飞蝗(*Locusta migratoria*)地理种群在中国的遗传分化*

张民照 康 乐**

(农业害虫鼠害综合治理研究国家重点实验室 中国科学院动物研究所, 北京 100080)

摘要 随机扩增多态 DNA(RAPD)的方法被用于研究中国飞蝗 11 个地理种群的遗传分化、种群间相互关系以及空间隔离在种群分化中的作用. AMOVA 对所有种群变异分析说明包含在种群内的变异(79.55%)显著高于种群间的(20.45%), 种群间分化程度显著; 所有种群划分成四个大的地区组, 组内的变异占总变异的 82.99%, 显著高于包含在组间的(17.01%), 地区间的种群分化显著. 对四个组进行两两比较, 保留在组内的变异都极显著高于组间的变异, 说明这些组间的种群分化显著. 其中, 组间种群差异最大的是海南和西藏种群, 变异约是组内种群间的 7 倍; 差异最小的是海南与新疆和内蒙古地区, 组间仅是组内种群间的 0.5 倍. 用遗传距离和空间距离进行 Mantel 测验发现它们存在极显著的相关性($P<0.01$), 说明地理隔离在飞蝗地理种群分化的过程中起重要的作用, 飞蝗地理种群的分化与地理隔离关系密切. 飞蝗种群聚类分成由黄淮平原、新疆和内蒙古、西藏和海南种群组成的四大分支. 主成分分析发现 11 个种群明显聚集成 4 簇: 黄淮平原种群、新疆和内蒙古种群、海南种群和西藏种群. 所有个体聚类则分成 5 个分支: 黄淮平原种群、海南种群、新疆和内蒙古种群、新疆哈密种群和西藏种群. 飞蝗在中国东部呈明显的连续和梯度变异特点, 进一步划分亚种既不实际也无必要. 对中国主要飞蝗地理种群的亚种地位进行了讨论.

关键词 飞蝗 ***Locusta migratoria*** 地理种群 遗传分化 **RAPD**

飞蝗(*Locusta migratoria* L.)广泛分布在东半球, 长期以来一直被认为是最重要的农业害虫和模式昆虫. 飞蝗的分布区包括热带、亚热带、温带和寒温带. 由于其广泛的地理分布和适应性, 许多地理种群在形态、生活史、生理学等方面产生了明显的分化[1~5]. 基于形态测量学的方法, 有 10 个飞蝗地理宗被给予

2004-11-23 收稿, 2005-03-23 收修改稿
* 国家自然科学基金重点资助项目(批准号: 39430030)
** 联系人, E-mail: lkang@ioz.ac.cn

了亚种的地位[6]，其中有的亚种地位仍存在争议[1,2,4]，有些地区的地理种群亚种地位尚待确定[2]．有学者建议全世界的飞蝗只划分为热带和非热带两类即可[2]．

北半球的沙漠成为飞蝗地理种群基因交流的天然屏障，单化性和多化性的飞蝗可以较容易分为两大类，即产生滞育卵和非滞育卵的类群[2]，但是在中国的东部这种隔离不明显，单化性和多化性的飞蝗是连续分布的[3,4]，这种以卵是否滞育来划分亚种的依据也是不充分的．事实上，在日本滞育卵的比例从南到北逐渐增加[5]，新疆哈密的地理种群一年也可发生二代[7]，因此有研究建议热带和南半球的飞蝗(非滞育的)可认为是非洲飞蝗(*L. m. migratorioides*)亚种[2]．微卫星标记技术的研究有类似的结果，海南的地理种群似可区别于中国大陆的其他地理种群，新疆、内蒙古、东北和黄淮平原可做为一个亚种对待[8]．根据形态测量学的研究结果，康乐和陈永林[4]曾指出中国黄淮地区的飞蝗具有相对的独立性，与菲律宾的种群关系较远，新疆的飞蝗种群与俄罗斯高加索的飞蝗极为相近，中国北方的地理种群是介于亚洲飞蝗(*L. m. migratoria*)和东亚飞蝗(*L. m. manilensis*)的过渡性地理种群．形态测量学的方法所得研究结果与其他研究方法所得的结果有相同的部分也有不同的部分．因此，不同的研究方法和策略，产生不同的研究结果是正常的．同时，散居型飞蝗在时间和空间上都是连续发生的[3,4]，当在野外大规模和连续取样时，明确划分出某一地理种群属于某一特定亚种变得非常困难．特别是飞蝗的迁飞习性使得地理上相近的种群的基因交流非常频繁．

随机扩增多态DNA (random amplified polymorphic DNA，简称RAPD)是一种DNA分子水平上的分子标记和检测技术[9]，具有简单、快速、组织需要量少等优点，被大量地用于昆虫种群遗传和系统发生等方面的研究[10]．微卫星因其高度的多态性在动物群体遗传学中被广泛使用[11]．但任何一种标记技术都有一定的局限性[11,12]，因此，多种标记技术的联合应用往往会取得更好的效果[13]．经过多次的实验条件优化，飞蝗RAPD的结果都具有很高的稳定性和可重复性[14]，与其他研究方法和技术对比研究飞蝗的种群遗传学是非常有意义的．

本文使用优化的RAPD方法[14]对我国的 11 个飞蝗地理种群进行大规模的遗传分析，以揭示飞蝗种群间的遗传分化以及种群分化与地理分布的关系，同时探讨中国飞蝗地理种群的亚种地位．

1　材料和方法

1.1　种群的取样

于 1996~1999 年在生长季节从我国 11 个地区采集飞蝗成虫样本(表 1，图 1)，带回室内或在普通条件下饲养，或在–20℃冰箱中保存．这 11 个地理种群总体上代表了中国飞蝗主要代表性地理种群．每个地理种群的 10 头个体用于 RAPD 分析．

