

蚕类昆虫线粒体 DNA 研究及其在起源与进化研究中的应用^{*}

房守敏¹ 张 烈¹ 鲁 成^{2**}

(1. 西华师范大学生命科学学院 南充 637002;

2. 西南大学农业部蚕桑学重点开放实验室 重庆 400716)

Study and application in origin and evolution of mitochondrial DNA in the silkmoths. FANG Shou-Min¹, ZHANG Lie¹, LU Cheng^{2**} (1. College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract Mitochondrial DNA has the characteristics of fast evolution and maternal inheritance and has been widely used as a genetic marker in studies of population genetics, phylogeny and molecular evolution in insects. The genome structure, organization and polymorphism of the mtDNA is described. In addition, we summarize recent progress using mtDNA to elucidate the phylogeny and molecular evolution of the silkmoth.

Key words mitochondrial DNA, silkmoth, polymorphism, molecular phylogeny

摘 要 线粒体 DNA (mtDNA) 属母系遗传, 进化速率较核基因快且基因组结构相对简单, 已作为理想的分子标记广泛应用于昆虫群体遗传学及分子系统学等研究。本文对蚕类昆虫线粒体 DNA 在分子水平上的最新研究进展进行了较详细的阐述, 重点介绍了蚕类昆虫线粒体基因组的组成及特征、mtDNA 克隆与多态性及在蚕类昆虫分子系统学研究中的应用等。

关键词 线粒体 DNA, 蚕类昆虫, 多态性, 分子系统学

蚕类昆虫主要包括蚕蛾科 Bombycidae 和大蚕蛾科 Saturniidae。蚕蛾科包括 5 个属, 其中蚕蛾属 *Bombyx* 受到了人们的高度关注, 蚕蛾属主要包括家蚕 *B. mori* 和野桑蚕 *B. mandarina*。大蚕蛾科昆虫体型较大, 也是鳞翅目中种数目最多的科, 据估计该科有 1 300 ~ 1 500 个种^[1]。家蚕、蓖麻蚕 *Samia cynthia ricini* 及柞蚕属 *Antheraea* 等是重要的产丝昆虫, 因此研究它们及相近物种的亲缘关系, 可以充分发掘和利用野蚕的丰富基因资源。

线粒体基因组分子量小、拷贝数多、复合母系遗传和不发生重组, 并且昆虫线粒体基因比核基因的进化速率快 2 ~ 9 倍^[2]。因此, 线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 已广泛应用于昆虫分子系统学的研究。本文就蚕类昆虫线粒体基因组的组成及特征、近十年来对蚕类昆虫 mtDNA 的克隆及多态性研究及在蚕类昆虫

分子系统学研究中的应用等进行了综述。

1 蚕类线粒体 DNA 的克隆与序列分析

1.1 蚕类线粒体全基因组的序列、组成及特征

随着测序技术的日臻完善, 大量的线粒体基因组已测序完成。目前, 共有 11 种蚕类昆虫线粒体基因组已完成测序并递交到 GenBank 公共数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) (表 1)。已测序的蚕类昆虫 mtDNA 的大小为 15 327 bp ~ 15 928 bp, 包括 13 个蛋白编码基因 (protein coding gene, PCG)、12S 和 16S rRNA、22 个 tRNA 及 1 个控

^{*} 资助项目: “863” 项目 (2006AA10A117)、“973” 项目 (2005CB121000)、西华师范大学科研启动基金项目 (05B33)。

^{**} 通讯作者, E-mail: lucheng@swu.edu.cn

收稿日期: 2009-09-05, 修回日期: 2010-01-21

制区,基因的排列顺序与其他鳞翅目昆虫完全一致^[3]。蚕类昆虫 mtDNA 的密码子使用存在明显的偏好性。如中国安康、中国青州、日本野桑蚕及家蚕 C108 线粒体基因组中的 AT 含量分别高达 81.59%、80.60%、81.68% 和 81.32%;而在 AT 富集区域以上区域的 AT 含量达到 95% 以上^[3]。

基因重叠与间隔是 mtDNA 普遍存在的现象,蚕类昆虫也不例外。如家蚕品种夏芳 mtDNA 存在 20 个基因间区(intergenic region),长度为 1~66 bp,间隔区总长 371 bp;另有 5 个基因重叠区,共 20 bp^[4]。除 2 个 tRNA 类似基因外,中国安康野桑蚕包含 17 个基因间区,长度为 1~59 bp,间隔区总长 391 bp;基因重叠区

