Protection Station, Beijing 100029, China)

Abstract Sequence analysis technology of mitochondrion DNA, a 690 bp CO I gene, was used in this study. By sequencing and the haplotype network evolution of the CO I gene from a total of 10 geographic populations with 122 CO I gene sequences from Xiamen, Danzhou, Panzhihua, Zhaoqing, Simao, and Shanghai Baoshan, Jiading, Pudong, Qingpu, Songjiang, the population genetic structure and expansion trend were analysed. The results showed that *Bactrocera dorsalis* (Hendel) populations of Songjiang mainly was spread from Simao Yunnan, the other some populations from Zhaoqing Guangdong and Jiading Shanghai populations. In addition, some *Bactrocera dorsalis* (Hendel) were from the population which were earlier than those of Simao, Yunnan and Danzhou Hainan. Qingpu population mainly was from Simao, Yunnan populations, some from Xiamen, Fujian, and Jiading, Shanghai populations. Baoshan population of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) was also mainly from Simao, Yunnan populations, others from Songjiang, Shanghai and Zhaoqing Guangdong. Jiading populations of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) were mainly from Simao, Yunnan populations, but another part from Baoshan Shanghai. Pudong population was mainly from Simao, Yunnan and Jiading Shanghai populations.

Key words *Bactrocera dorsalis*; mitochondrial DNA; CO I genes; population genetics

收稿日期: 2011-07-20

基金项目: 辰山植物园项目(11-11464)

第一作者: 吴广超, 硕士研究生, E-mail: shlywgc@163.com

通讯作者: 李志红, 教授, 主要从事植物检疫技术研究, E-mail: lizh@cau.edu.cn

橘小实蝇(*Bactrocera dorsalis* (Hendel)), 又名东方果实蝇, 隶属于双翅目 Diptera, 实蝇科 Tephritidae, 果实蝇属 *Bactrocera*。该虫原产于亚洲热带和亚热带地区^[1], 现已成为东南亚、印度次大陆、夏威夷群岛以及我国部分地区的危险性果蔬害虫^[2]。近年来, 随着上海从国外及其他省市调入水果蔬菜量的增加, 该昆虫在上海地区呈现出快速扩散蔓延之势, 危害程度也逐年加重, 给上海市经济果蔬业的发展带来严重危害, 同时也给上海的国际航运中心建设造成不利影响。因此采用现代技术手段明确上海地区橘小实蝇的传入来源等问题, 对进一步防控该虫在上海地区的传入与扩散具有重要意义。

线粒体 DNA 序列分析 (mtDNA sequence analysis) 技术是目前进行昆虫种群遗传研究中最常用的分子生物学技术之一。mtDNA 中常用的序列分析目的基因主要有 12S RNA、16S RNA、CO I、CO II、ND1、ND6 和 Cytb 基因等, 其中 CO I 基因

已被成功用于我国云南地区的橘小实蝇种群遗传结构的研究^[3-6]。

本研究在 5 个采样点收集上海地区橘小实蝇以及福建、广东、海南、云南和四川地区橘小实蝇成虫样品的基础上, 采用 mtDNA CO I 基因序列分析技术, 研究上海地区橘小实蝇的种群发生动态和种群遗传关系, 从而进一步揭示上海地区橘小实蝇的入侵来源。

1 材料与方法

1.1 样品采集

供试橘小实蝇样本包括福建厦门、海南儋州、四川攀枝花、广东肇庆、云南思茅和上海的宝山、嘉定、浦东、青浦和松江 10 个地理种群在内共计 122 头, 其中 75 条序列来源于本实验室原已测序获得的序列, 47 条序列来自于利用橘小实蝇性诱剂(甲基丁香酚 Methyl Eugenol, ME) 诱集而来的新鲜橘小实蝇样品(表 1 和图 1)。新鲜样品置于无水乙醇中,

表 1 橘小实蝇 10 个地理种群样品的采集信息和单倍型 GenBank 序列号

Table 1 Sample collection and GenBank accession number of mtDNA COI haplotypes in 10 populations of *Bactrocera dorsalis*

