

三种斑野螟全线粒体基因组及 螟蛾总科系统发育分析*

陈 汕** 李粉红 兰旭娥 尤 平***

(陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062)

摘 要 【目的】草螟科昆虫大多是重要的农林害虫, 深入研究草螟科昆虫的系统进化关系, 对这类农林害虫的防治以及了解其生物多样性有重要意义。【方法】本文通过 PCR 结合引物步移法测定了桃多斑野螟 *Conogethes punctiferalis*、白蜡绢须野螟 *Palpita nigropunctalis* 和豹纹卷野螟 *Pycnarmon pantherata* 的全线粒体基因组序列并对其进行初步的分析。【结果】桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组全长分别是 15 325、15 226、15 545 bp, 由 13 个蛋白质编码基因(PCGs), 22 个转运 RNA 基因(tRNA), 2 个核糖体 RNA 基因(rRNA) 和 1 个长度可变的控制区构成。13 个蛋白编码基因除 CO I 以 CGA 作为起始密码子外, 其余均以 ATN 作为起始密码子。对于终止密码子的使用, 除 CO I、CO II、ND5 存在不完全终止密码子 TA 或 T 外, 其它都为完全终止密码子 TAA。豹纹卷野螟是已测螟蛾总科线粒体基因组序列最大的一个物种, 其线粒体基因组序列长度差异主要存在于控制区。【结论】3 种斑野螟全线粒体基因组中基因的相对位置和排序、碱基组成和密码子使用、tRNA 二级结构、以及非编码区序列结构等都符合螟蛾总科昆虫的线粒体基因组特点。基于 13 个蛋白质编码基因采用最大似然法和贝叶斯法对螟蛾总科 8 个亚科进行初步的系统进化分析, 两种结果均符合以往形态学和分子数据的研究结果。

关键词 桃多斑野螟, 白蜡绢须野螟, 豹纹卷野螟, 螟蛾总科, 线粒体基因组

Complete mitochondrial genomes of three Spilomelinae species and a preliminary phylogenetic analysis of the Pyraloidea (Insecta: Lepidoptera)

CHEN Shan** LI Fen-Hong LAN Xu-E YOU Ping***

(College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract 【Objectives】The Crambidae include economically significant, agricultural and forestry pest insects. A better understanding of the phylogeny and evolution of the Pyraloidea is important for improving both knowledge of this lineage and the ability to develop more effective means of controlling pest species. 【Methods】Complete mitochondrial genomes (mitogenomes) of three Spilomelinae species; *Conogethes punctiferalis*, *Palpita nigropunctalis* and *Pycnarmon pantherata*, were sequenced and primarily analyzed by PCR with primer walking. 【Results】The mitogenome sequences of *C. punctiferalis*, *P. nigropunctalis* and *P. pantherata* were 15 325 bp, 15 226 bp and 15 545 bp in length, respectively, and included 13 protein-coding genes (PCGs), 22 transfer RNA (tRNA), two ribosomal RNA (rRNA), and a variable control region. All protein-coding genes began with the typical ATN codon except for CO I which began with CGA. All the PCGs had the stop codon TAA but CO I, CO II and ND5 had the incomplete termination codons TA or T. Compared with published Pyraloidea mitogenomes, the complete mitochondrial genome of *P. pantherata* is the largest due to the variable length of the control region. 【Conclusion】The general features of the mitogenome of three Spilomelinae species, including gene arrangement, base composition, codon usage, secondary structures of 22 tRNAs, and sequence and structure of control region,

*资助项目 Supported projects : 国家自然科学基金 (31372158)

**第一作者 First author , E-mail : chenshan1616@163.com

***通讯作者 Corresponding author , E-mail : youping@snnu.edu.cn

收稿日期 Received : 2016-04-26 , 接受日期 Accepted : 2016-07-28

are similar to those of other sequenced Pyraloidea mitogenomes. Maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) phylogenetic analyses of variation in 13 PCGs in eight Pyraloidea subfamilies shows that the results of this study accord with previous morphological and molecular taxonomies of this group.

Key words *Conogethes punctiferalis*, *Palpita nigropunctalis*, *Pycnarmon pantherata*, Pyraloidea, mitochondrial genome

鳞翅目 (Lepidoptera) 昆虫种类繁多, 在世界各地分布极其广泛, 我国记载的已有九千多种, 螟蛾总科 (Pyraloidea) 的种类数量仅次于夜蛾总科 (Noctuoidea) 和尺蛾总科 (Geometroidea), 成为鳞翅目的第三大类群 (Solis, 2007)。目前, 中国报道的螟蛾总科昆虫已有两千多种, 包括种类和数量较大的草螟科 (Crambidae) 以及数量相对较少的螟蛾科 (Pyralidae)。斑野螟亚科 (Spilomelinae) 是草螟科中最大的亚科, 中国已记载约 100 属 460 多种。螟蛾总科幼虫大部分属于农林以及仓储害虫, 大面积的虫害严重影响经济作物的产量以及观赏植物的美学价值, 一些物种已经被应用来调控与防止外来植物入侵, 所以研究螟蛾总科昆虫的生活史以及基因结构对农林害虫的防治以及了解其生物多样性有重要意义。

与其它昆虫类似, 螟蛾总科昆虫线粒体基因组为双链闭合环状 DNA 分子, 序列长度一般在 15 kb 到 20 kb 之间 (Boore, 1999), 包括 13 个蛋白质编码基因 (CO_I~CO_{III}, ND1~ND6, ND4L, Cytb, ATPase6 和 ATPase8), 2 个 rRNA 基因 (16S rRNA 和 12S rRNA) 和 22 个 tRNA 基因, 此外, 还包括一段非编码控制区 (A+T 富集区) (Wolstenholme, 1992; Boore, 1999)。鳞翅目昆虫的控制区一般位于 srRNA (Small ribosomal RNA gene) 和 tRNA^{Met} 基因之间, 在线粒体 DNA 的复制和基因的转录中起重要作用 (Taanman, 1999)。相比较其他区域而言控制区一般不保守, 是整个线粒体基因组序列的高变区, 在不同物种间大小和结构都表现出较大的差异。

线粒体 DNA 具有简单稳定的结构、较高的蛋白质编码效率以及母系遗传和进化速率快等特点, 已被广泛应用于比较基因组学、动物分类学、群体遗传学、系统发育学、分子生态学以及

谱系地理学等众多重要领域的研究 (Simon *et al.*, 2006; Wei and Chen, 2011; Cameron, 2014)。目前, 已有 10 种斑野螟亚科昆虫的全线粒体基因组在 GenBank 数据库中公布, 涉及到 7 个属, 分别是: 纵卷叶野螟属 *Cnaphalocrocis* Lederer, 1863, 豆荚野螟属 *Maruca* Walker, 1859, 多斑野螟属 *Conogethes* Meyrick, 1884, 青野螟属 *Spoladea* Guenée, 1854, 绢丝野螟属 *Glyphodes* Guenée, 1854, 牧野螟属 *Nomophila* Hübner, 1825 和黑纹野螟属 *Tyspanodes* Warren, 1891。本研究以 3 种斑野螟为研究对象, 测定其全线粒体基因组序列, 对其进行比较基因组学分析以及系统发育关系的初步探讨, 为进一步明确斑野螟亚科不同属线粒体基因组组成上的差异以及螟蛾总科内部的亲缘关系增添新的数据。

