

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.04.012

基于线粒体 COI 基因的三江源草原毛虫金小蜂分子鉴定与系统发育分析

王海贞¹, 刘 昕²

¹吕梁学院生命科学系, 山西 吕梁 033000; ²中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275

摘要:【目的】三江源草原毛虫金小蜂在形态学水平上已被鉴定为草原毛虫蛹期的寄生蜂新种。本研究拟从分子标记水平再次对三江源草原毛虫金小蜂进行物种辅助鉴定,探究其在小蜂总科中的系统发育关系。【方法】利用分子生物学手段对三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因进行扩增、测序与分析,并采用邻接法构建系统发育 N-J 树。【结果】三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因校正后的长度为812 bp, A、T、C、G 碱基含量分别为 34.36%、42.61%、10.59%、12.44%, AT 含量显著高于 GC 含量,具有明显的 AT 偏好性;三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂 COI 基因相似度最高,遗传距离最小,表明三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂亲缘较近,因此推断三江源草原毛虫金小蜂可能属于金小蜂科物种;三江源草原毛虫金小蜂先后与 *Eupelmus* sp.、*Sycoscapter* sp.、*Idiomacromerus* sp.、*Diaziella* *bizarre*、*Eurytoma* sp. 聚为一支,且与 *Idiomacromerus* sp.+(*Diaziella* *bizarre*+*Eurytoma* sp.)+(*Eupelmus* sp.+*Sycoscapter* sp.)形成姊妹群。【结论】本研究从分子标记水平揭示了三江源草原毛虫金小蜂与金小蜂科物种的亲缘关系较近,支持了三江源草原毛虫金小蜂的形态学物种鉴定结果,为更深入地研究三江源草原毛虫金小蜂系统发育提供了科学依据,对草原毛虫的生物防治具有重要意义。

关键词: 线粒体 COI 基因; 三江源草原毛虫金小蜂; 草原毛虫; 系统发育; 生物防治



开放科学标识码
(OSID 码)

Molecular identification and phylogenetic analysis of *Pteromalus sanjiangyuanicus* Yang based on the mitochondrial COI gene

WANG Haizhen¹, LIU Xin²

¹Department of Life Sciences, Lyuliang University, Lyuliang, Shanxi 033000, China;

²School of Life Science, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China

Abstract: 【Aim】*Pteromalus sanjiangyuanicus* Yang has been identified by morphology as a new parasitic wasp species of the pupal stage of the *Gynaephora qinghaiensis*. The aim was to further identify *P. sanjiangyuanicus* at the molecular marker level and explore its phylogenetic relationships within Chalcidoidea. 【Method】In this study, we sequenced and analyzed the mitochondrial COI gene of *P. sanjiangyuanicus* and constructed a phylogenetic N-J tree by the neighbor-joining method. 【Result】The length of the mitochondrial COI gene of *P. sanjiangyuanicus* was 812 bp after correction, and the contents of A, T, C and G bases were 34.36%, 42.61%, 10.59% and 12.44%, respectively. The content of AT was significantly higher than that of GC, showing obvious AT bias. The COI gene similarity between *P. sanjiangyuanicus* and *Pteromalus puparum* was the highest, and the genetic distance was the smallest, indicating that *P. sanjiangyuanicus* and *Pteromalus puparum* are closely related. Therefore, it was concluded that *P. sanjiangyuanicus* may belong to the family Pteromalidae. *P. sanjiangyuanicus* clustered with *Eupelmus* sp., *Sycoscapter* sp., *Idiomacromerus* sp., *Diaziella* *bizarrea*, and *Eurytoma* sp. and formed a sister group with *Idiomacromerus* sp. + (*Diaziella* *bizarrea* + *Eurytoma* sp.) + (*Eupelmus* sp. + *Sycoscapter* sp.). 【Conclusion】In this study, analysis at the molecular marker level revealed the close genetic relationships between *P. sanjiangyuanicus* and Pteromalidae species, which supported the morphological species identification results of *P. sanjiangyuanicus* and provided a scientific basis for further research on the phylogeny of *P. sanjiangyuanicus*, which will be of great significance for the biological control of *G. qinghaiensis*.

