

# 利用 mtCOI PCR-RFLP 技术鉴别草地贪夜蛾 与其他 3 种形态相近昆虫

孔子艺<sup>1</sup>, 王 鹏<sup>1</sup>, 朱军生<sup>2</sup>, 国 栋<sup>2</sup>, 迟秀丽<sup>3</sup>, 孔宝玉<sup>1</sup>, 胡 磊<sup>1</sup>, 褚 栋<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>山东省植物病虫害综合防控重点实验室, 青岛农业大学植物医学学院, 山东 青岛 266109;

<sup>2</sup>山东省植物保护总站, 山东 济南 250100; <sup>3</sup>胶州市农业局植保站, 山东 胶州 266300

**摘要:**【目的】田间调查发现草地贪夜蛾与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫常混合发生, 传统的形态学鉴定方法不能快速鉴别出该虫, 当前亟需快速鉴别该虫的方法。【方法】本研究分析了草地贪夜蛾与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫 mtCOI 基因序列的酶切位点, 根据目的片段设计上游引物并进行 PCR-RFLP 验证。【结果】草地贪夜蛾个体在 mtCOI 片段的 556~561 bp 处均存在 Sbf I 内切酶酶切位点, 斜纹夜蛾、甜菜夜蛾、粘虫均无 Sbf I 酶切位点。草地贪夜蛾 PCR 产物经过 Sbf I 内切酶酶切, 可出现 420 bp 左右的特征带, 斜纹夜蛾、甜菜夜蛾、粘虫种群均不能被 Sbf I 内切酶酶切。【结论】基于新设计引物扩增的 mtCOI 片段的 PCR-RFLP 方法可有效鉴别草地贪夜蛾与其他 3 个形态相近昆虫, 研究结果为草地贪夜蛾的快速鉴别提供了方法。  
**关键词:** 草地贪夜蛾; 农业入侵害虫; mtCOI PCR-RFLP; 快速鉴别



开放科学标识码  
(OSID 码)

## Rapid differentiation of *Spodoptera frugiperda* from the other three morphologically similar species using mtCOI PCR-RFLP technique

KONG Ziyi<sup>1</sup>, WANG Peng<sup>1</sup>, ZHU Junsheng<sup>2</sup>, GUO Dong<sup>2</sup>, CHI Xiuli<sup>3</sup>,  
KONG Baoyu<sup>1</sup>, HU Lei<sup>1</sup>, CHU Dong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Integrated Control of Plant Diseases and Insect Pests of Shandong Province, College of Plant Health & Medicine of Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; <sup>2</sup>The Vegetational Protection Central Station of Shandong Province, Jinan, Shandong 250100, China; <sup>3</sup>The Vegetational Protection Station of Jiaozhou Agricultural Bureau, Jiaozhou, Shandong 266300, China

**Abstract:**【Aim】Recent research has found that *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera litura*, and *Mythimna separata* often occur simultaneously in fields. Because of similar morphological characteristics of adults and larvae, it is difficult to differentiate *S. frugiperda* from the other three species using traditional morphological identification methods. It is necessary to develop a rapid method to differentiate *S. frugiperda* from the other morphologically similar species.【Method】This study analyzed the restriction enzyme recognition sites in the mtCOI (mitochondrial cytochrome oxidase subunit I) of *S. frugiperda*, *S. exigua*, *S. litura*, and *M. separata*. A new forward primer of the target fragment of mtCOI gene was designed, which was used to amplify the targeted production.【Result】In the 556~561 bp of mtCOI segment, Sbf I enzyme recognition site was found in all individuals of *S. frugiperda*, while there was no Sbf I restriction enzyme recognition sites in *S. litura*, *S. exigua*, and *M. separata*. The results showed that the PCR products of *S. frugiperda* could be digested by Sbf I, and a characteristic band of 420 bp was found. In contrast, the PCR products of *S. litura*, *S. exigua*, and *M. separata* could not be digested by Sbf I.【Conclusion】The mtCOI PCR-RFLP technique developed in this study can differentiate *S. frugiperda* from the other three species effectively, which provides a rapid method for the identification of *S. frugiperda*.

