

甘肃省二斑叶螨地理种群的遗传分析

杨顺义¹ 周兴隆² 陈露露¹ 张新虎¹ 杨航宇³ 沈慧敏^{1*}

(1. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070;

2. 宁夏农业技术推广总站, 银川 750001; 3. 甘肃林业职业技术学院, 天水 741020)

摘要: 为探讨甘肃省二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 种群遗传多样性及遗传分化, 通过 mtDNA-COI 基因 DNA 条形码技术对采自甘肃省 8 个不同生境 35 个二斑叶螨地理种群的 582 个样品进行序列分析及地理种群的遗传分化分析。结果表明, 获得二斑叶螨 mtDNA-COI 基因片段大小为 424 bp, 其中保守序列 336 个, 变异位点 66 个, 简约信息位点 45 个, 单突变位点 21 个; 碱基(A+T)含量明显高于(C+G)含量, 有明显的 A/T 碱性偏倚性; 在 35 个地理种群中共检出 16 个单倍型, 单倍型指数为 0.906; Mantel 检测结果表明种群间的遗传距离与地理距离无显著相关性; 35 个地理种群间的遗传分化指数 F_{st} 为 0.012, 种群间变异为 1.200。表明二斑叶螨的遗传变异主要来自于种群内部, 种群间还未发生明显的遗传分化。

关键词: 二斑叶螨; mtDNA-COI 基因; 种群遗传; 地理种群

The genetic analysis of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* geographical populations in Gansu Province

Yang Shunyi¹ Zhou Xinglong² Chen Lulu¹ Zhang Xinhui¹ Yang Hangyu³ Shen Huimin^{1*}

(1. Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, College of Plant Protection,

Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China; 2. Agricultural Technology

Extension Station of Ningxia, Yinchuan 750001, Ningxia, China; 3. Gansu Forestry

Technological College, Tianshui 741020, Gansu Province, China)

Abstract: In order to study the population genetic variation and genetic diversity of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in Gansu Province, 582 *T. truncatus* samples collected from 35 sampling points in eight different habitats of Gansu Province were analyzed based on mtDNA-COI gene sequences and by using DNA barcode technique. The results showed that there were 336 conserved sequences, 66 variation points, 45 parsimony informative sites and 21 single mutation sites in the sequenced fragments of 424 bp in length; the (A+T) content was apparently higher than (G+C) content, with an obvious A/T alkalinity bias. There were 16 haplotypes in 35 geographical populations with a haploid type index of 0.906. According to Mantel test results, no significant correlation was found between genetic distance and geographical distance. The genetic differentiation index (F_{st}) among 35 geographical populations was 0.012, and variation was 1.200. The results showed that the heritable variation of *T. urticae* was mainly from within populations, and there was no obvious genetic differentiation among populations.

Key words: *Tetranychus urticae*; mtDNA-COI gene; population genetics; geographical population

基金项目: 甘肃农业大学学科建设专项基金(GAU-XKJS-2018-153), 国家自然科学基金(31260442), 国家公益性行业(农业)科研专项(201103020)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: ndshm@gsau.edu.cn, Tel: 0931-7632260

收稿日期: 2017-04-08

二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 属叶螨科叶螨属(匡海源, 1986), 是一种重要农业害螨, 能取食包括蔬菜、花卉、果树、棉花等 240 科 1 100 余种植物以及一些有毒植物(Grbić et al., 2011), 该螨世代多、发育历期短、繁殖速度快(赵卫东等, 2003), 已成为甘肃省蔬菜、果树和花卉上的重要害虫, 且在各地为害程度呈上升趋势, 严重制约了粮棉果蔬等产业的可持续发展。

