

基于线粒体 DNA 的宁夏、内蒙古及周边地区棉铃虫种群遗传结构*

杨现明 陆宴辉**

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要 【目的】研究宁夏、内蒙古棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 种群与华北、东北种群的遗传结构, 以揭示宁夏、内蒙古两地虫源并为棉铃虫防治提供参考。【方法】对采集得到宁夏银川、内蒙古巴彦淖尔等 7 个棉铃虫田间种群和 1 个银川室内种群共 162 个样本进行线粒体 CO I 基因片段 (652 bp) 测序并进行遗传分析。【结果】分析显示共有 23 个 CO I 单倍型, 其中 H16 和 H23 包含个体数量最多。宁夏、内蒙古田间种群与其他种群单倍型多样性 (H_d) 和核苷酸多态性 (P_i) 近似, 与其他几个种群遗传分化 (F_{ST}) 较小, 且不显著。种群间遗传距离和地理距离无显著相关性。中性测验分析显示混合和单个棉铃虫种群经历种群扩张。【结论】宁夏、内蒙古种群与华北、东北种群存在着较强的基因流, 可能主要由于棉铃虫兼性迁飞习性导致。

关键词 棉铃虫, 线粒体基因, 遗传结构, 基因流, 种群扩张

Population genetic structure of *Helicoverpa armigera* in Ningxia, Inner Mongolia and neighboring areas

YANG Xian-Ming LU Yan-Hui**

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract [Objectives] The cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, caused significant damage to many crops in Ningxia and Inner Mongolia in 2017. To infer the origin of these pests in these two provinces, we studied the genetic structure of *H. armigera* in these provinces and in Northern and Northeastern China. [Methods] We sequenced and analyzed the mitochondrial DNA CO I gene fragments (652 bp) of 162 cotton bollworms from 7 populations in China. [Results] A total of 23 haplotypes were found, of which two source haplotypes (H16 and H23) were the most frequent. The haplotype diversity of all 7 populations was almost identical indicating that genetic differentiation between populations was low and non-significant. No significant correlation between genetic and geographic distances among populations was found. A neutrality test indicates that some populations may have experienced historical population expansion. [Conclusion] High gene flow, which may be due to migration, probably occurs between cotton bollworm populations in Ningxia, Inner Mongolia and Northern and Northeastern China.

Key words *Helicoverpa armigera*, mitochondrial gene, genetic structure, gene flow, population expansion

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 属鳞翅目夜蛾科, 是世界性害虫之一, 广泛分布在欧洲、亚洲、非洲、大洋洲等地 (Wu and Guo, 2005)。在我国, 华北地区比较干旱、适合棉铃虫发生, 是该虫的常发地和重发地。1990-1994 年的 5 年

中, 棉铃虫在华北地区连年大暴发 (Wu and Guo, 2005), 1997 年以后转 Bt 基因棉花广泛种植有效控制了棉铃虫的为害 (Wu *et al.*, 2008)。近几年, 华北地区玉米等非 Bt 棉花寄主作物上棉铃虫发生呈现加重趋势。2017 年, 棉铃虫在华

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划 (2017YFD0201900); 国家自然科学基金 (31621064)

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: yhlu@ippcaas.cn

收稿日期 Received: 2017-11-16, 接受日期 Accepted: 2017-12-29

北地区以及宁夏、内蒙古等周边省份小麦、玉米、向日葵等作物上发生严重（陆宴辉等，2018）。长期以来，宁夏、内蒙古农作物生产中棉铃虫鲜有发生，几乎没有严重危害报道，而且前几年的发生同样很轻。棉铃虫成虫具有远距离迁飞能力，常进行跨区危害（吴孔明和郭予元，2007）。那么，2017 年宁夏、内蒙古两地棉铃虫种群突然增加，致使在小麦、玉米等作物上暴发成灾，是否由华北地区棉铃虫种群迁飞而至？这一问题尚未研究和明确。

线粒体分子标记由于具有母系遗传、高度保守、进化速率快和易扩增等优点，可以用来研究种群的遗传组成（Behura, 2006），进而为追溯害虫虫源关系及分析迁飞、扩散路径等提供科学佐证（Sun *et al.* 2015 ; Yang *et al.*, 2012, 2016）。本研究基于线粒体细胞色素氧化酶亚基 I 基因序列（Cytochrome oxidase subunit I, CO I）进行棉铃虫种群遗传分析，研究了宁夏、内蒙古棉铃虫种群的遗传多样性，并分析其是否与其他种群存在遗传分化，以揭示宁夏、内蒙古和华北、