采样地点	样品量	序列号	单倍型编号	坐标	海拔/m	年份
四川攀枝花	11	FJ377788-FJ377792	28,45,3,28,46,40,41,3,42,43,	101°42'E	1 500	2005
		GQ220637-GQ220642	44	26°30'N		
福建厦门	15	GQ220668-GQ220682	59,61,63,60,4,57,36,58,55,	118°05'E	6	2005
			60,1,48,61,1,62	24°28'N		
海南儋州	12	FJ377826-FJ377835	29,30,31,32,33,34,35,24,25,	109°29'E	140	2007
		GQ220612-GQ220613	26,27,28	19°30'N		
广东肇庆	12	GQ220683-GQ220694	65,4,64,28,66,58,67,68,69,	112°27'E	10	2005
			32,70,71	23°02'N		
云南思茅	12	FJ377778-FJ377782	8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,	102°44'E	631	2006
		GQ220593-GQ220599	18,19	22°45'N		
上海浦东	6+6*	GQ220623-GQ220628	37,36,36,38,36,36,36,39,36,	121°38'E	3	2008
			1,36,36	31°14'N		
上海宝山	13*	FJ495525-FJ495532	5,6,1,7,1,1,7,1,1,2,1,3,4	121°29'E	0	2008
				31°24'N		
上海嘉定	12*	FJ495533-FJ495541	21,4,4,22,1,23,4,20,4,1,4,1	121°15'E	5	2008
				31°22'N		
上海青浦	14	GQ220643-GQ220649	4,4,47,39,50,51,47,52,47,39,	121°07'E	5	2008
		FJ495542-FJ495543	4,31,48,49	31°08'N		
上海松江	9	待提交	4,4,36,1,56,53,54,55,12	121°13'E	5	2008
				31°01'N		

注: * 为新采集保存的橘小实蝇样品。

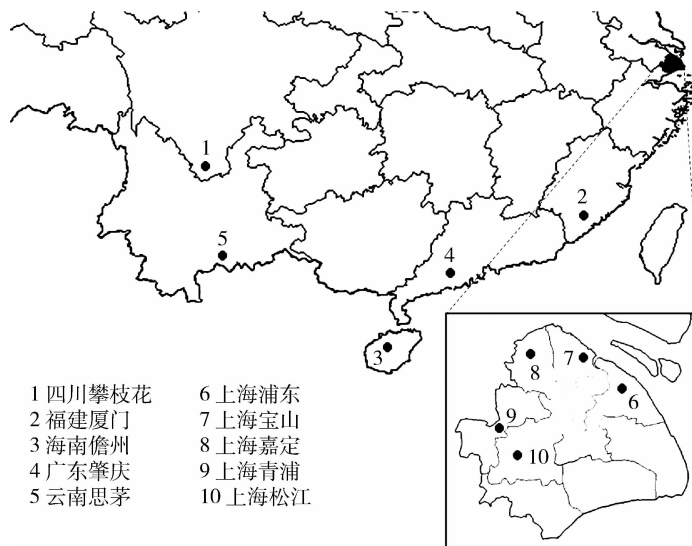


图1 橘小实蝇采样点分布图

Fig. 1 Map showing the collection sites used in this study

-20 °C 保存备用;干标本干燥保存,使用时用 TE (pH 8.0)缓冲液回软待用。

1.2 DNA 提取与测序

采用天根生化科技(北京)有限公司的“血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒”进行橘小实蝇总 DNA 的提取,并采用水平琼脂糖凝胶电泳检测的方法进行 DNA 质量检测。目的片段扩增所用特异引物为“Uea7B. d”(5'-TACAGTAGGAATAGATGTAGATAC-3')和“Uea10B. d”(5'-TCCATTGC-ACTAATCTGCCATATTA-3')[7]。

