

# 东亚飞蝗蝗蝻不同体色的 AFLP 分析

程茂高, 乔卿梅, 原国辉\*, 吕国强 (1. 郑州牧业工程高等专科学校, 河南郑州 450011; 2. 河南农业大学植物保护学院, 河南郑州 450002; 3. 河南省植物保护植物检疫总站, 河南郑州 450002)

**摘要** 应用 AFLP 技术对来自不同种群的东亚飞蝗 5 龄蝗蝻的 9 种体色类型进行分析, 结果表明: 在东亚飞蝗不同体色的蝗蝻中, 浅绿色、黄色、红色、黑色种群与散居型相关的绿色关系较近, 而赤褐色、红绿色、灰色种群与群居型相关的褐色关系较近。

**关键词** 东亚飞蝗; 体色; AFLP

中图分类号 Q953 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)01-0055-02

## AFLP Analysis of Different Body Colors of *Locusta migratoria manilensis* (Meyen)

CHENG Mao-gao et al (Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou, Henan 450011)

**Abstract** 9 body-color types in the 5 age nymphae of oriental migratory locust including green, brown, black, red, yellow, grey, reseda, red-green and russet were studied based on AFLP analysis. The results indicated the population of green, reseda, yellow, red and black were intimate, while the populations of brown, russet, red-green and grey were intimate.

**Key words** *Locusta migratoria manilensis* (Meyen); Body-color; AFLP

东亚飞蝗 [*Locusta migratoria manilensis* (Meyen)] 是一种重要的农业害虫。近年东亚飞蝗的发生呈现出逐年加重的趋势。东亚飞蝗的散居型和群居型在体色方面存在明显差异, 可划分为密度关联体色多型、湿度关联体色多型(也称绿色—褐色型)和隐蔽色型 3 种类型<sup>[1]</sup>。昆虫体色的多样化给昆虫分类和有效防治等工作带来不利因素。虽然人们对某些蝗虫的体色分化进行了一系列研究<sup>[2-6]</sup>, 但对东亚飞蝗不同体色蝗蝻间的关系尚无 DNA 方面的研究。

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 技术结合了 RFLP 和 RAPD 的特点, 既具有 RFLP 可靠性好、重复性高的特点, 又具有 PCR 高效性、安全性和方便性的优点, 还具有较高的分辨率<sup>[7-8]</sup>, 已广泛应用于昆虫遗传多样性、构建遗传图谱、基因标记及定位、植物抗虫基因研究等多个领域<sup>[9-13]</sup>。笔者利用 AFLP 技术研究了东亚飞蝗不同体色蝗蝻间的关

系, 旨在为昆虫体色分化机理研究提供依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 供试昆虫** 供试东亚飞蝗标本为来自不同地区的散居型 5 龄蝗蝻雌雄个体, 均为活体经饥饿后直接保存在 -80 条件下。5 龄蝗 体色包括绿色、褐色、黄色、红色、黑色、灰色、赤褐色、红绿色、浅绿色 9 种类型。

**1.2 AFLP 分析** 试验所用各种酶、接头和引物由上海生物工程公司提供, 引物序列见表 1。简明流程: 将提取的总 DNA 用 TaqI 和 PstI 消化, 取消化产物进行接头连接后进行预扩增, 再以预扩增产物为模板, 用带 3 个选择性碱基的引物对进行扩增; 扩增产物上样于 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶, 在 DYY-20A 型 DNA 序列分析电泳槽内进行电泳, 最后用银染法检测凝胶电泳结果<sup>[14]</sup>。

表 1 AFLP 所用引物序列

引物 PstI 序列	G+C 含量	引物 TaqI 序列	G+C 含量
P1 :5 - GACGGCCGTCATGCAGACA - 3	63.2	T1 :5 - GATGAGTCTGAGCGAAGA - 3	52.6
P2 :5 - GACGGCCGTCATGCAGAGA - 3	63.2	T2 :5 - GATGAGTCTGAGCGAACA - 3	52.6
P3 :5 - GACGGCCGTCATGCAGATG - 3	63.2	T3 :5 - GATGAGTCTGAGCGAATG - 3	52.6
P4 :5 - GACGGCCGTCATGCAGATA - 3	57.9	T4 :5 - GATGAGTCTGAGCGAAAG - 3	52.6
P5 :5 - GACGGCCGTCATGCAGAAG - 3	63.2		