收稿日期(Received): 2022-11-30 接受日期(Accepted): 2023-03-22
基金项目: 山西省高等学校科技创新项目(2021L571); 吕梁市引进高层次科技人才重点研发项目(2021RC-1-7); 中山大学食品与健康教育部工程研究中心研究项目(20140A001)
作者简介: 王海贞, 男, 讲师, 博士。研究方向: 害虫生物防治研究。E-mail: 573367435@qq.com
* 通信作者(Author for correspondence), 刘昕, E-mail: 20201018@llu.edu.cn

Key words: mitochondrial COI gene; *Pteromalus sanjiangyuanicus*; *Gynaephora qinghaiensis*; phylogeny; biological control

青藏高寒牧区草场的高寒草甸是青藏高原地区面积最大的生态系统,是国家生态安全屏障,也是牧民农牧业赖以生存的自然资源。据报道,青藏高寒牧区草场的草原毛虫 *Gynaephora qinghaiensis* Chou et Ying 危害严重,虫害暴发时每平方米可达上千条,往往牧草刚返青就被啃食殆尽(范小建, 2011)。在草原毛虫危害严重的年份,采用化学农药大面积捕杀成为主要方法,严重破坏了青藏高寒牧区的生态平衡,且加剧了农药残留污染。因此,寻找适合的对草原毛虫进行生物防治的寄生天敌昆虫,研究草原毛虫的生物防治方法,是实现绿色、环保、无公害、可持续控制草原毛虫害的有效途径,对保护青藏高寒牧区草甸生态环境、促进高寒牧区农牧业健康有序发展具有重要意义。

三江源草原毛虫金小蜂 *Pteromalus sanjiangyuanicus* Yang 是王海贞(2020)在草原毛虫蛹期采集到的一种寄生蜂,后经过杨忠岐等(2020)从形态学水平鉴定为金小蜂科的一种新种。研究表明,三江源草原毛虫金小蜂对寄主草原毛虫蛹的自然寄生率较高,且出蜂量较大,是草原毛虫蛹期的优势寄生天敌昆虫,可作为扩繁的天敌昆虫对草原毛虫进行生物防治(王海贞, 2020)。但是作为金小蜂科的一种新种,分子标记水平的物种鉴定还未完成,以及在进化过程中系统发育关系目前还不清楚,不利于这个新物种分类学及遗传结构的深入研究,制约了其草原毛虫生物防治潜能的挖掘。

线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA) 是一种群体遗传学研究常用的分子标记(王玲等, 2018; 殷玉生等, 2012; 张桂芬等, 2014; 张莉丽等, 2016; Oleksiy *et al.*, 2022), 具有进化速度快、母系遗传、基因重组缺失以及易于扩增等特点(Djebbi *et al.*, 2018; Palraju *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2021), 是国际公认的广泛应用于昆虫种类鉴别的分子生物学技术之一(Janzen *et al.*, 2017; Zheng *et al.*, 2019)。目前,昆虫线粒体基因研究中结构与功能研究较为深入的是线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (COI) 基因,在传粉小蜂 *Wiebesia pumilae* (Hill) (吴文珊等, 2013)、榕小蜂 *Eupristina* sp. (陈友铃等, 2013)、赤眼蜂 *Trichogramma* sp. (李虹兵等, 2018) 等多种寄生蜂的遗传多样性及种群结构中广为应用。

本研究基于线粒体 COI 基因,采用分子生物学手段对三江源草原毛虫金小蜂进行物种辅助鉴定,并通过构建系统发育树,探索三江源草原毛虫金小蜂的系统发育关系,为支持三江源草原毛虫金小蜂的形态学物种鉴定结果,以及深入研究三江源草原毛虫金小蜂的系统发育提供了科学依据,对草原毛虫的生物防治具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集与保存

本研究所用的三江源草原毛虫金小蜂样品采集自青海省玉树州治多县海拔 4580 m 高寒草甸的草原毛虫蛹内,并浸泡于非冻型 DNA 组织保存液(天恩泽)中,4 ℃ 保存,用于样品总 DNA 的提取。

1.2 总 DNA 提取与检测

三江源草原毛虫金小蜂总 DNA 的提取参照基因组 DNA 提取试剂盒说明书(Axygen)进行。采用 Nanodrop 2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific)检测样品 DNA 的浓度和纯度。如果提取的样品 DNA 浓度过高,在进行 PCR 试验前需对样品 DNA 进行稀释。

