

中华稻蝗等位酶基因型与辛硫磷急性死亡率差异研究

刘晶玉¹, 李翠兰¹, 段毅豪², 郭亚平¹, 张艳红², 马恩波¹

(1.山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006; 2.山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006)

摘要:采用急性致死处理及等位酶电泳分析方法,研究比较了中华稻蝗在 *Ldh*、*Mdh*、*Pgi*、*Pgm* 和 *Me* 基因座位上各基因型个体的死亡率差异。联表 χ^2 检验表明,辛硫磷的致死作用对 *Ldh*、*Pgm*、*Mdh*-1 和 *Me* 各基因型个体的选择是随机的,各基因型与死亡率未见显著的相关性($P>0.05$)。但在 *Pgi* 基因座位上,各基因型个体的死亡率分别为 *Pgi*-BB(30%)、*Pgi*-AA(46%)和 *Pgi*-AB(61%),且 *Pgi*-BB 与 *Pgi*-AB($P<0.01$)之间的基因型与死亡率存在显著的相关关系,以上结果表明本中华稻蝗种群 *Pgi*-BB 基因型很可能与辛硫磷的抗药性有关。

关键词:中华稻蝗;辛硫磷;基因型;等位酶;差别死亡率

中图分类号:X592 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2377-05

Differential Acute Mortality Among the Allozyme Genotypes of *Oxya chinensis* by Pesticide Phoxim

LIU Jing-yu¹, LI Cui-lan¹, DUAN Yi-hao², GUO Ya-ping¹, ZHANG Yan-hong², MA En-bo¹

(1.College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: This study examined the relationship of allozyme genotype frequency to differential mortalities in grasshopper *Oxya chinensis*, a swarming pest with increasing outbreaks in China in the past ten years. The samples were collected from Jinyuan District, Taiyuan, China. The allozyme analysis was performed for population genetic compositions. The data showed the polymorphic loci at *Ldh*, *Mdh*, *Pgi*, *Pgm* and *Me* with sufficient polymorphism as indicated by the mean number of alleles per locus ($A=2.5$), percentage of polymorphic loci ($P=83.3\%$), the observed mean heterozygosities ($H_o=0.257\sim0.318$) and the expected mean heterozygosities ($H_e=0.321\sim0.335$). In examining the possible differential lethal effects of pesticide Phoxim among different allozyme genotypes, a total of 390 *O. chinensis* individuals were exposed to phoxim ($1.96\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) to obtain a mortality of 49.2% after 24 hours. The number of each genotype was later determined. Contingency table χ^2 tests showed that Phoxim displayed random lethal effects on the genotypes at the loci of *Ldh*, *Pgm*, *Mdh*-1 and *Me*. In contrast, at *Pgi* locus, the grasshopper demonstrated a mortality cline of *Pgi*-BB(30%), *Pgi*-AA(46%), *Pgi*-AB(61%) and significant mortality differences were found between *Pgi*-BB and *Pgi*-AB. These data implies the *Pgi*-BB genotype is likely related to the resistance of *O. chinensis* to the pesticide Phoxim.

Keywords: *Oxya chinensis*; phoxim; genotype; allozyme; differential mortality

辛硫磷是一种高效、低毒、低残留、广谱有机磷杀虫剂,具有胃毒和触杀作用,能有效防治多种农业害虫,其作用机制是抑制胆碱酯酶的活性,使昆虫神经系统出现中毒症状而引起死亡^[1]。该药是取代高毒有

机磷杀虫剂的农药品种之一。在应用与推广中,如何有效利用辛硫磷、防止或延缓其抗药性的产生,使之在害虫综合防治中发挥较好的作用,是农业植保部门的一项重要课题。

抗药性是生物进化现象,是昆虫种群内部遗传结构在杀虫剂的定向选择作用下持续变化的结果^[2]。等位酶分析方法以其简单、快速、经济和高效等优点,特别是能同时对多个样品、多个基因座位和多个等位基因进行检测,从而能够快速判断害虫种群遗传结构及其动态变化,为开发害虫抗药性监测指标提供了一

收稿日期:2007-11-13

基金项目:国家自然科学基金(30570247);山西省自然科学基金项目(2006011075)

