

# 基于线粒体 16S rRNA 基因序列的青杨脊虎天牛 (*Xylotrechus rusticus*) 进化分析

姚大彬<sup>1</sup>, 迟德富<sup>1</sup>, 周瑞<sup>1,2</sup>, 陈海一<sup>1</sup>

(1 东北林业大学生命科学学院, 昆虫分子生物学实验室, 哈尔滨 150040; 2 哈药集团三精制药股份有限公司, 哈尔滨 150090)

**摘要:** 为探讨青杨脊虎天牛 *Xylotrechus rusticus* Linnaeus 与天牛科昆虫的系统发育关系, 本研究克隆了青杨脊虎天牛线粒体 16S rRNA 基因的部分序列, 长度为 547bp, 并将序列提交到 GENBANK, 序列号为 JX177496。本文对青杨脊虎天牛等 19 种天牛的 16S rRNA 基因序列进行比较分析, 对序列的碱基组成、转换/颠换比率、碱基距离、变异位点等进行统计, 并分别利用 Mega 和 PAUP 软件构建 NJ (邻接法) 系统树和 MP (最大简约法) 系统树。结果表明: 青杨脊虎天牛与天牛科昆虫的线粒体 16S rRNA 基因序列均表现出 AT 碱基偏嗜, A+T 含量为 70.9%; 核苷酸的转换/颠换(Ts/Tv)之比为 0.5424, 替换以颠换为主, 各序列变异位点颠换明显多于转换, 其中, AG 间转换速率较快, CT 间转换速率较慢, AT 颠换速率最快, CG 次之, AC 最慢; 统计出 19 种天牛 16S rRNA 序列的保守位点 293 个, 变异位点 254 个, 简约信息位点 175 个, 自裔位点 79 个, 分别占 53.6%, 46.4%, 32.0%和 14.4%; 青杨脊虎天牛与其他天牛的 16S rRNA 基因序列间碱基距离介于 0.1325 至 0.2128 之间, 与天牛亚科的家茸天牛的碱基距离最小, 与天牛亚科的栗山天牛的碱基距离最大; 通过系统进化树分析发现, 沟胫天牛亚科 (Lamiinae) 和花天牛亚科 (Lepturinae) 聚合为一支, 天牛亚科 (Cerambycinae) 单独聚为一支, 说明沟胫天牛亚科和花天牛具有较近的亲缘关系, 这两科与天牛亚科亲缘关系相对较远, 青杨脊虎天牛与绿虎天牛属的槐绿虎天牛 (*Chlorophorus diadema*) 和曲虎天牛属的黄纹曲虎天牛 (*Cyrtoclytus capra*) 亲缘关系较近, 而与天牛亚科其他 4 种天牛亲缘关系较远; 综合碱基距离与系统发育分析的结果, 我们发现碱基距离的大小与亲缘关系的远近无直接关系。

**关键词:** 青杨脊虎天牛; 16S rRNA; 进化分析

## Phylogenetic analysis of *Xylotrechus rusticus* (Coleoptera: Cerambycidae) based on 16S rRNA gene sequence

Yao Dabin<sup>1</sup>, Chi Defu<sup>1</sup>, Zhou Rui<sup>1,2</sup>, Chen Haiyi<sup>1</sup>

(1 Laboratory of Insect Molecular and Biology, Life Science Institute of Northeast Forestry University, 2 Harbin  
Pharmaceutical Group Sanchine Pharmaceutical Limited Company)

