



# 微卫星标记及其在蚜虫种群生物学研究中的应用

王永模, 沈佐锐\*, 高灵旺

( 中国农业大学, 农学与生物技术学院 IPMist 实验室, 北京 100094 )

**摘要:** 微卫星(SSR)是以1~6个碱基为重复单位组成的简单串联重复序列, 具有丰度高、多态性高、共显性遗传、选择中性和可重复性好等优点。微卫星标记技术可分为三种类型: 基于杂交的SSR指纹、基于PCR的SSR指纹和单位点SSR的PCR扩增。前两者不需要知道基因组序列信息, 属于多位点标记; 后者则需要前期工作, 属于单位点标记, 即通常所指的微卫星标记。到目前为止, 共在14种蚜虫中筛选到141个微卫星位点, 并发表了相关的引物序列, 这给今后的相关研究提供了丰富的共享资源。业已证明微卫星引物在邻近种之间有一定的通用性。微卫星标记严格遵守孟德尔遗传规律, 已经被用来推断某些蚜虫有性生殖的情况。同种蚜虫中可能同时存在有性系和无性系, 微卫星研究证明有性系比无性系有更高的遗传多样性, 无性系通常表现出杂合过剩和连锁不平衡。蚜虫的迁飞规律适合用微卫星标记加以研究, 已有的研究显示在具有高度迁飞特性的种类中, 地理种群间的遗传分化程度低, 基因频率的相似性高。存在广泛分布的相同的多位点基因型是迁飞性蚜虫的另一个重要特征。在我国, 微卫星应用于蚜虫生物学研究的工作还较少, 鉴于该种标记的优良特性和巨大的潜力, 本文建议今后相关的研究应该首先考虑微卫星标记。

**关键词:** 微卫星; 微卫星标记; 蚜虫; 遗传结构; 地理种群

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)06-0621-07

## Microsatellite markers and their application in aphid population biology

WANG Yong-Mo, SHEN Zuo-Rui\*, GAO Ling-Wang ( Laboratory of IPMist, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China )

**Abstract:** Microsatellites are simple tandemly repeated sequence with repeat units of 1–6 bp in length. As genetic markers, microsatellites are widely dispersed in eukaryotic genomes. The advantages of microsatellites include high polymorphism, high abundance, co-dominance, selective neutrality and high reliability. There are three kinds of techniques to analyze microsatellites: repeat-sequence hybridization fingerprints, repeat-sequence primer PCR fingerprints and single-locus microsatellite PCR. The first two kinds belong to multiple-locus markers, and the last one is single-locus marker and generally named ‘microsatellite marker’. Up to now, 141 microsatellite loci were cloned from 14 aphid species, and primers for them were published, which provided abundant information for future studies. In addition, these primers probably work in closely related species. Conforming to Mendel’s law, microsatellites were successfully used to speculate sex recombination in some species. Sexual and asexual lineages may coexist in a single aphid species. Microsatellites revealed that genetic diversities were generally higher in sexual lineages than in asexual lineages, but asexual lineages often exhibited heterozygote excesses and linkage disequilibrium. Microsatellites were also effective in studying migration of aphid. Low differentiations and high allelic frequency homogeneity were revealed in highly migratory aphids. The distribution of identical multilocus genotypes was directly used as an indicator of migration ambit. Until now, microsatellites have been rarely used in aphid study by domestic researchers in China. It has been proved that microsatellites are excellent genetic markers, so we expect to see more application of this kind of marker in aphid study.

**Key words:** SSR; microsatellite marker; aphid; genetic structure; geographical population

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671374); 国家‘十一五’科技支撑计划(2006BAD08A01)

作者简介: 王永模, 男, 1976年生, 湖南常德人, 博士生, 主要从事昆虫分子生态学研究, E-mail: wymhgzg@163.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: ipmist@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-02-06; 接受日期 Accepted: 2007-05-14

20 世纪 60 年代以前,生物的形态与行为变异一直是种群生物学和生态学研究中最常用的指标,但这种表型变异很少。1966 年 Lewontin 等人首次将等位酶电泳技术应用于生物学研究(Lewontin and Hubby, 1966; Harris, 1966)。由于等位酶在应用上仍有一定局限性,很多极具意义的研究工作无法开展,尤其是那些需要了解种群内个体间遗传关系的研究(Parker *et al.*, 1998)。20 世纪 90 年代以后,PCR 技术的广泛应用,使 DNA 的多态性可通过体外克隆快速、高效地检测出来,于是出现了基于 PCR 的 RAPD、SSR 和 AFLP 等新的 DNA 标记技术,为种群生物学的研究提供了更为灵敏有效的分子手段。

