



广东省稻区越冬代大螟种群动态监测及遗传多态性差异分析

吴阳刚^{1,2} 袁龙宇¹ 黄德超³ 李燕芳¹ 肖汉祥^{1*} 张振飞^{1*}

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所, 农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640; 2. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070;
3. 广东省有害生物预警防控中心, 广州 510640)

摘要: 为制订行之有效的大螟 *Sesamia inferens* 区域综合防治策略, 2018—2022 年对广东省珠三角稻区、粤东稻区、粤西稻区和粤北稻区 9 个市的越冬代大螟进行调查和采样, 于室内对样品进行 DNA 提取、扩增和序列分析, 采用线粒体 *COI*、*COII* 等分子标记技术对越冬代大螟进行单倍型分析、系统发育树分析和遗传多态性分析。结果显示, 2018—2022 年广东省稻区越冬代大螟虫量很高, 粤东稻区和珠三角稻区平均虫量均大于大发生量。在越冬代大螟幼虫线粒体 *COI* 基因样本中共检测出 20 个单倍型, 89 个多态位点, 总群体单倍型多样度为 0.840, 固定系数为 0.473, 基因流为 0.56, 总群体的 Tajima's *D* 值为 -1.965, Fu's *Fs* 值为 -2.454。在越冬代大螟幼虫线粒体 *COII* 基因样本中共检测出 19 个单倍型, 372 个多态位点, 总群体单倍型多样度为 0.790, 固定系数为 0.816, 基因流为 0.11, 总群体的 Tajima's *D* 值为 3.224, Fu's *Fs* 值为 54.260。表明广东省不同稻区越冬代大螟种群间的遗传多态性较高, 亲缘关系近, 但存在着遗传分化现象, 种群间遗传分化现象主要原因为遗传漂变, 种群未经历明显扩张。

关键词: 越冬代大螟; 虫量; 监测; 地理种群; 遗传分化; *COI*; *COII*; 基因流

Dynamics monitoring and analysis of genetic polymorphism of overwintering generation of Asiatic pink stem borer *Sesamia inferens* populations in Guangdong rice area

Wu Yanggang^{1,2} Yuan Longyu¹ Huang Dechao³ Li Yanfang¹ Xiao Hanxiang^{1*} Zhang Zhenfei^{1*}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection; Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong Province, China; 2. College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei Province, China; 3. Agricultural Pest Precaution and Management Center of Guangdong Province, Guangzhou 510640, Guangdong Province, China)

Abstract: In order to formulate effective regional comprehensive control strategies for overwintering generation of Asiatic pink stem borer *Sesamia inferens*, surveys and sampling were conducted in nine cities in the Pearl River Delta rice area, Guangdong east rice area, Guangdong west rice area, and Guangdong north rice area from 2018 to 2022. DNA extraction, amplification, and sequence analysis were performed on samples in the laboratory, utilizing molecular markers such as mitochondrial *COI*

基金项目: 广东省农业科学院“中青年学科带头人”培养项目(R2023PY-JG009), 广东省现代农业产业技术体系水稻创新团队项目(2023KJ105),

广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队(2023KJ113), 2022 年农业农村厅乡村振兴战略专项(粤财农〔2022〕92 号)

* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: zhangzhenfei@gdaas.cn, 290432210@qq.com

收稿日期: 2023-05-29

and *COII* for single-nucleotide polymorphism (SNP) analysis, phylogenetic tree analysis, and genetic diversity analysis on overwintering generation of *S. inferens* larvae. The results showed that the population density of overwintering generation of *S. inferens* larvae in the rice-growing regions of Guangdong Province was very high, with an average of more than 7 500 heads/hm² in the East and Pearl River Delta rice areas. A total of 20 SNPs and 89 polymorphic loci were identified in the mitochondrial *COI* gene samples of overwintering generation of *S. inferens* larvae, with an overall population diversity of 0.840, a fixation index of 0.473, and gene flow value of 0.56. The Tajima's *D* value for the total population was -1.965, and the Fu's *Fs* value was -2.454. In the mitochondrial *COII* gene samples of overwintering generation of *S. inferens* larvae, a total of 19 SNPs and 372 polymorphic loci were identified, with an overall population diversity of 0.790, a fixation index of 0.816, and gene flow value of 0.11. The Tajima's *D* value for the total population was 3.224, and the Fu's *Fs* value was 54.260. These results indicated that the genetic polymorphisms of overwintering generation of *S. inferens* populations in Guangdong were relatively high, and the relatedness among populations was relatively close. However, there were genetic differentiations among these populations, which were mainly due to genetic drift. The population did not experience significant expansion.

Key words: overwintering generation of *Sesamia inferens*; insect population; monitoring; geographical population; genetic differentiation; *COI*; *COII*; gene flow

大螟 *Sesamia inferens* 又称稻蛀茎夜蛾,隶属于鳞翅目夜蛾科蛀茎夜蛾属 *Sesamia*, 主要分布在亚洲的中国、印度、日本和巴基斯坦等国家。该害虫寄主多, 食性杂, 可取食水稻、茭白、玉米和高粱等多种禾本科作物(梁齐等, 2017)。在广东省该害虫每年发生5~8代, 越冬代种群具有虫口密度高、抗逆性强、发生期不整齐、为害持续时间长等特点, 导致发生区域逐年增大, 为害程度逐渐加剧(罗锡浪等, 2010; 于文娟等, 2022), 在局部地区大螟种群数量已超过二化螟 *Chilo suppressalis* 成为水稻主要害虫, 因此, 明确广东省各稻区越冬代大螟种群数量动态、种群遗传结构、扩散途径和进化历史对于制订相应的联防联控策略具有重要意义(Tang et al., 2022)。

种群的变化会影响种群的遗传结构, 进而影响一个地区的种群密度、分布和扩散, 因此研究一个地区内种群遗传结构是害虫防治的基础(张恒端, 2015)。常采用单倍型、系统发育及遗传多态性等方法对种群的遗传结构进行分析。单倍型中含有丰富的连锁不平衡信息, 利用基因分型技术能得到大量的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)标记数据, 利用这些SNP信息能揭示和探究复杂性状的遗传机制(宋志芳等, 2017)。系统发育分析是利用分子数据描述和重建生物体和生物体之间的进化关系, 找出不同物种间的进化关系, 理解祖先序列与其后代之间的关系, 估算一组共有共同祖先的物种间的分歧时间(Minoarivelo et al., 2015)。物