**Abstract:** To investigate the phylogenetic relationship among *Xylotrechus rusticus* Linnaeus and other Cerambycidae insects, we cloned a 547 bp partial fragment of mitochondrial 16S rRNA from *X.rusticus*, which GENBANK number is JX177496. In this study, nucleotides composition, ratio of transition/transversion, pairwise distances, considerable variable sites, etceteras were analyzed by aligning mitochondrial 16S rRNA sequences from 19 long-horned beetles. By using Mega and PAUP software packages, we constructed the molecular phylogeny tree using Neighbor-Joining (NJ) and Maximum Parsimony (MP) methods. The results showed that the nucleotide composition of mitochondrial 16S rRNA gene from *X.rusticus* had AT bias (A+T=70.9%), that similar in other Cerambycidae insects. Ratio of transition/transversion was 0.5424. Transversion gave priority to replace, and transversion were more than transition. A and G switching rate were faster than C and T switching rate. A and T transversion rate was the fastest, C and G was the second smallest, and A and C was the slowest. Analyses of mitochondrial 16S rRNA sequences from 19 long-horned beetles showed that conserved sites 293, variable sites 254, Parsim-Info sites 175, singleton sites 79, accounting for 53.6%, 46.4%, 32.0% and 14.4% respectively. As far as 16S rRNA sequences were concerned, the minimum pairwise distances were 0.1325 and the maximum pairwise distances were 0.2128, representing *Trichoferus campestris* and *Massicus raddei* respectively. Phylogenetic analyses showed that, Lamiinae and Lepturinae polymerized one clade, Cerambycinae alone polymerized one clade, indicating that Lamiinae and Lepturinae have a close relationship, a relative distant relationship of Cerambycinae. *X.rusticus* had close relationships with *Chlorophorus diadema* and *Cyrtoclytus capra* from Cerambycinae, while relative distant relationships with the other long-horned beetles of Cerambycinae. Connected pairwise distances results with phylogenetic analyses, we found the pairwise distances had no relationships with genetic relationship.

**Key words:** *Xylotrechus rusticus*, 16S rRNA, phylogenetic analysis

青杨脊虎天牛 (*Xylotrechus rusticus* Linnaeus) 隶属于鞘翅目 (Coleoptera) 天牛总科 (Cerambycidae) 天牛亚科 (Cerambycidae) 脊虎天牛属 (*Xylotrechus* Chevrolat), 是国家林业局 2004 年公布的林业检疫性有害生物之一, 主要分布于中国的东北三省、亚洲的伊朗、土耳其、俄罗斯远东地区、蒙古、朝鲜、日本和欧洲 (徐波等, 2007), 寄主以杨树为主, 同时危害

柳属(*Salix*)、桦属(*Betula*)、榆属(*Ulmus*)、椴属(*Tilia*)、栎属(*Quercus*)和山毛榉属(*Fagus*)林木(胡春祥等, 2004; 张振等, 2010)。青杨脊虎天牛生活隐蔽, 幼虫蛀食树木的木质部, 影响树木正常发育, 致使树木风折死亡, 防治极为困难。近年来, 在木材的国际、国内调运检验检疫中, 经常发现蛀干害虫天牛个体绝大多数为幼虫或蛹, 由于天牛近缘幼虫或蛹种间差异微小, 对其准确鉴定难度大, 因此, 如何提高蛀干害虫(天牛)的种类鉴定工作准确性, 对提高木材检验检疫工作的效率至关重要。

随着分子生物学的发展, 人们可以从分子水平提高了物种间遗传进化研究的准确性, 纠正了传统分类中的一些错误或解决了传统分类学中尚未解决的问题。动物线粒体基因组具有结构相对简单, 分子相对较小, 进化速率相对较快, 无组织特异性, 母性遗传等特点, 使得它成为研究物种起源进化及群体遗传分析的理想研究对象(王备新和杨莲芳, 2002; Mindell 和 1990)。其中, 16S rRNA因其DNA序列较为保守, 比较适合于研究属间、不同种团以及分化时间较早的种间系统关系。本文通过分子克隆方法获得了青杨脊虎天牛线粒体16S rRNA基因部分序列, 通过构建系统发育树对其系统发育关系进行初步探讨, 为今后更加全面、深入研究青杨脊虎天牛系统发育提供分子生物学方面的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

2010年10月, 于哈尔滨市呼兰区砍伐青杨脊虎天牛危害杨木, 将有虫害部位锯成长约1-2m的木段, 置于室内纱网罩内, 每天向木段喷洒清水以保持木段内水分。2010年12月中旬, 劈开木段采集青杨脊虎天牛蛹, 用液氮迅速冷冻, -80℃保存备用。

### 1.2 实验材料

本实验所涉及到的天牛信息见表1。

表1 研究所用天牛样本来源及 GenBank 序列号  
Table 1 Specimen information of Cerambycidae used in this study

亚科 (Family)	种 (Species)	样本来源 (Source)	GenBank 序列号 16S rRNA
花天牛亚科 Lepturinae	斑胸驼花天牛 <i>Pidonia similis</i> (Kraatz)	吉林长白山 Changbai Mountain Jilin	HM034771
	北亚伪花天牛 <i>Anastrangalia sequensi</i> (Reitter)	吉林长白山 Changbai Mountain Jilin	HM034772
	赤杨伞花天牛 <i>Corymbia rubra</i> (Linnaeus)	吉林长白山 Changbai Mountain Jilin	HM034773
	双斑厚花天牛 <i>Pachyta bicuneata</i> (Motschulsky)	江苏南京 Najing Jiangsu	DQ861334
天牛亚科 Cerambycinae	青杨脊虎天牛 <i>Xylotrechus rusticus</i> (Linnaeus)	黑龙江哈尔滨 Harbin Heilongjiang	JX177496

