

云斑白条天牛雌雄成虫四个线粒体基因的序列比较*

梅增霞^{1**} 李建庆^{1,2***}

(1. 滨州学院, 山东省黄河三角洲生态环境重点实验室, 滨州 256603;

2. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091)

摘 要 【目的】比较云斑白条天牛 *Batocera lineolata* 成虫雌雄个体的 4 个线粒体基因的序列差异, 为研究种群个体分化和系统发育提供借鉴。【方法】以危害杨树云斑白条天牛种群为研究对象, 分别提取并扩增云斑白条天牛雌雄成虫的线粒体 DNA 的 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个基因。通过序列比对, 分析比较 4 个线粒体基因序列在雌雄成虫个体间的差异。【结果】危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫的 4 个线粒体基因存在差异。在碱基序列相似度方面, CO II 基因雌雄成虫间差异最大, 相似度为 98.3%, 在比较的 650 个碱基位点中, 2 个缺失碱基, 8 个不一致碱基; 其次为 CO I, 相似度为 98.6%, 比较的 714 个碱基位点中, 5 个缺失碱基, 2 个不一致碱基; 再次为 Cyt b, 相似度为 98.9%, 在比较的 472 个碱基位点中, 4 个不一致碱基; 差异最小的为 16S rRNA, 相似度为 99.2%, 在比较的 833 个碱基位点中, 2 个缺失碱基, 3 个不一致碱基。在碱基含量方面, 4 个基因雌成虫 A+T 与 C+G 含量差值均高于雄成虫, Cyt b 基因雌雄成虫 A+T 高出 C+G 含量的差值最高分别为 40.84%和 40.96%, 16S rRNA 差值其次分别为 40.10%和 40.70%, CO II 差值再次分别为 38.94%和 38.22%, CO I 差值最小分别为 30.52%和 30.16%。【结论】危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫的 mtDNA CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 在碱基序列相似度和碱基含量方面均存在差异, 在分析种群个体分化和系统发育时, 条件允许的情况下可以区分云斑白条天牛雌雄个体。

关键词 云斑白条天牛; 雌雄成虫; 线粒体基因; 差异比较

Differences in four mitochondrial genes in male and female *Batocera lineolata*

MEI Zeng-Xia^{1**} LI Jian-Qing^{1,2***}

(1. Shandong Province Key Laboratory on Eco-environments of Yellow River Delta, Binzhou University, Binzhou 256603, China;

2. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract 【Objectives】To compare differences in four mitochondrial genes in adult male and female *Batocera lineolata*, an important pest of poplars, and thereby provide a reference for further research on the population differentiation and phylogeny of this species. 【Methods】Genomes were extracted from female and male adults and four mitochondrial genes; mtDNA CO I, CO II, Cyt b and 16S rRNA, amplified using PCR. The four gene sequences obtained from male and female adults were compared by sequence alignment. 【Results】There are some differences in the four gene sequences obtained from female and male adults. With respect to base sequence similarity, the greatest divergence between male and the female adults was found in the CO II gene, which had a similarity index of 98.3%. There were 2 gap bases and 8 conflict bases among the 650 CO II gene bases compared. The second most sexual dimorphism was in the CO I gene, which had a similarity index of 98.6%. There were 5 gap bases and 2 conflict bases among the 714 CO I bases compared. The third most sexual dimorphism was found in the Cyt b gene, which had a similarity index of 98.9%. There were 4 conflict bases among the 472 Cyt b bases compared. The

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31770689)

**第一作者 First author, E-mail: mzxia915@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lijianqing1977@126.com

收稿日期 Received: 2020-04-02; 接受日期 Accepted: 2020-07-24

least amount of sexual dimorphism was found in the 16S rRNA, which had a similarity index of 99.2%. There were 2 gap bases and 3 conflict bases among the 833 16S rRNA bases compared. The difference in A+T and C+G content of all four genes was higher in female adults than in males. The values for females and males were 40.84% and 40.96% for the Cyt b gene, 40.10% and 40.70% for the 16S rRNA gene, 38.94% and 38.22% for the CO II gene and 30.52% and 30.16% for the CO I gene.

[Conclusion] Sexual differences in base similarity and content of 4 mitochondrial *B. lineolata* genes highlight the importance of specifying the gender of specimens in studies of population differentiation and phylogeny.

Key words *Batocera lineolata*; female and male adults; mitochondrial genes; difference comparison

云斑白条天牛 *Batocera lineolata* 属鞘翅目 Coleoptera 天牛科 Cerambycidae, 是我国重要林业蛀干害虫, 也称为云斑天牛, 在我国分布范围广, 危害寄主多。黑杨派南方型杨树是一种优质速生杨, 在南方洞庭湖区的滩涂湿地大量种植, 种植速生杨是当地湖区群众致富增收的重要途径。随着速生杨种植面积的扩大, 云斑白条天牛危害日益严重, 已成为制约杨树进一步扩大种植的关键因素(李建庆和梅增霞, 2016; 梅增霞等, 2016)。深入研究危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫的性别特征并正确区分, 是开展调查防治和其他生物学研究的基础。

