

基于线粒体 CO I 和 CO II 基因的 5 种不同寄主植物西花蓟马种群遗传多样性研究

田 虎¹, 张 蓉¹, 王玉生¹, 万方浩^{1,2}, 张桂芬^{1,2*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193;

2. 农业部外来入侵生物预防与控制研究中心, 北京 100193)

摘要 西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) 是一种分布广、危害大的世界性检疫害虫。本研究旨在探讨田间常见 5 种寄主植物上的西花蓟马种群的寄主专化性和遗传多样性。以采自甘肃、宁夏的辣椒、茄子、蜀葵、月季、美人蕉等 5 种寄主植物上的西花蓟马为对象, 以线粒体 CO I 和 CO II 基因为靶标, 应用 Arlequin 3.5 软件进行种群遗传多样性、遗传分化、基因流水平及分子变异分析, 以 MEGA 7.0 和 Network 5.0 软件分别构建单倍型系统发育树和中接网状树。结果显示, 当以 mtDNA CO I 和 CO II 基因为靶标时, 分别检测到 13 种和 12 种单倍型, 其中单倍型 H₁ 和 H₂ 为优势单倍型; 辣椒和茄子上的单倍型数量只有 3 种(CO I 基因)或 2 种(CO II 基因), 而蜀葵、月季和美人蕉上的单倍型数量比较多, 为 7~9 种(CO I 基因)或 8~9 种(CO II 基因); 辣椒和茄子上的种群单倍型种类、单倍型多样性、核苷酸多样性和核苷酸平均差异数等均较蜀葵、月季和美人蕉上的种群低。CO I 和 CO II 基因总寄主种群 Fu's F_s 检验结果分别为 2.36 和 4.06, 种群大小整体保持稳定; 总寄主种群固定指数 F_{ST} 和基因流 N_m 分析表明, 西花蓟马各寄主植物种群之间基因交流充分, 尚未发生明显的遗传分化; AMOVA 分析显示遗传变异主要来自种群内部; 基于 CO I 和 CO II 基因序列的单倍型聚类 and 网状树都明显分为两支, 分别对应西花蓟马的温室品系 Glasshouse strain 和羽扇豆品系 Lupin strain; 其中温室品系在所有寄主植物种群中均有发生, 而羽扇豆品系的单倍型主要来自多年生的蜀葵、月季和美人蕉等植物, 在辣椒和茄子上并无羽扇豆品系发生。研究结果对西花蓟马种群扩张机制探讨、遗传动态分析以及有效防控措施的制定具有一定指导意义。

关键词 西花蓟马; 线粒体 DNA; CO I 和 CO II 基因; 寄主植物; 遗传多样性; 系统发育分析; 网状树

中图分类号: S436.3 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2017161

Genetic diversity among five different host plant populations of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) based on CO I and CO II gene sequences

TIAN Hu¹, ZHANG Rong¹, WANG Yusheng¹, WAN Fanghao^{1,2}, ZHANG Guifen^{1,2}

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Center for Management of Invasive Alien Species, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

Abstract *Frankliniella occidentalis* (Pergande) is a worldwide quarantine pest with wide distribution and can cause serious damage. This study aimed to evaluate the host specialization and genetic diversity among different host plant populations of *F. occidentalis*. In the present study, the mtDNA CO I and CO II were selected as molecular markers. Samples were collected from five host plant species, including *Capsicum annuum*, *Solanum melongena*, *Althaea rosea*, *Rosa chinensis*, and *Canna indica* in Gansu and Ningxia provinces. The genetic diversity, genetic differentiation, gene flow and molecular variance (AMOVA) were analyzed by using the software Arlequin 3.5. Phylogenetic relationships and median-joining networks were inferred from MEGA 7.0 and Network 5.0, respectively. The results showed that 13 and 12 types of haplotype were detected when the CO I and CO II

收稿日期: 2017-05-03 修订日期: 2017-05-26

基金项目: 国家自然科学基金(31572067); 国家重点研发计划重点专项(2017YFC1200600, 2016YFC1200600); 农业部“948”计划(“一带一路”)(2016-X48); 中国农业科学院科技创新工程项目

* 通信作者 E-mail: guifenzhang3@163.com

gene sequences analyzed, respectively, and H₁ and H₂ were the dominant haplotypes. Moreover, only 3 (CO I) and 2 (CO II) types of haplotype were detected in *C. annuum* (LJ) and *S. melongena* populations, but 7-9 (CO I) or 8-9 (CO II) types were detected in *A. rosea*, *R. chinensis* or *C. indica* populations. Furthermore, the haplotype diversity (H_d), nucleotide diversity (π) and average number of nucleotide difference (K) of *C. annuum* and *S. melongena* populations were all lower than those of *A. rosea*, *R. chinensis* and *C. indica* populations. Analyses of fixation index (F_{ST}) and gene flow (N_m) based on CO I or CO II gene suggested high level of gene flow and no obvious genetic differentiation among host populations of *F. occidentalis*. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the genetic variance was mainly attributes to variation within populations. The phylogenetic tree and haplotype network analyses based on haplotypes of CO I and CO II genes showed two clear genetic branches, corresponding to the glasshouse strain and lupin strain of *F. occidentalis*, respectively. The haplotypes standing for glasshouse strain happened on all host plants, while the haplotypes standing for lupin strain were from perennial plant species *A. rosea*, *R. chinensis* and *C. indica*, but not from *C. annuum* and *S. melongena*. The present results may help us understand the population expansion mechanism, analyze genetic dynamics and set up effective management measures of *F. occidentalis*.

Key words *Frankliniella occidentalis*; mtDNA; CO I and CO II genes; host plant; genetic diversity; phylogenic analysis; haplotype network

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) 又称苜蓿蓟马, 属缨翅目 Thysanoptera 蓟马科 Thripidae, 是一种世界性检疫害虫^[1-2], 原产于美国和加拿大的西部山区, 20 世纪 80 年代遍及北美洲, 之后随国际贸易的快速发展迅速在世界范围内传播扩散^[3]。我国于 2003 年在北京郊区温室大棚的辣椒上首次发现其为害^[4], 随后迅速扩张到云南、浙江(鲜切花店)、山东、贵州、湖南、新疆等地区^[5-9], 目前已成为我国蔬菜花卉生产中的主要害虫^[10]。近年来, 我国学者已对西花蓟马的入侵来源、传播扩散途径以及局部暴发成灾机制等开展了大量研究^[11-14], 为其综合防控措施的制定提供了理论支撑。然而, 随着全球气候变化的逐年加剧、果蔬贸易的快速发展以及设施农业的普遍兴起, 西花蓟马的发生为害呈逐年加重的趋势^[10]。

