

文章编号:1001-1498(2014)02-0179-07

基于 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 基因探讨沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾的种间关系

李婧¹, 陈敏^{1*}, 李建光², 宗世祥¹, 赵汉青²

(1. 北京林业大学林学院, 省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083; 2. 北京出入境检验检疫局, 北京 100083)

摘要:沙棘木蠹蛾 (*Holcocerus hippophaecolust*) 和榆木蠹蛾 (*H. vicarious*) 为木蠹蛾科 (Cossidae) 线角木蠹蛾属 (*Holcocerus*) 的近缘种, 二者形态相似, 难于进行区分。本文基于线粒体 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 基因片段, 对我国不同种群的沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾进行遗传差异分析, 以探讨二者之间的亲缘关系。遗传距离分析表明, 沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾在 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 3 个片段的遗传差异分别为 0.009, 0.001 和 0.062, 仅相当于二者种内遗传差异均值范畴, 远远低于同属的种间遗传距离均值, 表明两种昆虫之间存在高度的遗传相似性。两种木蠹蛾在 3 个基因位点共检测到 6 个共享单倍型, 占单倍型总数的四分之一, 且共享单倍型分布不受地理距离限制, 显示两个种的种群之间尚未完全分化。系统发育树分析中, 沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾在 3 个基因序列均未构成独立分支, 而是形成了混合集群。介于沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾之间极高的遗传相似性, 对二者之间的亲缘进化关系进行了讨论。

关键词:榆木蠹蛾; 沙棘木蠹蛾; *CO I*、*CO II*、*Cyt b*; 种间关系

中图分类号: S763

文献标识码: A

Genetic Relationship between *Holcocerus hippophaecolust* and *H. vicarious* Based on *CO I*、*CO II* and *Cyt b* Genes

LI Jing¹, CHEN Min¹, LI Jian-guang², ZONG Shi-xiang¹, ZHAO Han-qing²

(1. Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China)

Abstract: *Holcocerus hippophaecolust* and *H. vicarious* are closely related species of *Holcocerus* (Lepidoptera: Cossidae). It is difficult to distinguish them based on morphological characters. This research aims to explore the genetic relationship between *H. hippophaecolust* and *H. vicarious* from various populations based on partial mitochondrial DNA (mtDNA) *CO I*, *CO II* and *Cyt b* genes. The genetic distance between *H. hippophaecolust* and *H. vicarious* was only 0.009, 0.001 and 0.062 for *CO I*, *CO II* and *Cyt b*, respectively, which were found close to the mean conspecific divergence and much lower than the mean congeneric genetic distance. The genetic distance estimated in this study showed highly genetic similarity between the two insect species. 6 of 24 total haplotypes are observed as shared haplotypes in 3 mtDNA genes of 2 insect species. Shared haplotypes happened among different populations suggest that the two species are not fully differentiation. Phylogenetic analysis of seven Cossidae species indicates that *H. hippophaecolust* and *H. vicarious* formed complex instead of independent branches in all 3 phylogenetic trees. We discussed the possible evolutionary relationship between *H. hippophaecolust* and *H. vicarious* based on our current results.

Key words: *Holcocerus hippophaecolust*; *H. vicarious*; *CO I*; *CO II*; *Cyt b*; genetic relationship

收稿日期: 2013-04-10

基金项目: “中央高校基本科研业务费专项资金资助(YX2013-11)”, “国家自然科学基金项目(30970462)”, “国家质检总局科技计划项目(2010IK260)”

作者简介: 李婧(1978—), 女, 山西太原人, 硕士研究生, 森林保护学森林昆虫方向。Tel: 13810382611, E-mail: happycandy_jing@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 副教授, 农学博士, 研究方向为昆虫分子生态学及林业害虫综合控制。Tel: 010-62337731, E-mail: minch@bjfu.edu.cn

