

四种散白蚁的分子鉴定及系统发育地位 (等翅目: 鼻白蚁科)*

彭一丁^{1**} 肖元玺¹ 楚君鹏¹ 李 琰¹ 席玉强²
张成玉¹ 宋安东¹ 王凤芹¹ 苏丽娟^{1***}

(1. 河南农业大学生命科学学院, 郑州 450002; 2. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

摘 要 【目的】 目前对白蚁的物种鉴定主要依赖形态学特征, 本文从分子水平对 4 种散白蚁进行了鉴定和系统发育分析。【方法】 对 4 种散白蚁 (湖南散白蚁 *Reticulitermes hunanensis* Tsai et Peng、平额散白蚁 *Reticulitermes planifrons* Li et Ping、近暗散白蚁 *Reticulitermes perilucifugus* Ping 和侏儒散白蚁 *Reticulitermes minutus* Ping et Xu) 的线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因序列进行扩增和测序, 对序列进行比对及碱基组成分析后上传至 GeneBank, 并构建系统发育树对 4 种散白蚁进行系统发育分析。【结果】 16S rDNA 和 CO II 基因片段长度分别约 380 bp 和 720 bp, 两个基因的 AT 碱基含量均远远大于 GC, 16S rDNA 序列的遗传距离普遍大于 CO II 序列, 且两者的系统发育情况不一致。【结论】 CO II 基因系统发育与地理位置差距相关较为明显, 16S rDNA 基因序列碱基差异较 CO II 多, 推断 CO II 基因更适合于白蚁由于地理位置引起的系统发育和地理迁徙及传入情况的研究, 16S rDNA 基因更适合于白蚁种类的鉴别。

关键词 线粒体 DNA, 散白蚁, 16S, CO II, 分子鉴定, 系统发育

Molecular identification and phylogeny of four *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae)

PENG Yi-Ding^{1**} XIAO Yuan-Xi¹ CHU Jun-Peng¹ LI Yan¹ XI Yu-Qiang²
ZHANG Cheng-Yu¹ SONG An-Dong¹ WANG Feng-Qin¹ SU Li-Juan^{1***}

(1. College of Life Sciences of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Plant Protection of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract [Objectives] To evaluate using molecular methods to identify, and construct a phylogeny of, four *Reticulitermes* species, which, like other termites, have been traditionally identified on the basis of morphological features. [Methods] Mitochondrial 16S rDNA and CO II partial gene sequences of four *Reticulitermes* species (*Reticulitermes hunanensis* Tsai et Peng, *Reticulitermes planifrons* Li et Ping, *Reticulitermes perilucifugus* Ping and *Reticulitermes minutus* Ping et Xu) were amplified, sequenced and compared. After Blast and base composition analysis, sequences were submitted to the GeneBank database and neighbor-joining trees of the phylogenetic relationships between species constructed. [Results] The four 16S rDNA sequences are about 380 bp and the four CO II sequences are about 720 bp, long. The proportion of AT is much greater than that of CG in both genes, and the genetic distances between the 16S rDNA of each species are all greater than those between CO II gene sequences. Phylogenies based on the 16S rDNA and CO II sequences were consistent. [Conclusion] That based on CO II gene sequences more closely reflected the geographical origin of the species but 16S rDNA sequences has greater nucleotide diversity than CO II gene sequences. The CO II gene is more applicable to research on phylogenetic differences caused by geographical location and by migration and immigration. The 16S rDNA is, however, more useful than

*资助项目 Supported projects: 河南省自然科学基金项目 (162300410139)

**第一作者 First author, E-mail: pengyiding618x@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: sulijuan816@126.com

收稿日期 Received: 2017-02-20, 接受日期 Accepted: 2017-04-26

the CO II gene for termite species identification.

