

北京白羊沟景区农林交错带蛾类 DNA 条形码鉴定*

武宇鹏^{1,3**} 范仁俊³ 曹天文³ 武春生^{2***}

(1. 太原科技大学环境与安全学院, 太原 030024; 2. 中国科学院动物研究所动物进化与系统学院重点实验室, 北京 100101;
3. 农业有害生物综合治理山西省重点实验室, 山西农业大学植物保护学院, 太原 030031)

摘 要 【目的】DNA 条形码技术已经在多个类群中得到了广泛应用, 但对数量巨大的鳞翅目昆虫而言, 仍然缺失大量数据, 尤其是形态鉴定较为困难的小蛾类和很多中型蛾类, 尚无法构建较为完善的 DNA 条形码系统。本研究旨在为鳞翅目害虫 DNA 条形码系统的构建和完善提供数据来源及支撑, 验证 CO I 基因作为 DNA 条形码通用基因的准确性, 探讨 28S rDNA 的 D2 基因片段作为 DNA 条形码辅助基因的可行性, 并检验目前 BOLD 系统的鉴定成功率。【方法】对采集自北京白羊沟风景区的小蛾类和中型蛾类 490 头标本进行形态鉴定和 DNA 测序, 分别基于 CO I 及 28S D2 基因计算种内种间遗传距离, 并构建了 NJ 系统发育树。【结果】BOLD 系统的鉴定成功率为 65%, 对小蛾类和夜蛾类鉴定成功率较低。基于 CO I 基因的 NJ 树鉴定成功率为 94.4%, 基于 28S D2 基因的 NJ 树鉴定成功率为 89.4%。【结论】结合种内与种间遗传距离结果, CO I 基因适合作为鳞翅目蛾类 DNA 条形码通用基因, 28S D2 基因较为保守, 不适合作为 DNA 条形码的辅助基因。

关键词 北京白羊沟; 蛾类; DNA 条形码

Using DNA barcoding to classify moths in an agroforestry zone in Baiyanggou district, Beijing, China

WU Yu-Peng^{1,3**} FAN Ren-Jun³ CAO Tian-Wen³ WU Chun-Sheng^{2***}

(1. Taiyuan University of Science and Technology, Taiyuan 030024, China; 2. Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 3. Shanxi Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, College of Plant Protection, Shanxi Agriculture University, Taiyuan 030031, China)

Abstract 【Objectives】DNA barcoding has been widely applied to many insect taxa but not a large number of the Lepidoptera, especially smaller and medium-sized moths, which are difficult to identify morphologically. It is not yet possible to build a complete DNA barcoding system. This study aims to provide data sources and support for the construction and improvement of DNA barcoding systems for lepidopteran pests, verify the accuracy of the CO I gene as a DNA barcoding gene, explore the feasibility of using the 28S D2 gene as a DNA barcoding assistant gene, and test the success rate of BOLD system identification. 【Methods】Morphological identification and DNA sequencing of 490 small and medium-sized moths collected in the Baiyanggou Scenic Area in Beijing were carried out. Intraspecific and interspecific distances were then calculated based on differences in the CO I and 28S D2 genes and NJ phylogenetic trees were constructed. 【Results】The BOLD system had an average success rate of 65% but the success rate for smaller moths and noctuids was low. NJ trees based on the CO I and the 28S D2 genes successfully identified 94.4% and 89.4% of specimens, respectively. 【Conclusion】The CO I gene is suitable for general DNA barcoding of moths whereas the 28S D2 gene is more conservative and therefore not suitable as an assistant gene for DNA barcoding.

Key words Beijing Baiyanggou; moth; DNA barcoding

*资助项目 Supported projects: 农业有害生物综合治理山西省重点实验室开放基金 (YHSW2019001); 国家自然科学基金 (31772489)

**第一作者 First author, E-mail: wuyupeng007@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wucs@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2020-07-30; 接受日期 Accepted: 2020-12-29

鳞翅目昆虫种类庞大,是昆虫纲第二大目,已描述的种类有 15 578 属,157 424 种(van Nieukerken *et al.*, 2011)。蛾类昆虫占鳞翅目总数的 9/10,绝大多数是农、林业害虫,或是经济、资源型昆虫,与人类生活关系密切。一些种类对寄主的果实或叶片危害巨大,如检疫性害虫苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (于昕等, 2020)、美国白蛾 *Hlyphantria cunea* (董瀛谦等, 2019),以及近年来的暴发性害虫草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 等(吴孔明, 2020)。一些种类属于重要的鳞翅目模式昆虫,如家蚕 *Bombyx mori*、小菜蛾 *Plutella xylostella* 等(甘丽萍等, 2018)。蛾类昆虫的分类和鉴定工作是开展鳞翅目害虫的综合防治和经济昆虫资源化利用的基础(戈峰, 2010)。昆虫的外部形态特征是分类鉴定的主要依据,但一些蛾类成虫形态相似度较高或形态特征不明显,导致部分蛾类昆虫的鉴定较为困难(朱弘复, 1979)。DNA 条形码可借助一条或多条基因序列对物种进行鉴定,基因序列并不因虫态变化而发生变化(Jinbo *et al.*, 2011)。近年来, DNA 条形码技术已在多个类群的种类鉴定及隐存种的发现中得到了广泛应用,并能够提供丰富的分子信息和可信息化的分类标准(刘建全, 2015; 娄千等, 2020)。作为物种鉴定的辅助工具, DNA 条形码技术已广泛应用于农林业生产(张莉等, 2014)、海关检疫(谈静惠等, 2019)、法医鉴定(张柠等, 2018)、中药材鉴定(杨帆等, 2018)等行业。

Hebert 最早基于对鳞翅目种类的研究提出 DNA 条形码技术,并于 2005 年启动 BOLD 系统(The Barcode of Life Data Systems),现已收录了 170 万条鳞翅目种类 CO I 序列(Ratnasingham and Hebert, 2007)。近年来,我国也积极参与构建全球性的 DNA 条形码系统,目前公开的 DNA 条形码鉴定系统有国际 DNA 条形码数据镜像系统(Global mirror system of DNA barcode data, <http://www.boldmirror.net/>)、中药材 DNA 条形码鉴定系统(<http://www.tcmbarcode.cn/china>)、药用植物 DNA 条形码数据库(<http://its2-plantidit.dnsalias.org> 和 <http://psb A-trnH-plantidit>).

[dnsalias.org](http://www.dnsalias.org))、中国检疫性有害生物 DNA 条形码鉴定系统(<http://www.qbol.org.cn>)、中国珍稀濒危植物 DNA 条形码鉴定平台(<http://www.brep.ac.cn/index.html>)、中国重要渔业生物 DNA 条形码信息平台(<http://www.fisherybarcode.cn>)等,其它领域及类群的 DNA 条形码系统正在研究或完善之中。虽然 BOLD 系统数据量增长迅速,但对数量巨大的鳞翅目昆虫而言,仍然缺失很多种类,如小蛾类昆虫,形态相似度较高的夜蛾类昆虫等(张智等, 2012),导致 BOLD 系统对这类昆虫鉴定的成功率较低(武宇鹏等, 2018)。同时,我国目前尚缺乏应用于农林业害虫鉴定的 DNA 条形码系统,要形成较为完善的鳞翅目害虫 DNA 条形码鉴定系统仍然需要补充大量数据。

北京白羊沟景区位于北京昌平区流村镇白羊城以西,植被茂盛,农林交错区域昆虫种类繁多,生物多样性较高(虞国跃等, 2016)。对该区域蛾类昆虫的调查研究,可为白羊沟景区生物多样性资源调查及北京市周边农业害虫防治提供基础资料。因此,本研究在北京白羊沟风景区附近农林交错地带采集了 490 头标本,并对小蛾类及中型蛾类进行形态鉴定和 DNA 条形码测序。同时,检验 CO I 基因作为鳞翅目 DNA 条形码通用基因的准确性,并增加一条核糖体 28S D2 基因序列,检验其是否能作为 DNA 条形码的辅助序列。通过本研究为鳞翅目害虫 DNA 条形码系统的构建和完善提供数据来源及支撑。

1 材料与方法

1.1 标本采集和处理

在北京市昌平区白羊沟风景区农林交错地带,于 7-8 月份利用高压汞灯诱集蛾类成虫,采集每种标本 3-10 头,然后迅速采用低温冷冻致死,带回室内,标本需展翅定型。每种标本取一侧后足,并浸泡于无水乙醇,置于 - 20 °C 冰箱保存。

1.2 总 DNA 提取

将浸泡于无水乙醇中的蛾类昆虫后足取出,

晾干, 分成 2-3 段, 放在 1.5 μL 的离心管中。DNA 提取试剂盒为上海美吉生物医药科技有限公司生产。按照 DNA 提取试剂盒使用手册的说明进行总 DNA 提取。抽提的 DNA 溶于 80-100 μL 的 AE 缓冲液, 并置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.3 PCR 扩增和测序

