

基于浙江北部及上海天蛾科昆虫 COI 基因的分类系统研究

杨行健^{1,2}, 胡 懿³, 顾 妍⁴, 蒋卓衡⁵, 何祝清^{6,7}

(1. 华东师范大学第二附属中学(张江校区), 上海 201203; 2. 生物学青少年实践工作站, 生命科学院, 华东师范大学, 上海 200241;
3. 华东师范大学第二附属中学(紫竹校区), 上海 200241; 4. 苏州工业园区星海实验中学, 江苏 苏州 215100;
5. 南京紫金山昆虫博物馆, 江苏 南京 210000; 6. 生物博物馆, 生命科学院, 华东师范大学, 上海 200241;
7. 长江三角洲河口湿地生态系统教育部和上海市野外科学观测研究站, 华东师范大学, 上海 200241)

摘要: 采集并测序了浙江北部及上海市天蛾科 Sphingidae 昆虫 31 种 94 个个体的 COI 基因片段, 构建了系统发育树。研究结果显示, 天蛾科是个单系群, 同种同属全部各自聚在一起, 后验概率全部 > 95% (平背天蛾 *Cechetra minor* 除外); 天蛾科分为 2 大支 A 和 B。A 支包括六点天蛾属 *Marumba*, 鬼脸天蛾属 *Acherontia*, 大背天蛾属 *Meganoton*, 白薯天蛾属 *Agrius*, 霜天蛾属 *Psilogramma*, 锯翅天蛾属 *Langia*, 星天蛾属 *Dolbina*, 鹰翅天蛾属 *Ambulyx*, 豆天蛾属 *Clanis*, 构月天蛾属 *Parum*, 锤天蛾属 *Neogurelca*, 盾天蛾属 *Phyllosphingia*, 其中, 大背天蛾属、白薯天蛾属、霜天蛾属的亲缘关系较近, 其余属的相互关系不明确。B 支分为 2 小支, 一支包括长喙天蛾属 *Macroglossum*, 缺角天蛾属 *Acosmeryx*; 另一支包括葡萄天蛾属 *Ampelophaga*, 灰天蛾属 *Acosmerycoides*, 背线天蛾属 *Cechetra*, 斜纹天蛾属 *Theretra*, 白肩天蛾属 *Rhagastis*, 红天蛾属 *Deilephila*。Kawahara 和朱弘复等提出的两种分类系统各有利弊, 有部分类群表现为非单系群, 不能很好地与本研究结果相吻合。后续研究应采用多基因建树, 或者应用系统发育基因组学对天蛾科的演化关系进行更为深入的研究。

关键词: 浙江北部; 上海; 天蛾科; 系统发育; COI 基因; 分类

中图分类号: Q961 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3776 (2020) 05-0063-07

Preliminary Study on Classification System Based on COI Genes of Sphingidae from Northern Zhejiang and Shanghai

YANG Xing-jian^{1,2}, HU Yi³, GU Yan⁴, JIANG Zhuo-heng⁵, HE Zhu-qing^{6,7}

(1. No 2 High School of East China Normal University (Zhangjiang Campus), Shanghai 201203, China; 2. Biological Youth Practice Station, College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 3. No 2 High School of East China Normal University (Zizhu Campus), Shanghai 200241, China; 4. Xinghai Experimental Middle School in Suzhou Industrial Park, Suzhou 215100, China; 5. Nanjing Zijinshan Insect Museum, Nanjing 210000, China; 6. Museum of Biology, College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China;
7. Yangtze Delta Estuarine Wetland Ecosystem Observation and Research Station, Ministry of Education & Shanghai)

Abstract: In 2016, June to August 2019, 94 individuals of 31 species of Sphingidae were collected from the northern Zhejiang and Shanghai for sequencing their COI. The result indicated that Sphingidae was monophyletic group. The analysis demonstrated that the family of Sphingidae could

收稿日期: 2020-05-13; 修回日期: 2020-08-19

基金项目: 华东师范大学生物学实践工作站项目经费 (19dz23s0400)

作者简介: 杨行健, 从事昆虫分类学研究; E-mail: memoryjianjian@163.com。通信作者: 何祝清, 高级实验师, 博士, 从事昆虫系统学 E-mail: zqhe@bio.ecnu.edu.cn。

be divided into 2 subgroups. Comparisons were made on classification systems by Kawahara et al and Zhu et al.