	槐绿虎天牛	吉林长白县	HM034779
	<i>Chlorophorus diadema</i> (Motschulsky)	Changbai County Jilin	
	黄纹曲虎天牛	吉林延边	HM034781
	<i>Cyrtoclytus capra</i> (Germar)	Yanbian Jilin	
	栗山天牛	吉林磐石	HM034787
	<i>Massicus raddei</i> (Blessig)	Panshi Jilin	
	家茸天牛	江苏南京	DQ861332
	<i>Trichoferus campestris</i> (Faldermann)	Najing Jiangsu	
	黄褐棍腿天牛	英国	DQ202535
	<i>Phymatodes testaceus</i> (Linne)	UK	
	北美家天牛	美国	DQ861333
	<i>Hylotrupes bajulus</i> (Linnaeus)	USA	
沟胫天牛亚科	苜蓿多节天牛	吉林莫莫格	HM034790
Lamiinae	<i>Agapanthia amurensis</i> Kraatz	Momoge Jinlin	
	大麻多节天牛	吉林长白山	HM034774
	<i>Agapanthia daurica</i> Ganglbauer	Changbai Mountain Jilin	
	光肩星天牛	吉林长春	HM034776
	<i>Anoplophora glabripennis</i> (Motschulsky)	Changchun Jinlin	
	粒肩天牛	江苏南京	DQ861330
	<i>Apriona germari</i> (Hope)	Najing Jiangsu	
	云杉小墨天牛	日本	AB533603
	<i>Monochamus sutor</i> (Linaeus)	Japan	
	巨墨天牛	日本	AB533602
	<i>Monochamus grandis</i> Waterhouse	Japan	
	云杉花墨天牛	日本	AB533600
	<i>Monochamus saltuarius</i> Gebler	Japan	
	双斑锦天牛	日本	AB533613
	<i>Acalolepta sublusca</i> (Thomson)	Japan	

### 1.3 主要药品与试剂

Taq DNA 聚合酶、DNA Marker DL 2000 (DNA 标准分子量)、PMD-18T 载体购自大连宝生物公司, TIANgel Midi Purification kit(胶回收试剂盒)购自天根生化科技有限公司, IPTG (异丙基- $\beta$ -D-硫代吡喃半乳糖苷)、X-gal (5-溴-4-氯-3-吡啶- $\beta$ -D 半乳糖苷) 购自 Roche 公司, Ampicillin (氨苄青霉素)、CTAB(十二烷基三甲基溴化铵)、琼脂糖购自 Invitrogen 公司。

### 1.4 青杨脊虎天牛基因组 DNA 的提取

采用改良的 CTAB 法提取青杨脊虎天牛蛹基因组 DNA (姚大彬等, 2009), 并用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的浓度和纯度。

### 1.5 PCR 扩增及序列测定

用于扩增青杨脊虎天牛线粒体 16S rRNA 的引物为 Bouchon 等 (Bouchon *et al.*, 1994)

提供的通用引物 16S-F (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') 和 16S-R (5'-CGCCTGTTTAACAAAAACAT-3')。PCR 扩增反应体系为 20 $\mu$ L, 包括 20-50ng 模版 DNA, 1 $\mu$ L 的上下游引物 (10 $\mu$ M), 2 $\mu$ L 10 $\times$ Buffer (100mmol/L Tris-HCl pH 8.3, 30 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 500 mmol/L KCl), 1 $\mu$ L dNTPs (2.5mmol/L) 1.0U Taq DNA 聚合酶, 用无菌去离子水补足体积至 20 $\mu$ L。PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 1min, 35 个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 1min, 53 $^{\circ}$ C 退火 1min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2min, 循环后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。取全部 PCR 产物于 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测, PCR 产物纯化回收后与 PMD-18T 载体连接, 转化至大肠杆菌 JM109, 筛选出的阳性克隆送 Invitrogen 公司测序。

