基于 DNA 条形码技术的外来蚂蚁物种鉴定研究*

肖 萌[1,2**] 邓可音[2] 高瑞芳[2] 王砾阳[3] 向才玉[2] 汪 莹[2]
郑铭森[2] 张伟锋[2,4] 张海燕[1***] 余道坚[2***]

（1. 黑龙江八一农垦大学农学院，大庆 163319；2. 深圳海关动植物检验检疫技术中心，深圳 518045；
3. 中山大学生命科学学院，广州 510275；4. 广东鹏海司法鉴定所，深圳 518045）

摘 要 **【目的】** 实现外来蚂蚁（通过人为传播由口岸进境）的快速精准检测。**【方法】** 通过一代测序技术获得来自 3 个亚科、16 个属、18 个种的外来蚂蚁线粒体 *CO Ⅰ*序列，并以意大利蜂 *Apis mellifera* 的 2 条同源序列作为外群。通过构建最大似然法（Maximum likelihood methods，ML）系统发育树、ABGD（Automatic barcode gap discovery）分析和遗传距离分析，对序列处理后同形态学鉴定结果比较。**【结果】** ML 系统发育树显示，18 种蚂蚁分布在三大分支上，在种级水平，同一种不同个体的蚂蚁聚为一支，可明显区分。在属级水平上，臭蚁属 *Dolichoderus*，捷蚁属 *Anoplolepis* 和弓背蚁属 *Camponotus* 等 16 个属可以很好的区分开。ABGD 分析表明，18 种蚂蚁可明显区分，与形态学鉴定分类结果一致。遗传距离分析表明，18 种蚂蚁基于 *CO Ⅰ*基因的种间遗传距离高于种内遗传距离， 线粒体 *CO Ⅰ*基因满足对物种鉴定的要求。**【结论】** 在形态学鉴定的基础上，结合线粒体 *CO Ⅰ*基因的 DNA 条形码技术可以实现 18 种外来蚂蚁物种的准确鉴定。

关键词 DNA 条形码；蚁科；线粒体 *CO Ⅰ*；系统发育分析；ABGD 分析；遗传距离

Using DNA barcoding technology to identify of exotic ant species

XIAO Meng[1,2**] DENG Ke-Yin[2] GAO Rui-Fang[2] WANG Li-Yang[3] XIANG Cai-Yu[2]
WANG Ying[2] ZHENG Ming-Sen[2] ZHANG Wei-Feng[2,4] ZHANG Hai-Yan[1***] YU Dao-Jian[2***]

(1. College of Agriculture , Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Animal & Plant Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs, Shenzhen 518045, China; 3. College of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 4. Guangdong Penghai Forensic Science Institute, Shenzhen 518045, China)

Abstract **[Aim]** To increase the speed and accuracy of detection of exotic ants at ports of entry. **[Methods]** Mitochondrial *CO Ⅰ* sequences of exotic ants from 3 subfamilies, 16 genera and 18 species were obtained using a first-generation sequencing technique. Two homologous *Apis cerana* sequences served as outgroups. Sequence variation between species was compared to morphological differences using an ML phylogenetic tree, ABGD analysis, and genetic distance analysis. **[Results]** A ML phylogenetic tree classified 18 species of ants on three branches. At the species level, individual ants of the same species were grouped into a single, clearly distinguishable, clade. At the generic level, 16 genera, such as *Dolichoderus*, *Anoplolepis* and *Camponotus*, could also be clearly distinguished. ABGD analysis also clearly distinguished 18 species. The results obtained using molecular methods were consistent with those obtained using morphological classification. Genetic distance analysis indicates that interspecific genetic distances exceeded the intraspecific genetic distances for all 18 species. **[Conclusion]** DNA barcoding technology using mitochondrial *CO Ⅰ* gene variation correctly identified 18 exotic ant species described on the basis of morphological differences.

Key words DNA barcoding; Formicidae; mitochondrial *CO Ⅰ*; phylogenetic analysis; ABGD analysis; genetic distance

---

*资助项目 Supported project：深圳市科技计划项目（KCXFZ20230731093259009）
**第一作者 First author，E-mail：x941088465@sina.com
***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：zhanghy51@126.com；yudaojian@custom.gov.cn
收稿日期 Received：2024-08-07；接受日期 Accepted：2024-12-30

蚂蚁是膜翅目 Hymenoptera 细腰亚目 Apocrita 蚁总科 Formicoidea 蚁科 Formicidae 昆虫的总称，是地球上分布最广泛、种类和数量最多的社会性昆虫。全球共记录蚂蚁 16 亚科 342 属 14 215 种（Bolton, 2024）。蚂蚁在自然界中扮演着促进生态循环、维持生物群落平衡及协助植物生长发育的重要角色。但另一方面，像红火蚁 *Solenopsis invicta* 等外来入侵蚂蚁会扰乱生态平衡、破坏土壤、影响农作物生长、对人类健康构成威胁，并带来经济损失。