Key words: northern Zhejiang; Shanghai; Sphingidae; phylogeny; *COI*; classification

天蛾科 Sphingidae 隶属于鳞翅目 Lepidoptera 蚕蛾总科 Bombycoidea, 全世界包括 200 多个属, 1 400 余种, 遍布除南极洲外的各个大陆^[1]。天蛾(天蛾科昆虫的统称)是重要的农业昆虫, 成虫在传粉上有重要作用, 但是幼虫又大量取食各种农作物。由于其个体大、便于采集、种类多, 是用于研究形态功能学^[2]、协同进化^[3-4]、生物地理学^[5]等的良好材料。

然而, 这些研究都需要建立在可信的系统发育学的研究基础之上。早期的系统发育研究主要体现在高级阶元(亚科、族)的划分。Rothschild 等最先为天蛾科物种作科学化的分类, 分为感毛组与无感毛组两大组, 下设五亚科七族^[6]。朱弘复和王林瑶编写的《中国动物志昆虫纲第 11 卷鳞翅目天蛾科》(以下简称动物志)中^[7], 其分类系统的参考即是该体系, 之后国内多数有关天蛾的研究也多沿袭《动物志》中五亚科分类系统^[8-14]。随着分子生物学的发展, 采用分子标记重建系统发育树的研究随之展开。然而, 这些研究或者个体较少, 或者仅研究某属或某族, 缺乏整体性的把握^[15-17]。直到 2009 年, Kawahara 等通过测序 131 种天蛾的 5 个编码核基因(6 793bp), 重建了全球范围内的天蛾系统发育关系, 确立了三亚科分类体系, 其下共设八族^[1]。

本研究基于中国浙江北部及上海市的天蛾标本, 以 *COI* 基因为分子标记, 重建了系统发育树, 比较了 Kawahara 和朱弘复等提出的 2 种分类系统的异同。

1 材料和方法

1.1 研究材料

试验样品于 2016 年和 2019 年 6–8 月采集自浙江北部的桐庐天子地生态风景旅游区、天童国家森林公园、清凉峰国家级自然保护区及上海的金山区增丰村、崇明区陈家镇、闵行区华东师范大学校区。采集方法包括灯诱法、网捕法和饲养法。其中, 盾天蛾指名亚种 *Phyllosphingia dissimilis dissimilis* 样品 2, 3, 6 为土中挖掘得到的蛹, 后羽化成虫, 福瑞兹长喙天蛾 *Macroglossum fritzei* 样品 2, 3 为扫网所得, 其余样品均为夜晚灯诱采集。其中, 在桐庐样点设置了 4 个诱灯, 每 3 h 采集一次。采集到的天蛾采用 75% 医用酒精注射腹部致死, 取 2~3 条后足保存于无水乙醇中, 并将后足及标本对应编号。将取足后的天蛾置于三角包中室温通风保存, 用于制作干制标本及形态鉴定。本次研究共采集到天蛾样品 94 只, 共计 31 种; 另有 2 种蚕蛾(柞蚕 *Antheraea pernyi* 及华尾大蚕蛾 *Actias sinensis*) 作为系统发育分析的外群, 见表 1。

