

谷蠹线粒体 CO I 基因序列及种群遗传变异分析*

宋旭红^{1,2**} 王平坪^{1,3} 张宏宇^{1***}

(1. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070 ;

2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065 ; 3. 武汉工业学院, 430023)

摘要 【目的】对谷蠹的不同种群的线粒体 CO I 基因扩增片段进行比较, 对谷蠹种群遗传结构进行深入分析。【方法】对 15 个谷蠹种群的 100 个个体进行细胞色素氧化酶 (CO I) 基因部分序列进行分析。【结果】得到 691 bp 长度的片段, 3 个位点的密码子中, A+T 的含量平均值为 63.2%, 在 3 个密码子中的含量分别是 85.2%, 53.3% 和 57.0%。这种 A+T 含量的偏向在第 1 位点较第 2 和第 3 位点强。序列中 A, T, C, G 的含量分别为 33.2%, 32%, 18.7%, 16.2%。691 bp 长度的碱基中, 共发现 26 个多态位点, 定义了 25 种单倍型, 其中种群间共享单倍型有 7 个。【结论】15 个谷蠹种群之间存在一定的基因流 ($N_m = 1.35$), 使用 AMOVA 分析种群的遗传结构表明, 谷蠹种群的变异主要发生在种群内部的个体间。

关键词 谷蠹种群, 线粒体 DNA, 细胞色素氧化酶 基因, 遗传分化

Analysis of mitochondrial cytochrome oxidase I gene and genetic variation of *Rhyzopertha dominica* population

SONG Xu-Hong^{1,2**} WANG Ping-Ping^{1,3} ZHANG Hong-Yu^{1***}

(1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Chongqing Academy of Chinese Material Medica, Chongqing 400065, China; 3. Wuhuan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract 【Objectives】To depth understanding the genetic structure by comparing the mtDNA-CO I gene fragment of different populations of *Rhyzopertha dominica* (Fabricius). 【Methods】The mtCO I gene partial sequences (691 bp) of 100 individual from 15 *R. dominica* populations were amplified and sequenced. 【Results】The molecular evolution characteristic of CO I gene in different individuals was discussed. The results indicate that average A + T content of CO I gene in *R. dominica* is 63.2%, which shows strong A + T bias. The A + T content was 85.2%, 53.3% and 57.0% respectively in the three points. A + T content of this bias showed stronger in the first than that of the second and third points. A, T, C, G content of 33.2%, 32%, 18.7% and 16.2%, respectively. Twenty-six nucleotide sites were substituted and twenty-five haplotypes were identified in all sequences with seven shared. 【Conclusion】The N_m value was 1.35 showed that there was certain gene flow among *R. dominica* population. AMOVA analysis of genetic structure indicated that the genetic variation of *R. dominica* mainly occurred among individuals.

Key words *Rhyzopertha dominica* population, mtDNA, cytochrome oxidase I, genetic differentiation

谷蠹 *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae) 是一种分布于全世界的重要的仓储害虫 (Crombie, 1941)。其幼虫和成虫均可以危害谷物, 如稻谷 (Jilani *et al.*, 1989; Arthur *et al.*, 2007), 玉米 (Demianyk and Sinha, 1987; Jood *et al.*, 1993), 小麦 (Pedersen, 1992; Toews *et al.*, 2000; Bashir, 2002) 和高粱 (Park *et al.*, 2008)。谷蠹已经被发现对化学

*资助项目 Supported projects: 国家科技支撑计划 (2006BAD02A18-03; 2006BAI09B04-06)

**第一作者 First author, E-mail: songxiaoxu2004@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hongyu.zhang@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-01-16, 接受日期 Accepted: 2017-07-05

合成杀虫剂(Arthur, 1996)和熏蒸剂(Champ and Dyte, 1977 ; Chaudhry, 1997 ; Song *et al.*, 2011)产生了抗性。Mau(2007)和 Schlipalius 等(2008)认为基因变化或许是昆虫产生抗性的一个重要原因。Kazachkova 等(2007)研究表明, 昆虫在种群内对杀虫剂抗性的升高或者是扩大或许跟选择性压力、遗传变异、基因流、种群大小和环境状况有关。因此, 深入了解谷蠹种群的遗传状况有利于对其进行抗性治理和种群控制。

