

基于 CO II 基因序列的斑腿蝗科部分亚科的分子系统学研究

马 兰, 黄 原*

(陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062)

摘要: 采用 PCR 产物直接测序法测定了斑腿蝗科 10 个亚科 16 属 22 种的 CO II 基因 585 bp 的片段, 对序列的碱基组成进行了分析, 并评估了数据集的系统发育信号, 最后, 以癞蝗科的肃南短鼻蝗作为外群, 采用 NJ 法、MP 法、ML 法以及贝叶斯推论法构建了系统树, 以解决这些物种所代表的亚科之间的系统发育关系。结果表明: 22 种斑腿蝗科昆虫的 CO II 基因序列碱基组成表现强烈的 A+T 含量偏向性。对 CO II 基因 585 bp 序列片段构成的全数据集和根据密码子不同位点划分的密码子第一、第二和第三位点数据集的系统发育信号分析显示, 所有数据集都具有一定的系统发育信息。在 4 种方法得到的合一树中发现: (1) 星翅蝗亚科、刺胸蝗亚科、黑背蝗亚科、斑腿蝗亚科的亲缘关系较近; (2) 卵翅蝗亚科与稻蝗亚科亲缘关系较近, 建议卵翅蝗亚科似乎应归入稻蝗亚科中, 板胸蝗亚科与这两个亚科的关系较近; (3) 黑蝗亚科和秃蝗亚科似乎应合并为一个亚科; (4) 切翅蝗亚科的 4 个属未聚在一起, 表明这些属的区别较大, 不是一个单系群; (5) 黑蝗亚科和秃蝗亚科关系较近, 且与本研究中其他几个亚科的亲缘关系相对较远。研究结果表明 CO II 基因在解决斑腿蝗科的亚科以下属种间的系统发育关系时是一个有效的分子标记。

关键词: 直翅目; 斑腿蝗科; CO II 基因; 分子进化; 系统发育

中图分类号: Q969 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)06-0982-09

Molecular phylogeny of some subfamilies of Catantopidae (Orthoptera: Caelifera: Acridoidea) in China based on partial sequence of mitochondrial CO II gene

MA Lan, HUANG Yuan* (College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: A total of 22 species (representing 10 subfamilies and 16 genera) and an outgroup species, *Filchnerella sunanensis*, were sampled in this study. A 585 bp sequence of CO II gene was amplified using PCR, and then sequenced directly through cycling sequencing method. Several statistical approaches were used to test the phylogenetic signal in the DNA sequence data sets and three partition data sets, which were defined based on different codon positions. Phylogenetic analyses by the Neighbor Joining (NJ), maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) were employed to reconstruct the phylogeny. The results indicated that the CO II gene sequences of 22 species were highly A+T biased. All of the different data sets contained strong phylogenetic signal. It can be found from the consensus tree that: (1) the relationships among Calliptaminae, Cyrtacanthacridinae, Eyprepocnemisinae and Catantopinae are close. (2) The relationship between Caryandinae and Oxyinae is also close. It is so reasonable to include the subfamily Caryandinae into the subfamily Oxyinae, with Spathosterninae as sister group. (3) Melanoplinae should merge with Podisminae into one subfamily. (4) The relationships of species and genera within Coptacrinae, as well as its relationships with other subfamilies were not resolved. (5) The relationship between Melanoplinae and Podisminae is close, and both are distant to other subfamilies here studied. The results prove that CO II gene

基金项目: 国家自然科学基金项目(30470238)

作者简介: 马兰, 女, 陕西大荔人, 现在陕西广播电视大学工作, E-mail: lanlanm98@sina.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: yuanh@snnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2006-03-06; 接受日期 Accepted: 2006-07-03

is a useful marker to infer phylogenetic relationships among species and genera within a subfamily.

Key words : Orthoptera ; Catantopidae ; CO II gene ; molecular evolution ; phylogeny

斑腿蝗科(Catantopidae)是蝗总科(Acridoidea)中最大的一个科,全世界已知有3 000多种。我国斑腿蝗科共计95属335种(李鸿昌等,2006),大部分分布于长江以南地区,属东洋界种类,物种多样性比较丰富。该科分布在我国的种类被分为17个亚科,亚科的单系性及它们之间的系统发育关系在国内外分类学者存在较大的争议。多年来,不同学者从形态学、细胞学、分子水平等方面对其进行过探讨。近年来又开始分子水平的研究。郑哲民等(2001)应用RAPD技术对斑腿蝗科8属11种蝗虫的分类关系进行了研究,从DNA多态性水平探讨了8属之间的进化关系。蒋国芳和陆敢(2003)运用RAPD技术,分析了我国蔗蝗属3种蝗虫的DNA多态性。张建珍等(2003)用RAPD技术对稻蝗属部分种类的亲缘关系进行了分析。任竹梅等(2002)采用*Cytb*基因研究了山稻蝗及相关物种、不同地域日本稻蝗、小稻蝗等的亲缘关系。刘殿锋等(2005)采用16S rRNA基因序列斑腿蝗科10亚科20种蝗虫来探讨斑腿蝗科的单系性及亚科之间的关系。

本研究采用PCR产物直接测序法测定了斑腿蝗科22种昆虫的线粒体CO II基因585 bp的片段,以癞蝗科肃南短鼻蝗作为外群,构建系统树,探讨各属种及亚科之间的系统发育关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用标本均为无水乙醇浸泡标本,标本的来源见表1,材料取自标本的后足股节。

