

基于线粒体全基因组解析华北地区棉铃虫种群遗传结构

张磊 梁馨月 张纪 萧玉涛*

(中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 岭南现代农业科学与技术广东省实验室深圳分中心, 深圳 518120)

摘要: 为明确我国华北地区棉铃虫种群间遗传分化, 通过高通量测序测定华北地区河北省廊坊市、河南省新乡市和山东省烟台市27份棉铃虫线粒体全基因组, 并分析这3个市棉铃虫种群的遗传结构。结果表明, 华北地区棉铃虫线粒体基因组全长15 345~15 375 bp, 长度变异主要由基因间隔区的A+T富集区造成, 所有样品的13个蛋白编码基因在长度上均无差异, 总群体间遗传分化很小, 遗传分化指数为0.025, 基因流水平很高, 为19.46。27份样品被聚为亚型I和亚型II两个遗传分支, 但未形成明显的地理结构, 其中亚型II比例较低, 仅包含河北省和山东省的4份样品。表明我国华北地区棉铃虫种群存在线粒体亚型分化, 不同区域种群之间存在广泛的基因交流, 没有形成谱系遗传结构, 推测棉铃虫在华北地区存在高迁飞现象。

关键词: 棉铃虫; 基因流; 遗传结构; 线粒体基因组; 亚型

Population genetic structure of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in northern China based on complete mitochondrial genomes

Zhang Lei Liang Xinyue Zhang Ji Xiao Yutao*

(Shenzhen Branch, Guangdong Laboratory of Lingnan Modern Agriculture, Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, Guangdong Province, China)

Abstract: In order to characterize the genetic differentiation and population genetic structure of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* in northern China, a total of 27 complete mitochondrial genomes from samples collected in Langfang City, Hebei Province, Xinxiang City, Henan Province and Yantai City, Shandong Province were sequenced using a high-throughput Illumina NovaSeq 6000 System. The results showed that the mitochondrial genomes of cotton bollworm in northern China were 15 345–15 375 bp in length, and the variation of length was mainly caused by A+T enrichment region located in intergenic spacer. There was no difference in the length of the 13 protein-coding genes in all samples. There was little genetic differentiation in total populations, with a genetic differentiation index of 0.025 and a high level of gene flow among local populations with 19.46. The 27 samples were clustered into two genetic branches (Type I and Type II), but no obvious phylogeographic structure was detected. The proportion of Type II was relatively low, including only four samples from Hebei and Shandong provinces. The mitochondrial differentiation detected in cotton bollworm populations in northern China, and extensive gene flow between local populations, suggested an obvious migration behavior of cotton bollworm in northern China.

Key words: *Helicoverpa armigera*; gene flow; genetic structure; mitochondrial genome; subpopulation

基金项目: 深圳市自然科学基金(JCYJ20200109150629266)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: xiaoyutao@caas.cn

收稿日期: 2021-07-01

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 是世界性重要害虫,广泛分布在亚洲、欧洲、非洲和大洋洲等地(Wu & Guo, 2005)。自2013年首次报道入侵巴西后,迅速扩散至美洲周边国家和地区(Tay et al., 2013; Arne-mann et al., 2016)。由于具有杂食性以及远距离迁飞能力等特点,棉铃虫在我国一直是农作物的主要害虫(吴孔明和郭予元, 2007),尤其是华北地区,且近年来发生呈加重趋势(杨现明和陆宴辉, 2018)。华北地区位于棉铃虫华中种群和东北种群的交汇处(Feng et al., 2009),研究该地区棉铃虫种群遗传分化和多样性水平不仅能够明确华北地区棉铃虫种群遗传组成,还能够间接反映整个东部大陆棉铃虫种群的发生动态和遗传差异。

