

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2022.02.013

基于种特异性 SS-CO I 技术 快速鉴定瘤胫实蝇

黄 振^{1,2}, 郭琼霞^{2,3*}

¹福州长乐机场海关,福建 福州 350209; ²福州海关技术中心,福建 福州 350001;

³福建省检验检疫技术研究重点实验室,福建 福州 350001

摘要:【目的】瘤胫实蝇为我国进境植物检疫性有害生物。寄主范围广、危害大,形态与其同属近缘种相似,传统鉴定方法是将果蔬上的各虫态饲养至成虫后进行分类鉴定,鉴定周期较长,影响口岸进境果蔬快速通关,而采用分子鉴定不仅快速且不受虫态影响。【方法】选用瘤胫实蝇为鉴定靶标,番石榴实蝇、锈红果实蝇等 19 种实蝇作阴性对照,应用种特异性技术,基于 mtDNA CO I 线粒体基因序列,研究筛选并设计一对种特异性引物(SS-CO I) LJF400 和 LJR564,进行 PCR 扩增并将 PCR 产物进行电泳检测。【结果】种特异性引物仅对靶标种瘤胫实蝇的 CO I 基因有扩增能力,能扩增出一条单一的长度约 165 bp 清晰的条带,而对其余阴性对照种均不具有扩增效果,未出现任何条带。【结论】设计的种特异性引物具高特异性,能够快速准确鉴定瘤胫实蝇,适用于各种虫态,对瘤胫实蝇的检疫鉴定和进境果蔬的快速通关具有重要意义。

关键词: 瘤胫实蝇; mtDNA CO I; 种特异性引物; 分子生物学技术; 快速鉴定



开放科学标识码
(OSID 码)

Rapid identification of *Bactrocera tuberculata* (Diptera: Tephritidae) by species-specific SS-CO I technique

HUANG Zhen^{1,2}, GUO Qiongxia^{2,3*}

¹Changle Airport Customs, Fuzhou, Fujian 350209, China; ²Fuzhou Customs Technology Center, Fuzhou, Fujian 350001, China;

³Fujian Key Laboratory of Inspection and Quarantine Technology Research, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract: 【Aim】The fruit fly *Bactrocera tuberculata* is a phytosanitary pest in China that can be severely affect a wide range of potential hosts. It is morphologically similar to its relatives and is commonly identified by examining adult external morphological characteristics, which is relatively time-consuming. This study aimed to develop a more rapid method of identifying *B. tuberculata* from any instar using molecular identification. 【Method】Implementing species-specific mitochondrial DNA (mtDNA) cytochrome oxidase subunit I (SS-CO I) primer technology, *B. tuberculata* was used as the positive control, and the remaining 19 types were used as negative controls. Genomic DNA templates were extracted, PCR amplification was performed, and the products were analyzed via electrophoresis. The CO I mtDNA sequence was chosen, the homologous series were checked, and *B. tuberculata* SS identification primers LRF400 and LJR564 were designed. 【Result】Only *B. tuberculata* could clearly amplify the approximately 165 bp single band, whereas the rest produced no band. 【Conclusion】The SS-CO I primers designed with high specificity could rapidly and accurately identify *B. tuberculata* and were suitable for various insect instars. This method is of great practical significance for the prompt quarantine, identification, and clearing through customs of the pests of imported fruits and vegetables.

Key words: *Bactrocera tuberculata*; mtDNA CO I; species specific CO I; molecular biological technique; rapid identification

瘤胫实蝇 *Bactrocera tuberculata* (Bezzi) 是危害 生物名录,属双翅目 Diptera 实蝇科 Tephritidae 果
果蔬的重要害虫,被列入我国进境植物检疫性有害 实蝇属 *Bactrocera* 果实蝇亚属 *Bactrocera* (Drew,

收稿日期(Received): 2021-05-19 接受日期(Accepted): 2021-08-30

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2011J01066、2012J01061)