表 1　种群的取样地点、种群和个体代码以及样点间的空间距离

取样地点	种群及个体代号	种群间的空间距离/km										
		Ab-XJ	Bh-XJ	Hm-XJ	Bm-NM	Dg-TJ	Ts-JS	Hz-JS	Sp-HN	Sy-HI	Ls-TB	Rk-TB
艾比湖，新疆	Ab-XJ1-10	0										
博斯腾湖，新疆	Bh-XJ1-10	550	0									
哈密，新疆	Hm-XJ1-10	1201	760	0								
巴盟，内蒙古	Bm-NM1-10	2706	2230	1480	0							
北大港，天津	Dg-TJ1-10	3748	3281	2520	1080	0						
铜山，江苏省	Ts-JS1-10	3800	3332	2635	1258	506	0					
洪泽湖，江苏省	Hz-JS1-10	4023	3510	2836	1475	633	211	0				
遂平，河南省	Sp-HN1-10	3514	3033	2337	1088	719	352	492	0			
三亚，海南省	Sy-HI1-10	3937	3478	3103	2522	2416	1932	1901	1716	0		
拉萨，西藏	Ls-TB1-10	1924	1446	1433	2084	2872	2666	2810	2321	2131	0	
日喀则，西藏	Rk-TB1-10	1850	1482	1605	2401	3196	2997	3124	2634	2335	324	0

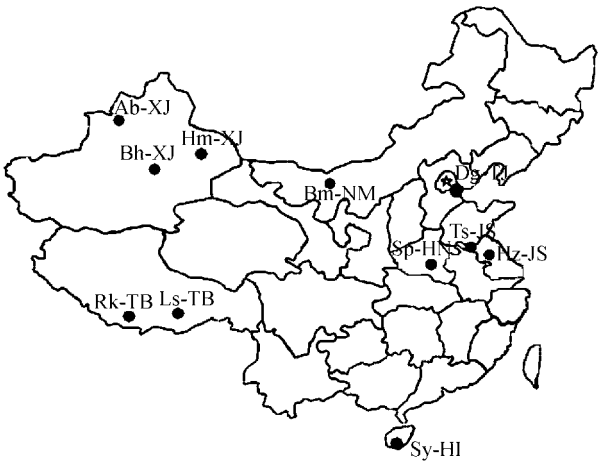

图 1 取样地点在我国部分地区的分布示意图

地图上黑点代表飞蝗取样地点，种群代码标注在各取样地点周围

1.2 DNA 的抽提和 RAPD 扩增

基因组DNA的抽提和RAPD扩增条件按我们以前的步骤进行[14].

1.3 数据分析

根据RAPD分析软件的要求用强扩增带(即亮带)作为标记编写 01 数据输入文件. 由RAPDDIST v 1.0[15]生成并经Lynch和Milligan法纠正[16]的Nei距离[17] 用来对所有种群UPGMA聚类. 对所有个体则用RAPDPLOT[15]生成的 1–M距离UPGMA聚类, 其中$M = N_{ab}/N_t$, N_{ab}是两个个体A和B匹配带的总数(即同时有或无的带), N_t是扩增的总带数. 用SPSS v 10.0 对所有种群和个体分别进行主成分分析.

软件AMOVA-PREP v 1.01[18]可将RAPD数据转化成被AMOVA v 1.5[19]识别的格式, 其生成的欧氏距离[20]用AMOVA处理, 把总变异分解 2 或 3 个等级结构. 校正Nei距离和欧氏距离跟空间距离的相关性则用软件TFPGA v 1.3[21]中的Mantel测验[22]来确定.

2 结果

2.1 RAPD 扩增的产物

使用 Operon 公司的 Kit A 和 B 两组引物, 共筛选出 11 个扩增效果稳定的引物, 扩增产物的大小范围分别是 449~2295 bp 和 480~2318 bp. 每个 wh 体扩出的总带数范围分别是 1~8 和 2~13 条, 平均分别是 2.45~5.44 和 4.80~7.86 条(表 2, 图 2). 在扩增的总带数中 95.04%是多态的, 只有 4.96%是单态的. 在筛选出的 11 个引物中, 82%的引物可扩出多态的带, 说明 RAPD 可展示飞蝗个体较高的遗传多样性.

2.2 飞蝗种群的分化

飞蝗种群间的校正 Nei 距离分析表明, 地区内种群平均遗传距离都在 0.1 以下, 如黄淮平原 4 个种群间的遗传距离平均为 0.0951, 新疆和内蒙古种群间的遗传距离平均为 0.0786, 西藏的 2 种群间的为 0.0561(表 3). 地区间种群的平均遗传距离则都在 0.1 以上, 如新疆和内蒙古种群与黄淮平原、海南和西藏种群间的遗传距离分别为 0.1022, 0.1092, 0.1475. 种

表 2 RAPD 所用的引物、产物的大小和数目及多态带数目

引物名称	引物序列 (5′-3′)	产物的大小范围/bp	各引物对不同个体扩出带数范围	各引物扩增所有个体的总带数	各引物得到的多态带数/%
POA11	CAATCGCCGT	449-1650	2-6	599	5 (83)
POA12	TCGGCGATAG	545-2295	2-8	577	8 (100)
POA15	TTCCGAACCC	640-1670	1-4	270	4 (100)
POB05	TGCGCCCTTC	617-1969	4-9	741	9 (100)
POB07	GGTGACGCAG	535-1536	2-8	527	6 (75)
POB11	GTAGACCCGT	567-1778	3-8	620	8 (100)
POB13	TTCCCCCGCT	536-2129	4-13	865	13 (100)
POB14	TCCGCTCTGG	521-1727	2-10	717	10 (100)
Primer[a)]	ACCCCCGAAT	480-2014	2-12	644	12 (100)
POB19	ACCCCCCAAT	532-2318	3-12	855	12 (100)
POB20	GGACCCTTAC	524-1655	3-11	703	11 (100)