为 11 个,共 45 bp^[3]。

大蚕蛾科的中国柞蚕 *Antheraea pernyi* 有 18 个基因间区,大小为 1~56 bp,共 202 bp;含有 4 个基因重叠区,共 19 bp^[5]。而合目大蚕蛾 *Saturnia boisduvalii* 有 16 个基因间区,大小为 1~53 bp,共 194 bp;基因重叠区为 6 个,共 41 bp^[6]。相比较而言,蚕蛾科昆虫的基因间区总长度明显大于大蚕蛾科昆虫,但基因重叠区总长度相似。另外,除中国野桑蚕外,最大的基因间区位于 *tRNA-Gln* 和 *ND2* 基因间,而中国野桑蚕则位于 *tRNA-His* 和 *ND4* 间,这可能是由于中国野桑蚕的 *tRNA-Gln* 和 *ND2* 基因间插入了一个额外的 *tRNA-Leu (TAT)-like* 基因所导致的^[3]。

表 1 GenBank 中蚕类昆虫线粒体全基因组序列信息

科	属	种	大小(bp)	登录号
蚕蛾科 Bombycidae	<i>Bombyx</i>	<i>B. mori</i> (C-108)	15 656	AB070264
		<i>B. mori</i> (Aojuku)	15 635	AB083339
		<i>B. mori</i> (Xiafang)	15 664	AY048187
		<i>B. mori</i> (Backokjam)	15 643	AF149768
		Japanese <i>B. mandarina</i>	15 928	NC_003395
		Chinese (Ankang) <i>B. mandarina</i>	15 682	AY301620
		Chinese (Qingzhou) <i>B. mandarina</i>	15 717	FJ384796
大蚕蛾科 Saturniidae	<i>Antheraea</i>	<i>A. pernyi</i>	15 566	NC_004622
		<i>A. yamamai</i>	15 338	NC_012739
	<i>Saturnia</i>	<i>S. boisduvalii</i>	15 360	EF622227
	<i>Eriogyna</i>	<i>E. pyretorum</i>	15 327	FJ685653

线粒体控制区起着起始转录的功能,其长度和序列高度可变,蚕类昆虫不同属线粒体控制区的重复元件或重复序列的特征存在明显差异。蚕蛾属昆虫的控制区含有特异的重复元件,其他昆虫没有发现这一类似的现象。如图 1 所示,家蚕与野桑线粒体控制区中均含有 126 bp 的重复元件,日本野桑蚕则出现了由 3 个 126 bp 重复元件的串联重复,这可能是日本野桑蚕比中国野桑蚕控制区更长的主要原因。126 bp 的重复元件包括 ~64 bp 和 ~62 bp 的重复单元,~64 bp 重复单元包含 44 bp 的核心序列,两端含有 10 bp 的反向重复序列,而 ~62 bp 重复单元的核心序列有 50 bp,两端含有 6 bp 的反向重复^[7]。大蚕蛾科柞蚕属的中国柞

蚕、罗依利柞蚕 *A. roylei* 和颇洛勃柞蚕 *A. proylei* 控制区中也含有特异的重复元件,该元件由 6 个 38 bp 的重复单元串联组成,在其他昆虫暂未发现类似的重复^[7]。

后生动物线粒体中 tRNA 的数目高度保守,但也有极少的物种存在 tRNA 数目增加的现象。中国安康野桑蚕除了共有的 22 个 tRNA 基因外,还存在 2 个 tRNA 类似基因 *tRNA-Ser (TGA)-like* 和 *tRNA-Ile (TAT)-like*^[3]。*tRNA-Ser (TGA)-like* 位于控制区内部,二级结构主要由 4 个茎环结构组成;*tRNA-Leu (TAT)-like* 具有典型的三叶草结构,位于线粒体的 *tRNA-Gln* 和 *ND2* 基因之间(图 2)。另外, Kim 等^[8]测定朝灰蝶 *Coreana raphaelis* (Lepidoptera: Lycaenidae)