作者简介: 黄振,男,高级农艺师。研究方向: 农业昆虫与害虫防治。E-mail: hz15880010585@126.com

* 通信作者(Author for correspondence): 郭琼霞, E-mail: qxfjeiq@126.com

2007)。目前,主要分布在老挝(邓裕亮等,2010)、缅甸(肖枢等,2012)、不丹(Leblanc *et al.*, 2014)、中国的云南(Liang *et al.*, 1993)等国家和地区。近年来,中边贸易频繁,进境果蔬种类和数量都在不断增加,邻国的老挝、缅甸等多为瘤胫实蝇疫区(陈鹏和叶辉,2009),频繁的果蔬贸易给瘤胫实蝇的传入带来了潜在的危险(蒋小龙,2002)。

从多年口岸果蔬进境检疫的情况看,截获到的实蝇类害虫多以幼虫、卵或蛹等不同虫态出现。对实蝇的鉴定主要依据成虫的形态学特征编列出分类检索表进行分类检索鉴定,有时还需请专家进行鉴定复核,时效长;而对于幼虫的鉴定,需将幼虫饲养为成虫后再行鉴定,往往受到饲养时间和环境条件的限制,周期长,直接影响了国际果蔬贸易的快速通关。所以,传统的形态分类鉴定方法已经难以适应贸易性的果蔬携带的检疫性实蝇快速鉴定的要求。

近年来,随着分子生物学技术的发展,越来越多的分子鉴定技术被运用于昆虫的鉴定中(陈韶萍等,2014;黄可辉等,2005),可解决传统的形态学分类方法难以解决的幼虫等不同虫态的鉴定问题。为解决实蝇的幼虫、卵、蛹等未成熟虫态鉴定困难和周期长等问题,张亮和张智英(2007)采用 RAPD 技术构建了橘小实蝇 *B. dorsalis* Hendel、具条实蝇 *B. scutellata* (Hendel)、黑漆实蝇 *B. scutellaris* (Bezzi)、南瓜实蝇 *B. tau* (Walker)、瓜实蝇 *B. cucurbitae* (Coquillett) 和番石榴实蝇 *B. correcta* (Bezzi) 等 6 种实蝇指纹图谱的快速鉴定方法;Chua *et al.* (2010) 采用 PCR-RFLP 技术,实现橘小实蝇复合种木瓜实蝇 *B. papayae* 和洋桃实蝇的鉴定。但 RAPD 技术对实验环境因子变化要求较为敏感,扩增产物的重复性和稳定性等较低;RFLP 技术需通过检测内切酶识别位点的变异来确定昆虫种间亲缘关系和昆虫种属特异性,操作繁琐、多态性低,检出率不理想,所以,RAPD 和 RFLP 技术的应用受到一定的限制。线粒体基因组由于具有基因组成稳定、基因排列相对保守、普遍为母系遗传、极少发生重组等特征,被广泛应用于分子进化、系统发育、物种鉴定、种群遗传结构及生物动力学等研究(Prabhakar *et al.*, 2012)。不同类群的线粒体基因组表现出独特的特征与进化方式。在实蝇科昆虫研究中,基因序列的研究为实蝇类害虫的鉴定提供了大量分子

生物学技术信息数据(Beard *et al.*, 1993; Nardi *et al.*, 2010)。线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (mtDNA CO I) 基因的结构相对保守,排列的顺序比较稳定紧密,种间变异较大,容易被通用引物扩增,又有足够的特异性能将不同物种区分开,利用 mtDNA CO I 基因可以进行 DNA 条形码识别、近缘种间的比较鉴定和系统进化研究,已成为许多系统学研究的标准,mtDNA CO I 是被应用于昆虫分子进化系统研究较多的标记基因之一(黄振等,2015),也越来越多地被用到实蝇近缘种的系统发育研究中(范京安等,2009)。mtDNA CO I 被作为一种快速进化的分子标记,已成为研究近缘种生物进化的重要材料(Jamnongluk *et al.*, 2003a, 2003b)。