在昆虫研究中, 细胞色素氧化酶 (CO) 基因常用来进行种群及种下阶元的地理构造及遗传变异分析, 对昆虫的起源假说进行验证 (Scataglini *et al.*, 2006)。还可根据种群内与种群间的遗传变异对种群之间的遗传分化做出进一步的解释 (施伟和叶辉, 2007)。一些学者把 CO 基因与昆虫的植食性特点相结合, 从而推测出昆虫与植物协同进化的关系 (郑福山等, 2007)。CO 基因还被广泛的应用于烟粉虱等昆虫的系统发育研究中 (Legg *et al.*, 2002 ; 罗晨等, 2002 ; Dinsdale *et al.*, 2010 ; 冷海楠等, 2010), 并被认为是能够反应烟粉虱种下变异的最为有效的方法 (褚栋等, 2005)。

借助 CO 亚基, 对谷蠹的不同种群的线粒体 DNA-CO 基因扩增片段进行比较, 明确比对序列之间的差异性, 同源性及序列的变异类型, 对谷蠹种群遗传结构进行深入分析, 为谷蠹种群的综合治理提供分子遗传学的依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

本研究主要涉及 15 个谷蠹自然种群, 采集于全国 10 个省和 1 个直辖市, 详细见表 1。共计 100 个个体进行单头提取 DNA 进行 PCR 扩增。

所有种群均采用五点取样法取样, 采集后的试虫浸泡在 95% 的酒精溶液中, 供后续提取基因组 DNA。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 提取 DNA 采取单头试虫提取, 使用天根 DNA 提取试剂盒 (天根生化科技有限

公司, 北京) 进行提取, 加入 TE 后, -20℃ 冰箱保存待用。

1.2.2 PCR 扩增 CO 基因片段 扩增 CO 基因片段采用的引物为 S1718 (5'-GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC-3') 和 A2442 (5'-GCT AAT CAT CTA AAA ATT TTA ATT CCT GTT GG-3') (Normark, 1998)。PCR 扩增反应体系为 25 μ L, 其中 10 $\times$ PCR buffer 2.5 μ L, 25 mmol/L Mg^{2+} 1.5 μ L, 10 mmol/L dNTPs 0.5 μ L, 10 μ mol/L 上下引物各 0.5 μ L, 5 U/ μ L Taq 酶 0.25 μ L, DNA 模板 1 μ L, 加去离子水至 25 μ L。扩增反应体系于 94℃ 预变性 5 min 后, 进行 39 个如下循环: 94℃ 变性 30 s; 57℃ 退火 30 s; 72℃ 延伸 60 s。循环结束后 72℃ 延伸 10 min, 12℃ 保存。反应产物置于 4℃ 冰箱保存。

1.2.3 PCR 扩增产物的检测和测序 PCR 产物以 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 采用回收试剂盒进行目的片段的回收, 使用 PEASY-T1 载体进行连接、转化。序列测定由上海生物工程有限公司完成。

1.3 mtDNA-CO I 测序分析

使用 MEGA4.0 对序列组成进行统计, 包括保守位点 (C)、变异位点 (V)、简约信息位点 (Pi)、自裔位点 (S), 碱基组成、碱基频率, 氨基酸组成、密码子使用, 不同地理种群间的 K2P (Kimura 2-paramter) 遗传距离也由该软件计算。采用 AMOVA (Excoffer *et al.*, 1992) 进行种群的遗传结构分析。

2 结果与分析

2.1 mtDNA-CO I 基因序列组成及变异结果分析

把有产物的克隆子单向测序, 得到 749 bp 的序列。BLAST 搜索后确定为长蠹科 CO 序列, 调整序列的方向为长蠹科 CO 基因方向一致, 删除两端引物序列, 选取 691 bp 长度进行分析。

将对比结果导入 MEGA4.0, 并将全数据分为全数据组、密码子第 1 位、第 2 位和第 3 位数

据组。在 691 bp 序列中,3 个密码子的长度分别为 231,230,230 bp。结果显示,在谷蠹的 100 个个体中,共有 26 个变异位点,简约信息位点 8 个,单个位点 18 个,保守位点 665 个(表 2)。

表 1 试虫种群分布地理位置,采集地点及种群简称
Table 1 Sampling location, sites and population named for short