种遗传多态性的丰富程度可体现该物种对外部恶劣环境的适应性, 利用群体遗传多态性可以探究该种群演化的原因和过程, 推断未来发展动态等(刘振国等, 2015; 李冉等, 2015; Men et al., 2017)。近年来, 线粒体、核糖体和微卫星等分子标记, 尤其是线粒体基因普遍用于物种鉴定和遗传变异等方面的研究(杨哲等, 2015; 李云龙等, 2016; 谢艳兰等, 2019)。线粒体DNA(mitochondria DNA, mtDNA)基因属母系遗传且稳定, 线粒体 *COI* 基因既保守又有足够的变异, 更便于PCR扩增(史树森等, 2018), 是分子分类的标准基因, 被定义为DNA条形码(Hebert et al., 2003); 而 *COII* 基因能确定昆虫属、种及种以下分类阶元间的系统发育关系(Jermiin & Crozier, 1994; 倪艳等, 2010)。利用 *COI* 和 *COII* 基因核苷酸序列的差异可以对昆虫进行物种鉴别、遗传及进化关系分析(Avise et al., 1987; Behura, 2006; 张敏莹等, 2018), 如周宁宁(2014)利用线粒体 *COI* 和 *COII* 基因序列对茶园假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* 进行遗传分化研究, 基于2个基因序列的结果相互呼应, 表明试验结果可靠; 胡岩(2018)利用线粒体 *COI* 基因序列和ITS2序列对湖南省稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus* 进行遗传分析, 基于2个基因序列的结果显示无明显差异。因此, 本研究利用线粒体 *COI* 和 *COII* 基因序列对广东省稻区越冬代大螟种群进行遗传多态性分析。

本研究于2018—2022年对广东省珠三角稻区、

粤东稻区、粤西稻区和粤北稻区9个市的越冬代大螟进行调查和采样,于室内对样品进行DNA提取、扩增和序列分析,采用线粒体COI、COII等分子标记技术对越冬代大螟进行单倍型分析、系统发育分析和遗传多态性分析,探讨该害虫为害的内部遗传学因子,阐明该害虫发生规律及演化机制,以期为广东省大螟种群发生、预测预报及防治对策制订提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试剂和仪器:Trelief® Hi-Pure Animal Genomic DNA Kit高效动物基因组DNA提取试剂盒、高纯度低电渗琼脂糖,北京擎科生物科技股份有限公司;2×Taq PCR StarMix,北京康润诚业生物科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。Biometra TRIO 48三槽基因扩增仪,德国耶拿分析仪器股份公司;NanoDrop ND-2000C超微量紫光/可见分光光度计,美国赛默飞世尔科技公司;MINI Space 1000功能凝胶图像分析系统,上海天能科技有限公司;BG-Power600电泳仪,上海贝晶生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 广东省越冬代大螟虫量调查及取样

2018—2022年每年2月对广东省珠三角稻区佛山市南海区(113°7'12"E, 23°1'48"N, 海拔13 m)、江门市恩平市(112°18'44"E, 22°11'161"N, 海拔28 m)、惠州市博罗县(114°17'50"E, 23°10'44"N, 97 m)和广州市增城区(113°49'4"E, 23°16'2"N, 海拔27 m),粤东稻区揭阳市普宁市(116°10'22"E, 23°18'28"N, 海拔38 m)和潮州市潮安县(116°41'5"E, 23°28'20"N, 海拔450 m),粤西稻区茂名市高州市(110°51'38"E, 21°55'24"N, 海拔60 m)和湛江市雷州市(110°6'17"E, 20°55'25"N, 海拔259 m),粤北稻区韶关市南雄市(114°19'9"E, 25°7'35"N, 海拔128 m)水稻田内越冬代大螟数量进行调查,即9个种群。近年来,江西省水稻螟虫发生也十分严重,且江西省与广东省接壤,地缘关系近,样品较容易采集,因此以江西省南昌市(115°56'56"E, 28°33'16"N, 海拔25 m)作为外缘对照。由于特殊原因2019年和2020年未进行取样调查。每个采集地随机选取5块水稻田,每块水稻田面积约300 m²,每个田块采用五点取样法抽取水稻植株,剥查其茎秆和根部内大螟数量并记录,取高龄幼虫带回实验室,用75%酒精浸泡,于-20 °C冰箱保存,用于遗传多态性差异分析。参考《DB 34/T 2904: 大螟测报调查规范》根据越冬代平均数量进行分级,平均数量<1 500头/hm²为轻发生,1 500头/hm²≤平均数量<3 000头/hm²为偏轻发生,3 000头/hm²≤平均数量<5 250头/hm²为中等发生,5 250头/hm²≤平均数量<7 500头/hm²为偏重发生,平均数量>7 500头/hm²为大发生。

1.2.2 越冬代大螟DNA提取及序列分析

每个种群随机抽取6头高龄幼虫进行DNA提取。每次每个种群取1头高龄幼虫,用液氮将其研磨至粉末,按照Trelief® Hi-Pure Animal Genomic DNA Kit高效动物基因组DNA提取试剂盒说明书提取DNA,用1.2%琼脂糖凝胶电泳测定其浓度,用超微量紫光/可见分光光度计测定其纯度,于-20 °C冰箱保存备用。

参照汤小天(2016)的线粒体COI引物(5'-GGAGCAGGAACCTGGATGA-3'/5'-GCAGGGGGT-AGATTTGA-3')设计COI基因扩增引物进行PCR扩增,扩增片段长度约为796 bp;参照姚银花等(2008)的线粒体COII引物(5'-TAATATGGCAGATTAGTGCATTGGA-3'/5'-GAGACCATTACTTGCTTTCAGTCATCT-3')设计COII基因扩增引物,利用引物进行PCR扩增,扩增片段长度约为768 bp。本研究所有引物均委托广州艾基生物技术有限公司合成。50 μL PCR反应体系:上下游引物各2 μL、基因组DNA 2 μL、2×Taq PCR StarMix 25 μL、ddH₂O 19 μL。PCR扩增程序:94 °C预变性2 min;94 °C变性30 s,60 °C退火30 s,72 °C延伸60 s,32个循环;72 °C终延伸5 min。用1.2%琼脂糖凝胶检测PCR产物,凝胶成像系统拍照确认扩增成功,将PCR扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.2.3 越冬代大螟种群的单倍型分析

单倍型分析主要是对种群内变异进行检验,其衡量指标主要为单倍型多样度和核苷酸多态性。利用SnapGene软件读取1.2.2测序结果并观察峰图,确保测序结果的准确性;运用SeqMan Pro软件对所得序列进行拼接和校对,去除两端低质量序列50 bp,将其与NCBI上的序列进行BLAST比对和确认;利用MEGA 7软件进行多序列比对得到长度一致的COI和COII基因序列;采用DNA Sequence Polymorphism 5.10.01软件计算单倍型多样度和核苷酸多态性;根据单倍型数据以及分布情况,结合NETWORK 5.0软件绘制单倍型网络图。单倍型多样度和核苷酸多态性临界值分别为0.5和0.005,两者的值越大,则表明群体的多样性程度越高(Grant & Bowen, 1998)。