本研究采用种特异性引物 SS-CO I (species-specific CO I) 技术,基于 mtDNA CO I 基因序列,筛选设计目标物种特异性引物(张桂芬等,2012),快速鉴定瘤胫实蝇,克服了对截获的疑似瘤胫实蝇的卵、蛹、幼虫、成虫及残体等不同虫态的鉴定困难,建立了一种利用分子手段快速鉴定瘤胫实蝇的可行性方法,为口岸快速通关和有效防治瘤胫实蝇提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试实蝇

本试验供试的虫样有果实蝇属果实蝇亚属 9 种:腿端黑实蝇 *B. atrifemur* Drew & Hancock、杨桃果实蝇 *B. carambolae* Drew & Hancock、番石榴果实蝇、橘小实蝇、辣椒果实蝇 *B. latifrons* Hendel、锈红果实蝇 *B. rubigina* Wang & Zhao、瑞丽果实蝇 *B. ruiliensis* (Wang, Long et Zhang), sp. nov.、瘤胫实蝇和五指山实蝇 *B. wuzhishana* Lin & Yang;楸果实蝇亚属 *Zeugodacus* 7 种:近黑颜实蝇 *B. parater* (Zhao & Lin)、二颜带实蝇 *B. cilifera* Hendel、瓜实蝇 *B. cucurbitae* Coquillett、黑颜实蝇 *B. diaphora* Hendel、黑膝实蝇 *B. scutellar* Bezzi、具条实蝇和南亚果实蝇 *B. tau* Walker;滇寡鬃实蝇 *B. modica*、何氏华实蝇 *B. hochii* Zin,以及 *Carpomya* 属枣实蝇 *C. vesuviana* Costa 和 *Dacus* 属瓜棍腹实蝇 *D. longicornis* Wiedemann,共 3 属 4 个亚属 20 种实蝇。其中,腿端黑实蝇为 2010 年在福州机场进境旅客的携带水果中检疫截获,饲养为成虫后鉴定,为中国大陆首次截获(黄振等,2011)。另除杨桃果实蝇、番石榴果实蝇、橘小实蝇、辣椒果实蝇、瓜实蝇、具条实

蝇、南亚果实蝇为口岸进境果蔬中截获,从卵、幼虫等饲养为成虫鉴定外,其余为诱捕剂诱到的实蝇,均为成虫,寄主无法确定。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取和质量检测 取已复核鉴定的瘤胫实蝇虫样的部分组织,采用 OMEGA E.Z. N.A.TM Insect DNA Kit 试剂盒提取各虫样基因组 DNA。提取步骤按照试剂盒操作说明进行。提取的 DNA 通用引物:上游引物 LCO1490 碱基序列为 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTG-3',下游引物 HCO2198 碱基序列为 5'-TAAACTTCAGGGTGAC-CAAAAAATCA-3'。对提取的实蝇虫样基因组 DNA 进行质量检测,在定量梯度 PCR 仪上进行 PCR 反应。反应体系为:2×EasyTaq PCR SuperMix (天根生化科技有限公司)12.5 μL,上下游引物各 1 μL, DNA 模板各 2 μL,加 ddH₂O 至总体积 25 μL。反应条件:预变性 94 ℃ 5 min,变性 94 ℃ 40 s,48 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,35 个循环,最后一次循环后延伸 10 min。分别提取 5 μL PCR 产物在含 DNA 染色剂的 1.5%的琼脂糖凝胶多功能电泳仪上电泳 30 min (120 V),通过凝胶成像分析仪检测扩增,拍摄观察扩增条带的位置。