线粒体全基因组时发现新增了 1 个 tRNA-Ser (AGN) 拷贝,2 个 tRNA-Ser (AGN) 呈串联分布,其核苷酸序列和二级结构均高度相似,推测

新产生的拷贝由初始的 tRNA-Ser (AGN) 在近期重复产生。迄今为止,鳞翅目昆虫中也仅有此两例报道 tRNA 基因数目增多的现象。

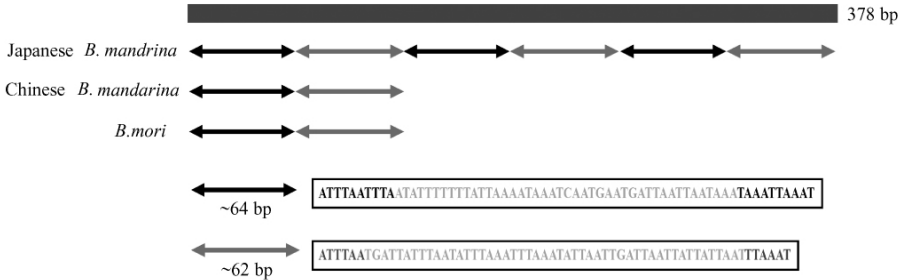


图 1 家蚕与野桑蚕控制区重复序列的比较 (引自 Arunkumar 等^[7])

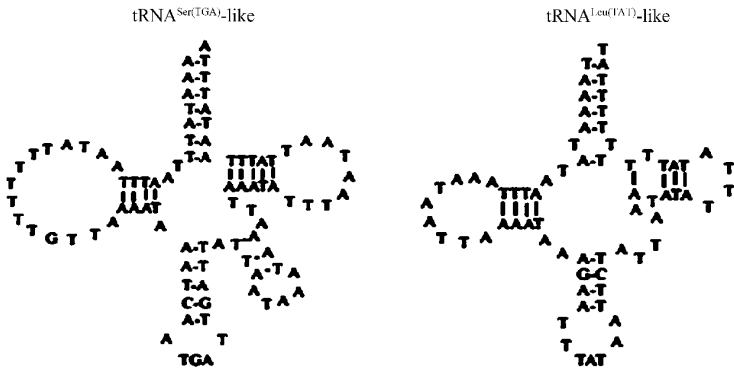


图 2 中国野桑蚕线粒体基因组中额外的 tRNA 类似基因的结构预测

1.2 蚕类线粒体基因组片段的克隆及序列分析

1999 年,Hwang 等^[9]克隆了家蚕、野桑蚕及柞蚕的 rRNA 的大小亚基,结果表明家蚕 Jam 305 的 16S rRNA 与日本野桑蚕、天蚕 *A. yamamai* 和中国柞蚕分别表现出 98%、87% 和 86% 的相似性,而 12S rRNA 则表现出更高的相似性,分布为 99%、89% 和 88%。2006 年,Arunkumar 等^[7]克隆了家蚕、野桑蚕及柞蚕的 12S rRNA、16S rRNA、*COI* 和控制区,发现控制区长度在种属间存在较大差异,并且 16S rRNA 在种属间高度保守,信息位点较少不宜用于进化分析,而 12S rRNA、*COI* 和控制区的信息位点较多,可用于蚕类昆虫的系统发生分析。国内也出现了对不同家蚕品种 mtDNA 片段的克

隆研究。2000 年,沈兴家等^[10]对家蚕品种秋丰线粒体基因组 *EcoR* I 2.0 kb 片断进行了克隆和序列分析,该序列包括 *tRNA-Ser*、*ND1* 和 *Cytb* 的部分序列,与果蝇的相应基因序列核苷酸相似性分别为 78.39%、71.42% 和 70.39%。2002 年,廖顺尧等^[11]克隆了家蚕夏芳 mtDNA 3 468 bp 的 *EcoR* I 和 *Hind* III 双酶切片段序列,该序列包括 3 个蛋白编码基因 *ND2*、*COI* 和 *COII* 的 5' 端以及 6 个 tRNA 和 1 个待定的 *tRNA-Met*,序列分析表明家蚕与果蝇的 *ND2*、*COI* 及 *COII* 基因 5' 端序列同源性分别为 69.7%、83.8% 和 80.0%;6 个推定的 tRNA 基因序列与果蝇相应 tRNA 基因序列差异较大,除 *tRNA-Gln* 基因的二级结构相似外,其它 tRNA 的二级结构有较大差异。2006 年,宋宏