**Key words:** *Spodoptera frugiperda*; invasive agricultural pest; mtCOI PCR-RFLP; rapid differentiation

收稿日期(Received): 2019-08-15 接受日期(Accepted): 2019-10-08

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系水稻创新团队项目(SDAIT-17-07); 山东省重点研发计划项目(2017GNC11111)

作者简介: 孔子艺, 女。研究方向: 农业昆虫与害虫防治。E-mail: kongtuziye@163.com

\* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: chinachudong@sina.com.cn

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith), 又称秋粘虫, 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae, 原产于美洲热带和亚热带地区 (Nagoshi *et al.*, 2017b), 近年来成为一种重大入侵农业害虫。受国际交流、进出口贸易和季风气候的影响, 该虫于 2016 年首次在非洲出现, 后扩散到撒哈拉以南的大部分国家以及亚洲的印度、也门、缅甸等国家 (郭井菲等, 2018; Goergen *et al.*, 2016)。2018 年年底该虫零星传入我国云南 (吴秋琳等, 2019), 随后在国内扩散蔓延。截至 2019 年 7 月 5 日, 已入侵我国 22 个省的 1128 个县, 危害面积达 55.6 万  $\text{hm}^2$  (王磊等, 2019)。草地贪夜蛾具有杂食性、迁飞性、爆发性以及繁殖力强等特点, 能危害多种植物, 尤其导致玉米等禾本科作物严重减产 (郭井菲等, 2019a), 对我国玉米等作物安全生产构成严重威胁。当前, 全国各地广泛开展了草地贪夜蛾的田间调查与监测工作, 预防其进一步的扩散蔓延。

最近国内调查发现, 草地贪夜蛾与甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (Fabricius)、粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 常混合发生, 形态极为相似, 而传统的形态学鉴定方法受到多种因素的影响, 在调查时易将这 4 种害虫混淆, 不能准确快速地识别 (郭井菲等, 2019b)。因此, 该虫的田间调查、监测亟需快速准确的识别技术。目前, 物种分子鉴定包括扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphisms, AFLP) (杨兆富和张雅林, 2005)、磷酸甘油醛异构酶基因 (triosephosphate isomerase, Tpi) (Nagoshi *et al.*, 2012) 以及线粒体细胞色素氧化酶亚基 I 基因 (mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, mtCOI) (马英等, 2018; Meagher & Gallo-Meagher, 2003) 测序等方法。近年来, PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) (秦丽等, 2013)、SCAR (sequence characterized amplified region) (刘循等, 2009) 等方法也常用于种间快速鉴别。

本研究首先下载并比对草地贪夜蛾与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的 mtCOI 基因序列 (截至 2019 年 6 月 19 日), 其次分析了草地贪夜蛾 mtCOI 基因序列的酶切位点, 筛选确定了能区分该虫与其他 3 种害虫的候选酶切位点, 然后根据 mtCOI 基因目的片段设计出新的上游引物并进行 PCR-RFLP 验证。结果表明构建的 mtCOI PCR-RFLP 方法可

快速将草地贪夜蛾从其他 3 个形态相近昆虫中鉴别出。本研究结果为近期传入我国的草地贪夜蛾的快速鉴别提供了方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 mtCOI 基因序列下载与比对及酶切位点分析

从美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 下载草地贪夜蛾 (362 条) 和甜菜夜蛾 (387 条)、斜纹夜蛾 (116 条)、粘虫 (200 条) 的对应 mtCOI 基因序列 (截至 2019 年 6 月 19 日), 去除存在插入缺失等问题的低质量序列, 删除两端多余的序列, 利用软件 DNAsp5 分别将 4 种昆虫的 mtCOI 序列归为不同的单倍型并编号。利用软件 MEGA 5.05 将下载整理后的序列以邻接法 (neighbor joining, NJ) 建树, 各分支置信度均进行 1000 次重复检验, 并通过分析序列间的遗传距离确定为 4 种不同种的昆虫, 个体数等于序列数。将序列分析结果分别显示为草地贪夜蛾与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫 4 种昆虫的所有 mtCOI 基因序列利用 MEGA 5.05 进行比对分析, 通过酶切位点汇总在线工具 ([http://www.novopro.cn/tools/rest\\_summary.html](http://www.novopro.cn/tools/rest_summary.html)) 对草地贪夜蛾 mtCOI 基因序列进行限制性内切酶位点分析, 进一步筛选可以区分草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近昆虫的酶切位点。