东北棉铃虫种群遗传结构、遗传变异和基因流，分析宁夏、内蒙古棉铃虫的种群来源，为阐明 2017 年两地棉铃虫种群突然暴发原因、同时制订棉铃虫防控对策提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

本研究棉铃虫采自宁夏银川、内蒙古巴彦淖尔、河南周口、辽宁葫芦岛、河北廊坊、山东德州夏津和河南新乡原阳不同寄主作物的棉铃虫，采集信息见表 1。河北廊坊和山东夏津所采集的虫态均为成虫，夜间通过探照灯诱虫器（GT75 型，自制）诱捕获得（封洪强，2003）。其他种群所采集虫态为幼虫。详细采集信息见表 1。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增、测序

棉铃虫基因组 DNA 提取使用天根公司血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒（TIANamp Genomic DNA Kit），参照试剂盒说明书提取。

表 1 棉铃虫各地理种群采集信息
Table 1 Sampling information of *Helicoverpa armigera* for each population

种群 Population	种群 代码 Code	样本数量 Number of individuals	单倍型数量 Numner of haplotypes	经度 Longitude (°)	纬度 Latitude (°)	采集日期 Collection date
宁夏银川 Yinchuan, Ningxia	YC	9	5	106.2	38.2	2017.06.19
内蒙古巴彦淖尔 Bayan Nur, Inner Mongolia	BY	28	9	107.4	40.7	2017.07.20
河南周口 Zhoukou, Henan	ZK	21	8	113.8	35.3	2017.07.15
辽宁葫芦岛 Huludao, Liaoning	HLD	25	7	120.3	40.5	2017.07.21
河北廊坊 Langfang, Hebei	LF	19	10	116.7	39.5	2017.08.15
山东德州 Dezhou, Shandong	DZ	20	7	116.0	36.5	2017.07.12
河南原阳 Yuanyang, Henan	YY	16	8	113.9	35.1	2017.07.15
宁夏银川室内种群 Laboratory populations sampled in Yinchuan, Ningxia	YCI	24	2	106.2	38.4	2017.07.10

使用引物 LCO-1490（TAAACTTCAGGG-TGACCAAAAAATCA）和 HCO-2198（GGTCA-ACAAATCATAAAGATATTGG）进行棉铃虫线粒体 CO I 基因片段的扩增。引物由上海生工生物公司合成。PCR 反应体系：50 μ L PCR 扩增反应体系含 0.75 U EasyTaq DNA 聚合酶，1 $\times$ EasyTaq

缓冲液（包含 2 mmol/L MgCl₂ ;TransGen Biotech），0.2 mmol/L dNTPs（TransGen Biotech），1 μ L DNA 模板，上游和下游引物各 0.4 μ mol/L。PCR 反应条件为：94 $^{\circ}$ C 3 min ;94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s 共 35 个循环 终延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min。取 PCR 反应产物 3 μ L，在 1.0%（g/mL）的琼脂

糖凝胶上 120 V 电压电泳 30 min, 最后在 Gel Doc EQ 凝胶成像系统 (Bio-Rad, Hercules, CA) 下观察。扩增的 PCR 产物直接送至中美泰和生物技术有限公司进行测序。

沃尔巴克氏体 (*Wolbachia*) 是一类广泛分布于节肢动物生殖组织内的共生细菌, 常引发宿主多种生殖异常行为, 如雌性化 (Feminization)、孤雌生殖 (Parthenogenesis) 和胞质不亲和 (Cytoplasmic incompatibility, CI) 等 (Werren, 1997; Hilgenboecker *et al.*, 2008; Werren *et al.*, 2008)。由于 *Wolbachia* 与线粒体同为母系遗传, 可能会导致线粒体选择性清除作用 (Selective sweep) 从而影响线粒体遗传多样性 (Hurst and Jiggins, 2005)。为排除这种影响, 我们检测了本研究棉铃虫个体 *Wolbachia* 的感染率。引物使用 81f (5'-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAA-AC-3') 和 691r (5'-AAAAATTAAACGCTACTC-CA-3') (Zhou *et al.*, 1998)。