线粒体 CO I 基因扩增引物为通用引物 LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATA-TTGG-3') 和 HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGG-TGACCAAAAAATCA-3') (Simon *et al.*, 1994)。核糖体基因 28S D2 扩增引物为通用引物 28SU1 (5'-GACTACCCCTGAATTTAAGCAT-3') 和 28SD1 (5'-GACTCCTTG GTCCGTGTTTCAAG-3') (Kim *et al.*, 2000)。反应体系均为 25 μL , 其中上下游引物各 0.5 μL , PCR MasterMix 12.5 μL , DNA 模板 3 μL , ddH₂O 8.5 μL 。取 3 μL PCR 扩增产物使用 1% 的琼脂糖胶电泳检验。CO I 扩增反应条件为: 预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 退火 53 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 进行 35 个循环。28S D2 扩增反应条件为: 预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 退火 58 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 进行 35 个循环。PCR 试剂及引物合成均为上海美吉生物医药科技有限公司生产, PCR 产物送上海美吉生物医药科技有限公司进行正向一代测序。

1.4 标本形态鉴定

对应编号的展翅标本一一拍照, 并由中国科学院动物研究所分类专家武春生及山西省农业科学院植物保护研究所专家曹天文, 根据翅脉和翅面的颜色、斑纹, 雌雄外生殖器解剖特征进行鉴定, 全部标本保存在中国科学院动物研究所。

1.5 序列比对及数据分析

在 BOLD 系统中, 对测得蛾类标本 CO I 基因进行一一鉴定, 并记录结果。在 GenBank 中下载同源 CO I 基因序列, 与所采集标本序列进行整合, 用 MEGA-X 对序列比对后剔除错误序列 (Kumar *et al.*, 2018)。对同种序列进行分组

Group, 选择 P 距离 (P-distance) 模型, 引导复制 1 000 次, 计算种内和种间遗传距离, 构建 NJ (Neighbor-Joining) 系统发育树 (Saitou and Nei, 1987; Nei and Kumar, 2000)。

490 头蛾类标本测得 28S D2 基因序列 320 条, 进行校对后, 在 GenBank 中下载同源 28S D2 基因序列, 与所采集标本序列进行整合, 用 MEGA-X 对序列比对后剔除错误序列。对同种序列进行分组 Group, 选择 P 距离模型, 引导复制 1 000 次, 计算种内和种间遗传距离。选择最大组成似然模型 (Maximum composite likelihood) (Tamura and Nei, 1993), 引导复制 1 000 次, 构建 NJ 系统发育树。种内和种间遗传距离散点图在 Excel 表格中完成。

2 结果与分析

2.1 形态鉴定及 BOLD 系统鉴定

490 头标本经形态鉴定后, 325 头鉴定到种一级分类单元, 共 118 种, 23 头可鉴定到属一级分类单元, 属于 6 个属, 142 头可鉴定到科一级分类单元, 属于 16 个科。490 头标本共测得 426 条 CO I 序列, 在 BOLD 系统中一一鉴定, 其中 277 条序列与形态鉴定结果一致, 3 条序列鉴定错误, 146 条无鉴定结果, 鉴定成功率为 65%。鉴定错误的 3 条序列, CO I 基因登录号为 MT785496-MT785498, BOLD 系统鉴定结果为桃潜叶蛾 *Lyonetia clerkella*, 而形态鉴定结果为银纹潜叶蛾 *Lyonetia prunifoliella*。共有 252 条 CO I 基因序列和 320 条 28S D2 基因序列上传至 GenBank, 获得登录号 (表 1)。

2.2 种内与种间遗传距离

所采集标本的 CO I 基因与 GenBank 同源序列整合而成长度为 717 bp 的序列 887 条, 归属于 107 种。种内遗传距离在 0-7.7%, 67 个种的种内遗传距离小于 1%, 24 个种的种内遗传距离为 1%-2%, 9 个种的种内遗传距离为 2%-3%, 7 个种的种内遗传距离大于 3% (表 2, 图 1)。种间遗传距离为 1.9%-20.3%, 除了 *Crambus perlella* 与银光草螟 *Crambus perlellus* 种间遗传

表 1 标本信息

Table 1 Information of specimens									
形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number	形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
丝棉木金星 尺蛾	5	MN565500- MN565504	✓	MN565441- MN565445	帕委夜蛾 <i>Aethis pallidipennis</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
苹小卷叶蛾 <i>Adoxophyes orana</i>	2	MN565324- MN565325	✓	MN565285- MN565286	核桃举肢蛾 <i>Atrijuglans hetaohei</i>	3	MT785539- MT785541	—	MT550800- MT550802
台湾艳青尺 蛾	3	MN565505- MN565507	✓	MN565446- MN565448	雌尺蛾 <i>Biston panterinaria</i>	1	MN565515	✓	MN565456
灰棕金羽蛾 <i>Agdistis adactyla</i>	3	MT785542- MT785544	—	MT550805	<i>Biston thoracica</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
浦地夜蛾 <i>Agrotis ripae</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—	<i>Blastobasis sprotundalis</i>	8	MT785437- MT785441	✓	MT550692- MT757597
角鹿尺蛾 <i>Alcis angulifera</i>	1	MN565508	✓	MN565449	甘薯麦蛾 <i>Brachmia macroscopa</i>	1	未提交 Not submitted	—	MT550804
<i>Amata formosae</i>	4	MN565402- MN565405	✓	MN565363- MN565366	<i>Brunia dorsalis</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
淡灰大尺蛾 <i>Amraica superans</i>	1	MN565509	✓	MN565450	<i>Bradina atopalis</i>	1	MT785459	✓	MT550714
旋歧夜蛾 <i>Anarta trifolii</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—	<i>Celypha flavipalpana</i>	4	MN565326- MN565328	✓	MN565287- MN565289
二点织螟 <i>Aphomia zelleri</i>	1	MT785547	—	MT550809	<i>Chiasmia hebesata</i>	1	MN565516	✓	MN565457
黄星尺蛾 <i>Arichanna melanaria</i>	1	MN565510	✓	MN565451	<i>Chionaretea nivea</i>	4	MN565406- MN565409	✓	MN565367- MN565370
<i>Atripara disticha</i>	16	MT785521- MT785536	✓	MT550780- MT550795	<i>Chlorissa obliterata</i>	4	MN565517- MN565520	✓	MN565458- MN565461
<i>Aroga flavicomella</i>	1	MT785460	✓	MT550715	<i>Choristoneura longicellana</i>	4	MN565329- MN565332	✓	MN565290- MN565293
<i>Ascotis dianaria</i>	3	MN565511- MN565513	✓	MN565452- MN565454	<i>Clepsis pallidana</i>	3	MN565333- MN565335	✓	MN565294- MN565296
肾斑尺蛾 <i>Ascotis selenaria</i>	1	MN565514	✓	MN565455	<i>Clepsis virescana</i>	6	—	—	MT757557- MT757561
<i>Asura unipuncta</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—	<i>Clostera albosigma</i>	3	MT785507- MT785509	✓	MT550765- MT550767
委夜蛾 <i>Aethis furvula</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—	<i>Cnethodonta grisescens</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—

续表 1 (Table 1 continued)

形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
蒿尖鞘蛾 <i>Coleophora absinthii</i>	3	MT785443, MT785447- MT785448	✓	MT550698, MT550702- MT550703
<i>Coleophora adpersella</i>	1	MT785450	✓	MT550705
<i>Coleophora chumanensis</i>	3	未提交 Not submitted	✓	—
<i>Coleophora kimeschiella</i>	4	MT785452, MT785444- MT785446	✓	MT550707, MT550699- MT550701
<i>Coleophora parthenica</i>	2	MT785453- MT785454	✓	MT550708- MT550709
泛壮鞘蛾 <i>Coleophora versurella</i>	3	MT785442, MT785449- MT785451	✓	MT550697, MT550704, MT550706
肾纹绿尺蛾 <i>Comibaena procumbaria</i>	2	MN565521- MN565522	✓	MN565462- MN565463
拟伪尖蛾 <i>Cosmopterix crassicervicella</i>	1	MT785455	✓	MT550710
三线根尺蛾 <i>Cotta incongruaria</i>	4	MN565523- MN565526	✓	MN565464- MN565467
<i>Crambus perlilla</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
<i>Crinellus eremicus</i>	3	未提交 Not submitted	✓	—
蒿冬夜蛾 <i>Cucullia fraudatrix</i>	1	MT785550	✓	—
芽梢斑螟是 <i>Dioryctria yiai</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
<i>Eilema ussuricum</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
甘薯异羽蛾 <i>Emmelina monodactyla</i>	2	MT785520	✓	MT550778- MT550779
<i>Endothenia oblongana</i>	1	MN565336	✓	MN565297
库氏歧角螟 <i>Endotricha kuznetzovi</i>	2	—	—	MT757587- MT757588
玫歧角螟 <i>Endotricha portialis</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
沙棘木蠹蛾 <i>Eogystia hippophae- colus</i>	1	MT785458	✓	MT550713
黄臀黑污灯蛾 <i>Epatolmis caesarea</i>	5	MN565410- MN565414	✓	MN565371- MN565375
白胸小卷蛾 <i>Epiblema foenella</i>	3	MN565337- MN565339	✓	MN565298- MN565300
<i>Eteobalea gronoviella</i>	3	未提交 Not submitted	—	—
球果小花尺蛾 <i>Eupithecia gigantea</i>	2	MN565527- MN565528	✓	MN565468- MN565469
戟盗毒蛾 <i>Euproctis pulverea</i>	1	MN565415	✓	MN565376
桑毛虫 <i>Euproctis similis</i>	3	MN565416- MN565418	✓	MN565377- MN565379
<i>Euproctis subflava</i>	3	MN565419- MN565421	✓	MN565380- MN565382
带纹薄翅野螟 <i>Evergestis sorgheni</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
李枯叶蛾 <i>Gastropacha quercifolia</i>	2	MT785467- MT785468	✓	MT550722- MT550723
锯幽尺蛾 <i>Gnophos serratilinea</i>	1	MN565529	✓	MN565470
麻小食心虫 <i>Grapholita delineana</i>	2	MN565340- MN565342	✓	MN565301- MN565303
河北狭纹卷蛾 <i>Gynnidomorpha permixtana</i>	3	MN565343- MN565345	✓	MN565304- MN565306
<i>Helcystogra- mma macros- copa</i>	1	MT785461	✓	MT550716