1.2 DNA 提取及 *COI* 基因扩增

采用 AxyPrep Genomic DNA Miniprep Kit (AXYGEN) 试剂盒对各样品 DNA 进行提取。*COI* 基因扩增 PCR 采用 Taq PCR Master Mix 酶, 引物采用 LCO1490 (5'-GGT CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3') 和 HCO2198 (5'-TTA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'), 由铂尚生物技术(上海)有限公司合成, PCR 反应条件为: 预变性 94℃ 2 min, 变性 94℃ 30 s, 退火 45℃ 30 s, 延伸 72℃ 30 s, 终延伸 72℃ 7 min, 循环 30 次。PCR 产物送交铂尚生物技术(上海)有限公司进行双向测序。各样品 GenBank 号详见表 1。



图 1 采集的天蛾部分种类标本

Figure 1 Some collected Sphingidae

表 1 样品采集信息及 GenBank 号
Table 1 Samples collected and GenBank number

编号	种名	采集时间/(年.月.日)	采集地点	经纬度	Genbank 号
1	栗六点天蛾指名亚种 <i>Marumba sperchius sperchius</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080257
2	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080254
3	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080253
4	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080251
5	栗六点天蛾指名亚种	2016.08.25	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080258
6	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080256
7	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080252
8	栗六点天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080255
9	黄边六点天蛾东部亚种 <i>M. maackii ochreata</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080248
10	椴六点天蛾指名亚种 <i>M. dyras dyras</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080246
11	椴六点天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080243
12	椴六点天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080242
13	椴六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080245
14	椴六点天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080244
15	红六点天蛾南方亚种 <i>M. gaschkewitschii complacens</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080247
16	黑角六点天蛾指名亚种 <i>M. saishiuana saishiuana</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080250
17	黑角六点天蛾指名亚种	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080249
18	大背天蛾指名亚种 <i>Meganoton analis analis</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080259
19	大背天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080263
20	大背天蛾指名亚种	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080261
21	大背天蛾指名亚种	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080262
22	大背天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080260
23	甘薯天蛾 <i>Agrius convolvuli</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080201
24	甘薯天蛾	2016.09.04	上海金山区	30.77° N 121.40° E	MT080202
25	丁香天蛾 <i>Psilogramma increta</i>	2016.09.27	上海闵行区	31.03° N 121.45° E	MT080275
26	丁香天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080274
27	大星天蛾 <i>Dolbina inexacta</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080235
28	大星天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080233
29	大星天蛾	2016.07.02	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080232
30	大星天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080234
31	大星天蛾	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080236
32	鬼脸天蛾 <i>Acherontia lachesis</i>	2016.07.05	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080188
33	鬼脸天蛾	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080189
34	锯翅天蛾指名亚种 <i>Langia zenzeroides zenzeroides</i>	2016.06.02	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080237
35	裂斑鹰翅天蛾 <i>Ambulyx ochracea</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080204
36	裂斑鹰翅天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080206
37	裂斑鹰翅天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080208
38	华南鹰翅天蛾 <i>A. kuangtungensis</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080203
39	栎鹰翅天蛾 <i>A. liturata</i>	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080207
40	白额鹰翅天蛾 <i>A. tobii</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080205
41	构月天蛾 <i>Parum colligata</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080265
42	喜马拉雅天蛾 <i>Neogurelca himachala</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080264
43	豆天蛾北方亚种 <i>Clanis bilineata tsingtauica</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080225
44	豆天蛾北方亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080228
45	豆天蛾北方亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080229
46	豆天蛾北方亚种	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080226
47	豆天蛾北方亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080227