西花蓟马为杂食性害虫, 且植食时寄主植物范围十分广泛, 目前已知的寄主植物种类多达 62 科, 500 余种^[15-16]。以往的研究指出西花蓟马存在两个品系, 即, 温室品系(glasshouse strain)和羽扇豆品系(lupin strain)^[3]。其中, 温室品系主要为害温室作物, 寄主植物范围广泛, 并且对常用的杀虫剂已产生了较强的抗性^[17]; 羽扇豆品系主要为害豆科植物羽扇豆; 但两个品系在形态上无法准确区分^[3, 18]。近年来的研究显示, 两个品系的西花蓟马已同时入侵我国, 并发现羽扇豆品系的寄主植物虽并非只有羽扇豆, 但其寄主植物种类相对较少, 初步统计约有 10 种^[11-14]。通常, 植食性昆虫与寄主植物之间存在

明显的协同进化关系^[19-20], 并进而可能导致寄主专化型/宗的出现^[21-22]。此外, 地理分布, 寄主植物的种类、次生代谢物以及气候条件等^[23-25]也会影响昆虫的种群遗传多样性和遗传结构。然而, 不同寄主植物上西花蓟马种群的遗传多样性及其与温室品系和羽扇豆品系的关系尚不得而知。

本研究围绕西花蓟马品系的寄主偏好性及其遗传特性, 以线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I, mtDNA CO I) 和亚基 II (mitochondrial cytochrome c oxidase subunit II, mtDNA CO II) 基因为分子标记, 以采自我国宁夏和甘肃 5 种常见寄主植物上的西花蓟马为材料, 通过比较不同寄主植物上西花蓟马种群的分子遗传学参数, 分析种群间遗传分化和基因交流特点, 构建系统发育树等, 明确各寄主植物上的西花蓟马种群的遗传结构和遗传多样性, 研究结果对西花蓟马种群扩张机制探讨、遗传动态分析以及有效防控措施制定具有一定指导意义。

1 材料和方法

1.1 样本采集

于田间蓟马高发期, 在西北地区的内蒙古(包头)、新疆(乌鲁木齐、吐鲁番)、甘肃(兰州、张掖、嘉峪关)、宁夏(银川、吴忠、青铜峡)、青海(西宁、海东)等 5 省份 11 个区域, 选择田间常见的植物(包括茄子、辣椒等蔬菜植物, 蜀葵、美人蕉等花卉植物, 以及国槐、小叶黄杨等园林植物和棉花等共计 12 种), 分

别以盘拍法随机 5 点进行样本采集。采集的所有蓟马保存于含有 99.7% 乙醇的离心管中;之后,于显微镜下确定蓟马的种类(主要依据成虫的形态特征)^[26],并统计西花蓟马的发生区域、寄主植物种类以及种群数量。然后以西花蓟马数量超过 10 头的寄主植物种群为材料,包括蜀葵 *Althaea rosea* (Linn.) Ca-

van.、月季 *Rosa chinensis* Jacq.、美人蕉 *Canna indica* Linn.、辣椒 *Capsicum annuum* Linn.、茄子 *Solanum melongena* Linn. 等,进行种群遗传多样性分析。检测对象为雌性个体,具体的地域范围为东经 98°18'42.25"~106°16'07.29",北纬 37°56'25.55"~39°43'23.21",相关信息详见表 1。

表 1 田间常见 5 种寄主植物上西花蓟马种群的采样信息

Table 1 Collection information of <i>Frankliniella occidentalis</i> populations on five common host plant species in the field				
寄主植物 Host plant	种群代码 Population code	采样点 Location	经纬度 Latitude & longitude	测序个体数量 Number of sequenced
辣椒 <i>Capsicum annuum</i>	ZYLJ	张掖 Zhangye	38° 54' 46.08" N, 100° 23' 27.95" E	14
	JYGLJ	嘉峪关 Jiayuguan	39° 43' 21.67" N, 98° 18' 44.39" E	19
茄子 <i>Solanum melongena</i>	ZYQZ	张掖 Zhangye	38° 54' 37.62" N, 100° 23' 46.33" E	15
蜀葵 <i>Althaea rosea</i>	WZSK	吴忠 Wuzhong	37° 56' 25.55" N, 106° 08' 18.61" E	22
	JYGSK	嘉峪关 Jiayuguan	39° 43' 23.21" N, 98° 18' 42.25" E	21
	ZYSK	张掖 Zhangye	38° 54' 51.19" N, 100° 22' 42.27" E	20
月季 <i>Rosa chinensis</i>	YCYJ	银川 Yinchuan	38° 28' 33.01" N, 106° 16' 07.29" E	22
	WZYJ	吴忠 Wuzhong	38° 00' 35.27" N, 106° 11' 15.72" E	21
美人蕉 <i>Canna indica</i>	YCMRJ	银川 Yinchuan	38° 29' 08.15" N, 106° 15' 16.91" E	23
总计 Total				177

1.2 西花蓟马种群基因组 DNA 提取

以 5 种寄主植物上的西花蓟马种群为材料,参照乔玮娜等的方法^[27],提取单头蓟马的 DNA。提取的 DNA 以 20 μL 超纯水复溶,浓度为 100~250 ng/μL (超微量分光光度计, NanoPhotometer™ P330, Implen, Munich, Germany), -20℃ 保存备用。

1.3 引物设计与 PCR 扩增及序列测定

参照 NCBI 数据库中西花蓟马线粒体基因组 DNA 的全长序列 (GenBank 登录号: JN835456.1), 以 CO II 区域为靶标, 利用 Oligo 7 软件自行设计引物 FOCIIIZTF1 (5'-TTT TGT ACG AAT CTC AAC A-3') 和 FOCIIIZTR1 (5'-CTA GGT CGA AAC TAA ATG C-3')。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成; 扩增片段大小约为 650 bp。CO I 基因序列的扩增使用标准的 DNA 条形码引物 LepF1 (5'-ATT CAA CCA ATC ATA AAG ATA TTG G-3') 和 LepR1 (5'-TAA ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAT CA-3'), 扩增片段大小约为 700 bp^[28]。PCR 反应体系为 25 μL, 其中, 模板 DNA 2 μL, 10 × Buffer 2.5 μL (含 Mg²⁺), dNTPs 0.5 μL (0.2 mmol/L), 上游引物和下游引物各 0.5 μL (5 pmol/L), Taq DNA 聚合酶 (5 U/μL) 0.25 μL, 超纯水 18.75 μL。扩增程序: 94℃ 预变性 5 min; 35 个循环: 94℃ 30 s, 51℃ (CO I) / 55℃ (CO II) 30 s,