Key words mitochondrial DNA, *Reticulitermes*, 16S, CO II, molecular identification, phylogeny

白蚁是一种高度社会性的昆虫, 在世界各地均有分布。据《中国动物志》记述我国共有 4 科, 44 属共 476 种白蚁 (黄复生等, 2000)。关于白蚁物种的鉴定, 常用的方法是根据其外部形态特征对应物种检索表来确定。但是根据外部形态来鉴定白蚁物种, 具有一些缺陷, 比如: 第一, 白蚁外形鉴定是依据兵蚁和生殖蚁外形特征, 但白蚁群体中占多数的是工蚁, 占 80% 以上, 兵蚁通常不足 10% (张先楷, 2005); 而成熟生殖蚁只有在将近婚飞的季节才有; 受条件限制, 采集的样本中可能会没有足够的数量来对其进行外形鉴定; 第二, 一些白蚁如扩头蔡白蚁和扩头散白蚁、平行土白蚁和双工土白蚁兵蚁之间形态特征差异非常小, 并且数据之间互有重叠 (黄复生等, 2000), 不仅使鉴定更加困难也会减小鉴定结果的准确度; 第三, Eggleton 等 (1999) 认为, 中国的白蚁存在被过度描述的情况, 有些特征部位度量值在种间存在重叠现象, 从而导致一些白蚁物种的形态学鉴定并不精准; 仅仅通过形态鉴定并不能十分准确的确定白蚁物种种类。

准确的物种鉴定是研究白蚁分布以及系统发育分析的前提。昆虫的线粒体基因具有结构简单、基因组结构组成比较保守以及含有系统发育信息等特点, 被认为在动物类群的系统地位和系统发生关系方面有着重要作用 (孙铮等, 2010)。依据线粒体基因来对昆虫进行分子鉴定以及系统发育分析, 已经在蜘蛛、天牛和蛾等昆虫中得到应用并取得一定成果 (Agnarsson, 2007; 郑斯竹等, 2015; 金倩等, 2017)。在白蚁中也得到了广泛的应用, 常用的是线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因。线粒体 16S rDNA 因为进化速率慢而常被用于白蚁的种类鉴定和系统发育分析 (Scheffrahn, 2004); Itakura 等认为 CO II 基因适用于等翅目在种水平的分子系统发育和分类

研究 (Itakura, 2006)。张卫东等 (2010) 利用乳白蚁的 16S rDNA 序列探究了乳白蚁的遗传分歧, 发现台湾乳白蚁与其他乳白蚁的遗传分歧至少在 3% 以上; Austin 等分别从美国大陆、夏威夷岛屿、日本和中国取样, 通过对 CO II 基因序列的对比分析, 认为台湾乳白蚁至少是分两次传入美国的 (Austin, 2006a)。王建国 (2004) 利用 16S 和 CO II 基因进行系统发育分析, 对我国部分的土白蚁种类进行分类地位的探究; Legendre 等 (2008) 基于线粒体部分基因和一些核基因分析了工蚁和伪工蚁的等级分化以及对觅食行为进行了探究; 方睿等 (2007) 用线粒体 CO II 基因作为分子标记, 初步研究了中国南部 4 个台湾乳白蚁地理种群的遗传分化, 得出 4 种台湾乳白蚁的种群间遗传分化与地理位置无显著相关的结论; 利用白蚁线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因对白蚁进行物种鉴定和系统发育分析技术已相对成熟。

散白蚁是指鼻白蚁科散白蚁属白蚁, 属于低等白蚁, 因其巢群相对分散、群体往往较小而得名。一些散白蚁自然群体中兵蚁含量更少, 如欧洲散白蚁兵蚁通常不足 5% (Buchli, 1956), 而有些散白蚁 (如 *Reticulitermes* spp.) 兵蚁比例甚至只有 1%~2% (李秋剑等, 2007), 因此关于散白蚁种类的鉴定, 分子鉴定更加适合。