1.2 基因组总DNA的提取

本实验的DNA提取采用酚-氯仿-异戊醇法,提取到的DNA加入30~50 μ L灭菌三蒸水溶解,-20 $^{\circ}$ C保存。

1.3 PCR扩增及测序

PCR扩增所用引物为昆虫特异引物(Simon *et al.*, 1994),CO II am(*tRNA^{LEU}*): 5'-AATATGGCAGATTAGTGCA-3', CO II B-605: 5'-GCTCCACAAATTTCTGAGCA-3',由上海生工生物技术有限公司合成。

扩增体系为50 μ L体积,其中dNTP(1 mmol/L)

10 μ L, Mg^{2+} (25 mmol/L) 5 μ L, buffer(10 \times) 5 μ L, CO II -1, CO II -2(10 μ mol/L)各2.4 μ L, TaqE(2.5 U/ μ L) 1.2 μ L, 样品2 μ L, 加灭菌三蒸水22 μ L。

PCR反应条件:94 $^{\circ}$ C预变性4 min,运行循环:94 $^{\circ}$ C变性45 s,58 $^{\circ}$ C退火1 min,72 $^{\circ}$ C延伸1 min,共35个循环,72 $^{\circ}$ C延伸8 min,4 $^{\circ}$ C保温。

个别样品在实验中出现非特异的条带,并且经优化条件无法去除,因此使用了DNA凝胶回收试剂盒对其进行了纯化,将纯化结果二次PCR后测序。PCR扩增产物和纯化产物交由上海生工生物技术有限公司和上海博亚生物公司完成测序。

1.4 实验数据的处理和分析

序列用ClustalX 1.83软件(Thompson *et al.*, 1997)软件进行比对,删除两端信号较差的碱基,共得到长为585 bp的序列,并将序列划分为全数据组和根据密码子的不同位点划分的密码子第一位、第二位和第三位数据组,采用MEGA2.0(Kumar *et al.*, 2001)进行序列组成分析,并对数据集的系统发育信号进行评估,内容包括替换饱和分析、树长分布分析和PTP检验。

在PAUP* 4.0b10(PPC)(Swofford, 2001)中采用NJ法、MP法、ML法构建系统树。在MP法建树中,根据碱基的替换饱和程度采用一定的加权策略,性状优化方式选用加速变换法(ACCTRAN),搜索树的方法采用启发式(heuristic)搜索,并统计其树长,同型指数,自举重抽样和计算衰退指数(decay index, DI)观察分支的支持度。在NJ法建树中,选择不同替换模型估计序列两两之间的进化距离,然后以邻接法(NJ)构建系统发育树。ML法建树时,进化模型的选择使用Modeltest 3.06软件,得到hLRT选出的最优模型及模型的相应参数。在PAUP*中对最优模型进行设置并赋予具体的参数值,启发式搜索最大似然树。贝叶斯法建树采用MrBayes V3.0软件(Huelsenbeck and Ronquist, 2001),以随机树为起始树,选用的模型与最大似然法得到的最优模型一致,共运行150 000代,每10代抽样一次,同时运行4个马尔可夫链,在舍弃老化样本后,根据剩余的样本构建合一树。

表 1 样品来源及其 CO II 基因序列 GenBank 登录号

Table 1 Source of sampled taxa and GenBank accession numbers of their CO II gene sequences

亚科 Subfamily	种名 Species	采集地点 Locality	采集时间 Date	登录号 GenBank accession no.
稻蝗亚科 Oxyinae	中华稻蝗 <i>Oxya chinensis</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2002-08	DQ099590
	小稻蝗 <i>Oxya intricata</i>	陕西周至 Zhouzhi, Shaanxi	2002-09	DQ099580
卵翅蝗亚科 Caryandinae	小卵翅蝗 <i>Caryanda elegans</i>	云南勐仑 Menglun, Yunnan	1998-07	DQ099589
黑蝗亚科 Melanoplinae	峨眉腹露蝗 <i>Fruhstorferiola omei</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2003-10	DQ099586
	华阴腹露蝗 <i>Fruhstorferila huayinensis</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2002-08	DQ099592
	中华越北蝗 <i>Tonkinacris sinensis</i>	四川驰永江 Chiyongjiang, Sichuan	2004-07	DQ118036
秃蝗亚科 Podisminae	秦岭蹦蝗 <i>Sinopodisma tsilingensis</i>	陕西柞水 Zuoshui, Shaanxi	2002-09	DQ099591
	秦岭小蹦蝗 <i>Pedopodisma tsilingensis</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2003-10	DQ099593
刺胸蝗亚科 Cyrtacanthacridinae	棉蝗 <i>Chondracris rosea rosea</i>	海南海口 Haikou, Hainan	2003-10	DQ099579
	日本黄脊蝗 <i>Patanga japonica</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2003-11	DQ099584
切翅蝗亚科 Coptacridinae	四川凸额蝗 <i>Traulia szetschuanensis</i>	贵州荔波 Libo, Guizhou	2003-07	DQ099588
	小凸额蝗 <i>Traulia minuta</i>	云南勐腊 Mengla, Yunnan	2002-07	DQ099597
	南方十字蝗 <i>Epistaurus meridionalis</i>	海南三亚 Sanya, Hainan	2003-10	DQ099587
	越北胸斑蝗 <i>Apalacris tonkinensis</i>	云南勐腊 Mengla, Yunnan	2004-07	DQ099595
	斜翅蝗 <i>Eucoptacra praemorsa</i>	云南勐腊 Mengla, Yunnan	2004-07	DQ099596
斑腿蝗亚科 Catantopinae	大斑外斑腿蝗 <i>Xenocatantops humilis</i>	海南三亚 Sanya, Hainan	2003-10	DQ099585
	短角外斑腿蝗 <i>Xenocatantops brachycerus</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2003-11	DQ099577
星翅蝗亚科 Calliptaminae	短星翅蝗 <i>Calliptamus abbreviatus</i>	甘肃秦安 Qin'an, Gansu	1999-08	DQ099578
	意大利蝗 <i>Calliptamus italicus</i>	甘肃永靖 Yongjing, Gansu	2001-08	DQ099582
黑背蝗亚科 Eyprepocnemisinae	长翅素木蝗 <i>Shirakiacris shirakii</i>	陕西长安 Chang'an, Shaanxi	2002-07	DQ099583
	云贵素木蝗 <i>Shirakiacris yunkweiensis</i>	云南大理 Dali, Yunnan	1997-08	DQ099581
板胸蝗亚科 Spathosteninae	中华板胸蝗 <i>Spathosternum prasiniferum sinense</i>	贵州罗甸 Luodian, Guizhou	2003-08	DQ099598
垛背蝗亚科 Thrinchinae	肃南短鼻蝗 <i>Filchnerella sunanensis</i>	甘肃肃南 Sunan, Gansu	2001-07	DQ099594