1.2.4 越冬代大螟种群的系统发育树分析

对1.2.3中获得的长度一致的 COI 和 $COII$ 基因序列,采用MEGA 7软件运用邻接法构建系统发育树,Bootstrap取1 000进行检验。

1.2.5 越冬代大螟种群的遗传多态性分析

本研究选择固定系数 F_{st} 、基因流 N_m 以及中性检验值Tajima' D 和Fu's Fs 来衡量种群间遗传多态性。固定系数和基因流是判断遗传分化程度的指标,中性检验值常被用于推断群体历史动态。对1.2.3中获得的长度一致的 COI 和 $COII$ 基因序列,采用DNA Sequence Polymorphism 5.10.01软件计算广东省大螟种群的固定系数、基因流以及Tajima' D 值和Fu's Fs 值。当固定系数 $F_{st} \geq 0.25$,表示种群间分化程度非常高;当 $0.15 \leq F_{st} < 0.25$,表示种群间高度分化;当 $0.05 \leq F_{st} < 0.15$,表示种群间中等程度分化; $F_{st} < 0.05$,表示种群间未发生分化(Wright, 1951)。当基因流 $N_m < 1$ 时,表明遗传漂变是种群间遗传分化的主要原因,当 $N_m > 4$ 时,表明种群间存在较强的基因流水平(Millar & Libby, 1991; Boivin et al., 2004)。当中性检验Tajima' D 值和Fu's Fs 值均为负值,且统计显著时,表明群体可能在历史上经历过突然扩张;当中性检验Tajima' $D=0$ 时,表明种群大小保持不变,属于中性选择;当Tajima' $D < 0$ 时,表明近期发生定向

选择或者种群扩张;当Tajima' $D > 0$ 时,表明种群经历平衡选择或者群体收缩。

1.3 数据分析

利用SPSS 25软件进行数据统计分析,应用Duncan氏新复极差法对试验数据进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 2018—2022年广东省越冬代大螟数量

2018年,广东省珠三角稻区、粤西稻区、粤东稻区和粤北稻区大螟平均数量分别为9 630、10 170、10 410和6 405头/ hm^2 ,4个稻区之间差异不显著,但前3个稻区越冬代大螟平均数量均大于大发生数量;2021年,广东省珠三角稻区、粤西稻区、粤北稻区和粤东稻区越冬代大螟平均数量分别为28 470、18 450、11 970和23 115头/ hm^2 ,均较2018年增加且均大于大发生数量,其中珠三角稻区越冬代大螟平均数量最高;2022年,广东省珠三角稻区、粤西稻区和粤北稻区越冬代大螟平均数量分别为19 170、5 010、23 670和13 995头/ hm^2 ,均较2021年减少,但粤东稻区较2021年有所增加,其中珠三角稻区和粤东稻区越冬代大螟平均数量均大于大发生数量(图1)。

