# 四川省二化螟不同地理种群遗传多态性的差异分析*

于文娟[1**] 陈 丹[1] 罗 涵[1] 姬红丽[1] 彭云良[1, 2***]

（1. 四川省农业科学院植物保护研究所，农业部西南作物有害生物综合治理重点实验室，成都 610066；
2. 中国水稻研究所，水稻生物学国家重点实验室，杭州 311401）

**摘 要** 【**目的**】为了解四川省二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 不同地理种群的遗传结构，分析各个种群间的亲缘关系，为区域治理对策提供新的依据。【**方法**】通过测定四川省 17 个市县二化螟样本的线粒体 COⅡ基因和核糖体 ITS 基因，利用 MEGA 软件分析二化螟不同地理种群的基因遗传多样性，以获取样本群体遗传多样性信息。【**结果**】对 114 条幼虫线粒体 COⅡ基因序列分析发现，在 500 bp 的区段中共有 147 个位点存在多态性，包含 33 个单倍型；川东地区和川西地区二化螟种群的单倍型多样度分别为 0.703 83 和 0.802 26；系统发育树显示，除眉山-1-1 种群之外，其他二化螟地理种群聚合为一个大分支。而对同批二化螟核糖体 ITS 基因序列分析结果表明，在 533 bp 的区段中存在 299 个位点多态性，有 92 个单倍型；川东地区和川西地区二化螟种群的单倍型多样度分别为 0.967 48 和 0.975 71；在系统发育树中，犍为种群聚合为一支，其余种群聚合为一支。【**结论**】川西地区二化螟线粒体 COⅡ基因和核糖体 ITS 基因多态性比川东地区样本丰富。地理种群之间的遗传分化与分布之间的相关性不大，这可能与种群本身差异相差不大相关。

**关键词** 二化螟；遗传多样性；COⅡ；ITS；地理种群

# Genetic diversity of geographical populations of *Chilo suppressalis* (Walker) in Sichuan province

YU Wen-Juan[1**] CHEN Dan[1] LUO Han[1] JI Hong-Li[1] PENG Yun-Liang[1, 2***]

(1. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, MOA Key Laboratory of Integrated Management of Pests on Crops in Southwest China, Chengdu 610066, China; 2. China National Rice Research Institute, National Key Laboratory of Rice Biology, Hangzhou 311401, China)

**Abstract** **[Objectives]** To investigate genetic diversity among geographic populations of *Chilo suppressalis* in Sichuan province and thereby provide information to improve the regional management of this pest. **[Methods]** The mitochondrial DNA (mtDNA) cytochrome oxidase subunit Ⅱ (COⅡ) and internal transcribed spacers (ITS) located in ribosomal DNA (rDNA) of 17 geographical Sichuan populations of *C. suppressalis* were sequenced and compared with MEGA. **[Results]** A 500 bp segment of the COⅡ gene among 114 mature larvae was sequenced and analyzed, and 147 variable sites and 33 haplotypes identified. The haplotype diversity of different populations ranged from 0.703 83 in eastern Sichuan to 0.802 26 in western Sichuan. Phylogenetic trees showed that all geographic populations except Meishan-1-1grouped in a single great clade. Sequencing of a 533 bp ITS segment identified 299 variable sites and 92 haplotypes. Haplotype diversity among the different populations ranged from 0.967 48 in eastern Sichuan to 0.975 71 in western Sichuan. Phylogenetic trees indicate that the

*资助项目 Supported projects：国家水稻产业技术体系专项经费（CARS-01-25）；四川省科技厅应用基础研究项目（2017JY0283）；四川省财政创新能力提升工程专项（2016GYSH-012）；四川省育种攻关项目（2016NYZ0053-32016NYZ0053-3）

**第一作者 First author，E-mail：ywj19830906@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：pengyunliang@aliyun.com

收稿日期 Received：2019-07-15；接受日期 Accepted：2019-12-19

Qianwei population groups in a single clade whereas all other geographic populations are in another clade. **[Conclusion]** Both COⅡ and ITS haplotype diversity indicate that *C. suppressalis* are more diverse in western Sichuan than other parts of the province. There is little correlation between genetic diversity and geographic distribution, which may reflect the fact that there was originally low divergence among populations.