作者简介:刘晶玉(1982—),女,硕士研究生,主要从事动物生化与分子生物学研究。

通讯作者:马恩波 E-mail:maenbo2003@sxu.edu.cn

个新的方法,目前这方面的研究尚不多见。Guedes 等研究表明,谷蠹(*Rhyzopertha dominica*)种群的遗传结构与抗有机磷杀虫剂的抗性比率呈明显的相关性^[3];本实验室的研究也表明中华稻蝗 *Gpi* 基因型与农药敌百虫和阿维菌素的急性致死作用存在显著相关^[4-5];而 *Pgm* 基因型与农药氯氟氰菊酯和马拉硫磷的急性致死作用存在显著相关^[6-7]。本文在本实验室以往研究的基础上^[4-7],以我国重要农业害虫中华稻蝗(*O. chinensis*)为研究对象,通过了解中华稻蝗等位酶基因型与辛硫磷急性致死作用的关系,探索将这种关系作为中华稻蝗对农药辛硫磷的抗性生物标记物(biomarker)的可能性,以便为中华稻蝗的有效防治提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫及农药

中华稻蝗样本采自山西省太原市晋源区(E112°36',N37°46'),室内适应性饲养 2 d 后,选择健壮、大小均匀的 5 龄若虫作为试虫,试虫体质量为(0.30±0.034)g,进行辛硫磷对中华稻蝗的 LD₅₀测定和急性致死处理,给药途径为腹部点滴法。供试农药为 90%辛硫磷原油,由山西农科院植物保护研究所提供。

1.2 辛硫磷对中华稻蝗 LD₅₀ 测定

将 90%的辛硫磷用丙酮稀释成 60、90、120、240 和 360 mg·L⁻¹ 等系列浓度,作为 5 个处理组,并设丙酮处理为对照组。选择健壮活泼、大小均匀的 5 龄若虫进行随机分组,每个浓度梯度组处理试虫为 18~21 头,雌雄各半。实验采用点滴法,点滴部位为中华稻蝗腹部第二节,试虫滴药量为 4 μL·头⁻¹。点滴后将蝗虫分别置于 10 cm×10 cm×35 cm 的纱笼内饲养,以新鲜狗尾草饲喂。处理 24 h 检查,统计死虫数,记录结果。每一处理重复 3 次。将所得数据采用 SPSS 11.0 进行处理分析,求出毒力回归方程为 $Y=2.791\ 8X-6.067\ 2$, LC₅₀=149.02 mg·L⁻¹;根据滴入蝗虫体内的药液量以及蝗虫的平均质量,计算出中华稻蝗对辛硫磷的半数致死量 LD₅₀=1.96 μg·g⁻¹。

1.3 急性致死处理

根据本实验室所测得的辛硫磷对中华稻蝗的 LD₅₀ 值,将辛硫磷原油用丙酮稀释到终浓度为 0.14 mg·L⁻¹,用微量移液器按 1.96 μg·g⁻¹ 剂量(点滴体积为 4 μL·头⁻¹)滴在 5 龄若虫腹部第二体节。共处理试虫 390 头,点滴后 24 h 检查死亡率,将死亡个体与存

活个体分别保存于-80℃冰箱内备用。

1.4 等位酶电泳技术

根据本实验室以往研究结果^[8-11],对具有多态性的乳酸脱氢酶(*Ldh*)、磷酸葡萄糖变位酶(*Pgm*)、苹果酸脱氢酶(*Mdh*)、果酸酶(*Me*)和磷酸葡萄糖异构酶(*Pgi*)等 5 种等位酶进行分析,实验方法为水平切片淀粉凝胶电泳技术^[12-13],淀粉凝胶浓度为 12.5%,电泳缓冲液为 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄(0.05 mol·L⁻¹, pH7.8),电泳缓冲液与凝胶缓冲液的比例为 9:1。

取每个个体的后足股节肌肉,置于 20 μL 双蒸水内冰浴下匀浆,浸入 3 mm×9 mm 滤纸芯作为上样样品。上样后在 4℃冰箱内恒压(10 V·cm⁻¹)电泳 5 h,水平切片后用特异性染色方法进行染色^[16-17]。酶谱判读时,同一基因座位泳动最快的条带记为 A,以后依次为 B、C 等。