72℃ 60 s; 最后 72℃ 延伸 5 min。
取 3 μL PCR 扩增产物, 加 1 μL 上样缓冲液 (0.25% 溴酚蓝, 40% 蔗糖水溶液), 在 1% (W:V) 琼脂糖凝胶 (含 0.5 μg/mL 的 Goldview II) 上以 100 V 电泳 (电泳缓冲液为 0.5 × TAE) 分离 50 min 后, 以 GelDoc Universal Hood II 型凝胶成像系统分析电泳结果, 将含有目的片段的 PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序。每一寄主种群检测的数量, 依据寄主植物的田间种植情况、西花蓟马的发生和采集情况以及测序质量而定, 各种群的检测数量为 14~63 头; 5 种寄主种群共计检测获得 CO I 基因序列 174 条, CO II 基因序列 177 条 (表 1)。

1.4 序列比对分析

1.4.1 序列检验与分析

以 MEGA 7.0 软件中的 TraceEditor 程序检验序列的峰图质量, 并进行序列阅读和人工校阅, 对峰图质量较差或出现套峰的序列直接弃用, 并重新扩增、测序和检验。然后, 以 Clustal W 软件进行多重序列比对分析, 并利用 NCBI 数据库进行 BLAST 比对, 以确保所得序列来自靶标基因。序列特征分析, 包括多态位点分析、转换/颠换偏倚率、碱基组成等也在 MEGA7.0 软件环境下完成。

1.4.2 遗传学参数计算与分析

以 DnaSP 5.10 软件计算核苷酸多样性 (π)、单倍

型多样性(haplotype diversity, H_d),以及种群间遗传分化程度评价参数 F_{ST} (固定指数)、基因流及核苷酸平均差异数(K)等分子遗传学参数^[29],并分别对 mtDNA CO I 和 CO II 基因片段进行 Tajima's D 和 Fu's F_s 中性检验^[30-31]。同时,利用 Arlequin 3.5.2.2 软件进行分子变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA)^[32]。

1.4.3 网状树和系统发育树构建

以不同寄主植物上的西花蓟马种群单倍型为靶标,应用 Network 5.0 程序中的中接网络(median-joining networks, MJ)法构建单倍型网状树^[33]。同时,以花蓟马 *Frankliniella intonsa* (GenBank: JQ917403)为外群,采用 MEGA 7.0 中的邻接法(neighbor-joining, NJ)和最大似然法(maximum likelihood, ML)分别构建系统发育树,估算西花蓟马各单倍型之间的系统发育关系。其中,NJ 树主要通过 MEGA 7.0 中的 Kimura 双参数模型(Kimura-2-Parameter)进行构建^[34],并对进化树的各分支进行 Bootstrap 检测,重复 1 000 次;而 ML 树的构建,首先由 MEGA 7.0 计算获得最优核苷酸替代模型(Tamura-3-parameter model),然后再在此基础上建树,各分支同样进行 Bootstrap 检测,重复 1 000 次。此外,以 CO I 基因为靶标构建进化树时,分别以数据库中已公开的西花蓟马温室品系(GenBank: JN790696)和羽扇豆品系(GenBank: JN790699)的相应碱基序列作为阳性参照^[11]。

2 结果与分析

2.1 西花蓟马种群 mtDNA CO I 和 CO II 基因片段的序列特征

CO I 基因经双向拼接和 Clustal W 序列比对分析后,得到的片段长度为 656 bp,共检测到 30 个多态位点,包括 6 个自裔位点和 24 个简约信息位点;其中,发生转换的位点数为 7 个,发生颠换的位点数为 1 个,转换/颠换偏倚率 R 为 5.3;核苷酸 A、T、C 和 G 的平均含量分别为 31.1%、39.0%、15.5% 和 14.5%,碱基组成具有明显的 AT 偏好性,(A+T)含量为 70.1%。CO II 基因经双向拼接和 Clustal W 序列比对后,得到的片段长度为 608 bp,共检测到 26 个多态位点,均为简约信息位点;其中,发生转换的位点数为 8 个,发生颠换的位点数为 0,转换/颠换偏倚率 R 为 27.3;核苷酸 A、T、C、G 的平均含量

依次为 34.8%、38.7%、12.9% 和 13.6%,碱基组成具有明显的 AT 偏好性,(A+T)含量为 73.5%。

2.2 不同寄主植物上的西花蓟马种群 mtDNA 单倍型分布

当以 CO I 基因为靶标时,在测序成功的 174 条序列中共检测到 13 种单倍型(haplotype, H)(H₁~H₁₃)。其中,H₁ 和 H₂ 为优势单倍型,占单倍型的 71.26% (表 2)。此外,辣椒和茄子上的西花蓟马种群只有 3 种单倍型,且都为温室品系单倍型,其中嘉峪关辣椒(JYGLJ)上的种群单倍型最少,只有 2 种;而蜀葵、月季和美人蕉上西花蓟马种群的单倍型多达 7~9 种,涉及温室品系和羽扇豆品系的所有单倍型,其中张掖蜀葵(ZYSK)上的种群单倍型最少,仅有 3 种(表 2)。当以 CO II 基因为靶标时,在测序成功的 177 条序列中,共检测到 12 种单倍型(H₁~H₁₂);其中,H₁ 和 H₂ 为优势单倍型,占有单倍型的 70.62% (表 3)。此外,辣椒和茄子上的种群均只有 2 种单倍型,都为西花蓟马温室品系;而蜀葵、月季和美人蕉上西花蓟马种群的单倍型数量为 8~9 种,同样包括了温室品系和羽扇豆品系的所有单倍型,其中嘉峪关蜀葵(JYGSK)上的种群单倍型最少,只有 2 种(表 3)。

综合分析,辣椒和茄子上的种群单倍型种类相对较少,主要以两种最常见的单倍型 H₁ 和 H₂ 为优势单倍型,分别占 96.96% 和 86.67% (CO I 基因)以及 100% 和 100% (CO II 基因);而蜀葵、月季和美人蕉上的种群单倍型种类相对较多,几乎所有的单倍型都有发现,其中以代表温室品系的单倍型 H₁ 和 H₂ 以及代表羽扇豆品系的单倍型 H₆ (CO I 基因)或 H₅ (CO II 基因)为优势单倍型(表 2~3)。