**Key words**　*Chilo suppressalis* (Walker); genetic diversity; cytochrome C oxidase subunit Ⅱ; internal transcribed spacer; geographical population

二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker)属于鳞翅目 Lepidoptera，螟蛾科 Pyralidae，禾草螟属 *Chilo*，是我国水稻生产上主要的钻蛀性害虫之一。由于二化螟食性杂、寄主众多、分布广泛，其危害主要表现为发生世代多、虫口密度大、受害范围广、持续时间长、受害程度重、经济损失大等特点（盛承发等，2003；Tang *et al.*，2014）。二化螟在四川地区分布广泛且种群数量占绝对优势，严重影响水稻的产量和质量（陈晓娟等，2010）。为了了解四川地区二化螟地理种群的遗传多样性，有必要分析四川地区二化螟不同地理种群的遗传结构及分化，明确各个种群间的亲缘关系，探讨其内在的遗传因素、分化成因及预防机制。

研究二化螟地理种群遗传多样性，并探讨它们的遗传变异大小和亲缘关系，有利于了解二化螟不同地理种群的遗传分化趋势及分化特点；探讨二化螟种群分化成因及过程，预测二化螟发生发展动态，推断二化螟迁移扩散路径，为二化螟发生区域综合治理提供理论依据。阮雪莲（2006）通过RAPD技术对5个不同地理种群和不同寄主种群的二化螟类群三类酶进行分析，发现二化螟不同地理差异产生的遗传分化程度高于不同寄主产生的遗传分化。多项研究表明，种群遗传分化和地理位置有着密切的关系，我国二化螟南北地理种群间的差异就比较大（薛进等，2007；杨凤霞等，2010；李晴等，2014）。Meng 等（2008）把中国二化螟分为 3 个分支，并提出 3 个地区之间的遗传分化可能是迁徙-漂变平衡的结果。

本研究运用核糖体 COⅡ基因和线粒体 ITS 基因两种分子标记，通过 PCR 扩增获得四川省 17 个地区二化螟种群的核糖体和线粒体基因片段序列，并进行二化螟种群的遗传多样性分析。试图探明四川省二化螟不同地理种群的遗传组成特点及遗传变异大小和亲缘关系。

## 1　材料与方法

### 1.1　供试昆虫

试验于 2017 年 5-6 月，分别在四川省各地区采集水稻植株中的二化螟高龄幼虫，采集地遍及川东（射洪、南部、顾县、渠县、威远、安岳、泸县）和川西（新津、眉山、雅安、邛崃、乐山、犍为、江油）共 2 个片区 17 个市县水稻田（表 1）。将采集到二化螟浸泡于 75%的酒精中，以备用。以杭州富阳二化螟基因为外地对照种群。玉米螟 *Pyrausta nubilalis* (Hübern) 为外源对照基因，由四川省农业科学院植物保护研究所玉米课题组提供。

### 1.2　试验方法

**1.2.1　DNA 的提取**　对采集到的四川省 17 个地区的二化螟高龄幼虫进行单头 DNA 提取，每个地理种群随机抽取 6 头样本，每头二化螟基因组 DNA 的提取参照动物基因组 DNA 提取试剂盒 *Trelief*™Animal Genomic DNA Kit 操作说明进行。提取的基因组 DNA 的浓度和质量（$A_{260}/A_{280}$）分别采用琼脂糖凝胶电泳与分光光度计检测后，-20 ℃冰箱内保存备用。

**1.2.2　PCR 扩增**　二化螟线粒体 DNA COⅡ基因片段 PCR 扩增引物参照 Simon 等（1994）的通用引物：上游引物 mt-COⅡ-F:5′-ACGGCC-TCTCCTTTAATAGAACA-3′，下游引物 mt-COⅡ-R: 5′-CCACAAATTTCTGAACATTGACC-3′。PCR 扩增体系为 30 μL：2 × Taq PCR MasterMix 15 μL，每个地理种群单头二化螟基因组 DNA 模版 2 μL（同一地理种群的 6 头二化螟样本同一批次进行 PCR 扩增），上下游引物（10 mmol·$L^{-1}$）各 1 μL，

**表 1 四川省不同地理区域二化螟采集分布地**

**Table 1 Distribution of different geographic populations of *Chilo suppressalis* collected across the major distributing regions in Sichuan province**