1.3 COI 基因扩增反应

三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因扩增引物设计参照小蜂总科 COI 基因通用引物(吴文珊等, 2013),上游引物序列为 5'-CAACATT-TATTTTGATTTTTTGG-3',下游引物为 5'-TCCAAT-GCCTAATCTGCCATATTA-3'。PCR 反应的总体积为 50 μ L,其中含有 4 μ L DNA 模板(40 ng $\cdot$ μ L⁻¹),各 2 μ L 双向引物(10 μ mol $\cdot$ L⁻¹),5 μ L 10 $\times$ rTaq Buffer (20 mmol $\cdot$ L⁻¹ Mg²⁺),4 μ L dNTP Mixture (2.5 mmol $\cdot$ L⁻¹),0.25 μ L rTaq DNA 聚合酶(5 U $\cdot$ μ L⁻¹),32.75 μ L ddH₂O;PCR 扩增条件为 95 ℃ 预变性 3 min,94 ℃ 变性 45 s,53 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 1 min,35 个热循环,最后在 72 ℃ 延伸 7 min。扩增产物用 1% 琼脂糖电泳进行验证,并挑选扩增效果较好的样品,委托华大基因科技有限公司进行正反链双向测序。

1.4 序列分析与系统发育树构建

1.4.1 COI 基因序列拼接及碱基组成分析 利用 Seqman 软件对测序所得的三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因正反向序列进行拼接,删除头尾载

体序列,通过观察测序峰图校正可疑位点,然后将拼接完成后的序列保存为 Fasta 格式的文件,并对拼接后的基因序列碱基组成进行统计分析。

1.4.2 基于 COI 基因的物种分子鉴定与构建系统发育树物种选择 本研究将测序得到的 COI 基因序列在 NCBI 中 Nucleotide BLAST (basic local alignment search tool) 进行序列比对,根据比对序列的相似度,进行物种分子鉴定。同时,挑选与三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因序列相似度较高且具有科、属代表性的膜翅 Hymenoptera 小蜂总

科 Chalcidoidea 寄生蜂(共 5 科 9 属 11 种)用于遗传关系的分析及系统发育树的构建(表 1)。选取的 COI 基因序列通过登录号从 GenBank 中下载,并保存为 Fasta 格式文件,用于物种间基因序列比对和系统发育分析。

1.4.3 系统发育树构建 应用 Mega 6.0 软件,基于 Kimura 2-paramter 模型,计算物种间的遗传距离;通过邻接法(neighbor-joining)构建系统发育 N-J 树,采用自举法(bootstrap)重复抽样 1000 次检验系统发育树各分支的置信度(Tamura *et al.*, 2013)。

表 1 GenBank 中收录的 11 种寄生蜂 COI 基因信息
Table 1 Information of COI gene of eleven parasitic wasps from GenBank

科 Families	属 Genera	种 Species	登录号 GenBank ID
Pteromalidae	<i>Apocrypta</i>	<i>Apocrypta</i> sp.	AF302058
	<i>Diaziella</i>	<i>Diaziella bizarrea</i>	JQ756539
	<i>Crossogaster</i>	<i>Crossogaster stigma</i>	EF054803
	<i>Philocaenus</i>	<i>Philocaenus barbarus</i>	JQ756587
	<i>Sycoscapter</i>	<i>Sycoscapter</i> sp.	DQ678977
	<i>Pteromalus</i>	<i>Pteromalus puparum</i>	MG923513
Aphelinidae	Unclassified Aphelinidae	Aphelinidae sp. PC124	KU499471
		Aphelinidae sp. PC123	KU499470
Eurytomidae	<i>Eurytoma</i>	<i>Eurytoma</i> sp.	KC960085
Eupelmidae	<i>Eupelmus</i>	<i>Eupelmus</i> sp.	KX086210
Torymidae	<i>Idiomacromerus</i>	<i>Idiomacromerus</i> sp.	MF956377

2 结果与分析

2.1 基因序列分析与物种分子鉴定

获得的三江源草原毛虫金小蜂线粒体 COI 基因正向序列长度为 847 bp,反向序列长度为 845 bp。采用 Seqman 软件对正反向序列进行拼接组装,得到校正后的 COI 基因序列长度为 812 bp, A、T、C、G 碱基含量分别为 34.36%、42.61%、10.59%、12.44%,AT 含量达 76.97%,GC 含量达 23.03%,AT 含量显著高于 GC 含量,具有明显的 AT 偏好性。NCBI 数据库 Blast 结果显示,三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* (L.) COI 基因相似度最高,为 91.12%。

2.2 遗传距离分析

遗传距离分析结果如表 2 所示,三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂遗传距离最小,为 0.060,与 *Apocrypta* sp.遗传距离最大,为 2.760,表明进化过程中三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂亲缘关系最近,与 *Apocrypta* sp.亲缘关系最远。

2.3 系统发育分析

系统发育 N-J 树(图 1)显示, Aphelinidae sp.