PCR 扩增体系为 80 μ L,包括灭菌双蒸水 H_2O 57.5 μ L;10 \times Buffer 10 μ L;dNTP(25 mmol/L)4 μ L;20 μ mol/L 引物各 2 μ L,模板 DNA(20~50 ng)3 μ L;Taq Plus DNA 聚合酶(2 U/ μ L)1.5 μ L。扩增条件共 34 个循环,包括 94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 1 min,52.4 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min;最后 72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存备用。PCR 粗产物的纯化和测序,委托北京奥科生物技术有限公司在 ABI-3730 测序仪测序仪上进行,所有序列采用双向测序以保证序列的准确性。

1.3 数据分析

序列的比对和剪切使用 Clustal X (Version 1.83)软件完成;序列特征及单倍型分析、种群遗传分化系数 (F_{ST})、分子方差 (AMOVA) 分析[8] 和

Mantel 检测[9]等利用 Mega version 3.1 软件[10] 和 Arlequin 3.0 软件[8] 完成;单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (π)、平均核苷酸差异数 (k) 及其相应标准偏差 (SD) 等使用 DNASP 4.10.1 软件[11] 进行分析;样品遗传多样性与样品量间的 Pearson 相关系数使用 SPSS version 11.5.0 软件完成;单倍型的统计简约网络 (stasistical parsimony) 使用 TCS version 1.21 软件[12] 进行构建,并根据 Pfenninger 和 Posada[13] 提出的频率判据 (frequency criterion)、拓扑判据 (topological criterion) 和地理判据 (geographic criterion) 进行断环 (break the loops) 以解决在统计简约网络构建过程中出现的分支、关联等问题,在此过程中始终选择最简约的解决方案。

2 结果与分析

2.1 碱基组成分析

在所有样品中最终获得准确一致的长为 618 bp 的线粒体 DNA CO I 基因部分序列 122 条,A+T 的含量明显高于 G+C(A,30.6%;T,35.3%;G,14.2%;C,19.9%)。其线粒体 DNA 的碱基组成类似于其他双翅目昆虫和果实蝇属 (*Bactrocera*) 昆虫[3]。在 618 个碱基中共检测到 76 个多态性位点,占碱基总数的 12.30%,其中包括 45 个单变异多态

性位点和 31 个简约信息位点,在碱基的替换中,55 个位点发生了转换,16 个位点发生了颠换,5 个位点同时发生了转换和颠换,所有多态性位点全部由碱基的替换产生,未发现插入和缺失。

2.2 遗传多样性分析

橘小实蝇各地理种群的核苷酸多样性(π)、平均核苷酸差异数(k)以及单倍型多样性(Hd)参数值见表 2。在本研究中,各橘小实蝇地理种群样本大小与核苷酸多样性、平均核苷酸差异数和单倍型多样性之间的 Pearson correlation 分别为 -0.214、-0.214 和 -0.063,双尾显著性检验 P 值分别为 0.553、0.553 和 0.862,表明各种群间的遗传多样性

差异不是由样品数量差异引起的。供试橘小实蝇样本总体上表现出较高水平的核苷酸多样性(0.008 18)和高水平的单倍型多样性(0.970)。核苷酸多样性最高的种群为上海松江种群(0.010 79),上海地区发生橘小实蝇的时间最晚,而上海松江种群的核苷酸多样性却大于包括云南思茅种群、广东肇庆种群在内的其他所有种群。云南思茅、广东肇庆和海南儋州种群的单倍型多样性均为最大值 1.000,其余种群依次为上海松江、福建厦门、四川攀枝花、上海青浦、上海嘉定、上海宝山和上海浦东种群。与上述核苷酸多样性高低排序相比,上海地区的 5 个种群的单倍型多样性均低于云南、广东和海南地区的

表 2 橘小实蝇 10 个地理种群样本的遗传分化系数 (F_{ST})、基因流 (N_m)及遗传多样性参数

Table 2 Pairwise F_{ST} values, gene flow (N_m), haplotype diversity (Hd), average number of nucleotide differences (k) and nucleotide diversity (P) in 10 populations of *Bactrocera dorsalis*