### 1.6 DNA 序列的数据处理

用 ClustalX(1.83)软件对序列进行比对 (Thompson *et al.*, 1997), 先去除序列两端冗余, 保留共有序列再进行同源性比对, 比对后的结果用 Mega 4.0 软件对序列进行统计分析 (Tamura *et al.*, 2007), 包括各分类单元间的遗传距离及标准误差、碱基组成(nucleotide composition)、变异位点(variable sites)、简约信息位点 (parsimony information sites)等。

### 1.7 系统发育树的建立

在系统发育分析中, 所有位点均作为无序特征处理, 间隔处理为缺失性状。本文利用 Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007) 和 PAUP(Version 4.0 b10) (Swofford, 2002) 软件包构建青杨脊虎天牛线粒体 16S rRNA 基因序列的 NJ (Neighbor Joining, 邻接法) 系统发育树和 MP (Maximum Parsimony, 最大简约法) 系统发育树, 涉及天牛科 3 亚科 19 种昆虫。系统树中各分支的置信水平用自举检验(bootstrap test)估计, 重复 1000 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增结果及 16S rRNA 序列的确定

以提取的青杨脊虎天牛基因组 DNA 为模版, 利用 16S-F 和 16S-R 引物进行 PCR 扩增, 得到了单一的特异性条带 (图 1)。将该片段割胶、回收、克隆、测序后得到 547bp 的序列, 该序列在 NCBI 上进行 BLAST 比对, 结果显示所测序列与其他昆虫线粒体 16S rRNA 基因具有较高的同源性, 85% 以上。因此可以确定所得到的序列为 16S rRNA 基因, 并将序列提交到 GENBANK, 序列号为 JX177496。

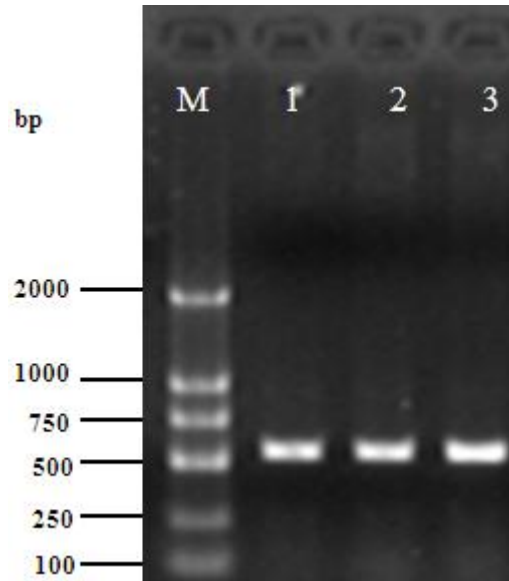


图 1 PCR 产物电泳分析

Fig.1 Electrophoretic analysis of PCR products

泳道 1、2 和 3 均为青杨脊虎天牛 16S rRNA 基因的 PCR 扩增结果；M 为 DNA 标准分子量 DL2000  
Lane1, lane2 and lane3 are all the PCR products of 16S rRNA gene isolated from *Xylotrechus rusticus*;M  
represents DNA marker 2000

## 2.2 16S rRNA 基因序列的碱基组成分析

通过对包括青杨脊虎天牛在内的 19 种天牛线粒体 16S rRNA 基因序列的碱基组成分析 (表 2), 发现青杨脊虎天牛 16S rRNA 基因序列的 T 含量为 38.2%, C 含量为 11.3%, A 含量为 32.7%, G 含量为 17.7%, A+T 含量为 70.9%, C+G 含量为 29.0%, 表现出明显的 A+T 碱基偏嗜, 这与天牛科其他天牛 16S rRNA 基因碱基组成比例高度相似。序列间核苷酸的转换/颠换(Ts/Tv)之比为 0.5424, 替换以颠换为主, 各序列变异位点颠换明显多于转换, 其中, AG 间转换速率较快, CT 间转换速率较慢; 在所有颠换替代中, AT 颠换速率最快, CG 次之, AC 最慢。利用 Mega 4.0 软件统计出 19 种天牛 16S rRNA 序列的保守位点 293 个, 变异位点 254 个, 简约信息位点 175 个, 自裔位点 79 个, 分别占 53.6%, 46.4%, 32.0% 和 14.4%。