我国共有散白蚁 111 种, 但是在 NCBI GeneBank 中有线粒体 DNA 信息的仅有 17 种。本研究通过对湖南散白蚁 *R. hunanensis*、平额散白蚁 *R. planifrons*、近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 和侏儒散白蚁 *R. minutus* 4 种散白蚁的线粒体 16S rDNA 基因和 CO II 基因进行克隆、测序以及系统发育分析, 丰富了 GeneBank 中散白蚁的线粒体基因信息, 为上述 4 种散白蚁的分子鉴定提供参考依据, 也为进一步构建散白蚁的系统进化关系提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

湖南散白蚁 *R. hunanensis*、平额散白蚁 *R. planifrons*、近暗散白蚁 *R. perilucifugus*、侏儒散白蚁 *R. minutus* 均采自河南省信阳市商城县, 坐标 31°48'N, 115°24'E。

挑取群体中的成年兵蚁, 依据《中国动物志》的描述对其进行外部形态的物种鉴定(黄复生等, 2000)。

挑取白蚁成年个体 20 只, 分离头部与躯体, 取其头部浸于 0.1 mol/L PBS 缓冲液中, 用组织匀浆机(高速)破碎组织至没有明显组织颗粒, 200×g 离心后弃沉淀, 再次离心取上清即为细胞悬液, 用 Soil DNA Kit (OMEGA, American) 提取全基因组 DNA, 提取方法参照试剂盒说明书。提取后的 DNA 溶于 Elution Buffer 中置于 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.2 PCR 扩增

PCR 反应体系总体积为 50 μL, 各组分如下: 2×Taq Plus PCR Master Mix (Tiangen, China) 25 μL, 上下游引物各 2 μL, 16S rDNA 上游引物: CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT, 下游引物 TTA CGC TGT TAT CCC TAA; CO II 上游引物: TCT AAT ATG GCA GAT TAG TGC, 下游引物: GAG ACC AGT ACT TGC TTT CAG TCA TC (Legendre 等, 2008, 华大基因公司合成), 模板 DNA 200 ng, 最后加 ddH₂O 补充总体积为 50 μL。扩增程序为 94℃ 预变性 5 min, 35 个循环的 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s (CO II 延伸时间为 50 s), 最后 72℃ 修复延伸 10 min。扩增产物取 5 μL, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测质量, 剩余部分送至生物公司测序(苏州金唯智生物科技有限公司), 双向测通后进行拼接。

1.3 系统发育分析

测序结果利用 NCBI Blast 进行相似性搜索、比对, 并上传至 GeneBank 数据库中, 选取另外 7 种散白蚁线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因序列

(物种名及基因登陆号见表 1), 用 MEGA7 的 Align 程序进行序列对齐和剪切, 并计算保守和突变位点; 用 Dnaman8.0 计算碱基组成信息; MEGA7 软件分析遗传距离, Tajima-Nei 模式, 重复数 1 000; 用 MEGA7 分别构建 16S rDNA 和 CO II 基因序列的 Neighbor-Joining 系统发育树, 重复数 1 000。

2 结果与分析

2.1 PCR 结果

PCR 扩增产物经测序拼接后得到 16S rDNA 基因长度 381、378、379、380 bp; CO II 基因长度 742、725、705、719 bp。测序后序列上传至 NCBI GeneBank 数据库, 4 种白蚁的 16S rDNA 和 CO II 序列号分别为: 湖南散白蚁 *R. hunanensis* KX129972 和 KX129977、平额散白蚁 *R. planifrons* KX129974 和 KX129978、侏儒散白蚁 *R. minutus* KT987422 和 KX129981、近暗散白蚁 *R. perilucifugus* KX129973 和 KX290714。

2.2 基因碱基序列分析

结合 GeneBank 中数据(所选取的白蚁物种名称及其相应基因登录号如表 1), 将序列经 MEGA7 软件比并对测序结果和选择的序列进行剪切, 得到 16S rDNA 基因 332 bp, CO II 基因 658 bp。