续表 1 (Table 1 continued)

形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
波无疆青尺蛾 <i>Hemistola veneta</i>	4	MN56530- MN565533	✓	MN565471- MN565474
美国白蛾 <i>Hyphantria cunea</i>	11	MN565422- MN565432	✓	MN565383- MN565393
<i>Hypoxytis pluviaria</i>	4	MN565534- MN565537	✓	MN565475- MN565478
<i>Idaea nitidata</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
克尺蛾 <i>Jankowskia athleta</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
海安夜蛾 <i>Lacanobia aliena</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
枯黄蛾野螟 <i>Loxostege turbidalis</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
艾蛾野螟 <i>Loxostege aeruginalis</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
舞毒蛾 <i>Lymantria dispar</i>	1	MN565433	✓	MN565394
银纹潜叶蛾 <i>Lyoneta prunifoliella</i>	3	MT785496- MT785498	×	MT550753- MT550755
丽瑯夜蛾 <i>Maliattha bella</i>	1	未提交 Not submitted	—	—
<i>Mitochrista calamina</i>	3	MN565434- MN565436	✓	MN565395- MN565397
黄刺蛾 <i>Monema flavescens</i>	5	MT785484, MT785490- MT785491	✓	MT550740, MT550803, MT550746- MT550748
<i>Mythimna monticola</i>	1	MT785499	✓	MT550756
灰蝶尺蛾 <i>Narraga fasciolaria</i>	5	MN565540- MN565541	✓	MN565481- MN565482, MT757598- MT757600
形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
<i>Nerice davidi</i>	3	MT785510- MT785512	✓	MT550768- MT550770
乏夜蛾 <i>Niphonyx segregata</i>	1	未提交 Not submitted	—	MT550807
<i>Nola dresnayi</i>	2	MT785500	✓	MT550757- MT550758
苹果枯叶蛾 <i>Odonestis pruni</i>	3	MT785469- MT785470	✓	MT550724- MT550726
红云翅斑螟 <i>Oncocera semirubella</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
平纹古毒蛾 <i>Orgyia parallela</i>	1	MN565437	✓	MN565398
泛尺蛾 <i>Orthonama obstipata</i>	1	MN565542	✓	MN565483
黄斑眉夜蛾 <i>Pangrapta flavomacula</i>	1	MN565438	✓	MN565399
褐边绿刺蛾 <i>Parasa consocia</i>	3	MT785487- MT785489	✓	MT550743- MT550745
双齿绿刺蛾 <i>Parasa hilarata</i>	3	未提交 Not submitted	—	—
中国绿刺蛾 <i>Parasa sinica</i>	2	MT785485- MT785486	✓	MT550741- MT550742
<i>Pediasia alaica</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
草掌舟蛾 <i>Phalera flavescens</i>	4	MT785503, MT785513- MT785515	✓	MT550761, MT550771- MT550773
刺槐掌舟蛾 <i>Phalera grotei</i>	1	MT785501	✓	MT550759
枣突刺蛾 <i>Phlossa conjuncta</i>	7	MT785476, MT785478- MT785480, MT785483, MT785492, MT785494	✓	MT550732, MT550734- MT550736, MT550739, MT550749, MT550751

续表 1 (Table 1 continued)

形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
桑尺蠖 <i>Philonandria atrilineata</i>	11	MN565543- MN565547	—	MT757589- MT757594, MN565484- MN565488
金纹细蛾 <i>Phyllonorycter ringoniella</i>	6	MT785545, MT785462- MT785466	✓	MT550806, MT550717- MT550721
小菜蛾 <i>Plutella xylostella</i>	4	MT785516- MT785519	✓	MT550774- MT550777
黄褐多须夜蛾 <i>Polypogon tarsicrinita</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
槐羽舟蛾 <i>Prospalta cyclica</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
槐羽舟蛾 <i>Pterostoma sinicum</i>	4	MT785502, MT785504- MT785506	✓	MT550760, MT550762- MT550764
褐小野螟 <i>Pyrausta despicata</i>	1	未提交 Not submitted	✓	—
锈玫舟蛾 <i>Rosama ornata</i>	2	未提交 Not submitted	—	—
Scopula beckeraria	2	未提交 Not submitted	✓	—
Scopula rubiginata	1	MN565548	✓	MN565489
茶银尺蠖 <i>Scopula subpunctaria</i>	5	MN565549- MN565553	✓	MN565490- MN565494
槐尺蠖 <i>Semiothisa cinerearia</i>	8	MN565554- MN565556	—	MT757601- MT757605, MN565495- MN565497
缘黄毒蛾 <i>Somena scintillans</i>	2	MN565439- MN565440	✓	MN565400- MN565401
人纹污灯蛾 <i>Spilarctia subcarnea</i>	1	未提交 Not submitted	—	MT550799
芽白小卷蛾 <i>Spilonota lechrasiopsis</i>	17	MN565346- MN565362	✓	MN565307- MN565323
桃展足蛾 <i>Stathmopoda auriferella</i>	2	MT785548	—	MT550810
柿举肢蛾 <i>Stathmopoda masinissa</i>	3	MT785537- MT785538	✓	MT550796- MT550798
扁刺蛾 <i>Thosea sinensis</i>	10	MT785471- MT785495	✓	MT550727- MT550752
紫条尺蛾 <i>Timandra recompia</i>	3	MN565557- MN565558, MN565560	✓	MN565559, MN565498- MN565499
Xanthia tunicata	1	未提交 Not submitted	✓	—
Yakudza vicarius	2	MT785456- MT785457	✓	MT550711- MT550712
Zanclognatha lunalis	1	MT785549	✓	—
暗野螟属 <i>Bradina</i>	6	—	—	MT757606- MT757611
散纹夜蛾属 <i>Callopietria</i>	2	未提交 Not submitted	—	—
鞘蛾属 <i>Coleophora</i>	12	—	—	MT757572- MT757581
后眉尺蛾属 <i>Jankowskia</i>	1	MN565538	✓	MN565479
尖尾尺蛾属 <i>Maxates</i>	1	MN565539	✓	MN565480
云斑螟属 <i>Nephopterix</i>	1	MT785546	—	MT550808
鞘蛾科 <i>Coleophoridae</i>	1	未提交 Not submitted	—	—
小潜蛾科 <i>Elachistidae</i>	3	未提交 Not submitted	—	—

续表 1 (Table 1 continued)

形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number	形态鉴定结果 Morphological identification results	标本 个体数 Number of specimens	CO I GenBank 登录号 accession number	BOLD 鉴定结果 BOLD identification results	28S GenBank 登录号 accession number
裳蛾科 Erebiidae	4	未提交 Not submitted	—	—	夜蛾科 Noctuidae	50	未提交 Not submitted	—	—
麦蛾科 Gelechiidae	14	未提交 Not submitted	—	—	织蛾科 Oecophoridae	3	未提交 Not submitted	—	—
尺蛾科 Geometridae	13	—	—	MT757562- MT757571	羽蛾科 Pterophorida	1	未提交 Not submitted	—	—
细蛾科 Gracilariidae	1	未提交 Not submitted	—	—	螟蛾科 Pyralidae	5	未提交 Not submitted	—	—
日逐蛾科 Heliodinidae	1	未提交 Not submitted	—	—	天蛾科 Sphingidae	12	未提交 Not submitted	—	—
毒蛾科 Lymantriidae	2	未提交 Not submitted	—	—	谷蛾科 Tineidae	1	未提交 Not submitted	—	—
潜蛾科 Lyonetiidae	9	—	—	MT757551- MT757556	卷蛾科 Tortricidae	22	未提交 Not submitted	—	MT757582- MT757586

✓ 表示形态鉴定结果与 BOLD 系统鉴定结果相同, × 表示形态鉴定结果与 BOLD 系统鉴定结果不同, — 表示无结果。未提交表示已获得序列, 暂未提交 GenBank。

✓ shows that the result of morphological identification is the same as that of BOLD system; × shows that the result of morphological identification is different from that of BOLD system; — shows no result. Not submitted shows that the sequence has been obtained, but not submitted to GenBank.