表 2 不同天牛 16S rRNA 基因序列的碱基组成

Table 2 Base composition of 16S rRNA gene from different longhorn beetles

种 (Species)	T(%)	C(%)	A(%)	G(%)	A+T(%)	C+G(%)
1 青杨脊虎天牛 <i>X.rusticus</i>	38.2	11.3	32.7	17.7	70.9	29.0
2 家茸天牛 <i>T.campestris</i>	40	11	31.1	17.9	71.1	28.9
3 黄褐棍腿天牛 <i>P.testaceus</i>	37.8	11.2	32.7	18.3	70.5	29.5
4 巨墨天牛 <i>M.grandis</i>	38.5	10.4	34.2	16.8	72.7	27.2
5 云杉小墨天牛 <i>M.sutor</i>	37.7	10.4	34.9	17	72.6	27.4
6 云杉花墨天牛 <i>M.saltuarius</i>	37.7	10.6	35.5	16.3	73.2	26.9
7 光肩星天牛 <i>A.glabripennis</i>	37.8	10.6	34.7	16.8	72.5	27.4

8 粒肩天牛 <i>A.germari</i>	38.6	10.6	33.5	17.4	72.1	28.0
9 苜蓿多节天牛 <i>A.amurensis</i>	37.7	11	34.4	17	72.1	28.0
10 大麻多节天牛 <i>A.aurica</i>	37.8	10.8	34.7	16.6	72.5	27.4
11 北亚伪花天牛 <i>A.sequensi</i>	37.1	10.6	36.4	15.9	73.5	26.5
12 赤杨伞花天牛 <i>C.rubra</i>	39.7	10.4	34.6	15.4	74.3	25.8
13 斑胸驼花天牛 <i>P.similis</i>	38	10.8	35.8	15.4	73.8	26.2
14 双斑厚花天牛 <i>P.bicuneata</i>	38.9	10.2	34.6	16.3	73.5	26.5
15 双斑锦天牛 <i>A.sublusca</i>	37.8	11	34.9	16.3	72.7	27.3
16 北美家天牛 <i>H.bajulus</i>	38.9	10.2	33.5	17.4	72.4	27.6
17 栗山天牛 <i>M.raddei</i>	35.5	12.6	31.4	20.5	66.9	33.1
18 槐绿虎天牛 <i>C.diadema</i>	39.1	11.2	30.5	19.2	69.6	30.4
19 黄纹曲虎天牛 <i>C.capra</i>	37.3	10.4	33.1	19.2	70.4	29.6

### 2.3 系统发育分析

青杨脊虎天牛等 19 中天牛的 16S rRNA 基因序列间的碱基距离见表 3。从表 3 中可以看出，青杨脊虎天牛与其他天牛的碱基距离介于 0.1325 至 0.2128 之间，与天牛亚科的家茸天牛的碱基距离最小，与天牛亚科的栗山天牛的碱基距离最大。基于 16S rRNA 基因序列构建了天牛科 3 亚科 19 种昆虫的 NJ 树（图 2）和 MP 树（图 3）。两种聚类方法得到的分子系统发育树拓扑结构基本一致：研究中的 19 种天牛聚合为 2 部分，沟胫天牛亚科（Lamiinae）和花天牛亚科（Lepturinae）聚合为一支，天牛亚科（Cerambycinae）单独聚为一支，说明沟胫天牛亚科和花天牛具有较近的亲缘关系，这两科与天牛亚科亲缘关系相对较远；青杨脊虎天牛与绿虎天牛属的槐绿虎天牛（*C.diadema*）和曲虎天牛属的黄纹曲虎天牛（*C.capra*）亲缘关系较近，而与天牛亚科其他 4 种天牛亲缘关系较远。

