

长蠹科几种检疫性害虫的 ND4 基因 序列及系统进化

黄永成¹, 李伟丰¹, 陆 温², 陈永久³, 张亚平³

(1. 广西防城动植物检疫局, 防城港 538001; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005;

3. 中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室, 昆明 650223)

摘要: 长蠹科昆虫严重危害林木和仓储物品。应用非损伤性 DNA 测序技术测定了来自不同国家的长蠹科害虫的线粒体 DNA ND4 基因的部分序列。在获得的 204 bp 的序列中, 5 种昆虫的序列变异丰富, 多数变异发生在密码子的第 3 位点上。用 PAUP3.1.1 数据分析软件构建了 5 个种的合意简约树。并将实验结果与形态学特征比较分析, 探讨 5 个种及所在属的系统进化。结果表明: 双钩异翅长蠹所在的异翅长蠹属分化最早, 其次是竹大长蠹所在的大长蠹属、双棘长蠹和黑双棘长蠹所在的双棘长蠹属及红艳长蠹所在的钻木长蠹属。双棘长蠹和黑双棘长蠹隶属同一个属, 遗传关系最近, 分化最晚, 与形态学研究结果相吻合。

关键词: 长蠹科; ND4 基因; mtDNA; 系统进化

中图分类号: Q961 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296 (2001) 04-0494-07

长蠹科 (Bostrychidae) 属于鞘翅目 (Coleoptera), 是破坏性最大的一类钻蛀性甲虫。在口岸检疫中长蠹科昆虫的许多种类都被列为检疫对象, 严禁入境, 特别是列为二类检疫对象的双钩异翅长蠹 *Heterobostrychus aequalis*。Lesne^[1,2] 最早对长蠹科进行了系统分类的研究, 他鉴定了许多新种, 为长蠹科昆虫的分类奠定了基础。中条道夫^[3] 记述了长蠹科 11 属 17 种, Fisher^[4] 记述了北美的长蠹科 32 属 92 种。国内研究最早的是柳晶莹^[5-7], 他记录了我国已发现的长蠹科 14 属 30 种。在检疫方面, 陈志麟、Kingsolver 等多次报道了检疫系统截获的长蠹科害虫情况, 并进行了分类及形态上的描述^[8-10]。但以上这些研究多集中于形态分类上, 有关系统进化方面的研究尚未见报道。

近年来, 分子系统学的迅速发展为昆虫的系统学研究开辟了广阔前景。尤其是非损伤性 DNA 分析技术 (non-invasive DNA genotyping) 的建立克服了以往取样的困难^[11]。线粒体 DNA 序列是研究属、种间系统发育较好的分子标记, 国外不少学者成功地应用线粒体 DNA 序列研究昆虫的系统演化关系^[12-14]。作者应用非损伤性 DNA 序列分析技术测定了广西防城动植物检疫局近年来从东南亚各国截获的 5 种长蠹科害虫的线粒体 DNA 的蛋白质编码基因 NADH 脱氢酶复合体亚基 ND4 基因 (NADH-dehydrogenase subunit 4), 从分子水平探讨了它们的系统发育关系。

1 材料和方法

1.1 实验昆虫

长蠹科5个种7个样品均为防城动植物检疫局标本室75%酒精固定多年的标本材料,7个样品的来源如下:红艳长蠹 *Xylothrips religiosus* (T: 泰国)、双棘长蠹 *Sinoxylon anale* (T: 泰国)、黑双棘长蠹 *Sinoxylon conigerum* (P: 菲律宾)、双钩异翅长蠹 *Heterobostrychus aequalis* (M: 马来西亚)、双钩异翅长蠹 *H. aequalis* (T: 泰国)、双钩异翅长蠹 *H. aequalis* (V: 越南)、竹大长蠹 *Bostrychopsis parallela* (V: 越南)。

1.2 基因组DNA提取

每个样品各取3~5头,剪取头部,用75%酒精和灭菌水冲洗剪碎,加200 μ L消化液(含10% 巯基乙醇10 μ L和0.2 mg/mL蛋白酶K 10 μ L),于56 $^{\circ}$ C消化12~24 h,加入200 μ L 10% Chelex-100溶液,于95 $^{\circ}$ C煮沸30 min,自然冷却后12 000 r/min离心10 min,取上清液直接用于PCR扩增。