微卫星(microsatellites),也称简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)或短串联重复(short tandem repeat, STR)是指以 1~6 个核苷酸为重复单位组成的简单串联重复序列,由于重复的次数不同以及重复的程度不一致而造成这些序列的多态性。微卫星位点上不同长度的等位基因按简单的孟德尔方式遗传。由于微卫星具有高度多态性、在基因组中含量丰富且分布均匀等优点,这一技术很快便发展为一种优良的分子标记,并在自然种群的许多研究中得到了广泛应用。本文旨在介绍微卫星标记及其在蚜虫种群生物学研究的进展。

## 1 微卫星标记技术的类型和优点

### 1.1 微卫星技术的类型

现有的微卫星技术包括基于杂交的 SSR 指纹、基于 PCR 的 SSR 指纹和单位点微卫星的 PCR 扩增三种类型。

**1.1.1 基于杂交的 SSR 指纹** 起初对微卫星序列的认识仅限于可变数的短重复序列,因此基于杂交的微卫星指纹最先发展起来。这方面的先驱工作是 Ali 等(1986)和 Schäfer 等(1988)进行的。他们证明互补于简单重复序列的合成的杂交探针如(GATA)<sub>n</sub>等,可成功地应用于人类 DNA 指纹分析。其检测流程包括限制性酶消化基因组 DNA、电泳分离、杂交显影等,这种方法不需要预先知道基因组序列信息。

**1.1.2 基于 PCR 的 SSR 指纹** 自从 PCR 技术以后,在 PCR 基础上发展起来的检测微卫星指纹策略大量出现。传统的用作探针的简单重复序列也可作为 PCR 扩增的单条引物,如(CA)<sub>n</sub>、(CACA)<sub>n</sub>等,这种技术被称为微卫星引动的 PCR(microsatellite primed PCR)。龚鹏等(2001a, 2001b)用此种方法研究了不

同蚜型的棉蚜间的分化和不同寄主种群的分化;邹晨辉等(2001)也应用该方法对 3 个棉蚜地理种群的遗传差异进行了初步的研究。

为了防止作为单条引物的简单重复的寡核苷酸在基因组上的滑动,在微卫星引动的 PCR 基础上发展了锚定的 SSR-PCR,即在微卫星引物序列如(CACA)<sub>n</sub>的 3'端或 5'端加 2~5 个核苷酸,这样实际扩增出来的是重复序列之间的区域,因此又称为 Inter SSR,简称 ISSR。

以上这三种微卫星标记属于显性的多位点标记,不需要预先知道基因组的序列信息,但不能区分杂合体和纯合体。

**1.1.3 单位点微卫星的 PCR 扩增** 对微卫星位点的进一步研究发现,除了中间的简单重复序列以外,两端一般存在保守序列(Litt and Luty, 1989)。一旦得知微卫星 DNA 两翼区域的序列,就可以根据这个信息来设计位点专一的引物,用 PCR 扩增出单个微卫星位点。个体的多态行为主要是由于串联重复的次数是高度可变的,因此用两翼引物的扩增应该产生一组多态的、富含信息的带(从一个单位点而来)。两翼区域的序列在种内或邻近种之间是高度保守的,这一点对于蚜虫研究至关重要。因为自然采集的蚜虫的寄生率(主要为蚜茧蜂类)和真菌感染率很高(张广学和钟铁森, 1983),在提取蚜虫基因组 DNA 时不可避免的会把这些寄生物的 DNA 也混进去,很显然,在做像 RAPD 这样的随机引物 PCR 时,会部分扩增寄生物的基因组 DNA,从而会产生假带而得到错误的分析结果。然而,单位点微卫星引物严格根据保守序列设计的,不会扩增非目的基因组 DNA,可以避免这种可能的错误。下文主要针对单位点的微卫星标记。

### 1.2 微卫星作为遗传标记的特点

用微卫星作为遗传标记与其他 DNA 分子标记(包括 RFLP、RAPD 和 AFLP)相比具有以下优点(1)微卫星 DNA 的核心序列虽然是特定的,但其核心序列的重复次数则是高度变化的。由于重复次数的不同,使某一位点的微卫星 DNA 在群体的不同个体中形成众多的等位基因,再加上微卫星位点在真核生物基因组中广泛分布,使微卫星 DNA 成为多态信息含量极高的分子标记。(2)微卫星 DNA 呈共显性的孟德尔遗传,能区分某一位点个体的杂合或纯合状态。利用设计好的微卫星引物,PCR 扩增产物在 PAGE 胶上出现一条带则为纯合子,两条带则为杂合子,对于多倍体生物而言杂合子可能出现两条以

上的带。(3)微卫星采用单位点的 DNA 指纹技术,检测相对容易(比 RAPD 复杂,但比 AFLP 容易),具有其他分子标记不可比拟的可重复性。(4)微卫星 DNA 扩大了取样范围,减轻了取样工作的困难,不需要室内饲养以剔除寄生物(对于蚜虫而言)。