2 结果与分析

2.1 CO II 基因的序列组成和分子进化特征

在测定的 22 种斑腿蝗科昆虫 CO II 基因 585 bp 序列中, 碱基组成存在明显的偏向性, A, T, G, C 含量分别为 36.6%, 32.6%, 14.0%, 16.9%, A + T 含量为 69.2%, G + C 含量为 30.9%, 在昆虫 G + C 含量中(19.5% ~ 33.1%) (Liu and Beckenbach, 1992) 属于较高水平。另外, 不同密码子的 A, T, G, C 含量也不同, 但都表现明显的 A + T 含量偏向性, 特别在密码子第三位, A + T 含量高达 88.8%。密码子第三位 G 含量较少, 只有 2.3%, 并且在不同种间差异较大(0.5% ~ 4.1%), C 含量在不同种间的差异也比较大(2.6% ~ 11.8%)。

在比对的序列中, 保守位点占 48.7%, 变异位

点占 51.3%, 简约信号位点占 44.8%。密码子第二位最为保守, 其保守位点占所有保守位点数的 53.3%, 密码子第三位可变位点数最多, 占所有可变位点数的 53.7%, 并且, 简约信号位点也多集中在这一位点, 其比例为 55%。可见密码子第三位碱基的进化速率较快。通过对序列分歧度(未校正的遗传距离) p 与 R 值关系分析发现在分歧度 < 15% 时, R 值一般大于 1, 转换多于颠换; 在分歧度位于 15% ~ 25% 之间时, R 值一般在 1 左右, 即转换和颠换基本相同; 在分歧度 > 25% 时, R 值一般小于 1, 颠换多于转换。分类单元的分歧度集中于 15% ~ 25%。

不同密码子间, 碱基替换也表现一定差异。密码子第三位发生碱基替换的频率较高, 其中转换占所有转换发生数的 52%, 颠换占 68%。密码子第二位碱基替换发生较少, 分别占转换发生数的 10.4%, 颠换发生数的 10%。

2.2 系统发育信号评估

全数据组的替换饱和分析结果(图 1)表明:颠换的饱和程度不明显(基本呈直线),但转换有饱和的趋势(图中有达到一个平台的趋势)。密码子第三

位碱基的饱和替换分析结果(图 2)表明:在这一位点上颠换与前面三个数据组相似,未达到饱和,但是转换的饱和趋势比较明显(呈现一个平台)。

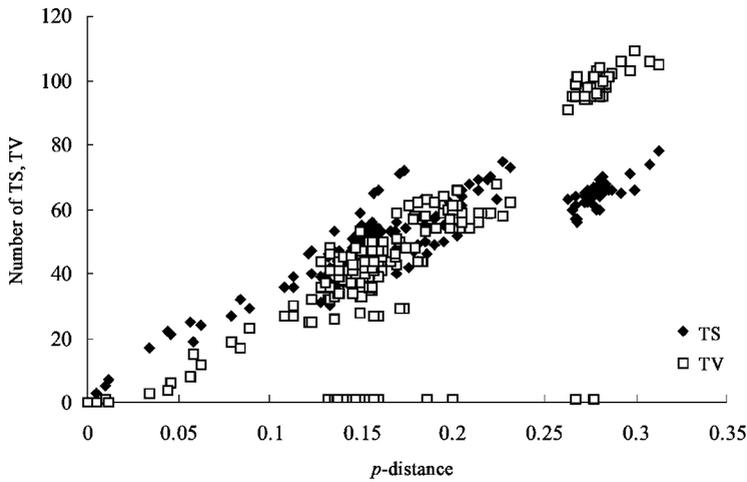


图 1 23 种蝗虫 CO II 基因全数据组的替换饱和分析

Fig. 1 Substitution saturation analysis of CO II data set in 23 studied species
TS 转换 Transition; TV 颠换 Transversion. 下同 The same below.