沙棘木蠹蛾 (*Holcocerus hippophaecolust* Hua, Chou, Fang et Chen) 和榆木蠹蛾 (*H. vicarious* Walker) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 木蠹蛾科 (Cossidae) 木蠹蛾亚科 (Cossinae) 线角木蠹蛾属 (*Holcocerus* Staudinger) 的两近缘种。榆木蠹蛾由 Walker 于 1865 年定名, 又称柳干木蠹蛾, 现广泛分布于我国 20 多个省市地区^[1-2]。沙棘木蠹蛾因其主要危害沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L.) 于 1990 年在《中国木蠹蛾志》定名的一新种^[2]。二者在形态上非常相似, 成虫的差异主要表现在前翅斑纹、翅脉及后足中距的位置等, 幼虫的区分主要在于腹足趾钩的排列方式^[2-3]。两种昆虫在我国河北、山东、山西、河南、陕西、甘肃、宁夏等地区共同分布, 均可危害榆树、沙棘、苹果等植物^[2], 存在分布区和寄主植物重叠现象, 因此, 在生产实践中很难将二者区分, 有些文献甚至将两者相混淆, 如将沙棘木蠹蛾的拉丁学名记为 *H. vicarious*^[4-5]。为了区分这两种昆虫, 宗世祥等曾对其形态、分布、寄主、生物学特性等方面进行了详细的对比分析^[3, 6], 但关于二者在分子水平上的遗传差异未见报道。

随着分子生物学的发展, 尤其测序技术的突破, 核酸序列分析越来越多地用于物种各分类水平的遗传分化及系统关系研究。线粒体 DNA (mtDNA) 遵循母系遗传, 其一级结构在种间和种内都存在显著的歧异, 具有进化的自主性和简捷性, 近年来广泛用于鳞翅目昆虫的近缘种识别^[7]、系统发育进化^[8-10]、群体遗传变异等研究^[11-13]。其细胞色素

氧化酶 I、II 基因 *CO I*、*CO II* 是鳞翅目昆虫近缘种及种下阶元的分类鉴定中使用最为广泛的线粒体基因片段, 它们相对保守同时有足够的变异, 序列长度合适且可以通过通用引物来扩增^[14-18]。细胞色素 b 基因 *Cyt b* 是 mtDNA 的 13 个蛋白编码基因中结构和功能被了解得最为清楚的基因, 其进化速率较快, 是探讨种间和种内遗传分化程度及系统进化研究的良好指标^[19]。

本研究以我国不同种群的榆木蠹蛾和沙棘木蠹蛾为研究对象, 同时以木蠹蛾科其他 5 种昆虫作为参照, 分析 3 个线粒体基因片段的序列差异, 以探讨两种昆虫之间的遗传进化关系。

1 实验材料及方法

1.1 样品采集

本研究采集了 3 个地区的榆木蠹蛾和 5 个地区的沙棘木蠹蛾作为研究对象, 同时选取同属的沙蒿木蠹蛾 (*H. artemisiae* Chou et Hua) 和小线角木蠹蛾 (*H. insularis* Staudinger), 同亚科木蠹蛾属 (*Cossus* Fabricius) 芳香木蠹蛾 (*Cossus cossus* Linnaeus) 和等角木蠹蛾属 (*Isoceras* Turati) 芦笋木蠹蛾 (*Isoceras sibirica* (Alpheraky)), 以及豹蠹蛾亚科 *Zeuzerinae* 豹蠹蛾属 (*Zeuzera* Latreille) 的六星黑点豹蠹蛾 (*Zeuzera leuconotum* Butler) 作为近缘种进行对比分析。所有的标本经形态分类鉴定后, 置于 -80°C 冰箱保存, 用于基因组 DNA 的提取。样本的来源、数量等基本信息详见表 1。