随着人员流动、国际贸易和跨境电商的迅猛发展，外来物种通过携带、邮寄、夹藏等方式传播进入我国的风险巨大（Hulme, 2009）。例如红火蚁 *S. invicta*，这一源自南美洲的极具破坏力的入侵物种，已在我国多地定殖并迅速扩散，对人畜和农林业生产造成极大危害。它们啃食农作物根系、果实，导致减产甚至绝收；攻击家畜，影响畜牧业；破坏农田水利设施，严重影响农林业生产和生态安全。同时，红火蚁叮咬可引起剧烈疼痛和过敏反应，危及人类安全（Wang *et al*., 2018）。小火蚁 *Wasmannia auropunctata* 也是近年来我国植物检疫工作中十分关注的一种入侵害虫。2022 年 5 月，我国首次报道了小火蚁野生种群，与红火蚁相似，它们对动植物、生态、经济甚至是人类都容易造成严重影响（Chen *et al*., 2022）。因此，加强对外来蚂蚁（通过人为传播由口岸进境）的监测调查、环境损害评估和风险分析，并研究快速准确的鉴定技术对有效防范外来蚂蚁的传入和扩散意义重大。

近十余年来，海关在进境货物及其运输工具、旅客携带物和寄递物等上截获大量种类的外来蚂蚁（Ward *et al*., 2006）。蚂蚁物种的鉴定工作主要以传统形态学鉴定为主，对分类鉴定资料和人员鉴定经验的依赖性较高且效率低，影响通关时长和防控效果。DNA 条形码技术是一种应用生物本身所具有的、有足够变异的标准化短基因片段对物种进行快速、准确鉴定的生物身份识别技术（Hebert *et al*., 2003a）。相较于传统的形态学鉴定方法，DNA 条形码技术具有显著优势，其操作简便快捷，非专业人员也能快速掌握并准确执行；准确度高，特别是在区分形态相近的物种时表现尤为突出；样本适用范围广泛，即使样本受损也能进行有效鉴定。这些特点使得 DNA 条形码技术在物种鉴定领域具有广泛的应用前景和重要的研究价值（赵广宇等, 2014）。Hebert 等（2003b）提出可以利用线粒体细胞色素氧化酶亚基（Cytochrome coxidase I，*CO Ⅰ*）基因作为 DNA 条形码来鉴定动物物种。DNA 条形码技术受到生物学各领域越来越多研究者的高度重视，得到广泛应用，包括在海关检验检疫鉴定中的应用也越来越普遍（陈岩等, 2014）。例如，广州海关通过形态及 DNA 条形码鉴定入侵害虫南洋臀纹粉蚧 *Planococcus lilacinus*（马骏等, 2019）；福州海关建立了重大入侵物种虎纹非洲大蜗牛 *Achatina panthera* 的分子比对方法（胡美玲等, 2023）；天津海关从黑山共和国进境的寄递邮件中截获一种昆虫卵，通过形态及 DNA 条形码技术鉴定为巴尔干锯螽斯 *Saga natoliae*（林宇等, 2024）。

本研究通过 DNA 条形码技术对 18 种外来蚂蚁的种类进行鉴定，并与形态鉴定结果相比较，利用线粒体 *CO Ⅰ* 基因进行系统发育、ABGD 分析和遗传距离分析。探究基于 DNA 条形码技术对外来蚂蚁物种鉴定的准确性，并为外来蚂蚁的快速鉴定提供分子数据及实践基础，帮助口岸植物检疫监管人员在面对具有多态性特征及处于不同发育阶段的蚂蚁时，实现迅速且准确的鉴别，从而有效缩短通关流程，及时应对并预防外来蚂蚁物种的入侵风险。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

18 种蚂蚁样本由深圳海关动植物检验检疫技术中心提供（表 1）。样本保存在 95%无水乙醇中。

1.2　试验方法

1.2.1　DNA 提取　参考李文杰（2021）提取 DNA 方法，1 头蚂蚁为一个样本，采用 DNeasy Blood &

表 1 供试蚂蚁清单

Table 1 List of tested ants

亚科 Subfamily	属 Genus	种 Species	寄送地信息 Destination information	形态图片 Picture of morphology
臭蚁亚科 Dolichoderinae	臭蚁属 *Dolichoderus*	胸臭蚁 *Dolichoderus thoracicus*	越南-中国 Vietnam-China	
蚁亚科 Formicinae	捷蚁属 *Anoplolepis*	长足捷蚁 *Anoplolepis gracilipes*	美国-泰国 United States-Thailand	
	弓背蚁属 *Camponotus*	截胸弓背蚁 *Camponotus mutilarius*	美国-泰国 United States-Thailand	
		拟光腹弓背蚁 *Camponotus pseudoirritans*	马来西亚-中国 Malaysia-China	
	恐蚁属 *Dinomyrmex*	巨人恐蚁 *Dinomyrmex gigas*	泰国-中国香港 Thailand-Hong Kong, China	
	蜜罐蚁属 *Myrmecocystus*	拟态蜜罐蚁 *Myrmecocystus mimicus*	美国-泰国 United States-Thailand	
	立毛蚁属 *Paratrechina*	长角立毛蚁 *Paratrechina longicornis*	/	
	前结蚁属 *Prenolepis*	黑腹前结蚁 *Prenolepis melanogaster*	美国-泰国 United States-Thailand	
切叶蚁亚科 Myrmicinae	刺切叶蚁属 *Acanthomyrmex*	光腿刺切叶蚁 *Acanthomyrmex glabfemoralis*	波兰-泰国 Poland-Thailand	