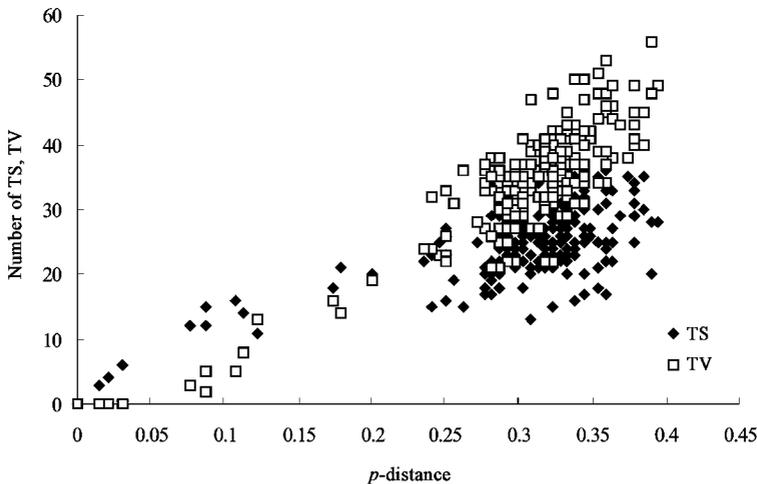


图 2 23 种蝗虫 CO II 基因密码子第三位碱基的替换饱和分析

Fig. 2 Substitution saturation analysis of the third codon position of CO II gene in 23 studied species

各数据组随机抽样的 10 000 棵树的树长分布柱状图均向左偏斜,全数据组、密码子第一位、第二位和第三位数据组的 g_1 值分别为 -1.670731 、 -2.354002 、 -3.395740 、 -1.03857 ,都具有统计学显著性($P < 0.01$),说明 4 个数据组中都包含较强的系统发育信号。比较不同数据组的 g_1 统计值,密码子第二位 g_1 值最小,密码子第三位 g_1 值最大,即密码子第二位数据组的树长分布图最偏斜,密码子第三位偏斜度最小。密码子第三位较高的 g_1 值显示其系统发育信息相对其他几个数据组要少。

4 个数据组的 PTP 检验(随机产生 5 000 个随机数据矩阵),结果 P 都是 0.0002,显著小于 0.05,显示这 4 个数据组都具有系统发育信息。

2.3 系统发育分析

在对碱基的替换饱和分析中发现转换呈现饱和,故对数据组转换和颠换给予不同的权值,以 HKY85 + I + G 为进化模型,通过似然法估计的转换和颠换比(TS/TV)约为 2,故对转换和颠换给予 1:2 的权值。图 3 是对转换和颠换加权的 MP 树。该树的同型指数 CI 为 0.492,RI 为 0.608。

分别采用未校正 P -distance、K2 P、HKY85 和 GTR 4 种模型构建 NJ 树,并对结果进行 1 000 次重复抽样的 bootstrap 自举检验。4 种距离法得到的 NJ 系统树拓扑结构基本一致,其 ME-score 分别为 1.29679、1.48915、1.50969、1.53233。用默认设置 (HKY85) 计算这些树的似然值均为 4 964.02844,似然值没有差异。NJ 树与 MP 树相似,只有 2 种凸额蝗的位置从 MP 树的与斑腿蝗亚科为姐妹群关系改

变为 NJ 树的与秃蝗亚科 + 黑蝗亚科为姐妹群关系。

应用 Modtest 软件进行模型的选择结果表明,最适于拟合该数据集的 DNA 进化模型为 GTR + I + G。将选好的 GTR + I + G 模型和估计的各参数在 PAUP* 中进行设置,得到一棵似然值为 4 486.30119 的最优树(图 4)。由于数据量较大,所以自举重抽样将重复次数定义为 100 次。

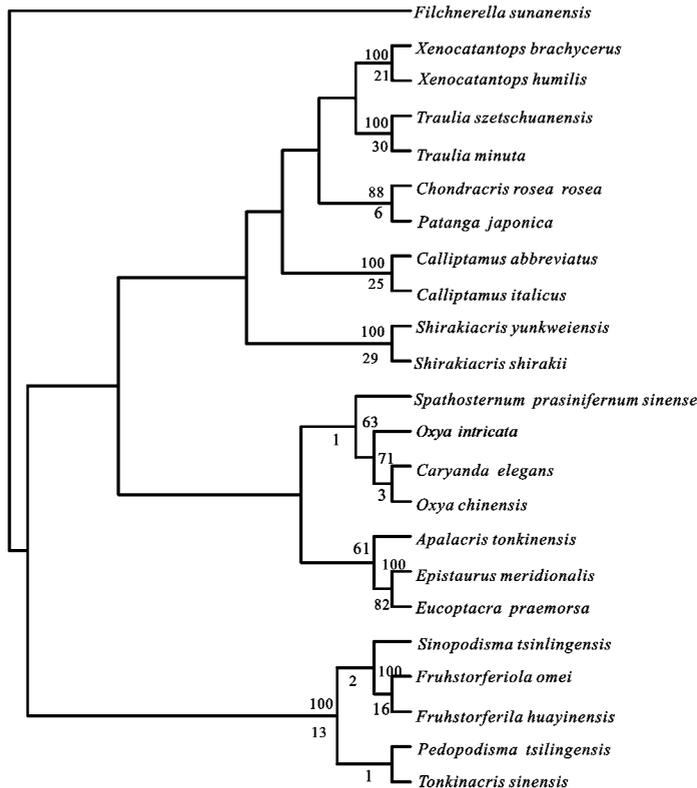


图 3 对 23 种蝗虫 CO II 基因进行转换和颠换加权的 MP 树

Fig. 3 MP tree of 23 studied species from the transition and transversion weighted scheme analysis