1.3 线粒体DNA ND4片段PCR扩增和序列分析

PCR扩增的目标片段为线粒体DNA ND4编码区中216 bp的一段DNA序列,扩增引物为Powers设计的N4-J-8502 (ND4R2)和N4-N-8718 (ND4F3)^[15],由大连宝生物公司合成。引物序列为:

N4-J-8502 (22 mer): 5'-GTAGGAGGAGCTGCTATATTAG-3'

N4-N-8718 (20 mer): 5'-GCTTATTCATCGGTTGCTCA-3'

每一样品的扩增体积为50 μ L,内含10 mmol/L Tris (pH 8.3), 50 mmol/L KCl, 0.01% Triton X-100, 1.5 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTP, 0.4 μ mol/L的引物, 1 U Taq酶以及2 μ L模板溶液(含10~25 μ g DNA),覆盖石蜡油。扩增条件为95 $^{\circ}$ C预变性2 min, 40个循环,包括94 $^{\circ}$ C变性40 s, 42 $^{\circ}$ C退火60 s, 72 $^{\circ}$ C延伸60 s,最后在72 $^{\circ}$ C作后延伸5 min。扩增得到的PCR产物用小量胶回收试剂盒(上海华舜生物工程有限公司)回收,94 $^{\circ}$ C变性后作为序列分析的模板。序列分析仪为ABI公司377型全自动序列分析仪。序列分析引物N4-J-8502和N4-N-8718分别单独测序一次以上,所得序列用“DNASTar-Lasergen”软件中的“Seqman”模式进行核对,确定无误。

1.4 DNA序列数据的处理

采用PAUP3.1.1中的“Branch and Bound”软件,对得到的DNA序列数据进行聚类分析,以双翅目按蚊属的 *Anopheles arabiensis*^[16]为外群构建分子系统树,系统树各分支的置信度由“Bootstrap”1 000次循环检验,ND4序列变异中的转换和颠换赋予相同的加权值。

2 结果与分析

实验共获得长蠹科昆虫5个种7个样品的线粒体DNA基因204 bp的序列。序列数据见图1。DNA序列中A+T的平均含量为70.1% (表1),与其它步甲科和双翅目、直翅目昆虫基本一致^[17-20]。就每个氨基酸密码子来看,密码子第3位点的A+T平均含量极高,达

82.04%，而第 1 位点和第 2 位点的 A + T 的平均含量分别为 57.4% 和 70.95%。我们所获得的 204 bp 的 DNA 基因序列中没有发现任何碱基的缺失或插入，其中 72 个碱基发生变异（约 35.2%），在这些变异中 AT、AC、TG、CG 之间的颠换明显高于 CT、AG 之间转换，并且多数变异发生在密码子的第 3 位点（表 2），与其它昆虫类群的研究结果基本一致。