表 1 续

编号	种名	采集时间/(年.月.日)	采集地点	经纬度	Genbank 号
48	灰斑豆天蛾南方亚种 <i>C. undulosa gigantea</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080230
49	盾天蛾指名亚种 <i>P. dissimilis dissimilis</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080272
50	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080267
51	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080270
52	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080268
53	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080273
54	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080266
55	盾天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080269
56	盾天蛾指名亚种	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080271
57	条背天蛾 <i>Cechetra lineosa</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080219
58	条背天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080217
59	条背天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080218
60	条背天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080220
61	条背天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080215
62	条背天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080216
63	平背天蛾 <i>C. minor</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080221
64	平背天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080224
65	平背天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080223
66	平背天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080222
67	芋双线天蛾 <i>C. minor</i>	2016.06.09	上海崇明	31.55° N 121.85° E	MT080281
68	芋双线天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080282
69	芋双线天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080283
70	红天蛾 <i>Deilephila elpenor</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080231
71	蒙古白肩天蛾 <i>Rhagastis mongliana</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080277
72	蒙古白肩天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080276
73	西藏斜纹天蛾 <i>Theretra tibetiana</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080280
74	西藏斜纹天蛾	2016.06.09	上海崇明	31.55° N 121.85° E	MT080279
75	雀纹天蛾 <i>T. japonica</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080278
76	葡萄天蛾指名亚种 <i>Ampelophaga rubiginosa</i>	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080213
77	葡萄天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080209
78	葡萄天蛾指名亚种	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080210
79	葡萄天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080211
80	葡萄天蛾指名亚种	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080212
81	灰天蛾 <i>AcosmeryCOIdes harterti</i>	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080190
82	缺角天蛾 <i>A. castanea</i>	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080199
83	缺角天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080197
84	缺角天蛾	2016.06.23	上海金山区	30.77° N 121.40° E	MT080194
85	缺角天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080192
86	缺角天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080198
87	缺角天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080193
88	缺角天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080191
89	缺角天蛾	2019.08.15	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080196
90	缺角天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080195
91	福瑞兹长喙天蛾 <i>Macroglossum fritzei</i>	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080240
92	福瑞兹长喙天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080241
93	福瑞兹长喙天蛾	2019.08.16	浙江杭州桐庐	29.78° N 119.35° E	MT080238
94	福瑞兹长喙天蛾	2016.08.24	浙江宁波天童山	29.80° N 121.79° E	MT080239
95	华尾大蚕蛾 <i>Actias sinensis</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080200
96	柞蚕蛾 <i>A. sinensis</i>	2016.07.30	浙江杭州清凉峰	30.11° N 118.90° E	MT080214

1.3 系统发育分析

对测序结果, 首先采用 Bioedit 软件对 *COI* 基因的峰图进行筛选, 对有双峰或底峰的序列需要重新进行 PCR 的扩增及测序, 查找问题。而结果准确的双向测序序列则利用 ATGC7 软件进行拼接, 并将拼接后的序列导入 MEGA7 软件进行 ClustalW 比对, 去掉左右的引物序列, 得到 658bp 的基因序列, 将其以 FASTA 文件格式保存并输出。本研究选用最大似然法 (Maximum likelihood, ML) 对 *COI* 基因片段进行系统发育树的构建, 基于 GTR 模型进行 1 000 次分析 (Bootstrap value), 最终构建 ML 系统发育进化树。

2 结果与分析

研究测得了全部 96 个样品的 *COI* 基因片段 (658bp), 将其重建系统发育树, 如图 2。由图 1 可知, 天蛾科是个单系群, 同种同属全部各自聚在一起, 后验概率全部 > 95% (平背天蛾除外, 采集自桐庐的 4 个平背天蛾个体各自聚为 2 小支)。天蛾科首先分为 2 大支 A 和 B。A 支包括六点天蛾属 *Marumba*, 鬼脸天蛾属 *Acherontia*, 大背天蛾属 *Meganoton*, 白薯天蛾属 *Agrius*, 霜天蛾属 *Psilogramma*, 锯翅天蛾属 *Langia*, 星天蛾属 *Dolbina*, 鹰翅天蛾属 *Ambulyx*, 豆天蛾属 *Clanis*, 构月天蛾属 *Parum*, 锤天蛾属 *Neogurelca*, 盾天蛾属 *Phyllosphingia*, 其中大背天蛾属, 白薯天蛾属, 霜天蛾属亲缘关系较近, 其余相互关系不明确。B 支分为 2 小支, 一支包括长喙天蛾属 *Macroglossum*, 缺角天蛾属 *Acosmeryx*; 另一支包括葡萄天蛾属 *Ampelophaga*, 灰天蛾属 *Acosmerycoides*, 背线天蛾属 *Cechetra*, 斜纹天蛾属 *Theretra*, 白肩天蛾属 *Rhagastis*, 红天蛾属 *Deilephila*。

