

内蒙古沙葱萤叶甲种群遗传多样性的微卫星分析

张鹏飞¹, 周晓榕¹, 庞保平^{1,*}, 常 静¹, 单艳敏², 张卓然²

(1. 内蒙古农业大学草原昆虫研究中心, 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古草原工作站, 呼和浩特 010010)

摘要: 【目的】沙葱萤叶甲 *Galeruca daurica* (Joannis) 是一种近年来在内蒙古草原上猖獗成灾的新害虫, 本研究旨在明确内蒙古沙葱萤叶甲不同地理种群间的遗传分化和基因交流程度。【方法】应用 5 对微卫星引物分析了沙葱萤叶甲 8 个地理种群的遗传多样性、基因流和遗传分化。【结果】5 个位点等位基因数为 10 ~ 18, 有效等位基因数为 9.2796 ~ 16.0388, 多态信息含量值为 0.6760 ~ 0.8985, 期望杂合度为 0.3430 ~ 0.5284, 说明所选 5 个微卫星位点均为高度多态性位点。8 个种群的期望杂合度为 0.2216 ~ 0.3701, 平均值为 0.2680; 种群间遗传分化系数为 0.1244 ~ 0.4116, 平均值为 0.2521; 种群间基因流为 0.3574 ~ 1.7596, 平均值为 0.9622。8 个地理种群根据遗传距离聚为 3 个分支, 遗传距离与地理距离呈显著的正相关关系 ($r = 0.4854$, $P = 0.0180$)。【结论】沙葱萤叶甲种群遗传多样性低, 不同地理种群之间基因流较小, 遗传分化程度高; 沙葱萤叶甲迁移能力弱和地理阻碍可能是限制其基因交流和导致遗传高度分化的主要原因。

关键词: 沙葱萤叶甲; 微卫星标记; 遗传多样性; 遗传分化; 基因流; 内蒙古

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2015)09-1005-07

Microsatellite marker analysis of the genetic diversity of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae) populations from Inner Mongolia

ZHANG Peng-Fei¹, ZHOU Xiao-Rong¹, PANG Bao-Ping^{1,*}, CHANG Jing¹, SHAN Yan-Min², ZHANG Zhuo-Ran² (1. Research Center for Grassland Entomology, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; 2. Inner Mongolia Grassland Station, Hohhot 010010, China)

Abstract: 【Aim】*Galeruca daurica* (Joannis) is a new pest causing damages seriously in Inner Mongolia grasslands in recent years. This study aims to investigate the genetic differentiation and gene flow among different geographic populations of *G. daurica* in Inner Mongolia. 【Methods】By using five microsatellite primer pairs, we analyzed the genetic diversity, gene flow and genetic differentiation among eight populations of *G. daurica*. 【Results】The number of alleles and effective number of alleles per locus ranged from 10 to 18 and 9.2796 to 16.0388, respectively. The polymorphic information content per locus ranged from 0.6760 to 0.8985 and the expected heterozygosity ranged from 0.3430 to 0.5284, demonstrating the high degree of polymorphism. Moreover, the expected heterozygosity of the eight populations ranged from 0.2216 to 0.3701, with the average of 0.2680. The genetic differentiation index (F_{ST}) ranged from 0.1244 to 0.4116, with the average of 0.2521, and the gene flow (Nm) ranged from 0.3574 to 1.7596, with the average of 0.9622. Eight populations were clustered into three groups according to their genetic distances, and the genetic distance between populations showed a highly significant correlation with the geographical distance ($r = 0.4854$, $P = 0.0180$). 【Conclusion】The *G. daurica* populations are characterized by low genetic diversity. The gene exchange seldom exists and high genetic differentiation occurs between different geographic populations. The lower migration ability of this leaf beetle and geographic obstacles might be the main reason for the low gene flow and high genetic differentiation.