种群 Populations	地理位置 Location	储藏物类型 Grain category	仓库类型 Storage facility	收集时间 Time
ZC	诸城, 山东 Zhucheng, Shandong	小麦 Wheat	小麦加工厂 Wheat processing industry	2007 年 9 月 September, 2007
XC	许昌, 河南 Xuchang, Henan	小麦 Wheat	地方粮库 Local grain depot	2007 年 8 月 August, 2007
HD	邯郸, 河北 Handan, Hebei	小麦 Wheat	国家粮库 National grain depot	2008 年 9 月 September, 2008
XN	长沙, 湖南 Changsha, Hunan	稻谷 Rice	稻米加工厂 Rice processing industry	2008 年 8 月 August, 2008
ZG	合肥, 安徽 Hefei, Anhui	稻谷 Rice	稻米加工厂 Rice processing industry	2008 年 8 月 August, 2008
GA	高安, 江西 Gaoan, Jiangxi	稻谷 Rice	地方粮库 Local grain depot	2008 年 8 月 August, 2008
HP	武汉, 湖北 Wuhan, Hubei	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2008 年 7 月 July, 2008
AL	安陆, 湖北 Anlu, Hubei	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2007 年 9 月 September, 2007
SY	沙洋, 湖北 Shayang, Hubei	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2007 年 5 月 May, 2007
XF	襄樊, 湖北 Xiangfan, Hubei	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2007 年 5 月 May, 2007
BN	巴南, 重庆 Banan, Chongqing	稻谷 Rice	稻米加工厂 Rice processing industry	2007 年 9 月 September, 2007
BB	北碚, 重庆 Beibei, Chongqing	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2007 年 9 月 September, 2007
LZ	泸州, 四川 Luzhou, Sichuan	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2008 年 10 月 October, 2008
GY	贵阳, 贵州 Guiyang, Guizhou	稻谷 Rice	国家粮库 National grain depot	2008 年 8 月 August, 2008
YC	阳春, 广东 Yangchun, Guangdong	稻谷 Rice	地方粮库 Local grain depot	2007 年 5 月 May, 2007
JM	江门, 广东 Jiangmen, Guangdong	稻谷 Rice	地方粮库 Local grain depot	2007 年 8 月 August, 2007

表 2 谷蠹种群 CO₁ 基因序列组成统计表
Table 2 The content of CO₁ gene sequences of 16 *Rhyzopertha dominica* populations

			长度 Length(bp)	C	V	Pi	S	碱基含量 Nucleotide content (%)				
								T	C	A	G	A+T
全数据组	All CO	sites	691	665	26	8	18	31.9	18.7	33.2	16.2	61.5%
第 1 位点	1 st site		231	225	6	2	4	33.0	10.9	52.1	3.8	85.1%
第 2 位点	2 nd site		230	217	13	4	9	22.0	18.7	31.3	27.8	53.3%
第 3 位点	3 rd site		230	223	7	2	5	40.0	26.5	16.1	17.0	56.1%

C: 保守位点; V: 变异位点; Pi: 简约信息位点; S: 单个位点。
C: Conserved sites; V: Variable sites; Pi: Parsimony informative sites; S: Singleton sites.

在分析的 100 条序列中,共发现 26 个变异位点,约占分析位点的 3.76%。序列无任何碱基的缺失或者插入,序列中 A, T, C, G 的含量分别为 33.2%, 31.9%, 18.7%, 16.2%, A+T 平均含量为 65.1%。在 3 个密码子中,第 1 位密码子 A+T 含量最高,为 85.1%,第 2 位密码子 A+T

含量最低,为 53.3%,这种 A+T 含量的偏向在第 1 位点较第 2 和第 3 位点强。

使用 MEGA4.0 对谷蠹 15 个种群进行碱基替换颠换统计分析,计算序列间的转换颠换比,结果见表 3。转换主要在 A 和 G 中间,转换和颠换的比值为 11.6。

表 3 谷蠹不同地理种群的 CO I 基因片段的碱基替换组成统计表
Table 3 The nucleotides substitution of CO I gene of *Rhyzopertha dominica*

	ii	si	sv	R	TT	CC	AA	AG	GA	GG
平均 Average	689	2	0	11.6	220	129	228	1	1	111
第 1 位点 CO 1 st site	229	2	0	10.6	76	25	120	1	1	8
第 2 位点 CO 2 nd site	230	0	0	10.0	51	43	72	0	0	64
第 3 位点 CO 3 rd site	230	0	0	0	93	61	37	0	0	39

ii: 相同位点; si: 转换数; sv: 颠换数; R: 转换/颠换。

ii: Identical pairs; si: Transitional pairs; sv: Transversional; R: Ts/Tv.