1.3 数据分析

利用 CodonCode Aligner 3.6.1 (CodonCode, Dedham, MA, USA) 查看线粒体 CO I 基因片段的正反向序列波峰并进行编辑和拼接。利用 Clustal X 2.0.11 比对拼接后的一致序列 (Larkin *et al.*, 2007)。利用 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 网站中的 BLAST 工具 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行基因序列的注释验证。利用 DNASP v5 软件计算序列分化与序列型个数 (Librado and Rozas, 2009)。比对结果输入 MEGA 4.0 软件 (Tamura *et al.*, 2007), 利用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建系统发育树, 各个分支的 Bootstrap 置信度用 1 000 次自展来评价。基于 Median-Joining 模型, 利用 Network 4.6 软件 (Bandelt *et al.*, 2000) 构建单倍型的网络分支图, 以重建单倍型系统发育关系、推断祖先单倍型。

利用 Arlequin 软件中的 Tamura 和 Nei 方法计算种群间成对的遗传距离 (F_{ST}) 矩阵 (Excoffier and Lischer, 2010)。遗传距离与地理距离间的相关性用 Genepop Web 计算 (Raymond and Rousset, 1995; Rousset 2008)。

利用 DnaSP 计算 Tajima's D, Fu's F_s , Fu and Li's F^* 和 Fu and Li's D^* (Fu and Li, 1993), 利用以上参数检验种群是否偏离中性进化模型。Fu's F_s 和 Tajima's D 值为显著的负值时显示种群经历了扩张; Fu's F_s 接近于 0 时表明种群为稳定种群; Fu's F_s 为显著的正值时表明种群可能经历了瓶颈效应或者种群间出现了分化 (Excoffier *et al.*, 2009)。

2 结果与分析

共成功测得 162 头棉铃虫 CO I 基因片段序列, 序列比对长度为 652 bp, 经 NCBI 中 Blast 比对证实所得片段均为棉铃虫 CO I 基因序列, 证明所采样本均为棉铃虫。比对序列无插入/缺失位点、无移码突变和终止密码子、序列图谱无双峰, 表明测得序列为线粒体基因序列, 不是核假基因 (Pseudogenes)。比对序列中共有 20 个多态性位点, 其中, 12 个简约信息位点, 8 个单一变异位点。检测到 23 个单倍型 (H1-H23, 图 1), 其中单倍型 H23 由 59 个个体分享, H16 由 50 个个体分享, H3 由 11 个个体分享, H13 由 9 个个体分享, 以上为常见单倍型 ($n > 5$) (表 2, 图 1)。另外, 有 11 个单倍型只测到一个个体, 为排除 PCR 扩增和测序误差, 这些序列均得到两次测序验证。内蒙古巴彦淖尔 (样本数量 $n = 28$) 和宁夏银川种群 ($n = 9$) 分别有 9 和 5 个单倍型, 两地单倍型多样性 (H_d) 分别为 0.812 和 0.833, 核苷酸多态性 (P_i) 分别为 0.002 7 和 0.002 5 (表 3)。宁夏和内蒙古两地线粒体遗传多样性 (H_d 和 P_i) 与其他种群类似 (表 3)。廊坊种群含有最多的单倍型数量 ($n = 10$), 单倍型多样性也最高 ($H_d = 0.860$)。

ARLEQUIN 分析表明, 内蒙古巴彦淖尔和宁夏银川田间种群与其他种群间的 F_{ST} 值与 0 无显著差异, 表明没有此种群间没有显著遗传分化 (表 4)。另外, 所有 7 个田间种群间遗传差异 (F_{ST} 值) 均较低, 未达到显著水平 (表 4)。宁夏银川室内种群与田间种群大多具有显著遗传差异。GENEPOP 分析表明种群间遗传距离与地理距离无显著相关性 ($r = -0.02$, $P = 0.302$,