2.3 不同寄主植物上的西花蓟马种群 mtDNA CO I 和 CO II 基因遗传多样性分析

遗传多样性分析结果显示,总体上,无论以 mtDNA CO I 基因还是 CO II 基因为靶标,辣椒和茄子上的西花蓟马种群的单倍型多样性、核苷酸多样性以及核苷酸平均差异数等遗传多样性指数相对较低;而蜀葵、月季及美人蕉上的种群单倍型多样性、核苷酸多样性以及核苷酸平均差异数等遗传多样性指数则相对较高,但以 CO I 基因为靶标时的张掖蜀葵(ZYSK)上的种群和以 CO II 基因为靶标时的嘉峪关蜀葵(JYGSK)上的种群的遗传多样性

指数偏低(表 4)。*CO I*和 *CO II*基因的总寄主植物种群的 $F_u's F_s$ 中性检验结果分别为 2.36 和 4.06,且无显著性,表明西花蓟马 5 种寄主植物上的种群历史上未经历明显的扩张,其种群大小整体保持稳定。此外,所有寄主植物上的种群的 Tajima's D 和 $F_u's F_s$ 中性检验结果均未达到显著水平(表 4)。

表 2 基于 *CO I* 基因的不同单倍型在 5 种寄主植物上西花蓟马种群中的分布
Table 2 Haplotype distribution of *CO I* gene in five host plant populations of *Frankliniella occidentalis*

种群代码 Population code	单倍型数量 Number of haplotype												
	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	H_11	H_12	H_13
ZYLJ	4	9	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
JYGLJ	9	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ZYQZ	2	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
WZSK	7	4	—	1	—	4	2	2	2	—	—	—	—
JYGSK	11	4	2	1	3	—	—	—	—	—	—	—	—
ZYSK	3	14	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—
YCYJ	9	3	1	1	—	2	2	—	—	—	2	—	—
WZYJ	6	7	1	—	—	3	1	—	1	1	—	—	—
YCMRJ	5	6	—	2	3	2	—	—	—	—	4	1	—
总计 Total	56	68	4	5	6	14	6	2	3	1	6	1	2

表 3 基于 *CO II* 基因的不同单倍型在 5 种寄主植物上西花蓟马种群中的分布
Table 3 Haplotype distribution of *CO II* gene in five host plant populations of *Frankliniella occidentalis*

种群代码 Population code	单倍型数量 Number of haplotype											
	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	H_11	H_12
ZYLJ	1	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
JYGLJ	12	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ZYQZ	8	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
WZSK	6	4	2	—	4	4	2	—	—	—	—	—
JYGSK	15	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ZYSK	7	3	—	2	3	—	—	—	—	4	—	1
YCYJ	5	9	2	1	2	—	—	—	2	—	—	1
WZYJ	8	4	—	—	2	3	3	1	—	—	—	—
YCMRJ	3	7	—	2	4	2	—	—	2	2	1	—
总计 Total	65	60	4	5	15	9	5	1	4	6	1	2

表 4 西花蓟马不同寄主植物种群 mtDNA 基因遗传多样性分析及中性检验
Table 4 Genetic diversity and neutrality test of mtDNA gene among *Frankliniella occidentalis* host plant populations

基因 Gene	种群代码 Population code	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	核苷酸平均差异数(K) Average number of nucleotide difference	中性检验 Neutrality test and significance			
					Tajima's D	P	$F_u's F_s$	P
CO I	ZYLJ	0.473±0.136	0.000 9±0.000 30	0.582	−0.20	0.39	−0.21	0.29
	JYGLJ	0.526±0.040	0.000 8±0.000 06	0.526	1.55	0.98	1.45	0.72
	ZYQZ	0.457±0.141	0.000 8±0.000 26	0.495	−0.51	0.36	−0.45	0.24
	WZSK	0.844±0.047	0.012 0±0.003 31	7.840	0.54	0.78	3.97	0.95
	JYGSK	0.691±0.008	0.001 6±0.000 34	1.076	−0.91	0.47	−0.86	0.26
	ZYSK	0.489±0.116	0.009 0±0.003 60	5.905	−0.18	0.48	8.86	0.99
	YCYJ	0.779±0.082	0.007 8±0.003 43	5.147	−1.04	0.15	1.75	0.81
	WZYJ	0.795±0.060	0.010 0±0.003 54	6.568	−0.40	0.39	2.71	0.88
	YCMRJ	0.848±0.040	0.011 2±0.003 25	7.399	0.33	0.66	4.07	0.94
合计 Total		0.736±0.022	0.006 8±0.001 13	4.464	0.00	0.52	2.36	0.67

续表 4 Table 4(Continued)

基因 Gene	种群代码 Population code	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	核苷酸平均差异数(K) Average number of nucleotide difference	中性检验 Neutrality test and significance			
					Tajima' s D	P	Fu' s Fs	P
CO II	ZYLJ	0.527±0.064	0.0017±0.00021	1.055	1.83	0.98	2.70	0.89
	JYGLJ	0.491±0.068	0.0016±0.00022	0.982	1.71	0.96	2.84	0.91
	ZYQZ	0.533±0.052	0.0018±0.00017	1.067	-0.93	0.98	-1.80	0.88
	WZSK	0.801±0.050	0.0140±0.00355	8.523	0.74	0.54	6.42	0.98
	JYGSK	0.429±0.039	0.0014±0.00036	0.648	1.25	0.88	2.58	0.87
	ZYSK	0.789±0.049	0.0122±0.00386	7.437	0.21	0.61	6.16	0.98
	YCYJ	0.749±0.074	0.0091±0.00351	5.511	-0.86	0.22	3.45	0.93
	WZYJ	0.776±0.070	0.0118±0.00376	7.162	-0.04	0.52	4.59	0.96
	YCMRJ	0.822±0.049	0.0139±0.00349	8.451	0.75	0.57	5.00	0.96
合计 Total		0.711±0.021	0.0084±0.00123	5.118	0.68	0.70	4.06	0.93

2.4 不同寄主植物上的西花蓟马种群遗传分化与分子变异分析

当以 CO I 基因为靶标时,西花蓟马总寄主种群固定指数 F_{ST} 为 0.068,变异范围为-0.046~0.262;总基因流 N_m 为 6.16,变异范围为 1.41~26.03。当以 CO II 基因为靶标时,西花蓟马总寄主种群固定指数 F_{ST} 为 0.067,变异范围为-0.051~0.106;总基因流 N_m 为 8.24,变异范围为 4.21~40.74 (表 5)。综合分析显示,本研究中 5 种常见寄主植物上的西花蓟马种群之间基因交流充分,尚未发生明显的遗传分化。但两种基因反映的各种群间遗传分化水平并不完全一致,如基于 CO I 基因的分析显示,张掖茄子上的种群(ZYQZ)与嘉峪关辣椒上的种群