1 材料与方法

1.1 昆虫样品和 DNA 的提取

桃多斑野螟 *Conogethes punctiferalis* (Guenée, 1854)、白蜡绢须野螟 *Palpita nigropunctalis* (Bremer, 1864) 和豹纹卷野螟 *Pycnarmon pantherata* (Butler, 1878) 的成虫于 2015 年 8 月采自陕西省宁陕县旬阳坝 (33.33°N, 108.33°E), 经准确鉴定后, 浸泡于无水乙醇中, 带回实验室于 4℃ 冰箱保存。使用天根生化科技公司的微量样品基因组 DNA 提取试剂盒, 按照其说明书上步骤提取总 DNA。

1.2 PCR 扩增及测序

从以往昆虫线粒体基因组研究数据中发现, 鳞翅目昆虫线粒体基因组具有明显的 AT 偏斜、包含短序列重复片段等特点, 长片段 PCR 的扩增以及产物测序大多不太顺利。本研究采用短片段 PCR 扩增策略, 即每段序列目的条带为 500~1 800 bp, 以总 DNA 为模板, 反应在 25 μL 体系

中进行。首先使用已有的昆虫通用引物扩增 3 种斑野螟线粒体基因组全序列的所有片段,扩增程序为:93℃预变性 1 min,92℃变性 10 s,48~58℃退火 90 s,60℃延伸 1~4 min,35 个循环,最后 72℃延伸 6 min,所获得的 PCR 产物,在 1%的琼脂糖凝胶上电泳检测,根据扩增产物的电泳检测结果确定其为目的条带且条带单一的送往北京六合华大基因科技有限公司直接进行双向测序,根据测序结果获得的序列信息结合已公布的斑野螟部分或全线粒体基因组序列的研究数据,遵循引物设计的基本原则 (Zhang and Gao, 2004),采用软件 Primer Premier 5.0 (Singh *et al.*, 1998) 设计特异性引物,扩增每个物种所需要的片段,通过拼接校对等步骤获得物种全线粒体基因组序列。

1.3 序列拼接、注释和分析

测序回来的结果先在数据库中 Blast 搜索 (Altschul *et al.*, 1990),再次确定测序结果是否为目的片段,确认后的序列使用 Staden Package 1.6 (Staden *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2013) 软件对其进行拼接,根据原始峰图的信号强弱并对照参考序列对拼接结果进行人工校对,去除拼接时的重复序列,将序列调零 (Thompson *et al.*, 1997)。通过 ORF (Open reading frame) 结合 Blast 比对确定蛋白质编码基因的相对位置、起始密码子以及终止密码子。tRNA 的二级结构和相应位置使用 tRNAscan-SE (Lowe and Eddy, 1997) 来搜索预测,少数 tRNAscan-SE 无法预测出的 tRNA 基因以及 2 个 rRNA 基因 (16S rRNA 和 12S rRNA) 需结合 Blast 同源搜索,通过与已公布的近缘种同源序列进行比对确定其大小和位置。序列的碱基含量、氨基酸组成以及密码子的使用情况,采用软件 MEGA v5.1 (Tamura *et al.*, 2011) 进行分析,核苷酸的组成情况可以通过核苷酸偏移值来分析,具体计算公式: $AT\ skew = [A - T] / [A + T]$; $GC\ skew = [G - C] / [G + C]$ (Perna and Kocher, 1995)。

1.4 系统发育分析

目前,GenBank 数据库中公布的螟蛾总科昆

虫线粒体基因组已有 30 种 (表 1),为了进一步研究螟蛾总科的系统进化关系,利用本研究测定的 3 种斑野螟全线粒体基因组并选取已公布的 24 种测序完整的螟蛾总科昆虫,以灯蛾科的美国白蛾 *Hyphantria cunea* (Liao *et al.*, 2010) 和毒蛾科的舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Zhu *et al.*, 2010) 两种夜蛾总科昆虫作为外群,通过 MEGA v5.1 软件对其 13 个蛋白质编码基因序列进行比对,将比对好的蛋白质编码序列按相同的顺序串联成数据集,采用最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 基于 13 个蛋白质编码基因数据构建系统进化树。BI 分析用 MrBayes ver.3.1.2 软件 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003),ML 分析用 RAxML ver.7.2.8 软件 (Stamatakis *et al.*, 2005)。

2 结果与分析

2.1 基因组的结构和组成

3 种斑野螟线粒体基因组结构及组成与其它鳞翅目昆虫一致,桃多斑野螟 (GenBank 登录号: KX150457) 和白蜡绢须野螟 (GenBank 登录号: KX150458) 序列全长分别为 15 325 bp 和 15 226 bp,其基因组序列的长度均在已测螟蛾总科昆虫序列长度范围之内;豹纹卷野螟 (GenBank 登录号: KX150459) 序列全长为 15 545 bp,其长度介于其它已测鳞翅目昆虫的全线粒体基因组的范围之内,是已测螟蛾总科中线粒体基因组序列最大的一个物种,其长度差异主要体现在控制区。3 种斑野螟全线粒体基因组的基因间排列比较紧凑,未发现基因重排和基因缺失现象 (表 2),除控制区外还存在少量的非编码区,即基因间隔区。桃多斑野螟全线粒体基因组共包含 16 个基因间隔区,总长度为 181 bp,间隔长度介于 1~43 bp;白蜡绢须野螟全线粒体基因组共包含 14 个基因间隔区共 110 bp,间隔长度介于 1~47 bp;豹纹卷野螟全线粒体基因组包含 16 个基因间隔区共 216 bp,间隔长度介于 1~52 bp,3 种斑野螟最大的基因间隔区均出现在基因 $tRNA^{Gln}$ 和 ND2 之间。此外,基因之间还存在少量的碱基重叠现象,即基因重叠区。桃多斑野螟全线粒体

表 1 GenBank 中已公布的螟蛾总科昆虫线粒体基因组信息
Table 1 The information of the mitochondrial genome in Pyraloidea published in GenBank