图 1 是微卫星位点 S23 对荻草谷网蚜 *Sitobion miscanthi* 不同个体的 PCR 扩增结果,从中可以看出

微卫星标记的部分特点。图中可以清楚地读出共有 5 个等位基因,其中 4 号泳道为纯合体,其余均为杂合体,另外还显示出多个相同的基因型,如泳道 1、3、6、8、9、10 上的个体。这与荻草谷网蚜主要以孤雌生殖的事实相符(孤雌生殖产生的后代具有相同的基因型)。

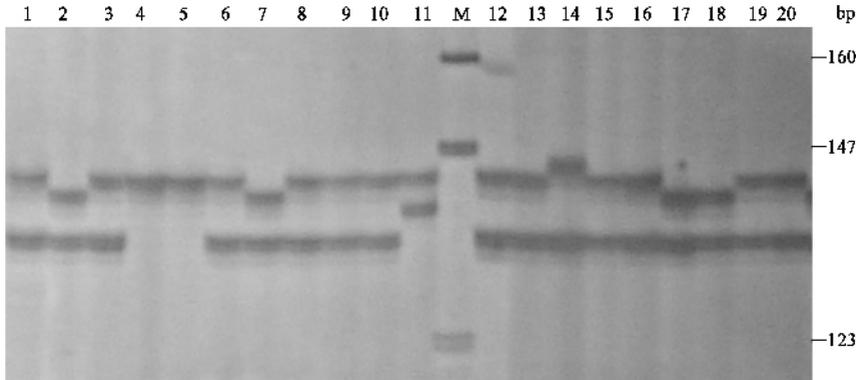


图 1 微卫星位点 S23 在荻草谷网蚜 *Sitobion miscanthi* 20 个体上的 PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR results of microsatellite locus S23 on 20 individuals of the wheat aphid, *Sitobion miscanthi* using 6% denaturing polyacrylamide gel electrophoresis, 0.4 mm thick, 81 W; M: DNA marker(作者未发表资料) 6% denaturing polyacrylamide gel electrophoresis, 0.4 mm thick, 81 W; M: DNA marker(our unpublished data).

## 2 蚜虫微卫星位点的研究进展

蚜虫的微卫星研究始于 1996 年 Sunnucks 等在荻草谷网蚜中发表的 4 个微卫星位点及相关的引物序列(Sunnucks *et al.*, 1996)。到目前为止,共在 14 种蚜虫中发表了 141 个微卫星位点(表 1),从表中所

给的文献中可以查到这些位点的引物序列。国内这方面的研究相对较少,杨效文等(2001)在棉蚜 *Aphis gossypii* 中筛选到 2 个微卫星位点 CAM-4 和 CMA-14,设计了相应的引物,并在中国棉蚜种群中证明每个位点有 2~6 个等位基因,因为这两个位点没有在 GenBank 中注册,因此没有包括在表 1 中。

表 1 蚜虫类中已经分离到的微卫星位点及其文献出处

Table 1 Microsatellite loci isolated from aphids and their literature sources

蚜虫种类 Aphid species	位点数 Number of loci	文献出处 Source	GenBank 登录号 GenBank accession no.
麦长管蚜 <i>Sitobion avenae</i>	4	Simon <i>et al.</i> , 1999; Wilson <i>et al.</i> , 2004	AY352641 - 44
荻草谷网蚜 <i>Sitobion miscanthi</i>	17	Sunnucks <i>et al.</i> , 1996; Wilson <i>et al.</i> , 1997, 2004; Simon <i>et al.</i> , 1999	AY380119 - 22; AY349958 - 70
桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	10	Sloane <i>et al.</i> , 2001	AF233240 - 48, 39
棉蚜 <i>Aphis gossypii</i>	8	Vanterberghe-Masutti <i>et al.</i> , 1999	AF092525 - 32
禾谷缢管蚜 <i>Rhopalosiphum padi</i>	8	Simon <i>et al.</i> , 2001	AF277461 - 66; AF349550, 65
囊柄瘦绵蚜 <i>Pemphigus bursarius</i>	6	Miller <i>et al.</i> , 2000	AF267192 - 96
早螺瘦绵蚜 <i>Pemphigus spyrothecae</i>	8	Johnson <i>et al.</i> , 2000	AF246670, 71, 77, 79, 82, 83, 86, 88
车前西圆尾蚜 <i>Dysaphis plantaginea</i>	5	Harvey <i>et al.</i> , 2003	AY152175 - 79
艾菊蚜 <i>Metopeurum fuscoviride</i>	6	Massonnet <i>et al.</i> , 2002	AF291756, 57, 59, 60; AF420233, 34
艾菊小长管蚜 <i>Macrosiphoniella tanacetaria</i>	8	Massonnet <i>et al.</i> , 2001	AF286011 - 16; AY004317, 18
豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	19	Caillaud <i>et al.</i> , 2004; Kurokawa <i>et al.</i> , 2004	AY528722 - 34; AB162918 - 23
梅大尾蚜 <i>Hyalopterus amygdali</i>	11	Lozier <i>et al.</i> , 2005	AY907016 - 26
甜菜蚜 <i>Aphis fabae</i>	21	D'Acier <i>et al.</i> , 2004; Gauffre and D'Acier, 2006	DQ295044 - 55; AY506847 - 54
马铃薯长管蚜 <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	10	Raboudi <i>et al.</i> , 2005	AY496236, 38, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 48, 49