续表 1 (Table 1 continued)

亚科 Subfamily	属 Genus	种 Species	寄送地信息 Destination information	形态图片 Picture of morphology
	芭切叶蚁属 *Atta*	墨西哥芭切叶蚁 *Atta mexicana*	/	
	盲切叶蚁属 *Carebara*	近缘盲切叶蚁 *Carebara affinis*	美国-泰国 United States-Thailand	
	举腹蚁属 *Crematogaster*	棕头举腹蚁 *Crematogaster scutellaris*	美国-泰国 United States-Thailand	
	收获蚁属 *Messor*	针毛收获蚁 *Messor aciculatus*	中国香港-韩国 Hong Kong, China-Korea	
		野蛮收获蚁 *Messor barbarus*	法国-中国 France-China	
	大头蚁属 *Pheidole*	具单眼大头蚁 *Pheidole ocellata*	美国-泰国 United States-Thailand	
	须蚁属 *Pogonomyrmex*	加州须蚁 *Pogonomyrmex californicus*	美国-泰国 United States-Thailand	
	火蚁属 *Solenopsis*	热带火蚁 *Solenopsis geminata*	美国-泰国 United States-Thailand	
	真收获蚁属 *Veromessor*	佩氏真收获蚁 *Veromessor pergandei*	美国-泰国 United States-Thailand	

/：无寄送地信息。

/: No destination information.

Tissue Kit 试剂盒（Qiagen，德国）提取蚂蚁组织的基因组 DNA。

将蚂蚁腹部去除后放入 1.5 mL 离心管中，加入 180 μL Buffer ATL 和 20 μL Proteinase K 溶液，充分研磨。加入 200 μL Buffer AL，涡旋振荡 15 s，56 ℃下水浴 1-2 h。加入 200 μL 无水乙醇，涡旋振荡 15 s。混合物加入 DNeasy Mini spin column 柱中（放置在 2 mL 收集管中），离心机（EPPENDORF，德国）6 000 r/min 离心 1 min，弃滤液。加入 500 μL Buffer AW1，6 000 r/min 离心 1 min，弃滤液。加入 500 μL Buffer AW2，20 000 r/min 离心 3 min，弃滤液。将柱置于新的 1.5 mL 离心管中，加入 60-100 μL Buffer AE 于柱膜的中心，室温静置 1 min，20 000 r/min 离心 1 min。重复上一步。样品溶液置于 - 20 ℃冰箱中。

1.2.2 DNA 浓度检测 使用荧光定量仪 Qubit 4.0（Thermo Fisher Scientific Inc.，美国）测量样品 DNA 浓度。

1.2.3 PCR 扩增与检测 使用 *CO I* 基因通用引物 LCO1490（5′-GGTCAACAAACATAAA-GATATTGG-3′）和 HCO2198（5′-TAAACTTCAG-GGTGACCAAAAAATCA-3′）或 LepF1（5′-ATT-CAACCAATCATAAAGATATTGG-3′）和 LepR1（5′-AAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3′）（Folmer *et al*., 1994），在 PCR 仪（Thermo Fisher Scientific Inc.，美国）中进行扩增。

PCR 扩增反应体系为 50 μL：2×FidCycle PCR MasterMix（含染料）（生工生物工程（上海）股份有限公司）25 μL，上、下游引物（生工生物工程（上海）股份有限公司）各 2 μL，DNA（模板）1 μL，无菌双蒸水 20 μL。

PCR 扩增反应条件：94 ℃预变性 5 min；35 次循环扩增，包括 94 ℃变性 1 min，49.5 ℃退火 1 min，72 ℃延伸 2 min；最后的 72 ℃延伸 10 min。结束后 4 ℃保存。

PCR 扩增产物通过高通量全自动毛细管电泳仪 QIAxcel Advanced（Qiagen，德国）进行检测，将 PCR 产物委托生工生物工程（上海）股份有限公司测序和拼接。

1.3 数据处理

经双向测序的序列进行拼接和整理，将所测得的基因序列在 NCBI 网站（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）中进行 BLAST 比对，匹配度最高的物种为分子鉴定结果；所测得的 18 条拼接序列通过 MEGA 中的 ClustalW 进行多重序列的比对（Thompson *et al*., 1997）。手动删除引物序列，将所得结果序列保存为 fasta 格式。将获得的基因序列上传至 GenBank 数据库，并从 GenBank 数据库中下载已公开的序列 38 条用于后续分析（表 2）。供试蚂蚁多为寄递物，对供试蚂蚁来源地无法确认。