表 2 基于 CO I 基因的种内遗传距离

Table 2 Intraspecific genetic distance based on CO I gene

种名 Species	遗传距离 (%) Genetic distance	标准误 (%) S.E.	种名 Species	遗传距离 (%) Genetic distance	标准误 (%) S.E.
<i>Amata formosae</i>	0.00	0.00	<i>Comibaena procumbaria</i>	0.43	0.32
<i>Abraxas latifasciata</i>	0.00	0.00	<i>Cotta incongruaria</i>	0.00	1.11
<i>Adoxophyes orana</i>	3.63	0.50	<i>Crambus perlella</i>	0.78	0.00
<i>Agathia lycaenaria</i>	1.65	0.61	<i>Crambus perlellus</i>	1.75	0.34
<i>Agdistis adactyla</i>	0.22	0.16	<i>Crinellus eremicus</i>	0.11	0.38
<i>Agrotis ripae</i>	0.45	0.17	<i>Cucullia fraudatrix</i>	0.81	0.11
<i>Amraica superans</i>	0.32	0.18	<i>Dioryctria yiai</i>	0.30	0.20
<i>Anarta trifolii</i>	1.47	0.22	<i>Emmelina monodactyla</i>	1.71	0.12
<i>Aphomia zelleri</i>	0.11	0.08	<i>Endothenia oblongana</i>	0.53	0.56
<i>Arichanna melanaria</i>	1.97	0.39	<i>Eogystia hippophaecolus</i>	0.89	0.30
<i>Arippara disticha</i>	1.37	0.28	<i>Epatolmis caesarea</i>	0.41	0.21
<i>Ascotis dianaria</i>	0.55	0.24	<i>Epiblema foenella</i>	1.21	0.32
<i>Ascotis selenaria</i>	1.08	0.33	<i>Eteobalea gronoviella</i>	0.99	0.19
<i>Asura unipuncta</i>	0.43	0.22	<i>Eupithecia gigantea</i>	0.14	0.27
<i>Athetis furvula</i>	0.43	0.21	<i>Euproctis similis</i>	1.03	0.84
<i>Athetis pallidipennis</i>	1.25	0.35	<i>Euproctis subflava</i>	5.56	0.08
<i>Stathmopoda auriferella</i>	2.59	0.65	<i>Gastropacha quercifolia</i>	0.38	0.24
<i>Biston thoracicaria</i>	0.21	0.14	<i>Grapholita delineana</i>	0.35	0.56
<i>Blastobasis sprotundalis</i>	0.52	0.15	<i>Grapholita molesta</i>	0.79	0.14
<i>Bradina atopalis</i>	0.66	0.18	<i>Gynnidomorpha permixtana</i>	0.19	0.15
<i>Eilema ussuricum</i>	3.03	0.00	<i>Hemistola veneta</i>	0.55	0.25
<i>Callopietria sp.</i>	0.00	0.33	<i>Hyphantria cunea</i>	0.68	0.11
<i>Celypha flavipalpata</i>	1.88	0.26	<i>Hypoxystis pluviana</i>	3.25	0.20
<i>Chionarctia nivea</i>	1.26	0.27	<i>Jankowskia athleta</i>	0.34	0.13
<i>Chlorissa obliterata</i>	0.81	0.00	<i>Jankowskia sp.</i>	0.00	0.49
<i>Choristoneura longicellana</i>	0.00	0.36	<i>Lacanobia aliena</i>	2.45	0.24
<i>Clepsis pallidana</i>	1.73	0.42	<i>Loxostege aeruginalis</i>	1.39	0.00
<i>Clostera albosigma</i>	2.82	0.35	<i>Loxostege turbidalis</i>	1.02	0.41
<i>Clostera anachoreta</i>	2.05	0.45	<i>Lymantria dispar</i>	0.84	0.30
<i>Cnethodonta grisescens</i>	2.89	1.49	<i>Lyonetia prunifoliella</i>	3.92	0.25
<i>Coleophora absinthii</i>	1.46	0.34	<i>Lyonetia clerkella</i>	0.22	0.16
<i>Coleophora adpersella</i>	0.42	0.17	<i>Maxates sp.</i>	0.56	0.59
<i>Coleophora chumanensis</i>	0.43	0.21	<i>Mitochondria calamina</i>	0.63	0.24
<i>Coleophora klimeschiella</i>	1.29	0.34	<i>Monema flavescens</i>	1.18	0.29
<i>Coleophora parthenica</i>	1.25	0.33	<i>Mythimna monticola</i>	1.01	0.27
<i>Coleophora versurella</i>	1.26	0.30	<i>Narraga fasciolaria</i>	0.76	0.26

续表 2 (Table 2 continued)

种名 Species	遗传距离 (%) Genetic distance	标准误 (%) S.E.	种名 Species	遗传距离 (%) Genetic distance	标准误 (%) S.E.
<i>Nerice davidi</i>	0.22	0.37	<i>Prospalta cyclica</i>	0.19	0.12
<i>Niphonyx segregata</i>	0.05	0.15	<i>Pterostoma sinicum</i>	0.38	0.11
<i>Nola dresnayi</i>	2.01	0.43	<i>Pyrausta despicata</i>	0.66	0.17
<i>Odonestis pruni</i>	1.88	0.46	<i>Rosama ornata</i>	0.17	0.17
<i>Oncocera semirubella</i>	0.24	0.29	<i>Sciota shantungella</i>	0.77	0.83
<i>Orgyia parallela</i>	0.74	0.09	<i>Scopula beckeraria</i>	0.00	0.00
<i>Orthonama obstipata</i>	2.19	0.17	<i>Scopula subpunctaria</i>	7.71	0.69
<i>Pangrapta flavomacula</i>	0.33	0.38	<i>Scopula</i> sp.	0.13	0.16
<i>Parasa consocia</i>	0.61	0.25	<i>Semiothisa cinerearia</i>	0.22	0.13
<i>Parasa sinica</i>	0.61	0.18	<i>Somena scintillans</i>	0.23	0.55
<i>Parasa hilarula</i>	0.34	0.57	<i>Spilarctia subcarnea</i>	2.83	0.08
<i>Phalera flavescentis</i>	0.22	0.10	<i>Spilonota lechriaspis</i>	0.15	0.38
<i>Phalera grotei</i>	2.62	0.63	<i>Stathmopoda masinissa</i>	0.25	0.18
<i>Phlossa conjuncta</i>	0.27	0.11	<i>Thosea sinensis</i>	0.85	0.14
<i>Phthonandria atrilineata</i>	0.76	0.28	<i>Timandra reompta</i>	0.44	0.22
<i>Phyllonorycter ringoniella</i>	0.91	0.26	<i>Xanthia tunicata</i>	0.17	0.16
<i>Plutella xylostella</i>	1.01	0.25	<i>Zanclognatha lunalis</i>	3.08	0.31
<i>Polypogon tarsicrinata</i>	1.99	0.38			

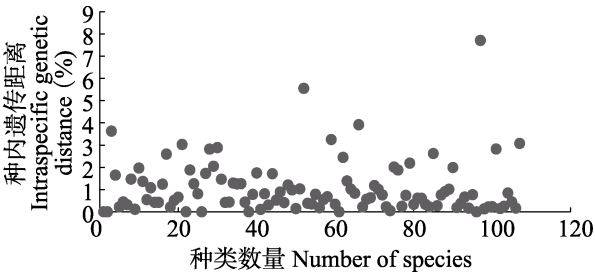


图 1 基于 P 距离 (P-distance) 模型的
CO I 基因种内遗传距离散点图
Fig. 1 CO I gene intraspecific genetic distances
scatter plot based on P-distance model

距离为 1.9%,*Ascotis dianaria* 与肾斑尺蛾 *Ascotis selenaria* 为 2.1% 以外, 其余种类两两之间遗传距离至少大于 3.2%, 主要集中在 10%-18% 之间 (图 2)。

所采集标本的 28S D2 基因与 GenBank 同源序列整合而成长度为 746 bp 的序列 340 条, 归属于 66 种。种内遗传距离在 0-7.1%, 52 个种的种内遗传距离小于 1%, 5 个种的种内遗传距离

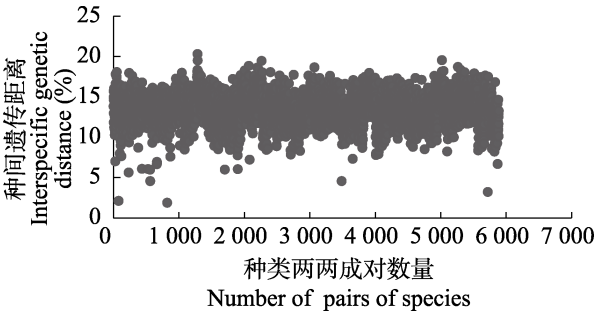


图 2 基于 P 距离 (P-distance) 模型的
CO I 基因种间遗传距离散点图
Fig. 2 CO I gene interspecific genetic distances
scatter plot based on P-distance model