mtDNA 是真核细胞中一种雌性中介的基因流, 呈母系遗传, 因而它是研究母系基因流、物种起源分化遗传变异、生物种群亲缘关系、种和亚种的系统发育分析及地理种群之间系统关系的分子工具(李国庆, 2010; 常雪莲等, 2015)。线粒体是动植物细胞中重要的细胞器, 承载着动植物重要的遗传信息。mtDNA 分子结构简单, 呈严格的母系遗传, 重组概率极小, 与核基因无共同序列, 进化速率快, 序列和组成一般比较保守且碱基替换率低, 因而常被作为分子标记手段, 用来确定品种间母系起源的遗传关系(Zouros et al., 1994)。自 DNA 条形码概念被提出以来(Hebert et al., 2003), DNA 条形码技术受到生物分类学领域普遍关注, 线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (mtDNA-*COI*) 被用作动物类群的主要条形码序列, 基于该基因片段的昆虫条形码研究在国内外广泛开展(杨倩倩等, 2012)。昆虫的 mtDNA 大小为 1 514~1 613 kb, 包括 12 或 13 个编码蛋白质的基因。由于其分布普遍、序列和结构相对保守而被广泛应用于不同分类阶元层次上的分子系统学研究(Moritz et al., 1987; Gray, 1989)。此外, mtDNA-*COI* 基因还用于发现隐存种和研究种内分化, 通过分析种群遗传分化水平, 对入侵物种的来源地进行推测(Toda & Murai, 2007; Rugman-Jones et al., 2007; 2010)。Navajas et al. (1998) 分析了来自全世界 15 个地区的二斑叶螨种群 mtDNA-*COI* 基因的变异度, 并构建了系统发育树, 发现这 15 个种群可以分为 2 个主要世系; Hinomoto et al. (2001) 通过比较存在争议的二斑叶螨绿色型和红色型的 mtDNA-*COI* 基因序列的同源性, 证明了二者为同一个种; 谢霖(2006)利用 mtDNA-*COI* 基因研究发现中国 13 个二斑叶螨地理种群中, 新疆种群与其余 12 个种群亲缘关系较远, 和地中海种群亲缘关系较近, 说明新疆种群可能由地中海地区传入。Ros & Brewer (2007) 研究表明二斑叶螨、神泽氏叶螨 *Tetranychus kanzawai* 和截形叶螨 *Tetranychus truncatus* 各形成一个种内差异很大的进化分支, 很可能是由于共生菌引起的。

目前, 有关甘肃省二斑叶螨的研究已有大量报道, 而有关其来源地及遗传分化的问题鲜有报道, 基于此, 本研究采用 mtDNA-*COI* 基因作为分子标记, 从分子遗传学的角度分析甘肃省二斑叶螨不同地理种群的种内遗传及种群遗传分化, 以期明确甘肃省二斑叶螨的扩散及定殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源: 二斑叶螨于 2016 年 6—9 月采自甘肃省 8 个流域: 疏勒河(3 个种群)、黑河(5 个种群)、石羊河(4 个种群)、黄河(8 个种群)、渭河(5 个种群)、洮河(1 个种群)、泾河(5 个种群)及嘉陵江(4 个种群), 共 35 个地理种群共 582 个样本。样本采集后, 单头螨短期保存于装有无水乙醇且干净的 1.5 mL 离心管中, 备用。

试剂及仪器: STE 缓冲液(含 100 mmol/L NaCl、10 mmol/L Tris-HCl、1 mmol/L EDTA, pH 8.0)、10 mg/mL 蛋白酶 K、Goldview II 染料, 北极赛百盛基因公司; RTaq 酶及 PCR 相关试剂, 宝生物工程(大连)有限公司; DNA Marker, 北京全式金生物技术有限公司。PowerPac Basic 电泳仪、Gel Doc EQ 凝胶成像系统、S1000™ Thermal Cycling PCR 仪, 美国 Bio-Rad 公司; Nanovue 核酸浓度测定仪, 美国 GE Healthcare 公司。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取

总 DNA 的提取参考 Gomi et al. (1997) 方法并加以改良。于 1.5 mL 离心管中加入 25 μ L STE 缓冲液并将其置于冰上预冷, 挑取新鲜单头二斑叶螨雌成螨放入离心管内, 立即用塑料研磨棒研磨, 研磨后将离心管置于冰上, 向离心管内加入 10 mg/mL 蛋白酶 K 2 μ L; 10 000 g 离心 2 min 后, 于 37℃ 下孵育 30 min, 95℃ 初始变性 5 min, -20℃ 条件保存备用。

1.2.2 PCR 扩增

本试验使用 1 对特异性引物(Navajas et al., 1996)从二斑叶螨线粒体 DNA 的 *COI* 基因中扩增出 1 段 453 bp 的目的片段。上游引物: 5'-TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG-3'; 下游引物: 5'-TACAGCTCCTATAGATAAAAC-3', 引物均由生工生物工程(上海)有限公司合成。