科 Family	亚科 Subfamily	物种 Species	登录号 Accession no.	大小 Size (bp)
草螟科 Crambidae	Spilomelinae	<i>Haritalodes derogata</i>	NC_029202	15 253
	Spilomelinae	<i>Maruca vitrata</i>	NC_024099	15 385
	Spilomelinae	<i>Maruca testulalis</i>	NC_024283	15 110
	Spilomelinae	<i>Dichocrocis punctiferalis</i>	NC_021389	15 355
	Spilomelinae	<i>Spoladea recurvalis</i>	NC_027443	15 273
	Spilomelinae	<i>Glyphodes pyloalis</i>	NC_025933	14 960
	Spilomelinae	<i>Nomophila noctuella</i>	NC_025764	15 309
	Spilomelinae	<i>Tyspanodes hypsalis</i>	NC_025569	15 329
	Spilomelinae	<i>Glyphodes quadrimaculalis</i>	NC_022699	15 255
	Spilomelinae	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	NC_015985	15 388
	Crambinae	<i>Pseudargyria interruptella</i>	NC_029751	15 231
	Crambinae	<i>Chilo auricilius</i>	NC_024644	15 367
	Crambinae	<i>Chilo suppressalis</i>	NC_015612	15 395
	Crambinae	<i>Diatraea saccharalis</i>	NC_013274	15 490
	Pyraustinae	<i>Loxostege sticticalis</i>	NC_027174	15 218
	Pyraustinae	<i>Ostrinia penitalis</i>	KM395814	12 612
	Pyraustinae	<i>Ostrinia furnacalis</i>	NC_003368	14 536
	Pyraustinae	<i>Ostrinia nubilalis</i>	NC_003367	14 535
	Nymphulinae	<i>Paracymoriza prodigalis</i>	NC_020094	15 326
	Nymphulinae	<i>Paracymoriza distinctalis</i>	NC_023471	15 354
	Nymphulinae	<i>Elophila interruptalis</i>	NC_021756	15 351
	Schoenobiinae	<i>Scirpophaga incertulas</i>	NC_021413	15 223
	Scopariinae	<i>Eudonia angustea</i>	KJ508052	15 386
	Scopariinae	<i>Hellula undalis</i>	KJ636057	14 678
螟蛾科 Pyralidae	Phycitinae	<i>Plodia interpunctella</i>	NC_027961	15 264
	Phycitinae	<i>Ephestia kuehniella</i>	NC_022476	15 295
	Phycitinae	<i>Amyelois transitella</i>	NC_028443	15 205
	Galleriinae	<i>Galleria mellonella</i>	NC_028532	15 320
	Galleriinae	<i>Corcyra cephalonica</i>	NC_016866	15 273
	Epipaschiinae	<i>Lista haraldusalis</i>	NC_024535	15 295

基因组包括 9 个基因重叠区共 27 bp；白蜡绢须野螟全线粒体基因组包含 11 个基因重叠区共 28 bp；豹纹卷野螟全线粒体基因组包含 10 个基因重叠区共 30 bp，3 种斑野螟的基因重叠长度都介于 1~8 bp，最大的基因重叠区均出现在基因 $tRNA^{Trp}$ 和 $tRNA^{Cys}$ 之间。另外，基因 $ATP8$ 和 $ATP6$

之间都存在 7 bp 碱基重叠，该重叠序列在已测螟蛾总科，乃至整个鳞翅目中都比较常见。

2.2 碱基组成和密码子的使用

碱基的组成和密码子的使用采用 MEGA v5.1 软件进行分析，与其它已测螟蛾总科昆虫相

表 2 3 种斑野螟的线粒体基因组组成
Table 2 Organization of the mitogenomes of three *Spilomelinae* species

基因 Gene	位置 Position		大小 Size (bp)				基因间隔区 Intergenic nucleotides				起始/终止密码子 Start/Stop codon			反密码子 Anticodon	方向 Direction
	Cp		Pn	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp		
<i>tRNA^{Met}</i>	1-69	1-68	69	68	68	68	0	0	0	0				CAT	F
<i>tRNA^{Ile}</i>	70-134	69-133	65	65	66	66	0	0	0	0				GAT	F
<i>tRNA^{Gln}</i>	132-200	131-199	69	69	69	69	-3	-3	-3	-3				TTG	R
<i>ND2</i>	244-1257	247-1260	1 014	1 014	1 014	1 014	43	47	52	ATT/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA		F
<i>tRNA^{Trp}</i>	1264-1331	1270-1337	68	68	67	67	6	9	11					TCA	F
<i>tRNA^{Cys}</i>	1324-1390	1330-1398	67	69	66	66	-8	-8	-8					GCA	R
<i>tRNA^{Tyr}</i>	1390-1456	1401-1466	67	66	66	66	-1	2	15					GTA	R
<i>COI</i>	1462-2992	1471-3001	1 531	1 531	1 531	1 531	5	4	13	CGA/T	CGA/T	CGA/T	CGA/T		F
<i>tRNA^{Leu}(UUR)</i>	2993-3059	3002-3068	67	67	67	67	0	0	0	0				TAA	F
<i>COII</i>	3060-3741	3069-3750	682	682	685	685	0	0	0	ATG/T	ATG/T	ATG/T	ATG/T		F
<i>tRNA^{Lys}</i>	3742-3812	3751-3821	71	71	71	71	0	0	-3					CTT	F
<i>tRNA^{Asp}</i>	3817-3883	3825-3892	67	68	68	68	4	3	15					GTC	F
<i>ATP8</i>	3884-4045	3893-4054	162	162	159	159	0	0	0	ATT/TAA	ATA/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA		F
<i>ATP6</i>	4039-4710	4048-4722	672	675	675	675	-7	-7	-7	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		F
<i>COIII</i>	4718-5506	4722-5510	789	789	789	789	7	-1	-1	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		F
<i>tRNA^{Gly}</i>	5509-5573	5514-5580	65	67	65	65	2	3	2					TCC	F
<i>ND3</i>	5574-5927	5581-5934	354	354	354	354	0	0	0	ATC/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA		F
<i>tRNA^{Ala}</i>	5969-6033	5951-6017	65	67	66	66	41	16	29					TGC	F
<i>tRNA^{Arg}</i>	6033-6098	6017-6079	66	63	68	68	-1	-1	4					TCG	F
<i>tRNA^{Asn}</i>	6103-6168	6079-6144	66	66	65	65	4	-1	4					GTT	F
<i>tRNA^{Ser}(AGN)</i>	6198-6265	6142-6214	68	73	71	71	29	-3	-3					GCT	F
<i>tRNA^{Glu}</i>	6272-6338	6217-6284	67	68	69	69	6	2	27					TTC	F

续表 2 (Table 2 continued)