1.2.2 种特异性 SS-CO I 引物的设计 选用通用引物 LCO1490 和 HCO2198 对靶标实蝇提取的基因组 DNA 进行扩增并测序,由上海英潍捷基贸易有限公司进行测序,测序的序列为 5'-CTGAGCTGG-TATAGTAGGAACATCTCTTAGAATTTTACTGCGAG CAGAACTAGGACACCCGGGAGCCCTAATTGGCGA TGATCAAATCTATAACGTAATTGTAACAGCCCATG CATTTGTAATAATTTTTTTCATAGTTATACCTATTAT AATTGGAGGATTCGGTAATTGATTAGTGCCTTTAAT GCTAGGAGCCCCAGATATAGCATTCCCCCGAATAA ATAATATAAGCTTTTGATTACTACCGCCCTCTCTCA CATTACTTTTAAACAAGCAGTATAGTAGAAAAATGGA GCTGGAACAGGCTGAACCGTTTATCCCCCCTTTCT TCTGCTATCGCCACGGAGGAGCTTCTGTAGACTT AGCTATCTTCTCATTACATTTAGCCGGAATCTCATC CATTTTAGGAGCCGTAAATTTTCATTACCACAGTTA TTAATATACGATCAACCGGAATTACATTGACCGT ATACCTTTATTTGTTTGAGCAGTTGTATTAACAGCC CTTCTTCTTCTACTTTTCCTTACCAGTATTAGCTGGA GCTATTACAATATTATTAACCTGACCGAAATTTAAAT

ACTTCATTCTTCGACCCAGCAGGTGGAGGAGACCC T-3'。将所测序列通过数据库 (NCBI) 比对查找瘤胫实蝇已公布的登录序列,并进行综合比较分析,最后选定登录号为 KF659812,下载其登录号的 FASTA 格式,利用 Primer-Premier 5.0 进行人工筛选设计引物,再利用 Oligo 6.44 对引物进行评定和评价,最后利用 NCBI 数据库中提供的 Primer-BLAST 程序检查同源序列,筛选设计种特异性引物。最终选择的鉴定瘤胫实蝇的种特异性引物为 LJF400 和 LJR564。引物由上海英潍捷基贸易有限公司合成。特异性引物 LJF400 的序列为 5'-ACTCTGTTTAGCCGGGATCT-3'; LJR564 的序列为 5'-CCGGCTAAAACCTGATGGAGA-3'。

1.2.3 引物 SS-CO I 的种特异性的测试 选用瘤胫实蝇为阳性对照,其余的 19 种实蝇为阴性对照,设置反应的体系和条件,在定量梯度 PCR 仪上测试本试验所设计引物的种特异性。利用凝胶成像分析仪检测扩增出的目标片段。

1.2.4 引物 SS-CO I 的灵敏度测试 利用核酸蛋白分析仪对提取的瘤胫实蝇 DNA 模板的浓度进行测试,并将其 DNA 模板浓度按 10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 倍 3 种梯度稀释,使用种特异性引物进行 PCR 扩增,测试引物的灵敏度。

1.2.5 引物 SS-CO I 的种特异性的验证 利用由云南口岸局提供的在我国云南边境监测到的瘤胫实蝇虫样,包括解剖到的果蔬中的幼虫 (饲养到成虫并经过形态鉴定) 等不同虫态虫样 12 份提取的 DNA 为模板,使用种特异性引物 LJF400 和 LJR564 进行 PCR 扩增,验证该方法的稳定性与准确性。

2 结果与分析

2.1 引物 SS-CO I 的种特异性测试

提取各虫样基因组 DNA 并进行质量检测,可见所有实蝇 DNA 均能扩增出约 700 bp 单一且清晰的目标条带 (张桂芬等,2013),结果见图 1。

测试筛选设计引物的种特异性,结果表明:仅瘤胫实蝇在长度约 165 bp 位置扩增出一条清晰且单一的目标条带,其他 19 种实蝇种类均未出现任何条带 (图 2)。本试验对从西双版纳、海口、勐腊口岸 3 个口岸诱捕的瘤胫实蝇样本和阴性对照的 19 份实蝇样本的 DNA 模板重复试验 3 次,结果均一致,表明本试验筛选设计的种特异性引物 LJF400 和 LJR564 具有较强的特异性和稳定性。