表 3 青杨脊虎天牛与其他天牛的碱基距离

Table 3 Pairwise distances of 16S rRNA among *X.rusticus*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1 <i>X.rusticus</i>																				
2 <i>T.campestris</i>	0.1325																			
3 <i>P.testaceus</i>	0.1482	0.1643																		
4 <i>M.grandis</i>	0.1329	0.1484	0.1717																	
5 <i>M.sutor</i>	0.1371	0.1484	0.1693	0.0185																
6 <i>M.saltuarius</i>	0.1549	0.1485	0.1737	0.0318	0.0318															
7 <i>A.glabripennis</i>	0.1487	0.1558	0.1957	0.0879	0.0921	0.0982														
8 <i>A.germari</i>	0.1665	0.1710	0.2015	0.1240	0.1238	0.1218	0.1440													
9 <i>A.amurensis</i>	0.1909	0.1886	0.2121	0.1398	0.1309	0.1329	0.1353	0.1715												
10 <i>A.aurica</i>	0.1859	0.1742	0.2073	0.1375	0.1308	0.1242	0.1422	0.1666	0.0631											
11 <i>A.sequensi</i>	0.1508	0.1782	0.1927	0.1444	0.1398	0.1510	0.1489	0.1712	0.1913	0.1606										
12 <i>C.rubra</i>	0.1577	0.1781	0.2124	0.1626	0.1578	0.1693	0.1697	0.1851	0.1840	0.1725	0.0815									
13 <i>P.similis</i>	0.1647	0.2000	0.2174	0.1377	0.1420	0.1510	0.1628	0.1904	0.1699	0.1629	0.1198	0.1332								
14 <i>P.bicuneata</i>	0.1438	0.1392	0.1830	0.1156	0.1134	0.1197	0.1332	0.1350	0.1629	0.1534	0.1242	0.1154	0.1401							

15	<i>A. sublusca</i>	0.1531	0.1506	0.1931	0.1153	0.1152	0.1111	0.1374	0.1507	0.1601	0.1647	0.1421	0.1581	0.1630	0.1179				
16	<i>H. bajulus</i>	0.1490	0.1532	0.1737	0.1557	0.1602	0.1669	0.1815	0.1762	0.1743	0.1673	0.1888	0.1888	0.1721	0.1490	0.1768			
17	<i>M. raddei</i>	0.2128	0.2173	0.2353	0.2125	0.2100	0.2218	0.2074	0.2501	0.2097	0.2150	0.2540	0.2349	0.2504	0.2176	0.2429	0.1858		
18	<i>C. diadema</i>	0.1394	0.1851	0.2119	0.2027	0.2049	0.2121	0.2076	0.2224	0.2439	0.2385	0.1857	0.1811	0.1957	0.1783	0.2050	0.1697	0.2377	
19	<i>C. capra</i>	0.1598	0.1908	0.2148	0.1832	0.1950	0.2071	0.1908	0.2509	0.2383	0.2542	0.2249	0.2378	0.1978	0.2127	0.2150	0.2055	0.2581	0.1803