a) 此引物是我们合成的, 为叙述方便把它指定为 B 组中的引物

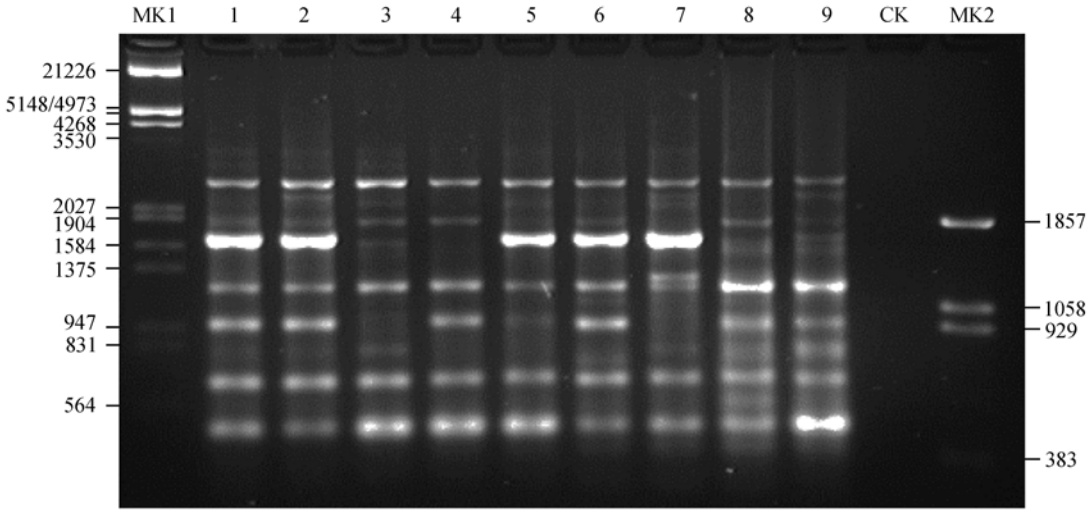

图 2　用 POB19 引物和博斯腾湖种群个体扩增的结果

MK1, MK2 分别是用*Hin*dⅢ/*Eco*RⅠ双酶切λDNA和用*Bst*NⅠ酶切PBR322 的标准分子量(SABC). 1~9 示用博斯腾湖种群的个体扩增的结果, CK示阴性对照

表 3　11 个地理种群的校正 Nei 距离(对角线下)和欧氏距离(对角线上)

种群	Ab-XJ	Bh-XJ	Hm-XJ	Bm-NM	Dg-TJ	Ts-JS	Hz-JS	Sp-HN	Sy-HI	Ls-TB	Rk-TB
Ab-XJ	0.000	0.0831	0.2600	0.1007	0.2536	0.2410	0.2120	0.2177	0.2504	0.4457	0.4332
Bh-XJ	0.0575	0.000	0.2889	0.0949	0.2562	0.2969	0.2331	0.2422	0.2153	0.3817	0.3749
Hm-XJ	0.0918	0.1105	0.000	0.1787	0.2794	0.2957	0.2393	0.2171	0.2790	0.3400	0.3122
Bm-NM	0.0618	0.0743	0.0759	0.000	0.1704	0.2024	0.1539	0.1666	0.1656	0.2685	0.2637
Dg-TJ	0.1131	0.1134	0.1149	0.0975	0.000	0.1626	0.0581	0.1179	0.1726	0.3001	0.2753
Ts-JS	0.1194	0.1251	0.1372	0.1169	0.1017	0.000	0.0537	0.0543	0.1984	0.3391	0.3073
Hz-JS	0.0732	0.086	0.0686	0.0605	0.0357	0.0351	0.000	0.0254	0.1590	0.3087	0.2687
Sp-HN	0.1027	0.1115	0.1046	0.0907	0.0795	0.0552	0.045	0.000	0.1525	0.2976	0.2706
Sy-HI	0.1202	0.106	0.1164	0.0942	0.0965	0.1036	0.1018	0.088	0.000	0.2534	0.2184
Ls-TB	0.1736	0.1572	0.1359	0.115	0.1134	0.1346	0.134	0.122	0.1095	0.000	0.0447
Rk-TB	0.1759	0.1595	0.1393	0.1237	0.1181	0.124	0.1253	0.1128	0.1005	0.0561	0.000

群间遗传距离最小的是江苏的两个种群，最大的是新疆哈密和西藏日喀则种群．地区间飞蝗种群遗传距离明显高于地区内种群的遗传距离，说明地区间的种群分化高于地区内种群．

用 AMOVA 对欧氏距离(表 3)进行总变异种群内和种群间的分割(表 4)，包含在种群间和种群内的变异分别是 3.24 和 12.59，占总变异的 20.45%和 79.55%，包含在种群内的变异显著高于种群间的(P<0.0001，置换数为 9999)，说明各种群间分化程度显著．

根据上述研究结果将所有种群划分为下列 4 个组：新疆和内蒙古、西藏、淮海平原和海南的种群．AMOVA 对所有组的变异分割(表 4)，组内所占总变异的比例(82.99%)显著高于组间所占的比例(17.01%)，说明各组间种群分化显著．对所有组和种群的变异进行 3 级分割，组间、组内种群间和组内种群内的变异分别占总变异的 13.59%，9.44%和 76.97%，包含在组内的所有变异显著高于包含在组间的变异，4 个组间的飞蝗种群分化仍然显著．对所有组进行两两比较，包含在组内的变异都显著高于组间的变异，组间种群分化显著．其中，组间种群差异最大的是海南和西藏种群，约是组内种群间的 7 倍，说明两组间差异显著．其次是黄淮平原和西藏种群，组间是组内的

表 4 飞蝗地理种群 AMOVA 分析结果

方差来源	自由度(d.f.)	离差平方和 SSD	离均差平方和 MSD	方差分量	%总方差	概率 *P* 值
所有种群: 种群间	10	449.59	44.96	3.24	20.45	< 0.0001
种群内	99	1246.30	12.59	12.59	79.55	< 0.0001
所有组: 组间	3	327.49	109.16	3.60	17.01	< 0.0001
组内	106	1861.10	17.56	17.56	82.99	< 0.0001
所有组及种群: 各组间	3	327.49	109.16	2.87	13.59	< 0.0001
组内种群间	7	253.20	36.17	1.99	9.44	< 0.0001
种群内	99	1607.90	16.24	16.24	76.97	< 0.0001
海南 vs 黄淮平原	1	59.66	59.66	1.85	9.40%	< 0.0001
组内种群间	3	90.1	30.03	1.35	6.87%	< 0.0001
种群内	45	742.60	16.50	16.5	83.74%	< 0.0001
海南 vs 新疆内蒙古	1	69.55	69.55	1.39	6.54%	< 0.0001
组内种群间	3	141.85	47.28	3.04	14.32%	< 0.0001
种群内	45	757.40	16.83	16.83	79.14%	< 0.0001
海南 vs 西藏	1	71.55	71.55	3.78	18.91%	<0.0001
组内种群间	1	21.12	21.12	0.55	2.77%	0.013
种群内	27	422.43	15.65	15.65	78.33%	<0.0001
黄淮平原 vs 新疆内蒙古	1	120.53	120.53	2.05	9.87%	<0.0001
组内种群间	6	231.95	38.66	2.22	10.70%	<0.0001
种群内	72	1185.60	16.47	16.47	79.42%	<0.0001
黄淮平原 vs 西藏	1	139.67	139.67	4.19	19.81%	<0.0001
组内种群间	4	111.22	27.80	1.21	5.71%	<0.0001
种群内	54	850.63	15.75	15.75	74.47%	<0.0001
新疆内蒙古 vs 西藏	1	156.58	156.58	4.34	18.98%	<0.0001
组内种群间	4	162.96	40.74	2.48	10.85%	<0.0001
种群内	54	865.43	16.03	16.03	70.17%	<0.0001