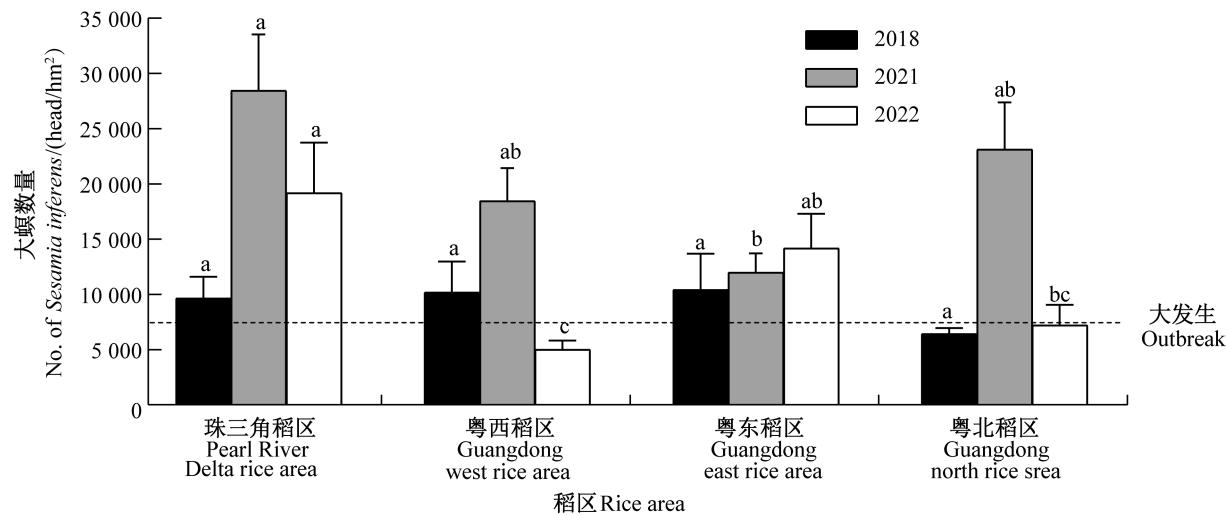


图1 2018—2022年广东省各稻区越冬代大螟数量

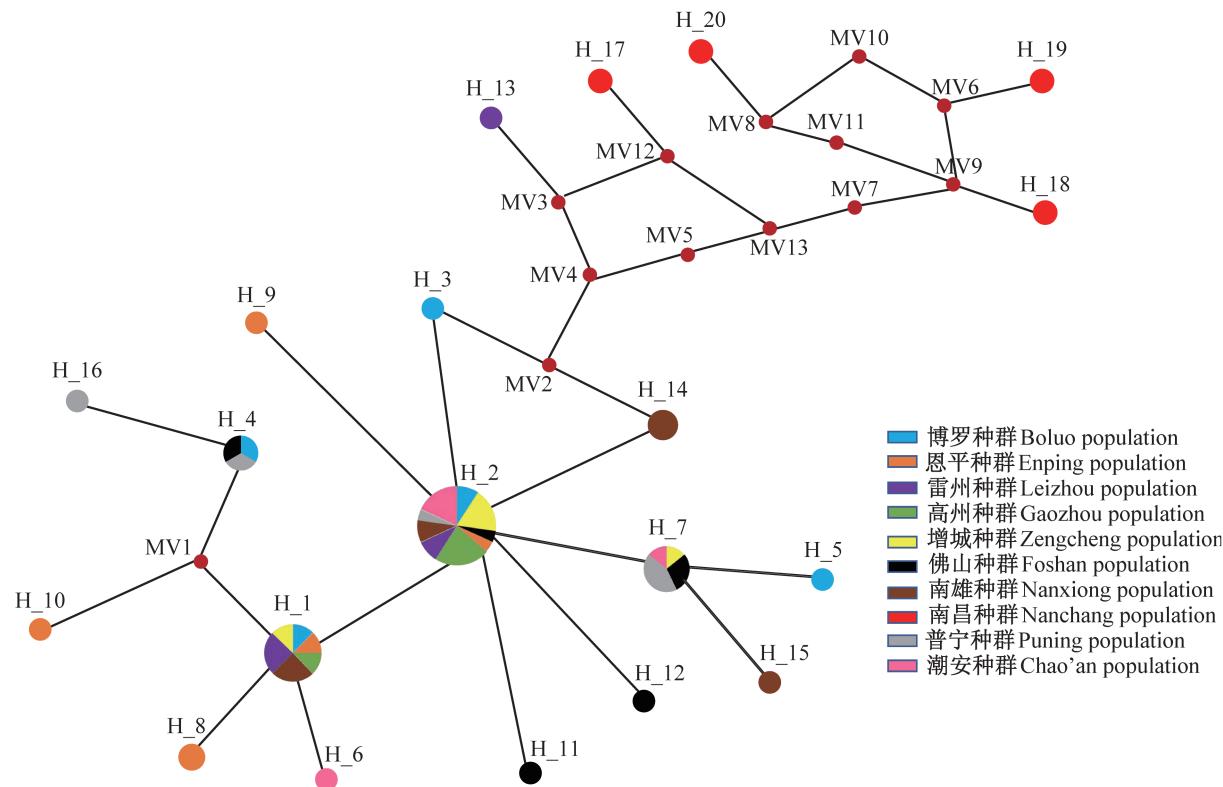
Fig. 1 No. of overwintering generation of *Sesamia inferens* in various rice areas of Guangdong Province from 2018 to 2022. 图中数据为平均数±标准误。同色柱不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。Data are mean±SE. Different letters on the bar of the same color indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$)。

2.2 越冬代大螟不同种群的单倍型分析

2.2.1 基于线粒体 COI 基因序列分析

在大螟60条 COI 基因序列中共检测到20个单倍型,即H_1~H_20,其中H_2为优势单倍型,有22条

基因序列。单倍型分为2个演化支系,单倍型H_2位于网络进化图的中心,与其他单倍型关系密切(图2),推测可能为群体的祖先单倍型。



圆形区域面积表示单倍型的出现频率,颜色区域则表示不同地理种群在相同单倍型中的比例。The area of the circular area indicates the frequency of haplotypes, while the colored areas indicate the proportion of the same haplotype in different geographical populations.

图2 基于线粒体COI基因序列构建的广东省各稻区越冬代大螟种群单倍型网络图

Fig. 2 Haplotype network diagram for overwintering generation of *Sesamia inferens* populations in various rice areas of Guangdong Province based on mitochondrial *COI* gene sequences

2.2.2 基于线粒体COII基因序列分析

在越冬代大螟60条COII基因序列中,共确定19个单倍型,即H_1~H_19,其中H_1为优势单倍型,有25条基因序列。整个单倍型网络图呈非典型的星状结构,单倍型H_1与其他单倍型关系紧密,是7个群体的共享单倍型;单倍型形成了以H_1和H_5为主的2个进化分支,未形成明显的地理格局(图3)。

2.3 越冬代大螟不同种群的系统发育分析

2.3.1 基于线粒体COI基因序列分析

广东省大螟9个地理种群聚为一支,南昌外群单独聚为一支;粤东稻区的普宁(PN)、潮安(CA)种群,粤北稻区的南雄(NX)种群,珠三角稻区的恩平(EP)、增城(ZC)、佛山(FS)、博罗(BL)种群以及粤西稻区的高州(GZ)种群聚为一个分支,粤西地区的部分雷州(LZ)种群与其他种群相对独立,在系统发育树中聚为另一个分支(图4),表明粤西稻区雷州种群与其他种群相距较远,其余各地理种群之间存在遗传分化现象。

2.3.2 基于线粒体COII基因序列分析

广东省越冬代大螟9个地理种群聚为2支,南昌外群单独聚为一支;粤东稻区的普宁(PN)、潮安(CA)种群与粤西稻区的高州(GZ)、雷州(LZ)种群聚为一个分支,粤北稻区的南雄(NX)种群与珠三角稻区的恩平(EP)、增城(ZC)、佛山(FS)和博罗(BL)种群聚为另一个分支(图5),表明广东省各稻区越冬代大螟种群的亲缘关系较近,但存在遗传分化现象,其与基于线粒体COI基因序列的系统发育树不同,这可能是COI和COII的进化速率不同造成的。

2.4 越冬代大螟不同种群的遗传多态性分析

2.4.1 基于线粒体COI基因序列分析

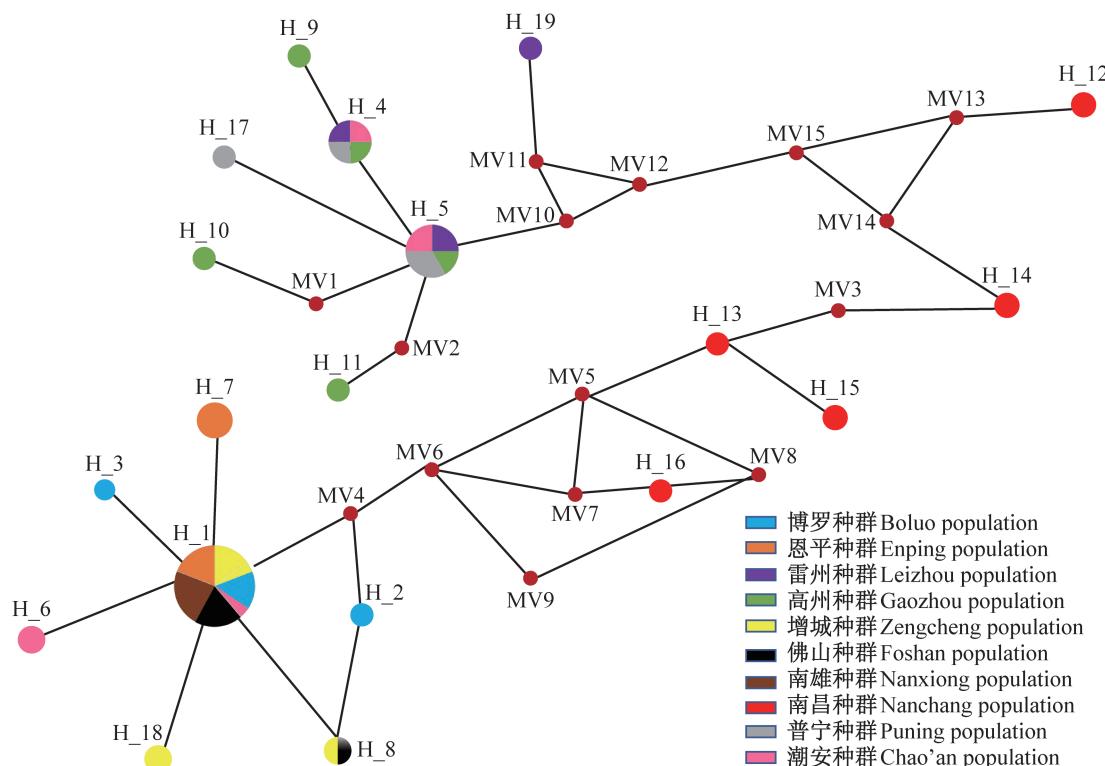
在广东省稻区大螟线粒体COI基因扩增长度为796 bp的片段中共检测出89个多态位点,A+T含量为71.8%,显著高于G+C含量(28.2%);总群体单倍型多样度为0.840,固定系数为0.473,基因流为0.56,表明种群间的遗传分化差异大,遗传漂变是种群间遗传分化的主要原因。珠三角稻区大螟样本的COI单倍型数量为11个,分离位点数量为14个,单倍