表 1 样本采集地、数量等信息

物种	样本来源	代码	GenBank 登录号		
			<i>CO I</i>	<i>CO II</i>	<i>Cyt b</i>
榆木蠹蛾	辽宁建平	HVln (6)	KC791464-469	KC791510-515	KC791545-550
	内蒙古阿拉善盟	HVnm (6)	KC791470-475	KC791516-521	KC791569-573
	宁夏灵武	HVnx (6)	KC791476-481	KC791522-527	KC791551-552/575-578
沙棘木蠹蛾	内蒙古林西	HHlx (3)	KC791446-448	KC791492-494	KC791538-540
	山西右玉	HHsy (3)	KC791455-457	KC791501-503	KC791541/564-565
	辽宁建平	HHnp (3)	KC791449-451	KC791495-497	KC791558-560
	陕西榆林	HHyl (3)	KC791458-460	KC791504-506	KC791565-567
	宁夏灵武	HHnx (3)	KC791452-454	KC791498-500	KC791561-563
沙蒿木蠹蛾	宁夏灵武	HATnx (3)	KC791443-445	KC791489-491	KC791535-537
小线角木蠹蛾	天津	HIlj (1)	KC791463	KC791509	KC791544
	北京	HIbj (2)	KC791461-462	KC791507-08	KC791542-543
芳香木蠹蛾	辽宁建平	CCln (1)	KC791441	KC791487	KC791533
	内蒙古阿拉善盟	CCnm (1)	KC791442	KC791488	KC791534
芦笋木蠹蛾	宁夏灵武	ISnx (3)	KC791482-484	KC791528-530	KC791553-555
六星黑点豹蠹蛾	云南漾濞	ZLyn (2)	KC791485-486	KC791531-532	KC791556-557

注: 括号内的数字表示样品个数。

1.2 DNA 的提取、扩增及测序

DNA 提取采用昆虫基因组提取试剂盒 (EZ-gene™ Insect gDNA Kit, Biomiga, USA), 实验步骤按照试剂盒说明进行。用于扩增 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 基因目的片段的引物来自 Simon^[16], 具体引物序列信息见表 2。引物由诺赛基因公司(北京)合成。

表 2 引物信息

目的基因	引物	序列(5'-3')
<i>CO I</i>	Lep-F	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG
	Lep-R	AAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA
<i>CO II</i>	CO II-F	ATTGGACATCAATGATATTGA
	CO II-R	CCACAAATTTCTGAACATTGACCA
<i>Cyt b</i>	CB-F	TATGTACTACCATGAGGACAAATATC
	CB-R	ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT

PCR 扩增反应体系为 50 μ L, 包括 2 \times Green Master Mix (GoTaq® Green Master Mix (Promega, USA) 溶液 25 μ L, 浓度 10 pmol 的正反引物各 2 μ L, 基因组 DNA 2 μ L, 加去离子水至 50 μ L。反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 50 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 循环 35 次; 循环结束后在 72 $^{\circ}$ C 下延伸 10 min。扩增产物置 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物凝胶电泳检测并用 DNA Marker(DL2000) 标记, 以确定目的片段。目的片段测序均由诺赛基因公司(北京)完成。

1.3 数据分析

测序结果在 Lasergene 8.0 (DNASTAR, Madison, WI) 的 SeqMan Pro 软件中进行拼接及人工修正^[20]。拼接好的序列分别在 GenBank 中用 BLAST 进行相似性检索。所得序列用 Clustal W^[21] 方法进行同源性比对后, 运用 MEGA 5.0 软件分析碱基组

成、转换/颠换比率、种内种间遗传距离, 遗传距离采用 Kimura 2-parameter (K2P)^[22] 模型计算。运用 DNAsp 5.10 软件^[23] 进行单倍型分析。

选用 PAUP 4.0 (II) 和 MrBayes 3.1.2。PAUP 软件分别应用最大似然法 (MP) 和贝叶斯法 (Bayesian) 构建系统发育树。MP 方法参数设置为内部分支检验与 1 000 次自举系数 (bootstrap) 重复分析^[24], 以确定各节点的置信度。Bayesian 系统发育树在 Modeltest 3.06 中产生最佳核苷酸模型为 GTR + I + G^[25], 替换模型参数设置为核苷酸替换类型数为 6 ($nst = 6$), 设置位点间速率变异呈 gamma 分布 ($rates = invgamma$), 共运行 1 000 000 代, 每 100 代进行抽样去除老化样本, 后构建一致树, 并获得拓扑结构及分支点的贝叶斯后验算概率。