线粒体 DNA (mtDNA) 是生物进化过程中形成的保守 DNA, 严格遵守母系遗传, 在遗传过程中不发生基因重组、倒位、易位等突变。其分子质量小, 核酸序列不含间隔区和内含子, 无重复序列和不等交换。因具有易于提取、扩增和分析的特点, 是研究进化生物学的优选材料, 特别适用于低分类阶元的研究(徐庆刚和花保祯, 2001; 寇静和廉振民, 2006; 郭晓华等, 2009; 崔中翌等, 2020)。研究中最常用的线粒体 DNA 主要有线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (CO I) 基因、细胞色素 C 氧化酶亚基 II (CO II) 基因、细胞色素 b (Cyt b) 基因、核糖体 16S 亚基 (16S rRNA) 基因。

目前有关云斑白条天牛线粒体基因的系统研究不多, Wang 等(2012)测定了采自云南昆明的云斑白条天牛成虫的线粒体全基因组序列, 全长 15 418 bp, 分析了其基因编码蛋白情况; 禹海鑫等(2016, 2017)分析比较了包含云斑白条天牛在内的白条天牛属 10 个种 17 个样品的线粒体 CO I 基因的碱基序列, 其研究所用云斑白条天牛 CO I 基因序列为 GenBank 下载, 并构建

了 17 个样品的系统发育树。目前, 尚未报道有关洞庭湖区危害杨树云斑白条天牛的线粒体基因的研究, 更未见到有关云斑白条天牛雌雄成虫线粒体基因差异的研究报道。本文系统比较危害杨树云斑白条天牛的线粒体 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个基因雌雄成虫个体间的差异, 分析云斑白条天牛种群雌雄个体间核酸序列的多样性, 也为昆虫种群个体分化和系统发育研究提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试虫

云斑白条天牛雌雄成虫于 2019 年 5 月采集于湖南沅江, 幼虫蛀食危害寄主杨树, 采回后 -20 °C 保存备用。

1.2 DNA 提取

利用动物 DNA 快速提取试剂盒(购自生工生物(上海)股份有限公司), 提取云斑白条天牛雌雄成虫的 DNA。

DNA 提取步骤: ①取天牛成虫胸部肌肉约 30 mg, 用液氮研磨成细粉, 放入 1.5 mL Ep 管中; ②加入 400 μ L 的 Buffer Digestion 震荡混匀, 65 °C 水浴约 1.5 h 至细胞裂解(水浴过程中每 10 min 颠倒混匀一次), 水浴后加入 RNase A 液; ③加入 200 μ L Buffer PA, 充分颠倒混匀, 置于 -20 °C 冰箱放置 5 min; ④室温 10 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移到新的 1.5 mL Ep 管中(如上清液混浊可加入等体积的氯仿离心后取上清); ⑤加入等体积的异丙醇, 颠倒 5-8 次, 室温放置 2-3 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清; ⑥加入 75%乙醇 1 mL, 颠倒漂洗 1-3 min,

10 000 r/min 离心 2 min, 弃上清(注:漂洗时一定要使沉淀悬浮起来);⑦重复步骤⑥一次;⑧开盖室温倒置 5-10 min, 至残留的乙醇完全挥发;⑨得到的 DNA 沉淀用 100-200 μ L TE Buffer 溶解, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

提取的总 DNA 用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 电压 120 V 电泳 40 min, 在 EB 染色 8-10 min, 观察凝胶上 DNA 电泳条带。

1.3 PCR 扩增

云斑白条天牛雌雄成虫 mtDNA CO I、CO II、Cyt b 和 16S rRNA 4 个基因的 PCR 扩增引物均采用昆虫通用引物(卜云等, 2006; 陆鹏飞等, 2012; 张媛, 2012), 由生工生物(上海)股份有限公司合成。CO I 基因上下游引物为 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' 和 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'; CO II 基因引物为 5'-AAT ATG GCA GAT TAG TGC A-3' 和 5'-GCT CCA CAA ATT TCT GAG CA-3'; Cyt b 基因引物为 5'-TAT GTA CTA CCA TGA GGA CAA ATA TC-3' 和 5'-ATT ACA CCT CCT AAT TTA TTA GGA AT-3'; 16S rRNA 基因引物为 5'-CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT-3' 和 5'-GGT CCC TTA CGA ATT TGA ATA TAT CCT-3'。

利用 PCR 反应试剂盒(购自生工生物(上海)股份有限公司), 每个基因 PCR 的扩增反应, 加入 2 μ L dNTP, 2 μ L 10 $\times$ Buffer, 0.4 μ L 高保真 pfu 酶, 上下游引物各 1 μ L, 不同扩增 DNA 模板加入量稍有变化在 1-3 μ L 之间, 加去离子水补足, 搭建成 25 μ L 反应体系。

CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 基因引物扩增反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火温度分别是 47、52、49、47、72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 4 min, 4 $^{\circ}$ C 保存扩增产物。

1.4 PCR 扩增产物的检测、测序及分析

PCR 扩增的目的基因用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 上样加入扩增目的基因样品和 DNA marker, 120 V 电泳 50 min, EB 染色, 选取条带

清晰的扩增基因进行测序。

将云斑白条天牛雌雄成虫 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 基因的 PCR 扩增产物委托生工生物(上海)股份有限公司进行纯化、双向测序。