<i>X. religiosus</i>	AAGAACCAAAAACAATGTTAGAGAAGGTAATAAAATTAATTAACCCTTATTAACAAATAATCTACGCCTA
<i>S. anale</i>	ATAAATCATCACATTCTAAGAGAAGGTATTAATTAATTAACCCTTATTAATATCAAACACGCTCTT
<i>S. conigerum</i>	ATAAAACATCACAATCTAAGAGAAGGTATTAATTAATTAACCCTTATTAATATCAAACACGCTCTT
<i>H. aequalis</i> (M)	ATAAATCATCATATTCTAATCTAGGTATAAAACTTATATACCTTTATTAATAAAATAAACTACGACTT
<i>H. aequalis</i> (T)	ATAAATCATCATATTCTTATTCTAGGTATAAAACTTATATACCTTTATTAATAAAATAAACTACGACTT
<i>H. aequalis</i> (V)	ATAAATCATCATATTCTTATTCTAGGTATAAAACTTATATACCTTTATTAATAAAATAAACTACGACTT
<i>B. parallela</i>	ATAAATCATCATAAAGACAAAAGAAGGCATTAATTAATCAACCCTTATTAATAAAATAGACTCCGCTCTT
<i>A. arabiensis</i>	AAAAATCATCATAAACTTAATGTTGGTATAAAATTAATAATCCCTTATTAATTAATAAACTTCGGCTT
<i>X. religiosus</i>	GACAAACGCTCATAATTAATATTTGCTAAACAAAATATCCCGGATGAACACAATCCATGTGCCACCATT
<i>S. anale</i>	CCTAAACGTTTCATAGATAATATTAGCTAAACAAAATAGACCCGATGAGCATAATCCATGAGCCAATATT
<i>S. conigerum</i>	CCTAAACGTTTCATAGCTAATATTAGCTAAACAAAAGACCTGATGAGCATAATCCATGAGCCAATATT
<i>H. aequalis</i> (M)	CCAACCTGTTTCATAATTAATATTAATACTAAACAAAATATACCCGAAGAACATAAACCATGCCCAATATT
<i>H. aequalis</i> (T)	CCAACCTGTTTCATAATTAATATTAATACTAAACAAAATATACCCGAAGAACATAAACCATGCCCAATATT
<i>H. aequalis</i> (V)	CCAACCTGTTTCATAATTAATATTAATACTAAACAAAATATACCCGAAGAACATAAACCATGCCCAATATT
<i>B. parallela</i>	CCTAAACGTTTCATAAGAAATATTTGCTAAACAAAAGCCCTGAGGAACAAAGGCCATGGCCAACCTATC
<i>A. arabiensis</i>	CCTATTCGTTTCATAAGAAATATTAGCTAAACAAAATAAACCAGAAGAACATAAACCATGAGCAATATT
<i>X. religiosus</i>	ATTCTCAGAGAACCTGCTATTCCAAAAATTCTAAATGTAAAAATCCACAAACTACCAATCTCATAT
<i>S. anale</i>	ATTCCCAAGAACCAATAAACCCTCATATAGTAATAGTAAATATACCACAAACAATTAACCCTATAT
<i>S. conigerum</i>	ATTCCCAAGAACCAATAAACCCTCATATAGTAAAAGTAAATAAACCACAAACAATTAACCCTATAT
<i>H. aequalis</i> (M)	ATAATTTAAAGACCCCTATAAATCCTCAATAATTTATAGTAAAAATACCACTTAATACAAATCTTATAT
<i>H. aequalis</i> (T)	ATAATTTAAAGACCCCTATAAATCCTCAATAATTTATAGTAAAAATACCACTTAATACAAATCTTATAT
<i>H. aequalis</i> (V)	ATAATTTAAAGACCCCTATAAATCCTCAATAATTTATAGTAAAAATACCACTTAATACAAATCTTATAT
<i>B. parallela</i>	ATTGCCAAGGCCACCACCACCCTCAATAAGTATAAGTAAAAATACCGCATACCGCCAAACCTATAT
<i>A. arabiensis</i>	AAAGCATAAGACCCCTGTTAACCTCAATAAGTTATTGTTAATAATCTCTTAAAACAATACCCATAT

图 1 长囊科 5 种检疫性害虫 7 个样品的 mtDNA 的 ND4 序列

Fig. 1 ND4 sequences for 7 samples of 5 species of Bostrychidae

从基于 ND4 序列数据构建的分子系统树来看（图 2），隶属于异翅长囊属的双钩异翅长囊位于系统树的一支，与隶属于双棘长囊属、钻木长囊和大长囊属的 4 个种形成两大分支格局，分歧程度明显，置信度为 92%。同时基因序列数据亦表明，双钩异翅长囊与其它 4 个种存在明显差异，序列差异依次为 25%、27.9%、30.88%、30.88%；遗传距离依次为 0.3045、0.3500、0.3988、0.3982（表 2、表 3），表明异翅长囊属与其它三个属的亲缘关系较远。

表 1 ND4 区域 DNA 序列的组成和变异

Table 1 Base composition of ND4 at the first, second and third position of codons

种类 Species	Total					First					Second					Third				
	A	T	C	G	Total	A ₁	T ₁	C ₁	G ₁	Total	A ₂	T ₂	C ₂	G ₂	Total	A ₃	T ₃	C ₃	G ₃	Total
<i>A. arabiensis</i>	43.6	30.4	17.6	8.30	204	41.2	13.2	27.9	17.6	68	44.1	30.9	19.1	5.90	68	45.6	47.1	5.90	0.00	68
<i>X. religious</i>	43.6	25.5	21.6	9.30	204	47.1	11.8	25.0	16.2	68	39.7	30.9	20.6	8.80	68	44.1	33.8	19.1	2.90	68
<i>S. anale</i>	44.1	26.5	21.1	8.30	204	47.1	10.3	29.4	13.2	68	35.3	36.8	19.1	8.80	68	50.0	32.4	14.7	2.90	68
<i>S. conigerum</i>	46.1	24.5	21.1	8.30	204	45.6	10.3	30.9	13.2	68	39.7	32.4	19.1	8.80	68	52.9	30.9	13.2	2.90	68
<i>H. aequalis</i>	44.6	32.4	18.6	4.40	204	47.1	13.2	32.4	7.40	68	33.8	42.6	17.6	5.90	68	52.9	41.2	5.90	0.00	68
<i>B. parallela</i>	42.2	21.2	25.0	11.8	204	41.2	13.2	27.9	17.6	68	38.2	25.0	26.5	10.3	68	47.0	25.0	20.6	7.40	68
平均值 mean	44.1	27.2	21.0	7.80	1 224	45.9	12.0	29.7	12.5	408	36.8	35.1	20.1	8.10	408	49.7	34.3	13.2	2.70	408