50 μ L PCR 反应体系: DNA 模板 4 μ L、10×Buffer 5 μ L、25 mmol/L MgCl₂ 5 μ L、10 mmol/L dNTPs 4 μ L、5 U/mL TaqDNA 聚合酶 0.4 μ L、10 μ mol/L 上

下游引物各 1.5 μ L、ddH₂O 28.6 μ L。PCR 反应过程: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 51℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 总延伸 10 min, 4℃ 保存。取 PCR 反应产物 5~9 μ L, 在浓度为 1.0% 的琼脂糖凝胶上以 60 V 电压电泳 30 min, 进行观察拍照。

1.3 数据分析

利用 MEGA 7.0 软件分析核苷酸碱基组成、碱基的变异突变位点; 使用 DAMBE 软件以 TN93 distance 模型校正遗传距离为横坐标, 以转换颠换数为纵坐标, 对二斑叶螨的 *COI* 基因片段检测碱基替代饱和性; 选用 Kimura 2-Parameter 模型, 采用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 构建系统树, 采用 Bootstrap 1 000 次检验分子系统树各分支的置信度; 采用 DnaSP 5.0 统计单倍型数目及出现频率; 采用 NetWork 4.0 程序构建单倍型的中介网络图; 采用 Mantel Test 分析遗传距离与地理距离的相关性; 应用 Arlequin 3.5 软件计算群体间的分化指数 (F_{st}) 并

进行分子方差分析。

2 结果与分析

2.1 mtDNA-*COI* 序列变异及遗传多态性分析

测定了甘肃省 8 个生态区 35 个二斑叶螨地理种群的 582 条 mtDNA-*COI* 基因序列, 片段长度为 424 bp, 其中保守序列 336 个, 变异位点 66 个, 简约信息位点 45 个, 单突变位点 21 个, 转换与颠换比值为 3.883, 碱基 A、T、C、G 平均含量分别为 31.90%、43.80%、10.37%、13.92%, A+T 的含量 (75.70%) 明显高于 C+G 的含量 (24.30%), 表明有明显的碱性偏倚性。以其中单倍型 H₁ 作为标准进行比较分析, 检出 H₁~H₁₆ 共 16 个单倍型, 单倍型指数为 0.906。各生态区二斑叶螨单倍型数量及分布结果显示, 在 16 个单倍型中 H₁₁ 包含的种群数最多, 共出现 7 次, 分布于 5 个生态区域, 为主体单倍型, 占个体样本的 20.00% (表 1)。

表 1 甘肃省各生态区二斑叶螨单倍型

Table 1 Haplotypes of *Tetranychus urticae* in ecoregions in Gansu Province

生态区域 Ecoregion	种群数 Population number	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	H_11	H_12	H_13	H_14	H_15	H_16	合计 Total
疏勒河 Shule River	3		1				1									1		3
黑河 Hei River	5				1	1					1			1			1	5
石羊河 Shiyang River	4				1				1		2							4
黄河 Yellow River	8	1		2	1						1	3						8
渭河 Wei River	5				1					1		2			1			5
洮河 Tao Rive	1											1						1
泾河 Ching River	5				1						1	1	2					5
嘉陵江 Jialing River	4				1			2				1						4
合计 Total	35	1	1	2	5	1	1	2	1	1	5	7	2	1	1	1	1	35
比例 Proportion (%)		2.86	2.86	5.71	14.26	2.86	2.86	5.71	2.86	2.86	14.26	20.00	5.71	2.86	2.86	2.86	2.86	

2.2 甘肃省二斑叶螨单倍型间的发生关系

构建基于 mtDNA-*COI* 基因的二斑叶螨各单倍型中介图, 结果显示, 各单倍型明显聚为 4 个聚类簇, 聚类簇 A 中包含 4 种单倍型, 分别为 H₂、H₁₁、H₁₂、H₁₃; 聚类簇 B 中出现 4 种单倍型, 分别为 H₁、H₆、H₈、H₁₀; 聚类簇 C 中出现 3 种单倍型, 分别为 H₃、H₄、H₇; 聚类簇 D 中包含 3 种单倍

型, 分别为 H₉、H₁₄、H₁₆; H₅ 和 H₁₅ 通过一步突变单独成一支。其中, H₄、H₁₀ 和 H₁₁ 为主体单倍型, 出现频率分别为 5、5、7 次 (图 1)。