线粒体基因具有母系遗传和进化速率快等特点,是研究物种系统发生和种群遗传结构的理想标记(Behura, 2006),尤其细胞色素C氧化酶亚基I(cytochrome C oxidase subunit I, *cox1*)基因片段被广泛用于各种害虫迁飞溯源和种群遗传结构研究(Behere et al., 2007; Nagoshi et al., 2012; Tay et al., 2017)。目前棉铃虫种群遗传结构分析多采用 *cox1* 基因以及常规分子标记,如吉亚杰(2003)开发微卫星DNA标记并分析我国棉铃虫种群遗传结构,将我国棉铃虫划分为西北种群(以新疆种群为代表)和东部种群(由长江流域棉区、黄河流域棉区和北部特早熟棉区种群组成);陈佳(2010)基于线粒体和细胞核 *Scnp* 标记的结果也支持我国棉铃虫分为西北、东部大陆和海南3个种群,但是遗传结构非常弱,并且新疆种群内部也无明显的遗传结构(Wang et al., 2018)。但是传统分子标记或单个基因片段(石仕福, 2009; Behere et al., 2013; 杨现明和陆宴辉, 2018)存在标记数量有限且多态性位点少等局限性,不能完整反映棉铃虫不同种群遗传来源和差异。与单个基因相比,线粒体全基因组能够更加准确显示群体遗传多样性和单倍型演化,在系统发育分析方面更有优势(Miya & Nishida, 2000),如戴立上(2016)利用线粒体13个蛋白编码基因重建鳞翅目系统发育进化树,系统发育树结果显示夜蛾总科、蚕蛾总科和麦蛾总科亲缘关系更近;姜培(2017)通过测定30种昆虫线粒体基因组解决了异翅亚目昆虫高级阶元系统发育关系问题,但关于线粒体全基因组用于昆虫种群遗传结构的研究鲜有报道。

为阐明我国华北地区棉铃虫种群遗传结构,本研究通过高通量测序获得华北地区河北、河南和山东3个省棉铃虫线粒体基因组,并进行序列结构特

征比较和遗传多样性分析,解析华北北部、南部和东部棉铃虫种群遗传分化,以期揭示棉铃虫迁飞规律和种群历史动态以及制定防控策略提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源:于2020年8—9月分别自华北地区的河北省廊坊市广阳区九州镇(河北廊坊种群,即HBLF)、河南省新乡市原阳县(河南新乡种群,即HNXX)和山东省烟台市福山区港城西大街(山东烟台种群,即SDYT)的玉米地附近采集棉铃虫样品,在夜间通过自制高空探照灯诱捕获得27头棉铃虫样品,其中河北省廊坊市、河南省新乡市和山东省烟台市分别采集到9、10和8头,捕获方法参照封洪强(2003)方法,采集虫态均为成虫,通过形态学鉴定为棉铃虫,将样品于-20℃冰柜保存。

试剂和仪器: Multisource Genomic DNA Miniprep Kit试剂盒,爱思进生物技术(杭州)有限公司;常规琼脂糖,生工生物工程(上海)股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。GT75型探照灯,上海亚明照明有限公司;DYY-7C型电泳仪,北京六一生物科技有限公司;NanoDrop ND-2000超微量分光光度计,美国Thermo Fisher Scientific公司;Illumina NovaSeq 6000测序系统,美国Illumina公司。

1.2 方法

1.2.1 棉铃虫种群基因组DNA提取及高通量测序

选取单头棉铃虫成虫用液氮研磨成粉,采用Multisource Genomic DNA Miniprep Kit试剂盒提取基因组DNA, DNA经过1%琼脂糖电泳检测后,使用分光光度计检测其浓度和纯度,取0.5 μg DNA样品送至北京诺禾致源科技股份有限公司建库测序,构建350 bp短片段文库并进行PE150测序,采用Illumina NovaSeq 6000测序系统测序,每个样品测序数据量10 G。

1.2.2 棉铃虫种群线粒体基因组序列组装及注释

测序数据去除接头后,以已发表的棉铃虫线粒体基因组序列(GenBank登录号为GU188273)作为参考,使用NOVOPlasty 4.3.1软件(<https://github.com/ndierckx/novoplasty>) (Dierckxsens et al., 2016)分别组装各个样品的线粒体基因组,线粒体全序列经过人工校正并环化后,采用在线软件MITOS 2(<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) (Bernt et al., 2013)进行注释。

1.2.3 棉铃虫种群遗传多样性、遗传分化及历史分析
使用 DNAMAN 8 软件 (<https://www.lynnon.com/dnaman.html>) 对所有样品线粒体全序列进行比对, 将比对结果输入 MEGA X 软件 (<https://www.megasoftware.net/>) (Kumar et al., 2018), 分别计算所有蛋白编码基因核苷酸变异位点及变异率和氨基酸变异位点数及非同义突变率, 利用 DnaSP 5 软件 (<http://www.ub.edu/dnasp/>) (Librado & Rozas, 2009) 统计核苷酸多态性、核苷酸平均差异数、群体遗传分化指数和基因流, 计算 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 参数并检验种群是否偏离中性进化模型, 当 2 个参数均为负值且达到显著差异水平则表明种群经历了扩张, 若均为显著正值则表明种群经历了瓶颈效应或出现分化。