测序完成后, 利用 DNASTar 软件中 SeqMan 程序分别对云斑白条天牛雌雄成虫的 4 个基因序列进行拼接。利用 MegAlign 程序将拼接后的序列进行比对和碱基差异。

2 结果与分析

2.1 总 DNA 的质量检测

云斑白条天牛雌雄成虫胸部肌肉 DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值分别为 1.67 和 1.78, 处于 1.7-1.9 之间, 表明提取的 DNA 样品质量较好。雌雄成虫的 DNA 浓度分别为 83.40 mg/L 和 89.10 mg/L, 表明提取的 DNA 的纯度较高, 经琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 条带清晰, 符合下一步 PCR 扩增需要。

2.2 4 个基因 PCR 扩增产物电泳检测

云斑白条天牛雌雄成虫的 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个线粒体基因的电泳图谱见图 1, 由图 1 可见, 每个基因 PCR 扩增产物的特异性条带清晰, 符合预期结果, 根据 DNA Marker 判断 CO I、CO II、Cyt b、16S rDNA 基因长度分别约为 730、680、500、850 bp, 同一基因的条带位置在雌雄个体间差异不明显。

2.3 雌雄成虫 4 个基因的差异比较

利用 DNASTar 软件的 SeqMan 程序双向拼接, 通过 ab1 图谱文件校正冲突基因, 输出云斑白条天牛雌雄成虫的 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个线粒体基因序列, 将拼接序列通过 MegAlign 程序进行比对, 分别比较 4 个基因雌雄成虫个体间的差异。

根据比对结果, 危害杨树云斑白条天牛成虫的 4 个基因在雌雄个体间存在一定差异。4 个基因的序列相似度不一致, 在 98.60%-99.20% 之间, 由表 1 可见, CO II 基因雌雄成虫间差异最大, 相似度为 98.3%, 其次为 CO I 基因, 再次为

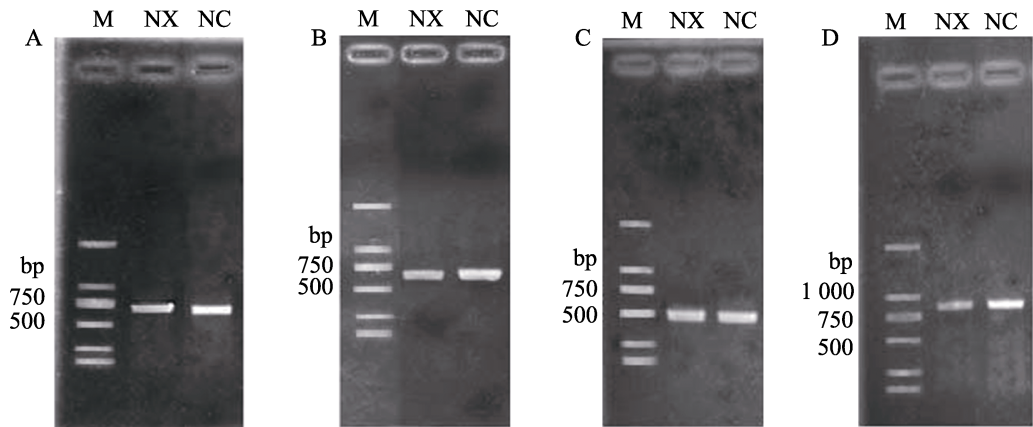


图 1 云斑白条天牛雌雄成虫线粒体 DNA 4 个基因的电泳图

Fig. 1 The electrophoretogram of 4 mitochondrial genes of the female and male adults of *Batocera lineolate*

A. CO I 基因; B. CO II 基因; C. Cyt b 基因; D. 16S rRNA 基因。
A. CO I gene; B. CO II gene; C. Cyt b gene; D. 16S rRNA gene.
M: DNA marker; NC: 雌成虫; NX: 雄成虫。
M: DNA marker; NC: Male adult; NX: Female adult.

表 1 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 4 个基因碱基序列对比

Table 1 Base sequences alignment of four mitochondrial genes of female and male adults *Batocera lineolate* attacking poplars

基因名称 Gene name	雌成虫序列 长度 (bp) Sequence length of female adult	雄成虫序列 长度 (bp) Sequence length of male adult	比较序列 长度 (bp) Compared sequence length	缺失碱基数 (个) Gap bases number	冲突碱基数 (个) Conflict bases number	相似度 (%) Similarity index
CO I	711	713	714	5	2	98.60
CO II	678	654	656	2	8	98.30
Cyt b	480	481	472	0	5	98.90
16S rRNA	848	833	832	2	2	99.20

Cyt b, 差异最小的为 16S rRNA, 雌雄个体间相似度为 99.2%。4 个基因的序列长度不一致, 由表 2 可见, 雌成虫 CO II 比雄成虫长 24 bp, 16S rRNA 基因比雄成虫长 15 bp, CO I 基因比雄成虫短 2 bp, Cyt b 比雄成虫短 1 bp。因此, 4 个基因序列的长度在雌雄成虫个体间的差异无明显规律。

危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫的 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个基因均存在一些不一致的碱基, 由图 2 可见, CO I 基因雌雄成虫个体间相似度为 98.60%, 用于比较序列长度为 714 bp, 雌成虫碱基序列共长 711 bp, 从第 1 个碱基位点开始比较到第 711 个碱基位点; 雄成虫碱基序列共长 713 bp, 比较的碱基位点为 2-713。