为 1%-2%, 4 个种的种内遗传距离为 2%-3%, 5 个种的种内遗传距离大于 3% (表 3, 图 3)。种间遗传距离为 0.1%-29%, 主要集中在 10%-25% 范围之内 (图 4)。种间遗传距离与种内遗传距离有少量重叠, 与 CO I 相比, 基于 28S D2 的种间遗传距离相对分散, 有少量种类之间种间遗传距离较小, 与种内遗传距离有重叠。

表 3 基于 28S 基因的种内遗传距离
Table 3 Intraspecific genetic distance based on 28S gene

种名 Species	遗传距离 (%) 标准误 (%) Genetic distance S.E.	种名 Species	遗传距离 (%) 标准误 (%) Genetic distance S.E.
<i>Abraxas latifasciata</i>	1.01 0.30	<i>Hemistola veneta</i>	0.36 0.20
<i>Adoxophyes orana</i>	0.00 0.00	<i>Hyphantria cunea</i>	0.13 0.08
<i>Agathia lycaenaria</i>	0.88 0.35	<i>Hypoxystis pluviana</i>	0.34 0.25
<i>Alcis angulifera</i>	0.22 0.15	<i>Lymantria dispar</i>	0.00 0.00
<i>Amata formosae</i>	0.14 0.14	<i>Lyonetia prunifoliella</i>	0.35 0.21
<i>Aphomia zelleri</i>	0.00 0.00	<i>Mitochondria calamina</i>	0.00 0.00
<i>Arichanna melanaria</i>	2.93 0.94	<i>Monema flavescens</i>	0.00 0.00
<i>Arippara disticha</i>	0.08 0.08	<i>Narraga fasciolaria</i>	0.00 0.00
<i>Ascotis dianaria</i>	0.00 0.00	<i>Nerice davidi</i>	5.91 0.90
<i>Atrijuglans hetaohei</i>	0.00 0.00	<i>Nipponyx segregata</i>	2.18 0.40
<i>Blastobasis sprotundalis</i>	2.56 0.49	<i>Nola dresnaya</i>	0.20 0.21
<i>Celypha flavipalpana</i>	1.57 0.48	<i>Odonestis pruni</i>	0.00 0.00
<i>Chionarctia nivea</i>	6.21 0.83	<i>Parasa consocia</i>	0.00 0.00
<i>Chlorissa oblitterata</i>	0.21 0.15	<i>Parasa sinica</i>	0.15 0.15
<i>Choristoneura longicellana</i>	0.52 0.22	<i>Phalera flavescens</i>	0.62 0.10
<i>Clepsis pallidana</i>	0.40 0.23	<i>Phlossa conjuncta</i>	7.07 0.75
<i>Clostera anachoreta</i>	0.00 0.00	<i>Phthonandria atrilineata</i>	1.08 0.29
<i>Coleophora absinthii</i>	0.00 0.00	<i>Phyllonorycter ringoniella</i>	0.00 0.00
<i>Coleophora klimeschiella</i>	0.00 0.00	<i>Plutella xylostella</i>	0.00 0.00
<i>Coleophora parthenica</i>	0.00 0.00	<i>Pterostoma sinicum</i>	0.00 0.00
<i>Coleophora versurella</i>	0.00 0.00	<i>Scopula subpunctaria</i>	0.08 0.08
<i>Comibaena procumbaria</i>	0.00 0.00	<i>Semiothisa cinerearia</i>	3.67 0.77
<i>Cotta incongruaria</i>	0.25 0.18	<i>Somena scintillans</i>	0.21 0.22
<i>Emmelina monodactyl</i>	0.00 0.00	<i>Spilonota lechriaspis</i>	0.00 0.00
<i>Epatolmis caesarea</i>	0.00 0.00	<i>Stathmopoda auriferella</i>	0.00 0.00
<i>Epiblema foenella</i>	1.65 0.42	<i>Stathmopoda masinissa</i>	4.55 0.90
<i>Eupithecia gigantea</i>	0.00 0.00	<i>Thosea sinensis</i>	0.00 0.00
<i>Euproctis similis</i>	0.14 0.14	<i>Timandra reompta</i>	1.40 0.45
<i>Euproctis subflava</i>	0.00 0.00	<i>Yakudza vicarius</i>	0.00 0.00
<i>Gastropacha quercifolia</i>	0.00 0.00	<i>Lyonetiidae sp.</i>	0.59 0.19
<i>Grapholita delineana</i>	0.20 0.20	<i>Tortricidae sp.</i>	0.22 0.13
<i>Grapholita molesta</i>	0.00 0.14	<i>Endotracha kuznetzovi</i>	0.75 0.37
<i>Gynnidomorpha permixtana</i>	0.15 0.11	<i>Bradina sp.</i>	2.46 0.38

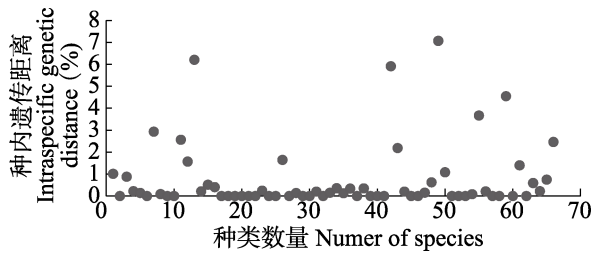


图 3 基于 P 距离 (P-distance) 模型的
28S D2 基因种内遗传距离散点图

Fig. 3 28S D2 gene intraspecific genetic distances
scatter plot based on P-distance model

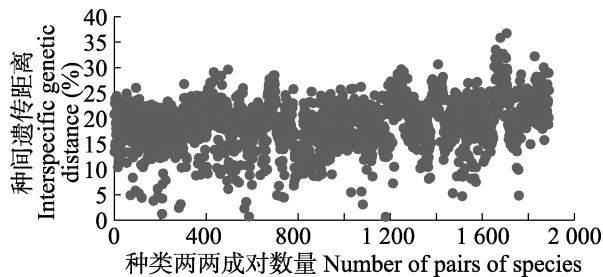


图 4 基于 P 距离 (P-distance) 模型的
28S D2 基因种间遗传距离散点图

Fig. 4 28S D2 gene interspecific genetic distances
scatter plot based on P-distance model

2.3 系统发育树鉴定

基于 CO I 基因的 107 个种构建的 NJ 树鉴定成功率为 94.4%，个别种类不能聚在一起形成单系，无法准确鉴定。如东方毒蛾 *E. subflava* 在 NJ 树上分开形成 2 个单系群，种内遗传距离为 5.56%，茶银尺蠖 *S. subpunctaria* 形成 3 个单系群，种内遗传距离 7.71%，这两个种是否有隐存种存在有待进一步研究核实。个别种间遗传距离较小的种类彼此聚在一起形成单系，如 *A. dianaria* 与肾斑尺蛾 *A. selenaria* 聚在一起，核桃举肢蛾 *Atrijuglans hetaohei* 与桃展足蛾 *Stathmopoda auriferella* 聚在一起，短扇舟蛾 *Clostera albosigma* 与杨扇舟蛾 *Clostera anachoreta* 聚在一起，*C. perlilla* 与银光草螟 *C. perlellus* 聚在一起 (图 5)。

基于 28S D2 基因的 66 个种构建的 NJ 树鉴定成功率为 89.4%。*A. dianaria* 与肾斑尺蛾 *A. selenaria* 聚在一起，核桃举肢蛾 *A. hetaohei* 与桃举肢蛾 *S. auriferella* 聚在一起，白雪灯蛾

Chionarctia nivea 形成的单系里有纹污灯蛾 *Spilarctia subcarnea*、河北狭纹卷蛾 *Gynnidomorpha permixtana*、灰蝶尺蛾 *Narraga fasciolaria*、乏夜蛾 *Niphonyx segregata* 和桑尺蠖 *Phthonandria atrilineata* 均与同源种相距较远，形成多系 (图 6)。从文中看出，在 CO I 构建的 NJ 树中存在区分不了的种类，28S D2 也同样无法区分。如 *A. dianaria* 与肾斑尺蛾 *A. selenaria*，核桃举肢蛾 *A. hetaohei* 与桃举肢蛾 *S. auriferella*。

3 结论与讨论

BOLD 系统是目前国际上数据量较大的 DNA 条形码鉴定平台，有严格的数据审核制度，现有 DNA 条形码数据现已达 840 万条，其中鳞翅目种类达到 179 万条。BOLD 系统所推荐的物种鉴定标准为 BLAST 相似度大于 99%，可视为鉴定到种，如果相似度大于 3%，可视为鉴定到属 (Ratnasingham and Hebert, 2007)。虽然 3% 阈值被 Herbert 认为是种内种间遗传距离阈值 (Hebert *et al.*, 2003)，但在实际研究情况中，常有种内与种间遗传距离相重叠的现象，确保序列差异小于 1% 为鉴定到种是较为严谨的做法。从本文的研究结果来看，BOLD 系统对常见蛾类及大型蛾类的鉴定成功率较高，对大部分小型蛾类、夜蛾总科和部分天蛾科的鉴定成功率较低，应加快这些类群的 DNA 条形码研究。