注: 表中引物序列 3-端含 3 个选择性碱基; 预扩增时用含 1 个碱基 A 的预扩增引物。

**1.3 数据统计** 将变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱上清晰的条带记为“1”, 同一位置没有条带记为“0”, 同时忽略条带强弱的差异, 生成“0”和“1”组成的原始矩阵。用 SPSS11.5 软件的 Jaccard 系数进行聚类分析。

## 2 结果与分析

**2.1 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测** 对选择性扩增产物进行变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 获得清晰可见的 DNA 指纹图谱。该试验用 T4P5、T4P4、T4P3、T4P2、T4P1、T3P5、T3P4、T3P3、T3P2、T2P5、T2P4、T2P3、T2P3、T1P4 共 14 个引物对, 对来自不同种群东亚飞蝗蝗蝻的 19 个个体总 DNA 进行了多态性

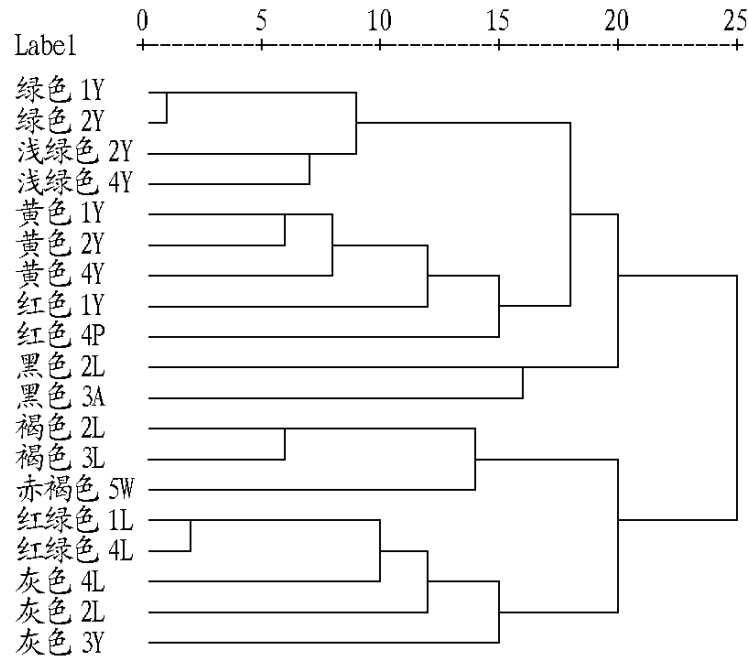
检测, 共得到 800 条带, 平均每个引物对得到 57.14 条带, 平均多态性条带数 39.71, 多态性比例平均为 69.50%。

**2.2 东亚飞蝗蝗蝻不同体色的 AFLP 遗传多态性** 用 SPSS11.5 软件的 Jaccard 系数, 选择 Average Linkage (Within Groups) 对数据进行聚类分析。从图 1 可以看出, 当  $\lambda$  小于 12 时, 同一种群相同体色的个体各自聚为一类, 而来自不同种群的同体色个体在  $\lambda$  介于 12~17 之间时也各自聚为一类。就不同体色而言, 当  $\lambda$  为 17.5 时, 所有标本聚为 5 类, 绿色与浅绿色、黄色与红色、褐色与赤褐色、红绿色与灰色各自聚为一类, 但来自河北玉田的灰色个体聚在来自同一种群(河南兰考)的聚类之后, 黑色为一类; 当  $\lambda$  大于 21 时, 所有标本聚为 2 类, 绿色、浅绿色、黄色、红色、黑色聚为一类, 褐色、赤褐色、红绿色、灰色聚为一类。

基金项目 河南省自然科学基金(311031700)。

作者简介 程茂高(1975-), 男, 河南光山人, 硕士, 讲师, 从事生物化学与分子生物学方面的研究。\* 通讯作者。

收稿日期 2006-09-22



注: 图中左数字表示同体色蝗蚱不同个体编号; 大写字母表示种群。

图1 东亚飞蝗蝗蚱不同体色 AFLP 聚类结果

### 3 讨论

一些研究表明, 飞蝗蝗蚱在低密度时( 群居型) 为黑色配以橘黄色底色; 高密度时( 散居型) 常表现为无黑色斑块的绿色; 低湿度条件下, 散居型则出现各种隐蔽色, 如黄色、赤褐色、黑色( 全体黑色) 等<sup>[1]</sup>。该研究表明, 在东亚飞蝗不同体色的蝗蚱中, 浅绿色、黄色、红色、黑色种群与散居型相关的绿色可聚为一类, 但黑色、红色与其关系较远; 赤褐色、红绿色、灰色种群与群居型相关的褐色聚为一类, 但灰色、红绿色与其关系较远。黑色、红色、灰色、红绿色是否可认为是蝗蚱从散居型向群居型转化时的过渡体色仍需进一步研究。