	四川 攀枝花	福建 厦门	海南 儋州	广东 肇庆	云南 思茅	上海 浦东	上海 宝山	上海 嘉定	上海 青浦	上海 松江
四川攀枝花		3.171	3.031	2.789	0.463	1.126	3.472	8.693	7.084	3.877
福建厦门	0.136*		2.778	93.264	0.931	5.284	9.241	33.158	59.741	32.327
海南儋州	0.142*	0.153*		2.026	0.366	0.714	2.578	11.534	2.864	8.968
广东肇庆	0.152*	-0.005	0.198*		1.150	11.034	8.637	24.010	1428.071	99.102
云南思茅	0.519*	0.349*	0.577*	0.303*		0.808	0.724	1.052	1.130	0.734
上海浦东	0.307*	0.086*	0.412*	0.043	0.382*		2.586	3.471	7.694	2.591
上海宝山	0.126*	0.051	0.162*	0.055	0.408*	0.162*		46.229	14.542	12.397
上海嘉定	0.054	-0.015	0.042	0.020	0.322*	0.126*	0.011		84.960	18.434
上海青浦	0.066*	0.008	0.149*	0	0.307*	0.061	0.033	-0.006		49.600
上海松江	0.114*	-0.016	0.053	0.005	0.405*	0.162*	0.039	-0.028	0.010	
Hp	9	12	12	12	12	5	7	6	9	8
$\pi(0.008\ 18 \pm 0.000\ 33)$	0.005\ 15	0.008\ 72	0.009\ 54	0.008\ 31	0.008\ 26	0.003\ 48	0.005\ 56	0.004\ 93	0.006\ 35	0.010\ 79
K(5.053)	3.182	5.390	5.894	5.136	5.106	2.152	3.436	3.045	3.923	6.667
Hd(0.970 \pm 0.008)	0.964	0.971	1.000	1.000	1.000	0.576	0.795	0.803	0.923	0.972

注:对角线以下为遗传分化系数 F_{ST} ; 对角线以上为基因流 N_m 。* 表示差异达显著性水平。Hp 为单倍型数量。 π (核苷酸多样性)代表序列间每个位点的平均核苷酸差异数; k (平均成对核苷酸差异)为样品中所有序列对间的平均核苷酸差异数;Hd(单倍型多样性)为样品中随机抽取到 2 个不同单倍型的频率。

种群。

122 条序列中共鉴定出 71 种单倍型,其中共享单倍型仅 16 种,其余 55 种均为独享单倍型。独享单倍型的存在表明这些种群之间已经出现了一定程

度的遗传分化。在 16 种共享单倍型中,4 种单倍型为种群内共享(H7 在上海宝山种群内;H47 在上海青浦种群内;H60 和 H61 在福建厦门种群内),12 种单倍型在至少 2 个种群间共享(表 3)。

表3 各种群单倍型数量、频率及在2个以上种群间共享的单倍型

Table 3 The number and frequency of haplotypes in 10 populations, the haplotype shared by at least two populations

种群(代码)	n^*	单倍型编码(频率)	在2个以上种群间共享的单倍型(共享种群)
四川攀枝花(A)	9	3(2), 28(2), 40(1), 41(1), 42(1), 43(1), 44(1), 45(1), 46(1)	H1(上海宝山、上海嘉定、上海浦东、上海松江 和福建厦门)
福建厦门(B)	12	1(2), 4(1), 36(1), 48(1), 55(1), 57(1), 58(1), 59(1), 60(2), 61(2), 62(1), 63(1)	H4(上海宝山、上海嘉定、上海青浦、上海松江、 福建厦门、广东肇庆)
海南儋州(C)	12	24(1), 25(1), 26(1), 27(1), 28(1), 29(1), 30(1), 31(1), 32(1), 33(1), 34(1), 35(1)	H36(上海浦东、上海松江、福建厦门)
广东肇庆(D)	12	4(1), 28(1), 32(1), 58(1), 64(1), 65(1), 66(1), 67(1), 68(1), 69(1), 70(1), 71(1)	H28(海南儋州、四川攀枝花和广东肇庆) H3(上海宝山和四川攀枝花)
云南思茅(E)	12	8(1), 9(1), 10(1), 11(1), 12(1), 13(1), 14(1), 15(1), 16(1), 17(1), 18(1), 19(1)	H39(上海浦东和上海青浦) H12(云南思茅和上海松江)
上海浦东(F)	5	1(1), 36(8), 37(1), 38(1), 39(1),	H31(海南儋州和上海青浦)
上海宝山(G)	7	1(6), 2(1), 3(1), 4(1), 5(1), 6(1), 7(2)	H32(海南儋州和广东肇庆)
上海嘉定(H)	6	1(3), 20(1), 21(1), 22(1), 23(1), 4(5)	H48(上海青浦和福建厦门)
上海青浦(I)	9	4(3), 31(1), 39(2), 47(3), 48(1), 49(1), 50(1), 51(1), 52(1)	H55(上海松江和福建厦门)
上海松江(J)	8	1(1), 12(1), 36(1), 4(2), 53(1), 54(1), 55(1), 56(1),	H58(福建厦门和广东肇庆)