16S rDNA 基因序列所有碱基中, A+T 所占比例为 61.4%, G+C 为 38.6% (其中 A 占 33.3%, C 占 20.7%, G 占 17.9%, T 占 28.1%); CO II 基因所有碱基中, A+T 为 63.3%, G+C 为 36.7% (A 占 39.6%; C 占 23.3%; G 占 13.4%; T 占 23.7%), AT 含量均远远大于 GC 含量。经序列对比分析发现, 16S rDNA 基因序列之间突变情况较为严重, 仅有 123 个保守位点, 突变位点 209 个, 简约信息位点和单元素集和位点分别为 196 个和 13 个, 存在严重的缺失和替换现象, 其中缺失主要为 T 碱基的缺失, 主要是 T-G、A-C 碱基的替换; CO II 基因序列变异较小, 保守位点有 561 个, 突变位点 97 个, 简约信息位点 78 个, 单元素集和位点 19 个, 不存在缺失现象, 替换现在

表 1 所选取白蚁来源及其相应基因登录号
Table 1 Sources and GenBank accession numbers of the chosen samples

白蚁物种 Species	16S rDNA	CO II	地理分布 Locality
尖唇散白蚁 <i>Reticulitermes aculabialis</i>	JX142163	JX142171	中国杭州 Hangzhou, China
圆唇散白蚁 <i>Reticulitermes labralis</i>	JX142162	JX142149	中国北京 Beijing, China
黑胸散白蚁 <i>Reticulitermes chinensis</i>	KM245672	KM245798	中国湖北荆门 Jinmen, Hubei, China
栖北散白蚁 <i>Reticulitermes speratus</i>	JX142167	JX142154	中国北京 Beijing, China
桑特散白蚁 <i>Reticulitermes santonensis</i>	AY808128	AY808093	Tussac, France
美洲散白蚁 <i>Reticulitermes flaviceps</i>	AY808121	AY808087	California, USA
欧洲散白蚁 <i>Reticulitermes lucifugus</i>	AY808125	AY808091	Seville, Spain

主要发生在 A-G、T-C 之间。

2.3 遗传距离和差异减基数分析

16S rDNA 和 CO II 基因序列遗传距离和相互的差异碱基数见表 2, 表 3。由表 2 可以看出, 10 种散白蚁的 16S rDNA 基因的遗传距离在 0.0032~1.3757 之间, 差异减基数在 7~211 不等; 根据表 3 可以看出, 根据 CO II 基因序列分析, 10 种散白蚁遗传距离在 0~0.0932 之间, 差异减基数在 0~56 之间。对比表 2 和表 3 可以看出, 16S rDNA 基因的遗传距离大多数都高于 CO II 基因遗传距离, 差异的碱基数也较 CO II 多。

2.4 系统发育分析

基于线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因部分序

列构建的 NJ 树如图 1 和图 2 所示。可以看出, 两个系统发育树的分支情况不一致, 从图 1 可以看出, 同在河南商城分布的湖南散白蚁 *R. hunanensis*、平额散白蚁 *R. planifrons*、近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 和侏儒散白蚁 *R. minutus* 形成明显的同一分支, 湖南散白蚁 *R. hunanensis* 近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 更为接近; 来自美国的美洲散白蚁 *R. flavipes* 和法国的桑特散白蚁 *R. santonensis* 与这 4 种相对较近, 而中国其他地区分布的尖唇散白蚁 *R. aculabialis*、圆唇散白蚁 *R. labralis*、栖北散白蚁 *R. speratus* 和黑胸散白蚁 *R. chinensis* 也形成另一个聚类簇; 图 2 中平额散白蚁 *R. planifrons*、湖南散白蚁 *R. hunanensis*、侏儒散白蚁 *R. minutus* 3 种在河南分

表 2 11 种散白蚁线粒体 16S rDNA Tajima-Nei 遗传距离 (对角下) 和差异减基数 (对角上, 含缺失位点)
Table 2 Tajima-Nei genetic distance matrix (below diagonal) and number of difference of nucleotides (above diagonal, including nucleotide deletion mutation) of 11 *Reticulitermes* species mitochondrial 16S rDNA