图中分支上面的数字是 bootstrap 1 000 次重复抽样的置信值,只显示分支支持度大于 50% 置信值;分支下面的数字是衰退/支持指数值,在未标出分支上的该指数为 0。Numbers above the branches indicate the bootstrap percentages (1 000 replicates), only > 50% branches are showed; numbers below the branches are rescaled Bremer's support indices, with 0 unshowed.

在 MrBayes V3.0 中运行数据文件,选用极似然法模型选择得到的 GTR + I + G 模型,以随机树为起始树,共运行 150 000 代,每 10 代抽样一次,共得到 15 001 棵树,及其相对的似然值和模型参数。将开始的 20 000 代作为老化 (burn-in) 数据舍弃,仅对剩余的 13 000 次抽样计算合一树。图 5 是最终得到的完全合一树。

采用 4 种系统树构建方法得到的系统树拓扑结构存在一定的差别,选择 ML 法、BI 法、NJ 法和转换和颠换加权的 MP 法的系统树进行比较,ML 法和 BI 法树的拓扑结构基本相同,NJ 法和 MP 法与之相

比存在一定差别。对这 4 棵树进行合一,得到如图 6 所示的 50% 合一树。由合一树可见:(1) 星翅蝗亚科、刺胸蝗亚科、黑背蝗亚科、斑腿蝗亚科的亲缘关系较近;(2) 卵翅蝗亚科与稻蝗亚科亲缘关系较近,卵翅蝗亚科似乎应归入稻蝗亚科中;板胸蝗亚科与这两个亚科的关系较近;(3) 黑蝗亚科和秃蝗亚科似乎应合并为一个亚科;(4) 切翅蝗亚科内部属种之间以及它与上述几个亚科的系统发育关系未得到解决;(5) 黑蝗亚科、秃蝗亚科与本研究其他几个亚科相比较亲缘关系较远。

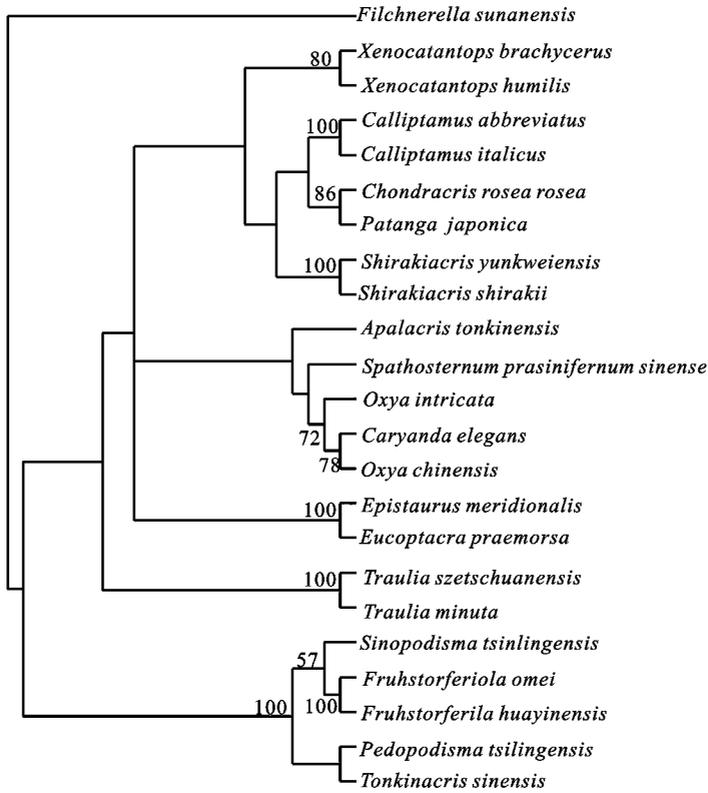


图 4 基于 GTR + I + G 模型构建的 23 种蝗虫的 ML 树

Fig. 4 ML tree of 23 studied species based on the GTR + I + G model

分支上的数字表示 bootstrap 100 次重复抽样的置信值, 只显示分支支持度大于 50% 置信值。Numbers above the branches indicate the bootstrap percentages (100 replicates), only > 50% branches are showed.