表 2 长蠹科 mtDNA ND4 基因的序列变异

Table 2 Sequence variations in mitochondrial ND4 gene

OTUs	<i>A. arabiensis</i>	<i>X. religious</i>	<i>S. anale</i>	<i>S. conigerum</i>	<i>H. aequalis</i>	<i>B. parallela</i>
<i>A. arabiensis</i>		16 (0.286)	11 (0.256)	10 (0.222)	11 (0.324)	20 (0.500)
<i>X. religious</i>	56 (72)		19 (0.543)	19 (0.543)	17 (0.370)	28 (0.778)
<i>S. anale</i>	43 (54)	35 (54)		1 (0.167)	14 (0.378)	21 (0.677)
<i>S. conigerum</i>	45 (55)	35 (54)	6 (7)		16 (0.390)	19 (0.613)
<i>H. aequalis</i>	34 (45)	46 (63)	37 (51)	41 (57)		23 (0.575)
<i>B. parallela</i>	40 (60)	36 (64)	31 (52)	31 (50)	40 (63)	

对角线以上为转换数，括号内为转换与颠换之比；对角线以下为颠换数，括号内为转换和颠换的总数

Transition (transition / transversions ratio) and transversions (total numbers of nucleotide substitutions) are shown above and below the diagonal respectively

表 3 基于 Kimura 双因子参数计算遗传距离

Table 3 Kimura-2-parameter distance

OTUs	<i>A. arabiensis</i>	<i>X. religious</i>	<i>S. anale</i>	<i>S. conigerum</i>	<i>H. aequalis</i>	<i>B. parallela</i>
<i>A. arabiensis</i>		0.4813	0.3287	0.3373	0.4618	0.3734
<i>X. religious</i>			0.3265	0.3265	0.3988	0.4086
<i>S. anale</i>				0.0352	0.3045	0.3120
<i>S. conigerum</i>					0.3500	0.2970
<i>H. aequalis</i>						0.3982
<i>B. parallela</i>						

系统树的另一支包括双棘长蠹、黑双棘长蠹、红艳长蠹和竹大长蠹。双棘长蠹和黑双棘长蠹同处于系统树的一支，置信度为 100%，基因序列的构成和变异显示：序列差异仅为 3.41%，遗传距离为 0.0352。红艳长蠹和竹大长蠹两个种的序列差异为 31.37%，遗传距离

为 0.4086, 表明这两个种所在的钻木长蠹属和大长蠹属分歧程度较大。系统树显示: 隶属于钻木长蠹属的红艳长蠹和双棘长蠹属的亲缘关系较近, 同处于一个分支, 但置信度仅有 57%, 支持率不高; 而从基因序列的数据分析, 红艳长蠹和双棘长蠹属的序列差异为 26.47%, 遗传距离为 0.3265, 略高于隶属大长蠹属的竹大长蠹和双棘长蠹属的序列差异 24.51% ~ 25.49%, 遗传距离 0.2970 ~ 0.3012, 表明双棘长蠹属的分化是在这两个属之间。

对来自东南亚三个不同国家的双钩异翅长蠹进行 ND4 序列比较, 结果显示来自泰国和越南的样品无差异, 而马来西亚的样品与这两个样品有一个碱基对的区别。

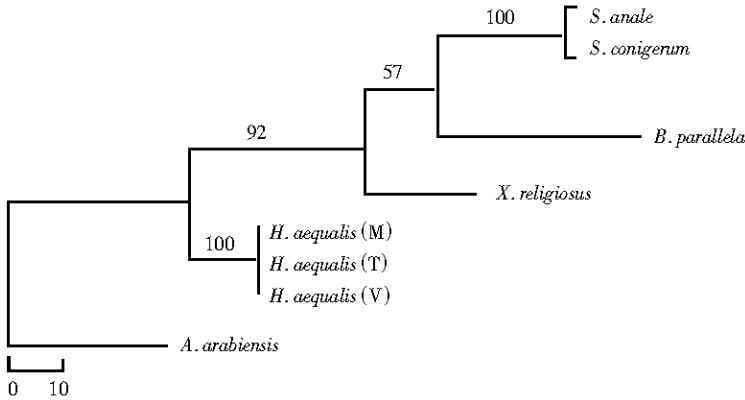


图 2 ND4 基因区的合意简约系统树

Fig. 2 The consensus parsimony tree derived from branch and bound search in PAUP Ver 3.1.1, based on ND4 sequence data