编号 No.	物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	<i>R. perilucifugus</i>	***	11	33	21	207	209	209	208	27	30	27
2	<i>R. hunanensis</i>	0.0032	***	33	21	207	209	207	209	30	31	26
3	<i>R. minutus</i>	0.0720	0.0757	***	42	209	212	209	210	48	49	46
4	<i>R. planifrons</i>	0.0265	0.0299	0.1016	***	207	209	207	208	29	30	31
5	<i>R. labralis</i>	1.3268	1.3262	1.3427	1.3316	***	7	10	19	205	204	204
6	<i>R. speratus</i>	1.3555	1.3559	1.3757	1.3626	0.0231	***	7	22	207	206	206
7	<i>R. chinensis</i>	1.3268	1.3262	1.3427	1.3316	0.0000	0.0231	***	19	205	204	204
8	<i>R. aculabialis</i>	1.3291	1.3293	1.3476	1.3348	0.0300	0.0402	0.0300	***	206	205	205
9	<i>R. flavipes</i>	0.0616	0.0653	0.1293	0.0578	1.2804	1.3082	1.2804	1.2823	***	8	27
10	<i>R. santonensis</i>	0.0651	0.0688	0.1330	0.0613	1.2610	1.2890	1.2610	1.2641	0.0032	***	29
11	<i>R. lucifugus</i>	0.0542	0.0506	0.1209	0.0613	1.2421	1.2678	1.2421	1.2445	0.0266	0.0300	***

表 3 11 种散白蚁线粒体 CO II 基因 Tajima-Nei 遗传距离(对角下)和差异减基数 (对角上, 含缺失位点)
Table 3 Tajima-Nei genetic distance matrix (below diagonal) and number of difference of nucleotides (above diagonal, including nucleotide deletion mutation) of 11 *Reticulitermes* species mitochondrial CO II genes

编号 No.	物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	<i>R. perilucifugus</i>	***	41	41	42	39	0	39	40	48	49	44
2	<i>R. hunanensis</i>	0.0669	***	0	1	4	41	29	30	52	52	51
3	<i>R. minutus</i>	0.0669	0.0000	***	1	4	41	29	30	52	52	51
4	<i>R. planifrons</i>	0.0686	0.0015	0.0015	***	5	42	30	31	53	53	52
5	<i>R. labralis</i>	0.0634	0.0061	0.0061	0.0077	***	39	27	28	50	48	49
6	<i>R. speratus</i>	0.0000	0.0669	0.0669	0.0686	0.0634	***	39	40	48	49	44
7	<i>R. chinensis</i>	0.0633	0.0461	0.0461	0.0478	0.0428	0.0633	***	1	46	55	54
8	<i>R. aculabialis</i>	0.0650	0.0478	0.0478	0.0495	0.0444	0.0650	0.0015	***	47	56	55
9	<i>R. flavipes</i>	0.0790	0.0861	0.0861	0.0879	0.0824	0.0790	0.0752	0.0769	***	53	50
10	<i>R. santonensis</i>	0.0809	0.0861	0.0861	0.0879	0.0789	0.0809	0.0914	0.0932	0.0879	***	10
11	<i>R. lucifugus</i>	0.0719	0.0845	0.0845	0.0863	0.0809	0.0719	0.0896	0.0914	0.0824	0.0155	***