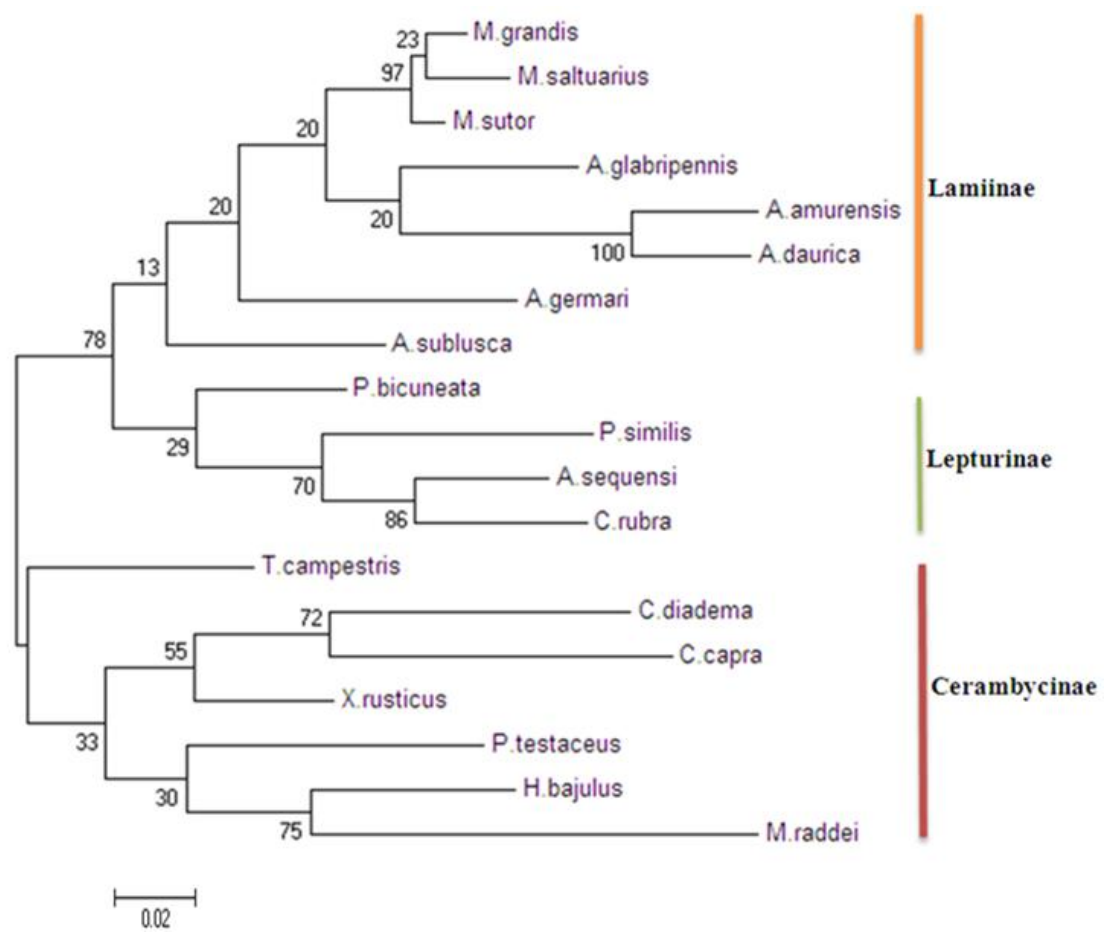


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的 NJ 树

Fig. 2 The molecular phylogenetic NJ tree based on 16S rRNA gene sequences

注：枝上数值为 Bootstrap 1000 对该枝的支持百分数

Note: The bootstrap confidence values of each branch are shown above the branch



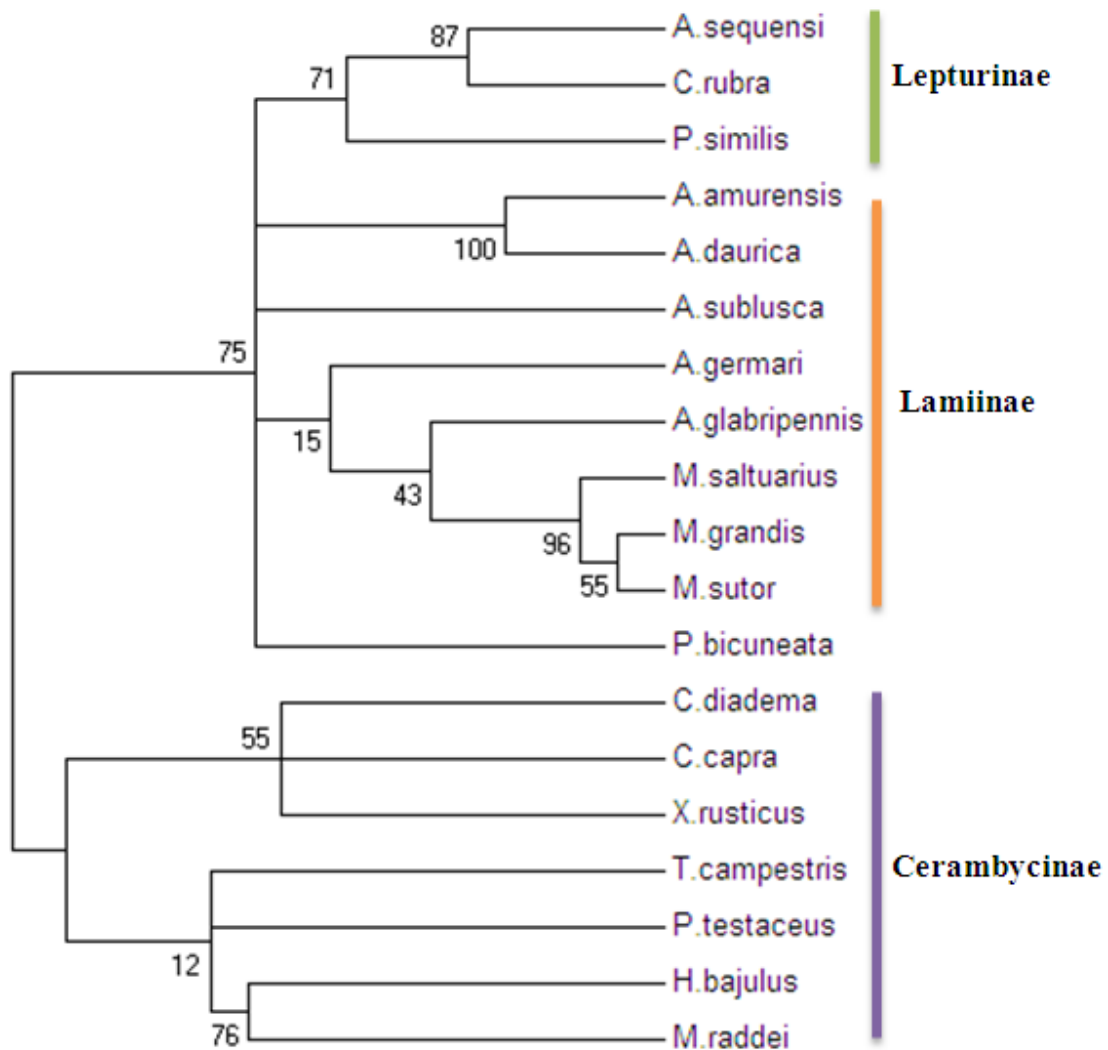


图 3 基于 16S rRNA 基因序列构建的 MP 树

Fig. 3 The molecular phylogenetic MP tree based on 16S rRNA gene sequences

注：枝上数值为 Bootstrap 1000 对该枝的支持百分数

Note: The bootstrap confidence values of each branch are shown above the branch

### 3 讨论

本研究选择线粒体 16S rRNA 基因序列中的一段保守性区域作为青杨脊虎天牛进化分析的依据，该区域表现出明显的 A+T 碱基偏嗜，且 A 和 T 碱基含量相当，这与已报道的昆虫线粒体基因的碱基组成特征基本一致 (Mahendran *et al.*, 2006; Simon *et al.*, 1994)。

采用 NJ 法和 MP 法构建的分子系统发育树拓扑结构基本一致，均聚合为 2 支，即沟胫天牛亚科和花天牛亚科聚为一支，天牛亚科单独聚为一支；青杨脊虎天牛与槐绿虎天牛

(*C. diadema*) 和黄纹曲虎天牛 (*C. capra*) 亲缘关系较近，而与天牛亚科其他 4 种天牛亲缘关系较远。利用 MEGA 4.0 软件计算青杨脊虎天牛与其他天牛的碱基距离，结果显示青杨脊虎天牛与天牛亚科的家茸天牛的碱基距离最小，与天牛亚科的栗山天牛的遗传距离最大。结合系统发育树的分析结果，可以得出碱基距离的大小与亲缘关系的远近无直接关系。

我们针对青杨脊虎天牛的 16S rRNA 基因序列, 对天牛总科的花天牛亚科、天牛亚科和沟胫天牛亚科中 19 种天牛的 16S rRNA 进行了比较分析, 进行系统发育重建, 探讨分子进化机制。对于青杨脊虎天牛整体的系统演化关系研究还需要增加分类单元的种类, 增强分类单元的代表性。同时, 尝试不同基因序列片段联合分析, 将有助于进一步阐明青杨脊虎天牛的系统发育关系。