| 采集地点 Sampling site | 种群名称 Population name | 经度 Longitude | 纬度 Latitude | 海拔（m） Altitude |
|---|---|---|---|---|
| 川东地区 Eastern of Sichuan province | | | | |
| 达州市渠县 Qu country, Dazhou city | Quxian | 107°02′58″ | 30°45′50″ | 580 |
| 广安市岳池县 Yuechi country, Guang'an city | Guxin | 106°28′09″ | 30°45′50″ | 390 |
| 遂宁市射洪县 Shehong country, Suining city | Shehong | 105°25′38″ | 30°45′50″ | 320 |
| 南充市南部县 Nanbu country, Nanchong city | Nanbu | 105°57′45″ | 30°45′50″ | 360 |
| 内江市威远县 Weiyuan country, Neijiang city | Weiyuan | 104°39′12″ | 30°45′50″ | 310 |
| 资阳市安岳县 Anyue country, Ziyang city | Anyue | 105°21′35″ | 30°45′50″ | 280 |
| 泸州市泸县 Lu country, Luzhou city | Luxian | 105°21′35″ | 30°45′50″ | 580 |
| 川西地区 Western of Sichuan province | | | | |
| 邛崃市临邛镇 Linqiong country, Qionglai city | Qionglai-1 | 103°30′54″ | 30°24′23″ | 510 |
| 邛崃市牟礼镇 Muli country, Qionglai city | Qionglai-2 | 103°40′11″ | 30°12′22″ | 560 |
| 乐山市车子镇 Chezi country, Leshan city | Leshan | 103°45′11″ | 29°31′90″ | 340 |
| 乐山市犍为县 Qianwei country Leshan city | Qianwei | 103°56′59″ | 29°10′55″ | 320 |
| 雅安市雨城区 Yucheng district, Ya'an city | Yaan-2 | 103°07′43″ | 29°59′16″ | 560 |
| 雅安市名山区 Mingshan district, Ya'an city | Yaan-1 | 103°12′27″ | 30°07′08″ | 570 |
| 眉山市东坡区 Dongpo district, Meishan city | Meishan-1 | 103°43′45″ | 30°09′43″ | 570 |
| 眉山市彭山区 Pengshan district, Meishan city | Meishan-2 | 103°52′11″ | 30°18′57″ | 510 |
| 江油市武都镇 Wudu country, Jiangyou city | Jiangyou | 104°48′09″ | 31°52′20″ | 569 |
| 新津市花源镇 Huayuan country, Xinjin city | Xinjin | 103°52′53″ | 30°29′15″ | 580 |
| 其它地区及品种 The other geographical population and variety | | | | |
| 浙江市富阳市 Fuyang city, Zhejiang province | Hangzhou | 119°55′55″ | 30°44′50″ | 12 |
| 玉米螟 *Pyrausta nubilalis* (Hubern) | Yumiming | 104°48′09″ | 31°52′20″ | 569 |

$ddH_2O$ 11 μL。扩增反应程序为：94 ℃预变性 3 min；94 ℃变性 1 min，55 ℃退火 90 s，72 ℃延伸 2 min，共 35 个循环；72 ℃延伸 10 min。取 5 μL PCR 产物于 1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测，确定扩增成功的 PCR 产物送擎科生物技术有限公司进行测序。

核糖体 ITS 引物参照杨凤霞等（2010）的引物序列，上游引物 r-COⅡ-F: 5′-TCGACATT-TCGAACGCACATTCCGG-3′，下游引物 r-COⅡ-R: 5′-TGAAA AGACGCGATATCCGTCAGC-3′。PCR 扩增体系为 30 μL：2 × Taq PCR MasterMix 15 μL，每个地理种群单头二化螟基因组 DNA 模版 2 μL（同一地理种群的 6 头二化螟样本同一批次进行 PCR 扩增），上下游引物（10 mmol·$L^{-1}$）各 1 μL，$ddH_2O$ 11 μL。扩增反应程序为：94 ℃预变性 3 min；94 ℃变性 1 min，60 ℃退火 90 s，72 ℃延伸 2 min，共 35 个循环；72 ℃延伸 10 min。取 5 μL PCR 产物于 1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测，确定扩增成功的 PCR 产物送擎科生物技术有限公司进行测序。

### 1.3　数据分析

获得测序结果以后,用 DNASTAR 软件包中的 SeqMan 软件对 PCR 产物双向测序结果进行拼接、整理、校对、去除引物和低质量序列后，得到各地理种群二化螟基因的 DNA 全长序列；使用 ClustalX2 进行多序列比对，确定存在多态的位点（Larkin *et al.*，2007）；再利用 MEGA 软件分别将各地区测序得到的线粒体 COⅡ序列和核糖体 ITS 序列进行基因多态性统计,主要包括单倍型数量、分离位点数量、基因单倍型多样度、基因核苷酸多态性及 NJ 聚类分析，获得核酸序列聚类图。