用于 PCR 扩增微卫星的引物必须依据特定微卫星位点的侧翼序列设计而成,此系这一技术的主要缺点。除了一些已知大量序列信息的研究对象以外,对于一个序列信息完全未知的新种,首先必须建立一个基因文库并筛选微卫星位点,然后对其侧翼序列进行测序,最后设计并测试扩增这些位点的 PCR 引物,这些实验工作十分繁琐,需要投入大量的时间和精力。最近的研究表明利用其他种的已知的引物序列来扩增目标种的微卫星位点有一定的可行性。Wilson 等(2004)用已知位点的引物在非目标的蚜虫种类中也得到了很好的扩增结果。因此,对一个序列完全未知的蚜虫种类进行研究时,在着手构建它的基因文库和筛选微卫星位点之前,可以先从其近缘种现有的微卫星位点中进行筛选。

### 3 微卫星标记在蚜虫生物学研究中的应用

#### 3.1 生殖模式系间的遗传差异研究

蚜虫是一个复杂的类群,一般认为存在全周期型和不全周期型两种类型。国外有些研究将其生殖模式(reproductive mode)作了更细的划分(1)周期性孤雌生殖(cyclical parthenogenesis),每年秋天发生一次有性生殖,全年中其他时间发生若干代孤雌生殖(即全周期型);(2)专性孤雌生殖(obligate parthenogenesis),遗传上决定其不能产生任何形式的有性世代,终年营孤雌生殖(即不全周期型);(3)中间类型(intermediate strategy),在秋季短日和低温诱导条件下继续营孤雌生殖,但同时产生一部分雌性蚜和雄性蚜;(4)产雄专性孤雌生殖(obligate parthenogenesis with male production),在短日和低温诱导条件下继续营孤雌生殖,但同时产生一少部分雄性蚜,而不出现雌性蚜(Blackman, 1972; Simon *et al.*, 1991)。在同一种蚜虫中可能同时间同地域存在以上 2 种或多种生殖方式品系(lineage),类型 1 和类型 3 被称为有性系,类型 2 和类型 4 被称为无性系(Wilson *et al.*, 2003)。

蚜虫的生物模式受到气候的选择。当冬季气温稳定低于孤雌蚜的抗寒冷极限时,周期性孤雌生殖和中间类型占明显优势,因为只有该类型可以产生越冬卵安全越冬;当冬季气温稳定高于孤雌蚜的抗寒冷极限时,专性孤雌生殖类型因为具有最高的生殖率而占有明显的优势;当冬季气温在抗寒冷极限上下波动时,则是中间类型占优势,或是各种类型混合

发生。气候与纬度相关,从南到北投入有性生殖的比例依次增加,这就是蚜虫生殖模式气候分布模型,即 Risper 模型(Risper and Pierre, 1998; Risper *et al.*, 1998)。Dedryver 等(1998, 2001)对麦长管蚜 *S. avenae* 的一等系研究证实了该种在法国存在各种生殖模式,并且符合 Risper 模型。

Papura 等(2003)用 7 对微卫星引物对处于两种完全不同气候类型下的麦长管蚜 *S. avenae* 种群进行了遗传分析(法国种群,温带海洋性气候,冬季温和;罗马尼亚种群,温带大陆性气候,冬季严寒),结果表明罗马尼亚种群具有低的连锁不平衡(linkage disequilibrium)和高的遗传多样性,而法国种群则相反,表现出低的遗传多样性和高的连锁不平衡,其中 2 种主要的基因型代表了 60% 的样本数,这是以孤雌生殖为主的蚜虫的典型特征(Simon *et al.*, 2002)。他们的结果证明在大陆性气候下麦长管蚜主要进行有性生殖,而在海洋性气候条件下进行无性生殖占的比例高(Papura *et al.*, 2003)。

Simon 等(1999)用光温诱导的方法研究了麦长管蚜 *S. avenae* 生殖模式在法国的分布,并对 8 个地理种群进行了微卫星检测(5 对引物),结果表明有性生殖系几乎都分布在法国的北部,而无性生殖系较多地分布于南部;微卫星检测结果显示无论是在有性系还是在无性系都发现了较高等位基因多态性,综合遗传多样性的规律是:周期性孤雌生殖 > 中间类型 > 产生雄专性孤雌生殖 > 专性孤雌生殖。其他类似研究都证明有性系的基因型多样性要多于无性系(Fenton *et al.*, 1998; Fuller *et al.*, 1999; Wilson *et al.*, 1999; Haack *et al.*, 2000; Guillemand *et al.*, 2003; Llewellyn *et al.*, 2003, 2004; Vorburger *et al.*, 2003)。Wilson 等(2003)对这种遗传多样性差异的解释加以总结:有性系至少每年要进行一次有性生殖,有性生殖过程会出现的基因分离与重组,这就极大丰富基因型多样性;无性系不但不会发生基因分离和重组,而且自然选择作用还会逐步剔除部分基因型,使其遗传多样性进一步降低。

