

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2014.02.013

基于微卫星的中国红火蚁种群遗传结构的研究

黄奕雯, 何晓芳*, 陆永跃, 曾玲*, 程代凤
华南农业大学红火蚁研究中心, 广东 广州 510642

摘要:【背景】自入侵中国之后,红火蚁已给农林业、健康卫生、生态环境等造成了危害。红火蚁在中国的入侵、扩散路径及方式等仍然是待解决的问题。【方法】利用微卫星分子标记,对来自国内 14 个地区和国外 1 个地区共 15 个红火蚁地理种群的遗传多样性水平及种群遗传结构进行了研究。【结果】应用 7 对微卫星引物共检测到 28 个等位基因,15 个红火蚁种群在各微卫星位点的基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡。各种群的平均表观杂合度 H_o 、预期杂合度 H_E 、Shannon 信息指数 I 、基因多样性指数 $Nei's$ 和多态位点百分率 P 分别为 0.2848、0.2708、0.3174、0.2629 和 43.63%, 研究结果表明这 15 个红火蚁种群具有比较丰富的遗传多样性。种群间平均分化系数 F_{ST} 为 0.4258, 说明有 42.58% 的变异来源于种群间, 表明红火蚁各种群之间有较高分化的分化, 且遗传分化可能是由地理隔离和基因流障碍 ($N_{em} = 0.7442$) 共同引起。遗传距离 D 显示, 河源种群与其他种群间的遗传距离均相对高于其他各种群间的遗传距离, 表明河源种群与其他地理种群之间存在较大的遗传差异, 可能是较为原始的类型。【结论与意义】短距离的种群主要通过自然扩散方式传播, 地理距离与亲缘关系有一定的相关性; 长距离的种群主要依靠人为传播, 因此地理距离与遗传距离不成正比。对于长距离的入侵事件, 监控与检疫是关键的预防措施。

关键词: 红火蚁; 种群; 遗传结构; 微卫星

Population genetic structure of *Solenopsis invicta* Buren in China based on microsatellite

Yi-wen HUANG, Xiao-fang HE*, Yong-yue LU, Ling ZENG*, Dai-feng CHENG

Red Imported Fire Ant Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: 【Background】As a notorious invasive species, the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*) has important economic consequences as it causes losses to households and businesses including agriculture since its introduction in China. However, little is now about the sources of introduced populations and their entry paths. 【Method】The genetic diversity of 15 populations of *S. invicta* collected from 14 regions in China and one from United States of America were investigated using microsatellite molecular marker SSR (simple sequence repeat). 【Result】Two to six alleles were found at each microsatellite locus (total 28 alleles at seven loci). The mean observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_E) were consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. A medium level of genetic diversity was revealed; $H_o = 0.2848$, $H_E = 0.2708$, $I = 0.3174$, $Nei's = 0.2629$ and $P = 43.63\%$. The mean genetic differentiation index F_{ST} was 0.4258, indicating that 42.58% of the total molecular variance was attributable to population divergence. The high level of genetic differentiation might be caused by geographic isolation and barriers to gene flow ($N_{em} = 0.7442$). The genetic distance D showed that the genetic distances between Heyuan population and the other populations was relatively higher than any other two populations, suggesting that Heyuan population might be the original source among all the Chinese populations. On the basis of UPGMA cluster analysis, genetic differentiation was mainly due to geographic separation and trade movement. 【Conclusion and significance】Based on our results, there was a significant relationship between genetic distance and geographic distance for close populations but not for populations far apart. The results suggest that monitoring or quarantine programs targeting source areas or key transportation routes are crucial for long distance invasion events.

Key words: *Solenopsis invicta* Buren; population; genetic structure; simple sequence repeat

收稿日期(Received): 2014-04-03 接受日期(Accepted): 2014-05-01
基金项目: 国家自然科学基金项目(305712427); 国家重点基础研究发展计划项目(2009CB119206)
作者简介: 黄奕雯, 女, 硕士。研究方向: 昆虫分子生物学
* 通讯作者(Author for correspondence), 曾玲, E-mai: zengling@scau.edu.cn; 何晓芳, E-mai: hexf@scau.edu.cn

红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 是一种入侵性强的有害生物 (Vinson, 1997)。2003 年 10 月以来, 我国台湾、广东、香港、澳门、广西、湖南、福建、江西、海南、云南、四川等地区先后报道了红火蚁的发生及危害 (陆永跃等, 2008、2014; 曾玲等, 2005a、2005b; Wang *et al.*, 2013)。在新入侵地, 该蚁是否因为入侵来源不同或是为了适应新环境变化而发生种群遗传分化等问题值得关注。He *et al.* (2006) 基于 COI 基因分析了境内 13 个种群的单倍型, 认为香港是入侵中国的红火蚁种群中遗传多样性最丰富的地区。邵敬国等 (2008a、2008b) 利用 GP-9 特异性引物和微卫星位点研究了我国红火蚁的社会型和地理种群间遗传差异性。利用微卫星 (simple sequence repeat, SSR) 的多态性来分析物种进化、生物群体内的遗传变异以及种间关系, 甚至在生物个体鉴定等方面已有许多报道; 在韩国, 研究人员利用 SSR 技术成功评估了芒草 *Miscanthus* 的遗传多样性 (Yook *et al.*, 2014); Wang *et al.* (2005) 利用 SSR 技术成功揭示了昆虫致病真菌白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. 菌株的遗传多样性和种群结构; 在果蝇 *Drosophila melanogaster*