图等^[12]克隆了老挝家蚕品种 L11 的 *COIII* 基因,该基因编码 262 个氨基酸,与 NCBI 中已完成 mtDNA 全基因组测序的家蚕夏芳、Aojuku 和 Bachojam *COIII* 基因核苷酸序列完全一致,与安康和日本野桑蚕的同源性分别为 96% 和 94%。

就野桑蚕 mtDNA 而言,除了上述 2 篇研究报道外^[7,9],中国青州野桑蚕 mtDNA 片断的克隆研究报道也较多。2004 年,郑小坚等^[13]克隆了中国青州野桑蚕 mtDNA 的控制区序列,该序列比完成 mtDNA 全基因组测序的 4 个家蚕品种控制区长 1~4 bp,较中国安康野桑蚕长 16 bp,而较日本野桑蚕短 249 bp;青州野桑蚕与安康野桑蚕控制区核苷酸序列同源性为 95%,与 4 个家蚕品种的有 98%~99% 的同源性。2005 年,何泽等^[14]对青州野桑蚕 mtDNA 的 *COII-ATP6* 基因区域进行了克隆,并结合以前公布的家蚕和野桑蚕线粒体 *COII*、*ATP6* 和 *ATP8* 基因序列,对家蚕和野桑蚕的亲缘关系进行了研究,结果表明 3 个基因构建的系统发生树基本一致,均显示出家蚕与中国野桑蚕亲缘关系更近的特点。2005 年,陈淼等^[15]克隆了青州野桑蚕 mtDNA 12S rRNA,结果表明青州野桑蚕与完成 mtDNA 全基因组测序的 4 个家蚕品种的 12S rRNA 在 DNA 水平上达到了 99% 的相似性,与安康野桑蚕和日本野桑蚕的相似性分别为 97% 和 98%。2006 年,曹广力等^[16]测定了青州野桑蚕 mtDNA 2.2 kb 序列,包括 *ND5* 基因及两侧的 tRNA 基因,青州野桑蚕与安康和日本野桑蚕 *ND5* 基因的核苷酸序列相似性分别为 97% 和 96%。2007 年,刘波等^[17]克隆了青州野桑蚕 mtDNA 的 *Cytb* 及侧翼序列,所测序列长度为 1 761 bp,含有 *Cytb* 基因、*tRNA-Ser* 基因及 *ND6* 和 *ND1* 基因的部分序列,结果表明青州野桑蚕与完成 mtDNA 全基因组序列的 4 个家蚕品种 *Cytb* 基因长度一致 (1 152 bp),比安康和日本野桑蚕 *Cytb* 基因 (1 158 bp) 短,青州野桑蚕 *Cytb* 与上述 4 个家蚕的核苷酸同源性为 99%,与安康和日本野桑蚕分别为 95% 和 94%。

大蚕蛾科 mtDNA 的克隆与序列分析也有

一定的研究。2002 年,魏兆军等^[18]克隆了蓖麻蚕线粒体 1 028 bp 序列,其中包含 *COIII*、*tRNA-Gly* 和 *ND5* 基因的部分序列,同源性分析发现蓖麻蚕与家蚕 *COIII* 的核苷酸和氨基酸序列的相似性分别为 80.12% 和 85.16%。2002 年,沈兴家等^[19]克隆获得了蓖麻蚕线粒体 1 857 bp 的片段,其中包含 16S rRNA 部分序列、*tRNA-Leu (UUA)*、*ND1* 和 *tRNA-Ser (AGU)* 基因,*ND1* 基因长度为 930 bp,起始密码子为 ATA,终止密码子为 TAA,A+T 含量为 76.56%。蓖麻蚕与家蚕 *ND1* 基因 (NC002355) 核苷酸序列的同源性达 77.2%,氨基酸序列的同源性为 73.9%。2004 年,陈复生等^[20]利用兼并引物克隆了蓖麻蚕线粒体 *COII*、*tRNA-Leu* 和 *COI* 基因的部分片段,结果表明 *COII* 基因的 A+T 含量为 75.77%,与柞蚕 *COII* 基因 (NC_004622) 核苷酸和氨基酸序列的相似性分别为 89.0% 和 96.0%。2008 年,刘彦群等^[21]测定了中国柞蚕野生型和放养型(豫早 1 号)的线粒体 12S rRNA 基因的部分序列 (427 bp),结果表明野生型与放养型 12S rRNA 基因片段序列完全一致。