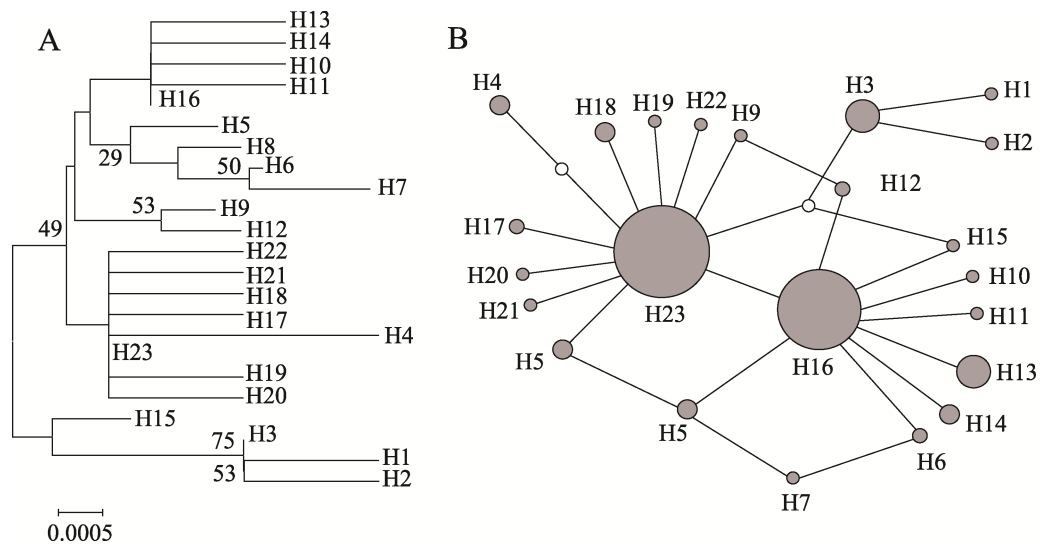


图 1 棉铃虫单倍型 NJ 树 (A) 及网状分支图 (B)

Fig. 1 Phylogenetic tree inferred by NJ method (A) and Median joining network (B) based on the haplotypes

网络图 (B) 中每一个圆代表一个单倍型, 圆圈大小与单倍型频率呈正比,

空心圆圈代表缺失单倍型, 单倍型间横线代表一个碱基突变。

Each solid circle (B) indicates one haplotype. Frequency of haplotype is proportional to circle area. The hollow circle indicates missing haplotypes. Each line between circles represents one mutational event.

表 2 线粒体单倍型在各种群中的分布
Table 2 Haplotype distribution of *Helicoverpa armigera* in each population

单倍型 Haplotype	YC	BY	ZK	HL	LD	LF	DZ	YY	YCI	含有个体数 Individual number
H1	1									1
H2		1								1
H3	1	2	4	2	1	1				11
H4		2	1							3
H5				2		1				3
H6			2							2
H7					1					1
H8					1	1	1			3
H9				1						1
H10								1		1
H11			1							1
H12				1				1		2
H13	1	3			2	2	1			9
H14		1			2		1			4
H15								1		1
H16	3	7	5	7	7	10	5	6		50
H17			1		1					2
H18		1	1		1					3
H19				1						1
H20					1					1
H21						1				1
H22		1								1
H23	3	10	6	11	2	4	5	18		59

图 2), 表明地理距离不会导致棉铃虫种群遗传分化。检测发现所有棉铃虫个体均不感染 *Wolbachia*, 表明线粒体遗传多样性不受此细菌影响。

单倍型网络分支图 (图 1) 具有星状网络结构, 其中常见单倍型 H16 和 H23 位于星形网络中间位置, 终端单倍型通过突变连接。根据祖先单倍型通常分布范围较广, 同时位于网络图的种间位置这一特征, 我们推测单倍型 H16 和 H23 可能为祖先单倍型, 其余常见单倍型, 例如 H3 和 H8 等通过突变与祖先单倍型相连, 这些单倍型虽有终端单倍型连接, 这些单倍型在进化过程中可能最近突变形成的。

中性检验结果显示 (表 5), 当把 7 个田间种群作为混合种群进行分析时 Fu and Li's F^* 、Fu and Li's D^* 、Fu's F_s 和 Tajima's D 均为负值。当单独分析田间种群时, 除个别值以外, 以上几值均为负值, 因此推测混合和大部分田间种群近期可能经历了种群扩张。宁夏室内饲养种群经过农药筛选, 以上几个值均为正值, 表明宁夏室内种群可能经历了瓶颈效应。

3 讨论

本研究表明宁夏银川和内蒙古巴彦淖尔棉

表 3 棉铃虫种群遗传多样性参数
Table 3 The genetic diversity indices of *Helicoverpa armigera*

种群 Population	样本数量 Number of individuals	单倍型数量 Number of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity (H_d)	核苷酸多态性 Nucleotide diversity (P_1)
混合种群 All studied populations	162	23	0.766 ± 0.023	0.002 1
YC	9	5	0.833 ± 0.098	0.002 7
BY	28	9	0.812 ± 0.052	0.002 5
ZK	21	8	0.848 ± 0.047	0.002 7
HLD	25	7	0.740 ± 0.067	0.001 7
LF	19	10	0.860 ± 0.070	0.002 6
DZ	20	7	0.726 ± 0.092	0.001 8
YY	16	8	0.833 ± 0.070	0.001 8
YCI	24	2	0.391 ± 0.091	0.001 0