在密码子的使用频率中,AAU,AGC,AGG,UAU,AUU,UUU 的使用频率较高,分别是 19.8, 16.0, 15.0, 14.9, 11.0, 10.9。但是 CUA, GUU, GUC, GCC, GCA, GCG, GAA, GAG, CGA, CGG, GGC 没有出现。在氨基酸片段的分析数据中,丝氨酸(Ser),天冬酰胺酸(Asn)和精氨酸(Arg)的使用频率高,分别为:16.291, 12.594, 10.784;谷氨酸(Glu)使用频率为 0,说明 CO 基因在氨基酸的组成上具有一定的偏向性。

100 条序列定义了 25 个单倍型(宋旭红, 2011),其中共享单倍型为 H4, H5, H11, H19, H23, H24, H25,其余单倍型为各个种群所特有。各个试验种群含有的单倍型如下:ZC: H1, H2, H3, H4; ZG: H24, H25; XC: H15, H16, H19, H25; YC: H19, H23, H24, AL: H13, H14, H23, H24; BB: H11, H24; BN: H7, H21, H24, H25; GA: H6, H9, H10, H11, H25, H23, H24; GY: H11, H19, H23, H24; JM: H17, H24, SY: H4, H5, H24; HD: H18, H5, H11, H24, HP: H25, H23; XN: H20, H19; LZ: H24, H25。

2.2 遗传距离特征

利用 MEGA 软件计算群体间及个体间的遗

传距离。MEGA 分析表明:个体之间的平均遗传距离为 (0.0035 ± 0.0011) ; XN 种群内部个体之间的遗传距离最大,为 (0.0058 ± 0.0022) ; YC 种群内部个体之间的遗传距离最小,为 (0.0019 ± 0.0013) 。

从表 5 可以看出,15 个种群间的 K2P 遗传距离在 0.0016~0.0062 之间。XC 和 XN 种群之间的遗传距离较大,为 0.0062; GY 和 YC 之间的遗传距离较小,为 0.0016。

2.3 谷蠹种群的遗传多样性及基因流

采用 AMOVA 分析谷蠹种群的遗传多样性,结果如表 4 所示,整个谷蠹种群的 Φ_{ST} 为 0.156,谷蠹种群之间的遗传变异极显著小于谷蠹种群个体之间的遗传变异($P < 0.0001$)。谷蠹种群之间的基因流为 1.35,说明整个谷蠹种群之间的基因流不大,但是各个种群之间还存在一定的基因交流。

3 讨论

基于 CO 序列数据的分析表明:谷蠹种群的 A+T 含量具有明显的偏向性,这点符合昆虫线粒体 DNA 的特点(Liu and Beckenbach, 1992; Simon et al., 1994)。数据组的保守位点有 665

表 4 基于 Tamura-Nei 遗传距离计算出的谷蠹种群的遗传变异 ($P < 0.0001$)
Table 4 Analysis of variance between *Rhyzopertha dominica* populations calculated from Tamura-Nei genetic distance

变异来源 Source of variation	自由度 <i>d.f.</i>	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	变异比率(%) Percentage of variation (%)	分化指数 Φ_{ST}	基因流 N_m
种群间变异 Among population	14	15.098	3.654	15.555		
种群内变异 Within population	85	38.975	19.837	84.445	0.156	1.350
总计 Total	99	54.073	23.491			

表 5 15 个谷蠹地理种群之间的 K2P 遗传距离
Table 5 Average K2P distance between 15 populations of *Rhyzopertha dominica*

	ZG	ZC	YC	HP	XN	XC	SY	LZ	JM	HD	GY	GA	BN	BB	AL
ZG															
ZC	0.0034														
YC	0.003	0.0035													
HP	0.0033	0.0042	0.0031												
XN	0.0053	0.0058	0.0033	0.0053											
XC	0.0038	0.0057	0.004	0.0039	0.0062										
SY	0.0039	0.0039	0.004	0.0044	0.0061	0.0049									
LZ	0.0024	0.0029	0.0025	0.0028	0.0048	0.0033	0.0034								
JM	0.0032	0.0046	0.0033	0.0033	0.0056	0.0033	0.0044	0.0027							
HD	0.0034	0.0027	0.003	0.0038	0.0048	0.0053	0.0038	0.0029	0.0042						
GY	0.0028	0.0028	0.0016	0.003	0.0038	0.0042	0.0036	0.0023	0.0033	0.0025					
GA	0.0032	0.0028	0.0031	0.0036	0.0053	0.0047	0.004	0.0027	0.0036	0.003	0.0026				
BN	0.003	0.0035	0.0029	0.0034	0.0052	0.004	0.004	0.0025	0.0033	0.0034	0.0027	0.0033			
BB	0.0027	0.0019	0.0025	0.0034	0.0045	0.0047	0.0032	0.0023	0.0036	0.0019	0.0021	0.0024	0.0028		
AL	0.0034	0.0039	0.0022	0.0033	0.0045	0.0047	0.0044	0.0029	0.0036	0.0033	0.0022	0.0034	0.0033	0.0029	

表中地理种群的代码同表 1。 The codes of populations are the same as Table 1.