在比较的 714 个碱基位点中, 5 个缺失碱基, 雌成虫 3 个, 雄成虫 2 个; 2 个不一致碱基, 除起始位点和结束位点的前后各 10 个碱基外, 中间有 2 个不一致碱基, 3 个缺失碱基, 均为雌成虫。

由图 3 可见, CO II 基因雌雄成虫个体间相似度为 98.30%, 用于比较序列长度为 650 bp, 雌成虫碱基序列共长 678 bp, 比较的碱基位点为 19-674; 雄成虫碱基序列共长 654 bp, 比较的碱基位点为 1-654。在比较的 650 个碱基位点中, 2 个缺失碱基, 为雄成虫; 8 个不一致碱基, 除起始位点和结束位点的前后各 10 个碱基外, 中间有 4 个不一致碱基。

由图 4 可见, Cyt b 基因雌雄成虫个体间相似度为 98.90%, 用于比较序列长度为 472 bp,

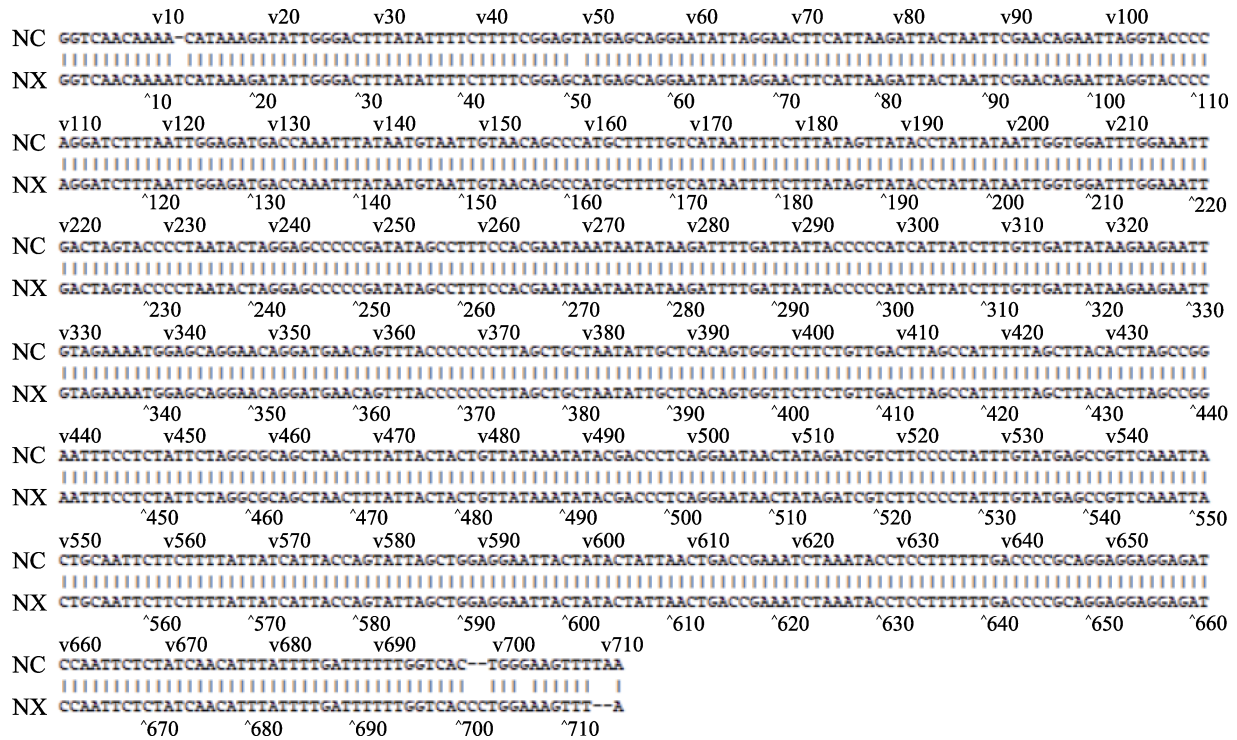


图 2 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 CO I 基因序列对比

Fig. 2 Sequence alignment of CO I of female and male adults of *Batocera lineolate* attacking poplars

NC: 雌成虫; NX: 雄成虫。两条序列的缺失碱基和冲突碱基之间无短竖线连接。下图同。

NC: Male adults; NX: Female adults. There were no vertical bars between gap and conflict bases of two sequences.

The same below.