得到的 PCR 产物经上海英潍捷基贸易有限公司测序,将测序所得到的序列提交数据库 (NCBI) 经 BLAST 检查同源序列,结果表明:该段序列与数据库中的瘤胫实蝇序列具 100% 的一致性。

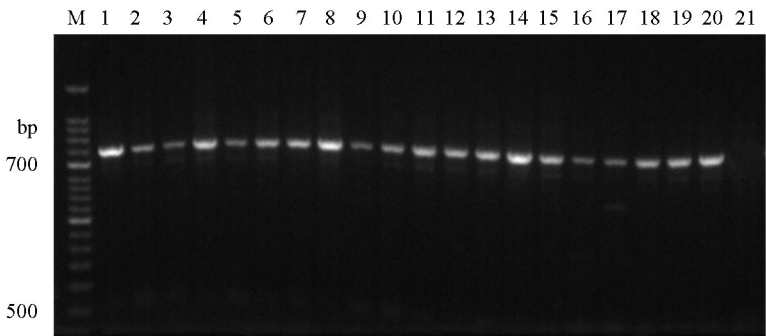


图 1 采用通用型引物 LCO1490 和 HCO2198 对 20 种实蝇提取的 DNA 模板的质量检测结果

Fig.1 Common primers LCO1490 and HCO2198 used to detect the quality of DNA templates extracted from 20 kinds of flies
M: 100 bp DNA ladder; 1: 瘤胫实蝇; 2: 洋桃果实蝇; 3: 番石榴果实蝇; 4: 橘小实蝇; 5: 辣椒果实蝇; 6: 锈红果实蝇; 7: 瑞丽果实蝇; 8: 腿端黑实蝇; 9: 五指山实蝇; 10: 二颜带实蝇; 11: 瓜实蝇; 12: 黑颜实蝇; 13: 近黑颜实蝇; 14: 黑膝实蝇; 15: 具条实蝇; 16: 南亚寡鬃实蝇; 17: 滇寡鬃实蝇; 18: 何氏华实蝇; 19: 瓜棍腹实蝇; 20: 枣实蝇; 21: 空白对照。
M: 100bp DNA ladder; 1: *B. tuberculata*; 2: *B. carambolae*; 3: *B. correcta*; 4: *B. dorsalis*; 5: *B. latifrons*; 6: *B. rubigina*; 7: *B. ruii*ensis; 8: *B. atrifemur*; 9: *B. wuzhishana*; 10: *B. cili*fera; 11: *B. cucurbitae*; 12: *B. diaphora*; 13: *B. parater*; 14: *B. scutellaris*; 15: *B. scutellata*; 16: *B. tau*; 17: *B. modica*; 18: *B. hochii*; 19: *D. longicornis*; 20: *C. vesuviana*; 21: ddH₂O.