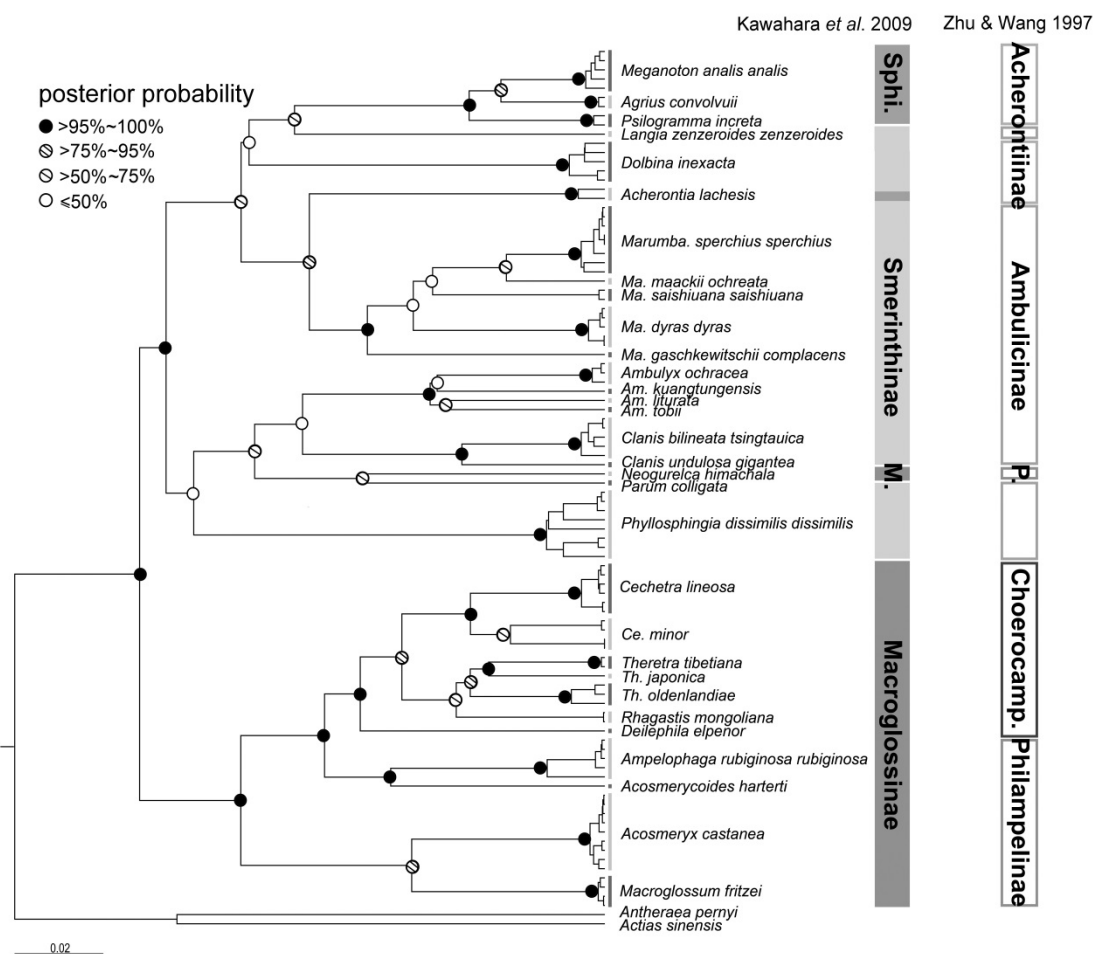


图 2 基于 *COI* 基因 (658bp) 的浙江北部及上海天蛾科昆虫系统发育关系图

Figure 2 Phylogenetic relationship of Sphingidae from northern Zhejiang and Shanghai based on *COI* genes (658bp)