Meigen 中也有大量利用 SSR 技术进行相关研究的报道 (Prokop & Meinertzhagen, 2006)。同时, 在社会性昆虫协同进化过程中的行为研究和亲缘选择假说中, 微卫星标记也已被大量应用 (Aanen & Eggleton, 2005; Cheng *et al.*, 2013)。

了解红火蚁入侵种群的遗传结构及其多态性, 不仅有助于预测这一物种的入侵潜力并推断其生态和进化过程, 而且有助于制定相应的控制和管理策略, 从而采取有效的措施阻止其进一步扩散, 并减少危害。本研究利用 SSR 分子标记技术研究中国红火蚁种群的遗传结构, 希望能够进一步揭示该蚁种群间存在的遗传变异及其多样性, 为控制该蚁提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试红火蚁样品来自广东、广西、福建、香港等中国 4 个红火蚁发生省份 (或地区) 的 14 个种群, 以及美国阿拉巴马州的 1 个种群。除田间采集的红火蚁样品外, 其他样品均为浸泡于 75% 或 95% 酒精中、置于 -40 ℃ 低温冰箱保存的标本 (表 1)。

表 1 供试虫体样品信息
Table 1 Information of samples used in the study

采集地点 Collection sites	采集巢数 Number of colonies	采集人 Collector	保存方法 Method of preservation
广东珠海 Zhuhai, Guangdong	2	黎伯平, 林卓庭 Bo-ping Li, Zhuo-ting Lin	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广东中山 Zhongshan, Guangdong	2	何晓芳 Xiao-fang He	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广东深圳 Shenzhen, Guangdong	10	本实验室 Laboratory	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广东东莞 Dongguan, Guangdong	8	本实验室 Laboratory	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广州增城 Zengcheng, Guangzhou	9	王磊, 李沐城 Lei Wang, Mu-cheng Li	实验室饲养 Raising
广州五山 Wushan, Guangzhou	6	王磊, 李沐城 Lei Wang, Mu-cheng Li	实验室饲养 Raising
广东博罗 Boluo, Guangdong	4	熊冰 Mi Xiong	实验室饲养 Raising
广东河源 Heyuan, Guangdong	2	本实验室 Laboratory	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广东梅州 Meizhou, Guangdong	1	本实验室 Laboratory	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
广西南宁 Nanning, Guangxi	3	本实验室 Laboratory	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
福建厦门 Xiamen, Fujian	1	陈军, 张翔 Jun Chen, Xiang Zhang	95% 酒精浸泡 95% Ethanol
福建集美 Jimei, Fujian	1	陈军, 张翔 Jun Chen, Xiang Zhang	95% 酒精浸泡 95% Ethanol
福建泉州 Quanzhou, Fujian	1	张翔, 黄奕雯 Xiang Zhang, Yi-wen Huang	95% 酒精浸泡 95% Ethanol
香港 Hongkong	2	Y. H. Stephen	75% 酒精浸泡 75% Ethanol
阿拉巴马州 Alabama	2	何晓芳 Xiao-fang He	75% 酒精浸泡 75% Ethanol

1.2 试验方法

1.2.1 供试红火蚁的 DNA 提取 分别从每个蚁巢中取 1 ~ 10 头工蚁个体, 对整头工蚁进行 DNA 提取。其中, 田间采集、实验室饲养的红火蚁活体, 先放入低温冰箱速冻至晕再进行研磨, 酒精浸泡的红

火蚁标本需用 200 μL 的 TE Buffer 浸泡过夜后再提取 DNA, 以去除其他化学物质对 PCR 等后续试验的影响。用天根血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒抽提 DNA, 详细步骤按其使用说明书进行操作。

1.2.2 SSR PCR 扩增 参考 Krieger & Keller (1997) 的 SSR 引物序列,合成 8 对引物(表 2),并 PCR 扩增。参照其反应体系和程序进行红火蚁工蚁的 SSR-PCR 扩增。

表 2 用于工蚁 SSR-PCR 扩增的引物序列
Table 2 Sequences of primers used in the SSR-PCR

微卫星位点 SSR sites	核心序列 Core sequence	目的片段大小 Length of productions (bp)	引物序列 Sequence (5'-3')
Sol-6	(TC) ₄ TT(TC) ₈ TT(TC) ₁₀	115	F:TTTACAGCGAATGGAACACG R:CAITTAAGTGCAATTATGCTCGC
Sol-11	(TC) ₁₅	155	F:ACTGGAGCCTCCGAGACC R:CACTCCGGAAGAGTAACTTTGC
Sol-18	(TC) ₁₁	125	F:ATCATTTTAAATTGAAGTCTGGCG R:TGGGACAAAATCTCAATCCC
Sol-20	(TC) ₁₃	128	F:TCGAAACGCTCCCTCTGT R:AGCATGAAAAATCGGGAGC
Sol-42	(TC) ₂₆	131	F:ATGCCGGTTTTTATTGGTAGG R:GGAATTTCCGTCGCCATT
Sol-49	(TC) ₂₆	166	F:GTCATCGGTGACCCACAAG R:GTATCTCGACACGAAACTCGG
Sol-52	(AC) ₃ CC(AC) ₂ AT(AC) ₆	188	F:CGAGAGCCACATAATATCTATTGC R:CGTCTATCATTTGGATAATAAAC
Sol-55	(TC) ₁₅	159	F:TGCGAATATCCGGTCGAG R:CTCGCTTTCAGTAAGCCG