枝长代表了分歧程度, 枝上的数字为 1 000 次自助统计得到的对该枝的支持百分比

All nucleotide substitution characters were specified as unordered and given as equal weight. Bootstrap analysis consisted of 1 000 branch and bound replication. The bootstrap confidence values of each branch are indicated above the branch

3 讨论

根据传统的形态分类学, 供试的 5 种长蠹科昆虫均属于长蠹科的大长蠹亚科 Bostrichinae, 其中双钩异翅长蠹属异翅长蠹属 *Heterobostrychus*, 红艳长蠹属钻木长蠹属 (长棒长蠹属) *Xylothrips*, 竹大长蠹属大长蠹属 *Bostrychopsis*, 双棘长蠹和黑双棘长蠹同属双棘长蠹属 *Sinoxylon*。从形态及生物学方面的证据看, 双钩异翅长蠹前胸背板前缘后面横向凹陷, 与其它 4 个种差别明显; 同时, 双钩异翅长蠹食性极为复杂, 寄主范围广, 具有很强的适生性, 而其它 4 个种的食性较为单一, 寄主范围也比较窄。如: 红艳长蠹的寄主为黄槿、鳄梨^[21], 竹大长蠹主要危害竹类^[10]。这表明, 位于系统树基部且形成独立一支并隶属于异翅长蠹属的双钩异翅长蠹分化较早, 是较为原始的类型。

红艳长蠹和竹大长蠹两个种在外形上均为较大个体, 在形态特征上, 竹大长蠹保持有较多的原始祖征, 如: 前胸背板前缘明显凹入, 两前缘角延伸并向上翘呈钩状突起, 两侧各具一齿列, 从而可以认为大长蠹属的分化较钻木长蠹属早。

从分析来看,在我们研究的大长蠹亚科昆虫中,双钩异翅长蠹所在的异翅长蠹属分化最早,其次是竹大长蠹所在大长蠹属,双棘长蠹和黑双棘长蠹所在双棘长蠹属及红艳长蠹所在钻木长蠹属。双棘长蠹和黑双棘长蠹隶属同个属,分子生物学的分析表明它们遗传关系很近,分化较晚,与形态学结果相吻合。虽然来自不同国家的双钩异翅长蠹个体分化不明显,但三个样品中存在碱基的差异,这种差异是可能的。泰国和越南位于东南亚的北部,有陆地相连,而马来西亚大部分为岛屿,加之长蠹科昆虫飞行能力不强,较容易产生分化。这表明,我们采用非损伤性DNA序列分析方法研究长蠹科昆虫和种间关系是切实可行的,非损伤性DNA序列分析在昆虫种类鉴定、系统进化以及群体遗传学研究中具有广阔的前景。

致谢 实验中所用标本均为防城动植物检疫局黄世水同志鉴定,同时在实验过程中得到了昆明动物所细胞与分子进化开放实验室向余劲攻博士后、史宪伟博士后、苟世康高级实验师以及客座郑向忠博士、周继亮硕士、陈辉同志的大力帮助和指导,并得到广西大学唐业忠副教授的大力支持,特此致以深切的感谢。

参 考 文 献 (References)