PC124、Aphelinidae sp.、*Apocrypta* sp. PC123 这 3 个物种先后聚为一支,并从小蜂总科其他物种中分离出来,表明这 3 个物种与其他物种在进化上不属于一个分类阶层;三江源草原毛虫金小蜂先后与 *Eupelmus* sp.、*Sycoscapter* sp.、*Idiomacromerus* sp.、*Diaziella bizarre*、*Eurytoma* sp.聚为一支,且与 *Idiomacromerus* sp.+ (*Diaziella bizarre* +*Eurytoma* sp.) + (*Eupelmus* sp.+*Sycoscapter* sp.)形成姊妹群。

3 讨论与结论

寄生天敌昆虫种类鉴定是害虫生物防控的前提,而建立在形态学特征观察基础上的物种鉴定,通常情况下会因为观察者的主观性而导致物种鉴定不准确,同时,传统的形态学鉴别技术需要由专业的高技术人员识别,而且受样本保存情况、样品发育阶段、细微差异的近缘种等因素的限制(卢西西等,2022)。随着 DNA 条形码技术在昆虫分类学中的应用,利用形态学观察与分子生物学相结合的技术逐渐取代了单一依靠形态学观察的物种鉴定方法,为物种鉴定提供了更加全面的证据,也为发现隐存种、新物种提供了新的依据(Ogden & Lind-

say,2016)。本研究在前期已经对从草原毛虫蛹中采集到的寄生蜂进行了形态学物种鉴定,并认为是金小蜂科的新种——三江源草原毛虫金小蜂(杨忠岐等,2020),但未对其进行分子生物学物种辅助鉴定。为了使鉴定结果更加科学准确,本研究采用COI 基因分子标记技术,对采集到的寄生蜂样品再次进行物种辅助鉴定,NCBI 数据库 Blast 结果显示,本研究采集到的寄生蜂与蝶蛹金小蜂 COI 基因序列相似度最高,而蝶蛹金小蜂为金小蜂科寄生

蜂,表明所采样品也可能为金小蜂科寄生蜂,但根据杨忠岐等(2020)的形态学鉴定结果,所采样品与金小蜂科其他寄生蜂种类在形态特征方面存在差异,因此,可以确定本研究从草原毛虫蛹内采集到的寄生蜂为金小蜂科的新种,再次支持了形态学物种鉴定结果。形态学与分子生物学鉴定相结合的方法为三江源草原毛虫分类学的深入研究提供了参考依据,丰富了草原毛虫生物防控寄生天敌资源库。

表 2 基于小蜂总科比对物种 COI 基因遗传距离矩阵													
Table 2 The matrix of genetic distance for COI gene of comparing Chalcidoidea species													
编号 No.	物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Aphelinidae sp.PC123												
2	Aphelinidae sp.PC124	0.000											
3	Apocrypta sp.	0.217	0.217										
4	Diaziella bizarrea	2.085	2.085	3.104									
5	Crossogaster stigma	1.964	1.964	2.452	0.122								
6	Eupelmus sp.	2.298	2.298	3.328	0.159	0.210							
7	Philocaenus barbarus	1.907	1.907	2.415	0.104	0.139	0.121						
8	Sycoscapter sp.	2.035	2.035	3.003	0.131	0.179	0.121	0.118					
9	Eurytoma sp.	4.323	4.323	5.349	1.366	1.626	1.517	1.588	1.544				
10	Idiomacromerus sp.	1.910	1.910	2.902	0.150	0.182	0.151	0.135	0.137	1.519			
11	Pteromalus puparum	1.999	1.999	2.545	0.091	0.128	0.154	0.073	0.131	1.658	0.165		
12	Pteromalus sanjiangyuanicus	2.143	2.143	2.760	0.108	0.122	0.170	0.094	0.160	1.459	0.185	0.060	