1.3.1 系统发育分析 本研究主要采用最大似然法（Maximum likelihood methods，ML）并设置意大利蜂 *Apis mellifera* 为外群，在 MEGA 软件中构建系统发育树。首先，用 MEGA 算出最适 ML 模型，即 General Time reverible model（Gamma distributed with invariant sites）（GTR+ G+I），然后根据最适模型采用 100 次重复抽样进行 Bootstrap 检验构建 ML 进化树并导出自展值。

1.3.2 ABGD 分析 ABGD（Automatic barcode gap discovery）分析方法是一种基于遗传距离的 DNA 条形码方法，指在一定范围的先验值 *P* 中，自动检测给定数据的条形码间隙（郑成卓等，2023）。根据遗传距离对样本进行划分，划分在同一组的样本则认为是同一个物种。选取已有序列中同一物种有大于 3 条序列的 fasta 文件在线提交到 ABGD 网站（https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/），其中最小遗传距离 P_{min} 设置为 0.001，最大遗传距离 P_{max} 设置为 0.1，迭代次数 Steps 设置为 20，相关空隙距离 X 设置为 1，选用 Kimura（K80）*T*s/*T*v 方法（设定值为默认的 2.0），柱状图柱体数 Nb bins 设置为 20。将样本划分结果与形态识别结果进行比较（Chen *et al*., 2018）。

1.3.3 遗传距离分析 在 MEGA 软件中依据 Kimura 双参数模型计算遗传距离，根据输出的种内、种间遗传距离矩阵于 Excel（2019）中，

以物种拉丁名为横坐标，遗传距离值为纵坐标绘制柱形图（Lin *et al*., 2009）。

2　结果与分析

2.1　分子鉴定结果

通过一代测序技术测定外来蚂蚁的基因序列，将所测得的 18 条基因序列在 NCBI 中进行 BLAST 比对分析，通过 BLAST 比对，确定了与所测得的基因序列分子匹配度最高的物种，且匹配度在 96.5%-100%范围内。将这些基因序列与形态学鉴定结果进行对比，结果表明，分子鉴定结果与形态鉴定结果一致。将所测得的序列上传至 GenBank 数据库（表 2）。

表 2　供试蚂蚁序列在 NCBI 中的比对结果及 GenBank 序列号

Table 2　Results of sequence alignment in NCBI and GenBank sequence numbers for the test ants

形态鉴定种类 Morphological identification species	覆盖度（%）Query cover (%)	相似度（%）Similarity (%)	DNA 条形码鉴定结果 DNA barcode identification results	上传 GenBank 序列号 Upload the GenBank sequence no.	下载 GenBank 序列号 Download the GenBank sequence no.
胸臭蚁 *Dolichoderus thoracicus*	86	100.00	√	PP839092	LC631800.1 LC651286.1 LC651318.1 LC651308.1
长足捷蚁 *Anoplolepis gracilipes*	95	96.52	√	PP839093	PP069612.1 FJ982435.1
长足捷蚁 *Anoplolepis gracilipes*	99	96.50	√	PP839093	NC039576.1 ON738363.1
截胸弓背蚁 *Camponotus mutilarius*		——	——		OM420294.1
拟光腹弓背蚁 *Camponotus pseudoirritans*		/	/	PP839086	/
巨人恐蚁 *Dinomyrmex gigas*		——	——		JN134872.1
拟态蜜罐蚁 *Myrmecocystus mimicus*	95	99.37	√	PP837694	AY519382.1 AY519381.1 AY519383.1 AY519379.1
长角立毛蚁 *Paratrechina longicornis*	99	99.85	√	PP839087	KP232061.1 GU709819
黑腹前结蚁 *Prenolepis melanogaster*	95	99.09	√	PP839089	/
光腿刺切叶蚁 *Acanthomyrmex glabfemoralis*		/	/	PP830075	/
墨西哥芭切叶蚁 *Atta mexicana*	100	98.83	√	PP830089	OR327067.1
近缘盲切叶蚁 *Carebara affinis*		——	——		MW056456.1
棕头举腹蚁 *Crematogaster scutellaris*	99	99.52	√	PP839088	FJ824416.1 MT606312.1 MT606310.1 MT606309.1
针毛收获蚁 *Messor aciculatus*		/	/	PP837970	/
野蛮收获蚁 *Messor barbarus*	100	100.00	√	PP830085	KX698042.1 KX698073.1
野蛮收获蚁 *Messor barbarus*	96	99.85	√	PP839091	KX698051.1
具单眼大头蚁 *Pheidole ocellata*		/	/	PP830076	/
加州须蚁 *Pogonomyrmex californicus*	97	99.07	√	PP826328	JX908148.1 JX908149.1 AY510649.1 AY510647.1
热带火蚁 *Solenopsis geminata*	97	100.00	√	PP839090	EF610353.1 EF610367.1
热带火蚁 *Solenopsis geminata*	94	100.00	√	PP839090	OL813808.
佩氏真收获蚁 *Veromessor pergandei*	93	99.06	√	PP830074	MW796474.1 KU318794.1 MZ362397.1
意大利蜂 *Apis mellifera*	无 No	无 No	无 No	无 No	MT871188.1 MW340140.1

√：物种 DNA 条形码鉴定结果与形态鉴定结果一致；/：物种在 NCBI 中无 *CO Ⅰ*数据；——：未获得该物种 *CO Ⅰ*序列。

√: The results of DNA barcoding identification were consistent with those of morphological identification; /: No *CO Ⅰ* data were available for species in NCBI; ——: No *CO Ⅰ* sequence was obtained for this species.