(JYGLJ)和蜀葵上的种群(JYGSK)以及银川美人蕉上的种群(YCMRJ)之间,张掖辣椒上的种群(ZYLJ)与张掖蜀葵上的种群(ZYSK)、银川美人蕉上的种群(YCMRJ)之间存在明显的遗传分化;而基于 CO II 基因的分析则显示,它们之间的遗传分化并不显著(表 5)。进一步的 AMOVA 分子变异分析表明,基于 CO I 基因的各种群内的遗传变异(F_{ST})差异性显著($P < 0.05$),而基于 CO II 基因上则无显著性差异($P > 0.05$),但两基因的分析均显示种群遗传变异主要源自种群内部;此外,不同寄主植物间(F_{CT})以及同一寄主不同地理种群间(F_{SC})均表现出较低的遗传变异水平($P > 0.05$),各寄主植物种群间的遗传变异不明显(表 6)。

表 5 基于 CO I 和 CO II 基因的西花蓟马寄主植物种群的遗传分化 F_{ST} (下三角)和基因流 N_m (上三角)¹⁾

Table 5 Population pairwise genetic fixation index (F_{ST}) (lower triangular) and gene flow (N_m) (upper triangular) between different *Frankliniella occidentalis* host plant populations based on CO I and CO II genes

基因 Gene	种群代码 Population code	ZYLJ	JYGLJ	ZYQZ	WZSK	JYGSK	ZYSK	YCYJ	WZYJ	YCMRJ
CO I	ZYLJ		9.52	6.07	4.67	inf	3.29	26.03	5.15	5.02
	JYGLJ	0.048		2.48	4.00	10.34	4.02	13.23	5.43	4.47
	ZYQZ	0.076*	0.167*		4.14	1.41	6.44	6.13	6.59	4.68
	WZSK	0.097*	0.111*	0.108		3.70	inf	inf	inf	inf
	JYGSK	-0.010	0.046	0.262*	0.118		2.78	13.07	4.07	3.92
	ZYSK	0.132*	0.110*	0.072	-0.024	0.152*		inf	inf	inf
	YCYJ	0.019	0.036	0.075	-0.020	0.037	-0.003		inf	inf
	WZYJ	0.088	0.084	0.070	-0.041	0.109*	-0.046	-0.027		inf
	YCMRJ	0.091	0.101	0.097*	-0.039	0.113	-0.027	-0.025	-0.039	
CO II	ZYLJ		25.840	inf	4.31	4.34	5.08	23.91	6.13	6.18
	JYGLJ	0.018		inf	4.57	inf	4.75	14.03	6.08	5.97
	ZYQZ	-0.051	-0.043		4.98	40.74	5.59	28.37	7.10	7.03
	WZSK	0.104*	0.098*	0.091*		4.31	inf	inf	inf	inf
	JYGSK	0.103	-0.037	0.012	0.104*		4.21	8.95	5.40	5.27
	ZYSK	0.089	0.095*	0.082	-0.019	0.106*		inf	inf	inf
	YCYJ	0.020	0.034	0.017	-0.021	0.053	-0.018		inf	inf
	WZYJ	0.075*	0.075	0.066	-0.043	0.085	-0.033	-0.034		inf
	YCMRJ	0.074*	0.077	0.066	-0.042	0.087*	-0.034	-0.032	-0.044	

1) * 表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
* indicates significant difference at $P < 0.05$ level (AMOVA test).

表 6 西花蓟马不同寄主种群 CO I 和 CO II 基因序列的分子变异分析¹⁾

Table 6 Analysis of molecular variance within and among different host populations of *Frankliniella occidentalis* based on CO I and CO II genes

变异来源 Source of variation	CO I					CO II				
	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of square	方差组成 Variance component	变异率/% Variance	固定系数 Fixation index	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of square	方差组成 Variance component	变异率/% Variance	固定系数 Fixation index
寄主植物间 Among host plant species	4	16.970	0.022(<i>V_a</i>)	0.96	$F_{CT}=0.009\ 6$ $P>0.05$	4	15.303	0.021(<i>V_a</i>)	0.93	$F_{CT}=0.009\ 2$ $P>0.05$
寄主植物内地理种群间 Among geographic populations within host plant species	4	14.265	0.072(<i>V_b</i>)	3.19	$F_{SC}=0.032$ $P>0.05$	4	12.481	0.042(<i>V_b</i>)	1.76	$F_{SC}=0.017$ $P>0.05$
种群内 Within populations	165	356.730	2.162(<i>V_c</i>)	95.85	$F_{ST}=0.041$ $P<0.05$	168	385.267	2.293(<i>V_c</i>)	97.31	$F_{ST}=0.027$ $P>0.05$

1) *V_a*、*V_b*、*V_c*表示方差组分的数量; *F_{CT}*: 种群间变异; *F_{SC}*: 组内不同种群间变异; *F_{ST}*: 种群内变异。
V_a、*V_b*、*V_c* represent the number of variance components; *F_{CT}*: Variation among host populations; *F_{SC}*: Variation within host populations; *F_{ST}*: Variation within populations.

2.5 单倍型系统发育及品系分析

以花蓟马 *F. intonsa* (GenBank: JN835456. 1) 为外群,采用 ML 法和 NJ 法分别构建各寄主植物上西花蓟马种群不同单倍型的系统发育树,并对系统发育树显示的拓扑关系进行分析。结果显示,当以 CO I 基因为靶标时,两种方法构建的系统进化树的聚类结果基本一致,且所有的单倍型均与外群明显区分。整体上,进化树分为明显的 2 支。其中,第一支包含 H_1~H_5, H_7~H_11 以及 H_13 等共计 11 种单倍型,对应西花蓟马的温室品系;第二支包含单倍型 H_6 和 H_12,对应西花蓟马的羽扇豆品系(图 1a, 2a)。进一步的单倍型-寄主植物对应关系分析表明,代表羽扇豆品系分支的单倍型 H_