1.2.4 棉铃虫种群系统发育分析
以美洲棉铃虫 *H. zea* (GenBank 登录号为 NC_030370) 为外群, 截取所有样品共有的 13 个蛋白编码基因串联序列, 总长度为 11 195 bp, 分别基于线粒体全序列和 13 个蛋白编码基因核苷酸序列, 使用 MEGA X 软件利用邻接法构建系统发育树, 选取 Kimura-2 参数模型, 系统发育树各分支的自举检验值为 1 000 次重复检验获得。

2 结果与分析

2.1 华北地区棉铃虫线粒体全序列结构特征
通过组装及手动校正, 成功获得 27 条完整的棉铃虫线粒体基因组序列, 长度介于 15 345~15 375 bp 之间, 长度差异主要由 *trnL* 和 *rrnL* 基因间隔区内 A+

T 富集区造成, 经过 NCBI 在线 BLAST 序列比对对所有样品均为棉铃虫。
通过注释, 棉铃虫线粒体基因组包含 13 个蛋白编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因。所有样品的 13 个蛋白编码基因长度完全一致, 均没有移码突变或者氨基酸的插入缺失, 但基因碱基变异率不同; 细胞色素 C 氧化酶亚基 3 个基因 *cox1~cox3* 在核苷酸水平具有较高的变异率, 分别为 2.35%、2.79% 和 1.78%, 然而氨基酸水平仅有一个非同义突变, 说明该系列基因几乎没有受到自然选择; NADH 脱氢酶亚基 7 个基因 *nad1~nad6* 及 *nad4l* 具有较高的核苷酸变异率, 分别为 2.24%、1.58%、2.56%、1.79%、2.35%、2.25% 和 1.03%, 且氨基酸水平非同义突变率也较高, 分别为 4.76%、0、22.22%、16.67%、12.20%、33.33% 和 0, 表明这些基因受到较强的自然选择压力(表 1)。

2.2 华北地区棉铃虫线粒体全序列的遗传多样性
27 份棉铃虫样品线粒体基因组序列均不相同, 仅以 *cox1* 基因全长序列作比较, 也能鉴定出 25 个单倍型, 单倍型比例为 92.6%, 3 个样品 *cox1* 序列完全一致, 表明样品间存在很高的序列多态性。13 个蛋白编码基因序列的总群体核苷酸多态性较高, 为 0.003 7, 整体核苷酸平均差异数达到 41.53 个, 其中山东烟台和河北廊坊种群核苷酸多态性较高, 分别达到 0.004 9 和 0.004 6, 河南新乡种群核苷酸多态性较低, 仅为 0.001 7, 明显低于山东烟台和河北廊坊种群(表 2)。

表 1 廊坊、新乡和烟台市 27 份棉铃虫样品 13 个线粒体蛋白编码基因序列比较
Table 1 Sequence comparison of 13 mitochondrial protein-coding genes in 27 *Helicoverpa armigera* samples collected from Langfang, Xinxiang and Yantai, China

基因 Gene	长度 Length/bp	核苷酸变异位点数 No. of nucleotide differences	核苷酸变异率 Nucleotide variation rate/%	氨基酸变异位点数 No. of amino acid differences	非同义突变率 Non synonymous mutation rate/%
<i>nad2</i>	1 011	16	1.58	0	0.00
<i>cox1</i>	1 531	36	2.35	0	0.00
<i>cox2</i>	682	19	2.79	1	5.26
<i>atp8</i>	162	0	0.00	0	0.00
<i>atp6</i>	678	12	1.77	0	0.00
<i>cox3</i>	786	14	1.78	0	0.00
<i>nad3</i>	352	9	2.56	2	22.22
<i>nad5</i>	1 746	41	2.35	5	12.20
<i>nad4</i>	1 339	24	1.79	4	16.67
<i>nad4l</i>	291	3	1.03	0	0.00
<i>nad6</i>	534	12	2.25	4	33.33
<i>cob</i>	1 152	26	2.26	1	3.85
<i>nad1</i>	939	21	2.24	1	4.76

表 2 不同棉铃虫种群(类群)遗传多样性及中性检验

Table 2 Genetic diversity and neutral test among different *Helicoverpa armigera* populations