Key words: *Galeruca daurica*; microsatellite marker; genetic diversity; genetic differentiation; gene flow; Inner Mongolia

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360441)

作者简介: 张鹏飞, 男, 1990 年 5 月生, 内蒙古二连浩特人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生态学, E-mail: 296308147@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pangbp@imau.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-01-29; 接受日期 Accepted: 2015-06-24

沙葱萤叶甲 *Galeruca daurica* (Joannis) 是一种近年来在内蒙古草原上猖獗成灾的新害虫,从 2009 年开始在内蒙古草原上突然大面积暴发成灾,呈现逐年加重的趋势。发生范围从 2009 年锡林郭勒盟的镶黄旗、锡林浩特市、苏尼特左旗和阿巴嘎旗等 4 个旗县,2014 年已迅速扩大到锡林郭勒盟、呼伦贝尔市、乌兰察布市、巴彦淖尔市、鄂尔多斯市和阿拉善盟的 16 个旗县。沙葱萤叶甲食性窄,仅取食沙葱 *Allium mongolium*、多根葱 *A. polyrhizum* 和野韭 *A. ramosum* 等百合科葱属植物,主要以幼虫为害,严重时将牧草地上部分啃食一光(昊翔等, 2014)。据历史记载,该虫在国外主要分布在蒙古国、俄罗斯(西伯利亚)、朝鲜和韩国,在我国内蒙古、新疆和甘肃曾有记录(杨星科等, 2010)。然而,目前有关沙葱萤叶甲的研究很少,且仅仅针对该虫的生物学和生态学进行了研究,例如,马崇勇等(2012)对该虫在呼伦贝尔市的发生为害及生活史进行了初步调查,李浩等(2014)和昊翔等(2014)分别对其抗寒性和寄主植物对其生长发育及取食进行了研究。

国内外并没有沙葱萤叶甲遗传学方面的报道,而遗传多样性是生物进化和适应的基础,种内遗传多样性越丰富,物种对环境变化的适应能力也越强。微卫星标记作为一种分子标记,因其具有高度多态性、广泛而又随机的分布在整个基因组中并且是共

显性遗传等优点,目前已成为群体遗传学分析、物种和种群遗传多样性研究中最普遍、最有效的工具之一(Balloux and Lugon-Moulin, 2002)。通过分析微卫星多态位点的比率及杂合度可以了解昆虫种群的遗传多样性,从而进一步分析昆虫的种群遗传结构(刘佳妮等, 2008)。本文应用微卫星标记技术,通过分析内蒙古不同地区沙葱萤叶甲种群的遗传多样性、遗传分化、遗传结构及基因交流程度,以期揭示近年来内蒙古草原沙葱萤叶甲发生范围不断扩大的虫源问题,以便制定合理的监测预警和综合治理方案,有效地控制该虫的发生为害。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2014 年 4–5 月赴内蒙古草原沙葱萤叶甲主要发生区采集幼虫,为尽可能避免采集到同一个体的后代,在每个采集地点选取间隔约 1 km 的 5 个点,每个点再选取相距约 40~50 m 取样点 4 个,从每个取样点的葱属植物上采集沙葱萤叶甲幼虫 3~4 头,放于不同的塑料罐中。带回实验室后,冲洗晾干后,用无水乙醇浸泡,–80℃ 保存。进行微卫星分析时,每个地理种群的 20 头沙葱萤叶甲幼虫均来自不同的取样点。样本采集信息见表 1。

表 1 内蒙古沙葱萤叶甲不同地理种群样品的采集信息

Table 1 Sampling information of different geographic populations of *Galeruca daurica* in Inner Mongolia

种群代码 Population code	采集地点 Collecting location	地理坐标 Geo-coordinates	海拔 (m) Altitude	采集日期 Collecting date
XQ	新巴尔虎右旗 New Barag Right Banner	48°15'16"N, 117°17'20"E	552	2014-5-9
XS	锡林浩特市 Xilinhot City	43°54'53.07"N, 115°39'13.19"E	1 069	2014-5-19
AQ	阿巴嘎旗 Abag Banner	44°13'10.07"N, 114°4'0.05"E	1 001	2014-4-15
SY	苏尼特右旗 Sonid Right Banner	42°17'10.4"N, 113°31'23.51"E	1 267	2014-4-28
SQ	四子王旗 Siziwang Banner	42°15'29.54"N, 111°29'36.44"E	1 303	2014-5-25
HJ	杭锦旗 Hanggin Banner	39°52'18"N, 108°28'56"E	1 293	2014-5-21
EQ	鄂托克旗 Otog Banner	39°14'10"N, 107°39'38"E	1 272	2014-5-21
HQ	镶黄旗 Xianghuang Banner	42°24'36"N, 113°49'58"E	1 193	2014-5-28