基因 Gene	位置 Position			大小 Size (bp)			基因间隔区 Intergenic nucleotides						起始/终止密码子 Start/Stop codon			反密码子 Anticodon	方向 Direction	
	Cp		Pn	Pp		Cp	Pn	Cp	Pn	Cp	Pp	Pn		Cp	Pp			
	Cp	Pn	Pn	Cp	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Cp	Pn	Pp	Cp	Pp			
<i>tRNA^{Phe}</i>	6337-6404	6287-6354	6369-6436	68	68	68	- 2	2	2	2							GAA	R
<i>ND5</i>	6405-8140	6354-8089	6436-8168	1 736	1 736	1 733	0	- 1	- 1	- 1				ATT/TA	ATT/TA	ATT/TA		R
<i>tRNA^{His}</i>	8141-8206	8090-8156	8169-8235	66	67	67	0	0	0	0							GTG	R
<i>ND4</i>	8206-9546	8156-9496	8235-9575	1 341	1 341	1 341	- 1	- 1	- 1	- 1				ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		R
<i>ND4L</i>	9552-9839	9496-9783	9590-9880	288	288	291	5	- 1	- 1	14				ATA/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		R
<i>tRNA^{Thr}</i>	9845-9908	9786-9852	9890-9955	64	67	66	5	2	9	9							TGT	F
<i>tRNA^{Pro}</i>	9909-9974	9853-9918	9956-10024	66	66	69	0	0	0	0							TGG	R
<i>ND6</i>	9977-10510	9921-10457	10027-10563	534	537	537	2	2	2	2				ATT/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA		F
<i>Cytb</i>	10510-11658	10457-11605	10563-11711	1 149	1 149	1 149	- 1	- 1	- 1	- 1				ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		F
<i>tRNA^{Ser}(UCN)</i>	11661-11727	11607-11673	11710-11776	67	67	67	2	1	- 2	- 2							TGA	F
<i>ND1</i>	11744-12676	11690-12628	11793-12731	933	939	939	16	16	16	16				ATA/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA		R
<i>tRNA^{Leu}(CUN)</i>	12681-12750	12630-12696	12733-12800	70	67	68	4	1	1	1							TAG	R
<i>16S rRNA</i>	12748-14124	12697-14051	12801-14171	1 377	1 355	1 371	- 3	0	0	0								R
<i>tRNA^{Val}</i>	14125-14192	14052-14119	14172-14238	68	68	67	0	0	0	0							TAC	R
<i>12S rRNA</i>	14193-14971	14120-14899	14239-15039	779	780	801	0	0	0	0								R
A+T-rich region	14972-15325	14900-15226	15040-15545	354	327	506	0	0	0	0							-	-

Cp: 桃多斑野螟 *Conogethes punctiferalis*; Pn: 白蜡绢须野螟 *Palpita nigropunctalis*; Pp: 豹纹卷野螟 *Pycnarmon pantherata*. 下表同 The same below.

似, 3 种斑野螟全线粒体基因组中碱基具有明显的 AT 偏向性 (表 3), 桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组的 AT 含量分别是 80.52%、81.03%、81.42%, 明显高于 GC 含量 19.48%、18.97%、18.58%。AT 偏斜值分别为 -0.025、-0.008、-0.009, 从 AT 偏斜值可看出在整个线粒体基因组中碱基 A 的含量略低于碱基 T, GC 偏斜值分别为 -0.207、-0.181、-0.199, 即基因组中碱基 G 的含量明显低于碱基 C, 这与螟蛾总科其它昆虫的碱基组成类似。A+T 富集区的 AT 偏向性更为显著, AT 含量分别为 96.05%、93.88%、97.83%, 是整个线粒体基因组中 AT 含量最高的部分。除了 A+T 富集区外, rRNA 基因的 AT 含量相对较高, 分别是 85.11%、84.92%、85.68%。各组分中蛋白质编码基因的 AT 含量相对较低。3 种斑野螟蛋白质编码基因密码子第 3 位点的 AT 含量 (92.71%、94.30%、93.47%) 明显高于第 1 位点 (73.13%、74.09%、74.28%) 和第 2 位点 (70.41%、70.49%、70.44%)。AT 偏斜的特征不仅表现在碱基组成上而且表现在密码子的使用上 (表 4), 第 3 位点为 A 或 U 的密码子使用次数高于其它同义密码子的使用次数, 3 种斑野螟线粒体基因组中密码

子 UUA (L) 和 UCU (S) 的使用频率 (RSCU) 最高, 密码子 AGG (S) 在 3 种斑野螟中都未被使用过, 且每个种至少有一个富含 GC 的密码子在基因组中未被使用。

2.3 蛋白质编码基因

桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组中 13 个蛋白质编码基因序列全长分别为 11 154、11 163、11 163 bp, 分别编码 3 718、3 721、3 721 个氨基酸 (去除终止密码子) (表 3)。3 种斑野螟的蛋白质编码基因起始密码子的使用大体相似 (表 2), 除 CGA 作为 CO 起始密码子外, 其它的 12 个蛋白质编码基因都是以典型的 ATN 起始, CO、ATP6、CO、ND4、Cytb 以 ATG 作为起始密码子, ND2、ATP8、ND5、ND6 以 ATT 为起始密码子, ND3、ND4L、ND1 除桃多斑野螟分别以 ATC、ATA、ATA 为起始密码子, 其它两个种都分别以 ATT、ATG、ATG 作为起始密码子。3 种斑野螟的 10 个蛋白质编码基因 ND2、ATP8、ATP6、CO、ND3、ND4、ND4L、ND6、Cytb、ND1 的终止密码子为 TAA, CO、CO 和 ND5 的终止密码子为不完全的终止密码子 T 或 TA, 不完全终止密码子在很多鳞

表 3 3 种斑野螟线粒体基因组碱基含量分析
Table 3 The nucleotide composition of mitochondrial genome for three Spilomelinae species

基因 Genes	A+T (%)			G+C (%)			AT-skew			GC-skew			n		
	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp	Cp	Pn	Pp
whole genome	80.52	81.03	81.42	19.48	18.97	18.58	0.025	-0.008	-0.009	-0.207	-0.181	-0.199	15 325	15 226	15 545
All protein genes	78.75	79.63	79.40	21.25	20.37	20.61	-0.162	-0.142	-0.149	0.023	0.040	0.055	11 154	11 163	11 163
1st codon position	73.13	74.09	74.28	26.87	25.91	25.71	-0.016	-0.009	0.001	0.231	0.261	0.269	3 718	3 721	3 721
2st codon position	70.41	70.49	70.44	29.59	29.51	29.55	-0.382	-0.379	-0.385	-0.098	-0.104	-0.100	3 718	3 721	3 721
3st codon position	92.71	94.30	93.47	7.29	5.70	6.56	-0.109	-0.070	-0.089	-0.255	-0.226	-0.086	3 718	3 721	3 721
tRNA genes	81.64	81.95	82.21	18.36	18.05	17.79	0.024	0.017	0.051	0.151	0.149	0.152	1 476	1 485	1 484
rRNA genes	85.11	84.92	85.68	14.89	15.08	14.32	0.028	0.033	0.034	0.315	0.335	0.331	2 156	2 135	2 172
A+T-rich region	96.05	93.88	97.83	3.95	6.12	2.17	-0.124	-0.042	0.030	-0.571	-0.400	-0.455	354	327	506

表 4 3 种斑野螟线粒体基因组蛋白质编码基因密码子的使用情况

Table 4 Codon usage in protein-coding genes of the mitogenomes of three *Spilomelinae* species