3 结论与讨论

3.1 COI 用于物种鉴定的有效性

Hebert 等在 2003 年首次提出了 DNA 条形码的概念^[18]。虽然 DNA 条形码的研究仍存在一定的争议,但其在动物分类学中的研究已相对成熟,并将 COI 基因选取作为动物界标准鉴定基因。COI 基因位于线粒体内,参与线粒体细胞色素 C 氧化酶(Cytochrome C oxidase)第一亚基的编码,未发现内含子。该基因理论上分布于一切有氧呼吸的真核生物体内,其遗传模式呈典型的母系遗传^[19]。相对于 12S 和 16S 等 mt-rDNA, COI 基因具有较少的插入和缺失现象,分子进化形式以点突变为主,有利于提高序列比对结果的可靠性,对于区分属以下的分类单元而言具有足够的分辨能力。该技术在发现和描述新种或隐种、种类分子鉴定、系统发育等研究中广泛应用^[20]。在同种之间, COI 基因序列几乎一致,而不同种之间随着亲缘关系的疏远而变异加大。徐森锋等通过测序进口水果中的幼虫 COI 基因,发现其为苹果异胫小卷蛾 *Cryptophlebia leucotreta*^[21]。陈秀洁等通过 COI 基因能够很好地区分四种粘虫 *Mythimna separata* 的近缘种^[22]。和淑琪等利用 COI 基因对于新西兰苹浅褐卷蛾 *Epiphyas postvittana* 研究发现,同种间序列差异小于 3%^[23]。陈珊等研究发现巨疖蝙蛾 *Phassus giganodus* 的卵、幼虫、成虫的 COI 基因具有高度一致性^[24]。本研究共计测序了 32 种天蛾的 94 个个体,同一物种间的 COI 基因几乎一致,如大背天蛾指名亚种采集自浙江桐庐、天童山及清凉峰三个地区,但其序列差异小于 1%,进一步证实了 COI 基因用于鉴定动物物种的可靠性。

3.2 通过 COI 基因探讨系统发育关系

由于 COI 基因快速突变的特点,不少研究将其用于生物地理学或系统发育等相关研究。如李玉婷等基于 COI 基因研究发现,其能够较好地对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 的种群分化进行标记^[25]。而卢慧通过 COI 基因对中国蛉蛾科 Trigonidiidae 构建系统发育树发现,属种水平上支持率较高,而高阶上的支持率较低^[26]。同样,基于 COI 基因在对鳞翅目 Lepidoptera、双翅目 Diptera、直翅目 Orthoptera 等构建系统发育树也发现,同种及同属间具有较高的支持度,而族、亚科等相互间的系统关系得不到很好的解析^[27-30]。

对于天蛾科昆虫的系统发育研究主要体现在高级分类阶元的划分。在《动物志》中,中国天蛾科被划分为 5 亚科(面形天蛾亚科 Acherontiinae、云纹天蛾亚科 Ambulicinae、透翅天蛾亚科 Sesiinae、蜂形天蛾亚科 Philampelinae 和斜纹天蛾亚科 Choerocampinae),而由 Kawahara 等认为天蛾科分为长喙天蛾亚科 Macroglossinae、目天蛾亚科 Smerinthinae、天蛾亚科 Sphinginae,蒋卓衡在对于中国长喙天蛾属及斜纹天蛾属研究中也参照此系统^[31]。两种分类系统之间,长喙天蛾亚科=蜂形天蛾亚科+斜纹天蛾亚科+透翅天蛾亚科,而 Kawahara 的目天蛾亚科、天蛾亚科与《动物志》的蜂形天蛾亚科和斜纹天蛾亚科既有重叠的部分,又有相互矛盾的部分。