表 4 棉铃虫种群间遗传分化
Table 4 Genetic differentiation (F_{ST} value) among populations of *Helicoverpa armigera*

种群 Population	YC	BY	ZK	YY	HLD	LF	DZ
BY	- 0.041						
ZK	- 0.054	- 0.016					
YY	0.029	0.036	0.062				
HLD	- 0.003	- 0.004	0.000	0.076			
LF	0.012	0.032	0.048	- 0.041	0.075		
DZ	0.014	0.026	0.052	- 0.040	0.065	- 0.034	
YCI	0.122*	0.026	0.057	0.199*	0.000	0.168*	0.172*

*表示 $P < 0.05$ 。 * indicates $P < 0.05$.

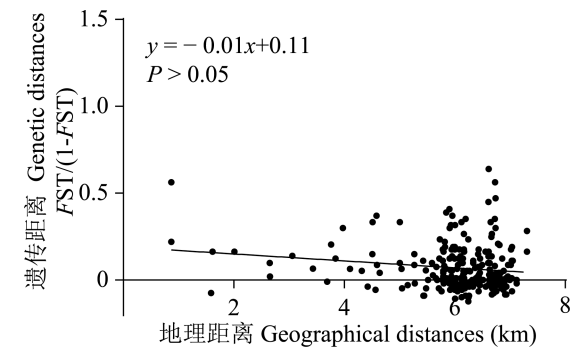


图 2 种群间遗传距离 ($F_{ST}/1-F_{ST}$) 与地理距离 (km) 的相关性

Fig. 2 Correlation between genetic distances ($F_{ST}/1-F_{ST}$) and geographical distances (km) among populations

铃虫种群与河南、河北和辽宁等研究种群遗传多样性 (H_d 和 P_1) 基本一致。线粒体单倍型在各种种群中的分布也表明各种种群间存在共有单倍型, 没有特定地域分布。宁夏与内蒙古种群与其他地

理种群遗传分化 (F_{ST}) 不显著。遗传距离与地理距离之间没有显著相关性, 地理距离并不会导致种群间出现遗传分化。以上分析均表明宁夏银川、内蒙古巴彦淖尔种群与其他种群间遗传差异不显著, 遗传组成具有同质性。

本研究中棉铃虫各种种群间遗传分化小、遗传组成具同质性, 可能主要与棉铃虫的兼性迁飞习性有关 (吴孔明和郭予元, 2007)。棉铃虫成虫可在不同地区间进行频繁的迁飞扩散, 从而使不同地区棉铃虫基因交流广泛、遗传分化较低。吉亚杰 (2003) 分析我国大范围的棉铃虫种群遗传结构也表明我国东部季风区的北部特早熟棉区 (山西文水、辽宁北票、辽宁辽阳、辽宁朝阳和辽宁喀左)、黄河流域棉区 (河北丘县、河北辛集、河北冀州、安徽颍上、江苏通州、陕西华县、山西永济、河南孟州、河南修武、河南新乡、河

表 5 棉铃虫中性测验分析参数
Table 5 The neutrality test indices of *Helicoverpa armigera* populations

种群Population	Tajima's D test	Fu and Li's D*	Fu and Li's F*	Fu's Fs test
混合种群All studied populations	- 1.690 8	- 2.186 6	- 2.391 9 *	- 17.777***
YC	- 0.142 5	0.044 7	0	- 1.113
BY	- 1.150 3	- 0.704 5	- 0.981 3	- 3.138 *
ZK	- 0.951 7	- 1.244 3	- 1.344 7	- 2.450
HLD	- 0.832 6	0.486 5	0.118 8	- 2.581*
LF	- 1.458 8	- 1.392 1	- 1.632 3	- 5.747**
DZ	- 1.004 9	- 0.855 6	- 1.036 7	- 3.005*
YY	- 1.505 3	- 2.196 2	- 2.305 5	- 4.910**
YCI	0.776 3	0.622 7	0.762 1	1.060