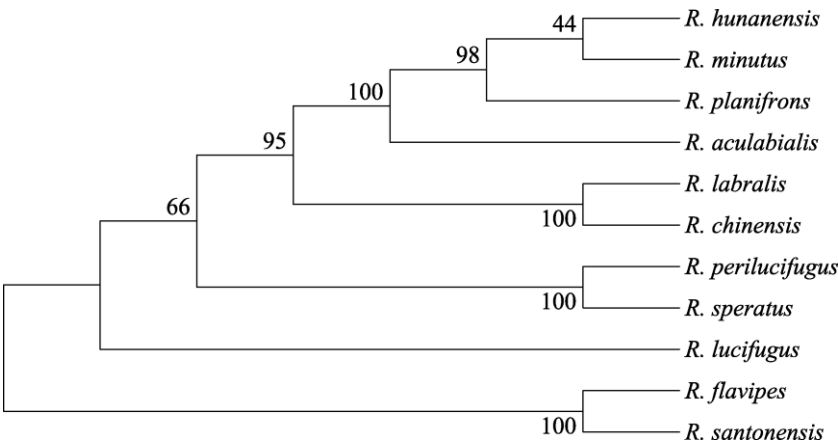


图 1 16S rDNA 基因 Neighbor-Joining 系统发育树
Fig. 1 Neighbor-Joining phylogenetic tree inferred from 16S rDNA sequences

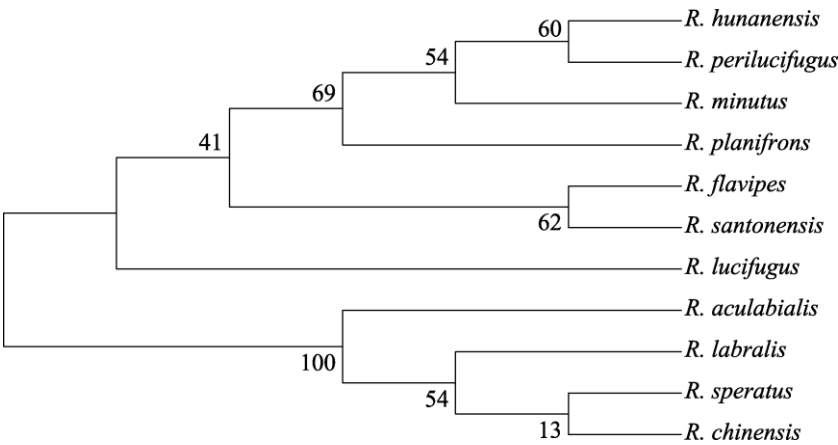


图 2 CO II 基因 Neighbor-Joining 系统发育树
Fig. 2 Neighbor-Joining phylogenetic tree inferred from CO II gene sequences

布的白蚁与来自北京的尖唇散白蚁 *R. aculabialis* 形成一个聚类簇, 近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 与栖北散白蚁 *R. speratus* 单独形成聚类簇, 而来自国外的 3 种散白蚁美洲散白蚁 *R. flavipes*、桑特散白蚁 *R. santonensis* 和欧洲散白蚁 *R. lucifugus* 与其他来自中国的 8 种散白蚁形成明显的不同分支。

3 讨论

线粒体 DNA 具有严格母性遗传、世代不发生重组、易于提纯且遗传标记丰富等特点, 在动物的分类、起源、系统进化等方面的研究应用十分广泛 (Brandl, 2007), 且相关的基因克隆、测序以及分析技术相对比较成熟, 尤其适用于数量较少的白蚁样本。

本研究通过 PCR 方法扩增出 4 种白蚁线粒体 16S rDNA 和 CO II 基因, 从碱基组成分析结果上可以看出, AT 的含量远远大于 CG 的含量, 碱基组成具有明显的碱基偏爱性, 结果与张卫东等 (2010) 及权永兵等 (2014) 对乳白蚁和土白蚁系统发育的研究结果相符合。从 16S rDNA 的遗传距离来看, 采自河南商城的湖南散白蚁 *R. hunanensis*、平额散白蚁 *R. planifrons*、近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 和侏儒散白蚁 *R. minutus* 4 种散白蚁的遗传距离在 0.03~0.109 之间, 而与中国其它城市的 4 种散白蚁遗传距离均大于 1, 这与 Austin 等 (2006b) 研究的地中海的中东的散白蚁 16S rDNA 遗传距离在 0~0.023 相差较大, 可能是本研究所选取的白蚁亲缘关系较远造成的。