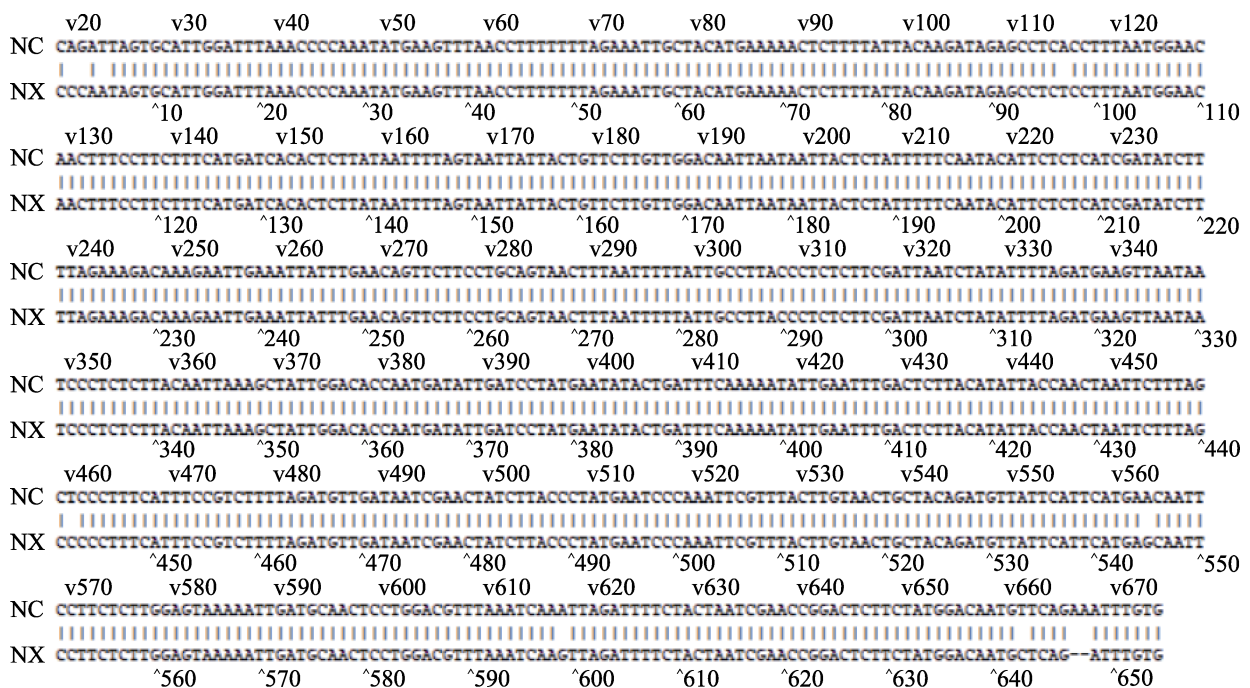


图 3 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 CO II 基因序列对比

Fig. 3 Sequence alignment of CO II of female and male adults of *Batocera lineolate* attacking poplars

雌成虫碱基序列共长 480 bp, 比较的碱基位点为 9-480; 雄成虫碱基序列共长 481 bp, 比较的碱基位点为 1-472。在比较的 472 个碱基位点中, 0 个缺失碱基; 4 个不一致碱基, 除起始位点和结

束位点的前后各 10 个碱基外，中间有 2 个不一致碱基。

由图 5 可见, 16S rRNA 基因雌雄成虫个体间相似度为 99.20%, 用于比较序列长度为

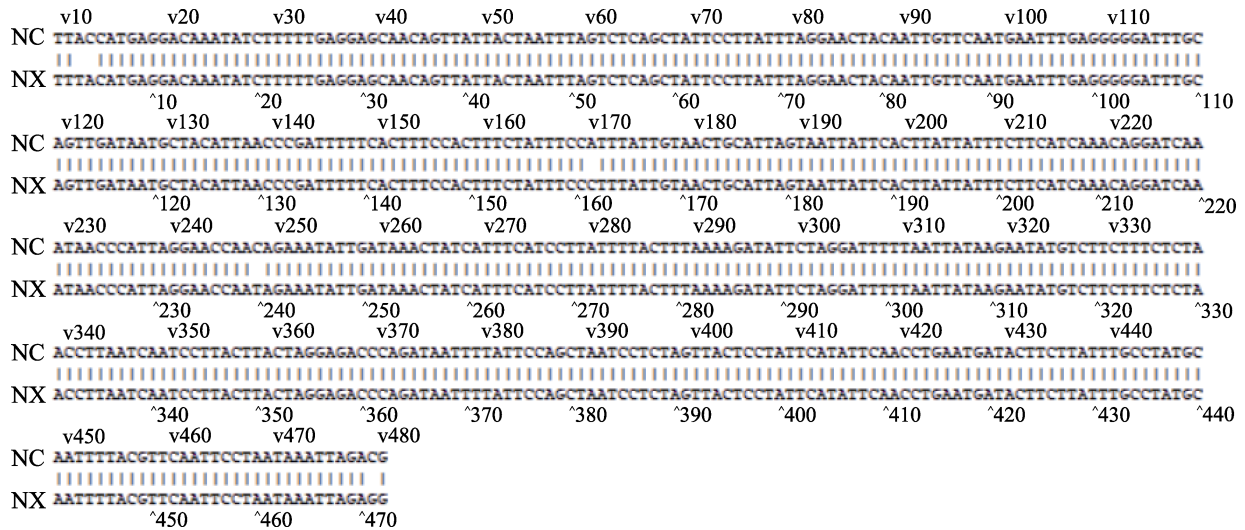


图 4 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 Cyt b 基因序列对比

Fig. 4 Sequence alignment of Cyt b of female and male adults of *Batocera lineolata* attacking poplars