2 线粒体 DNA 在蚕类昆虫分子系统学研究中的应用

2.1 家蚕的起源与进化

家蚕是重要的经济昆虫,也是鳞翅目的模式生物。因此,长期以来家蚕的起源进化一直是研究的热点。基于考古学、染色体、同工酶以及分子标记技术等均对家蚕起源进化进行了大量的研究,目前可以肯定的是野桑蚕是家蚕的祖先,中国是家蚕的发源地^[22]。由于 mtDNA 有着比核基因进化速率快的特点,因此也常被用于家蚕的起源进化研究。

2005 年,Li 等^[23]以 *Cytb* 基因对来自中国、欧洲、印度和日本的 14 个家蚕品种进行了系统发生分析,结果表明甘肃种、C108、法 408 油、迈索尔和 Aojuku 等 12 个地域分布广泛的品种 *Cytb* 基因序列分化较小,在进化树中单独聚为一个亚群,而品种 Yanhe-1 和 Chuxiong 单独聚

为另一亚群,推测这 2 个品种为独立驯化而产生的。同时对中国镇江和日本野桑蚕与家蚕的亲缘关系进行了分析,发现 14 个家蚕品种构成的家蚕类群先与镇江野桑蚕聚在一起,而后与日本野桑蚕聚类。2007 年,陈丽媛等^[24]对 12 个地方性家蚕品种的控制区及侧翼序列进行克隆,并以控制区序列进行系统发生分析,结果表明 12 个家蚕品种相对于野桑蚕单独聚为一类,并且甘肃种与野桑蚕的亲缘关系最近,因此推测甘肃种可能是供试家蚕品种中进化最早的品种。2007 年,刘波等^[17]克隆了中国青州野桑蚕的 *Cytb* 基因,并与其他几个完成 mtDNA 基因组测序的家蚕和野桑蚕构建了系统发生树,发现家蚕与青州野桑蚕聚为一类,而安康、日本野桑蚕聚为另一类,表明中国野桑蚕与家蚕的亲缘关系更近,该结果与 mtDNA 全基因组的分析结果一致^[25]。另外,其他基于 mtDNA 的研究也同样支持家蚕起源于中国野桑蚕的结论^[7, 26, 27]。但是家蚕究竟是由不同地域和不同时间独立驯化(多起源)还是由一个地域的一化野桑蚕(单起源)驯化而来的问题一直悬而未决。Li 等^[23]利用 mtDNA *Cytb* 基因仅分析了 14 个家蚕种,其结果支持多起源学说,但是并不能让人十分信服,关键是样本量较少。针对该问题,多基因(mtDNA 基因和核基因)及多样本的分析途径可能是解决该问题的理想方法之一。

目前,物种分化年代的估算是分子进化研究中的热点。但是正确估算物种分化年代,往往需借助于考古学的证据资料,对于缺乏考古学证据的物种而言,通常仅能参考相近物种基因的进化速率作粗略的时间估计。目前,基于线粒体基因的突变率对家蚕与野桑蚕的分化年代进行大致估算的研究已有报道。2002 年, Yukuhiro 等^[28]采用甲虫 *nad5* 基因的进化速率作为分子钟估算出家蚕 C108 与日本野桑蚕的分化时间大约在 7.1 百万年前。2008 年, Pan 等^[3]参考鳞翅目昆虫凤蝶 *Papilionidae papilio* 线粒体 *COI-COII* 基因的进化速率估算出 C108 与中国安康野桑蚕和日本野桑蚕的分歧年代分

别在 1.08 ~ 1.41 和 1.53 ~ 2.01 百万年前。2009 年, Hu 等^[25]以凤蝶 *COI-COII* 基因的进化速率为分子钟,表明家蚕 C108 与中国青州和日本野桑蚕的分歧年代分别为 0.33 ~ 0.43 和 1.54 ~ 2.01 百万年。比较而言,中国青州野桑蚕与家蚕的亲缘关系更近。此外, Yukuhiro 等^[28]和 Pan 等^[3]估算年代却存在非常大的差异,这主要由选择的分子钟不同而导致的。以不同目昆虫线粒体基因的进化速率作为分子钟可能将大大地高估所研究物种的分歧年代。另外,中国驯养家蚕历史约 5 000 年^[29],而根据 *COI-COII* 基因估算出的家蚕 C108 与中国安康野桑蚕的分歧年代在一百万年以上,这可能与长期驯化过程中的强烈人工选择有关^[3]。