1.2 基因组 DNA 的提取

取单头沙葱萤叶甲幼虫用液氮研磨后,移入 1.5 mL 离心管中,使用天根 dp304 动物基因组 DNA 提取试剂盒,对单头沙葱萤叶甲样本提取基因组 DNA,提取的 DNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,–20℃ 保存备用。

1.3 微卫星引物

本研究选用来自文献(Patt *et al.*, 2004; Verbaarschot *et al.*, 2007; Waits and Stolz, 2008;

Harman *et al.*, 2009) 的 41 对微卫星引物序列,由华大基因合成。从中筛选出条带清晰、多态性高的 5 对微卫星引物,引物信息见表 2。

1.4 PCR 扩增反应体系和反应条件及产物检测

PCR 反应体系为 20 μL: DNA 模板 1 μL, 10 × PCR Buffer (Mg²⁺ free) 2.0 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 1.2 μL, dNTPs Mixture (各 2.5 mmol / L) 1.6 μL, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 0.8 μL, TaKaRa Taq 聚合酶 (5 U/μL) 0.2 μL (大连宝生物工程有限公司),

超纯水补足至 20 μL。伸 8 min,4℃ 保存。

反应程序 (BIO-RAD PCR 仪): 94℃ 预变性 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶分离等位基因,恒功率 5 min; 94℃ 变性 45 s,48 ~ 55℃ 退火 45 s(每个循环 70 W,电泳 1 h,经 AgNO₃ 染色,NaOH 显影,晾干后增加 0.2℃), 72℃ 延伸 45 s,共 35 个循环; 72℃ 延拍照保存。

表 2 微卫星引物序列及其退火温度

Table 2 Microsatellite primer sequences and annealing temperatures

位点 Locus	引物序列(5′-3′) Primer sequence	重复单元 Repeat motif	退火温度(℃) Annealing temperature	序列号 GenBank accession no.	参考文献 References
Mv-MS11	F: AAGATTTTAAAGCGATGATA R: CCGATTAACATTACTTCCAG	(TG) ₁₁	48-55	AY575862	Patt <i>et al.</i> , 2004
Ls-A121	F: AACAAAGTGTATGCCAATGTC R: GGCAAATGGAGTAATTTC	(TG) ₁₉	48-55	EU854473	Harman <i>et al.</i> , 2009
DbA08	F: CTTCTTCCGATGCTTCTTC R: CGAGTATGTGCCGAGTTC	(TACA) ₇	48-55	EF524283	Waits and Stolz, 2008
Dviz12	F: CCTATGTCCAGCAGTAGACC R: AAACCTCCCGAGTAACCTATT	(GGA) ₅ (TGA) ₁₃	48-55	EF524287	Waits and Stolz, 2008
Dviz13	F: CCGTTAGGAGTGTGGATG R: CCGTTATCGGAGTTCTA	(ATG) ₈	48-55	EF524288	Waits and Stolz, 2008

1.5 数据分析

根据分子量大小对扩增条带进行统计,从大到小依次记为 A, B, C, …,等。采用群体遗传学分析软件 PopGene32 (version 1. 31) (Yeh *et al.*, 1999) 对全部位点及全部地理种群和个体进行遗传参数分析,分别计算等位基因数 (*Na*)、有效等位基因数 (*Ne*)、观察杂合度 (*Ho*)、期望杂合度 (*He*)、Shannon 信息指数 (*I*)、多态信息含量 (*PIC*)、*F*-statistics 统计 (*F_{IS}*, *F_{IT}*, *F_{ST}*)、基因流 (*Nm*)、各地理种群间的遗传相似性系数 (*I*)、遗传距离 (*D*)。