2.2　系统发育分析及 ABGD 分析

为了探究 18 种外来蚂蚁在分子水平上属间及种间的分布情况。利用 MEGA 软件构建 ML 树（图 1）。结果显示，蚁科昆虫与外群意大利蜂 *Apis mellifera* 明显分开。本研究的 18 种蚂蚁在系统发育分析中分布在三大分支上，在种级水平，同一种不同个体的蚂蚁聚为一支，最初分支置信度均在 90%以上，可明显区分。在属级水平上，臭蚁属 *Dolichoderus*，捷蚁属 *Anoplolepis* 和弓背蚁属 *Camponotus* 等 16 个属可以很好的区分。

ABGD 分析结果选择较为稳定的初始划分结果，选取同一物种至少 3 条数据的序列来运行 ABGD 程序，所得结果将 44 条核酸序列分为 9 组（图 1），与形态鉴定结果进行比较，发现与形态分类一致，不同种蚂蚁可明显区分。系统发育及 ABGD 分析表明，*CO Ⅰ* 基因可以用为蚂蚁 DNA 条形码鉴定的首选基因。

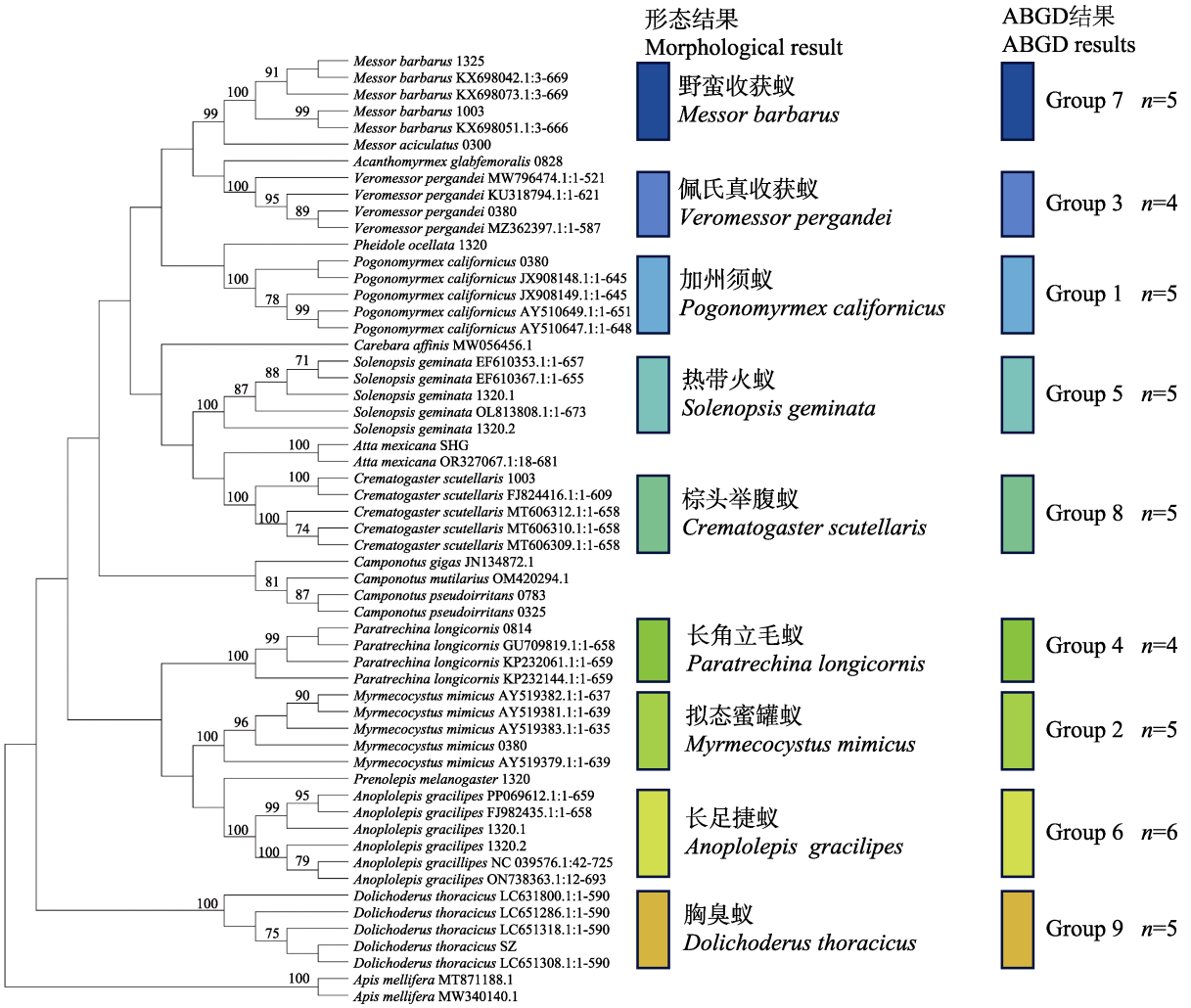

图 1　基于 *CO Ⅰ* 序列构建的最大似然法系统发育树和 automatic barcode gap discovery（ABGD）划分结果

Fig. 1　Maximum likelihood methods phylogenetic tree and automatic barcode gap discovery (ABGD) division results based on *CO Ⅰ* sequence

2.3　遗传距离分析