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

南博爱、山东夏津和山东肥城)和长江流域棉区(河南方成、湖北宜城和湖北荆州)间的各地区种群没有显著差异,存在广泛基因流。陈佳(2010)也表明棉铃虫在全国范围内复杂的迁飞模式导致我国棉铃虫种群间的遗传分化较小,可将我国棉铃虫种群分为三组:西北种群(新疆、甘肃两地种群)、东部大陆种群(辽宁、河北、天津、山西、山东、河南、安徽、江苏、湖北、湖南、浙江、四川、广西等地种群)和海南种群,但遗传结构非常弱,种群间基因交流十分频繁。石仕福(2009)基于微卫星分子标记研究也表明棉铃虫不同种群(河北、山东、南京以及新疆)之间存在较强的基因流。澳大利亚、印度、以色列和土耳其等国家内部棉铃虫种群遗传分化也极低,表现出广泛的基因交流(Zhou *et al.*, 2000; Endersby *et al.*, 2007; Weeks *et al.*, 2010; Behere *et al.*, 2013; Leite *et al.* 2014),与本研究棉铃虫各种群间的低遗传分化一致。本研究棉铃虫种群中性测验参数为负值、单倍型网络为星形结构表明棉铃虫可能存在种群扩张历史,种群扩张历史进而导致了棉铃虫各种群间的基因流。

已有研究表明,华北地区1代棉铃虫成虫大部分向东北地区迁飞,少部分向河北北部-内蒙古南部交界区域迁飞(Feng *et al.*, 2004);2代成虫主要向东北地区迁飞(Feng *et al.*, 2005)。这为内蒙古巴彦淖尔种群与华北、东北种群高度同质,提供了直接证据。宁夏与内蒙古、华北地区春季作物主要为小麦,夏季作物主要为玉米等,类似的作物种类组成为跨区迁飞提供了的食

物资源基础。而夏季东南风(海陆风)的偶尔出现,也为华北棉铃虫种群向西部地区迁飞提供了可能(Feng *et al.*, 2004)。与往年一样,去年棉铃虫在宁夏发生很轻,但今年突然严重发生。这意味着虫源大量迁入将可能是今年宁夏棉铃虫种群数量剧增的主要原因。下一步,应加强宁夏、内蒙古地区棉铃虫迁入种群动态监测,同时开展抗药性监测、花粉鉴定、同位素分析等研究,为棉铃虫入迁规律研究以及迁飞路径分析提供科学证据(吴孔明和郭予元, 2007)。

尽管宁夏、内蒙古棉铃虫种群与中国其他种群并没有表现出显著的遗传结构,有些单倍型也具有地域性分布,在某些地方为私有单倍型。例如, H1 只在宁夏发现, H2, H22 只在内蒙古巴彦淖尔发现,这种现象可能主要是由于本研究采样数量较少导致,但也可能与棉铃虫的兼性迁飞习性、本土和迁飞种群的复杂组成有关。

致谢:感谢全国农技推广中心姜玉英研究员、刘杰,宁夏农业技术推广总站刘媛等,辽宁省植物保护站屈丽莉等,内蒙古自治区植保植检站赵素梅,巴彦淖尔市植保植检站孙宇,河南省农业科学院植物保护研究所黄建荣博士等在样品采集方面提供的帮助。

参考文献 (References)

- Bandelt HJ, Macaulay V, Richards M, 2000. Median networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16(1): 8–28.
- Behere GT, Tay WT, Russell DA, Kranthi KR, Batterham P, 2013.