利用 MEGA4.0 (Tamura *et al.*, 2007) 软件,基于 Nei 氏无偏遗传距离运用 UPGMA 聚类法构建系统发生树,应用 TFPGA (Miller, 1997) 软件进行遗传距离与地理距离的相关性分析。

2 结果

2.1 沙葱萤叶甲在 5 个微卫星位点的遗传多样性

从表 3 可知, 5 个位点的等位基因数在 10 ~ 18

之间,有效等位基因数在 9. 2796 ~ 16. 0388 之间, Shannon 信息指数为 3. 0967 ~ 5. 6086,在 Mv-MS11 位点上的基因多样性最丰富,在 DbA08 位点上的基因多样性最低,多态信息含量为 0. 6760 ~ 0. 8985,但均大于 0. 5,说明本研究所选用的 5 个微卫星位点均为高度多态性位点。观察杂合度在 0. 2789 ~ 0. 4567 之间,平均值为 0. 3556;期望杂合度 0. 3430 ~ 0. 5284 之间,平均值为 0. 4303。5 个位点的期望杂合度均大于观察杂合度,说明种群以纯合子为主,杂合子较缺失。

8 个沙葱萤叶甲种群的遗传多样性指数见表 4。8 个种群扩增出的等位基因数为 54 ~ 62,四子王旗种群最少,苏尼特右旗种群最多;有效等位基因数为 47. 5532 ~ 55. 7141,四子王旗种群最少,苏尼特右旗种群最多。观察杂合度为 0. 2832 ~ 0. 4111,平均值为 0. 3395;期望杂合度为 0. 2216 ~ 0. 3701,平均值为 0. 2680。平均期望杂合度较低 (< 0. 3),说明沙葱萤叶甲种群内遗传多样性较低。

表 3 沙葱萤叶甲在 5 个微卫星位点的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity at five microsatellite loci of *Galeruca daurica*

位点 Locus	等位基因数 Number of alleles <i>Na</i>	有效等位基因数 Effective number of alleles <i>Ne</i>	Shannon 信息指数 Shannon ' s information index <i>I</i>	观察杂合度 Observed heterozygosity <i>Ho</i>	期望杂合度 Expected heterozygosity <i>He</i>	多态信息含量 Polymorphism information content <i>PIC</i>
Dviz13	10	9. 2796	3. 2276	0. 4567	0. 5284	0. 7760
DbA08	11	9. 9034	3. 0967	0. 3253	0. 3616	0. 7607
Dviz12	12	11. 5375	4. 0304	0. 3078	0. 4834	0. 8985
Ls-A121	13	11. 0438	3. 5201	0. 2785	0. 3430	0. 6834
Mv-MS11	18	16. 0388	5. 6086	0. 4096	0. 4353	0. 6760
平均值 Mean	12. 8	11. 5606	3. 8967	0. 3556	0. 4303	0. 7589

表 4 沙葱萤叶甲 8 个地理种群的遗传变异统计

Table 4 Genetic variation statistics in eight geographic populations of <i>Galeruca daurica</i>				
种群代码 Population code	等位基因数 Number of alleles <i>N_a</i>	有效等位基因数 Number of effective alleles <i>N_e</i>	观察杂合度 Observed heterozygoty <i>H_o</i>	期望杂合度 Expected heterozygoty <i>H_e</i>
AQ	61	53.5464 ± 0.0509	0.3388 ± 0.0435	0.2695 ± 0.0274
SY	62	55.7141 ± 0.0487	0.4111 ± 0.0425	0.2999 ± 0.0258
EQ	60	52.3183 ± 0.0489	0.2832 ± 0.0424	0.3701 ± 0.0242
HQ	55	48.6961 ± 0.0514	0.2965 ± 0.0435	0.2423 ± 0.0289
HJ	59	50.5761 ± 0.0521	0.3332 ± 0.0449	0.2216 ± 0.0281
SQ	54	47.5532 ± 0.0583	0.2959 ± 0.0475	0.2576 ± 0.0311
XS	58	53.6490 ± 0.0558	0.3812 ± 0.0490	0.2539 ± 0.0299
XQ	57	49.5729 ± 0.0483	0.3762 ± 0.0406	0.2293 ± 0.0268
平均值 Mean	58.25	51.4533 ± 0.1465	0.3395 ± 0.1251	0.2680 ± 0.0786

表中数据为平均值 ± 标准误。Data in the table are means ± SE.