为了验证 *CO Ⅰ* 基因是否满足物种鉴定的标准，对 18 种蚂蚁进行遗传距离分析，结果如图 2 所示。18 种蚂蚁基于 *CO Ⅰ* 基因的种间遗传距离高于种内遗传距离，形成明显的条码间隙，表明 *CO Ⅰ* 基因满足对物种鉴定的要求。具体来说，最大种内遗传距离为 7.32，最小种间遗传距离为 11.68，最大种内遗传距离小于最小种间遗传距离。

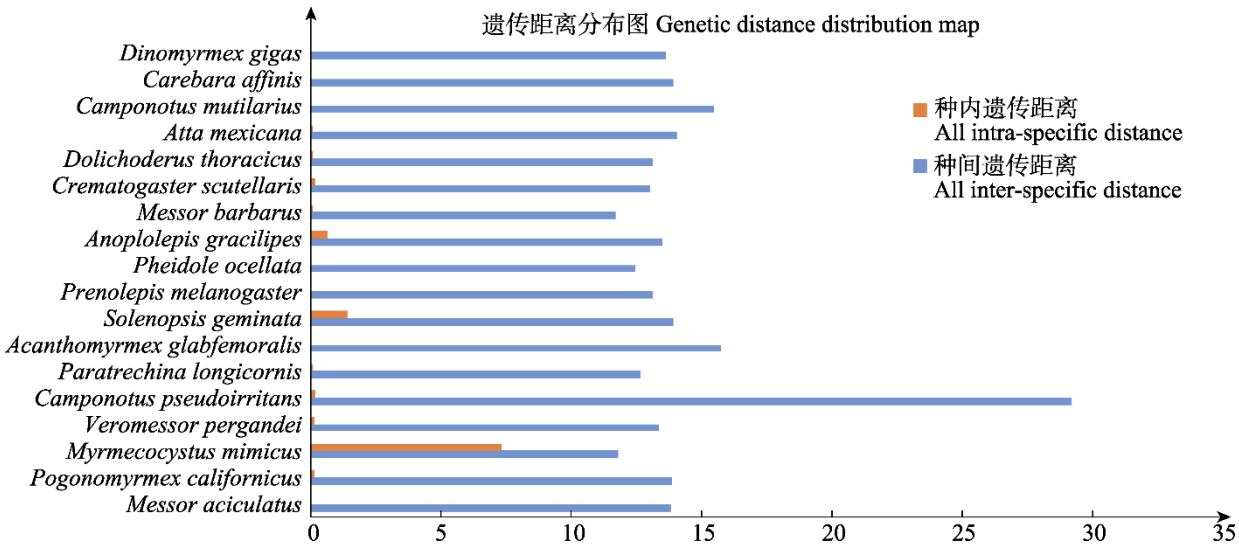

图 2　18 种蚂蚁 *CO Ⅰ* 基因遗传距离的分布

Fig. 2　Distribution of genetic distances of *CO Ⅰ* genes in 18 ant species

拉丁学名中文名称同表 2。

The Chinese name of Latin scientific name is the same as Table 2.

3　结论与讨论

本研究通过形态特征确定 18 种外来蚂蚁种类，选择线粒体 *CO Ⅰ* 基因为候选 DNA 条形码对物种进行鉴定，对外来蚂蚁进行系统进化、ABGD 和遗传距离分析。结果表明，在分子水平上通过 ML 进化树，不同种可明显区分。ABGD 物种界定的分析方法具有速度快、准确度高等特点，基于 *CO Ⅰ* 基因的 ABGD 分析结果与形态分类结果一致。18 种蚂蚁 *CO Ⅰ* 基因序列种间差异大，最小种间遗传距离大于最大种内遗传距离，符合 Hebert 和 Ryan Gregory（2005）提出的 DNA 条形码技术鉴定物种有效性要求，进一步验证了 *CO Ⅰ* 基因在本研究蚂蚁物种鉴定中的适用性。