1.2.3 SSR-PCR 产物的 PAGE 检测 在 25 μL 体系的 SSR-PCR 产物中加入 5 μL 6 × Loading Buffer 混匀,吸取 1.5 μL 混合液进行加样电泳,控制电压为 80 V 恒压,电泳 100 min。采用快速银染法进行染色,将显影后的 PAGE 胶置于凝胶成像系统中成像观察并拍照,将所得图像直接在成像系统中进行处理,对 SSR-PCR 扩增结果读带,根据 50 bp DNA Ladder 标准分子质量标记标定目的片段分子质量的大小,记录清晰、稳定出现且产物长度在 100 ~ 200 bp 的扩增带。

1.3 数据处理与分析

按照电泳图谱中同一位置上的 DNA 条带进行统计,以二倍体形式记录扩增带,从大到小依次记作 A、B、C……(李伟丰等,2007)。应用 Popgene 1.32 软件对全部种群和各单个种群分别进行遗传参数分析,在假定各种群处于 Hardy-Weinberg 平衡状态下,计算多态带数(N_p)、多态位点百分率(P)、观测等位基因数(N_A)、有效等位基因数(N_E)、基因多样性指数($Nei's$)、Shannon 信息指数(I)、表观杂合度(H_o)和预期杂合度(H_E)、种群内近交系数(F_{IS})、总近交系数(F_{IT})、种群间分化系数(F_{ST})、种群间基因流(N_{em})、 $Nei's$ 标准遗传距离(D)和遗传相似度(I)。根据 D ,利用 NTSYSp2.1 软件对各

种群进行非加权组平均法(UPGMA)聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SSR-PCR 扩增结果

在 8 对微卫星扩增位点中,每个位点在这 15 个红火蚁种群中都出现清晰的扩增条带,没有出现零等位基因的情况。但在 Sol-52 位点上只出现 1 个等位基因,且没有表现出多态性。

2.2 红火蚁地理种群的遗传多样性

对 7 对表现出多态性的扩增结果分析发现,7 对微卫星引物在 15 个红火蚁种群中共检测到 28 个等位基因,每个位点获得的等位基因数有 2 ~ 6 个,其中 Sol-20 位点上拥有最多的等位基因为 6 个,Sol-6 位点和 Sol-18 位点上的等位基因最少,仅为 2 个(表 3)。这表明用于 SSR-PCR 扩增的这 7 对引物具有一定的特异性。各微卫星位点的表观杂合度 H_o 在 0.1957 ~ 0.3582 之间,平均值为 0.2802;预期杂合度 H_E 在 0.1705 ~ 0.3199 之间,平均值为 0.2623。各位点的等位基因表观杂合度与预期杂合度基本一致,均相差不大,均符合 Hardy-Weinberg 平衡。

15 个红火蚁地理种群的遗传变异参数见表 4。各种群的观测等位基因数 N_A 在 2.1057 ~ 3.4215 之间,平均为 2.7028;有效等位基因数 N_E 在 1.5095 ~

2.8253 之间,平均为 2.1066。Shannon 信息指数 I 在 0.2522(广西南宁)~0.3524(广东深圳)之间,平均为 0.3174;表观杂合度 H_o 在 0.2433(广西南宁)~0.3284(广东深圳)之间,平均为 0.2848;预期杂合度 H_E 在 0.2324(广西南宁)~0.3096(广东深圳)之间,平均为 0.2708;基因多样性指数 $Nei's$ 在 0.1977(广西南宁)~0.2979(广东深圳)之间,平均

为 0.2629;各个种群内的多态位点百分率 P 为 37.17%~49.73%,平均每个种群为 43.63%,最高的是广东深圳种群,最低的是广西南宁种群。从表中可以看出,种群的 Shannon 信息指数 I 、表观杂合度 H_o 、预期杂合度 H_E 、基因多样性指数 $Nei's$ 以及多态位点百分率 P 呈正相关。

表 3 7 个微卫星位点的遗传变异参数、F-statistics 和基因流
Table 3 Indices of genetic diversity and genes flow deduced by 7 SSRs primers