以加州钝绥螨 *Neoseiulus californicus* (登录号: KP642059.1) 和神泽氏叶螨 *Tetranychus kanzawai* (登录号: JX094373.1) 作为外群, 构建 mtDNA-*COI* 单倍型的 NJ 系统发育树 (图 2), 结果表明, 35 个地

理种群的16个单倍型明显分为6支,将这6个类群分别定义为单倍型类群A、B、C、D、E和F,类群A含有3种单倍型,类群B含有3种单倍型,这2个类群合并为1个大群,占总单倍型数的34.29%;类群C含

有4种单倍型;类群E含有4种单倍型;类群D和类群F各含有1个单倍型。该结果与单倍型中介网络图的结果一致。

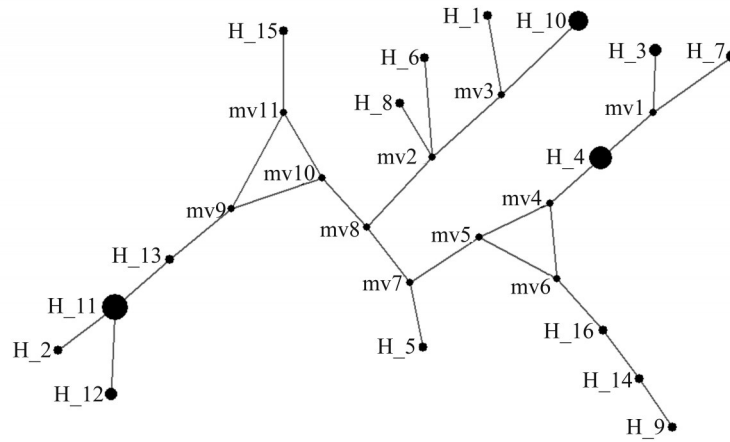


图1 甘肃省二斑叶螨各单倍型中介网络图

Fig.1 Median-joining network of haplotypes of *Tetranychus urticae* in Gansu Province

图中H_1~H_16表示单倍型,相应圆圈的大小与其单倍型频率成正比;mv1~mv11表示可能突变的位点。H_1~H_16 indicate haplotypes in the figure, and its area indicates the frequency in a haplotype; mv1~mv12 indicate possible mutational sites.

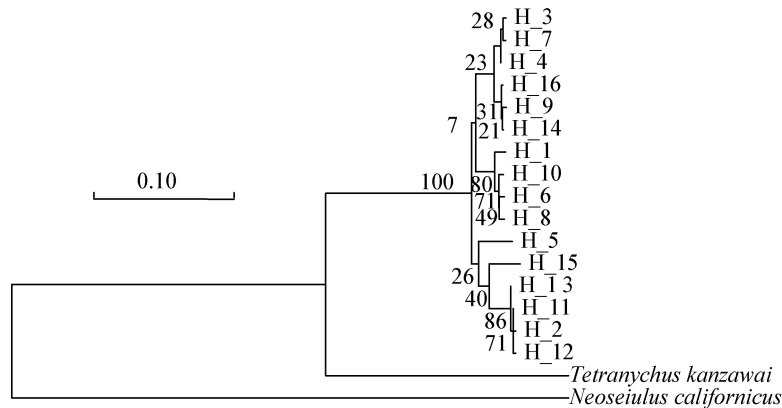


图2 采用最大似然法构建甘肃省二斑叶螨不同地理种群mtDNA COI基因单倍型系统树

Fig. 2 Haplotype phylogenetic tree of mtDNA COI gene sequences of different *Tetranychus urticae* geographical populations in Gansu Province using maximum likelihood method

2.3 甘肃省二斑叶螨不同地理种群的遗传距离

以 P -distance值(转换+颠换)为横轴,转换(T_s)和颠换(T_v)分别为纵轴作图,进行碱基替换饱和性分析,结果表明, T_s 和 T_v 具有线性增长的关系,说明二者均未饱和,可以进行建树分析。以甘肃省二斑叶螨各地理种群间的遗传距离构建其UPGMA聚类图(图3),各地理种群间的遗传距离在0.001~0.025之间,JYG(嘉峪关)、PL(平凉)、WX(文县)、GL(古浪)、JY(靖远)、DX(定西)、LX(临夏)、HX(徽县)、WD(武都)、JN(静宁)、TW(通渭)和ZY(张掖)种群遗传关系较为接近;BY(白银)、JC(金昌)、GZ(瓜