型多样度为0.870,核苷酸多态性为0.002 6;粤东稻区大螟样本的 COI 单倍型数量为7个,分离位点数量为27个,单倍型多样度为0.810,核苷酸多态性为0.007 9;粤西稻区大螟样本的 COI 测序基因单倍型数量为2个,分离位点数量为1个,单倍型多样度为0.333,核苷酸多态性为0.000 4;粤北稻区大螟样本的线粒体 COI 单倍型数量均为4个,分离位点数量为6个,单倍型多样度为0.867,核苷酸多态性为0.002 8(表1),表明广东省粤西稻区大螟 COI 多态性略低,其他稻区大螟 COI 多态性较高。中性检验结果显示,总群体的Tajima's D 值为-1.965,Fu's Fs 值为-2.454,二者均为负值,表明广东省大螟种群在进化过程中可能出现过种群扩张。

2.4.2 基于线粒体 $COII$ 基因序列分析

广东省稻区大螟线粒体 $COII$ 基因扩增总长度为768 bp的片段中共发现372个多态位点,A+T含量为74.5%,明显高于G+C含量(25.5%);总群体单倍型多样度为0.790,固定系数为0.816,基因流为0.11,表明种群间有很大的遗传分化,遗传漂变是种

群间遗传分化的主要原因。珠三角稻区大螟样本的 $COII$ 单倍型数量为6个,分离位点数量为12个,单倍型多样度为0.500,核苷酸多态性为0.001 7;粤东稻区大螟样本的 $COII$ 单倍型数量为5个,分离位点数量为349个,单倍型多样度为0.667,核苷酸多态性为0.147 6;粤西稻区大螟样本的 $COII$ 单倍型数量均为7个,分离位点数量为352个,单倍型多样度为0.833,核苷酸多态性为0.085 1;粤北稻区大螟样本的 $COII$ 测序基因单倍型数量为1个,分离位点数量为0,单倍型多样度为0,核苷酸多态性为0(表2),表明广东省粤北稻区大螟 $COII$ 多态性极低,粤东和粤西稻区大螟 $COII$ 多态性很高,珠三角稻区大螟 $COII$ 多态性趋于稳定。外群江西省南昌市大螟样本的 $COII$ 测序基因单倍型数量为5个,分离位点数量为29个,单倍型多样度为0.933,核苷酸多态性为0.018 4(表2)。中性检验结果显示,总群体Tajima's D 值为3.224,Fu's Fs 值为54.260,表明存在大量中等频率的等位基因,这可能是由群体瓶颈效应引起的。



圆形区域面积表示单倍型的出现频率,颜色区域则表示不同地理种群在相同单倍型中的比例。The area of the circular area indicates the frequency of haplotypes, while the colored areas indicate the proportion of the same haplotype in different geographical populations.

图3 基于线粒体 $COII$ 基因序列构建的广东省各稻区越冬代大螟种群单倍型网络图

Fig. 3 Haplotype network diagram for overwintering generation of *Sesamia inferens* populations in various rice areas of Guangdong Province based on mitochondrial $COII$ gene sequences