本研究首次采用 COI 基因,对中国浙江北部地区及上海市的天蛾科系统发育进行了研究。在 A 支中,两种分类系统的分歧点是星天蛾属的亲缘关系问题。本研究结果显示星天蛾属更接近锯翅天蛾属、霜天蛾属、白薯天蛾属和大背天蛾属,这与《动物志》中将它们归为面形天蛾亚科更吻合。除上述 5 属外,其余属无论在 Kawahara 的目天蛾亚科还是《动物志》的云纹天蛾亚科均为并系类群。最后,喜马锤天蛾无论在上述 2 个分类系统中均属于 B 支,但本研究结果支持其在 A 支中。在 B 支中, Kawahara 等将其全部归为长喙天蛾亚科,而《动物志》将其分为斜纹天蛾亚科和蜂形天蛾亚科(本研究未涉及透翅天蛾亚科)。根据葡萄天蛾属和灰天蛾属的系统关系,《动物志》所提出的二亚科非单系群。

综上所述,本研究发现 COI 基因能够很好地鉴定不同种类的天蛾,且不同产地的同一物种具有极高的序列相似性;系统发育结果表明天蛾分为 2 大支,其分类结果各支持上述两种分类系统的部分结果,但在 A 支中属与属之间的拓扑结构的后验概率均不高,不能很好地明晰各属间相互关系,在今后的研究中应采用多基因建树,或者系统发育基因组学对天蛾科的演化关系进行更为深入的研究。

参考文献:

- [1] KAWAHARA A Y, MIGNAULT A A, REGIER J C, *et al.* Phylogeny and biogeography of hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae): Evidence from Five Nuclear Genes[J]. PLoS ONE, 2009, 4 (5): e5719.
- [2] EATON J L. Morphology of the head and thorax of the adult tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae)[J]. Int J Insect Morphol Embryol, 1971, 3: 47–66.
- [3] KESSLER A, BALDWIN I T. *Manduca quinquemaculata*'s Optimization of intra-plant oviposition to predation, food quality, and thermal constraints[J]. Ecology, 2002, 83 (8): 2346–2354.
- [4] JACKSON D M. Plant-insect behavioral studies: examples with *Heliothis* and *Manduca* species[J]. Fl Entomol, 1990, 73: 378–391.
- [5] BECK J, KITCHING I J, LIONSENMAIR K E. Wallace's line revisited: has vicariance or dispersal shaped the distribution of Malesian hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae)[J]. Biol J Lin Soc, 2006, 89: 455–468.
- [6] ROTHSCHILD L W, JORDAN K. A revision of the lepidopterous family Sphingidae[J]. Novit Zool, 1903, 9: 1–972.
- [7] 朱宏复, 王林瑶. 中国动物志昆虫纲第 11 卷鳞翅目天蛾科[M]. 北京: 科学出版社, 1980: 190–196.
- [8] 范茜, 张佑祥, 彭乐, 等. 湖南高望界国家级自然保护区天蛾科昆虫区系特征[J]. 环境昆虫学报, 2013, 35 (5): 585–590.
- [9] 杨镇, 张超, 马正学. 甘肃白水江自然保护区的天蛾群落特征及其区系分析[J]. 天水师范学院学报, 2009, 29 (5): 13–15.
- [10] 李密, 周红春, 谭济才, 等. 湖南省自然保护区天蛾科昆虫资源及相似性研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27 (10): 63–66.
- [11] 林涛, 林乃铨. 武夷山自然保护区天蛾科昆虫多样性的初步研究[J]. 昆虫分类学报, 2011, 33 (4): 303–311.
- [12] 张静, 马瑞林, 马正学, 等. 甘肃太统—崆峒山自然保护区天蛾群落特征及区系分析[J]. 甘肃科学学报, 2012, 24 (2): 55–61.
- [13] 胡金鑫, 彭明, 刘华. 金丝峡天蛾科昆虫多样性研究[J]. 陕西林业科技, 2017 (3): 28–33.
- [14] 张亚莉, 鲍双玲, 马正学. 甘肃省天蛾科昆虫的群落特征及区系分析[J]. 甘肃科学学报, 2014, 26 (5): 24–30.
- [15] REGIER J C, MITTER C, FRIEDLANDER T P, *et al.* Re: Phylogenetic relationships in Sphingidae (Insecta: Lepidoptera): initial evidence from two nuclear genes[J]. Molec Phylogen Evol, 2001, 20 (2): 311–316.
- [16] HUNDSDOERFER A K, KITCHING I J, WINK M. A molecular phylogeny of the hawkmoth genus *Hyles* (Lepidoptera: Sphingidae, Macroglossinae)[J]. Mol Phylogen Evol, 2005, 35 (2): 442–458.
- [17] HUNDSDOERFER A K, KITCHING I J, WINK M. The phylogeny of the *Hyles euphorbiae* complex (Lepidoptera: Sphingidae): molecular evidence from sequence data and ISSR-PCR fingerprints[J]. Organ Diver Evol, 2005, 5 (3): 173–198.
- [18] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proc Royal Soc: Biol Sci, 2003, 270: 313–321.
- [19] 叶兼菱, 安榆林, 钱路, 等. 检疫性昆虫 DNA 条形码检测技术的研发与应用实例[J]. 应用昆虫学报, 2015, 52 (2): 382–389.
- [20] 杨倩倩, 李志红, 伍伟, 等. 线粒体 *COI* 基因在昆虫 DNA 条形码中的研究与应用[J]. 应用昆虫学报, 2012, 49 (6): 1687–1695.
- [21] 徐森锋, 廖力, 张卫东, 等. 基于形态与分子数据鉴定苹果异胫小卷蛾[J]. 广东农业科学, 2015, 42 (4): 113–116, 193.
- [22] 陈秀洁, 程李莉, 江幸福, 等. 基于 DNA 条形码对粘虫四种近缘种的鉴定与亲缘关系分析[J]. 植物保护学报, 2017, 44 (3): 385–392.
- [23] 和淑琪, 查涛, 蒋小龙, 等. 利用条形码技术鉴定苹浅褐卷蛾[J]. 植物检疫, 2011, 25 (2): 36–40.
- [24] 陈珊, 周琼, 李纲, 等. 巨疖蝙蛾不同虫态的 *COI* 基因条形码识别[J]. 昆虫学报, 2017, 60 (6): 681–690.
- [25] 李玉婷, 王康, 郑燕, 等. 甘肃河西走廊苹果蠹蛾种群遗传分化研究——基于 *COI* 基因序列分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41 (9): 85–90.
- [26] 卢慧. 中国蛉蛾科分子系统学研究(直翅目: 蟋蟀总科)[D]. 上海: 华东师范大学, 2018.
- [27] 朱丹丹, 谢瑾. 基于 *COI* 基因对卷蛾科昆虫的分子系统发育关系研究[J]. 农技服务, 2016, 33 (10): 9–10.
- [28] 范京安, 顾海丰, 陈世界. 实蝇科昆虫 mtDNA-*COI* 基因序列分析及系统发育研究[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2009, 31 (10): 88–95.
- [29] 林敏平, 李晓东, 韦仕珍. 蚱总科昆虫部分类群线粒体 *COI* 基因序列与系统发育关系[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34 (6): 40–48.
- [30] 吕红娟, 黄原. 基于线粒体 *COI* 基因全序列的直翅目部分类群系统发育关系分析[J]. 动物学研究, 2012, 33 (3): 319–328.
- [31] 蒋卓衡. 中国长喙天蛾属及斜纹天蛾属团的分类学研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2019.