州)、LJX(刘家峡)、JQ(酒泉)、WW(武威)、MQ(民勤)和ZN(正宁)种群遗传关系较为接近,其余种群的遗传距离均较远。对遗传距离与地理距离的相关性进行Mantel检测,结果显示,相关系数 r 为0.0117($P=0.2482$),表明种群间的遗传距离与地理距离无显著相关性。

2.4 甘肃省二斑叶螨不同地理种群的遗传分化

甘肃省二斑叶螨各地理种群间的遗传分化指数为-0.371~0.167,除疏勒河与石羊河、疏勒河与黄河、疏勒河与嘉陵江、石羊河与渭河、石羊河与洮河、石羊河与嘉陵江种群间的遗传分化指数 F_{st} 较

大(0.085~0.167)外,其余种群间的遗传分化指数 F_{st} 为负值或很小(表2),表明各群体间未出现明显的遗传分化。

对各种种群间进行AMOVA分析,结果显示,35个

地理种群间的遗传分化指数 F_{st} 为0.012,种群间变异比例为1.200(表3),说明二斑叶螨的遗传变异主要来自于种群内部,种群间还未发生明显的遗传分化现象。

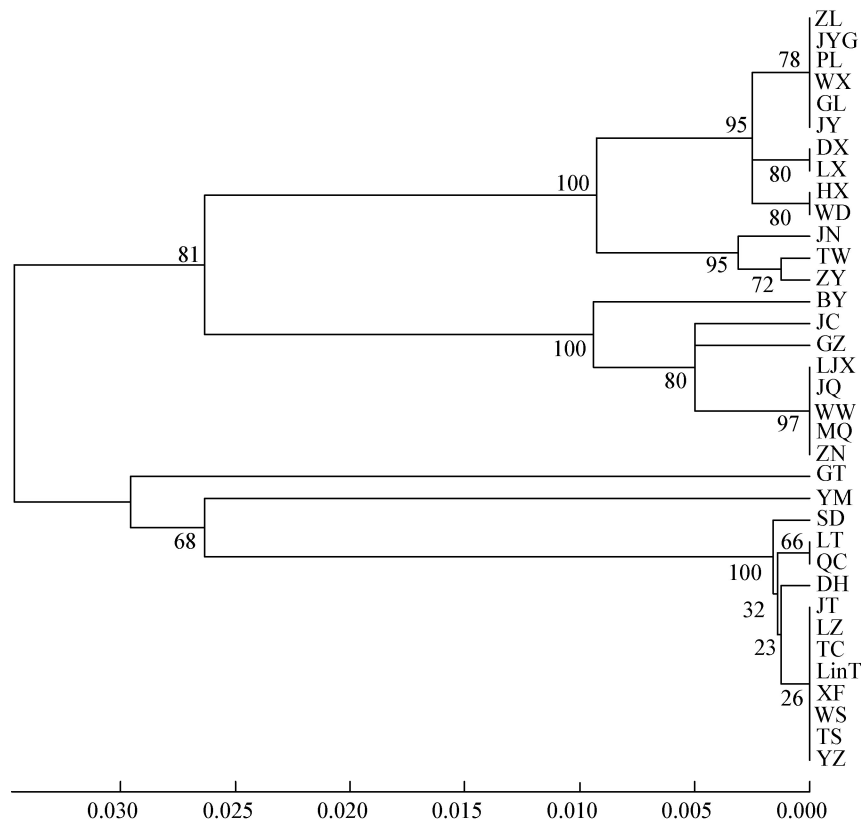


图3 基于mtDNA *COI*基因构建甘肃二斑叶螨各地理种群UPGMA聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram of different *Tetranychus urticae* geographical populations in Gansu Province based on mtDNA *COI* gene sequences