注: * 为单倍体数量。

2.3 种群遗传结构

种群遗传分化系数 F_{ST} (F-statistic) 和基因流 (gene flow) 是反映种群间的遗传分化程度和各种种群间基因交流情况的重要指标^[14]。表2可示, 四川攀枝花种群与除上海嘉定种群之外的所有种群之间都存在着显著的遗传分化; 福建厦门种群与上海5种群间仅与浦东种群存在显著的遗传分化, 与其余4种群的遗传分化不显著; 海南儋州种群与上海嘉定和上海松江种群的遗传分化不显著, 与其余上海3种群之间存在显著的遗传分化; 广东种群与上海的5个种群间均不存在显著的遗传分化; 云南与上海所有种群间的遗传分化都达到显著水平; 上海5个种群间, 仅上海浦东种群与上海宝山、嘉定和松江种群间存在显著的遗传分化, 其余种群间均不存在显著的遗传分化, 基因交流较频繁。

上海5个种群间, 仅上海浦东种群与上海宝山、嘉定、松江种群间的基因流 N_m 值小于4, 其他上海种群间的 N_m 值均为7以上, 各种种群间存在着频繁的基因交流; 所有种群间基因流 N_m 的最大值出现

在上海青浦种群与广东肇庆种群之间 ($N_m = 1\ 428.071$), 广东肇庆种群与其余上海种群之间的基因流值均 ≥ 8.637 ; 除广东肇庆种群外, 福建厦门种群与5个上海种群之间的基因交流也很频繁, 最小值为仍5.284。

依据各种群的地理空间特征, 将10个地理种群共划分为6个群组: 1) 上海浦东、宝山、嘉定、青浦和松江种群; 2) 广东肇庆种群; 3) 厦门福建种群; 4) 四川攀枝花种群; 5) 海南儋州种群; 6) 云南思茅种群) 进行 AMOVA 分析, 发现种群间变异占12.72%, 组内种群间变异占了25.55%, 种群个体间变异占了87.17%, 结果表明引起种群总体变异的主要因素还是种群内的个体间变异。

通过对地理种群 F_{ST} 值(表2)和 Nei 氏遗传距离 (Nei 氏平均核苷酸差异数) 与各种种群间空间距离间(表4)的 Mantel test 结果表明, 2对矩阵之间不存在显著的相关性 ($R_1 = 0.330\ 588$, $P_1 = 0.037\ 000$; $R_2 = 0.286\ 924$, $P_2 = 0.064\ 000$), 即橘小实蝇种群间的遗传分化程度与地理距离没有显著的相关性。

表 4 10 个地理种群间的 Nei 氏遗传距离和地理距离

Table 4 Nei's genetic distances and geographic distances between 10 populations of *B. dorsalis*