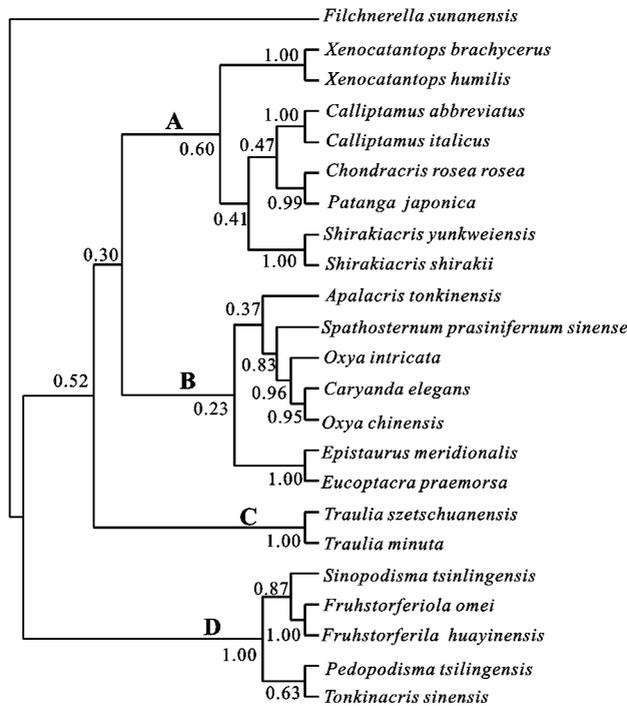


图 5 贝叶斯推论法构建的 23 种蝗虫的系统树

Fig. 5 Phylogenetic tree of 23 studied species obtained from Bayesian analysis

后验概率值注明在分支上。Numbers on the tree represent the values of posterior probability values.

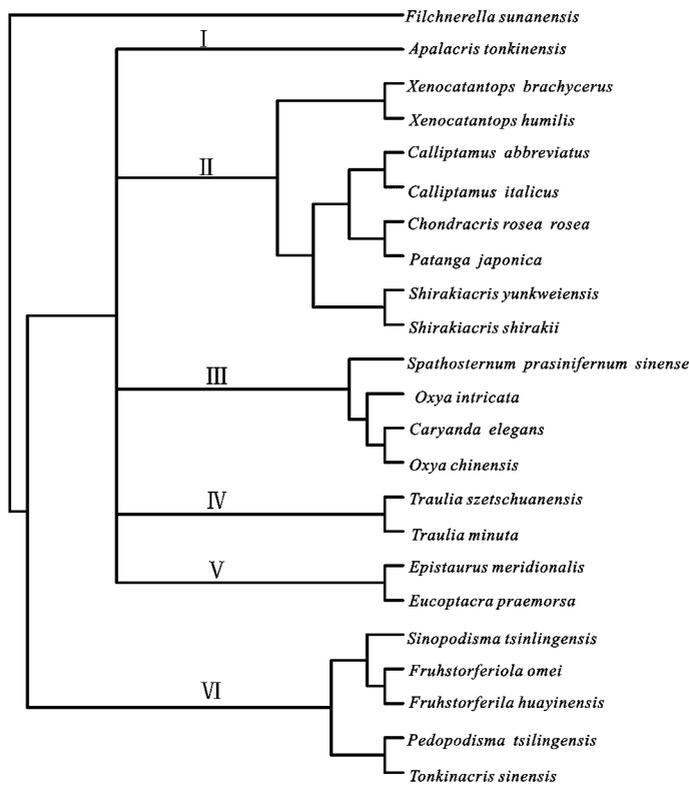


图 6 23 种蝗虫的 ML 树、贝叶斯树、NJ 树和 wMP 树的 50% 合一树

Fig. 6 50% consensus tree of 23 studied species from ML tree, BI tree, NJ tree, and weighted MP tree

3 讨论

3.1 22 种斑腿蝗种间及亚科间系统发育关系的讨论

采用线粒体 CO II 基因序列,通过常用的 4 类不同的方法构建的斑腿蝗科 10 个亚科 16 属 22 种蝗虫的系统发育关系,结果发现 ML 法和 BI 法构建的系统树拓扑结构一致, NJ 法、MP 法系统树与它们存在一定区别,为了获得最大的一致性结论,我们对这 4 种方法获得的系统树构建了合一树。

从合一树上可以将所研究的类群分为 6 个分支:

分支 I 只有越北胸斑蝗,显示该种与其他种类的关系疏远。

分支 II 是((星翅蝗亚科,刺胸蝗亚科)黑背蝗亚科)斑腿蝗亚科)。包括外斑腿蝗属(大斑外斑腿蝗,短角外斑腿蝗),星翅蝗属(短星翅蝗,意大利蝗),棉蝗属(棉蝗),黄脊蝗属(日本黄脊蝗),素木蝗属(长翅素木蝗,云贵素木蝗)。郑哲民等(2001)研究了斑腿蝗科部分种类 RAPD 带型变异并进行聚类分析,发现星翅蝗属、素木蝗属、外斑腿蝗属相聚,并

分析指出在形态上,它们均属于前翅发达型,并且这些属的雄性外生殖器的特征也比较一致。马恩波等(2001)对斑腿蝗科精小管形态的研究发现,棉蝗属、黄脊蝗属、星翅蝗属、素木蝗属的精小管形态具有一定的相似性。这些分子和形态学方面的证据说明了上述亚科中的属种具有较近的亲缘关系。