- [1] Lesne P. Description de Genres Nouveaux et d'espèces nouvelles de Coleopters de la famille des Bostrychidae (1). Ann. Soc. Ent. F., 1895, 64: 169~178
- [2] Lesne P. Diagnoses Preliminaires de Lyctides et Bostrychidae Nouveaux (Col.) de l'Indo et d'Austro-Malaisie. Soc. Ent. Fr. Bull., 1936, 61: 131~138
- [3] 中条道夫. 长蠹虫科·扁蠹虫科. 日本动物分类第十卷第八编第七号, 三省堂, 1937
- [4] Fisher W S. A Revision of the North American Species of Beetles Belonging to the Family Bostrychidae. U. S. Department of Agriculture Miscellaneous Publication, 1950, 698: 143
- [5] 柳晶莹. 竹材蠹虫. 昆虫知识, 1956, 2 (5): 221~224
- [6] 柳晶莹. 中国长蠹科和扁蠹科昆虫名录. 福建农学院学报, 1957, 5: 97~116
- [7] 柳晶莹. 竹材蠹虫研究综述. 福建农学院学报, 1983, 1: 72~75
- [8] Kingsolver J M. 美国植物检疫中截获的长蠹科常见属种检索. 张生芳译. 植物检疫, 1990, 4 (1): 41~45
- [9] 陈志麟. 从东南亚进口木材及藤料中截获的长蠹科害虫. 植物检疫, 1992, 6 (6): 451~454
- [10] 陈志麟. 植物检疫常见的长蠹科害虫. 植物检疫, 1994, 8 (4): 209~215
- [11] Garza J C, Woodruff D S. A phylogenetic study of the gibbons (Hylobates) using DNA obtained non-invasively from hair. Mol. Phyl. Ecol., 1992, 1: 202~210
- [12] Brower A V Z. Phylogeny of *Heliconius* butterflies inferred from mitochondrial DNA sequence (Lepidoptera: Nymphalidae). Molec. Physiol. Evol., 1994, 3 (2): 159~174
- [13] Su Zhihui, Osamu T *et al.* Parallel evolution in radiation of *Ohomopterus*. J. Mol. Evol., 1996, 43: 662~671
- [14] Carlos J, Kamal M *et al.* Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography of *Primelia* darkling beetles on the Island of Tenerife (Canary Island). Heredity, 1996, 77: 589~598
- [15] Powers T. In: Simon *et al.* Mitochondrial DNA Systematics. Ann. Ent. Soc. Amer., 1994, 87 (6): 687~701
- [16] Besansky N J *et al.* Molecular phylogeny of the *Anopheles gambiae* complex suggests genetic introgression between principal malaria vectors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1994, 91 (15): 6885~6888
- [17] Szalanski A L, Powers T O. Molecular diagnostics of three *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) pest species. J. Kans. Entomol. Soc., 1996, 69 (3): 260~266
- [18] Tang J, Toe L *et al.* The *Simulium damnosum* species complex: phylogenetic analysis and molecular identification based upon mito-

chondrially encoded gene sequences. *Insect Molec. Biol.*, 1995, 4 (2): 79~88

- [19] Rippe R M, Gellissen G. The genes for cytochrome b ND4L ND6 and two tRNAs from the mitochondrial genome of the locust, *Locust migratoria*. *Curr. Genet.*, 1994, 25 (2): 135~41
- [20] Koch D A, Duncan G A *et al.* Effects of preservation methods parasites and gut contents of black flies (Diptera: Simuliidae) on polymerase chain reaction products. *J. Med. Entomol.*, 1998, 35 (3): 314~318
- [21] 陈树椿. 中国的长棒长蠹属. 北京林业大学学报, 1988, 10 (增刊): 50~53

Mitochondrial DNA ND4 sequence variation and phylogeny of five species of Bostrychidae (Coleoptera)

HUANG Yong-cheng¹, LI Wei-feng¹, LU Wen², CHEN Yong-jiu³, ZHANG Ya-ping³

(1. Fangcheng Animal and Plant Quarantine Service, Fangchenggang 538001, China; 2. Agricultural College of Guangxi University, Nanning 530005; 3. Key Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: The Bostrychidae represent a highly destructive group of wood-boring and stored product beetles. We sequenced the mitochondrial DNA gene encoding NADH dehydrogenase subunit 4 (ND4) with non-invasive DNA Genotyping from 7 samples of 5 species of this family. The length of sequences was 204 bp. Sequence-comparison analysis indicated high variations in sequences of each species. The ND4 phylogenetic trees had been constructed for 5 Bostrychidae species with PAUP 3.1.1. This result was compared with the results based on the morphology of 5 species. Furthermore, the phylogenetic relationship among the species and genera that each species belongs to were discussed. The results indicated that *H. aequalis* of genus *Heterobostrychus* diverged the earliest, then did *B. parallela* of genus *Bostrychopsis*, *S. anale* and *S. conigerum* of genus *Sinoxylon*, *X. religiosus* of genus *Xylothrips* in turns. The two species of *S. anale* and *S. conigerum* were closely related, and they diverged last. This was basically identical with the results based on morphology.

Key words: ND4; mtDNA; phylogeny; Bostrychidae