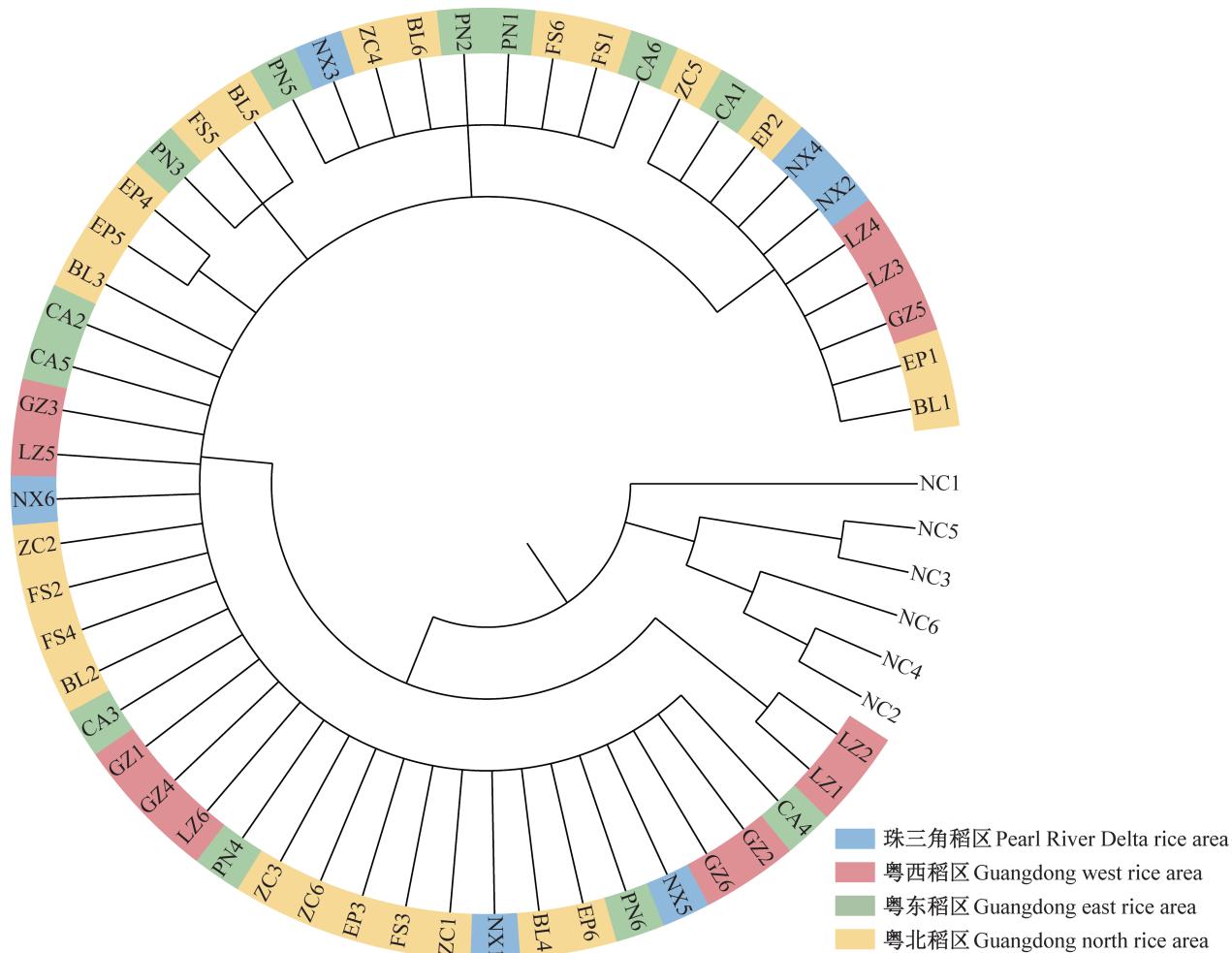


图4 基于线粒体COI基因序列采用邻接法构建广东省各稻区越冬代大螟种群的系统发育树

Fig. 4 The phylogenetic tree of overwintering generation of *Sesamia inferens* populations in various rice areas of Guangdong Province using neighbor-joining method based on COI gene sequences

3 讨论

本研究结果显示2021年和2022年广东省稻区越冬代大螟虫量较2018年明显增多,且基本处于大发生水平。广东省各地区应抓住冬季及早春前的越冬阶段全面落实防治措施,消灭越冬代大螟。2021年广东省气候总体较差,高温少雨,年初、年尾有寒潮,降温显著(伍红雨等,2022),该气候易导致虫害发生严重,这可能是2021年越冬代大螟虫口密度较高的主要原因,但其与气候的相关性还需要进一步验证。

系统发育树结果显示,广东省越冬代大螟各地理种群亲缘关系较近,但存在着遗传分化现象。粤西稻区的雷州种群与省内其他地理种群的遗传差异较大,这与其地域、海拔和气候等因素密切相关。雷州市位于广东省西南端,地处雷州半岛中部,海拔相对较高,陆地大部分属平缓台地,少部分为低丘,整个地势南高北低,东部和西部沿海地区渐向海倾斜,

所以雷州市大螟种群与其他种群相距较远。江西省南昌市大螟种群与广东省不同地理种群亲缘关系较远,遗传差异相对较大,表明江西省大螟种群与广东省种群存在明显的地域差异,具体原因尚不清楚。

遗传多态性水平的高低体现了种群的遗传变异程度,种群的遗传多态性越高,则该种群的进化潜力越大(Lohman et al., 2008)。本研究结果显示,广东省稻区大螟种群遗传多态性高,表明其具有较强的适应能力和遗传变异潜力,这可能是大螟在广东省持续严重发生的内在遗传因素。本研究结果显示,基于线粒体COI和COII基因序列的广东省总群体固定系数分别为0.473和0.816,基因流分别为0.56和0.11,表明种群间存在着明显分化现象,与欧阳慧丽(2021)等研究结果一致。

本研究利用线粒体COI和COII基因序列分析了广东省稻区大螟持续严重发生的内在遗传因素,为指导虫情监测和综合防治策略的制订等提供分子

生物学的理论依据。如要更深入探讨大螟持续严重发生的原因,还应结合线粒体控制区域和微卫星等分子标记技术,同时继续扩大地理种群采样点数量,增加样本量,以获得更全面的遗传数据。针对广东