统计包括: 自由度、离差平方和(SSD)、离均差平方和(MSD)、方差分量估算、方差分量占总方差的百分率(%总方差)以及偶然获得更大分量的概率(*P*)(置换数是 9999)

3.5 倍, 两组间差异也比较明显. 海南和黄淮平原组间是组内的 1.4 倍; 黄淮平原与新疆和内蒙古组间是组内的0.9倍; 新疆和内蒙古与西藏组间是组内的1.8倍. 组间和组内差异最小的是海南、新疆和内蒙古种群, 组间仅是组内的 0.5 倍. 但是无论哪两个地区组合的比较, 保留在组内种群个体内的变异都显著高于组间的变异, 说明这些地区的种群分化显著. 因此, 我国飞蝗地理种群间无论用哪种等级方式进行变异分析, 变异的绝大部分都来自组内种群, 包含在其内部的变异显著高于包含在组间的变异.

2.3 遗传距离和空间距离的相关性

用校正Nei距离和欧氏距离两种遗传距离(表 3)分别与空间距离(表 1)进行Mantel测验, 结果表明飞蝗种群间的遗传距离随空间距离的增加而有增大的趋势, 两对矩阵存在极显著的正相关性(R_1 = 0.3633, P_1 = 0.006; R_2 = 0.4308, P_2 = 0.001). 校正Nei距离用空间距离可表示为$Y_1 = 1.096\times10^{-5} X_1 - 0.08$; 欧氏距离可表示为$Y_2 = 3.92\times10^{-5} X_2 - 0.14$, 其中$Y$是遗传距离, X是空间距离. 两种遗传距离和空间距离的显著相关说明空间地理隔离在飞蝗地理种群分化的过程中起比较重要的作用. 遗传距离和空间距离呈线性正相关, 空间距离越大遗传距离越大, 种群间分化程度越高, 飞蝗种群的分化符合距离隔离模型.

在更小的空间尺度上, Mantel 测验新疆和内蒙古与黄淮平原种群的校正 Nei 遗传距离和空间距离相关性发现, 新疆和内蒙古种群的两矩阵的相关系数是 0.373(P = 0.04), 而黄淮平原种群的相关系数是 0.7266(P = 0.017), 说明新疆和内蒙古与黄淮平原的种群分化跟空间距离仍然有显著的关系.

2.4 聚类分析

用 Lynch 和 Milligan 校正的 Nei 距离(表 3)对所有种群聚类, 出现四个独立的分支(图 3): 分别由黄

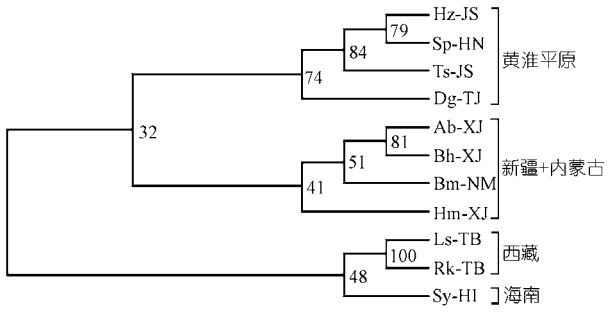

图 3　用校正 Nei 距离对所有地理种群 UPGMA 聚类图

节点旁的数字是 1000 次自举支持率(%)

淮平原的 4 个种群(Dg-TJ, Hz-JS, Ts-JS 和 Sp-HN), 新疆和内蒙古的 4 个种群(Ab-XJ, Bh-XJ, Hm-XJ 和 Bm-NM), 西藏 2 个种群(Ls-TB, Rk-TB)和海南 1 个种群(Sy-HI)组成. 海南种群以较低的自举支持率(48%)和西藏种群聚类在一起. 黄淮平原与新疆和内蒙古的种群也以较低的自举支持率(32%)聚类在一起. 西藏和海南种群分支处于聚类图的基部, 暗示它们最先从其他地理种群分化出来, 与其他种群的关系较远, 而黄淮平原、新疆和内蒙古种群的亲缘关系则较密切.

黄淮平原的 4 个种群(Dg-TJ, Hz-JS, Ts-JS 和 Sp-HN)相聚在一起, 自举支持率都在 70%以上, 说明这些种群关系非常密切. 在新疆的 3 个种群(Ab-XJ, Bh-XJ 和 Hm-XJ)中, 艾比湖和博斯腾湖种群相聚的自举支持率高达 81%, 说明两个单化性的新疆种群关系十分密切. 两种群又与内蒙古单化性的巴盟种群聚类, 自举支持率也达到 51%. 在新疆 3 个种群中, 内蒙古巴盟种群比新疆哈密种群与新疆其他两种群的关系更为密切. 西藏的两个种群以 100%的自举支持率聚类在一起, 聚类结果完全支持两个种群的亲源关系.

对所有种群进行主成分分析, 前 3 个主成分占总变异的 77.4%, 11 个飞蝗种群明显聚集成 4 簇(图 4): 黄淮平原种群、新疆和内蒙古种群、海南种群和西藏种群, 对所有种群进行了很好地划分, 支持 RAPD 对种群的聚类结果.