种群 Population	核苷酸多态性 Nucleotide diversity	核苷酸平均差异数 Average number of nucleotide difference	中性检验及显著性检验 Neutrality test and significance test	
			Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>
山东烟台种群 Population of Yantai, Shandong	0.004 9±0.001 2	55.25	-0.103	0.471
河南新乡种群 Population of Xinxiang, Henan	0.001 7±0.000 1	18.87	-1.558	-1.927
河北廊坊种群 Population of Langfang, Hebei	0.004 6±0.001 1	51.86	-0.313	0.069
亚型 I Type I	0.001 9±0.000 1	21.29	-2.077*	-9.074*
亚型 II Type II	0.001 1±0.000 3	12.00	-0.858	0.545
整体 Total	0.003 7±0.000 7	41.53	-1.280	-7.071

表中数据为平均数±标准差。* 表示经多重检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. * indicates significant difference at $P<0.05$ level by multiple testing.

2.3 华北地区棉铃虫种群系统发育关系

聚类分析结果显示,27 份样品并没有形成与地理位置相关的谱系遗传结构,所有样品被聚为 2 个明显的类群,其中来自山东省烟台市和河北省廊坊市的 4 份样品被聚为亚型 II,其余 23 份样品被聚为亚型 I(图 1)。自 2 种亚型各选取 1 条线粒体全序列提交到 NCBI (GenBank 登录号分别为 MZ397985 和

MZ397986),通过序列比对,2 种亚型之间存在明显的差异,在 13 个蛋白编码基因区共有 93 个差异位点,其中在 *coxI* 基因有 12 个稳定变异位点。2 个亚型种群内部核苷酸多态性和核苷酸平均差异数均低于整体平均水平(表 2),表明山东烟台和河北廊坊 2 个种群核苷酸多态性偏高主要是由于同时包含这 2 种亚型。

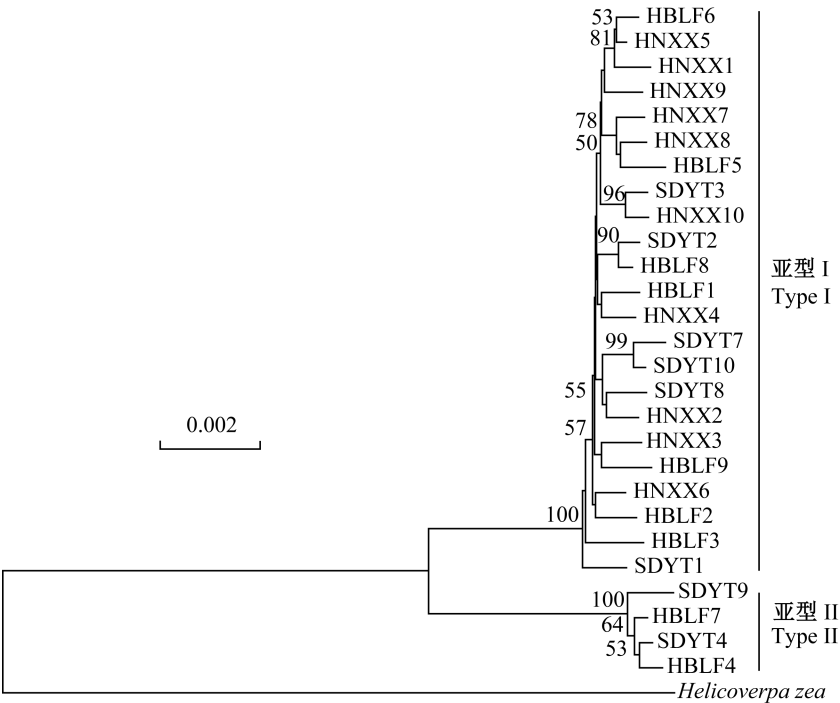


图 1 基于 13 个线粒体蛋白编码基因核苷酸序列采用邻接法构建不同棉铃虫种群的系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of 27 *Helicoverpa armigera* samples constructed by neighbor joining method based on nucleic acid sequence of 13 mitochondrial protein-coding genes