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	Cp		Pn		Pp		氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	Cp		Pn		Pp	
		No	RSCU	No	RSCU	No	RSCU			No	RSCU	No	RSCU	No	RSCU
Phe	UUU (F)	352	1.80	358	1.89	349	1.87	Tyr	UAU (Y)	174	1.87	176	1.84	172	1.83
	UUC (F)	40	0.20	20	0.11	24	0.13		UAC (Y)	12	0.13	15	0.16	16	0.17
Leu	UUA (L)	457	4.99	483	5.34	469	5.34	Ter*	UAA (*)	0	0	0	0	0	0
	UUG (L)	17	0.19	11	0.12	14	0.16		UAG (*)	0	0	0	0	0	0
	CUU (L)	46	0.50	25	0.28	26	0.30	His	CAU (H)	63	1.83	62	1.85	60	1.76
	CUC (L)	4	0.04	1	0.01	4	0.05		CAC (H)	6	0.17	5	0.15	8	0.24
	CUA (L)	25	0.27	22	0.24	14	0.16	Gln	CAA (Q)	59	1.90	60	1.90	56	1.87
	CUG (L)	1	0.01	1	0.01	0	0		CAG (Q)	3	0.10	3	0.10	4	0.13
Ile	AUU (I)	437	1.88	432	1.89	463	1.95	Asn	AAU (N)	229	1.85	237	1.88	229	1.91
	AUC (I)	29	0.12	24	0.11	13	0.05		AAC (N)	18	0.15	15	0.12	11	0.09
Met	AUA (M)	240	1.83	271	1.87	278	1.89	Lys	AAA (K)	91	1.78	96	1.86	101	1.87
	AUG (M)	23	0.17	19	0.13	16	0.11		AAG (K)	11	0.22	7	0.14	7	0.13
Val	GUU (V)	66	1.93	67	1.90	78	2.15	Asp	GAU (D)	58	1.81	57	1.81	62	1.91
	GUC (V)	4	0.12	3	0.09	1	0.03		GAC (D)	6	0.19	6	0.19	3	0.09
	GUA (V)	64	1.87	69	1.96	59	1.63	Glu	GAA (E)	71	1.80	67	1.76	70	1.82
	GUG (V)	3	0.09	2	0.06	7	0.19		GAG (E)	8	0.20	9	0.24	7	0.18
Ser	UCU (S)	103	2.63	118	2.97	109	2.67	Cys	UGU (C)	32	1.94	27	1.80	29	1.76
	UCC (S)	15	0.38	12	0.30	13	0.32		UGC (C)	1	0.06	3	0.20	4	0.24
	UCA (S)	81	2.07	74	1.86	80	1.96	Trp	UGA (W)	93	1.96	93	1.98	91	1.92
	UCG (S)	2	0.05	0	0	7	0.17		UGG (W)	2	0.04	1	0.02	4	0.08
	AGU (S)	30	0.77	24	0.60	28	0.69	Arg	CGU (R)	20	1.54	17	1.28	13	1
	AGC (S)	1	0.03	0	0	1	0.02		CGC (R)	0	0	1	0.08	0	0
	AGA (S)	81	2.07	90	2.26	89	2.18		CGA (R)	31	2.38	34	2.57	33	2.54
	AGG (S)	0	0	0	0	0	0		CGG (R)	1	0.08	1	0.08	6	0.46
Thr	ACU (T)	77	2.10	82	2.17	88	2.39	Pro	CCU (P)	78	2.50	73	2.35	71	2.25
	ACC (T)	12	0.33	9	0.24	8	0.22		CCC (P)	9	0.29	6	0.19	17	0.54
	ACA (T)	56	1.52	58	1.54	50	1.36		CCA (P)	37	1.18	44	1.42	36	1.14
	ACG (T)	2	0.05	2	0.05	1	0.03		CCG (P)	1	0.03	1	0.03	2	0.06
Ala	GCU (A)	84	2.56	73	2.30	77	2.50	Gly	GGU (G)	63	1.24	50	1.00	40	0.81
	GCC (A)	6	0.18	8	0.25	8	0.26		GGC (G)	7	0.14	2	0.04	1	0.02
	GCA (A)	37	1.13	44	1.39	33	1.07		GGA (G)	111	2.18	126	2.51	125	2.54
	GCG (A)	4	0.12	2	0.06	5	0.16		GGG (G)	23	0.45	23	0.46	31	0.63

No：某一密码子使用次数；RSCU：相对同义密码子使用频率。
No: Number of occurrences of each codon; RSCU: Relative synonymous codon usage.

翅目昆虫线粒体基因组中都有使用 ,在不影响翻译的情况下可以将不完整的终止密码子 T 或 TA 通过转录后的加工补全为完整的终止密码子

TAA。3 种斑野螟的 13 个蛋白质编码基因 AT 偏移值分别为 - 0.162、 - 0.142、 - 0.149 , GC 偏移值分别为 0.023、0.040、0.055 ,表明 3 种斑野

螟蛋白质编码基因中碱基 A 的含量略低于 T, 而 G 的含量高于 C (表 3)。

2.4 tRNA 基因和 rRNA 基因

桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组的 22 个 tRNA 基因总长度分别为 1 476、1 485、1 484 bp, AT 含量分别为 81.64%、81.95%、82.21%, 3 种斑野螟中相同 tRNA 的相

对位置及其反密码子均一致, 长度介于 62~70 bp 之间。tRNA 基因之间普遍存在碱基重叠与间隔现象, 除 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 缺 DHU 臂以外, 其它 21 个 tRNA 均可形成典型的三叶草二级结构 (图 1), 包括一个可变环和四个臂, 四个臂分别为: 氨基酸接受臂、反密码子臂、双氢尿嘧啶 (Dihydrouridine, DHU) 臂和 T ψ C 臂。 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 缺 DHU 臂现象不仅出现在鳞翅目昆虫中, 其它