### 1.2 mtCOI 基因序列目的片段引物设计

参照 NCBI 中下载整理后所分析试虫的 mtCOI 基因序列, 以包含 Sbf I 酶切位点的序列为模板, 利用网站 (<http://primer3plus.com/cgi-bin/dev/primer3plus.cgi>) 对目的片段设计引物, 其中上游简并引物为 5'-ACCWTTAATATTAGGAGCYCCWGA-3'; 因酶切位点与所分析 mtCOI 基因序列末端距离仅 36 bp, 无法设计便于实验和观察结果的下游引物, 因此下游引物直接利用 Nagoshi *et al.* (2017a) 实验中所设计下游引物 (5'-GATGTAATAATATGCTCGTGT-3')。扩增产物预期长度为 672 bp。经 PCR 验证, 此对引物可以分别对草地贪夜蛾和甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的 mtCOI 基因序列进行有效扩增。

### 1.3 样本采集及基因组 DNA 提取

所有样品均采于 2019 年。包括草地贪夜蛾青岛种群、草地贪夜蛾玉溪种群、草地贪夜蛾日照种群、甜菜夜蛾青岛种群、斜纹夜蛾广东种群、斜纹夜蛾济南种群、粘虫济南种群和粘虫青岛种群共 8 个

种群。从每个种群中随机选取 3 头,提取单头虫体腿部 DNA。样品 DNA 的提取采用 TIANamp Genomic DNA Kit 试剂盒,单头虫体腿部用液氮研磨后,按照说明书进行标准操作提取 DNA。

#### 1.4 目的片段的 mtCOI PCR-RFLP

对 mtCOI 目的片段采用 TaKaRa Taq 酶进行 PCR 扩增,PCR 扩增的体系如下(13  $\mu\text{L}$ ):DNA 模板 2  $\mu\text{L}$ ,上下游引物各 0.26  $\mu\text{L}$ ,dNTP 0.26  $\mu\text{L}$ ,TaKaRa Taq 酶 0.13  $\mu\text{L}$ ,10 $\times$ PCR Buffer ( $\text{Mg}^{2+}$ ) 1.3  $\mu\text{L}$ ,ddH<sub>2</sub>O 8.79  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应程序:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,50  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min,共 35 个循环,扩增片段为 672 bp。每个个体的 mtCOI 基因序列 PCR 扩增产物共 24 个样本交由北京擎科生物科技有限公司测序,结果用于物种鉴定和序列分析。相关 PCR 扩增产物进一步用限制性内切酶 Sbf I 进行酶切,后使用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。观察并分析凝胶电泳结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 mtCOI 基因序列分析

从 NCBI 数据库下载于 2019 年 6 月 19 日前发布的草地贪夜蛾和甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的对应 mtCOI 基因序列。因草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近鳞翅目昆虫均具有部分未知序列,已知 mtCOI 基因序列经对齐筛选整理后仅可保留分析 538 bp,例如草地贪夜蛾 mtCOI 基因序列 GU439148.12 其中的 538 bp,如下:TATTGTAACAGCCCATGCTTT TATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAATT GGAGGATTTGGAAATTGACTTGTACCTTTAATATTA GGAGCCCTGATATAGCTTTCCACGTATAAATAAT ATAAGTTTTGACTTTTACCCCATCTTTAACTTTTAT TAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGA ACTGGATGAACAGTTTACCCCCCTCTCCTCTAAT ATTGCTCATGGGGTAGTTCAGTAGATTTAGCTATT TTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTATCTATTTTAT GAGCTATTAACCTTTATTACCACTATTATTAATATAC GATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTAT TTATTTGAGCTGTAGGTATTACCGCATTTTTATTAT TATTATCTTTACCTGNTTTAGCTGGAGCTATTACTA TATTACTTACTGATCGAAATCTAAATACATCATTTT TCGATCCTGCAGGAGGAGGNGATCCTATTCTTTATC