#### 参考文献:

- 胡春祥, 黄咏槐, 李成军, 孙江华. 2004. 青杨脊虎天牛幼虫空间分布格局. 昆虫知识, 41(3): 241-244.
- 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.
- 徐波, 张健, 程红, 严善春. 2007. 青杨脊虎天牛触角表皮孔的超微结构及其分布. 东北林业大学学报, 35(11): 89-91.
- 姚大彬, 迟德富, 宇佳, 李晓灿. 2009. 一种改良的鞘翅目昆虫核酸的提取方法. 东北林业大学学报, 37(1): 86-88.
- 张振, 迟德富, 宇佳, 李晓灿, 赵晓杰. 2010. 青杨脊虎天牛对 13 种植物挥发物的电生理及行为反. 林业科学, 46(10): 69-75.
- Bouchon D, Souty-Grosset C, Raimond, R. 1994. Mitochondrial DNA variation and markers of species identity in two penaeid shrimp species: *Penaeus monodon* Fabricius and *P. japonicus* Bate. *Aquaculture*, 127.
- Mahendran B, Ghosh S K, Kundu S C. 2006. Molecular phylogeny of silk-producing insects based on 16S ribosomal RNA and cytochrome oxidase subunit I genes. *J. Genet.*, 85:31-38.
- Mindell D P, Honeycutt R L. 1990. Ribosomal RNA in vertebrates: evolution and phylogenetic applications. *Annu Rev Ecol Syst*, 21:541-566.
- Swofford D L. 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Version 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24:1596-1599.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. 1997. The Clustalx windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.*, 24: 4876-4882.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87(5): 651-701.