个, 变异位点有 26 个, 变异率为 3.76%, 这些说明同一个种的 CO₁ 基因相当保守。

利用转换与颠换的比值, 能够估算序列的饱和度和进化速度 (Brower and DeSalle, 1998)。在同物种的线粒体序列变异种, 碱基的转换数往往高于颠换数 (Kocher *et al.*, 1989)。在本试验中, 线粒体 CO₁ 序列中的变异, 转换值明显高于颠换值, 可能原因, 一是基因的转换和颠换没有达到饱和; 二是线粒体 DNA 在进化的过程中提供了较多的碱基替换的位点, 使碱基的转换明显多于颠换。

谷蠹种群个体之间的遗传距离从 0 到 0.0067, 个体之间的平均遗传距离为 (0.0035 ± 0.0011), 这个遗传距离与以往文献中种下遗传分化的遗传距离相似 (Shoda *et al.*, 2003; 施伟和叶辉, 2007)。研究表明, 谷蠹种群的单倍型多为独享单倍型, 其独享单倍型的数量占该种群单倍型数量的 72%, 仅检测到 7 个单倍型同时由两个及两个以上种群共享。另外, 采用 AMOVA 对谷蠹种群的遗传变异分析表明, 整个谷蠹种群存在一定的基因交流, 但是基因交流值比较低, 这些结果说明, 本试验采集的 15 个谷蠹种群的

之间的基因交流比较少,谷蠹的遗传变异主要发生在各个种群的个体之间。

Song 等(2011)的使用 AFLP 进行谷蠹分子变异分析(AMOVA)结果表明,上述 15 个谷蠹种群的遗传结构存在显著性差异($P < 0.0005$)。在整个变异中,17.62%的变异发生在谷蠹种群间,82.38%的变异发生在种群内部的个体之间。这个结果说明谷蠹的遗传变异主要发生在种群内部,而不是种群之间。两者研究结果一致。

谷蠹属于仓储害虫,其活动场所具有一定的密闭性,加上谷蠹自身活动能力的限制,使得谷蠹自主运动的能力比较弱,这是造成谷蠹种群之间基因交流不高的主要原因。另外,在中国,各级粮库的主要功能就是储藏,各地粮库之间粮食流通比较少,也可能是造成这一原因的主要因素。

参考文献 (References)

- Arthur FH, 1996. Grain protectants: Current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research*, 32(4): 293–302.
- Arthur FH, Bautista RC, Siebenmorgen TJ, 2007. Influence of growing location and cultivar on *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) infestation of rough rice. *Insect Science*, 14(3): 231–239.
- Bashir T, 2002. Reproduction of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on different host-grains. *Pakistan Journal of Biological Science*, 5(1): 91–93.
- Brower AVZ, DeSalle R, 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butter flies: The utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 7(1): 73–82.
- Champ BR, Dyte CE, 1977. FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. *FAO Plant Protection Bulletin*, 25(2): 49–67.
- Chaudhry MQ, 1997. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. *Pesticide Science*, 49(3): 213–228.
- Chu D, Bi YP, Zhang YJ, Lou YP, 2005. Research progress on *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes. *Acta Ecologica Sinica*, 25(12): 3398–3405. [褚栋, 毕玉平, 张友军, 娄蕴萍, 2005. 烟粉虱生物型研究进展. 生态学报, 25(12): 3398–3405.]
- Crombie AC, 1941. On oviposition, olfactory conditioning and host selection in *Rhyzopertha dominica* Fab. (Insecta, Coleoptera). *Journal of Experimental Biology*, 18(1): 62–79.
- Demianyk CJ, Sinha RN, 1987. Effects of infestation by the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn), and the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on stored corn. *Environmental Entomology*, 16(3): 618–624.
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, De Barro P, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2): 196–208.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479–491.
- Jilani G, Saxena RC, Khan AA, 1989. Ethylene production as an indicator of germination and vigor loss in stored rice seed infested by *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, 25(3): 175–178.
- Jood S, Kapoor AC, Singh R, 1993. Available carbohydrates of cereal grains as affected by storage and insect infestation. *Plant Foods for Human Nutrition*, 43(1): 45–54.
- Kazachkova N, Meijer J, Ekblom B, 2007. Genetic diversity in pollen beetles (*Meligethes aeneus*) in Sweden: role of spatial, temporal and insecticide resistance factors. *Agricultural and Forest Entomology*, 9(4): 259–269.
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, 1989. Dynamics of mitochondria DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 86(16): 6196–6200.
- Legg JP, French R, Rogan D, Okao-Okuja G, Brown JK, 2002. A distinct *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) genotype cluster is associated with the epidemic of severe cassava mosaic virus disease in Uganda. *Molecular Ecology*, 11(7): 1219–1229.
- Leng HN, Chi DF, Xiao F, 2010. Variation in mtDNA CO sequences of ten geographical populations of *Dendrolimus*. *Journal of Northeast Forestry University*, 38(11): 105–107. [冷海楠, 迟德富, 肖放, 2010. 松毛虫属部分地理种群 CO 基因序列分析. 东北林业大学学报, 38(11): 105–107.]
- Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase gene among ten orders of insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1(1): 41–52.
- Luo C, Yao Y, Wang RJ, Yan FM, Hu DX, Zhang ZL, 2002. The use

