

齿小蠹属 CO I 基因序列分析及其系统进化

常虹, 苏鹏, 郝德君*

(南京林业大学 森林资源与环境学院 江苏 南京 210037)

摘要: 小蠹虫是一类分布广、危害重的林木害虫,也是植物检疫中经常截获的类群,对其进行快速准确的鉴定为预防检疫性种类的入侵具有重要意义。目前,形态特征鉴定是检疫系统常用的方法,然而,形态学鉴定主要以成虫为对象,而截获的昆虫中相当一部分为幼虫或者部分破碎的成虫,使得形态学鉴定难以实现。随着分子生物学及生物信息学在昆虫分类中的应用,DNA 条形码技术应运而生,为检疫鉴定提供了新的方法。

本研究首先针对小蠹昆虫基因组 DNA 的提取方法,分别选择酚仿抽提法、CTAB 法、SDS 法与磁珠法提取单头标本、肌肉组织和多年液浸标本的基因组 DNA,对提取效果进行分析比较,以期筛选出适宜小蠹科昆虫 DNA 提取的方法,为小蠹科昆虫的分子快速鉴定奠定基础。结果表明:相对于其它三种方法,磁珠法的提取效果稳定,用时短,杂质少,纯度高。不仅适于提取整体标本的 DNA,而且适于提取微量组织和保存多年标本的 DNA,可以为进一步的 PCR 扩增提供高质量模板。

为探讨线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (CO I) 基因的特定区段作为 DNA 条形码快速准确识别齿小蠹的可行性,利用磁珠法提取和巢氏 PCR 克隆了 14 种齿小蠹和外种群美雕瘤小蠹线粒体 CO I 基因片段,并与 GenBank 登录的 18 种齿小蠹的同源片段进行碱基组成多样性和系统进化分析。序列分析结果显示:变异位点为 261 个,保守位点 203 个,简约信息位点 176 个,自裔位点 85 个。所有位点中,A、G、C、T 碱基平均含量分别为 35.8%、17.2%、16.5%和 30.5%。A+T 含量较高为 66.3%明显高于 G+C 含量,表现明显的 A+T 碱基偏嗜,且 A 与 T 含量相当,符合昆虫线粒体基因碱基组成的基本特征。转换与颠换结果显示:该段序列未达到饱和,可以得到准确的进化分析。基于 CO I 基因序列构建的邻接法系统发育树 (NJ 树),同形态学特征相结合,说明基于该段序列线粒体 CO I 基因的 DNA 条形码技术可以应用于小蠹科齿小蠹属的分子鉴定。进一步将该目标片段应用于小蠹科其他属种,证明其小蠹科昆虫分子鉴定的可行性,并构建小蠹科基因条形码库。

*基金项目: 国家质检总局项目 (2010IK256)、国家科技支撑计划课题 (2012BAK11B03)。

**郝德君为通讯作者。dejunhao@163.com