2.2 沙葱萤叶甲种群间的遗传分化

沙葱萤叶甲 5 个微卫星位点的 *F*-statistics 分析表明(表 5),种群间遗传分化系数(*F_{ST}*)均值为 0.2521 > 0.15,说明种群间遗传分化程度高。种群基因流平均值为 0.9622 < 1,说明种群间整体上基因交流较少。

为了进一步比较不同种群之间遗传分化的程度,在表 6 中列出了 8 个种群间的遗传距离和遗传相似度。遗传距离和遗传相似度反应了不同地理种群间亲缘关系的远近,两个种群间亲缘关系越近,遗传距离越小,遗传相似度越大,反之亦然。沙葱萤叶甲不同种群间的遗传距离在 0.0744 ~ 0.2551 之间,杭锦旗和鄂托克旗种群间遗传距离最小(0.0744),杭锦旗和新巴尔虎右旗种群间遗传距离最大(0.2551)。

遗传相似度在 0.7726 ~ 0.9255 之间,杭锦旗和新巴尔虎右旗种群间遗传相似度最小(0.7726),杭锦旗和鄂托克旗种群间遗传相似度最大(0.9255)。

表 5 沙葱萤叶甲在 5 个微卫星位点的 *F*-statistics 统计分析结果以及基因流

Table 5 Results of <i>F</i> -statistics analysis and gene flow at five microsatellite loci of <i>Galeruca daurica</i>				
位点 Locus	群体内近交系数 <i>F_{IS}</i>	群体总近交系数 <i>F_{IT}</i>	群体间分化系数 <i>F_{ST}</i>	基因流 Gene flow <i>N_m</i>
Dviz13	0.1907	0.2832	0.1689	1.2302
Dbao8	-0.4096	0.1440	0.3582	0.4479
Dviz12	0.1007	0.4894	0.4116	0.3574
Ls-A121	0.1534	0.2243	0.1244	1.7596
Mv-MS11	-0.0257	0.1229	0.1975	1.0158
平均值 Mean	0.0019	0.2528	0.2521	0.9622

表 6 沙葱萤叶甲不同地理种群间的遗传距离和遗传相似系数

Table 6 Genetic distance and genetic similarity index between geographical populations of <i>Galeruca daurica</i>								
种群 Population	XQ	HQ	SQ	SY	AQ	HJ	XS	EQ
XQ	-	0.9155	0.8659	0.8845	0.8731	0.7726	0.8084	0.8363
HQ	0.0883	-	0.8874	0.9023	0.9108	0.7767	0.8725	0.8018
SQ	0.1440	0.1195	-	0.8883	0.8811	0.8012	0.8455	0.8096
SY	0.1228	0.1028	0.1184	-	0.8606	0.8259	0.8736	0.8315
AQ	0.1357	0.0934	0.1266	0.1501	-	0.8376	0.8545	0.8312
HJ	0.2551	0.2527	0.2217	0.1913	0.1772	-	0.8457	0.9255
XS	0.2127	0.1364	0.1678	0.1352	0.1573	0.1676	-	0.8362
EQ	0.1788	0.2209	0.2112	0.1845	0.1849	0.0774	0.1789	-

对角线上方为遗传相似度系数,对角线下方为遗传距离。Genetic similarity index is above the diagonal, while the genetic distance is below the diagonal.