- Population genetic structure of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as inferred from EPIC-PCR DNA markers. *PLoS ONE*, 8(1): e53448.
- Behura SK, 2006. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, 15(11): 3087–3113.
- Chen J, 2010. Lineage divergence of the cotton bollworm populations: a genetic study. Doctoral dissertation. Beijing: Chinese Academy of Sciences. [陈佳, 2010. 棉铃虫种群谱系分化的遗传学研究. 博士学位论文. 北京: 中国科学院.]
- Excoffier L, Foll M, Petit RJ, 2009. Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology Evolution & Systematics*, 40(1): 481–501.
- Excoffier L, Lischer HEL, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetic analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Feng HQ, 2003. Community aloft and radar observations of seasonal migration of insects in northern China. Doctoral dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [封洪强, 2003. 华北地区空中昆虫群落及昆虫季节性迁移的雷达观测. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Feng HQ, Wu X, Wu B, Wu KM, 2009. Seasonal migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) over the Bohai Sea. *Journal of Economic Entomology*, 102(1): 95–104.
- Feng HQ, Wu KM, Cheng DF, Guo YY, 2004. Northward migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and other moths in early summer observed with radar in northern China. *Journal of Economic Entomology*, 97(6): 1874–1883.
- Feng HQ, Wu KM, Ni YX, Cheng DF, Guo YY, 2005. Return migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) during autumn in northern China. *Bulletin of Entomological Research*, 95(4): 361–370.
- Fu, YX, LI WH, 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133(3): 693–709.
- Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH, 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data. *Fems Microbiology Letters*, 281(2): 215–220.
- Hurst GDD, Jiggins FM, 2005. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. *Proceedings Biological Sciences*, 272(1572): 1525–1534.
- Ji YJ, 2003. The genetic structure, population dynamics and interrelationship of the main geographical population of cotton bollworm in China are preliminarily studied. Doctoral dissertation. Beijing: Chinese Academy of Sciences. [吉亚杰, 2003. 我国棉铃虫主要地理种群的遗传结构、种群动态和相互关系的初步研究. 博士学位论文. 北京: 中国科学院.]
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG, 2007. Clustal W and clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948.
- Leite NA, Alvespereira A, Corrêa AS, Zucchi MI, Omoto C, 2014. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. *PLoS ONE*, 9(11): e113286.
- Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Xia B, Li P, Feng HQ, Wyckhuys KAG, Guo YY, 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China. *Science*, 328(5982): 1151–1153.
- Lu YH, Jiang YY, Liu J, Zeng J, Yang XM, Wu KM, 2018. Adjustment of cropping structure increases the risk of cotton bollworm outbreaks in China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(1): 19–24. [陆宴辉, 姜玉英, 刘杰, 曾娟, 杨现明, 吴孔明, 2018. 种植业结构调整增加棉铃虫灾变风险. 应用昆虫学报, 55(1): 19–24.]
- Shi SF, 2009. Study on genetic diversity and gene flow of cotton bollworm population. Master dissertation. Nanjing Agricultural University. [石仕福, 2009. 棉铃虫种群的遗传多样性与基因流研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Sun JT, Wang MM, Zhang YK, Chapuis MP, Jiang XY, Hu G, Yang XM, Ge C, Xue XF, Hong XY, 2015. Evidence for high dispersal ability and mito-nuclear discordance in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Scientific Reports*, 5: 8045.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Journal of Molecular Biological Progress*, 24(24): 1596–1599.
- Raymond M, Rousset F, 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3): 248–249.
- Rousset F, 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1): 103–106.
- Weeks AR, Endersby NM, Lange CL, Lowe A, Zalucki MP, Hoffmann AA, 2010. Genetic variation among *Helicoverpa armigera* populations as assessed by microsatellites: a cautionary tale about accurate allele scoring. *Bulletin of Entomological Research*, 100(4): 445–450.
- Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology*, 42: 587–609.
- Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10): 741–751.
- Wu KM, Guo YY, 2005. The evolution of cotton pest management practices in China. *Annual Review of Entomology*, 50: 31–52.
- Wu KM, Guo YY, 2007. Geotype differentiation and regional migratory regularity of *Helicoverpa armigera* in China. *Plant Protection*, 33(7): 6–11. [吴孔明, 郭予元, 2007. 棉铃虫种群的地理型分化和区域性迁飞规律. 植物保护, 33(7): 6–11.]
- Wu KM, Lu YH, Feng HQ, Jiang YY, Zhao JZ, 2008. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. *China Basic Science*, 321(5896): 1676–1678.
- Yang XM, Lou H, Sun JT, Zhu YM, Xue XF, Hong XY, 2015. Temporal genetic dynamics of an invasive species, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in an early phase of establishment. *Scientific Reports*, 5: 11877.
- Yang XM, Sun JT, Xue XF, Hong XY, 2012. Invasion genetics of the western flower thrips in China: evidence for genetic bottleneck, hybridization and bridgehead effect. *PLoS ONE*, 7(4): 165–166.
- Zhou WG, Rousset F, O'Neill SL, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 265(1395): 509–515.
- Zhou XF, Faktor O, Applebaum SW, Coll M, 2000. Population structure of the pestiferous moth *Helicoverpa armigera* in the Eastern Mediterranean using RAPD analysis. *Heredity*, 85(3): 251–256.