2 结果分析

2.1 序列特征

经电泳检测, 所有样品都成功扩增出预计大小的 3 条片段, 说明所使用的引物能够用于木蠹蛾科昆虫相应线粒体基因片段扩增。所有序列均已提交 GenBank 并获得登录号 (见表 1)。表 3 显示了榆木蠹蛾和沙棘木蠹蛾 3 个基因序列的序列特征。由表 3 可以看出, 两种昆虫的 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 序列 AT 含量 (66.9% ~ 73.8%) 都明显高于 GC 含量 (26.2% ~ 33.1%), 说明存在明显的 AT 倾向性。从 3 个基因的多态位点来看, *Cyt b* 在两种昆虫中的变异位点数 (V)、简约信息位数 (Pi) 及简约信息位点百分率 ($Pi\%$) 都远远高于其他两个基因, 表明线粒体 3 个基因中 *Cyt b* 变异率最高。

表 3 榆木蠹蛾和沙棘木蠹蛾的 *CO I*、*CO II* 和 *Cyt b* 序列特征

目的基因	片段长度 (bp)	榆木蠹蛾				沙棘木蠹蛾			
		(A+T)/%	V	Pi	$Pi\%$	(A+T)/%	V	Pi	$Pi\%$
<i>CO I</i>	658	66.9	9	7	1.06	66.9	26	20	3.04
<i>CO II</i>	305	69.7	2	2	0.66	69.9	8	6	1.97
<i>Cyt b</i>	493	73.2	58	58	11.76	73.8	67	59	11.97

2.2 遗传距离比较

表 4 显示了 7 种木蠹蛾的种内遗传距离均值 ($MDWS$) 及种间遗传距离均值 ($MDBS$)。在 *CO I* 基因上, 7 种木蠹蛾的种内遗传距离在 0.000 ~ 0.012 之间, 表明种内个体之间的遗传差异较低。种间遗传差异方面, 除了沙棘木蠹蛾与榆木蠹蛾之

间遗传距离仅 0.009 (接近二者种内遗传距离均值 (0.008)), 其余物种间的遗传距离为 0.082 ~ 0.165 之间; 线角木蠹蛾属内 4 种之间的遗传差异平均值为 0.093 (沙棘木蠹蛾与榆木蠹蛾之间的遗传距离不计)。在 *CO II* 基因上, 7 种昆虫的种内遗传距离在 0.000 ~ 0.013 之间; 7 种昆虫的种间遗传

差异在 0.066 ~ 0.146 之间,线角木蠹蛾属内 4 种间的遗传距离均值为 0.078 (沙棘木蠹蛾与榆木蠹蛾之间的遗传距离不计),而沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾种间遗传距离仅 0.001,低于各自的种内遗传距离 (分别为 0.007 和 0.002)。Cyt b 基因水平上,种内遗传差异在 0.000 ~ 0.066 之间,沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾种间遗传距离仅为 0.062 (等于二者种内遗

传距离均值 (0.062),其余物种间的遗传差异为 0.120 ~ 0.192,同属内的种间遗传距离均值约为 0.127 (沙棘木蠹蛾与榆木蠹蛾之间的遗传距离不计)。以上结果表明,沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾在 3 个线粒体基因的遗传差异仅相当于二者种内遗传差异均值范畴,远远低于同属内的种间遗传距离,表现出极高的遗传相似性。

表 4 7 种木蠹蛾的遗传距离

物种	MDWS (CO I / CO II / Cyt b)	MDBS (CO I / CO II / Cyt b)					
		榆木蠹蛾	沙棘木蠹蛾	沙蒿木蠹蛾	小线角木蠹蛾	芳香木蠹蛾	芦笋木蠹蛾
榆木蠹蛾	0.004/0.002/0.066	—					
沙棘木蠹蛾	0.012/0.007/0.058	0.009/0.001/0.062	—				
沙蒿木蠹蛾	0.000/0.000/0.025	0.099/0.070/0.134	0.098/0.066/0.143	—			
小线角木蠹蛾	0.006/0.004/0.006	0.083/0.085/0.120	0.082/0.086/0.130	0.103/0.085/0.109	—		
芳香木蠹蛾	0.003/0.003/0.002	0.149/0.101/0.148	0.103/0.101/0.154	0.150/0.095/0.131	0.129/0.113/0.134	—	
芦笋木蠹蛾	0.002/0.000/0.007	0.143/0.136/0.188	0.143/0.137/0.192	0.115/0.146/0.186	0.134/0.128/0.186	0.142/0.141/0.160	—
六星黑点豹蠹蛾	0.000/0.013/0.000	0.165/0.122/0.191	0.164/0.119/0.190	0.140/0.120/0.189	0.144/0.122/0.170	0.155/0.104/0.148	0.135/0.113/0.185