AACATTTATTT。

利用软件 DNAsp5 分别将 4 种昆虫的 mtCOI 序列归为不同的单倍型并编号,对整理后 mtCOI 基因序列利用软件 MEGA 5.05 进行系统树发育分析判断不同物种(图 1),分别得到草地贪夜蛾、甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的 mtCOI 基因序列 117、281、101、56 条。

### 2.2 mtCOI 酶切位点分析

通过酶切位点汇总在线工具([http://www.novopro.cn/tools/rest\\_summary.html](http://www.novopro.cn/tools/rest_summary.html))对比寻找得出:Nagoshi *et al.* (2017a) 上下游引物获得 811 bp 的 mtCOI 片段(图 2),所有草地贪夜蛾个体在该片段的 556~561 bp 处均存在 Sbf I 内切酶酶切位点(表 1),因有些单倍型中所包含的 mtCOI 基因序列过多,此处仅列举具有代表性的序列;其他 3 种形态相近昆虫均无 Sbf I 酶切位点(图 2)。草地贪夜蛾 PCR 产物经过 Sbf I 内切酶酶切,可出现 420 bp 左右的特征带;斜纹夜蛾、甜菜夜蛾、粘虫种群均不能被 Sbf I 内切酶酶切。

### 2.3 mtCOI 基因序列分析

从每种昆虫采集样品的每个种群中随机选取 3 头进行 mtCOI 扩增、测序,共得到 24 条序列,系统发育分析确定分别为 9 个草地贪夜蛾个体、3 个甜菜夜蛾个体、6 个斜纹夜蛾个体及 6 个粘虫个体。对样品的 mtCOI 基因序列对比分析发现,Nagoshi *et al.* (2017a) 上下游引物获得 811 bp 的 mtCOI 片段 556~561 bp 处,所有草地贪夜蛾个体(9 个个体的 mtCOI 基因序列均存在 Sbf I 酶切位点(且 561~811 bp 间均不存在此酶切位点),其余 3 个物种所有个体(15 个个体)在此处均无 Sbf I 酶切位点(图 2)。

### 2.4 基于 mtCOI PCR-RFLP 鉴定及分析

新设计的上游引物与下游引物结合可分别对草地贪夜蛾与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫进行有效扩增(图 3)。图 4 表明,将草地贪夜蛾的 PCR 扩增产物酶切后电泳,结果中出现一条 420 bp 左右的特征带;其他 3 种形态相近昆虫的 PCR 扩增产物酶切后电泳均不出现此特征带。因此,mtCOI PCR-RFLP 技术可以区分草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近昆虫,若出现此 420 bp 左右的特征带,即为草地贪夜蛾;反之,则为其他 3 种形态相近昆虫。