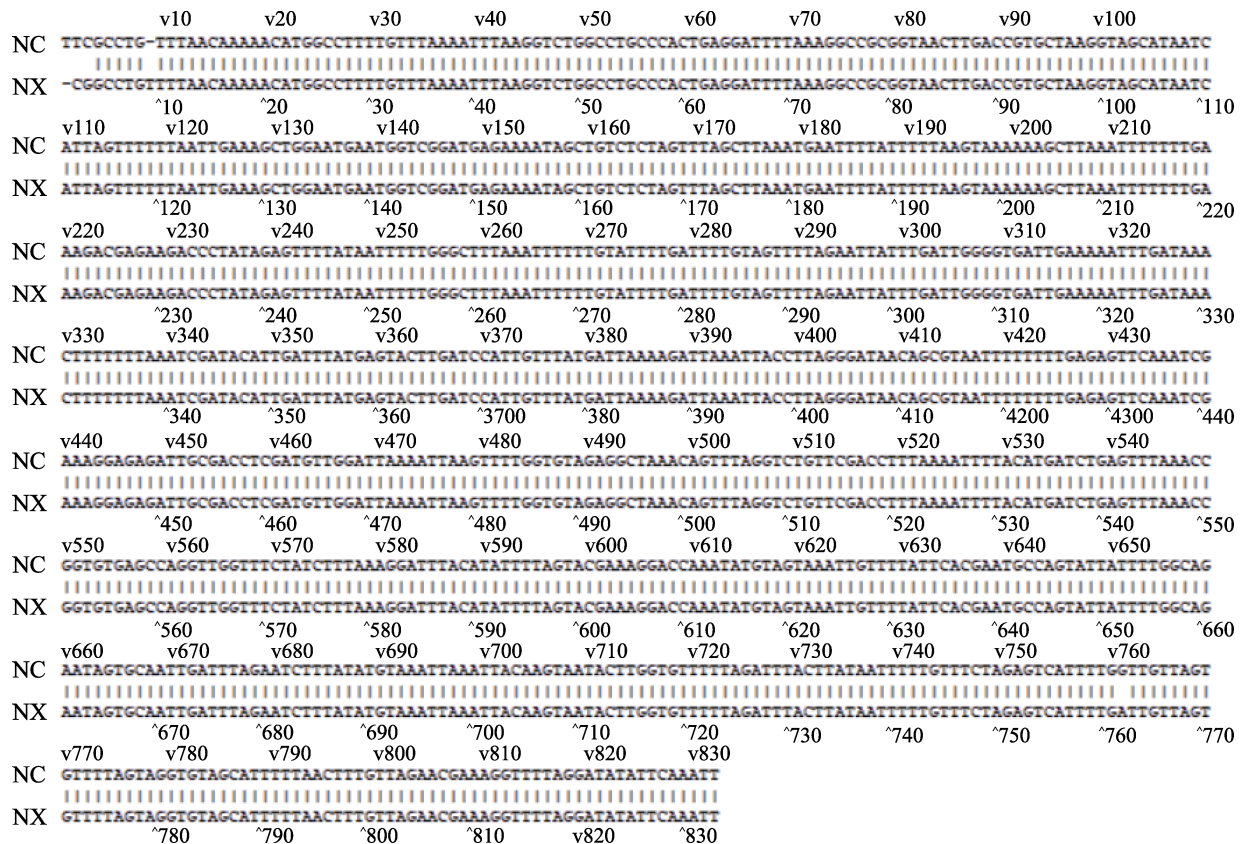


图5 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 16S rRNA 基因序列对比

Fig. 5 Sequence alignment of 16S rRNA of female and male adults of *Batocera lineolate* attacking poplars

833 bp, 雌成虫碱基序列共长 848 bp, 比较的碱基位点为 1-832; 雄成虫碱基序列共长 833 bp, 比较的碱基位点为 2-833。在比较的 833 个碱基位点中, 2 个缺失碱基, 雌雄成虫各 1 个; 3 个不一致碱基, 除起始位点和结束位点的前后各 10 个碱基外, 中间有 1 个不一致碱基。

2.4 4 种基因的碱基分析

由表 2 可见, 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 CO I、CO II、Cyt b、16S rRNA 4 个线粒体基因均有明显的碱基偏好性, A+T 含量均高于 C+G, 且雌成虫 A+T 与 C+G 含量差值也均高于雄成虫, CO I 雌成虫 A+T 比 C+G 含量高 30.52%, 雄成虫 A+T 比 C+G 含量高 30.16%;

CO II 雌成虫 A+T 比 C+G 含量高 38.94%, 雄成虫 A+T 比 C+G 含量高 38.22%; Cyt b 雌成虫 A+T 比 C+G 含量高 40.84%, 雄成虫 A+T 比 C+G 含量高 40.96%; 16S rRNA 雌成虫 A+T 比 C+G 含量高 40.10%, 雄成虫 A+T 含量比 C+G 含量高 40.70%。因此, Cyt b 基因雌雄成虫 A+T 高出 C+G 含量的差值最高, 其次为 16S rRNA, 再次为 CO II, 最小的为 CO I。

CO I 和 CO II 基因雌成虫 A+T 的含量高于雄成虫, CO I 雌成虫 A+T 含量比雄成虫高 0.18%, CO II 雌成虫 A+T 含量比雄成虫高 0.36%。Cyt b 和 16S rRNA 基因雌成虫 A+T 的含量低于雄成虫, Cyt b 雌成虫 A+T 含量比雄成虫低 0.06%, 16S rRNA 雌成虫 A+T 含量比雄成虫低 0.30%。