2.3 单倍型分析

利用 DNAsp 5.10 对沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾的序

列进行了单倍型分析,表 5 显示了两种昆虫所取样品中在 3 个基因位点的单倍型数量及共享单倍型情况。

表 5 沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾的单倍型数量、共享单倍型数及样品来源

目的基因	单倍型数		单倍型总数	共享单倍型数	共享单倍型个体数	样品来源
	沙棘木蠹蛾	榆木蠹蛾				
CO I	6	6	10	2	CO I Hap1 6	HHlx (3) + HVln (3)
					CO I Hap2 15	HHnx (3) / HHyl (3) + HVnm (4) / HVnx (5)
CO II	7	2	8	1	CO II Hap 21	HHlx (3) / HHnp (1) / HHnx (2) / HHyl (1) + HVln (2) / HVnm (6) / HVnx (6)
Cyt b	5	4	6	3	Cyt b Hap1 6	HHlx (3) / HHsy (1) + HVnx (2)
					Cyt b Hap2 11	HHnx (3) / HHyl (2) + HVnm (6)
					Cyt b Hap3 6	HHsy (2) + HVnx (4)
总数	18	12	24	6		

注:括号中的数字为共享单倍型样本数。

由表 5 可以看出,两种木蠹蛾在 3 个基因位点都存在共享单倍型,3 个基因共有 6 个共享单倍型,占单倍型总数(24 个)的四分之一,而同属其他昆虫之间(包括两种昆虫与在宁夏灵武同域分布的沙蒿木蠹蛾 HATnx 之间)没有共享单倍型现象。进一步分析共享单倍型的分布发现,两种昆虫无论是地理距离近的种群还是远距离种群之间都存在共享单倍型现象。近距离种群共享单倍型如 CO I Hap 1 存在于东北部的沙棘木蠹蛾(内蒙吉林西 HHlx)和榆木蠹蛾(辽宁建平 HVln)种群、CO I Hap 2 和 Cyt b Hap 2 存在于西北地区种群(陕西榆林 HHyl、内蒙古阿拉善 HVnm 和宁夏灵武 HHnx/HVnx),而 CO II Hap(东北和西北部 5 个地区的 7 个种群)和 Cyt b

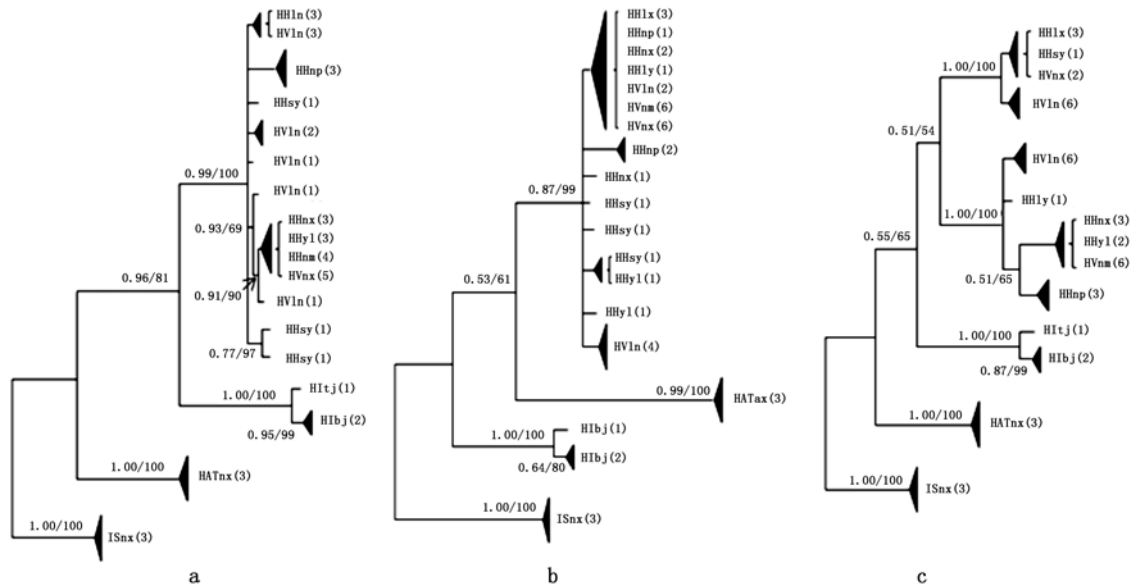
Hap 1(山西右玉 HHsy、内蒙林西 HHlx 和宁夏灵武 HVnx)的地理跨度较大。以上结果表明,两种昆虫之间还没有形成稳定的遗传分化,存在不受地理限制的基因交流。