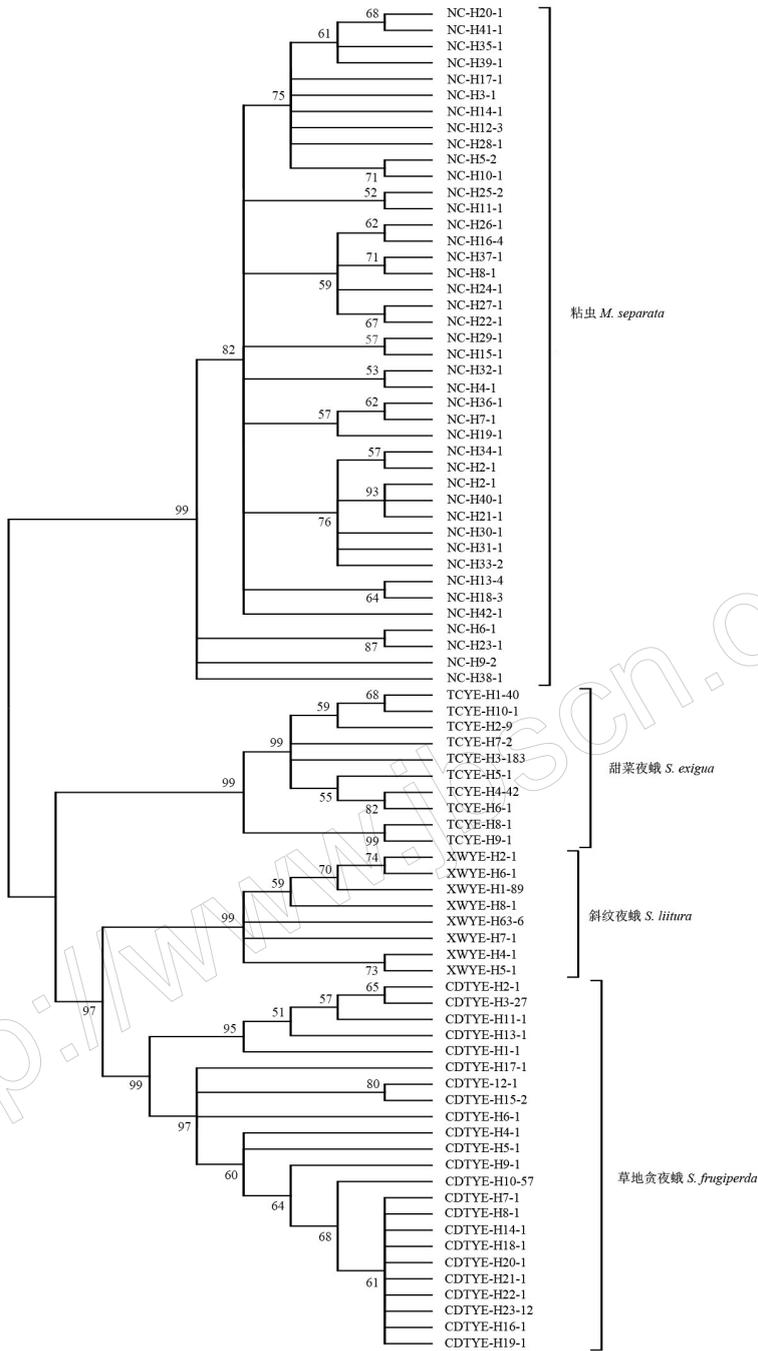


图 1 基于 mtCOI 对草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近昆虫的系统发育分析  
 Fig.1 Phylogenetic analysis of *S. frugiperda* and other three species based on mtCOI gene

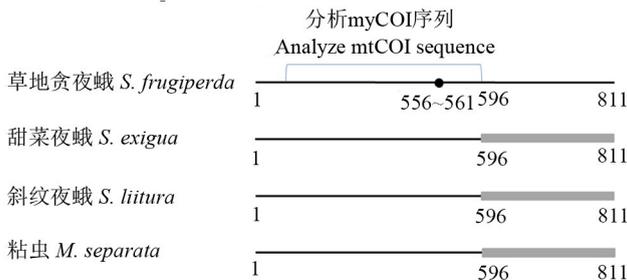


图 2 Sbf I 酶切位点的分布

Fig.2 Distribution of Sbf I recognition sites

圆点表示酶切位点; 灰色表示未知序列。

The black circle indicates Sbf I recognition site, and the gray box indicates the unknown sequence.

表 1 草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近昆虫 mtCOI 基因序列代表 Sbf I 酶切位点

Table 1 Distribution of Sbf I recognition sites in *S. frugiperda* and other three species