## 2　结果与分析

### 2.1　四川地区不同地理种群二化螟线粒体 mt COⅡ基因序列的差异及系统发育分析

对采集到的四川不同地区 17 个二化螟种群样本、浙江富阳二化螟样本及外源对照样本玉米螟种群进行线粒体 mt COⅡ序列测定，共得到 114 个测序结果。测序结果分析发现，在四川地区二化螟线粒体 mt COⅡ基因扩增总长度为 500 bp 的片段中共发现 147 个多态位点。进行单倍型分析发现，共确定 33 个单倍型：mt COⅡ 01- mt COⅡ 33，其中，mt COⅡ 07 为优势单倍型（49 条基因序列），ITS 08（11 条基因序列）次之（图 1）。其中川东地区样本的 mt COⅡ测序基因数量 42 条，单倍型数量为 11，分离位点数量为 78，单倍型多样度（Hd）为 0.703 83，核苷酸多态性（pi）为 0.011 03。川西地区样本的 mt COⅡ测序基因数量 60 条，单倍型数量为 22，分离位点数量为 127，单倍型多样度（Hd）为 0.802 26，核苷酸多态性（pi）为 0.049 43。外省样本浙江杭州富阳地区样本的 mt COⅡ测序基因数量 6 条，单倍型数量为 5，分离位点数量为 7，单倍型多样度（Hd）为 0.933 33，核苷酸多态性（pi）为 0.005 96（表 2）。单倍型多样性，核苷酸多态性与单倍型分析结果都表明,川西地区的二化螟线粒体 mt COⅡ基因存在更丰富的多态。

引入玉米螟线粒体 mt COⅡ基因序列作为外源对照，采用 MEGA 软件构建了四川省不同地理种群二化螟线粒体 mt COⅡ基因的系统发育树，并用 Bootstrap 方法进行校验。结果显示，不同地理种群的二化螟聚为一个大的分支,与外源对照群体玉米螟分开。其中眉山东城（1 条序列）聚为一支；犍为（6 条序列），新津（2 条序列），眉山彭山（2 条序列）和泸县（1 条序列）种群聚为一支；其余种群聚为一支（图 2）。说明各地理种群之间没有明显的遗传分化。

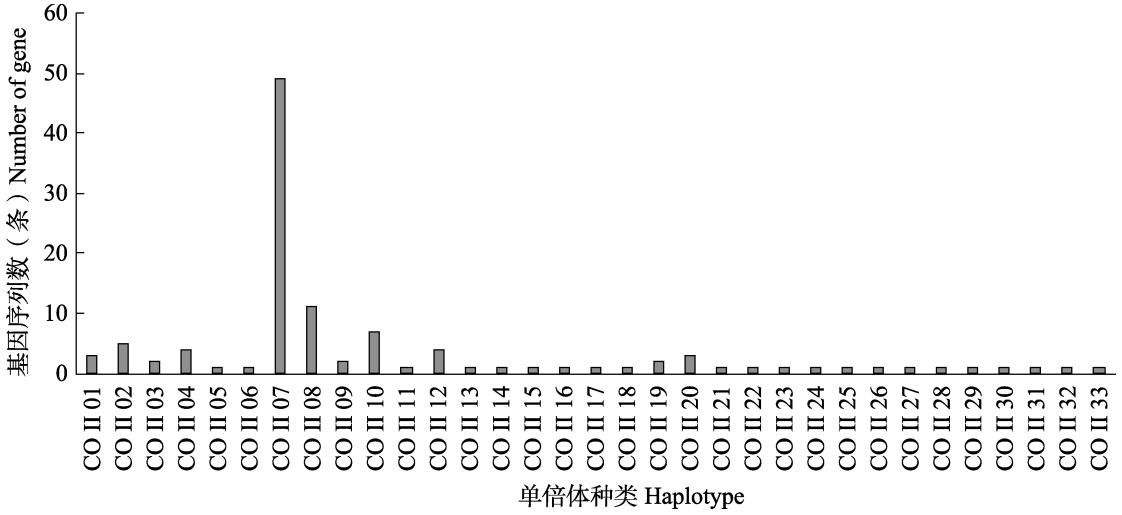


**图 1　四川地区二化螟线粒体 mt COⅡ单倍型种类及分布**

**Fig. 1　Types and distribution of mitochondria mt COⅡ haplotype of *Chilo suppressalis* in Sichuan province**

**表 2　四川地区二化螟种群的遗传多样性统计-线粒体 COⅡ**

**Table 2　Genetics diversity statistics of population of *Chilo suppressalis*- mitochondria mt COⅡin Sichuan province**

| 采集地区 Sampling locality | mt COⅡ测序数量 Number of mt COⅡ sequencing | 单倍型数量 Number of haplotype | 分离位点数量 Number of segregating sites | 线粒体 COⅡ基因 mt COⅡ gene | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 单倍体多样度（Hd） Haplotype diversity | 核苷酸多态性（pi） Nucleotide diversity |
| 川东地区 The eastern of Sichuan province | 42 | 11 | 78 | 0.703 83 | 0.011 03 |
| 川西地区 The western of Sichuan province | 60 | 22 | 127 | 0.802 26 | 0.049 49 |
| 浙江富阳市 Fuyang city, Zhejiang province | 6 | 5 | 7 | 0.933 33 | 0.005 96 |
| 玉米螟 *Pyrausta nubilalis* | 6 | 2 | 1 | 0.333 33 | 0.000 68 |