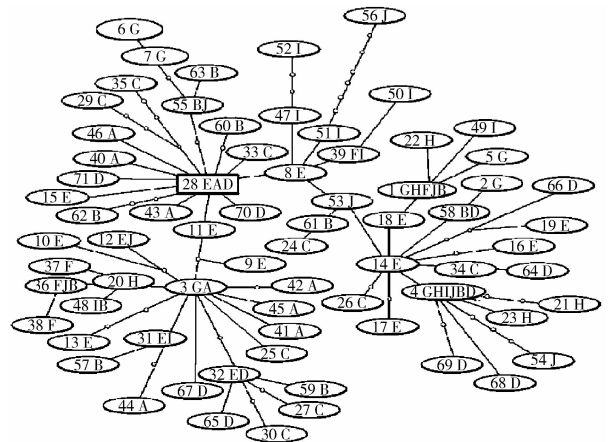
种群	四川攀枝花	福建厦门	海南儋州	广东肇庆	云南思茅	上海浦东	上海宝山	上海嘉定	上海青浦	上海松江
四川攀枝花	1	616.81	1 143.15	1 187.42	427.88	1 959.40	1 998.08	1 975.57	1 955.53	1 965.54
福建厦门	0.669	1	904.53	586.31	1575.47	807.01	836.97	824.64	792.93	787.84
海南儋州	0.542	0.741	1	461.18	787.09	1 636.13	1 782.62	1 764.29	1 733.70	1 043.04
广东肇庆	0.828	-0.030	1.116	1	497.22	1 211.12	1 285.97	1 267.45	1 237.01	1 238.31
云南思茅	3.080	1.971	3.582	1.771	1	2 091.70	2 085.56	1 267.45	2 038.82	2 045.89
上海浦东	1.489	0.408	2.195	0.222	1.647	1	23.34	39.39	53.43	46.40
上海宝山	0.538	0.237	0.694	0.270	2.181	0.710	1	22.53	49.07	49.47
上海嘉定	0.216	-0.111	0.147	0.120	1.883	0.651	-0.004	1	31.67	38.86
上海青浦	0.331	0.047	0.790	-0.002	1.805	0.322	0.167	-0.065	1	49.47
上海松江	0.548	-0.080	0.230	0.028	2.510	0.827	0.175	-0.181	0.056	1

注：对角线以下为遗传距离；对角线以上为地理距离，km。

2.4 单倍型网络分析

本研究中鉴定出的 71 个单倍型形成了 3 个较大的聚类单元，其核心单倍型分别是 H28、H3 和 H14，其中 H28 单倍型被海南儋州、广东肇庆和四川攀枝花 3 个地理种群所共享，是最为原始的中央单倍型，其他单倍型很可能由其衍生而来，而核苷酸多样性较低的四川攀枝花种群也共享该单倍型，说明四川攀枝花种群与海南儋州、广东肇庆种群在近期存在着一定的基因交流。单倍型 H3 被上海宝山和四川攀枝花 2 个种群共享，由其衍生出了包括四川攀枝花、福建厦门、海南儋州、广东肇庆、云南思茅和上海浦东、嘉定等种群在内的第 2 个较大聚类单元。另一聚类单元的核心单倍型为 H14，其由云南思茅种群的一个个体独享，表明该单倍型曾经历过严重的瓶颈效应，导致该单倍型大量丢失。

单倍型 H1 被上海宝山、上海嘉定、上海浦东、上海松江和福建厦门种群的 13 个个体所共享，H4 也被包括上海宝山、上海嘉定、上海青浦、上海松江、福建厦门和广东肇庆种群在内的 13 个个体所共享，但这 2 个单倍型在网络进化图中却并未成为聚类单元中的核心单倍型，其又衍生出其他的单倍型，表明这 2 个单倍型虽不是近期才出现，但也不是较原始的单倍型，2 个单倍型都经历了种群个体数量的快速增长和种群间（特别上海种群间）频繁的个体交流。



空圈代表缺失的中间单倍型

图 2 单倍型最大简约网络进化图

Fig. 2 Network showing the most parsimonious evolutionary relationships among haplotype