物种 Species	单倍型 Haplotype	mtCOI 基因 序列数 Number of mtCOI sequence	代表序列 GenBank Example of GenBank No.	Sbf I 酶切 位点 Sbf I recognition sites	物种 Species	单倍型 Haplotype	mtCOI 基因 序列数 Number of mtCOI sequence	代表序列 GenBank Example of GenBank No.	Sbf I 酶切 位点 Sbf I recognition sites
草地贪夜蛾 <i>S. frugiperda</i>	H1	1	KM362176.1	556~561	粘虫 <i>M. separata</i>	H1	1	MH900448.1	-
	H2	1	HM136589.1	556~561		H2	1	MH900385.1	-
	H3	27	HM136590.1	556~561		H3	1	MH900383.1	-
	H4	1	HM136593.1	556~561		H4	1	MH900390.1	-
	H5	1	HM136594.1	556~561		H5	2	MH900392.1	-
	H6	1	HM136595.1	556~561		H6	1	MH900394.1	-
	H7	1	HM136596.1	556~561		H7	1	MH900396.1	-
	H8	1	HM136597.1	556~561		H8	1	MH900396.1	-
	H9	1	HM136598.1	556~561		H9	2	MH900454.1	-
	H10	57	HM136599.1	556~561		H10	1	MH900451.1	-
	H11	1	HM136587.1	556~561		H11	1	MH900444.1	-
	H12	1	GU094756.1	556~561		H12	3	MH900442.1	-
	H13	1	HQ964527.1	556~561		H13	4	MH900425.1	-
	H14	1	MK368810.1	556~561		H14	1	MH900420.1	-
	H15	2	JF854746.1	556~561		H15	1	MH900419.1	-
	H16	1	MH639004.1	556~561		H16	4	MH900417.1	-
	H17	1	MH639006.1	556~561		H17	1	MH900416.1	-
	H18	1	MH639007.1	556~561		H18	3	MH900414.1	-
	H19	1	MH639008.1	556~561		H19	1	MH900413.1	-
	H20	1	MH753323.1	556~561		H20	1	MH900409.1	-
	H21	1	MH753328.1	556~561		H21	1	MH900400.1	-
	H22	1	MH753331.1	556~561		H22	1	MH900430.1	-
	H23	12	MH819361.1	556~561		H23	1	MH900445.1	-
斜纹夜蛾 <i>S. litura</i>	H1	89	KX861832.1	-	H24	1	MH900436.1	-	
	H2	1	KJ940206.1	-	H25	2	MH900439.1	-	
	H3	6	MK000729.1	-	H26	1	MH900422.1	-	
	H4	1	KJ634304.1	-	H27	1	MH900423.1	-	
	H5	1	KJ940207.1	-	H28	1	MH900408.1	-	
	H6	1	MK491175.1	-	H29	1	MH900407.1	-	
	H7	1	KJ940213.1	-	H30	1	MH900407.1	-	
	H8	1	MG954451.1	-	H31	1	MH900438.1	-	
甜菜夜蛾 <i>S. exigua</i>	H1	40	JN290214.1	-	H32	1	MH900440.1	-	
	H2	9	JN290213.1	-	H33	2	MH900427.1	-	
	H3	183	JF853552.1	-	H34	1	MH900440.1	-	
	H4	42	HQ991416.1	-	H35	1	MH900412.1	-	
	H5	1	KY407742.1	-	H36	1	MH900410.1	-	
	H6	1	KX045943.1	-	H37	1	MH900446.1	-	
	H7	2	HM756077.1	-	H38	1	MH900406.1	-	
	H8	1	HQ950504.1	-	H39	1	MH900404.1	-	
	H9	1	KF522650.1	-	H40	1	MH900403.1	-	
	H10	1	HM756078.1	-	H41	1	MH900402.1	-	
	H42	1	MH900401.1	-					

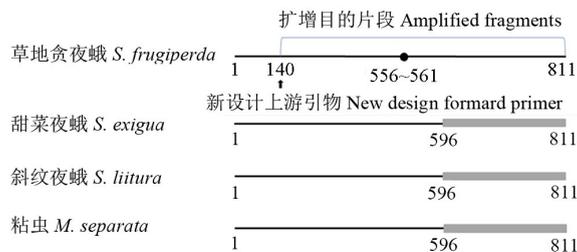


图 3 新设计上游引物位置

Fig.3 The position of the newly developed forward prime

圆点表示酶切位点;灰色表示未知序列。

The black circle indicates Sbf I recognition site, and the gray box indicates the unknown sequence.

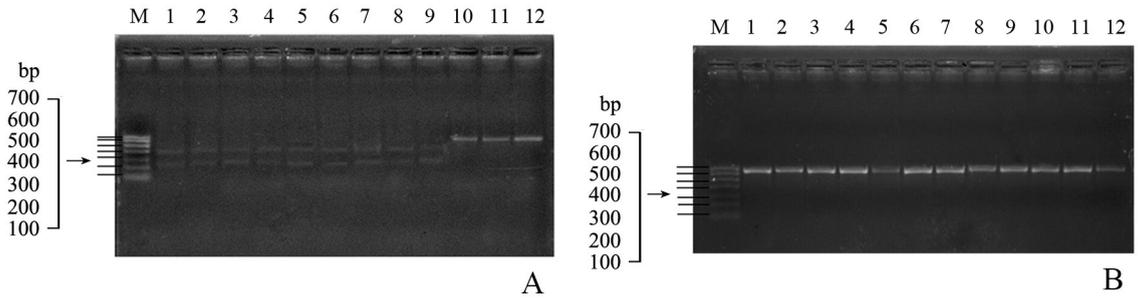


图 4 草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近昆虫 mtCOI PCR-RFLP 电泳图谱