传统形态学鉴定仍然在昆虫鉴定中起主导作用，然而在外来蚂蚁鉴定的过程中，形态的多型现象需要鉴定人员具备较高的专业性。蚂蚁相似种间的形态差异较小，不易通过肉眼识别鉴定（梁帆等, 2007）。DNA 条形码技术在传统形态学鉴定的基础上，能够快速、准确地鉴定物种，突破传统形态学鉴定的局限性（魏明峰和张振旺, 2019）。在本研究中，结合形态和分子两种鉴定方式，首先，使用《中国习见蚂蚁生态图鉴》（周善义和陈志林, 2020）、中国蚁网、AntWiki、AntWeb 等书籍和在线网站对外来蚂蚁进行形态鉴定。其次，通过 DNA 条形码技术对其进行分子鉴定复核，确保蚂蚁鉴定的准确性，这一结果支持了杨小文（2019）的研究，表明 DNA 条形码技术在蚂蚁物种鉴定中的可行性。

在当前国际跨境电商贸易快速发展的影响下，外来物种经人为传播进入国境的可能性大（Báthori *et al*., 2024），本研究对 18 个外来蚂蚁物种进行精确鉴定，最大程度地降低外来物种入侵的风险，减少有害生物入侵在检疫方面的损失（郭宁妍等, 2022）。不同地理区域的蚂蚁种群可能带来截然不同的生态影响。以胸臭蚁为例，其在不同区域的危害程度存在显著差异，在我国台湾地区原生的胸臭蚁种群并未构成严重的生态威胁。然而，随着近年来东南亚地区相同物种的大量迁入，这些外来种群在我国台湾地区迅速扩散，影响本地生物多样性，并且破坏当地生态平衡（Hsu *et al*., 2022）。因此，无论外来蚂蚁在国内是否有分布都应严防其进入，避免带来生态危害和经济上的损失。

综上所述，本研究利用 *CO Ⅰ* 基因通过 DNA 条形码技术能较好区分本研究 18 种外来蚂蚁物

种。进一步证明了该技术可以解决具多型现象蚂蚁的鉴定难题，无论是蚁后、大型工蚁、还是小型工蚁均可聚为一支，且 *CO I* 分歧值小（Fisher and Alex Smith, 2008）。与传统鉴定相比，DNA 条形码检测更简便、易标准化，减少对经验的依赖。然而昆虫种类约 1 000 万种，可供 DNA 条形码鉴定比对的基因序列远没有达到鉴定需求，核酸序列还可能存在传入数据错误或形态鉴定不准确等问题。因此，Fisher 和 Alex Smith（2008）提出在建立新种时，也应附加其 DNA 条形码信息，作为研究者鉴定标本的辅助途径。随着 DNA 条形码技术和数据库的不断完善，物种鉴定的可靠性和准确性将大幅提高。我国外来物种入侵的风险巨大，精确高效鉴定是阻截外来蚂蚁入侵的关键技术措施，对维护我国生物安全和农林业生态安全有重要意义。

参考文献 (References)

Báthori F, Herczeg G, Vilizzi L, Jégh T, Kakas C, Petrovics M, Csősz S, 2024. A survey and risk screening of non-native ant species colonising greenhouses in Hungary. *Biological Invasions*, 26(4): 1033–1044.

Bolton B, 2024. A new general catalogue of the ants of the world. http://www.antcat.org/.

Chen LP, Chang YG, Li J, Wang JM, Liu JL, Zhi YC, Li XJ, 2018. Application of DNA barcoding in the classification of grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea)-a case study of grasshoppers from Hebei Province, China. *Zootaxa*, 4497(1): 99–110.

Chen SQ, Zhao Y, Lu YY, Ran H, Xu YJ, 2022. First record of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae), in Chinese mainland. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(6): 1825–1829.

Chen Y, Zhang L, Liu L, Li M, Wang FX, Li ZQ, Yang H, 2014. Construction of DNA barcode information system for quarantine pests in China. *Plant Quarantine*, 28(1): 1–5. [陈岩, 张立, 刘力, 李梅, 王福祥, 李志强, 杨海, 2014. 我国检疫性有害生物 DNA 条形码信息系统建设. 植物检疫, 28(1): 1–5.]

Fisher BL, Alex Smith M, 2008. A revision of Malagasy species of *Anochetus mayr* and *Odontomachus latreille* (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS ONE*, 3(5): e1787.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299.

Guo NY, Qian YH, Xu ZH, Zhang L, Zhang N, Li HB, Jiang H, Hao YQ, 2022. Distribution patterns of ant species in southwestern Yunnan. *Journal of Yunnan Agricultural University* (*Natural Science*), 37(1): 10–23. [郭宁妍, 钱昱含, 徐正会, 张力, 张宁, 李海斌, 蒋华, 郝永强, 2022. 滇西南地区蚂蚁物种分布格局研究. 云南农业大学学报(自然科学), 37(1): 10–23.]

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, DeWaard JR, 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B*: *Biological Sciences*, 270(1512): 313–321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR, 2003b. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B*: *Biological Sciences*, 270(Suppl. 1): S96–S99.

Hebert PDN, Ryan Gregory T, 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, 54(5): 852–859.

Hsu FC, Tseng SP, Hsu PW, Lu CW, Yang CCS, Lin CC, 2022. Introduction of a non-native lineage is linked to the recent black cocoa ant, *Dolichoderus thoracicus* (Smith, 1860), outbreaks in Taiwan. *Taiwania*, 67(2): 271–279.