3 讨论

3.1 上海松江橘小实蝇种群的来源

本研究中，上海松江种群的核苷酸多样性值为 $\pi=0.01079$ ，高于包括云南思茅、海南儋州和广东肇庆等种群在内的其他所有种群。因此上海松江种群橘小实蝇除了一部分来源于本研究中涉及到的云南思茅种群、海南儋州等较原始种群外，另有一部分橘小实蝇必定来源于较上述云南思茅种群、海南儋州等种群更为原始的种群，这样才有可能导致在本

研究中后发生种群的核苷酸多态性却高于先发生种群现象的出现。

通过对单倍型统计简约网络图中上海松江与其余种群的亲缘关系分析可知,从松江种群鉴定出的8个单倍型中有3个单倍型直接衍生于云南思茅种群(分别是由松江种群共享的单倍型 H1 衍生于 H18, H53 衍生于 H8 和松江种群共享的 H4 衍生于 H14),1个松江种群共享的单倍型 H36 衍生于上海嘉定种群的单倍型 H20,2个单倍型衍生于多次的缺失突变,另有1个松江种群共享的单倍型 H55 衍生于由海南儋州种群、四川攀枝花种群和广东肇庆种群共享的单倍型 H28。表2可示,广东肇庆种群与上海松江种群之间的基因流 N_m 为 99.102,因此 H55 衍生于广东肇庆种群的可能性很大。

因此,上海松江橘小实蝇种群主要来自于云南思茅种群,另有一部分来自于广东肇庆种群和上海嘉定种群,此外,还有一部分橘小实蝇来源于较上述云南思茅种群、海南儋州等种群更为原始的其他种群。

3.2 上海青浦橘小实蝇种群的来源

在本研究5个上海种群中,上海青浦种群的核苷酸多样性值仅低于上海松江种群。通过对单倍型统计简约网络图的分析可知,从上海青浦种群中鉴定出的9个单倍型中有6个单倍型衍生于云南思茅种群(H50、H51、H47、H52 和 H39 衍生于 H8; H4 衍生于 H14),1个单倍型 H49 衍生于由上海4个种群和福建厦门种群共享的单倍型 H1,1个由青浦种群共享的单倍型 H48 衍生于上海嘉定种群的单倍型 H20,另1个单倍型 H31 衍生于上海宝山和四川攀枝花种群共享的 H3。由于未发现由青浦种群单倍型衍生成福建厦门种群单倍型的现象,并且上海青浦种群与福建厦门种群间存在着较频繁的基因流动(59.741),因此单倍型 H49 应该来自于福建厦门种群。虽然在上海青浦种群与广东肇庆种群之间的基因流 N_m 为 1 428.071,为所有种群间最高值,但在网络进化图中未发现从广东肇庆种群向上海青浦种群方向的衍生过程,因此广东种群并不是上海青浦种群的来源地之一。因此,上海青浦种群主要来源于云南思茅种群,还有一部分来源于福建厦门种群和上海嘉定种群。

3.3 上海嘉定、宝山和浦东地区橘小实蝇种群的来源

从上海嘉定种群中共鉴定出6个单倍型,其中有5个单倍型直接或间接衍生于云南思茅种群,其中 H22 和 H1 衍生于云南思茅单倍型 H18、H4、

H23 和 H21 衍生于单倍型 H14。另有1个嘉定单倍型 H20 衍生于上海宝山种群和四川攀枝花种群共享的单倍型 H3,就空间距离而言,来自于上海宝山的可能性较大。因此,上海嘉定种群的橘小实蝇主要来源于云南思茅种群,另有一部分可能来自于上海宝山。

在上海宝山种群鉴定出的7个单倍型中,有4个单倍型直接或间接衍生于云南思茅种群,其中 H5 和 H1 衍生于云南思茅单倍型 H18,由宝山种群共享的 H4 衍生于单倍型 H14;有2个单倍型衍生于由上海松江种群和福建厦门种群共享的单倍型 H55,考虑到宝山种群与松江种群的基因流 N_m (12.397)大于其与福建厦门种群间的基因流 N_m (9.241)以及地理距离因素,这2个单倍型衍生于上海松江种群的可能性较大;单倍型 H2 衍生于由广东肇庆种群和福建厦门种群共享的单倍型 H58,考虑到宝山种群与2种群之间的基因流动情况(N_m 分别为 8.637 和 9.241)以及与两地之间的地理距离,H2 来源于广东肇庆种群的可能性更大。因此,上海宝山种群的橘小实蝇也是主要来源于云南思茅种群,另有一部分可能来自于上海松江和广东肇庆。