2.2 大蚕蛾科昆虫的进化

1999 年, Hwang 等分别利用 12S 和 16S rRNA 及 *COI* 基因对中国柞蚕和天蚕等进行了系统发生分析,均表明柞蚕属为单系起源^[9, 30]。2006 年, Arunkumar 等^[7]研究发现中国柞蚕、罗依利柞蚕 *A. roylei* 和颇洛勃柞蚕控制区中也含有由 6 个 38 bp 的重复单元串联组成的重复序列,而其他的大蚕蛾科昆虫中不存在此类元件。因此,推测重复元件是在 *A. pernyi* 和 *A. roylei* 从大蚕蛾科中分化后而插入形成的。并且通过 12S、16S rRNA、*COI* 和 *CR* 的系统发生分析也显示出 *A. pernyi* 和 *A. roylei* 是新近分化形成的种。2008 年,刘彦群等^[21]对来自柞蚕属、橧蚕属和桑蚕属 9 种昆虫的 12S rRNA 进行了分析,结果表明 3 个属都是单系起源,以 12S rRNA 构建的 UPGMA 树表明琥珀蚕 *A. assama* 是柞蚕属的较原始类型,而 NJ、ME 和 MP 树均支持颇洛勃柞蚕是较原始的类型。这与基于表型性状和染色体组型及转录间区 1 (internal transcribed spacer DNA1) 序列的琥珀蚕是柞蚕属较原始类型结果不完全一致^[31, 32]。因此,柞蚕属的起源进化关系还有待进一步的研究。

2006 年, Mahendran 等^[33]利用 mtDNA 的 16S rRNA 和 *COI* 基因对蚕蛾科、大蚕蛾科和枯叶蛾科 *Lasiocampidae* 14 个种的亲缘关系进行

了研究,以 16S rRNA 构建的 MP 和 ML 树型基本一致,但不能正确解决惜古比天蚕 *Hyalophora cecropia*、印度蓖麻蚕 *Philosamia ricini* 和乌柏大蚕蛾 *Attacus atlas* 构成的进化枝位置及琥珀蚕和多音天蚕 *A. polyphemus* 与柞蚕属其他昆虫的亲缘关系;以 *COI* 基因对 14 种绢丝昆虫构建的 MP 和 ML 树拓扑结构存在一定的差异,主要是不能确定米利塔柞蚕 *A. mylitta* 和明目大蚕蛾 *A. friti* 在进化树中的位置;但利用 16S rRNA 和 *COI* 连接序能获得拓扑结构一致的 MP 和 ML 树,并能正确解决所分析物种的进化关系,其结果与形态学和细胞学数据一致。2002 年, Rubinoff 等^[34] 基于 624 bp 的 *COI* 和 932 bp 的延伸因子 *1 α* (elongation factor 1- α , *EF-1 α*) 基因对大蚕蛾科鹿纹天蚕蛾属 *Hemileuca* 作了分子进化分析,结果表明 *COI* 基因适宜于种水平的亲缘关系研究,而 *EF-1 α* 在种间分化较小,适宜于种组 (species group) 水平或更高分类阶元的分析,因此 *COI* 和 *EF-1 α* 连接序列能较好地地区分 *Hemileuca* 属内昆虫的亲缘关系。

3 问题与展望

mtDNA 序列能用于区分家蚕与野桑蚕的亲缘关系,但是在种以下特别是在不同家蚕品种间的进化关系较难用线粒体的单基因或某一小的区段达到分析的目的。因为在家蚕品种间线粒体基因高度相似,就以进化速率最快的控制区为例,其核苷酸的相似性在 99% 以上,而且有的品种则完全一致^[24]。另外,由于种或品种受到的选择不同,可能导致同一线粒体基因在不同品种间的进化速率不同,因此以线粒体单基因进行亲缘关系研究可能会引起结果的偏差。例如:对于相似的家蚕材料,陈丽媛等^[24] 以控制区及侧翼序列进行研究,推测甘肃种可能为进化最早的品种;但 Li 等^[23] 以 *Cytb* 进行研究时并未得到相似的结果。对此可用线粒体多基因连接序列进行研究,以基本消除结果的偏差^[33, 35]。对大蚕蛾科而言,各种间 mtDNA 序列的分化相对较大^[21],适当结合进化速率较