ZL: 庄浪; JYG: 嘉峪关; PL: 平凉; WX: 文县; GL: 古浪; JY: 靖远; DX: 定西; LX: 临夏; HX: 徽县; WD: 武都; JN: 静宁; TW: 通渭; ZY: 张掖; BY: 白银; JC: 金昌; GZ: 瓜州; LJX: 刘家峡; JQ: 酒泉; WW: 武威; MQ: 民勤; ZN: 正宁; GT: 高台; YM: 玉门; SD: 山丹; LT: 灵台; QC: 庆城; DH: 敦煌; JT: 景泰; LZ: 兰州; TC: 宕昌; LinT: 临洮; XF: 西峰; WS: 武山; TS: 天水; YZ: 榆中。ZL: Zhuanglang; JYG: Jiayuguan; PL: Pingliang; WX: Wenxian; GL: Gulang; JY: Jingyuan; DX: Dingxi; LX: Linxia; HX: Huixian; WD: Wudu; JN: Jingning; TW: Tongwei; ZY: Zhangye; BY: Baiyin; JC: Jinchang; GZ: Guazhou; LJX: Liuji Xia; JQ: Jiuquan; WW: Wuwei; MQ: Minqin; ZN: Zhengning; GT: Gaotai; YM: Yumen; SD: Shandan; LT: Lingtai; QC: Qingcheng; DH: Dunhuang; JT: Jingtai; LZ: Lanzhou; TC: Tanchang; LinT: Lintao; XF: Xifeng; WS: Wushan; TS: Tianshui; YZ: Yuzhong.

3 讨论

本研究以mtDNA *COI*基因为工具,研究了甘肃省8个不同气候类型生态区的35个二斑叶螨地理种群间的遗传关系,结果显示,35个地理种群序列具有较高的相似度,表明甘肃省二斑叶螨有共同的祖先mtDNA-*COI*序列,随着地理种群迁移和扩张、气候特征、地理环境等因子的变化,*COI*基因序列也在发生突变,形成了目前的群体结构格局。在35个地

理种群中检测到16个单倍型,具有丰富的群体内部遗传多样性;35个地理种群的遗传分化指数 F_{st} 为0.012,地理种群间变异为1.200,说明二斑叶螨的遗传变异主要来自于地理种群内部,地理种群间还未发生明显的遗传分化。这可能与甘肃省的地理环境有关,甘肃省境内地形复杂,海拔相差悬殊,气候类型丰富,气温昼夜温差大,太阳辐射强烈,可能使得二斑叶螨地理种群间因地理隔离而产生分化现象。

表2 甘肃省二斑叶螨种群间的遗传分化指数

Table 2 The F_{st} values of different *Tetranychus urticae* populations in Gansu Province

	疏勒河	黑河	石羊河	黄河	渭河	洮河	泾河	嘉陵江
	Shule River	Hei River	Shiyang River	Huang River	Wei River	Tao River	Jing River	Jialing River
疏勒河 Shule River	0.000							
黑河 Hei River	0.000	0.000						
石羊河 Shiyang River	0.092	-0.083	0.000					
黄河 Yellow River	0.090	0.029	0.065	0.000				
渭河 Wei River	0.058	0.010	0.085	-0.063	0.000			
洮河 Tao Rive	0.000	0.000	0.167	-0.371	-0.500	0.000		
泾河 Ching River	0.058	-0.033	-0.022	-0.002	-0.023	-0.125	0.000	
嘉陵江 Jialing River	0.092	0.030	0.111	0.032	-0.022	-0.111	0.035	0.000

表3 甘肃省二斑叶螨各地地理种群间的分子方差分析

Table 3 Analysis of molecular variance among different *Tetranychus urticae* populations in Gansu Province

变异来源	df	平方和	变异组成	变异比例
Source of variation		Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
种群间 Among populations	7	3.300	0.005	1.200
种群内 Within populations	27	12.100	0.448	98.800
总变异 Total variation	34	15.400	0.454	-

本试验结果还表明,除疏勒河与石羊河、疏勒河与黄河、疏勒河与嘉陵江、石羊河与渭河、石羊河与洮河、石羊河与嘉陵江地理种群间的遗传分化指数 F_{st} 较大(0.085~0.167)外,其它流域地理种群间未出现遗传分化。可能有几个原因:第一,甘肃省由于气候类型及降雨量的差异,种植模式及种植结构有很大差异,这些差异对二斑叶螨的遗传分化产生影响,主要体现为河西地区玉米和棉花种植范围和规模扩张趋势明显;中部地区小麦面积逐年缩小,玉米和马铃薯种植逐渐形成规模;东南部地区小麦面积逐年缩小,玉米和其它喜温作物种植比例逐年上升(王鹤龄等,2012)。从采样地寄主植物的情况来看,玉米等植物种植范围的扩大,对二斑叶螨的取食、交配、产卵及迁移扩散有积极意义。第二,吴蕾(2010)认为二斑叶螨的发育速率受制于温度,发育速率又极大地影响其地理种群的增长速率,如果温度超过其最适温度,生长则会受到明显抑制,地理种群数量急剧下降,本研究中的石羊河流域地处沙漠地区,剧烈变化的昼夜温差可能极大影响了二斑叶螨正常的生理代谢,使其启动热响应机制以适应高温环境,并将其遗传给后代,可能在后代中产生较大的分化。第三,在本研究中,黄河流域、洮河流域与嘉陵江流域较其它流域环境湿度大,环境湿度的变化直接导致二斑叶螨体内含水量变化,从而打破螨体内的水分平衡,而对其个体发育及群体发生等产生影响,可能导致其分化指数升高。第四,都二霞等(2006)和徐建祥等(2006)发现紫外胁迫可导致二斑叶螨蛋白生理功能与结构的改变以及DNA的改变,也可改变植物