本文对种内种间遗传距离的研究结果与 Herbert 相似，种内遗传距离一般都低于 1% (Hebert *et al.*, 2003)。种内遗传距离与种群迁移、生殖隔离、地理隔离有关 (Delbert and Alan, 1999; Knutsen *et al.*, 2000; Renaud *et al.*, 2012)，种内遗传距离的变化是构成种群遗传多样性的基础，是物种适应不断变化的外部环境条件、维持长期生存和进化的表现 (颜元杰等, 2019)。样本采集地单一或种群迁移范围大、分布广泛、基因交流频繁的种类，种内遗传距离一般较小 (王友竹, 2017)。如本研究中的舞毒蛾 *Lymantria dispar* 在我国分布于东北、华北、西北和西南地区，GenBank 下载的同源序列来自于

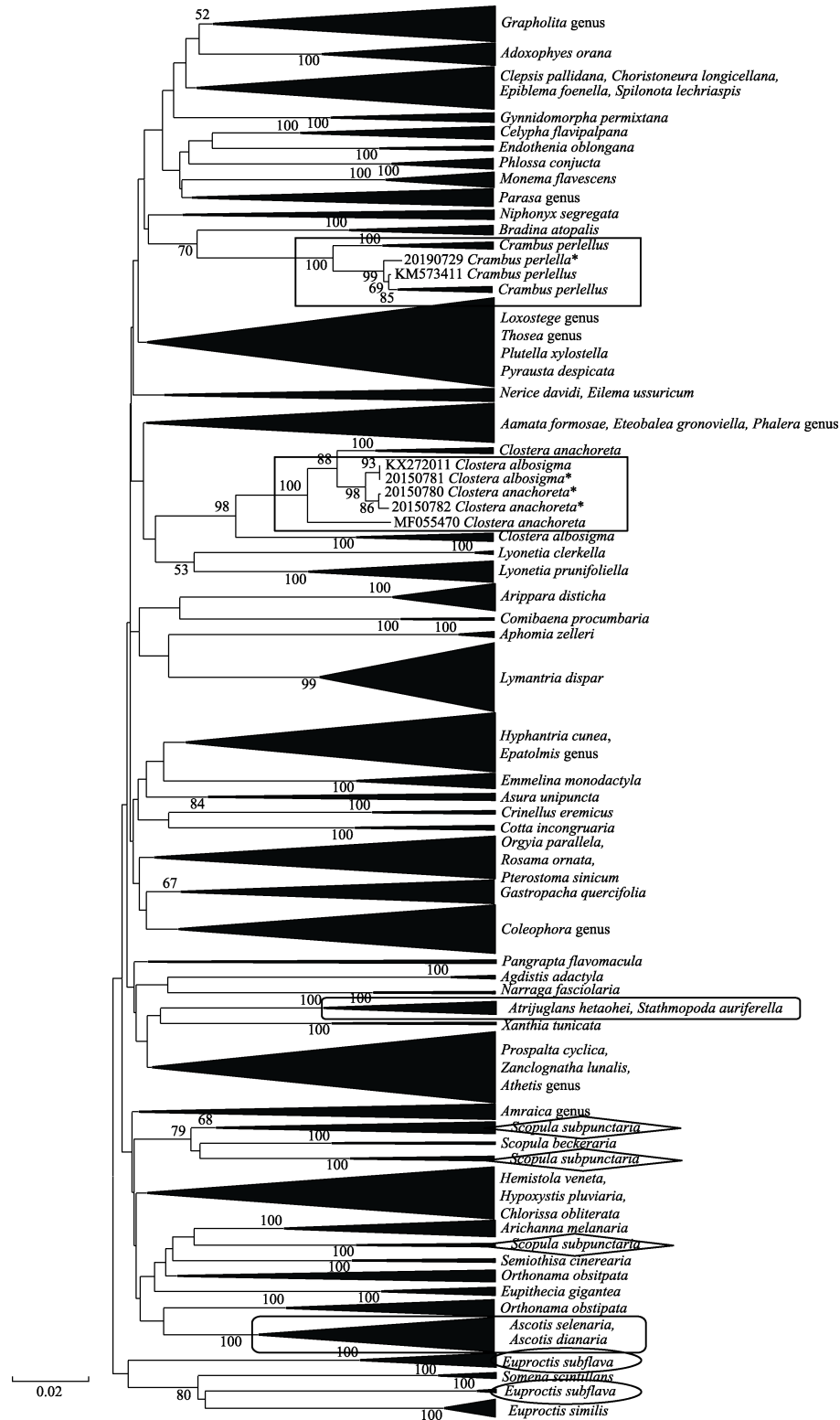


图 5 基于 CO I 基因构建的 NJ 树

Fig. 5 NJ tree based on CO I gene

不同形状所标识的是同种序列形成并系或多系, 不同种序列却形成单系, 标*序列为本研究中的样本序列。图 6 同。
Different shapes indicate that the sequences of same species formed paraphyletic or polyphyletic groups, but the sequences of different species formed monophyletic groups. The star-marked sequences are from this paper. The same as Fig. 6.

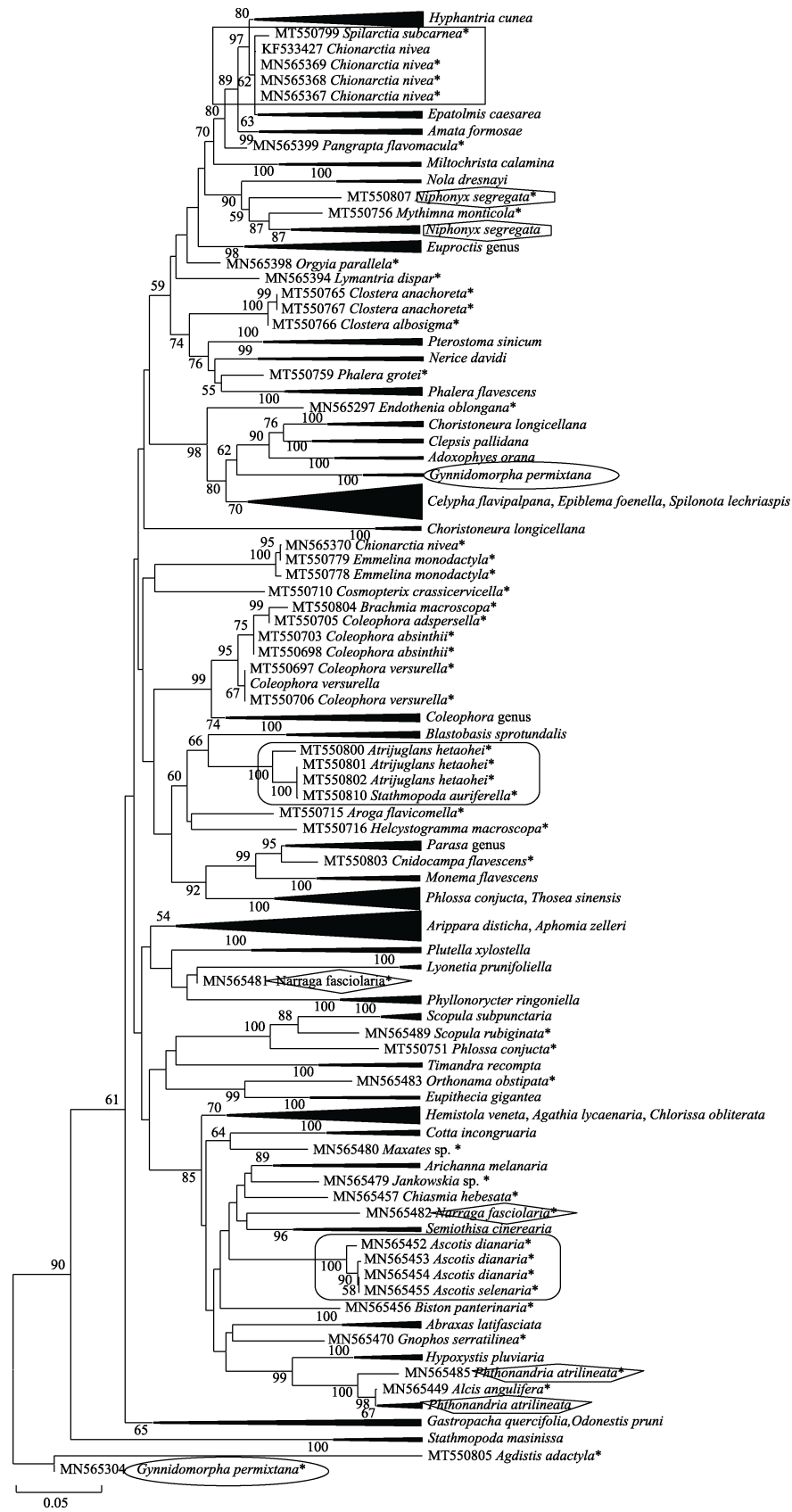


图 6 基于 28S 基因构建的 NJ 树

Fig. 6 NJ tree based on 28S gene

俄罗斯、美国、日本、希腊和西班牙等国家。尽管舞毒蛾分为亚洲种群、欧洲种群及北美种群,其中亚洲舞毒蛾被美国列为森林检疫性害虫,但本研究结果表明,其种内遗传距离较小,仅为 0.84%,说明舞毒蛾种群之间基因交流频繁、分布广泛、传播蔓延速度较快。与此类似的是蛀果害虫梨小食心虫 *Grapholita molesta*,有学者发现基于线粒体 CO I 基因,山西省不同地域的种群遗传距离在 0.082%-0.255%,平均遗传距离为 0.162% (Yang et al., 2016)。