2.4 系统发育树分析

分别基于 3 基因序列构建线角木蠹蛾属 4 种木蠹蛾的系统发育树,以 3 个芦笋木蠹蛾 (ISnx1, ISnx2, ISnx3)作为外群。系统发育树以 Bayes 树为基础,整合贝叶斯后验算概率及 PAUP 自举系数附于系统发育树各节点处(见图 1 a ~ c)。从图 1 可以看出,3 个系统发育树中榆木蠹蛾与沙棘木蠹蛾均未形成独立的分支,而是以较高的置信度 (CO I : 0.99/100, CO II : 0.87/99, Cyt b : 1.00/100)形成了

HH/HV 混合集群(聚类簇 I),反映榆木蠹蛾与沙棘木蠹蛾之间不存在明显的遗传差异。同属的沙蒿木蠹蛾和小线角木蠹蛾都分别形成独立分支,只是

不同发育树中所反映的它们之间的系统发育关系稍有差异。



a: *CO I* 序列的系统发育树; b: *CO II* 基因构建的系统发育树; c: *Cyt b* 基因构建的系统发育树。节点处自举系数(Bayesian 后验算概率/PAUP 自举系数)低于 50 则不显示。括号内的数字表示样品个数。

图 1 利用 MrBayes 3.2 和 PAUP 4.0 基于线粒体三基因序列构建的系统发育树

3 讨论

本研究对不同种群的沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾的线粒体 3 个基因进行序列差异分析显示,沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾在 *CO I* 序列上的种间遗传距离仅为 0.009(0.9%),远远低于 Hebert 等提出的鳞翅目昆虫种间 *CO I* 序列差异一般大于 0.03(3%)的建议标准^[26]。Sperling 等通过研究得出 *CO II* 序列种内差异一般为 1%~2%(0.010~0.020)^[27-28],而近缘种之间的差异在 4%左右^[29]。本研究中沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾 *CO II* 序列差异仅 0.001(0.1%),远远低于以上水平。*Cyt b* 基因由于变异速率较快,不同类群种内、种间遗传差异范围较大。鳞翅目蛱蝶科昆虫 *Cyt b* 基因的种间遗传差异可达 5%~15.9%^[30-31],直翅目蝗虫科的种间遗传差异为 1.7%~21.9%^[32]。本研究中沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾在 *Cyt b* 基因的种间遗传距离为 0.062(6.2%),在鳞翅目昆虫中属于较低的种间遗传差异水平。

本研究还发现沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾的种群间在 3 个线粒体基因上广泛存在共享单倍型的现象,说明两者的遗传分化程度并不高。3 个基因构建的系统进化树均显示两者不同个体交叉聚为一个分