2.4 华北地区棉铃虫种群遗传分化与种群历史分析

总群体间遗传分化指数为 0.025,基因流为 19.46,表明华北地区 3 个棉铃虫种群之间遗传分化

程度很低,存在明显的基因交流。山东烟台、河北廊坊和河南新乡 3 个种群没有形成地理上的遗传分化,3 个种群之间的基因流均大于 1.00(表 3)。利用

13 个基因联合序列和利用 *cox1* 基因序列分别计算的 2 组遗传分化指数数据和 2 组基因流数据之间有一定的差别,相比单基因计算结果,基于 13 个基因联系序列的分析结果显示不同种群之间具有更低程度的遗传分化和更多的基因交流(表 3)。然而 2 个亚型群体之间的遗传分化指数达到 0.631,基因流仅

为 0.29,说明这 2 个亚型群体之间遗传分化明显。此外,中性检验结果显示 3 个种群之间均无显著差异,亚型 I 的 Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 均为显著负值,推测我国华北地区亚型 I 棉铃虫群体经历了扩张事件(表 2)。

表 3 基于 13 个线粒体基因组和 *cox1* 基因序列的我国华北地区 3 个棉铃虫种群之间遗传分化指数与基因流
Table 3 Population pairwise genetic differentiation index and gene flow between three *Helicoverpa armigera* populations in northern China based on 13 mitochondrial protein-coding genes and *cox1* gene sequences

种群 Population	山东烟台种群 Population of Yantai, Shandong	河南新乡种群 Population of Xinxiang, Henan	河北廊坊种群 Population of Langfang, Hebei
山东烟台种群 Population of Yantai, Shandong		4.60/3.58	—
河南新乡种群 Population of Xinxiang, Henan	0.098/0.123		6.88/5.39
河北廊坊种群 Population of Langfang, Hebei	−0.067/−0.035	0.068/0.085	

下三角为遗传分化指数,上三角为基因流。左边数值基于 13 个蛋白编码基因联合序列计算,右边数据基于 *cox1* 序列计算。The lower left corner was genetic differentiation indexes, and the upper right corner was gene flow. The left values were calculated based on joint sequences of 13 protein-coding genes, the right values were calculated based on *cox1* gene sequences.

3 讨论

本研究从线粒体全基因组水平对我国华北地区棉铃虫种群遗传结构进行分析,这也是首次从线粒体全序列角度对我国棉铃虫群体结构进行解析,结果表明河北廊坊、河南新乡和山东烟台 3 个种群之间的遗传分化程度很低,存在广泛的基因交流,与杨现明和陆宴辉(2018)基于线粒体 *cox1* 基因的研究结果一致,证实我国华北地区棉铃虫种群不存在明显的遗传分化。本研究结果还显示河北廊坊、河南新乡和山东烟台 3 个种群间基因流远大于 1.00,也间接说明棉铃虫在华北地区有很大的迁飞强度和频度,华北地区内部的鲁中山脉对本地区种群基本没有阻隔作用。

与利用单个基因相比,利用线粒体全基因组进行遗传多样性分析具有比较明显的优势,本研究中 27 份样品序列均不相同,基于 *cox1* 基因全长序列的单倍型比例为 92.6%,远高于已报道的单倍型比例 14.2%(杨现明和陆宴辉,2018)、14.6%(Wang et al., 2018)和 17.8%(Gonçalves et al., 2019);且本研究通过线粒体全序列计算的总体核苷酸多态性为 0.003 7,也高于已报道的基于 *cox1* 基因片段的总体核苷酸多态性 0.002 1(Wang et al., 2018;杨现明和陆宴辉, 2018)和 0.002 3(Gonçalves et al., 2019)。如果将线粒体基因组全序列用于更大规模的棉铃虫群体遗传

分化和溯源研究,有可能获得更加可靠和完整的信息。

本研究鉴定到华北地区棉铃虫存在线粒体亚型分化,且这 2 种亚型有一定的比例差异,中性检验结果表明亚型 I 群体经历过种群扩张。序列比对结果显示这 2 种亚型之间具有稳定且明显的碱基变异,推测这 2 种亚型是早期分化的 2 个生物型或者地理型群体,基因流分析也表明这 2 个亚型群体之间基因交流很少,存在明显的遗传分化,究其原因可能是样品数量较少,亚型 II 仅在河北省和山东省样品中被检测到。后期可以将研究范围扩展至我国东北、西北、华南以及国外不同地区,深入研究这 2 种亚型的分布特点和演化规律。

棉铃虫线粒体基因组于 2010 年发布(Yin et al., 2010),然而截至目前有关棉铃虫线粒体全序列的研究依然较少。本研究也证实通过基因组测序方式能够较方便获得线粒体全序列,未来利用线粒体基因组进行群体遗传结构解析和种群动态分析具有较大的应用前景,对于害虫防控具有重要的指导意义。