6 和 H_12 来自寄主植物蜀葵、月季和美人蕉,而代表温室品系分支的单倍型则在所有的寄主植物上均有发生(表 2; 图 1a, 2a)。当以 CO II 基因为靶标时,两种方法构建的系统发育树的聚类结果基本一致。整体显示,系统发育树同样分为 2 支,其中,第一支包含 H_1~H_4, H_6~H_7 和 H_9~H_12 等 10 种单倍型;第二支包含 2 种单倍型,即单倍型 H_5 和 H_8;两个分支分别代表西花蓟马的温室品系和羽扇豆品系(图 1b, 2b)。并且,单倍型-寄主植物对应关系的分析结果亦与 CO I 基因的一致;亦即,代表羽扇豆品系分支的单倍型 H_5 和 H_8 来自寄主植物蜀葵、月季和美人蕉,而温室品系的各单倍型则在所有寄主植物上都有发生(表 3,图 1b, 2b)。

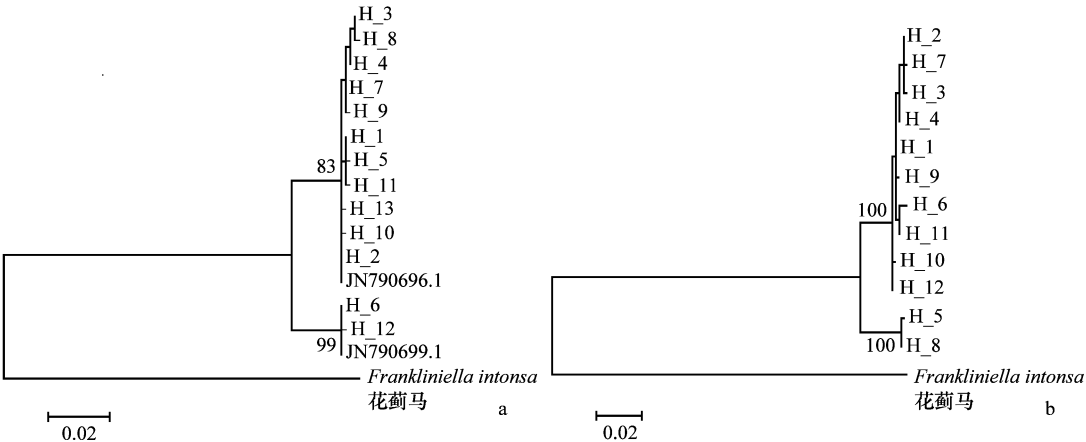


图 1 最大似然法(ML)构建的不同寄主种群西花蓟马 mtDNA CO I (a)和 CO II (b)基因单倍型系统进化树
Fig. 1 Maximum Likelihood (ML) trees based on analysis of haplotypes of mtDNA CO I (a) and CO II (b) genes from different host plant populations of *Frankliniella occidentalis*

此外,以中接法构建的单倍型网状树显示的聚类分析结果,也与系统发育树的单倍型分析结果基
本一致,亦即,西花蓟马所有的种群个体聚为 2 支,并
分别对应西花蓟马的温室品系和羽扇豆品系(图 3)。

当以 *CO I* 基因为靶标时,两个种群的比例分别为 91.38%和 8.62% (表 2, 图 3a);当以 *CO II* 基因为

靶标时,两个种群的比例分别为 90.96%和 9.04% (表 3, 图 3b)。

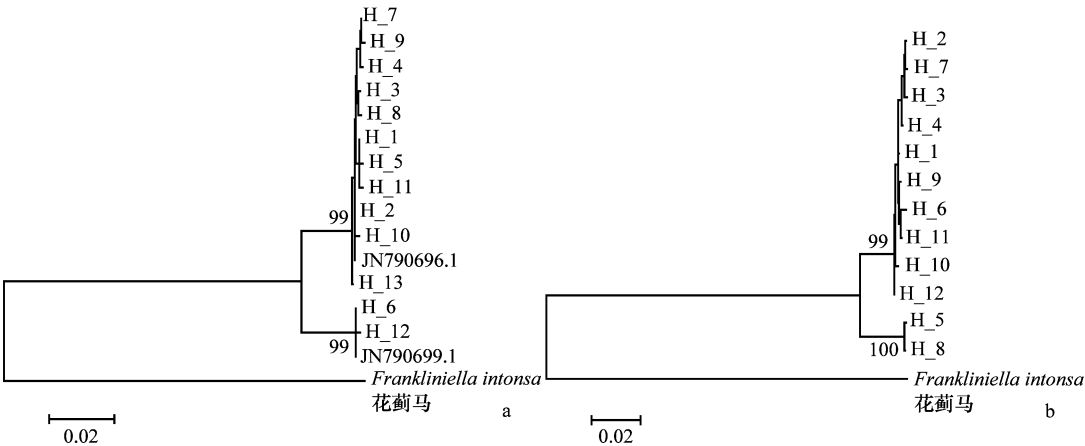
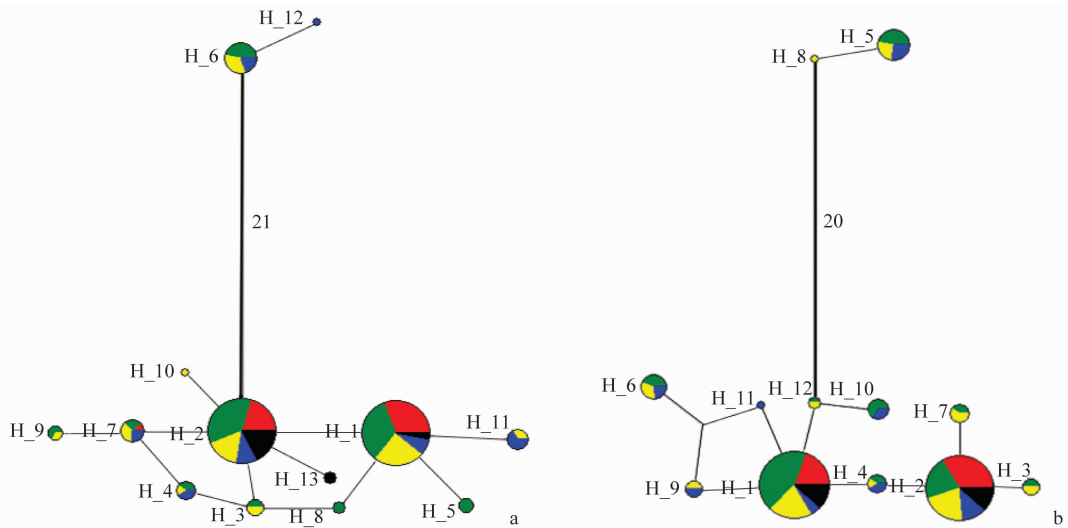