Fig.4 mtCOI PCR-RFLP pattern of *S. frugiperda* and other three species

M: Trans DNA Maker I (700 bp); A: 1~3 为草地贪夜蛾青岛种群, 4~6 为草地贪夜蛾玉溪种群, 7~9 为草地贪夜蛾日照种群, 10~12 为甜菜夜蛾青岛种群。B: 1~3 为斜纹夜蛾广东种群, 4~6 为斜纹夜蛾济南种群, 7~9 为粘虫济南种群, 10~12 为粘虫青岛种群。

M: Trans DNA Maker I (700 bp); A: 1-3 are Qingdao populations of *S. frugiperda*, 4-6 are Yuxi populations of *S. frugiperda*, 7-9 are Rizhao populations of *S. frugiperda*, 10-12 are Qingdao populations of *S. exigua*. B: 1-3 are Guangdong populations of *S. litura*, 4-6 are Jinan populations of *S. litura*, 7-9 are Jinan populations of *M. separata*, 10-12 are Qingdao populations of *M. separata*.

### 3 讨论

草地贪夜蛾的毁灭性极强, 是威胁世界粮食作物生产的跨国界迁飞性重大害虫。因为该虫刚侵入我国不久, 且与甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的体长、体色、翅展长度等形态特征相近(马丽等, 2016; Yin, 2010; 赵胜园等, 2019), 田间为害特点相似(郭井菲等, 2019b), 传统的形态学鉴定方法受到虫态等限制, 很容易与这 3 种鳞翅目害虫混淆, 不能对其进行准确识别。因此, 对草地贪夜蛾迅速准确地进行物种识别, 快速鉴定当地是否有草地贪夜蛾入侵, 是对该虫进行监测、预警和防治的关键, 具有重要理论意义和现实意义。

目前, 可应用于物种鉴定的分子生物学技术方法很多, 如 AFLP(杨兆富和张雅林, 2005)、RAPD(Qiu *et al.*, 2003)、SSR(丁思敏等, 2018)等, 但是这些技术操作复杂、成本高、速度相对较慢或其他一些因素限制其大规模应用, 而 PCR-RFLP 技术具有快速、灵敏、简便、稳定等特性(周新改等, 2012), 是国内外广泛采用的一种快速高效物种鉴定分子生物学手段。本研究对草地贪夜蛾及其他 3 种形态相近鳞翅目昆虫的 mtCOI 基因序列分析发现, 所有草地贪夜蛾在 556~561 bp 处均存在 Sbf I 酶切位点, 而其他 3 种害虫均无此酶切位点, 实验也证实所选取的上下游引物通用性强, 在草地贪夜蛾及甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫中均能进行有效扩增, 利用 Sbf I 作为内切酶的 PCR-RFLP 方法可以鉴别草地贪夜蛾与其他 3 种形态相近鳞翅目昆虫。

本研究中, 由于甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫 mt-

COI 在所用品段的 596 bp 后未知, 若在此后存在酶切位点, 电泳结果也有可能出现 1 条 >457 bp 和 1 条 <216 bp 的 2 条带, 在进行物种判断的时候需要注意。此外, 本研究仅对草地贪夜蛾及甜菜夜蛾、斜纹夜蛾、粘虫的 mtCOI 基因已知序列进行了对比分析, 如果存在其他物种, 也可能影响该技术的应用, 尚需对其他物种进行验证。