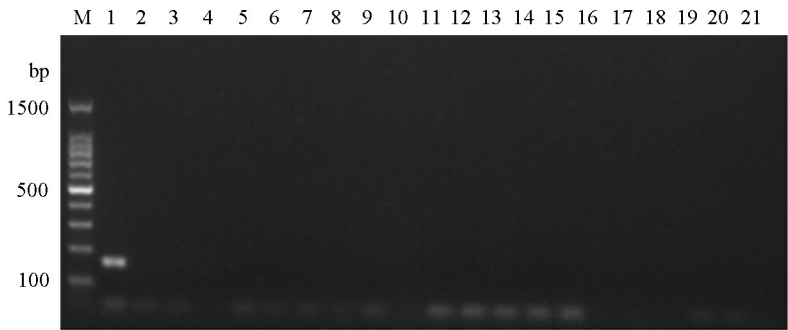


图 2 瘤胫实蝇引物 LJF400 和 LJR564 的种特异性测试

Fig.2 Test of species-specificity of primers LJF400 and LJR564 for *B. tuberculata*
M: 100 bp DNA ladder; 1: 瘤胫实蝇; 2: 洋桃果实蝇; 3: 番石榴果实蝇; 4: 橘小实蝇; 5: 辣椒果实蝇; 6: 锈红果实蝇; 7: 瑞丽果实蝇; 8: 腿端黑实蝇; 9: 五指山实蝇; 10: 二颜带实蝇; 11: 瓜实蝇; 12: 黑颜实蝇; 13: 近黑颜实蝇; 14: 黑膝实蝇; 15: 具条实蝇; 16: 南亚寡鬃实蝇; 17: 滇寡鬃实蝇; 18: 何氏华实蝇; 19: 瓜棍腹实蝇; 20: 枣实蝇; 21: 空白对照。
M: 100 bp DNA ladder; 1: *B. tuberculata*; 2: *B. carambolae*; 3: *B. correcta*; 4: *B. dorsalis*; 5: *B. latifrons*; 6: *B. rubigina*; 7: *B. ruii*ensis; 8: *B. atrifemur*; 9: *B. wuzhishana*; 10: *B. cili*fera; 11: *B. cucurbitae*; 12: *B. diaphora*; 13: *B. parater*; 14: *B. scutellaris*; 15: *B. scutellata*; 16: *B. tau*; 17: *B. modica*; 18: *B. hochii*; 19: *D. longicornis*; 20: *C. vesuviana*; 21: ddH₂O.

2.2 引物 SS-CO I 的灵敏度测试

利用核酸蛋白分析仪提取的瘤胫实蝇 DNA 模板的浓度,测试结果为 55.97 ng · μL⁻¹。将其稀释至 3 种不同梯度浓度后,进行 DNA 模版最低阈值的测定,结果在原浓度稀释 10⁻¹ 倍后,仍可见有明显条带(图 3),说明该引物具有较高的灵敏度。

2.3 引物 SS-CO I 的种特异性的验证

取瘤胫实蝇虫样:西双版纳瘤胫实蝇 8 份、海

口瘤胫实蝇 2 份、勐腊瘤胫实蝇 2 份,共 12 份实蝇提取的 DNA 模板进行种特异性测试验证,均显示出目标条带。结果表明:本试验 SS-CO I 种特异性引物可以快速鉴定靶标实蝇瘤胫实蝇,鉴定结果与形态学鉴定结果一致(图 4),验证结果也表明 SS-CO I 引物具有较强的特异性和稳定性,可以应用于瘤胫实蝇的鉴定。

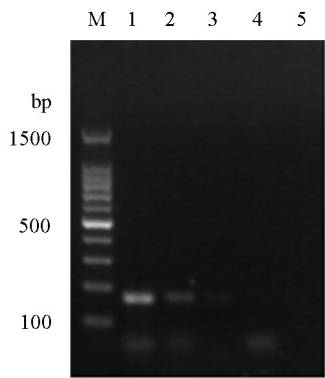


图3 瘤胫实蝇引物 LJF400 和 LJR564 的灵敏度测试

Fig.3 The sensitivity test of the primers LJF400 and LJR564 of *B. tuberculata*

M; 100 bp DNA ladder; 1; 100; 2; 10⁻¹ 倍; 3; 10⁻² 倍; 4; 10⁻³ 倍; 5; 空白对照。
M; 100 bp DNA ladder; 1; 100; 2; 10⁻¹ times; 3; 10⁻² times; 4; 10⁻³ times; 5; ddH₂O.