图 2 邻接法(NJ)构建的不同寄主种群西花蓟马 mtDNA *CO I* (a)和 *CO II* (b)基因单倍型系统进化树
Fig. 2 Neighbor-joining (NJ) trees based on analysis of haplotypes of mtDNA *CO I* (a) and *CO II* (b) genes from different host plant populations of *Frankliniella occidentalis*



圆圈面积的大小代表同一种单倍型的数量,不同颜色面积的大小代表同一种单倍型中不同寄主植物种群所占的比例;粗黑线旁的数字代表温室品系和羽扇豆品系间的突变步数。红色:辣椒种群;绿色:蜀葵种群;黄色:月季种群;蓝色:美人蕉种群;黑色:茄子种群
Areas of circles represent the number of individuals of each haplotype and areas of colored segments represent the population proportions of a gene haplotype from different host plant species. Numbers beside the black thick line denote mutation steps between glasshouse strain and lupin strain. Red: Population from *Capsicum annuum*; green: Population from *Althaea rosea*; yellow: Population from *Rosa chinensis*; blue: Population from *Canna indica*; black: Population from *Solanum melongena*

图 3 不同寄主西花蓟马种群 mtDNA *CO I* (a)和 *CO II* (b)基因单倍型网状树

Fig. 3 Median-joining haplotype network based on analysis of haplotypes of mtDNA *CO I* (a) and *CO II* (b) genes from different host plant populations of *Frankliniella occidentalis*

3 讨论

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分,也是维持物种进化的根本保证^[35]。就入侵生物而言,其遗传多样性极易受到“奠基者效应”、“瓶颈效应”、遗传漂变等因素的影响,并进而使入侵种群的遗传多样性降低^[36-37]。西花蓟马是本世纪初传入我国的一种重

要的外来入侵生物,为阐明其传播扩散机制我国学者相继开展了基因变异、群体遗传结构分化等方面的研究,并证实入侵我国的西花蓟马种群的遗传多样性较低,种群历史上可能经历过“瓶颈效应”^[11, 13]。本研究以 mtDNA *CO I*和 *CO II*基因为靶标,以我国宁夏和甘肃田间常见的 5 种寄主植物上的西花蓟马为对象,分析了其种群遗传多样性和遗传结构,结果显示,辣椒

和茄子上的西花蓟马种群其单倍型多样性、核苷酸多样性以及核苷酸平均差异数等遗传参数总体上均较蜀葵、月季和美人蕉等寄主种群低(表 4),结合采样地特征分析其原因可能与辣椒和茄子受人为干扰较多有关;进一步的种群间固定指数和基因流分析显示,5 种常见寄主植物上西花蓟马种群之间基因交流充分,未发生明显的遗传分化,但各种群间两种基因反映的遗传分化水平并非完全一致(表 5)。有研究表明不同线粒体基因以及蛋白质编码基因的不同编码位点的进化速率存在差异^[38-39],因此推测这种不一致可能与西花蓟马 mtDNA CO I 和 CO II 基因的突变速率不同有关。此外,研究还发现,不同寄主植物上的西花蓟马种群的多态性位点数差异不明显,且没有明显的规律性;同时,检测出的 CO I 和 CO II 基因的单倍型数量均较少,分别只有 13 种和 12 种,低于原产地的 30 种(CO I 基因)^[25],表明该区域西花蓟马种群可能经历过“瓶颈效应”,或是由于初始定殖种群数量较少而显示了“奠基者效应”。

Tajima's D 和 Fu's F_s 模型是目前两种应用最为广泛的种群内等位基因频率中性检验模型,该两种模型可用于推算种群的历史变化动态^[40]。当中性检验结果显著小于 0 时,可推断种群在历史上曾发生过规模扩张和定向选择;当中性检验结果显著大于 0 时,可认为种群大小在历史上曾发生萎缩和平衡选择;而当 D 值不显著背离 0 时,中性零假说则不能被排除,表明种群大小历史上保持相对稳定^[30-31]。本研究的 Tajima's D 和 Fu's F_s 中性检验结果均不具有显著性,表明我国西北地区的宁夏和甘肃田间 5 种寄主植物上的西花蓟马种群历史上并未经历明显的扩张,究其原因可能与其入侵时间比较短,尚未积累到足够的遗传突变而偏离中性进化有关(表 4)。进一步的系统发育分析显示,与温室品系不同,代表羽扇豆品系的单倍型主要来自多年生的蜀葵、月季和美人蕉等 3 种植物,而辣椒和茄子并无羽扇豆品系的发生,表明野外不同品系的西花蓟马其寄主偏好性可能不一样,羽扇豆品系可能更嗜食多年生植物。此结论在以往的研究中亦得到了佐证,如,在 Rugman-Jones 等的研究中^[41],除未确定种名的寄主植物外,羽扇豆品系均采自桃 *Prunus persica*、欧洲李 *Prunus domestica*、柳叶石楠 *Heteromeles arbutifolia*、巨杉 *Sequoiadendron giganteum*、加州葡萄 *Vitis californica*、灌木羽扇豆 *Lupinus arboreus*、花菱草 *Eschscholzia californica*、全缘叶美洲茶 *Ceanothus integerrimus* 等多年生

植物;在我国的相关研究中,羽扇豆品系亦多采自月季、三叶草 *Trifolium repens*、绣球花 *Hydrangea macrophylla*、洋蓟 *Cynara scolymus*、油菜 *Brassica campestris*,以及多花蔷薇 *Rosa multiflora*、大丽花 *Dahlia pinnata* 和鸡冠花 *Celosia cristata* 等植物^[12-14],这些寄主植物亦多为二年生、多年生或越年生。故此推测,多年生/越年生植物可能更有利于西花蓟马羽扇豆品系种群的发生。

本研究对象为西北地区宁夏、甘肃范围内常见的 5 种寄主植物上的西花蓟马种群,寄主种类相对较少,而西花蓟马属杂食性害虫,寄主范围广泛,因此有关其寄主专化性以及种群遗传多样性尚需进一步研究,未来应在更广泛的地理范围开展样本采集,并需要结合生物学、生态学等特性予以佐证。