微卫星位点 SSR sites	N_A	N_E	I	H_o	H_E	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_{em}
Sol-6	2	1.8499	0.4178	0.2849	0.2798	0.1608	0.2718	0.4085	0.7240
Sol-11	4	1.9509	0.5158	0.3582	0.3199	0.2445	0.3381	0.2769	1.3055
Sol-18	2	1.9822	0.4693	0.2906	0.2842	0.1365	0.3028	0.5492	0.4105
Sol-20	6	2.8384	0.4689	0.2897	0.2795	0.1649	0.2962	0.4434	0.6277
Sol-42	4	2.1518	0.3794	0.2161	0.1952	0.1608	0.2327	0.3090	1.1181
Sol-49	5	2.4291	0.3589	0.1957	0.1705	0.1141	0.2111	0.4595	0.5881
Sol-55	5	2.6213	0.4943	0.3262	0.3071	0.1494	0.3210	0.5344	0.4355
平均值 Average	4	2.2605	0.4435	0.2802	0.2623	0.1616	0.2820	0.4258	0.7442

N_A : 观测等位基因数; N_E : 有效等位基因数; I : Shannon 信息指数; H_o : 表观杂合度; H_E : 预期杂合度; F_{IS} : 种群内近交系数; F_{IT} : 总近交系数; F_{ST} : 种群间分化系数; N_{em} : 种群间基因流。
 N_A : Allele number; N_E : Effective allele number; I : Shannon index; H_o : Observed heterozygosity; H_E : Expected heterozygosity; F_{IS} : Inbreeding coefficient within population; F_{IT} : Total inbreeding coefficient; F_{ST} : Differentiation coefficient among populations; N_{em} : Gene flow among populations.

表 4 15 个红火蚁地理种群在 7 个微卫星位点上的遗传变异参数
Table 4 Indices of genetic diversity of 15 *S. invicta* populations based the 7 SSRs primers

地理种群 Population	N_A	N_E	I	H_o	H_E	$Nei's$	N_p	$P(\%)$
香港 Hongkong	2.8157 ± 1.3516	2.2195 ± 1.3642	0.3305 ± 0.1625	0.2891 ± 0.1544	0.2769 ± 0.1423	0.2760 ± 0.0986	13	45.55
珠海 Zhuhai	2.2501 ± 1.4408	1.6539 ± 0.8742	0.2725 ± 0.1405	0.2487 ± 0.1326	0.2416 ± 0.1255	0.2180 ± 0.0974	11	38.68
深圳 Shenzhen	3.4215 ± 1.2688	2.8253 ± 1.5698	0.3524 ± 0.2611	0.3284 ± 0.1644	0.3096 ± 0.1564	0.2979 ± 0.1021	14	49.73
中山 Zhongshan	2.9014 ± 1.9567	2.3052 ± 1.3726	0.3350 ± 0.2024	0.3001 ± 0.1769	0.2854 ± 0.1620	0.2805 ± 0.1011	13	46.43
东莞 dongguan	2.5035 ± 1.9864	1.9073 ± 1.0258	0.3152 ± 0.2812	0.2702 ± 0.2411	0.2588 ± 0.1888	0.2607 ± 0.0854	12	41.27
博罗 Boluo	2.3804 ± 1.7452	1.7842 ± 0.9986	0.2914 ± 0.1554	0.2599 ± 0.1328	0.2501 ± 0.1255	0.2369 ± 0.0748	11	39.04
增城 Zengcheng	3.3524 ± 1.8754	2.7562 ± 1.5289	0.3502 ± 0.2854	0.3210 ± 0.2165	0.3011 ± 0.1688	0.2957 ± 0.1004	14	49.03
广州 Guangzhou	2.4102 ± 1.3526	1.8140 ± 0.9997	0.3005 ± 0.2637	0.2694 ± 0.1118	0.2561 ± 0.1054	0.2460 ± 0.0777	11	39.85
梅州 Meizhou	2.6459 ± 1.2854	2.0497 ± 1.1125	0.3248 ± 0.2014	0.2815 ± 0.1633	0.2703 ± 0.1433	0.2703 ± 0.0988	12	43.96
河源 Heyuan	2.5246 ± 1.3689	1.9284 ± 1.0366	0.3218 ± 0.2066	0.2734 ± 0.2004	0.2618 ± 0.1799	0.2673 ± 0.0860	12	41.85
南宁 Nanning	2.1057 ± 1.8245	1.5095 ± 0.7745	0.2522 ± 0.1889	0.2433 ± 0.1547	0.2324 ± 0.1482	0.1977 ± 0.0551	10	37.17
厦门 Xiamen	2.9569 ± 1.8637	2.3607 ± 1.4552	0.3406 ± 0.2110	0.3124 ± 0.1556	0.2895 ± 0.1466	0.2861 ± 0.1154	13	47.54
集美 Jimei	2.8641 ± 1.6238	2.2679 ± 1.3688	0.3321 ± 0.1963	0.2928 ± 0.1698	0.2816 ± 0.1520	0.2776 ± 0.0083	13	46.24
泉州 Quanzhou	2.3958 ± 1.4257	1.7996 ± 0.9998	0.2942 ± 0.1555	0.2666 ± 0.0906	0.2511 ± 0.0885	0.2397 ± 0.0881	11	39.77
AL 州 Alabama	3.0144 ± 1.3332	2.4182 ± 1.5263	0.3478 ± 0.2114	0.3155 ± 0.1299	0.2962 ± 0.9699	0.2933 ± 0.1044	14	48.38
平均值 Average	2.7028 ± 0.4208	2.1066 ± 0.1005	0.3174 ± 0.0961	0.2848 ± 0.0821	0.2708 ± 0.0411	0.2629 ± 0.0096	12	43.63