2.3 沙葱萤叶甲种群的聚类分析

应用 PopGene 软件计算出 Nei 氏无偏遗传距离,再应用 MEGA 软件对沙葱萤叶甲的 8 个种群进行聚类分析(UPGMA 法),8 个不同地点的沙葱萤叶甲种群分为 3 支(图 1):镶黄旗、苏尼特右旗、四子

王旗、阿巴嘎旗和锡林浩特种群遗传距离较近,聚为一个分支;杭锦旗种群与鄂托克旗种群聚为一支;新巴尔虎右旗种群与其他种群遗传距离均较远,单独成为一支。

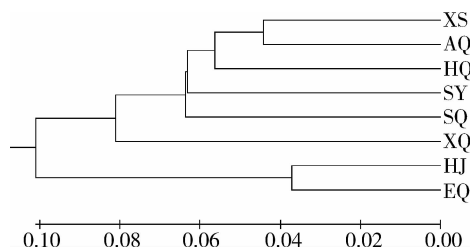


图1 内蒙古沙葱萤叶甲8个地理种群的聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram for eight geographic populations of *Galeruca daurica* in Inner Mongolia

2.4 遗传距离与地理距离间的相关性分析

如图2所示,应用TFPGA软件分析不同地理种群的遗传距离和地理距离的关系,得出回归方程为 $y = 3\,214.7x - 17.361$, 相关系数 $r = 0.4854$ ($P = 0.0180 < 0.05$)。由此可见,沙葱萤叶甲不同地理种群间的遗传距离与其地理距离呈显著正相关关系。

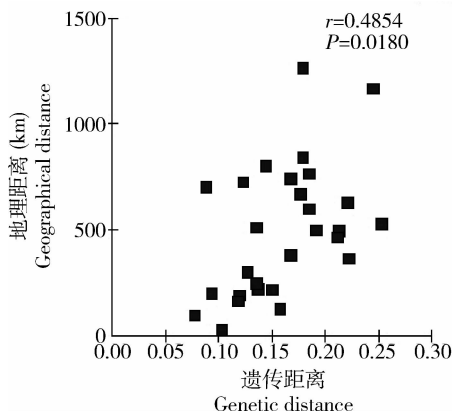


图2 沙葱萤叶甲8个种群间遗传距离与地理距离的回归分析

Fig. 2 Regression analysis between genetic distance and geographical distance among eight populations of *Galeruca daurica*

3 讨论

选择高度多态性的位点是应用微卫星标记分析遗传多样性的前提。多态信息含量(PIC)是衡量遗传多样性的指标,当 $PIC > 0.5$ 时,该位点为高度多态性位点;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,该位点为中度多态性位点;当 $PIC < 0.25$ 时,该位点为低度多态性位点(Vanhala *et al.*, 1998)。本研究中的5个微卫星位点的PIC值在0.6760~0.8985之间,都显著大于0.5,说明本研究的5个位点均为高度多态性位点,能够为遗传多样性分析提供充足的信息。

遗传多样性一般是指种内的遗传差异水平,一定程度上反映了一个物种适应环境的能力及被改造和利用的潜力。平均期望杂合度又称群体基因多样性,它受样本取样的影响较小,故常用来度量群体的遗传多样性(Frankham *et al.*, 2002)。Takezaki 和 Nei(1996)提出微卫星计算出的期望杂合度在0.3~0.8之间,则可说明群体遗传多样性较高。本研究中沙葱萤叶甲8个地理种群的平均期望杂合度为0.2680,只有鄂托克旗种群 > 0.3 (0.3701),说明沙葱萤叶甲种群遗传多样性较低。这可能与沙葱萤叶甲食性窄,只分布于有葱属植物的荒漠草原和退化草原,环境条件较为单一有关;同时,由于该虫近几年才开始大面积暴发,受杀虫剂的胁迫程度也较低,变异较少。

种群内近交系数(F_{IS})表示亚种群中个体间由于非随机交配而导致的亚种群内杂合度的缺失状况,总近交系数(F_{IT})则反应总群体中杂合度的缺失程度;两者的值均在-1~1之间,大于0表示杂合子缺失,小于0表示杂合子过剩(Weir and Cockerham, 1984)。本研究中 F_{IS} 的均值为0.0019, F_{IT} 的均值为0.2528,说明各种群以纯合子为主,杂合子缺失。在其他昆虫遗传多样性的研究中也这一现象(万宣伍等, 2010; 孙洁茹等, 2011; 韩海斌等, 2013; 师沛琼等, 2014)。杂合子的缺失可能是由于种群中存在大量的姐妹样本(sibling samples)、遗传漂变、华伦得效应(Wahlund effect)、自然选择、微卫星分析的无效等位基因(null alleles)及种群间缺乏交流,长期近交(inbreeding)等原因造成。本文采取的取样方法减少了姐妹样本产生华伦得效应,沙葱萤叶甲在采样地的暴发也减少了遗传漂变的影响,各位点的有效等位基因较高,种群间遗传分化程度大,基因交流水平小。因此,种群内长期近交可能是造成杂合子缺失的主要原因。