1.5 数据处理

1.5.1 种群遗传结构分析

将存活个体和死亡个体分别计数,其和为总个体(即初始样本)。用 BIOSYS-II^[14]软件计算等位基因频率、哈-温(H-W)平衡适合度、每个基因座位的杂合度(*H*)、固定指数(*F*)、平均每个基因座位的等位基因数(*A*)、多态基因位点百分率(*P*)、平均观察杂合度(*H_o*)和平均期望杂合度(*H_e*)。

1.5.2 基因性与死亡率之间的相关性检验

对中华稻蝗多态基因座位的各基因型与死亡率进行 2×2 列联表χ²检验,以研究基因型与辛硫磷急性致死作用之间的相关性。各多态基因座位上的每个基因型为一组,每组的个体数即为重复数。各多态基因座位上存活或死亡数少于 5 的基因型不计。

2 结果

2.1 中华稻蝗种群遗传结构分析

辛硫磷急性毒性处理后中华稻蝗存活组、死亡组和初始样本的等位基因频率的哈-温平衡预期值的卡方检验(H-W)、每个基因座位的杂合度(*H*)和固定指数(*F*)见表 1。结果表明,中华稻蝗种群的 *Mdh*-1 为单态基因座位(0.95 标准),*Ldh*、*Me*、*Pgi* 和 *Pgm* 为多态基因座位。*Ldh* 和 *Pgi* 分别存在 2 个等位基因,而 *Pgm* 存在 3 个等位基因,*Me* 有 4 个等位基因。*Ldh* 的基因型频率符合哈-温平衡预期值,但 *Pgi*、*Pgm* 和 *Me* 3 个基因座位的基因型频率显著偏离哈-温平衡预期值(表 1)。其中 *Ldh*、*Me* 和 *Pgm* 是由于杂合体缺乏(*F*>0),而 *Mdh*-1 和 *Pgi* 为杂合体过剩(*F*<0)。辛硫磷

表 1 中华稻蝗初始样本、辛硫磷处理后存活组和死亡组的等位基因频率、基因型频率对哈-温平衡预期值的卡方检验、每个基因座位的杂合度(H)和固定指数(F)

Table 1 Allele frequency, Chi-square tests for Hardy-Weinberg's expectation of genotype frequency, heterozygosity(H)and fixation index (F)per loci in alive, dead and initial samples of *Oxya chinensis* after topical application with Phoxim

基因座位	<i>Ldh</i>			<i>Mdh-1</i>			<i>Me</i>			<i>Pgi</i>			<i>Pgm</i>		
	存活组	死亡组	初始样本	存活组	死亡组	初始样本	存活组	死亡组	初始样本	存活组	死亡组	初始样本	存活组	死亡组	初始样本
<i>N</i>	(198) ^a	(192)	(390)	(198)	(190)	(388)	(198)	(192)	(390)	(200)	(194)	(394)	(198)	(186)	(384)
<i>A</i>	0.783	0.753	0.768	0.043	0.042	0.043	0.311	0.299	0.305	0.295	0.425	0.359	0.081	0.056	0.069
<i>B</i>	0.217	0.247	0.232	0.949	0.950	0.950	0.278	0.279	0.278	0.705	0.575	0.641	0.811	0.823	0.816
<i>C</i>				0.008	0.008	0.008	0.207	0.182	0.195				0.109	0.121	0.115
<i>D</i>							0.205	0.240	0.222						
χ^2	0.098	0.272	0.353	0.531	0.497	1.057	156.104	136.283	289.800	1.262	45.503	29.250	72.178	49.093	115.855
							**	**	**		**	**	**	**	**
<i>H</i>	0.333	0.359	0.346	0.101	0.100	0.101	0.465	0.516	0.490	0.450	0.727	0.586	0.192	0.204	0.198
<i>F</i>	0.020	0.035	0.029	-0.046	-0.045	-0.046	0.373	0.305	0.340	-0.082	-0.487	-0.274	0.409	0.331	0.373

注:a 为括号内的值为样本大小 (Sample size in parenthesis), χ^2 为基因型频率对哈-温平衡预测值的卡方检验值 (* $P<0.05$; ** $P<0.01$), (Chi-square values of H-W expectations of genotype frequencies) (* $P<0.05$; ** $P<0.01$), H 为杂合度的直接观察值(Direct count of heterozygosity)。