N_A : 观测等位基因数; N_E : 有效等位基因数; I : Shannon 信息指数; H_o : 表观杂合度; H_E : 预期杂合度; $Nei's$: 标准遗传距离; N_p : 多态带数; P : 多态位点百分率。
 N_A : Observed number of alleles; N_E : Effective number of alleles; I : Shannon information index; H_o : Observed heterozygosity; H_E : Expected heterozygosity; $Nei's$: Nei's standard genetic distance; N_p : Number of polymorphic loci; P : Percentage of polymorphic loci.

2.3 红火蚁地理种群的遗传分化

15 个红火蚁地理种群在 7 个微卫星位点上的 F-statistics 分析结果见表 3。从表中可以看出,15

个红火蚁地理种群在各微卫星位点上的 F_{IS} 为 0.1141(Sol-49)~0.2445(Sol-11),平均值 0.1616; F_{IT} 为 0.2111(Sol-49)~0.3381(Sol-11),平均值 0.2820。种群间的分化系数 F_{ST} 在 Sol-18 位点最大为

0.5492,在 Sol-11 位点最小为 0.2769, F_{ST} 平均值为 0.4258。从 F_{ST} 可知,供试红火蚁种群有 42.58% 的遗传变异发生在种群间,57.42% 的遗传变异发生在种群内。种群间的基因流 N_{em} 均较小,范围从 0.4105 (Sol-18) ~ 1.3055 (Sol-11),平均值仅为 0.7442。

供试红火蚁地理种群间 Nei's 标准遗传距离 D 和遗传相似度 I 见表 5,从表中可以看出,所研究的 15 个红火蚁地理种群两两之间的遗传相似度范围在 0.7625 ~ 1.0000 之间,均大于 0.6,表明各种群相

互之间存在着非常频繁的基因交流。Nei's 标准遗传距离 D 显示出,河源种群和中山种群之间的遗传距离最大为 0.2711,集美种群和厦门种群之间的遗传距离最小为 0,几乎没有遗传差异。其中,河源红火蚁地理种群与其他地理种群间的遗传距离范围在 0.1248 ~ 0.2711 之间,均相对高于其他各种群间的遗传距离;而美国阿拉巴马州红火蚁种群与国内红火蚁各种群之间的遗传距离在 0.0244 ~ 0.1651 之间,表明其与国内红火蚁种群间的遗传差异不大。

表 5 15 个红火蚁地理种群间 Nei's 标准遗传距离 (D) 和遗传相似度 (I)
Table 5 Nei's genetic distance and genetic identity coefficient of the 15 population for *S. invicta*

种群	香港	珠海	深圳	中山	东莞	博罗	增城	广州	南宁	厦门	集美	泉州	AL 州	梅州	河源
Population	Hongkong	Zhuhai	Shenzhen	Zhongshan	Dongguan	Boluo	Zengcheng	Guangzhou	Nanning	Xiamen	Jimei	Quanzhou	Alabama	Meizhou	Heyuan
香港	****	0.9481	0.9195	0.8296	0.9232	0.8809	0.8994	0.8950	0.7766	0.8708	0.8708	0.8594	0.9044	0.8961	0.8596
Hongkong															
珠海	0.0533	****	0.9139	0.8235	0.8860	0.8373	0.8928	0.8919	0.7850	0.8727	0.8727	0.8584	0.8708	0.9210	0.7829
Zhuhai															
深圳	0.0840	0.0900	****	0.9553	0.9598	0.9331	0.9472	0.9651	0.8468	0.9379	0.9379	0.9460	0.9213	0.9631	0.8545
Shenzhen															
中山	0.1868	0.1942	0.0458	****	0.9178	0.8711	0.8751	0.8909	0.7779	0.8638	0.8638	0.8598	0.8478	0.8786	0.7625
Zhongshan															
东莞	0.0799	0.1210	0.0410	0.0858	****	0.9535	0.9539	0.9532	0.8333	0.9284	0.9284	0.9018	0.9141	0.9338	0.8280
Dongguan															
博罗	0.1268	0.1776	0.0692	0.1380	0.0477	****	0.9859	0.9763	0.9018	0.9640	0.9640	0.9419	0.9529	0.9490	0.8808
Boluo															
增城	0.1061	0.1134	0.0542	0.1334	0.0471	0.0142	****	0.9868	0.9270	0.9828	0.9828	0.9531	0.9692	0.9746	0.8767
Zengcheng															
广州	0.1109	0.1144	0.0355	0.1156	0.0480	0.0240	0.0133	****	0.9138	0.9804	0.9804	0.9601	0.9493	0.9722	0.8827
Guangzhou															
南宁	0.2529	0.2420	0.1663	0.2511	0.1823	0.1033	0.0758	0.0901	****	0.9704	0.9704	0.9141	0.9560	0.8722	0.7962
Nanning															
厦门	0.1384	0.1362	0.0641	0.1464	0.0742	0.0367	0.0173	0.0198	0.0301	****	1.0000	0.9639	0.9779	0.9530	0.8449
Xiamen															
集美	0.1384	0.1362	0.0641	0.1464	0.0742	0.0367	0.0173	0.0198	0.0301	0.0000	****	0.9639	0.9779	0.9530	0.8449
Jimei															
泉州	0.1515	0.1527	0.0555	0.1510	0.1033	0.0599	0.0480	0.0407	0.0898	0.0367	0.0367	****	0.9514	0.9618	0.8506
Quanzhou															
AL 州	0.1005	0.1383	0.0820	0.1651	0.0898	0.0482	0.0313	0.0520	0.0450	0.0224	0.0224	0.0498	****	0.9324	0.8705
Alabama															
梅州	0.1097	0.0823	0.0376	0.1294	0.0685	0.0523	0.0257	0.0282	0.1367	0.0482	0.0482	0.0389	0.0700	****	0.8725
Meizhou															
河源	0.1513	0.2447	0.1573	0.2711	0.1887	0.1269	0.1316	0.1248	0.2279	0.1685	0.1685	0.1618	0.1386	0.1364	****
Heyuan															