基因的相互交流会增加种群内的遗传变异,从而减少种群间的分化(Whitlock and McCauley, 1999)。因此,基因流的存在是影响种群间遗传分化的重要因素之一。本研究中各位点的基因流均值为 $0.9622 < 1$,说明总体上沙葱萤叶甲基因交流很少,这很可能是下列因素造成的:(1)沙葱萤叶甲幼虫和成虫活动能力差,主要靠爬行迁移,不能进行长距离迁移;(2)沙葱萤叶甲以卵在牛粪、石块及干草丛根部下等隐蔽处越冬,人为因素造成长距离迁移的可能性较小;(3)寄主分布可直接影响专食性昆虫的分布(Mendelson and Shaw, 2005)。沙葱萤叶

甲食性窄,只取食葱属植物,而葱属植物在内蒙古草原并不是连续分布的,主要分布于荒漠草原和退化草原。

聚类分析表明,内蒙古 8 个不同地区沙葱萤叶甲种群可以聚为 3 个分支。杭锦旗和鄂托克旗位于内蒙古西部,2 个采集地区相距最近(99 km),植被等环境条件相同,首先聚为一个分支。四子王旗、镶黄旗、苏尼特右旗、阿巴嘎旗和锡林浩特等地区位于内蒙古中部,5 个采集地区之间相距 30~300 km,均为荒漠草原,植被等环境条件相近,且没有高山阻隔,因而聚为一个分支。上述 2 个分支被阴山山脉分隔,最近距离为 366 km。新巴尔虎右旗位于内蒙古东北部,离最近的锡林浩特采集地点相距约 500 km,期间有草甸草原、典型草原和高山相隔,因此单独为一个分支。沙葱萤叶甲不同种群间的遗传距离与地理距离呈显著的正相关关系,说明地理隔离是造成其不同种群间遗传分化的主要环境因素。沙葱萤叶甲在内蒙古不同地区间种群分化程度很高,由此可以推断,沙葱萤叶甲近年来在内蒙古草原不同地区大规模暴发很可能是其当地种群数量长期积累、加之环境条件有利其种群增长的结果,而不是由外地传入。

参考文献 (References)