无性系和有性系的遗传差异还表现在杂合度上。Delmotte 等(2002)利用禾谷缢管蚜 *R. padi* 有性系和无性系在秋季分布位置不同的特性(性蚜在木本寄主上,无性蚜在禾本科植物上),在全法国 9 个地点采集到 6 个无性种群和 8 个有性种群,7 对微卫星引物分析表明有性种群有高的等位基因多样性和杂合度缺失(heterozygote deficit),与此相反无性种群有低的等位基因多样性和杂合度过剩

(heterozygote excess)。在其他蚜虫种类中也发现了这种规律(Simon *et al.*, 2002)。一般认为邻近的蚜虫种类之间发生杂交是无性系的起源之一,因此无性系必然会表现出高的杂合度,另一方面微卫星位点上的突变在无性系中可以逐步积累,从而增加了杂合度(Simon *et al.*, 2002)。

### 3.2 推断有性生殖的发生情况

一些蚜虫种类很少发生有性生殖,或者因为缺少诱导条件(如短日照或低温)而不发生有性生殖(Blackman and Eastop, 2000)。上文已经提到,微卫星 DNA 严格按照孟德尔规律进行遗传,两个给定的基因型(具体到电泳图上即为带型)进行交配,其子代的基因型可以预见。因此,可以用微卫星标记对有性生殖加以推断(Hales *et al.*, 1997)。

Sunnucks 等(1996)用 4 对微卫星引物对采自于澳大利亚各个地区的 555 头荻草谷网蚜 *S. miscanthi* 和 121 头的 *S. near fragariae* 进行了遗传分析。在澳大利亚这两种蚜被认为是完全孤雌生殖的,并且是近代从亚洲传入的(Blackman and Eastop, 2000)。结果发现每个位点都具有丰富的多态性(2~10 个等位基因/位点),但是它们的基因型多样性却异常的低,仅在荻草谷网蚜中发现 7 个多位点基因型(multilocus genotype),在 *S. near fragariae* 只发现 1 个多位点基因型,此种结果从遗传上证明在澳大利亚荻草谷网蚜和 *S. near fragariae* 没有经历任何有性生殖。

Fuller 等(1999)用 7 对微卫星引物对法国几个地区温室内的棉蚜种群进行了遗传学研究,结果证实棉蚜在法国以专性孤雌生殖为主,在 694 个克隆中只发现了 12 个基因型,并且 3 个主要基因型占了 87% 的样本数,没有一个基因型是另外任何两基因型通过有性生殖而产生的,说明这些样本中也没有发生有性生殖;另外还发现随着时间推移(春-秋),遗传多样性降低,说明选择和克隆间竞争可能正在起作用。

### 3.3 对蚜虫迁飞规律的研究

许多蚜虫种类均有长距离迁飞短距离扩散的行为(Loxdale *et al.*, 1993)。上世纪六七十年代,北美有几篇涉及麦二叉蚜远距离迁飞的文献,他们认为美国北部和加拿大发生的二叉蚜大部分是从外地迁入的(Hodson and Cook, 1960; Wallin and Loonan, 1971)。Close 和 Tomlinson(1975)也报道了荻草谷网蚜 *S. miscanthi* 从澳大利亚迁飞到新西兰的记录。但是由于蚜虫个体小、寿命短,传统的标记/回收方

法显然不适用。而微卫星标记技术在蚜虫迁飞的研究中具有独特的优势。在具有高度迁飞特性的种类中,地理种群间的遗传分化程度低,基因型频率的相似性高。在以孤雌生殖为主的种类中,还可以从多位点基因型的地理分布来直接推断迁飞规律,因为相同的多位点基因型可以认为是同一个孤雌蚜的后代(Wilson *et al.*, 1997)。