表中对角线以上为遗传相似度 (I), 对角线以下为 Nei's 标准遗传距离 (D)。
The genetic identity data are located above the diagonal line, and Nei's standard genetic distance below the diagonal line.

2.4 聚类分析

根据 Nei's 标准遗传距离,利用 NTSYSpc2.1 中的 UPGMA 法对 15 个红火蚁地理种群进行聚类分析,结果见图 1。从图中可以看出,系统发育树首先分为 2 个大分支,其中河源种群与其他种群之间的遗传距离最远,存在明显的遗传分化,成为独立的

一支。然后其他种群又由 2 个分支组成,中山种群与其他剩余种群之间的遗传距离相对较远,成为独立的一支;而其他剩余种群又明显地分为 2 个大分支,香港种群和珠海种群聚为一支,深圳、梅州、博罗、增城、广州、厦门、集美、泉州、东莞、南宁与美国阿拉巴马州种群又构成一个十分复杂的分支。

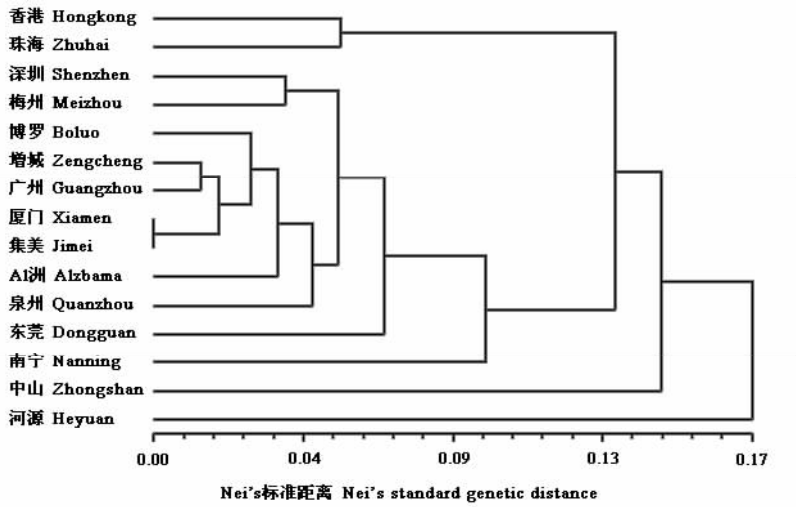


图 1 红火蚁地理种群间 Nei's 标准遗传距离的 UPGMA 法聚类图

Fig. 1 UPGMA cluster analysis using the Nei's standard genetic distance indices for *S. invicta* populations

3 讨论

3.1 Hardy-Weinberg 平衡

Hardy-Weinberg 平衡定律也叫遗传平衡定律，是指在理想状态下，各等位基因的频率和等位基因的基因型频率在遗传中稳定不变，即保持着基因平衡。所谓的理想状态需满足 5 个条件：种群足够大，种群中个体间可以随机交配，不发生突变，没有新基因加入，没有自然选择。显然，遗传平衡在自然状态下是无法达到的，但在一个足够大的种群中，如果个体间自由交配，且没有明显的自然选择，往往可以近似地看作符合遗传平衡 (Stark, 2006)。本研究中的 15 个红火蚁地理种群在各微卫星位点上的等位基因表观杂合度与预期杂合度基本相符，均符合 Hardy-Weinberg 平衡，即表明各等位基因的基因型频率近似稳定。

3.2 红火蚁地理种群的遗传多样性分析

一般所说的遗传多样性是指种内的遗传多样性，即种内个体之间或一个群体内不同个体之间的遗传变异总和，它反映了一个物种适应环境的能力及其被改造和利用的潜力。

在自然进化过程中，如果种群发生一定程度的隔离，那么，地理种群间的遗传差异就会逐步增加，而地理种群内的遗传差异则会逐渐减小，从而使得地理种群内以及地理种群间杂合体的比例发生变化。因此，种群杂合度的高低反映了群体的遗传一致性程度，种群杂合度越低，表明该种群的遗传一致性越高，从而导致种群遗传变异程度越低，种群