表 2 危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫 4 种基因序列的碱基含量比较

Table 2 The base content of four genes of female and male adults of *Batocera lineolate* attacking poplars

碱基 Base	CO I (%)		CO II (%)		Cyt b (%)		16S rRNA (%)	
	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male
A	30.24	30.15	31.27	30.58	31.25	31.19	30.78	30.61
G	16.17	15.99	12.09	11.62	11.04	11.64	19.58	19.45
T	35.02	34.92	38.20	38.53	39.17	39.29	39.27	39.74
C	18.57	18.93	18.44	19.27	18.54	17.88	10.38	10.20
A+T	65.26	65.08	69.47	69.11	70.42	70.48	70.05	70.35
C+G	34.74	34.92	30.53	30.89	29.58	29.52	29.95	29.65

3 讨论

在开展云斑白条天牛生物防治研究过程中, 作者发现云斑白条天牛在不同地域危害不同寄主存在种群分化现象。在黄河三角洲地区云斑白条天牛幼虫主要蛀食白蜡树, 成虫以白蜡树枝条补充营养, 在长江中下游地区云斑白条天牛幼虫主要危害杨树, 成虫主要以野蔷薇枝条补充营养, 同时其行为习性等方面存在明显分化。为深入研究云斑白条天牛的种群分化, 需要从基因水平研究其遗传分化差异, 为其种群分化提供证据。本研究提取了危害杨树云斑白条天牛雌雄成虫线粒体 DNA 的 CO I、CO II、Cyt b 和 16S rRNA 4 个基因, 并比较不同寄主种群间的遗传差异。在分析比较危害不同寄主种群间差异过程中, 发现同一种群的雌雄个体间也存在一定差

异, 发现线粒体 DNA 的 4 个基因在碱基序列、碱基构成等方面均存在一定差异, 雌雄个体间序列基因相似度在 98.30%-99.20%之间。

DNA 条形码技术应用于鉴定昆虫种类已是共识, 因此种内雌雄个体的线粒体基因差异也可用于鉴定区分种内个体的性别。目前, 云斑白条天牛成虫性别的区分, 主要依据触角长短, 雄虫触角长, 超过体长约 1/3, 雌虫触角短, 仅略比体长。由于雌雄个体差异, 面对单一成虫时往往难以根据触角长短来判断其性别, 特别是检疫部门发现残缺虫体时更无法通过形态来鉴定性别。因此, 本研究确定的 4 个线粒体 DNA 的基因序列, 可用于分析确定成虫的性别。

有关雌雄个体基因差异的研究较少, 海洋贻贝科、海洋帘蛤科和淡水珠蚌等双壳类生物的线粒体基因在雌雄个体间存在一定差异, CO II 上

有一段特异性延长片段,可用作雌雄个体鉴别的分子标记(Curole and Kocher, 2005; Chapman *et al.*, 2008; 陈亚等, 2018)。李春华等(2005)研究并比较捻转血矛线虫 *Haemonchus contortus* 雌、雄成虫半乳糖结合凝集素(*Galectin*)基因在雌雄成虫个体间的差异,并认为其首次单独克隆雌虫和雄虫的 *Galectin* 基因,是对以前雌雄成虫混合物提取该基因的一个改进,是首次报道。通常认为同一昆虫种群雌雄个体间基因差异较小,再加上多数昆虫个体较小,在研究过程中区分雌雄性别有一定难度,因此多数有关昆虫系统发育和种群地理分化的相关研究并未区分雌雄性别,专门开展昆虫雌雄个体之间的基因差异研究则更少。禹海鑫等(2016)在构建白条牛属 17 个天牛样品的系统发育树时,对其中 *B. aneonigra* 和 *B. gerstaecheri* 两种雌雄个体做了区分,2 个种的雌雄个体间的遗传距离分别为 0.007 和 0.026。尽管昆虫种群雌雄个体间的基因差异较小,但存在差异是肯定的,本文的研究也更加确认这一点。因此,在分析过程中存在用雌雄个体分别做系统发育树,会发生不一样的结果。对于一些个体较大、性别区分比较容易的昆虫,建议研究其遗传分化以区分其性别。本研究较为系统地比较了云斑白条天牛雌雄个体间线粒体基因的差异,明确了同一种群雌雄个体间也存在一定遗传分化差异,对昆虫种群分化和系统发育研究具有较高的理论价值。

参考文献 (References)