支,表明二者间的遗传差异明显小于应有的种间遗传差异水平。这种形态上已经产生分化而在分子水平不能区分的现象在鳞翅目昆虫中并不少见。朱绪伟等发现云南野柞蚕与饲养柞蚕 *CO I* 基因遗传距离仅为 0.016,提出将野柞蚕作为柞蚕的一个亚种的建议^[33]。Gajanan 等对旧大陆(Old World,即欧亚大陆、非洲和大洋洲)的棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)与美洲大陆的棉铃虫(*H. zea*)进行研究,它们在 *CO I* 基因上具有极高的遗传相似性,但现有的证据还不足证明它们为同一物种^[34]。沙棘木蠹蛾因其主要危害沙棘而于 1990 年定名,为我国西北地区特有物种^[3]。沙棘是我国西部和北部地区的本土树种^[35-36],沙棘木蠹和寄主沙棘之间有条件建立长期的协同进化关系。对我国不同种群的沙棘木蠹蛾进行 AFLP 分析显示,同一地区不同寄主的种群之间存在明显的遗传分化(遗传分化系数 $F_s = 0.2785$),大于不同地区同一寄主种群间的遗传分化(遗传分化系数 $F_s = 0.2106$)^[37],由于不同寄主之间的沙棘木蠹蛾种群的基因交流受到限制,寄主的选择压力有效的促进了沙棘木蠹蛾种群的遗传分化。由此,我们推测沙棘木蠹很可能是在适应寄主沙棘的过程中正处于分化阶段中的“种”。沙棘木

蠹蛾和榆木蠹蛾虽然在形态上已经出现分化^[3],但二者存在分布区和寄主植物重叠^[2,6],依然存在着一定的基因交流或生殖隔离时间短,未能形成稳定的遗传分化。这些结果不支持两者已经构成两个独立的物种。

以上只是基于3个线粒体序列信息得出的初步推论,要阐明沙棘木蠹蛾和榆木蠹蛾之间的系统进化关系,还需要应用更多的种群样本开展生物学、生态学、遗传学、行为学等广泛而深入的研究,以及获取更多的进化信息,为确定二者的分类地位提供更可靠的证据。

参考文献:

- [1] 方德齐,陈树良. 榆木蠹蛾(柳干木蠹蛾)生物学特性[J]. 林业科学, 1987, 昆虫专辑:72-76
- [2] 花保祯,周尧,方德齐,等. 中国木蠹蛾志(鳞翅目:木蠹蛾科)[M]. 陕西杨陵:天则出版社,1990:38-40,56-57
- [3] 宗世祥,骆有庆,许志春,等. 当前沙棘木蠹蛾研究中存在的主要问题[J]. 中国森林病虫, 2006, 25(2):29-32
- [4] 陈孝达. 沙棘木蠹蛾生物学习性及防治研究[J]. 沙棘, 2004, 17(2):11-13
- [5] 刘晓辉,冯敏,李剑梅. 应用BT-7A防治沙棘木蠹蛾幼虫的试验研究[J]. 沙棘, 2004, 17(4):23-25
- [6] 宗世祥. 沙棘木蠹蛾生物生态特性研究[D]. 北京:北京林业大学, 2006
- [7] Behere G T, Tay W T, Russell D A, et al. Molecular markers to discriminate among four pest species of *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Bulletin of Entomological Research, 2008, 98(6):599
- [8] Hajibabaei M, Janzen D H, Burns J M, et al. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera[J]. Proceedings of the National Academy of Science USA, 2006, 103(4):968-971
- [9] Simonato M, Mendel Z, Kerdelhué C, et al. Phylogeography of the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* in the Near East [J]. Molecular Ecology, 2007, 16(11):2273-2283
- [10] Albre J, Gers C, Legal L. Molecular phylogeny of the *Erebia tyndarus* (Lepidoptera, Rhopalocera, Nymphalidae, Satyrinae) species group combining Co II and ND5 mitochondrial genes: A case study of a recent radiation[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2008, 47(1):196-210
- [11] Oliver J C, Shapiro A M. Genetic isolation and cryptic variation within the *Lycaena xanthoides* species group (Lepidoptera: Lycaenidae) [J]. Molecular Ecology, 2007, 16(20):4308-4320
- [12] Roe A D, Sperling F A H. Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 44(1):325-345
- [13] Zakharov E V, Hellmann J J. Genetic differentiation across a latitudinal gradient in two co-occurring butterfly species: revealing population differences in a context of climate change[J]. Molecular Ecology, 2008, 17(1):189-208
- [14] Cameron S L, Whiting M F. The complete mitochondrial genome of the tobacco hornworm *Manduca sexta* (Insecta: Lepidoptera: Sphingidae), and an examination of mitochondrial gene variability within butterflies and moths [J]. Gene, 2008, 408(1):112-123
- [15] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5):294
- [16] Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers[J]. Annals of the Entomological Society of America, 1994, 87(6):651-701
- [17] Erpenbeck D, Hooper J N A, Wörheide G. CO I phylogenies in diploblasts and the 'Barcoding of Life'-are we sequencing a suboptimal partition? [J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(2):550-553
- [18] 杨倩倩,李志红,伍祎,等. 线粒体 CO I 基因在昆虫 DNA 条形码中的研究与应用[J]. 应用昆虫学报, 2012, 49(6):1687-1695
- [19] 张学卫,张智婷,原占国,等. 昆虫线粒体 DNA Cyt b 基因研究进展[J]. 河北林果研究, 2010, 25(2):173-176
- [20] Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs[J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25:3389-3402
- [21] Thompson E E, Birdwell G G. Communication system and methods for enhanced information transfer[P]. U. S. Patent, 5,335,276, 1994-8-2
- [22] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2):111-120
- [23] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25(11):1451-1452
- [24] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap [J]. Evolution, 1985, 39:783-791
- [25] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution[J]. Bioinformatics, 1998, 14(9):817-818
- [26] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proceedings of the Royal Society of London, 2003, B 270:313-21
- [27] Sperling F A H, Hickey D A. Mitochondrial DNA sequence variation in the spruce budworm species complex (Choristoneura: Lepidoptera) [J]. Mol Biol Evol, 1994, 11:656-665
- [28] Bogdanowicz S M, Wallner W E, Bell J, et al. Asian gypsy moths (Lepidoptera: Lymantriidae) in North America: evidence from molecular data[J]. Annals of the Entomological Society of America, 1993, 86(6):710-715
- [29] Sperling F A H, Landry J F, Hickey D A. Mitochondrial DNA se-