省稻区大螟种群越冬虫源基数较多,处于大发生状态,建议采用冬季灌水翻耕沤田、冬前清理田埂杂草、农作物残株、调整播种期和稻菜轮作等农业调控措施。

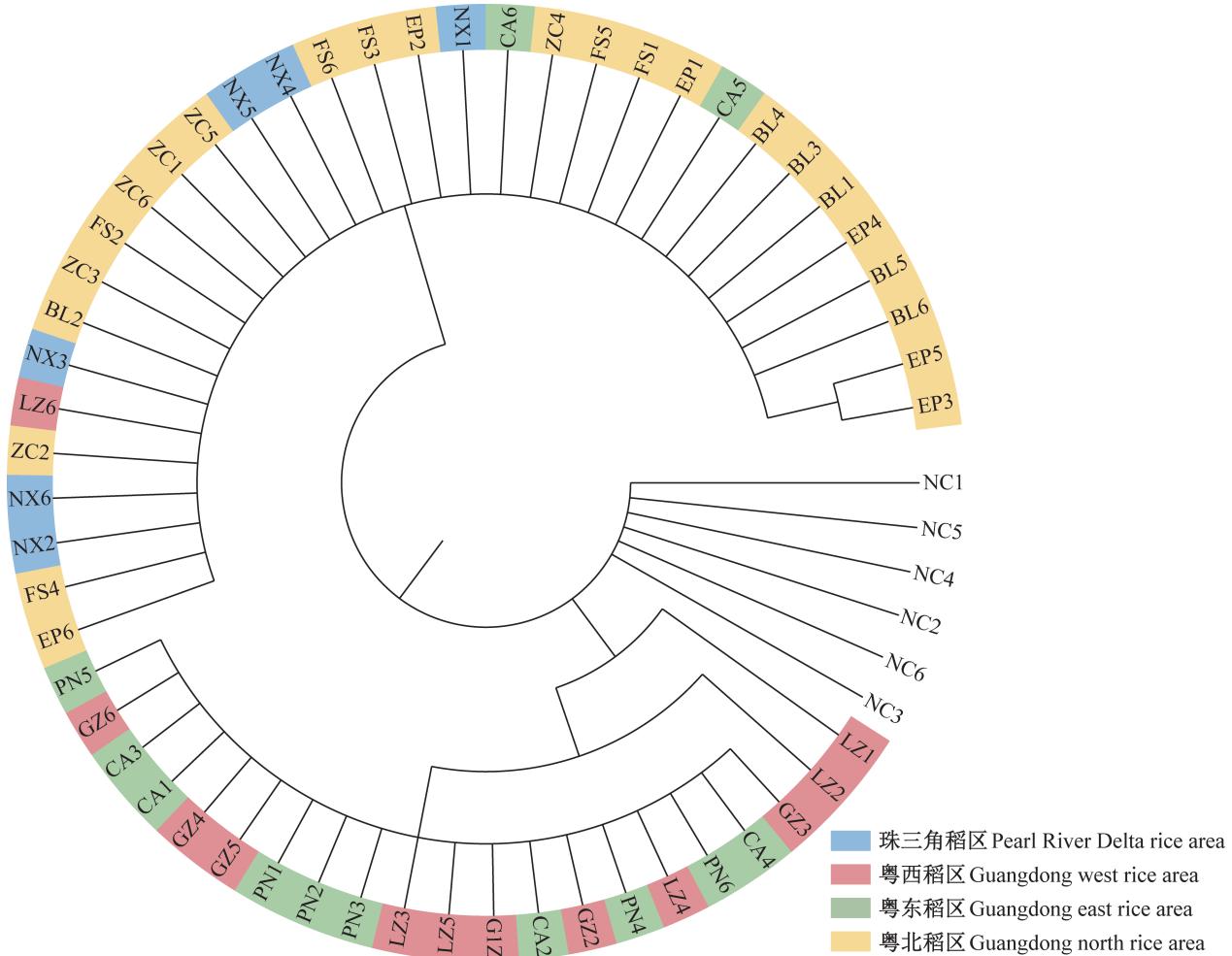


图5 基于线粒体COII基因序列采用邻接法构建广东省各稻区越冬代大螟种群的系统发育树

Fig. 5 The phylogenetic tree of overwintering generation *Sesamia inferens* populations in various rice areas of Guangdong Province using neighbor-joining method based on COII gene sequences

表1 基于线粒体COI基因的广东省各稻区越冬代大螟种群的遗传多态性

Table 1 Genetic polymorphisms of overwintering generation of *Sesamia inferens* populations in different rice areas of Guangdong Province based on mitochondrial COI gene sequences

采集点 Sampling site	测序数量 No. of sequences	分离位点数量 No. of segregating sites	单倍型数量 No. of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多态性 Nucleotide diversity
珠三角稻区 Pearl River Delta rice area	24	14	11	0.870	0.002 6
粤东稻区 Guangdong east rice area	12	27	7	0.810	0.007 9
粤西稻区 Guangdong west rice area	12	2	1	0.333	0.000 4
粤北稻区 Guangdong north rice area	6	6	4	0.867	0.002 8
江西省南昌市 Nanchang City, Jiangxi Province	6	57	4	0.867	0.034 0
总群体 Total population	60	89	20	0.840	0.011 0

表2 基于线粒体COII基因的广东省各稻区越冬代大螟种群的遗传多态性

Table 2 Genetic polymorphisms of overwintering generation of *Sesamia inferens* populations in different rice areas of Guangdong Province based on mitochondrial COII gene sequences

采集地区 Sampling site	测序数量 No. of sequences	分离位点数量 No. of segregating sites	单倍型数量 No. of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多态性 Nucleotide diversity
珠三角稻区 Pearl River Delta rice area	24	12	6	0.500	0.001 7
粤东稻区 Guangdong east rice area	12	349	5	0.667	0.147 6
粤西稻区 Guangdong west rice area	12	352	7	0.833	0.085 1
粤北稻区 Guangdong north rice area	6	0	1	0.000	0.000 0
江西省南昌市 Nanchang City, Jiangxi Province	6	29	5	0.933	0.018 4
总群体 Total population	60	372	19	0.790	0.229 9

参 考 文 献 (References)

- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 18: 489–522
- Behura SK. 2006. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. Molecular Ecology, 15(11): 3087–3113
- Boivin T, Bouvier JC, Beslay D, Sauphanor B. 2004. Variability in dia-pause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. Biological Journal of the Linnean Society, 83(3): 341–351
- Grant W, Bowen B. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. Journal of Heredity, 89(5): 415–426
- Hebert PDN, Ratnasingham S, Deward JR. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society B: Biological Science, 270(S): 96–99
- Hu Y. 2018. Study on genetic diversity of rice water weevil in Hunan Province. Master thesis. Changsha: Hunan Agricultural University (in Chinese) [胡岩. 2018. 湖南省稻水象甲遗传多样性的研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学]
- Jermini LS, Crozier RH. 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufonigra*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. Journal of Molecular Evolution, 38(3): 282–294
- Li R, Han LL, Wang H, Zhao KJ, Mang YL, Zhang HY, Fan D. 2015. Analysis of genetic differentiation among different geographic populations of *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) based on mt DNA COII gene sequences. Chinese Journal of Applied Entomology, 52(5): 1203–1214 (in Chinese) [李冉, 韩岚, 王红, 赵奎军, 蔡逸伦, 张红玉, 樊东. 2015. 基于线粒体COII基因的大豆蚜不同地理种群遗传分化研究. 应用昆虫学报, 52(5): 1203–1214]
- Li YL, Xie AT, Qin M, Zhang QF, Sun Y, Yang JG. 2016. Sequence analysis of mt DNA ND6 and fragments of flanking genes from nine geographical populations of *Oedaleus asiaticus* in Beijing and surrounding regions. Journal of Plant Protection, 43(4): 634–640 (in Chinese) [李云龙, 谢爱婷, 秦萌, 张群峰, 孙勇, 杨建国. 2016. 北京及周边地区九个地理种群的亚洲小车蝗mtDNA ND6基因及其部分侧翼序列分析. 植物保护学报, 43(4): 634–640]
- Liang Q, Lu YH, Wang GR, Zheng XS, Lü ZX. 2017. The effect of spraying on host plants on the oviposition preference of Asiatic pink stem borer *Sesamia inferens*. Journal of Plant Protection, 44(1): 39–44 (in Chinese) [梁齐, 鲁艳辉, 王国荣, 郑许松, 吕仲贤. 2017. 寄主植物上喷药对大螟产卵选择性的影响. 植物保护学报, 44(1): 39–44]
- Liu ZG, Ji T, Shen F, Liang Q, Luo YX. 2015. Genetic diversity of geographic populations of *Apis cerana cerana* estimated by mitochondrial COII gene sequences. Journal of Environmental Entomology, 37(3): 567–575 (in Chinese) [刘振国, 吉挺, 沈芳, 梁勤, 罗岳雄. 2015. 基于线粒体COII基因序列的中华蜜蜂地理种群的遗传多样性研究. 环境昆虫学报, 37(3): 567–575]
- Lohman DJ, Peggie D, Pierce NE, Meier R. 2008. Phylogeography and genetic diversity of a widespread Old World butterfly, *Lampides boeticus* (Lepidoptera: Lycaenidae). BMC Evolutionary Biology, 8: 301
- Luo XL, Liu XR, Peng SY. 2010. Meteorological factors and control countermeasures of rice stem borers in Dapu County. Modern Agricultural Science and Technology, (7): 198 (in Chinese) [罗锡浪, 刘小容, 彭尚永. 2010. 大埔县水稻螟虫发生的气象因素及防治对策. 现代农业科技, (7): 198]
- Men QL, Xue GX, Mu D, Hu QL, Huang MY. 2017. Mitochondrial DNA markers reveal high genetic diversity and strong genetic differentiation in populations of *Dendrolimus kikuchii* Matsumura (Lepidoptera: Lasiocampidae). PLoS ONE, 12(6): e0179706
- Millar CI, Libby WJ. 1991. Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species.//Falk DA, Holsinger KE. 1991. Genetics and conservation of rare plants. England: Oxford University Press
- Minoarivelo H, Diedericks G, Hui C. 2015. An introduction to phyloge-