对于种群扩散能力差,地理隔离较远的种类,种内遗传距离较大(杨方园, 2019)。在本研究中,大于 1% 的种类样本往往来自不同国家或地区。例如:白钩小卷蛾 *Epiblema foenella* 种内遗传距离为 1.21%,本研究有 3 条序列,其他 9 条来自挪威、日本、韩国、意大利、巴基斯坦和中国。黄星尺蛾 *Arichanna melanaria* 种内遗传距离为 1.97%,采自日本、德国、芬兰和澳大利亚,泛尺蛾 *Orthonama obstipata* 种内遗传距离为 2.19%,采自美国、芬兰、西班牙、韩国等地区。甚至还有 7 个种的种内遗传距离超过种内种间差异阈值 3%。如苹小卷叶蛾(苹褐带卷蛾) *Adoxophyes orana* 为 3.63%,共 19 条序列,除了本研究的 2 条序列,其他 17 条序列分别来自挪威、芬兰、澳大利亚、韩国、德国和我国的山东、山西和北京。值得注意的是苹小卷叶蛾存在物种复合体,包含多个隐存种,由于形态上极为相似,复合体的物种识别一直是分类研究中的难点。有学者发现在韩国长期被称为 *A. orana* 的物种可能是一个新种或其他种类 (Park et al., 2008)。这可能是导致本研究中苹小卷叶蛾种内遗传距离较大的原因。还有其它种类,如东方黄毒蛾 *Euproctis subflava* 种内遗传距离为 5.56%,茶银尺蠖 *Scopula subpunctaria* 种内遗传距离为 7.71%,序列均来源于不同国家或地区。不过种内遗传距离较大的现象,并不仅限于蛾类昆虫,其他动物类群也有类似情况。如采集自河北省石家庄市、山东省济南市、安徽省的淮南市和芜湖市 4 个地区的粉尘螨 *Dermatophagoides farina*,基于线粒体 CO I 基因的种群遗传距离在

0.2%-4.3% (叶长江等, 2019)。另外,也有研究表明,多食性较强的种类也容易产生较大的种内遗传差异 (Hulcr et al., 2007)。

在实际研究中,部分种内遗传距离较大及种间遗传距离较小的现象会影响 DNA 条形码的鉴定。并且随着不同地域的种类样本采集越来越丰富,这种现象出现频率会不断增加。建议在应用中,针对部分种类种内遗传距离较大的现象,可以再增加一条进化速率较快的基因片段或以其他鉴定方式作为辅助,在获取序列的同时,收集证据标本的图像数据,构建图像识别系统(林达坤等, 2020),对物种进行联合鉴定。

在本文中,28S D2 基因虽能鉴定大部分种类,但比 CO I 基因相对保守。一般认为 28S 基因不能有效区分同一种类的不同亚种、不同表型。如有棘和无棘 2 种不同表型栉江珧 *Atrina pectinata* 的基因分析比较,CO I 差异最大为 1.5%,28S 无差异(薛东秀等, 2009)。对扶桑绵粉蚧 6 个地理种群的研究中,CO I 基因有 7 个单倍型,地理种群间可显示出遗传差异,而 28S rDNA 序列则较为保守(赵静等, 2014)。所以,28S 基因常用于动物类群的属或科的较高阶元系统发育分析(梅洪等, 2007;张彦周等, 2008;陈诚等, 2010;张健等, 2012;丁昌萍, 2017),在种一级分类单元之间差异较小,不建议作为 DNA 条形码的辅助基因,应选择进化速率较快的基因片段。

虽然近年来我国的 DNA 条形码系统发展较快,但需要吸纳全世界不同地域种类数据加入共享才更具实用价值及科学意义。所以亟需构建我国的大数据平台,不仅将大量科研数据和成果留在国门内,而且尝试与 GenBank、BOLD 系统等国际数据库对接,吸纳全世界数据参与共享,加快我国相关学科的发展速度,最终为生产发展提供科技支撑。

致谢: 特别感谢北京王家园果园赵连祥先生为本研究的顺利开展提供帮助。感谢中国科学院动物研究所陈付强博士对部分标本进行了准确的鉴定。感谢中国科学院动物研究所丁亮、袁峰对标

本进行了拍照。

参考文献 (Referneces)

- Chen C, Shen HD, Wu WJ, Wei LL, Wang L, 2010. Phylogenetic studies of Onchidiidae (Mollusca, Pulmonata) based on 28S rDNA partial sequence. *Biotechnology Bulletin*, (6): 172–178. [陈诚, 沈和定, 吴文健, 魏峦峦, 王玲, 2010. 基于 28S rDNA 部分序列的石磺科系统发育研究. 生物技术通报, (6): 172–178.]
- Delbert WH, Alan RT, 1999. Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, 53(6): 1898–1914.
- Ding CP, 2017. Molecular phylogeny and Chinese fauna of Pieridae (Lepidoptera: Papilionoidea). Doctoral dissertation. Yangling: Northwest A&F University. [丁昌平, 2017. 粉蝶科分子系统发育暨中国区系研究(鳞翅目: 凤蝶总科). 博士学位论文. 杨陵: 西北农林科技大学.]
- Dong YQ, Li J, Pan JL, Zhu NB, Jiang X, Song YS, 2019. Dynamic analysis of forestry quarantine pests occurrence in China. *Plant Quarantine*, 33(6): 15–19. [董瀛谦, 李娟, 潘佳亮, 朱宁波, 姜雄, 宋玉双, 2019. 我国林业检疫性有害生物发生动态分析. 植物检疫, 33(6): 15–19.]
- Gan LP, Tan S, Qi WH, Shi RJ, 2018. Distribution regularities and bioinformatics analysis of microsatellite in the whole genomes of silkworm, *Bombyx mori*. *Genomics and Applied Biology*, 37(10): 4278–4288. [甘丽萍, 谭爽, 戚文华, 石汝杰, 2018. 家蚕全基因组微卫星分布规律及其生物信息学分析. 基因组学与应用生物学, 37(10): 4278–4288.]
- Ge F, 2010. The progress, problem and strategy for Chinese entomology. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 32(5): 908–914. [戈峰, 2010. 中国昆虫学成就、问题及发展对策. 江西农业大学学报, 32(5): 908–914.]
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512): 313–321.
- Hulcr J, Miller SE, Setliff GP, Darrow K, Mueller ND, Hebert PDN, Weiblen GD, 2007. DNA barcoding confirms polyphagy in a generalist moth, *Homona mermerodes* (Lepidoptera: Tortricidae). *Molecular Ecology Notes*, 7(4): 549–557.
- Jinbo U, Kato T, Ito M, 2011. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science*, 14(2): 107–124.
- Kim CG, Zhou HZ, Imura Y, Tominaga O, Su ZH, Osawa S, 2000. Pattern of morphological diversification in the Leptocarabus ground beetles Coleoptera, Carabidae as deduced from mitochondrial ND5 gene and nuclear 28S rDNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 17(1): 137–145.
- Knutsen H, Rukke BA, Jorde PE, Ims RA, 2000. Genetic differentiation among populations of the beetle *Bolitophagus reticulatus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in a fragmented and a continuous landscape. *Heredity*, 84(6): 667–676.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Lin DK, Huang SG, Zhang FP, Liang GH, Wu SQ, Hu X, Wang R, 2020. Method of image ecognition for Lepidopteran insects based on improved differential evolution algorithm. *Scientia Silvae Sinicae*, 56(3): 73–81. [林达坤, 黄世国, 张飞萍, 梁光红, 吴松青, 胡霞, 王荣, 2020. 基于改进差分进化算法的鳞翅目昆虫图像识别方法. 林业科学, 56(3): 73–81.]
- Liu JQ, 2015. DNA barcodes, speciation and taxonomy in plants. *Biodiversity Science*, 23(3): 283–285. [刘建全, 2015. 植物 DNA 条形码、物种形成和分类学. 生物多样性, 23(3): 283–285.]
- Lou Q, Xin TY, Song JY, 2020. Application of DNA barcoding technology in the whole industrial chain of traditional Chinese medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 55(8): 1784–1791. [娄千, 辛天怡, 宋经元, 2020. DNA 条形码技术在中药全产业链的应用进展. 药学报, 55(8): 1784–1791.]
- Mei H, Liu GX, Hu ZY, 2007. Phylogenetic studies of Oedogoniales (Chlorophyceae, Chlorophyta) based on 28S rDNA sequences. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 31(4): 492–498. [梅洪, 刘国祥, 胡征宇, 2007. 基于 28SrDNA 序列的鞘藻目系统发育研究. 水生生物学报, 31(4): 492–498.]
- Nei M, Kumar S, 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press. 45–108.
- van Nieuwerkerken EJ, Kaila L, Kitching IJ, Kristensen NP, Zwick A, 2011. Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. Zootaxa*, 3148: 212–221.
- Park H, Park IJ, Lee SY, Han KS, Yang CY, Boo KS, Park K, Lee J, Cho S, 2008. Molecular identification of *Adoxophyes orana* complex (Lepidoptera: Tortricidae) in Korea and Japan. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11(1): 49–52.
- Ratnasingham S, Hebert PDN, 2007. Bold: The barcode of life data system. *Molecular Ecology Notes*, 7(3): 355–364.
- Renaud AK, Savage J, Adamowicz SJ, 2012. DNA barcoding of Northern Nearctic Muscidae (Diptera) reveals high correspondence between morphological and molecular species limits. *BMC Ecology*, 12(24): 15.
- Saitou N, Nei M, 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4): 406–425.
- Simon CF, Frati F, Beckenbach AT, Crespi BJ, Flook PK, 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.
- Tamura K, Nei M, 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*,