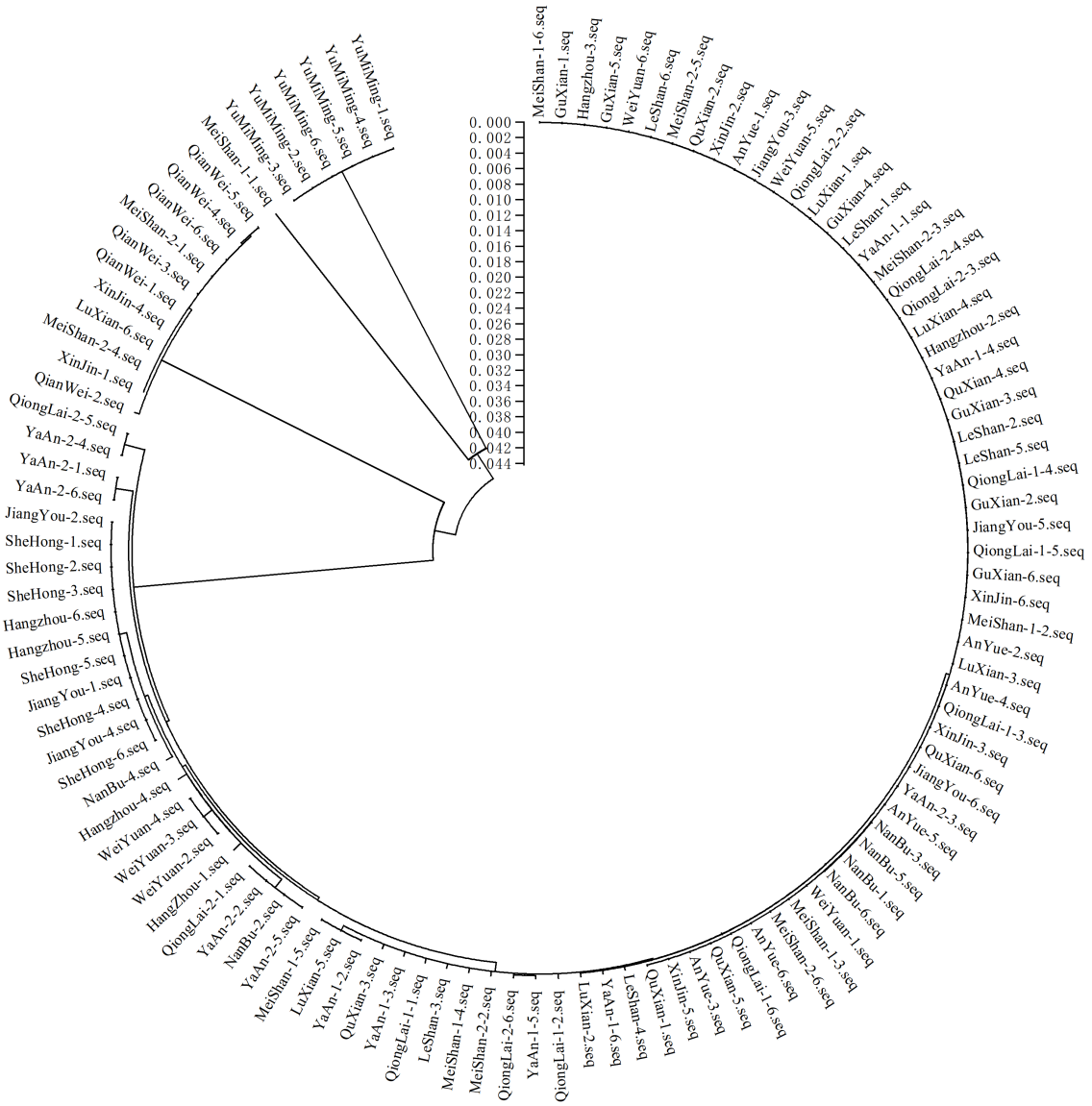


**图 2　基于线粒体 mt COⅡ基因序列构建的四川省二化螟不同地理种群的分子系统发育树**

**Fig. 2　Molecular phylogenetic tree of *Chilo suppressalis* of different geographical populations in Sichuan province based on mitochondria mt COⅡ sequences**