对所有个体聚类时可形成 5 个分支(图 5), 一个较大的分支包括黄淮平原的 4 个种群(Sp-HN, Hz-JS, Ts-JS 和 Dg-TJ), 另一个分支由海南种群组成, 第 3 个较大分支包括新疆和内蒙古的 3 个单化性种群(Bh-XJ, Ab-XJ 和 Bm-NM), 第 4 个分支包括新疆哈密的二化性种群(Hm-XJ), 第 5 个分支包括西藏的两个种群. 西藏两个种群、新疆哈密、新疆博斯腾湖与艾比湖、内蒙古巴盟、海南和黄淮平原 4 个种群获得了

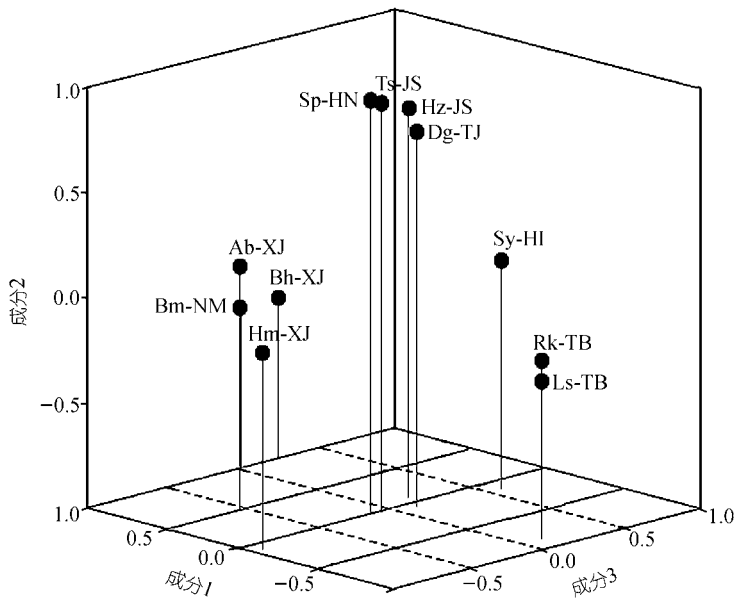

图 4　中国飞蝗 11 个地理种群主成分分析图

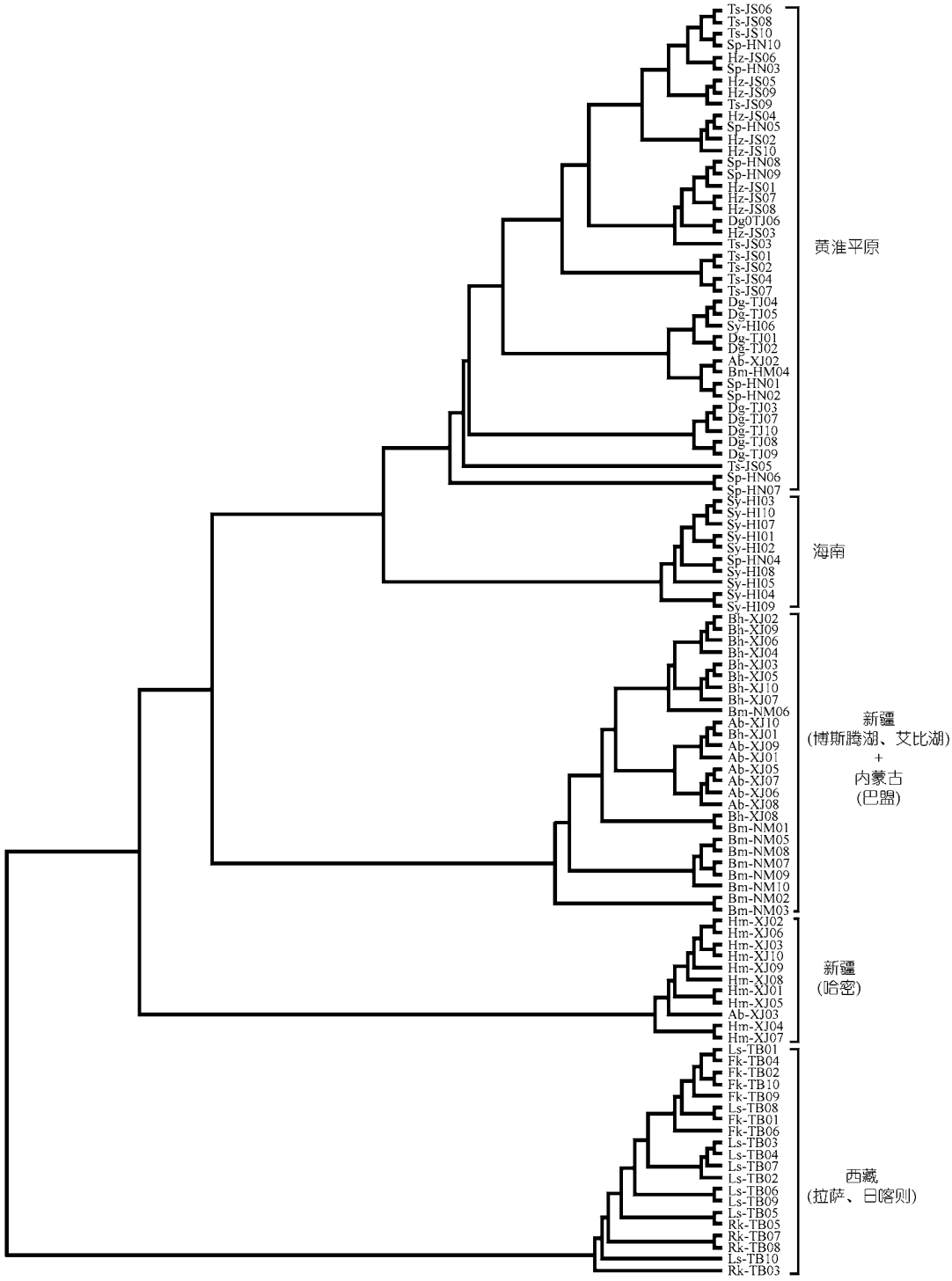

图 5 用 1–M 矩阵对所有个体的 UPGMA 聚类图

很好的归类. 西藏两个种群独立分支, 个体混合聚类, 说明种群间存在基因交流. 新疆二化性的哈密种群独立成一支, 与新疆的其他两个单化性种群之间没有重叠. 新疆博斯腾湖、艾比湖和内蒙古巴盟的 3 个单化性种群归成一大类. 黄淮平原的种群也构成一大类, 4 个种群关系密切而且存在明显的基因交流, 同时也包括了海南、新疆艾比湖和内蒙古巴盟的极少数个体.