参考文献

- [1] KIRK W D J. The pest and vector from the west: *Frankliniella occidentalis* [C]//Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera, Canberra, Australia: Australian National Insect Collection, 2002: 33-42.
- [2] 吕要斌, 贝亚维, 林文彩, 等. 西花蓟马的生物学特性、寄主范围及危害特点[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(5): 317-320.
- [3] KIRK W D J, TERRY L I. The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande)[J]. Agricultural and Forest Entomology, 2003, 5(4): 301-310.
- [4] 张友军, 吴青君, 徐宝云, 等. 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生危害[J]. 植物保护, 2003, 29(4): 58-59.
- [5] 吴青君, 徐宝云, 张治军, 等. 京、浙、滇地区植物蓟马种类及其分布调查[J]. 中国植保导刊, 2007, 27(1): 32-34.
- [6] 郑长英, 刘云虹, 张乃芹, 等. 山东省发现外来入侵有害生物——西花蓟马[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2007, 24(3): 172-174.
- [7] 袁成明, 邹军锐, 李景柱, 等. 贵州省蔬菜蓟马种类调查研究[J]. 中国植保导刊, 2008, 28(7): 8-10.
- [8] 刘佳, 张林, 卢焰梅, 等. 湖南外来入侵害虫西花蓟马初步调查[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(25): 13800-13801.
- [9] 杨华, 崔元珂, 张升, 等. 外来入侵害虫-西花蓟马在新疆的发生为害[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(11): 2252-2253.
- [10] 吕要斌, 张治军, 吴青君, 等. 外来入侵害虫西花蓟马防控技术研究 with 示范[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(3): 488-496.
- [11] YANG Xianming, SUN Jingtao, XUE Xiaofeng, et al. Invasion genetics of the western flower thrips in China: evidence for genetic bottleneck, hybridization and bridgehead effect [J]. PLoS ONE, 2012, 7: e34567.
- [12] DUAN Huisheng, YU Yi, ZHANG Ansheng, et al. Genetic diversity and inferences on potential source areas of adventive *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in Shandong, China based on mitochondrial and microsatellite markers [J]. Florida Entomologist, 2013, 96(3): 933-940.

- [13] 沈登荣, 宋文菲, 袁盛勇, 等. 基于 mtDNA-CO I 的云南西花蓟马的遗传分析[J]. 植物保护, 2014, 40(5): 75-79.
- [14] 张桂芬, 乔玮娜, 古君伶, 等. 我国西花蓟马线粒体 DNA-CO I 基因变异及群体遗传结构分析[J]. 生物安全学报, 2014, 23(3): 196-209.
- [15] LOOMANS A J M, LENTEREN J C V. Biological control of thrips pests: a review on thrips parasitoids [J]. Wageningen Agricultural University Papers, 1995, 95(1): 89-201.
- [16] MORITZ G. The biology of thrips is not the biology of their adults; a developmental view [C]//Thrips and Tospoviruses; Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera, Canberra, Australia; Australian National Insect Collection, 2002: 259-267.
- [17] BRØDSGAARD H F. Insecticide resistance in European and African strains of western flower thrips (Thysanoptera; Thripidae) tested in a new residue-on-glass test [J]. Journal of Economic Entomology, 1994, 87(5): 1141-1146.
- [18] NIELSEN M C, TEULON D A J, CHAPMAN R B, et al. Comparison of life history parameters of two *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera; Thripidae) strains in New Zealand [J]. Environmental Entomology, 2010, 39(2): 303-311.
- [19] JANZ N, NYBLÖM K, NYLIN S. Evolutionary dynamics of host-plant specialization: a case study of the tribe Nymphalini [J]. Evolution, 2001, 55(4): 783-796.
- [20] NOVOTNY V, DROZD P, MILLER S E, et al. Why are there so many species of herbivorous insects in tropical rainforests? [J]. Science, 2006, 313(5790): 1115-1118.
- [21] BRUNNER P C, CHATZIVASSILIOU E K, KATIS N I, et al. Host-associated genetic differentiation in *Thrips tabaci* (Insecta; Thysanoptera), as determined from mtDNA sequence data [J]. Heredity, 2004, 93(4): 364-370.
- [22] JURADO-RIVERA J A, VÖGLER A P, REID C A, et al. DNA barcoding insect-host plant associations [J]. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 2009, 276(1657): 639-648.
- [23] MOPPER S. Adaptive genetic structure in phytophagous insect populations [J]. Trends in Ecology and Evolution, 1996, 11(6): 235-238.
- [24] PÖYRY J, LUOTO M, PAUKKUNEN J, et al. Different responses of plants and herbivore insects to a gradient of vegetation height: an indicator of the vertebrate grazing intensity and successional age [J]. OIKOS, 2006, 115(3): 401-412.
- [25] BRUNNER P C, FREY J E. Habitat-specific population structure in native western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Insecta, Thysanoptera)[J]. Journal of Evolutionary Biology, 2010, 23(4): 797-804.
- [26] FUNDERBURK J, DIFFIE S, SHARMA J, et al. Thrips of ornamentals in the southeastern US [J]. Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2007, ENY-845 (IN754).
- [27] 乔玮娜, 万方浩, 张爱兵, 等. DNA 条形码技术在田间常见蓟马种类识别中的应用[J]. 昆虫学报, 2012, 55(3): 344-356.
- [28] HEBERT P D N, PENTON E H, BURNS J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(41): 14812-14817.
- [29] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [30] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. Genetics, 1989, 123(3): 585-595.
- [31] FU Yunxin. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection[J]. Genetics, 1997, 147(2): 915-925.
- [32] EXCOFFIER L, LISCHER H E. Arlequin suite ver3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [33] BANDELT H J, FORSTER P, RÖHL A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies [J]. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [34] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [35] GIENAPP P, TEPLITSKY C, ALHO J S, et al. Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses [J]. Molecular Ecology, 2008, 17(1): 167-178.
- [36] AUSTERLITZ F, JUNG-MÜLLER B, GODELLE B, et al. Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization [J]. Theoretical Population Biology, 1997, 51(2): 148-164.
- [37] TSUCHIDA K, KUDÔ K, ISHIGURO N. Genetic structure of an introduced paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera, Vespidae) in New Zealand [J]. Molecular Ecology, 2014, 23(16): 4018-4034.
- [38] HUA Jimeng, LI Ming, DONG Pengzhi, et al. Comparative and phylogenomic studies on the mitochondrial genomes of Pentatomomorpha (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) [J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 610.
- [39] NEGRISOLO E, BABBUCCI M, PATARNELLO T. The mitochondrial genome of the ascalaphid owlfly *Libelloides macaronius* and comparative evolutionary mitochondriomics of neuropterid insects [J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 221.
- [40] NIELSEN R. Molecular signatures of natural selection[J]. Annual Review of Genetics, 2005, 39: 197-218.
- [41] RUGMAN-JONES P F, HODDLE M S, STOUTHAMER R. Nuclear-mitochondrial barcoding exposes the global pest western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as two sympatric cryptic species in its native California [J]. Journal of Economic Entomology, 2010, 103(3): 877-886.