### 2.2　四川地区不同地理种群二化螟核糖体 ITS 基因序列的差异及系统发育分析

对采集到的四川不同地区 17 个二化螟种群样本、浙江富阳二化螟样本及外源对照样本玉米螟种群进行核糖体 ITS 序列测定，共得到 114 个测序结果。测序结果分析发现，在四川地区二化螟核糖体 ITS 基因扩增总长度为 533 bp 的片段中共发现 299 个多态位点。进行单倍型分析发现，共确定 92 个单倍型，其中，ITS 20 为优势单倍型（18 条基因序列），ITS 17（6 条基因序列）次之，其余单倍型均只有一个基因序列。其中川东地区样本的 ITS 测序基因数量 42 条，单倍型数量为 35，分离位点数量为 230，单倍型多样度（Hd）为 0.967 48，核苷酸多态性（pi）为 0.164 06。川西地区样本的 ITS 测序基因数量 60 条，单倍型数量为 48，分离位点数量为 263，单倍型多样度（Hd）为 0.975 71，核苷酸多态性（pi）为 0.179 95。外省样本浙江杭州富阳地区样本的 ITS 测序基因数量 6 条，单倍型数量为 5，分离位点数量为 68，单倍型多样度（Hd）为 0.933 33，核苷酸多态性（pi）为 0.075 43（表 3）。单倍型多样性，核苷酸多态性与单倍型分析结果都表明，川西地区的二化螟核糖体 ITS 基因存在更丰富的多态。

引入玉米螟核糖体 ITS 基因序列作为外源对照，采用 MEGA 软件构建了四川省不同地理种群二化螟核糖体 ITS 基因的系统发育树，并用 Bootstrap 方法进行校验。结果显示，不同地理种群的二化螟聚为一个大的分支，与外源对照群体玉米螟分开。其中犍为（6 条序列）种群聚为一支；其余种群聚为一支（图 3）。说明犍为种群与其他种群相距最远，单独组成一支，其他地理种群之间没有明显的遗传分化。

## 3　讨论

在昆虫系统进化研究中的应用最为广泛的线粒体细胞色素氧化酶亚基Ⅱ基因（Cytochrome coxidase subuniti Ⅱ，COⅡ）（Brower *et al.*，1996），与其他线粒体蛋白质编码基因相比，COⅡ基因具有进化速率较快，序列保守等特点；在昆虫分子系统中常被用来重建各个类群的系统发育关系，研究亲缘关系较近的种、亚种及地理种群间的系统发育关系（Liu and Beckenbach，1992；Cerbab *et al.*，1998；王备新和杨莲芳，2002；卜云和郑哲民，2005）。而核糖体 ITS 序列常被应用于研究复合重、近缘种或种下分类阶元的系统发育（Paskewitz *et al.*，1993；Fritz *et al.*，1994）。本研究选取线粒体 COⅡ和核糖体 ITS 的基因序列作为研究对象，分析四川省不同地理种群二化螟的遗传特性。

本研究对四川地区 17 个不同地理种群二化螟线粒体 COⅡ和核糖体 ITS 基因测序分析分别得到 147 和 299 个多态性位点，因此这两个基因适合进行二化螟种群多样性分析。基于线粒体 COⅡ和核糖体 ITS 基因的序列分析，初步探讨四川省二化螟 17 个地理种群的遗传关系。2 种方法得出的结果略有差异，说明四川地区这 17 个二化螟地理种群间存在一定程度的遗传分化，

**表 3　四川地区二化螟种群的遗传多样性统计-核糖体 ITS**

**Table 3　Genetics diversity statistics of population of *Chilo suppressalis*-ribosome ITS in Sichuan province**

| 采集地区 Sampling locality | ITS 测序数量 Number of ITS sequencing | 单倍型数量 Number of haplotype | 分离位点数量 Number of segregating sites | 核糖体 ITS 基因 ITS gene | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 单倍体多样度（Hd） Haplotype diversity | 核苷酸多态性（pi） Nucleotide diversity |
| 川东地区 The eastern of Sichuan province | 42 | 35 | 230 | 0.967 48 | 0.164 06 |
| 川西地区 The western of Sichuan province | 60 | 48 | 263 | 0.975 71 | 0.179 95 |
| 浙江富阳地区 Fuyang Zhejiang province | 6 | 5 | 68 | 0.933 33 | 0.075 43 |
| 玉米螟 *Pyrausta nubilalis* | 6 | 6 | 45 | 1.000 00 | 0.060 38 |