表 2 中华稻蝗初始样本、辛硫磷处理后存活组和死亡组在 5 个基因座位上的遗传多样性

Table 2 Genetic variability at five loci in alive, dead and initial samples of *Oxya chinensis* after topical application with Phoxim

样本	每个基因座位	平均每个基因	多态基因座位	平均杂合度	
	平均样本大小	座位等位基因	百分率	直接观察值	哈-温平衡预期值
存活组	198.3(0.3)	2.5(0.4)	83.3	0.257(0.078)	0.321(0.107)
死亡组	190.8(1.1)	2.5(0.4)	83.3	0.318(0.111)	0.335(0.110)
初始样本	389.2(1.3)	2.5(0.4)	83.3	0.287(0.093)	0.329(0.108)

注:括号内的值为标准误差(Standard errors in parenthesis),* 当最常见的等位基因频率小于 95 %时,即为多态基因座位(A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed 0.95),** 为无偏差估计(Unbiased estimate, see Nei, 1978)。

处理后中华稻蝗存活组、死亡组和初始样本在 5 个基因座位上的种群遗传度量值见表 2。由表 2 可知,本实验研究的中华稻蝗种群在这 5 个基因座位上的多态性程度较高,体现在较高的平均每个基因座位的等位基因数($A=2.5$)、多态基因座位百分率($P=83.3\%$)、平均观察杂合度($H_0=0.257\sim0.318$)和平均期望杂合度($H_e=0.321\sim0.335$), 适合于辛硫磷作为选择因子对具有不同基因型个体的致死性差异研究。 H_0 小于 H_e ,表明中华稻蝗种群出现了一定程度的杂合体缺乏现象,这可能是由于非随机交配和孤雌生殖等因素引起的,也可能是由于存在着不利于某些杂合体的自然选择。

2.2 中华稻蝗多态基因座位的各基因型与辛硫磷致死作用的关系

用辛硫磷处理中华稻蝗 5 龄若虫 390 头,平均死亡率为 49.2%(194/394)。5 个多态基因座位(*Ldh*、*Pgm*、*Pgi*、*Mdh-1*、*Me*) 上各基因型个体的死亡率及各基因型与死亡率的 2×2 列联表 χ^2 检验结果见表 3。 χ^2 检验结果表明,在 *Ldh*、*Pgm*、*Mdh-1* 和 *Me* 4 个

多态基因座位上,辛硫磷处理后各基因型个体的死亡率均无显著差异($P>0.05$),显示辛硫磷的致死作用对 *Ldh*、*Pgm*、*Mdh-1* 和 *Me* 各基因型的选择是随机的。但在 *Pgi* 基因座位上, 各基因型个体的死亡率分别为 *Pgi-BB* (30%)、*Pgi-AA* (46%) 和 *Pgi-AB* (61%) (表 3)。且 *Pgi-BB* 与 *Pgi-AB* 之间的基因型与死亡率存在显著相关关系($P<0.01$),表明辛硫磷的致死作用对 *Pgi* 基因座位的某些基因型呈现出非随机特征。

3 讨论

在农作物病虫害综合治理中,化学防治目前仍然是方便、有效、可靠、廉价的防治手段,尤其是遇到突发性、大规模害虫发生时,尚无其它防治方法能够代替化学农药^[15]。其中有机磷农药因价格低廉,生产技术相对简单而广为使用。一些有机磷农药因具有高毒性而被禁用,而辛硫磷、马拉硫磷和毒死蜱等有机磷杀虫剂因对人畜毒性较小,对害虫有良好的防治效果,仍然被广泛使用。但长期反复使用同一种化学杀

表 3 辛硫磷处理后中华稻蝗 5 个基因座位不同基因型个体的死亡率比较

Table 3 Comparison of the mortalities of the individuals with different genotypes at five loci(*Ldh*, *Pgi*, *Pgm*, *Mdh*-1 and *Me*) of *Oxya chinensis* after topical application with Phoxim

等位酶 基因型	5 个多态基因座位各基因型个体的死亡率				
	<i>Ldh</i>	<i>Mdh</i> -1	<i>Me</i>	<i>Pgi</i>	<i>Pgm</i>
AA	0.47(232)*		0.46(63)	0.46(26)ab	0.40(10)
AB	0.51(135)	0.48(33)	0.50(54)	0.61(231)a	0.41(32)
BB	0.57(23)	0.49(349)	0.45(42)	0.30(137)b	0.49(276)
BC		0.50(6)			0.58(43)
CC			0.43(47)		0.45(22)
AC			0.52(58)		
DD			0.53(47)		
BD			0.53(79)		