Simon 等(1999)用 5 个微卫星位点对法国 8 个地理种群的麦长管蚜进行了研究,在 277 个样本中检测到 120 个多位点基因型,其中有 10 个在全法国 8 个种群中都有发现,说明欧洲麦长管蚜有高度迁飞特性。Llewellyn 等(2003)用 4 对微卫星引物对采集于英国的 4 个地理种群的麦长管蚜 *S. avenae* 进行了连续 2 年的遗传结构研究,结果显示等位基因频率在所有的地理种群间都没有显著差异,而且有时间上的稳定性;但是基因型结构在年际间和地理种群间有显著变化,第一年经历了一个严冬,基因型多样性表现出随纬度变化的趋势(高纬度多样性高,低纬度多样性低),第二年是一个暖冬年,此种变化不明显。对遗传数据进行综合  $F_{ST}$  分析表明空间遗传结构不明显。这种遗传结构及其变化形式表明麦长管蚜在英国存在各种生殖模式,并且再一次证明了麦长管蚜具有高度的迁飞特性(Llewellyn *et al.*, 2003)。Guillemaud 等(2003)用 7 对微卫星引物对法国不同地理种群的桃蚜进行了时间和空间的遗传结构分析,利用有性系和无性系在秋季(交配产卵期)分布位置不同的特性,直接得到有性系和无性系,遗传数据表明有性系的基因型多样性明显多于无性系,基因型多样性随时间而降低(春-秋),说明自然选择正在起作用,当两个地点距离小于 60 km 时遗传结构差别不明显,当两个地点距离在 150~200 km 之间时差异明显,表明桃蚜的迁飞范围大概在此距离之间。

Wei 等(2005)用 5 对微卫星引物研究了中国麦蚜 *Macrosiphum miscanthi* 15 个地理种遗传结构,通过遗传距离分析发现东部平原地区各种群间的遗传距离近,西部高原各种群间遗传距离远,推测在地理距离相当的情况下地势可以阻碍迁飞,但总趋势是遗传距离随着地理距离的增大而增大。

与上述具有高度迁飞特性的蚜虫种类相比,微卫星标记还揭示了许多不具强扩散能力的蚜虫种类,如囊柄瘦绵蚜,当 2 个群体在相距大于 14 km 的情况下出现明显的遗传分化(Miller *et al.*, 2003)。Wilson 等(2002)报道桃蚜在澳大利亚也是不具有较

强迁飞特性的种类,群体之间的地理距离大于 50 km 时出现了较高的遗传分化,这与 Guillemaud 等 (2003) 的研究结果有所出入,可能同种蚜虫在不同的大洲之间存在着迁飞特性的不同。

## 4 结语与展望

微卫星标记以其固有的优点为种群生物学家提供了空前丰富的遗传信息,是近年来发展最快的遗传标记之一。从上文可以看出,在国外微卫星已经被广泛地应用于蚜虫生物学研究,而国内的相关研究明显滞后,有很多研究还停留在多点 SSR 指纹或 RAPD 标记阶段。不可否认 RAPD 标记曾经极大地推动了分子生态学的发展,但是它的可靠性一直受到怀疑,著名的杂志《Molecular Ecology》已经不鼓励用 RAPD 作为研究手段的研究工作(<http://www.blackwellpublishing.com/submit.asp?ref=0962-1083>)。幸运的是,到现在为止共有 14 种蚜虫的 141 个微卫星位点和相关的引物序列发表,而且微卫星引物在邻近的种之间有一定的通用性,因此这些引物序列可以满足大多数蚜虫研究对遗传标记的需要。笔者建议今后用遗传标记来研究蚜虫种群生物学问题时应该首先考虑微卫星标记。