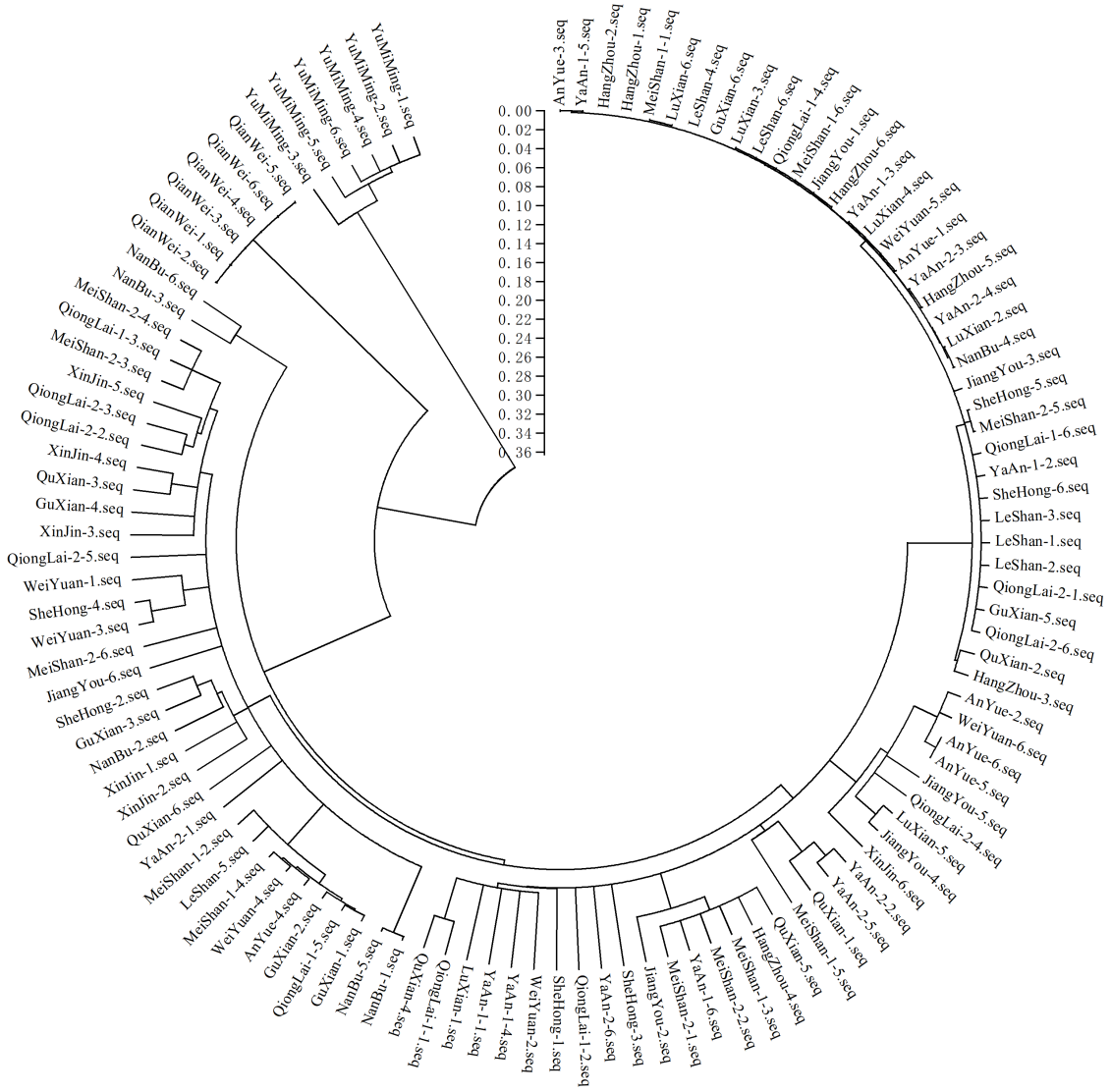


**图 3　基于核糖体 ITS 基因序列构建的四川省二化螟不同地理种群的分子系统发育树**

**Fig. 3　Molecular phylogenetic tree of *Chilo suppressalis* of different geographical populations in Sichuan province based on ribosome ITS sequences**

有些种群已产生较大的分化，如犍为地理种群。在线粒体 COⅡ系统发育树中可以看出，犍为地理种群的全部基因序列与其他种群的个别几个序列聚合为一个分支。在核糖体 ITS 系统发育树中，犍为地理种群的全部基因序列单独聚合为一个分支。这可能是 COⅡ和 ITS 的进化速率不同造成的，COⅡ基因具有母系遗传特性，基因重组率低，很少存在插入和缺失，有相对较快的进化速率（Hebert *et al.*，2003；Dickey *et al.*，2015；Tyagi *et al.*，2017）。其它地理种群之间的遗传分化与分布之间的相关性不大，这可能是由于它们在世代发生代数等方面相似而导致的种群本身差异相差不大。

## 4　小结

要深入了解四川省不同地理种群二化螟之间的内在联系及遗传特性需要在今后的试验中增加四川省地理种群的采集点及地理种群的数量，尤其是加大对四川北部和西北部的二化螟种群采集，这将为更好的阐明四川地区二化螟种群之间的亲缘关系和长期的地理隔离之间的关系提供依据。

## 参考文献 (References)


Brower AVZ, Desalle R, Vogler A, 1996. Gene trees, species trees, and systematics: A cladistic perspective. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 27(1): 423–450.