注:* 括号内的值为样本大小(sample size in parenthesis),标有完全不同字母的死亡率之间有显著差异,如 a 和 b 之间有显著差异($P<0.05$);而 a(或 b)与 ab 之间无显著差异($P>0.05$)。(The probabilities of death among genotypes not sharing the same letter are significantly different. For example, a vs b is significantly different ($P<0.05$), whereas a(or b)vs ab is not significantly different ($P>0.05$)

虫剂势必导致害虫产生抗药性。为防止或延缓中华稻蝗对辛硫磷产生抗药性,有必要研究中华稻蝗对辛硫磷抗性的发生发展规律,以便延长辛硫磷的使用寿命。实验室研究是探讨害虫对辛硫磷抗性发生发展规律的第一步。以某些无脊椎动物和鱼类为受试动物,结果表明环境污染物作为环境选择因子与等位酶基因型频率的改变有显著的相关关系^[16-19],这些工作为研究辛硫磷对中华稻蝗等位酶基因型的选择作用提供了很好的参考,其中的一些理论和方法可以作为借鉴。本研究结果表明:①中华稻蝗 5 种等位酶(*Ldh*, *Mdh*, *Gpi*, *Pgm*, *Me*)具有很高的多态性和杂合性(见表 2),这与本实验室以往的研究结果相吻合^[8-11],且 5 个多态基因座位的稳定性好,活性强,酶谱分辨率高,使其成为研究酶多态性与环境因子、特别是人为环境因子(如农药)关系的理想生物物种。②中华稻蝗种群 5 种等位酶(*Ldh*, *Mdh*, *Gpi*, *Pgm*, *Me*)基因型对辛硫磷的致死作用具有不同响应(response),表现为辛硫磷对 *Mdh*-1、*Ldh*、*Me* 和 *Pgm* 4 个基因座位的所有基因型的致死作用呈现随机特征,但对 *Pgi* 基因座位有些基因型的致死作用呈现出非随机效应,各基因型个体的死亡率呈现梯度分布,分布范围在 30%(*Pgi*-*BB*)和 61%(*Pgi*-*AB*)之间(表 3),且 *Pgi*-*AB* 与 *Pgi*-*BB* 之间的基因型与死亡率存在显著相关关系($P<0.01$),由于 *Pgi*-*BB* 基因型个体的死亡率显著低于

Pgi-*AB*,所以推断 *Pgi*-*BB* 基因型很可能与中华稻蝗对辛硫磷的抗药性有关。由于 *Pgi* 基因型与辛硫磷致死作用在统计学上存在显著相关($P<0.01$),上述实验结果表明基因型频率与辛硫磷致死性在统计学上存在相关关系,这种关系的进一步证实有可能使中华稻蝗种群 *Pgi* 基因型的多态性变化成为具有早期预警功能的抗性生物标记物(Biomarker)。但是,这种相关关系不应等同为因果关系。害虫对有机磷农药产生抗性的机理非常复杂多样,抗药性的产生是神经敏感性降低、多功能氧化酶活性增加、乙酰胆碱酯酶活性增加、非专一性酯酶系(Ests)和谷胱甘肽-S-转移酶系(GSTs)酶活性增加、表面穿透降低等多因素综合作用的结果。一般认为,等位酶分析技术可作为潜在的、与抗性有关的遗传标记^[18-20],为了进一步探讨中华稻蝗种群遗传结构与种群抗药性进化之间的关系,还需要扩大种群范围,并采用其他种群遗传分子指标进行综合分析。

参考文献:

[1] 宋小平. 农药制造技术[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2000.
SONG Xiao-ping. Technology of pesticides production[M]. Beijing: Science and Technology Press, 2000.

[2] 唐振华, 吴士雄. 昆虫抗药性的遗传与进化[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2000. 283-323.
TANG Zhen-hua, WU Shi-xiong. Heredity and evolution of insect resistance to pesticides[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2000. 283-323.