分支 III 为(稻蝗亚科 + 卵翅蝗亚科,板胸蝗亚科)。该分支包括稻蝗属(中华稻蝗、小稻蝗),卵翅蝗属(小卵翅蝗),板胸蝗属(中华板胸蝗)。在该分支中中华稻蝗与小卵翅蝗先聚再与小稻蝗相聚,这显示卵翅蝗亚科与稻蝗亚科似乎应合为一个亚科。16S rRNA 序列分析的结果是卵翅蝗、伪稻蝗和稻蝗三者有很近的亲缘关系(刘殿锋等,2005)。作为关系较近的种类它们在形态学上的区别主要是:稻蝗亚科的前、后翅发达,前翅前缘具发音齿,后足胫节端半部通常呈片状扩大,卵翅蝗亚科的前翅侧置,无发音齿,后足胫节端半部不呈片状扩大。马恩波和郭亚平(1995)的细胞学研究发现稻蝗属和卵翅蝗属的染色体常规核型和 C 带带型方面存在共性。卵翅蝗属自 1878 年建立以来,在亚科级的分类地位上发生了多次变动。卵翅蝗属在以前一直被归属于稻蝗亚科,但也因“卵翅蝗翅的退化,产生了行为学上

的间断”,所以印象初(1982)曾把它与侧翅型的秃蝗属置于同一亚科——秃蝗亚科之中。席碧霞和郑哲民(1998)在对稻蝗属和卵翅蝗属的前肠形态研究认为二者的前肠有相似的方面,但同时它们之间也存在不少差异,卵翅蝗不应再保留在稻蝗亚科内,而卵翅蝗与秃蝗亚科的前肠形态区别较大,将它放在秃蝗亚科是不妥的,因此支持成立单独的一新亚科——卵翅蝗亚科。此处我们从分子角度的研究似乎更支持将卵翅蝗亚科保留在稻蝗亚科内。在我们的研究中板胸蝗亚科与稻蝗亚科和卵翅蝗亚科相聚,显示它们具有较近的关系。板胸蝗亚科在形态分类性状上以前胸腹板突呈板状而与其他亚科相异,席碧霞和郑哲民(1998)研究了卵翅蝗属等4个属的前肠形态,并与 Muralirangan 和 Ananthakrishnan(1974)研究的板胸蝗属和稻蝗属前肠形态进行比较,发现它们具有许多共同特征,这些特征与斑腿蝗科其他类群特征明显不同,表明它们之间亲缘关系较近。马恩波等(2001)对板胸蝗亚科的分析表明其精小管形态与稻蝗亚科相似,以短棒状和梭形为主。上述形态学研究也支持我们的结论。

分支 IV、V 分别为(四川凸额蝗,小凸额蝗)和(南方十字蝗,斜翅蝗),它们属于切翅蝗亚科的凸额蝗属、十字蝗属和斜翅蝗属。十字蝗属和斜翅蝗属亲缘关系较近,它们在形态学上的特征也较为相似:体型都小,前翅顶端斜切,雄性腹部末节背板后缘具尾片。本研究中切翅蝗亚科的4个属未聚在一起,表明这些属的区别较大,不是一个单系群,这也与16S rRNA 的结果一致(刘殿锋等,2005)。

分支 VI 是秃蝗亚科+黑蝗亚科。包括蹦蝗属(秦岭蹦蝗),小蹦蝗属(秦岭小蹦蝗),腹露蝗属(峨眉腹露蝗,华阴腹露蝗),越北蝗属(中华越北蝗)这些属种的分支关系为(((峨眉腹露蝗,华阴腹露蝗)秦岭蹦蝗)中华越北蝗,秦岭小蹦蝗)。本研究的各种方法都强力支持上述属种组成的分支。因此,我们认为这两个亚科似乎应合并为秃蝗亚科。刘殿锋等(2005)的16S rRNA 序列数据也支持将黑蝗亚科和秃蝗亚科合为一个亚科——秃蝗亚科。黑蝗亚科和秃蝗亚科在形态学上本就十分相似,主要区别是前者的雌雄两性前、后翅均很发达,到达或超过腹端,有时前后翅均短缩,但仍在背面相互毗连;后者雌雄两性前、后翅均退化为鳞片状,侧置,在背面较宽地分开。在斑腿蝗科的分类学研究历史上,秃蝗族(或亚科)Podismini 或 Podiminae)和黑蝗族(或亚科)Melanoplinae 或 Melanoplinae)常常指的是同一类

斑腿蝗。李保平(1994)对中国斑腿蝗类属级分类单元的分支分析中,蹦蝗属、小蹦蝗属、腹露蝗属和越北蝗属等聚为一个支——黑蝗支(Melanoplus clade)。马恩波等(2001)对蹦蝗属、小蹦蝗属、腹露蝗属和越北蝗属等的精小管形态研究发现特征极为相似,基本都属于粗短形。这些结论也都支持我们的观点。

此外,在合一树上还发现分支 VI 与其他几个分支明显分开,说明黑蝗亚科和秃蝗亚科较其他几个亚科的亲缘关系要远。

3.2 CO II 基因在斑腿蝗科昆虫系统发育关系研究中的有效性

线粒体 CO II 基因作为一种分子标记,在昆虫分子系统学中已成为应用最为广泛的一个基因。利用该基因可以很好地解决昆虫较低分类单元如属、种及种下分类水平的系统发育关系,但是,由于具有进化速率快的特点,使得该基因在解决昆虫高级分类水平如科、亚科等系统发育关系中的应用受到一定限制(卜云和郑哲民,2005)。

在本研究中我们测定了 CO II 基因 585 bp 序列,占该基因全长序列(684 bp 左右)的 85.5%,序列长度基本可代表该基因的特征,并且对序列数据组系统发育信号的评估表明所测定的 CO II 基因序列片段包含较强的系统发育信息。在应用该基因构建系统发育树时发现,CO II 基因在解决系统树末端分支,即亚科内属间、属内种间的关系时能力较强,各种支持度参数均较高,是一个有效的分子标记,但也存在替换饱和及对亚科之间的分辨率低等缺点。

致谢 陕西师范大学生命科学学院牛瑶博士协助鉴定标本,在此深表感谢!