- Bu Y, Jia YX, Zheng ZM, 2006. Molecular systematic study on Pentatomidae (Hemiptera, Heteroptera) from China based on mitochondrial cytochrome oxidase II gene. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 31(2): 239–246. [卜云, 贾云霞, 郑哲民, 2006. 基于线粒体 CO II 基因的中国蝽科分子系统学研究(半翅目, 异翅亚目). 动物分类学报, 31(2): 239–246.]
- Chapman EG, Piontkivska H, Walker JM, Stewart DT, Curole JP, Hoeh WR, 2008. Extreme primary and secondary protein structure variability in the chimeric male-transmitted cytochrome C oxidase subunit II protein in freshwater mussels: Evidence for an elevated amino acid substitution rate in the face of domain-specific purifying selection. *BMC Evolutionary Biology*, 8: 165.
- Chen Y, Wang YY, He FS, Li JL, 2018. Full-length cDNA cloning of M and F-type CO II genes and expression in different age freshwater mussel *Hyriopsis cumingii*. *Journal of Fisheries of China*, 42(1): 29–38. [陈亚, 王雅昱, 汪桂玲, 何方殊, 李家乐, 2018. M、F 型 CO II 基因在雌雄三角帆蚌不同发育时期的表达差异研究. 水产学报, 42(1): 29–38.]
- Cui ZY, Zhou Q, Liu YP, Si PF, Wang Y, 2020. Molecular identification of citrus fruit flies and genetic diversity analysis of *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae) populations in China based on mtDNA CO I gene sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 63(1): 85–96. [崔中翌, 周琼, 刘一鹏, 司品法, 汪洋, 2020. 基于 mtDNA CO I 基因序列的中国柑橘果实蝇的分子鉴定及柑橘大实蝇种群的遗传多样性分析. 昆虫学报, 63(1): 85–96.]
- Curole JP, Kocher TD, 2005. Evolution of a unique mitotype specific protein-coding extension of the cytochrome C oxidase II gene in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida). *Journal of Molecular Evolution*, 61(3): 381–389.
- Guo XH, Sun N, Zhang Y, 2009. Application of mtDNA CO I in insect phylogenetic research. *International Journal of Genetics*, 32(5): 79–81. [郭晓华, 孙娜, 张媛, 2009. 线粒体 CO I 基因在昆虫分子系统学研究中的应用. 国际遗传学杂志, 32(5): 79–81.]
- Kou J, Lian ZM, 2006. Characters of animal mtDNA and application in phylogenetic analysis of crickets. *Journal of Yanan University (Natural Science Edition)*, 25(1): 56–59. [寇静, 廉振民. 线粒体 DNA 序列特点及在蟋蟀类昆虫系统学研究中的应用. 延安大学学报 (自然科学版), 25(1): 56–59.]
- Li CH, Li XR, Wei XF, Xu LX, 2005. Cloning, characterization and sequence analysis of galectin cDNA of female and male adult worms of *Haemonchus contortus*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 13(1): 86–91. [李春华, 李祥瑞, 魏晓锋, 徐立新, 2005. 捻转血矛线虫雌、雄成虫 Galectin 基因的克隆、鉴定及序列分析. 农业生物技术学报, 13(1): 86–91.]
- Li JQ, Mei ZX, 2016. Damage characters and spatial distribution of poplar *Batocera lineolate*. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 43(1): 116–125. [李建庆, 梅增霞, 2016. 杨树云斑白条天牛的危害特点及空间分布. 福建林业科技, 43(1): 116–125.]
- Lu PF, Zhu DH, Yang XH, Liu ZW, 2012. Phylogenetic analysis of the mtDNA CO I gene suggests cryptic *Dryocosmus kuriphilus* associated with certain populations of Chinese chestnuts (*Castanea* spp.). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(1): 161–167. [陆鹏飞, 朱道弘, 杨筱慧, Liu Zhi-Wei, 2012. 基于 mtDNA CO I 基因的系统分析表明栗属植物上隐藏瘿蜂种的存在. 应用昆虫学报, 49(1): 161–167.]
- Mei ZX, Li JQ, Zhang ZT, 2016. Increasing law and frequency

- comparison of poplar *Batocera lineolata* (Coleoptera: Cerambycidae) population in different developmental stages, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 32(24): 190–193. [梅增霞, 李建庆, 张智涛, 2016. 杨树云斑白条天牛不同虫态种群数量的增长规律及频次比较. 中国农学通报, 32(24): 190–193.]
- Wang CY, Feng Y, Chen XM, 2012. Complete sequence and gene organization of the mitochondrial genome of *Batocera lineolata* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Science Bulletin*, 57(27): 3578–3585.
- Xu QG, Hua BZ, 2001. Application of mtDNA in phylogenetic analysis of insects. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 29 (Suppl.): 79–82. [徐庆刚, 花保祯, 2001. 线粒体 DNA 在昆虫系统学研究中的应用. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 29(增刊): 79–82.]
- Yu HX, Xu M, Xu N, Sun MQ, An YL, 2016. Establishment of DNA barcode of species of *Batocera* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 43(2): 90–94, 116. [禹海鑫, 徐梅, 徐宁, 孙民琴, 安榆林, 2016. 白条天牛 DNA 条形码鉴定技术. 福建林业科技, 43(2): 90–94, 116.]
- Yu HX, AN YL, Guo XJ, Sun MQ, Xu N, Yang XJ, Xu M, Ran JX, 2017. Primary study on barcodes and phylogeny of different species *Batocera*. *Jiangsu Agricultural Science*, 45(13): 90–94. [禹海鑫, 安榆林, 郭骁驹, 孙民琴, 徐宁, 杨晓军, 徐梅, 冉俊祥, 2017. 不同种类白条天牛基因条形码特征与系统发育初探. 江苏农业科学, 45(13): 90–94.]
- Zhang Y, 2012. Comparison and phylogenetic analysis using sequences of mitochondrial genes in some Rutelidae species. Shenyang: Shenyang University. [张媛, 2012. 丽金龟科部分种类线粒体基因序列比较及在分子系统学研究中的作用. 沈阳: 沈阳大学.]