小的核基因可更好地反映各物种间的进化关系^[34]。

家蚕和柞蚕等是重要的经济昆虫,了解其起源进化关系,可以充分发掘和利用其近缘种丰富的基因资源,为品种改良和遗传育种奠定基础。蚕类昆虫的起源进化关系问题还有待进一步的研究,快速进化的 mtDNA 在蚕类分子系统学研究中将有着更为广阔的应用空间。

参 考 文 献

- 1 Tuskes P. M., Tuttle J. P., Collins M. M. The Wild Silk Moths of North America, Cornell University Press. 1996.
- 2 DeSalle R., Freedman T., Prager E. M., et al. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *J. Mol. Evol.*, 1987, **26** (1~2): 157~164.
- 3 Pan M. H., Yu Q. Y., Xia Y. L., et al. Characterization of mitochondrial genome of Chinese wild mulberry silkworm, *Bombyx mandarina* (Lepidoptera: Bombycidae). *Sci. China Ser. C-Life Sci.*, 2008, **51**(8): 693~701.
- 4 鲁成, 廖顺尧, 刘运强, 等. 家蚕线粒体基因组全序列测定与分析. 农业生物技术学报, 2002, **10**(2): 163~170.
- 5 Liu Y., Li Y., Pan M., et al. The complete mitochondrial genome of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, 2008, **40**(8): 693~703.
- 6 Hong M. Y., Lee E. M., Jo Y. H., et al. Complete nucleotide sequence and organization of the mitogenome of the silk moth *Caligula boisduvalii* (Lepidoptera: Saturniidae) and comparison with other lepidopteran insects. *Gene*, 2008, **413** (1~2): 49~57.
- 7 Arunkumar K. P., Metta M., Nagaraju J. Molecular phylogeny of silkmoths reveals the origin of domesticated silkworm, *Bombyx mori* from Chinese *Bombyx mandarina* and paternal inheritance of *Antheraea proylei* mitochondrial DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2006, **40**(2): 419~427.
- 8 Kim I., Lee E. M., Seol K. Y., et al. The mitochondrial genome of the Korean hairstreak, *Coreana raphaelis* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Insect Mol. Biol.*, 2006, **15** (2): 217~225.
- 9 Hwang J. S., Lee J. S., Goo T. W., et al. Molecular genetic relationships between Bombycidae and Saturniidae based on the mitochondria DNA encoding of large and small rRNA. *Genet. Anal.*, 1999, **15**(6): 223~228.
- 10 沈兴家, 赵巧玲, 张志芳, 等. 家蚕线粒体基因组 *EcoR* I 2.0 kb 片段的克隆及序列分析. 蚕业科学, 2000, **26**