参 考 文 献 (References)

- Bu Y, Zheng ZM, 2005. Roles and status of cytochrome oxidase II gene in the research of insect molecular systematics. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(1): 18–22. [卜云, 郑哲民, 2005. CO II 基因在昆虫分子系统学研究中的作用和地位. 昆虫知识 42(1): 18–22]
- Huelsenbeck JP, Ronquist F, 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754–755.
- Jiang GF, Lu G, 2003. Analysis of the genetic variations and phylogenetic relationships among three species of grasshopper genus *Hieroglyphus* (Orthoptera: Acridoidea: Catantopidae) using RAPD markers. *Entomotaxonomia*, 25(2): 85–90. [蒋国芳, 陆敢, 2003. 中国蔗蝗属三种之间亲缘关系的 RAPD 分析(直翅目: 蝗总科: 斑腿蝗科). 昆虫分类学报 25(2): 85–90]
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M, 2001. MEGA2: Molecular

- evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17(12):1 244 - 1 245.
- Li, BP, 1994. Cladistic Analysis of Chinese Catantopidae at Generic Level. PhD Thesis, Shaanxi Normal University. [李保平, 1994. 中国斑腿蝗类属级分类单元的分支分析. 陕西师范大学博士学位论文]
- Li HC, Xia KL, 2006. Fauna of China, Insecta, Vol. 43, Orthoptera: Acridoidea: Catantopidae. Beijing: Science Press. [李鸿昌, 夏凯龄, 2006. 中国动物志, 昆虫纲, 第43卷, 直翅目, 蝗总科, 斑腿蝗科. 北京: 科学出版社]
- Liu DF, Jiang GF, Shi H, Sun ZL, Huo GM, 2005. Monophyly and the taxonomic status of subfamilies of the Catantopidae based on 16S rDNA sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 48(5): 759 - 769. [刘殿锋, 蒋国芳, 时号, 孙正莉, 霍光明, 2005. 应用16S rDNA序列探讨斑腿蝗科的单系性及其亚科的分类地位. 昆虫学报, 48(5): 759 - 769]
- Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among 10 orders of insects, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1(1): 41 - 52.
- Ma EB, Bai GR, Guo YP, Ren ZM, Jin XD, Ma LX, 2001. A study on taxonomic value of follicles in Catantopidae (Orthoptera: Acridoidea). *Acta Zoologica Sinica*, 47(Monograph): 30 - 36. [马恩波, 白贵荣, 郭亚平, 任竹梅, 金晓弟, 马拉仙, 2001. 斑腿蝗科精小管形态及其分类学意义探讨. 动物学报, 47(专刊): 30 - 36]
- Ma EB, Guo YP, 1995. The cytotoxicity of *Pseudoxya* and its relative taxa. *Acta Entomologica Sinica*, 38(1): 54 - 60. [马恩波, 郭亚平, 1995. 伪稻蝗及其近缘属的细胞学分类. 昆虫学报, 38(1): 54 - 60]
- Ren ZM, Ma EB, Guo YP, 2002. Genetic relationships among *Oxya agavisa* and other relative species revealed by Cyt b sequences. *Acta Genetica Sinica*, 29(6): 507 - 513. [任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2002. 山稻蝗及相关物种 Cyt b 基因序列及其遗传关系. 遗传学报, 29(6): 507 - 513]
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetics utility of mitochondrial gene sequences and compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87(6): 651 - 701.
- Swofford DL, 2001. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 4.0b10(PPC). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24: 4 876 - 4 882.
- Xi BX, Zheng ZM, 1998. Foregut armature of grasshoppers and their taxonomic significance (Orthoptera: Catantopidae). *Entomotaxonomia*, 20(4): 239 - 244. [席碧侠, 郑哲民, 1998. 蝗虫前肠形态及其在分类学上的意义(直翅目: 斑腿蝗科). 昆虫分类学报, 20(4): 239 - 244]
- Yin XC, 1982. On the taxonomic system of Acridoidea from China. *Acta Biologica Plateau Sinica*, 1: 69 - 99. [印象初, 1982. 中国蝗总科 Acridoidea 分类系统的研究. 高原生物学集刊, 1: 69 - 99]
- Zhang JZ, Ma EB, Guo YP, 2003. Molecular phylogenetic relationships among species in *Oxya* Serville (Orthoptera: Catantopidae) based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Acta Genetica Sinica*, 30(6): 533 - 539. [张建珍, 马恩波, 郭亚平, 2003. 稻蝗属部分种类 RAPD 及其分子系统学关系. 遗传学报, 30(6): 533 - 539]
- Zheng ZM, Wang GL, Huang Y, 2001. Comparison of RAPD patterns variation in 11 species of Catantopidae. *Acta Zoologica Sinica*, 47(4): 367 - 370. [郑哲民, 汪桂玲, 黄原, 2001. 斑腿蝗科 11 种蝗虫 RAPD 带型的变异. 动物学报, 47(4): 367 - 370]

(责任编辑: 袁德成)