- of mitochondrial cytochrome oxidase (mtCO) gene sequences for the identification of biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 45(6): 759–763. [罗晨, 姚远, 王戎疆, 阎凤鸣, 胡敦孝, 张芝利, 2002. 利用 mtDNA COI 基因序列鉴定我国烟粉虱的生物型. *昆虫学报*, 45(6): 759–763.]
- Mau Y, 2008. Comparative genetic and toxicological analysis of phosphine resistance in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). Ph. D thesis. Brisbane: The University of Queensland.
- Normark BB, Lanteri AA, 1998. Incongruence between morphological and mitochondrial DNA characters suggests hybrid origins of parthenogenetic weevil lineages (genus: *Aramigus*). *Systematic Biology*, 47(3): 475–494.
- Park SH, Arthur FH, Bean SR, Schober J, 2008. Impact of differing population levels of *Rhyzopertha dominica* (F.) on milling and physicochemical properties of sorghum kernel and flour. *Journal of Stored Products Research*, 44(4): 322–327.
- Pedersen JR, 1992. Insects: Identification, damage, and detection // Sauer DB (ed.). *Storage of Cereal Grains and Their Products*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. 435–489.
- Scataglini MA, Lanteri AA, Confalonieri VA, 2006. Diversity of boll weevil population in South America: a phylogeographic approach. *Genetica*, 126(3): 353–368.
- Schlupalius DI, Chen W, Collins PJ, Ebert PR, 2008. Gene interactions constrain the course of evolution of phosphine resistance in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Heredity*, 100(5): 506–516.
- Shi W, Ye H, 2007. Genetic structure in four geographic populations of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) located in the seasonal occurrence zone in Yunnan Province. *Acta Ecologica Sinica*, 27(6): 2477–2482. [施伟, 叶辉, 2007. 云南桔小食蝇(*Bactrocera dorsalis*)季节性分布区 4 个地理种群遗传结构. *生态学报*, 27(6): 2477–2482.]
- Shoda E, Kubota K, Makihara H, 2003. Geographical structuring of mitochondrial DNA in *Semanotus japonicus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomology Zoology*, 38(3): 339–345.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6): 651–701.
- Song XH, Akinkulere RO, Wang PP, Zhang HY, 2011. Genetic diversity among different geographical populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in China as revealed by AFLP. *Entomologia Generalis*, 33(1/2): 49–62.
- Song XH, 2011. Resistance and genetic differentiation of *Rhyzopertha dominica* to phosphine at different spatial scales in China. Doctoral dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [宋旭红, 2011. 谷蠹不同地理种群对磷化氢抗性及其遗传分化. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]
- Toews MD, Cuperus GW, Phillips TW, 2000. Susceptibility of eight US wheat cultivars to infestation by *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Environmental Entomology*, 29(2): 250–255.
- Zheng FS, Du YZ, Wang ZJ, Wang LP, 2007. Molecular phylogeny of *Galerucella* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) based on mitochondrial cytochrome oxidase gene. *Acta Entomologica Sinica*, 50(5): 501–507. [郑福山, 杜予州, 王志杰, 王莉萍, 2007. 基于线粒体 CO 基因序列的小萤叶甲属部分种类分子系统学研究(鞘翅目: 叶甲科: 萤叶甲亚科). *昆虫学报*, 50(5): 501–507.]