对所有个体进行主成分分析(图 6), 前 3 个主要成分占总变异的 46.6%, 所有个体整体上分为 3 个较密集的大组, 第一个大组多数是由黄淮平原的个体组成, 其中有少量其他种群的个体(Bm-XJ04 同 Sy-HI01, 02, 06, 08). 另一个是由新疆和内蒙古个体组成, 本组又可分成两个小组, 其中一个小组是由多个哈密种群个体组成, 夹杂艾比湖、巴盟的个体; 另一个小组则由新疆其他种群个体组成, 此小组内还有海南种群的 3 个个体混在其中. 第 3 组由西藏飞蝗的所有个体组成, 但还包括海南种群的 3 个个体. 海南种群则分散在以上 3 个分组中, 其中 4 个个体和黄淮平原的个体聚在一起, 3 个个体和新疆内蒙古的种群聚在一起, 3 个个体和西藏种群个体聚在一起. 总的看来, 黄淮平原的个体基本聚在一起, 西藏种群的个体全部聚在一起, 新疆和内蒙古的种群分为单化性和二化性两个小组, 海南种群的个体分散在这 3 个组之中.

3　讨论

3.1　RAPD 的可靠性

RAPD扩增反应体系中许多因素都可影响其结果[12], 在我们的优化实验中, 尽管一定范围内反应体

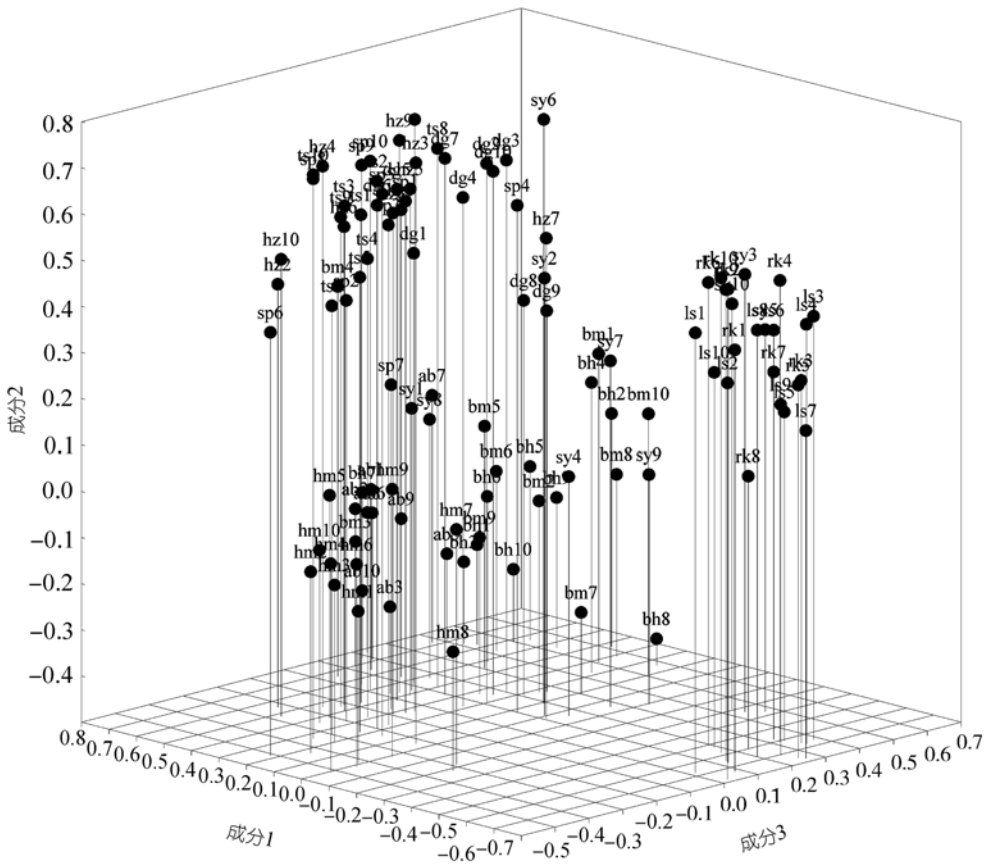

图 6　所有个体的主成分分析图

个体名称仅取个体代码的前两位

系中的某些成分有所改变，但是扩增结果特别是亮带仍然稳定不变[14]. 本研究中，为了得到重复性的结果，常在不同的时间扩增以前扩增过的个体来检查重复性，得到基本相同的结果. 同时我们严格控制反应条件，对 11 个种群所有个体的扩增使用相同的扩增体系，再者在创建数据时选择那些扩增稳定、明亮的条带，因此，本研究中的RAPD数据在所有种群间具有可比性. 如果预先进行细致的优化工作，分析时严格控制反应条件，RAPD的结果在种群间具有可比性[9]. 另外，RAPD可检测到较高的飞蝗种群遗传多样性，是比较适合于飞蝗地理种群遗传分化的研究. 任何单一的研究方法和分子标记技术都有其局限性.

3.2 飞蝗种群的分化

从校正 Nei 遗传距离上看，新疆和内蒙古、黄淮平原、西藏等地区种群间的校正 Nei 遗传距离明显小于这些地区间的种群间的遗传距离，地区间的种群存在的遗传变异要高于地区内的种群，地区内的种群存在的分化要小于地区间种群的分化.

AMOVA分析说明飞蝗种群的变异大部分来自种群内，种群间则较少，包含在种群内的变异是种群间的 4 倍，两者差异显著；包含在组内的变异也显著高于组间的；组内种群间的变异显著小于种群内的变异. 这一结果与小麦切叶蜂的研究类似，其种群内的变异占 71.6%，地区间和种群间的变异占 28.4%[23]，白千层象甲也有类似情况[24]. 但是，与美洲血黑蝗的分析结果[25]相反，这可能与美洲血黑蝗迁移能力较弱有关.

飞蝗种群组间和种群间的分化占较少比例的原因之一可能是因飞蝗的迁飞引起的. 迁飞对飞蝗不同地理种群的基因交流、遗传多样性具有重要的影响. 当迁飞发生时，不同地理种群的飞蝗可能进行交配，从而使种群间个体的基因型趋于一致，导致种群间的分化程度降低，遗传多样性降低.