DNA,这可能也是产生本研究结果的原因之一。

此外,有研究表明在截形叶螨地理种群中沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 感染类型与截形叶螨线粒体单倍型分布存在显著的相关性(Zhang et al., 2013),即沃尔巴克氏体可随母系遗传,当截形叶螨地理种群感染沃尔巴克氏体后,沃尔巴克氏体对截形叶螨的生殖有调控作用,在截形叶螨特定地理种群中,与沃尔巴克氏体相关联的mtDNA单倍型成为优势单倍型,逐渐取代其它单倍型(Dean et al., 2003; Jiggins, 2003),从而影响截形叶螨地理种群遗传结构及遗传多样性(Zhang et al., 2013; Chen et al., 2016)。然而对于甘肃省二斑叶螨地理种群未出现明显的遗传分化的现象,是否存在与截形叶螨类似的情况还有待进一步研究。在本研究中,35个地理种群的遗传距离与地理距离间的Mantel检测结果显示,各地理种群间的遗传分化程度与地理距离无显著相关性,这可能是由于本研究选用的个体数相对较少,今后还需进一步增加种群数量和样本数,并将DNA序列分析方法与SSR、ISSR标记法相结合进行更深入的探讨。

参 考 文 献 (References)

- Chang XL, Zhong DB, Li XC, Huang YM, Zhu GD, Wei X, Xia H, Chen XG, Fang Q. 2015. Analysis of population genetic structure of anopheles sinensis based on mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I gene fragment. *Journal of Southern Medical University*, 35(2): 234-238 (in Chinese) [常雪莲, 钟代斌, 李小聪, 黄亚铭, 朱国鼎, 魏星, 夏惠, 陈晓光, 方强. 2015. 基于mtDNA-COI基因序列分析我国中华按蚊种群的遗传结构. *南方医科大学学报*, 35(2): 234-238]