Hu ML, Wang P, Yang HF, Li JY, Liu RS, Xu MF, Chen S, Zhou WC, 2023. Quarantine and identification of a new major invasive species *Achatina panthera* in Taiwan. *Plant Protection*, 49(4): 263–268. [胡美玲, 王沛, 杨海芳, 李建宇, 刘若思, 徐淼锋, 陈晟, 周卫川, 2023. 台湾地区新发生重大外来入侵物种——虎纹非洲大蜗牛的检疫鉴定. 植物保护, 49(4): 263–268.]

Hulme PE, 2009. Trade, transport and trouble: Managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology*, 46(1): 10–18.

Li WJ, 2020. Phylogenetic study of Camponotini (Hymenoptera: Formicidae) based on morphology and molecular data. Master dissertation. Guilin: Guangxi Normal University. [李文杰, 2021. 基于形态与分子数据的弓背蚁族系统发育研究. 硕士学位论文. 桂林: 广西师范大学.]

Liang F, Zhao JP, Liang GQ, Hu XN, 2007. The role of morphology and molecular biology in insect identification. *Plant Quarantine*, 21(4): 243–244. [梁帆, 赵菊鹏, 梁广勤, 胡学难, 2007. 浅谈形态学和分子生物学在昆虫鉴定中的作用. 植物检疫, 21(4): 243–244.]

Lin C, Zhou SY, Qin F, Yan XB, Fu WB, 2009. Molecular systematic of nine species of the genus *Polyrhachis* (Hymenoptera: Formicidae) based on mitochondrial Cytochrome

b gene sequences. *Genomics and Applied Biology*, 28: 1071–1080.

Lin Y, Liu J, He Y, Jiang Y, Wang WC, Gao J, Wang JC, Wei YD, 2024. Identification of *Saga natoliae* in international express imported from Montenegro. *Plant Quarantine*, 38(1): 52–54. [林宇, 刘娟, 贺艳, 姜一, 王娓辰, 高建, 王金成, 魏亚东, 2024. 黑山共和国进境寄递邮件中“异宠”巴尔干锯螽斯的鉴定. 植物检疫, 38(1): 52–54.]

Ma J, Liang F, Lin L, Liu HJ, Zhao JP, Hu XN, 2019. Occurrence of *Planococcus lilacinus* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) in Guangzhou as a new invasive pest. *Journal of Environmental Entomology*, 41(5): 1006–1010. [马骏, 梁帆, 林莉, 刘海军, 赵菊鹏, 胡学难, 2019. 新发入侵害虫——南洋臀纹粉蚧在广州的发生情况调查. 环境昆虫学报, 41(5): 1006–1010.]

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876–4882.

Wang L, Lu YY, Li RP, Zeng L, Du JL, Huang X, Xu YJ, 2018. Mental health effects caused by red imported fire ant attacks (*Solenopsis invicta*). *PLoS ONE*, 13(6): e0199424.

Ward DF, Beggs JR, Clout MN, Harris RJ, O’Connor S, 2006. The diversity and origin of exotic ants arriving in New Zealand via human-mediated dispersal. *Diversity and Distributions*, 12(5): 601–609.

Wei MF, Zhang ZW, 2019. Research progress of DNA barcoding technology in insect taxonomy. *Acta Agriculturae Sinica*, 9(4): 79–83. [魏明峰, 张振旺, 2019. DNA 条形码技术在昆虫分类学中的研究进展. 农学学报, 9(4): 79–83.]

Yang XW, 2019. Interception of exotic ants and surveys of ant species at Gaoming Port. Master dissertation. Guangzhou: South China Agricultural University. [杨小文, 2019. 高明口岸蚂蚁截获情况分析及蚂蚁种类调查. 硕士学位论文. 广州: 华南农业大学.]

Zhao GY, Li H, Yang HL, Cai WZ, 2014. Application of DNA barcoding in entomology: A review. *Journal of Plant Protection*, 41(2): 129–141. [赵广宇, 李虎, 杨海林, 彩万志, 2014. DNA 条形码技术在昆虫学中的应用. 植物保护学报, 41(2): 129–141.]

Zheng CZ, Qian XJ, Zhang J, Liu HL, Wang XD, Dong ZX, Fu LH, Liu CZ, 2023. DNA barcoding based identification of locust species in the alpine grasslands of Gansu province. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(5): 1403–1411. [郑成卓, 钱秀娟, 张洁, 刘恒亮, 王兴铎, 董子信, 付连海, 刘长仲, 2023. DNA 条形码应用于甘肃省高山草原蝗虫物种的鉴定研究. 应用昆虫学报, 60(5): 1403–1411.]

Zhou SY, Chen ZL, 2020. Ecological illustrated of common ant species from China. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press. 112–306. [周善义, 陈志林, 2020. 中国习见蚂蚁生态图鉴. 郑州: 河南科学技术出版社. 112–306.]