飞蝗体色是随环境条件的变化而改变的, 并且是可逆的。Kang 等对飞蝗两型之间的比较研究发现, 散居型与群居型在基因表达方面存在明显的差异<sup>[6]</sup>。Erik 等通过对长约 858 bp 的 mtDNA 基因( 包括 16S rRNA 的一部分和 12S rRNA 的

一部分) 的分析, 研究北美沙漠蝗幼虫和成虫体色与寄主植物之间的关系, 发现 8 个种群的蝗蚱中依赖密度的体色与基因变异相一致, 表明在改变寄主专化性时它们在资源利用和体征上存在临时变异<sup>[3]</sup>。该研究利用总 DNA 的多态性, 发现同一体色的蝗蚱都较早的聚为一类, 而不同体色的蝗蚱聚类时关系较远, 表明相同体色蝗蚱的 DNA 之间存在一致性, 而不同体色蝗蚱的 DNA 之间存在一定的差异。

### 参考文献

- [1] 朱道弘, 阳柏苏. 飞蝗变型及体色多型的内分泌控制机理[J]. 动物学杂志, 2004, 25(5): 460 - 464.
- [2] 程茂高, 乔卿梅, 原国辉. 昆虫体色分化研究进展[J]. 昆虫知识, 2005, 42(5): 502 - 505.
- [3] ERICK B D, GREGORY A, SWORD, et al. The importance of the orthogenetic niche in resource-associated divergence: evidence from a generalist grasshopper[J]. Evolution, 2002, 56(4): 731 - 740.
- [4] 郑哲民, 黄刚. 螽斯总科昆虫基因组 DNA 的提取和种内雌雄及体色表现型不同个体间 RAPD 带型的研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2002, 30(1): 99 - 102, 107.
- [5] SELJI T. Effects of temperature and [H<sup>15</sup>]-crazonin on the body darkening in *Locusta migratoria*[J]. Physiological Entomology, 2003, 28(4): 290 - 295.
- [6] KANG L, CHEN X Y, ZHOU Y, et al. The analysis of large scale gene expression correlated to the phase changes of the migratory locust[J]. PNAS, 2004, 101(51): 17611 - 17615.
- [7] MUELLER U G, WOLFENBARGER L L. AFLP genotyping and fingerprinting[J]. Trends Ecology Evolution, 1999, 14(10): 389 - 394.
- [8] RAVEL S, MONTEY N, VELASCO OLMO S D, et al. A preliminary study of the population genetics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico using microsatellite and AFLP markers[J]. Acta Tropica, 2001, 78(3): 241 - 250.
- [9] PARSONS Y M, SHAW K L. Mapping unexplored genomes: a genetic linkage map of the Hawaiian Gicket *Laupala*[J]. Genetics, 2002, 162: 1275 - 1282.
- [10] 郑先云, 马恩波, 郭亚平. AFLP 分子标记技术在昆虫学研究中的应用[J]. 昆虫知识, 2003, 40(5): 405 - 409.
- [11] 赵爱春, 鲁成, 李斌, 等. 家蚕 AFLP 分子连锁图谱的构建及绿茧基因定位[J]. 遗传学报, 2004, 31(8): 787 - 794.
- [12] ZHONG D, PAI A, YANG G. AFLP based genetic linkage map for the red flour beetle (*Tribolium castaneum*)[J]. Journal of Heredity, 2004, 95(1): 53 - 61.
- [13] SHARMA P N, TORI A, TAKUMI S, et al. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance genes Bph1 and Bph2 on rice chromosome 12[J]. Journal of Heredity, 2004, 140(1): 61 - 68.
- [14] 程茂高, 乔卿梅, 原国辉, 等. 适于蝗虫 AFLP 标记的酶切反应系统研究[J]. 河南农业科学, 2006(2): 64 - 67.