在从上海浦东种群鉴定出的5个单倍型中,有3个单倍型(H37、H38 和 H36)衍生于 H20,另外有2个浦东种群共享的单倍型 H39 和 H1 分别衍生于 H8 和 H18。因此,上海浦东地区的橘小实蝇主要来自于云南思茅种群和上海嘉定种群。

3.4 上海地区橘小实蝇的入侵途径及整体来源

上海地区于2001年在上海的虹桥机场附近的监测点首次诱捕到橘小实蝇。在本研究收集到的5个种群样点中,核苷酸多样性大小顺序为上海松江种群(0.010 79) > 上海青浦种群(0.006 35) > 上海宝山种群(0.005 56) > 上海嘉定种群(0.004 93) > 上海浦东种群(0.003 48)。虽然上海松江种群的核苷酸多样性最高,但由于该种群多点传入的原因(有一部分橘小实蝇来源于较上述云南思茅种群、海南儋州等种群更为原始的其他种群),不能简单认为上海松江地区就是上海市橘小实蝇最早的侵入地点。

在本研究中,由各种群间遗传分化系数 F_{ST} 以及基因流 N_m 情况表(表2)中可以看出,广东肇庆种群与上海地区5个种群之间的基因流均较频繁(N_m 值 ≥ 8.637),云南思茅种群与上海地区5个种群之间的基因流值均较低($1.130 \geq N_m \geq 0.724$),但通过对单倍型网络进化图的详细分析,我们发现上

海地区 5 个种群的橘小实蝇实际上主要来自于云南思茅种群, 而不是基因流更高的广东肇庆种群, 究其原因还有待于进一步分析。

参 考 文 献

- [1] 梁广勤, 梁国真, 林明, 等. 实蝇及其防除[M]. 广州: 广东科技出版社, 1993: 9-64
- [2] 张彬, 刘映红, 赵岚岚, 等. 桔小实蝇研究进展[J]. 中国农学通报, 2008(11): 391-397
- [3] Liu J H, Shi W, Ye H. Population genetics analysis of the origin of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel (diptera: tephritidae), in northern Yunnan Province, China[J]. Entomological Science, 2007, 10: 11-19
- [4] 施伟, 叶辉. 云南桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)季节性分布区 4 个地理种群遗传结构[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2477-2482
- [5] 施伟, 叶辉. 云南桔小实蝇五个地理种群的遗传关系研究[J]. 昆虫学报, 2004, 47(3): 384-388
- [6] 施伟, 张智英, 叶辉. 桔小实蝇对寄主水果气味的趋向反应测试[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2003, 25(1): 77-80
- [7] Li Y, Wu Y, Chen H, et al. Population structure and colonization of *bactrocera dorsalis* (diptera: tephritidae) in China, inferred from mtDNA COI sequences[J]. Journal of Applied Entomology, 2011, 3: 1-11
- [8] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3. 0: An integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50
- [9] Legendre P, Legendre L. Numerical Ecology[M]. Amsterdam: Elsevier Science, 1998
- [10] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5: 150-163
- [11] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. Bioinformatics, 2003, 19: 2496-2497
- [12] Clement M, Posada D, Crandall K A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies[J]. Molecular Ecology, 2000, 9: 1657-1659
- [13] Pfenninger M, Posada D. Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (helicellinae, stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact[J]. Evolution, 2002, 56: 1776-1788
- [14] 李明, 饶刚, 魏辅文, 等. 小熊猫种群遗传结构和地理分化[J]. 动物学报, 2002, 48(4): 480-486

责任编辑: 王燕华