**致谢:** 感谢为本研究提供斜纹夜蛾样品的仲恺农业工程学院农业与生物学院申建梅博士, 以及参与样品采集的所有人员。

### 参考文献

- 丁思敏, 王书平, 贺康, 李飞, 蒋明星, 2018. 基于基因组特异性 SSR 序列的实蝇 PCR 鉴定方法. 应用昆虫学报, 55(4): 759-765.
- 郭井菲, 何康来, 王振营, 2019a. 草地贪夜蛾的生物学特性、发展趋势及防控对策. 应用昆虫学报, 56(3): 361-369.
- 郭井菲, 静大鹏, 太红坤, 张爱红, 何康来, 王振营, 2019b. 草地贪夜蛾形态特征及与 3 种玉米田为害特征和形态相近鳞翅目昆虫的比较. 植物保护, 45(2): 7-12.
- 郭井菲, 赵建周, 何康来, 张峰, 王振营, 2018. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入侵中国. 植物保护, 44(6): 1-10.
- 刘循, 万方浩, 张桂芬, 2009. 可用于黑刺粉虱快速鉴定的 SCAR 分子标记技术. 昆虫学报, 52(8): 895-900.
- 马丽, 高丽娜, 黄建荣, 李国平, 田彩红, 封洪强, 2016. 黏虫和劳氏黏虫形态特征比较. 植物保护, 42(4): 142-146.
- 马英, 李海龙, 何建, 赵延梅, 杨汉青, 鲁亮, 刘起勇, 2018. 基于线粒体 COI 基因的青海省 44 种蚤类的分子鉴

- 定及系统发育分析. *昆虫学报*, 61(4): 488-497.
- 秦丽, 王佳, 邴孝利, 刘树生, 2013. 利用 mtCOI PCR-RFLP 技术鉴定中国境内九个烟粉虱隐种. *昆虫学报*, 56(2): 186-194.
- 王磊, 陈科伟, 陆永跃, 2019. 我国草地贪夜蛾入侵扩张动态与发生趋势预测. *环境昆虫学报*, 41(4): 683-694.
- 吴秋琳, 姜玉英, 吴孔明, 2019. 草地贪夜蛾缅甸虫源迁入中国的路径分析. *植物保护*, 45(2): 1-6, 18.
- 杨兆富, 张雅林, 2005. AFLP 在昆虫系统学研究中的应用. *昆虫分类学报*, (4): 315-320.
- 赵胜园, 罗倩明, 孙小旭, 杨现明, 姜玉英, 吴孔明, 2019. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的形态特征和生物学习性比较. *中国植保导刊*, 39(5): 26-35.
- 周新改, 刘美刚, 杨小红, 林克剑, 马伟华, 王沫, 2012. mtCOI PCR-RFLP 技术鉴别中国入侵型和土著型烟粉虱种群的有效性分析. *应用昆虫学报*, 49(1): 168-176.
- GOERGEN G, KUMAR P L, SANKUNG S B, TOGOLA A, TAMO M, LUTHE D S, 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PLoS ONE*, 11: e0165632.
- MEAGHER R L, GALLO-MEAGHER M, 2003. Identifying host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Florida using mitochondrial markers. *Florida Entomologist*, 86(4): 450-455.
- NAGOSHI R N, KOFFI D, AGBOKA K, TOUNOU K A, BANERJEE R, JURAT-FUENTES J L, 2017a. Comparative molecular analyses of invasive fall armyworm in Togo reveal strong similarities to populations from the eastern United States and the Greater Antilles. *PLoS ONE*, 12(7): e0181982.
- NAGOSHI R N, MURUA M G, HAY-ROE M, JUÁREZ M L, WILLINK E, MEAGHER R L, 2012. Genetic characterization of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Argentina. *Journal of Economic Entomology*, 105(2): 418-428.
- NAGOSHI R N, SHELBY F, MEAGHER R L, MIRIAN H R, AYUB K, MURUA M, 2017b. Fall armyworm migration across the Lesser Antilles and the potential for genetic between North and South American populations. *PLoS ONE*, 12(2): e 0171743.
- QIU B L, REN S X, WEN S Y, NASSER S M, 2003. Biotypic identification of the populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in China using RAPD-PCR. *Acta Entomologica Sinica*, 46(5): 605-608.
- YIN J L, 2010. Morphology characteristic and damage identification of beet armyworm. *Plant Diseases and Pests*, 1(1): 52-56.

(责任编辑:郭莹)