- Balloux F, Lugon-Moulin N, 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11: 155–165.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA, 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, New York.
- Han HB, Zhou XR, Pang BP, Zhang MZ, Li HP, 2013. Microsatellite marker analysis of the genetic diversity of *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Acrididae) populations in Inner Mongolia, northern China. *Acta Entomologica Sinica*, 56(1): 79–87. [韩海斌, 周晓榕, 庞保平, 张敏哲, 李海平, 2013. 内蒙古亚洲小车蝗种群遗传多样性的微卫星分析. 昆虫学报, 56(1): 79–87]
- Hao X, Zhou XR, Pang BP, Zhang ZR, Ma CY, 2014. Effects of host plants on feeding amount, growth and development of *Galeruca daurica* Joannis larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Agrestia Sinica*, 22(4): 854–858. [昊翔, 周晓榕, 庞保平, 张卓然, 马崇勇, 2014. 寄主植物对沙葱萤叶甲幼虫生长发育及取食的影响. 草地学报, 22(4): 854–858]
- Harman HM, Welr BS, Wells SJ, Howitt RLJ, 2009. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Lochmaea suturalis*, the heather beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), a pest in Europe and a biocontrol agent in New Zealand. *Molecular Ecology Resources*, 9: 594–596.
- Li H, Zhou XR, Pang BP, Chang J, 2014. Supercooling capacity and cold hardiness of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(2): 212–217. [李浩, 周晓榕, 庞保平, 常静, 2014. 沙葱萤叶甲的过冷却能力与抗寒性. 昆虫学报, 57(2): 212–217]
- Liu JN, Gui FR, Li ZY, 2008. Applications of SSR molecular markers to studies on insect invasion. *Plant Protection*, 34(3): 7–11. [刘佳妮, 桂富荣, 李正跃, 2008. SSR 分子标记技术在入侵昆虫学研究中的应用. 植物保护, 34(3): 7–11]
- Ma CY, Wei J, Li HS, Cao Y, 2012. Preliminary studies on leaf beetle, *Galeruca daurica* on grassland. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(3): 766–769. [马崇勇, 伟军, 李海山, 草原, 2012. 草原新害虫沙葱萤叶甲的初步研究. 应用昆虫学报, 49(3): 766–769]
- Mendelson TC, Shaw KL, 2005. Use of AFLP markers in surveys of arthropod diversity. *Methods in Enzymology*, 395: 161–177.
- Miller MP, 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA), Version 1.3: a Windows Program for the Analysis of Allozyme and Molecular Population Genetic Data. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ, USA.
- Patt A, Misof B, Wagner T, Naumann CM, 2004. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Monolepta vincta* Gerstaecker, 1871 (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). *Molecular Ecology Notes*, 4: 572–574.
- Shi PQ, Yang MF, Lü ZY, Li SW, Liao QR, Shang SH, Xu J, Wu YB, 2014. Genetic diversity of *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) in Guizhou Province. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(9): 1836–1846. [师沛琼, 杨茂发, 吕召云, 李尚伟, 廖启荣, 商胜华, 徐进, 吴怡蓓, 2014. 贵州省烟青虫遗传多样性. 中国农业科学, 47(9): 1836–1846]
- Sun JR, Li Y, Yan S, Zhang QW, Xu HL, 2011. Microsatellite marker analysis of genetic diversity of *Cacopsylla chinensis* (Yang et Li) (Hemiptera: Psyllidae) populations in China. *Acta Entomologica Sinica*, 54(7): 820–827. [孙洁茹, 李燕, 闫硕, 张青文, 徐环李, 2011. 微卫星标记分析中国梨木虱种群的遗传多样性. 昆虫学报, 54(7): 820–827]
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4. 0. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 1596–1599.
- Takezaki N, Nei M, 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144: 389–399.
- Waits ER, Stolz U, 2008. Polymorphic microsatellite loci from northern and Mexican corn rootworms (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae) and cross-amplification with other *Diabrotica* spp. *Molecular Ecology Resources*, 8: 707–709.
- Wan XW, Liu YH, Zhang B, Zhou HD, 2010. Genetic differentiation among populations of the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Chongqing based on microsatellite markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 43(13): 2688–2696. [万宣伍, 刘映红, 张彬, 周浩东, 2010. 基于微卫星分子标记的重庆地区桔小实蝇遗传分化研究. 中国农业科学, 43(13): 2688–2696]
- Whitlock MC, McCauley DE, 1999. Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \neq 1/(4Nm + 1)$. *Heredity*, 82: 117–125.

Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimation F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358 – 1370.

Vanhala T, Tuiskula-Haavisto M, Elo K, Vilkki J, Maki-Tanila A, 1998. Evaluation of genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. *Poultry Science*, 77: 783 – 790.

Verbaarschot P, Calvo D, Esselink GD, Molina JM, Vrieling K, de Jong PW, 2007. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the flea beetle *Phyllotreta nemorum* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Molecular Ecology Notes*, 7: 60 – 62.

Yang XK, Huang DC, Ge SQ, Bai M, Zhang RZ, 2010. One million mu of meadow in Inner Mongolia suffer from the harm of breaking out of *Galeruca daurica* (Joannis). *Chinese Bulletin of Entomology*, 47 (4): 812. [杨星科, 黄顶成, 葛斯琴, 白明, 张润志, 2010. 内蒙古百万亩草场遭受沙葱萤叶甲暴发危害. 昆虫知识, 47(4): 812]

Yeh FC, Yang RC, Boyle T, 1999. Popgene Version 1.31 Quick User Guide. University of Alberta, and Centre for International Forestry Research, Canada.

(责任编辑：袁德成)