本研究的 11 种散白蚁其 16S rDNA 和 CO II 基因序列所构建的系统发育情况不一致, Su 等 (2006) 研究的 40 种散白蚁, 其 12S、16S 和 CO II 基因序列所构建的贝叶斯树同样有差别, 一定程度上说明用不同的标识基因来分析白蚁的系统发育情况可能会得到不同的结果。16S rDNA 的系统发育树不能看出地理位置相差距离而造成的系统发育情况, 而 CO II 基因序列所构建的系统发育则可以看出地理位置相差越远, 亲缘关系相对越远, 与 16S rDNA 基因相比, CO II 基因更适合于白蚁由于地理位置引起的系统发

育和白蚁的地理迁移及传入情况的研究。河南商城的近暗散白蚁 *R. perilucifugus* 与北京的栖北散白蚁 *R. speratus* CO II 基因序列完全一致, 但这两种白蚁 16S rDNA 基因序列相差较大, 且 16S rDNA 的距离与差异碱基数和 CO II 基因相比, 前者普遍大于后者, 因此推测 16S rDNA 比 CO II 基因更适合于白蚁种类的鉴别。

参考文献 (References)

- Agnarsson I, Maddison WP, Avilés L, 2007. The phylogeny of the social *Anelosimus* spiders (Araneae: Therididae) inferred from six molecular loci and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43 (3): 833–851.
- Austin JW, Szalanski AL, Scheffrahn RH, Gold RE, 2006a. Genetic evidence for two introductions of the *Formosan subterranean termite*, *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) to the United States. *Florida Entomologist*, 89(2): 183–193.
- Austin JW, Szalanski AL, Ghayourfar R, Gold RE, 2006b. Phylogeny and genetic variation of *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) from the Eastern Mediterranean and Middle East. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 47(3): 1–18.
- Brandl R, Hyodo F, Korff-Schmising M, Maekawa K, Miura T, Takematsu Y, Matsumoto T, Abe T, Bagine R, Kaib M, 2007. Divergence times in the termite genus *Macrotermes* (Isoptera: Termitidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45(1): 239–250.
- Buchli H, 1956. Le cycle de development des Castes chez *Reticulitermes*. *Insect Sociaux*, 3(3): 395–401.
- Eggleton P, 1999. Termite species description rates and the state of termite taxonomy. *Insects Society*, 46(1): 1–5.
- Fang R, Zhong JH, 2007. Genetic differentiation in four geographical populations of *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Plant Protection*, 33(3): 58–61. [方睿, 钟俊鸿. 台湾乳白蚁 4 个地理种群遗传分化的研究. 植物保护, 33(3): 58–61.]
- Huang FS, Ping ZM, Zhu SM, 2000. *Fauna Sinica Insecta*. Vol.17. Isoptera. Beijing: Science Press. 41–346. [黄复生, 平正明, 朱世模, 2000. 中国动物志 昆虫纲. 第 17 卷. 等翅目. 北京: 科学出版社. 341–346.]
- Itakura S, Masuta T, Tanaka H, Enoki A, 2006. Identification of two subtemnean termite species (Isoptera: Rhinotermitidae) using *Uulase* genes. *Journal of Economic Entomology*, 99(1): 123–128.
- Jin Q, Wu CS, Chen F, Luo GJ, Cai WJ, Liu X, Yang CQ, Hao MD, Zhang AB, 2017. The reliability of DNA barcoding as a means of