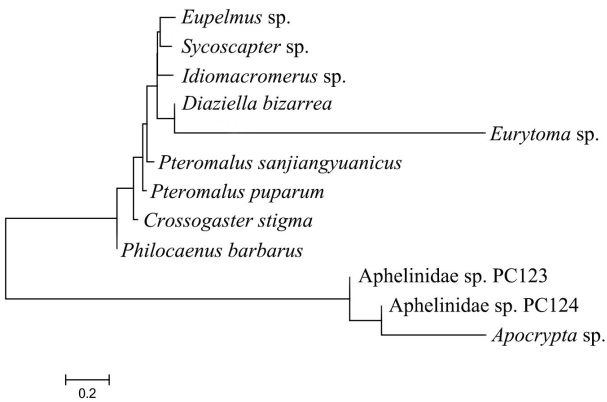


图 1 基于 COI 基因构建的三江源草原毛虫金小蜂系统发育 N-J 树

Fig.1 Phylogenetic N-J tree of *P. sanjiangyuanicus* based on COI gene

草原毛虫是分布在我国青藏高原高寒牧区的一种重要害虫,对高寒草甸植被破坏相当严重(王海贞和刘昕,2022)。青藏高原地理环境异常极端恶劣,因此,国内外对草原毛虫寄生天敌资源调查研究报道较少。1980 年,沈南英等(1980)在草原毛虫蛹内发现了膜翅目金小蜂科寄生蜂草原毛虫金小蜂 *Pteromalus qinghaiensis* Liao。三江源草原毛虫金小蜂与草原毛虫金小蜂虽然在形态上都保留了金小蜂科的特征,但也有一些细微差异,因此被

鉴定为 2 个不同的种(杨忠岐等,2020)。由于草原毛虫金小蜂没有分子方面的基因信息资源,因此无法与三江源草原毛虫做序列比对,进行深入的系统发育研究。故此,本研究只能选用小蜂总科中与三江源草原毛虫金小蜂 COI 序列相似度较高的 11 种寄生蜂进行序列比对,以此来研究三江源草原毛虫金小蜂在小蜂总科中的进化地位。遗传距离是评估物种之间亲缘关系的最直接证据,三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂的遗传距离最小,揭示在进

化过程中三江源草原毛虫金小蜂与蝶蛹金小蜂亲缘关系最近。这在一定程度上再次支持了三江源草原毛虫金小蜂的形态学物种鉴定结果。系统发育树聚类结果显示,三江源草原毛虫金小蜂先后与 *Eupelmus* sp.、*Sycoscapter* sp.、*Idiomacromerus* sp.、*Diaziella bizarre*、*Eurytoma* sp. 聚为一支,且与 *Idiomacromerus* sp.+ (*Diaziella bizarre*+*Eurytoma* sp.)+ (*Eupelmus* sp.+*Sycoscapter* sp.) 形成姊妹群,表明三江源草原毛虫金小蜂在进化上可能与这 5 种寄生蜂处于同一分类阶层。

选择合适的分子标记,是用 DNA 序列进行准确分析的前提,不同的 DNA 序列在生物体中行使不同的功能,所承受的环境选择压力不同,因而在序列进化速度上存在差异(梁宏伟等,2018;李爱梅等,2022;许佳丹等,2019)。对生物不同分类阶元进行鉴定时,对所选择的分子标记的变异速度有不同的要求。在对亚种、种、属等较低的分类阶元进行研究时,要求所选择的分析标记要有较快的变异速度,这样才能确保在亲缘关系较近的不同个体之间存在足够的变异能够将它们区别开来(吴文珊等,2013)。在本研究中,与三江源草原毛虫金小蜂进行序列比对的 11 个寄生蜂物种均为小蜂总科昆虫,属于较低级的分类单元,因此选用进化速度相对较快的 COI 序列进行系统发育研究。此外,很多学者认为,仅仅利用一个基因的分子标记进行物种鉴定时,可能存在一定的误差风险(吴文珊等,2013),因此,今后应利用线粒体 CO II、*Cytb* 基因及核糖体 16S、28S 基因对三江源草原毛虫金小蜂进行更加全面的分子生物学物种鉴定。

参考文献

陈友铃,孙伶俐,武蕾蕾,吴文珊,严菊媛,刘燕,2013. 高榕榕果内 *Eupristina* 属两种榕小蜂的遗传进化关系. 生态学报, 33(19): 6058-6064.

范小建,2011. 扶贫开发与青藏高原减灾避灾产业发展研究. 北京: 中国农业出版社.

李爱梅,付开赞,丁新华,何江,吐尔逊·阿合买提,冯宏祖,郭文超,2022. 新疆地区番茄潜叶蛾遗传多样性的 ISSR 分析. 生物安全学报, 31(2): 121-127.

李虹兵,刘雪莲,高悦,2018. 基于不同基因序列构建赤眼蜂不同地理种群系统树. 江苏科技信息(11): 32-34.

梁宏伟,孟彦,罗相忠,李忠,邹桂伟,2018. 基于线粒体 COI 基因的 6 个黄鳝群体遗传多样性. 中国水产科学,

25(4): 837-846.