通常飞蝗种群间存在空间的隔离，种群间的空间距离越大，基因交流就越少，种群分化程度就越大. 因此，空间隔离也是决定飞蝗地理种群遗传分化的重要因素之一. Mantel 测验显示飞蝗种群的空间距离和两种遗传距离极显著正相关($P<0.01$)；在较小的地理范围内，例如新疆和内蒙古、黄淮平原，我们发现空间距离和校正 Nei 遗传距离仍然有显著的正相关($0.01<P<0.05$)，说明空间隔离和种群的分化有非常密切的关系. 空间隔离和飞蝗的迁飞相比，迁飞并没有完全抵消空间隔离在飞蝗种群分化中所起的作用，空间隔离对种群分化的影响要大于飞蝗迁飞的作用. 在较小的地理范围内空间隔离的作用有所降低，迁飞的作用可能增大，两者在飞蝗种群分化过程中的时空上的动态作用还有待进一步深入的研究.

飞蝗可能起源于热带地区，由于它具有较强的适应性，使它成为了世界广布种. 同时它的栖息地又限于河流、湖泊沿岸和滨海滩涂，实际分布区和栖息地呈间断性. 因此，空间地理的隔离在种群分化中起着重要的作用，迁飞往往是当种群密度达到很高时才发生. 迁飞的距离受多种因素影响，对种群分化的影响只在有限范围内. 新疆哈密的种群的分化集中表现在对哈密当地气候条件的适应，抗寒性的研究也证明了这一点[26]. 因此，飞蝗的化性在种群的分化中也起一定的作用，尽管化性对新疆种群的形态测量特征影响不明显[3,4]. 用单化性和多化性来区别东亚飞蝗和亚洲飞蝗曾被认为是一个可靠的标准[1].

3.3 飞蝗亚种的地位

种群(图 3)和个体(图 5)UPGMA聚类都显示所有种群得到很好的归类. 11 个种群基本上是按地理区域聚类成四大分支：新疆和内蒙古地区的种群、黄淮平原的种群、西藏种群和海南种群，但是支持这四大分支的自举支持率都较低(<50%)，说明这四大分支的关系比较松散. 再者在种群用校正Nei距离NJ聚类时(未提供图)，四大分支的相对位置有所变化，新疆和内蒙古种群的分支处在聚类图的基部，黄淮平原、西藏和海南 3 个分支聚在一起. 因此，新疆和内蒙古的种群不能与黄淮平原的种群划归一类，这与传统分类学和形态测量学的结果是一致的. 新疆和内蒙古的种群应属于亚洲飞蝗(*L. m. migratoria*)，形态测量学的研究所证明它们与高加索地区的亚洲飞蝗有很好的归类[4,5]. 黄淮平原的 4 个种群虽然与新疆和内蒙古种群聚类在一起(图 3)，但两者的自举支持率有很大的不同，黄淮平原的 4 个种群自举支持率都在

70%以上，而与新疆和内蒙古的种群自举支持率相对较低，说明黄淮平原种群间关系比新疆和内蒙古种群间的关系更加密切．黄淮平原种群间存在较广泛的基因交流，而与新疆和内蒙古种群间的基因交流则相对较少．另外，飞蝗种群的分化随地理分布呈现梯度变异的特点，在中国东部地区由于没有天然的地理屏障，这一特点会更为明显．当取样逐渐增加时种群间的分化和变异就表现为连续的．当取样扩大时，我国东部地区偏北的种群就会与内蒙古和新疆的种群比较接近，往南则与海南的种群相接近，因此，可以发现有些种群带有明显的过渡特征[3,4]．事实上，抗寒性的研究也充分说明了飞蝗从海南到辽宁抗寒性的连续变异[27]．由于我们的研究和其他相关研究没有对中国大陆南部的种群、菲律宾的种群和中亚的种群进行取样和研究，将黄淮平原和中国北部的种群划归同一亚种[8]的证据是不充分的．如果将中亚或菲律宾的种群选为外群的话，聚类的结果有可能又是另外的一种情况．综上所述，将海南的种群确定为典型的东亚飞蝗(*L. m. manilensis*)是合理的．

西藏两个飞蝗种群无论在种群还是在个体聚类图中都聚类在一起，自举支持率很高，种群间存在明显的基因交流．对所有种群和个体的主成分分析也可得出同样的结果，把西藏飞蝗(*L. m. tibetensis*)作为一个独立亚种来看待是可信的，分析结果和形态特征聚类结果、微卫星结果以及我们以前的结果都是一致的[3,4,8,14]．

海南种群和西藏种群聚在一起(图 3)，这可能暗示着西藏飞蝗可能是来源于热带飞蝗种群的扩散和迁移的结果．但是，海南种群和西藏种群应处于不同亚种的地位上．首先两者的自举支持率较低(48%)，关系松散；其次从形态测量重要数值上看，两地区的飞蝗个体差异很大[3]，生境也相差悬殊，地理上除高原外还有海峡的隔离；再者用形态特征进行聚类时[3]，海南种群和西藏种群也没良好的聚类关系．对两个地区种群变异AMOVA分析显示西藏地区与其他地区的遗传变异都比较大，但以海南和西藏两地区的最大，地区间种群间的变异是地区内种群间的近 7 倍，两地区间差异显著．另外，种群主成分分析也显示两者有较大的差异．

西藏、海南的分化明显是由于地理隔离的作用，黄淮平原 4 个种群明显存在基因交流．新疆哈密的种群是适应了当地特殊地理环境下的特殊类群．同时，黄淮平原、内蒙古和海南之间的种群可能存在少量的基因交流．

微卫星的研究结果把我国的飞蝗重新划分为三大类群[8]：青藏种群、海南种群和北方种群，其中北方种群包括新疆、内蒙古和黄淮平原的种群．从RAPD结果来看，对新疆和内蒙古、黄淮平原、西藏和海南地区的AMOVA分析发现无论哪种分解方式，包含在种群内的变异极显著高于组间的变异，主成分分析也显示存在明显的差异，说明 4 个分组间分化显著．海南种群应该是与菲律宾和东南亚的关系密切的东亚飞蝗(*L. m. manilensis*)的一个地理种群．从AMOVA的结果来看，海南种群与新疆和内蒙古、黄淮平原的差异和微卫星的结果[8]有所不同，海南种群与黄淮平原的遗传差异明显低于西藏与黄淮平原的差异．