- 10(3): 512–526.
- Tan JH, He SF, Xie PQ, Zhang KY, 2019. Application of DNA barcoding technology in plant quarantine. *South China Agriculture*, 13(3): 187, 191. [谈静惠, 贺生芳, 郭澍强, 张轲易, 2019. DNA 条形码技术在植物检疫中的应用探究. 南方农业, 13(3): 187, 191.]
- Wang YZ, 2017. Population genetic structure of the peach fruit moth *Carposina sasakii* in main occurrence regions of China. Master dissertation. Kunming: Southwest Forestry University. [王友竹, 2017. 桃小食心虫在我国主要发生区的种群遗传结构. 硕士学位论文. 昆明: 西南林业大学.]
- Wu KM, 2020. Management strategies of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in China. *Plant Protection*, 46(2): 1–5. [吴孔明, 2020. 中国草地贪夜蛾的防控策略. 植物保护, 46(2): 1–5.]
- Wu YP, Wu CS, Zhang M, Su TJ, Zhu CD, 2018. DNA barcoding of some pyraloid moths (Lepidoptera: Pyraloidea) in an apple orchard. *Journal of Plant Protection*, 45(4): 705–715. [武宇鹏, 武春生, 张萌, 苏田娟, 朱朝东, 2018. 果园螟蛾总科部分种类 DNA 条形码鉴定. 植物保护学报, 45(4): 705–715.]
- Xue DX, Zhang T, Wang HY, Zheng XD, Meng FY, 2009. Comparative study on 28S rDNA and COI of scaly and non-scaly phenotypes in species of *Atrina pectinata*. *Marine Sciences*, 33(10): 88–91. [薛东秀, 张涛, 王海艳, 郑小东, 孟凡玉, 2009. 有棘无棘两种表型栉江珧 28S 和 COI 基因序列差异的比较. 海洋科学, 33(10): 88–91.]
- Yan YJ, Cao ZM, Ding WD, Bing XW, 2019. On genetic diversity analysis of 6 populations of *Siniperca chuatsi* in Jiangsu province. *Marine Fisheries*, 41(1): 25–33. [颜元杰, 曹哲明, 丁炜东, 邴旭文, 2019. 江苏省 6 个翘嘴鲌群体的遗传多样性分析. 海洋渔业, 41(1): 25–33.]
- Yang F, Zhou LS, He MQ, Zhu SX, Zhang CM, Sun J, Li HF, 2018. Recent progress of DNA barcoding technique in animal medicine identification. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 29(8): 1968–1970. [杨帆, 周丽珊, 何铭琪, 祝诗欣, 张春梅, 孙敬, 李海峰, 2018. DNA 条形码技术在动物类中药鉴定中的运用研究进展. 时珍国医国药, 29(8): 1968–1970.]
- Yang FY, 2019. Genetic structure of Colorado potato beetle populations based on SSR marker. Master dissertation. Guiyang: Guizhou University. [杨方园, 2019. 基于 SSR 标记的马铃薯甲虫种群遗传结构. 硕士学位论文. 贵阳: 贵州大学.]
- Yang J, Liu ZF, Fan JQ, Wu YP, Ma RY, Fan RJ, 2016. Genetic variation and population structure of the oriental fruit moth *Grapholita molesta* in Shanxi, a major pome fruits growing region in North China. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(4): 1131–1137.
- Ye CJ, Chen C, Zheng LX, Liu X, Tao XL, Yang BH, Sun ET, 2019. Genetic structure study of *Dermatophagoides farina* from different geographic populations. *Journal of Anhui Polytechnic University*, 34(4): 19–23, 29. [叶长江, 陈成, 郑凌霄, 刘啸, 陶香林, 杨邦和, 孙恩涛, 2019. 粉尘螨不同地理种群的遗传结构研究. 安徽工程大学学报, 34(4): 19–23, 29.]
- Yu GY, Wang H, Feng SK, 2016. Insects of Wangjiayuan. Beijing: Science Press. 10–15. [虞国跃, 王合, 冯术快, 2016. 王家园昆虫. 北京: 科学出版社. 10–15.]
- Yu X, Wang YH, Li HW, Shi WP, Yu YX, 2020. Research progress on occurrence status, monitoring technology and control methods of the codling moth. *Plant Quarantine*, 34(1): 1–6. [于昕, 王玉晗, 李红卫, 石旺鹏, 于艳雪, 2020. 苹果蠹蛾的发生现状、监测技术及防治方法研究进展. 植物检疫, 34(1): 1–6.]
- Zhang J, Zhang XJ, Ren BZ, 2012. Molecular phylogeny of some longhorned beetles based on 28S rDNA sequences. *Scientia Silvae Sinicae*, 48(10): 86–94. [张健, 张晓军, 任炳忠, 2012. 基于 28S rDNA 基因的天牛科部分种类的分子系统发育. 林业科学, 48(10): 86–94.]
- Zhang L, Su S, Lv ZY, Meng ZH, 2014. Animal DNA barcoding technology and its application in pest identification. *Guizhou Agricultural Sciences*, 42(4): 152–156. [张莉, 苏生, 吕召云, 孟泽洪, 2014. 动物 DNA 条形码鉴定技术及其在害虫种类鉴定中的应用. 贵州农业科学, 42(4): 152–156.]
- Zhang N, Zhao F, Yang S, Yang XP, Shen X, Shen X, Gao YC, Zhong SR, 2018. Research progress of DNA barcoding technology in forensic medicine. *Journal of Kunming Medical University*, 39(10): 130–133. [张柠, 赵斐, 杨朔, 杨晓佩, 申鑫, 申啸, 高永才, 钟树荣, 2018. DNA 条形码技术在法医学中的研究进展. 昆明医科大学学报, 39(10): 130–133.]
- Zhao J, Sun Y, Tan YA, Xiao LB, Bai LX, Lu XJ, Zheng SF, 2014. Genetic differentiation among different geographic population of *Phenacoccus solenopsis* based on sequences of COI and 28S rDNA. *Cotton Science*, 26(2): 130–137. [赵静, 孙洋, 谭永安, 肖留斌, 柏立新, 路曦结, 郑曙峰, 2014. 基于 COI 及 28SrDNA 序列分析的扶桑绵粉蚧地理种群的遗传分化研究. 棉花学报, 26(2): 130–137.]
- Zhang YZ, Yu F, Zhu CD, 2008. A preliminary phylogenetic study of *Copidosoma* spp. (Hymenoptera: Encyrtidae) associated with Noctuidae (Lepidoptera) based on 28S rDNA D2 sequence. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 51(9): 992–996. [张彦周, 于芳, 朱朝东, 2008. 基于 28S rDNA D2 基因序列的几种寄生夜蛾科的多胚跳小蜂的分子系统发育. 昆虫学报, 51(9): 992–996.]
- Zhang Z, Wu CS, Chen ZY, Lin PJ, Zhang YH, Wang JX, Xie AT, Yang JG, Zhao SZ, Yan ZH, Pang HY, 2020. Morphological differences among *Spodoptera frugiperda* and other four similar noctuid species in light trap. *Plant Protection*, 46(1): 42–45. [张智, 武春生, 陈智勇, 林培炯, 张云慧, 王俊侠, 谢爱婷, 杨建国, 赵淑哲, 闫子涵, 庞红岩, 2020. 草地贪夜蛾成虫与灯下 4 种相似种的形态特征比较. 植物保护, 46(1): 42–45.]
- Zhu HF, 1979. Three new genera and three new species of the family Geometridae. *Acta Entomologica Sinica*, 22(1): 73–76, 123–124. [朱弘复, 1979. 尺蛾科三新属三新种. 昆虫学报, 22(1): 73–76, 123–124.]