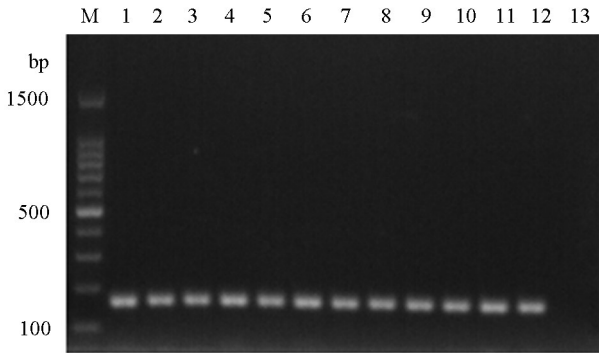


图4 瘤胫实蝇的种特异性引物 (SS-CO I) 验证结果

Fig.4 Verification results of SS-CO I for *B. tuberculata*

M; 100 bp DNA ladder; 1~8; 西双版纳瘤胫实蝇; 9~10; 海口瘤胫实蝇; 11~12; 勐腊瘤胫实蝇; 13; 空白对照。
M; 100 bp DNA ladder; 1~8; *B. tuberculata* of Xishuangbanna; 9~10; *B. tuberculata* of Haikou; 11~12; *B. tuberculata* of Mengla; 13; ddH₂O.

3 讨论

3.1 引物的特异性是鉴定靶标实蝇的关键

本试验选用线粒体基因 mtDNA CO I 作为标记基因,研究筛选设计了特异性引物 LJF400 和 LJR564,测试监测到的瑞丽果实蝇、滇寡鬃实蝇和口岸进境果蔬中检疫截获的 20 种的实蝇虫样,并对西双版纳、海南海口和勐腊口岸诱捕监测的瘤胫实蝇的成虫和成虫的腿节、翅膀等残体共 12 份提取到的 DNA 模板进行 PCR 扩增、测试验证,仅瘤胫实蝇能稳定地扩增出一条长度约 165 bp 的单一且清晰的特异性目标条带,其他 19 种实蝇均无任何

条带发现,验证了本试验筛选设计引物的种特异性,表明引物的特异性是鉴定靶标实蝇的关键。

3.2 应用种特异性 SS-CO I 引物建立快速鉴定方法的可行性

近年来,分子标记技术发展迅速,也逐步被应用于实蝇类害虫不同虫态的鉴定。本研究基于 mtDNA CO I 基因技术,设计靶标瘤胫实蝇种特异性 SS-CO I 引物,对 18 个同属近缘种和其他属 2 种共 20 种实蝇样本进行鉴定,时间只需 8 h,解决了口岸在进境果蔬中截获的幼虫虫态实蝇,需要饲养至成虫后进行形态鉴定的周期长和饲养环境条件局限等存在的问题。研究表明:检测到的 DNA 模板浓度可低至 5.597 ng · μL⁻¹,用量低,且具有较高的灵敏度。可见,建立的 SS-CO I 种特异性引物的检测方法,只要能提取到 DNA,就能实现对靶标种的鉴定,用时短,快速准确,并具有可行性。

实蝇科昆虫具有重要经济意义,种类多,目前已完成线粒体基因组测序的实蝇科种类只有 3 属 14 个物种(姜帆等,2016),更多实蝇科昆虫种类的线粒体基因组序列的分析研究有待进一步深入。应用特异性引物 SS-CO I 检测技术快速鉴定,不仅适用于不同虫态实蝇的鉴定,也能利用实蝇成虫的残体部分,如腿节残肢、翅膀等,提取到微量的 DNA,即可快速鉴定,该方法为其他实蝇的种特异性引物检测技术的研究提供了参考,对开展和促进进境果蔬的实蝇检疫鉴定有着积极的作用和现实意义。

参考文献

陈鹏,叶辉,2009,云南西部实蝇的多样性.生态学报,29(6):2953-2961.
陈韶萍,黄振,郭琼霞,刘长明.2014,实蝇类害虫分子研究进展.生物安全学报,23(3):151-155.
邓裕亮,李志红,白永华,段禄华,刘佳琪,孙士卿,2010,老挝中北部地区果实蝇属(*Bactrocera*)害虫种类初步调查.植物检疫,24(1):52-53.
范京安,顾海峰,陈世界,莫帮辉,温演庆,何万兴,刘伟,曾晓茂,2009.对实蝇科昆虫 mtDNA CO I 基因序列分析和系统发育研究.西南大学学报(自然科学版),31(10):89-95.
黄可辉,郭琼霞,虞赞,吴珍泉,2005.分子标记法在昆虫学研究中的应用.华东昆虫学报,14(2):109-114.
黄振,陈韶萍,谢婧,郭琼霞,2015.应用种特异性 PCR 技