- netic analyses and modelling in ecology. *Computational Ecology and Software*, 5(4): 328–339
- Ni Y, Zhu LX, Wang ZS. 2010. Phylogenetic relationship of *Delias* (Lepidoptera, Pieridae) based on partial sequences of *COI*, *COII* and *Cyt b* genes. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 35(3): 504–517 (in Chinese) [倪艳, 诸立新, 王忠锁. 2010. 基于 *COI*、*COII* 和 *Cyt b* 基因部分序列研究斑粉蝶属(鳞翅目, 粉蝶科)分子系统关系. *动物分类学报*, 35(3): 504–517]
- Ouyang HL, Wang S, Chen C, Lu W, Zheng XL, Wang XY. 2021. Genetic differentiation of *Bactrocera dorsalis* population in Guangxi based on mt *COI* fragment. *Guangxi Plant Protection*, 34(2): 1–10 (in Chinese) [欧阳慧丽, 王帅, 陈超, 陆温, 郑霞林, 王小云. 2021. 基于 mt *COI* 片段广西橘小实蝇种群遗传分化研究. *广西植保*, 34(2): 1–10]
- Shi SS, Cui J, Zhu SY, Xu W, Wang XQ. 2018. Genetic differentiation among geographic populations of *Leguminivora glycinvorella* (Lepidoptera: Olethreutidae) based on mitochondrial *COI* gene sequences. *Journal of Plant Protection*, 45(2): 214–222 (in Chinese) [史树森, 崔娟, 朱诗禹, 徐伟, 王小奇. 2018. 基于线粒体 *COI* 基因序列的大豆食心虫不同地理种群遗传分化. *植物保护学报*, 45(2): 214–222]
- Song ZF, Yu GS, Xing HY, Lu CL, Cao HZ. 2017. Haplotype analysis and its research progress in genome-wide association study. *Swine Industry Science*, 34(8): 120–122 (in Chinese) [宋志芳, 于国升, 邢荷岩, 芦春莲, 曹洪战. 2017. 单倍型分析及其在全基因组关联分析中的研究进展. *猪业科学*, 34(8): 120–122]
- Tang XT, Lu MX, Du YZ. 2022. Molecular phylogeography and evolutionary history of the pink rice borer (Lepidoptera: Noctuidae): implications for refugia identification and pest management. *Systematic Entomology*, 47(2): 371–383
- Tang XT. 2016. Population genetic structure of *Sesamia inferens* (Lepidoptera: Noctuidae). Master thesis. Yangzhou: Yangzhou University (in Chinese) [汤小天. 2016. 水稻大螟种群遗传结构研究. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学]
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15(4): 323–354
- Wu HY, Li WY, Duan HL, Zheng J. 2022. A summary of the climate of Guangdong Province in 2021. *Guangdong Meteorology*, 44(2): 1–5 (in Chinese) [伍红雨, 李文媛, 段海来, 郑璟. 2022. 2021 年广东省气候概况. *广东气象*, 44(2): 1–5]
- Xie YL, Zhang HR, Li ZY. 2019. Analysis of genetic differentiation among geographic populations of *Helionothrips mube* (Thysanoptera: Thripidae) in southwestern China based on mitochondrial *COI* gene. *Acta Entomologica Sinica*, 62(3): 370–380 (in Chinese) [谢艳兰, 张宏瑞, 李正跃. 2019. 基于线粒体 *COI* 基因的中国西南地区木领针蚜马地理种群的遗传分化分析. *昆虫学报*, 62(3): 370–380]
- Yang Z, Dong H, Hu ZF, Duan LJ, Yu C, Cong B. 2015. Genetic diversity among different host populations of *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) in northeastern China based on mitochondrial gene sequences. *Journal of Plant Protection*, 42(6): 970–977 (in Chinese) [杨哲, 董辉, 胡志凤, 段立佳, 于超, 丛斌. 2015. 东北地区亚洲玉米螟不同寄主植物种群线粒体基因遗传多样性. *植物保护学报*, 42(6): 970–977]
- Yao YH, Du YZ, Zheng FS, Wang LP. 2008. The variation of mtDNA *COII* sequences in 9 geo-populations of rice stem borer, *Sesamia inferens*. *Journal of Environmental Entomology*, 30(1): 37–41 (in Chinese) [姚银花, 杜予州, 郑福山, 王莉萍. 2008. 大螟不同地理种群 *COII* 基因序列分析. *环境昆虫学报*, 30(1): 37–41]
- Yu WJ, Tian X, Xu Z, Han X, Ji HL, Peng YL. 2022. Genetic diversity of different geographical populations of rice stem borers, *Sesamia inferens*, in the Sichuan-Chongqing rice region. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(5): 1085–1095 (in Chinese) [于文娟, 田幸, 徐志, 韩喜, 姚红丽, 彭云良. 2022. 川渝稻区水稻螟虫种类组成及大螟不同地理种群遗传多态性的差异分析. *应用昆虫学报*, 59(5): 1085–1095]
- Zhang HD. 2015. Study on population genetics characteristics of *Aedes albopictus* in Nanjing. PhD thesis. Beijing: Academy of Military Medical Sciences (in Chinese) [张恒端. 2015. 南京市白纹伊蚊种群遗传学研究. 博士学位论文. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院]
- Zhang MY, Xu DP, Fang D, Zhou YF, Liu K. 2018. Sequence variations and genetic differentiations in 16S rRNA gene in three geographic populations of Siberian prawn *Exopalaemon modestus*. *Journal of Dalian Ocean University*, 33(3): 323–328 (in Chinese) [张敏莹, 徐东坡, 方弟安, 周彦锋, 刘凯. 2018. 秀丽白虾 3 个地理种群 mtDNA 16S rRNA 基因序列变异及遗传分化. *大连海洋大学报*, 33(3): 323–328]
- Zhou NN. 2014. Study on genetic variation of geographic population of *Empoasca vitis* (Göthe) in tea plantation based on the mitochondrial *COI* and *COII* genes. Master thesis. Hangzhou: China Jiliang University (in Chinese) [周宁宁. 2014. 基于线粒体 *COI* 和 *COII* 基因的茶园假眼小绿叶蝉地理种群的遗传分化研究. 硕士学位论文. 杭州: 中国计量学院]

(责任编辑:张俊芳)