- identifying Notodontid moth species (Insecta: Lepidoptera, Notodontidae) in Beijing, China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(1): 13–21. [金倩, 武春生, 陈芬, 罗桂杰, 蔡卫佳, 刘旭, 杨采青, 郝梦迪, 张爱兵, 2017. 基于 DNA 条形码的物种界定算法比较研究——以北京周边地区舟蛾科为例. 应用昆虫学报, 54(1): 13–21.]
- Legendre F, Whiting MF, Bordereau C, Canello EM, Evan TA, Grandcolas P, 2008. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers: Implications for the evolution of the worker and pseudergate castes, and foraging behaviors. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(2): 615–627.
- Li QJ, Zhong JH, Liu BR, 2007. Progress in effects of juvenile hormone analogues on termites. *Natural Enemies of Insects*, 29(1): 40–47. [李秋剑, 钟俊鸿, 刘炳荣, 2007. 保幼激素类似物对白蚁的作用研究进展. 昆虫天敌, 29(1): 40–47.]
- Pruess KP, Adams BJ, Parsons TJ, Zhu X, Powers TO, 2000. Utility of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene for resolving relationships among black flies (Diptera: Simuliidae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 16(2): 286–295.
- Quan YB, Liao L, Wang L, Xu MF, Wang JG, Zhang WD, 2014. Phylogenetic analysis of three *Odontotermes* holmgren based on mitochondrial CO II sequences. *Guangdong Agricultural Sciences*, 41(12): 161–164. [权永兵, 廖力, 王岚, 徐森锋, 王建国, 张卫东, 2014. 基于线粒体 CO II 基因的 3 种土白蚁系统发育分析. 广东农业科学, 41(12): 161–164.]
- Scheffrahn RH, Kreczek J, Maharajh B, Su NY, Chase JA, Mangold JR, Szalanski AL, Austin JW, Nixon J, 2004. Establishment of the African termite, *Coptotermes sjostedti* (Isoptera: Rhinotermitidae), on the Island of Guadeloupe, French West Indies. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(5): 872–876.
- Su NY, Ye WM, Ripa R, Scheffrahn RH, Giblin-Davis RM, 2006. Identification of Chilean *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) inferred from three mitochondrial gene dna sequences and soldier morphology. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(2): 352–363.
- Sun Z, Zhang J, Wang R, Xu YJ, Zhang DQ, 2010. Progress of insect mitochondrial genome. *Inspection and Quarantine Science*, 20(3): 69–73. [孙铮, 张吉, 王荣, 徐月静, 张大谦, 2010. 昆虫线粒体基因的研究进展. 检验检疫学刊, 20(3): 69–73.]
- Szalanski AL, Austin JW, Scheffrahn RH, Messenger MT, 2004. Molecular diagnostics of the formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Florida Entomologist*, 87(2): 145–151.
- Wang JH, 2004. Phylogenetic study of termites based on the morphological and molecular approaches. Doctoral dissertation, Guangzhou: South China Agricultural University. [王建国, 2004. 分子系统学方法在白蚁分类中的应用. 博士学位论文. 广州: 华南农业大学.]
- Zhang WD, Xu M, Liao L, Le HY, Chen QW, Chi YL, 2010. Phylogenetic analysis of genus *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) based on 16S rRNA gene. *Entomotaxobomia*, 32(2): 93–99. [张卫东, 徐森峰, 廖力, 乐海洋, 陈其文, 迟远丽, 2010. 乳白蚁属部分种类 16S rRNA 的分子系统发育关系. 昆虫分类学报, 32(2): 93–99.]
- Zhang XK, 2005. Caste ratios of the termite *Coptotermes*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(3): 321–323. [张先楷, 2005. 乳白蚁不同品级的比例. 昆虫知识, 42(3): 321–323.]
- Zheng SZ, Zhang Kai, Yang XJ, Xu M, An YL, 2015. Sequence comparison and phylogenetic analysis of mtDNA CO I gene sequence fragments in *Monochamus* species (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(2): 370–381. [郑斯竹, 张凯, 杨晓军, 徐梅, 安榆林, 2015. 墨天牛属昆虫 CO I 基因比较及系统学初步研究. 应用昆虫学报, 52(2): 370–381.]