- 术快速鉴定辣椒实蝇. 昆虫学报, 58(4): 460-466.
- 黄振, 梁军, 王晓春, 张旺珍, 熊琳歆, 陈逸石, 黄可辉, 2011. 我国首次截获检疫性有害生物——腿端黑实蝇. 植物检疫, 25(6): 47-49.
- 黄振, 黄可辉, 2012. 果蔬重要实蝇属的分布、危害与形态特征比较研究. 江西农业学报, 24(3): 73-75.
- 姜帆, 李志红, 梁亮, 朱水芳, 2016. 实蝇科昆虫线粒体基因组研究进展. 植物检疫, 30(3): 12-17.
- 蒋小龙, 2002. 云南边境检疫性实蝇风险分析研究. 西南农业大学学报, 24(5): 402-405.
- 肖枢, 吴贵宏, 龙荣, 丁元明, 寸东义, 李生贵, 焦小品, 李天会, 2012. 缅甸东北部监测发现了 5 种检疫性实蝇泰实蝇. 植物检疫, 26(3): 82-86.
- 张桂芬, 郭建洋, 王瑞, 杨婷, 李小风, 郭建英, 曹凤勤, 张金良, 万方浩, 2013. 双钩巢粉虱的种特异性 SS-COI 检测技术. 生物安全学报, 22(3): 157-162.
- 张桂芬, 刘万学, 郭建英, 吕志刚, 万方浩, 申香菊, 2012. 美洲斑潜蝇 SS-PCR 检测技术研究. 生物安全学报, 21(1): 74-78.
- 张亮, 张智英, 2007. 云南六种实蝇的 RAPD 快速鉴定. 应用生态学报, 18(5): 1163-1168.
- BEARD C B, HAMM D M, COLLINS F H, 1993. The mitochondrial genome of the mosquito *Anopheles gambiae*: DNA sequence, genome organization, and comparisons with mitochondrial sequences of other insects. *Insect Molecular Biology*, 2: 103-124.
- CHUA T H, CHONG Y V, LIM S H, 2010. Species determination of Malaysian *Bactrocera* pests using PCR-RFLP analyses (Diptera: Tephritidae). *Pest Management Science*, 66: 379-384.
- DREW R A I, ROMIG M C, DORJI C, 2007. Records of *Dacine* fruit flies and new species of *Dacus* (Diptera: Tephritidae) in Bhutan. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 55(1): 1-21.
- JAMNONGLUK W, BAIMAI V, KITTAYAPONG P, 2003a. Molecular evolution of tephritid fruit flies in the genus *Bactrocera* based on the cytochrome oxidase I gene. *Genetica*, 119: 19-25.
- JAMNONGLUK W, BAIMAI V, KITTAYAPONG P, 2003b. Molecular phylogeny of tephritid fruit flies in the *Bactrocera tau* complex using the mitochondrial COI sequences. *Genome*, 46: 112-118.
- LEBLANC L, HOSSAIN M A, KHAN S A, JOSE M S, RUBINOFF D, 2014. Additions to the fruit fly fauna (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of Bangladesh, with a key to the species. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 46: 31-40.
- LIANG G Q, HANCOCK D L, XU W, LIANG F, 1993. Notes on the Dacinae of southern China (Diptera: Tephritidae). *Australian Journal of Entomology*, 32(2): 137-140.
- PRABHAKAR C S, MEHTA P K, SOOD P, SINGH S K, SHARMA P, SHARMA P N, 2012. Population genetic structure of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) based on mitochondrial cytochrome oxidase (CO I) gene sequences. *Genetica*, 140(3): 83-91.
- NARDI F, CARAPELLI A, BOORE J L, RODERICK G K, DALLAI R, FRATI F, 2010. Domestication of olive fly through a multi-regional host shift to cultivated olives: comparative dating using complete mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57: 678-686.

(责任编辑:郭莹)