遗传多样性越低 (李伟丰等, 2007)。本研究中的 15 个红火蚁地理种群的表现杂合度 H_o 在 0.2433 (广西南宁) ~ 0.3284 (广东深圳) 之间，平均为 0.2848；预期杂合度 H_e 在 0.2324 (广西南宁) ~ 0.3096 (广东深圳) 之间，平均为 0.2708。可以看出，广东深圳红火蚁种群的表现杂合度和预期杂合度相对于其他种群均较高，表明这个地区的红火蚁种群的遗传变异程度较高，遗传多样性也相对更丰富一些。

Nei & Li (1979) 认为，基因多样性指数是群体内基因变异的理想测度，它可以适用于任何生物。15 个红火蚁种群的基因多样性指数 *Nei's* 在 0.1977 (广西南宁) ~ 0.2979 (广东深圳) 之间，平均为 0.2629。广东深圳种群的基因多样性指数在所有种群中最高，这与该种群拥有最高的表现杂合度和预期杂合度相一致，表明广东深圳的红火蚁种群内的遗传分化程度和遗传多样性比较高。Botstein *et al.* (1980) 首先提出了衡量基因变异程度的多态位点百分率 P ，当 $P > 50\%$ 时为高度多态位点， $25\% < P \leq 50\%$ 时为中度多态位点，当 $P \leq 25\%$ 时为低度多态位点。15 个红火蚁地理种群在 7 个微卫星位点上的多态位点百分率 P 为 37.17% ~ 49.73%，平均为 43.63%，表明这 7 个微卫星位点均具有中等程度的多态性，可以作为有效的遗传标记用于红火蚁地理种群遗传多样性和系统发生关系的分析，同时表明红火蚁种群具有比较丰富的遗传多样性。

3.3 红火蚁地理种群的遗传分化与变异

产生遗传分化的原因有多方面，包括有性生殖、体细胞突变、选择、基因流、遗传漂变以及环境

的影响等(李伟丰等,2007)。本试验所研究的15个红火蚁种群分别来自我国广东、广西、福建、香港4个省(地区)和美国阿拉巴马州,在不同生境作用下,红火蚁种群会形成一定程度的遗传分化,种群间分化系数 F_{ST} 值越大,说明种群的分化程度越高。15个红火蚁地理种群间分化系数的平均值达到0.4258,表明各种群之间有较高分化的程度,接近一半的遗传变异发生在种群间。种群内近交系数 F_{IS} 与总近交系数 F_{IT} 的值均较小,平均值分别仅为0.1616与0.2820,表明这15个种群在各种群内部的近交程度都较低。

基因流是指生物个体从其发生地分散出去而导致不同种群间基因交流的过程,可发生在同种或不同种的生物种群之间。基因流的强弱程度因不同的种群、不同的时间地点而有很大差异,但其基本作用是削弱种群间的遗传差异,提高遗传多样性的程度。由此可见,基因流是影响种群遗传分化的另一个重要因素,高水平的基因流可以防止种群间的遗传分化,使种群趋于一致。而遗传漂变是指由于某种随机因素,某一等位基因的频率在群体中出现世代传递的波动现象。当种群间的基因流 $N_{em} > 1$ 时即能有效抑制由遗传漂变引起的遗传分化,当 $N_{em} < 1$ 时基因流就不足以抵制种群内因遗传漂变而引起的种群分化(Slatkin,1985)。15个红火蚁地理种群间的 N_{em} 仅为0.7442,说明各种群间存在着较高分化的程度,而除了地理隔离与环境因素,遗传漂变很可能是引起较大分化的一个重要原因。

利用遗传距离可以估测种群间的进化关系,关于计算遗传距离的方法很多,但目前应用较广泛的遗传距离指标是Nei & Li(1979)于20世纪70年代提出来的,即为Nei's标准遗传距离。根据遗传距离 D 显示,河源红火蚁种群与其他种群间的遗传距离均相对高于其他各种群间的遗传距离,表明河源种群与其他地理种群之间的遗传差异比较大,存在明显的遗传分化,可能是较为原始的类型;而美国阿拉巴马州红火蚁种群与国内红火蚁各种群之间的遗传距离均较小,表明其与国内红火蚁种群间的遗传差异不大。从根据Nei's标准遗传距离构建的UPGMA聚类图可以看出,厦门和集美的红火蚁种群聚为一支,广州五山和增城的红火蚁种群聚为一支,这说明遗传距离与实际地理距离之间有一定的

关系;但是美国阿拉巴马州的红火蚁种群与国内红火蚁种群之间的遗传距离比起河源种群与国内其他种群之间的遗传距离却小得多,这说明遗传距离与实际地理距离之间不一定呈正相关。从供试红火蚁种群复杂的遗传结构可以看出,中国红火蚁各种群间既存在着由于地理因素造成的遗传分化,又存在着因为种苗、花卉、草皮等带土植物的贸易调运所带来的种群扩散。