## 参考文献 (References)

- Ali S, Müller CR, Epplen JT, 1986. DNA fingerprinting by oligonucleotide probes specific for simple repeats. *Hum. Genet.*, 74: 239 – 243.
- Blackman RL, 1972. The inheritance of life-cycle differences in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hem., Aphididae). *Bull. Entomol. Res.*, 62: 281 – 294.
- Blackman RL, Eastop VF, 2000. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. 2nd ed. John Wiley and Sons Ltd., Chichester. 345 – 346.
- Caillaud MC, Mondor-Genson G, Levine-Wilkinson S, Mieuxet L, Frantz A, Simon JC, D'Acier AC, 2004. Microsatellite DNA markers for the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Molecular Ecology Notes*, 4: 446 – 448.
- Close RC, Tomlinson AL, 1975. Dispersal of the grain aphid *Macrosiphum miscanthi* from Australia to New Zealand. *N. Z. Entomol.*, 6: 62 – 65.
- D'Acier AC, Sembène M, Audiot P, Rasplus JY, 2004. Polymorphic microsatellites loci in the black aphid, *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Hemiptera, Aphididae). *Molecular Ecology Notes*, 4: 306 – 308.
- Dedryver CA, Le Gallic JF, Gauthier JP, Simon JC, 1998. Life cycle of the cereal aphid *Sitobion avenae* F.: polymorphism and comparison of life history traits associated with sexuality. *Ecol. Entomol.*, 23: 123 – 132.
- Dedryver CA, Hullé M, Le Gallic JF, Caillaud M, Simon JC, 2001. Coexistence in space and time of sexual and asexual populations of the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Oecologia*, 128: 379 – 388.
- Delmotte F, Leterme N, Gauthier JP, Rispe C, Simon JC, 2002. Genetic architecture of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11: 711 – 723.
- Fenton B, Woodford JAT, Malloch G, 1998. Analysis of clonal diversity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology*, 7: 1475 – 1487.
- Fuller SJ, Chavigny P, Lapchin L, Vanlerberghe-Masutti F, 1999. Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. *Molecular Ecology*, 8: 1867 – 1877.
- Gauffre B, D'Acier AC, 2006. New polymorphic microsatellite loci, cross-species amplification and PCR multiplexing in the black aphid, *Aphis fabae* Scopoli. *Molecular Ecology Notes*, 6: 440 – 442.
- Gong P, Yang XW, Zhang XX, Liu XD, Chen XF, 2001a. Microsatellite primer-PCR studies on the population differentiation of *Aphis gossypii* in relation to host plants and seasons. *Acta Ecological Sinica*, 21(5): 765 – 771. [龚鹏, 杨效文, 张孝羲, 刘向东, 陈晓峰, 2001a. 棉蚜 (*Aphis gossypii*) 种群寄主分化和季节分化的微卫星引物 PCR 研究. 生态学报, 21(5): 765 – 771]
- Gong P, Zhang XX, Yang XW, Chen XF, 2001b. Microsatellite DNA polymorphism in different forms of the cotton aphid. *Acta Entomol. Sinica*, 44(4): 416 – 421. [龚鹏, 张孝羲, 杨效文, 陈晓峰, 2001b. 用微卫星引物 PCR 分析棉蚜不同蚜型的 DNA 多态性. 昆虫学报, 44(4): 416 – 421]
- Guillemaud T, Mieuxet L, Simon JC, 2003. Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity*, 91: 143 – 152.
- Haack L, Simon JC, Gauthier JP, Plantegenest M, Dedryver CA, 2000. Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology*, 9: 2055 – 2066.
- Hales DF, Tomiuk J, Wohmann K, Sunnucks P, 1997. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: a review. *Eur. J. Entomol.*, 94: 1 – 55.
- Harris H, 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proc. Roy. Soc. Lond. B*, 164: 298 – 310.
- Harvey NG, Fitzgerald JD, James CM, Solomon MG, 2003. Isolation of microsatellite markers from the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea*. *Molecular Ecology Notes*, 3: 111 – 112.
- Hodson AC, Cook EF, 1960. Long range aerial transport of the Harlequin bug and the greenbug into Minnesota. *J. Econ. Entomol.*, 53: 604 – 608.
- Johnson PCD, Llewellyn KS, Amos W, 2000. Microsatellite loci for studying clonal mixing, population structure and inbreeding in a social aphid, *Pemphigus spyrothecae* (Hemiptera: Pemphigidae). *Molecular Ecology*, 9: 1445 – 1446.
- Kurokawa T, Yao I, Akimoto SI, Hasegawa E, 2004. Isolation of six microsatellite markers from the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera, Aphididae). *Molecular Ecology Notes*, 4: 523 – 524.
- Lewontin RC, Hubby JL, 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54: 595 – 609.
- Litt M, Luty JA, 1989. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin

- gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 44: 397–401.
- Llewellyn KS, Loxdale HD, Harrington R, Brookes CP, Clark SJ, 2003. Migration and genetic structure of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuation as revealed using microsatellites. *Molecular Ecology*, 12: 21–34.
- Llewellyn KS, Loxdale HD, Harrington R, Clark SJ, Sunnucks P, 2004. Evidence for gene flow and local clonal selection in field populations of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain revealed using microsatellites. *Heredity*, 93: 143–153.
- Loxdale HD, Hardie J, Halbert S, Footitt R, Kidd NAC, Carter CI, 1993. The relative importance of short- and long-range movement of flying aphids. *Biological Reviews*, 68: 291–311.
- Lozier JD, Mills NJ, Palsbøll PJ, Roderick GK, 2005. Di- and tri-nucleotide repeat microsatellites for the mealy plum aphid, *Hyalopterus pruni*. *Molecular Ecology Notes*, 5: 499–501.
- Massonnet B, Leterme N, Simon JC, Weisser WW, 2002. Characterization of microsatellite loci in the aphid species *Metopeurum fuscoviride* (Homoptera, Aphididae). *Molecular Ecology Notes*, 2: 127–129.
- Massonnet B, Leterme N, Simon JC, Weisser WW, 2001. Characterization of microsatellite loci in the aphid species *Macrosiphoniella tanacetaria* (Homoptera, Aphididae). *Molecular Ecology Notes*, 1: 14–15.
- Miller NJ, Birley AJ, Tatchell GM, 2000. Polymorphic microsatellite loci from the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius*. *Molecular Ecology*, 9: 1 951–1 952.
- Miller NJ, Birley AJ, Overall ADJ, Tatchell GM, 2003. Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage. *Heredity*, 91: 321–348.
- Papura D, Simon JC, Halkett, Delmotte F, Gallic JF, Dedryver CA, 2003. Predominance of sexual reproduction in Romanian populations of the aphid *Sitobion avenae* inferred from phenotypic and genetic structure. *Heredity*, 90: 397–404.
- Parker PG, Snow AA, Schug MD, Booton GC, Fuerst PA, 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*, 79: 361–382.
- Raboudi F, Chavigny P, Marrakchi M, Makni H, Vanlerberghe-Masutti F, 2005. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the aphid species *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Ecology Notes*, 5: 490–492.
- Rispe C, Pierre JS, 1998. Coexistence between cyclical parthenogens, obligate parthenogens, and intermediates in a fluctuating environment. *J. Theor. Biol.*, 195: 97–110.
- Rispe C, Pierre JS, Simon JC, Gouyon PH, 1998. Models of sexual and asexual coexistence in aphids based on constraints. *Journal of Evolutionary Biology*, 195: 97–110.
- Schäfer R, Zischler H, Birsner U, Becker A, Epplen JT, 1988. Optimized oligonucleotide probes for DNA fingerprinting. *Electrophoresis*, 9: 369–374.
- Simon JC, Blackman RL, Legallic JF, 1991. Local variability in the life-cycle of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (Homoptera, Aphididae) in western France. *Bull. Entomol. Res.*, 81: 315–322.
- Simon JC, Baumann S, Sunnucks P, Hebert PDN, Pierre JS, Gallic JF, Dedryver CA, 1999. Reproductive mode and population genetic structure of the cereal aphid *Sitobion avenae* studied using phenotypic and microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 8: 531–545.
- Simon JC, Rispe C, Sunnucks P, 2002. Ecology and evolution of sex in aphids. *Trends in Ecology and Evolution*. 17(1): 34–39.
- Simon JC, Leterme N, Delmotte F, Martin O, Estoup A, 2001. Isolation and characterization of microsatellite loci in the aphid species, *Rhopalosiphum padi*. *Molecular Ecology Notes*, 1: 4–5.
- Sloane MA, Sunnucks P, Wilson ACC, Hales DF, 2001. Microsatellite isolation, linkage group identification and determination of recombination frequency in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Genetical Research*, 77: 3 251–3 260.
- Sunnucks P, England PR, Taylor AC, Hales DF, 1996. Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. *Genetics*, 144: 747–756.
- Vanlerberghe-Masutti F, Chavigny P, Fuller SJ, 1999. Characterization of microsatellite loci in the aphid species *Aphis gossypii* Glover. *Molecular Ecology*, 8: 693–695.
- Vorburger C, Lancaster M, Sunnucks P, 2003. Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two ‘superclones’ in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*, 12: 3 493–3 504.
- Wallin, JT, Loonan DV, 1971. Low-level jet winds, aphid vectors, local weather, and barley yellow dwarf virus outbreaks. *Phytopathology*, 61: 1 068–1 070.
- Wei G, Shen ZR, Li ZH, Gao LW, 2005. Migration and population genetics of the grain aphid *Macrosiphum miscanthi* in relation to the geographic distance and gene flow. *Progress in Natural Science*, 15: 1 000–1 004.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Blackman RL, Hales DF, 2002. Microsatellite variation in cyclically parthenogenetic populations of *Myzus persicae* in south-eastern Australia. *Heredity*, 88: 258–266.
- Wilson ACC, Massonnet B, Simon JC, Prunier-Leterme N, Dolati L, Llewellyn KS, Figueroa C, Ramirez C, Blackman RL, Estoup A, 2004. Cross-species amplification of microsatellite loci in aphids: assessment and application. *Molecular Ecology Notes*, 4: 104–109.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Hales DF, 1997. Random loss of X chromosome at male using an X-linked polymorphic microsatellite marker. *Genetical Research Cambridge*, 69: 233–236.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Hales DF, 2003. Heritable genetics variation and potential for adaptive evolution in asexual aphids. *Biol. J. Linn. Soc.*, 79: 115–135.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Hales DF, 1999. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. *Molecular Ecology*, 8: 1 655–1 666.
- Yang XW, Zhang GX, Chen XF, 2001. Isolation and characterization of microsatellite loci from the cotton aphid *Aphis gossypii*. *Acta Entomol. Sinica*, 44: 586–589. [杨效文, 张广学, 陈晓峰, 2001. 棉蚜微卫星 DNA 的克隆及其多态性检测. 昆虫学报, 44: 586–589]
- Zhang GX, Zhong TS, 1983. Economic Insect Fauna of China, Fasc. 25, Homoptera: Aphidinea, Part I. Beijing: Science Press. 37–42. [张广学, 钟铁森, 1983. 中国经济昆虫志, 第二十五册, 同翅目, 蚜虫类(一). 北京: 科学出版社. 37–42]
- Zou CH, Yang XW, Chen XF, Li YX, 2001. Study on geographic population differentiation of cotton aphid, *Aphis gossypii*, using repeat sequence primers PCR. *Entomol. Knowl.*, 38: 348–351. [邹晨辉, 杨效文, 陈晓峰, 李迎霞, 2001. 利用重复序列引物 PCR 方法对棉蚜地理种群遗传差异的初步研究. 昆虫知识, 38: 348–351]