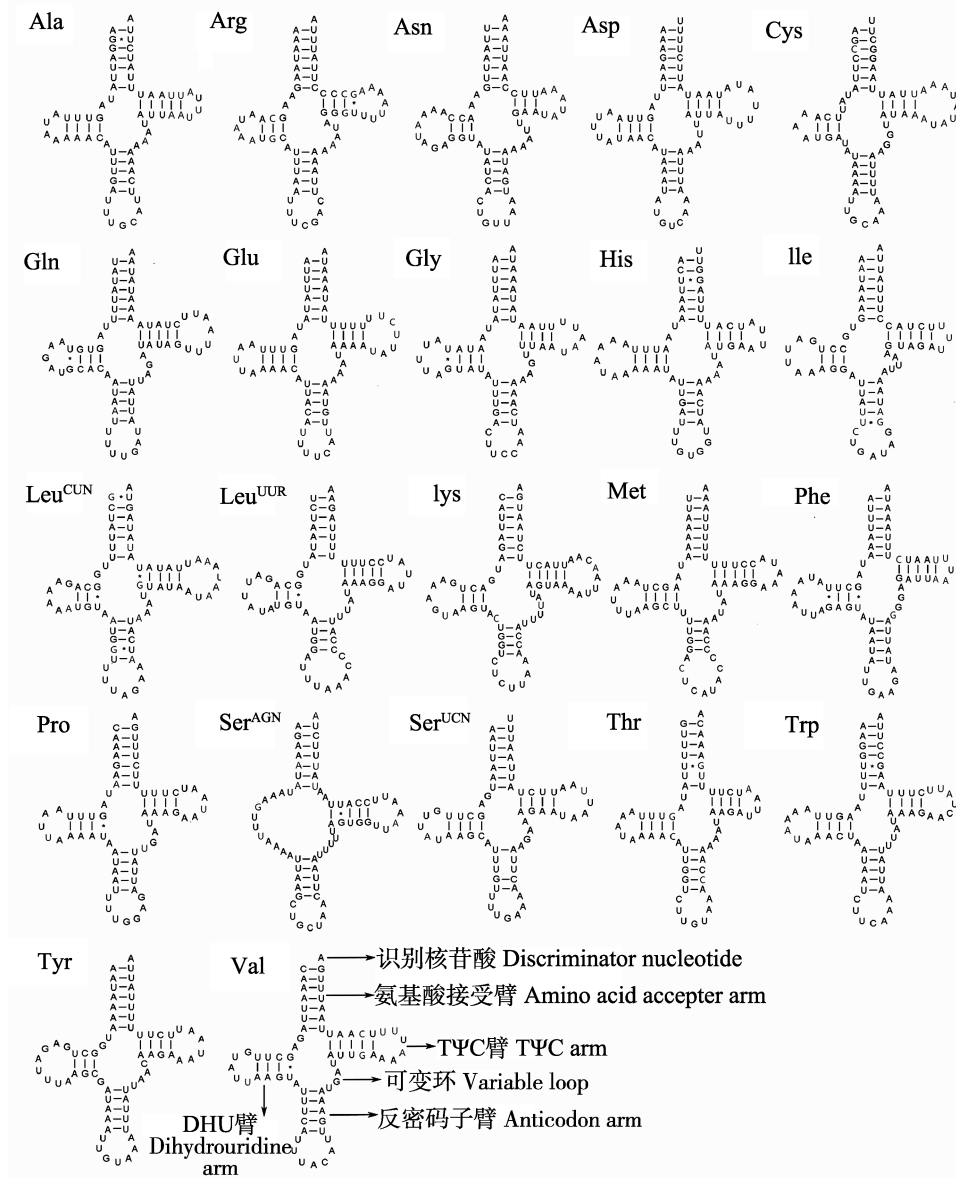


图 1 桃多斑野螟 tRNA 基因的二级结构

Fig. 1 Secondary structure of the mitochondrial tRNA gene for *Conogethes punctiferalis*

3 种斑野螟的保守位点用黑色标记, 可变位点标记成灰色。

Conserved sites of three Spilomelinae species are labeled in black, variable sites labeled in gray.

昆虫中也存在。tRNA 基因中除经典配对外, 还存在少量非经典配对 G-U 以及个别碱基错配现象。本研究中 3 种斑野螟除 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 反密码子臂上都有 2 处 U-U 错配以外, 桃多斑野螟在 $tRNA^{Ala}$ 、 $tRNA^{Leu}(UUR)$ 、 $tRNA^{Thr}$ 的氨基酸接受臂上各存在 1 处 U-U 错配; 白蜡绢须野螟在 $tRNA^{Ala}$ 、 $tRNA^{Ile}$ 、 $tRNA^{Leu}(CUN)$ 、 $tRNA^{Leu}(UUR)$ 、 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 的氨基酸接受臂上各存在 1 处 U-U 错配; 豹纹卷野螟的 $tRNA^{Ala}$ 、 $tRNA^{Leu}(UUR)$ 的氨基酸接受臂上各存在 1 处 U-U 错配, $tRNA^{Ile}$ 的反密码子臂和 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 氨基酸接受臂上各存在 1 处 A-C 错配。

rRNA 基因的位置和结构都比较保守, 进化速率相对较慢。3 种斑野螟 rRNA 基因 (16S rRNA 和 12S rRNA) 与其它鳞翅目昆虫一致, 位于 $tRNA^{Leu}(CUN)$ 和 A+T 富集区之间被 $tRNA^{Val}$ 间隔开, 总长度分别为 2 156、2 135、2 172 bp, AT 含量分别为 85.11%、84.92%、85.68%, 明显高于 GC 含量 14.89%、15.08%、14.32%。

2.5 A+T 富集区

桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组的 A+T 富集区位于 12S rRNA 和 $tRNA^{Met}$ 之间, 长度分别是 354、327、506 bp, AT 含量为 96.05%、93.88%、97.83%, 明显高于 37 个编码基因的 AT 含量。A+T 富集区具有以下几个特点: 都存在以“ATAG(-)”引导的长度介于 14~18 bp 的 poly-T 结构, 研究表明 poly-T 结构在线粒体 DNA 的复制中起重要作用, 这个结构在螟蛾总科昆虫乃至整个鳞翅目昆虫中都很常见。白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组控制区的下游有一段 11 bp 的 poly-A 结构。此外, 其它位置还存在一些相对较小而又分散的重复序列, 豹纹卷野螟 A+T 富集区“ATTTA”基序后有一个 (ATAAT)₃₈ 微卫星结构。

2.6 系统发育分析

利用本研究测定的桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟的全线粒体基因组结合已公布的 24 种螟蛾总科昆虫线粒体基因组序列, 采用最

大似然法和贝叶斯法基于 13 个蛋白质编码基因构建系统进化树。两种分析结果基本一致 (图 2), 支持目前普遍接受的螟蛾总科分类系统。螟蛾总科从基部分为两支, 分别是螟蛾科和草螟科, 螟蛾科包括 3 个亚科 5 个种, 从目前结果来看, 相比较蜡螟亚科 (Galleriinae) 而言, 斑螟亚科 (Phycitinae) 与丛螟亚科 (Epipaschiinae) 亲缘关系更近, 由于各亚科代表物种较少, 这个结果还需要更多分子数据的支持。草螟科从基部分为两支, 一个分支包括草螟亚科 (Crambinae)、水螟亚科 (Nymphulinae) 和禾螟亚科 (Schoenobiinae) 3 亚科 8 种, 其中草螟亚科和水螟亚科的亲缘关系更近, 互为姐妹群, 且均为单系群。野螟亚科 2 个种和斑野螟亚科的 12 个种构成了草螟科的另一分支。