Bu Y, Zheng ZM, 2005. Roles and status of cytochrome oxidase Ⅱ gene in the research of insect molecular systematics. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(1): 18–22. [卜云, 郑哲民, 2005. COⅡ基因在昆虫分子系统学研究中的作用和地位. 昆虫知识, 42(1): 18–22.]

Cerbab M, Souza-chies T, Jubier MF, Lejeune B, Siljak-Yakovlev S, 1998. Molecular phylogeny of the genes hypochaeris using internal transcribed spacers of nuclear rDNA: Inference for chromosomal evolution. *Molecular Biology Evolution*, 15(3): 345–354.

Chen XJ, He SL, Xia Q, 2010. Study on hibernation of rice stem borers in Sichuan province. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 23(1): 83–86. [陈晓娟, 何树林, 夏琼, 2010. 四川省水稻螟虫的越冬研究. 西南农业学报, 23(1): 83–86. ]

Dickey AM, Kumar V, Hoddle MS, Funderburk JE, Morgan JK, Jara-Cavieres A, Shatters GJ, Osborne LS, Mckenzie CL, 2015. The *Scirtothrips dorsalis* species complex: Endemism and invasion in a global pest. *PLoS ONE*, 10(4): e0123747.

Fritz GN, Conn J, Cockburn A, Seawright J, 1994. Sequence analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer 2 from a population of *Anopheles nuneztovari* (Diptera: Culicidae). *Molecular Biology Evolution*, 11(3): 406–416.

Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 270 (1512): 313–321.

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, 2007. Clustal W and clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948.

Li Q, Liang YY, Li JL, Cheng ZX, Xiong HB, Liu YF, Gui FY, Ma W, 2014. Genetic diversity of *Chilo suppressalis* (Walker) as determined by partial COI gene sequencing and DGGE. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(5): 1237–1245. [李晴, 梁玉勇, 历建蕾, 程正新, 熊焕保, 刘雨芳, 桂芳艳, 马伟, 2014. 基于 COI 基因的二化螟种群遗传多样性检测方法. 应用昆虫学报, 51(5): 1237–1245.]

Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidaseⅡgene among 10 orders of insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1(1): 41–52.

Meng XF, Shi M, Chen XX, 2008. Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae): Strong subdivision in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences. *Molecular Ecology*, 17(12): 2880–2897.

Paskewitz SM, Wesson DM, Collins FH, 1993. The internal transcribed spacers of ribosomal DNA in five members of the *Anopheles gambiae* species complex. *Insect Molecular Biology*, 2(4): 247–257.

Ruan XL, 2006. The study on the relationships and RAPD of *Chilo suppressalis* (Walker) from different population. Master dissertation. Wuhan: Hua Zhong Agricultural University. [阮雪莲, 2006. 二化螟不同类群之间的关系及其 RAPD 的研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequence and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6): 651–701.

Sheng CF, Wang HT, Sheng SY, Gao LD, Xuan WJ, 2003. Pest status and loss assessment of crop damage caused by the rice borers, *Chilo suppressalis* and *Tryporyza incertulas* in China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 40(4): 289–294. [盛承发, 王红托, 盛世余, 高留德, 宣维健, 2003. 中国稻螟灾害的现状及损失估计. 昆虫知识, 40(4): 289–294.]

Tang H, Li JM, Wu JQ, Gao HQ, Zhang SG, 2014. Development characteristics and controlling countermeasures of rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *Agricultural Science and Technology*, 15(5): 843–845, 849.

Tyagi K, Kumar V, Singha D, Chandra K, Laskar BA, Kundu S, Chakraborty R, Chatterjee S, 2017. DNA barcoding studies on thrips in India: Cryptic species and species complexes. *Science Report*, 7(1): 4898.

Wang BX, Yang LF, 2002. Phylogenetic utilities of mitochondrial DNA sequences in the study of insect systematics. *Chinese Bulletin of Entomology*, 39(2): 88–92. [王备新, 杨莲芳, 2002. 线粒体 DNA 序列特点与昆虫系统学研究. 昆虫知识, 39(2): 88–92.]

Xue J, Su JW, Lei JW, Chen QF, 2007. Genetic diversity among five geographical populations of *Chilo suppressalis* based on RAPD. *Journal of Hunan Agricultural University*, 33(2): 160–163. [薛进, 苏建伟, 黎家文, 陈秋芳, 2007. 中国水稻二化螟 5 个地理种群遗传差异的 RAPD 分析. 湖南农业大学学报(自然科学版), 33(2): 160–163.]

Yang FX, Xie L, Wang HL, Fang JC, 2010. Genetic differences among different geographical populations of *Chilo suppressalis* in China. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 26(3): 493–498. [杨凤霞, 谢霖, 王利华, 方继超, 2010. 二化螟不同地理种群遗传差异分析. 江苏农业学报, 26(3): 493–498.]