参 考 文 献 (References)

Arnemann JA, James WJ, Walsh TK, Guedes JVC, Smagghe G, Castiglioni E, Tay WT. 2016. Mitochondrial DNA COI characterization of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Paraguay and Uruguay. *Genetics and Molecular Research*, 15(2):

- gmr. 8292
- Behere GT, Tay WT, Russell DA, Heckel DG, Appleton BR, Kranthi KR, Batterham P. 2007. Mitochondrial DNA analysis of field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and of its relationship to *H. zea*. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 117
- 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
- Bernt M, Donath A, Jühling F, Externbrink F, Florentz C, Fritzsche G, Pütz J, Middendorf M, Stadler PF. 2013. MITOS: improved *de novo* metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(2): 313–319
- Chen J. 2010. Lineage divergence of the cotton bollworm populations: a genetic study. Ph. D thesis. Beijing: Chinese Academy of Sciences (in Chinese) [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]
- Dai LS. 2016. Characterization of three complete mitochondrial genomes from different families of Lepidoptera. Ph. D thesis. Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese) [戴立上. 2016. 鳞翅目三种不同科的昆虫线粒体基因组学分析. 博士学位论文. 合肥: 安徽农业大学]
- Dierckxsens N, Mardulyn P, Smits G. 2016. NOVOPlasty: *de novo* assembly of organelle genomes from whole genome data. *Nucleic Acids Research*, 45(4): e18
- Feng HQ, Wu XF, 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. 2003. Community aloft and radar observations of seasonal migration of insects in northern China. Ph. D thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [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]
- Gonçalves RM, Mastrangelo T, Rodrigues JCV, Paulo DF, Omoto C, Corrêa AS, de Azeredo-Espin AML. 2019. Invasion origin, rapid population expansion, and the lack of genetic structure of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) in the Americas. *Ecology and Evolution*, 9(13): 7378–7401
- Ji YJ. 2003. The genetic structure, population dynamics and interrelationship of the main geographical population of cotton bollworm in China are preliminarily studied. Ph. D thesis. Beijing: Chinese Academy of Sciences (in Chinese) [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]
- Jiang P. 2017. Studies on the comparative mitochondrial genomics and phylogeny of Heteroptera (Insecta: Hemiptera). Ph. D thesis. Beijing: China Agricultural University (in Chinese) [姜培. 2017. 异翅亚目昆虫比较线粒体基因组学及系统发育关系研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学]
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452
- Miya M, Nishida M. 2000. Use of mitogenomic information in teleostean molecular phylogenetics: a tree-based exploration under the maximum-parsimony optimality criterion. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17(3): 437–455
- Nagoshi RN, Meagher RL, Hay-Roe M. 2012. Inferring the annual migration patterns of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the United States from mitochondrial haplotypes. *Ecology and Evolution*, 2(7): 1458–1467
- Shi SF. 2009. Genetic diversity, population structure and gene flow of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in China. Master thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [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]
- Tay WT, Soria MF, Walsh T, Thomazoni D, Silvie P, Behere GT, Anderson C, Downes S. 2013. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *PLoS ONE*, 8(11): e80134
- Tay WT, Walsh TK, Downes S, Anderson C, Jermini LS, Wong TKF, Piper MC, Chang ES, Macedo IB, Czepak C, et al. 2017. Mitochondrial DNA and trade data support multiple origins of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) in Brazil. *Scientific Reports*, 7: 45302
- Wang DM, Yang XM, Li HQ, Wuwaishi A, Ding RF, Li HB, Pan HS, Liu J, Xu Y, Lu YH. 2018. Genetic homogeneity between populations of cotton bollworm from Xinjiang, China. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(1): 309–315
- 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(5): 6–11 (in Chinese) [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(5): 6–11]
- Yang XM, Lu YH. 2018. Population genetic structure of *Helicoverpa armigera* in Ningxia, Inner Mongolia and neighboring areas. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(1): 25–31 (in Chinese) [杨现明, 陆宴辉. 2018. 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. 应用昆虫学报, 55(1): 25–31]
- Yin J, Hong GY, Wang AM, Cao YZ, Wei ZJ. 2010. Mitochondrial genome of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and comparison with other lepidopterans. *Mitochondrial DNA*, 21(5): 160–169

(责任编辑:张俊芳)