3 讨论

本文采用昆虫通用引物并结合新设计的特异性引物进行短片段 PCR 扩增, 测定桃多斑野螟、白蜡绢须野螟、豹纹卷野螟线粒体基因组序列, 比较分析了基因组的结构与组成、AT 含量以及密码子的使用、蛋白质编码基因的特点、tRNA 二级结构、A+T 富集区序列特征等。3 种斑野螟基因组长度分别为 15 325、15 226、15 545 bp, 碱基组成均存在明显的 AT 偏向性, 桃多斑野螟基因组的 AT 含量略低于其它两个种。第 3 位点为 U 或 A 的密码子使用偏好性与蛋白质编码基因第 3 位点高的 AT 含量相适应。在 3 种斑野螟的线粒体基因组中, CO 基因都以 CGA 为起始密码子。昆虫 CO 基因起始密码子的使用没有统一的规律, 在以往的研究中, 发现许多物种的 CO 基因有特殊的起始密码子, 如 TTA (Zhou *et al.*, 2008; 2010)、CCG (Fenn *et al.*, 2008), 以及四联体起始密码子 ATAA 或者 ATTA (Clary and Wolstenholme, 1983) 等。此外, 玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 和亚洲玉米螟 *Ostrinia furnicalis* 存在六联体起始密码子 TATTAG (Coates *et al.*, 2005), 菜粉蝶 *Pieris rapae* 存在 TTAAAG 六联体密码子 (Mao *et al.*, 2010)。在

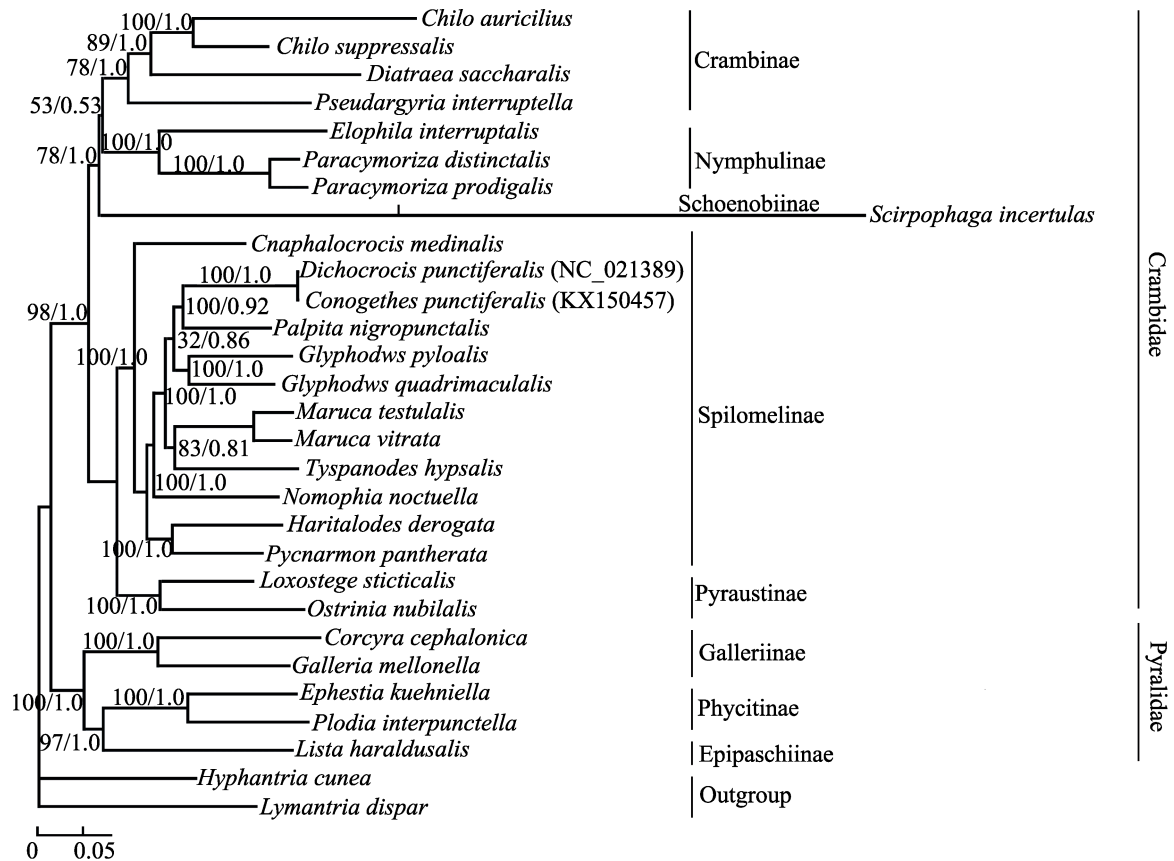


图 2 基于 13 个蛋白质编码基因构建的螟蛾总科系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of Pyraloidea based on PCGs gene sequences

分支节点处的数字代表 ML 树自展值/BI 树后验概率。

Numbers at the nodes represent ML bootstrap values and Bayesian posterior probabilities respectively.

tRNA 中除 $tRNA^{Ser}(AGN)$ 缺少 DHU 臂以外, 其它 21 个 tRNA 基因的二级结构均可形成典型的三叶草结构, 这种缺 DHU 臂的现象在鳞翅目昆虫中非常普遍, 但也有例外, 如卷蛾科茶小卷叶蛾 *Adoxophyes honmai* 的所有 tRNA 的二级结构都是典型的三叶草结构 (Lee *et al.*, 2006)。3 种斑野螟昆虫 tRNA 的二级结构中除了存在少量非经典配对 G-U 外, 还存在 U-U 错配, 与其它两个种不同, 豹纹卷野螟中还存在 2 处 C-A 错配。rRNA 基因的位置和组成相对比较保守。A+T 富集区是线粒体基因组中序列和长度变化最大的区域, 也有保守基序及微卫星结构的存在。研究发现, 亲缘关系相近的物种 A+T 富集区大小差异主要是由串联重复序列的数目不同而引起。结合部分已测螟蛾总科昆虫线粒体基因组序列采用贝叶斯法和最大似然法构建系统进化树, 对螟

蛾总科进行了初步的系统发育分析, 两种分析方法的结果基本一致, 支持目前普遍接受的螟蛾总科分类系统 (Solis, 2007; Regier *et al.*, 2012; Ye *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2015)。从基部分为两支, 一支由螟蛾科 3 个亚科组成, 另一支由草螟科 5 个亚科组成, 有力的支持了草螟科、螟蛾科的单系性。草螟科的基部分为两支, 禾螟亚科、草螟亚科和水螟亚科构成了草螟科的一个分支, 另一个分支由斑野螟亚科和野螟亚科构成。目前, 禾螟亚科系统发育位置在不同的研究中还存在争议, 禾螟亚科仅有一个代表物种, 这也是基于线粒体基因组数据进行研究时其系统发育位置不确定的一个主要原因, 要进一步明确系统发育关系, 需要更多代表物种分子数据的支持。本研究的结果可为螟蛾总科昆虫线粒体基因组的进化分析提供数据支持, 同时也为深入研究螟蛾

总科以及鳞翅目昆虫线粒体基因组特征及系统发育关系提供基础性的资料。

参考文献 (References)