从个体UPGMA聚类看(图 5)，黄淮平原种群基因交流的程度远远大于新疆和内蒙古的种群，且两地区的种群间基因交流甚少．种群主成分分析(图 4)也清楚地显示两个地区的飞蝗属于不同的类群，即我国蒙新区和东部季风区的飞蝗种群分化是明显的，此结果仍然支持我们以前的结果[14]．微卫星的结果将这两个地区同归属于北方种群，都属于亚洲飞蝗(*L. m. migratoria*)，黄淮平原的飞蝗是亚洲飞蝗长期适应演化而来的，即华北地理宗[8]．我们现在的结果不能充分证明黄淮平原就是亚洲飞蝗发展的结果．我们认为新疆和内蒙古种群仍然属于亚洲飞蝗，黄淮平原地区有可能是亚洲飞蝗和东亚飞蝗相互渗透的产物，也可能是两亚种形成的杂交带[28]，黄淮平原的飞蝗则可能是两者的混合体或杂种．个体UPGMA聚类时海南种群和黄淮平原的种群关系也较近，说明两者间有一定的联系．因此，黄淮平原飞蝗的亚种地位仍需要使用更多的方法和更多的取样来研究和确定．

飞蝗种群在地理上的分化是很普遍的现象，与中国的情况相类似的有日本[5]、澳大利亚、印度和中东[2]．在中国广大的东部季风区(包括海南岛)，没有

明显的自然隔离，飞蝗在形态测量特征[3,4]、抗寒性[27]和分子标记特征[8]从南到北呈现连续和梯度变异，因此确定两个亚种的界限是不可能的．在连续和梯度变异情况下，划分亚种既无实际意义，也不被命名法所承认[29]．

致谢　研究过程中得到中国科学院动物研究所张德兴研究员和英国 East Anglia 大学 Godfrey M. Hewitt 教授的帮助．

参　考　文　献

1 Uvarov B P. Grasshoppers and Locusts——A Handbook of General Acridology. Cambridge: Cambridge Uni Press, 1966. 1: 332~386

2 Farrow R A, Colless D H. Analysis of the interrelationships of geographical races of *Locusta migratoria* (Linnaeus) (Orthoptera: Acrididae), by numerical taxonomy, with special reference to sub-speciation in the tropics and affinities of the Australian race. Acrida, 1980, 9: 77~99

3 Kang L, Li H C, Chen Y L. Analysis of numerical character variations of geographical populations of *Locusta migratoria* phase solitaria in China. Acta Entomol Sinica, 1989, 32: 418~426

4 Kang L, Chen Y L. The analysis of numerical taxonomy to the interrelationship among different geographic populations of *Locusta migratoria* (L.) phase solitaria (Orthoptera: Acrididae). Sinozoologia, 1991, 8: 71~82

5 Tanaka H. Geographic variation of embryonic diapause in the migratory locust, *Locusta migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae), in Japan. Japanese J Entomol, 1994, 62: 629~639

6 Chen Y L, The main achievements of the study and management of migratory locust in China. Entomological Knowledge, 2000, 37: 50~59

7 Tsyplenkov E P. Home of mass reproduction of the locust *Locusta migratoria* L. in Western China. Zool J, 1959, 39: 867~878

8 Zhang D X, Yan L N, Kang L, et al. Some unorthodox views on the classification and evolution of the migratory locusts in China prompted by molecular population genetic study. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49: 125~131

9 Williams J G K, Kunneth A R, Rafalsk J L, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 1990, 18: 6531~6535

10 Loxdale H D, Lushai G. Molecular markers in entomology. Bull Entomol Res, 1998, 88: 577~600

11 Park P G, Snow A A, Schug M D, et al. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. Ecol, 1998, 79: 361~382

12 Black IV W C. PCR with arbitrary primers: approach with care. Insect Mol Biol, 1993, 2: 1~6

13 Hillis D M, Mortiz C, Mable B K. Molecular Systematics. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. Publishers, 1996. 17~27

14 Zhang M Z, Kang L. Extraction of total DNA from locusts and optimization of reaction conditions for RAPD analysis. Zool Res, 2001, 22: 705~740

15 Black B, Antolin M. RAPDDIST v 1.0. Department of Biology, Colorado State University. 1997

16 Lynch M, Milligan B G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Mol Ecol, 1994, 3: 91~99

17 Nei M. Genetic distance between populations. Am Nat, 1972, 106: 283~293

18 Miller M P. AMOVA-PREP, a program for the preparation of AMOVA input files from dominant marker raw data, release 1.01. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff. 1998

19 Excoffier L. AMOVA: Analysis of Molecular Variance (Version 1.55). Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva. 1993

20 Huff D R, Peakall R, Smouse P E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.). Theor Appl Genet, 1993, 86: 927~934

21 Miller M P. Tools for population genetic analyses (TFPGA) v l.3: A windows program for the analysis of allozyme and molecular genetic data. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff. 1997

22 Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res, 1967, 27: 209~220

23 Lou K F, Weiss J J, Bruckner P L, et al. RAPD variation within and among geographic populations of wheat stem sawfly (*Cephus cincuts* Norton). J Hered, 1998, 89: 329~335[DOI]

24 Madeira P T, Hale R E, Center T D, et al. Whether to release *Oxyops vitiosa* from a second Australian site onto Florida's melaleuca? A molecular approach. BioControl, 2001, 46: 511~528[DOI]

25 Chapco W, Ashton N W, Martel R K B, et al. A feasibility study of the use of random amplified polymorphic DNA in the population genetics and systematics of grasshoppers. Genome, 1992, 35: 569~574

26 Li B X, Chen Y L, Cai H L. The cold-hardiness of different geographical populations of the migratory locust, *Locusta migratoria* L. (Orthoptera, Acrididae). Acta Ecologica Sinica, 2001, 21: 2023~2030

27 Jing X H, Kang L. Geographical variation in egg cold hardiness: a study on adaptation strategy of the migratory locust (*Locusta migratoria* L.). Ecol Entomol, 2003, 28: 151~158[DOI]

28 Zu Y G, Sun M, Kang L. The application, method and theory of molecular ecology. Beijing: CHEP, Springer, 1999. 52~65

29 Mayr E, Ashlock P D. Principles of Systematic Zoology. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1991. 1~48