[3] Guedes R N C, Kambhampati S, Dover B A. Allozyme variation among Brazilian and US populations of *Rhyzopertha dominica* resistant to insecticides[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1997, 84:49-57.

[4] 李翠兰, 段毅豪, 卢芙萍, 等. 敌百虫对中华稻蝗磷酸葡萄糖异构酶基因型的致死性差异研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 381-383.
LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential mortality among the *Oxya chinensis* genotype at glucose-6-phosphate isomerase by trichlorphon[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(2):381-383.

[5] 李翠兰, 段毅豪, 卢芙萍, 等. 中华稻蝗等位酶基因型与阿维菌素急性死亡率差异研究[J]. 遗传学报, 2004, 31(11): 1241-1247.
LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential acute mortality among the allozyme genotypes of *Oxya chinensis* by pesticide avermectin[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(11): 1241-1247.

[6] 李翠兰, 段毅豪, 卢芙萍, 等. 中华稻蝗等位酶基因型对杀虫剂氯氟氰菊酯致死性的响应[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3):444-447.
LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Lethal responses of allozyme genotypes of *Oxya chinensis* towards cyhalothrin [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(3):444-447.

[7] 卢芙萍, 李翠兰, 段毅豪, 等. 马拉硫磷对中华稻蝗种群遗传结构的

作用[J]. 遗传, 2004, 26(5): 663–668.

LU Fu-ping, LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, et al. Impacts of malathion on population genetic structure of *Oxya chinensis*[J]. *Genetica*, 2004, 26(5): 663–668.

[8] 李春选, 郑先云, 马恩波. 中国 4 种蝗虫不同种群的遗传分化[J]. 遗传学报, 2003, 30(3): 234–244.

LI Chun-xuan, ZHENG Xian-yun, MA En-bo. Genetic differentiation of different populations of four locust species in China[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(3): 234–244.

[9] 李春选, 段毅豪, 郑先云, 等. 山西省八种蝗虫八个种群的遗传学研究[J]. 遗传学报, 2003, 30(2): 119–127.

LI Chun-xuan, DUAN Yi-hao, ZHENG Xian-yun, et al. Genetic studies on eight populations of eight locust species from Shanxi province in China[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(2): 119–127.

[10] 乔海暄, 段毅豪, 马恩波, 等. 中国蝗总科部分种类等位酶基因酶比较研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(2): 133–137.

QIAO Hai-xuan, DUAN Yi-hao, MA En-bo, et al. Comparative allozyme analysis of several grasshopper species[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(2): 133–137.

[11] 李翠兰, 段毅豪, 卢芙蓉, 等. 中华稻蝗四个种群的遗传分化[J]. 动物学报, 2004, 50(2): 187–192.

LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Genetic differentiation among four populations of Chinese rice grasshopper *Oxya chinensis* in China[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2004, 50(2): 187–192.

[12] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 74–163.

WANG Zhong-ren. Plant Allozyme Analysis[M]. Beijing: Science

Press, 1998. 74–163.

[13] Murphy R W, Sites J W, Buth D J, et al. Protein I: isozyme electrophoresis[C] // Hillis D M, Moritz C, Mable B K, eds. Molecular systematics (2nd edition). Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, Inc. Publisher, 1996. 45–126.

[14] Swofford D L, Selander R B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics[J]. *Journal of Heredity*, 1981, 72: 419–426.

[15] 姬庆文. 中华稻蝗及其综合防治[M]. 北京: 科学出版社, 1999. JI Qing-wen. Integrated management of *Oxya chinensis* [M]. Beijing: Science Press, 1999.

[16] Gillespie R B, Guttman S I. Correlation between water quality and frequencies of allozyme genotypes in Spotfin Shiner (*Notropis spilopterus*) Populations[J]. *Environ Pollu*, 1993, 81: 147–150.

[17] Guttman S I. Population genetic structure and ecotoxicology[J]. *Environ Health Perspect*, 1994, 102(Suppl. 12): 97–100.

[18] Schlueter M A, Guttman S I, Oris J T, et al. Survival of copper-exposed juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*) differs among allozyme genotypes[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 1995, 14(10): 1727–1734.

[19] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyaella azteca*: I. acute exposure to metals or low pH[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5): 1414–1421.

[20] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyaella azteca*: II. acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5): 1422–1426.