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ, 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3): 403–410.
- Boore JL, 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(8): 1767–1780.
- Cameron SL, 2014. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annual Review of Entomology*, 59(1): 95–117.
- Clary DO, Wolstenholme DR, 1983. Genes for cytochrome c oxidase subunit I, URF2, and three tRNAs in *Drosophila* mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Research*, 11(19): 6859–6872.
- Coates BS, Sumerford DV, Hellmich RL, Lewis LC, 2005. Partial mitochondrial genome sequences of *Ostrinia nubilalis* and *Ostrinia furnicalis*. *International Journal of Biological Sciences*, 1(1): 13–18.
- Fenn JD, Song H, Cameron SL, Whiting MF, 2008. A preliminary mitochondrial genome phylogeny of Orthoptera (Insecta) and approaches to maximizing phylogenetic signal found within mitochondrial genome data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(1): 59–68.
- Lee ES, Shin KS, Kim MS, Park H, Cho S, Kim CB, 2006. The mitochondrial genome of the smaller tea tortrix *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae). *Gene*, 373: 52–57.
- Li XJ, Yang J, Wang JH, Ren QL, Li X, Huang Y, 2013. Methods and software tools for mitochondrial genome assembly and annotation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(1): 298–304. [李雪娟, 杨婧, 王俊红, 任倩俐, 李霞, 黄原, 2013. 线粒体基因组数据的分析方法和软件. 应用昆虫学报, 50(1): 298–304.]
- Liao F, Wang L, Wu S, Li YP, Zhao L, Huang GM, Niu CJ, Liu YQ, Li MG, 2010. The complete mitochondrial genome of the fall webworm, *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *International Journal of Biological Sciences*, 6(2): 172–186.
- Lowe TM, Eddy SR, 1997. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research*, 25(5): 955–964.
- Mao ZH, Hao JS, Zhu GP, Hu J, Si MM, Zhu CD, 2010. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Pieris rapae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(11): 1295–1304. [毛增辉, 郝家胜, 朱国萍, 胡静, 司曼曼, 朱朝东, 2010. 菜粉蝶线粒体基因组的全序列测定和分析. 昆虫学报, 53(11): 1295–1304.]
- Perna NT, Kocher TD, 1995. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes. *Journal of Molecular Evolution*, 41(3): 353–358.
- Regier JC, Mitter C, Solis MA, Hayden JE, Landry B, 2012. A molecular phylogeny for the pyraloid moths (Lepidoptera: Pyraloidea) and its implications for higher-level classification. *Systematic Entomology*, 37(4): 635–656.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Simon C, Frati BF, Stewart JB, Beckenbach AT, 2006. Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1): 545–579.
- Singh VK, Mangalam AK, Dwivedi S, Naik S, 1998. Primer premier: program for design of degenerate primers from a protein sequence. *Biotechniques*, 24(2): 318–319.
- Solis MA, 2007. Phylogenetic studies and modern classification of the Pyraloidea (Lepidoptera). *Revista Colombiana de Entomologia*, 33(1): 1–8.
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK, 2000. The Staden package, 1998. *Methods of Molecular Biology*, 132: 115–130.
- Stamatakis A, Ludwig T, Meier H, 2005. RAxML-III: a fast program for maximum likelihood-based inference of large phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 21(4): 456–463.
- Taanman JW, 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1410(2): 103–123.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S, 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731–2739.
- Tang PA, Wu HJ, Wang J, Guo ZL, Yuan ML, 2015. Complete mitochondrial genome of *Plodia interpunctella* and phylogenetic analysis of Pyraloidea (Insecta: Lepidoptera). *Science China: Life Sciences*, 45(9): 890–900. [唐培安, 吴海晶, 王娟, 郭仲龙, 袁明龙, 2015. 印度谷螟线粒体基因组测定及螟蛾总科系统发育分析. 中国科学: 生命科学, 45(9): 890–900.]
- 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.

- Wei SJ, Chen XX, 2011. Progress in research on the comparative mitogenomics of insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(6): 1573–1585. [魏书军, 陈学新, 2011. 昆虫比较线粒体基因组学研究进展. *应用昆虫学报*, 48(6): 1573–1585.]
- Wolstenholme DR, 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *International Review of Cytology*, 141(6): 137–216.
- Ye F, Shi YR, Xing LX, Yu HL, You P, 2013. The complete mitochondrial genome of *Paracymoriza prodigalis* (Leech, 1889) (Lepidoptera), with a preliminary phylogenetic analysis of Pyraloidea. *Aquatic Insects*, 35(3/4): 71–88.
- Zhang XY, Gao YN, 2004. To design PCR primers with Oligo 6 and Primer premier 5. *China Journal of Bioinformatics*, 2(4): 15–18.
- Zhou Z, Shi F, Huang Y, 2008. The complete mitogenome of the chinese bush cricket, *Gampsocleis gratiosa* (Orthoptera: Tettigoniioidea). *Journal of Genetics and Genomics*, 35(6): 341–348.
- Zhou Z, Ye H, Huang Y, Shi F, 2010. The phylogeny of Orthoptera inferred from mtDNA and description of *Elimaea cheni* (Tettigoniidae: Phaneropterinae) mitogenome. *Journal of Genetics and Genomics*, 37(5): 315–324.
- Zhu YJ, Zhou GL, Fang R, Ye Jun, Yi JP, 2010. The complete sequence determination and analysis of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) mitochondrial genome. *Plant Quarantine*, (4): 6–11. [朱雅君, 周国梁, 房蕊, 叶军, 易建平, 2010. 舞毒蛾线粒体 DNA 全序列分析. *植物检疫*, (4): 6–11.]



马铃薯甲虫幼虫

马铃薯甲虫 *Leptontarsa decemlineata* (Say) 是世界著名害虫, 主要危害马铃薯、茄子和西红柿等, 野生寄主植物有刺萼龙葵和天仙子等。该虫发源于北美洲落基山脉, 大约 170 年前随着北美洲栽培马铃薯引入后成为其主要害虫。马铃薯甲虫成虫和幼虫均造成危害, 幼虫常将马铃薯叶片全部吃光, 在许多国家造成马铃薯减产 30%~50%, 严重的地方造成 90% 的产量损失甚至绝收。马铃薯甲虫 1993 年首次在我国的新疆伊犁地区发现, 目前在新疆、黑龙江和吉林 3 省区的 46 个县市有分布。

马铃薯甲虫幼虫共有 4 个龄期, 1、2 龄幼虫暗褐色, 由 3 龄开始逐渐变鲜黄色、粉红色或橙黄色; 头及前胸背板骨片以及胸、腹部的气门片暗褐色或黑色; 4 龄幼虫背部的骨片退化或仅保留短刚毛。该照片为 4 龄幼虫, 2016 年 7 月 27 日拍摄于新疆霍城县惠远镇。

(张润志, 中国科学院动物研究所)