- quence variation among phenotypes of the dingy cutworm *Feltia jaculifera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Can J Zool*, 1996, 74: 2109–2117
- [30] 张大秀, 郝家胜, 邹方振, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因和 *CO I* 基因序列研究豹蛱蝶亚科 (鳞翅目: 蛱蝶科) 10 属间的系统发生关系[J]. *动物分类学报*, 2009, 34 (3): 522–530
- [31] 吴冬霞, 郝家胜, 朱国萍, 等. 基于线粒体 *Cyt b* 基因的线蛱蝶亚科的系统发育[J]. *动物学研究*, 2007, 28 (1): 1–8
- [32] Wang N X, Feng X, Jiang G F, *et al.* Molecular phylogenetic analysis of five subfamilies of the Acrididae (Orthoptera: Acridoidea) based on the mitochondrial cytochrome *b* and cytochrome *c* oxidase subunit I gene sequences[J]. *Acta Entomol Sin*, 2008, 51 (11): 1187–1195
- [33] 朱绪伟, 刘彦群, 李喜升, 等. 利用 DNA 条形码探讨云南野柞蚕的分类学地位[J]. *蚕业科学*, 2008, 34 (3): 424–428
- [34] Gajanan T B, Wee T T, Derek A R, *et al.* Mitochondrial DNA analysis of field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and of its relationship to *H. zea*[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7: 117–126
- [35] Rousi A. The genus *Hippophae* L., a taxonomic study[J]. *Annales Botanic Fenn*, 1971, 8: 177–277
- [36] 廉永善, 陈学林. 沙棘属植物的研究[J]. *甘肃科学学报*, 1991, 39 (2): 13–23
- [37] Jing Tao, Min Chen, Shi-xiang Zong, *et al.* Genetic structure in seabuckthorn carpenter moth (*Holococcus hippophaecolus*) in China: The role of outbreak events, geographical and host factors[J]. *Plos One*, 2012, 7 (1): 1–9