3.4 中国红火蚁种群的扩散途径

一般来说,在正常的种群扩散过程中,如果没有大的自然屏障,地理上相邻地区种群间的生物多样性应该比较接近。从UPGMA聚类图中可以看到,厦门和集美、广州和增城这些地理距离相近地区的红火蚁种群都首先聚成了一支,说明它们之间的遗传距离较近,可能是红火蚁种群通过自然扩散而形成。

从UPGMA聚类图上还可以看到,广州五山和增城的红火蚁种群与厦门和集美种群聚成一支,其间的遗传距离小于与广东其他地区红火蚁种群之间的遗传距离,这些地区的地理距离相隔较远,且多后型蚁巢的扩散方式主要是通过分巢进行,独立建巢能力和远距离迁移能力都比较弱(陆永跃等,2008;许益鏊等,2006),因此认为红火蚁不可能靠其自身的迁飞能力扩散,只能靠人为传播,如因园艺植物污染、草皮污染、土壤废土移动、园艺农具设备污染、空货柜污染、车辆等运输工具污染等而进行长距离传播。由于这些地区的生境都适宜红火蚁的定殖,当被红火蚁污染的带土植物经过频繁调运而又未做有效处理时,则利于红火蚁的远距离扩散,从而造成地理距离相隔较远的地区之间存在较小的遗传距离。因此,在进行种苗、花卉、草皮等植物性产品的贸易调运时,为避免红火蚁的传播扩散,一般要求不带土。

参考文献

- 李伟丰,杨朗,唐侃,曾玲,梁广文. 2007. 中国桔小实蝇种群的微卫星多态性分析. 昆虫学报, 50(12): 1255 - 1262.
- 陆永跃. 2014. 中国大陆红火蚁远距离传播速度探讨和趋势预测. 广东农业科学, 41(10): 70 - 72.
- 陆永跃,梁广文,曾玲. 2008. 华南地区红火蚁局域和长距离扩散规律研究. 中国农业科学, 41(4): 1053 - 1063.
- 邵敬国. 2008a. 我国红火蚁 *Solenopsis invicta* 社会型鉴定及

- 不同地理种群遗传差异性分析. 武汉: 华中农业大学.
- 邵敬国, 罗礼智, 陈浩涛, 江幸福, 雷朝亮. 2008b. 应用多元 PCR 技术对我国红火蚁社会型的鉴定. *昆虫学报*, 51 (1): 551 – 555.
- 许益鏖, 陆永跃, 曾玲. 2006. 红火蚁局域扩散规律研究. *华南农业大学学报*, 27(1): 40 – 42.
- 曾玲, 陆永跃, 陈忠南. 2005a. 红火蚁监测与防治. 广州: 广东科技出版社.
- 曾玲, 陆永跃, 何晓芳, 张维球, 梁广文. 2005b. 入侵中国大陆的红火蚁的鉴定及发生为害调查. *昆虫知识*, 42 (2): 144 – 148.
- Aanen D K and Eggleton P. 2005. Fungus-growing termites originated in African rain forest. *Current Biology*, 15: 851 – 855.
- Botstein D, White R L, Skolnick M and Davis R W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314 – 331.
- Cheng S, Lee C T, Wan M N and Tan S G. 2013. Microsatellite markers uncover cryptic species of *Odontotermes* (Termitidae: Termitidae) from Peninsular Malaysia. *Gene*, 518: 412 – 418.
- He X F, Lu Y Y, Zhang W Q and Zeng L. 2006. Three haplotypes found in populations of the red imported fire ant invading China. *Acta Entomologica Sinica*, 49: 1046 – 1049.
- Krieger M J B and Keller L. 1997. Polymorphism at dinucleotide microsatellite loci in fire ant *Solenopsis invicta* populations. *Molecular Ecology*, 6: 997 – 999.
- Nei M and Li W H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 76: 5269 – 5280.
- Prokop A and Meinertzhagen I A. 2006. Development and structure of synaptic contacts in *Drosophila*. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 17: 20 – 30.
- Slatkin M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16: 393 – 430.
- Stark A E. 2006. A clarification of the Hardy-Weinberg law. *Genetics*, 174: 1695 – 1697.
- Vinson S B. 1997. Invasion of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae): spread, biology and impact. *American Entomologist*, 43: 23 – 39.
- Wang L, Lu Y Y, Xu Y J and Zeng L. 2013. The current status of research on *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) in mainland China. *Asian Myrmecology*, 5: 125 – 138.
- Wang S, Miao X, Zhao W, Huang B, Fan M, Li Z and Huang Y. 2005. Genetic diversity and population structure among strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, as revealed by inter-simple sequence repeats (ISSR). *Mycological Research*, 109: 1364 – 1372.
- Yook M J, Lim S H, Song J S, Kim J W, Zhang C J, Lee E J, Ibaragi Y, Lee G J, Nah G and Kim D S. 2014. Assessment of genetic diversity of Korean *Miscanthus* using morphological traits and SSR markers. *Biomass and Bioenergy*, 66: 81 – 92.

(责任编辑: 郭莹)