- Chen YT, Zhang YK, Du WX, Jin PY, Hong XY. 2016. Geography has a greater effect than *Wolbachia* infection on population genetic structure in the spider mite, *Tetranychus pueraricola*. *Bulletin of Entomological Research*, 106(5): 685–694
- Dean MD, Ballard KJ, Glass A, Ballard JWO. 2003. Influence of two *Wolbachia* strains on population structure of East African *Drosophila simulans*. *Genetics*, 165(4): 1959–1969
- Du EX, Guo JW, Zhao HY. 2006. UV-induced DNA mutation of peach aphid. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(7): 1245–1249 (in Chinese) [都二霞, 郭剑文, 赵惠燕. 2006. 紫外辐射诱导桃蚜 DNA 变异. *应用生态学报*, 17(7): 1245–1249]
- Gomi K, Gotoh T, Noda H. 1997. *Wolbachia* having no effect on reproductive incompatibility in *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). *Applied Entomology & Zoology*, 32(3): 485–490
- Gray MW. 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annual Review of Cell Biology*, 5(5): 25–50
- Grbić M, van Leeuwen T, Clark RM, Rombauts S, Rouzé P, Grbić V, Osborne EJ, Dermauw W, Phuong CTN, Ortego F, et al. 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479(7374): 487–492
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512): 313–321
- Hinomoto N, Osakabe M, Gotoh T, Takafuji A. 2001. Phylogenetic analysis of green and red forms of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), in Japan, based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequences. *Applied Entomology and Zoology*, 36(4): 459–464
- Jiggins FM. 2003. Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial DNA: selective sweeps, hybrid introgression and parasite population dynamics. *Genetics*, 164(1): 5–12
- Kuang HY. 1986. *Agricultural acarology*. Beijing: China Agriculture Press (in Chinese) [匡海源. 1986. 农螨学. 北京: 中国农业出版社]
- Li GQ. 2010. DNA barcoding and molecular phylogeny of the spider mites in China (Acari: Tetranychidae). Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [李国庆. 2010. 中国叶螨条形码的研究及其系统发育分析. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Moritz C, Dowling TE, Brown WM. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 18(1): 269–292
- Navajas M, Gutierrez J, Lagnel J, Boursot P. 1996. Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and changes of morphological and life history traits. *Bulletin of Entomological Research*, 86(4): 407–417
- Navajas M, Lagnel J, Gutierrez J, Boursot P. 1998. Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial *COI* polymorphism. *Heredity*, 80(6): 742–752
- Ros VID, Brewer JAJ. 2007. Spider mite (Atari: Tetranychidae) mitochondrial *COI* phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding. *Experimental & Applied Acarology*, 42(4): 239–262
- Rugman-Jones PF, Hoddle MS, Stouthamer R. 2007. Population genetics of *Scirtothrips perseae*: tracing the origin of a recently introduced exotic pest of Californian avocado orchards, using mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124(1): 101–115
- Rugman-Jones PF, Hoddle MS, Stouthamer R. 2010. Nuclear-mitochondrial barcoding exposes the global pest western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as two sympatric cryptic species in its native California. *Journal of Economic Entomology*, 103(3): 877–886
- Toda S, Murai T. 2007. Phylogenetic analysis based on mitochondrial *COI* gene sequences in *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in relation to reproductive forms and geographic distribution. *Applied Entomology & Zoology*, 42(2): 309–316
- Wang HL, Wang RY, Zhang Q, Liu DX, Pu JY. 2012. Main crops structural change and its climate background in Gansu Province during the past two decades. *Journal of Natural Resources*, 27(3): 413–421 (in Chinese) [王鹤龄, 王润元, 张强, 刘德祥, 蒲金涌. 2012. 甘肃省作物布局演变及其对区域气候变暖的响应. *自然资源学报*, 27(3): 413–421]
- Wu L. 2010. The influences of environmental stress on adult *Locusta migratoria tibetensis*'s food consumption, growth and antioxidant enzymes. Master Thesis. Chengdu: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [吴蕾. 环境胁迫对西藏飞蝗成虫取食生长和抗氧化酶系统的影响. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学]
- Xie L. 2006. Molecular genetic structures of populations in *Tetranychus urticae* Koch and *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae) from China. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [谢霖. 2006. 中国二斑叶螨和朱砂叶螨种群分子遗传结构的研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Xu JX, Yang HY, Wu JC. 2006. Effects of elevated solar UV-B radiation on herbivorous insects. *Chinese Journal of Ecology*, 25(7): 845–850 (in Chinese) [徐建祥, 杨海燕, 吴进才. 2006. 紫外B辐射增强对植食性昆虫的影响. *生态学杂志*, 25(7): 845–850]
- Yang QQ, Li ZH, Wu Y, Liu LJ. 2012. Advance and application of mtDNA *COI* barcodes on insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(6): 1687–1695 (in Chinese) [杨倩倩, 李志红, 伍祎, 柳丽君. 2012. 线粒体 *COI* 基因在昆虫 DNA 条形码中的研究与应用. *应用昆虫学报*, 49(6): 1687–1695]
- Zhang YK, Ding XL, Zhang KJ, Hong XY. 2013. *Wolbachia* play an important role in affecting mtDNA variation of *Tetranychus truncatus* (Trombidiformes: Tetranychidae). *Environmental Entomology*, 42(6): 1240–1245
- Zhao WD, Wang KY, Jiang XY, Yi MQ. 2003. Resistance selection by abamectin, pyridaben and fenpropathrin and activity change of detoxicant enzymes in *Tetranychus urticae*. *Acta Entomologica Sinica*, 46(6): 788–792 (in Chinese) [赵卫东, 王开运, 姜兴印, 仪美芹. 2003. 二斑叶螨对阿维菌素、哒螨灵和甲氰菊酯的抗性选育及其解毒酶活力变化. *昆虫学报*, 46(6): 788–792]
- Zouros E, Ball AO, Saavedra C, Freeman KR. 1994. Mitochondrial DNA inheritance. *Nature*, 368(6474): 817–818

(责任编辑:王璇)