- (4): 234 ~ 238.
- 11 廖顺尧,刘运强,鲁成,等. 家蚕线粒体 *ND2*、*COI* 和若干 tRNA 基因的克隆及序列分析. 动物学报, 2002, **48** (3): 375 ~ 383.
- 12 宋宏图,李兵,沈卫德. 老挝家蚕线粒体 *cox3* 基因序列分析及分子进化研究初探. 江苏蚕业, 2006, **28** (4): 14 ~ 17.
- 13 郑小坚,曹广力,薛仁宇,等. 中国野桑蚕 mtDNA 中 A + T 丰富区片段的克隆及序列分析. 蚕业科学, 2004, **30** (4): 348 ~ 352.
- 14 何泽,陈森,郑小坚,等. 中国野桑蚕 mtDNA *COII* - *ATPase6* 基因区域的序列测定及分析. 苏州大学学报(工科版) 2005, **25** (1): 1 ~ 7.
- 15 陈森,王羽骋,郑小坚,等. 野桑蚕 12S rRNA 基因的克隆及序列分析. 江苏蚕业, 2005: **27** (2): 8 ~ 12.
- 16 曹广力,郑小坚,薛仁宇,等. 野桑蚕线粒体 *ND5* 基因及其两端侧翼 tRNA 基因的克隆与序列分析. 蚕业科学, 2006 **32** (4): 482 ~ 490.
- 17 刘波,郑小坚,薛仁宇,等. 中国野桑蚕 mtDNA 中 *Cyt b* 基因的克隆及序列分析. 苏州大学学报(工科版) 2007, **27** (1): 1 ~ 6.
- 18 魏兆军,赵巧玲,张志芳,等. 蓖麻蚕线粒体基因组细胞色素氧化酶亚基 III 的序列及其分子进化分析. 昆虫学报, 2002, **45** (2): 193 ~ 197.
- 19 沈兴家,赵巧玲,张志芳,等. 蓖麻蚕线粒体基因组中 *nd1* 及其侧翼 tRNA 基因的克隆与结构分析. 蚕业科学, 2002 **28** (4): 289 ~ 293.
- 20 陈复生,魏兆军,李庆宝,等. 蓖麻蚕线粒体 *cox2* 基因的克隆、序列测定和分子系统学分析. 蚕业科学, 2004 **30** (1): 38 ~ 43.
- 21 刘彦群,靳向东,秦利,等. 九种绢丝昆虫线粒体 12S rRNA 基因的序列特征和系统发育分析. 昆虫学报, 2008, **51** (3): 307 ~ 314.
- 22 中国农业科学院蚕业研究所. 家蚕遗传育种学. 北京: 科学出版社. 1981.
- 23 Li A. , Zhao Q. , Tang S. , *et al.* Molecular phylogeny of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, based on the sequences of mitochondrial cytochrome b genes. *J. Genet.* , 2005, **84** (2): 137 ~ 142.
- 24 陈丽媛,赵巧玲,沈兴家,等. 家蚕地方品种线粒体基因组 A + T 丰富区的序列及分子进化分析. 蚕业科学, 2007, **33** (1): 5 ~ 13.
- 25 Hu X. L. , Cao G. L. , Xue R. Y. , *et al.* The complete mitogenome and phylogenetic analysis of *Bombyx mandarina* strain Qingzhou. *Mol. Biol. Rep.* , 2009, **10**. 1007/s11033-009-9781-2 (Published online).
- 26 李爱玲,徐安英,沈兴家,等. 家蚕、野桑蚕线粒体 *Cytb* 基因片段序列分析及分子进化研究. 蚕业科学, 2004, **30** (1): 80 ~ 84.
- 27 李兵,浜野国胜,蜷木理,等. 基于线粒体 *COI* 和 *NADH-6* 基因分子检测的中日家蚕和野桑蚕亲缘关系的研究. 昆虫学报, 2006 **49** (3): 470 ~ 473.
- 28 Yukuhiro K. , Sezutsu H. , Itoh M. , *et al.* Significant levels of sequence divergence and gene rearrangements have occurred between the mitochondrial genomes of the wild mulberry silkworm, *Bombyx mandarina*, and its close relative, the domesticated silkworm, *Bombyx mori*. *Mol. Biol. Evol.* , 2002 **19** (8): 1 385 ~ 1 389.
- 29 Goldsmith M. R. , Shimada T. , Abe H. The genetics and genomics of the silkworm, *Bombyx mori*. *Annu. Rev. Entomol.* , 2005, **50**: 71 ~ 100.
- 30 Hwang J. S. , Lee J. S. , Goo T. W. , *et al.* The comparative molecular study between Bombycidae and Saturniidae based on mtDNA RFLP and cytochrome oxidase I gene sequences: implication for molecular evolution. *Z. Naturforsch [C]* , 1999, **54** (7 ~ 8): 587 ~ 594.
- 31 Sinha A. K. , Sinha R. K. , Goel A. K. , *et al.* A review on the breeding and genetic aspect of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. *Proc. Conf. Cytology Genetics* , 1994, **4**: 7 ~ 16.
- 32 Mahendran B. , Ghosh S. K. , Kundu S. C. Molecular phylogeny of silk producing insects based on internal transcribed spacer DNA1. *J. Biochem. Mol. Biol.* , 2006, **39** (5): 522 ~ 529.
- 33 Mahendran B. , Ghosh S. K. , Kundu S. C. Molecular phylogeny of silk-producing insects based on 16S ribosomal RNA and cytochrome oxidase subunit I genes. *J. Genet.* , 2006 **85** (1): 31 ~ 38.
- 34 Rubino D. , Sperling F. A. Evolution of ecological traits and wing morphology in *Hemileuca* (Saturniidae) based on a two-gene phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.* , 2002 **25** (1): 70 ~ 86.
- 35 李青青,段焰青,李佛琳,等. 线粒体基因在鳞翅目昆虫分子系统学中的研究进展. 昆虫知识, 2009, **46** (3): 372 ~ 382.