卢西西,陈子杰,解芸芸,夏琪,芦亚军,2022. 基于 COI 基因的海南星斑蛾蚋分子鉴定及系统发育分析. 医学动物防制, 38(5): 467-471.

沈南英,方伋,晋德馨,郎百宁,车敦仁,曾璐,高晓春,阎省三,徐远明,李先植,1980. 草原毛虫金小蜂生物学特性的初步研究. 中国草地学报, 2(1): 52-57.

王海贞,2020. 青藏高原高寒牧区草场草原毛虫生物防控研究. 博士学位论文. 广州: 中山大学.

王海贞,刘昕,2022. 玉树州境内草原毛虫种群分布及其对生境草场植被的影响. 环境昆虫学报, 44(4): 891-902.

王玲,李琪,孔令锋,于红,2018. 基于 COI 基因的中国沿海青蚬野生群体遗传结构及种群动态研究. 海洋与湖沼, 49(1): 87-95.

吴文珊,陈友铃,孙伶俐,毛建萍,杨问新,王爱芳,2013. 基于 28S、COI 和 *Cytb* 基因序列的薜荔和爱玉子传粉小蜂分子遗传关系研究. 生态学报, 33(19): 6049-6057.

许佳丹,王书平,蒋费涛,朱雅君,叶军,李飞,2019. 我国口岸瓜实蝇监测样本的 SSR 分子标记分析. 生物安全学报, 28(4): 259-268.

杨忠岐,王小艺,钟欣,刘昕,曹亮明,王海贞,2020. 寄生青海草原毛虫的金小蜂一新种(膜翅目:金小蜂科). 林业科学, 56(2): 99-105.

殷玉生,张帆,钱路,郑斯竹,安榆林,2012. 大小蠹来源地的 COI 基因标记. 生物安全学报, 21(3): 201-209.

张桂芬,乔玮娜,古君伶,闵亮,万方浩,2014. 我国西花蓟马线粒体 DNA COI 基因变异及群体遗传结构分析. 生物安全学报, 23(3): 196-209.

张莉丽,林丹,王道泽,尉吉乾,仇智灵,吴慧明,饶琼,2016. 杭州地区扶桑绵粉蚧危害调查及系统进化分析. 生物安全学报, 25(2): 127-132.

DJEBBI S, AMARA W B, BOUKTILA D, MAKNI H, MAKNI M, MEZGHANI-KHEMAKHEM M, 2018. Assessment of pea weevil *Bruchus pisorum* (Coleoptera: Bruchidae) genetic diversity based on mitochondrial COI gene sequences. *African Entomology*, 26(1): 95-103.

JANZEN D H, BURNS J M, CONG Q, HALLWACHS W, DAPKEY T, MANJUNATH R, HAJIBABAEI M, HEBERT P D N, GRISHIN N V, 2017. Nuclear genomes distinguish cryptic species suggested by their DNA barcodes and ecology. *Pans*, 114(31): 8313-8318.

OGDEN N H, LINDSAY L R, 2016. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. *Trends in Parasitology*, 32(8): 646-656.

OLEKSIY T, MORICA D L, DARIO D B, LEONARDO C, CLAUDIO F, GIUSEPPE G, VALERIO C, DOMINIK H,

LARISA I, SILKE H, MANUEL S S, GIOVANNI T, 2022. Papillary thyroid carcinoma tall cell variant shares accumulation of mitochondria, mitochondrial DNA mutations, and loss of oxidative phosphorylation complex I integrity with noncystic tumors. *The Journal of Pathology: Clinical Research*, 8: 155–168.

PALRAJU M, PAULCHAMY R, SUNDARAM J, 2018. Population genetic structure and molecular diversity of *Leucinodes orbonalis* based on mitochondrial COI gene sequences. *Mitochondrial DNA Part A*, 29: 1231–1239.

TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FILIPSKI A, KUMAR S, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*, 30(12): 2725–2729.

WANG H Z, ZHONG X, LIN H F, LI S S, YI J Q, ZHANG G R, LIU X, GU L, 2021. Genetic diversity and population structure of *Gynaephora qinghaiensis* in Yushu Prefecture, Qinghai Province based on the mitochondrial COI gene. *Biochemical Genetics*, 59(6): 1396–1412.

ZHENG J H, NIE H T, YANG F, YAN X W, 2019. Genetic variation and population structure of different geographical populations of *Meretrix petechialis* based on mitochondrial gene COI. *Journal of Genetics*, 98: 57–68.

(责任编辑:陈晓雯)

